

DOI: 10.13376/j.cbls/2021095

文章编号: 1004-0374(2021)07-0876-12

内质网应激诱导的自噬在肝脏疾病中的研究进展

李倩¹, 范好^{1,2*}, 史晓燕¹, 郭东艳²

(1 陕西中医药大学基础医学院, 咸阳 712046; 2 陕西省中药基础与新药研究重点实验室, 咸阳 712046)

摘要: 错误/未折叠蛋白的积累可导致内质网(endoplasmic reticulum, ER)结构和功能紊乱,从而诱发内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ERS),激活未折叠蛋白反应(unfolded protein response, UPR)。UPR作为适应性机制可恢复早期的ERS,重建ER稳态;当UPR不足以缓解ERS时,会通过UPR介导的3个跨膜蛋白(IRE1 α 、PERK、ATF6)诱发细胞凋亡或自噬。自噬作为ERS的另一种保护性反应,可通过降解错误折叠蛋白和清除受损细胞器来减轻ERS。另外,自噬是ERS重要的下游事件并处于凋亡的上游,ERS介导的自噬可通过调节细胞凋亡发挥促凋亡或抗凋亡双重作用。ERS与自噬间的相互作用在酒精/非酒精性脂肪肝、肝纤维化、肝癌等多种肝脏疾病中扮演着重要角色,但二者在肝病发生发展过程中的具体机制尚不明确。因此,探讨ERS与自噬通过复杂的网络通路调控肝脏疾病的机制有助于改善相关肝脏疾病,这可能成为治疗肝病的有效靶点。

关键词: 内质网应激;未折叠蛋白反应;IRE1 α ;PERK;ATF6;Ca²⁺通路;自噬;肝脏疾病

中图分类号: R363.27;R575 **文献标志码:** A

Research progress of endoplasmic reticulum stress-induced autophagy in liver diseases

LI Qian¹, FAN Yu^{1,2*}, SHI Xiao-Yan¹, GUO Dong-Yan²

(1 The Basic Medical College of Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712046, China;

2 Shaanxi Province Key Laboratory of Basic and New Herbal Medicament Research, Xianyang 712046, China)

Abstract: The accumulation of misfolded/unfolded proteins leads to the structural and functional disorder of the endoplasmic reticulum (ER), which induces endoplasmic reticulum stress (ERS) and unfolded protein response (UPR). As an adaptive mechanism, UPR can reverse early ERS and restore ER homeostasis. When the UPR is insufficient to alleviate ERS, apoptosis or autophagy is induced by three UPR-mediated transmembrane proteins (IRE1 α , PERK, and ATF6). Autophagy, as another protective response to ERS, can alleviate ERS by degrading misfolded proteins and clearing damaged organelles. In addition, autophagy is an important downstream event of ERS and is in the upstream of apoptosis. ERS-mediated autophagy plays a dual role of pro-apoptosis or anti-apoptosis by regulating apoptosis. The interaction between ERS and autophagy plays an important role in a variety of liver diseases such as alcoholic/nonalcoholic fatty liver disease, liver fibrosis, and liver cancer, but the specific mechanism in the development and progression of liver disease is still unclear. Therefore, exploring the mechanisms of ERS and autophagy in regulating liver diseases through complex network pathways is helpful to improve related liver diseases, which may become an effective target for the treatment of liver diseases.

Key words: endoplasmic reticulum stress; unfolded protein response; IRE1 α ; PERK; ATF6; Ca²⁺ channel; autophagy; liver diseases

收稿日期: 2020-12-01; 修回日期: 2021-01-06

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目(81703925, 81704073); 陕西省中药基础与新药研究重点实验室开放基金(2017KF03); 陕西中医药大学创新团队项目(2019-YL14); 陕西省科技厅项目(2021JM-472)

*通信作者: E-mail: 806919125@qq.com; Tel: 029-38185180

内质网 (endoplasmic reticulum, ER) 是膜蛋白和分泌蛋白合成与折叠的“加工厂”,也是储存 Ca^{2+} 并维持其稳态的关键场所^[1-2]。ER腔内蛋白质合成或加工的失调使得错误/未折叠蛋白大量堆积或者出现 Ca^{2+} 浓度平衡紊乱的状态,即内质网应激 (endoplasmic reticulum stress, ERS),其可激活未折叠蛋白反应 (unfolded protein response, UPR)^[3-4]。UPR 作为对抗 ERS 的一种自身保护机制,有助于恢复 ER 功能结构,并且有利于调节细胞内环境稳态。然而,强烈或持久的应激会影响 ER 生理功能并造成代谢紊乱而导致细胞损伤^[4-5]。自噬是自我消化和调节细胞器及蛋白质稳态的溶酶体降解过程,是多种应激条件下细胞的生存机制,可以通过清除错误折叠蛋白和受损细胞器来帮助细胞适应应激,也可以通过促进大分子和细胞器的降解来维持能量平衡以及细胞器新陈代谢与再生,并且在肝脏生理调节中发挥着稳态作用^[6-10]。有证据表明,ERS 能够引发并调节自噬,而自噬又根据不同情况诱导细胞存活或凋亡,甚至死亡^[11-13]。由于肝脏是哺乳动物中最有活力的代谢器官之一,因此,容易受到应激相关的自噬激活的影响^[14]。近年来,越来越多的证据表明 ERS 诱发的自噬在多种肝脏疾病中发挥着重要作用,本文就 ERS 与自噬的关系及其在肝脏疾病中的机制做一综述。

1 内质网应激和未折叠蛋白反应

ER 具有执行蛋白质折叠、转运和翻译后修饰 (如糖基化、二硫键形成和寡聚) 以及存储 Ca^{2+} 等许多重要生理功能^[15-16]。在某些生理病理情况下,如氧化应激、代谢紊乱、缺氧、炎症、 Ca^{2+} 失衡等均可扰乱 ER 稳态,使正常蛋白质折叠能力紊乱,导致错误/未折叠蛋白在 ER 腔持续产生并聚集,这一状态称为 ERS^[17-18]。细胞为对抗不利因素带来的有害影响而启动 UPR,以恢复 ER 稳态;当 UPR 不能缓解持久而剧烈的 ERS 时,则可能导致细胞死亡^[19-20]。UPR 通过减少蛋白质合成、增强 ER 中蛋白质折叠能力和促进错误/未折叠的蛋白质降解来补偿 ERS 造成的损伤,并维持细胞内的动态平衡^[21-24]。

UPR 主要由 3 个 ER 跨膜感受蛋白介导,即肌醇需要酶 1 α (inositol requiring enzyme 1 α , IRE1 α)、蛋白激酶样 ER 激酶 (protein kinase RNA-like ER kinase, PERK) 和激活转录因子 6 (activating transcription factor 6, ATF6)^[18, 25]。葡萄糖调节蛋白 78 (glucose-regulated protein 78, GRP78) 是调节蛋白质质量控制和降解的

分子伴侣,在 UPR 的激活中起着关键作用^[26]。生理条件下,GRP78 作为 ER 常驻伴侣与 3 种跨膜蛋白正常结合并处于失活状态;ERS 发生时,GRP78 与上述跨膜蛋白解离,并以高亲和力结合积累的的错误/未折叠蛋白,而与 GRP78 解离的 IRE1 α 和 PERK 通过反式自磷酸化被激活,且解离后的 ATF6 通过蛋白水解过程被激活,从而诱导下游信号转导和相关基因表达,最终导致相应通路的激活^[27-29]。

2 自噬

自噬在真核细胞中是一个高度保守的动态分解代谢过程,通过形成双层膜结合的囊泡 (即自噬体) 包裹受损的细胞器、错误/未折叠蛋白和入侵的微生物,然后将其运输到溶酶体形成自溶酶体进行降解,降解产物最终被循环利用成为新细胞形成的底物^[30-32]。这也是目前广为研究的自噬类型,即巨自噬 (以下简称自噬)。

自噬由自噬相关基因 (autophagy-related genes, ATGs) 严格调控,其通过多种信号通路严密控制细胞内的适应性过程,也是形成隔离膜和自噬体不可或缺的关键基因^[33-34] (图 1)。ATG5、ATG7、LC3、ATG9、ATG16L1、Beclin1、ATG101 (即 C12orf44) 和 FIP200 (即 RB1CC1) 等是自噬体形成过程中的必要成分并参与自噬调控。自噬的启动由 ULK1-ATG13-FIP200-ATG101 复合物 (即 ULK1 激酶复合物) 激活;吞噬体膜的形成及成核由 Beclin1-ATG14-Vps34-p150 (酵母同源基因是 Vps15) 复合物 (即 PI3KC3 复合物) 调控,该复合物可以产生形成自噬体所必需的磷脂酰肌醇 3-磷酸 (phosphatidylinositol 3-phosphate, PI3P);吞噬体膜的延伸与扩展依赖于 ATG12-ATG5-ATG16L1 和 ATG8/LC3 两个泛素样结合系统,在此过程中 ATG5-ATG12 结合系统介导磷脂酰乙醇胺 (phosphatidylethanolamine, PE) 与 LC3 的化学反应,将胞质形式的 LC3I 转化为脂化形式,称为 LC3II,并附着到吞噬体膜上,延伸的吞噬体闭合标志着成熟的自噬体形成,随后自噬体与溶酶体融合形成自溶酶体,降解自噬体中的内含物^[8, 35-39]。此外,ATG9-ATG2-WIP1/2 复合物作为循环系统有助于吞噬体的延长,ATG9 的变化依赖于 ULK1、Vps34 和丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 的活性^[31, 37]。

