



丙氨酰-tRNA 合成酶的乳酸转移酶 功能及其与运动的关系*

孙莹莹 邢 正 李凤仪 张 靓**

(北京师范大学体育与运动学院, 北京 100875)

摘要 乳酸化修饰 (lactylation, K1a) 是乙酰基与蛋白质赖氨酸残基共价偶联的一种蛋白质修饰方式, 在生物体广泛存在, 参与一系列重要的细胞生物学过程。但乳酸化修饰供体乙酰辅酶A在细胞内浓度很低, 且催化乳酸化修饰的特异性酶尚不清楚, 成为乳酸化研究亟待突破的问题。最新研究发现, 氨酰-tRNA合成酶 (aminoacyl-tRNA synthetase, aaRS) 家族成员丙氨酰 tRNA 合成酶 1/2 (alanyl-transfer t-RNA synthetase 1/2, AARS1/2) 可作为蛋白质赖氨酸乳酸转移酶, 以乳酸为直接底物修饰组蛋白及代谢酶, 而不依赖经典的底物乙酰辅酶A, 推动乳酸化研究进入新阶段。本综述介绍了AARS的分子生物学特征、亚细胞定位、生物学功能, 尤其作为乳酸转移酶的功能, 并根据现有研究, 着重探讨了运动调控AARS表达的可能机制, 为运动改善代谢疾病, 促进健康提供新思路。

关键词 运动, 乳酸化, AARS

中图分类号 G804.7, Q753

DOI: 10.16476/j.pibb.2025.0087

CSTR: 32369.14.pibb.20250087

蛋白质乳酸化修饰自2019年在*Nature*上被首次报道^[1], 迅速成为学者们关注的焦点。5年来, 乳酸化修饰的研究屡屡现身*Nature*、*Science*和*Cell*等杂志, 其通过调节一系列重要的细胞生物学过程, 包括信号转导、基因表达调控、代谢稳态调控、表观遗传和免疫反应等, 参与肿瘤、神经认知障碍、心血管疾病、代谢性疾病及炎症等多种重大疾病的发生和发展^[2-6]。

和其他酰化修饰一样, 乳酸化修饰的调节与底物乙酰基水平、酰基转移酶和去酰化酶的活性相关。高浓度的乙酰辅酶A能够以非酶的方式触发蛋白质乳酸化, 但在哺乳动物细胞, 乙酰辅酶A的水平只有乙酰辅酶A的1/1 000^[7], 在肿瘤细胞几乎测不到乙酰辅酶A, 极低的底物浓度与多发的乳酸化修饰并不匹配。其次, 虽然有研究发现腺病毒E1A相关的300 kDa蛋白 (adenoviral E1A binding protein of 300 kDa, p300) 能特异性地催化乳酸化发生^[1], 但在生理状态下, 乙酰化的发生可能更优先于乳酸化, 况且p300与乙酰辅酶A直接的酶

学验证还有待进行。可见, 虽然乳酸化具有强大的生物学功能, 但调节乳酸化修饰的特异性机制尚不清晰。

2024年初, Mao等^[8]率先报道丙氨酰-tRNA合成酶2 (alanyl-transfer t-RNA synthetase 2, AARS2) 可作为蛋白质赖氨酸乳酸转移酶, 以乳酸为直接底物, 催化糖脂代谢关键酶的赖氨酸乳酸化。随后, 3篇有关AARS1/2的研究相继在*Nature*、*Cell*等杂志发表^[9-11], 通过扎实的酶学实验和生物学功能验证, 进一步证实了AARS1/2作为乳酸转移酶的作用, 极大地推动了对乳酸化修饰的认知, 乳酸化研究突破瓶颈, 跃上了新的台阶。

运动时体内乳酸水平显著升高, 我们前期研究^[12]发现, 运动诱导多个组织和细胞的乳酸化修饰改变。修饰组学结果表明, 高强度间歇训练上调

* 国家自然科学基金 (31871207) 资助项目。

** 通讯联系人。

Tel: 010-58808038, E-mail: zhangjing@bnu.edu.cn

收稿日期: 2025-02-27, 接受日期: 2025-04-11

脂肪组织 25 种蛋白质的 37 个赖氨酸位点乳酸化修饰,但同时也有 22 种蛋白质的 27 个赖氨酸位点乳酸化下调^[13],可见运动对乳酸化修饰的调节并不完全与乳酸水平一致。此外,在乳酸生成的快肌,虽然运动后乳酸水平很高,但乳酸化修饰却不改变^[8, 12],再次表明乳酸水平不是调节乳酸化修饰唯一因素,运动对乳酸化的调节是复杂和多维度的。运动对生物体内的多种酰基转移酶如 p300/环磷酸腺苷反应元件结合蛋白的结合蛋白(cyclic adenosine monophosphate response element-binding protein, CBP)、通用控制核苷酸合成 5 相关 N-乙酰转移酶(general control nonderepressible 5-related N-acetyltransferases, GNAT)、去酰基酶如组蛋白去酰化酶(histone deacetylases, HDACs)的表达和活性都有显著的调节作用^[14],那运动是否调节 AARS1/2 的活性或表达水平,主导乳酸化修饰调节呢?本文将从 AARS 的生物学特征、亚细胞定位、生物学功能及其运动调节 AARS 表达和机制进行综述。

1 AARS 的分子生物学特征

AARS 是氨基酸-tRNA 合成酶(aminoacyl-tRNA synthetase, aaRS)的家庭成员之一。aaRS 是氨酰化酶,该家族经典功能是催化氨基酸与对应 tRNA 结合,形成氨基酸-tRNA,参与蛋白质翻译^[15]。原核生物中约有 18~23 种、真核生物中存在约 45 种 aaRS 亚型^[16]。根据活性位点的结构及功能特点,aaRS 可以分为 I 类和 II 类;根据识别氨基酸的类型,aaRS 又可分为 A、B、C 三种亚型。A 亚型可识别脂肪族和巯基氨基酸,B 亚型识别带电极性氨基酸,C 亚型可识别芳香族氨基酸^[17]。

AARS 是 II 类氨基酸-tRNA 合成酶家族成员,

主要催化丙氨酸与 tRNA 形成丙氨酰-tRNA,为蛋白质的翻译提供原料。AARS 有两种亚型,分别为 AARS1 和 AARS2。小鼠 *AARS1* 基因位于第 8 号染色体 E1 处,包含 22 个外显子,其蛋白质由 968 个氨基酸组成,在 750~763 个氨基酸之间含有核定位序列(RRIVAVTGAEAQKA);小鼠 *AARS2* 基因位于第 17 号染色体 B3 处,包含 23 个外显子,蛋白质由 980 个氨基酸组成,在 1~23 个氨基酸之间含有线粒体转位序列(MAVALAAAAGKLRRRAIGRSCP-WQ),两者分子质量均为 107 ku 左右。人类 *AARS2* 基因定位于 6 号染色体,由 22 个外显子组成,编码含有 985 个氨基酸的线粒体 AARS。AARS 在原核生物中以同二聚体(或四聚体)的形式存在,而在真核生物中则以单体的形式存在^[18]。基于 SOPMA 数据库对小鼠 *AARS1* 和 *AARS2* 编码的蛋白质进行二级结构预测分析,*AARS1/2* 编码蛋白质均有 3 种二级结构,AARS1 中 α 螺旋占比 47.42%、延伸链占比 12.91%、无规则卷曲占比 39.67%,AARS2 中 α 螺旋占比 47.14%;延伸链占比 12.86%;无规则卷曲占比 40%。

