



核糖体相关质量控制与核糖体自噬研究进展*

郑丽玉^{1,2)}** 姚人骐^{1,3)}** 姚咏明¹⁾***⁽¹⁾ 解放军总医院医学创新研究部转化医学研究中心, 北京 100853; ⁽²⁾ 温州医科大学附属第一医院急诊科, 温州 325015;⁽³⁾ 海军军医大学长海医院烧伤中心, 上海 200433)

摘要 细胞中蛋白质处于不断合成和降解的动态更新过程中, 其稳态与细胞功能密切相关。细胞中存在多种蛋白质质量控制(protein quality control, PQC)机制来监测蛋白质合成和降解过程的异常, 以确保蛋白质组的完整性和细胞适应性。核糖体是细胞内数量最多的细胞器, 系细胞内蛋白质合成的主要场所。现已明确, 核糖体相关质量控制(ribosome-associated quality control, RQC)与核糖体自噬能通过溶酶体依赖和非依赖途径调节细胞内核糖体数量及功能以维持蛋白质稳态, 从而增强细胞在应激状态下的适应能力。RQC失调、核糖体自噬障碍则参与多种疾病的发生及发展过程, 靶向RQC和核糖体自噬可能成为防治多种疾病的有效手段。本综述聚焦核糖体相关的PQC途径, 并进一步讨论了它们在蛋白质稳态维持中的重要地位及其在人类疾病发生发展中的潜在作用。

关键词 核糖体相关质量控制, 核糖体自噬, 蛋白质稳态**中图分类号** Q26, Q28**DOI:** 10.16476/j.pibb.2021.0270

蛋白质具有多种生物学功能, 参与生命的几乎所有生物学过程, 是生命活动的物质基础。细胞中蛋白质处于不断合成和降解的动态更新过程中, 其稳态与细胞行使正常功能密切相关, 而蛋白质稳态的失调可导致一系列疾病^[1]。真核细胞已经进化出多种复杂的蛋白质质量控制(protein quality control, PQC)机制, 精密地监测和调控异常蛋白质合成和降解过程, 在确保蛋白质组的完整性和细胞适应性方面发挥至关重要的作用^[2]。细胞中多种细胞器, 包括核糖体(ribosome)、内质网、高尔基体和溶酶体参与蛋白质的合成、加工、修饰和降解。这些细胞器的生物合成、结构和功能已有大量研究, 然而, 对于其自身质量控制和维持自身周转率的机制却知之甚少^[1]。鉴于核糖体在维持细胞蛋白质稳态中的重要作用, 本文主要阐述与核糖体相关的PQC机制最新研究进展。

核糖体也称核蛋白体, 由rRNA和蛋白质构成。它是一种进化高度保守且几乎存在于所有细胞内的细胞器, 即使是体积最小的支原体细胞内也含有上百个核糖体。核糖体是蛋白质合成的重要场所, 其主要功能是以mRNA为模板及氨基酸为原

料合成蛋白质。在肽链合成过程中, 核糖体是tRNA与mRNA相互识别、肽键形成、肽链延长等过程的主要平台, 核糖体类似一个移动多肽链“装配厂”, 沿着模板mRNA链从5'端向3'端移动。在此过程中, 携带各种氨基酸的tRNA分子依据密码子与反密码子的相互配对关系为延长肽链提供氨基酸原料。生理状态下, 肽链合成完毕后核糖体立即与mRNA解离。如果核糖体在到达终止密码子之前停止翻译, 导致其无法及时与mRNA解离, 则造成核糖体停滞。蛋白质合成过程中的核糖体停滞会导致截短多肽产生, 这些有缺陷新生多肽链可能对细胞产生不利影响, 需被及时清除。在真核生物中, 这种检测翻译过程中核糖体停滞事件并使相关新生多肽链降解的途径被称为核糖体相关质量控制(ribosome-associated quality control, RQC)^[3], 该途径为蛋白质合成过程中的质量控制机制。

* 国家自然科学基金(82130062, 81730057)资助项目。

** 并列第一作者。

*** 通讯联系人。

Tel: 010-66867394, E-mail: c_ff@sina.com

收稿日期: 2021-09-10, 接受日期: 2021-12-27

真核细胞利用自噬和泛素-蛋白酶体系统 (ubiquitin proteasome system, UPS) 作为其主要的蛋白质降解途径。当需要快速适应胞内蛋白质含量改变时, 一方面通过 UPS 途径实现蛋白质的快速降解, 另一方面通过自噬途径选择性地降解蛋白质聚集体和受损或过剩的细胞器^[4]。自噬是一种进化上保守的分解代谢途径, 介导从单一蛋白质到整个细胞器或多亚单位大分子复合物等多种胞液底物的降解^[1, 5]。在细胞中维持蛋白质稳态的 3 种关键成分 (核糖体、内质网和蛋白酶体) 的选择性自噬分别被命名为核糖体自噬 (ribophagy)、内质网自噬 (endoplasmic reticulum autophagy, ER-phagy) 和蛋白酶体自噬 (proteaphagy)。核糖体作为细胞内数量最多的细胞器, 其在翻译机制中的重要地位使核糖体自噬在维持蛋白质稳态方面的作用受到广泛关注。UPS 已被证明能迅速降解无功能核糖体的冗余核糖体蛋白, 而核糖体亚基不能被蛋白酶体处理, 其降解依赖核糖体自噬途径^[1]。可见核糖体自噬为核糖体蛋白降解过程中的质量控制机制。

1 核糖体相关质量控制

RQC 是一种蛋白质合成监控机制, 当翻译过程中出现核糖体停滞情况时, 其能有效启动新生多肽的降解^[6]。既往资料表明, 在真核生物中存在 3 条降解异常 mRNA 途径: 无义衰变 (nonsense decay, NMD)、不停止衰变 (non-stop decay, NSD) 和不进行衰变 (no-go decay, NGD)。NMD 是通过提前出现终止密码子来降解 mRNA, NSD 以缺少终止密码子的 mRNA 为靶标, 而 NGD 则以延伸障碍的 mRNA 为靶标^[7]。核糖体翻译 mRNA 的速度是不均匀的, 翻译延长速度平均为每秒 6 个氨基酸, 并受多种理化因素影响^[7]。核糖体翻译速度异常导致核糖体停滞, 而停滞核糖体与紧随其后的核糖体之间发生碰撞是 RQC 的始动因素, 其可归因于 mRNA 上存在缺陷信息, 包括核糖体无法解开的序列、提前出现或缺乏终止密码子^[8-9]。此外, 紫外线辐射或氧化应激导致核糖体成分破坏, rRNA 中参与翻译的关键结构突变也会引起核糖体停滞^[10]。同样, 环境因素改变及翻译抑制剂的使用均可造成核糖体停滞^[3]。

