

溶酶体参与细胞凋亡的主要途径及其机制

李敏, 廖明

■背景资料

溶酶体最初由De Duve等于1955年发现, 并定义为胞质内由单层膜包围的含有酸性水解酶的小泡, 其广泛分布于除红细胞以外所有哺乳动物细胞中。Cathepsins均以酶原形式合成, 可被其他蛋白水解酶活化, 或在酸性条件下自水解活化。溶酶体酶不仅参与了溶酶体内部的蛋白水解活动, 其释放到胞液中或分泌到细胞外会引发各种细胞病变。

李敏, 廖明, 广西医科大学医学科学实验中心 区域性高发肿瘤早期防治研究重点实验室 广西壮族自治区南宁市530021

李敏, 主要从事肝纤维化的药物治疗及其蛋白质组学的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81160063

广西自然科学基金资助项目, No. 2013GXNSFBA019167

广西区域性高发肿瘤早期防治研究重点实验室基金资助项目, Nos. GK2013-13-A-01-03, GK2014-ZZ05

作者贡献分布: 本文综述由李敏完成; 廖明审校。

通讯作者: 廖明, 副研究员, 530021, 广西壮族自治区南宁市青秀区双拥路22号, 广西医科大学医学科学实验中心, 区域性高发肿瘤早期防治研究重点实验室。lminggx@163.com
电话: 0771-5358354

收稿日期: 2014-10-22 修回日期: 2014-12-11

接受日期: 2014-12-18 在线出版日期: 2015-02-08

Lysosomal signaling pathways and apoptosis

Min Li, Ming Liao

Min Li, Ming Liao, Medical Scientific Research Centre, Guangxi Medical University, Key Laboratory of High-Incidence-Tumor Prevention & Treatment (Guangxi Medical University), Ministry of Education, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81160063; Guangxi Natural Science Foundation, No. 2013GXNSFBA019167; Foundation of High-Incidence-Tumor Prevention & Treatment (Guangxi Medical University), Ministry of Education, Nos. GK2013-13-A-01-03, GK2014-ZZ05

Correspondence to: Ming Liao, Associate Researcher, Medical Scientific Research Centre, Guangxi Medical University, Key Laboratory of High-Incidence-Tumor Prevention & Treatment (Guangxi Medical University), Ministry of Education, 22 Shuangyong Road, Qingxiu District, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. lminggx@163.com

Received: 2014-10-22 Revised: 2014-12-11

Accepted: 2014-12-18 Published online: 2015-02-08

Abstract

The lysosome is a membranous organelle that exists in all protozoa and cells of multicellular animals. Studies have shown that lysosome

metabolic pathways are closely related to cell apoptosis. This paper reviews the structure of lysosomes, lysosome membrane permeability and cell apoptosis, the main way through which lysosomes participate in cell apoptosis, and the involvement of lysosomal signaling pathways in the apoptosis of hepatic stellate cells.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Lysosome; Cell apoptosis; Mitochondria

Li M, Liao M. Lysosomal signaling pathways and apoptosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(4): 584-589 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/584.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i4.584>

摘要

溶酶体是一种膜性细胞器, 存在于所有原生动物和多细胞动物的细胞中。研究表明溶酶体代谢途径与细胞凋亡紧密相关。本文综述了溶酶体结构、溶酶体膜通透化与细胞凋亡、溶酶体参与细胞凋亡的主要途径, 以及本项目组研究的肝星状细胞凋亡的溶酶体途径。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 溶酶体; 细胞凋亡; 线粒体

核心提示: 本文通过调查归纳相关文献, 对溶酶体结构、溶酶体膜通透化与细胞凋亡、溶酶体参与细胞凋亡的主要途径进行综合论述, 同时本项目组还对肝星状细胞凋亡的溶酶体途径进行了研究, 并论证溶酶体代谢途径与细胞凋亡之间的关联。

■同行评议者

魏继福, 研究员,
江苏省人民医院

李敏, 廖明. 溶酶体参与细胞凋亡的主要途径及其机制. 世界华人消化杂志 2015; 23(4): 584-589 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/584.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i4.584>

0 引言

溶酶体是一种膜性细胞器, 存在于所有原生动物和多细胞动物的细胞中. 研究^[1,2]表明溶酶体代谢途径参与细胞凋亡, 溶酶体的多种蛋白酶, 如组织蛋白酶(Cathepsins)、溶酶体膜糖蛋白(lysosome-associated membrane glycoprotein, Lamp)的信号途径参与了细胞凋亡. 现对溶酶体的结构、溶酶体膜的变化与细胞凋亡, 溶酶体介导的细胞凋亡机制及肝星状细胞凋亡中的溶酶体途径做一综述.

