凋亡细胞清除的分子和细胞生物学机制

甘启文, 陈迪笛, 杨崇林*

中国科学院遗传与发育生物学研究所, 分子发育生物学国家重点实验室, 北京 100101

* 联系人, E-mail: clyang@genetics.ac.cn

收稿日期: 2015-03-05; 接受日期: 2015-04-17; 网络版发表日期: 2015-05-25

国家自然科学基金(批准号: 31230043)资助项目

doi: 10.1360/N052015-00072

摘要 凋亡细胞的正确清除是细胞程序性死亡的必要环节, 对生物体的器官发育和组织稳态维持起至关重要的作用. 凋亡细胞的清除涉及凋亡细胞与吞噬细胞之间的相互识别、吞噬小体形成、吞噬小体与溶酶体融合、凋亡细胞降解等多个环节. 基于模式动物秀丽线虫的研究使人们对这一过程的调控机制有了系统的认识, 本文将简要综述该方面的研究进展.

关键词

凋亡细胞清除
细胞吞噬
秀丽线虫
吞噬信号
吞噬小体成熟化

细胞凋亡(apoptosis)是动物发育过程中细胞程序性死亡的主要方式. 在哺乳动物中, 细胞凋亡发生后, 凋亡细胞由专职的吞噬细胞(phagocyte), 如巨噬细胞(macrophage)或树突细胞(dendritic cell)等, 将其吞噬后降解, 这一过程对组织动态平衡及器官形成具有十分重要的作用. 凋亡细胞(apoptotic cell)的及时清除可使机体避免其因有害内含物的释放而导致的炎症或自体免疫疾病. 与之相反, 凋亡细胞的清除障碍会引发多种严重慢性炎症或致死性自体免疫疾病(如系统性红斑狼疮和类风湿性关节炎等)^[1]. 凋亡细胞的清除还与肿瘤发生、病原菌入侵或神经系统疾病(如帕金森、阿兹海默症和亨廷顿症等)有直接或间接的关系^[2]. 因此, 揭示凋亡细胞清除的调控机制将为这一类疾病的发病机制、诊断和治疗提供重要依据.

目前, 对凋亡细胞清除机制的认识主要来源于对秀丽线虫(*Caenorhabditis elegans*)细胞程序性死亡和哺乳动物细胞凋亡的研究. 线虫多为雌雄同体, 但

也有极少数为雄虫, 两性之间可以交配. 线虫易培养, 世代周期短. 因此, 在运用遗传学方法解析细胞生命活动和个体发育方面具有无与伦比的优势. 在雌雄同体线虫的发育过程中, 共有 131 个体细胞和近 1/2 的生殖腺细胞发生凋亡. 已凋亡的细胞光反射性增强, 在差异干涉(differential interference contrast, DIC)显微镜下呈纽扣状凸起, 容易辨认(图 1). 线虫中缺乏专职的吞噬细胞, 因此, 凋亡的体细胞由相邻细胞吞噬而被清除; 而凋亡的生殖腺细胞则由包裹生殖腺的鞘细胞(sheath cell)清除. 而高等生物中存在专职的吞噬细胞, 它们会被凋亡细胞分泌的“发现我”信号(find-me signal)吸引, 从而迅速找到凋亡细胞而将其清除, 避免凋亡后坏死(post-apoptotic necrosis)而引起炎症反应^[3].

凋亡细胞的清除涉及多个环节, 包括凋亡细胞与吞噬细胞相互识别、吞噬小体(phagosome)形成、吞噬小体与溶酶体(lysosome)融合、凋亡细胞降解. 本文将对这些环节的分子调控机制作简要综述.

引用格式: 甘启文, 陈迪笛, 杨崇林. 凋亡细胞清除的分子和细胞生物学机制. 中国科学: 生命科学, 2015, 45: 524–531

Gan Q W, Chen D D, Yang C L. Molecular and cellular mechanisms of apoptotic cell clearance. SCIENTIA SINICA Vitae, 2015, 45: 524–531, doi: 10.1360/N052015-00072

图 1 线虫胚胎中的凋亡细胞(箭头所示)

