

## 应力诱导自噬的机械转导过程研究进展\*

蒋玉坤, 胡芝爱, 关禹哲, 周陈晨, 邹淑娟<sup>△</sup>

口腔疾病研究国家重点实验室 国家口腔疾病临床医学研究中心 四川大学华西口腔医院 正畸科(成都 610041)

**【摘要】** 细胞自噬广泛发生在所有真核细胞的基础生理过程中,是细胞通过降解自身结构或物质从而获得能量的一种自我保护机制。近年来,学者们发现各种组织和细胞在体内受到不同类型的机械应力同样可以通过多种机械转导途径诱导自噬,调控细胞代谢功能,并参与多种疾病的病理过程。细胞膜上的应力感受器以及细胞内的多条信号通路和细胞骨架已被证明在该过程中发挥了重要作用。目前,由于应力加载模型建立的困难以及相关研究手段的局限,机械应力诱导细胞自噬的具体机械转导机制尚不清楚。因此,需要更可靠的体内外模型和更先进的研究方法来解决机械应力诱导自噬的机械转导过程,并最终促进自噬相关疾病及其治疗方法的进展。本文就机械应力在生理及疾病过程中对自噬的调节作用以及机械应力诱导自噬的相关信号转导过程作一综述。

**【关键词】** 自噬 应力 机械转导

**Research Progress in Mechanotransduction Process of Mechanical-Stress-Induced Autophagy** JIANG Yu-kun, HU Zhi-ai, GUAN Yu-zhe, ZHOU Chen-chen, ZOU Shu-juan<sup>△</sup>. State Key Laboratory of Oral Diseases, National Clinical Research Center for Oral Diseases, and Department of Orthodontics, West China Hospital of Stomatology, Sichuan University, Chengdu 610041, China

<sup>△</sup> Corresponding author, E-mail: Shujuanzou@aliyun.com

**【Abstract】** As a self-protective mechanism for cells to obtain energy by degrading their own structures or substances, autophagy widely occurs in basic physiological process of all kinds of eukaryotic cells. In recent years, studies have shown that autophagy can be induced through a variety of mechanical transduction pathways when various tissues and cells are exposed to different types of mechanical stress, and cells and tissues involved can thus regulate cell metabolic functions and participate in the pathological process of a variety of diseases. The stress receptors on the cell membrane and the multiple signaling pathways and cytoskeletons have been shown to play an important role in this process. At present, due to the difficulties in the establishment of the stress loading model and the limitations in the research methods concerned, the specific mechanical transduction mechanisms of autophagy induced by mechanical stress is not clear. Therefore, more reliable *in vitro* and *in vivo* models and more advanced research methodology are needed to investigate the mechanical transduction process of autophagy induced by mechanical stress, and to promote ultimately progress in the understanding of autophagy-related diseases and their treatments. This article reviewed the regulatory role of mechanical stress on autophagy in physiological and disease processes and the signal transduction process related to autophagy induced by mechanical stress.

**【Key words】** Autophagy Mechanical stress Mechanotransduction

自噬是将细胞器、蛋白质和大分子降解,并对分解产物循环利用的细胞过程,是调控和维持组织动态平衡以及新陈代谢、发育、免疫和衰老的关键因素<sup>[1]</sup>。在哺乳动物细胞中,主要有3种类型的自噬:微自噬、巨自噬和分子伴侣介导的自噬。在3种类型的自噬中,巨自噬是研究最多的,在营养或能量缺乏等应激条件下可以被进一步诱导,将细胞质内的物质降解成可用于生物合成过程或能量生产的代谢物,从而协助细胞存活<sup>[2]</sup>。目前,诱导自噬的应激刺激主要包括营养和能量应激、内质网应激、病原体相关分子模式和危险相关分子模式、缺氧、氧化还原应激和线粒体损伤等<sup>[3]</sup>。在正常状态下,自噬通过消除错误折叠的蛋白质、蛋白质聚集体和受损的细胞器调节

细胞内的基本代谢功能,参与维持正常的细胞动态平衡<sup>[4]</sup>;在应激状态下,自噬可以动员各种能量来源,为细胞提供营养并移除潜在的危险因素。自噬参与了许多生理过程包括胚胎发育、细胞分化、卵母细胞受精、先天和适应性免疫等,也与多种疾病如癌症、肌肉萎缩、神经退行性疾病和溶酶体疾病有密切关系<sup>[5]</sup>。

在体内,组织和细胞经常受到不同类型的机械应力,如张应力、剪切力、压应力等外源性应力以及基质硬度、细胞密度等内源性应力。一些病理条件下产生的机械应力往往与疾病的发生发展密切相关。例如,心肌梗死、全身性高血压和肺栓塞等多种病理状况会增加心脏负荷,增加心脏组织和周围血管的机械应力,从而导致心肌肥大<sup>[5]</sup>。最近研究发现,机械应力可以通过多种应力传导途径诱导自噬,调控细胞代谢功能,参与多种疾病的病理过

\* 国家自然科学基金(No. 82071150)资助

<sup>△</sup> 通信作者, E-mail: Shujuanzou@aliyun.com

程。研究发现,自噬在心肌梗死时上调,并在心肌梗死后心脏重塑过程中起到保护作用<sup>[6]</sup>。此外,在压疮形成过程中,持续的压迫可能导致过度的自噬进而引起细胞凋亡<sup>[7-8]</sup>。这些证据提示,全面理解应力刺激诱导自噬的传导过程对治疗相关疾病具有至关重要的意义。目前,针对机械应力诱导自噬的应力传导机制的综述较少,因此本文就该机制进行综述。

