



WIE-biotech

立效生物

拟素化修饰 (Neddylation)

汇总版

方案组

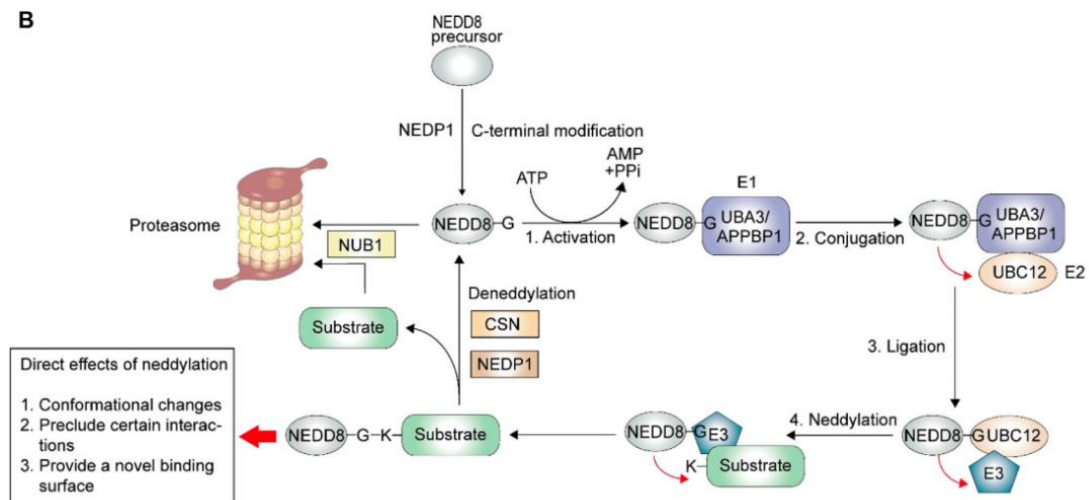
2023/7/10

拟素化修饰

前言

拟素化修饰（Neddylation）是近年来发现的新型蛋白质翻译后修饰，可以广泛地调节生物学过程，如细胞周期、信号传导和免疫识别等。泛素样蛋白 NEDD8 通过类似泛素化的过程与目标蛋白结合。NEDD8 和泛素的序列有 59% 的相同性。

目前研究最好的拟素化底物来自最大的泛素 E3 连接酶家族 cullin-RING 连接酶（CRLs），它们通过 C 端构象变化激活。



1、拟素化过程及相关酶

NEDD8 与底物蛋白结合的特异性修饰过程被称为 Neddylation。Neddylation 是一系列的酶促反应过程。调节 Neddylation 的酶包括 NEDD8 活化酶（E1）、NEDD8 结合酶（E2）和 NEDD8 连接酶（E3）。

NEDD8 基因的主要产物是 NEDD8 前体，在其作用于其目标之前，需要进行修饰以暴露 C 端甘氨酸。NEDD8 前体含有 81 个氨基酸，NEDP1 参与了 NEDD8 前体的加工。经过蛋白水解过程后，NEDD8 活化酶（NAE，E1）以 ATP 依赖的方式促进 NEDD8 的激活，并产生一种高能中间体。结合酶 E2 接受 NEDD8 并将其转移到 E3 连接酶上，这确保了激活的 NEDD8 与其目标蛋白之间的特异性偶联。与泛素类似，最终的连接是通过 NEDD8 保守的 C 端甘氨酸与其底物的赖氨酸残基之间的异肽连接发生的。

研究已经发现 APPBP1-UBA3 复合物为 E1、UBC12/UBE2M 和 UBE2F 为 E2、RBX1/ROC1、RBX2/ROC2 和 MDM2 为 E3，一些参与拟素化的酶也参与了泛素化过程，如 MDM2，泛素 RING-class E3 成分不仅是 NEDD8 的靶点，而且在拟素化途径中可以作为 E3 酶。接下来的去拟素化是分离共轭的 NEDD8 和底物，其中 CSN 和 NEDP1 作为去拟素化酶。

2、拟素化修饰的底物

Neddylation 最常见的底物是 Cullin 家族蛋白（Cullin-1、Cullin-2、Cullin-3、Cullin-4A、Cullin-4B、Cullin-5、Cullin-7、Cullin-9）。Cullin 是 NEDD8 泛素连接酶复合物（CullinRING ligase，CRL）的核心组成亚基。含有 RING 结构域的 CRL 连接酶调控大约 20% 的蛋白质泛素化降解，通过泛素-蛋白酶系统选择性降解关键蛋白。

