

去泛素化酶 USP7 在肿瘤中的研究进展

刘军凤¹ 综述 周秀敏² 审校

1. 苏州大学, 江苏 苏州 215000;

2. 苏州大学附属第一医院肿瘤科, 江苏 苏州 215000

【摘要】 泛素特异性蛋白酶7 (USP7)是泛素特异性修饰酶家族中的成员之一,通过与癌蛋白、抑癌蛋白甚至致瘤病毒的相关蛋白相互作用,在肿瘤的发生和进展中发挥着一定作用。研究发现USP7在肺癌、宫颈癌、鼻咽癌、骨肉瘤和前列腺癌等多种癌组织中有表达,因肿瘤差异其预后意义不同。因此,USP7可作为部分肿瘤诊断和预后的新型治疗靶点。本文主要关于USP7在肿瘤发病中的作用做一综述。

【关键词】 泛素特异性蛋白酶7;去泛素化;肿瘤;癌蛋白;抑癌蛋白

【中图分类号】 R73 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003—6350(2020)21—2807—04

Research progress of deubiquitinase USP7 in cancer. LIU Jun-feng¹, ZHOU Xiu-min². 1. Soochow University, Suzhou 215000, Jiangsu, CHINA; 2. Department of Oncology, the First Affiliated Hospital of Soochow University, Suzhou 215000, Jiangsu, CHINA

【Abstract】 Ubiquitin-specific protease 7 (USP7) is a member of the ubiquitin-specific modification enzyme family and plays an important role in the occurrence and progression of tumors by interacting with oncoproteins, tumor suppressor proteins, and even oncovirus-causing proteins. USP7 is expressed in various cancer tissues such as lung cancer, cervical cancer, nasopharyngeal cancer, osteosarcoma, and prostatic cancer, and it correlates to diverse prognosis of different cancers. Therefore, USP7 can be used as a novel therapeutic target for the diagnosis and prognosis of partial tumors. This article mainly reviews the research progress of the role of USP7 in the pathogenesis of cancer.

【Key words】 Ubiquitin-specific protease 7 (USP7); Deubiquitination; Cancer; Oncoproteins; Tumor suppressor proteins

恶性肿瘤已成为全球热点问题之一。据我国关于癌症数据统计,2012年全国恶性肿瘤的发病率约为264.85/10万,然而恶性肿瘤死亡率在全地区占比约161.49/10万^[1]。它的增殖、扩散及转移能力极强,但其发病机制尚未明确。因此,研究其生物学机制,寻找新的靶点,亟待解决。泛素化参与蛋白质翻译后修饰,角色至关重要。USP7是泛素特异性修饰酶家族中的一员,临床对其研究较为普遍,其是通过与癌蛋白、抑癌蛋白甚至致瘤病毒的相关蛋白之间的相互作用

在肿瘤的发生和发展中发挥着一定作用^[2]。最新的一项研究表明,USP7的破坏与一种具有智力缺陷和自闭症谱系的神经发育障碍有关^[3]。本文将对USP7的生物来源、结构特点、生物功能及其在肿瘤中作用机制等研究进展进行阐述。

1 USP7的基本结构特征

USP7属于半胱氨酸蛋白酶,又被称为疱疹病毒相关的泛素特异性蛋白酶(Hausp)。与其他的USP类似,USP7同样具有多个结构,主要包括N末端 TRAF

通讯作者:周秀敏,教授,主任医师,硕士生导师,E-mail:alice-xm@163.com

[33] BOUAZIZ JD, YANAB AK, TEDDER TF, et al. Regulatory B cells as inhibitors of immune responses and inflammation [J]. Immunol Rev, 2008, 224: 201-214.

[34] FILLATREAU S, GRAY D, ANDERTONS M, et al. Not always the bad guys: B cells as regulators of autoimmune pathology [J]. Nat Rev Immunol, 2008, 8(5): 391-397.

[35] LEBIEN TW, TEDDER TF. B-lymphocytes: how they develop and function [J]. Blood, 2008, 112(5): 1570-1579.

