

文章编号:1004-0374(2006)04-0368-05

线粒体在细胞凋亡中的介导作用

白世平^{1,2}, 罗绪刚^{1,2*}, 吕林^{1,2}

(1 中国农业科学院畜牧研究所矿物元素营养研究室, 北京 100094; 2 动物营养学国家重点实验室, 北京 100094)

摘要: 线粒体是细胞内产生能量的重要细胞器, 被认为是细胞生存与死亡的调节中心。Bcl-2 家族蛋白、内质网和溶酶体能引起线粒体膜通透性的改变, 造成线粒体功能损伤, 诱导细胞凋亡。本文主要综述线粒体在 Bcl-2 家族蛋白、内质网和溶酶体诱导细胞凋亡中作用的研究进展。

关键词: 线粒体; 细胞凋亡; 内质网; 溶酶体

中图分类号: Q244; Q255 **文献标识码:** A

Mitochondrial intervention action in apoptosis

BAI Shi-Ping^{1,2}, LUO Xu-Gang^{1,2*}, LÜ Lin^{1,2}

(1 Mineral Nutrition Research Division, Institute of Animal Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100094, China; 2 State Key Laboratory of Animal Nutrition, Beijing 100094, China)

Abstract: Mitochondria are important intracellular organelles to supply energy and are regarded as central regulator of the decision between cellular survival and demise. The increase of permeability of mitochondrial membranes induced by Bcl-2 family proteins, endoplasmic reticulum and lysosomes can damage the function of mitochondria and induce apoptosis. This review introduces the recent research advances of the effects of mitochondria in apoptosis induced by Bcl-2 family proteins, endoplasmic reticulum and lysosomes.

Key words: mitochondria; apoptosis; endoplasmic reticulum; lysosome

细胞凋亡是细胞在一定的生理或病理条件下, 遵循自身的程序, 自己结束其生命的过程。细胞最后裂解成若干的凋亡小体, 被其他细胞吞噬^[1]。线粒体是细胞内产生能量的重要细胞器, 许多因素包括死亡受体介导的信号、生长因子抑制剂、抗癌药物等, 可以使线粒体的功能损伤, 诱导细胞凋亡^[2]。线粒体功能的损伤通过线粒体膜通透性增加介导, 线粒体膜通透性转运孔道的开放使线粒体膜间隙存在的大量小分子蛋白物质释放出来, 包括细胞色素 C、Smac(second mitochondria-derived activator of caspase)/DIABLO(direct inhibitor of apoptosis-binding protein with low pI)、Omi/HtrA2 细胞凋亡诱导因

子、核酸内切酶 G, 诱导天冬氨酸酶依赖和非依赖性细胞凋亡。Bcl-2 家族蛋白、内质网和溶酶体能够通过直接和间接的方法来调节线粒体膜间隙与凋亡相关蛋白的释放, 线粒体功能的变化在细胞凋亡的过程中起关键的作用。

1 Bcl-2家族蛋白对线粒体膜通透性的作用

Bcl-2 家族蛋白位于线粒体的上游, 对线粒体诱导的细胞凋亡具有重要的调节作用^[3]。Bcl-2 家族成员含有 1~4 个 Bcl-2 同源结构域(BH1~4), 并且通常有一个羧端跨膜结构域(transmembrane region, TM), 现已至少发现 19 个同源物。根据 Bcl-2 家庭蛋白在细胞凋亡中的功能可将 Bcl-2 基因家族分为两

收稿日期: 2005-11-17; 修回日期: 2006-04-24

基金项目: 国家自然科学基金重点项目(30530570); 中国农业科学院一级岗位人才专项基金

作者简介: 白世平(1979—), 男, 博士研究生; 罗绪刚(1963—), 男, 研究员, 博士生导师, *通讯作者; 吕林(1972—), 女, 博士, 助理研究员。

类,一类是抗凋亡的(anti-apoptotic),如:Bcl-2、Bcl-X_L、Bcl-w、Mcl-1,都具有保守的BH4区域,BH4是抗凋亡蛋白所特有的结构域;一类是促进凋亡的(pro-apoptotic),如:Bax、Bak、Bad、Bid、Bim,BH3是与促进凋亡有关的结构域,其中有的仅含BH3一个结构域,如Bid和Bad。

