

· 综述 ·

p62 蛋白的分子功能及其在疾病中的研究进展

隋馨莹^{1,2}, 徐平^{2,3,4}, 段昌柱^{1*}, 李衍常^{2,3*}

1 重庆医科大学基础医学院 细胞生物学与遗传学教研室 分子医学与肿瘤研究中心, 重庆 400016

2 军事科学院军事医学研究院 生命组学研究所国家蛋白质科学中心(北京) 北京蛋白质组研究中心 蛋白质组学国家重点实验室, 北京 102206

3 安徽医科大学基础医学院, 安徽 合肥 230032

4 中国医学科学院蛋白质组学与新药研发创新单元, 北京 102206

隋馨莹, 徐平, 段昌柱, 李衍常. p62 蛋白的分子功能及其在疾病中的研究进展[J]. 生物工程学报, 2023, 39(4): 1374-1389.
SUI Xinying, XU Ping, DUAN Changzhu, LI Yanchang. Advances in molecular function of p62 protein and its role in diseases[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(4): 1374-1389.

摘要: 整合体 1 (SQSTM1/p62)是一种选择性自噬接头蛋白, 在清除待降解蛋白、维持细胞内蛋白质稳态中发挥重要的调控作用。p62 蛋白具有多个功能结构域, 介导与多种蛋白质发生相互作用进而精确调节特定的信号通路, 从而将 p62 蛋白与氧化防御系统、炎症反应和营养感知等重要生命过程联系起来。研究表明 p62 的突变或者表达异常与多种疾病的发生发展过程密切相关, 包括神经退行性疾病、肿瘤、感染性疾病、遗传性疾病以及慢性疾病等。本文综述了 p62 蛋白的结构特征、分子功能, 并系统介绍其在蛋白质稳态和信号通路调控中的多种功能, 总结了 p62 在疾病发生发展中的复杂性与多面性, 以期为 p62 蛋白的功能与相关疾病研究提供参考。

关键词: SQSTM1/p62; 蛋白酶体; 自噬; 疾病; 肿瘤

资助项目: 国家自然科学基金(32071431, 31700723); 中国博士后科研基金(2019M664016)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (32071431, 31700723) and the China Postdoctoral Science Foundation (2019M664016).

*Corresponding authors. E-mail: DUAN Changzhu, duanchzhu@cqmu.edu.cn; LI Yanchang, liyanchang1017@163.com

Received: 2022-08-26; Accepted: 2023-01-11; Published online: 2023-01-16

Advances in molecular function of p62 protein and its role in diseases

SUI Xinying^{1,2}, XU Ping^{2,3,4}, DUAN Changzhu^{1*}, LI Yanchang^{2,3*}

1 Molecular Medicine and Cancer Research Center, Department of Cell Biology and Genetics, College of Basic Medical Sciences, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China

2 State Key Laboratory of Proteomics, Beijing Proteome Research Center, National Center for Protein Sciences (Beijing), Beijing Institute of Lifeomics, Academy of Military Medical Sciences of Academy of Military Science, Beijing 102206, China

3 School of Basic Medicine, Anhui Medical University, Hefei 230032, Anhui, China

4 Research Unit of Proteomics & Research and Development of New Drug, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 102206, China

Abstract: Sequestosome 1 (SQSTM1/p62) is a selective autophagy adaptor protein that plays an important role in the clearance of proteins to be degraded as well as in the maintenance of cellular proteostasis. p62 protein has multiple functional domains, which interact with several downstream proteins to precisely regulate multiple signaling pathways, thereby linking p62 to oxidative defense systems, inflammatory responses and nutrient sensing. Studies have shown that mutation or abnormal expression of p62 is closely related to the occurrence and development of various diseases, including neurodegenerative diseases, tumors, infectious diseases, genetic diseases and chronic diseases. This review summarizes the structural features and molecular functions of p62. Moreover, we systematically introduce its multiple functions in protein homeostasis and regulation of signaling pathways. Furthermore, the complexity and versatility of p62 in the occurrence and development of diseases are summarized, with the aim to provide a reference for understanding the function of p62 protein and facilitating related disease research.

Keywords: SQSTM1/p62; proteasome; autophagy; disease; tumor

整合体 1 (sequestosome 1, SQSTM1), 又名 p62, 作为接头蛋白(adaptor proteins)含有多个功能结构域, 可以与细胞内多种分子形成蛋白复合物进而调控不同的信号通路, 包括自噬、氧化应激、细胞生长等过程^[1]。其中, p62 的泛素结合结构域(ubiquitin-associated domain, UBA)识别并调控泛素化修饰蛋白质参与泛素-蛋白酶体系统(ubiquitin-proteasome system, UPS)和自噬-溶酶体系统两种蛋白质降解过程。p62 自身不仅是自噬体与底物之间的适配蛋白, 同时也是自噬选择性降解底物, 在蛋白质质量控制和细胞内稳态调控过程中发挥重

要作用, 其基因突变、表达含量以及翻译后修饰状态的异常与癌症、神经退行性疾病的发生发展密切相关。阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)、肌萎缩性侧索硬化症(amyotrophic lateral sclerosis, ALS)和许多慢性神经退行性疾病的发生发展与 p62 高度相关^[2]。随着研究的深入, 越来越多的 p62 调控的下游底物群被发现和鉴定, 极大丰富了 p62 的生物学功能。本文系统综述了 p62 的分子特征与功能、介导的生物学过程以及与相关疾病的调控关系, 为全面了解 p62 的研究进展以及将来的研究工作提供参考。

1 p62 基因及蛋白的结构特征

p62 是在哺乳动物中发现的第一个选择性自噬衔接子^[3]。最初,研究者发现 p62 具有形成聚集体的能力,在胞浆中以散在点状或者聚集形式存在,Shin 将其命名为 Sequestosome 1 (SQSTM1)^[4]。人类的 p62 基因位于 5 号染色体上,由 8 个外显子组成。它具有 3 种剪切体,其中两种 5'UTR 不同,但编码相同的亚型(图 1)。p62 编码 440 个氨基酸,分子质量为 47 kDa。ZIP (zeta protein kinase C-interacting protein, ZIP)和 A170 分别是其在大鼠和小鼠中变体的名称。氨基酸序列比对结果表明这些同源基因表达蛋白质具有高度保守性,氨基酸序列相似性高达 90%^[5]。

p62 蛋白虽然只有 47 kDa,但是包含 9 个功能域(图 2):phox 和 bem1 结构域(phox and bem1, PB1)、ZZ 型锌指结构域(zinc finger domain, ZZ)、TRAF6 结合结构域(TRAF6 binding domain, TB)、核定位信号(nuclear localization sequence, NLS)、核输出信号(nuclear export signal, NES)、含脯氨酸-谷氨酸-丝氨酸-苏氨酸(P-E-S-T)结构域、LC3 相互作用结构域(LC3-interacting region, LIR)、KEAP1 相互作用结构域(Kelch like ECH associated protein 1-interacting region, KIR)和 C 端泛素结合结构域(UBA)结构域。丰富的功能结构域赋予了 p62 功能的多样性,例如 p62 能够通过 PB1 结构域实现自身寡聚化,是 p62 促进分离形成所必需的^[1]。另外, PB1 结构域可与其

他含 PB1 结构域的蛋白质相互作用,例如细胞外调节蛋白激酶(extracellular regulated protein kinases, ERK)、(mitogen-activated protein kinase/extracellular signal-regulated kinase kinase3, MEKK3)以及蛋白酶体亚基,进而参与相互作用蛋白的降解过程^[6]。ZZ 结构域与受体相互作用蛋白 1 (receptor-interacting protein kinase 1, RIP1)相互作用,调节核转录因子 κ B (nuclear transcription factor- κ B, NF- κ B)信号传导通路^[7]。TB 结构域可与肿瘤坏死因子受体相关因子 6 (tumor necrosis factor-associated factor 6, TRAF6)相结合,促进 TRAF6 的寡聚并通过其 K63 多泛素化以激活 NF- κ B 通路^[2]。NLS 域和 NES 域分别是核定位信号和核输出信号,使 p62 具有核质穿梭功能,其中 NLS2 的磷酸化在促进 p62 由细胞质运输到细胞核中起重要作用^[8]。PEST 结构域包含脯氨酸(P)、谷氨酸(E)、丝氨酸(S)和苏氨酸(T),所以被称为 PEST 序列。在真核细胞中,PEST 序列被认为是直接与 26S 蛋白酶体相互作用的靶标,PEST 的磷酸化与蛋白质快速更新有关^[9]。LIR 结构域包括氨基酸集群和疏水残基,促进 p62 与自噬体标志物 LC3 的结合,介导 p62 及其互作蛋白的自噬性降解。KIR 结构域可介导 p62 与 Kelch 样环氧氯丙烷相关蛋白-1 (Kelch-like ECH-associated protein 1, KEAP1)的整合,促进 KEAP1 降解并挽救核因子 E2 相关因子 2 (NF-E2-related factor 2, NRF2),促进抗氧化应激(anti-oxidative stress)调控通路应

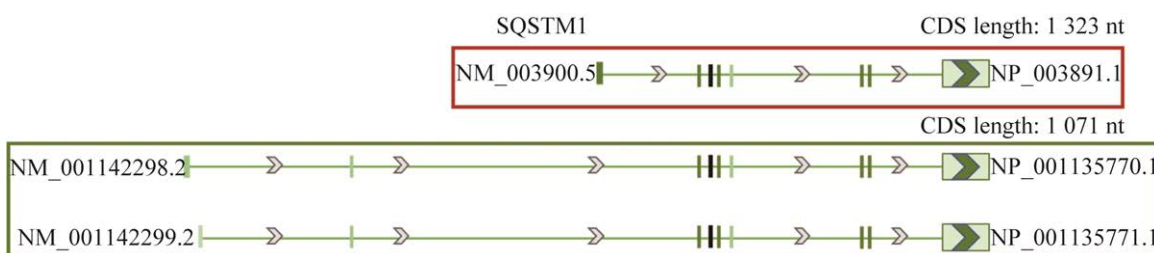


图 1 p62 的 3 种剪切变体

Figure 1 Three splicing variants of p62.

