生理学报 *Acta Physiologica Sinica*, October 25, 2024, 76(5): 783–790
DOI: 10.13294/j.aps.2024.0061 http://www.actaps.com.cn; https://actaps.sinh.ac.cn

综 述

脑缺血后溶酶体功能障碍致自噬流损伤机制的研究进展

王佳倩，何红云*，邓仪昊*

昆明理工大学基础医学院解剖学教研室，昆明 650500

摘 要：缺血性脑卒中是由脑血管阻塞引发的急性脑血管病，是导致人类死亡和残疾的第三大原因。多项研究已证明缺血性脑卒中发生后自噬在神经元中起到积极的作用。自噬是细胞内介导各种底物转运至溶酶体降解和再循环的主要机制，其降解功能主要是通过溶酶体来实现的，故保持溶酶体功能正常对自噬十分重要。然而脑缺血会导致严重的溶酶体功能受损，进而引发自噬流障碍，加重神经元损伤。本文详细阐述缺血性脑卒中后由自噬体-溶酶体融合减少、溶酶体酸性环境发生改变以及溶酶体生物合成减少三个方面诱发的溶酶体功能障碍导致自噬流损伤的机制，以期通过增强溶酶体功能调节脑缺血后神经元自噬流，发挥神经保护作用，为治疗脑卒中提供新的思路。

关键词：缺血性脑卒中；神经元；溶酶体功能障碍；自噬流损伤

Research progress on the mechanism of autophagy flow injury caused by lysosomal dysfunction after cerebral ischemia

WANG Jia-Qian, HE Hong-Yun*, DENG Yi-Hao*

Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, China

Abstract: Ischemic stroke is an acute cerebrovascular disease caused by cerebral vascular obstruction, which is the third leading cause of human death and disability. Multiple studies have demonstrated that autophagy plays a positive role in neurons after ischemic stroke. Autophagy is the main intracellular mechanism that mediates the degradation and recycling of various substrates in lysosomes, so it is very important to maintain normal function of lysosomes. However, cerebral ischemia can result in significant impairment of lysosomal function, subsequently leading to disruption in autophagy flow and exacerbation of neuronal injury. This review elucidates the mechanism of autophagic flux injury resulting from lysosomal dysfunction induced by impaired fusion between autophagosomes and lysosomes, alterations in the acidic environment within lysosomes, and diminished biosynthesis of lysosomes following ischemic stroke. The lysosome is regarded as the primary focal point for investigating the mechanism of autophagic flux injury, with the aim of modulating neuronal autophagic flux to improve cerebral ischemia-induced brain injury. This approach holds potential for exerting a neuroprotective effect and providing a novel avenue for stroke treatment.

Key words: ischemic stroke; neuron; lysosome dysfunction; autophagy flow injury

脑卒中是导致成人残疾和死亡的首要原因，具有较高发病率、致残率、复发率等特点 [1]，具体可分为缺血性和出血性脑卒中。当缺血性脑卒中发生时，脑血管发生阻塞，致使血液不能顺利流入大脑，进而引起脑组织损伤 [2]。目前为止，缺血性脑卒中的主要治疗手段是利用组织型纤溶酶原激活剂 (tissue-type plasminogen activator, tPA) 进行血管再通，但是，由于其治疗窗口狭窄，再灌注时易发生损伤且并发症多，许多患者还是有脑损伤加重的风险 [3]。

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 82160241, 82160240), and the "Xingdian Talents" Support Program of Yunnan Province, China (No. YNWR-QNBJ-2018-034).

*Corresponding authors. HE Hong-Yun: E-mail: 20130211@kust.edu.cn; DENG Yi-Hao: 20130117@kust.edu.cn

脑缺血后，缺血中心区神经元直接发生死亡，为了挽救中心区周围区域 (缺血半影区) 的神经元免受脑缺血的损害，自噬在缺血半影区被激活以促进神经保护 [4]。自噬是一种保守的溶酶体降解途径，在真核细胞中起到清除受损或老化的蛋白、细胞器等底物并重新加工以维持细胞稳态的作用 [5]。自噬激活后，内质网出芽形成膜泡将自噬底物包裹形成自噬体，进而与其他细胞质成分隔离，随后自噬体与溶酶体融合形成自噬溶酶体，最终降解和清除自噬底物 [6]，这整个过程称为自噬流 [7]。其中，溶酶体作为细胞中消化细胞器，它可降解由内吞、吞噬和自噬产生的细胞外和细胞内物质，对维持细胞内自噬流通畅十分重要 [8–11]。研究表明，神经元是不可再生细胞，它们不能通过细胞分裂去除错误折叠的蛋白质和受损的细胞器，只能通过自噬清除神经元中的有害物质，故溶酶体功能是否正常对于维持神经元内稳态是十分必要的 [12]。研究发现，在脑缺血发生后，过度自噬会加重神经元损伤 [13]，因此，调控适度自噬是本文的关注点。

溶酶体作为自噬的核心细胞器，任何的功能障碍都可能引起自噬流发生损伤 [14]。本文就溶酶体功能障碍导致的神经元自噬流损伤，探讨其对缺血性脑卒中的影响机制。从缺血性脑卒中后自噬体 - 溶酶体融合障碍、溶酶体酸性环境发生改变、溶酶体生物合成减少三个方面阐释其致病机制 (图 1)。

