

K63 去泛素化酶在心血管疾病中的研究进展

雷思彤¹ 梁靖闻¹ 崔赫昂¹ 缪语涵¹ 王蕾²

(1. 首都医科大学公共卫生学院, 北京 100069; 2. 首都医科大学公共卫生学院营养与食品卫生学系 环境与衰老北京市重点实验室 心血管重塑相关疾病教育部重点实验室, 北京 100069)

【摘要】 K63 位点特异性泛素化调控多个信号转导途径(如 NF- κ B、MAPK、JAK/STAT、Wnt/ β -catenin), 在心血管疾病的发生发展中具有关键作用。K63 去泛素化酶(如 A20、CYLD、USP 类酶等)通过水解 K63 连接的泛素链, 调控炎症、凋亡、纤维化等病理过程。其异常表达与心肌缺血-再灌注损伤、动脉粥样硬化、心力衰竭及纤维化密切相关。现系统总结 K63 去泛素化酶在心血管疾病中的作用机制及靶向治疗前景, 旨在为精准治疗提供新策略。

【关键词】 K63 去泛素化酶; 心血管疾病; 蛋白质翻译后修饰; 信号转导途径

【DOI】 10. 16806/j. cnki. issn. 1004-3934. 2025. 12. 010

K63 Deubiquitinase in Cardiovascular Disease

LEI Sitong¹, LIANG Jingwen¹, CUI Heang¹, MIAO Yuhan¹, WANG Lei²

(1. *School of Public Health, Capital Medical University, Beijing 100069, China*; 2. *Department of Nutrition and Food Hygiene, School of Public Health, Capital Medical University, Beijing Key Laboratory of Environment and Aging, Key Laboratory of Cardiovascular Remodeling and Related Diseases of Ministry of Education, Beijing 100069, China*)

【Abstract】 K63-linked ubiquitination regulates key signal transduction pathway, such as NF- κ B, MAPK, JAK/STAT, and Wnt/ β -catenin, playing crucial roles in cardiovascular disease. K63 deubiquitinase (including A20, CYLD, and USP families) hydrolyze K63-linked ubiquitin chains to regulate inflammation, apoptosis, and fibrosis. Their dysregulation contributes to myocardial ischemia-reperfusion injury, atherosclerosis, heart failure, and cardiac fibrosis. This review summarizes the molecular mechanisms and therapeutic potential of K63 deubiquitinase in cardiovascular disease, providing insights for targeted interventions.

【Keywords】 K63 deubiquitinase; Cardiovascular disease; Post-translational modification of proteins; Signal transduction pathway

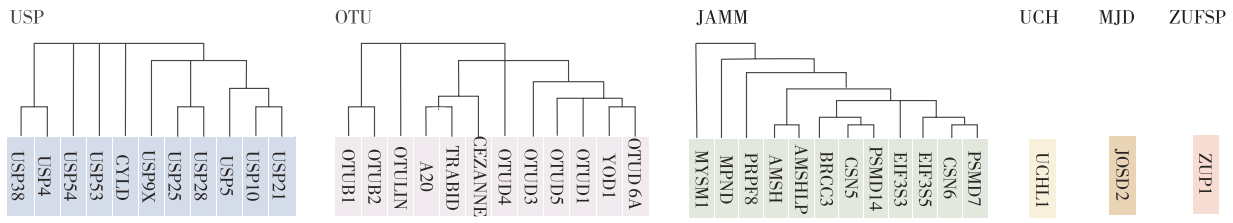
心血管疾病(cardiovascular disease, CVD)是全球死亡率最高的疾病类型^[1], 其发病率和死亡率持续上升, 已成为威胁人类健康的重大公共卫生问题。泛素化作为蛋白质翻译后修饰的关键机制之一, 在心血管生理和病理过程中发挥重要调控作用。泛素化过程是将泛素共价结合至靶蛋白, 精确调控蛋白质的活性、定位及表达水平, 维持蛋白质稳态。目前已知的泛素化修饰类型主要包括 7 种(K6、K11、K27、K29、K33、K48 及 K63), 其中研究最为深入的是 K48 多聚泛素化介导的蛋白酶体降解途径; 而 K6、K11、K27 及 K29 位连接的多聚泛素化同样通过 26S 蛋白酶体系统促进蛋白质降解。相比之下, K63 泛素化修饰虽不直接参与蛋白质降解, 但在信号转导、蛋白转运、蛋白质相互作用及 DNA 损伤应

答等过程中具有关键作用, 进而调控细胞周期、免疫应答和自噬等病理生理学过程。泛素化稳态的维持依赖于泛素化与去泛素化过程的动态平衡。去泛素化由去泛素化酶催化完成, 其通过特异性移除泛素化蛋白上的泛素分子, 实现对泛素化修饰的精准调控^[2]。研究表明, 去泛素化酶广泛参与 DNA 修复^[3]、细胞代谢分化^[4]、表观遗传调控及蛋白质稳态维持等生物学进程, 并在 CVD 的发生发展中扮演重要角色^[5]。值得注意的是, 近年研究^[6]发现 K63 去泛素化酶在心血管病理生理调控中具有独特作用。基于此, 本综述将系统阐述 K63 去泛素化酶在 CVD 中的分子机制与功能(见图 1、2 及表 1), 旨在为靶向 K63 去泛素化酶的 CVD 防治策略及创新药物研发提供理论依据。

