

蛋白质羰基化与衰老

李国林 印大中

(湖南师范大学生命科学学院蛋白质化学与发育生物学教育部重点实验室, 湖南 长沙 410081)

【关键词】 衰老; 活性羰基类物质 (reactive carbonyl species, RCS); 羰基应激; 蛋白质

【中图分类号】 Q945.48; R339.3⁺8 【文献标识码】 A 【文章编号】 1005-9202(2008)20-2070-04

不同来源的活性羰基类物质 (reactive carbonyl species, RCS), 主要是一些不饱和醛, 如: 4-羟基壬烯醛 (4-hydroxy-trans-2-nonenal, HNE)、丙烯醛 (acrolein, ACR)、丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 等, 在生物体系中扮演中非常重要的作用, 在氧化剂和自由基攻击生物体系而引起的细胞毒性过程中, RCS便是直接的致病因子^[1]。现有的研究表明, RCS参与了心血管疾病 (如动脉粥样硬化)、神经退行性疾病 (如阿尔茨海默病、帕金森病)、脑缺血、类风湿性关节炎、局部缺血再灌注等许多疾病和应激的启动和发展过程, 甚至还参与和启动了衰老过程^[2-5]。正是如此, Yin率先提出来羰基应激衰老理论认为羰基应激是生物衰老的核心生化过程之一^[4,6]。

在正常生理条件下, RCS在生物体内的产生和清除是一个动态平衡^[4,7], 它们在体内履行着重要的生理功能^[8]; 而伴随机体的衰老过程, 体内 RCS防御系统的功能会逐渐减弱, 在应激和疾病状态, RCS的产生会大大超出机体的清除能力, 此时, RCS产生和清除的平衡被打破, 就会出现所谓的“羰基应激”。所以, 羰基应激是指生物体系中 RCS的产生超过了机体的清除能力, 从而导致蛋白质等生物大分子的羰基化修饰, 使生物大分子发生结构改变和功能丧失, 导致细胞和组织功能紊乱, 最终出现机体病理生理改变和加速衰老过程^[4,6,7,9]。本文将重点综述蛋白质羰基化, 以及蛋白质羰基化与衰老的关系。

1 蛋白质羰基化概述

蛋白质羰基化是蛋白质的非酶促的不可逆羰基修饰^[10,11], 主要包括: (1) 蛋白质与不同来源的 RCS反应, 生成蛋白质羰基加合物, (2) 蛋白质本身氧化生成蛋白质羰基衍生物。其中, 蛋白质本身的氧化主要是: (1) 活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 通过金属催化氧化等方式氧化蛋白质侧链的赖氨酸、精氨酸、脯氨酸和苏氨酸等残基^[10], 如赖氨酸残基氧化产生的氨基己二酸半醛, 精氨酸残基、脯氨酸残基氧化产生的谷氨酸半醛; (2) ROS通过 酰胺化途径或谷氨酰胺残基氧化途径, 诱导蛋白质肽链的断裂^[12]。而 RCS诱导蛋白质羰基化修饰的主要机制是: RCS与蛋白质初级氨基酸残基 (如赖氨酸残

基) 发生羰基-氨交联^[7]。这些 RCS主要包括两类: 即脂质过氧化过程中产生的 RCS^[1,13] 和非酶糖基化过程中产生的 RCS^[14,15]。

脂质过氧化过程中产生的 RCS, 主要为: 二醛 (如丙二醛 (malondialdehyde, MDA))、酮醛, 以及, 不饱和醛 (如 4-羟基壬烯醛 (4-hydroxy-trans-2-nonenal, HNE)、丙烯醛 (acrolein)) 等。这些醛类诱导蛋白质羰基化修饰的主要机制虽然都是羰基-氨交联, 但具体过程又略有不同: 二醛是直接通过与一分子蛋白质的两个初级氨基酸残基或两分子蛋白质的初级氨基酸残基发生羰基-氨交联; 而, 不饱和醛则是先在其 C=C 双键位置与半胱氨酸残基的巯基、或赖氨酸残基的氨基、或组氨酸残基的咪唑基发生迈克尔加成反应 (Michael-addition reaction), 再与一分子初级氨基酸残基发生羰基-氨交联。虽然它们的反应过程有一些差别, 但结果都是导致蛋白质的羰基化修饰^[1,13], 以及进一步的交联和老年色素类物质的形成^[4,7,16]。

