陈研色,潘庆军,刘华锋,等. Rab7 介导线粒体和溶酶体互作机制新进展 [J]. 中国比较医学杂志, 2020, 30(11): 120-127.
Chen YS, Pan QJ, Liu HF, et al. Research progress on mechanisms of Rab7-mediated mitochondria-lysosome crosstalk [J]. Chin J Comp Med, 2020, 30(11): 120-127.
doi: 10.3969/j.issn.1671-7856. 2020.11.020

Rab7 介导线粒体和溶酶体互作机制新进展

陈研色,潘庆军,刘华锋,王淑君*

(湛江市慢性肾脏病防控重点实验室,广东医科大学附属医院肾脏疾病研究所,广东 湛江　524001)

【摘要】 溶酶体不仅是细胞中物质的降解中心,更是许多物质代谢过程和细胞生长的重要代谢传感器,类似的,线粒体也是决定细胞命运的主要代谢中心,两者通过相互作用对细胞代谢进行共同调节,溶酶体与线粒体功能障碍或相互作用异常,与代谢性疾病、神经退行性病变和溶酶体贮积症等疾病存在密切关系。目前我们认识到线粒体与溶酶体通过线粒体自噬、线粒体衍生的囊泡和线粒体-溶酶体膜接触位点等途径进行相互作用。然而,调控这些途径的机制尚未明确,近年,研究表明,Rab7 蛋白参与了线粒体和溶酶体相互交谈过程中的关键环节,包括线粒体自噬体形成,线粒体自噬体与溶酶体融合以及线粒体-溶酶体接触与解离的过程等等。因此,本文对 Rab7 在线粒体与溶酶体相互交谈中的调节作用进行综述,这将为线粒体与溶酶体功能障碍性疾病的发生提供新的理论依据。

【关键词】 线粒体;溶酶体;线粒体-溶酶体互作;Rab7
【中图分类号】R-33　【文献标识码】A　【文章编号】1671-7856(2020) 11-0120-08

Research progress on mechanisms of Rab7-mediated mitochondria-lysosome crosstalk

CHEN Yanse, PAN Qingjun, LIU Huafeng, WANG Shujun*
(Key Laboratory of Prevention and Management of Chronic Kidney Disease of Zhanjiang City,
Affiliated Hospital of Guangdong Medical University, Zhanjiang 524001, China)

【Abstract】 Lysosomes are not only the degradation center for substances in cells, but also an important metabolic sensor for many substances, metabolic processes, and cell growth. Similarly, mitochondria are the main metabolic centers that determine the fate of cells. Together, these two organelles jointly regulate cell metabolism through interactions with each other, and their dysfunction is closely related to metabolic diseases, neurodegenerative diseases, and lysosomal storage diseases. At present, we recognize that mitochondria interact with lysosomes through mitophagy, mitochondrial-derived vesicles, and mitochondrial-lysosomal membrane contact sites. However, the mechanisms regulating these pathways remains unclear. In recent years, Rab7 protein has been implicated in processes of mitochondria-lysosome crosstalk, including the formation of mitochondrial autophagosomes, fusion of mitochondrial autophagosomes with lysosomes, and mitochondrial-lysosome contact and dissociation. In this article, we review the role of Rab7 in crosstalk between mitochondria and lysosomes, which provides a new theoretical basis for disease involving mitochondrial and lysosomal dysfunction.

【Keywords】 mitochondria; lysosome; mitochondrial-lysosomal crosstalk; Rab7

[基金项目]国家自然科学基金(81670654);广东省中医药局科研项目(20202096);广东省青年创新人才类项目(2018KQNCX092);广东省医学科学技术研究基金项目(A2020404)。
[作者简介]陈研色(1993—),女,硕士研究生,研究方向:肾小管疾病。E-mail:237206919@qq.com
[通信作者]王淑君(1984—),女,博士,研究方向:肾小管间质损伤及防治研究。E-mail: wangshujun117@126.com

近年,细胞器在物理和功能层面相互作用成为新的研究领域,随之,线粒体与溶酶体的相互作用也被科学家逐渐认识。溶酶体不仅是细胞中物质的降解中心,更是许多物质代谢过程和细胞生长的重要代谢传感器[1],类似的,线粒体也作为决定细胞的命运的主要的代谢中心被科学家重新认识[2]。两者通过细胞器间的相互作用,在维持正常细胞代谢起重要作用。溶酶体与线粒体功能障碍或相互作用异常与多种疾病相关,包括 2 型腓骨肌萎缩症[3]、溶酶体贮积症[4]和多种神经退行性病变[5]。

目前,溶酶体与线粒体也被认识到对细胞代谢具有共同的调节作用,并且两者可通过以下方式发生相互作用,例如:细胞通过选择性自噬机制清除受损伤或不需要的线粒体的过程[6],即线粒体自噬,在此过程中,损伤的线粒体通过与溶酶体融合并被溶酶体降解;在线粒体应激时,线粒体包裹线粒体外膜、内膜或者基质的蛋白载体以发芽的方式形成囊泡,其最终与溶酶体结合,使传递至溶酶体的氧化产物得到清除而维持了线粒体以及细胞的稳态[7];通过形成线粒体-溶酶体的膜接触点维持两者的动态平衡[8]。