## 1 机械应力与自噬的关系

机械应力包括外源性应力和内源性应力两种基本形式,内源性应力是通过改变细胞外基质(extracellular matrix, ECM)硬度、细胞形态、ECM纳米形貌和细胞密度等产生的力,外源性应力是指单纯加载的剪切力、牵拉力、压力等<sup>[9]</sup>。人体中多数活细胞,比如内皮细胞、骨细胞、心肌细胞等,都会受到机械应力。自噬是一条重要的降解途径,在新陈代谢、遗传毒性、感染性和低氧应激条件下被刺激,对细胞生存起着至关重要的适应机制,也与各种疾病密切相关。目前研究表明机械应力也能通过自噬影响细胞的命运<sup>[10]</sup>。

### 1.1 外源性应力

**1.1.1 压应力与自噬** 研究发现在不同细胞中,压应力既可能诱导自噬,也可能抑制自噬。KING等<sup>[11]</sup>最初在网柱菌属中发现,细胞可以通过诱导自噬小体的形成对生理范围内的机械压力作出反应,适应环境变化。目前研究证明,在椎间盘髓核细胞、牙周膜成纤维细胞以及癌细胞等多种细胞中压力诱导自噬的现象普遍存在<sup>[12-14]</sup>。在椎间盘髓核细胞中,自噬增强了髓核细胞受损成分的降解,是抵抗机械负担过重的重要反应,可能延缓椎间盘的退变<sup>[12]</sup>。在牙周膜成纤维细胞中,自噬在压力作用下激活后,通过核因子 $\kappa$ B受体活化因子配体(receptor activator of nuclear factor- $\kappa$ B ligand, RANKL)/骨保护素(osteoprotegerin, OPG)信号调节破骨细胞的生成,维持牙槽骨环境的稳定<sup>[13,15]</sup>。在癌细胞转移过程中,研究发现压力诱导自噬促进了细胞迁移,这一发现有助于理解癌症转移的生物学机制。与压力诱导自噬相反,另一项研究发现,在施加机械压力后足细胞的基础自噬在机械压力适应过程中逐渐降低,且伴随着足细胞黏附能力的降低,这表明在足细胞中机械压力会抑制自噬,而螺内酯可改善机械应激下足细胞的黏附能力,该研究为螺内酯治疗糖尿病肾病提供了新的治疗策略<sup>[16]</sup>。

**1.1.2 拉应力与自噬** 拉应力主要出现在骨、软骨、肌肉等组织中。在骨组织中,循环机械拉伸显著增加了三维培养的骨细胞中自噬基因的表达,进而引起细胞的球

样改变<sup>[17]</sup>。此外,ZHOU等<sup>[18]</sup>采用后肢卸载的骨质疏松模型首次证明自噬激活是周期性机械拉力促进骨髓间充质干细胞向成骨细胞分化的必要条件,为预防和治疗废用性骨质疏松提供了潜在的治疗策略。在软骨细胞中,不同强度的拉力将产生不同的自噬反应,低、中强度的拉伸力可以促进自噬,而当拉伸力强度高达4 000  $\mu$ strain时,则会抑制自噬<sup>[19]</sup>。这可能是由于过高的拉力强度引起机械损伤,从而抑制自噬,引起细胞凋亡<sup>[20]</sup>,该研究揭示了应力调节软骨发育的潜在机制。在心肌中,拉应力能诱导自噬,并且该现象可能与心肌肥大、心肌梗死等疾病相关<sup>[21]</sup>。在椎间盘纤维环细胞中,机械拉力通过抑制自噬,促进了该细胞的衰老<sup>[22]</sup>。

**1.1.3 剪切力与自噬** 剪切力主要出现在血液系统、泌尿系统以及肿瘤细胞的转移过程中。在血液系统中,层流剪切力对血管细胞功能具有保护作用,而低剪切力与动脉分叉或曲折动脉的动脉粥样硬化病变有关<sup>[23-24]</sup>。研究发现,层流剪切力能诱导血管内皮细胞和血管平滑肌细胞中的自噬,抑制炎症,阻断动脉粥样硬化斑块的形成<sup>[25-27]</sup>,促使血管平滑肌细胞由收缩表型向合成表型转变,产生血管保护作用<sup>[28]</sup>。与层流剪切力不同,低剪切应力表现为抑制血管内皮细胞的自噬,导致内皮细胞损伤、炎症、凋亡和衰老,从而促进动脉粥样硬化病变的发展<sup>[29]</sup>。但也有研究显示在人脐静脉内皮细胞中低剪切力能诱导自噬,减少细胞凋亡<sup>[30]</sup>。笔者推测,以上差异的出现可能与血管内皮细胞是一种高分化细胞而脐静脉内皮细胞是一种干细胞有关。在泌尿系统中,由流体引起的剪切应力能诱导肾上皮细胞自噬,并通过初级纤毛信号传导,调节细胞的大小<sup>[31]</sup>。最新研究表明,肿瘤细胞周围液体流动以及细胞转移时血管内血液和淋巴流动均能产生剪切力,该剪切力可以诱导MDAMB-231、MG63、SCC25、Hep3B、A549及HeLa等癌细胞的自噬。该过程既可能起到促进肿瘤细胞生存的作用,也可能通过细胞凋亡促进细胞死亡<sup>[32-33]</sup>。

