

DOI: 10.13376/j.cbls/2021101

文章编号: 1004-0374(2021)08-0931-08

Hsp70在神经退行性疾病中的作用机制研究进展

陈智暹, 戴斌, 王利强, 陈杰, 梁毅*

(武汉大学生命科学学院, 武汉 430072)

摘要: 热休克蛋白 Hsp70 (heat shock protein 70, Hsp70) 是一类广泛存在的分子伴侣。阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease)、帕金森病 (Parkinson's disease) 等神经退行性疾病共同的病理特征是错误折叠的蛋白质 (包括 Tau、 α -突触核蛋白、TDP-43、朊蛋白和多聚谷氨酰胺蛋白) 形成有毒性的寡聚体或淀粉样纤维。大量的研究表明, Hsp70 可以调控这些蛋白质的代谢进程, 包括将错误折叠的蛋白质重折叠、抑制蛋白质聚集以及降解错误折叠的蛋白质。Hsp70 在发挥功能时需要相对应的辅助分子伴侣的帮助。该文详细论述了 Hsp70 抑制 Tau 蛋白病、 α -突触核蛋白病、TDP-43 蛋白病、传染性海绵状脑病以及多聚谷氨酰胺疾病的作用机制, 重点阐述了 Hsp70 对神经退行性疾病中错误折叠蛋白质聚集和毒性的抑制作用, 并讨论和展望了 Hsp70 在神经退行性疾病的治疗中存在的挑战和机遇。

关键词: Hsp70; 神经退行性疾病; Tau; α -synuclein; TDP-43; 多聚谷氨酰胺蛋白

中图分类号: R741 **文献标志码:** A

Research progress on the mechanism of Hsp70 in neurodegenerative diseases

CHEN Zhi-Xian, DAI Bin, WANG Li-Qiang, CHEN Jie, LIANG Yi*

(College of Life Sciences, Wuhan University, Wuhan 430072, China)

Abstract: Heat shock protein 70 (Hsp70) is a ubiquitous molecular chaperone which plays important roles in a myriad of biological processes. Neurodegenerative diseases such as Alzheimer's disease and Parkinson's disease are caused by the gradual loss of neuron structure and function. Their common pathological feature is toxic oligomers or amyloid aggregates formed by misfolded proteins including Tau, α -synuclein, TDP-43, prion protein, and polyglutamine protein. A large number of studies have shown that Hsp70 can regulate the metabolic processes of these proteins, including refolding of misfolded proteins, inhibiting protein aggregation, and degrading misfolded proteins and aggregates. Furthermore, co-chaperones can drive cellular functions of Hsp70. This review summarizes the role of Hsp70 in neurodegenerative diseases, elaborates the mechanism of Hsp70 inhibiting tauopathies, synucleinopathies, TDP-43 proteinopathies, transmissible spongiform encephalopathies, and polyglutamine diseases, and focuses on the suppression of Hsp70 on aggregation and toxicity of misfolded proteins in neurodegenerative diseases. Finally, we discuss and prospect the challenges and opportunities of Hsp70 in the treatment of neurodegenerative diseases.

Key words: Hsp70; neurodegenerative diseases; Tau; α -synuclein; TDP-43; polyglutamine protein

1978年, Laskey等^[1]首次提出了分子伴侣(molecular chaperone)的概念, 并将辅助组蛋白和DNA在体外组装成核小体的蛋白质命名为“molecular chaperone”。经过四十多年的研究, 科学家们发现分子伴侣具有辅助蛋白质折叠、运输, 降解错误折叠的蛋白质以及抑制蛋白质聚集的功能, 对维持蛋白质稳态(proteostasis)至关重要, 从而给出了“molecular

chaperone”的定义^[2-4]。热休克蛋白(heat shock protein, HSP)是一类重要的分子伴侣, 按相对分子质量大

收稿日期: 2021-02-25; 修回日期: 2021-04-30

基金项目: 国家自然科学基金项目(32071212, 31770833, 31570779); 蛋白质研究重大科学研究计划(2013CB910702)

*通信作者: E-mail: liangyi@whu.edu.cn; Tel: 027-68754902

小分为小热休克蛋白 (small heat shock protein, sHSP)、Hsp40、Hsp60、Hsp70、Hsp90和Hsp110^[5], 其中Hsp70参与了机体的各种生命活动。

神经退行性疾病是由神经元结构和功能逐渐丧失所致, 随着时间的推移, 会出现痴呆等认知障碍。不同的神经退行性疾病都有一个共同的病理特征, 即可溶性蛋白质单体转化为富含 β -折叠的结构, 形成有毒的寡聚体或淀粉样纤维^[6]。研究表明, 分子伴侣可以抑制有毒寡聚体和淀粉样纤维的形成^[2,7]。本文着重介绍了Hsp70抑制Tau蛋白病、 α -突触核蛋白病、TDP-43蛋白病、传染性海绵状脑病和多聚谷氨酰胺疾病等神经退行性疾病的作用机制, 还讨论了Hsp70在发挥功能时需要相对应的辅助分子伴侣的帮助。

1 Hsp70概述

Hsp70是热休克蛋白家族中研究得最多的分子伴侣之一, 是蛋白质质量控制 (protein quality control) 的重要成员。人Hsp70家族至少由8个成员组成, 其中2个成员Hsp70-5 (BiP/Grp78) 和Hsp70-9 (mtHsp70/Grp75) 分别特异性定位于内质网和线粒体, 它们的作用是感知内质网和线粒体中的错误折叠蛋白质, 并在细胞中传递应激信号, 另外6个成员则主要定位于细胞质和细胞核^[8]。

