

本文引用: 杨一茗, 柴嘉音, 王雯. TFEB 的翻译后修饰对自噬的调节作用[J]. 中国动脉硬化杂志, 2024, 32(3): 185-193. DOI: 10.20039/j.cnki.1007-3949.2024.03.001.

[文章编号] 1007-3949(2024)32-03-0185-09

· 专家论坛 ·

TFEB 的翻译后修饰对自噬的调节作用

杨一茗¹, 柴嘉音^{2,3}, 王雯^{2,3}

1. 首都医科大学基础医学院, 北京市 100069; 2. 首都医科大学基础医学院生理学与病理生理学系, 北京市 100069; 3. 代谢紊乱相关心血管疾病北京市重点实验室, 北京市 100069

[专家简介] 王雯, 首都医科大学基础医学院教授, 博士研究生导师, 基础医学院教学委员会委员, 生理学与病理生理学系副主任, 代谢紊乱相关心血管疾病北京市重点实验室副主任。主要从事代谢性心血管疾病的机制研究, 主持国家自然科学基金项目 5 项及多项省部级基金项目。在 *Cardiovasc Res*、*Antioxid Redox Signal*、*Free Radic Biol Med* 及 *Atherosclerosis* 等期刊发表学术论文 60 余篇。获得教育部霍英东教育基金会高等院校青年教师奖、华夏医学科技奖二等奖、北京市高等学校教学名师奖。

[摘要] 转录因子 EB (TFEB) 是小眼畸形相关转录因子家族成员, 通过调节自噬-溶酶体相关基因的表达在脂质代谢等多种生物过程中发挥重要作用。TFEB 的活性与细胞定位可通过蛋白质的翻译后修饰进行调节。本文就 TFEB 翻译后修饰对自噬的调节作用进行综述, 旨在加深对动脉粥样硬化等自噬异常所致疾病发病机制的理解, 为相应疾病的防治提供新的思路和干预靶点。

[关键词] 转录因子 EB; 自噬; 蛋白质翻译后修饰

[中图分类号] R363; R5

[文献标识码] A



Regulation of autophagy by posttranslational modification of TFEB

YANG Yiming¹, CHAI Jiayin^{2,3}, WANG Wen^{2,3}

1. School of Basic Medical Sciences, Capital Medical University, Beijing 100069, China; 2. Department of Physiology and Pathophysiology, School of Basic Medical Sciences, Capital Medical University, Beijing 100069, China; 3. Beijing Key Laboratory of Metabolic Disorders Related Cardiovascular Diseases, Beijing 100069, China

[ABSTRACT] Transcription factor EB (TFEB) is a member of the microphthalmia associated transcription factor family. It plays an important role in lipid metabolism and other biological processes by regulating the expression of autophagy and lysosomal related genes. The activity and cellular localization of TFEB can be regulated by posttranslational modifications of proteins. This paper discusses the mechanism of autophagy regulation by TFEB posttranslational modification, aiming to help understand the pathogenesis of related diseases caused by abnormal autophagy, and provides new ideas and feasible intervention targets for the prevention and treatment of corresponding diseases.

[KEY WORDS] transcription factor EB; autophagy; posttranslational modifications

自噬是进化过程中高度保守的机制, 其主要功能是通过降解蛋白质、细胞器和大分子的选择性降解以及分解产物的回收, 实现细胞内物质的循环再利用, 因此对于细胞存活具有重要意义^[1]。其中, 自噬缺乏或异常所导致的细胞自我清除能力下降, 进

一步引起氧化应激、炎症、细胞死亡, 与动脉粥样硬化密切相关^[2]。转录因子 EB (transcription factor EB, TFEB) 是自噬溶酶体信号通路中最重要的转录因子之一, 可以调节自噬和溶酶体相关基因表达, 在脂质代谢、细胞衰老、DNA 修复、内质网应激等关

[收稿日期] 2023-12-28

[修回日期] 2024-01-31

[基金项目] 国家自然科学基金项目(91839107); 北京市自然科学基金项目(7242005)

[作者简介] 杨一茗, 研究方向为代谢紊乱与心血管衰老, E-mail: m15901306003@163.com。通信作者王雯, 教授, 博士研究生导师, 研究方向为代谢紊乱相关心血管疾病的发病机制及干预, E-mail: wangwen@ccmu.edu.cn。

键的生物过程中起到至关重要的调节意义。有研究表明,TFEB 可以通过介导脂肪自噬、脂肪分解和脂质代谢相关基因的转录促进脂质降解和外排,恢复脂质稳态,进而减轻或逆转动脉粥样硬化的进展^[3]。还有报道 TFEB 的功能障碍与许多神经退行性疾病的发病机制密切相关。如在阿尔茨海默病 (alzheimer's disease, AD) 中,TFEB 过表达可以通过调节自噬-溶酶体途径减少 β 淀粉样蛋白 (amyloid- β , A β) 积累,减少其诱导的活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 产生和细胞凋亡,从而延缓病程进展^[4]。

1 TFEB 的结构特点与功能

TFEB 是小眼畸形相关转录因子 (microphthalmia-associated transcription, MiT) 家族的成员, MiT 家族还包括小眼畸形相关转录因子 (microphthalmia-associated transcription factor, MITF)、转录因子 EC (transcription factor EC, TFEC) 和转录因子 E3 (transcription factor E3, TFE3)。MiT 家族蛋白质包含一个基本的 DNA 结合结构域,碱性螺旋-环-螺旋结构域 (helix-loop-helix, HLH) 和亮氨酸拉链结构域 (leucine zipper, Zip)^[5]。亮氨酸拉链结构域结构特点的约束使 MiT 家族成员只能在彼此间形成二聚体,然后通过形成的同源二聚体或异源二聚体进一步结合 DNA 来调节基因表达^[5]。

TFEB 可协调细胞对于各种应激原作出反应。当出现细胞外刺激因素 (应激原) 如营养剥夺、氧化应激或病原体入侵等,可诱导 TFEB 的核易位和激

活,进而调节应激诱导的基因转录,例如促进溶酶体基因表达^[6]。在中枢神经系统中,自噬可以预防或消除导致神经变性的致病性损伤,编码自噬相关因子的基因突变,导致自噬途径受损进而诱发神经退行性疾病,例如肌萎缩侧索硬化症 (amyotrophic lateral sclerosis, ALS)^[7]。最新的研究表明,激活 TFEB 可以促进胱硫醚 γ 裂解酶-硫化氢介导的血管平滑肌细胞 (vascular smooth muscle cell, VSMC) 自噬,促进胶原蛋白分泌并抑制细胞凋亡,从而增强动脉粥样硬化斑块的稳定性^[8]。有研究发现在癌细胞中常伴有中心体扩增,而中心体耗竭则可以使马球样激酶 4 (polo like kinase 4, PLK4) 失活,导致其底物 TFEB 和 TFE3 去磷酸化,随后促进 TFEB 和 TFE3 核易位以及自噬和溶酶体相关基因的转录激活,从而在癌细胞中诱导强烈的抗增殖作用^[9]。这对癌症的治疗提供了一种新的思路。

