

自噬启动因子 ULK1 的生物学功能与靶向治疗研究进展

张 岚¹, 欧阳亮², 刘 博^{2*}

(1. 西南交通大学生命科学与工程学院, 四川 成都 610031; 2. 四川大学生物治疗国家重点实验室, 四川 成都 610041)

摘要: UNC-51 样激酶 1 (ULK1) 作为一种丝氨酸/苏氨酸激酶同时也是哺乳动物中自噬的启动因子, 是酵母中 Atg1 的同源基因。近年来, 大量研究先后揭示了 ULK1 的结构特征及其复杂生物学功能, 并进一步阐明了其调控自噬的途径及其与多种疾病的关系。最新的研究还发现了一系列靶向 ULK1 或 ULK1 调节自噬的小分子化合物, 为开发新的靶向自噬的候选药物提供了一定的线索。本文综述了 ULK1 作为自噬启动因子的复杂生物学功能, ULK1 与多种疾病的关系及其潜在的靶向治疗应用。

关键词: ULK1; 自噬; 自噬通路; 疾病; 小分子化合物; 靶向治疗

中图分类号: R 96 **文献标志码:** A

自噬是一种高度保守的溶酶体降解过程, 负责消化细胞内的长寿蛋白及受损细胞器。自噬过程被 35 个自噬相关 (ATG) 基因所调控^[1], 其中 Atg1 是第一个被发现的酵母自噬蛋白, 同时它也是 Atg 蛋白中唯一一个丝氨酸/苏氨酸激酶^[2]。ULK1 作为 Atg1 在哺乳动物中的同源蛋白, 具有与 Atg1 相同的自噬启动功能^[3]。已有研究表明, ULK1 是自噬初始启动步骤的主要调控子, 它与粘着斑激酶家族相互作用蛋白 200 KD (FIP200), 自噬相关蛋白 13 (mAtg13) 和自噬相关蛋白 101 (Atg101) 相互作用形成 ULK 复合体, ULK 复合体的激活可以进一步促进自噬体的形成。通常情况下, ULK 复合体的形成也是自噬过程所必需的。近年来的研究表明, 除了参与 ULK 复合体的形成, ULK1 还可以被多种上游信号通路所调控, 如自噬相关蛋白的磷酸化、泛素化和乙酰化等^[4,5]。同时 ULK1 还参与调控了多种自噬信号通路及非经典信号通路, 并且 ULK1 及其调控的信号通路还与肿瘤、神经退行性疾病、感染性疾病等多种疾病的发生发展密切相关^[6]。此外, 最近的研究发现了大量直接或间接靶向 ULK1 调节自噬的小分子化合物用于疾病的靶向治疗^[7,8]。在本综述中, 我们主要讨论了 ULK1 作为自噬启动因子如何调控 ULK 复合体及其相关的自噬通路, 以及 ULK1 与各种疾病的关系, 并进一步揭示了其作为潜在药物靶标在靶向治疗领域的应用前景。

收稿日期: 2019-05-09 **录用日期:** 2019-08-09

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (81673455, 81673290); 国家自然科学基金青年基金 (81602953)

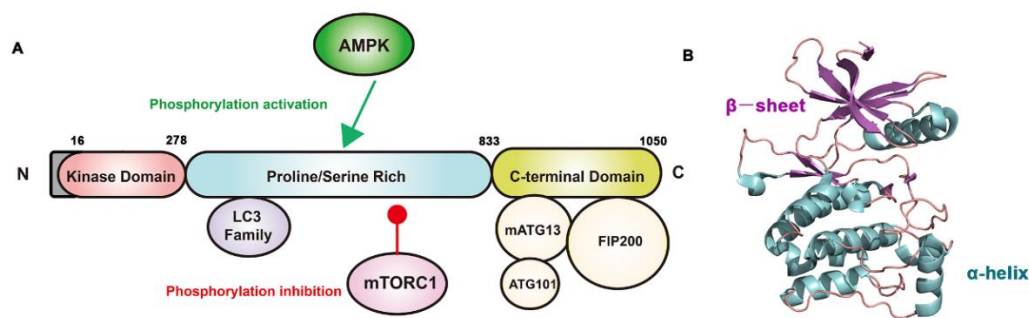
***通信作者:** liubo2400@163.com

1 ULK1 的生物学功能

1.1 ULK1 的结构

ULK1 作为一种细胞质激酶，是 Atg1 基因在哺乳动物中的同源物，它与 Atg1 的序列相似度为 29%。ULK1 由 1050（人源）或者 1051（鼠源）个氨基酸组成，分子量为 112.6 或 113 kDa^[3,9]。ULK1 的结构由一个 N 端激酶结构域（KD）（第 16~278 位氨基酸残基），一个脯氨酸/丝氨酸（PS）结构域和一个 C 端结构域（CTD）（第 833~1050 位氨基酸残基）组成。ULK1 的 KD 结构域主要负责激酶活性的催化，而 CTD 结构域包含两个微管作用和转运（MIT）结构域，主要负责 ULK1 与 mAtg13 和 FIP200 的相互作用^[9]。另外，PS 结构域中约包含 500 个不保守的氨基酸，该区域由于富含较多的脯氨酸和丝氨酸，因此将其命名为 PS 结构域，该区域主要负责 ULK1 与 LC3 蛋白的相互作用以及上游激酶对 ULK1 的磷酸化修饰^[9]（图 1A）。目前，ULK1 的 KD 结构域的晶体结构已经被解析，其主要包含一个典型的折叠结构，与蛋白激酶 A（PKA）的 KD 结构域具有相似的特征，而此区域通常在蛋白激酶家族中较为保守。ULK1 的 KD 结构域主要包含两个环状折叠结构，分别为 C 端螺旋结构和由五个 β 折叠链和一条 α 螺旋组成的 N 端结构。此外，ATP 通过与两个裂片之间形成的裂口结合，被环状结构（P-loop）或（Gly-rich loop）的盖子盖住^[8]（图 1B）。

哺乳动物基因组共包含 5 个 Atg1 同源物，分别为 ULK1, ULK2, ULK3, ULK4 和 STK36，其中只有 ULK1 和 ULK2 在整个蛋白质长度上表现出广泛的序列相似性，而 ULK3, ULK4 和 STK36 只在激酶结构域与 Atg1 基因具有一定的序列相似性^[2]。由于 ULK2 与 ULK1 具有 52% 的序列相似性，以前人们认为 ULK2 也参与细胞自噬的调控，在自噬体形成的最初的步骤中起着必要的作用。然而，通过基于激酶特异性 siRNA 表达文库的筛选，发现在氨基酸饥饿诱导的 HEK293 细胞自噬中敲除 ULK1 可以抑制细胞自噬，而敲除 ULK2 则不会抑制细胞自噬，确认了在哺乳动物自噬中起作用的是 ULK1，而不是 ULK2^[10]。随后的研究发现 ULK1/2 在细胞和动物水平表现为功能冗余，即当 ULK1 的作用逐渐减弱时，ULK2 的作用可能相应增强，两者调控自噬启动的功能可以相互补充^[11]。虽然 ULK1 和 ULK2 在大部分组织中广泛分布和表达，但是特定的 ULK 亚型可以在特定的细胞环境中发挥主导作用。例如，ULK1 敲除小鼠在红细胞发育和原代肝细胞线粒体自噬过程中均存在缺陷，说明 ULK2 与 ULK1 的功能并不完全相同^[4,12]。



(A) ULK1 的结构组成 (B) ULK1 激酶域晶体结构

图 1 ULK1 的结构组成及激酶域晶体结构

Fig.1 The structure of ULK1 and the crystal structure of kinase domain

1.2 ULK 复合物

ULK1 可以和 mAtg13, FIP200 和 Atg101 形成 ULK 复合物, 并进一步激活下游自噬信号通路, 促进自噬体的形成。2008 年, FIP200 首次被发现在哺乳细胞中与 ULK1 存在直接的作用, 是参与自噬体形成的关键因素^[13]。随后, 有研究者发现 mAtg13 可以参与 ULK 复合物的形成, 与 ULK1 和 FIP200 存在直接相互作用, 其中 mAtg13 与 ULK1 的 CTD 结构域相结合^[14]。进一步的研究又确定了 mAtg13 通过其 C 端一个极其短的肽链 (Thr478、Leu479 和 Gln480) 与 ULK1 相互作用^[15]。在正常情况下, mAtg13 和 FIP200 都可以单独参与调节 ULK1 激酶的活性, 但在 mAtg13 和 FIP200 协同作用下, 可以最大程度地激活 ULK1 的活性。随后, 研究发现在哺乳动物细胞中 Atg101 作为 mAtg13 的附属蛋白, 可以和 ULK1、mAtg13、FIP200 形成一个四重复合物^[16]。有趣的是, 目前还未在酵母中发现 Atg101 的同源物或功能相似的蛋白^[17]。目前为止, Atg101 在自噬中的作用还不是十分清楚, 但最新研究发现 Atg101-Atg13^{HORMA} 复合物中的 C 端结构域是桥接 ULK1 复合物与 PI3K 复合物相互作用的关键区域, Atg101 的 C 端结构域的缺失会显著影响与 PI3K 复合物的相互作用及自噬体的形成^[18]。

1.3 ULK1 与自噬相关通路的关系

1.3.1 ULK1 的上游自噬相关通路

ULK1 是一种在哺乳动物细胞的自噬体膜上广泛表达的蛋白激酶^[19], 其活性可以被多个上游信号通路所调控。例如, 哺乳动物雷帕霉素靶蛋白复合物 1 (mTORC1) 和腺苷酸活化蛋白激酶 (AMPK) 就可以直接参与 ULK1 活性的调控。在正常条件下, AMPK 处于失活状态, mTORC1 可以通过磷酸化 ULK1 的 Ser637/Ser638 和 Ser757/Ser758 位点抑制 ULK1 的活性, 以及通过磷酸化 mAtg13 的 Ser258 位点阻止 ULK1 的激活^[20-22]。当营养供给受到限制时, ULK1 能够磷酸化 TOR1 调节相关蛋白 (Raptor), 阻止 mTOR 与底物 Raptor 的结合从而抑制 mTORC1 信号通路^[23]。而 AMPK 既可以通过磷酸化 Raptor 解除 mTORC1 对

ULK1 的抑制作用，也可以直接磷酸化 ULK1 的多个位点来激活 ULK1^[4,21]。此外，在饥饿诱导条件下，蛋白激酶 Cα (PKCα) 与 ULK1 相互作用，并磷酸化 ULK1 的 Ser423 位点阻断自噬，而 PKCα 对 ULK1 的磷酸化并不会影响 ULK 复合体和 ULK1 激酶的活性，而是通过降低 ULK1 与突触融合蛋白 17 (STX17) 的亲和力阻断自噬体-溶酶体的融合从而抑制自噬^[24]。在长期的饥饿的条件下，ULK1 在 Thr180 位点的自身磷酸化可以促进 KLHL20 对 ULK1 的泛素化以及对 ULK1 和 VPS34 复合体成分的降解，而这一过程有助于自噬的中止，防止过度自噬的发生^[25]。最近一项研究还发现丝裂原激活的蛋白激酶 15 (MAPK15) 是 ULK 复合体的一部分，并可以通过调控 ULK1 的磷酸化增强 ULK 复合体活性，调节自噬过程的早期阶段^[26]。

