

细胞自噬在白内障形成过程中的研究进展

赵楚楚,葛红岩,刘平

基金项目:国家自然科学基金(青年)(No. 81300728);国家自然科学基金资助(No. 81470618)

作者单位:(150001)中国黑龙江省哈尔滨市,哈尔滨医科大学附属第一医院眼科医院

作者简介:赵楚楚,女,在读硕士研究生,研究方向:白内障发病机制的基础研究。

通讯作者:刘平,男,主任医师,教授,博士硕士生导师,中华医学会眼科专业委员会委员,中华医学会眼科专业委员会白内障学会组委员,中华医学会眼科专业委员会防盲治盲组委员,研究方向:角膜病、晶状体疾病的基础和临床。pingliu53@126.com

收稿日期:2015-10-13 修回日期:2015-11-12

Research progress of cell autophagy during cataract formation

Chu-Chu Zhao, Hong-Yan Ge, Ping Liu

Foundation items: National Natural Science Foundation of China (Youth Science Foundation) (No. 81300728); National Natural Science Foundation of China (No. 81470618)

Eye Hospital, the First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China

Correspondence to: Ping Liu. Eye Hospital, the First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China. pingliu53@126.com

Received: 2015-10-13 Accepted: 2015-11-12

Abstract

Autophagy, the main degradation process of organelles, protein and other substances in the eukaryotic cells, plays an important role in the maintenance of homeostasis. Lens is a transparent tissue without vessel, which is mainly composed of a layer of epithelium cells and differentiating fiber cells. To maintain the transparency of lens, lenticular cells degrade their organelles and abnormal aggregated protein through autophagy. Abnormal function of autophagy is closely related to the formation of cataract. This article is aimed to introduce the related knowledge of autophagy and summarize the research progress of autophagy in the procedure of cataract formation.

KEYWORDS: autophagy; cataract; gene mutations

Citation: Zhao CC, Ge HY, Liu P. Research progress of cell autophagy during cataract formation. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2015;15(12):2076-2078

摘要

自噬(autophagy)是真核细胞中细胞器以及蛋白质等物质降解的主要过程,在维持体内平衡的过程中起到重要作

用。人眼晶状体是一个由上皮细胞以及其分化而来的纤维细胞共同组成的无血管透明器官,晶状体细胞主要通过自噬途径来降解细胞器以及异常聚集的蛋白质以维持晶状体的透明。自噬功能的异常与白内障的发生发展密切相关。本文就自噬相关内容进行介绍,并概括总结了近年来细胞自噬在白内障形成过程中的研究进展。

关键词:自噬;白内障;基因突变

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2015.12.13

引用:赵楚楚,葛红岩,刘平.细胞自噬在白内障形成过程中的研究进展.国际眼科杂志 2015;15(12):2076-2078

0 引言

自噬是真核细胞中质溶性细胞器、长期存在的蛋白以及错误折叠蛋白降解的主要过程,在维持体内平衡过程中起到重要作用^[1]。自噬具有抵御各种细菌、病毒入侵的防御功能,同时自噬的异常也与许多疾病密切相关,其中包括神经变性疾病、心肌病、Crohn病、脂肪肝、2型糖尿病以及白内障等^[2-5]。白内障,即晶状体混浊并在一定程度上影响视力,是眼科疾病中的常见疾病,也是致盲的主要眼病。据统计,在全世界370万盲人当中有47.8%患者是由白内障造成的^[6]。因此,对于自噬在白内障形成过程中的作用也成为了关注的热点。

