

·综述·

DOI: 10.13865/j.cnki.cjbmb.2019.03.02

# 内质网应激与自噬及其交互作用影响内皮细胞凋亡

徐静尊, 鲁敏\*

(河南省人民医院心内科, 郑州 450003)

**摘要** 内质网应激是普遍存在于真核细胞中的应激-防御机制。在内环境稳态遭到破坏的情况下, 未折叠蛋白质反应的3条信号通路, 分别通过增强蛋白质折叠能力、减少蛋白质生成和促进内质网相关蛋白质降解等途径缓解细胞内压力。同时, 也通过多种分子信号机制调控细胞凋亡。自噬是一种生理性的降解机制。通过形成自噬泡并与溶酶体结合摄取并水解胞内受损细胞器和蛋白质等, 清除代谢废物, 维持细胞正常功能。自噬缺陷或过度激活均可导致细胞凋亡或非程序性死亡。自噬的程度和细胞内压力水平有关。内质网应激通过未折叠蛋白质反应和 $\text{Ca}^{2+}$ 浓度变化及其相关分子信号调控自噬。自噬又可反馈性调节内质网应激反应, 二者相互作用, 在内皮细胞凋亡过程中发挥重要作用。未来内质网应激和自噬可作为药物靶点为内皮相关性疾病提供诊疗策略。

**关键词** 内质网应激; 自噬; 凋亡; 内皮细胞

**中图分类号** R361<sup>+</sup>.3; R329.2<sup>+</sup>5

## Effects of Endoplasmic Reticulum Stress and Autophagy on Endothelial Cell Apoptosis

XU Jing-Zun, LU Min\*

(Department of Cardiology, Henan Provincial People's Hospital, Zhengzhou 450003, China)

**Abstract** Endoplasmic reticulum stress is a prevalent stress-defense mechanism in eukaryotic cells. In the case of homeostasis disruption, the three signaling pathways of unfolded protein response are activated to relieve the intracellular pressure through enhancing protein folding, reducing protein production and promoting endoplasmic reticulum-related protein degradation. It regulates apoptosis through a variety of molecular signaling mechanisms. Autophagy is a physiological degradation mechanism that removes metabolic wastes and maintains normal cellular functions by forming autophagic vesicles and ingesting with lysosomes and hydrolyzing intracellular damaged organelles and proteins. Degeneration or over-activation of autophagy lead to apoptosis or non-programmed death and the degree of autophagy is related to the intracellular pressure level. Endoplasmic reticulum stress regulates autophagy through unfolded protein response and changes in  $\text{Ca}^{2+}$  concentration. Autophagy can also feedback the endoplasmic reticulum stress response and the interactions plays an important role in endothelial cell apoptosis. Future endoplasmic reticulum stress and autophagy can be used as drug targets to provide a diagnosis and treatment strategy for endothelial-related diseases.

**Key words** endoplasmic reticulum stress(ERS); autophagy; apoptosis; endothelial cell(EC)

内皮细胞(endothelial cell, EC)作为血管壁与循环血之间的物理屏障, 同时具有调节血管张力、调控物质交换、抑制血小板聚集和介导免疫反应等作用。内皮细胞功能损伤和凋亡被认为是动脉粥样硬化斑块形成的始动环节<sup>[1, 2]</sup>。内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ERS)和自噬 autophagy)在细胞凋亡过程中的作用一直备受关注, 二者均受各种内外源性刺激因素作用, 通过各自

收稿日期: 2018-06-26; 修回日期: 2018-10-20; 接受日期: 2018-10-23

河南省重点攻关项目(No. 112102310223)资助

\* 通讯作者 Tel: +86 0371-65580669; E-mail: lumindoc@sina.com

Received: June 26, 2018; Revised: October 20, 2018; Accepted: October 23, 2018

Supported by Key Research Project of Henan Province (No. 112102310223)

\* Corresponding author Tel: +86 0371-65580669; E-mail: lumindoc@sina.com

和交互作用维持细胞存活;又都在特定环境中诱导细胞凋亡。

## 1 内质网应激与细胞凋亡

细胞凋亡有3种方式:线粒体(内源性)凋亡、死亡受体(外源性)凋亡和半胱天冬氨酸蛋白酶12(cysteinyI aspartate specific proteinase, caspase-12)凋亡途径。其中,胱天蛋白酶-12只出现在内质网应激诱发的细胞凋亡中<sup>[3]</sup>。线粒体凋亡和死亡受体凋亡途径均受内质网应激调控。主要通过两种方式,一是未折叠蛋白质反应(unfolded protein response, UPR)的3条信号反应通路下游促凋亡因子的调节,二是细胞内 $\text{Ca}^{2+}$ 浓度的变化,二者相互促进,共同诱导细胞凋亡(Fig.1)。

CHOP对细胞凋亡的调节:CHOP(enhancer-binding protein-homologous protein)又名GADD153(growth arrest and DNA-damage-inducible gene 153),生理条件下在细胞内低水平表达;内质网应激条件下主要受PERK/eIF2 $\alpha$ /ATF4通路调控,也可被IRE1和ATF6上调转录水平<sup>[4]</sup>。过表达的CHOP激活GADD34,使p-eIF2 $\alpha$ 去磷酸化继而提高蛋白质翻译水平,加重蛋白质负荷,诱导细胞凋亡<sup>[5]</sup>。CHOP抑制抗凋亡基因Bcl-2(B-cell lymphoma-2)转录,破坏Bcl-2与促凋亡蛋白质BAX之间的平衡,导致BAX相对表达增多,富余的游离BAX转运至线粒体,激活内源性凋亡<sup>[6]</sup>。CHOP上调靶基因TRB3(tribbles homologues 3)表达,TRB3作为一种激酶类似蛋白质与抗凋亡蛋白质丝/苏氨酸蛋白激酶B(protein kinase B, PKB/Akt)结合,抑制后者Thr308和Ser473位点磷酸化,降低Akt活性,促进细胞凋亡<sup>[7]</sup>。此外,CHOP还可促进内质网氧化酶1 $\alpha$ (endoplasmic reticulum oxidase 1 $\alpha$ , ERO1 $\alpha$ )表达,ERO1 $\alpha$ 介导二硫键形成过程中产生过氧化氢,增加活性氧类(reactive oxygen species, ROS)生成和 $\text{Ca}^{2+}$ 从内质网中流出。游离的 $\text{Ca}^{2+}$ 被线粒体摄取后,通过内膜去极化进一步促进ROS生成,破坏线粒体功能,诱导内源性凋亡<sup>[8]</sup>。胞浆内的 $\text{Ca}^{2+}$ 还可通过钙蛋白酶(calpain)的作用,使胱天蛋白酶-12活化,顺序激活下游凋亡执行蛋白质胱天蛋白酶-3等引发凋亡<sup>[9]</sup>。研究发现,CHOP通过上调死亡受体DR5 mRNA转录,参与诱导外源性凋亡。与胞外同源配体结合后,死亡受体Fas、DR4和DR5在细胞膜上形成死亡诱导信号复合物(DISC),通过衔接子Fas相关死亡域(FADD)激活胱天蛋白酶-8。胱天蛋白酶-

8是外源性凋亡途径的关键启动因子,活化后进入胞浆再作用于其他胱天蛋白酶引发级联反应<sup>[5,10]</sup>。

JNK对细胞凋亡的调节:内质网应激过程中活化的IRE1 $\alpha$ 招募肿瘤坏死因子受体相关因子2(tumor necrosis factor receptor-associated factor 2, TRAF2)并与凋亡信号调节激酶1(apoptosis signal-regulating kinase 1, ASK1)共同形成IRE1 $\alpha$ -TRAF2-ASK1复合体,进一步磷酸化激活c-Jun氨基末端激酶(c-jun N-terminal kinase, JNK)。活化的JNK转移至细胞核内,在转录水平上调CHOP和Bcl-2家族的促凋亡因子PUMA、BAX和Bak,下调抗凋亡的Bcl-2、Bcl-xl,介导线粒体凋亡途径<sup>[11]</sup>。JNK促进编码c-jun、c-Fos、EIK-1的基因转录,调控凋亡基因表达,进而诱导TNF、Fas-l等配体表达,启动死亡受体途径<sup>[12]</sup>。过表达的JNK使内质网(endoplasmic reticulum, ER)膜完整性遭到破坏, $\text{Ca}^{2+}$ 由内质网泄出,作用于线粒体,促使BH3-only蛋白、BAX和Bak低聚化,并插入线粒体外膜使其通透性增加,诱导细胞色素C(cytochrome C, cyt C)释放,同时也调控胱天蛋白酶-12凋亡途径的激活<sup>[13]</sup>。

