

本文引用: 范思思, 王丽雯, 李 琴, 等. 蛋白质棕榈酰化修饰与心血管疾病[J]. 中国动脉硬化杂志, 2023, 31(8): 645-653. DOI: 10.20039/j.cnki.1007-3949.2023.08.001.

[文章编号] 1007-3949(2023)31-08-0645-09

· 专家论坛 ·

蛋白质棕榈酰化修饰与心血管疾病

范思思, 王丽雯, 李 琴, 李兰芳, 姜志胜

(南华大学药学院药物药理研究所 南华大学心血管疾病研究所 动脉硬化化学湖南省重点实验室
湖南省动脉硬化性疾病国际科技创新合作基地, 湖南省衡阳市 421001)

[专家简介] 姜志胜, 医学博士, 二级教授, 博士研究生导师, 国务院政府特殊津贴获得者, 国家卫生计生突出贡献中青年专家, 湖南省医学学科领军人才, 湖南省 121 人才工程第一层次人选, 湖南省高校学科带头人。长期从事动脉粥样硬化病因发病学以及心肌缺血损伤的细胞分子机制与防治的研究。先后主持国家级科研项目 10 余项, 获省级科技成果和教学成果一等奖和二等奖共 4 项, 先后获中国侨联与国务院侨办“科技创新人才奖”“全国归侨侨眷先进个人”及“科技创新成果奖”。在国内外知名刊物上发表论文 240 余篇, 其中, SCI 收录 80 余篇; 主编专著 3 本, 多次担任全国及国际学术研讨会主席。

[摘 要] 蛋白质棕榈酰化修饰是一种广泛存在于生物体内的蛋白质翻译后脂质修饰。在大多数情况下, 棕榈酸主要通过不稳定的硫酯键共价结合到蛋白质底物特定的半胱氨酸残基上, 从而发生 S-棕榈酰化修饰。由于硫酯键在一定的条件下会水解, 引起蛋白质底物发生去棕榈酰化修饰, 因此 S-棕榈酰化修饰通常是可逆的。S-棕榈酰化修饰也与许多心血管疾病的发生和发展密切相关。本文综述了蛋白质棕榈酰化修饰和去棕榈酰化修饰过程, 以及蛋白质棕榈酰化修饰与心律失常、动脉粥样硬化、肺动脉高压、心力衰竭和血栓性疾病等心血管疾病之间的关系, 为心血管疾病的治疗提供新的方向。

[关键词] 蛋白质棕榈酰化修饰; 蛋白质酰基转移酶; 酰基蛋白硫酯酶; 棕榈酰基蛋白硫酯酶; 心血管疾病

[中图分类号] R5

[文献标识码] A



Protein palmitoylation and cardiovascular disease

FAN Sisi, WANG Liwen, LI Qin, LI Lanfang, JIANG Zhisheng

(Institute of Pharmacy and Pharmacology, University of South China & Institute of Cardiovascular Disease, University of South China & Key Laboratory for Arteriosclerosis of Hunan Province & International Laboratory for Scientific Innovation and Co-operation of Hunan Province, Hengyang, Hunan 421001, China)

[ABSTRACT] Protein palmitoylation is a kind of post-translational lipid modification of proteins that widely exists in organisms. Generally, S-palmitoylation occurs mainly through the covalent attachment of palmitic acid to protein-specific cysteine residues via labile thioester linkages. S-palmitoylation is usually reversible because the thioester bond will be hydrolyzed under certain conditions, causing protein depalmitoylation. In addition, S-palmitoylation is closely associated with the occurrence and development of many cardiovascular diseases. This review summarizes the process of protein palmitoylation and depalmitoylation, the relationship between protein palmitoylation and cardiovascular diseases, including arrhythmia, atherosclerosis, pulmonary hypertension, heart failure, and thrombotic diseases, which provide a new direction for cardiovascular disease treatment.

[KEY WORDS] protein palmitoylation; protein acyltransferase; acyl protein thioesterase; palmitoyl protein thioesterase; cardiovascular disease

[收稿日期] 2023-02-08

[修回日期] 2023-04-24

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81970431)

[作者简介] 范思思, 硕士研究生, 研究方向为心血管药理和分子药理, E-mail: 1070051345@qq.com。通信作者姜志胜, 博士, 教授, 博士研究生导师, 研究方向为动脉粥样硬化及发病机制, E-mail: zsjiang2005@163.com。通信作者李兰芳, 博士, 教授, 博士研究生导师, 研究方向为心血管药理和分子药理, E-mail: llanfang6@126.com。

蛋白质棕榈酰化修饰是一种广泛存在于生物体内的蛋白质翻译后脂质修饰。根据连接方式的不同,蛋白质棕榈酰化修饰可分为三类:S-棕榈酰化修饰、N-棕榈酰化修饰和O-棕榈酰化修饰^[1]。在大多数情况下,棕榈酸通过不稳定的硫酯键共价结合到蛋白质底物特定的半胱氨酸残基上,从而发生S-棕榈酰化修饰。由于硫酯键在一定的条件下会水解,引起蛋白质底物发生去棕榈酰化修饰,因此S-棕榈酰化修饰通常是可逆的^[2]。事实上,蛋白质的棕榈酰化修饰和去棕榈酰化修饰可以在几秒到几小时的时间尺度上循环,从而允许蛋白质在特定的细胞内生物膜区域之间快速穿梭^[3]。S-棕榈酰化修饰在调节蛋白质稳定性、亚细胞定位、膜运输、与效应蛋白的相互作用、酶活性和其他多种细胞过程中发挥重要作用^[4]。此外,S-棕榈酰化修饰也与许多心血管疾病的发生和发展密切相关。

1 蛋白质棕榈酰化修饰的过程

蛋白质棕榈酰化修饰是一种动态且可逆的翻译后修饰,其中棕榈酸主要通过蛋白质酰基转移酶(protein acyltransferase, PAT)共价结合到蛋白质底物特定的半胱氨酸残基上,从而实现蛋白质底物的棕榈酰化修饰^[5]。大部分PAT有一个由51个氨基酸组成的富含半胱氨酸的结构域(cysteine-rich domain, CRD),并且在CRD中存在一个高度保守的天冬氨酸-组氨酸-组氨酸-半胱氨酸(aspartate-histidine-histidine-cysteine, DHHC)催化结构域,这个结构域统称为DHHC-CRD结构域。DHHC-CRD结构域还包含两个锌指结合位点,能与两个 Zn^{2+} 相配位,这对维持DHHC-CRD结构域的结构完整性和功能性很重要^[6]。目前,将富含DHHC-CRD结构域的蛋白称为ZDHHC蛋白,它们共同组成ZDHHC蛋白家族,其家族中的大部分成员都具有PAT活性。

