



## 泛素化在调控铁死亡中的作用\*

曹 灿 陶永光\*\* 石 颖\*\*

(中南大学肿瘤研究所, 长沙 410078)

**摘要** 铁死亡是一种由脂质过氧化驱动的铁依赖性的新的细胞死亡方式,越来越多的证据表明,铁死亡与各种病理状态有关,如神经退行性疾病、糖尿病肾病、癌症等,脂质过氧化驱动的铁死亡可能促进或抑制这些疾病的发生发展,细胞中抗氧化系统通过抑制脂质过氧化在抵抗铁死亡过程中发挥着重要作用。铁死亡的关键通路有以SLC7A11-GPX4为关键分子的氨基酸代谢通路、以铁蛋白或转铁蛋白为主的铁代谢通路,以及脂质代谢通路。铁死亡的发生受到细胞内蛋白质的调节,这些蛋白质会发生各种翻译后修饰,包括泛素化修饰。泛素-蛋白酶体系统(ubiquitin-proteasome system, UPS)是细胞内主要降解系统之一,通过酶促级联反应催化泛素分子标记待降解蛋白,随后由蛋白酶体识别并降解目标蛋白质。UPS根据其降解底物的不同在调节铁死亡的反应中发挥双重作用。UPS通过促进铁死亡关键分子(如SLC7A11、GPX4、GSH)以及抗氧化系统成分(如NRF2)的泛素化降解从而促进铁死亡,也可以通过促进脂质代谢通路中相关分子(如ACSL4、ALOX15)的泛素化降解从而抑制铁死亡。本综述介绍泛素化修饰在调控铁死亡进程中作用的最新研究进展,总结了已发表的关于E3泛素连接酶和去泛素酶调控铁死亡的研究,归纳了泛素连接酶、去泛素酶调控铁死亡的作用靶点,有助于确定人类疾病中新预后指标,为这些疾病提供潜在的治疗策略。

**关键词** 铁死亡, 泛素化, 去泛素化, 脂质过氧化

**中图分类号** Q28, Q255

**DOI:** 10.16476/j.pibb.2023.0400

## 1 铁死亡的发现及特征

2003年首次鉴定出小分子复合物Erastin,其使RAS突变的细胞对非凋亡细胞死亡过程敏感<sup>[1]</sup>。随后的研究表明,Erastin通过与线粒体电压依赖性阴离子通道(voltage-dependent anion channels, VDAC)直接结合,可诱导RAS-RAF-MEK途径突变的肿瘤细胞进行非凋亡性细胞死亡<sup>[2]</sup>。2008年鉴定出2种小分子复合物: Ras选择性致死性因子3(Ras-selective lethal small molecule 3, RSL3)和RSL5,在RAS存在的情况下增加了致死性<sup>[3]</sup>。

铁死亡这一概念是2012年由Dixon等<sup>[4]</sup>正式提出,他们发现,Erastin在RAS突变的细胞中引发一种特殊的细胞死亡,命名为铁死亡(ferroptosis),铁死亡在形态学、生物化学以及遗传学方面不同于凋亡、坏死和自噬,属于非凋亡型细胞死亡,其特征是铁依赖性、脂质过氧化和质膜损伤。

在形态上,Erastin或RSL3诱导细胞发生铁死亡时,线粒体的形态与嵴的结构发生改变,发生铁死亡的细胞中线粒体膜浓缩,嵴减少,外膜破裂,线粒体比正常细胞小,但是细胞核大小保持正常,没有染色质浓缩<sup>[1-2]</sup>。在生物化学方面,铁死亡的特点是氧化应激增加和抗氧化防御的耗竭。在代谢层面,铁死亡发生过程中,细胞内铁离子和亚铁离子大量积累、活性氧(ROS)增加,通常还伴随着谷胱甘肽(glutathione, GSH)水平的降低等变化。这些明显的细胞水平和亚细胞水平的差异以及独特的分子特征可以将铁死亡与其他死亡方式区分开来,这些特征也可作为检测铁死亡的标志。

\* 国家自然科学基金(82072594)和湖南省自然科学基金(2021JJ30907)资助项目。

\*\* 通讯联系人。

陶永光 Tel: 18774962929, E-mail: taoyong@csu.edu.cn

石颖 Tel: 18974914446, E-mail: yingshi@csu.edu.cn

收稿日期: 2023-10-18, 接受日期: 2023-12-15

## 2 泛素化修饰

细胞内蛋白质会经过不同程度的翻译后修饰,其中包括单泛素化和多泛素化。泛素-蛋白酶体系统(ubiquitin-proteasome system, UPS)是细胞内蛋白质降解的主要途径之一,其功能是介导目标底物的降解以调控蛋白质的稳态。泛素修饰系统包括3种酶:泛素活化酶E1、泛素缀合酶E2、泛素连接酶E3,泛素化是通过酶的级联催化,将泛素分子与靶蛋白共价结合从而进行修饰的过程,该过程是可逆的,去泛素化酶可移除蛋白质上的泛素分子修饰,去泛素化酶主要有7个家族,分别为泛素羧基端水解酶(UCHs)家族、泛素特异性蛋白酶(USPs)家族、卵巢癌蛋白酶(OTUs)家族、Machado-Josephin 结构域蛋白酶(MJDs)、JAB1/MPN+/MOV34结构域蛋白酶(JAMM)家族、单核细胞趋化蛋白诱导蛋白(MCPIPs),以及与含有泛素的DUB家族(MINDY)相互作用的基序。泛素修饰系统、去泛素化酶、26S蛋白酶体以及底物蛋白组成了UPS。泛素化与去泛素化之间的动态转化与细胞的生物过程密切相关,该过程的失调可能会引起多种疾病,对泛素化和去泛素化的理解可能会为这些疾病的治疗提供新的思路。

铁死亡的过程受到细胞内蛋白质的调控,有大量研究报道,UPS参与调节铁死亡,并与多种疾病进展相关,如脊髓缺血再灌注<sup>[5]</sup>、椎间盘退变<sup>[6]</sup>、慢性阻塞性肺疾病<sup>[7]</sup>、肾缺血再灌注<sup>[8]</sup>。本文综述泛素化修饰在调控铁死亡进程中作用的最新研究进展,总结了已发表的关于E3泛素连接酶和去泛素酶调控铁死亡的研究,归纳了泛素连接酶(表1)、去泛素酶(表2)调控铁死亡的作用靶点,有助于确定人类疾病中新的预后指标以及治疗靶点。

## 3 铁死亡关键信号通路中的泛素化与去泛素化

### 3.1 氨基酸代谢通路

Xc<sup>-</sup>系统是位于细胞膜上的氨基酸转运蛋白,介导胱氨酸的输入和谷氨酸的输出,参与抗氧化三肽-GSH的合成。溶质载体家族7成员11(solute carrier family 7 member 11, SLC7A11)是氨基酸转运系统的关键组分,SLC7A11失活或者受到抑制将导致GSH耗竭及其下游谷胱甘肽过氧化物酶4(glutathione peroxidase 4, GPX4)的失活,从而引起脂质过氧化驱动的铁死亡。在铁死亡这一过程

中,SLC7A11和GPX4是其关键分子,本文总结了去泛素化酶和E3连接酶直接调节SLC7A11和GPX4的泛素化水平或间接调节其上游分子的泛素化水平,最终影响SLC7A11和GPX4表达水平的过程与机制,为研究泛素化在铁死亡过程中的作用提供思路(图1)。

#### 3.1.1 泛素化修饰调控SLC7A11的稳定性

有研究报道,在神经胶质瘤细胞中的去泛素化酶——卵巢肿瘤蛋白(OTU)域所含泛素乙酰结合蛋白1(OTU domain-containing ubiquitin aldehyde-binding protein 1, OTUB1)通过与SLC7A11直接作用,抑制其泛素化,从而稳定SLC7A11,抑制胶质瘤细胞发生铁死亡<sup>[9]</sup>。另外,也有研究表明,CD44通过促进OTUB1与SLC7A11的相互作用从而增强SLC7A11的稳定性,达到抑制癌细胞的铁死亡的效果<sup>[10]</sup>。在肺动脉平滑肌细胞中,OTUB1参与调节SLC7A11稳定性,上调肺动脉高压患者体内SLC7A11,抑制细胞铁死亡,促进细胞增殖,导致肺血管重构<sup>[11]</sup>。天然药物龙葵的成分之一茄解碱(Solasonine)可通过抑制胰腺癌细胞中转录因子激活增强子结合蛋白2 $\alpha$ (transcription factor activating enhancer binding protein 2 alpha, TFAP2A)介导的OTUB1转录,增强SLC7A11泛素化降解,激活铁死亡,从而抑制胰腺癌的进展<sup>[12]</sup>。研究报道,铁死亡参与急性肝损伤(acute liver injury, ALI),四氯化碳(CCl<sub>4</sub>)诱导ALI,引起SLC7A11泛素化水平升高,导致ALI中SLC7A11水平下调。间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)和间充质干细胞来源的外泌体(MSC-derived exosomes, MSC-Exo)可上调OTUB1,修复CCl<sub>4</sub>诱导的SLC7A11泛素化升高,增强SLC7A11的稳定性,从而激活Xc<sup>-</sup>系统,抑制CCl<sub>4</sub>诱导的肝细胞铁死亡,实现对急性肝损伤的保护<sup>[13]</sup>。因此,OTUB1是一种铁死亡抑制因子,那么开发针对OTUB1的小分子药物,增强OTUB1与SLC7A11的结合或上调OTUB1进而抑制SLC7A11的泛素化降解,即稳定SLC7A11,从而抑制靶细胞的铁死亡或许是一种潜在的疾病治疗策略。

有报道称,RING型E3连接酶——三结构域蛋白26(tripartite motif-containing protein 26, TRIM26)通过介导SLC7A11泛素化,促进肝星形细胞铁死亡,从而有效减轻肝纤维化<sup>[14]</sup>。在肝癌中,细胞因子信号转导抑制因子2

