

泛素与肿瘤相关性的研究进展

郭一晶^{1,2}, 刘刚¹, 毛建英³

(1. 内蒙古医科大学附属医院, 内蒙古 呼和浩特 010050; 2. 内蒙古医科大学, 内蒙古 呼和浩特 010059; 3. 内蒙古自治区人民医院, 内蒙古 呼和浩特 010017)

摘要: 泛素作为存在于大部分真核生物细胞中的保守蛋白, 参与调控细胞内的关键生物学进程, 而泛素化可将泛素分子共价结合到靶蛋白上, 对靶蛋白进行修饰, 调控细胞生命活动。全文系统地阐述了泛素及泛素化修饰在肿瘤发生及进展中的生物学作用, 为进一步探讨新的肿瘤靶向性治疗提供理论依据。

关键词: 泛素; 肿瘤; 泛素化修饰; 去泛素化

中图分类号: R73 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-0242(2023)07-0543-07

doi: 10.11735/j.issn.1004-0242.2023.07.A009

Advances in the Relationship Between Ubiquitin and Cancer

GUO Yijing^{1,2}, LIU Gang¹, MAO Jianying³

(1. The Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010050, China; 2. Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010059, China; 3. Inner Mongolia People's Hospital, Hohhot 010017, China)

Abstract: As an evolutionarily conserved protein found in most eukaryotic cells, ubiquitin is involved in the regulation of key cellular biological processes. Ubiquitination is a posttranslational process that covalently binds ubiquitin to a target protein to modify the target protein and regulate cell activities. This paper reviews the research advances on the biological role of ubiquitin and ubiquitination in the tumorigenesis and progression, which may provide a reference for the development of new tumor targeted therapy.

Key words: ubiquitin; tumor; ubiquitination; deubiquitination

泛素在调节蛋白质功能方面起着至关重要的作用, 泛素系统的失控会导致多种人类疾病的发生。在一系列酶的作用下, 泛素可以与细胞内的蛋白共价结合, 从中筛选靶蛋白分子, 并对靶蛋白进行特异性修饰, 该过程即泛素化修饰。在细胞中, 泛素化修饰可通过调控一系列如蛋白酶体降解蛋白、受体内化、蛋白复合体组装、胞内运输、炎症信号介导、自噬及 DNA 修复等生物学进程进而影响机体的生理过程, 其异常调控与肿瘤发生相关基因/细胞代谢相关基因的激活或失活、蛋白复合体组装及 DNA 修复过程中错误折叠蛋白质的积累密切相关^[1]。

收稿日期: 2023-02-21; 修回日期: 2023-04-25

基金项目: 国家自然科学基金(82060567); 内蒙古自然科学基金(2020BS08014); 内蒙古医科大学致远人才计划(ZY0120025)

通信作者: 刘刚, E-mail: 20190043@immu.edu.cn

目前随着基因组学及蛋白质组学的快速发展, 针对泛素及泛素化修饰的研究越来越深入, 靶向泛素及泛素化修饰治疗恶性肿瘤的研究日益增多。本文就泛素及泛素化修饰在肿瘤发生及进展过程中的调控机制作一简单介绍, 以期为进一步研究泛素及泛素化修饰调控肿瘤发生及进展的机制奠定基础。

1 泛素和泛素化修饰

在细胞中, 泛素主要通过泛素-蛋白酶体途径进行蛋白的泛素化修饰, 该途径由泛素、E1 泛素激活酶、E2 泛素偶联酶、E3 泛素连接酶、26S 蛋白酶体和去泛素化酶(deubiquitinating enzymes, DUBs)等组成。

在泛素化修饰过程中, E1 泛素激活酶与 E2 泛

素偶联酶与泛素分子活性的调控密切相关,并将其特异性地连接到靶蛋白上,而作为泛素化修饰过程中最具异质性的酶,E3 泛素连接酶在靶蛋白的特异性识别以及泛素化系统活性的调控过程中发挥着最重要的作用。在高等生物中已鉴定的 E3 泛素连接酶种类从几百到一千以上,而且陆续有不同类型的 E3 泛素连接酶亚家族的报道,多样性的 E3 泛素连接酶对于靶蛋白的特异性识别进一步导致了泛素化修饰过程中蛋白降解的高度异质性^[2-3]。

根据泛素连接酶的结构域和靶向底物蛋白的机制,E3 泛素连接酶主要分为以下三种类型,即 HECT (homologous to E6AP C terminus) E3s、RING E3s 及 RBR(the RING-in-between-RING) E3s^[4]。