1.1 线粒体膜通透性转移孔道的开放 线粒体膜通透性转移孔道是线粒体内膜与外膜交接处的一种复合结构,被称为细胞生死开关,由电位依赖性阴离子孔道(voltage-dependent anion channel,VDAC)、腺苷酸移位酶(adenine nucleotide translocator,ANT)、亲素环D和苯并二氮受体构成。线粒体膜通透性孔道能被多种因素激活,激活后导致线粒体膜间隙蛋白因子释放入胞质中。线粒体膜内间隙蛋白的具体释放机制尚不清楚,目前有很多不同的研究报道。Marzo等^[4]认为,促凋亡蛋白,如Bax,通过与PTP复合体的ANT蛋白结合,导致PTP的开放,并进而使线粒体发生肿胀,线粒体外膜破裂。Shimizu等^[5]认为,Bax、Bak、Bcl-X_L等蛋白可直接与线粒体外膜上的VDAC结合,在不依赖ANT的情况下介导或抑制线粒体内外膜间隙内细胞色素C的释放。大部分凋亡细胞很少发生线粒体肿胀,外膜破裂。用X射线分析Bcl-X_L的结构发现,抗凋亡蛋白的BH1、BH2和BH3同源区的 α 螺旋组成疏水性结构域与促凋亡蛋白的BH3区结合,组成异源体^[6]。Bcl-X_L和某些细菌毒素具有同源序列,能在线粒体膜上形成较大的通道,诱导细胞色素C的释放。这为Bcl-2家族调节线粒体膜的通透性第一个最直接的证据。接下来对Bax、Bcl-2和Bid的活化形式的研究发现了相似的结构。Bax和Bak能被只具有BH3结构域的蛋白活化形式(tBid)所激活,激活后能够在线粒体外膜形成同源聚合物,促进凋亡因子的释放,诱导细胞凋亡。Bcl-2和Bcl-X_L通过与促凋亡蛋白形成异源二聚物抑制Bax和Bak引起的结构改变^[7]。

1.2 线粒体外膜特异性孔道的形成 最近的报道表明,细胞线粒体膜除了通透性转移孔道之外,还存在着以促凋亡蛋白Bax为核内不依赖于通透性转移孔道的凋亡调控机制,即在线粒体的外膜形成特异性的孔道。Kuwana等^[8]体外研究实验发现,Bax能够在人工构建的脂质体膜上形成能通过大分子物质的孔道,而不需要通透性转移孔道复合体,其Bax形成通道的能力受tBid控制,孔道活性依赖于膜脂类、二脂酰甘油和Bcl-X_L的抑制作用的调节。Makin

等^[9]体内实验研究结果表明,Bax单体无法在线粒体膜上形成孔道并释放细胞色素C,只有Bax转位到线粒体膜并暴露BH3的结构域,才能形成低聚物介导细胞色素C的释放。Antonsson等^[10]发现,在外界凋亡诱导因子的作用下,Bax在体外Hela细胞内形成两种结合于线粒体膜上的高分子量低聚体复合物,而此低聚体复合物中不含有构成PTP复合体的主要成分VDAC和ANT。Mikhailov等^[11]也发现,发生膜转位的Bax在线粒体膜上低聚体复合物中没有PTP复合体的主要成分VDAC和ANT,且也无线粒体肿胀,膜电位消失等现象,而Bcl-2则可以显著抑制此低聚复合物的形成。Nechushtan等^[12]研究发现,Bax在凋亡信号的诱导下发生膜转位后很快又从线粒体膜上解离,并在靠近线粒体膜的胞浆中形成了由数千个Bax分子组成的分子簇,并且另一种本身锚定在线粒体膜上的促凋亡蛋白Bak也参与了此分子簇的形成,Bcl-X_L成超表达同样没有阻止Bax膜转位的发生,但是可以抑制此分子簇的形成,从而抑制细胞凋亡的发生。由此可见,Bax从胞浆转位到线粒体膜上从而启动了线粒体介导的凋亡路径。同时,转位至线粒体膜的Bax与Bak的低聚化或者Bax与Bak构成的分子簇决定了凋亡是否发生。这其中Bax很可能是决定凋亡发生与否的必要因素,而Bak则是凋亡的控制因素^[13]。