非酶糖基化过程中产生的 RCS, 主要为: 乙二醛、甲基乙二醛、酮胺 (ketamines)、酮醛 (ketoaldehydes) 和脱氧邻酮醛糖 (deoxyosones)^[14,15,17]。它们同样可以与蛋白质的初级氨基酸残基 (如赖氨酸残基) 发生生化副反应, 导致的羰基化修饰和交联, 最终形成老年色素类物质^[4,7,16]。

2 羰基化对蛋白质的选择性

在衰老和氧化应激过程中, 蛋白质羰基化程度的升高并非随机的, 而是具有一定的选择性, 往往有些蛋白质比较容易羰基化, 而有些却不易羰基化; 而且, 即使是取自不同动物的某些相同的特定蛋白质, 它们的羰基化程度也会随动物种属的不同而不同。如在小鼠血浆蛋白中, 其羰基化修饰程度会随增龄而增加的只有两种: 即白蛋白和转铁蛋白^[18]; 而在大鼠血浆中, 只有白蛋白和 α_1 -巨球蛋白的羰基化修饰程度会发生明显的随增龄增加^[18]。在人类, 脑内的铜锌超氧化物歧化酶 (copper-zinc superoxide dismutases, SOD1) 是在阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 患者和帕金森病 (Parkinson's disease, PD) 患者中最容易受到氧化损伤攻击的蛋白质, 然而, 人脑 SOD1 的四种亚型中, 只有一种亚型发生了严重的羰基化修饰^[19]。因为羰基化修饰对蛋白质具有选择性, 所以蛋白质的相对数量并不是蛋白质羰基化程度的决定因素^[18]; 这一点在果蝇飞行肌线粒体的实验中得到了很好的印证: 尽管飞行肌线粒体中有很多种蛋白质, 但实验结果表明, 只有顺乌头酸酶 (aconitase)^[20,21] 和腺嘌呤核苷酸移位酶 (adenine nucleotide translocase)^[21] 的羰基化程度会随增龄而增加, 并相应地失去活性; 而细胞色素 c,

基金项目: 湖南省科技计划重点项目 (06FJ3001), 湖南师范大学博士启动基金 (53112-1392), 湖南师范大学青年基金 (53112-1184)
通讯作者: 印大中 (1955-), 男, 教授, 主要从事老年色素及衰老生化方面的研究。
作者简介: 李国林 (1977-), 男, 博士, 主要从事衰老生化的研究。

尽管在线粒体中含量相对丰富,却并没有显示出明显与年龄相关的羰基化修饰^[22]。

尽管诸多的实验现象均表明,羰基化修饰对蛋白质具有选择性,但到底是什么造成了这种选择性呢?目前,这个问题还无法确切地回答,也许是由蛋白质结构的决定。

Stadtman 经过一系列开拓性实验后提出:预测蛋白质在金属催化氧化过程中是否易受羰基化修饰的关键特征,是该蛋白质是否具有过渡金属结合位点^[10,23]。蛋白质与过渡金属结合是产生自由基的重要来源,而自由基一旦产生,将启动一系列连锁反应,最终导致活性羰基与周围的氨基酸残基发生羰基反应^[11]。除此之外,蛋白质的分子构象、更新速率以及金属催化氧化敏感型氨基酸残基相对丰度,也是影响蛋白质羰基化修饰的选择性的重要因素^[24,25]。另一些蛋白质(如三羧酸循环和电子传递链中酶)由于其处于 ROS 生成位点的附近,因而也易受羰基化修饰。

