doi:10.11659/jjssx.05E0200169

·基础研究·

# ZKSCAN3 介导的自噬在急性镉暴露肝毒性中的作用

陈梦妍,谢 佳,田 丽,皮会丰 (陆军军医大学军事预防医学系军队劳动卫生学教研室/电磁辐射医学防护教育部重点实验室,重庆 400038)

[摘 要] **目的** 探讨ZKSCAN3介导的自噬在急性镉暴露肝损伤中的作用。**方法** 取16只SPF级雄性小鼠(用于镉暴露实验),随机分成生理盐水组和镉暴露组,每组8只。镉暴露组小鼠腹腔注射氯化镉7 d,染毒剂量为2 $mg\cdot kg^{-1}\cdot bw^{-1}$,染毒方式为每天腹腔注射1次;生理盐水对照组小鼠每日腹腔注射等量生理盐水1次,连续注射7 d。另取24只SPF级雄性C57BL/6J小鼠(用于AAV-TBG-ZKSCAN3干预实验),随机分为对照组、镉组、镉+ZKSCAN3组,每组8只。对照组尾静脉注射AAV-TBG-control,1周后连续腹腔注射等量生理盐水7 d;镉组尾静脉注射AAV-TBG-control,1周后连续腹腔注射2 $mg\cdot kg^{-1}\cdot bw^{-1}$氯化镉7 d;镉+ZKSCAN3组尾静脉注射AAV-TBG-ZKSCAN3,1周后连续腹腔注射2 $mg\cdot kg^{-1}\cdot bw^{-1}$氯化镉7 d。采集小鼠血清并摘取肝,苏木素-伊红(HE)染色观察小鼠肝组织病理变化,生化分析仪检测血清中丙氨酸转氨酶(ALT)、天冬氨酸转氨酶(AST)含量,RT-PCR检测自噬相关基因及ZKSCAN3基因的表达,Western blot检测ZKSCAN3蛋白细胞质转位情况。**结果** 与对照组比较,急性镉暴露会导致小鼠肝细胞气球样变,炎症细胞浸润、坏死,ALT和AST表达显著增高($P<0.01$),镉暴露后肝组织中自噬溶酶体相关基因Map1lc3b、Rab5a、Atp6v0d1、Lamp1、Ctsb表达增多($P<0.01$),ZKSCAN3基因表达较少($P<0.01$)。镉暴露仅降低了细胞核ZKSCAN3蛋白的表达($P<0.01$),并未引起其细胞质转位($P>0.05$)。与镉组比较,ZKSCAN3过表达可以显著抑制镉暴露诱导的肝细胞自噬及肝细胞损伤($P<0.01$)。**结论** 急性镉暴露显著抑制肝细胞中ZKSCAN3蛋白的表达,从而诱导肝细胞自噬性死亡。

[关键词] 氯化镉;小鼠;肝毒性;ZKSCAN3;细胞自噬;镉暴露肝损伤

[中图分类号] R995 [文献标识码] A [收稿日期] 2020-05-29

## Effect of ZKSCAN3 mediated autophagy in acute cadmium exposure-induced liver injury

CHEN Meng-yan, XIE Jia, TIAN Li, PI Hui-feng (Department of Occupational Health, College of Preventive Medicine/Key Laboratory of Ministry of Education on Electromagnetic Radiation Protection, Army Medical University, Chongqing 400038, China)

**Abstract: Objective** To explore the effect of ZKSCAN3 mediated autophagy in acute cadmium exposure-induced liver injury. **Methods** Sixteen SPF male mice (for the cadmium exposure experiment) were randomly divided into the normal saline group and cadmium exposure group, with 8 mice in each group. Mice in the cadmium exposure group were given intraperitoneal injection of cadmium chloride once a day for 7 days, with the dose of 2 $mg\cdot kg^{-1}\cdot bw^{-1}$; while mice in the normal saline group were intraperitoneally injected with the same amount of normal saline once a day for 7 days. Another 24 SPF male C57BL/6J mice (for the AAV-TBG-ZKSCAN3 intervention experiment) were randomly divided into control group, cadmium group, cadmium + ZKSCAN3 group, with 8 mice in each group. The control group received tail vein injection

[基金项目] 国家自然科学基金(81703267)

[通信作者] 皮会丰,E-mail:pihuifeng2010@163.com

[13] 张小琴,侯丽颖,强国芳,等.片仔癀对局灶性脑缺血/再灌注大鼠皮质中NMDAR1和GluR2表达的影响[J].中国药理学通报,2019,35(2):288-292.doi:10.3969/j.issn.1001-1978.2019.02.028.

[14] Zeng Y, Shen YY, Hong L, et al. Effects of single and repeated exposure to a 50-Hz 2-mT electromagnetic field on primary cultured hippocampal neurons[J]. Neurosci Bull, 2017, 33(3):299-306. doi:10.1007/s12264-017-0113-6.