胱天蛋白酶-12与细胞凋亡:胱天蛋白酶家族是细胞质中一组含半胱氨酸残基的蛋白质酶,参与调节细胞生长、分化和凋亡。胱天蛋白酶-12属于I组成员,只在啮齿类动物中表达,与人类的胱天蛋白酶-4具有部分同源性。胱天蛋白酶-12定位于内质网膜外膜,介导内质网应激诱发的细胞凋亡,而不参与线粒体和死亡受体凋亡途径<sup>[14]</sup>。目前,已知的胱天蛋白酶-12激活途径有以下几种:(1)内质网应激环境下胞浆中高浓度的 $\text{Ca}^{2+}$ 激活钙蛋白酶(calpain),活化的钙蛋白酶转移至内质网膜,裂解胱天蛋白酶-12前体用来与受体蛋白相结合的前肽结构域,使其p30亚基被加工生成活跃的p10和p20亚基<sup>[13]</sup>;(2)胱天蛋白酶-12前体与TRAF2结合保持无活性状态,IRE1促使TRAF2/procaspase-12复合物解离,胱天蛋白酶-12前体通过同源二聚化和自动加工而活化<sup>[15]</sup>;(3)内质网应激作用下,胱天蛋白酶-7和Bim由胞浆转位至内质网膜表面,对胱天蛋白酶-12前体的天冬氨酸94和341位点进行切割,使之活化。另外,还有胱天蛋白酶-3/7途径及GRP78/caspase-7/caspase-12复合物途径等。活化的胱天蛋白酶-12转移至胞浆中,对胱天蛋白酶级联反应的下游信号蛋白胱天蛋白酶-9进行剪切使之活化,继而顺序激活凋亡执行核心蛋白胱天蛋白酶-3,全面引发胱天蛋白酶介导的凋亡反应<sup>[16]</sup>。





## 2 自噬与细胞凋亡

自噬泡成核、延伸并包裹受损细胞器和蛋白质等大分子,与溶酶体融合,通过溶酶体水解酶降解所包裹的底物,并产生氨基酸、单糖等分解产物,供细胞代谢循环再利用,这一过程称为自噬(Fig.2)。根据对降解底物的选择性,自噬分为非选择性自噬和选择性自噬;根据底物被降解方式的不同,自噬又分为大自噬、小自噬和分子伴侣介导的自噬。其中,目前研究最多的是大自噬。自噬通过降解机制维持细胞内稳态。过度激活自噬可导致细胞质被大量降解,最终引起细胞死亡。这一现象称为自噬相关性死亡。与凋亡一起,被认为是两种不同的程序性细胞死亡。自噬与凋亡有不同的信号转导途径,又接受某些相同的信号调控<sup>[17,18]</sup>。

### 2.1 自噬与凋亡的内在联系

**2.1.1 p53 蛋白** 通常情况下,定位于胞质中的 p53 蛋白与 FIP200 结合,阻碍 ULK1/FIP200/ATG13/ATG101 复合物形成,抑制自噬泡成核<sup>[19]</sup>。在饥饿、缺血再灌注等多种刺激下,p53 经激酶作用发生磷酸化并转移至细胞核,一方面导致胞质池中的 p53 减少,对自噬的抑制作用降低;另一方面转移至胞核的 p53 与多种自噬相关基因的启动子结合,转录激活 AMP 依赖的蛋白激酶(AMP-activated protein kinase, AMPK)、DNA 损伤相关自噬调节物 1 (damage-regulated autophagy modulator1, DRAM1) 和溶酶体蛋白质等,介导自噬激活<sup>[20]</sup>。另有部分 p53 转移至线粒体外膜,与亲环素 D(cyclophilin D) 相互作用,促进膜通透性转换孔(permeability transition pore, PTP) 开放。少量通透性转换孔开放刺激受损线粒体通过自噬清除,大量通透性转换孔开放则引起线粒体外膜透化(mitochondrial outer membrane permeabilisation, MOMP),促进细胞凋亡。同时,位于细胞核中的 p53 调节大量促凋亡基因,如编码 BAX、Bim 和 PUMA 的基因等<sup>[21,22]</sup>。

**2.1.2 BH3-only 蛋白** BH3-only 蛋白(Bcl-2 homology domain only proteins)是 Bcl-2 蛋白家族中的一类仅含 BH3 同源结构域的促凋亡蛋白质,可直接与 Bcl-2 家族的抗凋亡蛋白质结合,中和其抗凋亡作用<sup>[23]</sup>。大多 BH3-only 蛋白同时具备促自噬作用,例如 BAD、BID、BNIP3、NIX 和 PUMA 等可与 Bcl-2 或 Bcl-xl 相结合,促使 Beclin1-Bcl-2/Bcl-xl 复合体解离,游离的 Beclin-1 与 Vps34/Vps15 形成复合物,介导自噬泡的延伸和成熟<sup>[24-26]</sup>。然而,研究

发现,其中一种 BH3-only 蛋白 Bim 与 Beclin-1 相互作用,引导其与动力蛋白轻链 1(DLC1) 结合,阻断 beclin1/Vps34/Vps15 复合物形成,从而抑制自噬<sup>[27]</sup>。Bim 是个例外还是代表 BH3-only 蛋白中的一个类别仍需进一步研究证实。

**2.1.3 丝/苏氨酸蛋白激酶** 丝/苏氨酸蛋白激酶(Serine/Threonine protein kinase)包括死亡相关蛋白激酶(death associated protein kinase, DAPK)、JNK 和 Akt 等,均参与对自噬和凋亡的调控。死亡相关蛋白激酶通过位于 Thr119 位点的 BH3 结构域对 Beclin-1 进行磷酸化,促使游离的 Beclin-1 与 Vps34 结合。同时,激活蛋白激酶 D(protein kinase D, PKD),蛋白激酶 D 进一步磷酸化激活 Vps34,诱导自噬泡成型。死亡相关蛋白激酶还可通过调节蛋白磷酸酶 2A(PP2A) 介导非自噬依赖性凋亡<sup>[28]</sup>。如前所述,JNK 通过调控 Bcl-2 蛋白家族、死亡受体配体相关基因及内质网膜  $\text{Ca}^{2+}$  泄露等介导凋亡<sup>[11-13]</sup>。同时,JNK 通过磷酸化作用削弱 Bcl-2 对 Beclin-1 的抑制,促进自噬;还可通过磷酸化 Bim 阻断其与 Beclin-1、DLC1 之间的相互作用<sup>[29]</sup>。与死亡相关蛋白激酶和 JNK 不同,PI3K-Akt 轴的生长刺激信号对自噬和凋亡均起抑制作用。PI3K-Akt-mTOR 途径阻断 ULK1 复合物形成,抑制自噬泡成核过程<sup>[17]</sup>。Akt 磷酸化 Beclin-1 和 BAD,并促进二者相互作用,从而分别阻断它们的促自噬和促凋亡作用<sup>[30]</sup>。Akt 还可磷酸化 BAX 的 Ser184 位点,抑制其促凋亡作用<sup>[31]</sup>;磷酸化胱天蛋白酶-9 的 Ser196 位点使之失活,继而阻断胱天蛋白酶级联反应,拮抗凋亡<sup>[32]</sup>。

