



线性泛素连接酶复合体与去线性泛素化酶在肿瘤中的研究进展

方宇昕, 李育, 刘宝姝, 董国强

Research Progress on Linear Ubiquitin Chain Assembly Complex and OTU Deubiquitinase With Linear Linkage Specificity in Tumor

FANG Yuxin, LI Yu, LIU Baoshu, DONG Guoqiang

在线阅读 View online: <http://yxsj.smmu.edu.cn/cn/article/doi/10.12206/j.issn.2097-2024.202307045>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

长链非编码RNA人母系表达基因3在肿瘤发生中作用的研究进展

Research progress of lncRNA MEG3 in tumorigenesis

药学实践与服务. 2019, 37(5): 390-393,421 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.2019.05.002

双氢青蒿素抗癌药理作用机制的研究进展

Research progress on anti-tumor mechanisms of dihydroartemisinin

药学实践与服务. 2019, 37(3): 206-211,278 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.2019.03.003

靶向肿瘤微环境的紫杉醇前药研究进展

Research progress on tumor-targeting paclitaxel prodrugs

药学实践与服务. 2018, 36(1): 1-8 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.2018.01.001

阿帕替尼在恶性肿瘤治疗中的临床应用与研究进展

Clinical application and research progress of apatinib in cancer treatment

药学实践与服务. 2018, 36(2): 103-107,130 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.2018.02.002

去甲斑蝥素新型制剂研究进展

Research progress in new formulations of norcantharidin

药学实践与服务. 2021, 39(1): 1-3, 8 DOI: 10.12206/j.issn.1006-0111.202004038

用HPLC法测定人凝血酶制品中甘氨酸的含量

Determination of glycine in human thrombin by HPLC

药学实践与服务. 2020, 38(1): 74-76 DOI: 10.3969/j.issn.1006-0111.201903048



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

· 综述 ·

线性泛素连接酶复合体与去线性泛素化酶在肿瘤中的研究进展

方宇昕, 李 育, 刘宝姝, 董国强 (中国人民解放军海军军医大学药理学系, 上海 200433)

[摘要] 线性泛素化修饰是近年来发现的一种重要的翻译后修饰。线性泛素链由一分子泛素的甘氨酸与另一分子泛素的甲硫氨酸连接而形成。线性泛素化修饰过程由线性泛素连接酶复合体(LUBAC)与去线性泛素化酶(OTULIN)共同调控, 广泛参与机体免疫、炎症反应、细胞凋亡等过程。近年来的研究表明, 线性泛素化修饰能够影响 NF- κ B、Wnt/ β -catenin 等信号通路, 并与肿瘤的发生、发展和耐药密切相关。本文将对 LUBAC 与 OTULIN 在肿瘤中的研究进展进行综述。

[关键词] 线性泛素化修饰; 线性泛素连接酶复合体; 去线性泛素化酶; 肿瘤

[文章编号] 2097-2024(2023)09-0534-06 **[DOI]** 10.12206/j.issn.2097-2024.202307045

Research Progress on Linear Ubiquitin Chain Assembly Complex and OTU Deubiquitinase With Linear Linkage Specificity in Tumor

FANG Yuxin, LI Yu, LIU Baoshu, DONG Guoqiang (School of Pharmacy, Naval Medical University, Shanghai 200433, China)

[Abstract] Linear ubiquitination is an important post-translational modification that has been discovered in recent years. The linear ubiquitin chain is formed by the linkage of glycine residue of one ubiquitin protein to the methionine residue of another ubiquitin. This process is regulated by the linear ubiquitin chain assembly complex (LUBAC) and the OTU deubiquitinase with linear linkage specificity (OTULIN). Linear ubiquitination is involved in various biological processes, including immune response, inflammation, and cell apoptosis. Recent studies have shown that linear ubiquitination is closely related to the occurrence, development, and drug resistance of tumors by affecting signaling pathways such as NF- κ B and Wnt/ β -catenin. The research progress on the function of LUBAC and OTULIN in tumors was reviewed in this paper.

[Key words] Linear ubiquitination; Linear ubiquitin chain assembly complex; OTU deubiquitinase with linear linkage specificity; Tumor

翻译后修饰(PTM)是在蛋白质的氨基酸侧链上共价结合化学小分子基团的过程, 能够显著改变蛋白质的理化性质、构象, 从而调节、丰富蛋白质的功能。从细胞水平而言, 信号蛋白快速而特异性的翻译后修饰, 能实现信号的准确传递, 引发转录与翻译水平的适应性改变, 使细胞及时响应外部环境变化信号, 实现自身调节。泛素化修饰是一种重要的翻译后修饰, 其中的关键分子——泛素, 是一种由 76 个氨基酸构成的在进化上高度保守的蛋白质, 相对分子质量 8.5kDa^[1]。泛素分子与底物共价结合的过程即泛素化修饰, 其能调控基因转录、DNA 损伤修复及信号转导等过程^[2]。泛素系统的主要功能有两个: 一是通过靶向蛋白酶体降解底物或溶酶体降解底物, 实现对错误蛋白的调控; 二是通过调节蛋白-蛋白相互作用、定位及功能, 以实现