1 凋亡细胞与吞噬细胞间的相互识别

凋亡细胞与吞噬细胞间的相互识别是清除凋亡细胞的先决条件, 这一过程涉及凋亡细胞和吞噬细胞双方的信号传导. 凋亡细胞要在其表面呈现一些可被吞噬细胞识别的特征信号, 也称为“吃我”信号(eat-me signal). 目前公认的“吃我”信号是磷脂酰丝氨酸(phosphatidylserine, PS). 在活细胞中, PS 位于细胞膜的内叶, 这种极性定位依赖于氨基磷脂转移酶 TAT-1, 它持续地将 PS 从细胞膜外叶转移至内叶^[4]. *tat-1* 基因的缺失会导致神经细胞被错误吞噬而丢失^[4]. 细胞凋亡后 PS 暴露在凋亡细胞膜的外表面^[5]. 科罗拉多大学 Xue 实验室^[6]发现凋亡发生时, 促凋亡因子 AIF(Apoptosis-inducing factor)的同源蛋白 WAH-1(worm AIF homolog)从线粒体上释放下来, 结合磷脂翻转酶 SCRM-1(SCRaMblase), 并将其激活. 在 SCRM-1 的作用下 PS 外翻, 在细胞膜的外叶积累.

凋亡细胞表面的 PS 会被吞噬细胞膜上的受体识别. 在线虫中, 主要的吞噬受体是含有单次跨膜区的 CED-1(cell death abnormality)蛋白^[7]. 北京生命科学研究所王晓晨实验室和科罗拉多大学 Xue 实验室^[8]发现 CED-1 不能直接结合 PS, 而是通过一个桥梁分子来识别 PS. 这个桥梁分子就是类转甲状腺素 TTR-52(transthyretin-related 52). 王晓晨实验室与中国科学院生物物理所刘迎芳实验室^[9]共同解析了 TTR-52 的晶体结构, 发现 TTR-52 能同时与 CED-1 的胞外端和 PS 结合. 其他的吞噬受体包括 PSR-1(phosphatidyl serine receptor 1)和 INA-1(integrin alpha-1). Xue 实验室^[10]发现人类(*Homo sapiens*)PS 受体(PSR)的同源物 PSR-1 可以直接结合 PS, *psr-1* 突变体中存

在凋亡细胞清除缺陷. INA-1 是整合素家族成员, *ina-1* 基因突变后也会导致凋亡细胞吞噬障碍. INA-1 的胞外端可以与凋亡细胞表面结合, 且这种结合依赖于 SCRM-1, 因此 INA 可能也会识别 PS^[11]. 王晓晨实验室和 Xue 实验室^[9,12,13]最新的研究表明 PS 不仅呈现在凋亡细胞的表面, 而且还会被转移到吞噬细胞表面. 这一过程由细胞质膜上的 ABC 转运蛋白 CED-7, PS 结合蛋白 TTR-52 和 NRF-5(nose resistant to fluoxetine 5)之间的相互作用而介导. 阻断 PS 从凋亡细胞向吞噬细胞的转移会影响 CED-1 对凋亡细胞的识别.

此外, 还有研究发现 Wnt(Wingless and INT-1)信号通路中的受体 MOM-5(more of MS 5)也可以识别吞噬细胞, 但被其识别的吞噬信号仍不清楚^[14]. 因此, 尽管 PS 作为吞噬信号参与凋亡细胞的识别已被广泛接受, 但可能还存在其他的凋亡细胞识别信号. 例如, 一些研究发现在果蝇(*Drosophila melanogaster*)中钙网蛋白(calreticulin)也参与凋亡细胞的识别. 钙网蛋白是细胞内的分子伴侣, 与蛋白的正确折叠和内质网运输相关, 但在凋亡发生后却出现在凋亡细胞的表面^[15,16].

2 凋亡细胞的吞噬

在线虫中没有专职的吞噬细胞, 凋亡细胞会被邻近的细胞吞噬, 如表皮细胞、肠细胞以及咽部肌肉细胞等, 它们主要负责凋亡体细胞的清除^[17,18]. 而在生殖腺中, 每个生殖腺臂的 5 对生殖腺鞘细胞负责近 200 个凋亡的生殖细胞的清除^[19].

Hedgecock 等人^[20]对秀丽线虫进行了遗传突变, 筛选具有细胞凋亡表型的突变体. 其中 2 个突变体表现为凋亡细胞的清除障碍, 命名为 *ced-1* 和 *ced-2*. 此后, Horvitz 实验室^[21]通过遗传突变, 筛选并获得了更多的凋亡细胞清除异常的突变体. Horvitz 实验室和另外几个实验室克隆了这些突变体的相关基因, 包括 *ced-1*, *ced-2*, *ced-5*, *ced-6*, *ced-7*, *ced-10* 和 *ced-12*. 通过构建双突变体并分析其表型, Horvitz 实验室的研究将这 7 个吞噬基因从遗传学上划分为 2 条平行且部分冗余的遗传学通路: *ced-1/6/7* 通路和 *ced-2/5/10/12* 通路. 这 2 条信号通路共同作用, 控制凋亡细胞的吞噬过程. 后来其他实验室的研究又发现了一些新的调控凋亡细胞吞噬的基因, 并通过遗传分析

确定了它们和这 2 条通路的关系. 此外, 近年来的研究还发现了吞噬过程的负调控因子(图 2).

