

泛素-蛋白酶体系统在铁死亡中的作用

刘慧敏 凌能 叶茂*

(湖南大学生物学院, 长沙 410082)

摘要 铁死亡是一种新型的由铁积累和脂质过氧化驱动的调节性细胞死亡方式, 且越来越多的证据表明铁死亡对包括肿瘤在内的多种疾病的发生发展有重要作用。因此, 利用铁死亡进行疾病的治疗也成为基础研究和临床研究的一大方向。泛素-蛋白酶体系统(the ubiquitin-proteasome system, UPS)是真核生物蛋白的主要降解途径之一, 是由泛素(ubiquitin, Ub)先标记要降解的蛋白质, 进而由蛋白酶体识别和降解的过程。泛素-蛋白酶体途径功能失调会导致多种病理过程发生, 因此, 它对维持生物体机能稳定具有重要的意义。蛋白质稳定性的调节是铁死亡复杂的分子机制中至关重要的一部分, 而泛素-蛋白酶体系统作为真核生物中大分子稳态的关键调节系统, 它可以通过调节铁死亡相关分子或相关信号通路等多种方式直接或间接影响铁死亡, 在铁死亡中发挥着重要作用。因此, 该文就泛素-蛋白酶体系统参与调节铁死亡的相关分子或信号通路等方面进行综述, 以期能为以铁死亡为靶点的疾病治疗提供一定参考。

关键词 铁死亡; 泛素-蛋白酶体途径; 降解

Role of the Ubiquitin-Proteasome System in Ferroptosis

LIU Huimin, LING Neng, YE Mao*

(College of Biology, Hunan University, Changsha 410082, China)

Abstract Ferroptosis is a new type of regulated cell death caused by iron dependent lipid peroxidation. Growing evidences indicate that ferroptosis plays an important role in the occurrence and development of various diseases including tumor. Therefore, how to treat diseases by regulating ferroptosis has become a major direction of basic and clinical research. The UPS (ubiquitin-proteasome system) is the main degradation pathway of eukaryotic proteins. Ub (ubiquitin) is conjugated to proteins that should be degraded, and then the proteasome recognizes and degrades them. Dysfunction of the ubiquitin-proteasome pathway leads to a variety of pathological processes, thus maintain the stability of its biological functions is of great significance. Regulation of protein stability is a crucial part of the complex molecular mechanism of ferroptosis, and the ubiquitin-proteasome system, as a key regulatory system of macromolecular homeostasis in eukaryotes, can directly or indirectly affect ferroptosis by regulating related molecules or related signaling pathways. To provide a reference for the treatment of diseases targeting ferroptosis, this article review the related molecules or signaling pathways involved in the regulation of ferroptosis by the ubiquitin proteasome system.

Keywords ferroptosis; the ubiquitin-proteasome system; degradation

收稿日期: 2022-07-30

接受日期: 2022-09-07

国家自然科学基金(批准号: 81672760)和湖南省重点研发计划项目(批准号: 2018SK2128)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0731-88821834, E-mail: yemaocsu@hotmail.com

Received: July 30, 2022

Accepted: September 7, 2022

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81672760) and the Key Project of Research and Development of Hunan Province (Grant No.2018SK2128)

*Corresponding author. Tel: +86-731-88821834, E-mail: yemaocsu@hotmail.com

过去几十年里,有多种形式的细胞死亡被确定为调节性细胞死亡(regulated cell death, RCD)^[1]。最让人熟知的RCD之一是细胞凋亡。它是第一个在分子水平上被描述的受调控和程序化的细胞死亡形式^[2]。然而,在过去几十年中,除了凋亡外,许多新类型的非凋亡RCD已被陆续发现,它们具有独特的生物学过程和病理生理学特征。其中, Stockwell及其同事于2012年发现的铁死亡(ferroptosis)就是一种重要的非凋亡RCD^[3],这是一种由脂质过氧化和随后的质膜破裂积累引起的铁依赖性RCD,可通过外源或内源途径诱发产生^[4]。其中,外源途径是通过抑制细胞膜上的转运体如胱氨酸/谷氨酸转运体(system XC)或激活转铁蛋白(transferrin, TF)和乳转铁蛋白(lactotransferrin, LTF)启动的。内源途径是由细胞内谷胱甘肽过氧化物酶4(glutathione peroxidase 4, GPX4)等抗氧化酶受到阻断而诱发产生^[4-5]。铁死亡在包括植物和动物领域在内的各种生物的发育和疾病中起着至关重要的作用^[6-7],且近年来成为了生物学研究的一大热点。在人类疾病中,已有研究表明铁死亡与癌症^[8]、神经退行性疾病^[9]、心肌病^[10]和缺血再灌注损伤^[11]、中风^[12]、脑出血创伤性脑损伤^[13]、衰老^[14]、动脉粥样硬化^[15]、肝损伤^[16]和肾损伤^[17]的发生发展或相关的病理细胞死亡有关。随着分子生物学的发展,介导铁死亡的各种调节因子以及相关机制正在被揭示,铁死亡的基础研究也在逐步深入。在众多影响铁死亡的分子机制中,泛素-蛋白酶体途径广泛参与其中,且与肿瘤等多种疾病的发生发展密切相关。因此,了解泛素蛋白酶体系统与铁死亡的关系可以为理解复杂的铁死亡机制提供帮助,为包括肿瘤在内的人类疾病治疗提供新策略。

