



多聚谷氨酰胺延伸蛋白募集细胞内 转录因子及对基因转录调控的影响*

张祥乐 胡红雨**

(中国科学院分子细胞卓越创新中心/上海生物化学与细胞生物学研究所, 上海 200031)

摘要 多聚谷氨酰胺 (polyglutamine, PolyQ) 疾病是由特定基因序列中 CAG 三核苷酸的不稳定重复扩增所引发的一类神经退行性疾病。至今已发现 9 种类型的 PolyQ 疾病, 其中多数疾病的致病蛋白质在转录调控中发挥着重要的病理作用。PolyQ 蛋白中谷氨酰胺的异常重复延伸会引发蛋白质错误折叠并在细胞中积聚形成包涵体。积聚的蛋白质可通过自身结构域、泛素修饰和 RNA 等介导的相互作用, 有效地募集细胞内的转录因子、泛素接头或受体蛋白, 以及分子伴侣等组分到包涵体中。这些组分在细胞中的可溶性比例减少, 使得机体内的转录调控系统功能受损, 造成转录失调从而诱发疾病。因此, 研究异常延伸的 PolyQ 蛋白对细胞内转录因子及其他组分的募集作用, 可在分子水平上解释神经退行性疾病的发病机制, 从而为临床应用提供潜在的预防和治疗方法。

关键词 多聚谷氨酰胺疾病, 多聚谷氨酰胺蛋白, 蛋白质积聚, 募集作用, 转录因子, 转录失调

中图分类号 Q5, Q2

DOI: 10.16476/j.pibb.2023.0066

多聚谷氨酰胺 (polyglutamine, PolyQ) 延伸类疾病是神经退行性疾病中较为常见的一类疾病, 这类疾病具有一些共同的特征: 在基因序列上发生 CAG 三核苷酸的异常重复扩增, 导致表达的蛋白质序列出现谷氨酰胺异常重复延伸; CAG 的异常重复达到一定的阈值 (一般大于 35) 才能表现出相关的临床症状; CAG 重复序列越长, 发病的速度越快; CAG 重复长度在遗传上是不稳定的。其中, 亨廷顿病 (Huntington disease, HD) 是多聚谷氨酰胺疾病中研究最多, 也是较为常见的疾病。对亨廷顿病的研究发现, 神经系统的衰退主要发生在患者大脑的纹状体和大脑深皮层处, 其表现出来的临床症状是认知障碍、精神紊乱和运动失调^[1]。致病的亨廷顿蛋白 (huntingtin, Htt) 中多聚谷氨酰胺区域的异常重复延伸, 导致蛋白质错误折叠、降解受阻, 并在细胞内大量积聚产生有毒性的包涵体, 被认为是致病的原因之一^[2]。

已经报道有 9 个蛋白质与多聚谷氨酰胺延伸类疾病相关, 其中多数在转录调控中发挥着重要作用

(图 1, 本文重点放在 PolyQ 蛋白对转录方面的调控, 所以只画出与转录调控相关的 6 个 PolyQ 蛋白)。例如, Htt 可通过谷氨酰胺依赖的方式与 DNA 相互作用, 并改变 mRNA 的表达谱, 它还可竞争性地结合转录因子与 DNA 上的启动子元件, 抑制基因的表达^[3]。PolyQ 蛋白中谷氨酰胺异常延伸所形成的包涵体, 可通过“劫持”细胞内的其他组分, 导致该组分在细胞中可溶性比例减少, 进而影响其生物学功能的发挥^[4]。异常延伸的 PolyQ 蛋白对转录因子的募集往往会导致机体内出现严重的转录失调, 而转录失调与疾病的发生密切相关。因此, 研究异常延伸的 PolyQ 蛋白对细胞中转录因子的募集作用 (sequestration), 对于阐释 PolyQ 疾病的发病机制并提供潜在的临床治疗方案具有重要意义。

* 国家自然科学基金 (31870764) 资助项目。

** 通讯联系人。

Tel: 021-54921121, E-mail: hyhu@sibcb.ac.cn

收稿日期: 2023-03-01, 接受日期: 2023-04-12

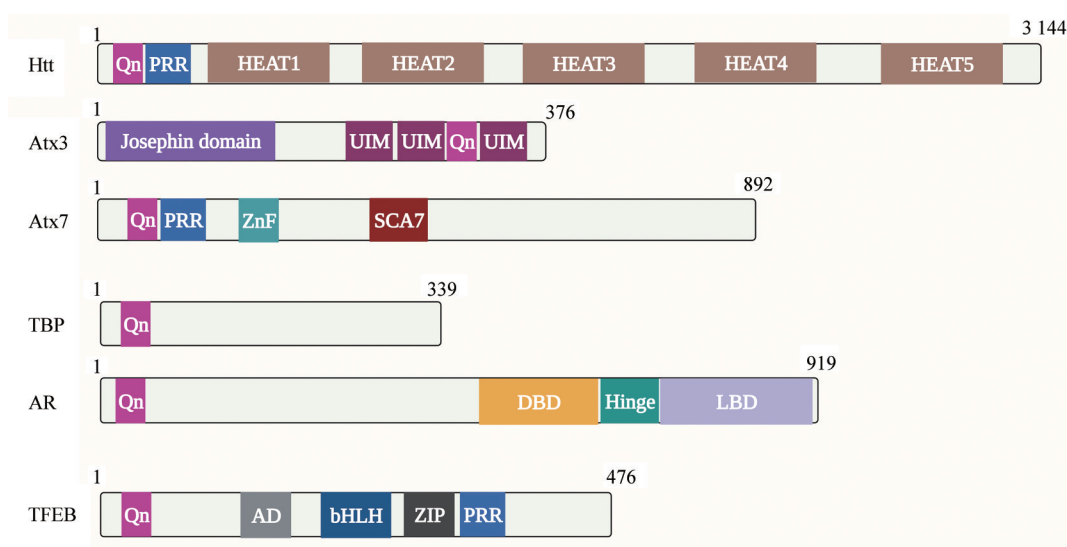


Fig. 1 Schematic representation of sequences and domains of the polyQ proteins associated with gene transcription regulation