(suppressor of cytokine signaling 2, SOCS2) 可识别 SLC7A11, 并将其招募的泛素分子转移至 SLC7A11, 促进其降解, 从而增敏放疗诱导的癌细胞铁死亡, 表明靶向 SOCS2 可能增强肝癌放疗的效率<sup>[15]</sup>。此外, 在肝癌中, 长链非编码 RNA (long noncoding RNA, LncRNA) HEPFAL 可促进 SLC7A11 泛素化水平增加, 降低其蛋白质稳定性, 从而促进肝癌细胞铁死亡<sup>[16]</sup>。在雌激素受体阳性 (estrogen receptor, ER<sup>+</sup>) 的乳腺癌细胞中, ER 有两种主要形式, ER $\alpha$  和 ER $\beta$ , ESR1 (编码 ER $\alpha$ ) 可增强 NEDD4 样 E3 泛素蛋白连接酶 (NEDD4-like E3 ubiquitin protein ligase, NEDD4L) 与 SLC7A11<sup>[17]</sup> 的结合并促进其泛素化降解, 调节放疗诱导的乳腺癌细胞铁死亡。

有文献报道, p53 的激活会导致 SLC7A11 的表达水平降低, 从而抑制胱氨酸摄取, 导致细胞对铁死亡敏感<sup>[18]</sup>。最新研究表明, Rho 家族 GTP 酶 1 (Rho family GTPase 1, RND1) 通过与 p53 相互作用, 抑制 p53 蛋白的 48 位赖氨酸的多聚泛素化, 从而稳定 p53, 并通过调控 p53/SLC7A11 通路诱导胶质瘤细胞的铁死亡<sup>[19]</sup>。研究表明, 去泛素化酶 USP22 可去泛素化并稳定 SIRT1, 随后 SIRT1 通过抑制 p53/SLC7A11 通路拮抗心肌细胞铁死亡, 从而保护心肌缺血再灌注损伤<sup>[20]</sup>。在胆管癌进展过程中, Shank 相关 RH 结构域相互作用蛋白 (Shank-associated RH domain interacting protein, SHARPIN) 是一种线性泛素链激活复合物的组分, 可通过促进 p53 泛素化降解, 上调 SLC7A11/GPX4, 抑制铁死亡, 促进胆管癌细胞的增殖<sup>[21]</sup>。因此, 在癌细胞中, p53 通过抑制 SLC7A11 参与调节细胞的铁死亡过程, 那么, 抑制 p53 的泛素化降解, 从而下调 SLC7A11, 增强细胞铁死亡或可成为治疗癌症的可行策略。

### 3.1.2 泛素化修饰对 SLC7A11 转录水平的调控

肿瘤抑制因子 p14<sup>ARF</sup> 通过抑制 NRF2 介导的 SLC7A11 转录, 从而促进肿瘤细胞发生铁死亡, Cullin 环连接酶 2 (cullin-RING ligases 2, CRL2) 属于 E3 连接酶亚类之一, 研究发现, KLHDC3 可作为 CRL2 的衔接蛋白, 特异性识别 p14 并触发 p14 进行泛素化降解, p14/NRF2/SLC7A11 途径受到抑制, 上调 SLC7A11 的转录, 从而抑制肿瘤细胞铁死亡, 因此 KLHDC3 介导的 p14<sup>ARF</sup>/NRF2/SLC7A11 抑制可能有助于癌症进展<sup>[22]</sup>。在膀胱癌的发展过程中, 磷酸甘油脱氢酶 (phosphoglycerol

dehydrogenase, PHGDH) 通过与 RNA 结合蛋白 (poly (rC) -binding protein 2, PCBP2) 结合并抑制其泛素化降解, PCBP2 稳定 SLC7A11 mRNA 并增加其表达, 从而抑制癌细胞铁死亡, 促进膀胱癌的恶性进展<sup>[23]</sup>。在肝癌中, 钙黏蛋白超家族成员 PCDHB14 可促进 E3 连接酶 RNF182 介导的 p65 泛素化降解, 进而阻断 p65 与 SLC7A11 启动子结合, 促进肝癌细胞铁死亡<sup>[24]</sup>。研究表明, 肝癌晚期患者通过抵抗铁死亡从而对索拉非尼 (Sorafenib) 产生耐药性, 机制在于脂肪酸合酶 (fatty acid synthase, FASN) 通过促进 HIF1 $\alpha$  核转位, 抑制其泛素化降解, 促进 SLC7A11 的转录, 进而增强 Sorafenib 抗铁死亡效果, 因此靶向 FASN 可调控肝癌对 Sorafenib 的敏感性<sup>[25]</sup>。放疗诱导的铜代谢基因 MURR1 结构域 10 (copper metabolism MURR1 domain 10, COMMD10) 减少导致 Cu 在肝癌细胞内积累, 引起肝癌的放疗抵抗, 其机制在于 COMMD10 的抑制会减少 Cu 介导的 HIF1 $\alpha$  的泛素化降解, 促进其核转位以及铜蓝蛋白和 SLC7A11 的转录, 从而抑制肝癌细胞铁死亡<sup>[26]</sup>。因此, 泛素-蛋白酶体系统通过调节 SLC7A11 转录因子的泛素化水平, 从而影响 SLC7A11 的 mRNA 水平, 进而调节细胞铁死亡。

### 3.1.3 泛素化修饰调控 GPX4 的稳定性

GPX4 是铁死亡过程中的重要分子, 在各种疾病的发展过程中, GPX4 的稳定性以及表达会通过影响铁死亡调节疾病进程, 如重度非酒精性脂肪性肝病<sup>[27]</sup>、肝缺血再灌注损伤<sup>[28]</sup>、心肌损伤<sup>[29]</sup>、多囊卵巢综合征<sup>[30]</sup>、糖尿病性视网膜病<sup>[31]</sup>、术后认知损伤<sup>[32]</sup>等。有研究报道, 在氧化应激情况下线性泛素链组装复合物 (linear ubiquitin chain assembly complex, LUBAC) 通过靶向 GPX4 促进其线性泛素链的形成, 从而稳定 GPX4, 抑制铁死亡, 促进细胞存活<sup>[33]</sup>。

在肿瘤细胞中, 核糖核苷酸还原酶亚单位 M1 (ribonucleotide reductase subunit M1, RRM1) 调控去泛素化酶 USP11 和泛素化酶 MDM2 从而影响 p53 泛素化水平, 不稳定的 p53 通过抑制 p21 蛋白进而抑制 GPX4 的活性和表达, 促进肿瘤细胞中放疗诱导的铁死亡<sup>[34]</sup>。在神经内分泌前列腺癌中, TRIM 蛋白家族成员触发基序 36 (trigger motif 36, TRIM36) 通过介导己糖激酶 2 (hexokinase 2, HK2) 泛素化降解, 抑制糖酵解, 降低 GPX4 的表达, 激活铁死亡, 从而抑制前列腺癌的神经内分泌



分化<sup>[35]</sup>。在胃癌转移过程中,半胱氨酸蛋白酶抑制剂 SN (cystatin SN, CST1) 通过招募 OTUB1, 降低 GPX4 泛素化水平, 提高其稳定性, 降低细胞内 ROS 水平, 抑制胃癌细胞铁死亡, 进而促进胃癌转移, 表明 CST1 可能作为胃癌转移新的标志物和潜在的治疗靶点<sup>[36]</sup>。另一项研究表明, F-box 蛋白家族成员 FBXO31 在 UPS 中作为底物识别蛋白发挥功能, 也通过促进 GPX4 泛素化降解, 引起胆管癌细胞发生铁死亡, 并增加其对顺铂的敏感性<sup>[37]</sup>。综上, 在已报道的部分癌症中, 这些蛋白质直接或间接地介导 GPX4 泛素化降解, 从而激活癌细胞发生铁死亡, 那么, 寻找靶向促进这些蛋白质的小分子药物, 从而增加 GPX4 的泛素化水平, 增强癌细胞对铁死亡的敏感性是一种有前景的治疗策略。

天然药物的某些活性成分可通过靶向 GPX4 影响细胞中铁死亡进程, 诱导或改善各种疾病的发生发展。天然药物活性成分芍药苷 (Paeoniflorin) 可通过增加胶质瘤中泛素化酶 NEDD4L 的表达, 下调 GPX4 等分子的表达水平, 从而诱导癌细胞发生铁死亡<sup>[38]</sup>。银杏内酯 B (Ginkgolide B) 可抑制

GPX4 泛素化, 从而减轻氧化应激和铁死亡, 改善糖尿病肾病<sup>[39]</sup>。天然药物来源的生物碱血根碱 (Sanguinarine, SAG) 可通过介导 GPX4 泛素化降解, 引起非小细胞肺癌细胞发生铁死亡, 抑制其进展<sup>[40]</sup>。天然小分子 Bufotalin 也通过促进 GPX4 泛素化降解, 触发非小细胞肺癌细胞的铁死亡<sup>[41]</sup>。众所周知, 铁死亡诱导剂 RSL3 靶向 GPX4 通过自噬-溶酶体途径和 UPS 途径降解, 最近研究人员基于 PROTAC 技术, 发现一种新的 GPX4 降解剂 8c 具有更好的 GPX4 降解能力, 且通过 UPS 途径起主要作用, 从而诱导肿瘤细胞发生铁死亡, 具有更好的抗肿瘤效果<sup>[42]</sup>。去泛素化酶的广谱抑制剂——吡啶硫酮钯络合物 (Palladium pyritnone complex, PdPT) 通过抑制去泛素化酶活性, 增加 GPX4 的泛素化, 并促进蛋白酶体降解 GPX4, 最终促进肿瘤细胞发生铁死亡<sup>[43]</sup>。因此, 在各种疾病中, 各种泛素连接酶介导的 GPX4 泛素化降解所引起的铁死亡会加剧疾病的发生发展, 提示需要寻找靶向抑制 GPX4 的泛素化小分子, 减少细胞内铁死亡的发生, 从而减轻疾病发展。