2.1 CED-1/6/7 信号通路

CED-7 是一个多次跨膜的蛋白, 类似于哺乳动物细胞的 ABC 转运蛋白 ABCA1, 定位于细胞质膜上. *ced-7* 基因在凋亡细胞和吞噬细胞均有表达, 这对其介导的凋亡细胞吞噬是必需的^[22]. *ced-7* 基因的突变会阻止 PS 在吞噬细胞上的出现, 导致 PS 在凋亡细胞上积累. 在 *ced-7* 突变体中, PS 结合蛋白 TTR-52 也聚集在凋亡细胞上. TTR-52 能与 NRF-5 相互作用, 后者也是一个能结合 PS 的分泌型脂质转移/LPS-结合蛋白. 与 *ced-7* 相似, *nrf-5* 和 *ttr-52* 突变也会阻止 PS 在吞噬细胞上的出现, 使凋亡细胞表面累积 PS. 这些发现表明, CED-7、NRF-5 和 TTR-52 介导了 PS 从凋亡细胞到吞噬细胞的转移, 这对于 CED-1 识别吞噬细胞是必需的^[12,13].

CED-1 的功能具有保守性, 其同源物 Jedi-1 和

MEGF10 在小鼠(*Mus musculus*)中介导凋亡神经元的吞噬^[23]. CED-1 通过其 N 端胞外区与 TTR-52 相互作用而识别 PS 信号^[8]. CED-6 是一个定位于细胞质的接头蛋白, 人类的同源物为接头蛋白 GULP. 它们都含有 PTB(phosphotyrosine-binding)结构域. 该结构域与 CED-1 的 C 端胞内区相互作用, 介导吞噬信号向下游效应因子的传递^[24,25]. 除了被吞物质的大小不同外, 网格蛋白介导的内吞过程与 CED-1 介导的凋亡细胞吞噬过程非常相似. 而且这 2 个过程会共用网格蛋白重链 CHC-1(clathrin heavy chain 1)和衔接蛋白复合物^[26,27]. 本实验室^[27]发现 CED-1 可与衔接蛋白 AP-2 复合物的 α 亚基相互作用, CED-6 会与网格蛋白重链 CHC-1 和 AP-2 形成复合体. 这样 CED-1 与 CED-6 通过与 CHC-1 和 AP-2 形成复合体, 而 CHC-1 和 AP-2 调节吞噬细胞肌动蛋白细胞骨架的重构, 从而将凋亡细胞包裹并吞噬. 此外, 发动蛋白 dynamin 同源物 DYN-1 作用于 CED-6 下游, 它可能招募细胞内膜泡

图 2 线虫中凋亡细胞吞噬过程的调控通路

红色标注的是凋亡信号 PS 呈递的过程, 3 条平行的吞噬信号通路分别用绿色、蓝色、黄色标识; 吞噬的负调控因子用橙色标识; 虚线表示可能性, 待验证

至吞噬杯(phagocytic cup)附近,促进吞噬细胞的伪足延伸和吞噬杯的形成^[28].本实验室^[29]还发现在吞噬小体形成之后,随吞噬小体进入吞噬细胞的 CED-1 在逆向蛋白运输复合物——Retromer 的作用下,从吞噬小体上解离,并循环回到吞噬细胞膜表面. Retromer 组分基因突变导致 CED-1 无法回收而随吞噬体一起被溶酶体降解,最终将导致凋亡细胞吞噬受阻.

2.2 CED-2/5/10/12 信号通路

遗传分析表明, *ced-2*, *ced-5*, *ced-10* 和 *ced-12* 基因作用于同一信号通路影响凋亡细胞的吞噬. 这些基因编码的蛋白都定位于细胞质内,其相互作用可引起细胞骨架的改变,引起凋亡细胞的吞噬. CED-2, CED-5 和 CED-12 分别是人类蛋白 CrkII, DOCK180 和 ELMO 的同源蛋白^[24,30,31]. 而 CED-10 的同源物则是人类 Rac1 鸟苷酸水解酶(Rac1 GTPase)^[30]. Rac1 GTPase 属于 Ras 超家族的一个亚类, Ras 超家族还包括 Rho 和 Cdc42, 它们都通过调节细胞骨架来影响细胞形态^[32]. 研究发现,该通路的调控因子通过级联的蛋白质相互作用而引发细胞骨架重排. 其中, CED-2 可与 CED-5 相互作用, CED-5 又可与 CED-12 相互作用^[33,34]. CED-5-CED-12 复合体可能作为一个鸟苷酸交换因子(guanosine nucleotide exchanging factor, GEF)来激活 CED-10. 而 CED-10 的激活则导致细胞骨架的重排,使吞噬细胞膜延伸并围绕凋亡细胞并将其完全包裹,最终完成吞噬^[35].