1.1 HECT E3s

泛素化是一种翻译后修饰,涉及到泛素与蛋白质底物的共价连接,对于维持细胞内环境平衡是必不可少的。HECT E3s 作为一类单体酶,在真核生物中的 HECT E3s 家族种类最少,其活性与肿瘤发生、心血管疾病 (Liddle 综合征)、神经紊乱 (Angelman 综合征) 以及机体的免疫反应密切相关^[5-6]。

在泛素化修饰过程中,HECT E3s 的底物特异性由 E3 酶-底物蛋白相互作用的 N 端结构域处的氨基酸序列决定,根据该结构域的特性可以将 HECT E3s 进一步分为 3 类:①HECT E3s,该类酶含有 RCC1-like 结构域 (RLDs),主要分布于细胞质、膜或多孔结构中,虽然该家族成员的结构已经有所研究,但其家族成员的底物和生理功能仍待探索。②Nedd4/Nedd4-like E3s,该类酶类含有色氨酸-色氨酸结构域 (WW),该类酶类与细胞内吞、细胞周期蛋白降解、肿瘤抑制基因的激活及细胞增殖密切相关^[5,7-8]。③SI(ngle)-HECT E3s,该类酶类不含有 RLDs 和 WW 结构域^[9],其表达水平均与肿瘤发生及进展过程密切相关^[10-15]。

1.2 RING E3s

作为最丰富的泛素连接酶家族,RING E3s 结构中存在环指结构域 (ringfinger domain) 或 U-box 结构域,U-box 结构域的折叠方式与 RING 相同,但结构域中并无锌指结构^[16-17]。RING E3s 对蛋白的泛素化修饰过程并无直接的催化作用,其作用机制是为 E2 泛素偶联酶和底物的结合提供位点,从而促进 E2 泛素偶联酶催化泛素分子转移到底物上。

在肿瘤进展过程中,RING E3s 可以通过调节肿瘤激活或抑制因子的活性进一步调控肿瘤进展,其异常表达水平与患者的不良预后密切相关^[18-20]。

1.3 RBR E3s

RBR E3s 是近年来最新发现的泛素连接酶之一,它是一类神秘的 E3 泛素连接酶,它结合了环和 HECT-type E3 的性质,通过自身抑制、翻译后修饰、多聚体和与结合伙伴的相互作用进行多水平的调节。在泛素化修饰过程中,RBR E3s 可调控基因的转录、翻译、亚细胞定位以及蛋白翻译后修饰等过程,进而调节细胞周期以及对微生物感染的反应,目前成为一类新型的、相对尚未开发的药物发现靶点^[21-22]。

作为高度保守的泛素连接酶之一,RBR E3s 由 RING1、IBR (in-between RING) 和 RING2 结构域构成,其介导的泛素化调控机制与 HECT E3s、RING E3s 的调控机制类似,即 RBR E3s 介导的泛素分子转移开始于 E2-泛素硫酯中间体与 RBR 的相互作用。该过程的调控机制类似于 E2 泛素偶联酶与 RING E3s 之间的相互作用^[23-25],有所区别的是,RBR E3s 促进泛素分子 C 端和 RING2 的 Cys 氨基酸基团形成 HECT 状的硫酯中间体,然后调控泛素分子与底物蛋白的结合过程。

2 癌症发生及进展过程中的泛素化修饰

E3s 泛素连接酶可以通过调控靶蛋白的泛素化修饰过程进而调控癌症的发生及进展过程^[26],如泛素连接酶 MDM2 可介导肿瘤抑制因子 P53、SCF 和 APC/C 复合物的泛素化,进而调节细胞周期蛋白依赖性激酶 (cyclin-dependent kinase, CDK) 以及细胞周期抑制因子 P21、P27 的活性,从而导致细胞周期进程及细胞有丝分裂过程异常^[27-29]。

S 期激酶相关蛋白 2 (S phase kinase-associated protein 2, SKP2), 作为能与 S 期激酶 cyclinA-CDK2 相互作用的蛋白,是 SCF 泛素-蛋白连接酶复合物的 F-box 蛋白家族中的一员,参与调节多种信号通路蛋白的泛素化^[30-32]。SKP2 可以靶向 G₁/S 期蛋白依赖性激酶抑制剂 P27,介导其蛋白酶体降解,进而导致 G₁/S 期检查点异常,促进细胞周期及细胞增殖异常,促进癌症的进展^[31,33]。

