

·专家述评·

## Martin Kampmann团队揭示OMA1-DELE1-HRI介导的线粒体应激信号传递通路

郭 兴

(南京医科大学神经生物学系,江苏南京 211166)



作者简介:郭兴,南京医科大学特聘教授、博士生导师,获国家优秀青年科学基金、国家重点研发计划等项目资助。入选江苏省特聘教授,江苏省双创团队等人才项目。研究方向聚焦于解析神经退行性疾病的调控机制及小分子多肽药物的开发,相关工作发表在 *J Clin Invest*、*Nat Commun* 等期刊。目前为中国生理学会青年委员会委员,中国生理学会干细胞生理专业委员会委员。E-mail: guox@njmu.edu.cn。

**摘 要:**在最近一项来自加州大学旧金山分校的 Martin Kampmann 团队的研究中,作者发现了介导线粒体损伤信号传递到细胞质以激活整合性应激反应(integrated stress response, ISR)的信号通路。该通路主要依赖于一个未被充分研究的线粒体内膜蛋白 DELE1,其在线粒体损伤的情况下被线粒体蛋白酶 OMA1 切割成短肽形式,进而易位至细胞质与 eIF2 $\alpha$  激酶 HRI 相互作用以激活 ISR。这项研究为治疗线

粒体功能异常关联疾病提供了新的策略。

**关键词:**线粒体应激;整合性应激反应;膜蛋白 DELE1

中图分类号:R363

文献标志码:A

文章编号:1672-3554(2021)06-0955-03

DOI: 10.13471/j.cnki.j.sun.yat-sen.univ(med.sci).2021.0620

[J SUN Yat-sen Univ (Med Sci), 2021, 42(6): 955-957]

线粒体作为真核细胞的必需细胞器,其包含约 1 000~1 500 种蛋白质,它不仅以高效地合成 ATP 以供细胞的能量需求,也参与调控众多的细胞信号通路<sup>[1-4]</sup>。线粒体蛋白主要来源于线粒体基因组和核基因组,其中,核基因组编码的蛋白占了绝大部分<sup>[5-6]</sup>。核基因组编码的线粒体蛋白在翻译后需要被输入,加工,折叠以及组装,任一步骤的失调都将导致线粒体蛋白质稳态的失衡,进而引起涉及衰老或众多人类疾病的线粒体功能障碍<sup>[7-8]</sup>。为了应对这些失调,真核细胞演化出了独特的线粒体质量控制机制,包括线粒体未折叠蛋白反应(mitochondrial unfolded protein response, mtUPR)、线粒体受损的蛋白质输入反应(mitochondrial compromised

protein import response, MitoCPR)和整合性应激反应(integrated stress response, ISR)等<sup>[9-12]</sup>。mtUPR 主要响应于线粒体基质中的错位折叠或异常堆积的蛋白质,但也可以被线粒体 DNA(mtDNA)突变,活性氧等诱导;MitoCPR 是由核基因编码的线粒体蛋白的前体在线粒体转位酶(TOM 以及 TIM 复合物)中堆积所激活;而 ISR 则是被报道能响应于多种线粒体应激。然而,细胞是如何感受到线粒体功能障碍以及线粒体是如何释放出危机信号的,这些仍未被充分阐述。

先前的研究表明在线虫以及哺乳动物中,mtUPR 的关键分子分别是 ATFS-1 和 ATF5<sup>[13-14]</sup>。这两个分子都包含线粒体靶向序列,可以在生理情况下

收稿日期:2021-07-27

基金项目:国家自然科学基金(81971189)

被输入线粒体而降解,但在线粒体基质内蛋白质错误折叠或异常堆积导致蛋白输入障碍时会滞留在胞质内,并因其氨基酸序列中的核定位序列而进入细胞核内促进 mtUPR 相关基因的转录。亦有研究报告,线粒体蛋白,如 SSBP1<sup>[15]</sup>, MNRR1 (CHCHD2)<sup>[16]</sup>可以分别在线粒体蛋白质紊乱和线粒体输入应激的情况下定位于细胞核而参与基因转录的调控以诱导线粒体未折叠蛋白反应、自噬、线粒体生物发生等反应。此外, mTORC1 也被确认是 mtDNA 异常的响应器,其可通过上调 ATF5 的表达,主要是 ATF4 和 ATF5,激活阶段性的线粒体 ISR 以遏制线粒体紊乱<sup>[10, 17]</sup>。虽然这些研究揭示了特定的线粒体应激所引起的细胞保护性反应以及其所涉及的独特分子机制,但细胞是如何响应于更普遍的线粒体损伤以及如何调控基因表达仍是未知的。