ULK1 激酶复合物的活性由雷帕霉素复合物 1 (mammalian target of rapamycin complex 1, mTORC1) 和 5'AMP 活化蛋白激酶 (5'AMP-activated protein

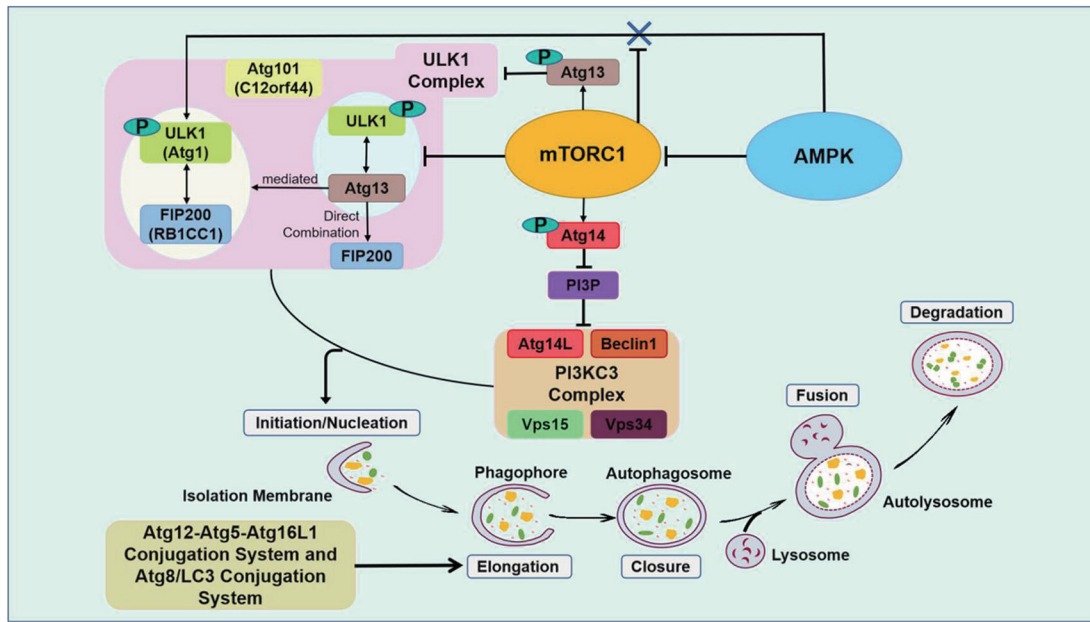


图1 自噬的调控过程^[6, 37, 41]

kinase, AMPK) 共同调控^[40]。mTORC1 通过阻断 ATG13 与 ATG1 (即 ULK1) 磷酸化的相互作用或直接磷酸化 ATG13 以抑制 ULK1 复合物的活性而抑制自噬启动；或 mTORC1 通过磷酸化 ULK1 来阻止 ULK1 与 AMPK 之间的相互作用，从而抑制 ULK1 的活性以负调控自噬；或 mTORC1 通过磷酸化 ATG14 而抑制 PI3P 的产生以阻遏自噬^[20, 41]。当营养不足时，具有活性的 AMPK 通过磷酸化并激活 ULK1 而促进自噬或通过结节性硬化症复合物 (tuberous sclerosis complex, TSC) 负调节 mTORC1 以减轻 mTORC1 对 ULK1 的抑制作用^[40-41]。AMPK 的活化可抑制 mTOR 依赖性通路，后者是自噬的中心抑制途径，然而 AMPK 诱导的自噬具有细胞保护作用^[14]。如果自噬过程不受控制或长时间处于激活状态，可能导致细胞质中大量自噬空泡的积聚，从而导致细胞死亡^[15]。

3 ERS与自噬的相互作用参与肝脏疾病的发展

根据相关文献报道，ER 是自噬体发生的起始位点^[34]，而自噬是 ERS 重要的下游事件，同时处于凋亡的上游，ERS 介导的自噬主要通过调节细胞凋亡发挥双刃剑作用^[7, 42]。不同的 ERS 源，如 Ca^{2+} 紊乱等激活 UPR 途径，并通过调节 UPR 相关基因表达激活自噬，从而减轻分泌蛋白负荷，增加清除未折叠蛋白质的能力及消除受损的细胞器，保护细胞免于凋亡^[42-43]。尽管自噬是一种抵抗危险刺激的

细胞防御机制，但它也可以参与 ERS 诱导的细胞凋亡，当 ERS 超过强度阈值或临界持续时间且 UPR 不足以缓解 ERS 时，UPR 过度激活自噬使细胞成分完全降解或自噬不能发挥其正常功能而引起细胞凋亡^[42-43]。众所周知，p62/SQSTM1 (简称 p62) 是一种适应性蛋白，参与 ERS 过程中错误折叠蛋白的自噬性沉积，其表达水平与自噬活性成反比^[44-45]。Pang 等^[46]发现，毒胡萝卜素 (thapsigargin, TG) 作用于 LO2 细胞后可诱发 ERS，上调 UPR 通路标志性蛋白，提高 Bax、LC3II/I 且降低 Bcl-2、p62 表达，促进凋亡，激活自噬，而给予委陵菜积雪草酸 (asiatic acid from *Potentilla chinensis*, AAPC) 能下调 UPR 通路关键指标的表达，减少凋亡并增强自噬，由此推测 AAPC 可能通过促进自噬来减轻 UPR 从而缓解 ERS，抑制凋亡，保护肝脏。柚皮素在 CCl_4 诱导的大鼠肝损伤模型中通过降低 ERS 水平并抑制自噬而减少 CCl_4 对肝细胞的损伤^[47]。ATG9b 驱动的吞噬泡促进 LC3 和 p62 的对接以启动自噬相关的降解。Wang 等^[44]在胆碱缺乏的氨基酸饮食饲养的小鼠肝癌模型中观察到，小鼠肝细胞 ERS 和凋亡水平增加，ATG9b 的表达被抑制，从而降低 LC3 脂化，导致 p62 累积，自噬被抑制，表明在癌变过程中，ERS 的加速伴随着自噬缺陷，从而造成肝细胞死亡增加。另外，研究证实自噬功能障碍也能引起 ERS。Yang 等^[48]研究表明，在肥胖模型中，肝脏的 ATG7 表达下调使 ATG5 的表达受到

抑制, 从而造成自噬缺陷, 进一步导致胰岛素信号转导缺陷和ERS增加。Wang等^[49]在急性高果糖饮食喂养小鼠模型中发现, 在高果糖开始喂食2 h内检测到p-mTOR水平增加, ATG5与ATG7表达降低, LC3II/LC3I减少, 而p62增加; 直到6 h后检测到ERS指标升高, 由此推测高果糖喂养可能通过激活mTOR来抑制肝脏自噬, 从而引起ERS。敲除斑马鱼中的Beclin1可导致自噬通量受损, 使p-eIF2 α 、CHOP上调, 进而加重ERS并促进凋亡^[50]。综上所述, ERS可以调节自噬, 而自噬在不同情况下可诱导细胞存活或死亡。简而言之, ERS诱导的自噬与细胞凋亡关系密切, 这三者之间的关系是调节细胞死亡的关键。

3.1 肝脏疾病中UPR通路对ERS诱导自噬的影响

3.1.1 IRE1 α 通路介导的ERS诱导自噬

IRE1 α 是一种具有丝氨酸(Ser)/苏氨酸(Thr)蛋白激酶和核糖核酸内切酶(RNase)活性的双重功能I型跨膜蛋白, 它与GRP78解离后发生二聚化和自磷酸化, 激活的IRE1 α 可募集肿瘤坏死因子受体相关因子2(tumor necrosis factor receptor-associated factor 2, TRAF2), 后者激活凋亡信号调节激酶1(apoptosis signal-regulating kinase 1, ASK1)并与其形成复合物磷酸化并激活c-Jun氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK), 一方面JNK通过激活促凋亡蛋白Bim, 抑制抗凋亡蛋白Bcl-2, 从而诱导细胞凋亡^[51-52]; 另一方面, JNK介导的Bcl-2磷酸化