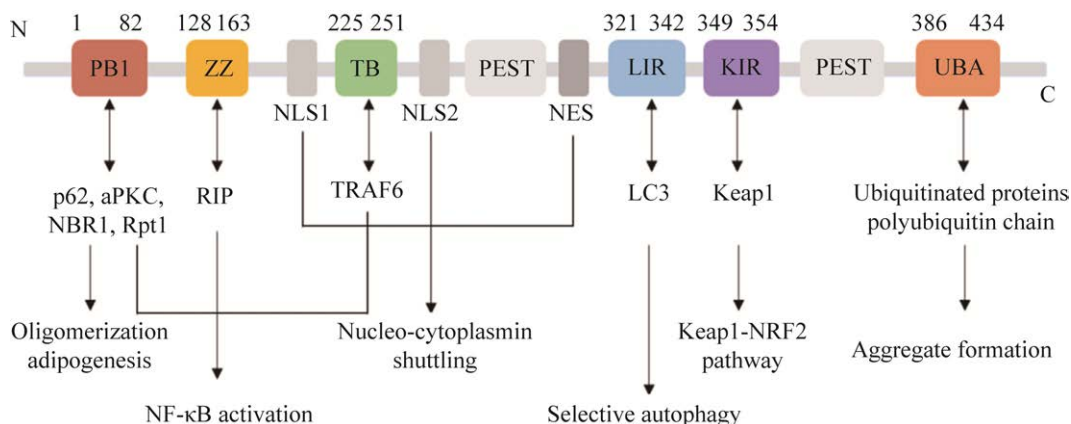


图2 p62 的分子功能结构域 包含 9 个功能域: phox 和 bem1 结构域、ZZ 型锌指结构域、TRAF6 结合结构域、核定位信号、核输出信号、PEST 结构域、LC3 相互作用结构域、KEAP1 相互作用结构域和 C 端泛素结合结构域

Figure 2 Molecular functional domains of p62. Contains nine functional domains: phox and bem1 domains (PB1), ZZ type zinc finger domain (ZZ), TRAF6 binding domain (TB), nuclear localization signal (NLS), nuclear export signal (NES), pest domain, LC3 interacting region (LIR), Kelch like ECH associated protein 1-interacting region (KIR), and a C-terminal ubiquitin binding domain (UBA).

答^[1]。C 端泛素结合结构域(UBA)结构域是对泛素具有高亲和力的高度保守序列^[10-11], 对于转运待降解的泛素化底物到自噬体中至关重要。

p62 丰富的功能结构域赋予其多样的分子功能, 调控不同信号通路进而参与细胞生长、自噬、癌变等生理病理过程。不同的结构域如何影响 p62 的相互作用蛋白、细胞定位以及翻译后修饰状态值得开展更加系统深入的研究, 为理解 p62 如何精细调控下游底物群、介导特定生物学过程提供理论参考。

2 p62 的分子功能

2.1 p62 与相分离

为了将细胞内复杂的生物化学反应区分开, 细胞形成了许多区隔或者细胞器。作为一个区隔要满足两个特点: 一是它要拥有与周围环境隔开的边界; 二是其中的组分可以自由流动。许多这样的区域具有膜结构, 例如高尔基体、线粒体和溶酶体等^[12]。然而有些没有膜结构, 例如核仁以及中心体等。其中, 相分离(phase separation)

为细胞提供了一种相对独立的区域促使特定生化反应的有序进行。

从分子角度讲, 当大分子之间相互作用的能量优势大于体系熵增大的趋势时相分离会发生。研究报道细胞中内源性或外源性表达的 p62 都能形成细胞质包涵体(p62 小体)^[13]。清华大学俞立团队发现 p62 介导的相分离依赖于其他多泛素化货物蛋白或游离泛素链^[14]。p62 通过 N 端 PB1 结构域多聚化, 并通过 C 端 UBA 结构域与泛素结合。相分离发生的过程依赖泛素链长度, 随着链长的增加, 诱发相分离的效率随之增加^[14]。除此之外, p62 的互作蛋白可以促进 p62 小体的形成, 例如死亡结构域相关蛋白(death domain-associated protein, DAXX)、自噬受体(next to *brca1* gene 1 protein, NBR1)、转录增强子辅助蛋白(ubiquitously expressed transcript, UXT)、精氨酸底物等^[15-18]。这些蛋白通过不同的机制促进 p62 聚合。例如, NBR1 和 K63 泛素链促进 p62 小体的形成依赖于 p62 的 PB1 结构域, DAXX 增强 p62 的相分离但独立于其 PB1

结构域^[14,17,19]。p62 的 ZZ 结构域与 N-末端精氨酸化蛋白或其他含有 N-降解子的自噬底物之间的结合可诱导 p62 聚集并促进其与 LC3 的结合^[20-22]。UXT 则与 p62 的 ZZ-LB 结构域结合以促进其缩合^[18]。这些表明 p62 介导的相分离的内在结构基础不一样,是否具有功能特异性有待进一步开展研究工作。

p62 小体中的蛋白质可以保持其构象和活性,并可以在聚集体内扩散到周围环境中,是一种动态可逆的过程。研究证明,自噬体标记蛋白 LC3 会以非脂化形式(LC3-I)均匀分布在 p62 小体内部。这说明除了集中和分离蛋白质货物外,p62 小体也可能作为启动选择性自噬级联信号的组织中心^[14]。除此以外,多种与 p62 相互作用蛋白也分布在小体中,例如 KEAP1、组蛋白乙酰基转移酶(histone acetyltransferase, KAT5)、黏着斑激酶家族相互作用蛋白(focal adhesion kinase family interacting protein of 200 kDa, FIP200)、丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶(serine/threonine-protein kinase, ULK1)等^[1]。目前对于相分离发生的分子机制,及相分离液滴组分的研究还有待加强。鉴于 p62 作为参与自噬和许多信号传导途径的支架蛋白,深入研究有助于阐明 p62 及其互作蛋白的关系及降解机制。

2.2 p62 与蛋白质稳态的维持

蛋白质稳态是细胞器生物发生、细胞代谢、应激适应以及任何细胞类型和器官的长期生存和良好状态的关键要求。蛋白质稳定的一个主要挑战是防止未折叠、错误折叠或受损蛋白质的有害后果,这些蛋白质严重干扰细胞功能。该调控过程与衰老和年龄相关疾病有关,包括神经退行病变、癌症、免疫和代谢疾病。在正常条件下,细胞中近 30%新合成蛋白质被错误折叠。自噬-溶酶体和泛素-蛋白酶体系统(UPS)是负责细胞稳态的两个主要质量控制途径。两个系统在多个点交叉,

以协调它们在蛋白质稳态和细胞器稳态中的作用。虽然这两个系统不同,但越来越多的证据表明它们存在协同配合机制,比如两者共享一些待降解的泛素化蛋白,如亨廷顿病中的亨廷顿蛋白 HttQ74^[23];同时也共享降解元件,其中就包括 p62。

2.2.1 p62 与选择性自噬

自噬主要有 3 种类型,即巨自噬(macroautophagy)、微自噬(microautophagy)和分子伴侣介导的自噬(chaperone-mediated autophagy, CMA),通常指巨自噬。自噬普遍存在于真核细胞中,是一自我修复的生物学过程,负责清除长寿命或错误折叠的蛋白质、脂滴和受损的细胞器,以保持细胞内稳态^[24]。研究发现,自噬对被运输的货物具有高度的选择性。与非选择性自噬不同,选择性自噬以信号依赖的方式选择特定底物,并由自噬接头蛋白介导,包括 p62、NBR1、TAX1 结合蛋白(TAX1-binding protein1, TAX1BP1)等^[25-28]。p62 是参与选择性自噬重要的接头蛋白,它对于泛素化聚集体的形成及运输至关重要。底物蛋白经由多聚泛素链修饰后与 p62 的 UBA 结构域相互作用,形成 p62 与自噬底物蛋白质或细胞器的聚集体;p62 的 PB1 结构域再通过自身寡聚化促进泛素化底物的包装^[29],经由 p62 的 LIR 结构域靶向进入自噬溶酶体中降解。ULK1 激酶介导 p62 的 S409 位点磷酸化。随后在其 S403 位点由 TANK 结合激酶 1(TANK-binding kinase 1, TBK1)磷酸化^[29]。在 UBA 结构域的 S403 和 S409 处的磷酸化导致 p62 与 poly-Ub 结合亲和力增强,促进泛素化底物的降解。p62 识别底物的特异性主要取决于 UBA 结构域的 K63 泛素链的偏好性^[14]。研究证明,底物中的特定蛋白质序列,例如 1 型和 2 型 N 末端降解因子(N-degron),使它们被 p62 特异性募集并通过自噬降解。