精细调控细胞信号网络^[3]。这种功能上的多样性与泛素化修饰过程中所能募集的不同类型泛素信号有关, 根据泛素连接数目的不同, 可分为单泛素化修饰和多聚泛素化修饰。在多聚泛素化修饰中, 泛素链主要有 8 种连接模式, 其中 7 种为泛素链内赖氨酸(Lys)与泛素分子 C 末端甘氨酸(Gly)相连的模式, 赖氨酸连接位点包括 Lys6、Lys11、Lys27、Lys29、Lys33、Lys48 和 Lys63, 目前研究较多的是 Lys48 和 Lys63 位的多聚泛素化修饰。Lys48 位的多聚泛素化修饰, 其功能是作为蛋白酶体降解的信号, 而 Lys63 位的多聚泛素化修饰主要调控非降解功能, 例如参与 DNA 损伤修复、机体炎症、信号转导等功能^[4-6]。其他赖氨酸位点的多聚泛素化修饰功能目前研究较少, 但他们在诸如细胞周期调节等过程中, 同样是非常重要的胞内信号^[7]。剩下的一种连接模式是由一个泛素分子 C 末端甘氨酸的羧基基团, 与另一泛素分子 N 末端甲硫氨酸(Met1)的氨基基团以肽键相连的模式, 形成的是线性泛素链 (Linear ubiquitin/Met1-linked ubiquitin chains/Met1-

[作者简介] 方宇昕, 硕士研究生, 助教, 研究方向: 靶向蛋白降解技术, Email: 13701992815@163.com

[通信作者] 董国强, 硕士生导师, 副教授, 研究方向: 双靶点抑制剂与靶向蛋白降解技术, Email: dgq-81@163.com

Ub)^[8]。近年来的研究表明,线性泛素链在免疫信号调节、NF- κ B 转录因子激活及细胞凋亡等过程中能发挥强有力的调控作用。更有意义的是,多项研究表明线性泛素链信号的异常调节与免疫失调、

肿瘤等人类疾病密切相关^[8](图 1)。本文将介绍线性泛素连接酶复合体(LUBAC)、去线性泛素化酶(OTULIN)及其与肿瘤的关系。

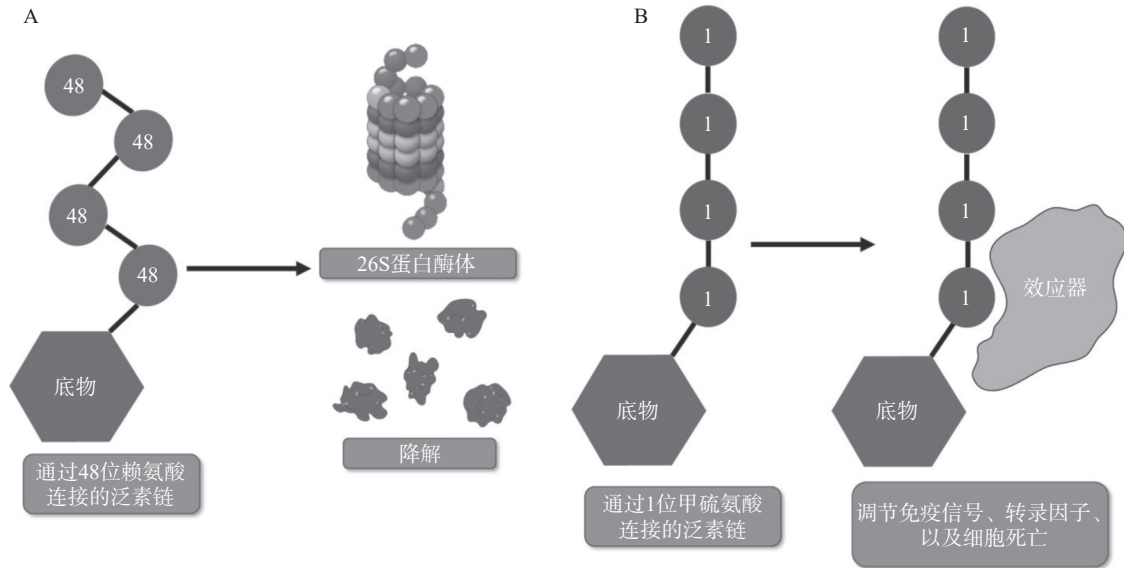


图 1 泛素化修饰及其功能

A.通过 48 位赖氨酸连接的多聚泛素链可诱导目标蛋白降解 B.通过 1 位甲硫氨酸连接的线性泛素链可诱导广泛的信号调节作用

1 线性泛素连接酶复合体与肿瘤

LUBAC 是脊椎动物中唯一发现的线性泛素连接酶,该复合体分子量约为 600KDa,由三个蛋白构成:HOIP(HOIL-1-interacting protein, RNF31)、HOIL-1(Heme-Oxidised IRP2 Ub Ligase-1, RBCK1)和 SHARPIN(SHANK-Associated RH Domain Interacting Protein)(图 2)^[9]。LUBAC 通过这 3 部分结构的多种分子内相互作用维持稳定,失去任何部分都会影响复合物的稳定性并影响其细胞