1 自噬的概述

自噬是真核细胞用于降解细胞内受损细胞器和积累蛋白质的基本的溶酶体分解代谢通路,是维持体内平衡以及内环境稳定的重要机制。真核细胞中蛋白降解主要通过两个机制完成:蛋白酶体机制以及自噬^[7]。自噬的发生可以分为以下几个步骤:自噬的诱导、底物识别、自噬体成核、延伸及形成、自噬体与溶酶体/空泡的融合、底物分解及大分子物质回收利用^[8]。细胞的自噬活性在基础条件下是比较低的,但其可被许多细胞外信号所诱导,最常见的诱导因素是细胞饥饿,此外还可以被其他因素(如缺氧、能量消耗、内质网压力、高温)、激素、药物刺激(如雷帕霉素)、固有免疫信号和疾病所激活^[9]。自噬主要有三种形式:巨自噬、微自噬以及分子伴侣介导性自噬。巨自噬是自噬最普遍的一种形式,在自噬的诱导下,胞浆中首先出现一个来自于粗面内质网无核糖体附着区以及高尔基体的“C”型双层膜状结构^[10-11],随后膜的两个末端不断延伸,将胞浆中需要降解的物质以及细胞器包裹在其中,最终闭合形成自噬体。自噬体形成后,其外膜与溶酶体膜相融合,底物被释放到溶酶体中,在溶酶体多种酶的作用下发生降解^[12]。在微自噬过程中,溶酶体膜包裹着胞浆中需降解的底物发生内陷,最终脱落形成一类似自噬体的囊泡^[13]。分子伴侣介导性自噬不包含囊泡的运输,当胞浆内含有特殊肽链的蛋白被分子伴侣复合体识别后,该蛋白会与溶酶体膜上的受体(Lamp 2a)相结合,在分子伴侣

以及 Lamp 2a 的作用下被运送至溶酶体内发生降解^[14]。自噬发生过程中以下几个功能单位起到重要作用:(1) 诱导自噬的 ULK1 激酶复合体;(2) 介导膜结构循环利用的 Atg9;(3) 负责囊泡的成核阶段的 PI3K 激酶复合体 (Vps34-Beclin1-Vps15);(4) PI(3)P-连接的 Atg2-Atg18 复合体;(5) Atg12-Atg5-Atg16L 连接系统;(6) Atg8 连接系统^[15]。巨自噬的分子机制与自噬相关基因 (Atgs), 及其所编码的蛋白--自噬相关蛋白 (ATGs) 密切相关。目前,已有 35 个已知的 ATG 在自噬以及胞质-空泡靶向途径中被发现^[16]。

2 自噬在晶状体中的作用

晶状体是由晶状体囊包裹的无血管、透明结构,其功能是将光线汇聚至视网膜^[17]。晶状体主要是由未分化的单层立上皮细胞以及由其分化而来的纤维细胞组成,在上皮细胞向成熟的纤维细胞分化过程中会伴随着线粒体、细胞核以及其他细胞器的降解^[18],如晶状体细胞不能完成此分化过程,致使晶状体细胞发育异常,影响其透明性,从而引发遗传性白内障的形成。同时环境中的应激因素也会致使晶状体细胞发生不恰当的防御以及修复功能,导致白内障^[19-20]。研究表明,自噬在细胞发育、年龄相关性疾病以及神经退行性疾病中起到重要作用^[21-25]。自噬过程能够降解并回收利用晶状体细胞当中受损的细胞器以及蛋白,在晶状体细胞分化及抵御外界环境因素影响的过程中起到重要的作用,因此自噬的缺失或异常会导致白内障的发生。

3 自噬在白内障发生过程中的研究进展

目前自噬已被证实在许多组织器官的分化、发育以及抗氧化过程中起到重要作用,许多研究表明 Atg5、Vsp34 以及 FYCO1 等自噬基因在维持晶状体透明的过程中起到重要作用。在人的晶状体上皮细胞以及纤维细胞中共有 14 个自噬基因在自噬诱导过程中表达,8 个自噬基因在自噬囊泡延长过程中起作用,6 个基因参与了自噬体与溶酶体的融合过程,8 个基因参与了自噬的一些次级通路包括线粒体自噬以及分子伴侣介导的自噬^[1]。白内障的形成与晶状体内蛋白的异常积累密切相关,而细胞内蛋白的积累主要源于长期的紫外线照射、应激条件以及某些特殊的基因突变^[26],因此可以推测自噬的异常可以导致晶状体内蛋白的集聚,引起白内障的发生。

3.1 细胞自噬参与白内障的发生 Morishita 等^[27]发现,通过对 Atg5 缺乏的小鼠的研究表明自噬在抑制年龄相关性白内障的过程中不可或缺,但并不影响晶状体纤维细胞中细胞器的降解。研究证实,特异性敲除 Atg5 的 Atg5^{fllox/fllox;MLR10-Cre} 鼠,在出生后 5mo 内,晶状体保持透明;6~9mo 时晶状体开始出现混浊,并且随着年龄的增长而逐渐加重;21mo 后开始出现白内障。同时 Atg5^{fllox/fllox;MLR10-Cre} 鼠晶状体细胞中的自噬体形成过程受到抑制,晶状体皮质区的晶状体纤维细胞发生紊乱,泛素化蛋白、P62 蛋白、不溶性的氧化蛋白以及晶状体蛋白会发生积累。因此可以推测,Atg5 可能是通过一个独立的自噬过程来完成对氧化蛋白 P62 以及不溶晶状体蛋白等的降解,从而维持晶状体的透明。

