

## 自噬对胞内感染病原体的双重作用

李宝华 综述 熊思东 审校

自噬 (autophagy) 是细胞维持稳态的一种机制<sup>[1,2]</sup>。在自噬发生过程中, 来源不明的单层膜凹陷形成杯状双层膜的结构, 包裹细胞质和细胞器部分, 形成有双层膜的自噬体 (autophagosome)。自噬体随之与溶酶体融合形成自噬溶酶体, 其中的细胞物质被溶酶体酶降解, 降解后产生的氨基酸可以被细胞重新利用, 参与物质的再循环。

吞噬 (phagocytize) 是指外来的有害物质被吞入细胞后, 即形成由膜包裹的吞噬体 (phagosome), 初级溶酶体很快同吞噬体融合形成次级溶酶体, 此时溶酶体中的底物是从细胞外摄取的, 故为异噬性溶酶体, 在异噬性溶酶体中吞噬物被酶水解; 水解后, 那些可溶性小分子可通过溶酶体膜进入胞质溶胶, 为细胞再利用或成为废物被排出。所以溶酶体的吞噬作用可保护细胞免受细菌与病毒等侵袭, 是细胞的防御功能所必需的。而自噬, 在正常情况下, 只消化长寿命的胞质大分子物质, 例如稳定的蛋白质, 用于细胞合成代谢的需要和维持在饥饿环境下的存活<sup>[3]</sup>。自噬通过促进蛋白更新, 清除损伤或多余的细胞器, 如过多的过氧化物酶体, 甚至整个细胞核来维持细胞的稳态。在大多数组织中, 自噬处于低水平。当氨基酸、血清、生长因子水平下降时, 会明显促进自噬。

但是, 自噬既可以保护细胞, 也可以破坏细胞。近年来的研究表明其与人类的许多疾病相关, 如肿瘤、神经退行性病变、肌病、人类的衰老以及病原体感染<sup>[1,4]</sup>。在病原体感染中, 宿主可以通过自噬清除胞内寄生的病原体。但也有一些病原体可以诱导自噬, 促进自身的复制。

### 自噬促进胞内感染病原体清除

自噬不仅可抵抗病毒感染<sup>[5]</sup>, 同时在细菌胞内感染中也扮演着重要角色<sup>[6,7]</sup>。自噬蛋白 Beclin

(Atg6) 是第 1 个被报道的在 Sindbis 病毒诱导的脑炎中具有保护性作用的因子。近年来, 越来越多的研究表明, 自噬在抗胞内细菌和病毒感染中发挥着天然免疫应答的作用<sup>[8]</sup>: 一方面自噬促进机体对胞内感染病原体的清除; 另一方面, 胞内感染病原体通过某些机制逃避机体的自噬。

1. 细菌感染 通常情况下, 入侵的细菌被宿主细胞内吞后, 从内吞小泡中出来进入胞质, 自噬体马上将其包裹, 并运送到溶酶体中降解。但有些细菌通过干扰自噬体向自噬溶酶体的成熟而避免被降解。例如产单核细胞李斯特菌 (*Listeria monocytogenes*), 通过释放溶血素破坏自噬体的膜结构, 进入到胞质中进行复制。当用氯霉素抑制细菌蛋白(溶血素)的合成, 细菌就被包裹在自噬体中, 最终被降解<sup>[7]</sup>。在营养缺乏时, 这种清除细菌的能力会增强; 而当使用自噬抑制剂 3-甲基腺嘌呤或渥曼青霉素 (wortmannin) 时, 清除产单核细胞李斯特菌的能力会被抑制<sup>[9]</sup>。

结核分枝杆菌 (简称结核杆菌) 通过干扰自噬体与溶酶体的融合, 抑制自噬途径而定植在巨噬细胞的自噬体中不被降解。Colombo 等<sup>[10]</sup>研究组发现, 在用饥饿或西罗莫司 [雷帕霉素 (Rapamycin)] 诱导自噬时, 结核杆菌会被转运到溶酶体中降解。同时还发现具有抗结核杆菌作用的  $\gamma$  干扰素 (IFN- $\gamma$ ) 能够在巨噬细胞中诱导自噬<sup>[10,11]</sup>, 于是他们提出自噬的上调可能部分地解释了 IFN- $\gamma$  的抗结核作用。

