

• 综述 •

自噬在炎症性疾病中的研究进展

刘焯 余娇 蔡艳星 梁显泉

自噬 (autophagy) 源于希腊语, 用来描述一种特殊的胞内吞噬现象, 是真核生物细胞特有的一种代谢方式^[1-4]。组织细胞通过自噬作用来降解细胞内的受损细胞器、长寿命蛋白质和核酸等内容物, 并重新利用氨基酸、核糖等代谢物, 从而维持细胞稳态。正常生理条件下, 组织细胞内的自噬水平很低; 而在饥饿、缺血 / 缺氧、感染等因素的诱导下, 细胞启动自噬作用, 降解清除受损细胞器、蛋白质聚集物等危险物质, 以增强自身生存力。但过度的自噬能够诱导细胞发生程序性死亡^[5]。此外, 自噬还参与调节机体的炎症反应, 并与炎症性肠病 (IBD)、肺结核、脓毒症等炎症性疾病的发病和治疗有关^[6-9]。现就自噬的炎症调节作用及其在炎症性疾病中的作用进行综述。

1 自噬的概述

1.1 自噬的分类与功能: 自噬的形式有多种, 根据靶分子运输到溶酶体方式的不同, 可将其分为微自噬、巨自噬和分子伴侣介导的自噬 (CMA)^[1]。溶酶体膜内陷直接包裹细胞内容物形成微自噬。与微自噬不同, 巨自噬则是通过双层膜结构包裹细胞内容物形成自噬小体, 自噬小体与溶酶体融合形成自噬溶酶体, 并对包裹物进行降解。此外, 细胞内的某些可溶性蛋白质还可以通过结合分子伴侣, 如热休克蛋白 70 (HSP70) 等进入溶酶体, 此过程依赖于分子伴侣与溶酶体相关膜蛋白 A2 (LAMP2) 的识别。在这 3 种自噬中, 巨自噬最为普遍, 也是本综述主要讨论的内容。在饥饿、缺血 / 缺氧和应激等条件下, 自噬 - 溶酶体途径的激活有助于细胞降解清除无用蛋白质和受损细胞器, 并将其分解为细胞所需的物质 (氨基酸、核苷酸等), 维持细胞稳态, 进而增强细胞的生存能力。但自噬的过度激活则能诱导细胞发生自噬性细胞死亡 (ACD)^[5]。

1.2 自噬的形成与调控: 自噬的形成受自噬相关基因 (Atg) 调节, 这些基因最早在酵母中被发现, 目前已知的 Atg 约有 30 多种, 多数在哺乳动物体内可找到相应的同源基因^[10]。自噬的过程可分为 4 步。

1.2.1 自噬的激活: 酵母自噬的激活受 Atg1-Atg13-Atg17-Atg31-Atg29 激酶复合体的调节, 哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mTOR) 位于该激酶复合体的上游, 通过磷酸化 Atg13, 使 Atg13 与激酶复合体解离, 导致该复合体失活。营养缺乏时, mTOR 处于失活状态, Atg13 去磷酸化, 重新与激酶复合体结

合, 进而激活自噬途径。与酵母不同, 哺乳动物细胞内的自噬激酶复合体由 UNC-51 样激酶 1/2 (ULK1/2) 和 Atg13 等组成, ULK1/2 和 Atg13 是 mTOR 的作用靶蛋白。此外, I 型和 III 型磷脂酰肌醇-3 激酶信号通路 (PI3KC I / PI3KC III) 也参与调节自噬的形成^[1]。

1.2.2 成核: PI3KC III 复合体的形成是自噬成核的关键, 该复合体通过磷酸化作用生成 3- 磷酸磷脂酰肌醇 (PI3P)^[1,11]。磷脂酰肌醇的磷酸化有助于自噬调节蛋白的招募和脂质膜的延伸。