为了明确与线粒体损伤相关的基因,作者首先对 HEK293T 细胞进行线粒体毒性药物(强力霉素和寡霉素)处理并进行 RNA 测序,结果显示被显著上调的基因中有一部分为 ISR 的主要协调者 ATF4 的靶点<sup>[18-19]</sup>。ATF4 作为 ISR 的主要协调者,其在生理情况下处于低表达的状态并参与正常代谢过程<sup>[20]</sup>。但当细胞处于不同的应激状态时,ATF4 可因其上游分子 eIF2 $\alpha$  被激酶(GCN2, PERK, PKR, HRI)磷酸化后被优先翻译而作为 ISR 相关的转录因子以促进应激抵抗相关基因的表达<sup>[21-22]</sup>。为了确认线粒体在损伤后是如何将信号传给 ATF4 而上调 ATF4 靶向的基因,作者构建了基于 ATF4 翻译水平的荧光蛋白报告系统的细胞系。通过这一细胞模型以及配合基因敲除技术,作者发现 ATF4 的表达响应于多种原因导致的线粒体功能障碍,并且证明 ISR 中的 eIF2 $\alpha$  激酶 HRI 是介导 ATF4 响应于线粒体损伤的关键蛋白,该激酶的缺失将显著抑制线粒体损伤后 ATF4 的翻译增强。HRI 是一种定位于细胞质内的代谢应激感应蛋白激酶,其被报道可以响应于血红素缺乏、氧化应激、渗透压休克、线粒体功能障碍和热休克而激活 ISR<sup>[23]</sup>。

但细胞是如何将线粒体损伤的信号传递给 HRI 而激活 ISR 仍是未知的。为了解决这个问题,作者利用了全基因组 CRISPR 干扰(CRISPRi)结合

流式细胞分选仪和荧光报告系统进行全基因组筛查。除了发现先前验证的激酶 HRI 外,作者还发现了一个先前被很少研究的基因 *DELE1*,其敲减将显著抑制线粒体受损情况下 ATF4 的翻译增强。通过生物化学方法,超高分辨率显微技术,构建片段缺失截短体和质谱分析等技术分析,作者确认 DELE1 是一种定位于线粒体内膜的蛋白,其在线粒体受损的情况下会在 N 端约 142 个氨基酸的位置被切割而产生可以定位于细胞质的短肽形式的 DELE1,且其 TPR 重复结构域中前三个 TPR 重复对于 ATF4 的激活是至关重要的。鉴于 DELE1 发生了切割反应,作者又筛查了他们测序结果中 28 个线粒体蛋白酶对于线粒体损伤后 DELE1 切割及 ISR 激活的作用,发现只有 OMA1 的敲减会显著抑制 DELE1 的切割而逆转线粒体损伤应激后的 ATF4 激活。最后,作者通过免疫共沉淀技术和体外激酶活性分析证明了定位在细胞质内的短肽形式的 DELE1 可以选择性结合 HRI,并促进其对底物 eIF2 $\alpha$  的磷酸化修饰而介导 ISR,揭示了 DELE1 在 OMA1 依赖下切割形成的短肽形式可以在胞质内结合并激活 HRI 以激活下游转录因子 ATF4(图 1)。

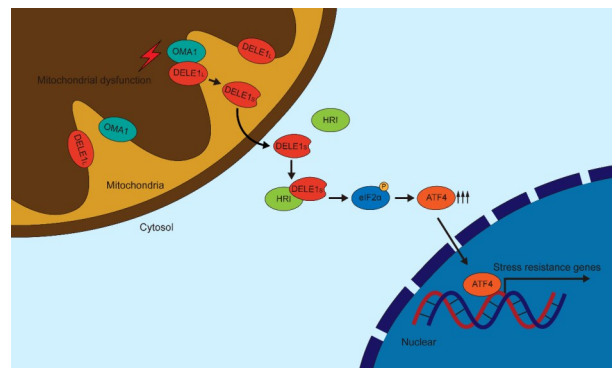


图1 OMA1-DELE1-HRI 信号通路

Fig. 1 OMA1-DELE1-HRI signaling pathway

总的来说, Martin Kampmann 团队的研究通过强有力的证据确认 OMA1-DELE1-HRI 这一信号通路的存在,以及其在响应于线粒体损伤后 ISR 激活中的关键作用。这项研究充实了人们对于线粒体和细胞核之间的交流的了解,并为治疗线粒体功能异常关联疾病提供了新的治疗策略。