2.2.2 p62 与蛋白酶体

泛素-蛋白酶体系统在短寿命、错误折叠和损坏的蛋白质降解中起关键作用。这对于维持蛋白质稳态、炎症、氧化应激及细胞凋亡是必要的。泛素化修饰的蛋白质被 26S 蛋白酶体识别和降解^[30]。蛋白酶体是高度保守的蛋白酶复合物, 20S 催化核心颗粒和 19S 或 11S 调节颗粒, 定位于细胞核与细胞质中。调节颗粒 19S 中具有 ATPase 环(RP triple ATPase 1-6, Rpt1-6), 参与底物蛋白的去折叠并转运至 20S 核心颗粒。p62 的 N 端 PB1 结构域可能与 26S 蛋白酶体的 Rpt1 和 S5a/Rpn10 相互作用, C 端的 UBA 结构域结合泛素化蛋白促进底物降解。另外, p62 使用其自身的两个核定位信号域(NLS1 和 NLS2)和一个核输出基序(NES)进行连续快速的核质穿梭^[31], 可以将泛素化货物从细胞核输出到细胞质中^[8], 从而参与细胞核蛋白的质量控制。此外, p62 定位于核聚集体中, 在将泛素化包含物募集到细胞核中的蛋白酶体中起关键作用。

蛋白酶体的抑制或过载在大多数细胞类型中诱导自噬, 这提供了两个系统之间功能连接的证据。自噬主要补偿蛋白酶体降解能力的降低, 并消除由受损细胞器或潜在毒性蛋白质聚集体积累造成的威胁。相反, 其他研究未检测到溶酶体抑制后蛋白酶体活性的上调。抑制 HeLa 细胞中的自噬后, 累积的 p62 螯合泛素化蛋白, 从而延迟它们向蛋白酶体的穿梭, 但蛋白酶体活性本身不受影响^[23]。因此, p62 作为这两种途径的调节物及底物, 它如何选择底物并选择特定降解途径的机制有待阐明。

3 p62 参与的生物学信号通路

一定诱导条件下, p62 可通过与其他蛋白质的相互作用发挥多种功能, 包括核转录因子 NF-E2 相关转录因子 2^[32]、核转录因子 kappa B

(nuclear transcription factor- κ B, NF- κ B)^[33]和哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)^[34]等。通过与细胞内多种信号通路的标志分子相互作用, 参与调控相关信号通路。通过与这些其他信号途径中的调节蛋白相互作用, p62 参与调控细胞内多条重要信号通路, 最终调节细胞生命活动。

3.1 p62 与 NRF2-KEAP1 信号通路

NRF2 与抗氧化反应元件(antioxidant response element, ARE)相结合, 促进下游一系列抗氧化基因的表达, 如抗氧化酶、谷胱甘肽合成代谢相关酶等。作为细胞内最重要的抗氧化应激调控通路发挥强大的抗氧化作用, 从而稳定细胞内环境^[35]。正常情况下, KEAP1 作为基于 Cullin 3 (CUL3)的 E3 连接酶的衔接子成分(用于底物识别), 促进转录因子 NRF2 的泛素化和降解, 从而使其保持低水平。当暴露于亲电试剂或活性氧(reactive oxygen species, ROS)时, KEAP1 的反应性半胱氨酸残基被直接氧化修饰, 降低了 KEAP1-CUL3 复合物的泛素 E3 连接酶活性并导致 NRF2 稳定不易被降解。新生的 NRF2 可以直接转移到细胞核中, 与抗氧化反应元件或亲电子反应元件(electrophile response element, EpREs)结合, 在其调控区域启动抗氧化酶和抗炎酶的转录。

p62 主要通过 3 种机制调节 NRF2 对氧化应激的反应: (1) 磷酸化 p62 的 KIR 结构域(S351)可能识别 KEAP1 的(double glycine repeat, DGR)结构域^[36], 形成 p62-KEAP1 复合物, 该复合物被 UPS 途径清除, 使 NRF2 入核, 从而激活 NRF2 靶基因的转录; (2) p62 通过组装 p62-KEAP1 复合物和 LC3 形成 LC3-p62-KEAP1 复合物来控制 KEAP1 的周转, 该复合物通过选择性自噬被清除^[37]; (3) 游离 p62 直接进入细胞核调节 ARE, 启动下游基因的表达。有趣的是, NRF2 也能刺

激自噬。当大量 NRF2 易位到细胞核中时,它通过小的 Mafs 蛋白与 ARE 结合,并上调自噬相关基因的转录,包括 Atg5、p62 和 Map1Lc3b,其启动子包含在 ARE 核苷酸序列中,从而上调 Atg5、p62 和 Lc3b 蛋白的表达^[38](图 3)。总之,NRF2 途径和自噬之间通过 p62-KEAP1-NRF2 正反馈回路存在相互调节关系^[39]。

3.2 p62 与 NF- κ B 信号通路

B 细胞核因子 κ -轻链增强子(NF- κ B)是一类诱导型转录因子,在免疫系统中发挥多种进化保守作用,参与调节与机体免疫、炎症反应、细胞分化等相关基因的转录,同时也调控多种生理或病理相关基因的表达^[40]。NF- κ B 家族由 5 种相关蛋白组成,p50 (NF- κ B1)、p52 (NF- κ B2)、p65

(RelA)、RelB 和 cRel (Rel),它们共有约 300 个氨基酸长的 N-末端 Rel 同源结构域(Rel homology domain, RHD),这些蛋白质二聚化后形成有功能的 NF- κ B,活化的 NF- κ B 进入细胞核内与 DNA 结合。细胞质中 3 个抑制因子(I κ B α 、I κ B β 、I κ B ϵ)可以结合部分的 NF- κ B 二聚体使其以无活性的状态存在。各种信号通过降解 I κ Bs 的方式来活化 NF- κ B。其中,I κ B 激酶(I κ B kinase, IKK)作为一个重要角色,它是一个调节亚单位,由 IKK- γ (也被称为 NF-kappa-B essential modulator, NEMO)和 2 个催化亚单位 I κ k- α 、I κ k- β 组成。I κ Bs 可以被 I κ Bs 激酶(IKK)催化,使其的两个保守的丝氨酸残基磷酸化,然后在赖氨酸残基上多泛素化,最终被 26S 蛋白酶体降解。

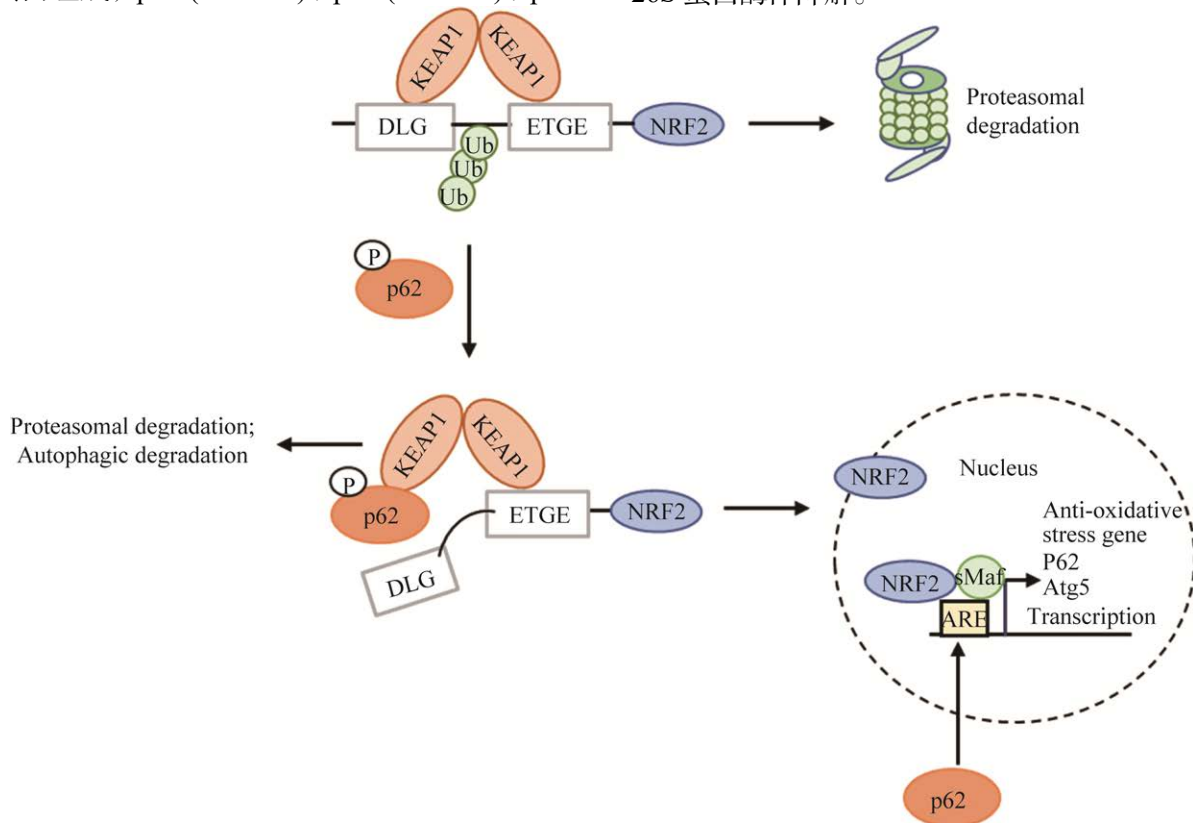


图 3 p62 参与调节 NRF2-KEAP1 信号通路 KEAP1 结合 NRF2 使 NRF2 从蛋白酶体降解; p62 识别 KEAP1, 形成 p62-KEAP1 复合物被蛋白酶体/自噬-溶酶体降解, 释放 NRF2 入核