RQC 过程包括停滞核糖体识别、核糖体大小亚基分离、缺陷 mRNA 和新生多肽降解、CAT 尾形成多个步骤 (图 1)。a. 停滞核糖体识别: 停滞核糖体和紧随其后的核糖体之间发生碰撞, 碰撞后

会发生构象变化, 产生一个新的中间相。该相可被泛素连接酶 Hel2 (酵母) /ZNF598 (哺乳动物) 识别^[11], 引起其结合位点附近 40S 亚基上两个蛋白质 (RPS10 和 RPS20) 的泛素化^[7]。此过程系 RQC 的第一步, 是缺陷 mRNA 降解和核糖体相关质量控制复合体 (ribosome-associated quality control complex, RQCc) 与停滞核糖体结合所必需的重要环节^[8]。b. 核糖体大小亚基分离: 40S 亚基泛素化触发一系列分离因子 (splitting factors), 包括 Dom34 (酵母) /PELO (哺乳动物)、Hbs1 (酵母) /HBS1L/GTPBP2 (哺乳动物) 和 Rli1 (酵母) /ABCE1 (哺乳动物) 等, 进而介导核糖体 40S 亚基与 60S 亚基分离^[3, 7, 12-13]。c. 缺陷 mRNA 降解: 缺陷 mRNA 能被有效地选择性降解是 RQC 途径正常的标志^[14]。酵母中典型的 mRNA 降解既有 5'→3' 方向, 如被核酸外切酶 Xrn1 降解, 也有 3'→5' 方向, 如被外泌体和 Ski7 复合体降解^[15]。d. 新生多肽降解: 核糖体分离后, 40S 亚基可被循环利用, 而 60S 亚基仍含有一个与 P 位点 tRNA 结合的新生多肽。这种停滞核糖体上的新生多肽不能被 60S 亚基所释放, 需要特异性降解途径的参与, 目前认为 RQCc 是降解停滞核糖体上新生多肽的主要执行者。酵母中 RQCc 包括 3 类核心成分: 泛素连接酶 Ltn1 (哺乳动物中为 Listerin) 以及 Rqc1 (哺乳动物中为 TCF25, transcription factor 25) 和 Rqc2 (哺乳动物中为 NEMF, nuclear export mediator factor)^[16]。核糖体停滞时 Rqc2 首先被招募到 60S 亚基上, 其 N 端和 C 端结构域与 60S 亚基 P 位点暴露的 tRNA 结合, 而 Rqc2 较长的非结构中间域与 60S 亚基相互作用, 使附着有新生多肽的停滞核糖体 60S 亚基和 tRNA 被特异性地回收。Rqc2 招募泛素连接酶 Ltn1, 后者采用超螺旋结构包绕核糖体并延伸至 60S 亚基出口通道, 促使 Ltn1 定位其活性位点, 即环结构域 (the RING domain)。Ltn1 将泛素连接到停滞核糖体新生多肽上, 使其能够被有效地识别并降解。Ltn1 在新生多肽上连接的泛素链是 ATP 酶细胞分裂控制蛋白 48 (Cdc48, cell division control protein 48, 哺乳动物中为 VCP, valosin containing protein) 及其辅助因子泛素融合降解蛋白 1 (Ufd1, ubiquitin fusion degradation protein 1) 和核蛋白定位蛋白 4 (Npl4, nuclear protein localization protein 4) (哺乳动物中为 UFD1 和 NPLOC4) 的募集信号。Cdc48 被招募至 60S 亚基提取停滞核糖体上的新生多肽, 并介导其靶向蛋

白酶体^[17],从而使60S亚基、tRNA等在下一轮翻译中可被重复使用。以往Vms1(在哺乳动物中为ANKZF1,ankyrin repeat and zinc finger peptidyl tRNA hydrolase 1)被认为是Cdc48的辅助因子,是一种可水解肽基-tRNA键的tRNA水解酶,从停滞核糖体60S亚基中剪切新生多肽链^[18]。然而,新近资料表明,ANKZF1不是真正的肽基-tRNA水解酶,其作用为一种核酸内切酶,特异性地切割tRNA 3'端的4个核苷酸从而释放出与之相连的新生多肽链^[19]。此外,Vms1在CAT尾形成之前或之后发挥作用仍有争议^[20]。Vms1/ANKZF1在RQC中的确切作用机制有待进一步研究。Rqc1在RQCc中的意义存在争议,到目前为止,RQCc结构分析还未能提供其功能或作用机制的证据。但有研究认为,Rqc1能诱导停滞核糖体上新生多肽发生泛素化,同时也可作为伴侣分子阻止其聚集^[17];另有资料提示,Cdc48的招募需要Rqc1亚基,但其确切功能有待澄清。e. CAT尾形成:研究酵母细胞中RQCc构象发现,酵母中核糖体停滞时,停滞核糖体新生多肽上被添加一条氨基酸尾——C端丙氨酰/苏氨酰序列(the carboxy-terminal alanine and

threonine tails, the CAT tails)^[21]。新近研究表明,CAT尾的形成是由Rqc2亚基介导的,可暴露核糖体60S亚基出口通道中的赖氨酸残基,从而被Ltn1/Listerin识别并泛素化降解。CAT尾的形成使新生多肽链延伸,并促进底物泛素化和靶向降解。当泛素化障碍时,其可诱导新生多肽链聚集,进而引发下游通路的激活,包括应激信号和细胞毒性效应等^[18]。鉴于原核生物和多细胞动物与酵母细胞有组分不同的CAT尾样结构,有学者提出使用C端的翻译添加尾(C-terminal addition to translation tails)(仍然缩写为CAT尾)来普遍地描述这一现象^[14]。最近在细菌RQC机制探索中观察到,其CAT尾形成指细菌中Rqc2同源物RqcH在C端添加聚丙氨酸尾(C-terminal poly-alanine tails),也称为丙氨酸尾(alanine tails,Ala-tails),被其标记的新生多肽链可直接被识别并靶向ClpXP蛋白酶降解^[21]。对哺乳动物细胞RQC机制分析发现,哺乳动物细胞也存在Ala-tails,并证实E3泛素连接酶Pirh2/Rchy1和CRL2^{KLHDC10}共同作用于NEMF介导的Ala-tail修饰新生多肽降解^[22]。