[15] Bringmann A, Wiedemann P. Müller glial cells in retinal disease[J]. Ophthalmologica, 2012, 227(1):1-19. doi:10.1159/000328979.

[16] Cao LH, Yu YC, Zhao JW, et al. Expression of natriuretic peptides in rat Müller cells[J]. Neurosci Lett, 2004, 365(3):176-179. doi:10.1016/j.neulet.2004.04.090.

[17] 张和平,周文霞,张永祥.AMPA受体的代谢[J].军事医学科学院院刊,2004,28(1):74-77.doi:10.3969/j.issn.1674-9960.2004.01.022.

[18] Tzschentke TM. Glutamatergic mechanisms in different disease states: overview and therapeutical implications-an introduction[J]. Amino Acids, 2002, 23(1-3):147-152. doi:10.1007/s00726-001-0120-8.

[19] Semkova I, Huemmeke M, Ho MS, et al. Retinal localization of the glutamate receptor GluR2 and GluR2-regulating proteins in diabetic rats[J]. Exp Eye Res, 2010, 90(2):244-253. doi:10.1016/j.exer.2009.10.012.

(编辑:左艳芳)

of AAV-TBG-control, and the same amount of normal saline was injected intraperitoneally continuously for 7 days after 1 week. The cadmium group received tail vein injection of AAV-TBG-control, and 2 mg·kg$^{-1}$·bw$^{-1}$ of cadmium chloride was injected intraperitoneally continuously for 7 days after 1 week. The cadmium + ZKSCAN3 group received tail vein injection of AAV-TBG-ZKSCAN3, and 2 mg·kg$^{-1}$·bw$^{-1}$ of cadmium chloride was injected intraperitoneally continuously for 7 days after 1 week. Serum of mice was collected and liver was extracted. Histopathology assessment was determined by hematoxylin and eosin (HE) staining. The levels of alanine transaminase (ALT) and aspartate transaminase (AST) in serum were measured by biochemical analyzer. RT-PCR detector was used to detect the expression levels of autophagy related genes and ZKSCAN3 gene. Cytoplasmic transposition of ZKSCAN3 protein was detected by Western blot. **Results** Compared with the control group, acute cadmium exposure induced ballooning degeneration, inflammatory cell infiltration and focal necrosis of the livers of mice, as well as obvious increase of serum AST and ALT ($P<0.01$). Moreover, the autophagy-related genes (including Map1lc3b, Rab5a, Atp6v0d1, Lamp1, Ctsb) were increased and ZKSCAN3 gene was decreased in the liver of cadmium exposure mice ($P<0.01$). Acute cadmium exposure only suppressed nuclear ZKSCAN3 expression ($P<0.01$) but did not activated ZKSCAN3 cytoplasmic translocation ($P>0.05$). Compared with the cadmium group, ZKSCAN3 overexpression significantly decreased cadmium induced hepatocyte autophagy and injury ($P<0.01$). **Conclusion** Acute cadmium exposure significantly inhibited the expression of ZKSCAN3 protein in hepatocytes, thereby inducing autophagic death of hepatocytes.

**Keywords**: cadmium chloride; mice; hepatoxicity; ZKSCAN3; autophagy; cadmium exposure-intraduced liver injury

镉被广泛应用于多个领域,包括冶炼、采矿、电镀、油漆颜料生产以及合金制造等[1]。但镉是一种对人体多个器官具有危害的重金属,“湖南镉大米事件”“河南镉小麦事件”等重大公共卫生事件的披露揭示了镉污染的严峻现实及其对公众健康的巨大威胁[2]。肝是镉毒理作用的主要靶器官之一,导致肝功能异常的人群镉暴露主要是急性暴露[3]。在镉的急性中毒事件中,患者会出现倦怠、恶心等症状和天冬氨酸转氨酶(aspartate transaminase, AST)、丙氨酸转氨酶(alanine transaminase, ALT)等酶谱异常[4]。因此,探究镉诱导的肝损伤分子机制,可以为镉导致的肝损伤防护提供新线索。

自噬是细胞内物质代谢的重要过程,某些衰老细胞器和生物大分子等由双层膜包裹后陷入溶酶体内并被消化掉是维持细胞稳态的关键因素之一[5]。自噬-溶酶体途径受损会导致细胞凋亡因子的释放和坏死信号的启动,造成细胞的损伤或死亡。然而,细胞自噬过度活化会导致细胞内正常的线粒体被吞噬降解,引起细胞能量代谢障碍,从而刺激细胞自噬性死亡[6]。本课题组前期研究结果表明,肝细胞(L02 细胞和 HepG2 细胞)在镉暴露后会出现 SQSTM1 蛋白减少和 LC3 蛋白翻转实验阳性,敲除自噬关键基因 ATG5 和利用自噬抑制剂 3-MA 可以显著减少镉暴露诱导的线粒体降解、能量代谢障碍及肝细胞死亡,提示镉暴露造成了肝细胞自噬过度活化,抑制自噬能显著拮抗镉肝毒性[7-8]。然而,镉是通过何种信号通路诱导自噬还有待进一步阐明。