图1 几种与基因转录调控相关的PolyQ蛋白的序列和结构域示意图

Qn: 多聚谷氨酰胺序列; PRR: 脯氨酸丰富区; HEAT1~5: HEAT重复序列; Josephin domain: 去泛素化酶催化结构域; UIM: 泛素相互作用模块; ZnF: 锌指结构域; SCA7: SCA7结构域; DBD: DNA结合模块; Hinge: 铰链区结构; LBD: 配体结合模块; AD: 激活域; bHLH: 螺旋-环-螺旋; ZIP: 亮氨酸拉链结构域。其中, 转录因子TFEB虽然含有PolyQ序列, 但未见报道有直接的致病性。

1 多聚谷氨酰胺蛋白积聚的募集作用及致病性

目前已经报道的PolyQ疾病有9种, 包括亨廷顿病、脊髓延髓肌萎缩症 (spinal bulbar muscular atrophy, SBMA)、齿状核红核苍白球丘脑下部核萎缩 (dentatorubral-pallidoluysian atrophy, DRPLA), 以及6种脊髓小脑共济失调症 (spinocerebellar ataxias, SCAs)。相比于正常情况, 病理状态下致病基因中的CAG三核苷酸重复次数均有成倍的增加^[5]。PolyQ异常延伸的蛋白质会发生错误折叠, 在细胞中主要以有毒的寡聚体、致密的包涵体, 以及与辅助蛋白质结合的单体三种方式存在, 而在PolyQ疾病患者的细胞和组织样本中, 均可观察到由PolyQ蛋白异常延伸并发生积聚所形成的包涵体。

1.1 多聚谷氨酰胺蛋白积聚的募集作用

细胞中包涵体的形成是一大类神经退行性疾病的共同特征, 这类疾病包括多聚谷氨酰胺疾病、帕金森病和阿尔茨海默病等。在包涵体内除了致病蛋白质外, 还有细胞中的其他组分, 包括泛素接头或受体蛋白、去泛素化酶以及分子伴侣 (molecular chaperone, MC) 等。异常延伸的PolyQ蛋白对这

些成分的募集, 主要是通过其自身结构域、泛素修饰和RNA等介导来实现的^[6]。

Ataxin-7 (Atx7) 是脊髓小脑共济失调症 VII型的致病蛋白质, 也是真核细胞SAGA乙酰转移酶复合物 (spt-ada-gcn5 acetyltransferase, SAGA) 的一个亚基。其N端含有PolyQ区域、脯氨酸丰富区 (proline-rich region, PRR), 随后是C2H2锌指结构域和SCA7结构域。其中, C2H2锌指结构域可结合泛素特异性蛋白酶 22 (ubiquitin-specific protease 22, USP22)。已有研究表明, PolyQ异常延伸的Atx7可通过该结构域将USP22募集到包涵体中^[4]。此外, 该蛋白质中的PRR序列可与R85FL的SH3 (Src homology 3 domain, SH3) 结构域相互作用, 在PolyQ异常延伸的Atx7形成的包涵体内, 也检测到R85FL的存在^[7]。亨廷顿病的致病蛋白Htt也具有脯氨酸丰富区, 研究发现, HYPA/HYPB蛋白可通过自身的WW结构域与Htt的脯氨酸丰富区相互作用, 进而被募集到由PolyQ异常延伸的Htt所形成的包涵体中^[8]。

Ataxin-3 (Atx3) 是脊髓小脑共济失调症 III型的致病蛋白质, 其C端具有3个能与泛素结合的结构域UIM (ubiquitin interacting motif)。PolyQ异常延伸的Htt与Atx3蛋白可通过泛素介导的相互作

用, 募集细胞中的内源性泛素接头蛋白——UBQLN2 和 hHR23B 到包涵体中^[9]。Atx3 也可通过自身的 VBM 模体 (VCP-binding motif) 将细胞中的含缬酪肽蛋白 (valosin-containing protein, VCP) 募集到包涵体内, 进而影响其下游基因 NEDD8 的生物学功能^[10]。VCP 主要定位在内质网、线粒体和细胞核中, 调控着内质网相关蛋白的降解、线粒体相关降解和自噬等过程。在亨廷顿病的小鼠模型中, 人们发现, PolyQ 异常延伸的 Htt 蛋白可将 VCP 选择性地募集到线粒体中, 而募集到线粒体中的 VCP 可导致线粒体的自噬途径受损^[11]。