1 铁死亡及其特征

铁死亡是近几年发现的一种新的细胞程序性死亡方式,是由铁介导的多不饱和脂肪酸(polyunsaturated fatty acid, PUFA)氧化引起的细胞死亡^[3]。在生化特征上,铁死亡是一种与活性氧(reactive oxygen species, ROS)聚集有关的细胞死亡形式,主要表现为铁蓄积和脂质过氧化^[8]。当细胞中的抗氧化体系代谢紊乱时,胞内Fe²⁺的蓄积能够介导芬顿(Fenton)反应产生具有不同过氧化物物质的羟基($\cdot\text{OH}$)或烷氧基($\text{RO}\cdot$)自由基^[18],这些自由基与细胞膜上的不饱和脂肪酸发生过氧化反应,引起脂质双分子层稳定

性受到破坏,细胞膜解体,进而促进细胞发生铁死亡^[3]。在形态学上,发生铁死亡的细胞线粒体的形态会发生显著变化,包括出现线粒体体积缩小、膜密度增加、嵴减少甚至消失等现象,与细胞凋亡相比,发生铁死亡的细胞的核结构完整,无核膜破裂和染色质边缘化的现象,并且伴随着细胞的脱落和聚集^[3,8,19]。

铁死亡发生或抑制过程伴随着多种分子机制,与细胞内氨基酸、脂质和铁代谢以及其他代谢方式密切相关。铁死亡的调节机制分为正向调控与负向调控机制,铁的代谢是铁死亡中最重要的正向调控机制。如上所述,细胞中铁离子的过度积累会促进铁死亡的发生。胞外的Fe³⁺经转铁蛋白、转铁蛋白受体1(transferrin receptor protein 1, TFR1)的作用后内吞进入胞体。在细胞内Fe³⁺被还原成亚铁离子Fe²⁺后,一部分由DMT1(divalent metal transporter 1)或ZIP8/14(ZRT/IRT-like proteins 8/14)介导Fe²⁺进一步储存到不稳定的铁池中,另一部分储存在FTL(ferritin light chain)与FTH1(ferritin heavy chain)组成的铁储存蛋白复合物中。而当Fe²⁺过度积累时,就会触发上述的芬顿反应,从而促进细胞发生铁死亡^[4,8]。

细胞中还存在着至关重要的铁死亡负向调控机制。其中SLC7A11-GSH-GPX4途径被认为是细胞中主要的负向调控机制^[20]。在哺乳动物细胞中,细胞膜上system XC⁻的成员 SLC7A11能将胱氨酸摄入细胞用以合成GSH, GSH作为细胞内重要的脂质过氧化物酶GPX4发挥活性的必要成分,使GPX4直接将磷脂过氧化氢还原为羟基磷脂,阻止细胞膜上的PUFA发生过氧化反应从而抑制细胞发生铁死亡^[21]。同时,越来越多的研究表明细胞中还存在着非GPX4依赖的铁死亡负向调控机制,如FSP1-CoQH₂系统、DHODH-CoQH₂系统以及GCH1-BH₄系统。其中, FSP1(ferroptosis suppressor protein 1)作为NAD(P)H依赖的氧化还原酶,能够将辅酶Q(CoQ)还原为泛醇(CoQH₂),进而捕获脂质过氧自由基,抑制脂质过氧化和铁死亡^[22-23]。此外,一项研究确定了第一个发生在线粒体内的铁死亡防御机制——一种参与嘧啶合成的酶DHODH(dihydroorotate dehydrogenase)可在线粒体内膜将CoQ还原为CoQH₂,进而中和脂质过氧化,防御线粒体中的铁死亡^[24]。在GCH1-BH₄系统中, GCH1(GTP cyclohydrolase 1)通过生成BH₄(tetrahydrobiopterin)作为自由基捕获抗氧化剂,以及通过GCH1介导的CoQH₂和含有两个PUFA尾的

磷脂(FLs)的产生来抑制铁死亡^[25]。此外,铁死亡中几种转录因子(例如TP53、NFE2L2/NRF2、ATF3等)通过转录依赖或转录非依赖性方式对铁死亡敏感性的调节发挥着多重作用^[26]。

2 泛素-蛋白酶体途径

泛素化是一种可逆的蛋白质翻译后修饰(post-translational modification, PTM),通过一类具有76个氨基酸的小分子多肽——泛素分子在由E1激活酶(ubiquitin-activating enzyme, E1)、E2结合酶(ubiquitin conjugating enzyme, E2)和E3泛素连接酶(ubiquitin protein ligase, E3)组成的酶级联催化作用下,与靶蛋白质共价结合进行修饰的过程^[27]。蛋白质的泛素化修饰主要包括单泛素化修饰和多聚泛素化。单泛素化是最简单的泛素化,指单个泛素分子共价连接到目标蛋白质中赖氨酸残基上的过程^[28]。而多聚泛素化修饰包括K6、K11、K27、K29、K33、K48和K63位的修饰。其中,K48和K63修饰的研究较多,K48位多聚泛素化修饰能被26S蛋白酶体识别并降解,发挥调控蛋白质稳定性的作用,而K63位作用主要参与DNA修复,介导信号转导、调控蛋白质的活性^[29-30]。除了上述7种泛素修饰外,细胞内还存在着一种用于修饰蛋白质的泛素链类型——线性泛素链(M1型),这是由一个泛素的N末端甲硫氨酸残基和另一个泛素的C末端甘氨酸残基首尾共价相连的类型。线性泛素链的形成与去除过程较为特殊,泛素连接酶HOIP和两个调节亚基HOIL1L、SHARPIN组成的线性泛素链组装复合物(linear ubiquitin chain assembly complex, LUBAC)是目前发现的唯一一个介导线性泛素链合成的E3泛素连接酶,而OTULIN(OTU deubiquitinase with linear linkage specificity)是一种特异性去除线性泛素链的去泛素化酶(deubiquitinating enzymes, DUBs)^[31]。

