

去泛素化酶家族在头颈部肿瘤中的研究进展

周昱汝 王世博 刘雨璇 齐广莹*

桂林医学院广西肿瘤免疫与微环境调控重点实验室 广西桂林 541004

摘要: 泛素化和去泛素化是蛋白质翻译后修饰的两种常用方法。蛋白质翻译后修饰的两种常用方式。这两种修饰会影响目标蛋白质在细胞内的定位、稳定性和功能。去泛素化过程涉及组蛋白修饰、细胞周期调节、细胞分化、细胞凋亡、内吞、自噬以及 DNA 损伤后的修复。此外, 它还参与了癌变和癌症发展过程。在本综述中, 我们将讨论这些问题, 以了解去泛素化酶 (DUB) 在头颈部肿瘤中的功能。为进一步发现患者的潜在治疗策略。

关键词: 头颈部肿瘤; 去泛素化; 泛素化

1 泛素系统

泛素是一种高度保守的小型调节蛋白, 几乎存在于真核生物的所有组织中。泛素于 1975 年首次被发现。它通过与大量靶蛋白共轭来发挥各种功能。它可以发生多种不同的修饰。泛素蛋白由 76 个氨基酸组成, 分子质量约为 8.5 kDa。在 ATP 提供能量的条件下, 泛素分子通过级联催化反应与目标蛋白质结合, 从而破坏目标蛋白质。

多重复杂级联催化网络反映了泛素系统的重要性和复杂性^[1]。

泛素可以通过与自身的 Lys 连接形成多泛素链。聚合物链的形成通过底物与泛素分子之间的各种连接形成聚合物链^[2]。所有类型的泛素修饰都可以在细胞中检测到 [3, 4]。

更多的蛋白质, 并参与内吞过程、DNA 损伤修复、激活蛋白激酶、改变蛋白质亚细胞定位、某些信号转导和应激反应等过程 [5-7]。K6 连接的多泛素化可参与微管稳定性和有丝分裂纺锤体定向的调控^[8]。K27 连接的多泛素可参与 DNA 损伤修复和自身免疫调节^[9]。K6 和 K33 连接的多泛素可参与 DNA 损伤修复^[10]。由 K33 连接的多泛素还参与 I 型干扰素信号通路^[11]。

因此, 泛素类型与细胞功能之间的复杂关系, 导致泛素异常, 进而引发复杂的疾病和肿瘤。

2 去泛素化酶 (DUBs)

DUBs 通过裂解多泛素链或完全清除泛素化蛋白质中的泛素链来维持泛素系统的平衡。通过去泛素化游离泛素生成并循环使用^[12]。去泛素化在调节泛素依赖性通路中具有重要功能, 包括细胞周期调节、细胞死亡、蛋白质降解、

蛋白质功能、基因表达和信号转导^[13]。迄今为止, 已发现约 100 种 DUBs, 并将其分为 8 个不同的家族: 泛素特异性肽酶 (UBP/USP) 家族、泛素 C 端羟化酶 (UCH) 家族、JAB1/MPN/MOV34 蛋白酶 (JAMM) 家族、卵巢肿瘤蛋白酶 (OTU) 家族、马查多-约瑟夫结构域 (MJD) 家族、DUB 家族 (MINDY)、单核细胞趋化蛋白诱导蛋白 (MCPIP) 家族、以及 Zn 手指和 UFSP 结构域蛋白 (ZUFSP) 家族。其中, USP 家族是最大的 DUB 家族, 在酵母中被称为 UBP 家族^[14]。

3 DUB 与肿瘤发生的关系

据报道, 各种 DUB 与肿瘤抑制或致癌功能有关, 因此可能是潜在的治疗靶点。肿瘤抑制因子 p53 通过调节细胞周期检查点、DNA 修复、衰老和凋亡的调控, 在保护 DNA 免受各种损伤方面发挥着关键作用^[15]。原癌基因 (MDM2) 是一种 E3 泛素连接酶, 是 p53 蛋白的主要调节因子^[16]。它能诱导 p53 去核和降解。此外, 细胞质中的泛素特异性肽酶 10 (USP10) 会对 p53 进行去泛素化, 阻止 Mdm2 诱导的 p53 核输出和降解。DNA 损伤后, USP10 稳定并转运至细胞核, 激活 p53^[17]。当受到外部压力时, 泛素特异性肽酶 42 (USP42) 可与 p53 结合, 并通过移除泛素链来稳定其蛋白质。因此, p53 信号通路的快速激活会导致细胞周期停滞, 并进行 DNA 修复, 从而防止细胞癌变。泛素特异性肽酶 15 (USP15) 可稳定 MDM2, 并降解转录因子 NFATc2, 从而调节 T 细胞的活化。USP15 的缺失可激活 T 细胞, 增强其对细菌感染和肿瘤发生的反应^[18-20]。

