



细胞氧化还原传感器HSCARG/NMRAL1的结构和功能——从三维结构到生物学功能的十五年探索

郑晓峰*

北京大学生命科学学院, 北京 100871

* 联系人, E-mail: xiaofengz@pku.edu.cn

收稿日期: 2024-10-15; 接受日期: 2024-12-19; 网络版发表日期: 2025-02-20

国家自然科学基金(批准号: 30930020, 30670416)、国家重大科学研究计划(批准号: 2010CB911800)和国家高技术研究发展计划(批准号: 2006AA02A314)资助

摘要 HSCARG(也称为NmrA-like family redox sensor 1, NMRAL1)属于NmrA样蛋白家族. 我们通过对HSCARG三维晶体结构的测定, 首次证明了它是一种在哺乳动物细胞中广泛存在的NADP(H)传感器(sensor). 对其功能的研究表明, HSCARG在调控细胞的氧化还原稳态、先天免疫、DNA损伤修复和癌症发生发展中发挥重要作用. HSCARG通过其N端的Rossmann折叠结构域选择性地结合还原型辅酶II(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate hydrogen, NADPH). 当细胞内NADPH浓度降低时, HSCARG从同源二聚体转变为单体, 并增强与其相互作用蛋白的相互作用. 在细胞质中, HSCARG通过抑制细胞核转录因子- κ B(nuclear factor-kappa B, NF- κ B)和维甲酸诱导基因I受体(RIG-I like receptor, RLR)信号通路的活性来负调节先天免疫. 此外, HSCARG通过抑制活性氧(reactive oxygen species, ROS)和一氧化氮(nitric oxide, NO)的产生来调节氧化还原平衡. 持续的氧化应激导致HSCARG从细胞质转移到细胞核, 在核内分别通过影响组蛋白H2A和增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA)的泛素化调节DNA损伤修复效率. 总之, HSCARG作为细胞氧化还原状态与其他信号通路之间的联系, 来精细地调控细胞对氧化还原变化的响应. 该综述主要总结了我们在过去十五年对氧化还原细胞传感器HSCARG结构和功能的探索 and 认识.

关键词 细胞NADP(H)传感器, HSCARG/NMRAL1, 蛋白质三维结构, 先天免疫, DNA损伤修复, 癌症, 泛素化修饰

氮代谢抑制因子(nitrogen metabolite repressor regulator, NmrA)是一种转录抑制因子, 参与了曲霉菌(*Aspergillus nidulans*)中氮代谢的调节^[1]. NmrA的结构类似于短链脱氢酶/还原酶(short-chain dehydrogenase/reductase, SDR)超家族, 由N端的Rossmann折叠和C端区域组成^[2,3]. 含有Rossmann折叠的蛋白质能够结合细胞

内的辅酶NAD(H)和NADP(H). 然而, 由于Rossmann折叠中的关键酪氨酸酶活性位点突变为甲硫氨酸, NmrA不能催化脱氢反应. NmrA与NAD⁺和NADP⁺的结合亲和力和比它们的还原形式要高得多, 表明NmrA在氧化还原感应中的潜在作用^[4]. 自从NmrA的结构解析以来, 一些细菌或真菌中的NmrA和NmrA样(NMRAL)蛋白

引用格式: 郑晓峰. 细胞氧化还原传感器HSCARG/NMRAL1的结构和功能——从三维结构到生物学功能的十五年探索. 中国科学: 生命科学, 2025, 55: 948–956

Zheng X F. The structure and function of the cellular redox sensor HSCARG/NMRAL1: fifteen years of exploration from three-dimensional structure to biological function (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2025, 55: 948–956, doi: 10.1360/SSV-2024-0298

也被鉴定出来, 包括来自狄氏滴虫(*Dictyostelium discoideum*)的PadA^[5]、大肠杆菌(*Escherichia coli*)的QOR2^[6], 以及植物疫霉(*Phytophthora capsica*)的PcNMRAL1^[7]. 这些NmrA样蛋白能够结合辅酶NAD(H)或NADP(H), 但缺乏脱氢酶活性. 在高等生物中, HSCARG(也称为NmrA-like family redox sensor 1, NMRAL1)也比较保守, 在应答非生物胁迫压力时发挥重要作用, 例如, 大豆中NMRAL1家族蛋白(GmNmrA6)在响应盐和氧化应激时, 通过调节离子平衡和活性氧清除来增强植物的耐盐和抗氧化能力^[8]. 这些研究表明, 在进化过程中, HSCARG在应对环境压力过程中可能发挥重要调控作用.

本研究组2007年通过对HSCARG三维结构的测定, 发现该蛋白具有与短链脱氢酶类似的结构^[9,10], 属于NmrA样蛋白家族, 并且首次证明它是一种在哺乳动物中广泛存在的NADP(H)传感器(sensor)^[10]. NADPH参与了许多生物合成反应和氧化还原反应, 是细胞代谢的关键分子之一, 在细胞的生理活动中发挥重要的作用. NADP(H)感应蛋白通过与NADP(H)的相互作用感知其水平变化来调节细胞内的代谢活动. 我们在过去十五年对该NADPH sensor的生物学功能及其作用的分子机制开展了系列研究(图1A). 本文将对HSCARG的结构和功能进行总结和介绍.