除了上述磷酸化调控，ULK1 还会受到泛素化、乙酰化和糖基化等调控。例如，自噬和 Beclin1 调节因子 1 (AMBRA1) 可以与一种 E3 泛素连接酶—肿瘤坏死因子受体相关因子 6 (TRAF6) 形成复合物，对 ULK1 的 Lys63 位点进行泛素化调控其稳定性与激酶活性^[5]。此外，一种分子伴侣样蛋白 p32 可以和 ULK1 形成复合物调控 ULK1 的稳定性，而 p32 的缺失会增强 ULK1 在 Lys48 位点的泛素化，同时抑制 Lys63 位点泛素化，导致蛋白酶体将 ULK1 降解^[27]。有趣的是，研究发现神经前体细胞表达发育下调基因 4 样蛋白 (NEDD4L) 可以对 ULK1 的 Lys925 和 Lys933 位点进行泛素化，使其被蛋白酶体降解，防止细胞受到过度自噬而死亡^[28]。而在某个未知蛋白激酶的作用下，ULK1 的 Ser929, Ser930 和 Thr931 位点被磷酸化，有助于 NEDD4L 对 ULK1 的泛素化和降解^[29]。在亚硒酸盐诱导的线粒体自噬中，线粒体 E3 泛素蛋白连接酶 1 (MUL1) 可以与 ULK1 相互作用，促进 ULK1 形成 Lys48 多聚泛素链，进而通过泛素-蛋白酶体途径将 ULK1 降解^[30]。此外，泛素特异性肽酶 24 (USP24) 可以通过影响 ULK1 的泛素化和蛋白稳定性来调控自噬，敲减 USP24 可以显著提高 ULK1 的表达水平并提高细胞自噬通量^[31]。泛素特异性肽酶 1 (USP1) 是调节 ULK1 的 Lys63 位点去泛素化的关键分子，抑制 USP1 可以降低 ULK1 蛋白的表达并阻断经典的自噬途径，但却可以激活一种非经典自噬途径来降解 p62 蛋白^[32]。而泛素特异蛋白酶 20 (USP20) 被发现可以通过去泛素化结合并稳定 ULK1，从而阻止 ULK1 被溶酶体降解，这一过程对饥饿诱导的自噬启动是不可或缺的^[33]。除了对 ULK1 的泛素化修饰，在生长因子缺乏的条件下，HIV-1 Tat 相互作用蛋白 60 kD (TIP60) 的 Ser86 位点会被糖原合成酶激酶 3 (GSK3) 磷酸化后，TIP60 能够通过乙酰化 ULK1 调节其活性，此过程并不是单一模式的调节，而是通过 GSK3-TIP60-ULK1 通路连接了两种不同的修饰模式--磷酸化和乙酰化^[34]。除此之外，最新研究发现 ULK1 的 Thr754 位点可以被 N-乙酰葡萄糖胺转移酶 OGT 糖基化，这对 ULK1 与 Atg14 的结合，对 Atg14 的磷酸化以及 VPS34 的激活和吞噬泡的形成等过程非常重要^[35]。除此之外，还有一些转录因子或蛋白可以直接调控 ULK1 的表达，进而调控细胞自噬。例如，ULK1 是转录激活因子 4 (ATF4) 的直接转录靶点，在缺氧或内质网应激刺激下，ATF4 可以上调 ULK1 的 mRNA 和蛋白表达水平，激活细胞自噬^[36]。另外，在信号转换器和转录激活器 1

(STAT1)缺失的细胞中,ULK1 的 mRNA 和蛋白水平以及自噬水平均明显提高,表明 STAT1 可以负调控 ULK1 的表达,抑制细胞自噬的发生^[37]。

1.3.2 ULK1 的下游自噬相关通路

ULK1 及其复合体作为自噬的启动因子,同时还参与调控大量下游自噬相关通路。例如,Beclin1 作为哺乳动物基因编码 *Atg6* 的同源蛋白,是 ULK1 的下游直接靶点,它可以与 III 型磷脂酰肌醇-3-激酶 (PI3KC3/VPS34) 和磷脂酰肌醇-3-激酶调控亚基 4 (PI3KR4/VPS15) 结合形成复合体调控自噬。在氨基酸缺失或者 mTORC1 受到抑制的条件下,激活 ULK1 可以磷酸化 Beclin1 的 Ser14 位点,提高 Beclin1-VPS34-Atg14L 复合体的活性,诱导自噬的发生^[38]。另外,ULK1 可以磷酸化 Atg14 的 Ser29 位点,导致 Atg14-VPS34 复合体的活性增加并激活自噬^[39]。最近研究表明 ULK1 还可以磷酸化 Beclin1 的 Ser30 位点,激活 Atg14-VPS34 复合体,这一过程完全独立于 ULK1 对 Beclin1 (Ser14) 和 Atg14 (Ser29) 的磷酸化^[40]。另外,AMBRA1 能够与 DLC1 结合形成复合体保持失活状态,当自噬启动时,ULK1 通过对 AMBRA1 的磷酸化使其从复合体中解离出来,转位到内质网,与 Beclin1-VPS34 一起参与自噬体的形成^[41]。

ULK1 在饥饿条件下,原癌基因酪氨酸蛋白激酶 Src (Src) 和 ULK1 可以分别磷酸化 Atg9 的 Tyr8 和 Ser14 位点,协同促进 Atg9 与衔接蛋白复合物 1/2 (AP1/2) 之间的相互作用,诱导 Atg9 膜泡运输和细胞自噬的启动^[42]。ULK1 能够磷酸化 Atg4B 的 Ser316 位点,降低 Atg4B 的活性,而蛋白磷酸酶 2A (PP2A) 可以去除这种磷酸化抑制,因此 ULK1 介导的 Atg4 磷酸化和 PP2A 介导的 Atg4 去磷酸化可以共同调控 Atg4 的活性以及 LC3-Atg4 复合物的形成^[43]。卵巢滤泡激素 (FLCN) 与 γ -氨基丁酸受体相关蛋白 (GABARAP) 可以在卵巢滤泡激素互作蛋白 1 (FNIP1) 或 FNIP2 的存在下形成 FLCN-GABARAP 复合物,ULK1 可以通过磷酸化 FLCN 的 Ser406, Ser537, Ser542 位点调控 FLCN-GABARAP 复合物的活性,从而调控自噬^[44]。在饥饿条件下,ULK1 可以磷酸化 DENN 包含蛋白 3 (DENND3) 的 Ser554 和 Ser572 位点, DENND3 进一步激活 Ras 相关蛋白 Rab12 (Rab12),激活的 Rab12 与 LC3 相结合可以促进自噬体转运和诱导自噬^[45]。饥饿条件下,ULK1 还可以磷酸化蛋白转运蛋白 SEC23B (SEC23B) 的 Ser186 位点,阻断 SEC23B 和 F-box/WD 重复蛋白 5 (FBXW5) 之间的相互作用,进而抑制 SEC23B 的降解。被磷酸化稳定后的 SEC23B 与 SEC24A 和 SEC24B 结合,重新定位于内质网和高尔基体之间的间隙,促进自噬流量^[46]。

1.4 ULK1 调控的非经典信号通路

除了参与调控经典的自噬相关通路,ULK1 还可以参与一些非经典信号通路的调节,例如,ULK1 参与调节特殊压力刺激导致的细胞自噬。蛋白磷酸酶 1D (PPM1D) 可以与 ULK1 直接作用,并对其 Ser637 位点去磷酸化,激活基因毒性诱导的自噬,这一过程依赖于 p53 的激活^[47]。蛋白酶体抑制或蛋白毒性应激可诱导 p62 泛素关联域 (UBA) 中的 Ser409 位点被 ULK1 磷酸化,增加 p62 与泛素的结合亲和力。有趣的是,这种现象在营养缺乏的条件

下并不会发生。自噬蛋白的多聚泛素化降解依赖于 p62 的 Ser409 位点磷酸化, Ser409 位点的突变会导致 p62 的积累, 自噬蛋白的异常定位和积聚蛋白清除异常^[48]。

此外, ULK1 还可以参与选择性自噬如线粒体自噬等的调控。应激诱导蛋白 Sestrin-2 (SES2) 能够与 ULK1 作用, 促进 ULK1 对 p62 蛋白 Ser403 位点的磷酸化, 激活 p62 介导的选择性自噬^[49]。此外, SES2 还可以促进 ULK1 对 Beclin1 的 Ser14 位点的磷酸化, 进一步增强 Beclin1 与 Parkin 的结合, 促进 Parkin 向线粒体膜的易位, 激活线粒体自噬^[50]。ULK1 与 Ras 相关蛋白 Rab9 (Rab9), 受体相互作用丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 1 (Rip1), 线粒体分裂蛋白 (Drp1) 可以形成复合物, ULK1 和 Rip1 可以分别磷酸化 Rab9 的 Ser179 位点和 Drp1 的 Ser616 位点, 使与 Rab9 相关的跨高尔基膜被募集到受损的线粒体, 通过线粒体自噬将其清除^[51]。在缺氧或线粒体解耦的条件下, ULK1 可以易位到受损线粒体上并磷酸化 FUN14 结构域包含蛋白 1 (FUNDC1) 的 Ser17 位点, 加强 FUNDC1 和 LC3 的结合, 促进线粒体自噬从而清除受损线粒体。而 FUNDC1 的突变导致其缺失与 ULK1 的结合能力, 可以防止 ULK1 转位到线粒体并抑制线粒体自噬^[52]。核结构域 10 蛋白 52 (NDP52) 异位到线粒体或过氧化物酶体, 可以定位并激活 ULK 复合物启动选择性自噬。NDP52 通过与 FIP200/ULK1 复合物的相互作用诱导线粒体自噬, 而 TANK 结合激酶 1 (TBK1) 可以进一步增强 NDP52-ULK 复合物之间的相互作用促进线粒体自噬^[53]。

除了调控自噬之外, ULK1 还与凋亡蛋白存在相互调控。例如, 研究发现在急性髓系白血病 (AML) 中, ULK1 为 Caspase-3 的直接作用底物。Caspase-3 可以通过直接剪切 ULK1 的 Asp485 位点, 抑制细胞自噬的发生, 从而调控表达 AML1-ETO9a (AE9a) 的胎儿肝细胞的自我更新能力和白血病源性, 阻止 AML 的发生和进展^[54]。在活性氧压力应激下, ULK1 定位于细胞核内, 增强聚 ADP 核糖聚合酶 1 (PARP1) 的活性, 促进细胞发生坏死性凋亡, 并且不依赖于 ULK1 调控的细胞自噬, 在此过程中 ULK1 激酶的活性对于 ULK1 的入核以及 PARP1 的激活十分重要^[55]。

