

DOI: 10.13376/j.cblls/20240110

文章编号: 1004-0374(2024)08-1089-09

# 应激颗粒在心脑血管疾病、肿瘤和神经退行性 疾病中的研究进展

任翎璇, 王维蓉, 林 蓉\*

(西安交通大学医学部基础医学院, 西安 710061)

**摘要:** 蛋白质的合成是真核细胞中最精密复杂的生命活动之一。真核生物响应环境胁迫的一种重要方式是暂缓蛋白质的合成, 这个过程的主要调控中心是包裹着大量未完成翻译的 mRNA 的应激颗粒。应激颗粒是细胞质中的一种无膜动态聚集物, 含有 RNA 结合蛋白、mRNA 和翻译起始因子等成分, 是细胞适应性调节的重要方式。当细胞受到氧化应激、热休克、紫外线照射及病毒感染等环境刺激时, 通过在细胞质中形成动态、可逆的致密颗粒即应激颗粒, 用于减少应激相关损伤并促进细胞存活。但最近的研究表明, 持续和异常的应激颗粒形成与各种疾病的发生发展有关。虽然目前对于应激颗粒的成分、形成及解聚的研究日趋增多, 但其与疾病的相关性和具体机制尚不明确。因此, 本文对应激颗粒与心脑血管疾病、肿瘤及神经退行性疾病的关系予以综述。

**关键词:** 应激颗粒; 动脉粥样硬化; 脑缺血; 肿瘤; 神经退行性疾病

**中图分类号:** Q26; R363 **文献标志码:** A

## Research progress of stress granule in cardiovascular and cerebrovascular diseases, tumor and neurodegenerative diseases

REN Ling-Xuan, WANG Wei-Rong, LIN Rong\*

(School of Basic Medicine, Xi'an Jiaotong University Health Science Center, Xi'an 710061, China)

**Abstract:** Protein synthesis is one of the most complex biological processes in eukaryotic cells. One important way that eukaryotes respond to environmental stresses is to delay protein synthesis, and the main regulatory center of this process is the stress granules, which include numerous translationally stalled mRNAs. Stress granules are dynamic, membrane-less cytoplasmic aggregates containing components including RNA-binding proteins, mRNA, and translation initiation factors, serving as crucial mechanisms for cell adaptive regulation. When cells are exposed to environmental stress, such as oxidative stress, heat shock, ultraviolet radiation, and viral infections, they respond by forming dynamic and reversible dense particles known as stress granules in the cytoplasm. These stress granules aim to reduce stress-related damage and promote cell survival. However, recent studies have shown that the formation of persistent and abnormal stress granules is related to the occurrence and development of various diseases. Although there are an increasing number of studies on the composition, formation and depolymerization of stress granules, their correlation with diseases and specific mechanisms remains unclear. Therefore, this paper reviews the relationships between stress granules and cardiovascular and cerebrovascular diseases, tumor and neurodegenerative diseases.

**Key words:** stress granule; atherosclerosis; cerebral ischemia; tumor; neurodegenerative diseases

收稿日期: 2024-03-25; 修回日期: 2024-05-08

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(81970369)

\*通信作者: E-mail: linrong@mail.xjtu.edu.cn

## 1 应激颗粒的形成、解聚与功能

### 1.1 应激颗粒的形成与解聚

应激颗粒是细胞在受到毒性暴露、氧化应激、病毒感染、营养耗竭和辐射等环境胁迫时形成的一种无膜聚集物,细胞通过中断正常的蛋白质合成过程应对这些应激源。应激颗粒的形成与解聚处于一个动态平衡状态,其形成方式分为真核翻译起始因子2 $\alpha$ 亚基(eukaryotic translation initiation factor 2 subunit- $\alpha$ , eIF2 $\alpha$ )磷酸化依赖的经典型和eIF2 $\alpha$ 磷酸化非依赖的非经典型两种<sup>[1]</sup>。eIF2 $\alpha$ 可被血红素调节抑制激酶(heme-regulated inhibitor kinase, HRI)<sup>[2]</sup>、双链RNA依赖蛋白激酶R(double-stranded RNA-dependent protein kinase-R, PKR)<sup>[3]</sup>、一般性调控阻遏蛋白激酶2(general control non-derepressible-2, GCN2)<sup>[4]</sup>、蛋白激酶R样内质网激酶(PKR-like ER kinase, PERK)<sup>[5]</sup>四种激酶磷酸化,导致翻译起始受阻进而形成经典型应激颗粒,经典型应激颗粒包含许多具有特定特征的RNA结合蛋白和翻译因子等。此外,破坏真核翻译起始因子4F(eukaryotic translation initiation factor 4F, eIF4F)复合物等独立于eIF2 $\alpha$ 磷酸化的途径可介导非经典型应激颗粒的形成,eIF4F由支架蛋白eIF4G、帽子结合蛋白(Cap-binding protein) eIF4E以及RNA解旋酶eIF4A组成,其中任意一种蛋白质失活都会导致翻译起始受阻,并诱导应激颗粒的组装。eIF4F复合物的组装主要受哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)调控,在应激条件下,mTOR失活,低磷酸化的4EBP1(eIF4E结合蛋白)会竞争性地与eIF4E结合,进而导致eIF4F复合物的解体。过氧化氢和亚硒酸盐可靶向4EBP1破坏eIF4F复合物,抑制翻译起始并诱导非经典型应激颗粒的组装。这些非经典型应激颗粒包含RNA结合蛋白、非多聚腺苷化的mRNA等<sup>[6]</sup>。经典和非经典型应激颗粒均含有Ras-GTPase活化蛋白SH3结构域结合蛋白(Ras-Gap-SH3 domain-binding protein, G3BP)<sup>[7-8]</sup>、T淋巴细胞内抗原1(T-cell intracellular antigen 1, TIA-1)<sup>[9-10]</sup>、组蛋白去乙酰化酶6(histone deacetylases 6, HDAC6)<sup>[11-12]</sup>、DEAD-box RNA解旋酶3X连锁(DEAD-box RNA helicase 3 X-linked, DDX3X)<sup>[13-14]</sup>和细胞周期相关蛋白1(cell cycle associated protein 1, Caprin-1)<sup>[15-16]</sup>等标志蛋白,这些蛋白与核糖核蛋白体通过分子内和分子间的作用结合聚集形成应激颗粒<sup>[7]</sup>,并在微管蛋白的介导下在细胞质中进一步聚集成数量较少

