

自噬调节与特发性肺纤维化药物治疗研究进展

王栋^{1a}, 颜培正^{1a}, 陈海红^{1a}, 徐梦真^{1a}, 张庆祥^{1b}, 朱庆均^{1c,2*} (1.山东中医药大学, a.药学院, b.中医学院, c.中医药创新研究院, 济南 250355; 2.教育部中医药经典理论重点研究重点实验室, 济南 250355)

摘要: 特发性肺纤维化(idiopathic pulmonary fibrosis, IPF)是一种病因复杂、与年龄相关的肺纤维化疾病,其发病过程表现出进行性与不可逆性,最终导致患者呼吸系统衰竭而死亡。近些年的研究证实自噬参与了IPF的发生发展。本文回顾了自噬和IPF相关的临床研究、动物和细胞模型研究以及基于自噬的药物治疗研究,希望对阐明IPF的病理机制和药物研发有所帮助。

关键词: 自噬; 特发性肺纤维化; 临床研究; 动物细胞模型研究

中图分类号: R967 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2021)06-0756-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2021.06.023

引用本文: 王栋, 颜培正, 陈海红, 等. 自噬调节与特发性肺纤维化药物治疗研究进展[J]. 中国现代应用药学, 2021, 38(6): 756-761.

Research Progress on the Autophagy Regulation and Drug Therapy of Idiopathic Pulmonary Fibrosis

WANG Dong^{1a}, YAN Peizheng^{1a}, CHEN Haihong^{1a}, XU Mengzhen^{1a}, ZHANG Qingxiang^{1b}, ZHU Qingjun^{1c, 2*} (1.Shandong University of Traditional Chinese Medicine, a.School of Pharmaceutical Sciences, b.School of Traditional Chinese Medicine, c.Innovative Institute of Chinese Medicine and Pharmacy, Jinan 250355, China; 2.Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Classic Theory, Ministry of Education, Jinan 250355, China)

ABSTRACT: Idiopathic pulmonary fibrosis(IPF) is a kind of age-related pulmonary fibrosis disease with complex etiology. The pathogenesis of IPF is progressive and irreversible, which eventually leads to respiratory failure and death. In recent years, autophagy has been proved to be involved in the development of IPF. This review summarized the clinical research, animal and cell model research related to autophagy and IPF, and the drug treatment research based on the autophagy. It is hoped that this review will be helpful to clarify the pathological mechanism and drug development of IPF.

KEYWORDS: autophagy; idiopathic pulmonary fibrosis; clinical research; animal and cell models

自噬是胞内物质运送到溶酶体或液泡进行降解的细胞过程,是广泛存在于真核细胞的生命现象^[1]。自噬是生物在其发育、衰老过程中普遍存在的净化自身多余或受损细胞器的共同机制,借此维持蛋白质代谢平衡及细胞内环境稳态,这一过程在细胞清除废物、结构重建、生长发育过程中发挥重要作用。越来越多的证据表明,自噬与特发性肺纤维化(idiopathic pulmonary fibrosis, IPF)的发生发展关系密切。本文首先简述了自噬的核心内容,进而回顾总结了与自噬和IPF相关的临床研究、动物和细胞模型研究,并探讨与自噬调节相关的IPF药物,希望对了解自噬在IPF中的发病机制以及基于干预自噬过程研发IPF治疗药物有所帮助。

1 自噬

自噬是细胞对营养缺乏、生长因子剥夺、感染和缺氧等不同形式下应激所做出的适应过程。自噬的主要功能是细胞在饥饿和其他应激状态下为细胞的关键功能提供营养保障,长期以来被认为是一个非选择性过程,然而很多研究发现部分受体蛋白赋予自噬底物特异性,使自噬能够选择性消除非必要的、潜在有害的细胞内物质,如受损线粒体或蛋白质聚集体^[2]。相应的,调节自噬活性会影响神经退行性变、肿瘤和传染性疾病等多种疾病的病理过程^[3-4]。

细胞自噬可分为巨自噬、微自噬和分子伴侣介导的自噬,区别在于包裹细胞内物质及运送方式的差异。巨自噬在细胞内产生双层囊泡结构,

基金项目: 国家自然科学基金项目(81774169); 山东省中医药科技发展计划项目(2019-0040); 山东省医药卫生科技发展计划(2018WS207)

作者简介: 王栋,男,硕士生 Tel: 17862987109 E-mail: 1192672578@qq.com *通信作者: 朱庆均,男,博士,教授 Tel: (0531)89628510 E-mail: zhuqingjun@hotmail.com