导致Beclin1/Bcl-2复合物断裂并释放Beclin1, 形成PI3KC3复合物, 促进吞噬体成核而激活自噬^[11, 35], 表明自噬可能通过调控Bcl-2蛋白在一定程度上抑制细胞凋亡。由此推测, IRE1 α /JNK通路介导ERS及自噬之间的调控(图2)。此外, IRE1 α /XBP1(X-box binding protein 1)通路是ERS关联细胞自噬的第二个重要调控通路。活化的IRE1 α 激活其RNase活性, 剪切XBP1 mRNA, 从而产生活性转录因子sXBP1^[52], 上调与ER蛋白折叠、转运、降解相关基因的转录, 并加强未折叠蛋白的折叠和错误折叠蛋白的降解^[53], 以缓解或终止ERS, 从而促进细胞内环境恢复稳态^[54]。有研究表明, IRE1 α 还可通过其RNase活性介导的XBP1转录激活Beclin1等自噬基因或者上调神经前体细胞表达发育下调蛋白4-2(neural precursor cell expressed developmentally downregulated protein 4-2, Nedd4-2)而触发自噬^[35, 55-56]。伏马菌素B1(fumonisin B1, FB1)处理HepG2细胞后可诱导ERS激活IRE1 α /JNK通路, 且p-JNK、Beclin1表达增加, Bcl-2磷酸化水平提高, 可见FB1通过JNK介导Bcl-2的磷酸化而破坏Bcl-2/Beclin1的相互作用并释放Beclin1以促进自噬, 而且p-JNK可直接上调ATG5、ATG7及LC3I/LC3II诱导自噬^[57]。在高果糖和高脂肪饮食喂养小鼠诱导ERS和衣霉素(tunicamycin, TM)及TG作用于小鼠胚胎成纤维细胞诱导ERS的实验中, 发现其均可通过IRE1 α /XBP1通路增加Nedd4-2表达, 而Nedd4-2的过表

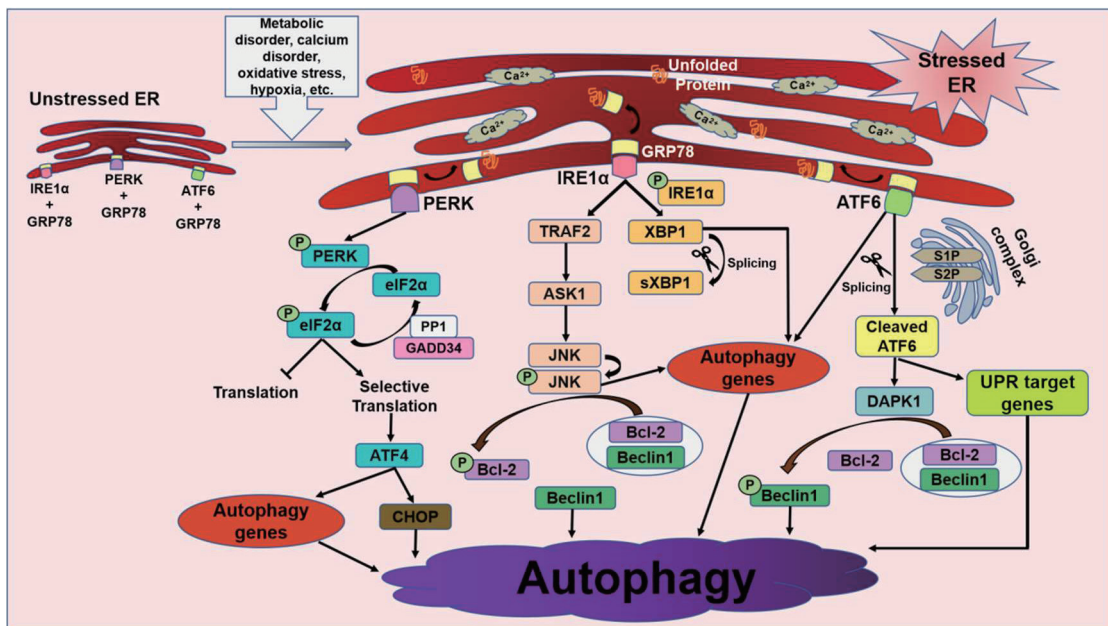


图2 内质网应激与自噬的关系^[11, 35-36, 52]

达可激活自噬^[55]。薯蓣皂苷元(GND)处理 Bel-7402 细胞后触发 ERS, 产生 IRE1 α , 当阻断 IRE1 α 时自噬受到抑制, 显示 GND 上调 IRE1 α 以诱导自噬; 而使用自噬抑制剂氯喹(chloroquine, CQ)可抑制裂解的 Caspase8, 表明 GND 可能通过诱导自噬而激活 Caspase8 依赖性细胞凋亡^[58]。Koh 等^[59]研究表明, 脂质双分子层应激诱导的 ERS 也能通过 IRE1 α /XBP1 轴部分调节自噬, 从而改变细胞脂质结构的改变。另外, IRE1 α 的激活可磷酸化 MAPK8, Beclin1 是 MAPK8 下游的主要调节因子, MAPK8 被激活后直接磷酸化 Bcl-2 而破坏 Beclin1 与 Bcl-2 的相互作用, 诱导自噬^[36, 56]。

3.1.2 PERK通路介导的ERS诱导自噬

PERK 是一种具有 Ser/Thr 激酶活性的 I 型 ER 跨膜蛋白, 解离后的 PERK 通过同源二聚和自身磷酸化被激活, 而活化的 PERK 可磷酸化其下游的真核翻译起始因子 2 α (eukaryotic translation-initiation factor 2 α , eIF2 α), 导致整体 mRNA 翻译减弱, 同时选择性增加几种 mRNA 的翻译, 包括转录因子 ATF4^[28, 51-52]。而 ATF4 转运到细胞核后, 可诱导参与氨基酸代谢、抗氧化反应和 ERS 引发凋亡的 UPR 靶基因的表达, 以及激活自噬过程中涉及的基因转录等, 包含伴侣蛋白、C/EBP 同源蛋白 (C/EBP homology protein, CHOP)、ATG12 等^[23, 25, 28, 60]。

PERK/eIF2 α /ATF4 通路也是介导 ERS 和细胞自噬之间的重要调控途径 (图 2), 其可上调天冬酰胺合成酶 (ASNS)、Sestrin-2 (SES2) 和 CHOP 的表达^[35, 56, 61]。SES2 可以抑制 mTORC1 的活性。而 CHOP 可以上调 Tribbles 同源蛋白 3 (tribbles homologue 3, TRB3) 的表达, TRB3 又可以降低 AKT1 的磷酸化进而抑制 mTORC1 的活性; CHOP 还可以下调 ATP 水平从而激活 AMPK^[25, 35]。此外, ATF4 与 CHOP 还能促进 ATG5 和 LC3B 的表达^[12, 25], 从而调节自噬延伸过程以促进自噬体的形成, 最终激活自噬。ASNS 是 UPR 下游的酶, ERS 期间可通过 PERK/eIF2 α /ATF4 途径诱导 ASNS 产生, 进而降低溶酶体酸化导致自噬通量受损, 从而致使营养性脂肪性肝炎出现细胞凋亡和肝功能损害^[61]。SES2 是高度保守的应激诱导 Sestrin 家族成员之一, 可在 ERS 诱导下产生。一氧化碳(carbon monoxide, CO)或 CO 释放分子(CO-releasing molecule, CORM2)依赖 PERK/eIF2 α /ATF4 途径上调 SES2 的表达, 高表达的 SES2 可通过激活 AMPK 来抑制 mTORC1 活性, 进一步促进自噬的激活, 从而有效减少肝脏脂

质蓄积, 改善肝脂肪变性^[62]。FB1 作用于 HepG2 细胞后导致 PERK 上调, 其可激活 ATG5、ATG7 及 LC3I/LC3II 的表达参与自噬诱导^[57]。同时, CHOP 作为 UPR 介导细胞凋亡的中枢效应因子^[3], 可通过激活促凋亡蛋白 Bim 和死亡受体 5 并降低 Bcl-2 抗凋亡蛋白来启动凋亡反应^[11]; 也可激活生长停滞和 DNA 损伤诱导蛋白 34 (growth arrest and DNA damage-inducible gene 34, GADD34) 的表达, 而 GADD34 通过与 Ser/Thr 蛋白磷酸酶 1 (PP1) 结合, 参与 eIF2 α 的去磷酸化, 从而逆转翻译衰减并恢复蛋白质合成^[1, 52, 60, 63]。然而, ERS 发生时 CHOP 介导的细胞死亡是凋亡还是自噬性死亡仍有待研究。

3.1.3 ATF6通路介导的ERS诱导自噬

ATF6 是一种膜结合型转录因子, 在应激条件下, 被转移到高尔基体, 经由丝氨酸蛋白酶位点 -1 (serine protease site-1, S1P) 和金属蛋白酶位点 -2 (metalloprotease site-2 protease, S2P) 两种蛋白酶进行裂解。S1P 裂解管腔结构域中的 ATF6, S2P 裂解 N 末端部分, 被切割的 N 端胞质部分转移到细胞核, 与 ATF/cAMP 反应元件 (CRE) 和 ERS 反应元件 (ERSE) 结合, 以激活 XBP1 的转录并调节参与蛋白质折叠的基因^[51, 64]。