Hsp70主要包含以下结构域: 具有ATP酶活性并含有一个ATP结合位点的N端核苷酸结合结构域 (nucleotide-binding domain, NBD)、包含一个底物结合口袋和一个可移动的 α -螺旋盖子 (α -helical lid) 的C端底物结合结构域 (substrate-binding domain, SBD) 以及一段连接NBD和SBD的Linker^[9-10]。当ATP结合NBD时, α -螺旋盖子被打开, 此时SBD与底物亲和力弱, 底物得以释放; 当ATP被水解为ADP或NBD未结合核苷酸时, α -螺旋盖子关闭, 将底物锁定在底物结合口袋, 此时SBD与底物亲和力较强^[11]。因此, Hsp70发挥分子伴侣功能需要通过ATP调控底物的结合和释放来实现, 也需要一些辅助因子的协作并受其调节^[2,8]。第一类辅助因子是辅助分子伴侣, 如Hsp40^[12], Hsp40可与Hsp70的NBD结合并刺激其ATP酶活性, 加速ATP的水解, 同时将底物传递到Hsp70^[13-14]。第二类辅助因子是核苷酸交换因子 (nucleotide exchange factors, NEFs), NEFs通过促进ADP与ATP的交换来加速Hsp70结合和释放底物的循环^[15-16]。第三类辅助因子是和Hsp70 C端相互作用的蛋白质 (C-terminal of

Hsp70-interacting protein, CHIP), CHIP可以将与Hsp70结合的底物传递到蛋白酶体和溶酶体中降解^[17]。Hsp70的功能多样性与其相互作用的辅助分子伴侣密切相关^[18], 并受翻译后修饰调控^[19-22]。

Hsp70在机体相关应激反应中发挥重要作用, 如抑制蛋白质的聚集, 协助错误折叠的蛋白质重折叠, 并与自噬-溶酶体途径 (ALP) 和泛素-蛋白酶体系统 (UPS) 等细胞降解机制合作, 清除错误折叠的蛋白质^[23]。在应激条件下, Hsp70通过加速新合成蛋白质的折叠和抑制蛋白质的错误折叠来维持蛋白质稳态^[24]。Hsp70和辅助分子伴侣以及蛋白酶体协同作用, 促进核内包涵体的清除^[25]。笔者实验室的研究结果表明, Hsp70增强了Tau蛋白液-液相分离形成的液滴的流动性, 从而抑制错误折叠的蛋白质积累^[26]。

2 Hsp70调控诱发神经退行性疾病的蛋白质代谢

2.1 Hsp70与Tau蛋白病

Tau蛋白病是指由于微管结合蛋白Tau在神经元和神经胶质细胞中发生错误折叠并形成淀粉样纤维而导致的一类神经退行性疾病。Tau蛋白的主要功能是促进微管聚合和稳定微管结构。阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 是最常见的Tau蛋白病, 除此之外还有进行性核上性麻痹 (progressive supranuclear palsy, PSP)、皮质基底节变性 (corticobasal degeneration, CBD)、嗜银颗粒病 (agryophilic grain disease, AGD) 和皮克病 (Pick's disease, PiD) 等^[27]。引起Tau蛋白异常聚集的因素很多, 病理磷酸化修饰和病理突变是最主要的原因^[27]。Tau蛋白的病理磷酸化修饰导致神经元功能障碍和死亡^[28-31], 而病理突变则加速了Tau蛋白的聚集^[32]。因此, 清除异常聚集的Tau蛋白是治疗Tau蛋白病的重要策略。

研究表明, Hsp70参与调控Tau蛋白的错误折叠和降解^[33-35]。Dou等^[34]和Sarkar等^[36]发现过表达的Hsp70可以提高Tau蛋白的溶解度, 促进Tau蛋白与微管的结合, 同时降低Tau蛋白的磷酸化, 抑制Tau蛋白聚集并降低Tau毒性。Hsp70调控异常Tau蛋白的代谢需要相对应的辅助分子伴侣的帮助, 其中CHIP在介导Hsp70调控病理磷酸化Tau蛋白的降解过程中发挥关键作用。CHIP与Hsp70结合形成CHIP-Hsp70复合物, 这种复合物能够识别病理磷酸化的Tau并将其泛素化, 然后将泛素化的Tau传递给蛋白酶体降解, 减少了病理磷酸化Tau蛋白

引起的细胞死亡^[35]。Petrucci等^[37]的研究也支持这一结论,他们发现CHIP能够将Tau蛋白泛素化,而泛素化的Tau会被蛋白酶体降解。因此,Hsp70在抑制神经退行性疾病中错误折叠蛋白质(如Tau)的聚集和毒性时需要一些辅助因子的协作。有趣的是,Hsp70的表达抑制了Tau蛋白聚集体的形成,而过量的CHIP反而会促进Tau蛋白的聚集,这表明CHIP和Hsp70之间的平衡对Hsp70调控Tau蛋白的聚集非常关键,两种蛋白质之间协同作用调控Tau蛋白的代谢^[37]。Nachman等^[38]发现了一种由Hsp70、Hsp40和NEF(Hsp110)组成的ATP依赖的蛋白质复合体能够在体外分解淀粉样纤维,存在于人体内的6种Tau蛋白亚型形成的淀粉样纤维以及从AD患者脑组织中提取的Tau蛋白纤维都可以被这种复合体分解,表明这种复合体具有分解酶的活性。此外,Hsp70还参与一种由分子伴侣介导的特殊自噬机制,进而促进Tau蛋白聚集体的清除^[39]。笔者实验室的研究表明,Hsp70显著抑制了Tau蛋白淀粉样纤维的形成过程。

