

DOI: 10.13376/j.cbls/2016011

文章编号: 1004-0374(2016)01-0085-08

## 细胞自噬对造血干细胞功能特性的调节

邹云丁<sup>1,2</sup>, 李晶<sup>1</sup>, 陈洁平<sup>2\*</sup>, 叶治家<sup>1,2\*</sup>

(1 第三军医大学热带医学研究所, 重庆 400038; 2 第三军医大学西南医院血液病中心, 重庆 400038)

**摘要:** 细胞自噬是真核细胞一种进化上保守, 周转细胞内物质的一个重要生理过程。细胞自噬既能清除胞质内异常的蛋白质和细胞器, 又能在特定条件下维持细胞的生存, 具有广泛的生理功能。造血干细胞是血液系统中一类能维持静息状态、自我更新和具有多向分化潜能的特殊细胞。近年来的研究不断揭示细胞自噬在造血干细胞的特性维持和调节中发挥着重要作用。现就细胞自噬在造血干细胞特性调节中的研究现状进行概述。

**关键词:** 细胞自噬; 造血干细胞; mTOR 信号通路

**中图分类号:** Q25; Q813      **文献标志码:** A

## Autophagy regulates features of hematopoietic stem cells

ZOU Yun-Ding<sup>1,2</sup>, LI Jing<sup>1</sup>, CHEN Jie-Ping<sup>2\*</sup>, YE Zhi-Jia<sup>1,2\*</sup>

(1 Institute of Tropical Medicine, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China;

2 Department of Hematology, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

**Abstract:** Autophagy plays critical roles in regulation of physiological functions of eukaryotes by removing denatured proteins and abnormal organelles in cytoplasm and maintaining survival. Hematopoietic stem cells are special blood cells, which possess abilities of self-renewal and differentiation of multilineages. Accumulating evidence showed that autophagy plays a significant role in sustaining and regulating features of hematopoietic stem cells. Here we summarized advances in studying in regulation of hematopoietic stem cell features by autophagy.

**Key words:** autophagy; hematopoietic stem cell; mTOR signaling

细胞自噬 (autophagy) 是一类与长寿蛋白和胞质内细胞器循环利用有关的, 溶酶体依赖的降解途径, 是与细胞生长及代谢密切相关的关键进程。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) 3 类。除特殊说明外本文所述均为巨自噬。

自噬现象进化保守, 广泛存在于从酵母到哺乳动物的真核细胞中。在应激条件下, 自噬过程不仅提供了维持细胞生存的能量代谢需要, 而且其最终产生的大分子物质维持着细胞的内稳态<sup>[1]</sup>。自噬过程从形成一种双层膜的自噬体开始, 而后自噬体包裹自噬底物, 再与溶酶体融合, 形成自噬溶酶体, 最后其中的酸性水解酶降解底物, 释放出终产物。自噬体的形成受到一系列蛋白质复合体的有序调节。

造血干细胞 (hematopoietic stem cells, HSCs) 是血液系统中的一小类特殊细胞, 血液系统的其他细胞均由 HSCs 增殖分化而来。在成体中, 绝大部分的 HSCs 都栖息在骨髓的乏氧微环境 (niche、壁龛、利基) 中, 并且其生命周期中大部分的时间都处在一种细胞周期停滞在 G<sub>0</sub> 期的特殊状态, 即静息 (quiescence)。当机体失血或者为补充正常新陈代谢过程中所消耗掉的血液细胞时, HSCs 才重新进入细胞周期, 补充生理所需。在小鼠和人的骨髓内都有两群 HSCs: (1) 分裂非常不频繁的静息干细胞群,

收稿日期: 2015-08-19; 修回日期: 2015-10-20

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(81170471, 31371913); 重庆市科委基金重点项目(csct2013jjB0190)

\*通信作者: E-mail: zjye@tmmu.edu.cn(叶治家); chenjpxn@163.com(陈洁平)

大概 145 d 才自我更新一次来保证足够的储备, 这群细胞又称为长效造血干细胞 (long-term HSCs, LT-HSCs); (2) 分裂较频繁的活跃干细胞群, 以频繁分裂来补充日常所需的造血祖细胞、白细胞、红细胞和血小板等, 这群细胞又称为短效造血干细胞 (short-term HSCs, ST-HSCs)。为确保骨髓的终身造血, LT-HSCs 以相对较低频率的自我更新来保证其细胞池在机体的整个生命周期中都不会耗竭, 部分 LT-HSCs 激活转化为 ST-HSCs, ST-HSCs 不断分化生成造血祖细胞, 进而生成成熟血液细胞, 维持血液系统相对稳定<sup>[2]</sup>。

越来越多的研究显示, 自噬在 HSCs 的生命活动中发挥着重要的作用。本文将就细胞自噬与 HSCs 的静息状态、自我更新、分化及多潜能性等特性的关系进行综述。

## 1 细胞自噬的过程与调控

在哺乳动物中, 细胞自噬的过程大致可以分为以下 4 个阶段: 自噬的诱导阶段、自噬的起始阶段、自噬体膜的延长阶段和自噬体的成熟降解阶段 (图 1)。在自噬的诱导阶段, 通过 ULK1-ATG13-FIP200-ATG101 复合体与 mTORC1 之间的相互作用, 自噬体开始形成。在自噬的起始阶段, III 型磷脂酰肌醇 3 激酶 (class III phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K-III) 复合体促使自噬体膜逐渐形成, 并促进自噬相关蛋白 ATG (autophagy-related genes) 21、ATG24 等结合到膜上, 形成 PAS (preautophagosome)。在自噬体膜延长的过程中, 类泛素共轭结合系统 ATG12-ATG5-ATG16 和 LC3 (microtubule-associated protein 1 light chain 3)-PE (phosphatidylethanolamine) 起着核心作用, 使自噬体膜逐渐封闭, 包裹自噬底物。在自噬体的成熟阶段, 自噬体与溶酶体融合, 形成自噬溶酶体, 降解自噬底物。自噬降解产生的小分子物质, 包括氨基酸、脂类、核苷酸和糖等, 随后被释放到细胞质中以供生物合成和代谢<sup>[3]</sup>。