在哺乳动物中,ZDHHC蛋白家族有23个成员,名称为ZDHHC1-24(不包含ZDHHC10)。ZDHHC蛋白主要定位于细胞内的膜性区域内,例如内质网、高尔基体、内体等,但也有少量ZDHHC蛋白存在于质膜。大多数ZDHHC蛋白的拓扑结构包括1个面向胞质的N端结构域,4个跨膜结构域(transmembrane domain, TMD)和1个面向胞质的C端结构域。在TMD2与TMD3之间的胞质区域存在高度保守的天冬氨酸-脯氨酸-甘氨酸(aspartate-proline-glycine, DPG)结构域和DHHC-CRD结构域。此外,在C端结构域内也存在两个高度保守的结构域:苏

氨酸-苏氨酸-X-谷氨酸(threonine-threonine-X-glutamic, TTXX)结构域和保守的棕榈酰转移酶C末端(palmitoyltransferase conserved C-terminal, PaCCT)结构域^[7]。ZDHHC13和ZDHHC17的结构与大多数ZDHHC蛋白的结构相似,但也存在一些差异。ZDHHC13和ZDHHC17的N端结构域中存在一个锚蛋白重复结构域(ankyrin repeat domain, AR),这对于维持期较强的底物结合能力十分重要。ZDHHC13和ZDHHC17还含有6个TMD,并且DPG结构域和DHHC-CRD结构域存在于TMD4与TMD5之间的胞质区域内。ZDHHC13和ZDHHC17的C端结构域内也存在TTXX结构域和PaCCT结构域^[8]。此外,ZDHHC24被预测含有1个面向胞质的N端结构域,5个TMD和1个面向胞外的C端结构域。ZDHHC24的TMD2与TMD3之间的胞质区域内存在DPG结构域和DHHC-CRD结构域,并且C端结构域也包含TTXX结构域和PaCCT结构域(图1A)。

ZDHHC蛋白介导的蛋白质棕榈酰化修饰过程主要分为两步。第一步是ZDHHC蛋白发生自酰化,即ZDHHC蛋白的DHHC-CRD结构域中的半胱氨酸残基与棕榈酰辅酶A共价结合,从而形成棕榈酰基酶中间体。棕榈酰基酶中间体可以发生水解释放棕榈酸,但最主要的还是发生第二步棕榈酰基转移反应。具体而言,ZDHHC蛋白进行酶促反应,将自身结合的棕榈酰基基团转移到蛋白质底物的半胱氨酸巯基上,同时ZDHHC蛋白恢复为初始状态,蛋白质底物形成不稳定的硫酯键,从而使蛋白质底物发生棕榈酰化修饰^[9](图1B)。

2 蛋白质去棕榈酰化修饰的过程

由于蛋白质棕榈酰化修饰是一种可逆的过程,因此棕榈酸的脱离对确保高效、平衡和动态的蛋白质棕榈酰化循环也十分重要。蛋白质去棕榈酰化修饰是指棕榈酰化修饰后的蛋白质的半胱氨酸残基被除去硫酯键连接棕榈酸的过程。目前已知的去棕榈酰化酶有三类:酰基蛋白硫酯酶(acyl protein thioesterase, APT)、棕榈酰基蛋白硫酯酶(palmitoyl protein thioesterase, PPT)和 α/β 水解酶结构域17(α/β hydrolase domain 17, ABHD17)^[10]。

在哺乳动物中,APT是最主要的去棕榈酰化酶。迄今为止,在哺乳动物中仅发现两种APT与蛋白质去棕榈酰化修饰过程有关,即APT1和APT2。APT1是高度保守的 α/β 水解酶家族中的一员,具有较强的去棕榈酰化活性。之前的研究发现APT1

主要存在于细胞质,但最近的一项研究发现 APT1 主要定位于线粒体,也有少量定位于细胞质且会调控线粒体中部分蛋白质的去棕榈酰化修饰过程^[11]。APT2 是 APT1 的同源相似物,它们之间的同源相似度是 89.70% (图 2A)。APT2 主要存在于细胞质,也具有较强的去棕榈酰化活性。APT1 和 APT2 不仅可以催化大量的棕榈酰化修饰蛋白的去棕榈酰化过程,而且可以通过调节棕榈酰化修饰和去棕榈酰化修饰之间的动态平衡参与外周膜蛋白的运输

过程。APT1 和 APT2 的 N 端附近都存在 1 个被棕榈酰化修饰的半胱氨酸,这有利于 APT1 和 APT2 的正确膜定位和功能。此外,APT1 和 APT2 的结构中都包含 1 个高度保守的丝氨酸-组氨酸-天冬氨酸催化三联结构和 1 个疏水口袋。疏水口袋可以与被棕榈酰化修饰的蛋白质结合,并将被棕榈酰化修饰的蛋白质的半胱氨酸定位在丝氨酸-组氨酸-天冬氨酸催化三联结构附近,从而促进棕榈酰化修饰的蛋白质底物的去棕榈酰化修饰和棕榈酸的释放^[12] (图 2B)。

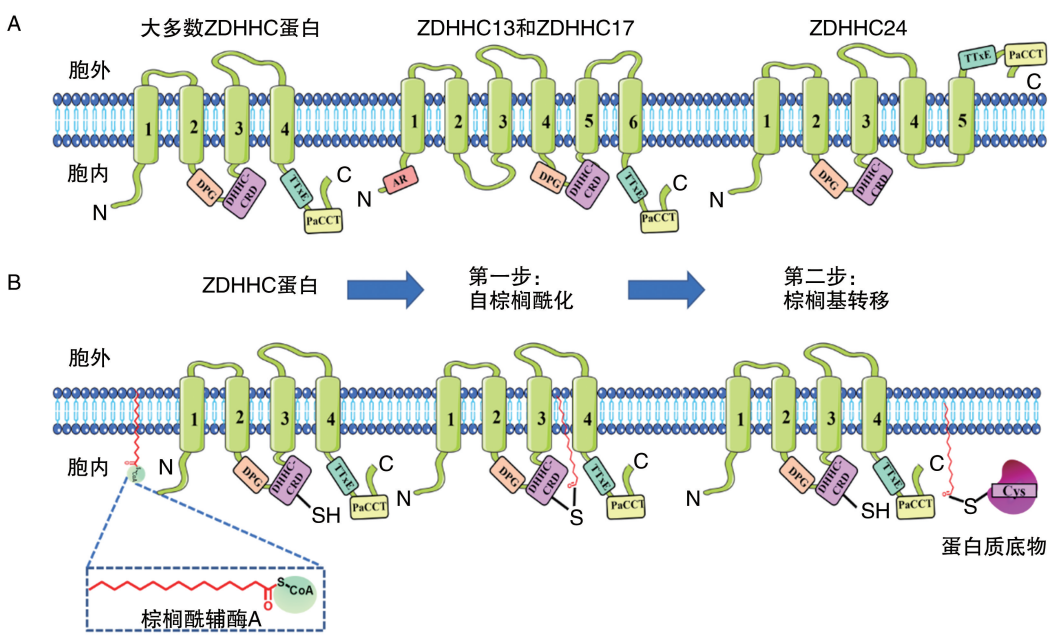


图 1. ZDHHC 家族蛋白的结构及其介导的棕榈酰化修饰过程

A 为 ZDHHC 家族蛋白的结构,B 为 ZDHHC 家族蛋白介导的棕榈酰化修饰过程。

Figure 1. The structure of ZDHHC family proteins and their mediated palmitoylation process