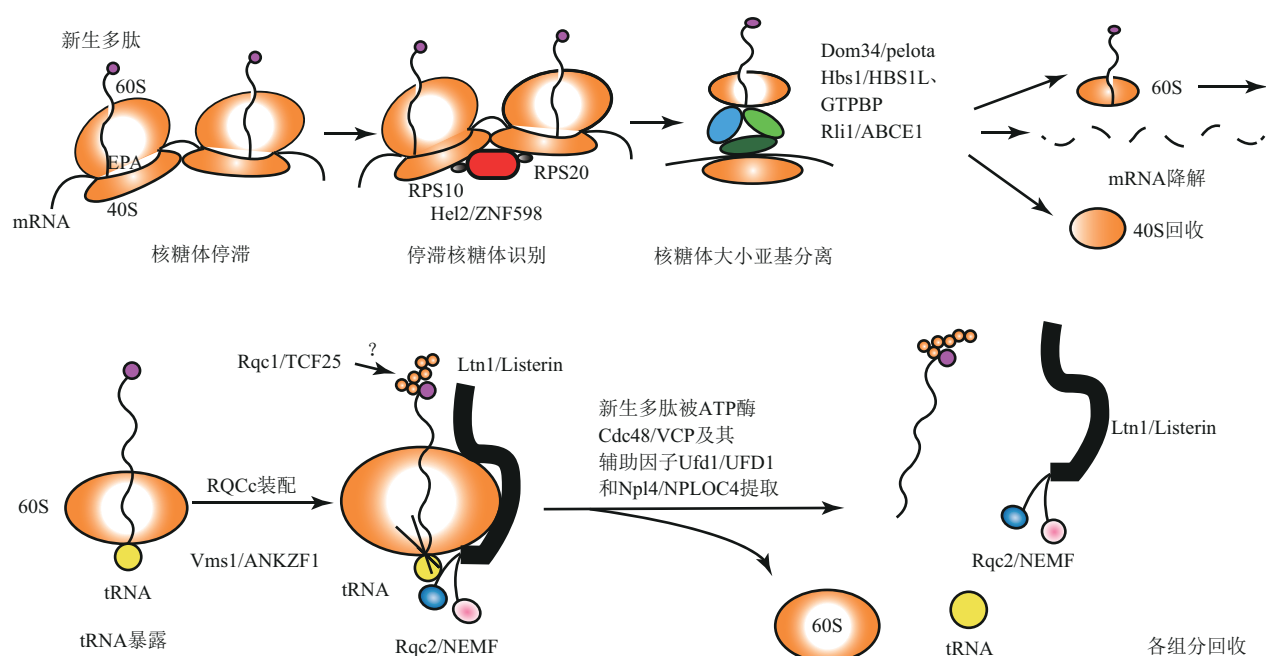


Fig. 1 Ribosome-associated quality control in yeast

图1 酵母中核糖体相关质量控制

RQC最初被描述为对翻译胞浆蛋白的核糖体进行质量控制, 新近资料提示RQC不仅与胞质蛋白合成有关, 同时也与内质网和线粒体蛋白合成密切相关。内质网与线粒体表面的RQC分别被称为内质网RQC以及线粒体RQC^[6, 23]。

2 核糖体自噬

在营养丰富条件下, 真核细胞每分钟可组装2 000个以上的核糖体亚基, 以保证每个细胞内维持约20万个核糖体以供周转, 其核糖体蛋白约占胞内总蛋白的50%^[24]。核糖体的生物合成是一个多步骤易出错过程^[15], 且核糖体生物合成和蛋白质翻译是细胞内最耗能的生物学反应之一, 因此该途径受到多种质量控制机制的严密控制^[25]。而成熟核糖体非常稳定, 半衰期约为数天^[4], 真核细胞进化出多种机制特异性地识别和清除结构和/或功能缺陷以及数量过剩的核糖体, 降解多余核糖体的机制可根据不断变化的内环境维持其数量与内环境相适应。在特定生长条件下, 如饥饿可使核糖体生物合成停滞, 大量成熟核糖体被自噬体膜包裹形成自噬小体 (autophagosome), 进而与溶酶体融合形成自噬溶酶体 (autophagolysosome), 后被溶酶体中水解酶降解, 这一过程被称为核糖体自噬^[26]。现已明确, 核糖体自噬在维持蛋白质稳态中发挥不可替代的作用。

核糖体自噬于2008年由Kraft等^[4]最先发现, 即饥饿状态下酵母细胞中成熟的核糖体可通过选择性自噬途径被降解; 在哺乳动物中哺乳动物雷帕霉素靶蛋白复合物1 (mammalian target of rapamycin complex 1, mTORC1) 失活参与核糖体的选择性降解过程^[27]。核糖体自噬有利于核糖体数量与内环境相适应, 维持一定的核糖体周转量^[28], 促使细胞在营养限制条件下存活^[4, 27]。进一步研究发现, 在酵母细胞饥饿诱导的核糖体自噬过程中核糖体60S和40S亚基降解过程是独立的。泛素羧基水解酶3 (ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase 3, Ubp3) 与Ubp3相关蛋白Bre5/Brefeldin A敏感性蛋白5 (Ubp3-associated protein Bre5/Brefeldin A sensitivity protein 5, Bre5) 形成Ubp3/Bre5泛素蛋白酶复合体, 可通过去除特定核糖体自噬底物中泛素参与核糖体60S亚基降解, 而40S亚基降解途径还有待阐明^[4]。此外, 泛素连接酶Rsp5作为核糖体自噬的正调节因子参与了核糖体自噬过程^[29]。Ossareh-Nazari等^[30]观察到Cdc48和泛素融合降解

蛋白3 (ubiquitin fusion degradation protein 3, Ufd3) 以Ubp3/Bre5泛素蛋白酶复合体依赖的方式参与调节饥饿诱导核糖体自噬的发生。Cdc48与Ufd3分别作为主要效应分子及辅因子与Ubp3/Bre5泛素蛋白酶复合体协同识别和去泛素化特定的核糖体自噬底物。另据报道, 在酵母细胞中, 饥饿诱导Rkr1/Ltn1表达下调可促进核糖体选择性自噬反应^[31]。Ltn1作为一种E3泛素连接酶能介导核糖体蛋白泛素化以阻止60S亚基被选择性降解, 而核糖体蛋白Rpl25为Ubp3/Bre5泛素蛋白酶复合体及Ltn1的共同底物, 其泛素化可抑制60S亚基被核糖体自噬降解^[32]。与之相反, 饥饿状态下Ubp3介导Rpl25去泛素化能加速60S亚基的选择性自噬 (图2)。近年来, Tatehashi等^[33]报道 γ -谷氨酰胺激酶 (γ -glutamyl kinase, γ -GK) 通过与Ubp3/Bre5泛素蛋白酶复合体相互作用参与核糖体60S亚基选择性自噬过程, 其机制可能是 γ -GK催化产生的 γ -谷氨酰磷酸盐 (γ -glutamyl phosphate) 磷酸化核糖体蛋白所致核糖体自噬加速。