包裹内容物形成自噬体, 自噬体与溶酶体融合后降解所包裹的内容物^[5]; 微自噬通过溶酶体或液泡膜内陷变形直接吞没胞质物质或细胞器进行降解^[6]; 分子伴侣介导的自噬通过分子伴侣识别胞浆蛋白并导入溶酶体进行降解^[7]。目前, 自噬与 IPF 的发生、发展和治疗研究集中在巨自噬方面, 下文所提到的自噬均为巨自噬。

1.1 自噬过程

细胞自噬大体包括 4 个阶段: 自噬起始和自噬体前体膜囊的形成; 自噬体的形成; 自噬溶酶体的形成; 自噬溶酶体的降解与循环再利用^[8]。

①自噬起始: 自噬体形成的起始步骤是囊泡的融合, 这些囊泡被认为有多种来源, 包括内质网、质膜来源的内体小泡中间体、高尔基复合体和线粒体等。这些囊泡结合形成一个扁平的膜囊, 即自噬体前体膜囊^[8-10]。②自噬体的形成: 更多的囊泡融合形成双层膜的杯状结构, 使自噬体前体膜囊逐步弯曲、伸长, 双层膜包围、吞噬部分细胞质。最终, 2 个边缘融合在一起时, 封闭形成一个双层膜囊泡, 即自噬体。将其吞噬并陷入其中的细胞质物质称为自噬货物(autophagic cargo)^[8-10]。③自噬溶酶体形成: 自噬体形成后, 沿着微管投递到溶酶体, 自噬体外膜与溶酶体膜融合形成自噬溶酶体。这种融合导致其中的单层膜自噬小体释放到溶酶体腔内, 便于自噬小体及其中的“货物”在自溶酶体水解环境中降解^[8-10]。④自噬溶酶体的降解与循环再利用: 自噬体与自噬货物最终被溶酶体中的水解酶降解。首先, 需要囊泡酸化达到所需 pH 值, 然后经多种酶作用使囊泡内容物降解, 降解的产物与自噬溶酶体膜在细胞内循环再利用^[8-10]。

1.2 自噬调控

在生理条件下, 自噬有着严格的调控。自 1963 年 Christian de Duve 提出现代自噬概念以后的 30 年里, 自噬研究主要集中在应用超微结构技术探究氨基酸和(或)生长因子剥夺引起的自噬调节以及自噬的超微形态描述等领域^[11]。直到 20 世纪 90 年代, Ohsumi 等^[12]采用酵母基因筛选技术从自噬缺陷的线虫突变体中鉴定出 15 个自噬相关基因, 这一里程碑式的发现使自噬分子调节机制才被逐步揭示。随后更多的与自噬功能相关的基因被不同实验室发现, 2003 年, 这些基因被统一命名为自噬相关基因(autophagy-related gene, ATG)^[13]。到目前为止, 共有 42 个 ATG 被鉴定, 它们在真核

生物中高度保守^[14], 大量的研究对各种核心 ATG 蛋白在自噬不同阶段的调控作用进行了阐述。

最上游的 UNC-51-样激酶 1(UNC-51-like kinase 1, ULK1)与 ATG13、ATG101 和 200 kDa 局部黏着斑激酶家族链接蛋白(focal adhesion kinase family interacting protein of 200 kDa, FIP200)形成四聚体复合物, 通过影响多个信号通路来控制不同条件下自噬的启动。其中, FIP200 是自噬体形成的下游 ATG 蛋白组装的支架, 通过连接蛋白 ATG13、ATG101 与 ULK1 结合。在细胞营养充足条件下, 哺乳动物雷帕霉素靶蛋白复合物 1 (mechanistic target of rapamycin complex 1, mTORC1)可以直接结合 ULK1 与 ATG13, 使其磷酸化而处于失活状态, 自噬调节保持在基底水平。相反, 因氨基酸等营养缺乏而触发自噬调节后, ULK1 与 mTORC1 结合位点去磷酸化而发生解离^[15-16]。同时, ULK1 经历自磷酸化而激活, ATG13 和 FIP200 也发生磷酸化, 复合物 ULK-ATG13-ATG101-FIP200 形成, 自噬启动, 多种蛋白开始募集, 自噬体组装位点(phagophore assembly site/pre-autophagosomal structure, PAS)出现^[17]。ULK1 的激活导致 Beclin1 的磷酸化, 随后增加 III 型磷酸肌醇-3-激酶(class III phosphoinositide 3-kinase, PIK3C3, 又称 VPS34)复合物的活性^[18]。PIK3C3 复合物是自噬体前体膜囊形成磷脂酰肌醇 3-磷酸(phosphatidylinositol 3-phosphate, PI3P)所必需的, 而 PI3P 对于 ATG2-ATG18 的募集与膜的伸长非常重要^[19]。同时, ATG 家族中唯一一个多通道跨膜蛋白 ATG9 受 ULK1 的影响, 在其他蛋白协助下, 往返于 PAS 与细胞质膜结构之间, 参与自噬体膜的形成与伸长^[20]。在膜伸长的同时, 自噬货物也被包裹。其中, 一些受体蛋白(例如 p62)选择性与货物结合, 充当货物与自噬蛋白之间的桥梁。而桥梁的建造过程之一可能是受体蛋白可以通过泛素结合域识别泛素化的蛋白质(货物), 并通过其微管相关蛋白轻链 3(microtubule-associated protein light chain 3, LC3)相互作用区域基序与自噬体上的 LC3 家族成员结合^[21]。最后, 在自噬溶酶体的形成阶段, 与磷脂酰乙醇胺(phosphatidyl ethanolamine, PE)偶联的 ATG8 的作用仍然存在争议。但可以明确的是, 对于哺乳动物中自噬的封闭、运输或融合过程, ATG8-PE 非常重要^[22]。

