

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2012.00005

自噬与泛素化蛋白降解途径的分子机制及其功能

陈科, 程汉华, 周荣家

武汉大学生命科学学院, 武汉 430072

摘要: 细胞内所有的蛋白质和大多数的细胞外蛋白都在不断的进行更新, 即它们在不断地被降解, 并被新合成的蛋白质取代。细胞内蛋白的降解主要通过两个途径, 即自噬和泛素蛋白酶体系统。自噬是一种由溶酶体介导的细胞内过多或异常蛋白质的降解机制。在细胞内主要有 3 种类型的自噬, 即分子伴侣介导的自噬、微自噬和巨自噬。泛素蛋白酶体系统是由泛素介导的一种高度复杂的蛋白降解机制, 它参与降解细胞内许多蛋白质并且这个过程具有高度特异性。细胞内蛋白质的降解参与调节许多细胞过程, 包括细胞周期、DNA 修复、细胞生长和分化、细胞质量的控制、病原生物的感染反应和细胞凋亡等。许多严重的人类疾病被认为是由于蛋白质降解系统的紊乱而引起的。文章综述了自噬和泛素化途径及其分子机制, 以及蛋白质降解系统紊乱的病理学意义。

关键词: 蛋白质降解; 自噬; 泛素蛋白酶体系统

Molecular mechanisms and functions of autophagy and the ubiquitin-proteasome pathway

CHEN Ke, CHENG Han-Hua, ZHOU Rong-Jia

Life Science College, Wuhan University, Wuhan 430072, China

Abstract: All proteins in eukaryotic cells are continually being degraded and replaced. Autophagy and the ubiquitin-proteasome system are two mechanisms for intracellular protein degradation. Autophagy is mediated by lysosome, and is further divided into chaperone-mediated autophagy, microautophagy and macroautophagy. The ubiquitin-proteasome system is highly complex and mediated by ubiquitin, which participates in intracellular protein degradation in a specific manner. It is now known that degradation of intracellular proteins is involved in regulation of a series of cellular processes, including cell-cycle division, DNA repair, cell growth and differentiation, quality control, pathogen infection, and apoptosis. The aberrations in the protein degradation systems are involved in many serious human diseases. The present review summarizes the mechanisms of protein degradation and related human diseases.

Keywords: protein degradation; autophagy; ubiquitin-proteasome system

细胞内所有的蛋白质和大多数的细胞外蛋白都在不断的进行更新, 即它们在不断地被降解和被新合成的蛋白质取代。虽然不断降解细胞内的蛋白似乎很浪费, 但是这个过程在功能上却是非常重要的

收稿日期: 2011-06-03; 修回日期: 2011-08-19

基金项目: 转基因生物新品种培育重大专项(编号: 2009ZX08009-148B)资助

作者简介: 陈科, 博士研究生, 研究方向: 动物发育遗传学。E-mail: chenke@whu.edu.cn

通讯作者: 周荣家, 教授, 博士生导师, 研究方向: 动物发育遗传学。E-mail: rjzhou@whu.edu.cn

网络出版时间: 2011-8-24 11:11:40

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20110824.1111.004.html>

的。细胞内有多种蛋白质降解系统并且这些系统是受到复杂机制监控的,以确保蛋白质的降解是特异的。因此,细胞内外蛋白质的过度降解是可以避免的。总之,细胞内蛋白质的合成和降解必须是平衡的,如果平衡被打破,例如蛋白降解小幅度下降,则会导致机体受到一定程度的损伤^[1]。蛋白的降解在细胞的生理活动中发挥着不可替代的作用,包括处理损伤或错误折叠的蛋白、不需要的组分、翻译后修饰的蛋白、外来蛋白降解成氨基酸在细胞内的再利用和维持细胞的自我平衡等^[2]。其异常会导致许多人类疾病,例如肿瘤、神经退化性疾病等。

细胞内蛋白的降解主要通过两个途径,即自噬(Autophagy)和泛素蛋白酶体系统(Ubiquitin-proteasome system, UPS)。自噬,它的字面上的意思是“自己吃自己”,它在降解细胞内细胞器和较稳定蛋白上起着重要的功能,而 UPS 则负责特异地降解大多数细胞内蛋白,它是一种高效蛋白降解途径,其生物学作用非常广泛。

1 自噬

自噬是一个在真核生物中高度保守的过程,它发生在细胞质中,细胞内过多或异常的细胞器被运输到溶酶体中被降解(图 1A)^[2]。在细胞内主要有 3 种类型的自噬,即分子伴侣介导的自噬、巨自噬(Macroautophagy)和微自噬(Microautophagy)。这些自噬过程都有一个共同点,即都是在溶酶体中实现蛋白的降解。微自噬是溶酶体直接通过溶酶体膜的突出、隔膜或/和内陷来直接吞噬细胞质。而巨自噬则是细胞内过多或异常的细胞器及其周围的蛋白质和部分细胞质被双层膜所包裹形成自噬体,随后自噬体与溶酶体融合并且降解其所包裹的内容物^[3]。分子伴侣介导的自噬是具有高度选择性的,并且只能降解一些特定蛋白而不能降解细胞器,这些能够被降解的蛋白都含有特定的氨基酸序列且能被HSC70分子伴侣或其复合物所识别并结合,随后底物蛋白和分子伴侣复合物能被直接运送到溶酶体内,底物则在溶酶体内降解^[3]。

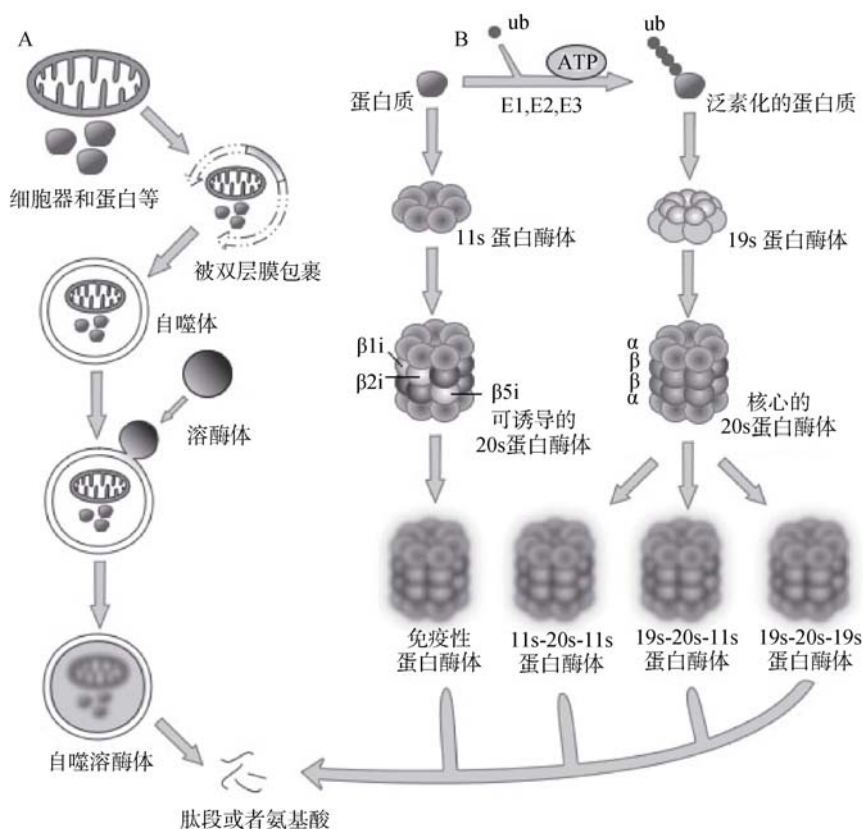


图 1 真核生物细胞内蛋白质降解的两种降解系统^[2]

自噬是一个在真核生物中高度保守的过程, 通常细胞内自噬维持在很低的水平, 但是在应激条件下被诱导, 它在细胞内起着各种各样的功能。例如, 在酵母中, 营养缺乏诱导细胞内自噬的水平显著增加, 它能降解一些不需要的蛋白质回收氨基酸以供合成生存所必需的蛋白质。在高等的真核生物中, 动物出生后胎盘食物供应中断, 以及培养的细胞和组织在营养饥饿下也能诱导自噬的增加^[4,5]。此外, 自噬还参与细胞的生理活动, 例如细胞的生长和分化。自噬还可能参与调节一些人类疾病的过程, 例如癌症、肌肉疾病和神经退行性疾病。它还可以作为一种细胞防御机制防止某些病原菌和病毒的感染。自噬是一个受到紧密调控的过程, 它在细胞生长、发育和动态平衡过程中起着重要的作用^[6]。

1.1 自噬过程及其分子机制

目前, 在酵母和其他真核生物中鉴定了许多参与自噬的基因, 这些基因被命名为自噬相关基因(Autophagy-related genes, ATG)。一系列由*atg*基因的产物组成的复合物参与协调自噬体(Autophagosomes)的形成(图 2)。Atg1/ULK1(在酵母中命名为Atg1 其哺乳动物同源蛋白命名为ULK1)复合物是自噬体形成过程中的一个重要的正调控因子, 这个复合物主要由