[36] 高峻. 宫颈癌患者外周血调节性B细胞亚群的检测及临床意义[J]. 中国社区医师: 医学专业, 2011, 13(16): 227-228.

[37] 石家振, 李世宝, 周彦. 食管癌患者外周血中调节性B细胞检测的临床意义[J]. 南京医科大学学报: 自然科学版, 2013, 33(2):

1042-1044.

[38] INOUE S, LEITNERW W, GOLDING B, et al. Inhibitory effects of B cellson antitumor immunity [J]. Cancer Res, 2006, 66(15): 7741-7747.

[39] OUYANG FZ, WU RQ, WEI Y, et al. Dendritic cell-elicited B-cell activation fosters immune privilege via IL-10 signal sinhepato cellular carcinoma [J]. Nat Commun,2016, 7: 13453.

[40] LIU J, WANG H, YU Q, et al. Aberrant frequency of IL-10-producing B cells and its association with Treg and MDSC cells in non-small cell lung carcinoma patients [J]. Hum Immunol, 2016, 77 (1): 84-89.

(收稿日期:2020-06-01)

(tumor necrosis factor-receptor associated factor) 区(aa62-205)、催化区(aa 208-560)及 64 KDa 的 C 端区域(aa 560-1102)。许多蛋白已被确定为 USP7 的潜在底物,如肿瘤抑制因子、转录因子、染色质相关蛋白、细胞周期检查点蛋白和表观遗传调节剂等^[4]。催化去泛素化的核心是对异构肽羰基的亲核攻击,而半胱氨酸是 USP7 导致亲核攻击的活性位点^[5]。USP7 在哺乳动物的进化中是高度保守并广泛存在^[6],并且在多种恶性肿瘤中过表达。因此,USP7 有望成为新的肿瘤标志物。

2 USP7 的生物学功能

2.1 细胞周期的调控 细胞周期是连续分裂的细胞从上一次有丝分裂结束到下一次有丝分裂完成所经历的整个过程,包含 G₁期、S 期、G₂期、M 期四个阶段。USP7 是通过特异性对抗 SCF β TrCP 介导的降解泛素连接酶来维持卡环蛋白的稳态水平^[7]。卡环蛋白促进 ATP 介导的 DNA 损伤应答过程中重要效应激酶 Chk1 的磷酸化和活化,是一种检查点介质。USP7 参与了检查点反应中 Chk1 磷酸化反应,对细胞周期进行调控起到间接的作用。

2.2 DNA 的损伤和修复 DNA 损伤途径一旦发生,机体立即启动一系列的 DNA 修复途径,在哺乳动物系统中主要有核苷酸切除修复(NER)、错配修复(MMR)、碱基切除修复(BER)、双链断裂修复(DSB) 4 条通路^[8]。DNA 损伤反应(DDR)通过感知 DNA 损伤,发挥修复 DNA 的功能,从而维持基因组的稳定性。USP7 是级联反应的一个重要调控器,有助于感知病变,启动修复,从而恢复正常的细胞过程^[7]。检查点激酶 1 (CHK1)是 DDR 中必不可少的激酶。激活后,CHK1 从染色质中释放出来,阻止细胞周期进程,使其得以修复。USP7 是 CHK1 激活所必需的关键适配蛋白,并促进 ATR (ATM-Rad3-Related)介导的 CHK1 磷酸化^[8]。此外,有关研究表明 USP7 也可以直接参与调节 CHK1 的稳定性^[9]。

2.3 表观遗传的调控 表观遗传修饰是调控基因转录、DNA 复制以及 DNA 修复的重要方式,最终调节染色质。染色质重构控制,也是指染色质状态,即染色质是“开放”还是“封闭”,可以通过核糖体重组和 DNA、RNA 及组蛋白的共价修饰调控决定基因转录的激活亦或是抑制染色质状态^[10]。USP7 去泛素化和稳定 DNMT1 是 DNA 复制过程中 DNA 甲基化的重要表观遗传调控因子,也是具有显著治疗价值的肿瘤靶点^[11-12]。最近一项研究表明,EZH1/2-EED-SUZ12-USP7 复合物的催化单元是 EZH1/2, EZH1/2 本身不能执行酶的功能,必须与至少两个非催化物(EED 和 SUZ12)复合,USP7 参与 EZH2 的结合并稳定 EZH2,同时调节 EED 和 SUZ12 在基因转录中的