AARS1 和 AARS2 蛋白均由 4 个基本的结构域组成,包括 N 端催化结构域、tRNA 结合结构域、编辑结构域和 C 端结构域。其中,前两个结构域统称为氨酰化结构域。氨酰化结构域可以催化丙氨酸与 tRNA^{Ala} 分子连接;编辑结构域在氨酰化过程中识别并校正 tRNA 中错误的氨酰化;而 C 端结构域与 tRNA^{Ala} 一起充当桥梁,连接氨酰化结构域和编辑结构域^[18]。基于 UniProt 数据库分析,小鼠 *AARS1/2* 基因编码蛋白均可结合 ATP、L-丙氨酸、Zn²⁺,但结合位点不同(表 1)。基于 SWISS-MODEL 数据库分析,小鼠 *AARS1/2* 基因编码蛋白的三级结构也是不同的(图 1)。

Table 1 Comparison of binding sites of proteins encoded by the *AARS1/2* gene in mice

表1 小鼠 *AARS1/2* 基因编码蛋白的结合位点比较

AARS1/2结合分子	AARS1结合位点的氨基酸及序号	AARS2结合位点的氨基酸及序号
ATP	R77、H95、W176、IWN214~216、G243	R105、H123、W205、LWN235~237、G264
L-丙氨酸	N216、D239	N237、D260
Zn ²⁺	H605、H609、C723、H727	H627、H631、C744、H748

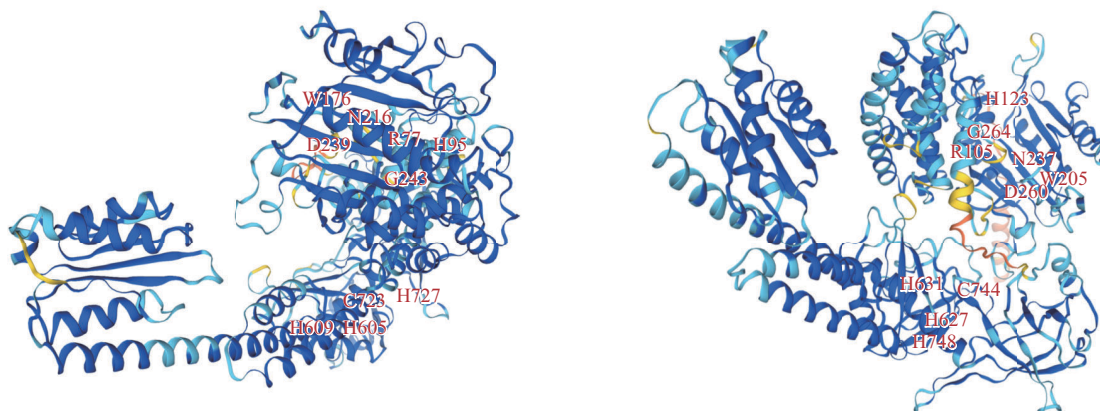


Fig. 1 The tertiary structure of the protein encoded by mouse *AARS1/2* gene

图1 小鼠*AARS1/2*基因编码蛋白质的三级结构

左: AARS1蛋白三级结构; 右: AARS2蛋白三级结构。蛋白质三级结构基于SWISS-MODEL数据库生成, 深蓝色表示模型置信度非常高, 浅蓝色表示模型置信度较高, 黄色表示模型置信度低, 橙色表示模型置信度非常低。

2 AARS的亚细胞定位

2.1 AARS在细胞器的表达

在人和小鼠的多种细胞系的细胞质中, 如人未分化胃癌细胞 (human gastric cancer cells, undifferentiated, HGC27)、人急性单核白血病细胞 (human acute monocytic leukemia cells, THP-1)、人胚胎肾细胞 (human embryonic kidney cell, HEK293)、小鼠成肌细胞 (C2C12)、小鼠心肌细胞 (HL-1) 和原代小鼠肝细胞等, AARS1/2 均有表达^[8-9, 11]。

此外, AARS1 氨基酸序列 C 端区域存在保守的核定位信号 (nuclear localization signal, NLS), 乳酸能够显著促进 AARS1 的 NLS 基序与核转运蛋白亚基 alpha4 (karyopherin subunit alpha4, KPNA4) 结合, 诱导胞质 AARS1 入核^[9]。AARS2 没有 NLS 基序, 不能入核, 但在线粒体中有 AARS2 的表达^[8], AARS2 是否含有线粒体靶向序列尚未见报道。以上研究表明, AARS1 主要在细胞质、细胞核表达, AARS2 则主要在细胞质、线粒体表达。

2.2 AARS在细胞外囊泡的表达

早在 2008 年, 就有研究报道 aaRS 的家族成员赖氨酰-tRNA 合成酶与黑色素瘤分化相关基因 9 (melanoma differentiation associated gene-9, MDA-9, 也称为合成蛋白 (syntenin)) 存在相互

作用^[19]。MDA-9 是外泌体生物发生的关键蛋白质, 其与凋亡连接基因 2 相互作用蛋白 X (apoptosis-linked-gene 2 interacting protein X, Alix) 组成复合物, 参与腔内囊泡 (intraluminal vesicle, ILV) 的形成过程^[20]。此外在人类免疫缺陷病毒 1 型 (human immunodeficiency virus type 1, HIV1) 病毒和劳斯肉瘤病毒中, 均能检测到 aaRS 的表达^[16], 研究提示赖氨酰-tRNA 合成酶可能通过胞外囊泡 (extracellular vesicles, EVs) 或病毒的方式分泌到胞外。

此后, Chen 等^[21]的研究为 AARS 随外泌体分泌提供了直接证据。他们在比较骨质疏松症、骨质减少症和骨量正常人群血浆外泌体的蛋白质组学数据时, 共检测到 45 种蛋白质存在差异表达, 平行反应检测 (parallel reaction monitoring, PRM) 进一步验证了 4 种蛋白质的差异表达, 其中就包括 AARS, 证实了 AARS 存在于人类血浆的外泌体中, 并可作为骨质疏松的潜在检测指标。AARS 通过细胞外囊泡分泌, 为其发挥更加广泛的生物学作用提供了有利条件, 其在组织间对话中的功能值得进一步探究。

3 AARS的生物学功能

3.1 丙氨酰化功能

AARS 的经典功能是将丙氨酸和对应的 tRNA 分子连接起来, 为蛋白质的翻译提供原料。这一过

程分两步进行。第一步，丙氨酸激活。三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)、丙氨酸与AARS酶结合，触发丙氨酸羧基氧对ATP α -磷酸基团的亲核攻击，生成丙氨酸-AMP和无机焦磷酸盐(inorganic pyrophosphate, PPi)。第二步，tRNA中腺苷的2'-OH攻击丙氨酸-AMP中间体的羧基碳，丙氨酸向tRNA转移。生成的丙氨酰-tRNA和AMP从酶的催化位点释放，使AARS可以参与下一轮循环反应。活化的丙氨酰-tRNA与热不稳定延伸因子(elongation factor thermo unstable, EF-Tu)结合，到达核糖体后参与翻译^[17](图2)。

