

DOI: 10.13376/j.cblls/2018064

文章编号: 1004-0374(2018)05-0539-06

泛素化连接酶HUWE1在相关疾病中的研究进展

林 杰, 祁 鸣*

(浙江大学医学院, 浙江 310012)

摘 要: 泛素化连接酶是泛素蛋白酶体系统中的关键酶之一, 主要负责靶蛋白特异性识别以及泛素化系统活性的调控。HUWE1 是一类具有 HECT (homologous to E6AP C terminus) 功能域的泛素化连接酶。研究发现, HUWE1 参与细胞凋亡、基因组 DNA 损伤、肿瘤抑制因子调控和神经细胞分化增殖等重要生理过程。现主要针对泛素化连接酶 HUWE1 在肿瘤发生、男性生殖系统损伤、胚胎发育异常与神经发育疾病中的研究进展以及调节机制进行综述。

关键词: 泛素化连接酶; HUWE1; 肿瘤; 生殖; 胚胎发育; 神经发育

中图分类号: Q55; R321; R730.2 **文献标志码:** A

The role of ubiquitin ligase HUWE1 in related diseases

LIN Jie, QI Ming*

(School of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou 310012, China)

Abstract: Ubiquitin ligase is one of key enzymes in the ubiquitin-proteasome system, which is mainly responsible for specific ubiquitin labeling target proteins and regulates the activation of ubiquitination. HUWE1 is one of the ubiquitin ligases containing HECT domain. It is important in cell apoptosis, DNA damage response, tumor suppressor regulation, neural cell differentiation, etc. We summarize the roles of ubiquitin ligase E3 HUWE1 in regulating tumor, male reproductive system, embryonic development and neurodevelopmental disorder and related regulatory mechanism.

Key words: ubiquitin ligase; HUWE1; tumor; reproduction; embryonic development; neurodevelopment

泛素是一类存在于所有真核生物体内高度保守的球形热稳定蛋白, 相对分子质量约为 8×10^3 , 其 C 端可与靶定蛋白的赖氨酸残基或 N 端共价偶联形成异构肽键。泛素化反应是许多细胞生理过程中所必需的蛋白质翻译后修饰, 主要涉及泛素蛋白酶体系统 (ubiquitin proteasome system, UPS) 介导的蛋白降解、细胞周期调控、转录调控、DNA 修复和信号转导功能等^[1-3]。该过程包括 3 种酶的催化反应: 泛素激活酶 E1、泛素结合酶 E2 和泛素连接酶 E3。在 ATP 的参与下, 泛素激活酶 E1 激活泛素分子并将活化的泛素转移至泛素结合酶 E2 上, 泛素连接酶 E3 同时与装配有活化泛素的 E2 结合酶和目的蛋白结合, 催化目的蛋白酪氨酸残基与泛素 C 端结合, 形成异构肽或多聚泛素化链, 最终被蛋白酶体识别完成蛋白质泛素化降解^[4]。在泛素化过程中, 泛素

化连接酶 E3 负责识别不同底物序列, 从而特异性结合靶蛋白^[5]。Ciechanover^[6] 统计发现, 人类基因组中已被发现的泛素连接酶 E3 超过 800 种, 根据是否具有催化结构以及是否直接与泛素结合, 可将其分为 HECT 家族 (EA6P、WWAP1 和 HUWE1 等)、RING-finger 家族 (APC/C、SCF 复合物等) 和 U-box 功能域蛋白。

泛素化连接酶 HUWE1 作为 E3 连接酶家族的一员, 参与调控多种生理代谢过程。HUWE1 基因位于 X 染色体短臂 11.22 处, 编码由 4 374 个氨基酸组成的蛋白, 相对分子质量约为 4.82×10^5 , 其在精原细胞、初级精母细胞和神经元细胞中均为核

