

基于细胞自噬探讨免疫性卵巢早衰形成机制

冯逊逊 董晓英

摘 要 免疫性卵巢早衰(POF)是一类免疫系统紊乱的疾病。随着免疫性 POF 发生率日益增高,严重危害女性身心健康。目前学术界对免疫性 POF 的机制研究尚未明确,近些年研究发现自噬是细胞内通过溶酶体的活动,来降解细胞内的无用的组分,从而分解释放细胞可以利用的营养成分,促进细胞内的稳定和自我修复功能,是有益于细胞生存的一种积极的应对自体衰老的细胞活动。通过总结近些年细胞自噬的相关研究,发现细胞自噬与免疫性卵巢早衰的发生具有一定的关系。本文就近年 POF 与细胞自噬研究进展加以综述,提出细胞自噬与 POF 形成的机制,旨在为后续研究提供参考。

关键词 自噬 卵巢早衰 机制 综述

中图分类号 R3

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2017.08.005

卵巢早衰(premature ovarian failure, POF)是卵巢没有经过机体正常的衰老而发生的一种病态的衰老过程。当患者在 40 岁以前出现绝经,并呈低雌激素和高促性腺激素血症状态,称为 POF。POF 在人群中的发生率统计不一,国内报道 POF 人群发生率为 1%~3.8%,国外报道发生率为 1%,就比例而言,100 例 40 岁以前和 1000 例 30 岁以前的女性中有 1 例是 POF 的患者,同时 POF 的发生率有逐年升高的趋势,因此其严重影响了女性生殖健康和生活质量^[1,2]。近年来 POF 成为众多学者关注的热点。

从病因学角度,POF 分为免疫性 POF、药物性 POF、创伤性 POF 和医源性 POF 这几类。其中免疫性 POF 是 POF 中较为常见的一种。目前认为,30% POF 的发病原因与自身免疫异常有关,并常同时合并其他自身免疫性疾病。目前对于免疫性 POF 的治疗还是没有明确的方向,究其原因是由于其病因的复杂性和病理机制的不明确,使得免疫性 POF 的治疗成为临床上的一大难题。

近年来,随着衰老与细胞自噬相关研究的增加,机体的衰老与自身的免疫系统的关系序幕被逐渐拉开。细胞自噬是不同于凋亡的一个机体免疫步骤,是

基于溶酶体的降解途径,对于机体细胞的存活、区分、生长,对于机体以维持机体的稳态和对于疾病的抵抗,如癌症、神经退行性疾病、衰老和心脏病都有着不可或缺的作用^[3]。然而当机体自噬出现问题或者出现紊乱时,很多疾病由此诞生。

研究发现,自噬是在机体细胞普遍发生的正常细胞的生理现象,在卵巢组织细胞的一些激活自噬的通路中,发现当自噬活动激活过于频繁时,会引起卵巢组织细胞的加速衰老,进一步可能导致卵巢组织细胞的程序性死亡。从整个个体来观察,表现为免疫系统的紊乱和卵巢的早衰。自噬虽然是有益于细胞生存的一种积极的应对自体衰老的细胞活动,但是自噬可能与免疫性 POF 有着某种联系,关于自噬的进一步研究可能会给免疫性 POF 的治疗带来希望。

一、自噬的研究

细胞自噬是一类细胞内的废物处理装置,已经被证实是有着肿瘤抑制作用。细胞自噬参与炎症反应和免疫作用,在癌症抑制作用上发挥着至关重要的作用^[4]。尤其对于心肌细胞、神经细胞以及细胞衰老中也发挥着重要作用。