2 TFEB 的翻译后修饰在自噬中的调控作用及机制

蛋白质的翻译后修饰 (post-translational modification, PTM) 是在一个或多个氨基酸残基上共价结合某些修饰基团进而改变蛋白质理化性质的可逆性修饰^[10]。TFEB 能够发生多种翻译后修饰,尤其是磷酸化、乙酰化、小泛素相关修饰物 (small ubiquitin-like modifier, SUMO) 化、泛素化、糖基化等,在调节细胞自噬过程中可发挥重要作用^[11] (表 1)。

表 1. TFEB 的翻译后修饰小结
Table 1. Summary of the post-translational modifications of TFEB

修饰类型	调节因子	TFEB 修饰位点	影响	参考文献
磷酸化	mTORC1	S122, S142, S211	促进 TFEB 核输出	[12]
	MAP4K3	S3	将 TFEB 招募到溶酶体	[13]
	ERK2	S142	促进 TFEB 核输出	[14]
	GSK3 β	S138	促进 TFEB 核输出	[15]
	PKC β	S462, S463, S467, S469	增强 TFEB 转录活性	[16]
	PKB	S467	抑制 TFEB 核易位	[17]
	CDK1/4/6	S142	促进 TFEB 核输出	[18]
	AMPK	S466, S467, S469	增强 TFEB 转录活性	[19]
	PP2A	S109, S114, S122, S211	促进 TFEB 核输出	[20]
去磷酸化	PPP3	S3, S142	促进 TFEB 核易位	[21-22]
	GCN5	K229, K274	干扰 TFEB 二聚化,破坏其与 DNA 结合	[23]
乙酰化	SIRT1	K116	增强 TFEB 转录活性	[24]
去乙酰化	STUB1	—	促进 TFEB 蛋白酶体降解	[25]

续表

修饰类型	调节因子	TFEB 修饰位点	影响	参考文献
糖基化	SetA	S138	促进 TFEB 核易位	[26]
SUMO 化	—	K316	增强 TFEB 转录活性	[27]
半胱氨酸氧化	—	C212	促进 TFEB 核易位	[28]
ROS 氧化	H ₂ O ₂	C212	促进 TFEB 核易位	[29]

注：“—”表示无法获取。mTORC1:雷帕霉素激酶复合物 1 (mechanistic target of rapamycin complex 1); MAP4K3:丝裂原活化蛋白激酶激酶激酶 3 (mitogen-activated protein kinase kinase kinase 3); ERK2:细胞外信号调节激酶 2 (extracellular signal-regulated kinase 2); GSK3 β :糖原合成酶激酶 3 β (glycogen synthase kinase 3 β); PKC β :蛋白激酶 C β (protein kinase C β); PKB:蛋白激酶 B (protein kinase B); CDK1/4/6:周期蛋白依赖性激酶 1/4/6 (cyclin dependent kinase 1/4/6); AMPK:腺苷酸活化蛋白激酶 [adenosine 5'-monophosphate (AMP)-activated protein kinase]; PP2A:蛋白磷酸酶 2A (protein phosphatase 2A); PPP3:蛋白磷酸酶 3 (protein phosphatase 3); GCN5:组蛋白乙酰转移酶 GCN5 (general control non-depressible 5); SIRT1:沉默信息调节因子 1 (Sirtuin1); STUB1:STIP1 同源性和 U-Box 结构蛋白 1 (STIP1 homology and U-Box structural protein 1); SetA:嗜肺军团菌效应蛋白 SetA (legionella effector SetA); H₂O₂:过氧化氢 (hydrogen peroxide)。

2.1 TFEB 的磷酸化修饰

TFEB 的活性和功能可以通过核定位体现,而它的核定位主要是通过翻译后修饰,尤其是通过对特定丝氨酸残基处的磷酸化修饰来进行调节。诱导 TFEB 发生磷酸化修饰的激酶有 mTORC1^[12]、MAPK^[30]、GSK3^[31]、PKC^[32]、PP2A^[20]、PPP3^[33] 等 (图 1)。在营养丰富的正常细胞中,上述激酶分

别使 TFEB 的 S3、S122、S142、S211 等多个位点磷酸化,TFEB 的核定位序列被遮蔽并与相关蛋白结合,使其以非活性形式滞留在细胞质,入核受阻;而在营养匮乏的细胞中,TFEB 的多个位点不能被磷酸化,未发生磷酸化的 TFEB 进入细胞核,调节启动下游自噬及溶酶体相关基因的表达^[34]。

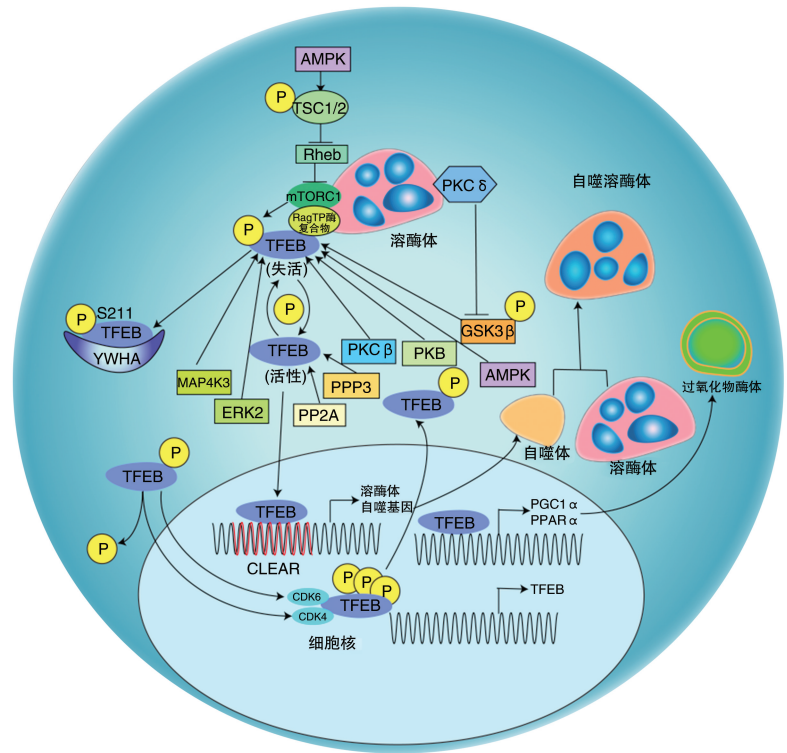


图 1. TFEB 的磷酸化修饰机制图

Figure 1. Mechanism diagram of the phosphorylation modification of TFEB

2.1.1 mTORC1 对 TFEB 的调控 mTORC1 是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶复合物,参与整合主要的细胞内和细胞外信号通路如生长因子信号传