## 参考文献

- [1] Guo X, Aviles G, Liu Y, et al. Mitochondrial stress is relayed to the cytosol by an OMA1-DELE1-HRI pathway[J]. *Nature*, 2020, 579(7799): 427-432.
- [2] Gan Z, Fu T, Kelly DP, et al. Skeletal muscle mitochondrial remodeling in exercise and diseases[J]. *Cell Res*, 2018, 28(10): 969-980.
- [3] Bertero E, Maack C. Calcium signaling and reactive oxygen species in mitochondria[J]. *Circ Res*, 2018, 122(10): 1460-1478.
- [4] Zhou B, Zhang JY, Liu XS, et al. Tom20 senses iron-activated ROS signaling to promote melanoma cell pyroptosis[J]. *Cell Res*, 2018, 28(12): 1171-1185.
- [5] Song J, Herrmann JM, Becker T. Quality control of the mitochondrial proteome [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2021, 22(1): 54-70.
- [6] Wallace DC. Mitochondrial genetic medicine [J]. *Nat Genet*, 2018, 50(12): 1642-1649.
- [7] Murphy MP, Hartley RC. Mitochondria as a therapeutic target for common pathologies[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2018, 17(12): 865-886.
- [8] Nunnari J, Suomalainen A. Mitochondria: in sickness and in health[J]. *Cell*, 2012, 148(6): 1145-1159.
- [9] Sharon D, Cathelin S, Mirali S, et al. Inhibition of mitochondrial translation overcomes venetoclax resistance in AML through activation of the integrated stress response [J]. *Sci Transl Med*, 2019, 11(516): eaax2863.
- [10] Khan NA, Nikkanen J, Yatsuga S, et al. mTORC1 regulates mitochondrial integrated stress response and mitochondrial myopathy progression [J]. *Cell Metab*, 2017, 26(2): 419-428. e5.
- [11] Munch C, Harper JW. Mitochondrial unfolded protein response controls matrix pre-RNA processing and translation[J]. *Nature*, 2016, 534(7609): 710-713.
- [12] Weidberg H, Amon A. MitoCPR-A surveillance pathway that protects mitochondria in response to protein import stress [J]. *Science*, 2018, 360(6385): eaan4146
- [13] Melber A, Haynes CM. UPR (mt) regulation and output: a stress response mediated by mitochondrial-nuclear communication [J]. *Cell Res*, 2018, 28(3): 281-295.
- [14] Fiorese CJ, Schulz AM, Lin YF, et al. The transcription factor ATF5 mediates a mammalian mitochondrial UPR [J]. *Curr Biol*, 2016, 26(15): 2037-2043.
- [15] Tan K, Fujimoto M, Takii R, et al. Mitochondrial SSBP1 protects cells from proteotoxic stresses by potentiating stress-induced HSF1 transcriptional activity [J]. *Nat Commun*, 2015, 6: 6580.
- [16] Aras S, Purandare N, Gladysck S, et al. Mitochondrial nuclear retrograde regulator 1 (MNRR1) rescues the cellular phenotype of MELAS by inducing homeostatic mechanisms [J]. *Proc Natl Acad Sci*, 2020, 117(50): 32056-32065.
- [17] Forsstrom S, Jackson CB, Carroll CJ, et al. Fibroblast growth factor 21 drives dynamics of local and systemic stress responses in mitochondrial myopathy with mtDNA deletions [J]. *Cell Metab*, 2019, 30(6): 1040-1054. e7.
- [18] Zhou J, Wan J, Shu XE, et al. N(6)-Methyladenosine Guides mRNA alternative translation during integrated stress response[J]. *Mol Cell*, 2018, 69(4): 636-647. e7.
- [19] Magne L, Blanc E, Legrand B, et al. ATF4 and the integrated stress response are induced by ethanol and cytochrome P450 2E1 in human hepatocytes [J]. *J Hepatol*, 2011, 54(4): 729-737.
- [20] Powers EN, Brar GA. m6A and eIF2 $\alpha$ -<sup>Ⓢ</sup> team up to tackle atf4 translation during stress [J]. *Mol Cell*, 2018, 69(4): 537-538.
- [21] Starck SR, Tsai JC, Chen K, et al. Translation from the 5' untranslated region shapes the integrated stress response[J]. *Science*, 2016, 351(6272): aad3867.
- [22] Pakos-Zebrucka K, Koryga I, Mnich K, et al. The integrated stress response [J]. *EMBO Rep*, 2016, 17(10): 1374-1395.
- [23] Chen JJ, Zhang S. Heme-regulated eIF2 $\alpha$  kinase in erythropoiesis and hemoglobinopathies [J]. *Blood*, 2019, 134(20): 1697-1707.