

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2009.00029

真核细胞非经典蛋白分泌途径

张楠楠, 刘欣, 孙晶, 吴毓, 李庆伟

辽宁师范大学生命科学学院, 大连 116029

摘要: 在生物体中, 细胞间的信息传递是细胞生长、分化、发育、增殖、凋亡等生命活动的基本保证, 而蛋白分泌是细胞间信息传递的重要方式。大多数分泌蛋白都是通过内质网-高尔基体(ER-Golgi)途径分泌的。然而越来越多的研究表明, 存在着一类无信号肽的分泌蛋白, 这类蛋白不依赖ER-Golgi途径就能分泌到细胞外发挥功能, 被称为非经典分泌蛋白。非经典蛋白的分泌有其特有的机制, 它对ER-Golgi分泌途径是一种必要和有益的补充。非经典分泌与细胞增殖、免疫反应、肿瘤形成、传染病病理学等密切相关。文章旨在对非经典分泌蛋白的特点、分泌机制及生物学意义进行概述。

关键词: 分泌蛋白; 信号肽; 非经典分泌途径

Nonclassical mechanisms of secretory protein in eukaryotic cells

ZHANG Nan-Nan, LIU Xin, SUN Jing, WU Yu, LI Qing-Wei

College of Life Sciences, Liaoning Normal University, Dalian 116029, China

Abstract: Intercellular communication is fundamental in many biological processes involved in cell growth, differentiation, development, and reproduction of living organisms, and secretory proteins are among the most important messengers in this network of information. The vast majority of extracellular proteins are exported from cells by the endoplasmic reticulum/Golgi-dependent secretory pathway. However, increasing evidence shows that there are a group of secretory proteins without signal peptides, defined as nonclassical secretory proteins, which are exported *via* an ER/Golgi-independent pathway to perform extracellular functions. This pathway has been termed nonclassical or unconventional secretion, which is an essential and beneficial supplement to the ER-Golgi secretion pathway. The nonclassical secretion pathway has close relation with cell multiplication, immune response, tumor formation, infection pathology and so on. Here, the characters, the possible secretory mechanism, and the biological significance of nonclassical secretory proteins were reviewed.

Keywords: secretory proteins; signal peptide; nonclassical pathway

蛋白质的分泌是细胞间信息传递的重要方式, 分泌蛋白通常在N端有信号肽序列, 它引导分泌蛋白到位于内质网膜的核糖体上合成, 在其合成结束之际信号肽被切除, 并在内质网中被加工、修饰; 然后被运输到高尔基体中进行进一步的各种翻译后的

加工, 形成有特定结构和功能的蛋白质; 最后通过高尔基体发生的分泌小泡与质膜融合, 将其包含的蛋白质分泌到细胞外, 这个过程被称为经典的内质网-高尔基体(ER-Golgi)蛋白分泌途径^[1]。但近年来研究发现, 在真核细胞中, 有少数蛋白质的分泌并不

收稿日期: 2008-07-12; 修回日期: 2008-10-22

基金项目: 国家高技术研究发展计划项目(863计划)(编号: 2007AA09Z428)、国家自然科学基金项目(编号: 30671083)和辽宁省教育厅项目(编号: 05L205)资助

作者简介: 张楠楠(1983-), 女, 硕士研究生, 专业方向: 细胞生物学。E-mail: zhangnannan_1111@163.com

通讯作者: 李庆伟(1955-), 男, 教授, 博士生导师, 研究方向: 细胞生物学。E-mail: liqw@263.net

依赖于 ER-Golgi 途径, 而是通过其他途径进行分泌, 这些在细胞外有明确功能的蛋白质并不含有信号肽, 这类分泌途径被称为非经典分泌途径。非经典分泌途径是对经典分泌途径有益的补充和替代, 有利于蛋白形成正确构象并行使正常功能, 也是对外界高效地做出反应的需要。像真核细胞 ER-Golgi 转运系统是一个被精确调控的分泌系统一样, 非经典分泌途径也是受特定调节机制控制的, 是一种有选择性的门控转运。

真核细胞蛋白质的非经典分泌途径主要存在以下特点: (1)蛋白质的相对分子量为 12~45 kDa, 通常由胞质内自由核糖体合成, 缺少常规的信号肽; (2)这些蛋白质被排斥在参与经典分泌途径的细胞器外, 缺少依赖 ER-Golgi 的翻译后修饰, 缺少糖基化(即使有潜在的糖基化位点), 有不参与形成二硫键的半胱氨酸残基, 蛋白质多为单体; (3)这些外运途径对依赖 ER-Golgi 的蛋白分泌途径的抑制剂 Brefeldin A 有抗性^[2]; (4)非经典分泌途径被证明不但依赖于能量, 而且依赖于温度, 并且能够被不同的处理方法所激活或者抑制^[3, 4]; (5)非经典蛋白分泌过程被 NK- κ B 依赖的信号传导途径^[5]、细胞分化^[6]和转录后修饰, 如磷酸化等所调控^[7]。

