

消化系统恶性肿瘤中泛素特异性蛋白酶的研究现状

刘雨璇¹ 王世博¹ 周昱汝¹ 齐广莹^{1,2*}

1. 桂林医学院, 广西桂林 541100

2. 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 541199

摘要: 随着生活方式的变化和人口老龄化的加剧, 消化系统肿瘤的发病率不断上升, 已成为严重威胁人类健康的主要疾病之一, 寻找有效的治疗靶点显得尤为迫切。泛素特异性蛋白酶 (ubiquitin-specific proteases, USPs) 作为调控蛋白质稳定性和功能的重要酶类, 近年来在肿瘤研究中受到广泛关注。目前众多去泛素化酶中, USP 家族成员数目最多, 结构最清楚。这些酶通过上皮-间质转化、调控细胞周期及细胞凋亡、影响肿瘤免疫、药物耐受以及信号通路等途径, 导致恶性肿瘤的发生发展。目前, USP 抑制剂可靶向抑制肿瘤生长, 在多种体外实验及动物模型中显现出有效性。本文将针对 USP 家族成员在几种消化系统肿瘤中的作用, 及 USP 抑制剂在消化系统肿瘤中的应用现状进行讨论。

关键词: 泛素特异性蛋白酶; 消化系统肿瘤; 小分子抑制剂; 泛素化修饰

1 泛素化修饰与蛋白质的稳定性和功能

泛素-蛋白酶体降解系统 (ubiquitin-proteasome system, UPS) 是细胞内蛋白功能和稳定性的关键调控因子, 主要参与调控细胞增殖分化、肿瘤侵袭转移、基因转录以及信号转导等各种生理病理过程中^[1]。泛素 (ubiquitin, Ub) 蛋白存在于大部分真核细胞中, 其含有 76 个氨基酸, 分子量大约为 8.451kDa^[2]。不需要或损坏的蛋白质先被标记上 Ub 泛素标签, 然后通过蛋白酶体识别, 将蛋白质分解成更小的肽, 从而降解失去功能活性^[3]。在正常人体内, 细胞依赖于这种高度特异性的机制, 精确降解那些错误折叠或功能异常的蛋白质。

去泛素化酶 (Deubiquitinases, DUBs), 是一类通过去除底物蛋白中的 Ub 标签的特定蛋白酶, 主要分为七个家族, 分别是泛素羧基末端水解酶家族 (UCHs), 泛素特异性蛋白酶家族 (USPs), 卵巢肿瘤蛋白酶 (OTUs), 含有 Machado-Josephin 结构域的蛋白酶、含锌指的泛素肽酶 (ZUP1)、JAMM/MPN 区域相关金属肽酶 (JAMMs) 及与含有泛素- β 相互作用的新 DUB 家族的基序- β (MINDYs)^[4]。和其他翻译后修饰一样, 泛素化的过程是可逆的, 即 DUBs 通过水解作用, 针对泛素分子羧基末端所连接的酯键、肽键或异肽键进行切割, 从而将泛素分子精确地从底物蛋白或前体蛋白上解离下来的过程, 影响蛋白质功能。USPs 是目前已知种类最多, 结构多样的一类去泛素化酶。近年来,

关于 USPs 的研究发现, 其底物蛋白多为癌基因和抑癌基因^[5], USPs 的异常调控与肿瘤的不良预后密切相关。

2 消化系统肿瘤与形成机制

消化道肿瘤是全国最常见的恶性肿瘤之一。根据病变部位, 消化道肿瘤一般分为上消化道肿瘤和下消化道肿瘤, 上消化道肿瘤以食管癌、胃癌、肝癌、胰腺癌最为常见, 而结直肠癌则是下消化道主要的恶性肿瘤^[6]。