基金项目:国家自然科学基金面上项目(82370263); 四大慢病国家科技重大专项(2024zd0531200); 首都医科大学校级引进人才启动经费

共同第一作者:雷思彤, 梁靖闻, 崔赫昂

通信作者:王蕾, E-mail: lei.wang2@ccmu.edu.cn



注:USP,泛素特异性蛋白酶亚家族;OTU,卵巢肿瘤相关蛋白酶系统;JAMM,Jab 1/MPN 域相关金属异肽酶;UCH,泛素羧基末端水解酶家族;MJD,含 Machado-Joseph 结构域蛋白酶;ZUFSP,含锌指的泛素肽酶家族。

图 1 K63 去泛素化酶

表 1 本综述中详细论述的 K63 去泛素化酶

UCH	CYLD
USP	USP4、USP7、USP9、USP10、USP18、USP25、USP26、USP29、USP9X、A20
OTU	OTUD1
JAMM	BRCC3、JOSD2、MYSM1

注:UCH,泛素羧基末端水解酶家族;USP,泛素特异性蛋白酶亚家族;OTU,卵巢肿瘤相关蛋白酶系统;JAMM,Jab 1/MPN 域相关金属异肽酶;CYLD,肿瘤抑制因子 CYLD;A20,肿瘤坏死因子 α 诱导蛋白 3;OTUD1,OTU 去泛素化酶 1;BRCC3,含 BRCA1/BRCA2 复合体亚基 3 蛋白;JOSD2,含 Josephin 结构域蛋白 2;MYSM1,含 Myb 样结构域、SWIRM 结构域和 MPN 结构域蛋白 1。

1 K63 泛素化概述

1.1 泛素化与去泛素化

泛素化是真核生物中一种高度保守的蛋白质翻译后修饰,由泛素活化酶(E1)、泛素缀合酶(E2)和泛素-蛋白质连接酶(E3)协同催化的级联反应介导,最终将泛素分子共价连接至靶蛋白^[7]。泛素化修饰可调控蛋白质的稳定性、定位、活性及相互作用,从而影响多种细胞过程。去泛素化是指由去泛素化酶催化、移除蛋白质上泛素修饰的逆过程^[8]。泛素是一种高度保守的 76 个氨基酸小蛋白,其通过 C 端甘氨酸残基与靶蛋白的赖氨酸残基形成异肽键,从而标记蛋白质的降解或调控其功能。去泛素化酶通过水解泛素-蛋白间的共价键,精确调控泛素化修饰的动态平衡,进而影响蛋白质的命运和细胞信号转导。

1.2 K63 泛素化

K63 泛素化是一种特殊的非降解型泛素修饰,其通过泛素分子第 63 位赖氨酸(K63)残基与相邻泛素分子 C 端甘氨酸 76(Gly76)形成异肽键,从而构建多聚泛素链结构^[9]。与经典的 K48 泛素化(介导蛋白酶体降解)不同,K63 泛素化主要通过以下机制调控蛋白质功能:(1)空间位阻效应:掩盖靶蛋白的降解信号,阻止其被蛋白酶体识别;(2)竞争性抑制:干扰蛋白酶体与靶蛋白的相互作用;(3)构象与定位调控:改变靶蛋白的三维结构或亚细胞定位,发挥蛋白非降解性调控功能^[9]。在信号转导方面,K63 泛素化广泛参与免疫炎症反应、细胞存活、DNA 损伤修复、自噬以及

细胞器质量控制等关键病理生理过程^[10]。这些调控作用使其在 CVD、神经退行性疾病和癌症等疾病的发生发展中发挥重要作用。

1.3 K63 去泛素化

K63 去泛素化酶通过其特有的催化结构域(如半胱氨酸-组氨酸催化中心)识别 K63 泛素链,这一识别过程依赖于精确的结构互补和电荷相互作用^[3]。在结合泛素链后,酶活性中心的催化三联体氨基酸残基(通常包含半胱氨酸、组氨酸和天冬氨酸/谷氨酸)启动水解反应,特异性切断 K63 连接的异肽键。该过程由 ATP 水解提供能量,使泛素分子从靶蛋白上被逐一解离,从而实现细胞内 K63 泛素化修饰的动态调控^[4]。另外,K63 去泛素化酶可与磷酸化形成“K63 去泛素化-磷酸化”正反馈环路。例如:Ca²⁺/钙调蛋白依赖性蛋白质激酶 II δ (Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II δ ,CaMK II δ)K227 位点的 K63 泛素链被 JOSD2 去泛素化后可增加其磷酸化^[11];信号转导及转录活化因子(signal transducer and activator of transcription,STAT)3 的 K63 泛素链被 OTUD1 去泛素化后,磷酸化水平可增加 2~3 倍^[12];Sma 和 Mad 相关蛋白(Sma and Mad-related protein,SMAD)3 的 K63 泛素链被 USP7 去泛素化后可促进其磷酸化^[13]。