3 羰基化对蛋白质折叠的影响

许多在细胞内合成的蛋白质最后将分泌到细胞外环境中去行使功能;由于细胞外伴侣蛋白极少(现已曾发现了一个,即丛生蛋白)^[26],而 ER 中含有大量伴侣蛋白和蛋白质折叠催化剂,因此,在正常情况下,细胞内合成的蛋白质只有在 ER 中进行正确折叠后才能转运到细胞外去行使功能。如果 ER 中的伴侣蛋白发生羰基化^[27],必将影响伴侣蛋白的结构和功能,从而影响蛋白质的正常折叠;正如酶功能的异常会导致代谢相关疾病,伴侣蛋白和其他机械调控多肽的构型异常,将导致蛋白质的错误折叠和聚合物相关的疾病^[28-30]。如 AD、PD、肌萎缩侧索硬化(amyotrophic lateral sclerosis, ALS)和亨廷顿舞蹈病(Huntington's disease, HD)等衰老相关疾病,它们的重要共同特征就是异常蛋白质在脑内的堆积^[31],而这些异常蛋白质的聚集体的共同特征之一是蛋白质羰基化水平比较高^[32,33]。

从以上结果看,似乎蛋白质羰基化是蛋白质折叠异常的重要原因;然而,特定蛋白质的羰基化的确常常被一些细胞调控过程用来启动蛋白质的降解^[34]。如铁调节蛋白 2(iron regulatory protein 2, IRP2)的功能具有铁依赖性,在铁比较丰富的细胞中通常会有选择性地非常迅速地降解,而铁被耗尽的细胞中却具有稳定的功能^[34]。细察 IRP2 的铁依赖性降解机理后发现,无论在体内还是在体外,当铁比较丰富时,在有氧环境下,IRP2 与铁结合后,将启动金属催化氧化,造成蛋白质的羰基化修饰,进而这种羰基化 IRP2 被泛素化并被蛋白酶体降解^[34];而当铁比较缺乏时,IRP2 就会比较稳定和具有生物活性。因此,蛋白质的羰基化修饰不仅仅是一种不受欢迎的生化副反应的产物,它同时也可能在细胞的调控机制中行使着重要的生理功能。

Nyström 研究组在原核生物的研究^[35]也发现:错误折叠的蛋白质比正常蛋白质更容易发生羰基化修饰;这表明蛋白质羰基化修饰这一不可逆的蛋白质修饰,在生物体系中可能充当了“不可修复蛋白质”的标记,从而为蛋白质的降解系统提供了一个识别位点^[35]。同时,有研究者对哺育动物进行氧化应激处理后也发现,被修饰的蛋白质,尤其是功能异常的蛋白质更容

易发生羰基化修饰,进而羰基化蛋白质被蛋白酶体识别和发生降解^[36]。因此,Nyström 指出蛋白质羰基化在蛋白质的质量控制过程中具有重要作用^[8];Dalle-Donne 等认为,往往是一些蛋白质的错误折叠导致了该蛋白质更易受羰基化修饰,进而导致功能异常;而不是蛋白质的羰基化导致了蛋白质的错误折叠,进而导致功能异常^[5],即蛋白质的错误折叠是蛋白质羰基化的重要原因之一^[5]。但蛋白质羰基化到底是蛋白质异常折叠的原因,还是结果,尚不清楚。事实上,伴侣蛋白通常能够通过多种方式消除错误折叠蛋白质的毒性,如屏蔽错误折叠蛋白质的活性表面、辅助错误折叠蛋白质的重新折叠、或启动错误折叠蛋白质的降解。因此,伴侣蛋白的羰基化无疑是导致功能蛋白质错误折叠的重要原因,同时,蛋白质的错误折叠可能又会将蛋白质羰基化位点暴露出来,从而反过来促进和启动羰基化修饰。

4 羰基化对蛋白质水解的影响

机体内的蛋白质被损伤后,通常的去路有 3 种,即:被修复、被蛋白质降解体系清理和累积;但蛋白质发生羰基化修饰是例外,由于它是一种不可逆的修饰,因此其去路只有两条:被降解和累积^[7,8]。因此,蛋白质发生羰基化修饰以后,如果不及时清理,将造成损伤蛋白质的累积和聚合,损伤细胞和组织的功能,诱导病理生理改变和加速衰老进程。

