

文章编号: 1004-0374(2008)04-0506-08

线粒体与细胞凋亡调控

朱玉山¹, 陈 佺^{1,2*}

(1 南开大学生命科学学院, 天津 300071; 2 中国科学院动物研究所,
生物膜与膜生物工程国家重点实验室, 北京 100101)

摘要: 细胞凋亡是一个受到一系列相关基因严格调控的细胞死亡过程。线粒体是细胞凋亡调控的活动中心。在凋亡因子的刺激下, 线粒体释放出不同促凋亡因子如细胞色素 C、Smac/Diablo 等, 激活细胞内凋亡蛋白酶 Caspase。我们发现, 活化后的 Caspase 可以反过来作用于线粒体, 引发更大量线粒体细胞色素 C 的释放, 构成细胞色素 C 释放的正反馈调节机制, 从而导致电子传递链的中断、膜电势的丧失、胞内 ROS 的升高以及线粒体产生 ATP 功能的完全丧失。Bcl-2 家族蛋白在细胞色素 C 释放和细胞凋亡调控中起关键作用。

关键词: 线粒体; 细胞色素 C; 细胞凋亡; Caspase; Bcl-2

中图分类号: Q244; Q255 **文献大标题:** A

Mitochondria and apoptosis regulation

ZHU Yu-shan¹, CHEN Quan^{1,2*}

(1 College of Life Sciences, Nankai University, Tianjin 300071, China; 2 National Key Laboratory of Biomembrane and Membrane Biotechnology, Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China)

Abstract: Apoptosis is a highly regulated form of programmed cell death, which plays a key role in the development and homeostasis of multicellular organisms. Mitochondria play a central role in the regulation of apoptotic cell death. Upon death stimuli, different apoptogenic factors such as cytochrome c and Smac/Diablo are released during the early stages of apoptosis. A small amount cytochrome c may be sufficient for activating caspases. Once activated, caspases can positively feedback to attack mitochondria leading to a more profound loss of cytochrome c and consequently mitochondrial dysfunction. This caspase-mediated late stage of cytochrome c release causes the complete disruption of mitochondrial electron transport chain, leading to the increase in cellular ROS and complete loss of ATP generation, late stage of apoptotic events or secondary necrosis. Bcl-2 and its family proteins are important for regulating cytochrome c release and apoptotic processes.

Key words: mitochondria; cytochrome c; apoptosis; caspase; Bcl-2

“细胞凋亡(apoptosis)”是“程序性细胞死亡(programmed cell death)”的一种形式之一, 是细胞一种生理性、主动性的细胞“自杀行为”。细胞程序化死亡最早是由 Lockshin 和 Wiliams 在 1965 年提出。随后在 1972 年 Kerr 等从形态学的角度描述了细胞的生理死亡, 并将这种细胞死亡命名为凋亡(apoptosis)。细胞凋亡是机体在生长、发育和受到外来刺激时清除多余、衰老和受损伤的细胞以保持机体内环境平衡和维持正常生理活动过程的一种

自我调节机制。这种调节机制的异常与多种疾病的发生有关, 如癌症的发生与细胞凋亡的抑制有关, 而老年性痴呆与神经细胞凋亡过度有关。目前对细胞凋亡的研究已经涉及到肿瘤生物学、发育生物

收稿日期: 2008-07-17

基金项目: “973”项目(2006CB910102); 国家自然科学基金项目(30630038 & 30400098); 科学院知识创新项目(KSCX2-YW-R-02)

*通讯作者: E-mail: chenquan@nankai.edu.cn

学、神经生物学、免疫生物学等方面,已经取得很多突破性的成果。2002年诺贝尔生理学或医学奖分别授予来自英国的 Sydney Brenner、来自美国的 H. Robert Horvitz 和来自英国的 John E. Sulston,以表彰他们发现了在器官发育和“程序性细胞死亡”过程中的基因调控。

1 线粒体与细胞凋亡

细胞凋亡受到一系列相关基因严格调控。不同的凋亡信号在细胞中引发不同的凋亡信号转导通路。根据凋亡信号的来源可以将细胞凋亡信号转导通路分成两条:外源通路(死亡受体通路)和内源通路(线粒体通路)。这两条通路最后都汇集于下游的效应 Caspase,即凋亡蛋白酶 Caspase 的激活。活化 Caspase 在细胞中能够切割 400 多种底物,如 Lamins、信号分子如蛋白激酶、骨架蛋白、DNA 修复酶以及包括调控 mRNA 剪切、DNA 复制的功能蛋白。这些重要蛋白质的降解和核酸酶的激活最终导致细胞凋亡^[1]。

线粒体是细胞的能量工厂,是真核细胞生存的基础。越来越多的实验证据表明,线粒体是细胞凋亡调控的活动中心。线粒体在细胞凋亡中的作用主要表现为^[2]:第一,在凋亡发生过程中,多种促进细胞凋亡的蛋白转移至线粒体,从而使线粒体膜的通透性和完整性受到破坏。由于内膜对氢离子的通透性增加引起线粒体膜电位消失; Bcl-2 家族蛋白主要通过调节线粒体的功能来调控细胞的凋亡;第二,有多种凋亡诱导因子从线粒体释放,如细胞色素 C(cytochrome c)、AIF(apoptosis-inducing factor)、Smac/Diablo(second mitochondria-derived activator of caspase/direct IAP binding protein with low pI)和 Caspase 前体蛋白 procaspase-2,-3,-8 和 -9 等在凋亡发生过程中从线粒体膜间隙被释放到细胞质中,随后引起典型的凋亡变化;第三,有一些凋亡诱导物能够诱导线粒体上的膜透过性转变孔(permeability transition pore, PTP)开放,导致线粒体膜电位消失和释放促凋亡蛋白。

由于诱变剂、化疗药物和电离辐射造成细胞内不可修复的基因组损伤会激活凋亡的内源通路,即线粒体通路。线粒体这种特殊的细胞器在其中起着关键性的调控作用。在多种形式的刺激信号作用于线粒体后,将会引起线粒体释放细胞色素 C^[3]、AIF^[4]、Smac/Diablo^[5]和 procaspase-2,-3,-8 和 -9^[6,7]等促凋亡因子。最新研究发现,线粒体在凋亡发生时还可能释放一种核酸内切酶 endonuclease G^[8,9]。Endo-

nuclease G 的相对分子质量为 26 k,以同源二聚体形式存在并行使其功能,它能选择性地鸟嘌呤富集区(dG)n (n=9)切割 DNA 双链。

细胞色素 C 从线粒体被释放出来后,与 Apaf-1 (apoptosis protease activating factor-1)在 ATP/dATP 存在下发生构象变化并形成巨大的复合体(700 k/1.4 M),称为凋亡体(apoptosome),同时凋亡体吸引 Caspase-9 前体加入该复合体, Caspase-9 前体聚合后被反式催化激活。活化的 Caspase-9 继而作用于下游的效应 Caspase(Caspase-3,-6 和 -7),引起细胞凋亡。AIF 是一种不依赖于 Caspase 的凋亡效应因子,当它从线粒体释放出来,并从细胞质移位至细胞核时,会引起染色质凝集,并将 DNA 降解为 50 Kb 的大片断^[6,7,10-13]。