另外, ULK1 还参与一些炎症和应激机制的调控。例如, 循环二核苷酸 (CDNs) 促进干扰素基因蛋白刺激器 (STING) 的功能, STING 可以将 TBK1 运送到核内体/溶酶体, 并激活干扰素调节因子 3 (IRF3) 和核因子 κ B (NF- κ B), 随后 STING 被 ULK1 在 Ser366 位磷酸化, STING 的磷酸化可以避免炎症细胞因子的持续产生, 预防先天免疫基因的持续转录^[56]。此外, I 型干扰素受体 (IFNR) 可以磷酸化 ULK1 的 Ser757 位点, ULK1 可以在 IFNR 参与后被激活, 从而磷酸化丝裂原活化蛋白激酶 p38 (MAPK p38) ^[57]。p38 α 也被发现可以磷酸化 ULK1 的 Ser757 位点并降低 ULK1 激酶活性, 阻止其与下游效应蛋白 Atg13 结合, 降低了神经小胶质细胞的自噬水平, 促进细胞的炎症反应^[58]。含缬酪肽蛋白 (VCP/p97) 突变是家族性包涵体肌病 (IBM) 最常见的病因, 研究发现 ULK1/2 可以定位于应激颗粒并磷酸化 VCP 的 Ser13, Ser282, Thr761 位点, 增加 VCP 蛋白的活性, 增强其分解应激颗粒的能力^[59]。另外, ULK1 可以对其底物蛋白细胞分裂周期蛋白 37 (Cdc37) 的 Ser339 位点磷

酸化，降低 Cdc37 与下游靶激酶的相互作用，抑制靶激酶稳定性，从而提高肿瘤细胞对热休克蛋白 90（HSP90）抑制剂的敏感性^[60]。此外，ULK1/2 还可以在发育中的小鼠前脑中通过非经典途径共同调控轴突导向，而缺乏 ULK1/2 的小鼠中枢神经系统在轴突寻路方面存在缺陷^[61]。研究还发现缺失 ULK1/2 会导致神经元死亡，这可能是细胞内的未折叠蛋白反应（UPR）导致的。进一步研究发现，ULK1/2 可以磷酸化蛋白转运蛋白 Sec16A（SEC16A）的 Ser469 位点，调控特异性底物从内质网到高尔基体的转运。而在 ULK1/2 缺失的细胞中，内质网-高尔基体转运功能的缺陷会激活 UPR，诱导神经元的死亡^[62]。综上，我们将 ULK1 调控的自噬信号通路总结详见图 2，ULK1 及相关底物蛋白的修饰方式总结详见表 1。

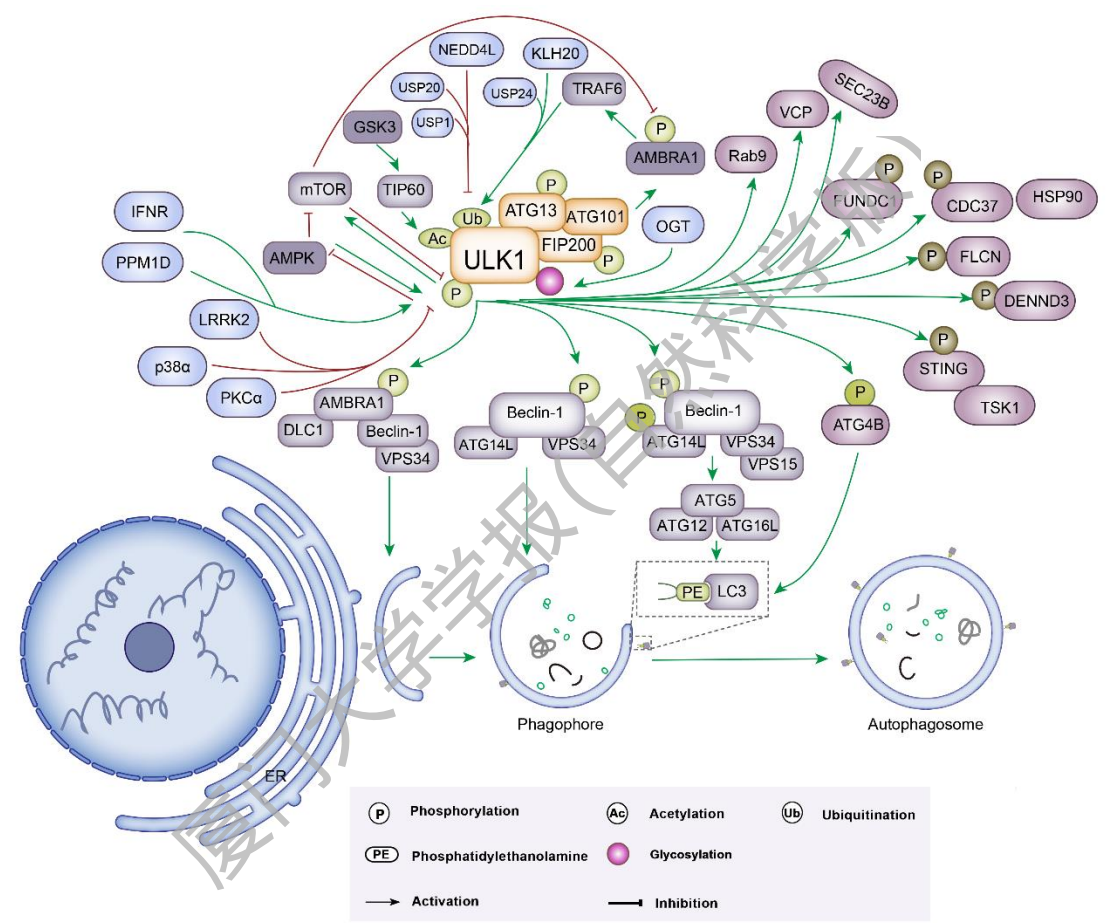


图 2 ULK1 复合体的翻译后修饰及其调控的信号通路

Fig.2 Post-translational modifications of the ULK1 complex and its regulatory signaling pathways

表 1 ULK1 复合体及 ULK1 调控的自噬通路的翻译后修饰方式

Tab.1 Post-translational modifications of the ULK1 complex and autophagic pathways regulated by ULK1

底物蛋白	修饰方式	修饰位点	修饰酶	文献
ULK1	磷酸化	S637, S757/S758	mTOR	[20, 21]
	磷酸化	S317, S467, T575, S637/S638, S555, S777	AMPK	[4, 21]
	磷酸化	S423	PKCα	[24]

	去磷酸化	S637	PPM1D	[47]
	磷酸化	S757	IFNR	[57]
	磷酸化	S757	p38 α	[58]
	自身磷酸化	T180	ULK1	[25]
	泛素化	K63	TRAF6	[5]
	泛素化	未知	KLHL20	[25]
	泛素化	K925, K933	NEDD4L	[28]
	泛素化	K48	MUL1	[30]
	去泛素化	未知	USP24	[31]
	去泛素化	未知	USP1	[32]
	去泛素化	未知	USP20	[33]
	乙酰化	K162, K606	TIP60	[34]
	糖基化	T754	OGT	[35]
mAtg13	磷酸化	S318	ULK1	[21]
	磷酸化	S258	mTOR	[22]
	磷酸化	S224	AMPK	[22]
mTOR	磷酸化	S2481	ULK1	[23]
Raptor	磷酸化	S855, S859, S863, S792	ULK1	[23]
Beclin-1	磷酸化	S14/S15, S30	ULK1	[38, 40]
Atg14	磷酸化	S29	ULK1	[39]
Atg9	磷酸化	S14	ULK1	[42]
AMBRA1	磷酸化	S52	mTOR	[5]
Atg4B	磷酸化	S316	ULK1	[43]
FLCN	磷酸化	S406, S537, S542	ULK1	[44]
DENND3	磷酸化	S554, S572	ULK1	[45]
SEC23B	磷酸化	S186	ULK1	[46]
p62	磷酸化	S409, S403	ULK1	[48, 49]
Rab9	磷酸化	S179	ULK1	[51]
FUNDC1	磷酸化	S17	ULK1	[52]
STING	磷酸化	S366	ULK1	[56]
VCP	磷酸化	S13, S282, T761	ULK1	[59]
Cdc37	磷酸化	S339	ULK1	[60]
SEC16A	磷酸化	S469	ULK1	[62]

2 ULK1 与疾病的关系

ULK1 及其调控的细胞自噬信号通路与多种疾病的发生发展密切相关，近期研究表明 ULK1 可在多种疾病的治疗中作为候选药物靶点。在这部分，我们总结了 ULK1 及其调控的细胞自噬和多种疾病的关系，以及 ULK1 在疾病发生发展过程中调控的复杂机制。

2.1 ULK1 与肿瘤的关系

细胞自噬通常被视为一种保护细胞存活的途径，但它也具有抑制肿瘤的功能。有研究认为自噬的作用会根据肿瘤发展的不同阶段变得不同。例如，自噬在肿瘤发生的初期可以限制

肿瘤细胞的增殖,但在肿瘤形成后又可以应对各种压力刺激从而保护肿瘤细胞的存活、侵袭和转移。此外,还有研究认为自噬可以通过细胞或组织特异性的方式影响肿瘤的发生。因此,在肿瘤发生发展的过程中,细胞自噬显示出其两面性的作用。