细胞自噬受到诸多因素的调节, 包括细胞营养状态、能量状态、生长因子、氧化应激、乏氧应激等 (图 2)。调控自噬的具体分子机制非常复杂, 目前尚未完全研究清楚。就已有的机制而言, 可以大致分为 mTOR (mammalian target of rapamycin) 依赖和非 mTOR 依赖两种途径。mTOR 依赖的调控途径主要包括 PI3K-I-mTOR、AMPK-mTOR 等, 不依赖 mTOR 的调控途径主要是由 PI3K-III 介导<sup>[4]</sup>。

## 2 细胞自噬调节 HSCs 静息状态的作用及其机制

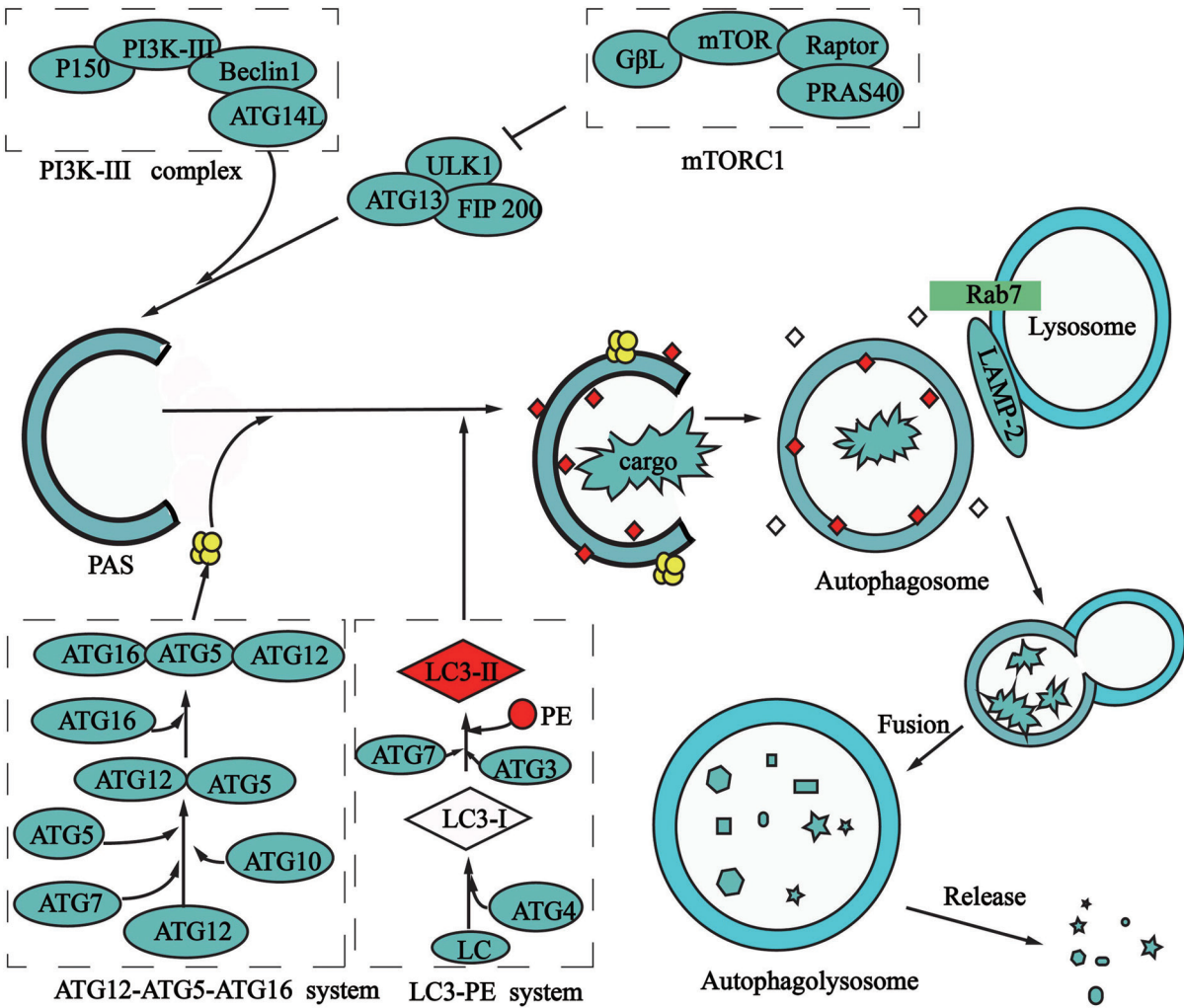
绝大多数的 HSCs 都处在一个相对静息的可逆的细胞周期阻滞状态, 处于这种状态的干细胞停留在 G<sub>0</sub> 期。静息的细胞依靠其自有的一套代谢方式, 能在营养缺乏的条件下存活很长时间; 而重新进入细胞周期, 通常也伴随着代谢方式的改变<sup>[5]</sup>。细胞在增殖过程中需要有序合成产生新细胞所需的大量物质, 消耗大量的能量, 而静息期细胞就没有这么巨大的代谢负担。在非分裂期, HSCs 会下调蛋白质的合成, 并激活维持它们的信号通路。

维持 HSCs, 尤其是 LT-HSCs 的静息状态, 对于维持生物体整个生命周期的正常、有序造血至关重要。在一些转基因和基因敲除的小鼠模型中, 改变 HSCs 的功能状态, 降低静息期细胞的比率, 将最终导致 HSCs 的耗竭<sup>[6-7]</sup>。静息期 HSCs 只有当受到外界信号刺激时才重新进入细胞周期, 补充血液系统所需; 维持 HSCs 的静息状态, 既降低了增殖带来的基因组不稳定风险, 以此防止细胞恶变, 又减少了细胞内损害的堆积, 以此来抵御许多来自环境的损害。扰乱 HSCs 的静息状态被认为将导致细胞老化和向白血病转化<sup>[8]</sup>。