1 溶酶体的结构

有相关资料显示, 溶酶体最早发现与1955年, 其发现者是以De Duve等^[3]为首的研究团队, 他们对该物质进行了定义, 认为溶酶体是胞质内被单层膜所围绕的包含酸性水解酶的小泡, 研究中还发现该物质的主要分布区域是全部哺乳动物的细胞内部(不包括红细胞).

对溶酶体的内部组成进行分析可知, 蛋白酶、脂酶、核酸酶、糖苷酶等是构成溶酶体的重要部分, 溶酶体内部包含的酶类物质多达六十多种, 这些物质都可以非特异性降解胞内大分子, 大部分属于糖蛋白水解酶^[4].

溶酶体内的Cathepsin是研究最为深入的水解酶. 根据其不同水解位点, 可分为B、C、H、F、K、L、O、S、V、W、X等. Cathepsins均以酶原形式合成, 可被其他蛋白水解酶活化, 或在酸性条件下自水解活化^[5]. 活化的Cathepsin B和Cathepsins L在溶酶体中浓度高达1 mmol/L, 占其蛋白含量的20%. 溶酶体酶不仅参与了溶酶体内部的蛋白水解活动, 其释放到胞液中或分泌到细胞外会引发各种细胞病变, 更为重要的是这些酶类参与了细胞的凋亡过程, 对机体产生广泛影响^[1,6].

2 溶酶体膜的通透化与细胞凋亡

溶酶体膜通透化后, 细胞有不同的形态学后果, 针对细胞质, 释放一定量的溶酶体水解酶能够对凋亡类细胞以及类凋亡类细胞造成严重影响, 导致其发生死亡, 如果对细胞质进行全面溶酶体水解酶释放, 则会造成细胞在短时间内

出现坏死反应^[7,8]. 在细胞凋亡的模型研究中, 溶酶体膜通透化发生在凋亡早期, 并且是引起细胞凋亡和凋亡样细胞死亡的关键因素^[9,10]. 调控溶酶体膜通透化的关键分子和酶类为活性氧、鞘氨醇、Cathepsins和原癌基因*Bcl-2*蛋白家族, 正是这些关键因子调控溶酶体膜的通透性, 进而调控细胞凋亡.

2.1 活性氧 受到不同类型的细胞的凋亡反应的影响, 细胞内部出现了更多的活性氧, 这会引发溶酶体膜出现通透现象, 还会加速细胞的死亡过程. 通常情况下, 活性氧被认为是通过溶酶体内包含的铁来损害溶酶体膜^[11]. 自由态的铁能够对过氧化氢发生催化作用, 加速其发生反应, 形成羟基自由基, 从而导致溶酶体膜受到损伤, 最终引发溶酶体膜发生崩解^[12,13]. 铁离子螯合剂去铁敏能够对溶酶体膜发挥良好的保护作用, 保证其维持完整状态, 对氧化应激过程进行有效抑制, 从而减少由溶酶体引发的细胞死亡现象^[14-16]. 另外, 针对由氧化应激导致的细胞死亡现象, 可以发现一些溶酶体膜通透现象, 同时可见线粒体生成活性氧的正反馈环路, 这表明溶酶体诱发的细胞凋亡反应与线粒体之间存在不可忽视的联系^[17].

2.2 鞘氨醇 鞘氨醇是由内质网上的神经酰胺在神经酰胺酶的酰基化作用下生成一种亲脂性的弱碱^[18], 具有溶酶体趋向性. 通过使用鞘氨醇开展氧化应激损伤溶酶体的研究, 也就是溶酶体膜通透化实验, 研究^[7,8,19,20]结果显示, 溶酶体膜通透化可以造成凋亡细胞、类凋亡细胞以及类细胞存在坏死现象的细胞出现死亡反应. 鞘氨醇经历溶酶体内部的质子化过程后, 能够发挥良好的去垢剂功效, 造成溶酶体膜出现失稳反应. 针对一些浓度相对较低的鞘氨醇, 则能够导致大量的级联放大细胞发出凋亡信号, 引发溶酶体膜发生通透反应, 线粒体失去应有的膜电位, 或者诱发凋亡酶的活化等^[21]. 针对剂量相对较高的鞘氨醇, 则可以引发溶酶体在短时间内发生崩解, 加速细胞的坏死过程^[8]. 针对那些促凋亡因素, 例如肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)等, 他们能够促进细胞内部的鞘氨醇含量发生提高, 从而导致溶酶体膜的通透化反应, 最终造成细胞凋亡^[22,23].