由于羰基化蛋白质比没有氧化修饰的蛋白质易被蛋白水解系统的降解^[35,36],因此异常蛋白质的迅速羰基化也许保证了这些异常多肽直接被蛋白水解系统降解。这也就是说,由于蛋白质羰基化是一种不可逆、不可修复的修饰,因此羰基化也许充当了不可修复的信号,这种信号保证了损伤蛋白质进入降解途径,而不是进入分子伴侣修复途径;从而有效地抑制被错译的蛋白质的进入信号传导相关的成熟结构(即,核糖体、RNA 聚合酶和 DNA 聚合酶)。与此一致,Dukan 等研究表明,错译蛋白质易发生羰基化,而它们发生羰基化修饰以后,其稳定性比正常蛋白质要差^[35],而且健康 *E. coli* 成熟核糖体内蛋白质羰基化的水平相对较低^[37]。蛋白质发生氧化羰基化后更易被蛋白水解系统降解的机制是什么,Davies 认为,由于蛋白质的氧化可导致蛋白质的部分开链和变性,从而增加了末端的疏水表面,这些疏水片段正好为 20S 蛋白酶体提供了选择性的识别位点^[36,38]。

但是,并不是所有羰基化修饰的蛋白质都能被清除,只有轻微的逐渐氧化羰基化的蛋白质才能被蛋白酶体降解,而过度氧化和交联的蛋白质却会具有抗蛋白质水解的抗性^[7,8],如 AD 中老年斑的重要组分——HNE 淀粉样肽交联物能够抑制蛋白酶体的活性,但是,无论淀粉样肽,还是自由态 HNE,它们以适量浓度单独存在时都不能抑制蛋白酶体的活性^[39];而且由于 HNE 本身反应活性很强,它在组织中不可能出现高浓度单体,即使在病理条件下,HNE 在体内直接抑制蛋白酶体活性似乎是不太可能的。因此,HNE 导致蛋白质更新能力和蛋白酶体活性的下降,更有可能因为 HNE 与蛋白质形成加合物;通过对 PD 和 ALS 患者进行研究后发现,的确存在有 HNE 蛋白质加合物的堆积^[40,41];而且在氧化应激过程中,HNE 和 HNE 修饰

的蛋白质都能与 20S 蛋白酶体结合,从而损害蛋白酶体的功能^[36,39]。

过度氧化和交联的蛋白质不能被蛋白酶体降解,这也许是因为蛋白质的结构改变太大而使酶复合物的催化位点根本无法识别,或蛋白质聚合物的结构限制了它与酶复合物的催化位点的结合^[36];这样就造成了过度氧化和交联的蛋白质在细胞内的堆积,并发生进一步的聚合和交联,最终导致细胞凋亡。分化后细胞由于不能进行细胞分裂,蛋白质的交联和聚合物会随增龄增加^[36];考虑到机体的脑组织、心肌和骨骼肌中的细胞大多为有丝分裂后细胞,因而这种交联和氧化蛋白质的堆积对这些组织功能的影响尤为明显。

同时,蛋白酶体亚单位本身也许就是羰基化的标靶之一。将人类成神经细胞瘤 SH-SY5Y 细胞用一种内源性 ROS 诱导剂—15 脱氧-^{12,14} 前列腺素 J₂ (5-deoxy-^{12,14} prostaglandin J₂, 15d-PGJ₂) 这一前列腺素 D₂ 的代谢产物处理后,会导致 SH-SY5Y 细胞的羰基化蛋白质的堆积;进一步对氧化敏感型蛋白质进行蛋白质组分析后发现,细胞内蛋白质羰基化的主要标靶是 26S 蛋白酶体的调节亚单位——S6 ATP 酶;在本实验中,(1) S6 ATP 酶的蛋白质羰基化水平显著升高,(2) S6 ATP 酶的活性的显著降低,(3) 26S 蛋白酶体降解底物的能力大大减弱^[42]。

5 蛋白质羰基化与衰老

Stadtman 研究组的早期研究表明,在老年个体中,蛋白质会发生明显的羰基化修饰^[23]。在此之后,越来越多的研究表明,随着年龄的增长,蛋白质羰基化的水平也会随之稳步上升^[11],最终,几乎三分之一的蛋白质都发生了羰基化修饰^[11,23]。那么,蛋白质羰基化修饰程度的增加到底是衰老的结果,还是加速衰老的重要原因呢?