K63 去泛素化酶对靶蛋白功能的调节作用主要体现在以下四个方面。(1)蛋白活性调控:通过移除 K63 泛素链,恢复靶蛋白的天然构象和催化活性,使其正常发挥生物学功能。(2)蛋白稳定性调节:K63 去泛素化可能改变靶蛋白的降解敏感性,通过解除泛素链的空间保护作用,增加其被蛋白酶体或溶酶体降解的可能性。(3)亚细胞定位与转运调控:K63 泛素化可能会影响靶蛋白在细胞内的定位和运输。去泛素化酶去除 K63 泛素链后,可以改变靶蛋白的定位信号或与运输相关蛋白的相互作用,从而调节靶蛋白在细胞内的分布。(4)蛋白质相互作用网络调控:K63 泛素化可以作为一种信号,介导靶蛋白与其他蛋白的相互作用。去泛素化酶去除 K63 泛素链后,影响靶蛋白与其他蛋白的结合能力,从而调节细胞内的信号转导和生理过程^[14]。这些精细的调控机制使 K63 去泛素

化酶成为细胞内信号网络的关键调控节点,在维持细胞稳态和应激响应中发挥核心作用。对 K63 去泛素化酶功能的深入理解,将为相关疾病的靶向治疗提供新的分子基础。

2 K63 去泛素化酶调控 CVD 病理生理学过程的作用及机制

2.1 K63 去泛素化酶在 CVD 炎症调控中的作用及机制

核因子 κ B (nuclear factor κ B, NF- κ B) 是调控炎症、免疫反应及细胞存活的关键转录因子家族,其异常激活与 CVD 的发生发展密切相关^[15]。K63 去泛素化酶通过精确调控 NF- κ B 信号转导途径中的关键节点蛋白,在炎症反应中发挥双向调节作用。(1) 促炎性调控:K63 去泛素化酶 USP38 通过去泛素化并稳定转化生长因子 β 激活激酶 1 (transforming growth factor- β -activated kinase 1, TAK1), 增强 TAK1/NF- κ B 信号转导途径活性,促进炎症反应^[16]; OTUD1 特异性剪切活化蛋白激酶 C 受体 1 (receptor for activated C kinase 1, RACK1) 的 K63 泛素链,解除其对 RACK1 的抑制,促进 RACK1 磷酸化,进而激活丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) (JNK、p38) 和 NF- κ B 信号转导途径,导致心肌细胞凋亡及炎症激活^[17]。(2) 抗炎性调控:USP4 介导肿瘤坏死因子受体相关因子 (tumor necrosis factor receptor-associated factor, TRAF) 2/6 或 TAK1 的 K63 去泛素化,抑制肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 诱导的 NF- κ B 激活^[18-19]; USP10 通过单核细胞趋化蛋白-1 诱导蛋白-1 (monocyte chemotactic protein-1-induced protein-1, MCP1P1, 又称 ZC3H12A) 依赖方式去除 NF- κ B 必需调节因子 (NF- κ B essential modulator, NEMO) 的 K63 泛素链,抑制 NF- κ B 活化^[20]; A20 特异性去泛素化 TNF 受体相关因子 6/受体相互作用丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 1 (TNF receptor-associated factor 6/receptor-interacting serine/threonine-protein kinase 1, TRAF6/RIPK1) 的 K63 泛素链,抑制 NF- κ B 通路过度激活,降低 TNF- α 、白细胞介素 (interleukin, IL)-6 等炎症因子表达^[21]; CYLD 通过去除 TRAF2、TRAF6 和 NEMO 上的 K63 泛素链,阻止 I κ B 激酶 (I κ B kinase, IKK) 复合物组装,抑制 NF- κ B 信号转导^[22]。

NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3 (NOD-like receptor thermal protein domain associated protein 3, NLRP3) 炎症小体是调控炎症反应的重要分子, K63 去泛素化酶通过不同机制调控 NLRP3 炎症小体活性: (1) 在中心体蛋白 Spata2 的招募下,去泛素化酶 CYLD 对 Polo 样激酶 4 (Polo-like kinase 4, PLK4) 进行去泛素化,促进 PLK4 与 NIMA 相关激酶 7 (NIMA-related

kinase 7, NEK7) 结合并诱导 NEK7 Ser204 磷酸化,从而减弱 NEK7-NLRP3 相互作用,抑制 NLRP3 炎症小体激活^[23-24]; (2) 含 BRCA1/BRCA2 复合体亚基 3 蛋白 (BRCA1/BRCA2-containing complex subunit 3 protein, BRCC3) 介导 NLRP3 的 K63 去泛素化,促进炎症小体激活。BRCC3 的异常激活可放大促炎信号,加剧血管炎症和动脉粥样硬化^[25]。