作用^[13]。

2.4 免疫应答 核转录因子 NF- κ B 是机体内主要的免疫反应调节器,同时通过对炎症细胞因子的调控参与炎症疾病的发生和发展,调节促炎细胞因子的表达。它可以被大多数免疫应答受体包括 Toll 样受体、抗原受体和肿瘤坏死因子(TNF)受体家族激活^[14]。泛素化触发的 NF- κ B 蛋白酶体降解限制其目标基因的表达,相反,USP7 通过下调 E3 连接酶的活性稳定核转录因子 NF- κ B,从而促进其转录活性。抑制 USP7 的表达,核转录因子 NF- κ B 泛素化上调,可以有效抑制 Toll 样受体诱发炎症细胞因子的表达以及控制炎症反应。

2.5 信号通路

2.5.1 p53-MDM2 通路 p53 在肿瘤基因中具有抑制细胞生长、保持基因完整性、维持细胞内稳态和微环境稳定的作用^[15]。鼠双微体 2 (mouse double minute 2, MDM2) 是 p53 的主要负调控因子之一,MDM2 可以通过多种途径抑制 p53 的活性,例如,MDM2 是通过介导 p53 的泛素化在蛋白酶体系统中被降解的;MDM2 通过结合 p53 N-末端的转录活化区直接抑制 p53 的转录活性^[16]。MDM2 状态的失调可以通过阻断其与 USP7 的联系从而抑制 MDM2 介导的 p53 在含有野生型 p53 的癌细胞中的降解而成为药物治疗的靶点。

2.5.2 USP7 与 PTEN 通路 PTEN (phosphatase and tensin homolog)是脂质蛋白磷酸酶的一种,可以抑制肿瘤。PTEN 磷酸化时,PTEN-USP7 之间的相互作用显著增强^[17]。在肺神经内分泌肿瘤细胞中,有人发现 PTEN 蛋白的丢失与细胞核 USP7 的丢失有关,这表明 PTEN 的去泛素化减少使其成为蛋白酶体降解的靶点^[18]。正常情况下,USP7 对 PTEN 的去泛素化作用能够在细胞核内通过早幼粒细胞白血病蛋白(PML)所抵抗,但在 PML 中,致癌的 PML-RAR α 会导致这种活性的丧失,从而失去抑制作用^[19]。因此,有理由推断 USP7-PTEN 相互作用可以通过限制 PTEN 定位位点作为抑制靶点,最终诱导癌细胞凋亡。

2.5.3 USP7 与 FOXO 通路 FOXO (fork head box O)家族的转录因子(FOXO1、FOXO3、FOXO4 和 FOXO6)对细胞增殖、氧化应激反应、肿瘤发生等生理过程具有调节作用^[20]。通过抑制 USP7 的功能,核内 FOXO4 的表达增加,因此 USP7 可以抑制 FOXO4 核定位以达到抑制肿瘤的目的^[21]。

2.6 USP7 与病毒相关蛋白 许多病毒可以影响宿主细胞去泛素化过程,从而有效地表达、复制和存活病毒基因。单纯疱疹病毒(herpes simplex virus, HSV)由其引起的单纯性疱疹是一种传染病,是一种双链 DNA 病毒。感染性细胞多肽 0 (infected cell pro-

tein 0, ICP0)是由HSV早期基因表达的蛋白,具有E3泛素连接酶的活性,可以通过调控病毒基因组的表达,激活病毒后期基因的转录,也可以通过与蛋白相互作用,激活转录调控其裂解性和潜伏性之间的平衡^[22-23]。USP7与病毒蛋白的相互作用表明,一些在宿主内成功感染的病毒有去泛素化过程的参与,未来的研究可能会揭示其参与的具体过程和机制。

