

• 综述 •

PPAR γ 的翻译后修饰

陈勇军, 刘智勇, 沈萍萍*

(南京大学生命科学学院 医药生物技术国家重点实验室 南京 210093)

摘要 过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (peroxisome proliferator-activated receptor gamma, PPAR γ) 是一种配体依赖性核转录因子,它具有调控细胞分化、脂肪代谢、糖代谢及炎症等多种生物学功能。机体对 PPAR γ 转录活性的调控方式是多种多样的,包括蛋白表达水平、配体以及转录辅助因子等不同层次上的调控。近年来众多证据揭示,蛋白翻译后修饰 (posttranslational modifications, PTMs) 是机体调节 PPAR γ 转录活性的另一重要方式。目前,已报道的 PPAR γ 翻译后修饰包括磷酸化、泛素化、SUMO 化和亚硝基化等,它们能够改变蛋白构象、调控蛋白相互作用、改变受体与配体间的亲和力,从而调控 PPAR γ 下游基因的转录。重要的是,PPAR γ 的翻译后修饰与一些疾病如糖尿病、动脉粥样硬化、肿瘤等密切相关。本文将主要围绕 PPAR γ 的各种翻译后修饰及其在疾病的发生、发展和治疗中的意义作一综述。

关键词 过氧化物酶体增殖物激活受体 γ ; 转录活性; 翻译后修饰; 疾病

中图分类号 Q51; Q71

Posttranslational Modifications of Peroxisome Proliferator-activated Receptor γ

CHEN Yong-Jun, LIU Zhi-Yong, SHEN Ping-Ping*

(State Key Laboratory of Pharmaceutical Biotechnology, School of Life Sciences, Nanjing University, Nanjing 210093, China)

Abstract Peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR γ) is a member of the nuclear receptor superfamily of ligand-dependent transcription factors. PPAR γ regulates various biological processes such as cell differentiation, lipid metabolism, glucose metabolism and inflammation. It is acknowledged that the transcriptional activity of PPAR γ may be fine-tuned by several mechanisms *in vivo*. For example, the expression level of PPAR γ , the availability of its ligand and the association between PPAR γ and corepressor/coactivator have been demonstrated to be able to regulate PPAR γ activation. In addition, mounting evidence has defined posttranslational modifications (PTMs) as a novel essential factor tightly modulating PPAR γ activation recently. Several PTMs of PPAR γ including phosphorylation, ubiquitination, sumoylation and S-nitrosylation, might regulate its target genes by tuning protein conformation, protein-protein interactions and the affinity between the receptor and ligand. Importantly, there are some potential links between PTMs of PPAR γ and the pathogenesis of several diseases such as diabetes, atherosclerosis and tumor. This review summarized the main characteristics of several PTMs of PPAR γ , and highlighted the significance of PTMs in the occurrence, development and treatment of diseases.

Key words peroxisome proliferator-activated receptor γ ; transcriptional activity; posttranslational modifications; diseases

收稿日期: 2012-02-09; 接受日期: 2012-04-17

国家自然科学基金(No. 91013015, No. 81121062)和江苏省自然科学基金(BK2010049)资助项目

* 联系人 Tel: 025-83686635; E-mail: ppshen@nju.edu.cn

Received: February 9, 2012; Accepted: April 17, 2012

Supported by National Natural Science Foundation of China (No. 91013015, No. 81121062) and Natural Science Foundation of Jiangsu Province (BK2010049)

* Corresponding author Tel: 025-83686635; E-mail: ppshen@nju.edu.cn

过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (peroxisome proliferator-activated receptor gamma, PPAR γ) 是 PPARs 亚家族中的一员. PPAR γ 能识别内源或外源的特异性配体,发生激活并转录一系列靶基因,从而参与众多生理功能的调控. PPAR γ 对于脂肪细胞的分化起着决定性的作用,如果 PPAR γ 缺失则会导致脂肪组织发育不良;同时 PPAR γ 还能调控许多与脂肪代谢相关基因的表达,对于脂肪细胞的功能至关重要^[1]. 另外,PPAR γ 在葡萄糖的动态平衡及胰岛素敏感性的调控中也发挥重要作用^[2]. 此外,PPAR γ 还能调节成骨细胞和破骨细胞的分化^[3],调控免疫细胞的表型和功能^[1,4]. 随着研究的不断深入,PPAR γ 的功能正逐渐被揭示;而 PPAR γ 的功能调控紊乱则与多种疾病密切相关(如糖尿病、动脉粥样硬化、肿瘤等)^[1]. 研究显示,PPAR γ 的翻译后修饰(posttranslational modifications, PTMs),如磷酸化、泛素化和 SUMO 化等,可以直接影响其空间构

象并调控蛋白相互作用,因此,PTMs 对于 PPAR γ 的转录活性及功能有着重要的调节作用^[5],并能作为疾病治疗中的有效靶点.