1 非经典分泌途径

虽然非经典分泌蛋白有许多共同的特征, 但它们也有其各自独特的分泌机制(表 1)。目前经过实验证实的非经典分泌蛋白非常有限, 其分泌途径和分子机制还不是很清楚。一些迹象表明非经典分泌的

途径可能是多样的, 这就为研究非经典分泌加大了难度。许多不同的机制可以解释这些非经典分泌途径, 目前可以归纳为以下 4 种较为公认的非经典蛋白的分泌途径(图 1)。在无完整的 ER-Golgi 系统的情况下, 这些分泌途径仍然具有完整的功能, 其中途径和是通过细胞内膜系统来实现的, 而途径和是通过蛋白质直接定位于细胞质膜来实现的^[22]。

1.1 分泌型溶酶体途径

当特化的内吞作用结构, 如细胞毒 T 淋巴细胞的溶酶体或黑素细胞的黑素体与质膜融合时^[23], 溶酶体的内容物可释放到细胞外, 通过这种途径外运的蛋白质代表是 IL-1^[14]。

IL-1 在免疫调节, 尤其是协同刺激 APC 和 T 细胞活化, 促进 B 细胞增殖和分泌抗体方面起着十分重要的作用, 对其分泌途径的研究有助于我们深入了解免疫反应的调节机制。大多数对 IL-1 外运分子机制的研究集中于 IL-1 β , 它的分泌不被一种破坏高尔基体结构和功能的药物 Brefeldin A 抑制, 相反 Brefeldin A 对 IL-1 β 的分泌有激活作用^[2], 说明 IL-1 β 的分泌并不是通过 ER-Golgi 通路。分泌型溶酶体是钙调节细胞器, 在造血细胞中含量丰富, 它们释放内容物到细胞外负责激发信号, 在大部分的炎症反应和免疫应答方面起重要作用^[24]。近期的研究结果表明, TLR 配基如内毒素启动分布在细胞质中的 IL-1 β 前体的基因表达与合成^[25], 无活性的半胱天冬酶原-1 与 IL-1 β 的多蛋白复合物-炎性体(Inflammasome)结合, 多蛋白复合物-炎性体包含 NALP-3 基因产物,

表 1 通过非经典途径所分泌的蛋白质

类型	蛋白质	分泌特点	参考文献
组成型	鞘氨醇激酶	被细胞松弛素抑制	[8]
	半乳糖凝集素-1	通过质膜驻留转运子传递	[9]
	成纤维细胞生长因子 2	通过质膜驻留转运子传递	[10]
调节型	成纤维细胞生长因子 1	依赖 Cu^{2+} , 与 S100A13 和 p40 Syt1 联合	[11]
	硫氧还蛋白	抗原特异性的 T 细胞诱导, 质膜外翻	[12]
	白介素-1 α	依赖 Cu^{2+} , 与 S100A13 结合	[13]
	白介素-1 β	通过内溶酶体途径	[14]
	膜联蛋白 1	糖皮质激素诱导, 依赖 ABC 转运子	[15]
	膜联蛋白 2	凝血酶诱导, 与 P11 结合	[16]
	翻译控制肿瘤蛋白	通过外来体	[17]
	金属硫蛋白	以“熔球”形式, 跨膜不依赖囊泡	[18]
	高迁移率族蛋白 B1	通过内溶酶体途径	[19]
	热休克蛋白	通过外来体	[20]
	迁移抑制因子	TNF、IL-1 或 LPS 诱导, 依赖 ABC1 转运子	[21]

