



皮肤光老化发生发展的自噬机制

赵婧琪¹, 张小卿¹, 吴景东²

(1. 辽宁中医药大学, 辽宁 沈阳 110847; 2. 辽宁中医药大学附属第二医院, 辽宁 沈阳 110034)

摘要:随着社会的发展,人们对皮肤健康日益重视,皮肤光老化不仅会影响美观,还与临床中许多皮肤病的发生发展都有密切关联,因此,皮肤光老化的防治近些年被人们广为关注。虽然在对抗紫外线引发的光老化方面已经取得了很大进展,但自噬在抵抗光老化中的作用仍有待阐明。自噬在紫外线诱导的 DNA 损伤修复、氧化脂质清除等方面起着关键作用。自噬被认为是防止光老化和皮肤癌的新途径。文章阐释光老化和自噬的机制,以及光老化和自噬之间的相互作用。

关键词:皮肤;光老化;自噬;脱氧核糖核酸损伤;氧化应激;AMPK;P53;皮肤癌

中图分类号:R751

文献标志码:A

文章编号:1671-7813(2023)12-0078-03

Autophagy Mechanism of Skin Photoaging

ZHAO Jingqi¹, ZHANG Xiaoqing¹, WU Jingdong²

(1. Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110847, Liaoning, China;

2. The Second Affiliated Hospital of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110034, Liaoning, China)

Abstract: With the development of society, people pay more and more attention to skin health. Skin photoaging not only affects the appearance, but also is closely related to the occurrence and development of many clinical skin diseases. Therefore, the prevention and treatment of skin photoaging has been widely used in recent years. Although great progress has been made in combating UV-induced photoaging, the role of autophagy in combating photoaging remains to be elucidated. Autophagy plays a key role in UV-induced DNA damage repair and scavenging of oxidized lipids. Therefore, autophagy may be considered as a new pathway to protect against photoaging and skin cancer. This article elucidated the mechanisms of photoaging and autophagy and the interplay between photoaging and autophagy.

Keywords: skin; photoaging; autophagy; DNA damage; oxidative stress; AMPK; P53; skin cancer

皮肤是覆盖身体整个表面的复杂器官。老化皮肤的特征是出现皱纹、松弛和色素沉着。这些变化是在内在和外在因素的影响下发生的,其中外在因素以日光老化为主。光老化的防治成为近些年研究的热点,有研究表明自噬参与光老化的进程。自噬是真核生物中存在的一种高度保守的细胞分解代谢过程,在饥饿、氧化应激等条件下,可消除多余、衰老、受损的细胞器、病理性蛋白质聚集体,或循环利用细胞质中的内容物以促进细胞存活^[1]。

1 皮肤光老化的发生机制

中波紫外线直接破坏 DNA 形成光产物,其中以环嘧啶二聚体(CPDs 最为常见)^[2],破坏脱氧核糖核酸(DNA)双链结构,并且 CPDs 是 UVB 导致 DNA 突变以及随后发生光老化的主要原因^[3]。

紫外线照射使表皮层内的角质形成细胞和真皮层内的成纤维细胞释放白细胞介素-1(IL-1)、白细胞介素-6(IL-6)

6)、肿瘤坏死因子(TNF- α)等炎症因子,激活丝裂原活化蛋白激酶信号(MAPK),引起 JNK、P38、ERK3 条信号通路活化,诱导 C-Jun、C-Fos 蛋白的表达,C-Jun、C-Fos 水平依次升高激活转录因子 AP-1、AP-1 和 MMPs 启动因子结合,上调基质金属蛋白酶(MMPs)的表达,促进细胞外基质(ECM)降解^[4]。

同时还可抑制 TGF- β /Smad 信号通路,减少 I 型前胶原蛋白合成,促进皱纹的形成。TGF- β 能诱导细胞形成多种细胞外基质(ECM)蛋白,包括胶原蛋白、层连蛋白和纤连蛋白等;同时它还可以抑制基质降解酶类的活性,在伤口愈合、纤维化、胚胎形成和肿瘤发生中起着重要的作用。TGF- β 与其 II 型受体结合,并磷酸化下游的 Smad2。激活的 Smad 2 和 Smad 3 再与 Smad 4 结合并进入细胞核内,直接或间接地调节目的基因的表达。TGF- β 受体阻断剂能够通过抑制 Smad 2 和 Smad 3 的磷酸化,并抑制 TGF- β 与其受体形成复合物以及抑制该复合物进入细胞核,从而抑制 I 型胶原蛋白或者其他基因的表达^[5]。正常情况下,NF- κ B 二聚体与 NF- κ B 抑制蛋白形成三聚体,以未活化的状态存在于细胞质,紫外线照射使 I κ B 激酶 IKK 被激活,活化的 IKK 诱导 IKK 磷酸化进而使 NF- κ B 转移到细胞核,与 MMPs 启动子的 NF- κ B 位点结合