蛋白质的泛素化往往是一个可逆的过程,被泛素化修饰的蛋白质也可以被去泛素化酶移除泛素发生去泛素化^[32]。目前研究证明人类基因组可编码100多种去泛素化酶,主要分为半胱氨酸蛋白酶和金属蛋白酶两大类,其中半胱氨酸蛋白酶可细分为USPs(ubiquitin-specific proteases)、UCHs(ubiquitin carboxyl-terminal hydrolases)、OTUs(otubain/ovarian tumor-domain containing proteins)、MJDs(machado-joseph disease domain superfamily)、MINDYs(motif

interacting with Ub-containing novel DUB family)、ZUP1(zinc finger-containing ubiquitin peptidase 1)六大家族^[33]。去泛素化酶除了能逆转底物蛋白质的泛素化修饰外,还参与泛素链的编辑、泛素分子的回收以及泛素前体的加工和成熟^[34]。因此,细胞中去泛素化酶的异常表达或活化都会直接或间接使相应的信号通路调控紊乱,从而导致肿瘤等多种疾病的发生。综上,泛素、泛素激活酶、泛素结合酶、泛素连接酶、去泛素化酶、26s蛋白酶体及其底物蛋白构成了泛素-蛋白酶体系统。研究表明,泛素-蛋白酶体途径是细胞内蛋白质降解的最主要途径,真核细胞内高达80%~85%的蛋白质通过泛素-蛋白酶体途径进行降解^[35]。泛素化标签修饰在底物上后,能改变修饰底物的功能、定位、蛋白质相互作用或稳定性,进而参与调控包括细胞周期、细胞凋亡、转录调控、DNA损伤修复以及免疫应答等在内的多种细胞生命活动,对于细胞生长具有重要意义^[36-37]。在疾病治疗方面,靶向蛋白酶体系统对于肿瘤、阿尔茨海默病、帕金森病、亨廷顿氏病、肌萎缩性脊髓侧索硬化症和海绵状脑病和心律失常等多种疾病治疗的一个重要策略^[38]。

3 泛素-蛋白酶体途径与铁死亡

3.1 泛素-蛋白酶体系统与铁离子转运系统

铁代谢相关因子在铁死亡当中扮演着重要的角色,是诱导细胞发生铁死亡的潜在靶点。研究表明,在结肠癌中去泛素化酶OTUD1(ovarian tumor deubiquitinase 1)可以结合并促进铁代谢的主要调节因子IREB2(iron-responsive element-binding protein 2)的去泛素化修饰,促进IREB2蛋白的稳定性,进而激活其下游转铁蛋白基因TFRC(transferrin receptor)的表达,导致细胞内Fe²⁺聚集、ROS水平升高,最终增强结肠癌细胞对铁死亡的敏感性,并促进DAMPs(damage-associated molecular patterns)的释放,进而募集白细胞并增强宿主免疫反应^[39]。乳铁蛋白(lactoferrin, LF)作为糖蛋白转铁蛋白家族的一员,可以特异性结合和运输铁。与转铁蛋白类似,LTF通过增加铁摄取促进胰腺癌和卵巢癌细胞的铁死亡,而E3泛素连接酶NEDD4L可以介导LTF的蛋白降解,从而在体外减少了铁死亡激活剂RSL3和Erastin诱导的癌细胞铁死亡过程中的铁积累和氧化损伤^[40]。FPN(ferroportin)是细胞内铁代谢的平衡的

重要转铁蛋白,负责铁的向外运输,它也是哺乳动物体内唯一已发现的铁转运蛋白^[41-42]。研究表明,人肺癌细胞和肺癌组织中USP35显著高表达,USP35可以通过靶向FPN,保持FPN蛋白的稳定性。功能上,在肺癌细胞中敲低USP35可以通过下调FPN蛋白水平直接促进铁死亡,并抑制细胞生长和克隆形成。且在铁死亡激活剂Erastin或RSL3刺激条件下敲低USP35可以使肺癌细胞铁代谢紊乱并发生铁死亡,进而促进肺癌细胞的生长和肿瘤进展^[43]。

3.2 泛素-蛋白酶体系统与SLC7A11

研究表明,去泛素化酶OTUB1(OTU domain-containing ubiquitin aldehyde-binding protein 1)可以在细胞黏附分子CD44(cluster of differentiation-44)的作用下被募集,通过移除SLC7A11上的泛素链,阻止其通过蛋白酶体被降解,提高其稳定性,从而抑制肿瘤发生铁死亡^[44]。但是在人类肿瘤中导致SLC7A11降解的关键E3连接酶暂不清楚。由于SLC7A11受到TP53、NFE2L2/NRF2、ATF3、ATF4、BACH1等多个转录因子的调节和表观遗传的调控^[26]。因此,除了受蛋白酶体途径在蛋白水平的直接调控外,SLC7A11还通过转录因子间接受到蛋白酶体途径影响,而参与到铁死亡的调控中。研究表明在神经胶质瘤细胞中,KEAP1-NRF2信号轴的激活会上调SLC7A11,促进谷氨酸分泌,从而影响肿瘤微环境,并促进细胞增殖和对铁死亡的抗性^[45]。在肺癌细胞中,p53可以促进去泛素化酶USP7的核转位,转位的USP7进一步从SLC7A11基因调控区移除组蛋白H2B的泛素化,从而导致SLC7A11转录受到抑制,并使SLC7A11表达失活,进而促进细胞铁死亡^[46]。另外,去泛素化酶BAP1可去除SLC7A11启动子上组蛋白H2A赖氨酸119位点的单泛素化,从而抑制SLC7A11转录,进一步减少细胞胱氨酸的摄取,增加铁死亡敏感性,且此过程不依赖于p53^[47-48]。更进一步的研究发现PRC1(polycomb repressive complex 1)能够利用Ring1B、Bmi1和一种E2泛素结合酶UbcH5c将组蛋白H2A泛素化,而SLC7A11启动子上H2A的这种泛素化会抑制SLC7A11的转录,并且BAP1与PRC1可协同调控SLC7A11启动子H2A的泛素化水平,进而调控SLC7A11的表达^[49],因此,不排除BAP1与PRC1很有可能通过协同调控SLC7A11参与铁死亡调控。