3 USP7与恶性肿瘤的关系

3.1 USP7与肺癌 随着工业化社会的深入发展,肺癌的发病率逐年升高,发病年龄呈现年轻化趋势,因此,迫切需要明确其发生和发展的分子生物学机制。SUN等^[24]发现,WDR79在非小细胞肺癌(NSCLC)细胞核中与USP7相互作用,Mdm2和p53的泛素化下调,进而增加了USP7的稳定性,延长了其半衰期。通过USP7的下调导致WDR79衰减,表明WDR79的功能作用依赖于USP7,WDR79是通过USP7促进了非小细胞肺癌(NSCLC)细胞的增殖。

3.2 USP7与宫颈癌 宫颈癌的发病年轻化趋势日渐明显,发病原因仍未明确。MRE11-RAD50-NBS1(MRN)复合物和DNA损伤检测点蛋白1(MDC1)的中介是识别、信号传递和修复DNA双链断裂(DSBs)的核心,其相互作用对DNA损伤反应(DDR)的启动和扩增至关重要。SU等^[25]的研究表明,MRN-MDC1复合物为USP7有效地去泛素化提供了平台并稳定MDC1,对基因毒性损伤的抵抗力增强,宫颈癌细胞存活显著增加。USP7在宫颈癌中过表达,其表达水平与MDC1及宫颈癌患者较差的生存率呈正相关。因此,USP7有望成为宫颈癌潜在治疗靶点。

3.3 USP7与鼻咽癌 Epstein-Barr病毒(EBV)感染了全世界90%以上的人,有效地使受感染细胞长期存活,易患各种癌症。在鼻咽癌中,EBV蛋白对于病毒复制、基因组维护和病毒基因表达都是必不可少的。ZHANG等^[26]通过对鼻咽癌的大数据库研究表明,对3 269例鼻咽癌患者在治疗结束(\pm 1周)时测量了血浆EBV DNA负荷,93.0% (3 031/3 269)的患者血浆EBV DNA负荷检测不出,7.0% (238/3 269)则可以检测出。238例可以检测出的EBV DNA患者中,继续检测3个月后的EBV DNA水平,其中192例仍可以检测出,72.4% (139/192)患者出现自发性缓解现象。然而,这些患者的3年无病生存率(DFS) (55.1% vs 89.8%)、总生存率(OS) (79.1% vs 96.2%)、无远处转移生存率(DMFS) (68.4% vs 94.1%)和无复发生存率(LRRFS) (84.5% vs 95.0%)仍低于无法检测到EBV DNA的患者($P<0.001$)。因此治疗后EBV DNA是鼻咽癌预后的一个可靠的生物标志物。

3.4 USP7与骨肉瘤(OS) 骨肉瘤是10~25岁青少年最常见的原发性恶性骨肿瘤,分子机制尚未完全

阐明。ZENG等^[27]的研究表明,USP7在OS肿瘤组织比其在周围组织中的表达明显升高,与OS患者TNM分期和转移呈正相关。其次,生物学功能检测显示,USP7敲除显著抑制OS细胞的转移和侵袭,而USP7过表达增强OS细胞的转移和侵袭,提示USP7可能是OS的潜在治疗靶点。

3.5 USP7与前列腺癌 随着近年来前列腺癌发病人数的增加,对其研究亦逐渐成为热点。催化增强子组蛋白H3赖氨酸27位点甲基化转移酶2(EZH2)是USP7的靶点,并被USP7介导的去泛素化稳定。在前列腺癌细胞中,USP7敲低抑制了EZH2的转录抑制功能。EZH2的异位插入使前列腺癌细胞的迁移、侵袭潜能增高,而USP7基因敲低则降低了这些潜能。此外,联合USP7特异性抑制剂P5091和EZH2抑制剂如GSK126、EPZ6438、DZNep,可协同抑制前列腺癌细胞的迁移、侵袭潜能^[28]。

3.6 USP7与其他肿瘤 WANG等^[29]的研究发现在过表达或沉默USP7后,与正常肝组织相比,肝癌组织中USP7的RNA和蛋白水平均有上调。上皮性卵巢癌(EOC)中,MA等^[30]的研究发现USP7高表达的患者OS较低表达的患者差,USP7可能参与了EOC细胞的增殖和侵袭,USP7的表达可以作为EOC的独立预后因子。除了前文所述的几种肿瘤,USP7的过表达和失调与结肠癌、慢性淋巴细胞白血病(CLL)、肺神经内分泌肿瘤和恶性胶质瘤等多种恶性肿瘤均有关^[18,31-33]。