而体积较大的成熟的应激颗粒<sup>[17]</sup>。但是当应激消失或者减少后,应激颗粒依赖微管及其动力蛋白进行解聚<sup>[18]</sup>,释放包裹的mRNA及相关蛋白,使部分mRNA能够重新进入翻译阶段,而剩余的分解物则通过自噬作用被清除,该过程可在几分钟内完成<sup>[19]</sup>。总之,细胞在环境刺激下通过调节应激颗粒的形成与解聚,参与应激反应、信号转导等生物过程<sup>[20]</sup>。

### 1.2 应激颗粒的功能

早期研究认为,应激颗粒的形成可使细胞适应环境压力并具有保护作用<sup>[21-22]</sup>。在脑细胞处于急性缺血状态时,应激颗粒形成增加,并通过抑制细胞凋亡对急性缺血引起的脑损伤发挥保护作用<sup>[23-24]</sup>。另有研究揭示,持续的和异常的应激颗粒形成可导致多种慢性疾病的产生<sup>[25]</sup>。应激颗粒还参与炎症反应,抑制应激颗粒的形成可显著抑制血管内皮细胞与平滑肌细胞的炎症,减少动脉粥样硬化小鼠主动脉根部斑块面积<sup>[26-27]</sup>。应激颗粒还可以招募不同蛋白质促进癌细胞增殖迁移、抑制癌细胞凋亡以及增加癌细胞对抗癌药物的耐药性,促使癌细胞存活,促进癌症发展进程<sup>[28-30]</sup>。此外,微管相关蛋白Tau(microtubule-associated protein Tau, MAPT)、TARDNA结合蛋白43(TARDNA binding protein 43, TDP-43)、肉瘤融合蛋白(fused in sarcoma, FUS)等病理性蛋白的聚集可导致应激颗粒动态异常,形成持续的和异常的应激颗粒,影响神经元功能,从而参与神经退行性病变<sup>[31]</sup>。随着研究的深入,应激颗粒已成为心脑血管疾病、肿瘤和神经退行性疾病发病机制中的重要调控元件。

## 2 应激颗粒与疾病的关系

### 2.1 应激颗粒与动脉粥样硬化

应激颗粒与许多疾病的发展密切相关,近期研究表明,应激颗粒持续存在于动脉粥样硬化斑块中,影响动脉粥样硬化疾病进程。

据报道,应激颗粒可参与炎症性疾病的发展进程,动脉粥样硬化作为一种慢性炎症性疾病<sup>[32]</sup>,靶向应激颗粒可能是抗动脉粥样硬化的重要途径。心衰患者的冠状动脉血管组织中点状的应激颗粒荧光聚集显著增多<sup>[27]</sup>。Li等<sup>[26]</sup>发现,动脉粥样硬化患者的股动脉斑块区域的应激颗粒蛋白G3BP2表达明显高于对照组;在血管再狭窄模型小鼠的主动脉根部也发现点状应激颗粒荧光聚集显著高于对照组,而在0、8、12、16周高脂喂养的LDLR<sup>-/-</sup>小鼠中,随着主动脉根部斑块面积逐渐增大,点状应

激颗粒荧光强度也逐渐升高, 应激颗粒核心蛋白 G3BP1 表达也逐渐升高。Herman 等<sup>[27]</sup>应用油红 O 染色发现, 在 ApoE<sup>-/-</sup> 小鼠中敲除 G3BP2 基因后, 小鼠主动脉根部斑块显著减小。本课题组在高脂喂养 12 周的 ApoE<sup>-/-</sup> 小鼠的主动脉根部以及主动脉血管中发现, 应激颗粒核心蛋白 G3BP1、G3BP2 的 mRNA 和蛋白表达增加, 荧光强度也有不同程度的增强; 本课题组还发现, 采用过氧化氢、脂多糖分别刺激人脐静脉内皮细胞, 应激颗粒核蛋白 G3BP1、G3BP2 的 mRNA 和蛋白表达增加, 点状荧光颗粒增多(待发表资料)。以上结果表明, 应激颗粒核心蛋白 G3BP1 与 G3BP2 参与动脉粥样硬化的发生、发展。

血管内皮细胞、平滑肌细胞及巨噬细胞在维持血管正常功能中发挥着重要作用, 其功能障碍会促进动脉粥样硬化的发生发展。Li 等<sup>[33]</sup>在内皮细胞中沉默 G3BP2 可显著减少血管细胞黏附分子-1 (vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1)、细胞间黏附分子-1 (intercellular cell adhesion molecule-1, ICAM-1)、单核细胞趋化蛋白-1 (monocyte chemotactic protein-1, MCP-1) 等促炎因子的 mRNA 和蛋白表达水平; 进一步机制研究发现, 沉默 G3BP2 抑制了 NF- $\kappa$ B 信号通路。此外, 在人血管平滑肌细胞中沉默 G3BP1 基因可显著减少应激颗粒的点状荧光聚集, 并通过调控趋化因子配体 2 (C-C motif chemokine ligand 2, CCL2)、内皮型一氧化氮合酶 (endothelial nitric oxide synthases, eNOS)、肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF) 等细胞因子的 mRNA 表达, 从而影响细胞炎症、黏附等。Samir 等<sup>[13]</sup>在巨噬细胞中的研究表明, 新发现的应激颗粒成分 DDX3X 和 NLRP3 共定位, 增加了凋亡相关斑点样蛋白 ASC 斑点的形成, 促进了 NLRP3 炎症小体的组装, 进而增加 IL-1 $\beta$ 、IL-18 的分泌并驱动细胞焦亡; 而当 RNA 解旋酶 DDX3X 被招募到由亚砷酸钠诱导的应激颗粒中, 抑制了 NLRP3 炎症小体的激活, 应激颗粒通过招募 RNA 解旋酶 DDX3X 来抑制细胞焦亡, 这是一种与炎症相关的细胞死亡形式。IL-19 作为一种抗炎细胞因子, 作用于氧化低密度脂蛋白刺激的平滑肌细胞后, 可显著减少平滑肌细胞中应激颗粒的点状荧光累积, 从而缓解动脉粥样硬化。