1 PPAR γ 的结构及转录活性调节

PPAR γ 是核受体超家族中的一员,其亚家族包括 PPAR α 、PPAR β/δ 和 PPAR γ 三个成员. 它们在结构上具有很大的同源性,主要包含以下几个结构域: N 端的 A/B 结构域, DNA 结合结构域 (DBD) 和配体结合结构域 (LBD), 以及 C 端的配体依赖性激活结构域 (AF2), 配体非依赖性激活结构域 (AF1) 则位于 N 端 (Fig. 1A). 在体内, mRNA 的可变剪切产生了 2 种亚型即 PPAR γ 1 和 PPAR γ 2, 其中 PPAR γ 2 比 PPAR γ 1 在 N 端多 30 个氨基酸(人源细胞中两者相差 28 个氨基酸). 两者都能够促进脂肪细胞分化,而 PPAR γ 2 能力更强.

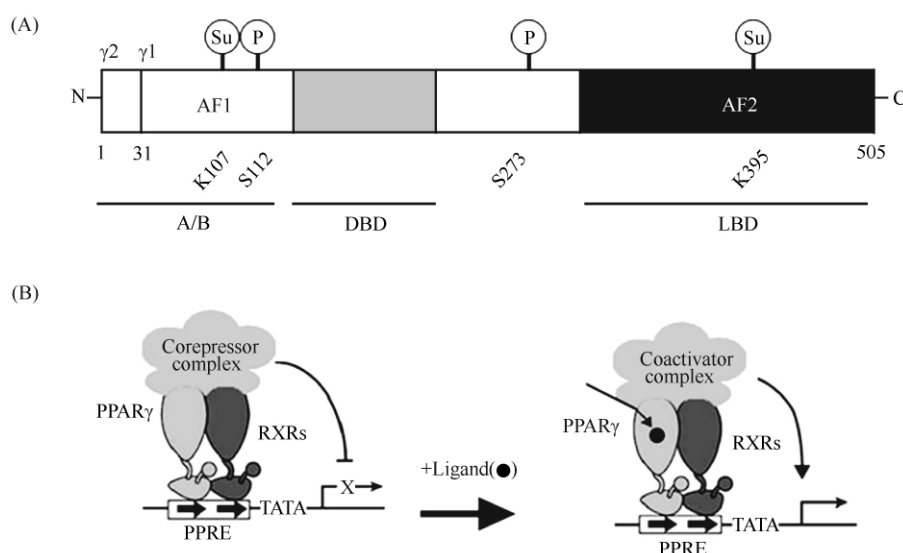


Fig. 1 The domain structure and ligand-dependent transactivation of PPAR γ ^[1] (A) The A/B, DNA-binding (DBD), and ligand-binding (LBD) domains of PPAR γ are indicated. P, phosphorylation site; Su, sumoylation site; numbers correspond to amino acid positions. (B) A corepressor/coactivator exchange complex required for transcriptional activation by PPAR γ . PPAR γ binds to peroxisome proliferator response elements (PPRE) as a heterodimer with the retinoid X receptor (RXR). In the absence of ligand, PPAR γ /RXR inhibits transcription through the recruitment of corepressor complex. Upon ligand is available, this corepressor complex dissociates and is replaced by a coactivator complex that then activates transcription at the promoter

PPAR γ 通常与视黄酸 X 受体 (retinoid X receptor, RXR) 结合为异二聚体. 在没有结合配体时, PPAR γ /RXR 主要与一些辅助抑制因子结合, 它们可招募组蛋白去乙酰化酶 (histone deacetylases, HDACs), 从而抑制靶基因的转录. 当配体与 LBD

结合之后, 便会诱导 PPAR γ 构象发生改变, 早期结合的辅助抑制因子会被一些辅助激活因子替代, 从而促进基因的转录 (Fig. 1B). 此外, PPAR γ 还能发生配体非依赖性的激活, 即使在缺失 LBD 结构域的情形下, A/B 结构域中的 AF1 也能够启动特定基因

的转录。然而奇怪的是,当把 N 端 A/B 结构域删除,PPAR γ 的转录活性及其促脂肪细胞分化的能力都得到增强。后来证实,这是因为 A/B 区具有 1 个抑制性的磷酸化位点(S112)。

2 PPAR γ 的磷酸化

与其他核受体相似,PPAR γ 可以发生磷酸化修饰,PPAR γ 与激酶信号通路之间存在交联。在不同的细胞中、不同的刺激下,PPAR γ 发生磷酸化位点也各不相同,产生的生物学效应也多种多样。

2.1 A/B 结构域的磷酸化

S112 的磷酸化修饰(phosphorylation)是 PPAR γ 第 1 个被鉴定的翻译后修饰方式(Ser¹¹²-PPAR γ 2, Ser⁸²-PPAR γ 1),该位点位于 A/B 结构域。Hu 等^[6]发现,在 NIH 3T3 细胞中有丝分裂原(mitogen)的刺激可以诱导 ERK2 活化并介导 PPAR γ S112 的磷酸化修饰,从而抑制 PPAR γ 的转录活性和脂肪细胞的分化。此外,PPAR γ 配体 troglitazone 和一些压力刺激(如 anisomycin)可以分别激活 ERK 和 JNK,并介导 PPAR γ S112 位的磷酸化^[7]。PPAR γ (S112)磷酸化抑制 PPAR γ 转录活性的机制在于:PPAR γ 的 A/B 结构域与 LBD 结构域之间存在着紧密联系,位于 A/B 结构域上的 S112 磷酸化会改变蛋白的构象,从而抑制 LBD 结合配体的能力。