内活性^[8, 10-11]。HOIP 与 HOIL-1 同属 RBR(Really Interesting New Gene (RING)-in-between-RING)家族泛素连接酶,两者协同调节 LUBAC 的活性,尽管两者都有 E3 泛素连接酶活性,但只有 HOIP 是主要的 E3 泛素连接酶^[12-13]。然而,HOIP 作为单体存在时,会通过 RBR、PUB 结构域间复杂的分子内相互作用被自抑制^[10-11, 14]。HOIL-1 和 SHARPIN 在 LUBAC 中起到辅助因子的功能,对 HOIP 的活化至关重要,HOIL-1、SHARPIN 的类泛素结构域

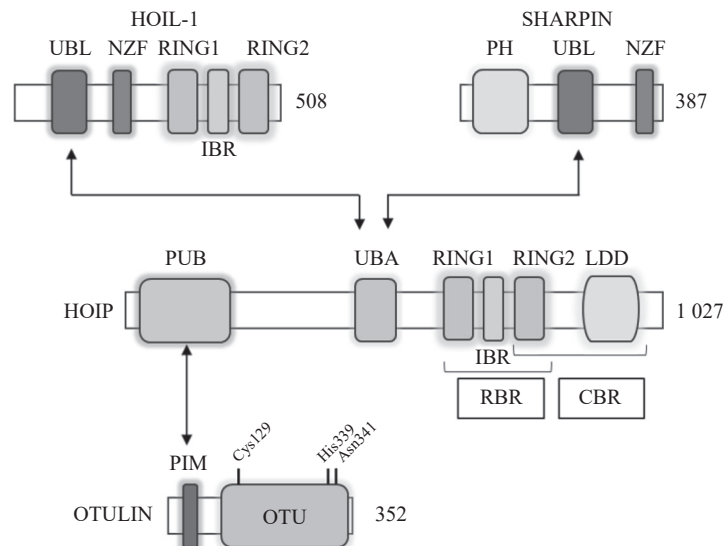


图 2 HOIL-1、SHARPIN、HOIP、OTULIN 结构示意图

(UBL), 与 HOIP 的泛素连接结构域(UBA)结合, 可以解除 HOIP 的自抑制, 促进线性泛素链的聚集。HOIP 的 RBR 结构域是 LUBAC 复合物的催化中心^[15-16], 能通过特殊的 RING-HECT 杂化反应生成多聚泛素链^[17-18]。在线性泛素化的过程中, HOIP 的 RING1 结构域会连接一个带有泛素的 E2, 这一泛素供体通过瞬间形成硫酯键, 被转移到 HOIP 的 RING2 结构域中半胱氨酸(CYS)885 位点。最后, 泛素供体通过 HOIP 的 C 端线性泛素链决定域(LDD)与泛素受体结合, 特异性地形成线性泛素链^[17-19]。

慢性炎症、NF- κ B 信号通路的激活与癌症的发生、发展、耐药息息相关^[20], YANG 等证实了 LUBAC 活性的增强及表达上调, 能通过影响 NF- κ B 信号通路, 促进活化 B 细胞样弥漫性大 B 细胞淋巴瘤(ABC-DLBCL)的发生、发展^[20]。罕见的 HOIP 功能变体在 ABC-DLBCL 患者中(突变率 7.8%)较健康人群(突变率 1.0%)增加了近 8 倍, 这种功能变体通过调节 HOIP 的 α 螺旋, 增加了 HOIP 与 HOIL-1 的相互作用, 因而提升了 LUBAC 的活性并激活 NF- κ B 信号通路^[20]。同时, 在 B 细胞受体途径(BCR)中, LUBAC 与 CARD11/MALT1/BCL10 复合物的结合, 对 ABC-DLBCL 的生存有重要作用^[20]。此外, JO 等证实, HOIP 的表达在 ABC-DLBCL 细胞中有整体提升, 其能够阻止细胞凋亡、增强 NF- κ B 信号通路并导致 AID 介导的突变, 以此促进淋巴瘤的生成^[21]。LUBAC 表达及活性的上调增强了 BCR 介导的 NF- κ B 活性, 并保护其免受基因毒性应激诱导的细胞凋亡, 以此促进突变体细胞的聚集及淋巴瘤的生成^[20-22]。SONG 等证实 LUBAC 在 ϵ 蛋白的作用下, 能使 NF- κ B 重要调节因子 NEMO 线性泛素化, 可促进 NF- κ B 的持续激活, 从而导致雌激素阴性乳腺癌的发生^[23]。以上研究表明 LUBAC 介导的 NF- κ B 的活化可以成为多种肿瘤发生的一种途径。JO 等还利用高通量筛选, 获得能够特异性抑制 LUBAC 活性的天然物质——硫藤黄素, 在小鼠移植瘤模型中能抑制肿瘤的生长^[21]。