2 线粒体电子传递链与活性氧的作用

尽管关于细胞色素C的释放机制存在很大争议,但是线粒体跨膜电位的变化已经被认为是细胞凋亡的一种标志。这种跨膜的质子梯度能产生大量的ATP能量作为细胞的能量来源。线粒体跨膜电位的变化能对线粒体呼吸链、能量产生和细胞生存产生严重的危害^[14]。线粒体呼吸链由四种复合物并伴有F₀F₁ATP酶组成,它们的功能是将电子从NADH或FADH₂传递给O₂,呼吸链的电子转移过程使质子从基质中跨线粒体内膜泵出,产生跨膜电位,这种电化学的梯度对氧化磷酸化过程中ATP合成酶的活性、线粒体靶定蛋白的进入和线粒体代谢物的转运极为重要^[15]。

线粒体的呼吸链在电子传递过程中,电子在底物端经常会发生逃逸,主要在NADH-辅酶Q复合体与辅酶Q-细胞色素C复合体两个部位。逃逸电子与分子氧产生氧的自由基,进一步被细胞转变成过氧化氢、氢氧根或者其他的活性氧形式^[16]。活性氧自由基(ROS)水平的失衡将导致细胞器损伤,通过

自吞噬作用清除,或者导致细胞凋亡。线粒体在细胞内损伤中扮演重要角色,在氧化磷酸化过程中分子氧不完全还原可能导致细胞的脂质过氧化和DNA损伤^[17]。当呼吸链电子漏出形成的ROS累积时,将激活线粒体膜通透性孔道(PTP)开放,导致线粒体膜损伤,细胞色素C的释放^[18],但有的试验结果表明,线粒体产生的活性氧在细胞凋亡过程中可能起一种信号传递物质的作用。线粒体内超氧化物歧化酶(MnSOD)基因的过量表达抑制了肿瘤坏死因子 α 的毒性作用,而且可延长经过辐射或DNA交联药物处理的细胞寿命^[19],所以由线粒体产生的活性氧自由基可能对细胞凋亡的发生有调节作用。然而,线粒体产生的活性氧并不是对所有的细胞凋亡的发生都有调节作用,Murgia等^[20]研究发现,糖皮质激素诱导胸腺细胞凋亡的过程中,线粒体DNA并没有受到损伤,而大量研究证实线粒体DNA对氧自由基很敏感,极易被活性氧损伤。

3 线粒体产生的ATP在细胞凋亡中的作用

细胞在多种代谢条件下,ATP在细胞死亡的方式上起到重要的作用。Leist等^[21]发现,用ATP合成酶的抑制剂使白细胞内ATP耗竭,则白细胞的死亡方式从细胞凋亡转变成细胞坏死。细胞用凋亡诱导剂星形孢菌素(stauros)和anti-CD95处理后,再用寡霉素处理,导致细胞坏死。当ATP耗竭后,DNA的梯形条带和细胞外膜磷脂丝氨酸暴露典型的凋亡特征消失。细胞凋亡需要一定的能量,当加入葡萄糖后,促凋亡的活性又被重新恢复。线粒体可能在细胞的死亡方式上具有决定作用。Guinaraes和Linden^[22]在细胞凋亡和坏死过程中,发现了大量的线粒体膜通透性转移孔道的形成,温和的线粒体变化能为细胞凋亡提供足够的能量,而所有线粒体的变化将导致氧化磷酸化的呼吸链变成解离,解离后产生大量ROS,而且ATP能被线粒体内膜ATP酶分解,诱导细胞凋亡。

4 线粒体与内质网之间的相互作用

线粒体在凋亡信号的扩大过程中起到重要的作用,而内质网是细胞凋亡的发动者。当从内质网与高尔基体之间的运输被抑制或者内质网合成的非折叠蛋白堆积都能导致内质网的应激,诱导细胞凋亡^[23]。内质网也是凋亡的调节者,因为内质网是细胞内 Ca^{2+} 的贮存库, Ca^{2+} 作为细胞内的第二信使的信号传递决定了细胞的功能;三磷酸肌醇的刺激能使内质网中的 Ca^{2+} 释放,并被相邻的线粒体吸收^[24]。线