1 HSCARG的结构特征

HSCARG基因位于第16号染色体上, 由5个外显子组成. HSCARG蛋白的氨基酸序列在物种间具有很高的相似性. 2007年我们通过X射线衍射测定了人类HSCARG蛋白的晶体结构(PDB编号2EXX)^[9,10]. 利用DALI数据库进行比对结果表明, HSCARG蛋白与NmrA蛋白的结构较为相似. HSCARG包含两个结构域(图1B, C), N-端结构域由残基1~219组成, 含有一个Rossmann折叠(7个平行的 β -折叠(β -strands)和9个 α -螺旋(α -helices)组成 α/β 结构, 是结合二核苷酸的典型结构); C端结构域包含220~299残基, 具有比较少的二级结构, 包括2个 β -折叠和7个 α -螺旋.

SDRs超家族通常对一种辅酶类型具有很高的选择性, NADP特异性的SDRs包含一对保守的碱性残基, 通过与2'-磷酸相互作用来提供选择性^[4]. HSCARG是NmrA/SDR结构超家族的一员, 虽然它的结构与NmrA

非常相似, 但由于它缺乏SDR超家族蛋白中非常保守的Ser...TyrXXXLys催化基序, 所以不具备短链脱氢酶活性. HSCARG与还原型NADPH(而非NADH)的结合亲和力要高得多. 在NADPH和HSCARG的Rossmann折叠之间形成了总共21个氢键, 使得它们之间的结合非常紧密, 其中6个氢键由残基Thr-13、Arg-37和Lys-41与腺嘌呤核糖核苷酸(adenosine mono phosphate, AMP)部分的额外2'-磷酸之间形成, 这些特征说明了HSCARG对II型辅酶NADPH选择性结合的原因^[10].

2 HSCARG的二聚化与单体

HSCARG蛋白在晶体结构中是以非对称二聚体形式存在, 但是在三羟甲基氨基甲烷(Tris)缓冲液中绝大多数HSCARG蛋白却是以单体形式存在, 表明HSCARG蛋白存在着单体与二聚体的转换现象. 进一步研究表明, HSCARG在体内以3种不同形式存在: (i) 结合NADPH的单体; (ii) 未结合NADPH的单体; (iii) 一个亚基结合NADPH(分子I)而另一个未结合(分子II)的非对称二聚体(图1C). 氧化还原状态导致NADPH浓度的细微变化能够调节这三种形式之间的动态平衡.

HSCARG在结合NADPH时发生的主要构象变化是第81位酪氨酸(tyrosine 81, Tyr81)残基的重定向, 进而与NMP形成氢键, 以及第123位甘氨酸(glycine 123, Gly123)残基的旋转, 由此将127~143残基的二级结构改变为一个完整的 α -螺旋^[9]. 由于SDR家族蛋白通常能够发生寡聚化^[11], 结合NADPH的HSCARG可以与另一个不含有辅酶的HSCARG分子结合. HSCARG非对称二聚体的形成具有独特的表面特性. NADPH与HSCARG分子I形成的19对氢键进一步稳定了该分子与NADPH之间的相互作用; 分子II的第62位谷氨酰胺(glutamine 62, Gln62)和第92位赖氨酸(lysine 92, Lys92)也和AMP各形成了一对氢键. 通过突变体构建、结构分析等实验, 将HSCARG的第37位精氨酸残基(R37)或第81位酪氨酸残基(Y81)突变为丙氨酸会破坏其与NADPH的结合. 因此, R37A和Y81A突变体在体内仅以单体形式存在, 而它们的整体结构与野生型HSCARG二聚体中的NADPH结合分子I相似. 相比之下, 第41位赖氨酸突变为丝氨酸(K41S)的突变体则保留了同源二聚体化的能力, 因为丝氨酸与赖氨酸一样, 能够与NADPH形成类似的氢键^[12], 表明HSCARG蛋