2.3 溶酶体Cathepsins 敲除Cathepsins B的肝细胞无法对以TNF- α 为诱导的溶酶体膜通透进行敏感反应, 这说明Cathepsins B能够直接对溶

■研究前沿

溶酶体释放的促凋亡因子包括蛋白酶、脂酶等, 其中尤以组织蛋白酶研究得最充分, 可通过线粒体依赖和非依赖途径介导肝星状细胞凋亡, 但是否还有其他因子参与、其中是否有沟通、通过何种途径沟通仍有待探明.

■ 相关报道

Kahraman等发现NK/NKT细胞表达大量的TRAIL导致了细胞凋亡和肝脏损伤,其中也牵涉到了溶酶体Cathepsin B蛋白的释放。可见,溶酶体蛋白Cathepsins介导细胞凋亡与炎症反应的并不是简单的上下游的关系。

酶体膜通透发生诱导,也说明该过程中存在一条溶酶体膜通透,专门对Cathepsins B的激活过程发挥诱导作用,Cathepsins B再进一步诱导溶酶体膜通透的正反馈环路^[22]。有报道鞘氨醇能把表达Cathepsins B的肝细胞溶酶体通透化,但不能通透敲除Cathepsins B的肝细胞的溶酶体;而表达组织Cathepsins B内部存在一定的内源性抑制剂蛋白Spi2A,该物质可以促进TNF- α 诱导的溶酶体膜通透发生减少^[24]。对于浓度较高的过氧化氢,其在促使初级小泡细胞走向死亡的过程中,Cathepsins抑制剂也可以发挥其缓解溶酶体膜通透程度的功效^[25]。以上资料均说明Cathepsins可以对溶酶体产生直接的破坏作用。

2.4 Bcl-2蛋白家族 Bcl-2家族蛋白是细胞凋亡调节子中的重要部分,有相关报道显示,Bcl-2家族中的促凋亡蛋白Bax能够与溶酶体之间发生直接的相互作用。研究成纤维细胞发生凋亡的具体过程可知,Bax出现构象变化后能够实现由胞浆到溶酶体膜的位置转移,对溶酶体膜通透发挥诱导作用^[26],同时利用Cathepsins D的释放过程,启动细胞凋亡反应。游离脂肪酸在诱导肝细胞溶酶体膜通透的过程中同样也需要借助Bax^[27]。棕榈酸能够对Bax进行诱导,使其产生“凋亡构象”,从而促使Bax发生位置转移,逐步移动到溶酶体上。敲除Bax基因以及过表达Bcl-XL能够对细胞发挥良好的保护作用,避免细胞受到棕榈酸的诱导,导致溶酶体膜发生通透反应或者造成细胞死亡^[27,28]。针对无细胞体系,在存在Bax的情况下,单独的BH3结构域肽段能够造成纯化的溶酶体出现泄露现象^[29]。另外,针对个别细胞系,肿瘤坏死因子相关的凋亡诱导配体(tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand, TRAIL)会产生诱导作用,以其为诱导的细胞死亡通常会同时出现Bax和Bim的位置转移,逐步移至溶酶体膜上,最终引发溶酶体膜通透^[22,30],而以上过程均出现在线粒体发生变动的初始阶段,例如细胞色素C开始释放,线粒体逐步丧失膜电位的时候,这反映了Bcl-2家族中的Bim和Bax内部促凋亡蛋白可以在线粒体外膜通透的上游位置对溶酶体膜通透产生独立的诱导作用。此外,Bid也是诱导溶酶体膜通透的重要物质之一。在TNF- α 为诱导的肝细胞凋亡研究模型中,就是通过Bid的剪切激活作用诱导溶酶体膜发生通透反应^[23,29]。

除了以上提到的物质之外,还有很多物质也参与了细胞凋亡反应中的溶酶体膜通过过程,这些物质不但包括游离脂肪酸、胆固醇的氧化产物、胆盐等代谢中间产物,还包括p53及LAPF、 β 淀粉样多肽等物质,这些物质参与溶酶体膜通透的机制各不相同;另外,溶酶体相关膜蛋白Lamp-1、Lamp-2等也能够对溶酶体膜通透发挥关键的调控作用^[31]。

3 溶酶体介导的细胞凋亡机制

溶酶体膜通透反应进行到一定阶段后,其内部包含的很多水解酶会逐渐释放到胞浆中,对下游信号分子进行剪切处理就可以诱导细胞凋亡开始执行,并利用线粒体依赖途径以及非线粒体依赖途径实现对细胞凋亡的有效介导。

