

综 述

p62与蛋白降解途径的研究进展

刘诗濛^{1,2}, 董越娟¹, 刘彬^{1,*}河南大学¹护理学院神经生物学研究所; ²附属淮河医院消化内科, 开封 475000

摘要: p62是一种多功能泛素结合蛋白, 参与泛素蛋白酶体系统(ubiquitin-proteasome system, UPS)和自噬-溶酶体系统两种蛋白降解过程。p62作为一种信号转导途径中的支架和适配子蛋白, 其分子结构中的多个功能结构域可与其它蛋白质相互作用, 介导多种细胞功能, 特别是在细胞的选择性自噬和细胞抗氧化反应中发挥重要作用, 因而p62与许多疾病的发病机制密切相关。本文主要综述p62的结构特征及其与UPS和自噬的相互关系, 旨在为相关领域的研究提供参考。

关键词: p62; 蛋白降解; 泛素; 蛋白酶体; 自噬

中图分类号: R37

Progress of study on p62 and protein degradation pathways

LIU Shi-Meng^{1,2}, DONG Yue-Juan¹, LIU Bin^{1,*}¹Institute of Neurobiology, College of Nursing; ²Department of Gastroenterology, Huaihe Clinical College, Henan University, Kaifeng 475000, China

Abstract: The p62, a multifunctional ubiquitin-binding protein, has been proposed to be involved in protein degradation as a component within the ubiquitin-proteasome and autophagy-lysosome systems. As a scaffolding protein with several different kinds of protein-protein interaction domains, p62 mediates various cellular functions. Importantly, p62 plays a critical role in cell's selective autophagy and oxidative stress response, which are associated with the pathogenesis of several human diseases. In this review, we describe the structure of p62 and the mechanism of connection between p62 and ubiquitin-proteasome system/autophagy, so as to provide some perspectives on p62 research.

Key words: p62; protein degradation; ubiquitin; proteasome; autophagy

正常细胞的核糖体每分钟合成数千种蛋白质。尽管细胞具有丰富的分子伴侣提供保护环境, 保证新合成的蛋白质迅速有效地折叠, 形成天然构象并获得正确的生物功能, 仍有近 30% 的新生蛋白质因各种原因而错误折叠、聚集或沉积到细胞内^[1]。机体通过不断清除错误折叠或受损伤蛋白质, 维持细胞内环境稳定, 保障细胞在各种应激状态下生存^[2]。

真核细胞主要存在两种蛋白降解系统, 泛素蛋

白酶体系统 (ubiquitin-proteasome system, UPS) 和自噬 - 溶酶体系统^[3]。UPS 在细胞质中选择性降解各种受损蛋白质, 是重要的蛋白质质量控制系统^[4]。此途径的泛素 (ubiquitin, Ub) 首先被泛素活化酶 (ubiquitin activating enzymes, E₁) 激活, 激活的泛素被转移到泛素结合酶 (ubiquitin conjugating enzymes, E₂), 最后利用泛素蛋白连接酶 (ubiquitin protein ligases, E₃) 将泛素分子连接到靶蛋白底物并转移到蛋白酶体中降解^[5]。细胞内 E₃ 分布广泛且含量丰富,

Received 2014-05-22 Accepted 2014-07-29

This review was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 30771140) and the Scientific Research Project of Educational Department of Henan Province, China (No. 13A310070).

*Corresponding author. Tel/Fax: +86-371-23880399; E-mail: lbgood5912@sina.com

可特异性结合异常蛋白质,促使其泛素化,经 UPS 途径降解^[6]。自噬是真核细胞内降解蛋白质和细胞质其它成分的基本途径,细胞以自噬方式清除细胞内错误折叠蛋白质、某些长寿命蛋白质、衰老损伤的细胞器和入侵细胞的微生物,维持细胞内物质的动态平衡。在细胞应激状态(如饥饿、缺氧等)下,自噬作用也可以为细胞提供营养物质和能源物质^[7]。目前已经阐明的自噬相关基因 (autophagy-related gene, ATG) 有三十多种,其中 18 个基因是自噬体形成所必需的。哺乳动物的大多数 ATG 基因保守性强,表达产物的作用方式与酵母中相应蛋白质类似^[8]。自噬的起始是形成杯状双层膜结构,双层膜结构不断延伸包裹细胞质中待降解的物质,继而融合形成双层膜的囊泡样结构,称为自噬体 (autophagosome)。自噬体直径约 1 μm ,容积约 $0.5 \times 10^{-18} \text{m}^3$,能够容纳平均分子量几十万的蛋白质成分。自噬体的外层膜与溶酶体膜结合形成自噬溶酶体 (autolysosome),内容物被不同种类的溶酶体酶降解,供细胞再循环利用^[9]。根据细胞内待降解物质转运到溶酶体的途径不同,将自噬分为三种方式,巨自噬 (macroautophagy),即通常所称的自噬、小自噬 (microautophagy) 和分子伴侣介导的自噬 (chaperone-mediated autophagy, CMA)^[10]。

p62 是 *SQSTM1* 编码的泛素结合蛋白,参与 UPS 和自噬两种蛋白降解过程^[11]。p62 作为一种信号转导途径中的支架和适配子蛋白,是细胞内多种蛋白复合物的主要成分。其多个结构域与其它蛋白质相互作用,介导多种细胞功能,包括细胞信号转导^[12]、受体内化、蛋白更新和基因转录调控等^[13]。p62 蛋白本身也是自噬的选择性底物之一。某些神经退行性疾病和慢性肝脏疾病细胞自噬活性降低,在细胞内形成的异常蛋白质聚集体和包涵体中常常发现 p62 存在^[14, 15]。

1 p62的结构特征

人类 p62 基因位于 5 号染色体,有 8 个外显子,编码的 p62 蛋白包含 440 个氨基酸残基。p62 cDNA 首先被 Shin 等克隆,由于其编码的蛋白质结合到酪氨酸蛋白激酶 p56^{lck} 的 SH2 结构域,开始被命名为 p56 Lck-配体^[16]。在 p62 蛋白作用机制的研究中,Shin 注意到 p62 参与形成细胞内多泛素化蛋白质聚集体,据此将 p62 蛋白命名为 sequestosomel^[17]。大鼠的 p62 同源基因称为 ZIP (zeta protein kinase C-

interacting protein),从大鼠脑 cDNA 文库中分离,另一 p62 同源基因 *A170* 则在小鼠巨噬细胞氧化应激诱导获得。Geetha 等通过比较氨基酸序列后发现,这些同源基因所表达蛋白质具有高度保守性(大约 90%)^[18]。

p62 的氨基酸序列中至少包含 9 个带有结构性模体 (motif) 的结构域,可与其它蛋白质相互作用。这些结构域包括: N 末端的 Phox 和 Bem1 结构域 (PB1),结合 aPKC (atypical protein kinase C)、ERK、NBR1、MAPKK5 (MEK5) 等,也能与 p62 自身结合;一个 ZZ 型锌指结构,可与 RIP (receptor interacting protein) 相互作用;1 个与肿瘤坏死因子受体相关因子 6 (tumor necrosis factor receptor-associated factor 6, TRAF6) 结合的结构域 (TRAF6-binding domain, TBS);一个核定位信号 (nuclear localization signal, NLS) 和核输出信号 (nuclear export signal, NES) 模体;1 段与微管相关蛋白 1 轻链 3 (microtubule-associated protein 1 light chain 3, LC3) 相互作用的 LC3 作用域 (LC3-interaction region, LIR);2 个 PEST 序列位于 LIR 两侧;一段与 Keap1 (Kelch-like ECH-associated protein 1) 结合的 Keap1 作用区域 (Keap1 interacting region, KIR);1 个与 p38 蛋白结合的结构域和 C 末端的泛素相关结构域 (ubiquitin-associated domains, UBA)^[19]。p62 的功能结构域如图 1。