1.2 多聚谷氨酰胺蛋白的致病性

生物体内稳态的维持主要依赖蛋白质质量控制系统, 该系统可用来平衡蛋白质的合成、折叠与降解。蛋白质质量控制主要由分子伴侣系统、泛素-蛋白酶体系统 (ubiquitin-proteasome system, UPS) 和自噬-溶酶体途径 (autophagy-lysosomal pathway, ALP) 三部分协同完成。分子伴侣系统在蛋白质的折叠、积聚和降解过程中均发挥一定的作用, 而泛素-蛋白酶体系统和自噬-溶酶体途径则可清除机体内错误折叠的蛋白质、受损的细胞器和病原体等^[12]。

蛋白质的合成起始于核糖体, 已有研究表明, 一些易积聚的蛋白质, 如 Tau 蛋白和 *C9orf72* 产物蛋白所形成的包涵体可以募集细胞中的核糖体, 这可能抑制蛋白质的翻译过程, 损害蛋白质的合成^[13-14]。新合成的多肽链往往需要分子伴侣的帮助才能完成正确折叠, 而在 PolyQ 蛋白形成的包涵体内发现了大量分子伴侣的存在。PolyQ 异常延伸的 Htt 蛋白可募集细胞中的分子伴侣 TRiC 和定位于内质网上的伴侣分子 DNAJB12 到包涵体内^[15-16], 并且其 N 端的 17 个氨基酸可结合 HSC70, 进而将 HSC70 募集到包涵体内^[17]。此外, 在 PolyQ 异常延伸的 Atx3 所形成的包涵体内, 也检测到伴侣蛋白 HSP70 的存在^[18]。这些分子伴侣在细胞中的可溶性比例减少, 会影响蛋白质质量控制系统中的折叠过程。

错误折叠的 Htt 突变体 (mHtt) 虽然发生了泛素化修饰, 但是并没有通过泛素-蛋白酶体系统被完全降解^[19]。在亨廷顿病患者的脑中, 人们发现了 K48 链接的泛素链堆积, 这是泛素-蛋白酶体系统紊乱的一种标志, 表明泛素-蛋白酶体系统的功能在亨廷顿病患者体内发生了障碍^[20]。在脊髓小

脑共济失调症 VII 型患者的病理样本中, 由 Atx7 N 端片段所形成的包涵体内也可以检测到蛋白酶体亚基 19S 的存在^[21]。同时, 异常延伸的 PolyQ 蛋白所形成的包涵体也会募集细胞中 P62/Sequestosome 1、Optineurin 等自噬相关蛋白^[22-23], 进而影响自噬过程。蛋白质质量控制系统中的这些必要组分被募集到包涵体内后, 会损害蛋白质质量控制系统的功能。而蛋白质质量控制失败往往会导致蛋白质形成病理性积聚物 (aggregates), 这可能是诱发 PolyQ 疾病的重要原因之一。

2 多聚谷氨酰胺蛋白对基因转录调控的影响

转录因子是指一类可通过自身结构域与基因启动子上的顺式作用元件结合, 并通过招募一系列辅助因子来保证基因以特定强度在特定时间、空间正常表达的一类蛋白质^[24]。PolyQ 疾病中的致病蛋白, 例如 Atx3、Atx7、Htt、TATA 结合蛋白 (TATA-binding protein, TBP) 和雄激素受体 (androgen receptor, AR), 均已被报道参与基因的转录调控 (图 1)。它们有的通过调控去泛素化模块 (deubiquitination module, DUBm) 来控制基因的表达, 如 Atx7 是 SAGA 复合物中去泛素化模块的重要组成亚基, 可调节去泛素化模块与核小体组蛋白 H2A/H2B 的结合。PolyQ 异常延伸的 Atx7 可减弱去泛素化模块与 H2B 的结合能力, 使得 H2B 的泛素化水平升高并下调 H2B 下游基因 *reelin* 的转录水平^[25]。有趣的是, 有两个 PolyQ 蛋白 (TATA 结合蛋白和雄激素受体) 本身就是转录因子, 它们可直接调控基因的转录表达。研究发现, 在 PolyQ 延伸蛋白所形成的包涵体内存在大量的转录因子^[26-28], 提示这些包涵体对细胞中转录因子及其他组分的募集作用, 可能会造成机体内的转录失调。

2.1 亨廷顿蛋白 (Htt) 对基因转录调控的影响

Htt 基因中的 PolyQ 区域在物种之间并不保守, 其自身除了可通过谷氨酰胺依赖的方式与 DNA 结合外, 还与许多转录因子存在相互作用, 例如 P53^[26]、Sp1 (specificity protein 1)^[27]、转录激活因子 CA150^[29]、转录抑制因子 C 端结合蛋白 (C-terminal binding protein, CtBP)^[30] 和辅助激活因子 TAFII130^[31] 等。

在亨廷顿病的小鼠模型中, PolyQ 异常延伸的 Htt 与 Sp1 相互作用明显增强, 进而将 Sp1 募集在

包涵体内。Sp1在细胞内的可溶性组分减少,可下调其下游基因的表达水平^[27]。P53作为一种转录因子,可通过调控DNA损伤、代谢与凋亡途径来抑制肿瘤的发生。研究发现,PolyQ异常延伸的Htt所形成的包涵体可募集细胞中的P53,这种募集作用可能会损害P53与E3连接酶MDM2的相互作用,进而提高了P53的稳定性^[26],这也解释了在亨廷顿病患者中较低的肿瘤发病率。