在 E3 泛素连接酶调控癌症发生及进展过程

中,SCF 作为最大的泛素连接酶家族,可以调控 FBW7、FBW1A 等 F-box 蛋白与底物蛋白磷酸化片段的特异性结合,进一步介导底物的多泛素化和蛋白酶体降解过程^[34]。

作为直肠癌、胃癌、卵巢癌和白血病中突变或缺失的肿瘤抑制蛋白,FBW7 是 SCF 泛素连接酶复合物的底物识别亚基,可直接结合和靶向作用多种转录激活因子及原癌基因,如 *cyclin E*、*c-Myc*、*c-Jun*、*Notch*、*MCL1*、*KLF5* 和 *mTOR* 等,并对其编码的蛋白进行泛素化修饰,FBW7 缺失突变的肿瘤细胞对 mTOR 抑制更为敏感,因此使用 mTOR 类似物治疗 FBW7 缺失突变的肿瘤细胞可大大提高肿瘤细胞的致死率^[35-36]。

FBW1A 对肿瘤发生及细胞周期调节的机制更为复杂,该蛋白在细胞周期的 G₂ 后期靶向泛素化 APC/C 复合物抑制剂 EMI1(early mitotic inhibitor 1),进一步提升细胞内的 APC/C 复合物水平,进而调控细胞周期^[37]。此外,FBW1A 还靶向如 BCL2L1、NF- κ B inhibitor- α 、I κ B β 和程序性细胞凋亡蛋白 4 (programmed cell death-4, PDCD4) 等细胞凋亡相关蛋白的表达水平^[37],因此其常被认为具有致癌作用。

在肿瘤发生及进展过程中,E3s 泛素连接酶也参与调控肿瘤血管的形成,如肿瘤抑制因子 pVHL (von Hippel-Lindau),由 *VHL* 基因编码,是 VCB-Cul2-VHL 泛素连接酶复合体的关键组分,主要负责缺氧诱导因子-1 α (hypoxia inducible factor-1 α , HIF-1 α)的底物识别及泛素化修饰^[38]。在肾癌、胰腺肿瘤、中枢神经系统相关肿瘤(如血管母细胞瘤)和视网膜肿瘤等发生过程中,*VHL* 基因突变后导致 pVHL 表达水平异常,进而导致 HIF-1 α 不能被正确识别及降解,使得细胞内的 HIF-1 α 持续表达,从而稳定的 HIF-1 α 转运至核与 HIF-1 β 亚单位共价结合形成活性异二聚体,与缺氧反应基因启动子区缺氧应答原件结合,激活一系列缺氧反应基因,诱导血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF)和葡萄糖转运蛋白 1 (glucose transporter 1, GLUT1)的表达,促进病灶处的血管形成^[39-40]。

E3 泛素连接酶还参与调控多条癌症发生相关的信号通路,如原癌基因 *KRAS*,是 *RAS* 基因家族成员之一,其表达水平与肿瘤的发生及进展过程均有关系。具有 GTPase 活性的 *KRAS* 蛋白即使在没有

受体刺激的情况下也可被单泛素化,进而激活 GTPase,促进细胞内 GTP (激活型)的表达水平^[41]。与此同时,研究表明 Rabex-5 连接酶可以调节 *RAS* 蛋白的溶酶体定位,而 β -TrCP 连接酶介导 *RAS* 蛋白被蛋白酶体降解的过程^[42]。此外,泛素化的 *RAS* 蛋白可与磷脂酰肌醇 3-激酶 (phosphatidylinositol 3-hydroxy kinase, PI3K)结合,从而激活 PI3K-Akt 信号通路,促进结直肠癌、肺癌(主要是非小细胞肺癌)和胰腺癌的发生及进展^[43]。

在癌症发生及进展过程中,泛素化也参与调控 NF- κ B 信号通路,在各种实体瘤(包括前列腺癌、乳腺癌、黑色素瘤、胰腺癌和肺癌)和许多造血系统癌症(包括慢性粒细胞白血病、多发性骨髓瘤)中均观察到异常的 NF- κ B 信号通路的激活^[44],而且在多发性骨髓瘤中也检测到 NF- κ B 信号通路相关泛素化调控系统组分的改变,主要为泛素连接酶 c-IAP1 和 c-IAP2 以及衔接蛋白 TRAF2 和 TRAF3^[45]。c-IAP1、c-IAP2 和其他 c-IAP 蛋白的表达水平与人类多发性骨髓瘤有关,上述蛋白促进 NF- κ B 诱导激酶 (NF- κ B-inducing kinase, NIK)的泛素化和蛋白酶体降解,是 NF- κ B 信号通路主要的负调节因子^[46],进而促进了肝癌、乳腺癌、胰腺癌、宫颈癌、肺癌、口腔鳞状细胞癌和食管癌的发生及进展。

