



유비퀴틴-유사체 UFM1에 의한 암 발생 조절*

정진하**

Control of cancer development by ubiquitin-fold modifier 1 (UFM1)*

Chin Ha Chung**

ABSTRACT

Protein modification by ubiquitin and its structural homologs (i.e., ubiquitin-like proteins), such as SUMO, ISG15, and UFM1, plays critical roles in the control of numerous cellular processes, including cell cycle progression, immune response, and signal transduction. Furthermore, defects in the modification system lead to various human diseases, such as cancer and immune diseases. UFM1 is the most recently discovered ubiquitin-like protein, and conjugated to target proteins by sequential action of three enzymes: UBA5, UFM1-activating enzyme (E1); UFC1, UFM1-conjugating enzyme (E2); UFL1, UFM1 ligase (E3). Additionally, UFBP1 (UFM1-binding protein 1) is required for the protein modification by UFM1 (ufmylation). In human, two UFSPs (UFM1-specific protease 1 and 2) reverse the ufmylation process. The UFM1-system consisting of UBA5, UFC1, UFL1, and UFBP1 has been shown to regulate erythroid differentiation in hematopoiesis, endoplasmic reticulum stress response

* 본 논문은 2023년도 대한민국학술원 전문학술활동 연구비 지원으로 이루어짐

** 대한민국학술원 자연과학부 제2분과 회원, 서울대학교 생명과학부 명예교수

in pancreatic cells, and breast cancer development. In the latter case, estrogen receptor- α and ASC1 are modified by UFM1, leading to a marked increase in the expression of genes involved in cell proliferation, such as cyclin D1 and c-Myc. Recently, the UFM1-system has been implicated in the control of numerous other cancers, such as renal cell carcinoma, gastric cancer, liver cancer, and pancreatic cancer. Interestingly, in some cases the UFM1-system plays tumor-promoting roles, whereas in other cases it acts as a tumor suppressor. In this review, recent advances in the knowledge on the role of the UFM1-system on cancer development are discussed by providing mechanical models.

Key words: ubiquitin, UFM1, protein modification, breast cancer, tumorigenesis, tumor suppressor

초 록

유비퀴틴 및 유비퀴틴의 구조적 유사체(유비퀴틴-유사체)인 SUMO, ISG15 및 UFM1 등은 여러 단백질에 결합하여 세포 주기, 면역 반응, 신호 전달 등 세포 생리 과정을 조절하는 중요한 역할을 한다. 이들에 의한 단백질 변형과정에 결합이 발생하면 인간에게 암, 면역 질환 등의 여러 질병이 야기된다. UFM1은 가장 최근에 발견된 유비퀴틴-유사체로써 3가지 효소들의 순차적인 작용에 의해 단백질에 결합되는데, 이 효소들은 다음과 같다: UFM1-활성화 효소인 UBA5 (E1); UFM1-전달 효소인 UFC1 (E2); UFM1-결합 효소인 UFL1 (E3). UFBP1 또한 UFM1에 의한 단백질 변형에 필수적이다. UFM1-특이 단백질 분해효소인 UFSP1과 UFSP2는 UFM1에 의한 단백질 변형의 역-반응을 촉매한다. UBA5, UFC1, UFL1 및 UFBP1로 구성된 UFM1-시스템은 조절과정에서 적혈구의 분화, 췌장 세포의 소포체 스트레스, 유방암 발생을 유도하는 것으로 밝혀졌다. 특히 UFM1에 의한 ASC1 및 에스트로겐 수용체의 변형은 세포분열을 촉진하는 cyclin D, c-Myc 등의 발현을 유도하여 유방암의 발생을 유도한다. 뿐만 아니라 UFM1-시스템은 신장세포암, 위암, 간암, 피부암 등 여러 다른 암의 발생을 조절하는 것으로 보고되고 있다. 흥미로운 것은 몇몇 경우에는 UFM1-시스템이 발암을 촉진하며, 다른 경우에는 역으로 발암을 억제하는 역할을 한다는 것이다. 본 종설에서는 UFM1-시스템에 의한 발암 조절 기구에 대해 자세히 알아보려고 한다.

주제어: 유비퀴틴, UFM1, 단백질 변형, 유방암, 발암 촉진, 발암 억제인자

목 차

I. 단백질 변형	II. UFM1과 그의 결합 시스템
III. 유방암 발생 조절	IV. 신장세포암 발생 조절
V. 위암 발생 조절	VI. 피부암 발생 조절
VII. 간암 발생 조절	VIII. DNA 손상 회복 조절
IX. 항암제 개발	

I. 단백질 변형 (Protein modification)

인간의 게놈(genome)은 총 3.2×10^9 개의 염기쌍(base pair)으로 구성되어 있어서, 이론적으로는 약 10^9 개의 아미노산으로 번역될 수 있다. 평균적으로 단백질 하나는 약 300개의 아미노산으로 구성되어 있어서, 인간의 게놈은 산술적으로 3.3×10^6 개의 단백질을 만들어 낼 수 있다. 그러나 단백질을 생성할 수 있는 게놈 내의 유전자의 수는 약 2×10^4 개에 불과하다 [Willyard 2018]. 유전자 발현에 의해 생성되는 전사체(transcript)는 alternative splicing이라는 과정을 거쳐 평균적으로 3개의 서로 다른 mRNA가 되며, 이들 각각은 서로 다른 단백질로 번역될 수 있다 [Mackereth et al. 2011]. 따라서 하나의 유전자는 평균적으로 3개의 단백질로 번역될 수 있어서, 인간의 게놈으로부터 만들어질 수 있는 단백질의 총 수는 약 6×10^4 개로 추정된다. 그러나 세포의 생존에 필요한 단백질의 종류는 10^6 개 이상이어서, 산술적으로 계산된 수보다 약 20배나 된다. 이러한 세포에 필요한 단백질 종류의 증가는, 단백질들이 유전자로부터 번역된 후 단백질 변형 (post-translational modification)이라는 과정을 통해 이루어진다.

단백질의 변형은 무려 400가지 이상이 밝혀졌는데, 이들은 크게 4종류로 분류될 수 있다. 첫 번째는 인산화 (phosphorylation), 아세틸화 (acetylation), 메틸화 (methylation) 등과 같이 작은 화학물질 들의 결합에 의한 단백질의 변형, 두 번째는 당화 (glycosylation), 지방산화 (예, prenylation), 핵산화 (예, adenylation) 등과 같이 비교적 큰 분자들의 결합에 의한 변형, 세 번째는 단백질의 절단(limited proteolysis)에 의한 변형, 네 번째로 작은 단백질(예, 유비퀴틴, SUMO 등)의 결합에 의한 단백질의 변형이다 [Wang et al. 2014; Millar

et al. 2019]. 이러한 변형들은 단백질의 종류를 극대화하여 세포 내에서 그들의 활성, 위치, 다른 분자와의 결합 등을 조절함으로써, 생체 내의 모든 생리적 기능을 제어한다. 본 종설에서는 이들 가운데 UFM1에 의한 단백질 변형이 인간의 발암에 미치는 영향을 다룬다.

II. UFM1과 그의 결합 시스템

단백질의 변형을 일으키는 작은 단백질로 맨 처음 밝혀진 것은 유비퀴틴(ubiquitin)이며, 이것과 유사한 구조를 가진 SUMO, ISG15, Nedd8, FAT10 등의 유비퀴틴-유사체(ubiquitin-like protein)들이 뒤이어 발견되었고 [Kerscher et al. 2006], 맨 나중에 발견된 것이 UFM1이다 [Komatsu et al. 2004]. 이들 에 의한 단백질의 변형은, 세포의 주기, 스트레스에 대한 반응, 신호전달, 면역 반응 등 수많은 생리기능을 조절하며, 단백질 변형 시스템에 이상이 생길 경우에는 인간에 암, 신경질환, 면역질환 등과 같은 질병이 발생하는 것으로 밝혀지고 있다 [Jeon et al. 2010; Flotho and Melchior 2013; Hoeller et al. 2006].

