蛋白质内稳态质控因子CHIP的研究进展

苏永南 王玉玲 宋斌 段文芳 杨帆 张继虹*
(衰老与肿瘤分子遗传学实验室, 昆明理工大学医学院, 昆明 650500)

摘要 机体各项生命活动的进行有赖于细胞内蛋白质内稳态的维持。热休克蛋白70羧基端作用蛋白(carboxyterminus of Hsp70 interacting protein, CHIP)作为E3泛素连接酶, 是蛋白质量控制系统的重要元件, 可与热休克蛋白(heat shock proteins, Hsps)家族共调蛋白折叠及降解平衡, 也可通过自噬途径或发挥分子伴侣功能使机体适应蛋白质毒性压力。由于CHIP的靶蛋白, 如突变p53(mutant-type p53, mutp53)多与重大生物学事件相关, 甚至影响肿瘤、心脏病等疾病的发生发展。因此, 深入研究CHIP调节蛋白质内稳态的机制及其对疾病进程的影响, 可为蛋白质代谢紊乱相关疾病的防控治疗提供理论基础。

关键词 CHIP; Hsp70; Hsp90; 泛素化; mutp53; 肿瘤; Hsp90抑制剂

Research Progresses of Carboxyterminus of Hsp70 Interacting Protein (CHIP), A key Factor in Keeping Cellular Proteostasis

Su Yongnan, Wang Yuling, Song Bin, DuanWenfang, YangFan, Zhang Jihong*
(*Laboratory of Molecular Genetics of Aging & Tumor, Medical School, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, China*)

Abstract The development of life activities within organisms is based on the maintenance of cellular proteostasis. E3 ubiquitin ligase carboxyterminus of Hsp70 interacting proteinas (CHIP) is a key regulator in protein quality control system, can maintain a balance between protein folding and its degradation by cooperation with the heat shock proteins. Furthermore, CHIP can protect organisms from protein toxicity through the autophagy pathway or by virtue of intrinsic chaperone activity. Owing to the target proteins of CHIP such as mutp53 are associated with significant biological events even affect cancer, cardiovascular diseases and other diseases. Therefore, study the mechanism for CHIP to regulate the cellular protein homeostasis and clarify the role of CHIP in the development of various diseases, can provide a theoretical basis for prevention and treatment of protein metabolism disorder related diseases.

Keywords CHIP; Hsp70; Hsp90; ubiquitination; mutp53; tumor; Hsp90 inhibitor

蛋白质内稳态是细胞内蛋白质组中特定蛋白质合成及质量控制、折叠及去折叠、修饰及降解等进程的动态平衡, 在缺氧、DNA损伤等细胞内外刺激时, 其调控可使细胞适应环境变化并正常执行生物学功能[1]。维持细胞内蛋白质内稳态为细胞各项生命活动所必需, 其平衡打破常作为神经退行性疾病、肿瘤等疾病的表征及始动因素[2]。热休克蛋白70羧基端作用蛋白(carboxyterminus of Hsp70

收稿日期: 2018-06-27 接受日期: 2019-02-18
国家自然科学基金(批准号: 81560601)资助的课题
*通讯作者。Tel: 15331717268, E-mail: zhjihong2000@126.com
Received: June 27, 2018 Accepted: February 18, 2019
This work was supported by the National Natural Science Foundation (Grant No.81560601)
*Corresponding author. Tel: +86-15331717268, E-mail: zhjihong2000@126.com
网络出版时间: 2019-07-17 10:40:26 URL: http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20190717.1040.002.html

interacting protein, CHIP)作为热休克蛋白70(heat shock protein 70 kDa, Hsp70)和热休克蛋白90(heat shock protein 90 kDa, Hsp90)的伴侣结合蛋白, 兼具E3/E4泛素连接酶活性, 可通过热休克蛋白家族依赖或非依赖的蛋白酶体、溶酶体降解途径, 介导Tau、mutp53等蛋白的折叠及降解平衡而影响疾病的进程及结果[3]。因此, 阐明CHIP对靶蛋白的调控机制及与疾病发生的联系, 进而为蛋白质代谢紊乱相关疾病的治疗提供理论基础。本文将阐述CHIP的基本特性及其靶蛋白, 并着重讨论其调控靶蛋白的机制、具体的生理功能及其调控与肿瘤、神经系统性疾病等的发生、发展的关系。

1 CHIP的发现及其基本特性

CHIP是一种兼具E3/E4泛素连接酶及分子伴侣结合活性的蛋白, 具有高度进化保守性, 分子量为34.5 kDa, 由303个氨基酸残基(aa)组成。*CHIP*基因定位于16号染色体p13.3区域, 其前体mRNA长度为2 760 bp, 包含7个外显子及6个内含子区, 通过选择性剪切可编码长度为231个aa的截短型CHIP蛋白[4]。34肽重复序列(tetratricopeptide repeats, TPR)是介导TPR蛋白家族与热休克蛋白家族互作的重要基序, Ballinger团队[5]在1999年以噬菌体展示技术从人心脏cDNA文库筛选TPR蛋白家族新成员时, 发现CHIP可通过其第1—197位aa结合至热休克同源蛋白70(heat shock cognate protein 70, Hsc70)羧基端第540—650位aa, 并能抑制Hsp40、Hsp70对错叠荧光素酶的结合及重折叠, CHIP作为TPR蛋白家族新成员的身份自此得以确定。另外, 随着Shigeo团队[6]于2001年发现CHIP可以在体外泛素化修饰热变性的荧光素酶, CHIP的E3泛素连接酶活性从此受到关注, 而其E4泛素连接酶活性经Imai团队[7]于2002年发现CHIP可促进E3泛素连接酶Parkin泛素化降解Pael-R后也得到验证。CHIP蛋白以同型二聚体形式发挥功能, 其单体由N-端的TPR区、中央的螺旋发夹区(helical hairpin, H-H)、C-端的U-Box区3大结构域组成[3](图1)。TPR区由3个串联TPR基序组成反平行α螺旋, 是热休克蛋白家族的结合区域, 且该区的疏水性表面为CHIP与其它TPR蛋白互作的必需元件[8]。H-H结构域, 富含带电氨基酸, 可连接TPR及U-Box区并呈递两者间的构象影响, 也与CHIP的二聚化、异构体形成、亚细胞定位有关。U-Box结构域, 具有E3连接酶活性, 可招募靶蛋白及E2泛素结合酶呈递的泛素分子(Ub)并使靶蛋白进攻E2-Ub硫酯键最终形成靶蛋白-Ub复合体[9]。CHIP可通过H-H结构域形成构象处于对称型及非对称型动态变化的二聚体, 利于不同底物蛋白的结合[1]。由于对称型二聚体可同时结合2个泛素分子, 而非对称型二聚体经分子重排掩蔽1个E2泛素结合酶结合位点只能招募1个泛素分子, 因此二聚体构象转换造成的泛素分子招募效率差异性可间接调节CHIP的E3泛素连接酶活性。另外, 由于CHIP二聚体可结合2个Hsp70, 且Hsp70和CHIP的运动方向相对独立, 这种运动独立性可为客体蛋白的进入提供足够空间[1]。