泛素连接酶也参与调控肿瘤抑制因子的表达,如肿瘤抑制因子 PTEN 是 PI3K/Akt 的负调节因子,在泛素化后被蛋白酶体降解^[47]。PTEN 可以促进 EGFR-Cbl 复合物的形成并促进 EGFR 的泛素化,并下调 EGFR 的表达水平。PTEN 的这一作用有助于 PTEN 阳性肿瘤患者的 EGFR 靶向治疗。PTEN 自身也可进行单泛素化,这对于其蛋白的核定位是必需的,PTEN 核定位的缺失与肿瘤发生有关^[48]。

3 去泛素化对肿瘤发生及进展的影响

在去泛素化过程中,去泛素化酶可以从底物蛋白上特异性解离泛素分子,部分去泛素酶,如 A20、CYLD 和 BAP1,其编码基因及蛋白表达水平的异常与多种癌症的发生及进展密切相关^[49]。

A20 的突变与免疫系统相关恶性肿瘤的发生及进展密切相关。20%的 B 细胞淋巴瘤中,A20 编码基

因存在双等位基因突变^[50]。A20与大多数参与促炎症信号通路的蛋白质相互作用,如TNF受体TNFR相关因子2(TRAF2),TRAF6和NF- κ B必须调节蛋白(NF- κ B-essential modulator,NEMO),主要参与去除TRAF6和细胞死亡蛋白RIPK1上的Lys63泛素链^[50-51]。A20也是一种泛素编辑酶,可以去除部分泛素链并促进新泛素加合物的产生,这对于正确调节NF- κ B信号传导和免疫应答非常重要。因此,A20的失活将促进NF- κ B通路的激活,在很大程度上促进肿瘤恶性转化。

去泛素化酶CYLD与A20均为调控NF- κ B通路的关键组分,两者共同作用于RIP1激酶使其去泛素化,并导致凋亡复合体FADD-Caspase 8的形成,进而诱导细胞死亡^[51-52]。在骨髓瘤、淋巴细胞白血病和黑色素瘤的发生及进展过程中,CYLD基因突变,进而造成细胞死亡和炎症途径的失调,从而导致肿瘤恶性转化,与此同时,CYLD失活或下调导致B细胞淋巴瘤3(Bcl-3)泛素化,入核激活NF- κ B信号通路^[53],进一步增强了肿瘤细胞的侵袭和增殖能力。

P53,被称为肿瘤抑制因子,参与调节许多细胞生理过程,包括细胞周期停滞、DNA修复、血管生成、自噬、迁移、衰老及凋亡,而且P53蛋白在抑制肿瘤发生及进展和维持基因组稳定性等方面发挥核心作用。此外,肿瘤抑制因子P53通过调节多种调节信号在细胞中发挥不同的功能,以确保对细胞应激有足够的时间和空间反应,从而P53可以通过调控许多应激信号来保护细胞避免进入恶性增殖。在超过50%的人类癌症疾病中观察到P53基因的突变^[54]。有研究表明调节泛素-蛋白酶体途径可以导致P53降解,几种去泛素化酶靶向P53直接去除泛素链^[55]。

USP7去泛素化酶,在USP家族中是第一个被检测到与P53相关的去泛素化酶,可参与调节P53-MDM2信号通路。MDM2是癌基因,其编码的产物可以与P53结合并抑制P53的功能,首先P53的激活能诱导MDM2的转录和翻译,MDM2反过来与P53结合又会导致P53的失活及降解,两者形成负反馈调节从而限制P53过高的活性^[28]。USP7既可作用于P53又可作用于MDM2,因此在P53-MDM2信号通路中具有双重功能^[56]。USP7的过度表达抑制了MDM2介导的P53泛素化,使P53稳定表达并导致细胞凋亡。USP7基因的突变或改变对表达P53的

细胞是致死的,因为USP7表达的缺失可导致MDM2的自身泛素化,导致MDM2被降解P53过表达细胞凋亡^[57]。

USP10去泛素化酶也参与调节P53的稳定性,USP10可以作为肿瘤抑制因子对P53起作用,在肾细胞癌样品中有很高比例的细胞USP10下调或表达缺失^[58]。此外,USP10通过从P53中去除泛素蛋白链来调节P53的出核。MDM2对P53的泛素化使其从细胞核移动到细胞质,在细胞质中,P53被泛素化和降解。在正常条件下USP10存在于细胞质中,在应激反应下USP10入核作用于P53将其去泛素化,影响P53的出核。USP7(在细胞核中)和USP10(在细胞质中)共同作用,改变由MDM2引起的P53泛素化维持P53的稳态。此外,USP10不仅调控P53稳定性,还通过PUMA、Bax或P21调节细胞凋亡和细胞周期停滞^[59]。