ZKSCAN3 是控制细胞自噬-溶酶体途径的关键分子之一,主要通过调控自噬-溶酶体途径相关基因表达从而控制自噬流[9-10]。有研究发现,ZKSCAN3 位于细胞核中,但在饥饿或者运动等应激情况下,细胞核内的 ZKSCAN3 会减少或向细胞质转位,从而丧失对 DNA 转录的抑制作用,进而启动自噬-溶酶体途径相关基因的转录[9-10]。基于以上情况,本研究通过体内实验,建立急性镉暴露小鼠模型,初步探究ZKSCAN3介导的自噬在急性镉暴露肝损伤中的作用。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物及试剂

SPF 级 C57BL/6J 雄性小鼠,7~8 周龄,由陆军军医大学实验动物中心提供,生产许可证号:SCXK(渝)20170002,使用许可证号:SYXK(渝)20170002。所有动物实验的开展均获得陆军军医大学实验动物伦理审查委员会批准。氯化镉购自西格玛奥德里奇公司,纯度大于 99.99%。建立镉暴露小鼠模型前,以生理盐水配制氯化镉溶液,质量体积比为 1∶2.5。

### 1.2 小鼠急性氯化镉暴露实验

将 16 只 8 周龄 SPF 级雄性小鼠随机分成生理盐水对照组及镉暴露组,每组 8 只。生理盐水对照组小鼠每日腹腔注射等量生理盐水 1 次,7 d 后取材进行后续实验;镉暴露组小鼠腹腔注射氯化镉,染毒剂量为 2 mg·kg$^{-1}$·bw$^{-1}$,染毒方式为每天腹腔注射 1 次,7 d 后取材进行后续实验[11]。

### 1.3 AAV-TBG-ZKSCAN3 干预实验

AAV-TBG-ZKSCAN3 及 AAV-TBG-control 两种腺相关病毒由和元生物设计合成,该病毒含有 TBG 启动子,可以在肝中特异性过表达 ZKSCAN3[12]。24 只7 周龄 SPF 级雄性小鼠随机分成镉组、镉+ZKSCAN3 组、对照组,每组 8 只:镉组尾静脉注射 AAV-TBG-control,1 周后连续腹腔注射氯化镉 7 d;镉+ZKSCAN3 组尾静脉注

射 AAV-TBG-ZKSCAN3,1 周后连续腹腔注射氯化镉 7 d;对照组尾静脉注射 AAV-TBG-control,1 周后连续腹腔注射生理盐水 7 d。$2\times10^{11}$拷贝数 AAV 溶解在 100 μL 生理盐水后进行尾静脉注射。氯化镉染毒剂量为 2 $mg\cdot kg^{-1}\cdot bw^{-1}$,染毒方式为每天腹腔注射1 次,7 d 后取材进行后续实验。

1.4 血清生化指标检测

镉暴露实验及干预实验完成后,小鼠以 25% 乌拉坦麻醉,心脏取血,1 000 g 离心 10 min,制备血清,于 -80 ℃冻存。干冰运输送至武汉赛维尔生物科技有限公司以全自动生化分析仪检测血清中 ALT、AST 含量。

1.5 肝组织病理形态学检查

镉暴露实验及干预实验完成后,小鼠以 25% 乌拉坦麻醉,取肝组织,大小为 0.5 cm×1 cm×1.5 cm,4% 多聚甲醛固定,送至武汉赛维尔生物科技有限公司进行肝组织常规病理切片,苏木素 - 伊红(HE)染色,应用 Pannoramic MIDI 病理切片扫描仪进行记录。

1.6 肝组织的细胞核与细胞质蛋白分离

采用碧云天的细胞核蛋白与细胞浆蛋白抽提试剂盒进行蛋白的核质分离。镉暴露实验结束后采集小鼠肝组织,用剪刀将组织尽可能剪小,按照 20∶1的比例混合适量的细胞浆蛋白抽提试剂 A 和 B。每 60 mg组织加入 200 μL 组织匀浆液后,在玻璃匀浆器内充分匀浆。随后按照说明书分别提取细胞质蛋白及细胞核蛋白。

1.7 Western blot 检测 ZKSCAN3 蛋白表达

将细胞核蛋白与细胞质蛋白分别上样,上样量为 50 μg,用 10% SDS PAGE 凝胶电泳,湿转至 PVDF 膜,然后用 10% 脱脂奶粉溶液封闭 1 h,TBST 液清洗,然后加入一抗(ZKSCAN3,1∶1 000;GAPDH,1∶5 000;H3,1∶5 000)。孵育过夜后加入相应二抗。使用 ECL 显色,在凝胶成像系统中曝光,观测结果,用 Image J 软件分析条带图。