3.1 溶酶体-线粒体途径诱导细胞凋亡 Cathepsins属于溶酶体内部含量最大的一种蛋白酶,通常认为Cathepsins在溶酶体参与细胞凋亡启动与执行的过程中发挥十分关键的作用。Cathepsins的生成形式表现为酶原,利用蛋白水解酶能够对一些肽链进行切除,进而实现对他的激活,该类蛋白酶的活性受到很多因素的影响,例如合成酶原的活化作用、内源性抑制剂以及pH值等也能够对其发挥一定的调节作用^[32,33]。例如,组织蛋白酶Cathepsins B、D、H和L可以对促凋亡蛋白Bid进行水解,其水解产物可以发生移位,转移至线粒体上,从而引发Bax/Bak的激活^[9,34]。而Cathepsins不但可以对Bid进行有效水解,而且可以对Bcl-2等抗凋亡蛋白发挥水解功效^[35]从而直接或间接导致线粒体通透性改变,使线粒体促凋亡因子,如细胞色素C、凋亡诱导因子等释放进入细胞质,最终诱导细胞死亡^[9,34]。

溶酶体还可通过自噬途径获得大量的氧化还原活性铁,进而在溶酶体腔内部产生浓度较高的活性铁^[36,37],而此类活性铁能够提高溶酶体对氧化应激的敏感度。在这种情况下,细胞内部仅需要少量的氧化应激,既可以造成溶酶体膜的失稳,进而造成溶酶体内的水解酶发生释放,逐渐释放到细胞质上,对线粒体造成损伤。溶酶体中包含的磷脂酶类水解酶可以造成线粒体发生损伤,除磷脂酶类外的水解酶也可以对Bid等促凋亡蛋白进行激活,间接引发线粒体损伤^[38],最终导致细胞死亡。

溶酶体膜不稳定不仅能引起Cathepsins释放,同样糜蛋白酶也会释放。在中性条件下,其

释放出来的糜蛋白酶可以实现特异性剪切Bid, 剪切后形成的Bid截断体能够对线粒体释放细胞色素C发挥诱导作用, 进而通过溶酶体线粒体途径, 诱导细胞凋亡^[39]。

3.2 溶酶体-非线粒体途径诱导细胞凋亡 如前所述, Cathepsins在溶酶体中含量非常丰富, Cathepsins不但对线粒体途径存在很大依赖, 进而参与到细胞凋亡过程中, 而且能够在不依赖线粒体途径的情况下诱导细胞凋亡。例如, 针对常见的炎症反应凋亡现象, Cathepsins就起到十分关键的作用。TNF- α 属于炎症介质的一种, 具备普遍的生物学功效, 能够对细胞凋亡产生一定促进作用^[40-42]。针对暴发性肝功能衰竭现象, TNF- α 能够发挥广泛的肝细胞凋亡介导作用^[43], 通过应用Cathepsin B抑制剂, 能够有效促进肝细胞凋亡现象的减少, 缓解肝脏损伤^[44]。此外, Kahraman等^[45]在研究中发现, 在胆汁郁积引发肝损伤中, NK/NKT细胞表达很多的TRAIL引发细胞凋亡并造成肝脏损伤。由此可知, Cathepsins介导细胞凋亡和炎症反应之间存在密切的联系, 他们彼此发生作用, 相互进行影响, 是一个关系紧密的有机系统。

4 溶酶体途径与肝星状细胞凋亡

在肝星状细胞凋亡研究过程中, Saile等^[46]研究发现Bcl-2家族蛋白通过调节线粒体膜电位变化和影响膜通透性的改变进而改变线粒体蛋白释放, 调控细胞凋亡。当静息的肝星状细胞强烈表达抗凋亡基因Bcl-2和Bcl-XL, 活化后的肝星状细胞的Bcl-2和Bcl-XL明显降低, Bax蛋白在活化后则显著升高, Bcl-2/Bax比值下降, 从而促进活化的肝星状细胞凋亡。现已发现芦荟布洛芬能通过线粒体激活Caspase9和Caspase3, 同时上调Bax/Bcl-2比值, 从而改变溶酶体膜通透性, 诱导肝星状细胞凋亡^[47]。熊果酸花生和四烯酰甘油体外诱导肝星状细胞凋亡的过程与芦荟布洛芬基本相似^[48,49]。