基金项目:辽宁省自然科学基金项目(201602497)

作者简介:赵婧琪(1997-),女,辽宁大连人,硕士在读,研究方向:中西医结合临床美容。

通讯作者:吴景东(1962-),男,黑龙江哈尔滨人,教授,博士,研究方向:中西医结合临床美容。E-mail:lnzywd0719@163.com。



从而 MMP-1、MMP-3 上调,进一步降解胶原蛋白。

此外,紫外线照射还会使细胞产生大量活性氧(ROS)包括过氧化氢(H_2O_2)、超氧化物(O_2^-)、羟基团($\cdot OH$)、单线态氧(O_2)、一氧化氮(NO)等,正常情况下线粒体产生少量活性氧,维持细胞内动态平衡,过量的紫外线照射使 ROS 堆积,Nrf2 从 Keap1 结合位点脱落,调控氧化应激的关键转录因子核转录因子 E2 相关因子 2(nuclear factor E2-related factor 2,Nrf2)的水平下降,Keap1 蛋白(细胞质中抑制 Nrf2 的蛋白)明显升高,信号通路 Nrf2/ARE 信号通路被抑制,引起机体氧化抗氧化系统失衡,ROS 的蓄积诱导细胞因子白介素-1 β (IL-1 β)、IL-6、白介素-8(IL-8)、TNF- α 的表达,进一步加重光老化^[6]。

也有研究表明,紫外线照射可以加速细胞端粒缩短。端粒位于真核生物染色体末端,是 DNA 的特定序列、相关蛋白结合形成的 DNA 蛋白复合物,端粒通过长度的改变影响细胞的增殖与分化能力,当端粒长度缩短到 Hayflick 界限时,细胞进入老化阶段。皮肤光老化是细胞在紫外线照射下细胞微环境发生改变,最终导致 DNA 损伤,加速端粒长度缩短,从而出现细胞提前老化^[7]。

2 细胞自噬的发生机制

自噬作用有多种类型的运作形式:巨自噬、分子伴侣介导的自噬(CMA)和微自噬^[8]。巨自噬是最常见的自噬形式,本综述所提及的自噬为巨自噬。巨自噬将双膜泡内的细胞质输送到溶酶体,其步骤包括隔离膜的形成和伸展,隔离膜也被称为噬菌体。然后囊泡的边缘融合形成自噬小体(一种隔离细胞质物质的双层膜结构)。随后,自噬小体与溶酶体融合,形成自噬溶酶体,在水解酶的作用下内容物被降解成脂肪酸、氨基酸、核酸等生物小分子实现物质的循环利用。自噬作用主要降解细胞质的长寿命蛋白和一些细胞器的降解,有助于细胞内组分和细胞器的正常更新。

正常生理状态下,细胞保持低的基础自噬水平,当细胞在营养和能量缺乏、应激状态等情况下,自噬水平会迅速被诱导上调。mTOR 是控制细胞自噬的中心蛋白,能整合细胞内氨基酸缺乏、缺氧等多种信号的变化,调控自噬的发生。正常情况下,mTOR 处于活化状态,通过磷酸化自噬起始分子 ULK1(酵母中 Atg1 的同源物),抑制自噬的发生。在饥饿、缺氧、紫外线照射等应激情况下,腺苷酸活化激酶(AMPK)就会结合并磷酸化 ULK1 诱导自噬的发生,而后 AMPK 通过磷酸化 Beclin1 复合物(由 Beclin1、Vps34、Vps 等组成)诱导自噬体成核。Vps34 磷酸化磷脂酰肌醇(PI)产生磷脂酰肌醇-3-磷酸(P13P)对自噬泡的招募和延伸具有重要作用。自噬体膜的形成过程中有两个类泛素化修饰过程:ATG12 耦合系统和微管相关蛋白轻链 3/ATG8 脂联系统,这 2 套系统均需要同一个泛素激活酶 E1(ubiquitin-activating enzyme,E1)ATG7 的参与^[9]。Atg4 对 LC3 切割产生 LC3 I,LC3 I 在 Atg7、Atg3 的介导下和 Atg12/Atg5/Atg16 复合物与 PE 复合物形成 LC3-磷脂酰乙醇胺复合物,也被称为 LC3-II,是目前最广泛使用的自噬标志物^[10]LC3-II 附着在自噬体膜上促进膜的延伸。因此,可以通过生物化学(通过评估 Atg8-PE 或 LC3-II 的产生)或显微镜(通过观察荧光标记的 Atg8 或 LC3 的定位模式)来检测自噬。