以上研究结果说明,外源性机械刺激对细胞自噬的调控效应并非一成不变,生理性或适当的应力刺激可以诱导自噬,促进细胞存活,使其适应环境变化。但是机械应力造成的损伤也会导致自噬功能受抑制,引起细胞的衰老、凋亡和坏死<sup>[34]</sup>。然而,目前的研究主要采用体外实验探索机械刺激对细胞的影响,仍缺乏相关体内实验验证自噬对机体及相关疾病的影响。笔者认为,造成此种研究瓶颈的主要原因有以下两点:①动物体内环境复杂,细胞受到机械应力的同时,可能也受到其他刺激如低氧、营养供应不足等。②在体内环境中,细胞受到的往往不

是单一类型的力,而是多种力的组合形式。

## 1.2 内源性应力

ECM硬度是细胞微环境中最重要的内源性应力来源。目前研究表明,自噬活动可以由ECM硬度调节,并在机械转导中发挥重要作用<sup>[35-37]</sup>。在乳腺癌细胞中,随着基质硬度的增加,细胞自噬活性增加<sup>[36]</sup>。在肝细胞中,ECM硬度不影响细胞内自噬小体的数量但是影响自噬小体的分布,这可能是由于底物硬度引起细胞骨架结构组织的改变所造成的<sup>[37]</sup>。在血液系统中,随着底物硬度的增加,血管内皮细胞的自噬被下调,内皮功能相关基因的表达发生变化,同时血管平滑肌细胞的自噬被上调,细胞表型改变,为心血管应用领域中生物材料表面的设计标准提供了参考依据<sup>[37]</sup>。另一项研究发现,硬的基质还可以诱导平滑肌细胞中分子伴侣介导的自噬增加<sup>[38]</sup>。以上研究都表明了ECM硬度可以影响自噬活动。除了ECM硬度外,细胞密度也可以对自噬产生影响。研究发现细胞密度和自噬体数之间呈负相关关系,即细胞密度越高,自噬小体的形成越少<sup>[39]</sup>。

目前,有关内源性应力对自噬影响的相关研究仍然有限。造成该现象的原因主要在于体外模型的构建非常困难。理想的体外模型要求所用材料能够模拟生理或病理状态下的基质硬度等内源性应力的动态变化,但基质硬度的变化往往伴随着其他材料属性的变化,例如表面化学、表面形态或粘合剂配体的可用性等,并影响细胞功能。因此,不断改进有关材料的设计对于突破当前的挑战至关重要。

## 2 自噬的机械转导机制

细胞将机械应力产生的物理信号转化为生物反应的细胞内分子过程统称为机械转导<sup>[25]</sup>。以下主要从机械应力的感受器和机械应力的信号传导方式两方面来阐述。

### 2.1 机械应力感受器

细胞膜上的脂筏和小窝、离子通道、初级纤毛、锚定蛋白和跨膜蛋白等的存在构成了细胞应力信号的感受和传导系统。

**2.1.1 脂筏** 脂筏是细胞膜脂质双分子层内含有特殊脂质与蛋白质的微区,由胆固醇、胆固醇鞘脂和糖基磷脂酰肌醇固定蛋白组成。脂筏通过微区中有序排列的通路成分来调节细胞代谢和信号通路的启动<sup>[40]</sup>。脂筏能直接感受机械刺激<sup>[41]</sup>,研究发现宫颈癌细胞HeLa及其亚系HeLa 229在体外生理剪应力作用下发生自噬反应,该剪应力所诱导的自噬需要完整的脂筏来启动信号通路,引起p38丝

裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)的磷酸化,进而导致自噬<sup>[35]</sup>。后续研究发现,压应力和剪切力一样,也可以通过脂筏介导的p38 MAPK磷酸化过程诱导自噬<sup>[44]</sup>。而压力诱导的自噬可以通过影响关键的黏着斑蛋白、桩蛋白paxillin和活性基质金属蛋白酶MMP-2的分泌来促进HeLa细胞的侵袭性<sup>[44]</sup>。目前,脂筏在机械应力下诱导自噬主要集中于宫颈癌细胞有关的研究,其他癌细胞和正常细胞是否有相同的感受机制,尚需进一步研究证明。

**2.1.2 初级纤毛** 初级纤毛是基于微管的细胞器,用于感受细胞外环境并通过各种分子信号传导途径将这些信息转导到细胞中<sup>[42]</sup>。ORHON等<sup>[43]</sup>通过体内和体外实验,发现流体流动可以诱导自噬,从而调节肾脏上皮细胞的体积,初级纤毛的消失将阻断流体流动的自噬诱导和细胞体积调节作用,深入研究发现自噬相关基因表达的部分分子在初级纤毛处被招募,以产生自噬结构;液体流动引起的切应力促进了初级纤毛上PtdIns3P的合成,而这种脂质是纤毛发生和启动自噬所必需的。因此,肾上皮细胞动员不同的PtdIns3-激酶,产生PtdIns3P,以启动依赖于切应力的自噬<sup>[43-44]</sup>。在软骨细胞中,XIANG等<sup>[19]</sup>对软骨细胞进行循环拉伸应变(cyclic tensile strain, CTS)处理后,发现CTS可调节初级纤毛的发生率、长度和自噬表达,而破坏了初级纤毛的结构会抑制自噬。最近研究发现在髓核细胞中,初级纤毛可以感知和介导适度的流体剪切力信号,以调节血红素氧合酶1(heme oxygenase-1, HO-1)介导的自噬激活,从而维持髓核细胞的细胞外基质动态平衡<sup>[45]</sup>。由此可见,对于有初级纤毛结构的细胞来说,初级纤毛的完整对于机械应力诱导的自噬至关重要。

