

去泛素化酶OTUB1在肝癌索拉非尼耐药中的潜在作用及其靶向化合物筛选

欧阳伊娜, 唐梦婷, 袁嘉珍, 吴黎川*

广西大学医学院, 广西 南宁

收稿日期: 2025年8月4日; 录用日期: 2025年9月5日; 发布日期: 2025年9月12日

摘 要

目的: 探讨去泛素化酶基因OTUB1在肝癌索拉非尼耐药中的潜在作用, 并筛选下调OTUB1表达的潜在小分子化合物。方法: 基于肝癌索拉非尼耐药及敏感样本的转录组数据, 分析去泛素化酶家族基因的差异表达; 通过GEPIA数据库评估差异表达基因在肝癌组织与配对癌旁组织中的表达水平差异; 利用Kaplan-Meier Plotter数据库评估差异表达基因的预后价值; 进一步对核心基因(OTUB1)进行甲基化分析、临床病理特征相关性分析及生存预后分析; 借助CTD数据库预测靶向OTUB1的潜在化合物, 并运用分子对接解析其与OTUB1蛋白的潜在相互作用。结果: 共筛选出20个差异表达的去泛素化酶基因, 其中OTUB1在耐药样本中显著高表达, 且与患者不良预后相关($p < 0.05$)。数据库筛选获得10种下调OTUB1的候选化合物, 分子对接提示SB431542与OTUB1蛋白对接活性最好。

关键词

去泛素化酶, 肝癌, 索拉非尼耐药, OTUB1, 分子对接

The Potential Role of Deubiquitinating Enzyme OTUB1 in Sorafenib Resistance of Hepatocellular Carcinoma and Screening of Targeting Compounds

Yina Ouyang, Mengting Tang, Jiazhen Yuan, Lichuan Wu*

Medicine School of Guangxi University, Nanning Guangxi

*通讯作者。

文章引用: 欧阳伊娜, 唐梦婷, 袁嘉珍, 吴黎川. 去泛素化酶 OTUB1 在肝癌索拉非尼耐药中的潜在作用及其靶向化合物筛选[J]. 药物资讯, 2025, 14(5): 357-368. DOI: 10.12677/pi.2025.145041

Abstract

Purpose: To investigate the potential mechanism of the deubiquitinating enzyme gene OTUB1 in sorafenib resistance in hepatocellular carcinoma (HCC) and to screen potential small-molecule compounds capable of downregulating OTUB1 expression. **Methods:** Differential expression of deubiquitinating enzyme family genes was analyzed based on transcriptome data from sorafenib-resistant and sorafenib-sensitive HCC samples. The GEPIA database was used to evaluate the expression levels of differentially expressed genes in HCC tissues versus adjacent non-tumor tissues. The Kaplan-Meier Plotter database was employed to evaluate the prognostic value of differentially expressed genes. Further analyses, including methylation, clinicopathological features correlation analysis, and survival prognosis, were conducted on the core gene (OTUB1). Potential compounds targeting OTUB1 were predicted via the CTD database, and molecular docking was performed to analyze their potential interactions with the OTUB1 protein. **Results:** A total of 20 differentially expressed deubiquitinating enzyme genes were screened. Among these, OTUB1 was significantly overexpressed in resistant samples and correlated with poor patient prognosis ($p < 0.05$). Ten candidate compounds capable of targeting and downregulating OTUB1 were screened through databases, and molecular docking suggested that SB431542 has the best docking activity with OTUB1 protein.

Keywords

Deubiquitinating Enzymes, Liver Cancer, Sorafenib Resistance, OTUB1, Molecular Docking

Copyright © 2025 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

肝癌可分为原发性和继发性两大类，原发性肝癌起源于肝脏的上皮或间叶组织。继发性或称转移性肝癌系指全身多个器官起源的恶性肿瘤侵犯至肝脏。全球超过一半的肝癌新发病例和死亡病例发生在东亚，而世界上 45.3%的肝癌新发病例和 47.1%的肝癌死亡病例发生在中国[1]。原发性肝癌是常见的恶性实体肿瘤，每年新发的肝癌病例达到 39.3 万例，占全球肝癌 50%以上，死亡病例 36.92 万例，仅次于肺癌和胃癌[2]。早期肝癌症状无特异性，中晚期肝癌的症状则较多，常见的临床表现有肝区疼痛、腹胀、纳差、乏力、消瘦，进行性肝大或上腹部包块等；部分患者有低热、黄疸、腹泻、上消化道出血；肝癌破裂后出现急腹症表现等。也有症状不明显或仅表现为转移灶的症状。

索拉非尼(sorafenib)是首个口服多激酶抑制剂，靶向作用于肿瘤细胞和肿瘤血管上的丝氨酸/苏氨酸和受体酪氨酸激酶，是一种多靶点抗肿瘤药，主要用于肝细胞癌的治疗[2]。索拉非尼作为多激酶抑制剂，具有双重抗肿瘤作用。一方面通过抑制 Raf/MEK/ERK 信号传导通路直接抑制肿瘤生长，另一方面通过抑制几种与新生血管生成和肿瘤发展有关的酪氨酸激酶受体的活性，包括血管内皮生长因子受体 VEGFR、血小板衍生的生长因子受体 PDGFR 和 c-KIT 原癌基因，阻断肿瘤新生血管生成，间接抑制肿瘤细胞的生长。索拉非尼作为晚期肝癌的一线治疗药物，长期使用会引起患者产生耐药性，所以国内外众多学者致力于寻找抑制索拉非尼耐药的物质。俞清江等学者发现大黄素联合低浓度索拉非尼抑制人肝癌 Huh7SR 细胞的增殖，并促进其凋亡，可能与抑制 PI3k/Akt 信号通路有关[3]。秦骥伟等学者发现 AMD3100 可能

