·综述·

内质网在细胞凋亡中的作用

李卉丽　刘爽　韩济生　于常海

凋亡是所有多细胞组织的重要的基本功能。凋亡发生的生物化学和形态变化在从线虫到人类的不同种属间高度保守[1],对于胚胎发育和正常细胞稳态的维持有非常重要的意义。现已证明细胞凋亡功能的丧失可以促进肿瘤和自身免疫疾病的发生;而凋亡过度又可以引发退行性改变,如免疫缺陷和神经系统退行性疾病等[1, 2]。所以凋亡过程的正确调控对机体具有极其重要的意义。

多种因素可以触发凋亡。细胞膜上的"死亡受体"如肿瘤坏死因子受体 1及 CD95/Fas/Apo1受体等可激活细胞外源通路,活化半胱氨酸水解蛋白酶 (Caspase) 8/10引起凋亡;而细胞内部稳态改变,如钙浓度或线粒体功能改变,可以激活内源通路,通过 Smac/DIABLO、细胞色素 c、Apaf-1等活化 Caspase-9引发凋亡[3-5]。已证实凋亡早期,在各细胞器的超微形态结构仍保持完整的情况下,大部分细胞器的生物化学物质变化已经发生,特别是蛋白的水解和细胞膜结构通透性的改变等[3]。由于功能特点的差异,不同的细胞器对不同的变化因素敏感,从而单独或协同参与凋亡发生。

内质网在细胞内分布广泛,是最大的细胞器,其内膜面积占细胞所有膜结构的 50%,体积占细胞总体积的 10%,参与重要生理功能的维持,主要负责蛋白质的合成转运、信号肽识别、糖基化修饰等过程和钙离子的贮存,信号转导及细胞内钙的再分布。光面内质网还参与类固醇激素的合成等[6]。内质网巨大的膜结构在细胞内提供了一个宽广的分子组装、反应平台,使之在多种信号调控中起到关键作用。最近的研究证据表明内质网也是细胞凋亡调节中的重要环节之一。

一、内质网和细胞凋亡

(一) 内质网应激引起的细胞凋亡

内质网应激是指由于内质网稳态受到破坏后的一系列分子、生化改变。内质网应激包括:内质网未折叠蛋白质反应 (unfolded protein response, UPR)[5, 7]、内质网超负荷反应和固醇调节级联反应[8]。内质网是细胞内完成蛋白质折叠修饰的主要场所,目前研究报道主要集中在 UPR过程。UPR是真核细胞对于各种原因引发的内质网未折叠蛋白质积累的生存适应性反应,可通过多种从内质网腔到细胞浆或胞核的信号传导实现[9]。

UPR的启动在早期是保护作用,使大部分蛋白质合成停滞,减轻内质网负荷;加速内质网伴侣基因、蛋白质表达,如 Bip/Grp78,钙联接蛋白 (Calnexin), GRP94等协助蛋白质折叠;发生内质网相关降解,清除不能正确折叠的蛋白质等[3, 8, 10],从而积极重建细胞内稳态。当内质网应激过度,稳态重建失败时, UPR则可以导致发生内质网负荷过度的细胞凋亡。各种内质网应激伴侣分子在此过程中发挥了重要调控作用,是内质网应激过程中,复杂存亡控制的关键因素。内质网伴侣主要包括 Calnexin、钙网蛋白、Bip、Grp94、CHOP等。生理情况下,内质网伴侣分子主要有以下功能:参与并监控蛋白质折叠,如 Bip, Calnexin等;识别降解不能正确折叠的蛋白质,如泛素;通过钙泵贮存细胞内的钙;反馈性地调节内质网伴侣的表达量[11]。应激过程中内质网伴侣分子是一柄双刃剑,具有双重作用。如 Bip可以结合内质网上具有酶活性的跨膜蛋白,起到保护作用; CHOP则可以抑制 Bip和抗凋亡基因 Bcl-2的表达,耗竭谷胱甘肽,诱导氧自由基,促进损伤、凋亡。