以上结果表明, 在动脉粥样硬化发展过程中, 应激颗粒形成增加, 调控应激颗粒蛋白可影响 NF- $\kappa$ B 炎症信号通路, 进而增加 VCAM-1、MCP-1、TNF、IL-1 $\beta$  等炎症因子的表达; 除此之外, 应激

颗粒通过影响 NLRP3 炎症小体的组装间接抑制焦亡, 从而引发炎症反应, 促进动脉粥样硬化疾病的发生发展。

## 2.2 应激颗粒与脑缺血

急性脑血管病又称脑卒中, 是目前严重威胁人类健康的重大疾病, 对许多中老年人的健康造成极大危害, 也是目前导致人类死亡的第二大原因。Liu 等<sup>[34]</sup>在动脉栓塞模型大鼠的大脑皮层切片中发现, 再灌注 6 h 时, 应激颗粒数量达到峰值, 随着再灌注时间延长至 24 h 时, 应激颗粒数量逐渐减少; 有趣的是, 免疫组化结果显示动脉栓塞大鼠大脑皮层的凋亡水平和梗死面积与应激颗粒的变化呈负相关, 提示应激颗粒的形成可以抑制凋亡水平。此外, miR-335 是动脉栓塞大鼠缺血皮质中下调最明显的 microRNA, 其具有缓解缺血再灌注脑损伤的作用。将 miR-335 模拟物注射于动脉栓塞大鼠的左侧脑室中, 再灌注 24 h 时, 皮质组织的免疫组化结果显示应激颗粒数量显著增多, 而注射 miR-335 抑制剂的动脉栓塞大鼠, 应激颗粒数量降低; 且抗凋亡蛋白 BCL2 蛋白表达升高, Caspase-3 蛋白表达下降, 这显著抑制大鼠肾上腺髓质嗜铬瘤细胞系 (PC12) 的凋亡率, 并降低了脑梗死面积和行为学评分<sup>[34]</sup>。另外, PC12 细胞在氧糖剥夺/再灌注损伤条件下可形成应激颗粒, 随着再灌注时间的延长, 应激颗粒的点状荧光聚集量逐渐下降, 应激颗粒标记蛋白 G3BP1 和 TIA1 的表达也逐渐降低, 并显著抑制了神经保护因子 RNA 结合模体蛋白 3 (RNA binding protein motif 3, RBM3) 的表达; 而通过流式检测发现细胞凋亡率逐渐升高, BCL2 蛋白表达下降, Caspase-3 蛋白表达升高, 细胞活力下降。Voelz 等<sup>[35]</sup>在人小胶质细胞系 (HMC-3) 中进行氧糖剥夺-再灌注和过氧化氢刺激可使点状的应激颗粒荧光数量显著增多; 进一步研究表明 RBM3 敲除可显著减少应激颗粒的点状荧光聚集量, 降低 BCL2 蛋白表达, 升高 Caspase-3 蛋白表达, 从而显著增加了细胞凋亡率, 并降低了活细胞百分比, 而 RBM3 过表达可显著增强应激颗粒的点状荧光聚集量, 进而降低细胞凋亡率。综上, 在缺氧和缺血脑损伤后应激颗粒形成增加, 随着再灌注时间的延长, 应激颗粒数量逐渐下降, 细胞凋亡水平逐渐升高。以上研究表明, 神经细胞保护因子 RBM3、miR-335 通过促进应激颗粒的形成来调控细胞凋亡, 减轻脑损伤。因此, 脑缺血疾病的病理生理学很可能源于细胞中的应激颗粒的缺失, 这为脑缺血疾病干预提供了新的靶点

和措施。

### 2.3 应激颗粒与肿瘤的关系

越来越多研究表明, 应激颗粒的形成和聚集与肿瘤的发生、发展密切相关。在缺氧、高活化氧等微环境条件下, 肿瘤细胞中应激颗粒的形成增加; 机制研究表明 G3BP1、G3BP2、活性蛋白激酶 1 (receptor for activated C kinase 1, RACK1)、Y 盒结合蛋白 1 (Y-box binding protein 1, YB-1) 和雷帕霉素靶蛋白 (mechanistic target of rapamycin, mTOR) 等相关蛋白表达的变化, 可影响应激颗粒的形成, 进而参与肿瘤细胞增殖、迁移与凋亡等过程。Choi 等<sup>[36]</sup> 在人宫颈癌 HeLa 细胞中发现应激颗粒的形成增加, 细胞周期负调节因子 RB1 蛋白水平表达减少, 导致 G<sub>1</sub> 期细胞数量降低 8%, S 期细胞增加 6%。HDAC6 是应激颗粒的一种关键蛋白<sup>[37]</sup>。在黑色素瘤细胞系 WM164、WM983A 和 WM993 中给予 HDAC6 抑制剂后, 应激颗粒数量减少, 同时细胞周期 G<sub>1</sub> 期阻滞<sup>[12]</sup>。以上研究提示应激颗粒的形成影响了细胞周期进程。此外, 在 20 例人类非小细胞肺癌患者标本中发现<sup>[38]</sup>, 应激颗粒核心蛋白 G3BP1 与 G3BP2 表达显著增加, 而在非小细胞肺癌细胞 H2122 中沉默 G3BP2 导致应激颗粒形成减少; 进一步通过 MTT 和 Transwell 迁移实验发现, 沉默 G3BP2 导致肺癌细胞增殖率减少 40%, 迁移能力降低 60%, 提示抑制应激颗粒形成能够减缓肺癌细胞的增殖和迁移。Somasekharan 等<sup>[39]</sup> 发现, YB-1 对于人骨肉瘤细胞 U2OS 中亚砷酸盐或过氧化氢等氧化应激诱导的应激颗粒形成至关重要, 沉默 YB-1 基因通过调节 G3BP1 的表达可显著减少应激颗粒的形成, 沉默 G3BP1 基因可显著减少小鼠移植瘤中的应激颗粒数量, 并抑制肿瘤向邻近肾脏的侵袭和向肺部的迁移, 表明 YB-1 可通过影响应激颗粒的形成调控肿瘤的侵袭和迁移。