4 靶向泛素系统在癌症治疗中的应用

在泛素化相关药物的研发过程中,基于泛素连接酶介导特异性底物降解的相关研究,最初认为靶向E3连接酶的活性位点或与底物的相互作用位点,可以设计出具有较少副作用并且特异性较高的靶向药物。

具有E3泛素连接酶活性的HDM2的内含子1的3'末端含有一段可与P53蛋白结合的序列,该序列与P53蛋白的结合可以在转录水平上调控HDM2的表达水平。在转录开始时,P53蛋白的激活有助于HDM2的合成,随后新合成的HDM2蛋白连接到P53蛋白N-末端转录激活结构域,抑制P53蛋白的活性。因此,HDM2和P53蛋白之间形成了一个自动调节的负反馈,在细胞中保持P53蛋白和HDM2表达水平的动态平衡,特异性抑制HDM2的表达水平可促进细胞内P53的表达水平,进而阻滞细胞周期,促进细胞凋亡^[59]。此外,目前已开发了多种特异性靶向HDM2的E3连接酶活性的小分子抑制剂,例如HLI98抑制剂,可激活P53信号通路,促进P53依赖性细胞凋亡。

需要指出的是,这些小分子化合物具有很高的P53非依赖性及脱靶效应^[60]。这些化合物中最成功的化合物Nutlins其靶向P53与HDM2结合的袋状

位点,但仍存在许多弊端。Nutlins 只能靶向野生型 P53 基因,对于 P53 突变的肿瘤细胞不敏感。还有研究表明 Nutlins 在 P53 缺陷的细胞系中也可诱导细胞周期停滞。表明这些抑制剂对 P53 没有特异性,可能与其他蛋白竞争与 HDM2 结合。并且有其他研究表明,还有其他泛素连接酶靶向 P53 蛋白但并不受 Nutlins 抑制^[61-62]。

因此另一种策略是寻找新的可以与特异性底物蛋白结合并可以阻止其与其他连接酶作用的小分子化合物。小分子化合物 RITA 与 P53 氨基末端特异性结合促进细胞周期停滞,RITA 的作用并不特异性抑制 P53-HDM2 的相互作用,它同时还影响几种其他并不是以泛素化方式抑制 P53 的蛋白活性^[61]。

在肿瘤治疗中被泛素化的蛋白可以被蛋白酶体降解,而蛋白酶体的改变可以引发多种疾病,因此针对蛋白酶体为靶点的治疗手段应运而生^[63]。抗癌药物 Bortezomib (PS-341),是一种细胞渗透性、可逆性和选择性的蛋白酶体抑制剂,可通过靶向苏氨酸残基有效抑制 20S 蛋白酶体,抑制 NF- κ B 信号通路,降低了促炎症因子的表达,并上调细胞周期蛋白依赖性抑制激酶 P21^{Cip1} 和 P27^{Kip1},促进肿瘤细胞凋亡^[64]。除了对 NF- κ B 信号传导的影响,还有证据表明在某些细胞类型中,硼替佐米介导的蛋白酶体抑制,导致内质网应激,也会促进细胞凋亡^[65]。目前硼替佐米被用来治疗血液肿瘤,例如多发性骨髓瘤及复发的套细胞淋巴瘤。

5 结 语

泛素化修饰是细胞内蛋白质共价修饰的主要类型之一,通过调节蛋白质稳定性、蛋白质定位和信号传递等过程,参与细胞周期、增殖、凋亡、分化、转移等重要生命活动,由于其功能广泛且涉及多种蛋白质,泛素及泛素化修饰与多种肿瘤的发生及进展密切相关。随着泛素化蛋白的检测技术及其受体鉴定技术的发展,对于泛素及泛素化调控机制的深入研究,将为研究肿瘤发病机制及肿瘤治疗奠定一定基础。

参考文献:

[1] Tang J,Shu Q,Guo Y,et al. Cell-permeable ubiquitin and histone tools for studying post-translational modifications

[J]. *Chembiochem*,2023:e202300169.