导、氨基酸感知和信号传导、能量状态和细胞应激^[35]。在溶酶体膜表面,mTORC1 可根据营养水平、能量状态来调节异源二聚体 Ras 相关 GTP 结合蛋

白(Ras related GTP binding, RRG)/GTP 酶复合物的状态,进而通过磷酸化来抑制基本螺旋-环-螺旋-亮氨酸拉链转录因子家族成员,实现对溶酶体和自噬体的调节作用^[35]。在氨基酸充足的情况下,RRG/GTP 酶复合物以活性的形式存在,使 mTORC1 易位到溶酶体表面,进而磷酸化 TFEB 的 S122、S142、S211 位点^[12],S211 的磷酸化为磷酸丝氨酸/磷酸苏氨酸结合蛋白(tyrosine 3-monooxygenase/tryptophan 5-monooxygenase activation protein, YWHA)创造了高亲和力结合位点,二者的相互结合导致了 TFEB 的核定位序列被遮蔽而使其以非活性的形式滞留于细胞质,不能激活下游自噬基因的表达^[12]。有研究表明,去磷酸化 TFEB 的 S211 位点后 TFEB 仍定位于细胞质,说明其中依然存在 mTORC1 的调节,同时由于磷酸化 TFEB 的 S122 位点后很大程度地逆转了 mTORC1 抑制剂对 TFEB 的影响,说明 S122 位点去磷酸化对 TFEB 核定位至关重要,因此将 S122 确定为 mTORC1 的直接磷酸化位点^[12]。在氨基酸缺乏的营养剥夺的情况下,RRG 保持非活性状态(RagA 或 RagB 与 GDP 结合,RagC 或 RagD 与 GTP 结合)^[36],导致 mTORC1 不能被招募到溶酶体膜上而使其功能受到抑制,TFEB 多以非磷酸化状态进入细胞核,促进了下游自噬以及溶酶体基因的表达^[36]。

2.1.2 MAPK 对 TFEB 的调控 MAPK 是一种丝氨酸/苏氨酸激酶,在级联信号中发挥作用,并将细胞外信号传递到细胞内靶标,作为调节多种细胞过程如细胞增殖、分化、炎症、凋亡和应激反应的信号元件。MAPK 级联可被定义为四种:细胞外信号调节激酶 1/2(extracellular signal-regulated kinases 1 and 2, ERK1/2)、c-Jun 氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)、p38 丝裂原活化蛋白激酶(p38 mitogen-activated protein kinase, p38 MAPK)和 ERK5^[30]。MAP4K3 属于 MAPK 的 Ste20 亚家族,它可以通过激活 PKC 和 JNK,促进氨基酸刺激的 mTORC1 机制靶标的激活来共同实现对于 TFEB 的调控作用^[30]。

在氨基酸充足的正常情况下,MAP4K3 存在于细胞质中,通过与 TFEB 的直接物理相互作用介导 TFEB 的 S3 位点磷酸化,进而实现 TFEB 和 mTORC1-Rag GTP 酶复合物相互作用^[17],使 mTORC1 磷酸化 TFEB 的 S211 位点,使其与 YWHA 相互结合,TFEB 的核定位序列被遮蔽并以非活性的形式滞留于细胞质,使下游自噬基因的表达受到抑制^[13]。在氨基酸缺乏的情况下,MAP4K3 定位在溶酶体,意味着就不能与胞质中的 TFEB 互作,TFEB 无法经此途径被磷酸化导致非磷酸化的 TFEB 进入细胞核激活下游

自噬基因的表达^[13]。

可见,MAP4K3 亚细胞定位本身受到氨基酸水平的影响,并且位于 mTORC1 上游,对 TFEB 定位和激活起到调控作用。

除此以外,作为细胞生长的主调节因子,ERK2 在富营养条件下可以磷酸化 TFEB 的 S142 位点,使 TFEB 保留在细胞质,而抑制 ERK2 促进 TFEB 的核易位^[14]。

2.1.3 GSK3 对 TFEB 的调控 GSK3 是一种丝氨酸/苏氨酸激酶,已被证明可抑制糖原合酶的活化,是糖原代谢中的重要酶。GSK3 主要有两种亚型,即 GSK3 α 和 GSK3 β ^[31]。有研究表明,在 mTORC1 激活的前提下,GSK3 β 可以磷酸化 TFEB 的 S138 位点来促进其核输出,使其胞质保留^[15]。此外,近年研究发现,GSK3 α 磷酸化 PKB 的 S312 位点可以灭活 PKB,抑制 PKB 磷酸化 TFEB 的 S467 位点,使非磷酸化 TFEB 进入细胞核,激活下游自噬基因的表达^[37]。GSK3 β 还能直接通过磷酸化 mTOR 的 S859 位点在 mTORC1 信号通路上游发挥作用。同时,有报道显示激活 GSK3 被证明可以激活 mTORC1 的负调节因子结节性硬化症复合体 2(tuberous sclerosis protein complex subunit 2, TSC2),进一步导致 mTORC1 的抑制,从而通过下调 mTORC1 使 TFEB 去磷酸化入核,促进溶酶体合成相关基因的表达^[38]。

2.1.4 PKC 对 TFEB 的调控 PKC 是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,其介导的靶蛋白中丝氨酸、苏氨酸和酪氨酸残基的磷酸化参与调节细胞内信号转导,有报道称其可调节自噬^[32]。作为一个重要的蛋白酶家族,早在 1986 年第一个 PKC 基因被克隆出来时,科学家就发现存在 PKC α 、 β 和 γ 三种亚型^[39]。随着时间的推移,PKC 的各种亚型及其功能也不断得到阐释。目前已知有三个 PKC 亚家族:经典 PKC(classical or conventional PKC, cPKC),包括 α 、 β 和 γ 亚型;新型 PKC(novel PKC, nPKC),包括 δ 、 ϵ 、 η 和 θ 亚型;非典型 PKC(atypical PKC, aPKC),包括 ι 和 ζ 亚型^[40]。在破骨细胞中,伴随着核因子 κ B 配体受体激活剂(receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand, RANKL)的刺激,PKC β 可以磷酸化 TFEB 末端 S462、S463、S467 和 S469 位点,以促进溶酶体生物发生并保持其稳定性^[16]。此外,有研究表明 PKC α 和 PKC δ 的激活可以抑制 GSK3 β ,从而抑制 TFEB S134 和 S138 位点的磷酸化,促进 TFEB 核易位和激活^[41]。