在课题组的研究中, 以牛磺酸和表没食子儿茶素没食子酸酯和三羟基异黄酮三者组成的联合用药作用肝星状细胞, 具有明显的抑制细胞增殖, 诱导细胞凋亡的抗肝纤维化的作用^[50-53]。为探明联合用药诱导肝星状细胞凋亡的机制, 课题组运用同位素标签的iTRAQ技术结合高效液相色谱-电喷雾串联质谱的定量蛋白质组学方法, 分析联合用药作用肝星状细胞后差异表达的蛋白质。结果发现溶

酶体Cathepsins D、Cathepsins B、LAMP 1和LAMP 2蛋白在联合用药作用肝星状细胞后表达升高, 同时采用了Western blot进行了验证。这些结果表明溶酶体途径参与了肝星状细胞的凋亡。

5 结论

经溶酶体途径引起的细胞凋亡是一个比较复杂的过程。每一个环节, 每一个细胞因子、蛋白是如何发挥作用的还有待于进一步研究。受到部分促凋亡因素的影响, 溶酶体膜能够出现部分通透现象, 部分释放蛋白因子, 以这种形式参与到细胞凋亡过程中。溶酶体膜通透化对于溶酶体发挥细胞凋亡调控作用有着十分关键的作用, 活性氧、鞘氨醇、组织蛋白酶、Bcl-2蛋白等因子可以介导溶酶体膜通透, 但这些信号分子通过哪些途径作用于溶酶体膜尚不清楚。在溶酶体膜通透实现过程中, 对于内容物释放的诱导方式还不确定, 其中通过形成孔道实现诱导或者通过改变膜曲率实现诱导还存在争议。由溶酶体释放的促凋亡因子通常包括蛋白酶以及脂酶等, 针对以上物质, 组织蛋白酶是最主要的研究对象, 该物质可通过线粒体依赖和非依赖途径介导肝星状细胞凋亡, 但是否还有其他因子参与、其中是否有沟通、通过何种途径沟通仍有待探明。对以上重要问题开展深入分析和研究, 能够清晰地阐述细胞凋亡过程中溶酶体膜通透的分子机制, 同时促进细胞凋亡相关研究工作的顺利开展。

6 参考文献

- 1 李志刚, 张智博. 溶酶体组织蛋白酶参与细胞凋亡过程的分子机制. 中国肿瘤生物治疗杂志 2009; 16: 648-652
- 2 Chen JW, Pan W, D'Souza MP, August JT. Lysosome-associated membrane proteins: characterization of LAMP-1 of macrophage P388 and mouse embryo 3T3 cultured cells. Arch Biochem Biophys 1985; 239: 574-586 [PMID: 3923938]
- 3 De Duve C, Wattiaux R. Functions of lysosomes. Annu Rev Physiol 1966; 28: 435-492 [PMID: 5322983 DOI: 10.1146/annurev.ph.28.030166.002251]
- 4 Luzio JP, Pryor PR, Bright NA. Lysosomes: fusion and function. Nat Rev Mol Cell Biol 2007; 8: 622-632 [PMID: 17637737 DOI: 10.1038/nrm2217]
- 5 钟啸. 溶酶体的研究进展. 中国生物制品学杂志 2008; 21: 827-829
- 6 郑媛媛, 刘伟敬, 刘华锋. 溶酶体组织蛋白酶B和D调控细胞凋亡及炎症反应的研究进展. 临床医学工程 2014; 21: 126-128
- 7 Brunk UT, Dalen H, Roberg K, Hellquist HB. Photo-oxidative disruption of lysosomal

■创新盘点

经溶酶体途径引起的细胞凋亡是一个比较复杂的过程。在一些促凋亡因素的刺激下, 溶酶体膜可发生部分通透, 选择性地释放一些蛋白因子, 从而参与到细胞凋亡途径中。对这些关键问题进行深入研究, 将阐明细胞(包括肝星状细胞)凋亡过程中溶酶体膜通透的分子机制, 并推进细胞凋亡精确机制的研究进展。

应用要点

NF- κ B可以通过上调Spi2A抑制溶酶体Cathepsin B蛋白的活性,起抗凋亡的作用。以牛磺酸和表没食子儿茶素没食子酸酯和3-羟基异黄酮三者组成的联合用药作用肝星状细胞,能诱导细胞凋亡从而抗肝纤维化。肝星状细胞凋亡与溶酶体Cathepsins D、Cathepsins B、LAMP 1和LAMP 2蛋白相关。

