

泛素化连接酶调控顺铂药物敏感性的分子机制研究进展

龚 恋¹, 何 东², 曹 科¹, 胡 一¹, 钟 茗¹

(1. 中南大学湘雅三医院, 湖南 长沙 410013; 2. 湖南省第二人民医院, 湖南 长沙 410007)

摘 要: 顺铂广泛用于治疗多种恶性肿瘤,但在治疗过程中容易产生耐药。顺铂耐药被报道与蛋白泛素化密切相关,蛋白泛素化由 3 类酶即泛素活化酶(E1)、泛素结合酶(E2)和泛素化连接酶(E3)催化,其中 E3 在泛素化过程中可通过识别与调控底物表达来影响顺铂药物敏感性。该文通过对 E3 调控底物影响顺铂药物敏感性的分子机制进行综述,为恶性肿瘤的顺铂耐药逆转提供新思路。

关键词: 恶性肿瘤;顺铂;药物敏感性;泛素化连接酶

中图分类号:R730 文献标识码:A 文章编号:1004-0242(2019)01-0046-04

doi: 10.11735/j.issn.1004-0242.2019.01.A006

Molecular Mechanism of Ubiquitin Ligase Regulating Cisplatin Sensitivity

GONG Lian¹, HE Dong², CAO Ke¹, HU Yi¹, ZHONG Ming¹

(1. The Third Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410013, China;

2. The Second People's Hospital of Hunan Province, Changsha 410007, China)

Abstract: Cisplatin is widely used in the treatment of different types of malignancy, but drug-resistant is frequently occurs in the treatment course. Recently cisplatin resistance is reported to be closely related to protein ubiquitination, which is catalyzed by three kinds of enzymes, including ubiquitin activators(E1), ubiquitin binding enzymes(E2) and ubiquitin ligases(E3). E3 can affect the drug sensitivity of cisplatin by regulating and recognizing substrate in the ubiquitination process. The molecular mechanisms of ubiquitin ligases regulating substrates related to cisplatin resistance are summarized in this article.

Key words: malignant tumors; cisplatin; drug sensitivity; ubiquitin ligase

顺铂是一种常用恶性肿瘤化疗药物,广泛运用于肺癌、头颈癌、食管癌、卵巢癌及宫颈癌等恶性肿瘤,是细胞周期非特异性药物,主要作用于 DNA 的嘌呤和嘧啶碱基,损伤细胞膜上结构,高浓度时抑制 RNA 及蛋白质合成,有广谱抗癌作用。临床上多种恶性肿瘤尽管在初始应用时顺铂反应性很高,但往往在治疗过程中产生耐药。迄今顺铂耐药机制主要与增加 DNA 损伤修复、凋亡失活、上皮-间质转变的激活、肿瘤干细胞特性等相关^[1],最新的研究表明顺铂耐药与蛋白泛素化密切相关^[2]。

收稿日期:2018-11-12;修回日期:2018-12-11

基金项目:中南大学研究生科研创新项目(1053320171260);湖南省卫生计生委科研计划课题项目(C20180476)

通信作者:何东, E-mail: 15738310@qq.com

蛋白泛素化是指泛素(一类在真核生物中广泛表达,由 76 个氨基酸构成的高度保守的短肽)分子在一系列酶作用下,连接到某一靶蛋白分子上,对靶蛋白进行特异性修饰的过程。该过程由 3 类酶催化:泛素活化酶(E1)、泛素结合酶(E2)和泛素化连接酶(E3)。E1 激活泛素并将其转移到 E2 上, E3 招募被泛素化的 E2, 识别底物并且协助或直接帮助 E2 上的泛素转移到蛋白底物。E3 在泛素化过程中具有识别底物的重要作用,根据其与其靶蛋白的相对比例可以分为靶蛋白多聚泛素化修饰和单泛素化修饰,蛋白质多泛素化可使底物为蛋白酶体所识别而被降解,蛋白质单泛素化则改变底物的活性、定位或相互作用,从而改变其生物学作用。人类基因组编码超过

600 个泛素化连接酶, 诸多泛素化连接酶被证实与肿瘤的发生发展及恶性表型密切相关, 其中有研究证实泛素化连接酶通过调控底物可影响恶性肿瘤的顺铂耐药^[3]。本文将对泛素化连接酶调控顺铂药物敏感性的主要信号通路进行综述。