在细胞中还存在着一些抑制凋亡蛋白 IAP(inhibitor of apoptosis proteins),它们可以与细胞色素 C 和 Apaf-1 激活的 Caspase-9 结合,并且阻止活化的 Caspase-9 激活 Caspase-3 前体蛋白,使凋亡不能进行下去。Smac/Diablo 在凋亡发生时与细胞色素 C 一起被释放,它能与 IAP 等抑凋亡蛋白结合,释放 Caspase-9, Caspase-9 随后激活 Caspase-3,使凋亡进行下去。另外,这些 IAP 蛋白不但能抑制 Caspase 的活性,而且能介导 Caspase 在细胞内的降解过程,维持 Caspase 在细胞内的合适含量,可防止由于细胞中少量 Caspase 的意外激活而导致的细胞凋亡^[14]。

内源和外源两条凋亡通路并不是孤立存在的,它们互相之间存在着交流(cross-talk)。细胞膜上的死亡受体与配体结合后引起 Caspase-8 的激活,活化的 Caspase-8 能切割 Bid。Bid 是 Bcl-2 家族中的一种促凋亡蛋白,切割后产生的羧基端片段(tBid)可以转移到线粒体,与线粒体外膜结合并随后引起线粒体释放细胞色素 C 等促凋亡物质,从而引发典型的凋亡反应^[15,16]。

2 线粒体细胞色素 C 释放

线粒体是调控细胞凋亡的中心,细胞色素 C 释放是线粒体凋亡途径的标志事件。关于细胞色素 C 释放的机制,目前有不同的假说,但尚无定论。第一种是 Bax 依赖的线粒体外膜通透模型。鉴于 Bax 和 Bak 等在细胞色素 C 释放中的不可或缺的作用,有人提出 Bax 可以在线粒体膜上形成多聚体并形成大通道使细胞色素 C 等促凋亡物质从线粒体内膜之间释放^[17,18]。也有人提出, Bax 和 Bak 等正常情况下能与抑凋亡蛋白分子 Bcl-2/Bcl-xL/Mcl-1 相互结

合。而仅含BH3结构域的Bcl-2家族促凋亡蛋白tBid、Bim等能与Bcl-2/Bcl-xL/Mcl-1相互作用,使Bax/Bak等从抑凋亡蛋白游离,进而形成多聚体,促使线粒体膜通透,导致细胞色素C释放。Shimizu等^[19]认为Bax或Bak与VDAC结合后,可以调节线粒体的膜电位,并导致细胞色素C从Bax/Bak和VDAC共同形成的大通道释放,该小组应用电生理方法检测记录到了这样一个大通道的存在。目前我们课题组相关研究结果认为细胞凋亡时,Bax从胞浆转移到线粒体上,促使细胞色素C释放。同时我们对Bax的激活机制研究发现,H₂O₂处理细胞后,明显观察到Bax从胞浆转移到线粒体上,同时伴随细胞核的破碎和皱缩。同时,发现Bax的62位半胱氨酸是其转位所必需的,而126位半胱氨酸对其转位没有作用^[20]。也有研究报道发现Bid/tBid也可以在人工脂质体或平膜上形成通道,Bid/tBid形成的通道有可能参与Bid/tBid诱导的线粒体释放细胞色素C的过程^[21,22]。尽管如此,我们还观察到,在Bax/Bak缺失的细胞中,棉酚仍能诱导细胞色素C释放,很可能是通过诱导Bcl-2构象变化来促进线粒体细胞色素C释放。这说明Bax和Bak对线粒体细胞色素C释放不是绝对必需的。第二种模型认为,PTP参与的外膜破裂,PTP开放使线粒体肿胀,外膜破裂,引起内外膜间细胞色素C释放。

3 Bcl-2家族蛋白与细胞凋亡

在细胞凋亡过程中,Bcl-2家族蛋白起着至关重要的调节作用。对于Bcl-2家族蛋白的研究是细胞凋亡研究领域中最热门的课题之一。

Bcl-2、Bcl-xL等细胞凋亡负调因子在许多类型的细胞受到外界刺激时能保护细胞免于凋亡。它们主要定位在核膜的胞质面、内质网及线粒体外膜上。其疏水性C末端定位于细胞内膜系统上,而N末端朝向细胞质。与膜的结合对于其发挥功能是极其重要的。实验表明,失去膜定位能力的Bcl-2蛋白的抗凋亡能力减弱了许多^[23,24]。BH4结构域是Bcl-2等抗凋亡蛋白所特有的(Bcl-Xs除外)。虽然BH4不是形成二聚体所必需的区域,但它的缺失或使蛋白质丧失功能,或产生一个促凋亡而不是抗凋亡的突变体^[25]。这说明BH4对于Bcl-2或Bcl-xL发挥其抗凋亡功能是必需的。

线粒体膜上的Bcl-2至少在三个水平上发挥功能来抑制凋亡:(1)主要通过Bax/Bak相互作用来抑制细胞凋亡;Bax是一种可溶性的蛋白分子,主要位于细胞质中,但当凋亡发生时,它能从胞浆转移

到线粒体并与线粒体膜相结合^[26]。实验证明,位于线粒体膜上的Bcl-2能与Bax相互作用,而后者也必须在线粒体上才能发挥其诱导凋亡的作用。同时把微量的重组Bax加入到分离的线粒体中能够诱导细胞色素C的释放和Caspase激活,而只含有Bax的BH3结构域的多肽则没有这种功能。Bax与Bcl-2相反,能促进PTP开放,并促进线粒体促凋亡因子的释放,Bax的促凋亡作用能被Bcl-2所抑制。并且,只有定位于线粒体上的Bcl-2和Bcl-xL才能拮抗Bax蛋白和阻止细胞色素C释放、Caspase激活和凋亡,Bcl-2ΔTM则无此功能^[27];(2)Bcl-2能改变线粒体巯基的氧化还原状态来调控线粒体膜电位从而调控细胞凋亡。在细胞凋亡过程中,线粒体的巯基可能组成了胞内氧化还原电位的传感器,Bcl-2可能是通过抑制谷胱甘肽(GSH)的外泄,降低胞内的氧化还原电位来抑制细胞凋亡的;(3)Bcl-2能通过抑制PTP开放来抑制促凋亡蛋白从线粒体中释放,从而保护细胞免于凋亡;有证据显示,Bcl-2还能将凋亡蛋白前体Apaf-1等定位至线粒体膜上,使其不能发挥促凋亡作用。

通过质膜研究发现Bax能够在脂质双层形成孔道,促进脂质体包埋的荧光素释放,同时这一过程被Bcl-2所抑制。Narita发现在分离的线粒体体系下,Bax和Bak与PTP的组分VADC结合而促进细胞色素C释放,细胞色素C释放会引起如膜电势的丧失、细胞器的肿大等典型的PTP改变。上述过程都是线粒体依赖的和能够被CsA和Bongkreic acid所抑制,抗VADC抗体也能够抑制Bax诱导的细胞色素C的释放和膜电势的丧失。也有研究发现与以上结果相反通过镁离子促进介导细胞色素C的释放。以上研究说明体内存在至少有两种不同的细胞色素C释放机制:一种是钙离子介导的并被CsA抑制的途径,另一种是Bax依赖和镁离子介导而非CsA所抑制的途径^[28]。

许多实验结果证明,Bax在凋亡信号诱导下可以发生构象变化(conformational change),从而能够直接结合到线粒体上形成Bax寡聚体孔道,诱导细胞色素C释放^[29-31]。据报道,全长的Bid和经Caspase-8切割形成的tBid能够诱导Bax发生构象变化,而Bcl-2则能够通过Bax竞争结合形成同源二聚体抑制细胞凋亡。Bax和Bcl-2之间尽管存在着竞争,它们也可能独立地调控细胞凋亡。