**2.1.3 离子通道** 离子通道是一种完整的成孔膜蛋白,它介导基本信号离子的被动流入/流出细胞或细胞内细胞器,从而控制胞浆/细胞内离子浓度、膜电位和细胞体积<sup>[46]</sup>。已有研究发现多种离子通道与自噬相关,如TRP、ITPR、VGCCs等<sup>[47]</sup>。目前,机械应力诱导自噬相关研究仅发现在流体流动时,抑制多囊蛋白2表达会损害自噬的激活<sup>[43]</sup>。由于该通道恰好位于初级纤毛上,因此,需要进一步的实验探究该机制是否依赖于应力刺激下初级纤毛诱导自噬的功能。

**2.1.4 其他** 细胞膜上还存在着一些特殊的蛋白参与机械感应。Rab家族Rho鸟苷三磷酸酶(GTP hydrolases, GTPases)是存在于质膜和细胞器膜中的一类调节型的小分子GTP结合蛋白Ras超家族中最大的亚家族,控制着膜重构事件,并且一些Rab在自噬过程中充当着膜融合事件的调节器或适配器<sup>[48]</sup>。研究发现在血管内皮细胞中,层

流剪切力使Rab4蛋白水平升高,自噬标志物Beclin-1和LC3 II增加,自噬底物p62减少,经Rab4 siRNA预处理后,Beclin-1和LC3 II水平的升高明显减弱,而p62的水平显著升高,单核细胞的黏附率和单核细胞趋化蛋白水平明显提高,说明层流剪切力上调了Rab4的表达,有助于改善血管内皮细胞的自噬和功能<sup>[25]</sup>。整合素是存在于细胞膜上的一种跨膜的异质二聚体,也能参与机械感应。YAN等<sup>[49]</sup>研究发现在HepG2细胞中,流体剪切力能诱导自噬,上调整合素 $\alpha_v$ 的表达,抑制整合素可以抑制自噬,这说明整合素也参与了机械应力诱导自噬的过程。

## 2.2 信号转导方式

**2.2.1 细胞骨架** 细胞骨架是由肌动蛋白、中间丝和微管组成的细胞内部骨架,细胞通过该骨架介导细胞和分子转运、细胞分裂和细胞结构等功能<sup>[50]</sup>。已经有文献报道表明,自噬体的发生和运输依赖于多种细胞骨架成分的活动<sup>[51]</sup>。由于细胞骨架提供了感知和响应机械信号的方式,机械刺激诱导的自噬中也多有细胞骨架的参与。GTPases是一类小分子G蛋白,在生物力学刺激下可通过多条途径调控肌动蛋白的聚合和组装,在力学信号转导通路中起重要作用<sup>[52]</sup>。研究发现,在癌细胞中抑制Rho可以抑制依赖Rho的细胞骨架张力,并能抑制硬基质中不断增加的自噬,这可能与癌细胞的增殖能力有关<sup>[35]</sup>。在HepG2细胞中,研究发现流体剪切力诱导自噬,抑制整合素或微丝形成将抑制细胞骨架重构以及黏着斑激酶(focal-adhesion kinase, FAK)活化,进而抑制自噬,结果表明流体剪切力能通过整合素-细胞骨架途径来诱导HepG2细胞自噬,从而诱导肿瘤的迁移、侵袭<sup>[49]</sup>。ECM硬度增加诱导自噬,且该过程需要稳定完整的肌动蛋白细胞骨架和应力纤维,这可能是因为ECM硬度改变可解聚黏附斑的肌动蛋白-肌球蛋白纤维张力,进而改变细胞与基质之间的黏附力,将力学信号转变为化学信号<sup>[35]</sup>。

## 2.2.2 信号通路

**2.2.2.1 磷酸肌醇3-激酶(phosphoinositol 3-kinase, PI3K)信号通路** 哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)是自噬的主要负调控因子,PI3K/蛋白激酶B(protein kinase B, PKB, 又称AKT)通路是mTOR的上游主要调节子。PI3K/AKT/mTOR级联反应是调节自噬发生的一条经典通路,也是自噬反应中最常见的调控途径<sup>[53]</sup>。在椎间盘退变的机制研究中,LI等<sup>[54]</sup>发现,在压力刺激下,髓核细胞中磷酸化的PI3K、mTOR和AKT以时间依赖性的方式下调,并且磷酸化的mTOR能负性调节自噬。在肝癌细胞中发现,流体剪切力通过PI3K-FAK通路诱导自噬<sup>[55]</sup>。在足细胞中,机械应力激活

了PI3K-AKT-mTOR通路,导致自噬被抑制<sup>[16]</sup>。

**2.2.2.2 AMP依赖的蛋白激酶(Adenosine 5'-monophosphate-activated protein kinase, AMPK)信号通路** AMPK最初被鉴定为一种丝氨酸/苏氨酸激酶,能负调节脂质合成代谢的几个关键酶<sup>[56]</sup>。AMPK被认为是主要的能量敏感激酶,激活了多细胞生物体的各种分解代谢过程<sup>[57]</sup>。研究发现流体流动诱导初级纤毛弯曲通过肝激酶(liver kinase B1, LKB1)-AMPK-mTOR信号通路调节自噬和细胞体积<sup>[43]</sup>。进一步研究发现,早期自噬反应是独立于mTOR抑制的反应,而后阶段自噬反应依赖于通过LKB1-AMPK激活来抑制mTOR<sup>[43]</sup>。此外,SUN等<sup>[28]</sup>研究发现剪切力可以诱导血管平滑肌细胞自噬,抑制AMPK显著降低p-AMPK和p-unc-51样激酶1(unc-51 like autophagy activating kinase, ULK)的水平,提高p-mTOR的水平,导致LC3 II和Beclin-1水平的降低,促使血管平滑肌细胞表型由收缩表型向合成表型转变,这说明切应力通过诱导激活AMPK-mTOR-ULK1通路的自噬来促进血管平滑肌细胞的表型调节。以上研究说明,AMPK信号通路主要是通过AMPK磷酸化,抑制mTOR复合物活性,上调细胞自噬水平。

