

线粒体未折叠蛋白反应分子机制的研究进展*

樊玉梅** 郝强** 刘思颖 常彦忠 段相林 谭克***

(河北师范大学生命科学学院河北省动物生理生化与分子生物学重点实验室, 石家庄 050024)

摘要 线粒体未折叠蛋白反应(UPR^m)作为新发现的细胞内应激机制, 直接影响老化、神经退行性疾病、癌症等疾病的发生发展。UPR^m是线粒体为了维持其内部蛋白质的平衡, 启动由核 DNA 编码的线粒体热休克蛋白和蛋白酶等基因群转录活化程序的应激反应。深入探究 UPR^m的作用机制对阐明老化和线粒体相关疾病的发病机理具有指导意义。本文主要阐述了线粒体未折叠蛋白反应的诱导因素、线虫和哺乳动物细胞中最新的未折叠蛋白应激反应的信号传导通路、调控因子、具体作用机制以及线粒体未折叠蛋白反应与衰老、免疫等疾病的联系, 旨在为这些疾病提供新的理论基础和治疗靶点。

关键词 线粒体, 线粒体未折叠蛋白反应, ATFS-1, HSF1, ATF5, 疾病

学科分类号 Q256, Q257

DOI: 10.16476/j.pibb.2016.0385

蛋白质是一切生命活动的物质基础^[1]。线粒体是两层膜包被的细胞器, 其内部存在着特异的协助蛋白质正确折叠的热休克蛋白(heat shock protein HSP60、HSP10 等)和协助蛋白质降解的蛋白酶(ATP-dependent Clp proteolytic subunit 1 ClpP、Lon protease 等), 维持着线粒体蛋白质质的平衡^[2-3]。线粒体内大概总共存在 1 200 种蛋白质, 这种蛋白质组的动态平衡的维持, 即蛋白质稳态(protein homeostasis, proteostasis), 主要由蛋白质的合成、折叠、分解等环节共同调节^[2-3]。外界环境的变化或代谢的改变通常会造成线粒体内蛋白质构造的异常。如果线粒体内变性或错误折叠的蛋白质不能被及时降解而大量积累, 就会激发线粒体的未折叠蛋白反应(unfolded protein response, UPR^m)^[4-5]。所谓 UPR^m, 是指线粒体为了维持其蛋白质的平衡, 启动由核 DNA 编码的线粒体热休克蛋白和蛋白酶等基因群转录活化程序的应激反应^[4-5]。

线粒体作为细胞有氧呼吸和能量制造的场所, 同时也是传递细胞死亡信号的重要小细胞器^[6]。线粒体机能障碍与老化、神经退行性疾病、癌症等疾病的发生发展息息相关^[7-8]。线粒体中, 95%的蛋白质都是由细胞核 DNA 编码, 在细胞质合成之后通过线粒体定位序列(mitochondria target sequence, MTS)转入线粒体进行工作, 所以细胞核与线粒体

之间信号的传导与沟通调节着细胞整体的工作状态^[9-10]。近年, 线虫中线粒体蛋白质的构造异常所诱导的独特的 UPR^m通路和机制逐渐被阐明, 揭示了 UPR^m通路对线粒体功能及衰老等疾病的重要性^[4-5]。由于哺乳动物线粒体功能的复杂性和多样性, 哺乳动物细胞中存在多条 UPR^m通路和多种调控因子。本文主要总结近年来线粒体蛋白质平衡的维持机制和线虫与哺乳动物细胞中 UPR^m最新机制研究进展, 进一步认识线粒体未折叠蛋白反应。

1 UPR^m的诱导因素

在应激状态下, 线粒体为了维持其蛋白质的平衡, 会启动由核 DNA 编码的线粒体热休克蛋白和蛋白酶等基因群转录活化程序的应激程序^[4-5]。UPR^m通路的存在, 主要在线虫和哺乳动物细胞中被证实。研究表明, 破坏线粒体蛋白质内部平衡的因素均可诱导 UPR^m的产生。

* 河北省高等学校青年拔尖人才项目(BJ2016033), 河北省自然科学基金(C2017205129, C2015205135)和河北师范大学自然科学基金博士基金资助项目(L2016B13)。

** 共同第一作者。

*** 通讯联系人。

Tel: 0311-80787586, E-mail: angel2005123@126.com

收稿日期: 2016-12-15, 接受日期: 2017-06-06

1.1 药物诱导的 UPR^m

在使用低剂量溴化乙锭(EtBr)逐渐降低线粒体 DNA 含量的过程中, 线粒体的分子伴侣 mtHSP70、HSP60、HSP10 以及蛋白酶 ClpP 的表达量增高^[4-5]. 线粒体核糖体的抑制剂(强力霉素或者氯霉素)会诱导线虫和哺乳动物细胞的 UPR^m 通路^[11]. 线粒体呼吸链的抑制剂(抗霉素 A、鱼藤酮、百草枯等)也可诱发强烈 UPR^m 的产生^[11-14]. 这些药物处理造成线粒体和细胞核所编码蛋白质的不平衡(mitochondrial protein imbalance), 最终导致线粒体蛋白质平衡的紊乱^[11]. 另外, 在线虫和哺乳动物细胞中添加烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(nicotinamide adenine dinucleotide, NAD⁺), 不仅强烈激活 UPR^m, 还延长线虫和小鼠的寿命^[15-16].