因此, DUB 有许多不同的功能, 直接影响细胞中多种蛋白质的稳定性, 并与肿瘤的发生发展密切相关。然而, 目

前对 DUB 的研究还不够深入,许多 DUB 的功能尚未得到证实。通过全面了解 DUBs 与肿瘤发生的关系,筛选与肿瘤进展密切相关的 DUBs,并深入研究 DUBs 在肿瘤中的作用机制,DUBs 的靶向治疗可以真正应用于临床抗肿瘤治疗。

4 USP 家族与头颈部肿瘤的关系

4.1 USP7 与头颈部肿瘤

USP7 是疱疹病毒(可能还有其他 DNA 病毒)的共同靶点,其最初的名称是与疱疹病毒相关的 USP (HAUSP)。^[21]

USP7 调节许多参与肿瘤抑制和 DNA 修复的关键蛋白的周转。在正常的非应激条件下,USP7 优先靶向 p53。^[22] USP7 进行了监管肿瘤抑制因子磷酸酶和紧张蛋白同源物 (PTEN) 和 FOXO4 通过去泛素化的、转录活性的核形式的定位,而不是稳定性。^[23] USP7 还通过去泛素化和稳定参与这些途径的许多蛋白,在基因组稳定性中发挥重要作用,包括 BUB3、扣蛋白、ARF-BP1 等。这凸显了研究 USP7 作为涉及这些蛋白的癌症的治疗靶点的重要性。

Lee 等发现 USP7 通过稳定 TAZ 促进细胞增殖、迁移、体外侵袭和肿瘤生长。从机制上讲,USP7 通过选择性地去除其独立于经典 Hippo 激酶级联的 K48 连接泛素化链,与 TAZ 相互作用、去泛素化和稳定 TAZ。USP7 有效拮抗 β -TRCP 介导的 TAZ 泛素-蛋白酶体降解,并增强其核保留和转录输出。重要的是,USP7 的过表达与 HNSCC 患者的 TAZ 上调、肿瘤侵袭性和不良预后相关。USP7 的药理学抑制显著抑制了异种植物和 PDX 模型中的肿瘤生长。总的来说,这些发现将 USP7 确定为 TAZ 的重要调节因子,并将 USP7-TAZ 信号转导轴定义为 HNSCC 的新型生物标志物和潜在治疗靶点。^[24]

4.2 USP22 与头颈部肿瘤

USP22 由 525 个氨基酸组成,包含一个 n 端 UBP 型锌指和一个 c 端 USP 结构域。它参与 NAD 依赖蛋白去乙酰化酶 sirtuin 1,以及组蛋白 H2A 和 H2B,作为转录调控组蛋白乙酰化和去泛素化复合物的一部分,称为 Spt-Ada-Gen5 乙酰转移酶 (SAGA)。^[25] 目前还没有关于 USP22 的结构数据,但其酵母同源物 Ubp8 (泛素处理蛋白酶 8) 已在 SAGA 复合物的去泛素化模块中结晶。SAGA DUB 模块是 Ubp8、Sgf11、Sgf73 和 Sus1 之间的紧密复合物,而 Ubp8 由其结合伙伴变构调控。USP22 由于其在多种癌症中的作用而参与了肿瘤的发生。^[26] 过表达 USP22 与预后不良相关,可作为诊

断期间的生物标志物。在“癌症死亡”特征基因研究中,USP22 已被确定为癌症干细胞标记物。全基因组表达谱分析确定了 11 个基因,它们可以作为预测转移和癌症治疗失败的标记物。^[27]

Liu 等发现探讨了 USP22 的表达及其与 Aurora-B 和 Survivin 的相关性,以及 OSCC 的临床病理特征。USP22 在 OSCC 中高度表达。USP22 过表达与淋巴结转移和组织学分级相关 ($P < 0.01$)。此外,USP22 的表达与 Aurora-B ($P < 0.01$)、Survivin ($P < 0.01$) 和 Ki-67 ($P < 0.01$) 呈正相关。此外,USP22 小干扰 RNA 抑制细胞生长并降低 Aurora-B、存活素和细胞周期蛋白 B 的表达水平,同时上调细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂 1A (p21)。这些数据表明,USP22、Aurora-B 和 Survivin 促进了 OSCC 的发展,并可能代表未来口腔鳞状细胞癌诊断和治疗的新靶点。^[28]