当损伤超过修复能力时,内质网应激将引发细胞凋亡[7, 12]。内质网有其特异的凋亡机制,在鼠类的研究结果显示,与其他凋亡机制不同,内质网发出的凋亡信号在进入凋亡的共同通路激活 Caspase-3之前,可特异性地激活 Caspase-12。Caspase-12位于内质网胞浆面,以前体形式存在,仅特异性地被内质网信号通路水解活化,内质网的钙离子异常可直接激活 Caspase-12。激活的 Caspase-12进一步激活 Caspase-9, Caspase-9激活下游的 Caspase-3,进入细胞凋亡的最终通路; Caspase-9还可以正反馈地激活 Caspase-12,放大细胞凋亡作用[3, 7]。但在人类的研究中发现人缺少有功能的 Caspase-12。人 Caspase-4/5与 Caspase-12分别有 48%、45%的同源性,而且具有相似的切割位点。最近发现 Caspase-4也位于内质网上,可以被内质网应激激活,所以在人类中 Caspase-4可能起到了 Caspase-12的替代作用[13]。

在哺乳动物内质网上有 3种跨膜蛋白质 (Ire-1α、PERK、ATF-6)参与 UPR过程。正常情况下, Ire-1α与 PERK和 Bip/Grp78复合体结合。积累的未折叠蛋白质竞争性与 Bip/Grp78复合体结合,从而使 Ire-1α和 PERK解离。Ire-1α和 PERK均是一种跨膜的丝/苏氨酸激酶。解离的 Ire-1α具有核酸酶活性,可以剪切 28S核糖体 RNA,从而阻遏蛋白质翻译;产生 bZIP转录因子提高内质网应激分子如 CHOP/GADD152的表达; Ire-1α还可通过形成 Ire-1α/TRAF2复合体激活 JNK通路,活化 Caspase-12,引发凋亡[3, 7]。此外,研究表明 Ire-1α过表达也可以激活 Caspase-12。PERK在与 Bip/Grp78解离后,磷酸化真核细胞翻译起始因子 2α,使之

作者单位: 100083北京大学神经科学研究所 教育部神经科学重点实验室 北京大学医学部神经生物学系

通讯作者:于常海, Email: achy@bjmu.edu.cn

© 1994-2008 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

不能重新进入蛋白质翻译复合体循环利用,从而抑制所有蛋白质的翻译过程[7, 14]。ATF-6在内质网应激时,其细胞浆bZIP转录因子区进入细胞核,从而加强内质网应激分子的表达。最终过度的UPR将导致CHOP/GADD152的大量表达,CHOP/GADD152作为转录因子,可以抑制Bcl-2的表达,削弱抗凋亡能力,敏化内质网应激反应,进一步促进凋亡[12]。

(二)内质网钙引起的细胞凋亡

细胞内游离钙浓度的变化参与细胞内绝大多数信号传导,调节大部分的细胞功能。内质网是细胞内巨大的钙库,研究证明多种刺激因素可以引起内质网内钙离子的动态变化,继而引发迅速或持久的改变,决定细胞的命运。内质网钙流动的机制主要有:钙诱导的钙释放[主要通过ryanodine (RyR)受体],激活代谢受体通过三磷酸肌醇诱导的钙释放(主要通过三磷酸肌醇受体)和通过肌浆网钙泵的钙摄取。通过以上调控,共同维持内质网内钙离子的动态平衡[4, 6]。

内质网钙离子的释放在多种凋亡实验中被观察到。内质网的钙释放参与Bad和Caspase在不同诱因凋亡中的激活;三磷酸肌醇介导的钙离子释放与凋亡直接相关[7]。破坏内质网内钙离子的稳态可以导致内质网应激,包括内质网超负荷反应和前述的UPR反应,激活凋亡通路。其中内质网超负荷反应以激活转录因子NF-κB为主要特点,启动多种前炎性蛋白和细胞粘附分子的转录表达,对凋亡进行调控。