心肌细胞自噬参与了诸多心脏疾病的发生、发展过程,包括心肌缺血再灌注损伤、心肌肥厚、高血压及心力衰竭等^[5]。在心肌缺血再灌注损伤中,心肌细胞处于缺血阶段。自噬可以通过降解胞质内损伤性的物质,起到对心肌的保护作用,但是一旦自噬发生自噬的激活赶不上损伤物质增加的速率时或者调理作用发生失调,会导致当再灌注导致的应激性损伤物质如自由基等进一步增多,并远远超过自噬生理水平,自噬便不能继续发挥原来的保护机制。再灌注阶

基金项目:北京市自然科学基金资助项目(面上项目)(7162026);北京中医药薪火传承“3+3”工程资助项目(2012-SZ-C-41);首都中医药科技专项基金资助项目(JJ2013-01);首都医科大学中医药专项基金资助项目(15ZY05)

作者单位:100069 北京,首都医科大学基础医学院(冯逊逊);100069 北京,首都医科大学中医药学院(董晓英)

通讯作者:董晓英,副主任医师,讲师,电子信箱:softsongs@126.com

段,自噬的过度激活往往伴随着溶酶体酶的明显增加,这可导致正常蛋白质及细胞器的降解,从而诱导不可逆性的细胞死亡^[6]。

神经退行性疾病与自噬有着较为密切的关系。自噬的反常在神经退行性疾病的病理学上扮演了非常重要的角色,神经退行性主要表现为在特定的神经细胞胞质内聚集蛋白的沉积和线粒体功能障碍^[7]。阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD),在AD患者的神经细胞内,最主要的原因是自噬受到干扰,导致神经细胞内的自噬活动受到抑制。如干扰巨自噬反转录的上调、自噬体的成熟受到破坏和巨自噬被家族性AD PS1 突变蛋白所抑制等^[8]。在衰老过程中,自噬的被动抑制起到重要作用。研究发现,正常的衰老和病态的衰老都和自噬潜能的衰减有着密切的关系。在哺乳动物体内由于自噬受到基因的抑制从而丧失其在细胞内应发挥的功能,导致细胞的衰老,普遍的细胞衰老累计在个体表现出个体衰老的迹象^[9]。

肿瘤中自噬作用发生是非常复杂的,涉及到很多基因和调控通路。如人类乳腺、卵巢和前列腺的癌症都与自噬相关基因BECN1 和Becn1^{+/-}的等位基因缺失有关^[10]。目前普遍的研究表明,自噬在癌症中的作用是双刃剑。自噬可以通过基因的调节从而维持细胞内代谢,降低氧化物质对于DNA的损伤来抑制癌症的发生,又可以在肿瘤细胞的发生中发挥抗细胞氧化压力的作用,从而使得肿瘤细胞抵抗机体和外界治疗^[11]。研究表明,衰老和细胞凋亡是癌症抑制机制的本质,对于癌细胞的扩增有着内在的抑制作用,而自噬不同于两者,自噬是通过各种通路和很多基因的调控下对于癌细胞产生两种截然相反的效应^[12]。这对于癌症的治疗是一个很大的突破口,如在肝癌的治疗中和研究中,基于动物模型和肝癌患者,有学者发现,与自噬相关的Atg基因家族发挥的作用可能在肝癌中起到抑制的作用,对于癌细胞的破坏和裂解起到非常大的作用^[13,14]。

通过对各种与细胞自噬相关的疾病研究中可以推测,POF与细胞自噬在某些通路或者分子及基因水平上可能有着某种关联。目前通过卵泡颗粒细胞凋亡的研究中发现,在卵巢内,卵泡颗粒细胞的程序性死亡,是导致POF的重要原因,而细胞凋亡与细胞自噬是机体维持细胞的更新换代和机体内环境稳定的重要途径。细胞自噬的作用并不亚于细胞凋亡,细胞凋亡是对于细胞完全无法承受外界的压力而采取的一种程序性死亡自我保护方式,而细胞自噬是机体

对于细胞内环境的稳定的调节和保护的重要功能途径。所以,可以推测在卵巢内,当细胞自噬出现某种原因的失调或者紊乱,导致在细胞中自噬向凋亡的转化,使得细胞走向程序性死亡的道路,最终会致使POF的发生。