收稿日期: 2018-01-03; 修回日期: 2018-02-06

*通信作者: E-mail: mingqi@zju.edu.cn

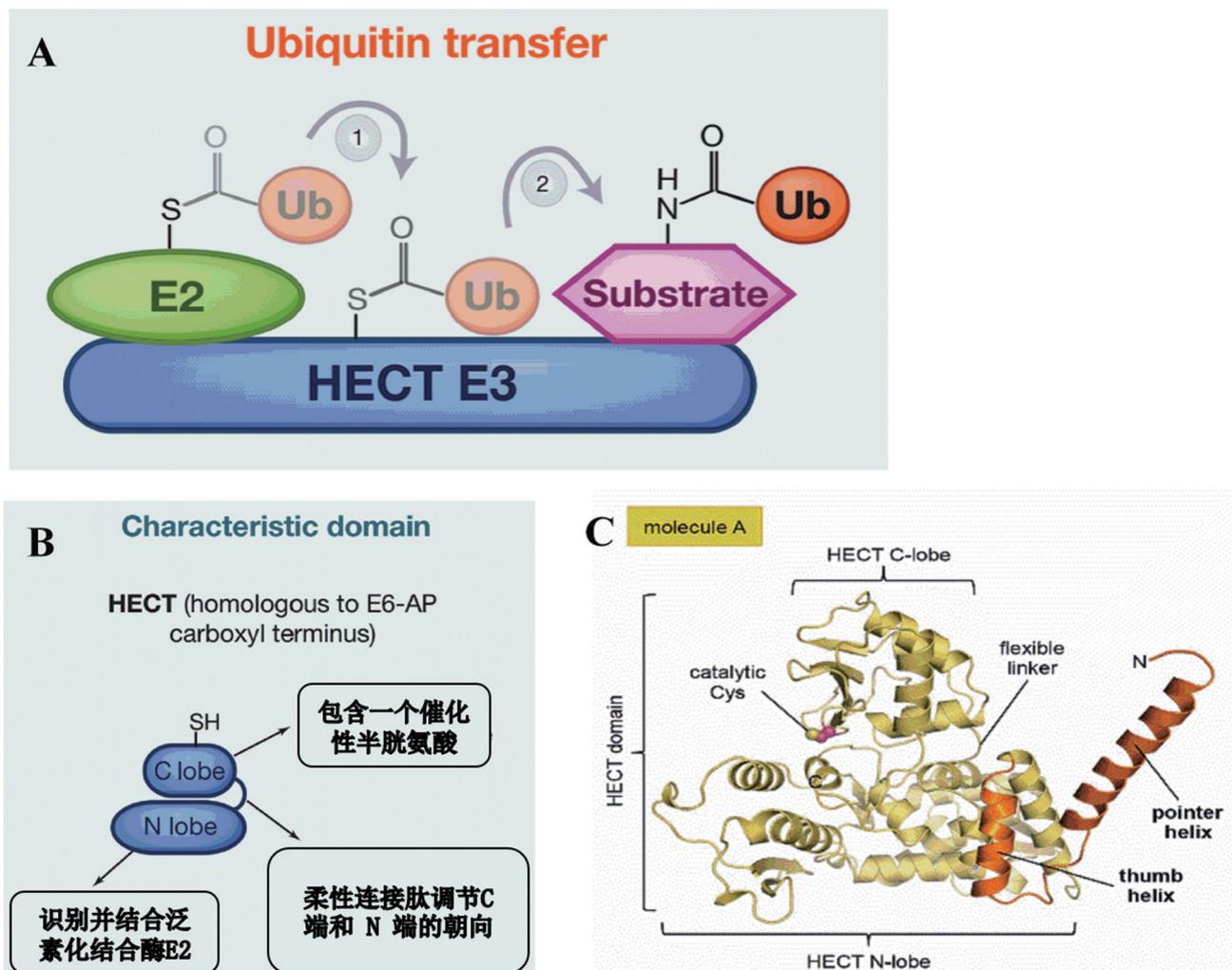
内表达, 剩余大部分组织中主要为细胞质内表达^[7]。HUWE1 蛋白包含多个功能域: UBA 功能域(氨基酸 1 316~1 355)、UIM 功能域(氨基酸 1 370~1 389)、WWE 功能域(氨基酸 1 603~1 680)和 HECT 功能域(氨基酸 4 038~4 374)。其中, 位于 C 末端的 HECT 结构域决定了 HUWE1 泛素化连接酶功能, 可识别 E2 结合酶并将泛素分子特异性转移至底物蛋白^[8](图 1)。HECT 功能域在结构上由一个小的 C 端部分和一个大的 N 末端部分通过柔性连接肽(flexible linker)相连接, 从而便于在泛素分子转移过程中改变 C 端和 N 端的方向。N 端部分主要负责识别和结合泛素结合酶 E2, C 端部分携带有催化性半胱氨酸, 主要介导 HECT 与泛素分子之间的相互作用^[9]。