1.1 PB1 结构域

p62 蛋白距 N 末端大约 80 个氨基酸残基位置包含 PB1 结构域,能够与其它蛋白质中相应的 PB1 结构域结合,也可以互相聚集成为同源复合体,形成 p62 的自身寡聚化和多聚化,参与蛋白质的自噬性降解过程^[20]。其类似泛素构象的 UBL (ubiquitin-like) 结构域在 N 末端能够结合 26S 蛋白酶体的 S5a 亚基,参与蛋白质的蛋白酶体降解作用^[21]。

1.2 ZZ结构域

ZZ 锌指结构是 17 个氨基酸残基的保守序列^[22],位于 128~163 氨基酸残基范围^[23],参与结合 RIP 蛋白,与肿瘤坏死因子信号转导和 NF- κ B 的激活途径有关^[24]。

1.3 TBS结构域

TBS 结构域是位于 p62 的 225~251 氨基酸残基的短序列,介导 p62 与 TRAF6 的结合^[25]。TRAF6 属于泛素蛋白连接酶 E3 的 RING (really interesting new gene) 结构域家族成员,催化泛素在 63 位赖氨酸残基 (K63) 连接成为多聚泛素链,也通过本身的

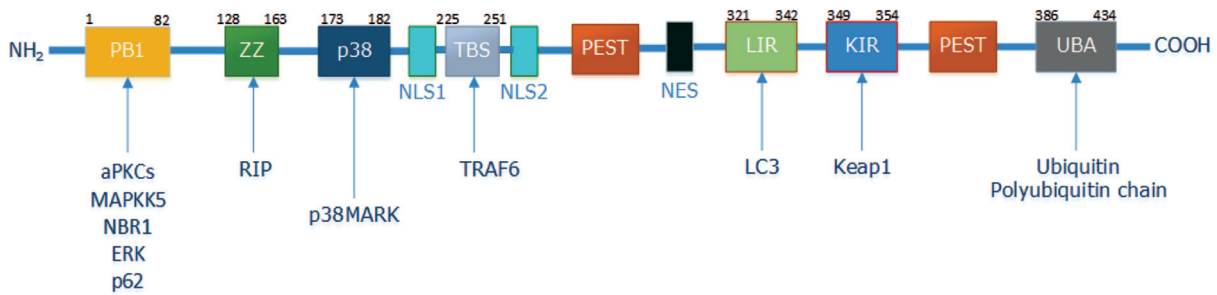


图 1. p62的功能结构域

Fig. 1. The functional domains of the p62. p62 is a multifunctional protein with 440 amino acids, composed of 9 protein-interacting domains. At its N-terminus, p62 has a domain that interacts with atypical protein kinase Cs (aPKCs), mitogen-activated protein kinase kinase 5 (MAPKK5), next to breast cancer 1 (NBR1), extracellular signal-regulated kinase (ERK), and p62 protein itself (to form homotypic complexes). This domain is named the Phox and Bem1 (PB1) domain. The zinc finger motif (ZZ) domain of p62 is needed for the interaction with the scaffold protein RIP that recruits aPKCs to tumor necrosis factor- α (TNF α)-signaling complexes. The next domain has been identified to bind to p38, resulting in p38 MAPK activation, followed by the TNF receptor-associated factor 6 (TRAF6)-binding domain. Between the 2 domains that are rich in amino acids proline (P), glutamic acid (E), serine (S) and threonine (T) (forming the PEST domain), there is an LC3-interacting region (LIR) that binds to autophagic effector proteins, inducing p62 protein degradation by autophagy. Keap interacting region (KIR) might be important for the regulation of Nrf2 and the control of ROS levels. p62 can undergo rapid nucleo-cytoplasmic shuttling continuously shuttles using two nuclear localization signal domains (NLS1 and NLS2) and one nuclear export signal (NES) motif in the structure of p62. At the C-terminus of p62, the ubiquitin-associated (UBA) domain regulates the interaction of p62 with polyubiquitylated proteins targeted for degradation by the proteasome or autophagy.

多聚泛素化被激活。p62 与 TRAF6 的结合使 TRAF6 能够与 aPKC 和 IKK β 作用形成信号复合体，在 NF- κ B 信号转导中发挥作用^[26]。

1.4 NLS和NES结构域

p62 在细胞浆与细胞核之间持续快速的穿梭移动依赖于结构中的 2 个 NLS (NLS1 和 NLS2) 和一个 NES，其中 NLS2 的作用最重要。细胞通过 NLS2 的磷酸化调节 p62 在细胞核与细胞浆之间的穿梭^[27]。如果抑制 p62 从细胞核移出，可导致泛素化蛋白质在细胞核中积聚，进一步加速 p62 细胞核的转移。另外，研究也显示有 p62 定位在细胞核中的泛素化蛋白质聚集体中^[28, 29]，说明 p62 通过 NLS2 和 NES 参与细胞核中泛素化蛋白质的蛋白酶体降解体系。

1.5 LIR

LIR 是 22 个氨基酸残基组成的线状区域，介导 p62 与自噬体标志物 LC3 的相互作用^[30, 31]。LIR 位于 LC3 蛋白 N 末端臂与 C 末端 UBL 的交界面上，其中的色氨酸残基和亮氨酸残基的侧链结合到 LC3 的 UBL 的疏水凹陷中，以静电方式维持 p62 与 LC3 的相互作用^[32, 33]。如果用丙氨酸残基替代 LIR 的天冬氨酸残基，或用丙氨酸残基替代 LIR 的色氨酸残基，该蛋白则丧失与 LC3 作用的能力，说明 LIR

在自噬体形成过程和自噬降解中的关键作用^[34]。

1.6 PEST序列

1986 年 Reichsteiner 和 Rogers 首先描述一种富含脯氨酸 (proline, P)、谷氨酸 (glutamate, E)、丝氨酸 (serine, S) 和苏氨酸 (threonine, T) 的 26 个氨基酸残基的序列，称为 PEST 序列^[35]。在真核细胞中，PEST 序列被认为是 UPS 降解的直接作用靶点，参与蛋白质的快速降解和更新。尽管蛋白质降解系统识别 PEST 序列的机制尚不清楚，目前已了解某些蛋白质的 PEST 序列磷酸化是降解的前提条件，特别是某些代谢酶类、转录因子和细胞周期调节蛋白等需要快速调节的蛋白质^[36]。

1.7 KIR

p62 与 Keap1 直接作用的位点是 p62 的 349~354 氨基酸残基的 DPSTGE 序列^[37]，作用到 Keap1 蛋白的 380、415 和 483 位的精氨酸残基^[38]。Keap1 的作用是将 Cullin3 E3 泛素连接酶募集到底物上，促进其泛素化，标记多聚泛素链的底物被转运到蛋白酶体降解，转录因子 Nrf2 (nuclear factor erythroid 2-related factor 2) 即是这类底物之一^[39]。