2.2 K63 去泛素化酶在心血管纤维化中的作用及机制

TGF- β -Smad 信号转导途径激活与纤维化密切相关, K63 去泛素化酶通过正负双向调控机制参与这一病理过程。(1) 正向调控作用:USP7^[13] 和 OTUD1^[26] 通过去除 SMAD3 蛋白的 K63 泛素链促进其磷酸化和核转位,增强内皮-间质转化 (endothelial-mesenchymal transition, EndMT) 相关基因表达,这一过程与心肌纤维化程度呈显著正相关; OTUD1 介导 STAT3-K63 位点的去泛素化,使 STAT3 磷酸化水平增加 2~3 倍,增强促纤维化基因表达^[12]。(2) 负向调控作用:CYLD 和 USP26 通过特异性去除 Smad7 蛋白的 K63 泛素链,维持其蛋白稳定性,从而持续抑制 TGF- β 信号转导^[27-28]; A20 不仅可以靶向 TRAF6 减少其 K63 泛素化修饰,抑制 TAK1 的激活,导致 Smad2/3 磷酸化水平下降;同时 A20 的 C 端 OTU 结构域作为去泛素化酶,去除 TRAF6 的 K63 型泛素链,同时其 N 端锌指结构作为 E3 泛素-蛋白质连接酶,为 TRAF6 添加 K48 型泛素链从而加快其降解。这一双重作用导致 TRAF6 蛋白稳定性下降,进而阻断 MyD88/TRAF6/TAK1 信号级联,展现出 TGF- β -Smad 信号转导途径和 TLR4/NF- κ B 信号转导途径双重抗纤维化作用^[29]; BRISC 复合物 (由 ABRO1、BRCC36、BRE、MERIT40 组成,主要定位于细胞质,特异性水解 K63 连接的泛素链) 通过去除 Mg²⁺/Mn²⁺ 依赖性蛋白磷酸酶 1B (protein phosphatase, Mg²⁺/Mn²⁺ dependent 1B, PPM1B) K326 位点的 K63 泛素链抑制 PPM1B 的核转位,减弱其对 TGF- β -Smad 信号转导途径的抑制作用,促进胶原蛋白沉积和血管僵硬^[30]。

2.3 K63 去泛素化酶在心肌肥大中的作用及机制

心肌肥大是心脏对压力负荷的代偿性反应,其异常发展可导致心力衰竭。K63 去泛素化酶在心肌肥大中具有双向调节作用: (1) 抗心肌肥大调控作用:USP4、A20、USP29 和 USP18 通过特异性结合 TAK1, 去除其 K63 泛素链,抑制 TAK1 活化,阻断下游 JNK1/JNK2/p38 信号转导途径,发挥抗心肌肥大作用^[31-33]。(2) 促心肌肥大调控作用:JOSD2 通过去泛素化 CaMK II δ K227 位点的 K63 连接多泛素链,增加 CaMK II δ 磷酸化,导致钙调控异常,促进心肌肥大^[34]; OTUD1 则通过特异性去除 STAT3 的 K63 泛素链,促进其核转位,加重血管紧张素 II 诱导的心脏重构和功能障碍。

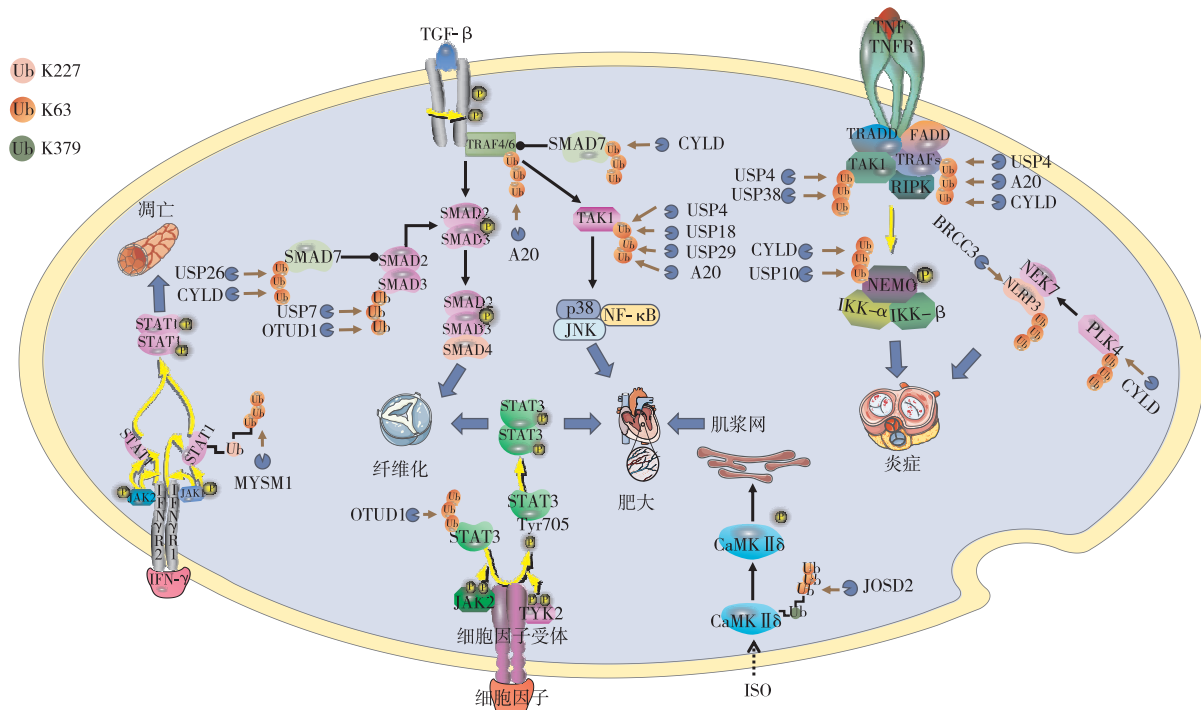
在压力超负荷模型中,敲除 OTUD1 改善心脏功能^[12]。

2.4 K63 去泛素化酶在心肌细胞凋亡中的调控作用

心肌细胞凋亡是多种 CVD 共同的病理终点, MYSM1 特异性去除 STAT1-K379 位点的 K63 泛素链,增强 STAT1 蛋白稳定性,促进 STAT1 核转位,激活坏死性