3.3 泛素-蛋白酶体系统与GPX4

有研究表明,去泛素化酶的一种广谱抑制剂

PdPT通过促进非小细胞肺癌细胞中GPX4蛋白的降解来诱导铁死亡,进一步抑制肿瘤生长^[50]。具体机制是PdPT能够抑制包括USP家族成员(USP14、USP15、USP10、USP7和USP25),以及UCH家族成员UCHL5在内的多种去泛素化酶对GPX4的去泛素化作用导致GPX4被泛素化降解。而蛋白酶体抑制剂硼替佐米能够逆转PdPT诱导的GPX4降解作用,这表明蛋白酶体对PdPT诱导的GPX4降解引发的铁死亡起着重要作用^[50]。此外,还有研究通过分析细胞铁死亡中不同类型泛素化修饰的变化,发现细胞铁死亡促进了胞内线性泛素化水平的提高,并且表明线性泛素化可调控细胞铁死亡。当铁死亡激活剂RSL3刺激时GPX4被大量泛素化,从而招募更多的线性泛素链组装复合物LUBAC,LUBAC通过调控GPX4的线性泛素化水平,增强其蛋白稳定性以延缓细胞铁死亡的发生,从而抑制细胞铁死亡。利用体外去泛素化反应系统分析细胞铁死亡时GPX4的泛素化状态,发现GPX4存在多种类型的泛素化修饰,其中K63泛素化为主要类型,M1和K48泛素链可以与K63泛素链相连,形成杂合泛素链。而去泛素化酶OTUD5(ovarian tumor deubiquitinase 5)可以去除GPX4的K63泛素链,使LUBAC招募减少,线性泛素化水平降低,破坏GPX4的蛋白稳定性,进一步影响细胞发生铁死亡^[51]。

3.4 泛素-蛋白酶体系统与NRF2

NRF2(nuclear factor E2-related factor 2)是控制细胞氧化还原稳态和调节抗氧化基因至关重要的一个转录因子。在细胞正常生理条件下,NRF2在细胞质结合它的负性调节分子KEAP1(Kelch-like ECH-associated protein 1)后被泛素化标记,进而被运输到蛋白酶体中降解,但是当细胞受到氧化应激、亲电刺激后,KEAP1结构上的半胱氨酸残基就会与胞内的ROS或亲电试剂结合,引起构象的改变,此时NRF2与KEAP1发生解离,因此,稳定的NRF2经历核易位并与靶基因启动子区域的抗氧化反应元件ARE(antioxidant response element)相互作用,激活许多细胞保护基因的表达,进而影响细胞多种生物学功能,如凋亡、衰老等^[52]。KEAP1-NRF2信号通路在维持适当的氧化还原稳态方面的作用已得到充分证实,同时,也有越来越多的证据表明KEAP1-NRF2与铁死亡的调节有密切联系。如最近有研究者使用CRISPR筛选的方式发现,KEAP1是铁死亡的

关键调节因子, 并且表明KEAP1的缺乏会增强细胞对铁死亡的抗性^[53]。该机制可能是通过p62-Keap1-NRF2途径上调参与铁和ROS代谢的多种基因(如*SLC7A11*、*NQO1*、*HO1*和*FTH1*)的表达, 从而抑制细胞铁死亡^[54]。NRF2在受到E3酶KEAP1的严格调控时, 它在细胞中也有相应的稳定机制, 有研究表明, 在非小细胞肺癌中, 去泛素化酶USP11通过稳定NRF2蛋白来调节细胞增殖和铁死亡^[55]。随着铁死亡机制在肿瘤中的应用研究逐渐增多, NRF2也作为一个重要靶点来进行肿瘤的治疗。研究表明阻断NRF2可增强铁死亡诱导剂包括Erastin、索拉非尼的体外和体内抗癌活性^[54,56]。另外, NRF2的激活可以防止铁死亡引起的肾脏组织损伤^[57]。NRF2还抑制参与GSH释放的基因(例如*ABCC1*/*MRP1*)的表达, 从而在体外促进RSL3、Erastin和ML162诱导的铁死亡^[58]。这些发现表明了NRF2在铁死亡中的功能大多数具有转录依赖性, 即通过其转录因子的作用, 调控铁死亡相关基因的转录水平, 进而影响铁死亡, 但是对其在铁死亡中的转录非依赖性功能的研究很少。从疾病治疗意义上来说, 细胞的抗氧化剂、铁和中间代谢状态都可以由NRF2靶基因介导。且抑制引发铁死亡的两个最关键的靶点GPX4和SLC7A11都已被证实受NRF2调节, 并进一步调控铁死亡^[45,59]。因此, 在以脂质过氧化和铁死亡为主要特征的疾病中靶向NRF2仍然是一种非常可行的方法。