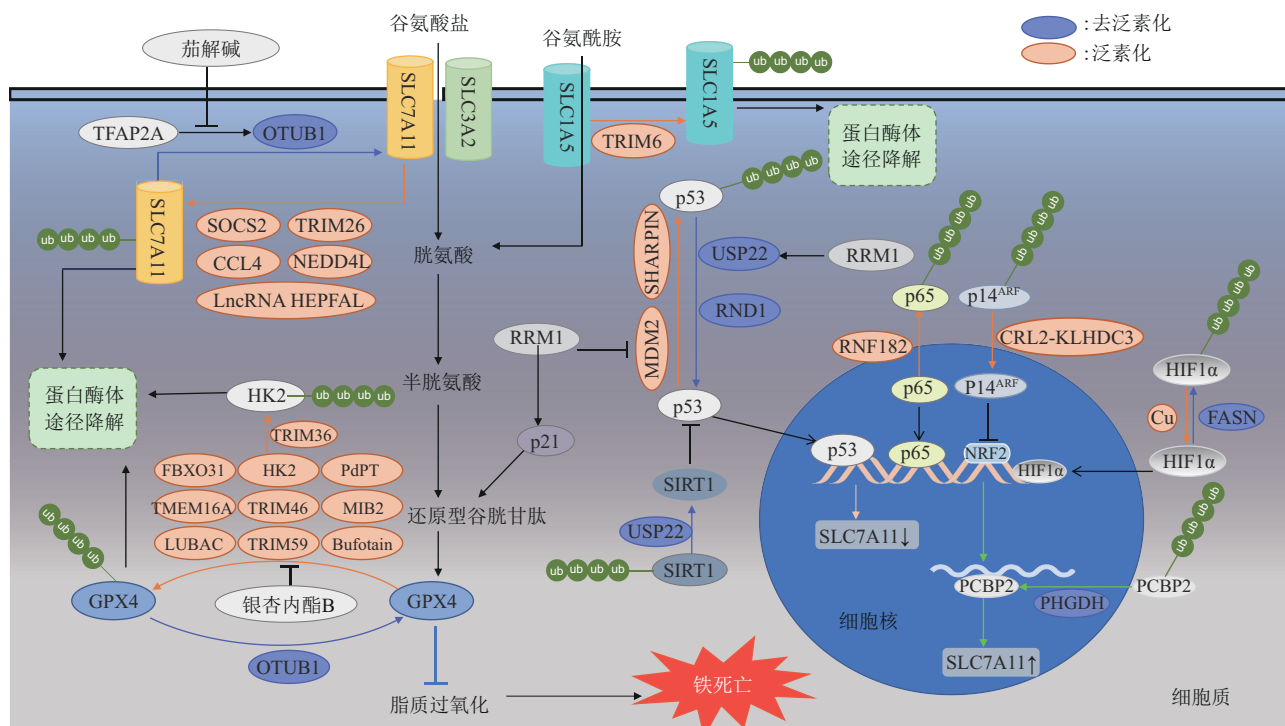


Fig. 1 Ubiquitination modification in amino acid metabolic pathway

图1 氨基酸代谢通路中的泛素化修饰

氨基酸转运系统主要组分SLC7A11转运胱氨酸进入细胞, 进入细胞内的胱氨酸转变为半胱氨酸, 并参与GSH的合成, 进而合成GPX4, 参与抗氧化代谢过程, 可抵抗铁死亡。细胞膜上的SLC1A5也可转运胱氨酸进入细胞, 参与半胱氨酸代谢通路。p53、p65、HIF1 $\alpha$ 等转录因子通过调控铁死亡的关键调节分子的表达来参与铁死亡过程。若半胱氨酸代谢过程受阻, 如泛素-蛋白酶体系统直接对SLC7A11、GPX4等铁死亡的关键调节蛋白进行降解, 或者间接影响其上游转录因子的泛素化降解过程, 导致细胞内脂质过氧化物堆积, 最终诱导细胞发生铁死亡。蓝色圆圈代表去泛素化分子, 橙色圆圈代表促进泛素化修饰的分子。

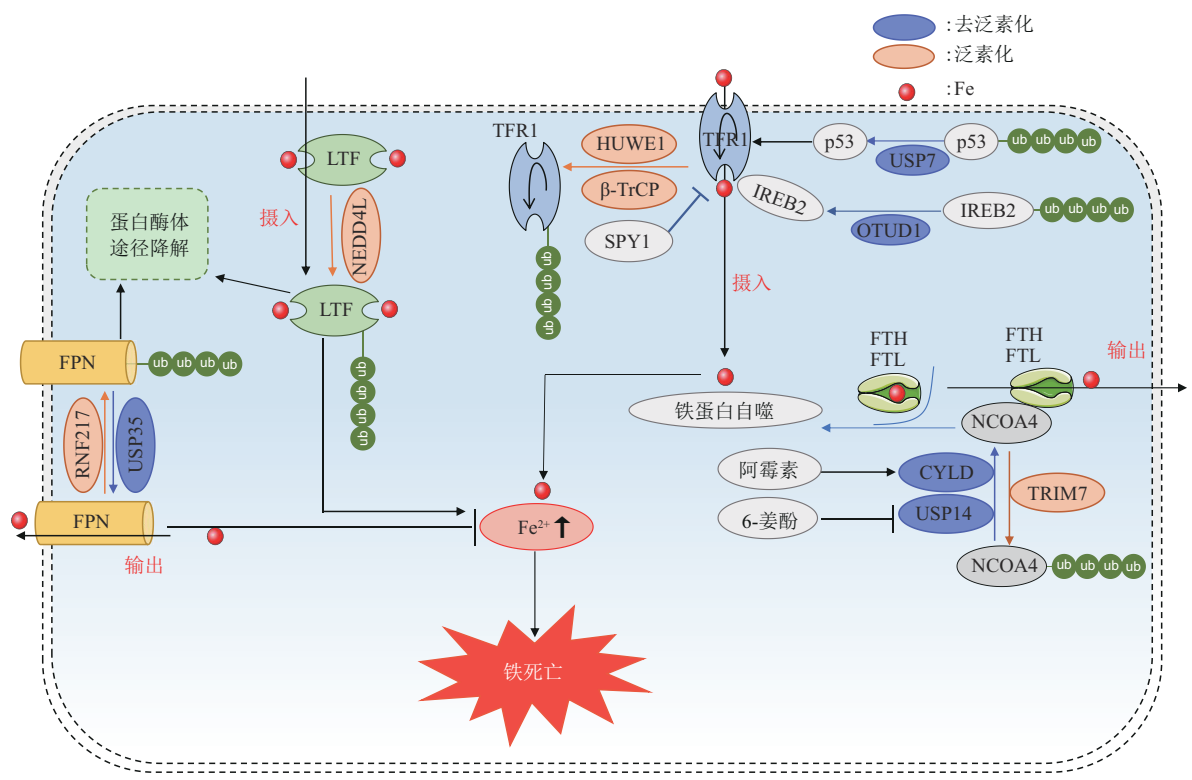
3.2 铁代谢

细胞内铁过载是触发铁死亡的重要因素之一，导致细胞内铁过载的原因主要有：铁摄取增加、含铁蛋白的降解、铁储存减少、铁输出的失调等，涉及的关键分子主要有铁蛋白（ferritin）、转铁蛋白（transferrin, TF）、铁输出蛋白（ferroportin, FPN）等，影响这些关键分子的稳定性或者活性可调节铁死亡（图2）。

3.2.1 泛素化修饰与NCOA4介导的铁蛋白自噬

铁蛋白由铁重链蛋白和铁轻链蛋白组成，是主要的铁储存蛋白，但铁蛋白降解后铁被释放至细胞中，引起细胞内铁离子水平上升，进而诱发铁死亡。在缺血性脑卒中的发生发展过程中，核受体共激活因子4（nuclear receptor coactivator 4, NCOA4）介导的铁蛋白自噬降解引起神经元细胞发生铁死亡。其机制在于USP14介导NCOA4去泛素化，上调NCOA4蛋白水平，且NCOA4与铁蛋白相互作用从而介导其自噬降解，引起神经元细胞内游离铁水平升高，促进神经元细胞的铁死亡，加

剧缺血性脑卒中的发展<sup>[44]</sup>。在阿霉素（Doxorubicin）治疗癌症过程中，通过上调去泛素化酶——圆柱瘤蛋白（cylindromatosis, CYLD）的表达，下调NCOA4泛素化水平，促进NCOA4介导的铁蛋白自噬，造成心脏细胞铁死亡，加重心肌细胞损伤<sup>[45]</sup>。然而，在肺癌细胞中，6-姜酚（6-gingerol）可下调USP14表达，通过增加自噬体数量和铁浓度，促进肿瘤细胞铁死亡<sup>[46]</sup>，提示在癌症进展过程中，NCOA4介导的铁蛋白自噬可能发挥着抑癌作用。最新研究表明，三结构域蛋白7（tripartite motif-containing protein 7, TRIM7）可介导NCOA4进行K48连接的泛素化，减少胶质瘤细胞中NCOA4介导的铁自噬和铁死亡，提示TRIM7缺失或特异性抑制剂可对胶质瘤的治疗提供新的策略<sup>[47]</sup>。综上，NCOA4介导的铁蛋白自噬所引起的铁死亡在不同疾病发生发展过程中具有不同的作用，提示需要根据目的效应开发靶向铁蛋白自噬的相关小分子以调控细胞铁死亡。



**Fig. 2 Ubiquitination modification in iron metabolic pathway**  
图2 铁代谢通路中的泛素化修饰

转铁蛋白TF、LTF、FPN以及转铁蛋白受体TFR等摄取和输出铁离子进出细胞、铁蛋白与细胞内铁离子的结合与分离，这些过程维持着细胞中铁离子水平的平衡，当这一稳定状态被打破，如FPN、TF、LTF、FTH、FTL、TFR等发生泛素化降解，导致细胞中铁离子水平升高时，细胞对铁死亡更加敏感。蓝色圆圈代表去泛素化分子，橙色圆圈代表促进泛素化修饰的分子。