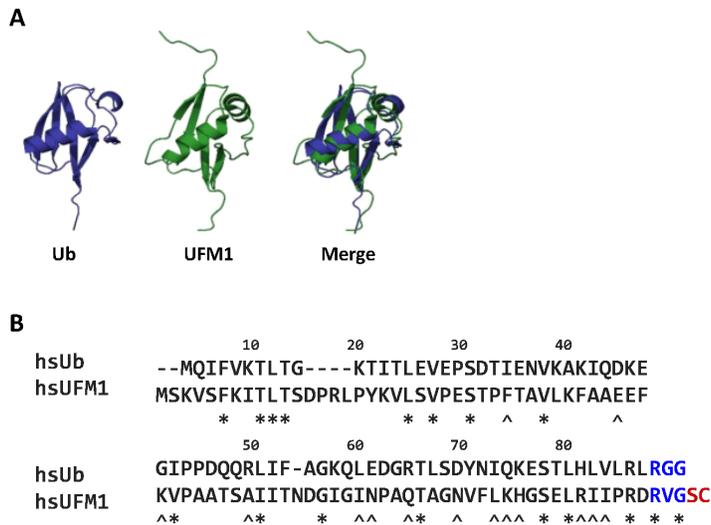


그림 1. UFM1과 유비퀴틴의 구조와 아미노산 서열 비교. A. 유비퀴틴과 UFM1의 3차원 구조. PBD code: 1UBQ (유비퀴틴, Ub), 1WXS (UFM1). 이 그림은 [Yoo et al. 2015]에서 부분적으로 따온 것이다. B. 인간의 유비퀴틴과 UFM1의 아미노산 서열. 성숙한 유비퀴틴과 UFM1의 C-말단은 청색으로, 미성숙 상태의 UFM1 C-말단은 붉은색으로 표시하였다. "*"는 동일한 아미노산을, "^"는 유사한 아미노산을 표시한다.

UFM1은 유비퀴틴과 유사한 구조를 가지고 있어서 ubiquitin-fold modifier 1이라고 명명되었다 (그림 1A). UFM1은 아미노산 전체 서열에서 16%만이 유비퀴틴과 동일하나 (그림 1B) 유비퀴틴과 거의 동일한 β -grasp fold라는 3차 구조를 가지고 있다 [Padala et al, 2017; Sasakawa et al, 2006]. 인간의 UFM1은 85개의 아미노산으로 구성된 미성숙(premature) 상태의 단백질로 번역되나, C-말단의 Ser-Cys(SC)이 제거되면서 83개의 아미노산으로 구성된 성숙한 단백질이 된다. 따라서 C-말단이 Arg-Gly-Gly(RGG)로 되어 있는 유비퀴틴과는 달리 성숙한 UFM1의 C-말단은 Arg-Val-Gly(RVG)로 되어 있다 (그림 1B).

UFM1은, 유비퀴틴 및 유비퀴틴-유사체들과 흡사하게, E1, E2 및 E3의 3가지 효소들의 연속 반응에 의해 타겟 단백질에 결합된다 [Daniel and Liebau 2014; Yoo et al. 2015; Banerjee et al. 2020]. 첫 번째 효소 UBA5는 UFM1-활성화 효소(UFM1-activating enzyme: E1)로써 ATP의 adenylyl 그룹을 UFM1의 C-말단에 결합시켜 UFM1-AMP를 생성하고, 곧바로 이로부터 UFM1을 떼 내어 UBA5 효소 자신의 Cys250에 결합시켜 UBA5-UFM1 thioester를 형성한다 (그림 2A). 뒤이어 두 번째 효소 UFC1은 UFM1-전달 효소(UFM1-conjugating enzyme: E2)로써 transthiolation 반응을 통하여 UBA5-UFM1 thioester로부터 UFM1을 자신의 Cys116으로 전달하여 UFC1-UFM1 thioester를 형성한다. 마지막으로 세 번째 효소 UFL1은 UFM1-결합 효소(UFM1 ligase: E3)로써 UFBP1(UFM1-binding protein 1)과 함께 UFC1에 결합된 UFM1을 타겟 단백질(substrate)로 전달하여 [Lemaire et al. 2011], UFM1으로 변형된(ufmylated) 단백질을 생성한다. 이 과정에서 UFM1이 UFC1-UFM1으로부터 타겟 단백질로 직접 전달되는지, 아니면 UFL1이나 UFBP1에 결합하여 UFL1-UFM1 또는 UFBP1-UFM1이 형성되고 이들로부터 UFM1이 타겟 단백질에 전달되는지는 아직 확실치 않다.

상기한 과정을 통하여, UFM1은 타겟 단백질의 Lys에 결합되며, 그 결과 적어도 2종류의 변형된 타겟 단백질이 생성될 수 있다 (그림 2B). 그 하나는 한 분자의 UFM1이 타겟 단백질의 하나 또는 그 이상의 특정 Lys에 결합하여 생성된 mono-ufmylated 단백질이며, 또 다른 종류는 하나 또는 그 이상의 poly-UFM1 (UFM1-사슬)이 타겟 단백질의 하나 또는 그 이상의 특정 Lys에 결합하여 생성된 poly-ufmylated 단백질이다 (그림 2B). 타겟 단백질에 결합된 UFM1 분자의 Lys에 다시 UFM1 분자가 결합되고 이 반응이 반복되면 UFM1-사슬이 생성된다.

UFM1은 총 6개의 Lys을 가지고 있는데, UFM1 분자들 간의 결합은 오직 69번째에 있는 Lys을 통해서만 이루어진다 [Yoo et al. 2014]. 유비퀴틴은 총 7개의 Lys을 가지고 있는데, UFM1의 것들과는 달리 모든 Lys을 통하여 유비퀴틴 분자들 간에 결합이 형성될 수 있다 [Ikeda and Dikic 2008]. 따라서 유비퀴틴은 UFM1보다 훨씬 더 다양하게 변형된 타겟 단백질을 형성할 수 있다.

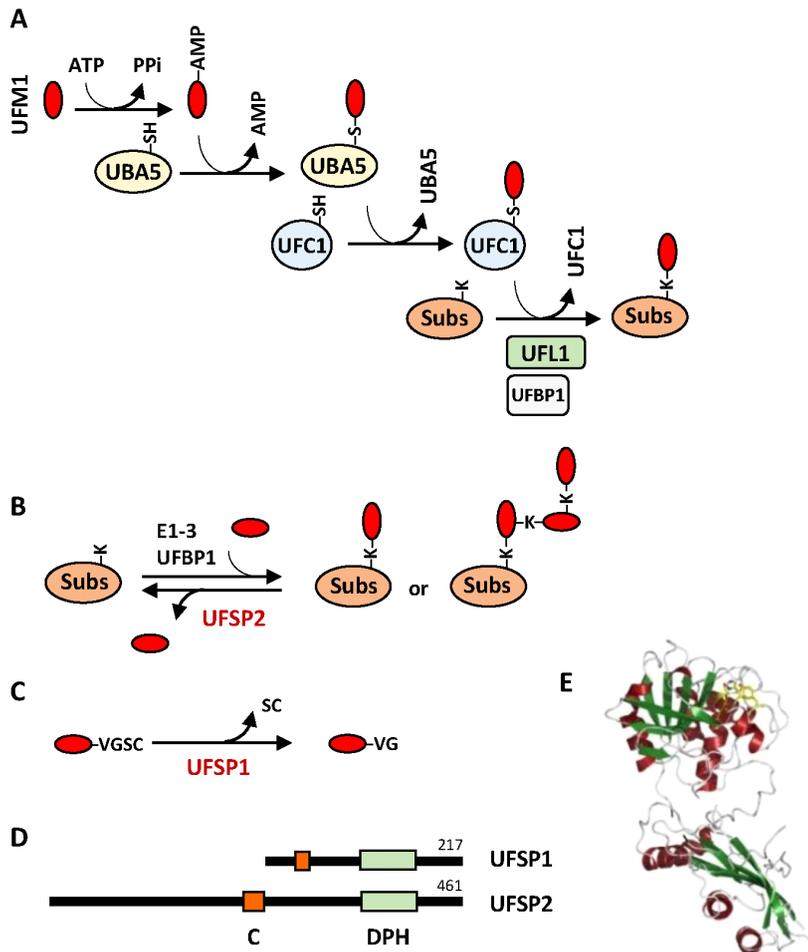


그림 2. UFM1에 의한 단백질의 가역적 변형. A. UBA5 (E1), UFC1 (E2), UFL1 (E3) 및 UFBP1의 작용에 의해 타겟 단백질(substrate: Subs)이 UFM1으로 변형되는 과정을 보여준다. B. UFM1-시스템(E1-3 및 UFBP1)의 작용으로 타겟 단백질이 UFM1에 의해 변형될 수 있는 2가지의 유형과 UFSP2에 의한 타겟 단백질로부터 UFM1의 제거. C. UFSP1에 의한 미성숙 UFM1 C-말단의 Ser-Cys (SC) 펩타이드 제거. D. 인간에 존재하는 UFSP1과 UFSP2의 1차구조 모식도. "C"는 Cys box, "DPH"는 Asp-Pro-His box. E. UFSP2의 3차원 구조. 이 그림은 [Kang et al. 2007]에서 부분적으로 따온 것이다.