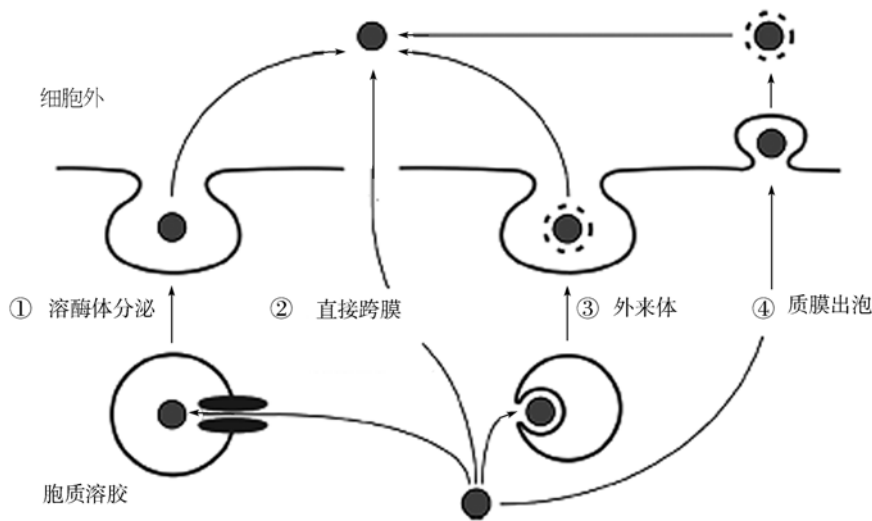


图 1 有小泡参与和无小泡参与的非经典分泌过程^[22]

① : 通过分泌型溶酶体; ② : 直接跨膜; ③ : 通过外来体的释放; ④ : 通过质膜出泡。

多蛋白复合物-炎性体结合一个大分子量的抑制物处于失活状态(图 2A)。在 TLR 信号之后, 抑制物和 *NALP-3* 基因产物瞬间从半胱天冬酶原-1 上脱离, 然后半胱天冬酶原-1 与 IL-1 β 通过特异的转运子 ABC1(ATP-binding cassette1)介导移入特化的分泌型溶酶体中实现共定位^[26](图 2B)。ATP 或从活化的中性粒细胞和上皮细胞释放出来的短肽 LL37 激发 K⁺外流, 从而核苷受体 P2X7 被活化, K⁺外流也激活半胱天冬酶原-1 的自身催化, 活化的 caspase-1 切割 IL-1 β 前体使其成为有活性的细胞因子(图 2C)。K⁺外流导致 Ca²⁺的流入, Ca²⁺依次活化磷脂酶类、磷脂酰胆碱特异性磷脂酶 C(PC-PLA-2)从而促进溶酶体的胞吐和 IL-1 的分泌^[41](图 2D)。然而, 无信号肽的胞质蛋白运输到溶酶体的潜在机制, 包括识别, 结合, 迁移以及参与的载体和分子伴侣还需要进一步阐明^[25]。

1.2 直接跨膜途径

通过直接跨膜途径外运的蛋白有纤维原细胞生长因子 2(Fibroblast growth factor-2, FGF-2)^[22]。FGF-2 作为一种多功能的细胞生长因子, 在胚胎发育、创伤修复以及在组织缺血、炎症、肿瘤等异常情况下, 可通过某种释放机制, 作用于靶细胞上的特异性受体, 发挥多种生理功能。FGF-2 属于肝磷脂结合生长因子(Heparin-binding growth factors)家族,

这个家族的成员绝大多数是通过 ER-Golgi 途径分泌的, 但 FGF-2 在其一级结构中无经典的信号肽序列, 其分泌不通过 ER-Golgi 途径进行, 属于非经典分泌蛋白, 其外运不需要运输小泡, 而是直接跨膜到细胞外^[26](图 3)。FGF-2 跨膜迁移是一个被动扩散的过程, 它不需要 ATP 的水解和膜电势, 而是需要胞外近膜端的硫酸乙酰肝素聚糖(HSPG)作为分子阱, 驱动其跨膜运输^[27]。细胞外的 HSPGS 需要接近质膜上 FGF-2 的迁移位点并且使细胞内外的 FGF-2 维持一个较高的浓度梯度, 在稳态下大约有 10%的 FGF-2 在细胞表面结合, 剩下的 90%留在细胞之中^[10]。最近有研究表明, 位于细胞膜内小叶的磷脂酰肌醇 4, 5 二磷酸(PI(4,5)P2)能瞬间募集胞质中的 FGF-2, 并与其结合, 这被认为是 FGF-2 进入非经典分泌途径的第一步^[28]。利用脂质体在体外重构 FGF-2 的迁移过程, 并且利用 RNA 干扰技术将进一步阐明其分泌机制^[27]。另外一些与 FGF-2 类似的非经典分泌蛋白属于植物凝集素家族。已有研究表明, galectin-1 与细胞表面的含有 β -半乳糖苷的糖蛋白和糖脂结合, 对其外运是至关重要的^[9, 29]。

1.3 外来体释放途径

外来体是细胞的多泡体(Multivesicular body, MVB)与细胞膜融合后释放到细胞外环境中的单层膜包裹的小囊泡^[31], 对外来体组成的研究说明, 它是一种分

