

SUMO 修饰在细胞凋亡中的调控作用

吴沪军 温顺航 李昌崇

摘要 小泛素样修饰物 (small ubiquitin related modifiers, SUMOs) 修饰是一种类泛素蛋白翻译后修饰形式, SUMO 特异性蛋白酶 (sentrin - specific proteases, SENPs) 家族介导去 SUMO 化修饰。细胞凋亡是发生肿瘤、神经系统退行性疾病、心肌病等的重要机制。细胞凋亡发生过程受信号通路精确调控, 而近年研究报道 SUMO 修饰在调控凋亡信号通路中扮演重要角色。现就 SUMO 修饰在凋亡信号通路中的最新研究进展做一综述。

关键词 SUMO 修饰 SENPs 凋亡 信号通路

中图分类号 R34

文献标识码 A

DOI 10.11969/j. issn. 1673-548X. 2015. 08. 054

小泛素样修饰物 (small ubiquitin - related modifiers, SUMOs) 为一组类泛素蛋白, 可共价连接于 I_KB α 、c-Jun、p53 等广泛的底物蛋白, 参与蛋白翻译后修饰, 调节蛋白亚细胞定位、蛋白 - 蛋白相互作用及促进蛋白酶体降解等。SUMO 修饰特异底物是由 SUMO 活化酶 E₁、结合酶 E₂ 和连接酶 E₃ (protein inhibitors of acetylated STAT, PIAS) 介导的级联反应过程^[1]。PIAS 蛋白家族包括 PIAS1、PIAS3、PIASx α 、PIASx β 和 PIASy 5 个成员。SUMO 修饰是一个可逆动态过程, 将 SUMO 从底物蛋白移除称为去 SUMO 化 (deSUMOylation), 该反应由底物特异性去 SUMO 化蛋白酶 (sentrin - specific proteases, SENPs) 介导^[2]。细胞凋亡 (apoptosis) 是机体生长发育、发生肿瘤、神经系统退行性疾病、心肌病等的重要机制。细胞凋亡既可以自然发生, 也可以由细菌、病毒等诱导发生。最近研究显示, SUMO 参与细胞凋亡信号通路的调节, 该通路中重要的蛋白因子如 p53、死亡相关蛋白 (death - associated protein, Daxx)、线粒体分裂相关蛋白 1 (dynamin - related protein 1, Drp1) 等均可被 SUMO 化修饰, 进而对细胞凋亡信号通路进行调控。因此, 阐明细胞凋亡信号通路的调控机制具有重要的生物学意义。

一、SUMO 同类物

SUMO 是广泛存在于真核生物的高度保守的小蛋白家族, 目前发现哺乳动物中存在 4 种 SUMO 亚型 (SUMO1、SUMO2、SUMO3 和 SUMO4)。SUMO2 和

SUMO3 存在 95% 的同源性, 因此统称为 SUMO2/3^[3]。SUMO1 与 SUMO2/3 有 50% 的同源性, 三者广泛分布于各类组织, 而 SUMO4 主要在人的肾脏、淋巴组织和脾脏等表达。SUMO1 主要存在于核膜上, SUMO2/3 主要存在于细胞核内。不同 SUMO 对底物蛋白的亲和力不同, SUMO1 主要修饰生理蛋白, SUMO2/3 主要修饰应激蛋白, SUMO4 可能与糖尿病发生相关, 其确切的生物学功能仍有待进一步研究^[4]。同种底物蛋白可以被不同亚型的 SUMO 蛋白修饰, 而刺激因子不同, 相同亚型 SUMO 蛋白修饰产生的生物学效应也有不同。