大多数II类aaRS需要二聚体形式(或四聚体，即二聚体的二聚体)才能发挥催化功能，但AARS是一个例外。人AARS在细胞内的还原条件下以单体形式存在，而氧化环境会诱导AARS二聚体形成，单体和二聚体的催化活性相同^[22]，表明人AARS无需形成二聚体即可发挥丙氨酰化功能，但古菌和细菌的AARS则需要二聚化。

3.2 编辑校正功能

AARS通过其催化结构域实现丙氨酸的特异性识别及对应tRNA的精确连接^[23]。然而，在生理环境中，由于氨基酸分子结构的高度保守性，特别是甘氨酸、丝氨酸等与丙氨酸具有相似空间构型的相

似氨基酸，可能引发底物的错误识别。为保证翻译的精确性，AARS进化出两种编辑机制：a. 转移前编辑——在氨酰基部分转移到tRNA之前，通过水解错误形成的氨酰基-AMP复合物阻止错误识别底物进入后续反应；b. 转移后编辑——特异性降解已误载的氨酰化tRNA，以去除错误识别的氨基酸^[24]。这种多层次的编辑机制有效维持了遗传信息传递的精确度。

编辑结构域的功能完整性对AARS的校正能力至关重要。实验研究表明，大肠杆菌AARS编辑结构域的定点突变(如C666A)可导致校正效率显著下降，使得甘氨酸-tRNA^{Ala}和丝氨酸-tRNA^{Ala}的错误积累率显著升高。值得注意的是，C666A突变体不仅丧失ATP水解活性，其氨基酸连接效率也显著降低^[25]，提示该保守位点在维持校正功能方面具有重要作用。

在高等生物中，AARS编辑结构域的点突变表现出更复杂的表型效应。例如，小鼠模型中AARS编辑结构域的点突变(如A734E、C723A)会引发严重的神经退行性疾病^[26]和心肌病表型^[27]。这些研究结果不仅强调了AARS编辑功能在维持蛋白质组稳态中的关键作用，还揭示了其与某些疾病发生机制之间的潜在关联。

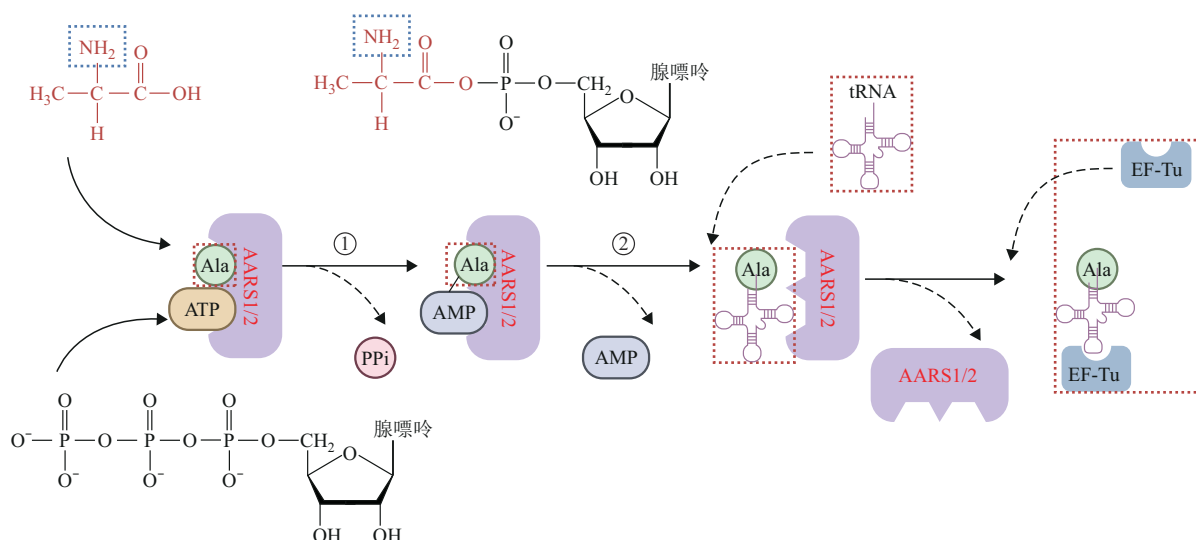


Fig. 2 The alanylation process mediated by AARS1/2

图2 丙氨酰-tRNA合成酶1/2介导的丙氨酰化过程

Ala: 丙氨酸; ATP: 三磷酸腺苷; AMP: 单磷酸腺苷; PPi: 无机焦磷酸盐; tRNA: 转运RNA; EF-Tu: 热不稳定延伸因子。

3.3 赖氨酸乳酸转移酶功能

AARS作为乳酸传感器和乳酸转移酶，感应细

胞内乳酸水平，催化蛋白质发生乳酸化修饰，这种基于乳酸而非乳酰辅酶A的新型乳酸化调控模式，

使运动与乳酸化修饰的关系更加紧密。

3.3.1 乳酸转移酶作用的发现

乳酸与丙氨酸的结构高度相似, 两者均属于含有羧酸基团的三碳化合物, 主要区别在于丙氨酸含有1个氨基基团, 而乳酸含有羟基基团。基于此, 研究者推测乳酸与丙氨酸一样, 也是AARS的底物。与此同时开展的细胞全基因组CRISPR实验发现, 与环状GMP-AMP合成酶(cyclic GMP-AMP synthase, cGAS)和p53的乳酸化修饰相关度最高的蛋白质为AARS1和AARS2^[10-11]。上述证据强烈提示, AARS能够利用乳酸作为底物, 催化蛋白质赖氨酸的乳酸化修饰。

3.3.2 乳酸为AARS1/2底物

利用等温滴定量热法和微尺度热泳实验, 体外生化分析测定了乳酸与AARS结合解离常数(K_d), 验证了乳酸是AARS的底物。研究发现, AARS1和AARS2与L-乳酸的结合解离常数分别为16.7 $\mu\text{mol/L}$ 和7.5 $\mu\text{mol/L}$, 提示AARS2对乳酸的亲合力更强^[11]。AARS1对乳酸的结合解离常数约为丙氨酸的5倍(2.06 $\mu\text{mol/L}$ vs 0.45 $\mu\text{mol/L}$)^[9]、约为 β 丙氨酸的9倍(35 $\mu\text{mol/L}$ vs 4.0 $\mu\text{mol/L}$)^[10]。AARS2与丙氨酸、乳酸和 β 丙氨酸的 K_d 值分别为1.49 $\mu\text{mol/L}$ 、1.64 $\mu\text{mol/L}$ 和2.14 $\mu\text{mol/L}$ ^[8], 三者相差不大, 表明AARS2对乳酸的亲合力与丙氨酸相似, 比AARS1更强。