ATG1、ATG13 和 ATG173 个蛋白组成^[7,8]。当营养足够时, 哺乳动物雷帕霉素靶蛋白复合物 1(Mammalian target of rapamycin complex 1, mTORC1)与 Atg1/ULK1 复合物结合从而抑制自噬。mTORC1 是细胞生长和代谢的重要调节因子, 它由 5 个亚基组成, 其中包括Raptor(与ULK1 相互作用)和mTOR(具有的丝氨酸/苏氨酸激酶活性)。mTORC1 通过磷酸化 Atg1/ULK1 和 ATG13 从而抑制自噬的起始。在饥饿的条件下, mTORC1 从 Atg1/ULK1 复合物上分离, 从而诱导自噬体的成核(Nucleation)和延伸(Elongation)^[8]。

自噬小泡的成核需要含有 ATG6(其哺乳动物同源蛋白命名为Beclin 1)的复合物, 这个复合物能够与第三类磷酸肌醇 3 激酶 VPS34 形成超级复合物(第三类磷酸肌醇 3 激酶复合物)并使其激活产生磷脂酰肌醇 3 磷酸(Phosphatidylinositol-3-phosphate, PI3P)^[9]。

自噬体膜的延伸涉及两个类泛素的蛋白质(ATG12 和 ATG8/LC3)和两个相关的连接系统。其中一个途径是在类 E1 连接酶 ATG7 和类 E2 连接酶 ATG10 的作用下把 ATG12 共价连接到 ATG5 上, 并与 Atg16L1 形成前自噬体结构(Pre-autophagosomal structures, PAS)。第二个类泛素化途径是 ATG8/LC3 首先被蛋白酶 ATG4 剪切, 磷脂酰乙醇胺(Phosphatidylethanolamine, PE)在类 E1 连接酶 ATG7 和类 E2

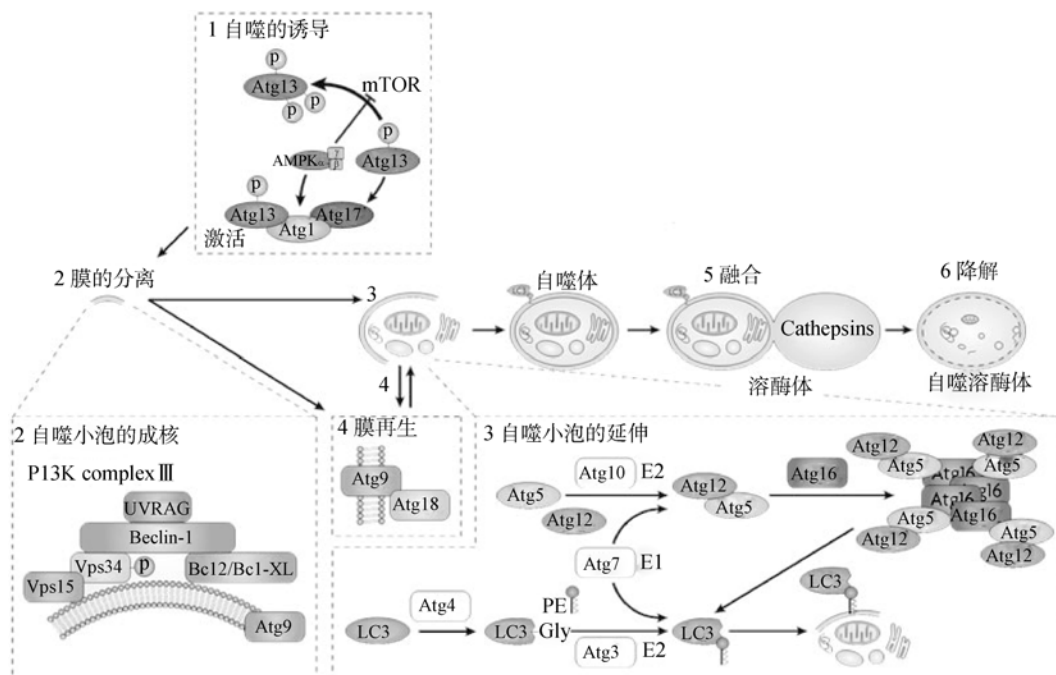


图 2 真核生物细胞内自噬的过程^[9]

连接酶ATG3 的作用下共价连接到剪切过的ATG8/LC3 上。这个过程导致LC3 由可溶形式(LC3-I)转变为脂溶形式(LC3-II), LC3-II能够与新形成的自噬体膜结合。LC3-II一直结合在自噬体膜上直到自噬体与溶酶体融合, 因此, 它也经常用作细胞内自噬的标记物^[8,10]。ATG9 复合物在自噬体形成的过程中也起着重要的作用, 它可能为自噬体的形成提供膜来源^[9]。其机制还不是很清楚。

最后, 自噬体通过与溶酶体融合而形成成熟的自噬体即自噬溶酶体(Autolysosomes)。在自噬溶酶体内, 自噬体内层膜以及内容物在溶酶体内被降解。然后, 溶酶体通透酶释放出降解产物到细胞质中以供生物合成和代谢, 这些降解产物包括氨基酸、脂类、核苷酸和碳水化合物等^[8,10]。

1.2 自噬的底物

自噬根据其降解底物的特异性可以分为两类, 即选择性自噬和非选择性自噬。非选择性自噬能够大量地降解多余的细胞质成分和细胞器为细胞在饥饿时进行新陈代谢提供物质。它同样在组织重构过程中起着重要的作用, 例如果蝇的形态发生^[11]。细胞内是否存在某种机制来阻止非选择性自噬消耗细胞生存的必需组分还不是很清楚, 在某些情况下, 细胞内这种过度消耗能够导致细胞的死亡。

在某些情况下, 蛋白质或者一些细胞器也能够被选择性自噬所降解, 例如线粒体自噬(Mitophagy)、核糖体自噬(Ribophagy)、内质网自噬(Reticulophagy)、过氧化物酶体自噬(Pexophagy)和脂类自噬(Lipophagy)^[8]。在哺乳动物细胞中, 不管是在蛋白酶体降解还是自噬途径降解, 蛋白质的降解信号都是泛素化。许多蛋白质在自噬缺陷性细胞内聚集, 这说明自噬在控制细胞内蛋白质代谢上具有重要的作用, 并且表明蛋白酶体介导的蛋白质降解不能弥补自噬的缺陷。为了使目标蛋白发生自噬性降解, 泛素化修饰的靶蛋白能够结合到自噬受体上, 例如p62 可以作为自噬受体与泛素化的蛋白质并可以与自噬体膜蛋白LC3 相互作用从而能够把泛素化的蛋白质运送到自噬体内降解^[12]。

细胞器选择性自噬的调节机制比较复杂。在酵母中, Atg32 定位于线粒体能够与Atg8/LC3 和Atg11 相互作用, 并作为一个自噬受体介导线粒体体自

噬^[13]。在哺乳动物细胞中, 去极化线粒体的自噬能够保护细胞免受由活性氧造成的损伤, 这个过程由Pink-1 促使E3 泛素连接酶Parkin发生易位到线粒体上, 从而促进线粒体蛋白VDAC1 的K27 位连接的多聚泛素化, 随后泛素化的VDAC1 被p62 所招募并运送到自噬体内降解^[14]。

1.3 自噬的调节

近几年来, 对自噬调节分子机制的研究已经取得了很大的进展。细胞可以通过一系列信号通路对外部营养的供应、生长因子和激素的刺激、应激和内部能量供应做出许多生物学反应, 其中包括自噬。

对mTORC1 活性的调节是自噬调节的重要组成部分。mTORC1 促进细胞生长和代谢, 而通过结合ULK1 复合物抑制自噬。mTORC1 的活性受到许多信号的调控, 其主要调控因子是TSC蛋白质。TSC2 与TSC1 形成复合物具有GTP酶激活蛋白(GTPase-activating protein, GAP)活性, 它能够促使Rheb由活化形式转变为非活化形式, 从而抑制mTORC1 的活性^[15]。

mTORC1 能够被PI3K-PKB信号通路激活。其机制是活化的PKB能够磷酸化TSC2 从而阻止TSC复合物的形成, 进一步导致mTORC1 的激活^[16]。相反的, PTEN通过抑制PI3K-PKB信号通路的活性能够诱导自噬^[17]。

LKB1-AMPK信号通路能够调节mTORC1 的活性。LKB1-AMPK信号通路被认为是真核生物的“细胞能量调节器”, 其活性受AMP/ATP比值的调控。活化的AMPK可以介导TSC2 的磷酸化进一步抑制mTORC1 的活性, 从而诱导自噬^[18]。此外LKB1-AMPK信号通路信号通路还可以通过调节p27 蛋白的稳定性来影响自噬。在应激条件下, 如果缺失p27 细胞则发生凋亡, 但是在存在p27 时, 细胞则发生自噬^[19]。最近, 有研究表明AMPK通过直接与ULK1 相互作用并使其磷酸化, 从而诱导自噬^[20,21]。

mTORC1 还是一个细胞内重要的“压力传感器”。缺氧可以激活HIF从而诱导REDD1 的表达, 而REDD1 能通过调节TSC复合物的活性来抑制mTORC1 的活性, 从而诱导自噬^[22]。此外, HIF还可以诱导许多自噬相关基因的表达^[23]。研究表明, 肿瘤抑制蛋白p53 也可以调节细胞的自噬。在基因组

损伤时, p53 的激活可以促进 AMPK 的激活进而抑制 mTORC1 的活性来诱导自噬^[24]。此外, p53 可以通过转录激活自噬调节蛋白 DRAM 从而诱导细胞的自噬^[25]。p53 的下游基因 *sestrin1* 和 *sestrin2* 也能够激活 AMPK 的活性进而抑制 mTORC1 的活性来诱导自噬^[26]。但是最近的研究表明, 细胞质的 p53 抑制了细胞的自噬^[27]。