通过下调 CA9、CXCR4 表达降低人肝癌细胞对索拉非尼耐药性, 增强索拉非尼对人肝癌细胞的增殖和侵袭抑制[4]。

目前, 瑞戈非尼(拜万戈)是应用较为广泛的抗肝癌细胞索拉非尼耐药性药物之一。2016 年, Bruix 等学者完成了一项随机双盲平行组 III 期临床试验, 探讨了瑞戈非尼在既往接受过索拉非尼治疗后出现肿瘤进展患者中的临床疗效。结果显示, 瑞戈非尼组的死亡风险降低了 37% [5]。卡博替尼是另一个进入临床用以克服索拉非尼耐药的药物, 在 3 期 CELESTIAL 试验中, 与安慰剂相比, 卡博替尼提高了晚期肝癌患者的总生存期(OS)和无进展生存期(PFS)。研究人员评估了卡博替尼在先前仅接受索拉非尼系统治疗的患者中的作用。研究表明, 与安慰剂相比, 卡博替尼在之前只接受索拉非尼治疗的人群中改善了 OS (中位数 11.3 vs 7.2 个月; HR = 0.70, 95% CI: 0.55~0.88) [6]。

虽然瑞戈非尼和卡博替尼在治疗肝癌索拉非尼耐药中展现出一定的疗效, 但副作用不容忽视。瑞戈非尼的常见副作用包括疼痛、手足皮肤反应、疲乏、腹泻、食欲下降和高血压等。更严重的反应包括重度肝损伤、出血、胃肠道穿孔和感染。卡博替尼常见不良反应包括腹泻、疲劳、食欲下降、高血压、手足皮肤反应、体质量减轻、呕吐、味觉障碍和口腔炎等。以上研究表明, 虽然索拉非尼耐药相关研究取得了一定的进展, 但目前仍缺乏疗效好、副作用小的药物。探索索拉非尼耐药潜在靶点及寻找小分子化合物具有重要的研究意义。

去泛素化酶(Deubiquitinating enzymes, DUBs)通过移除底物蛋白上的泛素链, 调控其稳定性、定位和功能, 进而参与多种细胞生命活动。研究表明, 蛋白泛素化过程的异常与肿瘤的发生发展密切相关, 影响包括细胞增殖、转移和血管生成等关键过程。DUBs 自身的蛋白质丰度、亚细胞定位及催化活性均受到严格调控。在肿瘤中, 许多关键的促癌或抑癌蛋白都受到 DUBs 的调控。同时, DUBs 的表达异常或功能突变会干扰细胞的 DNA 损伤修复、凋亡、自噬、信号转导和染色质重塑等核心通路, 最终促进肿瘤细胞的生长、侵袭和转移。鉴于 DUBs 在肿瘤调控网络中的核心作用及其功能失调对肿瘤进程的驱动, 它们已成为重要的抗肿瘤药物靶点。目前, 已有多个靶向 DUBs 的小分子抑制剂正处于抗肿瘤治疗的研发阶段[7]。

近年来, 去泛素化酶(DUBs)在疾病, 特别是癌症治疗中的重要作用日益受到学界关注, 多项研究揭示了其关键调控机制和治疗潜力。在肿瘤研究中, 罗霞等综述了 DUBs 的分类、功能及其在肾细胞癌(RCC)中的作用机制, 并探讨了靶向 DUBs 的癌症治疗策略[8]。蒋良君等发现含 OTU 结构域的泛素醛结合蛋白 2 (OTUB2)通过影响 RNA 解螺旋酶 54 (RIG-I)活性, 调控中性粒细胞胞外诱捕网(NETs)形成以及结直肠癌(CRC)细胞的活力和侵袭能力[9]。Liu Xiangxiang 等揭示了精氨酸甲基化调控 cGAS 稳定性的新机制, 并证明 PRMT1-cGAS-USP7 轴是非小细胞肺癌(NSCLC)的潜在治疗靶点[10]。Wang Wenpeng 等证实去泛素化酶 JOSD2 在食管鳞癌(ESCC)的发生发展中起至关重要的作用[11]。Chen Yourong 等通过筛选发现 OTUD1 蛋白对维持卵巢癌干细胞(OCSC)特性至关重要[12]。Wu Liang 等揭示了 OTUD3-YY1 通路在 CRC 中的治疗潜力, 并明确 OTUD3 在调节 YY1 中的关键作用[13]。综合以上研究, DUBs 通过调控关键促癌或抑癌蛋白的泛素化水平, 深刻影响肿瘤细胞的生长、侵袭、转移以及耐药性, 凸显了其作为克服肿瘤耐药性重要靶点的巨大潜力。

2. 方法

2.1. 去泛素化酶基因的差异表达分析

下载肝癌索拉非尼耐药数据集 GSE109211 (21 例敏感、46 例耐药样本)。运行 R 软件“limma”包, 以 $|\text{Fold Change}| \geq 1.5$ 且 $p < 0.05$ 为条件, 筛选在耐药样本中显著上调和下调的差异表达基因。随后, 将差异表达基因与 108 个去泛素化酶基因取交集, 确定肝癌索拉非尼耐药相关差异表达去泛素化酶(sorafenib resistance associated DUBs in liver cancer, SRADUB-LC)。进一步利用 GEPIA 数据库分析

SRADUB-LC 在肝癌组织(TCGA-LIHC)与癌旁正常组织中的表达水平, 筛选标准: $|\text{Fold Change}| \geq 1.5$ 且 $p < 0.05$ 。

2.2. SRADUB-LC 在肝癌中的预后分析

利用 Kaplan-Meier Plotter 数据库(<https://kmplot.com/analysis/>)对 SRADUB-LC 进行生存分析, 预后指标分别是总生存期 OS 和疾病特异性生存期 DSS。具体操作如下: 在“mRNA RNA-seq”模块选择“Start KM Plotter for liver cancer”, 在“Gene Symbol”框内输入相应的基因名称, 在“Split patients by”模块选择“Auto select best cutoff”, 在“Survival”模块选择“OS”时, 其他参数保持默认不变; 在“Survival”模块选择“DSS”时, “Patient”模块的“Sorafenib treatment”选项选择“treated (n = 30)”, 其他参数保持默认不变。

2.3. 关键基因的临床与分子特征解析

- 1) 临床分期关联: 通过 GEPIA 数据库分析关键基因表达与肝癌患者 TNM 分期的相关性;
- 2) 蛋白表达验证: 基于 The Human Protein Atlas 及 UALCAN 数据库, 检测关键基因在肝癌组织与癌旁组织中的表达水平;
- 3) 临床生存分析: 回顾性分析 29 例接受索拉非尼治疗的肝癌患者生存数据, 评估关键基因的预后价值;
- 4) 甲基化水平检测: 利用 UALCAN 数据库分析关键基因在肝癌及癌旁组织中的启动子甲基化程度, 并比较其在不同肿瘤分期及组织学亚型中的差异。