### 3.2.2 泛素化修饰对转铁蛋白受体的调控

转铁蛋白受体 (transferrin receptor, TFR) 与转铁蛋白相结合, 介导细胞从转铁蛋白中摄取铁, 细胞过量摄取铁则会发生铁死亡。研究表明, 大鼠心脏缺血再灌注后, 心肌细胞中去泛素化酶——泛素特异性蛋白酶 7 (ubiquitin-specific protease 7, USP7) 下调 p53 泛素化水平, 从而激活 p53, 促进转铁蛋白受体 1 (transferrin receptor 1, TFR1) 的转录, 导致细胞内铁积累和脂质过氧化, 促进心肌细胞铁死亡<sup>[48]</sup>。有研究表明, 肝脏移植手术后肝损伤程度与铁死亡相关, 肝脏中表达的含 HECT、UBA 和 WWE 结构域的 E3 泛素连接酶 (The HECT, UBA, and WWE domain-containing E3 ubiquitin protein ligase 1, HUWE1 也称为 MULE) 特异性靶向 TFR1, 介导其泛素化降解, 从而调控铁代谢, 抑制肝细胞铁死亡, 减轻急性肝损伤<sup>[49]</sup>。另外, Speedy/RINGO 细胞周期调节家族成员 A (Speedy/RINGO cell cycle regulator family member A, SPY1) 可以通过缓解 TFR1 输入过量的铁所引起的脂质过氧化, 从而抑制神经元细胞铁死亡<sup>[50]</sup>。研究表明, 在结直肠癌中去泛素化酶 OTUD1 通过降低铁离子应答元件结合蛋白 2 (iron-responsive element-binding protein 2, IREB2) 泛素化水平并稳定 IREB2, 促进转铁蛋白受体蛋白 1 介导的铁转运, 引起癌细胞内铁离子浓度增加, 增加细胞对铁死亡的敏感性, 从而达到抑制肿瘤生长的效果<sup>[51]</sup>。含有  $\beta$  转导素重复序列的 E3 泛素蛋白连接酶 ( $\beta$ -TrCP) 促进 TFRC 的泛素化降解, 引起肝癌细胞中铁离子水平降低, 并抵抗 RSL3 和 Erastin 诱导的铁死亡<sup>[52]</sup>。

#### 3.2.3 泛素化修饰对转铁蛋白的调控

转铁蛋白、铁输出蛋白可与铁结合, 分别负责细胞内铁离子的输入与输出。在人胰腺癌细胞系中, E3 连接酶 NEDD4L 可介导乳运铁蛋白 (lactotransferrin, LTF) 泛素化降解, 抑制癌细胞中铁的积累, 以及随后的氧化损伤, 从而抑制癌细胞铁死亡<sup>[53]</sup>。在肺癌中泛素特异性蛋白酶 35 (ubiquitin-specific protease 35, USP35) 直接与 FPN 相互作用, 降低其泛素化水平, 并维持其蛋白稳定性, 降低肺癌细胞内铁离子的水平, 抵抗 RSL3 和 Erastin 诱导的铁死亡<sup>[54]</sup>。

泛素修饰系统通过影响铁吸收、输出、储存等相关蛋白质的稳定性, 从而调控细胞内铁离子的水平, 最终调节细胞铁死亡的进程。因此, 靶向设计

针对这一过程的小分子可通过影响细胞铁死亡从而达到治疗或减缓疾病进程的效果。

### 3.3 脂质代谢

铁死亡的发生与脂质代谢密不可分, 研究表明, 抑制鞘脂的从头合成, 可通过减少缺氧诱导因子 1 (hypoxia-inducible factor 1, HIF1 $\alpha$ ) 的泛素化降解, 稳定 HIF1 $\alpha$  蛋白, 促进 HIF1 $\alpha$  通路的效应因子的表达, 改变细胞内葡萄糖代谢产物的水平, 从而减少细胞发生铁死亡<sup>[55]</sup>。众所周知, 铁死亡与脂质过氧化息息相关, 本文总结了泛素化修饰与脂质过氧化的调控关系, 为研究泛素化修饰在抵抗脂质过氧化过程中发挥的作用而提供线索 (图 3)。

#### 3.3.1 NRF2 的调节

转录因子核因子红细胞 2 相关因子 2 (nuclear factor erythroid 2-related factor 2, NFE2L2/NRF2) 在癌症患者中高表达, 并受泛素蛋白酶体途径的严格调控, 在癌症进展中起关键作用。在人类卵巢癌细胞中, NRF2 的水平与铁死亡抵抗有关。研究表明, 抑制 NRF2 通过含 HECT 和 RLD 结构域的 E3 泛素蛋白连接酶 2 (HECT and RLD domain containing E3 ubiquitin protein ligase 2, HERC2) 导致 NCOA4 增加以及铁蛋白向自噬体募集, 还通过调控囊泡相关膜蛋白 8 (vesicle-associated membrane protein 8, VAMP8) 导致铁蛋白自噬阻断, 引起铁蛋白在自噬体内积累, 细胞内铁升高, 增加细胞对铁死亡的敏感性<sup>[56]</sup>。在胶质瘤细胞中, p62 根据 p53 的突变状态调控 p53 的泛素化水平, 影响 NRF2 信号, 调控 SLC7A11 的表达, 从而影响铁死亡<sup>[57]</sup>。另一项研究也证明, 突变型 p53 的泛素化参与乳腺癌的铁死亡过程<sup>[58]</sup>。在肺泡上皮细胞中 ARE 结合因子 (the AU-rich element (ARE) - binding factor 1, AUF1) 通过上调 NRF2 和下调转录因子 3 (transcription factor 3, ATF3) 拮抗铁死亡, 激活 AUF1 通路可能有助于治疗脓毒症所致的急性肺损伤<sup>[59]</sup>。研究表明, 泛素连接酶 MIB1 可刺激 NRF2 通过泛素蛋白酶体途径降解, 导致肺癌细胞对诱导剂诱导的铁死亡更敏感<sup>[60]</sup>。而在非小细胞肺癌细胞中 USP11 与 NRF2 直接相互作用, 并通过其去泛素化酶活性调控 NRF2 稳定性, 从而降低细胞在 ROS 介导的应激过程中对铁死亡的敏感性<sup>[61]</sup>。此外, 铁死亡诱导剂 RSL3 可在肺癌细胞中直接与 USP11 结合并抑制其活性, 进而促进 NRF2 泛素化降解, 抑制 NRF2-GSH 通路, 诱导细胞铁死亡<sup>[62]</sup>。在胃癌细胞中, 铁死亡诱导剂 Erastin 和



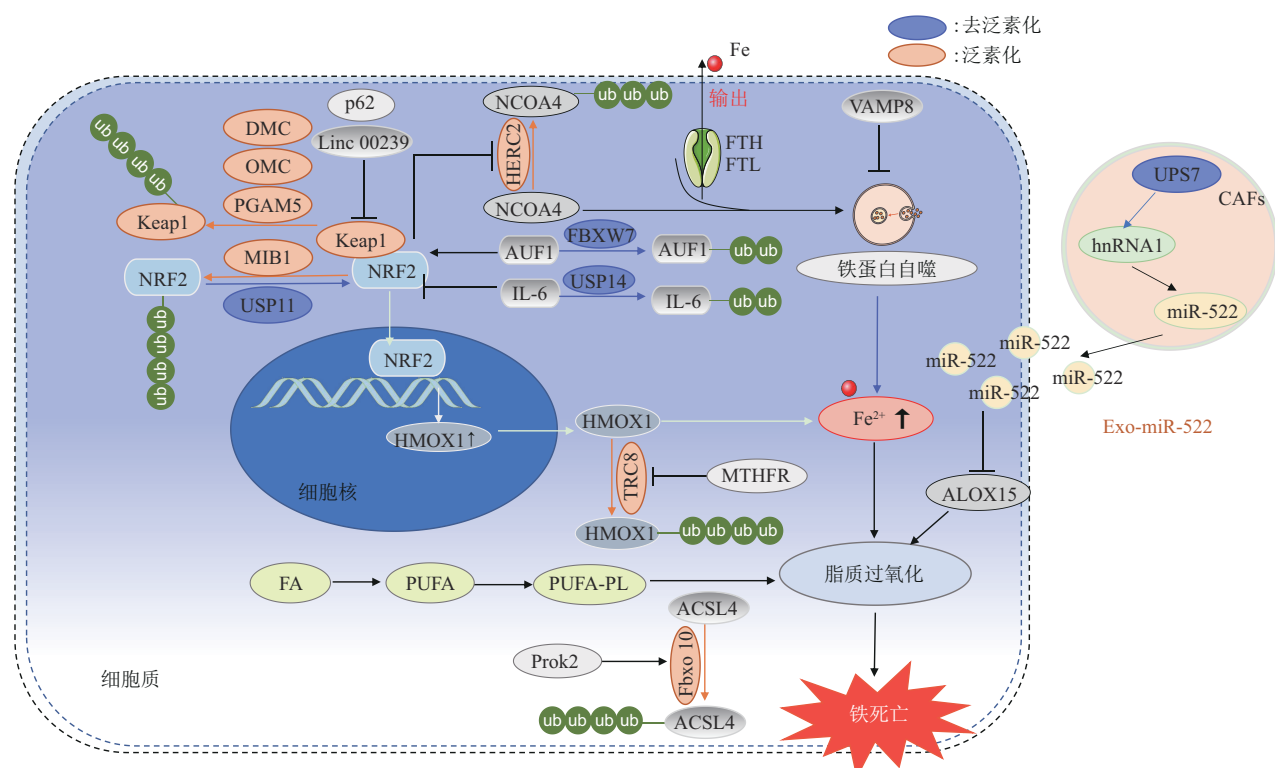


Fig. 3 Ubiquitination modification in lipid metabolism pathway  
图3 脂质代谢通路中的泛素化修饰