1.2.3 延伸: 自噬膜的延伸需要两套连接酶系统的参与。第一套酶系统为 Atg12-Atg5-Atg16 复合体 (哺乳动物体内为 ATG12-ATG5-ATG16L1 复合体), 该酶复合体的形成过程为: 在 Atg7 和 Atg10 的作用下, Atg12 与 Atg5 以共价形式结合, 此后 Atg16 通过非共价的形式结合在 Atg12-Atg5 上, 形成 Atg12-Atg12-Atg16 复合体。自噬相关蛋白 LC3 (又称为 Atg8) 是自噬膜延伸所需的第二套系统。在 Atg4 的作用下, LC3 首先暴露 C 端的糖链残基, 此后通过 Atg7 和 Atg3 的活化作用, LC3 被连接到磷脂酰乙醇胺 (PE) 形成 LC3-PE 复合体, 在此过程中 LC3 由 LC3- I 向 LC3- II 转化。而 Atg12-Atg5 复合体能够显著促进 LC3-PE 复合体的形成^[1]。

1.2.4 自噬体的形成和成熟: 自噬膜经延伸包裹靶蛋白后形成自噬小体。在微管蛋白的驱动下, 该自噬小体向溶酶体靠近并与之融合, 形成自噬溶酶体, 从而降解靶蛋白^[1]。

2 自噬的炎症调节作用

病原体入侵机体的同时, 也能通过营养消耗、激活 Toll 样受体 (TLRs) 信号通路等多种途径诱导自噬的形成^[11-12]。自噬的激活能够促进自噬溶酶体的形成, 加快病原物的清除。自噬信号通路的激活还能够促进吞噬的形成, 提高病原物的清除效率^[11]。此外, 自噬通过向 TLR7 等模式识别受体 (PRR) 呈递病原体相关分子模式 (PAMPs), 促进 α - 干扰素 (IFN- α) 的分泌, 增强病毒的清除^[11]。

研究表明, 自噬能够抑制炎症信号蛋白复合体的形成。有研究发现, ATG5-ATG12 复合体能够通过结合维甲酸诱导基因 1 (RIG-1) 等 PRR 抑制 RIG-1 样受体 (RLR) 信号通路, 下调 I 型 IFN 的分泌。ATG9 通过调节 TANK 结合激酶 1 (TBK1) 的活性抑制双链 DNA (dsDNA) 诱导的 IFN 信号通路^[11]。核转录因子- κ B (NF- κ B) 信号通路的活化是大多数病原体介导炎症的关键, 研究表明, 自噬调节蛋白 RUBICON 能够通过抑制 B 淋巴细胞瘤 10 (BCL-10) 复合体的形成而下调 NF- κ B 的活性。此外, 自噬还能够通过清

DOI: 10.3760/ema.j.issn.2095-4352.2015.06.022

基金项目: 贵州省优秀科技教育人才省长基金项目 (200773)

作者单位: 550001 贵州贵阳, 贵阳医学院附属医院急诊科 (刘焯、余娇); 550081 贵州贵阳, 贵阳市第二人民医院 (蔡艳星、梁显泉)

通讯作者: 梁显泉, Email: liangxianquan9699@126.com

除受损线粒体抑制白细胞介素类(包括 IL-1 β 、IL-1 α 和 IL-18)的生成^[11]。

在清除病原物的同时,自噬还能影响抗原呈递和 T 细胞的分化^[13]。自噬通过上调 II 型主要组织相容性复合体(MHC II)表达等途径促进抗原的呈递。抗原呈递细胞的激活和相关细胞因子的释放能影响 T 细胞的分化。IL-1 β 、IL-1 α 、IL-6 和转化生长因子- β (TGF- β)是辅助性细胞 17(Th17)分化所必需的细胞因子,研究表明,自噬能够通过下调 IL-1 β 和 IL-1 α 的分泌来抑制 T 细胞向 Th17 分化^[11]。