**2.1.4 原癌基因** 原癌基因 *Myc* 的激活既可以引起细胞增殖,也可以诱导细胞应激反应包括 UPR、DNA 损伤应答、细胞衰老和凋亡等。一方面 *Myc* 编码的蛋白质可作为转录因子参与调控 UPR 信号途径,并通过 PERK 激活自噬发挥促存活作用;另一方面,*Myc* 激活的同时依赖胱天蛋白酶的凋亡途径也迅速被激活,甚至压倒性地抑制 *Myc* 的促增殖作用,因此单一原癌基因的激活并不足以导致肿瘤的发生。*Myc* 诱导自噬促细胞存活还是诱导细胞凋亡可能取决于当时的细胞微环境,另外也可能与组织、细胞类型有关<sup>[33]</sup>。自噬具有促瘤和肿瘤抑制双重作用,癌基因 *h-ras*、*k-ras* 转导入正常细胞诱发保护性自噬,避免细胞死亡。相反,也有研究发现肿瘤细胞中 *h-ras* 的激活可通过 *ras*-PI3K-mTOR 信号途径阻断自噬,增加胱天蛋白酶依赖性细胞凋亡<sup>[34,35]</sup>。

以上两种截然不同的信号反应途径的具体机制尚未明确,但至少说明自噬和凋亡均参与调控肿瘤细胞生长过程。

## 2.2 自噬与凋亡的相互作用

细胞受多种刺激(营养缺乏、缺氧、过氧化、病毒感染等)后,自噬激活以维持细胞存活。当刺激持续或致命时,自噬难以缓解胞内应激水平或自噬体功能受损,凋亡或非程序死亡途径才被激活;凋亡启动后,自噬则受到抑制。

自噬在应激环境下改变细胞命运的重要方式之一是线粒体自噬。多种刺激因子引起线粒体外膜透化,导致凋亡诱导因子(apoptosis-inducing factor, AIF)、核酸内切酶 G 等水解酶和细胞色素 C、SMAC 等胱天蛋白酶蛋白激活物释放,最终导致线粒体膜电位下降。这一变化是内源性凋亡途径中的不可逆拐点,因此,损伤的线粒体通过自噬降解可避免细胞凋亡<sup>[21]</sup>。线粒体膜电位下降刺激一系列泛素化蛋白质(VDAC1、MFN1 和 MFN2 等)标定于线粒体外膜;促进 PINK1 (PTEN induced putative kinase 1)在损伤的线粒体表面聚集,并招募活化 E3 泛素连接酶 PARKIN。PARKIN 在线粒体外膜泛素化底物,针对细胞器进行自噬破坏<sup>[36,37]</sup>。自噬还可能通过选择性减少胞质中的促凋亡蛋白质数量抵抗细胞凋亡。例如,缺乏促凋亡蛋白 BAX 的结肠癌细胞可抵抗 TRAIL 诱导的死亡受体凋亡,而自噬被抑制后此抵抗作用消失,这可能是因为自噬能选择性去除胱天蛋白酶-8 的缘故<sup>[38]</sup>。在 TNF 诱导的肝细胞凋亡模型中,敲除 Atg7 可增加胱天蛋白酶-8 活性,可能也与胱天蛋白酶-8 清除失败有关<sup>[39]</sup>(Fig.3A)。

自噬的快速激活反映细胞的抗压本能。施加于细胞的压力强度超过自噬能处理的阈值导致其功能崩溃,顺序发生凋亡或其他死亡。凋亡蛋白质胱天蛋白酶剪切 ATG 蛋白和 Beclin-1 等,使其失去诱导自噬的能力,抑制自噬水平;经过剪切的自噬蛋白质片段则获得了促凋亡功能。胱天蛋白酶-3、7、8 激活后,分别在 Beclin-1 的 TDVD133 和 DQLD149 位点进行切割,产生 37 kD 和 35 kD 的 Beclin1-c 片段,后者失去诱导自噬的能力,转移至线粒体促进细胞色素 C 释放,诱导凋亡<sup>[40,41]</sup>。ATG5 被钙蛋白酶切割后产生 24 kD 的 N 端产物 tATG5-N,后者转移至线粒体膜与 Bcl-xl 相互作用,激活 BAX,进一步诱导细胞色素 C 释放<sup>[42]</sup>。被胱天蛋白酶-3 切割后,ATG4D 也获得了促凋亡作用,可能与其 BH3 样结

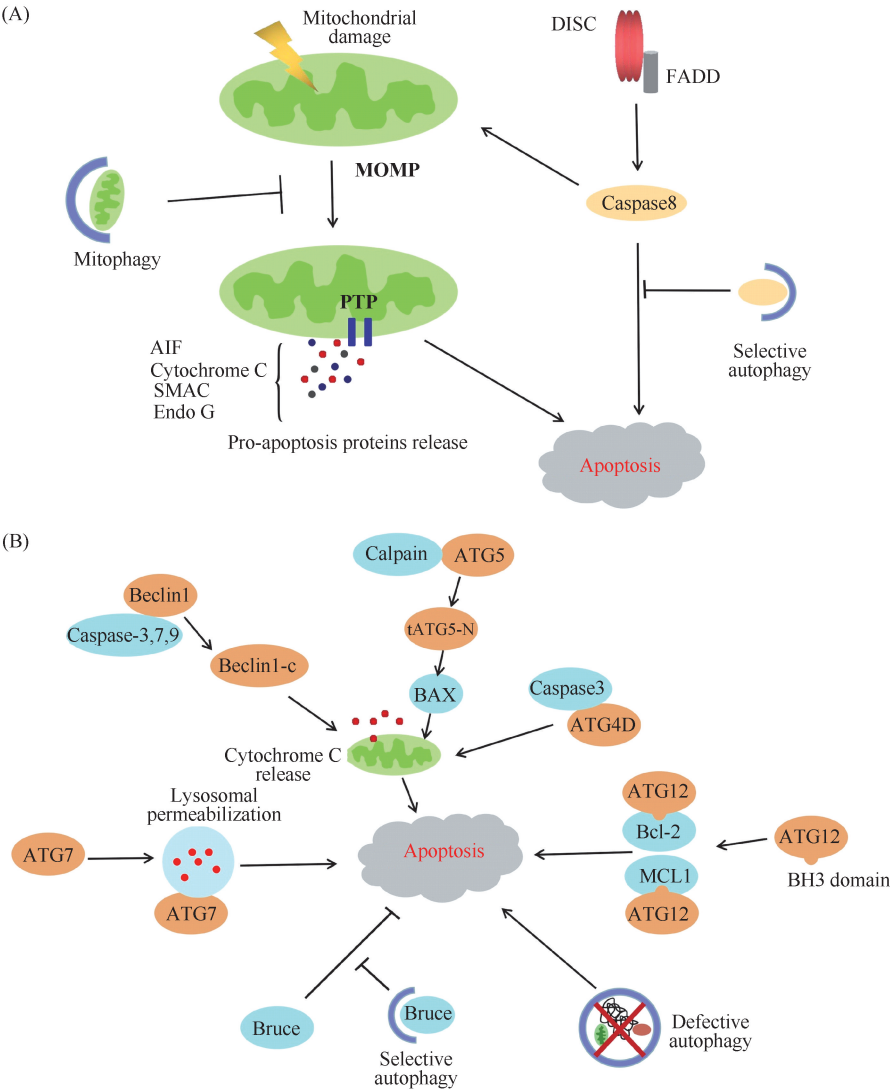
构域有关<sup>[21]</sup>。也有研究报道,未经胱天蛋白酶处理的 ATG 蛋白也可促进死亡信号的传导。例如,ATG12 通过其 BH3 结构域与 Bcl-2 或 MCL1 相结合,抑制它们的抗凋亡作用,这与其诱导自噬的作用无关<sup>[43]</sup>。类似的,ATG7 促进溶酶体在光损伤后的细胞凋亡,可能是通过触发溶酶体膜透化实现<sup>[44]</sup>。自噬还可通过降解内源性凋亡抑制因子而发挥促凋亡作用。Bruce 属于凋亡蛋白抑制剂(inhibitor of apoptosis proteins, IAPs)的一种,与溶酶体蛋白质 LAMP2 和自噬体标记物 STX17 相互作用,介导自噬体和溶酶体的融合<sup>[45]</sup>。然而,在果蝇体内发现自噬降解 Bruce,减少胞内的抗凋亡蛋白质数量,诱导凋亡<sup>[46]</sup>。另一种极端情况即自噬缺失,被证实在内皮细胞中同时调节细胞凋亡和老化。敲除了 Atg5 或 Atg7 的小鼠主动脉内皮细胞过表达 SABC 和 p16 阳性细胞核,后者介导细胞周期停滞,是细胞老化的可靠证据。体外培养的人脐静脉内皮细胞(human umbilical vascular endothelial cells, HUVECs)被敲除 Atg5,或使用自噬抑制剂后也表现出老化征象,伴随炎症反应因子表达增多。Atg5 缺失的小鼠内皮细胞中,TUNEL-和 p53-阳性细胞明显增多,证明自噬缺失诱导凋亡<sup>[47,48]</sup>(Fig.3B)。在大多数研究中,自噬与凋亡相互抑制,自噬抑制凋亡或提高启动凋亡的应激阈值;当自噬不足以缓解细胞内压力或自噬功能缺失时,凋亡随之发生,且自噬相关因子发挥促凋亡作用。