3.5 其他

最近一项研究表明, 去泛素化酶USP11(ubiquitin specific peptidase 11)通过去泛素化Beclin 1调节脊髓缺血再灌注损伤后自噬依赖性铁死亡, 这种相互作用触发了自噬激活、促进自噬铁蛋白降解, 进一步导致铁死亡^[60]。低氧环境对于细胞的铁死亡也具有重要影响。缺氧诱导因子HIFs(hypoxia-inducible factors)是一类对细胞低氧敏感的特异性转录因子, 包括HIF1A/HIF1 α 、EPAS1/HIF2 α 、HIF3A/HIF3 α 三个 α 亚单位和一个ARNT/HIF1 β 亚单位。研究表明在不同类型的肿瘤中, HIFs可能对铁死亡的调节具有两面性。一方面, *HIF1A*通过转录诱导两种脂肪酸结合蛋白的表达, 进而抑制RSL3和铁死亡激活剂FIN56诱导的铁死亡, 进一步促进人成纤维肉瘤细胞中脂肪酸的摄取和储存。而EPAS1则通过在体外反式激活肾癌细胞中编码低氧诱导脂滴的基因, 选择性地富集多不饱和脂质, 从而促进铁死亡激活剂

RSL3、ML162或ML210诱导的铁死亡^[61-62]。VHL作为HIFs的特异性的E3酶, 直接决定HIFs稳定性, 使得其同样也与铁死亡调控密切相关。RO的产生主要来源于线粒体, 因此线粒体功能和活性的稳定对于铁死亡具有重要意义。多功能通道蛋白家族的电压依赖性阴离子通道VDAC(voltage-dependent anion channel)是介导真核细胞内代谢物和离子通过线粒体外膜转运的重要成分^[63]。研究表明, Erastin可以直接与VDAC2结合, 诱导铁死亡。当Erastin诱导黑色素瘤细胞时, VDAC2和VDAC3会通过E3泛素蛋白连接酶NEDD4介导的蛋白酶体依赖性降解形成一种负反馈调节机制^[64]。但是特定的线粒体E3连接酶是否参与了铁死亡中VDAC的降解还需要进一步的研究来确定。最近的一项研究表明, 在肿瘤相关成纤维细胞中, 去泛素化酶USP7(ubiquitin-specific protease-7)可以在肿瘤相关成纤维细胞CAFs(cancer-associated fibroblasts)中促进miRNA分拣相关蛋白hnRNPA1的去泛素化, 促进CAFs中外泌体miR-522的分泌, 分泌的外泌体miR-522进一步通过靶向胃癌细胞中*ALOX15*并抑制其表达来抑制胃癌细胞的铁死亡^[65]。

4 总结与展望

随着本文介绍了泛素-蛋白酶体途径在铁死亡中的机制及功能。随着对铁死亡及其机制的理解不断加深, 越来越多的证据表明泛素-蛋白酶体系统中的成员参与到铁死亡的调控中, 并发挥着重要作用(图1)。从上述内容中可以发现泛素-蛋白酶体系统在铁死亡的调控中具有双重功能(表1)。如去泛素化酶USP7、BAP1、OTUD1、USP35等可以促进铁死亡或增强铁死亡敏感性, 去泛素化酶OTUB1、E3连接酶NEDD4L、KEAP1则抑制铁死亡。泛素-蛋白酶体途径中的同种分子在不同疾病中也有着双重作用。USP11在肺癌中抑制铁死亡, 但是在脊髓缺血再灌注损伤中起到了促进铁死亡的作用。USP7在肺癌及肝癌细胞中促进铁死亡, 但在胃癌细胞中起到抑制作用。可见, 泛素-蛋白酶体途径对铁死亡的调控作用很大程度上取决于底物分子在铁死亡中扮演的角色。但泛素-蛋白酶体途径中的成员是否可以不通过其底物而直接引起铁死亡值得进一步研究。目前已经有越来越多的研究表明, 铁死亡与包括肿瘤在内的多种疾病的发生发展有密切联系。本