凋亡相关基因表达,加剧心肌缺血-再灌注损伤 (myocardial ischemia-reperfusion injury, MIRI)。MYSM1 基因敲除鼠心肌梗死面积较野生型鼠显著减小^[35]。

K63 去泛素化酶调控 CVD 病理生理学过程的机制,见图 2。



注: Ub, 泛素; IFN-γ, γ 干扰素; Tyr, 酪氨酸; TYK2, 酪氨酸激酶 2; FADD, Fas 相关死亡结构域蛋白; TRADD, 肿瘤坏死因子受体相关死亡结构域蛋白; ISO, 异丙肾上腺素。

图 2 K63 去泛素化酶调控 CVD 病理生理学过程的机制

3 K63 去泛素化酶在 CVD 中的作用及机制

3.1 MIRI

在 MIRI 中, K63 泛素化通过促炎及促凋亡双重机制加剧心肌损伤。一方面, K63 泛素化激活 NF-κB 等炎症信号转导途径, 显著促进 TNF-α、IL-6 等促炎因子的释放, 引发强烈的炎症级联反应。另一方面, K63 泛素化稳定凋亡相关蛋白 (如 Bax、caspase-3 等), 使 RIPK1/RIPK3/MLKL 坏死性凋亡通路持续激活加重心肌细胞凋亡^[36]。K63 去泛素化则明显逆转 K63 泛素化导致的 MIRI 中炎症及凋亡激活。

在众多 K63 去泛素化酶中, A20 和 CYLD 被证实是 IRI 过程中最重要的心肌保护因子。A20 主要通过其 OTU 结构域特异性识别并切割 TRAF6 的 K63 泛素链, 从而有效抑制 IKK 复合物的组装和激活^[4]。CYLD 通过多靶点发挥保护作用。首先, CYLD 通过去除 RIPK1 的 K63 泛素链, 有效抑制 RIPK1/RIPK3/MLKL 坏死性凋亡通路的激活。其次, CYLD 通过介导 NEMO 的去泛素化, 阻断 TAK1/NF-κB 信号轴的过度激活, 使 IL-1β 等炎症因子表达降低^[37]。值得注意的是, A20 和 CYLD 在 MIRI 中表现出显著的协同保护效应。这种协同作用可能与二者在信号转导途径调控

中的互补性有关^[38]。最新研究^[39]发现, A20 和 CYLD 通过维持线粒体自噬平衡、减少活性氧类产生、改善能量代谢等途径, 进一步强化了其对 MIRI 的心肌保护作用。

3.2 动脉粥样硬化及血管钙化

近年研究^[40]表明, K63 去泛素化酶通过调控炎症反应、细胞凋亡等关键病理环节, 在动脉粥样硬化发生发展中发挥重要作用。其作用机制主要体现在以下方面: OTUD1 作为双特异性 (K48/K63) 去泛素化酶, 通过去除 SMAD3 的泛素化修饰, 稳定 SMAD3, 促进 SMAD3/SMAD4 复合体形成, 激活 EndMT 相关基因转录^[12]; USP7 特异性靶向 SMAD3 的 K63 泛素链, 促进 SMAD3 磷酸化和核转位, 上调 EndMT 相关基因^[13]; 巨噬细胞特异性 USP9X 敲除导致氧化型低密度脂蛋白摄取增加、脂质蓄积加剧及动脉粥样硬化斑块增大。机制上, USP9X 通过去除 SR-A1 受体 K27 位点上的 K63 泛素链, 抑制泡沫细胞形成^[41]; JSD2 通过介导 CaMK IIδ 的 K227 位点去泛素化, 提升其磷酸化水平, 导致钙调控紊乱及血管纤维化, 抑制 JSD2 可减轻纤维化^[11]; BRISC-K63 去泛素化酶复合体, 去除 PPM1B 的 K63 泛素化修饰, 其核转位抑制解除, 从

而无法有效抑制 TGF- β -Smad 信号转导途径并促进胶原蛋白沉积和血管钙化^[30];另外, BRCC3 可以直接去泛素化 NLRP3, 增强其稳定性并维持炎症小体激活。因此, 异常的 BRCC3 激活会放大促炎信号, 加剧血管炎症和动脉粥样硬化^[25]。