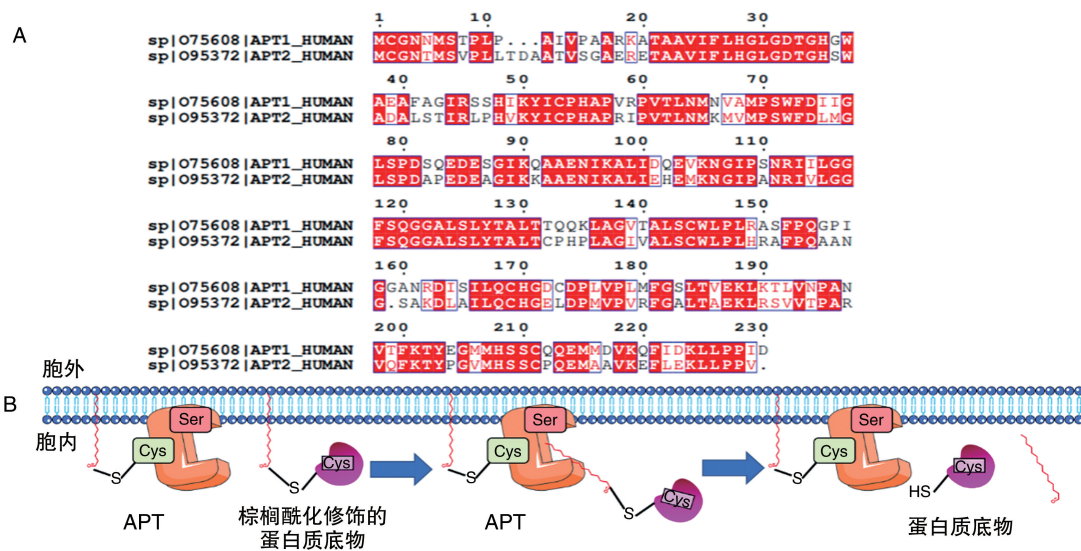


图 2. APT1 和 APT2 之间的氨基酸序列对比及 APT 蛋白介导的去棕榈酰化修饰过程

A 为 APT1 和 APT2 之间的氨基酸序列对比,B 为 APT 蛋白介导的去棕榈酰化修饰过程。

Figure 2. The amino acid sequence comparison between APT1 and APT2 and depalmitoylation process mediated by APT proteins

在溶酶体中,被棕榈酰化修饰的蛋白质在被降解之前必须进行去棕榈酰化修饰,去除棕榈酸。在溶酶体中参与去棕榈酰化修饰过程的酶主要是PPT,其中PPT1和PPT2发挥关键作用。PPT1是一种溶酶体水解酶,主要存在于溶酶体,能够水解脂肪酰辅酶A。此外,PPT1也是第一个被鉴定的具有去棕榈酰化活性的酶。PPT1介导多种棕榈酰化修饰蛋白的去棕榈酰化修饰过程并水解棕榈酰辅酶A。PPT1介导的去棕榈酰化修饰过程在调节跨膜受体、信号蛋白和许多其他分子的功能中发挥重要作用^[13]。PPT2是PPT1的同源物,也是一种溶酶体水解酶,在蛋白质降解过程中对蛋白质的去棕榈酰化修饰过程至关重要。然而,与PPT1的作用有些不同,PPT2的首选底物是棕榈酰辅酶A,而不是棕榈酰化修饰的蛋白。Galero等^[14]解析的PPT2晶体结构揭示了PPT2有一个更小的脂质结合口袋,这可能是PPT2有明显底物特异性的重要原因之一。

ABHD17是最近在脊椎动物中发现的一种功能

性的蛋白质去棕榈酰化酶,能够促进N-Ras的去棕榈酰化修饰并促进其重新从质膜转移到内膜^[15]。ABHD17包括ABHD17A、ABHD17B和ABHD17C三个成员。ABHD17本身是被棕榈酰化修饰的蛋白,这与其含有一个富含半胱氨酸的N端结构域是密切相关的。此外,ABHD17的N端结构域也是ABHD17能与质膜结合以及与其他棕榈酰化修饰的蛋白底物相互作用所必需的^[16]。

3 棕榈酰化修饰和心血管疾病

3.1 棕榈酰化修饰和心律失常

心律失常是指心脏跳动的频率、节律、起源部位、传导速度或激动次序发生异常,是一种常见的心血管疾病^[17]。心律失常与离子通道的异常表达或功能障碍有关,包括钠钙交换体1($\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger 1, NCX1)、Kv1.5钾通道和Nav1.5钠通道(图3)。

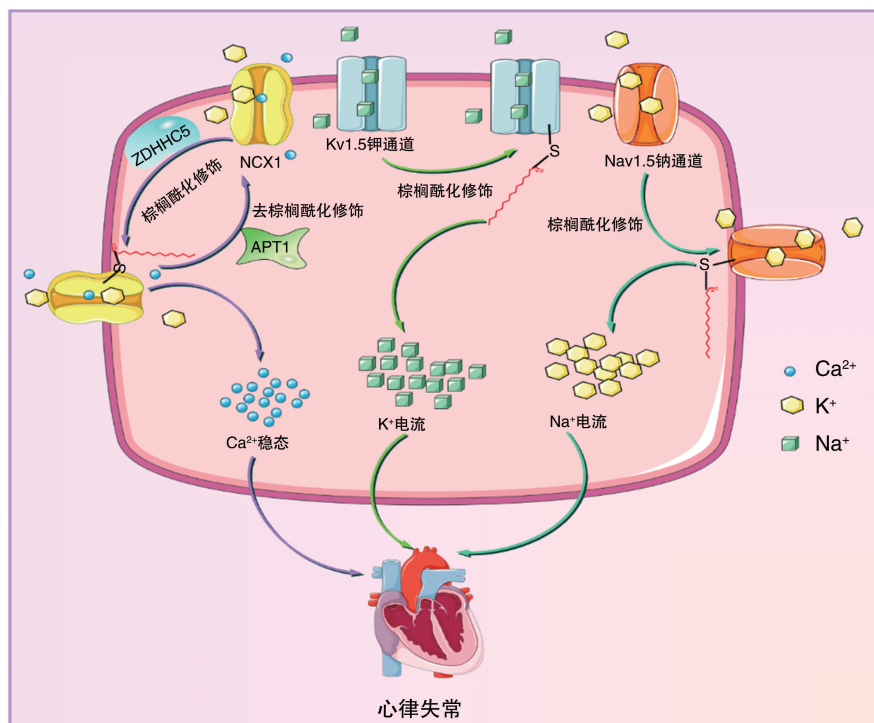


图3. NCX1、Kv1.5钾通道和Nav1.5钠通道的棕榈酰化修饰与心律失常的关系

Figure 3. The relationship between palmitoylation of NCX1, Kv1.5 potassium channels and Nav1.5 sodium channels and arrhythmia