ERS 时, 在高尔基体中被切割的 ATF6 可上调死亡相关蛋白激酶 1 (death-associated protein kinase 1, DAPK1) 的表达水平, 进而使 Beclin1 磷酸化, 导致其从 Bcl-2 上解离, 触发自噬^[36, 65], 或者切割的 ATF6 与 CRE 和 ERSE 结合, 诱导 UPR 靶基因 (如 XBP1、CHOP) 表达, 表明 ATF6 可能通过 XBP1、CHOP 间接调节自噬 (图 2), 也可以直接上调 LC3、ATG3、ATG12、ATG5 等自噬基因的转录^[11, 35]。此外, 有研究表明 CHOP 可促进 p53 凋亡刺激蛋白 2 (apoptosis-stimulating protein of p53-2, ASPP2) 诱导的自噬性凋亡, ASPP2 激活 p53 后促进损伤调节自噬调节剂 (damage-regulated autophagy modulator, DRAM) 的表达, DRAM 是自噬介导细胞凋亡的诱导剂^[66-68]。在 D-氨基半乳糖处理的 HepG2 细胞中发现, ATF4、ATF6、CHOP、p53、DRAM 表达均增多导致自噬过度诱导, 而人胎盘组织液 (human placental hydrolysate, hPH) 干预可减少上述蛋白表达并通过 p53-DRAM-自噬轴抑制自噬, 由此推测 hPH 可能通过 ERS 来抑制自噬而起到抗凋亡作用^[66]。目前, ATF6 通路在 ERS 诱导自噬中的报道较少, 还需要具体深入研究。

3.2 肝脏疾病中Ca²⁺通路介导的ERS诱导自噬

ER 是 Ca²⁺ 的重要储存部位, 可参与其激活,

在信号通路中发挥重要作用。ER 钙储存的损耗使 ER 伴侣分子在蛋白质折叠过程中失去活性,导致错误折叠的蛋白质积聚^[36]。除了激活 UPR 以外,ERS 还会导致 Ca^{2+} 从 ER 向胞质的释放增加,从而激活可能参与自噬信号转导的各种激酶和蛋白酶^[40,69-70]。 Ca^{2+} /钙调素依赖性蛋白激酶激酶 β (Ca^{2+} /calmodulin dependent protein kinase kinase β , CaMKK β) 被 Ca^{2+} 激活,是 AMPK 的直接激活剂^[70]。胞质中 Ca^{2+} 的增加激活 CaMKK β , 其通过激活 AMPK 降低 mTORC1 底物 p70S6K1 的磷酸化水平而抑制 mTORC1, 或 AMPK 直接磷酸化 ULK1, 最终激活自噬^[40,69,71]。Singh 和 Kang^[57] 在体内外肝损伤的研究中发现, FB1 处理 HepG2 细胞后 Ca^{2+} 释放及 p-AMPK 增加, 而 mTOR 减少, 故 FB1 诱导的自噬可能是依赖于 CaMKK β 介导 AMPK 的激活, 从而抑制 mTOR 来实现, 而且 Ca^{2+} 的升高可激活蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC), 一方面激活 LC3I/LC3II 直接诱导自噬, 另一方面可激活 JNK 间接诱导自噬。另外, 钙网蛋白是一种 ER 定位的钙结合伴侣蛋白, 因其在蛋白质折叠和质量控制中的作用而广为人知。Yang 等^[72] 研究表明, 钙网蛋白以自噬依赖性方式改善 ERS, 而钙网蛋白和 LC3 的结合是钙网蛋白增强自噬和抑制 ERS 的关键; 实验结果表明, ERS 发生时诱导钙网蛋白表达, 进而增加 ERS 诱导剂处理的细胞中 LC3II 的水平, 促进自噬体形成并诱导自噬通量, 增加自噬水平, 从而缓解 ERS。除此之外, 胞质中游离 Ca^{2+} 的增加也可以激活死亡相关的蛋白激酶和钙蛋白酶, 这两种酶都依赖于 Ca^{2+} , 与自噬调节有关^[69,73]。钙蛋白酶是一种依赖于 Ca^{2+} 的半胱氨酸蛋白酶, 其介导的 ATG5 裂解可将自噬转变为凋亡, 也可能通过蛋白水解激活 Caspase12 介导细胞凋亡^[16,74]。

4 ERS诱导自噬在肝脏相关疾病中的研究现状

ERS 与自噬在肝脏疾病中受到调节, 两者的相互作用有助于各种肝病的病程发展, 在酒精性/非酒精性脂肪肝、肝纤维化、肝癌、肝脏缺血/再灌注等疾病中发挥重要作用。近年来的研究发现, ERS 诱导自噬的过程十分复杂, 特别是在肝脏细胞间的生物转化, 影响肝脏疾病的发生发展, 为防治肝脏疾病提供了有效的靶点。

4.1 酒精/非酒精性脂肪性肝病

急性酒精暴露强烈诱导自噬小体的合成, 该过程可能是通过抑制 mTORC1 和激活 AMPK 来实现

的, 这有助于控制肝细胞脂质的蓄积^[75-76]。而长期饮酒可能会通过降低肝脏中 AMPK 的活性来抑制自噬, 导致溶酶体功能和数量下降, 使自噬体和溶酶体的融合受损, 减少自噬降解^[75,77]; 或通过抑制 AMPK 来激活参与脂质生物合成的限速酶而抑制自噬, 导致酒精性脂肪肝的发生^[75]。慢性酒精摄入诱导的 ERS 通过上调 CHOP 引起凋亡, 下调 LC3II 表达抑制自噬, 而辛伐他汀治疗可逆转上述过程, 因此辛伐他汀可通过增强自噬来改善 ERS 诱导的细胞凋亡, 达到缓解肝脏损伤的目的^[75]。有报道在乙醇性肝病前期 ERS 可诱导自噬, 但在疾病后期 ERS 可抑制自噬^[78]。

非酒精性脂肪性肝病 (nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD) 是全球最常见的肝病之一, 它涵盖了从单纯性脂肪变性到非酒精性脂肪性肝炎的一系列疾病, 是代谢综合征 (metabolic syndrome, MS) 的主要肝脏表现^[79-80]。游离脂肪酸 (free fatty acids, FFAs) 浓度与肝脂肪变性程度呈正相关, 过量的 FFAs 能使 ER 紊乱而诱导 ERS, 进而使自噬体与溶酶体融合受损, 导致自噬通量损伤, 引起自噬功能障碍, 从而触发细胞凋亡^[80-81]。在棕榈酸 (palmitic acid, PA) 处理 OUMS-29 细胞的实验中观察到, p-eIF2 α 、cleaved-XBP1、cleaved-PARP (聚 (ADP-核糖) 聚合酶) 和 cleaved-Caspase3 的表达均上调, 表明 PA 诱导 ERS 和触发细胞凋亡, LC3 增加和 p62 高表达则表明 PA 抑制自噬, 而油酸 (oleic acid, OA) 可以逆转上述现象, 但自噬抑制剂巴佛洛霉素 A1 (bafilomycin A1, Baf) 可阻断 OA 对 PA 诱导的 ERS 和细胞凋亡的抑制作用, 显示 OA 是通过将自噬抑制逆转为“完整的自噬通量”, 进而减弱 PA 诱导的 ERS 及凋亡^[81]。另一方面, TG 通过抑制肌浆网 Ca^{2+} -ATP 酶 (sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase, SERCA, 一种将 Ca^{2+} 从胞浆转移到 ER 管腔的 Ca^{2+} -ATP 酶) 诱导 ERS, 研究结果显示 OA 可显著提高 PA 引起的细胞内 ER 中 Ca^{2+} 水平的降低, SERCA 抑制剂 TG 消除了 OA 对 PA 引起自噬停滞的改善作用, 并增加 p-eIF2 α 与 cleaved-XBP1 的蛋白表达, 表明 OA 对 PA 诱导自噬通量障碍的衰减作用可能与 SERCA 介导的肝细胞钙通量有关, ER 中钙通量是脂肪酸调节自噬的关键因素^[81-82]。González-Rodríguez 等^[83] 在高脂肪饮食诱导的小鼠 NAFLD 模型以及 PA 处理的 Huh7 细胞中发现, ERS 标记物水平升高, 自噬通量被阻断, 凋亡水平增加, 由此推测自噬通量受损可能是由于 ERS 增加从而