粒体吸收了细胞质中的钙后,使线粒体膜的通透性增加。线粒体中 Ca^{2+} 浓度能调节线粒体代谢和膜的通透性^[25]。 Ca^{2+} 还在多种凋亡途径和激活钙离子依赖性的核酸内切酶降解DNA中起信号传导作用^[26]。许多凋亡诱导因素,如星形孢菌素、神经酰胺和生长因子的耗竭都能诱导细胞质中的 Ca^{2+} 浓度升高。

Bcl-2家族的成员位于线粒体诱导凋亡的上游,在内质网中调节 Ca^{2+} 的外流^[27]。Bax的过量表达导致内质网 Ca^{2+} 的释放,增加线粒体中钙的浓度,诱导细胞色素C的释放^[28],而Bcl-2能减少内质网中钙的浓度和内质网贮存钙的能力^[29]。缺乏Bax和Bak的小鼠胚胎纤维细胞(DKO)内质网中的钙水平和 Ca^{2+} 的释放减少,但线粒体对钙的吸收并没有减少^[30]。向DKO细胞中转入肌浆网 Ca^{2+} -ATP酶或者定位于线粒体的Bax重组体试验说明,内质网中的 Ca^{2+} 和定位于线粒体的Bax和Bak诱导的细胞凋亡并不相同^[24,30]。 Ca^{2+} 依赖性的细胞凋亡,内质网稳定态时的 Ca^{2+} 浓度是重要的关卡。消减促凋亡因子或者过量表达抑制凋亡因子都能减少内质网稳定态时 Ca^{2+} 水平,因而线粒体中钙的吸收也减少。Bcl-2家族中的促凋亡因子和抑制凋亡因子的比例决定着线粒体对死亡信号的感受性^[31~32]。 Ca^{2+} 依赖性的凋亡刺激需要Bax和Bak通过线粒体途径,导致线粒体膜损伤,细胞色素C释放,激活胱冬肽酶。因此,内质网是线粒体 Ca^{2+} 吸收的关卡,它被Bcl-2家族中的促凋亡和抑制凋亡因子控制。

内质网和线粒体的作用联系使 Ca^{2+} 信号不但刺激细胞代谢,而且能调节线粒体诱导细胞凋亡。尽管Bax/Bak和Bcl-2干扰内质网 Ca^{2+} 与线粒体之间的联系,但钙离子诱导的细胞凋亡还存在其他途径^[29]。缺乏Bax和Bak的DKO细胞线粒体中的 Ca^{2+} 并没有减少,但是肌浆网 Ca^{2+} -ATP酶的表达却能激活 Ca^{2+} 诱导的细胞凋亡,这说明 Ca^{2+} 可以不依赖于Bax或Bak而与线粒体的作用,但是 Ca^{2+} 依赖于Bax或Bak的细胞凋亡可以被tBid所恢复。相反在DKO细胞中,通过线粒体目标蛋白的表达而恢复的凋亡不依赖于内质网 Ca^{2+} 的控制。因此,内质网和线粒体相互作用诱导的细胞凋亡包括三种类型:(1)内质网 Ca^{2+} 通过增加线粒体内 Ca^{2+} 浓度的直接作用途径,它依赖于内质网中的 Ca^{2+} 浓度而不依赖于Bax/Bak的作用^[33];(2)tBid和Bax或Bak作用途径,它不需要内质网 Ca^{2+} 和线粒体参与^[34];(3)内质网 Ca^{2+} 和Bax/Bak共同作用,调节线粒体中 Ca^{2+} 浓度。

5 溶酶体与线粒体在细胞凋亡中的作用

当溶酶体中的蛋白酶、组织蛋白酶受到许多凋亡刺激,如肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)、TNF相关的凋亡诱导配体(TNF-related apoptosis-inducing ligand, TRAIL)^[35]、生长因子的耗竭^[36]和星形孢菌素^[37]后,从溶酶体腔释放进入细胞质中。组织蛋白酶能剪切和激活Bid, Bid可以使线粒体膜的通透性增加,组织蛋白酶也可以直接激活线粒体的功能^[38]。线粒体产生的ROS能扩散进入脂褐素负载的溶酶体,使溶酶体膜损伤,腔内酶漏出。溶酶体内的酶直接或间接激活Bid和Bax,增加线粒体膜通透性^[39],导致膜间隙蛋白释放。组织蛋白酶能介导不依赖线粒体的细胞自吞噬作用^[41]。在自吞噬作用过程中,细胞质中的很多部分包括细胞器聚集成自吞噬体^[40~41],然后与溶酶体融合。自吞噬过程是溶酶体清除和更新细胞内长期存在的蛋白和细胞器的一种保护途径。尽管自吞噬作用也是细胞程序化死亡的一种形式,但在多种病理条件和一些DNA损伤时,特定的细胞器聚集现象也存在^[42]。当线粒体膜的通透性增加或者产生过量的ROS时,就会对自吞噬体很敏感,被选择性聚集。自吞噬作用在内质网错误折叠蛋白的部分被激活,这有助于清除内质网内外堆积的错误蛋白。