有资料提示, 核糖体自噬亦可通过非选择性途径被降解。Waliullah等^[34]研究发现, Rim15和Sch9蛋白激酶参与诱导芽殖酵母核糖体的非选择性降解过程。在饥饿条件下mTORC1活性下调, 其诱导Sch9蛋白激酶C端6个氨基酸残基去磷酸化效应减弱, 磷酸化Sch9通过负调控Rim15使其活性下降, 促进核糖体非选择性自噬。此外, Rim15也受蛋白激酶A (protein kinase A, PKA) 和蛋白激酶Pho85的调控 (图2)。事实上, Rim15在核糖体的降解过程中发挥双向调节作用: 既能增强核糖体选择性自噬活性, 也可抑制核糖体的非选择性降解。

近年来, 对于介导核糖体自噬发生的相关受体研究日益受到关注。2018年, Wyant等^[27]首次报道哺乳动物核糖体自噬的关键受体核脆性X智力低下蛋白相互作用蛋白1 (nuclear fragile X mental retardation protein interacting protein 1, NUFIP1)。NUFIP1是一种能与锌指蛋白ZNHIT3 (zinc finger HIT domain-containing protein 3) 结合的核蛋白, 两者结合后形成NUFIP1-ZNHIT3异源二聚体参与核糖核蛋白复合物的形成, 后者在营养缺乏或mTORC1被抑制时从细胞核重新分布至自噬小体、溶酶体和核糖体 (图2)。采用mTOR抑制剂Torin1处理后, NUFIP1-ZNHIT3异源二聚体能与自噬小体结合, ZNHIT3通过LC3结合结构域

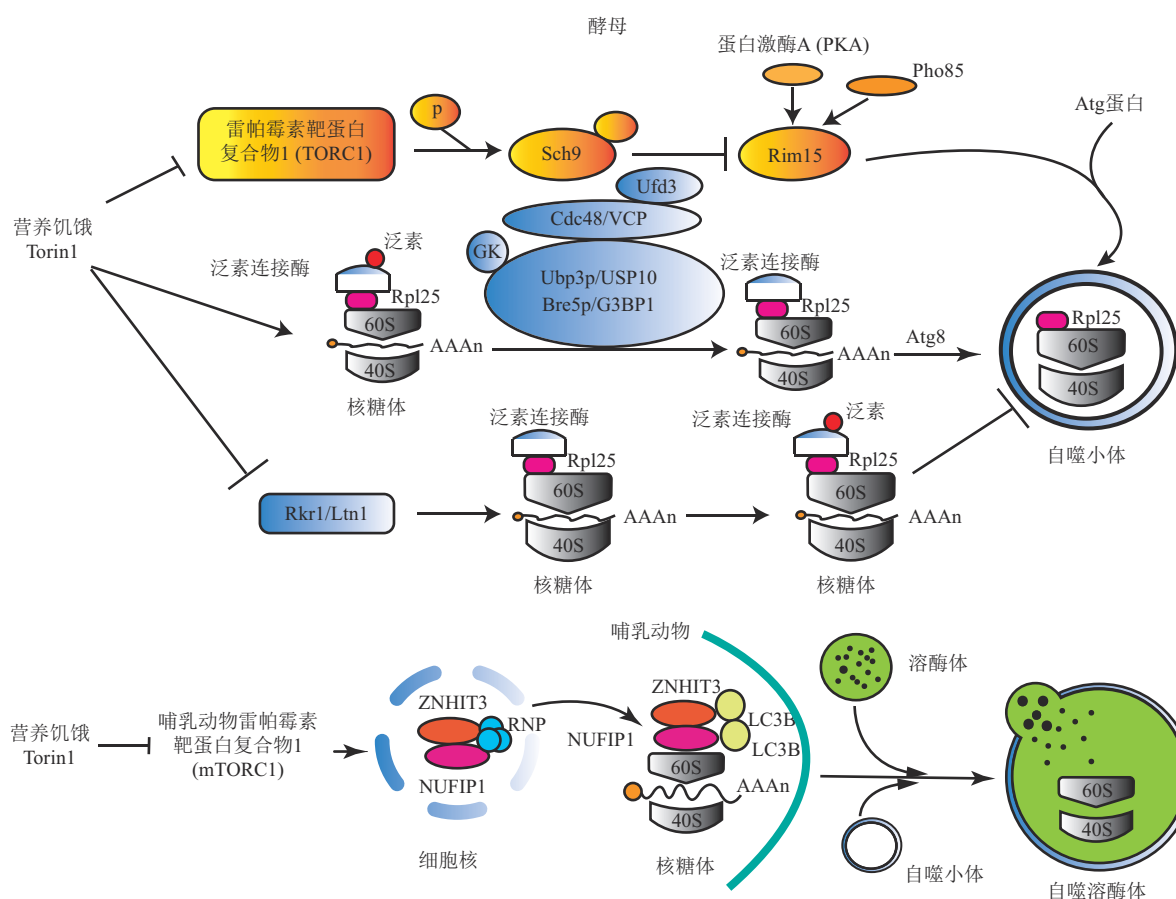


Fig. 2 Ribophagy in yeast and mammal

图2 酵母和哺乳动物的核糖体自噬

(LC3-interacting region, LIR) 与 LC3B 直接结合将核糖体招募至自噬小体内, 自噬小体与溶酶体融合形成自噬溶酶体, 最终将核糖体输送至自噬溶酶体中降解。研究证实, NUFIP1 缺陷或其 LIR 序列突变均会降低细胞在饥饿时的生存能力^[35-36]。

可见, 真核细胞在营养限制的条件下, 一方面迅速关闭核糖体的生物合成及蛋白质翻译, 以减少能量消耗, 另一方面通过核糖体自噬途径降解数量过剩的核糖体, 为构建和维持胞内蛋白质稳态奠定物质基础。此外, 核糖体自噬在清除无功能或错误组装核糖体中也发挥了重要作用, 进而为蛋白质正确翻译提供保证。

