

外泌体与自噬体相互关系研究进展*

刘艳^{1,2} 戴鹏² 朱运峰^{1,3**}

(1 北京交通大学生命科学与生物工程研究院 北京 100044)

(2 河南省华之源生物技术有限公司 郑州 450000 3 解放军总医院肿瘤中心实验室 北京 100853)

摘要 真核细胞内膜系统由细胞内相互联系的膜状细胞器组成,包括外泌体的生成和自噬过程,对应激反应和维持细胞内稳态起着重要作用。外泌体是含有蛋白质与核酸内容物的多泡体分泌到体外形成的胞外囊泡,而自噬是溶酶体依赖性的降解和循环再利用的过程。研究发现,外泌体的生成和自噬之间有着共同的分子机制,二者存在实质性的交互通信。对外泌体的生成和自噬的过程,包括二者与溶酶体之间的关系进行综述。

关键词 自噬 外泌体 溶酶体 胞外囊泡

中图分类号 Q28

真核细胞内膜系统(eukaryotic endomembrane system, EMS)是一系列相互关联的膜性细胞器,包括内质网(endoplasmic reticulum, ER)、高尔基体、溶酶体和质膜以及它们之间运输的囊泡,它承担细胞内许多生物过程。EMS的组分在结构和功能上相互交错。厘清其中的关系将有助于我们对细胞内囊泡运输、囊泡内货物的去向、细胞内和细胞间通信等生物过程更深入的了解。

最初研究者认为外泌体是网织红细胞受体脱落的方式^[1],同样,最初认为巨自噬仅仅是一种细胞废物的清除计划。近年来研究发现,外泌体是细胞之间信息的重要传递者,其作为疾病生物标志物潜力引起越来越多的关注,而巨自噬在从非常规分泌到应激适应和细胞间通信等中也发挥着重要的作用^[2-3]。提示外泌体生物发生和巨自噬之间有着共有的分子机制和调控机制,二者之间有着密切的关系。正常发育和多种疾病模型的研究证明协调的外泌体-巨自噬应答可通过溶酶体降解或细胞货物释放来维持体内平衡^[4-5]。为阐明自噬内涵体作为重要的细胞器是如何连接外泌体和巨自噬,我们首先对外泌体生物发生和巨自噬的经典观点进行阐述,并探索巨自噬和巨自噬相关蛋白的非常规作用,以及在此过程中某些巨自噬蛋白在外泌体

生物发生所起的作用。

1 外泌体

外泌体是来源于内吞途径的纳米级胞外囊泡。内吞作用是细胞通过质膜内陷使细胞质、大分子、膜和受体内化的过程,在膜断裂后成为细胞内囊泡。初级内吞囊泡与早期内体融合,启动“货物”分选。早期内体成熟为晚期内体,并最终与溶酶体融合^[6]。在成熟期间,一些内体会产生许多以管腔内囊泡(intraluminal vesicles, ILVs)为特征的中间细胞器,被称为多泡体(multivesicular bodies, MVBs)。MVBs与质膜融合释放ILVs至细胞外空间,从而产生外泌体^[7](图1)。外泌体是细胞释放到外界的胞外囊泡(extracellular vesicles, EVs)中的其中一类。EVs还包括较大的囊泡,如微囊泡和凋亡小体,以及源自质膜的较小的囊泡,如核外颗粒体。本文所述外泌体的直径在50~130nm,通常富含与内体起源相关分子标记的EVs^[8]。

1.1 外泌体的发生和装载

研究指出,内体分选复合物(endosome sorting complexes required for transport, ESCRT)及其辅助蛋白在ILVs的形成和外泌体生物发生过程中起重要作用^[9]。因此,基因沉默ESCRT复合物的单个组分则导致外泌体大小、数量和蛋白质组成发生改变^[10]。此外还有研究指出神经酰胺在MVB膜出芽以及以ESCRT