- membranes causes apoptosis of cultured human fibroblasts. *Free Radic Biol Med* 1997; 23: 616-626 [PMID: 9215807 DOI: 10.1016/S0891-5849(97)00007-5]
- 8 Kågedal K, Zhao M, Svensson I, Brunk UT. Sphingosine-induced apoptosis is dependent on lysosomal proteases. *Biochem J* 2001; 359: 335-343 [PMID: 11583579]
- 9 Guicciardi ME, Leist M, Gores GJ. Lysosomes in cell death. *Oncogene* 2004; 23: 2881-2890 [PMID: 15077151 DOI: 10.1038/sj.onc.1207512]
- 10 Leist M, Jäätelä M. Triggering of apoptosis by cathepsins. *Cell Death Differ* 2001; 8: 324-326 [PMID: 11550083 DOI: 10.1038/sj.cdd.4400859]
- 11 Eaton JW, Qian M. Molecular bases of cellular iron toxicity. *Free Radic Biol Med* 2002; 32: 833-840 [PMID: 11978485 DOI: 10.1016/S0891-5849(02)00772-4]
- 12 Mak IT, Weglicki WB. Characterization of iron-mediated peroxidative injury in isolated hepatic lysosomes. *J Clin Invest* 1985; 75: 58-63 [PMID: 3965512 DOI: 10.1172/JCI111697]
- 13 Link G, Pinson A, Hershko C. Iron loading of cultured cardiac myocytes modifies sarcolemmal structure and increases lysosomal fragility. *J Lab Clin Med* 1993; 121: 127-134 [PMID: 8426074]
- 14 Doulias PT, Christoforidis S, Brunk UT, Galaris D. Endosomal and lysosomal effects of desferrioxamine: protection of HeLa cells from hydrogen peroxide-induced DNA damage and induction of cell-cycle arrest. *Free Radic Biol Med* 2003; 35: 719-728 [PMID: 14583336 DOI: 10.1016/S0891-5849(03)00396-4]
- 15 Kurz T, Gustafsson B, Brunk UT. Intralysosomal iron chelation protects against oxidative stress-induced cellular damage. *FEBS J* 2006; 273: 3106-3117 [PMID: 16762036 DOI: 10.1111/j.1742-4658.2006.05321.x]
- 16 Yu Z, Li W, Brunk UT. 3-Aminopropanal is a lysosomotropic aldehyde that causes oxidative stress and apoptosis by rupturing lysosomes. *APMIS* 2003; 111: 643-652 [PMID: 12969020 DOI: 10.1034/j.1600-0463.2003.1110607.x]
- 17 Terman A, Kurz T, Gustafsson B, Brunk UT. Lysosomal labilization. *IUBMB Life* 2006; 58: 531-539 [PMID: 17002981]
- 18 孙九丽, 林慧珍, 苟萍. 鞘脂代谢及其相关疾病研究进展. *生物技术* 2011; 21: 93-97
- 19 Cirman T, Oresić K, Mazovec GD, Turk V, Reed JC, Myers RM, Salvesen GS, Turk B. Selective disruption of lysosomes in HeLa cells triggers apoptosis mediated by cleavage of Bid by multiple papain-like lysosomal cathepsins. *J Biol Chem* 2004; 279: 3578-3587 [PMID: 14581476]
- 20 Boya P, Andreau K, Poncet D, Zamzami N, Perfettini JL, Metivier D, Ojcius DM, Jäätelä M, Kroemer G. Lysosomal membrane permeabilization induces cell death in a mitochondrion-dependent fashion. *J Exp Med* 2003; 197: 1323-1334 [PMID: 12756268 DOI: 10.1084/jem.20021952]
- 21 Kågedal K, Johansson U, Ollinger K. The lysosomal protease cathepsin D mediates apoptosis induced by oxidative stress. *FASEB J* 2001; 15: 1592-1594 [PMID: 11427496 DOI: 10.1096/fj.00-0708fje]