舒张期的胞内钙超载是心律失常的病理基础。在心肌细胞兴奋-收缩偶联的舒张间期,细胞内升高的 Ca^{2+} 的有效清除会使胞内 Ca^{2+} 恢复到静息水平,导致心室充盈。在哺乳动物中,NCX1可清除约

30%的胞质 Ca^{2+} ,是心室充盈的重要决定因素之一^[18]。NCX1是一种广泛存在于心肌细胞膜上的阳离子转运蛋白,主要负责 Na^+ 和 Ca^{2+} 的双向转运。NCX1有两种工作模式,一种是介导 Na^+ 内流和 Ca^{2+}

外流的正向转运,另一种是介导 Na^+ 外流和 Ca^{2+} 内流的反向转运。NCX1 具体的工作模式取决于膜电位和细胞膜两侧的 Na^+ 、 Ca^{2+} 浓度^[19]。NCX1 有 10 个跨膜(transmembrane, TM)结构域,并且在 TM5 和 TM6 之间存在一个大的胞内亲水性环,即 F 环,这对维持 NCX1 的正常功能是必不可少的。F 环由交换抑制肽区域(exchanger inhibitory peptide, XIP)、钙结合域 1(calcium binding domain 1, CBD1)和钙结合域 2(calcium binding domain 2, CBD2)组成。这些结构区域能促进 NCX1 不同生理状态的改变, Na^+ 可与 NCX1 上的 XIP 结合介导 NCX1 的 Na^+ 依赖性失活过程,而 Ca^{2+} 可与 CBD1 和 CBD2 结合去除 NCX1 的 Na^+ 依赖性失活状态,从而激活 NCX1^[20]。NCX1 的棕榈酰化修饰在调节舒张期 Ca^{2+} 稳态过程中发挥重要作用。Reilly 等^[21]发现大鼠心室肌中约 60% 的 NCX1 发生了棕榈酰化修饰,并且 NCX1 F 环上的第 739 位半胱氨酸是 NCX1 棕榈酰化修饰的位点。Plain 等^[22]观察到,在 NCX1 发生棕榈酰化修饰的半胱氨酸位点附近,存在一个两亲性的 α -螺旋结构,这是 NCX1 能发生棕榈酰化修饰所必需的。Cök 等^[23]研究表明细胞表面的 NCX1 棕榈酰化修饰是动态过程, ZDHHC5 负责 NCX1 的棕榈酰化修饰, APT1 控制 NCX1 的去棕榈酰化修饰,并且棕榈酰化修饰和去棕榈酰化修饰的速率受 NCX1 构象平衡的影响。该团队进一步的研究发现棕榈酰化修饰不影响 NCX1 的工作模式,但影响 NCX1 的失活过程; NCX1 发生棕榈酰化修饰后会在 F 环内创造一个与 XIP 结合的区域,从而促进该区域与 XIP 的结合,最终导致 NCX1 失活。此外,该团队研究的数据也表明,当 NCX1 处于反向转运模式时, NCX1 发生棕榈酰化修饰会引起 NCX1 介导的跨膜 Ca^{2+} 通量减少,导致细胞内 Ca^{2+} 浓度减少;而 NCX1 发生去棕榈酰化修饰时, NCX1 介导的跨膜 Ca^{2+} 通量增加,导致细胞内 Ca^{2+} 浓度增加。因此, NCX1 的棕榈酰化修饰可能会影响细胞质中的 Ca^{2+} 稳态,从而导致心律失常的发生发展。

心房颤动是常见的持续性心律失常之一,其主要特征是心房有效不应期(effective refractory period, ERP)及动作电位时程(action potential duration, APD)显著缩短。Kv1.5 钾通道选择性地心房肌细胞中表达,并且 Kv1.5 钾通道电流是心房动作电位复极过程中的主要电流。Kv1.5 钾通道电流的增强会明显缩短 ERP 和 APD,进而诱发心房颤动^[24]。研究发现 Kv1.5 钾通道能够发生棕榈酰化修饰,并且 Cys593 是能被棕榈酰化修饰的唯一位

点。Kv1.5 钾通道的 Cys593 棕榈酰化修饰缺陷会显著减缓 Kv1.5 钾通道内化的速度,导致细胞膜上 Kv1.5 钾通道的表达水平增高,从而引起较高的表面钾电流和加速心房颤动的进程^[25]。因此, Kv1.5 钾通道的棕榈酰化修饰位点可能是治疗心房颤动的新靶标。

Nav1.5 钠通道是电压门控钠离子通道家族成员之一,主要在心脏中表达,并在心脏动作电位的起始和心脏电传导中发挥重要作用。Nav1.5 钠通道的功能失调与长 QT 间期综合征、Brugada 综合征、病态窦房结综合征等心律失常紧密相关^[26]。Pei 等^[27]发现 Nav1.5 钠通道可以发生棕榈酰化修饰,进而影响 Nav1.5 闭合状态通道的失活、钠离子通道利用率和晚期钠电流活性,导致心脏兴奋性增强和动作电位持续时间延长。该研究确定了 Nav1.5 钠通道存在 4 个棕榈酰化修饰位点: Cys981、Cys1176、Cys1178 和 Cys1179。Nav1.5 钠通道的 Cys981 位点突变会增加 Nav1.5 闭合状态通道的失活并降低心肌细胞兴奋性。也有报道发现,在心律失常的患者中检测到 Nav1.5 钠通道的 Cys981 位点发生错义突变。这些证据提示 Nav1.5 钠通道的棕榈酰化修饰可能通过影响 Nav1.5 闭合状态通道的失活来调节心脏兴奋性和参与心律失常的发生发展。