CHIP蛋白广泛分布于所有组织器官中, 但在成人骨骼肌及心脏、大脑等终末分化、代谢旺盛的组织中表达水平较高, 而在胰腺、肾脏等其它蛋白质更新速率较慢的组织器官则分布较少; 该表达差异性也揭示了CHIP在蛋白质量控制系统中的关键作用[8]。最初, CHIP蛋白因其主要定位于细胞质而被定义为细胞质蛋白, 对它的功能认识也只局限于细胞质蛋白质量控制系统, 但后续研究发现, 应激状态下CHIP表达上调[10]且可发生核转位, 调控p65、RUNX1、RUNX2、AR、ataxin-1、SIRT6、HSF1等细胞核蛋白, 此外它对定位于线粒体、高尔基体、内质网、微管、细胞质、细胞质膜的靶蛋白如LRRK2、β-APP、PaelR、SGK-1、Tau、α-Synuclein、CFTR等均具有调控作用[4,8]。简言之, CHIP在不同细胞组分中的蛋白质质量控制功能已得以确定, 但调控CHIP亚细胞定位的深层机制目前未明[8], 该机制的阐明将利于深度解读CHIP在不同细胞组分中的生理功能。

2 CHIP调控的靶蛋白

CHIP的靶蛋白多为Hsp70、Hsp90客体蛋白[2], 包括androgen receptor(AR)、CFTR等受体; Katanin-p60、Profilin等细胞骨架蛋白; HDAC6、NOS等酶类; PI3K、PKB等信号通路关键节点因子; p53、eIF5A等转录因子[3]。CHIP通过调控这些蛋白, 最终调节细胞的生长增殖、能量代谢甚至直接影响疾病进程[11]。而众多靶蛋白中, p53的肿瘤相关性最高, 野生型p53(wtp53)可以启动细胞凋亡、自噬等程序而发挥抑癌作用, 但肿瘤中p53高频突变, 突变p53(mutp53)不仅失去原有抗癌功能, 且可促进肿瘤增殖及转移、获得耐

中国细胞生物学学报

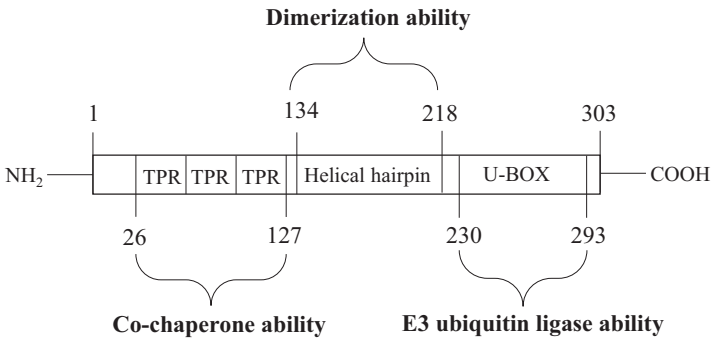

图1 CHIP蛋白的一级结构图(根据参考文献[3]修改)

Fig.1 The primary structure of CHIP protein (modified from Reference [3])

药性[12]。因此, 研究CHIP调控与p53丰度及功能的联系, 可为p53靶向治疗策略设计提供思路。

p53具有构象易变性, 突变会使紧凑有序的构象发生错误折叠[13]。Mutp53与Hsp70、Hsp90结合可发生构象解旋, 解离后mutp53可自发重折叠为天然构象或保持错误折叠构象。由于构象敏感区高频突变, mutp53与Hsp90、Hsp70解离后不易重折叠为天然构象, 而倾向以错叠状态再次进入折叠循环, 最终造成mutp53不断被Hsp70、Hsp90募集并逃逸泛素化降解[14]。肿瘤中mutp53高度稳定是由于Hsp90与mutp53、CHIP、MDM2(murine double minute 2)形成复合体, 抑制了CHIP与MDM2对mutp53泛素化降解[12], 似乎已成定论。但有报道称MDM2虽能有效降解wtp53, 但对mutp53几乎无降解作用[13], 甚至能与Hsp70共同稳定mutp53, 阻止CHIP对mutp53的降解[14]; 而CHIP降解mutp53多有报道[2], 这提示, 相对于MDM2, CHIP或许才是真正介导mutp53降解的E3泛素连接酶[13]。CHIP原则上只泛素化降解变性蛋白[3], 实际却能降解wtp53, 这可能与p53构象不稳定性有关, 即wtp53构象并非绝对的天然折叠, 在应激条件下存在一定程度错叠构象因而被CHIP识别降解。另外, mutp53也存在部分天然折叠构象, 且天然构象比例高的mutp53稳定性较高, 这也提示CHIP能根据错叠构象比例对wtp53、mutp53进行程度差异化的泛素化降解[13]。此外, CHIP对mutp53的泛素化降解, 受控于BAG2[15]、BAG5[15]、DNAJA1[16]、mortalin-2[17]、UBXN2A[17]、S100A2[18]等正负性调控因子及SAHA[19]、17AGG[12]、Gambogic Acid[20]、lovastatin[16]等外源化合物。除介导泛素化降解外, CHIP也可直接结合至p53的N-端并改变其构象和活性[10]。常温时, CHIP与wtp53、mutp53的亲和力基本相同, 热激状态下, CHIP优先结合mutp53抑制其聚集化, 纠正其错误折叠并恢复其DNA结合能力, 也可入核稳定wtp53, 防止后者发生不可逆的热变失活。简言之, CHIP既可调节p53的丰度, 也可影响p53的功能, 而这两种调控模式的联系及对p53功能的整体影响目前未明, 这些谜题的解开将为p53靶向治疗策略的设计提供思路。

3 CHIP调控靶蛋白的机制

细胞的蛋白内稳态维持系统由构成分子伴侣家族、泛素−蛋白酶体系统、自噬−溶酶体系统的800多种蛋白组成[21]。热休克蛋白家族(分子伴侣家族)可介导新生多肽的加工及错叠蛋白的构象重塑; 泛素−蛋白酶体及自噬−溶酶体系统则行使蛋白丰度调控终端的职能; CHIP作为联系两大系统的中间分子, 可调控靶蛋白折叠及降解平衡[3](图2)。

3.1 热休克蛋白家族依赖途径

Hsp70、Hsp90为热休克蛋白家族关键成员, 均具有ATPase活性, 且它们的伴侣功能均受控于自身ATPase循环[1]。Hsp70的ADP结合型可稳定结合靶蛋白, 而ATP结合型与靶蛋白亲和力极低; 但Hsp90则刚好相反。如图2所示, 靶蛋白进入Hsp70折叠系统后, Hsp40结合于Hsp70的底物结合结构域(SBD), 促使Hsp70水解结合于核苷酸结合结构域(NBD)的ATP, 形成与靶蛋白稳定结合的开放构象且该构象因HIP(Hsc70-interacting protein, HIP)的结合继续维持。随之, Hsp40与Hsp70解离, BAG1、HSPBP1等核苷酸交换因子(NEF)与Hsp70结合, 会促进ADP与Hsp70解离及ATP结合至Hsp70, 导致靶蛋白与Hsp70结合变弱并最终游离[1]。释放的正确折叠蛋白行使功能, 错叠蛋白则被泛素化降解或再次进

入原折叠循环或经Hsp70/Hsp90组织蛋白(Hsp70/Hsp90 organizing protein, HOP), 呈递至Hsp90[3]。进入Hsp90折叠系统的错叠蛋白在p23协同下与ATP结合型Hsp90稳定结合, 且结合力经HOP、Hsp70解离及FKBP52、CYP40招募进一步增强。最后, Aha1促使ATP水解导致Hsp90构象开放并释放靶蛋白[3]。重折叠成功的蛋白被分选至相应位置; 折叠失败的除被降解或再进入Hsp90折叠系统外[14], 也可自发或经Tpr2介导由Hsp90呈递至Hsp70折叠系统[3]。