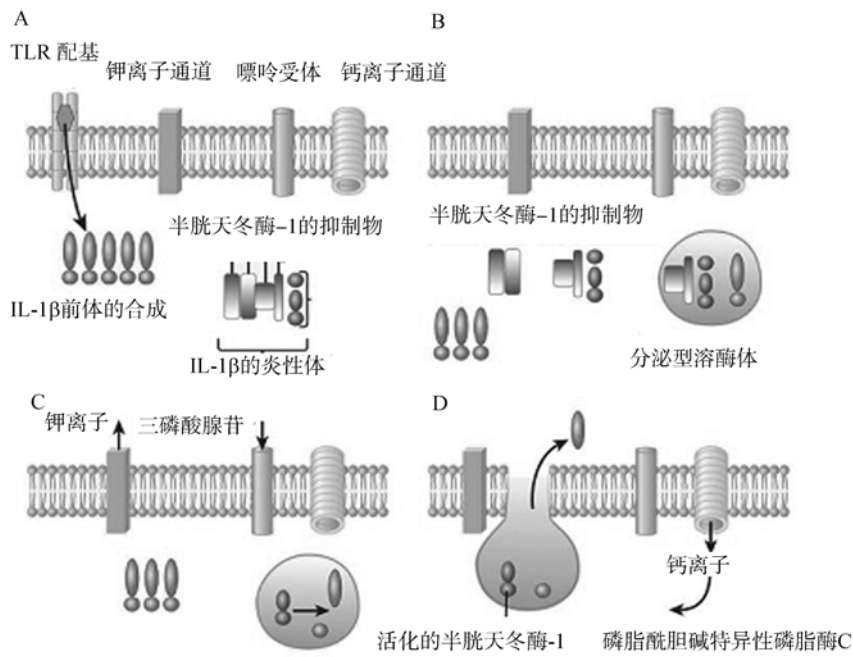


图 2 IL-1 β 的加工步骤和分泌^[25]

A: IL-1 β 前体的基因表达与合成以及无活性的半胱天冬酶原-1与IL-1 β 的多蛋白复合物-炎性体的结合; B: 半胱天冬酶原-1与IL-1 β 的共定位; C: IL-1 β 前体的活化; D: 溶酶体的胞吐和IL-1 β 的分泌。

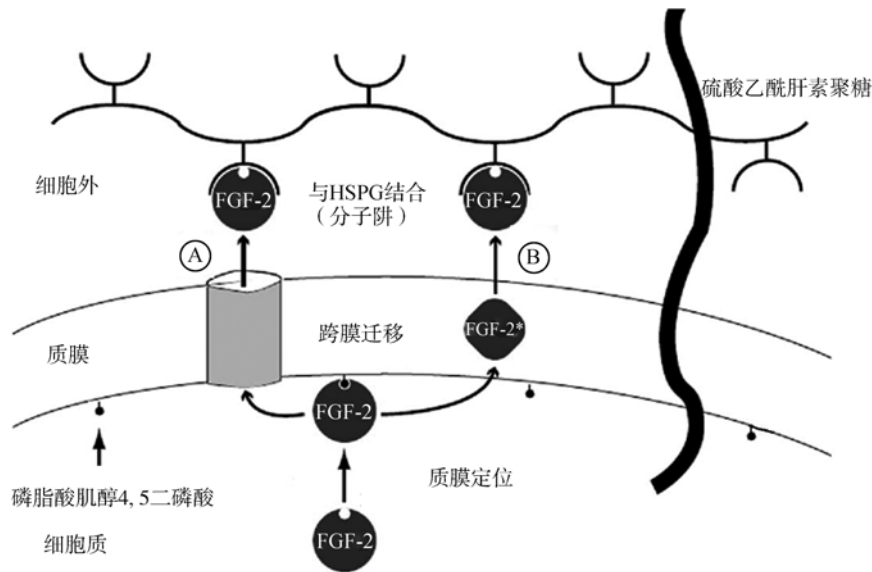


图 3 FGF-2可能的分泌机制^[27,30]

A: FGF-2通过膜通道跨膜迁移到胞外是个被动扩散的过程; B: PI(4,5)P2引起质膜构象改变, FGF-2穿透脂双层。

泌型亚细胞结构。外来体含有许多与免疫相关的蛋白如热休克蛋白(HSP)、MHC I、II分子、CD8、CD9、CD63、CD81和TCTP等,因此外来体有着重要的免疫调节功能。通过这种途径分泌的典型代表是HSP70^[20]。

热休克蛋白是重要的分子伴侣,最近研究显示,这类蛋白通常定位在细胞质或细胞核,也可以分泌到细胞外起到细胞间信号蛋白配基的作用。细胞外的HSP70与免疫效应物通过高亲和受体相互作用,并且能因此使免疫应答协调地结合在一起^[32-34]。研