研究表明, 泛素化连接酶 HUWE1 可通过泛素化调控多种生理过程, 其中包括泛素化降解抗凋亡

蛋白 MCL1 参与细胞凋亡调节、泛素化组蛋白 H1 调控 DNA 损伤反应、泛素化抑癌基因 *P53/TP53* 参与肿瘤细胞增殖调控以及多聚泛素化降解 N-Myc 原癌基因蛋白(N-Myc proto-oncogene protein, MYCN)调控神经细胞分化增殖等^[10-12]。由此可见, 泛素化连接酶 HUWE1 的正常调控对于机体健康非常重要。本文将重点描述泛素化连接酶 HUWE1 在癌症(肿瘤)、男性生殖系统损伤、胚胎发育异常和神经发育及疾病这 4 个方面的分子机制和研究进展。

1 癌症(肿瘤)

癌症是一类涉及细胞异常增殖且具有侵袭机体其他部位潜力的严重疾病。近 10 年来, 全球癌症的发病率呈持续增长的趋势, 攻克癌症也一直是人类医学不断努力的目标^[13]。泛素化连接酶 HUWE1



A: 泛素分子首先被转移至HECT E3连接酶, 再与底物蛋白特异性结合; B、C: HECT结构域各部分功能特性及其晶体学结构^[3,8]。

图1 HECT结构域催化泛素转移至底物蛋白过程示意图和HECT功能域晶体结构图

作为泛素蛋白酶系统中一个重要组成部分,其对癌症方面的作用也时刻被关注,但目前对于其是否作用于抑癌基因或原癌基因尚不清楚。2009年,Confalonieri等^[14]研究表明,HUWE1在卵巢癌、肺癌等大多数肿瘤细胞中均过表达,是功能失调频率最高的泛素化连接酶。HUWE1被证明参与调控癌症相关分子活性和通路,主要包括调控MYC转录活性、P53活性以及P53非依赖性抗增殖通路等^[15-16]。