在哺乳动物细胞中, 胰岛素 (Insulin) 可以通过两个途径来抑制自噬: (1) 在氨基酸的协同作用下激活 mTOR 使 Atg1/ULK1 磷酸化从而抑制自噬; (2) Insulin 激活 PKB/Akt 的活性从而使转录因子 FoxO3 磷酸化并抑制其转录活性, FoxO3 负责许多自噬相关基因的表达^[28]。

细胞内也存在一些不依赖 mTOR 的自噬, 例如氨基酸代谢的副产物—氨 (Ammonia) 能够激活自噬阻止由 TNF- α 诱导的细胞凋亡^[8]。在肝脏中, 胰高血糖素 (Glucagon) 作为细胞内一种促进分解代谢的激素也可以诱导自噬^[8]。

1.4 自噬的生理学意义

自噬作为一个在真核生物细胞中保守的降解途径, 它能够免除各种类型的细胞应激。自噬在细胞清除废物、结构重建、生长发育中起着重要作用, 研究表明它们与人类疾病存在着很密切的联系。目前, 研究最为详细的一种自噬是巨自噬, 它与许多人类疾病相关, 例如某些神经退行性疾病的发生与蛋白质聚集存在很大的联系, 巨自噬能够通过清除某些有害的蛋白来防止或减少由这些聚集蛋白所引起的细胞毒性。自噬受到自噬基因的调控, 自噬基因缺失或者突变导致功能障碍时可以导致一些疾病的发生。

1.4.1 自噬与蛋白质聚集类疾病

近年来, 对自噬与蛋白质聚集引发疾病之间联系的研究已经取得了很大的进展。这些疾病的分子机理有以下几个普遍特性: (1) 突变导致蛋白构象的变化和错误折叠; (2) 当错误折叠的蛋白质积累到很高水平就形成聚集或包涵体; (3) 正常的降解途径无法降解这些包涵体和/或改变其形式。通常, 当这些突变蛋白积累到很高的水平时, 它们阻碍了正常的细胞功能。在这个时候, 蛋白质降解系统可能被激活, 消除由此产生的异常包涵体。泛素蛋白酶体

系统和自噬都能够被异常包涵体所激活, 但是它们的底物是不同的^[29]。例如, α -1-抗胰蛋白酶 (AT) 基因的突变导致其错误折叠并使其以包涵体的形式保留在内质网内。AT 基因的这种突变会导致肝炎和肿瘤。在 AT 基因突变病人的肝细胞内, 自噬体明显地增强以用于降解这些突变的 AT 包涵体^[30]。数据表明, 自噬在缓解与相关异常蛋白质聚集在内质网内所引发的细胞毒性起着保护性作用。

关于由蛋白质聚集在细胞质内所引发的疾病, 已经证实自噬在某些神经退行性疾病中起着重要的作用, 例如帕金森氏症、亨廷顿氏病 (HD) 和阿尔茨海默氏病 (AD)^[31]。在这些疾病病人或者这些疾病的老鼠模型的神经细胞中、细胞系中自噬体明显增加, 这说明了自噬活性的上调和自噬体与溶酶体的融合存在缺陷^[31]。例如, 亨廷顿氏病是由于多聚谷氨酰胺共价连接到突变的亨廷顿蛋白上从而容易在细胞质内聚集形成包涵体^[32]。此外, 自噬被激活来降解细胞内形成的包涵体。因此, 亨廷顿氏病的病理学机制可能是自噬不能完全清除细胞内突变的亨廷顿蛋白^[29]。因此, 自噬在神经退行性疾病中起着重要的作用。

从目前的研究来看, 自噬通过清除细胞内聚集的蛋白在由蛋白聚集引起的疾病中起着保护细胞的作用, 它可以减轻由包涵体导致的细胞毒性。细胞内本底的自噬水平可以清除那些可溶的蛋白以免它们聚集后引起细胞毒性。虽然自噬具有保护由聚集蛋白质所造成的细胞毒性, 但是其活动必须控制在一个适当的水平, 因为过多的自噬可能会导致细胞死亡。

1.4.2 自噬与肌病和溶酶体贮积症

溶酶体是细胞内降解细胞器和较稳定蛋白的主要场所。当溶酶体的功能受到损伤, 则许多未降解的物质聚集在溶酶体内最终会产生细胞毒性。这个表型在许多疾病中得到了证实, 例如心肌病和其他的肌病。此外, 自噬也与这些疾病存在一定的联系, 这类疾病被归为自噬泡肌病。Danon 疾病是由于糖原贮积在溶酶体引起的疾病, 并且是与自噬存在联系的一种心肌病, 其临床表现为心肌病、肌病和各种神经发育迟滞^[29]。由于溶酶体膜蛋白 LAMP-2b 基因的突变导致自噬泡与溶酶体不能融合, 导致在患者

心脏和骨骼肌细胞中聚集了大量的自噬泡^[33]。庞培氏病(Pompe)与Danon疾病相似,在患者细胞内聚集大量的自噬泡,它是由于酸性 α -葡萄糖苷酶基因突变导致糖原大量贮积在溶酶体导致的疾病。 α -葡萄糖苷酶敲除小鼠肌肉细胞内许多自噬相关基因的表达明显上调,例如*Beclin1*、*ATG12*和*ATG8*^[34]。最近的研究证实这种疾病是由于在肌肉细胞内大量自噬泡的聚集而不是糖原大量贮积扰乱正常的肌肉收缩导致的^[31]。揭开自噬在这些疾病中的功能以及机理将有助于这些疾病的治疗。

1.4.3 自噬与肿瘤的发生

虽然很早就发现了自噬与肿瘤之间存在相关性,但是其可能的分子机制的阐明最近才取得了一些进展。虽然大多数证据都支持自噬具有维持细胞存活的功能,矛盾的是,自噬相关基因的缺失被频繁发现于各类肿瘤中,这些基因包括*Beclin1*、*MAP1LC3*和*ATG7*^[33]。此外,PI3K-PKB和mTOR等抑制自噬的信号通路在许多肿瘤中被激活^[12]。

自噬的缺陷导致它失去促进细胞存活的能力,但是为什么会促进肿瘤的发生呢?自噬缺陷尽管降低了细胞的健康程度,但是它导致了细胞内损伤的聚集。自噬缺陷的肿瘤细胞在应激条件下其基因组通常表现出很高程度的损伤,这说明自噬缓解损伤是其发挥肿瘤抑制功能的一种机制^[35]。此外,在那些细胞周期检验点失活的肿瘤细胞内,自噬能够限制基因组的损伤和抑制突变率^[35,36]。这说明自噬具有维持基因组的稳定性的功能从而抑制肿瘤的发生。凋亡是抑制肿瘤发生的一个重要机制,在肿瘤细胞中,自噬在某些情况下能够增加细胞的凋亡。例如,p53能够通过转录激活DRAM来诱导自噬,进一步诱导细胞的凋亡^[25]。此外,自噬相关蛋白也可以作为一个促凋亡因子来引发细胞的凋亡,例如ATG5被剪切后能够诱导细胞的凋亡^[37]。

由于应激引起聚集的蛋白也能够通过自噬降解,在这个过程中p62起着重要的作用。蛋白质的聚集可能是一种保护机制,它可以通过隔离、有效的包裹和运输机制收集那些损伤的蛋白质运送到自噬体从而使细胞免受这些蛋白质的毒害^[12]。小鼠肝脏特异的自噬缺陷导致了p62蛋白的聚集、氧化应激和

依赖于p62的细胞死亡^[38]。这说明由于自噬缺陷而不能清除聚集的p62蛋白对正常细胞来说是有害的。在自噬缺陷的肿瘤细胞中,代谢压力可以导致肿瘤细胞内聚集p62蛋白、内质网分子伴侣和蛋白二硫异构酶等,这说明蛋白质的质量控制是有缺陷的。此外,自噬的缺陷通常伴随着损伤的线粒体的聚集、氧化应激的上调和DNA损伤反应的激活,这些反应都可能与p62的聚集有关。在这些自噬缺陷的肿瘤细胞中清除p62则可以抑制这些细胞毒性反应。这说明自噬还可以通过抑制p62的聚集来抑制肿瘤的发生^[12]。

在肿瘤细胞中,许多调节自噬信号的信号通路发生了紊乱,并且自噬在许多治疗肿瘤的药物作用下被激活,这些药物有些直接抑制了mTOR的活性^[39]。

虽然现在许多证据表明自噬具有肿瘤抑制的功能,但是不可否认,自噬可以促进肿瘤的存活。可能是由于自噬具有细胞保护作用 and 营养的回收再利用的功能。在营养缺乏的条件下,抑制自噬可以诱导HeLa细胞的凋亡^[40]。因此,自噬在肿瘤的发生过程中起着双重的作用,它在肿瘤发生过程中的具体机制还需要更加进一步的研究。

1.4.4 自噬与致病菌和病毒感染

细菌是一种主要的病原体,它的感染能够导致许多人类的疾病。在致病菌的入侵过程中,它们进入宿主细胞内并进行复制,通常还扩散到邻近细胞和组织从而导致细胞的死亡。面临微生物入侵的威胁,免疫系统已进化出多种机制来消除这些入侵者。例如,侵入的细菌可以通过内吞途径进入自噬体随后与溶酶体融合从而被降解^[41]。