该蛋白折叠过程中, CHIP通过TRP结构域, 可结合至Hsp90的C-端SRMEEVD肽基序或Hsp70的PTIEEVD肽基序及N-端lid子结构域[22], 既可协助Hsp70/Hsp90介导的错叠蛋白重折叠[23], 也可干扰其伴侣功能[3]。CHIP结合至Hsp70能够抑制HIP和Hsp40的功能, 导致ATP结合型Hsp70积累, 使靶蛋白结合及重折叠受阻; CHIP结合至Hsp90可阻止p23募集及HOP结合, 进而阻止靶蛋白呈递及降低Hsp90-靶蛋白复合体稳定性, 最终介导靶蛋白的泛素化并调控其丰度或活性、亚细胞定位[24]。蛋白降解过程中, E2泛素结合酶Ube2w可结合CHIP并招募具有去泛素化酶活性的ataxin-3至后者, ataxin-3可限制CHIP靶蛋白的泛素链长度并去泛素化修饰CHIP, 进而起始、调控、终止泛素化反应[25]; 同时, CHIP与Hsp70发生寡聚泛素化进而协助靶蛋白呈递至蛋白酶体, 而含有Ub-结合基序的蛋白酶体S5a亚基可阻止靶蛋白形成难与蛋白酶体结合的叉形泛素链; 最终, 靶蛋白通过线性泛素链与26S蛋白酶体的19S调节颗粒上的泛素受体结合, 并经去折叠后由蛋白酶受体端间隙进入20S核心颗粒并被逐步降解同时释放泛素分子使其再次进入泛素化循环[3]。此外, BAG3可以与CHIP-Hsp70-靶蛋白结合并招募p62及自噬相关复合体, 进而诱导靶蛋白的自噬途径降解[26]。蛋白降解后, CHIP可自泛素化降解及降解Hsp70、Hsp90[3], 但不降解与Hsp70高度同源的Hsc70[27], 这提示了CHIP既可激活HSF1并上调Hsp70、Hsp90进而响应压力信号[28], 又能维持刺激应答后Hsp70、Hsp90的正常水平[28]及静息状态下Hsc70的蛋白重折叠能力[27], 也避免CHIP对靶蛋白丰度的过度调节。此外, 随着研究深入, 先后发现了Xap2、OLA-1、HSJ1a、BAG2、HspBP1等能影响CHIP对靶蛋白调控作用的正、负性调控因子[3]。另外也发现, MicroRNA结合至*CHIP* mRNA的3′UTR抑制CHIP的翻译[29]; 雷公藤红素(celastrol)增强CHIP与特定蛋白的互作[30]; HDAC6抑制剂SAHA[19]及Hsp90抑制剂17AAG[12]促进靶蛋白由Hsp90呈递至CHIP, 均能影响CHIP介导的蛋白降解。因此, 进一步的调控机制探明, 有助于新型CHIP靶向策略的设计, 从而更高效干预靶蛋白的丰度调节。

3.2 热休克蛋白家族非依赖途径

除了热休克蛋白家族依赖型的蛋白酶体降解途径外, CHIP也能通过其它模式调控靶蛋白功能(图2)。CHIP可发挥分子伴侣活性, 直接与HSF1[28]、p53[10]、Smad1[31]、AMPKα[32]结合并影响它们的构象及活性; 也可直接结合并泛素化降解Tau[3]、PPARγ[33]、PTEN[34]、Runx1[35]、BER enzyme[36]; 既能通过自噬-溶酶体途径降解HIF-1A[37]、phPXR[38]、α-Synuclein[39]、RIPK3[40]、p14ARF[41]、GHR[4]、Filamin[4]、SOD1[4], 也可通过调控自噬流[42]或TFEB[43]、LC3[4]、p62[4]等自噬相关因子间接影响靶蛋白的自噬降解; 甚至在蛋白酶体功能损伤时, 诱导iNOS在微管组织中心附近聚集化致其功能失活[2]。

此外, 由于泛素分子中多个Lys位点均可参与泛素链的形成, 且CHIP可直接结合多个E2-Ub复合体, 因此不同类型的E2泛素结合酶可差异化诱导CHIP修饰靶蛋白使靶蛋白带上不同Lys位点连接型的支链型、直链型泛素链[3], 而泛素化调控功能与泛素化模式(即寡聚、多聚泛素化)及泛素连接类型(即叉形、线性泛素链; 不同Lys位点连接型的泛素链)密切相关[44]。这提示了CHIP泛素化方式的多元性, 可能导致差异化的调节后果。其中, 寡聚泛素化修饰多调控靶蛋白的活性及亚细胞定位, 而多聚泛素化则常介导蛋白降解。在众多Lys位点连接型泛素化中, 以K48(Lys48)、K63(Lys63)连接型研究最多。此外, K48连接型泛素化, 多由E2泛素结合酶Ubc4、Ubc5、Ubc7介导, 被视为蛋白酶体降解的经典信号, 也是CHIP介导的常见泛素化修饰方式[3]。而K63连接型泛素化, 多由E2泛素结合酶Ubc13、Ube1a介导, 与靶蛋白活性及信号转导(如CHIP调控IER1)、靶蛋白的自噬途径降解[3](如CHIP调控phPXR、HIF-1A)有关。其它非经典Lys连接型泛素化修饰, 则多与蛋白分布及活性有关, 如CHIP可介导SirT6发生K170连接型泛素化, 稳定SirT6使其发挥抗衰老功能[24], 也可介导Daxx发生K630连接型泛素化, 使其转位至非溶性细胞组分进而阻断相关的细胞凋亡[45]。