导致细胞凋亡所致,因此,恢复自噬通量的治疗可能缓解 NAFLD 的进展。Rubicon 蛋白可通过抑制自噬体-溶酶体融合而抑制自噬。在 HepG2 细胞中,PA 处理可诱导 ERS 而引起凋亡,使自噬通量被阻断,同时 Rubicon 蛋白表达上调,抑制自噬的晚期阶段,进而促进 NAFLD 的发生;敲除 *Rubicon* 基因可减轻自噬损伤并降低 PA 诱导的 ERS,缓解凋亡^[84]。Sirtuin-1 (SIRT1) 是一种 NAD⁺ 依赖性脱乙酰基酶,可以通过热量限制或药理激活剂(尤其是白藜芦醇)激活,继而诱导自噬。在 NAFLD 小鼠模型中,肝脏自噬通量受损可诱导 ERS 水平升高并导致细胞凋亡,白藜芦醇和热量限制增加了高脂饮食喂养大鼠中降低的 SIRT1 的 mRNA 和蛋白表达,促进自噬并减轻 ERS 及凋亡,从而改善 NAFLD^[85]。C1q/TNF 相关蛋白 9 (C1q/TNF-related protein 9, CTRP9) 是一种由脂肪组织分泌的新型血清糖蛋白。用 PA 处理 HepG2 细胞可提高 eIF2 α 、IRE1 α 和 CHOP 的蛋白表达,诱导 ERS 而发生凋亡,CTRP9 作用于 HepG2 细胞后抑制 ERS 及凋亡且激活 AMPK,上调 Beclin1、ATG7 和 LC3 的转换以及下调 p62,可见 CTRP9 通过激活 AMPK 促进自噬通量诱导自噬来减轻 ERS 引起的凋亡,从而缓解肝脂肪变性^[86]。在高果糖与高脂肪诱导的 MS 中,慢性间歇性低压低氧 (chronic intermittent hypobaric hypoxia, CIHH) 逆转了 MS 诱导的大鼠 ERS 和自噬指标的增高,上调 p-AMPK 及下调 p-mTOR,表明 CIHH 通过激活 AMPK-mTOR 途径诱导自噬而减轻 ERS^[87]。

4.2 肝纤维化

肝星状细胞 (hepatic stellate cells, HSCs) 活化是慢性肝损伤到肝硬化的病理发生发展过程中的关键环节。在正常肝脏中, HSCs 处于静止状态; 肝脏损伤后, HSCs 从静止型转分化为活化的肌成纤维细胞样细胞, 导致细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 增殖且分泌增多^[27, 88]。肝纤维化过程中的关键步骤是激活 HSCs 导致 ECM 沉积, 相关研究表明, ERS 触发自噬并调控星状细胞的纤维化反应^[27, 89-90]。因此, 抑制活化的 HSCs 已被认为是防治肝纤维化的有效途径。

据报道, 咖啡因能抑制 LX-2 细胞 (永生化人 HSC 系) 的活力, 增加其凋亡, 并上调 ERS 标志性蛋白 (GRP78、IRE1 α 和 CHOP), 表明咖啡因通过激活 LX-2 细胞 ERS 而触发细胞凋亡。咖啡因诱导细胞自噬的表现是 p62 的显著降低和 LC3II 的升高以及自噬体/自噬溶酶体的数量增加, 并且增强

的自噬通过诱导 HSCs 凋亡来减弱 α -SMA 的表达, 而在转染 IRE1 α siRNA 的细胞中观察到自噬受阻, 提示 IRE1 α 通路是咖啡因诱导 LX-2 细胞自噬的上游事件; 此外, ATG7 的敲除降低了咖啡因诱导的 LX-2 细胞凋亡, 表明咖啡因可能通过 IRE1 α 途径诱导自噬从而促进 HSCs 的凋亡, 进一步达到防治肝纤维化的目的, 并且 ERS 是咖啡因诱导 HSCs 自噬通量的重要驱动因素^[27]。TM 和 H₂O₂ 处理 JS1 (小鼠永生化 HSC 系) 细胞可诱导 ERS, 提高 α -SMA、Collagen 的表达, 且 LC3II 升高而 p62 降低, 表明 ERS 触发自噬并激活星状细胞; 同时, 磷酸化 p38 MAPK 水平上调, 当阻断 IRE1 α 时 p38 水平被逆转, 纤维化活性和自噬水平降低。而 JS1 细胞与 p38 抑制剂 SB203580 共培养与阻断 IRE1 α 的作用一致, 不仅抑制自噬, 同时减轻纤维化, 所以 IRE1 α /XBP1 途径的激活以依赖于 p38 MAPK 的方式触发自噬, 导致星状细胞活化, 参与肝纤维化形成, 由此可见, IRE1 α 的特异性阻断可作为抗纤维化策略^[89]。GANT61 是 Hedgehog (Hh) 信号通路的抑制剂, 作用于 LX-2 细胞后阻断 Hh 通路而引起 ERS, 激活 PERK/eIF2 α /ATF4/CHOP 途径, 增加自噬通量, 而给予自噬抑制剂 3-甲基腺嘌呤 (3-methyladenine, 3-MA) 或 CQ 会加剧 GANT61 诱导的细胞毒性, 故 GANT61 诱导的自噬是 LX-2 细胞的一种促生存因子; 此外, Salubrinal 是 ERS 的选择性抑制剂, 它抑制了 GANT61 诱导的 LC3BII 表达并增强了 PARP 裂解, 提示 ERS 介导 GANT61 诱导的自噬并抑制 LX-2 细胞凋亡; 综上所述, GANT61 联合自噬或 ERS 抑制剂治疗肝纤维化有较好的疗效^[91]。据报道, ERS 通过自噬诱导纤维化活性, 自噬通量在 HSCs 活化过程中增加。San-Miguel 等^[90] 在 CCl₄ 诱导的小鼠肝纤维化实验中发现, ERS 伴侣及 UPR 信号分支的蛋白表达均上调, 自噬溶酶体途径激活且自噬通量增加, 导致 ERS 及自噬; 褪黑素处理能减少自噬的诱导并减轻 ERS, 抑制 α -SMA 的表达, 从而减轻肝纤维化并降低 HSCs 活性。热休克蛋白 47 (heat shock protein 47, Hsp47) 是一种存在于哺乳动物细胞 ER 中的胶原特异性分子伴侣, 对于胶原的成熟和分泌至关重要, 在 Hsp47-KO HSCs 中, 细胞外胶原水平显著降低, 表明下调 Hsp47 可阻断活化的 HSCs 内 ECM 中前胶原的沉积, 从而降低了纤维化水平; 同时, ER 中的 I 型前胶原增加, 但并未引发 ERS 及细胞凋亡, 故 Hsp47-KO HSCs 的 ER 中前胶原积累可能部分通过自噬降解; 然而,

当 CQ 作用于 Hsp47-KO HSCs 时,观察到 ER 中的 I 型前胶原明显升高, GRP78、GRP94、CHOP、Caspase3 表达增多,表明 Hsp47-KO HSCs 在自噬被抑制时,可诱导 ERS 并引起活化的 HSCs 凋亡,预防肝纤维化的发生^[92]。Nogo-B,也称为 RTN4-B,是蛋白质的网状超家族之一,主要定位于 ER,可调节肝纤维化。Nogo-B 缺陷降低 ERS,导致 HSCs 中的自噬减少,从而减轻了 HSCs 的活化^[93]。

4.3 肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)

HCC 是世界上引起死亡的常见癌症之一,而诱导肝癌细胞死亡是治疗癌症的有效方法。自噬是一把双刃剑,既可以诱导癌细胞凋亡而防治癌症,又可以促进癌症发展使病情恶化,以下主要叙述的是其防治作用。

在 HepG2/Huh7 细胞中,丹参酮 I (tanshinone I, TA I) 通过上调裂解的 PARP 蛋白表达触发细胞凋亡,并下调 p53、DRAM、LC3BII、Beclin1 蛋白的表达水平,表明 TA I 通过抑制 p53/DRAM 介导的自噬来诱导细胞凋亡;同时,CHOP 与 p-eIF2 α 的蛋白表达及 ROS 的积累增加,而活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 清除剂 N-乙酰半胱氨酸 (NAC) 预处理降低了 TA I 增加的 CHOP、p-eIF2 α 的表达,表明 TA I 通过 ROS 介导的 ERS 途径诱导凋亡,即 TA I 可能通过 ROS 诱导 ERS 和抑制 p53/DRAM 介导的自噬而导致细胞凋亡,因此,TA I 有可能成为治疗肝癌的候选抗癌药物^[94]。小鼠移植瘤的实验结果表明,早期索拉非尼诱导的 ERS 以及对 JNK 和 AMPK 依赖性信号转导的调节与自噬诱导相关,持续药物治疗导致 ERS 进行性增加, Bim_{EL} 呈 PERK-CHOP 依赖性升高,导致自噬转向凋亡^[95]。Lv 和 Qiao^[96] 用异牡荆素 (isovitexin, IV) 处理 HepG2 和 SK-Hep1 细胞后观察到,自噬指标上升, Caspase3 和 PARP 的裂解增多,抑制自噬后凋亡减少,提示诱导自噬可能参与了肝癌细胞的凋亡;另外,IV 也增加了 ERS 相关蛋白的表达,而抑制 ERS 可有效减少自噬和凋亡,表明 IV 依赖于 ERS 诱导自噬和凋亡,从而抑制肝癌细胞生长。