收稿日期:2018-11-13 修回日期:2018-12-17

* 国家863计划(2011AA02A110)资助项目

**通讯作者,电子信箱:zhuyf2004@163.com

非依赖性方式的外泌体生物发生过程中发挥重要的作用^[11]。

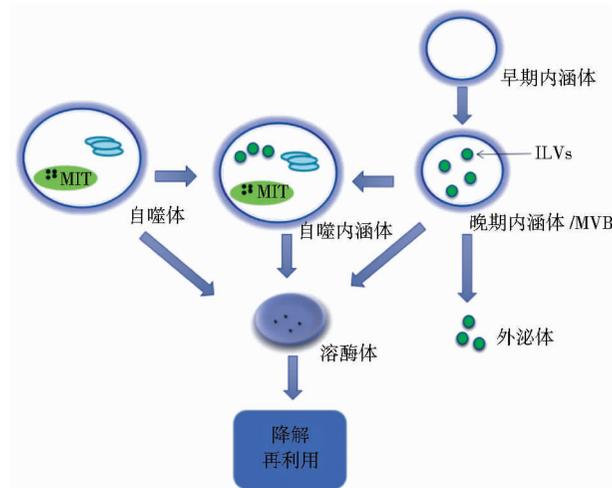


图 1 外泌体和自噬体相互关系简图^[12]

Fig. 1 The relationship between exosome and autophagosome

外泌体中含有膜相关蛋白和可溶性蛋白、DNA、mRNA 及小 RNA (如 miRNA) 等^[7]。虽然大多数外泌体装载是非选择性的,但由于细胞类型和刺激物不同,也会存在选择性装载^[13]。例如,寡核苷酸可以通过与 MVB 中的 RNA 结合蛋白或脂筏结合进入外泌体^[14],其中富含四跨膜蛋白的膜微结构参与了外泌体蛋白质和寡核苷酸的招募^[15]。泛素也在外泌体蛋白的选择性装载中发挥作用^[16]。此外,哺乳动物中外泌体装载存在另一机制,即利用 HSC70 与 MVB 膜的静电结合,促进具有 KFERQ 基序的蛋白质装载^[17]。外泌体组成和功能的异质性提示外泌体装载还存在其他机制,其作用仍需进一步研究证明^[13]。

1.2 外泌体的靶向和摄取

MVB 与质膜融合时,外泌体被释放至胞外空间。外泌体可被母细胞本身以分泌,或者其它细胞以旁分泌或者内分泌的方式内化。但外泌体释放和摄取的决定因素尚不完全清楚。Edgar 等^[18]的研究指出,束缚蛋白能将外泌体附着于分泌细胞的表面并影响外泌体信号传导的范围。哺乳动物中,表面整合蛋白促进外泌体附着和摄入预期的受体细胞中^[19]。相反,外泌体膜上含有 CD47“不要吃我”信号,可以保护它们不被吞噬细胞清除,并提高其在循环中的稳定性^[20]。此外,外泌体的摄取可以通过各种途径进行,其中包括膜受体介导的内吞作用、吞噬作用和巨胞饮作用等^[21-22]。有

趣的是,研究发现丝状伪足可以作为外泌体内化的热点部位,使这些细胞突起的动态构建与解构的过程中内吞作用增强^[23]。提示我们,外泌体可以利用其他小细胞外实体如病毒颗粒的进入途径等被细胞摄入。

2 自噬

自噬是几乎所有真核生物中普遍存在的过程,细胞质和蛋白质以及细胞器被双层膜包绕成囊泡,称为自噬体。自噬体可与溶酶体融合进行降解。自噬可以去除蛋白质、错误折叠的蛋白质以及损伤的细胞器,通过溶酶体降解回收再利用氨基酸、脂质和糖,尤其是在饥饿等应激条件下,维持细胞存活^[24]。自噬可以分为 3 种,即巨自噬、微自噬和分子伴侣介导的自噬。微自噬通过溶酶体的向内出芽促进蛋白质的溶酶体降解,而分子伴侣介导的自噬转运将蛋白质直接穿过溶酶体膜进行降解^[25]。