UFM1에 의한 타겟 단백질의 변형은 세포 내에서 가역적으로 일어난다 [Kang et al. 2007; Yoo et al. 2015]. 타겟 단백질에 결합된 UFM1은 주로 UFSP2 (UFM1-specific protease 2)라는 UFM1-특이적 단백질 분해 효소에 의해 떨어져 나올 수 있다 (그림 2B). UFSP1는 미성숙한 UFM1으로부터 C-말단의 Ser-Cys(SC)을 제거하여 성숙한 UFM1의 생성에 주로 작용한다 (그림 2C). UFSP1과 UFSP2는 촉매작용에 필수적인 Cys box (C) 및 Asp-Pro-His box (DPH)를 가지고 있다 (그림 2D). 흥미롭게도 UFSP1은 전형적인 AUG start codon을 대신하여 non-canonical CUG codon을 사용하여 번역된다 [Liang et al. 2022; Millrine et al. 2022]. 그림 2E는 X-선 회절 방법에 의해 결정된 UFSP2의 3차원 구조다 [Ha et al. 2011].

III. 유방암 발생 조절

유방암은 여성에게 가장 흔히 발생하는 암으로, 2020년에는 세계적으로 약 2백 6십만 명의 환자가 발생하였으며 약 6십8만 명이 사망했다 [Sung et al. 2021]. 한국에서는 매년 약 2만5천 명 이상의 환자가 발생하며 3천 명 이상이 사망한다. 유방암은 에스트로젠-수용체 α (estrogen receptor α : ER α) 프로게스테론-수용체 (progesterone receptor: PR) 및 인간 표피성장인자-수용체 2 (human epidermal receptor 2: HER2)의 발현 여부에 따라 분류되는데, 일반적으로는 에스트로젠-수용체의 유무에 따라 ER-positive (ER $^+$) 및 ER-negative (ER $^-$)로 나누고, 3가지 수용체 어느 것도 발현을 못하는 유방암을 triple-negative (TR $^-$)라고 한다.

ER $^+$ 환자의 유방암 치료를 위해 가장 많이 사용하는 항암제로는, 에스트로젠-수용체의 전사 활성을 억제하는 tamoxifen과 에스트로겐의 합성을 저해하는 aromatase inhibitors 등이 있다. 그러나 항암제의 투여 후 5~10년이 지나면 환자의 10~50% 정도에서 유방암이 재발하여 사망에 이르는 경우가 많다. 따라서 새로운 치료제의 개발이 절실히 요구되고 있는 실정이다 [Abe et al. 2005].

ASC1

에스트로겐은 주로 난소와 태반에서 분비되는 스테로이드 계열의 호르몬이다. 이 여성 호르몬은 타겟 세포 내의 에스트로겐-수용체에 결합함으로써 여성의 여러가지 생리적 기능을 조절한다. 이 과정을 조금 자세히 살펴보면 아래와 같다. 에스트로겐-수용체는 세포질 내에서 단량체(monomer)로 존재하다가, 세포 밖으로부터 유입된 에스트로겐과 결합하면 수용체 두 분자가 서로 결합하여 이량체(homo-dimer)를 형성하여 핵으로 들어간다 [Nilsson et al. 2001]. 에스트로겐-수용체는 전사인자(transcription factor)로써 핵 내에서 p300, SRC1, ASC1 등과 같은 전사조절인자(transcription regulators)와 함께 에스트로겐-반응 서열(estrogen-responsive element: *ERE*)에 결합하여 여러 하위 유전자의 발현을 유도한다 [Hassig et al. 1997; Kim et al. 1999; Jung et al. 2002; Xu et al. 2009]. 이러한 하위 유전자의 발현이 월경 주기, 임신, 유방의 발달, 출산 조절 등 여성의 성적 특징을 나타내게 한다.

유방암의 약 70% 이상은 에스트로겐-수용체의 과다 발현이나 비정상적인 활성화에 의해 발생하는 것으로 알려져 있다. 그러나 어떤 분자생물학적 메커니즘을 통하여 유방 세포가 암화 되는가에 대해서는 명확히 알려져 있지 않았다. 이러한 배경 아래 본인의 실험실에서는, UFM1이 유방암의 발달에 중요한 역할을 함을 밝힌 바 있다 [Yoo et al. 2014, 2015, 2022]. 전사조절인자 중의 하나인 ASC1(activating signal co-integrator 1)은 핵 내에서 UFSP2와 결합한 상태로 존재한다. 따라서 ASC1이 UFM1에 의해 변형된다 하더라도, UFSP2가 ASC1으로부터 UFM1을 곧바로 제거해 버린다. 그러나 에스트로겐의 결합에 의해 활성화된 에스트로겐-수용체가 핵으로 들어오면, 이 수용체가 UFSP2를 대신하여 ASC1에 결합을 하기 때문에 UFSP2가 더 이상 UFM1에 의한 ASC1의 변형을 방해하지 못하게 된다. 따라서 UFM1-시스템(E1, E2, E3 및 UFBP1)의 작용에 의해 ASC1이 UFM1-사슬로 변형(poly-ufmylation)되고, 이 사슬은 p300 및 SRC1과 같은 전사조절인자가 ASC1과 에스트로겐-수용체에 결합할 수 있는 발판(scaffold)의 역할을 한다. 여기에 RNA 중합 효소(RNA polymerase: Pol II)가 결합하면 거대한 전사복합체(transcriptional complex)가 형성되며, 이 복합체는 cyclin D, c-Myc, pS2와 같은 유전자의 발현을 유도하여 유방 세포의 분열을 지속적으로 촉진함으로써 결과적으로 유방암의 발생을 야기한다 [Klinge, 2001; Nilsson et al. 2001; Yoo et al. 2015] (그림 3).

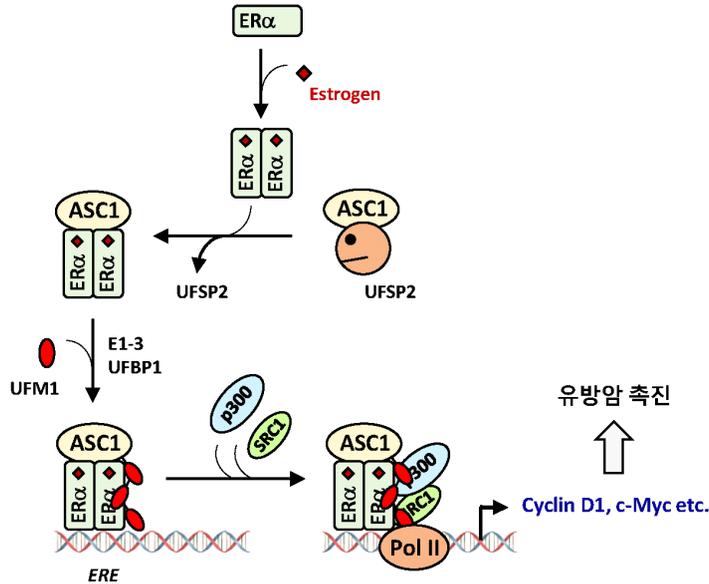


그림 3. ASC1의 UFM1 변형에 의한 유방암 촉진 과정. 단량체(monomer)의 에스트로겐-수용체(ER α)는 에스트로겐(estrogen: 붉은색 다이아몬드)이 결합을 하면 이량체(dimer)를 형성하여 핵으로 이동한다. ASC1이 UFSF2에서 떨어져 나와 수용체에 결합하면, UFM1-시스템의 작용으로 ASC1이 UFM1-사슬로 변형된다. 이 사슬을 통해 p300, SRC1 등의 전사조절인자가 결합하여, Pol II와 함께 거대 전사복합체를 형성한다. 전사복합체는 세포분열을 촉진하는 cyclin D, c-Myc 등의 유전자들을 발현시키어 유방세포의 암화를 유도한다.