Figure 3 p62 is involved in regulating the NRF2-KEAP1 signaling pathway. KEAP1 binds to NRF2, allowing NRF2 to be degraded from the proteasome. p62 recognizes KEAP1, forming a p62-KEAP1 complex and degradation by the proteasome/autophagy lysosome, releasing NRF2 into the nucleus.

p62 有几种方式参与调控 NF- κ B 信号通路。首先, 肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α , TNF α) 与肿瘤坏死因子受体 1 (tumor necrosis factor receptor 1, TNF-R1) 结合, TNF-R1 募集 TNFR1 相关的死亡结构域蛋白(TNF receptor-associated death domain, TRADD), 后者又募集受体相互作用蛋白激酶 1 (receptor-interacting serine/threonine-protein kinase 1, RIP1) 和肿瘤坏死因子受体相关因子 2 (TNF receptor-associated factor 2, TRAF2)。p62 通过 ZZ 锌指结构参与 RIP 蛋白的结合^[41], RIP1 被 E3 泛素连接酶 TRAF2 多泛素化^[42]。多泛素化 RIP1 招募磷酸化 IKK 的 TAK1, 这也导致 IKK 活化。使 NF- κ B 被释放并转移到细胞核中, 激活靶基因

的转录。此外, 核因子- κ B 受体激活剂配体(receptor activator of nuclear factor- κ B ligand, RANKL)与其受体 RANK 结合后会诱导 TRAF6 聚集, 而后 TRAF6 通过激活 IKK 复合体来激活 NF- κ B, 而 p62 与 TRAF6 结合后, p62-TRAF6 复合体将与非典型性蛋白激酶 C (atypical protein kinase C, aPKC) 蛋白相互作用, 共同调节 NF- κ B 的活化^[43]。同时, p62 在 NF- κ B 活化中的另一个作用是促进 A20 的降解, A20 是一种去泛素酶, 通过抑制 NEMO 的 K63 连接泛素化和 RIP1 的 K63 连接泛素化来防止过量的 NF- κ B 活化, 随后通过 26S 蛋白酶体降解^[44-45]。另外, 不仅作为 NF- κ B 通路的调节因子, p62 本身也会被 NF- κ B 上调, 形成正反馈环(图 4)^[46]。

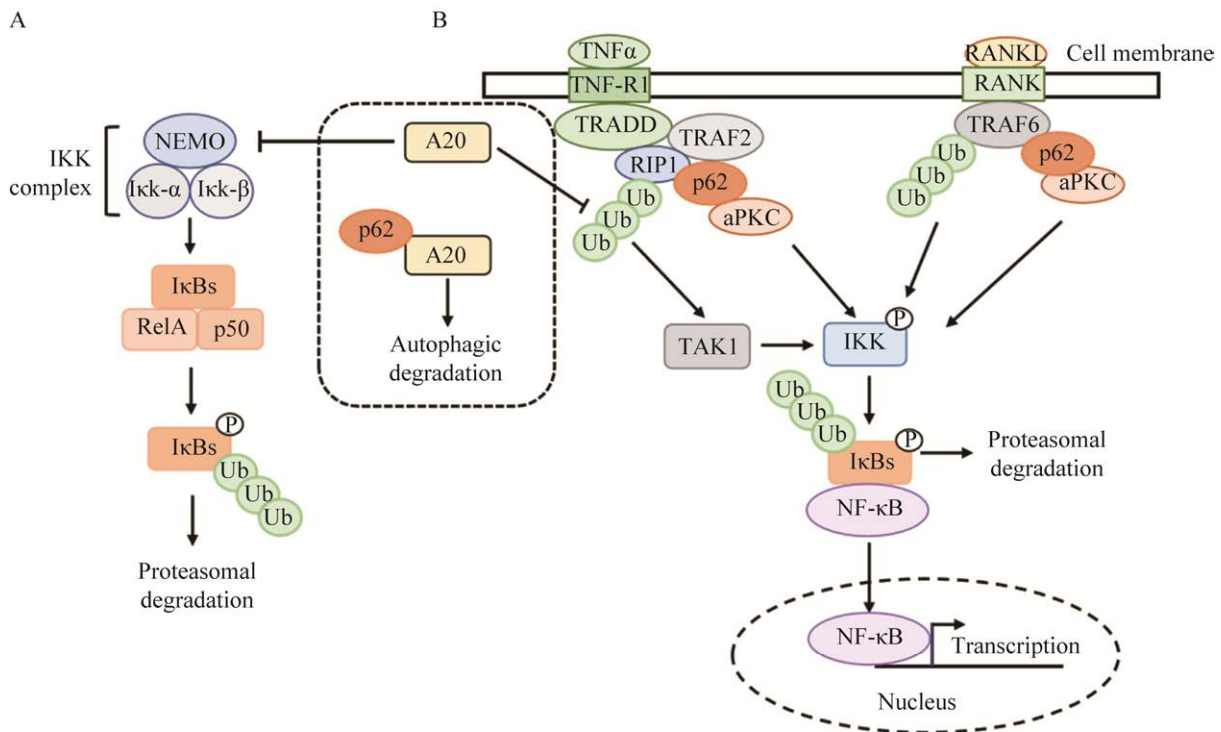


图 4 p62 与 NF- κ B 信号通路 A: IKK 复合物促进 I κ Bs 的降解. p62 促进 A20 的降解, A20 抑制 NF- κ B 活化. B: p62 调控 NF- κ B 信号通路. p62 结合 RIP1 蛋白, RIP1 被多泛素化并招募 TAK1, 促进 IKK 活化; p62-TRAF6 复合体将与 aPKC 蛋白相互作用, 共同调节 NF- κ B 的活化

Figure 4 p62 and NF- κ B signaling. A: The IKK complex promotes degradation of I κ Bs. p62 promotes degradation of A20 which inhibits NF- κ B activation. B: P62 regulates NF- κ B signaling pathways. p62 binds to RIP1, which is polyubiquitinated and recruits TAK1, promoting IKK activation; The p62-TRAF6 complex interacts with aPKC proteins to co-regulate NF- κ B.

3.3 p62 与 mTOR 信号通路

雷帕霉素靶蛋白(mTOR)是一种丝氨酸/苏氨酸激酶,作为联系代谢上下游的关键枢纽分子,参与调控几个关键的生物学过程:蛋白质合成、脂肪合成、抑制细胞自噬。在营养充足的情况下,mTOR 被激活,促进物质代谢和能量储存;而在相对匮乏的时候,其活性受到抑制以保持细胞原料和能量的相对稳定。

mTOR 含有两种复合体,分别为 mTORC1 和 mTORC2,这两个复合体在细胞内传递不同的信号。研究证明,营养感知反应与溶酶体靶向 mTORC1 复合体有关^[47]。Rag 蛋白家族是类似 Ras 的小 GTPase,是氨基酸特异性调节因子。

Rag GTPases 是 RagA/B 与 RagC 或 D 构成的异二聚体 G 蛋白。p62 介导 mTOR 与 Rag GTPases 体内相互作用,促进 mTORC1 复合物易位至溶酶体表面,从而抑制自噬^[31]。p62 通过连接 Raptor (mTORC1 复合物的亚基之一),与 mTORC1 和 Rag GTPases 形成的高分子量复合物相连,这是 mTOR 激活的关键步骤(图 5)。p62 的高表达会激活 mTORC1 通路^[48]。在体外细胞模型中,p62 被发现是介导氨基酸诱导的 mTORC1 下游靶点激活所必需的,例如真核细胞翻译起始因子 4E 结合蛋白 1 (the eIF4E-binding protein 1, 4EBP1)^[49]。所以 p62 可能是感受细胞内游离氨基酸水平的调节开关。

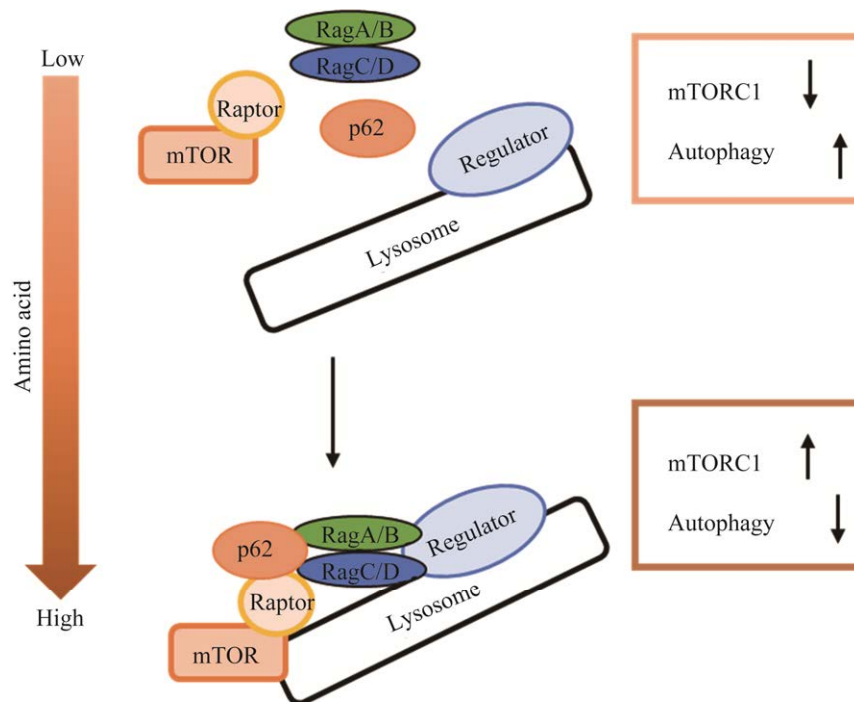


图5 p62的高表达激活mTORC1通路 p62通过连接Raptor与mTORC1和Rag GTPases复合物相连,激活mTOR

Figure 5 High expression of p62 activates the mTORC1 pathway. P62 activates mTOR by linking Raptor to mTORC1 and the rag GTPases complex.

