

文章编号: 1004-0374(2011)08-0723-07

## 溶酶体途径在细胞自噬过程中的功能意义

王海杰\*, 谭玉珍

(复旦大学上海医学院人体解剖与组织胚胎学系, 上海 200032)

**摘要:** 溶酶体具有高度保守的异质性, 是细胞自噬的关键细胞器。细胞质中的蛋白质和细胞器最终在溶酶体降解, 故溶酶体在维持细胞结构和功能的平衡方面起着重要生理作用。通过自噬溶酶体途径, 细胞可清除某些病原体并参与抗原呈递。细胞自噬与异噬经溶酶体密切联系。自噬过程中溶酶体功能障碍与某些疾病和衰老等相关。对细胞自噬的溶酶体途径及其功能意义作了概述。

**关键词:** 溶酶体; 自噬; 巨自噬; 微自噬; 分子伴侣介导的自噬

**中图分类号:** Q255      **文献标志码:** A

## Functional implications of lysosomal pathways for cell autophagy

WANG Hai-Jie\*, TAN Yu-Zhen

(Department of Anatomy, Histology and Embryology, Shanghai Medical School of Fudan University,  
Shanghai 200032, China)

**Abstract:** Lysosome represents a high conserved heterogeneity and is a key organelle for cell autophagy. Cytoplasmic protein and cellular organelles are eventually degraded within lysosomes. Lysosome plays important physiological roles in maintaining equilibrium of cellular structures and functions. Lysosomal pathways of autophagy are effective for cells to eliminate some kinds of pathogens and involved in antigen presentation. Autophagic pathway is linked to heterophagic pathway in lysosomes. During autophagy processes, impairment of lysosomal functions is implicated in some diseases and aging. In this review, we highlight lysosomal pathways of cell autophagy and their functional implications.

**Key words:** lysosome; autophagy; macroautophagy; microautophagy; chaperone-mediated autophagy

溶酶体 (lysosome) 是一种膜性细胞器, 存在于所有原生动物和多细胞动物的细胞中。细菌中没有溶酶体, 但植物细胞中存在类似溶酶体的细胞器。1949年, de Duve 等发现了酸性磷酸酶的作用。后经细胞化学鉴定和电镜观察, 确认了含有酸性磷酸酶的颗粒, 于1956年将这种颗粒命名为溶酶体。近年来, 随着对细胞自噬的研究进展, 人们对溶酶体有了许多新认识。除异噬和分泌功能外, 溶酶体参与细胞的自噬活动<sup>[1]</sup>。Ashford 和 Porter (1962年) 首先在肝细胞发现了“self-eating”现象, de Duve (1963年) 将其命名为自噬 (autophagy)。但直到20世纪90年代随着自噬酵母模型的建立和自噬相关基因 (autophagy-related gene, *ATG*) 的发现, 自噬的研究才迅速进展和深入<sup>[2]</sup>。近年来, 人们对于哺

乳动物细胞的自噬作用及其与某些疾病的联系有了初步认识<sup>[3]</sup>。鉴于溶酶体是细胞代谢的关键细胞器, 了解溶酶体在细胞自噬途径中的功能对于深入探讨细胞自噬机理具有重要的生理病理学价值。为此, 本文主要对细胞自噬的溶酶体途径以及溶酶体对于细胞自噬的功能意义作了概述, 以供读者参考。

### 1 溶酶体的生物学特征

粗面内质网合成的溶酶体酶在高尔基复合体分

收稿日期: 2011-03-24; 修回日期: 2011-04-26

基金项目: 高等学校博士点专项科研基金项目 (20030246036); 国家自然科学基金项目 (30570948)

\*通信作者: E-mail: hjwang@shmu.edu.cn

选和投送,高尔基复合体成熟面以出芽方式产生转运小泡,再经内体(endosome)转入溶酶体<sup>[4]</sup>。除成熟红细胞外,所有动物细胞都含有溶酶体。溶酶体的数目和形态因细胞不同和细胞功能状态不同而异。溶酶体一般呈圆形或卵圆形,直径多为0.2~0.8 μm,最小0.05 μm,最大几微米。在外伤、炎症、缺血等病理状态下,细胞异噬和自噬活动增强,溶酶体数目明显增加,以适应于细胞的吞噬功能,如中性粒细胞和巨噬细胞。

溶酶体包被一层厚约6 nm的单位膜,膜蛋白呈高度糖基化,朝向溶酶体内侧的寡多糖链保护溶酶体膜免受酸性水解酶的消化。正常情况下,溶酶体膜只允许相对分子质量<300的物质,如单糖和氨基酸以及单价阳离子(如K<sup>+</sup>和Na<sup>+</sup>)自由通过;而双糖、多糖、三肽、较大相对分子质量的寡糖和寡肽、蛋白质和带阴离子电荷的物质不易透过溶酶体膜,但在某些病理状态下,溶酶体膜的通透性增大,引起溶酶体酶外漏。进入细胞基质的溶酶体酶被激活,导致细胞自溶和代谢紊乱。缺氧、放射线和氯丙嗪、氯苯吡胺等药物可降低溶酶体膜的稳定性,从而导致细胞损伤<sup>[5]</sup>。氢化可的松、氯喹、乙酰水杨酸、消炎痛等糖皮质激素类固醇类抗炎药能维持溶酶体的稳定性,常用于治疗类风湿性关节炎等。