1.8 实时荧光定量 PCR 检测自噬相关基因 mRNA 表达

以总 RNA 提取试剂 RNAiso Plus(宝生物,日本)溶解小于 100 mg 的肝组织,按说明书步骤提取样本总 RNA。取等量总 RNA 按反转录试剂盒 Prime Script RT reagent Kit(宝生物,日本)说明书步骤将总 RNA 转录为 cDNA 以进行后续实验。使用荧光定量检测试剂 SYBR Master Mix(宝生物,日本)及荧光定量 PCR 仪(CFX96,美国伯乐)进行基因实时定量荧光 PCR 实验,检测自噬成膜、发生、延伸等过程的基因 Map1lc3b,控制自噬小体与溶酶体融合的基因 Rab5a,溶酶体v-ATPase 酶基因 Atp6v0d1,溶酶体膜蛋白酶基因 Lamp1 和溶酶体水解酶基因 Ctsb 的表达。以 β-actin 为内参,以 $2^{-\Delta\Delta CT}$方法计算 mRNA 表达量[13],参照对照组计算相关基因 mRNA 相对表达水平。特异性引物序列见表 1。

**表 1 基因引物列表**

| 基因名称 | 上游引物 | 下游引物 |
|---|---|---|
| Map1lc3b | 5'-AGCAGCATCCAACCAAAATC-3' | 5'-CTGTGTCCGTTCACCAACAG-3' |
| Rab5a | 5'-GCTAATCGAGGAGCAACAAGAC-3' | 5'-CCAGGCTTGATTTGCCAACAG-3' |
| Lamp1 | 5'-CAGCACTCTTTGAGGTGAAAAAC-3' | 5'-CCATTCGCAGTCTCGTAGGTG-3' |
| Ctsb | 5'-CAGGCTGGACGCAACTTCTAC-3' | 5'-TCACCGAACGCAACCCTTC-3' |
| Atp6v0d1 | 5'-AGTTCCGCCACATGAGAAACC-3' | 5'-TGTGCCTGTGATTAGCAGGAT-3' |
| ZKSCAN3 | 5'-CAGAAGCCAGTGAGCAGGAA-3' | 5'-TCTTCCCACATTCACGGCAA-3' |
| β-actin | 5'-CGTGCGTGACATCAAAGAGAAG-3' | 5'-CAAGAAGGAAGGCTGGAAAAGA-3' |

1.9 统计学处理

采用 SPSS 22.0 统计软件进行分析,实验数据以样本均数 ± 标准差($\bar{x}\pm s$)表示。生理盐水对照组与镉暴露组组间比较采用 $t$ 检验。对照组、镉组及镉 + ZKSCAN3组组间比较采用单因素方差分析。$P<0.05$ 为差异具有统计学意义,$P<0.01$ 为差异具有极显著性统计学意义。

## 2 结果

2.1 急性镉暴露诱导小鼠肝损伤

HE 染色结果显示,与生理盐水对照组比较,镉暴露组小鼠肝细胞局部出现气球样变,炎症细胞浸润、坏死(图 1a);与生理盐水对照组比较,镉暴露组小鼠血清中肝功能生化指标 ALT、AST 显著较高($P<0.01$),见图 1b、c,表明 2 $mg\cdot kg^{-1}\cdot bw^{-1}$急性镉暴露可造成小鼠肝损伤。

2.2 镉暴露后肝自噬相关基因 mRNA 表达显著增高

实时荧光定量 PCR 检测结果显示,与生理盐水对照组比较,镉暴露组肝组织中 Map1lc3b、Rab5a、Atp6v0d1、Lamp1、Ctsb 的 mRNA 表达均显著较高,差异有极显著性统计学意义($P<0.01$),见图 2。

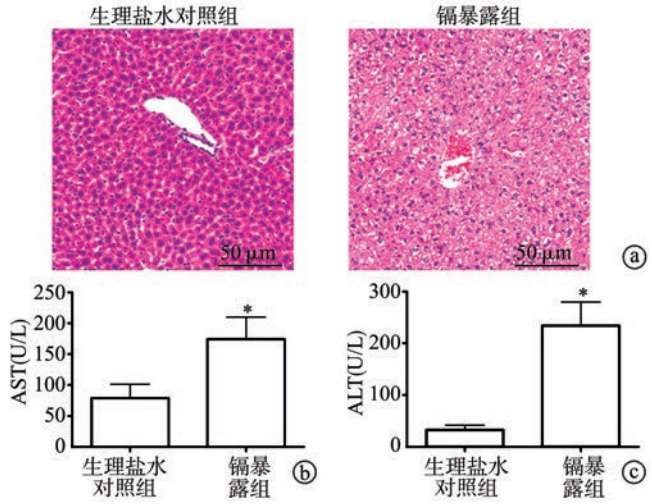
2.3 镉暴露抑制 ZKSCAN3 mRNA 和蛋白的表达

本研究检测发现,与生理盐水对照组比较,镉暴露组 ZKSCAN3 基因表达显著较少($P<0.01$),见图 3a。同时,本课题组进一步检测 ZKSCAN3 蛋白在镉暴露