一些调控Hsp70功能的小分子药物也可以用于调控Tau蛋白的代谢,如MKT-077^[40]和YM-01^[41]选择性地和ADP结合状态的Hsp70结合,稳定Hsp70的底物结合状态,这些小分子药物通过延长Hsp70与底物的结合时间,使得CHIP能够将底物泛素化,进而传递给蛋白酶体降解;又如亚甲基蓝、天青C和杨梅素等小分子^[42]通过抑制Hsp70的ATP酶活性来降低总Tau蛋白和病理磷酸化Tau蛋白水平,这是因为这些小分子在抑制Hsp70的ATP酶活性的同时,也延长了Hsp70与底物的结合时间,显著增加了与Hsp70结合的Tau蛋白比例,随后通过UPS将其清除。据此笔者实验室提出一种可能的AD治疗方案:先短暂提高Hsp70表达水平,让更多的Tau与Hsp70结合,随后用小分子药物如杨梅素来抑制Hsp70的ATP酶活性,迫使Hsp70将所结合的Tau转移到UPS将其降解。与抑制剂不同的是,激动剂萝卜硫素(Sulforaphane)通过提高AD转基因小鼠体内Hsp70和CHIP的表达水平,诱导A β 和Tau蛋白的清除,并挽救记忆缺陷^[43]。

综上所述,Hsp70在调控Tau蛋白的代谢中起着相当重要的作用,因此通过调控Hsp70的分子伴侣功能来治疗Tau蛋白病是一个潜力巨大的研究方向。

2.2 Hsp70与 α -突触核蛋白病

α -突触核蛋白病主要包括帕金森病(Parkinson's

disease, PD)、路易体痴呆(dementia with Lewy bodies, DLB)和多系统萎缩(multiple system atrophy, MSA)。这类神经退行性疾病的病理特征是 α -突触核蛋白(α -synuclein, α -Syn)在神经元和胶质细胞内积累并形成有毒的寡聚体或淀粉样纤维^[44]。PD是最常见的 α -突触核蛋白病,常见症状是运动迟缓、震颤和姿势步态障碍^[45]。DLB症状以痴呆为主,临床特征是复杂的视幻觉、PD症状和波动性认知功能障碍^[46]。MSA是一种散发性、成人发病和持续进行性的神经退行性疾病,临床上以自主神经功能衰竭、PD症状和小脑共济失调等多种症状组合为特征。

Burmam等^[47]发现Hsp70能够识别 α -Syn的N端和Tyr39周围的一段序列,与 α -Syn相互作用并抑制其聚集。蛋白质淀粉样纤维的形成通常经历延滞期、对数生长期和平台期三个阶段,在此期间会产生大量中间体^[48]。Dedmon等^[49]和Huang等^[50]发现,Hsp70与 α -Syn纤维形成过程中产生的多种中间体相互作用,有效抑制了 α -Syn形成纤维:当Hsp70与 α -Syn早期中间体结合时,Hsp70能够抑制其原纤维的形成;当Hsp70与原纤维结合,可抑制纤维核的形成;而当Hsp70与纤维核结合,则延缓了原纤维的延伸。与降解Tau蛋白纤维类似,Hsp70、Hsp40和Hsp110组成的蛋白质复合体也能够结合 α -Syn纤维并将其降解^[51-52]。这些结果表明,Hsp70清除 α -Syn聚集体进而降低 α -Syn毒性时需要相对应的辅助分子伴侣的帮助。

Hsp70的翻译后修饰也是影响其调控 α -Syn代谢的关键因素。Truttmann等^[53]发现,提高单磷酸腺苷酸化修饰(AMPylation)后的Hsp70降低了 α -Syn的毒性;Lindstedt等^[54]将一种能抑制 α -Syn聚集的小分子抑制剂结合到Hsp70的一个特定半胱氨酸残基上,引入一种非天然的翻译后修饰,增强了Hsp70对 α -Syn聚集及毒性的抑制作用。因此,通过调控Hsp70的翻译后修饰介导 α -Syn的代谢来治疗 α -突触核蛋白病也是一个潜力巨大的研究方向。

小分子抑制剂和激动剂也可以影响Hsp70对 α -Syn代谢的调控。激动剂CBX(Carbenoxolone)和115-7c(PubChem CID 5461551)会上调Hsp70的表达从而降低 α -Syn的聚集,而抑制剂MAL3-101则会下调Hsp70的表达导致 α -Syn聚集增加^[55]。激动剂FLZ可以增加Hsp70的转录活性和蛋白质表达,减少 α -Syn聚集及毒性,从而减轻 α -Syn转基因小鼠的运动功能障碍症状^[56]。

2.3 Hsp70与TDP-43蛋白病

TDP-43 蛋白病是由于 TDP-43 蛋白在神经元内异常聚集形成包涵体引起的神经退行性疾病^[57], 其中最常见的是成人发病的运动神经元退行性疾病——肌萎缩侧索硬化症 (amyotrophic lateral sclerosis, ALS), 其病理特征是脊髓、脑干和运动皮层的进行性运动神经元丢失, 导致肌肉无力, 最终引发呼吸衰竭^[58]。此外, 还有额颞叶变性 (frontotemporal lobar degeneration, FTL D), 其病理特征是行为、执行功能和语言的进行性缺陷, 临床表现有行为变异、渐进失语症、进行性失语症和语义不一致^[59]。