三氧化二砷(arsenic trioxide, ATO)和其他的抗癌药物^[43],能产生过量的ROS,直接作用于线粒体膜,使其去极化,通透性增加。ATO迅速诱导产生TRAIL,激活胱冬肽酶-8,剪切BID,不依赖于Bcl-2使线粒体释放细胞色素C和AIF^[44]。用胱冬肽酶的抑制剂处理的细胞不能阻止ATO诱导的凋亡,并且胱冬肽酶-2和胱冬肽酶-9缺失的细胞也不能^[45]。尽管细胞色素C激活的胱冬肽酶级联反应被阻抑,但是ATO可以依赖于细胞坏死或者溶酶体介导的途径使细胞死亡^[46]。这说明细胞凋亡和自吞噬之间存在着相互作用,可能抗癌药物产生ROS的量^[47]和线粒体膜通透性的损伤大小决定细胞是以凋亡还是非凋亡途径死亡,但是关于两者之间的作用有待于我们进一步的研究。

6 展望

细胞凋亡的研究已经从形态学观察发展到分子机制的研究上,并且成为分子细胞生物学的热点。线粒体作为细胞内的能量工厂,在细胞凋亡过程中发挥了重要的作用,所以引起越来越多地重视。然而,目前关于线粒体在细胞凋亡发生过程中

作用的分子机制研究仅停留在一个较浅的层面上,很多问题有待进一步探索。随着对线粒体在细胞凋亡控制机制研究的深入,必将为肿瘤放疗、化疗及生物治疗提供新的思路和策略,同时也为新药物的开发研制提供新的靶目标,对于治疗癌症、老年性痴呆、帕金森综合征具有广泛的应用价值。

[参考文献]

- [1] Bursch W, Ellinger A, Gerner C, *et al.* Programmed cell death (PCD). Apoptosis autophagic PCD, or others? *Ann N Y Acad Sci*, 2000, **926**: 1~12
- [2] Heath-Engel H M, Shore G C. Mitochondrial membrane dynamics, cristae remodelling and apoptosis. *Biochim Biophys Acta*, 2006 Mar 13 (Epub ahead of print)
- [3] Shimizu S, Ide T, Yanagida T, *et al.* Y. Electrophysiological study of a novel large pore formed by Bax and the voltage-dependent anion channel that is permeable to cytochrome c. *J Biol Chem*, 2000, **275**(16): 12321~12325
- [4] Marzo I, Brenner C, Zamzami N, *et al.* Bax and adenine nucleotide translocator cooperate in the mitochondrial control of apoptosis. *Science*, 1998, **281**(5385): 2027~2031
- [5] Shimizu S, Nartia M, Tsujimoto Y. Bcl-2 family proteins regulate the release of apoptogenic cytochrome c by the mitochondrial channel VDAC. *Nature*, 1999, **399**(6735): 483~487
- [6] Sattler M, Liang H, Nettesheim D, *et al.* Structure of Bcl-xL-Bak peptide complex: recognition between regulators of apoptosis. *Science*, 1997, **275**(5302): 983~986
- [7] Tan C B, Dlugosz P J, Peng J, *et al.* Auto-activation of the apoptosis protein BAX increases mitochondrial membrane permeability and is inhibited by BCL-2. *J Biol Chem*, 2006, **281**(21): 14764~14775
- [8] Kuwana T, Mackey M R, Perkins G, *et al.* Bid, Bax, and lipids cooperate to form supramolecular openings in the outer mitochondrial membrane. *Cell*, 2002, **111**(3): 331~342
- [9] Makin G W J, Corfe B M, Griffiths G J, *et al.* Damage-induced Bax N-terminal change, translocation to mitochondria and formation of Bax dimers/complexes occur regardless of cell fate. *EMBO J*, 2001, **20**(22): 6306~6315
- [10] Antonsson B, Montessuit S, Lauper S, *et al.* Bax oligomerization is required for channel-forming activity in liposomes and to trigger cytochrome c release from mitochondria. *Biochem J*, 2000, **345**(2): 271~278
- [11] Mikhailov V, Mikhailova M, Pulkrabek D J, *et al.* Bcl-2 prevents Bax oligomerization in the mitochondrial outer membrane. *J Cell Biol*, 2001, **276**(21): 18361~18374
- [12] Nechushtan A, Smith C L, Lamensdorf I, *et al.* Bax and Bak coalesce into novel mitochondria-associated clusters during apoptosis. *J Cell Biol*, 2001, **153**(6): 1265~1276
- [13] Mikhailov V, Mikhailova M, Degenhardt K, *et al.* Association of Bax and Bak homo-oligomers in mitochondria. Bax requirement for Bak reorganization and cytochrome c release. *J Biol Chem*, 2003, **278**(7): 5367~5376
- [14] Hirsch T, Susin S A, Marzo I, *et al.* Mitochondrial perme-