3.2 棕榈酰化修饰和动脉粥样硬化

动脉粥样硬化是一种以脂质代谢障碍为基础的心血管疾病,是引起冠心病、脑梗死和外周血管疾病的主要原因^[28]。巨噬细胞是一种免疫细胞,与动脉粥样硬化病变的发生发展密切相关。具体而言,巨噬细胞可以通过吞噬低密度脂蛋白形成泡沫细胞,导致粥样斑块的形成和动脉粥样硬化的发展^[29]。CD36 是一种 B 类清道夫受体,广泛表达于许多组织中。CD36 是巨噬细胞摄取氧化型低密度脂蛋白(oxidized low density lipoprotein, ox-LDL)的主要受体,对巨噬细胞源性泡沫细胞的形成和动脉粥样硬化的发生发展起着至关重要的作用^[30]。Wang 等^[31]研究表明 ZDHHC4 和 ZDHHC5 可以介导 CD36 的棕榈酰化修饰,并且 CD36 存在 4 个棕榈酰化修饰位点,即 Cys3、Cys7、Cys464 和 Cys466。当新合成的 CD36 从内质网转运到高尔基体时,定位于高尔基体的 ZDHHC4 能够棕榈酰化修饰新生的 CD36,并将其分选到细胞质膜上;而位于细胞质膜上的 ZDHHC5 则能阻止 CD36 的去棕榈酰化修饰,从而维持 CD36 在细胞质膜中的定位。硒蛋白 K(selenoprotein K, SelK)是一种内质网常驻蛋白,受

膳食硒的调控,在免疫细胞中表达水平较高。Meiler 等^[32]研究发现 SelK 可以增加 CD36 的棕榈酰化修饰,从而增强巨噬细胞表面的 CD36 表达和对 ox-LDL 的摄取,导致巨噬细胞源性泡沫细胞的形成和动脉粥样硬化的发生发展。在 SelK 缺陷的小鼠中,CD36 在巨噬细胞表面的聚集受损,ox-LDL 摄取减少,泡沫细胞形成减少和动脉粥样硬化病变的形成减少。该研究进一步发现 CD36 的表达减少是由于 CD36 棕榈酰化修饰的减少,而棕榈酰化修饰是 CD36 在细胞膜上聚集表达所必需的。所有这些研究都证明了 SelK、ZDHHC4 和 ZDHHC5 都会影响 CD36 的棕榈酰化修饰和 CD36 在巨噬细胞膜上的定位和表达,从而增加泡沫细胞的形成和加速动脉粥样硬化的进程。

3.3 棕榈酰化修饰和肺动脉高压

肺动脉高压是以肺动脉压力和肺血管阻力进行性增高为特征的一类慢性心血管疾病。肺动脉高压在临床上较难治愈,严重威胁着全球 1% 人口的生命安全^[33]。缺氧性肺动脉高压是肺动脉高压的一种,主要是由慢性缺氧所引起的^[34]。血栓素是由花生四烯酸代谢途径产生的一种前列腺素,其在缺氧性肺动脉高压中起着不可或缺的作用^[35]。血栓素可以通过与血栓素前列腺素受体(thromboxane prostanoid, TP)结合,进而促进 TP 与 $G\alpha_q$ 相互作用以及介导 Ca^{2+} 动员,最终促进血管收缩。TP 存在两种亚型:TP α 和 TP β ,其中血管平滑肌中存在的主要亚型是 TP α 。Sikarwar 等^[36]研究发现,在缺氧的条件下, $G\alpha_q$ 的棕榈酰化水平升高,可促进 $G\alpha_q$ 与 TP α 结合,增加 TP α 介导的 Ca^{2+} 动员和加剧缺氧性肺动脉高压。该研究进一步观察到 $G\alpha_q$ 的 N 端半胱氨酸的棕榈酰化是其与 TP α 结合所必需的,并且 $G\alpha_q$ 的 Cys9 和 Cys10 位点的棕榈酰化修饰是 $G\alpha_q$ 定位于细胞膜以及介导 Ca^{2+} 动员不可或缺的。此外,抑制 $G\alpha_q$ 的棕榈酰化修饰会明显降低血栓素诱导的 Ca^{2+} 动员和缺氧性肺血管收缩。Tsutsumi 等^[37]研究发现 ZDHHC3 和 ZDHHC7 可以介导 $G\alpha_q$ 的棕榈酰化修饰。因此,缺氧可能增加了 ZDHHC3 和 ZDHHC7 的活性,从而增高 $G\alpha_q$ 的棕榈酰化水平,增强肺动脉对血栓素的反应,最终加速缺氧性肺动脉高压的进程。

3.4 棕榈酰化修饰和心力衰竭

心力衰竭是一种由心脏收缩功能或舒张功能障碍引起的异质性临床综合征,是心血管疾病患者死亡的主要原因之一^[38]。 β -肾上腺素受体(β -adrenergic receptor, β -AR)是一种 G 蛋白偶联受体(G

protein-coupled receptor, GPCR),它可以与 Gs 蛋白结合从而激活腺苷酸环化酶(adenylate cyclase, AC)和环磷酸腺苷(cyclic adenosine monophosphate, cAMP),进而激活蛋白激酶 A(protein kinase A, PKA)和下游的信号分子。Gs 可以激活 AC,而 $G\alpha_i$ 会抑制 AC。 β -AR 介导的 Gs-AC-cAMP-PKA 信号通路在调节心脏收缩功能中发挥重要作用,并且此通路异常是心力衰竭的主要特征之一^[39]。Chen 等^[40]研究发现 β -肾上腺素能刺激会迅速增加 Gs 和 $G\alpha_i$ 的棕榈酰化修饰,并且棕榈酰化动力学在时间上与下游 cAMP 的生成和心脏收缩反应一致。ZDHHC5 可以直接参与 Gs 和 $G\alpha_i$ 的棕榈酰化修饰。该团队进一步观察到,在 β -肾上腺素能的刺激下,ZDHHC5 的 C 端结构域迅速发生自身棕榈酰化修饰,从而促进 ZDHHC5 在细胞膜上的定位和调节 Gs-AC-cAMP-PKA 信号通路转导。此外,在 β -肾上腺素能刺激的情况下,敲除 ZDHHC5 会抑制 Gs 和 $G\alpha_i$ 的棕榈酰化修饰以及 β -AR 介导的 Gs-AC-cAMP-PKA 信号通路的转导。这些结果表明 ZDHHC5 可以发生自身棕榈酰化修饰,并且参与 Gs 和 $G\alpha_i$ 的棕榈酰化修饰来介导心肌细胞 β -肾上腺素能信号的转导,从而影响心力衰竭的进程。