## 3 内质网应激与自噬的相互作用

内质网应激通过 UPR 通路相关蛋白质对自噬进行直接调节,也可通过改变胞质内  $\text{Ca}^{2+}$  浓度间接调节自噬。GRP78 抑制 Akt 的 Ser473 位点磷酸化,继而阻断后者对 mTOR 的调控,激活自噬<sup>[49]</sup>。PEKR/eIF2 $\alpha$ /ATF4 途径调控多种自噬相关基因的表达,可分为 3 类:(1)编码参与自噬体延伸和成熟的蛋白质 Beclin1;(2)编码泛素样蛋白质 MAP1LC3B、GABARAP、Atg12 和 Atg5 等;(3)编码参与泛素化底物特异性降解的 p62 和 NBR1。CHOP 可分别激活 AMPK 和 TRB3,AMPK 磷酸化抑制 mTOR 活性,间接激活 ULK1,也可磷酸化 ULK1 的多个丝氨酸位点,直接激活 ULK1;TRB3 则抑制 Akt 磷酸化,阻断其对 mTOR 的调控,促 ULK1 活化<sup>[50,51]</sup>。IRE1 $\alpha$ -XBP1s 调节 MAP1LC3、Atg3、Atg5 和 Atg12 等自噬基因转录,其下游 JNK 通过磷酸化 Bcl-2 使后者与 Beclin-1 解离,促 Beclin1/vps34/

vps15 复合体形成<sup>[52]</sup>。内质网应激导致  $\text{Ca}^{2+}$  泄露至胞浆中,既能通过钙调蛋白性激酶  $\beta$  (CAMK $\beta$ ) 激活 AMPK 依赖性途径,抑制 mTOR 活性,也可激活蛋白

激酶 C (PKC) 通过不依赖 mTOR 的途径诱导自噬。 $\text{Ca}^{2+}$  还可活化 DAPK, 参与 Beclin-1 磷酸化和破坏 Bcl-2/Beclin-1 复合物<sup>[53]</sup>。



**Fig.3 Interaction between autophagy and apoptosis** (A) Autophagy inhibits apoptosis by mitophagy and selectively degrading pro-apoptotic proteins; (B) Caspases cleave autophagy-related proteins to promote their pro-apoptosis effects and some of the ATGs induce apoptosis without cleavage

自噬对内质网应激的调控多为抑制性作用。通过缓解胞内应激水平,维持细胞功能,减少凋亡。牙龈卟啉单胞菌被认为参与促进动脉粥样硬化斑块形成,导致内皮细胞发生内质网应激,伴随高表达的 LC-II、Beclin-1 和凋亡蛋白质胱天蛋白酶-3、8、9; eIF2 $\alpha$  去磷酸化抑制剂 salubrinal 抑制内质网应激的同时,减少 LC3-II 和 DNA 片段含量,沉默 MAP1LC3B 则引起胞浆中 DNA 片段和胱天蛋白酶蛋白增多<sup>[54]</sup>。有关研究报道,分子伴侣介导的自噬 (CMA) 受 LAMP2A 和 HSPA8 的调节,内质网应激诱导剂通过 PERK-MAPK14 磷酸化 LAMP2A 的

Thr211 和 Thr213 位点使之活化,继而诱导 CMA。CMA 抑制内质网应激引起的 CHOP 与胱天蛋白酶-3 高表达,对抗凋亡<sup>[55]</sup>。经缺血再灌注处理的小鼠肾小管上皮细胞中,内质网应激标志蛋白质表达增多,雷帕霉素诱导自噬并抑制 GRP78、PERK、IRE1 $\alpha$ 、ATF6 和 XBP1s 等蛋白质表达,减少凋亡,维持细胞功能;自噬抑制剂氯喹或 3-MA 削弱这一保护作用,诱导促凋亡蛋白质 CHOP 和胱天蛋白酶-12 表达,而内质网应激诱导剂毒胡萝卜素则促进 LC3-II 和自噬体形成增加<sup>[56]</sup>。以上研究提示,内质网应激促进自噬相关蛋白质表达,诱导凋亡。自噬可能



通过负反馈调节机制,抑制内质网应激相关蛋白质表达,避免胞内应激水平加剧,抵抗细胞凋亡,其中所涉及的其他分子信号还需要进一步深入研究。细胞中发生内质网应激时,内质网的网状结构扩张,以提高蛋白质运输能力和为各种酶反应提供空间。这一变化依赖于多种定位于内质网的受体蛋白质。这些受体蛋白质除调节内质网形状变化外,还介导功能受损的内质网片段化,并被自噬-溶酶体系统选择性降解,称为内质网自噬<sup>[53]</sup>。Mochida 等<sup>[57]</sup>首次在酵母中发现,定位于内质网附近的 ATG39 和 ATG40 蛋白调控选择性自噬,介导内质网降解。随后, Khaminets 等<sup>[58]</sup>在发表于 Nature 上的另一篇文章揭示,在哺乳动物中, FAM134B 作为受体蛋白质定位于内质网片状囊腔结构的边缘,通过其上的 LC3 作用结构域与 LC3/GABARAP 相互作用,诱导内质网片状囊腔碎片化,并将它们裹挟成囊泡,继而被水解酶降解。随研究的深入,多种受体蛋白质被发现参与内质网自噬的调节。sec62 定位于内质网上,协调蛋白质转运和翻译后修饰,其 C 端也具有高度保守的 LC3 作用区域。在内质网应激恢复过程中, sec62 选择性地多余的内质网组分转移至自噬体进行降解<sup>[59]</sup>。内质网膜蛋白 RTN3L 和 CCPG1 也被证实参与介导内质网自噬。RTNs 家族的其他成员是否均参与调控内质网自噬还需更多研究证实<sup>[60,61]</sup>。虽然多种受体蛋白质介导内质网裂解,以及将需要降解部分与主体分离、转移至自噬体的具体机制尚未完全清楚,至少说明细胞发生内质网应激时,自噬通过选择性降解受损内质网来维持内稳态,促使细胞存活。

#### 4 内质网应激与自噬及其交互作用对内皮细胞的影响

多种病理性致粥样斑块因素,包括氧化的低密度脂蛋白 (oxidative low-density lipoprotein, ox-LDL)、晚期糖基化终产物 (advanced glycation end products, AGEs) 和异常血流剪切应力等诱导内皮细胞凋亡。他们的促凋亡作用都离不开内质网应激和自噬信号途径的调控。

ox-LDL 上调血管 ECs 中 p-eIF2 $\alpha$ 、XBP1 蛋白表达,伴随 CHOP 和 Bcl-2 家族促凋亡因子增多,增强细胞凋亡<sup>[62]</sup>。Li 等<sup>[63]</sup>在 ox-LDL 处理的人血管内皮细胞中观察到,高表达的 GRP78、IRE1 $\alpha$  和 JNK; 应用内质网应激抑制剂可减少细胞凋亡,证明 IRE1 $\alpha$ /JNK 途径参与 ox-LDL 诱导的内皮细胞凋