1.8 p38结合结构域

p38 是一种促有丝分裂蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK)，在应激条件下被激活。

已证明 p62 的 173~182 氨基酸残基形成的结构域与 p38 结合, 参与细胞因子受体信号转导通路^[40]。

1.9 UBA结构域

1996 年首次发现 p62 能够以非共价键形式与泛素结合, p62 的 C 末端 386~434 氨基酸残基参与泛素结合作用^[41]。这一保守的线状氨基酸结构域即 UBA 结构域, 与其它蛋白质所包含的 UBA 结构域具有同源性。p62 对多聚泛素链亲和力较强, 可作为受体与泛素化蛋白质多聚泛素链的 48 位赖氨酸残基结合^[27]。当底物蛋白多聚泛素化链与 p62 的 UBA 结合时, 底物作为靶目标经由 UPS 降解, 也可选择性募集泛素化蛋白传递至自噬泡经自噬途径降解^[42]。

2 p62与泛素蛋白酶体途径

p62 通过 UBA 结构域参与蛋白质降解, 这种作用与蛋白酶体有关, p62 自身也是蛋白酶体的底物^[43]。蛋白酶体是由 10~20 个亚基组成的蛋白复合物, 存在于细胞核和细胞质^[44]。真核细胞中大多数细胞内蛋白质 (80%~90%) 通过 UPS 途径识别并降解。细胞内正常结构的短寿命蛋白质分子完成生理功能后, 多通过 UPS 途径降解, 如参与调节细胞分裂进程、基因表达、DNA 损伤修复、信号转导和细胞吞噬作用的蛋白质。UPS 途径也参与某些异常蛋白质的清除, 如错误折叠、氧化受损或突变蛋白质等。因此, UPS 途径是翻译后蛋白质质量控制的关键步骤^[45,46]。最常见的细胞蛋白酶体形式是 26S 蛋白酶体, 包括一个核心的桶状 20S 蛋白酶体 (700 kDa) 和两个位于两侧的具有调节作用帽状 19S 蛋白酶体 (900 kDa), 其中 20S 蛋白酶体具有蛋白酶活性。UPS 降解蛋白质主要包括两个步骤, 首先将多聚泛素与靶向蛋白质共价连接, 后在 26S 蛋白酶体将标记泛素的蛋白质降解, 释放并再利用游离泛素^[47]。

泛素是由 76 个氨基酸残基组成的高度保守的多肽链, 广泛分布于各类细胞。泛素分子的 C 末端羧基能够与另一泛素分子中赖氨酸残基的 ϵ 氨基相互连接, 形成多聚泛素链。机体中泛素分子中的 7 个赖氨酸残基 (K6, K11, K27, K33, K29, K48, K63) 位置均可形成侧链, 但蛋白质降解过程中主要连接位置是 48 位的赖氨酸残基, 而 63 位赖氨酸残基形成的多聚泛素链主要参与 DNA 修复、线粒体 DNA 复制、应激反应和细胞内吞作用的靶向蛋白。也有研究显示, 标记 K63 位泛素四聚体的蛋白质底物也

能够被有效地降解^[21]。降解蛋白质结合的多聚泛素链至少包括 4 个泛素单体才能被 26S 蛋白酶体识别, 从而被进一步降解。多聚泛素链是蛋白酶体复合物靶向降解蛋白质的信号物质, 26S 蛋白酶体识别多泛素化蛋白质底物是降解蛋白质过程的关键。完成传递多泛素化蛋白质到 26S 蛋白酶体的物质是泛素作用蛋白, 如 S5a、Dsk2、Rad23 和 p62 等。其中 p62 分子 C 末端的 UBA 序列能够选择性结合 K63 多泛素化蛋白, 而在 p62 分子 N 末端的 UBL 结构域能够直接作用于蛋白酶体的亚基, 将多泛素化蛋白底物定位于蛋白酶体, 进行有效降解。研究显示, 无论 p62 水平降低或大量积聚都会导致蛋白酶体降解机制受损^[48], 提示 p62 可以独立将特殊底物传递到蛋白酶体。当 p62 增加超过生理水平时, 也能够不加选择地结合泛素标记的蛋白质, 并将其封闭到 p62 聚集体中。有学者提出, 当蛋白酶体受损时, p62 能够经自噬装置传递蛋白酶体底物到溶酶体, 但实验证据不足^[20]。

3 p62与自噬-溶酶体系统

3.1 p62与LC3

LC3 是酵母 Atg8 蛋白的哺乳动物同源体, 受 Atg4 半胱氨酸蛋白酶催化裂解, LC3 的 C-末端甘氨酸残基暴露, 形成 I 型 Atg8 蛋白 (LC3-I)。LC3-I 在 Atg7 (类似泛素活化酶 E₁) 的作用下, 被传递至 Atg3, Atg3 具有类似泛素结合酶 E₂ 的作用, 催化 LC3-I 的 C-末端甘氨酸残基与磷脂酰乙醇胺 (phosphatidylethanolamine, PE) 的氨基共价连接, 形成 II 型 ATG8 蛋白 (LC3-II), 这是自噬体脂膜融合的关键步骤, 使自噬体体积不断扩大^[49]。定位于自噬体外膜的 LC3-II 受 Atg4 蛋白酶作用, ATG8 与 PE 分离, ATG8 在自噬体形成过程中反复利用。定位于自噬体内膜的 LC3-II 和自噬体内容物一起由溶酶体酶降解^[50]。已有研究显示, p62 与自噬标志物蛋白 LC3 共定位和免疫共沉淀^[51], p62 通过 LIR 结构域与 LC3 直接结合^[33]。人 p62 蛋白的 LIR 位于 321 和 342 氨基酸残基之间, 参与 p62 蛋白和泛素化蛋白的自噬性降解^[31]。在鼠类 p62 蛋白研究中有类似报道, 与 LC3 作用的结构域称为 LRS (LC3 recognition sequence), 位于 p62 蛋白的 334 和 342 氨基酸残基之间, 能有效地与 LC3 结合^[52]。p62 通过 PB1 结构域相互结合, 形成寡聚化的 p62 分子, 有利于 p62 蛋白靶向进入与内质网相关的自噬体形成位点,

与 LC3 相互作用参与自噬体的形成^[53]。

3.2 p62与选择性自噬

机体能量缺乏或蛋白质供应不足时, 非选择性自噬作用加强, 为细胞提供游离氨基酸, 维持细胞能量代谢和蛋白质合成的平衡状态。选择性自噬则是通过靶向去除受损或过剩蛋白质、蛋白质聚合物和细胞器等, 维护细胞质和细胞器的质量, p62 参与选择性自噬过程。自噬底物蛋白质通常在 K63 或 K27 位置标记多聚泛素链, 并与 p62 的 UBA 结构域相互作用, 将底物载入 p62 寡聚体中, 形成 p62 寡聚体与自噬底物蛋白质或细胞器的聚集体, 通过 p62 的 LIR 区域靶向进入自噬体, 在溶酶体中降解。p62 只有以寡聚体的形式将蛋白质或细胞器的聚集体定位到自噬体结构中, 才能有效传递自噬底物。在某些蛋白质的选择性自噬过程中, p62 的 UBA 结构域的 403 位丝氨酸残基磷酸化可以显著加速自噬进程^[54]。提示 p62 不仅是自噬体与底物之间的适配蛋白, 也参与自噬过程的调节作用。另外, p62 也能通过 PB1 结构域结合到非泛素化的蛋白聚集体, 介导自噬清除作用^[55]。值得注意的是, NBR1 (Neighbor of BRCA 1) 是一种 p62 的功能类似物, 其蛋白质结构中具有 N 端的 PB1 结构域, C 端的 UBA 结构域和 LIR 序列, 在许多与自噬相关的功能方面能够代替 p62 的作用, 但缺乏其它的功能结构域^[56]。