1 脑缺血后自噬体-溶酶体膜融合障碍

1.1 自噬体-溶酶体融合机制

自噬体和溶酶体融合是自噬流中最为重要的步骤。为了实现降解，溶酶体须与封闭的自噬体融合 [15]。新近研究表明，可溶性 N- 乙基马来酰亚胺敏感因子附着蛋白受体 (soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor attachment protein receptors, SNARE) 通过形成两种组成不同的复合物介导自噬体和溶酶体融合，一种是突触融合蛋白 17 (syntaxin 17, STX17)- 突触体相关蛋白 29 (synaptosome-associated protein 29, SNAP29)- 囊泡相关膜蛋白 7/8 (vesicle-associated membrane protein 7/8, VAMP7/8) 复合物 [16]，另一种是突触小泡蛋白同源物 YKT6 (YKT6 v-SNARE homolog, YKT6)-SNAP29- 突触融合蛋白 7 (syntaxin 7, STX7) 复合物 [15]。 STX17 和 YKT6 定位在自噬体上，而 VAMP7/8 和 STX7 定位在溶酶体上，发生融合时，STX17 和 YKT6 通过 SNAP29 分别与 VAMP7/8 和 STX7 相互作用来引发自噬体和溶酶体融合 [17]。最新研究发现，STX17 和 YKT6 并非完全独立作用，YKT6 可通过其 SNARE 结构域与自噬体上的 STX17 和 SNAP29 形成复合物，促进STX17-SNAP29-VAMP8 复合物介导的融合 [18]。

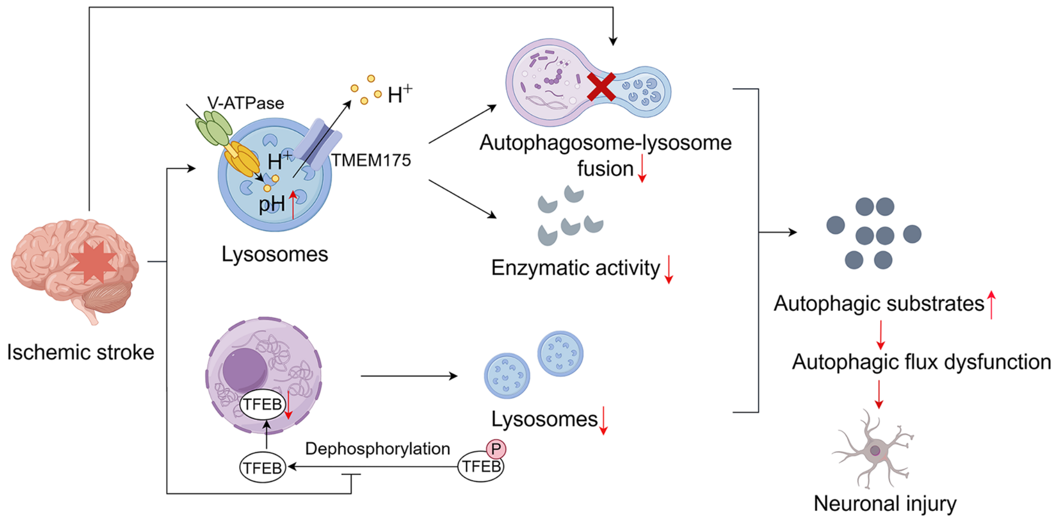

图 1. 缺血性脑卒中后溶酶体功能障碍机制(本图由Figdraw绘制)

Fig. 1. Mechanism of lysosomal dysfunction after ischemic stroke (By Figdraw). Ischemic stroke causes alterations in the acidic environment within lysosomes, diminishes biosynthesis of lysosomes and impaires fusion between autophagosomes and lysosomes, resulting in autophagy substrate accumulation in neurons and autophagy flow disorders, and ultimately aggravates neuron injury. TMEM175, transmembrane protein 175; TFEB, transcription factor EB.

除此之外，两者的融合还依赖于小 GTP 酶、栓系因子和其他蛋白的协调作用[19]，如 ATG14，它可直接与自噬体上的 STX17-SNAP29 复合物结合，启动复合物与 VAMP8 的相互作用，进而调节自噬体 - 溶酶体融合[17]。膜 - 膜融合发生后，SNARE 形成一个稳定的复合物，必须由 N- 乙基马来酰亚胺敏感因子 (N-ethylmaleimide-sensitive factor, NSF) 重新激活，才能参加下一轮膜融合[20]。即膜融合由 NSF、SNAP、SNARE 协同作用引发。

1.2 脑缺血后溶酶体-自噬体融合障碍致自噬流损伤

在自噬发生的后期，自噬体和溶酶体融合形成自噬溶酶体[21]，然后在溶酶体中酶的作用下进行底物的降解。现已在多种神经疾病中发现自噬体和溶酶体融合障碍。一项关于帕金森病的研究发现，神经元中产生 α- 突触核蛋白是帕金森病的主要致病因素，而 α- 突触核蛋白的产生抑制了 SNAP29 的表达，损害了自噬体和溶酶体融合，使得自噬流发生损伤[22]。研究表明，自噬在脑缺血再灌注后激活[23]，介导神经保护作用[24]。但是随着脑缺血进程的发展，神经元溶酶体 - 自噬体融合发生障碍，引发自噬底物的异常堆积，最终导致自噬流损伤[25]。脑缺血可致 NSF 失活，膜运输发生中断，进而引发高尔基体受损、组织蛋白酶 B (cathepsin B, CTSB) 大量释放，最终导致脑缺血再灌注损伤[25]。另一项研究显示了脑缺血后 SNAP29 蛋白水平在体内和体外缺血模型中均降低，而且敲除 SNAP29 的小鼠出现严重的行为功能障碍[26]，这可能与自噬体 - 溶酶体融合障碍相关。在短暂性大脑中动脉闭塞 (transient middle cerebral artery occlusion, tMCAO) 小鼠中，敲除 STX17 后观察到自噬底物 P62 的积累，自噬通量的阻断以及功能失调的溶酶体增多[21]，而 STX17 是介导自噬体 - 溶酶体融合的主要因子，我们推测 STX17 敲除后阻碍了自噬体 - 溶酶体融合，使得自噬流发生障碍，引发更严重的神经元损伤。