另外，底物蛋白 p53 在调节细胞周期循环、细胞凋亡及血管生成中也具有重要作用。p53 肿瘤抑制因子可以通过 MDM2 基因进行 Neddylation 修饰，但与 MDM2 导致 p53 的泛素

化降解不同，p53 的拟素化修饰仅仅抑制其转录活性而不引起降解。因此，MDM2 可以通过不同的机制来影响 p53 的活性。

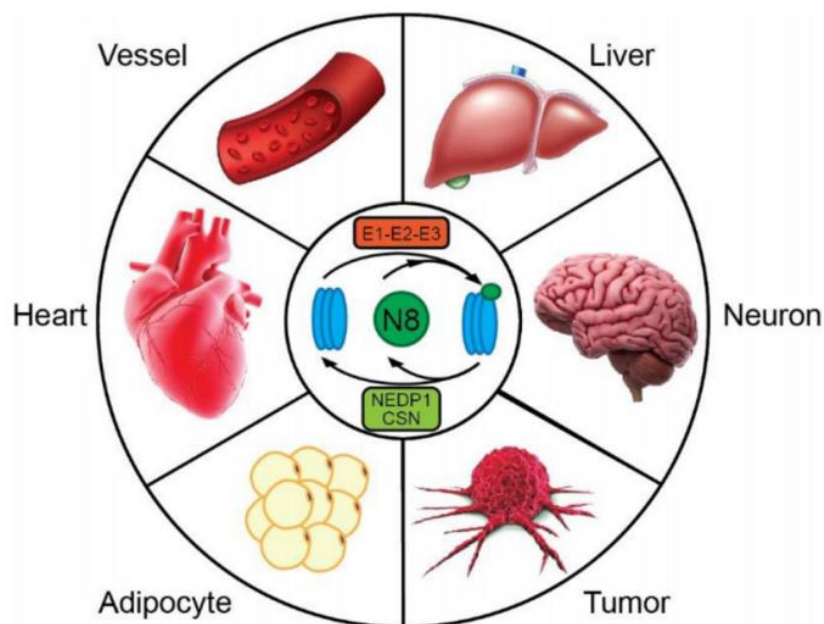
其他的 Neddylaton 底物蛋白包括 HuR、BCA3、pVHL、TGF- β 2 和 EGFR 等。

3、拟素化的功能

NEDD8 的拟素化修饰会影响其靶蛋白的稳定性、亚细胞定位、构象和功能，进而广泛影响多种生命活动的进程。研究表明，在蛋白毒性应激的过程中，neddylaton 修饰促进以核糖体蛋白为主的核蛋白聚集，使得核泛素蛋白酶体系统免受压力引起的功能障碍，确保蛋白质质量控制网络通过分子伴侣进行蛋白质修复和重折叠。

4、拟素化修饰与多种疾病相关

拟素化途径在维持细胞、器官和器官功能和发育的各个方面至关重要。对拟素化途径的干扰会导致发育缺陷、肿瘤发生、代谢紊乱、肝功能障碍和神经退行性疾病。



肿瘤：

大量研究结果显示，无论是在实体肿瘤细胞中还是在血液系统恶性肿瘤细胞中，Neddylaton 修饰酶及产物的水平均高于正常细胞，如肺癌、肝癌、鼻咽癌、前列腺癌和肾细胞癌等。

→ 过度活化的 Neddylaton 修饰与肿瘤的进展有关，可使患者的总体生存率明显降低。Neddylaton 修饰的水平与肝癌的恶性程度有关，且与预后相关。

→ 因此，过度激活的 Neddylaton 修饰具有致癌作用，会使肿瘤抑制物 CRL 底物泛素化降解，同时还可以预测肿瘤对于 Neddylaton 抑制剂的敏感性。MLN4924 在人食道鳞状细胞癌细胞中抑制 neddylaton 途径致使细胞周期阻滞于 G2/M 期，并诱导了 p21、p27 和 Wee1 等肿瘤抑制因子的积聚以及周期蛋白 cyclin B 的上调。

神经退行性疾病：

阿尔茨海默病（AD）是一种中枢神经系统的退行性疾病，其特征是进行性认知障碍和行为损伤。AD 大脑中不溶性蛋白的积累可能是由 UPS 超载或功能障碍引起的，或由阻止 UPS 降解和识别的蛋白质底物的构象变化引起的。