后是否发生细胞质转位,结果显示,镉暴露降低了细胞核内 ZKSCAN3 蛋白的表达($P<0.01$),却并未引起其明显的细胞质转位($P>0.05$),见图 3b。

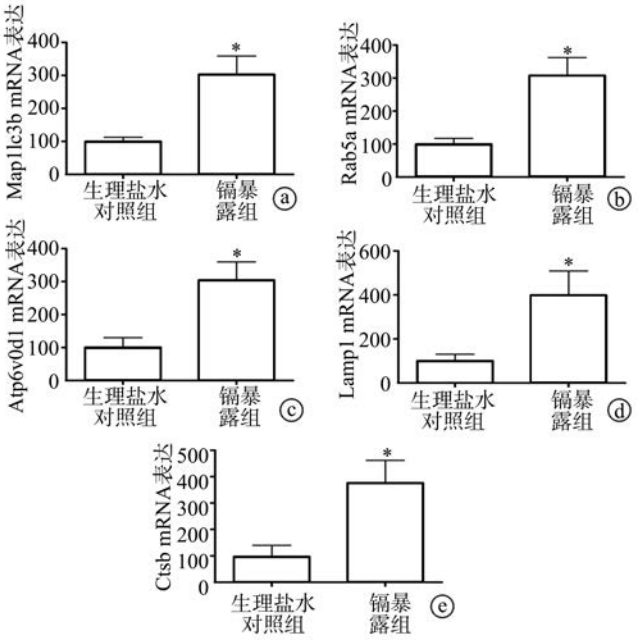
### 2.4 过表达 ZKSCAN3 可抑制镉诱导的肝细胞自噬相关基因 mRNA 的表达

本研究检测发现,过表达 ZKSCAN3 可以扭转镉对 ZKSCAN3 基因 mRNA 的抑制($P<0.05$),见图 4a;过表达 ZKSCAN3 可以显著抑制镉诱导的 Map1lc3b、Rab5a、Atp6v0d1、Lamp1、Ctsb 等自噬相关基因 mRNA 的表达($P<0.01$),见图 4b~e。