1 P53 相关信号通路

P53 被描述为“基因组的守护者”^[4], 其可通过与 p21、MDM2、Her-2、增殖细胞核抗原 (PCNA)、cyclin G 等相互作用来实现抑癌等功能^[5]。研究表明泛素化连接酶可通过 MDM2-p53-p21^{WAF1/CIP1} 信号通路来调控顺铂化疗敏感性。

MDM2 作为泛素化连接酶共价连接泛素到 p53, 最终通过蛋白酶体降解 p53^[6]。MDM2 被报道在恶性胸膜间皮瘤中高表达, 且与患者预后负相关, 恶性胸膜间皮瘤细胞 NCI-H2052、MSTO-211H 和 NCI-H2452 中过表达 MDM2, 通过蛋白酶体降解 p53, 导致 p53 诱导的凋亡缺失, 应用 MDM2 及 p53 结合抑制剂可使顺铂诱导的细胞凋亡增加 5 倍^[7]。泛素化连接酶 TRIM25 在 A549 顺铂耐药株 A549/DDP 中高表达, 下调 A549/DDP 细胞中 TRIM25 表达可致 MDM2 下调及 p53 表达上升, 从而增加顺铂诱导的细胞凋亡^[8]。泛素化连接酶 RNF31 被证实存在乳腺癌 MCF-7 细胞株中高度表达, 其可通过稳定 MDM2 来促进 p53 多泛素化和降解, 乳腺癌中下调 RNF31 表达可增加顺铂所致的细胞凋亡^[9]。

泛素化连接酶 TRIM65 在非小细胞肺癌中过表达, 其可促进 p53 多聚泛素化使 p53 失活从而导致顺铂耐药^[10]。结肠癌细胞及黑色素瘤细胞系中, 过表达泛素化连接酶 iASPP 或敲除泛素化连接酶 BRMS1 均可增加 p53 协同因子 p300/CBP 的表达上调来增加顺铂药物敏感性^[11]。泛素化连接酶 NEDL1 在携带野生型 p53 的神经母细胞瘤 SH-SY5Y 和 U2OS 细胞中高表达, 其可与 p53 相互结合并增强 p53 转录活性, 进而增加顺铂诱导的肿瘤细胞凋亡^[12]。p53 蛋白激活 p21^{WAF1/CIP1} 的转录, p21^{WAF1/CIP1} 是一种强有力的细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂, 与细胞周期蛋白结合可使细胞进入 G₀ 期静止状态, 从而增加顺铂药物敏感性^[13]。肺癌组织中检测到泛素化连接酶 Cul4A 高表达而 p21^{CIP1} 表达下调, 肺腺癌 A549

细胞中下调 Cul4A 表达可上调 p21^{CIP1} 表达从而增加肿瘤细胞对顺铂的药物敏感性^[14]。膀胱癌 RT4 细胞中过表达泛素化连接酶 SKP2, 减少 p21^{CIP1}, 则可增加 S 期细胞而导致顺铂耐药^[15]。还有研究证实宫颈癌 Hela 细胞中泛素化连接酶 BNRCH 可上调 p21^{WAF1/CIP1}, 阻滞细胞周期 G₂ 期来增加顺铂药物敏感性^[16]。因此, 泛素化连接酶可能通过调控 p53 信号相关通路中的关键分子的表达来影响顺铂药物敏感性。