HSCs 的静息状态受到微环境及细胞内因素的调节。造血微环境主要由内皮细胞、成骨细胞、脂肪细胞等组成, 通过细胞-细胞、细胞-基质、受体-配体等方式调节着 HSCs 的静息状态、自我更新和分化, 是 HSCs 赖以生存的场所<sup>[9]</sup>。SCF/c-Kit 信号通路、Tie2/Ang-1 信号通路、TPO/MPL 信号通路、Wnt 通路、Hedgehog 通路、钙离子、乏氧环境等, 都是 HSCs 静息状态的外在调节因素<sup>[10]</sup>。

细胞周期调节因子是 HSCs 内调控其静息状态的最直接因素。已有的研究显示, 诸如 Cyclin C<sup>[11]</sup>、Cyclin E1<sup>[12-13]</sup>、CDK (cyclin-dependent kinase) 6<sup>[14-15]</sup>、CKI (CDK inhibitor)<sup>[16-17]</sup> 等, 调控着 HSCs 静息状态的维持。PI3K-mTOR 通路参与了 HSCs 静息期的调节已被广泛证实<sup>[18-21]</sup>。mTOR 的过度活化对 HSCs 是有害的, 甚至导致 HSCs 的过度增殖, 从而引起白血病, 同时使 HSCs 耗竭且不能有效补充血液系统的其他细胞。

现有的研究已能说明自噬对于 HSCs 静息状态的维持是必需的: 首先, 处于静息状态的 HSCs 不可能轻易通过转移给子代细胞的方式来稀释胞内逐渐堆积的受损细胞器和蛋白, 所以, 此时自噬在降解这些细胞受损成分并循环利用其降解产物的过程

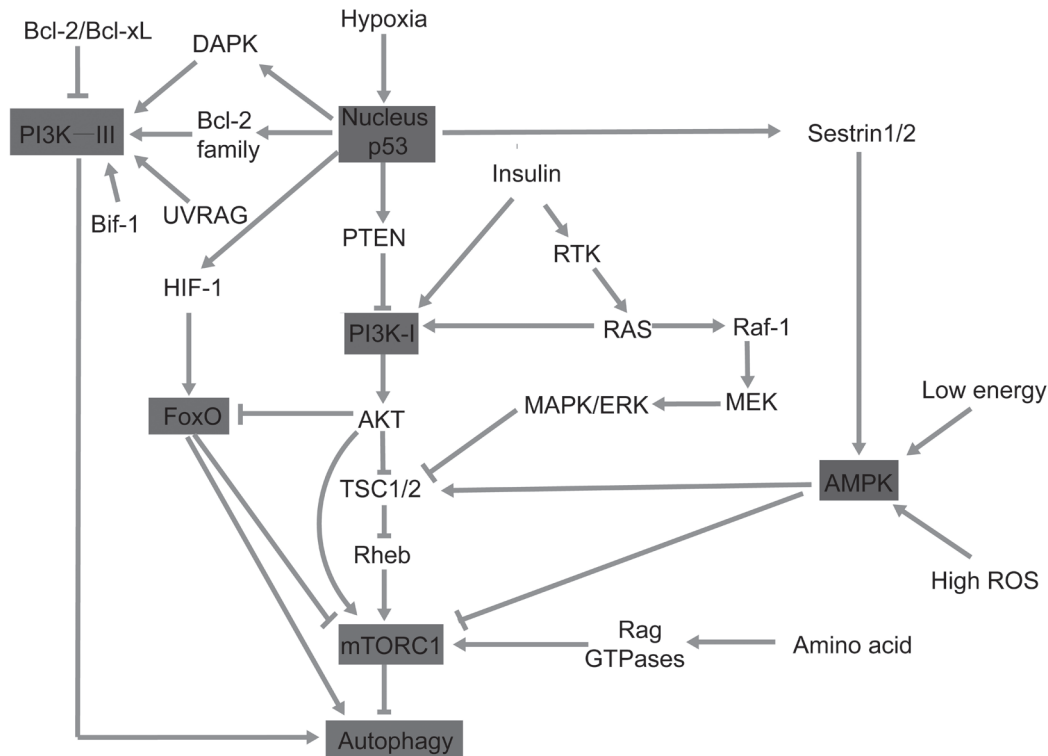


在自噬的诱导阶段, 通过ULK (unc-51-like kinase)1-ATG13-FIP200-ATG101复合体与mTORC1 (mTOR complex 1)之间的相互作用, 开始形成自噬体。在起始阶段, PI3K-III复合体促使自噬体膜逐渐形成, 并促进其他ATG蛋白结合到膜上, 形成PAS。在ATG12-ATG5-ATG16系统中, ATG7和ATG10分别发挥泛素化修饰系统中E1和E2类似的作用, ATG12-ATG5偶联体与ATG16共价结合, 形成的复合体再通过ATG16的自身寡聚化反应形成四聚体, 分布于PAS膜外侧面, 参与膜的延长。在LC3-PE系统中, LC3首先被半胱氨酸蛋白酶ATG4处理, 暴露其C端的甘氨酸残基, ATG7、ATG3分别扮演E1和E2的角色, 最后通过一个酰胺键被共轭结合到脂质PE上, 形成复合体LC3-II-PE, LC3-II-PE再结合到膜的两面参与PAS的延伸。包裹形成的自噬体在Rab7和LAMP-2等分子的介导下, 与溶酶体融合, 形成自噬溶酶体。自噬底物被来自溶酶体的酸性水解酶降解, 最终释放出氨基酸、糖、脂质等小分子物质。