溶酶体含有60多种酸性水解酶。每个溶酶体所含的酶不尽相同,但酸性磷酸酶在溶酶体普遍存在,故可作为溶酶体的标志酶。溶酶体的大多数酶为糖蛋白,具有M6P标志,带负电荷。由于溶酶体膜的内表面也带负电荷,溶酶体内的酶处于游离状态,这有利于预防溶酶体自身被消化。溶酶体膜上的质子泵V型H<sup>+</sup>-ATP酶利用水解ATP产生能量,将细胞质中的H<sup>+</sup>转运入溶酶体,引起pH值下降,从而维持溶酶体内的酸性环境。溶酶体内的pH为3.5~5.5,酶促反应的最适pH为5.0。溶酶体的这种酸性微环境有利于保持酸性水解酶的活性和水解过程,调节生物大分子跨溶酶体膜的转运。如果溶酶体内的H<sup>+</sup>漏出,H<sup>+</sup>的跨膜浓度梯度下降,可破坏其他离子的通透平衡,导致溶酶体膜渗透性稳定障碍<sup>[6]</sup>。除H<sup>+</sup>-ATP酶外,溶酶体膜上有多种转运蛋白,能将有待降解的生物大分子转运入溶酶体,并将酸性水解酶的降解产物转运出溶酶体,供细胞重新利用或排出细胞外。

初级溶酶体的电子密度较高,酸性水解酶常处于无活性状态。只有在某种物质进入溶酶体或溶酶体膜受损伤时,酸性水解酶才有活性。次级溶酶体

比初级溶酶体大,电子密度较低,含有细胞外源性或内源性底物以及降解产物。

植物细胞、绿藻和真菌,如酵母菌内的液泡(vacuole)类似于动物细胞的溶酶体,也含有大量水解酶,呈酸性微环境<sup>[7-8]</sup>。细胞内常含有一个至几个体积较大的液泡。植物细胞主要含有营养性液泡和贮存性液泡,中央大液泡是营养性液泡的特殊形式。在90%的不同类型细胞中,液泡约占细胞体积的30%。液泡膜系统是由细胞合成和内吞两条途径产生的。液泡对于细胞的营养物质的贮藏和消化、内环境稳定和外界环境多变引起的防御反应起着重要作用。另外,植物细胞的液泡具有维持细胞膨压以防止植物萎蔫的作用。酵母菌的液泡将钙离子输入或输出以维持细胞钙离子水平恒定,并保持磷酸盐和多磷酸盐的浓度。

## 2 自噬的溶酶体途径

自噬是细胞对持续性内外刺激的非损伤性应答反应,以维持细胞结构、代谢和功能的平衡。根据底物进入溶酶体途径的不同,可将自噬分为巨自噬(macroautophagy)、微自噬(microautophagy)和分子伴侣介导的自噬(chaperone-mediated autophagy, CMA)等三类<sup>[9]</sup>。巨自噬和微自噬过程都产生自噬体(autophagosome),但是,巨自噬形成的自噬体较大。分子伴侣介导的自噬无自噬体形成。

### 2.1 巨自噬

在内外刺激的作用下,细胞组装成双层膜的自噬前体。自噬前体包裹细胞质、长寿蛋白质、异常蛋白聚集物、损伤或多余细胞器、病毒和细菌等形成自噬体。通过微管运输自噬体与溶酶体靠近,自噬体外层膜与溶酶体膜融合,自噬体进入溶酶体,形成自噬溶酶体。随后,自噬体内层膜被溶酶体降解,继而内容物被降解<sup>[10]</sup>。此过程称巨自噬,是研究细胞自噬的主要范畴。近来,人们用mitophagy、pexophagy、xenophagy、crinophagy等具体叙述某种选择性巨自噬。

自噬前体(autophagosome precursor)多呈新月形或半环形,为游离双层膜结构,两层膜之间有腔。随着自噬前体增大和包裹内容物,内腔变得不明显<sup>[11]</sup>。Xie和Klionsky<sup>[12]</sup>研究表明,多种ATG蛋白参与自噬前体的组装。有人提出,自噬前体构成包括游离脂蛋白、泡状膜、池状膜和片状膜组装方式<sup>[13]</sup>。自噬前体组分来源于独立形成的特殊膜结构<sup>[14]</sup>或线粒体、内质网或高尔基复合体等膜结构<sup>[15]</sup>。但是,