2.4. 靶向关键基因的化合物筛选

将关键基因输入 Comparative Toxicogenomics Database (CTD)数据库, 筛选下调该基因表达的化合物。

2.5. 分子对接

选取关键基因的 10 个靶向预测化合物, 开展其与核心基因蛋白的分子对接。具体步骤如下:

- 1) 蛋白结构处理: 从 RCSB PDB 数据库获取关键蛋白晶体结构, 使用 PyMOL 2.5 移除水分子及原配体;
- 2) 配体结构优化: 通过 PubChem 获取化合物 3D 结构, 利用 Open Babel 3.1.1 将 SDF 格式转换为 mol2 格式并优化电荷;
- 3) 对接参数设置: 采用 AutoDock Tools 1.5.6 对蛋白受体及配体进行加氢、设定扭转键, 并转换为 PDBQT 格式;
- 4) 对接与可视化: 运用 AutoDock Vina 进行分子对接, 选取结合自由能(ΔG)最低的复合物模型, 通过 PyMOL 进行结构可视化分析。

2.6. 实时聚合酶链反应(real-time PCR)

使用 TRIzol 试剂(康为世纪, CW0580S)从培养细胞中提取总 RNA, 并使用 HiFiScript gDNA (康为世纪, CW2020M)进行逆转录反应。在 CFX Connect 实时荧光定量 PCR 检测系统(Bio-Rad)上使用 MagicSYBR 预混液(康为世纪, CW3008M)进行定量 PCR (qPCR)分析。以 GAPDH 作为内参基因。使用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算相对 mRNA 表达量。引物序列如下: OTUB1-F: 5'-GCAGAACCCTCTGGTGTCAG-3'; OTUB1-R: 5'-TGGTCTTGCGGATGTACGAG-3'; GAPDH-F: 5'-TTTGTGCGTCGCCAGCC-3'; GAPDH-R: 5'-ATGGAATTTGCCATGGGTGGA-3'。

3. 结果

3.1. 肝癌索拉非尼耐药相关去泛素化酶基因的筛选

基于肝癌索拉非尼耐药组与敏感组的转录组数据,对 108 个去泛素化酶基因进行差异表达分析。结果显示,共鉴定出 20 个 SRADUB-LC,包括: USP2、USP17、USP8、USP10、USP32、USP33、USP34、USP42、USP48、USP49、USP54、OTUD7A、OTUB1、JOSD1、ZC3H12D、COPS5、PRPF8、UCHL1、UCHL3、MPND (图 1)。

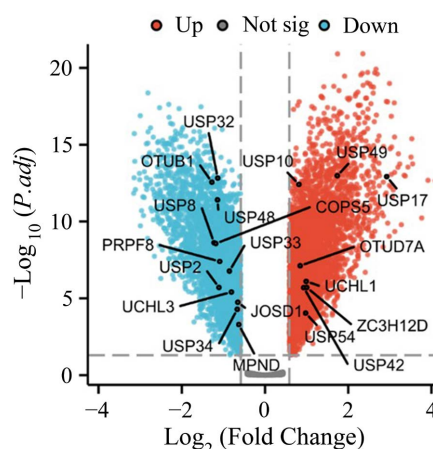


Figure 1. Volcano plot of differentially expressed genes in sorafenib-resistant/sensitive liver cancer samples

图 1. 肝癌索拉非尼耐药/敏感样本差异表达基因火山图

3.2. SRADUB-LC 中核心基因的筛选与验证

肝癌与癌旁差异分析显示,SRADUB-LCSRADUB-LC 中仅 6 个基因:USP10、USP32、USP33、USP48、OTUB1、UCHL1 在肝癌组织中显著差异表达(图 2)。

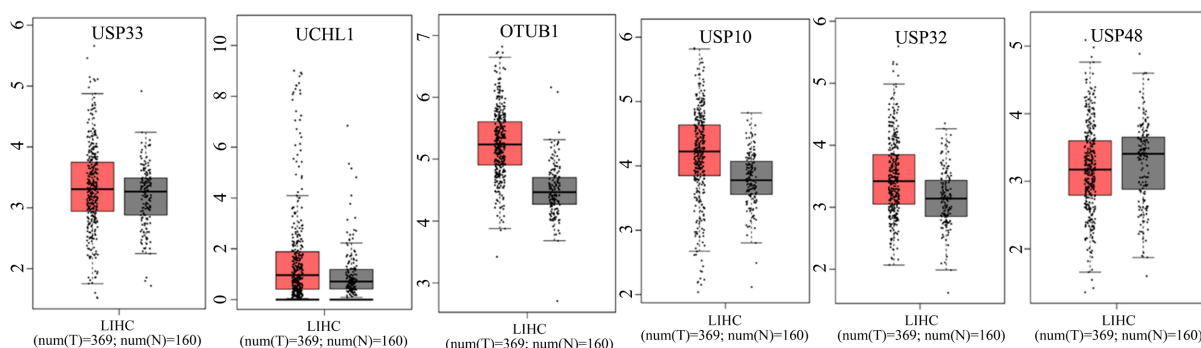


Figure 2. Differential expression of deubiquitinating enzyme genes in liver cancer and adjacent tissues

图 2. 去泛素化酶基因在肝癌及癌旁中差异表达

3.3. 核心基因的预后分析

通过 Kaplan-Meier Plotter 数据库对 USP10、USP32、USP33、USP48、OTUB1、UCHL1 进行总生存分析(OS)。结果显示, USP48、OTUB1 及 UCHL1 高表达的肝癌病人其 OS 显著降低(logrank $P < 0.05$),而其余三个基因表达与肝癌病人 OS 无显著相关性(图 3)。DSS 分析结果显示,在接受索拉非尼治疗的肝

癌病人中, OTUB1 高表达的肝癌病人其 DSS 显著缩短(logrank $P < 0.05$), 而 USP48 及 UCHL1 则与 DSS 无显著相关性(图 4)。OTUB1 高表达与肝癌病人生存期显著负相关。以上结果提示, OTUB1 的表达与肝癌病人对索拉非尼的敏感性降低相关, OTUB1 可能是肝癌索拉非尼耐药的潜在靶点。因此, 我们选择 OTUB1 作为后续分析的重点。