1.2 基因功能缺失诱导的 UPR^m

线粒体的热休克蛋白(HSP6、HSP10)或者蛋白酶(Lon、spg-7)等基因的干扰(knock down)或突变体(mutation)直接诱导 UPR^m 相关基因的表达^[3-4]. 作为线粒体的重要功能之一, ATP 的产生严格依赖于线粒体呼吸链. 因此, 呼吸链复合亚基的突变或缺失也是促进 UPR^m 产生的重要原因之一(如细胞色素 c 氧化酶 CCO-1、泛醌合成基因 CLK-1 的突变等)^[11-12, 17]. 另外, 线粒体核糖体蛋白或线粒体 tRNA 合成酶的缺失也会激活线虫和哺乳动物细胞的 UPR^m 通路^[17-18]. 电子传递系统复合体蛋白质组成异常的发生, 同时伴随活性氧 ROS (reactive oxygen species)的大量产生. 2016 年, Shao 等^[19]的最新研究表明, 将 KillerRed 特异表达在神经组织的线粒体后, FLP-2(FMR Famide-like peptides 2)等神经肽通过信号传递功能, 诱导远端肠道组织产生

非自主的 UPR^m. KillerRed 是一种二聚体荧光蛋白, 在光照条件下产生大量的 ROS. 而 ROS 也被认为是诱导 UPR^m 通路的关键因子之一^[14, 19]. 另外, 线粒体环状 DNA 的缺失也会直接触发 UPR^m. UPR^m 的产生维持线粒体片段缺失的 DNA 稳定, 并且促进线粒体缺失 DNA 的扩充^[20].

1.3 变性蛋白质积累诱导的 UPR^m

多聚谷氨酰胺(polyglutamine, PolyQ)疾病是一类中枢神经系统退行性疾病, 是由疾病相关基因 CAG 三核苷酸重复序列异常扩展形成, 导致多聚谷氨酰胺的异常延长而引起蛋白质的错误折叠. 在线虫神经系统过表达含有 40 个 CAG 序列的多聚谷氨酰胺(PolyQ-40)时, PolyQ-40 会聚集在线粒体上, 从而介导依赖于 5-羟色胺的 UPR^m 信号以维持线粒体的代谢和健康^[21]. 哺乳动物细胞中, 当在线粒体基质中过表达极易形成聚集体的鸟氨酸转氨甲酰酶(ornithine transcarbamylase, OTC)或在线粒体膜间隙过表达突变的核酸内切酶(endonuclease G)时, 研究者发现线粒体内的热休克蛋白 HSP60、HSP10、mtDnaJ 和线粒体蛋白酶 ClpP 的表达量升高, 标志着 UPR^m 通路的激活^[22-23].

2 秀丽隐杆线虫 UPR^m 的调节机制

在线虫中, UPR^m 主要由具有亮氨酸拉链(basic leucine zipper domain, bZIP)结构的转录因子 ATFS-1(activating transcription factor associated with stress-1)所调控^[12](图 1). ATFS-1 的 N 端具有向线粒体搬入 MTS(mitochondrial targeting sequence)序列的同时, 其 C 端还具有向细胞核移动的信号序列 NLS(nuclear localization signal). 生理条件下,

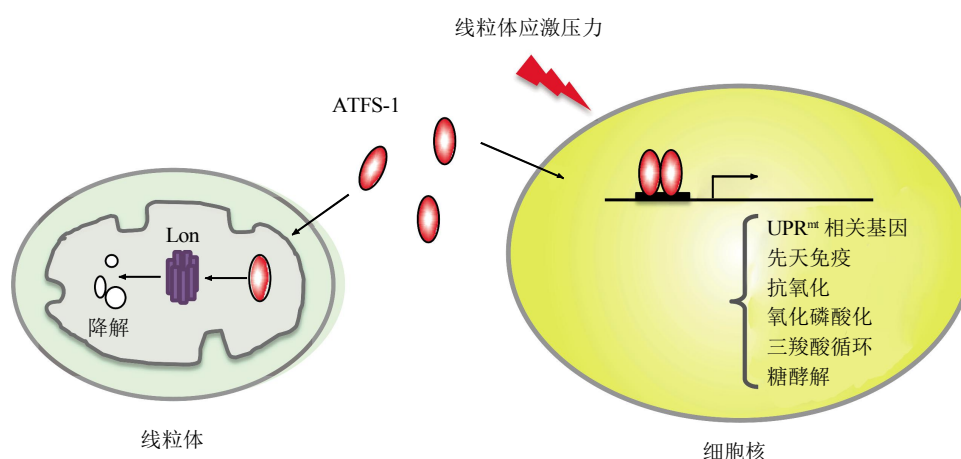


Fig. 1 The mechanism of mitochondrial unfolded protein response in *C. elegans*

图 1 线虫的线粒体未折叠蛋白应激反应的调节机制

ATFS-1 通过 MTS 转运至线粒体. 一旦进入线粒体, MTS 序列即被切断并主要由 Lon 蛋白酶降解. 但是在线粒体应激压力之下, ATFS-1 的线粒体输运效率被抑制, ATFS-1 在细胞质内积聚, 通过 C 端 NLS 序列转移到细胞核中. ATFS-1 进而与核 DNA 结合, 诱导线粒体的分子伴侣和蛋白酶等基因群的转录. 所以, ATFS-1 活性调控的关键点是进入线粒体的输运效率^[12]. 研究者发现, ATFS-1 不仅诱导与 UPR^m 反应相关的基因群, 还可以在细菌感染时促进与先天免疫相关基因群的激活^[24]. 最新的全基因组染色质免疫共沉淀测序 (ChIP-Seq) 结果表明, ATFS-1 还诱导抗氧化 (antioxidation)、糖酵解 (glycolysis)、氧化磷酸化 (OXPHOS)、三羧酸循环 (TCA cycle) 等相关基因的表达^[25] (图 1). 这些结果表明, ATFS-1 在线虫中生理状态以及应激条件下承担着多方面极其重要的生理作用和防御功能.

除了 ATFS-1 之外, 与 ATFS-1 相互作用并且参与 UPR^m 通路的因子也陆续被鉴定出来. 线粒体的蛋白酶 ClpP 可以把结构异常或变性的蛋白质分解为多肽, 然后经线粒体膜上的 ABC 转运蛋白 HAF (hematopoietic-associated factor) 排放至细胞质^[26]. ClpP 或 HAF 基因功能障碍导致 UPR^m 通路信号减弱的事实表明, 这条通路也参与了 UPR^m 通路信号的传导. 另外, UPR^m 的激活可诱导泛素样蛋白 UBL-5 (ubiquitin-like protein 5) 基因的转录, UBL-5 与 DVE-1 (defective proventriculus protein 1) 结合形成复合物促进线粒体热休克蛋白 HSP60 基因的表达^[27]. 但 UBL-5 与 DVE-1 和 ATFS-1 之间有何联系, 是否协同调节 UPR^m 通路, 还有待进一步证实.