二、免疫性POF研究简述

目前研究表明POF与自身免疫系统的失调有着密切联系,POF的自身免疫紊乱包括固有免疫系统和适应性免疫系统的失调,主要表现在卵巢内各种效应细胞、细胞因子、特异性抗体和细胞毒性介质的增高。自身免疫系统的紊乱的不断积累和增强最后会致使卵泡的缺失或卵泡对促性腺激素的反应低下^[15]。

1. 免疫性POF的蛋白分子表达:从免疫学的角度,免疫性POF的病变原因有着明显的组织学的证据。在淋巴性卵巢炎患者的体内,抗卵巢抗体显著升高,并伴随着其他的一些免疫病学症状。抗卵巢抗体主要是针对于产生甾类激素的细胞,其中大多数是内分泌腺,如肾上腺皮质细胞、睾丸间质细胞、合体滋养细胞和卵泡细胞,称这类抗体为类固醇细胞抗体。研究表明其他导致免疫性POF的还有抗心磷脂和抗核抗体。除此之外,还有针对于促性腺激素及其受体、透明带、卵母细胞、黄体的抗体^[16]。当自身免疫疾病的产生,机体免疫系统对于自身抗原成分的免疫耐受性几乎为零,并通过固有免疫应答和适应性免疫应答产生免疫反应,生成的上述抗体分子对于卵巢的组织进行破坏,从而造成卵巢的功能下降,进一步导致POF的免疫性症状。

2. 免疫性POF和其他免疫疾病的联系:免疫性POF几乎伴随着所有已经明确的器官免疫性疾病,不同的免疫病发症可能出现在同一个患者身上,也是目前研究较多的自身免疫性多内分泌腺综合征的症状。免疫性POF的病因多种多样,但其作用的生化原理基本相同,主要在于免疫系统的调节失调、免疫细胞的作用紊乱以及细胞免疫活性物质的作用失调。目前对于免疫性POF疾病机制的研究尚未很明确的深入,相信可以通过其与其他疾病的关联中,找出免疫性POF的独特的发病机制。

免疫性POF的诊断十分复杂,需要排除其他免疫性疾病的可能性来作为免疫性POF的诊断依据之一。免疫性POF的主要的实体特征是自身免疫性卵巢炎和抗性卵巢综合征也被称作萨维奇综合征。有研究表明免疫性POF与自身免疫性肾上腺功能不全(autoimmune adrenal insufficiency, AAD)有着免疫学

上的联系。在淋巴卵巢炎的免疫组化研究中发现,炎症性细胞主要有 $CD4^+$ 、 $CD8^+$ T 细胞,少量 B 细胞,巨噬细胞和 NK 细胞,这与 AAD 中的炎症性细胞特征相符。

3. 免疫性 POF 的诊疗治疗:免疫性 POF 的目前治疗趋于多样化,在中医学和西医学方面都有着不同的治疗手段和对于免疫性 POF 的分析方法。西医学主要通过研究激素类药物对于改善机体的各种致使免疫性 POF 发生的通路的信号,来调节和改善免疫性 POF 的症状。外源性激素的补充会在一定程度上缓解 POF 患者的全身症状,但是这并不能有效地改善卵巢的功能,从而调动内源性激素的分泌。而激素的长期应用对于子宫内膜和乳腺等组织的不良影响又是这种治疗不可逾越的障碍。中医学主要是研究不同证型中药的药理作用,对于免疫性 POF 的治疗的效果。有研究表明,左归丸等中药在对免疫性从免疫平衡调节、性腺轴内分泌调节、卵泡凋亡、卵巢组织超微结构等方面,对于 POF 的治疗起到很好的作用,其机制可能是药方中的成分可以抑制卵泡细胞的凋亡从而维持卵巢的正常功能,起到对免疫性 POF 的一定的防治作用。