4.3 CYLD 与头颈部肿瘤

与 USP7 类似,CYLD 属于 USP 中的半胱氨酸蛋白酶类。最近有研究表明,下调 CYLD 可通过激活 NF κ B 增加乳腺癌转移。^[29] CYLD 的 USP 结构域位于 c 端,包含一个与锌结合的 B-box 结构域。与其他 USP 结构域(如 USP7)相比,参与泛素结合的 USP 手指区域更短,这可以解释 CYLD 对 k63 连接的泛素链的偏好。^[29] 在附加序列。CYLD 通过去泛素化关键因子,如 NF κ B 必需调节因子和 TRAF2。^[30]

Cui 等发现,在通常与人瘤病毒 (HPV) 感染相关的癌症中(例如头颈部鳞状细胞癌 HNSCC) CYLD 改变优先在 HPV 阳性与 HPV 阴性形式的疾病中观察到。CYLD 酶从底物蛋白中切割 K63 连接的多泛素,导致关键蛋白质复合物的分解和促进生长信号通路的失活,包括由 NF- κ B、Wnt/ β -连环蛋白和 c-Jun N 末端激酶 (JNK) 介导的通路。功能丧失 CYLD 改变导致这些信号通路异常激活,促进肿瘤发生和恶性转化。总结了 CYLD 体细胞突变在 HPV 阳性癌症中的关联和潜在作用,特别强调了这些突变在肿瘤发生、侵袭和转移中的作用。^[31,32]

4.4 USP9X 与头颈部肿瘤

高度保守的 DUB USP9X 位于染色体 Xp11.4 上,最初被鉴定为果蝇脂肪面 (faf) 基因的人类同源物,随后命名为 DFFRX,该基因可逃避 X 染色体失活并在胚胎发育中发挥重要作用^[33]。USP9X 的蛋白序列及其分子功能在物种之间在进化上是保守的。USP9X 的催化结构域在手指子结构域

中具有一个锌指基序和三个泛素结合位点,并且插入 β 发夹,有助于聚泛素链加工和赖氨酸(Lys)11-、Lys63-、Lys48-和Lys6键的裂解,使该蛋白能够执行多种细胞功能^[34,35]。

USP9X主要存在于细胞质和细胞膜中,而少量蛋白质内化到线粒体、细胞核和中心体中。USP9X通过精确识别、募集和结合多种底物来调节细胞凋亡、有丝分裂保真度、炎症、核糖体停滞、增殖、上皮-间充质转化(EMT)、氧化应激、癌细胞干性、染色体重编程和耐药性,以实现靶向去泛素化和稳定化^[34]。UP9X还参与多种重要的经典信号通路,包括转化生长因子- β (TGF- β)、Hippo、Wnt/ β -连环蛋白和Janus激酶(JAK)-STAT信号通路。此外,已发现USP9X在大多数癌症样本中富集。

D M Nanayakkara等发现,USP9X蛋白水平与头颈癌细胞的增殖以及Notch通路活性之间存在直接相关性。然而,至少在FaDu中,USP9X似乎没有通过Notch途径调节增殖^[36]。免疫印迹显示,当FaDu细胞中USP9X耗尽时,mTOR复合物1的下游靶标(即总核糖体蛋白(S6)及其磷酸化形式(pS6))显著减少。相反,在永生化但非致瘤的HaCaT角质形成细胞中,USP9X耗竭导致口腔鳞状细胞增殖增加,维持对Notch活性的直接调节。

5 小结与展望

去泛素化酶可以逆转靶蛋白的泛素化,维持底物蛋白的泛素化和去泛素化之间的平衡,并通过减少靶蛋白的去泛素化量来维持细胞内稳态。我们发现USP家族的表达和头颈部肿瘤发展中有着密切的联系,进一步探究USP家族作用的相关机制研究。因此,开发针对USP家族的靶向药物或者抑制剂,有助于头颈部肿瘤的诊治,提高头颈部肿瘤患者的生存率。

参考文献:

[1]POZHIDAIEVA A, BEZSONOVA I. USP7: Structure, substrate specificity, and inhibition [J]. DNA Repair (Amst), 2019, 76: 30-9.
[2]KOMANDER D, RAPE M. The ubiquitin code [J]. Annu Rev Biochem, 2012, 81: 203-29.
[3]PENG J, SCHWARTZ D, ELIAS J E, et al. A proteomics approach to understanding protein ubiquitination [J]. Nat Biotechnol, 2003, 21(8): 921-6.
[4]XU D, YUAN L, LIU X, et al. EphB6 overexpression and Apc mutation together promote colorectal cancer [J]. Oncotarget,

2016, 7(21): 31111-21.

[5]MUKHOPADHYAY D, RIEZMAN H. Proteasome-independent functions of ubiquitin in endocytosis and signaling [J]. Science, 2007, 315(5809): 201-5.

[6]WANG G, GAO Y, LI L, et al. K63-linked ubiquitination in kinase activation and cancer [J]. Front Oncol, 2012, 2: 5.

[7]WU C J, CONZE D B, LI T, et al. Sensing of Lys 63-linked polyubiquitination by NEMO is a key event in NF-kappaB activation [corrected] [J]. Nat Cell Biol, 2006, 8(4): 398-406.

[8]SRIVASTAVA D, CHAKRABARTI O. Mahogunin-mediated α -tubulin ubiquitination via noncanonical K6 linkage regulates microtubule stability and mitotic spindle orientation [J]. Cell Death Dis, 2014, 5(2): e1064.

[9]LIU J, HAN C, XIE B, et al. Rhbdd3 controls autoimmunity by suppressing the production of IL-6 by dendritic cells via K27-linked ubiquitination of the regulator NEMO [J]. Nat Immunol, 2014, 15(7): 612-22.

[10]ELIA A E, BOARDMAN A P, WANG D C, et al. Quantitative Proteomic Atlas of Ubiquitination and Acetylation in the DNA Damage Response [J]. Mol Cell, 2015, 59(5): 867-81.

[11]LIN M, ZHAO Z, YANG Z, et al. USP38 Inhibits Type I Interferon Signaling by Editing TBK1 Ubiquitination through NLRP4 Signalosome [J]. Mol Cell, 2016, 64(2): 267-81.

[12]FARSHI P, DESHMUKH R R, NWANKWO J O, et al. Deubiquitinases (DUBs) and DUB inhibitors: a patent review [J]. Expert Opin Ther Pat, 2015, 25(10): 1191-208.

[13]PFOH R, LACDAO I K, SARIDAKIS V. Deubiquitinases and the new therapeutic opportunities offered to cancer [J]. Endocr Relat Cancer, 2015, 22(1): T35-54.

[14]CLERICI M, LUNA-VARGAS M P, FAESEN A C, et al. The DUSP-Ubl domain of USP4 enhances its catalytic efficiency by promoting ubiquitin exchange [J]. Nat Commun, 2014, 5: 5399.

[15]BLANDINO G, DI AGOSTINO S. New therapeutic strategies to treat human cancers expressing mutant p53 proteins [J]. J Exp Clin Cancer Res, 2018, 37(1): 30.

[16]WU D, PRIVES C. Relevance of the p53-MDM2 axis to aging [J]. Cell Death Differ, 2018, 25(1): 169-79.