3.5 棕榈酰化修饰和血栓性疾病

血栓性疾病是一类由血栓形成和血栓栓塞所引起的血液栓塞性疾病。血栓性疾病具有高发病率、高死亡率、高致残率等特点,严重威胁人类的生命健康。血栓性疾病的发病机制与患者体内的凝血-抗凝系统平衡失调有关^[41]。血小板是凝血系统所必需的,它们主要通过止血过程来维持血管的正常流动。当血管发生损伤时,血小板经历扩散、激活和聚集在损伤部位凝血形成血栓。活化的血小板也释放颗粒或信号,以帮助附近的血小板活化和向局部血栓聚集。然而,除了正常的止血作用外,血小板活化常常导致阻塞性血栓形成,从而导致血栓性疾病^[42]。Sim 等^[43]揭示了血小板蛋白的棕榈酰化修饰对血小板活化和血栓形成至关重要。血小板蛋白棕榈酰化修饰的抑制阻断了血小板的活化、颗粒分泌和聚集,阻止了正常血小板在血管损伤部位聚集成血栓。在血小板中,有许多血小板蛋白都能发生棕榈酰化修饰,包括 P 选择素、 $G\alpha_q$ 和突触体相关蛋白 23(synaptosomal-associated protein 23, SNAP23)。P 选择素是血小板活化的标志物,其细胞质结构域的 766 位半胱氨酸可以发生棕榈酰化修饰^[44]。APT1 参与 P 选择素的去棕榈酰化修饰,从而有效抑制 P 选择素的表达和血小板的活化。

Gαq 是 G 蛋白家族中的一员,通常被上游的 GPCR 激活,从而传递 GPCR 的信号^[45]。在血小板中,Gαq 能与蛋白酶激活受体 1 结合,刺激血小板颗粒的分泌和聚集。Gαq 可以发生棕榈酰化修饰,并且 APT1 参与 Gαq 的去棕榈酰化修饰。APT1 介导的去棕榈酰化修饰会影响 Gαq 与细胞膜的结合,从而抑制血小板颗粒的分泌和聚集。SNAP23 是一种外周膜蛋白,具有膜结合特性,在血小板颗粒的分泌

过程中发挥重要作用。SNAP23 有一个包含 5 个紧密间隔的半胱氨酸的膜结构域,这些半胱氨酸都能发生棕榈酰化修饰,从而能与细胞膜结合^[46]。APT1 介导 SNAP23 的去棕榈酰化修饰,从而抑制 SNAP23 与血小板细胞膜结合,最终影响血小板颗粒的分泌。研究表明 P 选择素、Gαq、SNAP23 等血小板蛋白质的棕榈酰化修饰会影响血小板的活化、聚集和颗粒分泌,最终影响血栓性疾病的发生发展(图 4)。

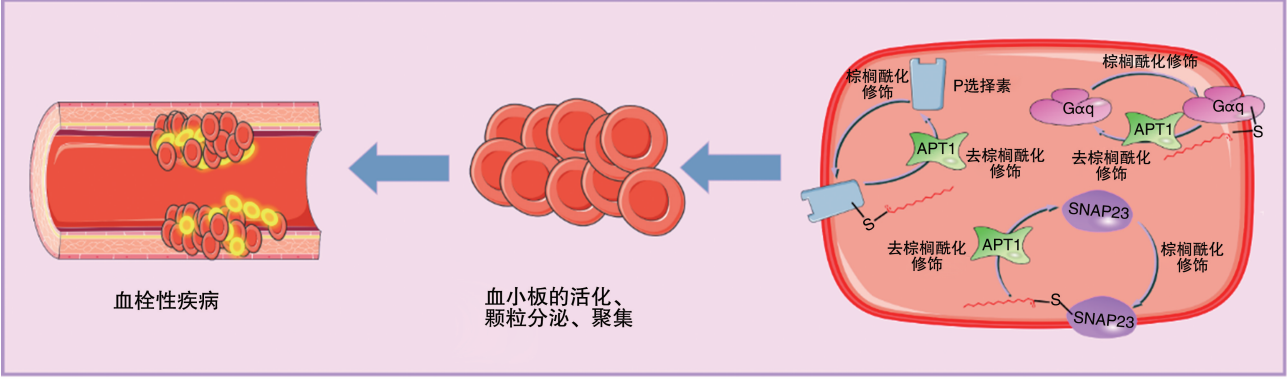


图 4. P 选择素、Gαq 和 SNAP23 等血小板蛋白质的棕榈酰化修饰与血栓性疾病的关系

Figure 4. The relationship between palmitoylation of platelet proteins such as P-selectin, Gαq and SNAP23 and thrombotic diseases

4 总结和展望

本文主要综述了蛋白质的棕榈酰化修饰过程和去棕榈酰化修饰过程,其中棕榈酰化修饰过程主要是由 ZDHHC 蛋白家族介导,而去棕榈酰化修饰过程主要由 APT、PPT 和 ABHD17 介导。此外,还阐述了蛋白质棕榈酰化修饰与心律失常、动脉粥样硬化、肺动脉高压、心力衰竭和血栓性疾病等心血管疾病之间的关系(图 5 和表 1)。虽然 ZDHHC 蛋白家族通过介导底物蛋白的棕榈酰化修饰来参与调控多种心血管疾病的发生发展,但目前对于调控 ZDHHC 蛋白的调节机制知之甚少。ZDHHC 蛋白自

身也可以发生磷酸化修饰、棕榈酰化修饰、泛素化修饰等翻译后修饰,从而会影响其自身的稳定性、定位和功能^[6]。因此,进一步了解翻译后修饰对 ZDHHC 蛋白的调控机制有助于更好地了解棕榈酰化修饰与心血管疾病之间的关系。此外,随着两种无放射性方法学的突破,点击化学和酰基-生物素交换法给棕榈酰化修饰的蛋白质底物的鉴定带来了新的发展。在研究棕榈酰化修饰与心血管疾病之间的关系时,将高通量蛋白质组学分析方法与点击化学和酰基-生物素交换法结合,可能会发现更多新的棕榈酰化修饰的蛋白质底物和棕榈酰化修饰位点,为心血管疾病的治疗提供新的靶点。

表 1. 棕榈酰化修饰相关的心血管疾病及其蛋白质底物、细胞、棕榈酰化修饰位点、PAT 和去棕榈酰化酶

Table 1. Palmitoylation-associated cardiovascular diseases and its related protein substrates, cells, palmitoylation sites, PAT and depalmitoylases

心血管疾病	细胞	底物蛋白	棕榈酰化修饰位点	蛋白质酰基转移酶	去棕榈酰化酶
心律失常	心肌细胞	NCX1	Cys739	ZDHHC5	APT1
	心肌细胞	Kv1.5 钾通道	Cys593	—	—
	心肌细胞	Nav1.5 钠通道	Cys981、Cys1176、Cys1178 和 Cys1179	—	—
动脉粥样硬化	巨噬细胞	CD36	Cys3、Cys7、Cys464 和 Cys466	ZDHHC4	—
				ZDHHC5	—

续表					
心血管疾病	细胞	底物蛋白	棕榈酰化修饰位点	蛋白质酰基转移酶	去棕榈酰化酶
肺动脉高压	血管平滑肌	Gαq	Cys9 和 Cys10	ZDHHC3	ZDHHC7
心力衰竭	心肌细胞	Gs	—	ZDHHC5	—
		Gαi	—	ZDHHC5	—
血栓性疾病	血小板	P 选择素	Cys766	—	APT1
	血小板	Gαq	—	—	APT1
	血小板	SNAP23	Cys79、Cys80、Cys83、Cys85 和 Cys87	—	APT1