- [2] Du X,Song H,Shen N,et al. The molecular basis of ubiquitin-conjugating enzymes (E2s) as a potential target for cancer therapy[J]. *Int J Mol Sci*,2021,22(7):3440.
- [3] Hyer ML,Milhollen MA,Ciavarrri J,et al. A small-molecule inhibitor of the ubiquitin activating enzyme for cancer treatment[J]. *Nat Med*,2018,24(2):186-193.
- [4] Reiter KH,Klevit RE. Characterization of ring-between-ring E3 ubiquitin transfer mechanisms [J]. *Methods Mol Biol*,2018,1884:3-17.
- [5] Delvecchio VS,Fierro C,Giovannini S,et al. Emerging roles of the HECT-type E3 ubiquitin ligases in hematological malignancies[J]. *Discov Oncol*,2021,12(1):39.
- [6] Shah SS,Kumar S. Adaptors as the regulators of hect ubiquitin ligases[J]. *Cell Death Differ*,2021,28(2):455-472.
- [7] Weber J,Polo S,Maspero E. HECT E3 ligases: a tale with multiple facets[J]. *Front Physiol*,2019,10:370.
- [8] Jayaprakash S,Hegde M,Bharathwaj Chetty B,et al. Unraveling the potential role of NEDD4-like E3 ligases in cancer[J]. *Int J Mol Sci*,2022,23(20):12380.
- [9] Garcia-Gonzalo FR,Rosa JL. The HERE proteins: functional and evolutionary insights [J]. *Cell Mol Life Sci*,2005,62(16):1826-1838.
- [10] Zhang L,Hu X,Chen J,et al. Impact of E6-associated protein on the proliferation and invasion of prostate cancer cells in bone metastasis [J]. *Int J Clin Exp Pathol*,2015,8(6):6571-6575.
- [11] Matentzoglou K,Scheffner M. Ubiquitin ligase E6-AP and its role in human disease[J]. *Biochem Soc Trans*,2008,36(Pt 5):797-801.
- [12] Hillemanns P,Jentschke M,Evans TG,et al. Detection of E6-AP as a potential therapeutic target in cervical specimen of HPV-infected women [J]. *Arch Gynecol Obstet*,2014,289(6):1281-1286.
- [13] 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.
- [14] Rotblat B,Southwell AL,Ehrnhoefer DE,et al. HACE1 reduces oxidative stress and mutant huntingtin toxicity by promoting the NRF2 response [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*,2014,111(8):3032-3037.
- [15] Bernassola F,Chillemi G,Melino G. HECT-type E3 ubiquitin ligases in cancer [J]. *Trends Biochem Sci*,2019,44(12):1057-1075.
- [16] Welsh KA,Bolhuis DL,Nederstigt AE,et al. Functional