卵巢癌因其发病位置隐蔽和缺乏早期检测指标一直威胁女性健康^[17]。2017年,Yang等^[18]报道了小鼠HUWE1缺失抑制了卵巢表面上皮细胞的恶性转移,但并不影响肿瘤细胞的存活与凋亡。在肿瘤生成后敲除HUWE1可发现肿瘤增长受到明显抑制。此外,该研究表明,HUWE1缺失可减少组蛋白H1.3泛素化作用,组蛋白水平的上升降低了非编码RNA *H19*的表达,从而抑制卵巢表面上皮细胞的恶性转移。HUWE1被发现与肺癌细胞的转移和侵袭有关,实验证明肺癌细胞中HUWE1和T淋巴瘤入侵和转移诱导蛋白1(T-lymphoma invasion and metastasis-inducing protein 1, TIAM1)的蛋白水平呈负相关。TIAM1是一类可活化鸟苷三磷酸酶RAC的鸟苷酸交换因子,相比于正常组织,肺癌中TIAM1表达下调^[19]。HUWE1通过调节RAC活化因子TIAM1的稳定性来参与人类肺癌细胞的调控,具体机制为HUWE1催化RAC活化因子TIAM1泛素化降解,破坏了细胞与细胞间的黏连,促使肿瘤细胞发生分离、迁移和侵袭^[20]。2014年,Peter等^[21]在结直肠癌中的研究显示,泛素化连接酶HUWE1与结直肠癌驱动蛋白MYC和锌指蛋白MIZ1相关。实验证明,HUWE1是结直肠癌细胞生长所必需,通过抑制HUWE1可稳定MYC相关蛋白MIZ1,该蛋白竞争性积累于MYC靶定基因,从而有效抑制MYC依赖的结直肠癌细胞转移以达到治疗目的。骨肉瘤是目前最常见的恶性骨肿瘤,该病多始发于长骨干骺端,microRNAs被证明参与骨肉瘤增殖、转移和代谢^[22]。研究发现,在骨肉瘤细胞系和人类骨肉瘤组织中,miR-542-5p均过表达并可直接靶向HUWE1,导致其表达下调。由此可见,miR-542-5p的过表达诱导HUWE1减少,可促进骨肉瘤增殖^[23]。除了上述几种癌症之外,高通量测序以及RT-PCR结果分析表明,泛素化连接酶HUWE1与乳腺癌发病高度相关^[24-25]。

2 男性生殖系统损伤

近年,生活节奏加快和生活环境恶化严重威胁

了人类生殖健康,导致不孕症发病率逐年上升。统计分析表明,全球不孕症患病率高达15%,其中约有40%是由男性不育引起的^[26]。因此,生殖医学研究为缓解这一现象得到了快速发展。最新研究表明,泛素化连接酶HUWE1在男性生殖系统和胚胎发育过程中均有重要的调控作用。精子形成过程通过严格调控精原干细胞分化、有丝分裂增殖、减数分裂以及细胞重构,从而确保每天能成功产生上百万单倍型精子^[27]。2017年,Bose等^[28]在精子形成这一关键阶段使HUWE1失活来探究和评估连接酶对于男性生殖细胞分化的影响。实验结果表明,HUWE1可调节早期精原细胞分化并精准控制其进入减数分裂过程,但对于减数分裂的完成以及精子的成熟没有显著影响。另外,HUWE1失活使DNA损伤反应蛋白——组蛋白 γ H2AX在细胞中大量积累,从而导致精原细胞内 γ H2AX靶定DNA损伤位点机制异常,并使下游DNA损伤反应(DDR)过度活化上游信号通路和细胞凋亡程序,最终导致精原细胞大量损耗并只能形成极少量的前细线期细胞。研究发现,在雄性小鼠生殖细胞中泛素化连接酶HUWE1失活会导致新生儿精原细胞退化以及成年时支持细胞减少,并且该过程被证实与组蛋白H2AX表达上调和DNA损伤反应加剧高度相关。精原细胞退化以及支持细胞减少将导致精子形成无法维持,从而造成男性生精障碍^[29]。由此可见,泛素化连接酶HUWE1对于精子增殖过程中的分化调控、DNA修复和基因组稳定性都具有重要作用,HUWE1突变或异常表达将对男性生殖细胞造成严重损伤。

3 胚胎发育

随着辅助生殖技术和分子检测技术的快速发展,研究者对于胚胎发育过程涉及到的细胞动力学、分子机制以及表观遗传调控的研究愈加深入^[30-31]。泛素化连接酶HUWE1作为泛素化过程的关键酶类也被高度关注。2016年,Chen等^[32]发现,在植入子宫前的小鼠胚胎细胞核和细胞质中均表达HUWE1,并且其表达量在早期胚胎发育阶段受低氧浓度调节。研究人员通过敲低HUWE1证明,HUWE1低表达会抑制正常胚胎发育,减少囊胚形成并增加细胞凋亡数目。另外,为了更好地探究HUWE1在小鼠胚胎中研究的临床意义,研究人员收集了临床IVF废弃胚胎和流产妇女绒毛验证HUWE1表达是否与人类胚胎发育相关。人类胚胎