3 哺乳动物细胞 UPR^m 的调节机制

线虫 UPR^m 的机制虽已逐渐透彻, 但对哺乳动物的 UPR^m 通路、调节机制及调控因子的认识还在探索之中. 由于哺乳动物细胞线粒体功能的复杂性和多样性, 哺乳动物细胞中存在多条 UPR^m 通路.

3.1 线粒体基质内蛋白质积累所诱导的 UPR^m 通路

当在线粒体基质中过表达极易形成凝聚体的鸟氨酸转氨甲酰酶 (ornithine transcarbamylase, OTC) 突变体时, 线粒体内的热休克蛋白 HSP60、HSP10、mtDnaJ 和线粒体蛋白酶 ClpP 的表达量升高, 而细胞质和内质网分子伴侣并不被激活, 表明线粒体应激反应的特异性^[22]. 线粒体内这些蛋白质

表达量的升高依赖于转录因子 CHOP (C/EBP homologous protein) 和 C/EBP (CCAAT-enhancer-binding protein) (图 2a). 生物信息学分析结果表明, HSP60、HSP10、mtDnaJ 和 ClpP 的启动子上均存在 CHOP 和 C/EBP 结合的结构域^[28]. 由于 CHOP 和 C/EBP 还可诱导内质网未折叠蛋白反应 (UPR^{ER}), 研究者推测, 线粒体应激反应的特异性可能是由 AP-1 (activator protein 1) 选择性诱导 CHOP 而造成的.

3.2 线粒体膜间隙内蛋白质积累所诱导的 UPR^m 通路

当在线粒体内膜间隙过表达 endonuclease G 的突变体时, 另一条 UPR^m 通路则被激活. 错误折叠的蛋白质在膜间隙的大量积累, 导致 ROS 依赖性的 ATK/PKB (protein kinase B) 激酶磷酸化和核雌激素受体 α (estrogen receptor α , ER α) 活化, 最终诱导核呼吸因子 (nuclear respiratory factor 1, NRF1) 以促进线粒体生物合成, 并诱导存在于线粒体膜间隙的蛋白酶 HtrA2 (high temperature requirement protein A2) 的表达上调^[23] (图 2b). 另有研究表明, 去乙酰化酶 SIRT3 (NAD-dependent deacetylase sirtuin-3) 也参与调节 UPR^m. 但 SIRT3 通过调控抗氧化应激和线粒体自噬反应来实现对 UPR^m 的调节, 并不依赖于 CHOP 和 ER α ^[29].

3.3 ATFS-1 同源基因 ATF5 所调控的 UPR^m 通路

2016 年最新的研究发现, 线虫 ATFS-1 的同源基因 ATF5 (activating transcription factor 5) 在哺乳动物细胞中也发挥着调控线粒体应激反应的作用^[30]. 正如 ATFS-1、ATF5 也存在于线粒体和细胞核之中. ATF5 不仅诱导线虫的 UPR^m, 还可诱导哺乳动物细胞内线粒体热休克蛋白 (HSP60、mtHSP70)、线粒体蛋白酶 Lon 以及抗微生物肽 HD-5 (human defensin 5) 的高表达, 并且促进细胞在应激状态下的增殖能力和线粒体功能的恢复^[30].

3.4 热应激下 HSF1-SSBP1 复合体所调控的 UPR^m 通路

热应激条件下, 线粒体单链 DNA 结合蛋白 SSBP1 (single-stranded DNA-binding protein 1) 和 HSF1 (heat shock factor 1) 共同调节 UPR^m 通路^[31] (图 3). 生理条件下, SSBP1 存在于线粒体基质中. SSBP1 以四聚体的形式结合在线粒体单链 DNA 上, 保证线粒体复制的顺利进行和线粒体 DNA 的稳定性. 但在热应激或其他蛋白毒性条件下, 线粒体膜电位降低, SSBP1 借助 ANT-VDAC1 复合体从线粒体排出. SSBP1 与 HSF1 结合后转运到细胞核内, 通

过募集包含 BRG1(brahma-related gene 1)在内的染色质重塑复合物等染色质调控子, 从而形成开放的染色质, 实现高水平的转录(图 3). DNA 基因芯片实验结果表明, HSF1-SSBP1 复合体不仅诱导细胞

核与细胞质分子伴侣(HSP70 等)的表达, 还控制线粒体分子伴侣(HSP60, HSP10)表达的上调. 因此, 在蛋白质毒性条件下, HSF1-SSBP1 复合体对维持细胞生存和线粒体的功能至关重要^[31].