此外, 应激颗粒的形成能够抑制宫颈癌<sup>[30]</sup>、乳腺癌<sup>[28]</sup> 和前列腺癌<sup>[40]</sup> 等多种肿瘤的细胞凋亡。Arimoto 等<sup>[41]</sup> 研究发现, 在人宫颈癌 HeLa 细胞中诱导应激颗粒的形成可抑制依托泊苷诱导的细胞凋亡; 进一步在 HEK293 细胞中发现, 缺氧刺激可使应激颗粒增加, 进而使凋亡细胞百分比显著下降, 其作用机制是应激颗粒通过招募 RACK1 蛋白, 导致丝裂原活化蛋白激酶 4 (mitogen-activated protein kinase 4, MEKK4)-c-Jun 氨基末端激酶 (c-Jun N-terminal kinase, JNK) 通路无法激活, cleaved-Caspase-3 蛋白表达下调, 抑制了细胞凋亡。同时 Fournier 等<sup>[42]</sup>

发现, 在 MCF-7 和 Hs 578T 乳腺癌细胞中 mTORC1 复合物的失活可显著抑制应激颗粒的形成, 应激颗粒的减少进一步增加了细胞凋亡率; 通过鸡绒毛尿囊膜 (CAM) 肿瘤分析发现, 应激颗粒的减少导致肿瘤体积缩小, 提示应激颗粒通过 mTOR 通路发挥抗凋亡作用, 并促进肿瘤发展。另外, Takahashi 等<sup>[43]</sup> 发现增加人宫颈癌细胞 C33A 中的应激颗粒数量可显著降低活性氧水平并提高细胞凋亡率。以上研究提示, 应激颗粒通过调控细胞凋亡在肿瘤的发生、发展中发挥着重要作用。

索拉非尼作为一种多激酶抑制剂, 已被广泛认可为治疗晚期肝细胞癌的首选药物<sup>[44]</sup>。有研究对比了用索拉非尼治疗形成应激颗粒的肝癌细胞系 Hep3B 和缺乏应激颗粒的肝癌细胞系 Huh-7 的效果, 结果发现, 与形成应激颗粒的肝癌细胞系 Hep3B 相比, 缺乏应激颗粒的肝癌细胞系 Huh-7 的细胞克隆存活率显著升高, 提示破坏应激颗粒的形成增加肝癌细胞对索拉非尼的敏感性<sup>[45]</sup>。硼替佐米是被用于治疗多发性骨髓瘤及难治性骨髓瘤患者的主要药物<sup>[46]</sup>。Gareau 等<sup>[47]</sup> 发现, 硼替佐米通过 HRI 介导的 eIF2 $\alpha$  磷酸化诱导应激颗粒, 应激颗粒通过招募 p21 抑制癌细胞凋亡从而增加其对抗癌药物的耐药性。5-氟尿嘧啶通过 PKR 介导的 eIF2 $\alpha$  磷酸化诱导应激颗粒组装, 对化疗诱导的细胞死亡产生抵抗作用<sup>[48]</sup>。因此, 索拉非尼、硼替佐米、5-氟尿嘧啶等抗癌药物可通过诱导应激颗粒形成使肿瘤细胞产生一定的耐药性, 在应对不同肿瘤细胞中不同的应激颗粒形成水平时, 被处理的细胞会产生不同的耐药性, 因此, 抑制应激颗粒能够增加癌细胞对化疗药物的敏感性。

综上所述, 肿瘤细胞在肿瘤发生过程中面临肿瘤微环境中的各种应激条件, 应激颗粒不仅通过影响肿瘤细胞的增殖和迁移, 还通过影响 mTOR 和 JNK 通路以及活性氧抑制细胞凋亡, 促使肿瘤细胞对抗癌药物产生耐药性并发生免疫逃逸, 促进肿瘤的发生、发展, 从而使患者存活率降低。因此, 应激颗粒将是癌症的关键调控中心, 抑制应激颗粒的形成可能成为治疗癌症的新方向。

### 2.4 应激颗粒与神经退行性疾病

应激颗粒是一种暂时性保护细胞的无膜结构, 而动态性是应激颗粒最重要的特征之一。与衰老相关的慢性应激可诱导持续性的应激颗粒形成, 而持续性的应激颗粒可作为启动 Tau、TDP-43 等病理性蛋白质聚集的触发因子, 而 FUS、SQSTM1/p62 等

蛋白的突变可影响应激颗粒的形成, 这些病理性蛋白聚集体的积累和持续性应激颗粒的形成激活神经退行性疾病通路, 产生神经毒性, 引发多种类型的神经退行性疾病, 如阿尔茨海默症、肌萎缩侧索硬化症、额颞叶痴呆、帕金森病。

众所周知, 在阿尔茨海默症中, Tau 被过度磷酸化, 过度磷酸化导致 Tau 聚集和随后的病理现象<sup>[49]</sup>。在阿尔茨海默症模型小鼠的海马区存在应激颗粒聚集, 且主要定位于神经元中<sup>[50]</sup>。而随着阿尔茨海默症病变的发展, 应激颗粒长期、稳定地存在于细胞质中。Apicco 等<sup>[49]</sup>研究发现, 在转基因 P301S Tau 小鼠中, 另一应激颗粒标记蛋白 TIA1 基因缺失可减少应激颗粒的数量和大小, 同时也可抑制阿尔茨海默症病理性蛋白 Tau 的聚集, 缓解神经退行性病变。TIA1 的过表达可促进 Tau 蛋白的磷酸化及积累, 而 Tau 蛋白可以影响 TIA1 的分布, 也可进一步促进应激颗粒的形成并诱导神经退化。Vanderweyde 等<sup>[51]</sup>在细胞培养研究中证明, 病理性 Tau 促进应激颗粒的形成, 而通过降低 TIA1 的水平来阻止应激颗粒的形成, 可导致体外 Tau 病理聚集物的减少。此外, Ma 等<sup>[52]</sup>研究显示, 抑制 PERK 和 GCN2 表达可降低 eIF2 $\alpha$  磷酸化, 从而抑制应激颗粒的形成, 进而抑制了阿尔茨海默症等疾病进程。因此, 应激颗粒可通过 TIA1 蛋白调控阿尔茨海默症病理性蛋白 Tau 的聚集, 而降低 eIF2 $\alpha$  的磷酸化可抑制应激颗粒的形成, 这提示靶向应激颗粒可能成为治疗阿尔茨海默症的一种新途径。