究证明, HSP70 是通过一新的非经典途径分泌到细胞外的, 当外来体与细胞质膜融合时, HSP70 被释放到细胞外, 而热休克对外来体分泌的速率并没有影响, 只是使外来体中 HSP70 的含量有所增加^[20], 这与之前的脂筏在 HSP70 的胞吐中起作用的说法不一致^[35,36]。然而有报道表明 HSP70 从肿瘤细胞中分泌的途径与上面提到的 IL-1 β 类似, 对于这个蛋白更精确的分泌机制还有待于进一步研究^[37]。

1.4 质膜出泡途径

蛋白在细胞质膜下的某个区域积累, 当达到一定浓度时, 诱导质膜外翻、泡化、脱落, 从而将包裹在其中的蛋白释放到细胞外。通过这种途径分泌的蛋白有利什曼原虫亲水性酰化表面蛋白 B (Hydrophilic acylated surface protein B, HASPB)^[38]。利什曼原虫 HASPB 是一类脂蛋白, 在利什曼原虫寄生生活感染期, 该蛋白结合于质膜的外侧。利什曼原虫分泌的 HASPB 与宿主细胞的感染密切相关, 所以 HASPB 分泌途径可能是开发治疗利什曼氏原虫引起的寄生虫病的药物的靶标。该蛋白通过胞质的自由核糖体合成, 它的 N 末端含有 SH4 结构域, 并且第 2 位的甘氨酸残基豆蔻酰化, 第 5 位的半胱氨酸残基棕榈酰化, 这些翻译后的修饰是 HASPB 定位到利什曼原虫细胞表面的分子基础, 并且 HASPB 的 SH4 结构域与膜结合可以诱发膜的弯曲形成膜泡^[38]。然而也有研究表明, HASPB 的非经典外运通过两个独立的分泌机制, 第一种情况是 HASPB 通过它的双酰基化稳定地锚定到细胞膜后, 膜驻留载体起到翻转酶的作用, 使 HASPB 直接跨膜^[39], 第二种情况, HASPB 的外运是通过 MVB 释放小泡到细胞外空间所调节的^[40,41]。今后则应重点研究这个蛋白外运的调控机制, 并干扰 HASPB 的外运, 了解其在生理及病理条件下的作用, 开发新药。

值得注意的是, 在不同的细胞体系中, 同一种非经典分泌蛋白似乎有着不同的分泌方式。例如, IL-1 β 在小神经胶质细胞中是通过质膜出泡完成分泌的^[42], 在大鼠巨噬细胞中 IL-1 β 的分泌是通过释放外来体完成的^[43], 而在外周血单核细胞中则是由溶酶体介导的胞吐作用完成的^[25]。Galectin-1 最初是通过质膜出泡分泌的典型例子^[44], 而后来发现它有直接跨膜的能力^[9]。FGF-2 也能够直接跨膜^[27], 而以前报

道它存在于肥大细胞的颗粒中, 并通过脱颗粒释放^[45]。这些现象的产生是由于不同生理调节的反应还是由于实验模型的不同还有待于进一步的阐明。

2 生物学意义

非经典分泌途径的存在不仅对 ER-Golgi 分泌途径是一种必要和有益的补充, 而且还有其特殊的意义。虽然非经典分泌蛋白的分泌效率很低, 但是非经典分泌蛋白有两个特性平衡了这一点。第一, 它们大多有很高的生物学活性; 第二, 它们以自分泌或旁分泌的方式发挥作用, 低效率的分泌有利于它在小环境中自我控制蛋白的活性。

在酵母中即使是存活必需的蛋白质也只是低水平表达。当其高表达时会产生毒性, 此时非经典分泌途径可以诱导它们的即时分泌来防止这些蛋白在细胞质中的积累, 因此非经典分泌途径起到安全阀的作用。

研究表明非经典分泌蛋白在多种细胞中都以自分泌形式发挥作用, 因此在其分泌过程中应当避免与其受体发生相互作用。如果这些蛋白通过 ER-Golgi 分泌会过早地与其受体结合, 诱导其产生不可控制的激活, 所以通过非经典分泌途径使受体与其配体适当分隔, 以防止细胞因子的细胞内自分泌, 对于增殖和分化的适度调控是一种有效的机制。

一些蛋白通过非经典分泌途径分泌, 从而避免了蛋白进入高氧化环境的 ER 腔, 摆脱了巯基等基团氧化, 从而保证了蛋白质的正确折叠。对凝集素而言它们通过与质膜上的多糖特异性结合来介导细胞黏附, 由于高尔基体内含糖可能会阻滞凝集素的运输, 因此避开高尔基复合体有利于其有效分泌, 许多生物通过非经典分泌途径可以适时清除细胞内的错误折叠或合成过量的蛋白质, 有利于蛋白质形成正确构象并行使正常功能。