在线粒体自噬 (mitophagy) 过程中, 降解的线粒体由 Rnf185 (ring finger protein 185) 和 Parkin 两种 E3 连接酶催化, 连接泛素链到线粒体外膜蛋白的 K63 和 K48 位。Rnf185 催化泛素在线粒体外膜蛋白 BNIP3 (Bcl2/adenovirus E1B 19kDa protein interacting protein 3) 的 K63 位连接, p62 特异性识别 K63 位标记泛素的 BNIP3, 介导线粒体聚合并降解^[57]。由 Parkin 介导的线粒体自噬通路, 则是对受损线粒体膜电位丧失的反应。正常情况下, Pink1 (PTEN-induced putative protein kinase 1) 以电压依赖方式运输到线粒体内膜。当线粒体膜电位被破坏时, Pink1 不能向线粒体内膜运输, 持续停留在线粒体外膜, 成为 Parkin 从细胞浆向线粒体聚集的识别信号。Parkin 标记几种 K63 和 K48 位连接多聚泛素链的线粒体外膜蛋白。现已证明, 两种赖氨酸连接方式均在启动线粒体自噬过程中发挥作用。第一种线粒体自噬的方式是由 Parkin 介导的 K48 位泛素化, 通过蛋白酶体降解系统降解线粒体膜蛋白, 如果抑制

蛋白酶体的作用可阻断损伤线粒体自噬作用^[58,59]。第二种方式是 Parkin 促进线粒体蛋白的 K63 位的泛素化, 进一步募集泛素受体 p62 到线粒体。p62 通过 C 末端 UBA 结构域与 K63 位连接的泛素链结合, 也通过其 PB1 结构域相互聚合, 形成 p62 的多聚化复合体, 介导受损线粒体的聚合, 这种作用方式与多泛素化蛋白质的聚集类似^[60]。有学者提出 p62 通过与吞噬泡 (phagophore) 的 LC3 相互作用, 将吞噬泡募集到受损的线粒体。但近期研究结果显示, p62 仅介导 Parkin 启动的损伤线粒体的聚集, 并不是线粒体自噬所必需的^[61]。只是将受损线粒体从其它线粒体分离出来, 以防过多的线粒体进一步损伤, 特别是在细胞内一般自噬作用对受损线粒体的清除并不十分有效时, 对细胞生存的动态平衡至关重要^[62]。也有证据显示, Pink1 和 Parkin 有可能直接募集自噬机构到线粒体, 这种质量控制作用对应激条件下的心脏具有保护作用^[63]。

3.3 p62与细胞内游离氨基酸水平

哺乳动物的雷帕霉素靶 (mammalian target of rapamycin, mTOR) 是一种非典型丝氨酸 / 苏氨酸蛋白激酶, 是细胞内游离氨基酸的感受器^[64]。mTOR 的作用机制在一定程度上与 p62 有关, mTOR 家族的 mTORC1 可与溶酶体表面具有 GTP 酶活性的 Rag 家族相连, 而 Rag 对细胞内游离氨基酸高度敏感。p62 通过连接 Raptor (mTORC1 复合物的亚基之一), 与 mTORC1 和 Rag GTP 酶形成的高分子量复合物相连, 建立从氨基酸到 mTORC1 的信号传递通路^[65]。p62 与 mTORC1 形成的复合物很可能是对自噬 - 溶酶体系统产生的游离氨基酸的反应, 控制自噬作用适应细胞内环境。p62 水平可能与自噬及细胞生长呈正反馈关系, p62 水平降低可能降低 mTORC1 的活性, 自噬作用加强, 进一步降低 p62 水平, 以此维持自噬降解过程; 相反, 高 p62 水平将增加 mTORC1 活性, 减少自噬作用, 使 p62 水平增加, 维持细胞生长状态^[66]。值得注意的是, 目前已知许多因素能够影响 mTORC1 的活性, 但 p62 只参与通过游离氨基酸水平调节 mTORC1 的活性的过程。例如, 在 p62 缺乏状态下, 胰岛素仍然能够激活 mTORC1, 而 p62 敲除引发的自噬的方式与游离氨基酸缺乏导致的结果类似^[67]。因此, p62 水平可能是感受细胞内游离氨基酸水平的调节开关, 当氨基酸量增加时, 通过 mTORC1 开启蛋白质合成代谢通路, 当蛋白质合成原料不足时则将其关闭。

3.4 p62与细胞抗氧化反应

p62能够通过Keap1-Nrf2通路激活抗氧化反应。Keap1-Nrf2抗氧化反应通路是细胞内主要的抗氧化反应途径之一,包括Nrf2和Keap1(调节Nrf2的抑制性蛋白)。生理条件下,细胞浆的Nrf2的ETGE结构域和DLG结构域通过非共价键与Keap1同型二聚体结合,与Nrf2结合的Keap1募集Cullin3 E3连接酶,连接多聚泛素链到Nrf2,靶向转运到26S蛋白酶体降解。细胞处于氧化应激状态时,被氧化的Keap1构象发生改变,与Nrf2的DLG结构域的结合下降,减少Nrf2的降解。Nrf2发生磷酸化或者完全解离,使其更容易迁移进入细胞核,诱导数个与活性氧清除、解毒、DNA修复和线粒体功能相关的基因的表达^[68]。p62的KIR序列能够与Keap1结合,也能与Nrf2的ETGE结构域结合,但与Keap1的亲合力弱于与Nrf2的。在没有氧化应激的条件下,p62主要作用于Nrf2;而在氧化应激状态下大量产生p62聚集体,将Keap1结合到p62聚集体,可有效降低Keap1结合到Nrf2的能力。进入p62聚集体的Keap1也更容易通过自噬途径被清除,从而进一步降低Keap1水平及其与Nrf2结合的能力。因此,在病理条件下,p62能够激活Nrf2通路,提高细胞的抗氧化作用,Keap1和p62构象的改变可影响两种蛋白的结合,进而影响Nrf2的活性^[69]。

4 p62与疾病的关系

衰老相关的物质代谢平衡失调与多种环境和遗传因素有关。p62在代谢调节中的作用主要表现在脂肪组织、肝脏和其他代谢器官。p62基因敲除小鼠表现出代谢综合征的若干特征,包括肥胖和肝脏脂肪积聚,糖耐量降低和胰岛素抵抗,血浆甘油三酯及胆固醇升高,这是ERK1(extracellular signal-regulated kinase 1)信号对胰岛素的过度反应的结果^[70]。在生理条件下,ERK1信号受p62的抑制,p62通过PB1结构域结合ERK1并将其隔离,防止脂肪细胞的过度增殖和分化;另外,在自噬作用受到损伤时,p62的大量堆积,脂肪组织对胰岛素的敏感性增加,脂肪合成受到抑制^[71]。目前p62积聚与脂肪合成降低的关系尚不清楚,一般认为可能与p62促进TRAF6的泛素化,激活NF- κ B途径有关。因此,衰老时表现出的脂肪堆积和代谢功能失调可能与p62表达量降低有关。

