

文章编号: 1004-0374(2010)03-0212-04

泛素介导的蛋白质降解系统——从基础研究到临床应用

Aaron Ciechanover

(以色列工学院医学科学研究所)

摘要: 20世纪60~80年代,大多数生物科研人员都致力于核酸和遗传信息传递的研究。蛋白质降解被认为是非特异的过程,因此没有人感兴趣。泛素修饰的发现使蛋白质降解领域发生革命性的变化,人们逐渐认识到蛋白质降解是一个特异的受严格调控的过程。细胞内蛋白质降解事件的发生会调节许多生命过程,如细胞增殖、分化、衰老和死亡。细胞内蛋白质降解调控异常也会引发多种疾病,包括癌症和神经退行性疾病。人们对细胞内蛋白质降解的研究已经取得一定成果,但是还有很多问题没有解决,全面解读该过程还需要更多的努力和探索。

关键词: 泛素;蛋白酶体;蛋白质降解;癌症

中图分类号: Q591.2; R730.231.3 **文献标识码:** A

The ubiquitin proteolytic system – from bench to the bedside

Aaron Ciechanover

(Medicine Technion-Israel Institute of Technology, Haifa, Israel)

Abstract: Between the sixties and eighties, most life scientists focused their attention on studies of nucleic acids and the translation of the coded information. Protein degradation was a neglected area, considered to be a non-specific, dead-end process. While it was known that proteins do turnover, the large extent and high specificity of the process—whereby distinct proteins have half-lives that range from a few minutes to several days—was not appreciated. The discovery of the complex cascade of ubiquitin pathway revolutionized the field. The high complexed, temporarily controlled and tightly regulated process of protein degradation plays major role in a variety of basic pathways during cell life and death. Aberrations in this pathway are implicated in the pathogenesis of many diseases, certain malignancies and neurodegeneration among them. Despite intensive research, the unknown still exceeds what we currently know on intracellular protein degradation process. More effort is needed.

Key words: ubiquitin; proteasome; proteolysis; cancer

20世纪50年代, Walson 和 Crick 解读了 DNA 的双螺旋结构,建立了生物学中心法则。在此突出成就的影响下,接下来的几十年里,大多数生物学工作者的研究兴趣都集中于研究中心法则,即 DNA 所携带的遗传信息是如何复制、转录和翻译的。极少数人对蛋白质的“死亡”,即蛋白质降解感兴趣。在20世纪40年代初期,人们甚至不相信蛋白质“死亡”一说。因此,研究蛋白质“死亡”在当时是逆流而行。现在人们认识到“相信即可成为现实”,蛋白质的“死亡”不是一个非特异

性的清除过程,而是一个严格受调控的生物学事件。蛋白质降解时刻发生于生命活动的每一个过程中,起着非常重要的调控作用,对维持生命活动有条不紊地进行有重要意义。

1 蛋白质降解系统的拓扑学多样性

蛋白质的降解在人体体内是多元化的。主要分为如下三个层面:

1.1 体腔外发生的蛋白质降解

食物进入肠道后被很多水解酶所降解,蛋白质

水解酶也包括在其中。蛋白质被降解成氨基酸后一方面降低了抗原性,另一方面可以被身体所吸收利用。虽然此过程发生在肠道内,但是严格点说是发生在体腔外的。

1.2 体腔内细胞外的蛋白质降解

有很多蛋白质降解过程发生在我们体腔内,但是在细胞外,如凝血过程。凝血过程涉及许多级联放大的蛋白质降解反应,最终纤维原蛋白被转变成纤维蛋白也就实现了凝血。这是一个十分特异的级联放大过程,如果调控异常会引发疾病,如心肌梗塞是由过多胆固醇沉积于心脏冠状动脉以致血栓形成导致的,反之在一种称之为血友病的遗传疾病中,由于不能凝血,轻微的伤口都会致命。

1.3 细胞内的蛋白质降解

细胞内蛋白因子的组成不是一成不变的,而是一个高度动态变化的过程。蛋白质的更新包括蛋白质降解和合成。细胞内蛋白质的降解主要通过两条途径:溶酶体降解和泛素介导的降解。前者主要司职降解从细胞外内吞的蛋白质,如低密度脂蛋白,对降解蛋白质选择的特异性相对不高,只要进入溶酶体的蛋白质大部分都会被降解;后者主要降解细胞内的蛋白质,其特性是将被降解的蛋白质用泛素修饰,通过蛋白酶体将泛素修饰的蛋白质降解。泛素介导的蛋白质降解是高度特异的过程,其自身受到严格调控,蛋白质降解发生会调控其他细胞事件的进行。