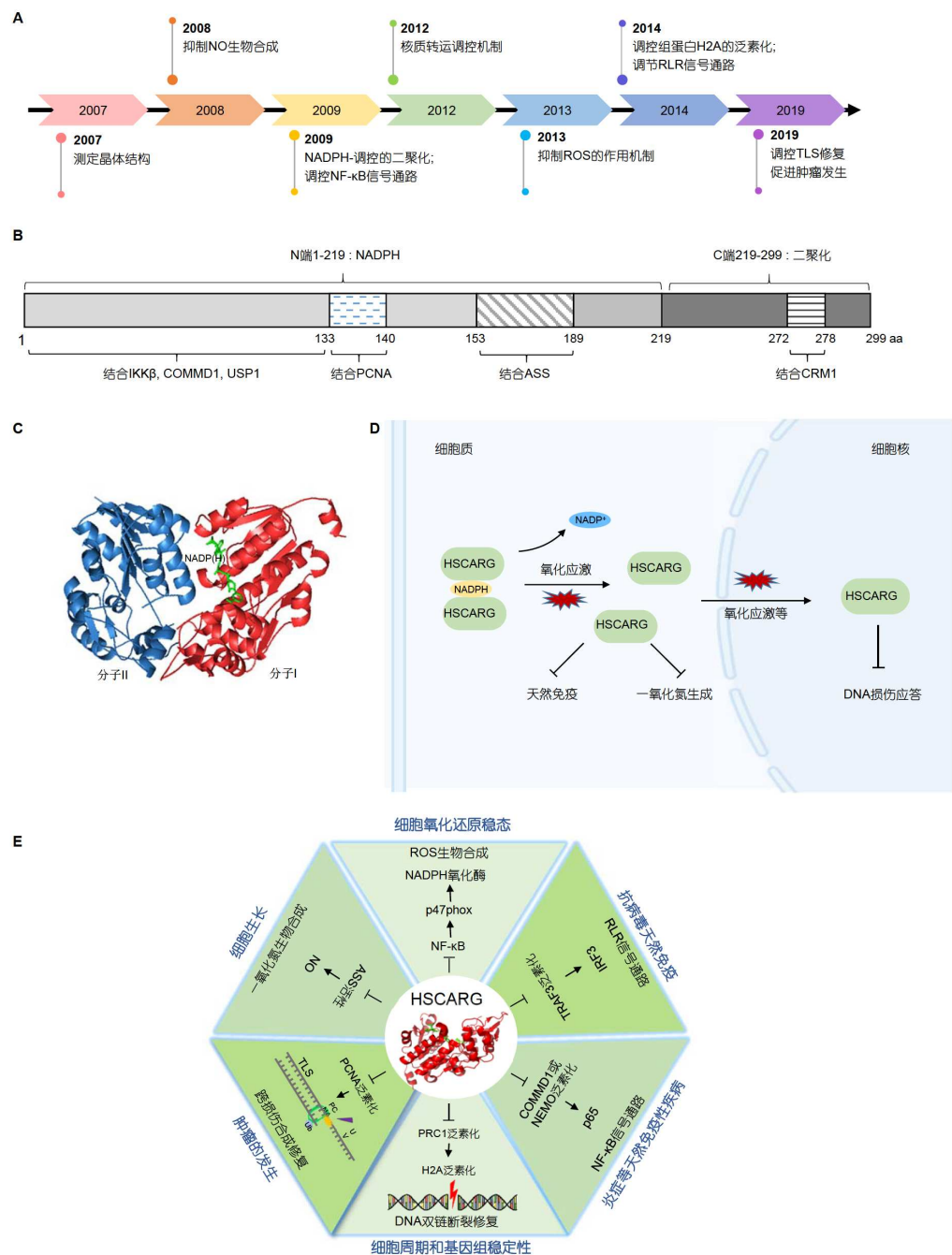


图 1 HSCARG的结构及其调控功能. A: HSCARG的研究历程. B: HSCARG蛋白组成示意图, 包括N端和C端结构域, 以及与相互作用蛋白结合的区域. C: HSCARG的晶体结构示意图. HSCARG在晶体结构中以非对称二聚体形式存在, 分子I(红色)结合NADP(H)(绿色), 分子II不结合(蓝色). D: HSCARG在细胞质和细胞核内分别发挥调控作用. HSCARG蛋白响应细胞内NADPH浓度变化以结合NADPH的二聚体和二聚体形式存在, 在氧化应激状态下, HSCARG从细胞质转位到细胞核, 该蛋白分别在细胞质和细胞核内发挥不同的调控作用. E: HSCARG的功能总结

Figure 1 The structure and functions of HSCARG. A: Timeline of key events for HSCARG studies. B: A schematic diagram of HSCARG protein showing the specific domains and motifs that binding to its interaction partners. C: Crystal structure of HSCARG. HSCARG is shown as an asymmetric dimer with molecules I (red) binding one NADP(H) molecule (stick model, green) and molecule II empty (blue). D: HSCARG functions both in the cytoplasm and the nucleus. In response to changes in intracellular NADPH concentrations, HSCARG protein existing in two forms: a dimer formed through binding to NADPH and a monomer not bound to NADPH. Under conditions of oxidative stress, HSCARG translocates from the cytoplasm to the nucleus, it plays distinct regulatory roles within each compartment. E: Summarization of the cellular functions of HSCARG.

白结合NADP(H)是其形成二聚体的基础. 与野生型HSCARG蛋白相比, R37A和Y81A突变体, 而非K41S突变体, 能够增强与其相互作用蛋白的互作, 表明非对称二聚体的形成抑制了HSCARG的调节功能^[13,14].

3 HSCARG的亚细胞定位

在正常的氧化还原状态下, HSCARG主要位于细胞核周围的细胞质中, 并与中间丝相连. HSCARG在细胞质中的富集是通过一个位于残基272~278的富含亮氨酸的核输出信号(nuclear export signal, NES)介导. 该信号以CRM1(chromosome region maintenance 1, 也被称为Exportin 1(XPO1))依赖的方式诱导HSCARG的出核. 去除C末端残基272~299或突变NES序列会使HSCARG定位到细胞核^[15]. 此外, HSCARG在响应细胞内NADPH/NADP⁺比例降低时会发生亚细胞定位的重新分布(图1D), 这可以通过靶向NADPH合成酶来实现. 磷酸戊糖途径中的磷酸己糖异构酶(glucose-6-phosphate dehydrogenase, G6PD)、三羧酸循环中的异柠檬酸脱氢酶(isocitrate dehydrogenase, IDH), 以及丙酮酸循环途径中的苹果酸酶(malic enzyme, ME)这三类酶能够将NADPH从其氧化形式还原^[16]. G6PD和IDH的活性分别被内源性类固醇脱氢表雄酮(dehydroepiandrosterone, DHEA)和信号分子一氧化氮(nitric oxide, NO)抑制^[17,18]. 因此, 用DHEA或NO供体SNAP(S-nitroso-N-acetyl-D-penicillamine, S-亚硝基-N-乙酰基-DL-青霉胺)处理细胞, 以及过表达NO再生中的限速酶精氨酸琥珀酸合成酶(argininosuccinate synthetase, ASS), 会导致HSCARG从中间丝解离, 并从细胞质转移到细胞核^[13]. HSCARG在感应细胞氧化还原状态变化时发生核易位, 这是其在不同细胞空间内调节细胞活动的关键步骤.