值得注意的是,PPAR γ 的 S112 位磷酸化并不都是降低其活性的。研究发现,细胞周期素依赖性激酶 9(cyclin-dependent kinase 9,CDK9)介导的 S112 磷酸化可以提高 PPAR γ 转录活性,在 NIH 3T3 细胞中过表达 CDK9 能够增加 PPAR γ 的磷酸化程度,并促进脂肪细胞分化^[8]。与此类似的是,CDK7 介导的 S112 磷酸化也可增强 PPAR γ 的活性,S112E 突变能有效恢复因 CDK7 活性丧失导致的 PPAR γ 转录失活^[9]。而另一篇报道却指出,CDK7 介导的磷酸化抑制了 PPAR γ 促脂肪细胞分化的能力^[10]。这表明,磷酸化调控 PPAR γ 转录活性的模式十分复杂,特定的细胞中和特定的刺激下,参与的激酶类型不同(ERK 或 CDKs),招募的转录辅助因子也不一样,从而导致 PPAR γ 活性的上调或下降。

此外,细胞周期蛋白 D3(cyclin D3)可以与 PPAR γ 相互作用,招募并激活 CDK6,进而使 A/B 结构域磷酸化,从而促进脂肪细胞生成^[11]。PPAR γ A/B 结构域上的 S16 与 S21 位点可以被酪蛋白激酶 II(CK-II)磷酸化,从而促进其从细胞核向细胞质的转运^[12]。在肾小管细胞中胰岛素和 C-肽可以激活

PPAR γ ,此效应依赖于 PI3K 介导的 A/B 区磷酸化^[13]。综上所述,PPAR γ A/B 结构域的多个位点可以被多种激酶磷酸化,这也充分证明 A/B 结构域调控 PPAR γ 功能的普遍性和重要性。

2.2 S273 的磷酸化

除了 A/B 结构域以外,最新研究发现,PPAR γ 位于 DBD 和 LBD 之间铰链区的 S273 可以被 CDK5 磷酸化。肥胖小鼠脂肪组织会释放大量促炎因子,这些信号会诱导 p35 发生切割而生成 p25,p25 入核与 CDK5 结合并使之激活,活化的 CDK5 进而特异性磷酸化 PPAR γ 2 内 S273。该位点的磷酸化不会影响 PPAR γ 的生脂能力,但会选择性抑制部分靶基因的表达。抗糖尿病药物 rosiglitazone 和 MRL-24(PPAR γ 的完全或部分激动剂)可以抑制 S273 位磷酸化,而不影响 CDK5 对视网膜母细胞瘤蛋白(retinoblastoma protein,Rb)的磷酸化修饰^[14]。

PPAR γ 内 S273 的磷酸化是依赖 CDK5 的,但是对于该过程的调控机制还不清楚。研究发现,核受体辅阻遏子(nuclear receptor corepressor,NCoR)可以调控 CDK5 对于 PPAR γ 的磷酸化^[15]。脂肪细胞 NCoR 特异性敲除(NCoR^{-/-})的小鼠,其肥胖、糖耐受及胰岛素敏感性都较野生型有较大改善,而且脂肪组织中巨噬细胞的浸润及炎症都降低。进一步研究发现,NCoR 作为一种接头蛋白,可以增强 CDK5 与 PPAR γ 的相互作用并促进 S273 位磷酸化,NCoR^{-/-}小鼠中 CDK5 介导的 PPAR γ (S273)磷酸化程度下降,因此 PPAR γ 下游与糖代谢相关的部分靶基因发生上调。

值得注意的是,上述 CDK5、CDK6、CDK7 及 CDK9 都是细胞周期相关激酶,而 PPAR γ 对于细胞周期也有重要的调控作用,PPAR γ 配体能够上调 CDKs 的抑制蛋白 p21^{Cip1}、p27^{Kip1} 等的表达,从而使细胞周期停滞^[16]。由此可见,PPAR γ 和 CDKs 组成了复杂的调控模块,一方面,CDKs 可以通过对 PPAR γ 的磷酸化修饰而调控其活性;另一方面,PPAR γ 也可以通过其下游靶基因而间接调控 CDKs 的活性。

3 PPAR γ 的泛素化

蛋白质泛素化(ubiquitination)是指在靶蛋白的特定赖氨酸残基上共价连接 1 个由 76 个氨基酸残基组成并进化保守的多肽即泛素(ubiquitin)。泛素化过程需要 3 种蛋白酶依次参与:即泛素活化酶 E1、泛素结合酶 E2 和泛素连接酶 E3。泛素化修饰