2 泛素介导的蛋白质降解的发现

泛素介导的蛋白质降解的发现是一个曲折的过程。早在20世纪初,德国科研工作者Rudolf Schoenheimer (1898—1941)就发现人体内的物质不是静态的,而是不断变换转化的。他的发现为蛋白质降解概念的提出奠定了基础。1942年出版的《The Dynamic State of Body Constituent》总结了他一生的成果。但是一个正确结论的形成需要经历跌宕起伏:20世纪50年代, Jacques Monod 实验室发现同位素标记的 β -半乳糖苷酶蛋白在大肠杆菌(*E. coli*)中是稳定不变的,因此他们认为蛋白质不会被降解,并主张人们把精力放到DNA复制、转录和蛋白质合成的研究上去。值得提出的是 β -半乳糖苷酶仅是一个特例,因为这个蛋白很稳定,因此很难检测到降解。与此同时,另外一些实验室发现蛋白质其实是可以降解的,而且此过程需要能量。在当时这是不能被理解的,因为,当时人们普遍认为蛋白质降解仅仅是一

个被动地清除过程。

在20世纪50年代,Christian de Duve 博士发现了溶酶体,亚显微结构显示该细胞器中含有许多蛋白质,包括细胞外和细胞内的蛋白质。因此,人们推测溶酶体是蛋白质降解的细胞器。大多数人认为细胞可以内吞胞外的蛋白质,将其运输到溶酶体进行降解,溶酶体也可以通过自噬作用降解胞浆中的蛋白质。这个观念持续了20年,直到20世纪70年代人们发现细胞内蛋白质的半衰期是不同的。如果溶酶体是蛋白质降解的细胞器,很难解释为什么会快速降解其中的一些蛋白质,而另一些蛋白质则是稳定的。这些谜团一直存在,直到Brian Poole发现:用Chloroquine抑制溶酶体的功能会阻断细胞外蛋白质的降解,但是对细胞内蛋白质的降解影响很小。这说明溶酶体主要降解细胞外的蛋白质,而胞内蛋白质的降解则是通过另一种未知途径完成的。

为了研究胞内蛋白质的降解机制, Aaron 建立了一个研究体外蛋白质降解的系统,这个系统主要用网织红细胞裂解液。网织红细胞在向红细胞分化过程中不断降解自身蛋白质,最后只剩下血红蛋白,这样不会有其他蛋白质降解的干扰,而且网织红细胞不含有溶酶体,可以排除溶酶体的干扰。研究发现,变性球蛋白在网织红细胞裂解液中的降解是ATP依赖的。用DEAE纤维素将细胞裂解液分为组分1和2。组分1没有蛋白质降解活性,组分2有极弱的蛋白质降解活性。当组分1和2合并后,降解蛋白质的活性就完全恢复了。组分1中的物质不能被透析掉,热稳定性好,但是对蛋白酶抗性差。过Sephadex-G-75分子筛柱后显示相对分子量 $\sim 9\ 000$ 。以上实验结果提示,细胞内蛋白质的降解是在胞浆内完成的,需要能量和两个完整的组分。这个实验为研究泛素介导的蛋白质降解奠定了基础。后来人们通过不同的分离方法,鉴定出了一系列参与泛素降解的蛋白因子。

3 泛素降解途径的机制

经过约20年的研究,人们发现有2 000多种蛋白质参与了泛素降解过程,这些基因约占人总基因的10%。泛素介导的蛋白质降解广泛发生于细胞内,现在人们已经发现至少5 000种蛋白质通过泛素途径降解,而且此数目在不断提升。

泛素介导的蛋白质降解过程由三个组分构成: E1酶(泛素活化酶)、E2酶(泛素结合酶)和E3酶(泛素连接酶)。此构成方式决定了泛素介导蛋白质降

解的多样性。至今人们发现有一个E1酶、50多个E2酶和上千个E3酶，通过E1、E2、E3酶的不同组合，可以非常特异地降解多个底物，当然此特异性主要是通过E3酶和底物的特性(如构象变化和磷酸化修饰等)所决定的。当外界信号刺激时，底物发生变化，变化后的底物被E3酶识别，E3酶结合E2酶，E2酶结合E1酶活化的泛素，E3酶将E2酶上的泛素转移到底物上形成多聚泛素链。多聚泛素链的形成是蛋白质降解的信号：蛋白酶体识别多聚泛素链，将蛋白质变性后降解掉(图1)。