Rab7 是调控早期内体向晚期内体的成熟、晚期内体向溶酶体的转运与融合进程中重要的分子[9]。目前,发现 Rab7 通过参与线粒体自噬体的形成[10]、线粒体自噬体与溶酶体的融合[10]和调节线粒体-溶酶体的接触与解离[11]等过程进而在调节两者相互作用起重要作用,因此,本文综述了 Rab7 在线粒体与溶酶体相互交谈中的作用(见图 1),为线粒体与溶酶体功能障碍性疾病发生以及防治提供理论依据。

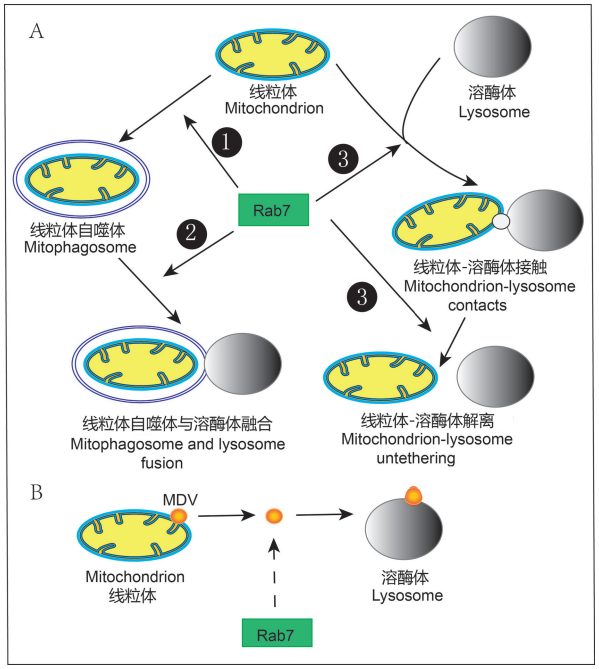
1　Rab7 的主要作用和功能

Rab 蛋白属于 GTP 酶家族,主要参与膜的转运过程[9]。Rab7 是 Rab 家族中的一种小 G 蛋白,哺乳动物有两种 Rab7,分别是 Rab7a 和 Rab7b,两者有 50%的同源性,在膜转运的不同的阶段起作用,Rab7a(NCBI 核酸序列号 NM-004637;酵母 ypt7p 的同源基因)主要位于晚期核内体,调节早期核内体向晚期核内体以及晚期内体向溶酶体的转运,Rab7b 则主要负责核内体向高尔基体的转运[9]。本文重点介绍 Rab7a 亚型,以下简称 Rab7。

目前对 Rab7 在内吞途径的作用研究较为具体[12],Rab7 通过替换 Rab 家族的另一个成员 Rab5,参与晚期内体的成熟过程,Rab7 与下游效应因子 Rab7-溶酶体相互作用蛋白(Rab7-interacting lysosomal protein, RILP)及同型融合及液泡蛋白分选复合物(homotypic fusion and vacuole protein sorting complex, HPOS)相互作用调节内体和溶酶体融合过程。Rab7 通过与 RILP 或 FYVE 与卷曲螺旋结构域蛋白 1(Fab1-YotB-Vac1P-EEA1 and coiled-coil domain containing 1, FYCO1)分别参与内体在微管上的负向和正向运输。显然, Rab7 是调控早期内体向晚期内体的成熟、晚期内体向溶酶体的转运与融合进程中重要的分子。

2　线粒体-溶酶体互作

线粒体是细胞进行有氧呼吸与能量代谢的主



注:A: Rab7 蛋白参与了线粒体和溶酶体相互调节过程中的关键环节,包括　调控线粒体自噬体形成,　促进线粒体自噬体与溶酶体融合以及　促进线粒体-溶酶体接触与解离的过程。B: Rab7 调节 MDV(线粒体衍生的囊泡)的过程有待进一步明确。

图 1　Rab7 在线粒体与溶酶体交互调节中的作用示意图

Note. A, Rab7 is involved in a key link in the mutual regulation of mitochondria and lysosomes, including　regulating the formation of mitophagosomes,　promoting the fusion of mitophagosomes and lysosomes and　promoting the process of mitochondria-lysosomes contacts and dissociation. B, The process by which Rab7 regulates MDV (mitochondrial-derived vesicles) needs to be further clarified.

Figure 1　Schematic diagram of the role of Rab7 in the interactive regulation of mitochondria and lysosomes

要场所,通过合成 ATP 为细胞提供能量,除此以外,也是钙、铁、脂质等物质的储存场所,并且参与细胞信号传导与程序性细胞凋亡的过程[2]。另一方面,溶酶体是真核细胞重要降解与回收的中心,具有单层膜结构并富含 60 多种酸性水解酶[1]。溶酶体通过降解而回收外源性和细胞内异常的大分子物质,为细胞提供氨基酸、脂质等营养物质,可以存储钙和铁离子,并且参与细胞凋亡,分泌,免疫防御,质膜修复,细胞信号传导和能量代谢等细胞过程[1]。因此,线粒体与溶酶体在维持细胞稳态起重要的作用。

近年来,研究发现在帕金森、阿尔茨海默病和肌萎缩性脊髓侧索硬化症等神经退行性病变中同时出现溶酶体和线粒体功能异常[5],而线粒体功能受损时可促发溶酶体损伤[13],溶酶体功能受损时也可反过来促发线粒体功能异常[14]。这些证据,均提示溶酶体与线粒体可能存在相互作用,事实上,已有研究证实溶酶体与线粒体可通过以下几种方式相互发生交谈。