在 CED-2/5/10/12 通路中, PSR-1 和 INA-1 可作为 PS 受体识别凋亡细胞上的 PS. 研究发现, PSR-1 可与 CED-5-CED-12 相互作用传递吞噬信号^[10]. INA-1 可结合非受体酪氨酸激酶 SRC-1, 而 SRC-1 又可与 CED-2 相互作用^[11]. 但是,与该通路中的主要基因相比, *psr-1* 和 *ina-1* 的突变引发的凋亡细胞吞噬缺陷要弱得多. 因此,还应该存在其他的吞噬受体,它们在一起发挥作用.

RhoG GTPase 和其 GEF-TRIO 也能通过 CED-5-CED-12 影响凋亡细胞吞噬. 在线虫中, MIG-2 (abnormal cell MIGration 2) 和 UNC-73 (UNCoordinated 73) 分别是 RhoG 和 TRIO 的同源蛋白, 它们会招募 CED-5-CED-12 复合体, 引起 CED-10 的激活, 但 UNC-73 上游受体未知^[36].

一些研究也发现, Wnt 信号通路可能通过 CED-

10 引起凋亡细胞吞噬. 参与这一过程的 Wnt 信号通路的组分有受体 MOM-5, GSK-3(glycogen synthases kinase 3)激酶和 APR-1(APC related 1), 它们引起 CED-2/5/12 通路的激活, 其中, MOM-5 可能也作为一个吞噬受体发挥作用^[14].

此外,也有报道指出 CED-1/6/7 吞噬通路也可能通过 CED-10 来引起肌动蛋白的重排,但具体机制尚不清楚^[37].

2.3 凋亡细胞吞噬的负调控

除上面介绍的凋亡细胞吞噬的正调控信号通路外,近年来,一些研究也发现了负调控凋亡细胞吞噬的基因. 其中,酪氨酸激酶 ABL 在线虫中的同源蛋白 ABL-1 可能通过抑制 ABI(ABL interactor)的同源物 ABI-1 来抑制 CED-10 的活性^[38]. SRGP-1 虽然是一个 Rho GAP(GTPase activating protein), 但可在 2 条吞噬信号通路的下游发挥作用,并作为 CED-10 的 GAP 来负调控凋亡细胞的吞噬. *swan-1*(seven-WD-repeat protein of the AN11 family-1)基因的功能缺失可以部分回复 *ced-10* 部分功能缺失突变体中凋亡细胞累积的表型^[39]. 王晓晨实验室^[40,41]发现磷脂酰肌醇-3-磷酸(phosphatidylinositol 3-phosphate, PI3P)水解酶 MTM-1(人类 myotubularin 1 的同源物)则可能通过调控吞噬细胞膜上的 PI3P 的水平来负调控凋亡细胞的吞噬.

3 凋亡细胞的降解

凋亡细胞被吞噬后在吞噬细胞内形成双层膜包裹的吞噬小体. 吞噬小体经过一系列的变化,最终与溶酶体融合,形成吞噬溶酶体(phagolysosome). 这一过程被称为吞噬小体的成熟化(phagosome maturation). 在吞噬小体的成熟过程中,多个细胞内的效应因子被顺序性地招募到吞噬小体膜上,使吞噬小体的特征性膜脂组分发生改变,同时使吞噬小体内部的 pH 逐渐下降. 参与凋亡细胞吞噬过程的一些蛋白对起始吞噬小体的成熟化是必需的,这就包括网格蛋白和其衔接蛋白复合体以及 DYN-1^[26,27]. 本实验室^[27]发现网格蛋白重链 CHC-1 和衔接蛋白 AP2 复合物不仅在凋亡细胞吞噬过程中发挥重要作用,它们还可以通过蛋白质相互作用招募 DYN-1 和 LST-4(lateral signaling target 4)到吞噬体表面. LST-4