二、SENP 家族

SENP 家族介导底物蛋白的去 SUMO 化修饰反应过程。目前发现哺乳动物的 SENP 家族有 6 个成员 (SENP1、SENP2、SENP3、SENP5、SENP6 和 SENP7), 拟南芥中还存在着第 7 种亚型, 即 SENP8^[5, 6]。根据 SENPs 的序列同源性、细胞内定位和底物特异性可分为 3 组: 第 1 组是 SENP1 和 SENP2, SENP1 存在于核孔和核膜, SENP2 是核膜相关的蛋白酶, 二者可修饰广泛的底物, 参与 SUMO1 和 SUMO2/3 的去 SUMO 化; 第 2 组是 SENP3 和 SENP5, 二者的同源程度较高, 均存在于核仁中, 倾向于去 SUMO2/3 修饰; 第 3 组由 SENP6 和 SENP7 组成, 与 SENP1、SENP2、SENP3 和 SENP5 结构上存在明显不同, 二者在其催化区域内有一个额外的环结构, 主要存在于核质, 对 SUMO2/3 去 SUMO 化^[5]。虽然对于 SENP 的生物学结构有诸多报道, 但 SENP 的调节机制还有很多地方仍不清楚。SENP1、SENP2 和 SENP5 有肽链内切酶和异肽酶活性, 但在体内 SENP2 和 SENP5 以异肽酶活性为主, 催化底物蛋白的去 SUMO

基金项目: 浙江省自然科学基金资助项目 (LZ13H010001)

作者单位: 325027 温州医科大学附属育英儿童医院呼吸科

通讯作者: 李昌崇, 电子信箱: wzlichch@21cn.com

化。SENP s 参与 SUMO 前体加工成熟的过程,也能切断 SUMO 与底物蛋白的连接。一种底物蛋白去 SUMO 化的同时也提供了更多游离的 SUMO 蛋白以修饰其他底物。限制性的 SUMO 前体和成熟的 SUMO 亚型以及 SENP 家族三者共同决定细胞 SUMO 修饰平衡。

三、细胞凋亡机制

细胞凋亡的发生是多因素、多阶段和多基因严格控制的过程,主要受以下 3 条信号转导通路调控,死亡受体通路、线粒体通路和内质网通路。死亡受体(death receptor, DR)通路是指细胞膜表面的 DR 与相应配体结合,将凋亡信号转导至细胞内。DR 属肿瘤坏死因子受体(tumor necrosis factor receptor, TNFR)超家族成员的一类跨膜蛋白,目前已知的主要有 Fas、TNFR - 1、TRAIL - R1 和 TRAIL - R2 等。死亡受体与配体结合,激活下游信号级联反应,逐级激活起始半胱天冬氨酸蛋白酶(caspase - 8)和效应半胱天冬氨酸蛋白酶(caspase - 3 和 caspase - 7 等),降解胞内的功能蛋白,最终导致细胞发生凋亡。Caspase 在细胞内通常以无活性的酶原形式存在,其级联反应激活是经典凋亡通路后期的共同途径^[7]。线粒体在细胞凋亡过程中起最基本的作用,释放关键的致死性物质细胞色素 c(cytochrome c, cyt - c)。正常情况下,cyt - c 是一种定位于线粒体膜间隙的水溶性蛋白质,稳定地结合于线粒体内膜,不能通过外膜。各种促细胞凋亡刺激,可引起线粒体膜通透性增加,导致 cyt - c 释放进入胞质。胞质中的 cyt - c 和凋亡酶激活因子 - 1(apoptotic protease activating factors - 1, APAF - 1)结合,招募 caspase - 9 并进一步激活下游的 caspase - 3,进而活化 caspase - 6 和 caspase - 7 使细胞走向凋亡。线粒体外膜通透性和完整性主要受 c - Jun 氨基末端激酶(c - Jun N - terminal kinase, JNK)信号通路、Drp1 和 Bcl - 2 家族调控。Bcl - 2 家族可分为两类,抗细胞凋亡因子(Bcl - 2、Bcl - XL)和促细胞凋亡因子(Bax、Bak、Bid 等)^[8]。内质网凋亡通路激活包括内质网应激和钙释放。内质网是细胞内 Ca²⁺的主要储存库,内质网膜去极化,启动内质网释放 Ca²⁺至胞质,线粒体内 Ca²⁺过度聚集,启动 caspase 级联反应,可引起细胞凋亡^[9]。人类 p53 基因是细胞凋亡调控的一个重要的相关基因,具有诱导细胞凋亡和抑制细胞增殖的作用,其编码的产物 p53 蛋白可诱导细胞发生凋亡,以清除受损细胞^[10]。