2.1 线粒体自噬

有核细胞在饥饿及应激状态下,通过双层膜结构包裹待降解物质形成自噬体,并最终与溶酶体结合形成自噬溶酶体,其包裹的内容物在溶酶体酶的作用下被降解的过程,称为自噬[15]。而在细胞应激时,细胞通过选择性自噬机制清除受损伤或不需要的线粒体,这一过程称为线粒体自噬[6]。各种病理因素作用下,线粒体受损出现内膜持续去极化,从而使 PTEN 诱导的 PINK1 在线粒体外膜稳定表达。PINK1 磷酸化线粒体外膜蛋白 Mfn2,反过来可招募 Parkin 至线粒体外膜并使相关的蛋白发生泛素化,后被泛素化结合蛋白 p62 标记后形成自噬体,最后与溶酶体结合清除损伤线粒体,这是 PINK1/Parkin 介导的线粒体自噬途径[6]。除此以外,线粒体相关受体,包括 AMBRA1[16],FUNDC1[17] 和 Nix/BNIP3L 也相继被发现,这些线粒体相关受体通过与 LC3 的相互作用区域(LC3 interacting region, LIR)发生相互作用,使得线粒体逐渐被自噬小泡包裹。而在线粒体自噬终末端,溶酶体与以上途径形成的自噬小体融合,在此过程中溶酶体与线粒体相互作用是保证受损线粒体被降解与清除最关键步骤。

2.2 线粒体衍生的囊泡(mitochondrial-derived vesicles, MDVs)

MDVs 是实现线粒体与溶酶体之间进行分子转移及相互作用的另一种非依赖经典自噬通路途径[7]。线粒体应激时,线粒体选择性包裹线粒体外膜、内膜或者基质的蛋白载体以发芽的方式形成囊泡的过程称为 MDVs。MDVs 的形成与线粒体自噬有相似之处,同样需要 PINK1 募集并活化线粒体外膜的 Parkin[18],但沉默自噬的主要元素 Atg5, Beclin-1 或 Rab9,线粒体仍可形成 MDVs,并且 MDVs 与 LC3 不发生共定位,说明 MDVs 的产生不依赖于经典自噬途径[18-19]。MDVs 形成后最终通过与溶酶体结合,使传递至溶酶体的氧化产物得到清除而维持了线粒体以及细胞的稳态。

2.3 mTOR/TFEB 调控体系

转录因子 EB(transcription factor EB, TFEB)与溶酶体基因启动子区域 CLEAR(coordinated lysosomal expression and regulation)网络相连,可使溶酶体相关基因表达增高,从而增强溶酶体的生物合成及功能[20]。近年来研究发现,TFEB 也可调控线粒体的生成,过表达 TFEB 可促进调节线粒体生成的转录因子 PGC1-α(peroxisome proliferative activated receptor-γ (PPARγ) co-activator 1α)的 mRNA 水平与蛋白的表达,沉默 TFEB 抑制了 PGC1-α 的表达与线粒体蛋白的生成,说明 TFEB 可通过 PGC1-α 依赖的途径促进线粒体生成[21]。除此以外,研究发现过表达 TFEB 的小鼠线粒体生成相关基因 NRF1,NRF2 和 TFAM 的表达增加,并且,沉默 PGC1-α 不影响 NRF1,NRF2 和 TFAM 的表达,说明 TFEB 还可通过非依赖 PGC1-α 的途径促进线粒体生成与功能[22]。

此外,TFEB 主要受哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)磷酸化调节,在细胞营养缺乏时,溶酶体信号复合物 Rag GTPase(Rags)失活,哺乳动物雷帕霉素靶蛋白复合物 C1(mammalian target of rapamycin complex 1, mTORC1)从溶酶体上解离,从而导致 TFEB/14-3-3 分离及去磷酸化入核结合 CLEAR 网络,进而启动溶酶体生成[23]。研究发现,在神经细胞,抑制 mTORC1 可促进线粒体应激与调节线粒体活性[24]。说明,线粒体与溶酶体有共同的调控体系。

2.4 线粒体-溶酶体接触点

细胞器间的膜接触点是指两个不同的细胞器的膜之间形成的紧密接触,使它们能够在细胞内进行互相交流[25]。内质网与其它细胞器包括:质膜、高尔基体、线粒体、过氧化物酶体、脂滴以及核内体

的相互作用早见报道[25],但近年研究发现除外内质网的其它细胞器间,如溶酶体、脂滴和过氧化物酶体等细胞器间也存在接触[26]。

线粒体-溶酶体的膜接触点即是线粒体与溶酶体的膜之间形成的紧密接触,使两者能在细胞内进行信息交流[8]。目前,多项研究利用电子成像技术证实了在健康状态下多种细胞类型线粒体和溶酶体之间形成接触点[11, 27-28],线粒体-溶酶体接触点在线粒体与溶酶体膜之间平均距离约为 10 nm[11],大约 15%的溶酶体在任意时间可与线粒体形成接触点,两者稳定的平均接触时间约 60 s[11],甚至可延长到 13 min[29]。在线粒体-溶酶体膜接触点之间,未观察到溶酶体内容物、线粒体基质蛋白或跨膜蛋白转移,并且自噬或线粒体自噬发生的生物标记物 ULK1、Atg5、Atg12、LC3 不表达[11],沉默自噬相关受体(NDP52、OPTN、NBR1、TAX1BP1 和 p62)不影响线粒体-溶酶体膜接触点形成[30],显然,线粒体-溶酶体膜接触点形成是区别于线粒体自噬的独立事件。