这些结果表明,自噬在病原物清除、信号通路调节和 T 细胞分化等方面发挥着重要的作用,是炎症反应的一个重要调节靶点。

3 自噬与炎症性疾病

3.1 自噬与 IBD:IBD 是一组病因未明的慢性非特异性肠道炎症性疾病,包括克罗恩病和溃疡性结肠炎,腹痛、腹泻和便血是其主要临床表现^[8,14]。大量基因研究表明,ATG16L1 基因和免疫相关 GTP 酶家族 M 蛋白(IRGM)等自噬相关蛋白与 IBD 的发生存在相关性。研究发现,ATG16L1 基因缺陷的克罗恩病患者更容易发生免疫调节紊乱,如细菌抗原呈递异常和潘氏细胞颗粒分泌减少等^[15]。此外,克罗恩病患者小肠内 ATG16L1 基因缺陷的潘氏细胞还能够分泌高水平的炎性细胞因子。Hampe 等^[16]通过基因组相关性研究发现,ATG16L1 的 rs2241880 片段是克罗恩病的易感基因。Glas 等^[17]通过对 IRGM 的 6 个基因片段分析发现,rs13371189、rs10065172 和 rs1000113 是克罗恩病的易感基因。但易感基因与克罗恩病表型之间的相关性却存在争议。Meta 分析结果表明,ATG16L1(rs2241880、rs10210302 和 rs3828309 等)及 IRGM(rs4958847、rs11747270、rs13361189 和 rs4958847 等)与溃疡性结肠炎的发病存在相关性^[18-20]。

3.2 自噬与系统性红斑狼疮(SLE):SLE 是一种由自身抗体介导的系统性免疫病,基因背景和免疫紊乱(如 dsDNA 信号通路的过度激活和 Th17 细胞反应等)是引起 SLE 发病的两个关键因素^[21-23]。研究发现,ATG9 能够下调 dsDNA 诱导的 IFN 信号通路,而 ATG5 能通过抑制 IL-1 α 的分泌负向调控 Th17 细胞反应^[24-25]。Caza 等^[26]发现,狼疮小鼠和 SLE 患者外周血 T 淋巴细胞中的自噬体明显增多,但胞内却出现许多巨大线粒体,这提示 SLE 患者体内自噬体的功能可能存在缺陷。进一步的研究表明,激活自噬能够显著改善 SLE 的临床症状^[27]。同时,基因组相关性研究结果表明,Atg5 的 rs6568431 和 rs2245214 是 SLE 的两个易感基因^[8]。这些结果均提示自噬参与调节 SLE 的发病。

3.3 自噬与类风湿关节炎(RA):RA 是一种以对称性多关节炎为主要表现的自身免疫病,发病机制较为复杂^[28-30]。近来有研究表明,自噬在肿瘤坏死因子- α (TNF- α)介导关节损伤的过程中发挥着关键的作用。TNF- α 通过上调 Atg7 和自噬基因 Beclin-1(又称 Atg6)表达激活自噬。自噬的激活能够促进单核细胞向破骨细胞分化,加重骨质破坏^[31]。体外靶向敲除自噬基因或者药物抑制自噬则能显

著减轻骨质破坏。除了骨质的破坏外,关节滑膜增生也是 RA 致病的一个原因。Connor 等^[32]发现,TNF- α 能够通过上调自噬增强滑膜成纤维细胞的存活能力,促进关节滑膜增生。此外,基因研究提示 Atg5(rs6568431)和 ATG16L1(rs2241880)是 RA 的易感基因^[8]。这些结果表明自噬参与了 RA 的发病。