四、SUMO 修饰调控细胞凋亡

SUMO 修饰对细胞凋亡的调控具有多通路、多底物和多样性的特点。死亡结构域结合蛋白(death domain - associated protein, Daxx)介导死亡受体的促凋亡信号转导,可激活 JNK 通路和丝裂原活化蛋白激酶(mitogen - activated protein kinases, MAPKs)诱导细胞凋亡。Daxx 作为一种转录调控蛋白,抑制抗凋亡因子的转录,发挥着抗凋亡作用,经证实该抗凋亡作用需 SUMO 修饰 Daxx^[11]。有研究发现,SUMO 连接酶 PIAS1 能促进 Daxx 的 SUMO 化,增强应激诱导细胞凋亡的敏感度,而使用小干扰 RNA 转染减少 PIAS1 表达对细胞有显著的保护作用^[12]。细胞凋亡过程中,线粒体常分裂活跃。Drp1 蛋白主要以多聚体的形式定位于胞质,转录后修饰活化 Drp1 可使其向线粒体外膜聚集,参与线粒体分裂。Drp1 是线粒体分裂的必要蛋白,线粒体分裂有促进 cyt - c 释放的作用,加速细胞凋亡。有研究报道,经分裂形成的线粒体片段外膜中有 SUMO1 修饰的 Drp1 蛋白,而下调 Drp1 的 SUMO 修饰可明显抑制细胞凋亡^[13]。核内的去 SUMO 化酶 SENP5 移位至线粒体外膜表面,诱导线粒体蛋白的去 SUMO 化修饰,其中就包含有 Drp1 蛋白的去 SUMO 化,这种去 SUMO 化对维持线粒体的形态与功能十分关键^[14, 15]。同时,Wasiak 等^[16]研究发现,在细胞凋亡的晚期阶段,促凋亡因子 Bax/Bak 可使 SUMO 化修饰的 Drp1 蛋白稳固的结合于线粒体外膜。由此可见,SUMO 修饰 Drp1 蛋白在线粒体稳态和凋亡调控中起到重要作用。活化 JNK 可通过死亡受体途径和线粒体途径诱导细胞凋亡。Feligioni 等^[17]对 H₂O₂ 诱导细胞凋亡的机制研究发现,SUMO1 过量表达能促进 JNK 的激活和加重胞内应激反应,从而促进 H₂O₂ 诱导的细胞死亡,而去 SUMO 化修饰酶 SENP1 的过量表达能抑制 JNK 的活性,对于 H₂O₂ 诱导的细胞死亡能起到局部保护作用。另有研究报道,当存在活性氧(reactive oxygen species, ROS)细胞损伤时,SUMO 连接酶 PIAS1 能激活 JNK 信号通路,抑制抗凋亡基因表达^[18]。内质网应激也是细胞凋亡的重要途径,而 X 盒结合蛋白(X box - binding protein 1, XBP1)是内质网应激反应的传感器。内质网应激发生时,XBP1 经 SUMO 化修饰而激活,去 SUMO 化蛋白酶 SENP1 可对 XBP1 去 SUMO 化,抑制凋亡的发生。同时,SENP1 基因敲除细胞因 SUMO 化的 XBP1 聚集,内质网应激更易引起细胞凋亡。