ULK1 作为自噬的启动因子,在不同肿瘤中也扮演着不同的角色。其中 ULK1 的表达在某些肿瘤组织中明显下调,在这种情况下,激活 ULK1 调节的自噬性细胞死亡就成为一种潜在的治疗策略。例如,研究发现 ULK1 表达的下调和乳腺癌的进展密切相关,同时还伴随着自噬水平的下降,表明 ULK1 可能是乳腺癌中独立的预后因子^[63]。最近,我们课题组基于癌症基因组样本 (TCGA) 和组织芯片分析发现,ULK1 在乳腺癌 (BC) 的组织样本中表达发生显著下调,尤其是在三阴性乳腺癌 (TNBC) 中下调更加明显^[7, 64]。另一方面,在很多肿瘤组织中 ULK1 的表达发生上调。因此,抑制 ULK1 调节的保护性自噬在这些肿瘤中成为一种理想的治疗策略。例如,研究发现 ULK1 在肝细胞癌 (HCC) 中的表达水平可以作为 HCC 的重要预后因素,但将 ULK1 与微管相关蛋白 1 轻链 3B (LC3B) 的表达相结合进行综合评估时,能够显著改善对患者预后评估的准确性^[65]。利用免疫组化方法检测 ULK1 在鼻咽癌患者中的表达,结果发现 ULK1 的高表达通常与较差的疾病特异性生存期 (DSS) 相关,因此检测 ULK1 的表达水平也可以作为预测鼻咽癌患者治疗反应及不良预后的一种辅助方法^[66]。此外,在雄激素阻断治疗 (ADT) 后发生肿瘤转移的前列腺癌 (PCa) 患者中,ULK1 与含亮氨酸丰富 PPR 基元蛋白 (LRPPRC) 表达水平的升高与较短的生存期密切相关,提示 ULK1 的高表达可作为转移性 PCa 的有效生物标志物^[67]。最近的一项针对胃癌的研究发现,ULK1 在胃癌细胞系及病人胃癌组织中均为高表达,siRNA 敲减 ULK1 后可抑制胃癌细胞的存活和增殖,而过表达 ULK1 则会增强胃癌细胞的增殖。研究还发现 ULK1 的高表达与胃癌的 T 分级以及复发密切相关,表明 ULK1 可以作为胃癌的一个生物标记物及预后因子^[68]。基于 TCGA 数据库的分析也发现在透明肾细胞癌中 ULK1 异常高表达,通过 shRNA 敲减 ULK1 或使用 ULK1 抑制剂干预可以显著抑制癌细胞的自噬水平并诱导细胞凋亡^[69]。除此之外,ULK1 介导的细胞自噬还可以通过诱导保护性细胞自噬,使肿瘤细胞对靶向药物或化疗药物产生耐药性,从而逃避死亡。例如,布罗莫结构域和额外终端结构域 (BET) 抑制剂 JQ1 通过激活 AMPK-ULK1 通路引起白血病干细胞中自噬的激活,进而使细胞对 JQ1 产生了耐药性,这表明保护性细胞自噬是 JQ1 用于治疗 AML 产生药物耐受的机制之一^[70]。颗粒钙蛋白 (GCA) 通过激活 TRAF6 泛素连接酶的活性,诱导 ULK1 在 Lys63 位点的泛素化,进一步导致 ULK1 的稳定和激活,促进保护性细胞自噬从而使慢性髓系白血病 (CML) 细胞对伊马替尼产生耐药性^[71]。综上所述,根据自噬在不同肿瘤中所表现出的不同作用,我们可以分别通过激活或者抑制 ULK1 来调节自噬对肿瘤进行靶向治疗。

2.2 ULK1 与神经退行性疾病的关系

目前,大量研究表明细胞自噬功能障碍在神经退行性疾病的发病过程中起到了十分重要的作用,因此靶向细胞自噬,尤其是自噬-溶酶体降解途径对神经退行性疾病进行治疗已经

成为近年来的研究热点。其中，ULK1 作为细胞自噬的启动子，也可以作为一个潜在靶点治疗神经退行性疾病。例如，有研究报道在帕金森病（PD）患者的外周血单核细胞（PMBCs）中，ULK1 的 mRNA 水平与正常人相比较低^[72]。在衰老导致的大鼠认知缺陷模型中，研究人员发现，与普通成年鼠相比，老龄鼠大脑中的海马体部分表现出细胞凋亡相关蛋白 Bax/Bcl-2 比率，caspase-3 活性明显升高，同时自噬相关的 p-ULK1/ULK1，Beclin-1，LC3-II 比例显著降低，这些结果表明 ULK1 等自噬蛋白的缺失在认知缺陷类神经退行性疾病发病机制方面可能起到了重要的作用^[73]。在 Q175 小鼠亨廷顿病（HD）模型中，ULK1 对 Beclin1 和 Atg14 的磷酸化水平以及 Atg14-VPS34 复合物活性均有所降低，导致自噬水平下降，细胞对聚集蛋白的清除能力降低^[39]。9 号染色体开放阅读框 72（C9ORF72）的单倍剂量不足可以引起肌萎缩性侧索硬化症（ALS）和额颞叶痴呆（FTD），最近的研究发现 C9ORF72/史密斯-马吉尼斯综合症染色体区域候选基因 8（SMCR8）复合物可以调节 ULK1 调控的细胞自噬^[74,75]。在另一项研究中还发现，C9ORF72 可以与 ULK1 直接相互作用，C9ORF72 在 Rab1 的作用下，可以调节 ULK 复合体向吞噬泡的易位。虽然 C9ORF72 的缺失并不会影响 ULK1 的激活，但其可以引起神经元细胞中的 p62 发生聚集，这与 C9ORF72 突变导致的 ALS/FTD 病人中出现的 p62 聚集的生理现象是一致的。并且研究人员在 ALS/FTD 病人的组织中也发现了自噬水平的下降，进一步证明了 C9ORF72 调控 ULK1 介导的细胞自噬在 ALS/FTD 发病机制中的关键作用^[76]。舞蹈症-棘红细胞增多症（ChAc）是一种遗传性神经退行性疾病，研究发现在患者的红细胞中一种 Src 家族酪氨酸激酶（SFK）Lyn 与 ULK1 相互作用，并形成 Lyn-ULK 复合物在细胞中大量聚集，这会导致自噬-溶酶体降解功能发生障碍，延缓积聚毒蛋白的清除^[77]。此外，ULK1 在保护缺氧引起的缺血性脑梗死（ICI）中具有重要作用，研究发现过表达 ULK1 可以促进 FUN14 域包含蛋白 1（FUNDCl）的激活，降低缺氧引起的神经细胞凋亡，而抑制 ULK1 的表达则会起到相反的作用^[78]。ULK1 还被发现在猪血凝性脑脊髓炎病毒（PHEV）诱导的神经系统障碍中具有重要调控作用，当 PHEV 感染后小鼠原代皮层神经元中的 ULK1 表达显著降低，提示 PHEV 引起的神经系统障碍可能与 ULK1 缺陷相关；而 ULK1 可以选择性地启动神经生长因子（NGF）/酪氨酸激酶受体 A（TrkA），促进神经突起的生长，神经侧枝的生芽以及内体运输^[79]。如上所述，在神经退行性疾病中，激活 ULK1 调节的保护性自噬将是一种具有广阔前景的治疗策略。

2.3 ULK1 与感染性疾病的关系

迄今为止，大量研究表明 ULK1 可以调节某些感染性疾病相关的自噬通路。例如，在干扰素 γ （IFN- γ ）介导的抗病毒反应中，IFN- γ 可以激活 ULK1，随后 ULK1 与混合谱系激酶 3（MLK3）相互作用并磷酸化 MLK3，同时激活细胞外信号调节激酶 5（ERK5）来促进 IFN 调控的抗病毒基因转录，ULK1-MLK3-ERK5 信号通路的激活对于 IFN- γ 介导的抗病毒反应十分重要^[80]。在羊瘙痒毒株 263K 感染的仓鼠大脑中，AMPK-ULK1 通路的激活有助于自噬的发生，从而促进感染朊病毒的脑组织中损伤因子的清除，而在感染了病毒的 SMB-S15

细胞中敲除 ULK1, 会抑制 LC3 的脂化, 抑制细胞自噬的激活^[81]。IRGM 作为克罗恩病(CD)和肺结核的危险因子, 还被发现可以与 ULK1 相互作用, 促进 ULK1 和 Beclin1 的协同组装, 从而调控自噬起始复合物的形成, 在先天免疫系统中起到抗菌和抗炎作用^[82]。此外, 研究发现非编码的 ULK1 的单核苷酸多态性 (SNP) rs12297124 与结核分枝杆菌感染密切相关, 并在 ULK1 调节 TNF 分泌、非特异性和结核分枝杆菌诱导的自噬以及结核分枝杆菌在单核细胞中的复制方面发挥重要作用^[83]。核苷结合寡聚域蛋白 2 (NOD2) 和受体相互作用丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 2 (RIPK2) 缺失的小鼠对甲型流感病毒的感染具有很强的敏感性, 这是由于 RIPK2 缺失会引起细胞线粒体自噬功能缺陷, 导致线粒体产生超氧化物增强, 受损线粒体聚集, 从而导致 NACHT、LRR 和 PYD 域蛋白 3 (NLRP3) 炎症小体活化增强, 产生 IL-18。RIPK2 可以通过磷酸化 ULK1 调控线粒体自噬, 清除炎症小体并保护细胞免受炎症反应的损伤^[84]。丙型肝炎病毒 (HCV) 可以引发人类免疫相关的 GTPase M (IRGM) 对 ULK1 的 Ser757 位点去磷酸化, 激活细胞自噬进一步促进病毒复制, 而敲除 ULK1/2 后明显减少了 HCV 病毒的复制和 HCV 感染性粒子的形成^[85]。绿浓杆菌可以通过抑制 AKT1 和 mTOR 诱导细胞自噬, 膜联蛋白 A2 (AnxA2) 可以通过 AKT1-mTOR-ULK1/2 信号通路调节自噬, 促进宿主细胞对绿浓杆菌的免疫^[86]。基于以上研究, ULK1 调节的自噬在感染性疾病中主要起到细胞保护的作用。因此, 靶向 ULK1 调节自噬可能成为治疗感染性疾病的一种新方法。

2.4 ULK1 与其他疾病的关系

ULK1 调节的自噬也涉及到其他类型的疾病, 如 II 型糖尿病和心血管疾病。例如, 脂肪酸 (如棕榈酸酯) 可以阻断 AMPK-ULK1 通路的活化, 从而抑制自噬造成功能障碍线粒体的积累, 同时增强活性氧 (ROS) 的生成。线粒体 ROS 的增强会促进 NLRP3 炎症小体的激活以及 IL-1 β 的释放。而造血细胞炎症小体的激活及 IL-1 β 的释放会造成多个靶组织器官的胰岛素信号, 从而降低这些靶组织器官对葡萄糖的耐受和胰岛素的敏感性^[87]。在 II 型糖尿病大鼠模型中, AMPK-ULK1 信号的受损会抑制肾脏近端小管中自噬的激活, 进一步导致肾缺血/再灌注发生恶化^[88]。在心血管疾病中, 研究发现节食可以提高心肌细胞中 ULK1 介导的自噬激活, 而自噬的激活可以有效防止心肌梗死后慢性心力衰竭^[89]。肥胖可以引起心脏脂蛋白脂肪酶 (LPL) 蛋白水平显著增加, 同时伴随着心脏自噬水平和 ULK1 蛋白水平的显著下调, 这会导致肥胖患者引发心肌病。研究发现 ULK1 调控的细胞自噬可以通过蛋白水解将 LPL 降解, 预防肥胖患者发生心功能障碍^[90]。在高糖诱导的心肌损伤中, mTOR 诱导的 ULK1 失活可以抑制细胞自噬, 保护心肌细胞免受高糖毒性^[91]。急性酒精刺激可导致心脏功能自噬水平升高和收缩功能障碍, 而抑制 AMPK 或 ULK1 后可显著减少自噬体的积累以及心肌细胞死亡, 表明 ULK1 在急性酒精刺激后由 AMPK 介导的心肌自噬、凋亡和收缩功能障碍中发挥重要作用^[92]。如上所述, ULK1 在 II 型糖尿病和心血管疾病中的角色较为复杂, 因此靶向 ULK1 调节自噬的治疗 II 型糖尿病和心血管疾病的策略还有待进一步细化开发。