에스트로겐-수용체

스테로이드 계열의 호르몬들에 대한 수용체들은 핵 내에서 전사인자로 작용하기 때문에 이들 모두를 핵-수용체(nuclear receptor: NR)라고 하며, 에스트로겐-수용체도 여기에 포함된다. 그런데 호르몬이 없는 상태에서는 핵-수용체들이 유비퀴틴에 의해 변형되지 않아 안정성을 유지하지만, 호르몬이 결합하면 유비퀴틴-활성화 효소(E1), 유비퀴틴-전달 효소(E2) 및 유비퀴틴-결합 효소(E3)가 순서대로 작용하여 핵-수용체를 유비퀴틴-사슬로 변형되고, 뒤이어 proteasome에 의해 분해된다 (즉, 수용체의 전사 활성을 사라지게 한다). 따라서 proteasome의 활성을 억제하는 MG132를 세포에 처리하면 핵-수용체가 안정화되어 높은 전사 활성을 보일 것으로 추측되었다. 그러나 예상과는 반대로 MG132의 처리가 핵-수용체의 전사 활성을 억제하는 것으로 나타났다. 이러한 결과를 토대로 다음과 같은 모델이 제시된 바 있다 (그림 4A). 1) 호르몬이 결합된 핵-수용체가 호르몬-반응서열(hormone-responsive element: HRE)에 결합한다; 2) 여기에 유비퀴틴-

결합 효소(E3)가 결합한다; 3) 이 E3는 먼저 scaffold로 작용하여 여러 전사조절 인자들과 RNA 중합효소(Pol II)를 핵-수용체로 끌어들여 거대 전사복합체를 형성한다; 4) 활성화된 Pol II가 타겟 유전자로부터 mRNA를 생성하기 시작하면, E3가 핵-수용체를 유비퀴틴-사슬로 변형시키어 proteasome에 의해 분해되게 한다. 따라서 *HRE*는 새로운 핵-수용체가 결합될 수 있게 되고 상술한 과정을 반복함으로써 유전자 발현이 지속된다. 그러나 proteasome의 억제제인 MG132가 처리되면, 유비퀴틴-사슬이 결합된 핵-수용체가 *HRE*에 계속 남아있게 되어 새로운 핵-수용체가 들어올 수 없어서 유전자 발현이 억제된다는 것이다 [Zhou and Slingerland 2014]. 그러나 이 모델에는 E3가 어떻게 scaffold로서의 역할을 유비퀴틴 결합 작용보다 먼저 할 수 있는냐는 시간적(temporal) 문제가 남아 있었다.

이러한 배경에서, 본인의 실험실에서는, ASC1뿐만 아니라 에스트로젠-수용체도 UFM1-사슬에 의해 변형(poly-ufmylation)이 되며, 이러한 변형이 상술한 시간적 문제를 해결함을 밝히었다 [Chung and Yoo, 2022; Yoo et al. 2022]. 그 주된 내용은 아래와 같다 (그림 4B). 1) 에스트로젠이 결합된 에스트로젠-수용체가 에스트로젠-반응 서열(estrogen responsive element: *ERE*)에 결합한다; 2) UFM1-시스템의 작용으로 ASC1에 UFM1-사슬을 형성하여 p300 및 SRC1 등과 같은 전사조절인자를 끌어들인다. 이 시스템은 에스트로젠-수용체에도 UFM1-사슬을 생성하는데, 이는 에스트로젠-수용체에 유비퀴틴-사슬을 형성하는 E3 효소인 E6AP의 결합을 방지함으로써 proteasome에 의한 분해를 억제한다. 따라서 거대 전사복합체에서 활성화된 Pol II가 타겟 유전자로부터 mRNA를 생성할 수 있도록 한다. 3) 일단 mRNA의 생성이 시작되면, UFSP2가 에스트로젠-수용체와 ASC1에 결합된 UFM1을 떼어 냄으로써 전사복합체는 *ERE*로부터 분리된다. 4) 분리된 에스트로젠-수용체는 드디어 E6AP와 결합을 할 수 있고 유비퀴틴-사슬로 변형되어 proteasome에 의해 분해된다. 따라서 *ERE*는 새로운 에스트로젠-수용체가 결합될 수 있게 되고 상술한 과정을 반복함으로써 유전자 발현이 계속될 수 있다. 그 결과, cyclin D, c-Myc, pS2은 계속 축적이 되고, 이들은 유방 세포의 분열을 지속적으로 촉진하여, 유방암 발생을 유발시킨다. 그러나 이 모델에서도 3)의 과정에서 ASC1으로부터 분리된 UFSP2가 어떻게 에스트로젠이 결합된 수용체에 작용하여 UFM1을 떼어 내는가에 대한 메커니즘은 아직 불분명하다.