Nyström 研究组在大肠杆菌的实验结果^[35]表明,在衰老过程中,转录错误或翻译错误会导致部分异常多肽的轻微错误折叠,使一些在正常翻译折叠偶联过程中被隐藏起来的氧化羰基化作用敏感型氨基酸残基暴露出来,从而导致这些异常蛋白质更易发生羰基化修饰,而蛋白质氨基酸的羰基化修饰将进一步导致蛋白完整性的丧失;这样,蛋白质导致疏水表面的增加反过来又使 DnaK/DnaJ 的伴侣蛋白系统的作用位点增加^[43],进一步增加蛋白质氧化作用的敏感性和蛋白质错误折叠。因此,蛋白质羰基化是衰老过程中蛋白质氧化敏感性逐步增加的重要原因。

随着年龄的增长,蛋白质羰基化程度的逐渐上升会导致错误折叠蛋白质的产生逐渐超过细胞内伴侣蛋白的保护能力,从而导致一些疾病的形成,而且这类疾病会随增龄加剧;如 AD、PD、ALS 和 HD 等衰老相关疾病^[31]。同时,在双螺旋丝状体和淀粉样斑块等 AD 病灶标志部位,蛋白质发生了明显的羰基化修饰,因此,蛋白质羰基化修饰可能在 AD 等神经退行性疾病的发病进程中起决定性作用^[44]。

自从发现蛋白质羰基化是蛋白质氧化过程中发生酶促水解的重要标记后,蛋白质羰基化已广泛地用作衡量氧化损伤和疾病相关的蛋白质功能异常的重要标准^[45]。但并非所有的蛋

白质羰基化修饰都能有效地诱导蛋白质的水解,比较严重的蛋白质羰基化将导致蛋白质功能的减少或完全丧失,并能启动蛋白质形成高分子量的、具有潜在细胞毒性的聚合物,这些聚合物在体内的进一步交联和聚集将具有蛋白酶体抗性,阻碍异常蛋白质的泛素-蛋白酶系统降解。这一过程正好与老年色素的形成机制不谋而合,现有的研究表明:羰基交联启动的蛋白质的交联聚合是老年色素形成的核心生化机制^[7,16]。在上述疾病模型中的蛋白质聚合物中含有泛素和 20S 与 19S 的蛋白酶体组分^[46],这表明:严重的羰基化修饰导致蛋白酶体失效后,泛素-蛋白酶系统企图来清除错误折叠的蛋白质聚合物;但是,由于这些蛋白质聚合物与非聚合的正常蛋白质相比,具有较强的抗降解能力,泛素-蛋白酶系统的这种努力也只是徒然^[36,46]。

6 结论

从羰基化对蛋白质结构和功能的影响来看,羰基化的作用也许随有机体的年龄的改变而改变:在生命早期 RCS 在生物体内的产生和清除是一个动态平衡^[4,7],蛋白质羰基化在蛋白质的质量控制过程中具有重要作用^[8],它通过标记异常的、损伤的蛋白质或闲置的酶,从而启动它们的降解;而在生命晚期,伴随机体对羰基化蛋白质的降解能力的减弱和羰基化蛋白质的生成速率的加快,羰基化蛋白质对蛋白质、细胞乃至机体的危害和消极影响开始暴露出来,从而导致蛋白质和细胞功能的降低和丧失,加速老年色素的累积,启动或促进老年退行性疾病的生理病理过程,最终加快衰老的进程。未来的研究也许将深刻揭示蛋白质羰基化修饰对衰老和长寿的影响。