线粒体-溶酶体的相互作用既确保两者动态平衡,也在维持细胞稳态中具有重要的意义。然而,线粒体-溶酶体的相互作用的机制尚未明确。近年来,研究发现 Rab7 也在上述线粒体-溶酶体相互作用进程中起关键的作用,Rab7 是调节线粒体自噬体与线粒体-溶酶体接触位点形成的重要分子之一。

3　Rab7 参与线粒体自噬体的形成

学者们最初在 A 群链球菌的感染中发现 Rab7 在早期阶段自噬溶酶体样空泡形成起重要作用[31],A 型链球菌通过内吞途径进入细胞,正常状态下,从内体逃逸出来的链球菌被自噬体捕获后与溶酶体融合形成自噬溶酶体[31],沉默 Rab7 抑制了 A 型链球菌感染过程中自噬溶酶体空泡形成[32],这提示 Rab7 参与了自噬体的形成。

线粒体自噬是一种通过选择性地清除受损伤或不需要线粒体的自噬途径。PINK1/Parkin 线粒体自噬的主要途径,PINK1 和 Parkin 蛋白是在哺乳动物的线粒体自噬过程中两个重要蛋白,当线粒体损伤,线粒体膜电位下降而引起 PINK1 蛋白在损伤线粒体积累,进而招募 Parkin 蛋白使线粒体外膜蛋白发生泛素化,从而介导线粒体自噬的发生[6]。那么,Rab7 是否参与 PINK1/Parkin 介导的线粒体自噬过程呢?首先,有学者发现沉默 Rab7a 可显著的影响线粒体的清除,而表达 Rab7a 可恢复对线粒体的清除。继之,Yamano 等[33]发现 Rab7 在线粒体自噬体的早期形成阶段起调节作用。TBC1D15 和 TBC1D17 均为 Rab7 的 GTP 酶活化蛋白(Rab-GAP),TBC1D15 既可通过与线粒体分裂蛋白 Fis 1 结合与线粒体相关联,并可与 LC3/GABARAP/Atg8 家族蛋白相互作用而与自噬体相关联[34-35]。有趣的是,研究发现在 PINK1/Parkin 介导的线粒体自噬途径中,沉默 TBC1D15 或 Fis1 细胞中大量的自噬泡包绕着损伤的线粒体但是并未与线粒体结合[33],提示 Rab7 失活可能参与了早期线粒体自噬体形成。而 Parkin 活化后反作用于下游效应因子 TBC1D15,后者通过与线粒体外膜蛋白 fission1(FIS1)及 Atg8 家族成员 GABARAP 相互作用抑制 Rab7a 活性,从而调控线粒体自噬过程中自噬泡的生成与线粒体形态[33]。同时,TBC1D15 的同源蛋白 TBC1D17,也同样被证实通过与 TBC1D15 形成同源二聚体,进一步与 FIS1 蛋白结合而参与线粒体自噬过程[33],说明,Rab7a 调控了线粒体自噬体生成。

此外,在缬氨霉素诱导的线粒体自噬中发现[36],损伤的线粒体可招募 Rab7a 与 MON1/CCZ1 而形成 MON1/CCZ1Rab7a GEF 复合体,不仅如此,Rab7a 上游的两个 Rab 家族成员 Rab5 和其鸟嘌呤核苷酸交换分子(guanine nucleotide exchange factor, GEF)RabeX-5 也被同时招募至损伤的线粒体。其中,RabeX-5 的线粒体招募依赖于 Parkin 活化。RabeX-5 活化 Rab5 后进而作用于其效应因子 MON1/CCZ1,反过来可使 Rab7a 被招募至损伤线粒体。还有研究表明,Rab7 也可通过 Rab7 的效应器异源五聚体运输复合物(retromer trafficking complex, Retromer)和 Rab7a 的下游 GTP 活化蛋白 TBC1D5 相互作用调控线粒体自噬[37]。针对 Retromer 和 TBC1D5 如何调控线粒体自噬,学者在线粒体自噬进程[38],观察到 Rab7a 包绕 Pakin 或线粒体外膜蛋白(translocase of outer membrane 20, TOM20)标记的损伤线粒体结构,而当沉默 Retromer 的亚基 VPS29 或 VPS35,则未能观察到此现象,说明 TBC1D5 与 Retromer 的亚基 VPS29 或 VPS35 结合从而反过来抑制 Retromer 活性而发挥相互作用。说明,Rab7 在线粒体自噬体早期形成的阶段具有重要的意义,此过程需要 PINK1、Parkin、TBC1D15、TBC1D17 和 Retromer 等蛋白的协同。