유비퀴틴-유사체 UFM1에 의한 암 발생 조절

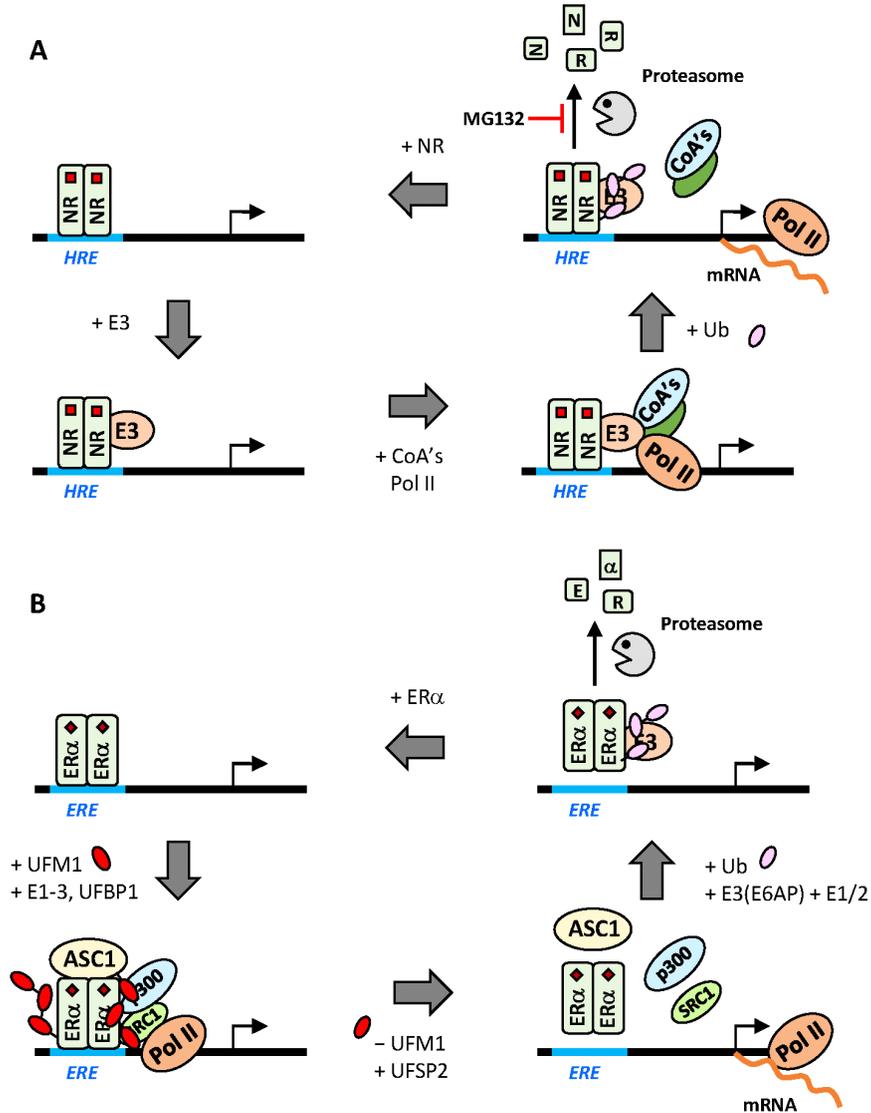


그림 4. 유비퀴틴 및 UFM1 변형에 의한 핵-수용체 전사 조절 기구. A. 핵-수용체의 유비퀴틴 변형에 의한 유전자 발현 조절. 호르몬(붉은색 네모)이 붙은 핵-수용체(NR)가 촉진유전자의 *HRE*에 결합하고, 뒤이어 수용체에 E3가 결합한다. 수용체에 결합한 E3가 scaffold로 작용하여 여러 전사조절인자(CoA)들을 끌어 들이고 Pol II와 함께 거대 전사복합체를 형성하여 하위 유전자 발현을 촉진한다. 일단 유전자 발현이 시작되면 E3는 유비퀴틴 결합효소로 작용하여 핵-수용체를 유비퀴틴-사슬로 변형시키고 proteasome에 의한 분해를 유도한다. 그 결과 비워진 *HRE*에 새로운 핵-수용체가 결합하여 상기한 과정이 반복된다. B. 에스트로겐-수용체의 UFM1 변형에 의한 유전자 발현 조절. 그림 3에서와 같이 UFM1에 의한 ASC1의 변형이 전사복합체의 형성을 촉진한다. 또한 에스트로겐-수용체도 UFM1에 의해 변형되어, E3인 E6AP의 결합을 억제함으로써, 수용체를 안정화시켜 전사활성을 촉진한다. 일단 유전자 발현이 시작되면 UFBP2가 UFM1-사슬을 제거하고, E6AP가 에스트로겐-수용체를 유비퀴틴-사슬로 변형시키어 proteasome에 의한 분해를 유도한다. 그 결과 비워진 *ERE*에 새로운 에스트로겐-수용체가 결합하여 상기한 과정이 반복된다.

SLC7A11

Ferroptosis는 세포사멸(apoptosis)의 일종으로 철(Fe^{2+})과 과산화 지질(peroxidized lipid)의 축적에 의해 일어나며, 새로운 항암 방법으로 부각되고 있다. 일반 세포에서는 GPX4[glutathione(GSH) peroxidase]의 작용에 의해 과산화 지질이 제거되기 때문에 ferroptosis가 일어나지 않아, 세포는 정상적으로 성장할 수 있다. 이러한 GPX4의 활성을 위해서는 세포 내에 GSH의 성분인 Cys가 공급되어야 하는데, 그 역할은 system Xc⁻라고 하는 Cys/Glu 아미노산 수송체(antiport)가 한다 [Conrad et al. 2018]. System Xc⁻는 서로 다른 2개의 subunit인 SLC3A2와 SLC7A11로 구성되어 있는데, 여러 암 조직에서는 SLC7A11가 과발현되어 세포내 Cys의 농도가 비정상적으로 증가된다. 이러한 Cys의 비정상적인 축적은 GSH의 생성 또한 크게 증가시키고, 그 결과 활성화된 GPX4는 암세포 내의 과산화 지질을 완전히 제거한다. 따라서 ferroptosis에 의한 세포사멸이 억제되어 암세포의 지속적인 증식이 촉진된다.

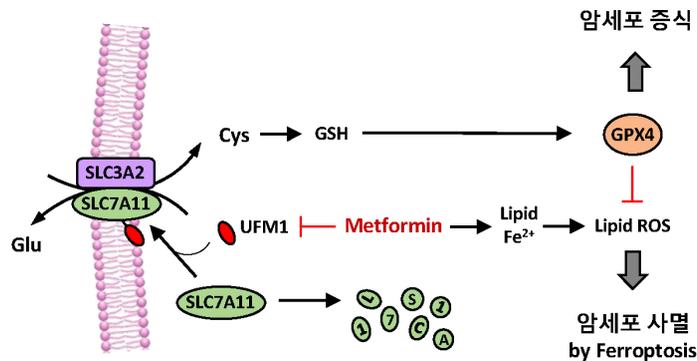


그림 5. Metformin에 의한 SLC7A11의 UFM1 변형 억제와 암세포의 ferroptosis 유도. Metformin은 UFM1의 발현을 감소시키고, 이는 SLC7A11의 UFM1에 의한 변형을 억제한다. 그 결과, 암세포 내의 Cys 및 GSH 농도가 감소하여 GPX에 의한 과산화 질소의 제거가 억제되어 ferroptosis가 유도된다.

Metformin은 분자량이 129에 불과한 작은 분자인데, 저렴하고 안전성 있는 당뇨병 치료제로 사용되고 있으며, 항암 역할도 하는 것으로 알려져 있다. 그 항암 기전의 하나는, metformin이 SLC7A11의 UFM1에 의한 변형을 방해함으로써 ferroptosis를 유도하여 유방암세포의 증식을 억제한다는 것이다 [Yang et al. 2021]. 이러한 결론에 대한 근거는 다음과 같다. 1) Metformin을 T47D 및

MCF7 등의 유방암세포에 처리하면 과산화 질소의 생성이 증가하여 ferroptosis가 유도된다. 2) Metformin의 처리는 UFM1의 발현을 감소하고 이는 SLC7A11의 분해를 유도한다. 3) UFM1을 과발현시키면 SLC7A11의 UFM1에 의한 변형(mono-ufmylation)이 촉진되고, metformin의 처리에 의한 과산화 질소의 생성이 억제된다. 4) SLC7A11이 UFM1에 의해 변형되면 안정화되어 세포내 GSH의 농도를 증가시켜 암세포의 ferroptosis를 억제한다. 이러한 결과들은 SLC7A11와 UFM1이 유방암 억제 인자로 작용함을 시사한다 (그림 5).

PLAC8

PLAC8(placenta-specific 8)은 임신 중 태반의 발달과정에 발현되며 착상과 더불어 그 발현이 증가하기 때문에 태반-특이 단백질 8이라고 한다 [Mao et al. 2021]. PLAC8은 비록 115개의 아미노산으로 구성된 작은 단백질이지만, 기관의 형성 및 발암 등에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. PLAC8은 다른 종류의 유방암에 비하여 TN⁻ 유방암(triple-negative breast cancer: TNBC)에서 많이 발현되며, 이 단백질의 발현을 억제할 경우에는 MDA-MB-231 및 HCC-1937과 같은 TNBC 세포의 증식이 억제된다 [Mao et al. 2022]. 흥미로운 것은, PLAC8이 UFM1에 의해 변형(mono-ufmylation)되면 유비퀴틴에 의한 변형을 막아 안정성이 증가된다는 것이다 (그림 6). 그러나 안정화된 PLAC8이 어떤 경로를 통하여 TNBC 세포의 증식을 촉진시키는지 불분명하고, 어떤 E3가 PLAC8에 유비퀴틴을 결합시키는지 모르는 상태이며, 특히 어느 시그널이 PLAC8을 유비퀴틴 대신 UFM1으로 변형시키는데 대해서도 아직 알려져 있지 않다.

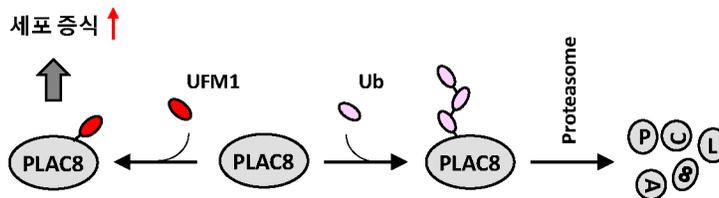


그림 6. PLAC8의 UFM1 변형에 의한 TNBC의 증식 촉진. 다른 유방암 세포들과는 다르게 TNBC에서는, PLAC8이 UFM1에 의해 변형되어 유비퀴틴에 의한 변형을 억제한다. 따라서 PLAC8은 분해되지 않고 안정화되어 TNBC의 증식을 지속적으로 촉진한다.