4 Caspase的活化与线粒体结构蛋白

最近的研究表明,活化的Caspase-3可以反过

来作用于线粒体, 引发线粒体细胞色素 C 的释放, 细胞色素 C 经 Caspase 级联反应又可以激活 Caspase-3, 构成细胞色素 C 释放的正反馈调节机制^[32,33]。我们最近发现线粒体复合物 III 的一个亚基能够被活化的 Caspase-3 特异性切割介导细胞色素 C 的释放。线粒体细胞色素 C 释放会促进相应的 Caspase 激活, 同时激活的 Caspase 直接攻击线粒体, 进一步引发更多的促凋亡因子从线粒体释放, 从而形成凋亡信号的正反馈。线粒体在这里成为细胞凋亡信号的放大器。我们以前的实验结果显示, 在凋亡早期只有少量的细胞色素 C 的释放, 线粒体保持氧化磷酸化功能, 提供凋亡需要的能量; 一旦 Caspase 激活后反馈攻击线粒体从而导致更多的线粒体细胞色素 C 释放到胞浆中, 导致凋亡信号放大, 细胞线粒体功能丧失和细胞死亡。

Ricci 等^[34]发现线粒体复合物 I 的一个亚基 p75 能够被 Caspase-3 切割为相对分子质量为 47k 和 28k 两个片段, 进而影响细胞色素 C 的释放和 ROS 的产生。颗粒酶 A 能够通过切割新线粒体复合物 I 的亚基-基质蛋白 NDUFS3 作用于线粒体, 从而介导线粒体 ROS 的产生和膜电势的丧失, 特异性表达到其突变体能够抑制颗粒酶 A 诱导的细胞凋亡, 但是颗粒酶 B 却能够使之诱导凋亡^[35]。

凋亡的过程是通过激活如 Caspase-3, -7 (executioner caspase) 和相应底物的切割过程。因此, 凋亡过程中的核心事件就是 Caspase 底物的切割。研究主要集中在理解 Caspase 如何识别底物、如何切割以及如何导致凋亡表型。目前已经知道大约有 400 个蛋白被证明是 Caspase 的底物并被其切割。通过正常细胞与凋亡细胞 2D 胶比较会发现几百个变化蛋白点。虽然这些蛋白不能够完全证实是 Caspase 的靶点, 但是这种蛋白质组学的方法已经证实其中有很多是 Caspase 的底物^[1,36]。

虽然目前很多蛋白被证明是 Caspase 的底物并被切割, 但是有些蛋白在凋亡过程中并不被切割或者很晚才被切割, 以及不同细胞结果不同。如 β -actin 只有在卵巢癌细胞才被切割, 在其他细胞并没有被切割。同时, 切割位点并不是非常保守的, 如 Cylin A 在蟾蜍的卵母细胞凋亡过程被切割但是其他哺乳动物细胞并没有发生; 还有些蛋白如 DNase-X 蛋白序列中含有一个或者多个经典切点, 但是在凋亡细胞中尽管有大量的 Caspase 激活也不能够被切割。而且, 多数蛋白如果首先被 Caspase 切割, 其他位点也会被其他蛋白酶切割。例如 Acinus 被

Caspase-3 切割是非常必要但又不足以激活 DNA 凝集活性, 为使之全部激活需要一个附加且仍然不知道的丝氨酸蛋白酶的参与, 只有把二者结合起来才能产生成熟的片段进入细胞核发生核固缩。

4.1 Caspase 底物与细胞形态变化 许多蛋白为什么被 Caspase 切割原因是不清楚的, 但是有时一些蛋白水解是与细胞死亡的形态变化紧密联系的。典型的例子是 DNase 抑制子 ICAD, Caspase-3 切割 ICAD 之后激活 CAD 核酸酶介导凋亡的 DNA 片段化, 另外 Acinus 与 Helicard (DNA 螺旋酶) 的切割后发生染色体凝集和细胞核重塑; 其他如 Gelsonlin 和激酶 ROCK-1、PAK2 的切割与典型的形态——膜出芽有关, Gelsonlin 被 Caspase-3 切割产生一个相应活化片段使 F-actin 去寡聚化, 而无 Gelsonlin 表达中性白细胞凋亡过程中表现膜出芽显著延迟, 说明膜出芽需要 Caspase 激活 Gelsonlin 介导的 actin 识别。Caspase 也可以切割激活 ROCK-1 导致 Myosin 轻链的磷酸化而最终产生膜出芽。

Caspase 可以切割破坏细胞骨架蛋白如中间纤维 cytokeratin-18 和 Vimentin, 或者 GAS2 和 Plectin, 这些蛋白都与纤维组织有关。这种切割会导致凋亡细胞形状改变。有研究报道 Caspase 攻击大脑皮层 actin 网络如 Fodrin 和中心黏附复合物——胞浆基质中的肌动纤维和膜蛋白。这些中心黏附复合物有 Cas 和 Paxillin, 这些蛋白的切割与细胞收缩、细胞吸附和极其重要的阻断抗凋亡整合蛋白信号传导密切相关。同时参与细胞黏附、通讯的骨架蛋白还有 β -catenin、E-cadherin、plakoglobin 和 desmoglein, 它们都是 Caspase 的底物。

在凋亡过程中, 经常会发生内质网和高尔基体结构的破坏, Golgin-160 和 GRASP65 的切割已经被证明会引起高尔基复合体去组装, Bap31 的蛋白水解会破坏内质网和高尔基复合体之间的物质运输, 而 Rabaptin-5 或 kinectin 的切割会妨碍囊泡的运输加工。

Caspase 会切割大量核蛋白并破坏其功能, 如导致 lamina 去组装和核孔复合体对物质的运输。通过对 PARP-1、ATM 和 DNA-PK 的切割阻碍对 DNA 的修复, 会进一步促进凋亡; 其他如涉及到 DNA 合成和复制有关 DNA 聚合酶 Pole、MCM3 等。RNA 相关的 RNA 螺旋酶 A 和剪切因子 U1 70-KDa snRNP 都会导致 RNA 合成、加工和运输中断。

4.2 Caspase 底物与信号传导通路 大量的信号传导中的蛋白涉及 Caspase 切割, 导致功能的抑制或者中间体的活化。有些已经被确定的 Caspase 切割激

活的蛋白会涉及到凋亡信号的放大。Caspases 关闭细胞保护机制而激活细胞死亡信号通路, 典型凋亡抑制子 Bcl-2 蛋白和 Caspase-8 的抑制子 c-FLIP 能够被 Caspase 切割。Caspase 切割 Bcl-2 和 Bcl-xL 的 N 端 BH4 结构域导致抗凋亡的功能的丧失, 甚至转变为促凋亡因子, 相似的还有受体依赖途径的 Caspase-8 切割 Bcl-2 家族 Bid 产生活化的 tBid 诱导细胞线粒体细胞色素 C 的释放。这种抗凋亡与促凋亡因子之间的转变组成凋亡信号通路的正反馈通路。

在凋亡过程有些转录因子和激酶失去活性, 如 Akt 和 Raf-1 就被 Caspase-3 切割导致活性丢失。这些激酶被促凋亡分子如 Bad 失活, 它们的降解可能组成凋亡信号的正反馈机制。有些蛋白抑制 Caspase 活性如热休克蛋白和 cAMP 应答因子 CREB。

在 NF- κ B 信号通路中, 如 Caspase 的切割会产生转录因子的抗凋亡功能完全丧失: (1) 对 NF- κ Bp65 亚基的切割会产生一个相反功能片段, 仍然能够结合 DNA, 但已经基本没有转录功能; (2) NF- κ B 抑制子 I κ B- α 可以被蛋白酶体诱导降解, 其 N 端被 Caspase 切割产生一个超级抑制子, 其不具有清除蛋白酶体的功能; (3) 在受体介导的信号途径也有接头蛋白 TRAF-1 和 RIP-1 的切割参与, 破坏 NF- κ B 的激活和抗凋亡能力。

