

## 泛素-蛋白酶体系统在视网膜病变中的作用及其机制

王帅 综述 刘升强 审校

大连医科大学附属第二医院眼科 116027

通信作者:刘升强,Email:liusq1103@126.com

**【摘要】** 泛素-蛋白酶体系统是真核细胞内重要的蛋白质降解系统,参与调节细胞周期、基因转录、抗原递呈、细胞增生与分化以及信号转导等各种病理生理过程。泛素-蛋白酶体功能异常与肿瘤、神经退行性疾病、心血管疾病等多种疾病致病机制相关。近年来,越来越多的研究也证实泛素-蛋白酶体系统存在于视网膜中,一些视网膜损伤在退行性疾病人群中同步出现。泛素-蛋白酶体系统参与视网膜氧化应激、炎症反应、血管新生、神经损伤、信号转导等病理生理过程。在糖尿病视网膜病变、年龄相关性黄斑变性、视网膜色素变性等疾病的发生和发展过程中,核因子  $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)、转化生长因子- $\beta$ (TGF- $\beta$ )、活性氧簇(ROS)等一些信号通路起重要作用,其蛋白质的降解和合成失衡对视网膜疾病的病理生理过程产生重大影响。应用蛋白酶体抑制剂可以减轻网膜病变炎症等病理改变。本文对泛素-蛋白酶体系统在视网膜病变中的作用及机制进行综述。

**【关键词】** 泛素-蛋白酶体系统;糖尿病视网膜病变;年龄相关性黄斑变性;视网膜色素变性;病理生理机制

**基金项目:** 辽宁省自然科学基金项目(20180550740)

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2019.10.015

### Effects of ubiquitin-proteasome system in retinopathy and their mechanism

Wang Shuai, Liu Shengqiang

Department of Ophthalmology, The Second Hospital of Dalian Medical University, Dalian 116027, China

Corresponding author: Liu Shengqiang, Email: Liusq1103@126.com

**【Abstract】** Ubiquitin-proteasome system (UPS) is the important protein degradation system in eukaryotic cells, participates in cell cycle, gene transcription, antigen-presenting, cell proliferation and differentiation, signal transduction and many other physiological processes. UPS dysfunction relates to pathogenic mechanisms in a variety of diseases such as cancer, neurodegenerative diseases and cardiovascular disease. In recent years, more and more researches confirmed that UPS exists in the retina, some retinal damage appeared in patients with neurodegenerative conditions. UPS is involved in the pathogenesis of diabetic retinopathy, age-related macular degeneration, macular pigment degeneration and other retinal diseases by regulating retinal oxidative stress, inflammation, angiogenesis, nerve damage, signal transduction and so on. Some signaling pathways, such as nuclear factor  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B), transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) and reactive oxygen species (ROS) play an important role. Their proteins degradation and synthesis of imbalances have a significant impact on the pathophysiological process of retinal diseases. Proteasome inhibitors can reduce inflammation pathological changes in retinal lesions. This review focused on the research progress of UPS in the development of retinopathy.

**【Key words】** Ubiquitin-proteasome system; Diabetic retinopathy; Age-related macular degeneration; Macular pigment degeneration; Physiopathologic mechanism

**Fund program:** Natural Science Foundation of Liaoning (20180550740)

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2019.10.015

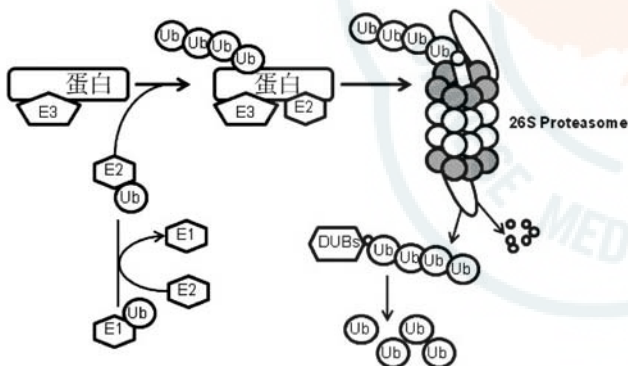
正常细胞的蛋白质代谢是一个持续降解、合成的动态平衡过程。真核细胞内主要存在 2 种蛋白降解系统:一种是溶酶体,主要降解经胞吞进入细胞中的胞外蛋白质;另一种是泛素-蛋白酶体系统(ubiquitin-proteasome system, UPS),主要降解细

胞内 80%~90% 泛素化的蛋白质,包括细胞质和细胞核内一些半衰期短的调节蛋白和一些变性、变构蛋白及癌基因产物。研究证明,细胞内 UPS 的平衡失调与许多疾病的致病机制相关,如肿瘤、心肌病、血管性疾病、代谢性疾病以及年龄相关性疾

病。近年来发现 UPS 在视网膜氧化应激、炎症反应、血管新生、基因调控及信号转导等多个生理病理过程中发挥重要作用,对糖尿病视网膜病变 (diabetic retinopathy, DR)、年龄相关性黄斑病变 (age-related macular degeneration, AMD) 及视网膜色素变性 (retinitis pigmentosa, RP) 等视网膜病变的发病过程具有重要的生物学意义。目前,应用 UPS 相关抑制剂作为基因靶向药物干预视网膜病变的病理生理过程逐渐成为治疗视网膜疾病的研究热点。