3.3 心力衰竭

近年研究^[42]表明, K63 去泛素化酶通过调控炎症反应和心肌纤维化等关键病理过程, 在心力衰竭的发生发展中发挥重要作用。A20 通过介导 TRAF6/RIPK1 的 K63 去泛素化抑制 NF- κ B 通路过度激活, 显著降低心力衰竭 TNF- α 、IL-6 等炎症因子水平^[21]; CYLD 则通过靶向 TRAF2/TRAF6 阻断 IKK 复合体形成, 同时调控 NLRP3 炎症小体活化状态, 影响心肌细胞焦亡^[23]; JOSD2 通过去泛素化 CaMK II δ 促进其活化, 导致钙调控异常和心肌肥大^[11]; USP38 通过增强 TAK1/NF- κ B 通路活性促进纤维化, 其心脏特异性敲除可减轻心力衰竭和纤维化^[16]; USP4 则通过去除 TAK1 的 K63 泛素链抑制 JNK/p38 通路, 临床研究显示心力衰竭患者心肌 USP4 表达降低且与纤维化程度呈负相关^[31]; A20 通过去泛素化 Smad2/3 阻断 TGF- β 信号, 展现双重抗纤维化作用^[29]; OTUD1 促进 STAT3 去泛素化使其磷酸化水平增加 2~3 倍, 导致心脏纤维化^[12]; USP7 通过稳定 SMAD3 增强 EndMT 相关基因表达加重心肌纤维化^[13], 这些发现为理解心力衰竭的心肌重构提供了新的分子视角。

3.4 主动脉夹层

主动脉夹层 (aortic dissection, AD) 是一种致命性 CVD, 其核心病理机制涉及血管平滑肌细胞 (vascular smooth muscle cell, VSMC) 表型转换、细胞外基质降解及信号转导途径异常。近年来, 研究发现 K63 去泛素化与 AD 的发生发展密切相关。在 AD 中, 血管壁炎症细胞浸润及炎症因子释放增加, A20 通过去除 RIPK1 的 K63 泛素链, 抑制 NF- κ B 持续激活。SMAD3 等 TGF- β 通路蛋白的泛素化降解受去泛素化酶 USP15 调控。AD 患者中 USP15 表达上调, 导致 SMAD3 稳定性增加, 促进细胞外基质合成异常与 VSMC 凋亡^[43]。USP15 可通过去除 Keap1 的泛素化标记, 稳定 Keap1 蛋白水平, 进而促进核转录因子红系 2 相关因子 2 (nuclear factor-erythroid 2-related factor 2, Nrf2) 降解。抑制 USP15 则可减少 Keap1 表达, 增强 Nrf2 信号, 促进 VSMC 收缩型基因 (如 α -SMA、CNN1、SM22 α) 表达, 抑制其向合成型转换^[44], 减轻 AD。

4 K63 临床转化研究

4.1 靶向抑制剂与激动剂的研究进展

基于 K63 去泛素化酶在 CVD 中的作用, 研究人员开发了多种靶向治疗策略。与传统的小分子药物相比, 靶向去泛素化酶具有显著的优势。去泛素化酶抑

制剂可以抑制蛋白质的活性位点, 完全降解靶蛋白, 有效消除残留活性, 从而减轻传统药物的副作用^[45]。

通过靶向 USP4 催化结构域, 抑制 TAK1-K63 泛素化, 可以减轻心脏纤维化。临床前研究^[46]显示, Bay-805 在压力超负荷模型中使心肌纤维化程度降低, 改善心脏舒张功能; 通过阻断 OTUD1 对 STAT3 的去泛素化, 减少其核转位及纤维化基因表达。在心力衰竭模型中^[33], OTUDin3 下调纤维化相关基因表达, 改善心脏功能^[46]。MIRI 中, A20 激动剂可以降低 TNF- α 等炎症因子水平, 以抑制 NF- κ B 等炎症通路的激活^[4], 减小心肌梗死面积。抑制 BRCC3 可阻止 NLRP3 去泛素化, 从而减少炎症小体的过度激活并抑制 IL-1 β 分泌, 最终缓解克隆性造血相关的动脉粥样硬化。通过靶向 NACHT 结构域阻断 NLRP3 的组装和激活, 并已证明在减少动脉粥样硬化斑块方面有效^[45]。

4.2 CRISPR 筛选与蛋白降解靶向嵌合体技术的临床转化

通过 CRISPR-Cas9 全基因组筛选关键靶点, 识别 K63 去泛素化酶的协同靶点, 优化组合靶向策略。如 MIRI 中, 通过增强 A20 和 CYLD 的互补作用, 可抑制 NF- κ B 等炎症通路^[38]; 在心力衰竭中, 通过抑制 OTUD1 和 USP38 等促纤维化酶^[12, 16], 阻断 STAT3 或 TAK1/NF- κ B 通路, 减轻心肌纤维化。通过设计蛋白降解靶向嵌合体 (proteolysis targeting chimera, PROTAC) 分子, 招募 E3 泛素-蛋白质连接酶可选择性降解促炎型去泛素化酶。在心力衰竭模型中, PROTAC 可使 NF- κ B 活性降低, 进而使炎症因子表达下调^[46]。A20 展现出双重抗纤维化机制, 也为新型抗纤维化药物提供靶点^[29]。结合去泛素化酶抑制与蛋白降解功能, 设计同时靶向 USP38 催化域和 E3 泛素-蛋白质连接酶的 PROTAC^[16], 在心肌纤维化模型中使 SMAD3 核转位减少。

5 临床展望与研究总结

K63 去泛素化酶研究仍存在以下关键科学问题亟待解决: 首先, 去泛素化酶具有多底物特性^[4, 29], 导致高特异性抑制剂开发困难; 其次, 现有技术难以实时监测 K63 泛素链动态, 阻碍调控机制深入研究; 再次, CRISPR 技术存在脱靶风险, 需要特异性启动子以降低非靶组织的潜在毒性; 最后, 动物模型到临床应用转化存在障碍, 涉及安全性评估和给药方案优化等。为突破当前研究瓶颈, 未来研究应聚焦: 整合多组学结合基因组、转录组和蛋白质组数据, 构建完整的调控网络图谱; 开发新模型, 如人源化心脏类器官和患者来源的诱导多能干细胞模型, 增强临床相关性; 加强跨学科合作, 结合结构生物学、药物化学和纳米技术, 开发智能递送系统, 加速 K63 去泛素化酶研究向临床应用转化。