一般情况下非经典分泌蛋白不仅具有细胞外作用, 还具有细胞内作用。硫氧还蛋白 (Trx) 是胞浆内的氧化还原酶, 同时在细胞外可作为细胞因子发挥作用^[46]; 高迁移率族蛋白 (HMGB-1) 在细胞核内结合于染色质上调节基因表达, 在细胞外作为促炎因子发挥作用^[47]。

3 展望

目前, 对非经典分泌蛋白的研究正在不断发展, 已经应用许多先进的实验技术对其分泌机制进行了

研究,并取得了一定的进展,但对非经典分泌途径更精细的分子机制了解得还不是很透彻,有待于进一步阐明。许多非经典分泌蛋白都参与炎症反应和免疫应答,可作为研究新抗菌药物的作用靶点,干预这些蛋白的分泌和活性,开发出特异性抑制剂,可以实现对具有重要功能的经典分泌途径不造成干扰^[48]。随着实验技术的完善,我们可以更好的了解非经典分泌蛋白的分泌机制,这不仅解决了当代细胞生物学的基本问题,还将发掘出适于药物设计的新的靶蛋白,具有较高的研究价值和广阔的医学应用前景。

参考文献(References):

- [1] Lee MC, Miller EA, Goldberg J, Orci L, Schekman R. Bi-directional protein transport between the ER and Golgi. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2004, 20: 87–123. [\[DOI\]](#)
- [2] Orci L, Tagaya M, Amherdt M, Perrelet A, Lippincott-Schwartz J, Klausner RD, Rothman JE, Brefeldin A, a drug that blocks secretion, prevents the assembly of non-clathrin-coated buds on Golgi cisternae. *Cell*, 1991, 64(6): 1183–1195. [\[DOI\]](#)
- [3] Cleves AE. Protein transports: the nonclassical ins and outs. *Curr Biol*, 1997, 7(5): R318–320. [\[DOI\]](#)
- [4] Hughes RC. Secretion of the galectin family of mammalian carbohydrate-binding proteins. *Biochim Biophys Acta*, 1999, 1473(1): 172–185.
- [5] Wakisaka N, Muroso S, Yoshizaki T, Furukawa M, Pagano JS. Epstein-barr virus latent membrane protein 1 induces and causes release of fibroblast growth factor-2. *Cancer Res*, 2002, 62(21): 6337–6344.
- [6] Lutomski D, Fouillit M, Bourin P, Mellottée D, Denize N, Pontet M, Bladier D, Caron M, Joubert-Caron R. Externalization and binding of galectin-1 on cell surface of K562 cells upon erythroid differentiation. *Glycobiology*, 1997, 7(8): 1193–1199. [\[DOI\]](#)
- [7] Maizel A, Tassetto M, Filho O, Cochet C, Prochiantz A, Joliot A. Engrailed homeoprotein secretion is a regulated process. *Development*, 2002, 129(15): 3545–3553. [\[DOI\]](#)
- [8] Ancellin N, Colmont C, Su J, Li Q, Mittereder N, Chae SS, Stefansson S, Liau G, Hla T. Extracellular export of sphingosine kinase-1 enzyme. Sphingosine 1-phosphate generation and the induction of angiogenic vascular maturation. *J Biol Chem*, 2002, 277(8): 6667–6675.
- [9] Seelenmeyer C, Wegehngel S, Tews I, Künzler M, Aebi M, Nickel W. Cell surface counter receptors are essential components of the unconventional export machinery of galectin-1. *J Cell Biol*, 2005, 171(2): 373–381. [\[DOI\]](#)
- [10] Zehe C, Engling A, Wegehngel S, Schäfer T, Nickel W. Cell-surface heparan sulfate proteoglycans are essential components of the unconventional export machinery of FGF-2. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(42): 15479–15484. [\[DOI\]](#)