- ability transition in apoptosis and necrosis. *Cell Biol Toxicol*, 1998, **14**(2): 141~145
- [15] Ricci J E, Waterhouse N, Green D R. Mitochondrial functions during cell death, a complex (I-V) dilemma. *Cell Death Differ*, 2003, **10**(5): 488~492
- [16] Fleury C, Mignote B, Vayssiere J L. Mitochondrial reactive oxygen species in cell death signaling. *Biochimie*, 2002, **842** (2-3): 131~141
- [17] Bergamini C M, Gambetti S, Dondi A, *et al*. Oxygen, reactive oxygen species and tissue damage. *Curr Pharm Des*, 2004, **10**(14): 1611~1626
- [18] Huang P, Feng L, Oldham E A, *et al*. Superoxide dismutase as a target for the selective killing of cancer cells. *Nature*, 2000, **407**(6802): 390~395
- [19] Hirose K, Longo D L, Oppenheim J J, *et al*. Overexpression of mitochondrial manganese superoxide dismutase promotes the survival of tumor cells exposed to interleukin-1, tumor necrosis factor, selected anticancer drugs, and ionizing radiation. *FASEB J*, 1993, **7**(2): 361~368
- [20] Murgia M, Pizzo P, Sandona D, *et al*. Mitochondrial DNA is not fragmented during apoptosis. *J Biol Chem*, **267**(16): 10939~10941
- [21] Leist M, Single B, Castoldi A F, *et al*. Intracellular adenosine triphosphate (ATP) concentration: a switch in the decision between apoptosis and necrosis. *J Exp Med*, 1997, **185**(8): 1481~1486
- [22] Guimaraes C A, Linden R. Chloramphenicol induces apoptosis in the developing brain. *Neuropharmacology*, 2000, **39** (9): 1673~1679.
- [23] Rutkowski D T, Kaufman R J. A trip to the ER: coping with stress. *Trends Cell Biol*, 2004, **14**(1): 20~28
- [24] Oakes S A, Scorrano L, Opferman J T, *et al*. Proapoptotic BAX and BAK regulate the type 1 inositol trisphosphate receptor and calcium leak from the endoplasmic reticulum. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, **102**(1): 105~110
- [25] Halestrap A P. Calcium, mitochondria and reperfusion injury: a pore way to die. *Biochem Soc Trans*, 2006, **34**(Pt 2): 232~237
- [26] Boulares A H, Zoltoski A J, Contreras F J, *et al*. Regulation of DNASE1L3 endonuclease activity by poly(ADP-ribosyl)ation during etoposide-induced apoptosis. Role of poly(ADP-ribose) polymerase-1 cleavage in endonuclease activation. *J Biol Chem*, 2002, **277**(1): 372~378
- [27] Rizzuto R, Pinton P, Ferrari D, *et al*. Calcium and apoptosis: facts and hypotheses. *Oncogene*, 2003, **22**(53): 8619~8627
- [28] Nutt L K, Pataer A, Pahler J, *et al*. Bax and Bak promote apoptosis by modulating endoplasmic reticular and mitochondrial Ca^{2+} stores. *J Biol Chem*, 2002, **277**(11): 9219~9225
- [29] Scorrano L, Oakes S A, Opferman J T, *et al*. BAK and BAX regulation of endoplasmic reticulum Ca^{2+} : a control point for apoptosis. *Science*, 2003, **300**(5616): 135~139
- [30] Demareux N, Distelhorst C. Cell biology. Apoptosis - the calcium connection. *Science*, 2003, **300**(5616): 65~67
- [31] Chami M, Prandini A, Campaella M, *et al*. Bcl-2 and Bax exert opposing effects on Ca^{2+} signaling, which do not depend on their putative pore-forming region. *J Biol Chem*, 2004, **279**(52): 54581~54589