运用免疫组织化学方法的研究显示,小细胞肺癌、乳癌、肝癌和其他几种恶性肿瘤细胞的p62表达量远高于正常细胞,而将p62过表达的肺腺癌细胞的p62基因沉默,则诱导带有多层膜的自噬体的形成,导致细胞死亡^[72]。p62作为信号转导途径中的支架和适配子蛋白,参与多信号转导通路的调节,包括Ras/Raf/MAPK和NF- κ B通路,在mTOR活性调节和自噬调节中也发挥关键作用,可增强肿瘤细胞的增殖、迁移和侵袭能力。已有研究显示,非小细胞肺癌病例的p62表达量增加37%,且高p62水平患者的预后显著差于低p62水平患者。类似的研究结果显示,高p62积聚的乳癌的恶性程度及转移率与p62表达呈正相关^[73]。p62高表达量并伴随MAPK的激活的神经胶质细胞瘤细胞也具有高度侵袭性,如果抑制该肿瘤细胞的p62表达,能够显著降低其迁移和侵袭作用^[74]。NF- κ B的激活与肿瘤的生成有关,已发现p62的过度积聚与NF- κ B信号失调使小鼠更容易产生肿瘤^[75],与之相符合的是,通过p62基因敲除抑制NF- κ B信号能够阻止活性氧诱导的肺癌的生长^[76],而通过激活Kras诱导p62表达则促进胰腺导管腺癌的生长^[77]。在自噬受损细胞的NF- κ B信号失调至少部分是由于p62水平提高,这一过程进一步促进肿瘤的形成。另一方面,Nrf2的激活也参与肿瘤生成和肿瘤生长,已在肺癌、头颈部肿瘤和胆囊癌患者检测出Keap1或Nrf2的突变^[78-80]。由于突变减少Keap1与Nrf2的相互作用,使肿瘤细胞对氧化损伤和抗癌药物的抵抗能力增强,另外,一些诱导Nrf2表达的癌基因Ras、Raf和Myc也参与肿瘤形成过程^[81]。人类的许多肿瘤细胞中都能够检测到p62与Keap1阳性的聚集体,同时也能够检测出Nrf2靶向基因的表达^[82],说明p62通过持续激活Nrf2在肿瘤的发生发展中发挥作用。

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)、帕金森病(Parkinson's disease, PD)、亨廷顿病(Huntington's disease, HD)和肌萎缩侧索硬化症(amyotrophic lateral sclerosis, ALS)等神经退行性疾病都是以蛋白质聚集体在中枢神经系统大量积聚为特征。尽管每种疾病蛋白质积聚的特征不同,但均与p62有关。早期人们认为,存在于致病蛋白包涵体中的p62是导致包涵体形成的原因,但进一步的研究结果显示,p62介导这些蛋白质包涵体的降解^[83]。p62参与蛋白质降解的作用至少在部分神经退行性疾病中起作用。例如,p62参与将AD相关tau蛋白转移到蛋

白酶体降解,对AD患者具有保护作用,而p62基因敲除小鼠显示出许多AD特征,包括衰老相关的K63泛素化的tau蛋白的积聚、神经元死亡、短期记忆力受损和焦虑情绪增加等^[84]。另外,由于氧化损伤影响到p62的启动子区域,AD患者的p62在脑部的表达量显著减少,伴随衰老逐渐加剧。p62启动子损伤和表达降低也是其他几种神经退行性疾病的常见特征^[85],说明p62的改变可能影响与蛋白质积聚相关的神经退行性疾病的发病和发展进程。另外,神经退行性疾病患者的神经元和星形胶质细胞中p62降低也与Nrf2活性下降有关^[86]。线粒体损伤和氧化应激是PD的主要特征之一,p62通过激活Nrf2通路、清除受损的线粒体和蛋白质聚集体,保护脑组织^[87]。

Paget骨病(Paget disease of bone, PDB)是以骨更新异常为主要特征的人类慢性代谢性骨骼疾病。40%的家族性或偶发PDB病例被检测出p62突变体,已有超过20个PDB相关的p62突变体被发现^[88,89]。许多PDB突变体位于p62的UBA结构域,致使p62与多聚泛素化蛋白的结合能力下降^[90]。UBA结构域的突变导致p62与泛素化的TRAF6的相互作用受损,或p62与泛素化的TRAF6的去泛素化酶CYLD的相互作用受损,进一步促进RANKL刺激NF- κ B的激活,结果造成破骨细胞生成量增加^[91]。然而,与疾病相关的p62基因突变(如P392L)小鼠并没有显示出与人类患者完全相同的表现^[92],因此有学者提出,除遗传因素外,环境因素改变也是PDB发病的重要因素^[93]。

5 结语

p62分子结构中的多个具有特殊功能的结构域可与其它蛋白质的相互作用,显示出p62蛋白的多功能特征及调节机制的复杂性。在氧化应激信号传递的调控、神经退行性疾病和肿瘤发生过程等方面,p62的作用尤为重要。p62参与自噬等重要的细胞内调节机制,同时p62蛋白本身又受自噬作用的调节,因而p62结构及功能的变化对相关疾病病理生理改变的影响十分复杂。进一步研究和探讨p62复杂严密的调控机制,不但帮助人们深入认识相关疾病的生理和病理机制,也将为预防和延缓疾病的发展提供理论依据,为寻找相关疾病的治疗和新药的作用靶点提供新思路。

参考文献

- Schubert U, Antón LC, Gibbs J, Norbury CC, Yewdell JW, Bennink JR. Rapid degradation of a large fraction of newly synthesized proteins by proteasomes. *Nature* 2000; 404(6779): 770–774.
- Huang Q, Figueiredo-Pereira ME. Ubiquitin/proteasome pathway impairment neurodegeneration: therapeutic implications. *Apoptosis* 2010; 15(11): 1292–1311.
- Goldberg AL. Protein degradation and protection against misfolded or damaged proteins. *Nature* 2003; 426(6968): 895–899.
- Shang F, Taylor A. Ubiquitin-proteasome pathway and cellular responses to oxidative stress. *Free Radic Biol Med* 2011; 51(1): 5–16.
- Li S, Lu K, Wang J, An L, Yang G, Chen H, Cui Y, Yin X, Xie P, Xing G, He F, Zhang L. Ubiquitin ligase Smurf1 targets TRAF family proteins for ubiquitination and degradation. *Mol Cell Biochem* 2010; 338(1–2): 11–17.
- Chhangani D, Joshi AP, Mishra A. E3 ubiquitin ligases in protein quality control mechanism. *Mol Neurobiol* 2012; 45(3): 571–585.
- Sokollik C, Ang M, Jones N. Autophagy: a primer for the gastroenterologist/hepatologist. *Can J Gastroenterol* 2011; 25(12): 667–674.
- Ichimura Y, Komatsu M. Pathophysiological role of autophagy: lesson from autophagy-deficient mouse models. *Exp Anim* 2011; 60(4): 329–345.
- Chen Y, Yu L. Autophagic lysosome reformation. *Exp Cell Res* 2013; 319(2): 142–146.
- Klionsky DJ. The molecular machinery of autophagy: unanswered questions. *J Cell Sci* 2005; 118(Pt 1): 7–18.
- Su H, Wang X. p62 Stages an interplay between the ubiquitin-proteasome system and autophagy in the heart of defense against proteotoxic stress. *Trends Cardiovasc Med* 2011; 21(8): 224–228.
- Layfield R, Hocking LJ. SQSTM1 and Paget's disease of bone. *Calcif Tissue Int* 2004; 75(5): 347–357.
- McManus S, Roux S. The adaptor protein p62/SQSTM1 in osteoclast signaling pathways. *J Mol Signal* 2012; 7: 1.
- Chen K (陈科), Cheng HH, Zhou RJ. Molecular mechanisms and functions of autophagy and the ubiquitin-proteasome pathway. *Hereditas (遗传)* 2012; 34(1): 5–18 (Chinese, English abstract).
- Ichimura Y, Komatsu M. Selective degradation of p62 by autophagy. *Semin Immunopathol* 2010; 32(4): 431–436.
- Joung I, Strominger JL, Shin J. Molecular cloning of a phosphotyrosine-independent ligand of the p56lck SH2 domain. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996; 93(12): 5991–5995.