病毒通过把他们的DNA或者RNA注射到宿主细胞的细胞质中来感染宿主细胞。一旦被感染,宿主细胞则可能分泌一种称为干扰素(IFN)的细胞因子,IFN能够引发细胞的一些抗病毒的机制来限制病毒复制。最近有研究证实IFN能上调细胞内自噬的水平^[42]。此外,有些细菌和病毒已经进化出一些机制来阻止或利用自噬。例如,有些单纯疱疹病毒编码ICP34.5基因可以阻止PKR依赖的自噬从而使病毒得以逃避以免被降解^[43]。有些正链RNA病毒能够诱导自噬体的形成然后利用自噬体来进行自身的复制,

但是其具体机制还需要更进一步的研究^[44]。

2 泛素蛋白酶体系

早在 20 世纪 70 年代就证实动物细胞内蛋白质的降解是具有高度选择性的^[45]。有一些模型提出解释这种选择性降解蛋白的现象,例如,有人提出所有的蛋白都能迅速地进入溶酶体,但是只有那些短暂的蛋白被降解,而长寿命的蛋白质则从溶酶体中逃出重新回到细胞质^[46]。实际上,后期的实验证实溶酶体降解蛋白是特异性很低的,并且溶酶体降解所有的蛋白速率都一样^[47]。此外,用特定的抑制剂抑制溶酶体的功能对细胞内蛋白质降解的影响很小。这很明显的说明了溶酶体并不是负责特异性降解细胞内蛋白的细胞器。最终,发现了负责细胞内特异降解蛋白的系统,即泛素蛋白酶体系。在细胞内,UPS能够快速降解那些不正常的蛋白质和一些短暂的控制一系列基本细胞生命活动的调节蛋白^[48]。UPS降解蛋白质是一个复杂的和受到严密调控的,并且是高度特异性的降解细胞内许多蛋白质的过程^[49]。细胞是如何选择并以高度特异的方式来降解蛋白质的呢?它是通过给需要降解的蛋白质加上许多小的标签—泛素来标记需被降解的蛋白随后这些蛋白被泛素蛋白酶体降解。

蛋白酶体存在于细胞核和细胞质,它是由 10~20 个亚基组成的蛋白复合物。细胞内普遍存在的蛋白酶体是 26S 蛋白酶体,由一个核心的 20S 蛋白酶体和两个具调节作用的 19S 蛋白酶体组成。20S 蛋白酶体为中空结构,是一个大的具有催化活性的蛋白酶,由 2 个外环(7 个 α 亚基)和 2 个内环(7 个 β 亚基)组成(图 1B)^[2]。在细胞内,20S 蛋白酶体具有潜在的催化能力,需要激活才具有蛋白酶活性,至少有 2 类蛋白酶体激活剂被发现在能够结合核心的 20S 蛋白酶体并增强它的催化活性。如图 1A 所示,19S 调节颗粒能够结合到 20S 蛋白酶体的外环上,形成 26S 蛋白酶体,它们主要负责降解泛素化的蛋白质。细胞内大多数的蛋白质是由 26S 蛋白酶体降解的。11S 调节颗粒又被称为 PA28 或 REG,它也能够结合到 26S 蛋白酶体并以一种不需要 ATP 和泛素化的方式起始短肽而不是完整的蛋白质的降解^[2]。

2.1 泛素化

泛素是一个由 76 个氨基酸组成的高度保守的

多肽链,因其广泛分布于各类细胞而得名。泛素共价地结合于底物蛋白质的赖氨酸残基,被泛素标记的蛋白质将被特异性地识别并迅速降解。靶蛋白的泛素化降解涉及以下 3 个连续的过程:(1)泛素的活化,这个过程需要以 ATP 作为能量,泛素 C 端的羧基连接到泛素活化酶 E1 的巯基,最终形成一个泛素和泛素活化酶 E1 之间的硫酯键;(2)泛素活化酶 E1 将活化后的泛素通过交酯化过程传递给泛素结合酶 E2;(3)泛素连接酶 E3 将结合 E2 的泛素连接到靶蛋白上。靶蛋白在泛素活化酶 E1、泛素结合酶 E2 和蛋白泛素连接酶 E3 的作用下共价连接上几个泛素分子,然后被 26S 蛋白酶体所降解。蛋白质的降解是在 20S 核心颗粒中的 β 亚基进行的,一般不生成部分降解的产物,而是将底物蛋白完全降解为长度一定的肽段。26S 蛋白酶体只识别泛素化的蛋白并将其降解为小肽,泛素在去泛素连接酶作用下回收再利用(图 3)。这些小肽随后被细胞质中的蛋白酶降解为氨基酸。在哺乳动物细胞内,UPS 系统是一个层次非常鲜明体系:细胞内只表达一种泛素活化酶 E1 把泛素转移到大约 50 种泛素结合酶 E2 上,每种 E2 都可以与许多 E3 泛素连接酶相互作用,而 E3 泛素连接酶在细胞内大约有 1 000 个,它们负责特异性地结合底物使其发生泛素化从而能被蛋白酶体降解。

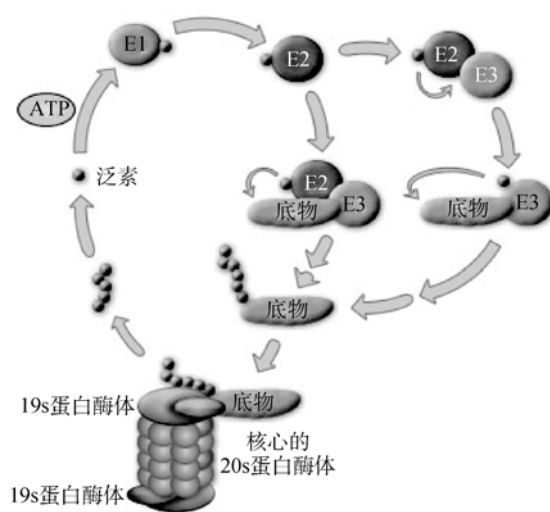


图 3 26S 蛋白酶体降解泛素化蛋白底物的示意图

2.2 泛素蛋白酶体系的生物学意义

在细胞内,绝大多数蛋白质都是通过泛素-蛋白

酶体系统降解的。细胞内蛋白的降解主要具有两个方面的作用,一方面是通过降解错误折叠、突变或者损伤的蛋白来维持细胞的质量控制,另一方面是通过降解关键的调节蛋白来控制细胞的基本生命活动,例如生长、代谢、细胞凋亡、细胞周期和转录调节等。

2.2.1 蛋白质的加工

虽然蛋白酶体降解成非常短的片段,但是在有些情况下,降解产物也是具有生物学活性的。一些转录因子复合物中的成分,合成后以无活性的前体分子存在,在经过泛素化和蛋白酶降解后,才转变为活性分子。例如, NF- κ B、Spt23p 和 Mga2p 等^[50]。

2.2.2 细胞周期的调控

细胞周期的进程是由一系列细胞周期蛋白依赖性激酶(CDK)来进行调控的,而CDK的激活需要细胞周期蛋白(Cyclin)的结合。在细胞有丝分裂过程中,细胞周期蛋白的寿命很短,大约只有几分钟。在Cyclin-CDK复合物执行完功能后,复合物中的Cyclin则会很快地被泛素-蛋白酶体系统降解,从而保证细胞周期的正常运转。此外,在细胞退出有丝分裂的过程中,Cyclin B需要从有丝分裂促进因子上解离下来,而这一过程也依赖于蛋白酶体。例如,Cyclin A的降解是由一种E3 泛素连接酶-后期促进因子(APC)来进行的,APC的各组分在细胞分裂间期中表达,但是它只有在M期才具有E3 连接酶活性,从而降解M期周期蛋白,细胞则有中期向后期转化^[51]。

细胞周期的进程也受到细胞周期检验点的调控。例如,有丝分裂前期检查点Chfr蛋白在细胞分裂过程中发挥着重要作用。Chfr是一个E3 泛素连接酶,其底物包括HDAC1、Plk1、Kif22、HLTF等,许多研究表明Chfr在细胞分裂过程中发挥着重要作用,细胞分裂存在有丝分裂应激时,Chfr通路激活引起PLK1 的泛素化并降解,控制Cdc2 激酶的活性,延迟染色体凝集和中心体分离,阻止细胞于有丝分裂前期,它的表达增强细胞对应激的生存能力^[52-55]。一旦有丝分裂应激解除并且缺陷修复,Chfr连接酶即失活,Plk1 再合成驱使细胞进入有丝分裂期。

因此,泛素蛋白酶体系统在细胞周期的调控上具有非常重要的作用。

2.2.3 细胞凋亡

细胞凋亡对个体发育的正常进行,自稳平衡的保持以及抵御外界各种因素的干扰方面起着非常重要的作用。在细胞凋亡发生前,细胞内泛素化的蛋白质、泛素连接酶的表达明显上调^[56,57]。此外,在细胞凋亡过程中,蛋白酶体的定位出现了明显的改变,它由细胞核移位到凋亡小泡的外膜。利用药物抑制蛋白酶体的活性可以影响不同类型细胞凋亡。在大多数被研究的细胞类型中,抑制蛋白酶体的活性可以促进细胞凋亡。但是,蛋白酶体的活性并不是凋亡所必需的,在原代培养的静止和分化的细胞,如神经元细胞,抑制蛋白酶体的活性阻止了细胞的凋亡。但是这一机制到目前还不是很清楚^[57]。