3 靶向 ULK1 调控细胞自噬的疾病治疗

迄今为止，已有研究报道了一系列小分子化合物，可直接或间接调控 ULK1 及其介导的自噬通路，并被广泛应用于针对自噬调控相关的疾病治疗。而根据 ULK1 表达水平的差异和不同疾病中 ULK1 的特异性调控机制，这些化合物主要被分为两类：ULK1 的靶向抑制剂和激动剂，以及间接调控 ULK1 相关通路的小分子化合物。

3.1 ULK1 靶向抑制剂

2015 年，Lazarus 等首次报道了 ULK1 的激酶域晶体结构。研究者基于 ULK1 的晶体结构，利用 ^{32}P -ATP 放射实验和高通量筛选发现了化合物 **6**，该化合物也是首个被报道的 ULK1 靶向抑制剂^[8]。虽然化合物 **6** 对 ULK1 具有较高的亲和力 ($IC_{50} = 8 \text{ nmol/L}$)，但它并不是一个特异性的 ULK1 抑制剂，因此这也限制了其在自噬研究中的进一步应用。为了提高 ULK1 抑制剂的特异性，Lazarus 等又开发了一系列具有新型骨架的 ULK1 抑制剂，其中化合物 **3** 具有较好的特异性，但其对 ULK1 的抑制活性也相对较弱 ($IC_{50} = 120 \text{ nmol/L}$)^[93]。此外，Egan 等通过筛选发现一种高选择性 ULK1 抑制剂 SBI-0206965，该化合物能够直接抑制 ULK1 的激酶活性，从而抑制 ULK1 对 VPS34 的磷酸化并进一步抑制细胞自噬。研究还发现将 SBI-0206965 和 mTOR 抑制剂 rapamycin 联用还可以发挥协同作用杀死非小细胞肺癌 (NSCLC) 细胞，表明 ULK1 抑制剂在临床上具有很大的治疗潜力^[94]。随后，SBI-0206965 也被逐渐应用于其它肿瘤的治疗，如研究发现使用 SBI-0206965 靶向抑制 ULK1 可以促进神经母细胞瘤 (NB) 细胞发生凋亡，同时还可以抑制肿瘤细胞的生长和转移^[95]。此外，利用 SBI-0206965 抑制 ULK1 的激酶活性，在透明肾细胞癌 (CCRCC) 中也展现出了很好的治疗潜力^[69]。除此之外，Petherick 等也发现了一类 ULK1/2 抑制剂 MRT67307 和 MRT68921。其中与 MRT67307 相比，MRT68921 对 ULK1 ($IC_{50} = 2.9 \text{ nM}$) 和 ULK2 ($IC_{50} = 1.1 \text{ nmol/L}$) 具有更强的亲和力，但是 MRT67307 和 MRT68921 同样无法特异性抑制 ULK1。另外，在敲除 ULK1/2 的小鼠胚胎成纤维细胞 (MEF) 中转染表达重组野生型 ULK1 蛋白和 ULK1 (M92T) 突变体，发现 MRT68921 只有在表达了重组野生型 ULK1 蛋白的 MEF 细胞中可以抑制 Atg13 的磷酸化和自噬体的形成，而在表达突变体的细胞中无法抑制自噬体的形成，这些结果也表明 MRT68921 在细胞内是通过靶向抑制 ULK1 从而抑制细胞自噬的^[96]。在另一项研究中，Wood 等基于高通量筛选和结构修饰，发现了一种以吡啶衍生物为骨架的 ULK1 抑制剂，化合物 **3g**，它对 ULK1 的亲和力和 MRT67307 的基本一致 ($IC_{50} = 45 \text{ nmol/L}$)。而化合物 **3g** 在人、大鼠和小鼠的微粒体中展现了良好的稳定性以及极微弱的 CYP 抑制活性，提示其具有良好的安全性和成药性^[97]。最近，Martin 等又发现了一种新的强效且具有很强选择性的 ULK1 抑制剂 ULK-101 (ULK1 $IC_{50} = 8.3 \text{ nmol/L}$ ，ULK2 $IC_{50} = 30 \text{ nmol/L}$)，通过 ULK-101 抑制 ULK1 的活性可以使 KRAS 突变的肺癌细胞对营养剥夺更敏感，表明其可以

用于某些特定类型肿瘤的联合治疗^[98]。上述 ULK1 靶向抑制剂及其相关作用机制和应用总结于表 2。

3.2 ULK1 靶向激动剂

2017 年, 我们课题组基于 ULK1 激酶结构域设计发现了首个 ULK1 小分子激动剂 LYN-1604, 该化合物对 ULK1 具有很好的激动作用 ($EC_{50}=18.94\text{ nmol/L}$)。基于定点突变技术和体外激酶试验, 我们发现 Lys50, Leu53 和 Tyr89 对于 LYN-1604 与 ULK1 结合和激活十分重要。此外, LYN-1604 在 TNBC 细胞中可以靶向激活 ULK1 及其复合体, 诱导 ULK1 介导的自噬相关性死亡和细胞凋亡, 并且在细胞和动物水平上都表现出良好的抗 TNBC 效果^[64]。此外, 我们课题组还发现了另外一种 ULK1 靶向激动剂 BL-918, 该化合物对 ULK1 的亲和力 EC_{50} 为 24.14 nmol/L , 同时具有极低的细胞毒性。BL-918 可以通过激活 ULK 复合体在 SH-SY5Y 和 PC-12 细胞中诱导自噬, 并且对 MPP⁺损伤的 SH-SY5Y 细胞表现出显著的保护作用, 在小鼠 PD 模型中同样可以缓解 1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶 (MPTP) 诱发的运动功能障碍和多巴胺能神经元丧失^[99]。这些结果表明靶向 ULK1 治疗肿瘤或神经退行性疾病具有一定的潜力, 而这些 ULK1 的新型激动剂可以作为未来 TNBC 或 PD 治疗的候选药物。上述 ULK1 靶向激动剂及其相关作用机制和应用总结于表 2。

3.3 间接调控 ULK1 的小分子化合物

此外, 其他一些小分子化合物也被发现可以间接调控 ULK1 介导的自噬信号通路。例如, 替莫唑胺 (Temozolomide) 可以通过 ATM-AMPK-ULK1 信号通路诱导自噬治疗神经胶质瘤^[100]。汉防己甲素 (Tetrandrine) 通过提高 p-ULK1 和 p-mTOR 的水平诱导自噬性细胞死亡抑制口腔癌细胞的增殖^[101]。在 MDA-MB-231 细胞中, 黄芩素 (Baicalein) 通过激活 AMPK/ULK1, 抑制 mTORC1 信号通路诱导自噬性细胞死亡^[102]。水仙环素 (Narciclasine) 可以抑制 TNBC 细胞增殖并诱导自噬依赖的细胞凋亡, 该过程依赖于 AMPK-ULK1 通路的激活^[103]。氯氮平 (Clozapine) 作为一种经典的非典型抗精神病药, 在大鼠额叶皮层可以通过激活 AMPK-ULK1-Beclin1 通路, 发挥其抗精神紊乱的作用^[104]。人参皂苷 Rg2 (Ginsenoside Rg2) 是一种类固醇糖苷类化学物质, 它可以在多种细胞模型中通过激活 AMPK-ULK1 通路诱导自噬并清除蛋白聚集物, 有效改善阿尔茨海默病 (AD) 小鼠模型的认知行为^[105]。白藜芦醇 (Resveratrol) 通过激活 AMPK/ULK1 通路和抑制 mTORC1 信号级联活性, 诱导小鼠胚胎干细胞 (mESCs) 的自噬, 并提高了干细胞的多能性^[106]。竹节参皂苷 IVa (Chikusetsu saponin IVa) 可以通过激活 AMPK/mTOR/ULK1 信号通路激活自噬, 从而减轻异丙肾上腺素诱导的小鼠心肌纤维化现象^[107]。银杏内酯 K (Ginkgolide K) 在氧糖剥夺的条件下, 可以通过激活 AMPK/mTOR/ULK1 信号通路诱导保护性细胞自噬, 从而促进星形胶质细胞的增殖和迁移^[108]。鸢尾素 (Irisin) 通过激活 AMPK-ULK1 通路, 以 mTOR 不依赖的方式诱导保护性细胞自噬, 缓解压力过载引起的心脏肥大^[109]。甘草查尔酮 A (Licochalcone A) 在肝细

胞癌可以诱导 ULK1/Atg13 介导的细胞自噬及 ROS 相关通路, 抗氧化剂 NAC 可以增强甘草查尔酮 A 诱导的细胞凋亡, 促进其对肝癌细胞的杀伤^[110]。另外, 还有一些小分子化合物可以通过抑制 ULK1 相关的信号通路影响细胞自噬。例如, WP1130 可以抑制去泛素化, 导致 ULK1 泛素化增加, 抑制 ULK1 的活性, 从而抑制 ULK1 复合体及自噬^[111]。金丝桃苷 (Hyperoside) 可以通过抑制 AMPK-ULK1 相关的自噬信号通路, 减轻 D-半乳糖引起的肾脏老化和损伤^[112]。牡荆素 (Vitexin) 可以通过抑制 mTOR/ULK1 通路逆转 MCAO 导致的自噬功能障碍, 从而减轻 MCAO 引起的缺血性脑卒中^[113]。上述调控 ULK1 的小分子化合物及其相关作用机制和应用总结于表 2。