## 1 UPS

UPS 是真核细胞内重要的蛋白质降解系统之一,参与调节细胞周期、基因转录、抗原递呈、细胞增生与分化以及信号转导等多种生理过程<sup>[1-2]</sup>。UPS 由泛素、泛素活化酶 (E1)、泛素连接酶 (E2)、泛素蛋白连接酶 (E3)、26S 蛋白酶体和去泛素化酶 (DUBs) 组成。UPS 降解蛋白是一种级联反应过程。首先泛素分子通过共价键与靶蛋白连接;然后 E1 与泛素分子形成硫酯键,激活泛素并通过能量依赖的方式将其与 E2 相连,E3 将激活的泛素与靶蛋白相连,形成泛素多肽链;最后完成泛素化的蛋白质被 26S 蛋白酶体所降解 (图 1)。



**图 1 UPS 示意图** E1 与泛素分子 Ub 形成硫酯键,激活泛素并通过能量依赖的方式将其与 E2 相连,E3 将激活的泛素与靶蛋白相连,形成泛素多肽链,最后完成泛素化的蛋白质被 26S 蛋白酶体所降解,释放游离肽链,在 DUBs 催化下同时释放泛素分子。20S 蛋白酶体由  $\alpha$  和  $\beta$  环形结构域组成, $\alpha$  环位于外部 (灰色),是 20S 的固有亚单位。 $\beta$  环位于颗粒的内部 (白色) Ub:泛素;E1:泛素活化酶;E2:泛素连接酶;E3:泛素蛋白连接酶;DUBs:去泛素化酶;26S Proteasome:26S 蛋白酶体

泛素连接酶 E2 为小分子蛋白质,核心区域内含有活性所需的半胱氨酸残基,可催化泛素与底物蛋白之间形成异肽键<sup>[3]</sup>。人类基因组编码了一种唯一的 E1、约 50 种 E2 和 600 多种 E3。不同的 E3 可以识别不同的底物,决定了泛素化过程的特异性和选择性。目前主要有 2 种类型 E3:含有 HECT 结构域的 E3,含有环指状结构域或含有 U-box 结构域的 E3。环指状结构域的 E3 包含相似的 E2 结合结构域,作为桥梁将活化的泛素从 E2 直接转移到靶蛋白,本身不与泛素发生作用。而 HECT 家族的 E3 除与 E2 结合外,均包含 HECT 催化结构域,其中保守的 Cys 残基可与 E2 携带的泛素形成硫酯键,E2 先将泛素传递给 E3,再由 E3 递呈给底物<sup>[4]</sup>。

26S 蛋白酶体由 20S 核心亚基、19S 调节亚基及 11S 调节亚基组成。19S (PA700) 具有识别、展开靶蛋白及移除泛素的功能,可以辅助靶蛋白进入 20S 通道,促进对靶蛋白的降解。11S (PA28) 不具有识别功能,其具体作用尚不清楚。20S 核心亚基由  $\alpha$  和  $\beta$  亚单位组成,7 个  $\alpha$  或  $\beta$  亚单位组成 1 个环形结构域,2 个  $\alpha$  环及 2 个  $\beta$  环组成桶状核心颗粒。 $\alpha$  环位于外部,是 20S 的固有亚单位。 $\beta$  环位于颗粒的内部,其中  $\beta 1$ 、 $\beta 2$ 、 $\beta 5$  为功能亚单位,分别具有半胱氨酸酶、胰蛋白酶、糜蛋白酶 3 种蛋白水解酶活性。3 种亚基分别识别蛋白的不同表位,决定降解蛋白的种类及降解速度<sup>[5]</sup>。

UPS 可以精细调节细胞周期的进程、抑制或促进细胞凋亡以及激活转录因子的表达。UPS 异常与肿瘤、神经退行性疾病、心血管疾病的致病机制相关。应用泛素-蛋白酶体抑制剂能够诱导凋亡、杀死肿瘤细胞、克服药物耐药性和增加放射敏感性,缓解神经退行性病变<sup>[6-7]</sup>。UPS 还能够调控血管平滑肌细胞凋亡及表型转换,在动脉粥样硬化、血管损伤后再狭窄、高血压等血管疾病的发病过程中具有重要的生物学意义<sup>[3]</sup>。近年来,越来越多研究证实 UPS 存在于视网膜中,一些视网膜损伤在退行性疾病人群中同步出现。UPS 参与视网膜氧化应激、炎症反应、血管新生、神经损伤和信号转导等病理生理过程<sup>[8]</sup>。

## 2 UPS 与 DR

DR 是糖尿病常见的微血管并发症之一,主要特征包括视网膜微血管瘤、毛细血管闭塞、渗出以及新生血管形成。在增生性 DR 患者的视网膜前膜组织中,泛素、E3 及 26S 蛋白酶体表达增加<sup>[9]</sup>。UPS 通过调节视网膜氧化应激、炎症反应、血管新生、神经损伤及血-视网膜屏障等病理过程参与 DR 的发生。

### 2.1 UPS 与视网膜氧化应激反应

在高血糖条件下,视网膜血管内皮中氧化应激系统和 UPS 同时激活是导致 DR 的重要病理机制<sup>[10]</sup>。在高糖刺激的人视网膜血管内皮细胞及 DR 大鼠模型中,泛素、E3 及 26S 蛋白酶体表达水平增加,活性氧簇 (reactive oxygen species, ROS) 系统激活,细胞凋亡增加。应用蛋白酶体抑制剂 MG132 或 UbshRNA 可下调 ROS 表达水平,减少细胞凋亡<sup>[9]</sup>。同时,氧化应激也能够激活 UPS,促进葡萄糖载体 1 泛素化并通过自噬-溶酶体降解减少对视网膜血管内皮细胞的葡萄糖运输,进而导致细胞损伤<sup>[11]</sup>。体外视网膜细胞培养实验结果显示,高糖刺激下视网膜内皮细胞及周细胞中泛素化蛋白水平显著增高。在糖尿病小鼠的视网膜中,视网膜周细胞的糜蛋白酶活性也增强,11S 中 PA28- $\alpha$ / $\beta$  和 PA28- $\beta$ / $\gamma$  蛋白表达显著增加<sup>[12]</sup>。这些研究表明 UPS 参与高糖引起的视网膜氧化应激损伤过程。