2.2.4 DNA 修复

蛋白质p53 是一个抑癌基因,被誉为“基因卫士”。至少有 50%的人类癌症是由于p53 的突变导致的。在正常细胞中,p53 始终处于合成与降解的动态平衡状态,并维持在较低水平上。这种平衡状态的维持是离不开泛素蛋白酶体系统的。正常情况下,MDM2 这一E3 泛素连接酶与p53 相互作用并使p53 不断地降解。当DNA受到损伤时,p53 被磷酸化而不再与MDM2 相互作用,从而不再被泛素化降解,细胞内p53 的蛋白水平迅速增加。p53 是一个重要的转录因子,能够控制许多基因的表达,这些基因能够调控细胞周期、DNA的修复和细胞的凋亡等。如果p53 的蛋白水平上升,细胞周期会被阻断,为DNA修复提供时间^[58]。

2.2.5 细胞应激反应

当细胞应激反应发生时,热休克蛋白大量表达,其作用是识别错误折叠的蛋白质,并标记他们以供蛋白酶体的降解。目前,已经证实Hsp27 和Hsp90 具有提高泛素-蛋白酶体活性的功能。例如,Hsp27 能够直接与多聚泛素链和 26S蛋白酶体相互作用。在应激条件下,Hsp27 促进泛素化蛋白质的降解,例如,磷酸化的I- κ B α 蛋白。I- κ B α 是转录因子NF- κ B的一个主要的抑制剂。因此,在应激条件下,促进泛素-蛋白酶体降解I- κ B α ,从而可以激活NF- κ B的活性^[59]。此外,Hsp70 可以结合到错误折叠的蛋白质上,并引导E3 泛素连接酶(如CHIP)将错误折叠的蛋白质

标记上泛素,使得蛋白酶体能够降解它们^[59]。

对于氧化损伤的蛋白质,泛素蛋白酶体系统也以类似的机制把它们降解。例如,细胞核内的蛋白酶体可以选择性地降解氧化损伤的组蛋白,这个过程是由 PARP 蛋白所调控进行的。泛素蛋白酶体系统选择性地降解一些损伤的蛋白质可以减轻对细胞的损害。

2.2.6 调节免疫反应

大多数蛋白由蛋白酶体降解为特定长度的短肽,然而,也有一些蛋白能够逃脱这个过程而转运到内质网,在内质网内这些多肽结合到主要组织相容性复合物(MHC)类型I蛋白上,随后传递到抗原呈递细胞表面。如果这些蛋白不是来源于此细胞,例如,侵入机体的病毒、细菌或肿瘤,细胞毒性T淋巴细胞则会破坏这个细胞^[60]。虽然一般的蛋白酶体就可以参与这个过程,但是在这个过程中起主要作用的是一种特殊的复合物,其可以生成合适大小和成分的降解片段以供MHC结合。这种复合物是由 11S调节颗粒和特殊的 β 亚基($\beta 1i$ 、 $\beta 2i$ 、 $\beta 5i$,具有不同的底物特异性)组成的,它们的表达由 γ 干扰素所诱导^[61]。

NF- κ B 是一种抗凋亡和促炎症调控因子,它能够调控细胞因子的表达。26S 蛋白酶体在 NF- κ B 的激活中起着非常重要的作用,在 NF- κ B 的激活过程中, NF- κ B 的抑制剂 I- κ B 的快速降解和其前体 p105 加工成活性的 NF- κ B 即 p50。因此,泛素蛋白酶体系统被认为与炎症反应和自身免疫性疾病相关。

2.2.7 调节生长和发育

在植物的生长和发育过程中,泛素蛋白酶体系统起着必不可少的作用,它参与了许多发育过程,包括激素反应、光形态、昼夜节律、花发育和衰老等^[62]。例如,茁长素(Auxin)或植物激素(Phytohormone)的作用是调控植物生长的方向和向性,它们通过细胞信号通路来诱导一系列转录因子的抑制蛋白(Aux/IAA蛋白)进入蛋白酶体降解途径。这些抑制蛋白被 SCFTIR1 蛋白或者 SCF 蛋白进行泛素化降解。Aux/IAA 蛋白降解后,对 Auxin 反应因子(ARF)家族的转录因子的抑制就被解除,从而诱导 ARF 基因的表达^[63]。ARF 的激活参与了对根和叶脉生长的指导。ARF 蛋白和 Aux/IAA 蛋白之间配对的特异性被认为是 ARF 的去抑制作用具有反应特异性的原因^[60]。

在个体的正常发育过程中,通过有丝分裂来增加细胞数目、通过有序的细胞分化来增加细胞类型,进而由不同类型的细胞组成组织和器官。显然,这个生长和发育的过程是受到高度调控的,其中,蛋白质降解起着非常重要的作用,特别是泛素蛋白酶体对特异蛋白的降解。例如, NEDD4 通过调节 IGF-1 信号通路来调节动物的生长。在哺乳动物中,胰岛素样生长因子(IGF)信号轴是胎儿和出生后生长的主要调节者。这个信号轴主要包括 3 个配体(IGF-1、IGF-2 和胰岛素)和两个跨膜的酪氨酸激酶受体(IGF-1R 和 IR)。IGF-1 和 IGF-2 都可以促进胎儿生长。在出生后,生长激素可以促进自主增长和诱导全身和局部生产 IGF-1,通过 IGF-1R 信号通路来促进增殖。因此,IGF-1 在动物的生长过程中起着至关重要的作用。NEDD4 是一个 E3 泛素连接酶,它可以调节 PTEN 蛋白的稳定性。虽然 NEDD4 与 IGF1R 不是直接相互作用的,但是 NEDD4 能够通过与 Grb10 相互作用,调节其稳定性,进一步调控 IGF1R 的定位。Grb10 抑制了 IGF-1R 和 IR 正确的细胞膜定位。因此, NEDD4 可以促进 IGF-1R 的激活。NEDD4 基因敲除小鼠其表型是生长迟缓和围产期死亡^[64]。

2.3 泛素蛋白酶体系统与遗传疾病

正常细胞的生长和发育离不开蛋白的合成与降解之间的平衡。毫无疑问,如果这个平衡被打破,包括蛋白的降解受到抑制和过度降解,都有可能参与许多人类疾病的发病过程。与 UPS 相关的许多疾病的病理因素根据其机制主要分为 2 类:第一类是 UPS 系统的酶或者某些底物突变(功能丧失)导致这些底物不能正常降解;第二类是加速降解(功能获得)某些蛋白^[47]。泛素介导的蛋白质降解与肿瘤的发生存在着非常密切的联系,李艳凤等^[65]系统阐述了泛素介导的蛋白质降解途径与肿瘤发生的关系。表 1 介绍了一些与 UPS 相关的人类疾病。由于在这里不可能把所有与 UPS 相关的疾病一一列出,本文主要以几个突出的例子来介绍 UPS 的紊乱是如何导致疾病的。

2.3.1 VHL 相关肿瘤

VHL 是一个 E3 泛素连接酶,它在常氧下介导缺氧诱导因子(HIF)异二聚体 α 亚基的泛素化降解。HIF 是一个具有结合特异 DNA 序列的转录因子,它

表 1 由 UPS 异常导致的人类疾病

疾病	缺陷	参考文献
天使综合征(Angelman syndrome, AS)	E3 连接酶 E6-AP 突变	[47]
遗传性帕金森氏症(AR-JP)	E3 连接酶 parkin 突变	[47]
Liddle 综合征	UPS 底物肾钠离子通道 β/γ 亚基突变	[47]
VHL 相关肿瘤	E3 连接酶 VHL 突变	[47]
结肠癌	UPS 底物 β -catenin 突变	[47]
范可尼贫血症	UPS 底物 FANCD2 蛋白突变	[47]
宫颈癌	HPV 介导的加速 p53 的泛素化降解	[47]
各种恶性肿瘤	E3 连接酶 HDM2 和 SKP2 的突变 UPS 底物中许多癌基因和抑癌基因突变	[47]
乳腺癌和卵巢癌	E3 连接酶 BRCA1 突变	[47]
家族性圆柱瘤	去泛素酶 CYLD 突变	[47]
肥厚性心脏病	UPS 底物 MYBPC3 突变	[66]
动脉粥样硬化	UPS 活性受到抑制	[67]
精神分裂症(SCZ)和双相情感障碍(BPD)	UPS 发生紊乱	[68]
囊性纤维化疾病	CFTR 蛋白的过度降解	[69]
肌肉萎缩	E3 连接酶 MURF-1 和 atroglin-1 参与肌肉萎缩的发生	[70]

可以激活大约 100~200 个促进细胞在低氧条件下生存的基因,例如一些基因可能在缺血组织中和在大多数实体瘤中被检测到。HIF α 蛋白家族有 3 个成员: HIF1 α 、HIF2 α 和HIF3 α 。HIF1 α 和HIF2 α 都含有 2 个转录激活结构域,然而HIF3 α 的转录激活活性还没有被证实[71]。VHL基因的突变可以导致肿瘤的发生,例如肾癌、嗜铬细胞瘤和胶质母细胞瘤等。由VHL基因突变导致E3 连接酶活性丧失从而使HIF α 上调其转录活性升高促进了肾癌发生,也有可能是导致胶质母细胞瘤的主要原因[71]。