既能调控靶蛋白进行蛋白酶体介导的降解过程,也可以作为“支架”招募其他蛋白而形成信号复合物。研究发现,配体可以调控 PPAR γ 的泛素化修饰。在 3T3-F442A 细胞中,PPAR γ 配体在诱导细胞分化的同时,还能促进 PPAR γ AF2 区域的泛素化修饰及蛋白酶体依赖性的蛋白降解,而 AF2 区域的点突变 (E499Q) 则会抑制该过程^[17]。由此推测,PPAR γ 结合配体后发生构象改变,一方面招募辅助激活因子而使其发生激活,另一方面,也可以招募泛素化相关酶的结合并诱导蛋白酶体依赖的降解,从而负反馈地调控 PPAR γ 的转录活性。但与此相反的是,PPAR α 和 PPAR β/δ 的泛素化修饰,分别受到各自特异性配体的负调控^[18,19],出现这种差异的具体原因目前仍不清楚。

在遗传性疾病囊性纤维化 (cystic fibrosis) 中,基因突变导致组织型转谷氨酰胺酶 (tissue transglutaminase, TG2) 上调, TG2 能够诱导上皮细胞 PPAR γ 发生交联并形成聚集体,从而诱导 PPAR γ 的多聚泛素化降解及转录活性下降^[20]。目前,泛素化修饰对于 PPAR γ 转录活性的调节还存在争议。有文献报道,泛素-蛋白酶体途径可介导 PPAR γ 的蛋白更新,此过程对其下游基因的有效转录是必须的,而泛素活化酶抑制剂 E1 inhibitor、蛋白酶体抑制剂 MG-132 则能引起 PPAR γ 转录活性的下降^[21,22]。值得注意的是,PPAR γ 在细胞内的降解方式并不是单一的,PPAR γ 还可以被胱天蛋白酶 (caspase) 切割而失活^[23,24]。用肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α , TNF α) 处理脂肪细胞可导致全长 PPAR γ 蛋白的表达量下调,这是因为细胞核内活化的 caspase-3、caspase-6 能够在 PPAR γ 的 N 端进行切割,生成分子量约 45kD 的片段,随后此片段出核并发生降解。

4 PPAR γ 的 SUMO 化

SUMO 化 (sumoylation) 是一种类泛素化的翻译后修饰方式, SUMO 化可引起蛋白表面特征改变并调控蛋白相互作用,从而影响靶蛋白的稳定性、定位及活性等多方面性质。SUMO 化位点通常具有以下特征序列: ψ KxE, 其中 ψ 代表疏水氨基酸, x 为任意氨基酸^[25]。PPAR γ 2 AF1 区的 K107 (即 PPAR γ 1 中 K77) 可以发生 SUMO 化修饰,泛素载体蛋白 9 (ubiquitin carrier protein 9, Ubc9) 和 PIAS1 (protein inhibitor of activated STAT1) 分别作为 PPAR γ 特异的 E2 结合酶和 E3 连接酶参与其中。PPAR γ K107

位点的 SUMO 化会抑制其转录活性,如果将 K107 突变 (K107R) 则能增强其转录活性,而且过表达突变型 PPAR γ 的 HepG2 细胞对于配体诱导的凋亡更加敏感^[26]。

PPAR γ 1 的 K365 位点附近也含有 SUMO 化特征序列,并能发生与 K77 位相似的 SUMO 化修饰,该位点的 SUMO 化修饰,对于 rosiglitazone 介导的诱导型一氧化氮合酶基因 (inducible NO synthase, iNOS) 的转录抑制是必须的^[27]。Rosiglitazone 与 PPAR γ 上 LBD 区结合,并引起 K365 的 ϵ -NH₂ 上 N 原子暴露,在 Ubc9 和 PIAS1 的催化下发生 SUMO 化修饰。SUMO 化的 PPAR γ 与 NCoR/HDAC3 形成复合物,从而阻止 19S 蛋白酶体的招募,导致这些辅助抑制因子无法从 iNOS 基因启动子上清除。在凋亡细胞诱导的抑炎效应中也有类似的机制,凋亡细胞能诱导 PPAR γ 内 K77 位点发生 SUMO 化修饰,并在 TNF α 启动子上形成抑制性的蛋白复合物,从而抑制 TNF α 的转录^[28]。

K77 与 K365 位 SUMO 化修饰的不同之处在于:前者能直接抑制 PPAR γ 自身的转录活性,而后者通过蛋白相互作用间接抑制 NF- κ B 的转录活性;前者不受配体直接调控,而后者是配体依赖性的。此外, K365 位点 SUMO 化还受一氧化碳 (CO) 调控,这提示 CO 介导的抑炎效应是 PPAR γ SUMO 化依赖的^[29]。除了上述 2 个位点之外, K63 也可发生 SUMO 化修饰^[30],该修饰方式不影响 PPAR γ 的转录活性,其具体功能仍有待研究。