- [11] Prudovsky I, Mandinova A, Soldi R, Bagala C, Graziani I, Landriscina M, Tarantini F, Duarte M, Bellum S, Doherty H, Maciag T. The non-classical export routes: FGF1 and IL-1{alpha} point the way. *J Cell Sci*, 2003, 116(24): 4871–4881. [\[DOI\]](#)
- [12] Angelini G, Gardella S, Ardy M, Ciriolo MR, Filomeni G, Di Trapani G, Clarke F, Sitia R, Rubartelli A. Antigen-presenting dendritic cells provide the reducing extracellular micro-environment required for T lymphocyte activation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99(3): 1491–1496. [\[DOI\]](#)
- [13] Mandinova A, Soldi R, Graziani I, Bagala C, Bellum S, Landriscina M, Tarantini F, Prudovsky I, Maciag T. S100A13 mediates the copper-dependent stress-induced release of IL-1alpha from both human U937 and murine NIH 3T3 cells. *J Cell Sci*, 2003, 116(13): 2687–2696. [\[DOI\]](#)
- [14] Andrei C, Margiocco P, Poggi A, Lotti LV, Torrisi MR, Rubartelli A. Phospholipases C and A2 control lysosome-mediated IL-1 beta secretion: Implications for inflammatory processes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(26): 9745–9750. [\[DOI\]](#)
- [15] Chapman LP, Epton MJ, Buckingham JC, Morris JF, Christian HC. Evidence for a role of the adenosine 5'-triphosphate-binding cassette transporter A1 in the externalization of annexin I from pituitary folliculo-stellate cells. *Endocrinology*, 2003, 144(3): 1062–1073. [\[DOI\]](#)
- [16] Peterson EA, Sutherland MR, Nesheim ME, Pryzdial EL. Thrombin induces endothelial cell-surface exposure of the plasminogen receptor annexin 2. *J Cell Sci*, 2003, 116(12): 2399–2408. [\[DOI\]](#)
- [17] Amzallag N, Passer BJ, Allanic D, Segura E, Thery C, Goud B, Amson R, Telerman A. TSAP6 facilitates the secretion of TCTP/HRF via a non-classical pathway. *J Biol Chem*, 2004, 279(44): 46104–46112. [\[DOI\]](#)
- [18] Lynes MA, Zaffuto K, Unfricht DW, Marusov G, Samson JS, Yin X. The physiological roles of extracellular metallothionein. *Exp Biol Med(Maywood)*, 2006, 231(9): 1548–1554.
- [19] Gardella S, Andrei C, Ferrera D, Lotti LV, Torrisi MR, Bianchi ME, Rubartelli A. The nuclear protein HMGB1 is secreted by monocytes via a non-classical, vesicle-mediated secretory pathway. *EMBO Rep*, 2002, 3(10): 995–1001. [\[DOI\]](#)
- [20] Lancaster GI, Febbraio MA. Exosome-dependent trafficking of HSP70: a novel secretory pathway for cellular stress proteins. *J Biol Chem*, 2005, 280(24): 23349–23355. [\[DOI\]](#)
- [21] Calandra T. Macrophage migration inhibitory factor and host innate immune responses to microbes. *Scand J Infect Dis*, 2003, 35(9): 573–576. [\[DOI\]](#)
- [22] Nickel W. Unconventional secretory routes: direct protein