2 自噬与 IPF 的发生发展

呼吸时,肺组织会因暴露于具有损伤因素(病原微生物、各种粉尘等)的环境下受损,触发组织修复。过度或反复损伤,可引起肺组织修复异常,诱发肺组织细胞分化形成肌成纤维细胞,导致细胞外基质(extracellular matrix, ECM)沉积、肺组织破坏性结构重塑,肺功能逐渐丧失,最终发生 IPF^[23]。自噬被认为是维持细胞稳定状态的保护系统,能够在应激条件下以非选择性方式为细胞提供营养,或者以选择性方式消除潜在有害的胞内物质。近年来,大量研究表明自噬异常与 IPF 发生、发展有关。

2.1 临床研究

基于生物信息学对 IPF 患者相关数据库分析发现,自噬作为 IPF 主要生物过程被显著富集^[24]。在 IPF 患者的肺组织中可以检测到自噬水平的下降,其中 LC3- I /LC3- II 比值与正常人肺组织相比有降低趋势^[25]。内质网应激指发生错误折叠与未折叠的蛋白质在内质网内积聚而引起细胞平衡紊乱,X 盒结合蛋白 1(X-box binding protein 1, XBP1)是其检测的关键基因。缺氧是人体全身或某一区域被剥夺了充足的氧气供应,激活缺氧诱导因子-1(hypoxia-inducible factor-1, HIF-1)介导适应性过程,触发 AMPK 信号通路进行调节。以上二者均被认为是自噬的诱导因素,并且在 IPF 患者肺组织中可以检测到 XBP1 与磷酸化 AMPK 的升高。但是,自噬活性的标志物 LC3 减少、p62 增加与电镜自噬体数量下降的检测结果表明自噬在 IPF 患者中降低^[26]。同时,对 IPF 患者的肺成纤维细胞研究中发现 Beclin1 明显下调,而 Beclin1 正是启动自噬体所必需的^[27]。此外,对年轻人与老年人 IPF 患者的成纤维细胞进行培养,发现衰老会倾向于较低的自噬活性而表现出低水平的自噬流,这是由 mTOR 通路激活介导的^[28]。

2.2 动物与细胞模型研究

IPF 的发病与年龄增长有关,意味着某些依赖年龄而产生的蛋白质与细胞器分解代谢缺陷的情况加速了 IPF 的进程,例如线粒体自噬缺损、内质网应激与未折叠蛋白反应。众多研究证明 IPF 过程中衰老伴随着自噬水平的下降。体外研究证明 IPF 自噬水平的下降包括泛素化蛋白和 p62 的积累,并可以通过 p21 表达和 SA- β -Gal 染色检测出细胞衰老^[29]。通过 Janus 蛋白酪氨酸激酶 2(Janus kinase

2, JAK2)与信号转导和转录激活因子 3(signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)双抑制可以实现更大程度的细胞衰老降低与自噬激活,但其具体协同机制仍待研究^[30]。在小鼠 IPF 模型中,老年鼠(22 个月)比幼鼠(2 个月)表现出更低水平的线粒体自噬,体现在线粒体与 LC3- II 共定位的下降。同时,与功能失调线粒体降解相关的同源性磷酸酶张力蛋白诱导的激酶 1(PTEN-induced putative kinase 1, PINK1)的表达出现下降,这被认为是由转化生长因子- β 1(transforming growth factors- β 1, TGF- β 1)调节而影响线粒体的自噬和稳态。体外自噬流与基因芯片实验证明, TGF- β 1 在 IPF 过程中促进成纤维细胞向肌成纤维细胞转化时调节自噬相关基因转录而抑制自噬,并表现出明显的时间依赖性^[31]。以基因敲除 ATG4b 小鼠为模型,经衣霉素诱导内质网应激后发现,小鼠肺组织表现出未折叠蛋白反应轻度激活与肺部炎症的增强。这种部分复制衰老和 IPF 中的自噬缺陷条件的研究,证明了自噬损伤和诱导内质网应激在体内同时促进肺纤维化的发展^[32]。