1.3 调节自噬体和溶酶体融合可改善脑缺血后损伤

在缺血性脑卒中后调节 SNARE 复合物促进自噬体与溶酶体融合可减轻脑缺血对神经元的影响。研究表明，在缺血再灌注后，海藻糖可以缓解 STX17 敲除引起的自噬体 - 溶酶体融合障碍，从而减轻脑缺血对神经元的损害[21]。

有研究发现 VAMP8 去磷酸化可调控自噬体和溶酶体的融合。当 VAMP8 在细胞中耗尽时，自噬体和溶酶体之间的共定位减少，而 VAMP8 去磷酸化后，在 VAMP8 耗尽的细胞中发现自噬体 - 溶酶体定位增多，表明 VAMP8 去磷酸化增加了自噬体和溶酶体的融合[27]。哺乳动物雷帕霉素靶蛋白复合物 1 (mammalian target of rapamycin complex 1, mTORC1) 可通过磷酸化 VAMP8 抑制 SNARE 复合物 (STX17-SNAP29-VAMP8) 的形成，当使用 Torin (一种 mTORC1 抑制剂) 处理细胞时，VAMP8 与 STX17 和 SNAP29 的相互作用增加[27]，由此可见，抑制 mTORC1 的活性有利于促进 VAMP8 的去磷酸化，增加自噬体 - 溶酶体融合。另有研究显示，蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC) 也可通过磷酸化 VAMP8 减少自噬体 - 溶酶体融合。细胞经过 PKC 抑制剂处理后，自噬体与溶酶体的融合增加[28]，这也为调控 VAMP8 的去磷酸化提供了一条可行的思路。

在细胞饥饿情况下，组蛋白乙酰转移酶 CREBBP 失活导致 STX17 的去乙酰化，融合过程中 STX17 的去乙酰化增强了募集 SNAP29 的能力，同时加强了 SNARE 复合物之间的相互作用，从而促进自噬体 - 溶酶体融合[29]。脱乙酰酶 HDAC2 和 CREBBP 作用相同，是专门调节 STX17 乙酰化的酶。因此，我们认为在缺血性脑卒中发生后，通过调控 CREBBP 和 HDAC2 酶活性使得 STX17 去乙酰化可能有助于促进自噬体 - 溶酶体融合，增强自噬，从而减轻脑缺血后损伤。

综上所述，脑缺血后自噬体 - 溶酶体融合障碍会导致更严重的神经元自噬性损伤，因此调节自噬体和溶酶体的融合使得自噬流顺利进行有望成为治疗脑卒中的新思路。

2 脑缺血后溶酶体酸性环境发生改变

2.1 溶酶体酸化机制

溶酶体是一个酸性腔体，其酸性环境对稳定和调节其腔内水解酶活性至关重要[30]。大量研究表明，溶酶体水解酶在中性 pH 值以下才能保持最佳活性。在内体逐渐成熟成为溶酶体的过程中，腔内的 pH 逐渐降低至 4.5~5.0，故在此 pH 值范围内酶活性最高[31]。V-ATP 酶、溶酶体膜上的多种离子通道 [如瞬时受体电位 (transient receptor potential, TRP) 通道、双孔通道 (two-pore channel, TPC)、跨膜蛋白 175 (transmembrane protein 175, TMEM175)] 和促进质子交换的各种离子 (Ca^{2+}、Na^{+}、K^{+}、Cl^{-}) 共同作用使得溶酶体酸化[32]。其中最为重要的是 V-ATP 酶。V-ATP 酶是一种质子泵膜蛋白，由胞质、ATP 水解

结构域和膜嵌入的质子通道组成 [33]。V-ATP 酶的作用是利用 ATP 水解的自由能驱动质子逆电化学梯度进入溶酶体管腔 [34]，从而保持溶酶体的 pH 值在一个正常范围。近期发现，溶酶体最佳 pH 值由平衡 V-ATP 酶产生的质子内流和未知通道产生的 H^+ 的泄漏维持 [35]。TMEM175 是溶酶体 H^+ 释放的主要通道，敲除 TMEM175 基因导致 H^+ 的泄漏消失，由此可见溶酶体主要是通过 TMEM175 和 V-ATP 酶共同作用来保持 pH 值的稳定 [35]。

2.2 缺血性脑卒中导致溶酶体pH值发生改变

有研究发现，缺血性脑卒中会引起 V-ATP 酶表达降低 [32]，使得溶酶体内 pH 值升高，从而降低溶酶体酶活性并且减少自噬发生后自噬体和溶酶体的融合。

缺血性脑卒中后溶酶体内部 pH 值升高，抑制了组织蛋白酶 D、L 等水解酶活性，这些酶的最适 pH 值都在较低范围内。同时，溶酶体 pH 值的异常升高可能会提高 CTSB 等酶的活性，而这些酶最适 pH 值接近中性。这种 pH 值的改变将引发底物异常消化和非特异性裂解，可能产生有毒的消化产物或部分消化中间体，从而可能加重脑缺血再灌注损伤 [36]。