LUBAC 介导的 NF- κ B 的激活是人类与小鼠肿瘤耐药的关键因素。RUIZ 等人证明了人类与小鼠的肺鳞癌(LSCC)细胞中均存在 LUBAC 表达水平的上调, 这导致了肿瘤中线性泛素链的堆积以及 NF- κ B 活性的增强, 从而导致对顺铂耐药的产生^[24]。利用 LUBAC 的小分子抑制剂胶霉毒素, 通过抑制 LUBAC 的活性, 降低 NF- κ B 的活性, 能够

使 LSCC 细胞重新对顺铂的治疗变得敏感, 半剂量的顺铂与胶霉毒素的联合用药, 显著抑制了肿瘤在小鼠体内生长, 荷瘤小鼠的生存期明显延长, 且未显示出毒副作用^[25]。同样, HOIP 也被证实能够在许多肿瘤株中诱导对顺铂耐药的产生。MACKAY 等发现低表达 HOIP 的细胞会显示出对顺铂的高度敏感性, 这主要依赖于 ATM 介导的 DNA 损伤检查点的激活, 所导致的半胱氨酸蛋白酶 8 与半胱氨酸蛋白酶 3 介导的细胞凋亡的增加。HOIP 表达量的降低能使对顺铂耐药的卵巢癌细胞, 重新恢复对顺铂的敏感性^[26]。以上研究表明抑制 LUBAC 的活性在特定的肿瘤中, 可能能够直接或间接地成为有效治疗手段。基于 LUBAC 在肿瘤发生、发展、耐药过程中的重要作用, 研究人员开始了针对 LUBAC 抑制剂的探索(图 3)。除了 JO 等人报道的硫藤黄素, 以及 RUIZ 等人报道的胶霉毒素以外, JOHANSSON 等人利用基于片段的共价配体筛选技术, 获得了靶向 LUBAC 催化亚基 HOIP 活性位点半胱氨酸的抑制剂, 并进一步通过基于细胞的分析和化学蛋白质组学技术, 证明以环戊二烯吡啶醇衍生物为代表的一类化合物能有效地渗透到哺乳动物细胞中, 标记并抑制 HOIP 和 NF- κ B 的激活, 这些化合物有潜力作为先导化合物, 开发选择性探针, 以研究 LUBAC 生物学功能^[27]。Virginia 等人报告了一种基于 MALDI-TOF 质谱的无标记高通量筛选方法, 能检测抑制剂对泛素 E2 偶联酶和 E3 连接酶的抑制强度和特异性, 并发现苯达莫司汀是潜在的 LUBAC 抑制剂^[28]。KATSUYA 等建立了由 LUBAC 介导的线性泛素化的细胞非依赖实验, 及以 NF- κ B 荧光素酶报告基因为基础的基于细胞的 LUBAC 实验, 两者构成了高通量筛选平台, 以此发现 LUBAC 抑制剂。筛选所得的化合物 JTP-0819958 能选择性作用于 HOIP 催化结构域的赖氨酸残基, 实现对 LUBAC 活性的抑制, 并在细胞水平降低 LUBAC 介导的线性泛素链的生成与炎症细胞因子所导致的 NF- κ B 的激活^[29]。KATSUYA 等以 JTP-0819958 为先导化合物, 测得其 LUBAC 抑制活性 IC_{50} 值为 2.8 μ mol/L, 构效关系研究发现其中的 α 、 β -不饱和酮结构是活性必须基团, 能通过迈克尔加成反应可逆抑制 LUBAC 的活性, 并由此设计合成了 HOIPIN-2~8, 最终发现 HOIPIN-8 有最强的 LUBAC(IC_{50} =11 nmol/L)、NF- κ B 通路的抑制活性, 其可能的作用位点同样是 HOIP 催化结构域的赖氨酸残基, HOIPIN-8 是已报道的最有效的 LUBAC 抑制剂^[30]。STRICKSON 等人发现

NF- κ B 抑制剂 BAY 11-7082 能通过使 LUBAC 失活, 发挥抗炎作用、诱导 B 细胞淋巴瘤和白血病 T 细胞死亡, 并阻止蛋白质向 DNA 损伤位点募集^[31]。AGUILAR-ALONSO 等开发了基于 HOIP 的固定 α 螺旋的多肽 C-helix3, 其能够通过 HOIP 结合, 阻断 HOIL-1 与 HOIP 的相互作用, 抑制 LUBAC

活性及功能, 并实现降低细胞存活率、减少 NF- κ B 信号通路的激活及其相关基因的产生^[32]。虽然目前针对 LUBAC 抑制剂的研究尚处于初级阶段, 但可以预见的是, 通过抑制 LUBAC 活性, 影响机体免疫调节, 会成为当前及今后肿瘤治疗研究的新方向。