7 参考文献

- 1 Esterbauer H, Schaur RJ, Zollner H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes [J]. *Free Radic Biol Med*, 1991; 11: 81-128.
- 2 Uchida K. Role of reactive aldehyde in cardiovascular diseases [J]. *Free Radic Biol Med*, 2000; 28: 1685-96.
- 3 Poli G, Schaur RJ. 4-Hydroxynonenal in the pathomechanisms of oxidative stress [J]. *UBMB Life*, 2000; 50: 315-21.
- 4 Yin D, Chen K. The essential mechanisms of aging: Irreparable damage accumulation of biochemical side-reactions [J]. *Exp Gerontol*, 2005; 40: 455-65.
- 5 le-Donne I, Giustarini D, Colombo R, *et al.* Protein carbonylation in human diseases [J]. *Trends Mol Med*, 2003; 9: 169-76.
- 6 Yin D. Studies on age pigments evolving into a new theory of biological aging [J]. *Gerontology*, 1995; 41: 159-72.
- 7 Yin D. Biochemical basis of lipofuscin, ceroid, and age pigment-like fluorophores [J]. *Free Radic Biol Med*, 1996; 21: 871-88.
- 8 Nystrom T. Role of oxidative carbonylation in protein quality control and senescence [J]. *EMBO J*, 2005; 24: 1311-7.
- 9 Miyata T, van Ypersele de SC, Kurokawa K, *et al.* Alterations in nonenzymatic biochemistry in uremia: origin and significance of "carbonyl stress" in long-term uremic complications [J]. *Kidney Int*, 1999; 55: 389-99.
- 10 Stadtman ER. Metal ion-catalyzed oxidation of proteins: biochemical mechanism and biological consequences [J]. *Free Radic Biol Med*, 1990; 9: 315-25.