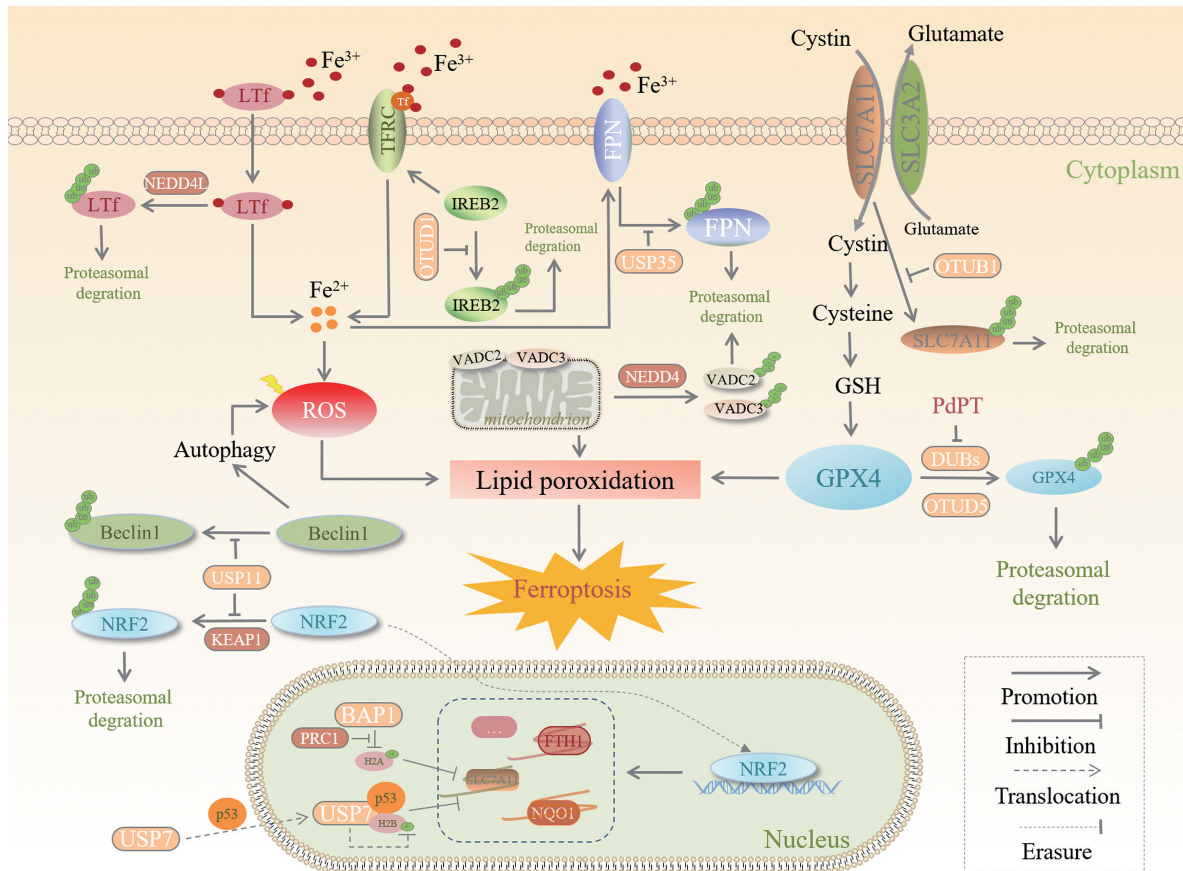


图1 泛素-蛋白酶体系统在铁死亡中的作用

Fig.1 Role of the ubiquitin-proteasome system in ferroptosis

表1 泛素-蛋白酶体系统在铁死亡的调控中具有双重功能

Table 1 Ubiquitin-proteasome system has dual functions in the regulation of ferroptosis

名称 Name	分子机制 Molecular mechanism	与铁死亡的关系 Promote or inhibit ferroptosis	参考文献 References
OTUD5	Remove the K63 ubiquitin chain of GPX4	+	[51]
OTUB1	Deubiquitination and stabilization of SLC7A11	-	[44]
KEAP1	The E3 ligase adaptor of NRF2	-	[54]
USP7	p53 promotes the nuclear translocation of USP7, which Deubiquit and stabilize of H2B;	+	[46]
	deubiquitination and stabilization of hnRNPA	-	[65]
BAP1	Deubiquitination and stabilization of H2A	+	[47]
PRC1	Ubiquitination of H2A	-	[49]
UbcH5c		-	
OTUD1	Deubiquitination and stabilization of IREB2	+	[39]
NEDD4L	The E3 ligase adaptor of LTF, ubiquitination of LTF	-	[40]
USP35	Deubiquitination and stabilization of FPN	+	[43]
USP11	Deubiquitination and stabilization of NRF2	-	[55]
	Deubiquitination and stabilization of Beclin 1	+	[60]
VHL	The E3 ligase adaptor of HIFs	-	[61-62]
NEDD4	The E3 ligase adaptor of VDAC2 and VDAC3	-	[64]

+: 促进; -: 抑制。

+: promotion; -: inhibition.

文提示我们可以利用E3泛素连接酶抑制剂或去泛素化酶抑制剂来诱导或抑制铁死亡, 进而达到治疗疾病的作用。同时, 将E3泛素连接酶抑制剂或去泛素化酶抑制剂与其他化疗药物进行联用或与放疗进行联合治疗也是一种有潜力的治疗方案。因此, 深入理解泛素-蛋白酶体途径在铁死亡中的作用, 对耐药性肿瘤、缺血性器官损伤和其他与广泛脂质过氧化有关的退行性疾病的治疗提供了重要的参考。然而, 目前对泛素-蛋白酶体途径与铁死亡关系的研究还不够充分, 探索更多潜在机制和功能将进一步推动铁死亡研究的发展。

参考文献 (References)