染色结果表明, HUWE1 减少现象存在于低质量胚胎中。Western-blot 结果表明, 流产的胚胎中 HUWE1 表达量显著降低, 说明 HUWE1 异常表达会导致胚胎发育异常。

双氧水刺激人类精子后 HUWE1 表达减少, 表明氧化应激可抑制精细胞 HUWE1 表达, 从而影响胚胎发育。由此可见, 男性生殖细胞异常也会对胚胎发育造成不利影响。近期, CUL 功能域泛素化连接酶 E3 (Cullin4B, CUL4B) 被发现同样受 HUWE1 泛素化调控降解。CUL4B 是一类与胚外组织发育相关的蛋白, 该蛋白对于胚胎正常发育是非必需的, 但这项研究提示, 泛素化连接酶 E3 之间的相互作用对于胚外组织, 甚至是胚胎发育的影响也是不可忽视的。总体看来, 泛素化连接酶 HUWE1 对于胚胎发育具有重要作用, HUWE1 异常调节可能会提高胚胎异常发育风险和临床上 IVF 的流产率^[33]。因此, 无论是在男性生殖细胞还是胚胎发育中, 泛素化连接酶 HUWE1 正常调控对于生殖健康都具有重要意义。

4 神经发育及疾病

神经发育是多种基因在特定时间和空间特异表达的过程, 受多种调节因子调控, 它们表达与调控异常会导致神经系统发育异常性疾病^[34]。越来越多的研究证实, 泛素化连接酶 HUWE1 在神经系统发育过程中具有重要调控作用。细胞周期及时结束和细胞分化及时开始对维持神经系统正常发育具有重要作用。转录因子 N-Myc 在神经系统发育过程中大量表达, 主要集中于神经干细胞或神经系统原始细胞^[35]。近期研究表明, N-Myc 缺失会导致神经干细胞和原始细胞过早分化以及细胞周期提前终止, 并且与 Cdk 抑制因子上调和 Myc 靶定基因 *cyclin D2* 表达下调高度相关。2008 年, Zhao 等^[36] 研究发现, 泛素化连接酶 HUWE1 可通过泛素化降解 N-Myc 肿瘤蛋白来控制神经分化和增殖。具体机制为, 泛素化连接酶 HUWE1 与 N-Myc 结合, 促使底物赖氨酸残基 48 多聚泛素化从而被蛋白酶体降解。N-Myc 的降解通过上调周期蛋白依赖性激酶 (cyclin-dependent kinase, Cdk) 抑制因子表达而调控细胞周期; 同时, 促进神经元分化标记物表达从而调节神经正常分化。泛素化连接酶 HUWE1 异常调控会造成神经细胞周期和分化异常, 从而影响神经和大脑发育。

HUWE1 异常表达改变基因组完整性以及有效

突变的积累被证明与神经发育疾病 X 连锁精神发育迟缓相关^[37]。根据是否由于 HUWE1 基因突变或包含 HUWE1 基因在内的染色体 Xp11.22 区域微重复导致, 该病分为 X 连锁精神发育迟缓综合征和 X 连锁精神发育迟缓非综合征。目前, 有 3 种 HUWE1 基因突变被确定导致 X 连锁精神发育迟缓综合征发病: c.12037C > T (4013 位点精氨酸替换为色氨酸)、c.8942G > A (2981 位点精氨酸替换为组氨酸) 和 c.12559C > T (4187 位点精氨酸替换为半胱氨酸), 致病突变导致患者或携带者表现为畸形巨头、畸形痉挛以及智力迟钝^[38]。最新研究表明, HUWE1 基因 c.12559C > T 突变所带来的影响是最为显著的, 伴随着 DNA 修复能力减弱以及氧化过敏, 无法维持基因组完整性, 从而导致神经发育疾病^[39]。阿尔兹海默症是最为普遍的神经退行性疾病之一。2015 年, Kim 等^[40] 研究发现, 在阿尔兹海默症患者中, 泛素化连接酶 HUWE1 表达水平显著性降低。另外, HUWE1 基因的突变和其所在染色体的微重复与阿尔兹海默症患者智力发育迟缓高度相关。因此, 泛素化连接酶 HUWE1 基因突变和异常表达对于神经细胞分化增殖、大脑发育以及神经退行性疾病的发病是至关重要的, 同样也提示 HUWE1 对于未来治疗神经发育疾病的潜力是巨大的。HUWE1 在肿瘤、男性生殖系统损伤、胚胎发育异常以及神经发育疾病的作用总结见图 2。