2.1 自噬机制与调控

自噬所需的基因,称为自噬相关 (autophagy associated gene, ATG) 基因,最初在酵母中发现^[26]。在真核生物中,目前已发现超过 30 种具有保守的同源物 ATG 基因,饥饿、活性氧 (ROS) 和缺氧均会诱导自噬,并且自噬过程受各种信号通路调控。营养物质是最常见的自噬调节剂,其可通过雷帕霉素 (mechanistic target of rapamycin, mTOR) 靶向机制进行调控。营养物质和生长因子丰富时, mTOR 复合物 1 (mTORC1) 能够使自噬起始激酶 ULK1 磷酸化并使其失活,从而抑制自噬。相反,营养物质缺乏使 mTORC1 失活诱导自噬^[27]。诱导自噬后, ATG1 和 ULK1 复合物启动早期自噬体膜集结,并招募 ATG6 (哺乳动物中的 Beclin1), 其中 ATG6 能够合成磷脂酰肌醇 3-磷酸 (phosphatidylinositol 3-phosphate, PI3P) 以促进吞噬细胞扩增^[28]。此外,由 ATG5-ATG12 和 ATG7-ATG3 复合物组成的两个泛素复合体能够使 ATG8 (microtubule associated protein 1 light chain 3B, LC3B) 与自噬体膜上的磷脂酰乙醇胺共价连接^[29]。当成形的自噬体与溶酶体融合时完成自噬,其中货物被酸和酶降解循环再利用 (图 1)。

2.2 自噬的非典型功能

自噬除降解功能外,还参与细胞质蛋白分泌。这种方式不同于从 ER 到高尔基体的常规分泌途径,而是需要信号肽序列的质膜参与,该现象已引起研究者的广泛关注。例如,研究认为 LC3B 可以从细胞质中隔离白介素 1 β (IL-1 β), 之后与质膜融合释放 IL-1 β ^[30]。此

外,还有研究证明自噬可以促进常规分泌以及膜蛋白向质膜的运动^[31],提示我们自噬在细胞过程中的多功能性和在细胞间通信中的潜在作用。

由于 LC3B 存在于自噬体膜上,所以长期以来研究者将 LC3B 作为自噬的标志物。在 LC3 相关吞噬作用 (LC3-associated phagocytosis, LAP) 过程中,LC3B 脂质化被招募用以形成单膜吞噬体和巨噬体等单膜自噬体^[32-33]。其中,ATG5-ATG12-ATG16L1 复合物在 LC3B 靶向吞噬体膜中起着重要的作用^[34]。此外 LAP 通常被称为非典型自噬^[35],通过介导与溶酶体的融合来加速自噬体内容物降解。而且 Jacquin 等^[36]新近研究发现,即使抑制溶酶体,在单膜内体中依然发生 LC3B 脂质化,提示我们 LAP 可能具有降解功能以外的作用。

3 外泌体生物发生与自噬之间的交互通信

除了我们已知的自噬和内吞作用之间相互作用外,新的研究证据还表明,自噬体与外泌体生物发生之间通过共享的分子或细胞器存在其他直接联系,这对机体的正常生理和病理具有重要意义^[37]。此外,自噬体和外泌体生物发生之间的交互通信在很大程度上取决于机体所处的环境。它们在清除不需要的蛋白质方面发挥作用,而且可以相互弥补对方缺陷。

3.1 外泌体生物发生过程中的自噬相关蛋白

近年来,越来越多的研究指出,自噬相关分子参与外泌体的生物发生过程而非自噬过程^[38-39]。

首先,Guo 等^[38]研究的指出,ATG5 和 ATG16L1 在外泌体生物发生中发挥着关键的非自噬功能。ATG5 介导液泡质子泵 (V_1V_0 -ATPase) 与 MVB 的解离,阻止 MVB 内腔酸化并使 MVB-PM 融合和外泌体释放。因此敲除 ATG5 或 ATG16L1 能够显著减少外泌体的释放,以及减弱脂质化 LC3B 的募集。另外,用溶酶体或 V-ATP 酶抑制剂处理可以恢复 ATG5 敲除后的外泌体释放,这进一步的证明了内腔 pH 在控制 MVB 最终是经过溶酶体降解还是与质膜融合中的关键作用。值得一提的是,ATG7 敲除并不影响外泌体的释放,这表明该过程并不需要形成自噬体或者 LC3B 脂质化。因此该研究指出自噬相关蛋白直接调控 MVB 的“命运”以及后来外泌体生物发生机制。虽然 LC3B 在外泌体中的生物学功能仍不清楚,但是如 Guo 等^[38]的研究所说,LC3B 能够定位在 ILV 的内腔侧,这表明在 MVB 膜或者膜内陷成 ILV 的过程中发生过 LC3 相关吞噬作用。此外,含有 LC3B 的外泌体的释放也证明了 LAP 的非