p53 蛋白在细胞凋亡进程中的作用已有深入研究,其功能活性受磷酸化、乙酰化、泛素化、SUMO 化和甲基化等不同翻译后修饰的影响。早期研究报道,p53 的 SUMO 修饰主要是发生在第 386 位赖氨酸残基,而最近在卵巢颗粒细胞的体外实验中发现,p53 的 SUMO 修饰主要发生在第 375 位赖氨酸残基。p53 向核内转移并 SUMO 化修饰后,可上调促凋亡基因 Bax 的转录表达。经 SUMO 修饰的 p53 蛋白也能转移至线粒体表面,通过抑制 Bcl - 2 活性来激活线粒体凋亡途径。细胞内 p53 的 SUMO 修饰的主要由 PIAS 家族诱导,在人成纤维细胞中,PIAS1 调节 p53 的 SUMO 修饰,可引起 p53 靶基因的表达。然而,在肺癌细胞系中 PIASy 虽能调节 p53 的 SUMO 修饰能促进自身核内转运,但也会抑制 p53 与 DNA 的联系和 P53 对靶基因的感应。这些结果的差异表明 p53 的 SUMO 修饰所起的作用可能因为环境不同而改变。去 SUMO 化酶 SENP1 的过表达能减少 p53 的 SUMO 修饰,但是 SENP 家族的其他成员在其去 SUMO 化修饰过程的作用有待进一步研究。SUMO 修饰在 p53 功能上的意义也有待更多研究阐明。Caspase - 2/7/8 也是 SUMO 修饰的底物蛋白,经修饰的蛋白转移至细胞核内。但是,SUMO 修饰对 caspase 活性的影响仍不清楚。

五、SUMO 修饰调控细胞凋亡与疾病

先天性心脏病的发病机制复杂多样,而凋亡机制在心脏的发育过程中扮演着重要角色。有研究发现,SUMO1 基因敲除小鼠可自发先天性心脏病,并且 SENP2 高表达诱导去 SUMO 化也可致心脏发育异常,而提高 SUMO1 表达可降低先天性心脏病的发生率,提示 SUMO 修饰在心脏发育过程中起着重要作用。Kim 等研究报道,特发性心肌病患者的心肌细胞 SENP5 表达较正常心肌细胞升高 7 倍,利用转基因技术获得高表达 SENP5 小鼠,证实 SENP5 表达异常升高可致线粒体膜通透性增加,激活线粒体凋亡途径,为特发性心肌病的重要发病机制之一。

细胞凋亡是肿瘤研究领域的热点之一。已有大量研究表明,在多种癌症发生过程中存在 SUMO 修饰的动态平衡被打破。抑癌蛋白 p53 是与肿瘤发生密切相关的蛋白,SUMO 修饰在其活性的调控中具有重要的作用。有报道,超表达 SUMO 连接酶 PIAS3 在体外和裸鼠体内都能够诱导前列腺癌细胞凋亡。SENP1 和 SENP3 在前列腺癌发展过程中起到的重要作用已得到广泛关注,前列腺癌组织通常呈现出较高

的表达水平。有研究者认为检测 SENP1 和 SENP3 表达水平可以作为判断前列腺癌疗效及预后的指标。但是,SUMO 化修饰平衡在诱发癌症中的详细作用机制尚不清楚。

细胞凋亡加速是神经系统的退行性病变的重要机制。最近,Krumova 等就 SUMO 修饰与神经系统退行性疾病的关系做了一篇详尽的综述,文中指出 SUMO 修饰介导激活线粒体凋亡途径是发生阿尔茨海默病、帕金森病及肌萎缩性侧索硬化症等退行性病变的重要机制之一。SUMO 修饰在病毒感染中起着非常关键的作用,在感染相关疾病研究中,SUMO 结合酶 E₂ 修饰肠道病毒 71 型(enterovirus 71, EV71)病毒的 3C 蛋白酶,可抑制病毒复制,保护宿主细胞。另一方面病毒蛋白必需经 SUMO 修饰后,才能发挥病毒的感染功能,且和宿主细胞竞争与 SUMO 系统。SUMO 修饰可改变病毒与宿主的相互作用。

蛋白质翻译后的 SUMO 修饰在细胞凋亡通路中占有重要的地位。SENP 通过去 SUMO 化对 SUMO 进行平衡调节。阐明 SUMO 修饰与去 SUMO 化修饰在凋亡信号通路中的作用,有助于我们了解认识相关疾病机制,并为药物治疗提供新的思路和靶点。但是,在不同疾病及生长发育过程中,SUMO 化和去 SUMO 化修饰调控细胞凋亡的效应不同,并且其调控机制复杂多样。因此,有待进一步的研究来明确 SENPs 和 SUMO 化调控的细胞凋亡在相关疾病及生长发育中的作用。