转录抑制因子锌指蛋白家族成员 ZKSCAN3 是一种 TFEB 拮抗剂,在营养丰富的条件下,其易位到

细胞核并抑制许多自噬和溶酶体相关基因^[42]。研究表明 PKC 能激活 JNK 和 p38 MAPK,进而磷酸化具有 Krüppel 相关盒 (Krüppel-associated box, KRAB) 和 SCAN 结构域 (the SCAN domain, SCAN) 的锌指转录因子家族成员 ZKSCAN3, 导致 ZKSCAN3 失活并易位到细胞质,促进 TFEB 的核易位^[43]。此外,还有研究发现,5 β -O-当归酸酯-20-脱氧苷烯醇 (5 β -O-angelate-20-deoxyingenol, HEP14) 可用于增强 PKC α 和 PKC δ 活性并进一步触发 TFEB 激活,同时这种 HEP14 处理不影响 mTORC1 的激活,表明 PKC α 和 PKC δ 介导的 TFEB 核易位通过 GSK3 β 以 mTORC1 独立的方式发生^[44]。

2.1.5 PP2A 对 TFEB 的调控 调节细胞代谢的蛋白磷酸酶可以分为 PP1 和 PP2,PP2 又可以分为 PP2A、PPP3 和 PP2C,它们通过催化亚基和调节亚基之间的组合、相互作用来实现底物特异性,并起到关键的调控作用^[31]。其中,PP2A 和 PPP3 参与发育、细胞增殖和死亡、细胞迁移、细胞骨架动力学、细胞周期控制及多种信号通路的调节^[20]。

亚砷酸盐是一种强效毒物,与各种癌症和慢性病相关,可扰乱线粒体膜的完整性,致线粒体膜释放活性氧引起 DNA 损伤、内质网应激、自噬和炎症反应。有研究发现,PP2A 的催化或调节亚基的催化抑制或耗竭足以阻止亚砷酸盐诱导的 TFEB S211 和 TFEB S321 位点去磷酸化^[20]。通过进一步的研究,证实了在氧化应激条件下,PP2A 可以去磷酸化 TFEB 的 S109、S114、S122、S211 位点^[20]。其中,前文已提及的 TFEB S211 位点的去磷酸化可以引起其与 YWHA 相互结合,TFEB 的核定位序列被遮蔽并以非活性的形式滞留于细胞质,使下游自噬基因 (Atg9b、Atg16l1 和 Uvrag) 和溶酶体基因 (Atp6v0d2、Atp6v0e1、Atp6v1h、Ctsa、Ctsf 等) 的表达受到抑制^[29]。

2.1.6 PPP3 对 TFEB 的调控 PPP3 与 PP1、PP2A 同属于蛋白磷酸酶 PPP 家族成员^[33],是一种丝氨酸/苏氨酸特异的蛋白磷酸酶,因此可以通过去磷酸化控制 TFEB 的活性从而实现其对于 TFEB 的调控。与此同时,作为一种钙依赖性磷酸酶,钙信号的转导在其调节 TFEB 的过程中也起到了关键作用^[31]。有研究表明,钙螯合剂阻断饥饿诱导的核易位,而钙离子载体以钙调磷酸酶依赖的方式促进 TFEB 核易位。在正常进食并缺乏运动情况下,mTORC1 可以磷酸化 TFEB 并与 YWHA 蛋白互作阻止 TFEB 核易位;在饥饿和运动期间,mTORC1 活性受到抑制,溶酶体钙通道黏液磷脂 1 (transient receptor potential mucolipin channel 1, TRPML1) 激活

并释放钙离子,胞质中钙离子浓度升高,钙调神经磷酸酶与钙调蛋白结合而被激活,去磷酸化 TFEB 的 S3 和 S142 位点,促进 TFEB 的核易位,促进自噬和溶酶体相关基因的转录^[22,31]。

2.1.7 PKB 对 TFEB 的调控 PKB 是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,也称为 Akt,在细胞存活和细胞凋亡抑制等方面发挥着关键作用。有研究表明,在营养丰富的条件下,PKB 磷酸化 TFEB 的 S467 位点并抑制其核易位;而应用 MK2206 PKB 抑制剂后 PKB 活性受到抑制,进而导致 TFEB 的核易位,促进溶酶体和自噬基因的上调,进一步激活自噬^[17]。近年研究发现,三氧化二砷可通过抑制磷脂酰肌醇 3-激酶 (phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)/PKB/mTOR 通路诱导巨噬细胞自噬,抑制动脉粥样硬化中脂质积累诱导的细胞凋亡,进而减少早期动脉粥样硬化病变,同时还通过促进血管平滑肌细胞存活来维持动脉粥样硬化斑块稳定性^[45]。

2.1.8 CDK1/4/6 对 TFEB 的调控 CDK 是一套丝氨酸/苏氨酸激酶系统,与细胞周期相对应,通过磷酸化底物调节细胞周期。有研究表明,在细胞周期的 G1/S 过渡期间,CDK1 可以磷酸化 TFEB 的 S122、S142 位点,CDK4/6 可以结合并磷酸化 TFEB 的 S142 位点,从而在细胞分裂时抑制 TFEB 发挥作用,促进 TFEB 核输出使其失活,抑制自噬和溶酶体生物发生^[18]。

2.1.9 AMPK 对 TFEB 的调控 AMPK 是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,在生物能量代谢调节中起到关键作用,其对 TFEB 的调节主要体现在通过直接磷酸化 TFEB、抑制 mTORC1 控制 TFEB 和激活 TFEB 依赖性基因表达三种^[19]。