5 PPAR γ 的亚硝基化与硝基化

一氧化氮 (NO) 是一种重要的气体信号分子,在细胞内可以由 NOS 催化产生。NO 诱导的信号转导可以通过激活其受体鸟苷酸环化酶 (guanylate cyclase, GC), 并启动 cGMP (cyclic GMP) / PKG (protein kinase G) 级联反应而实现;另一方面, NO 的功能很大程度上体现在对蛋白质的亚硝基化修饰 (S-nitrosylation) 上。亚硝基化修饰,即 NO 自由基与蛋白质半胱氨酸的巯基共价结合而形成 SNO 基团的反应。运用生物素开关技术和蛋白质组学技术,研究人员发现, NO 供体刺激的系膜细胞中, PPAR γ 可以发生亚硝基化修饰,并且在白介素 1 (interleukin-1 β , IL-1 β) 刺激的细胞中得到了证实^[31]。由于 PPAR γ 能够负调控炎症因子的释放,因此,亚硝基化可能会导致 PPAR γ 功能的抑制,从而放大炎症反应。

除了亚硝基化之外, NO 还能与机体内产生的超氧阴离子 ($O_2^{\bullet -}$) 形成过氧亚硝基阴离子 ($ONOO^-$), $ONOO^-$ 可以对蛋白的酪氨酸位点进行硝基化修饰 (nitration)。在 RAW 264.7 细胞中, 加入脂多糖 (lipopolysaccharides, LPS) 或 $TNF\alpha$ 处理能导致 PPAR γ 发生硝基化修饰, 进而抑制其配体依赖性的胞质到核的转位^[32]。这表明在炎症反应中, PPAR γ 的硝基化可能会导致其对配体依赖性激活的耐受。综上所述, NO 可以通过亚硝基化或硝基化修饰的方式调控 PPAR γ 的转录活性, 但相关分子机制及功能仍不清楚。

6 各种翻译后修饰之间的关系

蛋白质的翻译后修饰之间并不是孤立存在的, 而是存在相互影响、紧密联系的网式调控, 这为蛋白质功能的精细控制提供了有力保障。研究发现, PPAR γ 的各种翻译后修饰之间存在错综复杂的联系, 不同位点的不同修饰、同一位点的不同修饰之间均呈现出一定的关联。

6.1 PPAR γ 的磷酸化与泛素化

PPAR γ 的磷酸化可以促进泛素化。脂肪细胞中, $IFN\gamma$ 诱导的 PPAR γ 蛋白酶体降解与 S112 位点上的磷酸化相关, ERK1/2 的抑制剂可以减少 PPAR γ 的降解^[33]。而这样的调控模式也存在于其他蛋白中, 如 cyclin E、I κ B α 等, 可能的机制是磷酸化修饰形成的对接位点有利于 E3 连接酶的招募。也有研究表明, PPAR γ 1 内 S84 位磷酸化后能特异性地招募 Pin1, Pin1 的 WW 结构域结合在 PPAR γ 的 AF-1 区特定序列上, 并抑制具有 WW 结构域的 E3 连接酶的结合, 从而抑制 PPAR γ 的多聚泛素化^[22]。

6.2 PPAR γ 的磷酸化与 SUMO 化

一种称作“磷酸化-SUMO 化开关” (phospho-sumoyl switch) 的复合修饰基序存在于众多转录因子中, 如 MEK2、GATA1、STAT1 等, 它们具有一致的保守序列 Ψ KxE Ψ S, 该基序将磷酸化和 SUMO 化在时空上有机地整合起来^[34]。PPAR γ 中也具有这样的开关, Yamashita 等^[35]发现, PPAR γ S112 位磷酸化能促进其 K107 位 SUMO 化, 将 S112 点突变 (S112A) 的 PPAR γ 转入细胞时, 其 SUMO 化水平也随之降低。由于 PPAR γ S112 位磷酸化与 K107 位 SUMO 化都降低其转录活性, 推测两者之间有协同发挥功能的作用。这种协同作用的分子机制尚未阐明, 可能的解释是磷酸化修饰引起的构象改变有利

于 PIAS1 的招募, 并引起 K107 位 SUMO 化, 进而招募特异性的辅助抑制因子。值得注意的是, 泛素化和 SUMO 化都发生在赖氨酸残基上, 因此, 它们可能会因位点竞争而相互抑制。

7 PPAR γ 的翻译后修饰与疾病

PPAR γ 与多种疾病密切相关, 包括糖尿病、动脉粥样硬化、肿瘤等, 而 PPAR γ 的翻译后修饰则在这些疾病中扮演了十分重要的角色 (Table 1)。

Table 1 The relationship between posttranslational modifications of PPAR γ and diseases

Type of PTMs	Site of PTMs	Relation to diseases
Phosphorylation	S112	Diabetes, tumor
	S273	Diabetes
	S16, S21	
Ubiquitination		Tumor
Sumoylation	K107	Inflammation
	K395	Inflammation
	K63	Atherosclerosis
S-nitrosylation		Inflammation