此外, 分子对接实验从结构化学层面证实了乳酸与AARS1/2的直接相互作用, 不仅确定了乳酸与AARS1/2的结合位点, 还利用氨基酸位点突变进一步验证了它们的相互作用。乳酸与AARS1的催化结构域结合, 主要结合位点包括R77、M100、W176、V218和D239, 上述5个位点全部突变完全消除了乳酸转移酶活性^[9]。Li等^[11]和Zong等^[10]的研究也发现, AARS1和乳酸的结合位点有R77、D239, 还有M46和N216, 这些氨基酸位点对AARS1的催化活性至关重要。AARS2和乳酸结合的催化结构域中M79、R110、N242、D265和G267为关键氨基酸^[11]。

上述研究从酶化学的角度确认了乳酸是AARS的特异底物, 乙酸、丁酸、乳酰辅酶A均不能与AARS结合, AARS是乳酸化修饰特异性的催化酶。L-丙氨酸和 β 丙氨酸通过底物竞争性抑制AARS1/2和乳酸的结合, 呈剂量依赖性地抑制AARS1/2介导的蛋白质乳酸化。

3.3.3 AARS1/2催化的乳酸化反应

AARS1/2催化的乳酸化反应体系包括乳酸、ATP、AARS1/2和底物蛋白质。在反应体系中加入AARS1、乳酸、ATP与细胞裂解物共同孵育时, 可以显著增强整体赖氨酸乳酸化, 而去除AARS1后, 乳酸化反应无法发生^[10]。Ju等^[9]和Li等^[11]的研究结果同样证实, 只有当反应体系中同时存在ATP、乳酸、底物蛋白以及AARS1/2时, 乳酸化反应才能进行。

与AARS催化丙氨酰化反应步骤相同, AARS1/2介导的蛋白质乳酸化反应也需两步完成。第一步, 乳酸在AARS1/2催化下被ATP激活, 形成含有乳酰磷酸键的中间产物乳酸腺苷酸(lactate-AMP), 并释放无机焦磷酸盐(PPi)。第二步, 活化的乳酸在释放AMP的同时, 通过共价键结合到赖氨酸的氨基上^[8-11]。以上结果表明, AARS1/2是一种ATP依赖的乳酸转移酶, 能够识别并结合乳酸, 并以ATP为能量源将乳酸转化为高能中间分子, 从而催化底物蛋白赖氨酸的乳酸化修饰(图3)。

3.3.4 AARS1/2调节体内乳酸化修饰

AARS1/2在体内乳酸化修饰过程中具有关键作用, 敲低AARS1/2可显著降低整体乳酸化水平。在宫颈癌细胞中敲低AARS1的表达, 大约80%的多肽和蛋白质乳酸化水平显著降低, 其中10%的多肽和蛋白质乳酸化水平下降超过90%^[10]。此外, 在人胚胎肾细胞和胃癌细胞中敲低AARS1的表达, 也抑制了乳酸介导的乳酸化反应^[9, 11]。另有研究发现, 在肺腺癌细胞、小鼠胚胎干细胞、原代成肌细胞以及人类和小鼠单核巨噬细胞中敲低AARS2后, 细胞整体蛋白质的乳酸化修饰水平显著下降^[8, 28]。

相反, 过表达AARS1/2会显著提高乳酸化水平。赖氨酸乳酸化蛋白质组结果发现, 在人胚胎肾细胞过表达AARS1, 90%的多肽和蛋白质的乳酸化水平显著增加, 其中近50%的多肽和蛋白质乳酸化水平提高了10倍以上^[10]。同样, 在原代成肌细胞中过表达AARS2, 也能上调乳酸化水平。在小鼠骨骼肌中特异性过表达AARS2会显著增加乳酸化修饰^[8]。

综上, AARS作为乳酸转移酶的作用已毋庸置疑, 其在运动调节乳酸化中的作用亟待证实。

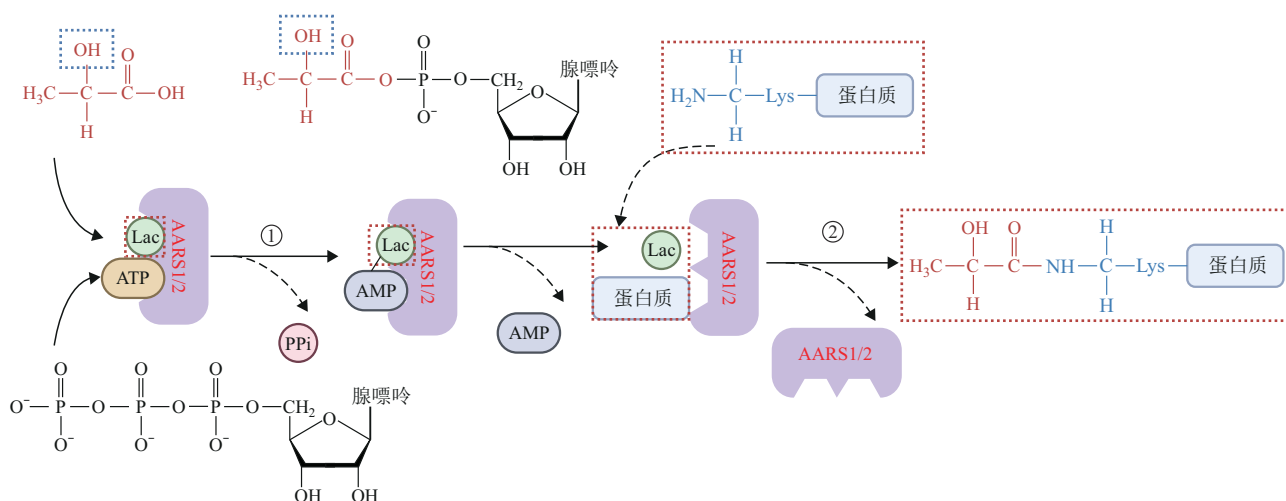


Fig. 3 The catalytic mechanism of AARS1/2-induced protein lysine lactylation

图3 丙氨酰-tRNA合成酶1/2诱导的蛋白质赖氨酸乳酸化的催化机制

Lac: 乳酰基; ATP: 三磷酸腺苷; AMP: 单磷酸腺苷; PPi: 无机焦磷酸盐。

4 AARS的病理生理意义

4.1 AARS与肿瘤发生

AARS1/2在胃癌、乳腺癌、肺腺癌以及肝癌等多种癌细胞中的表达水平显著升高。AARS1水平的升高与肿瘤患者的不良预后密切相关,具有显著的促癌作用^[10],敲低AARS1可显著减少胃癌细胞的生长增殖和集落形成能力^[9]。同样,AARS2高表达能够显著促进肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)细胞的增殖,而其缺失则抑制癌细胞的增殖和迁移^[29]。

AARS的促癌作用与其乳酸转移酶的功能有关。Ju等^[9]发现,当细胞内乳酸浓度升高时,AARS1会易位至细胞核,并催化Hippo通路关键成分Yes相关蛋白(Yes-associated protein, YAP)和TEA转录因子1(transcriptional enhanced associate domain 1, TEAD1)在K90和K108位点的乳酸化,从而调控下游靶基因的表达。此外,AARS1催化p53的DNA结合域赖氨酸120和139的乳酸化修饰,从而阻碍其DNA结合及转录激活功能,最终促进肿瘤发生。