3 皮肤光老化与自噬

3.1 紫外线诱导的 DNA 损伤反应对自噬的调节

紫外线照射可直接激活 AMPK、UVRAG 和 p53,从而激活自噬。经紫外线激活后,p53 诱导自噬激活剂 AMPK、TSC2、

Sestrin 1 和 Sestrin 2 的转录。Sestrin 1 和 2 与 AMPK、TSC1 和 TSC2 相互作用,抑制基因毒性应激反应中的 mTOR 信号传导。

3.2 自噬对紫外线诱导的 DNA 损伤反应的调节

基因毒性应激是自噬的触发因素,紫外线诱导的 DNA 损伤的修复受自噬调节。敲除关键的自噬基因 AMPK、Atg5、Atg7、Atg12 和 Atg14 会削弱 UVB 诱导的 DNA 损伤的修复^[11-12]。敲除必需自噬基因 Atg5 后,通过 Twist1 依赖机制降低 UVB 辐射后的 XPC 转录。自噬缺陷导致 Twist1 的积累,而 twist 1 又通过 AKT 信号激活转录抑制复合物 E2F4-RBL2。E2F4-RBL2 复合体抑制自噬缺陷细胞中的 XPC 转录,导致 DNA 损伤加剧。

DDB2 对紫外线诱导的 DNA 损伤的识别也依赖于自噬。自噬缺陷削弱了紫外线照射后 DDB2 向 CPD 部位的募集^[12]。发现这种缺陷是由 Twist1 结合并抑制 P300 引起的,P300 是 DDB2 募集的关键因素^[12]。在自噬缺乏的情况下 Twist1 在 p62 的作用下稳定存在,自噬介导的 Twist1 降解可以促进 DDB2 募集和 CPD 修复。表明了自噬在促进 DNA 损伤修复中的肿瘤抑制作用。

UVB 通过激活 AMPK 来调节 DNA 损伤修复,从而快速诱导自噬。AMPK 被 UVB 激活,增加了 XPC 蛋白水平,增加了 CPD 修复。敲除 AMPK 减少 UVB 后的 CPD 修复,但对 6-4PP 修复没有影响。这项工作进一步将自噬与 UVB 诱导的 DNA 损伤修复的正调节联系起来。

自噬激活分子 UVRAG 最初在遗传筛选中被认为能够部分补充 GG-NER^[13](缺陷型着色性干皮病[XP]细胞的紫外线敏感性的蛋白质)。然而到目前为止 UVRAG 在 DNA 损伤反应中的功能还是未知的。最近研究表明 UVRAG 通过结合 DDB1 来促进 DDB1 和 DDB2 向紫外线诱导的 DNA 损伤位点的募集。在核苷酸剪切修复(NER)启动过程中,UVRAG 的敲除抑制受损 DNA 从 DDB1 转移到 XPC。然而,UVRAG 可独立地激活自噬和 GG-NER^[14],表明 UVRAG 充当 DNA 损伤修复和自噬同时激活的信号中枢。UMAR S A 等^[15]实验表明,通过对自噬通量的调节,可以有效改善 UVB 照射后导致的 DNA 损伤。白根龙^[16]研究发现在人真皮成纤维细胞中敲除 HSP27,会加重其在 UVB 照射后的衰老,经自噬诱导剂处理后衰老现象得到缓解。SONG 等^[17]的研究表明,敲除 Atg7 的角质形成细胞在体内和体外受到氧化应激后,显示出增加的 DNA 损伤和衰老的加剧。

3.3 紫外线诱导的氧化应激对自噬的调节

紫外线诱导的氧化应激调节自噬的机制直到最近才被阐明。用单线态氧猝灭剂 NaN₃ 处理削弱了 UVA 诱导的自噬^[18]。同样,抗氧化剂也阻断了 UVB 照射后所诱导的自噬^[19]。这表明紫外线诱导的 ROS 导致了自噬的激活。