新近研究表明，溶酶体酸性环境不稳定还会引起自噬体和溶酶体膜融合障碍，在正常生理条件下，酸化的溶酶体与自噬体融合，形成充分酸化的自噬溶酶体，其可以有效地降解积累的细胞碎片和毒性蛋白质聚集体 [37]。而在病理条件下，溶酶体的 pH 值升高后，其与自噬体融合受阻，导致底物降解失败；或形成酸化异常的自噬溶酶体，使得降解效率降低 [37]。因此，维持溶酶体最佳 pH 值对脑缺血后引发的自噬和溶酶体功能至关重要。

2.3 维持溶酶体正常pH范围有利于脑缺血后的神经元保护

已有研究表明，脑缺血后维持溶酶体正常 pH 范围有利于神经元保护。在大脑脑缺血后，TMEM175 蛋白表达降低，导致溶酶体 pH 紊乱，溶酶体的催化能力减弱，而通过过表达 TMEM175 使得溶酶体 pH 值保持稳定，逆转了缺血再灌注后神经元溶酶体功能障碍 [38]。还有研究发现，调节 V-ATP 酶活性有利于维持正常的溶酶体酸性环境，当 mTORC1 活性减弱后，V-ATP 酶 V1 结构域向溶酶体膜整合的 V-ATP 酶 V0 结构域移动，随后组装成活性质子泵使管腔 pH 值下降，进而提高整个溶酶体中的蛋白酶活性和蛋白质降解速率 [39]。目前，多项神经疾病研究已经证明了溶酶体靶向治疗剂 (表 1) 在恢复管腔酸化后对神经元发挥保护作用 [37]，其中包括小分子和一些靶向纳米颗粒。因此，维持溶酶体内腔中 pH 值的稳定性对于神经元是极其重要的，未来在缺血性脑卒中疾病研究中可对此做更多探究。

3 脑缺血后溶酶体生物合成不足

3.1 溶酶体生物合成调节机制

溶酶体的生成受转录因子 EB (transcription factor EB, TFEB) 的调控，且主要是由其磷酸化水平决定的 [44]。TFEB 属于小眼畸形相关转录因子 (microphthalmia transcription factor, MIT) 家族，该家族还包括 MITF、TFE3 和 TFEC [45]。其中 TFEB 是自噬 - 溶酶体途径 (autophagy-lysosomal pathway, ALP) 的主要调节因子，能够协调自噬和溶酶体靶基因的表达并增强溶酶体的生物合成 [46]。当 TFEB 被磷酸化后，与细胞质内 14-3-3 黏附蛋白结合而失活。而当 TFEB 去磷酸化后，迅速进入细胞核中，激活“协同溶酶体表达与调节 (coordinated lysosome expression and regulation, CLEAR)”信号，进而上调溶酶体基因的转录，促进溶酶体生物合成 [47]。因此，降低 TFEB 磷酸化水平是促进其核易位从而增加溶酶体生物发生的有效途径。

许多因子参与调节 TFEB 磷酸化水平，研究最为广泛的是哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin, mTOR)。mTOR 是一种进化保守的丝氨酸 / 苏氨酸蛋白激酶，属于磷酸肌醇 -3 激酶 (phosphoinositide 3-kinase, PI3K) 相关激酶家族 [48]。当营养物质丰富时，TFEB 被招募到溶酶体的膜上，并在 TFEB 的 S211 和 TFE3 的 S321 处进行 mTORC1 依赖性磷酸化，为 14-3-3 黏附蛋白创造结合位点，从而将它们隔离在细胞质中 [49]。在营养剥夺和 mTORC1 失活的情况下，去磷酸化的 TFEB 转运到细胞核并诱导溶酶体生物发生和自噬启动 [50]。因此，调节 mTORC1 活性在脑卒中后促进溶酶体发生是极其重要的。

TFEB 还受钙调磷酸酶 (calcineurin, CaN) 的调节。溶酶体通过释放 Ca^{2+} 激活 CaN，使得 TFEB 在其作用下去磷酸化而发生核转位，在细胞核中诱导自噬和溶酶体生物发生相关的基因转录 [51]。近期研究发现，溶酶体是通过瞬时受体电位粘磷脂 1 (transient receptor potential mucolipin 1, TRPML1) 释放 Ca^{2+}，激

表1. 溶酶体靶向治疗剂及其作用途径

Table 1. Lysosome targeting therapeutic agents and their pathways of action

The names of lysosome targeting therapeutic agents	Pathways of action	Results	Diseases
Schisandrol A	Mediated ATP6V0D1 conformation via targeting a unique cysteine 335 residue to activate V-ATPase-dependent lysosomal acidification	Promoted protein degradation, preserved mitochondrial homeostasis and neuronal cells survival	Diabetic neuropathy [40]
PLGA acidic nanoparticles (aNPs)	As the carriers of PLGA, facilitated the crossing of the blood-brain barrier, directly located at the lysosome, released lactic acid and glycolic acid, and directly promoted lysosome acidification	Enhanced lysosome activity, restored lysosome function and promoted α-synuclein degradation	Parkinson's disease [41]
Acidic oil-in-water nanoemulsions loaded with PLGA	Same as aNPs, and facilitated the crossing of the blood-brain barrier	Same as aNPs	Parkinson's disease [42]
Non-viral nucleolipid (NL)-based nanocarriers	Targeted lysosomes and released 4 biocompatible succinic acids, increased lysosomal acid base molecules, promoted lysosomal acidification, and restored the optimal pH value of lysosomes	Restored neuronal lysosomal pH, promoted neuroprotective effects, and showed no cytotoxicity	Parkinson's disease [43]

PLGA, poly(*D*,*L*-lactide-co-glycolide).