4.2 AARS与免疫疾病

cGAS是细胞内重要的DNA感受器,通过识别细胞质中的线粒体DNA(mtDNA)等异常DNA后,催化鸟苷三磷酸(guanosine triphosphate, GTP)和ATP合成环状GMP-AMP(cyclic GMP-AMP, cGAMP),通过干扰素基因刺激因子

(stimulator of interferon gene, STING)通路,发挥免疫监视功能,是细胞中的关键免疫激活枢纽^[30-37]。在L-乳酸或乳酸钠(NaLac)预处理的人类和小鼠细胞中,AARS2直接介导cGAS发生乳酸化修饰并使其失活,无法有效结合mtDNA,抑制cGAMP的合成,从而抑制机体的先天免疫监视功能^[11]。

研究证实,在系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)的免疫反应中,mtDNA作为内源性免疫刺激因子通过cGAS-STING轴驱动干扰素(interferon, IFN)的过度生成,同时伴随胞内乳酸生成的显著增加^[38]。AARS2催化乳酸诱导的cGAS乳酸化,抑制cGAS与E3泛素化连接酶的结合,阻断cGAS的降解,从而加剧IFN-I信号传导。这一研究不仅加深了对SLE病理机制的理解,还为探索以代谢调控为靶点的治疗策略提供了新思路。

4.3 AARS与神经病变

研究表明,AARS在维持正常神经功能中具有重要作用,其突变与多种神经系统疾病的发生密切相关。

遗传性神经性肌萎缩(Charcot-Marie-Tooth, CMT)是一种常染色体显性遗传性轴突神经病,其特征是四肢肌肉无力、消瘦和感觉受损^[39]。研究发现,AARS的10种突变型与CMT 2N亚型的发生高度相关。其中,5种突变发生在氨酰化结构域当中,包括AARS^{N71Y}、AARS^{G102R}、AARS^{R326W}、

AARS^{R329H}和AARS^{R337K}。其他5种突变发生在C端结构域中,包括AARS^{S627L}、AARS^{E688G}、AARS^{E778A}、AARS^{Q855R}和AARS^{D893N} [39-41]。有研究将这些突变体mRNA显微注射到斑马鱼胚胎后,观察到类似CMT的疾病表型 [41]。

一些AARS隐性突变与神经发育障碍相关,表现为严重的早发性癫痫性脑病、髓鞘发育缺陷和周围神经病变。在患者中发现了AARS^{R751G}、AARS^{R751G}和AARS^{K81T}的常染色体隐性突变。后来,在进行性小头畸形、髓鞘发育不良和癫痫性脑病的病人中发现了AARS中另外两个常染色体隐性突变(AARS^{Y690LS}和AARS^{G913D}) [42-43]。以上实验证据提示,AARS的多种突变型参与了神经系统疾病的发生。

AARS位点突变可以通过降低氨酰化功能,或影响编辑、二聚化结构域的功能,参与多种神经系统疾病。如AARS^{N71Y}和AARS^{R329H}严重损害酶活性,导致催化效率降低至野生型AARS的1/4 130和1/50 [44]。K81T和R751G突变分别使氨酰化效率降低至原来的1/2和1/10。AARS^{Y690LS}和AARS^{G913D}导致氨酰化功能降低至原来的1/4以下 [45]。而AARS^{S627L}、AARS^{E688G}这些突变型不会影响AARS的氨酰化活性,主要通过影响其他结构域的功能,且表现出与CMT相关的毒性。深入解析AARS突变体的分子机制,有助于全面理解神经病变的发病机理,并为靶向治疗策略的开发提供科学依据。

5 运动对AARS的表达调控及机制

5.1 运动调节AARS的表达

运动对骨骼肌AARS1和AARS2有着不同的调节作用,小鼠在进行递增强度至力竭的跑台运动后,骨骼肌中AARS1的蛋白质水平未表现出明显变化,而AARS2的蛋白质水平显著增加 [8]。考虑到AARS2主要位于细胞质和线粒体,且运动诱导的乳酸化也主要位于细胞质和线粒体,提示AARS2可能是介导运动调节乳酸化的主要亚型。

骨骼肌中AARS2的表达与运动时间相关。蛋白质印迹(Western blot)结果显示,小鼠在经过10、20、30 min的跑台运动后,骨骼肌中的AARS2蛋白表达逐级升高,呈时间依赖性增加 [8]。

骨骼肌中AARS2的表达与肌纤维类型相关,运动对I型肌纤维为主的比目鱼肌中AARS2的表达具有调节作用。采用渐进负荷方案(初始速度6 m/min热身3 min,随后以18 m/min持续30 s,

继而以每15 s递增2 m/min的方式增至32 m/min)的小鼠运动模型显示,30 min运动组比目鱼肌AARS2表达较安静组显著上调,同时肌纤维的乳酸化修饰水平也出现同步增强。而以II型肌纤维为主的趾长伸肌AARS2的表达无明显改变 [8]。

长时间、大强度运动上调的骨骼肌AARS2通过催化糖脂代谢关键酶,如丙酮酸脱氢酶E1 α 亚基(pyruvate dehydrogenase complex E1 α subunit, PDHA1)和肉碱棕榈酰转移酶2(carnitine palmitoyltransferase 2, CPT2)的乳酸化,减弱运动能力,抑制氧化应激及活性氧类(reactive oxygen species, ROS)诱导的丙二醛水平的提高和脂质过氧化等引起的肌肉损伤,起到运动保护作用 [8]。基于大强度递增负荷运动方案(每5 min递增5 m/min至20 m/min后维持恒定速度,同时每5 min增加坡度5°直至力竭)构建的小鼠运动模型显示,小鼠运动至力竭的时间与骨骼肌中AARS2蛋白表达水平呈显著负相关。在AARS2敲低小鼠,运动至力竭的时间延长,AARS2过表达则引起相反的效应 [8]。

目前运动对AARS的调节只见零星报道,除了骨骼肌,在其他受运动调节的乳酸化易感组织,如褐色脂肪、肝脏、心脏等,AARS的作用亚型、运动的调节效应、在乳酸化修饰中的作用等均值得关注。此外,骨骼肌中,运动对AARS活性的作用如何、发挥效应的途径等还需深入研究。

5.2 运动诱导的缺氧促进AARS2的表达

研究发现,缺氧是调节AARS蛋白表达的因素之一。渐进性缺氧处理0、2、4、8 h,呈时间依赖性地上调了AARS2在小鼠原代成肌细胞中的表达及在增殖成肌细胞C2C12细胞、小鼠HL-1心肌细胞和原代小鼠肝细胞线粒体和胞质中的表达 [8],而AARS1蛋白表达水平未表现出明显变化。骨骼肌缺氧灌注处理30 min,显著上调小鼠下肢骨骼肌中AARS2蛋白的表达水平。在强度递增跑台运动小鼠,随着运动强度的增大(初始速度6 m/min热身3 min,随后以18 m/min持续30 s,继而以每15 s递增2 m/min至32 m/min),骨骼肌氧气供给缺乏,骨骼肌缺氧诱导因子1 α (hypoxia inducible factor 1, α subunit, HIF-1 α)和AARS2的蛋白质水平同步上调 [8],而AARS1蛋白表达水平未表现出明显变化。提示运动时骨骼肌缺氧是运动调节AARS2蛋白水平的机制之一。