[17]YUAN J, LUO K, ZHANG L, et al. USP10 regulates p53

- localization and stability by deubiquitinating p53 [J]. *Cell*, 2010, 140(3): 384–96.
- [18] ZOU Q, JIN J, HU H, et al. USP15 stabilizes MDM2 to mediate cancer–cell survival and inhibit antitumor T cell responses [J]. *Nat Immunol*, 2014, 15(6): 562–70.
- [19] SUN X X, CHALLAGUNDLA K B, DAI M S. Positive regulation of p53 stability and activity by the deubiquitinating enzyme Otubain 1 [J]. *Embo j*, 2012, 31(3): 576–92.
- [20] CARNEIRO A P, REIS C F, MORARI E C, et al. A putative OTU domain–containing protein 1 deubiquitinating enzyme is differentially expressed in thyroid cancer and identifies less–aggressive tumours [J]. *Br J Cancer*, 2014, 111(3): 551–8.
- [21] TAVANA O, LI D, DAI C, et al. HAUSP deubiquitinates and stabilizes N–Myc in neuroblastoma [J]. *Nat Med*, 2016, 22(10): 1180–6.
- [22] WU H T, KUO Y C, HUNG J J, et al. K63–polyubiquitinated HAUSP deubiquitinates HIF–1 α and dictates H3K56 acetylation promoting hypoxia–induced tumour progression [J]. *Nat Commun*, 2016, 7: 13644.
- [23] WANG Q, MA S, SONG N, et al. Stabilization of histone demethylase PHF8 by USP7 promotes breast carcinogenesis [J]. *J Clin Invest*, 2016, 126(6): 2205–20.
- [24] LI J, DAI Y, GE H, et al. The deubiquitinase USP7 promotes HNSCC progression via deubiquitinating and stabilizing TAZ [J]. *Cell Death Dis*, 2022, 13(8): 677.
- [25] ZHANG X Y, PFEIFFER H K, THORNE A W, et al. USP22, an hSAGA subunit and potential cancer stem cell marker, reverses the polycomb–catalyzed ubiquitylation of histone H2A [J]. *Cell Cycle*, 2008, 7(11): 1522–4.
- [26] ZHANG X Y, VARTHI M, SYKES S M, et al. The putative cancer stem cell marker USP22 is a subunit of the human SAGA complex required for activated transcription and cell–cycle progression [J]. *Mol Cell*, 2008, 29(1): 102–11.
- [27] LEE H J, KIM M S, SHIN J M, et al. The expression patterns of deubiquitinating enzymes, USP22 and Usp22 [J]. *Gene Expr Patterns*, 2006, 6(3): 277–84.
- [28] 孙晓梅, 段晓峰. 去泛素化酶在口腔鳞癌中的研究进展 [J]. *中国口腔颌面外科杂志*, 2024, 22(03): 294–9.
- [29] 丁宁枫. 结肠癌中去泛素化酶 USP22 调控癌基因 SRC 的分子机制研究 [D], 2023.
- [30] LIU T, LIU J, CHEN Q, et al. Expression of USP22 and the chromosomal passenger complex is an indicator of malignant progression in oral squamous cell carcinoma [J]. *Oncol Lett*, 2019, 17(2): 2040–6.
- [31] KOVALENKO A, CHABLE–BESSIA C, CANTARELLA G, et al. The tumour suppressor CYLD negatively regulates NF–kappaB signalling by deubiquitination [J]. *Nature*, 2003, 424(6950): 801–5.
- [32] VERHOEFT K R, NGAN H L, LUI V W Y. The cylindromatosis (CYLD) gene and head and neck tumorigenesis [J]. *Cancers Head Neck*, 2016, 1: 10.
- [33] CUI Z, KANG H, GRANDIS J R, et al. CYLD Alterations in the Tumorigenesis and Progression of Human Papillomavirus–Associated Head and Neck Cancers [J]. *Mol Cancer Res*, 2021, 19(1): 14–24.
- [34] COURTOIS G. Tumor suppressor CYLD: negative regulation of NF–kappaB signaling and more [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2008, 65(7–8): 1123–32.
- [35] JONES M H, FURLONG R A, BURKIN H, et al. The Drosophila developmental gene fat facets has a human homologue in Xp11.4 which escapes X–inactivation and has related sequences on Yq11.2 [J]. *Hum Mol Genet*, 1996, 5(11): 1695–701.
- [36] SCHWICKART M, HUANG X, LILL J R, et al. Deubiquitinase USP9X stabilizes MCL1 and promotes tumour cell survival [J]. *Nature*, 2010, 463(7277): 103–7.
- [37] COX J L, WILDER P J, WUEBBEN E L, et al. Context–dependent function of the deubiquitinating enzyme USP9X in pancreatic ductal adenocarcinoma [J]. *Cancer Biol Ther*, 2014, 15(8): 1042–52.
- [38] 芦文萱, 唐伏秋, 杨波. 去泛素化酶 USP9X 在结肠癌组织中的表达及意义 [J]. *现代肿瘤医学*, 2020, 28(01): 88–91.
- [39] HIJIOKA H, SETOGUCHI T, MIYAWAKI A, et al. Upregulation of Notch pathway molecules in oral squamous cell carcinoma [J]. *Int J Oncol*, 2010, 36(4): 817–22.

作者简介:

周昱汝 (1993—), 女, 汉族, 四川乐山, 研究生, 桂林医学院, 学生, 消化道肿瘤。