脂肪酸 (FA) 合成多不饱和脂肪酸 (PUFA), 进而转变成含多不饱和脂肪酸的磷脂 (PUFA-PL), 与氧化物质反应产生脂质过氧化物及其分解产物, ACSL4 促进含多不饱和脂肪酸磷脂的生成、NCOA4 介导的铁蛋白自噬、ALOX15 介导的磷脂氧化等过程均引起细胞内脂质过氧化水平升高, 细胞就越容易发生铁死亡, 而细胞中的 NRF2 可入核上调铁和 ROS 代谢相关的靶基因, 如 *HMOX1* 等, 抵抗脂质过氧化, 抑制铁死亡。所以 NRF2 发生泛素化降解后, 细胞的抗氧化系统失调, 细胞更容易发生铁死亡。蓝色圆圈代表去泛素化分子, 橙色圆圈代表促进泛素化修饰的分子。

RSL3 可诱导细胞中阴离子通道瞬时受体 (transient receptor potential melastatin 2, TRPM2) 上调, 稳定 HIF1 $\alpha$  和 NRF2, 抵抗 Erastin 和 RSL3 诱导的铁死亡<sup>[63]</sup>。山羊乳腺上皮细胞经脂多糖处理后, 细胞内氧化应激水平上升, 诱导铁死亡发生, 其机制在于 USP14 与白介素 (interleukin, IL) -6 相互作用并降低其泛素化水平, 从而上调 IL-6, 抑制 NRF2 抗氧化信号通路, 促进铁死亡<sup>[64]</sup>。Keap1/NRF2 信号在细胞内主要发挥抵御氧化损伤的重要作用, 在心力衰竭<sup>[65]</sup>、病毒性脑炎<sup>[66]</sup>、癌症等疾病中均可通过调节铁死亡进而影响疾病的进展。天然药物银锻苷 (Tiliroside) 可直接与 TANK 结合激活酶 1 (TANK-binding kinase 1, TBK1) 结合并抑制其活性, 降低 p62 对 Keap1 的亲合性, 从而促进 Keap1 介导的 NRF2 泛素化降解, 通过影响 NRF2 下游通路诱导肝癌细胞铁死亡<sup>[67]</sup>。提示靶向抑制

Keap1 与 NRF2 的结合, 从而稳定 NRF2, 使其能激活下游分子, 发挥抗氧化功能, 抵抗细胞发生铁死亡。

3.3.2 ALOX15 的调节

研究表明, 在胃癌中, 去泛素化酶 USP7 稳定核内不均一性核糖核蛋白 A1 基因 (heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1, hnRNP A1), A1 基因促进肿瘤相关成纤维细胞 (cancer-associated fibroblasts, CAFs) 分泌 miR-522, 下调癌细胞中花生四烯酸脂氧合酶 15 (arachidonate lipoxygenase 15, ALOX15), 导致细胞内脂质-ROS 的积累减少, 抑制了癌细胞的铁死亡, 促进胃癌的发展<sup>[68]</sup>。在糖尿病肾病晚期, miRNA (miR142、miR650)、E3 连接酶 (PML、ZMIZ1、MARCHF1、MARCHF3、MARCHF8、MARCHF11)、转录因子 (CREBBP、EP300、HDAC1、MTA1、SPI1、

STAT6)通过调控 ALOX15 介导的脂质代谢所引起的铁死亡,诱导肾病的发生发展<sup>[69]</sup>。

### 3.3.3 其他脂代谢相关分子的调节

研究表明,在神经元细胞中,前动力蛋白2 (prokineticin 2, Prok2)加速 F-box 蛋白10 (F-box only protein 10, F-boxo10)驱动的泛素化,降解长链脂肪酸辅酶 A 连接酶4 (long chain fatty acid CoA ligase 4, ACSL4),抑制花生四烯酸-磷脂的生物合成,从而抑制脂质过氧化,阻止神经元细胞发生铁死亡,缓解创伤性脑损伤<sup>[70]</sup>。E3 连接酶鼠双微粒体2 (murine double minute 2, MDM2)可泛素化 p53,研究表明,同源复合物 MDM2/MDMX 可通过调节转录因子 PPAR $\alpha$  的活性导致脂质重塑,进而促进铁死亡。而抑制 MDM2/MDMX 可导致铁死亡抑制蛋白 (ferroptosis suppressor protein 1, FSP1)水平升高,从而导致辅酶 Q10 升高,说明 MDM2/X 通过降低细胞对脂质过氧化的防御作用,从而促进铁死亡<sup>[71]</sup>。

综上,铁死亡进程中,细胞内氧化水平的增高引起脂质过氧化,促进铁死亡的发生。但是细胞自身也存在抵抗氧化损伤的系统,主要依靠抗氧化系统(如 NRF2、ALOX15 等)抑制脂质过氧化,然而这种抗氧化系统的失调,如发生泛素化降解,将导致细胞内脂质过氧化物水平上升,促进细胞发生铁死亡。

### 3.4 其他独立通路

在黑色素瘤中,铁死亡诱导剂 Erastin 可激活转录因子 FOXM1 表达增加,FOXM1 与含 HECT 结构域的 E3 连接酶——神经前体细胞表达发育下调蛋白4 (neuronal precursor cell-expressed developmentally downregulated 4, NEDD4)的启动子直接结合,上调 NEDD4,从而介导电压依赖阴离子通道蛋白2/3 (voltage dependent anion channels 2 and 3, VDAC2/VDAC3)泛素化降解,抑制铁死亡<sup>[72]</sup>。在胃癌的腹膜转移过程中, LncRNA BDNF-AS 通过招募 WDR5 调控 FBXW7 转录,FBXW7 影响 VDAC3 泛素化调控胃癌细胞铁死亡<sup>[73]</sup>。

在胶质母细胞瘤中,环状 RNA CircLRFN<sub>5</sub> 通过与转录因子——配对相关同源框2 (paired related homeobox 2, PRRX2)相互作用并介导其泛素化降解,下调 GTP 环化水解酶1 (GTP cyclohydrolase 1, GCH1)的转录,抑制抗氧化四氢生物喋呤 (tetrahydrobiopterin, BH4)的产生,

从而促进铁死亡<sup>[74]</sup>。在神经元中,MDM2 介导 SPY1 泛素化降解,缓解 GCH1/BH4 轴失调,抑制神经元铁死亡,延缓肌萎缩侧索硬化<sup>[50]</sup>。

在肝癌中,同型半胱氨酸诱导的 ER 蛋白泛素样结构域1 (homocysteine inducible ER protein with ubiquitin like domain 1, HERPUD1)可降低 MDM2 泛素化,从而促进谷胱甘肽合成酶 (glutathione synthetase, GSS)泛素化,抑制 GSH 的合成,增加肝癌细胞对铁死亡的敏感性,研究发现科罗索酸 (corosolic acid)可通过上调 HERPUD1 增敏肝癌细胞铁死亡<sup>[75]</sup>。

在糖尿病肾病中,铁死亡的研究为其治疗方案提供了更广泛的见解。在糖尿病肾病,五味子甲素 (Schisandrin A)直接靶向脂联素受体1 (adiponectin receptor 1, ADIPOR1)并介导其去泛素化,激活 AMPK-ROS 信号,减轻肾细胞的铁死亡,但其具体的机制尚待探讨<sup>[76]</sup>。Dapagliflozin 通过与 SLC40A1 (铁转运蛋白)直接结合并减少其泛素化降解,保护肾小管免于糖尿病诱导的铁死亡<sup>[77]</sup>。

## 4 泛素化与铁死亡表观调控

### 4.1 组蛋白的泛素化修饰

组蛋白 H2A (histone 2A, H2A) 和 H2B 的泛素化与基因的转录活性有关,单泛素化的 H2A 通常出现在异染色质中,与基因沉默相关,而单泛素化的 H2B 多存在于常染色质中,与转录激活相关。肿瘤抑制因子 BRCA1 相关蛋白1 (BRCA1 associated protein 1, BAP1)编码核内去泛素化酶,与多个转录因子和染色质修饰酶相互作用,主要功能是对染色质上的组蛋白2A 进行去泛素化。研究表明,BAP1 通过对组蛋白2A 进行去泛素化,可增加其与 SLC7A11 启动子的结合,引起 SLC7A11 转录起始和延伸的抑制,SLC7A11 表达抑制会导致胱氨酸摄取减少,铁死亡敏感性增加,促进细胞铁死亡,部分抑制肿瘤发展<sup>[78]</sup>。多梳抑制复合物1 (polycomb repressive complex 1, PRC1)是已知在第119位赖氨酸上单泛素化 H2A 的泛素连接酶,其核心组分为 RNF2、BMI1。研究表明,RNF2 和 BMI1 可特异性与 SLC7A11 启动子上的 H2A 结合并促进其泛素化。综上,BAP1 增加 H2A 与 SLC7A11 启动子的结合,而 PRC1 减少 H2A 与 SLC7A11 启动子的结合,但 BAP1 和 PRC1 均抑制 SLC7A11 的表达<sup>[79]</sup>。所以 BAP1 和 PRC1 通过动态调节



SLC7A11 启动子上 H2Aub 的泛素化和去泛素化之间的平衡来协同抑制 SLC7A11 的转录。

组蛋白 2B 第 120 位赖氨酸的单泛素化修饰 (H2Bub1) 是调控基因转录的关键表观遗传修饰, 通常被认为是基因转录的活性标志。研究发现, 在 Erastin 诱导铁死亡的过程中, Erastin 处理后降低组蛋白 2B 对 *SLC7A11* 启动子的占用, 下调 *SLC7A11* 的表达, 降低细胞 GSH 水平, 引起细胞发生铁死亡。更有趣的是, p53 通过促进组蛋白 2B 的去泛素化酶 USP7 核转位, 在不依赖 p53 转录因子活性的情况下负调控组蛋白 2B 的单泛素化水平, p53/USP7/H2Bub1 轴通过调节 SLC7A11 的表达与活性, 参与 Erastin 诱导的铁死亡过程, 揭示了组蛋白单泛素化修饰调控铁死亡的新的表观遗传机制<sup>[80]</sup>。