- conservation and divergence of the helix-turn-helix motif of E2 ubiquitin-conjugating enzymes[J]. *EMBO J*, 2022, 41(3):e108823.
- [17] Morreale FE, Walden H. Types of ubiquitin ligases [J]. *Cell*, 2016, 165(1):248.e1.
- [18] Lipkowitz S, Weissman AM. RINGs of good and evil: RING finger ubiquitin ligases at the crossroads of tumour suppression and oncogenesis[J]. *Nat Rev Cancer*, 2011, 11(9): 629–643.
- [19] Zhao Y, Morgan MA, Sun Y. Targeting neddylation pathways to inactivate cullin-RING ligases for anticancer therapy[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2014, 21(17):2383–2400.
- [20] Kang B, Sun XH. Regulation of cancer stem cells by RING finger ubiquitin ligases[J]. *Stem Cell Investig*, 2014, 1: 5.
- [21] Eisenhaber B, Chumak N, Eisenhaber F, et al. The RING between RING fingers (RBR) protein family [J]. *Genome Biol*, 2007, 8(3):209.
- [22] Walden H, Rittinger K. RBR ligase-mediated ubiquitin transfer: a tale with many twists and turns [J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2018, 25(6):440–445.
- [23] Stieglitz B, Morris-Davies AC, Koliopoulos MG, et al. LUBAC synthesizes linear ubiquitin chains via a thioester intermediate[J]. *EMBO Rep*, 2012, 13(9):840–846.
- [24] Smit JJ, Monteferrario D, Noordermeer SM, et al. The E3 ligase HOIP specifies linear ubiquitin chain assembly through its RING-IBR-RING domain and the unique LDD extension[J]. *EMBO J*, 2012, 31(19):3833–3844.
- [25] Marin I, Lucas JJ, Gradilla AC, et al. Parkin and relatives: the RBR family of ubiquitin ligases[J]. *Physiol Genomics*, 2004, 17(3):253–263.
- [26] Zhang X, Chen Y, Yang B, et al. Driving the degradation of oncofusion proteins for targeted cancer therapy[J]. *Drug Discov Today*, 2023; 103584.
- [27] Vilgelm AE, Saleh N, Shattuck-Brandt R, et al. MDM2 antagonists overcome intrinsic resistance to CDK4/6 inhibition by inducing p21 [J]. *Sci Transl Med*, 2019, 11(505): eaav7171.
- [28] Wang L, Pan S. The regulatory effects of p53 on the typical and atypical ferroptosis in the pathogenesis of osteosarcoma: a systematic review[J]. *Front Genet*, 2023, 14: 1154299.
- [29] Ji L, Wang Y, Zhou L, et al. E3 ubiquitin ligases: the operators of the ubiquitin code that regulates the RLR and CGAS-sting pathways[J]. In *J Mol Sci*, 2022, 23(23):14601.
- [30] Nakayama KI, Nakayama K. Ubiquitin ligases: cell-cycle control and cancer[J]. *Nat Rev Cancer*, 2006, 6(5):369–381.
- [31] Frescas D, Pagano M. Deregulated proteolysis by the F-box proteins SKP2 and beta-TRCP: tipping the scales of cancer[J]. *Nat Rev Cancer*, 2008, 8(6):438–449.
- [32] Niu J, Yan T, Guo W, et al. The COPS3-FOXO3 positive feedback loop regulates autophagy to promote cisplatin resistance in osteosarcoma[J]. *Autophagy*, 2022. doi:10.1080/15548627.2022.2150003. [Online ahead of print]
- [33] Gupta P, Zhao H, Hoang B, et al. Targeting the untar-getable: RB1-deficient tumours are vulnerable to Skp2 ubiquitin ligase inhibition [J]. *Br J Cancer*, 2022, 127(6): 969–975.
- [34] Lee SH, Lee YJ, Jung S, et al. E3 ligase adaptor FBXO7 contributes to ubiquitination and proteasomal degradation of SIRT7 and promotes cell death in response to hydrogen peroxide[J]. *J Biol Chem*, 2023, 299(3):102909.
- [35] Welcker M, Clurman BE. FBW7 ubiquitin ligase: a tumour suppressor at the crossroads of cell division, growth and differentiation[J]. *Nat Rev Cancer*, 2008, 8(2):83–93.
- [36] Jiménez-Izquierdo R, Morrugares R, Suanes-Cobos L, et al. FBXW7 tumor suppressor regulation by dualspecificity tyrosine-regulated kinase 2[J]. *Cell Death Dis*, 2023, 14(3):202.
- [37] Westbrook TF, Hu G, Ang XL, et al. SCFbeta-TRCP controls oncogenic transformation and neural differentiation through REST degradation [J]. *Nature*, 2008, 452(7185): 370–374.
- [38] Takamori H, Yamasaki T, Kitadai R, et al. Development of drugs targeting hypoxia-inducible factor against tumor cells with VHL mutation: story of 127 years[J]. *Cancer Sci*, 2023, 114(4):1208–1217.
- [39] Iliopoulos O, Kibel A, Gray S, et al. Tumour suppression by the human von Hippel-Lindau gene product[J]. *Nat Med*, 1995, 1(8):822–826.
- [40] Gnarr JR, Tory K, Weng Y, et al. Mutations of the VHL tumour suppressor gene in renal carcinoma[J]. *Nat Genet*, 1994, 7(1):85–90.
- [41] Dohlman HG, Campbell SL. Regulation of large and small G proteins by ubiquitination[J]. *J Biol Chem*, 2019, 294(49): 18613–18623.
- [42] Xu L, Lubkov V, Taylor LJ, et al. Feedback regulation of Ras signaling by Rabex-5-mediated ubiquitination[J]. *Curr Biol*, 2010, 20(15):1372–1377.
- [43] Hobbs GA, Gunawardena HP, Baker R, et al. Site-specific monoubiquitination activates Ras by impeding GTPase-activating protein function [J]. *Small GTPases*, 2013, 4(3): 186–192.
- [44] Sasaki K, Hayamizu Y, Murakami R, et al. Linear ubiquiti-