3 核糖体相关质量控制与核糖体自噬相互作用关系及其与人类重大疾病的关系

RQC 与核糖体自噬在细胞应激条件下调整核糖体容量及维持蛋白质稳态中发挥协同作用, 新近

研究表明两者之间是通过 G3BP1-家族-USP10 去泛素化酶复合物 (G3BP1-family-USP10 deubiquitinase complex) 的功能紧密联系^[37]。近年来在 RQC 途径中 60S 亚基循环方面的研究中取得了显著进展, 但尚未充分阐明停滞核糖体 40S 亚基的命运。既往研究表明, 核糖体碰撞后 E3 泛素连接酶 ZNF598 识别碰撞核糖体间的构象改变, 并对 40S 亚基调控位点 RPS10 和 RPS20 进行特异性单泛素化修饰以启动 RQC 途径。新近资料表明, 在 RQC 途径中 ZNF598 还可特异性地单泛素化 RPS2 以及 RPS3, 使 40S 亚基靶向溶酶体降解, 并伴随 60S 亚基的降解以平衡大小亚基比例。而 G3BP1-家族-USP10 去泛素化酶复合物可通过去泛素化作用逆转上述过程, 使 40S 亚基在翻译过程中被重复利用, 有利于节约核糖体生物合成所需的能量。基于此, 有学者认为应将 40S 亚基去泛素化及循环过程也纳入 RQC 定义范畴。饥饿条件下 G3BP1-家族-USP10 去泛素化酶复合物在酵母细胞中的同源

物Ubp3-Bre5可通过去泛素化Rpl25激活核糖体自噬,降解结构和功能异常的核糖体及数量过剩的核糖体,使核糖体含量降低,以应对应激环境,有利于细胞存活。此外,RQC途径降解停滞的mRNA导致细胞整体mRNA含量降低,与核糖体自噬途径的协同作用使翻译水平与饥饿状态相适应,在维持细胞内蛋白质稳态中发挥重要作用。值得一提的是,RQC途径中mRNA监测过程的分子机制,包括异常mRNA或翻译缺陷核糖体的检测,停滞核糖体的分离,以及异常mRNA和新生多肽的降解也是近年的研究热点。

核糖体自噬与RQC还存在另外两个共同参与者,即E3泛素连接酶Ltn1/Listerin和ATP酶Cdc48/VCP及其辅因子,两者既参与了核糖体自噬过程,也在RQC中发挥重要作用,是否为RQC与核糖体自噬间的桥梁及两者在RQC与核糖体自噬中的相互调控机制还需深入探讨。由此可见,RQC与核糖体自噬存在紧密联系,两者在维持核糖体质量和数量与环境相适应及蛋白质稳态中的协同效应值得进一步探究。

核糖体自噬与RQC在维持细胞内蛋白质稳态中发挥重要作用,是PQC的关键环节。PQC的缺陷可引发蛋白质稳态失衡和毒性蛋白质积聚,与多种细胞和组织功能障碍有关,统称为蛋白质病^[2]。PQC缺陷是神经退行性变的一个显著标志,而RQC作为新定义的一种PQC在维持细胞蛋白质稳态中发挥关键调控作用。RQC功能异常将导致停滞核糖体产生的多肽被错误折叠,后者形成不同类型的聚集体,诱发细胞毒性反应进而影响细胞正常功能。RQCc核心成分突变引起的失活可能是神经退行性疾病、神经精神性疾病发生和进展的潜在机制^[38-40]。例如, Listnerin和GTPBP2突变均会导致小鼠的神经退行性变^[38, 41]。然而,两者神经退行性变的部位并不相同:神经元丢失主要见于Listnerin突变小鼠的脊髓,而在GTPBP2突变小鼠中神经元丢失主要见于动物大脑皮层和视网膜。Martin等^[42]通过构建NEMF缺陷小鼠模型观察到,突变小鼠进行性神经元轴突变性造成其运动神经元进行性退化、肌肉神经源性萎缩以及运动障碍。随后通过统计来自7例青少年神经肌肉疾病家系中的9个病例发现,他们家族均具有NEMF突变的神经肌肉表型。此外,NEMF变异的患者还表现出智力障碍,其最显著的临床特点为言语延迟。同样,GTPBP2突变会诱发Jabi-Elahi综合征,这是一种

以肌张力障碍、运动和感觉神经病变、共济失调和认知障碍为特征的早期神经退行性病变^[43-45]。亨廷顿病(Huntington disease, HD)是一种罕见的神经退行性疾病,是由亨廷顿蛋白外显子1(Huntingtin exon 1, Httex1) CAG三核苷酸基因扩增突变引起的一种难以治愈的致死性疾病。该突变导致亨廷顿蛋白(Huntingtin, Htt) N端的聚谷氨酰胺(poly-glutamine, PolyQ)序列扩增,当超过阈值即35个重复PolyQ序列,Htt则极易在胞内聚集,从而引起HD相关临床表现。Htt在疾病进展过程中积聚于包涵体中,是亨廷顿病的一个重要病理特征^[46]。最近Yang等^[47]通过高通量显微镜(high content microscopy, HCM)系统确定了Httex1包涵体形成的一种形式,即103Q。103Q是富含脯氨酸的103个重复PolyQ序列的野生型Htt。进一步分析证实,RQC机制是Httex1-103Q核质分布的关键因素。而RQC基因Ltn1或Rqc1的缺陷则诱导Httex1-103Q在细胞核内积累,从而增强其细胞毒性,与HD的发生发展密切相关,提示RQC在使神经元细胞免受编码PolyQ序列扩增突变产生的不利影响方面发挥重要作用^[48]。以上资料表明,RQC可能是保护神经元免受退行性变的关键途径,其缺陷与人类疾病特别是神经退行性疾病的发生发展密切相关。

核糖体作为细胞内数量最多的细胞器以及蛋白质合成的重要场所,其数目、结构和功能异常将造成细胞内蛋白质稳态失衡,并通过多种途径诱发细胞功能异常,参与人类疾病的发生发展过程。最近研究发现人类细胞中存在核糖体自噬现象^[1],且核糖体自噬在维持核糖体数目与环境相适应以及清除结构和功能异常的核糖体方面具有重要意义,有利于细胞在应激状态下存活。研究表明,核糖体自噬途径参与了小脑浦肯野细胞神经退行性变^[49]。越来越多证据显示,核糖体自噬参与神经系统疾病的发生与发展过程^[50]。许多资料进一步提示,内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ERS)在脑卒中发病机制中具有重要意义,减轻神经元中内质网应激的过度激活能产生显著神经保护效应。缓解过度内质网应激有利于减轻神经元细胞损伤,可减少由于内质网应激过度所致神经元细胞凋亡^[50]。临床前研究证实,上调核糖体自噬对新生儿缺血缺氧具有神经保护作用^[51]。其机制一方面可能是通过激活核糖体自噬活性以降低新生儿缺血缺氧后神经元的内质网应激,另一方面则与核糖体生物合成

和蛋白质翻译减少从而使神经元细胞保存更多能量应对损伤有关。上述研究表明,增强核糖体自噬可能通过减少未折叠或错误折叠蛋白在内质网腔内聚积以缓解内质网应激,从而有利于细胞在应激环境下存活,对于改善脑卒中患者预后具有潜在价值。