- 拟素化可以修饰 UPS 的 E3 连接酶, 促进 A β 的降解和过度磷酸化的 tau 蛋白的降解。
- APP 是 A β 的前体, 可以在其胞内结构域的每个赖氨酸残基上被拟素化, 这可以调节 APP 的加工和信号传导。APP 通过与 NEDD8 激活酶的调控亚基 APP-BP1 结合诱导神经元凋亡。
- 在受 AD 影响的海马中, 脂筏中的 APP-BP1 增加, 而在 AD 海马神经元中, NEDD8 从细胞核运输到细胞质。
- 拟素化可以调控 Parkin 和 PINK1, 这些蛋白的 NEDD8 修饰受损可能有助于帕金森 (PD) 的发展。

心脏病:

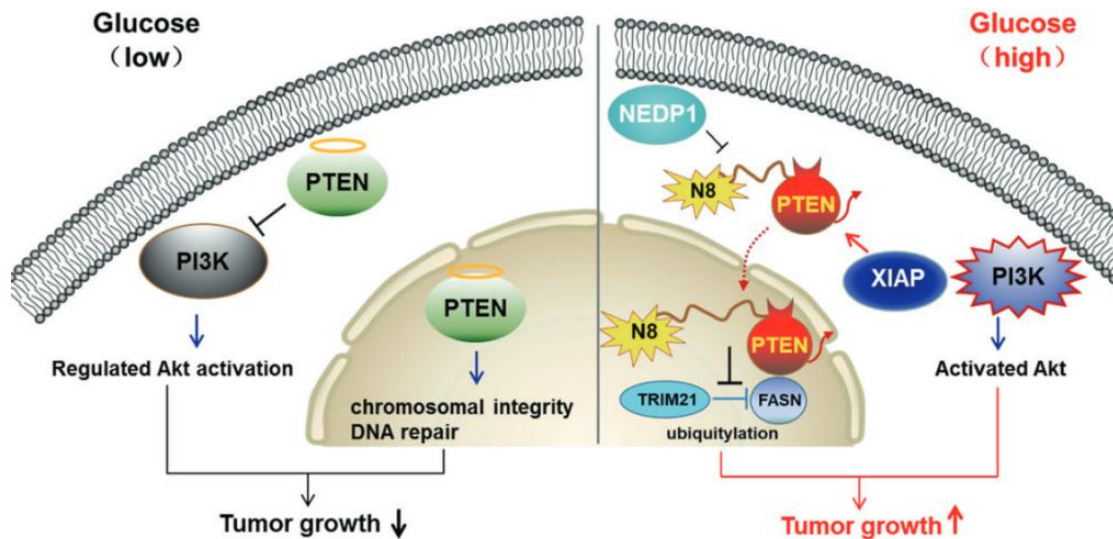
- 拟素化的失调与各种病因的心肌病有关。
- 扩张性和缺血性心脏病患者的衰竭心脏中拟素化蛋白显著增加。
- 拟素化靶点的突变与许多心肌病有关。例如, CUL3 和 LZTR1, CUL3Ub 连接酶复合物的适配器, 分别与家族性高血压和努南综合征有关。抗癌药物 MLN4924 的临床研究显示, 心力衰竭是一个主要的不良事件。

国家自然科学基金项目情况

- Rh-1 通过抑制 Cullin-2 NEDDYLYATION 稳定 HIF-1 α 保护肠道黏膜屏障的机制研究;
- 类泛素 Neddylation 修饰介导 2 型糖尿病胰岛 β 细胞转分化为 δ 细胞的机制研究;
- 穿心莲内酯负调控 Neddylation 通路抑制 NF- κ B-CCL2 轴下调胆囊癌微环境巨噬细胞浸润的机制研究;
- NRBE3 介导的 NOX4 的 NEDDYLYATION 修饰对肾缺血再灌注中氧化应激损伤的作用和机制;
- DDRGK1 介导 QSOX1 类泛素化修饰在软骨退变的作用机制研究;
- 类泛素小分子 NEDD8 调控 GLUT5 介导的果糖代谢促肺腺癌增殖转移的机制研究;
- 靶向 UBE2M 介导的 NEDDYLYATION 修饰抑制树突状细胞迁移缓解过敏性哮喘的作用机制研究;
- 类泛素化 NEDDYLYATION 修饰通过激活内质网应激通路 IRE1/XBP1 导致氟维司群耐药的机制研究。

举 2 个例子 (感兴趣自己再去检索)

- 1、Neddylation of PTEN regulates its nuclear import and promotes tumor development (PTEN 拟素化调节其入核并促进肿瘤的发展)