志贺杆菌 (*Shigella*) 可以通过Ⅲ型分泌系统分泌 IcsB 而逃避自噬。缺失了 IcsB 的突变菌在宿主细胞中复制时则会受到抑制。IcsB 并不直接抑制自噬, 而是志贺杆菌的一种与细胞运动有关的蛋白 VirC 与自噬蛋白 Atg5 的结合作用抑制了自噬<sup>[12]</sup>。

2. 病毒感染 Tallozcy 等<sup>[5]</sup>发现双链 RNA 活化的蛋白激酶受体 (PKR) 激活的下游事件之一是自噬的激活。通过磷酸化真核细胞翻译起始因子 (eIF2) 而抑制或下调病毒复制, 同时诱导自噬。用野生型的单纯疱疹病毒 1 型感染鼠的胚胎成纤维细胞 (MEF), 并没有发现长寿命蛋白降解在数量上的明

作者单位: 200032 上海, 复旦大学免疫生物学研究所 上海医学院免疫学系

通讯作者: 熊思东, E-mail: immf@126.com

显增加或者是自噬体总体积的明显增大。但是,用缺陷 ICP34.5 基因的病毒同样感染细胞,则发现上述自噬指标的增加。已知 ICP34.5 可以通过一种磷酸酶使 eIF2 去磷酸化而拮抗 PKR 的作用,从而抑制自噬,有利于病毒自身的复制。

Münz 等证明了自噬参与了生理情况下对病毒抗原的处理<sup>[13]</sup>。EB 病毒核抗原 1 (EBNA1) 具有甘氨酸-丙氨酸 (Gly-Ala) 重复序列,可以抑制蛋白酶体对病毒的处理,从而逃脱 CD8<sup>+</sup> T 细胞的识别,但是却可以被 CD4<sup>+</sup> T 细胞识别。在自噬过程中,EBNA1 抗原被处理,与溶酶体中的主要组织相容性复合物 (MHC) II 类分子结合,被呈递到 CD4<sup>+</sup> T 细胞表面,激活机体的抗病毒应答。这种自噬途径不仅能够呈递病毒抗原,而且也可以呈递自身免疫疾病中的自身抗原和肿瘤抗原。

### 自噬有助于病原体的存活

近年来发现,自噬并不都是促进宿主细胞对胞内病原体的清除。在有些情况下,自噬反而有利于胞内病原体的生存,抑制自噬就抑制了病原体的存活<sup>[14]</sup>。

**1. 细菌感染** 一些细菌,如牙龈卟啉单胞菌 (*Porphyromonas gingivalis*) 和嗜肺军团菌 (*Legionella pneumophila*),可以在自噬体样的囊泡中复制<sup>[15]</sup>。它们被内吞后,并不进入溶酶体,而是停留在自噬体样的囊泡中。Dot (defects in organelle trafficking) 或 icm (intracellular multiplication) 基因是这些细菌在人巨噬细胞中复制所必需的。Dot/icm 编码 IV 型分泌系统蛋白,可以延缓自噬体样结构向自噬溶酶体的成熟。这个延缓给细菌足够的时间复制,以抵抗自噬溶酶体内的环境,防止被降解。用自噬抑制剂处理被牙龈卟啉单胞菌或嗜肺军团菌感染的细胞,将促使细菌从自噬体样结构中转运到溶酶体内,从而被降解。

沙门菌 (*Salmonella*) 和嗜肺军团菌都可以利用 IV 型分泌系统在感染的巨噬细胞中诱导自噬<sup>[16]</sup>。其分泌的蛋白同样可以促进自噬体样结构的形成,或者干扰自噬体的成熟,促进自身的存活。实验表明,包裹嗜肺军团菌的囊泡和由其分泌蛋白刺激所形成的囊泡都比正常细胞内的自噬体成熟得慢<sup>[17]</sup>。