**2.2.2.3 MAPK信号通路** MAPK通路是人体中调控细胞的生长、增殖、分化、迁移、凋亡等的一条重要通路<sup>[58]</sup>。活化的MAPK可以传递细胞外信号,到目前为止,哺乳动物有4个不同的MAPK细胞外信号:细胞外调节蛋白激酶(extracellular regulated protein kinases, ERK)、ERK5、c-Jun氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)和p38<sup>[59]</sup>。其中p38和JNK MAPK均可介导细胞外刺激诱导的细胞凋亡和自噬<sup>[60]</sup>。LIEN等<sup>[32]</sup>对Hep3B细胞施加流体剪切力后,发现自噬增加,并且p38 MAPK(p-p38)增加,而p-ERK和p-JNK无明显变化;进一步转染p38 MAPK特异性的siRNA或用p38 MAPK的抑制剂处理后,施加剪切力,LC3B-II的表达降低,自噬降低;该结果表明,剪切力通过调节p38 MAPK信号通路来诱导保护性自噬。LIN等<sup>[21]</sup>在机械张力引起心肌肥大的机制研究中发现,机械张力诱导心肌细胞自噬,抑制ERK、JNK和p38 MAPK均能抑制心肌肥大,但只有抑制p38 MAPK才能抑制自噬反应。研究发现压力诱导NP细胞自噬的过程中,JNK信号通路通过减弱Beclin-1与Bcl-2的结合作用,使游离Beclin-1参与自噬,进而调节该过程<sup>[54]</sup>。另有研究表明ERK的磷酸化能调控软骨细胞的自噬<sup>[49]</sup>。此外,抑制ERK也可以消除由基质硬度增加导致的自噬增加<sup>[35]</sup>。以上研究表明,ERK、JNK、p38可能都参与了机械应力诱导自噬的过程,但在不同细胞中诱导的反应各不相同。

**2.2.2.4 Yes相关蛋白/转录共激活因子PDZ结合基序** (Yes-associated protein/transcriptional coactivator with PDZ-binding motif, YAP/TAZ) YAP/TAZ都是转录共激活因子,可以移位到细胞核并与包括TEA家族成员(TEADs)在内的转录因子相互作用,从而调节相关基因的表达,进而参与细胞增殖、细胞运动和细胞命运等的调节<sup>[61]</sup>。YAP/TAZ也是细胞机械转导的下游效应因子<sup>[62]</sup>。研究发现ECM的物理特性通过改变肌球蛋白的收缩性和肌动蛋白组织来控制YAP/TAZ的活性,使YAP/TAZ在转录上控制自噬,该过程对自噬降解成自溶酶体至关重要<sup>[63]</sup>。此外,研究发现在高细胞密度下,Hippo信号通路被激活,YAP/TAZ从细胞核重新定位到胞浆,导致YAP/TAZ对肌球蛋白II复合体和其他肌动蛋白细胞骨架相关基因的共转录调控减少,肌动蛋白纤维丧失;由于肌动蛋白细胞骨架和肌球蛋白II调节自噬关键蛋白的运输,是形成自噬小体所必需的结构,该结果表明在高细胞密度下YAP/TAZ向胞浆重定位将使关键自噬蛋白的运输受损,从而导致自噬小体形成的减少<sup>[39]</sup>。以上研究表明,YAP/TAZ在内源性应力诱导自噬中发挥着至关重要的作用。

### 2.2.3 相关分子

**2.2.3.1 前列腺素E2 (prostaglandin E2, PGE2)** PGE2是一种脂质激素样信号分子,在炎症和生理功能中具有重要作用<sup>[64]</sup>。PGE2已被证明调节许多生物生物学过程,包括细胞增殖、凋亡、血管生成、炎症和免疫监视等<sup>[65]</sup>。研究发现外源性PGE2显著诱导肌腱成纤维细胞(human patellar tendon fibroblasts, HPTFs)死亡和自噬,并呈剂量依赖关系;周期性机械拉伸可显著刺激HPTFs释放PGE2,而阻断PGE2的产生可显著减少拉伸诱导的自噬和细胞死亡,这表明周期性机械拉伸通过激活PGE2的产生诱导HPTFs自噬性细胞死亡<sup>[66]</sup>。

**2.2.3.2 活性氧(reactive oxygen species, ROS)** ROS是一组对细胞内和细胞间信号转导重要的高活性分子。一些证据表明,ROS对于有效激活各种应激诱导的自噬是必不可少的,目前研究表明ROS在应力诱导自噬的过程中同样发挥作用<sup>[12, 54]</sup>。在髓核细胞中,LI等<sup>[54]</sup>首次报道压力诱导ROS生成。抑制依赖ROS的PI3K/AKT/mTOR通路和ROS非依赖性的JNK通路激活将诱导大鼠髓核细胞的自噬。同样,MA等<sup>[12]</sup>研究发现在髓核细胞中,压力刺激通过产生ROS诱导和维持自噬。以上结果提示了一种涉及ROS介导的大鼠髓核细胞自噬的新的调控机制。