活CaN使TFEB去磷酸化，从而促进自噬[52]。

3.2 脑缺血后溶酶体合成不足致自噬流损伤

在脑缺血再灌注后，溶酶体生物合成的基础水平不足以清除自噬上调后所产生的未降解的底物，从而导致溶酶体储存功能障碍[53]。研究显示，脑缺血后期，核TFEB水平逐渐下降并伴随着溶酶体活性降低，神经元细胞表现出自噬体积累、自噬底物增多以及缺血性损伤加重的现象[54]，表明自噬进行过程中出现了障碍。另有研究表明，脑缺血时，TFEB被活化的糖原合成酶激酶3β (glycogen synthase kinase-3β, GSK-3β)磷酸化，磷酸化程度显著增加。TFEB磷酸化的增加减少了其核易位，溶酶体生物合成减少，最终导致溶酶体功能障碍，加重神经元损伤[55]。缺血性脑卒中也会阻碍CaN去磷酸化TFEB，使得自噬作用减弱，导致神经元死亡[56]。

3.3 增加溶酶体生物合成改善缺血性脑卒中

在多种神经疾病的研究中，促进TFEB核转位从而增加自噬发生在保护神经元方面已经表现出其重要性。TFEB核转位通过上调大多数溶酶体基因的表达，其中包括组织蛋白酶基因、V-ATP酶基因等，来改善溶酶体功能，促进神经保护[36]。在一项研究中，神经元特异性过表达TFEB后，增强了ALP功能并保护神经元免受缺血损伤[54]。

不仅如此，已找到多种化合物能使TFEB去磷酸化而促进其核转位。研究表明，对永久性大脑中动脉闭塞(permanent middle cerebral artery occlusion, pMCAO)大鼠使用假人参皂苷F11处理后，增加了大鼠神经元TFEB核转位，显著减轻了pMCAO大鼠的缺血性损伤[56]。海藻糖已被证实在自发性高血压大鼠卒中模型中恢复大脑自噬，抑制卒中的发生和肾损害，这也是通过促进TFEB核转位来实现的[57]。除此之外，蜜二糖[58]、姜黄素[59]、白藜芦醇[60]、黄连素[61]等都显示出促进TFEB核转位的作用。因此，未来的研究可以从调节TFEB核转位出发探究更多的化合物，为研发治疗缺血性脑卒中药物提供理论基础。

翻译后修饰作用也有调节TFEB表达的作用。乙酰化可调节TFEB的活性，乙酰辅酶A乙酰转移酶1可使TFEB的K19、K103、K430位点乙酰化从而促进TFEB的表达[62]。甲基化转移酶3 (methyltransferase like 3, METTL3)甲基化TFEB的3′-UTR中的两个N^6-甲基腺苷(N^6-methyladenosine, m^6A)

残基，其促进 RNA 结合蛋白异质核糖核蛋白 D (heterogeneous nuclear ribonucleoprotein D, HNRNPD) 与 TFEB 前体 RNA 的结合，并降低 TFEB 表达水平 [63]。由此，调节 TFEB 特异位点翻译后修饰也有利于促进其表达。

综上，调节 TFEB 可增加溶酶体生物合成从而维持溶酶体的数量和质量，使自噬流顺利进行，对脑卒中后减轻脑损伤有着重要意义。

4 前景与展望

本文对缺血性脑卒中后引发的神经元细胞自噬流障碍进行了详细的阐述，聚焦于溶酶体功能障碍所导致的自噬流受阻的研究进展，为后续研究提供新的视野。以溶酶体为中心的自噬的发生，是利用细胞自身的清洁能力来降解受损细胞器以及细胞成分的再利用或重新分配。脑卒中发生后，神经元病理活动极其复杂，受到多种因素调控。未来还需要对缺血性脑卒中后的自噬流障碍进行更全面、更准确的研究，尤其是针对溶酶体功能障碍导致的自噬流障碍的具体机制、引发的具体效果，发现更广泛的治疗药物和治疗靶点用于调控自噬流，减轻脑缺血后的神经元损伤。

参考文献

1 Report on Stroke Prevention and Treatment in China Writing Group (《中国脑卒中防治报告2021》编写组). Brief report on stroke prevention and treatment in China, 2021. Chin J Cerebrovasc Dis (中国脑血管病杂志) 2023; 20(11): 783–793 (in Chinese).

2 Virani SS, Alonso A, Benjamin EJ, Bittencourt MS, Callaway CW, Carson AP, Chamberlain AM, Chang AR, Cheng S, Delling FN, Djousse L, Elkind MSV, Ferguson JF, Fornage M, Khan SS, Kissela BM, Knutson KL, Kwan TW, Lackland DT, Lewis TT, Lichtman JH, Longenecker CT, Loop MS, Lutsey PL, Martin SS, Matsushita K, Moran AE, Mussolino ME, Perak AM, Rosamond WD, Roth GA, Sampson UKA, Satou GM, Schroeder EB, Shah SH, Shay CM, Spartano NL, Stokes A, Tirschwell DL, VanWagner LB, Tsao CW. Heart Disease and Stroke Statistics-2020 Update: A Report From the American Heart Association. Circulation 2020; 141(9): e139–e596.