目前,有许多VHL $^{-/-}$ 的肾癌细胞系被建立用于研究VHL在肿瘤发生过程中的作用,特别是由HIF所贡献的。在这些细胞系中重新转入VHL则可以抑制裸鼠中肿瘤的发生[72]。一些证据表明HIF α 特别是HIF2 α 的失调是促进VHL $^{-/-}$ 肾癌的主要原因。首先,在VHL $^{-/-}$ 肾癌中, HIF1 α 和HIF2 α 都上调或者只有HIF2 α 上调。其次,在异种移植研究中,超表达不能被VHL泛素化的HIF2 α 突变蛋白足以废除VHL的肿瘤抑制功能,此外,利用shRNA技术下调HIF2 α 的表达能够抑制肾癌细胞在体内的生长[73]。这说明在VHL $^{-/-}$ 的肾癌发生过程中HIF2 α 的上调起着重要的作用。许多HIF α 的靶基因被认为在肿瘤发生过程中起着重要的作用,这些基因编码的蛋白负责葡萄糖的吸收和代谢(GLUT1、PFK1 和PDK等)、

血管生成(VEGF、PDGF和CTCF等)、细胞外基质的形成和更替(MMP1 和LOX)和促进细胞增殖的因子(TGF α 和EGFR)等[71]。此外, HIF2 α 的上调还可以导致E-cadherin的下调从而诱导上皮细胞向间质细胞转化,这是肾癌细胞的一个标志[74]。

2.3.2 HPV 介导 p53 降解诱发的肿瘤

人乳头状瘤病毒(HPVs)是一类小的DNA病毒,它能够感染皮肤或粘膜上皮细胞。HPVs是导致肛门瘤的主要因素,也导致了头部和颈部鳞状细胞癌。根据造成的恶性肿瘤的能力大小,可以把HPVs分为两类,即高危型HPVs和低危型HPVs。HPVs基因组编码了E6 和E7 这 2 个原癌基因,它们在肿瘤转化过程中起着重要的作用[72]。

有研究表明,在高危型HPVs阳性宫颈癌细胞系中,肿瘤抑制蛋白p53 的表达下调。在那些p53 未突变的肿瘤中,一个选择性的机制是使p53 失活,通常是p53 的E3 连接酶MDM2 由于失控而上调从而过度降解p53 蛋白[75]。实验证实高危型HPVs中E6 也能够与p53 相互作用从而增强E3 连接酶E6 相关蛋白(E6-AP)介导的p53 的泛素化降解。E6-AP只有在HPV感染的细胞内既E6 存在时,它才能与p53 相互作用并且使其降解[76]。因此,病毒感染后使p53 的降解等同于p53 基因突变失活,这被认为是高危

型HPVs诱发恶性肿瘤的一个重要机制。有意思的是, 低危型HPVs来源的E6 与p53 相互作用后并不介导p53 的降解, 因此不会导致肿瘤^[77]。

2.3.3 UPS 与帕金森氏症

研究发现在各种神经退行性疾病中聚集了许多泛素化的蛋白, 包括帕金森氏综合征、阿尔茨海默氏病、朊病毒感染疾病、肌萎缩性侧索硬化症和亨廷顿氏病等^[78]。在这些疾病中, 有些疾病是由于特定蛋白质的聚集抑制了UPS活性间接导致的, 而有些疾病是由UPS异常直接导致的。帕金森氏症的病理学特征是产生黑质多巴胺神经元选择性的退化和在残存的神经元细胞内出现聚集的蛋白—Lewy 小体。多巴胺是控制肌肉运动的一种化学物质, 缺失多巴胺会造成震颤、僵硬和说话含糊等帕金森氏症患者常见的症状。Lewy 小体主要是由一些泛素化蛋白聚集而成的, 这说明Lewy 小体的形成与UPS紊乱存在关联^[47]。

到目前为止, 已经鉴定了许多与帕金森氏症相关的基因, 包括 α -synuclein、*uchl1*、*parkin*、*djl* 和 *pink1* 等^[47]。研究发现在大多数家族性帕金森氏症(也叫常染色体隐性遗传帕金森氏症)患者中*parkin* 基因发生了突变。Parkin蛋白是一个E3 泛素连接酶, 并且在常染色体隐性遗传帕金森氏症患者中*parkin* 基因的突变都导致了Parkin蛋白的E3 泛素连接酶活性丧失, 这可能是这一疾病的发病机理^[79]。因此, *parkin*基因的突变可能使其一种或者多种底物在神经细胞中聚集。虽然现在已经鉴定了许多Parkin的底物, 但是它们是否导致这种疾病还不是很清楚。

在一个德国家庭家族性帕金森氏症患者中发现了*uchl1* 基因的错译突变(I93M), 突变后的UCHL1 的泛素水解酶活性下降了大约 50%, 因此, 这个突变可能导致细胞内短缺自由的泛素。缺少自由的泛素可能会引起细胞内聚集一些特定的蛋白从而导致帕金森氏症^[80]。此外, UCHL1 除了具有泛素水解酶活性外, 它还具有泛素连接酶活性, 它可以延伸多聚泛素链促进蛋白的泛素化降解, 特别是促进 α -Synuclein的多聚泛素化^[81]。 α -Synuclein是Lewy 小体的一个重要组成成分, 并且 α -Synuclein的突变聚集成包涵体从而导致帕金森氏症。Lewy 小体内除了 α -Synuclein外, 还有泛素和一些蛋白酶体亚基等,

这说明了 α -Synuclein的不正常蛋白酶体降解可能导致了帕金森氏症^[82]。因此, UPS的异常与帕金森氏症存在着密切的联系。

3 结 语

自噬与蛋白的泛素化在细胞内是协同作用的, 一些聚集的蛋白能够通过自噬途径降解, 它们首先被多聚泛素化修饰, 然后才被p62 识别后运送到自噬体内降解。此外, 线粒体自噬也是泛素化和自噬协同作用的结果, 其过程为Pink-1 促使E3 泛素连接酶Parkin发生易位, 转运到线粒体上, 从而促进线粒体蛋白VDAC1 的K27 位连接多聚泛素, 随后泛素化的VDAC1 被p62 所招募并运送到自噬体内降解^[44]。因此, 蛋白泛素化和自噬存在着密切联系。

在体内, 所有的细胞内和大多数细胞外的蛋白质都在不断地进行更新。细胞外的蛋白质降解主要是通过蛋白酶的作用, 而细胞内蛋白质的降解可以分为两类, 一是由溶酶体介导的自噬, 另一种是由泛素-蛋白酶体介导的蛋白泛素化降解。自噬可以分为3 类, 即分子伴侣介导的自噬、巨自噬和微自噬。蛋白的降解在细胞的生理活动中发挥着不可替代的作用, 包括处理损伤或错误折叠的蛋白、不需要的组分、翻译后修饰的蛋白、外来蛋白降解成氨基酸在细胞内的再利用和维持细胞的自我平衡等。其异常将导致很多人类疾病, 例如肿瘤、神经退行性疾病、免疫系统相关疾病等。尽管现在对蛋白降解与人类疾病的分子机理有了一定的了解, 但是远还没认识清楚。

由于蛋白降解在所有细胞内执行最基本的生物学功能, 抑制蛋白降解途径的主要组成部分, 例如UPS 或E1 连接酶, 可能会非特异性地影响其他生物学过程, 从而产生很多其他的副作用。因此, 还需要更加详细的研究来确定具体蛋白是通过什么途径来降解的。然后再设计一些药物来抑制或者激活其降解通路, 用于治疗一些人类疾病。我们可以预计在将来, 将鉴定出更多介导蛋白底物降解的酶或者信号通路, 并且会有更多、更有效的药物用于治疗与蛋白降解相关的人类疾病。

参考文献(References):