在营养物质缺乏的情况下,AMPK 可以直接磷酸化 TFEB 的 S466、S467、S469 位点,促进 TFEB 的转录活性^[19],增加自噬和溶酶体生物发生等分解代谢过程,清除错误折叠的蛋白质。例如在亨廷顿病中可以清除 HTT 基因第一个外显子中 CAG 三核苷酸重复序列的扩增产生的多聚谷氨酰胺 (polyglutamine, PolyQ),有望为治疗此类神经退行性疾病提供新靶点^[19]。另一方面,AMPK 被激活,活化的 AMPK 可以磷酸化 TSC2 的 T1227 和 S1345 位点,从而促进 TSC1/TSC2 复合物的 GTP 酶激活蛋白 (GTPase-activating protein, GAP) 由活性 RHEB-GTP 转化为无活性的 RHEB-GDP 状态,RHEB 介导的 mTORC1 激活被关闭。AMPK 还可以直接磷酸化 mTOR 调控相关蛋白 (regulatory associated protein of mTOR, Raptor) 的 S772 和 S792 位点,增加 YWHA 与

Raptor 的结合,阻碍 Raptor 与 mTOR 或 mTOR 底物的结合,抑制 mTOR 信号通路。TFEB 的去磷酸化驱动其入核,促进下游的自噬基因表达^[46]。此外,活化的 AMPK 还可以磷酸化叉头盒蛋白 O3 (forkhead box protein O3, FoxO3),从而抑制 S 期激酶相关蛋白 2 (S-phase kinase-associated protein 2, SKP2) 表达,使共激活因子相关的精氨酸甲基转移酶 1 (coactivator-associated arginine methyltransferase 1, CARM1) 无法被降解,CRAM1 表达上调,其作为 TFEB 的共激活因子促进溶酶体基因的表达^[46]。

2.2 TFEB 的乙酰化与去乙酰化修饰

TFEB 乙酰化是近年来被提出的一种新型翻译后修饰,乙酰化的修饰位点位于蛋白质的赖氨酸残基上。有研究表明,TFEB 的 K116 位点乙酰化修饰可以促进小胶质细胞通过 β 淀粉样蛋白 (amyloid beta peptide, A β) 的自噬-溶酶体途径降解^[47]。此外,有研究表明将 TFEB 的 K116 位点的赖氨酸突变为精氨酸,模拟去乙酰化修饰会降低其核丰度,同时减少自噬通量,因此乙酰化修饰对 TFEB 核易位具有重要意义^[47]。

有其他研究表明,在 GCN5 的催化下,TFEB 在 K229 和 K274 位点发生乙酰化修饰会干扰 TFEB 的同源二聚化和异源二聚化,降低其与靶基因含 CLEAR 基序启动子的亲和力^[23]。与此同时,还有研究发现在细胞质中组蛋白去乙酰化酶 6 (histone deacetylase 6, HDAC6) 可以通过去乙酰化 TFEB 来调节其活性,表明 TFEB 的去乙酰化影响其转录激活^[48]。在培养的 NRK-52E 细胞中,用小分子抑制剂 Tubastatin A 抑制 HDAC6,促进 TFEB 乙酰化,可增加 TFEB 核易位。在慢性肾脏病的大鼠模型中, Tubastatin A 阻止了错误折叠的蛋白质聚集累积在肾小管上皮细胞,减弱了蛋白尿的进展,限制了肾小管细胞的死亡,并减少了肾小管间质胶原基质沉积^[49]。

SIRT1 是一种烟酰胺腺嘌呤二核苷酸依赖性脱乙酰酶,通过对组蛋白和非组蛋白的去乙酰化修饰来调节多种生理过程^[24]。有研究表明,SIRT1 可以去乙酰化 TFEB 的 K116 位点,促进腹膜巨噬细胞的自噬并抑制细胞凋亡,有望为治疗早期动脉粥样硬化提供可能^[24] (图 2)。

2.3 TFEB 的泛素化修饰

STUB1 是一种伴侣依赖性 E3 泛素连接酶^[50],主要通过控制磷酸化 TFEB 的稳态在维持自噬-溶酶体途径的稳态和线粒体生物发生中起着关键作用。

在营养丰富的环境中,活化的 mTOR 磷酸化 TFEB,导致 TFEB 活性降低;在饥饿期间,STUB1 泛素化标记磷酸化 TFEB 并通过蛋白酶体途径靶向降解,而使得非磷酸化的 TFEB 易位到细胞核,发挥其转录活性,促进溶酶体和自噬相关基因的表达 (图 2)。在 STUB1 缺陷细胞中,磷酸化的 TFEB 不能被泛素化标记进而被有效降解,致使失活的磷酸化 TFEB 积累,并通过与非磷酸化的 TFEB 形成异二聚体来进一步降低 TFEB 的活性,导致 TFEB 的核易位减少;过氧化物酶体增殖物激活型受体 γ 辅激活因子 1 α (peroxisome proliferator-activated receptor-gamma co-activator-1 α , PGC-1 α) 是线粒体生物发生和功能的主要调节因子^[25],而 TFEB 的活性降低会直接导致 PGC1 α 减少,从而减少线粒体生物发生。因此,在 STUB1 缺陷细胞中,TFEB 活性降低导致自噬-溶酶体途径和线粒体生物发生受到抑制^[25]。

2.4 TFEB 的糖基化修饰

多腺苷二磷酸核糖基化修饰是由多腺苷二磷酸核糖聚合酶 (poly ADP-ribose polymerase, PARP) 催化执行的可逆翻译后修饰形式,可以介导 ADP-核糖从烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 (nicotinamide adenine dinucleotide, NAD⁺) 转移到受体蛋白^[51]。当 WNT/ β -连环蛋白信号通路被激活时,端锚聚合酶 1 (tankyrase 1, TNKS1) 会多腺苷二磷酸核糖基化 TFEB,导致与共激活剂 β -连环蛋白和 T 细胞因子/淋巴增强子 (T-cell factor/lymphoid enhancer-binding factor, TCF/LEF) 形成的三聚体复合物解离,促进 TFEB 易位到细胞核^[52]。

有研究表明在嗜肺军团菌感染期间宿主体内可发生 TFEB 的糖基化,进而通过激活自噬等分解代谢途径来供能。SetA 在哺乳动物细胞中外源表达时引起 TFEB 大量核易位,并且这种核易位的程度取决于 SetA 的葡萄糖基转移酶活性^[26]。进一步研究表明,SetA 在两个关键区域修饰 TFEB;其在 GSK3 β 磷酸化位点 S138 葡萄糖基化 TFEB 会破坏 TFEB 核输出信号,进而导致 TFEB 在细胞核中富集;同时还可葡萄糖基化与 YWHA 结合位点 S211 相邻的丝氨酸和苏氨酸残基簇,阻碍 TFEB 与 YWHA 的直接相互作用,从而通过这两条途径促进下游自噬和溶酶体相关基因的表达^[26] (图 2)。