图1 哺乳动物细胞自噬的简要过程

中发挥着必不可少的作用<sup>[22]</sup>; 第二, 处于静息状态的HSCs有着不同的能量代谢方式。细胞自噬降解线粒体的途径称为线粒体自噬 (mitophagy), 发挥着清除多余或受损线粒体的重要作用。静息期的HSCs处于一个乏氧的造血微环境中, 而相对较低的能量需求以及为了避免过多的氧化产物对干细胞带来损害和不利影响, 决定了静息期的HSCs主要是利用糖酵解而不是氧化磷酸化来满足能量需求。在LT-HSCs中发现的高自噬水平及低线粒体含量和活力, 是一个间接的佐证<sup>[23-25]</sup>。

线粒体自噬是一个特异性的选择过程, 并受到各种调控因素的精密调节, 是细胞清除体内损伤线粒体和维持自身稳态的一种重要调节机制。自噬对线粒体进行选择性地清除, 可以用于调节线粒体的数量以适应细胞生存环境, 同时, 受损的线粒体也可通过线粒体自噬被清除以保证细胞内线粒体的质量, 维持细胞稳态。线粒体自噬控制着胞内ROS (reactive oxygen species, 活性氧) 的水平, 而ROS水平上升将促使HSCs脱离静息状态<sup>[24]</sup>。敲除自噬关键基因的小鼠体内将发生髓细胞的过度增殖<sup>[26]</sup>,



能量状态、营养状态、乏氧、ROS (reactive oxygen species)水平等通过不同的分子途径调节着细胞自噬的发生。调控网络十分复杂，图中所示为目前已经比较明确的主要调控通路。

图2 细胞自噬的主要调节机制

这正是 HSCs 脱离静息状态的一个表现。第三，最近有研究证明，ATG7 可以结合并调节 TP53/P53，从而在受到代谢应激时调控细胞脱离细胞周期，进入静息状态。ATG7 缺失的鼠成纤维细胞在营养缺乏时却不能进入细胞周期阻滞状态<sup>[27]</sup>，这直接证明了自噬对于细胞静息状态的调节作用。

诱导细胞进入静息状态并且减缓细胞周期周转将有利于 LT-HSCs 的存活和维持。这也保证了 HSCs 衰老得更加缓慢，更少的复制周期使端粒的缩短最小化<sup>[28]</sup>。然而，就算干细胞周转缓慢，而且是体内为数不多的表达端粒酶的细胞之一，但是细胞损伤和端粒缩短在 HSCs 中并不能完全避免<sup>[29-30]</sup>。和其他类型细胞类似，进入静息状态可以使 HSCs 避免积聚过多的受损蛋白、脂质和核酸，从而避免细胞向恶性转化。

保持 HSCs 的健康并阻止其老化对造血系统的健康是至关重要的，并且自噬降解受损分子和细胞器的作用对于保持干细胞的年轻与活力可能是很必要的。自噬被认为和细胞的老化密不可分：(1) 包括 HSCs 在内的多种细胞体内自噬水平随着年龄的增加而降低<sup>[26, 31]</sup>；(2) ATG 基因的失效突变将缩短

酵母的生命周期<sup>[32]</sup>；(3) 热量限制和使用雷帕霉素将延长线虫和大鼠的寿命；(4) 敲除小鼠体内特定组织的自噬基因，将导致老化相关的疾病，如神经退行性疾病、糖尿病和肿瘤<sup>[33]</sup>。从年老小鼠体内得来的 HSCs 表现出单个细胞的复群能力受损，自我更新和归巢能力下降，髓系分化偏移和应激诱发的细胞凋亡增加<sup>[34]</sup>。这样的表现特点与 *atg7* 或者 *rb1cc1/fip200* 基因敲除的小鼠体内得来的 HSCs 的表现惊人的一致<sup>[26, 35-36]</sup>。此外，研究证明，可以通过抑制 mTOR 信号通路来使 HSCs 重新恢复活力，在年老的小鼠体内恢复自我更新和造血能力<sup>[37-38]</sup>。

尽管人们对细胞自噬如何维持 HSCs 静息状态的诸多细节和具体机制还不清楚，但是目前的证据已经证实细胞自噬对于细胞维持静息状态至关重要，而且还能通过这样的作用来延缓细胞衰老。这对于 HSCs 自我更新能力的保持和造血系统内稳态的维持起着关键的调节作用。

### 3 细胞自噬调节HSCs自我更新的作用及其机制

HSCs 的自我更新维持着其自身的存活和扩充，保证造血过程能在机体的整个生命周期中进行。目

前, 人们对 HSCs 自我更新的分子机制还不甚了解。

已有的研究提示, 多梳家族的原癌基因 BMI1 在调节骨髓 HSCs 自我更新过程中发挥着中心作用<sup>[39]</sup>。在 *bmi1*<sup>-/-</sup> 小鼠模型中, 骨髓 HSCs 的数目显著下降, 体外培养二次集落形成明显减少, 移植其骨髓给同基因受体小鼠只能短暂支持造血, 检测不到成熟 HSCs 的自我更新。这些表型说明 *bmi1* 敲除的 HSCs 缺失自我更新能力。同时发现, BMI1 调控着 HSCs 生存相关和增殖调控相关的基因 *Cdkn2a* (在重叠阅读框中编码 P16INK4A 和 P19ARF 蛋白)<sup>[40]</sup>。而包括 P16、P19 以及 P21 等在内的 CKI 家族成员, 在调控细胞周期以及 HSCs 的维持及自我更新中发挥着重要的作用<sup>[17, 41]</sup>。有趣的是, CKI 与细胞自噬之间有着密切的联系<sup>[16, 27]</sup>。BMI1 还可以调节线粒体功能, 抑制 ROS 的过度产生。敲除 *bmi1* 将导致过多 ROS 的堆积、DNA 损伤和 HSCs 自我更新能力的下降<sup>[42]</sup>, 这让人们有理由相信 BMI1 参与了线粒体自噬的调控。这些研究结果间接地提示, 自噬是 BMI1 调节 HSCs 自我更新的一种可能途径。