注：—表示未获得。

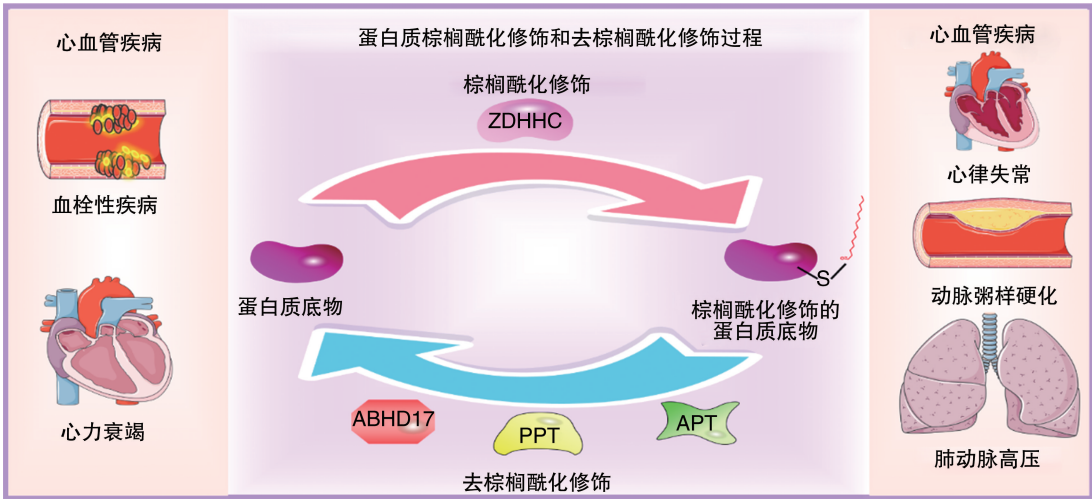


图 5. 蛋白质的棕榈酰化修饰和去棕榈酰化修饰过程及其与心血管疾病之间的关系

Figure 5. The process of protein palmitoylation and depalmitoylation and its relationship with cardiovascular diseases

[参考文献]

[1] 丁玉娇, 韩颖颖, 周婧雯. 棕榈酰化蛋白及蛋白质的棕榈酰化研究进展[J]. 亚热带植物科学, 2018, 47(4): 395-403.
DING Y J, HAN Y Y, ZHOU J W. Progress in research of palmitoylated proteins and protein palmitoylation[J]. Subtr Plant Sci, 2018, 47(4): 395-403.

[2] WANG Y T, LU H J, FANG C Y, et al. Palmitoylation as a signal for delivery[J]. Adv Exp Med Biol, 2020, 1248: 399-424.

[3] KO P J, DIXON S J. Protein palmitoylation and cancer[J]. EMBO Rep, 2018, 19(10): e46666.

[4] JIN J Y, ZHI X L, WANG X H, et al. Protein palmitoylation and its pathophysiological relevance[J]. J Cell Physiol, 2021, 236(5): 3220-3233.

[5] DAS T, YOUNT J S, HANG H C. Protein S-palmitoylation in immunity[J]. Open Biol, 2021, 11(3): 200411.

[6] ZMUDA F, CHAMBERLAIN L H. Regulatory effects of post-translational modifications on zDHHC S-acyltransferases [J]. J Biol Chem, 2020, 295(43): 14640-14652.

[7] MALGAPO M I P, LINDER M E. Substrate recruitment by zDHHC protein acyltransferases[J]. Open Biol, 2021, 11(4): 210026.

[8] LEMONIDIS K, SALAUN C, KOUSKOU M, et al. Substrate selectivity in the zDHHC family of S-acyltransferases[J]. Biochem Soc Trans, 2017, 45(3): 751-758.

[9] SALAUN C, LOCATELLI C, ZMUDA F, et al. Accessory proteins of the zDHHC family of S-acylation enzymes[J]. J Cell Sci, 2020, 133(22): jcs251819.

[10] ZHOU B H, HAO Q Y, LIANG Y M, et al. Protein palmitoylation in cancer: molecular functions and therapeutic potential[J]. Mol Oncol, 2023, 17(1): 3-26.

[11] ZEIDMAN R, JACKSON C S, MAGEE A I. Protein acyl thioesterases (Review)[J]. Mol Membr Biol, 2009, 26(1): 32-41.

[12] 孙慧慧. APT1 去棕榈酰化 CD36 影响其质膜定位[D]. 厦门: 厦门大学, 2019: 1-85.
SUN H H. Depalmitoylation of CD36 by APT1 affects its plasma membrane localization[D]. Xiamen: Xiamen University, 2019: 1-85.

[13] KOSTER K P, YOSHII A. Depalmitoylation by palmitoyl-protein thioesterase 1 in neuronal health and degeneration[J]. Front Synaptic Neurosci, 2019, 11: 25.

[14] CALERO G, GUPTA P, NONATO M C, et al. The crystal structure of palmitoyl protein thioesterase-2 (PPT2) reveals the basis for divergent substrate specificities of the two lysosomal thioesterases, PPT1 and PPT2[J]. J Biol Chem, 2003, 278(39): 37957-37964.

[15] LIN D T, CONIBEAR E. ABHD17 proteins are novel protein depalmitoylases that regulate N-Ras palmitate turnover and subcellular localization[J]. Elife, 2015, 4: e11306.

[16] WON S J, CHEUNG SEE KIT M, MARTIN B R. Protein depalmitoylases[J]. Crit Rev Biochem Mol Biol, 2018, 53(1): 83-98.