4.2 甲基化修饰、DNA 羟甲基化与泛素化

在肺纤维化中, 肺泡上皮细胞发生严重铁死亡, 其机制在于从头甲基化调控因子 UHRF1 上调 *GPX4* 和 *FSP1* 基因启动子区 CpG 位点的甲基化水平, 抑制 GPX4 和 FSP1 的表达, 导致细胞发生铁死亡, 从而加速肺纤维化进程<sup>[81]</sup>。

Cullin-4 RING 泛素连接酶 (Cullin-4 RING

ubiquitin ligase, CRL4) 与其底物接头分子 DDB1 和 CUL4 相关因子 8 (DDB1 and CUL4 associated factor 8, DCAF8) 组合成泛素 E3 复合物 CRL4<sup>DCAF8</sup>, 是淋巴特异性解旋酶 (lymphoid specific helicase, LSH) 的 E3 连接酶, 促进 LSH 水解, 而 WD 重复域 76 (WD repeat containing protein 76, WDR76) 竞争性抑制 CRL4<sup>DCAF8</sup>-LSH 复合物的组装, 拮抗 LSH 水解。细胞感知并适应氧化损伤使 DNA 发生羟甲基化, 促进 WDR76 与 LSH 的相互作用, 增加了 DCAF8 与 WDR76 的比值, 并伴随着 DNA 氧化减少和 ROS 过量产生, DCAF8/WDR76 通过控制 LSH 的降解, 在表观遗传水平上调控铁死亡<sup>[82]</sup>。

4.3 SUMO 化修饰

在肺癌中, 小泛素样修饰蛋白 (small ubiquitin-like modifier, SUMO) 特异性蛋白酶 1 (SUMO-specific protease 1, SENP1) 异常高表达, 保护肺癌细胞免受 Erastin 和顺铂诱导的铁死亡。抑制 SENP1 可上调炎症信号 A20 和 SUMO1 蛋白水平的表达, SUMO 化的 A20 与 ACSL4 和 SLC7A11 相互作用, 促进肺癌细胞铁死亡, 从而抑制肺癌细胞的生长<sup>[83]</sup>。

Table 1 E3 ubiquitin ligases regulate ferroptosis-related proteins  
表1 E3泛素连接酶调控铁死亡相关蛋白

E3泛素连接酶	调控靶点	作用	参考文献
TRIM26	SLC7A11	促进	[14]
NEDD4L	SLC7A11	促进	[17]
SHARPIN	p53	促进	[21]
CRL2	p14	抑制	[22]
PHGDH	PCBP2	抑制	[23]
RNF182	p65	促进	[24]
LUBAC	GPX4	抑制	[33]
TRIM36	HK2	促进	[35]
FBXO31	GPX4	促进	[37]
NEDD4L	GPX4	促进	[38]
TRIM7	NCOA4	抑制	[47]
HUWE1	TFR1	抑制	[49]
β-TrCP	TFR1	抑制	[52]
NEDD4L	LTF	抑制	[53]
HERC2	NCOA4	促进	[56]
MIB1	NRF2	促进	[60]
MDM2/MDMX	PPARα	促进	[71]
NEDD4	VDAC2/VDAC3	抑制	[72]
MDM2	SPY1	抑制	[50]
PRC1	H2A	促进	[79]

Table 2 Deubiquitinases regulate ferroptosis-related proteins

表2 去泛素酶调控铁死亡相关蛋白

去泛素酶	调控靶点	作用	参考文献
OTUB1	SLC7A11	抑制	[9-11]
RND1	p53	促进	[19]
USP22	SIRT1	抑制	[20]
OTUB1	GPX4	抑制	[36]
USP14	NCOA4	促进	[44]
CYLD	NCOA4	促进	[45]
USP7	p53	促进	[48]
OTUD1	IREB2	抑制	[51]
USP35	FPN	抑制	[54]
USP11	NRF2	抑制	[61]
USP14	IL-6	促进	[64]
USP7	hnRNPA1	抑制	[68]
BAP1	H2A	促进	[78]
USP7	H2B	促进	[80]

## 5 展 望

随着研究的深入,已经在越来越多的病理生理过程中发现铁死亡,这也为治疗疾病提供了一种新的策略,尤其在癌症中,铁死亡联合现有的治疗方案也有助于解决耐药问题。泛素化修饰是一种翻译后修饰过程,越来越多的证据表明,泛素修饰系统在调节细胞中铁死亡的发生以及细胞对铁死亡敏感性方面具有重要作用,泛素酶与铁死亡相关蛋白相互作用,调节其稳定性,介导细胞对铁死亡的敏感性。未来需要深入了解泛素修饰系统与铁死亡相关蛋白的具体作用机制,如确定其多聚泛素化类型以及泛素化位点等,这将为开发靶向调节特定降解通路的小分子提供好的见解。总的来说,铁死亡为研究疾病的治疗方案提供了一个新的方向,针对铁死亡的调控方式的研究尚且处于起步阶段,探讨铁死亡的发生机制、调控机制以及在多种疾病中的作用效果,并以此为依据提出有效的、有针对性的治疗方案,将这些治疗方案转化成可应用于临床治疗的手段是亟待解决的问题。

## 参 考 文 献

- [1] Dolma S, Lessnick S L, Hahn W C, *et al.* Identification of genotype-selective antitumor agents using synthetic lethal chemical screening in engineered human tumor cells. *Cancer Cell*, 2003, **3**(3): 285-296
- [2] Yagoda N, von Rechenberg M, Zaganjor E, *et al.* RAS-RAF-MEK-

dependent oxidative cell death involving voltage-dependent anion channels. *Nature*, 2007, **447**(7146): 864-868

- [3] Yang W S, Stockwell B R. Synthetic lethal screening identifies compounds activating iron-dependent, nonapoptotic cell death in oncogenic-RAS-harboring cancer cells. *Chem Biol*, 2008, **15**(3): 234-245
- [4] Dixon S J, Lemberg K M, Lamprecht M R, *et al.* Ferroptosis: an iron-dependent form of nonapoptotic cell death. *Cell*, 2012, **149**(5): 1060-1072
- [5] Rong Y, Fan J, Ji C, *et al.* USP11 regulates autophagy-dependent ferroptosis after spinal cord ischemia-reperfusion injury by deubiquitinating Beclin 1. *Cell Death Differ*, 2022, **29**(6): 1164-1175
- [6] Zhu J, Sun R, Sun K, *et al.* The deubiquitinase USP11 ameliorates intervertebral disc degeneration by regulating oxidative stress-induced ferroptosis *via* deubiquitinating and stabilizing Sirt3. *Redox Biol*, 2023, **62**: 102707
- [7] Cui Y, Luo L, Zeng Z, *et al.* MFG-E8 stabilized by deubiquitinase USP14 suppresses cigarette smoke-induced ferroptosis in bronchial epithelial cells. *Cell Death Dis*, 2023, **14**(1): 2
- [8] Dong B, Ding C, Xiang H, *et al.* USP7 accelerates FMR1-mediated ferroptosis by facilitating TBK1 ubiquitination and DNMT1 deubiquitination after renal ischemia-reperfusion injury. *Inflamm Res*, 2022, **71**(12): 1519-1533
- [9] Zhao X, Zhou M, Yang Y, *et al.* The ubiquitin hydrolase OTUB1 promotes glioma cell stemness *via* suppressing ferroptosis through stabilizing SLC7A11 protein. *Bioengineered*, 2021, **12**(2): 12636-12645
- [10] Liu T, Jiang L, Tavana O, *et al.* The deubiquitylase OTUB1 mediates ferroptosis *via* stabilization of SLC7A11. *Cancer Res*, 2019, **79**(8): 1913-1924
- [11] Hu P, Xu Y, Jiang Y, *et al.* The mechanism of the imbalance