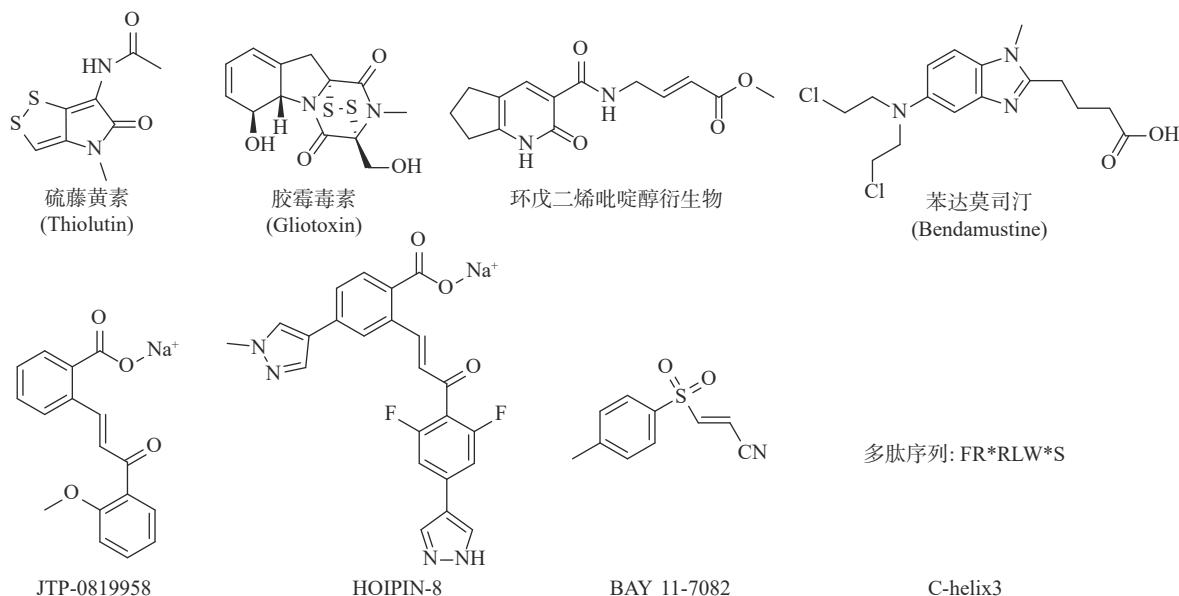


图3 LUBAC 抑制剂结构

2 去线性泛素化酶与肿瘤

OTULIN, 是目前唯一能够水解线性泛素链的哺乳动物去泛素化酶, 也被称为 Fam105b 或 Gumby, 由 352 个氨基酸构成, 其拥有一段含 Cys129/His339/Asn341 三分子催化中心的高度保守的 OTU 结构域^[33-34], 该结构域以底物辅助催化机制发挥作用, 即 OTULIN 仅在与线性泛素链作用时被激活^[34]。OTULIN 的 C 端是 PDZ (PSD95-Dlg1-ZO-1) 结构域结合基序, N 端是 PUB 相互作用基序 (PIM), 可与 HOIP 的 PUB 结构域发生相互作用, 发挥去线性泛素化酶的功能(图 2)^[35-36]。OTULIN 能在不影响其他种类泛素链的情况下, 专一性地水解线性泛素链, 即使在高浓度 OTULIN 情况下, 也不会作用于与线性泛素链结构高度相似的 Lys63 连接模式的泛素链, 其与线性泛素链的结合常数 K_D 为 20 nmol/L, 与 Lys63 连接的泛素链 K_D 为 12 μ mol/L, 两者有超过 100 倍的结合活性差^[34]。OTULIN 同样广泛参与机体免疫、信号转导等多个过程, OTULIN 的存在可以防止 LUBAC 复合体的自身泛素化, 以及线性泛素链在细胞内的堆积^[37-39]。此外 OTULIN 在 TNF α 与 NOD2 响应的刺激下, 可以限制 LUBAC 的活性以及 NF- κ B 通路的激活^[39]。