4 HSCARG的调控功能和分子机制

4.1 HSCARG在氧化还原稳态中的调控功能

NO是另一种影响细胞氧化还原状态的重要分子. 细胞质中NO的产生是由一氧化氮合酶(nitric oxide synthase, NOS)消耗精氨酸和NADPH催化生成. 精氨酸是细胞中NO的唯一前体, 因此, NO的合成受到细胞内精氨酸水平的限制. 除了从细胞外液运输, 细胞内的

精氨酸可以通过精氨酸琥珀酸合成酶和精氨酸琥珀酸裂解酶的连续反应从NOS的共产物瓜氨酸中回收^[19]. HSCARG通过其153~189区域直接与ASS相互作用(图1B), 并抑制ASS的活性和下调NO的产生(图1D)^[13]. 如上所述, 当细胞内NADPH减少时, HSCARG二聚体解聚为单体并激活其调节功能. 因此, 在DHEA处理的细胞中HSCARG与ASS的相互作用增强, 表明在与NADPH解离后, 以单体存在的HSCARG抑制精氨酸回收和NO合成的能力被激活^[13]. 对不能结合NADPH的HSCARG突变体R37A和Y81A的特性进行研究发现它们只作为单体存在, 与野生型蛋白相比, 这些突变体与ASS的相互作用增强, 进一步证实了HSCARG单体的调控作用^[12,13].

此外, 我们的研究还发现, HSCARG通过抑制细胞因子诱导的细胞核转录因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)的激活阻止p65结合到NADPH氧化酶的亚基p47phox启动子上, 进而抑制p47phox的转录. NADPH氧化酶催化从NADPH到氧气的电子转移, 生成NADP⁺和ROS^[20]. 适当浓度的ROS对杀死微生物至关重要, 而通过NADPH氧化酶过度产生细胞内ROS会导致NADPH的过度消耗和氧化损伤的累积. HSCARG的上调降低了内源p47phox蛋白的水平, 下调了NADPH氧化酶的催化活性, 从而防止了ROS的过度产生(图1E)^[21].

由于NADPH氧化酶催化的ROS产生和NOS催化的NO产生都与NADPH氧化成NADP⁺有关, 可以推测HSCARG可能通过反馈抑制消耗NADPH的途径来调节NADPH稳态, 并促进细胞抵抗氧化应激. 未来需要进一步的研究来阐明HSCARG对细胞内NADPH水平的具体调控机制.

4.2 HSCARG在先天免疫中的功能

在RNA病毒感染细胞时, RIG-I样受体(RIG-I-like receptor, RLR)识别细胞质中的病毒RNA, 并通过Cardif-TRAF3-TBK1/IKK ϵ -IRF3信号通路来诱导I型干扰素的生成^[22,23]. 肿瘤坏死因子受体作用因子3(TNF receptor associated factor 3, TRAF3)的K63类型多聚泛素化通过增强其与 κ B抑制因子激酶(inhibitor of κ B kinase ϵ , IKK ϵ)之间的相互作用来促进上述RLR信号传导过程. 我们的研究发现, HSCARG与去泛素化酶OTUB1(Otubain 1)共同作用去除TRAF3上的

K63类型的多聚泛素链(图1E), 因此, HSCARG的过表达抑制了IKK ϵ 的招募, 降低了干扰素调节因子3(interferon regulatory factor 3, IRF3)的磷酸化和核转位, 从而在病毒感染后负调控干扰素 β (interferon- β , IFN- β)的水平^[24], 表明HSCARG负调控先天免疫信号通路。

除了RLR信号通路, HSCARG还能够抑制NF- κ B信号通路的激活。NF- κ B是由p50和p65亚基组成的异二聚体^[25]。在静息细胞中, NF- κ B与核因子抑制蛋白(inhibitor of kappa B, I κ B)之间的相互作用将p65和p50滞留在细胞质中, 从而抑制其转录活性。在经典的NF- κ B信号通路中, 细胞膜上的受体识别肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)或白介素1(interleukin-1, IL-1)等细胞因子, 通过泛素化级联反应将信号传导至I κ B激酶复合体。活化的IKK复合体随后磷酸化I κ B, 导致I κ B的泛素化和由蛋白酶体介导的降解, 从而允许p50和p65发生核转位以执行其转录调节功能^[26,27]。我们的研究证实了HSCARG对TNF和IL-1诱导的NF- κ B激活的抑制效应, 并揭示了其调控的分子机制(图1E)。一方面, HSCARG抑制了IKK复合体的活性, 负调控NF- κ B信号通路。IKK复合体由IKK α 、IKK β 和IKK γ 三个亚基组成, IKK β 的磷酸化和IKK γ 的K63多聚泛素化能够增强IKK复合体的活性。HSCARG能够与IKK β 和IKK γ 相互作用, 但不与IKK α 相互作用。HSCARG分别刺激IKK β -PP2A(protein phosphatase 2A)和IKK γ -USP7(ubiquitin specific peptidase 7)复合体的形成, 进而促进PP2A对IKK β 的去磷酸化和USP7对IKK γ 的去泛素化^[28-30]。另一方面, HSCARG与铜代谢调节因子(copper metabolism MURR1 domain-containing 1, COMMD1)相互作用, 通过稳定I κ B α 和促进p65的降解来负调节NF- κ B信号通路^[31,32]。在正常生理条件下, 细胞质中定位的HSCARG通过其构成Rossmann折叠核心的1~153残基与COMMD1相互作用, 促进了COMMD1的K48类型多聚泛素化和随后的降解。在应答DHEA或SNAP处理引起的氧化还原变化时, HSCARG向细胞核转移, 解除了其对COMMD1的抑制作用^[33]。HSCARG对NF- κ B转录活性的抑制在敲低IKK β 的细胞而非COMMD1缺失细胞中显著减弱。此外, HSCARG的C端截断突变体154~299仍然能够抑制NF- κ B的激活, 尽管与全长蛋白相比效率有所降低^[29,33], 表明HSCARG的C端结构域能够通过一种不依赖于IKK复合体的机制参与调节NF- κ B的活性。