## 3 展望

由于体内细胞都处在复杂的力学环境中,机体通过

调整组织结构和细胞生理来适应力学环境的变化。自噬作为一种重要的降解途径,在细胞生存、稳态平衡和环境适应中起着广泛的作用。目前研究表明,各种应力作用于细胞后,细胞膜上初级纤毛、脂筏、离子通道、整合素等结构或分子感受到机械应力,激活下游的机械转导相关通路,如PI3K、AMPK、MAPK等信号通路,释放PGE2、ROS等相关分子,同时改变细胞骨架,诱导基因表达的变化,并最终产生相应的效应。尽管如此,有关机械刺激诱导自噬的机械转导机制的研究成果仍然有限,迄今仍未找到一个经典的信号通路自噬的机械转导直接相关。现存的研究瓶颈包括:①现有的应力加载方法依然存在明显的局限,应力的加载往往伴随着其他的刺激(如缺氧、炎症等)。由于自噬可以受多种刺激共同调控,因此,此类实验难以实现精确地干预。②现有材料难以模拟生理或病理状态下的基质硬度等内源性应力的动态变化。基质硬度等属性的变化往往伴随着材料其他属性的变化,影响细胞功能,不能准确地模拟体内环境。③现有研究缺少相关动物实验验证复杂的体内环境下机械应力诱导自噬的相关转导机制,存在较大局限。未来,应继续对应力诱导自噬的机械转导过程进行深入研究。相关研究应着眼于寻找与自噬的机械转导直接相关的信号通路,并深入探究不同的机械转导途径之间的相互作用,以最终构建出应力诱导自噬的机械信号转导调控网络。此外,细胞内机械转导的物理机制是应力转导的新方向,对细胞骨架机械转导机制的研究,如自噬小体动力学与微管结构重构的关系等研究值得关注。最后,未来研究需建立更加优化的体内外机械刺激模型,这在结构控制、稳定性、模拟体内情况等方面对实验材料提出了更高的要求,对研究者来说既是挑战也是机遇。

\* \* \*

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

### 参 考 文 献

- [1] PARZYCH K R, KLIONSKY D J. An overview of autophagy: Morphology, mechanism, and regulation. *Antioxid Redox Signal*, 2014, 20(3): 460-473.
- [2] HUANG F, WANG B R, WANG Y G. Role of autophagy in tumorigenesis, metastasis, targeted therapy and drug resistance of hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol*, 2018, 24(41): 4643-4651.
- [3] KROEMER G, MARINO G, LEVINE B. Autophagy and the integrated stress response. *Mol Cell*, 2010, 40(2): 280-293.
- [4] LIU Y, BASSHAM D C. Autophagy: Pathways for self-eating in plant cells. *Annu Rev Plant Biol*, 2012, 63: 215-237.