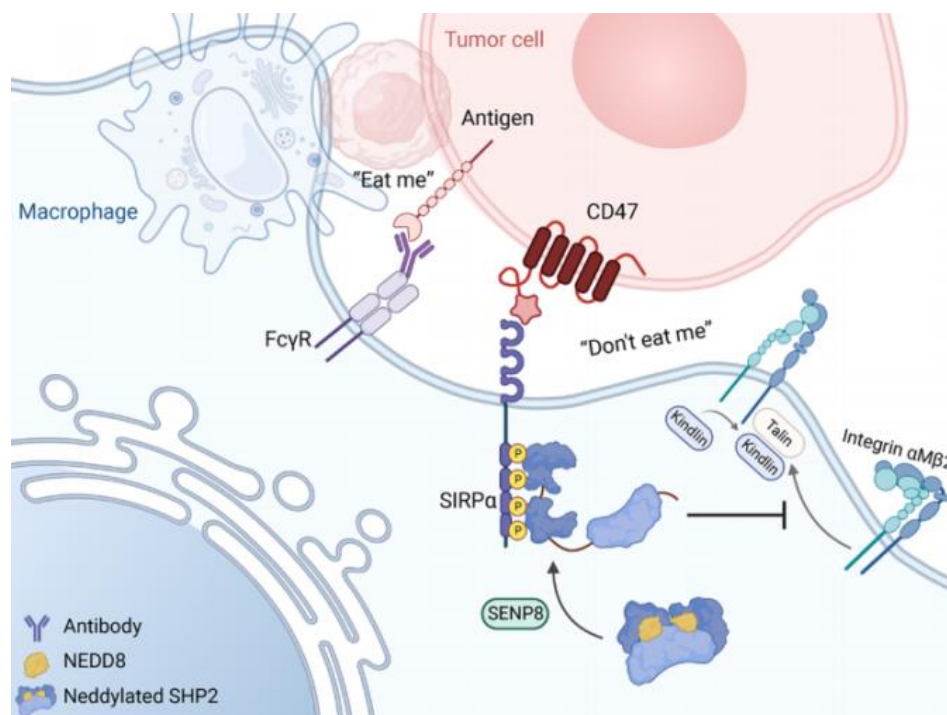
该研究揭示了 PTEN 是一种新发现的拟素化底物，高水平的葡萄糖触发 PTEN 拟素化，从而诱导 PTEN 入核，核拟素化的 PTEN 可以稳定脂肪酸合酶（FASN），促进肿瘤的发展。

该研究发现在高糖条件下，PTEN 与 Nedd8 偶联，诱导 PTEN 入核，而不影响 PTEN 的稳定性。PTEN 拟素化由 XIAP 连接酶促进，并由 NEDP1 去类泛素酶去除。该研究鉴定出 Lys197 和 Lys402 是 PTEN 上的主要拟素化位点。

此外，拟素化的 PTEN 主要在细胞核中积累，促进细胞增殖和代谢。核内拟素化的 PTEN 使 FASN 蛋白去磷酸化，抑制 TRIM21 介导的 FASN 的泛素化和降解，然后促进脂肪酸的从头合成。在人类乳腺癌组织中，拟素化的 PTEN 与肿瘤进展和不良预后相关。

因此，该研究证实了一个之前未被鉴定的 Nedd8 偶联形式的核 PTEN，以及拟素化的 PTEN 的肿瘤促进作用。

2、SHP2 deneddylation mediates tumor immunosuppression in colon cancer via the CD47/SIRPα axis (SHP2 去拟素化通过 CD47/SIRP α 轴介导结肠癌的肿瘤免疫抑制)



该研究发现 SHP2 在 K358 和 K364 位点上发生构成性拟素化。在对 CD47 配体 SIRP α 的反应中, SHP2 被 SENP8 去拟素化, 导致吞噬杯上相关底物去磷酸化, 随后抑制巨噬细胞的吞噬作用。此外, 拟素化灭活了骨髓-SHP2, 并大大提高了结直肠癌(CRC)免疫治疗的疗效。重要的是, 该研究发现补充 SHP2 变构抑制剂可使免疫治疗耐药的结直肠癌对免疫治疗敏感。

该研究表明, 对免疫治疗无反应的 CRC 亚型依赖于 SIRP α^{hi} SHP2 $^{\text{hi}}$ NEDD8 $^{\text{lo}}$ TIMs, 并强调了进一步研究靶向 SHP2 的必要性。