- 22 Werneburg NW, Guicciardi ME, Bronk SF, Gores GJ. Tumor necrosis factor-alpha-associated lysosomal permeabilization is cathepsin B dependent. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2002; 283: G947-G956 [PMID: 12223355 DOI: 10.1152/ajpgi.00151.2002]
- 23 Werneburg N, Guicciardi ME, Yin XM, Gores GJ. TNF-alpha-mediated lysosomal permeabilization is FAN and caspase 8/Bid dependent. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2004; 287: G436-G443 [PMID: 15075251 DOI: 10.1152/ajpgi.00019.2004]
- 24 Liu N, Raja SM, Zazzeroni F, Metkar SS, Shah R, Zhang M, Wang Y, Brömme D, Russin WA, Lee JC, Peter ME, Froelich CJ, Franzoso G, Ashton-Rickardt PG. NF-kappaB protects from the lysosomal pathway of cell death. *EMBO J* 2003; 22: 5313-5322 [PMID: 14517268 DOI: 10.1093/emboj/cdg510]
- 25 Yin L, Stearns R, González-Flecha B. Lysosomal and mitochondrial pathways in H2O2-induced apoptosis of alveolar type II cells. *J Cell Biochem* 2005; 94: 433-445 [PMID: 15534871 DOI: 10.1002/jcb.20277]
- 26 Kågedal K, Johansson AC, Johansson U, Heimlich G, Roberg K, Wang NS, Jürgensmeier JM, Ollinger K. Lysosomal membrane permeabilization during apoptosis--involvement of Bax? *Int J Exp Pathol* 2005; 86: 309-321 [PMID: 16191103 DOI: 10.1111/j.0959-9673.2005.00442.x]
- 27 Werneburg NW, Guicciardi ME, Bronk SF, Kaufmann SH, Gores GJ. Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand activates a lysosomal pathway of apoptosis that is regulated by Bcl-2 proteins. *J Biol Chem* 2007; 282: 28960-28970 [PMID: 17686764 DOI: 10.1074/jbc.M705671200]
- 28 Feldstein AE, Werneburg NW, Li Z, Bronk SF, Gores GJ. Bax inhibition protects against free fatty acid-induced lysosomal permeabilization. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2006; 290: G1339-G1346 [PMID: 16484678 DOI: 10.1152/ajpgi.00509.2005]
- 29 Guicciardi ME, Bronk SF, Werneburg NW, Yin XM, Gores GJ. Bid is upstream of lysosome-mediated caspase 2 activation in tumor necrosis factor alpha-induced hepatocyte apoptosis. *Gastroenterology* 2005; 129: 269-284 [PMID: 16012953 DOI: 10.1053/j.gastro.2005.05.022]
- 30 Feldstein AE, Werneburg NW, Canbay A, Guicciardi ME, Bronk SF, Rydzewski R, Burgart LJ, Gores GJ. Free fatty acids promote hepatic lipotoxicity by stimulating TNF-alpha expression via a lysosomal pathway. *Hepatology* 2004; 40: 185-194 [PMID: 15239102 DOI: 10.1002/hep.20283]
- 31 赵凯, 卫涛涛. 溶酶体与细胞凋亡. *生命科学* 2011; 23: 1063-1068
- 32 Turk B, Turk D, Turk V. Lysosomal cysteine proteases: more than scavengers. *Biochim Biophys Acta* 2000; 1477: 98-111 [PMID: 10708852 DOI: 10.1016/S0167-4838(99)00263-0]
- 33 Turk V, Turk B, Guncar G, Turk D, Kos J. Lysosomal cathepsins: structure, role in antigen processing and presentation, and cancer. *Adv Enzyme Regul* 2002; 42: 285-303 [PMID: 12123721 DOI: 10.1016/S0065-2571(01)00034-6]
- 34 Brunk UT, Neuzil J, Eaton JW. Lysosomal involvement in apoptosis. *Redox Rep* 2001; 6: 91-97 [PMID: 11450988 DOI: 10.1179/1351000011015360]