有些底物不仅 Caspase 被切割之后丧失功能, 而且导致其他的蛋白或蛋白酶激活, 这些主要是通过 Caspase 去除抑制或者调控区 domain。如 PKC 和 MAP 激酶通路是通过切割得到激活的 N-端调控区和 C-端催化区(p21 激活的激酶 PAK2 和 ROCK-1), PAK2 和 ROCK-1 的激活对细胞骨架重组和质膜出芽是非常重要的。如 MEKK1, 如果表达 Caspase 切割激酶片段诱导 Caspase 激活, 而导致凋亡信号的正反馈调控。如果抑制 MEKK1 或者 Caspase 活性都会抑制细胞失巢凋亡现象的发生(细胞失巢凋亡, 凋亡细胞发生从基底膜脱落过程, MEKK1 是激活的)。在凋亡上游信号 SAPK/JNK 通路中, 通过磷酸化激活的 JNK 而后通过 Bcl-2 使之失活。

蛋白在很多激酶通路中具有抗凋亡功能, 其中最令人意想不到的是磷酸酯酶 PP2A, 通过 Caspase 激活之后能拮抗激酶的残余活性。蛋白质的磷酸化拮抗 Caspase 底物的蛋白水解, 最有说服力的是 Bid 通过 casein 激酶 I 或 II 使之磷酸化而不能被 Caspase-8 切割。另外 MAX, 是 c-Myc 网络的转录因子, 也是只有在去磷酸化时才能被 Caspase 切割。最近非常引人注目的发现是 C/EBP β 本身不能

够被 Caspase 切割, 但是惊奇的是磷酸化后作为 Caspase 的抑制子。在 C/EBP β 的 KTVD 序列的苏氨酸磷酸化产生非切割的相似 XEXD 切割点, 可以结合 Caspase, 因此抑制 Caspase 功能, 这类 Caspase 的底物也代表新的存活机制。

5 线粒体分裂与细胞凋亡

线粒体的分裂或者片断化一般都与细胞凋亡密切相关。线粒体分裂可能是细胞凋亡的早期事件, 发生在 Caspase 活化和膜皱缩之前。这个过程似与细胞色素 C 的释放密切相关。但是有些其他试剂如 Antimycin A 引起线粒体的片断化是可逆的, 病毒感染之后引起线粒体片断化并不能够使细胞发生凋亡。线粒体片断化是否是细胞凋亡和细胞色素 C 释放的必需步骤^[37,38]还有待进一步分析。

最近我们采用 GFP 标记的细胞色素 C 体系实时观察在凋亡诱导剂 staurosporine、etoposide 等处理细胞, 可以检测到 Caspase-3/-7 的激活和细胞色素 C 从线粒体释放的过程, 这一过程伴随线粒体片断化和线粒体功能的丧失。在不同凋亡诱导剂处理细胞时, Drp1 会被募集到线粒体的外膜上, 与 Bax 和 Mfn2 在分裂点共定位。通过 Drp1 的负调控突变体 (Drp1K38A) 或者提供 RNAi 下调表达能够延迟线粒体片断化、细胞色素 C 释放和 Caspase 活化, 证实 Drp1 是细胞凋亡过程中线粒体发生片断化所必需的。同时通过对内源性的 Drp1 突变使之丧失功能表现抑制 H₂O₂ 诱导的细胞凋亡和死亡。通过 RNAi 抑制 Drp1 的活性发现抑制 Bax 的转位和细胞色素 C 的释放。

通过表达 Drp1 的磷酸化突变体 Drp1S656D 导致细胞线粒体丝状延伸, 增加抑制由 staurosporine 和 etoposide 诱导细胞凋亡。而如果通过 Drp1S656A 突变体使其 PKA 磷酸化位点丧失会增加对凋亡的敏感性。Drp1 的 SUMO 化也与细胞凋亡密切相关。在凋亡过程中, Drp1 的 SUMO 化增加同时伴随线粒体的分裂。抑制 Drp1 或者 Fis1 的表达都能够抑制线粒体分裂和细胞凋亡, 但是它们确实作用凋亡的不同阶段。只有抑制 Fis1 的表达才能够抑制 Bax 的转位和构象变化。同时或者先后消耗胞内 Fis1 和 OPA1, 会逆转线粒体的丝状延伸。说明线粒体过度融合也会引起细胞衰老的相关变化。但是同时通过 RNAi 抑制 Fis1 和 OPA1 表达并不能够逆转凋亡抑制^[37,38]。

6 自吞噬 (autophagy) 与细胞凋亡

目前对自噬及自噬性程序性细胞死亡的研究已经成为热点。自吞噬是细胞内不断发生的正常生理

现象, 是细胞自我保护的一种重要机制。有证据表明, 过度的自吞噬可能导致细胞自吞噬死亡 (autophagic cell death)。关于自吞噬死亡的分子调控、信号转导过程、病理生理学意义的研究最近有多篇文章发表在 *Nature*、*Cell* 等高水平杂志上。自吞噬死亡与细胞凋亡这两种程序性细胞死亡方式在形态、生化指标、参与分子和机理方面均存在不同。近年来越来越多的研究提示二者在某些情况下可以相互拮抗或促进, 可先后发生或同时共存于同一细胞, 相同诱导因素在不同细胞中可分别诱发自噬或凋亡; 参与自噬和凋亡的分子也可能存在交叉, 这些分子在自噬与凋亡两种程序性细胞死亡中可发挥正向或负向作用。随着研究的深入, 自噬与凋亡之间的相互关系似乎变得越来越复杂了。

在1999年Beth Levine围绕着细胞自噬作用的机理、发生条件、自噬与细胞凋亡的区别与内部联系、自噬作用与癌症的关系、自噬作用怎样来预防癌症的发生、是否能“打开”和“关闭”自噬作用的进程来控制癌症的发生发展、是否能利用自噬作用对癌症进行靶向治疗、下一步的研究方向、临床试验是否有助于解决细胞自噬与癌症关系等方面的问题, 进行了系统的阐述。发现 Beclin-1 调节自吞噬死亡和抑制肿瘤之间存在密切关系。

哺乳动物 Beclin-1 是酵母 Apg6/Vps30 基因的同源物, 双杂交筛选试验证明 Beclin-1 是 Bcl-2 的一个相互作用蛋白。Beclin-1 基因敲除小鼠的胚胎干细胞研究发现 Beclin-1^{-/-} 小鼠死于胚胎早期, Beclin-1^{-/-} 小鼠虽然表型正常, 但其自发性肿瘤发生的频率却很高, 说明 Beclin-1 是一个重要的肿瘤抑制基因, 其杂合性缺失是细胞发生恶性转化的原因之一。近一步的研究指出, Beclin-1^{-/-} 小鼠 autophagy 缺陷, 细胞凋亡正常, 说明 Beclin-1 是 autophagy 的调控基因。通过深入研究 Beclin-1、自噬以及恶性肿瘤的关系, 必将对恶性肿瘤的发生和治疗奠定基础。