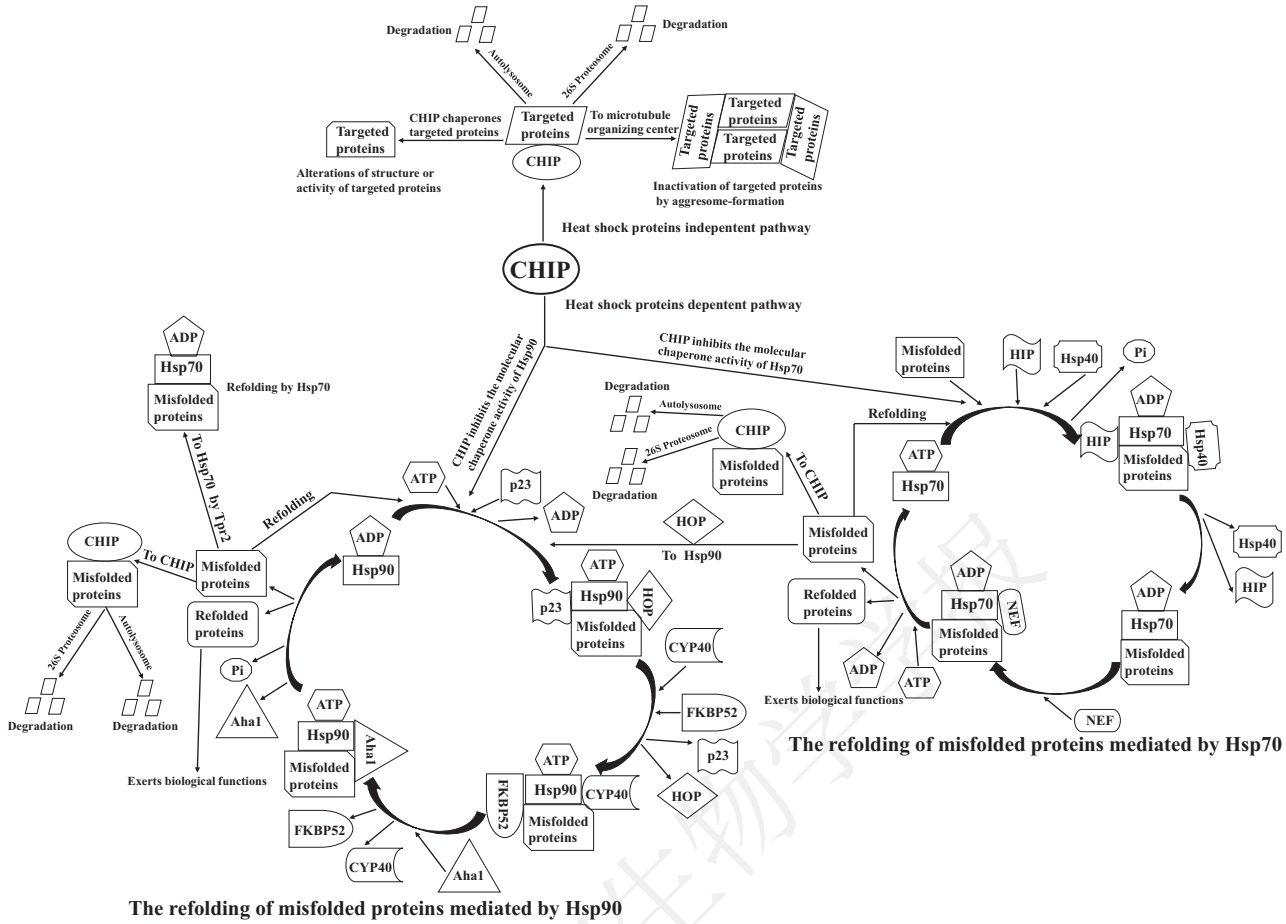

图2 CHIP调控靶蛋白的机制

Fig.2 The mechanism for CHIP to regulate its target proteins

4 CHIP的生理功能

4.1 维持静息及压力状态下的蛋白质内稳态

生理及应激状态下, 错叠蛋白及新合成肽链需折叠为具有完全活性的自然状态才可发挥生物学功能; 而面对各种急性、慢性压力, 蛋白质稳态(指蛋白质合成、折叠与去折叠、修饰及降解的平衡状态)也是维持机体健康内环境的必要条件, 因此蛋白质稳态维持系统的存在, 尤为重要[21]。在变性蛋白复性、多肽从头折叠过程中, CHIP可自发或与分子伴侣家族协作, 防止错叠、未折叠蛋白发生病理性聚集并协助它们形成正常结构; 也可通过泛素−蛋白酶体、自噬−溶酶体途径降解折叠失败或时序性表达的蛋白[3]; 正常生理环境下, 细胞有10%~20%的蛋白需要辅助因子的帮助才能完成正确折叠组装, 而复性失败的变性蛋白质及20%折叠失败的新合成肽链也需要被及时清除; 氧化应激、热应激等压力状态下, 机体中未折叠及错叠蛋白明显增多, 这些异常蛋白若得不到重折叠组装或及时清除, 也将会造成蛋白质毒性压力, 因此, 以CHIP为主要参与者的蛋白质稳态维持系统极为重要。事实上, 压力状态下CHIP表达上调且保护细胞免受压力诱导的细胞死亡; 而在CHIP$^{-/-}$小鼠围产期, 死亡率明显上升, 在热压力状态下多器官均表现出凋亡现象[3]。热激压力下, CHIP可在malin、laforin协助下发生核转位, 增强细胞核中HSF1的转录活性, 进而启动热休克应答, 防止细胞凋亡[8]; 也可发挥分子伴侣活性, 防止变性蛋白(如mutp53)聚集并驱动构象重塑[10]。内质网应激时, CHIP可转位至内质网外膜, 上调内质网相关降解途径或泛素化激活内质网压力感受器IER1及IER1-TRAF-JNK2信号通路, 启动非折叠蛋白应答, 进而抑制错叠、未折叠蛋白在内质网腔的堆积, 增强细胞对压力胁迫的适应性[46]。低氧状态下, CHIP可通过泛素化降解HIF-1a调控细胞对低氧环境的适应性[4]。氧化胁迫下, CHIP通过泛素化降解AhR、SENP3, 促凋亡蛋白Endonuclease G使细胞免受氧化损伤[4]。高渗刺激时, CHIP通过泛素化降解MEKK2,

终止MEKK2对ERK的持续激活, 维持水通道蛋白正常水平的1/5, 使细胞适应高渗胁迫[2]。蛋白酶体应激时, CHIP可以明显抑制MG132(蛋白酶体抑制剂)介导的泛素化蛋白累积及细胞凋亡[4]。以上现象都证明了, 压力状态下CHIP在蛋白质内稳态维持系统中的关键作用。

4.2 调控聚集小体的形成

研究发现, CHIP不仅调控错叠蛋白的重折叠及降解, 也参与蛋白聚集小体形成。蛋白酶体功能损伤时, CHIP可以泛素化修饰CFTR ΔF508(CFTR蛋白突变体)、iNOS, 使CFTRΔF508、iNOS结合HDAC6进而招募动力蛋白, 最终通过微管上的动力蛋白逆行性运输, 在微管组织中心附近形成聚集小体, CFTR ΔF508聚集小体形成, 一定程度上可以抑制CFTR蛋白突变所造成的囊性纤维化, iNOS聚集小体形成, 则可使iNOS功能失活, 避免持续激活的iNOS诱导过量NO的产生, 造成自身免疫应答[2]。简言之, 目前发现CHIP调控蛋白聚集小体形成可以保护细胞, 至于CHIP是否介导形成病理性聚集小体(如Tau蛋白), 需进一步探查。

4.3 调控DNA损伤修复

由于DNA损伤可能导致基因突变甚至引发衰老、癌变等一系列健康危害, DNA损伤修复机制的正常运行显得至关重要。机体中, DNA损伤修复主要通过碱基切除修复机制完成, 该修复过程的主要参与者, 包括DNA polymerase、DNA Ligase III、XRCC1(X-ray repair cross complementing group-1), 且这3种碱基切除修复相关酶的表达水平受到严格调控, 否则过强的碱基切除能力将导致基因突变及基因组稳定性下降。Jason等[36]发现, 在碱基切除修复酶类水平的调控过程中, 3种碱基切除修复相关酶类可以与损伤DNA形成稳定的复合体并启动DNA损伤修复, 而未参与DNA损伤修复的酶则通过CHIP介导泛素化降解。显然, CHIP通过降解多余的碱基修复酶类, 可以保证DNA损伤修复程序的正常进行。