自噬前体膜与细胞器膜不同, 缺乏较大的跨膜蛋白质颗粒<sup>[16]</sup>。

自噬体为双层膜包被的圆形或椭圆形结构, 多位于细胞核周围, 线粒体和粗面内质网附近<sup>[11]</sup>。在肌动蛋白和肌球蛋白的作用下<sup>[17]</sup>, 自噬前体弯曲, 封闭形成自噬体。微管相关蛋白 1 轻链 3 (microtubule-associated protein 1 light chain 3, LC3) 是酵母 Atg8 的同源体, 调控微管蛋白的组装和去组装, 参与自噬体形成。LC3 包括 LC3-I 和 LC3-II 两种存在形式, 前者是可溶性的, 位于细胞质中; 后者在自噬前体和自噬体的内外膜特异表达<sup>[18]</sup>。在自噬溶酶体内, 与溶酶体膜融合的自噬体外膜上的 LC3-II 脱离入细胞质, 而自噬体内膜上的 LC3-II 被溶酶体酶降解<sup>[19]</sup>。因此, LC3 可作为自噬结构的标志物。人们常采用免疫印迹和免疫沉淀法检测 LC3-I 和 LC3-II 的表达变化, 通过其表达特点评价细胞自噬活动。最新研究发现, LC3 阳性自噬结构中呈泡状的占 2/3, 其余呈管状或管囊状。管状结构不足 10%。管囊状结构在细管末端或中段有囊状膨大。在自噬体成熟过程中, 管状结构向囊状结构转变<sup>[20]</sup>。不难看出, 自噬结构的形态多样化。

自噬溶酶体 (autophagolysosome 或 autolysosome) 多呈圆形或椭圆形。由于自噬体内膜很快被降解, 在透射电镜下自噬溶酶体常不易与其他形式的溶酶体区别<sup>[11,21]</sup>。在自噬溶酶体, 溶酶体酶将蛋白质降解为肽或氨基酸, 核酸水解为核苷和磷酸, 碳水化合物形成寡糖类或单糖, 中性脂肪水解为甘油和脂肪酸等。降解生成的可溶性小分子物质经自噬溶酶体膜渗透入细胞质, 参与细胞的物质代谢活动, 或者排入细胞外基质。脂肪组织分解产生的脂肪酸进入肝细胞, 转变为甘油三酯。肝细胞内的脂滴经自噬体输入溶酶体, 在溶酶体内降解。自噬功能被抑制时甘油三酯贮存增多<sup>[22]</sup>。这些结果有助于解释某些脂肪代谢疾病的发生机制。溶噬 (lysosomophagy) 是自噬的一种特殊形式, 溶酶体吞噬溶酶体形成自噬溶酶体。溶噬的作用是清除过剩的溶酶体, 维持溶酶体数目相对稳定。最近研究提出, 自噬溶酶体内容物降解及其降解产物释放负反馈地降低自噬水平, 自噬溶酶体膜伸出管状结构。然后, 这种管状结构从自噬溶酶体脱离, 发生构型改变, 形成新的溶酶体<sup>[23]</sup>。充分利用自噬溶酶体的膜结构和降解产物产生溶酶体, 对于代偿经高尔基复合体产生溶酶体的不足以适应自噬水平显著升高的需要具有重要意义。

## 2.2 微自噬

受饥饿等刺激时, 细胞可发生微自噬。溶酶体膜局部凹陷, 吞噬细胞质或微体, 逐渐形成自噬体。然后, 自噬体脱离溶酶体膜, 进入溶酶体腔。酵母发生自噬细胞质时, 液泡膜凹陷形成自噬管 (autophagic tube), 自噬管末端膨大和脱落, 形成微自噬体 (microautophagic body)<sup>[24-25]</sup>。在酵母的细胞核微自噬, 细胞核膜与液泡膜接近, 构成细胞核液泡连接。细胞核向液泡突出, 突起部分被液泡膜包被, 形成自噬体, 随后自噬体脱落入液泡腔<sup>[26]</sup>。如巨自噬, 发生微自噬的溶酶体也称为自噬溶酶体。在微自噬早期可见溶酶体膜的特征性凹陷, 但形成自噬体后, 易与巨自噬过程中形成的自噬溶酶体混淆。有人将微自噬和巨自噬时溶酶体内的自噬体分别称为微自噬体 (microautophagic body) 和巨自噬体 (macroautophagic body)<sup>[27]</sup>。与巨自噬相比, 细胞很少发生微自噬。发生微自噬的溶酶体表面有肌动蛋白分布, 溶酶体凹陷处特别丰富<sup>[28]</sup>, 这提示肌动蛋白可能与微自噬体的形成有关。微自噬的作用是细胞饥饿时通过自噬细胞质提供营养, 降解衰老的长寿蛋白质, 清除多余的微体和核糖体前体等。最近有人提出, 多泡体形成中、晚期异噬体通过微自噬清除细胞质中的蛋白质<sup>[29]</sup>。尽管已知 ESCRT 复合体和热休克相关蛋白 70 (heat shock protein 70, hsc70) 介导这一过程, 但这种微自噬的分子机制和功能意义及其与分子伴侣介导的自噬之间的关系尚不清楚。

## 2.3 分子伴侣介导的自噬

Cuervo 和 Dice (1998 年)<sup>[30]</sup> 提出了分子伴侣介导的自噬概念。细胞质内错误折叠的蛋白质与分子伴侣 hsc70 结合, 然后 hsc70 复合体与溶酶体膜上的 LAMP-2A (lysosome-associated membrane protein type 2A) 结合。在溶酶体腔内 hsc70 作用下, 蛋白质转运入溶酶体腔, 被溶酶体酶降解<sup>[31]</sup>。经溶酶体膜转运前, 蛋白质需完全展开。溶酶体膜表达跨膜蛋白 LAMP-1 和 LAMP-2, 两者在功能上可相互代偿<sup>[32]</sup>。LAMP-2 包括 A、B、C 三个亚型, 但 LAMP-2A 介导自噬的作用是特有的。CMA 激活时, 除 LAMP-2A 表达升高外, 溶酶体内的 hsc70 数量和含有 hsc70 的溶酶体数目显著升高。溶酶体膜 LAMP-2A 的表达水平由组织蛋白酶 A 对其降解和溶酶体腔内 LAMP-2A 及时插入溶酶体膜来调控。除泛素-蛋白酶体系统降解蛋白质外, 细胞溶质中蛋白质约 30% 需经 CMA 代谢<sup>[33]</sup>。持续