此外, Ho研究组^[34]发现, G6PD的敲低以HSCARG介导的机制增强人肺腺癌细胞对冠状病毒感染的敏感性。在G6PD缺失的A549细胞中, 冠状病毒HCoV-229E感染后NF- κ B下游的TNF- α 和黏病毒耐药蛋白1(myxovirus resistance 1, MX1)等抗病毒基因的转录受到抑制, 从而促进了病毒复制, 这种效应可以通过敲低HSCARG来回补。并且, G6PD的缺陷导致细胞内NADPH/NADP⁺比例降低和非活性HSCARG二聚体解聚为单体。上述研究结果进一步表明HSCARG能够响应细胞氧化还原变化参与NF- κ B活性的调节。

4.3 HSCARG在DNA损伤反应中发挥重要的调控功能

组蛋白H2A泛素化修饰参与了基因转录调控和DNA损伤修复等多个生理反应过程。多梳抑制复合体1(polycomb repressive complex 1, PRC1)是一个E3连接酶复合体, 能够催化组蛋白H2A在第119位赖氨酸(K119)的单泛素化, 而PRC1的自我泛素化修饰对其催化活性至关重要^[35,36]。H2A的泛素化进一步促进受体相关蛋白80(receptor-associated protein 80, RAP80)和p53结合蛋白1(p53 binding protein 1, 53BP1)等DNA双链断裂(double-strand break, DSB)下游修复蛋白的招募, 在DSB的损伤反应中发挥着至关重要的作用^[37]。在电离辐射(ionizing radiation, IR)处理细胞时, HSCARG以去泛素化酶USP7依赖的方式抑制PRC1核心组分的泛素化及其介导的H2A泛素化(图1E)。HSCARG缺失后, DNA损伤修复后H2A泛素链去除的效率降低, 导致了修复蛋白停留在损伤位点以及细胞周期检测点激酶2(checkpoint kinase 2, CHK2)信号的持续激活, 最终导致细胞在损伤修复后不能重新回到细胞周期并影响了细胞的增殖^[38]。上述结果表明HSCARG通过抑制PRC1复合体的E3连接酶活性而调控H2A泛素化水平, 进而影响DNA损伤修复效率。

HSCARG还参与DNA复制过程中紫外线(ultraviolet, UV)辐射诱导损伤的跨损伤合成(translesion synthesis, TLS)通路的调节。TLS通路是细胞应对DNA损伤时的一种重要机制, 当复制叉在前进过程中被损伤位点阻滞时, 增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA)第164位的赖氨酸(K164)发生单泛素化修饰, 招募对损伤位点具有兼容性的Y家族聚合酶实现跨损伤DNA合成, 从而避免复制叉的停滞和可能的

双链断裂. γ 家族DNA聚合酶 η (polymerase η , pol η)是主要的TLS聚合酶, 负责在DNA损伤处插入正确的核苷酸^[39]. UV辐射导致USP1的自切割和随后的降解, 从而抑制了USP1对其底物PCNA的去泛素化效应^[40]. 我们的研究证明, HSCARG通过其位于133~140区域的PIP box(PCNA interaction protein)直接与PCNA相互作用(图1B). 此外, HSCARG通过增强USP1与PCNA之间的相互作用促进PCNA的去泛素化(图1E). HSCARG的过表达部分回补了UV诱导的染色质上的USP1水平的降低. 因此, HSCARG表达的上调或由于高剂量SNAP处理引起其在细胞核内的富集抑制了pol η 在复制停滞位点的积累, 导致复制叉的垮塌和DSBs的产生^[14].