参考文献

- Andreou AM, Tavernarakis N. Sumoylation and cell signalling [J]. Biotechnol J, 2009, 4(12): 1740 - 1752
- Wang Y, Dasso M. Sumoylation and desumoylation at a glance [J]. Journal of Cell Science, 2009, 122(Pt 23): 4249 - 4252
- Geiss - Friedlander R, Melchior F. Concepts in sumoylation: A decade on [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2007, 8(12): 947 - 956
- Song GG, Choi SJ, Ji JD, et al. Association between the SUMO4 M55V (A163G) polymorphism and susceptibility to type 1 diabetes: A meta - analysis [J]. Hum Immuno, 2012, 73(10): 1055 - 1059
- Mukhopadhyay D, Dasso M. Modification in reverse: The sumo proteases [J]. Trends Biochem Sci, 2007, 32(6): 286 - 295
- Drag M, Salvesen GS. Desumoylating enzymes—SENP [J]. IUBMB Life, 2008, 60(11): 734 - 742
- Kurokawa M, Kornbluth S. Caspases and kinases in a death grip [J]. Cell, 2009, 138(5): 838 - 854
- Pradelli LA, Beneteau M, Ricci JE. Mitochondrial control of caspase - dependent and - independent cell death [J]. Cell Mol Life Sci, 2010, 67(10): 1589 - 1597

前旋转 90° 或 135°，则会产生持续性枕横位或枕后位。近年来，由于人们生活水平显著上升，且多数家庭为独生子女，孕妇营养富足，运动量相对匮乏，致使胎儿体重增加，产妇耐受力削弱，使头位难产增加。对于持续枕横位或枕后位头位难产，若处理不当，胎头保护欠妥，则会使新生儿窒息发生率增加，同时对产妇产道也会造成严重损伤。故此，如何纠正胎头位置，预防或减少头位难产成为广大医护工作者的重要课题。

大量研究表明，胎儿方位与孕妇临产前卧姿密切相关。胎儿重心在重力影响下向孕妇侧后方偏移，易出现枕后位与枕横位，在加上盆骨、产力等因素的影响，头位难产的发生概率进一步增加^[5]。由于胎儿在重力、羊水浮力、宫缩力三者共同作用下，可使其背部向产妇侧方或前方转移，从而有利于自然娩出的枕前位娩出。本研究表明，胎头枕横位或枕后位时，采取对侧卧位配合徒手转胎头纠正胎方位效果更为突出，本组实验组顺产率 86.0%、剖宫产率为 3.6%，对照组顺产率 69.2%、剖宫产率为 11.2%，实验组顺产率高于对照组，剖宫产率低于对照组，且实验组产程时间短于对照组，两组数据比较，差异有统计学意义($P < 0.05$)。这主要是由于对侧卧位时，胎儿重力、羊水浮力共同形成的有效偶力大于同侧卧位时二者形成的有效偶力，这与乐杰^[6]所推荐的“让产妇向胎腹的方向侧卧”具有一致性，而与刘新萍等^[7]报道相左，这可能与本研究样本量较大，且枕右横位产妇较多有关。

徒手转胎头操作简易，对产妇损伤较小，不易引起产妇产后相关病症，利于产妇顺利分娩，在保证母婴安全方面具有重要作用。本研究所有产妇在进行徒手转抬头手术操作过程中，严密监测胎儿及产妇生

命体征，积极预防胎儿窘迫，避免产道较大损伤，本组实验组与对照组自然分娩产妇产后出血及新生儿窒息发生率均较低，两组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。值得一提的是，以手转胎头配合矫正胎位时，要控制好手术时机，在潜伏期，胎头位置偏高，宫口扩张不足，易造成脐带脱垂，且旋转胎头固定难度较大，易使手术失败；而宫口进入第 2 产程，则因胎头位置不易改变，再加之产瘤等因素的影响，使操作极为不便，故此在进行徒手转胎头操作时，应待宫口扩张近开全，先露位于棘上 1cm 至棘下 2cm 时，进行手转胎头操作，从而提高旋转成功率^[8,9]。