3.4 自噬对紫外线诱导的氧化应激反应的调节

自噬功能对氧化应激反应过程至关重要。然而,很少有人确定自噬在 UVA 诱导的氧化应激反应中的作用。UVA 诱导的氧化应激触发自噬来清除氧化脂质和蛋白质^[18]。自噬缺陷导致 UVA 暴露后氧化磷脂和蛋白质聚集物的积聚^[18]。此外,自噬缺陷增加了角质形成细胞的 Nrf2 依赖性抗氧化反应。有研究表明,在黑素细胞中,自噬激活物 Sestrin 2 在 UVA 诱导下降低 Nrf2 水平,并增加 UVA 诱导的 ROS 产生^[20]。自噬诱导也通过降解 p62 来抑制 Nrf2 的稳定。这项工作表明,自噬在 UVA 诱导的氧化应激反应中起着复杂的作用,通过清除氧化



的蛋白质和脂质,同时最小化不同细胞类型中的抗氧化反应。WEIJIE 等^[21]的研究表明,自噬可以抑制 UVB 诱导的氧化应激和光老化,在光老化细胞模型中部分地调节 I 型胶原的形成和降解过程中起着至关重要的作用。LI 等^[22]实验证明,通过调节 SIRT3 蛋白水平,可以诱导自噬,保护皮肤免受氧化应激导致的衰老。DUAN 等^[23]发现,SIRT3 敲低导致自噬减少,对氧化应激后的皮肤保护作用消失。

3.5 自噬与光老化所致肿瘤

除此之外,自噬的缺失也可能诱发几种皮肤相关的慢性疾病以及皮肤癌。魏姗姗等^[24]检测并分析了正常皮肤和肿瘤皮肤中的 mTOR、Beclin1 和 LC3 的表达,得出自噬与非黑色素瘤性肿瘤的恶性程度呈负相关性。THONGRAKARD 等^[25]研究表明皮肤癌细胞株的自噬活性较正常组下降。Lei Qiang 等人在实验中发现,自噬抑制剂 Spautin-1 促进 UVB 诱导的肿瘤发生,而自噬诱导剂西罗莫司减少 UVB 诱导的肿瘤发生,证明了自噬在维持哺乳动物细胞中适当的核苷酸切除修复中的关键作用,并暗示了癌症中自噬的一种先前未知的肿瘤抑制机制^[26]。

4 小结

自噬是维持细胞生命平衡的重要细胞过程。自噬的缺失可能诱发人类退行性变化,自噬失调可以诱发许多皮肤疾病和衰老。因此自噬方向的研究对治疗和预防紫外线引起的光老化具有重要意义。

参考文献

- [1] NOBORU MIZUSHIMA. Autophagy: process and function[J]. *Genes Dev*,2007,21(22):2861-2873.
- [2] T. MATSUNAGA, K. HIEDA, O. Nikaido Wavelength dependent formation of thymine dimers and (6-4) photoproducts in DNA by monochromatic ultraviolet light ranging from 150 to 365 nm[J]. *Photochem Photobiol*,1991,54(3):403-410.
- [3] S. NAKAJIMA, L. LAN, S. KANNO, et al. UV light - induced DNA damage and tolerance for the survival of nucleotide excision repair - deficient human cells [J]. *J. Biol. Chem*, 2004, 279 (45): 46674-46677.
- [4] CHAIPRASONGSUK A, LOHAKUL J, SOONTRAPA K, et al. Activation of Nrf2 Reduces UVA - Mediated MMP - 1 Upregulation via MAPK/AP - 1 Signaling Cascades: The Photoprotective Effects of Sulforaphane and Hispidulin[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2017,360(3):388-398.
- [5] 叶希韵. 紫外线致皮肤光老化研究进展[J]. *生物学教学*,2015,40(11):2-5.
- [6] ANA L M IVAN. Pyrrolidine dithiocarbamate inhibits UVB - induced skin inflammation and oxidative stress in hairless mice and exhibits antioxidant activity in vitro [J]. *J Photochem Photobiol B*, 2014(138):124-133.
- [7] 谭玲,李大铁. 端粒及端粒酶与皮肤光老化关系的研究进展[J]. *贵州医药*,2018,42(5):552-554.
- [8] XU W, OCAK U, GAO L, et al. Selective autophagy as a therapeutic target for neurological diseases[J]. *Cell Mol Life Sci*,2021,78(4):1369-1392.
- [9] LEE Y K, LEE J A. Role of the mammalian ATG8/LC3 family in autophagy: differential and compensatory roles in the spatiotemporal regulation of autophagy[J]. *Bmb Rep*, 2016, 49 (8):424-430.
- [10] YAMAGUCHI M, SATOO K, SUZUKI H, et al. Atg7 Activates an autophagy - ssential ubiquitin - like protein Atg8 through multi - step recognition[J]. *J Mol Bio*, 2017, 430 (3):249-257.