4 p62 在疾病中的作用

p62 分布广, 在所有组织中均有表达, 在肌肉组织中表达水平较高。因此, p62 可能与多种组织、器官病变的发生发展相关。研究表明, p62 参与多种疾病的病理过程, 如神经退行性疾病, 癌症以及代谢性疾病等。已有研究证明 p62 是肿瘤细胞遗传、自噬、凋亡、迁移的核心因子, 也是患者预后的指标, 在肝癌、肾癌、前列腺癌等癌症中均与较短生存率相关。p62 的功能多样性导致它在疾病中的作用是复杂且双面的。例如, 以 p62 为中心的聚集体是神经退行性疾病及肝癌等疾病的重要标志物, 在疾病的发生发展中起重要作用。然而 p62 在肝星状细胞 (hepatic stellate cell, HSC) 中起到抑制肝癌发展的作用。因此, p62 在各种类型的癌症和肿瘤相关微环境中作为原癌基因或抑癌基因发挥作用, 这对肿瘤的发展以及患者的治疗和预后产生较大影响。

4.1 p62 与神经退行性疾病

蛋白质错误折叠不能被有效降解时, 被加工成小的错误折叠的低聚物, 对神经元产生毒性。比如 α -突触核蛋白、亨廷顿蛋白在内的细胞内聚集体分别是在帕金森氏病和亨廷顿氏病中发现的错误折叠蛋白^[2,50]。因此, 蛋白质疾病(包括神经退行性疾病中发现的蛋白质疾病)的一个治疗策略是促进有毒寡聚分子的去除。鉴于 p62 在选择性自噬中清楚错误折叠蛋白的作用, p62 可能具有神经保护作用。

阿尔茨海默病是一种以认知功能障碍和记忆障碍为主要临床特征的神经退行性疾病。病理特征是细胞外淀粉样蛋白- β (amyloid- β , A β) 斑块的形成和神经原纤维缠结 (neurofibrillary tangle, NFT) 的神经内沉积^[51]。早在 2001 年人们就发现了 p62 和泛素化蛋白在阿尔茨海默病患者神经元和神经胶质细胞中大量聚集^[52]。虽然

在阿尔茨海默病患者中未检测到 p62 的直接突变, 但在一些阿尔茨海默病患者中检测出 p62 的低表达^[53]。细胞内 MAPT/tau (microtubule associated protein, tau) 蛋白的积聚是阿尔茨海默病和其他 tau 蛋白相关疾病的病理学的显著特征, 这种聚集大部分是源于巨自噬/自噬缺陷。p62 与神经原纤维缠结以及其他聚集物的结合, 抑制了 p62 与泛素化 tau 蛋白的识别与结合, 进而影响 tau 蛋白降解的效率, 这是阿尔茨海默病发病的重要原因之一。另外, p62 UBA 结构域内 Ser403 的磷酸化增加 p62 与多聚泛素链的亲合力, 促进其与错误折叠蛋白质和泛素标记功能失调蛋白相结合, 进行促进泛素化底物的清除^[54]。磷酸化的 p62 通过 UBA 结构域识别多聚泛素化 tau 蛋白, 引导其自噬降解。研究证明 Ser403 磷酸化的 p62 在阿尔茨海默氏病患者大脑中降低^[55]。因此, p62 的磷酸化及其激酶成为重要的潜在治疗靶点。比如, TBK1 是磷酸化 p62 S403 位点的激酶, PTK2 (protein tyrosine kinase 2) 连接 TBK1 并增加其活性, 促进 p62 的 Ser403 位点磷酸化。研究证实 PTK2-TBK1-p62 轴通过调节 UPS 损伤诱导的神经毒性在 TAR DNA 结合蛋白 (TAR DNA binding protein, TARDBP) 的发病机制中起关键作用。因此, 靶向 PTK2-TBK1-p62 轴成为治疗对具有 TARDBP 蛋白介导的神经退行性疾病的潜在靶点^[56]。

NRF2 下调是神经退行性疾病的重要特征之一^[57]。NRF2 的表达随着年龄的增长而明显下降, 导致细胞质中的活性氧 (ROS) 不能立即清除。p62 参与调节 NRF2-KEAP1 信号通路。NRF2 与 KEAP1 的结合促进其蛋白酶体降解, 而 p62 能够竞争性识别 KEAP1, 形成 p62-KEAP1 复合物从而释放 NRF2 入核, 并进一步促进 p62 的转录。p62-KEAP1-NRF2 正反馈环参与消除阿尔茨海默病诱导的 ROS 和蛋白质聚集体。因此, 维

持 p62-KEAP1-NRF2 正反馈环的稳态可能是阿尔茨海默病治疗的潜在策略^[58]。研究证明 p62 的过度表达挽救了转基因阿尔茨海默病小鼠的认知缺陷, A β 水平和斑块负荷降低, 自噬增加。因此 p62 本身可以被确定为针对神经退行性疾病的潜在治疗靶点。

4.2 p62 与肝细胞癌

原发性肝癌(hepatic cell carcinoma, HCC)是肝癌的主要形式, 是全球癌症死亡的第 4 大常见原因, 5 年生存率约为 18%^[59-60]。p62 已经被确定为 Mallory-Denk bodies (MDBs)或细胞内透明体的关键组成部分, 已知这些蛋白质聚集体在酒精性脂肪性肝炎(alcoholic steatohepatitis, ASH)、非酒精性脂肪性肝炎(non-alcoholic steatohepatitis, NASH)和肝细胞癌(HCC)患者的活检样本中经常检测到, 并且与肿瘤分级和复发相关^[10,61-62]。

p62 通过激活肝细胞中的 NRF2、mTORC1 和 c-MYC 原癌基因途径, 促进 HCC 的发生和发展^[62]。研究表明, p62 的积累在肝癌发生发展的不同阶段发挥了关键作用。它通过支持含有 ROS 的肝癌祖细胞(hepatocellular carcinoma progenitor cell, HcPC)存活和积累来增加癌症发生的风险^[62]。癌症起始细胞不断增殖导致氧化和代谢应激^[63]。p62 转录的主要激活因子, NRF2 在慢性肝脏炎症和氧化应激期间被激活, 促使 p62 的表达在各种细胞应激反应中升高。与此同时, HCC 起始细胞通过累积 p62 聚集体获得替代性适应机制, 高表达的 p62 竞争性结合 KEAP1, 释放更多 NRF2, 促进 NRF2 的稳定以及 NRF2 信号的上调形成正反馈环, 保护氧化应激的起始细胞进而促进肝癌发生。在 HCC 活组织检查中, p62 的 S28 和 S349 位点的磷酸化增强, 分别促进 p62 聚集以及提高整合 KEAP1 的能力, 导致 NRF2 信号传导的过度活化, 这对驱动 HCC 发展至关重要。此外, p62 积累激活

mTORC1/c-MYC 信号传导以改变代谢并促进增殖。在肝脏特异性结节性肝硬化症 1 中, mTORC1 信号传导的组成型活化发展自发性 HCC。p62 敲除的小鼠中, mTORC1 活性降低并抑制 HCC 发展^[62,64]。p62 的 mTORC1 依赖性磷酸化可以增强其激活 NRF2 信号传导的功能^[36], 表明 p62 和 mTORC1 之间存在正反馈环以协同促进 NRF2 的过度活化。除 NRF2 外, p62 还在 HCC 发展过程中促进 c-MYC 癌基因的表达。c-MYC 促进细胞增殖和代谢重编程, 因此对肿瘤生长至关重要, 通常在 HCC 中上调^[65]。

慢性肝损伤启动肝细胞死亡、炎症和纤维化的恶性循环, 导致肝硬化和癌症, 其中肝星状细胞(HSC)起决定性作用。HSC 中的维生素 D 受体(vitamin D receptor, VDR)活化抑制肝脏炎症和纤维化。p62 直接与 VDR 和维甲酸 X 受体(retinoid X receptor, RXR)相互作用, 促进其异二聚化, 发挥抗纤维化和抗炎功能。HSC 中 p62 的缺失阻滞 VDR 发挥作用, 导致炎症、纤维化增强以及 HCC 的进展^[66]。综上所述, p62 是一种在肝实质细胞中上调但在 HCC 相关 HSC 中下调的蛋白质, 说明 p62 可作为 HSC 中 HCC 发展的抑制因子。

4.3 p62 与其他疾病

研究证明, 信号通路中 p62 和其他关键蛋白表达的综合分析可用作癌症预后的生物标志物^[67-68]。2013 年, p62 被确定为肾癌的发病靶点^[69]。在透明细胞肾细胞癌(clear cell renal cell carcinoma, RCC)系中过表达 p62 促进了对氧化还原应激的抗性并增加了软琼脂生长, 而 p62 的下调降低了对氧化还原应激的抗性, 损害了细胞适应性并减少了肿瘤的形成。不久之后研究表明 p62 在结直肠癌组织中上调^[70], p62 的异位过表达有助于结直肠肿瘤的发生。卵巢癌中 p62 的 ZZ 结构域调节受体相互作用蛋白 1 (RIP1)介