Chen 等^[60]发现, 热休克因子 1 (heat shock factor 1, HSF1) 能够诱导辅助分子伴侣 DNAJB2a 的表达, 而 DNAJB2a 可识别并结合不溶性 TDP-43 蛋白, 将其转移到 Hsp70 进行重折叠; 值得注意的是, HSF1-DNAJB2a-Hsp70 通路介导的 TDP-43 聚集体的清除并不依赖于 ALP 和 UPS, 而是通过 Hsp70 重折叠恢复 TDP-43 的生理功能, 它能够在不改变 TDP-43 总蛋白水平的情况下降低 TDP-43 的毒性。Lin 等^[61]的研究也证明过表达 HSF1 能够上调 Hsp70, 进而抑制 TDP-43 聚集体的形成。TDP-43 蛋白 C 端片段 (C-terminal fragments, CTFs) 的磷酸化修饰促进了 TDP-43 聚集并引发细胞毒性, 而 Hsp70 能够抑制 CTFs 的磷酸化, 并将 TDP-43 传递到蛋白酶体中降解^[61-62]。2021 年, 有研究表明提高 TDP-43 的乙酰化修饰水平可降低 TDP-43 的 RNA 结合能力, 从而降低由 RNA 驱动的 TDP-43 液-液相分离, 促使 RNA 结合缺陷型 TDP-43 形成不均匀的液态核壳结构, 这种结构的维持依赖于 Hsp70 的分子伴侣活性, 防止 RNA 结合缺陷型 TDP-43 向凝胶态以及固态转化^[63]。综上所述, Hsp70 在驱动和维持 TDP-43 的液-液相分离以及抑制 TDP-43 聚集、清除 TDP-43 蛋白聚集体等方面扮演着重要角色。

2.4 Hsp70与传染性海绵状脑病

传染性海绵状脑病 (transmissible spongiform encephalopathy) 或朊病毒疾病是一种致死性神经退行性疾病。常见的传染性海绵状脑病有疯牛病 (bovine spongiform encephalopathy, BSE)、羊瘙痒病 (Scrapie)、貂传染性脑病 (transmissible mink encephalopathy, TME)、慢性消耗性疾病 (chronic wasting disease, CWD)、克雅氏病 (Creutzfeldt-Jakob disease, CJD) 和库鲁病 (Kuru disease) 等^[64]。传染性海绵状脑病是由正常的细胞型朊蛋白 (PrP^C) 转化为一种错误折叠

的异构体 (PrP^{Sc}) 引起的^[65]。

到目前为止, 传染性海绵状脑病仍然没有较好的治疗药物。随着 PrP^{Sc} 的积累, 细胞应激机制被激活以维持细胞的蛋白质稳态, 其中就包括分子伴侣水平的上调, 然而这些分子伴侣的具体作用机制却不清楚。Fernandez-Funez 等^[66]在转基因果蝇中表达哺乳动物的朊蛋白, 发现 Hsp70 能够直接和 PrP^C 相互作用, 抑制具有神经毒性的 PrP^{Sc} 的积累, 首次证明了 Hsp70 可以在体内直接抑制 PrP^{Sc} 的神经毒性。Mays 等^[67]则发现敲除 Hsp70 基因的小鼠感染朊病毒后, 比野生型小鼠表现出更快的传染性海绵状脑病进程, 而药物诱导的热休克反应显著降低了 PrP^{Sc} 的积累。综上所述, Hsp70 在抑制 PrP^{Sc} 的积累等方面也扮演重要角色。

2.5 Hsp70与多聚谷氨酰胺疾病

多聚谷氨酰胺疾病是一种遗传性神经退行性疾病, 其病因是疾病相关蛋白质中不稳定的多聚谷氨酰胺 (polyglutamine, polyQ) 重复序列扩增, 导致蛋白质错误折叠和聚集。常见的多聚谷氨酰胺疾病有亨廷顿舞蹈综合征 (Huntington's disease, HD)、脊髓延髓肌萎缩症 (spinal bulbar muscular atrophy, SBMA) 和脊髓小脑性共济失调 (spinocerebellar ataxia, SCA), 这些疾病共有的病理特征是神经细胞中存在由 polyQ 形成的核内包涵体, 包涵体中含有 Hsp70 蛋白, 推测 Hsp70 与这些疾病的病因有关^[68-69]。

大量研究表明, Hsp70 可以抑制多聚谷氨酰胺蛋白的聚集和毒性^[68-69]。Warrick 等^[70]发现在多聚谷氨酰胺疾病的果蝇模型中过表达的 Hsp70 与核内包涵体共定位, 并且抑制了多聚谷氨酰胺诱导的神经变性; 而在 SCA1 小鼠模型中, 过表达的 Hsp70 减轻了神经退行性病变^[71]。Chai 等^[72]发现 Hsp70 和辅助分子伴侣 Hsp40 与 ataxin-3 形成的核内包涵体共定位, 并且 Hsp40 蛋白同源物 HDJ-1 的过表达抑制了 polyQ 的聚集, 降低了 polyQ 引起的细胞毒性。科学家们还发现, Hsp70 和 Hsp40 在分子水平上显著抑制了 polyQ 的聚集^[73-74]。此外, 由分子伴侣介导的自噬活性在多聚谷氨酰胺疾病的细胞模型和动物模型中都上调, 并促进了 polyQ 聚集体的清除^[75-76]。