泛素是由76个氨基酸组成的蛋白质。其中有7个赖氨酸，这些赖氨酸都可以被泛素化修饰而形成不同的多聚泛素链。这些多聚泛素链在细胞生命活动中起到不同的作用，如48位赖氨酸形成的多聚泛素链是蛋白质降解的信号，而63位赖氨酸形成的多聚泛素链是转录调控、细胞内吞，或者激酶活化相关的信号。因此，泛素修饰广泛存在于生命活动中，渗透于生命活动的各个方面。

4 泛素降解途径的生物学意义

蛋白质降解在生命活动中发挥重要作用，主要总结为如下两点：

4.1 质量控制

蛋白质的结构非常精细，对各种变化很敏感，如化学物质变化、温度变化等等。人类的体温是37℃，因为这个温度对各种化学反应都是适中的。如果偏离这个温度，蛋白质会变性。蛋白质质量控制不仅降解变性的蛋白质，而且还会促进蛋白质复合体的装配，因为它会降解不能正确融入蛋白质复合体的蛋白。蛋白质降解帮助清除我们自身损坏的蛋白质，以及虽然正常有活力但是我们并不需要的蛋白质。如果泛素降解途径失常，大量非正常蛋白质积

累就会导致疾病，如阿尔海默氏疾病等等，因此研究蛋白质质量控制是蛋白质降解的核心，也是当代生物学的热点。

4.2 过程控制

蛋白质降解可以使细胞内各种反应有条不紊地进行，从一个阶段进入另一个阶段。由于蛋白质降解对细胞的代价很大，因此一个有趣的问题是为什么有些过程需要蛋白质降解，而不是被修饰，如磷酸化或者调节蛋白质定位。答案很简单，蛋白质降解会彻底性地改变一个系统的蛋白质因子组成，因此会持久性地决定一个生物过程的方向，如在细胞分裂过程中，细胞周期蛋白的生成和降解调节细胞周期进程；而从进化角度讲，蛋白质降解对细胞极性建立和维持整个生物过程的方向性是有很大作用的，对细胞分化和形态建成也是必要的。不同组织是由不同的蛋白质成分构成的，这些蛋白质对组织形态建成和维持是必需的。在癌症的发生过程中，泛素降解途径也起到关键作用，如果抑癌蛋白被过量降解掉，或者癌蛋白不能被降解都会导致癌症。

5 靶向泛素降解途径的药物与癌症治疗

鉴于泛素介导蛋白质降解的特异性和重要性，可以针对此过程开发药物用于治疗疾病。泛素介导蛋白质降解过程中的每一个因子都可能作为靶点。如下是几个靶点和靶向药物的列举：

5.1 蛋白酶体

蛋白酶体是泛素介导蛋白质降解途径的最后一个环节，是由20S催化颗粒、11S调控因子和2个19S调节颗粒组成的ATP依赖性蛋白水解酶复合体。临床治疗癌症的药物Velcade(Bortezomib)以蛋白酶体为靶点。Velcade作用于26S蛋白酶体的催化中心，与20S催化颗粒的β亚单位环的Thr位点结