2 Akt 相关信号通路

Akt 是一种丝氨酸/苏氨酸特异性蛋白激酶, 参与 PI3K/Akt/mTOR 等信号通路可以直接或间接促进细胞存活、抗凋亡、病理性促进血管生成^[17]等, 亦能调控顺铂药物敏感性^[18]。PTEN 通过负性调节 Akt/PKB 信号通路, 防止细胞生长和分裂过快而发挥肿瘤抑制作用。Akt 与泛素化连接酶密切相关, 大部分错误折叠的 Akt 经泛素化后被蛋白酶体降解, 另外部分泛素化 Akt 可增强 Akt 的作用。目前已有文献报道泛素化连接酶通过影响 Akt 相关信号通路来调控顺铂药物敏感性。泛素化连接酶 NEDD4-1 和 Akt 均在肺腺癌组织中高表达, A549 细胞株中下调 NEDD4-1 表达可显著上调 PTEN 表达、抑制 Akt 及其下游蛋白活性, 下调 A549 细胞的增殖、迁移和侵袭能力, 并能显著提高肿瘤细胞对顺铂的药物敏感性^[19]。此外, 非小细胞肺癌细胞系中泛素化连接酶 Hakai 高表达, 下调 Hakai 可导致磷酸化 Akt 的表达降低, 显著抑制非小细胞肺癌细胞的生长并增强顺铂药物敏感性^[20]。髓母细胞瘤 Daoy 细胞系中泛素化连接酶 FBXW7 被报道可通过促进 SOX9 泛素化来下调 PI3K/Akt/mTOR 信号通路活性, 从而增加髓母细胞瘤的顺铂药物敏感性^[21]。因此, Akt 相关信号通路中关键分子可作为泛素化连接酶的重要底物, 进而影响该信号通路的活性以调控顺铂药物敏感性。

3 NF-κB 相关信号通路

NF-κB 是调控 DNA 转录、细胞因子产生和细胞存活的转录因子, 能促进细胞增殖并保护细胞免受凋亡。NF-κB 参与多种信号通路, 当 NF-κB 相关信

号通路异常可导致恶性肿瘤细胞与机体其他部分之间失衡,从而导致肿瘤进展及化疗耐药等。如鼻咽癌 CNE2 亲本株较顺铂敏感株中 NF- κ B 信号通路活跃^[22],而泛素化连接酶 MULAN 可激活 NF- κ B 信号通路减少应激所致的宫颈癌细胞凋亡^[23]。已有研究证实泛素化连接酶可调控 NF- κ B 相关信号通路来影响顺铂耐药。TRAF2 是肿瘤坏死因子受体相关因子 (TRAF) 成员中的典型代表,其可通过作用于促炎因子经典途径或 CD40 非经典途径来激活 NF- κ B 信号通路,而泛素化连接酶可调控 TRAF2 激活 NF- κ B 信号通路影响顺铂耐药。已有报道证实泛素化连接酶 TRIM37 被发现在非小细胞肺癌中高表达且与患者预后呈负相关,进一步的实验结果揭示 TRIM37 可与 TRAF2 结合,并促进 TRAF2 泛素化来维持 NF- κ B 相关途径的活化状态,进而导致顺铂耐药^[24]。食管癌细胞中 TRIM37 也被证实可使腺苷酸激酶 NEMO 泛素化,激活 NF- κ B 信号通路,导致肿瘤细胞对顺铂的耐药性^[25]。因此,探寻 NF- κ B 相关信号通路中能作为泛素化连接酶底物的靶蛋白,是挖掘肿瘤顺铂增敏的新靶标的有效途径。

4 其 他

食管鳞状细胞 KYSE150 中泛素化连接酶 FBX-031 和卵巢癌顺铂耐药株 A2780 中泛素化连接酶 HOIP,均被证实可调控 JNK 活性来影响顺铂药物敏感性^[26,27]。胆管癌细胞中泛素化连接酶 FBXW7 及卵巢癌顺铂耐药细胞株中泛素化连接酶 EDD 则均可调控凋亡相关蛋白 MCL1 表达来影响顺铂诱导的细胞凋亡^[28,29]。此外,研究表明乳腺癌中泛素化连接酶 HECTD1 可降解 ACF7 抑制肿瘤上皮-间质转化过程,从而增加顺铂化疗敏感性^[30];泛素化连接酶 HECTD3 能稳定 MALT1 表达,或结合 caspase-9 蛋白使其泛素化,从而抑制 caspase-9 与 Apaf-1 结合来导致肿瘤顺铂耐药^[31,32]。因此,泛素化连接酶对特异性底物的识别决定了其调控顺铂药物敏感性关键的信号通路。

综上所述,恶性肿瘤中泛素化连接酶可通过调控底物表达等来参与多种信号途径,进而影响顺铂药物敏感性。大部分泛素化连接酶在恶性肿瘤中可通过下调底物表达来影响顺铂耐药,如 MDM2 及