众所周知, FUS 基因的突变是造成肌萎缩侧索硬化症和额颞叶痴呆的重要因素<sup>[53]</sup>。Naskar 等<sup>[54]</sup>发现 FUS 基因突变可促进应激颗粒的形成, 后者可进一步促进肌萎缩侧索硬化症和额颞叶痴呆疾病的发展。Zhang 等<sup>[55]</sup>通过对转导 TIA1-EGFP 的活体小鼠大脑进行双光子成像 (two-photon imaging), 发现在亚硝酸钠刺激数小时后, FUS-R521C 突变的肌萎缩性脊髓侧索硬化症小鼠的皮质神经元中有更强烈的 TIA1-EGFP 阳性应激颗粒的形成, 但在数周后应激颗粒则会消失, 应激颗粒消失的这部分神经元几天内出现死亡。因此, 应激颗粒的错误加工是肌萎缩性脊髓侧索硬化症的致病因素。接着, Mackenzie 等<sup>[56]</sup>在 5 位肌萎缩侧索硬化症和额颞叶痴呆患者死亡后的神经病理切片中发现了 TIA1 突变导致的应激颗粒, 表明 TIA1 突变抑制应激颗粒解聚, 并促进了 TDP-43 聚集物的积累, 进一步加速了疾病进程。且有多项研究报道 TDP-43 定位于

不同应激 (包括氧化应激、渗透压应激和热休克) 引起的各种细胞系产生的应激颗粒中<sup>[57-58]</sup>。此外, 肌萎缩侧索硬化症和额颞叶痴呆病变细胞的相关自噬受体蛋白 SQSTM1/p62 突变可阻断应激颗粒降解, 进而诱导神经元损伤<sup>[59]</sup>。核质转运障碍已被确定为肌萎缩侧索硬化症和额颞叶痴呆的关键致病因素<sup>[60]</sup>。Zhang 等<sup>[61]</sup>发现细胞应激破坏核质转运使关键核质转运因子 Ran 定位到应激颗粒, 通过抑制应激颗粒组装可以缓解核质转运障碍和神经变性。以上结果表明, FUS、TIA1 以及 SQSTM1/p62 的突变及核质转运障碍是多数患者都具有的病理特征, 而这些蛋白是应激颗粒的组成成分。这些蛋白的突变会破坏应激颗粒的动力学, 促进应激颗粒形成或抑制其解聚将导致肌萎缩侧索硬化症和额颞叶痴呆疾病发生发展。近年研究发现, 抑制应激颗粒组装可以缓解肌萎缩侧索硬化症和额颞叶痴呆疾病模型中的神经退行性病变, 这更加提示应激颗粒作为肌萎缩侧索硬化症和额颞叶痴呆治疗靶点的可能。除此之外, 与帕金森病相关的蛋白 DJ-1 可与哺乳动物细胞中的应激颗粒成分相互作用, 在应激条件下可被招募到应激颗粒中<sup>[62]</sup>, 因此推测应激颗粒动态变化可能在 DJ-1 介导的帕金森病中发挥重要作用。

综上所述, 应激颗粒标记蛋白 TIA1 可调控 Tau 蛋白与 TDP-43 蛋白的聚集, 而后的聚集也促进应激颗粒的形成, 但通过调控 eIF2 $\alpha$  的磷酸化水平和 FUS、TIA1 和 SQSTM1/p62 基因的突变可抑制应激颗粒的形成。除此之外, 抑制应激颗粒组装可以抑制核质转运障碍和神经变性, 进一步延缓阿尔茨海默症、肌萎缩侧索硬化症、额颞叶痴呆、帕金森病等神经退行性疾病的进程。应激颗粒已成为各种神经退行性疾病的界定性特征, 因此调控应激颗粒动态变化过程可能成为研究, 甚至治疗神经退行性疾病的手段。

## 2.5 其他疾病

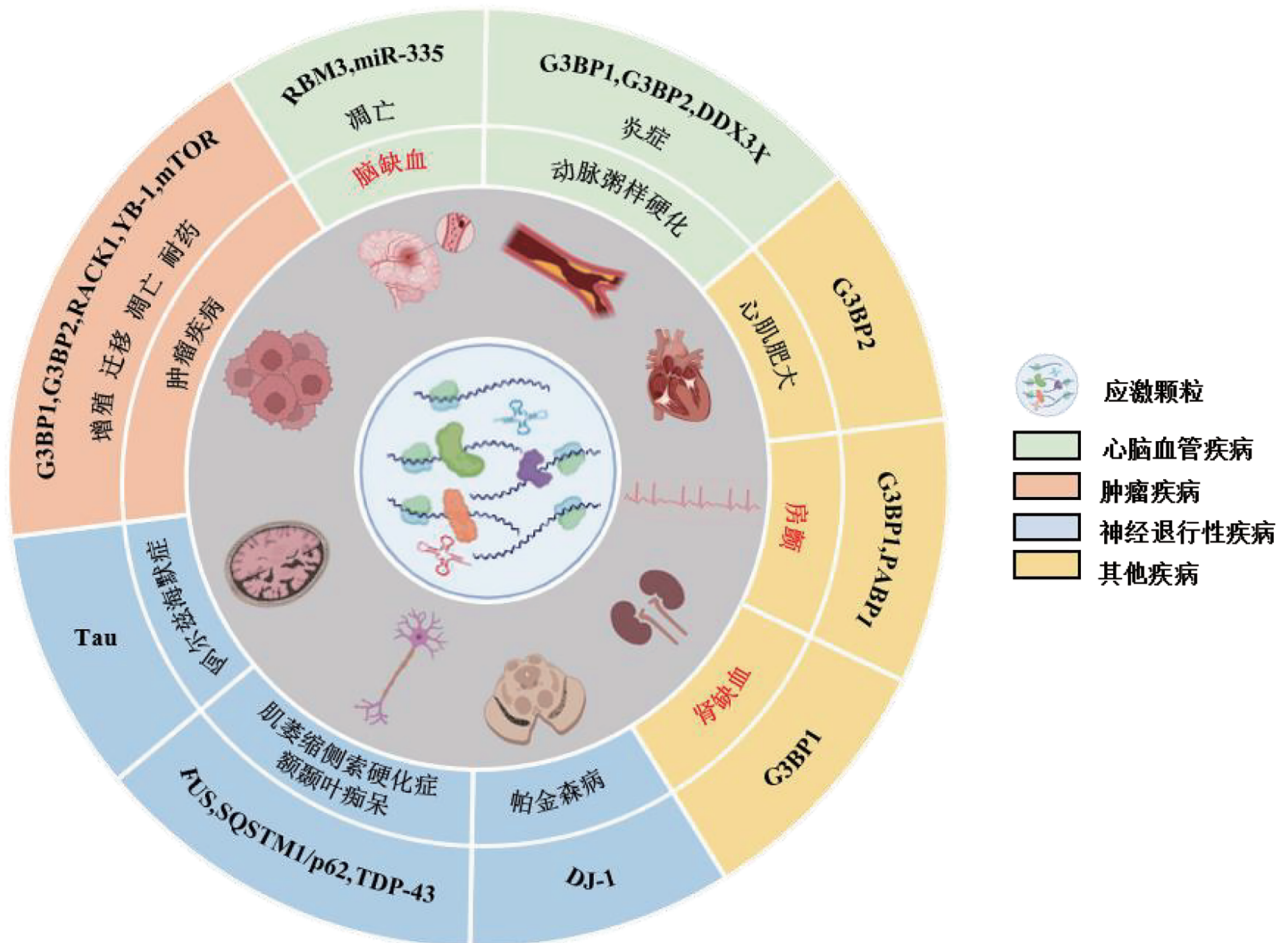
研究表明, 对培养的近端肾小管细胞施加不同种类的应激源, 并对小鼠肾脏进行短暂的缺血 - 再灌注, 可诱导应激颗粒形成<sup>[63]</sup>。敲除肾小管细胞中 G3BP1 基因在很大程度上抑制了应激颗粒的组装, 且在基因敲除的细胞中发现更多的死亡细胞, 并伴有 Caspase-3 裂解/活化的增加。将外源 G3BP1 重新导入基因敲除细胞, 可挽救细胞死亡表型, 因此, 应激颗粒的形成可保护近端肾小管细胞。目前, 氧化应激是房颤发病机制最广泛的理论之一, G3BP1