此外, 研究证据提示: DNA 损伤的积聚将限制人类 HSCs 的自我更新能力<sup>[43]</sup>。大量的研究已经证明, 线粒体自噬是细胞调节胞内 ROS 水平和 DNA 损伤积聚的有力手段<sup>[44]</sup>。使用抗氧化剂或者雷帕霉素可以恢复高 ROS 水平下 HSCs 的自我更新能力<sup>[37, 45]</sup>。这提示, 细胞自噬可能通过调控胞内 ROS 水平来调节 HSCs 的自我更新。

为了确定自噬在 HSCs 自我更新中的作用, 自噬关键基因敲除的 HSCs 是最理想的实验材料。敲除自噬必需基因的 HSCs 在第一次骨髓移植中即无法存活的事实说明 HSCs 的自我更新需要自噬的参与<sup>[26, 35]</sup>。在另一个类似的体外实验中, *atg7* 敲除的 HSCs 在第二次种植分析时即严重丧失集落形成能力<sup>[26]</sup>。使用 3-MA (3-methyladenine) 或者 *atg5* siRNA 抑制自噬后, 人类的成熟 HSCs 在集落形成实验中无法形成细胞集落。这些研究结果提示我们: 在缺乏自噬的情况下, HSCs 的自我更新能力将会减退。最近的一个研究更直接地揭示了细胞自噬在不同营养状态下通过对 Cyclin D3 表达量的调控, 调节造血干/祖细胞进入细胞周期的比例, 从而调控其自我更新<sup>[46]</sup>。

总的来说, HSCs 作为能进行自我更新的一类细胞, 虽然可能长时间处于静默状态, 但也必须拥有强大的防御和修复机制来避免细胞损伤。越来越

多的证据显示: 除了保持细胞的静息状态、凋亡和未成熟分化以外, 自噬也是重要的机制之一<sup>[24]</sup>。HSCs 的静息状态和自我更新之间有着天然不可割裂的联系。一方面, 只有当干细胞脱离静息状态, 重新进入细胞周期, 才能进行自我更新; 另一方面, 只有维持 HSCs 的静息状态, 才能保持其干性, 才能长期维持自我更新的能力。因此, 细胞自噬既是干细胞维持静息状态所必需的, 又是促进干细胞自我更新不可或缺的, 这些现象看似矛盾, 实则对立统一, 体现了细胞自噬在维持 HSCs 特性中的广泛作用, 作用的机制和靶点既有不同, 也有相同。

#### 4 细胞自噬调节HSCs的多向分化的作用及其机制

所有的成熟血液细胞都来自 HSCs 的定向分化。目前比较公认的造血分化模型是: 长效造血干细胞 - 短效造血干细胞 - 多潜能祖细胞 - 髓系公共祖细胞 / 淋系公共祖细胞 - 成熟血液细胞。HSCs 的造血分化是一个层次分明的复杂过程, 受到诸多内外因素的调控。造血微环境、细胞因子以及干细胞内在的基因程序性表达等因素都能影响 HSCs 的定向分化<sup>[47-48]</sup>。现有的研究表明, 细胞自噬也广泛参与了造血分化过程。

在敲除自噬关键基因的小鼠模型中, 除了会出现造血干细胞的过早耗竭, 还伴随有明显的髓系分化偏移和淋巴系细胞比例下降<sup>[26, 35-36]</sup>。这样的改变发生在较早期的造血干祖细胞阶段, 这说明细胞自噬对于维持造血干细胞的多向造血分化至关重要。

细胞自噬参与了祖细胞之后的分化过程也被越来越多的实验研究证实。在淋系分化中, 敲除 *atg5* 后, 骨髓中 B 细胞的分化被阻滞在原 B 细胞阶段, 而且不能正常产生浆细胞以及释放抗体<sup>[49]</sup>, T 细胞和 B 细胞的数量都出现明显的下降。类似的现象也在 *atg7* 和 *beclin1* 敲除的小鼠模型中出现<sup>[50]</sup>。在髓系分化中, 敲除 *atg7* 后, 巨核细胞的分化成熟异常以及血小板生成异常<sup>[51]</sup>。自噬在中性粒细胞的分化成熟以及功能发挥中扮演的重要角色也有报道<sup>[52-53]</sup>。同样地, 单核细胞的分化以及巨噬细胞效应功能的获得同样需要自噬的参与。对线粒体的清除是说明细胞自噬在红细胞发育成熟中发挥重要作用的最好例子。当红细胞成熟的时候, 胞内的细胞器和大部分蛋白会被清除, 仅留下血红蛋白。因为红细胞的细胞核已经在分化的过程中被清除, 所以线粒体的清除是通过细胞自噬来完成的。通过敲除