4.4 其他肝脏疾病

移植器官的冷冻静态储存通常是在缺血保存条件下,通过抑制细胞代谢来降低移植器官的损伤,而 ERS 和自噬改变被认为是导致脂肪肝对缺血/再灌注损伤 (IRI) 耐受性差的新原因。Zaouali 等^[97] 的研究表明,将脂肪肝保存在 IGL-1 (Institut Georges-Lopez-1, IGL-1) 溶液 (添加褪黑激素和曲美他嗪)

中, p-AMPK 水平提高, p-PERK、GRP78 及 CHOP 的表达减少, Beclin1、ATG7、LC3II/I 的表达增多;而使用 AMPK 抑制剂 AraA 后,ERS 指标升高, LC3II/I、ATG7 降低及 p62 上升。由此表明,激活 AMPK 可减轻 ERS 并促进自噬,使用 Baf 抑制自噬增加了肝脏损伤并降低了脂肪肝功能,因此,褪黑素及曲美他嗪的联合可能通过激活 AMPK 而增加自噬以减轻 ERS,改善脂肪变性肝脏的保存并有效地保护脂肪肝移植植物抵御冷 IRI。Nakamura 等^[98] 在同种异体小鼠原位肝移植模型研究中发现,受体 Abx 预处理后血清前列腺素 E2 (PGE2) 水平的提高可增加 PGE2 受体 4 (EP4) 的表达,引起 AMPK 磷酸化,抑制 CHOP、mTORC1 表达,所以推测,该实验通过 PGE2/EP4 依赖的方式增强自噬途径,降低 ERS,从而减轻肝脏 IRI。丙型肝炎病毒 (hepatitis C virus, HCV) 基因组在肝细胞内部的复制导致在 ER 中积累大量病毒蛋白和 RNA 复制中间体而诱导 ERS; HCV 诱导的 UPR 可激活自噬以维持受感染肝细胞中的病毒复制,而自噬诱导则可以通过抑制细胞凋亡来提高感染细胞的存活,UPR 对于促进 ER 中的病毒复制至关重要,因此,抑制 UPR 途径可阻止病毒复制并增加细胞凋亡^[12]。在使用 LO2 细胞建立的缺氧/复氧肝损伤模型中,ATF4 和 XBP1、Beclin1 和 LC3II 表达上调,黄芩苷预处理抑制 ATF4 和 XBP1 的表达,但 Beclin1 和 LC3II 水平仍上调,这表明黄芩苷可抑制 ERS 而诱导自噬;3-MA 预处理可显著抑制自噬,同时逆转黄芩苷的保护作用,表明抑制自噬可加重 ERS。综上,黄芩苷可通过减轻 ERS 而增强自噬,从而去除累积的错误折叠蛋白质并降解受损的细胞器,最终减轻肝损伤^[99]。雷帕霉素 (自噬激活剂) 可抑制 mTOR 而诱导自噬。在肠外营养相关肝病中,ROS 水平增加可上调 GRP78、sXBP1 的表达而导致 ERS,并且减少 LC3I 向 LC3II 的转化及升高 p62 的表达而抑制自噬,雷帕霉素治疗可逆转上述病理变化,提示雷帕霉素可能通过减轻 ROS 引起的 ERS 来诱导自噬,从而预防肝损伤^[100]。有研究报道,蛋白酶体抑制剂 (proteasome inhibitors, PIs) 可以诱导 ERS,而 p70S6 激酶是位于 mTOR 下游的 Ser/Thr 激酶。Honma 等^[101] 研究表明,海藻糖可以增加 PIs 介导的 Huh7、OUMS-29 细胞中 LC3II、Beclin1 的表达,降低 p62 表达,但不抑制 p70S6 激酶的磷酸化,表明 mTOR 被激活,而海藻糖以不依赖 mTOR 的方式激活自噬,其机制可能是 Beclin1 的表达增加,进而降低 ERS 标记物

的表达, 减少凋亡, 故海藻糖可以通过激活自噬来减轻 PIs 介导的 ERS, 从而使肝细胞免受凋亡的影响。

5 讨论

ERS 可以通过诱导自噬, 抑制错误 / 未折叠蛋白的过度积累而重构 ER 稳态, UPR 的 3 条分支均可调控自噬。在 IRE1 α 途径中, 可通过 IRE1 α /XBP1 通路诱导自噬, 或通过 IRE1 α /JNK 以及 IRE1 α /MAPK 通路破坏 Beclin1 与 Bcl-2 间的相互作用进而释放 Beclin1, 导致自噬。在 PERK 途径中, 可通过 PERK/eIF2 α /ATF4 通路诱导自噬, 或 PERK 直接激活自噬相关基因表达介导自噬。在 ATF6 途径中, 切割的 ATF6 诱导 UPR 靶基因通过 XBP1、CHOP 间接调节自噬, 或上调自噬基因直接诱导自噬。除了 UPR 通路外, Ca²⁺ 可依赖 CaMKK β 介导的 AMPK/mTOR 途径参与 ERS 诱导的自噬过程或通过 PKC 诱导自噬。然而, 当自噬功能障碍时 ERS 会加重而诱导凋亡, 表明 ERS 与自噬之间存在复杂的调控网络。研究 ERS 诱导自噬在肝脏疾病中的作用机制仍然是一个挑战, 从 UPR 上下游、自噬相关途径入手寻找作用靶点并进行深入研究, 可为防治肝脏疾病提供有效的治疗途径。

[参 考 文 献]

- [1] Lukas J, Pospesch J, Oppermann C, et al. Role of endoplasmic reticulum stress and protein misfolding in disorders of the liver and pancreas. *Adv Med Sci*, 2019, 64: 315-23
- [2] Ji C. Dissection of endoplasmic reticulum stress signaling in alcoholic and non-alcoholic liver injury. *J Gastroenterol Hepatol*, 2008, 23 Suppl 1: S16-24
- [3] Kwanten WJ, Vandewynckel Y, Martinet W, et al. Hepatocellular autophagy modulates the unfolded protein response and fasting-induced steatosis in mice. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2016, 311: G599-609
- [4] Han C, Wan F. New insights into the role of endoplasmic reticulum stress in breast cancer metastasis. *J Breast Cancer*, 2018, 21: 354-62
- [5] Wei J, Rahman S, Ayaub EA, et al. Protein misfolding and endoplasmic reticulum stress in chronic lung disease. *Chest*, 2013, 143: 1098-105
- [6] Ke P. Diverse functions of autophagy in liver physiology and liver diseases. *Int J Mol Sci*, 2019, 20: 300
- [7] Wang K. Autophagy and apoptosis in liver injury. *Cell Cycle*, 2015, 14: 1631-42
- [8] Allaire M, Rautou P, Codogno P, et al. Autophagy in liver diseases: time for translation? *J Hepatol*, 2019, 70: 985-98
- [9] Zhang C, Syed TW, Liu R, et al. Role of endoplasmic reticulum stress, autophagy, and inflammation in cardiovascular disease. *Front Cardiovasc Med*, 2017, 4: 29
- [10] Yin Y, Sun G, Li E, et al. ER stress and impaired autophagy flux in neuronal degeneration and brain injury. *Ageing Res Rev*, 2017, 34: 3-14
- [11] Fernández A, Ordóñez R, Reiter RJ, et al. Melatonin and endoplasmic reticulum stress: relation to autophagy and apoptosis. *J Pineal Res*, 2015, 59: 292-307
- [12] Dash S, Chava S, Aydin Y, et al. Hepatitis C virus infection induces autophagy as a prosurvival mechanism to alleviate hepatic ER-stress response. *Viruses*, 2016, 8: 150
- [13] Wu J, Wu Y, Lian X. Targeted inhibition of GRP78 by HA15 promotes apoptosis of lung cancer cells accompanied by ER stress and autophagy. *Biol Open*, 2020, 9: bio053298
- [14] Kim KM, Kim SG. Autophagy and microRNA dysregulation in liver diseases. *Arch Pharm Res*, 2014, 37: 1097-116
- [15] Dash S, Aydin Y, Moroz K. Chaperone-mediated autophagy in the liver: good or bad? *Cells*, 2019, 8: 1308
- [16] Li X, Wang Y, Wang H, et al. Endoplasmic reticulum stress is the crossroads of autophagy, inflammation, and apoptosis signaling pathways and participates in liver fibrosis. *Inflamm Res*, 2015, 64: 1-7
- [17] Oakes SA, Papa FR. The role of endoplasmic reticulum stress in human pathology. *Annu Rev Pathol*, 2015, 10: 173-94
- [18] Sozen E, Karademir B, Ozer NK. Basic mechanisms in endoplasmic reticulum stress and relation to cardiovascular diseases. *Free Radic Biol Med*, 2015, 78: 30-41
- [19] Fujii J, Homma T, Kobayashi S, et al. Mutual interaction between oxidative stress and endoplasmic reticulum stress in the pathogenesis of diseases specifically focusing on non-alcoholic fatty liver disease. *World J Biol Chem*, 2018, 9: 1-15
- [20] Song J, de Libero J, Wolf SE. Hepatic autophagy after severe burn in response to endoplasmic reticulum stress. *J Surg Res*, 2014, 187: 128-33
- [21] Rashid H, Kim H, Junjappa R, et al. Endoplasmic reticulum stress in the regulation of liver diseases: involvement of regulated IRE1 α and β -dependent decay and miRNA. *J Gastroenterol Hepatol*, 2017, 32: 981-91
- [22] Peralta C, Brenner C. Endoplasmic reticulum stress inhibition enhances liver tolerance to ischemia/reperfusion. *Curr Med Chem*, 2011, 18: 2016-24
- [23] Kim SY, Kyaw YY, Cheong J. Functional interaction of endoplasmic reticulum stress and hepatitis B virus in the pathogenesis of liver diseases. *World J Gastroenterol*, 2017, 23: 7657-65
- [24] Clarke R, Cook KL, Hu R, et al. Endoplasmic reticulum stress, the unfolded protein response, autophagy, and the integrated regulation of breast cancer cell fate. *Cancer Res*, 2012, 72: 1321-31
- [25] Xia SW, Wang ZM, Sun SM, et al. Endoplasmic reticulum stress and protein degradation in chronic liver disease. *Pharmacol Res*, 2020, 161: 105218
- [26] Lee S, Kim S, Hwang S, et al. Dysregulated expression of proteins associated with ER stress, autophagy and