饥饿、氧化应激、对毒性物质反应等应激状态下, CMA 显著升高。老年细胞的溶酶体膜功能下降, LAMP-2A 表达水平降低<sup>[34]</sup>, 导致 CMA 减弱, 蛋白质代谢障碍。CMA 与巨自噬之间存在代偿关系。

### 3 自噬与异噬的关系

细胞吞噬包括自噬和异噬两条途径。传统上, 人们常按摄取内容物大小将细胞内吞 (endocytosis) 分为吞噬 (phagocytosis) 和吞饮 (pinocytosis), 并用吞噬体、吞饮体和次级溶酶体描述细胞内吞过程。为了区别于自噬过程形成的自噬体和自噬溶酶体, 应将细胞的内吞称为异噬 (heterophagy), 用异噬体 (heterophagosome) 和异噬溶酶体 (heterophagolysosome) 叙述异噬过程。多泡体 (multivesicular body) 是晚期异噬体的一种形式, 常由多个吞饮体 (pinosome) 融合形成<sup>[30]</sup>。虽然溶酶体的自噬途径与异噬途径不同, 但最终的细胞器都为溶酶体, 并且相互之间存在着密切关系。

#### 3.1 两性体

自噬体外膜与异噬体外膜融合, 形成两性体 (amphisome)。然后, 两性体与溶酶体融合, 内容物被溶酶体酶降解<sup>[35]</sup>。

Gordon 和 Seglen<sup>[36]</sup> 观察到, 天冬酰胺可抑制自噬体与溶酶体融合, 引起 [<sup>14</sup>C] 乳糖在自噬体堆积。细胞吞入  $\beta$ - 半乳糖苷酶后, [<sup>14</sup>C] 乳糖不再堆积。他们认为, 自噬的 [<sup>14</sup>C] 乳糖和异噬的  $\beta$ - 半乳糖苷酶进入同一细胞器, 在此 [<sup>14</sup>C] 乳糖被降解。他们将这种细胞器命名为两性体。Strømhaug 和 Seglen<sup>[37]</sup> 观察到, [<sup>14</sup>C] 乳糖被自噬后在溶酶体内被  $\alpha$ - 半乳糖苷酶降解, 用天冬酰胺抑制溶酶体降解后发生 [<sup>14</sup>C] 乳糖堆积, 但外源性  $\alpha$ - 半乳糖苷酶进入两性体时, [<sup>14</sup>C] 乳糖堆积得到改善。此研究结果表明两性体的存在和作用。丙胺是一种弱碱, 丙胺处理可使 [<sup>14</sup>C] 乳糖免受内源性和外源性  $\alpha$ - 半乳糖苷酶的作用。这提示两性体的内环境呈酸性, 与两性体内容物变形但未降解的形态学结果相符。Berg 等<sup>[38]</sup> 在脱唾液酸血清类黏蛋白金颗粒处理基础上, 用蔗糖密度梯度离心法, 从鼠肝细胞分离了两性体。两性体为 5%, 自噬体为 95%。用亮抑肽酶抑制溶酶体的蛋白降解功能后, 分离出的两性体占自噬结构的 50%。亮抑肽酶使脱唾液酸血清类黏蛋白金颗粒的吞噬停滞。这些结果说明, 溶酶体功能障碍时两性体不能及时融入溶酶体, 可造成两性体堆积, 从而在一定程度上降低了异噬效率。

在透射电镜下观察, 自噬体、异噬体、两性体和溶酶体的平均直径分别约为 787 nm、78 nm、822 nm 和 1 141 nm。异噬体膜的跨膜蛋白质颗粒丰富, 自噬体膜很少, 两性体膜介于两者之间<sup>[16]</sup>, 提示异噬体膜与自噬体膜融合后, 跨膜蛋白重新分布。鉴于在电镜下有时难以区分自噬体、两性体和自噬溶酶体, 有人将这些结构统称为自噬泡 (autophagic vacuole)<sup>[39]</sup>。使微管去组装时, 两性体形成减少, 这说明微管对异噬体和自噬体起着运输作用<sup>[40]</sup>。然而, 有人观察到微管去组装后两性体堆积, 认为两性体被运至溶酶体受限<sup>[41]</sup>。