4 Rab7 参与线粒体自噬体与溶酶体的融合过程

受 Rab7 在内体转运与融合作用的启发,Rab7 调节自噬体与溶酶体的融合也被学者广泛研究。首先,学者们在沉默 Rab7 的真核细胞中发现自噬泡与溶酶体融合受阻导致出现大量自噬泡堆积[39],随后,Rab7 参与自噬体与溶酶体融合的机制也被深入研究。有学者发现,自噬体形成后通过与溶酶体的融合降解其内容物,可溶性 N-乙基马来酰亚胺敏感的融合蛋白(N-ethyl-maleimide-sensitive fusion protein, NSF)附着蛋白(soluble NSF attachment protein, SNAP)受体(SNAP receptors, SNARE)可创建膜的开口,并通过与同源融合和蛋白分选(homotypic fusion and protein sorting,HOPS)复合体及 Rab7 集合,这确保了相邻的自噬体与溶酶体有效的融合[40]。有研究表明,Rab7/Ypt7 还可通过 Vps41 和 Vps39 与 HOPS 形成的 Rab7/Ypt7-HOPX 复合体桥接 2 个融合膜,促进启动阶段自噬体与溶酶体的融合[41]。此外,Rab7 通过与 EPG5 和 R-SNARE VAMP7-VAMP8 蛋白相互作用形成 STX17-SNAP29 复合体而促使自噬体与溶酶体的粘附融合[42]。因此,Rab7 参与自噬体与溶酶体融合。

线粒体自噬体-溶酶体的融合进程与自噬体-溶酶体并非完全相同,最早,Yamano 等[33,36]学者在线粒体自噬过程中观察到沉默 Rab7 可使损伤的线粒体不能被自噬体包裹。ATG9A 通常存在于细胞浆的囊泡结构中,而我们知道,这些含有 ATG9A 的囊泡或膜状结构是自噬溶酶体膜形成的主要来源,在线粒体自噬被诱导的过程中,ATG9A 会被大量的募集到线粒体[43],然而,有研究发现,沉默 Rab7 损害了 ATG9A 在线粒体膜上的组装过程[44]。实际上,Rab7 与 ATG9a 存在一定程度的相互作用,此过程主要受 Retromer VPS35 的调节。这些研究结果,均提示 Rab7 活性可能参与线粒体自噬体与溶酶体融合过程。近年还有学者进一步发现 PINK1/Parkin 依赖的线粒体自噬过程中,Rab7 同样介导线粒体自噬体与溶酶体融合,在此过程中 TBC1D15 即 GTPase 活性起主要的调节作用[45-46]。因此,Rab7 通过促进线粒体自噬体与溶酶体融合而参与线粒体溶酶体相互作用过程。

5 Rab7 磷酸化与线粒体自噬的调节

Rab7 的活性主要受翻译后修饰调节,例如 S72 位点丝氨酸-苏氨酸磷酸化修饰,与 Y183 位点酪氨酸磷酸化修饰[47]。有趣的是,学者们发现,Rab7 S72 位点可被 PTEN (phosphatase and tensin homolog)去磷酸化,而 PTEN 对线粒体自噬具有调节作用[48]。相似的,Rab7 受 TBK1(TRAF family-associated NF-κB activator binding kinase 1)磷酸化调节而促进 PINK1/Pakin 介导的线粒体自噬途径也被报道[49]。

Rab7 S72 位点磷酸化减弱其与 GDI 以及 GGT 酶复合物的相互作用,另一方面,增强与 FLCN-FNP1(folliculin and the folliculin-ineracting protein 1)蛋白的关联性。我们知道,FLCN-FNP1 蛋白可被损伤的线粒体招募并促进 PINK1/Parkin 依赖的线粒体自噬过程[50-51],当在细胞中敲进 Rab7 S72 A 使 Rab7 发生突变不能磷酸化这一过程受到抑制。实际上,Rab7 S72 A 不仅影响有效的线粒体自噬,也被证实影响 ATG9 阳性的自噬体包裹损伤线粒体,这说明了 Rab7 磷酸化也调节了线粒体自噬体的早期形成过程。

6 Rab7 调节线粒体-溶酶体的接触与解离

近年,美国西北大学费恩伯格医学院的研究首次在形态学上发现线粒体与溶酶体存在直接的物理接触,为线粒体-溶酶体的相互交谈提出了新的见解,线粒体与溶酶体接触的形成可调节线粒体的分裂与溶酶体动态平衡,并且与两者间的物质转运有关[11]。此过程涉及多个线粒体与溶酶体膜蛋白的相互作用,而 Rab7 蛋白在调节线粒体溶酶体接触与解离过程中的作用尤其重要。首先,在线粒体-溶酶体接触阶段,Rab7 在调节线粒体与溶酶体的接触与解离中起重要作用,Rab7 通过与溶酶体的 GTP 结合活化促进了其与线粒体接触,并且,当通过高表达 Rab7 Q67 L 持续活化 Rab7 GTP 时,可延长线粒体与溶酶体接触。反之,当 Rab7 与 GDP 结合处于非活化状态则线粒体与溶酶体解离[11]。

随后出现的线粒体-溶酶体解离过程也受 Rab7 调节,线粒体外膜蛋白 Fis1 通过招募胞浆 TBC1D15 (Rab7 GAP)至线粒体,TBC1D15 通过与溶酶体接触点处的 Rab7 结合并水解 GTP 转换为 GDP,Rab7-GDP 从溶酶体释放出来,从而促使线粒体-溶酶体解离[35, 52]。学者们进一步发现当基因突变或者沉默 Fis1 和 TBC1D15 蛋白,可使已形成的线粒体-溶酶体接触位点则不能发生解离或者接触时间延长,