是 sorting nexin 家族成员 SNX(Sorting NeXin) 9/18/33 的同源蛋白, 它促进 DYN-1 在吞噬体上的动态聚集. LST-4 的功能缺失会弱化 DYN-1 在吞噬体上富集^[27,42]. 吞噬小体上的 DYN-1 可以增强 III 型磷脂酰肌醇 3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K) VPS-34(related to yeast vacuolar protein sorting factor 34)的活性, 合成 PI3P^[43]. 此外, II 型 PI3K PIKI-1 (phosphoinositide-3-kinase 1)对吞噬体上 PI3P 的产生也十分重要, PIKI-1 和 VPS-34 共同作用, 在吞噬体上产生 PI3P. PI3P 对吞噬体的成熟至关重要, 但其动态变化的调控机制还有待阐明^[44].

在吞噬小体成熟过程中, 多个 Rab GTPase 包括 RAB-5, RAB-2, RAB-14 和 RAB-7 被先后招募到吞噬小体表面, 它们的级联招募对于吞噬小体的成熟化起重要作用^[45-48]. VPS-34 和 DYN-1 的协同作用可将 RAB-5 募集到新生的吞噬小体上. DYN-1 可作为连接蛋白介导 VPS-34 与结合 GDP 的 RAB-5 相互作用, 从而将 RAB-5 募集到吞噬小体上. RAB-5 反过来可以促进 VPS-34 的活性. 下调 RAB-5 会影响吞噬小体上 PI3P 的水平^[43]. Rab GTPase 的活性受它们的 GEF 和 GAP 的调节, 因而上述 Rab GTPase 的 GEF 和 GAP 都可能影响吞噬体的成熟化. 例如, 王晓晨实验室^[49]的研究表明 TBC-2(Tre-2/Bub2/Cdc16 domain 2)作为 RAB-5 的 GAP, 它将 RAB-5 从 GTP-结合形式(GTP-RAB-5)转换为 GDP-结合形式(GDP-RAB-5), 使 RAB-5 从吞噬体上释放. 因而吞噬小体的成熟化可以继续.

王晓晨实验室^[46,48]还发现, RAB-5 从吞噬小体上释放后, RAB-2, RAB-14 和 RAB-7 被招募到吞噬体上, 它们介导吞噬溶酶体的形成. RAB-14 和 RAB-2 在功能上具有冗余性, 它们作用在较早的阶段, 促进溶酶体在吞噬小体附近的募集, 而 RAB-7 则作用于它们

的下游, 介导溶酶体和吞噬小体的融合. SAND-1-CCZ-1 复合体(在人类中的 Mon1-Ccz1 复合体)促进 RAB-7 从非活性的 GDP-结合状态(GDP-RAB-7)转变为活性的 GTP-结合状态(GTP-RAB-7), 从而置换吞噬小体上的 RAB-5. 而 GTP-RAB-7 通过其效应蛋白如 HOPS(homotypic fusion and vacuole protein sorting)复合体, 介导吞噬溶酶体的形成^[50].

HOPS 复合体最早发现于酵母中. 当细胞内发生膜泡融合时, HOPS 使 2 个膜结构拉近, 停靠, 最后融合^[51]. HOPS 含有 6 个亚基, 本实验室^[52]发现它们的突变不影响 RAB-7 到吞噬小体上的招募, 但造成吞噬小体与溶酶体之间的融合缺陷.

吞噬小体与溶酶体融合之后, 吞噬小体的膜和内含物在溶酶体酸性水解酶的作用下被降解. 不过, 并不是所有水解酶对凋亡细胞的降解都是同等重要的. 本实验室^[53]发现线虫中 CPL-1(cathepsin L 1)功能缺失将导致性腺中的凋亡细胞不能及时降解而积累. CPL-1 是人类组织蛋白酶 L 的同源物. 它属于半胱氨酸蛋白酶家族, 该家族中其他成员功能缺失都不会引起凋亡细胞的累积.

4 展望

凋亡细胞的正确清除涉及凋亡细胞和吞噬细胞这 2 类细胞之间的相互作用. 因此这 2 类细胞内部及它们之间的信号传递和控制对于这一过程的顺利进行都十分重要. 迄今为止, 对秀丽线虫凋亡细胞清除的研究使人们对这一过程的调控机制有了较为系统的认识, 但还远未达到全面解析的程度. 例如, 对凋亡细胞来说, 除了 PS 外是否还有其他“吃我”信号? 这些信号是如何呈递并被识别的? 而对于正常细胞来说, 是否存在“不要吃我”信号(don't eat me signal)?