3 Rostami N, Nikkhoo A, Ajjoolabady A, Azizi G, Hojjat-Farsangi M, Ghalamfarsa G, Yousefi B, Yousefi M, Jadidi-Niaragh F. S1PR1 as a novel promising therapeutic target in cancer therapy. Mol Diagn Ther 2019; 23(4): 467–487.

4 Lingling D, Miaomiao Q, Yili L, Hongyun H, Yihao D. Attenuation of histone H4 lysine 16 acetylation (H4K16ac) elicits a neuroprotection against ischemic stroke by alleviating the autophagic/lysosomal dysfunction in neurons at the penumbra. Brain Res Bull 2022; 184: 24–33.

5 Shu F, Xiao H, Li QN, Ren XS, Liu ZG, Hu BW, Wang HS, Wang H, Jiang GM. Epigenetic and post-translational modifications in autophagy: biological functions and therapeutic targets. Signal Transduct Target Ther 2023; 8(1): 32.

6 Yamamoto T, Takabatake Y, Minami S, Sakai S, Fujimura R, Takahashi A, Namba-Hamano T, Matsuda J, Kimura T, Matsui I, Kaimori JY, Takeda H, Takahashi M, Izumi Y, Bamba T, Matsusaka T, Niimura F, Yanagita M, Isaka Y. Eicosapentaenoic acid attenuates renal lipotoxicity by restoring autophagic flux. Autophagy 2021; 17(7): 1700–1713.

7 Yin Y, Sun G, Li E, Kiselyov K, Sun D. ER stress and impaired autophagy flux in neuronal degeneration and brain injury. Ageing Res Rev 2017; 34: 3–14.

8 Luzio JP, Pryor PR, Bright NA. Lysosomes: fusion and function. Nat Rev Mol Cell Biol 2007; 8(8): 622–632.

9 Saftig P, Klumperman J. Lysosome biogenesis and lysosomal membrane proteins: trafficking meets function. Nat Rev Mol Cell Biol 2009; 10(9): 623–635.

10 Xu H, Ren D. Lysosomal physiology. Annu Rev Physiol 2015; 77: 57–80.

11 Yang C, Wang X. Cell biology in China: Focusing on the lysosome. Traffic 2017; 18(6): 348–357.

12 Ferguson SM. Neuronal lysosomes. Neurosci Lett 2019; 697: 1–9.

13 Hou K, Xu D, Li F, Chen S, Li Y. The progress of neuronal autophagy in cerebral ischemia stroke: Mechanisms, roles and research methods. J Neurol Sci 2019; 400: 72–82.

14 Gros F, Muller S. The role of lysosomes in metabolic and autoimmune diseases. Nat Rev Nephrol 2023; 19(6): 366–383.

15 Matsui T, Jiang P, Nakano S, Sakamaki Y, Yamamoto H, Mizushima N. Autophagosomal YKT6 is required for fusion with lysosomes independently of syntaxin 17. J Cell Biol 2018; 217(8): 2633–2645.

16 Takáts S, Nagy P, Varga Á, Pircs K, Kárpáti M, Varga K, Kovács AL, Hegedűs K, Juhász G. Autophagosomal Syntaxin17-dependent lysosomal degradation maintains neuronal function in *Drosophila*. J Cell Biol 2013; 201(4): 531–539.

17 Yong CQY, Tang BL. Another longin SNARE for autophagosome-lysosome fusion-how does Ykt6 work? Autophagy 2019; 15(2): 352–357.

18 Zheng D, Tong M, Zhang S, Pan Y, Zhao Y, Zhong Q, Liu X. Human YKT6 forms priming complex with STX17 and SNAP29 to facilitate autophagosome-lysosome fusion. Cell Rep 2024; 43(2): 113760.

19 Zhao YG, Zhang H. Autophagosome maturation: An epic journey from the ER to lysosomes. J Cell Biol 2019; 218(3): 757–770.

20 Yoon TY, Munson M. SNARE complex assembly and disassembly. Curr Biol 2018; 28(8): R397–R401.

21 Chen L, Xia YF, Shen SF, Tang J, Chen JL, Qian K, Chen Z, Qin ZH, Sheng R. Syntaxin 17 inhibits ischemic neuronal injury by resuming autophagy flux and ameliorating endoplasmic reticulum stress. Free Radic Biol Med 2020; 160: 319–333.

22 Tang Q, Gao P, Arzberger T, Höllerhage M, Herms J, Höglinger G, Koeglsperger T. Alpha-Synuclein defects autophagy by impairing SNAP29-mediated autophagosome-lysosome fusion. Cell Death Dis 2021; 12(10): 854.

23 Tan Y, Gong Y, Dong M, Pei Z, Ren J. Role of autophagy in inherited metabolic and endocrine myopathies. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis 2019; 1865(1): 48–55.

24 Sheng R, Qin ZH. The divergent roles of autophagy in ischemia and preconditioning. Acta Pharmacol Sin 2015; 36(4): 411–420.

25 Yuan D, Liu C, Hu B. Dysfunction of membrane trafficking leads to ischemia-reperfusion injury after transient cerebral ischemia. Transl Stroke Res 2018; 9(3): 215–222.

26 Yan W, Fan J, Zhang X, Song H, Wan R, Wang W, Yin Y. Decreased neuronal synaptosome associated protein 29 contributes to poststroke cognitive impairment by disrupting presynaptic maintenance. Theranostics 2021; 11(10): 4616–4636.