尽管细胞核被认为是影响基因表达的主要场所,但也有研究表明Htt能够调控定位于细胞质中含有神经元限制性沉默元件(neuronal restrictive silencer element, NRSE)基因的表达^[32]。神经元限制性沉默因子(neuron-restrictive silencer factor, NRSF)可结合到DNA上的神经元限制性沉默元件,抑制含有神经元限制性沉默元件的神经元特异性基因的转录,而神经元限制性沉默因子是维持正常脑功能不可或缺的因子^[33]。野生型的Htt能同神经元限制性沉默因子相互作用从而将其滞留在细胞质,而突变的Htt与神经元限制性沉默因子的结合能力减弱,使得本应滞留在细胞质中的神经元限制性沉默因子进入到细胞核内,进而抑制了脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)的表达,最终造成纹状体细胞的死亡^[34]。这也可能是亨廷顿病的诱发原因之一。

2.2 TATA结合蛋白(TBP)与基因的转录调控

TATA结合蛋白是真核基因转录所必需的,人源TBP蛋白在其N端包含一个PolyQ区域,在其C端包含一个高度保守的DNA结合区域。当PolyQ区域中的谷氨酰胺扩展到大于42个时,会导致脊髓小脑共济失调症17型疾病的发生^[35]。TBP作为一种通用的转录因子,在三种细胞核RNA聚合酶所介导的转录中起着重要作用^[36-37]。研究表明,N端PolyQ区域的延伸可能会改变TBP的构象,从而影响其与DNA的结合能力^[38]。PolyQ异常延伸的TBP会影响其与DNA和转录因子的结合,并导致机体内基因转录的失调。Liu等^[39]研究发现,转录因子Sp1在细胞中更容易结合PolyQ异常延伸的TBP蛋白,进而可被募集到TBP_{105Q}所形成的包涵体内,使得Sp1下游基因INPP5A的转录水平降低。在TBP_{105Q}小鼠模型中发现,转录因子TFIIB与TBP_{105Q}在细胞核中的包涵体存在共定位现象,被募集到包涵体内的TFIIB减少了其可溶性组分对Hspb1启动子的占用,进而导致hspb1转录水平下调,而hspb1的表达降低会抑制神经突生长,造成

一系列神经发育障碍^[40]。在TBP_{105Q}的小鼠模型中还发现,异常延伸的TBP与另一个细胞转录因子——核因子Y(nuclear factor Y, NF-Y)结合得更加紧密,并且NF-Y与位于细胞核的TBP_{105Q}包涵体存在共定位情况,表明TBP突变体可以募集NF-Y,从而降低NF-Y介导的伴侣蛋白的表达^[28]。

2.3 雄激素受体(AR)与基因的转录调控

脊髓延髓肌萎缩症疾病的致病蛋白AR既是一个转录因子,也是一个PolyQ蛋白。正常情况下,AR与分子伴侣HSP90、HSP70/HSC70结合定位于细胞质中。当AR与其配体二氢睾酮(dihydrotestosterone, DHT)结合后,细胞质中的AR与分子伴侣解离,随后进入细胞核并形成二聚体。AR二聚体与靶基因上的雄激素反应元件(androgen response element, ARE)结合激活下游基因的转录,进而调控细胞分化与组织器官的发育^[41]。

AR可与大约250种不同的蛋白质相互作用^[42]。该蛋白质的PolyQ区域位于N端结构域(N-terminal domain, NTD)中,PolyQ区域的异常延伸可引起N端结构域的结构发生变化,进而改变AR与其他蛋白质的相互作用,例如pax转录激活结构域相关蛋白(pax transactivation domain-interacting protein, PTIP)已被证实能与PolyQ异常延伸的AR相互作用,但与野生型AR没有相互作用^[43]。鉴于PTIP在DNA损伤修复中的作用,这种相互作用的改变也许会损害PTIP的正常生物学功能。相较于可溶性的野生型AR,PolyQ异常延伸的AR与细胞色素C氧化酶亚基Vb(cytochrome C oxidase subunit Vb, COXVb)的相互作用更强,突变的AR所形成的包涵体能与COXVb共定位^[44]。因此,COXVb被募集到由PolyQ异常延伸的AR所形成的包涵体中,可能是导致脊髓延髓肌萎缩症患者体内线粒体功能障碍的重要原因之一^[45]。转录因子EB(transcription factor EB, TFEB)是自噬-溶酶体途径中的重要调节因子,在阿尔茨海默病患者的脑组织样本中发现,定位于细胞核内的TFEB含量相较于正常组织显著降低,并且其减少量与病情程度呈正相关^[46]。随后研究发现,TFEB可通过与 α 突触核蛋白(α -synuclein, α -Syn)相互作用进而被募集到路易小体(Lewy bodies)中,被募集在细胞质中的TFEB无法入核,进而抑制了其下游基因的表达^[47]。在运动神经元细胞中,PolyQ异常延伸的

AR对于TFEB的募集作用, 会干扰TFEB的转录活性进而影响到细胞中的自噬流, 而过表达TFEB可挽救由于PolyQ异常延伸AR所引起的代谢和自噬流紊乱^[48]。MEF2 (myocyte enhancer factor 2) 是细胞中一个重要的转录因子, 可控制肌细胞的分化, 调控肌纤维的稳态。在脊髓延髓肌萎缩症疾病患者体内, 人们发现PolyQ异常延伸的AR可募集细胞中的MEF2到包涵体内, 进而降低MEF2下游基因的转录水平。同时, 在亨廷顿病的小鼠模型中发现, PolyQ异常延伸的Htt也可募集细胞中的MEF2^[49]。