5 HSCARG与癌症等疾病的关系

上述介绍的HSCARG在NF- κ B信号传导、ROS产生和DNA损伤反应中的作用暗示了它与癌症的生物学相关性. 一方面, ROS的过量产生通过引入氧化性DNA损伤和NF- κ B的组成型激活促进基因组不稳定性, 从而促进细胞增殖并抑制凋亡^[41,42]. 因此, HSCARG在细胞质中对ROS和NF- κ B的抑制作用表明其可能抑制癌症的发展. 另一方面, HSCARG在细胞核中的富集导致TLS和DSB修复的缺陷, 从而提高基因组突变率. 因此, HSCARG的亚细胞定位平衡了其致癌和肿瘤抑制功能. 生物信息学分析显示HSCARG在多种类型的癌症中高度表达. 与这些分析一致的是, 我们利用小鼠模型进行成瘤实验时发现, HSCARG在女性多瘤病毒中间T抗原(polyoma virus middle T antigen, MMTV-PyMT)转基因小鼠中的敲除延缓了乳腺癌的发生. 在PyMT小鼠新发生的肿瘤中, 上调的HSCARG蛋白在细胞核中积累, 这很可能是由于微环境中的氧化应激引起的^[14]. 这一结果进一步表明在细胞核中对DNA损伤反应的负调控导致HSCARG发挥致癌效应.

此外, 有研究发现精神分裂症患者大脑中的HSCARG表达显著降低, HSCARG的表达失调可能通过影响神经发育和突触可塑性参与精神分裂症的发病机制^[43]. 前列腺六次跨膜蛋白2(six transmembrane epithelial antigen of prostate 2, STAMP2)通过促进HSCARG的重新定位和抑制NF- κ B信号, 减轻糖尿病

心肌病中的心脏功能障碍和胰岛素抵抗^[44]. 这些研究表明HSCARG与癌症等疾病的发生发展具有密切的关系.

6 HSCARG研究展望

HSCARG通过调节细胞氧化还原稳态、先天免疫和DNA损伤反应通路中关键组分的翻译后修饰调节这些通路的生理功能. HSCARG与去泛素化酶OTUB1、USP1和USP7相互作用并促进它们对底物的去泛素化. 这些研究结果表明, 通过招募去泛素化酶来抑制底物泛素化是HSCARG的一种常规的作用模式. 未来的研究需要进一步鉴定包括去泛素化酶在内的HSCARG新的相互作用蛋白, 以揭示HSCARG在其他信号通路中的潜在功能. 在正常生理条件下, NADPH促进HSCARG的同源二聚体化的形成而抑制其生理功能. 氧化应激引起的NADPH浓度降低对HSCARG具有双重调控作用. 一方面, 当从NADPH解离后, HSCARG从功能不活跃的二聚体转变为活性单体. 用适量SNAP和DHEA处理细胞激活了HSCARG与ASS之间的相互作用, 并提高了HSCARG对ROS产生的抑制效果^[13,14]. 另一方面, 在持续的氧化应激下, HSCARG在细胞核中的富集减弱了其在细胞质中的功能. 例如, 过量的SNAP和二乙基丙烯酸酯抑制了HSCARG与ASS之间的相互作用, 并减弱了HSCARG对NF- κ B活性的抑制^[13,15]. 目前对HSCARG响应氧化还原变化的研究主要在细胞层面开展的. 因此, 未来的研究应该关注HSCARG野生型和敲除小鼠在喂养或注射引起氧化应激的药物后的表型差异. 此外, 最近研究筛选到靶向HSCARG二聚化的硝唑尼特(nitazoxanide, NTZ), 它通过增强IFN- β 通路敏感性来有效地抑制猪繁殖与呼吸综合征病毒(porcine reproductive and respiratory syndrome virus, PRRSV)的增殖和传播^[45], 结合HSCARG在人肺腺癌细胞对冠状病毒感染敏感性的调控作用^[34], 以及对流感病毒复制的调控作用^[46], 表明HSCARG及其同源蛋白在病毒等引起的免疫性疾病治疗中具有潜在的应用前景. HSCARG在精神分裂症患者大脑中的显著低表达与精神分裂症发病的相关性也暗示该蛋白在神经性疾病中可能具有重要调控作用, 但需要通过开展更为深入的研究揭示其具体作用机制.

综上所述, HSCARG作为细胞氧化还原稳态与其他信号通路之间的联系, 微调细胞对氧化还原变化的响应, 在维持细胞内环境稳定、调控免疫反应、响应DNA损伤, 以及癌症发生发展中具有重要的调控作用。

通过对HSCARG的进一步研究, 可以更深入地理解其在细胞生理和病理过程中的作用, 以明确其在疾病预防、诊断、治疗中的潜在价值, 也将为开发新的癌症治疗和炎症性疾病治疗策略提供理论基础。