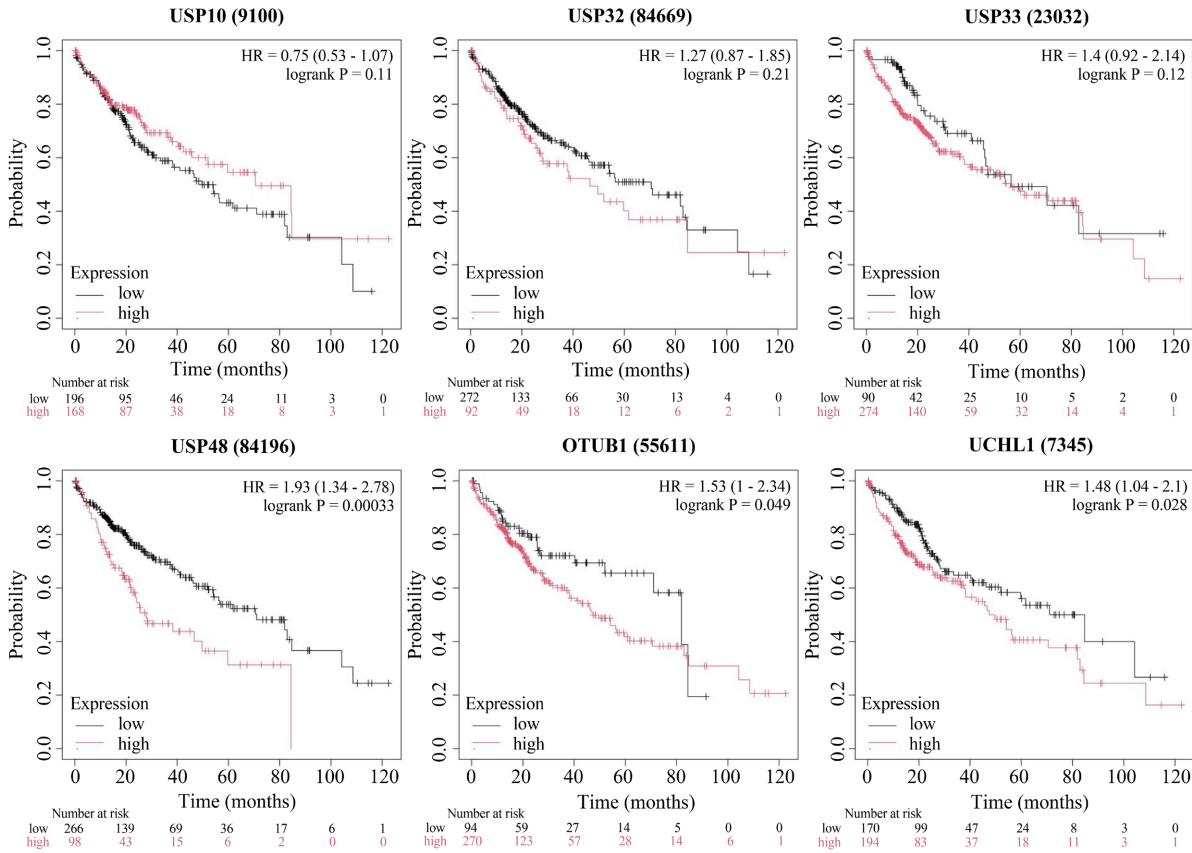


Figure 3. Prognostic analysis (Overall Survival, OS) of deubiquitinating enzyme genes in liver cancer patients
图 3. 去泛素化酶基因在肝癌病人中的预后(OS)分析

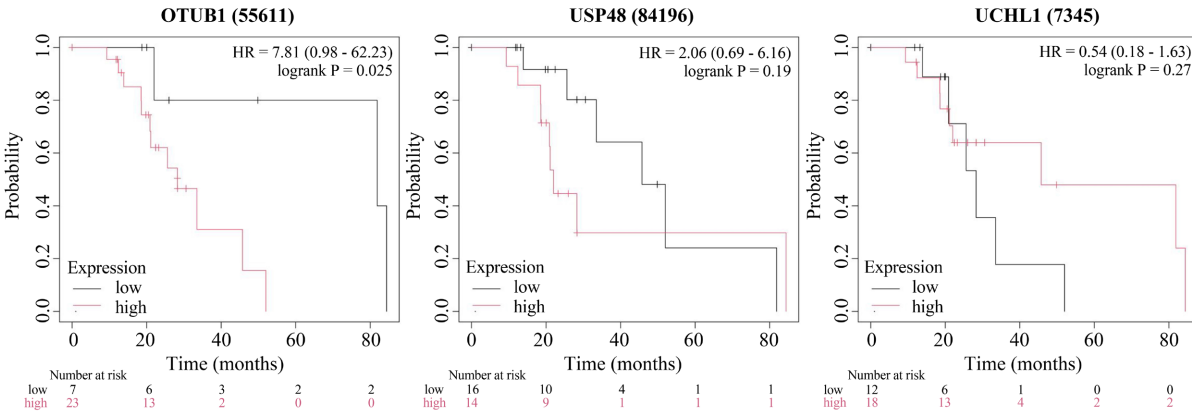


Figure 4. Prognostic analysis (Disease-Specific Survival, DSS) of deubiquitinating enzyme genes in liver cancer patients
图 4. 去泛素化酶基因在肝癌病人中的预后(DSS)分析

3.4. OTUB1 的临床相关性分析

首先, 我们利用 GEPIA 数据库分析了 OTUB1 表达与肝癌患者临床分期的相关性。结果表明, OTUB1 的表达水平与肝癌分期显著相关(图 5(a))。进一步, 通过 THE HUMAN PROTEIN ATLAS 数据库和 UALCAN 数据库对 OTUB1 蛋白表达的分析显示, 该蛋白在肝癌组织中的表达显著高于癌旁组织(图 5(b), 图 5(c)), 与其 mRNA 表达趋势一致。随后, 为探究 OTUB1 在肝癌中高表达的原因, 我们进行了基因启动子甲基化分析。结果显示, 与癌旁组织相比, 肝癌组织中 OTUB1 启动子甲基化水平显著降低(图 6(a)), 且甲基化程度与肿瘤分期呈显著负相关(图 6(b)), 提示启动子低甲基化可能是 OTUB1 在肝癌组织中表达上调的原因之一。