Liang等^[39-41]发现UVRAG (a novel coiled-coil UV irradiation resistance associated gene)具有对 Beclin-1-PI(3)KC3 复合体正调控功能; 作为潜在的肿瘤抑制因子, 在人结肠癌具有非常高的突变。UVRAG 主要通过Beclin1-PI(3)KC3介导调控细胞自噬或者抑制人结肠肿瘤细胞增殖和成瘤。进一步的研究发现UVRAG 可以与VPs(内涵体融合主要组分)相互作用, 这种作用会刺激 Rab7 GTPase 活性以及自噬体与后来的内涵体/溶酶体融合, 因此促进自噬物的降解和运输, 而且UVRAG-Beclin1-PI(3)KC3复合

体也会加速内涵体/溶酶体融合, 促进自噬物的快速降解; 因此UVRAG 是一个多功能效应器, 不仅调控自噬和自噬小体的形成和成熟, 而且调控内涵体融合。

2006年, Yousefi等^[42]研究发现自噬相关基因ATG5产物(调控自噬小体形成所必需的)被Caplain特异性切割成24k的切割蛋白, 能够从胞浆转位到线粒体上与抗凋亡分子 Bcl-xL 调控细胞色素 C 的释放和 Caspase 活化, 进而显著性促进细胞凋亡。发现了ATG5 作为细胞自噬和凋亡的转换开关的重要调控功能。

Wang 研究小组最近发现 Bif-1(also known as Endophilin B1)能够通过UVRAG与Beclin-1相互作用调控细胞自噬作用, 是一个潜在的自噬和肿瘤抑制因子的激动剂^[43,44]。

Bcl-2 在细胞自噬的调控中具有非常重要的作用。最近 Wei 等研究发现饥饿能够诱导的 Bcl-2 T69、S70 和 S87 位磷酸化, 进而破坏 Bcl-2 与 Beclin-1 相互作用而发生自噬。同时这一过程是 JNK1 所介导的, 而不是 JNK2^[43,45]。

线粒体自噬的研究是另外一个热点, 最早在酵母体系而后在细胞内发现。但是对于这一生理过程的主要机理研究还不是很清楚。首先 Kissova 等发现在酵母细胞中, Uth1p 介导线粒体自噬现象; 而突变 Uth1p 之后, 无论是饥饿还是 Rapamycin 都不够诱导线粒体自噬的产生, 而 Uth1p 主要具有延长寿命、抑制氧化损伤以及细胞凋亡的功能, 因此 Uth1p 是主要介导寿命、自由基产生和线粒体依赖细胞凋亡和自噬的中间枢纽^[46,47]。最近有研究发现过表达 Fis1^[48]可以检测到线粒体自噬过程, 以及帕金森疾病密切相关的磷酸化的 ERK1/2 可以定位于发生自噬的线粒体上。

7 细胞凋亡研究与抗肿瘤药物的开发

重新激活肿瘤细胞内部的凋亡程序是研究者对癌症治疗最有效的治疗手段。但是目前的化疗药物除了能够诱导肿瘤细胞凋亡外, 也会损伤正常的细胞组织, 具有很大的毒副作用, 这主要是由于这些药物没有特定的作用组织靶点。因此, 针对肿瘤细胞凋亡异常的信号分子, 找到合适的细胞凋亡相关调节分子靶点, 才能够开发出具有特异性的新型药物。很多研究证明 IAP 家族蛋白在通过对细胞凋亡的抑制影响肿瘤的形成中起着非常重要的作用, 而 IAP 是通过直接对 Caspase 或者 procaspase 的抑制或者通过调控 NF- κ B 发挥其功能。因此, IAP 可以

作为肿瘤治疗的潜在的靶目标, 如通过 RNAi 抑制 IAP 的表达或者开发拮抗 IAP 活性的小分子化合物^[49]。

研究小分子化合物使模拟拮抗 Smac 抑制 IAPs (XIAP, cIAP1, cIAP2) 活性变为可能。Smac 及其合成类似物都能够与 IAPs Bir 结构域相互作用。模拟成熟的 Smac 的 N 端 AVPI 结构的 Smac mimetic 诱导 Caspase-8 依赖的细胞凋亡。一方面 Smac mimetic 在胞内能够刺激 cIAPs 自动泛素化降解, 又反过来导致 NIK 的稳定和加速 RIP1 的募集。另一面拟 Smac 会增加 TNF α 诱导细胞凋亡的敏感性。在细胞凋亡受 Caspase 广谱抑制及 Z-VAD 抑制后, Smac mimetic 能够诱导一些细胞发生不依赖于 TNF α 和 RIPK1 的细胞坏死^[50-53]。

另外, 以 Bcl-2 作为靶点的肿瘤治疗研究得到发展。通过降低胞内 Bcl-2/Bcl-xL 蛋白的表达水平, 如 Bcl-2 反义寡核苷酸, 从而增加肿瘤细胞凋亡敏感性。此方法已应用于对恶性黑色素瘤的治疗。二是寻找 Bcl-2/Bcl-xL 的小分子抑制剂, 阻断 Bcl-2/Bcl-xL 蛋白的抑凋亡活性。如首先筛选出的小分子化合物 HA14-1, 能够诱导对 eoptoside 具有抗性的高表达 Bcl-2 的 HL-60 细胞凋亡。如 BH3I-1、BH3I-2、antimycin、chelerythrine、TW37、GX015-070、ABT-737、gossypol 及其类似物, 这些化合物具有与促凋亡蛋白的 BH3 结构域竞争结合 Bcl-2/Bcl-xL, 封闭 Bcl-2/Bcl-xL 蛋白活性, 进而促进细胞凋亡。在这些化合物中, 如棉酚及其类似物被发现具有抗肿瘤的活性, 包括结肠、前列腺、胰腺、淋巴等肿瘤细胞。最近通过计算机模拟 Bim 的 BH3 结构域合成的棉酚类似物 TW-37, 具有与 Bcl-2、Bcl-xL 和 Mcl-1 非常高的结合度^[54]。已经发现 TW-37 与 MEK 的抑制剂结合抑制肿瘤细胞的生长, 或者通过 NF- κ B 抑制前列腺肿瘤细胞生长^[55]。另外, GX015-070 已经被应用于临床试验治疗小细胞肺癌和肝恶性肿瘤细胞。

8 结语

近年来, 对于细胞凋亡的研究已经在肿瘤生物学、发育生物学、神经生物学、免疫生物学等方面取得很多突破性的成果。特别是关于细胞自噬和凋亡相互转换的机制发现以及对 Samc 的模拟研究重大发现, 给我们在未来对于肿瘤的发生和治疗提供很多借鉴意义。

[参 考 文 献]