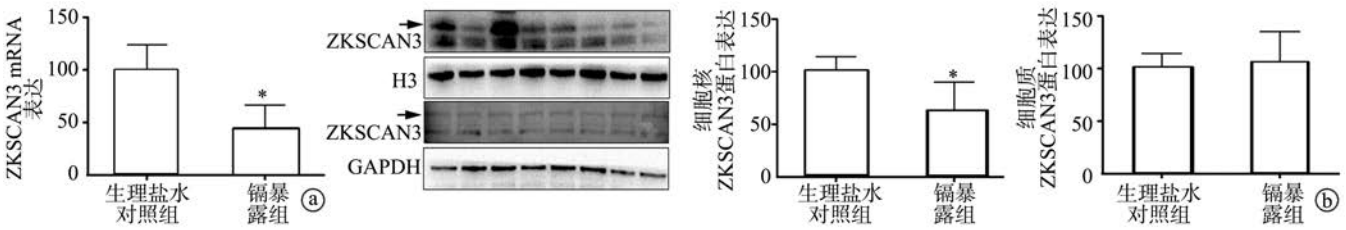

a:小鼠肝组织 HE 染色图;b:AST 水平;c:ALT 水平 *:与生理盐水对照组相比,$P<0.01$

**图 1 急性镉暴露对小鼠肝组织形态的影响及血清生化指标分析**



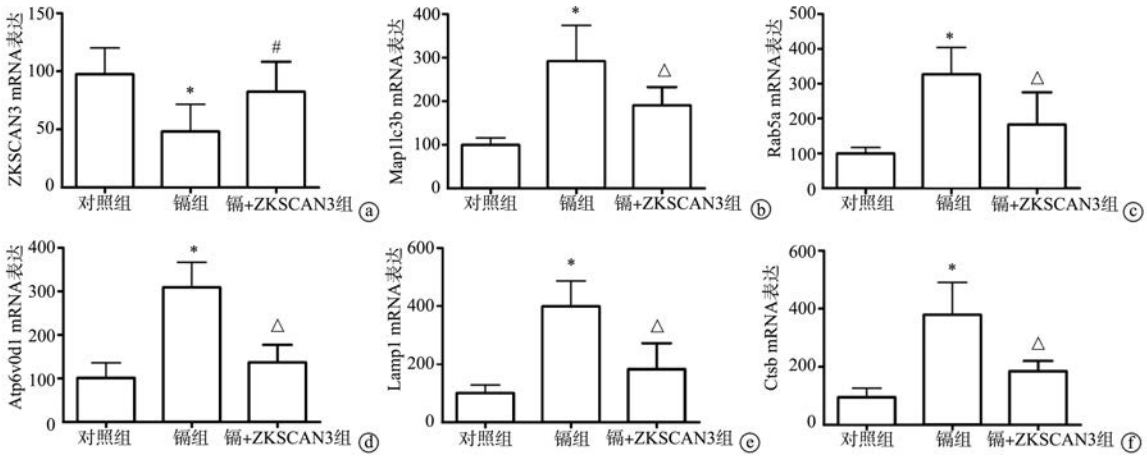

a:Map1lc3b;b:Rab5a;c:Atp6v0d1;d:Lamp1;e: Ctsb *:与生理盐水对照组比较,$P<0.01$

**图 2 急性镉暴露肝组织中自噬相关基因 mRNA 表达**




a:ZKSCAN3 基因表达;b:ZKSCAN3 蛋白的核质分布 *:与生理盐水对照组比较,$P<0.01$

**图 3 镉暴露抑制 ZKSCAN3 蛋白的表达**

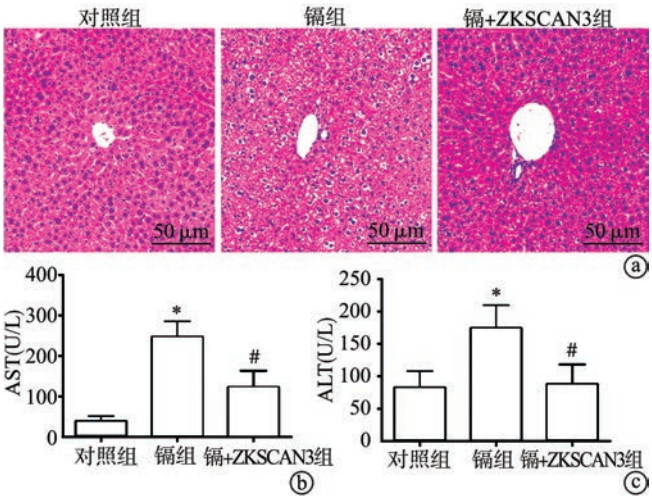



a:ZKSCAN3;b:Map1lc3b;c:Rab5a;d:Atp6v0d1;e: Lamp1;f: Ctsb *:与对照组比较,$P<0.01$;#:与镉组比较,$P<0.05$;△:与镉组比较,$P<0.01$

**图 4 过表达 ZKSCAN3 对自噬相关基因 mRNA 表达影响**

2.5 过表达 ZKSCAN3 可以抑制镉诱导的肝损伤

HE 染色结果显示,过表达 ZKSCAN3 可显著减少镉组小鼠肝组织炎症细胞浸润,减轻局部肝细胞气球样变、坏死(图 5a);与镉组比较,镉 + ZKSCAN3 组小鼠血清中肝功能生化指标 ALT、AST 显著较低($P<0.01$),见图5b、c。




a:小鼠肝组织形态学;b:血清生化指标 AST 水平;c:血清生化指标 ALT 水平 *:与对照组比较,$P<0.01$;#:与镉组比较,$P<0.01$

**图 5 过表达 ZKSCAN3 对急性镉暴露诱导的小鼠肝损伤的影响**

## 3 讨论

肝是镉中毒的主要靶器官之一,目前国内外研究表明,镉导致的肝毒性主要机制包括:改变维持内环境稳定相关的某些基因表达;竞争性地抑制细胞膜上的各种离子通道,导致细胞内离子代谢特别是铁代谢的紊乱;改变线粒体膜通透性,诱导内质网应激及活性氧产生,促进凋亡及坏死[14-15]。尽管镉肝毒理机制已经有了一定进展,但是其作用机制依然缺乏系统的研究。本研究建立急性镉暴露小鼠模型,发现 2 $mg\cdot kg^{-1}\cdot bw^{-1}$镉暴露 7 d可显著诱导小鼠肝损伤,且 ZKSCAN3 介导的自噬与镉肝毒性密切相关。

自噬 - 溶酶体途径是细胞维持稳态的重要生命过程,其基本过程包括自噬小泡的形成,自噬小体的组装、延伸和闭合,自噬小体与溶酶体的融合,及随后的包裹物在溶酶体水解酶的作用下降解,从而为细胞重新合成细胞器提供氨基酸等小分子原料[16]。在正常生理条件下,自噬可维持肝细胞内环境的稳定,自噬过度活化可导致肝细胞内细胞器损伤及肝细胞死亡[17]。细胞自噬性死亡与很多化合物的毒理机制密切相关[18]。Feng 等[19]研究发现,吗啡能够显著诱导大鼠原代神经元自噬过度活化,导致神经元线粒体拷贝数下降、线粒体供能障碍、ATP 水平下降,从而产生神经毒性。Su 等[20]研究发现,自噬关键基因 ATG7si-RNA 通过抑制过度活化的自噬可以显著拮抗 1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶引起的神经细胞死亡。本课题组前期研究结果已经在细胞层面证实了镉可以诱导肝细胞自噬过度活化。同时,Hao 等[21]报道了镉暴露可以诱导 hsa_circ_0040768 介导的肝细胞自噬性死亡。Zhang 等[22]研究发现,钙紊乱介导肝细胞自噬性死亡是镉肝毒性的重要靶点。本课题组前期研究也证明了镉暴露通过激活 $Ca^{2+}$-DNM1lL 通路和抑制 SIRT1-SIRT3-SOD2 通路诱导肝细胞自噬性死亡[7-8]。本研究结果表明,镉暴露可以激活肝细胞自噬 - 溶酶体相关基因的表达,为镉诱导肝细胞自噬活化增添了体内研究证据。