- 17 Shin J. P62 and the sequestosome, a novel mechanism for protein metabolism. *Arch Pharm Res* 1998; 21(6): 629–633.
- 18 Geetha T, Wooten WM. Structure and functional properties of the ubiquitin binding protein p62. *FEBS Lett* 2002; 512(1–3): 19–24.
- 19 Lin X, Li S, Zhao Y, Ma X, Zhang K, He X, Wang Z. Interaction domains of p62: a bridge between p62 and selective autophagy. *DNA Cell Biol* 2013; 32(5): 220–227.
- 20 Wooten MW, Hu X, Babu JR, Seibenhener ML, Geetha T, Paine MG, Wooten MC. Signaling, polyubiquitination, trafficking, and inclusions: sequestosome 1/p62's role in neurodegenerative disease. *J Biomed Biotechnol* 2006; 2006(3): 62079.
- 21 Seibenhener ML, Babu JR, Geetha T, Wong HC, Krishna NR, Wooten MW. Sequestosome 1/p62 is a polyubiquitin chain binding protein involved in ubiquitin proteasome degradation. *Mol Cell Biol* 2004; 24(18): 8055–8068.
- 22 Ponting CP, Blake DJ, Davies KE, Kendrick-Jones J, Winder SJ. ZZ and TAZ: new putative zinc fingers in dystrophin and other proteins. *Trends Biochem Sci* 1996; 21(1): 11–13.
- 23 Sanz L, Sanchez P, Lallena MJ, Diaz-Meco MT, Moscat J. The interaction of p62 with RIP links the atypical PKCs to NF-kappaB activation. *EMBO J* 1999; 18(11): 3044–3053.
- 24 Hsu H, Huang J, Shu HB, Baichwal V, Goeddel DV. TNF-dependent recruitment of the protein kinase RIP to the TNF receptor-1 signaling complex. *Immunity* 1996; 4(4): 387–396.
- 25 Jadhav TS, Wooten MW, Wooten MC. Mining the TRAF6/p62 interactome for a selective ubiquitination motif. *BMC Proc* 2011; 5 Suppl 2: S4.
- 26 Wooten MW, Geetha T, Seibenhener ML, Babu JR, Diaz-Meco MT, Moscat J. The p62 scaffold regulates nerve growth factor-induced NF-kappaB activation by influencing TRAF6 polyubiquitination. *J Biol Chem* 2005; 280(42): 35625–35629.
- 27 Pankiv S, Lamark T, Bruun JA, Øvervatn A, Bjørkøy G, Johansen T. Nucleocytoplasmic shuttling of p62/SQSTM1 and its role in recruitment of nuclear polyubiquitinated proteins to promyelocytic leukemia bodies. *J Biol Chem* 2010; 285(8): 5941–5953.
- 28 Wang Z, Cao L, Kang R, Yang M, Liu L, Zhao Y, Yu Y, Xie M, Yin X, Livesey KM, Tang D. Autophagy regulates myeloid cell differentiation by p62/SQSTM1-mediated degradation of PML-RAR α oncoprotein. *Autophagy* 2011; 7(4): 401–411.
- 29 Kleine H, Herrmann A, Lamark T, Forst AH, Verheugd P, Lüscher-Firzlaff J, Lippok B, Feijs KL, Herzog N, Kremmer E, Johansen T, Müller-Newen G, Lüscher B. Dynamic sub-cellular localization of the mono-ADP-ribosyltransferase ARTD10 and interaction with the ubiquitin receptor p62. *Cell Commun Signal* 2012; 10(1): 28.
- 30 Lee HM, Shin DM, Yuk JM, Shi G, Choi DK, Lee SH, Huang SM, Kim JM, Kim CD, Lee JH, Jo EK. Autophagy negatively regulates keratinocyte inflammatory responses via scaffolding protein p62/SQSTM1. *J Immunol* 2011; 186(2): 1248–1258.
- 31 Johansen T, Lamark T. Selective autophagy mediated by autophagic adapter proteins. *Autophagy* 2011; 7(3): 279–296.
- 32 Noda NN, Kumeta H, Nakatogawa H, Satoo K, Adachi W, Ishii J, Fujioka Y, Ohsumi Y, Inagaki F. Structural basis of target recognition by Atg8/LC3 during selective autophagy. *Genes Cells* 2008; 13(12): 1211–1218.
- 33 Noda NN, Ohsumi Y, Inagaki F. Atg8-family interacting motif crucial for selective autophagy. *FEBS Lett* 2010; 584(7): 1379–1385.
- 34 Pankiv S, Clausen TH, Lamark T, Brech A, Bruun JA, Outzen H, Øvervatn A, Bjørkøy G, Johansen T. p62/SQSTM1 binds directly to Atg8/LC3 to facilitate degradation of ubiquitinated protein aggregates by autophagy. *J Biol Chem* 2007; 282(33): 24131–24145.
- 35 Rogers S, Wells R, Rechsteiner M. Amino acid sequences common to rapidly degraded proteins: the PEST hypothesis. *Science* 1986; 234(4774): 364–368.
- 36 Schnupf P, Portnoy DA, Decatur AL. Phosphorylation, ubiquitination and degradation of listeriolysin O in mammalian cells: role of the PEST-like sequence. *Cell Microbiol* 2006; 8(2): 353–364.
- 37 Jain A, Lamark T, Sjøttem E, Larsen KB, Awuh JA, Øvervatn A, McMahon M, Hayes JD, Johansen T. p62/SQSTM1 is a target gene for transcription factor NRF2 and creates a positive feedback loop by inducing antioxidant response element-driven gene transcription. *J Biol Chem* 2010; 285(29): 22576–22591.
- 38 Lau A, Wang XJ, Zhao F, Villeneuve NF, Wu T, Jiang T, Sun Z, White E, Zhang DD. A noncanonical mechanism of Nrf2 activation by autophagy deficiency: direct interaction between Keap1 and p62. *Mol Cell Biol* 2010; 30(13): 3275–3285.
- 39 Hancock R, Schaap M, Pfister H, Wells G. Peptide inhibitors of the Keap1-Nrf2 protein-protein interaction with improved binding and cellular activity. *Org Biomol Chem* 2013; 11(21): 3553–3557.
- 40 Saito A, Kawai K, Takayama H, Sudo T, Osada H. Improvement of photo affinity SPR imaging platform and determination of the binding site of p62/SQSTM1 to p38 MAP kinase. *Chem Asian J* 2008; 3(8–9): 1607–1612.