### 2.2 UPS 与视网膜炎症反应

近年来,研究表明 UPS 通过调节炎症反应参与 DR 的发生和发展。核转录因子  $\kappa$ B (nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B) 是一个核转录因子蛋白家族,参与调控免疫反应的早期和炎症反应各阶段的许多分子。抑制蛋白  $\kappa$ B (inhibition  $\kappa$ B, I $\kappa$ B) I $\kappa$ B 是细胞内该通路的主要负性调节蛋白,UPS 可通过降解 I $\kappa$ B 来负性激活 NF- $\kappa$ B 通路。大鼠 DR 模型中,UPS 降解 I $\kappa$ B 蛋白,使 NF- $\kappa$ B 磷

酸化,上调多种炎症因子和黏附分子的表达,加重炎症反应。DR 大鼠经蛋白酶抑制剂 MG132 处理后发现, I $\kappa$ B 表达增多, NF- $\kappa$ B 不能被磷酸化,导致通路抑制,DR 大鼠视网膜炎症反应减轻,同时发现视网膜神经节凋亡细胞减少<sup>[13]</sup>。

在众多细胞因子中,转化生长因子- $\beta$  (transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ ) 具有调控基因表达及促细胞外基质沉积的作用。在非增生 DR 患者房水及增生性 DR 患者玻璃体腔中, TGF- $\beta$  表达增加<sup>[14-15]</sup>。Smad7 是 TGF- $\beta$ /Smads 信号通路中主要的负性调节蛋白,是重要的抗纤维化因子,能够减轻视网膜病变中的纤维化损伤<sup>[16]</sup>。UPS 中泛素连接酶 Smurf 参与 TGF- $\beta$ /Smads 信号通路的降解调节<sup>[17]</sup>。DR 视网膜组织中 UPS 功能上调,降解 Smad7,激活 TGF- $\beta$ /Smads 信号通路,使炎症纤维化反应增加,加重 DR 进展。应用 UPS 抑制剂 MG132 可减少 Smad7 降解,抑制 TGF- $\beta$ /Smads 信号通路,减轻对血管内皮细胞的损伤,缓解早期 DR 炎症反应,负性调节 DR 的发生和发展<sup>[18]</sup>。

### 2.3 UPS 与视网膜血管新生及神经损伤

DR 早期黄斑区缺血缺氧造成血管内皮细胞过度增生;当 DR 发展至进展期时,患者会出现严重的视力丢失。研究发现,低氧诱导因子 (hypoxia-inducible factor, HIF) 所介导的级联信号放大效应能激活血管相关因子的转录过程。HIF-1 与内皮细胞低氧应答基因相结合,上调一系列血管生长因子,如血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF)、促红细胞生成素和内皮素 1 的表达<sup>[19]</sup>。使用 MG132 可以减少由低氧诱导的 HIF-1 $\alpha$  在细胞中聚集<sup>[20]</sup>。这些研究提示,应用蛋白酶体抑制剂可成为治疗早期 DR 的有效方法。

在对合并高血压 DR 的研究中发现,血管紧张素 II (angiotensin II, Ang II) 通过作用于视网膜血管引起微血管损伤。DR 视网膜内层中 Ang II 1 型受体信号通路激活蛋白激酶 ERK,导致 UPS 系统激活,进而可能通过活化 SIAHE3 连接酶导致糖尿病小鼠的 SYP 大量泛素化降解<sup>[21]</sup>,引起突触素 (神经递质释放的突触小泡蛋白) 活性下降,导致视网膜神经元及视觉功能损伤<sup>[22]</sup>。研究证实,肾素-血管紧张素系统和 ROS 均能通过激活 UPS 系统引起突触素降解增多,导致神经损伤,两者可能在 DR 进展过程中存在协同作用<sup>[21,23]</sup>。

### 2.4 UPS 与血-视网膜屏障

介导细胞间通讯的缝隙连接蛋白对维持血-视网膜稳态起到重要作用。研究表明,DR 患者眼内血-视网膜屏障破坏与血管内皮细胞缝隙连接障碍相关。

高血糖刺激下牛视网膜内皮细胞缝隙连接蛋白 Cx43 表达水平较对照组下降 50%。应用蛋白酶体抑制剂可逆转由高血糖引起的 Cx43 表达减少。这说明蛋白酶体系统激活可降解血管内皮细胞缝隙连接蛋白,减少细胞间通讯,进而破坏 DR 患者眼内的血-视网膜屏障<sup>[24]</sup>。