7.1 PPAR γ 的磷酸化与糖尿病

PPAR γ 是重要的糖尿病相关基因之一, 迄今为止, 在糖尿病及相关代谢疾病中已发现了 PPAR γ 的多种突变^[36]。PPAR γ 的磷酸化可以通过调控其转录活性而调节机体的胰岛素耐受。PPAR γ S112A 转基因小鼠在高脂喂食下能够维持较高的胰岛素敏感性, 体重却不会显著增加, 这与非磷酸化形式的 PPAR γ 能有效上调脂连蛋白的表达相关^[37]。在体内, Dok1 (downstream of tyrosine kinases-1) 可以负调控 Ras/MEK/ERK 级联反应, 从而间接调控 PPAR γ 磷酸化^[38]。在正常小鼠脂肪组织中, Dok1 的低表达能维持 PPAR γ 本底的磷酸化, 以控制脂肪细胞的分化; 然而, 高脂喂食诱导 Dok1 的高表达打破了 PPAR γ 磷酸化修饰的平衡, 导致脂肪细胞肥大及血胰岛素过多症。最新研究表明, S273 位磷酸化与胰岛素耐受也密切相关^[14, 15, 39]。PPAR γ 配体 rosiglitazone、MRL24 和 SR1664 均可抑制 CDK5 介导的 S273 位磷酸化, 同时改善胰岛素耐受, 而 S112 位磷酸化不受配体影响。临床数据也显示, 糖尿病患者 PPAR γ (S273) 的磷酸化状态与胰岛素敏感性呈显著负相关。这些结果不仅让人们人们对 PPAR γ 配体的作用机制有了新的认识, 同时也提示, CDK5 介导的 PPAR γ S273 位磷酸化能作为 II 型糖尿病治疗中的新靶点。

7.2 PPAR γ 的磷酸化与肿瘤

PPAR γ 在多种肿瘤细胞,如结肠癌、乳腺癌、肝癌及肺癌等中均有表达,它通常被认为是抑癌基因,但 PPAR γ 在肿瘤发展中的功能仍存在一定争议^[40];而这些争议的来源可能与 PPAR γ 的翻译后修饰有一定联系。PPAR γ 配体通常能够抑制肿瘤的生长,但在 APC 基因突变的结肠癌中却反而促进肿瘤细胞增殖,这与 PPAR γ 介导的 β -联蛋白调控有部分关联^[41],也可能与配体诱导的 PPAR γ 翻译后修饰有关。在结肠癌中,促胃液素(gastrin)可以刺激肿瘤细胞的增殖,此效应与 ERK、成纤维细胞生长因子受体(fibroblast growth factor receptors,EGFR)介导的 PPAR γ 磷酸化及蛋白酶体降解相关;如果将磷酸化位点进行突变(S84A)则可逆转 gastrin 的效应^[42]。而在乳腺癌细胞 MDA-MB-231 中,过表达 Parvin- β 可以增加 CDK9 介导的 PPAR γ 1 S82 磷酸化,并促进其下游相关靶基因的转录,从而抑制肿瘤的发展^[43]。在使用 R-etodolac 治疗前列腺癌的模式中,R-etodolac 可诱导 MAPK 的磷酸化并导致 PPAR γ 的泛素化降解;如果将 R-etodolac 与 HER-kinase 抑制剂联用,则可抑制 PPAR γ 的降解并进一步增强抗癌效果^[44]。这些结果提示,PPAR γ 的翻译后修饰在肿瘤的发生发展中有重要调控作用,PPAR γ 的翻译后修饰也能作为肿瘤治疗的靶点。

8 展望

PPAR γ 翻译后修饰的重要性得到了越来越多的文献证实,但还有很多问题尚待解决。例如参与各种翻译后修饰的蛋白酶,以及这些修饰方式所调控的蛋白相互作用和下游靶基因等仍不清楚。同时还应注意到 PPAR γ 1 和 PPAR γ 2 的表达呈现出一定的组织特异性,那么 PPAR γ 2 在脂肪组织中的翻译后修饰是否也存在于其它组织中,例如巨噬细胞中 PPAR γ 1 S243 的磷酸化有何功能。此外,蛋白质的翻译后修饰通常是可逆的,而对于 PPAR γ 去修饰作用的研究相对滞后。除了已鉴定的翻译后修饰之外,新的修饰方式或新的修饰位点仍有待发现。特别要强调的是,配体对于 PPAR γ 的各种翻译后修饰具有重要的调控作用,因此,针对其翻译后修饰开发新的配体或许将为一些疾病的治疗带来曙光。

参考文献(References)

[1] Tontonoz P, Spiegelman B M. Fat and beyond: the diverse biology of PPAR γ [J]. *Annu Rev Biochem*, 2008, **77** (1):