远处转移是肝细胞癌 (HCC) 相关死亡的主要原因^[7]。在分子机制的层面上, 肝癌的进展过程通常与蛋白质产物的水平及其翻译后修饰紧密相关, 其中泛素化修饰作为一种重要的翻译后修饰方式, 扮演着至关重要的角色。因此, 探索这些基因在蛋白水平上的调控机制对于肝癌的分子靶向治疗具有重要的价值理论。Li^[8] 等发现 USP4 在肝细胞癌组织中过表达, 与肿瘤恶性表型特征显著相关, 其过表达患者的总体生存率较低。USP4 通过抑制环孢素 A 降解并激活 MAPK 信号通路, 促进 HCC 细胞的生长、迁移和侵袭。

结直肠癌 (CRC) 发病正在年轻化, 约有 50% 最初诊断为早期结直肠癌的患者最终肿瘤会发生进展或发生远处转移^[9]。Li 等人^[10] 研究发现 USP46 可在结直肠癌的体内外实验中抑制其发生, 文中提到其促进 PHLPP 的去泛素化并稳定其表达, 从而抑制 AKT 信号通路传导, 这一发现也说明了 USPs 的作用机制是复杂多样的。

中国是胰腺癌高发国家之一^[11]。胰腺癌患者早期诊断

困难、进展快、耐药, 已知的靶向治疗效果并不令人满意, 目前手术仍然是唯一的根治性治疗方法。因此, 仍需新的有效治疗靶点来改善患者的预后。Chen^[12]等发现胰腺癌中 USP28 的表达较正常组织高, USP28 的过表达加速肿瘤生长。USP28 去泛素化并稳定了 FOXM1, 导致 Wnt/ β -catenin 通路激活促进胰腺癌发病机制, 并且可能成为胰腺癌的潜在诊断和治疗靶点。

3 泛素特异性蛋白酶在消化系统肿瘤中的机制

3.1 泛素特异性蛋白酶促进上皮-间充质转化

癌细胞通过侵袭和转移两个不同但相似的过程侵入局部组织并扩散到远处部位, 绝大多数的肿瘤患者最终死于原发灶以外部位的转移性肿瘤生长^[13]。近年来研究认为, 肿瘤转移与侵袭过程与上皮-间充质转化 (EMT) 存在着十分紧密的联系。已有研究表明, Snail 家族、ZEB 家族及 Twist 可以通过泛素化介导的蛋白水解途径快速降解。在肝癌中, USP39 可以与 E3 连接酶平衡 ZEB1 的泛素化水平^[14]。在胃癌中, PLAGL2 通过 USP37 介导的去泛素化稳定了 Snail1 的表达, 从而促进了胃癌的增殖转移^[15]; USP13 的过度表达则会增加 Snail 蛋白水平的稳定, 进而促进了胃癌的侵袭和转移^[16]。deubiquitinase (DUB)。因此, 通过选择性的抑制特异性 USPs, 可以特异性的调节肿瘤细胞的 EMT 过程, 从而减少癌症的复发转移。

3.2 泛素特异性蛋白酶与 Wnt 信号通路

Wnt/ β -catenin 信号通路在增殖、分化、凋亡, 以及胚胎发育、组织稳态和细胞癌变等多个关键生理与病理过程中发挥着重要的作用。以往研究表明, 高水平的 β -catenin 是结肠癌形成的重要因素^[17]。经典 Wnt 通路在正常情况下, β -catenin 的合成随即与腺瘤性结肠息肉蛋白 (APC) 及 Axin 共同构建成一个多蛋白复合物, 此复合物可促进 β -catenin 的降解, 维持细胞内 β -catenin 的水平在一个较低的稳定状态。 β -catenin 在细胞中还可以结合到细胞-细胞黏附受体的胞内结构区, 如 E-cadherin 分子; E-cadherin 分子在细胞间形成黏附连接, 对保持上皮层结构完整性和防止癌细胞转移至关重要^[18]。由于 β -catenin 结合位点不够, E-cadherin 与 APC 和 Tcf/Lef 不能同时与 β -catenin 结合, 这种竞争性的结合关系对于 Wnt 信号通路的正常调控至关重要。USP51 是一个在胰腺癌中上调的癌基因, 它作为去泛素化酶促进 β -catenin 的积累, 累积的 β -catenin 转移到细