4 展望

USP7是很重要的去泛素化酶,能够调节细胞内许多相关蛋白底物的活性与功能。因此,通过抑制USP7蛋白相关的信号通路有望成为诊治恶性肿瘤的特异性治疗新靶点。但关于USP7与肿瘤关系所涉及的机制及信号通路较为繁杂,且其涉及的具体介导信号通路靶点还需进一步探索,目前仍需大量的实验研究加以证实,寻找到有效的肿瘤防治新方法。随着USP7小分子抑制剂的研究进展,有望给众多肿瘤患者带去曙光。

参考文献

- CHEN WQ, ZHENG R, ZUO T, et al. National cancer incidence and mortality in China, 2012 [J]. Chin J Cancer Res, 2016, 28(1): 1-11.
- DAVIET L, COLLAND F. Targeting ubiquitin specific proteases for drug discovery [J]. Biochimie, 2008, 90(2): 270-283.
- HAO YH, FOUNTAIN MJ, FON TK, et al. USP7 acts as a molecular rheostat to promote WASH-dependent endosomal protein recycling and is mutated in a human neurodevelopmental disorder [J]. Mol Cell, 2015, 59(6): 956-996.
- KHUSBU FY, CHEN FZ, CHEN HC. Targeting ubiquitin specific protease 7 in cancer: A deubiquitinase with great prospects [J]. Cell Biochem Funct, 2018, 36(5): 244-254.
- CROSAS B. Deubiquitinating enzyme inhibitors and their potential in cancer therapy [J]. Curr Cancer Drug Tar, 2014, 14(6): 506-516.