参考文献

- [1] World Health Organization. World health statistics 2023; monitoring health for the SDGs, sustainable development goals[R]. Geneva:WHO, 2023.
- [2] 王添乐, 杨晓, 王剑. 蛋白质稳态在病理心脏重塑中的作用[J]. 中华心血管病杂志, 2021, 49(7): 719-723.
- [3] Claugue MJ, URBÉ S, Komander D. Breaking the chains: deubiquitylating enzyme specificity begets function[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2019, 20(6): 338-352.
- [4] Mooney EC, Sahingur SE. The ubiquitin system and A20; implications in health and disease[J]. *J Dent Res*, 2021, 100(1): 10-20.
- [5] 邓青芳, 马风伟. 去泛素化酶及其与人类疾病相关性的研究进展[J]. 贵州师范大学学报(自然科学版), 2021, 39(4): 112-120.
- [6] Zhan X, Yang Y, Li Q, et al. The role of deubiquitinases in cardiac disease[J]. *Expert Rev Mol Med*, 2024, 26: e3.
- [7] Komander D, Rape M. The ubiquitin code[J]. *Annu Rev Biochem*, 2012, 81: 203-229.
- [8] Nijman SM, Luna-Vargas MP, Velds A, et al. A genomic and functional inventory of deubiquitinating enzymes[J]. *Cell*, 2005, 123(5): 773-786.
- [9] Shen K, Zhang Q. Literature review: nuclear factor kappa B (NF- κ B) regulation in human cancers mediated by ubiquitin-specific proteases (USPs) [J]. *Ann Transl Med*, 2024, 12(5): 90.
- [10] Damgaard RB. The ubiquitin system: from cell signalling to disease biology and new therapeutic opportunities[J]. *Cell Death Differ*, 2021, 28(2): 423-426.
- [11] Xu J, Liang S, Wang Q, et al. JOSD2 mediates isoprenaline-induced heart failure by deubiquitinating CaMK II δ in cardiomyocytes[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2024, 81(1): 18.
- [12] Wang M, Han X, Yu T, et al. OTUD1 promotes pathological cardiac remodeling and heart failure by targeting STAT3 in cardiomyocytes[J]. *Theranostics*, 2023, 13(7): 2263-2280.
- [13] Yuan S, Wang Z, Yao S, et al. Knocking out USP7 attenuates cardiac fibrosis and endothelial-to-mesenchymal transition by destabilizing SMAD3 in mice with heart failure with preserved ejection fraction [J]. *Theranostics*, 2024, 14(15): 5793-5808.
- [14] Mevissen TET, Komander D. Mechanisms of deubiquitinase specificity and regulation[J]. *Annu Rev Biochem*, 2017, 86: 159-192.
- [15] Guo Q, Jin Y, Chen X, et al. NF- κ B in biology and targeted therapy: new insights and translational implications [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2024, 9(1): 53.
- [16] Gong Y, Yu T, Shuai W, et al. USP38 exacerbates atrial inflammation, fibrosis, and susceptibility to atrial fibrillation after myocardial infarction in mice[J]. *Mol Med*, 2023, 29(1): 157.
- [17] Luo Y, Li WX, Zheng QS, et al. OTUD1 deficiency attenuates myocardial ischemia/reperfusion induced cardiomyocyte apoptosis by regulating RACK1 phosphorylation[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2025, 46(10): 2649-2662.
- [18] Xiao N, Li H, Luo J, et al. Ubiquitin-specific protease 4 (USP4) targets TRAF2 and TRAF6 for deubiquitination and inhibits TNF α -induced cancer cell migration[J]. *Biochem J*, 2012, 441(3): 979-986.
- [19] Fan YH, Yu Y, Mao RF, et al. USP4 targets TAK1 to downregulate TNF α -induced NF- κ B activation[J]. *Cell Death Differ*, 2011, 18(10): 1547-1560.
- [20] Niu J, Shi Y, Xue J, et al. USP10 inhibits genotoxic NF- κ B activation by MCP1-facilitated deubiquitination of NEMO [J]. *EMBO J*, 2013, 32(24): 3206-3219.
- [21] Ghiasi M. Investigating the NF- κ B signaling pathway in heart failure: exploring potential therapeutic approaches[J]. *Heliyon*, 2024, 10(23): e40812.
- [22] Regamey A, Hohl D, Liu JW, et al. The tumor suppressor CYLD interacts with TRIP and regulates negatively nuclear factor kappaB activation by tumor necrosis factor[J]. *J Exp Med*, 2003, 198(12): 1959-1964.
- [23] Yang XD, Li W, Zhang S, et al. PLK4 deubiquitination by Spata2-CYLD suppresses NEK7-mediated NLRP3 inflammasome activation at the centrosome [J]. *EMBO J*, 2020, 39(2): e102201.
- [24] Wang Y, Li Y, Zhang W, et al. NLRP3 inflammasome: a novel insight into heart failure[J]. *J Cardiovasc Transl Res*, 2023, 16(1): 166-176.