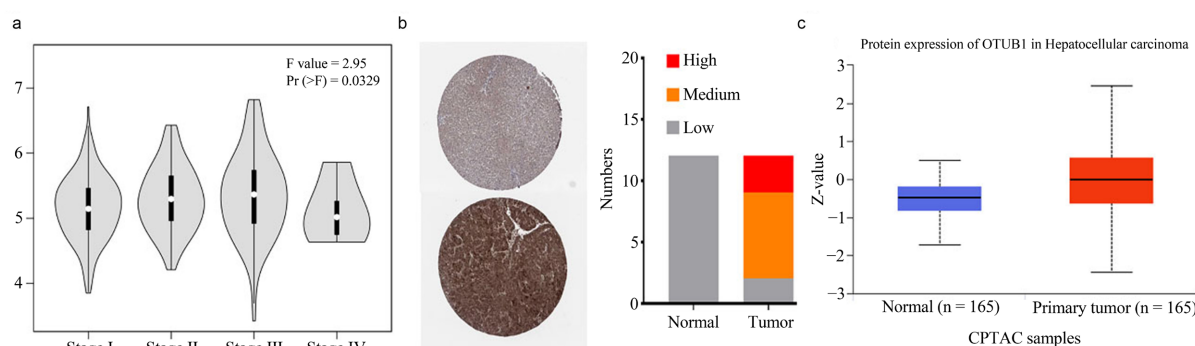


Figure 5. Correlation between OTUB1 expression and liver cancer progression. (a) Correlation between OTUB1 expression and pathological staging of HCC; (b), (c) Expression of OTUB1 protein in liver cancer and adjacent tissues

图 5. OTUB1 表达与肝癌进展相关性分析。(a) OTUB1 表达与肝癌病理分期的相关性; (b), (c) OTUB1 蛋白在肝癌及癌旁组织中的表达

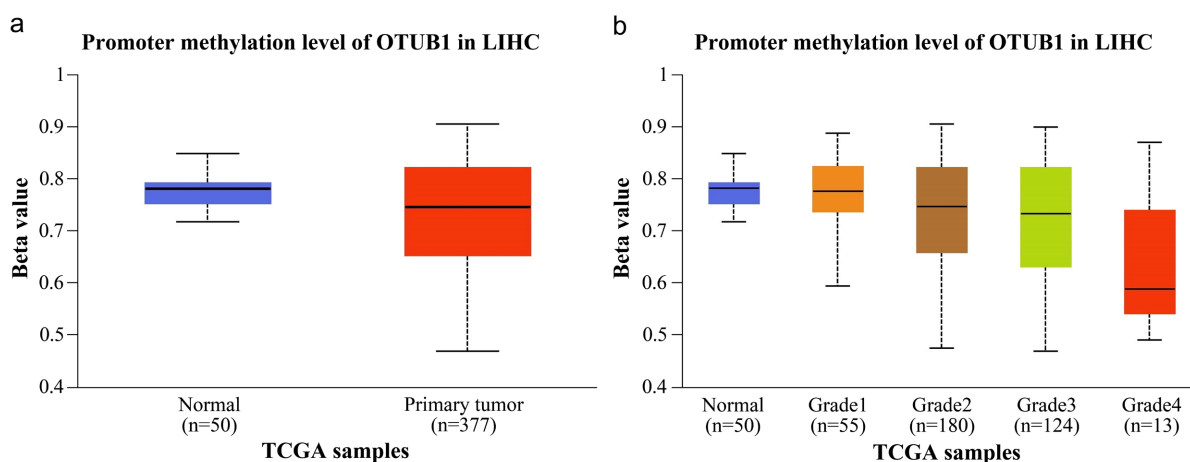


Figure 6. Analysis of OTUB1 gene promoter methylation. (a) Methylation analysis of OTUB1 in liver cancer and adjacent tissues; (b) Methylation analysis of OTUB1 at different stages of liver cancer

图 6. OTUB1 基因启动子甲基化分析。(a) OTUB1 在肝癌及癌旁的甲基化分析; (b) OTUB1 在肝癌不同分期的甲基化分析

3.5. OTUB1 在肝癌索拉非尼耐药与敏感细胞中的表达验证

为了进一步揭示 OTUB1 与肝癌索拉非尼耐药的关系, 我们通过 RT-PCR 检测了其在敏感细胞(HepG2)及索拉非尼耐药细胞(HepG2-SR)中的表达。结果显示, OTUB1 在索拉非尼耐药肝癌细胞中的表达显著高

于敏感细胞(图 7)。

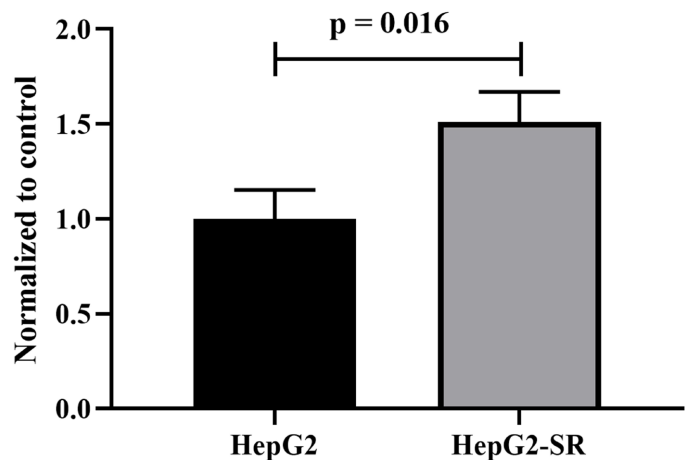


Figure 7. OTUB1 is significantly highly expressed in sorafenib-resistant hepatocellular carcinoma cells
图 7. OTUB1 显著高表达于肝癌索拉非尼耐药细胞