5 展望

随着基因测序技术和生物信息技术的快速发展, 靶向治疗被应用于多种疾病研究, 推进了包括肿瘤和神经疾病在内的精准治疗。泛素化调控一直以来是临床和基础医学研究的热门领域, 泛素化连接酶 E3 作为其中最重要的调控因子之一, 目前已经有多种泛素化连接酶抑制剂被研发。泛素化连接酶 MDM2 可抑制肿瘤抑制因子 P53 的转录激活, 从而促进其泛素化降解。抑制剂啞啉二酮并喹啉/吡啶类衍生物被证实可抑制泛素化连接酶 MDM2 活性, 从而促进 P53 抑制肿瘤细胞增殖^[41]。另外, 研究表明, 抑制剂 MLN4924 抑制了泛素化连接酶 SCF 活性, 诱导卵巢癌细胞和急性早幼粒白血病细胞发生 DNA 损伤、细胞凋亡, 从而抑制肿瘤的生长^[42]。由此可见, 泛素化连接酶 E3 可作为一个有效的药物治疗靶点。大量研究表明, 泛素化连接酶 HUWE1 涉及癌症、神经发育疾病以及生殖疾病的发生。目前对于 HUWE1 抑制剂研发和靶向治疗尚



图2 HUWE1在肿瘤、男性生殖系统损伤、胚胎发育异常以及神发育疾病的作用总结

无文献报道,但本文所总结的其调控,包括DNA损伤反应、细胞凋亡过程、氧化应激反应、肿瘤抑制因子以及神经细胞的分化增殖等重要生理过程,都提示HUWE1具有极大的潜力成为一个新的药物治疗潜在靶标,为癌症和神经发育疾病的发病机制和临床治疗提供了新的研究方向。

另外,本文还创新性地总结了HUWE1在男性生殖系统和胚胎发育方面的影响。当前,男性不育的诊断指标多为精子活动力、畸形率以及包括白细胞、弹性硬蛋白酶等生化指标在内的生殖感染,分子水平检测也仅有AZF的微缺失诊断为主^[43],但仍有多数患者不育原因不明。本文所总结的HUWE1在男性睾丸和胚胎发育中的重要作用表明,该连接酶能够成为未来生殖医学靶向治疗中的一个参考靶点,也能为辅助临床生殖医学中男性不育和胚胎发育异常提供一个全新的参考指标。

[参 考 文 献]

- [1] Popovic D, Vucic D, Dikic I. Ubiquitination in disease pathogenesis and treatment. *Nat Med*, 2014, 20: 1242-53
- [2] 吴慧娟, 张志刚. 泛素-蛋白酶体途径及意义. *国际病理科学与临床杂志*, 2006, 26: 7-10
- [3] Morreale FE, Walden H. Types of ubiquitin ligases. *Cell*, 2016, 165: 248-248.e1
- [4] Kwon YT, Ciechanover A. The Ubiquitin code in the ubiquitin-proteasome system and autophagy. *Trends Biochem Sci*, 2017, 42: 873-86
- [5] Teixeira LK, Reed SI. Ubiquitin ligases and cell cycle control. *Annu Rev Biochem*, 2013, 82: 387-414
- [6] Ciechanover A. The unravelling of the ubiquitin system. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2015, 16: 322-4
- [7] Froyen G, Corbett M, Vandewalle J, et al. Submicroscopic duplications of the hydroxysteroid dehydrogenase HSD17B10 and the E3 ubiquitin ligase HUWE1 are associated with mental retardation. *Am J Hum Genet*, 2008, 82: 432-43
- [8] Friez MJ, Brooks SS, Stevenson RE. HUWE1 mutations