3.4 自噬与脓毒症:脓毒症是机体感染病原微生物后引起的一系列免疫反应失调综合征,其中多器官功能障碍是导致患者死亡的主要原因^[33-35]。在此过程中,PRR 扮演着关键的角色。自噬参与调节 PRR 介导的信号通路,在脓毒症的发病过程中发挥着重要的作用。ATG16L1 基因多态性影响自噬的功能,其中 A 型基因的转录活性最弱。Savva 等^[36]发现,带有 A 型 ATG16L1 基因的人更易于发展为脓毒症。自噬障碍会减弱细胞清除细菌和炎症信号蛋白的能力,导致持续感染和炎症调节失控,最终造成器官功能障碍。对脓毒症小鼠的实验结果表明,增强自噬能够有效缓解组织器官的损伤^[37-38]。但自噬相关的人体试验还处于研究中,其治疗效果还有待观察。

3.5 自噬与肺结核:肺结核是一种常见的呼吸道传染病,结核杆菌的持续感染是引起该病的主要原因^[39]。IRGM 是克罗恩病的一个易感基因,研究表明,该基因也与肺结核的发病相关^[40]。近来大量研究表明,自噬参与调节结核杆菌的免疫反应。机体感染结核杆菌后,可以通过 IFN- γ 和细胞接触等方式诱导自噬的形成^[11,41]。自噬的激活不但能够诱导吞噬体的成熟,还可以直接包裹胞内的结核杆菌形成自噬小体,促进结核杆菌的清除。此外,自噬还可以通过上调抗原呈递增强结核杆菌的体液免疫和细胞免疫。在清除结核杆菌的同时,自噬还可以通过下调 IL-1 β 、IL-1 α 、I 型 IFN 和 Th17 细胞的生成,抑制结核杆菌引起的病理反应^[25]。进一步研究发现,异烟肼和吡嗪酰胺能够通过诱导自噬增强药物的抗结核作用^[7]。这些结果提示自噬有可能成为肺结核的一个治疗靶点。

自噬的抗结核作用虽已被证明,但仍有一些机制处于争论中,如自噬的抗结核作用与 I 型 IFN 的关系。IFN 的诱导有助于肺结核的治疗,而自噬能够通过多种途径抑制 I 型 IFN 的生成。因此,还需要进一步研究去解释这种矛盾现象。

4 展望

目前,研究发现临床上一些炎症性疾病治疗药物(如异烟肼、吡嗪酰胺、雷帕霉素、糖皮质激素等)的功能与自噬相关。通过激活或者抑制自噬,这些药物能够改变患者器官组织的炎症程度。因此,自噬调节药物可能成为炎症性疾病的一个治疗方向。随着自噬的免疫调节作用及其与炎症性疾病相关性研究的进展,也会有越来越多的自噬相关分子成为炎症性疾病的治疗靶点。

参考文献

- [1] Parzych KR, Klionsky DJ. An overview of autophagy: morphology, mechanism, and regulation [J]. Antioxid Redox Signal, 2014, 20(3): 460-473.