表 2 靶向 ULK1 及 ULK1 介导自噬通路的小分子化合物

Tab.2 Small-molecule compounds targeting ULK1/ULK1-mediated autophagic pathways

化合物名称	靶点/通路	对自噬的影响	活性	细胞类型	应用的疾病	文献
Compound 6	ULK1	抑制	ULK1 ($IC_{50} = 8 \text{ nmol/L}$)			[8]
Compound 3	ULK1/ULK2	抑制	ULK1 ($IC_{50} = 120 \text{ nmol/L}$) ULK2 ($IC_{50} = 360 \text{ nmol/L}$)			[93]
SBI-0206965	ULK1/ULK2	抑制	ULK1 ($IC_{50} = 108 \text{ nmol/L}$) ULK2 ($IC_{50} = 711 \text{ nmol/L}$)	U87MG 细胞, Kras ^{G12D} /p53 ^{-/-} 小鼠 NSCLC 原代细胞, A549 细胞	非小细胞肺癌	[94]
MRT67307	ULK1/ULK2	抑制	ULK1 ($IC_{50} = 45 \text{ nmol/L}$) ULK2 ($IC_{50} = 38 \text{ nmol/L}$)	小鼠胚胎成纤维细胞 (MEFs)		[96]
MRT68921	ULK1/ULK2	抑制	ULK1 ($IC_{50} = 2.9 \text{ nmol/L}$) ULK2 ($IC_{50} = 1.1 \text{ nmol/L}$)	小鼠胚胎成纤维细胞 (MEFs)		[96]
Compound 3g	ULK1	抑制	ULK1 ($IC_{50} = 45 \text{ nmol/L}$)			[97]
ULK-100	ULK1/ULK2	抑制	ULK1 ($IC_{50} = 1.6 \text{ nmol/L}$) ULK2 ($IC_{50} = 2.6 \text{ nmol/L}$)			[98]
ULK-101	ULK1/ULK2	抑制	ULK1 ($IC_{50} = 8.3 \text{ nmol/L}$) ULK2 ($IC_{50} = 30 \text{ nmol/L}$)	U2OS 细胞, H838 细胞, H727 细胞, H2030 细胞, A549 细胞	非小细胞肺癌, 骨肉瘤	[98]
LYN-1604	ULK1	激活	ULK1 ($EC_{50} = 18.94 \text{ nmol/L}$)	MDA-MB-231 细胞	三阴性乳腺癌	[64]
BL-918	ULK1	激活	ULK1 ($EC_{50} = 24.14 \text{ nmol/L}$)	SH-SY5Y 细胞, PC-12 细胞	帕金森病	[99]
Temozolomide	ATM-AMPK-ULK1 通路	激活		U87MG 细胞, U251 细胞	胶质瘤	[100]
Tetrandrine	Caspase 和 LC3 依赖的通路	激活		人口腔癌 SAS 细胞	口腔癌	[101]
Baicalein	AMPK/ULK1 通路	激活		PC-3 细胞, MDA-MB-231 细胞	结直肠癌, 乳腺癌	[102]
Narciclasine	AMPK/ULK1 通路	激活		HCC-1937 细胞, MDA-MB-231 细胞	三阴性乳腺癌	[103]

Clozapine	AMPK/ULK1/Beclin1 通路	激活	大鼠额叶皮层神经元细胞	精神病	[104]
Ginsenoside Rg2	AMPK/ULK1 通路	激活	HeLa 细胞, Neuro2A 细胞, PC12 细胞	阿尔茨海默病	[105]
Resveratrol	AMPK/ULK1 通路	激活	小鼠胚胎干细胞		[106]
Chikusetsu saponin IVa	AMPK/mTOR/ULK1 通路	激活	小鼠原代心肌细胞	心肌纤维化	[107]
Ginkgolide K	AMPK/mTOR/ULK1 通路	激活	星形胶质细胞	脑缺血再灌注损伤	[108]
Irisin	AMPK/ULK1 通路	激活	小鼠原代心肌细胞	心肌肥大	[109]
Licochalcone A	ULK1/Atg13 通路	激活	HuH7 细胞, HepG2 细胞	肝细胞癌	[110]
WP1130	ULK1, USP9X	抑制	HEK293 细胞, HeLa 细胞, U2OS 细胞	宫颈癌, 骨肉瘤	[111]
Hyperoside	AMPK/ULK1 通路	抑制	NRK-52E 细胞	肾脏衰老	[112]
Vitexin	mTOR/ULK1 通路	抑制		缺血性脑卒中	[113]

4 总结与展望

ULK1 是一种丝氨酸/苏氨酸激酶，它作为酵母 Atg1 在哺乳动物中的同源物，也是自噬的启动因子。ULK 复合体（ULK1-mAtg13-FIP200-Atg101）的形成是启动自噬过程所必需的。虽然 ULK1 的原始生物功能是启动自噬，但 ULK1 的调控和修饰（主要为磷酸化调控）使其成为一个颇为重要的调控子参与多个重要的信号通路调节，并可应用到多种疾病的治疗中，例如肿瘤和神经退行性疾病。已有研究表明，靶向 ULK1 的小分子药物具有一定的可行性，例如 ULK1 抑制剂 SBI-0206965 可以单独或与其它药物联合使用，用于治疗 NSCLC、NB、CCRCC 等。此外，LYN-1604 和 BL-918 作为 ULK1 激动剂，可以通过直接激活 ULK1 及其调控的自噬性细胞死亡或保护性细胞自噬，用于 TNBC 和 PD 的治疗，这些研究表明靶向 ULK1 在疾病的治疗，尤其是那些具有自噬缺陷或自噬功能障碍的疾病中具有一定的治疗前景。

然而，针对 ULK1 设计小分子靶向药物仍然有很多亟需解决的问题。例如，目前仅解析了 ULK1 激酶域的晶体结构，而随着 ULK1 及 ULK 复合体晶体结构的进一步解析，将有助于发现更多特异性靶向 ULK1 或 ULK 复合体功能的小分子抑制剂和激动剂，并应用于各种疾病的治疗。与此同时，开发靶向 ULK1 的变构抑制剂和激动剂也是该类药物未来的发展方向之一，这将进一步提升 ULK1 靶向药物的特异性并有效降低脱靶导致的药物毒副作用。此外，除了一些经典的 ULK1 介导的自噬途径，探索一些非典型的调控通路，例如目前发现的 ULK1 在调控细胞凋亡（PARP1, caspase-3 等）中也具有一定的作用，这些发现也将为疾病的靶向治疗提供更多的可能性。综上所述，随着 ULK1 功能和应用研究越来越成熟，未来将会出现更多针对 ULK1 的分子靶向治疗手段用于各类疾病的治疗。

参考文献:

- [1] GREEN D R, LEVINE B. To be or not to be? How selective autophagy and cell death govern cell fate[J]. *Cell*, 2014, 157: 65-75.
- [2] CHAN E Y, TOOSE S A. Evolution of Atg1 function and regulation[J]. *Autophagy*, 2009, 5: 758-765.
- [3] KUROYANAGI H, YAN J, SEKI N, et al. Human ULK1, a novel serine/threonine kinase related to UNC-51 kinase of *Caenorhabditis elegans*: cDNA cloning, expression, and chromosomal assignment[J]. *Genomics*, 1998, 51: 76-85.
- [4] EGAN D F, SHACKELFORD D B, MIHAYLOVA M M, et al. Phosphorylation of ULK1 (hATG1) by AMP-activated protein kinase connects energy sensing to mitophagy[J]. *Science*, 2011, 331: 456-461.
- [5] NAZIO F, STRAPPAZZON F, ANTONIOLI M, et al. mTOR inhibits autophagy by controlling ULK1 ubiquitylation, self-association and function through AMBRA1 and TRAF6[J]. *Nat Cell Biol*, 2013, 15: 406-416.
- [6] WEN X, WU J M, WANG F T, et al. Deconvoluting the role of reactive oxygen species and autophagy in human diseases[J]. *Free Radical Bio Med*, 2013, 65: 402-410.
- [7] OUYANG L, ZHANG L, FU L L, et al. A small-molecule activator induces ULK1-modulating autophagy-associated cell death in triple negative breast cancer[J]. *Autophagy*, 2017, 13: 777-778.
- [8] LAZARUS M B, NOVOTNY C J, SHOKAT K M. Structure of the human autophagy initiating kinase ULK1 in complex with potent inhibitors[J]. *ACS Chem Biol*, 2015, 10: 257-261.
- [9] YAN J, KUROYANAGI H, KUROIWA A, et al. Identification of mouse ULK1, a novel protein kinase structurally related to *C. elegans* UNC-51[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1998, 246: 222-227.
- [10] CHAN E Y, KIR S, TOOZE S A. siRNA screening of the kinome identifies ULK1 as a multidomain modulator of autophagy[J]. *J Biol Chem*, 2007, 282: 25464-25474.
- [11] MCALPINE F, WILLIAMSON L E, TOOZE S A, et al. Regulation of nutrient-sensitive autophagy by uncoordinated 51-like kinases 1 and 2[J]. *Autophagy*, 2013, 9: 361-373.
- [12] KUNDU M, LINDSTEN T, YANG C Y, et al. Ulk1 plays a critical role in the autophagic clearance of mitochondria and ribosomes during reticulocyte maturation[J]. *Blood*, 2008, 112: 1493-1502.
- [13] HARA T, TAKAMURA A, KISHI C, et al. FIP200, a ULK-interacting protein, is required for autophagosome formation in mammalian cells[J]. *J Cell Biol*, 2008, 181: 497-510.
- [14] HOSOKAWA N, HARA T, KAIZUKA T, et al. Nutrient-dependent mTORC1 association with the ULK1-Atg13-FIP200 complex required for autophagy[J]. *Mol Biol Cell*, 2009, 20: 1981-1991.
- [15] HIEKE N, LOFFLER A S, KAIZUKA T, et al. Expression of a ULK1/2 binding-deficient ATG13 variant can partially restore autophagic activity in ATG13-deficient cells[J]. *Autophagy*, 2015, 11: 1471-1483.
- [16] HOSOKAWA N, SASAKI T, IEMURA S, et al. ATG101, a novel mammalian autophagy protein interacting with Atg13[J]. *Autophagy*, 2009, 5: 973-979.
- [17] SUZUKI H, KAIZUKA T, MIZUSHIMA N, et al. Structure of the ATG101-Atg13 complex reveals essential roles of ATG101 in autophagy initiation[J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2015, 22: 572-580.
- [18] KIM B W, JIN Y, KIM J, et al. The C-terminal region of ATG101 bridges ULK1 and PtdIns3K complex in autophagy initiation[J]. *Autophagy*, 2018, 14(12): 2104-2116.
- [19] CHEN Y, HE J, TIAN M, et al. UNC51-like kinase 1, autophagic regulator and cancer therapeutic target[J]. *Cell Prolif*, 2014, 47: 494-505.
- [20] SHANG L, CHEN S, DU F, et al. Nutrient starvation elicits an acute autophagic response mediated by Ulk1 dephosphorylation and its subsequent dissociation from AMPK[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108: 4788-4793.