三、自噬与免疫性 POF 的关系

1. 免疫性 POF 中卵泡闭锁的自噬原理表象:卵泡闭锁分为早起的卵泡闭锁和晚期的卵泡闭锁,其中发现在晚期的卵泡闭锁中,透明带的崩解和再吸收的特征,卵泡膜变得厚实和血管化,白细胞开始入侵卵泡细胞所在的位置,并在在电子显微镜下,发现卵泡细胞内出现空泡状内质网、细胞质中溶酶体增多以及相邻细胞出现桥粒连接。自噬体则在较大的卵泡细胞内被发现,其内包含有细胞膜结构,羊毛状物质和被降解的线粒体,这是辨认晚期卵泡闭锁的重要细胞内形态。可见颗粒细胞内的自噬现象的出现在一定程度上会致使卵泡闭锁,从而使得卵巢发生免疫性的早衰^[17]。

目前普遍认为微管结合蛋白 1 的轻链 3(LC3)的水平高低是衡量自噬活动强弱的标志物。有研究表明,原始卵泡对 LC3 表现出低免疫反应性,而原始卵泡的颗粒型黄体素细胞和后发育窦层次的颗粒细胞对 LC3 表现出高度的免疫反应。当自噬的失控的反应发生,最后会导致细胞凋亡的出现。有研究发现,当颗粒细胞内的自噬体的不断积累,并达到一定的量后,会启动颗粒细胞的程序性死亡,及通过减少 bcl-2 蛋白的表达,并激活 caspase 蛋白联级反应致使卵泡细胞发生不正常自噬及细胞凋亡^[18]。

2. 免疫性 POF 细胞内通路与细胞自噬的关系:
(1) PI_3K/Akt 信号通路及其下游 FOXO 蛋白和自噬的调控作用:俗称叉头框蛋白的 FOXO 蛋白是一类决定细胞命运的转录调节蛋白因子,哺乳动物体内主要的 FOXO 转录调控因子有 FOXO1、FOXO3a、FOXO4 和 FOXO6,FOXO 蛋白家族在磷酸肌醇 3-激酶(PI_3K)/蛋白激酶 B(PKB 也称为 Akt)途径(PI_3K/Akt 信号通路)受到 PI_3K/Akt 的上游调控,以 FOXO 为中介从而细胞内下游的生化反应做出调节^[19]。目前关于 PI_3K/Akt 信号通路及下游 FOXO 蛋白的研究还不是很多。有研究表明,FOXO1A 和 FOXO3a 被认为是卵巢发育中的重要的调节蛋白,并发现在 FOXO3a 基因敲除的小鼠中表现出 POF 的症状。有研究在肌肉萎缩中发现,被上游 PI_3K/Akt 信号通路激活的 FOXO3a 蛋白激活了肌细胞内溶酶体的活动,从而激活了细胞的自噬。在 POF 和先天性早期闭经(PA)的研究中,研究者发现在动物模型个体缺失或者杂合及纯合子,无法表达 FOXO3a 蛋白中,会导致两种病变的发生。磷脂酰肌醇激酶 3 的核心作用是刺激在细胞存活中有着至关重要的磷脂酰肌醇三羟甲基氨基甲烷磷酸盐 3,4,5 的产生。 PI_3K/Akt 信号通路被认为是与人类多种疾病有着牵连关系的一条通路,由此可以推测在卵巢组织中的卵泡细胞或卵细胞中可能存在着 FOXO3a 蛋白的调节,使得细胞发生自噬活动,导致细胞的免疫性非正常死亡,进而导致 POF 的发生。
(2) $PI_3K/Akt-mTOR$ 通路和自噬的调控作用:目前的普遍研究表明,在 $PI_3K/Akt-mTOR$ 通路下,mTOR 在细胞内抑制 Atg 基因的表达从而抑制细胞的自噬,雷帕霉素可以作用于 mTOR,阻断对于抑制的作用,促进细胞自噬,促进细胞的自我更新^[20]。有临床研究表明 $PI_3K/Akt-mTOR$ 通路经常激活卵巢癌症的发生,经常是表现为明细胞癌和子宫内膜腺癌,所以这条途径是临床上一条值得研究卵巢病变发生的途径^[21]。从自噬角度来看,癌症和自噬有着密切的关系, $PI_3K/Akt-mTOR$ 通路是抑制自噬的发生,从而起到对于细胞增殖的效应,而细胞自噬是通过营养限制,帮助细胞适应不利的环境的进化上保守的机制。在一定意义上,可以认为肿瘤的发生是被细胞骨架上的细胞自噬隐退控制着的。在用末端标记法研究卵母细胞死亡的转变中,研究者发现,在几乎所有死亡的卵母细胞中,都同时有着 caspase-3 的活跃表达和 DNA 的瓦解,和细胞自噬所引起的酸性磷酸酶的活动和细胞内清晰的囊泡的出现。