既往核糖体自噬研究主要集中在酵母细胞,鉴于核糖体自噬在物种间的高度保守性,哺乳动物核糖体自噬关键受体的发现,可能成为哺乳动物核糖体自噬研究的突破口。哺乳动物核糖体自噬关键受体NUFIP1是基因编码的一种核质RNA结合蛋白,该蛋白质含有一个C2H2锌指结构域和一个核定位信号^[52],因其在脑中优势表达及其在中枢神经系统发育中的潜在作用而受到广泛关注^[53]。NUFIP1缺失患者神经异常症状提示它在正常神经元发育中具有重要作用^[54]。研究发现,NUFIP1通过与脆性X智力低下蛋白(fragile X mental retardation protein, FMRP)相互作用参与调节突触部位的局部蛋白质合成^[55]。鉴于NUFIP1在突触可塑性中的重要地位,NUFIP1可能成为筛查智力低下患者的候选基因^[53]。有学者对转移性神经母细胞瘤进行大规模转录组测序证实,肿瘤细胞中存在NUFIP1基因突变。且在测序数据中检测到突变等位基因的表达分数>30%,提示这些突变基因可能具有潜在致癌效应^[54]。对墨西哥儿童急性淋巴细胞白血病融合基因的鉴定研究中发现,融合基因ETV6-NUFIP1可能参与了这种疾病的发病机制^[52]。此外,有资料对韩国成年人骨密度相关基因多态性与肥胖之间的相关性进行研究,观察到编码NUFIP1的rs17066364单核苷酸多态性与肥胖有关,主要与体重指数和腹部特征即腰围显著相关^[56]。尽管NUFIP1与肥胖之间的确切关系有待澄清,但患有脆性X综合征的男性幼童表现出体重增加的倾向。以上资料提示,NUFIP1作为哺乳动物核糖体自噬关键受体,其本身与智力低下、肿瘤发生、代谢性疾病密切相关,但NUFIP1介导的核糖体自噬在以上疾病发生发展中的地位和机制亟待阐明,NUFIP1介导核糖体自噬可能为诊治人类主要疾病提供新思路。

核糖体作为维持蛋白质稳态不可或缺的细胞器,从生物合成到降解均受到各种质量控制机制的严密调控。核糖体结构和功能障碍及质量控制机制障碍都将极大地影响细胞命运,从而导致多种核糖体相关疾病的发生发展,包括先天性疾病、神经系统疾病和恶性肿瘤。RQC和核糖体自噬作为新近

发现的两种核糖体相关的PQC机制,既往研究主要集中在酵母细胞中,而在哺乳动物模型中的研究还处于起步阶段,加强该领域的研究将为包括神经变性和肿瘤发生在内的多个领域提供新的治疗策略。

4 问题与展望

从2008年核糖体自噬的发现到2012年RQC概念的提出,对核糖体的研究工作取得了令人瞩目的进展。核糖体自噬和RQC在维持核糖体质量与数量稳定以及确保蛋白质正确翻译中发挥重要作用,并证明它们与人类多种疾病发生发展密切相关。然而,该领域的研究处于起步阶段,一系列重要科学问题亟待解决,主要包括以下方面。a. 编码哺乳动物核糖体自噬关键受体NUFIP1基因突变在上述多种人类重大疾病的发生发展中具有重要意义,而NUFIP1介导的核糖体自噬是否参与以上疾病的发病过程有待进一步澄清。根据既往研究推测NUFIP1介导的核糖体自噬可能是通过改变核糖体池组成及对蛋白质翻译产生影响进而参与神经退行性变及肿瘤发生过程。b. RQC与核糖体自噬具有多个共同组分,包括G3BP1-家族-USP10去泛素化酶复合物、E3泛素连接酶Ltn1/Listerin和ATP酶Cdc48/VCP及其辅因子。它们均既参与了核糖体自噬过程,也在RQC中发挥关键效应,这提示核糖体自噬与RQC存在紧密联系,但具体相互作用关系还有待进一步研究阐明。根据目前研究推测,E3泛素连接酶Ltn1可能成为两者间相互作用的桥梁,而调控该酶活性可作为调节核糖体相关蛋白质质量控制的潜在靶点。c. 相对于原核细胞,真核细胞拥有更多的细胞器,细胞器之间存在密切联系,RQC和核糖体自噬是否通过细胞器之间密切联系进而调控基因表达、细胞凋亡、应激反应和癌症发生有待研究。核糖体与线粒体及内质网关系尤为密切。近年来,对于内质网RQC及线粒体RQC的研究表明,RQC在维持内质网和线粒体结构和功能中发挥重要作用,而后者是构建细胞内稳态的关键。已有研究表明,核糖体自噬可能通过调控过度的内质网应激反应影响细胞凋亡。对以上这些问题的答案的探索将进一步加深对这两个基本细胞生物学过程的理解,并深刻认识RQC障碍和核糖体自噬缺陷与人类重大疾病发生发展的内在关系。值得指出的是,以核糖体为靶点,增强或减弱核糖体自噬可能在不同疾病的发生发展中具有潜在防治作

用, 监控 RQC 异常细胞促进其凋亡或从基因层面改变其基因型可能是干预某些蛋白质病的有效手段。有鉴于此, 加强核糖体自噬和 RQC 的主要障碍机制和关键调控环节研究, 将为探索多种人类相关疾病的治疗策略提供新思路、开辟新途径。