IV. 신장세포암 발생 조절

p53 단백질은 인간에서 암의 발생을 억제하는 중요한 역할을 하는 발암억제인자(tumor suppressor)이다 [Lane 1992; Levine 1997]. 발암의 가장 주된 원인은 내/외적 요인에 의한 유전자의 손상(DNA damage)인데, p53 단백질은 세포 내의 DNA에 손상이 생기면 먼저 세포 주기(cell cycle)를 억제하여 세포의 분열을 중지시킨다. 그리고 DNA의 손상이 가벼울 경우에는, 전사인자인 p53은 DNA 손상 회복(DNA repair)에 관여하는 유전자 발현을 유도하여 세포의 암화를 억제하고, DNA의 손상이 커서 회복이 불가능할 경우에는 세포사멸에 관여하는 유전자의 발현을 유도하여 손상된 세포를 제거함으로써 세포의 암화를 억제한다 [Lakin and Jackson, 1999; Meek, 2009; Sengupta and Harris, 2009].

세포 내 p53의 농도는 DNA 손상 여부에 따라 여러 단백질 변형(post-translational modification) 과정을 통해 정교하게 조절되는데, 그 가운데 가장 잘 알려진 것이 p53의 유비퀴틴에 의한 변형이다. 정상 상태에서 p53은 MDM2 등과 같은 E3에 의해 유비퀴틴으로 변형되어 proteasome에 의해 분해되어서 그 레벨이 낮게 유지된다 [Wu et al. 1993; Vousden and Lu 2002; Brooks and Gu 2006]. 반면에 DNA 손상이 있을 경우에는 p53이 안정화되고 발현이 촉진되어 그 레벨이 높게 유지되는데, 그 메커니즘 중의 하나가 최근에 알려진 UFM1에 의한 p53 단백질의 변형이다 [Liu et al. 2020]. 세포 DNA에 손상이 생기면 UFL1 및 UFBP1의 발현이 증가하고, 이들이 MDM2와 경쟁적으로 그리고 더 효과적으로 p53 단백질에 결합한다 (그림 7A). 따라서 p53은 유비퀴틴 대신 UFM1으로 변형(mono-ufmylation)되어 안정화되고 손상된 DNA를 회복시키거나 손상된 세포를 죽여 없앴으로써 발암을 억제한다.

신장세포암(renal cell carcinoma: RCC)은 신장암(kidney cancer) 중 가장 흔한 암으로, 초기에 증상이 잘 나타나지 않아 많은 경우 이미 악화된 상태로 진단된다 [Motzer et al. 1996; Cohen and McGovern 2005]. 신장세포암이 아직 전이가 되지 않은 경우의 5년-생존율은 65-90%로 비교적 높으나, 전이가 된 경우는 그보다 훨씬 낮다. 최근 보고에 의하면, 신장세포암 환자들의 조직은 주위의 정상 조직보다 UFL1과 UFBP1의 발현이 현저히 낮고, 이들의 발현이 낮은 환자들은 발현이 높은 환자들에 비해 5년-생존율이 유의미하게 낮은 것으로 나타났다

유비퀴틴-유사체 UFM1에 의한 암 발생 조절

[Liu et al. 2020]. UFL1과 UFBP1의 발현이 낮은 경우에는, p53 단백질이 UFM1 대신 유비퀴틴으로 변형되어 분해됨으로써 손상된 DNA가 회복되지 못하고 또한 DNA 손상을 가진 세포가 제거되지 못하고 암화되어, 결국 신장세포암의 발생이 촉진된다 (그림 7B).

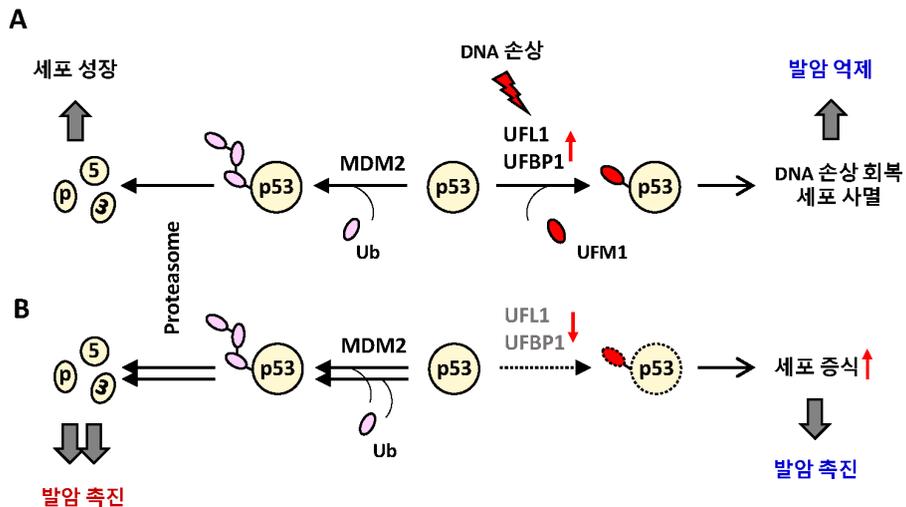


그림 7. p53의 UFM1 변형에 의한 발암 조절. A. 정상 상태의 세포에서 p53은 MDM2에 의해 유비퀴틴-사슬로 변형되어 분해됨으로써 세포가 성장할 수 있다. 그러나 DNA에 손상이 오면, UFL1과 UFBP1의 발현이 증가하여 p53이 유비퀴틴 대신 UFM1으로 변형된다. 그 결과, p53은 안정화되고 축적되어 손상된 DNA를 회복시키는 유전자들의 발현을 유도함으로써 발암을 억제할 수 있다. B. 세포 내의 UFL1 및 UFBP1의 발현이 감소된 경우에는, p53이 UFM1 대신 유비퀴틴으로 변형되어 빠르게 분해되어 DNA 손상을 회복할 수가 없어서 발암이 촉진된다. 이러한 예가 신장세포암이다.

V. 위암 발생 조절

Nrf2

Nrf2(nuclear factor erythroid-2-related factor 2)는 세포 내의 항산화반응을 조절하는 전사인자이다 [Sporn and Liby, 2012]. 정상 상태에서 Nrf2는 Keap1/Cullin-3/RBX1, SCF β -TrCP 또는 HTD1과 같은 유비퀴틴 결합효소(E3)에 의해 유비퀴틴으로 변형되고 proteasome에 의해 분해되어서 세포 내에 그 레벨이 낮게 유지된다 [Rojo de la Vega et al. 2018] (그림 8A). 그러나 산화적

스트레스(oxidative stress)가 오면, Nrf2는 유비퀴틴 결합효소로부터 분리되어 안정화되고 핵으로 이동하여 AKR1C(aldo-keto reductase 1C)와 같은 항산화 작용을 하는 유전자의 발현을 촉진한다 [Penning 2017]. 따라서 세포 내의 활성 산소(reactive oxygen species: ROS)들의 양이 감소하여 세포의 암화는 억제된다.