PolyQ异常延伸的AR对转录因子TFEB与MEF2的募集作用, 可影响其生物学功能的正常发挥, 造成机体内的自噬流紊乱以及诱发骨骼肌萎缩症^[48-49]。有意思的是, TFEB的N端也含有一段PolyQ区域 (图1)。研究发现, PolyQ异常延伸的Htt可通过该区域与TFEB发生共积聚 (co-aggregation)^[50]; 而PolyQ异常延伸的AR对于TFEB的募集, 主要通过AR位于C端的配体结合结构域 (ligand binding domain, LBD) 来实现^[48]。

3 总结与展望

综上所述, 异常延伸的PolyQ蛋白所形成的包涵体可募集细胞中的多种成分, 包括但不限于泛素-蛋白酶体系统、自噬-溶酶体途径、分子伴侣系统和转录调控因子等组分。这种募集作用损害了机体内蛋白质的质量控制系统和基因表达调控系统, 使得错误折叠的蛋白质降解受阻并引发转录失调, 这可能是诱发PolyQ疾病的原因之一 (图2)。正常情况下, 细胞中新合成的多肽链在分子伴侣的协助下, 折叠形成有功能的蛋白质, 包括文中提到的各种转录因子。正确折叠的转录因子进入细胞核并结合在下游基因的启动子区域, 从而调控基因的表达; 而错误折叠的蛋白质可被泛素化修饰并经泛素-蛋白酶体系统降解。在病理情况下, PolyQ异常延伸的蛋白质形成了积聚物并募集细胞中的泛素、分子伴侣、转录因子、泛素接头或受体蛋白等组分, 造成这些组分在细胞中的可溶性比例减少, 正确折叠的转录因子进入细胞核的数量降低, 从而影响下游基因的表达水平。

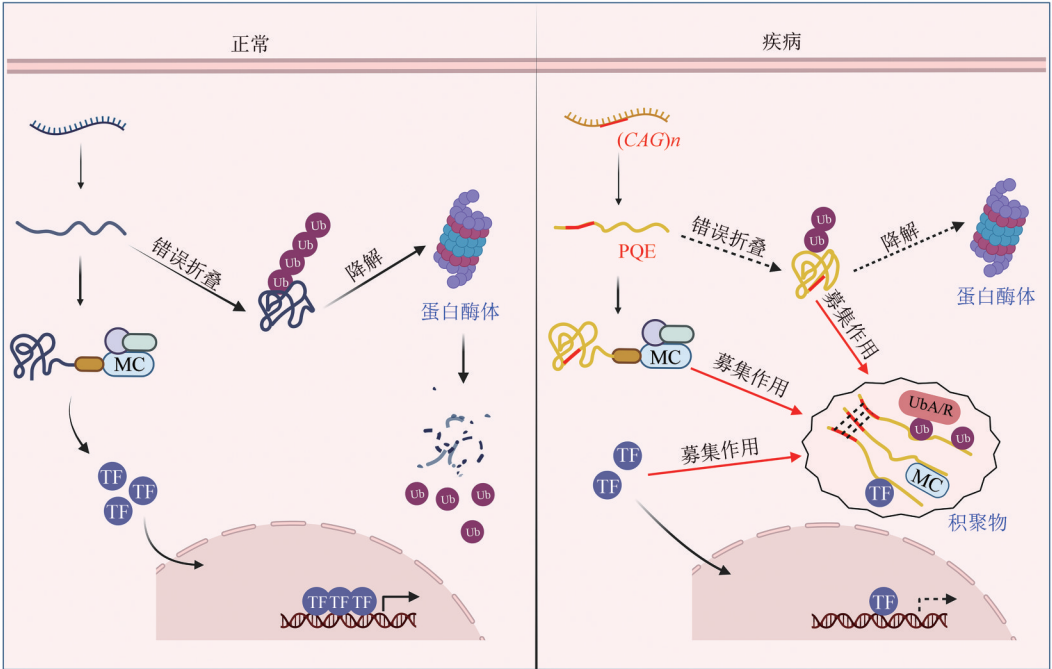


Fig. 2 Schematic diagram of polyQ proteins sequestering related factors in cells

图2 PolyQ蛋白募集细胞中相关因子模式图

TF: 转录因子 (transcription factor), 如文中所涉及的P53、Sp1、MEF2、TFEB等; Ub: 泛素 (ubiquitin); MC: 分子伴侣 (molecular chaperone), 如HSP70/HSC70、HSJ1、DNAJB12等; UbA/R: 泛素接头或受体蛋白 (ubiquitin adapter or receptor), 如UBQLN2、hHR23B、P62、Optineurin等; PQE: 多聚谷氨酰胺延伸 (PolyQ expansion)。