289-312

- [2] Lehrke M, Lazar MA. The many faces of PPAR γ [J]. *Cell*, 2005, **123**(6): 993-999
- [3] Wan Y. PPAR γ in bone homeostasis [J]. *Trends Endocrinol Metab* 2010, **21**(12): 722-728
- [4] Klotz L, Burgdorf S, Dani I, *et al.* The nuclear receptor PPAR γ selectively inhibits Th17 differentiation in a T cell-intrinsic fashion and suppresses CNS autoimmunity [J]. *J Exp Med*, 2009, **206**(10): 2079-2089
- [5] Beekun O V, Fleskens V, Kalkhoven E. Posttranslational modifications of PPAR γ : fine-tuning the metabolic master regulator [J]. *Obesity (Silver Spring)*, 2009, **17**(2): 213-219
- [6] Hu E, Kim J B, Sarraf P, *et al.* Inhibition of adipogenesis through MAP kinase-mediated phosphorylation of PPAR γ [J]. *Science*, 1996, **274**(5295): 2100-2103
- [7] Gelman L, Michalik L, Desvergne B, *et al.* Kinase signaling cascades that modulate peroxisome proliferator-activated receptors [J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2005, **17**(2): 216-222
- [8] Iankova I, Petersen RK, Annicotte J, *et al.* Peroxisome proliferator-activated receptor γ recruits the positive transcription elongation factor b complex to activate transcription and promote adipogenesis [J]. *Mol Endocrinol*, 2006, **20**(7): 1494-1505
- [9] Compe E, Drané P, Laurent C, *et al.* Dysregulation of the peroxisome proliferator-activated receptor target genes by XPD mutations [J]. *Mol Cell Biol*, 2005, **25**(14): 6065-6076
- [10] Helenius K, Yang Y, Alasaari J, *et al.* Mat1 inhibits peroxisome proliferator-activated receptor γ -mediated adipocyte differentiation [J]. *Mol Cell Biol*, 2009, **29**(2): 315-323
- [11] Sarraf D A, Iankova I, Abella A, *et al.* Cyclin D3 promotes adipogenesis through activation of peroxisome proliferator-activated receptor γ [J]. *Mol Cell Biol*, 2005, **25**(22): 9985-9995
- [12] Knethen A V, Tzieply N, Jennewein C, *et al.* Casein-kinase-II-dependent phosphorylation of PPAR γ provokes CRM1-mediated shuttling of PPAR γ from the nucleus to the cytosol [J]. *J Cell Sci*, 2010, **123**(Pt 2): 192-201
- [13] Al-Rasheed N M, Chana R S, Baines R J, *et al.* Ligand-independent activation of peroxisome proliferator-activated receptor- γ by insulin and C-peptide in kidney proximal tubular cells [J]. *J Biol Chem*, 2004, **279**(48): 49747-49754
- [14] Choi JH, Banks AS, Estall JL, *et al.* Anti-diabetic drugs inhibit obesity-linked phosphorylation of PPAR γ by Cdk5 [J]. *Nature*, 2010, **466**(7305): 451-456
- [15] Li PP, Fan WQ, Xu JF, *et al.* Adipocyte NCoR knockout decreases PPAR γ phosphorylation and enhances PPAR γ activity and insulin sensitivity [J]. *Cell*, 2011, **147**(4): 815-826
- [16] 黄进勇,张夏,赵文恩. β -胡萝卜素抑制 MCF-7 细胞生长上调过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPAR γ) 表达 [J]. *中国生物化学与分子生物学报* (Huang JY, Zhang X, Zhao WE. β -Carotene inhibits cell viability and up-regulates peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR γ) expression in MCF-7 breast cancer cells [J]. *Chin J Biochem Mol Biol*), 2009, **25**