综上所述，同侧卧位与对侧卧位配合徒手转胎头术在产程中对纠正胎方位均具有良好效果，对侧卧位配合徒手转胎头术根据优势，应把握徒手转胎头的操作时机，从而有效降低剖宫产率，提高顺产率。

参考文献

- 1 美国家庭医师学会. 产科高级生命支持 [M]. 盖铭英译. 北京: 中国协和医科大学出版社, 2010: 191–193
 - 2 单红梅. 徒手旋转胎头术治疗枕横位和枕后位难产的效果观察 [J]. 中国医药指南, 2012, 35(212): 212–213
 - 3 李彩霞, 于晓霞, 李媛媛, 等. 新法徒手旋转胎头在头位难产中的应用 [J]. 航空航天医学杂志, 2012, 6: 705–706
 - 4 毕嫣, 宋雁, 康立. 徒手旋转胎头法在头位难产产程处理中的作用 [J]. 中国妇幼保健, 2011, 8: 1243–1244
 - 5 周晓莉. 徒手旋转胎头术在 210 例头位难产中的临床应用 [J]. 当代医学, 2010, 13(90): 90–91
 - 6 乐杰. 妇产科学 [M]. 7 版. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 192–194
 - 7 刘新萍, 陆影仪, 何顺英. 225 例持续性枕横位体位临床研究 [J]. 中国妇幼保健杂志, 2007, 22(8): 128
 - 8 吴霞, 范玲, 王琪, 等. 两种体侧卧位法纠正枕后位的临床观察 [J]. 中华妇产科杂志, 2001, 36(8): 468–469
 - 9 罗兆莲, 褚桂莲. 产妇同侧俯卧位分娩 114 例的临床观察 [J]. 广西医学, 2009, 31(2): 248–249
- (收稿日期: 2014-12-10)
(修回日期: 2015-01-04)

(接第 186 页)

- 9 Liu D, Zhang M, Yin H. Signaling pathways involved in endoplasmic reticulum stress – induced neuronal apoptosis [J]. Int J Neurosci, 2013, 123(3): 155–162
- 10 Fridman JS, Lowe SW. Control of apoptosis by p53 [J]. Oncogene, 2003, 22(56): 9030–9040
- 11 Shih HM, Chang CC, Kuo HY, et al. Daxx mediates SUMO – dependent transcriptional control and subnuclear compartmentalization [J]. Biochem Soc Trans, 2007, 35(Pt 6): 1397–1400
- 12 Sudharsan R, Azuma Y. The SUMO ligase PIAS1 regulates UV – induced apoptosis by recruiting Daxx to SUMOylated foci [J]. J Cell Sci, 2012, 125(Pt 23): 5819–5829
- 13 Harder Z, Zunino R, McBride H. Sumol conjugates mitochondrial substrates and participates in mitochondrial fission [J]. Curr Biol, 2004, 14(4): 340–345
- 14 Zunino R, Schauss A, Rippstein P, et al. The SUMO protease

SENP5 is required to maintain mitochondrial morphology and function [J]. J Cell Sci, 2007, 120(Pt 7): 1178–1188

- 15 Zunino R, Braschi E, Xu L, et al. Translocation of Senp5 from the nucleoli to the mitochondria modulates DRP1 – dependent fission during mitosis [J]. J Biol Chem, 2009, 284(26): 17783–17795
- 16 Wasiak S, Zunino R, McBride HM. Bax/Bak promote sumoylation of DRP1 and its stable association with mitochondria during apoptotic cell death [J]. J Cell Biol, 2007, 177(3): 439–450
- 17 Feligioni M, Brambilla E, Camassa A, et al. Crosstalk between JNK and SUMO signaling pathways: deSUMOylation is protective against H₂O₂ – induced cell injury [J]. PLoS One, 2011, 6(12): e28185
- 18 Leitao BB, Jones MC, Brosens JJ. The SUMO E3 – ligase PIAS1 couples reactive oxygen species – dependent JNK activation to oxidative cell death [J]. FASEB J, 2011, 25(10): 3416–3425

(收稿日期: 2014-11-01)

(修回日期: 2014-11-20)