和 PABP1 标记的应激颗粒存在于 HL-1 心肌细胞和原代心肌细胞中, G3BP1 过表达可显著降低超速培养的 HL-1 心肌细胞的活性氧和钙超载, 并阻止心肌成纤维细胞增殖和胶原形成, 证实了心肌细胞中应激颗粒在房颤中的保护作用<sup>[64]</sup>。此外, 在培养的新生大鼠心肌细胞中过表达 G3BP2 会导致肥大反应, 而下调 G3BP2 则会显著减弱异丙肾上腺素诱导的心肌细胞肥大<sup>[65-66]</sup>。以上结果表明, 应激颗粒虽然在近端肾小管细胞以及房颤中发挥保护作用, 却加速了心肌肥厚的产生, 调节应激颗粒相关蛋白 G3BP1 和 G3BP2 表达水平可能是改善肾小管相关疾病、房颤以及心肌肥厚的一种潜在策略。

### 3 总结与展望

真核细胞产生应激颗粒是抵抗各种应激损伤, 维持细胞存活的重要手段。应激颗粒包含翻译起始

因子、未翻译 mRNA 和 RNA 结合蛋白等。在应激过程中, 许多信号通路或蛋白影响应激颗粒的组装和解聚。应激颗粒还可能通过招募各种信使蛋白来改变多种细胞内信号通路。因此, 应激颗粒可能与其他信使核糖核蛋白体结合, 成为细胞在应激条件下的“应激信号处理中心”。然而, 人们对应激颗粒仍有许多未知之处, 如应激颗粒内部和外部的不同 RNA 结合蛋白如何调节特定 mRNA 的储存、重翻译和降解。在急性应激期, 应激颗粒的组装/解聚处于一种动态平衡状态。随着应激的持续, 应激颗粒可能转变为持续不可逆的病理性应激颗粒。在急性或慢性应激条件下, 多种信号通路可能参与调控应激颗粒的组装/解聚。应激颗粒的编码和非编码 mRNA 组分以及不同 RNA 结合蛋白突变与疾病之间的机制也值得深入研究。本文对应激颗粒形成、聚集、解聚的过程进行了阐述, 发现应激颗粒参与



红色字体表示应激颗粒在疾病中发挥保护作用  
黑色字体表示应激颗粒在疾病中发挥促进作用

图1 应激颗粒与心脑血管、肿瘤和神经退行性疾病的关系

心脑血管疾病、肿瘤和多种神经退行性疾病的病理过程(图1)。目前, 应激颗粒的作用及机制研究主要聚焦癌症, 在心脑血管疾病中的作用尚不清楚。随着对疾病机制认识的不断完善和新兴生物技术的发展, 应激颗粒与这些疾病发生发展的相关性及机制的研究将越来越清晰, 这有助于找到应激颗粒相关疾病的潜在治疗靶点。