导 NF- κ B 通路的激活,影响卵巢癌细胞的增殖和凋亡^[7]。越来越多的证据表明 p62 也是代谢性疾病的关键调节因子,如肥胖、T2DM 病、非酒精性脂肪性肝病、代谢性骨病、痛风和甲状腺疾病等^[71]。脂肪是身体能量的关键储存库,肿瘤和脂肪组织建立共生作用。肿瘤促进脂肪组织的代谢活化,导致肿瘤微环境储存的营养物质减少。由于 p62 激活 mTOR 通路,因此脂肪细胞内 p62 的缺乏或低表达导致细胞的代谢活性降低,从而减少脂肪中正常生理的能量利用,有利于供给肿瘤的高能量需求^[72]。因此,尽管 p62 在癌上皮中起肿瘤促进剂的作用,但它在微环境中起到肿瘤抑制因子的作用^[73]。同时,研究结果显示肥胖激活的 TBK1 信号转导通路在脂毒性过程中促进肝细胞中 p62 包涵体的积累,它可能为营养过剩和肥胖促进 NASH 相关的 HCC 发展提供分子通道^[74-75]。因此,如何合理平衡 p62 多元的生物学功能,还需要进一步努力探索蛋白质疾病的结构和病理基础。

5 结语

综上所述,p62 具有多个功能结构域,这决定了它能参与多个信号途径的调控,涉及许多病理生理过程,尽管其具体作用机制目前仍未阐明,但可以肯定 p62 在疾病中的作用是复杂、双面的。癌细胞受益于 p62 水平的增加,它为癌细胞提供了更好的抗氧化和解毒反应以及促血管生成和生存信号,这两者都促进了肿瘤的进展。与此同时,周围间质细胞中 p62 的丢失会下调这些途径,导致代谢物和其他分泌信号的分泌,从而进一步帮助癌细胞的发展^[76]。因此,通过自噬依赖或独立的机制维持肿瘤和间质中 p62 的动态平衡将对肿瘤发生过程的最终结果起决定性作用。自从利用泛素-蛋白酶体系统降解靶蛋白的蛋白水解靶向嵌合体(proteolysis targeting

chimera, PROTAC)的分子概念被报道以来,靶向蛋白质降解(targeted protein degradation, TPD)已逐渐成为治疗相关疾病的重要方法^[77]。通过识别结合泛素化底物,p62 将细胞内两个主要的蛋白降解机制:自噬-溶酶体系统和 UPS 有机联系起来,如今利用 p62 的功能靶向降解目的蛋白的技术逐渐发展。Ji 等^[78]构建了自噬靶向嵌合体 (autophagy-targeting chimera, AUTOTAC),通过靶标结合配体 (target-binding ligands, TBL)和自噬靶标配体 (autophagy-targeting ligands, ATL)将靶标结合到 p62,通过巨自噬促进靶标-p62 复合物的降解,并在表达人病理性 tau 突变体的鼠脑模型中证实了其靶向错误折叠蛋白的治疗功效,这为基础研究和药物开发中的选择性蛋白水解提供了平台,也为 p62 与疾病治疗的联系提供了技术出口。随着科学的发展,p62 与相分离、蛋白质稳态、肿瘤、疾病的关系将会不断得到揭示,为相关疾病治疗提供新的理论依据。结合靶向蛋白质降解技术,期望解决某些难成药性蛋白靶点引起的疾病,为疾病治疗提供更多新思路与新方法。

REFERENCES

- [1] KAGEYAMA S, GUDMUNDSSON SR, SOU YS, ICHIMURA Y, TAMURA N, KAZUNO S, UENO T, MIURA Y, NOSHIRO D, ABE M, MIZUSHIMA T, MIURA N, OKUDA S, MOTOHASHI H, LEE JA, SAKIMURA K, OHE T, NODA NN, WAGURI S, ESKELINEN EL, et al. p62/SQSTM1-droplet serves as a platform for autophagosome formation and anti-oxidative stress response[J]. *Nature Communications*, 2021, 12: 16.
- [2] MA SF, ATTARWALA IY, XIE XQ. SQSTM1/p62: a potential target for neurodegenerative disease[J]. *ACS Chemical Neuroscience*, 2019, 10(5): 2094-2114.
- [3] PANKIV S, CLAUSEN TH, LAMARK T, BRECH A, BRUUN JA, OUTZEN H, ØVERVATN A, BJØRKØY G, JOHANSEN T. p62/SQSTM1 binds directly to Atg8/LC3 to facilitate degradation of ubiquitinated protein aggregates by autophagy[J]. *Journal of*

- Biological Chemistry, 2007, 282(33): 24131-24145.
- [4] SHIN J. p62 and the sequestosome, a novel mechanism for protein metabolism[J]. Archives of Pharmacal Research, 1998, 21(6): 629-633.
- [5] GEETHA T, WOOTEN MW. Structure and functional properties of the ubiquitin binding protein p62[J]. FEBS Letters, 2002, 512(1/2/3): 19-24.
- [6] CHRISTIAN F, KRAUSE E, HOUSLAY MD, BAILLIE GS. PKA phosphorylation of p62/SQSTM1 regulates PB1 domain interaction partner binding[J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research, 2014, 1843(11): 2765-2774.
- [7] YAN XY, ZHANG Y, ZHANG JJ, ZHANG LC, LIU YN, WU Y, XUE YN, LU SY, SU J, SUN LK. p62/SQSTM1 as an oncotarget mediates cisplatin resistance through activating RIP1-NF- κ B pathway in human ovarian cancer cells[J]. Cancer Science, 2017, 108(7): 1405-1413.
- [8] PANKIV S, LAMARK T, BRUUN JA, ØVERVATN A, BJØRKØY G, JOHANSEN T. Nucleocytoplasmic shuttling of p62/SQSTM1 and its role in recruitment of nuclear polyubiquitinated proteins to promyelocytic leukemia bodies[J]. Journal of Biological Chemistry, 2010, 285(8): 5941-5953.
- [9] GARCÍA-ALAI MM, GALLO M, SALAME M, WETZLER DE, McBRIDE AA, PACI M, CICERO DO, de PRAT-GAY G. Molecular basis for phosphorylation-dependent, PEST-mediated protein turnover[J]. Structure, 2006, 14(2): 309-319.
- [10] DENK H, STUMPTNER C, ABUJA PM, ZATLOUKAL K. Sequestosome 1/p62-related pathways as therapeutic targets in hepatocellular carcinoma[J]. Expert Opinion on Therapeutic Targets, 2019, 23(5): 393-406.
- [11] KATSURAGI Y, ICHIMURA Y, KOMATSU M. p62/SQSTM1 functions as a signaling hub and an autophagy adaptor[J]. FEBS Journal, 2015, 282(24): 4672-4678.
- [12] 孙大晓. 多泛素链诱导的 p62 蛋白相分离驱动自噬降解底物的募集[D]. 北京: 清华大学博士学位论文, 2018.
- SUN DX. Polyubiquitin chain-induced p62 phase separation drives autophagic cargo segregation[D]. Beijing: Doctoral Dissertation of Tsinghua University, 2018 (in Chinese).
- [13] BJØRKØY G, LAMARK T, BRECH A, OUTZEN H, PERANDER M, ØVERVATN A, STENMARK H, JOHANSEN T. p62/SQSTM1 forms protein aggregates degraded by autophagy and has a protective effect on huntingtin-induced cell death[J]. Journal of Cell Biology, 2005, 171(4): 603-614.
- [14] SUN DX, WU RB, ZHENG JX, LI PL, YU L. Polyubiquitin chain-induced p62 phase separation drives autophagic cargo segregation[J]. Cell Research, 2018, 28(4): 405-415.
- [15] KEHL SR, SOOS BL A, SAHA B, CHOI SW, HERREN AW, JOHANSEN T, MANDELL MA. TAK 1 converts sequestosome 1/p62 from an autophagy receptor to a signaling platform[J]. EMBO Reports, 2019, 20(9): e46238.
- [16] SÁNCHEZ-MARTÍN P, SOU YS, KAGEYAMA S, KOIKE M, WAGURI S, KOMATSU M. NBR 1-mediated p62-liquid droplets enhance the keep1-Nrf2 system[J]. EMBO Reports, 2020, 21(3): e48902.
- [17] YANG Y, WILLIS TL, BUTTON RW, STRANG CJ, FU YH, WEN X, GRAYSON PRC, EVANS T, SIPHTHORPE RJ, ROBERTS SL, HU B, ZHANG JK, LU BX, LUO SQ. Cytoplasmic DAXX drives SQSTM1/p62 phase condensation to activate Nrf2-mediated stress response[J]. Nature Communications, 2019, 10: 3759.
- [18] YOON MJ, CHOI B, KIM EJ, OHK J, YANG C, CHOI YG, LEE J, KANG C, SONG HK, KIM YK, WOO JS, CHO Y, CHOI EJ, JUNG H, KIM C. UXT chaperone prevents proteotoxicity by acting as an autophagy adaptor for p62-dependent aggregate[J]. Nature Communications, 2021, 12: 1955.
- [19] ZAFFAGNINI G, SAVOVA A, DANIELI A, ROMANOV J, TREMEL S, EBNER M, PETERBAUER T, SZTACHO M, TRAPANNONE R, TARAFDER AK, SACHSE C, MARTENS S. p62 filaments capture and present ubiquitinated cargos for autophagy[J]. The EMBO Journal, 2018, 37(5): e98308.
- [20] CHA-MOLSTAD H, SUNG KS, HWANG J, KIM KA, YU JE, DONG YOO Y, JANG JM, HAN DH, MOLSTAD M, KIM JG, LEE YJ, ZAKRZEWSKA A, KIM SH, KIM ST, KIM SY, LEE HG, SOUNG NK, AHN JS, CIECHANOVER A, KIM BY, et al. Amino-terminal arginylation targets endoplasmic reticulum chaperone BiP for autophagy through p62 binding[J]. Nature Cell Biology, 2015, 17(7): 917-929.
- [21] CHA-MOLSTAD H, YU JE, FENG ZW, LEE SH, KIM JG, YANG P, HAN B, SUNG KW, DONG YOO Y, HWANG J, McGUIRE T, SHIM SM, DONG SONG H, GANIPISSETTI S, WANG NZ, JANG JM, LEE MJ, KIM SJ, LEE KH, et al. p62/SQSTM1/sequestosome-1 is an N-recognition of the