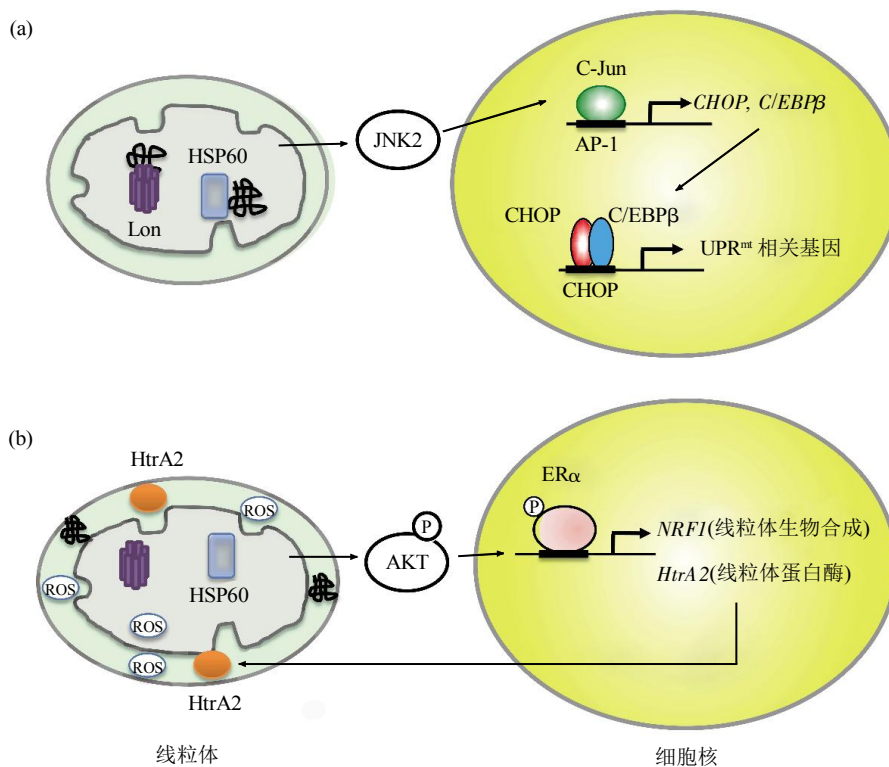


Fig. 2 The mechanism of mitochondrial unfolded protein response in mammalian cells

图 2 哺乳动物的线粒体未折叠蛋白反应的调节机制

(a) 当线粒体内部积累大量错误折叠蛋白时, JNK2 激酶被激活, 再促进 C-Jun 的磷酸化. 激活的 C-Jun 结合在 AP-1 结合位点, 从而诱导 CHOP 和 C/EBP β 的表达. CHOP 和 C/EBP β 形成二聚体, 作为转录因子结合到 UPR^{mt} 相关基因的启动子上, 从而诱导线粒体热休克蛋白和蛋白酶的表达. (b) 当线粒体膜间隙积累大量错误折叠蛋白时, 线粒体产生的大量 ROS 可激活 AKT 激酶. 磷酸化的 AKT 激酶促进 ER α 的磷酸化和激活, 诱导 NRF1 基因而促进线粒体的生物合成, 还诱导线粒体蛋白酶 HtrA2 的表达, 进而恢复线粒体的功能.

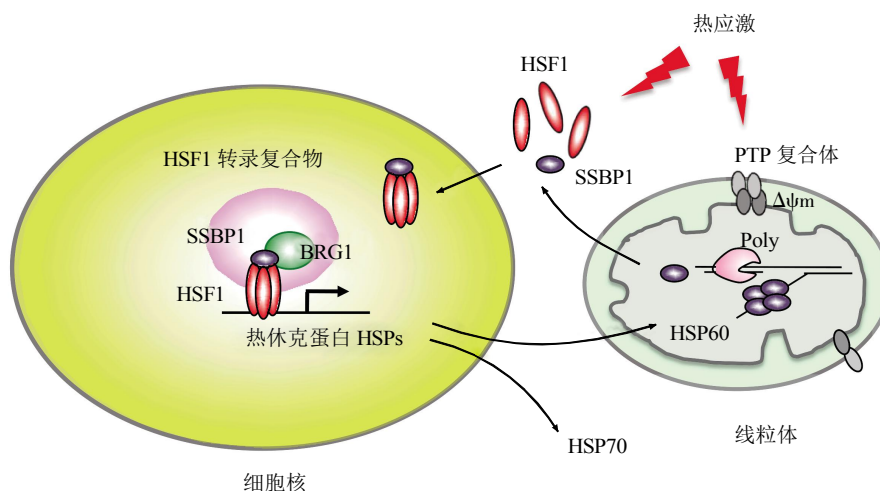


Fig. 3 HSF1-SSBP1 complex regulates mitochondrial unfolded protein response during heat shock

图 3 HSF1-SSBP1 复合体调控线粒体未折叠蛋白反应的机制

4 UPR^m 与疾病的关系

4.1 UPR^m 与寿命

线粒体功能障碍是老化的促进因素之一^[32]。大量研究结果表明, 轻度的线粒体损伤或者适当的线粒体应激压力会延长线虫的寿命。例如, 呼吸链复合体突变或者线粒体核糖体蛋白 5 的功能缺失所诱导的 UPR^m 反应可以延长线虫、果蝇和小鼠的寿命^[11]。敲除 UBL-5 则会抵消线虫寿命的增长, 说明 UBL-5 对于 UPR^m 所导致的寿命延长的必要性^[27]。虽然 ATFS-1 和 HAF-1 对于 UPR^m 是必需的调控因子之一, 也有研究表明 ATFS-1 的变异并不对线虫的寿命产生影响^[32, 34]。虽然目前对 ATFS-1 是否可以延长寿命仍存在争议, 但是线粒体无疑是一个决定寿命的关键细胞器之一。

表观遗传学修饰在不改变 DNA 序列的前提下调控基因的活性, 对于人类的发育、疾病和寿命具有深远影响。Greer 等^[35]研究发现, 敲除线虫去甲基化酶 SPR-5 (lysine-specific demethylase 1) 会引起 H3K4me2 失调, 激活激素信号通路, 实现世代延续的寿命延长。最新的研究表明, UPR^m 可以改变表观遗传修饰剂的表达, 从而改变代谢而延长寿命^[36-37]。Tian 等^[36]研究发现, 组蛋白甲基转移酶 Met-2 和 Lin-65 (synthetic multivulva gene) 将甲基添加到 DNA 之上, 沉默启动子, 从而抑制大部分基因的表达, 而只保存 DNA 上部分的开放区域, 保证 DVE-1 结合并触发 UPR^m 而延长寿命。Merkwirth 等^[37]研究发现, 组蛋白赖氨酸去甲基化酶 jmjd-1.2/PHF8 (PHD finger protein 8) 和 jmjd-3.1/JMJD3 (jumonji domain-containing protein 3) 也是应对线粒体功能障碍而延长寿命的调节因子。线虫中, 这些酶功能的减低会抑制 UPR^m 并缩短寿命, 而功能的增强则会以 UPR^m 介导的方式延长寿命。在 BXD 品系小鼠种群中进行的系统遗传学研究进一步表明, jmjd-1.2/PHF8 和 jmjd-3.1/JMJD3 在哺乳动物中也发挥着同样的作用, 表明这种在进化过程中高度保守的表观遗传学机制调节着线粒体的蛋白质稳态和长寿^[37]。同时这些结果也提示着利用表观遗传酶逆转衰老应用于人类的可能性。