OTULIN 的 N 端可通过与蓬乱蛋白 2(DVL2) 相互作用, 与 LUBAC 共同调节 Wnt 信号通路^[40](图 4)。

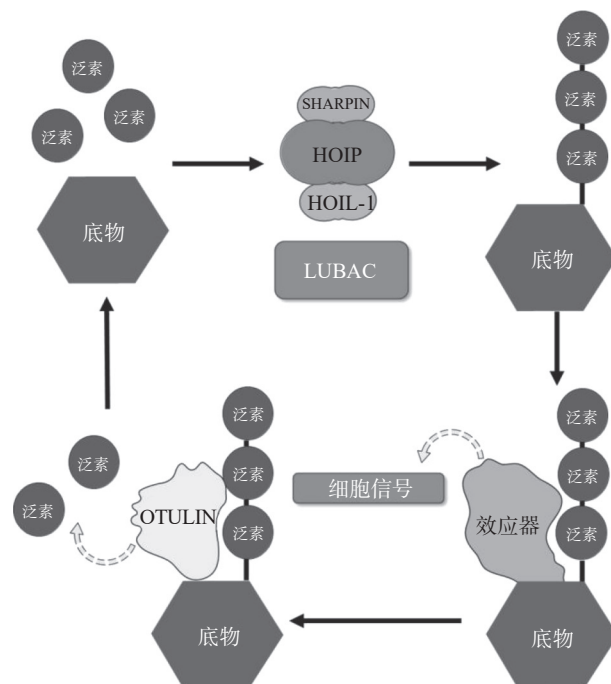


图4 LUBAC 与 OTULIN 共同调控细胞内线性泛素化过程示意图

DAMGAARD 等揭示了 OTULIN 在肝脏稳态与病理状态中的重要作用, 作者构建了肝实质细胞

内特异性敲除 OTULIN 的 (O_{tulin}^{AHEP}) 小鼠, 该模型会自发产生诸如肝炎、肝细胞凋亡、代偿性的肝细胞增生等症状, 并导致脂肪性肝炎、肝纤维化以及肝细胞癌 (HCC)。Fas 相关死亡域 (FADD) 基因的消除能挽救这一过程, 敲入未激活的受体相互作用蛋白激酶 1 (RIPK1) 同样能防止小鼠患上肝脏疾病, 这也进一步证明了缺失 OTULIN 的肝细胞的凋亡, 是引发肝脏疾病的关键, OTULIN 在肝脏中能预防慢性肝炎及肝细胞癌, 起到关键的保护作用^[41]。同样, HOISTE 等证实了 OTULIN 在维持皮肤稳态、防止疣状癌的发生中也有重要作用。作者构建了角质细胞特异性缺失 OTULIN 的小鼠 (Δ^{Ker} OTULIN), 该模型会自发产生炎症性皮肤损伤并发展成疣状癌。在缺失 OTULIN 的角质细胞中会显示 1 型干扰素与白细胞介素-1 β 的响应信号, 从基因层面或药物层面抑制这些细胞因子可以一定程度抑制皮肤炎症。此外, 表达会引发人类 OTULIN 相关自身炎症综合征 (ORAS) 的 OTULIN 突变基因, 会引发相类似的皮肤炎症表型, 以此证明 OTULIN 在抑制皮肤炎症、维持免疫稳态、避免皮肤肿瘤发生中的重要价值^[42]。

不同于 OTULIN 在肝脏、皮肤中的保护作用, WANG 等证实 OTULIN 在一定条件下参与肿瘤耐药的形成。三阴性乳腺癌细胞中 Wnt/ β -catenin 信号通路被异常激活, 其在癌症的发展、转移、耐药中发挥着重要作用。在化疗过程中, 基因毒性的治疗会导致 OTULIN56 位酪氨酸的磷酸化, 使 OTULIN 从与 HOIP 结合中被释放, 并增强 OTULIN 与 β -catenin 的相互作用, Wnt/ β -catenin 信号通路以一种 OTULIN 依赖的方式被进一步活化, 诱导耐药的产生。此外, 作者还证明了抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路或 OTULIN 能恢复三阴性乳腺癌移植瘤模型对化疗药物的敏感性并减少肿瘤的转移^[43]。同时, 体内 OTULIN 水平较高的乳腺癌患者, 表现出较低的总体生存率与无疾病生存期。由于 Wnt/ β -catenin 信号通路在正常组织中广泛存在, 通过抑制 OTULIN 以克服肿瘤耐药与转移, 是治疗三阴性乳腺癌的一种新选择。

3 总结与展望

线性泛素化修饰作为一种特殊的翻译后修饰, 由于其在细胞死亡、免疫信号调节及其他细胞重要功能中所发挥的作用, 成为了近年来的研究热点。LUBAC 与 OTULIN 在细胞内可实现对线性泛素链信号的精细调节, 而其异常表达则会导致 ORAS、

肿瘤等严重疾病的发生。目前已能实现利用小分子化合物或多肽对 LUBAC 的活性进行调节, 但其具体作用机制仍有待深入阐明。以 HOIPIN-8 为代表的高活性 LUBAC 抑制剂 ($IC_{50}=11$ nmol/L) 在体外展现出了较优的抑制效果, 然而, 需开展更为广泛的体内药效与安全性实验, 以验证 LUBAC 抑制剂的优势, 以及 LUBAC 作为肿瘤、炎症等疾病治疗靶点的潜在价值。对于 OTULIN 而言, 由于其在不同组织中广泛的生理调控功能, 未来针对 OTULIN 的研究重点, 仍将停留在对其生理作用与机制的阐明。同时, 目前尚无 OTULIN 小分子配体或抑制剂的报道, 因此, 开发精确调节 OTULIN 活性的分子, 实现免疫调节或疾病治疗, 也是未来极具价值的研究方向。