- N-end rule pathway which modulates autophagosome biogenesis[J]. *Nature Communications*, 2017, 8: 102.
- [22] ZHANG Y, MUN SR, LINARES JF, AHN J, TOWERS CG, JI CH, FITZWALTER BE, HOLDEN MR, MI WY, SHI XB, MOSCAT J, THORBURN A, DIAZ-MECO MT, KWON YT, KUTATELADZE TG. ZZ-dependent regulation of p62/SQSTM1 in autophagy[J]. *Nature Communications*, 2018, 9: 4373.
- [23] KOROLCHUK VI, MANSILLA A, MENZIES FM, RUBINSZTEIN DC. Autophagy inhibition compromises degradation of ubiquitin-proteasome pathway substrates[J]. *Molecular Cell*, 2009, 33(4): 517-527.
- [24] LIU J, KUANG FM, KROEMER G, KLIONSKY DJ, KANG R, TANG DL. Autophagy-dependent ferroptosis: machinery and regulation[J]. *Cell Chemical Biology*, 2020, 27(4): 420-435.
- [25] BIRGISDOTTIR ÁB, LAMARK T, JOHANSEN T. The LIR motif-crucial for selective autophagy[J]. *Journal of Cell Science*, 2013, 126(15): 3237-3247.
- [26] SPARRER KMJ, GACK MU. TRIM proteins: new players in virus-induced autophagy[J]. *PLoS Pathogens*, 2018, 14(2): e1006787.
- [27] FARRÉ JC, SUBRAMANI S. Mechanistic insights into selective autophagy pathways: lessons from yeast[J]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2016, 17(9): 537-552.
- [28] ZAFFAGNINI G, MARTENS S. Mechanisms of selective autophagy[J]. *Journal of Molecular Biology*, 2016, 428(9): 1714-1724.
- [29] KRAFT LJ, DOWLER J, MANRAL P, KENWORTHY AK. Size, organization, and dynamics of soluble SQSTM1 and LC3-SQSTM1 complexes in living cells[J]. *Autophagy*, 2016, 12(9): 1660-1674.
- [30] BHATTACHARYYA S, YU HQ, MIM C, MATOUSCHEK A. Regulated protein turnover: snapshots of the proteasome in action[J]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2014, 15(2): 122-133.
- [31] DURAN A, AMANCHY R, LINARES JF, JOSHI J, ABU-BAKER S, POROLLO A, HANSEN M, MOSCAT J, DIAZ-MECO MT. p62 is a key regulator of nutrient sensing in the mTORC1 pathway[J]. *Molecular Cell*, 2011, 44(1): 134-146.
- [32] YAMAMOTO M, KENSLER TW, MOTOHASHI H. The KEAP1-NRF₂ system: a thiol-based sensor-effector apparatus for maintaining redox homeostasis[J]. *Physiological Reviews*, 2018, 98(3): 1169-1203.
- [33] HAYDEN MS, GHOSH S. Regulation of NF- κ B by TNF family cytokines[J]. *Seminars in Immunology*, 2014, 26(3): 253-266.
- [34] TSAI LC L, XIE L, DORE K, XIE L, del RIO JC, KING CC, MARTINEZ-ARIZA G, HULME C, MALINOW R, BOURNE PE, NEWTON AC. Zeta inhibitory peptide disrupts electrostatic interactions that maintain atypical protein kinase C in its active conformation on the scaffold p62[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2015, 290(36): 21845-21856.
- [35] TANG ZH, HU B, ZANG FZ, WANG JX, ZHANG XD, CHEN HJ. Nrf2 drives oxidative stress-induced autophagy in nucleus pulposus cells via a keap1/Nrf2/p62 feedback loop to protect intervertebral disc from degeneration[J]. *Cell Death & Disease*, 2019, 10(7): 510.
- [36] ICHIMURA Y, WAGURI S, SOU YS, KAGEYAMA S, HASEGAWA J, ISHIMURA R, SAITO T, YANG YJ, KOUNO T, FUKUTOMI T, HOSHII T, HIRAO A, TAKAGI K, MIZUSHIMA T, MOTOHASHI H, LEE MS, YOSHIMORI T, TANAKA K, YAMAMOTO M, KOMATSU M. Phosphorylation of p62 activates the keap1-Nrf2 pathway during selective autophagy[J]. *Molecular Cell*, 2013, 51(5): 618-631.
- [37] LIAO WT, WANG ZY, FU ZJ, MA HK, JIANG MD, XU AP, ZHANG W. p62/SQSTM1 protects against cisplatin-induced oxidative stress in kidneys by mediating the cross talk between autophagy and the Keap1-Nrf2 signalling pathway[J]. *Free Radical Research*, 2019, 53(7): 800-814.
- [38] HO CJ, GORSKI SM. Molecular mechanisms underlying autophagy-mediated treatment resistance in cancer[J]. *Cancers*, 2019, 11(11): 1775.
- [39] deLa VEGA MR, CHAPMAN E, ZHANG DD. NRF₂ and the hallmarks of cancer[J]. *Cancer Cell*, 2018, 34(1): 21-43.
- [40] JI Z, HE LZ, REGEV A, STRUHL K. Inflammatory regulatory network mediated by the joint action of NF- κ B, STAT3, and AP-1 factors is involved in many human cancers[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2019, 116(19): 9453-9462.
- [41] SANZ L. The interaction of p62 with RIP links the atypical PKCs to NF- κ B activation[J]. *The EMBO Journal*, 1999, 18(11): 3044-3053.
- [42] LEE TH, SHANK J, CUSSON N, KELLIHER MA. The kinase activity of Rip1 is not required for tumor necrosis factor- α -induced I κ B kinase or p38 MAP kinase activation or for the ubiquitination of Rip1 by Traf2[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2004, 279(32): 33185-33191.