HSF1 调节蛋白质的结构和功能, 因此 HSF1 也是调节寿命的一个关键因子。线虫实验结果表明, HSF1 表达降低会导致寿命缩短 30%~40%。相反, 过表达 HSF1 则延长线虫寿命 40%^[38]。HSF1 与胰岛素信号通路共同参与寿命延长的调控^[38]。目

前, 线粒体蛋白 SSBP1 是否具有类似作用还尚无定论, 但 HSF1-SSBP1 复合体激活 UPR^m 也许是 HSF1 延长寿命的重要途径之一^[31]。

4.2 UPR^m 与神经退行性疾病

变性或错误折叠蛋白质的大量积累是神经退行性病变(包括阿尔茨海默病、帕金森病、亨廷顿舞蹈病等)的一个典型标志^[39]。例如, β -淀粉样蛋白的沉积是阿尔茨海默病患者老年斑周围神经元变性和死亡的主要原因, 其在线粒体中也大量存在^[40]。 β -淀粉样蛋白是由淀粉样前体蛋白 (amyloid precursor protein, APP) 经线粒体蛋白酶 HtrA2 水解作用产生, 并且 HtrA2 可延缓 β -淀粉样蛋白的聚集^[41-42]。HtrA2 基因的多个单核苷酸多态性位点与帕金森病相关, 当 HtrA2 基因发生突变时, 引起与帕金森病特征相同的神经病变^[43]。而 HtrA2 也是 UPR^m 的调控因子之一^[4-5, 23]。

亨廷顿蛋白 (huntingtin) 中的 N 端谷氨酰胺异常延伸导致多聚谷氨酰胺 (polyglutamine, PolyQ) 不溶性聚集, 是亨廷顿病的主要发病原因。2016 年, Berendzen 等^[21]研究表明, 当在线虫的神经系统表达 PolyQ-40 时, PolyQ-40 聚集在线粒体上, 激活依赖于 5-羟色胺的 UPR^m 信号以维持线粒体代谢与健康。在帕金森病患者脑组织中, 变性的呼吸链蛋白质的水平上升, 同时伴随着线粒体热休克蛋白 HSP60 的升高, 表明 UPR^m 的发生^[44]。HSP60 基因突变引起遗传性痉挛性截瘫 (hereditary spastic paraplegia), 也是一种神经退行性变性疾病^[45-46]。鱼藤酮 (rotenone) 作为线粒体呼吸链复合体 I 的抑制剂, 不仅直接诱导 UPR^m 的活化, 还直接引起动物帕金森病类似的症状^[12, 47]。这些结果均表明 UPR^m 参与神经退行性疾病的发生。虽然 UPR^m 与神经退行性疾病的直接关系还在研究之中, 但是 UPR^m 信号通路的激活可能是神经退行性疾病发生的征兆或致病因素之一。

HSF1 作为转录因子, 其本身的活化不仅强有力地抑制 PolyQ 聚集体的形成, 还诱导各种 HSP 以抑制 PolyQ 的聚集, 从而减轻神经系统症状^[48]。并且活化的 HSF1 的抑制作用比单个或多个 HSP 的组合效果更明显, 表明 HSF1 可调控 HSP 以外的基因以达到抑制 PolyQ 聚集的作用。而我们前期工作的 DNA 基因芯片结果也表明, HSF1 和 SSBP1 还调控线粒体功能相关基因的表达^[31]。因此 HSF1-SSBP1 很可能通过维持线粒体内部蛋白质平衡以及线粒体功能以延缓老化及神经退行性疾病的

进展, 其具体机制还有待进一步研究.

4.3 UPR^m 与先天免疫

当暴露于铜绿假单胞菌时, 线虫会产生依赖于 ATFS-1 的 UPR^m 反应^[24]. 除了线粒体热休克蛋白 HSP6 和 HSP60 的表达量升高之外, 还会诱导抗菌肽 ABF-2(antibacterial factor 2)、分泌溶酶体 Lys-2 (lysozyme 2)、C 型凝集素等基因的表达^[24]. 而这些基因在病原菌感染、病原菌识别等方面起到关键作用. 敲除 ATFS-1 会降低线虫在铜绿假单胞菌感染时的生存率. 因此, UPR^m 反应的激活不仅有效清除线虫肠内的致病菌, 还提高线虫在铜绿假单胞菌感染时的生存率. 哺乳动物细胞中, 当鸟氨酸转氨甲酰酶(OTC)突变体高度表达时, 诱发 UPR^m 的同时, 也会提高抗菌肽 BD-2、BD-4、HD-5、LL-37 等基因的表达水平^[24]. 大肠炎模型动物和炎症性肠病患者的肠上皮细胞中 HSP60 的表达量升高, 也标志着 UPR^m 反应可能是肠黏膜细胞感知致病菌感染并提高细胞先天性免疫能力的一种关键反应^[49].