- 11 Stadman ER. Protein oxidation and aging [J]. *Free Radic Res*, 2006; 40: 1250-8.
- 12 Stadman ER, Levine RL. Free radical-mediated oxidation of free amino acids and amino acid residues in proteins [J]. *Amino Acids*, 2003; 25: 207-18.
- 13 Refsgaard HH, Tsai L, Stadman ER. Modifications of proteins by polyunsaturated fatty acid peroxidation products [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000; 97: 611-6.
- 14 Suji G, Sivakami S. Glucose, glycation and aging [J]. *Biogerontology*, 2004; 5: 365-73.
- 15 Hipkiss AR. Accumulation of altered proteins and ageing: Causes and effects [J]. *Exp Gerontol*, 2006; 41: 464-73.
- 16 Li G, Liao Y, Wang X, *et al*. In situ estimation of the entire color and spectra of age pigment-like materials: application of a front-surface 3D-fluorescence technique [J]. *Exp Gerontol*, 2006; 41: 328-36.
- 17 Ahmed N, Thomalley PJ. Advanced glycation endproducts: what is their relevance to diabetic complications [J]? *Diabetes Obes Metab*, 2007; 9: 233-45.
- 18 Jana CK, Das N, Sohal RS. Specificity of Age-Related Carbonylation of Plasma Proteins in the Mouse and Rat [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2002; 397: 433-9.
- 19 Choi J, Rees HD, Weintraub ST, *et al*. Oxidative Modifications and Aggregation of Cu, Zn-Superoxide Dismutase Associated with Alzheimer and Parkinson Diseases [J]. *J Biol Chem*, 2005; 280: 11648-55.
- 20 Yan LJ, Levine RL, Sohal RS. Oxidative damage during aging targets mitochondrial aconitase [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997; 94: 11168-72.
- 21 Yan LJ, Sohal RS. Mitochondrial adenine nucleotide translocase is modified oxidatively during aging [J]. *PNAS*, 1998; 95: 12896-901.
- 22 Liang J, Levine RL, Sohal RS. Effects of aging and hyperoxia on oxidative damage to cytochrome c in the housefly, *Musca domestica* [J]. *Free Radic Biol Med*, 2000; 29: 90-7.
- 23 Stadman ER. Protein oxidation and aging [J]. *Science*, 1992; 257: 1220-4.
- 24 Merker K, Grune T. Proteolysis of oxidized proteins and cellular senescence [J]. *Exp Gerontol*, 2000; 35: 779-86.
- 25 Ghezzi-Schoneich E, Esch SW, Sharov VS, *et al*. Biological aging does not lead to the accumulation of oxidized Cu, Zn-superoxide dismutase in the liver of F344 rats [J]. *Free Radic Biol Med*, 2001; 30: 858-64.
- 26 Wilson MR, Easterbrook-Smith SB. Clusterin is a secreted mammalian chaperone [J]. *Trends Biochem Sci*, 2000; 25: 95-8.
- 27 Rabek JP, Boylston WH, Papaconstantinou J. Carbonylation of ER chaperone proteins in aged mouse liver [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003; 305: 566-72.
- 28 Bossy-Wetzel E, Schwarzenbacher R, Lipton SA. Molecular pathways to neurodegeneration [J]. *Nat Med*, 2004; S2-S9.
- 29 Bence NF, Sampat RM, Kopito RR. Impairment of the ubiquitin-proteasome system by protein aggregation [J]. *Science*, 2001; 292: 1552-5.
- 30 Sherman MY, Goldberg AL. Cellular defenses against unfolded proteins: a cell biologist thinks about neurodegenerative diseases [J]. *Neurology*, 2001; 29: 15-32.
- 31 Sayre LM, Smith MA, Perry G. Chemistry and biochemistry of oxidative stress in neurodegenerative disease [J]. *Curr Med Chem*, 2001; 8: 721-38.
- 32 Smith MA, Perry G, Richey PL, *et al*. Oxidative damage in Alzheimer's [J]. *Nature*, 1996; 382: 120-1.
- 33 Picklo MJ, Montine TJ, Amamath V, *et al*. Carbonyl Toxicology and Alzheimer's Disease [J]. *Toxicol and Appl Pharmacol*, 2002; 184: 187-97.
- 34 Iwai K, Drake SK, Wehr NB, *et al*. Iron-dependent oxidation, ubiquitination, and degradation of iron regulatory protein 2: Implications for degradation of oxidized proteins [J]. *PNAS*, 1998; 95: 4924-8.
- 35 Dukan S, Farewell A, Ballesteros M, *et al*. Protein oxidation in response to increased transcriptional or translational errors [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000; 97: 5746-9.
- 36 Grune T, Jung T, Merker K, *et al*. Decreased proteolysis caused by protein aggregates, inclusion bodies, plaques, lipofuscin, ceroid, and aggregates during oxidative stress, aging, and disease [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2004; 36: 2519-30.
- 37 Desnues B, Cuny C, Gregori G, *et al*. Differential oxidative damage and expression of stress defence regulons in culturable and non-culturable *Escherichia coli* cells [J]. *EMBO Rep*, 2003; 4: 400-4.
- 38 Shringapur R, Davies KJA. Protein turnover by the proteasome in aging and disease [J]. *Free Radic Biol Med*, 2002; 32: 1084-9.
- 39 Shringapur R, Grune T, Sitte N, *et al*. 4-Hydroxynonenal-modified amyloid-beta peptide inhibits the proteasome: possible importance in Alzheimer's disease [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2000; 57: 1802-9.
- 40 Yoritaka A, Hattori N, Uchida K, *et al*. Immunohistochemical detection of 4-hydroxynonenal protein adducts in Parkinson disease [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996; 93: 2696-701.
- 41 Pedersen WA, Fu W, Keller JN, *et al*. Protein modification by the lipid peroxidation product 4-hydroxynonenal in the spinal cords of amyotrophic lateral sclerosis patients [J]. *Ann Neurol*, 1998; 44: 819-24.
- 42 Ishii T, Sakurai T, Usumi H, *et al*. Oxidative modification of proteasome: identification of an oxidation-sensitive subunit in 26 S proteasome [J]. *Biochemistry*, 2005; 44: 13893-901.
- 43 Fredriksson A, Ballesteros M, Dukan S, *et al*. Defense against protein carbonylation by DnaK/DnaJ and proteases of the heat shock regulon [J]. *J Bacteriol*, 2005; 187: 4207-13.
- 44 李国林, 李莉, 印大中. 羰基应激与阿尔茨海默病的上游分子病因 [J]. *中华老年医学杂志*, 2004; 23: 591-4.
- 45 le-Donne I, Rossi R, Giustarini D, *et al*. Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress [J]. *Clinica Chimica Acta*, 2003; 329: 23-38.
- 46 Ross CA, Pickart CM. The ubiquitin-proteasome pathway in Parkinson's disease and other neurodegenerative diseases [J]. *Trends Cell Biol*, 2004; 14: 703-11.

(2008-09-02收稿 2008-10-15修回)

(编辑 曲莉)