然而,这并不影响线粒体-溶酶体接触的形成[35],说明 Fis1 和 TBC1D15 蛋白主要通过与 Rab7 相互作用影响线粒体-溶酶体接触后解离的过程。因此,Rab7 对线粒体与溶酶体的接触形成和解离具有重要的作用,此过程涉及 Rab7 的活化、转换、运输与定位并需要 TBC1D15 和 Fis1 的协同作用。

除此以外,Rab7 还可以通过线粒体-溶酶体膜接触点对两者进行双向的调控。首先,线粒体-溶酶体接触点为线粒体相关蛋白通过调控 Rab7 GTP 结合进而调节溶酶体提供了一个平台,学者发现当 TBC1D15 与线粒体外膜结合使 Rab7 GTP 酶水解促进线粒体溶酶体解离的同时,也促使了溶酶体膜的 Rab7 效应蛋白释放,进而调节了溶酶体动态,而 TBC1D15 突变使 GAP 活性受抑制则导致溶酶体体积增大[11],说明 Rab7 不仅通过在调节线粒体-溶酶体接触过程中也调控了溶酶体动态。其次,Rab7 通过线粒体-溶酶体接触点而调控线粒体也得到证实,当抑制 Rab7 GTP 酶水解而破坏线粒体-溶酶体接触点解离时,线粒体分裂减少,线粒体网状结构被破坏[11]。

7　其它

正如前面所述,Rab7 参与线粒体自噬与线粒体溶酶体接触形成,鉴于其在膜结构的形成过程中的重要作用, Rab7 即使调节线粒体衍生的囊泡的过程也是不足为奇的,然而,这有待进一步明确。mTOR/TFEB 信号通路是调节线粒体与溶酶体的共同通路, Rab7 GAP TBC1D5 也被发现可通过与 Retromer 相互作用在调节 mTOR 活性的过程起重要的作用[53]。

8　结语

线粒体和溶酶体对细胞的正常代谢都是至关重要的,线粒体为细胞产生能量,溶酶体则主要回收细胞的废弃物。线粒体和溶酶体存在相互交谈,两者的功能也存在关联,两者发生功能障碍与 2 型腓骨肌萎缩症、溶酶体贮积症和多种神经退行性病变等疾病存在密切关系。线粒体和溶酶体拥有共同的 mTOR/TFEB 调控体系,并可能通过线粒体自噬、线粒体衍生的囊泡和线粒体-溶酶体接触位点等途径发生相互作用。Rab7 蛋白参与了线粒体和溶酶体相互作用过程中的关键环节,包括早期驱动富含 Atg9A 的膜结构形成吞噬泡包裹损伤的线粒体,介导 PINK1/Parkin 依赖的线粒体自噬体形成;线粒体自噬体与溶酶体融合;介导线粒体-溶酶体接触与解离的过程,进而双向调控线粒体与溶酶体等等。因此,特异性靶向 Rab7 的治疗策略为今后有效控制线粒体与溶酶体功能障碍性疾病开辟了新的研究方向。但 Rab7 与线粒体溶酶体互作之间的关系错综复杂,线粒体溶酶体互作受到多个分子、多种通路的调控,目前尚未完全研究明确。如何特异性靶向 Rab7 并减少不良反应,无疑是个极大挑战。因此,调控 Rab7 以维持线粒体溶酶体互作的稳态,在治疗线粒体与溶酶体功能障碍性疾病中具有广阔的应用前景,但仍需大量研究工作。

参考文献:

[1] Saftig P, Klumperman J. Lysosome biogenesis and lysosomal membrane proteins: trafficking meets function [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2009, 10(9): 623-635.

[2] Friedman JR, Nunnari J. Mitochondrial form and function [J]. Nature, 2014, 505(7483): 335-343.

[3] Wong YC, Peng W, Krainc D. Lysosomal regulation of inter-mitochondrial contact fate and motility in charcot-marie-tooth type 2 [J]. Dev Cell, 2019, 50(3): 339-354.

[4] Lim JA, Li L, Kakhlon O, et al. Defects in calcium homeostasis and mitochondria can be reversed in Pompe disease [J]. Autophagy, 2015, 11(2): 385-402.

[5] Audano M, Schneider A, Mitro N. Mitochondria, lysosomes, and dysfunction: their meaning in neurodegeneration [J]. J Neurochem, 2018, 147(3): 291-309.

[6] Ashrafi G, Schwarz TL. The pathways of mitophagy for quality control and clearance of mitochondria [J]. Cell Death Differ, 2013, 20(1): 31-42.

[7] Sugiura A, McLelland GL, Fon EA, et al. A new pathway for mitochondrial quality control: mitochondrial-derived vesicles [J]. EMBO J, 2014, 33(19): 2142-2156.

[8] Wong YC, Kim S, Peng W, et al. Regulation and function of mitochondria-lysosome membrane contact sites in cellular homeostasis [J]. Trends Cell Biol, 2019, 29(6): 500-513.

[9] Progida C, Cogli L, Piro F, et al. Rab7b controls trafficking from endosomes to the TGN [J]. J Cell Sci, 2010, 123(9): 1480-1491.

[10] Tan EHN, Tang BL. Rab7a and mitophagosome formation [J]. Cells, 2019, 8(3): 224.

[11] Wong YC, Ysselstein D, Krainc D. Mitochondria-lysosome contacts regulate mitochondrial fission via RAB7 GTP hydrolysis [J]. Nature, 2018, 554(7692): 382-386.