尽管异常延伸的PolyQ蛋白可能通过募集转录因子影响其下游基因的转录,但是神经退行性疾病的发病原因仍不明确,因而缺乏相应的治疗手段。目前主要通过开发与筛选一系列小分子化合物使异常延伸的PolyQ蛋白积聚物降解,来达到治疗该类疾病的目的,例如蛋白质靶向降解嵌合体技术(proteolysis targeting chimera, PROTAC)^[51]就是其中之一,但这项技术对于蛋白质积聚体和较大的蛋白质复合物很难有效。此外,还有利用自噬小体绑定化合物(autophagosome tethering compounds, ATTEC)来降解致病蛋白,如对Htt突变体蛋白的靶向降解作用^[52]。异常延伸的PolyQ蛋白所形成的包涵体会募集细胞中的多种组分,其中对细胞内丰度较低的转录因子(MEF2、TFEB、SP1等)的募集作用往往会降低其下游基因的表达水平。鉴于小分子化合物治疗疾病的局限性与靶向转录因子药物的研究前景,利用PolyQ蛋白的募集效应有针对性地募集与细胞生长发育相关的转录因子,阻断其与互作蛋白的相互作用,抑制基因表达的水平,可能会成为新的疾病治疗方法。然而,目前对于PolyQ疾病的研究仅限于细胞和小鼠模型上,未来还需要从灵长类动物模型以及临床患者中获得更充分的实验数据,以便为临床治疗此类疾病提供有效的指导。

参 考 文 献

- [1] Erkkinen M G, Kim M O, Geschwind M D. Clinical neurology and epidemiology of the major neurodegenerative diseases. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2018, **10**(4): a033118
- [2] Ceccon A, Tugarinov V, Torricella F, *et al*. Quantitative NMR analysis of the kinetics of prenucleation oligomerization and aggregation of pathogenic huntingtin exon-1 protein. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2022, **119**(29): e2207690119
- [3] Di Pardo A, Monyror J, Morales L C, *et al*. Mutant huntingtin interacts with the sterol regulatory element-binding proteins and impairs their nuclear import. *Hum Mol Genet*, 2020, **29**(3): 418-431
- [4] Yang H, Liu S, He W T, *et al*. Aggregation of polyglutamine-expanded ataxin 7 protein specifically sequesters ubiquitin-specific protease 22 and deteriorates its deubiquitinating function in the Spt-Ada-Gcn5-acetyltransferase (SAGA) complex. *J Biol Chem*, 2015, **290**(36): 21996-22004
- [5] Fan H C, Ho L I, Chi C S, *et al*. Polyglutamine (PolyQ) diseases: genetics to treatments. *Cell Transplant*, 2014, **23**(4-5): 441-458
- [6] Yang H, Hu H Y. Sequestration of cellular interacting partners by protein aggregates: implication in a loss-of-function pathology. *FEBS J*, 2016, **283**(20): 3705-3717
- [7] Jiang Y J, Zhou C J, Zhou Z R, *et al*. Structural basis for recognition of the third SH3 domain of full-length R85 (R85FL)/ponsin by ataxin-7. *FEBS Lett*, 2013, **587**(18): 2905-2911
- [8] Jiang Y J, Che M X, Yuan J Q, *et al*. Interaction with polyglutamine-expanded huntingtin alters cellular distribution and RNA processing of huntingtin yeast two-hybrid protein A (HYPA). *J Biol Chem*, 2011, **286**(28): 25236-25245
- [9] Yang H, Yue H W, He W T, *et al*. PolyQ-expanded huntingtin and ataxin-3 sequester ubiquitin adaptors hHR23B and UBQLN2 into aggregates *via* conjugated ubiquitin. *FASEB J*, 2018, **32**(6): 2923-2933
- [10] Yang H, Li J J, Liu S, *et al*. Aggregation of polyglutamine-expanded ataxin-3 sequesters its specific interacting partners into inclusions: implication in a loss-of-function pathology. *Sci Rep*, 2014, **4**: 6410
- [11] Guo X, Sun X, Hu D, *et al*. VCP recruitment to mitochondria causes mitophagy impairment and neurodegeneration in models of Huntington's disease. *Nat Commun*, 2016, **7**: 12646
- [12] Liu Y, Ding R, Xu Z, *et al*. Roles and mechanisms of the protein quality control system in Alzheimer's disease. *Int J Mol Sci*, 2021, **23**(1): 345
- [13] Banerjee S, Ferdosh S, Ghosh A N, *et al*. Tau protein-induced sequestration of the eukaryotic ribosome: implications in neurodegenerative disease. *Sci Rep*, 2020, **10**(1): 5225
- [14] Hartmann H, Hornburg D, Czuppa M, *et al*. Proteomics and C9orf72 neuropathology identify ribosomes as poly-GR/PR interactors driving toxicity. *Life Sci Alliance*, 2018, **1**(2): e201800070
- [15] Zhao X, Chen X Q, Han E, *et al*. TRiC subunits enhance BDNF axonal transport and rescue striatal atrophy in Huntington's disease. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, **113**(38): E5655-E5664
- [16] Rozales K, Younis A, Saida N, *et al*. Differential roles for DNAJ isoforms in HTT-polyQ and FUS aggregation modulation revealed by chaperone screens. *Nat Commun*, 2022, **13**(1): 516
- [17] Monsellier E, Redeker V, Ruiz-Arlandis G, *et al*. Molecular interaction between the chaperone Hsc70 and the N-terminal flank of huntingtin exon 1 modulates aggregation. *J Biol Chem*, 2015, **290**(5): 2560-2576
- [18] Yue H W, Hong J Y, Zhang S X, *et al*. PolyQ-expanded proteins impair cellular proteostasis of ataxin-3 through sequestering the co-chaperone HSP70 into aggregates. *Sci Rep*, 2021, **11**(1): 7815
- [19] Zhao T, Hong Y, Li S, *et al*. Compartment-dependent degradation of mutant Huntingtin accounts for its preferential accumulation in neuronal processes. *J Neurosci*, 2016, **36**(32): 8317-8328
- [20] Bennett E J, Shaler T A, Woodman B, *et al*. Global changes to the ubiquitin system in Huntington's disease. *Nature*, 2007, **448**(7154): 704-708
- [21] Matilla A, Gorbea C, Einum D D, *et al*. Association of ataxin-7 with the proteasome subunit S4 of the 19S regulatory complex. *Hum Mol Genet*, 2001, **10**(24): 2821-2831
- [22] Zhou L, Wang H, Chen D, *et al*. p62/Sequestosome 1 regulates aggresome formation of pathogenic ataxin-3 with expanded