两性体的形成是否为溶酶体自噬途径的必需步骤尚无定论。在酵母细胞中, Vps4 是一种 ATP 酶, 既与异噬体的构成和功能有关, 又是自噬需要的<sup>[42]</sup>。哺乳动物细胞的 SKD1 与 Vps4 是同源的, 诱变时可引起两性体形成减少和自噬体堆积。另外, SKD1 诱变时饥饿诱导的蛋白质降解显著降低<sup>[43]</sup>。这些研究结果表明, 两性体的形成对于溶酶体的自噬途径非常重要。异噬物质代谢途径包括进入两性体或直接进入溶酶体, 但进入两性体不是必需的。用 3-MA 阻断自噬即两性体形成后, 溶酶体的异噬途径仍能发挥正常作用<sup>[44]</sup>。Liou 等<sup>[45]</sup> 提出, 在分离的肝细胞中, 80% 的自噬体与异噬体融合形成两性体, 而 20% 自噬体直接与溶酶体融合形成自噬溶酶体。但是, 在体实验的肝细胞异噬主要直接通过溶酶体途径, 两性体产生很少<sup>[46]</sup>。自噬与异噬两条途径的关系程度和转变机理尚需深入研究。

#### 3.2 清除病原体

某些细菌和病毒可逃离异噬途径, 避免溶酶体消化。李斯特菌属、志贺杆菌属、立克次体属等的细菌可通过降解异噬体膜逃入细胞质。单核细胞增多性李斯特菌分泌李斯特菌溶素 O, 此种蛋白是一种膜孔形成毒素, 能够破坏异噬体膜, 从而使李斯特菌从异噬体逃逸。另外, 李斯特菌溶素 O 能够改变异噬体的 pH 和  $\text{Ca}^{2+}$  浓度, 减缓异噬体成熟, 使李斯特菌有充足时间逃离。逃离异噬途径的细菌和病毒可经自噬途径被清除<sup>[47-48]</sup>。例如, 溶酶体通过自噬途径杀死化脓链球菌<sup>[47]</sup>。因此, 细胞能够通过自噬发挥先天性免疫作用, 抵抗细菌入侵<sup>[49]</sup>。然而, 化脓链球菌可在自噬缺陷细胞内存活和繁殖<sup>[47]</sup>, 导致慢性炎症反应。结核杆菌通常定居于异噬体内, 但可激活自噬途径被溶酶体酶杀死<sup>[50]</sup>。

#### 3.3 参与抗原呈递

抗原呈递细胞巨噬细胞、B 淋巴细胞和树突状细

胞表达主要组织相容性复合体 (major histocompatibility complex, MHC), 在人通常称人类白细胞抗原复合体 (human leukocyte antigen complex, HLA)。MHC 包括 I 类和 II 类分子, 前者在细胞普遍表达; 后者在抗原呈递细胞特异性表达。内皮细胞、上皮细胞和精子等在炎症细胞因子刺激下也可表达 MHC-II 分子。MHC-II 和 MHC-I 分子将抗原分别呈递给 CD4<sup>+</sup> 和 CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞, 引起机体获得性免疫应答。MHC-II 分子呈递的抗原来源于细胞外或细胞内<sup>[51]</sup>。在外源途径, 细胞吞噬或吞饮的细胞外基质中抗原在溶酶体内降解, 产生的多肽与 MHC-II 分子结合并呈递于细胞膜表面。在内源途径, 病毒、细菌或肿瘤细胞被宿主细胞吞噬后, 通过巨自噬或分子伴侣介导的自噬途径将病原微生物合成的蛋白质或在溶酶体降解的产物即细胞质源性或细胞核源性多肽运输至 MHC-II 分子<sup>[52]</sup>。内源性抗原, 约占 20%~30%。由此可以看出, 无论对于外源性还是内源性抗原, 溶酶体在抗原呈递方面发挥重要作用。

## 4 残留体

残留体 (residual body) 是溶酶体的特殊形式, 进入溶酶体的内容物若不能被降解则长期存留于细胞内或通过胞吐排出细胞。由此可见, 无论自噬途径或异噬途径代谢包括两性体代谢都可能产生残留体。应该看到, 因残留体内物质来源途径不同和具有异质性特点, 关于残留体的分类、形成和转归机制以及对细胞功能影响等方面的研究仍不够深入。残留体的常见结构形式如下。

### 4.1 脂褐质

Hannover(1842年)首先观察到神经细胞内含有黄褐色的色素。Koneff(1886年)提出这种色素的产生与年龄增长密切相关。Hueck(1912年)用脂褐质 (lipofuscin) 描述积聚在溶酶体内的色素。在组织切片上, 脂褐质呈现褐色颗粒状结构, 为成群、不规则、电子密度较高和自发荧光的小体。脂褐质内可见脂滴, 并偶尔观察到膜性结构。脂褐质常见于衰老的心肌细胞、骨骼肌细胞、肝细胞、视网膜色素上皮细胞、神经节细胞和其他神经细胞, 也可见于吞噬功能活跃的细胞, 如巨噬细胞。随着年龄增长, 脂褐质逐渐增多。由于不能被溶酶体酶降解和很少通过胞吐排出细胞, 脂褐质不可避免地随终末分化细胞内贮存, 但是, 增殖性细胞随着细胞分裂能够稀释脂褐质<sup>[53]</sup>, 而不至于发生脂褐质堆积。