- [11] WU C L, QIANG L, HAN W, et al. Role of AMPK in UVB - induced DNA damage repair and growth control[J]. *Oncogene*,2013,32(21):2682-2689.
- [12] QIANG L, ZHAO B, SHAH P, et al. Autophagy positively regulates DNA damage recognition by nucleotide excision repair[J]. *Autophagy*,2016,12(2):357-368.
- [13] PERELMAN B, DAFNI N, NAIMAN T, et al. Molecular cloning of a novel human gene encoding a 63 - kDa protein and its sublocalization within the 11q13 locus [J]. *Genomics*, 1997, 41 (3):397-405.
- [14] YANG Y, HE S, WANG Q, et al. Autophagic UVRAG Promotes UV - Induced Photolesion Repair by Activation of the CRL4DDB2 E3 Ligase[J]. *Mol Cell*,2016,62(4):507-519.
- [15] UMAR SA, TANVEER MA, NAZIR LA, et al. Glycyrrhizic Acid Prevents Oxidative Stress Mediated DNA Damage Response through Modulation of Autophagy in Ultraviolet - B - Irradiated Human Primary Dermal Fibroblasts[J]. *Cell Physiol Biochem*,2019,53(1):242-257.
- [16] 白根龙. 雷帕霉素通过抑制 p53 和磷酸化 HSP27 保护皮肤成纤维细胞免受 UVA 诱导的光老化[D]. 重庆:重庆医科大学,2021.
- [17] SONG X Z. Autophagy deficient keratinocytes display increased DNA damage, senescence and aberrant lipid composition after oxidative stress in vitro and vivo[J]. *Redox Biology*,2017,11(C):219-230.
- [18] ZHAO Y, ZHANG C F, ROSSITER H, et al. Autophagy is induced by UVA and promotes removal of oxidized phospholipids and protein aggregates in epidermal keratinocytes[J]. *J Invest Dermatol*, 2013,133(6):1629-1637.
- [19] CAVINATO M, KOZIEL R, ROMANI N, et al. UVB - Induced Senescence of Human Dermal Fibroblasts Involves Impairment of Proteasome and Enhanced Autophagic Activity[J]. *Journals Gerontol A Biol Sci Med Sci*,2017,72(5):632-639.
- [20] ZHAO B, SHAH P, QIANG L, et al. Distinct Role of Sesn2 in Response to UVB - Induced DNA Damage and UVA - Induced Oxidative Stress in Melanocytes[J]. *Photochem Photobiol*,2016,93(1):375-381.
- [21] WEN W J. Astragaloside exerts anti - photoaging effects in UVB - induced premature senescence of rat dermal fibroblasts through enhanced autophagy[J]. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2018(657):31-40.
- [22] LI Y F, OUYANG S H, TU L F, et al. Caffeine Protects Skin from Oxidative Stress - Induced Senescence through the Activation of Autophagy[J]. *Theranostics*,2018,8(20):5713-5730.
- [23] DUAN W J, LI Y F, LIU F L, et al. A SIRT3/AMPK/autophagy network orchestrates the protective effects of trans - resveratrol in stressed peritoneal macrophages and RAW 264.7 macrophages[J]. *Free Radic Biol Med*,2016(95):230-242.
- [24] 魏姗姗,严卿文,闫璐,等. mTOR、Beclin1 和 LC3 在非黑色素瘤性皮肤肿瘤中的表达[J]. *中国老年学杂志*,2021,41(11):2279-2283.
- [25] THONGRAKARD VISA. Turmeric toxicity in A431 epidermoid cancer cells associates with autophagy degradation of anti - apoptotic and anti - autophagic p53 mutant[J]. *Phytotherapy research: PTR*, 2014, 28(12):1761-1769.
- [26] LEI Q. Autophagy positively regulates DNA damage recognition by nucleotide excision repair [J]. *Autophagy*, 2016, 12 (2):357-368.