- [1] GALLUZZI L, VITALE I, AARONSON S A, et al. Molecular mechanisms of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death [J]. *Cell Death Differ*, 2018, 25(3): 486-541.
- [2] CONRAD M, ANGELI J, VANDENABEELE P, et al. Regulated necrosis: disease relevance and therapeutic opportunities [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2016, 15(5): 348-66.
- [3] DIXON S, LEMBERG K, LAMPRECHT M, et al. Ferroptosis: an iron-dependent form of nonapoptotic cell death [J]. *Cell*, 2012, 149(5): 1060-72.
- [4] TANG D, KROEMER G. Ferroptosis [J]. *Curr Biol*, 2020, 30(21): R1292-R7.
- [5] INGOLD I, BERNDT C, SCHMITT S, et al. Selenium utilization by gpx4 is required to prevent hydroperoxide-induced ferroptosis [J]. 2018, 172(3): 409-22.
- [6] JIANG X, STOCKWELL B R, CONRAD M. Ferroptosis: mechanisms, biology and role in disease [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2021, 22(4): 266-82.
- [7] DISTÉFANO A M, MARTIN M V, CÓRDOBA J P, et al. Heat stress induces ferroptosis-like cell death in plants [J]. *J Cell Biol*, 2017, 216(2): 463-76.
- [8] CHEN X, KANG R, KROEMER G, et al. Broadening horizons: the role of ferroptosis in cancer [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2021, 18(5): 280-96.
- [9] MASALDAN S, BUSH A I, DEVOS D, et al. Striking while the iron is hot: iron metabolism and Ferroptosis in neurodegeneration [J]. *Free Radic Biol Med*, 2019, 133: 221-33.
- [10] FANG X, WANG H, HAN D, et al. Ferroptosis as a target for protection against cardiomyopathy [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2019, 116(7): 2672-80.
- [11] LI W, LI W, LENG Y, et al. Ferroptosis is involved in diabetes myocardial ischemia/reperfusion injury through endoplasmic reticulum stress [J]. *DNA Cell Biol*, 2020, 39(2): 210-25.
- [12] ALIM I, CAULFIELD J T, CHEN Y X, et al. Selenium drives a transcriptional adaptive program to block ferroptosis and treat stroke [J]. *Cell*, 2019, 177(5): 1262-79.
- [13] BAO Z, LIU Y, CHEN B, et al. Prokineticin-2 prevents neuronal cell deaths in a model of traumatic brain injury [J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 4220.
- [14] TIMMERS P R H J, WILSON J F, JOSHI P K, et al. Multivariate genomic scan implicates novel loci and haem metabolism in human ageing [J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 3570.
- [15] OUYANG S, YOU J, ZHI C, et al. Ferroptosis: the potential value target in atherosclerosis [J]. *Cell Death Dis*, 2021, 12(8): 782.
- [16] CHEN J, LI X, GE C, et al. The multifaceted role of ferroptosis in liver disease [J]. *Cell Death Differ*, 2022, 29(3): 467-80.
- [17] TONNUS W, MEYER C, STEINBACH C, et al. Dysfunction of the key ferroptosis-surveilling systems hypersensitizes mice to tubular necrosis during acute kidney injury [J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 4402.
- [18] SU L J, ZHANG J H, GOMEZ H, et al. Reactive oxygen species-induced lipid peroxidation in apoptosis, autophagy, and ferroptosis [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2019, 2019: 5080843.
- [19] LI D, LI Y. The interaction between ferroptosis and lipid metabolism in cancer [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2020, 5(1): 108.
- [20] LEI G, ZHUANG L, GAN B. Targeting ferroptosis as a vulnerability in cancer [J]. *Nat Rev Cancer*, 2022, 22(7): 381-96.
- [21] KOPPULA P, ZHUANG L, GAN B, et al. Cystine transporter SLC7A11/xCT in cancer: ferroptosis, nutrient dependency, and cancer therapy [J]. *Protein Cell*, 2021, 12(8): 599-620.
- [22] BERSUKER K, HENDRICKS J M, LI Z, et al. The CoQ oxidoreductase FSP1 acts parallel to GPX4 to inhibit ferroptosis [J]. *Nature*, 2019, 575(7784): 688-92.
- [23] DOLL S, FREITAS F P, SHAH R, et al. FSP1 is a glutathione-independent ferroptosis suppressor [J]. *Nature*, 2019, 575(7784): 693-8.
- [24] MAO C, LIU X, ZHANG Y, et al. DHODH-mediated ferroptosis defence is a targetable vulnerability in cancer [J]. *Nature*, 2021, 593(7860): 586-90.
- [25] SOULA M, WEBER R A, ZILKA O, et al. Metabolic determinants of cancer cell sensitivity to canonical ferroptosis inducers [J]. *Nat Chem Biol*, 2020, 16(12): 1351-60.
- [26] DAI C, CHEN X, LI J, et al. Transcription factors in ferroptotic cell death [J]. *Cancer Gene Ther*, 2020, 27(9): 645-56.
- [27] GLICKMAN M H, CIECHANOVER A J P R. The Ubiquitin-proteasome proteolytic pathway: destruction for the sake of construction [J]. 2002, 82(2): 373-428.
- [28] YAU R, RAPE M. The increasing complexity of the ubiquitin code [J]. *Nat Cell Biol*, 2016, 18(6): 579-86.
- [29] WALCZAK H, IWAI K, DIKIC I. Generation and physiological roles of linear ubiquitin chains [J]. *BMC Biol*, 2012, 10: 23.
- [30] HERSHKO A, CIECHANOVER A. The ubiquitin system [J]. *Annu Rev Biochem*, 1998, 67: 425-79.
- [31] JAHAN A S, ELBK C R, DAMGAARD R B, et al. Met1-linked ubiquitin signalling in health and disease: inflammation, immunity, cancer, and beyond [J]. *Cell Death Differ*, 2021, 28(2): 473-92.
- [32] LANGE S M, ARMSTRONG L A, KULATHU Y. Deubiquitinases: from mechanisms to their inhibition by small molecules [J]. *Mol Cell*, 2022, 82(1): 15-29.
- [33] CLAGUE M J, URBE S, KOMANDER D. Breaking the chains: deubiquitylating enzyme specificity begets function [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2019, 20(6): 338-52.
- [34] HAQ S, RAMAKRISHNA S. Deubiquitylation of deubiquitylases [J]. *Open Biol*, 2017, 7(6): 170016.