- export across the plasma membrane of mammalian cells. *Traffic*, 2005, 6(8): 607–614. [\[DOI\]](#)
- [23] Stinchcombe J, Bossi G, Griffiths GM. Linking albinism and immunity: the secrets of secretory lysosomes. *Science*, 2004, 305(5680): 55–59. [\[DOI\]](#)
- [24] Blott EJ, Griffiths GM. Secretory lysosomes. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2002, 3(2): 122–131. [\[DOI\]](#)
- [25] Dinarello CA. Blocking IL-1 in systemic inflammation. *J Exp Med*, 2005, 201(9): 1355–1359. [\[DOI\]](#)
- [26] Seelenmeyer C, Stegmayer C, Nickel W. Unconventional secretion of fibroblast growth factor 2 and galectin-1 does not require shedding of plasma membrane-derived vesicles. *FEBS Lett*, 2008, 582(9): 1362–1368. [\[DOI\]](#)
- [27] Nickel W. Unconventional secretion: an extracellular trap for export of fibroblast growth factor 2. *J Cell Sci*, 2007, 120(14): 2295–2299. [\[DOI\]](#)
- [28] Temmerman K, Ebert AD, Müller HM, Sinning I, Tews I, Nickel W. A direct role for phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate in unconventional secretion of fibroblast growth factor 2. *Traffic*, 2008, 9(7): 1204–1217. [\[DOI\]](#)
- [29] Liu FT, Rabinovich GA. Galectins as modulators of tumour progression. *Nat Rev Cancer*, 2005, 5(1): 29–41. [\[DOI\]](#)
- [30] Nickel W, Seedorf M. Unconventional mechanisms of protein transport to the cell surface of eukaryotic cells. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2008, 24: 287–308. [\[DOI\]](#)
- [31] Stoorvogel W, Kleijmeer MJ, Geuze HJ, Raposo G. The biogenesis and functions of exosomes. *Traffic*, 2002, 3(5): 321–330. [\[DOI\]](#)
- [32] Clayton A, Turkes A, Dewitt S, Steadman R, Mason MD, Hallett MB. Adhesion and signaling by B cell-derived exosomes: the role of integrins. *FASEB J*, 2004, 18(9): 977–979.
- [33] Laulagnier K, Motta C, Hamdi S, Roy S, Fauvelle F, Pageaux JF, Kobayashi T, Salles JP, Perret B, Bonnerot C, Record M. Mast cell- and dendritic cell-derived exosomes display a specific lipid composition and an unusual membrane organization. *Biochem J*, 2004, 380(1): 161–171. [\[DOI\]](#)
- [34] Asea A, Rehli M, Kabingu E, Boch JA, Bare O, Auron PE, Stevenson MA, Calderwood SK. Novel signal transduction pathway utilized by extracellular HSP70: role of toll-like receptor (TLR) 2 and TLR4. *J Biol Chem*, 2002, 277(17): 15028–15034. [\[DOI\]](#)
- [35] Broquet AH, Thomas G, Masliah J, Trugnan G, Bachelet M. Expression of the molecular chaperone Hsp70 in detergent-resistant microdomains correlates with its membrane delivery and release. *J Biol Chem*, 2003, 278(24): 21601–21606. [\[DOI\]](#)
- [36] Hunter-Lavin C, Davies EL, Bacelar MM, Marshall MJ, Andrew SM, Williams JH. Hsp70 release from peripheral blood mononuclear cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, 324(2): 511–517. [\[DOI\]](#)
- [37] Mambula SS, Calderwood SK. Heat shock protein 70 is secreted from tumor cells by a nonclassical pathway involving lysosomal endosomes. *J Immunol*, 2006, 177(11): 7849–7857.
- [38] Tournaviti S, Hannemann S, Terjung S, Kitzing TM, Stegmayer C, Ritzerfeld J, Walther P, Grosse R, Nickel W, Fackler OT. SH4-domain-induced plasma membrane dynamization promotes bleb-associated cell motility. *J Cell Sci*, 2007, 120(21): 3820–3829. [\[DOI\]](#)
- [39] Stegmayer C, Kehlenbach A, Tournaviti S, Wegehingel S, Zehe C, Denny P, Smith DF, Schwappach B, Nickel W. Direct transport across the plasma membrane of mammalian cells of Leishmania HASPB as revealed by a CHO export mutant. *J Cell Sci*, 2005, 118(3): 517–527. [\[DOI\]](#)
- [40] Besteiro S, Williams RA, Morrison LS, Coombs GH, Mottram JC. Endosome sorting and autophagy are essential for differentiation and virulence of Leishmania major. *J Biol Chem*, 2006, 281(16): 11384–11396. [\[DOI\]](#)
- [41] Stoorvogel W, Kleijmeer MJ, Geuze HJ, Raposo G. The biogenesis and functions of exosomes. *Traffic*, 2002, 3(5): 321–330. [\[DOI\]](#)
- [42] Bianco F, Pravettoni E, Colombo A, Schenk U, Möller T, Matteoli M, Verderio C. Astrocyte-derived ATP induces vesicle shedding and IL-1 beta release from microglia. *J Immunol*, 2005, 174(11): 7268–7277.
- [43] Qu Y, Franchi L, Nunez G, Dubyak GR. Nonclassical IL-1 beta secretion stimulated by P2X7 receptors is dependent on inflammasome activation and correlated with exosome release in murine macrophages. *J Immunol*, 2007, 179(3): 1913–1925.
- [44] Qu Z, Kayton RJ, Ahmadi P, Liebler JM, Powers MR, Planck SR, Rosenbaum JT. Ultrastructural immunolocalization of basic fibroblast growth factor in mast cell secretory granules. Morphological evidence for bfgf release through degranulation. *J Histochem Cytochem*, 1998, 46(10): 1119–1128.
- [45] Cooper DN, Barondes SH. Evidence for export of a muscle lectin from cytosol to extracellular matrix and for a novel secretory mechanism. *J Cell Biol*, 1990, 110(5): 1681–1691. [\[DOI\]](#)
- [46] Schwertassek U, Balmer Y, Gutscher M, Weingarten L, Preuss M, Engelhard J, Winkler M, Dick TP. Selective redox regulation of cytokine receptor signaling by extracellular thioredoxin-1. *EMBO J*, 2007, 26(13): 3086–3097. [\[DOI\]](#)
- [47] Pedrazzi M, Patrone M, Passalacqua M, Ranzato E, Colamassaro D, Sparatore B, Pontremoli S, Melloni E. Selective proinflammatory activation of astrocytes by high-mobility group box 1 protein signaling. *J Immunol*, 2007, 179(12): 8525–8532.
- [48] Nickel W. The mystery of nonclassical protein secretion. A current view on cargo proteins and potential export routes. *Eur J Biochem*, 2003, 270(10): 2109–2119. [\[DOI\]](#)