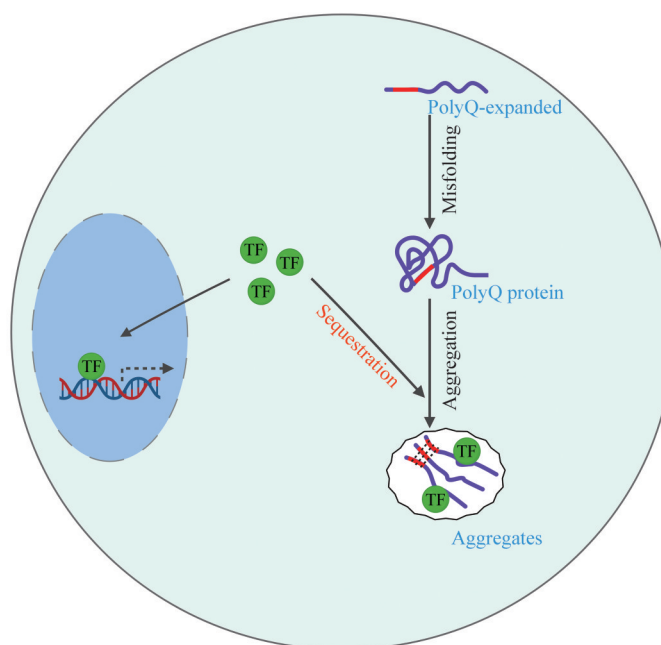
- polyglutamine. *Int J Mol Sci*, 2014, **15**(9): 14997-15010
- [23] Franco-Iborra S, Plaza-Zabala A, Montpeyo M, *et al*. Mutant HTT (huntingtin) impairs mitophagy in a cellular model of Huntington disease. *Autophagy*, 2021, **17**(3): 672-689
- [24] Schmitz R J, Grotewold E, Stam M. Cis-regulatory sequences in plants: their importance, discovery, and future challenges. *Plant Cell*, 2022, **34**(2): 718-741
- [25] McCullough S D, Xu X, Dent S Y, *et al*. Reelin is a target of polyglutamine expanded ataxin-7 in human spinocerebellar ataxia type 7 (SCA7) astrocytes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, **109**(52): 21319-21324
- [26] Bae B I, Xu H, Igarashi S, *et al*. p53 mediates cellular dysfunction and behavioral abnormalities in Huntington's disease. *Neuron*, 2005, **47**(1): 29-41
- [27] Qiu Z, Norflus F, Singh B, *et al*. Sp1 is up-regulated in cellular and transgenic models of Huntington disease, and its reduction is neuroprotective. *J Biol Chem*, 2006, **281**(24): 16672-16680
- [28] Huang S, Ling J J, Yang S, *et al*. Neuronal expression of TATA box-binding protein containing expanded polyglutamine in knock-in mice reduces chaperone protein response by impairing the function of nuclear factor- κ B transcription factor. *Brain*, 2011, **134**(Pt 7): 1943-1958
- [29] Holbert S, Denghien I, Kiechle T, *et al*. The Gln-Ala repeat transcriptional activator CA150 interacts with huntingtin: neuropathologic and genetic evidence for a role in Huntington's disease pathogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, **98**(4): 1811-1816
- [30] Kegel K B, Meloni A R, Yi Y, *et al*. Huntingtin is present in the nucleus, interacts with the transcriptional corepressor C-terminal binding protein, and represses transcription. *J Biol Chem*, 2002, **277**(9): 7466-7476
- [31] Dunah A W, Jeong H, Griffin A, *et al*. Sp1 and TAFII130 transcriptional activity disrupted in early Huntington's disease. *Science*, 2002, **296**(5576): 2238-2243
- [32] Rigamonti D, Bolognini D, Mutti C, *et al*. Loss of huntingtin function complemented by small molecules acting as repressor element 1/neuron restrictive silencer element silencer modulators. *J Biol Chem*, 2007, **282**(34): 24554-24562
- [33] Soga T, Nakajima S, Kawaguchi M, *et al*. Repressor element 1 silencing transcription factor/neuron-restrictive silencing factor (REST/NRSF) in social stress and depression. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2021, **104**: 110053
- [34] Zuccato C, Tartari M, Crotti A, *et al*. Huntingtin interacts with REST/NRSF to modulate the transcription of NRSE-controlled neuronal genes. *Nat Genet*, 2003, **35**(1): 76-83
- [35] Liu Q, Pan Y, Li X J, *et al*. Molecular mechanisms and therapeutics for SCA17. *Neurotherapeutics*, 2019, **16**(4): 1097-1105
- [36] Hantsche M, Cramer P. Conserved RNA polymerase II initiation complex structure. *Curr Opin Struct Biol*, 2017, **47**: 17-22
- [37] Vannini A, Cramer P. Conservation between the RNA polymerase I, II, and III transcription initiation machineries. *Mol Cell*, 2012, **45**(4): 439-446
- [38] Friedman M J, Wang C E, Li X J, *et al*. Polyglutamine expansion reduces the association of TATA-binding protein with DNA and induces DNA binding-independent neurotoxicity. *J Biol Chem*, 2008, **283**(13): 8283-8290
- [39] Liu Q, Huang S, Yin P, *et al*. Cerebellum-enriched protein INPP5A contributes to selective neuropathology in mouse model of spinocerebellar ataxias type 17. *Nat Commun*, 2020, **11**(1): 1101
- [40] Friedman M J, Shah A G, Fang Z H, *et al*. Polyglutamine domain modulates the TBP-TFIIB interaction: implications for its normal function and neurodegeneration. *Nat Neurosci*, 2007, **10**(12): 1519-1528
- [41] Heinlein C A, Chang C. Androgen receptor in prostate cancer. *Endocr Rev*, 2004, **25**(2): 276-308
- [42] Gottlieb B, Beitel L K, Nadarajah A, *et al*. The androgen receptor gene mutations database: 2012 update. *Hum Mutat*, 2012, **33**(5): 887-894
- [43] Xiao H, Yu Z, Wu Y, *et al*. A polyglutamine expansion disease protein sequesters PTIP to attenuate DNA repair and increase genomic instability. *Hum Mol Genet*, 2012, **21**(19): 4225-4236
- [44] Beauchemin A M, Gottlieb B, Beitel L K, *et al*. Cytochrome c oxidase subunit Vb interacts with human androgen receptor: a potential mechanism for neurotoxicity in spinobulbar muscular atrophy. *Brain Res Bull*, 2001, **56**(3-4): 285-297
- [45] Borgia D, Malena A, Spinazzi M, *et al*. Increased mitophagy in the skeletal muscle of spinal and bulbar muscular atrophy patients. *Hum Mol Genet*, 2017, **26**(6): 1087-1103
- [46] Wang H, Wang R, Xu S, *et al*. Transcription factor EB is selectively reduced in the nuclear fractions of Alzheimer's and amyotrophic lateral sclerosis brains. *Neurosci J*, 2016, **2016**: 4732837
- [47] Sahoo S, Padhy A A, Kumari V, *et al*. Role of ubiquitin-proteasome and autophagy-lysosome pathways in alpha-synuclein aggregate clearance. *Mol Neurobiol*, 2022, **59**(9): 5379-5407
- [48] Cortes C J, Miranda H C, Frankowski H, *et al*. Polyglutamine-expanded androgen receptor interferes with TFEB to elicit autophagy defects in SBMA. *Nat Neurosci*, 2014, **17**(9): 1180-1189
- [49] Nath S R, Lieberman M L, Yu Z, *et al*. MEF2 impairment underlies skeletal muscle atrophy in polyglutamine disease. *Acta Neuropathol*, 2020, **140**(1): 63-80
- [50] Yang J, Xu H, Zhang C, *et al*. A prion-like domain of TFEB mediates the co-aggregation of TFEB and mHTT. *Autophagy*, 2023, **19**(2): 544-550
- [51] Li X, Song Y. Proteolysis-targeting chimera (PROTAC) for targeted protein degradation and cancer therapy. *J Hematol Oncol*, 2020, **13**(1): 50
- [52] Li Z, Wang C, Wang Z, *et al*. Allele-selective lowering of mutant HTT protein by HTT-LC3 linker compounds. *Nature*, 2019, **575**(7781): 203-209