2.5 TFEB 的 SUMO 化修饰

SUMO 化修饰是通过添加小泛素样修饰符对蛋白质进行翻译后修饰,其修饰的底物蛋白多位于细胞核内,且含有 Ψ KXE 模块序列 (Ψ : 疏水氨基酸;K:

赖氨酸,X:任意氨基酸)^[27]。有研究表明,MiT 家族成员中保守的小泛素样修饰剂共识位点内的赖氨酸残基会受到 SUMO 修饰,其中,TFEB 的 K316 处位点可发生 SUMO 化修饰,增强 TFEB 的转录活性^[27]。

2.6 TFEB 的半胱氨酸氧化修饰

半胱氨酸残基可被活性氧化,进而控制细胞内信号级联。半胱氨酸残基氧化促进其与硫醇基团形成二硫键,从而改变蛋白质功能^[28]。有研究表明 TFEB 的 C212 位点被氧化并有利于与其他 TFEB 分子形成低聚物,从而可防止 mTORC1 使 TFEB 失活。在基础条件下,YWHA 与转录因子结合可保护半胱氨酸残基免受氧化并防止低聚物形成。在营养剥夺、氧化应激等条件下,TFEB-S211 和 TFE3-S321 去磷酸化以及随后的 YWHA 解离暴露了半胱

氨酸位点,从而改变了蛋白质的四级结构,导致 TFEB 低聚物形成增加,使 S211 和 S321 不易被 mTORC1 接近,从而阻止它们的磷酸化及与 YWHA 的相互作用,进而促进 TFEB 的核易位^[28](图 2)。

2.7 TFEB 的 ROS 氧化修饰

ROS 由 H_2O_2 、羟基自由基(hydroxyl radicals, $\cdot OH$)和超氧自由基阴离子(the superoxide anion radical, $O_2^{\cdot -}$)组成,它们既是生理条件下细胞代谢产生的副产物,又是强烈的氧化应激条件下可以造成损伤的物质。有研究表明, H_2O_2 可以氧化 TFEB 的 C212 残基,进而消除 TFEB 与 RRAG GTP 酶的相互作用,使 TFEB 进入细胞核,促进自噬基因(Atg9b、Atg16l1 和 Uvrag)和溶酶体基因(Atp6v0d2、Atp6v0e1、Atp6v1h、Ctsa、Ctsf 等)的转录^[29](图 2)。

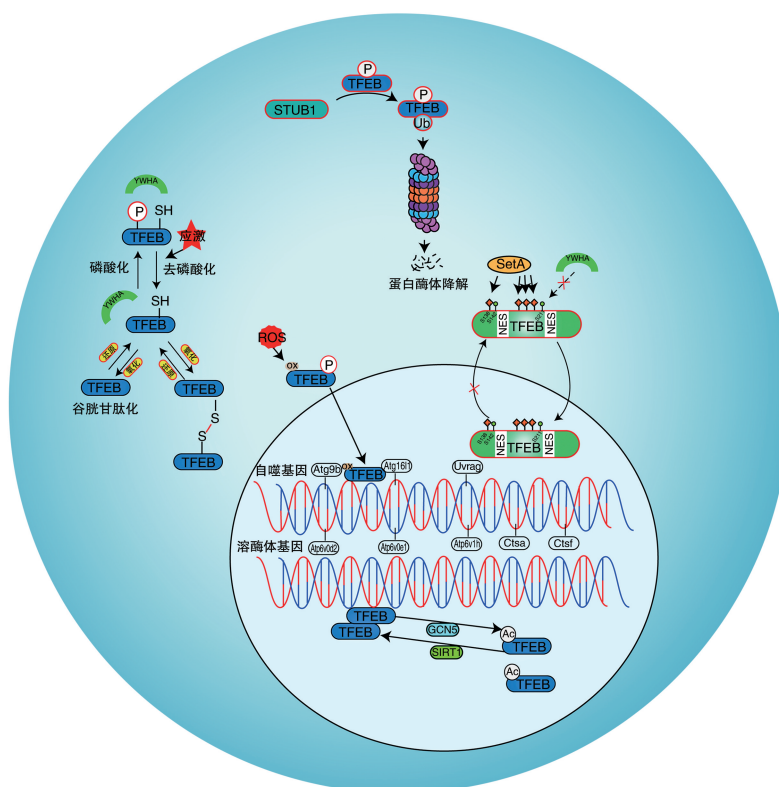


图 2. TFEB 的乙酰化、泛素化、糖基化、SUMO 化、半胱氨酸氧化、ROS 氧化修饰机制图

Figure 2. Mechanism diagram of acetylation, ubiquitination, glycosylation, SUMO-ylation, cysteination, and ROS oxidation modification of TFEB

3 TFEB 调控动脉粥样硬化的分子机制

生物体对于营养状况变化的适应性反应与脂质代谢变化有关,例如在营养剥夺期间可以观察到脂质分解代谢显著增加。TFEB 是有效调节脂质代谢的转录因子之一,它可以调节脂质转运过程,还可以调节

脂肪吞噬,这对于以动脉壁脂质积累和炎性细胞浸润为特征的动脉粥样硬化疾病具有重要意义。

3.1 TFEB 与脂质转运蛋白

TFEB 通过影响白细胞分化抗原 36 (cluster of differentiation 36, CD36)、清道夫受体 A (scavenger receptor A, SR-A)、ATP 结合盒转运蛋白 A1 (ATP

binding cassette transport protein A1, ABCA1) 和其他蛋白的表达, 调节脂质转运。在不同的条件刺激下, 这些转运蛋白主要通过调节巨噬细胞表面胆固醇摄取和外排来适应环境变化。有研究发现, 金丝桃素介导的声动力疗法通过在巨噬细胞中产生活性氧来促进 TFEB 的核易位, 从而增加巨噬细胞胆固醇外排水平和 ABCA1 蛋白的表达, 并抑制 CD36 和 SR-A 的 mRNA 水平^[53]。这表明 TFEB 既是促进巨噬细胞脂质降解和外流的重要调节因子, 又是促进自噬活化和溶酶体再生的关键调节剂, 可以通过抑制脂质摄取、减少巨噬细胞脂质积累来改善动脉粥样硬化等疾病的早期进展^[53]。

3.2 TFEB 与脂质降解

在缺乏营养物质时, 积聚在细胞质中的脂滴被双层膜结构包裹形成自噬体, 然后与溶酶体融合, 被酸性脂肪酶降解以产生游离胆固醇和游离脂肪酸。有研究表明, TFEB 可促进 PGC-1 α , 激活过氧化物酶体增殖物激活型受体 α (peroxisome proliferation-activated receptor α , PPAR α) 并控制脂质降解, 表明 TFEB 通过自噬-溶酶体途径与脂质降解密切相关; 还有许多研究证实了这一过程可调节脂质代谢, 抑制动脉粥样硬化等疾病的进展^[54]。