图3 线虫中凋亡细胞降解过程的分子调控通路

虚线表示可能性, 待验证

而这样的信号对于正常细胞避免被错误吞噬显然是十分有利的. 此外, 虽然已经知道有 2 条主要的信号通路控制吞噬过程, 但当把这 2 条通路同时阻断后, 并不能检测到所有凋亡细胞的累积. 例如, 在线虫胚胎发育过程中, 头部共有 93 个细胞发生凋亡. 但在 CED-1/6/7 和 CED-2/5/10/12 这 2 条通路的基因

的双突变体中, 能观察到的凋亡细胞的数目最多为 50 个左右^[54]. 因此, 是否还存在另外的吞噬调控途径? 更为重要的是, 在高等动物中, 凋亡细胞的清除是如何受到严密调控的? 其缺陷如何影响组织和器官发育及触发相关疾病? 这些问题的答案都有待人们去发掘.

参考文献

- 1 Savill J, Dransfield I, Gregory C, et al. A blast from the past: clearance of apoptotic cells regulates immune responses. *Nat Rev Immunol*, 2002, 2: 965–975
- 2 Elliott M R, Ravichandran K S. Clearance of apoptotic cells: implications in health and disease. *J Cell Biol*, 2010, 189: 1059–1070
- 3 Lauber K, Blumenthal S G, Waibel M, et al. Clearance of apoptotic cells: getting rid of the corpses. *Mol Cell*, 2004, 14: 277–287
- 4 Darland-Ransom M, Wang X, Sun C L, et al. Role of *C. elegans* TAT-1 protein in maintaining plasma membrane phosphatidylserine asymmetry. *Science*, 2008, 320: 528–531
- 5 Fadok V A, Voelker D R, Campbell P A, et al. Exposure of phosphatidylserine on the surface of apoptotic lymphocytes triggers specific recognition and removal by macrophages. *J Immunol*, 1992, 148: 2207–2216
- 6 Wang X, Wang J, Gengyo-Ando K, et al. *C. elegans* mitochondrial factor WAH-1 promotes phosphatidylserine externalization in apoptotic cells through phospholipid scramblase SCRM-1. *Nat Cell Biol*, 2007, 9: 541–549
- 7 Zhou Z, Hartwig E, Horvitz H R. CED-1 is a transmembrane receptor that mediates cell corpse engulfment in *C. elegans*. *Cell*, 2001, 104: 43–56
- 8 Wang X, Li W, Zhao D, et al. *Caenorhabditis elegans* transthyretin-like protein TTR-52 mediates recognition of apoptotic cells by the CED-1 phagocyte receptor. *Nat Cell Biol*, 2010, 12: 655–664
- 9 Kang Y, Zhao D, Liang H, et al. Structural study of TTR-52 reveals the mechanism by which a bridging molecule mediates apoptotic cell engulfment. *Gene Dev*, 2012, 26: 1339–1350
- 10 Wang X, Wu Y C, Fadok V A, et al. Cell corpse engulfment mediated by *C. elegans* phosphatidylserine receptor through CED-5 and CED-12. *Science*, 2003, 302: 1563–1566
- 11 Hsu T Y, Wu Y C. Engulfment of apoptotic cells in *C. elegans* is mediated by integrin α /SRC signaling. *Curr Biol*, 2010, 20: 477–486
- 12 Mapes J, Chen Y Z, Kim A, et al. CED-1, CED-7, and TTR-52 regulate surface phosphatidylserine expression on apoptotic and phagocytic cells. *Curr Biol*, 2012, 22: 1267–1275
- 13 Zhang Y, Wang H, Kage-Nakadai E, et al. *C. elegans* secreted lipid-binding protein NRF-5 mediates PS appearance on phagocytes for cell corpse engulfment. *Curr Biol*, 2012, 22: 1276–1284
- 14 Cabello J, Neukomm L J, Günesdogan U, et al. The Wnt pathway controls cell death engulfment, spindle orientation, and migration through CED-10/Rac. *PLoS Biol*, 2010, 8: e1000297
- 15 Kuraishi T, Manaka J, Kono M, et al. Identification of calreticulin as a marker for phagocytosis of apoptotic cells in *Drosophila*. *Exp Cell Res*, 2007, 313: 500–510
- 16 Gardai S J, McPhillips K A, Frasch S C, et al. Cell-surface calreticulin initiates clearance of viable or apoptotic cells through trans-activation of LRP on the phagocyte. *Cell*, 2005, 123: 321–334
- 17 Sulston J E, Horvitz H R. Post-embryonic cell lineages of the nematode, *Caenorhabditis elegans*. *Dev Biol*, 1977, 56: 110–156
- 18 Sulston J E, Schierenberg E, White J G, et al. The embryonic cell lineage of the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Dev Biol*, 1983, 100: 64–119
- 19 Gumieny T L, Lambie E, Hartwig E, et al. Genetic control of programmed cell death in the *Caenorhabditis elegans* hermaphrodite germline. *Development*, 1999, 126: 1011–1022
- 20 Hedgecock E M, Sulston J E, Thomson J. Mutations affecting programmed cell deaths in the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Science*, 1983, 220: 1277–1279
- 21 Reddien P W, Horvitz H R. The engulfment process of programmed cell death in *Caenorhabditis elegans*. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2004, 20: 193–221
- 22 Wu Y C, Horvitz H R. The *C. elegans* cell corpse engulfment gene CED-7 encodes a protein similar to ABC transporters. *Cell*, 1998, 93: 951–960
- 23 Scheib J L, Sullivan C S, Carter B D. JEDI-1 and MEGF10 signal engulfment of apoptotic neurons through the tyrosine kinase SYK. *J*