- [35] AMM I, SOMMER T, WOLF D H. Protein quality control and elimination of protein waste: the role of the ubiquitin-proteasome system [J]. 2014, 1843(1): 182-96.
- [36] STREICH F C, LIMA C D. Structural and functional insights to ubiquitin-like protein conjugation [J]. *Annu Rev Biophys*, 2014, 43: 357-79.
- [37] LU L, LI D, HE F C. Bioinformatics advances in protein ubiquitination [J]. *Yi Chuan*, 2013, 35(1): 17-26.
- [38] POHL C, DIKIC I. Cellular quality control by the ubiquitin-proteasome system and autophagy [J]. 2019, 366(6467): 818-22.
- [39] JIA S, TONG T L, YUE Y, et al. The deubiquitinase OTUD1 enhances iron transport and potentiates host antitumor immunity [J]. *EMBO Rep*. 2021, 22(2): e51162.
- [40] WANG Y, LIU Y, LIU J, et al. NEDD4L-mediated LTF protein degradation limits ferroptosis [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 531(4): 581-7.
- [41] KUANG Y, WANG Q J. Iron and lung cancer [J]. *Cancer Lett*, 2019, 464: 56-61.
- [42] GANZ T. Cellular iron: ferroportin is the only way out [J]. *Cell Metab*, 2005, 1(3): 155-7.
- [43] TANG Z, JIANG W, MAO M, et al. Deubiquitinase USP35 modulates ferroptosis in lung cancer via targeting ferroportin [J]. *Clin Transl Med*, 2021, 11(4): e390.
- [44] LIU T, JIANG L, TAVANA O, et al. The deubiquitylase OTUB1 mediates ferroptosis via stabilization of SLC7A11 [J]. 2019, 79(8): 1913-24.
- [45] FAN Z, WIRTH A K, CHEN D, et al. Nrf2-Keap1 pathway promotes cell proliferation and diminishes ferroptosis [J]. *Oncogenesis*, 2017, 6(8): e371.
- [46] WANG Y, YANG L, ZHANG X, et al. Epigenetic regulation of ferroptosis by H2B monoubiquitination and p53 [J]. *EMBO Rep*, 2019, 20(7): e47563.
- [47] ZHANG Y L, SHI J J, LIU X G, et al. BAP1 links metabolic regulation of ferroptosis to tumor suppression [J]. *Nat Cell Biol*, 2018, 20(10): 1181-92.
- [48] WANG H, WANG L, ERDJUMENT-BROMAGE H, et al. Role of histone H2A ubiquitination in polycomb silencing [J]. 2004, 431(7010): 873-8.
- [49] ZHANG Y, KOPPULA P, GAN B. Regulation of H2A ubiquitination and SLC7A11 expression by BAP1 and PRC1 [J]. *Cell Cycle*, 2019, 18(8): 773-83.
- [50] YANG L, CHEN X, YANG Q, et al. Broad spectrum deubiquitinase inhibition induces both apoptosis and ferroptosis in cancer cells [J]. *Front Oncol*, 2020, 10: 949.
- [51] 董康耘. 线性泛素化调控细胞铁死亡的机制研究[D]. 上海: 中国科学院大学(DONG K Y. Investigating the mechanism of linear ubiquitination in regulating ferroptosis [D]. Shanghai: University of Chinese Academy of Sciences), 2019.
- [52] MASAYUKI Y, KENSLER T W, MOTOHASHI H. The KEAP1-NRF2 system: a thiol-based sensor-effector apparatus for maintaining redox homeostasis [J]. 2018, 98(3): 1169-203.
- [53] CAO J Y, PODDAR A, MAGTANONG L, et al. A genome-wide haploid genetic screen identifies regulators of glutathione abundance and ferroptosis sensitivity [J]. 2019, 26(6): 1544-56.e8.
- [54] SUN X, OU Z, CHEN R, et al. Activation of the p62-Keap1-NRF2 pathway protects against ferroptosis in hepatocellular carcinoma cells [J]. *Hepatology*, 2016, 63(1): 173-84.
- [55] MENG C, ZHAN J, CHEN D, et al. The deubiquitinase USP11 regulates cell proliferation and ferroptotic cell death via stabilization of NRF2 USP11 deubiquitinates and stabilizes NRF2 [J]. *Oncogene*, 2021, 40(9):1706-20.
- [56] SUN X F, NIU X H, CHEN R C, et al. Metallothionein-1G facilitates sorafenib resistance through inhibition of ferroptosis [J]. *Hepatology*, 2016, 64(2): 488-500.
- [57] HU J, GU W, MA N, et al. Leonurine hydrochloride alleviates ferroptosis in cisplatin-induced acute kidney injury by activating the Nrf2 signaling pathway [J]. *Br J Pharmacol*, 2022, 179(15): 3991-4009.
- [58] DODSON M, CASTRO-PORTUGUEZ R, ZHANG D D. NRF2 plays a critical role in mitigating lipid peroxidation and ferroptosis [J]. *Redox Biol*, 2019, 23: 101107.
- [59] SHIN D, KIM E H, LEE J, et al. Nrf2 inhibition reverses resistance to GPX4 inhibitor-induced ferroptosis in head and neck cancer [J]. *Free Radic Biol Med*, 2018, 129: 454-62.
- [60] RONG Y, FAN J, JI C, et al. USP11 regulates autophagy-dependent ferroptosis after spinal cord ischemia-reperfusion injury by deubiquitinating Beclin 1 [J]. *Cell Death Differ*, 2022, 29(6): 1164-75.
- [61] ZOU Y, PALTE M J, DEIK A A, et al. A GPX4-dependent cancer cell state underlies the clear-cell morphology and confers sensitivity to ferroptosis [J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 1617.
- [62] MIESS H, DANKWORTH B, GOUW A M, et al. The glutathione redox system is essential to prevent ferroptosis caused by impaired lipid metabolism in clear cell renal cell carcinoma [J]. *Oncogene*, 2018, 37(40): 5435-50.
- [63] SHOSHAN-BARMATZ V, DE PINTO V, ZWECKSTETTER M, et al. VDAC, a multi-functional mitochondrial protein regulating cell life and death [J]. *Mol Aspects Med*, 2010, 31(3): 227-85.
- [64] YANG Y, LUO M, ZHANG K, et al. Nedd4 ubiquitylates VDAC2/3 to suppress erastin-induced ferroptosis in melanoma [J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 433.
- [65] ZHANG H, DENG T, LIU R, et al. CAF secreted miR-522 suppresses ferroptosis and promotes acquired chemo-resistance in gastric cancer [J]. *Mol Cancer*, 2020, 19(1): 43.