- [5] DUPONT N, CODOGNO P. Autophagy transduces physical constraints into biological responses. *Int J Biochem Cell Biol*, 2016, 79: 419–426.
- [6] KANAMORI H, TAKEMURA G, GOTO K, *et al.* The role of autophagy emerging in postinfarction cardiac remodelling. *Cardiovasc Res*, 2011, 91(2): 330–339.
- [7] GAWLITTA D, LI W, OOMENS C W, *et al.* The relative contributions of compression and hypoxia to development of muscle tissue damage: An *in vitro* study. *Ann Biomed Eng*, 2007, 35(2): 273–284.
- [8] SCOTT R C, JUHÁSZ G, NEUFELD T P. Direct induction of autophagy by Atg1 inhibits cell growth and induces apoptotic cell death. *Curr Biol*, 2007, 17(1): 1–11.
- [9] CHEN C S. Mechanotransduction—A field pulling together? *J Cell Sci*, 2008, 121(Pt 20): 3285–3292.
- [10] KING J S. Mechanical stress meets autophagy: Potential implications for physiology and pathology. *Trends Mol Med*, 2012, 18(10): 583–588.
- [11] KING J S, VELTMAN D M, INSALL R H. The induction of autophagy by mechanical stress. *Autophagy*, 2011, 7(12): 1490–1499.
- [12] MA K G, SHAO Z W, YANG S H, *et al.* Autophagy is activated in compression-induced cell degeneration and is mediated by reactive oxygen species in nucleus pulposus cells exposed to compression. *Osteoarthritis Cartilage*, 2013, 21(12): 2030–2038.
- [13] HUANG Y, LIU H, GUO R, *et al.* Long non-coding RNA FER1L4 mediates the autophagy of periodontal ligament stem cells under orthodontic compressive force via AKT/FOXO3 pathway. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 631181[2020-11-15]. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.631181>.
- [14] DAS J, AGARWAL T, CHAKRABORTY S, *et al.* Compressive stress-induced autophagy promotes invasion of HeLa cells by facilitating protein turnover *in vitro*. *Exp Cell Res*, 2019, 381(2): 201–207.
- [15] LI W, ZHAO J, SUN W, *et al.* Osteocytes promote osteoclastogenesis via autophagy-mediated RANKL secretion under mechanical compressive force. *Arch Biochem Biophys*, 2020, 694: 108594[2020-11-20]. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2020.108594>.
- [16] LI D, LU Z, XU Z, *et al.* Spironolactone promotes autophagy via inhibiting PI3K/AKT/mTOR signalling pathway and reduce adhesive capacity damage in podocytes under mechanical stress. *Biosci Rep*, 2016, 36(4): e00355[2020-11-20]. <https://doi.org/10.1042/BSR20160086>.
- [17] INABA N, KUROSHIMA S, UTO Y, *et al.* Cyclic mechanical stretch contributes to network development of osteocyte-like cells with morphological change and autophagy promotion but without preferential cell alignment in rat. *Biochem Biophys Res*, 2017, 11: 191–197.
- [18] ZHOU Z, SHI G, ZHENG X, *et al.* Autophagy activation facilitates mechanical stimulation-promoted osteoblast differentiation and ameliorates hindlimb unloading-induced bone loss. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 498(3): 667–673.
- [19] XIANG W, JIANG T, HAO X, *et al.* Primary cilia and autophagy interaction is involved in mechanical stress mediated cartilage development via ERK/mTOR axis. *Life Sci*, 2019, 218: 308–313.
- [20] SUN K, LIU F, WANG J, *et al.* The effect of mechanical stretch stress on the differentiation and apoptosis of human growth plate chondrocytes. *In Vitro Cell Dev Biol Anim*, 2017, 53(2): 141–148.
- [21] LIN L, TANG C, XU J, *et al.* Mechanical stress triggers cardiomyocyte autophagy through angiotensin II type 1 receptor-mediated p38MAP kinase independently of angiotensin II. *PLoS One*, 2014, 9(2): e89629[2020-11-20]. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0089629>.
- [22] ZHAO L, TIAN B, XU Q, *et al.* Extensive mechanical tension promotes annulus fibrosus cell senescence through suppressing cellular autophagy. *Biosci Rep*, 2019, 39(4): BSR20190163.
- [23] TAKAHASHI K, MATSUMOTO Y, DO E Z, *et al.* Combination therapy with atorvastatin and amlodipine suppresses angiotensin II-induced aortic aneurysm formation. *PLoS One*, 2013, 8(8): e72558[2020-11-20]. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0072558>.
- [24] GAROFFOLO G, FERRARI S, RIZZI S, *et al.* Harnessing mechanosensation in next generation cardiovascular tissue engineering. *Biomolecules*, 2020, 10(10): 1419.
- [25] YAO P, ZHAO H, MO W, *et al.* Laminar shear stress promotes vascular endothelial cell autophagy through upregulation with Rab4. *DNA Cell Biol*, 2016, 35(3): 118–123.
- [26] YUAN P, HU Q, HE X, *et al.* Laminar flow inhibits the Hippo/YAP pathway via autophagy and SIRT1-mediated deacetylation against atherosclerosis. *Cell Death Dis*, 2020, 11(2): 141.
- [27] LIU J, BI X, CHEN T, *et al.* Shear stress regulates endothelial cell autophagy via redox regulation and Sirt1 expression. *Cell Death Dis*, 2015, 6(7): e1827[2020-11-15]. <https://www.nature.com/articles/cddis2015193>.doi:10.1038/cddis.2015.193.
- [28] SUN L, ZHAO M, LIU A, *et al.* Shear stress induces phenotypic modulation of vascular smooth muscle cells via AMPK/mTOR/ULK1-mediated autophagy. *Cell Mol Neurobiol*, 2018, 38(2): 541–548.
- [29] YANG Q, LI X, LI R, *et al.* Low shear stress inhibited endothelial cell autophagy through TET2 downregulation. *Ann Biomed Eng*, 2016, 44(7): 2218–2227.
- [30] LIU H Z, LI L, CHEN S L, *et al.* Low shear stress regulating autophagy mediated by the p38 mitogen activated protein kinase and p53 pathways in human umbilical vein endothelial cells. *Chin Med J (Engl)*, 2018, 131(9): 1132–1133.
- [31] BOUKHALFA A, NASCIBENI A C, RAMEL D, *et al.* PI3KC2 $\alpha$ -dependent and VPS34-independent generation of PI3P controls primary cilium-mediated autophagy in response to shear stress. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 294.
- [32] LIEN S C, CHANG S F, LEE P L, *et al.* Mechanical regulation of cancer cell apoptosis and autophagy: Roles of bone morphogenetic protein receptor, Smad1/5, and p38 MAPK. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1833(12): 3124–3133.
- [33] DAS J, MAJI S, AGARWAL T, *et al.* Hemodynamic shear stress induces protective autophagy in HeLa cells through lipid raft-mediated mechanotransduction. *Clin Exp Metastasis*, 2018, 35(3): 135–148.
- [34] CARAMÉS B, TANIGUCHI N, SEINO D, *et al.* Mechanical injury suppresses autophagy regulators and pharmacologic activation of