骨骼肌中脯氨酰羟化酶(prolyl hydroxylases,

PHDs)-VHC (von hippel-lindau, 一种肿瘤抑制因子)-缺氧诱导因子 α (hypoxia-inducible factor α , HIF- α) 轴是氧气浓度的重要感知通路^[46-47]。在正常氧环境中, 脯氨酸羟化酶 (prolyl hydroxylase domain2, PHD2) 识别 AARS2 的 P377 序列^[48], 以氧气为底物催化其羟基化, 随后再被 E3 连接酶 VHL 识别并泛素化降解, 保持低水平的 AARS2 蛋白水平。在缺氧环境下, 如大强度运动时, PHD2 无法对 AARS2 进行羟基化, 进而降解减少, 导致 AARS2 蛋白的水平上调^[8]。而 AARS1 不含 PHD 的识别序列^[48]。

大量研究证实, 运动可诱导缺氧, 并且这种缺氧效应与运动强度、运动时间密切相关。缺氧诱导 AARS2 表达的机制可能在运动调节 AARS2 蛋白水平变化中发挥重要作用, 为进一步研究运动与 AARS2 表达调控之间的关系提供了重要线索。

5.3 运动诱导乳酸生成调节 AARS 的表达

AARS 可以作为细胞内乳酸传感器, 其乳酸转移酶的功能受乳酸水平的调节。小鼠后肢腓肠肌注射乳酸盐 (2 g/kg) 后, 骨骼肌组织中 HIF-1 α 和 AARS2 蛋白表达水平显著上调。相反, 注射乳酸脱氢酶 A (lactate dehydrogenase A, LDHA) 抑制剂 FX-11 (2 mg/kg), 减少小鼠运动时肌肉内源性的乳酸生成, 可以显著减少运动诱导的小鼠骨骼肌中 HIF-1 α 和 AARS2 蛋白的表达水平以及乳酸化修饰水平。2 mmol/L 乳酸孵育 C2C12 细胞, 诱导 HIF-1 α 和 AARS2 表达水平及乳酸化修饰水平的上调, 而使用鱼藤酮抑制乳酸生成, 则呈现相反的效果^[8]。HGC27 细胞在乳酸处理后, 细胞中 AARS1 的 mRNA 和蛋白质水平均显著升高^[9]。上述研究提示乳酸水平与 AARS 的表达呈显著正相关。

此外, Ju 等^[9] 通过免疫荧光实验发现, 乳酸处理 HGC27 细胞, 诱导 AARS1 细胞质向细胞核的转位, 入核发挥乳酸转移酶的功能, 调节组蛋白的乳酸化, 参与基因的表达调控。

运动, 尤其是大强度运动时, 乳酸大量生成, 可能是运动调控 AARS 表达的机制之一, 但乳酸调节 AARS 表达的机制尚需深入探究。

6 总结与展望

AARS 作为一类广泛表达且进化保守的酶, 能够直接利用乳酸作为底物, 参与组蛋白或非组蛋白的赖氨酸乳酸化修饰, 进而参与肿瘤发生、免疫应答、过度运动防护等生物学过程。运动引起的缺

氧、乳酸生成等因素能促进 AARS 的表达和转位, 可能是运动调节乳酸化修饰的重要手段。

然而, 目前有关运动调节 AARS 的研究还有很多未知。不同运动形式、运动强度、持续时间对 AARS 的表达及活性是否产生不同的影响; 除骨骼肌外, 运动对于其他乳酸化易感组织, 如肝脏、心脏等的 AARS 会产生怎样的影响; 运动调节 AARS 表达是在转录还是在转录后水平; AARS 在运动调节的乳酸化修饰中作用方式; 运动时 AARS 介导乳酸化修饰的下游特异性效应分子有哪些; 运动对于 AARS 的不同亚型是否具有不同的调节效应。这些相关的科学问题还有待于进一步探究。

此外, AARS 可能是运动防治代谢性疾病的新线索和靶点。多种代谢性疾病, 如高血脂、肥胖、高血糖, 均伴发乳酸水平的升高和代谢酶的乳酸化修饰改变, 运动是否能通过调节 AARS 的表达进而调节乳酸化改善代谢, 还需研究证实。

总之, AARS 在调节机体乳酸化中发挥着举足轻重的作用, 阐明运动对 AARS 的调节机制, 模拟运动诱导 AARS 调节的生物情境, 为针对众多肿瘤、代谢性疾病的运动受限患者开发“运动模拟疗法”, 以及推动 AARS 在运动医学领域的转化应用提供了新的思路。

参 考 文 献

- [1] Zhang D, Tang Z, Huang H, *et al.* Metabolic regulation of gene expression by histone lactylation. *Nature*, 2019, **574**(7779): 575-580
- [2] Li L, Chen K, Wang T, *et al.* Glis1 facilitates induction of pluripotency via an epigenome-metabolome-epigenome signalling cascade. *Nat Metab*, 2020, **2**(9): 882-892
- [3] Hagihara H, Shoji H, Otabi H, *et al.* Protein lactylation induced by neural excitation. *Cell Rep*, 2021, **37**(2): 109820
- [4] Pan R Y, He L, Zhang J, *et al.* Positive feedback regulation of microglial glucose metabolism by histone H4 lysine 12 lactylation in Alzheimer's disease. *Cell Metab*, 2022, **34**(4): 634-648.e6
- [5] Irizarry-Caro R A, McDaniel M M, Overcast G R, *et al.* TLR signaling adapter BCAP regulates inflammatory to reparatory macrophage transition by promoting histone lactylation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2020, **117**(48): 30628-30638
- [6] Sun L, Zhang H, Gao P. Metabolic reprogramming and epigenetic modifications on the path to cancer. *Protein Cell*, 2022, **13**(12): 877-919
- [7] Varner E L, Trefely S, Bartee D, *et al.* Quantification of lactoyl-CoA (lactyl-CoA) by liquid chromatography mass spectrometry in mammalian cells and tissues. *Open Biol*, 2020, **10**(9): 200187
- [8] Mao Y, Zhang J, Zhou Q, *et al.* Hypoxia induces mitochondrial