自噬相关基因来干扰线粒体自噬, 将导致红细胞发育和功能上的严重缺陷, 包括线粒体滞留<sup>[54-55]</sup>。

尽管细胞自噬在造血分化中发挥重要作用已被广泛报道, 但是具体的调节机制还大多未知。调节胞内 ROS 水平及线粒体含量, 可能是细胞自噬在造血干/祖细胞层面调控早期定向分化的一种方式。LT-HSCs 所在的骨髓微环境通常是乏氧的, 并且 HSCs 似乎有意不使用氧化磷酸化的方式供能, 以使利基保持一个低 ROS 水平<sup>[56]</sup>。因此, 正常的 HSCs 内几乎没有线粒体, 如果线粒体的生物合成增加, 将导致 HSCs 的损耗<sup>[44]</sup>。HSCs 从静默状态向增殖/分化状态的转变, 伴随着 mTOR 活性的增加, 引起代谢率和 ROS 水平上升<sup>[45, 56]</sup>。在这里, ROS 水平的上升似乎是 HSCs 在增殖和分化过程中为满足更高能量需求的一个伴随结果。有趣的是, HSCs 从乏氧的利基向富氧和高 ROS 水平的微环境迁移, 将促使其向髓系分化<sup>[57]</sup>。而高 ROS 水平似乎又是 HSCs 分化的一个原因。高 ROS 水平将导致 HSCs 内过多的 DNA 损伤, 分化也许是 HSCs 避免这种损伤堆积的机制之一, 因为已经分化的血细胞通常仅拥有很短的生命周期。不管是因是果, 胞内 ROS 水平与 HSCs 的分化密切相关, 而胞内的 ROS 水平又在很大程度上受到细胞自噬的调控。事实上, 一些自噬相关基因的条件敲除模型中, 都出现了 HSCs 内 ROS 水平的上升和髓系分化偏移<sup>[26, 35]</sup>。这些模型更加佐证了细胞自噬在正常造血分化中的重要性。髓系细胞过度增生也成为了缺少细胞自噬的 HSCs 的特征性分化表现。一项针对急性早幼粒细胞白血病的研究发现, P62/SQSTM1 介导的细胞自噬是 ATRA (all-trans retinoic acid) 诱导降解癌蛋白 PML-RAR $\alpha$ , 从而使分化阻滞的白血病细胞进一步分化, 最终治愈该病的关键机制<sup>[58]</sup>。这提示, 自噬介导的某些蛋白的降解, 可能是自噬调节 HSCs 分化的又一可能机制。国内王建荣实验室利用造血系统中条件性敲除 *atg7* 的小鼠模型做了一系列系统而深入的研究, 不仅阐述了细胞自噬在造血分化中的重要作用<sup>[51]</sup>, 还指出对造血干细胞内 Notch 蛋白的靶向作用是细胞自噬调节造血干细胞正常分化的关键机制之一, 受损的细胞自噬将导致血细胞的分化阻滞甚至白血病的发生<sup>[59]</sup>。

另一个亟需回答的问题是, 自噬如何与 HSCs 分化进程协同作用。研究发现, 在 HSCs 向红系分化的过程中, GATA1 作为关键的调节蛋白, 能和 FOXO (forkhead box O transcription factor) 蛋白一起

调控一些自噬相关基因以及溶酶体生物合成相关基因的表达<sup>[60]</sup>。这拓宽了人们对于 GATA1 如何调控红细胞生成的认识, 也提示: HSCs 定向分化过程中某些节点蛋白的程序性表达可以同步调控细胞自噬水平, 使细胞自噬与 HSCs 分化进程协调一致。

鉴于 mTOR 信号通路在调节自噬和 HSCs 生物学特性中的重要作用, 研究者针对该通路进行了一系列的研究。持续性激活 AKT1 或者敲除 PTEN 使得 mTOR 活性增加的小鼠模型, 在理论上自噬水平被下调, 最终产生了髓系细胞增生的结果<sup>[20, 61]</sup>, 这和此前提到的敲除自噬关键基因的小鼠模型所得结果一致。相反地, 当敲除 mTORC1 的重要组成成分 RAPTOR 后, 理论上自噬水平将被上调, 又产生了上述表型小鼠中髓系细胞减少的结果<sup>[62]</sup>。虽然这些研究结果提示了自噬在 HSCs 多向分化潜能性中可能发挥了重要作用, 但是由于 mTOR 抑制将导致许多其他重要的细胞功能信号转导, 包括抑制蛋白质的翻译、线粒体的生物合成, 以及细胞的生长、运动和增殖, 所以, 上述细胞分化结果的变化是否是由自噬水平变化所引起的还需进一步确定。

有趣的是, 伴随着造血干细胞的分化进程, 细胞自噬本身也出现了一定的层次性和差异性。在造血干细胞水平上, ATG7 依赖的经典自噬途径占据了绝对主导地位; 敲除造血干细胞的 *atg7* 基因将完全阻断细胞自噬, 并导致不可逆的和最终致死的造血损害。但是在髓系祖细胞以及其他进一步分化的细胞中, *atg7* 的敲除并不影响正常的细胞自噬发生, 选择性自噬将代偿和修复终末分化细胞中的自噬作用<sup>[63]</sup>。

总的来说, 现有的证据已经证明自噬在 HSCs 分化过程中的细胞重塑及其多潜能性表现中扮演着重要的角色。

## 5 结语

越来越多的证据显示, HSCs 的特性(自我更新、多潜能性、分化和静息状态)与细胞自噬密切相关。首先, 干细胞自我更新和分化的过程都需要一个严格调控的蛋白质周转和溶酶体降解细胞器的细胞重塑过程; 第二, 自噬清除和循环利用这些受损的大分子以及细胞器, 对于在 LT-HSCs 漫长的静息期中, 维持细胞的多向分化潜能, 是必不可少的; 第三, 基本的自噬是维持细胞内稳态的一个过程, 它介导了胞内合成物的质量控制、清除突变和受损的胞内蛋白以及细胞器, 通过降解细胞的结构成分完成细

胞重塑等; 第四, 虽然生理状态下, 造血干细胞内的自噬对于维持正常的造血至关重要, 但是细胞自噬对于造血影响的另一面也同样不可忽视, 某些病理条件下, 过度激活的细胞自噬也会导致 HSCs 的耗竭<sup>[64]</sup>。

自噬的产生受到多种胞内和胞外应激事件的调控, 如内质网应激、ROS 堆积、营养缺乏、乏氧和细菌感染等。mTOR 信号通路受到诸多上游信号通路的调控, 也能通过下游信号广泛调控细胞的生命活动, 既能将细胞因子、营养应激等外在应激事件与自噬联系起来, 又能通过胞内 ROS 水平等与 mTOR 活性的互动, 将细胞内在的代谢活动与自噬联系起来。尽管客观存在着不依赖 mTOR 的自噬调控机制, 但是目前的证据依旧能支撑这样的观点: mTOR 在调控 HSCs 自噬水平的过程中发挥着核心的作用。

HSCs 中的自噬水平与某些血液系统的疾病息息相关, 前文也已提到细胞自噬水平在 HSCs 移植成败中具有重要影响, 所以, 通过干预 mTOR 信号通路调控 HSCs 自噬水平, 将是预防和治疗某些血液系统疾病的潜在希望。