参 考 文 献

- [1] Beese C J, Brynjólfssdóttir S H, Frankel L B. Selective autophagy of the protein homeostasis machinery: ribophagy, proteaphagy and ER-phagy. *Front Cell Dev Biol*, 2020, **21**(7): 373
- [2] Schneider K, Bertolotti A. Surviving protein quality control catastrophes: from cells to organisms. *J Cell Sci*, 2015, **128**(21): 3861-3869
- [3] Kostova K. Ribosome-associated quality control: how cells defect and cope with failed translation reactions. *Chin J Biochem Mol Biol*, 2020, **36**(5): 481-487
- [4] Kraft C, Deplazes A, Sohrmann M, *et al.* Mature ribosomes are selectively degraded upon starvation by an autophagy pathway requiring the Ubp3p/Bre5p ubiquitin protease. *Nat Cell Biol*, 2008, **10**(5): 602-610
- [5] Li W, He P, Huang Y, *et al.* Selective autophagy of intracellular organelles: recent research advances. *Theranostics*, 2021, **11**(1): 222-256
- [6] Joazeiro C A P. Mechanisms and functions of ribosome-associated protein quality control. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2019, **20**(6): 368-383
- [7] Joazeiro C A P. Ribosomal stalling during translation: providing substrates for ribosome-associated protein quality control. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2017, **33**: 343-368
- [8] Wu C C, Peterson A, Zinshteyn B, *et al.* Ribosome collisions trigger general stress responses to regulate cell fate. *Cell*, 2020, **182**(2): 404-416.e14
- [9] Simms C L, Yan L L, Zaher H S. Ribosome collision is critical for quality control during No-Go decay. *Mol Cell*, 2017, **68**(2): 361-373.e5
- [10] Cole S E, LaRiviere F J, Merrih C N, *et al.* A convergence of rRNA and mRNA quality control pathways revealed by mechanistic analysis of nonfunctional rRNA decay. *Mol Cell*, 2009, **34**(4): 440-450
- [11] Juszkievicz S, Chandrasekaran V, Lin Z, *et al.* ZNF598 is a quality control sensor of collided ribosomes. *Mol Cell*, 2018, **72**(3): 469-481.e7
- [12] 杨慧, 李毅夫, 刘佳. 线粒体核糖体翻译质量控制系统与疾病. *中国生物化学与分子生物学报*, 2021, **37**(9): 1174-1179
Yang H, Li Y F, Liu J. *Chin J Biochem Mol Biol*, 2021, **37**(9): 1174-1179
- [13] Young D J, Guydosh N R, Zhang F, *et al.* Rli1/ABCE1 recycles terminating ribosomes and controls translation reinitiation in 3'UTRs *in vivo*. *Cell*, 2015, **162**(4): 872-884
- [14] Sitron C S, Brandman O. Detection and degradation of stalled nascent chains *via* ribosome-associated quality control. *Annu Rev Biochem*, 2020, **89**(1): 417-442
- [15] Lafontaine D L. A 'garbage can' for ribosomes: how eukaryotes degrade their ribosomes. *Trends Biochem Sci*, 2010, **35**(5): 267-277
- [16] Shao S, Brown A, Santhanam B, *et al.* Structure and assembly pathway of the ribosome quality control complex. *Mol Cell*, 2015, **57**(3): 433-444
- [17] Defenouillère Q, Zhang E, Namane A, *et al.* Rqc1 and Ltn1 prevent C-terminal alanine-threonine tail (CAT-tail) -induced protein aggregation by efficient recruitment of Cdc48 on stalled 60S subunits. *J Biol Chem*, 2016, **291**(23): 12245-12253
- [18] Zurita Rendón O, Fredrickson E K, Howard C J, *et al.* Vms1p is a release factor for the ribosome-associated quality control complex. *Nat Commun*, 2018, **9**(1): 2197
- [19] Kuroha K, Zinoviev A, Hellen C U T, *et al.* Release of ubiquitinated and non-ubiquitinated nascent chains from stalled mammalian ribosomal complexes by ANKZF1 and Ptrh1. *Mol Cell*, 2018, **72**(2): 286-302.e8
- [20] Su T, Izawa T, Thoms M, *et al.* Structure and function of Vms1 and Arb1 in RQC and mitochondrial proteome homeostasis. *Nature*, 2019, **570**(7762): 538-542
- [21] Lytvynenko I, Paternoga H, Thrün A, *et al.* Alanine tails signal proteolysis in bacterial ribosome-associated quality control. *Cell*, 2019, **178**(1): 76-90.e22
- [22] Thrün A, Garzia A, Kigoshi-Tansho Y, *et al.* Convergence of mammalian RQC and C-end rule proteolytic pathways *via* alanine tailing. *Mol Cell*, 2021, **81**(10): 2112-2122.e7
- [23] Desai N, Yang H, Chandrasekaran V, *et al.* Elongational stalling activates mitoribosome-associated quality control. *Science*, 2020, **370**(6520): 1105-1110
- [24] Warner J R. The economics of ribosome biosynthesis in yeast. *Trends Biochem Sci*, 1999, **24**(11): 437-440
- [25] Klinge S, Woolford J L. Ribosome assembly coming into focus. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2019, **20**(2): 116-131
- [26] An H, Harper J W. Ribosome abundance control *via* the ubiquitin-proteasome system and autophagy. *J Mol Biol*, 2020, **432**(1): 170-184
- [27] Wyant G A, Abu-Remaileh M, Frenkel E M, *et al.* NUFIP1 is a ribosome receptor for starvation-induced ribophagy. *Science*, 2018, **360**(6390): 751-758
- [28] Kazibwe Z, Liu A Y, MacIntosh G C, *et al.* The ins and outs of autophagic ribosome turnover. *Cells*, 2019, **8**(12): 1603
- [29] Kraft C, Peter M. Is the Rsp5 ubiquitin ligase involved in the regulation of ribophagy? *Autophagy*, 2008, **4**(6): 838-840
- [30] Ossareh-Nazari B, Bonizet M, Cohen M, *et al.* Cdc48 and Ufd3, new partners of the ubiquitin protease Ubp3, are required for ribophagy. *EMBO Rep*, 2010, **11**(7): 548-554
- [31] Ossareh-Nazari B, Niño C A, Bengtson M H, *et al.* Ubiquitylation by the Ltn1 E3 ligase protects 60S ribosomes from starvation-induced selective autophagy. *J Cell Biol*, 2014, **204**(6): 909-917
- [32] Bengtson M H, Joazeiro C A. Role of a ribosome-associated E3 ubiquitin ligase in protein quality control. *Nature*, 2010,