4 小结与展望

综上所述, TFEB 可作为多种疾病的潜在治疗靶点, 具有广泛的研究前景。TFEB 调节作用的实现离不开翻译后修饰的影响, 目前已知的修饰类型主要包括磷酸化、乙酰化、泛素化、糖基化、SUMO 化和半胱氨酸氧化修饰。进一步阐明 TFEB 翻译后修饰在自噬中的调节机制, 未来可望为动脉粥样硬化等自噬异常所致疾病的防治提供新的思路和干预靶点, 具有一定的应用意义。

[参考文献]

- [1] CAO W Y, LI J H, YANG K P, et al. An overview of autophagy: mechanism, regulation and research progress [J]. Bull Cancer, 2021, 108(3): 304-322.
- [2] 王斌驿, 李菲菲, 吴东方, 等. 巨噬细胞自噬在动脉粥样硬化中作用的研究进展 [J]. 中国动脉硬化杂志, 2019, 27(5): 439-444.
WANG B Y, LI F F, WU D F, et al. Research progress of macrophage autophagy in atherosclerosis [J]. Chin J Arterioscler, 2019, 27(5): 439-444.
- [3] LI M, WANG Z, WANG P, et al. TFEB: a emerging regulator in lipid homeostasis for atherosclerosis [J]. Front Physiol, 2021, 12: 639920.
- [4] SONG J X, MALAMPATI S, ZENG Y, et al. A small molecule transcription factor EB activator ameliorates beta-amyloid precursor protein and Tau pathology in Alzheimer's disease models [J]. Aging Cell, 2020, 19(2): e13069.
- [5] BECKMANN H, SU L K, KADESCH T. TFE3: a helix-loop-helix protein that activates transcription through the immunoglobulin enhancer muE3 motif [J]. Genes Dev, 1990, 4(2): 167-179.
- [6] JEONG E, MARTINA J A, CONTRERAS P S, et al. The FACT complex facilitates expression of lysosomal and antioxidant genes through binding to TFEB and TFE3 [J]. Autophagy, 2022, 18(10): 2333-2349.
- [7] CHUA J P, DE CALBIAC H, KABASHI E, et al. Autophagy and ALS: mechanistic insights and therapeutic implications [J]. Autophagy, 2022, 18(2): 254-282.
- [8] CHEN Z Z, OUYANG C X, ZHANG H Z, et al. Vascular smooth muscle cell-derived hydrogen sulfide promotes atherosclerotic plaque stability via TFEB (transcription factor EB)-mediated autophagy [J]. Autophagy, 2022, 18(10): 2270-2287.
- [9] KAO C H, SU T Y, HUANG W S, et al. TFEB-and TFE3-dependent autophagy activation supports cancer proliferation in the absence of centrosomes [J]. Autophagy, 2022, 18(12): 2830-2850.
- [10] 侯天云, 陆小鹏, 朱卫国. 蛋白质翻译后修饰在蛋白质-蛋白质相互作用中的调控作用 [J]. 科学通报, 2017, 62(8): 759-769.
HOU T Y, LU X P, ZHU W G. Importance of protein post-translational modifications in finding partners [J]. Chin Sci Bull, 2017, 62(8): 759-769.
- [11] TAKLA M, KESHRI S, RUBINSZTEIN DC. The post-translational regulation of transcription factor EB (TFEB) in health and disease [J]. EMBO Rep, 2023, 24(11): e57574.
- [12] VEGA-RUBIN-DE-CELIS S, PEÑA-LLOPIS S, KONDA M, et al. Multistep regulation of TFEB by mTORC1 [J]. Autophagy, 2017, 13(3): 464-472.
- [13] HSU C L, LEE E X, GORDON K L, et al. MAP4K3 mediates amino acid-dependent regulation of autophagy via phosphorylation of TFEB [J]. Nat Commun, 2018, 9(1): 942.
- [14] WANG S G, NI H M, CHAO X J, et al. Impaired TFEB-mediated lysosomal biogenesis promotes the development of pancreatitis in mice and is associated with human pancreatitis [J]. Autophagy, 2019, 15(11): 1954-1969.
- [15] CHOI H J, CHA S J, LEE J W, et al. Recent advances on the role of GSK3 β in the pathogenesis of amyotrophic lateral sclerosis [J]. Brain Sci, 2020, 10(10): 675.
- [16] NAPOLITANO G, BALLABIO A. TFEB at a glance [J]. J Cell Sci, 2016, 129(13): 2475-2481.
- [17] PALMIERI M, PAL R, NELVAGAL H R, et al. mTORC1-independent TFEB activation via Akt inhibition promotes cellular clearance in neurodegenerative storage diseases [J]. Nat Commun, 2017, 8: 14338.
- [18] YIN Q Y, JIAN Y L, XU M, et al. CDK4/6 regulate lysosome biogenesis through TFEB/TFE3 [J]. J Cell Biol, 2020, 219(8): e201911036.
- [19] PAQUETTE M, EL-HOUJEIRI L, C ZIRDEN L, et al. AMPK-dependent phosphorylation is required for transcriptional activation of TFEB and TFE3 [J]. Autophagy, 2021, 17(12): 3957-3975.
- [20] MARTINA J A, PUERTOLLANO R. Protein phosphatase 2A stim-