[12] Guerra F, Bucci C. Multiple roles of the small GTPase Rab7 [J]. Cells, 2016, 5(3): 34.

[13] Baixauli F, Acín-Pérez R, Villarroya-Beltrí C, et al. Mitochondrial respiration controls lysosomal function during

inflammatory T cell responses [J]. Cell Metab, 2015, 22(3): 485-948.

[14] Demers-Lamarche J, Guillebaud G, Tlili M, et al. Loss of mitochondrial function impairs lysosomes [J]. J Biol Chem, 2016, 291(19): 10263-10276.

[15] Parzych KR, Klionsky DJ. An overview of autophagy: morphology, mechanism, and regulation [J]. Antioxid Redox Signal, 2014, 20(3): 460-473.

[16] Van Humbeeck C, Cornelissen T, Vandenberghe W. Ambra1: a Parkin-binding protein involved in mitophagy [J]. Autophagy, 2011, 7(12): 1555-1556.

[17] Liu L, Feng D, Chen G, et al. Mitochondrial outer-membrane protein FUNDC1 mediates hypoxia-induced mitophagy in mammalian cells [J]. Nat Cell Biol, 2012, 14(2): 177-185.

[18] McLelland GL, Soubannier V, Chen CX, et al. Parkin and PINK1 function in a vesicular trafficking pathway regulating mitochondrial quality control [J]. EMBO J, 2014, 33(4): 282-295.

[19] Soubannier V, McLelland GL, Zunino R, et al. A vesicular transport pathway shuttles cargo from mitochondria to lysosomes [J]. Curr Biol, 2012, 22(2): 135-141.

[20] Palmieri M, Impey S, Kang H, et al. Characterization of the CLEAR network reveals an integrated control of cellular clearance pathways [J]. Hum Mol Genet, 2011, 20(19): 3852-3866.

[21] Evans TD, Zhang X, Jeong SJ, et al. TFEB drives PGC-1α expression in adipocytes to protect against diet-induced metabolic dysfunction [J]. Sci Signal, 2019, 12(606): eaau2281.

[22] Kim HJ, Joe Y, Rah SY, et al. Carbon monoxide-induced TFEB nuclear translocation enhances mitophagy/mitochondrial biogenesis in hepatocytes and ameliorates inflammatory liver injury [J]. Cell Death Dis, 2018, 9(11): 1060.

[23] Napolitano G, Ballabio A. TFEB at a glance [J]. J Cell Sci, 2016, 129(13): 2475-2481.

[24] Khan NA, Nikkanen J, Yatsuga S, et al. mTORC1 regulates mitochondrial integrated stress response and mitochondrial myopathy progression [J]. Cell Metab, 2017, 26(2): 419-428.

[25] Gatta AT, Levine TP. Piecing together the patchwork of contact sites [J]. Trends Cell Biol, 2017, 27(3): 214-229.

[26] Ushigome M. Re-evaluation of routine care. 34. Rest (2): nurses' responsibility in releasing patients from the forced rest [J]. Kangogaku Zasshi, 1984, 48(10): 1092-1095.

[27] Valm AM, Cohen S, Legant WR, et al. Applying systems-level spectral imaging and analysis to reveal the organelle interactome [J]. Nature, 2017, 546(7656): 162-167.

[28] Aston D, Capel RA, Ford KL, et al. High resolution structural evidence suggests the Sarcoplasmic Reticulum forms microdomains with Acidic Stores (lysosomes) in the heart [J]. Sci Rep, 2017, 7: 40620.

[29] Han Y, Li M, Qiu F, et al. Cell-permeable organic fluorescent probes for live-cell long-term super-resolution imaging reveal lysosome-mitochondrion interactions [J]. Nat Commun, 2017, 8(1): 1307.

[30] Chen Q, Jin C, Shao X, et al. Super-resolution tracking of mitochondrial dynamics with an iridium(III) luminophore [J]. Small, 2018, 14(41): e1802166.

[31] Yamaguchi H, Nakagawa I, Yamamoto A, et al. An initial step of GAS-containing autophagosome-like vacuoles formation requires Rab7 [J]. PLoS Pathog, 2009, 5(11): e1000670.

[32] Noda T, Yoshimori T. Between canonical and antibacterial autophagy: Rab7 is required for GAS-containing autophagosome-like vacuole formation [J]. Autophagy, 2010, 6(3): 419-420.

[33] Yamano K, Fogel AI, Wang C, et al. Mitochondrial Rab GAPs govern autophagosome biogenesis during mitophagy [J]. Elife, 2014, 3: e01612.

[34] Shen Q, Yamano K, Head BP, et al. Mutations in Fis1 disrupt orderly disposal of defective mitochondria [J]. Mol Biol Cell, 2014, 25(1): 145-159.

[35] Onoue K, Jofuku A, Ban-Ishihara R, et al. Fis1 acts as a mitochondrial recruitment factor for TBC1D15 that is involved in regulation of mitochondrial morphology [J]. J Cell Sci, 2013, 126(1): 176-185.

[36] Yamano K, Wang C, Sarraf SA, et al. Endosomal Rab cycles regulate Parkin-mediated mitophagy [J]. Elife, 2018, 7: e31326.

[37] Jimenez-Orgaz A, Kvainickas A, Nägele H, et al. Control of RAB7 activity and localization through the retromer-TBC1D5 complex enables RAB7-dependent mitophagy [J]. EMBO J, 2018, 37(2): 235-254.