有趣的是, 在动物模型研究中发现 Hsp40 蛋白家族的 DNAJB6 和 DNAJB8 在抑制多聚谷氨酰胺疾病过程中发挥重要作用, 相反 Hsp70 在此过程中作用有限^[77-78], 这可能是由于这些 Hsp40 进化出了不依赖于 J-结构域的抑制 polyQ 聚集的功能, 因此能够独立于 Hsp70 发挥作用^[79]。

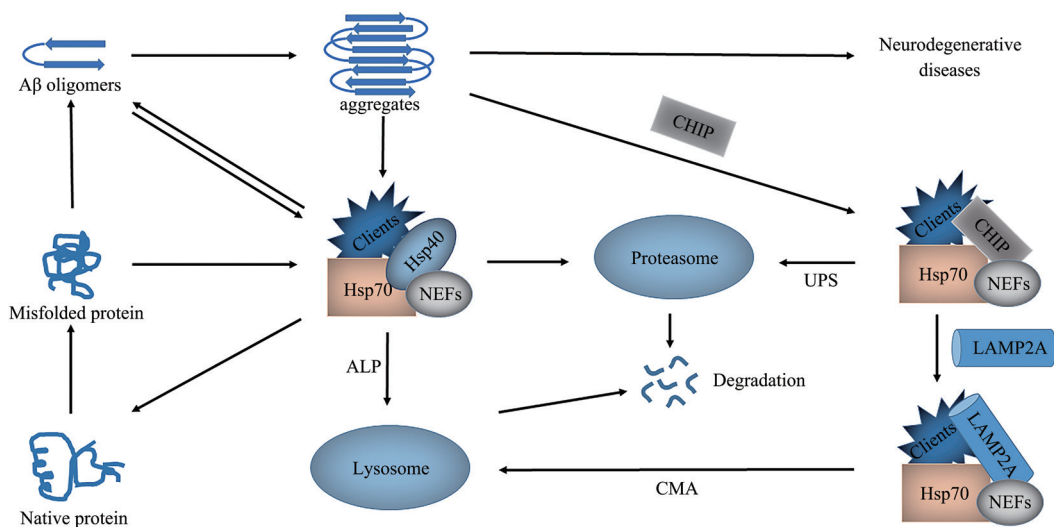
3 讨论

综上所述, Hsp70 在调控神经退行性疾病相关蛋白质的代谢过程中发挥重要作用, 而且在发挥功能时需要相对应的辅助分子伴侣 Hsp40 的帮助, 核苷酸交换因子 NEFs 也参与调控其功能多样性。笔者实验室将以 Hsp70 为核心、辅助分子伴侣 Hsp40 和核苷酸交换因子 NEFs 等组合形成的分子伴侣网络称为 Hsp70 系统 (图 1)。Hsp70 系统能够调控错误折叠的蛋白质重折叠或降解, 但 Hsp70 系统如何决定底物的去向仍不清楚。笔者实验室提出以下观点, 生理条件下 Hsp70 系统能够将发生错误折叠的蛋白质重折叠为天然状态, 而在应激条件或病理条件下, 大量的蛋白质发生错误折叠并形成淀粉样纤维, Hsp70 系统不足以或者不能够将所有错误折叠的蛋白质重折叠, 只能选择通过各种降解途径将底物降解。这些降解途径包括自噬-溶酶体途径 (ALP)、泛素-蛋白酶体系统 (UPS) 和分子伴侣介导的自噬 (CMA)(图 1)。在 ALP 中, Hsp70 系统直接将底物传递到溶酶体中进行降解; 在 UPS 中, CHIP 或一些具有泛素酶活性的 Hsp40 将底物泛素化后传递到蛋白酶体中进行降解; 在 CMA 中, Hsp70 系统选择性地底物传递到溶酶体, 然后通过 2A 型溶酶体相关膜蛋白 (lysosome-associated membrane protein type 2A, LAMP2A) 在溶酶体中将底物降解 (图 1)。因此, 阐释 Hsp70 系统在疾病相关重要蛋白质代谢中的具体作用机制将有助于找到预防和治

疗神经退行性疾病的方法, 为药物研发提供理论基础。

4 挑战与展望

虽然大量的研究表明 Hsp70 可以抑制神经退行性疾病中错误折叠蛋白质的聚集和毒性, 但因为上调 Hsp70 的表达在某种程度上可能对机体产生不利的影响, 特别是在 AD 和 HD 这样的慢性疾病中, Hsp70 系统分解 Tau 或 α -Syn 淀粉样纤维时产生的单体或寡聚体具有扩散能力, 能够作为种子在细胞中诱导蛋白质聚集体的产生^[38,80], 所以当我们试图通过影响 Hsp70 活性治疗神经退行性疾病时应当谨慎。非天然的翻译后修饰虽然可以增强 Hsp70 对 α -Syn 聚集的抑制作用, 但同时也损害了一些与 α -螺旋盖子结构稳定性相关的功能^[54]。一些小分子药物可以用于调控 Hsp70 的表达和功能, 如 CBX 和 115-7c 能够增强 Hsp70 的表达, MAL3-101 能够抑制 Hsp70 的表达, MKT-077 和 YM-01 能够稳定 Hsp70 的 ADP 结合状态, 而亚甲基蓝、天青 C 和杨梅素则抑制了 Hsp70 的 ATP 酶活性^[40-42,55-56]。为了获得有益的治疗效果, 小分子药物必须能选择性地增强 Hsp70 的抗聚集或降解活性, 而不破坏其他对细胞稳态至关重要的功能, 同时还要具有低肾毒性和高血脑屏障穿透率。因此, 寻找能够选择性调控 Hsp70 表达和功能的小分子药物将是未来治疗神经退行性疾病的重要策略之一。