#### [参 考 文 献]

- [1] Kaushik S, Singh R, Cuervo AM. Autophagic pathways and metabolic stress. *Diabetes Obes Metab*, 2010, 12: 4-14
- [2] Boulais PE, Frenette PS. Making sense of hematopoietic stem cell niches. *Blood*, 2015, 125: 2621-9
- [3] Tanida I. Autophagosome formation and molecular mechanism of autophagy. *Antioxid Redox Signal*, 2011, 14: 2201-14
- [4] Yang J, Carra S, Zhu WG, et al. The regulation of the autophagic network and its implications for human disease. *Int J Biol Sci*, 2013, 9: 1121-33
- [5] Valcourt JR, Lemons JM, Haley EM, et al. Staying alive: metabolic adaptations to quiescence. *Cell Cycle*, 2012, 11: 1680-96
- [6] Rossi L, Lin KYK, Boles NC, et al. Less is more: Unveiling the functional core of hematopoietic stem cells through knockout mice. *Cell Stem Cell*, 2012, 11: 302-17
- [7] Pietras EM, Warr MR, Passegue E. Cell cycle regulation in hematopoietic stem cells. *J Cell Biol*, 2011, 195: 709-20
- [8] Rossi DJ, Bryder D, Zahn JM, et al. Cell intrinsic alterations underlie hematopoietic stem cell aging. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102: 9194-9
- [9] Li LH, Xie T. Stem cell niche: Structure and function. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2005, 21: 605-31
- [10] Li J. Quiescence regulators for hematopoietic stem cell. *Exp Hematol*, 2011, 39: 511-20
- [11] Miyata Y, Liu Y, Jankovic V, et al. Cyclin C regulates human hematopoietic stem/progenitor cell quiescence. *Stem Cells*, 2010, 28: 308-17
- [12] Jayapal SR, Kaldis P. Cyclin E1 regulates hematopoietic stem cell quiescence. *Cell Cycle*, 2013, 12: 3588
- [13] Campaner S, Viale A, De Fazio S, et al. A non-redundant function of cyclin E1 in hematopoietic stem cells. *Cell Cycle*, 2013, 12: 3663-72
- [14] Laurenti E, Frelin C, Xie S, et al. CDK6 levels regulate quiescence exit in human hematopoietic stem cells. *Cell Stem Cell*, 2015, 16: 302-13
- [15] Wang S, Xia P, Rehm M, et al. Autophagy and cell reprogramming. *Cell Mol Life Sci*, 2015, 72: 1699-713
- [16] Capparelli C, Chiavarina B, Whitaker-Menezes D, et al. CDK inhibitors (p16/p19/p21) induce senescence and autophagy in cancer-associated fibroblasts, "fueling" tumor growth via paracrine interactions, without an increase in neo-angiogenesis. *Cell Cycle*, 2012, 11: 3599-610
- [17] Matsumoto A, Nakayama KI. Role of key regulators of the cell cycle in maintenance of hematopoietic stem cells. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1830: 2335-44
- [18] Haneline LS, White H, Yang FC, et al. Genetic reduction of class IA PI-3 kinase activity alters fetal hematopoiesis and competitive repopulating ability of hematopoietic stem cells *in vivo*. *Blood*, 2006, 107: 1375-82
- [19] Yilmaz OH, Valdez R, Theisen BK, et al. Pten dependence distinguishes haematopoietic stem cells from leukaemia-initiating cells. *Nature*, 2006, 441: 475-82
- [20] Zhang J, Grindley JC, Yin T, et al. PTEN maintains haematopoietic stem cells and acts in lineage choice and leukaemia prevention. *Nature*, 2006, 441: 518-22
- [21] Gan B, Sahin E, Jiang S, et al. mTORC1-dependent and -independent regulation of stem cell renewal, differentiation, and mobilization. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105: 19384-9
- [22] Pan HZ, Cai N, Li M, et al. Autophagic control of cell "stemness". *EMBO Mol Med*, 2013, 5: 327-31
- [23] Simsek T, Kocabas F, Zheng J, et al. The distinct metabolic profile of hematopoietic stem cells reflects their location in a hypoxic niche. *Cell Stem Cell*, 2010, 7: 380-90
- [24] Suda T, Takubo K, Semenza GL. Metabolic regulation of hematopoietic stem cells in the hypoxic niche. *Cell Stem Cell*, 2011, 9: 298-310
- [25] Salemi S, Yousefi S, Constantinescu MA, et al. Autophagy is required for self-renewal and differentiation of adult human stem cells. *Cell Res*, 2012, 22: 432-5
- [26] Mortensen M, Soilleux EJ, Djordjevic G, et al. The autophagy protein Atg7 is essential for hematopoietic stem cell maintenance. *J Exp Med*, 2011, 208: 455-67
- [27] Lee IH, Kawai Y, Fergusson MM, et al. Atg7 modulates p53 activity to regulate cell cycle and survival during metabolic stress. *Science*, 2012, 336: 225-8
- [28] Liu L, Rando TA. Manifestations and mechanisms of stem cell aging. *J Cell Biol*, 2011, 193: 257-66
- [29] Vaziri H, Dragowska W, Allsopp RC, et al. Evidence for a mitotic clock in human hematopoietic stem cells: loss of telomeric DNA with age. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1994, 91: 9857-60
- [30] Allsopp RC, Morin GB, DePinho R, et al. Telomerase is required to slow telomere shortening and extend replica-