亡。ox-LDL 引起内质网应激的作用机制尚未完全阐明。Volmer 等<sup>[64]</sup>提出, ox-LDL 中携带的氧化固醇,通过改变胆固醇代谢和转运途径或通过直接插入内质网膜扰乱脂质合成,影响内质网功能。另有研究发现, ox-LDL 可氧化肌浆网/内质网 Ca<sup>2+</sup>-ATP 酶 (SERCA) 使之失活,降低内质网中 Ca<sup>2+</sup> 浓度,使 Ca<sup>2+</sup> 依赖的分子伴侣失活,蛋白质折叠能力降低,造成内质网中未折叠蛋白质堆积,诱发内质网应激<sup>[65]</sup>。暴露于 ox-LDL 的内皮细胞自噬增强、凋亡增多,山奈酚 (kaempferol) 进一步上调 LC3II/LC3I 比值和 Beclin-1 表达,但凋亡细胞减少; LY294002、RAP 分别是 PI3K 与 mTOR 的拮抗剂,二者对 PI3K-Akt-mTOR 途径的抑制作用可被山奈酚增强,继续上调自噬水平,而该作用可被 PI3K-Akt-mTOR 通路激活剂胰岛素减弱。以上结果提示,山奈酚通过抑制 PI3K-Akt-mTOR 通路调控自噬,对抗细胞凋亡<sup>[66]</sup>。Lv 等<sup>[67]</sup>发现,在 ox-LDL 作用下,人内皮细胞中 microRNA-155 显著增多,通过负性调节 mTOR 依赖性途径激活自噬,诱导自噬标志物 LCII、Beclin-1 表达,伴随凋亡细胞增多;应用抑制剂 3-MA 下调自噬水平,则进一步增强细胞凋亡,表明 microRNA-155 介导自噬的激活,缓解 ox-LDL 诱导的内皮细胞凋亡。绿茶提取物没食子素通过激活自噬,减少小牛主动脉内皮细胞中脂滴聚集<sup>[68]</sup>。棉黄素通过提高自噬水平,调节 ox-LDL 诱导的 HUVECs 凋亡<sup>[69]</sup>。敲除 Atg7 的小鼠内皮细胞出现大量 ox-LDL 内流,提示自噬在调节细胞脂质代谢过程中的作用<sup>[70]</sup>。进入内皮细胞的 ox-LDL 被自噬体摄取和降解,同时激活内质网应激,剪切后的 XBP1 mRNA 转录激活 Beclin-1,继而促进 ox-LDL 的自噬降解<sup>[71]</sup>。

AGEs 激活内质网应激的作用机制可能与过氧化产物的产生有关。对氧磷酶 1 (paraoxonase-1, PON1) 抑制 LDL 氧化,减少 ox-LDL 诱导的单核细胞趋化蛋白 1 (monocyte chemotactic protein-1, MCP-1),削弱单核/内皮细胞间相互作用,发挥保护功能。Yu 等<sup>[72]</sup>通过高浓度葡萄糖与 PON1 共培养得到糖化 PON1,将其作用于 HUVECs,诱导 ROS 生成,促进 p-PERK、p-eIF2 $\alpha$ 、ATF6 和 CHOP 表达;抑制 NADPH 氧化酶后,内质网应激相关蛋白质表达水平降低,提示糖化 PON1 通过促过氧化物合成干扰内质网功能,诱导细胞凋亡。有研究发现, AGEs 通过诱导生成 ROS,破坏内质网膜稳定性,激发内质网应激和 Ca<sup>2+</sup> 泄露,促进内皮细胞凋亡<sup>[73]</sup>。AGEs 作用于 HUVECs,促进 ROS 生成和乳酸脱氢

酶泄露,伴随 LC3-II 蛋白增多和自噬泡形成;3-MA 降低 LC3-II 水平的同时,增强乳酸脱氢酶泄露,抗氧化剂  $\alpha$ -生育酚可同时抑制 ROS 生成和 LC3-II 表达,证明自噬作为保护机制,抵抗 AGEs 诱导的内皮损伤<sup>[74]</sup>。胡鹏飞等<sup>[75]</sup>发现,AGEs 通过抑制 PI3K-Akt-mTOR 途径诱导自噬。自噬体降解 AGEs 引起的损伤细胞器和代谢产物,延缓内皮细胞凋亡。与 AGEs 诱导自噬不同,生长于高糖培养基中的心微血管内皮细胞中,高浓度葡萄糖通过时间依赖性方式激活 Akt-mTOR 通路抑制自噬,诱导细胞凋亡;自噬抑制剂或沉默 *Atg7* 进一步促进凋亡,使用激动剂雷帕霉素可提高 LC3-II 表达和细胞活性<sup>[76]</sup>。Weikel 等<sup>[77]</sup>用高糖和棕榈酸共同培养人主动脉内皮细胞,模拟糖尿病患者血清高脂脂肪酸环境,发现二者通过抑制 AMPK 和 ULK1 磷酸化破坏自噬体功能,引起 p62 堆积、LC3-II 减少,同时抑制溶酶体水解酶组织蛋白酶 L 活性,最终引起细胞死亡。在应用高糖培养基的内皮细胞中未观察到自噬激活,这是否与刺激物介导的不同信号途径有关仍需更深入的研究,但不论是直接利用 AGEs 刺激细胞还是用高糖培养基,抑制自噬都引起凋亡增多,提示自噬在其中的保护作用。

所有动脉粥样硬化易感区都与复杂的血流紊乱有关。异常的血流剪切应力激活 UPR 相关蛋白质,包括 GRP78、ATF6 $\alpha$ 、XBP1s 等,与氧化应激和 NF- $\kappa$ B 介导的炎症反应共同作用促进内皮细胞凋亡。Pan 等<sup>[78]</sup>利用人工装置对体外培养的人主动脉内皮细胞模拟异常血流剪切应力,发现 GRP78、CHOP 蛋白表达显著增多,细胞凋亡增加;内质网应激抑制剂可部分阻断 CHOP 信号通路,证明内质网应激参与调控异常血流剪切应力引起的内皮细胞凋亡。在低剪切应力环境中,eIF2 $\alpha$  和 XBP1 参与调解细胞黏附因子 VCAM-1 表达,继而诱导单核细胞黏附,促进主动脉内皮细胞发生炎症反应;沉默 *eIF2 $\alpha$*  或 *XBP1* 或内质网应激抑制剂均可抑制 VCAM-1 表达<sup>[79]</sup>。高层流剪切应力通过调控自噬发挥内皮保护作用,Yao 等<sup>[80]</sup>发现,高层流剪切应力通过 Rab4 诱导自噬,抑制单核细胞黏附蛋白-1 (MCP-1) 表达,Rab4 SiRNA 或 3-MA 下调 LC3-II、Beclin-1 蛋白水平,上调 MCP-1,促进单核细胞黏附于内皮细胞。异常血流剪切应力作用下的人主动脉内皮细胞和小鼠血管内皮细胞中,观察到 LC3-II/LC3 比例明显降低,自噬泡结构减少,可能与 AMPK 磷酸化被抑制、mTOR 被激活有关,同时细胞凋亡和衰老明显增多;对自噬

基因缺失的小鼠进行 10 周高脂饮食,不仅在主动脉弓内发现大量斑块形成,与同窝对照组相比,在非粥样硬化易感区的降主动脉内斑块面积也成倍增加,说明即使在保护性的高血流剪切应力环境中,自噬缺陷也可导致内皮损伤,促进斑块形成<sup>[41]</sup>。另外,自噬也参与调节剪切应力诱导的 NO 合成<sup>[81]</sup>。

很多其他刺激因素也可通过内质网应激和自噬共同调节内皮细胞功能。内质网应激诱导剂衣霉素通过抑制 Akt/mTOR 信号途径激活自噬,并进一步介导 NF- $\kappa$ B-p65 依赖性信号通路诱发小鼠血管内皮细胞胰岛素抵抗;而敲除 *Atg7* 进一步加重胰岛素抵抗,引起内皮细胞功能障碍<sup>[82]</sup>。Ye 等<sup>[83]</sup>观察到,棕榈酸诱导 HUVECs 发生内质网应激和自噬,并促进胰岛素抵抗;内质网应激抑制剂 4-苯基丁酸 (4-PBA) 减少内质网应激相关蛋白质表达,同时抑制 LC3-I 向 LC3-II 转变,减少自噬,证明棕榈酸通过介导内质网应激对自噬进行调控。姜黄素抑制棕榈酸诱导的 CHOP、JNK 蛋白高表达,减轻胰岛素抵抗,而提高胞内自噬水平;敲除 *Atg5* 基因则抵消姜黄素的保护作用,进一步诱导 CHOP 表达,降低细胞活性,提示姜黄素可能通过自噬调控内质网应激诱导的内皮细胞凋亡。具有心血管毒性的抗逆转录病毒药依法韦伦 (efavirenz) 阻断 Beclin1/PI3KC3/ATG14L 复合体形成,干预自噬体成熟过程,继而增强 ATF4/CHOP 介导的血管内皮细胞凋亡<sup>[84]</sup>。