- [1] Fischer U, Janicke RU, Schulze-Osthoff K. Many cuts to ruin: a comprehensive update of caspase substrates. *Cell Death Differ*, 2003, 10: 76-100
- [2] Desagher S, Martinou JC. Mitochondria as the central control point of apoptosis. *Trends Cell Biol*, 2000, 10: 369-77
- [3] Liu X, Kim CN, Yang J, et al. Induction of apoptotic program in cell-free extracts: requirement for dATP and cytochrome c. *Cell*, 1996, 86: 147-57
- [4] Lorenzo HK, Susin SA, Penninger J, et al. Apoptosis inducing factor (AIF): a phylogenetically old, caspase-independent effector of cell death. *Cell Death Differ*, 1999, 6: 516-24
- [5] Verhagen AM, Ekert PG, Pakusch M, et al. Identification of DIABLO, a mammalian protein that promotes apoptosis by binding to and antagonizing IAP proteins. *Cell*, 2000, 102: 43-53
- [6] Ferrari D, Stepczynska A, Los M, et al. Differential regulation and ATP requirement for caspase-8 and caspase-3 activation during CD95- and anticancer drug-induced apoptosis. *J Exp Med*, 1998, 188: 979-84
- [7] Mancini M, Nicholson DW, Roy S, et al. The caspase-3 precursor has a cytosolic and mitochondrial distribution: implications for apoptotic signaling. *J Cell Biol*, 1998, 140: 1485-95
- [8] Parrish J, Li L, Klotz K, et al. Mitochondrial endonuclease G is important for apoptosis in *C. elegans*. *Nature*, 2001, 412: 90-4
- [9] Li LY, Luo X, Wang X. Endonuclease G is an apoptotic DNase when released from mitochondria. *Nature*, 2001, 412: 95-9
- [10] Cain K, Bratton SB, Cohen GM. The Apaf-1 apoptosome: a large caspase-activating complex. *Biochimie*, 2002, 84: 203-14
- [11] Shi Y. Apoptosome: the cellular engine for the activation of caspase-9. *Structure*, 2002, 10: 285-8
- [12] Purring-Koch C, McLendon G. Cytochrome c binding to Apaf-1: the effects of dATP and ionic strength. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97: 11928-31
- [13] Bratton SB, Walker G, Srinivasula SM, et al. Recruitment, activation and retention of caspases-9 and -3 by Apaf-1 apoptosome and associated XIAP complexes. *EMBO J*, 2001, 20: 998-1009
- [14] Deveraux QL, Reed JC. IAP family proteins-suppressors of apoptosis. *Genes Dev*, 1999 13: 239-52
- [15] Li H, Zhu H, Xu CJ, et al. Cleavage of BID by caspase 8 mediates the mitochondrial damage in the Fas pathway of apoptosis. *Cell*, 1998, 94: 491-501
- [16] Luo X, Budihardjo I, Zou H, et al. Bid, a Bcl2 interacting protein, mediates cytochrome c release from mitochondria in response to activation of cell surface death receptors. *Cell*, 1998, 94: 481-90
- [17] Martinou I, Missotten M, Fernandez PA, et al. Bax and Bak proteins require caspase activity to trigger apoptosis in sympathetic neurons. *Neuroreport*, 1998, 9: 15-9
- [18] Desagher S, Osen-Sand A, Nichols A, et al. Bid-induced conformational change of Bax is responsible for mitochondrial cytochrome c release during apoptosis. *J Cell Biol*, 1999, 144: 891-901
- [19] Shimizu S, Narita M, Tsujimoto Y. Bcl-2 family proteins regulate the release of apoptogenic cytochrome c by the

- mitochondrial channel VDAC. *Nature*, 1999, 399: 483-7
- [20] Nie C, Tian C, Zhao L, et al. Cysteine 62 of Bax is critical for its conformational activation and its proapoptotic activity in response to H₂O₂-induced apoptosis. *J Biol Chem*, 2008, 283: 15359-69
- [21] Stoka V, Turk B, Schendel SL, et al. Lysosomal protease pathways to apoptosis. Cleavage of bid, not pro-caspases, is the most likely route. *J Biol Chem*, 2001, 276: 3149-57
- [22] Schendel SL, Azimov R, Pawlowski K, et al. Ion channel activity of the BH3 only Bcl-2 family member, BID. *J Biol Chem*, 1999, 274: 21932-6
- [23] Borner C, Martinou I, Mattmann C, et al. The protein bcl-2 α does not require membrane attachment, but two conserved domains to suppress apoptosis. *J Cell Biol*, 1994, 126: 1059-68
- [24] Tanaka S, Saito K, Reed JC. Structure-function analysis of the Bcl-2 oncoprotein. Addition of a heterologous transmembrane domain to portions of the Bcl-2 β protein restores function as a regulator of cell survival. *J Biol Chem*, 1993, 268: 10920-6
- [25] Hunter JJ, Bond BL, Parslow TG. Functional dissection of the human Bcl2 protein: sequence requirements for inhibition of apoptosis. *Mol Cell Biol*, 1996, 16: 877-83
- [26] Wolter KG, Hsu YT, Smith CL, et al. Movement of Bax from the cytosol to mitochondria during apoptosis. *J Cell Biol*, 1997, 139: 1281-92
- [27] Kane DJ, Sarafian TA, Anton R, et al. Bcl-2 inhibition of neural death: decreased generation of reactive oxygen species. *Science*, 1993, 262: 1274-7
- [28] Gogvadze V, Orrenius S. Mitochondrial regulation of apoptotic cell death. *Chem Biol Interact*, 2006, 163: 4-14
- [29] Annis MG, Soucie EL, Dlugosz PJ, et al. Bax forms multispansing monomers that oligomerize to permeabilize membranes during apoptosis. *EMBO J*, 2005, 24: 2096-103
- [30] Antonsson B, Montessuit S, Lauper S, et al. Bax oligomerization is required for channel-forming activity in liposomes and to trigger cytochrome c release from mitochondria. *Biochem J*, 2000, 345 (2): 271-8
- [31] Eskes R, Antonsson B, Osen-Sand A, et al. Bax-induced cytochrome c release from mitochondria is independent of the permeability transition pore but highly dependent on Mg²⁺ ions. *J Cell Biol*, 1998, 143: 217-24
- [32] Chen Q, Gong B, Almasan A. Distinct stages of cytochrome c release from mitochondria: evidence for a feedback amplification loop linking caspase activation to mitochondrial dysfunction in genotoxic stress induced apoptosis. *Cell Death Differ*, 2000, 7: 227-33
- [33] Xia T, Jiang C, Li L, et al. A study on permeability transition pore opening and cytochrome c release from mitochondria, induced by caspase-3 *in vitro*. *FEBS Lett*, 2002, 510: 62-6
- [34] Ricci JE, Munoz-Pinedo C, Fitzgerald P, et al. Disruption of mitochondrial function during apoptosis is mediated by caspase cleavage of the p75 subunit of complex I of the electron transport chain. *Cell*, 2004, 117: 773-86
- [35] Martinvalet D, Dykxhoorn DM, Ferrini R, et al. Granzyme A cleaves a mitochondrial complex I protein to initiate caspase-independent cell death. *Cell*, 2008, 133: 681-92
- [36] Timmer JC, Salvese GS. Caspase substrates. *Cell Death Differ*, 2007, 14: 66-72
- [37] Suen DF, Norris KL, Youle RJ. Mitochondrial dynamics and apoptosis. *Genes Dev*, 2008, 22: 1577-90
- [38] Herzig S, Martinou JC. Mitochondrial dynamics: to be in good shape to survive. *Curr Mol Med*, 2008, 8: 131-7
- [39] Liang C, Feng P, Ku B, et al. UVRAG: a new player in autophagy and tumor cell growth. *Autophagy*, 2007, 3: 69-71
- [40] Liang C, Lee JS, Inn KS, et al. Beclin1-binding UVRAG targets the class C Vps complex to coordinate autophagosome maturation and endocytic trafficking. *Nat Cell Biol*, 2008, 10: 776-87
- [41] Liang C, Feng P, Ku B, et al. Autophagic and tumour suppressor activity of a novel Beclin1-binding protein UVRAG. *Nat Cell Biol*, 2006, 8: 688-99
- [42] Yousefi S, Perozzo R, Schmid I, et al. Calpain-mediated cleavage of Atg5 switches autophagy to apoptosis. *Nat Cell Biol*, 2006, 8: 1124-32
- [43] Yamaguchi H, Woods NT, Dorsey JF, et al. SRC directly phosphorylates bif-1 and prevents its interaction with bax and the initiation of anoikis. *J Biol Chem*, 2008, 283: 19112-8
- [44] Takahashi Y, Meyerkord CL, Wang HG. BARGaining membranes for autophagosome formation: Regulation of autophagy and tumorigenesis by Bif-1/Endophilin B1. *Autophagy*, 2008, 4: 121-4
- [45] Wei Y, Pattingre S, Sinha S, et al. JNK1-mediated phosphorylation of Bcl-2 regulates starvation-induced autophagy. *Mol Cell*, 2008, 30: 678-88
- [46] Kissova I, Deffieu M, Manon S, et al. Uth1p is involved in the autophagic degradation of mitochondria. *J Biol Chem*, 2004, 279: 39068-74
- [47] Camougrand N, Kissova I, Velours G, et al. Uth1p: a yeast mitochondrial protein at the crossroads of stress, degradation and cell death. *FEMS Yeast Res*, 2004, 5: 133-40
- [48] Gomes LC, Scorrano L. High levels of Fis1, a pro-fission mitochondrial protein, trigger autophagy. *Biochim Biophys Acta*, 2008, 1777: 860-6
- [49] Hunter AM, LaCasse EC, Korneluk RG. The inhibitors of apoptosis (IAPs) as cancer targets. *Apoptosis*, 2007, 12: 1543-68
- [50] Wang L, Du F, Wang X. TNF- α induces two distinct caspase-8 activation pathways. *Cell*, 2008, 133: 693-703
- [51] Petersen SL, Wang L, Yalcin-Chin A, et al. Autocrine TNF α signaling renders human cancer cells susceptible to Smac-mimetic-induced apoptosis. *Cancer Cell*, 2007, 12: 445-56
- [52] Wu H, Tschopp J, Lin SC. Smac mimetics and TNF α : a dangerous liaison. *Cell*, 2007, 131: 655-8
- [53] Vince JE, Wong WW, Khan N, et al. IAP antagonists target cIAP1 to induce TNF α -dependent apoptosis. *Cell*, 2007, 131: 682-93
- [54] Zhang L, Ming L, Yu J. BH3 mimetics to improve cancer therapy; mechanisms and examples. *Drug Resist Updat*, 2007, 10: 207-17
- [55] Wang Z, Song W, Aboukameel A, et al. TW-37, a small-molecule inhibitor of Bcl-2, inhibits cell growth and invasion in pancreatic cancer. *Int J Cancer*, 2008, 123: 958-66