胞核中, 进而激活 Wnt 通路并发挥致癌作用^[19]。USP25 在结肠直肠癌中通过调节 Wnt 和 SOCS3-pSTAT3 信号通路, 促进肿瘤的发生和发展^[20]。

3.3 泛素特异性蛋白酶与肿瘤免疫逃逸

免疫检查点分子 PD-1/PD-L1 参与机体肿瘤免疫调节过程的重要组成部分和肿瘤免疫治疗的研究热点, 通过抑制 T 细胞受体对抗原的识别能力降低自身免疫反应。肿瘤细胞正是利用了免疫检查点这一功能, 有效阻断了肿瘤特异性 T 细胞的应答反应^[21], 导致了免疫逃逸。治疗肿瘤免疫逃逸可阻断免疫检查点, 重新激活 T 细胞, 使其发挥抗肿瘤作用^[22]。

在消化系统肿瘤中发现, 多种 USPs 在促进肿瘤免疫逃逸中扮演着重要角色: 通过调节免疫检查点蛋白质的稳定性、影响抗原呈递以及直接抑制免疫细胞功能等方式, 抑制了免疫系统对肿瘤细胞的识别和清除能力。在结肠直肠癌中, USP22 通过调控 PD-L1 稳定其蛋白表达, 进而影响 PD-L1 介导的免疫抑制功能, 影响肿瘤生长^[23]; 同样在肝癌中, USP22 通过 PD-L1 抑制肿瘤免疫原性, 即 USP22 敲除可以增强抗癌免疫^[24]。

4 去泛素化酶抑制剂与消化系统肿瘤

泛素特异性蛋白酶较 E3 连接酶更具可用药性, 其原因可能与 USPs 中除了 JAMM 家族是锌金属肽酶以外, 其余均为半胱氨酸蛋白酶有关。E3 连接酶主要通过与泛素结合酶 E2 和靶蛋白的相互作用来催化泛素链的形成。虽然 E3 连接酶具有高度的特异性, 但它们的催化机制相对复杂, 且缺乏像去泛素化酶那样的明确催化残基。这增加了开发针对 E3 连接酶的抑制剂的难度^[25]。USPs 作为潜在的治疗靶点也在不断被探索。一些 USP 抑制剂已经显示出在抗肿瘤治疗中的潜力。下面列举近几年消化系统肿瘤中报道的 DUB 小分子抑制剂 (见表 1)^[26-40]。

目前 DUB 抑制剂的研究还处于发展中的阶段, 只有 VLX1570 和 KSQ-4279 两种 DUB 抑制剂进入临床试验。通过靶向抑制 USP14/UCHL5 蛋白导致泛素化蛋白的快速积累和肿瘤活性。2015 年, USP14/UCHL5 的选择性抑制剂 VLX1570 被批准用于 I/II 期, 但在临床试验阶段因剂量限制毒性被终止^[41]; 2024 年, USP1 抑制剂 KSQ-4279(KSQi) 的首次人体 I 期试验^[42]。目前, 消化系统肿瘤中有关 USPs 抑制剂的研究仍然停留在临床前试验。如果能在这一领域取得

进展, UPS 的靶标抑制剂能会发展成为有用的癌症治疗方法。

表 1 消化系统肿瘤中 USP 小分子抑制剂的作用及研究进展

USPs	DUB Inhibitors	Cancer type	Clinical status	Reference
Non-specific DUB inhibitor	PR-619	Colon cancer Esophageal squamous cell carcinoma	Preclinical	[26,27]
USP1	ML323	Esophageal squamous cell carcinoma Colorectal Cancer	Preclinical	[28,29]
USP2	ML364	Colorectal Cancer	Preclinical	[30]
	P5091	Colorectal cancer Gastric cancer	Preclinical	[31,32]
USP7	P22077	Hepatocellular carcinoma Pancreatic cancer	Preclinical	[33,34]
	XL177A	Pediatric cancer	Preclinical	[35]
USP9X	WP1130	Hepatocellular carcinoma Pancreatic cancer	Preclinical	[36,37]
USP14	b-AP15	Colorectal cancer Hepatocellular carcinoma	Preclinical	[38,39]
USP48	DUB-IN-2	Colorectal cancer	Preclinical	[40]