4.4 调控免疫应答

细胞免疫应答中, 抗原肽的摄取、处理、呈递对于T细胞活化及适应性免疫应答的启动至关重要。研究发现, CHIP不仅参与抗原呈递细胞(APC)表面抗原肽-MHC分子复合物的形成, 也能通过促进抗原肽形成树突状细胞聚集体样结构(DALIS)进而介导树突状细胞(主要的抗原呈递细胞)的功能成熟, 也可与p62、BAG3共同介导DC聚集体样结构的解聚进而调控树突状细胞抗原呈递进程[2]。此外, CHIP也可以通过影响细胞因子信号通路而调控免疫应答。一方面, CHIP可通过多聚泛素化修饰Src、PKC、CARNA1进而上调TLR4信号通路(免疫炎症相关信号通路), 最终激活NF-κB而启动炎症应答; 另一方面, CHIP通过泛素化降解IL-4Rα进而上调IL-4、IL-13抗炎信号通路或泛素化降解Foxp3进而抑制Treg细胞的功能, 最终均可启动抗炎应答[2]。显然, CHIP对细胞因子信号通路的调控是错综复杂的, $CHIP^{-/-}$小鼠易患自发性气管炎, 而哮喘及慢性阻肺病人呼吸道中CHIP表达水平却明显上调[4], 这一事实也揭示了CHIP促炎及抗炎的双重作用。因此, 深刻揭示CHIP对免疫应答的调控作用, 需进一步阐明对多个细胞因子信号通路调控的潜在机制。

4.5 调控生长发育及行为活动

CHIP作为蛋白质质控因子, 不仅参与蛋白质稳态调节, 也影响生物体的行为活动及生长发育。研究发现, 与正常小鼠相比, CHIP缺陷小鼠易出现抓力下降、心率加快、易焦虑、易受惊等异常行为。此外, CHIP可通过泛素化降解RUNX2, 在抑制成骨分化进而调控机体骨代谢的同时诱导脂肪生成[47]; 也可通过泛素化降解katanin-p60, 调控轴突生长, 进而调控神经元的早期发育; 或者通过调控细胞骨架蛋白神精丝蛋白的水平, 参与神经元细胞骨架的构建; 此外, 解剖学的研究也表明, CHIP敲除小鼠会出现胸腺、睾丸、骨骼肌萎缩, 心肌肥大, 骨密度下降, 皮肤变薄, 皮下脂肪减少, 驼背等异常表征[4]。这些发现都揭示, CHIP对于维持生物体正常生长发育及行为活动的重要性。

4.6 调控细胞及机体衰老

一些衰老相关因子受到CHIP的严密调控, 因此, CHIP也参与至细胞及机体衰老进程中[2]。研究发现, CHIP可通过介导长寿蛋白SirT6发生K170连接型泛素化修饰, 使SirT6被稳定进而维持基因组稳定性及细胞稳态, 最终发挥抗衰老功能[24]; 而CHIP敲低导致未衰老的人成纤维细胞出现p16表达上调, β-gal阳性细胞增多等早衰表征; CHIP缺陷小鼠寿命缩短并伴随着多器官衰老表征; CHIP功能缺失导致生殖功能不良、共济失调、戈登霍姆斯等机体衰老相关表征出现[2], 这些发现都提示着CHIP具有潜在的抗衰

老能力。但另一方面, CHIP可以维持人衰老成纤维细胞的衰老表型, 也可泛素化降解衰老大鼠中海马趾CA1区域的ERα, 使17β-雌二醇丧失神经元保护作用, 最终增加患老年痴呆的风险[2], 这些研究又提示着CHIP在维持或加速衰老方面的潜在作用。显然, CHIP具有延缓衰老和促进衰老的双重作用, 而要深刻解读这看似矛盾的双重作用, 有赖于CHIP调控细胞及机体衰老机制的进一步阐明。

5 CHIP调控与疾病的关系

CHIP的靶蛋白多与凋亡、自噬等细胞活动关系密切, 有些甚至是疾病相关蛋白[3]。因此, 研究CHIP调控与癌症、神经退行性疾病等人类疾病的关系, 可为疾病治疗提供思路。

5.1 CHIP调控与肿瘤的关系

蛋白异常表达是肿瘤发生发展的动因及表征, CHIP通过调控异常蛋白的表达可影响肿瘤的发生及进程。乳腺癌中, CHIP能够泛素化降解TRAF使NF-κB通路失活从而抑制癌细胞转移[48]。前列腺癌中, CHIP通过降解AR影响Androgen-AR通路最终抑制癌细胞增殖[48]。胃癌中, CHIP促进NF-κB/p65降解从而抑制新生血管形成[48]。甲状腺癌中, CHIP能激活MAPK通路促进癌细胞增殖[11]。肺癌中, CHIP通过泛素化降解肝细胞生长因子受体Met抑制肿瘤生长[49], 也可共价结合ISG15提高肺癌细胞对I型干扰素的敏感性[50]。慢性白血病中, CHIP通过降解未活化的BCR-ABL融合蛋白减缓癌症进程[51]。卵巢癌中, CHIP既可通过降解MLK-3、MLK-4β抑制癌细胞增殖与转移[52], 也可降解PKM2抑制糖酵解对癌细胞供能[53]。脖颈癌中, CHIP可泛素化降解CD166而抑制肿瘤干细胞增殖分化[54]。结直肠癌中, CHIP可泛素化降解eIF5A抑制细胞增殖[55]。肾癌中, CHIP的低表达可导致VEGF-VEGFR2通路上调并促进血管生成[56]。肝癌中, CHIP表达量与肿瘤体积呈正相关, 高表达常导致预后不良[48]。神经胶质瘤中, CHIP可促进肿瘤发生发展, 高表达常伴随预后不良[48]。膀胱癌中, CHIP呈现差异化表达且可作为病人生存状况的预测指标[11]。食管鳞状细胞癌中, CHIP可作为原发灶及转移淋巴结的判断指标[48]。近年来, 关于CHIP在肿瘤中的角色定位褒贬不一, 但如上所述CHIP的靶蛋白既有抑癌因子, 也有促癌蛋白, 因此它是一把视癌细胞背景及靶蛋白而发挥抑癌或促癌效应的双刃剑[11]。基于此, 将CHIP作为某些肿瘤诊疗及预后判断的指标具有可行性, 但要使CHIP成为癌症治疗靶标, 现阶段难度较大。显然, 要通过靶向CHIP改善肿瘤治疗结局, 需要进一步探明在特定背景下, CHIP调节抑癌、促癌因子的决定机制。