- [1] Lecker SH, Goldberg AL, Mitch WE. Protein degradation

- by the ubiquitin-proteasome pathway in normal and disease states. *J Am Soc Nephrol*, 2006, 17(7): 1807–1819. [DOI](#)
- [2] Luo H, Wong J, Wong B. Protein degradation systems in viral myocarditis leading to dilated cardiomyopathy. *Cardiovasc Res*, 2010, 85(2): 347–356. [DOI](#)
- [3] Wang CW, Klionsky DJ. The molecular mechanism of autophagy. *Mol Med*, 2003, 9(3–4): 65–76. [DOI](#)
- [4] Kuma A, Hatano M, Matsui M, Yamamoto A, Nakaya H, Yoshimori T, Ohsumi Y, Tokuhiya T, Mizushima N. The role of autophagy during the early neonatal starvation period. *Nature*, 2004, 432(7020): 1032–1036. [DOI](#)
- [5] Mizushima N, Yamamoto A, Matsui M, Yoshimori T, Ohsumi Y. In vivo analysis of autophagy in response to nutrient starvation using transgenic mice expressing a fluorescent autophagosome marker. *Mol Biol Cell*, 2004, 15(3): 1101–1111. [DOI](#)
- [6] Yoritoku T, Klionsky DJ. Autophagy: molecular machinery for self-eating. *Cell Death Differ*, 2005, 12(Suppl. 2): 1542–1552. [DOI](#)
- [7] Kuma A, Mizushima N. Physiological role of autophagy as an intracellular recycling system: with an emphasis on nutrient metabolism. *Semin Cell Dev Biol*, 2010, 21(7): 683–690. [DOI](#)
- [8] Rabinowitz JD, White E. Autophagy and metabolism. *Science*, 2010, 330(6009): 1344–1348. [DOI](#)
- [9] Maiuri MC, Zalckvar E, Kimchi A, Kroemer G. Self-eating and self-killing: crosstalk between autophagy and apoptosis. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2007, 8(9): 741–752. [DOI](#)
- [10] Tanida I, Ueno T, Kominami E. LC3 conjugation system in mammalian autophagy. *Int J Biochem Cell Biol*, 2004, 36(12): 2503–2518. [DOI](#)
- [11] Berry DL, Baehrecke EH. Growth arrest and autophagy are required for salivary gland cell degradation in *Drosophila*. *Cell*, 2007, 131(6): 1137–1148. [DOI](#)
- [12] Mathew R, Karp CM, Beaudoin B, Vuong N, Chen GH, Chen HY, Bray K, Reddy A, Bhanot G, Gelinas C, Dipaola RS, Karantza-Wadsworth V, White E. Autophagy suppresses tumorigenesis through elimination of p62. *Cell*, 2009, 137(6): 1062–1075. [DOI](#)
- [13] Okamoto K, Kondo-Okamoto N, Ohsumi Y. Mitochondria-anchored receptor Atg32 mediates degradation of mitochondria via selective autophagy. *Dev Cell*, 2009, 17(1): 87–97. [DOI](#)
- [14] Geisler S, Holmström KM, Skujat D, Fiesel FC, Rothfuss OC, Kahle PJ, Springer W. PINK1/Parkin-mediated mitophagy is dependent on VDAC1 and p62/SQSTM1. *Nat Cell Biol*, 2010, 12(2): 119–131. [DOI](#)
- [15] Mizushima N. The role of the Atg1/ULK1 complex in autophagy regulation. *Curr Opin Cell Biol*, 2010, 22(2): 132–139. [DOI](#)
- [16] Huang J, Manning BD. A complex interplay between Akt, TSC2 and the two mTOR complexes. *Biochem Soc Trans*, 2009, 37(Pt 1): 217–222. [DOI](#)
- [17] Arico S, Petiot A, Bauvy C, Dubbelhuis PF, Meijer AJ, Codogno P, Ogier-Denis E. The tumor suppressor PTEN positively regulates macroautophagy by inhibiting the phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B pathway. *J Biol Chem*, 2001, 276(38): 35243–35246. [DOI](#)
- [18] Shackelford DB, Shaw RJ. The LKB1-AMPK pathway: metabolism and growth control in tumour suppression. *Nat Rev Cancer*, 2009, 9(8): 563–575. [DOI](#)
- [19] Liang JY, Shao SH, Xu ZX, Hennessy B, Ding ZY, Larrea M, Kondo S, Dumont DJ, Gutterman JU, Walker CL, Slingerland JM, Mills GB. The energy sensing LKB1-AMPK pathway regulates p27^{kip1} phosphorylation mediating the decision to enter autophagy or apoptosis. *Nat Cell Biol*, 2007, 9(2): 218–224. [DOI](#)
- [20] Kim J, Kundu M, Viollet B, Guan KL. AMPK and mTOR regulate autophagy through direct phosphorylation of Ulk1. *Nat Cell Biol*, 2011, 13(2): 132–141. [DOI](#)
- [21] Egan DF, Shackelford DB, Mihaylova MM, Gelino S, Kohnz RA, Mair W, Vasquez DS, Joshi A, Gwinn DM, Taylor R, Asara JM, Fitzpatrick J, Dillin A, Viollet B, Kundu M, Hansen M, Shaw RJ. Phosphorylation of ULK1 (hATG1) by AMP-activated protein kinase connects energy sensing to mitophagy. *Science*, 2011, 331(6016): 456–461. [DOI](#)
- [22] Brugarolas J, Lei K, Hurley RL, Manning BD, Reiling JH, Hafen E, Witters LA, Ellisen LW, Kaelin WG Jr. Regulation of mTOR function in response to hypoxia by REDD1 and the TSC1/TSC2 tumor suppressor complex. *Genes Dev*, 2004, 18(23): 2893–2904. [DOI](#)
- [23] Zhang HF, Bosch-Marce M, Shimoda LA, Tan YS, Baek JH, Wesley JB, Gonzalez FJ, Semenza GL. Mitochondrial autophagy is an HIF-1-dependent adaptive metabolic response to hypoxia. *J Biol Chem*, 2008, 283(16): 10892–10903. [DOI](#)
- [24] Feng ZH, Zhang HY, Levine AJ, Jin SK. The coordinate regulation of the p53 and mTOR pathways in cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(23): 8204–8209. [DOI](#)
- [25] Crichton D, Wilkinson S, O'Prey J, Syed N, Smith P, Harrison PR, Gasco M, Garrone O, Crook T, Ryan KM. DRAM, a p53-induced modulator of autophagy, is critical for apoptosis. *Cell*, 2006, 126(1): 121–134. [DOI](#)
- [26] Budanov AV, Karin M. p53 target genes sestrin1 and sestrin2 connect genotoxic stress and mTOR signaling. *Cell*, 2008, 134(3): 451–460. [DOI](#)
- [27] Tasdemir E, Maiuri MC, Galluzzi L, Vitale I,

- Djavaheri-Mergny M, D'Amelio M, Criollo A, Morselli E, Zhu CL, Harper F, Nannmark U, Samara C, Pinton P, Vicencio JM, Carnuccio R, Moll UM, Madeo F, Paterlini-Brechot P, Rizzuto R, Szabadkai G, Pierron G, Blomgren K, Tavernarakis N, Codogno P, Cecconi F, Kroemer G. Regulation of autophagy by cytoplasmic p53. *Nat Cell Biol*, 2008, 10(6): 676–687. [DOI](#)
- [28] Meijer AJ, Codogno P. Autophagy: a sweet process in diabetes. *Cell Metab*, 2008, 8(4): 275–276. [DOI](#)
- [29] Huang J, Klionsky DJ. Autophagy and human disease. *Cell Cycle*, 2007, 6(15): 1837–1849. [DOI](#)
- [30] Perlmutter DH. The role of autophagy in alpha-1-antitrypsin deficiency: a specific cellular response in genetic diseases associated with aggregation-prone proteins. *Autophagy*, 2006, 2(4): 258–263. [DOI](#)
- [31] Nixon RA. Autophagy in neurodegenerative disease: friend, foe or turncoat? *Trends Neurosci*, 2006, 29(9): 528–535. [DOI](#)
- [32] Kegel KB, Kim M, Sapp E, McIntyre C, Castaño JG, Aronin N, DiFiglia M. Huntingtin expression stimulates endosomal-lysosomal activity, endosome tubulation, and autophagy. *J Neurosci*, 2000, 20(19): 7268–7278. [DOI](#)
- [33] 林芳, 顾振纶, 秦正红. 自噬及其在细胞代谢和疾病中的作用. *生物化学与生物物理进展*, 2005, 32(4): 198–205. [DOI](#)
- [34] Fukuda T, Roberts A, Ahearn M, Zaal K, Ralston E, Plotz PH, Raben N. Autophagy and lysosomes in Pompe disease. *Autophagy*, 2006, 2(4): 318–320. [DOI](#)
- [35] Karantza-Wadsworth V, Patel S, Kravchuk O, Chen GH, Mathew R, Jin SK, White E. Autophagy mitigates metabolic stress and genome damage in mammary tumorigenesis. *Genes Dev*, 2007, 21(13): 1621–1635. [DOI](#)
- [36] Mathew R, Kongara S, Beaudoin B, Karp CM, Bray K, Degenhardt K, Chen GH, Jin SK, White E. Autophagy suppresses tumor progression by limiting chromosomal instability. *Genes Dev*, 2007, 21(11): 1367–1381. [DOI](#)
- [37] Yousefi S, Perozzo R, Schmid I, Ziemiecki A, Schaffner T, Scapozza L, Brunner T, Simon HU. Calpain-mediated cleavage of Atg5 switches autophagy to apoptosis. *Nat Cell Biol*, 2006, 8(10): 1124–1132. [DOI](#)
- [38] Komatsu M, Waguri S, Koike M, Sou YS, Ueno T, Hara T, Mizushima N, Iwata JI, Ezaki J, Murata S, Hamazaki J, Nishito Y, Iemura SI, Natsume T, Yanagawa T, Uwayama J, Warabi E, Yoshida H, Ishii T, Kobayashi A, Yamamoto M, Yue ZY, Uchiyama Y, Kominami E, Tanaka K. Homeostatic levels of p62 control cytoplasmic inclusion body formation in autophagy-deficient mice. *Cell*, 2007, 131(6): 1149–1163. [DOI](#)
- [39] Yang ZJ, Chee CE, Huang SB, Sinicrope F. Autophagy modulation for cancer therapy. *Cancer Biol Ther*, 2011, 11(2): 169–176. [DOI](#)
- [40] Boya P, González-Polo RA, Casares N, Perfettini JL, Dessen P, Larochette N, Métivier D, Meley D, Souquere S, Yoshimori T, Pierron G, Codogno P, Kroemer G. Inhibition of macroautophagy triggers apoptosis. *Mol Cell Biol*, 2005, 25(3): 1025–1040. [DOI](#)
- [41] 章晟, 于长明, 殷瑛, 陈薇. 细胞自噬在病原体感染过程中的作用研究进展. *军事医学科学院院刊*, 2009, 33(5): 469–473. [DOI](#)
- [42] Espert L, Codogno P, Biard-Piechaczyk M. Involvement of autophagy in viral infections: antiviral function and subversion by viruses. *J Mol Med*, 2007, 85(8): 811–823. [DOI](#)
- [43] Tallóczy Z, Virgin HWt, Levine B. PKR-dependent autophagic degradation of herpes simplex virus type 1. *Autophagy*, 2006, 2(1): 24–29. [DOI](#)
- [44] Jackson WT, Giddings TH Jr., Taylor MP, Mulinyawe S, Rabinovitch M, Kopito RR, Kirkegaard K. Subversion of cellular autophagosomal machinery by RNA viruses. *PLoS Biol*, 2005, 3(5): e156. [DOI](#)
- [45] Schimke RT, Doyle D. Control of enzyme levels in animal tissues. *Annu Rev Biochem*, 1970, 39: 929–976. [DOI](#)
- [46] Haider M, Segal HL. Some characteristics of the alanine aminotransferase- and arginase-inactivating system of lysosomes. *Arch Biochem Biophys*, 1972, 148(1): 228–237. [DOI](#)
- [47] Reinstein E, Ciechanover A. Narrative review: protein degradation and human diseases: the ubiquitin connection. *Ann Intern Med*, 2006, 145(9): 676–684. [DOI](#)
- [48] Ciechanover A. The ubiquitin-proteasome pathway: on protein death and cell life. *EMBO J*, 1998, 17(24): 7151–7160. [DOI](#)
- [49] Glickman MH, Ciechanover A. The ubiquitin-proteasome proteolytic pathway: destruction for the sake of construction. *Physiol Rev*, 2002, 82(2): 373–428. [DOI](#)
- [50] Rape M, Jentsch S. Taking a bite: proteasomal protein processing. *Nat Cell Biol*, 2002, 4(5): E113–E116. [DOI](#)
- [51] Havens CG, Ho A, Yoshioka N, Dowdy SF. Regulation of late G1/S phase transition and APC^{Cdh1} by reactive oxygen species. *Mol Cell Biol*, 2006, 26(12): 4701–4711. [DOI](#)
- [52] Oh YM, Kwon YE, Kim JM, Bae SJ, Lee BK, Yoo SJ, Chung CH, Deshaies RJ, Seol JH. Chfr is linked to tumour metastasis through the downregulation of HDAC1. *Nat Cell Biol*, 2009, 11(3): 295–302. [DOI](#)
- [53] Kang DM, Chen J, Wong J, Fang GW. The checkpoint protein Chfr is a ligase that ubiquitinates Plk1 and inhibits Cdc2 at the G2 to M transition. *J Cell Biol*, 2002, 156(2): 249–259. [DOI](#)
- [54] Maddika S, Sy SMH, Chen JJ. Functional interaction between Chfr and Kif22 controls genomic stability. *J Biol*