Pik3c3 (即 Vsp34),是一种 III 级的磷脂酰肌醇激酶,包含在不依赖 Atg5 的自噬通路当中,并且在上游的 ULK1 复合体中起重要作用。Morishita 等研究表明,在特异性敲除 Pik3c3 的 Pik3c3^{fllox/fllox} 鼠模型中,自噬在胚胎时期即受

到抑制,同时会引起泛素化蛋白以及 p62 蛋白的聚集;Pik3c3 的缺失不会影响晶状体初级纤维细胞中细胞器的降解,但其在晶状体发育过程中起到重要作用。此外,Pik3c3 缺失的 Pik3c3^{fllox/fllox} 鼠模型会发生先天性白内障以及小眼球畸形,这也凸显了 Pik3c3 在白内障发生过程中的重要作用。

α 晶状体蛋白是由多个亚基组成的异源性多聚体,在有脊椎动物的晶状体中高表达,主要由 α A-晶状体蛋白及 α B 晶状体蛋白组成。晶状体上皮细胞中的 α 晶状体蛋白可以抑制应激损伤所产生的异常蛋白质的聚集,从而维持晶状体透明。 α A-晶状体蛋白主要在晶状体内表达,Andley 等研究发现,基因敲入的 α A-R49C^{+/-} 鼠在出生后 1~2mo 会发生白内障,而 α A-R49C^{+/+} 鼠出生后即可发生白内障^[28]。在 R49C 基因突变的鼠模型中,自噬体的形成受到影响,自噬水平降低,同时 p62 蛋白发生聚集,晶状体蛋白的水溶性降低,导致晶状体不透明,引发白内障的形成。

α B 晶状体蛋白广泛存在于除晶状体之外的其他组织中,包括视网膜、大脑、心脏、肾脏以及肌肉组织当中^[29]。Andley 等研究发现,在 α B-R120G 基因敲入的小鼠模型当中,晶状体蛋白发生聚集同时 α B 晶状体蛋白变得难溶于水,从而引发晶体的不透明形成白内障^[30]。Wignes 等研究表明,在 R120G 基因突变的 α B-R120G^{+/+} 鼠晶状体中 P62 蛋白的表达含量、团块大小均较 α B-R120G^{+/-} 鼠以及 α B-R120G^{-/-} 鼠明显增多。 α B-R120G^{+/+} 鼠晶状体上皮细胞当中的自噬体也大于 α B-R120G^{+/-} 鼠。同时,皮质纤维细胞中的自噬体结构在 α B-R120G^{+/+} 鼠晶状体中表达更为丰富。由此可见, α B-R120G 突变的小鼠晶状体中自噬过程受到抑制,从而影响了 p62 蛋白以及异常聚集蛋白质的降解,致使晶状体不透明,引发白内障。

3.2 自噬基因参与人类白内障的发生 先天性白内障是婴幼儿主要的致盲眼病之一,其发生与自噬基因 FYCO1 以及 FYVE 密切相关^[31]。FYCO1 是存在于 FYVE 区域以及卷曲螺旋区域的蛋白,并且已被证实其位于自噬体标记物 LC3B 以及溶酶体中^[22],在自噬体向溶酶体运输的过程中起到重要作用^[32]。Pankiv 等^[33]证实 FYCO1 介导了自噬体的微管正端移动。Behrends 等研究发现,FYCO1 与两种微管机动蛋白 KIF5B 和 KIF23 以及 C7orf28A 密切相关,这提示 FYCO1 在囊泡的集合运输当中起到一个平台的作用^[34-35]。先天性白内障患者由于晶状体细胞中缺少了 FYCO1,抑制了自噬体从细胞核周向细胞边缘的运输,从而导致大量囊泡的聚集,致使晶状体的不透明,引发白内障。由此可见,FYCO1 的突变是先天性白内障发生的主要诱因,从而也说明了自噬在维持晶状体透明的过程当中起到重要作用^[36]。