NEFs: 核苷酸交换因子; ALP: 自噬-溶酶体途径; UPS: 泛素-蛋白酶体系统; CMA: 分子伴侣介导的自噬。

图1 Hsp70系统在神经退行性疾病中的作用

[参 考 文 献]

- [1] Laskey RA, Honda BM, Mills AD, et al. Nucleosomes are assembled by an acidic protein which binds histones and transfers them to DNA. *Nature*, 1978, 275: 416-20
- [2] Hartl FU, Bracher A, Hayer-Hartl M. Molecular chaperones in protein folding and proteostasis. *Nature*, 2011, 475: 324-32
- [3] Balchin D, Hayer-Hartl M, Hartl FU. *In vivo* aspects of protein folding and quality control. *Science*, 2016, 353: aac4354
- [4] 梁毅. 结构生物学(第二版)[M]. 北京: 科学出版社, 2010: 90-2
- [5] Wang L, Xu X, Jiang Z, et al. Modulation of protein fate decision by small molecules: targeting molecular chaperone machinery. *Acta Pharm Sin B*, 2020, 10: 1904-25
- [6] Tian Y, Meng L, Zhang Z. What is strain in neurodegenerative diseases? *Cell Mol Life Sci*, 2020, 77: 665-76
- [7] Brehme M, Voisine C, Rolland T, et al. A chaperome subnetwork safeguards proteostasis in aging and neurodegenerative disease. *Cell Rep*, 2014, 9: 1135-50
- [8] Murphy ME. The HSP70 family and cancer. *Carcinogenesis*, 2013, 34: 1181-8
- [9] Bertelsen EB, Chang L, Gestwicki JE, et al. Solution conformation of wild-type *E. coli* Hsp70 (DnaK) chaperone complexed with ADP and substrate. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009, 106: 8471-6
- [10] Kityk R, Kopp J, Sinning I, et al. Structure and dynamics of the ATP-bound open conformation of Hsp70 chaperones. *Mol Cell*, 2012, 48: 863-74
- [11] Saibil H. Chaperone machines for protein folding, unfolding and disaggregation. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2013, 14: 630-42
- [12] Faust O, Abayev-Avraham M, Wentink AS. HSP40 proteins use class-specific regulation to drive HSP70 functional diversity. *Nature*, 2020, 587: 489-94
- [13] Laufen T, Mayer MP, Beisel C, et al. Mechanism of regulation of hsp70 chaperones by DnaJ cochaperones. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1999, 96: 5452-7
- [14] Alderson TR, Kim JH, Markley JL. Dynamical structures of Hsp70 and Hsp70-Hsp40 complexes. *Structure*, 2016, 24: 1014-30
- [15] Mayer MP, Bukau B. Hsp70 chaperones: cellular functions and molecular mechanism. *Cell Mol Life Sci*, 2005, 62: 670-84
- [16] Bracher A, Verghese J. The nucleotide exchange factors of Hsp70 molecular chaperones. *Front Mol Biosci*, 2015, 2: 10
- [17] Shin Y, Klucken J, Patterson C, et al. The co-chaperone carboxyl terminus of Hsp70-interacting protein (CHIP) mediates α -synuclein degradation decisions between proteasomal and lysosomal pathways. *J Biol Chem*, 2005, 280: 23727-34
- [18] Serlidaki D, van Waarde M, Rohland L. Functional diversity between HSP70 paralogs caused by variable interactions with specific co-chaperones. *J Biol Chem*, 2020, 295: 7301-16
- [19] Truman AW, Kristjansdottir K, Wolfgeher D, et al. CDK-dependent Hsp70 phosphorylation controls G1 cyclin abundance and cell-cycle progression. *Cell*, 2012, 151: 1308-18
- [20] Nitika, Porter CM. Post-translational modifications of Hsp70 family proteins: expanding the chaperone code. *J Biol Chem*, 2020, 295: 10689-708
- [21] Yang J, Zhang H. S-glutathionylation of human inducible Hsp70 reveals a regulatory mechanism involving the C-terminal α -helical lid. *J Biol Chem*, 2020, 295: 8302-24
- [22] Zhang H, Yang J, Wu S, et al. Glutathionylation of the bacterial Hsp70 chaperone DnaK provides a link between oxidative stress and the heat shock response. *J Biol Chem*, 2016, 291: 6967-81
- [23] Rosenzweig R, Nillegoda NB, Mayer MP. The Hsp70 chaperone network. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2019, 20: 665-80
- [24] Imamoglu R, Balchin D. Bacterial Hsp70 resolves misfolded states and accelerates productive folding of a multi-domain protein. *Nat Commun*, 2020, 11: 365
- [25] den Brave F, Cairo LV, Jagadeesan C, et al. Chaperone-mediated protein disaggregation triggers proteolytic clearance of intra-nuclear protein inclusions. *Cell Rep*, 2020, 31: 107680
- [26] Wang K, Liu JQ, Zhong T, et al. Phase separation and cytotoxicity of Tau are modulated by protein disulfide isomerase and S-nitrosylation of this molecular chaperone. *J Mol Biol*, 2020, 432: 2141-63
- [27] Spires-Jones TL, Stoothoff WH, de Calignon A, et al. Tau pathophysiology in neurodegeneration: a tangled issue. *Trends Neurosci*, 2009, 32: 150-9
- [28] Eidenmüller J, Fath T, Maas T, et al. Phosphorylation-mimicking glutamate clusters in the proline-rich region are sufficient to simulate the functional deficiencies of hyperphosphorylated Tau protein. *Biochem J*, 2001, 357: 759-67
- [29] Fath T, Eidenmüller J, Brandt R. Tau-mediated cytotoxicity in a pseudohyperphosphorylation model of Alzheimer's disease. *J Neurosci*, 2002, 22: 9733-41
- [30] Léger J, Kempf M, Lee G, et al. Conversion of serine to aspartate imitates phosphorylation-induced changes in the structure and function of microtubule-associated protein Tau. *J Biol Chem*, 1997, 272: 8441-6
- [31] Mondragón-Rodríguez S, Perry G, Luna-Muñoz J, et al. Phosphorylation of Tau protein at sites Ser(396-404) is one of the earliest events in Alzheimer's disease and Down syndrome. *Neuropathol Appl Neurobiol*, 2014, 40: 121-35
- [32] Wang Y, Mandelkow E. Tau in physiology and pathology. *Nat Rev Neurosci*, 2016, 17: 5-21
- [33] Slepnev SV, Witt SN. The unfolding story of the *Escherichia coli* Hsp70 DnaK: is DnaK a holdase or an unfoldase? *Mol Microbiol*, 2002, 45: 1197-206
- [34] Dou F, Netzer WJ, Tanemura K, et al. Chaperones increase association of Tau protein with microtubules. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2003, 100: 721-6
- [35] Shimura H, Schwartz D, Gygi SP, et al. CHIP-Hsc70