参考文献

- Andrianopoulos A, Kourambas S, Sharp J A, et al. Characterization of the *Aspergillus nidulans nmrA* gene involved in nitrogen metabolite repression. *J Bacteriol*, 1998, 180: 1973–1977
- Stammers D K. The structure of the negative transcriptional regulator NmrA reveals a structural superfamily which includes the short-chain dehydrogenase/reductases. *EMBO J*, 2001, 20: 6619–6626
- Tanaka N, Nonaka T, Nakanishi M, et al. Crystal structure of the ternary complex of mouse lung carbonyl reductase at 1.8 Å resolution: the structural origin of coenzyme specificity in the short-chain dehydrogenase/reductase family. *Structure*, 1996, 4: 33–45
- Lamb H K, Leslie K, Dodds A L, et al. The negative transcriptional regulator NmrA discriminates between oxidized and reduced dinucleotides. *J Biol Chem*, 2003, 278: 32107–32114
- Núñez-Corcuera B, Serafimidis I, Arias-Palomo E, et al. A new protein carrying an NmrA-like domain is required for cell differentiation and development in *Dictyostelium discoideum*. *Dev Biol*, 2008, 321: 331–342
- Kim I K, Yim H S, Kim M K, et al. Crystal structure of a new type of NADPH-dependent quinone oxidoreductase (QOR2) from *Escherichia coli*. *J Mol Biol*, 2008, 379: 372–384
- Pham J, Stam R, Heredia V M, et al. An NMRA-like protein regulates gene expression in *Phytophthora capsici* to drive the infection cycle on tomato. *Mol Plant Microbe Interact*, 2018, 31: 665–677
- Mao T, Geng Z, Zhang Y, et al. Genome-wide characterization of NmrA-like proteins and the regulatory function of soybean *GmNmrA6* in response to salt and oxidative stresses. *Environ Exp Bot*, 2023, 213: 105447
- Dai X, Gu X, Luo M, et al. Protein expression, crystallization and preliminary X-Ray crystallographic studies on HSCARG from *Homo Sapiens*. *PPL*, 2006, 13: 955–957
- Zheng X, Dai X, Zhao Y, et al. Restructuring of the dinucleotide-binding fold in an NADP(H) sensor protein. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104: 8809–8814
- Grimm C, Maser E, Möbus E, et al. The crystal structure of 3 α -hydroxysteroid dehydrogenase/carbonyl reductase from *Comamonas testosteroni* shows a novel oligomerization pattern within the short chain dehydrogenase/reductase family. *J Biol Chem*, 2000, 275: 41333–41339
- Dai X, Li Y, Meng G, et al. NADPH is an allosteric regulator of HSCARG. *J Mol Biol*, 2009, 387: 1277–1285
- Zhao Y, Zhang J, Li H, et al. An NADPH sensor protein (HSCARG) down-regulates nitric oxide synthesis by association with argininosuccinate synthetase and is essential for epithelial cell viability. *J Biol Chem*, 2008, 283: 11004–11013
- Zang W, Yang C, Li T, et al. Cellular redox sensor HSCARG negatively regulates the translation synthesis pathway and exacerbates mammary tumorigenesis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2019, 116: 25624–25633
- Zhang M, Hu B, Li T, et al. A CRM 1-dependent nuclear export signal controls nucleocytoplasmic translocation of HSCARG, which regulates NF- κ B activity. *Traffic*, 2012, 13: 790–799
- Merritt T J S, Kuczynski C, Sezgin E, et al. Quantifying interactions within the NADP(H) enzyme network in *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 2009, 182: 565–574
- Niort G, Boccuzzi G, Brignardello E, et al. Effect of dehydroepiandrosterone on human erythrocytes redox metabolism: inhibition of glucose-6-phosphate dehydrogenase activity *in vivo* and *in vitro*. *J Steroid Biochem*, 1985, 23: 657–661
- Yang E S, Richter C, Chun J S, et al. Inactivation of NADP⁺-dependent isocitrate dehydrogenase by nitric oxide. *Free Radical Biol Med*, 2002, 33: 927–937
- Mori M, Gotoh T. Regulation of nitric oxide production by arginine metabolic enzymes. *Biochem Biophys Res Commun*, 2000, 275: 715–719
- Dworakowski R, Anilkumar N, Zhang M, et al. Redox signalling involving NADPH oxidase-derived reactive oxygen species. *Biochem Soc Trans*, 2006, 34: 960–964