- between proliferation and ferroptosis in pulmonary artery smooth muscle cells based on the activation of SLC7A11. *Eur J Pharmacol*, 2022, **928**: 175093
- [12] Liang X, Hu C, Han M, *et al.* Solasonine inhibits pancreatic cancer progression with involvement of ferroptosis induction. *Front Oncol*, 2022, **12**: 834729
- [13] Lin F, Chen W, Zhou J, *et al.* Mesenchymal stem cells protect against ferroptosis *via* exosome-mediated stabilization of SLC7A11 in acute liver injury. *Cell Death Dis*, 2022, **13**(3): 271
- [14] Zhu Y, Zhang C, Huang M, *et al.* TRIM26 induces ferroptosis to inhibit hepatic stellate cell activation and mitigate liver fibrosis through mediating SLC7A11 ubiquitination. *Front Cell Dev Biol*, 2021, **9**: 644901
- [15] Chen Q, Zheng W, Guan J, *et al.* SOCS2-enhanced ubiquitination of SLC7A11 promotes ferroptosis and radiosensitization in hepatocellular carcinoma. *Cell Death Differ*, 2023, **30**(1): 137-151
- [16] Zhang B, Bao W, Zhang S, *et al.* LncRNA HEPFAL accelerates ferroptosis in hepatocellular carcinoma by regulating SLC7A11 ubiquitination. *Cell Death Dis*, 2022, **13**(8): 734
- [17] Liu R, Liu L, Bian Y, *et al.* The dual regulation effects of ESR1/NEDD4L on SLC7A11 in breast cancer under ionizing radiation. *Front Cell Dev Biol*, 2021, **9**: 772380
- [18] Jiang L, Kon N, Li T, *et al.* Ferroptosis as a p53-mediated activity during tumour suppression. *Nature*, 2015, **520**(7545): 57-62
- [19] Sun Q, Xu Y, Yuan F, *et al.* Rho family GTPase 1 (RND1), a novel regulator of p53, enhances ferroptosis in glioblastoma. *Cell Biosci*, 2022, **12**(1): 53
- [20] Ma S, Sun L, Wu W, *et al.* USP22 protects against myocardial ischemia-reperfusion injury *via* the SIRT1-p53/SLC7A11-dependent inhibition of ferroptosis-induced cardiomyocyte death. *Front Physiol*, 2020, **11**: 551318
- [21] Zeng C, Lin J, Zhang K, *et al.* SHARPIN promotes cell proliferation of cholangiocarcinoma and inhibits ferroptosis *via* p53/SLC7A11/GPX4 signaling. *Cancer Sci*, 2022, **113**(11): 3766-3775
- [22] Zhang P, Gao K, Zhang L, *et al.* CRL2-KLHDC3 E3 ubiquitin ligase complex suppresses ferroptosis through promoting p14ARF degradation. *Cell Death Differ*, 2022, **29**(4): 758-771
- [23] Shen L, Zhang J, Zheng Z, *et al.* PHGDH inhibits ferroptosis and promotes malignant progression by upregulating SLC7A11 in bladder cancer. *Int J Biol Sci*, 2022, **18**(14): 5459-5474
- [24] Liu Y, Ouyang L, Mao C, *et al.* PCDHB14 promotes ferroptosis and is a novel tumor suppressor in hepatocellular carcinoma. *Oncogene*, 2022, **41**(27): 3570-3583
- [25] Li Y, Yang W, Zheng Y, *et al.* Targeting fatty acid synthase modulates sensitivity of hepatocellular carcinoma to sorafenib *via* ferroptosis. *J Exp Clin Canc Res*, 2023, **42**(1): 6
- [26] Yang M, Wu X, Hu J, *et al.* COMMD10 inhibits HIF1 $\alpha$ /CP loop to enhance ferroptosis and radiosensitivity by disrupting Cu-Fe balance in hepatocellular carcinoma. *J Hepatol*, 2022, **76**(5): 1138-1150
- [27] Zhang J, Xie H, Yao J, *et al.* TRIM59 promotes steatosis and ferroptosis in non-alcoholic fatty liver disease *via* enhancing GPX4 ubiquitination. *Hum Cell*, 2023, **36**(1): 209-222
- [28] Guo J, Song Z, Yu J, *et al.* Hepatocyte-specific TMEM16A deficiency alleviates hepatic ischemia/reperfusion injury *via* suppressing GPX4-mediated ferroptosis. *Cell Death Dis*, 2022, **13**(12): 1072
- [29] Kitakata H, Endo J, Matsushima H, *et al.* MITOL/MARCH5 determines the susceptibility of cardiomyocytes to doxorubicin-induced ferroptosis by regulating GSH homeostasis. *J Mol Cell Cardiol*, 2021, **161**: 116-129
- [30] Tang H, Jiang X, Hua Y, *et al.* NEDD4L facilitates granulosa cell ferroptosis by promoting GPX4 ubiquitination and degradation. *Endoc Connect*, 2023, **12**(4): e220459
- [31] Zhang J, Qiu Q, Wang H, *et al.* TRIM46 contributes to high glucose-induced ferroptosis and cell growth inhibition in human retinal capillary endothelial cells by facilitating GPX4 ubiquitination. *Exp Cell Res*, 2021, **407**(2): 112800
- [32] Zhao L, Gong H, Huang H, *et al.* Participation of Mind Bomb-2 in sevoflurane anesthesia induces cognitive impairment in aged mice *via* modulating ferroptosis. *ACS Chem Neurosci*, 2021, **12**(13): 2399-2408
- [33] Dong K, Wei R, Jin T, *et al.* HOIP modulates the stability of GPx4 by linear ubiquitination. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2022, **119**(44): e2214227119
- [34] Gao Y, Chen B, Wang R, *et al.* Knockdown of RRM1 in tumor cells promotes radio-/chemotherapy induced ferroptosis by regulating p53 ubiquitination and p21-GPX4 signaling axis. *Cell Death Dis*, 2022, **8**(1): 343
- [35] Zhao X, Zhou T, Wang Y, *et al.* Trifred motif 36 regulates neuroendocrine differentiation of prostate cancer *via* HK2 ubiquitination and GPx4 deficiency. *Cancer Sci*, 2023; **114**(6): 2445-2459
- [36] Li D, Wang Y, Dong C, *et al.* CST1 inhibits ferroptosis and promotes gastric cancer metastasis by regulating GPX4 protein stability *via* OTUB1. *Oncogene*, 2023, **42**(2): 83-98
- [37] Zhu Z, Zheng Y, He H, *et al.* FBXO31 sensitizes cancer stem cells-like cells to cisplatin by promoting ferroptosis and facilitating proteasomal degradation of GPX4 in cholangiocarcinoma. *Liver Int*, 2022, **42**(12): 2871-2888
- [38] Nie X H, Qiu S, Xing Y, *et al.* Paeoniflorin regulates NEDD4L/STAT3 pathway to induce ferroptosis in human glioma cells. *J Oncol*, 2022, **2022**: 6093216
- [39] Chen J, Ou Z, Gao T, *et al.* Ginkgolide B alleviates oxidative stress and ferroptosis by inhibiting GPX4 ubiquitination to improve diabetic nephropathy. *Biomed Pharmacother*, 2022, **156**: 113953
- [40] Xu R, Wu J, Luo Y, *et al.* Sanguinarine represses the growth and metastasis of non-small cell lung cancer by facilitating ferroptosis. *Curr Pharm Des*, 2022, **28**(9): 760-768
- [41] Zhang W, Jiang B, Liu Y, *et al.* Bufotalin induces ferroptosis in non-small cell lung cancer cells by facilitating the ubiquitination and degradation of GPX4. *Free Radic Biol Med*, 2022, **180**: 75-84
- [42] Wang C, Zheng C, Wang H, *et al.* Dual degradation mechanism of



- GPX4 degrader in induction of ferroptosis exerting anti-resistant tumor effect. *Eur J Med Chem*, 2023, **247**: 115072
- [43] Yang L, Chen X, Yang Q, *et al.* Broad spectrum deubiquitinase inhibition induces both apoptosis and ferroptosis in cancer cells. *Front Oncol*, 2020, **10**: 949
- [44] Li C, Sun G, Chen B, *et al.* Nuclear receptor coactivator 4-mediated ferritinophagy contributes to cerebral ischemia-induced ferroptosis in ischemic stroke. *Pharmacol Res*, 2021, **174**: 105933
- [45] Zhou Y J, Duan D Q, Lu L Q, *et al.* The SPATA2/CYLD pathway contributes to doxorubicin-induced cardiomyocyte ferroptosis via enhancing ferritinophagy. *Chem Biol Interact*, 2022, **368**: 110205
- [46] Tsai Y, Xia C, Sun Z. The inhibitory effect of 6-Gingerol on ubiquitin-specific peptidase 14 enhances autophagy-dependent ferroptosis and anti-tumor *in vivo* and *in vitro*. *Front Pharmacol*, 2020, **11**: 598555
- [47] Li K, Chen B, Xu A, *et al.* TRIM7 modulates NCOA4-mediated ferritinophagy and ferroptosis in glioblastoma cells. *Redox Biol*, 2022, **56**: 102451
- [48] Tang L J, Zhou Y J, Xiong X M, *et al.* Ubiquitin-specific protease 7 promotes ferroptosis via activation of the p53/TfR1 pathway in the rat hearts after ischemia/reperfusion. *Free Radic Biol Med*, 2021, **162**: 339-352
- [49] Wu Y, Jiao H, Yue Y, *et al.* Ubiquitin ligase E3 HUWE1/MULE targets transferrin receptor for degradation and suppresses ferroptosis in acute liver injury. *Cell Death Differ*, 2022, **29**(9): 1705-1718
- [50] Wang D, Liang W, Huo D, *et al.* SPY1 inhibits neuronal ferroptosis in amyotrophic lateral sclerosis by reducing lipid peroxidation through regulation of GCH1 and TFR1. *Cell Death Differ*, 2023, **30**(2): 369-382
- [51] Song J, Liu T, Yin Y, *et al.* The deubiquitinase OTUD1 enhances iron transport and potentiates host antitumor immunity. *EMBO Rep*, 2021, **22**(2): e51162
- [52] Guo S, Chen Y, Xue X, *et al.* TRIB2 desensitizes ferroptosis via  $\beta$ TrCP-mediated TFR1 ubiquitination in liver cancer cells. *Cell Death Dis*, 2021, **7**(1): 196
- [53] Wang Y, Liu Y, Liu J, *et al.* NEDD4L-mediated LTF protein degradation limits ferroptosis. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, **531**(4): 581-587
- [54] Tang Z, Jiang W, Mao M, *et al.* Deubiquitinase USP35 modulates ferroptosis in lung cancer via targeting ferroportin. *Clin Transl Med*, 2021, **11**(4): e390
- [55] Liu Y, He L, Liu B, *et al.* Pharmacological inhibition of sphingolipid synthesis reduces ferroptosis by stimulating the HIF-1 pathway. *iScience*, 2022, **25**(7): 104533
- [56] Anandhan A, Dodson M, Shakya A, *et al.* NRF2 controls iron homeostasis and ferroptosis through HERC2 and VAMP8. *Sci Adv*, 2023, **9**(5): eade9585
- [57] Yuan F, Sun Q, Zhang S, *et al.* The dual role of p62 in ferroptosis of glioblastoma according to p53 status. *Cell Biosci*, 2022, **12**(1): 20
- [58] Wei Y, Zhu Z, Hu H, *et al.* Eupaformosanin induces apoptosis and ferroptosis through ubiquitination of mutant p53 in triple-negative breast cancer. *Eur J Pharmacol*, 2022, **924**: 174970
- [59] Wang Y, Chen D, Xie H, *et al.* AUF1 protects against ferroptosis to alleviate sepsis-induced acute lung injury by regulating NRF2 and ATF3. *Cell Mol Life Sci*, 2022, **79**(5): 228
- [60] Wang H, Huang Q, Xia J, *et al.* The E3 ligase MIB1 promotes proteasomal degradation of NRF2 and sensitizes lung cancer cells to ferroptosis. *Mol Cancer Res*, 2022, **20**(2): 253-264
- [61] 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. *Oncogene*, 2021, **40**(9): 1706-1720
- [62] Zhang W, Li X, Xu J, *et al.* The RSL3 induction of KLK lung adenocarcinoma cell ferroptosis by inhibition of USP11 activity and the NRF2-GSH axis. *Cancers*, 2022, **14**(21): 5233
- [63] Li D, Wang T, Lai J, *et al.* Silencing TRPM2 enhanced erastin- and RSL3-induced ferroptosis in gastric cancer cells through destabilizing HIF-1 $\alpha$  and Nrf2 proteins. *Cytotechnology*, 2022, **74**(5): 559-577
- [64] Zhu G, Sui S, Shi F, *et al.* Inhibition of USP14 suppresses ferroptosis and inflammation in LPS-induced goat mammary epithelial cells through ubiquitylating the IL-6 protein. *Hereditas*, 2022, **159**(1): 21
- [65] Li S, Wen P, Zhang D, *et al.* PGAM5 expression levels in heart failure and protection ROS-induced oxidative stress and ferroptosis by Keap1/Nrf2. *Clin Exp Hypertens*, 2023, **45**(1): 2162537
- [66] Xu X-Q, Xu T, Ji W, *et al.* Herpes simplex virus 1-induced ferroptosis contributes to viral encephalitis. *mBio*, 2023, **14**(1): e0237022
- [67] Yang C, Lu T, Liu M, *et al.* Tiliroside targets TBK1 to induce ferroptosis and sensitize hepatocellular carcinoma to sorafenib. *Phytomedicine*, 2023, **111**: 154668
- [68] Zhang H, Deng T, Liu R, *et al.* CAF secreted miR-522 suppresses ferroptosis and promotes acquired chemo-resistance in gastric cancer. *Mol Cancer*, 2020, **19**(1): 43
- [69] Wang X, Jiang L, Liu X Q, *et al.* Identification of genes reveals the mechanism of cell ferroptosis in diabetic nephropathy. *Front Physiol*, 2022, **13**: 890566
- [70] Bao Z, Liu Y, Chen B, *et al.* Prokineticin-2 prevents neuronal cell deaths in a model of traumatic brain injury. *Nat Commun*, 2021, **12**(1): 4220
- [71] Venkatesh D, O'Brien N A, Zandkarimi F, *et al.* MDM2 and MDMX promote ferroptosis by PPAR $\alpha$ -mediated lipid remodeling. *Genes Dev*, 2020, **34**(7-8): 526-543
- [72] Yang Y, Luo M, Zhang K, *et al.* Nedd4 ubiquitylates VDAC2/3 to suppress erastin-induced ferroptosis in melanoma. *Nat Commun*, 2020, **11**(1): 433
- [73] Huang G, Xiang Z, Wu H, *et al.* The lncRNA BDNF-AS/WDR5/FBXW7 axis mediates ferroptosis in gastric cancer peritoneal metastasis by regulating VDAC3 ubiquitination. *Int J Biol Sci*, 2022, **18**(4): 1415-1433
- [74] Jiang Y, Zhao J, Li R, *et al.* CircLRFN5 inhibits the progression of