肺组织损伤后,多种机制促进急性炎症反应,但反复的损伤与修复,会产生不完全消除的慢性炎症,致使肺纤维化不断进展^[33]。使用博来霉素(bleomycin, BLM)诱导 IPF 的动物模型被广泛应用于实验研究中,模型动物在实验初期表现出强自噬活动,被认为是调节炎症反应而保护肺组织。随着时间积累,自噬活动受到抑制,IPF 不断加重^[34]。在基因敲除 ATG4b 而破坏自噬的小鼠体内,经 BLM 诱导 7 d 后,炎症明显升高,这与中性粒细胞浸润增加和促炎细胞因子显著改变有关;细胞凋亡增加,主要影响肺泡和支气管上皮细胞。在 BLM 诱导 28 d 后, ATG4b^{-/-}的小鼠表现出更广泛和严重的纤维化,胶原积累增加,ECM 相关基因表达失调^[35]。炎症是多种分子的路径或损伤相关的分子模式与包括 Toll 样受体(Toll like receptors, TLRs)在内的模式识别受体相互作用引起。BLM 诱导的 TLR4^{-/-}型小鼠表现出更高水平的急性肺损伤的炎症与肺纤维化,并且出现炎症消退和免疫抑制反应受到干扰。更重要的是,TLR4 的缺乏抑制了自噬相关途径的活化,表现出 LC3B-I 向 LC3B-II 的转化抑制,Beclin1 和 PI3K3C 的表达下调,AKT 和 mTOR 的表达和磷酸化增强,肺组织中自噬体数量减少。相应地,逆转 TLR4

的缺乏而激活自噬可减轻纤维化进程^[36]。白介素-17A(interleukin 17A, IL-17A)在慢性炎症和自身免疫性疾病中作为促炎性细胞因子发挥作用。体外实验证明, IL-17A 可以刺激小鼠 II 型肺泡上皮细胞的胶原蛋白生成并减弱自噬。而 IL-17A 在 BLM 诱导小鼠 IPF 模型中, 以依赖 TGF- β 1 的方式促进肺泡上皮发生上皮间质转化与胶原蛋白的合成和分泌。拮抗 IL-17A 导致小鼠肺组织中 Beclin1、VPS34、B 细胞淋巴瘤-2(B-cell lymphoma 2, Bcl-2)蛋白磷酸化增加, mTOR 下降和 LC3 与 TUNEL 共定位增强。这表明, 阻断 IL-17A 能够有效诱导自噬, 并引起纤维化肺组织的自噬相关细胞凋亡^[37]。另一个细胞因子 IL-37 可以抑制 TGF- β 1 诱导的肺成纤维细胞增殖和下调 TGF- β 1 信号通路。此外, IL-37 增强了 IPF 成纤维细胞中依赖 Beclin1 的自噬和自噬调节剂。IL-37 抑制 BLM 诱导的小鼠肺部炎症和胶原沉积, 通过自噬抑制剂干预后会逆转这一结果^[38]。

肺组织损伤与修复失衡引起肌成纤维细胞大量生成与活化, 促使 ECM 沉积而导致 IPF。自噬参与了肌成纤维细胞分化的调控, 其中线粒体自噬不足导致活性氧种类增加, 可能影响血小板衍生生长因子受体(platelet-derived growth factor receptor, PDGFR)/PI3K/Akt 细胞信号通路, 促进肌成纤维细胞分化。这一过程的关键在于 PARK2 表达下调, 它的作用在 IPF 患者成纤维细胞与 BLM 诱导 PARK2 敲除小鼠中得到证实^[39]。延长因子-2 激酶(elongation factor-2 kinase, eEF2K)的抑制会加速 TGF- β 1 诱导的 MRC-5 细胞向肌成纤维细胞转化, 并且伴有自噬的抑制。进一步抑制 eEF2K 可诱导肌成纤维细胞增殖和分化, 减少肌成纤维细胞凋亡, 并通过 p38MAPK 信号通路抑制肌成纤维细胞自噬^[40]。1-磷酸鞘氨醇(sphingosine-1-phosphate, S1P)在人 IPF 原代肺成纤维细胞与 BLM 诱导 IPF 小鼠模型中表达上调, 相应的激酶与裂解酶负责调控 SIP 合成和分解代谢。SIP 裂解酶的过表达可通过影响 LC3 与 Beclin1 而增强自噬, 抑制 BLM 诱导小鼠 TGF- β 与 SIP 介导的成纤维细胞分化^[41]。体外培养 IPF 患者成纤维细胞中异常的 PTEN/Akt 轴可以调高 mTOR 活性而抑制自噬的诱导, 致使 IPF 成纤维细胞对应激诱导环境脱敏, 从而维持聚合胶原上的病理细胞表型^[42]。另外, Akt 直接靶点叉头转录因子 O3a (forkhead