细菌不仅利用以上途径避免被宿主细胞降解,而且通过消化宿主的胞质蛋白,给自己提供能量来源,促进生长。

**2. 病毒感染** 研究发现,一些 RNA 病毒感染时,在其诱导形成自噬体样结构的膜表面存在着病

毒复制复合体<sup>[9]</sup>。鼠肝炎病毒 (MHV) 感染鼠胚胎干细胞后,其病毒复制复合体出现在标记有 GFP-LC3 自噬体的膜结构上<sup>[14]</sup>。而当同样感染 Atg5<sup>-/-</sup> 的鼠胚胎干细胞时,病毒的数量下降了将近 1 000 倍。

无包膜病毒如脊髓灰质炎病毒,可以利用自噬途径以非溶解的形式释放病毒颗粒。在病毒感染的晚期,胞质中将会出现大量包含病毒颗粒的双层膜结构的囊泡。这些囊泡通过与细胞膜的融合被释放到胞外。激活自噬可以增加脊髓灰质炎病毒的数量,而用 3'-甲基腺嘌呤或者通过 RNA 干扰技术下调自噬途径中必需的蛋白来抑制自噬,将会减少病毒数量。

以上都表明:在某些情况下,自噬并不是清除病毒颗粒,而是有助于病毒的复制<sup>[18]</sup>。

### 问题及展望

自噬在哺乳动物细胞中的研究始于 20 世纪 60 年代,但直到近 10 年来,由于酵母遗传学的应用,人类才对自噬的分子学机制有了进一步了解,但对于自噬体双层膜的来源、形成的机制以及它对机体起保护性作用还是有害作用等这些基本问题仍不清楚。对于自噬的研究仍处于早期阶段。Science 认为自噬是 2005 年科技领域 6 个研究热点之一,2005 年一份全新的国际性杂志 *Autophagy* 诞生,同年 4 月在意大利举行了第 1 次国际性的自噬领域的会议。自噬已经成为研究的热点。

自噬不仅仅是一个降解过程,而且与人类的疾病密切相关。通过对自噬的起源,信号转导,对细胞生存的影响以及在病原体感染中的作用等方面的研究,人们可以通过调控细胞的自噬水平,控制疾病的发生和发展,延缓衰老,提高生存质量。

### 参 考 文 献

- Shintani T, Klionsky DJ. Autophagy in health and disease: a double-edged sword. *Science*, 2004, 306: 990 ~ 995
- Levine B. Eating oneself and uninvited guests: autophagy-related pathways in cellular defense. *Cell*, 2005, 120: 159 ~ 162
- Kuma A, Hatano M, Matsui M, et al. The role of autophagy during the early neonatal starvation period. *Nature*, 2004, 432: 1032 ~ 1036
- Cuervo AM. Autophagy: many paths to the same end. *Mol Cell Biochem*, 2004, 263: 55 ~ 72
- Talloczy Z, Jiang W, Virgin HW 4th, et al. Regulation of starvation- and virus-induced autophagy by the eIF2alpha kinase signaling pathway. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99: 190 ~ 195

6. Rikihisa Y. Glycogen autophagosomes in polymorphonuclear leukocytes induced by rickettsiae. *Anat Rec*, 1984, 208:319 ~ 327
  7. Rich KA, Burkett C, Webster P. Cytoplasmic bacteria can be targets for autophagy. *Cell Microbiol*, 2003, 5:455 ~ 468
  8. Liang XH, Kleeman LK, Jiang HH, et al. Protection against fatal Sindbis virus encephalitis by beclin, a novel Bcl-2-interacting protein. *J Virol*, 1998, 72:8586 ~ 8596
  9. Kirkegaard K, Taylor MP, Jackson WT. Cellular autophagy: surrender, avoidance and subversion by microorganisms. *Nat Rev Microbiol*, 2004, 2:301 ~ 314
  10. Gutierrez MG, Master SS, Singh SB, et al. Autophagy is a defense mechanism inhibiting BCG and *Mycobacterium tuberculosis* survival in infected macrophages. *Cell*, 2004, 119: 753 ~ 766
  11. Pyo JO, Jang MH, Kwon YK, et al. Essential roles of Atg5 and FADD in autophagic cell death: dissection of autophagic cell death into vacuole formation and cell death. *J Biol Chem*, 2005, 280:20722 ~ 20729
  12. Ogawa M, Yoshimori T, Suzuki T, et al. Escape of intracellular *Shigella* from autophagy. *Science*, 2005, 307:727 ~ 731
  13. Paludan C, Schmid D, Landthaler M, et al. Endogenous MHC class II processing of a viral nuclear antigen after autophagy. *Science*, 2005, 307:593 ~ 596
  14. Prentice E, Jerome WG, Yoshimori T, et al. Coronavirus replication complex formation utilizes components of cellular autophagy. *J Biol Chem*, 2004, 279:10136 ~ 10141
  15. Dorn BR, Dunn WA Jr, Progulskie-Fox A. Bacterial interactions with the autophagic pathway. *Cell Microbiol*, 2002, 4:1 ~ 10
  16. Hernandez LD, Pypaert M, Flavell RA, et al. A *Salmonella* protein causes macrophage cell death by inducing autophagy. *J Cell Biol*, 2003, 163:1123 ~ 1131
  17. Amer AO, Swanson MS. Autophagy is an immediate macrophage response to *Legionella pneumophila*. *Cell Microbiol*, 2005, 7:765 ~ 778
  18. Jackson WT, Giddings TH Jr, Taylor MP, et al. Subversion of cellular autophagosomal machinery by RNA viruses. *PLoS Biol*, 2005, 3:e156
- (收稿日期:2005-11-28)