[17] 王思敏, 燕银芳, 纪玉强. 蛋白质 N-糖基化在心血管疾病中的

- 研究进展[J]. 中国动脉硬化杂志, 2023, 31(1): 1-12.
- WANG S M, YAN Y F, JI Y Q. Research progress of protein N-glycosylation in cardiovascular diseases[J]. Chin J Arterioscler, 2023, 31(1): 1-12.
- [18] 李涛, 曾晓荣. 钠钙交换体与心脏疾病的研究进展[J]. 泸州医学院学报, 2014, 37(1): 65-68.
- LI T, ZENG X R. Research progress on sodium-calcium exchangers and heart diseases[J]. J Luzhou Med Coll, 2014, 37(1): 65-68.
- [19] 宿俊杰, 齐戈尧, 党晓智, 等. 钠钙交换体的生理和病理生理功能研究进展[J]. 生理学报, 2014, 66(2): 241-251.
- SU J J, QI G Y, DANG X Z, et al. Research progress on the physiological and pathophysiological functions of sodium-calcium exchangers[J]. Acta Physiol Sin, 2014, 66(2): 241-251.
- [20] 林晨晖, 李源, 王焱. 心肌细胞钠钙交换体研究进展[J]. 实用心脑血管病杂志, 2011, 19(1): 145-148.
- LIN C H, LI Y, WANG Y. Research progress on cardiomyocyte sodium-calcium exchanger[J]. Pract J Cardiac Cereb Pneum Vasc Dis, 2011, 19(1): 145-148.
- [21] REILLY L, HOWIE J, WYPIJEWSKI K, et al. Palmitoylation of the Na/Ca exchanger cytoplasmic loop controls its inactivation and internalization during stress signaling[J]. FASEB J, 2015, 29(11): 4532-4543.
- [22] PLAIN F, CONGREVE S D, YEE R S Z, et al. An amphipathic α -helix directs palmitoylation of the large intracellular loop of the sodium/calcium exchanger[J]. J Biol Chem, 2017, 292(25): 10745-10752.
- [23] GÖK C, PLAIN F, ROBERTSON A D, et al. Dynamic palmitoylation of the sodium-calcium exchanger modulates its structure, affinity for lipid-ordered domains, and inhibition by XIP[J]. Cell Rep, 2020, 31(10): 107697.
- [24] BORREGO J, FEHER A, JOST N, et al. Peptide inhibitors of Kv1.5: an option for the treatment of atrial fibrillation[J]. Pharmaceuticals (Basel), 2021, 14(12): 1303.
- [25] GUO X, CHEN W, SUN H, et al. Kv1.5 inhibitors for treatment of atrial fibrillation: a tradeoff between selectivity and non-selectivity[J]. Curr Top Med Chem, 2016, 16(16): 1843-1854.
- [26] RAJARATINAM H, MOKHTAR N F, ASMA-ABDULLAH N, et al. Discovering the triad between Nav1.5, breast cancer, and the immune system: a fundamental review and future perspectives[J]. Biomolecules, 2022, 12(2): 310.
- [27] PEI Z F, XIAO Y C, MENG J W, et al. Cardiac sodium channel palmitoylation regulates channel availability and myocyte excitability with implications for arrhythmia generation[J]. Nat Commun, 2016, 7: 12035.
- [28] 肖素军, 赵明. 动脉粥样硬化与免疫[J]. 中国动脉硬化杂志, 2022, 30(4): 277-286.
- XIAO S J, ZHAO M. Atherosclerosis and immunity[J]. Chin J Arterioscler, 2022, 30(4): 277-286.
- [29] 石茗西, 江丽萍, 陈金智, 等. 动脉粥样硬化中巨噬细胞表型调控的研究进展[J]. 中国动脉硬化杂志, 2022, 30(4): 364-368.
- SHI M X, JIANG L P, CHEN J Z, et al. Progress in the regulation of macrophage phenotype in atherosclerosis[J]. Chin J Arterioscler, 2022, 30(4): 364-368.
- [30] SHU H Y, PENG Y Z, HANG W J, et al. The role of CD36 in cardiovascular disease[J]. Cardiovasc Res, 2022, 118(1): 115-129.
- [31] WANG J, HAO J W, WANG X, et al. DHHC4 and DHHC5 facilitate fatty acid uptake by palmitoylating and targeting CD36 to the plasma membrane[J]. Cell Rep, 2019, 26(1): 209-221. e5.
- [32] MEILER S, BAUMER Y, HUANG Z, et al. Selenoprotein K is required for palmitoylation of CD36 in macrophages; implications in foam cell formation and atherogenesis[J]. J Leukoc Biol, 2013, 93(5): 771-780.
- [33] HUMBERT M, KOVACS G, HOEPER M M, et al. 2022 ESC/ERS guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension[J]. Eur Respir J, 2023, 61(1): 2200879.
- [34] POCH D, MANDEL J. Pulmonary hypertension[J]. Ann Intern Med, 2021, 174(4): ITC49-ITC64.
- [36] SIKARWAR A S, HINTON M. Thromboxane receptor hypersensitivity in hypoxic pulmonary hypertension requires serine 324[J]. Br J Pharmacol, 2014, 171(3): 676-687.
- [37] TSUTSUMI R, FUKATA Y, NORITAKE J, et al. Identification of G protein α subunit-palmitoylating enzyme[J]. Mol Cell Biol, 2009, 29(2): 435-447.
- [38] BOZKURT B, COATS A J S, TSUTSUI H, et al. Universal definition and classification of heart failure: a report of the Heart Failure Society of America, Heart Failure Association of the European Society of Cardiology, Japanese Heart Failure Society and Writing Committee of the Universal Definition of Heart Failure; Endorsed by the Canadian Heart Failure Society, Heart Failure Association of India, Cardiac Society of Australia and New Zealand, and Chinese Heart Failure Association[J]. Eur J Heart Fail, 2021, 23(3): 352-380.
- [39] 陈艳敏, 肖瑞平, 王珏. β_2 肾上腺素受体激动剂治疗心衰研究进展[J]. 药理学进展, 2017, 41(3): 163-169.
- CHEN Y M, XIAO R P, WANG J. Research progress in β_2 adrenergic receptor agonist for the treatment of heart failure[J]. Prog Pharmacol Sci, 2017, 41(3): 163-169.
- [40] CHEN J J, MARSDEN A N, SCOTT C A, et al. DHHC5 mediates β -adrenergic signaling in cardiomyocytes by targeting $G\alpha$ proteins[J]. Biophys J, 2020, 118(4): 826-835.
- [41] 张娟. 血栓性疾病患者进行血浆 D-二聚体检测的临床意义探讨[J]. 中国实用医药, 2021, 16(13): 43-45.
- ZHANG J. Investigation on the clinical significance of plasma D-dimer detection in patients with thrombotic diseases[J]. Chin Pract Med, 2021, 16(13): 43-45.
- [42] YEUNG J, LI W J, HOLINSTAT M. Platelet signaling and disease: targeted therapy for thrombosis and other related diseases[J]. Pharmacol Rev, 2018, 70(3): 526-548.
- [43] SIM D S, DILKS J R, FLAUMENHAFT R. Platelets possess and require an active protein palmitoylation pathway for agonist-mediated activation and in vivo thrombus formation[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2007, 27(6): 1478-1485.
- [44] FUJIMOTO T, STROUD E, WHATLEY R E, et al. P-selectin is acylated with palmitic acid and stearic acid at cysteine 766 through a thioester linkage[J]. J Biol Chem, 1993, 268(15): 11394-11400.
- [45] KAMATO D, MITRA P, DAVIS F, et al. Gaq proteins: molecular pharmacology and therapeutic potential[J]. Cell Mol Life Sci, 2017, 74(8): 1379-1390.
- [46] AGARWAL V, NASKAR P, AGASTI S, et al. The cysteine-rich domain of synaptosomal-associated protein of 23 kDa (SNAP-23) regulates its membrane association and regulated exocytosis from mast cells[J]. Biochim Biophys Acta Mol Cell Res, 2019, 1866(10): 1618-1633.