- time lifespan of HSCs during serial transplantation. *Blood*, 2003, 102: 517-20
- [31] Cuervo AM. Autophagy and aging: keeping that old broom working. *Trends Genet*, 2008, 24: 604-12
- [32] Maticic M, Smith DL, Pan X, et al. A microarray-based genetic screen for yeast chronological aging factors. *PLoS Genet*, 2010, 6: e1000921
- [33] Rubinsztein DC, Marino G, Kroemer G. Autophagy and Aging. *Cell*, 2011, 146: 682-95
- [34] Dykstra B, Olthof S, Schreuder J, et al. Clonal analysis reveals multiple functional defects of aged murine hematopoietic stem cells. *J Exp Med*, 2011, 208: 2691-703
- [35] Liu F, Lee JY, Wei H, et al. FIP200 is required for the cell-autonomous maintenance of fetal hematopoietic stem cells. *Blood*, 2010, 116: 4806-14
- [36] Liu F, Guan JL. FIP200, an essential component of mammalian autophagy is indispensable for fetal hematopoiesis. *Autophagy*, 2011, 7: 229-30
- [37] Chen C, Liu Y, Zheng P. mTOR regulation and therapeutic rejuvenation of aging hematopoietic stem cells. *Sci Signal*, 2009, 2: ra75
- [38] Huang J, Nguyen-McCarty M, Hexner EO, et al. Maintenance of hematopoietic stem cells through regulation of Wnt and mTOR pathways. *Nat Med*, 2012, 18: 1778-85
- [39] Iwama A, Oguro H, Negishi M, et al. Enhanced self-renewal of hematopoietic stem cells mediated by the polycomb gene product Bmi-1. *Immunity*, 2004, 21: 843-51
- [40] Park IK, Qian D, Kiel M, et al. Bmi-1 is required for maintenance of adult self-renewing haematopoietic stem cells. *Nature*, 2003, 423: 302-5
- [41] Tomiatti V, Istvanffy R, Pietschmann E, et al. Cks1 is a critical regulator of hematopoietic stem cell quiescence and cycling, operating upstream of Cdk inhibitors. *Oncogene*, 2015, 34: 4347-57
- [42] Liu J, Cao L, Chen JC, et al. Bmi1 regulates mitochondrial function and the DNA damage response pathway. *Nature*, 2009, 459: 387-92
- [43] Yahata T, Takanashi T, Muguruma Y, et al. Accumulation of oxidative DNA damage restricts the self-renewal capacity of human hematopoietic stem cells. *Blood*, 2011, 118: 2941-50
- [44] Joshi A, Kundu M. Mitophagy in hematopoietic stem cells: the case for exploration. *Autophagy*, 2013, 9: 1737-49
- [45] Chen C, Liu Y, Liu R, et al. TSC-mTOR maintains quiescence and function of hematopoietic stem cells by repressing mitochondrial biogenesis and reactive oxygen species. *J Exp Med*, 2008, 205: 2397-408
- [46] Cao Y, Zhang A, Cai J, et al. Autophagy regulates the cell cycle of murine HSPCs in a nutrient-dependent manner. *Exp Hematol*, 2015, 43: 229-42
- [47] Kondo M. Lymphoid and myeloid lineage commitment in multipotent hematopoietic progenitors. *Immunol Rev*, 2010, 238: 37-46
- [48] Liu XL, Yuan JY, Zhang JW, et al. Differential gene expression in human hematopoietic stem cells specified toward erythroid, megakaryocytic, and granulocytic lineage. *J Leukoc Biol*, 2007, 82: 986-1002
- [49] Cenci S. Autophagy, a new determinant of plasma cell differentiation and antibody responses. *Mol Immunol*, 2014, 62: 289-95
- [50] Arsov I, Adebayo A, Kucerova-Levisohn M, et al. A role for autophagic protein beclin 1 early in lymphocyte development. *J Immunol*, 2011, 186: 2201-9
- [51] Cao Y, Cai J, Zhang S, et al. Loss of autophagy leads to failure in megakaryopoiesis, megakaryocyte differentiation, and thrombopoiesis in mice. *Exp Hematol*, 2015, 43: 488-94
- [52] Rozman S, Yousefi S, Oberson K, et al. The generation of neutrophils in the bone marrow is controlled by autophagy. *Cell Death Differ*, 2015, 22: 445-56
- [53] Itakura A, McCarty OJT. Pivotal role for the mTOR pathway in the formation of neutrophil extracellular traps via regulation of autophagy. *Am J Physiol: Cell Physiol*, 2013, 305: C348-54
- [54] Zhang Y, Goldman S, Baerga R, et al. Adipose-specific deletion of autophagy-related gene 7 (*atg7*) in mice reveals a role in adipogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106: 19860-5
- [55] Mortensen M, Ferguson DJ, Edelman M, et al. Loss of autophagy in erythroid cells leads to defective removal of mitochondria and severe anemia *in vivo*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107: 832-7
- [56] Jang YY, Sharkis SJ. A low level of reactive oxygen species selects for primitive hematopoietic stem cells that may reside in the low-oxygenic niche. *Blood*, 2007, 110: 3056-63
- [57] Owusu-Ansah E, Banerjee U. Reactive oxygen species prime *Drosophila* hematopoietic progenitors for differentiation. *Nature*, 2009, 461: 537-41
- [58] Wang Z, Cao L, Kang R, et al. Autophagy regulates myeloid cell differentiation by p62/SQSTM1-mediated degradation of PML-RAR $\alpha$  oncoprotein. *Autophagy*, 2011, 7: 401-11
- [59] Cao Y, Cai J, Zhang S, et al. Autophagy sustains hematopoiesis through targeting notch. *Stem Cells Dev*, 2015, 24: 2660-73
- [60] Kang YA, Sanalkumar R, O'Geen H, et al. Autophagy driven by a master regulator of hematopoiesis. *Mol Cell Biol*, 2012, 32: 226-39
- [61] Kharas MG, Okabe R, Ganis JJ, et al. Constitutively active AKT depletes hematopoietic stem cells and induces leukemia in mice. *Blood*, 2010, 115: 1406-15
- [62] Hoshii T, Tadokoro Y, Naka K, et al. mTORC1 is essential for leukemia propagation but not stem cell self-renewal. *J Clin Invest*, 2012, 122: 2114-29
- [63] Cao Y, Zhang S, Yuan N, et al. Hierarchical autophagic divergence of hematopoietic system. *J Biol Chem*, 2015, 290: 23050-63
- [64] Jia XE, Ma K, Xu T, et al. Mutation of *kri1l* causes definitive hematopoiesis failure via PERK-dependent excessive autophagy induction. *Cell Res*, 2015, 25: 946-62