CX50 是一种在晶状体中表达的连接蛋白,其功能是形成缝隙连接,由于此蛋白半衰期只有几个小时,因此可迅速地通过自噬通路发生降解。Berthoud 等^[37]研究显示,白内障相关的 CX50P88S 突变可引起胞质中内质网来源的物质聚集并长期存在,影响其降解。Lichtenstein 等^[38]证实 CX50 与自噬相关蛋白 P62 以及 LC3 具有共区域化,突变型 CX50P88S 在基础自噬调节下其降解率是很低的,其被认为是一种错误折叠蛋白,可通过内质网应激的方式诱导自噬的发生,但是即便如此,正常营养水平的自噬也不足以清除胞浆内积累的 CX50P88S,从而使其在细胞内聚集,引发白内障。

CHMP4B 是三个人类直系同源的哺乳动物 Snf7/Vps32 基因之一,其功能是在内体-溶酶体途径中分类以及运输蛋白质。CHMP4B 是 ESCRT-III 的重要组成部分,同时也在胞质分裂以及自噬过程中起到重要作用。Shiels 等^[39]研究表明在染色体 20q 上 CHMP4B 的基因突变(p. D129V, p. E161K),影响了 ESCRT 的功能,从而引起晶状体的不透明,引发白内障。那么是否 CHMP4B 的突变同样影响了自噬相关途径,使细胞器以及蛋白降解受到影响,从而引发晶状体的不透明还有待于进一步的探索和研究。

4 展望

自噬作为细胞内蛋白降解的主要途径,在维持细胞内蛋白合成与降解的动态平衡过程中发挥着不可或缺的作用。许多研究已证实细胞自噬在维持晶状体透明的过程中意义非凡,相关自噬基因参与了白内障的发生发展,那么,在今后的研究中是否我们可以通过对自噬基因或者自噬通路的相关调控,来减缓或者控制白内障的发生,还有待于进一步的探索及研究。

参考文献

- 1 Frost LS, Mitchell CH, Boesze-Battaglia K. Autophagy in the eye: implications for ocular cell health. *Exp Eye Res* 2014;124:56-66
- 2 Eskelinen EL, Saftig P. Autophagy: a lysosomal degradation pathway with a central role in health and disease. *Biochim Biophys Acta* 2009;1793(4):664-673
- 3 Levine B, Kroemer G. Autophagy in the pathogenesis of disease. *Cell* 2008;132(1):27-42
- 4 Mizushima N, Levine B, Cuervo AM, et al. Autophagy fights disease through cellular self-digestion. *Nature* 2008;451(7182):1069-1075
- 5 Münz C. Enhancing immunity through autophagy. *Annu Rev Immunol* 2009;27:423-449
- 6 Resnikoff S, Pascolini D, Etya'ale D, et al. Global data on visual impairment in the year 2002. *Bull World Health Organ* 2004;82(11):844-851
- 7 Wignes JA, Goldman JW, Wehl CC, et al. p62 expression and autophagy in α B-crystallin R120G mutant knock-in mouse model of hereditary cataract. *Exp Eye Res* 2013;11(5):263-273
- 8 Huang J, Klionsky DJ. Autophagy and human disease. *Cell Cycle* 2007;6(15):1837-1849
- 9 Mizushima N, Levine B. Autophagy in mammalian development and differentiation. *Nat Cell Biol* 2010;12(9):823-830
- 10 Dunn WA. Studies on the mechanisms of autophagy: formation of the autophagic vacuole. *J Cell Biol* 1990;110(6):1923-1933
- 11 Yamamoto A, Masaki R, Tashiro Y. Characterization of the isolation membranes and the limiting membranes of autophagosomes in rat hepatocytes by lectin cytochemistry. *J Histochem Cytochem* 1990;38(4):573-580
- 12 Yoshimori T. Autophagy: a regulated bulk degradation process inside cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2004;313(2):453-458
- 13 Klionsky DJ, editor. Autophagy. Georgetown, TX: Landes Bioscience 2004:107-114
- 14 Majeski AE, Dice JF. Mechanisms of chaperone-mediated autophagy. *Int J Biochem Cell Biol* 2004;36(12):2435-2444
- 15 Kim J, Kamada Y, Stromhaug PE, et al. Cvt9/Gsa9 functions in sequestering selective cytosolic cargo destined for the vacuole. *J Cell Biol* 2001;153(2):381-396
- 16 Stromhaug PE, Klionsky DJ. Approaching the molecular mechanism of autophagy. *Traffic* 2001;2(8):524-531