- apoptosis in tissues from nonalcoholic fatty liver disease. *Oncotarget*, 2017, 8: 63370-81
- [27] Li Y, Chen Y, Huang H, et al. Autophagy mediated by endoplasmic reticulum stress enhances the caffeine-induced apoptosis of hepatic stellate cells. *Int J Mol Med*, 2017, 40: 1405-14
- [28] Folch-Puy E, Panisello A, Oliva J, et al. Relevance of endoplasmic reticulum stress cell signaling in liver cold ischemia reperfusion injury. *Int J Mol Sci*, 2016, 17: 807
- [29] Chen S, Melchior WB, Guo L. Endoplasmic reticulum stress in drug- and environmental toxicant-induced liver toxicity. *J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev*, 2014, 32: 83-104
- [30] Liu C, Liao J, Li P. Traditional Chinese herbal extracts inducing autophagy as a novel approach in therapy of nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol*, 2017, 23: 1964-73
- [31] Chao X, Ding W. Role and mechanisms of autophagy in alcohol-induced liver injury. *Adv Pharmacol*, 2019, 85: 109-31
- [32] Cybulsky AV. The intersecting roles of endoplasmic reticulum stress, ubiquitin-proteasome system, and autophagy in the pathogenesis of proteinuric kidney disease. *Kidney Int*, 2013, 84: 25-33
- [33] Hung T, Hsiao C, Lin C, et al. Complex cell type-specific roles of autophagy in liver fibrosis and cirrhosis. *Pathogens*, 2020, 9: 225
- [34] Zhou J, Li Y, Liu X, et al. LncRNA-regulated autophagy and its potential role in drug-induced liver injury. *Ann Hepatol*, 2018, 17: 355-63
- [35] Cybulsky AV. Endoplasmic reticulum stress, the unfolded protein response and autophagy in kidney diseases. *Nat Rev Nephrol*, 2017, 13: 681-96
- [36] Cai Y, Arikath J, Yang L, et al. Interplay of endoplasmic reticulum stress and autophagy in neurodegenerative disorders. *Autophagy*, 2016, 12: 225-44
- [37] Chao X, Wang H, Jaeschke H, et al. Role and mechanisms of autophagy in acetaminophen-induced liver injury. *Liver Int*, 2018, 38: 1363-74
- [38] Tanida I. Autophagosome formation and molecular mechanism of autophagy. *Antioxid Redox Signal*, 2011, 14: 2201-14
- [39] Liu H, Cao M, Wang Y, et al. Endoplasmic reticulum stress is involved in the connection between inflammation and autophagy in type 2 diabetes. *Gen Comp Endocrinol*, 2015, 210: 124-9
- [40] Deegan S, Saveljeva S, Gorman AM, et al. Stress-induced self-cannibalism: on the regulation of autophagy by endoplasmic reticulum stress. *Cell Mol Life Sci*, 2013, 70: 2425-41
- [41] Wang H, Liu Y, Wang D, et al. The upstream pathway of mTOR-mediated autophagy in liver diseases. *Cells*, 2019, 8: 1597
- [42] He Y, Su J, Lan B, et al. Targeting off-target effects: endoplasmic reticulum stress and autophagy as effective strategies to enhance temozolomide treatment. *Oncotargets Ther*, 2019, 12: 1857-65
- [43] Zhang Y, Cen J, Jia Z, et al. Hepatotoxicity induced by isoniazid-lipopolysaccharide through endoplasmic reticulum stress, autophagy, and apoptosis pathways in zebrafish. *Antimicrob Agents Chemother*, 2019, 63: e01639-18
- [44] Wang N, Tan H, Li S, et al. Atg9b deficiency suppresses autophagy and potentiates endoplasmic reticulum stress-associated hepatocyte apoptosis in hepatocarcinogenesis. *Theranostics*, 2017, 7: 2325-38
- [45] Yang H, Ni H, Ding W. Emerging players in autophagy deficiency-induced liver injury and tumorigenesis. *Gene Expr*, 2019, 19: 229-34
- [46] Pang X, Qiao Q, Vonglorkham S, et al. Asiatic acid ameliorates acute hepatic injury by reducing endoplasmic reticulum stress and triggering hepatocyte autophagy. *Biomed Pharmacother*, 2020, 129: 110375
- [47] Ustuner D, Kolac UK, Ustuner MC, et al. Naringenin ameliorate carbon tetrachloride-induced hepatic damage through inhibition of endoplasmic reticulum stress and autophagy in rats. *J Med Food*, 2020, 23: 1192-200
- [48] Yang L, Li P, Fu S, et al. Defective hepatic autophagy in obesity promotes ER stress and causes insulin resistance. *Cell Metab*, 2010, 11: 467-78
- [49] Wang H, Sun R, Zeng X, et al. Restoration of autophagy alleviates hepatic ER stress and impaired insulin signalling transduction in high fructose-fed male mice. *Endocrinology*, 2015, 156: 169-81
- [50] Dong G, Zhang Z, Duan K, et al. Beclin 1 deficiency causes hepatic cell apoptosis via endoplasmic reticulum stress in zebrafish larvae. *FEBS Lett*, 2020, 594: 1155-65
- [51] Ashraf NU, Sheikh TA. Endoplasmic reticulum stress and oxidative stress in the pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease. *Free Radic Res*, 2015, 49: 1405-18
- [52] Malhi H, Kaufman RJ. Endoplasmic reticulum stress in liver disease. *J Hepatol*, 2011, 54: 795-809
- [53] Smith M, Wilkinson S. ER homeostasis and autophagy. *Essays Biochem*, 2017, 61: 625-35
- [54] 徐倩, 许银丰, 杨杰杰, 等. 内质网应激与细胞自噬的关系. *中国细胞生物学学报*, 2020, 42: 1489-500
- [55] Wang H, Sun RQ, Camera D, et al. Endoplasmic reticulum stress up-regulates Nedd4-2 to induce autophagy. *FASEB J*, 2016, 30: 2549-56
- [56] Rashid H, Yadav RK, Kim H, et al. ER stress: autophagy induction, inhibition and selection. *Autophagy*, 2015, 11: 1956-77
- [57] Singh MP, Kang SC. Endoplasmic reticulum stress-mediated autophagy activation attenuates fumonisin B1 induced hepatotoxicity *in vitro* and *in vivo*. *Food Chem Toxicol*, 2017, 110: 371-82
- [58] Meng X, Dong H, Pan Y, et al. Diosgenyl saponin inducing endoplasmic reticulum stress and mitochondria-mediated apoptotic pathways in liver cancer cells. *J Agric Food Chem*, 2019, 67: 11428-35
- [59] Koh JH, Wang L, Beaudoin-Chabot C, et al. Lipid bilayer stress-activated IRE-1 modulates autophagy during endoplasmic reticulum stress. *J Cell Sci*, 2018, 131: jcs217992