- [32] Pinton P, Ferrari D, Rapizzi E, *et al*. The Ca^{2+} concentration of the endoplasmic reticulum is a key determinant of ceramide-induced apoptosis: significance for the molecular mechanism of Bcl-2 action. *EMBO J*, 2001, **20**(11): 2690~2701
- [33] Szalai G, Krishnamurthy R, Hajnoczky G. Apoptosis driven by IP(3)-linked mitochondrial calcium signals. *EMBO J*, 1999, **18**(22): 6349~6361
- [34] Gajkowska B, Wojewodzka U, Gajda J. Translocation of Bax and Bid to mitochondria, endoplasmic reticulum and nuclear envelope: possible control points in apoptosis. *J Mol Histol*, 2004, **35**(1): 11~19
- [35] Fehrenbacher N, Gyrd-Hansen M, Polsen B, *et al*. Sensitization to the lysosomal cell death pathway upon immortalization and transformation. *Cancer Res*, 2004, **64**(15): 5301~5310
- [36] Isahara K, Ohsawa Y, Kanamori S, *et al*. Regulation of a novel pathway for cell death by lysosomal aspartic and cysteine proteinases. *Neuroscience*, 1999, **91**(1): 233~249
- [37] Johansson A C, Steen H, Ollinger K, *et al*. Cathepsin D mediates cytochrome c release and caspase activation in human fibroblast apoptosis induced by staurosporine. *Cell Death Differ*, 2003, **10**(11): 1253~1259
- [38] Cirman T, Oresic K, Mazovec G D, *et al*. Selective disruption of lysosomes in HeLa cells triggers apoptosis mediated by cleavage of Bid by multiple papain-like lysosomal cathepsins. *J Biol Chem*, 2004, **279**(5): 3578~3587
- [39] Bidere N, Lorenzo H K, Carmona S, *et al*. Cathepsin D triggers Bax activation, resulting in selective apoptosis-inducing factor (AIF) relocation in T lymphocytes entering the early commitment phase to apoptosis. *J Biol Chem*, 2003, **278**(33): 31401~31411
- [40] Bursch W. The autophagosomal-lysosomal compartment in programmed cell death. *Cell Death Differ*, 2001, **8**(6): 569~581
- [41] Mizushima N, Ohsumi Y, Yoshimori T. Autophagosome formation in mammalian cells. *Cell Struct Funct*, 2002, **27**(6): 421~429
- [42] Shintani T, Klionsky D J. Autophagy in health and disease: a double-edged sword. *Science*, 2004, **306**(5698): 990~995
- [43] Pelicano H, Carney D, Huang P. ROS stress in cancer cells and therapeutic implications. *Drug Resist Updat*, 2004, **7**(2): 97~100
- [44] Akay C, Thomas C 3rd, Gazitt Y. Arsenic trioxide and paclitaxel induce apoptosis by different mechanisms. *Cell Cycle*, 2004, **3**(3): 324~334
- [45] Scholz C, Wieder T, Starck L, *et al*. Arsenic trioxide triggers a regulated form of caspase-independent necrotic cell death via the mitochondrial death pathway. *Oncogene*, 2005, **24** (11): 1904~1913
- [46] Kanzawa T, Kondo Y, Ito H, *et al*. Induction of autophagic cell death in malignant glioma cells by arsenic trioxide. *Cancer Res*, 2003, **63**(9): 2103~2108
- [47] Nutt L K, Gogvadze V, Uthaisang W, *et al*. Indirect effects of Bax and Bak initiate the mitochondrial alterations that lead to Cytochrome c release during arsenic trioxide-induced apoptosis. *Cancer Biol Ther*, 2005, **4**(4): 459~467