- autophagy results in chondroprotection. *Arthritis Rheum*, 2012, 64(4): 1182–1192.
- [35] LI Y, RANDRIANTSILEFISOA R, CHEN J, *et al.* Matrix stiffness regulates chemosensitivity, stemness characteristics, and autophagy in breast cancer cells. *Acs Applied Bio Materials*, 2020, 3(7): 4474–4485.
- [36] DENG L, XU F, WANG Y, *et al.* Stiffness of substrate influences the distribution but not the synthesis of autophagosomes in human liver (LO2) cells. *J Adv Biomed Eng Technol*, 2015, 2: 1–12[2020-11-15]. <http://dx.doi.org/10.15379/2409-3394.2015.02.01.1>.
- [37] HU M, JIA F, HUANG W, *et al.* Substrate stiffness differentially impacts autophagy of endothelial cells and smooth muscle cells. *Bioact Mater*, 2021, 6(5): 1413–1422.
- [38] ULBRICHT A, EPPLER F, TAPIA V, *et al.* Cellular mechanotransduction relies on tension-induced and chaperone-assisted autophagy. *Curr Biol*, 2013, 23(5): 430–435.
- [39] PAVEL M, RENNA M, PARK S, *et al.* Contact inhibition controls cell survival and proliferation via YAP/TAZ-autophagy axis. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 2961.
- [40] LAJOIE P, GOETZ J G, DENNIS J W, *et al.* Lattices, rafts, and scaffolds: Domain regulation of receptor signaling at the plasma membrane. *J Cell Biol*, 2009, 185(3): 381–385.
- [41] FUENTES D E, BUTLER P J. Coordinated mechanosensitivity of membrane rafts and focal adhesions. *Cell Mol Bioeng*, 2012, 5(2): 143–154.
- [42] PALA R, ALOMARI N, NAULI S M. Primary cilium-dependent signaling mechanisms. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(11): 2272.
- [43] ORHON I, DUPONT N, ZAIDAN M, *et al.* Primary-cilium-dependent autophagy controls epithelial cell volume in response to fluid flow. *Nat Cell Biol*, 2016, 18(6): 657–667.
- [44] BOUKHALFA A, NASCIBENI A C, DUPONT N, *et al.* Primary cilium-dependent autophagy drafts PIK3C2A to generate PtdIns3P in response to shear stress. *Autophagy*, 2020, 16(6): 1143–1144.
- [45] CHEN S, QIN L, WU X, *et al.* Moderate fluid shear stress regulates heme oxygenase-1 expression to promote autophagy and ECM homeostasis in the nucleus pulposus cells. *Front Cell Dev Biol*, 2020, 8: 127[2020-11-15]. <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.00127>.
- [46] SUKHAREV S, COREY D P. Mechanosensitive channels: Multiplicity of families and gating paradigms. *Sci STKE*, 2004, 2004(219): re4.
- [47] KONDRATSKYI A, KONDRATSKA K, SKRYMA R, *et al.* Ion channels in the regulation of autophagy. *Autophagy*, 2018, 14(1): 3–21.
- [48] AO X, ZOU L, WU Y. Regulation of autophagy by the Rab GTPase network. *Cell Death Differ*, 2014, 21(3): 348–358.
- [49] YAN Z, SU G, GAO W, *et al.* Fluid shear stress induces cell migration and invasion via activating autophagy in HepG2 cells. *Cell Adh Migr*, 2019, 13(1): 152–163.
- [50] THOMPSON W R, RUBIN C T, RUBIN J. Mechanical regulation of signaling pathways in bone. *Gene*, 2012, 503(2): 179–193.
- [51] KAST D J, DOMINGUEZ R. The cytoskeleton-autophagy connection. *Curr Biol*, 2017, 27(8): R318–R326.
- [52] OHASHI K, FUJIWARA S, MIZUNO K. Roles of the cytoskeleton, cell adhesion and RHO signalling in mechanosensing and mechanotransduction. *J Biochem*, 2017, 161(3): 245–254.
- [53] TAKEUCHI H, KONDO Y, FUJIWARA K, *et al.* Synergistic augmentation of rapamycin-induced autophagy in malignant glioma cells by phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B inhibitors. *Cancer Res*, 2005, 65(8): 3336–3346.
- [54] LI Z, WANG J, DENG X, *et al.* Compression stress induces nucleus pulposus cell autophagy by inhibition of the PI3K/AKT/mTOR pathway and activation of the JNK pathway. *Connect Tissue Res*, 2021, 62(3): 337–349.
- [55] WANG X, ZHANG Y, FENG T, *et al.* Fluid shear stress promotes autophagy in hepatocellular carcinoma cells. *Int J Biol Sci*, 2018, 14(10): 1277–1290.
- [56] HARDIE D G. AMP-activated/SNF1 protein kinases: Conserved guardians of cellular energy. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2007, 8(10): 774–785.
- [57] ALERS S, LÖFFLER A S, WESSELBORG S, *et al.* Role of AMPK-mTOR-Ulk1/2 in the regulation of autophagy: cross talk, shortcuts, and feedbacks. *Mol Cell Biol*, 2012, 32(1): 2–11.
- [58] GU Y, MA L J, BAI X X, *et al.* Mitogen-activated protein kinase phosphatase 1 protects PC12 cells from amyloid beta-induced neurotoxicity. *Neural Regen Res*, 2018, 13(10): 1842–1850.
- [59] KYRIAKIS J M, AVRUCH J. Mammalian MAPK signal transduction pathways activated by stress and inflammation: A 10-year update. *Physiol Rev*, 2012, 92(2): 689–737.
- [60] SUI X, KONG N, YE L, *et al.* p38 and JNK MAPK pathways control the balance of apoptosis and autophagy in response to chemotherapeutic agents. *Cancer Lett*, 2014, 344(2): 174–179.
- [61] SANTINON G, POCATERRA A, DUPONT S. Control of YAP/TAZ activity by metabolic and nutrient-sensing pathways. *Trends Cell Biol*, 2016, 26(4): 289–299.
- [62] DUPONT S, MORSUT L, ARAGONA M, *et al.* Role of YAP/TAZ in mechanotransduction. *Nature*, 2011, 474(7350): 179–183.
- [63] TOTARO A, ZHUANG Q, PANCIERA T, *et al.* Cell phenotypic plasticity requires autophagic flux driven by YAP/TAZ mechanotransduction. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2019, 116(36): 17848–17857.
- [64] DENNIS E A, NORRIS P C. Eicosanoid storm in infection and inflammation. *Nat Rev Immunol*, 2015, 15(8): 511–523.
- [65] MARTÍNEZ-COLÓN G J, MOORE B B. Prostaglandin E(2) as a regulator of immunity to pathogens. *Pharmacol Ther*, 2018, 185: 135–146.
- [66] CHEN H, CHEN L, CHENG B, *et al.* Cyclic mechanical stretching induces autophagic cell death in tenofibroblasts through activation of prostaglandin E2 production. *Cell Physiol Biochem*, 2015, 36(1): 24–33.

(2020-12-25 收稿, 2021-08-07 修回)

编辑 余琳