## 3 UPS 与 AMD

AMD 是中央区视网膜慢性进展性疾病,病变发生在黄斑区视网膜以及脉络膜之间,导致患者中央视力进行性下降。

UPS 维持视网膜色素上皮细胞蛋白质稳态<sup>[25]</sup>,并通过调节氧化应激及炎症反应共同导致 AMD。

### 3.1 UPS 与色素上皮层氧化应激、炎症反应

氧化应激引起的视网膜色素上皮细胞功能紊乱与 AMD 的发病机制密切相关<sup>[26]</sup>,氧化应激可导致蛋白质错误折叠、沉积,甚至细胞凋亡。随着衰老的发生,UPS 功能受抑制导致泛素化蛋白的积蓄和热休克因子 1 的活化,进而引起热休克蛋白蓄积,导致 AMD 患者视网膜色素上皮细胞功能紊乱,这一过程与 AMD 的病理机制密切相关<sup>[27]</sup>。研究表明,在 AMD 患者的视网膜玻璃疣区域有大量泛素化蛋白聚集,这与蛋白酶体受抑制有关,大量泛素化蛋白不能被及时降解<sup>[28]</sup>。随着年龄增加,去泛素化酶 UCHL1 在色素上皮细胞中表达升高<sup>[23]</sup>。在 2 型共济失调患者视网膜神经节细胞、视网膜色素上皮细胞、玻璃疣和基底膜沉积物以及氯喹引起的视网膜变性大鼠模型的神经节细胞中均有大量泛素化蛋白表达<sup>[29-30]</sup>。视网膜色素上皮层大量表达泛素化沉积物现象说明视网膜色素上皮层中被泛素化的蛋白未被进一步降解,衰老引起的视网膜蛋白酶体功能下降也是年龄相关性视网膜病变的发病原因之一。

此外,在体外培养的视网膜色素上皮细胞中发现,UPS 在调控转录因子,如 HIF、NF- $\kappa$ B 活性中起重要作用。在视网膜色素上皮层中,由氧化应激引起的白细胞介素-8 (interleukin-8, IL-8) 分泌上调与蛋白酶体的氧化失活有关<sup>[31]</sup>。UPS 功能损伤可增加 VEGF、Ang II 等促血管生成因子的分泌及蓄积,进一步促进 AMD 的发生<sup>[32]</sup>。在 AMD 患者视网膜中,还观察到 LMP2/ $\beta$ 1i 和 LMP7/ $\beta$ 5i 亚基表达上调,黄斑区蛋白酶体激活亚基 PA28(11S) 表达上调,这一现象说明 AMD 病程进展与标准蛋白酶体转化为免疫蛋白酶体相关<sup>[33]</sup>。在对敲除免疫蛋白酶体基因小鼠视网膜色素上皮细胞的研究中发现,免疫蛋白酶体参与调节 NF- $\kappa$ B 和 Akt 通路<sup>[34-35]</sup>。在  $\beta$ 1i 敲除的小鼠模型中,视网膜氧化蛋白表达增加<sup>[36]</sup>。一系列假说指出免疫蛋白酶体可能在氧化/氮化应激损伤中起到重要作用。因此,晚期 AMD 中免疫蛋白酶体的激活是神经视网膜发生炎症和氧化应激的指标。

### 3.2 UPS 与 AMD 相关的基因水平改变

泛素化蛋白聚集通常反映出蛋白酶体功能受到抑制。AMD 患者黄斑区泛素化蛋白沉积提示蛋白酶体在 AMD 病程中功能发生紊乱。在对 AMD 患者的视网膜组织及视网膜色素上皮层线粒体 DNA 损伤程度的一项评估中发现,线粒体 DNA 随着 AMD 病程进展损伤加重,而这一现象具有组织特异性,只存在于视网膜色素上皮细胞中<sup>[37]</sup>。近年研究发现,东亚人群中 AMD 的发生与泛素蛋白连接酶 UBE3D 的单核苷酸多态性密切相关,在 UBE3D 敲除的杂合模型小鼠中,视网膜色素上皮层形态发生改变,颗粒沉积增加,视网膜电图改变明显<sup>[38]</sup>。这提示我们 UPS 通路在 AMD 的发病机制中发挥着重要作用,进一步阐明 UPS 在 AMD 病程中的具体生理过程,探索 UPS 可调控靶点及抑制剂对延缓 AMD 的病程有重要意义。

## 4 UPS 与 RP

RP 是一组以视野进行性缩小、夜盲、眼底改变为特征的遗

传性眼病,与视网膜光感受器退化性改变及视网膜色素上皮层丢失病理过程相关。在遗传性 RP 患者中,发现编码拓扑异构酶结合 1 (Topoisomerase I-binding RS, *TOPORS*) 基因发生突变<sup>[39]</sup>。*TOPORS* 是一种泛素连接酶,与其他含 RING 结构域的 E3 类似,*TOPORS* 有特殊的 E2 酶并表达在包括视网膜细胞在内的多种细胞核中,能够泛素化 p53,与 DNA 修复、视觉功能保护、应激、蛋白水解、细胞周期调节有关。此外,研究发现 CUL3-based E3 连接酶的底物 *KLHL7* 基因发生错义突变与遗传性 RP 相关<sup>[40]</sup>。*KLHL7* 可通过与 CUL3 的 BACK 和 BTB 结构域相结合形成复合物。*KLHL7* 突变导致 CUL3 与 *KLHL7* 的复合体 E3 连接酶活性降低,从而抑制 UPS 有效降解蛋白过程,导致泛素降解物在光感受器层的过度蓄积<sup>[41]</sup>,引起 RP 发生。视网膜细胞中 *RPE65* 基因的超过 100 种突变方式与 RP 相关。研究表明,基因疗法并不能阻止 RP 持续进程<sup>[42]</sup>。非 ATP 酶蛋白酶体 26S 亚基 13 (proteasome 26S subunit non ATPase 13, *PSMD13*) 是新发现的 *RPE65* 负性调节蛋白<sup>[43]</sup>,能够降解突变 *RPE65* 蛋白。在 *PSMD13* 敲除的视网膜色素上皮细胞中,*RPE65* 突变蛋白表达增加<sup>[44]</sup>。