## 5 问题与展望

内质网应激和自噬作为细胞中的两种维稳机制交互作用,共同调节细胞命运。内质网应激通过 UPR 通路下游促凋亡蛋白和胞内  $\text{Ca}^{2+}$  浓度变化调控凋亡途径,同时也激活自噬。自噬发挥类似 ERS 的补充机制,进一步降解异常蛋白质和受损的内质网、线粒体等,并通过负反馈机制抑制内质网应激,维持启动凋亡的应激阈值,促进细胞存活。当应激强度过大超过自噬调节范围或自噬功能受损,细胞凋亡途径激活,且自噬相关蛋白在此时发挥促凋亡作用。这其中涉及的大量分子机制尚未完全阐明,在很多研究中都是通过敲除一个 *Atg* 基因来证实自噬对凋亡的调控作用。然而,一种自噬相关基因的敲除并不足以说明自噬的保护性,因可能引起与自噬无关的其他信号转导途径的改变或补偿机制的激活,因此还需更多的研究证实自噬对凋亡蛋白质的抑制作用。

在大多数针对内皮细胞的研究中,自噬主要表



现为抗凋亡作用。但也有不同的研究结果,如在缺血-再灌注损伤模型中,自噬被抑制后凋亡细胞反而减少<sup>[85]</sup>;在血清缺乏的环境下,抑制自噬可促进 NO 产生,维持内皮细胞活性<sup>[81]</sup>;尼卡地平(nicardipine)通过自噬途径诱导皮肤微血管内皮细胞死亡<sup>[86]</sup>;缺氧-复氧(hypoxia/reoxygenation)环境大量激活自噬导致细胞死亡<sup>[87]</sup>。在这里,自噬激活表现为促细胞死亡,可能与自噬程度有关,即通常情况下自噬保护细胞生存,在特殊环境中自噬过度激活导致大量细胞质被降解,引起细胞死亡。这种自噬导致的细胞死亡与自噬伴随细胞凋亡是两个不同的概念。值得注意的是,在动脉粥样硬化斑块进展的不同时期,内皮细胞中的自噬能力也不同,随自噬降解能力的减低而发生细胞凋亡与自噬的促凋亡作用是两个概念,虽然都高于生理水平,但前者仍体现了自噬的保护性功能<sup>[88,89]</sup>。然而,这些不同的研究结果与自噬的诱导因素和细胞所处的环境是否相关,以及其具体机制仍需要更深入的研究探讨。根据我们的研究,自噬相关蛋白在同一刺激物作用下对内皮细胞凋亡的影响可能是一个动态变化的过程,那么在凋亡的不同阶段是否存在某种标志性因子可提示自噬蛋白作用的转变?目前尚无确切资料。

一些中药成分或植物提取物,如红景天苷<sup>[90]</sup>、姜黄素、山奈酚和没食子素等,已被证实通过介导内质网应激和自噬途径保护内皮细胞,延缓粥样硬化斑块进展。未来针对自噬及内质网应激相关信号通路的精确调控,以及避免或减少其从保护机制转为损伤机制将为心血管疾病及其并发症的防治产生重大影响。

参考文献 (References)

[ 1 ] Lenna S, Han R, Trojanowska M. Endoplasmic reticulum stress and endothelial dysfunction[J]. IUBMB Life, 2014, **66**(8): 530-537

[ 2 ] Smiljic S. The clinical significance of endocardial endothelial dysfunction[J]. Medicina (Kaunas), 2017, **53**(5): 295-302

[ 3 ] Bell RAV, Megeney LA. Evolution of caspase-mediated cell death and differentiation; twins separated at birth[J]. Cell Death Differ, 2017, **24**(8): 1359-1368

[ 4 ] Ma M, Song L, Yan H, *et al.* Low dose tunicamycin enhances atherosclerotic plaque stability by inducing autophagy [ J ]. Biochem Pharmacol, 2016, **100**: 51-60

[ 5 ] Lu M, Lawrence DA, Marsters S, *et al.* Opposing unfolded-protein-response signals converge on death receptor 5 to control apoptosis[J]. Science, 2014, **345**(6192): 98-101

[ 6 ] Tamaki T, Kamatsuka K, Sato T, *et al.* A novel transmembrane protein defines the endoplasmic reticulum stress -induced cell death pathway[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2017, **486**(1): 149-155

[ 7 ] Li Y, Zhu D, Hou L, *et al.* TRB3 reverses chemotherapy resistance and mediates crosstalk between endoplasmic reticulum

stress and AKT signaling pathways in MHCC97H human hepatocellular carcinoma cells[ J ]. Oncol Lett, 2018, **15**(1): 1343-1349

[ 8 ] Kaufman RJ, Malhotra JD. Calcium trafficking integrates endoplasmic reticulum function with mitochondrial bioenergetics [ J ]. Biochim Biophys Acta, 2014, **1843**(10): 2233-2239

[ 9 ] Jiménez Fernández D, Lamkanfi M. Inflammatory caspases: key regulators of inflammation and cell death[ J ]. Biol Chem, 2015, **396**(3): 193-203

[ 10 ] Lam M, Lawrence DA, Ashkenazi A, *et al.* Confirming a critical role for death receptor 5 and caspase-8 in apoptosis induction by endoplasmic reticulum stress[ J ]. Cell Death Differ, 2018, **25**(8): 1530-1531

[ 11 ] Shigemiz T, Manabe K, Hara N, *et al.* Methylseleninic acid and sodium selenite induce severe ER stress and subsequent apoptosis through UPR activation in PEL cells[ J ]. Chem Biol Interact, 2017, **266**: 28-37

[ 12 ] Kwak GH, Kim HY. MsrB3 deficiency induces cancer cell apoptosis through p53-independent and ER stress-dependent pathways[ J ]. Arch Biochem Biophys, 2017, **621**: 1-5

[ 13 ] Kim C, Kim B. Anti-cancer natural products and their bioactive compounds inducing ER stress-mediated apoptosis: A review[ J ]. Nutrients, 2018, **10**(8): pii: E1021

[ 14 ] Vande Walle L, Jiménez Fernández D, Demon D, *et al.* Does caspase-12 suppress inflammasome activation? [ J ]. Nature, 2016, **534**(7605): E1-E4

[ 15 ] Li P, Zhou L, Zhao T, *et al.* Caspase-9: structure, mechanisms and clinical application [ J ]. Oncotarget, 2017, **8**(14): 23996-24008

[ 16 ] Becker C, Watson AJ, Neurath MF. Complex roles of caspases in the pathogenesis of inflammatory bowel disease [ J ]. Gastroenterology, 2013, **144**(2): 283-293

[ 17 ] Ngabire D, Kim GD. Autophagy and inflammatory response in the tumor microenvironment [ J ]. Int J Mol Sci, 2017, **18**(9). pii: E2016

[ 18 ] Cadwell K. Crosstalk between autophagy and inflammatory signalling pathways: balancing defence and homeostasis[ J ]. Nat Rev Immunol, 2016, **16**(11): 661-675

[ 19 ] Yu X, Muñoz-Alarcón A, Ajayi A, *et al.* Inhibition of autophagy via p53-mediated disruption of ULK1 in a SCA7 polyglutamine disease model[ J ]. J Mol Neurosci, 2013, **50**(3): 586-599

[ 20 ] Denisenko TV, Pivnyuk AD, Zhivotovsky B. p53-autophagy-metastasis link[ J ]. Cancers (Basel), 2018, **10**(5). pii: E148

[ 21 ] Mariño G, Niso-Santano M, Baehrecke EH, *et al.* Self-consumption; the interplay of autophagy and apoptosis[ J ]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2014, **15**(2): 81-94