- in Juberg-Marsidi and Brooks syndromes: the results of an X-chromosome exome sequencing study. *BMJ Open*, 2016, 29, 6: e009537
- [9] Sander B, Xu W, Eilers M, et al. A conformational switch regulates the ubiquitin ligase HUWE1. *Elife*, 2017, 6: e21036
- [10] Kurokawa M, Kim J, Geradts J, et al. A network of substrates of the E3 ubiquitin ligases MDM2 and HUWE1 control apoptosis independently of p53. *Sci Signal*, 2013, 6: ra32
- [11] Mandemaker IK, Van CL, Janssens RC, et al. DNA damage-induced histone H1 ubiquitylation is mediated by HUWE1 and stimulates the RNF8-RNF168 pathway. *Sci Rep*, 2017, 7: 15353
- [12] Barone G, Anderson J, Pearson AD. New strategies in neuroblastoma: therapeutic targeting of MYCN and ALK. *Clin Cancer Res*, 2013, 19: 5814-21
- [13] 高婷, 李超, 梁铎, 等. 中国癌症流行的国际比较. *中国肿瘤*, 2016, 25: 409-14
- [14] Confalonieri S, Quarto M, Goisis G, et al. Alterations of ubiquitin ligases in human cancer and their association with the natural history of the tumor. *Oncogene*, 2009, 28: 2959-68
- [15] Adhikary S, Marinoni F, Hock A, et al. The ubiquitin ligase HectH9 regulates transcriptional activation by Myc and is essential for tumor cell proliferation. *Cell*, 2005, 12: 409-21
- [16] Chen D, Kon N, Li M, et al. ARF-BP1/Mule is a critical mediator of the ARF tumor suppressor. *Cell*, 2005, 121: 1071-83
- [17] 刘云, 杜成, 刘文超. 卵巢癌治疗新进展. *现代肿瘤医学*, 2015, 23: 553-6
- [18] Yang D, Sun B, Zhang X, et al. HUWE1 sustains normal ovarian epithelial cell transformation and tumor growth through the histone H1.3-H19 cascade. *Cancer Res*, 2017, 77: 4773-84
- [19] Minard ME, Kim LS, Price JE, et al. The role of the guanine nucleotide exchange factor Tiam1 in cellular migration, invasion, adhesion and tumor progression. *Breast Cancer Res Treat*, 2004, 84: 21-32
- [20] Vaughan L, Tan CT, Chapman A, et al. HUWE1 ubiquitylates and degrades the RAC activator TIAM1 promoting cell-cell adhesion disassembly, migration, and invasion. *Cell Rep*, 2015, 10: 88-102
- [21] Peter S, Bultinck J, Myant K, et al. Tumor cell-specific inhibition of MYC function using small molecule inhibitors of the HUWE1 ubiquitin ligase. *EMBO Mol Med*, 2014, 6: 1525-41
- [22] Geller DS, Gorlick R. Osteosarcoma: a review of diagnosis, management, and treatment strategies. *Clin Adv Hematol Oncol*, 2010, 8: 705-18
- [23] Cheng DD, Yu T, Hu T, et al. MiR-542-5p is a negative prognostic factor and promotes osteosarcoma tumorigenesis by targeting HUWE1. *Oncotarget*, 2015, 6: 42761-72
- [24] Maltseva DV, Khaustova NA, Fedotov NN, et al. High-throughput identification of reference genes for research and clinical RT-qPCR analysis of breast cancer samples. *J Clin Bioinforma*, 2013, 3: 13