脂褐质颗粒是蛋白质和脂质残基在铁催化和聚

合作用下形成的, 蛋白质由不尽相同的氨基酸构成, 而脂质成分主要为甘油三酯、自由脂肪酸、胆固醇和磷脂。此外, 脂褐质含有糖类和金属, 如铁、铜、铝、锌、钙或锰。然而, 不同种类细胞的脂褐质成分差别较大。正常情况下, 过氧化氢主要被过氧化氢酶和谷胱甘肽过氧化物酶降解, 少部分进入溶酶体。由于脂褐质与铁和铜结合, 溶酶体对氧化应激很敏感<sup>[54]</sup>。在机体衰老或溶酶体贮积症, 大量脂褐质堆积, 引起溶酶体功能下降, 从而不能通过自噬及时清除长寿蛋白质和衰老或损伤的细胞器<sup>[55]</sup>, 最终细胞因对内外环境适应能力减弱而凋亡或坏死。进行性脂褐质沉积可导致神经变性疾病、黄斑变性和心力衰竭等。

### 4.2 髓样结构

髓样结构 (myelin figure) 为不规则小体, 直径 0.3~3.0  $\mu\text{m}$ , 内含呈同心层状、板状、指纹状等排列的结构, 常见于巨噬细胞、肺泡 II 型细胞、肿瘤细胞和病毒感染的细胞。先天性溶酶体缺陷病患者的细胞内可见较多的髓样结构。某些药物可选择性抑制溶酶体酶, 导致膜性成分降解不全, 肝、肾等器官的细胞内出现许多髓样结构。

### 4.3 含铁小体

含铁小体 (siderosome) 内有许多电子密度高的含铁颗粒, 颗粒直径为 50~60 nm。正常情况下, 巨噬细胞内可见含铁小体。机体摄入大量铁质时, 肝、脾、肾等器官的巨噬细胞中可出现许多含铁小体。

吸入肺内的空气中尘粒被巨噬细胞吞噬后在溶酶体内降解。溶酶体酶难以分解尘粒中某些成分, 如二氧化硅, 而在溶酶体内滞留形成残留体<sup>[56]</sup>。二氧化硅的羟基可与溶酶体膜上的磷脂或蛋白质形成氢键, 使溶酶体膜的通透性升高甚至破裂, 水解酶溢出, 从而导致细胞自溶而死亡。释放出的二氧化硅尘粒被其他巨噬细胞吞噬, 最终引起尘粒在肺组织和淋巴结沉积, 发生纤维增生和淋巴组织减少<sup>[56]</sup>, 肺的呼吸功能和免疫功能下降。

## 5 溶酶体的生理病理意义

除参与受精、某些激素的合成和降解等外, 溶酶体系统是降解异噬和自噬内容物等的关键细胞器, 故溶酶体的产生和活性对于细胞在生理和病理状态下发挥正常自噬功能起着重要作用<sup>[57]</sup>。衰老红细胞、凋亡细胞、坏死细胞碎片、微生物、尘粒、生物大分子、微细颗粒等都以异噬体形式进入细胞, 然后, 借助于微管运输与溶酶体融合成异噬溶酶体。

其中部分自噬体与溶酶体融合形成两性体,继而通过自噬途径在溶酶体内被降解。许多细胞器或生物大分子的存活时间为数小时至数天,线粒体半衰期为5~6 d,核糖核蛋白体为5 d,微体为1~2 d。自噬是细胞对持续性内外刺激的非损伤性应答反应,吞噬自身的细胞质或衰老细胞器,最终在溶酶体内将吞噬物降解,降解产物被细胞重新利用或排出细胞外以维持细胞结构、代谢和功能的平衡。通过自噬及时清除多余或损伤的细胞器,对于稳定细胞的形态和结构、维持细胞的正常功能和避免细胞衰老等至关重要,在胚胎发育、抵抗饥饿、微生物清除、免疫调节、延长寿命等方面起着关键作用。在正常情况下,细胞自噬水平很低,主要清除衰老的细胞器和异常的长寿蛋白质。饥饿状态下,如出生后饥饿和组织缺血时,自噬水平显著升高,细胞通过自噬提供营养,维持细胞存活。受严重病理刺激时细胞自噬活动增强以维持耐受能力,如耐受氧化应激、错误折叠蛋白质堆积、毒物刺激和辐射等。但是,过度自噬可引起自噬性细胞死亡 (autophagic cell death) 或凋亡<sup>[58]</sup>。如果自噬基因缺失或自噬过程中溶酶体功能障碍与某些慢性感染疾病、心血管疾病、神经变性疾病、溶酶体贮积症、肿瘤生长和耐药、衰老等密切相关。关于溶酶体在自噬相关性疾病的作用机制有待深入探讨。

## 6 展望

关于自噬体和溶酶体的微管运输、自噬体与溶酶体融合、自噬溶酶体转归、自噬和异噬经溶酶体联系、残留体内代谢等的调控机制尚不清楚,需深入研究和探讨。溶酶体是生物进化上高度保守的异质细胞器,各种自噬过程中处理的细胞器和细胞质都经溶酶体降解,在细胞代谢等方面发挥关键性作用。然而,依赖溶酶体进行自噬是一把双刃剑,自噬功能障碍可引起溶酶体内待降解物堆积,而自噬过度可导致细胞死亡。因此,进一步探索和筛选自噬关键分子,从而靶向激活或抑制细胞自噬,有望在预防和治疗自噬相关性疾病方面有所突破。