[ 22 ] Aubrey BJ, Kelly GL, Janic A, *et al.* How does p53 induce apoptosis and how does this relate to p53-mediated tumour suppression? [ J ]. Cell Death Differ, 2018, **25**(1): 104-113

[ 23 ] Dai H, Ding H, Peterson KL, *et al.* Measurement of BH3-only protein tolerance[ J ]. Cell Death Differ, 2018, **25**(2): 282-293

[ 24 ] Shaffer L. Out with the bad: Studying autophagy to fight infectious disease[ J ]. Nat Med, 2016, **22**(4): 334-335

[ 25 ] Thorburn J, Andrysik Z, Staskiewicz L, *et al.* Autophagy controls the kinetics and extent of mitochondrial apoptosis by regulating PUMA levels[ J ]. Cell Rep, 2014, **7**(1): 45-52

[ 26 ] Ney PA. Mitochondrial autophagy: Origins, significance, and role of BNIP3 and NIX[ J ]. Biochim Biophys Acta, 2015, **1853**(10 Pt B): 2775-2783

[ 27 ] Dai Y, Grant S. BCL2L1/Bim as a dual-agent regulating autophagy and apoptosis in drug resistance [ J ]. Autophagy, 2015, **11**(2): 416-418

[ 28 ] Farag AK, Roh EJ. Death-associated protein kinase ( DAPK ) family modulators: Current and future therapeutic outcomes[ J ]. Med Res Rev, 2019, **39**(1): 349-385

[ 29 ] Granato M, Romeo MA, Tiano MS, *et al.* Bortezomib promotes KHSV and EBV lytic cycle by activating JNK and autophagy[ J ]. Sci Rep, 2017, **7**(1): 13052

[ 30 ] Tang B, Tang F, Wang Z, *et al.* Upregulation of Akt/NF-κB-

- regulated inflammation and Akt/Bad-related apoptosis signaling pathway involved in hepatic carcinoma process: suppression by carnosic acid nanoparticle[J]. *Int J Nanomedicine*, 2016, **11**: 6401-6420
- [31] Wang B, Luo Y, Zhou X, *et al.* Trifluoperazine induces apoptosis through the upregulation of Bax/Bcl-2 and downregulated phosphorylation of AKT in mesangial cells and improves renal function in lupus nephritis mice[J]. *Int J Mol Med*, 2018, **41**(6): 3278-3286
- [32] Vu NT, Park MA, Shultz JC, *et al.* hnRNP U enhances caspase-9 splicing and is modulated by AKT-dependent phosphorylation of hnRNP L[J]. *J Biol Chem*, 2013, **288**(12): 8575-8584
- [33] Hart LS, Cunningham JT, Datta T, *et al.* ER stress-mediated autophagy promotes Myc-dependent transformation and tumor growth[J]. *J Clin Invest*, 2012, **122**(12): 4621-4634
- [34] Zhang X, Cheng Q, Yin H, *et al.* Regulation of autophagy and EMT by the interplay between p53 and RAS during cancer progression (Review)[J]. *Int J Oncol*, 2017, **51**(1): 18-24
- [35] Wang Y, Wang XD, Lapi E, *et al.* Autophagic activity dictates the cellular response to oncogenic RAS[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2012, **109**(33): 13325-13330
- [36] 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
- [37] Nguyen TN, Padman BS, Lazarou M. Deciphering the molecular signals of PINK1/Parkin mitophagy[J]. *Trends Cell Biol*, 2016, **26**(10): 733-744
- [38] Hou W, Han J, Lu C, *et al.* Autophagic degradation of active caspase-8: a crosstalk mechanism between autophagy and apoptosis[J]. *Autophagy*, 2010, **6**(7): 891-900
- [39] Amir M, Zhao E, Fontana L, *et al.* Inhibition of hepatocyte autophagy increases tumor necrosis factor-dependent liver injury by promoting caspase-8 activation[J]. *Cell Death Differ*, 2013, **20**(7): 878-887
- [40] Huang X, Qi Q, Hua X, *et al.* Beclin 1, an autophagy-related gene, augments apoptosis in U87glioblastoma cells[J]. *Oncol Rep*, 2014, **31**(4): 1761-1767
- [41] Maejima Y, Isobe M, Sadoshima J. Regulation of autophagy by Beclin 1 in the heart[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2016, **95**: 19-25
- [42] Shi M, Zhang T, Sun L, *et al.* Calpain, Atg5 and Bak play important roles in the crosstalk between apoptosis and autophagy induced by influx of extracellular calcium[J]. *Apoptosis*, 2013, **18**(4): 435-451
- [43] Rubinstein AD, Eisenstein M, Ber Y, *et al.* The autophagy protein Atg12 associates with antiapoptotic Bcl-2 family members to promote mitochondrial apoptosis[J]. *Mol Cell*, 2011, **44**(5): 698-709
- [44] Kessel DH, Price M, Reiners JJ Jr. ATG7 deficiency suppresses apoptosis and cell death induced by lysosomal photodamage[J]. *Autophagy*, 2012, **8**(9): 1333-1341
- [45] Ikeda F. The anti-apoptotic ubiquitin conjugating enzyme BIRC6/BRUCE regulates autophagosome-lysosome fusion [J]. *Autophagy*, 2018, **14**(7): 1283-1284
- [46] Nezis IP, Shrivage BV, Sagona AP, *et al.* Autophagic degradation of dBruce controls DNA fragmentation in nurse cells during late *Drosophila* melanogaster oogenesis[J]. *J Cell Biol*, 2010, **190**(4): 523-531
- [47] Vion AC, Kheloufi M, Hammoutene A, *et al.* Autophagy is required for endothelial cell alignment and atheroprotection under physiological blood flow[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2017, **114**(41): E8675-E8684
- [48] Grootaert MOJ, Roth L, Schrijvers DM, *et al.* Defective autophagy in atherosclerosis: to die or to senesce? [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2018, **2018**: 7687083
- [49] Deegan S, Saveljeva S, Gorman AM, *et al.* Stress-induced self-cannibalism: on the regulation of autophagy by endoplasmic reticulum stress [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2013, **70**(14): 2425-2441
- [50] Feng D, Wang B, Wang L, *et al.* Pre-ischemia melatonin treatment alleviated acute neuronal injury after ischemic stroke by inhibiting endoplasmic reticulum stress-dependent autophagy via PERK and IRE1 signalings [J]. *J Pineal Res*, 2017, **62**(3): doi: 10.1111/jpi.12395
- [51] 丰梅, 付凌玲, 张伟华, 等. 内质网应激调控细胞自噬和凋亡[J]. *中国细胞生物学报* (Feng M, Fu LL, Zhang WH, *et al.* Endoplasmic reticulum stress regulates cell autophagy and apoptosis[J]. *Chin J Cell Biol*), 2018, **40**(3): 455-462
- [52] Cybulsky AV. Endoplasmic reticulum stress, the unfolded protein response and autophagy in kidney diseases[J]. *Nat Rev Nephrol*, 2017, **13**(11): 681-696
- [53] Song S, Tan J, Miao Y, *et al.* Crosstalk of ER stress-mediated autophagy and ER-phagy: involvement of UPR and the core autophagy machinery [J]. *J Cell Physiol*, 2018, **233**(5): 3867-3874
- [54] Hirasawa M, Kurita-Ochiai T. *Porphyromonas gingivalis* induces apoptosis and autophagy via ER stress in human umbilical vein endothelial cells[J]. *Mediators Inflamm*, 2018, **2018**: 1967506
- [55] Li W, Yang Q, Mao Z. Signaling and induction of chaperone-mediated autophagy by the endoplasmic reticulum under stress conditions[J]. *Autophagy*, 2018, **14**(6): 1094-1096
- [56] Li X, Zhu G, Gou X, *et al.* Negative feedback loop of autophagy and endoplasmic reticulum stress in rapamycin protection against renal ischemia-reperfusion injury during initial reperfusion phase [J]. *FASEB J*, 2018, **fj201800299R**. doi: 10.1096/fj.201800299R
- [57] Mochida K, Oikawa Y, Kimura Y, *et al.* Receptor-mediated selective autophagy degrades the endoplasmic reticulum and the nucleus[J]. *Nature*, 2015, **522**(7556): 359-362
- [58] Khaminets A, Heinrich T, Mari M, *et al.* Regulation of endoplasmic reticulum turnover by selective autophagy [J]. *Nature*, 2015, **522**(7556): 354-358
- [59] Fumagalli F, Noack J, Bergmann TJ, *et al.* Translocon component Sec62 acts in endoplasmic reticulum turnover during stress recovery[J]. *Nat Cell Biol*, 2016, **18**(11): 1173-1184
- [60] Grumati P, Morozzi G, Hölpner S, *et al.* Full length RTN3 regulates turnover of tubular endoplasmic reticulum via selective autophagy[J]. *Elife*, 2017, **6**. pii: e25555
- [61] Smith MD, Harley ME, Kemp AJ, *et al.* CCPG1 is a non-canonical autophagy cargo receptor essential for ER-phagy and pancreatic ER proteostasis [J]. *Dev Cell*, 2018, **44**(2): 217-232.e11
- [62] Hong D, Bai YP, Gao HC, *et al.* Ox-LDL induces endothelial cell apoptosis via the LOX-1-dependent endoplasmic reticulum stress pathway[J]. *Atherosclerosis*, 2014, **235**(2): 310-317
- [63] Li J, Liang X, Wang Y, *et al.* Investigation of highly expressed PCSK9 in atherosclerotic plaques and ox-LDL-induced endothelial cell apoptosis [J]. *Mol Med Rep*, 2017, **16**(2): 1817-1825
- [64] Volmer R, Ron D. Lipid-dependent regulation of the unfolded protein response[J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2015, **33**: 67-73
- [65] Toma L, Sanda GM, Niculescu LS, *et al.* Caffeic acid attenuates the inflammatory stress induced by glycated LDL in human endothelial cells by mechanisms involving inhibition of AGE-receptor, oxidative, and endoplasmic reticulum stress [J]. *Biofactors*, 2017, **43**(5): 685-697
- [66] Che J, Liang B, Zhang Y, *et al.* Kaempferol alleviates ox-LDL-induced apoptosis by up-regulation of autophagy via inhibiting PI3K/Akt/mTOR pathway in human endothelial cells [J]. *Cardiovasc Pathol*, 2017, **31**: 57-62
- [67] Lv J, Yang L, Guo R, *et al.* Ox-LDL-induced microRNA-155 promotes autophagy in human endothelial cells via repressing the Rheb/mTOR pathway [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, **43**(4): 1436-1448
- [68] Kim HS, Montana V, Jang HJ, *et al.* Epigallocatechin gallate (EGCG) stimulates autophagy in vascular endothelial cells: a potential role for reducing lipid accumulation[J]. *J Biol Chem*, 2013, **288**(31): 22693-22705