内质网是完成蛋白质四级结构折叠形成的部位,在内质网内存在着多组相关的酶系统,如肽基脯氨酸异构酶、糖基化酶、葡萄糖调控蛋白、蛋白质二硫键异构酶和各种应激分子伴侣(如钙网蛋白)。实验证实这些蛋白质中的大部分功能与钙离子的动态变化密切相关[4, 6]。所以,内质网内钙离子稳态的改变可作用于内质网功能的多个环节,引发细胞凋亡[4, 6]。

(三)内质网上BCL-2家族参与细胞凋亡

Bcl-2家族成员参与内质网凋亡与抗凋亡过程,根据结构和功能可分为三类:i) 具有抗凋亡作用的Bcl-2, Bcl-XL等;ii) 感受触发凋亡的BH3单结构域成员主要位于线粒体上,但Bik, Bim和Noxa等单结构域成员在内质网上也存在;iii) 多结构域成员Bax和Bak也在内质网上被发现。所有的BCL-2家组成员都可影响跨膜离子流动,主要通过调节内质网内钙离子浓度,参与凋亡通路;也有报道其可以通过在内质网内局部形成复合体,相互作用调节凋亡信号传导,影响内质网相关的Caspase-2/8/12的活性[3, 4, 7, 15]。

(四)内质网上存在重要凋亡分子底物

Caspase家族参与凋亡的多个环节,内质网上存在着多种可被Caspase切割的底物,包括一些对内质网稳态维持和内质网应激有重要作用的蛋白,如Bap31,固醇调节元件结合蛋白,信号识别颗粒72,三磷酸肌醇受体,Grp94,早老素类和阿尔茨海默氏病的重要致病物质淀粉样前体蛋白等。被切割后的产物可以进入细胞核调节转录,改变凋亡中分泌蛋白的表达,敏化细胞凋亡,也可以形成反馈通路加强对Caspase通路的激活。如Bap31作为Bcl-2家族成员,可以调控Caspase-8L抑制其活化成为Caspase-8,一旦Caspase-8被激活,Bap31就成为其底物,被切割后的产物可进一步激活凋亡通路[7]。

二、内质网和其他细胞器的功能耦联

内质网除独立参与凋亡调节外,还在多个环节上与其他细胞器(如高尔基体、线粒体、细胞核等)形成功能耦联,其中最主要的是线粒体。线粒体是细胞能量工厂,是细胞凋亡调控中最重要的结构之一。内质网可在多个水平(钙离子,Bcl-2家族,三磷酸肌醇受体或RyR受体,一氧化氮等)和线粒体相关联,共同调控凋亡。线粒体的细胞色素c释放激活下游Caspase-9/3前体,需要有线粒体外因子(Bax, Bak和tBid等)的转位和激活,开放通透转换孔引起细胞器的水肿,膜通透性的改变。目前认为内质网上的Bcl-2家族成员可能参与此过程。钙离子是联系内质网和线粒体功能的关键环节。当内质网应激发生大量钙离子释放时,线粒体由于其膜电势梯度摄取钙离子,而线粒体的钙超载是已知重要的凋亡因素。内质网通过三磷酸肌醇受体或RyR受体介导的钙离子释放,可以增强线粒体的敏感性,导致线粒体膜通透性改变和去极化。而内质网上的Bcl-2则抑制钙离子外流,起到保护作用。此外,线粒体释放的细胞色素c转位到内质网,与三磷酸肌醇受体作用,形成正反馈,促使细胞凋亡[3, 16]。

内质网也可以通过钙离子影响细胞核内一系列分子、生化活动参与凋亡调控[17]。内质网引发的胞浆钙离子浓度升高,可以进而影响核内钙离子浓度。细胞核的很多重要过程受钙离子调控,如核内蛋白质的切割;凋亡时核酸内切酶的切割等[18]。此外,钙离子还参与基因转录调控,如各种白细胞介素和神经生长因子等的基因表达[19],以及磷酸化过程[20]。所以,内质网对凋亡的调控是复杂而多层次的。