### [参 考 文 献]

- [1] Luzio JP, Pryor PR, Bright NA. Lysosomes: fusion and function. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2007, 8(8): 622-32
- [2] Yang ZF, Klionsky DJ. Eaten alive: a history of macroautophagy. *Nat Cell Biol*, 2010, 12(9): 814-22
- [3] Kundu M, Thompson CB. Autophagy: basic principles and relevance to disease. *Annu Rev Pathol*, 2008, 3: 427-55
- [4] Saftig P, Klumperman J. Lysosome biogenesis and lysosomal membrane proteins: trafficking meets function. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2009, 10(9): 623-35
- [5] Eugenia GM, Leist M, Gores GJ. Lysosomes in cell death. *Oncogene*, 2004, 23(16): 2881-90
- [6] Kroemer G, Jäätelä M. Lysosomes and autophagy in cell death control. *Nat Rev Cancer*, 2005, 5(11): 886-97
- [7] Thumm M. Structure and function of the yeast vacuole and its role in autophagy. *Microsc Res Tech*, 2000, 51(6): 563-72
- [8] Weisman LS. Organelles on the move: insights from yeast vacuole inheritance. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2006, 7(4): 243-52
- [9] Mizushima N, Levine B, Cuervo AM, et al. Autophagy fights disease through cellular self-digestion. *Nature*, 2008, 451(7182): 1069-75
- [10] Hannigan AM, Gorski SM. Macroautophagy: the key ingredient to a healthy diet? *Autophagy*, 2009, 5(2): 140-51
- [11] 何韬, 谭玉珍, 王海杰. 自噬在巨噬细胞清除凋亡淋巴细胞中的作用. *解剖学报*, 2008, 39(4): 65-9
- [12] Xie Z, Klionsky DJ. Autophagosome formation: core machinery and adaptations. *Nat Cell Biol*, 2007, 9(10): 1102-9
- [13] Longatti A, Tooze SA. Vesicular trafficking and autophagosome formation. *Cell Death Differ*, 2009, 16(7): 956-65
- [14] Klionsky DJ. The molecular machinery of autophagy: unanswered questions. *J Cell Sci*, 2005, 118(1): 7-18
- [15] Reggiori F, Klionsky DJ. Autophagosomes: biogenesis from scratch? *Curr Opin Cell Biol*, 2005, 17(4): 415-22
- [16] Fengsrud M, Erichsen ES, Berg TO, et al. Ultrastructural characterization of the delimiting membranes of isolated autophagosomes and amphisomes by freeze-fracture electron microscopy. *Eur J Cell Biol*, 2000, 79(12): 871-82
- [17] Wrighton KH. Autophagy: Myosin II moves in on autophagosomes. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2011, 12(2): 77
- [18] Kabeya Y, Mizushima N, Ueno T, et al. LC3, a mammalian homologue of yeast Apg8p, is localized in autophagosome membranes after processing. *EMBO J*, 2000, 19(21): 5720-8
- [19] Tanida I, Ueno T, Kominami E. LC3 and autophagy. *Methods Mol Biol*, 2008, 445: 77-88
- [20] Gao W, Kang JH, Liao Y, et al. Biochemical isolation and characterization of the tubulovesicular LC3-positive autophagosomal compartment. *J Biol Chem*, 2010, 285(2): 1371-83
- [21] 王海杰, 谭玉珍, 何韬, 等. 巨噬细胞吞噬尘粒后的自噬变化. *中国病理生理杂志*, 2008, 24(8): 1524-8
- [22] Singh R, Kaushik S, Wang Y, et al. Autophagy regulates lipid metabolism. *Nature*, 2009, 458(7242): 1131-5
- [23] Yu L, McPhee CK, Zheng L, et al. Termination of autophagy and reformation of lysosomes regulated by mTOR. *Nature*, 2010, 465(7300): 942-6
- [24] Müller O, Sattler T, Flötenmeyer M, et al. Autophagic