降解功能。

其次,ATG12-ATG3 复合物通过与 ALG-2 相互作用蛋白 X (ALIX,也称为 PDCD6IP) 相互作用来调节外泌体生物发生,值得一提的是,ALIX 蛋白是外泌体生物发生过程中至关重要的 ESCRT 相关蛋白^[39]。研究指出,ATG12-ATG3 的缺失能够改变 MVB 形态,阻碍晚期内体运输并减少外泌体的生物发生。ALIX 敲低后本底自噬水平下降,这表明自噬和外泌体生物发生之间存在相互调节的关系。更重要的是,ALIX 缺失或 ATG12-ATG3 复合物的解体,并不影响饥饿诱导的自噬水平,提示我们本底水平自噬、应激诱导的自噬以及自噬与这些内体之间的相互作用存在不同的调节机制^[39]。两种过程对各种细胞应激产生应答,使二者之间存在着多重的交互通信。

再次,Class III PI3K 复合物也是自噬和内吞作用所必需的,能够通过磷酸化磷脂酰肌醇产生 PI3P 来调节膜运输。VPS34 (也称为 PIK3C3)、Beclin1 和 p150 (也称为 PIK3R4) 构成内吞作用和自噬过程共用 PI3K 复合物,能够与不同的调节蛋白结合决定复合物的功能。PI3K 复合物与 RUN 结构域和富含半胱氨酸的结构域的蛋白质 Rubicon 结合,可以抑制自噬和内吞作用,这也是 LC3 相关的吞噬作用 (LAP) 所必需的^[40]。此外,siRNA 敲低或 Spautin-1 处理抑制 Beclin-1 能够破坏 PI3K 复合物的稳定性,从而降低慢性粒细胞白血病 (CML) 细胞外泌体释放和自噬水平^[41]。鉴于 PI3K 复合物在胞吞作用和自噬中的作用,其各组分对外泌体生物发生的影响还需要进一步研究。

最后,Bader 等^[42]在研究中发现 ATG9 参与了果蝇中 ILV 的形成。在基础情况下,ATG9 缺失降低本底自噬水平以及自噬内涵体和自噬溶酶体中 ILV 的数量,但是这种情况下 ILV 是否进行外泌体释放尚未可知。

3.2 自噬内涵体——降解和新型分泌细胞器

过去的研究中自噬内涵体被定义为细胞中降解的小室。早期自噬体与 MVB 融合形成被称为自噬内涵体的杂交细胞器,随后与溶酶体结合进行内容物降解^[43] (图 1)。已有研究发现,以自噬内涵体的形式进行的自噬和外泌体的释放之间是相互拮抗的关系。在白血病细胞系 K562 中,饥饿或雷帕霉素诱导的自噬,自噬体-MVB 融合增加,同时外泌体的释放减少,这可能是由于细胞试图将 MVB 再循环用于能量提供^[44]。未能释放外泌体也可导致 MVB 进行自噬降解。例如,在哺乳动物细胞系和小鼠模型中,泛素化蛋白 ISG15

(称为 ISGylation 泛素化)的结合促进蛋白质聚集和降解,同时 MVB 数量和外泌体释放减少^[45]。相反,使用巴弗洛霉素抑制自噬能够阻止内体-溶酶体融合,恢复外泌体的释放,这表明,自噬参与了 MVB 的溶酶体降解^[45]。此外,Hurwitz 等^[46]的报道也证明 CD63 敲除促进异常内吞空泡的自噬清除,其中抑制自噬能够恢复 CD63 空载细胞中外泌体的生物发生。综上,在不同背景下 MVB 的自噬降解的具有普遍性。