5.2 CHIP调控与其它疾病的关系

除肿瘤外, 其它疾病进程也与CHIP调控密切相关。帕金森症中, CHIP可协助Parkin泛素化降解Pael-R从而缓解Pael-R相关神经元死亡[2], 也可泛素化降解PINK1抑制其对星形胞菌素介导型细胞凋亡的回避作用[8]。阿尔茨海默症中, CHIP可泛素化降解p-Tau阻止其形成具神经毒性的复合体[3]。肌萎缩侧索硬化症中, CHIP可泛素化降解突变型SOD1进而抑制突变体显性负效应相关细胞毒性[2]。拉夫拉病中, CHIP可稳定E3泛素连接酶Malin构象, 利于Malin泛素化降解错叠蛋白[2]。亨廷顿病中, CHIP可抑制葡聚糖聚集化降低相关神经毒性[2]。脑缺血症中, CHIP可降低eIF2a及AKT的磷酸化水平并最终抑制海马神经元死亡[57]。戈登·霍姆斯综合症中, CHIP突变可造成痴呆、癫痫、小脑共济失调等多系统神经退行性病变[58]。系统性红斑狼疮中, CHIP可降解RFX1进而抑制RFX1介导的CD11a、CD40L、CD70去乙酰化修饰, 最终导致机体过度免疫[59]。慢性肺阻病中, CHIP可泛素化降解IL-4Ra进而降低异常的炎症应答[60]。先天性心脏病中, CHIP可泛素化GCH1进而抑制NO合成酶辅因子BH4的生成, 导致血管中NO信号通路减弱及内皮功能异常、肺血流量上升[2]。过敏性哮喘病中, CHIP可泛素化降解IL-4Ra, 减弱IL-13相关的炎症反应[61]。LQT2型心脏病中, CHIP通过降解HERG阻止其膜转位并降低膜电位, 造成尖端扭转型室性心动过速[62]。肥厚型心肌病中, CHIP可发挥内在的分子伴侣活性, 活化AMPKα亚基进而调控代谢应答并防止心脏压力过载[32]。糖尿病中, CHIP可与ERK5形成稳定复合物, 抑制ICER(inducible cAMP eady repressor)诱导的心脏衰竭[2]; 而其表达下调将会导致微管聚集化障碍及糖转运缺陷, 影响糖代谢平衡。糖尿病性心肌病中, CHIP可通过抑制高糖诱导的氧化压力及免疫应答进而发挥心肌保护功能[63]。骨代谢疾病(如关节炎)中, CHIP可泛素化降解Osx从而抑制成骨细胞分化并造成骨质疏松[64], 也可通过TRAF家族影响骨

吸收及骨分化进程最终调控骨代谢平衡[65]。多尿症中, CHIP可泛素化降解水通道蛋白AQP2进而造成肾脏水及电解质代谢失衡[66]。急性肾损伤中, CHIP可泛素化降解Nox4进而维持血管紧张素R受体阻滞药Losartan(氯沙坦)介导的抗氧化保护机制[67]。显然, CHIP在这些非癌疾病中, 扮演着改善疾病状况或加速疾病进程的复杂角色, 要通过操控CHIP改善相应疾病的治疗结局, 同样需要调控机制的进一步阐明。

6 总结与展望

CHIP自1999年从人心脏cDNA文库筛选出后, 经近20年研究取得了一定进展。首先, CHIP在蛋白质稳态维持中的重要性已得到充分肯定。其次, 研究者对于CHIP的热休克蛋白家族依赖型靶蛋白调控机制的认识日趋深刻, 而关于热休克蛋白家族非依赖型调控机制的研究热潮也慢慢掀起, 其调控压力应答、机体发育与衰老等多重生理功能被逐一挖掘并得到反复验证。在疾病方面, CHIP在心血管疾病、神经退行性疾病中的保护作用得到了充分证明, 通过将CHIP与其它保护性因子形成嵌合体进而去除蛋白突变体并降低相关细胞毒性的设想被证实有效[2]; 在急性肾损伤、糖尿病等代谢性疾病中的潜在影响也开始引起学者的广泛关注; 更关键的, 随着研究者将视野聚焦到CHIP调控与癌症发生发展的联系, 发现CHIP的表达水平与膀胱癌、乳腺癌等癌症的预后具有明显关联性, 诸如MLK、Met、PKM2等与癌细胞增殖、转移、代谢密切相关的蛋白因子更是受到CHIP严密调控的靶蛋白, 也发现了CHIP是一把兼具抑癌和促癌特性的双刃剑; 这些突破性的进展, 使CHIP作为癌症早期诊断、预后判断和疗效预测的分子标志物具有可行性, 也为CHIP成为癌症对因干预治疗的新靶标提供可能。

然而, 尽管世人对CHIP的认知度在不断提升, 但依然有许多谜题有待解开。例如, CHIP如何与热休克蛋白家族共同识别胞质中的异常蛋白, 如何决定蛋白是进行构象重叠还是走向降解结局？在底物蛋白降解中, 其它E3泛素连接酶如MDM2是否也有参与？ CHIP通过热休克蛋白依赖型还是非依赖型途径调控靶蛋白的决定机制是什么, 是否与靶蛋白的构象有关, 而在热休克蛋白家族非依赖型调控机制中, 是否需要其它因子辅助？ CHIP在转录水平、转录后水平、翻译后水平如何被调控, 其本身的蛋白稳定性是否对其活性造成影响？ CHIP亚细胞定位的调控机制是什么？不同的定位是否对其功能造成直接影响？ CHIP如何与不同的E2泛素结合酶形成不同类型的多聚泛素链？这些不同的多聚泛素链是否造成CHIP的调控模式或效率差异化？ Hsp70与Hsc70序列高度同源, 但CHIP对Hsp70的泛素化降解效率明显高于Hsc70, 这种明显的差异是否与多聚泛素链的不同直接相关？ Hsp70寡聚化状态的不同是否直接影响与CHIP的互作进而改变靶蛋白的结局？ Hsp70和Hsp90中EEVD基序前的氨基酸残基是否会影响CHIP的结合等。当然, 随着研究力度加大及晶体衍射、核磁共振与质谱联用等结构化学研究手段的成熟及应用, 上述谜题将逐一被解开, CHIP相关的深层调控机制及在不同疾病中的角色定位, 将愈发明晰地呈现于世人面前。届时, CHIP由理论研究走向临床应用将得以推动, 通过合理运用CHIP实现特定疾病临床获益最大化也将成为可能。

参考文献 (References)

1 VanPelt J, Page RC. Unraveling the CHIP: Hsp70 complex as an information processor for protein quality control. BiochimBiophys Acta 2017; 1865(2): 133-41.

2 Paul I, Ghosh MK. A CHIPotle in physiology and disease. Int J Biochem Cell Biol 2015; 58: 37-52.

3 Edkins AL. CHIP: a co-chaperone for degradation by the proteasome. Subcell Biochem 2015; 78: 219-42.

4 Joshi V, Amanullah A, Upadhyay A, Mishra R, Kumar A, Mishra A. A decade of boon or burden: what has the CHIP ever done for cellular protein quality control mechanism implicated in neurodegeneration and aging? Front Mol Neurosci 2016; 9: 93.

5 Ballinger CA, Connell P, Wu Y, Hu Z, Thompson LJ, Yin LY, *et al*. Identification of CHIP, a novel tetratricopeptide repeat-containing protein that interacts with heat shock proteins and negatively regulates chaperone functions. Mol Cell Biol 1999; 19(6): 4535-45.

6 Murata S, Minami Y, Minami M, Chiba T, Tanaka K. CHIP is a chaperone-dependent E3 ligase that ubiquitylates unfolded protein. EMBO Rep 2001; 2(12): 1133-8.

7 Imai Y, Soda M, Hatakeyama S, Akagi T, Hashikawa T, Nakayama KI, *et al*. CHIP is associated with Parkin, a gene responsible for familial Parkinson's disease, and enhances its ubiquitin ligase activity. Mol Cell 2002; 10(1): 55-67.

8 Paul I, Ghosh MK. The E3 ligase CHIP: insights into its structure and regulation. Biomed Res Int 2014; 2014: 918183.

9 Zhang H, Amick J, Chakravarti R, Santarriaga S, Schlanger S, McGlone C, *et al*. A bipartite interaction between Hsp70 and CHIP regulates ubiquitination of chaperoned client proteins. Structure 2015; 23(3): 472-82.