5 总结与展望

泛素特异性蛋白酶在食管癌、胃癌、肝癌、胰腺癌和结肠直肠癌等肿瘤中的表达和活性均发生了显著变化^[43], 具有成为肿瘤标志物的潜能性。深入研究 USPs 在消化系统肿瘤中的作用机制, 不仅有助于揭示肿瘤发生发展的分子基础, 对于开发新的诊断工具 and 治疗方法也具有重要意义。通过靶向 UPS 中的去泛素化酶, 可以增强抗肿瘤免疫反应, 从而提高免疫疗法的效果。尽管如此, 泛素特异性蛋白酶具体的调控机制仍需要进一步探索。目前, 虽然以及有了针对某些 USP 的小分子抑制剂具有治疗潜力, 但要将这些抑制剂真正应用到临床, 仍需要克服许多问题。比如如何确保药物的选择性和特异性、靶向 USP 的药物需要经过严格的临床前研究和临床试验, 以验证其安全性和有效性, 如何克服这一过程耗费的大量时间与成本。虽然目前对于泛素特异性蛋白酶在肿瘤治疗中的潜力预测下结论为时尚早, 但未来泛素特异性蛋白酶一定会在分子及药物领域取得重大的进展。

参考文献:

[1] Suresh B, Lee J, Kim K S, et al. The Importance of Ubiquitination and Deubiquitination in Cellular Reprogramming[J]. *Stem Cells International*, 2016, 2016: 6705927.

[2] 刘湘宁, 杜佳泯, 钱美佳, 等. 去泛素化酶小分子抑制剂抗肿瘤作用研究: 新进展和新思路[J]. *药学报*, 2022, 57(3): 547-556.

[3] Rock K L, Gramm C, Rothstein L, et al. Inhibitors of the proteasome block the degradation of most cell proteins and the

generation of peptides presented on MHC class I molecules[J]. *Cell*, 1994, 78(5): 761-771.

[4] Dewson G, Eichhorn P J A, Komander D. Deubiquitinases in cancer[J]. *Nature Reviews. Cancer*, 2023, 23(12): 842-862.

[5] Chen D, Ning Z, Chen H, et al. An integrative pan-cancer analysis of biological and clinical impacts underlying ubiquitin-specific-processing proteases[J]. *Oncogene*, 2020, 39(3): 587-602.

[6] 张思维, 郑荣寿, 孙可欣, 等. 2016 年中国恶性肿瘤分地区发病和死亡估计: 基于人群的肿瘤登记数据分析[J]. *中国肿瘤*, 2023, 32(5): 321-332.

[7] Zhou H Z, Li F, Cheng S T, et al. DDX17-regulated alternative splicing that produced an oncogenic isoform of PNX-AS1 to promote HCC metastasis[J]. *Hepatology (Baltimore, Md.)*, 2022, 75(4): 847-865.

[8] Li T, Yan B, Ma Y, et al. Ubiquitin-specific protease 4 promotes hepatocellular carcinoma progression via cyclophilin A stabilization and deubiquitination[J]. *Cell Death & Disease*, 2018, 9(2): 148.

[9] Engstrand J, Nilsson H, Strömberg C, et al. Colorectal cancer liver metastases – a population-based study on incidence, management and survival[J]. *BMC cancer*, 2018, 18(1): 78.

[10] Li X, Stevens P D, Yang H, et al. The deubiquitination enzyme USP46 functions as a tumor suppressor by controlling PHLPP-dependent attenuation of Akt signaling in colon cancer[J]. *Oncogene*, 2013, 32(4): 471-478.

[11] Huang J, Lok V, Ngai C H, et al. Worldwide Burden of, Risk Factors for, and Trends in Pancreatic Cancer[J]. *Gastroenterology*, 2021, 160(3): 744-754.