另外,自噬内涵体还具有非降解功能。小鼠肠杯状细胞中 LC3B 能与内体标志物 EEA1、RAB7 和 RAB11 在类似自噬内涵体细胞器上共定位。这对调节黏蛋白颗粒分泌的活性氧(ROS)产生至关重要^[47]。Chen 等^[48]的研究也证明了肺上皮细胞中自噬内涵体起分泌作用的可能性。研究指出,干扰素- γ (IFN- γ)诱导的自噬依赖性膜联蛋白 A2(ANXA2)的外泌体分泌,这一过程可能通过自噬内涵体发生。IFN- γ 处理诱导 LC3B、CD63 和 ANXA2 在自噬内涵体上共定位。这种共定位以及之后的外泌体释放都依赖于 ATG5、RAB11 和 RAB27A,提示我们自噬体、MVB 的形成以及质膜与质膜的融合对该过程至关重要^[48]。然而,我们必须将自噬依赖性非常规分泌与外泌体分泌区分开。例如,虽然功能性 MVB 是自噬依赖性 IL-1 β 分泌所必需的^[32],但是,在该分泌过程中自噬体-溶酶体融合并不一定存在,这表明含有 LC3B 的 IL-1 β 载体囊泡可以直接与质膜融合,对 MVB 功能的依赖可能是由于自噬和内吞作用之间存在大量交互通信^[37]。奇怪的是,IFN- γ 诱导的 ANXA2 的外泌体分泌需要 RAB8A,该分子是自噬依赖性 IL-1 β 分泌的调控因子^[48]。这些结果表明自噬介导的非常规分泌与外泌体释放之间可能存在交叉重叠,这些过程之间可能存在的联系仍需进一步的深入研究。

3.3 外泌体与自噬体的交互通信及病毒的免疫逃逸

病毒性感染的研究为自噬和外泌体产生之间的相互作用开辟了新领域。目前已知病毒能够拦截外泌体途径以逃避宿主免疫系统并增加感染性。而且越来越多的证据表明病毒也可利用自噬-外泌体交互通信来促进其复制和释放。其中丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)是研究自噬和外泌体生物发生之间联系的特定病毒模型。Bukong 等^[49]和 Liu 等^[50]的研究指出,HCV 感染导致自噬的上调以及含病毒的外泌体的释放。敲低 Beclin1 或 ATG7 能够降低细胞外泌体相关 HCV 的水平^[51],表明自噬核心分子参与了 HCV 颗粒

包装进外泌体的过程。实际上自噬体-溶酶体融合的增加能够减少 HCV 颗粒的释放,这表明一部分 HCV 颗粒或其复制机制可能存在于自噬体内^[52]。令人惊讶的是,HCV 感染分别在不同时间点调节自噬,如在 HCV 感染的早期阶段,自噬体-溶酶体融合的负调节因子 Rubicon 上调进一步抑制自噬,提示 HCV 可能利用自噬体的累积进行复制,在感染后期诱导 UVRAG 表达^[53]。鉴于 UVRAG 在增强内体转运和内体成熟中的作用,其在 HCV 感染中的延迟诱导表明,内体运输发生改变以促进病毒通过外泌体逃逸。HCV 颗粒从细胞排出的途径有望为感染条件下自噬和内吞途径之间的关联研究提供证据。

4 结论与展望

外泌体的生物发生和自噬对维持细胞稳态和缓解细胞应激起着至关重要的作用,而且越来越多的证据表明这些细胞反应是通过自噬和外泌体之间的交互通信完成的。分子水平上,在外泌体生物发生过程中自噬相关蛋白和蛋白质复合物发挥一定作用。细胞器水平上,外泌体和自噬途径在自噬内涵体相互交叉,其内含物具有多种“命运”,包括细胞外释放或溶酶体降解。外泌体的生物发生和自噬之间相互作用的动态性和环境依赖性对正常生理和病理都具有十分重要的意义。因此如能够更清晰的了解其调控机制和复杂性,可对临床治疗提供支持。