Sequestration of Cellular Transcription Factors by PolyQ-expanded Proteins and Its Effects on Gene Transcription Regulation*

ZHANG Xiang-Le, HU Hong-Yu**

(Shanghai Institute of Biochemistry and Cell Biology / Center for Excellence in Molecular Cell Science, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China)

Graphical abstract



Abstract Polyglutamine (polyQ) diseases are a kind of neurodegenerative disorders caused by unstable repeat expansion of *CAG* trinucleotide in the specific gene sequences. Nine types of polyQ diseases have been discovered, and most of the pathogenic proteins play an important role in transcriptional regulation in disease pathology. The abnormal repeat expansion of glutamine in polyQ protein will cause protein misfolding and thereby form aggregates accumulated in cells. The protein aggregates can sequester transcription factors, ubiquitin (Ub) adapters or receptors, molecular chaperones and other cellular factors into aggregates or inclusions through specific interactions mediated by their own domains, RNAs or Ub conjugates. Decrease of the soluble fractions and available amounts of these essential factors will impair the cellular function of transcriptional regulation and cause pathogenic transcriptional disorders. Therefore, studying polyQ-expanded protein aggregation that may sequester cellular transcription factors and other components will be beneficial to elucidating the pathogenesis of polyQ diseases at the molecular level, and provide potential therapeutic strategy for clinical application.

Key words polyQ disease, polyQ protein, protein aggregation, sequestration, transcription factor, transcriptional dysregulation

DOI: 10.16476/j.pibb.2023.0066

* This work was supported by a grant from The National Natural Science Foundation of China (31870764).

** Corresponding author.

Tel: 86-21-54921121, E-mail: hyhu@sibcb.ac.cn

Received: March 1, 2023 Accepted: April 12, 2023