- [6] SOWA ME, BENNETT EJ, GYGI SP, et al. Defining the human deubiquitinating enzyme interaction landscape [J]. *Cell*, 2009, 138(2): 389-403.
- [7] FAUSTRUP H, BEKKER-JENSEN S, BARTEK J, et al. USP7 counteracts SCFTrCP-but not APCDdh1-mediated proteolysis of claspin [J]. *Cell Biol*, 2009, 184(1): 13-19.
- [8] ZHOU J, WANG JZ, CHEN C. USP7: target validation and drug discovery for cancer therapy [J]. *Medicinal Chemistry*, 2018, 14(1): 3-18.
- [9] ALONSO-DE VI, MARTIN Y, SMITS VA. USP7 controls Chk1 protein stability by direct deubiquitination [J]. *Cell Cycle*, 2014, 13(24): 3921-3926.
- [10] INBAR-FEIGENBERG M, CHOUFANI S, BUTCHER DT, et al. Basic concepts of epigenetics [J]. *Fertil Steril*, 2013, 99(3): 607-615.
- [11] CHENG J, YANG H, FANG J, et al. Molecular mechanism for USP7-mediated DNMT1 stabilization by acetylation [J]. *Nat Commun*, 2015, 6(11): 849-852.
- [12] BRONNER C. Control of DNMT1 abundance in epigenetic inheritance by acetylation, ubiquitylation, and the histone code [J]. *Sci Signaling*, 2011, 4(157):pe3.
- [13] LEI AH, CHEN L, ZHANG M, et al. EZH2 regulates protein stability via recruiting USP7 to mediate neuronal gene expression in Cancer cells [J]. *Front Genet*, 2019, 10: 422.
- [14] MITCHELL JP, CARMODY RJ. NF-kappaB and the transcriptional control of inflammation [J]. *Int Rev Cell Mol Biol*, 2018, 335: 41-84.
- [15] STEGH AH. Targeting the p53 signaling pathway in cancer therapy—the promises, challenges, and perils [J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2012, 16(1): 67-83.
- [16] WADE M, LI YC, WAHL GM. MDM2, MDMX and p53 in oncogenesis and cancer therapy [J]. *Nat Rev Cancer*, 2013, 13(2): 89-96.
- [17] WU Y, ZHOU H, WU K, et al. PTEN phosphorylation and nuclear export mediate free fatty acid-induced oxidative stress [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2014, 20(9): 1382-1395.
- [18] COLLAUD S, TISCHLER V, ATANASSOFF A, et al. Lung neuroendocrine tumors: correlation of ubiquitylation and sumoylation with nucleocytoplasmic partitioning of PTEN [J]. *BMC Cancer*, 2015, 15(1): 74.
- [19] SONG MS, SALMENA L, CARRACEDO A, et al. The deubiquitylation and localization of PTEN are regulated by a HAUSP-PML network [J]. *Nature*, 2008, 455(7214): 813-817.
- [20] WEBB AE, BRUNET A. FOXO transcription factors: key regulators of cellular quality control [J]. *Trends Biochem Sci*, 2014, 39(4): 159-169.
- [21] NICHOLSON B, SURESH KUMAR KG. The Multifaceted roles of USP7: new therapeutic opportunities [J]. *Cell Biochem Biophys*, 2011, 60(1-2): 61-68.
- [22] ATANASSOV BS, KOUTELOU E, DENT SY. The role of deubiquitinating enzymes in chromatin regulation [J]. *FEBS Lett*, 2011, 585(13): 2016-2023.
- [23] KIM JK, ESTEVE PO, JACOBSEN SE, et al. UHRF1 binds G9a and participates in p21 transcriptional regulation in mammalian cells [J]. *Nucleic Acids Res*, 2008, 37(2): 493-505.
- [24] SUN Y, CAO LQ, SHENG XN. WDR79 promotes the proliferation of non-small cell lung cancer cells via USP7-mediated regulation of the Mdm 2-p53 pathway [J]. *Cell Death Dis*, 2017, 8: e2473.
- [25] SU DX, MA S, SHAN L, et al. Ubiquitin-specific protease 7 sustains DNA damage response and promotes cervical carcinogenesis [J]. *J Clin Invest*, 2018, 128(10): 4280-4296.
- [26] ZHANG Y, TANG LL, LI YQ, et al. Spontaneous remission of residual post-therapy plasma Epstein-Barr virus DNA and its prognostic implication in nasopharyngeal carcinoma: A large-scale, big-data intelligence platform-based analysis [J]. *Int J Cancer*, 2019, 14(9): 2313-2319.
- [27] ZENG QM, LI ZY, ZHAO X, et al. Ubiquitin specific protease 7 promotes osteosarcoma cell metastasis by inducing epithelial mesenchymal transition [J]. *Oncol Rep*, 2019, 41(1): 543-551.
- [28] LEE JE, PARK CM, KIM JH. USP7 deubiquitinates and stabilizes EZH2 in prostate cancer cells [J]. *Genet Mol Biol*, 2020, 43(2): e20190338.
- [29] WANG XJ, ZHANG QQ, WANG YK, et al. Clinical significance of Ubiquitin Specific Protease 7 (USP7) in predicting prognosis of hepatocellular carcinoma and its functional mechanisms [J]. *Med Sci Monitor*, 2018, 24: 1742-1750.
- [30] MA M, YU NN. Ubiquitin-specific protease 7 expression is a prognostic factor in epithelial ovarian cancer and correlates with lymph node metastasis [J]. *Oncotargets Ther*, 2016, 9: 1559-1569.
- [31] YANG Z, HUO S, SHAN Y, et al. STAT3 repressed USP7 expression is crucial for colon cancer development [J]. *FEBS Lett*, 2012, 586(19): 3013-3017.
- [32] AGATHANGGELOU A, SMITH E, DAVIES NJ, et al. USP7 inhibition alters homologous recombination repair and targets CLL cells independently of ATM/p53 functional status [J]. *Blood*, 2017, 130(2): 156-166.
- [33] YI L, CUI Y, XU QF, et al. Stabilization of LSD1 by deubiquitinating enzyme USP7 promotes glioblastoma cell tumorigenesis and metastasis through suppression of the p53 signaling pathway [J]. *Oncol Rep*, 2016, 36(5): 2935-2945.

(收稿日期:2020-06-03)