3.6. OTUB1 相互作用的化合物筛选

随后我们通过 CTD 数据库预测下调 OTUB1 的化合物，如表 1 所示。

Table 1. Ten compounds that downregulate OTUB1
表 1. 下调 OTUB1 的 10 个化合物

Compound	Interaction
2,2',4,4'-tetrabromodiphenyl ether	results in decreased expression of OTUB1 protein
4-(5-benzo(1,3)dioxol-5-yl-4-pyridin-2-yl-1H-imidazol-2-yl)benzamide	results in decreased expression of OTUB1 mRNA
Amitrole	results in decreased expression of OTUB1 mRNA
beta-lapachone	results in decreased expression of OTUB1 mRNA
Curcumin	results in decreased expression of OTUB1 mRNA
Diquat	results in decreased expression of OTUB1 protein
Diuron	results in decreased expression of OTUB1 mRNA
epoxiconazole	results in decreased expression of OTUB1 mRNA
Isoproterenol	results in decreased expression of OTUB1 mRNA
Methimazole	results in decreased expression of OTUB1 mRNA

3.7. 分子对接

我们随后通过分子对接进一步分析了 10 个化合物与 OTUB1 蛋白的相互作用(图 8)。结果显示：4-(5-benzo(1,3)dioxol-5-yl-4-pyridin-2-yl-1H-imidazol-2-yl)benzamide、beta-lapachone 和 epoxiconazole 均与 OTUB1 蛋白具有良好的对接活性，其中 4-(5-benzo(1,3)dioxol-5-yl-4-pyridin-2-yl-1H-imidazol-2-yl)benzamide 与 OTUB1 蛋白的结合能最低，对接活性最好(图 9)。

Compound	Min.Energy1	Min.Energy2	Min.Energy3	A值
4-(5-benzo(1,3)dioxol-5-yl-4-pyridin-2-yl-1H-imidazol-2-yl)benzamide	-6.576	-6.481	-6.493	-6.517
beta-lapachone	-6.104	-6.113	-6.095	-6.104
epoxiconazole	-5.63	-5.636	-5.702	-5.656
Isoproterenol	-5.552	-5.698	-5.625	-5.625
Curcumin	-5.684	-5.512	-5.674	-5.623
Diquat	-5.178	-5.165	-5.193	-5.179
2,2',4,4'-tetrabromodiphenyl ether	-4.781	-5.115	-4.839	-4.912
Diuron	-4.699	-4.7	-4.676	-4.692
Amitrole	-3.916	-3.906	-3.912	-3.911
Methimazole	-3.293	-3.365	-3.283	-3.314

Figure 8. Molecular docking results of 10 compounds with OTUB1

图 8. 10 个化合物与 OTUB1 分子对接结果

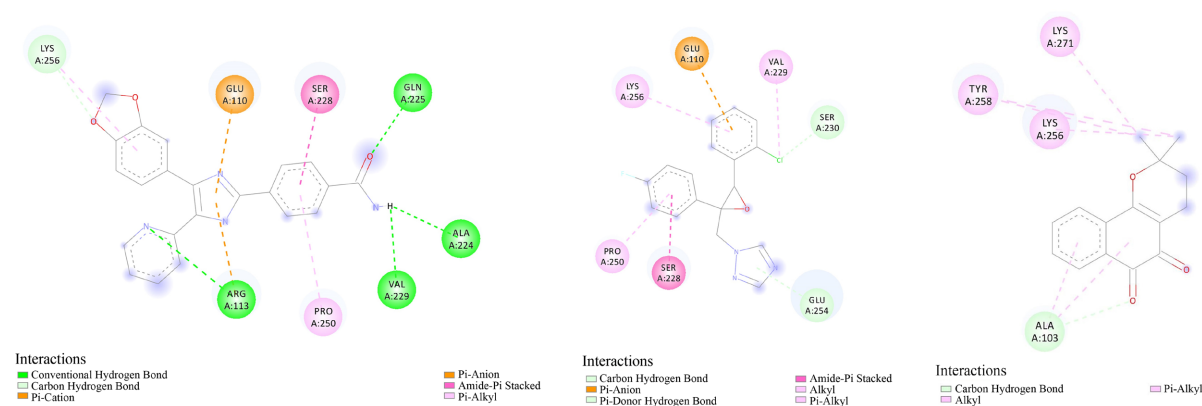


Figure 9. Schematic diagram of molecular docking between the top 3 compounds and OTUB1

图 9. 前 3 名化合物与 OTUB1 的分子对接示意图

4. 讨论

泛素-蛋白酶体系统是真核细胞内蛋白质稳态调控的核心机制，通过泛素化修饰介导底物蛋白降解，参与细胞周期、凋亡等关键生命进程。去泛素化酶(Deubiquitinating Enzymes, DUBs)则通过逆转泛素化过程维持靶蛋白稳定性。研究表明，DUBs 的异常活化可促进肿瘤发生、发展及耐药[14]。目前，DUBs 在肝癌索拉非尼耐药中的作用还未完全揭示。本研究整合生物信息学与分子对接技术，筛选出索拉非尼耐药相关的 20 个差异表达 DUBs 基因、6 个核心基因及 1 个关键基因(OTUB1)，并筛选出 10 种可下调 OTUB1 的潜在化合物。

本研究发现的去泛素化酶基因 OTUB1 在肿瘤发生发展过程中发挥着重要作用。彭丽群等发现其在肝细胞癌(HCC)中表达升高，与肿瘤恶性程度及不良预后相关，并通过稳定 RACK1 蛋白激活 PI3K/AKT 及 FAK/ERK 信号通路促进 HCC 细胞增殖与转移[15]。聂登云等证实青蒿琥酯(ART)通过抑制 IL-6/STAT3 信号减少 OTUB1 转录及其介导的 SLC7A11 去泛素化，从而诱导卵巢癌细胞铁死亡[16]。Lin G 等将 OTUB1 鉴定为结直肠癌(CRC)铁死亡的新型调节因子，其通过稳定 GPX4 发挥作用，靶向 OTUB1-GPX4 轴有望克服耐药[17]。Zhu Y 等则发现姜黄醇通过下调 OTUB1 表达促进 TGFB1 降解，抑制 TGFB1/VEGF 轴驱动的细胞侵袭和血管生成，从而抑制结肠癌[18]。然而，目前尚未报道 OTUB1 在肝癌索拉非尼耐药中的作用及抑制其作用的有效化合物。本研究揭示 OTUB1 在肝癌索拉非尼耐药样本中的表达显著高于敏感样本；其表达与肝癌病人分期显著正相关；低表达 OTUB1 的肝癌病人其接受索拉非尼治疗后 OS 及