TRIM25 等可促进 p53 降解、FBXW7 和 EDD 可下调 MCL1 表达来导致顺铂耐药;部分泛素化连接酶在恶性肿瘤中通过稳定底物表达或激活相关靶蛋白的活性来调控顺铂药物敏感性,如 TRIM37 可结合 TRAF2 来激活 NF- κ B 途径导致顺铂耐药。然而,总览迄今的相关分子机制较为分散,未来的研究需要对泛素化连接酶与底物的相互作用涉及的蛋白质网络、结构和序列等多个层面开展系统分析,揭示生物学大数据库中泛素化连接酶-底物相互作用网络及相关信号通路,深入探讨泛素化连接酶在恶性肿瘤的顺铂耐药中的具体作用机制,为临床上顺铂耐药逆转提供新靶点与新策略。

参考文献:

- [1] Amable L. Cisplatin resistance and opportunities for precision medicine[J]. *Pharmacol Res*, 2016, 106: 27-36.
- [2] Zacharioudakis E, Agarwal P, Bartoli A, et al. Chromatin regulates genome targeting with cisplatin [J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2017, 56(23): 6483-6487.
- [3] Matsuura K, Huang NJ, Cocce K, et al. Downregulation of the proapoptotic protein MOAP-1 by the UBR5 ubiquitin ligase and its role in ovarian cancer resistance to cisplatin [J]. *Oncogene*, 2011, 30(12): 1698-1706.
- [4] Muñoz-Fontela C, Mandinova A, Aaronson SA, et al. Emerging roles of p53 and other tumour-suppressor genes in immune regulation [J]. *Nat Rev Immunol*, 2016, 16(12): 741-750.
- [5] Bykov VJN, Eriksson SE, Bianchi J, et al. Targeting mutant p53 for efficient cancer therapy [J]. *Nat Rev Cancer*, 2018, 18(2): 89-102.
- [6] Cao P, Yang A, Wang R, et al. Germline duplication of sNORA18L5 increases risk for HBV-related hepatocellular carcinoma by altering localization of ribosomal proteins and decreasing levels of p53 [J]. *Gastroenterology*, 2018, 155(2): 542-556.
- [7] Walter RFH, Werner R, Wessolly M, et al. Inhibition of MDM2 via Nutlin-3A: a potential therapeutic approach for pleural mesotheliomas with MDM2-induced inactivation of wild-type p53[J]. *J Oncol*, 2018, 2018: 1986982.
- [8] Qin X, Qiu F, Zou Z. TRIM25 is associated with cisplatin resistance in non-small-cell lung carcinoma A549 cell line via downregulation of 14-3-3 σ [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 493(1): 568-572.
- [9] Zhu J, Zhao C, Zhuang T, et al. Ring finger protein 31