[12] Chen L, Xu Z, Li Q, et al. USP28 facilitates pancreatic cancer progression through activation of Wnt/ β -catenin pathway via stabilising FOXM1[J]. *Cell Death & Disease*, 2021, 12(10): 887.

[13] 梁红光. ARRB2 调控 WTAP 表达促进结肠癌细胞生长和迁移[D]. 南方医科大学, 2023.

[14] Li X, Yuan J, Song C, et al. Deubiquitinase USP39 and E3 ligase TRIM26 balance the level of ZEB1 ubiquitination and thereby determine the progression of hepatocellular carcinoma[J].

Cell Death and Differentiation, 2021, 28(8): 2315–2332.

[15] Wu L, Zhao N, Zhou Z, et al. PLAGL2 promotes the proliferation and migration of gastric cancer cells via USP37-mediated deubiquitination of Snail1[J]. Theranostics, 2021, 11(2): 700–714.

[16] Zhang T, Zheng J, Qiao L, et al. Deubiquitinase USP13 promotes the epithelial–mesenchymal transition and metastasis in gastric cancer by maintaining Snail protein[J]. Pathology, Research and Practice, 2022, 229: 153705.

[17] Keerthivasan S, Aghajani K, Dose M, et al. β -Catenin promotes colitis and colon cancer through imprinting of proinflammatory properties in T cells[J]. Science Translational Medicine, 2014, 6(225): 225ra28.

[18] 朱少义. N-cadherin 和 β -catenin 异常表达对细胞粘附、增殖及经典 Wnt 信号通路的影响 [D]. 新乡医学院, 2019.

[19] Hua Y qiang, He Y, Ding X bo, et al. USP51, an oncogene for pancreatic cancer (PC) cell growth via Wnt/ β -catenin pathway[M]. 2020.

[20] Wang X M, Yang C, Zhao Y, et al. The deubiquitinase USP25 supports colonic inflammation and bacterial infection and promotes colorectal cancer[J]. Nature Cancer, 2020, 1(8): 811–825.

[21] Yan Y, Feng X, Li C, et al. Treatments for resectable esophageal cancer: from traditional systemic therapy to immunotherapy[J]. Chinese Medical Journal, 2022, 135(18): 2143–2156.

[22] Li B, Chan H L, Chen P. Immune Checkpoint Inhibitors: Basics and Challenges[J]. Current Medicinal Chemistry, 2019, 26(17): 3009–3025.

[23] Wang Y, Sun Q, Mu N, et al. The deubiquitinase USP22 regulates PD–L1 degradation in human cancer cells[J]. Cell communication and signaling: CCS, 2020, 18(1): 112.

[24] Huang X, Zhang Q, Lou Y, et al. USP22 Deubiquitinates CD274 to Suppress Anticancer Immunity[J]. Cancer Immunology Research, 2019, 7(10): 1580–1590.

[25] Yang Q, Zhao J, Chen D, et al. E3 ubiquitin ligases: styles, structures and functions[J]. Molecular Biomedicine, 2021,

2(1): 23.

[26] Wu J, Liu C, Wang T, et al. Deubiquitinase inhibitor PR–619 potentiates colon cancer immunotherapy by inducing ferroptosis[J]. Immunology, 2023, 170(3): 439–451.

[27] Wang L, Li M, Sha B, et al. Inhibition of deubiquitination by PR–619 induces apoptosis and autophagy via ubi–protein aggregation–activated ER stress in oesophageal squamous cell carcinoma[J]. Cell Proliferation, 2021, 54(1): e12919.

[28] Sun Y, Sha B, Huang W, et al. ML323, a USP1 inhibitor triggers cell cycle arrest, apoptosis and autophagy in esophageal squamous cell carcinoma cells[J]. Apoptosis: An International Journal on Programmed Cell Death, 2022, 27(7–8): 545–560.

[29] Xu X, Li S, Cui X, et al. Inhibition of Ubiquitin Specific Protease 1 Sensitizes Colorectal Cancer Cells to DNA–Damaging Chemotherapeutics[J]. Frontiers in oncology, 2019, 9.