- [60] Wu F, Liu W, Van Poucke S, et al. Targeting endoplasmic reticulum stress in liver disease. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*, 2016, 10: 1041-52
- [61] Wang X, Zhang X, Chu ESH, et al. Defective lysosomal clearance of autophagosomes and its clinical implications in nonalcoholic steatohepatitis. *FASEB J*, 2017, 32: 37-51
- [62] Kim HJ, Joe Y, Kim S, et al. Carbon monoxide protects against hepatic steatosis in mice by inducing sestrin-2 via the PERK-eIF2 α -ATF4 pathway. *Free Radic Biol Med*, 2017, 110: 81-91
- [63] Pagliassotti MJ. Endoplasmic reticulum stress in nonalcoholic fatty liver disease. *Annu Rev Nutr*, 2012, 32: 17-33
- [64] Lebeauin C, Vallée D, Hazari Y, et al. Endoplasmic reticulum stress signalling and the pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol*, 2018, 69: 927-47
- [65] Zalckvar E, Berissi H, Mizrachy L, et al. DAP-kinase-mediated phosphorylation on the BH3 domain of beclin 1 promotes dissociation of beclin 1 from Bcl-XL and induction of autophagy. *EMBO Rep*, 2009, 10: 285-92
- [66] Bak D, Na J, Choi MJ, et al. Anti-apoptotic effects of human placental hydrolysate against hepatocyte toxicity *in vivo* and *in vitro*. *Int J Mol Med*, 2018, 42: 2569-83
- [67] Crighton D, Wilkinson S, O'Prey J, et al. DRAM, a p53-induced modulator of autophagy, is critical for apoptosis. *Cell*, 2006, 126: 121-34
- [68] Liu K, Shi Y, Guo X, et al. CHOP mediates ASPP2-induced autophagic apoptosis in hepatoma cells by releasing Beclin-1 from Bcl-2 and inducing nuclear translocation of Bcl-2. *Cell Death Dis*, 2014, 5: e1323
- [69] Hoyer-Hansen M, Jaattela M. Connecting endoplasmic reticulum stress to autophagy by unfolded protein response and calcium. *Cell Death Differ*, 2007, 14: 1576-82
- [70] Hoyer-Hansen M, Bastholm L, Szyniarowski P, et al. Control of macroautophagy by calcium, calmodulin-dependent kinase kinase- β , and Bcl-2. *Mol Cell*, 2007, 25: 193-205
- [71] Di Fazio P, Matrood S. Targeting autophagy in liver cancer. *Transl Gastroenterol Hepatol*, 2018, 3: 39
- [72] Yang Y, Ma F, Liu Z, et al. The ER-localized Ca²⁺-binding protein calreticulin couples ER stress to autophagy by associating with microtubule-associated protein 1A/1B light chain 3. *J Biol Chem*, 2019, 294: 772-82
- [73] Demarchi F, Bertoli C, Copetti T, et al. Calpain is required for macroautophagy in mammalian cells. *J Cell Biol*, 2006, 175: 595-605
- [74] Yousefi S, Perozzo R, Schmid I, et al. Calpain-mediated cleavage of Atg5 switches autophagy to apoptosis. *Nat Cell Biol*, 2006, 8: 1124-32
- [75] Atef MM, Hafez YM, Alshenawy HA, et al. Ameliorative effects of autophagy inducer, simvastatin on alcohol-induced liver disease in a rat model. *J Cell Biochem*, 2018, 120: 7679-88
- [76] Lin C, Zhang H, Li M, et al. Pharmacological promotion of autophagy alleviates steatosis and injury in alcoholic and non-alcoholic fatty liver conditions in mice. *J Hepatol*, 2013, 58: 993-9
- [77] Khambu B, Wang L, Zhang H, et al. The activation and function of autophagy in alcoholic liver disease. *Curr Mol Pharmacol*, 2017, 10: 165-71
- [78] Wang L, Zhu G, Shi K, et al. Autophagy in ethanol-exposed liver disease. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*, 2015, 9: 1031-7
- [79] Wang H, Zhu Y, Wang L, et al. Mangiferin ameliorates fatty liver via modulation of autophagy and inflammation in high-fat-diet induced mice. *Biomed Pharmacother*, 2017, 96: 328-35
- [80] Miyagawa K, Oe S, Honma Y, et al. Lipid-induced endoplasmic reticulum stress impairs selective autophagy at the step of autophagosome-lysosome fusion in hepatocytes. *Am J Pathol*, 2016, 186: 1861-73
- [81] Ogino N, Miyagawa K, Kusanaga M, et al. Involvement of sarco/endoplasmic reticulum calcium ATPase-mediated calcium flux in the protective effect of oleic acid against lipotoxicity in hepatocytes. *Exp Cell Res*, 2019, 385: 111651
- [82] Jung TW, Kim H, Abd El-Aty AM, et al. Maresin 1 attenuates NAFLD by suppression of endoplasmic reticulum stress via AMPK-SERCA2b pathway. *J Biol Chem*, 2018, 293: 3981-8
- [83] González-Rodríguez Á, Mayoral R, Agra N, et al. Impaired autophagic flux is associated with increased endoplasmic reticulum stress during the development of NAFLD. *Cell Death Dis*, 2014, 5: e1179
- [84] Tanaka S, Hikita H, Tatsumi T, et al. Rubicon inhibits autophagy and accelerates hepatocyte apoptosis and lipid accumulation in nonalcoholic fatty liver disease in mice. *Hepatology*, 2016, 64: 1994-2014
- [85] Ding S, Jiang J, Zhang G, et al. Resveratrol and caloric restriction prevent hepatic steatosis by regulating SIRT1-autophagy pathway and alleviating endoplasmic reticulum stress in high-fat diet-fed rats. *PLoS One*, 2017, 12: e0183541
- [86] Jung TW, Hong HC, Hwang H, et al. C1q/TNF-related protein 9 (CTRP9) attenuates hepatic steatosis via the autophagy-mediated inhibition of endoplasmic reticulum stress. *Mol Cell Endocrinol*, 2015, 417: 131-40
- [87] Cui F, Hu HF, Guo J, et al. The effect of autophagy on chronic intermittent hypobaric hypoxia ameliorating liver damage in metabolic syndrome rats. *Front Physiol*, 2020, 11: 13
- [88] Huang YH, Yang YL, Huang FC, et al. MicroRNA-29a mitigation of endoplasmic reticulum and autophagy aberrance counteracts in obstructive jaundice-induced fibrosis in mice. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2018, 243: 13-21
- [89] Hernandez-Gea V, Hilscher M, Rozenfeld R, et al. Endoplasmic reticulum stress induces fibrogenic activity in hepatic stellate cells through autophagy. *J Hepatol*, 2013, 59: 98-104
- [90] San-Miguel B, Crespo I, Sánchez DI, et al. Melatonin inhibits autophagy and endoplasmic reticulum stress in mice with carbon tetrachloride-induced fibrosis. *J Pineal Res*, 2015, 59: 151-62

- [91] Li J, Zhang L, Xia Q, et al. Hedgehog signaling inhibitor GANT61 induces endoplasmic reticulum stress-mediated protective autophagy in hepatic stellate cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 493: 487-93
- [92] Kawasaki K, Ushioda R, Ito S, et al. Deletion of the collagen-specific molecular chaperone Hsp47 causes endoplasmic reticulum stress-mediated apoptosis of hepatic stellate cells. *J Biol Chem*, 2015, 290: 3639-46
- [93] Men R, Wen M, Dan X, et al. Nogo-B: a potential indicator for hepatic cirrhosis and regulator in hepatic stellate cell activation. *Hepatol Res*, 2015, 45: 113-22
- [94] Liu X, Liu J. Tanshinone I induces cell apoptosis by reactive oxygen species-mediated endoplasmic reticulum stress and by suppressing p53/DRAM-mediated autophagy in human hepatocellular carcinoma. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2020, 48: 488-97
- [95] Rodríguez-Hernández MA, González R, de la Rosa AJ, et al. Molecular characterization of autophagic and apoptotic signaling induced by sorafenib in liver cancer cells. *J Cell Physiol*, 2019, 234: 692-708
- [96] Lv S, Qiao X. Isoviteixin (IV) induces apoptosis and autophagy in liver cancer cells through endoplasmic reticulum stress. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 496: 1047-54
- [97] Zaouali MA, Boncompagni E, Reiter RJ, et al. AMPK involvement in endoplasmic reticulum stress and autophagy modulation after fatty liver graft preservation: a role for melatonin and trimetazidine cocktail. *J Pineal Res*, 2013, 55: 65-78
- [98] Nakamura K, Kageyama S, Ito T, et al. Antibiotic pretreatment alleviates liver transplant damage in mice and humans. *J Clin Invest*, 2019, 129: 3420-34
- [99] Liu F, Zhang J, Qian J, et al. Baicalin attenuates liver hypoxia/reoxygenation injury by inducing autophagy. *Exp Ther Med*, 2018, 16: 657-64
- [100] Zhang T, Yan J, Wang N, et al. Autophagy may protect against parenteral nutrition-associated liver disease by suppressing endoplasmic reticulum stress. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*, 2019, 43: 96-106
- [101] Honma Y, Sato-Morita M, Katsuki Y, et al. Trehalose activates autophagy and decreases proteasome inhibitor-induced endoplasmic reticulum stress and oxidative stress-mediated cytotoxicity in hepatocytes. *Hepatol Res*, 2018, 48: 94-105