- promotes p53 degradation in breast cancer cells[J]. *Oncogene*, 2016, 35(15):1955–1964.
- [10] Li Y, Ma C, Zhou T, et al. TRIM65 negatively regulates p53 through ubiquitination[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, 473(1):278–282.
 - [11] Kramer D, Schön M, Bayerlová M, et al. A pro-apoptotic function of iASPP by stabilizing p300 and CBP through inhibition of BRMS1 E3 ubiquitin ligase activity [J]. *Cell Death Dis*, 2015, 6:e1634.
 - [12] Li Y, Ozaki T, Kikuchi H, et al. A novel HECT-type E3 ubiquitin protein ligase NEDL1 enhances the p53-mediated apoptotic cell death in its catalytic activity-independent manner[J]. *Oncogene*, 2008, 27(26):3700–3709.
 - [13] Chen SM, Lin TK, Tseng YY, et al. Targeting inhibitors of apoptosis proteins suppresses medulloblastoma cell proliferation via G2/M phase arrest and attenuated neddylation of p21[J]. *Cancer Med*, 2018, 7(8):3988–4003.
 - [14] Yang YL, Hung MS, Wang Y, et al. Lung tumorigenesis in a conditional Cul4A transgenic mouse model [J]. *J Pathol*, 2014, 233(2):113–123.
 - [15] da Silva GN, de Camargo EA, Sávio AL, et al. MRE11A and SKP2 genes are associated with the increased cytotoxicity induced by the synergistic effects of cisplatin and gemcitabine in bladder cancer cells [J]. *Mol Biol Rep*, 2014, 41(7):4613–4621.
 - [16] Wan Q, Liu Z, Peng W, et al. BnRCH gene inhibits cell growth of Hela cells through increasing the G2 phase of cell cycle[J]. *Hum Cell*, 2011, 24(4):150–160.
 - [17] LoRusso PM. Inhibition of the PI3K/AKT/mTOR pathway in solid tumors[J]. *J Clin Oncol*, 2016, 34(31):3803–3815.
 - [18] Houédé N, Pourquier P. Targeting the genetic alterations of the PI3K-AKT-mTOR pathway: its potential use in the treatment of bladder cancers [J]. *Pharmacol Ther*, 2015, 145:1–18.
 - [19] Song YH, Zhang CQ, Chen FF, et al. Upregulation of neural precursor cell expressed developmentally downregulated 4-1 is associated with poor prognosis and chemoresistance in lung adenocarcinoma [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2018, 131(1):16–24.
 - [20] Liu Z, Wu Y, Tao Z, et al. E3 ubiquitin ligase Hakai regulates cell growth and invasion, and increases the chemosensitivity to cisplatin in non-small-cell lung cancer cells[J]. *Int J Mol Med*, 2018, 42(2):1145–1151.
 - [21] Suryo Rahmanto A, Savov V, Brunner A, et al. FBW7 suppression leads to SOX9 stabilization and increased malignancy in medulloblastoma [J]. *EMBO J*, 2016, 35 (20): 2192–2212.
 - [22] Kuang CM, Fu X, Hua YJ, et al. BST2 confers cisplatin resistance via NF- κ B signaling in nasopharyngeal cancer [J]. *Cell Death Dis*, 2017, 8(6):e2874.
 - [23] Fujita H, Aratani S, Fujii R, et al. Mitochondrial ubiquitin ligase activator of NF- κ B regulates NF- κ B signaling in cells subjected to ER stress [J]. *Int J Mol Med*, 2016, 37 (6):1611–1618.
 - [24] Li Y, Deng L, Zhao X, et al. Tripartite motif-containing 37 (TRIM37) promotes the aggressiveness of non-small-cell lung cancer cells by activating the NF- κ B pathway [J]. *J Pathol*, 2018, 246(3):366–378.
 - [25] Wu G, Song L, Zhu J, et al. An ATM/TRIM37/NEMO axis counteracts genotoxicity by activating nuclear-to-cytoplasmic NF- κ B signaling[J]. *Cancer Res*, 2018, 78(22):6399–6412.
 - [26] Liu J, Lv L, Gong J, et al. Overexpression of F-box only protein 31 predicts poor prognosis and deregulates p38 α - and JNK-mediated apoptosis in esophageal squamous cell carcinoma[J]. *J Cancer*, 2018, 142(1):145–155.
 - [27] MacKay C, Carroll E, Ibrahim AFM, et al. E3 ubiquitin ligase HOIP attenuates apoptotic cell death induced by cisplatin[J]. *Cancer Res*, 2014, 74(8):2246–2257.
 - [28] Mori A, Masuda K, Ohtsuka H, et al. FBXW7 modulates malignant potential and cisplatin-induced apoptosis in cholangiocarcinoma via NOTCH1 and MCL1 [J]. *Cancer Sci*, 2018, 109(12):3883–3895.
 - [29] Bradley A, Zheng H, Ziebarth A, et al. EDD enhances cell survival and cisplatin resistance and is a therapeutic target for epithelial ovarian cancer [J]. *Carcinogenesis*, 2014, 35(5):1100–1109.
 - [30] Duhamel S, Goyette MA, Thibault MP, et al. The E3 ubiquitin ligase HectD1 suppresses EMT and metastasis by targeting the +TIP ACF7 for degradation [J]. *Cell Rep*, 2018, 22(4):1016–1030.
 - [31] Li Y, Chen X, Wang Z, et al. The HECTD3 E3 ubiquitin ligase suppresses cisplatin-induced apoptosis via stabilizing MALT1[J]. *Neoplasia*, 2013, 15(1):39–48.
 - [32] Li Y, Wu X, Li L, et al. The E3 ligase HECTD3 promotes esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) growth and cell survival through targeting and inhibiting caspase-9 activation[J]. *Cancer Lett*, 2017, 404:44–52.