- 467(7314):470-473
- [33] Tatehashi Y, Watanabe D, Takagi H. γ -Glutamyl kinase is involved in selective autophagy of ribosomes in *Saccharomyces cerevisiae*. *FEBS Lett*, 2016, **590**: 2906-2914
- [34] Waliullah T M, Yeasmin A M, Kaneko A, *et al.* Rim15 and Sch9 kinases are involved in induction of autophagic degradation of ribosomes in budding yeast. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2017, **81**(2): 307-310
- [35] Abdrakhmanov A, Gogvadze V, Zhivotovsky B. To eat or to die: deciphering selective forms of autophagy. *Trends Biochem Sci*, 2020, **45**(4): 347-364
- [36] Shim M S, Nettesheim A, Hirt J, *et al.* The autophagic protein LC3 translocates to the nucleus and localizes in the nucleolus associated to NUFIP1 in response to cyclic mechanical stress. *Autophagy*, 2020, **16**(7): 1248-1261
- [37] Meyer C, Garzia A, Morozov P, *et al.* The G3BP1-family-USP10 deubiquitinase complex rescues ubiquitinated 40S subunits of ribosomes stalled in translation from lysosomal degradation. *Mol Cell*, 2020, **77**(6): 1193-1205.e5
- [38] Ishimura R, Nagy G, Dotu I, *et al.* RNA function. Ribosome stalling induced by mutation of a CNS-specific tRNA causes neurodegeneration. *Science*, 2014, **345**(6195): 455-459
- [39] Krumm N, Turner T N, Baker C, *et al.* Excess of rare, inherited truncating mutations in autism. *Nat Genet*, 2015, **47**(6): 582-588
- [40] Thyme S B, Pieper L M, Li E H, *et al.* Phenotypic landscape of schizophrenia-associated genes defines candidates and their shared functions. *Cell*, 2019, **177**(2): 478-491.e20
- [41] Chu J, Hong NA, Masuda CA, *et al.* A mouse forward genetics screen identifies LISTERIN as an E3 ubiquitin ligase involved in neurodegeneration. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, **106**(7): 2097-2103
- [42] Martin P B, Kigoshi-Tansho Y, Sher R B, *et al.* NEMF mutations that impair ribosome-associated quality control are associated with neuromuscular disease. *Nat Commun*, 2020, **11**(1): 4625
- [43] Bertoli-Avella A M, Garcia-Aznar J M, Brandau O, *et al.* Biallelic inactivating variants in the GTPBP2 gene cause a neurodevelopmental disorder with severe intellectual disability. *Eur J Hum Genet*, 2018, **26**(4): 592-598
- [44] Carter M T, Venkateswaran S, Shapira-Zaltsberg G, *et al.* Clinical delineation of GTPBP2-associated neuro-ectodermal syndrome: report of two new families and review of the literature. *Clin Genet*, 2019, **95**(5): 601-606
- [45] Jaber E, Rohani M, Shahidi G A, *et al.* Identification of mutation in GTPBP2 in patients of a family with neurodegeneration accompanied by iron deposition in the brain. *Neurobiol Aging*, 2016, **38**: 216.e11-216.e218
- [46] Ormsby A R, Cox D, Daly J, *et al.* Nascent mutant Huntingtin exon 1 chains do not stall on ribosomes during translation but aggregates do recruit machinery involved in ribosome quality control and RNA. *PLoS One*, 2020, **15**(7): e0233583
- [47] Yang J, Hao X, Cao X, *et al.* Spatial sequestration and detoxification of Huntingtin by the ribosome quality control complex. *eLife*, 2016, **5**: e11972
- [48] Zheng J, Yang J, Choe Y J, *et al.* Role of the ribosomal quality control machinery in nucleocytoplasmic translocation of polyQ-expanded huntingtin exon-1. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, **493**(1): 708-717
- [49] Baltanás F C, Casafont I, Weruaga E, *et al.* Nucleolar disruption and cajal body disassembly are nuclear hallmarks of DNA damage-induced neurodegeneration in purkinje cells. *Brain Pathol*, 2011, **21**(4): 374-388
- [50] Xu W, Ocak U, Gao L, *et al.* Selective autophagy as a therapeutic target for neurological diseases. *Cell Mol Life Sci*, 2021, **78**(4): 1369-1392
- [51] Carloni S, Albertini M C, Galluzzi L, *et al.* Increased autophagy reduces endoplasmic reticulum stress after neonatal hypoxia-ischemia: role of protein synthesis and autophagic pathways. *Exp Neurol*, 2014, **255**: 103-112
- [52] Mata-Rocha M, Rangel- López A, Jiménez-Hernández E, *et al.* Identification and characterization of novel fusion genes with potential clinical applications in Mexican children with acute lymphoblastic leukemia. *Int J Mol Sci*, 2019, **20**(10): 2394
- [53] Caselli R, Speciale C, Pescucci C, *et al.* Retinoblastoma and mental retardation microdeletion syndrome: clinical characterization and molecular dissection using array CGH. *J Hum Genet*, 2007, **52**(6): 535-542
- [54] Wei J S, Johansson P, Chen L, *et al.* Massively parallel sequencing reveals an accumulation of *de novo* mutations and an activating mutation of LPAR1 in a patient with metastatic neuroblastoma. *PLoS One*, 2013, **8**(10): e77731
- [55] Bardoni B, Willemsen R, Weiler I, *et al.* NUFIP1 (nuclear FMRP interacting protein 1) is a nucleocytoplasmic shuttling protein associated with active synaptoneurosome. *Exp Cell Res*, 2003, **289**(1): 95-107
- [56] Cha S, Yu H, Kim J Y. Bone mineral density-associated polymorphisms are associated with obesity-related traits in Korean adults in a sex-dependent manner. *PLoS One*, 2012, **7**(12): e53013

Update Advances in Ribosome-associated Quality Control and Ribophagy*

ZHENG Li-Yu^{1,2)**}, YAO Ren-Qi^{1,3)**}, YAO Yong-Ming^{1)***}

⁽¹⁾Translational Medicine Research Center, Medical Innovation Research Division of the Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China;

⁽²⁾Emergency Department, the First Affiliated Hospital of Wenzhou Medical University, Wenzhou 325015, China;

⁽³⁾Department of Burn Surgery, Changhai Hospital of Naval Medical University, Shanghai 200433, China)

Abstract The intracellular protein constantly remains in the dynamic process of synthesis and degradation, and its homeostasis appears to be closely related to the cellular function. A variety of protein quality control (PQC) mechanisms exist to monitor abnormalities occurred during protein synthesis and degradation, thereby ensuring proteome integrity and cellular fitness. The ribosome is the most abundant organelle in cells, and it is the major site for protein synthesis, for which each stage from biosynthesis to degradation is tightly controlled by various quality control mechanisms. Ribosome-associated quality control (RQC) and ribophagy are identified as two major ribosome-associated PQC mechanisms that synergistically involve in the maintenance of translational function and protein homeostasis. Also, they represent key players in adjusting ribosome content and translational activity for the changing environment, in turn facilitating cell survival under stress conditions. The dysregulation of RQC and ribophagy malfunction can substantially alter cellular fate and render cell death, resulting in the onset and development of various ribosomopathies, including congenital diseases, neurological diseases, and malignant tumors. Targeting ribosomal dysfunction by restoring effective ribosome-associated PQC may serve as potential remedy in treating ribosomopathies. The current review focuses on ribosomal-associated PQC with in-depth discussion regarding to the key roles of these pathways for the maintenance of protein homeostasis as well as their potential effects on the development of various human diseases.

Key words ribosome-associated quality control, ribophagy, protein homeostasis

DOI: 10.16476/j.pibb.2021.0270

* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (82130062, 81730057).

** These authors contributed equally to this work.

*** Corresponding author.

Tel: 86-10-66867394, E-mail: c_ff@sina.com

Received: September 10, 2021 Accepted: December 27, 2021