目前,仍然存在外泌体-自噬交互通信和囊泡运输中各种媒介物的同一性和异质性的问题。例如,尚不清楚是否存在特定的与质膜、溶酶体或自噬体融合的 MVB 单独群体,如果不存在,是否存在决定 MVB“命运”的特定信号通路。同时,不清楚是否存在优先与 MVB 融合或直接与溶酶体融合的自噬体亚群,或者分泌和降解自噬体是如何被分别调控的。而且,随着研究技术和方法的进步,各种类型的 EVs(其中包括外泌体)将被重新理解和定义。新的研究有可能阐明外泌体-自噬相互作用和囊泡运输的复杂模式。

参考文献

- [1] Pan B T, Johnstone R M. Fate of the transferrin receptor during maturation of sheep reticulocytes *in vitro*: selective externalization of the receptor. *Cell*, 1983, 33(3):967-978.
- [2] Claude-Taupin A, Jia J, Mudd M, et al. Autophagy's secret life: secretion instead of degradation. *Essays Biochem*, 2017, 61(6):

- 637-647.
- [3] Cadwell K, Debnath J. Beyond self-eating: the control of nonautophagic functions and signaling pathways by autophagy-related proteins. *J Cell Biol*, 2018, 217(3):813-822.
- [4] Baixauli F, López-Otin C, Mittelbrunn M. Exosomes and autophagy: coordinated mechanisms for the maintenance of cellular fitness. *Front Immunol*, 2014, 5:403.
- [5] Ojha C R, Lapierre J, Rodriguez M, et al. Interplay between autophagy, exosomes and HIV-1 associated neurological disorders: new insights for diagnosis and therapeutic applications. *Viruses*, 2017, 9(7):176.
- [6] Scott C C, Vacca F, Gruenberg J. Endosome maturation, transport and functions. *Semin Cell Dev Biol*, 2014, 31:2-10.
- [7] Hessvik N P, Llorente A. Current knowledge on exosome biogenesis and release. *Cell Mol Life Sci*, 2018, 75(2):193-208.
- [8] Yáñez-Mó M, Siljander P R, Andreu Z, et al. Biological properties of extracellular vesicles and their physiological functions. *J Extracell Vesicles*, 2015, 4(1):27066.
- [9] Hurley J H. ESCRTs are everywhere. *EMBO J*, 2015, 34(19):2398-2407.
- [10] Colombo M, Moita C, van Niel G, et al. Analysis of ESCRT functions in exosome biogenesis, composition and secretion highlights the heterogeneity of extracellular vesicles. *J Cell Sci*, 2013, 126(Pt 24):5553-5565.
- [11] Trajkovic K, Hsu C, Chiantia S, et al. Ceramide triggers budding of exosome vesicles into multivesicular endosomes. *Science*, 2008, 319(5867):1244-1247.
- [12] Xu J, Camfield R, Gorski S M. The interplay between exosomes and autophagy - partners in crime. *J Cell Sci*, 2018, 131(15):215210.
- [13] Villarroya-Beltri C, Baixauli F, Gutiérrez-Vázquez C, et al. Sorting it out: regulation of exosome loading. *Semin Cancer Biol*, 2014, 28:3-13.
- [14] Janas T, Janas M, Sapon K, et al. Mechanisms of RNA loading into exosomes. *FEBS Lett*, 2015, 89(13):1391-1398.
- [15] Andreu Z, Yáñez-Mó M. Tetraspanins in extracellular vesicle formation and function. *Front Immunol*, 2014, 5:442.
- [16] Smith V L, Jackson L, Schorey J S. Ubiquitination as a mechanism to transport soluble mycobacterial and eukaryotic proteins to exosomes. *J Immunol*, 2015, 195(6):2722-2730.
- [17] Sahu R, Kaushik S, Clement C C, et al. Microautophagy of cytosolic proteins by late endosomes. *Dev Cell*, 2011, 20(1):131-139.
- [18] Edgar J R, Manna P T, Nishimura S, et al. Tetherin is an exosomal tether. *eLife*, 2016, 5:e17180.