此外,在遗传性 RP 患者中,超过 100 种基因突变与 *RHO* 基因密切相关。*RHO* 基因编码光感受器细胞中的视紫红质,大多数突变影响蛋白质在视网膜中的运输及视紫红质氨基酸序列的改变,导致编码的蛋白质错误折叠<sup>[45]</sup>。其中,在 P23H 突变时,UPS 不能有效转运并降解错误折叠的视紫红质蛋白,使这些蛋白质沉积在细胞核,破坏网状结构,影响细胞信号传导通路,导致蛋白质停留在内质网无法到达光感受器外层<sup>[46]</sup>。

## 5 小结

蛋白质的降解和合成是处于动态平衡的状态中的,若平衡被打破,机体就会受到一定程度的损伤。当 UPS 的酶或识别特异性底物的基序发生功能性突变时,其对靶蛋白的调控能力丧失可以引起癌蛋白聚集、抑癌蛋白异常降解、突变细胞凋亡受阻和增生加速,从而导致肿瘤发生。应用 UPS 抑制剂能够诱导凋亡、杀死肿瘤细胞、克服药物耐药性和增加放射敏感性。*Bortezomib* 是首个用于临床试验的蛋白酶体抑制剂,它能够使 1/3 复发的和难控制的多发性骨髓瘤患者获得明显的临床受益<sup>[6]</sup>。*Bortezomib* 的作用机制部分是通过抑制 NF- $\kappa$ B 介导的,能够引起细胞凋亡,降低血管生长细胞因子的表达,抑制肿瘤细胞与基质黏附<sup>[6]</sup>。*Zhao* 等<sup>[47]</sup> 在硼替佐米联合紫杉醇、卡铂及胸部放射治疗的肺癌临床治疗研究中也提示该方案可使患者获得生存收益。近期研究提示,UPS 在心血管系统的发育分化、动脉粥样硬化、血管损伤后再狭窄、心肌肥大、心肌缺血-再灌注损伤等心血管疾病中具有重要的生物学意义,其主要通过调节平滑肌细胞表型转换及凋亡、氧化应激反应、细胞周期、转录调控等发挥作用<sup>[3]</sup>。一些神经退行性疾病,包括帕金森病、阿尔兹海默病和亨廷顿舞蹈病与 UPS 活性损伤致不溶性高分子蛋白质聚合物沉积紧密相关<sup>[48]</sup>。一些视网膜损伤在这类人群中同步出现。 $\beta$ -淀粉样蛋白斑块形成是阿尔兹海默病的典型病理特征, $\beta$ -淀粉样蛋白是 20S 蛋白酶体的底物。在阿尔兹

海默病的病理过程中,大量  $\beta$ -淀粉样蛋白沉积导致蛋白酶体功能受到抑制。研究发现,在阿尔兹海默病模型鼠视网膜中  $\beta$ -淀粉样蛋白沉积早于大脑<sup>[49]</sup>。这提示我们在中枢神经系统及视网膜中 UPS 活性存在相似之处。*Sharma* 等<sup>[7]</sup> 发现,在半胱氨酸串联蛋白缺乏的小鼠模型中,蛋白酶体抑制剂能够缓解神经退行性病变并延长小鼠寿命。其中,UPS 如何介导这一系列病理生理过程还需要更多的研究。

在细胞生理活动中,蛋白质降解发挥着不可替代的作用,蛋白质降解异常将会导致视网膜疾病。在 DR、AMD、RP 等疾病的发生和发展过程中,NF- $\kappa$ B、TGF- $\beta$ 、ROS 等一些信号通路起着重要作用,其蛋白质的降解和合成失衡将对视网膜疾病的病理生理过程产生重大影响。目前研究已经证实,应用蛋白酶体抑制剂可以减轻 DR 炎症等病理改变;通过上调 UPS 来抑制细胞因子 *SOCS3* 水平可以改善 AMD 相关病症;晚期 AMD 中,免疫蛋白酶体的激活是神经视网膜发生局部炎症或者氧化应激的指标。随着 UPS 对视网膜疾病作用机制研究的深入,特异的泛素-蛋白酶体抑制剂有可能成为一种新型抗视网膜疾病的临床分子靶点药物。