### [参 考 文 献]

- [1] Li T, Zeng Z, Fan C, et al. Role of stress granules in tumorigenesis and cancer therapy. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 2023, 1878: 189006
- [2] McEwen E, Kedersha N, Song B, et al. Heme-regulated inhibitor kinase-mediated phosphorylation of eukaryotic translation initiation factor 2 inhibits translation, induces stress granule formation, and mediates survival upon arsenite exposure. *J Biol Chem*, 2005, 280: 16925-33
- [3] Srivastava SP, Kumar KU, Kaufman RJ. Phosphorylation of eukaryotic translation initiation factor 2 mediates apoptosis in response to activation of the double-stranded RNA-dependent protein kinase. *J Biol Chem*, 1998, 273: 2416-23
- [4] Wek SA, Zhu S, Wek RC. The histidyl-tRNA synthetase-related sequence in the eIF-2 $\alpha$  protein kinase GCN2 interacts with tRNA and is required for activation in response to starvation for different amino acids. *Mol Cell Biol*, 1995, 15: 4497-506
- [5] Harding HP, Zhang Y, Bertolotti A, et al. Perk is essential for translational regulation and cell survival during the unfolded protein response. *Mol Cell*, 2000, 5: 897-904
- [6] Emará MM, Fujimura K, Sciaranghella D, et al. Hydrogen peroxide induces stress granule formation independent of eIF2 $\alpha$  phosphorylation. *Biochem Biophys Res Commun*, 2012, 423: 763-9
- [7] Yang P, Mathieu C, Kolaitis RM, et al. G3BP1 is a tunable switch that triggers phase separation to assemble stress granules. *Cell*, 2020, 181: 325-45.e328
- [8] Tourrière H, Chebli K, Zekri L, et al. The RasGAP-associated endoribonuclease G3BP assembles stress granules. *J Cell Biol*, 2003, 160: 823-31
- [9] Waris S, Wilce MC, Wilce JA. RNA recognition and stress granule formation by TIA proteins. *Int J Mol Sci*, 2014, 15: 23377-88
- [10] Lee DY, Jeon GS, Sung JJ. ALS-linked mutant SOD1 associates with TIA-1 and alters stress granule dynamics. *Neurochem Res*, 2020, 45: 2884-93
- [11] Zheng Y, Zhu G, Tang Y, et al. HDAC6, a novel cargo for autophagic clearance of stress granules, mediates the repression of the type I interferon response during coxsackievirus A16 infection. *Front Microbiol*, 2020, 11: 78
- [12] Woan KV, Lienlaf M, Perez-Villaroel P, et al. Targeting histone deacetylase 6 mediates a dual anti-melanoma effect: enhanced antitumor immunity and impaired cell proliferation. *Molecular Oncology*, 2015, 9: 1447-57
- [13] Samir P, Kesavardhana S, Patmore DM, et al. DDX3X acts as a live-or-die checkpoint in stressed cells by regulating NLRP3 inflammasome. *Nature*, 2019, 573: 590-4
- [14] Ryan CS, Schröder M. The human DEAD-box helicase DDX3X as a regulator of mRNA translation. *Front Cell Dev Biol*, 2022, 10: 1033684
- [15] Song D, Kuang L, Yang L, et al. Yin and Yang regulation of stress granules by Caprin-1. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2022, 119: e2207975119
- [16] Schulte T, Panas MD, Han X, et al. Caprin-1 binding to the critical stress granule protein G3BP1 is influenced by pH. *Open Biol*, 2023, 13: 220369
- [17] Ivanov PA, Chudinova EM, Nadezhdina ES. Disruption of microtubules inhibits cytoplasmic ribonucleoprotein stress granule formation. *Exp Cell Res*, 2003, 290: 227-33
- [18] Nadezhdina ES, Lomakin AJ, Shpilman AA, et al. Microtubules govern stress granule mobility and dynamics. *Biochim Biophys Acta*, 2010, 1803: 361-71
- [19] Buchan JR, Kolaitis RM, Taylor JP, et al. Eukaryotic stress granules are cleared by autophagy and Cdc48/VCP function. *Cell*, 2013, 153: 1461-74
- [20] Wang L, Yang W, Li B, et al. Response to stress in biological disorders: implications of stress granule assembly and function. *Cell Prolif*, 2021, 54: e13086
- [21] Glineburg MR, Yildirim E, Gomez N, et al. Stress granule formation helps to mitigate neurodegeneration. *bioRxiv*, 2023: 11: 566060
- [22] Anderson P, Kedersha N. RNA granules: post-transcriptional and epigenetic modulators of gene expression. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2009, 10: 430-6
- [23] Si W, Ye S, Ren Z, et al. miR-335 promotes stress granule formation to inhibit apoptosis by targeting ROCK2 in acute ischemic stroke. *Int J Mol Med*, 2019, 43: 1452-66
- [24] Si W, Li Z, Huang Z, et al. RNA binding protein motif 3 inhibits oxygen-glucose deprivation/reoxygenation-induced apoptosis through promoting stress granules formation in PC12 cells and rat primary cortical neurons. *Front Cell Neurosci*, 2020, 14: 559384
- [25] Reineke LC, Neilson JR. Differences between acute and chronic stress granules, and how these differences may impact function in human disease. *Biochem Pharmacol*, 2019, 162: 123-31
- [26] Li T, Safitri M, Zhang K, et al. Downregulation of G3BP2 reduces atherosclerotic lesions in ApoE mice. *Atherosclerosis*, 2020, 310: 64-74
- [27] Herman AB, Silva Afonso M, Kelemen SE, et al. Regulation of stress granule formation by inflammation, vascular injury, and atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2019, 39: 2014-27
- [28] Hu T, Hou W, Xiao E, et al. Mechanism and effect of stress granule formation in cancer and its potential roles in breast cancer therapy. *Genes Dis*, 2022, 9: 659-67
- [29] Wang F, Li J, Fan S, et al. Targeting stress granules: a novel therapeutic strategy for human diseases. *Pharmacol Res*, 2020, 161: 105143