三、内质网功能失调与疾病

已有研究表明,内质网功能变化参与多种损伤和疾病。文献报道内质网固有氧调控蛋白质150 (oxygen-regulated protein 150 000, orp150)和RyR钙离子通道参与中风、颠痫过程中细胞内钙离子浓度升高引起的细胞损伤,orp150缺陷小鼠或RyR的抑制剂硝苯呋海因有明显的抗损伤表象[6]。内质网固有蛋白早老素控制阿尔茨海默病重要致病物质β-淀粉样多肽(Aβ1-42)的合成。早老素基因突变是家族性阿尔茨海默病的重要特征,早老素的异常表达可以改变内质网内钙离子的浓度,并下调Grp78,参与早期阿尔茨海默病的发生[6, 7, 21]。还发现内质网上的Pael受体与导致常染色体隐性青年家族性帕金森病的Parkin相互作用,可以作为Parkin的底物引起内质网应激,引起选择性的神经元死亡,参与发病过程[22]。胆固醇可以通过CHOP等参与内质网应激,导致巨噬细胞凋亡,参与动脉粥样硬化的发展[23]。此外,内质网还参与糖尿病、肌萎缩侧索硬化、肝病等的发生[24-26]。

综上所述,内质网凭借着其庞大的膜结构基础,既可以

© 1994-2008 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

通过特有的 Ire-1α、Caspase-12、钙离子等独立引发凋亡,也可以通过钙离子等信号分子与线粒体等细胞器相互交通共同调节细胞凋亡,在多种疾病的发生发展中起作用。内质网在完成基本生理功能的同时,作为信号传导的枢纽平台,对于细胞凋亡过程发挥着重要的调控作用。

四、展望

内质网功能的研究对于深入、完善细胞损伤和凋亡理论,明确细胞器的交互调节作用,有深远意义;为临床疾病研究和治疗提供新的理论依据,有助于进一步认识疾病的本质。可以针对内质网特异性的靶点设计新药,提高药效。内质网很容易受到药物毒性损害,所以药物研发中也应更加关注药物对内质网的毒副作用。目前的研究表明内质网在许多重要生理、病理调控中极具潜力,内质网作为信号接收、传导整合、处理的枢纽日益引起广泛的关注,对于它的详尽研究将有力地推动生命科学领域科研的发展。

参 考 文 献

1 Danial NN, Korsmeyer SJ. Cell death: critical control points. Cell, 2004, 116: 205-219.

2 Joza N, Susin SA, Daugas E, et al. Essential role of the mitochondrial apoptosis-inducing factor in programmed cell death. Nature, 2001, 410: 549-554.

3 Ferri KF, Kroemer G. Organelle-specific initiation of cell death pathways. Nat Cell Biol, 2001, 3: E255-E263.

4 Szabadkai G, Rizzuto R. Participation of endoplasmic reticulum and mitochondrial calcium handling in apoptosis: more than just neighborhood? FEBS Letters, 2004, 567: 111-115.

5 Hu P, Han Z, Couvillon AD, et al. Critical role of endogenous Akt/IAPs and MEK1/ERK pathways in counteracting ER stress-induced cell death. J Biol Chem, 2004, 279: 29420-29429.

6 Verkhratsky A, Toescu EC. Endoplasmic reticulum Ca^{2+} homoestasis and neuronal death. J Cell Mol Med, 2003, 7: 351-361.

7 Breckenridge DG, Germain M, Mathai JP, et al. Regulation of apoptosis by endoplasmic reticulum pathways. Oncogene, 2003, 22: 8608-8618.

8 Du L, Tang CS, Yuan WJ. Endoplasmic reticulum stress. Sheng Li Ke Xue Jin Zhan, 2003, 34: 333-335.
杜丽,唐朝枢,袁文俊. 内质网应激. 生理科学进展, 2003, 34: 333-335.