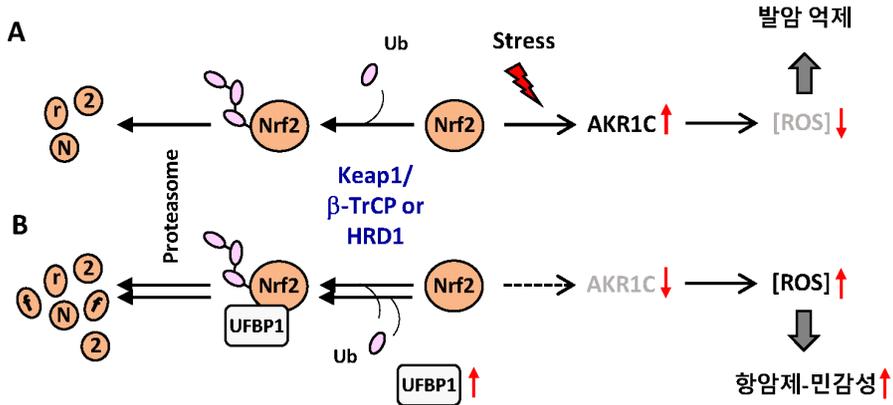


그림 8. UFBP1에 의한 Nrf2의 유비퀴틴 변형 촉진과 항암제 민감성 조절. A. 정상 상태의 세포에서 Nrf2는 Keap1, β-TrCP, HRD1 등과 같은 E3들에 의해 유비퀴틴-사슬로 변형되어 분해됨으로써 그 레벨이 낮게 유지된다. 그러나 산화적 스트레스가 오면, Nrf2는 핵으로 이동하여 분해되지 않고 전사인자로 작용하여 AKR1C 등과 같은 항산화작용을 하는 유전자들의 발현을 촉진함으로써 세포 내에 발생한 활성산소(ROS)들을 제거한다. 따라서 발암이 억제된다. B. 위암의 반 정도의 환자들은 나머지 환자와 비교해 UFBP1의 발현이 높게 나타나는데, 이 경우 UFBP1은 Nrf2의 유비퀴틴에 의한 변형을 촉진하여 분해를 유도한다. 따라서 AKR1C의 발현은 억제되고 활성산화산소들의 농도가 높아져 항암제에 대한 민감도를 증가시키게 된다.

위암(gastric cancer)은 미국이나 유럽에 비하여 아시아 국가에서 많이 발생하는데, 특히 한국은 위암 발생률이 1위이며 사망률은 폐암 다음으로 높다 [Sung et al. 2021]. 세계적으로는 매년 백만명 이상의 새로운 위암 환자가 발생하고 있으며, 약 8십만명 정도가 위암으로 사망을 한다 [Bray et al. 2018]. 위암 치료를 위해서는 cisplatin과 같은 항암제를 많이 사용하는데, 재발과 전이가 잘 일어나 항암치료 후에도 5년-생존율이 30%가 채 되지 못한다 [Ivanova et al. 2013; Van Cursem et al. 2016]. 근래의 보고에 의하면, 위암 환자의 절반 정도에서는 UFBP1의 발현이 높게 나타나고 나머지 반에서는 반대로 낮게 나타나는데, 높은 UFBP1 발현을 보이는 환자들의 재발 전-생존 기간(progression-free survival)이 낮은 환자에 비해 유의미하게 증가된다는 것이다 [Hu et al. 2021]. 그 메커니즘으로, UFBP1이 Nrf2에 결합하여 Nrf2의 유비퀴틴에 의한

변형을 촉진하고 proteasome에 의한 분해를 유도함으로써, 결과적으로 AKR1C을 발현시키지 못해 활성산소의 레벨이 증가하여 cisplatin과 같은 항암제에 대한 민감성을 증가시키어 암세포의 사멸을 촉진한다는 것이다 (그림 8B). 그러나 UFBP1과 Nrf2의 단순한 결합이 Nrf2의 유비퀴틴에 의한 변형을 어떻게 촉진하는지 또는 UFBP1이 Nrf2의 UFM1 변형을 유도함으로써 그 결과 유비퀴틴에 의한 변형이 증가하는지에 대해서는 전혀 알려져 있지 않다.

PDK1

PDK1(3-phosphoinositide-dependent protein kinase)는 phosphatidylinositol 들을 비롯한 여러 신호전달물질에 의해 활성화되는 주요 단백질 인산화 효소이다 [Dieterle et al. 2014]. 특히 AKT를 인산화하여 활성화시킬 경우에는, 활성화된 AKT가 GSK3 β 를 인산화시키고 그 결과 세포의 이동 및 침투를 촉진시켜서 세포의 암전이를 유도한다 (그림 9). 근래에 들어 UFM1이 위암의 전이를 억제한다는 보고가 있었다 [Lin et al. 2019]. UFM1이 PDK1에 유비퀴틴의 결합을 촉진하여 proteasome에 의한 분해를 유도함으로써 AKT의 인산화를 막고 결과적으로 전이를 억제한다는 것이다. 또한 환자로부터 얻은 위암 조직은 주위의 정상 조직에 비해 UFM1의 발현이 현저히 낮고, 환자들의 5년-생존율 또한 UFM1의 발현이 낮은 경우가 발현이 높은 환자보다 유의미하게 낮게 나타났다.

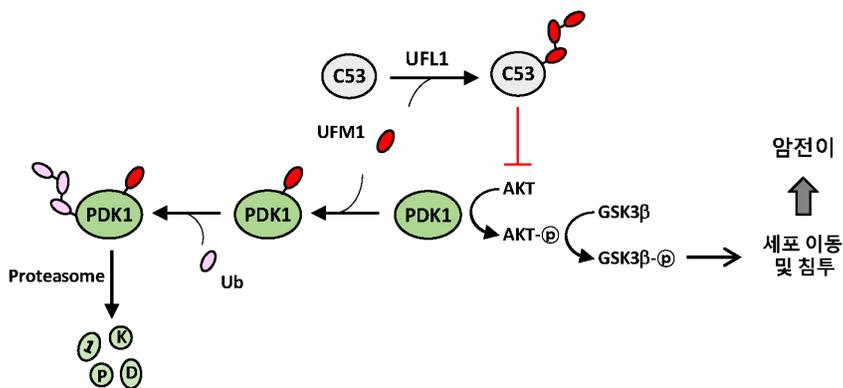


그림 9. UFM1에 의한 PDK1의 유비퀴틴 변형 촉진과 위암 전이 조절. PDK1이 활성화되면 AKT를 인산화하고 이는 다시 GSK3 β 를 인산화시킴으로써 세포의 이동과 침투를 촉진하여 암전이를 유도한다. 그러나 UFM1이 정상적으로 발현되면, PDK1에 결합하여 유비퀴틴에 의한 변형을 촉진함으로써 PDK1의 분해를 유도한다. 뿐만 아니라 C53은 UFM1-사슬로 변형되어 AKT의 인산화를 저해함으로써 세포의 이동과 침투를 억제한다.

따라서 UFM1이 암전이를 억제하는 발암억제인자로 작용할 것으로 제안된 바 있다. 그러나 PDK1이 UFM1에 의해 변형이 되는지 또는 서로가 단순히 결합(비공유)을 하는지가 불분명하고, PDK1을 유비퀴틴으로 변형시키는 E3도 밝혀져 있지 않다.

C53

C53은 CDK5-활성인자에 결합하는 단백질로 LZAP 또는 CDK5RAP3라고도 알려져 있다 [Ching et al. 2000]. C53은 AKT에 결합하여 인산화를 저해함으로써 GSK3 β 의 인산화를 억제하여 위암의 진행을 막는 역할을 하는 것으로 알려져 있다 [Zheng et al. 2018]. 이 과정에서 C53은 UFL1의 작용에 의해 UFM1-사슬로 변형(poly-ufmylation)되며, 이 변형은 AKT의 인산화 억제를 유도한다 [Yang et al. 2019; Yoo and Chung, unpublished]. 그런데 위암 환자의 경우 C53과 UFM1의 발현이 낮게 나타나며, 이들의 발현이 낮을수록 환자의 수명이 단축된다고 알려져 있다 [Lin et al. 2022]. 이러한 결과는 C53의 UFM1에 의한 변형이 위암의 전이를 억제하는 중요한 역할을 함을 시사한다 (그림 9).

VI. 피부암 (악성 흑색종) 발생 조절

PD-L1(programmed cell death protein ligand-1)는 피부암세포(melanocytes)를 비롯한 여러 암세포에서 발현되어 면역 세포인 CD8⁺T cell의 PD-1(programmed cell death protein-1)에 결합한다. 이러한 PD-L1/PD-1 결합은 CD8⁺T cell의 분열과 활성화를 억제, 즉 암세포에 대한 면역세포의 감시 능력(immune surveillance)을 억제하여 암세포가 살아서 계속 증식하게 한다 [Sharma and Allison 2015]. 따라서 PD-1에 대한 항체(예, Nivolumab)나 PD-L1에 대한 항체(예, Aterolizumab)를 제조하여 투여하면 그들이 서로 결합을 할 수 없게 되어 면역 세포가 암세포를 죽일 수 있게 된다 (그림 10). 이러한 항체를 이용한 암 치료법을 면역항암법(cancer immunotherapy)이라고 하며, 피부암(melanoma)을 비롯하여 폐암(non-small cell lung carcinoma), 두경부암(head-and-neck cancer), 직장암(colorectal carcinoma), 림프종(lymphoma)

등 여러 암의 치료에 사용되고 있다 [Brahmer et al. 2012].