- Neurosci, 2012, 32: 13022–13031
- 24 Liu Q A, Hengartner M O. Human CED-6 encodes a functional homologue of the *Caenorhabditis elegans* engulfment protein CED-6. *Curr Biol*, 1999, 9: 1347–1350
- 25 Su H P, Nakada-Tsukui K, Tosello-Tramont A C, et al. Interaction of CED-6/GULP, an adapter protein involved in engulfment of apoptotic cells with CED-1 and CD91/low density lipoprotein receptor-related protein (LRP). *J Biol Chem*, 2002, 277: 11772–11779
- 26 Shen Q, He B, Lu N, et al. Phagocytic receptor signaling regulates clathrin and epsin-mediated cytoskeletal remodeling during apoptotic cell engulfment in *C. elegans*. *Development*, 2013, 140: 3230–3243
- 27 Chen D, Jian Y, Liu X, et al. Clathrin and AP2 are required for phagocytic receptor-mediated apoptotic cell clearance in *Caenorhabditis elegans*. *PLoS Genet*, 2013, 9: e1003517
- 28 Yu X, Odera S, Chuang C H, et al. *C. elegans* dynamin mediates the signaling of phagocytic receptor CED-1 for the engulfment and degradation of apoptotic cells. *Dev Cell*, 2006, 10: 743–757
- 29 Chen D, Xiao H, Zhang K, et al. Retromer is required for apoptotic cell clearance by phagocytic receptor recycling. *Science*, 2010, 327: 1261–1264
- 30 Reddien P W, Horvitz H R. CED-2/CRKII and CED-10/Rac control phagocytosis and cell migration in *Caenorhabditis elegans*. *Nat Cell Biol*, 2000, 2: 131–136
- 31 Zhou Z, Caron E, Hartweg E, et al. The *C. elegans* PH domain protein CED-12 regulates cytoskeletal reorganization via a p/Rac GTPase signaling pathway. *Dev Cell*, 2001, 1: 477–489
- 32 Van Aelst L, D'Souza-Schorey C. Rho GTPases and signaling networks. *Gene Dev*, 1997, 11: 2295–2322
- 33 Wu Y C, Horvitz H R. *C. elegans* phagocytosis and cell-migration protein CED-5 is similar to human DOCK180. *Nature*, 1998, 392: 501–504
- 34 Wu Y C, Tsai M C, Cheng L C, et al. *C. elegans* CED-12 acts in the conserved CRKII/DOCK180/Rac pathway to control cell migration and cell corpse engulfment. *Dev Cell*, 2001, 1: 491–502
- 35 Gumieny T L, Brugnera E, Tosello-Tramont A C, et al. CED-12/ELMO, a novel member of the CRKII/DOCK180/Rac pathway, is required for phagocytosis and cell migration. *Cell*, 2001, 107: 27–41
- 36 Debakker C D, Haney L B, Kinchen J M, et al. Phagocytosis of apoptotic cells is regulated by a UNC-73/TRIO-MIG-2/RhoG signaling module and armadillo repeats of CED-12/ELMO. *Curr Biol*, 2004, 14: 2208–2216
- 37 Kinchen J M, Cabello J, Klingele D, et al. Two pathways converge at CED-10 to mediate actin rearrangement and corpse removal in *C. elegans*. *Nature*, 2005, 434: 93–99
- 38 Hurwitz M E, Vanderzalm P J, Bloom L, et al. Abl kinase inhibits the engulfment of apoptotic cells in *Caenorhabditis elegans*. *PLoS Biol*, 2009, 7: e1000099
- 39 Yang Y, Lu J, Rovnak J, et al. SWAN-1, a *Caenorhabditis elegans* WD repeat protein of the AN11 family, is a negative regulator of Rac GTPase function. *Genetics*, 2006, 174: 1917–1932
- 40 Zou W, Lu Q, Zhao D, et al. *Caenorhabditis elegans* myotubularin MTM-1 negatively regulates the engulfment of apoptotic cells. *PLoS Genet*, 2009, 5: e1000679
- 41 Neukomm L J, Nicot A S, Kinchen J M, et al. The phosphoinositide phosphatase MTM-1 regulates apoptotic cell corpse clearance through CED-5-CED-12 in *C. elegans*. *Development*, 2011, 138: 2003–2014
- 42 Almendinger J, Doukoumetzidis K, Kinchen J M, et al. A conserved role for SNX9-family members in the regulation of phagosome maturation during engulfment of apoptotic cells. *PloS One*, 2011, 6: e18325
- 43 Kinchen J M, Doukoumetzidis K, Almendinger J, et al. A pathway for phagosome maturation during engulfment of apoptotic cells. *Nat Cell Biol*, 2008, 10: 556–566
- 44 Lu N, Shen Q, Mahoney T R, et al. Two PI 3-kinases and one PI 3-phosphatase together establish the cyclic waves of phagosomal Ptdins (3)P critical for the degradation of apoptotic cells. *PLoS Biol*, 2012, 10: e1001245
- 45 Mangahas P M, Yu X, Miller K G, et al. The small GTPase RAB2 functions in the removal of apoptotic cells in *Caenorhabditis elegans*. *The J Cell Biol*, 2008, 180: 357–373
- 46 Lu Q, Zhang Y, Hu T, et al. *C. elegans* Rab GTPase 2 is required for the degradation of apoptotic cells. *Development*, 2008, 135: 1069–1080
- 47 Yu X, Lu N, Zhou Z. Phagocytic receptor CED-1 initiates a signaling pathway for degrading engulfed apoptotic cells. *PLoS Biol*, 2008, 6: e61
- 48 Guo P, Hu T, Zhang J, et al. Sequential action of *Caenorhabditis elegans* Rab GTPases regulates phagolysosome formation during apoptotic cell degradation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107: 18016–18021
- 49 Li W, Zou W, Zhao D, et al. *C. elegans* Rab GTPase activating protein TBC-2 promotes cell corpse degradation by regulating the small