9 Imaizumi K, Tohyama M. The regulation of unfolded protein response by OASIS, a transmembrane bZIP transcription factor, in astrocytes. Nippon Yakurigaku Zasshi, 2004, 124: 383-390.

10 Li ZQ, Zhou AR, Tang CS. Molecular mechanism on endoplasmic reticulum stress responses. Chin J Biochem Mol Biol, 2004, 20: 283-288.
李载权,周爱儒,唐朝枢. 内质网应激反应分子机理研究进展. 中国生物化学与分子生物学报, 2004, 20: 283-288.

11 Ma Y, Hendershot LM. The role of the unfolded protein response in tumour development: friend or foe? Nat Rev Cancer, 2004, 4: 966-977.

12 Kadowaki H, Nishitoh H, Ichijo H. Survival and apoptosis signals in ER stress: the role of protein kinases. J Chem Neuroanat, 2004, 28: 93-100.

13 Momoi T. Caspases involved in ER stress-mediated cell death. J Chem Neuroanat, 2004, 28: 101-105.

14 Harding HP, Zhang Y, Ron D. Protein translation and folding are coupled by an endoplasmic-reticulum-resident kinase. Nature, 1999, 397: 271-274.

15 Oakes SA, Scorrano L, Opferman JT, et al. Proapoptotic BAX and BAK regulate the type 1 inositol trisphosphate receptor and calcium leak from the endoplasmic reticulum. Proc Natl Acad Sci U S A, 2005, 102: 105-110.

16 Xu W, Charles IG, Moncada S. Nitric oxide: orchestrating hypoxia regulation through mitochondrial respiration and the endoplasmic reticulum stress response. Cell Res, 2005, 15: 63-65.

17 Ermak G, Davies KJ. Calcium and oxidative stress: from cell signaling to cell death. Mol Immunol, 2002, 8: 713-721.

18 Gaido ML, Cidlowski JA. Identification, purification, and characterization of a calcium-dependent endonuclease (NUC18) from apoptotic rat thymocytes: NUC18 is not histone H2B. J Biol Chem, 1991, 266: 18580-18585.

19 Enslen H, Soderling TR. Roles of calmodulin-dependent protein kinases and phosphatase in calcium-dependent transcription of immediate early genes. J Biol Chem, 1994, 269: 20872-20877.

20 Sheng M, McFadden G, Greenberg ME. Membrane depolarization and calcium induce c-fos transcription via phosphorylation of transcription factor CREB. Neuron, 1990, 4: 571-582.

21 Katayama T, Imaizumi K, Manabe T, et al. Induction of neuronal death by ER stress in Alzheimer's disease. J Chem Neuroanat, 2004, 28: 67-78.

22 Imai Y, Soda M, Inoue H, et al. An unfolded putative transmembrane polypeptide, which can lead to endoplasmic reticulum stress, is a substrate of Parkin. Cell, 2001, 105: 881-902.

23 Feng B, Yao PM, Li Y, et al. The endoplasmic reticulum is the site of cholesterol-induced cytotoxicity in macrophages. Nat Cell Biol, 2003, 5: 781-792.

24 Araki E, Oyadomari S, Mori M. Impact of endoplasmic reticulum stress pathway on pancreatic beta-cells and diabetes mellitus. Exp Biol Med, 2003, 228: 1213-1217.

25 Wootz H, Hansson I, Korhonen L, et al. Caspase-12 cleavage and increased oxidative stress during motoneuron degeneration in transgenic mouse model of ALS. Biochem Biophys Res Commun, 2004, 322: 281-286.

26 Ji C, Kaplowitz N. Hyperhomocysteinemia, endoplasmic reticulum stress, and alcoholic liver injury. World J Gastroenterol, 2004, 10: 1699-1708.

(收稿日期: 2005-07-01)
(本文编辑: 刘小梅)

© 1994-2008 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net