ZKSCAN3 是一个具有 KRAB 与 SCAN 结构域的锌指蛋白,KRAB 结构域结合到 DNA 模板时可起到转录抑制的作用,SCAN 结构域在 C2H2 锌指蛋白的组装与功能发挥上起到重要作用,而 C2H2 锌指结构域可结合 DNA、RNA、蛋白及小分子物质,且不同的锌指序列及锌指间连接序列决定了该锌指蛋白的结合特异性[23]。细胞核 ZKSCAN3 减少会启动包括自噬成膜、自噬小体发生及成熟、自噬小体与溶酶体融合、溶酶体生成等一系列基因的表达,几乎涵盖了对整个自噬 - 溶酶体途径的调控[24]。Lei 等[25]报道了 A30P 突变的 α-突触核蛋白通过增加 ZKSCAN3 蛋白的表达抑制神经细胞的自噬流。同样有研究表明,HEP14 化合物能诱导 ZKSCAN3 细胞质转位,促进细胞自噬,加强蛋白的降解和脂滴的代谢[10]。目前有研究显示 ZKSCAN3 的细胞质转位与其磷酸化水平密切相关[26]。本研究发现镉暴露抑制了 ZKSCAN3 蛋白的表达,但未引起其细胞质转位,可能与其磷酸化水平没有发生改变有关。然而过表达 ZKSCAN3 显著抑制了自噬 - 溶酶体基因的表达,这也证实了是 ZKSCAN3 的表达而不是其细胞质转位参与了镉诱导的急性肝损伤和细胞自噬性死亡。此外,最近有研究发现 ZKSCAN3 还可以通过保持异染色质的稳定性来拮抗细胞的衰老与死亡,而且这种功能并不依赖于对自噬的调控[27]。因此,ZKSCAN3 在镉肝毒性中的作用值得进一步的探讨与研究。

综上所述,急性镉暴露可诱导小鼠肝细胞自噬性死亡,ZKSCAN3 可能是镉诱导肝细胞自噬性死亡的重要靶点。本研究探讨了镉肝毒理作用的细胞靶点及分

子机制,为开展镉肝毒性治疗和药物的研究提供了实验依据。

## [参考文献]


[1] 尚二萍,许尔琪,张红旗,等.中国粮食主产区耕地土壤重金属时空变化与污染源分析[J].环境科学,2018,39(10):4670-4683. doi:10.13227/j.hjkx.201802139.

[2] 李 婧,周艳文,陈 森,等.我国土壤镉污染现状、危害及其治理方法综述[J].安徽农学通报,2015,21(24):104-107. doi:10.16377/j.cnki.issn1007-7731.2015.24.044.

[3] Rikans LE,Yamano T. Mechanisms of cadmium-mediated acute hepatotoxicity[J]. J Biochem Mol Toxicol,2000,14(2):110-117. doi:10.1002/(sici)1099-0461(2000)14:2<110::aid-jbt7>3.0.co;2-j.

[4] Fowler BA. Monitoring of human populations for early markers of cadmium toxicity: a review[J]. Toxicol Appl Pharmacol,2009,238(3):294-300. doi:10.1016/j.taap.2009.05.004.

[5] Al-Bari MAA. A current view of molecular dissection in autophagy machinery[J]. J Physiol Biochem,2020,76(3):357-372. doi:10.1007/s13105-020-00746-0.

[6] Mo Y,Sun YY,Liu KY. Autophagy and inflammation in ischemic stroke[J]. Neural Regen Res,2020,15(8):1388-1396. doi:10.4103/1673-5374.274331.

[7] Pi H,Xu S,Zhang L,et al. Dynamin 1-like-dependent mitochondrial fission initiates overactive mitophagy in the hepatotoxicity of cadmium[J]. Autophagy,2013,9(11):1780-1800. doi:10.4161/auto.25665.

[8] Pi H,Xu S,Reiter RJ,et al. SIRT3-SOD2-mROS-dependent autophagy in cadmium-induced hepatotoxicity and salvage by melatonin[J]. Autophagy,2015,11(7):1037-1051. doi:10.1080/15548627.2015.1052208.