- GTPase RAB-5. *Development*, 2009, 136: 2445–2455
- 50 Kinchen J M, Ravichandran K S. Identification of two evolutionarily conserved genes regulating processing of engulfed apoptotic cells. *Nature*, 2010, 464: 778–782
- 51 Zlatić S A, Tornieri K, L'Hernault S W, et al. Metazoan cell biology of the hops tethering complex. *Cellular Logist*, 2011, 1: 111
- 52 Xiao H, Chen D, Fang Z, et al. Lysosome biogenesis mediated by VPS-18 affects apoptotic cell degradation in *Caenorhabditis elegans*. *Mol Biol Cell*, 2009, 20: 21–32
- 53 Xu M, Liu Y, Zhao L, et al. The lysosomal cathepsin protease CPL-1 plays a leading role in phagosomal degradation of apoptotic cells in *Caenorhabditis elegans*. *Mol Biol Cell*, 2014, 25: 2071–2083
- 54 Mangahas P M, Zhou Z. Clearance of apoptotic cells in *Caenorhabditis elegans*. *Semin Cell Dev Biol*, 2005, 16: 295–306

Molecular and Cellular Mechanisms of Apoptotic Cell Clearance

GAN QiWen, CHEN DiDi & YANG ChongLin

State Key Laboratory of Molecular Developmental Biology, Institute of Genetics and Developmental Biology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China

Appropriate clearance of apoptotic cells is an essential step of the cell death program, defects of which contribute to many human diseases. The clearance of apoptotic cells requires their recognition and engulfment by phagocytes, formation of phagosomes, phagosome-lysosome fusion, and digestion of phagosomal contents. Here we briefly review the regulatory mechanisms of these cellular processes in the model organism *Caenorhabditis elegans*.

apoptotic cell clearance, engulfment, *Caenorhabditis elegans*, eat-me signal, phagosome maturation

doi: 10.1360/N052015-00072