- (6): 542-548
- [17] Hauser S, Adelmant G, Sarraf P, *et al.* Degradation of the peroxisome proliferator-activated receptor γ is linked to ligand-dependent activation [J]. *J Biol Chem*, 2000, **275** (24): 18527-18533
- [18] Blanquart C, Barbier O, Fruchart J, *et al.* Peroxisome proliferator-activated receptor α (PPAR α) turnover by the ubiquitin-proteasome system controls the ligand-induced expression level of its target genes [J]. *J Biol Chem*, 2002, **277** (40): 37254-37259
- [19] Genini D, Catapano C V. Block of nuclear receptor ubiquitination: a mechanism of ligand-dependent control of peroxisome proliferator-activated receptor δ activity [J]. *J Biol Chem*, 2007, **282** (16): 11776-11785
- [20] Maiuri L, Luciani A, Giardino I, *et al.* Tissue transglutaminase activation modulates inflammation in cystic fibrosis via PPAR down-regulation [J]. *J Immunol*, 2008, **180** (11): 7697-7705
- [21] Kilroy G E, Zhang X, Floyd Z E. PPAR γ AF-2 domain functions as a component of a ubiquitin-dependent degradation signal [J]. *Obesity (Silver Spring)*, 2009, **17** (4): 665-673
- [22] Fujimoto Y, Shiraki T, Horiuchi Y, *et al.* Proline cis/trans-isomerase pin1 regulates peroxisome proliferator-activated receptor γ activity through the direct binding to the activation function-1 domain [J]. *J Biol Chem*, 2010, **285** (5): 3126-3132
- [23] He F, Doucet J A, Stephens J M. Caspase-mediated degradation of PPAR γ proteins in adipocytes [J]. *Obesity (Silver Spring)*, 2008, **16** (8): 1735-1741
- [24] Guilherme A, Tesz G J, Guntur K V, *et al.* Tumor necrosis factor- α induces caspase-mediated cleavage of peroxisome proliferator-activated receptor γ in adipocytes [J]. *J Biol Chem*, 2009, **284** (25): 17082-17091
- [25] Geiss-Friedlander R, Melchior F. Concepts in sumoylation: a decade on [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2007, **8** (12): 947-956
- [26] Ohshima T, Koga H, Shimotohno K. Transcriptional activity of peroxisome proliferator-activated receptor γ is modulated by SUMO-1 modification [J]. *J Biol Chem*, 2004, **279** (28): 29551-29557
- [27] Pascual G, Ogawa S, Gamliel A, *et al.* ASUMOylation-dependent pathway mediates transrepression of inflammatory response genes by PPAR γ [J]. *Nature*, 2005, **437** (7059): 759-763
- [28] Jennewein C, Kuhn A, Schmidt MV, *et al.* Sumoylation of peroxisome proliferator-activated receptor γ by apoptotic cells prevents lipopolysaccharide-induced NCoR removal from κ B binding sites mediating transrepression of proinflammatory cytokines [J]. *J Immunol*, 2008, **181** (8): 5646-5652
- [29] Haschemi A, Chin B Y, Jeitler M, *et al.* Carbon monoxide induced PPAR γ SUMOylation and UCP2 block inflammatory gene expression in macrophages [J]. *PLoS One*, 2011, **6** (10): e26376
- [30] Lim S, Ahn B Y, Chung S S, *et al.* Effect of a peroxisome proliferator-activated receptor γ sumoylation mutant on neointimal formation after balloon injury in rats [J]. *Atherosclerosis*, 2009, **206** (2): 411-417
- [31] Kuncewicz T, Sheta E A, Goldknopf I L, *et al.* Proteomic analysis of S-nitrosylated proteins in mesangial cells [J]. *Mol Cell Proteomics*, 2003, **2** (3): 156-163
- [32] Shibuya A, Wada K, Nakajima A, *et al.* Nitration of PPAR γ inhibits ligand-dependent translocation into the nucleus in a macrophage-like cell line, RAW 264.7 [J]. *FEBS Lett*, 2002, **525** (1-3): 43-47
- [33] Floyd Z E, Stephens J M. Interferon- γ -mediated activation and ubiquitin-proteasome-dependent degradation of PPAR γ in adipocytes [J]. *J Biol Chem*, 2002, **277** (6): 4062-4068
- [34] Yang X J, Gregoire S. A recurrent phospho-sumoyl switch in transcriptional repression and beyond [J]. *Mol Cell*, 2006, **23** (6): 779-786
- [35] Yamashita D, Yamaguchi T, Shimizu M, *et al.* The transactivating function of peroxisome proliferator-activated receptor γ is negatively regulated by SUMO conjugation in the amino-terminal domain [J]. *Genes Cells*, 2004, **9** (11): 1017-1029
- [36] Jenning E H, Gurnell M, Kalkhoven E. Functional implications of genetic variation in human PPARgamma [J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2009, **20** (8): 380-387
- [37] Rangwala S M, Rhoades B, Shapiro JS, *et al.* Genetic modulation of PPAR γ phosphorylation regulates insulin sensitivity [J]. *Dev Cell*, 2003, **5** (4): 657-663
- [38] Hosooka T, Noguchi T, Kotani K, *et al.* Dok1 mediates high-fat diet-induced adipocyte hypertrophy and obesity through modulation of PPAR γ phosphorylation [J]. *Nat Med*, 2008, **14** (2): 188-193
- [39] Choi J H, Banks A S, Kamenecka T M, *et al.* Antidiabetic actions of a non-agonist PPAR γ ligand blocking Cdk5-mediated phosphorylation [J]. *Nature*, 2011, **477** (7365): 477-481
- [40] Peters J M, Shah Y M, Gonzalez F J. The role of peroxisome proliferator-activated receptors in carcinogenesis and chemoprevention [J]. *Nat Rev Cancer*, 2012, **12** (3): 181-195
- [41] Girnun G D, Smith W M, Drori S, *et al.* APC-dependent suppression of colon carcinogenesis by PPAR γ [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2002, **99** (21): 13771-13776
- [42] Chang A J, Song D H, Michael W M. Attenuation of peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR γ) mediates gastrin-stimulated colorectal cancer cell proliferation [J]. *J Biol Chem*, 2006, **281** (21): 14700-14710
- [43] Johnstone C N, Mongroo P S, Rich A S, *et al.* Parvin- β Inhibits breast cancer tumorigenicity and promotes CDK9-mediated peroxisome proliferator-activated receptor gamma 1 phosphorylation [J]. *Mol Cell Biol*, 2008, **28** (2): 687-704
- [44] Hedvat M, Jain A, Carson D A, *et al.* Inhibition of HER-kinase activation prevents ERK-mediated degradation of PPARgamma [J]. *Cancer Cell*, 2004, **5** (6): 565-574