- [2] Doria A, Gatto M, Punzi L. Autophagy in human health and disease [J]. N Engl J Med, 2013, 368 (19): 1845.
- [3] 陈胜利, 黄锦达, 曾其毅, 等. 自噬和线粒体辅酶 Q 对急性脓毒症大鼠胰腺外分泌功能的影响[J]. 中华危重病急救医学, 2015, 27 (2): 86-91.
- [4] 李海峰, 邢宝鹏, 权玉兰, 等. 选择性磷酸酶抑制剂 Salubrinal 对急性百草枯中毒大鼠肺组织细胞自噬和凋亡的影响[J]. 中华危重病急救医学, 2014, 26 (9): 671-675.
- [5] Kroemer G, Levine B. Autophagic cell death: the story of a misnomer [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2008, 9 (12): 1004-1010.
- [6] Ma Y, Galluzzi L, Zitvogel L, et al. Autophagy and cellular immune responses [J]. Immunity, 2013, 39 (2): 211-227.
- [7] Bradfute SB, Castillo EF, Arko-Mensah J, et al. Autophagy as an immune effector against tuberculosis [J]. Curr Opin Microbiol, 2013, 16 (3): 355-365.
- [8] Giancchetti E, Delfino DV, Fierabracci A. Recent insights on the putative role of autophagy in autoimmune diseases [J]. Autoimmun Rev, 2014, 13 (3): 231-241.
- [9] Zang QS, Wolf SE, Minei JP. Sepsis-induced Cardiac Mitochondrial Damage and Potential Therapeutic Interventions in the Elderly [J]. Aging Dis, 2014, 5 (2): 137-149.
- [10] Boya P, Reggiori F, Codogno P. Emerging regulation and functions of autophagy [J]. Nat Cell Biol, 2013, 15 (7): 713-720.
- [11] Deretic V, Saitoh T, Akira S. Autophagy in infection, inflammation and immunity [J]. Nat Rev Immunol, 2013, 13 (10): 722-737.
- [12] Schmid D, Münz C. Innate and adaptive immunity through autophagy [J]. Immunity, 2007, 27 (1): 11-21.
- [13] Klein L, Münz C, Lünemann JD. Autophagy-mediated antigen processing in CD4⁺ T cell tolerance and immunity [J]. FEBS Lett, 2010, 584 (7): 1405-1410.
- [14] 肖元廷. 炎症肠病的治疗进展[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2015, 22 (1): 109-110.
- [15] Cadwell K, Liu JY, Brown SL, et al. A key role for autophagy and the autophagy gene Atg16L1 in mouse and human intestinal Paneth cells [J]. Nature, 2008, 456 (7219): 259-263.
- [16] Hampe J, Franke A, Rosenstiel P, et al. A genome-wide association scan of nonsynonymous SNPs identifies a susceptibility variant for Crohn disease in ATG16L1 [J]. Nat Genet, 2007, 39 (2): 207-211.
- [17] Glas J, Seiderer J, Bues S, et al. IRGM variants and susceptibility to inflammatory bowel disease in the German population [J]. PLoS One, 2013, 8 (1): e54338.
- [18] Umeno J, Asano K, Matsushita T, et al. Meta-analysis of published studies identified eight additional common susceptibility loci for Crohn's disease and ulcerative colitis [J]. Inflamm Bowel Dis, 2011, 17 (12): 2407-2415.
- [19] Palomino-Morales RJ, Oliver J, Gómez-García M, et al. Association of ATG16L1 and IRGM genes polymorphisms with inflammatory bowel disease: a meta-analysis approach [J]. Genes Immun, 2009, 10 (4): 356-364.
- [20] Latiano A, Palmieri O, Cucchiara S, et al. Polymorphism of the IRGM gene might predispose to fistulizing behavior in Crohn's disease [J]. Am J Gastroenterol, 2009, 104 (1): 110-116.
- [21] 吴潮清, 熊礼佳, 贺红光, 等. DNA 免疫吸附联合药物治疗重度系统性红斑狼疮的近期疗效观察[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2014, 21 (2): 84-87.
- [22] 赵慧霞, 王彩虹, 罗静, 等. 羟氯喹对系统性红斑狼疮外周血单个核细胞凋亡及辅助性 T 细胞 17 影响的研究[J]. 中华风湿病学杂志, 2014, 18 (2): 91-94.