- protein lactylation to limit oxidative phosphorylation. *Cell Res*, 2024, **34**(1): 13-30
- [9] Ju J, Zhang H, Lin M, *et al.* The alanyl-tRNA synthetase AARS1 moonlights as a lactyltransferase to promote YAP signaling in gastric cancer. *J Clin Invest*, 2024, **134**(10): e174587
- [10] Zong Z, Xie F, Wang S, *et al.* Alanyl-tRNA synthetase, AARS1, is a lactate sensor and lactyltransferase that lactylates p53 and contributes to tumorigenesis. *Cell*, 2024, **187**(10): 2375-2392.e33
- [11] Li H, Liu C, Li R, *et al.* AARS1 and AARS2 sense L-lactate to regulate cGAS as global lysine lactyltransferases. *Nature*, 2024, **634**(8036): 1229-1237
- [12] Huang W, Su J, Chen X, *et al.* High-intensity interval training induces protein lactylation in different tissues of mice with specificity and time dependence. *Metabolites*, 2023, **13**(5): 647
- [13] Chen X, Huang W, Zhang J, *et al.* High-intensity interval training induces lactylation of fatty acid synthase to inhibit lipid synthesis. *BMC Biol*, 2023, **21**(1): 196
- [14] 黄文华, 张靖博, 陈雪飞, 等. 运动与蛋白质酰化修饰的研究进展. *生物化学与生物物理进展*, 2022, **49**(3): 454-467
Huang W H, Zhang J B, Chen X F, *et al.* *Prog Biochem Biophys*, 2022, **49**(3): 454-467
- [15] 张之玲, 徐薇, 赵世民. 氨基酰-tRNA合成酶的经典与非经典酶活性. *生物化学与生物物理进展*, 2023, **50**(5): 1133-1143
Zhang Z L, Xu W, Zhao S M. *Prog Biochem Biophys*, 2023, **50**(5): 1133-1143
- [16] Yakobov N, Debar S, Fischer F, *et al.* Cytosolic aminoacyl-tRNA synthetases: unanticipated relocations for unexpected functions. *Biochim Biophys Acta Gene Regul Mech*, 2018, **1861**(4): 387-400
- [17] Ganesh R B, Maerkl S J. Biochemistry of aminoacyl tRNA synthetase and tRNAs and their engineering for cell-free and synthetic cell applications. *Front Bioeng Biotechnol*, 2022, **10**: 918659
- [18] Antika T R, Chrestella D J, Tseng Y K, *et al.* A naturally occurring mini-alanyl-tRNA synthetase. *Commun Biol*, 2023, **6**(1): 314
- [19] Meerschaert K, Remue E, De Ganck A, *et al.* The tandem PDZ protein Syntenin interacts with the aminoacyl tRNA synthetase complex in a lysyl-tRNA synthetase-dependent manner. *J Proteome Res*, 2008, **7**(11): 4962-4973
- [20] Baietti MF, Zhang Z, Mortier E, *et al.* Syndecan-syntenin-ALIX regulates the biogenesis of exosomes. *Nat Cell Biol*, 2012, **14**(7): 677-685
- [21] Chen M, Li Y, Lv H, *et al.* Quantitative proteomics and reverse engineer analysis identified plasma exosome derived protein markers related to osteoporosis. *J Proteomics*, 2020, **228**: 103940
- [22] Zhang H, Yang X L, Sun L. The uniqueness of AlaRS and its human disease connections. *RNA Biol*, 2021, **18**(11): 1501-1511
- [23] Jakubowski H, Goldman E. Editing of errors in selection of amino acids for protein synthesis. *Microbiol Rev*, 1992, **56**(3): 412-429
- [24] Martinis S A, Boniecki M T. The balance between pre- and post-transfer editing in tRNA synthetases. *FEBS Lett*, 2010, **584**(2): 455-459
- [25] Beebe K, Ribas De Pouplana L, Schimmel P. Elucidation of tRNA-dependent editing by a class II tRNA synthetase and significance for cell viability. *EMBO J*, 2003, **22**(3): 668-675
- [26] Lee J W, Beebe K, Nangle L A, *et al.* Editing-defective tRNA synthetase causes protein misfolding and neurodegeneration. *Nature*, 2006, **443**(7107): 50-55
- [27] Liu Y, Satz J S, Vo M N, *et al.* Deficiencies in tRNA synthetase editing activity cause cardioproteinopathy. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, **111**(49): 17570-17575
- [28] 陆江焕. AARS2作为线粒体蛋白的乳酸化修饰酶的作用研究[D]. 广州: 广州医科大学, 2023
Lu J H. Study on the Role of AARS2 as a Lactating Modification Enzyme of Mitochondrial Protein[D]. Guangzhou: Guangzhou Medical University, 2023
- [29] Liu L, Gao J, Liu X, *et al.* AARS2 as a novel biomarker for prognosis and its molecular characterization in pan-cancer. *Cancer Med*, 2023, **12**(23): 21531-21544
- [30] Ablasser A, Chen Z J. cGAS in action: expanding roles in immunity and inflammation. *Science*, 2019, **363**(6431): eaat8657
- [31] Ishikawa H, Ma Z, Barber G N. STING regulates intracellular DNA-mediated, type I interferon-dependent innate immunity. *Nature*, 2009, **461**(7265): 788-792
- [32] Wu J, Sun L, Chen X, *et al.* Cyclic GMP-AMP is an endogenous second messenger in innate immune signaling by cytosolic DNA. *Science*, 2013, **339**(6121): 826-830
- [33] Sun L, Wu J, Du F, *et al.* Cyclic GMP-AMP synthase is a cytosolic DNA sensor that activates the type I interferon pathway. *Science*, 2013, **339**(6121): 786-791
- [34] Gao P, Ascano M, Wu Y, *et al.* Cyclic [G(2', 5')pA(3', 5')p] is the metazoan second messenger produced by DNA-activated cyclic GMP-AMP synthase. *Cell*, 2013, **153**(5): 1094-1107
- [35] Ablasser A, Goldeck M, Cavlar T, *et al.* cGAS produces a 2'-5'-linked cyclic dinucleotide second messenger that activates STING. *Nature*, 2013, **498**(7454): 380-384
- [36] Diner E J, Burdette D L, Wilson S C, *et al.* The innate immune DNA sensor cGAS produces a noncanonical cyclic dinucleotide that activates human STING. *Cell Rep*, 2013, **3**(5): 1355-1361
- [37] Zhang X, Shi H, Wu J, *et al.* Cyclic GMP-AMP containing mixed phosphodiester linkages is an endogenous high-affinity ligand for STING. *Mol Cell*, 2013, **51**(2): 226-235
- [38] Zhang J, Ji H, Liu M, *et al.* Mitochondrial DNA programs lactylation of cGAS to induce IFN responses in patients with systemic lupus erythematosus. *J Immunol*, 2024, **213**(6): 795-807
- [39] Antonellis A, Ellsworth R E, Sambuughin N, *et al.* Glycyl tRNA synthetase mutations in Charcot-Marie-Tooth disease type 2D and distal spinal muscular atrophy type V. *Am J Hum Genet*, 2003, **72**(5): 1293-1299
- [40] Tatsumi Y, Matsumoto N, Iibe N, *et al.* CMT type 2N disease-associated AARS mutant inhibits neurite growth that can be reversed by valproic acid. *Neurosci Res*, 2019, **139**: 69-78
- [41] Zhang H, Zhou Z W, Sun L. Aminoacyl-tRNA synthetases in Charcot-Marie-tooth disease: a gain or a loss. *J Neurochem*, 2021, **157**(3): 351-369