27 Huang H, Ouyang Q, Zhu M, Yu H, Mei K, Liu R. mTOR-mediated phosphorylation of VAMP8 and SCFD1 regulates autophagosome maturation. Nat Commun 2021; 12(1): 6622.

28 Chen Q, Hao M, Wang L, Li L, Chen Y, Shao X, Tian Z, Pfuetzner RA, Zhong Q, Brunger AT, Guan JL, Diao J. Prefused lysosomes cluster on autophagosomes regulated by VAMP8. Cell Death Dis 2021; 12(10): 939.

29 Shen Q, Shi Y, Liu J, Su H, Huang J, Zhang Y, Peng C, Zhou T, Sun Q, Wan W, Liu W. Acetylation of STX17 (syntaxin 17) controls autophagosome maturation. Autophagy 2021; 17(5): 1157–1169.

30 Trivedi PC, Bartlett JJ, Pulinilkunnil T. Lysosomal biology and function: modern view of cellular debris bin. Cells 2020; 9(5): 1131.

31 Roy S, Zhu D, Parak WJ, Feliu N. Lysosomal proton buffering of poly(ethylenimine) measured *in situ* by fluorescent pH-sensor microcapsules. ACS Nano 2020; 14(7): 8012–8023.

32 Mindell JA. Lysosomal acidification mechanisms. Annu Rev Physiol 2012; 74: 69–86.

33 Cotter K, Stransky L, McGuire C, Forgac M. Recent insights into the structure, regulation, and function of the V-ATPases. Trends Biochem Sci 2015; 40(10): 611–622.

34 Button RW, Luo S, Rubinsztein DC. Autophagic activity in neuronal cell death. Neurosci Bull 2015; 31(4): 382–394.

35 Hu M, Chen J, Liu S, Xu H. The acid gate in the lysosome. Autophagy 2023; 19(4): 1368–1370.

36 Colacurcio DJ, Nixon RA. Disorders of lysosomal acidification-The emerging role of v-ATPase in aging and neurodegenerative disease. Ageing Res Rev 2016; 32: 75–88.

37 Lo CH, Zeng J. Defective lysosomal acidification: a new prognostic marker and therapeutic target for neurodegenerative diseases. Transl Neurodegener 2023; 12(1): 29.

38 Zhang M, Lu H, Xie X, Shen H, Li X, Zhang Y, Wu J, Ni J, Li H, Chen G. TMEM175 mediates lysosomal function and participates in neuronal injury induced by cerebral ischemia-reperfusion. Mol Brain 2020; 13(1): 113.

39 Ratto E, Chowdhury SR, Siefert NS, Schneider M, Wittmann M, Helm D, Palm W. Direct control of lysosomal catabolic activity by mTORC1 through regulation of V-ATPase assembly. Nat Commun 2022; 13(1): 4848.

40 Zhou X, Zhao S, Liu T, Yao L, Zhao M, Ye X, Zhang X, Guo Q, Tu P, Zeng K. Schisandrol A protects AGEs-induced neuronal cells death by allosterically targeting ATP6V0d1 subunit of V-ATPase. Acta Pharm Sin B 2022; 12(10): 3843–3860.

41 Arotcarena ML, Soria FN, Cunha A, Doudnikoff E, Prévot G, Daniel J, Blanchard-Desce M, Barthélémy P, Bezard E, Crauste-Manciet S, Dehay B. Acidic nanoparticles protect against α-synuclein-induced neurodegeneration through the restoration of lysosomal function. Aging Cell 2022; 21(4): e13584.

42 Prévot G, Soria FN, Thiolat ML, Daniel J, Verlhac JB, Blanchard-Desce M, Bezard E, Barthélémy P, Crauste-Manciet S, Dehay B. Harnessing lysosomal pH through PLGA nanoemulsion as a treatment of lysosomal-related neurodegenerative diseases. Bioconjug Chem 2018; 29(12): 4083–4089.

43 Brouillard M, Kinet R, Joyeux M, Dehay B, Crauste-Manciet S, Desvergnes V. Modulating lysosomal pH through innovative multimerized succinic acid-based nucleolipid derivatives. Bioconjug Chem 2023; 34(3): 572–580.

44 Vega-Rubin-de-Celis S, Peña-Llopis S, Konda M, Brugarolas J. Multistep regulation of TFEB by MTORC1. Autophagy 2017; 13(3): 464–472.

45 Paquette M, El-Houjeiri L, L CZ, Puustinen P, Blanchette P, Jeong H, Dejgaard K, Siegel PM, Pause A. AMPK-dependent phosphorylation is required for transcriptional activation of TFEB and TFE3. Autophagy 2021; 17(12): 3957–