作者: 朱玉山, 陈隼, ZHU Yu-shan, CHEN Quan
作者单位: 朱玉山, ZHU Yu-shan(南开大学生命科学学院, 天津, 300071), 陈隼, CHEN Quan(南开大学生命科学学院, 天津, 30007; 中国科学院动物研究所, 生物膜与膜生物工程国家重点实验室, 北京, 100101)
刊名: 生命科学 **ISTIC PKU**
英文刊名: CHINESE BULLETIN OF LIFE SCIENCES
年, 卷(期): 2008, 20(4)
被引用次数: 6次

参考文献(55条)

1. Fischer U;Janicke RU;Schulze-Osthoff K Many cuts to ruin:a comprehensive update of caspase substrates[外文期刊] 2003(1)
2. Desagher S;Martinou JC Mitochondria as the central control point of apoptosis[外文期刊] 2000(9)
3. Liu X;Kim CN;Yang J Induction of apoptotic program in cell-Sree extracts:requirement for dATP and cytochrome c[外文期刊] 1996
4. Lorenzo HK;Susin SA;Penninger J Apoptosis inducing factor(AIF):a phylogenetically old,caspase-independent effector of cell death[外文期刊] 1999
5. Verhagen AM;Ekert PG;Pakusch M Identification of DIABLO,a mammalian protein that promotes apoptosis by binding to and antagonizing IAP proteins[外文期刊] 2000(1)
6. Ferrari D;Stepczynska A;Los M Differential regulation and ATP requirement for caspase-8 and caspase-3 activation during CD95-and anticancer drug-induced apoptosis[外文期刊] 1998
7. Mancini M;Nicholson DW;Roy S The caspase-3 precursor has a cytosolic and mitochondrial distribufion:impfications for apoptotic signaling 1998
8. Parrish J;Li L;Klotz K Mitochonddal endonuclease G is important for apoptosis in C.elegans[外文期刊] 2001
9. Li LY;Luo X;Wang X Endonuclease G is an apoptotic DNase when released from mitochondria[外文期刊] 2001
10. Cain K;Bratton SB;Cohen GM The Apaf-1 apoptosome:a large caspase-activafing complex[外文期刊] 2002(2/3)
11. Shi Y Apoptosome:the cellular engine for the activation of caspasc-9 2002
12. Purring-Koch C;McLendon G Cytochrome c binding to Apaf-1:the effects of dATP and ionic strength 2000
13. Bratton SB;Walker G;Srinivasula SM Recruitment,activation and retention of caspases-9 and-3 by Apaf-1 aApoptosome and associated XIAP complexes 2001
14. Deveraux QL;Reed JC IAP family proteins-suppressors of apoptosis 1999
15. Li H;Zhu H;Xu CJ Cleavage of BID by caspase 8 mediates the mitochondrial damage in the Fas pathway of apoptosis[外文期刊] 1998
16. Luo X;Budihardjo I;Zou H Bid, a Bcl2 interacting protein,mediates cytochrome c release from mitochondria in response to activation of cell surface death receptors[外文期刊] 1998
17. Martinou I;Missotten M;Femandez PA Bax and Bak proteins reqmre caspase activity to trgger

apoptosis in sympathetic neurons[外文期刊] 1998

18. Desagher S;Osen-Sand A;Nichols A Bid-induced conformational change of Bax is responsible for mitochondrial cytochrome c release during apoptosis[外文期刊] 1999

19. Shimizu S;Narita M;Tsujiimoto Y Bcl-2 family proteins regulate the release of apoptogenic cytochrome c by the mitochondrial channel VDAC[外文期刊] 1999

20. Nie C;Tian C;Zhao L Cysteine 62 of Bax is critical for its conformational activation and its proapoptotic activity in response to H₂O₂-induced apoptosis[外文期刊] 2008(22)

21. Stoka V;Turk B;Schendel SL Lysosomal protease pathways to apoptosis.Cleavage of bid,not procaspases, is the most likely route[外文期刊] 2001(5)

22. Schendel SL;Azimov R;Pawlowski K Ion channel activity of the BH3 only Bcl-2 family member, BID[外文期刊] 1999

23. Bomer C;Martinou I;Mattmann C The protein bcl-2 α does not require membrane attachment, but two conserved domains to suppress apoptosis 1994

24. Tanaka S;Saito K;Reed JC Structure-function analysis of the Bcl-2 oncoprotein. Addition of a heterologous transmembrane domain to portions of the Bcl-2 β protein restores function as a regulator of cell survival 1993

25. Hunter JJ;Bond BL;Parslow TG Functional dissection of the human Bcl2 protein:sequence requirements for inhibition of apoptosis 1996

26. Wolter KG;Hsn YT;Smith CL Movement of Bax from the cytosol to mitochondria during apoptosis 1997

27. Kane DJ;Sarrafian TA;Anton R Bcl-2 inhibition of neural death:decreased generation of reactive oxygen species[外文期刊] 1993

28. Gogvadze V;Orrenius S Mitochondrial regulation of apoptotic cell death[外文期刊] 2006(1/2)

29. Annis MG;Soucie EL;Dlugosz PJ Bax forms multispinning monomers that oligomerize to permeabilize membranes during apoptosis 2005