- [30] Gao X, Jiang L, Gong Y, et al. Stress granule: a promising target for cancer treatment. *Br J Pharmacol*, 2019, 176: 4421-33
- [31] Wolozin B, Ivanov P. Stress granules and neurodegeneration. *Nat Rev Neurosci*, 2019, 20: 649-66
- [32] Lusis AJ. Atherosclerosis. *Nature*, 2000, 407: 233-41
- [33] Li T, Qiu J, Jia T, et al. G3BP2 regulates oscillatory shear stress-induced endothelial dysfunction. *Genes Dis*, 2022, 9: 1701-15
- [34] Liu FJ, Kaur P, Karolina DS, et al. MiR-335 regulates Hif-1 $\alpha$  to reduce cell death in both mouse cell line and rat ischemic models. *PLoS One*, 2015, 10: e0128432
- [35] Voelz C, Habib P, Köberlein S, et al. Alteration of miRNA biogenesis regulating proteins in the human microglial cell line HMC-3 after ischemic stress. *Mol Neurobiol*, 2020, 58: 1535-49
- [36] Choi S, Sa M, Cho N, et al. Rbfox2 dissociation from stress granules suppresses cancer progression. *Exp Mol Med*, 2019, 51: 1-12
- [37] Kwon S, Zhang Y, Matthias P. The deacetylase HDAC6 is a novel critical component of stress granules involved in the stress response. *Genes Dev*, 2007, 21: 3381-94
- [38] Li H, Lin PH, Gupta P, et al. MG53 suppresses tumor progression and stress granule formation by modulating G3BP2 activity in non-small cell lung cancer. *Mol Cancer*, 2021, 20: 118
- [39] Somasekharan SP, El-Naggar A, Leprivier G, et al. YB-1 regulates stress granule formation and tumor progression by translationally activating G3BP1. *J Cell Biol*, 2015, 208: 913-29
- [40] Shi Q, Zhu Y, Ma J, et al. Prostate cancer-associated SPOP mutations enhance cancer cell survival and docetaxel resistance by upregulating Caprin1-dependent stress granule assembly. *Mol Cancer*, 2019, 18: 170
- [41] Arimoto K, Fukuda H, Imajoh-Ohmi S, et al. Formation of stress granules inhibits apoptosis by suppressing stress-responsive MAPK pathways. *Nat Cell Biol*, 2008, 10: 1324-32
- [42] Fournier MJ, Coudert L, Mellaoui S, et al. Inactivation of the mTORC1-eukaryotic translation initiation factor 4e pathway alters stress granule formation. *Mol Cell Biol*, 2023, 33: 2285-301
- [43] Takahashi M, Higuchi M, Matsuki H, et al. Stress granules inhibit apoptosis by reducing reactive oxygen species production. *Mol Cell Biol*, 2023, 33: 815-29
- [44] Llovet JM, Ricci S, Mazzaferro V, et al. Sorafenib in advanced hepatocellular carcinoma. *N Engl J Med*, 2008, 359: 378-90
- [45] Adjibade P, Simoneau B, Ledoux N, et al. Treatment of cancer cells with Lapatinib negatively regulates general translation and induces stress granules formation. *PLoS One*, 2020, 15: e0231894
- [46] Scott K, Hayden PJ, Will A, et al. Bortezomib for the treatment of multiple myeloma. *Cochrane Database Syst Rev*, 2016, 4: Cd010816
- [47] Gareau C, Fournier MJ, Filion C, et al. p21(WAF1/CIP1) upregulation through the stress granule-associated protein CUGBP1 confers resistance to bortezomib-mediated apoptosis. *PLoS One*, 2011, 6: e20254
- [48] Chen L, Sun K, Qin W, et al. LIMK1 m<sup>6</sup>A-RNA methylation recognized by YTHDC2 induces 5-FU chemoresistance in colorectal cancer via endoplasmic reticulum stress and stress granule formation. *Cancer Lett*, 2023, 576: 216420
- [49] Apicco DJ, Ash PEA, Maziuk B, et al. Reducing the RNA binding protein TIA1 protects against tau-mediated neurodegeneration *in vivo*. *Nat Neurosci*, 2018, 21: 72-80
- [50] Frydrýšková K, Mašek T, Pospíšek M. Changing faces of stress: impact of heat and arsenite treatment on the composition of stress granules. *Wiley Interdiscip Rev RNA*, 2020, 11: e1596
- [51] Vanderweyde T, Yu H, Varnum M, et al. Contrasting pathology of the stress granule proteins TIA-1 and G3BP in tauopathies. *J Neurosci*, 2012, 32: 8270-83
- [52] Ma T, Trinh MA, Wexler AJ, et al. Suppression of eIF2 $\alpha$  kinases alleviates Alzheimer's disease-related plasticity and memory deficits. *Nat Neurosci*, 2013, 16: 1299-305
- [53] Song J. Molecular mechanisms of phase separation and amyloidosis of ALS/FTD-linked FUS and TDP-43. *Aging Dis*, 2023, doi: 10.14336/AD.2023.1118
- [54] Naskar A, Nayak A, Salaikumar MR, et al. Phase separation and pathologic transitions of RNP condensates in neurons: implications for amyotrophic lateral sclerosis, frontotemporal dementia and other neurodegenerative disorders. *Front Mol Neurosci*, 2023, 16: 1242925
- [55] Zhang X, Wang F, Hu Y, et al. *In vivo* stress granule misprocessing evidenced in a FUS knock-in ALS mouse model. *Brain*, 2020, 143: 1350-67
- [56] Mackenzie IR, Nicholson AM, Sarkar M, et al. TIA1 mutations in amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal dementia promote phase separation and alter stress granule dynamics. *Neuron*, 2017, 95: 808-16.e9
- [57] Dewey CM, Cenik B, Sephton CF, et al. TDP-43 aggregation in neurodegeneration: are stress granules the key? *Brain Res*, 2012, 1462: 16-25
- [58] Li YR, King OD, Shorter J, et al. Stress granules as crucibles of ALS pathogenesis. *J Cell Biol*, 2013, 201: 361-72
- [59] Chitiprolu M, Jagow C, Tremblay V, et al. A complex of C9ORF72 and p62 uses arginine methylation to eliminate stress granules by autophagy. *Nat Commun*, 2018, 9: 2794
- [60] Freibaum BD, Lu Y, Lopez-Gonzalez R, et al. GGGGCC repeat expansion in C9orf72 compromises nucleocytoplasmic transport. *Nature*, 2015, 525: 129-33
- [61] Zhang K, Daigle JG, Cunningham KM, et al. Stress granule assembly disrupts nucleocytoplasmic transport. *Cell*, 2018, 173: 958-71.e17
- [62] Repici M, Hassanjani M, Maddison DC, et al. The Parkinson's disease-linked protein DJ-1 associates with cytoplasmic mRNP granules during stress and neurodegeneration. *Mol Neurobiol*, 2019, 56: 61-77
- [63] Wang S, Kwon SH, Su Y, et al. Stress granules are formed in renal proximal tubular cells during metabolic stress and ischemic injury for cell survival. *Am J Physiol Renal*



- Physiol, 2019, 317: F116-23
- [64] Dong G, Liang F, Sun B, et al. Presence and function of stress granules in atrial fibrillation. PLoS One, 2019, 14: e0213769
- [65] Hong HQ, Lu J, Fang XL, et al. G3BP2 is involved in isoproterenol-induced cardiac hypertrophy through activating the NF- $\kappa$ B signaling pathway. Acta Pharmacol Sin, 2018, 39: 184-94
- [66] He M, Yang Z, Abdellatif M, et al. GTPase activating protein (sh3 domain) binding protein 1 regulates the processing of microRNA-1 during cardiac hypertrophy. PLoS One, 2015, 10: e0145112