- complex ubiquitinates phosphorylated Tau and enhances cell survival. *J Biol Chem*, 2004, 279: 4869-76
- [36] Sarkar M, Kuret J, Lee G. Two motifs within the tau microtubule-binding domain mediate its association with the hsc70 molecular chaperone. *J Neurosci Res*, 2008, 86: 2763-73
- [37] Petrucelli L, Dickson D, Kehoe K, et al. CHIP and Hsp70 regulate Tau ubiquitination, degradation and aggregation. *Hum Mol Genet*, 2004, 13: 703-14
- [38] Nachman E, Wentink AS, Madiona K, et al. Disassembly of Tau fibrils by the human Hsp70 disaggregation machinery generates small seeding-competent species. *J Biol Chem*, 2020, 295: 9676-90
- [39] Cuervo AM, Wong E. Chaperone-mediated autophagy: roles in disease and aging. *Cell Res*, 2014, 24: 92-104
- [40] Rousaki A, Miyata Y, Jinwal UK, et al. Allosteric drugs: the interaction of antitumor compound MKT-077 with human Hsp70 chaperones. *J Mol Biol*, 2011, 411: 614-32
- [41] Abisambra J, Jinwal UK, Miyata Y, et al. Allosteric heat shock protein 70 inhibitors rapidly rescue synaptic plasticity deficits by reducing aberrant Tau. *Biol Psychiatry*, 2013, 74: 367-74
- [42] Jinwal UK, Miyata Y, Koren J 3rd, et al. Chemical manipulation of Hsp70 ATPase activity regulates Tau stability. *J Neurosci*, 2009, 29: 12079-88
- [43] Lee S, Choi BR, Kim J, et al. Sulforaphane upregulates the heat shock protein co-chaperone CHIP and clears amyloid- β and Tau in a mouse model of Alzheimer's disease. *Mol Nutr Food Res*, 2018, 62: e1800240
- [44] Lashuel HA, Overk CR, Oueslati A, et al. The many faces of α -synuclein: from structure and toxicity to therapeutic target. *Nat Rev Neurosci*, 2013, 14: 38-48
- [45] Lees AJ, Hardy J, Revesz T. Parkinson's disease. *Lancet*, 2009, 373: 2055-66
- [46] Chin KS, Teodorczuk A, Watson R. Dementia with Lewy bodies: challenges in the diagnosis and management. *Aust N Z J Psychiatry*, 2019, 53: 291-303
- [47] Burmann BM, Gerez JA, Matečko-Burmann I, et al. Regulation of α -synuclein by chaperones in mammalian cells. *Nature*, 2020, 577: 127-32
- [48] Gillam JE, MacPhee CE. Modelling amyloid fibril formation kinetics: mechanisms of nucleation and growth. *J Phys Condens Matter*, 2013, 25: 373101
- [49] Dedmon MM, Christodoulou J, Wilson MR, et al. Heat shock protein 70 inhibits α -synuclein fibril formation via preferential binding to prefibrillar species. *J Biol Chem*, 2005, 280: 14733-40
- [50] Huang C, Cheng H, Hao S, et al. Heat shock protein 70 inhibits α -synuclein fibril formation via interactions with diverse intermediates. *J Mol Biol*, 2006, 364: 323-36
- [51] Gao X, Carroni M, Nussbaum-Krammer C, et al. Human Hsp70 disaggregase reverses Parkinson's-linked α -synuclein amyloid fibrils. *Mol Cell*, 2015, 59: 781-93
- [52] Wentink AS, Nillegoda NB, Feufel J, et al. Molecular dissection of amyloid disaggregation by human HSP70. *Nature*, 2020, 587: 483-8
- [53] Truttmann MC, Pincus D, Ploegh HL. Chaperone AMPylation modulates aggregation and toxicity of neurodegenerative disease-associated polypeptides. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2018, 115: E5008-17
- [54] Lindstedt PR, Aprile FA, Matos MJ, et al. Enhancement of the anti-aggregation activity of a molecular chaperone using a rationally designed post-translational modification. *ACS Cent Sci*, 2019, 5: 1417-24
- [55] Kilpatrick K, Novoa JA, Hancock T, et al. Chemical induction of Hsp70 reduces α -synuclein aggregation in neuroglioma cells. *ACS Chem Biol*, 2013, 8: 1460-8
- [56] Bao XQ, Wang XL, Zhang D. FLZ attenuates α -synuclein-induced neurotoxicity by activating heat shock protein 70. *Mol Neurobiol*, 2017, 54: 349-61
- [57] Neumann M, Sampathu DM, Kwong LK, et al. Ubiquitinated TDP-43 in frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis. *Science*, 2006, 314: 130-3
- [58] Hardiman O, Al-Chalabi A, Chio A, et al. Amyotrophic lateral sclerosis. *Nat Rev Dis Primers*, 2017, 3: 17071
- [59] Bang J, Spina S, Miller BL. Frontotemporal dementia. *Lancet*, 2015, 386: 1672-82
- [60] Chen HJ, Mitchell JC, Novoselov S, et al. The heat shock response plays an important role in TDP-43 clearance: evidence for dysfunction in amyotrophic lateral sclerosis. *Brain*, 2016, 139: 1417-32
- [61] Lin PY, Folorunso O, Tagliatalata G, et al. Overexpression of heat shock factor 1 maintains TAR DNA binding protein 43 solubility via induction of inducible heat shock protein 70 in cultured cells. *J Neurosci Res*, 2016, 94: 671-82
- [62] Zhang YJ, Gendron TF, Xu YF, et al. Phosphorylation regulates proteasomal-mediated degradation and solubility of TAR DNA binding protein-43 C-terminal fragments. *Mol Neurodegener*, 2010, 5: 33
- [63] Yu H, Lu S, Gasior K, et al. HSP70 chaperones RNA-free TDP-43 into anisotropic intranuclear liquid spherical shells. *Science*, 2021, 371: eabb4309
- [64] Colby DW, Prusiner SB. Prions. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2011, 3: a006833
- [65] Wang LQ, Zhao K, Yuan HY, et al. Cryo-EM structure of an amyloid fibril formed by full-length human prion protein. *Nat Struct Mol Biol*, 2020, 27: 598-602
- [66] Fernandez-Funez P, Casas-Tinto S, Zhang Y, et al. *In vivo* generation of neurotoxic prion protein: role for hsp70 in accumulation of misfolded isoforms. *PLoS Genet*, 2009, 5: e1000507
- [67] Mays CE, Armijo E, Morales R, et al. Prion disease is accelerated in mice lacking stress-induced heat shock protein 70 (HSP70). *J Biol Chem*, 2019, 294: 13619-28
- [68] Reis SD, Pinho BR, Oliveira JMA. Modulation of molecular chaperones in Huntington's disease and other polyglutamine disorders. *Mol Neurobiol*, 2017, 54: 5829-54
- [69] Davis AK, Pratt WB, Lieberman AP, et al. Targeting Hsp70 facilitated protein quality control for treatment of polyglutamine diseases. *Cell Mol Life Sci*, 2020, 77: 977-96