利益冲突 所有作者均声明不存在任何利益冲突

## 参考文献

- [1] Mocciano A, Rape M. Emerging regulatory mechanisms in ubiquitin-dependent cell cycle control [J]. *J Cell Sci*, 2012, 125 (Pt 2): 255-263. DOI:10.1242/jcs.091199.
- [2] Ferrington DA, Gregerson DS. Immunoproteasomes: structure, function, and antigen presentation [J]. *Prog Mol Biol Transl Sci*, 2012, 109: 75-112. DOI:10.1016/B978-0-12-397863-9.00003-1.
- [3] Willis MS, Townley-Tilson WH, Kang EY, et al. Sent to destroy: the ubiquitin proteasome system regulates cell signaling and protein quality control in cardiovascular development and disease [J]. *Circ Res*, 2010, 106(3): 463-478. DOI:10.1161/CIRCRESAHA.109.208801.
- [4] Metzger MB, Hristova VA, Weissman AM. HECT and RING finger families of E3 ubiquitin ligases at a glance [J]. *J Cell Sci*, 2012, 125 (Pt 3): 531-537. DOI:10.1242/jcs.091777.
- [5] Kisselev AF, Garcia-Calvo M, Overkleeft HS, et al. The caspase-like sites of proteasomes, their substrate specificity, new inhibitors and substrates, and allosteric interactions with the trypsin-like sites [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278 (38): 35869-35877. DOI: 10.1074/jbc.M303725200.
- [6] Cavo M. Proteasome inhibitor bortezomib for the treatment of multiple myeloma. *Leukemia*, 2006, 20(8): 1341-1352. DOI:10.1038/sj.leu.2404278.
- [7] Sharma M, Burre J, Sudhof TC. Proteasome inhibition alleviates SNARE-dependent neurodegeneration [J]. *Sci Transl Med*, 2012, 4(147): 147-153. DOI:10.1126/scitranslmed.3004028.
- [8] Campello L, Esteve-Rudd J, Cuenca N, et al. The ubiquitin-proteasome system in retinal health and disease [J]. *Mol Neurobiol*, 2013, 47(2): 790-810. DOI:10.1007/s12035-012-8391-5.
- [9] Luo DW, Zheng Z, Wang H, et al. UPP mediated diabetic retinopathy via ROS/PARP and NF-kappaB inflammatory factor pathways [J]. *Curr Mol Med*, 2015, 15(8): 790-799.
- [10] Pennathur S, Heinecke JW. Mechanisms of oxidative stress in diabetes: implications for the pathogenesis of vascular disease and antioxidant therapy [J]. *Front Biosci*, 2004, 9: 565-574.
- [11] Fernandes R, Hosoya K, Pereira P. Reactive oxygen species downregulate glucose transport system in retinal endothelial cells [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2011, 300(4): 927-936. DOI:10.1152/ajpcell.00140.2010.