- ulates activation of TFEB and TFE3 transcription factors in response to oxidative stress[J]. *J Biol Chem*, 2018, 293(32): 12525-12534.
- [21] SU H B, WANG X J. Proteasome malfunction activates the PPP3/calcineurin-TFEB-SQSTM1/p62 pathway to induce macroautophagy in the heart[J]. *Autophagy*, 2020, 16(11): 2114-2116.
- [22] MEDINA D L, DI PAOLA S M E, PELUSO I, et al. Lysosomal calcium signalling regulates autophagy through calcineurin and TFEB[J]. *Nat Cell Biol*, 2015, 17(3): 288-299.
- [23] WANG Y S, HUANG Y W, LIU J Q, et al. Acetyltransferase GCN5 regulates autophagy and lysosome biogenesis by targeting TFEB[J]. *EMBO Rep*, 2020, 21(1): e48335.
- [24] ZHENG Y H, KOU J Y, WANG P Y, et al. Berberine-induced TFEB deacetylation by SIRT1 promotes autophagy in peritoneal macrophages[J]. *Aging (Albany NY)*, 2021, 13(5): 7096-7119.
- [25] SHA Y B, RAO L, SETTEMBRE C, et al. STUB1 regulates TFEB-induced autophagy-lysosome pathway[J]. *EMBO J*, 2017, 36(17): 2544-2552.
- [26] BECK W H J, KIM D, DAS J, et al. Glucosylation by the legionella effector SetA promotes the nuclear localization of the transcription factor TFEB[J]. *iScience*, 2020, 23(7): 101300.
- [27] MILLER A J, LEVY C, DAVIS I J, et al. Sumoylation of MITF and its related family members TFE3 and TFEB[J]. *J Biol Chem*, 2005, 280(1): 146-155.
- [28] MARTINA J A, GUERRERO-GÓMEZ D, GÓMEZ-ORTE E, et al. A conserved cysteine-based redox mechanism sustains TFEB/HLH-30 activity under persistent stress[J]. *EMBO J*, 2021, 40(3): e105793.
- [29] ZHOU J, LI X Y, LIU Y J, et al. Full-coverage regulations of autophagy by ROS: from induction to maturation[J]. *Autophagy*, 2022, 18(6): 1240-1255.
- [30] SABIO G, DAVIS R J. TNF and MAP kinase signalling pathways[J]. *Semin Immunol*, 2014, 26(3): 237-245.
- [31] HOFFMEISTER L, DIEKMANN M, BRAND K, et al. GSK3: a kinase balancing promotion and resolution of inflammation[J]. *Cells*, 2020, 9(4): 820.
- [32] WANG C Y, WANG H F, ZHANG D Y, et al. Phosphorylation of ULK1 affects autophagosome fusion and links chaperone-mediated autophagy to macroautophagy[J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 3492.
- [33] CHAKLADER M, ROTHERMEL B A. Calcineurin in the heart: new horizons for an old friend[J]. *Cell Signal*, 2021, 87: 110134.
- [34] SETTEMBRE C, DI MALTA C, POLITO V A, et al. TFEB links autophagy to lysosomal biogenesis[J]. *Science*, 2011, 332(6036): 1429-1433.
- [35] BATTAGLIONI S, BENJAMIN D, WÄLCHLI M, et al. mTOR substrate phosphorylation in growth control[J]. *Cell*, 2022, 185(11): 1814-1836.
- [36] NNAH I C, WANG B, SAQCENA C, et al. TFEB-driven endocytosis coordinates MTORC1 signaling and autophagy[J]. *Autophagy*, 2019, 15(1): 151-164.
- [37] SU Q, ZHENG B, WANG C Y, et al. Oxidative stress induces neuronal apoptosis through suppressing transcription factor EB phosphorylation at Ser467[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 46(4): 1536-1554.
- [38] INOKI K, OUYANG H J, ZHU T Q, et al. TSC2 integrates Wnt and energy signals via a coordinated phosphorylation by AMPK and GSK3 to regulate cell growth[J]. *Cell*, 2006, 126(5): 955-968.
- [39] ONO Y, KUROKAWA T, FUJII T, et al. Two types of complementary DNAs of rat brain protein kinase C[J]. *FEBS Lett*, 1986, 206(2): 347-352.
- [40] NEWTON A C. Protein kinase C: perfectly balanced[J]. *Crit Rev Biochem Mol Biol*, 2018, 53(2): 208-230.
- [41] OUYANG X S, BAKSHI S, BENAVIDES G A, et al. Cardiomyocyte ZKSCAN3 regulates remodeling following pressure-overload[J]. *Physiol Rep*, 2023, 11(9): e15686.
- [42] SAFTIG P, HAAS A. Turn up the lysosome[J]. *Nat Cell Biol*, 2016, 18(10): 1025-1027.
- [43] LI Y, XU M, DING X, et al. Protein kinase C controls lysosome biogenesis independently of mTORC1[J]. *Nat Cell Biol*, 2016, 18(10): 1065-1077.
- [44] INGBRITSEN TS, COHEN P. The protein phosphatases involved in cellular regulation. I. Classification and substrate specificities[J]. *Eur J Biochem*, 1983, 132(2): 255-261.
- [45] FANG S H, WAN X, ZOU X Y, et al. Arsenic trioxide induces macrophage autophagy and atheroprotection by regulating ROS-dependent TFEB nuclear translocation and Akt/mTOR pathway[J]. *Cell Death Dis*, 2021, 12(1): 88.
- [46] LI Y J, CHEN Y Y. AMPK and autophagy[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2019, 1206: 85-108.
- [47] LI T Y, YIN L M, KANG X Y, et al. TFEB acetylation promotes lysosome biogenesis and ameliorates Alzheimer's disease-relevant phenotypes in mice[J]. *J Biol Chem*, 2022, 298(12): 102649.
- [48] BRIJMOHAN A S, BATCHU S N, MAJUMDER S, et al. HDAC6 inhibition promotes transcription factor EB activation and is protective in experimental kidney disease[J]. *Front Pharmacol*, 2018, 9: 34.
- [49] ZHANG J B, WANG J G, ZHOU Z H, et al. Importance of TFEB acetylation in control of its transcriptional activity and lysosomal function in response to histone deacetylase inhibitors[J]. *Autophagy*, 2018, 14(6): 1043-1059.
- [50] FERREIRA J V, ROSA SOARES A, RAMALHO J S, et al. Exosomes and STUB1/CHIP cooperate to maintain intracellular proteostasis[J]. *PLoS One*, 2019, 14(10): e0223790.
- [51] PÁHI Z G, BORSOS B N, PANTAZI V, et al. PARylation during transcription: insights into the fine-tuning mechanism and regulation[J]. *Cancers (Basel)*, 2020, 12(1): 183.
- [52] KIM S, SONG G, LEE T, et al. PARsylated transcription factor EB (TFEB) regulates the expression of a subset of Wnt target genes by forming a complex with β -catenin-TCF/LEF1[J]. *Cell Death Differ*, 2021, 28(9): 2555-2570.
- [53] LI X S, ZHANG X, ZHENG L B, et al. Hypericin-mediated sonodynamic therapy induces autophagy and decreases lipids in THP-1 macrophage by promoting ROS-dependent nuclear translocation of TFEB[J]. *Cell Death Dis*, 2016, 7(12): e2527.
- [54] EVANS T D, ZHANG X Y, JEONG S J, et al. TFEB drives PGC-1 α expression in adipocytes to protect against diet-induced metabolic dysfunction[J]. *Sci Signal*, 2019, 12(606): eaau2281.

(此文编辑 许雪梅)