- [19] Hoshino A, Costa-Silva B, Shen T L, et al. Tumour exosome integrins determine organotropic metastasis. *Nature*, 2015, 527(7578):329-335.
- [20] Kamekar S, Lebleu V S, Sugimoto H, et al. Exosomes facilitate therapeutic targeting of oncogenic KRAS in pancreatic cancer. *Nature*, 2017, 546(7659):498-503.
- [21] Christianson H C, Svensson K J, Van Kuppevelt T H, et al. Cancer cell exosomes depend on cell-surface heparan sulfate proteoglycans for their internalization and functional activity. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110(43):17380-17385.
- [22] Mulcahy L A, Pink R C, Carter D R. Routes and mechanisms of extracellular vesicle uptake. *J Extracell Vesicles*, 2014, 3(1):24641.
- [23] Heusermann W, Hean J, Trojer D, et al. Exosomes surf on filopodia to enter cells at endocytic hot spots, traffic within endosomes, and are targeted to the ER. *J Cell Biol*, 2016, 213(2):173-184.
- [24] Klionsky D J, Emr S D. Autophagy as a regulated pathway of cellular degradation. *Science*, 2000, 290(5497):1717-1721.
- [25] Galluzzi L, Baehrecke E H, Ballabio A, et al. Molecular definitions of autophagy and related processes. *EMBO J*, 2017, 36(13):1811-1836.
- [26] Tsukada M, Ohsumi Y. Isolation and characterization of autophagy-defective mutants of *Saccharomyces cerevisiae*. *FEBS Lett*, 1993, 333(1-2):169-174.
- [27] Park J M, Jung C H, Seo M, et al. The ULK1 complex mediates MTORC1 signaling to the autophagy initiation machinery via binding and phosphorylating ATG14. *Autophagy*, 2016, 12(3):547-564.
- [28] Matsuura A, Tsukada M, Wada Y, et al. Apg1p, a novel protein kinase required for the autophagic process in *Saccharomyces cerevisiae*. *Gene*, 1997, 192(2):245-250.
- [29] Ichimura Y, Kirisako T, Takao T, et al. A ubiquitin-like system mediates protein lipidation. *Nature*, 2000, 408(6811):488-492.
- [30] Zhang M, Kenny S J, Ge L, et al. Translocation of interleukin-1 β into a vesicle intermediate in autophagy-mediated secretion. *eLife*, 2015, 4:1463.
- [31] Deretic V, Jiang S, Dupont N. Autophagy intersections with conventional and unconventional secretion in tissue development, remodeling and inflammation. *Trends Cell Biol*, 2012, 22(8):397-406.
- [32] Florey O, Kim S E, Sandoval C P, et al. Autophagy machinery mediates macroendocytic processing and entotic cell death by targeting single membranes. *Nat Cell Biol*, 2011, 13(11):1335-1343.
- [33] Martinez J, Almendinger J, Oberst A, et al. Microtubule-associated protein 1 light chain 3 α (LC3)-associated phagocytosis is required for the efficient clearance of dead cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108(42):17396-17401.
- [34] Fletcher K, Ulferts R, Jacquin E, et al. The WD40 domain of ATG16L1 is required for its non-canonical role in lipidation of LC3 at single membranes. *EMBO J*, 2018, 37(4):e97840.
- [35] Codogno P, Mehrpour M, Proikas-Cezanne T. Canonical and non-canonical autophagy: variations on a common theme of self-