- 21 Xiao W, Peng Y, Liu Y, et al. HSCARG inhibits NADPH oxidase activity through regulation of the expression of p47phox. *PLoS ONE*, 2013, 8: e59301
- 22 Fitzgerald K A, McWhirter S M, Faia K L, et al. IKK ϵ and TBK1 are essential components of the IRF3 signaling pathway. *Nat Immunol*, 2003, 4: 491–496
- 23 Saha S K, Pietras E M, He J Q, et al. Regulation of antiviral responses by a direct and specific interaction between TRAF3 and Cardif. *EMBO J*, 2006, 25: 3257–3263
- 24 Peng Y, Xu R, Zheng X, et al. HSCARG negatively regulates the cellular antiviral RIG-I like receptor signaling pathway by inhibiting TRAF3 ubiquitination via recruiting OTUB1. *PLoS Pathog*, 2014, 10: e1004041
- 25 Ghosh S, May M J, Kopp E B. NF- κ B and REL proteins: evolutionarily conserved mediators of immune responses. *Annu Rev Immunol*, 1998, 16: 225–260
- 26 Karin M. How NF- κ B is activated: the role of the I κ B kinase (IKK) complex. *Oncogene*, 1999, 18: 6867–6874
- 27 Hayden M S, Ghosh S. Shared principles in NF- κ B signaling. *Cell*, 2008, 132: 344–362
- 28 Barisic S, Strozzyk E, Peters N, et al. Identification of PP2A as a crucial regulator of the NF- κ B feedback loop: its inhibition by UVB turns NF- κ B into a pro-apoptotic factor. *Cell Death Differ*, 2008, 15: 1681–1690
- 29 Gan Q, Li T, Hu B, et al. HSCARG inhibits activation of NF- κ B by interacting with I κ B kinase- β . *J Cell Sci*, 2009, 122: 4081–4088
- 30 Li T T, Guan J H, Li S, et al. HSCARG downregulates NF- κ B signaling by interacting with USP7 and inhibiting NEMO ubiquitination, *Cell Death Dis*, 2014, 5: e1229
- 31 Ganesh L, Burstein E, Guha-Niyogi A, et al. The gene product Murr1 restricts HIV-1 replication in resting CD4⁺ lymphocytes. *Nature*, 2003, 426: 853–857
- 32 Maine G N, Mao X, Komarck C M, et al. COMMD1 promotes the ubiquitination of NF- κ B subunits through a cullin-containing ubiquitin ligase. *EMBO J*, 2007, 26: 436–447
- 33 Lian M, Zheng X. HSCARG regulates NF- κ B activation by promoting the ubiquitination of RelA or COMMD1. *J Biol Chem*, 2009, 284: 17998–18006
- 34 Wu Y H, Chiu D, Lin H R, et al. Glucose-6-phosphate dehydrogenase enhances antiviral response through downregulation of NADPH sensor HSCARG and upregulation of NF- κ B signaling. *Viruses*, 2015, 7: 6689–6706
- 35 Wang H, Wang L, Erdjument-Bromage H, et al. Role of histone H2A ubiquitination in Polycomb silencing. *Nature*, 2004, 431: 873–878
- 36 Ben-Saadon R, Zaaroor D, Ziv T, et al. The Polycomb protein Ring1B generates self atypical mixed ubiquitin chains required for its *in vitro* histone H2A ligase activity. *Mol Cell*, 2006, 24: 701–711
- 37 Gieni R S, Ismail I H, Campbell S, et al. Polycomb group proteins in the DNA damage response: a link between radiation resistance and “stemness”. *Cell Cycle*, 2011, 10: 883–894
- 38 Hu B, Li S, Zhang X, et al. HSCARG, a novel regulator of H2A ubiquitination by downregulating PRC1 ubiquitin E3 ligase activity, is essential for cell proliferation. *Nucleic Acids Res*, 2014, 42: 5582–5593
- 39 Sale J E, Lehmann A R, Woodgate R. Y-family DNA polymerases and their role in tolerance of cellular DNA damage. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2012, 13: 141–152
- 40 Huang T T, Nijman S M, Mirchandani K D, et al. Regulation of monoubiquitinated PCNA by DUB autocleavage. *Nat Cell Biol*, 2006, 8: 339–347
- 41 Jiang L, Ren L, Zhang X, et al. Overexpression of PIMREG promotes breast cancer aggressiveness via constitutive activation of NF- κ B signaling. *EBioMedicine*, 2019, 43: 188–200
- 42 Li Q, Yu Y Y, Zhu Z G, et al. Effect of NF- κ B constitutive activation on proliferation and apoptosis of gastric cancer cell lines. *Eur Surg Res*, 2005, 37: 105–110
- 43 Wang J, Li S, Li X, et al. Functional variant rs2270363 on 16p13.3 confers schizophrenia risk by regulating *NMRAL1*. *Brain*, 2022, 145: 2569–2585
- 44 Gao Z, Ti Y, Lu B, et al. STAMP2 attenuates cardiac dysfunction and insulin resistance in diabetic cardiomyopathy via NMRAL1-mediated NF- κ B inhibition in type 2 diabetic rats. *DMSO*, 2022, Volume 15: 3219–3229
- 45 Cui Z, Liu J, Xie C, et al. High-throughput screening unveils nitazoxanide as a potent PRRSV inhibitor by targeting NMRAL1. *Nat Commun*, 2024, 15: 4813

The structure and function of the cellular redox sensor HSCARG/ NMRAL1: fifteen years of exploration from three-dimensional structure to biological function

ZHENG XiaoFeng*

School of Life Sciences, Peking University, Beijing 100871, China

** Corresponding author; E-mail: xiaofengz@pku.edu.cn*

HSCARG (also known as NmrA-like family redox sensor 1, NMRAL1) belongs to the NmrA-like protein family. Through the determination of the three-dimensional crystal structure of HSCARG, we demonstrated for the first time that it is a NADP(H) sensor widely present in mammalian cells. Our research on its functions indicates that HSCARG plays a pivotal role in regulating cellular redox homeostasis, innate immunity, DNA damage repair (DDR), and tumor development. HSCARG selectively binds to the reduced form of type II coenzyme NADPH through its N-terminal Rossmann fold domain. When the intracellular concentration of NADPH decreases, HSCARG transitions from homodimer to monomer, enhancing its interactions with interacting proteins. In the cytoplasm, HSCARG negatively regulates innate immunity by inhibiting the activity of the NF- κ B (nuclear factor-kappa B) and RLR (RIG-I-like receptor) signaling pathways. Furthermore, HSCARG regulates redox balance by suppressing the production of reactive oxygen species (ROS) and nitric oxide (NO). Persistent oxidative stress causes the cytoplasm-to-nucleus translocation of HSCARG, where it modulates the efficiency of DNA damage repair by affecting the ubiquitination of histone H2A and PCNA (proliferating cell nuclear antigen). In summary, HSCARG acts as a linkage between cellular redox status and other signaling pathways to finely tune the cellular response to redox changes. This review primarily summarizes our exploration and understanding of the structure and functions of the redox cellular sensor HSCARG over the past fifteen years.

cellular NADPH sensor, HSCARG/NMRAL1, three-dimensional structure, innate immunity, DNA damage repair, cancer, ubiquitination

doi: [10.1360/SSV-2024-0298](https://doi.org/10.1360/SSV-2024-0298)