- 41 Vadlamudi RK, Joung I, Strominger JL, Shin J. p62, a phosphotyrosine-independent ligand of the SH2 domain of p56lck, belongs to a new class of ubiquitin-binding proteins. *J Biol Chem* 1996; 271(34): 20235–20237.
- 42 Ciechanover A, Stanhill A. The complexity of recognition of ubiquitinated substrates by the 26S proteasome. *Biochim Biophys Acta* 2014; 1843(1): 86–96.
- 43 Lee J, Kim HR, Quinley C, Kim J, Gonzalez-Navajas J, Xavier R, Raz E. Autophagy suppresses interleukin-1 β (IL-1 β) signaling by activation of p62 degradation via lysosomal and proteasomal pathways. *J Biol Chem* 2012; 287(6): 4033–4040.
- 44 Sorokin AV, Kim ER, Ovchinnikov LP. Proteasome system of protein degradation and processing. *Biochemistry (Mosc)* 2009; 74(13): 1411–1442.
- 45 Jung T, Catalgol B, Grune T. The proteasomal system. *Mol Aspects Med* 2009; 30(4): 191–296.
- 46 Zheng Q, Li J, Wang X. Interplay between the ubiquitin-proteasome system and autophagy in proteinopathies. *Int J Physiol Pathophysiol Pharmacol* 2009; 1(2): 127–142.
- 47 Legesse-Miller A, Raitman I, Haley EM, Liao A, Sun LL, Wang DJ, Krishnan N, Lemons JM, Suh EJ, Johnson EL, Lund BA, Collier HA. Quiescent fibroblasts are protected from proteasome inhibition-mediated toxicity. *Mol Biol Cell* 2012; 23(18): 3566–3581.
- 48 Wang X, Terpstra EJ. Ubiquitin receptors and protein quality control. *J Mol Cell Cardiol* 2013; 55: 73–84.
- 49 Fujita N, Itoh T, Omori H, Fukuda M, Noda T, Yoshimori T. The Atg16L complex specifies the site of LC3 lipidation for membrane biogenesis in autophagy. *Mol Biol Cell* 2008; 19(5): 2092–2100.
- 50 Kabeya Y, Mizushima N, Ueno T, Yamamoto A, Kirisako T, Noda T, Kominami E, Ohsumi Y, Yoshimori T. LC3, a mammalian homologue of yeast Apg8p, is localized in autophagosome membranes after processing. *EMBO J* 2000; 19(21): 5720–5728.
- 51 Dong YJ (董越娟), Shi ZY, Liu SM, Zhang WJ, Huangfu CS, Deng JB, Liu B. Effects of ethanol on autophagy and the role of P62 in ethanol-induced autophagy in pheochromocytoma cells. *Acta Anat Sin (解剖学报)* 2013; 44(6): 772–777. (Chinese, English abstract).
- 52 Ichimura Y, Kumanomidou T, Sou YS, Mizushima T, Ezaki J, Ueno T, Kominami E, Yamane T, Tanaka K, Komatsu M. Structural basis for sorting mechanism of p62 in selective autophagy. *J Biol Chem* 2008; 283(33): 22847–22857.
- 53 Nezis IP, Stenmark H. p62 at the interface of autophagy, oxidative stress signaling, and cancer. *Antioxid Redox Signal* 2012; 17(5): 786–793.
- 54 Matsumoto G, Wada K, Okuno M, Kurosawa M, Nukina N. Serine 403 phosphorylation of p62/SQSTM1 regulates selective autophagic clearance of ubiquitinated proteins. *Mol Cell* 2011; 44(2): 279–289.
- 55 Itakura E, Mizushima N. p62 Targeting to the autophagosome formation site requires self-oligomerization but not LC3 binding. *J Cell Biol* 2011; 192(1): 17–27.
- 56 Watanabe Y, Tanaka M. p62/SQSTM1 in autophagic clearance of a non-ubiquitylated substrate. *J Cell Sci* 2011; 124 (Pt 16): 2692–2701.
- 57 Tang F, Wang B, Li N, Wu Y, Jia J, Suo T, Chen Q, Liu YJ, Tang J. RNF185, a novel mitochondrial ubiquitin E3 ligase, regulates autophagy through interaction with BNIP1. *PLoS One* 2011; 6(9): e24367.
- 58 Tanaka A, Cleland MM, Xu S, Narendra DP, Suen DF, Karbowski M, Youle RJ. Proteasome and p97 mediate mitophagy and degradation of mitofusins induced by Parkin. *J Cell Biol* 2010; 191(7): 1367–1380.
- 59 Chan NC, Salazar AM, Pham AH, Sweredoski MJ, Kolawa NJ, Graham RL, Hess S, Chan DC. Broad activation of the ubiquitin-proteasome system by Parkin is critical for mitophagy. *Hum Mol Genet* 2011; 20(9): 1726–1737.
- 60 Okatsu K, Saisho K, Shimanuki M, Nakada K, Shitara H, Sou YS, Kimura M, Sato S, Hattori N, Komatsu M, Tanaka K, Matsuda N. p62/SQSTM1 cooperates with Parkin for perinuclear clustering of depolarized mitochondria. *Genes Cells* 2010; 15(8): 887–900.
- 61 Narendra D, Kane LA, Hauser DN, Fearnley IM, Youle RJ. p62/SQSTM1 is required for Parkin-induced mitochondrial clustering but not mitophagy; VDAC1 is dispensable for both. *Autophagy* 2010; 6(8): 1090–1106.
- 62 Gilkerson RW, De Vries RL, Lebot P, Wikstrom JD, Torgyekes E, Shirihai OS, Przedborski S, Schon EA. Mitochondrial autophagy in cells with mtDNA mutations results from synergistic loss of transmembrane potential and mTORC1 inhibition. *Hum Mol Genet* 2012; 21(5): 978–990.
- 63 Ashrafi G, Schwarz TL. The pathways of mitophagy for quality control and clearance of mitochondria. *Cell Death Differ* 2013; 20(1): 31–42.
- 64 Chen HJ (陈洪菊), Qu Y, Mu DZ. The progress of study on the biological function of mTOR pathway. *Chem Life (生命的化学)* 2010; 30(4): 555–561 (Chinese, English abstract).
- 65 Duran A, Amanchy R, Linares JF, Joshi J, Abu-Baker S, Porollo A, Hansen M, Moscat J, Diaz-Meco MT. p62 is a key regulator of nutrient sensing in the mTORC1 pathway. *Mol Cell* 2011; 44(1): 134–146.
- 66 Moscat J, Diaz-Meco MT. Feedback on fat: p62-mTORC1-autophagy connections. *Cell* 2011; 147(4): 724–727.