- 17 Brown NP, Bron AJ. Lens disorders: a clinical manual of cataract diagnosis. *Ophthalmic Literature* 1996;1(49):64
- 18 Shiels A, Hejtmancik JF. Genetic origins of cataract. *Arch Ophthalmol* 2007;125(2):165-173
- 19 Brennan LA, McGreal RS, Kantorow M. Oxidative stress defense and repair systems of the ocular lens. *Front Biosci (Elite Ed)* 2011;4(1):141-155
- 20 Brennan LA, Kantorow M. Mitochondrial function and redox control in the aging eye: role of MsrA and other repair systems in cataract and macular degenerations. *Exp Eye Res* 2009;88(2):195-203
- 21 Mizushima N, Levine B. Autophagy in mammalian development and differentiation. *Nat Cell Biol* 2010;12(9):823-830
- 22 Cuervo AM, Bergamini E, Brunk UT, et al. Autophagy and aging: the importance of maintaining "clean" cells. *Autophagy* 2005;1(3):131-140
- 23 Vellai T. Autophagy genes and ageing. *Cell Death Differ* 2009;16(1):94-102
- 24 Harris H, Rubinsztein DC. Control of autophagy as a therapy for neurodegenerative disease. *Nat Rev Neurol* 2012;8(2):108-117
- 25 Son JH, Shim JH, Kim KH, et al. Neuronal autophagy and neurodegenerative diseases. *Exp Mol Med* 2012;44(2):89-98
- 26 Bloemendal H, de Jong W, Jaenicke R, et al. Ageing and vision: structure, stability and function of lens crystallins. *Prog Biophys Mol Biol* 2004;86(3):407-485
- 27 Morishita H, Eguchi S, Kimura H, et al. Deletion of autophagy-related 5 (Atg5) and Pik3c3 genes in the lens causes cataract independent of programmed organelle degradation. *J Biol Chem* 2013;288(16):11436-11447
- 28 Van Rijk AF, Bloemendal H. Alpha-B-crystallin in neuropathology. *Ophthalmologica* 2000;214(1):7-12
- 29 Andley UP, Goldman JW. Autophagy and UPR in alpha-crystallin mutant knock-in mouse models of hereditary cataracts. *Biochim Biophys Acta* 2015; Available on line
- 30 Kabeya Y, Mizushima N, Yamamoto A, et al. LC3, GABARAP and GATE16 localize to autophagosomal membrane depending on form-II formation. *J Cell Sci* 2004;117(13):2805-2812
- 31 Chen J, Ma Z, Jiao X, et al. Mutations in FYCO1 cause autosomal-recessive congenital cataracts. *Am J Hum Genet* 2011;88(6):827-838
- 32 Pankiv S, Alemu EA, Brech A, et al. FYCO1 is a Rab7 effector that binds to LC3 and PI3P to mediate microtubule plus end-directed vesicle transport. *J Cell Biol* 2010;188(2):253-269
- 33 Pankiv S, Johansen T. FYCO1: linking autophagosomes to microtubule plus end-directing molecular motors. *Autophagy* 2010;6(4):550-552
- 34 Behrends C, Sowa ME, Gygi SP, et al. Network organization of the human autophagy system. *Nature* 2010;466(7302):68-76
- 35 Cardoso CM, Groth-Pedersen L, Høyer-Hansen M, et al. Depletion of kinesin 5B affects lysosomal distribution and stability and induces perinuclear accumulation of autophagosomes in cancer cells. *PLoS One* 2009;4(2):e4424
- 36 Chen J, Ma Z, Jiao X, et al. Mutations in FYCO1 cause autosomal-recessive congenital cataracts. *Am J Hum Genet* 2011;88(6):827-838
- 37 Berthoud VM, Minogue PJ, Guo J, et al. Loss of function and impaired degradation of a cataract-associated mutant connexin50. *Eur J Cell Biol* 2003;82(5):209-221
- 38 Lichtenstein A, Minogue PJ, Beyer EC, et al. Autophagy: a pathway that contributes to connexin degradation. *J Cell Sci* 2011;124(6):910-920
- 39 Shiels A, Bennett TM, Knopf HLS, et al. CHMP4B, a novel gene for autosomal dominant cataracts linked to chromosome 20q. *Am J Hum Genet* 2007;81(3):596-606