10 Tripathi V, Ali A, Bhat R, Pati U. CHIP chaperones wild type p53 tumor suppressor protein. J Biol Chem 2007; 282(39): 28441-54.

11 Cao Z, Li G, Shao Q, Yang G, Zheng L, Zhang T, *et al*. CHIP: A new modulator of human malignant disorders. Oncotarget 2016; 7(20): 29864-74.

12 Li D, Marchenko ND, Schulz R, Fischer V, Velasco-Hernandez T, Talos F, *et al*. Functional inactivation of endogenous MDM2 and CHIP by HSP90 causes aberrant stabilization of mutant p53 in human cancer cells. Mol Cancer Res 2011; 9(5): 577-88.

13 Muller P, Hrstka R, Coomber D, Lane DP, Vojtesek B. Chaperone-dependent stabilization and degradation of p53 mutants. Oncogene 2008; 27(24): 3371-83.

14 Wiech M, Olszewski MB, Tracz-Gaszewska Z, Wawrzynow B, Zylicz M, Zylicz A. Molecular mechanism of mutant p53 stabilization: the role of HSP70 and MDM2. PLoS One 2012; 7(12): e51426.

15 Yue X, Zhao Y, Huang G, Li J, Zhu J, Feng Z, *et al*. A novel mutant p53 binding partner BAG5 stabilizes mutant p53 and promotes mutant p53 GOFs in tumorigenesis. Cell Discov 2016; 2: 16039.

16 Parrales A, Ranjan A, Iyer SV, Padhye S, Weir SJ, Roy A, *et al*. DNAJA1 controls the fate of misfolded mutant p53 through the mevalonate pathway. Nat Cell Biol 2016; 18(11): 1233-43.

17 Sane S, Rezvani K. Essential roles of E3 ubiquitin ligases in p53 regulation. Int J Mol Sci 2017; 18(2): 442.

18 Shimamoto S, Kubota Y, Yamaguchi F, Tokumitsu H, Kobayashi R. $Ca2^{+}$/S100 proteins act as upstream regulators of the chaperone-associated ubiquitin ligase CHIP (C terminus of Hsc70-interacting protein). J Biol Chem 2013; 288(10): 7158-68.

19 Li D, Marchenko ND, Moll UM. SAHA shows preferential cytotoxicity in mutant p53 cancer cells by destabilizing mutant p53 through inhibition of the HDAC6-Hsp90 chaperone axis. Cell Death Differ 2011; 18(12): 1904-13.

20 Wang J, Zhao Q, Qi Q, Gu HY, Rong JJ, Mu R, *et al*. Gambogic acid-induced degradation of mutant p53 is mediated by proteasome and related to CHIP. J Cell Biochem 2011; 112(2): 509-19.

21 Hartl FU, Bracher A, Hayer-Hartl M. Molecular chaperones in protein folding and proteostasis. Nature 2011; 475(7356): 324-32.

22 Kundrat L1, Regan L. Identification of residues on Hsp70 and Hsp90 ubiquitinated by the cochaperone CHIP. Mol Biol 2010; 395(3): 587-94.

23 Tawo R, Pokrzywa W, Kevei E, Akyuz ME, Balaji V, Adrian S, *et al*. The ubiquitin ligase CHIP integrates proteostasis and aging by regulation of insulin receptor turnover. Cell 2017; 169(3): 470-82.

24 Sarah M, Ronnebaum YW, Holly McDonough, Cam Pattersona. The ubiquitin ligase CHIP prevents SirT6 degradation through noncanonical ubiquitination.Mol Cell Biol 2013; 33(22): 4461-72.

25 Scaglione KM, Zavodszky E, Todi SV, Patury S, Xu P, Rodriguez-Lebron E, *et al*. Ube2w and ataxin-3 coordinately regulate the ubiquitin ligase CHIP. Mol Cell 2011; 43(4): 599-612.

26 Graf C, Stankiewicz M, Nikolay R, Mayer MP. Insights into the conformational dynamics of the E3 ubiquitin ligase CHIP in complex with chaperones and E2 enzymes. Biochemistry 2010; 49(10): 2121-9.

27 Soss SE, Rose KL, Hill S, Jouan S, Chazin WJ. Biochemical and proteomic analysis of ubiquitination of Hsc70 and Hsp70 by the E3 ligase CHIP. PLoS One 2015; 10(5): e0128240.

28 Dai Q, Zhang CL, Wu YX, McDonough H, Whaley RA, Godfrey V, *et al*. CHIP activates HSF1 and confers protection against apoptosis and cellular stress. Embo J 2003; 22(20): 5446-58.

29 Zhou Y, Zhu Y, Zhang L, Wu T, Wu T, Zhang W, *et al*. Human stem cells overexpressing mir-21 promote angiogenesis in critical limb ischemia by targeting CHIP to enhance HIF-1alpha activity. Stem Cells 2016; 34(4): 924-34.

30 fLiu Z, Ma L, Wen ZS, Hu Z, Wu FQ, Li W, *et al*. Cancerous inhibitor of PP2A is targeted by natural compound celastrol for degradation in non-small-cell lung cancer. Carcinogenesis 2014; 35(4): 905-14.

31 Li L, Xin H, Xu X, Huang M, Zhang X, Chen Y, *et al*. CHIP mediates degradation of Smadproteins and potentially regulates Smad-induced transcription. Mol Cell Biol 2003; 24(2): 856-64.

32 Schisler JC, Rubel CE, Zhang C, Lockyer P, Cyr DM, Patterson C. CHIP protects against cardiac pressure overload through regulation of AMPK. J Clin Invest 2013; 123(8): 3588-99.

33 Kim JH, Shin S, Seo J, Lee EW, Jeong M, Lee MS, *et al*. C-terminus of HSC70-interacting protein (CHIP) inhibits adipocyte differentiation via ubiquitin- and proteasome-mediated degradation of PPARgamma. Sci Rep 2017; 7: 40023.

34 Ahmed SF, Deb S, Paul I, Chatterjee A, Mandal T, Chatterjee U, *et al*. The chaperone-assisted E3 ligase C terminus of Hsc70-interacting protein (CHIP) targets PTEN for proteasomal degradation. J Biol Chem 2012; 287(19): 15996-6006.

35 Shang Y, Xu X, Duan X, Guo J, Wang Y, Ren F, *et al*. Hsp70 and Hsp90 oppositely regulate TGF-beta signaling through CHIP/Stub1. Biochem Biophys Res Commun 2014; 446(1): 387-92.

36 Parsons JL, Tait PS, Finch D, Dianova, II, Allinson SL, Dianov GL. CHIP-mediated degradation and DNA damage-dependent stabilization regulate base excision repair proteins. Mol Cell 2008; 29(4): 477-87.

37 Ferreira JV, Fofo H, Bejarano E, Bento CF, Ramalho JS, Girao H, *et al*. STUB1/CHIP is required for HIF1A degradation by chaperone-mediated autophagy. Autophagy 2013; 9(9): 1349-66.

38 Sugatani J, Noguchi Y, Hattori Y, Yamaguchi M, Yamazaki Y, Ikari A. Threonine-408 regulates the stability of human pregnane X receptor through its phosphorylation and the CHIP/Chaperone-autophagy pathway. Drug Metab Dispos 2015; 44(1): 137-50.

39 Shin Y, Klucken J, Patterson C, Hyman BT, McLean PJ. The co-chaperone carboxyl terminus of Hsp70-interacting protein (CHIP) mediates α-synuclein degradation decisions between proteasomal and lysosomal pathways. J Biol Chem 2005; 280(25): 23727-34.