- [21] KIM J, KUNDU M, VIOLLET B, et al. AMPK and mTOR regulate autophagy through direct phosphorylation of Ulk1[J]. *Nat Cell Biol*, 2011, 13: 132-141.
- [22] PUENTE C, HENDRICKSON R C, JIANG X. Nutrient-regulated phosphorylation of ATG13 inhibits starvation-induced autophagy[J]. *J Biol Chem*, 2016, 291: 6026-6035.
- [23] DUNLOP E A, HUNT D K, ACOSTA-JAQUEZ H A, et al. ULK1 inhibits mTORC1 signaling, promotes multisite Raptor phosphorylation and hinders substrate binding[J]. *Autophagy*, 2011, 7: 737-747.
- [24] WANG C, WANG H, ZHANG D, et al. Phosphorylation of ULK1 affects autophagosome fusion and links chaperone-mediated autophagy to macroautophagy[J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 3492.
- [25] LIU C C, LIN Y C, CHEN Y H, et al. Cul3-KLHL20 ubiquitin ligase governs the turnover of ULK1 and VPS34 complexes to control autophagy termination[J]. *Mol Cell*, 2016, 61: 84-97.
- [26] COLECCHIA D, DAPPORTO F, TRONNOLONE S, et al. MAPK15 is part of the ULK complex and controls its activity to regulate early phases of the autophagic process[J]. *J Biol Chem*, 2018, 293: 15962-15976.
- [27] JIAO H, SU G Q, DONG W, et al. Chaperone-like protein p32 regulates ULK1 stability and autophagy[J]. *Cell Death Differ*, 2015, 22: 1812-1823.
- [28] NAZIO F, CARINCI M, VALACCA C, et al. Fine-tuning of ULK1 mRNA and protein levels is required for autophagy oscillation[J]. *J Cell Biol*, 2016, 215: 841-856.
- [29] NAZIO F, CARINCI M, CECCONI F. ULK1 ubiquitylation is regulated by phosphorylation on its carboxy terminus[J]. *Cell Cycle*, 2017, 16: 1744-1747.
- [30] LI J, QI W, CHEN G, et al. Mitochondrial outer-membrane E3 ligase MUL1 ubiquitinates ULK1 and regulates selenite-induced mitophagy[J]. *Autophagy*, 2015, 11: 1216-1229.
- [31] THAYER J A, AWAD O, HEGDEKAR N, et al. The PARK10 gene USP24 is a negative regulator of autophagy and ULK1 protein stability[J]. *Autophagy*, 2019, 1-14. doi: 10.1080/15548627.2019.1598754.
- [32] RAIMONDI M, CESSSELLI D, DI LORETO C, et al. USP1 (ubiquitin specific peptidase 1) targets ULK1 and regulates its cellular compartmentalization and autophagy[J]. *Autophagy*, 2019, 15(4): 613-630.
- [33] KIM J H, SEO D, KIM S J, et al. The deubiquitinating enzyme USP20 stabilizes ULK1 and promotes autophagy initiation[J]. *EMBO Rep*, 2018, 19(4): e44378.
- [34] LIN S Y, LI T Y, LIU Q, et al. GSK3-TIP60-ULK1 signaling pathway links growth factor deprivation to autophagy[J]. *Science*, 2012, 336: 477-481.
- [35] PYO K E, KIM C R, LEE M, et al. ULK1 O-GlcNAcylation Is Crucial for Activating VPS34 via ATG14L during Autophagy Initiation[J]. *Cell Rep*, 2018, 25(10): 2878-2890.e4.
- [36] PIKE L R, SINGLETON D C, BUFFA F, et al. Transcriptional up-regulation of ULK1 by ATF4 contributes to cancer cell survival[J]. *Biochem J*, 2013, 449: 389-400.
- [37] GOLDBERG A A, NKENGFAC B, SANCHEZ A M, et al. Regulation of ULK1 Expression and Autophagy by STAT1[J]. *J Biol Chem*, 2017, 292: 1899-1909.
- [38] RUSSELL R C, TIAN Y, YUAN H X, et al. ULK1 induces autophagy by phosphorylating Beclin-1 and activating VPS34 lipid kinase[J]. *Nat Cell Biol*, 2013, 15: 741-750.
- [39] WOLD M S, LIM J, LACHANCE V, et al. ULK1-mediated phosphorylation of ATG14 promotes autophagy and is impaired in Huntington's disease models[J]. *Mol Neurodegener*, 2016, 11: 76.
- [40] PARK J M, SEO M, JUNG C H, et al. ULK1 phosphorylates Ser30 of BECN1 in association with ATG14 to stimulate autophagy induction[J]. *Autophagy*, 2018, 14: 584-597.
- [41] DI-BARTOLOMEO S, CORAZZARI M, NAZIO F, et al. The dynamic interaction of AMBRA1 with the dynein motor complex regulates mammalian autophagy[J]. *J Cell Biol*, 2010, 191: 155-168.
- [42] ZHOU C, MA K, GAO R, et al. Regulation of mATG9 trafficking by Src- and ULK1-mediated phosphorylation in basal and starvation-induced autophagy[J]. *Cell Res*, 2017, 27: 184-201.
- [43] PENG N, AGROTIS A, PRAK K, et al. A reversible phospho-switch mediated by ULK1 regulates the

- activity of autophagy protease ATG4B[J]. *Nat Commun*, 2017, 8: 294.
- [44] DUNLOP E A, SEIFAN S, CLAESSENS T, et al. FLCN, a novel autophagy component, interacts with GABARAP and is regulated by ULK1 phosphorylation[J]. *Autophagy*, 2014, 10: 1749-1760.
- [45] XU J, FOTOUHI M, MCPHERSON P S. Phosphorylation of the exchange factor DENND3 by ULK in response to starvation activates Rab12 and induces autophagy[J]. *EMBO Rep*, 2015, 16: 709-718.
- [46] JEONG Y T, SIMONESCHI D, KEEGAN S, et al. The ULK1-FBXW5-SEC23B nexus controls autophagy[J]. *Elife*, 2018, 7: e42253.
- [47] TORII S, YOSHIDA T, ARAKAWA S, et al. Identification of PPM1D as an essential ULK1 phosphatase for genotoxic stress-induced autophagy[J]. *EMBO Rep*, 2016, 17: 1552-1564.
- [48] LIM J, LACHENMAYER M L, WU S, et al. Proteotoxic stress induces phosphorylation of p62/SQSTM1 by ULK1 to regulate selective autophagic clearance of protein aggregates[J]. *PLoS Genet*, 2015, 11: e1004987.
- [49] RO S H, SEMPLE I A, PARK H, et al. Sestrin2 promotes Unc-51-like kinase 1 mediated phosphorylation of p62/sequestosome-1[J]. *FEBS J*, 2014, 281: 3816-3827.
- [50] KUMAR A, SHAHA C. SESN2 facilitates mitophagy by helping Parkin translocation through ULK1 mediated Beclin1 phosphorylation[J]. *Sci Rep*, 2018, 8: 615.
- [51] SAITO T, NAH J, OKA S I, et al. An alternative mitophagy pathway mediated by Rab9 protects the heart against ischemia[J]. *J Clin Invest*, 2019, 129(2): 802-819.
- [52] WU W X, TIAN W L, HU Z, et al. ULK1 translocates to mitochondria and phosphorylates FUNDC1 to regulate mitophagy[J]. *EMBO Rep*, 2014, 15: 566-575.
- [53] VARGAS J N S, WANG C, BUNKER E, et al. Spatiotemporal Control of ULK1 Activation by NDP52 and TBK1 during Selective Autophagy[J]. *Mol Cell*, 2019, 74: 347-362.e6.
- [54] MAN N, TAN Y, SUN X J, et al. Caspase-3 controls AML1-ETO-driven leukemogenesis via autophagy modulation in a ULK1-dependent manner[J]. *Blood*, 2017, 129: 2782-2792.
- [55] JOSHI A, IYENGAR R, JOO J H, et al. Nuclear ULK1 promotes cell death in response to oxidative stress through PARP1[J]. *Cell Death Differ*, 2016, 23: 216-230.
- [56] KONNO H, KONNO K, BARBER G N. Cyclic dinucleotides trigger ULK1 (ATG1) phosphorylation of STING to prevent sustained innate immune signaling[J]. *Cell*, 2013, 155: 688-698.
- [57] SALEIRO D, MEHROTRA S, KROCZYNSKA B, et al. Central role of ULK1 in type I interferon signaling[J]. *Cell Rep*, 2015, 11: 605-617.
- [58] HE Y, SHE H, ZHANG T, et al. p38 MAPK inhibits autophagy and promotes microglial inflammatory responses by phosphorylating ULK1[J]. *J Cell Biol*, 2018, 217(1): 315-328.
- [59] WANG B, MAXWELL B A, JOO J H, et al. ULK1 and ULK2 Regulate Stress Granule Disassembly Through Phosphorylation and Activation of VCP/p97[J]. *Mol Cell*, 2019, 74: 742-757.e8.
- [60] LI R, YUAN F J, FU W, et al. Serine/threonine kinase unc-51-like kinase-1 (Ulk1) phosphorylates the co-chaperone cell division cycle protein 37 (Cdc37) and thereby disrupts the stability of Cdc37 client proteins[J]. *J Biol Chem*, 2017, 292: 2830-2841.
- [61] WANG B, IYENGAR R, LI-HARMS X, et al. The autophagy-inducing kinases, ULK1 and ULK2, regulate axon guidance in the developing mouse forebrain via a noncanonical pathway[J]. *Autophagy*, 2018, 14: 796-811.
- [62] JOO J H, WANG B, FRANKEL E, et al. The Noncanonical Role of ULK/ATG1 in ER-to-Golgi Trafficking Is Essential for Cellular Homeostasis[J]. *Mol Cell*, 2016, 62: 491-506.
- [63] TANG J, DENG R, LUO R Z, et al. Low expression of ULK1 is associated with operable breast cancer progression and is an adverse prognostic marker of survival for patients[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2012, 134: 549-560.
- [64] ZHANG L, FU L L, ZHANG S Y, et al. Discovery of a small molecule targeting ULK1-modulated cell death