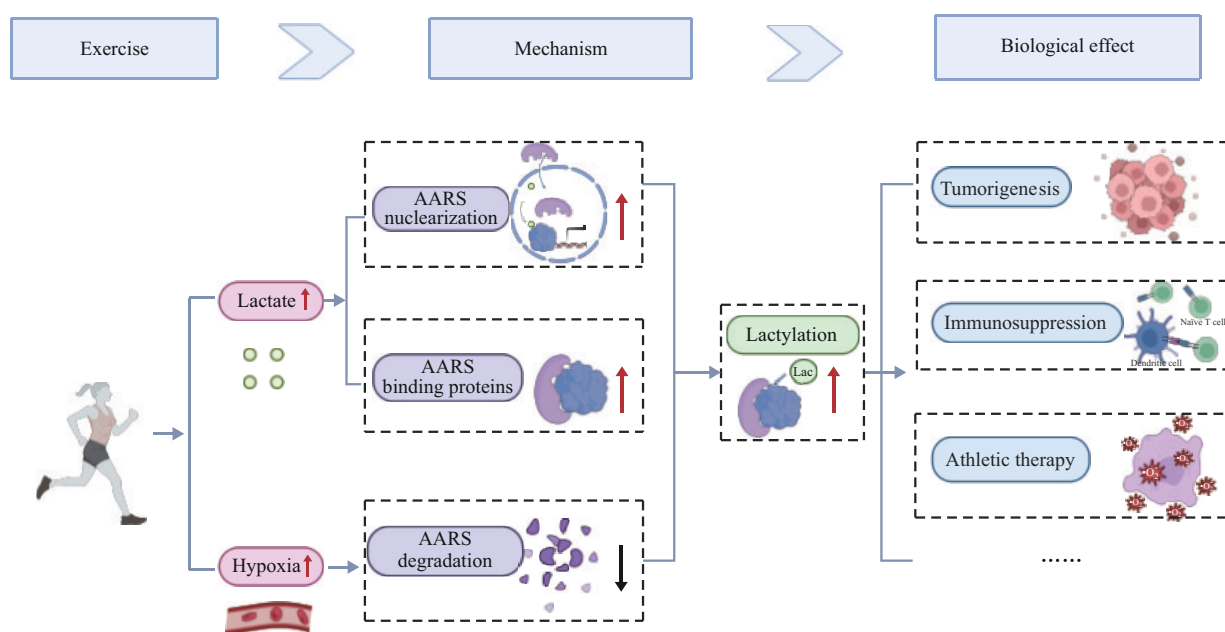
- [42] Nakayama T, Wu J, Galvin-Parton P, *et al.* Deficient activity of alanyl-tRNA synthetase underlies an autosomal recessive syndrome of progressive microcephaly, hypomyelination, and epileptic encephalopathy. *Hum Mutat*, 2017, **38**(10): 1348-1354
- [43] Simons C, Griffin L B, Helman G, *et al.* Loss-of-function alanyl-tRNA synthetase mutations cause an autosomal-recessive early-onset epileptic encephalopathy with persistent myelination defect. *Am J Hum Genet*, 2015, **96**(4): 675-681
- [44] McLaughlin H M, Sakaguchi R, Giblin W, *et al.* A recurrent loss-of-function alanyl-tRNA synthetase (AARS) mutation in patients with Charcot-Marie-Tooth disease type 2N (CMT2N). *Hum Mutat*, 2012, **33**(1): 244-253
- [45] Zhang H, Ling J. Aminoacyl-tRNA synthetase defects in neurological diseases. *IUBMB Life*, 2025, **77**(1): e2924
- [46] Maxwell P H, Wiesener M S, Chang G W, *et al.* The tumour suppressor protein VHL targets hypoxia-inducible factors for oxygen-dependent proteolysis. *Nature*, 1999, **399**(6733): 271-275
- [47] Wang G L, Semenza G L. General involvement of hypoxia-inducible factor 1 in transcriptional response to hypoxia. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, **90**(9): 4304-4308
- [48] Epstein A C R, Gleadle J M, McNeill L A, *et al.* *C. elegans* EGL-9 and mammalian homologs define a family of dioxygenases that regulate HIF by prolyl hydroxylation. *Cell*, 2001, **107**(1): 43-54

Lactate Transferase Function of Alanyl-transfer t-RNA Synthetase and Its Relationship With Exercise*

SUN Ying-Ying, XING Zheng, LI Feng-Yi, ZHANG Jing**

(College of PE and Sports, Beijing Normal University, Beijing 100875, China)

Graphical abstract



Abstract Lactylation (Kla), a protein post-translational modification characterized by the covalent conjugation of lactyl groups to lysine residues in proteins, is widely present in living organisms. Since its discovery in 2019, it has attracted much attention for its role in regulating major pathological processes such as tumorigenesis, neurodegenerative diseases, and cardiovascular diseases. By mediating core biological processes such as signal transduction, epigenetic regulation, and metabolic homeostasis, lactylation contributes to disease progression. However, the lactylation donor lactyl-CoA has a low intracellular concentration, and the specific enzyme catalyzing lactylation is not yet clear, which has become an urgent issue in lactate research. A groundbreaking study in 2024 found that alanyl-transfer t-RNA synthetase 1/2 (AARS1/2), members of the aminoacyl-tRNA synthetase (aaRS) family, can act as protein lysine lactate transferases, modifying histones and metabolic enzymes directly with lactate as a substrate, without relying on the classical substrate lactyl-CoA, promoting a new stage in lactate research. Although exercise significantly increases lactate levels in the body and can induce changes in

* This work was supported by a grant from The National Natural Science Foundation of China (31871207).

** Corresponding author.

Tel: 86-10-58808038, E-mail: zhangjing@bnu.edu.cn

Received: February 27, 2025 Accepted: April 11, 2025

lactylation in multiple tissues and cells, the regulation of lactylation by exercise is not entirely consistent with lactate levels. Research has found that high-intensity exercise can induce upregulation of lactate at 37 lysine sites in 25 proteins of adipose tissue, while leading to downregulation of lactate at 27 lysine sites in 22 proteins. The level of lactate is not the only factor regulating lactylation through exercise. We speculate that the lactate transferase AARS1/2 play an important role in the process of lactylation regulated by exercise, and AARS1/2 should also be regulated by exercise. This review introduces the molecular biology characteristics, subcellular localization, and multifaceted biological functions of AARS, including its canonical roles in alanylation and editing, as well as its newly identified lactate transferase activity. We detail the discovery of AARS1/2 as lactylation catalysts and the specific process of them as lactate transferases catalyzing protein lactylation. Furthermore, we discuss the pathophysiological significance of AARS in tumorigenesis, immune dysregulation, and neuropathy, with a focus on exploring the expression regulation and possible mechanisms of AARS through exercise. The expression of AARS in skeletal muscle regulated by exercise is related to exercise time and muscle fiber type; the skeletal muscle AARS2 upregulated by long-term and high-intensity exercise catalyzes the lactylation of key metabolic enzymes such as pyruvate dehydrogenase E1 alpha subunit (PDHA1) and carnitine palmitoyltransferase 2 (CPT2), reducing exercise capacity and providing exercise protection; physiological hypoxia caused by exercise significantly reduces the ubiquitination degradation of AARS2 by inhibiting its hydroxylation, thereby maintaining high levels of AARS2 protein and exerting lactate transferase function; exercise induced lactate production can promote the translocation of AARS1 cytoplasm to the nucleus, exert lactate transferase function upon nuclear entry, regulate histone lactylation, and participate in gene expression regulation; exercise induced lactate production promotes direct interactions between AARS and star molecules such as p53 and cGAS, and is widely involved in the occurrence and development of tumors and immune diseases. Elucidating the regulatory mechanism of exercise on AARS can provide new ideas for improving metabolic diseases and promote health through exercise.

Key words exercise, lactylation, AARS

DOI: 10.16476/j.pibb.2025.0087

CSTR: 32369.14.pibb.20250087