## (上接第 196 页)

14. Lin PY, Lin TY, Huang YC, et al. Human metapneumovirus and community-acquired pneumonia in children. *Chang Gung Med J*, 2005, 28:683 ~ 688
  15. Chano F, Rousseau C, Laferriere C, et al. Epidemiological survey of human metapneumovirus infection in a large pediatric tertiary care center. *J Clin Microbiol*, 2005, 43:5520 ~ 5525
  16. Deffrasnes C, Cote S, Boivin G. Analysis of replication kinetics of the human metapneumovirus in different cell lines by real-time PCR. *J Clin Microbiol*, 2005, 43:488 ~ 490
  17. Cote S, Abed Y, Boivin G. Comparative evaluation of real-time PCR assays for detection of the human metapneumovirus. *J Clin Microbiol*, 2003, 41:3631 ~ 3635
  18. Wyde PR, Chetty SN, Jewell AM, et al. Comparison of the inhibition of human metapneumovirus and respiratory syncytialvirus by ribavirin and immune serum globulin in vitro. *Antiviral Res*, 2003, 60:51 ~ 59
  19. Hamelin ME, Prince GA, Boivin G, et al. Effect of ribavirin and glucocorticoid treatment in a mouse model of human metapneumovirus infection. *Antimicrob Agents Chemother*, 2006, 50:774 ~ 777
  20. Guerrero-Plata A, Baron S, Poast JS, et al. Activity and regulation of alpha interferon in respiratory syncytial virus and human metapneumovirus experimental infections. *J Virol*, 2005, 79:10190 ~ 10199
  21. Biacchesi S, Pham QN, Skiadopoulos MH, et al. Infection of nonhuman primates with recombinant human metapneumovirus lacking the SH, G, or M2-2 protein categorizes each as a nonessential accessory protein and identifies vaccine candidates. *J Virol*, 2005, 79:12608 ~ 12613
  22. Skiadopoulos MH, Biacchesi S, Buchholz UJ, et al. Individual contributions of the human metapneumovirus F, G, and SH surface glycoproteins to the induction of neutralizing antibodies and protective immunity. *Virology*, 2006, 345:492 ~ 501
  23. Gerna G, Campanini G, Rovida F, et al. Changing circulation rate of human metapneumovirus strains and types among hospitalized pediatric patients during three consecutive winter-spring seasons. *Arch Virol*, 2005, 150:2365 ~ 2375
- (收稿日期:2005-11-28)

## (上接第 180 页)

17. Chien JY, Jeng JS, Yu CJ, et al. Low serum level of high-density lipoprotein cholesterol is a poor prognostic factor for severe sepsis. *Crit Care Med*, 2005, 33:1688 ~ 1693
  18. Wu A, Hinds CJ, Thiemermann C. High-density lipoproteins in sepsis and septic shock: metabolism, actions, and therapeutic applications. *Shock*, 2004, 21:210 ~ 221
- (收稿日期:2005-09-01)