[30] Davis M I, Pragani R, Fox J T, et al. Small Molecule Inhibition of the Ubiquitin–specific Protease USP2 Accelerates cyclin D1 Degradation and Leads to Cell Cycle Arrest in Colorectal Cancer and Mantle Cell Lymphoma Models[J]. The Journal of Biological Chemistry, 2016, 291(47): 24628–24640.

[31] Wang Z, Kang W, Li O, et al. Abrogation of USP7 is an alternative strategy to downregulate PD–L1 and sensitize gastric cancer cells to T cells killing[J]. Acta Pharmaceutica Sinica. B, 2021, 11(3): 694–707.

[32] An T, Gong Y, Li X, et al. USP7 inhibitor P5091 inhibits Wnt signaling and colorectal tumor growth[J]. Biochemical Pharmacology, 2017, 131: 29–39.

[33] Zhang W, Zhang J, Xu C, et al. Ubiquitin–specific protease 7 is a drug–able target that promotes hepatocellular carcinoma and chemoresistance[J]. Cancer Cell International, 2020, 20: 28.

[34] Chen H, Zhu X, Sun R, et al. Ubiquitin–specific protease 7 is a druggable target that is essential for pancreatic cancer growth and chemoresistance[J]. Investigational New Drugs, 2020, 38(6): 1707–1716.

[35] Schauer N J, Liu X, Magin R S, et al. Selective USP7 inhibition elicits cancer cell killing through a p53–dependent mechanism[J]. Scientific Reports, 2020, 10(1): 5324.

[36] Liu H, Chen W, Liang C, et al. WP1130 increases doxorubicin sensitivity in hepatocellular carcinoma cells through usp9x-dependent p53 degradation[J]. *Cancer Letters*, 2015, 361(2): 218–225.

[37] Ma T, Chen W, Zhi X, et al. USP9X inhibition improves gemcitabine sensitivity in pancreatic cancer by inhibiting autophagy[J]. *Cancer Letters*, 2018, 436: 129–138.

[38] Ding W, Wang J X, Wu J Z, et al. Targeting proteasomal deubiquitinases USP14 and UCHL5 with b-AP15 reduces 5-fluorouracil resistance in colorectal cancer cells[J]. *Acta pharmacologica Sinica*, 2023, 44(12).

[39] Ding Y, Chen X, Wang B, et al. Deubiquitinase inhibitor b-AP15 activates endoplasmic reticulum (ER) stress and inhibits Wnt/Notch1 signaling pathway leading to the reduction of cell survival in hepatocellular carcinoma cells[J]. *European Journal of Pharmacology*, 2018, 825: 10–18.

[40] Cheng C, Yao H, Li H, et al. Blockade of the deubiquitinating enzyme USP48 degrades oncogenic HMGA2

and inhibits colorectal cancer invasion and metastasis[J]. *Acta Pharmaceutica Sinica. B*, 2024, 14(4): 1624–1643.

[41] Wang X, Mazurkiewicz M, Hillert E K, et al. The proteasome deubiquitinase inhibitor VLX1570 shows selectivity for ubiquitin-specific protease-14 and induces apoptosis of multiple myeloma cells[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 26979.

[42] Yap T A, Lakhani N J, Patnaik A, et al. First-in-human phase I trial of the oral first-in-class ubiquitin specific peptidase 1 (USP1) inhibitor KSQ-4279 (KSQi), given as single agent (SA) and in combination with olaparib (OLA) or carboplatin (CARBO) in patients (pts) with advanced solid tumors, enriched for deleterious homologous recombination repair (HRR) mutations. [J]. *Journal of Clinical Oncology*, 2024, 42(16_suppl): 3005–3005.

[43] 申香玉, 史磊, 申远. 泛素特异性蛋白酶在肿瘤发生发展中的作用 [J]. *生命的化学*, 2021, 41(4): 693–706.

作者简介:

刘雨璇 (1998—), 女, 汉族, 四川省绵阳市, 研究生, 桂林医学院, 学生, 消化系统肿瘤。