box protein O3a, FoxO3a)的表达降低会导致 IPF 成纤维细胞胶原自噬异常^[43]。基质金属蛋白酶 19(matrix metalloproteinases 19, MMP19)缺陷小鼠经 BLM 诱导后会表现出更为严重的肺纤维化, 其基因芯片实验结果显示一些胶原蛋白和其他 ECM 成分基因表达上调, 同时伴随功能通路的失调, 如迁移、增殖和自噬。进一步功能实验证实, MMP19^{-/-}小鼠中 ATG4 表达减少引起自噬反应受损^[44]。

3 自噬调节与 IPF 治疗药物

IPF 表现为渐进性与不可逆的呼吸困难, 几乎所有的 IPF 患者最终死于呼吸衰竭。肺移植是彻底治疗 IPF 的有效方法, 但是移植后中位生存期仅为 5 年, 并且存在供体少、术前等待供体时间久等局限。目前, 尚没有任何能够逆转或完全阻止 IPF 发展的药物。随着自噬在 IPF 中作用机制的研究, 一些已上市用来改善 IPF 的药物或具有治疗 IPF 作用的化合物所具有的调控自噬的能力逐步被发现。

3.1 上市药物

吡啶类小分子化合物吡非尼酮是 IPF 的特异性治疗药物。研究发现吡非尼酮通过增强 PARK2 表达激活线粒体自噬, 并在一定程度上参与抑制 TGF- β 相关的肌成纤维细胞分化。体外实验发现吡非尼酮通过降低线粒体活性氧(reactive oxygen species, ROS)和 PDGFR-PI3K-Akt 活化, 抑制 PARK2 基因沉默诱导的肌成纤维细胞分化。与野生型小鼠相比, 同样经 BLM 处理的 PARK2 基因敲除小鼠表现出更强的肺纤维化和氧化修饰, 而使用吡非尼酮可有效减轻野生型小鼠的这一情况^[45]。

尼达尼布是一种多种酪氨酸激酶抑制剂, 于 2014 年与吡非尼酮一同被美国 FDA 批准用于治疗 IPF。尼达尼布可以抑制 TGF- β 信号传导途径, 在 TGF- β 1 诱导后 20 min 便可出现 Smad3 磷酸化抑制和上游 II 型 TGF- β 受体的酪氨酸磷酸化抑制。用尼达尼布干预 TGF- β 1 诱导的体外培养 IPF 患者肺组织成纤维细胞, 可检测到肌成纤维细胞标志物 α -平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA)表达减少, ECM 主要成分纤黏连蛋白和胶原蛋白 I 减少。更重要的是, 通过检测 LC3- I /LC3- II 比值、沉默 ATG7 与 Beclin1 后发现, 尼达尼布能够提高自噬水平, 在 ATG7 沉默的细胞中自噬水平无明显变化, 而 Beclin1 沉默后自噬水平下降^[46]。

3.2 治疗 IPF 的潜在化合物

小檗碱是从黄连属植物中提取的异喹啉生物

碱。在 BLM 诱导的大鼠中,小檗碱可以减轻 α -SMA、纤连蛋白、胶原蛋白 I 和 III 等纤维化标志物的高表达,逆转 BLM 诱导的肺超微结构的改变;抑制 BLM 诱导的 p-Smad2/3 高表达并增强 Smad7 表达;阻止局灶性黏着斑激酶(focal adhesion kinase, FAK)和 PI3K/Akt 的活化而抵抗 BLM 诱导的失调,进而提高 PTEN 表达。同时,小檗碱通过抑制 p-mTOR,升高 Beclin1、LC3-II 水平以及刺激自噬体形成而增强自噬水平。因此,小檗碱通过有目的地抑制失调的 Smad 和 FAK 依赖性 PI3K/Akt/mTOR 信号转导轴,改善 BLM 诱导的纤维化进程^[47]。