- tubes: vacuolar invaginations involved in lateral membrane sorting and inverse vesicle budding. *J Cell Biol*, 2000, 151(3): 519-28
- [25] Sattler T, Mayer A. Cell-free reconstitution of microautophagic vacuole invagination and vesicle formation. *J Cell Biol*, 2000, 151(3): 529-38
- [26] Roberts P, Moshitch-Moshkovitz S, Kvam E, et al. Piecemeal microautophagy of nucleus in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol Biol Cell*, 2003, 14(1): 129-41
- [27] Klionsky DJ. *Autophagy [M]*. Texas: Landes Biosci, 2003: 107-14
- [28] Eitzen G, Wang L, Thorngren N, et al. Remodeling of organelle-bound actin is required for yeast vacuole fusion. *J Cell Biol*, 2002, 158(4): 669-79
- [29] Sahu R, Kaushik S, Clement CC, et al. Microautophagy of cytosolic proteins by late endosomes. *Dev Cell*, 2011, 20(1): 131-9
- [30] Cuervo AM, Dice JF. Lysosomes, a meeting point of proteins, chaperones, and proteases. *J Mol Med*, 1998, 76(1): 6-12
- [31] Ketterer N, Dreiseidler M, Tawo R, et al. Chaperone-assisted degradation: multiple paths to destruction. *Biol Chem*, 2010, 391(5): 481-9
- [32] Eskelinen EL, Tanaka Y, Saftig P. At the acidic edge: emerging functions for lysosomal membrane proteins. *Trends Cell Biol*, 2003, 13(3): 137-45
- [33] Kon M, Cuervo AM. Chaperone-mediated autophagy in health and disease. *FEBS Lett*, 2010, 584(7): 1399-404
- [34] Kiffin R, Kaushik S, Zeng M, et al. Altered dynamics of the lysosomal receptor for chaperone-mediated autophagy with age. *J Cell Sci*, 2007, 120(7): 782-91
- [35] Fader CM, Colombo MI. Autophagy and multivesicular bodies: two closely related partners. *Cell Death Differ*, 2009, 16(1): 70-8
- [36] Gordon PB, Seglen PO. Prelysosomal convergence of autophagic and endocytic pathways. *Biochem Biophys Res Commun*, 1988, 151(1): 40-7
- [37] Strømhaug PE, Seglen PO. Evidence for acidity of prelysosomal autophagic/endocytic vacuoles (amphisomes). *Biochem J*, 1993, 291 (Pt 1): 115-21
- [38] Berg TO, Fengsrud M, Strømhaug PE, et al. Isolation and characterization of rat liver amphisomes: evidence for fusion of autophagosomes with both early and late endosomes. *J Biol Chem*, 1998, 273(34): 21883-92
- [39] Mizushima N. Autophagy: process and function. *Gene Dev*, 2007, 21(22): 2861-73
- [40] Fengsrud M, Roos N, Berg T, et al. Ultrastructural and immunocytochemical characterization of autophagic vacuoles in isolated hepatocytes: effects of vinblastine and asparagine on vacuole distributions. *Exp Cell Res*, 1995, 221(2): 504-19
- [41] Seglen PO, Berg TO, Blankson H, et al. Structural aspects of autophagy. *Adv Exp Med Biol*, 1996, 389(1): 103-11
- [42] Shirahama K, Noda T, Ohsumi Y. Mutational analysis of Csc1/Vps4p: involvement of endosome in regulation of autophagy in yeast. *Cell Struct Funct*, 1997, 22(5): 501-9
- [43] Nara A, Mizushima N, Yamamoto A, et al. SKD1 AAA ATPase-dependent endosomal transport is involved in autolysosome formation. *Cell Struct Funct*, 2002, 27(1): 29-37
- [44] Seglen PO, Gordon PB. 3-Methyladenine: specific inhibitor of autophagic/lysosomal protein degradation in isolated rat hepatocytes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1982, 79(6): 1889-92
- [45] Liou W, Geuze HJ, Geelen MJH, et al. The autophagic and endocytic pathways converge at the nascent autophagic vacuoles. *J Cell Biol*, 1997, 136(1): 61-70
- [46] Yokota S, Himeno M, Kato K. Formation of autophagosomes during degradation of excess peroxisomes induced by di-(2-ethylhexyl)-phthalate treatment. III. Fusion of early autophagosomes with lysosomal compartments. *Eur J Cell Biol*, 1995, 66(1): 15-24
- [47] Nakagawa I, Amano A, Mizushima N, et al. Autophagy defends cells against invading group A *Streptococcus*. *Science*, 2004, 306(5698): 1037-40
- [48] Kirkegaard K, Taylor MP, Jackson WT. Cellular autophagy: surrender, avoidance and subversion by microorganisms. *Nat Rev Microbiol*, 2004, 2(4): 301-14
- [49] Levine B, Mizushima N, Virgin HW. Autophagy in immunity and inflammation. *Nature*, 2011, 469(435): 323-35
- [50] Gutierrez MG, Master SS, Singh SB, et al. Autophagy is a defense mechanism inhibiting BCG and *Mycobacterium tuberculosis* survival in infected macrophages. *Cell*, 2004, 119(6): 753-66
- [51] Levine B, Deretic V. Unveiling the roles of autophagy in innate and adaptive immunity. *Nat Rev Immunol*, 2007, 7(10): 767-77
- [52] Van Limbergen J, Stevens C, Nimmo ER, et al. Autophagy: from basic science to clinical application. *Mucosal Immunol*, 2009, 2(4): 315-30
- [53] Brunk UT, Terman A. Lipofuscin: mechanisms of age-related accumulation and influence on cell function. *Free Radic Biol Med*, 2002, 33(5): 611-9
- [54] Terman A, Brunk UT. Lipofuscin. *Int J Biochem Cell Biol*, 2004, 36(8): 1400-4
- [55] Terman A, Dalen H, Brunk UT. Ceroid/lipofuscin-loaded human fibroblasts show decreased survival time and diminished autophagocytosis during amino acid starvation. *Exp Gerontol*, 1999, 34(8): 943-57
- [56] 王海杰, 谭玉珍, 李奇, 等. 尘粒引起人支气管肺淋巴结巨噬细胞的凋亡和bcl-2表达. *解剖学报*, 2004, 35(1): 55-9
- [57] Ravikumar B, Sarkar S, Davies JE, et al. Regulation of mammalian autophagy in physiology and pathophysiology. *Physiol Rev*, 2010, 90: 1383-435
- [58] Loos B, Engelbrecht AM. Cell death: a dynamic response concept. *Autophagy*, 2009, 5(5): 590-603