细胞自噬增强的同时,细胞程序性死亡也随之发生,自噬的失调也是导致细胞死亡的重要原因。 $PI_3K/Akt-mTOR$ 通路中 $mTOR$ 中介体发挥其磷酸化的作用,磷酸化多种蛋白如 $ULK1/2$ 等,来抑制细胞自噬的有利于细胞存活的正常细胞活动机制的产生,导致细胞不断以增殖为方向,忽略自身代谢的重要性,最后没有自噬的调节,细胞趋于程序性的死亡。有研究发现,当抑制 $PI_3K/Akt-mTOR$ 通路时,促进卵巢内细胞自噬的发生,抑制卵巢内癌细胞的增生,可以在一定程度上抑制卵巢癌的发展。可以推测免疫性 POF 的发生是在卵巢内, $mTOR$ 通路的增强使得自噬无法发挥正常作用,导致细胞不能为自我的环境适应力做出调节,来维持细胞的稳态,从而导致细胞免疫性的瓦解,使卵巢组织内大量细胞死亡,导致免疫性的 POF。

四、展 望

POF 作为一种难治性妇科内分泌疾病,严重影响女性的生殖健康,研究 POF 的机制成为防治 POF 的一把钥匙。针对免疫性 POF 的产生,细胞自噬在其中扮演了重要的角色。细胞自我保护的自噬生理状态一旦受到消极影响,取而代之的程序性死亡会导致细胞不可逆的永久衰退,最终导致颗粒细胞的凋亡和 POF 的产生。其次,细胞自噬也通过通路及其相关的细胞因子影响了卵母细胞的激素合成,这也是 POF 形成的原因之一。再次,细胞自噬对 POF 通路方面,因子方面,都可以对其产生一定的影响,通过 PI_3K/Akt 信号通路和 $PI_3K/Akt-mTOR$ 信号通路,细胞自噬对卵巢的影响不容忽视。在卵巢各组织细胞内活化效应的蛋白对细胞的影响是联级和广泛的,促进细胞内各种自噬细胞器活动发生和自噬生化反应的增强。

综上所述,在以免疫学为基础的 POF 中,细胞自噬的作用不可忽视。细胞自噬已经在很多的疾病研究中取得成果,2016 年诺贝尔生理学或医学奖授予日本科学家大隅良典 (Yoshinori Ohsumi),以表彰他在细胞自噬机制方面研究的突出贡献。前期很多的研究者做了不同的研究,发现免疫性 POF 在遗传学、免疫学以及生理学,跟上面的通路都是有关系的,以此为基础,相信进一步从自噬的角度去认识免疫性 POF,将会获得免疫性 POF 机制新的认识,对 POF 的有效治疗会起到积极的帮助和促进作用,从而给免疫性 POF 的患者带来福音。