第 2 代大环内酯类抗菌药阿奇霉素,对包括蛋白质稳定在内的细胞过程具有多效性。体外实验证明阿奇霉素通过影响 IPF 过程中未折叠蛋白反应、蛋白酶体和自噬之间的串扰而抑制 TGF- β 诱导的肌成纤维细胞分化。特殊的是,它通过抑制溶酶体酸化而下调自噬水平,促使蛋白酶体活化和增强未折叠蛋白反应,其作用机制是通过上调 E3 泛素连接酶 STUB1 的蛋白水平来实现还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶 4 (nicotinamide adenine dinucleotide phosphatase oxidase, NOX4)的泛素化。体内实验进一步确定阿奇霉素通过促进蛋白酶体活化和降低 NOX4 蛋白水平,从而抑制肺纤维化的发展^[48]。

褪黑素是一种内源性吲哚胺,是主要由松果体分泌的神经内分泌激素。它作为一种强效抗氧化剂,可诱导抗氧化酶的表达,清除自由基,调节细胞凋亡和自噬途径。并且,褪黑素诱导自噬的作用可能是抑制 IPF 肺纤维化的重要机制。在 BLM 诱导的小鼠肺纤维化过程中,褪黑素减少了肺纤维化发展过程中的内质网应激和随后的上皮间质转化。实验证明褪黑素可以诱导自噬途径活化,可能影响 IPF 过程的自噬活性降低,但褪黑素是否可以作为治疗 IPF 的候选药物尚需进一步临床试验证明^[49]。

4 总结与展望

众多的证据表明,自噬在 IPF 的发展过程中并不是一个简单的“参与者”,而是一个重要的“协调者”。由前文所述,自噬在 IPF 的发展中水平降低,涉及到与衰老有关的线粒体和内质网等细胞器调节、肺组织损伤过程中的炎症与免疫、与 ECM 沉积相关的肺肌成纤维细胞的生成与活化等方面。而不同的实验结果证明自噬的激活会改善

IPF。这不仅为吡非尼酮与尼达尼布治疗 IPF 的作用机制研究提供方向,而且为人们筛选得到了包括小檗碱等在内的一些具有潜在治疗作用的化合物。

尽管目前人们对自噬的认识有了长足的进步,但自噬在 IPF 中发挥的作用仍需不断研究,期望进一步的发展可以为 IPF 患者的治疗提供希望。未来,研究者应更加注重以下几个方向:①自噬的调节是依赖于细胞的,因此阐明自噬相关基因在肺部不同类型细胞的特异性调节至关重要。②自噬的分子基础复杂,不同的自噬相关动物模型需要更多的实验证明自噬在 IPF 中的调节过程。③在 IPF 发展过程中,自噬是一个重要的“协调者”。PI3K/Akt 等不同的细胞信号通路也参与调节,这其中的协同或拮抗关系需要进一步阐明。

REFERENCES

- [1] KLIONSKY D J. Autophagy revisited: A conversation with Christian de Duve[J]. *Autophagy*, 2008, 4(6): 740-743.
- [2] PANKIV S, DE CLAUSEN T H, LAMARK T, et al. p62/SQSTM1 binds directly to Atg8/LC3 to facilitate degradation of ubiquitinated protein aggregates by autophagy[J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(33): 24131-24145.
- [3] DIKIC I, ELAZAR Z. Mechanism and medical implications of mammalian autophagy[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2018, 19(6): 349-364.
- [4] HAN Y Y, ZHENG J G, YANG Q H, et al. Effects of dexmedetomidine on the expression of autophagy protein LC3 in operated lung tissues of patients undergoing radical operation for lung cancer[J]. *Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学)*, 2018, 35(3): 411-414.
- [5] NODA N N, INAGAKI F. Mechanisms of autophagy[J]. *Annu Rev Biophys*, 2015(44): 101-122.
- [6] LI W W, LI J, BAO J K. Microautophagy: lesser-known self-eating[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2012, 69(7): 1125-1136.
- [7] CUERVO A M, WONG E. Chaperone-mediated autophagy: Roles in disease and aging[J]. *Cell Res*, 2014, 24(1): 92-104.
- [8] 秦正红. 自噬:生物学与疾病(基础卷 第2版)[M]. 北京: 科学出版社, 2015.
- [9] LAMB C A, YOSHIMORI T, TOOZE S A. The autophagosome: Origins unknown, biogenesis complex[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2013, 14(12): 759-774.
- [10] MIZUSHIMA N, KOMATSU M. Autophagy: renovation of cells and tissues[J]. *Cell*, 2011, 147(4): 728-741.
- [11] MIZUSHIMA N. A brief history of autophagy from cell biology to physiology and disease[J]. *Nat Cell Biol*, 2018, 20(5): 521-527.
- [12] TSUKADA M, OHSUMI Y. Isolation and characterization of autophagy-defective mutants of *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *FEBS Lett*, 1993, 333(1/2): 169-174.
- [13] KLIONSKY D J, CREGG J M, DUNN W A J, et al. A unified nomenclature for yeast autophagy-related genes[J]. *Dev Cell*, 2003, 5(4): 539-545.
- [14] RANDOW F, YOULE R J. Self and nonself: How autophagy targets mitochondria and bacteria[J]. *Cell Host Microbe*, 2014, 15(4): 403-411.
- [15] HOSOKAWA N, HARA T, KAIZUKA T, et al. Nutrient-dependent mTORC1 association with the ULK1-Atg13-