[9] Chauhan S,Goodwin JG,Chauhan S,et al. ZKSCAN3 is a master transcriptional repressor of autophagy[J]. Mol Cell,2013,50(1):16-28. doi:10.1016/j.molcel.2013.01.024.

[10] Li Y,Xu M,Ding X,et al. Protein kinase C controls lysosome biogenesis independently of mTORC1[J]. Nat Cell Biol,2016,18(10):1065-1077. doi:10.1038/ncb3407.

[11] Cao Z,Fang Y,Lu Y,et al. Melatonin alleviates cadmium-induced liver injury by inhibiting the TXNIP-NLRP3 inflammasome[J]. J Pineal Res,2017,62(3). doi:10.1111/jpi.12389.

[12] Pi H,Liu M,Xi Y,et al. Long-term exercise prevents hepatic steatosis: a novel role of FABP1 in regulation of autophagy-lysosomal machinery[J]. FASEB J,2019,33(11):11870-11883. doi:10.1096/fj.201900812R.

[13] Livak KJ,Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method[J]. Methods,2001,25(4):402-408. doi:10.1006/meth.2001.1262.

[14] Zhang H,Reynolds M. Cadmium exposure in living organisms: a short review[J]. Sci Total Environ,2019,678:761-767. doi:10.1016/j.scitotenv.2019.04.395.

[15] Genchi G,Sinicropi MS,Lauria G,et al. The effects of cadmium toxicity[J]. Int J Environ Res Public Health,2020,17(11):E3782. doi:10.3390/ijerph17113782.

[16] Akkoc Y,Gozuacik D. MicroRNAs as major regulators of the autophagy pathway[J]. Biochim Biophys Acta Mol Cell Res,2020,1867(5):118662. doi:10.1016/j.bbamcr.2020.118662.

[17] Lu X,Paliogiannis P,Calvisi DF,et al. Role of the mTORpathway in liver cancer: from molecular genetics to targeted therapies[J]. Hepatology,2020. doi:10.1002/hep.31310.

[18] Mohammadinejad R,Moosavi MA,Tavakol S,et al. Necrotic,apoptotic and autophagic cell fates triggered by nanoparticles[J]. Autophagy,2019,15(1):4-33. doi:10.1080/15548627.2018.1509171.

[19] Feng YM,Jia YF,Su LY,et al. Decreased mitochondrial DNA copy number in the hippocampus and peripheral blood during opiate addiction is mediated by autophagy and can be salvaged by melatonin[J]. Autophagy,2013,9(9):1395-1406. doi:10.4161/auto.25468.

[20] Su LY,Li H,Lv L,et al. Melatonin attenuates MPTP-induced neurotoxicity via preventing CDK5-mediated autophagy and SNCA/alpha-synuclein aggregation[J]. Autophagy,2015,11:1745-1759. doi:10.1080/15548627.2015.1082020.

[21] Hao R,Li F,Song X,et al. Caffeic acid phenethyl ester against cadmium induced toxicity mediated by CircRNA modulates autophagy in HepG2 cells[J]. Ecotoxicol Environ Saf,2020,197:110610. doi:10.1016/j.ecoenv.2020.110610.

[22] Zhang C,Wang LL,Cao CY,et al. Selenium mitigates cadmium-induced crosstalk between autophagy and endoplasmic reticulum stress via regulating calcium homeostasis in avian leghorn male hepatoma(LMH) cells[J]. Environ Pollut,2020,265:114613. doi:10.1016/j.envpol.2020.114613.

[23] Li J,Hao N,Han J,et al. ZKSCAN3 drives tumor metastasis via integrin β4/FAK/AKT mediated epithelial-mesenchymal transition in hepatocellular carcinoma[J]. Cancer Cell Int,2020,20:216. doi:10.1186/s12935-020-01307-7.

[24] Chua JP,Reddy SL,Merry DE,et al. Transcriptional activation of TFEB/ZKSCAN3 target genes underlies enhanced autophagy in spinobulbar muscular atrophy[J]. Hum Mol Genet,2014,23(5):1376-1386. doi:10.1093/hmg/ddt527.

[25] Lei Z,Cao G,Wei G. A30P mutant α-Synuclein impairs autophagic flux by inactivating JNK signaling to enhance ZKSCAN3 activity in midbrain dopaminergic neurons[J]. Cell Death Dis,2019,10(2):133. doi:10.1038/s41419-019-1364-0.

[26] Li S,Song Y,Quach C,et al. Transcriptional regulation of autophagy-lysosomal function in braf-driven melanoma progression and chemoresistance[J]. Nat Commun,2019,10(1):1693. doi:10.1038/s41467-019-09634-8.

[27] Hu H,Ji Q,Song M,et al. ZKSCAN3 counteracts cellular senescence by stabilizing heterochromatin[J]. NucleicAcids Res,2020,48(11):6001-6018. doi:10.1093/nar/gkaa425.


(编辑:魏 源)