【参考文献】

- [1] HERSHKO A, CIECHANOVER A, VARSHAVSKY A. The ubiquitin system[J]. *Nat Med*, 2000, 6(10): 1073-1081.
- [2] HAGLUND K, DIKIC I. Ubiquitylation and cell signaling[J]. *EMBO J*, 2005, 24(19): 3353-3359.
- [3] KOMANDER D, RAPE M. The ubiquitin code[J]. *Annu Rev Biochem*, 2012, 81: 203-229.
- [4] YAU R, RAPE M. The increasing complexity of the ubiquitin code[J]. *Nat Cell Biol*, 2016, 18(6): 579-586.
- [5] PICKART C M, FUSHMAN D. Polyubiquitin chains: polymeric protein signals[J]. *Curr Opin Chem Biol*, 2004, 8(6): 610-616.
- [6] POPOVIC D, VUCIC D, DIKIC I. Ubiquitination in disease pathogenesis and treatment[J]. *Nat Med*, 2014, 20(11): 1242-1253.
- [7] KULATHU Y, KOMANDER D. Atypical ubiquitylation—the unexplored world of polyubiquitin beyond Lys48 and Lys63 linkages[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2012, 13(8): 508-523.
- [8] JAHAN A S, ELBÆK C R, DAMGAARD R B. Met1-linked ubiquitin signalling in health and disease: inflammation, immunity, cancer, and beyond[J]. *Cell Death Differ*, 2021, 28(2): 473-492.
- [9] STIEGLITZ B, MORRIS-DAVIES A C, KOLIOPOULOS M G, et al. LUBAC synthesizes linear ubiquitin chains via a thioester intermediate[J]. *EMBO Rep*, 2012, 13(9): 840-846.
- [10] FIIL B K, GYRD-HANSEN M. The Met1-linked ubiquitin machinery in inflammation and infection[J]. *Cell Death Differ*, 2021, 28(2): 557-569.
- [11] GERLACH B, CORDIER S M, SCHMUKLE A C, et al. Linear ubiquitination prevents inflammation and regulates immune signalling[J]. *Nature*, 2011, 471(7340): 591-596.
- [12] SPRATT D E, WALDEN H, SHAW G S. RBR E3 ubiquitin ligases: new structures, new insights, new questions[J]. *Biochem J*, 2014, 458(3): 421-437.
- [13] DOVE K K, STIEGLITZ B, DUNCAN E D, et al. Molecular insights into RBR E3 ligase ubiquitin transfer mechanisms[J]. *EMBO Rep*, 2016, 17(8): 1221-1235.