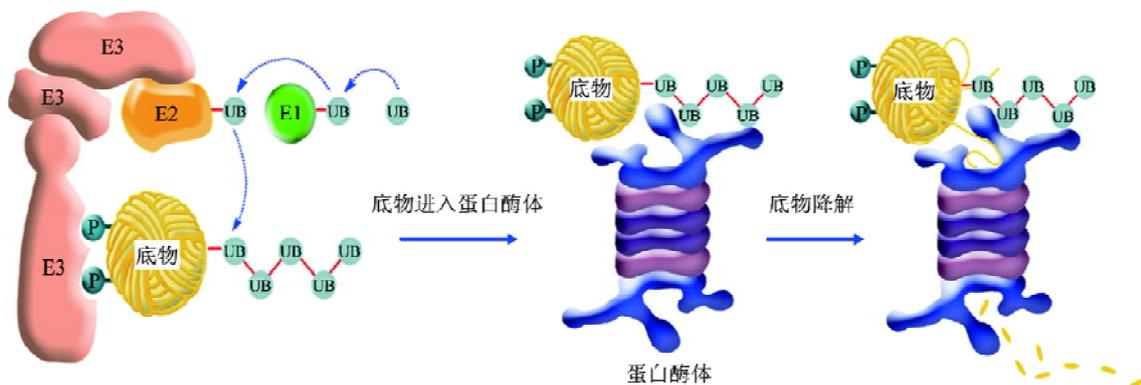


图1 泛素介导的蛋白降解途径

合, 能有效地抑制 26S 蛋白酶体的蛋白水解功能。有趣的是Velcade对蛋白酶体的抑制特异性导致某些蛋白质的降解异常, 总的效果是抑制NF- κ B 通路, 抑制抑癌因子 p27 和 p53 的降解, 促进癌细胞凋亡。该药物在治疗白血病和顽固性滤泡型非霍奇金淋巴瘤等癌症中有很好的疗效。

5.2 热激蛋白90 (HSP90)

热激蛋白 90 是热激蛋白家族的一个成员, 热

激蛋白是分子伴侣, 可以帮助蛋白质折叠, 同时减缓突变蛋白质的降解。在癌症发生中, 大量突变和不正常的蛋白质被合成。热激蛋白 90 帮助这些致癌蛋白质折叠并减缓其降解。因此, 抑制热激蛋白 90 可以降低癌细胞生长。格尔德霉素 (Geldanamycin) 和 17-AAG 两个药物能够抑制热激蛋白 90 的活性, 加速突变的致癌蛋白质的降解 (包括生长因子受体、V-src 蛋白等), 起到治疗癌症的作用。

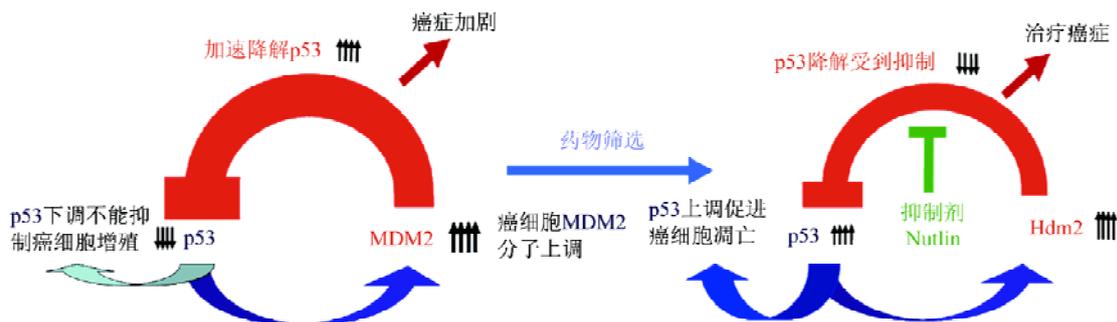


图2 基于 p53-MDM2 通路的抗癌药物筛选

5.3 P53-MDM2 复合物

MDM2 是一个泛素介导蛋白质降解过程中的 E3 酶, 可以结合 p53 并促进其泛素降解, MDM2 表达升高会抑制 p53 的功能从而导致癌症。因此, 抑制 p53-MDM2 复合物形成的化合物是潜在的抑癌药物。研究发现药物 Nutlin 可以嵌入 MDM2 的 p53 结合袋中, 抑制其与 p53 的结合, 减少 p53-MDM2 复合物的形成。由于 MDM2 不能结合 p53, 因此, p53 稳定, 从而在抑制癌症发生中起到关键作用 (图 2)。

6 展望

如今, 泛素介导蛋白质降解的研究已经取得了很大进展, 上千个参与此过程的蛋白质因子和被降解的底物得以鉴定。泛素降解途径调节的生物学过程也渐渐被阐明; 但是, 关于泛素介导蛋白质降解

未知的东西还很多, 许多问题还没有得到解决, 如许多蛋白质是如何被泛素识别然后降解的; 是什么生物学过程调节此事件以及蛋白质降解异常是怎样导致疾病的。最近研究发现, 除了泛素之外还有一些与泛素类似的小蛋白可以修饰底物, 同时也发现了一些非经典多聚泛素链的形成, 这些非经典多聚泛素链起到调节蛋白质稳定性的作用。这些发现开阔了我们对泛素修饰的认识, 同时也给泛素修饰的研究带来新挑战, 包括寻找新的修饰底物, 以及泛素修饰的基序和不同多聚泛素链的结构和功能等。全面揭开泛素修饰的面纱将会为开发和利用相关药物提供指导。这些药物也将为治疗泛素修饰异常导致的人类疾病提供保证。

(中国科学院上海生物化学和细胞生物学研究所
葛亮 编译)