4.4 UPR^m 与干细胞

干细胞具有自我更新和分化潜能, 是个体发育、组织再生和修复的基础. 线粒体是产生 ATP 的动力工厂, 所以健全的线粒体功能决定着干细胞的增殖和分化潜能^[50]. Katajisto 等^[51]发现, 干细胞分裂时能有效区分衰老和年轻的线粒体, 并将之不均匀地分配给子细胞. 年轻的线粒体主要被分到仍具有分化潜能的子细胞, 而分化的子细胞主要分到衰老的线粒体. 最近 Mohrin 等^[52]的实验结果表明, 去乙酰化酶 SIRT7 (NAD-dependent deacetylase sirtuin-7) 的表达水平在造血干细胞(hematopoietic stem cell, HSC)衰老过程中逐渐减低. 在衰老的造血干细胞中过表达 SIRT7 时, SIRT7 通过抑制 UPR^m 通路以延缓造血干细胞的衰老^[52]. 激活 UPR^m 可以诱导 SIRT7 的表达. 另外, 肠上皮细胞 HSP60 基因的特异性敲除不仅诱发 UPR^m, 还通过调节 Wnt 通路控制肠上皮干细胞的干性和增殖能力^[53]. 2016 年 Zhang 等^[16]发现, 提高细胞和小鼠体内 NAD⁺ 水平不但增强线粒体的功能, 还诱导 UPR^m 相关基因和 prohibitin 蛋白的表达, 从而防止骨骼肌干细胞(muscle stem cell, MuSC)的衰老, 延长小鼠的寿命. 除了骨骼肌干细胞, 提高 NAD⁺ 水平同样可延缓神经干细胞和黑色素干细胞的衰老^[16]. 利用 UPR^m 反应的激活或抑制筛选和研发新型药

物, 或许对临床干细胞的储存和应用具有重要意义.

5 总结与展望

线粒体未折叠蛋白反应是把双刃剑, 具有双重作用^[3-5, 54]. 短期轻度的线粒体应激启动的 UPR^m 反应作为细胞内防御性应答系统, 能抵抗线粒体损伤并维持、促进线粒体的功能; 持久重复的线粒体应激则会通过介导细胞凋亡, 加重细胞的不可逆损伤^[54].

线虫中, ATFS-1 是调节 UPR^m 通路的关键因子. 而在哺乳动物中, 有多条参与调节 UPR^m 的通路. 研究表明, 线粒体根据应激部位和应激条件的不同, 通过不同的 UPR^m 调节机制, 适应环境给线粒体带来的不利反应. ATF5 在哺乳动物中也发挥着类似于 ATFS-1 的作用, 证明 UPR^m 机制的保守性^[30]. 我们的研究表明, HSF1-SSBP1 复合体可能是哺乳动物细胞中 UPR^m 通路的一个关键环节^[31]. 另有研究表明, HSF1 不仅诱导 PGC-1 α (peroxisome proliferator-activated receptor- γ coactivator-1 α) 的表达, 还与 PGC-1 α 直接结合形成复合物调节线粒体生理功能以及加强或抑制热休克反应^[55-57]. PGC-1 α 在机体的适应性产热、线粒体生物合成等能量代谢过程中发挥重要作用. HSF1-SSBP1 和 HSF1-PGC-1 α 是否形成一个大复合体, 以及三者是否相互协作调节线粒体生理功能和 UPR^m, 将是一个深刻而有趣的课题. 但不论激活哪条通路, UPR^m 都在一定程度内维持着线粒体蛋白质的稳态.

深入研究 UPR^m 的作用机制对阐明衰老、癌症以及线粒体疾病的发病机理具有指导意义^[58]. 目前, 线虫的 UPR^m 通路研究已成为炙手可热的课题, 而对于哺乳动物的 UPR^m 通路研究仍处于起步阶段. 我们对于哺乳动物 UPR^m 的认识仍然不够全面, 仍有大量疑问尚未解决. 比如哺乳动物细胞中 UPR^m 的多条应激通路是否交叉? 线粒体应激反应调节寿命的深层机制? 哺乳动物细胞中是否还存在新的 UPR^m 调节通路? 我们可以通过遗传或药物失活等多种方法, 继续深入研究哺乳动物的 UPR^m 通路与老化、癌症、免疫缺陷等疾病的关系, 相信 UPR^m 的深入研究会为这些棘手的疾病提供新的治疗思路和治疗手段, 并且可能成为临床治疗的靶点.