DSS 显著优于 OTUB1 高表达肝癌病人。这些结果提示 OTUB1 是肝癌索拉非尼耐药新靶点。但 Kaplan-Meier Plotter 数据库中仅收录了 29 例接受索拉非尼治疗的肝癌病人,小样本的生存分析存在一定的局限性,未来需要更大临床样本量的研究来进一步验证。

基于 CTD 数据库分析,我们筛选出 10 个候选化合物,多项独立研究报道了它们对 OTUB1 表达的下调作用。Sheller-Miller S 等发现,使用 PBDE 处理足月胎盘外植体 24 小时后,蛋白质组学分析显示 OTUB1 蛋白显著下调[19]。Vaibhav S 等研究表明,NOG 蛋白与丙戊酸、多索吗啡或 SB431542 共处理可降低 OTUB1 mRNA 表达[20]。Ramhøj L 等将孕哺期大鼠暴露于甲状腺过氧化物酶抑制剂甲硫咪唑或碘苯丙酸 16 天, RNA 测序显示 OTUB1 表达下调[21]。Zhao L 等用 β -拉帕醌处理人结肠癌细胞, RNA-seq 分析表明其诱导铁死亡并下调 OTUB1 mRNA [22]。Erzurumlu Y 等用姜黄素处理前列腺癌细胞 48 小时后, qRT-PCR 检测显示 OTUB1 mRNA 水平显著降低[23]。Zhang 等用敌草快处理小鼠,肾组织蛋白质组学分析显示 OTUB1 蛋白明显下调[24]。Pierre A 等发现敌草隆以剂量依赖性方式调节 miRNA 表达并降低 CD8 + T 细胞毒性,伴随 OTUB1 mRNA 下调[25]。Ludovic C L 等使孕鼠及其后代长期暴露于环氧菌唑,转录组学分析显示后代 OTUB1 mRNA 下调[26]。Cristi G 等通过渗透泵给予小鼠异丙肾上腺素 10 天,发现左心室 OTUB1 mRNA 表达下调[27]。

特别值得注意的是,在上述筛选的化合物中,SB431542 被预测为靶向 OTUB1 的强效候选者。Vaibhav S 等的研究已表明其能显著下调 OTUB1 mRNA [20]。分子对接结果进一步显示,SB431542 与 OTUB1 蛋白具有最佳的对接活性(但其对 OTUB1 蛋白活性的直接影响尚需实验验证)。SB431542 是一种有效且选择性的 ALK5 ($IC_{50} = 94 \text{ nM}$)及 TGF- β 受体抑制剂。鉴于 TGF- β 信号通路在肝脏稳态和肝癌发生发展中的重要作用,其异常与肝癌密切相关:章越等研究显示 LHPP 缺乏可通过激活 TGF- β /Smad3 信号增加肝细胞凋亡并加重肝纤维化[28]。据书光等发现 TGF- β R 抑制剂可协同增强多纳非尼对抗 HCC 消融术后残余肿瘤的作用[29]。张成等则揭示 TGF- β 信号和 Hippo 信号协同诱导 CYR61 表达,进而抑制肝星状细胞(HSC)活化和 HSC 诱导的肿瘤生长、迁移与侵袭[30]。这些发现为深入研究 SB431542 通过调控 TGF- β 信号通路及 OTUB1 表达在肝癌等疾病中的作用提供了理论基础。

5. 结论

综上所述,本研究通过整合生物信息学筛选与分子对接技术,初步揭示去泛素化酶 OTUB1 是肝癌索拉非尼耐药的关键调控基因;同时筛选出化合物 SB431542 能显著下调 OTUB1 mRNA 表达并抑制 TGF- β 信号通路,上述发现提示 SB431542 或可通过靶向该通路,为克服索拉非尼耐药提供一种潜在的治疗策略,值得进一步探索。

基金项目

广西大学大学生创新创业训练计划项目(S202410593459)。

参考文献

- [1] Rumgay, H., Arnold, M., Ferlay, J., Lesi, O., Cabañas, C.J., Vignat, J., et al. (2022) Global Burden of Primary Liver Cancer in 2020 and Predictions to 2040. *Journal of Hepatology*, 77, 1598-1606. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2022.08.021>
- [2] 王沛丰. 改善肝癌乏氧导致的索拉非尼耐药的成像和协同治疗研究[D]: [硕士学位论文]. 广州: 南方医科大学, 2022.
- [3] 俞清江, 张浩, 王清清. 大黄素诱导人肝癌索拉非尼耐药细胞凋亡的作用机制[J]. 浙江临床医学, 2021, 23(8): 1079-1081
- [4] 秦骥伟, 郑浩, 徐治军, 等. AMD3100 下调 CA9 与 CXCR4 表达逆转索拉非尼耐药[J]. 安徽医科大学报, 2023, 58(6): 919-924.