- [14] STIEGLITZ B, RANA R R, KOLIOPOULOS M G, et al. Structural basis for ligase-specific conjugation of linear ubiquitin chains by HOIP[J]. *Nature*, 2013, 503(7476): 422-426.
- [15] FUSEYA Y, FUJITA H, KIM M, et al. The HOIL-1L ligase modulates immune signalling and cell death via monoubiquitination of LUBAC[J]. *Nat Cell Biol*, 2020, 22(6): 663-673.
- [16] TOKUNAGA F, NAKAGAWA T, NAKAHARA M, et al. SHARPIN is a component of the NF- κ B-activating linear ubiquitin chain assembly complex[J]. *Nature*, 2011, 471(7340): 633-636.
- [17] WENZEL D M, LISSOUNOV A, BRZOVIC P S, et al. UBCH7 reactivity profile reveals parkin and HHARI to be RING/HECT hybrids[J]. *Nature*, 2011, 474(7349): 105-108.
- [18] SMIT J J, MONTEFERRARIO D, NOORDERMEER S M, et al. The E3 ligase HOIP specifies linear ubiquitin chain assembly through its RING-IBR-RING domain and the unique LDD extension[J]. *EMBO J*, 2012, 31(19): 3833-3844.
- [19] LECHTENBERG B C, RAJPUT A, SANISHVILI R, et al. Structure of a HOIP/E2 ~ ubiquitin complex reveals RBR E3 ligase mechanism and regulation[J]. *Nature*, 2016, 529(7587): 546-550.
- [20] YANG Y B, SCHMITZ R, MITALA J, et al. Essential role of the linear ubiquitin chain assembly complex in lymphoma revealed by rare germline polymorphisms[J]. *Cancer Discov*, 2014, 4(4): 480-493.
- [21] JO T, NISHIKORI M, KOGURE Y, et al. LUBAC accelerates B-cell lymphomagenesis by conferring resistance to genotoxic stress on B cells[J]. *Blood*, 2020, 136(6): 684-697.
- [22] NIU J X, SHI Y L, IWAI K, et al. LUBAC regulates NF- κ B activation upon genotoxic stress by promoting linear ubiquitination of NEMO[J]. *EMBO J*, 2011, 30(18): 3741-3753.
- [23] SONG K, CAI X F, DONG Y Z, et al. Epsins 1 and 2 promote NEMO linear ubiquitination via LUBAC to drive breast cancer development[J]. *J Clin Investig*, 2021, 131(1): e129374.
- [24] RUIZ E J, DIEFENBACHER M E, NELSON J K, et al. LUBAC determines chemotherapy resistance in squamous cell lung cancer[J]. *J Exp Med*, 2019, 216(2): 450-465.
- [25] SAKAMOTO H, EGASHIRA S, SAITO N, et al. Gliotoxin suppresses NF- κ B activation by selectively inhibiting linear ubiquitin chain assembly complex (LUBAC)[J]. *ACS Chem Biol*, 2015, 10(3): 675-681.
- [26] MACKAY C, CARROLL E, IBRAHIM A F M, et al. E3 ubiquitin ligase HOIP attenuates apoptotic cell death induced by cisplatin[J]. *BMC Cancer*, 2014, 14(8): 2246-2257.
- [27] JOHANSSON H, ISABELLA TSAI Y C, FANTOM K, et al. Fragment-based covalent ligand screening enables rapid discovery of inhibitors for the RBR E3 ubiquitin ligase HOIP[J]. *J Am Chem Soc*, 2019, 141(6): 2703-2712.
- [28] Virginia, CESARE D., The MALDI-TOF E2/E3 ligase assay as universal tool for drug discovery in the ubiquitin pathway[J]. *Cell Chem Biol*, 2018, 25(9): 1117-1127. e4.
- [29] Ken, Katsuya., High-throughput screening for linear ubiquitin chain assembly complex (LUBAC) selective inhibitors using homogenous time-resolved fluorescence (HTRF)-based assay system[J]. *SLAS Discov*, 2018, 23(10): 1018-1029.
- [30] Ken, Katsuya., Small-molecule inhibitors of linear ubiquitin chain assembly complex (LUBAC), HOIPINs, suppress NF- κ B signaling[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 509(3): 700-706.
- [31] STRICKSON S, CAMPBELL D G, EMMERICH C H, et al. The anti-inflammatory drug BAY 11-7082 suppresses the MyD88-dependent signalling network by targeting the ubiquitin system[J]. *Biochem J*, 2013, 451(3): 427-437.
- [32] AGUILAR-ALONSO F, et al. Biophysical and biological evaluation of optimized stapled peptide inhibitors of the linear ubiquitin chain assembly complex (LUBAC)[J]. *Bioorg Med Chem*, 2018, 26(6): 1179-1188.
- [33] RIVKIN E, ALMEIDA S M, CECCARELLI D F, et al. The linear ubiquitin-specific deubiquitinase gumbly regulates angiogenesis[J]. *Nature*, 2013, 498(7454): 318-324.
- [34] KEUSEKOTTEN K, ELLIOTT P R, GLOCKNER L, et al. OTULIN antagonizes LUBAC signaling by specifically hydrolyzing Met1-linked polyubiquitin[J]. *Cell*, 2013, 153(6): 1312-1326.
- [35] STELLA RITORTO M, EWAN R, PEREZ-OLIVA A B, et al. Screening of DUB activity and specificity by MALDI-TOF mass spectrometry[J]. *Nat Commun*, 2014, 5: 4763.
- [36] TANIGUCHI K, KARIN M. NF- κ B, inflammation, immunity and cancer: coming of age[J]. *Nat Rev Immunol*, 2018, 18(5): 309-324.
- [37] ELLIOTT P R, NIELSEN S V, MARCO-CASANOVA P, et al. Molecular basis and regulation of OTULIN-LUBAC interaction[J]. *Mol Cell*, 2014, 54(3): 335-348.
- [38] SCHAEFFER V, AKUTSU M, OLMA M H, et al. Binding of OTULIN to the PUB domain of HOIP controls NF- κ B signaling[J]. *Mol Cell*, 2014, 54(3): 349-361.
- [39] KATRINE B, Fiil., OTULIN restricts Met1-linked ubiquitination to control innate immune signaling[J]. *Mol Cell*, 2013, 50(6): 818-830.
- [40] TAKIUCHI T, NAKAGAWA T, TAMIYA H, et al. Suppression of LUBAC-mediated linear ubiquitination by a specific interaction between LUBAC and the deubiquitinases CYLD and OTULIN[J]. *Genes Cells*, 2014, 19(3): 254-272.
- [41] DAMGAARD R B, JOLIN H E, ALLISON M E D, et al. OTULIN protects the liver against cell death, inflammation, fibrosis, and cancer[J]. *Cell Death Differ*, 2020, 27(5): 1457-1474.
- [42] HOSTE E, LECOMTE K, ANNUSVER K, et al. OTULIN maintains skin homeostasis by controlling keratinocyte death and stem cell identity[J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 5913.
- [43] WANG W, LI M Q, PONNUSAMY S, et al. ABL1-dependent OTULIN phosphorylation promotes genotoxic Wnt/ β -catenin activation to enhance drug resistance in breast cancers[J]. *Nat Commun*, 2020, 11: 3965.