- [23] 鲁琳, 王丹丹, 李霞, 等. Th17 细胞与系统性红斑狼疮研究进展[J]. 中华风湿病学杂志, 2012, 16 (11): 770-772.
- [24] Saitoh T, Fujita N, Hayashi T, et al. Atg9a controls dsDNA-driven dynamic translocation of STING and the innate immune response [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2009, 106 (49): 20842-20846.
- [25] Castillo EF, Dekonenko A, Arko-Mensah J, et al. Autophagy protects against active tuberculosis by suppressing bacterial burden and inflammation [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2012, 109 (46): E3168-3176.
- [26] Caza TN, Talaber G, Perl A. Metabolic regulation of organelle homeostasis in lupus T cells [J]. Clin Immunol, 2012, 144 (3): 200-213.
- [27] Zhou XJ, Cheng FJ, Zhang H. Emerging View of Autophagy in Systemic Lupus Erythematosus [J]. Int Rev Immunol, 2014.
- [28] 刘健, 万磊, 黄传兵, 等. 健脾化湿通络中药新风胶囊对老年类风湿关节炎患者肺功能及调节性 T 细胞的影响[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2013, 20 (1): 5-8.
- [29] 郑锡铭, 刘鑫, 周林林, 等. 6 种 miRNAs 在类风湿关节炎患者外周血及关节液中的表达分析[J]. 中国免疫学杂志, 2014, (12): 1686-1691.
- [30] 麦迪娜·麦麦提明, 姜振宇, 叶壮, 等. 人外周血 NK 细胞及 NKT 细胞受体及亚群的差异表达与类风湿关节炎的关系[J]. 中国免疫学杂志, 2014, 30 (12): 1692-1696.
- [31] Lin NY, Beyer C, Giessel A, et al. Autophagy regulates TNF α -mediated joint destruction in experimental arthritis [J]. Ann Rheum Dis, 2013, 72 (5): 761-768.
- [32] Connor AM, Mahomed N, Gandhi R, et al. TNF α modulates protein degradation pathways in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts [J]. Arthritis Res Ther, 2012, 14 (2): R62.
- [33] 杜萌, 常平, 刘占国. 线粒体靶向抗氧化剂在治疗脓毒症中的研究进展[J]. 中华危重病急救医学, 2015, 27 (2): 148-151.
- [34] 任毅, 吴胜喜, 尹鑫, 等. 黄芪注射液改善老年脓症患者免疫功能的研究[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2014, 22 (5): 323-327.
- [35] 葛晨, 董士民. 微小 RNA 在脓毒症临床实践中的应用[J]. 中华危重病急救医学, 2014, 26 (7): 522-524.
- [36] Savva A, Plantinga TS, Kotanidou A, et al. Association of autophagy-related 16-like 1 (ATG16L1) gene polymorphism with sepsis severity in patients with sepsis and ventilator-associated pneumonia [J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2014, 33 (9): 1609-1614.
- [37] Yen YT, Yang HR, Lo HC, et al. Enhancing autophagy with activated protein C and rapamycin protects against sepsis-induced acute lung injury [J]. Surgery, 2013, 153 (5): 689-698.
- [38] Howell GM, Gomez H, Collage RD, et al. Augmenting autophagy to treat acute kidney injury during endotoxemia in mice [J]. PLoS One, 2013, 8 (7): e69520.
- [39] 侯江厚, 李琦. 自噬在结核病免疫应答中的作用[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2012, 35 (3): 206-209.
- [40] King KY, Lew JD, Ha NP, et al. Polymorphic allele of human IRGM1 is associated with susceptibility to tuberculosis in African Americans [J]. PLoS One, 2011, 6 (1): e16317.
- [41] Petruccioli E, Romagnoli A, Corazzari M, et al. Specific T cells restore the autophagic flux inhibited by Mycobacterium tuberculosis in human primary macrophages [J]. J Infect Dis, 2012, 205 (9): 1425-1435.

(收稿日期: 2015-03-11)

(本文编辑: 李银平)

• 读者 • 作者 • 编者 •

本刊对时间表示方法的有关要求

论文中时间作为单位修饰词仅为数字时, 天(日)用“d”, 小时用“h”, 分钟用“min”, 秒用“s”。例如: 观察患者 28 d 病死率、离心 10 min 等。论文中时间为非单位时可用天(日)、小时、分钟、秒。例如: 在描述第 $\times$ 天(日)、第 $\times$ 小时、第 $\times$ 分钟或每天(日)、每小时、每分钟等时, 均用汉字。