参 考 文 献

- [1] Wolff S, Weissman J S, Dillin A. Differential scales of protein quality control. *Cell*, 2014, **157**(1): 52–64
- [2] Voos W. Chaperone-protease networks in mitochondrial protein homeostasis. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2013, **1833**(2): 388–399
- [3] Voos W, Jaworek W, Wilkening A, *et al.* Protein quality control at the mitochondrion. *Essays in Biochemistry*, 2016, **60**(2): 213–225
- [4] Haynes C M, Fiorese C J, Lin Y F. Evaluating and responding to mitochondrial dysfunction: the mitochondrial unfolded-protein response and beyond. *Trends in Cell Biology*, 2013, **23**(7): 311–318
- [5] Jovaisaite V, Mouchiroud L, Auwerx J. The mitochondrial unfolded protein response, a conserved stress response pathway with implications in health and disease. *The Journal of Experimental Biology*, 2014, **217**(Pt 1): 137–143
- [6] Nunnari J, Suomalainen A. Mitochondria: in sickness and in health. *Cell*, 2012, **148**(6): 1145–1159
- [7] Chow J, Rahman J, Achermann J C, *et al.* Mitochondrial disease and endocrine dysfunction. *Nature Reviews Endocrinology*, 2017, **13**(2): 92–104
- [8] Suomalainen A. Mitochondrial roles in disease: a box full of surprises. *EMBO Molecular Medicine*, 2015, **7**(10): 1245–1247
- [9] Ryan M T, Hoogenraad N J. Mitochondrial-nuclear communications. *Annual Review of Biochemistry*, 2007, **76**: 701–722
- [10] Quiros P M, Mottis A, Auwerx J. Mitonuclear communication in homeostasis and stress. *Nature reviews Molecular Cell Biology*, 2016, **17**(4): 213–226
- [11] Houtkooper R H, Mouchiroud L, Ryu D, *et al.* Mitonuclear protein imbalance as a conserved longevity mechanism. *Nature*, 2013, **497**(7450): 451–457
- [12] Nargund A M, Pellegrino M W, Fiorese C J, *et al.* Mitochondrial import efficiency of ATFS-1 regulates mitochondrial UPR activation. *Science*, 2012, **337**(6094): 587–590
- [13] Liu Y, Samuel B S, Breen P C, *et al.* *Caenorhabditis elegans* pathways that surveil and defend mitochondria. *Nature*, 2014, **508**(7496): 406–410
- [14] Runkel E D, Liu S, Baumeister R, *et al.* Surveillance-activated defenses block the ROS-induced mitochondrial unfolded protein response. *PLoS Genetics*, 2013, **9**(3): e1003346
- [15] Mouchiroud L, Houtkooper R H, Moullan N, *et al.* The NAD(+)/Sirtuin pathway modulates longevity through activation of mitochondrial UPR and FOXO signaling. *Cell*, 2013, **154**(2): 430–441
- [16] Zhang H, Ryu D, Wu Y, *et al.* NAD (+) repletion improves mitochondrial and stem cell function and enhances life span in mice. *Science*, 2016, **352**(6292): 1436–1443
- [17] Durieux J, Wolff S, Dillin A. The cell-non-autonomous nature of electron transport chain-mediated longevity. *Cell*, 2011, **144**(1): 79–91
- [18] Dogan S A, Pujol C, Maiti P, *et al.* Tissue-specific loss of DARS2 activates stress responses independently of respiratory chain deficiency in the heart. *Cell Metabolism*, 2014, **19**(3): 458–469
- [19] Shao L W, Niu R, Liu Y. Neuropeptide signals cell non-autonomous mitochondrial unfolded protein response. *Cell Research*, 2016, **26**(11): 1182–1196
- [20] Lin Y F, Schulz A M, Pellegrino M W, *et al.* Maintenance and propagation of a deleterious mitochondrial genome by the mitochondrial unfolded protein response. *Nature*, 2016, **533**(7603): 416–419
- [21] Berendzen K M, Durieux J, Shao L W, *et al.* Neuroendocrine coordination of mitochondrial stress signaling and proteostasis. *Cell*, 2016, **166**(6): 1553–1563 e1510
- [22] Zhao Q, Wang J, Levichkin I V, *et al.* A mitochondrial specific stress response in mammalian cells. *The EMBO Journal*, 2002, **21**(17): 4411–4419
- [23] Papa L, Germain D. Estrogen receptor mediates a distinct mitochondrial unfolded protein response. *Journal of Cell Science*, 2011, **124**(Pt 9): 1396–1402
- [24] Pellegrino M W, Nargund A M, Kirienko N V, *et al.* Mitochondrial UPR-regulated innate immunity provides resistance to pathogen infection. *Nature*, 2014, **516**(7531): 414–417
- [25] Nargund A M, Fiorese C J, Pellegrino M W, *et al.* Mitochondrial and nuclear accumulation of the transcription factor ATFS-1 promotes OXPHOS recovery during the UPR(mt). *Molecular Cell*, 2015, **58**(1): 123–133
- [26] Haynes C M, Yang Y, Blais S P, *et al.* The matrix peptide exporter HAF-1 signals a mitochondrial UPR by activating the transcription factor ZC376.7 in *C. elegans*. *Molecular Cell*, 2010, **37**(4): 529–540
- [27] Haynes C M, Petrova K, Benedetti C, *et al.* ClpP mediates activation of a mitochondrial unfolded protein response in *C. elegans*. *Developmental Cell*, 2007, **13**(4): 467–480
- [28] Horibe T, Hoogenraad N J. The chop gene contains an element for the positive regulation of the mitochondrial unfolded protein response. *PloS One*, 2007, **2**(9): e835
- [29] Papa L, Germain D. SirT3 regulates the mitochondrial unfolded protein response. *Molecular and Cellular Biology*, 2014, **34**(4): 699–710
- [30] Fiorese C J, Schulz A M, Lin Y F, *et al.* The transcription factor ATF5 mediates a mammalian mitochondrial UPR. *Current Biology: CB*, 2016, **26**(15): 2037–2043
- [31] Tan K, Fujimoto M, Takii R, *et al.* Mitochondrial SSBP1 protects cells from proteotoxic stresses by potentiating stress-induced HSF1 transcriptional activity. *Nature Communications*, 2015, **6**: 6580
- [32] Sun N, Youle R J, Finkel T. The mitochondrial basis of aging. *Molecular Cell*, 2016, **61**(5): 654–666
- [33] Schieber M, Chandel N S. TOR signaling couples oxygen sensing to lifespan in *C. elegans*. *Cell Reports*, 2014, **9**(1): 9–15
- [34] Bennett C F, Vander Wende H, Simko M, *et al.* Activation of the mitochondrial unfolded protein response does not predict longevity in *Caenorhabditis elegans*. *Nature Communications*, 2014, **5**: 3483