[38] Seaman MN, Harbour ME, Tattersall D, et al. Membrane recruitment of the cargo-selective retromer subcomplex is catalysed by the small GTPase Rab7 and inhibited by the Rab-GAP TBC1D5 [J]. J Cell Sci, 2009, 122(14): 2371-2382.

[39] Gutierrez MG, Munafó DB, Berón W, et al. Rab7 is required for the normal progression of the autophagic pathway in mammalian cells [J]. J Cell Sci, 2004, 117(13): 2687-2697.

[40] Takáts S, Pircs K, Nagy P, et al. Interaction of the HOPS complex with Syntaxin 17 mediates autophagosome clearance in Drosophila [J]. Mol Biol Cell, 2014, 25(8): 1338-1354.

[41] Wurmser AE, Sato TK, Emr SD. New component of the vacuolar class C-Vps complex couples nucleotide exchange on the Ypt7 GTPase to SNARE-dependent docking and fusion [J]. J Cell Biol, 2000, 151(3): 551-562.

[42] Wang Z, Miao G, Xue X, et al. The vici syndrome protein EPG5 is a Rab7 effector that determines the fusion specificity of autophagosomes with late endosomes/lysosomes [J]. Mol Cell, 2016, 63(5): 781-795.

[43] Mattera R, Park SY, De Pace R, et al. AP-4 mediates export of ATG9A from the trans-Golgi network to promote autophagosome formation [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2017, 114(50): E10697-E10706.

[44] Kakuta S, Yamaguchi J, Suzuki C, et al. Small GTPase Rab1B is associated with ATG9A vesicles and regulates autophagosome formation [J]. FASEB J, 2017, 31(9): 3757-3773.

[45] Xian H, Yang Q, Xiao L, et al. STX17 dynamically regulated by

Fis1 induces mitophagy via hierarchical macroautophagic mechanism [J]. Nat Commun, 2019, 10(1): 2059.

[46] Zhou J, Li G, Zheng Y, et al. A novel autophagy/mitophagy inhibitor liensinine sensitizes breast cancer cells to chemotherapy through DNM1L-mediated mitochondrial fission [J]. Autophagy, 2015, 11(8): 1259-1279.

[47] Lin X, Zhang J, Chen L, et al. Tyrosine phosphorylation of Rab7 by Src kinase [J]. Cell Signal, 2017, 35: 84-94.

[48] Wang L, Cho YL, Tang Y, et al. PTEN-L is a novel protein phosphatase for ubiquitin dephosphorylation to inhibit PINK1-Parkin-mediated mitophagy [J]. Cell Res, 2018, 28(8): 787-802.

[49] Heo JM, Ordureau A, Swarup S, et al. RAB7A phosphorylation by TBK1 promotes mitophagy via the PINK-PARKIN pathway [J]. Sci Adv, 2018, 4(11): eaav0443.

[50] Nookala RK, Langemeyer L, Pacitto A, et al. Crystal structure of folliculin reveals a hidDENN function in genetically inherited renal cancer [J]. Open Biol, 2012, 2(8): 120071.

[51] Tsun ZY, Bar-Peled L, Chantranupong L, et al. The folliculin tumor suppressor is a GAP for the RagC/D GTPases that signal amino acid levels to mTORC1 [J]. Mol Cell, 2013, 52(4): 495-505.

[52] Zhang XM, Walsh B, Mitchell CA, et al. TBC domain family, member 15 is a novel mammalian Rab GTPase-activating protein with substrate preference for Rab7 [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2005, 335(1): 154-161.

[53] Kvainickas A, Nägele H, Qi W, et al. Retromer and TBC1D5 maintain late endosomal RAB7 domains to enable amino acid-induced mTORC1 signaling [J]. J Cell Biol, 2019, 218(9): 3019-3038.

〔收稿日期〕2020-04-16

(上接第 106 页)

[21] Robinson D, Van Allen EM, Wu YM, et al. Integrative clinical genomics of advanced prostate cancer [J]. Cell, 2015, 161(5): 1215-1228.

[22] Arora VK, Schenkein E, Murali R, et al. Glucocorticoid receptor confers resistance to antiandrogens by bypassing androgen receptor blockade [J]. Cell, 2013, 155(6): 1309-1322.

[23] Ku SY, Rosario S, Wang Y, et al. Rb1 and Trp53 cooperate to suppress prostate cancer lineage plasticity, metastasis, and antiandrogen resistance [J]. Science, 2017, 355(6320): 78-83.

[24] Mu P, Zhang Z, Benelli M, et al. SOX2 promotes lineage plasticity and antiandrogen resistance in TP53- and RB1-deficient prostate cancer [J]. Science, 2017, 355(6320): 84-88.

[25] Pietrzak K, Kuzyakiv R, Simon R, et al. TIP5 primes prostate luminal cells for the oncogenic transformation mediated by PTEN-loss [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2020, 117(7): 3637-3647.

[26] Wang F, Liu L, Tong Y, et al. Proscillaridin A slows the prostate cancer progression through triggering the activation of endoplasmic reticulum stress [J]. Cell Cycle, 2020, 19(5): 541-550.

[27] Wang X, Xu H, Cheng C, et al. Identification of a Zeb1 expressing basal stem cell subpopulation in the prostate [J]. Nat Commun, 2020, 11(1): 706.

〔收稿日期〕2020-10-21