- FIP200 complex required for autophagy[J]. *Mol Biol Cell*, 2009, 20(7): 1981-1991.
- [16] JUNG C H, JUN C B, RO S H, et al. ULK-Atg13-FIP200 complexes mediate mTOR signaling to the autophagy machinery[J]. *Mol Biol Cell*, 2009, 20(7): 1992-2003.
- [17] KAWAMATA T, KAMADA Y, KABEYA Y, et al. Organization of the pre-autophagosomal structure responsible for autophagosome formation[J]. *Mol Biol Cell*, 2008, 19(5): 2039-2050.
- [18] RUSSELL R C, TIAN Y, YUAN H X, et al. ULK1 induces autophagy by phosphorylating Beclin-1 and activating VPS34 lipid kinase[J]. *Nat Cell Biol*, 2013, 15(7): 741-750.
- [19] DOOLEY H C, RAZI M, POLSON H E J, et al. WIPI₂ links LC3 conjugation with PI₃P, autophagosome formation, and pathogen clearance by recruiting Atg12-5-16L1[J]. *Mol Cell*, 2014, 55(2): 238-252.
- [20] REGGIORI F, SHINTANI T, NAIR U, et al. Atg9 cycles between mitochondria and the pre-autophagosomal structure in yeasts[J]. *Autophagy*, 2005, 1(2): 101-109.
- [21] ROGOV V, DÖTSCH V, JOHANSEN T, et al. Interactions between autophagy receptors and ubiquitin-like proteins form the molecular basis for selective autophagy[J]. *Mol Cell*, 2014, 53(2): 167-178.
- [22] TSUBOYAMA K, KOYAMA-HONDA I, SAKAMAKI Y, et al. The ATG conjugation systems are important for degradation of the inner autophagosomal membrane[J]. *Science*, 2016, 354(6315): 1036-1041.
- [23] WOLTERS P J, COLLARD H R, JONES K D. Pathogenesis of idiopathic pulmonary fibrosis[J]. *Annu Rev Pathol*, 2014(9): 157-179.
- [24] TAO J, ZHANG M, WEN Z, et al. Inhibition of EP300 and DDR1 synergistically alleviates pulmonary fibrosis *in vitro* and *in vivo*[J]. *Biomed Pharmacother*, 2018(106): 1727-1733.
- [25] CHEN Z H, KIM H P, SCIURBA F C, et al. Egr-1 regulates autophagy in cigarette smoke-induced chronic obstructive pulmonary disease[J]. *PLoS One*, 2008, 3(10): e3316.
- [26] PATEL A S, LIN L, GEYER A, et al. Autophagy in idiopathic pulmonary fibrosis[J]. *PLoS One*, 2012, 7(7): e41394.
- [27] RICCI A, CHERUBINI E, SCOZZI D, et al. Decreased expression of autophagic beclin 1 protein in idiopathic pulmonary fibrosis fibroblasts[J]. *J Cell Physiol*, 2013, 228(7): 1516-1524.
- [28] ROMERO Y, BUENO M, RAMIREZ R, et al. mTORC1 activation decreases autophagy in aging and idiopathic pulmonary fibrosis and contributes to apoptosis resistance in IPF fibroblasts[J]. *Aging Cell*, 2016, 15(6): 1103-1112.
- [29] ARAYA J, KOJIMA J, TAKASAKA N, et al. Insufficient autophagy in idiopathic pulmonary fibrosis[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2013, 304(1): L56-L69.
- [30] MILARA J, HERNANDEZ G, BALLESTER B, et al. The JAK2 pathway is activated in idiopathic pulmonary fibrosis[J]. *Respir Res*, 2018, 19(1): 24.
- [31] SOSULSKI M L, GONGORA R, DANCHUK S, et al. Deregulation of selective autophagy during aging and pulmonary fibrosis: The role of TGFβ1[J]. *Aging Cell*, 2015, 14(5): 774-783.
- [32] MACIEL M, HERNÁNDEZ-BARRIENTOS D, HERRERA I, et al. Impaired autophagic activity and ATG4B deficiency are associated with increased endoplasmic Reticulum stress-induced lung injury[J]. *Aging: Albany NY*, 2018, 10(8): 2098-2112.
- [33] CHEN Q, XIONG X D. Progress of immunocyte in idiopathic pulmonary fibrosis[J]. *Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学)*, 2018, 35(10): 1586-1590.