- [70] Warrick JM, Chan HY, Gray-Board GL, et al. Suppression of polyglutamine-mediated neurodegeneration in *Drosophila* by the molecular chaperone HSP70. *Nat Genet*, 1999, 23: 425-8
- [71] Cummings CJ, Sun Y, Opal P, et al. Over-expression of inducible HSP70 chaperone suppresses neuropathology and improves motor function in SCA1 mice. *Hum Mol Genet*, 2001, 10: 1511-8
- [72] Chai Y, Koppenhafer SL, Bonini NM, et al. Analysis of the role of heat shock protein (Hsp) molecular chaperones in polyglutamine disease. *J Neurosci*, 1999, 19: 10338-47
- [73] Muchowski PJ, Schaffar G, Sittler A, et al. Hsp70 and hsp40 chaperones can inhibit self-assembly of polyglutamine proteins into amyloid-like fibrils. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2000, 97: 7841-6
- [74] Wacker JL, Zareie MH, Fong H, et al. Hsp70 and Hsp40 attenuate formation of spherical and annular polyglutamine oligomers by partitioning monomer. *Nat Struct Mol Biol*, 2004, 11: 1215-22
- [75] Koga H, Cuervo AM. Chaperone-mediated autophagy dysfunction in the pathogenesis of neurodegeneration. *Neurobiol Dis*, 2011, 43: 29-37
- [76] Koga H, Martinez-Vicente M, Arias E, et al. Constitutive upregulation of chaperone-mediated autophagy in Huntington's disease. *J Neurosci*, 2011, 31: 18492-505
- [77] Hageman J, Rujano MA, van Waarde MA, et al. A DNAJB chaperone subfamily with HDAC-dependent activities suppresses toxic protein aggregation. *Mol Cell*, 2010, 37: 355-69
- [78] Gillis J, Schipper-Krom S, Juenemann K, et al. The DNAJB6 and DNAJB8 protein chaperones prevent intracellular aggregation of polyglutamine peptides. *J Biol Chem*, 2013, 288: 17225-37
- [79] Kampinga HH, Craig EA. The HSP70 chaperone machinery: J proteins as drivers of functional specificity. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2010, 11: 579-92
- [80] Tittelmeier J, Sandhof CA, Ries HM, et al. The HSP110/HSP70 disaggregation system generates spreading-competent toxic α -synuclein species. *EMBO J*, 2020, 39: e103954