- [12] Aghdam SY, Gurel Z, Ghaffarieh A, et al. High glucose and diabetes modulate cellular proteasome function: Implications in the pathogenesis of diabetes complications [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2013, 432(2): 339–344. DOI:10.1016/j.bbrc.2013.01.101.
- [13] Kornitzer D, Ciechanover A. Modes of regulation of ubiquitin-mediated protein degradation [J]. *J Cell Physiol*, 2000, 182(1): 1–11. DOI:10.1002/(SICI)1097-4652(200001)182:1<1::AID-JCP1>3.0.CO;2-V.
- [14] Khuu LA, Tayari F, Sivak JM, et al. Aqueous humour concentrations of TGF- $\beta$ , PLGF and FGF-1 and total retinal blood flow in patients with early non-proliferative diabetic retinopathy [J]. *Acta Ophthalmol*, 2017, 95(3): 206–211. DOI:10.1111/aos.13230.
- [15] Dai Y, Wu Z, Wang F, et al. Identification of chemokines and growth factors in proliferative diabetic retinopathy vitreous [J/OL]. *Biomed Res Int*, 2014, 2014: 486386 [2017-02-03]. <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2014/486386/>. DOI:10.1155/2014/486386.
- [16] Wheeler SE, Lee NY. Emerging roles of transforming growth factor beta signaling in diabetic retinopathy [J]. *J Cell Physiol*, 2017, 232(3): 486–489. DOI:10.1002/jcp.25506.
- [17] 苟文军, 吕红彬. 转化生长因子- $\beta$ /Smads 信号转导通路的泛素化调节在糖尿病视网膜病变中的作用 [J]. *中华实验眼科杂志*, 2013, 31(9): 902–904. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2013.09.023.  
Gou WJ, Lyu HB. Recent progress in the ubiquitination regulation of transforming growth factor- $\beta$ /Smads signal transduction pathway in diabetic retinopathy [J]. *Chin J Exp Ophthalmol*, 2013, 31(9): 902–904. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2013.09.023.
- [18] 苟文军, 刘思源, 覃冬. 泛素-蛋白酶体抑制剂 MG132 对糖尿病大鼠视网膜上 Smad7 表达的影响 [J]. *眼科新进展*, 2012, 32(11): 1014–1016, 1020.  
Gou WJ, Liu SY, Qin D. Effects of ubiquitin-proteasome inhibitor MG132 on expression of Smad7 in retina of rats with diabetes mellitus [J]. *Rec Adv Ophthalmol*, 2012, 32(11): 1014–1016, 1020.
- [19] Hu J, Discher DJ, Bishopric NH, et al. Hypoxia regulates expression of the endothelin-1 gene through a proximal hypoxia-inducible factor-1 binding site on the antisense strand [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1998, 245(3): 894–899. DOI:10.1006/bbrc.1998.8543.
- [20] Lee CS, Choi EY, Lee SC, et al. Resveratrol inhibits hypoxia-induced vascular endothelial growth factor expression and pathological neovascularization [J]. *Yonsei Med J*, 2015, 56(6): 1678–85. DOI:10.3349/ymj.2015.56.6.1678.
- [21] Ozawa Y, Kurihara T, Tsubota K, et al. Regulation of posttranscriptional modification as a possible therapeutic approach for retinal neuroprotection [J/OL]. *J Ophthalmol*, 2011, 2011: 506137 [2017-03-03]. <https://www.hindawi.com/journals/joph/2011/506137/>. DOI:10.1155/2011/506137.
- [22] Curtis TM, Hamilton R, Yong PH, et al. Müller glial dysfunction during diabetic retinopathy in rats is linked to accumulation of advanced glycation end-products and advanced lipoxidation end-products [J]. *Diabetologia*, 2011, 54(3): 690–698. DOI:10.1007/s00125-010-1971-x.
- [23] Ozawa Y, Kurihara T, Sasaki M, et al. Neural degeneration in the retina of the streptozotocin-induced type 1 diabetes model [J/OL]. *Exp Diabetes Res*, 2011, 2011: 108328 [2017-03-04]. <https://www.hindawi.com/journals/jdr/2011/108328/>. DOI:10.1155/2011/108328.
- [24] Fernandes R, Girao H, Pereira P. High glucose down-regulates intercellular communication in retinal endothelial cells by enhancing degradation of connexin 43 by a proteasome-dependent mechanism [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(26): 27219–27224. DOI:10.1074/jbc.M400446200.
- [25] Ciechanover A, Stanhill A. The complexity of recognition of ubiquitinated substrates by the 26S proteasome [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1843(1): 86–96. DOI:10.1016/j.bbamer.2013.07.007.
- [26] Ferrington DA, Sinha D, Kaamiranta K. Defects in retinal pigment epithelial cell proteolysis and the pathology associated with age-related macular degeneration [J]. *Prog Retin Eye Res*, 2016, 51: 69–89. DOI:10.1016/j.preteyeres.2015.09.002.
- [27] Ryhanen T, Mannermaa E, Oksala N, et al. Radicolol but not geldanamycin evokes oxidative stress response and efflux protein inhibition in ARPE-19 human retinal pigment epithelial cells [J]. *Eur J Pharmacol*, 2008, 584(2–3): 229–36. DOI:10.1016/j.ejphar.2008.02.010.
- [28] Viiri J, Amadio M, Marchesi N, et al. Autophagy activation clears ELAVL1/HuR-mediated accumulation of SQSTM1/p62 during proteasomal inhibition in human retinal pigment epithelial cells [J/OL]. *PLoS One*, 2013, 8(7): e69563. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23922739> [2017-03-03]. DOI:10.1371/journal.pone.0069563.
- [29] Mauger C, del Favero J, Ceuterick C, et al. Identification and localization of ataxin-7 in brain and retina of a patient with cerebellar ataxia type II using anti-peptide antibody [J]. *Brain Res Mol Brain Res*, 1999, 74(1–2): 35–43.
- [30] Yoshida T, Fukatsu R, Tsuzuki K, et al. Amyloid precursor protein, A beta and amyloid-associated proteins involved in chloroquine retinopathy in rats—immunopathological studies [J]. *Brain Res*, 1997, 764(1–2): 283–288.
- [31] Kauppinen A, Paterno JJ, Blasiak J, et al. Inflammation and its role in age-related macular degeneration [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2016, 73(9): 1765–1786. DOI:10.1007/s00018-016-2147-8.
- [32] Fernandes AF, Guo W, Zhang X, et al. Proteasome-dependent regulation of signal transduction in retinal pigment epithelial cells [J]. *Exp Eye Res*, 2006, 83(6): 1472–1481. DOI:10.1016/j.exer.2006.07.024.
- [33] Ethen CM, Hussong SA, Reilly C, et al. Transformation of the proteasome with age-related macular degeneration [J]. *FEBS Lett*, 2007, 581(5): 885–890. DOI:10.1016/j.febslet.2007.01.061.
- [34] Schuld NJ, Hussong SA, Kapphahn RJ, et al. Immunoproteasome deficiency protects in the retina after optic nerve crush [J/OL]. *PLoS One*, 2015, 10(5): e0126768 [2017-03-04]. <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0126768>. DOI:10.1371/journal.pone.0126768.
- [35] Maldonado M, Kapphahn RJ, Terluk MR, et al. Immunoproteasome deficiency modifies the alternative pathway of NF $\kappa$ B signaling [J/OL]. *PLoS One*, 2013, 8(2): e56187 [2017-03-05]. <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0056187>. DOI:10.1371/journal.pone.0056187.
- [36] Ding Q, Martin S, Dimayuga E, et al. LMP2 knock-out mice have reduced proteasome activities and increased levels of oxidatively damaged proteins [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2006, 8(1–2): 130–135. DOI:10.1089/ars.2006.8.130.
- [37] Terluk MR, Kapphahn RJ, Soukup LM, et al. Investigating mitochondria as a target for treating age-related macular degeneration [J]. *J Neurosci*, 2015, 35(18): 7304–7311. DOI:10.1523/JNEUROSCI.0190-15.2015.
- [38] Huang LZ, Li YJ, Xie XF, et al. Whole-exome sequencing implicates UBE3D in age-related macular degeneration in East Asian populations [J]. *Nat Commun*, 2015, 6: 6687–6692. DOI:10.1038/ncomms7687.
- [39] Chakarova CF, Papaioannou MG, Khanna H, et al. Mutations in TOPORS cause autosomal dominant retinitis pigmentosa with perivascular retinal pigment epithelium atrophy [J]. *Am J Hum Genet*, 2007, 81(5): 1098–1103. DOI:10.1086/521953.
- [40] Hugosson T, Friedman JS, Ponjavic V, et al. Phenotype associated with mutation in the recently identified autosomal dominant retinitis pigmentosa KLHL7 gene [J]. *Arch Ophthalmol*, 2010, 128(6): 772–778. DOI:10.1001/archophthalmol.2010.98.
- [41] Kigoshi Y, Tsuruta F, Chiba T. Ubiquitin ligase activity of Cul3-KLHL7 protein is attenuated by autosomal dominant retinitis pigmentosa causative mutation [J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(38): 33613–33621. DOI:10.1074/jbc.M111.245126.
- [42] Cideciyan AV, Jacobson SG, Beltran WA, et al. Human retinal gene