- [34] DIVYA T, SURESHKUMAR A, SUDHANDIRAN G. Autophagy induction by celastrol augments protection against bleomycin-induced experimental pulmonary fibrosis in rats: Role of adaptor protein p62/SQSTM1[J]. *Pulm Pharmacol Ther*, 2017(45): 47-61.
- [35] CABRERA S, MACIEL M, HERRERA I, et al. Essential role for the ATG4B protease and autophagy in bleomycin-induced pulmonary fibrosis[J]. *Autophagy*, 2015, 11(4): 670-684.
- [36] YANG H Z, WANG J P, MI S, et al. TLR4 activity is required in the resolution of pulmonary inflammation and fibrosis after acute and chronic lung injury[J]. *Am J Pathol*, 2012, 180(1): 275-292.
- [37] MI S, LI Z, YANG H Z, et al. Blocking IL-17A promotes the resolution of pulmonary inflammation and fibrosis via TGF-beta1-dependent and-independent mechanisms[J]. *J Immunol*, 2011, 187(6): 3003-3014.
- [38] KIM M S, BAEK A R, LEE J H, et al. IL-37 attenuates lung fibrosis by inducing autophagy and regulating TGF-β1 production in mice[J]. *J Immunol*, 2019, 203(8): 2265-2275.
- [39] KOBAYASHI K, ARAYA J, MINAGAWA S, et al. Involvement of PARK2-mediated mitophagy in idiopathic pulmonary fibrosis pathogenesis[J]. *J Immunol*, 2016, 197(2): 504-516.
- [40] WANG Y N, HUANG G J, WANG Z X, et al. Elongation factor-2 kinase Acts downstream of p38 MAPK to regulate proliferation, apoptosis and autophagy in human lung fibroblasts[J]. *Exp Cell Res*, 2018, 363(2): 291-298.
- [41] HUANG L S, NATARAJAN V. Sphingolipids in pulmonary fibrosis[J]. *Adv Biol Regul*, 2015(57): 55-63.
- [42] NHO R S, HERGERT P. IPF fibroblasts are desensitized to type I collagen matrix-induced cell death by suppressing low autophagy via aberrant Akt/mTOR kinases[J]. *PLoS One*, 2014, 9(4): e94616.
- [43] IM J, HERGERT P, NHO R S. Reduced FoxO3a expression causes low autophagy in idiopathic pulmonary fibrosis fibroblasts on collagen matrices[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2015, 309(6): L552-L561.
- [44] JARA P, CALYECA J, ROMERO Y, et al. Matrix metalloproteinase (MMP)-19-deficient fibroblasts display a profibrotic phenotype[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2015, 308(6): L511-L522.
- [45] KURITA Y, ARAYA J, MINAGAWA S, et al. Pirfenidone inhibits myofibroblast differentiation and lung fibrosis development during insufficient mitophagy[J]. *Respir Res*, 2017, 18(1): 114.
- [46] RANGARAJAN S, KURUNDKAR A, KURUNDKAR D, et al. Novel mechanisms for the antifibrotic action of nintedanib[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2016, 54(1): 51-59.
- [47] CHITRA P, SAIPRASAD G, MANIKANDAN R, et al. Berberine inhibits Smad and non-Smad signaling cascades and enhances autophagy against pulmonary fibrosis[J]. *J Mol Med: Berl*, 2015, 93(9): 1015-1031.
- [48] TSUBOUCHI K, ARAYA J, MINAGAWA S, et al. Azithromycin attenuates myofibroblast differentiation and lung fibrosis development through proteasomal degradation of NOX4[J]. *Autophagy*, 2017, 13(8): 1420-1434.
- [49] HOSSEINZADEH A, JAVAD-MOOSAVI S A, REITER R J, et al. Oxidative/nitrosative stress, autophagy and apoptosis as therapeutic targets of melatonin in idiopathic pulmonary fibrosis[J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2018, 22(12): 1049-1061.

收稿日期: 2020-04-26
 (本文责编: 曹粤锋)