- [43] 赵萍萍, 要乐, 蔚丹丹, 郝慧芳. p62 蛋白功能及相关信号通路研究[J]. 生命科学, 2018, 30(1): 100-106. ZHAO PP, YAO L, YU DD, HAO HF. The functions and related signaling pathways of p62[J]. Chinese Bulletin of Life Sciences, 2018, 30(1): 100-106 (in Chinese).
- [44] SHEMBADE N, HARHAJ EW. Regulation of NF- κ B signaling by the A20 deubiquitinase[J]. Cellular & Molecular Immunology, 2012, 9(2): 123-130.
- [45] KANAYAMA M, INOUE M, DANZAKI K, HAMMER G, HE YW, SHINOHARA ML. Autophagy enhances NF κ B activity in specific tissue macrophages by sequestering A20 to boost antifungal immunity[J]. Nature Communications, 2015, 6: 5779.
- [46] LING JH, KANG YA, ZHAO RY, XIA QH, LEE DF, CHANG Z, LI J, PENG BL, FLEMING JB, WANG HM, LIU JS, LEMISCHKA IR, HUNG MC, CHIAO PJ. Kras^{G12D}-induced IKK $_2$ / β /NF- κ B activation by IL-1 α and p62 feedforward loops is required for development of pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. Cancer Cell, 2012, 21(1): 105-120.
- [47] SANCAK Y, PETERSON TR, SHAUL YD, LINDQUIST RA, THOREEN CC, BAR-PELED L, SABATINI DM. The rag GTPases bind raptor and mediate amino acid signaling to mTORC1[J]. Science, 2008, 320(5882): 1496-1501.
- [48] KOMATSU M, KAGEYAMA S, ICHIMURA Y. p62/SQSTM1/A170: physiology and pathology[J]. Pharmacological Research, 2012, 66(6): 457-462.
- [49] HONG SE, KIM EK, JIN HO, KIM HA, LEE JK, KOH JS, SEOL H, KIM JI, PARK IC, NOH WC. S6K1 inhibition enhances tamoxifen-induced cell death in MCF-7 cells through translational inhibition of Mcl-1 and survivin[J]. Cell Biology and Toxicology, 2013, 29(4): 273-282.
- [50] LIU HY, DAI CQ, FAN YL, GUO BL, REN KK, SUN TN, WANG WT. From autophagy to mitophagy: the roles of P62 in neurodegenerative diseases[J]. Journal of Bioenergetics and Biomembranes, 2017, 49(5): 413-422.
- [51] FOREST KH, NICHOLS RA. Assessing neuroprotective agents for α -induced neurotoxicity[J]. Trends in Molecular Medicine, 2019, 25(8): 685-695.
- [52] 陈易斯, 宋福永. 选择性自噬接头蛋白 p62/sequestosome 1 的研究进展[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2016, 30(3): 258-265. CHEN YS, SONG FY. Research advances in selective adaptor protein autophagy of p62/sequestosome-1[J]. Chinese Journal of Pharmacology and Toxicology, 2016, 30(3): 258-265 (in Chinese).
- [53] RAMESH BABU J, LAMAR SEIBENHENER M, PENG JM, STROM AL, KEMPPAINEN R, COX N, ZHU HN, WOOTEN MC, DIAZ-MECO MT, MOSCAT J, WOOTEN MW. Genetic inactivation of p62 leads to accumulation of hyperphosphorylated tau and neurodegeneration[J]. Journal of Neurochemistry, 2008, 106(1): 107-120.
- [54] MATSUMOTO G, SHIMOGORI T, HATTORI N, NUKINA N. TBK1 controls autophagosomal engulfment of polyubiquitinated mitochondria through p62/SQSTM1 phosphorylation[J]. Human Molecular Genetics, 2015, 24(15): 4429-4442.
- [55] TANJI K, MIKI Y, OZAKI T, MARUYAMA A, YOSHIDA H, MIMURA J, MATSUMIYA T, MORI F, IMAIZUMI T, ITOH K, KAKITA A, TAKAHASHI H, WAKABAYASHI K. Phosphorylation of serine 349 of p62 in Alzheimer's disease brain[J]. Acta Neuropathologica Communications, 2014, 2(1): 1-14.
- [56] LEE S, JEON YM, CHA SJ, KIM S, KWON Y, JO M, JANG YN, LEE S, KIM J, KIM SR, LEE KJ, LEE SB, KIM K, KIM HJ. PTK2/FAK regulates UPS impairment via SQSTM1/p62 phosphorylation in TARDBP/TDP-43 proteinopathies[J]. Autophagy, 2020, 16(8): 1396-1412.
- [57] ALI SHAH SZ, ZHAO DM, HUSSAIN T, SABIR N, MANGI MH, YANG LF. p62-Keap1-NRF2-ARE pathway: a contentious player for selective targeting of autophagy, oxidative stress and mitochondrial dysfunction in prion diseases[J]. Frontiers in Molecular Neuroscience, 2018, 11: 310.
- [58] ZHANG WW, FENG C, JIANG H. Novel target for treating Alzheimer's diseases: crosstalk between the Nrf2 pathway and autophagy[J]. Ageing Research Reviews, 2021, 65: 101207.
- [59] JEMAL A, WARD EM, JOHNSON CJ, CRONIN KA, MA JM, RYERSON AB, MARIOTTO A, LAKE AJ, WILSON R, SHERMAN RL, ANDERSON RN, HENLEY SJ, KOHLER BA, PENBERTHY L, FEUER EJ, WEIR HK. Annual report to the nation on the status of cancer, 1975-2014, featuring survival[J]. JNCI: Journal of the National Cancer Institute, 2017, 109(9): djx030.
- [60] VILLANUEVA A. Hepatocellular carcinoma[J]. New England Journal of Medicine, 2019, 380(15): 1450-1462.
- [61] INAMI Y, WAGURI S, SAKAMOTO A, KOUNO T, NAKADA K, HINO O, WATANABE S, ANDO J, IWADATE M, YAMAMOTO M, LEE MS, TANAKA

- K, KOMATSU M. Persistent activation of Nrf2 through p62 in hepatocellular carcinoma cells[J]. *Journal of Cell Biology*, 2011, 193(2): 275-284.
- [62] UMEMURA A, HE F, TANIGUCHI K, NAKAGAWA H, YAMACHIKA S, FONT-BURGADA J, ZHONG ZY, SUBRAMANIAM S, RAGHUNANDAN S, DURAN A, LINARES JF, REINA-CAMPOS M, UMEMURA S, VALASEK MA, SEKI E, YAMAGUCHI K, KOIKE K, ITOH Y, DIAZ-MECO MT, MOSCAT J, et al. p62, upregulated during preneoplasia, induces hepatocellular carcinogenesis by maintaining survival of stressed HCC-initiating cells[J]. *Cancer Cell*, 2016, 29(6): 935-948.
- [63] TANIGUCHI K, YAMACHIKA S, HE F, KARIN M. p62/SQSTM1-Dr. Jekyll and Mr. Hyde that prevents oxidative stress but promotes liver cancer[J]. *FEBS Letters*, 2016, 590(15): 2375-2397.
- [64] MENON S, YECIES JL, ZHANG HH, HOWELL JJ, NICHOLATOS J, HARPUTLUGIL E, BRONSON RT, KWIATKOWSKI DJ, MANNING BD. Chronic activation of mTOR complex 1 is sufficient to cause hepatocellular carcinoma in mice[J]. *Science Signaling*, 2012, 5(217): e2002739.
- [65] QU AJ, JIANG CT, CAI Y, KIM JH, TANAKA N, WARD JM, SHAH YM, GONZALEZ FJ. Role of myc in hepatocellular proliferation and hepatocarcinogenesis[J]. *Journal of Hepatology*, 2014, 60(2): 331-338.
- [66] DURAN A, HERNANDEZ ED, REINA-CAMPOS M, CASTILLA EA, SUBRAMANIAM S, RAGHUNANDAN S, ROBERTS LR, KISSELEVA T, KARIN M, DIAZ-MECO MT, MOSCAT J. p62/SQSTM1 by binding to vitamin D receptor inhibits hepatic stellate cell activity, fibrosis, and liver cancer[J]. *Cancer Cell*, 2016, 30(4): 595-609.
- [67] FAN LH, YIN ST, ZHANG EX, HU HB. Role of p62 in the regulation of cell death induction[J]. *Apoptosis*, 2018, 23(3/4): 187-193.
- [68] SÁNCHEZ-MARTÍN P, KOMATSU M. p62/SQSTM1-steering the cell through health and disease[J]. *Journal of Cell Science*, 2018, 131(21): jcs222836.
- [69] LI LJ, SHEN C, NAKAMURA E, ANDO K, SIGNORETTI S, BEROUKHIM R, COWLEY GS, LIZOTTE P, LIBERZON E, BAIR S, ROOT DE, TAMAYO P, TSHERNIAK A, CHENG SC, TABAK B, JACOBSEN A, HAKIMI AA, SCHULTZ N, CIRIELLO G, SANDER C, et al. SQSTM1 is a pathogenic target of 5q copy number gains in kidney cancer[J]. *Cancer Cell*, 2013, 24(6): 738-750.
- [70] REN F, SHU GS, LIU GL, LIU DC, ZHOU JP, YUAN LW, ZHOU JP. Knockdown of p62/sequestosome 1 attenuates autophagy and inhibits colorectal cancer cell growth[J]. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 2014, 385(1/2): 95-102.
- [71] HARADA H, WARABI E, MATSUKI T, YANAGAWA T, OKADA K, UWAYAMA J, IKEDA A, NAKASO K, KIRII K, NOGUCHI N, BUKAWA H, SIOW RCM, MANN GE, SHODA J, ISHII T, SAKURAI T. Deficiency of p62/sequestosome 1 causes hyperphagia due to leptin resistance in the brain[J]. *Journal of Neuroscience*, 2013, 33(37): 14767-14777.
- [72] HUANG JF, DURAN A, REINA-CAMPOS M, VALENCIA T, CASTILLA EA, MÜLLER TD, TSCHÖP MH, MOSCAT J, DIAZ-MECO MT. Adipocyte p62/SQSTM1 suppresses tumorigenesis through opposite regulations of metabolism in adipose tissue and tumor[J]. *Cancer Cell*, 2018, 33(4): 770-784.e6.
- [73] MOSCAT J, KARIN M, DIAZ-MECO MT. p62 in cancer: signaling adaptor beyond autophagy[J]. *Cell*, 2016, 167(3): 606-609.
- [74] CHO CS, PARK HW, HO A, SEMPLE IA, KIM B, JANG I, PARK H, REILLY S, SALTIEL AR, LEE JH. Lipotoxicity induces hepatic protein inclusions through TANK binding kinase 1-mediated p62/sequestosome 1 phosphorylation[J]. *Hepatology*, 2018, 68(4): 1331-1346.
- [75] MARENGO A, ROSSO C, BUGIANESI E. Liver cancer: connections with obesity, fatty liver, and cirrhosis[J]. *Annual Review of Medicine*, 2016, 67: 103-117.
- [76] SÁNCHEZ-MARTÍN P, SAITO T, KOMATSU M. p62/SQSTM1: 'Jack of all trades' in health and cancer[J]. *The FEBS Journal*, 2019, 286(1): 8-23.
- [77] BÉKÉS M, LANGLEY DR, CREWS CM. PROTAC targeted protein degraders: the past is prologue[J]. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2022, 21(3): 181-200.
- [78] JI CH, KIM HY, LEE MIN JU, HEO AJ, PARK DY, LIM S, SHIN S, GANIPISSETTI S, YANG WS, JUNG CA, KIM KY, JEONG EH, PARK SH, BIN KIM S, LEE SU JIN, NA JE, KANG JI, CHI HM, KIM HT, KIM YK, et al. Author correction: the AUTOTAC chemical biology platform for targeted protein degradation via the autophagy-lysosome system[J]. *Nature Communications*, 2022, 13: 2108.

(本文责编 陈宏宇)