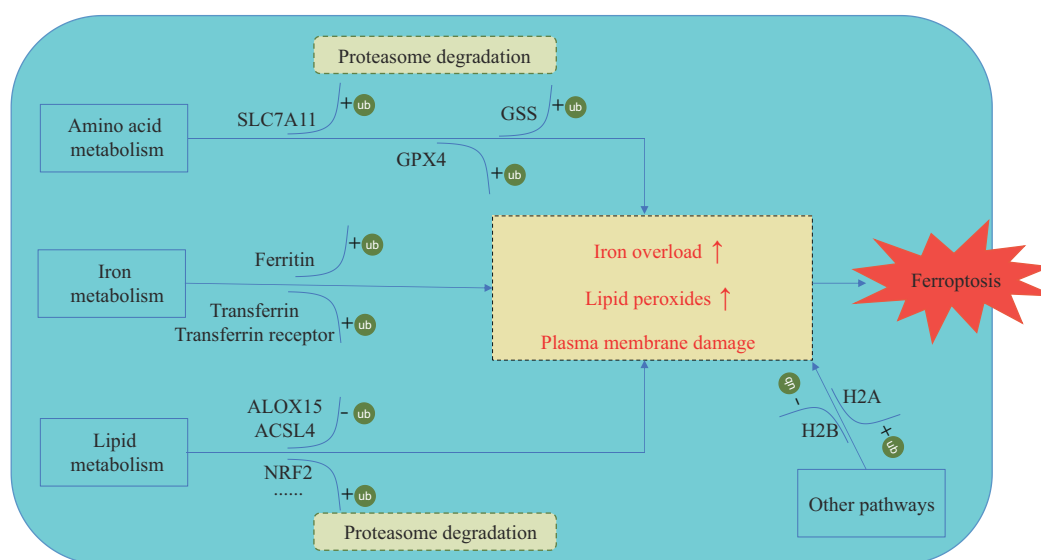
- glioblastoma *via* PRRX2/GCH1 mediated ferroptosis. J Exp Clin Cancer Res, 2022, **41**(1): 307
- [75] Peng Y, Li N, Tang F, *et al.* Corosolic acid sensitizes ferroptosis by upregulating HERPUD1 in liver cancer cells. Cell Death Discov, 2022, **8**(1): 376
- [76] Wang X, Li Q, Sui B, *et al.* Schisandrin A from schisandra chinensis attenuates ferroptosis and NLRP3 inflammasome-mediated pyroptosis in diabetic nephropathy through mitochondrial damage by adipoR1 ubiquitination. Oxid Med Cell Longev, 2022, **2022**: 5411462
- [77] Huang B, Wen W, Ye S. Dapagliflozin ameliorates renal tubular ferroptosis in diabetes *via* SLC40A1 stabilization. Oxid Med Cell Longev, 2022, **2022**: 9735555
- [78] Zhang Y, Shi J, Liu X, *et al.* BAP1 links metabolic regulation of ferroptosis to tumour suppression. Nat Cell Biol, 2018, **20**(10): 1181-1192
- [79] Zhang Y, Koppula P, Gan B. Regulation of H2A ubiquitination and SLC7A11 expression by BAP1 and PRC1. Cell Cycle, 2019, **18**(8): 773-783
- [80] Wang Y, Yang L, Zhang X, *et al.* Epigenetic regulation of ferroptosis by H2B monoubiquitination and p53. EMBO Rep, 2019, **20**(7): e47563
- [81] Liu Y, Cheng D, Wang Y, *et al.* UHRF1-mediated ferroptosis promotes pulmonary fibrosis *via* epigenetic repression of GPX4 and FSP1 genes. Cell Death Dis, 2022, **13**(12): 1070
- [82] Huang D, Li Q, Sun X, *et al.* CRL4DCAF8 dependent opposing stability control over the chromatin remodeler LSH orchestrates epigenetic dynamics in ferroptosis. Cell Death Differ, 2021, **28**(5): 1593-1609
- [83] Gao C, Xiao F, Zhang L, *et al.* SENP1 inhibition suppresses the growth of lung cancer cells through activation of A20-mediated ferroptosis. Ann Transl Med, 2022, **10**(4): 22

## The Role of Ubiquitination in Regulating Ferroptosis\*

CAO Can, TAO Yong-Guang\*\*, SHI Ying\*\*

(Cancer Research Institute, Central South University, Changsha 410078, China)

### Graphical abstract



**Abstract** Ferroptosis is a novel type of iron-dependent cell death driven by lipid peroxidation. More and more evidence shows that ferroptosis is related to various pathological conditions, such as neurodegenerative diseases, diabetic nephropathy, and cancer. Ferroptosis driven by lipid peroxidation may promote or inhibit the occurrence and development of these diseases. The intracellular antioxidant system plays an important role in resisting ferroptosis by inhibiting lipid peroxidation. The key pathways of ferroptosis include the amino acid metabolism pathway with SLC7A11-GPX4 as the key molecule, the iron metabolism pathway with ferritin or transferrin as the main component, and the lipid metabolism pathway. The occurrence of ferroptosis is regulated by intracellular proteins, which undergo various post-translational modifications, including ubiquitination. The ubiquitin-proteasome system (UPS) is one of the main degradation systems in cells. It catalyzes the ubiquitin molecule to

\* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (82072594) and Natural Science Foundation of Hunan Province (2021JJ30907).

\*\* Corresponding author.

TAO Yong-Guang. Tel: 86-18774962929, E-mail: taoyong@csu.edu.cn

SHI Ying. Tel: 86-18974914446, E-mail: yingshi@csu.edu.cn

Received: October 18, 2023 Accepted: December 15, 2023



label the protein and then the proteasome recognizes and degrades the target protein. UPS promotes ferroptosis by promoting the degradation of key ferroptosis molecules (such as SLC7A11, GPX4, and GSH) and antioxidant systems (such as NRF2). UPS can also inhibit ferroptosis by promoting the degradation of related molecules in the lipid metabolism pathway (such as ACLS4 and ALOX15). In this review, we summarize the latest research progress of ubiquitination modification in the regulation of ferroptosis, generalize the published studies on the regulation of ferroptosis by E3 ubiquitin ligase and deubiquitination, and sum up the targets of ubiquitin ligase and deubiquitination regulating ferroptosis, which is helpful to identify new prognostic indicators in human diseases and provide potential therapeutic strategies for these diseases.

**Key words** ferroptosis, ubiquitination, deubiquitination, lipid peroxidation

**DOI:** 10.16476/j.pibb.2023.0400