- of triple negative breast cancer in vitro and in vivo[J]. *Chem Sci*, 2017, 8: 2687-2701.
- [65] WU D H, WANG T T, RUAN D Y, et al. Combination of ULK1 and LC3B improve prognosis assessment of hepatocellular carcinoma[J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 97: 195-202.
- [66] YUN M, BAI H Y, ZHANG J X, et al. ULK1: a promising biomarker in predicting poor prognosis and therapeutic response in human nasopharyngeal carcinoma[J]. *PLoS One*, 2015, 10:e0117375.
- [67] ZHANG H Y, MA Y D, ZHANG Y, et al. Elevated levels of autophagy-related marker ULK1 and mitochondrion-associated autophagy inhibitor LRPPRC are associated with biochemical progression and overall survival after androgen deprivation therapy in patients with metastatic prostate cancer[J]. *J Clin Pathol*, 2017, 70: 383-389.
- [68] CHEN M B, JI X Z, LIU Y Y, et al. Ulk1 over-expression in human gastric cancer is correlated with patients' T classification and cancer relapse[J]. *Oncotarget*, 2017, 8: 33704-33712.
- [69] LU J, ZHU L, ZHENG L P, et al. Overexpression of ULK1 Represents a Potential Diagnostic Marker for Clear Cell Renal Carcinoma and the Antitumor Effects of SBI-0206965[J]. *EBioMedicine*, 2018, 34: 85-93.
- [70] JANG J E, EOM J I, JEUNG H K, et al. Targeting AMPK-ULK1-mediated autophagy for combating BET inhibitor resistance in acute myeloid leukemia stem cells[J]. *Autophagy*, 2017, 13: 761-762.
- [71] HAN S H, KORM S, HAN Y G, et al. GCA links TRAF6-ULK1-dependent autophagy activation in resistant chronic myeloid leukemia[J]. *Autophagy*, 2019, 1-15. doi: 10.1080/15548627.2019.1596492.
- [72] MIKI Y, SHIMOYAMA S, KON T, et al. Alteration of autophagy-related proteins in peripheral blood mononuclear cells of patients with Parkinson's disease[J]. *Neurobiol Aging*, 2018, 63: 33-43.
- [73] YU Y, FENG L, LI J, et al. The alteration of autophagy and apoptosis in the hippocampus of rats with natural aging-dependent cognitive deficits[J]. *Behav Brain Res*, 2017, 334: 155-162.
- [74] JUNG J, NAYAK A, SCHAEFFER V, et al. Multiplex image-based autophagy RNAi screening identifies SMCR8 as ULK1 kinase activity and gene expression regulator[J]. *Elife*, 2017, 6: e23063.
- [75] YANG M, LIANG C, SWAMINATHAN K, et al. A C9ORF72/SMCR8-containing complex regulates ULK1 and plays a dual role in autophagy[J]. *Sci Adv*, 2016, 2: e1601167.
- [76] WEBSTER C P, SMITH E F, BAUER C S, et al. The C9orf72 protein interacts with Rab1a and the ULK1 complex to regulate initiation of autophagy[J]. *EMBO J*, 2016, 35: 1656-1676.
- [77] LUPO F, TIBALDI E, MATTE A, et al. A new molecular link between defective autophagy and erythroid abnormalities in chorea-acanthocytosis[J]. *Blood*, 2016, 128: 2976-2987.
- [78] WANG L, WANG P, DONG H, et al. Ulk1/FUNDC1 Prevents Nerve Cells from Hypoxia-Induced Apoptosis by Promoting Cell Autophagy[J]. *Neurochem Res*, 2018, 43(8): 1539-1548.
- [79] LI Z, ZHAO K, LV X, et al. Ulk1 Governs Nerve Growth Factor/TrkA Signaling by Mediating Rab5 GTPase Activation in Porcine Hemagglutinating Encephalomyelitis Virus-Induced Neurodegenerative Disorders[J]. *J Virol*, 2018, 92(16): e00325-18.
- [80] SALEIRO D, BLYTH G T, KOSCIUCZUK E M, et al. IFN- γ -inducible antiviral responses require ULK1-mediated activation of MLK3 and ERK5[J]. *Sci Signal*, 2018, 11(557): eaap9921.
- [81] FAN X Y, TIAN C, WANG H, et al. Activation of the AMPK-ULK1 pathway plays an important role in autophagy during prion infection[J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 14728.
- [82] CHAUHAN S, MANDELL M A, DERETIC V. IRGM governs the core autophagy machinery to conduct antimicrobial defense[J]. *Mol Cell*, 2015, 58: 507-521.
- [83] HORNE D J, GRAUSTEIN A D, SHAH J A, et al. Human ULK1 Variation and Susceptibility to Mycobacterium tuberculosis Infection[J]. *J Infect Dis*, 2016, 214: 1260-1267.
- [84] LUPFER C, THOMAS P G, ANAND P K, et al. Receptor interacting protein kinase 2-mediated mitophagy regulates inflammasome activation during virus infection[J]. *Nat Immunol*, 2013, 14: 480-488.
- [85] HANSEN M D, JOHNSEN I B, STIBERG K A, et al. Hepatitis C virus triggers Golgi fragmentation and

- autophagy through the immunity-related GTPase M[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, 114: E3462-E3471.
- [86] LI R P, TAN S, YU M, et al. Annexin A2 Regulates Autophagy in *Pseudomonas aeruginosa* Infection through the Akt1-mTOR-ULK1/2 Signaling Pathway[J]. *J Immunol*, 2015, 195: 3901-3911.
- [87] WEN H T, GRIS D, LEI Y, et al. Fatty acid-induced NLRP3-ASC inflammasome activation interferes with insulin signaling[J]. *Nat Immunol*, 2011, 12: 408-415.
- [88] MURATSUBAKI S, KUNO A, TANNO M, et al. Suppressed autophagic response underlies augmentation of renal ischemia/reperfusion injury by type 2 diabetes[J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 5311.
- [89] WATANABE T, TAKEMURA G, KANAMORI H, et al. Restriction of food intake prevents postinfarction heart failure by enhancing autophagy in the surviving cardiomyocytes[J]. *Am J Pathol*, 2014, 184: 1384-1394.
- [90] AN M, RYU D R, WON P A R, et al. ULK1 prevents cardiac dysfunction in obesity through autophagy-mediated regulation of lipid metabolism[J]. *Cardiovasc Res*, 2017, 113: 1137-1147.
- [91] KOBAYASHI S, XU X M, CHEN K, et al. Suppression of autophagy is protective in high glucose-induced cardiomyocyte injury[J]. *Autophagy*, 2012, 8: 577-592.
- [92] KANDADI M R, HU N, REN J. ULK1 plays a critical role in AMPK-mediated myocardial autophagy and contractile dysfunction following acute alcohol challenge[J]. *Curr Pharm Des*, 2013, 19: 4874-4887.
- [93] LAZARUS M B, SHOKAT K M. Discovery and structure of a new inhibitor scaffold of the autophagy initiating kinase ULK1[J]. *Bioorg Med Chem*, 2015, 23: 5483-5488.
- [94] EGAN D F, CHUN M G, VAMOS M, et al. Small molecule inhibition of the autophagy kinase ULK1 and identification of ULK1 substrates[J]. *Mol Cell*, 2015, 59: 285-297.
- [95] DOWER C M, BHAT N, GEHRU M T, et al. Targeted Inhibition of ULK1 Promotes Apoptosis and Suppresses Tumor Growth and Metastasis in Neuroblastoma[J]. *Mol Cancer Ther*, 2018, 17(11): 2365-2376.
- [96] PETHERICK K J, CONWAY O J, MPAMHANGA C, et al. Pharmacological inhibition of ULK1 kinase blocks mammalian target of rapamycin (mTOR)-dependent autophagy[J]. *J Biol Chem*, 2015, 290: 11376-11383.
- [97] WOOD S D, GRANT W, ADRADOS I, et al. In silico HTS and structure based optimization of indazole-derived ULK1 inhibitors[J]. *ACS Med Chem Lett*, 2017, 8: 1258-1263.
- [98] MARTIN K R, CELANO S L, SOLITRO A R, et al. A Potent and Selective ULK1 Inhibitor Suppresses Autophagy and Sensitizes Cancer Cells to Nutrient Stress[J]. *iScience*, 2018, 8: 74-84.
- [99] OUYANG L, ZHANG L, ZHANG S, et al. Small-Molecule Activator of UNC-51-Like Kinase 1 (ULK1) That Induces Cytoprotective Autophagy for Parkinson's Disease Treatment[J]. *J Med Chem*, 2018, 61(7): 2776-2792.
- [100] ZOU Y H, WANG Q, LI B L, et al. Temozolomide induces autophagy via ATM- AMPK- ULK1 pathways in glioma[J]. *Mol Med Rep*, 2014, 10: 411-416.
- [101] HUANG A C, LIEN J C, LIN M W, et al. Tetrandrine induces cell death in SAS human oral cancer cells through caspase activation-dependent apoptosis and LC3-I and LC3-II activation-dependent autophagy[J]. *Int J Oncol*, 2013, 43: 485-494.
- [102] ARYAL P, KIM K, PARK P H, et al. Baicalein induces autophagic cell death through AMPK/ULK1 activation and downregulation of mTORC1 complex components in human cancer cells[J]. *FEBS J*, 2014, 281: 4644-4658.
- [103] CAO C, HUANG W, ZHANG N, et al. Narciclasine induces autophagy-dependent apoptosis in triple-negative breast cancer cells by regulating the AMPK-ULK1 axis[J]. *Cell Prolif*, 2018, 51(6): e12518.
- [104] KIM S H, PARK S, YU H S, et al. The antipsychotic agent clozapine induces autophagy via the AMPK-ULK1-Beclin1 signaling pathway in the rat frontal cortex. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2018, 81: 96-104.
- [105] FAN Y, WANG N, ROCCHI A, et al. Identification of natural products with neuronal and metabolic benefits

- through autophagy induction. *Autophagy*, 2017, 13: 41-56.
- [106] SUVOROV I I, KNYAZEVA A R, PETUKHOV A V, et al. Resveratrol enhances pluripotency of mouse embryonic stem cells by activating AMPK/ULK1 pathway[J]. *Cell Death Discov*, 2019, 5: 61.
- [107] WANG L, YUAN D, ZHENG J, et al. Chikusetsu saponin IVa attenuates isoprenaline-induced myocardial fibrosis in mice through activation autophagy mediated by AMPK/mTOR/ULK1 signaling[J]. *Phytomedicine*, 2018, 58: 152764.
- [108] ZHANG Y, MIAO J M. Ginkgolide K promotes astrocyte proliferation and migration after oxygen-glucose deprivation via inducing protective autophagy through the AMPK/mTOR/ULK1 signaling pathway[J]. *Eur J Pharmacol*, 2018, 832: 96-103.
- [109] LI RL, WU S S, WU Y, et al. Irisin alleviates pressure overload-induced cardiac hypertrophy by inducing protective autophagy via mTOR-independent activation of the AMPK-ULK1 pathway[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2018, 121: 242-255.
- [110] NIU Q, ZHAO W, WANG J, et al. LicA induces autophagy through ULK1/Atg13 and ROS pathway in human hepatocellular carcinoma cells[J]. *Int J Mol Med*, 2018, 41(5): 2601-2608.
- [111] DRIESEN S, BERLETH N, FRIESEN O, et al. Deubiquitinase inhibition by WP1130 leads to ULK1 aggregation and blockade of autophagy[J]. *Autophagy*, 2015, 11: 1458-1470.
- [112] LIU B, TU Y, HE W, et al. Hyperoside attenuates renal aging and injury induced by D-galactose via inhibiting AMPK-ULK1 signaling-mediated autophagy[J]. *Aging (Albany NY)*, 2018, 10(12): 4197-4212.
- [113] JIANG J, DAI J, CUI H. Vitexin reverses the autophagy dysfunction to attenuate MCAO-induced cerebral ischemic stroke via mTOR/ULK1 pathway[J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 99: 583-590.

Research progress in biological function and targeted therapeutic application of the autophagic initiator ULK1

ZHANG Lan¹, OUYANG Liang², LIU Bo^{2*}

(1. School of Life Science and Engineering, Southwest Jiaotong University, Chengdu 610031, China; 2. State Key Laboratory of Biotherapy, Sichuan University, Chengdu 610041, China)

Abstract: UNC-51-like kinase 1 (ULK1), as the yeast Atg1 ortholog, is well-known to be the serine-threonine kinase and the autophagic initiator in mammals. Recently, extensive studies have illustrated the partial structure characteristics and biological function of ULK1, as well as its regulatory autophagic pathways and relationships with diverse diseases. More interestingly, some small-molecule compounds have been reported to target ULK1 or ULK1-modulating autophagy, thereby providing some clues on exploiting novel candidate drugs that targets autophagy. In this review, we discuss the complicated biological function of ULK1 and its associations with human diseases, as well as its potential targeted therapeutic applications.

Keywords: UNC-51-like kinase 1 (ULK1); autophagy; autophagic pathway; diseases; small-molecule compounds; targeted therapy