40 Seo J, Lee EW, Sung H, Seong D, Dondelinger Y, Shin J, *et al*. CHIP controls necroptosis through ubiquitylation- and lysosome-dependent degradation of RIPK3. Nat Cell Biol 2016; 18(3): 291-302.

41 Han SY, Ko A, Kitano H, Choi CH, Lee MS, Seo J, *et al*. Molecular chaperone HSP90 is necessary to prevent cellular senescence via lysosomal degradation of p14ARF. Cancer Res 2017; 77(2): 343-54.

42 Guo D, Ying Z, Wang H, Chen D, Gao F, Ren H, *et al*. Regulation of autophagic flux by CHIP. Neurosci Bull 2015; 31(4): 469-79.

43 Sha Y, Rao L, Settembre C, Ballabio A, Eissa NT. STUB1 regulates TFEB-induced autophagy-lysosome pathway. EMBO J 2017;

36(17): 2544-52.

44 Zhang HT, Zeng LF, He QY, Tao WA, Zha ZG, Hu CD. The E3 ubiquitin ligase CHIP mediates ubiquitination and proteasomal degradation of PRMT5. Biochim Biophys Acta 2016; 1863(2): 335-46.

45 McDonough H, Charles PC, Hilliard EG, Qian SB, Min JN, Portbury A, *et al*. Stress-dependent Daxx-CHIP interaction suppresses the p53 apoptotic program. J Biol Chem 2009; 284(31): 20649-59.

46 Zhu X, Zhang J, Sun H, Jiang C, Dong Y, Shan Q, *et al*. Ubiquitination of inositol-requiring enzyme 1 (IRE1) by the E3 ligase CHIP mediates the IRE1/TRAF2/JNK pathway. J Biol Chem 2014; 289(44): 30567-77.

47 Li X, Huang M, Zheng H, Wang Y, Ren F, Shang Y, *et al*. CHIP promotes Runx2 degradation and negatively regulates osteoblast differentiation. J Cell Biol 2008; 181(6): 959-72.

48 Sun C, Li HL, Shi ML, Liu QH, Bai J, Zheng JN. Diverse roles of C-terminal Hsp70-interacting protein (CHIP) in tumorigenesis. J Cancer Res Clin Oncol 2014; 140(2): 189-97.

49 Cho SH, Kim JI, Kim HS, Park SD, Jang KW. The antitumor effect of C-terminus of Hsp70-interacting protein via degradation of c-Met in small cell lung cancer. Korean J Thorac Cardiovasc Surg 2017; 50(3): 153-62.

50 Yoo L, Yoon AR, Yun CO, Chung KC. Covalent ISG15 conjugation to CHIP promotes its ubiquitin E3 ligase activity and inhibits lung cancer cell growth in response to type I interferon. Cell Death Dis 2018; 9(2): 97.

51 Huang H, Weng H, Dong B, Zhao P, Zhou H, Qu L. Oridonin triggers chaperon-mediated proteasomal degradation of BCR-ABL in leukemia. Sci Rep 2017; 7: 41525.

52 Blessing NA, Kasturirangan S, Zink EM, Schroyer AL, Chadee DN. Osmotic and heat stress-dependent regulation of MLK4beta and MLK3 by the CHIP E3 ligase in ovarian cancer cells. Cell Signal 2017; 39: 66-73.

53 Shang Y, He J, Wang Y, Feng Q, Zhang Y, Guo J, *et al*. CHIP/Stub1 regulates the Warburg effect by promoting degradation of PKM2 in ovarian carcinoma. Oncogene 2017; 36(29): 4191-200.

54 Xiao M, Yan M, Zhang J, Xu Q, Qi S, Wang X, *et al*. Cancer stem-like cell related protein CD166 degrades through E3 ubiquitin ligase CHIP in head and neck cancer. Exp Cell Res 2017; 353(1): 46-53.

55 Shang Y, Zhao X, Tian B, Wang Y, Ren F, Jia B, *et al*. CHIP/Stub1 interacts with eIF5A and mediates its degradation. Cell Signal 2014; 26(5): 1098-104.

56 Sun C, Li HL, Chen HR, Shi ML, Liu QH, Pan ZQ, *et al*. Decreased expression of CHIP leads to increased angiogenesis via VEGF-VEGFR2 pathway and poor prognosis in human renal cell carcinoma. Sci Rep 2015; 5: 9774.

57 Cabral-Miranda F, Nicoloso-Simoes E, Adao-Novaes J, Chiodo V, Hauswirth WW, Linden R, *et al*. rAAV8-733-mediated gene transfer of CHIP/Stub-1 prevents hippocampal neuronal death in experimental brain ischemia. Mol Ther 2017; 25(2): 392-400.

58 Hayer SN, Deconinck T, Bender B, Smets K, Zuchner S, Reich S, *et al*. STUB1/CHIP mutations cause Gordon Holmes syndrome as part of a widespread multisystemic neurodegeneration: evidence from four novel mutations. Orphanet J Rare Dis 2017; 12(1): 31.

59 Guo Y, Zhao M, Lu Q. Transcription factor RFX1 is ubiquitinated by E3 ligase STUB1 in systemic lupus erythematosus. Clin Immunol 2016; 169: 1-7.

60 Zhan S, Wang T, Ge W. Multiple functions of the E3 ubiquitin ligase CHIP in immunity. Int Rev Immunol 2017; 36(5): 300-12.

61 Yadava K, Marsland BJ. IL-4Ralpha, a STUB-strate for proteasomal degradation: understanding the termination of cytokine signaling in asthma. Am J Respir Crit Care Med 2014; 189(1): 4-6.

62 Iwai C, Li P, Kurata Y, Hoshikawa Y, Morikawa K, Maharani N, *et al*. Hsp90 prevents interaction between CHIP and HERG proteins to facilitate maturation of wild-type and mutant HERG proteins. Cardiovasc Res 2013; 100(3): 520-8.

63 Xiong W, Liu S, Cai W, Wen J, Fu Y, Peng J, *et al*. The carboxyl terminus of heat shock protein 70-interacting protein (CHIP) participates in high glucose-induced cardiac injury. Free Radic Biol Med 2017; 106: 339-44.

64 Xie J, Gu J. Identification of C-terminal Hsp70-interacting protein as a mediator of tumour necrosis factor action in osteoblast differentiation by targeting osterix for degradation. J Cell Mol Med 2015; 19(8): 1814-24.

65 Wang T, Li S, Yi D, Zhou GQ, Chang Z, Ma PX, *et al*. CHIP regulates bone mass by targeting multiple TRAF family members in bone marrow stromal cells. Bone Res 2018; 6: 10.

66 Wu Q, Moeller HB, Stevens DA, Sanchez-Hodge R, Childers G, Kortenoeven MLA, *et al*. CHIP regulates aquaporin-2 quality control and body water homeostasis. J Am Soc Nephrol 2018; 29(3): 936-48.

67 Gil Lorenzo AF, Costantino VV, Appiolaza ML, Cacciamani V, Benardon ME, Bocanegra V, *et al*. Heat shock protein 70 and CHIP promote Nox4 ubiquitination and degradation within the losartan antioxidative effect in proximal tubule cells. Cell Physiol Biochem 2015; 36(6): 2183-97.