- [25] Yalcinkaya M, Liu W, Thomas LA, et al. BRCC3-mediated NLRP3 deubiquitylation promotes inflammasome activation and atherosclerosis in *Tet2* clonal hematopoiesis[J]. *Circulation*, 2023, 148(22): 1764-1777.
- [26] Huang Z, Shen S, Wang M, et al. Mouse endothelial OTUD1 promotes angiotensin II-induced vascular remodeling by deubiquitinating SMAD3 [J]. *EMBO Rep*, 2023, 24(3): e56135.
- [27] Zhao Y, Thornton AM, Kinney MC, et al. The deubiquitinase CYLD targets Smad7 protein to regulate transforming growth factor β (TGF- β) signaling and the development of regulatory T cells [J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(47): 40520-40530.
- [28] Kit Leng Lai S, Iyengar PV, Jaynes P, et al. USP26 regulates TGF- β signaling by deubiquitinating and stabilizing SMAD7 [J]. *EMBO Rep*, 2020, 21(1): e49618.
- [29] Bhattacharyya S, Wang W, Graham LV, et al. A20 suppresses canonical Smad-dependent fibroblast activation: novel function for an endogenous inflammatory modulator[J]. *Arthritis Res Ther*, 2016, 18(1): 216.
- [30] Liu Y, Li M, Chen Z, et al. BRISC-mediated PPM1B-K63 deubiquitination and subsequent TGF- β pathway activation promote high-fat/high-sucrose diet-induced arterial stiffness[J]. *Circ Res*, 2025, 136(3): 297-314.
- [31] He B, Zhao YC, Gao LC, et al. Ubiquitin-specific protease 4 is an endogenous negative regulator of pathological cardiac hypertrophy [J]. *Hypertension*, 2016, 67(6): 1237-1248.
- [32] Ying X, Zhao Y, Yao T, et al. Novel protective role for ubiquitin-specific protease 18 in pathological cardiac remodeling[J]. *Hypertension*, 2016, 68(5): 1160-1170.
- [33] Liu RP, McMullen JR. Emerging role of targeting deubiquitinating enzymes to inhibit pathological cardiac hypertrophy [J]. *J Am Heart Assoc*, 2025, 14(6): e039732.
- [34] Han J, Fang Z, Han B, et al. Deubiquitinase JOSD2 improves calcium handling and attenuates cardiac hypertrophy and dysfunction by stabilizing SERCA2a in cardiomyocytes[J]. *Nat Cardiovasc Res*, 2023, 2(8): 764-777.
- [35] Shi X, Xu J, Liu L, et al. Deubiquitinase MYSM1 drives myocardial ischemia/reperfusion injury by stabilizing STAT1 in cardiomyocytes [J]. *Theranostics*, 2025, 15(5): 1606-1621.
- [36] Yu ST, Sun ZY, Li N, et al. Mettl1 knockdown alleviates cardiac L/R injury in mice by inactivating the Mettl1-CYLD-P53 positive feedback loop [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2025, 46(3): 592-605.
- [37] Marin-Rubio JL, Raote I, Inns J, et al. CYLD in health and disease [J]. *Dis Model Mech*, 2023, 16(6): dmm050093.
- [38] Lork M, Verhelst K, Beyaert R. CYLD, A20 and OTULIN deubiquitinases in NF- κ B signaling and cell death: so similar, yet so different[J]. *Cell Death Differ*, 2017, 24(7): 1172-1183.
- [39] Bai W, Huo S, Li J, et al. Advances in the study of the ubiquitin-editing enzyme A20 [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 845262.
- [40] Zhang Y, Zhu Z, Cao Y, et al. Rnd3 suppresses endothelial cell pyroptosis in atherosclerosis through regulation of ubiquitination of TRAF6 [J]. *Clin Transl Med*, 2023, 13(9): e1406.
- [41] Wang B, Tang X, Yao L, et al. Disruption of USP9X in macrophages promotes foam cell formation and atherosclerosis [J]. *J Clin Invest*, 2022, 132(10): e154217.
- [42] Chen Z, Zhang SL. Endoplasmic reticulum stress: a key regulator of cardiovascular disease[J]. *DNA Cell Biol*, 2023, 42(6): 322-335.
- [43] 郭冰冰, 金介员, 项荣. 胸主动脉夹层遗传致病因素的研究进展[J]. 生命科学, 2021, 33(1): 44-52.
- [44] Li S, Xiao X, Chang Y, et al. Berberine inhibits abdominal aortic aneurysm formation and vascular smooth muscle cell phenotypic switching by regulating the Nr2 pathway[J]. *J Cell Mol Med*, 2025, 29(7): e70509.
- [45] Fei X, Song C, Cui J, et al. The role of deubiquitinases in cardiovascular diseases: mechanisms and therapeutic implications [J]. *Front Cardiovasc Med*, 2025, 12: 1582049.
- [46] Xian Y, Ye J, Tang Y, et al. Deubiquitinases as novel therapeutic targets for diseases [J]. *MedComm (2020)*, 2024, 5(12): e70036.

收稿日期: 2025-04-07