- Chem*, 2009, 284(19): 12998–13003. [DOI](#)
- [55] Kim JM, Cho EN, Kwon YE, Bae SJ, Kim M, Seol JH. CHFR functions as a ubiquitin ligase for HLTF to regulate its stability and functions. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 395(4): 515–520. [DOI](#)
- [56] Schwartz LM, Myer A, Kosz L, Engelstein M, Maier C. Activation of polyubiquitin gene expression during developmentally programmed cell death. *Neuron*, 1990, 5(4): 411–419. [DOI](#)
- [57] Orlowski RZ. The role of the ubiquitin-proteasome pathway in apoptosis. *Cell Death Differ*, 1999, 6(4): 303–313. [DOI](#)
- [58] Lahav G, Rosenfeld N, Sigal A, Geva-Zatorsky N, Levine AJ, Elowitz MB, Alon U. Dynamics of the p53-Mdm2 feedback loop in individual cells. *Nat Genet*, 2004, 36(2): 147–150. [DOI](#)
- [59] Garrido C, Brunet M, Didelot C, Zermati Y, Schmitt E, Kroemer G. Heat shock proteins 27 and 70: anti-apoptotic proteins with tumorigenic properties. *Cell Cycle*, 2006, 5(22): 2592–2601. [DOI](#)
- [60] Goldberg AL. Functions of the proteasome: from protein degradation and immune surveillance to cancer therapy. *Biochem Soc Trans*, 2007, 35(Pt 1): 12–17. [DOI](#)
- [61] Wang J, Maldonado MA. The ubiquitin-proteasome system and its role in inflammatory and autoimmune diseases. *Cell Mol Immunol*, 2006, 3(4): 255–261. [DOI](#)
- [62] Moon J, Parry G, Estelle M. The ubiquitin-proteasome pathway and plant development. *Plant Cell*, 2004, 16(12): 3181–3195. [DOI](#)
- [63] Dharmasiri S, Estelle M. The role of regulated protein degradation in auxin response. *Plant Mol Biol*, 2002, 49(3–4): 401–409. [DOI](#)
- [64] Cao XR, Lill NL, Boase N, Shi PP, Croucher DR, Shan HB, Qu J, Sweezer EM, Place T, Kirby PA, Daly RJ, Kumar S, Yang BL. Nedd4 controls animal growth by regulating IGF-1 signaling. *Sci Signal*, 2008, 1(38): ra5. [DOI](#)
- [65] 李艳凤, 张强, 朱大海. 泛素介导的蛋白质降解与肿瘤发生. *遗传*, 2006, 28(12): 1591–1596. [DOI](#)
- [66] van Driest SL, Vasile VC, Ommen SR, Will ML, Tajik AJ, Gersh BJ, Ackerman MJ. Myosin binding protein C mutations and compound heterozygosity in hypertrophic cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol*, 2004, 44(9): 1903–1910. [DOI](#)
- [67] Herrmann J, Ciechanover A, Lerman LO, Lerman A. The ubiquitin-proteasome system in cardiovascular diseases—a hypothesis extended. *Cardiovasc Res*, 2004, 61(1): 11–21. [DOI](#)
- [68] Bousman CA, Chana G, Glatt SJ, Chandler SD, Lucero GR, Tatro E, May T, Lohr JB, Kremen WS, Tsuang MT, Everall IP. Preliminary evidence of ubiquitin proteasome system dysregulation in schizophrenia and bipolar disorder: convergent pathway analysis findings from two independent samples. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 2010, 153B(2): 494–502. [DOI](#)
- [69] Turnbull EL, Rosser MF, Cyr DM. The role of the UPS in cystic fibrosis. *BMC Biochem*, 2007, 8(Suppl. 1): S11. [DOI](#)
- [70] Carvalho RF, Castan EP, Coelho CA, Lopes FS, Almeida FLA, Michelin A, de Souza RWA, Araújo JP Jr, Cicogna AC, Dal Pai-Silva M. Heart failure increases atrogen-1 and MuRF1 gene expression in skeletal muscle with fiber type-specific atrophy. *J Mol Histol*, 2010, 41(1): 81–87. [DOI](#)
- [71] Kaelin WG Jr. The von Hippel-Lindau tumour suppressor protein: O₂ sensing and cancer. *Nat Rev Cancer*, 2008, 8(11): 865–873. [DOI](#)
- [72] Scheffner M, Whitaker NJ. Human papillomavirus-induced carcinogenesis and the ubiquitin-proteasome system. *Semin Cancer Biol*, 2003, 13(1): 59–67. [DOI](#)
- [73] Kondo K, Kim WY, Lechpammer M, Kaelin WG Jr. Inhibition of HIF2alpha is sufficient to suppress pVHL-defective tumor growth. *PLoS Biol*, 2003, 1(3): E83. [DOI](#)
- [74] Esteban MA, Tran MGB, Harten SK, Hill P, Castellanos MC, Chandra A, Raval R, O'Brien TS, Maxwell PH. Regulation of E-cadherin expression by VHL and hypoxia-inducible factor. *Cancer Res*, 2006, 66(7): 3567–3575. [DOI](#)
- [75] Chène P. Inhibiting the p53-MDM2 interaction: an important target for cancer therapy. *Nat Rev Cancer*, 2003, 3(2): 102–109. [DOI](#)
- [76] Scheffner M, Werness BA, Huibregtse JM, Levine AJ, Howley PM. The E6 oncoprotein encoded by human papillomavirus types 16 and 18 promotes the degradation of p53. *Cell*, 1990, 63(6): 1129–1136. [DOI](#)
- [77] Scheffner M, Takahashi T, Huibregtse JM, Minna JD, Howley PM. Interaction of the human papillomavirus type 16 E6 oncoprotein with wild-type and mutant human p53 proteins. *J Virol*, 1992, 66(8): 5100–5105. [DOI](#)
- [78] Ciechanover A, Brundin P. The ubiquitin proteasome system in neurodegenerative diseases: sometimes the chicken, sometimes the egg. *Neuron*, 2003, 40(2): 427–446. [DOI](#)
- [79] Hattori N, Mizuno Y. Pathogenetic mechanisms of parkin in Parkinson's disease. *Lancet*, 2004, 364(9435): 722–724. [DOI](#)
- [80] Betarbet R, Sherer TB, Greenamyre JT. Ubiquitin-proteasome system and Parkinson's diseases. *Exp Neurol*, 2005, 191(Suppl. 1): S17–S27. [DOI](#)
- [81] Liu YC, Fallon L, Lashuel HA, Liu ZH, Lansbury PT Jr. The UCH-L1 gene encodes two opposing enzymatic activities that affect α -synuclein degradation and Parkinson's

- disease susceptibility. *Cell*, 2002, 111(2): 209–218. [DOI](#)
- [82] Polymeropoulos MH, Lavedan C, Leroy E, Ide SE, Dehejia A, Dutra A, Pike B, Root H, Rubenstein J, Boyer R, Stenroos ES, Chandrasekharappa S, Athanassiadou A, Papapetropoulos T, Johnson WG, Lazzarini AM, Duvoisin RC, Di Iorio G, Golbe LI, Nussbaum RL. Mutation in the α -synuclein gene identified in families with Parkinson's disease. *Science*, 1997, 276(5321): 2045–2047. [DOI](#)