- [69] Lin HH. In Vitro and in Vivo Atheroprotective effects of Gossypetin against endothelial cell injury by induction of autophagy[J]. *Chem Res Toxicol*, 2015, **28**(2): 202-215
- [70] Torisu K, Singh KK, Torisu T, *et al*. Intact endothelial autophagy is required to maintain vascular lipid homeostasis[J]. *Aging Cell*, 2016, **15**(1): 187-191
- [71] Margariti A, Li H, Chen T, *et al*. XBP1 mRNA splicing triggers an autophagic response in endothelial cells through BECLIN-1 transcriptional activation[J]. *J Biol Chem*, 2013, **288**(2): 859-872
- [72] Yu W, Liu X, Feng L, *et al*. Glycation of paraoxonase 1 by high glucose instigates endoplasmic reticulum stress to induce endothelial dysfunction in vivo[J]. *Sci Rep*, 2017, **7**: 45827
- [73] Lu T, Zhou D, Gao P, *et al*. Resveratrol attenuates high glucose-induced endothelial cell apoptosis via mediation of store-operated calcium entry[J]. *Mol Cell Biochem*, 2018, **442**(1-2): 73-80
- [74] Xie Y, You SJ, Zhang YL, *et al*. Protective role of autophagy in AGE-induced early injury of human vascular endothelial cells[J]. *Mol Med Rep*, 2011, **4**(3): 459-464
- [75] 胡鹏飞, 赖东武, 何红. 自噬在晚期糖基化终产物诱导的内皮细胞凋亡中的作用[J]. *中国病理生理杂志* (Hu PF, Lai DW, He H. Autophagy plays a protective role in advanced glycation end product-induced apoptosis of vascular endothelial cells[J]. *Chin J Pathophysiol*), 2012, **28**(6): 1006-1011
- [76] Zhang Z, Zhang S, Wang Y, *et al*. Autophagy inhibits high glucose induced cardiac microvascular endothelial cells apoptosis by mTOR signal pathway[J]. *Apoptosis*, 2017, **22**(12): 1510-1523
- [77] Weikel KA, Cacicedo JM, Ruderman NB, *et al*. Glucose and palmitate uncouple AMPK from autophagy in human aortic endothelial cells[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2015, **308**(3): C249-C263
- [78] Pan L, Hong Z, Yu L, *et al*. Shear stress induces human aortic endothelial cell apoptosis via interleukin-1 receptor-associated kinase 2-induced endoplasmic reticulum stress[J]. *Mol Med Rep*, 2017, **16**(5): 7205-7212
- [79] Bailey KA, Haj FG, Simon SI, *et al*. Atherosusceptible shear stress activates endoplasmic reticulum stress to promote endothelial inflammation[J]. *Sci Rep*, 2017, **7**(1): 8196
- [80] Yao P, Zhao H, Mo W, *et al*. Laminar shear stress promotes vascular endothelial cell autophagy through upregulation with Rab4[J]. *DNA Cell Biol*, 2016, **35**(3): 118-123
- [81] Kim KA, Shin D, Kim JH, *et al*. Role of Autophagy in endothelial damage and blood-brain barrier disruption in ischemic stroke[J]. *Stroke*, 2018, **49**(6): 1571-1579
- [82] Zhou B, Li H, Liu J, *et al*. Intermittent injections of osteocalcin reverse autophagic dysfunction and endoplasmic reticulum stress resulting from diet-induced obesity in the vascular tissue via the NFkB-p65- dependent mechanism[J]. *Cell Cycle*, 2013, **12**(12): 1901-1913
- [83] Ye M, Qiu H, Cao Y, *et al*. Curcumin improves palmitate-induced insulin resistance in human umbilical vein endothelial cells by maintaining proteostasis in endoplasmic reticulum[J]. *Front Pharmacol*, 2017, **8**: 148
- [84] Bertrand L, Toborek M. Dysregulation of endoplasmic reticulum stress and autophagic responses by the antiretroviral drug efavirenz[J]. *Mol Pharmacol*, 2015, **88**(2): 304-315
- [85] Zhu T, Yao Q, Wang W, *et al*. iNOS induces vascular endothelial cell migration and apoptosis via autophagy in ischemia/reperfusion injury[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2016, **38**(4): 1575-1588
- [86] Ochi M, Kawai Y, Tanaka Y, *et al*. Characterization of nicardipine hydrochloride-induced cell injury in human vascular endothelial cells[J]. *J Toxicol Sci*, 2015, **40**(1): 71-76
- [87] Wang Y, Tao TQ, Song DD, *et al*. Calreticulin ameliorates hypoxia/reoxygenation-induced human microvascular endothelial cell injury by inhibiting autophagy[J]. *Shock*, 2018, **49**(1): 108-116
- [88] Li W, Sultana N, Siraj N, *et al*. Autophagy dysfunction and regulatory cystatin C in macrophage death of atherosclerosis[J]. *J Cell Mol Med*, 2016, **20**(9): 1664-1672
- [89] Swaminathan B, Goikuria H, Vega R, *et al*. Autophagic marker MAP1LC3B expression levels are associated with carotid atherosclerosis symptomatology[J]. *PLoS One*, 2014, **9**(12): e115176
- [90] Zheng XT, Wu ZH, Wei Y, *et al*. Induction of autophagy by salidroside through the AMPK-mTOR pathway protects vascular endothelial cells from oxidative stress-induced apoptosis[J]. *Mol Cell Biochem*, 2017, **425**(1-2): 125-138