- [5] Bruix, J., Merle, P., Granito, A., Huang, Y.-H., Bodoky, G., Yokosuka, O., *et al.* (2016) Efficacy, Safety, and Health-Related Quality of Life (HRQoL) of Regorafenib in Patients with Hepatocellular Carcinoma (HCC) Progressing on Sorafenib: Results of the International, Double-Blind Phase 3 Resorce Trial. *Annals of Oncology*, 27, vi564. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdw435.19>
- [6] 胡帮芹, 余娴. 卡博替尼治疗相关不良事件研究进展[J]. 心血管外科杂志(电子版), 2019, 8(1): 195-196.
- [7] 孙倩倩, 李方周, 赵文会. 去泛素化酶与肿瘤[J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2021, 37(2): 145-152.
- [8] 罗霞, 金晓锋. 去泛素化酶在肾细胞癌中的作用(英文) [J]. 生物化学与生物物理进展, 2024, 51(2): 276-299.
- [9] 蒋良君, 李卫. 去泛素化酶 OTUB2 通过诱导 DDX54 活性增加中性粒细胞外诱捕网的形成以及促进结直肠癌细胞活力和侵袭能力[J]. 安徽医科大学学报, 2024, 59(3): 463-472.
- [10] Liu, X., Zheng, W., Zhang, L., Cao, Z., Cong, X., Hu, Q., *et al.* (2024) Arginine Methylation-Dependent CGAS Stability Promotes Non-Small Cell Lung Cancer Cell Proliferation. *Cancer Letters*, 586, Article 216707. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2024.216707>
- [11] Wang, W., Shi, D., Yun, D., Hu, J., Wang, J., Liu, J., *et al.* (2024) Role of Deubiquitinase JOSD2 in the Pathogenesis of Esophageal Squamous Cell Carcinoma. *World Journal of Gastroenterology*, 30, 565-578. <https://doi.org/10.3748/wjg.v30.i6.565>
- [12] Chen, Y., Qiang, Y., Fan, J., Zheng, Q., Yan, L., Fan, G., *et al.* (2024) Aggresome Formation Promotes ASK1/JNK Signaling Activation and Stemness Maintenance in Ovarian Cancer. *Nature Communications*, 15, Article No. 1321. <https://doi.org/10.1038/s41467-024-45698-x>
- [13] Wu, L., Zhou, Z., Yu, Y., Cheng, C., Zhou, S., Yan, Y., *et al.* (2024) Phosphorylation-Dependent Deubiquitinase OTUD3 Regulates YY1 Stability and Promotes Colorectal Cancer Progression. *Cell Death & Disease*, 15, Article No. 137. <https://doi.org/10.1038/s41419-024-06526-8>
- [14] 李春成. 去泛素化酶 USP45 稳定 RNA 连接酶 RTCB、解旋酶 DDX1 及其复合物促进肿瘤发生发展与耐药的研究[D]: [博士学位论文]. 成都: 四川大学, 2023.
- [15] 彭丽群. 去泛素化酶 OTUB1 在肝细胞癌中的功能及其分子机制研究[D]: [博士学位论文]. 武汉: 武汉大学, 2024.
- [16] 聂登云. 青蒿琥酯对卵巢癌的铁死亡诱导作用及其机制研究[D]: [博士学位论文]. 南京: 南京中医药大学, 2024.
- [17] Lin, G., Lin, X., Lin, Q. and Zhao, J. (2025) OTUB1 Promotes Colorectal Cancer Progression by Stabilizing GPX4 and Inhibiting Ferroptosis. *Discover Oncology*, 16, Article No. 1240. <https://doi.org/10.1007/s12672-025-03022-z>
- [18] Zhu, Y., Wu, W., Hou, D., Zhao, Y., Ye, J., Shen, L., *et al.* (2025) Mechanism of Curcumin Targeting the OTUB1/TGFBI Ubiquitination Pathway in the Inhibition of Angiogenesis in Colon Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 26, Article 4899. <https://doi.org/10.3390/ijms26104899>
- [19] Sheller-Miller, S., Radnaa, E., Arita, Y., Getahun, D., Jones, R.J., Peltier, M.R., *et al.* (2020) Environmental Pollutant Induced Cellular Injury Is Reflected in Exosomes from Placental Explants. *Placenta*, 89, 42-49. <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2019.10.008>
- [20] Shinde, V., Hoeltling, L., Srinivasan, S.P., Meisig, J., Meganathan, K., Jagtap, S., *et al.* (2017) Definition of Transcriptome-Based Indices for Quantization of Chemically Disturbed Stem Cell Development: Introduction of the Stop-Tox_{ukn} and Stop-Tox_{ukk} Tests. *Archives of Toxicology*, 91, 839-864. <https://doi.org/10.1007/s00204-016-1741-8>
- [21] Ramhøj, L., Svingen, T., Evrard, B., Chalmel, F. and Axelstad, M. (2024) Two Thyroperoxidase-Inhibiting Chemicals Induce Shared Transcriptional Changes in Hippocampus of Developing Rats. *Toxicology*, 505, Article 153822. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2024.153822>
- [22] Zhao, L., Miao, H., Quan, M., Wang, S., Zhang, Y., Zhou, H., *et al.* (2024) β -Lapachone Induces Ferroptosis of Colorectal Cancer Cells via NCOA4-Mediated Ferritinophagy by Activating JNK Pathway. *Chemico-Biological Interactions*, 389, Article 110866. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2024.110866>
- [23] Erzurumlu, Y., Dogan, H.K. and Catakli, D. (2024) New Mode of Action of Curcumin on Prostate Cancer Cells: Modulation of Endoplasmic Reticulum-Associated Degradation Mechanism and Estrogenic Signaling. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 38, e23636. <https://doi.org/10.1002/jbt.23636>
- [24] Zhang, H., Zhang, J., Li, J., Mao, Z., Qian, J., Zong, C., *et al.* (2023) Multi-Omics Analyses Reveal the Mechanisms of Early Stage Kidney Toxicity by Diquat. *Toxics*, 11, Article 184. <https://doi.org/10.3390/toxics11020184>
- [25] Pierre, A., Sophie, D., Juliette, L., *et al.* (2022) The DCMU Herbicide Shapes T-Cell Functions by Modulating Micro-RNA Expression Profiles. *Frontiers in Immunology*, 13, Article ID: 925241.
- [26] Ludovic, C.L., Axelle, B., Daniel, V., *et al.* (2022) Epoxiconazole Alters the Histology and Transcriptome of Mouse Liver in a Transgenerational Pattern. *Chemico-Biological Interactions*, 360, Article 109952.

-
- [27] Galindo, C.L., Skinner, M.A., Errami, M., Olson, L.D., Watson, D.A., Li, J., *et al.* (2009) Transcriptional Profile of Isoproterenol-Induced Cardiomyopathy and Comparison to Exercise-Induced Cardiac Hypertrophy and Human Cardiac Failure. *BMC Physiology*, **9**, Article No. 23. <https://doi.org/10.1186/1472-6793-9-23>
 - [28] 章越. LHPP 通过 TGF- β /Smad3 信号通路介导肝细胞凋亡调控肝纤维化的机制研究[D]: [博士学位论文]. 南昌: 南昌大学, 2024.
 - [29] 琚书光. 阻断 TGF β R 对肝癌不全消融术后残瘤靶免治疗的影响及机制研究[D]: [博士学位论文]. 武汉: 华中科技大学, 2024.
 - [30] 张成. TGF- β 信号和 Hippo 信号下游的 CYR61 通过干扰肿瘤细胞-肝星状细胞互作而抑制肝细胞癌发展[D]: [博士学位论文]. 南昌: 南昌大学, 2022.