- therapy for Leber congenital amaurosis shows advancing retinal degeneration despite enduring visual improvement [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013, 110 (6) : 517 - 525. DOI: 10. 1073/pnas. 1218933110.
- [43] Li S, Lee J, Zhou Y, et al. Fatty acid transport protein 4 (FATP4) prevents light-induced degeneration of cone and rod photoreceptors by inhibiting RPE65 isomerase [J]. *J Neurosci*, 2013, 33 (7) : 3178-3189. DOI:10. 1523/JNEUROSCI. 2428-12. 2013.
- [44] Jin M, Li S, Hu J, et al. Functional rescue of retinal degeneration-associated mutant RPE65 proteins [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2016, 854 : 525-532. DOI:10. 1007/978-3-319-17121-0\_70.
- [45] Opefi CA, South K, Reynolds CA, et al. Retinitis pigmentosa mutants provide insight into the role of the N-terminal cap in rhodopsin folding, structure, and function [J]. *J Biol Chem*, 2013, 288 (47) : 33912-33926. DOI:10. 1074/jbc. M113. 483032.
- [46] Saliba RS, Munro PM, Luthert PJ, et al. The cellular fate of mutant rhodopsin: quality control, degradation and aggresome formation [J]. *J Cell Sci*, 2002, 115 (Pt 14) : 2907-18.
- [47] Zhao Y, Foster NR, Meyers JP, et al. A phase I/II study of bortezomib in combination with paclitaxel, carboplatin, and concurrent thoracic radiation therapy for non-small-cell lung cancer; North Central Cancer Treatment Group (NCCTG)-N0321 [J]. *J Thorac Oncol*, 2015, 10 (1) : 172-180. DOI:10. 1097/JTO. 0000000000000383.
- [48] Cekarini V, Bonfili L, Cuccioloni M, et al. Crosstalk between the ubiquitin-proteasome system and autophagy in a human cellular model of Alzheimer's disease [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2012, 1822 (11) : 1741-1751. DOI:10. 1016/j. bbadis. 2012. 07. 015.
- [49] Koronyo-Hamaoui M, Koronyo Y, Ljubimov AV, et al. Identification of amyloid plaques in retinas from Alzheimer's patients and noninvasive *in vivo* optical imaging of retinal plaques in a mouse model [J]. *Neuroimage*, 2011, 54 Suppl 1 : 204-217. DOI: 10. 1016/j. neuroimage. 2010. 06. 020.

(收稿日期:2018-04-05 修回日期:2019-08-23)

(本文编辑:杜娟)

读者·作者·编者

## 本刊对医学研究中知情同意和医学伦理学描述的要求

根据国际医学期刊编辑委员会提供的“生物医学期刊投稿统一要求”的表述,本刊对作者撰写稿件时关于“知情同意”和“医学伦理学”的描述提出如下要求:

(1) 知情同意 在未事先获得知情同意的情况下,患者有隐私不被侵犯的权力。患者的身份信息,包括姓名、来源、住院号等均不应该以文字、图片或家系信息的方式在出版物上公开,除非这些信息对于本研究是必需的,如需在出版物上显示,应征得患者(或者父母、监护人)签署的书面同意书。

发表的文章中应该省略不必要的患者个人信息,但难以做到完全匿名时(如在照片中掩盖患者的眼部,不足以保护患者的隐私权),应提供知情同意的信息。如果用改变患者的身份特征(如遗传家系等)以保护患者隐私权的方法,作者应该确保这些改变不影响研究的科学性,并且编辑应在文中对此予以说明。

(2) 医学伦理学 以人体为实验对象的研究,作者应该提及试验步骤是否符合相应的负责机构、国家委员会或 1975 年赫尔辛基宣言(2005 年修订)的医学伦理学标准。如果研究过程对是否符合赫尔辛基宣言有疑问或存在一定的问题,作者应当做出客观说明并解释研究的合理性,提交已通过审查机构的批准情况。以动物为实验对象的研究,作者应当说明是否遵循当地的相关机构、学会(国内或国外)及国家实验动物保护和利用指南。

## 本刊对来稿中组织病理学彩色图片及电子显微镜图片中标尺的要求

如果作者稿件中包含有组织病理图、免疫荧光染色图、免疫组织化学图、电子显微镜图片,为了反映组织标本大小的最精确尺度,请在电子版图片的左下方附注标尺。

## 本刊对来稿中电子版图片的要求

自我刊开通网上投稿以来,作者均采用将 Word 文档从网上在线投稿的方式,但部分来稿中所包含的图片像素较低,这些图片便于网上审稿,并不能用于制版印刷。因为显示器与彩印纸品的色彩形成截然不同,显示器应用红、绿、蓝的三原色原理发射光线形成图像,这种色彩形成的原理被称为 RGB 模式;而彩色印刷品是蓝、红、黄、黑四色油墨印制在纸制品上来形成彩色图像,这种原理被称为 CMYK 模式。那些在显示器上看起来比较清晰但分辨率较低的图片在实际印刷时不能转换为高质量 CMYK 模式的图片。为了保证论文的刊出质量及本刊的印刷出版质量,如果作者的来稿中附有组织病理图、免疫荧光染色图、免疫组织化学图、细胞图,请作者将原图保存为 TIFF 格式或 JPG 格式,图片的分辨率至少 300 dpi。

(本刊编辑部)