- 67 Komatsu M, Kageyama S, Ichimura Y. p62/SQSTM1/A170: physiology and pathology. *Pharmacol Res* 2012; 66(6): 457–462.
- 68 Stepkowski TM, Kruszewski MK. Molecular cross-talk between the NRF2/KEAP1 signaling pathway, autophagy, and apoptosis. *Free Radic Biol* 2011; 50(9): 1186–1195.
- 69 Copple IM, Lister A, Obeng AD, Kitteringham NR, Jenkins RE, Layfield R, Foster BJ, Goldring CE, Park BK. Physical and functional interaction of sequestosome 1 with Keap1 regulates the Keap1-Nrf2 cell defense pathway. *J Biol Chem* 2010; 285(22): 16782–16788.
- 70 Bitto A, Lerner CA, Nacarelli T, Crowe E, Torres C, Sell C. p62/SQSTM1 at the interface of aging, autophagy, and disease. *Age (Dordr)* 2014; 36(3): 9626.
- 71 Rodriguez A, Durán A, Selloum M, Champy MF, Diez-Guerra FJ, Flores JM, Serrano M, Auwerx J, Diaz-Meco MT, Moscat J. Mature-onset obesity and insulin resistance in mice deficient in the signaling adapter p62. *Cell Metab* 2006; 3(3): 211–222.
- 72 Nihira K, Miki Y, Ono K, Suzuki T, Sasano H. An inhibition of p62/SQSTM1 caused autophagic cell death of several human carcinoma cells. *Cancer Sci* 2014; 105(5): 568–575.
- 73 Inoue D, Suzuki T, Mitsuishi Y, Miki Y, Suzuki S, Sugawara S, Watanabe M, Sakurada A, Endo C, Uruno A, Sasano H, Nakagawa T, Satoh K, Tanaka N, Kubo H, Motohashi H, Yamamoto M. Accumulation of p62/SQSTM1 is associated with poor prognosis in patients with lung adenocarcinoma. *Cancer Sci* 2012; 103(4): 760–766.
- 74 Galavotti S, Bartesaghi S, Faccenda D, Shaked-Rabi M, Sanzone S, McEvoy A, Dinsdale D, Condorelli F, Brandner S, Campanella M, Grose R, Jones C, Salomoni P. The autophagy-associated factors DRAM1 and p62 regulate cell migration and invasion in glioblastoma stem cells. *Oncogene* 2013; 32(6): 699–712.
- 75 Mathew R, Karp CM, Beaudoin B, Vuong N, Chen G, Chen HY, Bray K, Reddy A, Bhanot G, Gelinac C, Dipaola RS, Karantza-Wadsworth V, White E. Autophagy suppresses tumorigenesis through elimination of p62. *Cell* 2009; 137(6): 1062–1075.
- 76 Duran A, Linares JF, Galvez AS, Wikenheiser K, Flores JM, Diaz-Meco MT, Moscat J. The signaling adaptor p62 is an important NF-kappaB mediator in tumorigenesis. *Cancer Cell* 2008; 13(4): 343–354.
- 77 Ling J, Kang Y, Zhao R, Xia Q, Lee DF, Chang Z, Li J, Peng B, Fleming JB, Wang H, Liu J, Lemischka IR, Hung MC, Chiao PJ. KrasG12D-induced IKK2/ β /NF- κ B activation by IL-1 α and p62 feedforward loops is required for development of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Cancer Cell* 2012; 21(1): 105–120.
- 78 Padmanabhan B, Tong KI, Ohta T, Nakamura Y, Scharlock M, Ohtsui M, Kang MI, Kobayashi A, Yokoyama S, Yamamoto M. Structural basis for defects of Keap1 activity provoked by its point mutations in lung cancer. *Mol Cell* 2006; 21(5): 689–700.
- 79 Singh A, Misra V, Thimmulappa RK, Lee H, Ames S, Hoque MO, Herman JG, Baylin SB, Sidransky D, Gabrielson E, Brock MV, Biswal S. Dysfunctional KEAP1-NRF2 interaction in non-small-cell lung cancer. *PLoS Med* 2006; 3(10): e420.
- 80 Shibata T, Kokubu A, Gotoh M, Ojima H, Ohta T, Yamamoto M, Hirohashi S. Genetic alteration of Keap1 confers constitutive Nrf2 activation and resistance to chemotherapy in gallbladder cancer. *Gastroenterology* 2008; 135(4): 1358–1368.
- 81 DeNicola GM, Karreth FA, Humpton TJ, Gopinathan A, Wei C, Frese K, Mangal D, Yu KH, Yeo CJ, Calhoun ES, Scrimieri F, Winter JM, Hruban RH, Iacobuzio-Donahue C, Kern SE, Blair IA, Tuveson DA. Oncogene-induced Nrf2 transcription promotes ROS detoxification and tumorigenesis. *Nature* 2011; 475(7354): 106–109.
- 82 Inami Y, Waguri S, Sakamoto A, Kouno T, Nakada K, Hino O, Watanabe S, Ando J, Iwadate M, Yamamoto M, Lee MS, Tanaka K, Komatsu M. Persistent activation of Nrf2 through p62 in hepatocellular carcinoma cells. *J Cell Biol* 2011; 193(2): 275–284.
- 83 Zatloukal K, Stumptner C, Fuchsichler A, Heid H, Schnoelzer M, Kenner L, Kleinert R, Prinz M, Aguzzi A, Denk H. p62 is a common component of cytoplasmic inclusions in protein aggregation diseases. *Am J Pathol* 2002; 160(1): 255–263.
- 84 Babu JR, Geetha T, Wooten MW. Sequestosome 1/p62 shuttles polyubiquitinated tau for proteasomal degradation. *J Neurochem* 2005; 94(1): 192–203.
- 85 Du Y, Wooten MC, Wooten MW. Oxidative damage to the promoter region of SQSTM1/p62 is common to neurodegenerative disease. *Neurobiol Dis* 2009; 35(2): 302–310.
- 86 Vargas MR, Johnson DA, Sirkis DW, Messing A, Johnson JA. Nrf2 activation in astrocytes protects against neurodegeneration in mouse models of familial amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurosci* 2008; 28(50): 13574–13581.
- 87 von Otter M, Landgren S, Nilsson S, Celojovic D, Bergström P, Håkansson A, Nissbrandt H, Drozdik M, Bialecka M, Kurzawski M, Blennow K, Nilsson M, Hammarsten O, Zetterberg H. Association of Nrf2-encoding NFE2L2 haplotypes with Parkinson's disease. *BMC Med Genet* 2010; 11: 36.

- 88 Cundy T, Naot D, Bava U, Musson D, Tong PC, Bolland M. Familial Paget disease and SQSTM1 mutations in New Zealand. *Calcif Tissue Int* 2011; 89(3): 258–264.
- 89 Helfrich MH, Hocking LJ. Genetics and aetiology of Pagetic disorders of bone. *Arch Biochem Biophys* 2008; 473(2): 172–182.
- 90 Cavey JR, Ralston SH, Sheppard PW, Ciani B, Gallagher TR, Long JE, Searle MS, Layfield R. Loss of ubiquitin binding is a unifying mechanism by which mutations of SQSTM1 cause Paget's disease of bone. *Calcif Tissue Int* 2006; 78(5): 271–277.
- 91 Durán A, Serrano M, Leitges M, Flores JM, Picard S, Brown JP, Moscat J, Diaz-Meco MT. The atypical PKC-interacting protein p62 is an important mediator of RANK-activated osteoclastogenesis. *Dev Cell* 2004; 6(2): 303–309.
- 92 Ciani B, Layfield R, Cavey JR, Sheppard PW, Searle MS. Structure of the ubiquitin-associated domain of p62 (SQSTM1) and implications for mutations that cause Paget's disease of bone. *J Biol Chem* 2003; 278(39): 37409–37412.
- 93 Galson DL, Roodman GD. Pathobiology of Paget's disease of bone. *J Bone Metab* 2014; 21(2): 85–98.