- eating. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2011, 13(1):7-12.
- [36] Jacquin E, Leclerc-Mercier S, Judon C, et al. Pharmacological modulators of autophagy activate a parallel noncanonical pathway driving unconventional LC3 lipidation. *Autophagy*, 2017, 13(5):854-867.
- [37] Tooze S A, Abada A, Elazar Z. Endocytosis and autophagy: exploitation or cooperation. *Cold Spring Harbor Perspect Biol*, 2014, 6(5):a018358.
- [38] Guo H, Chitiprolu M, Roncevic L, et al. Atg5 disassociates the V₁ V₀-ATPase to promote exosome production and tumor metastasis independent of canonical macroautophagy. *Dev Cell*, 2017, 43(6):716-730.
- [39] Murrow L, Malhotra R, Debnath J. ATG12-ATG3 interacts with Alix to promote basal autophagic flux and late endosome function. *Nat Cell Biol*, 2015, 17(3):300-310.
- [40] Martinez J, Malireddi R K, Lu Q, et al. Molecular characterization of LC3-associated phagocytosis reveals distinct roles for Rubicon, NOX2 and autophagy proteins. *Nat Cell Biol*, 2015, 17(7):893-906.
- [41] Liu J, Zhang Y, Liu A, et al. Distinct dasatinib-induced mechanisms of apoptotic response and exosome release in imatinib-resistant human chronic myeloid leukemia cells. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(4):531.
- [42] Bader CA, Shandala T, Ng Y S, et al. Atg9 is required for intraluminal vesicles in amphisomes and autolysosomes. *Biol Open*, 2015, 4(11):1345-1355.
- [43] Liou W, Geuze H J, Geelen M J, et al. The autophagic and endocytic pathways converge at the nascent autophagic vacuoles. *J Cell Biol*, 1997, 136(1):61-70.
- [44] Fade C M, Sánchez D, Furlán M, et al. Induction of autophagy promotes fusion of multivesicular bodies with autophagic vacuoles in k562 cells. *Traffic*, 2008, 9(2):230-250.
- [45] Villarroya-Beltri C, Baixauli F, Mittelbrunn M, et al. ISGylation controls exosome secretion by promoting lysosomal degradation of MVB proteins. *Nat Commun*, 2016, 7:13588.
- [46] Hurwitz S N, Cheerathodi M R, Nkosi D, et al. Tetraspanin CD63 bridges autophagic and endosomal processes to regulate exosomal secretion and intracellular signaling of Epstein-Barr virus LMP1. *J Virol*, 2018, 92(5):e01969-17.
- [47] Patel K K, Miyoshi H, Beatty W L, et al. Autophagy proteins control goblet cell function by potentiating reactive oxygen species production. *EMBO J*, 2013, 32(4):3130-3144.
- [48] Chen Y D, Fang Y T, Cheng Y L, et al. Exophagy of annexin A2 via RAB11, RAB8A and RAB27A in IFN- γ -stimulated lung epithelial cells. *Sci Rep*, 2017, 7(1):5676.
- [49] Bukong T N, Momen-Heravi F, Kodys K, et al. Exosomes from hepatitis C infected patients transmit HCV infection and contain replication competent viral RNA in complex with Ago2-miR122-HSP90. *PLoS Pathog*, 2014, 10(10):e1004424.
- [50] Liu Z, Zhang X, Yu Q, et al. Exosome-associated hepatitis C virus in cell cultures and patient plasma. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, 455(3-4):218-222.
- [51] Shrivastava S, Devhare P, Sujjantararat N, et al. Knockdown of autophagy inhibits infectious hepatitis C virus release by the exosomal pathway. *J Virol*, 2015, 90(3):1387-1396.
- [52] Ren H, Elgner F, Jiang B, et al. The autophagosomal SNARE protein syntaxin 17 is an essential factor for the hepatitis C virus life cycle. *J Virol*, 2016, 90(13):5989-6000.
- [53] Wang L, Tian Y, Ou J J, et al. HCV induces the expression of Rubicon and UVRAG to temporally regulate the maturation of autophagosomes and viral replication. *PLoS Pathog*, 2015, 11(3):e1004764.

Research Progress of Relationship between Exosomes and Autophagosomes

LIU Yan^{1,2} DAI Peng² ZHU Yun-feng^{1,3}

(1 College of Life Sciences and Bioengineering, Beijing Jiaotong University, Beijing 100044, China)

(2 Henan Province OriginBio Biotechnology Co. Ltd., Zhengzhou 450000, China)

(3 The Key Laboratory of Tumor Center in PLA General Hospital, Beijing 100853, China)

Abstract The eukaryotic intima system consists of intercellular membranous organelles, including the formation of exosomes and autophagy, which play an important role in stress response and maintenance of cell homeostasis. Exosomes are extracellular vesicles secreted into the body by multivesicular bodies containing contents of proteins and nuclear acids, while autophagy is a process of lysosomal-dependent degradation and recycling. There is a common molecular mechanism between the formation of exosomes and autophagy, and substantial interaction between them were founded. The formation of exosomes and the process of autophagy was reviewed, including the relationship between the two and lysosomes.

Key words Autophagy Exosomes Lysosomes Extracellular vesicles