- [25] Yin L, Joshi S, Wu N, et al. E3 ligases Arf-bp1 and Pam mediate lithium-stimulated degradation of the circadian heme receptor Rev-erb α . *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107: 11614-9
- [26] 黄荷凤, 王波, 朱依敏. 不孕症发生现状及趋势分析. *中国实用妇科与产科杂志*, 2013, 29: 688-90
- [27] Rooij DG. Stem cells in the testis. *Int J Exp Pathol*, 1998, 79: 67-80
- [28] Bose R, Sheng K, Moawad AR, et al. Ubiquitin ligase HUWE1 modulates spermatogenesis by regulating spermatogonial differentiation and entry into meiosis. *Sci Rep*, 2017, 7: 1775-9
- [29] Fok KL, Bose R, Sheng K, et al. HUWE1 Regulates the establishment and maintenance of spermatogonia by suppressing DNA damage response. *Endocrinology*, 2017, 158: 4000-16
- [30] 李敏, 张雯珂, 陈黎, 等. 人类植入前胚胎发育研究进展. *国际生殖健康/计划生育杂志*, 2015, 34: 319-23
- [31] Zheng H, Huang B, Zhang B, et al. Resetting epigenetic memory by reprogramming of histone modifications in mammals. *Mol Cell*, 2016, 63: 1066-79
- [32] Chen LJ, Xu WM, Yang M, et al. HUWE1 plays important role in mouse preimplantation embryo development and the dysregulation is associated with poor embryo development in humans. *Sci Rep*, 2016, 6: 37928
- [33] Yi J, Lu G, Li L, et al. DNA damage-induced activation of CUL4B targets HUWE1 for proteasomal degradation. *Nucleic Acids Res*, 2015, 43: 4579-90
- [34] 王丽, 王媛媛, 刘海莉, 等. MicroRNA与神经系统发育的研究进展. *中南大学学报*, 2013, 388: 323-8
- [35] Stanton BR, Perkins AS, Tessarollo L, et al. Loss of N-Myc function results in embryonic lethality and failure of the epithelial component of the embryo to develop. *Genes Dev*, 1992, 6: 2235-47
- [36] Zhao X, Heng JI, Guardavaccaro D, et al. The HECT-domain ubiquitin ligase HUWE1 controls neural differentiation and proliferation by destabilizing the N-Myc oncoprotein. *Nat Cell Biol*, 2008, 10: 643-53
- [37] Choe KN, Nicolae CM, Constantin D, et al. HUWE1 interacts with PCNA to alleviate replication stress. *EMBO Rep*, 2016, 17: 874-86
- [38] Froyen G, Belet S, Martinez F, et al. Copy-number gains of HUWE1 due to replication- and recombination-based rearrangements. *Am J Hum Genet*, 2012, 91: 252-64
- [39] Bosshard M, Aprigliano R, Gattiker C, et al. Impaired oxidative stress response characterizes HUWE1-promoted X-linked intellectual disability. *Sci Rep*, 2017, 7: 15050
- [40] Ho KJ, Franck J, Kang T, et al. Proteome-wide characterization of signalling interactions in the hippocampal CA4/DG subfield of patients with Alzheimer's disease. *Sci Rep*, 2015, 5: 11138
- [41] 窦小雪. 泛素连接酶MDM2抑制剂的设计、合成及抗肿瘤活性研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2012
- [42] 杨莉佳, 王江, 石秋燕, 等. SCFE3泛素化连接酶的研究进展. *四川生理科学杂志*, 2014, 36: 122-4
- [43] 郑九嘉, 杨旭, 张李雅, 等. 精子DNA损伤、核蛋白组型转换与顶体酶活性及精液参数的相关性分析. *中华男科学杂志*, 2012, 10: 925-9