30. Antonsson B;Montessuit S;Lauer S Bax oligomerization is required for channel-forming activity in liposomes and to trigger cytochrome c release from mitochondria[外文期刊] 2000(02)

31. Eskes R;Antonsson B;Osen-Sand A Bax-induced cytochrome c release from mitochondria is independent of the permeability transition pore but highly dependent on Mg²⁺ ions 1998

32. Chen Q;Gong B;Almasan A Distinct stages of cytochrome c release from mitochondria:evidence for a feedback amplification loop linking caspase activation to mitochondrial dysfunction in genotoxic stress induced apoptosis[外文期刊] 2000(2)

33. Xia T;Jiang C;Li L A study on permeability transition pore opening and cytochrome c release from mitochondria, induced by caspase-3 in vitro 2002

34. Ricci JE;Munoz-Pinedo C;Fitzgerald P Disruption of mitochondrial function during apoptosis is mediated by caspase cleavage of the p75 subunit of complex I of the electron transport chain[外文期刊] 2004(6)

35. Martinvalet D;Dykxhoom DM;Ferrini R Granzyme A cleaves a mitochondrial complex I protein to initiate caspase-independent cell death[外文期刊] 2008(4)

36. [Timmer JC;Salvese GS Caspase substrates](#)[外文期刊] 2007(1)
37. [Suen DF;Norris KL;Youle RJ Mitochondrial dynamics and apoptosis](#) 2008
38. [Herzig S;Martinou JC Mitochondrial dynamics:to be in good shape to survive](#)[外文期刊] 2008(2)
39. [Liang C;Feng P;Ku B UVRAG:a new player in autophagy and tumor cell growth](#) 2007
40. [Liang C;Lee JS;Inn KS Becfinl-binding UVRAG targets the class CVps complex to coordinate autophagosome maturation and endocytic trafficking](#)[外文期刊] 2008(7)
41. [Liang C;FengP;Ku B Autophagic and tumour suppressor activity of a novel Beccin-binding protein UVRAG](#)[外文期刊] 2006(7)
42. [Yousefi S;PeroZZO R;Schmid I Calpain-mediated cleavage of Atg 5 switches autophagy to apoptosis](#) [外文期刊] 2006(10)
43. [Yamaguchi H;Woods NT;Dorsey JF SRC directly phosphorylates bif-1 and prevents its interaction with bax and the initiation of anoikis](#) 2008
44. [Takahashi Y;Meyerkord CL;Wang HG BARGaining membranes for autophagosome formation:Regulation of autophagy and tumorigenesus by Bif-1/Endophilin B1](#) 2008
45. [Wei Y;Pattingre S;Sinha S JNK1-mediated phospho rylation of Bcl-2 regulates starvation-induced autophagy](#) 2008
46. [Kissova I;Deffieu M;Marion S Uthlp is involved in the autophagic degradation of mitochondria](#)[外文期刊] 2004
47. [Camougrand N;Kissova I;Velours G Uthlp:a yeast mitochondrial protein at the crossroads of stress, degradation and cell death](#)[外文期刊] 2004(2)
48. [Gomes LC;Scorrano L High levels of Fis1, a pro-fission mitochondrial protein, trigger autophagy](#)[外文期刊] 2008(7/8)
49. [Hunter AM;LaCasse EC;Komeluk RG The inhibitors of apoptosis\(IAPs\)as cancer targets](#) 2007
50. [Wang L;Du F;Wang X TMF- \$\alpha\$ induces two distinct caspase8 activation pathways](#)[外文期刊] 2008(4)
51. [Petersen SL;Wang L;Yalcin-Chin A Autocfine TNF \$\alpha\$ signaling renders human cancer cells susceptible to Smacmimetic-induced apoptosis](#)[外文期刊] 2007(5)
52. [Wu H;Tschopp J;Lin SC Smac mimetics and TNF \$\alpha\$: \$\alpha\$ dangerous liaison](#)[外文期刊] 2007(4)
53. [Vince JE;Wong WW;Khan N IAP antagonists target cIAP1 to induce TNF \$\alpha\$ -dependent apoptosis](#)[外文期刊] 2007(4)
54. [Zhang L;Ming L;Yu J BH3 mimetics to improve cancer therapy;mechanisms and examples](#)[外文期刊] 2007
55. [Wang Z;Song W;Aboukameel A TW-37, a smallmolecule inhibitor of Bcl-2, inhibits cell growth and invasion in pancreatic cancer](#)[外文期刊] 2008(4)

本文读者也读过(5条)

1. [活性氧、线粒体与细胞凋亡](#)[期刊论文]-[中国地方病防治杂志](#)2005, 20(5)
2. [丛义梅. 李鑫. 贾红玲. 关伟军. 马月辉. CONG Yi-mei. LI Xin. JIA Hong-ling. GUAN Wei-jun. MA Yue-hui 线粒体膜通透性变化与细胞凋亡的关系](#)[期刊论文]-[中国畜牧兽医](#)2008, 35(10)
3. [胡轶. 刘好朋. 万婷. 刘传敦. 苏荣胜. 潘家强. 唐兆新. HU Kai. LIU Hao-peng. WAN Ting. LIU Chuan-dun. SU Rong-sheng. PAN Jia-qiang. TANG Zhao-xin 线粒体与细胞凋亡的关系](#)[期刊论文]-[中国畜牧兽医](#)2010, 37(12)

4. [胡硕, 胡成平, HU Shuo, HU Cheng-ping](#) [线粒体与细胞凋亡的研究进展](#) [期刊论文]-[国际呼吸杂志](#) 2006, 26 (6)
5. [庞涛, 陈婉蓉](#) [线粒体与细胞凋亡的研究进展](#) [期刊论文]-[卫生毒理学杂志](#) 2003, 17 (2)

引证文献(8条)

1. [郭忠, 赵晋, 马建秀](#) [棉酚的药理作用研究](#) [期刊论文]-[基础医学与临床](#) 2010 (1)
2. [王艳杰, 邓雯, 张鹏飞](#) [细胞色素C与细胞凋亡研究进展](#) [期刊论文]-[动物医学进展](#) 2012 (7)
3. [黑明燕, 黄维清, 刘芙蓉](#) [rhIGF-1对缺氧缺血性脑损伤新生大鼠Cyt-C及caspase-3表达的影响](#) [期刊论文]-[中国当代儿科杂志](#) 2010 (12)
4. [古少鹏, 郑明学, 李宝钧, 韩克光, 柔嫩艾美耳球虫病鸡盲肠上皮细胞凋亡的分析](#) [期刊论文]-[畜牧兽医学报](#) 2010 (10)
5. [刘丹, 何明, 易波, 阙爱玲, 徐江晶, 张吉翔](#) [细胞色素C在Pim-3抗心肌急性损伤中的作用](#) [期刊论文]-[天津医药](#) 2009 (11)
6. [陈志衡](#) [PI3K-Akt-mTOR信号通路病毒性心肌炎](#) [期刊论文]-[国际病理科学与临床杂志](#) 2012 (3)
7. [陈茜, 袁慧, 谢志辉, 郭成志, 朱丽, 邓思君, 鲁银, 魏强, 易金娥](#) [三聚氰胺与三聚氰酸对小鼠肾脏损伤及其机理的研究](#) [期刊论文]-[畜牧兽医学报](#) 2010 (12)
8. [崔彬彬, 李云, 金晓洁, 冯慧](#) [白杨细胞质遗传的细胞学机理\(I\):生殖细胞和精细胞中细胞质DNA的存在状况](#) [期刊论文]-[北京林业大学学报](#) 2010 (5)

本文链接: http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_smkx200804003.aspx