参考文献

1 韦玉荣. 卵巢早衰的发病机理研究进展[J]. 医学信息, 2013,

23: 562-563

- 2 Hernández - Angeles C, Castelo - Branco C. Early menopause: A hazard to a woman's health[J]. Indian J Med Res, 2016, 143(4): 420-427
- 3 Levine B, Kroemer G. Autophagy in the pathogenesis of disease[J]. Cell, 2008, 132(1): 27-42
- 4 Zhong Z, Sanchez - Lopez E, Karin M. Autophagy, inflammation, and immunity: a troika governing cancer and its treatment[J]. Cell, 2016, 166(2): 288-298
- 5 李澜, 高慧, 邢晓雪, 等. 心肌自噬及其分子机制研究进展[J]. 中国临床药理学杂志, 2015, 31(24): 2479-2482
- 6 马梦晴, 林先和. 自噬参与缺血性心脏病的发生发展[J]. 安徽医药, 2015, 19(9): 1637-1641
- 7 Menzie FM, Fleming A, Rubinsztein DC. Compromised autophagy and neurodegenerative diseases[J]. Nat Rev: Neurosci, 2015, 16(6): 345-357
- 8 Ghavami S. Autophagy and apoptosis dysfunction in neurodegenerative disorders[J]. Pro Neurobiol, 2014(112): 24-49
- 9 Rubinsztein DC, Marin G, Kroemer G. Autophagy and aging[J]. Cell, 2011, 146(5): 682-695
- 10 Lozya F, Karantz V. Autophagy and cancer cell metabolism[J]. Seminars in Cell & Developmental Biology, 2012, 23(4): 395-401
- 11 Chen N, Debnath J. Autophagy and tumorigenesis[J]. FEBS Letters, 2010(7), 584: 1427-1435
- 12 Hoare M, Young A, Narita M. Autophagy in cancer: having your cake and eating it[J]. Seminars in Cancer Biology, 2011(6), 21: 397-404
- 13 Song ZH, Yu HY, Wang P, et al. Germ cell - specific Atg7 knockout results in primary ovarian insufficiency in female mice[J]. Cell Death & Disease, 2015, 6(1): e1589
- 14 Cui J, Gong Z, Shen H. The role of autophagy in liver cancer: molecular mechanisms and potential therapeutic targets[J]. Biochimica et Biophysica Acta, 2013, 1836(1): 15-26
- 15 谢江燕, 赵俪梅, 东亚君, 等. 卵巢早衰的免疫学研究进展[J]. 实用妇产科杂志, 2013, 29(4): 259-262
- 16 Ebrahimi M, Asbagh FA. The role of autoimmunity in premature ovarian failure[J]. Iran J Reprod Med, 2015, 13(8): 461-472
- 17 Morais RD, Thomé RG, Lemos FS, et al. Autophagy and apoptosis interplay during follicular atresia in fish ovary: a morphological and immunocytochemical study. [J]. Cell Tissue Res, 2012, 347(2): 467-478
- 18 Choi JY, Jo MW, Lee EY, et al. Induction of apoptotic cell death via accumulation of autophagosomes in rat granulosa cells[J]. Fertility & Sterility, 2011, 95(4): 1482-1486
- 19 Zhou J, Liao W, Yang J. FOXO3 induces FOXO1 - dependent autophagy by activating the AKT1 signaling pathway[J]. Autophagy, 2012, 8(12): 1712-1723
- 20 吴春丽, 郭燕君, 徐海琦, 等. 自噬与哺乳动物卵泡闭锁[J]. 中国细胞生物学报, 2013, 35(9): 1397-1404
- 21 Mabuchi S, Kuroda H, Takahashi R, et al. The $PI_3K/AKT/mTOR$ pathway as a therapeutic target in ovarian cancer[J]. Gynecologic Oncology, 2015, 137(1): 173-179

(收稿日期: 2016-11-06)

(修回日期: 2016-12-15)