- [35] Greer E L, Becker B, Latza C, *et al.* Mutation of *C. elegans* demethylase *spr-5* extends transgenerational longevity. *Cell Research*, 2016, **26**(2): 229–238
- [36] Tian Y, Garcia G, Bian Q, *et al.* Mitochondrial stress induces chromatin reorganization to promote longevity and UPR(mt). *Cell*, 2016, **165**(5): 1197–1208
- [37] Merkwirth C, Jovaisaite V, Durieux J, *et al.* Two conserved histone demethylases regulate mitochondrial stress-induced longevity. *Cell*, 2016, **165**(5): 1209–1223
- [38] Hsu A L, Murphy C T, Kenyon C. Regulation of aging and age-related disease by DAF-16 and heat-shock factor. *Science*, 2003, **300**(5622): 1142–1145
- [39] Skovronsky D M, Lee V M, Trojanowski J Q. Neurodegenerative diseases: new concepts of pathogenesis and their therapeutic implications. *Annual Review of Pathology*, 2006, **1**(151–170)
- [40] Caspersen C, Wang N, Yao J, *et al.* Mitochondrial Abeta: a potential focal point for neuronal metabolic dysfunction in Alzheimer's disease. *FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 2005, **19**(14): 2040–2041
- [41] Park H J, Kim S S, Seong Y M, *et al.* Beta-amyloid precursor protein is a direct cleavage target of HtrA2 serine protease. Implications for the physiological function of HtrA2 in the mitochondria. *The Journal of Biological Chemistry*, 2006, **281**(45): 34277–34287
- [42] Kooistra J, Milojevic J, Melacini G, *et al.* A new function of human HtrA2 as an amyloid-beta oligomerization inhibitor. *Journal of Alzheimer's disease: JAD*, 2009, **17**(2): 281–294
- [43] Strauss K M, Martins L M, Plun-Favreau H, *et al.* Loss of function mutations in the gene encoding Omi/HtrA2 in Parkinson's disease. *Human Molecular Genetics*, 2005, **14**(15): 2099–2111
- [44] Pimenta De Castro I, Costa A C, Lam D, *et al.* Genetic analysis of mitochondrial protein misfolding in *Drosophila melanogaster*. *Cell Death and Differentiation*, 2012, **19**(8): 1308–1316
- [45] Hansen J, Svenstrup K, Ang D, *et al.* A novel mutation in the HSPD1 gene in a patient with hereditary spastic paraplegia. *Journal of Neurology*, 2007, **254**(7): 897–900
- [46] Hansen J, Corydon T J, Palmfeldt J, *et al.* Decreased expression of the mitochondrial matrix proteases Lon and ClpP in cells from a patient with hereditary spastic paraplegia (SPG13). *Neuroscience*, 2008, **153**(2): 474–482
- [47] Johnson M E, Bobrovskaya L. An update on the rotenone models of Parkinson's disease: their ability to reproduce the features of clinical disease and model gene-environment interactions. *Neurotoxicology*, 2015, **46**: 101–116
- [48] Fujimoto M, Takaki E, Hayashi T, *et al.* Active HSF1 significantly suppresses polyglutamine aggregate formation in cellular and mouse models. *The Journal of Biological Chemistry*, 2005, **280**(41): 34908–34916
- [49] Rath E, Haller D. Unfolded protein responses in the intestinal epithelium: sensors for the microbial and metabolic environment. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 2012, **46**(Suppl): S3–5
- [50] Lin Y F, Haynes C M. Metabolism and the UPR(mt). *Molecular Cell*, 2016, **61**(5): 677–682
- [51] Katajisto P, Dohla J, Chaffer C L, *et al.* Stem cells. Asymmetric apportioning of aged mitochondria between daughter cells is required for stemness. *Science*, 2015, **348**(6232): 340–343
- [52] Mohrin M, Shin J, Liu Y, *et al.* Stem cell aging. A mitochondrial UPR-mediated metabolic checkpoint regulates hematopoietic stem cell aging. *Science*, 2015, **347**(6228): 1374–1377
- [53] Berger E, Rath E, Yuan D, *et al.* Mitochondrial function controls intestinal epithelial stemness and proliferation. *Nature Communications*, 2016, **7**: 13171
- [54] Tian Y, Merkwirth C, Dillin A. Mitochondrial UPR: A double-edged sword. *Trends in Cell Biology*, 2016, **26**(8): 563–565
- [55] Ma X, Xu L, Alberobello A T, *et al.* Celastrol protects against obesity and metabolic dysfunction through activation of a HSF1-PGC1alpha transcriptional axis. *Cell Metabolism*, 2015, **22**(4): 695–708
- [56] Minsky N, Roeder R G. Direct link between metabolic regulation and the heat-shock response through the transcriptional regulator PGC-1alpha. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, **112**(42): E5669–E5678
- [57] Xu L, Ma X, Bagattin A, *et al.* The transcriptional coactivator PGC1alpha protects against hyperthermic stress *via* cooperation with the heat shock factor HSF1. *Cell Death & Disease*, 2016, **7**: e2102
- [58] Siegelin M D, Dohi T, Raskett C M, *et al.* Exploiting the mitochondrial unfolded protein response for cancer therapy in mice and human cells. *The Journal of Clinical Investigation*, 2011, **121**(4): 1349–1360

The Molecular Mechanisms of Mitochondrial Unfolded Protein Response*

FAN Yu-Mei**, HAO Qiang**, LIU Si-Ying, CHANG Yan-Zhong, DUAN Xiang-Lin, TAN Ke***

(Key Laboratory of Animal Physiology, Biochemistry and Molecular Biology of Hebei Province,
College of Life Science, Hebei Normal University, Shijiazhuang 050024, China)

Abstract As newly found cellular stress response, the mitochondrial unfolded protein response (UPR^{mt}) is associated with the pathological process of aging, cancer and neurodegenerative diseases. To maintain mitochondrial protein homeostasis, cell will inspire UPR^{mt} program by activating the transcription of mitochondrial chaperones and proteases encoded by nuclear DNA. Exploring the mechanisms of UPR^{mt} is essential for understanding the pathological process of aging and mitochondria-related diseases. In this review, we focus on various inducers of UPR^{mt}, the different mechanisms of UPR^{mt}, the regulatory factors, and relationship with aging, immunity and other diseases in *C. elegans* and mammalian cells to provide new theoretical basis and therapeutic target for these diseases.

Key words mitochondria, mitochondrial unfolded protein response, ATFS-1, HSF1, ATF5, diseases

DOI: 10.16476/j.pibb.2016.0385

* This work was supported by grants from The Program for Young Top-notch Talents in Universities of Hebei Province (BJ2016033), Natural Science Foundation of Hebei Province (C2017205129, C2015205135) and Doctoral Foundation of Hebei Normal University (L2016B13).

**These authors contributed equally to this work.

***Corresponding author.

Tel: 86-311-80787586, E-mail: angel2005123@126.com

Received: December 15, 2016 Accepted: June 6, 2017