3975.
46 Settembre C, Di Malta C, Polito VA, Garcia Arencibia M, Vetrini F, Erdin S, Erdin SU, Huynh T, Medina D, Colella P, Sardiello M, Rubinsztein DC, Ballabio A. TFEB links autophagy to lysosomal biogenesis. Science 2011; 332(6036): 1429–1433.
47 Franco-Juárez B, Coronel-Cruz C, Hernández-Ochoa B, Gómez-Manzo S, Cárdenas-Rodríguez N, Arreguin-Espinosa R, Bandala C, Canseco-Ávila LM, Ortega-Cuellar D. TFEB; Beyond its role as an autophagy and lysosomes regulator. Cells 2022; 11(19): 3153.
48 Liu X, Yin M, Dong J, Mao G, Min W, Kuang Z, Yang P, Liu L, Zhang N, Deng H. Tubeimoside-1 induces TFEB-dependent lysosomal degradation of PD-L1 and promotes antitumor immunity by targeting mTOR. Acta Pharm Sin B 2021; 11(10): 3134–3149.
49 Cui Z, Napolitano G, de Araujo MEG, Esposito A, Monfregola J, Huber LA, Ballabio A, Hurley JH. Structure of the lysosomal mTORC1-TFEB-Rag-Ragulator megacomplex. Nature 2023; 614(7948): 572–579.
50 Raben N, Puertollano R. TFEB and TFE3: Linking lysosomes to cellular adaptation to stress. Annu Rev Cell Dev Biol 2016; 32: 255–278.
51 Medina DL, Di Paola S, Peluso I, Armani A, De Stefani D, Venditti R, Montefusco S, Scotto-Rosato A, Prezioso C, Forrester A, Settembre C, Wang W, Gao Q, Xu H, Sandri M, Rizzuto R, De Matteis MA, Ballabio A. Lysosomal calcium signalling regulates autophagy through calcineurin and TFEB. Nat Cell Biol 2015; 17(3): 288–299.
52 Kim HK, Lee GH, Bhattarai KR, Lee MS, Back SH, Kim HR, Chae HJ. TMBIM6 (transmembrane BAX inhibitor motif containing 6) enhances autophagy through regulation of lysosomal calcium. Autophagy 2021; 17(3): 761–778.
53 Zhang X, Wei M, Fan J, Yan W, Zha X, Song H, Wan R, Yin Y, Wang W. Ischemia-induced upregulation of autophagy preludes dysfunctional lysosomal storage and associated synaptic impairments in neurons. Autophagy 2021; 17(6): 1519–1542.
54 Liu Y, Xue X, Zhang H, Che X, Luo J, Wang P, Xu J, Xing Z, Yuan L, Liu Y, Fu X, Su D, Sun S, Zhang H, Wu C, Yang J. Neuronal-targeted TFEB rescues dysfunction of the autophagy-lysosomal pathway and alleviates ischemic injury in permanent cerebral ischemia. Autophagy 2019; 15(3): 493–509.
55 Zhang Y, Wu Z, Huang Z, Liu Y, Chen X, Zhao X, He H, Deng Y. GSK-3β inhibition elicits a neuroprotection by restoring lysosomal dysfunction in neurons via facilitation of TFEB nuclear translocation after ischemic stroke. Brain Res 2022; 1778: 147768.
56 Fu X, Liu Y, Zhang H, Yu X, Wang X, Wu C, Yang J. Pseudoginsenoside F11 ameliorates the dysfunction of the autophagy-lysosomal pathway by activating calcineurin-mediated TFEB nuclear translocation in neuron during permanent cerebral ischemia. Exp Neurol 2021; 338: 113598.
57 Forte M, Marchitti S, Cotugno M, Di Nonno F, Stanzione R, Bianchi F, Schirone L, Schiavon S, Vecchio D, Sarto G, Scioli M, Raffa S, Tocci G, Relucenti M, Torrisi MR, Valenti V, Versaci F, Vecchione C, Volpe M, Frati G, Rubattu S, Sciarretta S. Trehalose, a natural disaccharide, reduces stroke occurrence in the stroke-prone spontaneously hypertensive rat. Pharmacol Res 2021; 173: 105875.
58 Wu Z, Zhang Y, Liu Y, Chen X, Huang Z, Zhao X, He H, Deng Y. Melibiose confers a neuroprotection against cerebral ischemia/reperfusion injury by ameliorating autophagy flux via facilitation of TFEB nuclear translocation in neurons. Life (Basel) 2021; 11(9): 948.
59 Li X, Zhu R, Jiang H, Yin Q, Gu J, Chen J, Ji X, Wu X, Fu H, Wang H, Tang X, Gao Y, Wang B, Ji Y, Chen H. Autophagy enhanced by curcumin ameliorates inflammation in atherogenesis via the TFEB-P300-BRD4 axis. Acta Pharm Sin B 2022; 12(5): 2280–2299.
60 Wu Y, Xun Y, Zhang J, Hu H, Qin B, Wang T, Wang S, Li C, Lu Y. Resveratrol attenuates oxalate-induced renal oxidative injury and calcium oxalate crystal deposition by regulating TFEB-induced autophagy pathway. Front Cell Dev Biol 2021; 9: 638759.
61 Zheng Y, Kou J, Wang P, Ye T, Wang Z, Gao Z, Cong L, Li M, Dong B, Yang W, Li Q, Li H, Wang R, Yang L. Berberine-induced TFEB deacetylation by SIRT1 promotes autophagy in peritoneal macrophages. Aging (Albany NY) 2021; 13(5): 7096–7119.
62 Wang Y, Huang Y, Liu J, Zhang J, Xu M, You Z, Peng C, Gong Z, Liu W. Acetyltransferase GCN5 regulates autophagy and lysosome biogenesis by targeting TFEB. EMBO Rep 2020; 21(1): e48335.
63 Song H, Feng X, Zhang H, Luo Y, Huang J, Lin M, Jin J, Ding X, Wu S, Huang H, Yu T, Zhang M, Hong H, Yao S, Zhao Y, Zhang Z. METTL3 and ALKBH5 oppositely regulate m^6A modification of TFEB mRNA, which dictates the fate of hypoxia/reoxygenation-treated cardiomyocytes. Autophagy 2019; 15(8): 1419–1437.