- 94]
- 35 Česen MH, Pegan K, Spes A, Turk B. Lysosomal pathways to cell death and their therapeutic applications. *Exp Cell Res* 2012; 318: 1245-1251 [PMID: 22465226 DOI: 10.1016/j.yexcr.2012.03.005]
 - 36 Yu Z, Persson HL, Eaton JW, Brunk UT. Intralysosomal iron: a major determinant of oxidant-induced cell death. *Free Radic Biol Med* 2003; 34: 1243-1252 [PMID: 12726912 DOI: 10.1016/S0891-5849(03)00109-6]
 - 37 Kurz T, Gustafsson B, Brunk UT. Cell sensitivity to oxidative stress is influenced by ferritin autophagy. *Free Radic Biol Med* 2011; 50: 1647-1658 [PMID: 21419217]
 - 38 Terman A, Gustafsson B, Brunk UT. The lysosomal-mitochondrial axis theory of postmitotic aging and cell death. *Chem Biol Interact* 2006; 163: 29-37 [PMID: 16737690 DOI: 10.1016/j.cbi.2006.04.013]
 - 39 Zhao K, Zhao X, Tu Y, Miao Q, Cao D, Duan W, Sun Y, Wang J, Wei T, Yang F. Lysosomal chymotrypsin B potentiates apoptosis via cleavage of Bid. *Cell Mol Life Sci* 2010; 67: 2665-2678 [PMID: 20361227 DOI: 10.1007/s00018-010-0356-0]
 - 40 Guicciardi ME, Miyoshi H, Bronk SF, Gores GJ. Cathepsin B knockout mice are resistant to tumor necrosis factor-alpha-mediated hepatocyte apoptosis and liver injury: implications for therapeutic applications. *Am J Pathol* 2001; 159: 2045-2054 [PMID: 11733355 DOI: 10.1016/S0002-9440(10)63056-8]
 - 41 Wallach D, Varfolomeev EE, Malinin NL, Goltsev YV, Kovalenko AV, Boldin MP. Tumor necrosis factor receptor and Fas signaling mechanisms. *Annu Rev Immunol* 1999; 17: 331-367 [PMID: 10358762 DOI: 10.1146/annurev.immunol.17.1.331]
 - 42 Bradham CA, Plümpe J, Manns MP, Brenner DA, Trautwein C. Mechanisms of hepatic toxicity. I. TNF-induced liver injury. *Am J Physiol* 1998; 275: G387-G392 [PMID: 9724248]
 - 43 Guicciardi ME, Deussing J, Miyoshi H, Bronk SF, Svingen PA, Peters C, Kaufmann SH, Gores GJ. Cathepsin B contributes to TNF-alpha-mediated hepatocyte apoptosis by promoting mitochondrial release of cytochrome c. *J Clin Invest* 2000; 106: 1127-1137 [PMID: 11067865 DOI: 10.1172/JCI9914]
 - 44 Yan BZ, Wang W, Chen LY, Bi MR, Lu YJ, Li BX, Yang BS. Role of cathepsin B-mediated apoptosis in fulminant hepatic failure in mice. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 1231-1236 [PMID: 19291823 DOI: 10.3748/wjg.15.1231]
 - 45 Kahraman A, Barreyro FJ, Bronk SF, Werneburg NW, Mott JL, Akazawa Y, Masuoka HC, Howe CL, Gores GJ. TRAIL mediates liver injury by the innate immune system in the bile duct-ligated mouse. *Hepatology* 2008; 47: 1317-1330 [PMID: 18220275 DOI: 10.1002/hep.22136]
 - 46 Saile B, Knittel T, Matthes N, Schott P, Ramadori G. CD95/CD95L-mediated apoptosis of the hepatic stellate cell. A mechanism terminating uncontrolled hepatic stellate cell proliferation during hepatic tissue repair. *Am J Pathol* 1997; 151: 1265-1272 [PMID: 9358752]
 - 47 Lian LH, Park EJ, Piao HS, Zhao YZ, Sohn DH. Aloe emodin-induced apoptosis in t-HSC/CI-6 cells involves a mitochondria-mediated pathway. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2005; 96: 495-502 [PMID: 15910415 DOI: 10.1111/j.1742-7843.2005.pto_96614.x]
 - 48 申月明, 朱萱, 张昆和, 谢勇, 陈江, 戴颖, 欧阳灿辉, 李弼民. 熊果酸对肝星状细胞增殖与凋亡的影响. *中华肝脏病杂志* 2008; 16: 298-301
 - 49 Siegmund SV, Qian T, de Minicis S, Harvey-White J, Kunos G, Vinod KY, Hungund B, Schwabe RF. The endocannabinoid 2-arachidonoyl glycerol induces death of hepatic stellate cells via mitochondrial reactive oxygen species. *FASEB J* 2007; 21: 2798-2806 [PMID: 17440119]
 - 50 廖明, 李彦, 舒伟, 卓朗. 鸡尾酒疗法对大鼠肝星状细胞的增殖及I型胶原、TIMP-1_mRNA表达的影响. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 751-755
 - 51 廖明, 林兴, 陈兆竟, 李彦, 卓朗. 鸡尾酒疗法对肝纤维化大鼠肝组织中TGF-β1、COL1及COLⅢ表达的影响. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 1867-1872
 - 52 廖明, 莫财锋, 周怡, 何敏, 卓朗. 鸡尾酒疗法对大鼠肝星状细胞的纤维化相关基因表达和蛋白谱的影响. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 1780-1784
 - 53 廖明, 莫财锋, 周怡, 何敏, 卓朗. 质谱技术分析联合用药抗大鼠肝纤维化的作用. *中国新药杂志* 2012; 21: 1668-1671

同行评价

本文内容较全面, 观点较新颖, 比较详尽的介绍了细胞凋亡的溶酶体途径。

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利