- nation-induced necrotic tumor remodeling elicits immune evasion[J]. *FEBS Lett*, 2023, 597(9):1193–1212.
- [45] Annunziata CM, Davis RE, Demchenko Y, et al. Frequent engagement of the classical and alternative NF-kappa13 pathways by diverse genetic abnormalities in multiple myeloma[J]. *Cancer Cell*, 2007, 12(2):115–130.
- [46] Pelzer C, Cabalzar K, Wolf A, et al. The protease activity of the paracaspase MALT1 is controlled by monoubiquitination[J]. *Nat Immunol*, 2013, 14(4):337–345.
- [47] Zender L, Spector MS, Xue W, et al. Identification and validation of oncogenes in liver cancer using an integrative oncogenomic approach [J]. *Cell*, 2006, 125 (7):1253–1267.
- [48] Trotman LC, Wang X, Alimonti A, et al. Ubiquitination regulates PTEN nuclear import and tumor suppression[J]. *Cell*, 2007, 128(1):141–156.
- [49] Reyes-Turcu FE, Ventii KH, Wilkinson KD. Regulation and cellular roles of ubiquitin-specific deubiquitinating enzymes[J]. *Annu Rev Biochem*, 2009, 78:363–397.
- [50] Hymowitz SG, Wertz IE. A20: from ubiquitin editing to tumour suppression[J]. *Nat Rev Cancer*, 2010, 10(5):332–341.
- [51] Pereg Y, Liu BY, O'Rourke KM, et al. Ubiquitin hydrolase DUB3 promotes oncogenic transformation by stabilizing CDC25A[J]. *Nat Cell Biol*, 2010, 12(4):400–406.
- [52] Liu Y, Xu K, Yao Y, et al. Current research into A20 mediation of allergic respiratory diseases and its potential usefulness as a therapeutic target[J]. *Front Immunol*, 2023, 14:1166928.
- [53] Massoumi R. CYLD: a deubiquitination enzyme with multiple roles in cancer[J]. *Future Oncol*, 2011, 7(2):285–297.
- [54] Kanapathipillai M. Treating p53 mutant aggregation-associated cancer[J]. *Cancers(Basel)*, 2018, 10(6):154.
- [55] Brown JP, Pagano M. Mechanism of p53 degradation[J]. *Biochim Biophys Acta*, 1997, 1332(2):1–6.
- [56] Cai JB, Shi GM, Dong ZR, et al. Ubiquitin-specific protease 7 accelerates p14 (ARF) degradation by deubiquitinating thyroid hormone receptor-interacting protein 12 and promotes hepatocellular carcinoma progression [J]. *Hepatology*, 2015, 61(5):1603–1614.
- [57] Liu X, Yang X, Li Y, et al. Trip12 is an E3 ubiquitin ligase for USP7/HAUSP involved in the DNA damage response[J]. *FEBS Lett*, 2016, 590(23):4213–4222.
- [58] Ye Z, Chen J, Huang P, et al. Ubiquitin-specific peptidase 10, a deubiquitinating enzyme: assessing its role in tumor prognosis and immune response[J]. *Front Oncol*, 2022, 12:990195.
- [59] Zhang F, Zhao Y, Sun Y. USP2 is an SKP2 deubiquitylase that stabilizes both skp2 and its substrates[J]. *J Biol Chem*, 2021, 297(4):101109.
- [60] Yang Y, Ludwig RL, Jensen JP, et al. Small molecule inhibitors of HDM2 ubiquitin ligase activity stabilize and activate p53 in cells[J]. *Cancer Cell*, 2005, 7(6):547–559.
- [61] Issaeva N, Bozko P, Enge M, et al. Small molecule RITA binds to p53, blocks p53-HDM-2 interaction and activates p53 function in tumors[J]. *Nat Med*, 2004, 10(12):1321–1328.
- [62] VanderBorgh A, Valckx A, Van Dun J, et al. Effect of an hdm-2 antagonist peptide inhibitor on cell cycle progression in p53-deficient H1299 human lung carcinoma cells [J]. *Oncogene*, 2006, 25(50):6672–6677.
- [63] Adams J. The development of proteasome inhibitors as anticancer drugs[J]. *Cancer Cell*, 2004, 5(5):417–421.
- [64] Ling YH, Liebes L, Jiang JD, et al. Mechanisms of proteasome inhibitor PS-341-induced G(2)-M-phase arrest and apoptosis in human non-small cell lung cancer cell lines [J]. *Clin Cancer Res*, 2003, 9(3):1145–1154.
- [65] Meister S, Schubert U, Neubert K, et al. Extensive immunoglobulin production sensitizes myeloma cells for proteasome inhibition[J]. *Cancer Res*, 2007, 67(4):1783–1792.