상기한 여러 암세포에서는 PD-L1이 비정상적으로 과발현되는 반면 UFL1의 발현은 현저히 감소되는 경우가 많은데, 이러한 PD-L1과 UFL1의 상반된 발현이 피부 암세포의 증식을 조절한다는 사실이 최근에 보고된 바 있으며, 그 내용은 아래와 같다 [Zhou et al. 2023]. UFL1이 정상적으로 발현되면 PD-L1을 UFM1(하나 이상의 mono-ufmylation)으로 변형시키는데, 이러한 변형은 곧바로 유비퀴틴에 의한 변형을 유도하여, 결과적으로 PD-L1이 proteasome에 의해 분해되게 한다. 따라서 PD-L1이 줄어든 암세포는 PD-1과 결합할 수 없어 면역 세포에 의해 제거된다. 이와는 반대로 UFL1의 발현이 현저히 감소하게 되면 PD-L1은 UFM1에 의해 변형되지 않아 안정화되고 면역 세포의 PD-1과 결합을 할 수 있어서 암세포는 살아남아 증식을 계속하게 된다 (그림 10). 암세포의 PD-L1의 안정화는 결합된 UFM1을 제거시키는 UFSP2에 작용에 의해서도 일어날 수 있다 [Zhou et al. 2023]. 따라서 UFSP2의 활성을 억제하는 물질은 항암 효과를 보일 것이며, 그 예는 아래에 기술하였다.

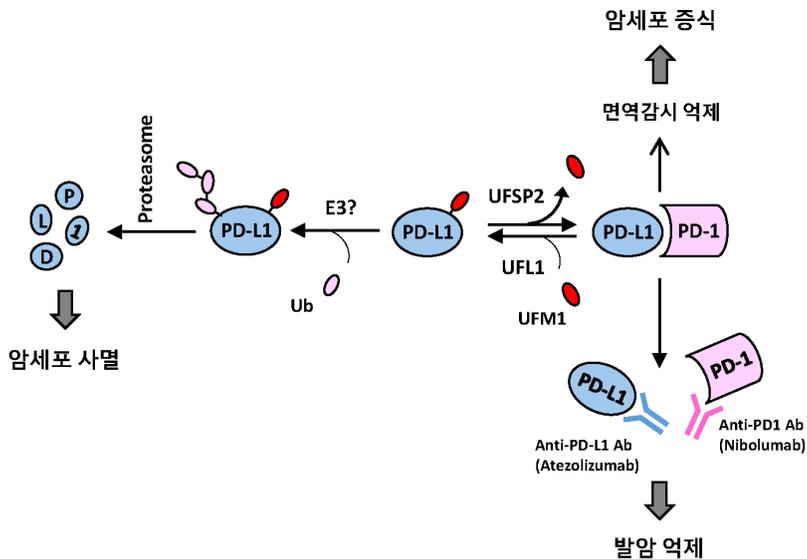


그림 10. PD-L1의 UFM1 변형에 의한 피부암세포 사멸 조절. UFL1이 정상적으로 발현되면 PD-L1은 UFM1으로 변형되고 이는 유비퀴틴에 의한 변형을 유도하여, 결과적으로 PD-L1이 proteasome에 의해 분해된다. 그러나 피부암 등 여러 암세포에는 UFL1의 발현이 감소되어 PD-L1은 UFM1에 의해 변형되지 않아 안정화되어 PD-1과 결합을 할 수 있어서 면역감시에서 벗어나 계속 증식을 할 수 있게 된다. 따라서 PD-L1이나 PD-1에 대한 항체의 투여는 PD-L1과 PD-1의 결합을 저해하여 발암을 억제할 수 있다.

VII. 간암 발생 조절

간세포암(hepatocellular carcinoma: HCC)는 간암 전체의 90% 이상을 차지하며, 발생률은 전체 암 가운데 6위이고 치사율은 3위로 매년 8십만명의 간암 환자를 사망케 한다 [Craig et al. 2020]. HCC는 많은 경우 PI3K/AKT/mTOR 신호전달계의 비정상적인 활성화에 의해 일어나서, 이 신호전달계를 저해하는 small molecule들이 항암제로 개발되고 있다.

근래에 들어 lncRNA의 하나인 B3GALT5-AS1가 UFM1의 발현을 조절하여 HCC의 억제 인자로 작용함이 밝혀졌다 [Chen et al. 2021]. HCC 환자의 간조직에는 B3GALT5-AS1의 발현이 현저히 저하되어 있는데, 그 발현이 낮을수록 환자의 수명이 짧아지며 종양의 크기도 커지는 것으로 나타났다. 반면에 HCCLM3 및 Huh7과 같은 HCC 세포에 B3GALT5-AS1를 과발현시키면 PI3K 및 AKT의 인산화가 감소하며 세포의 증식, 이동 및 침투가 억제된다. 이러한 결과는 B3GALT5-AS1가 UFM1의 3'-UTR에 결합하여 UFM1의 발현을 억제하는 miR-934의 작용을 저해함으로써 나타나는 것으로 밝혀졌다 (그림 11). 즉, B3GALT5-AS1과 UFM1이 HCC의 억제인자로 역할을 한다는 것이다. 그러나 UFM1의 타겟 단백질이 무엇인지 (예, RTK인지?) 그리고 그 단백질이 어떻게 PI3K/AKT 신호전달과정을 활성화하는지에 대해서는 전혀 알려져 있지 않아 앞으로 많은 연구가 필요하다.

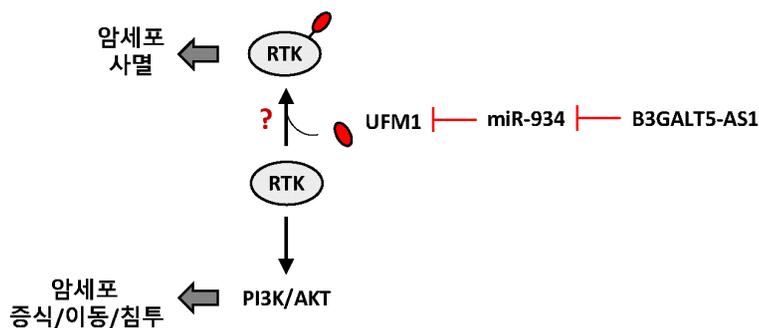


그림 11. B3GALT5-AS1에 의한 UFM1의 발현과 간암세포 사멸 조절. B3GALT5-AS1는 miR-934의 작용을 저해함으로써 UFM1의 발현을 촉진하여 아직 명확히 알려지지 않은 경로(RTK의 UFM1에 의한 변형?)를 통하여 암세포의 사멸을 유도한다. 그러나 HCC 환자의 간조직에는 B3GALT5-AS1의 발현이 현저히 저하되어 UFM1의 발현을 감소시킴으로써 RTK에 의해 PI3K/AKT 신호전달체계가 활성화되어 암세포의 증식 및 전이가 촉진된다.

최근에 Chen 등[2023]은 간세포의 Ufl1 또는 Ufbp1가 knockout된 생쥐를 제조하여 관찰한 바, 생후 2개월에는 간의 지방 축적(steatosis)이 일어나며, 6-8개월에는 간의 섬유증(fibrosis)과 염증(steatohepatitis)이 나타나고, 14개월이 된 즈음에는 자발적으로 HCC가 일어남을 보고한 바 있다. 이러한 결과는 Ufl1/Ufbp1 복합체가 mTOR/G β L 복합체에 결합하여 mTOR의 활성을 억제함으로써 나타난다는 것이다. 그러나 mTOR/G β L 복합체가 과연 UFM1에 의해 변형되는지, 만약 된다면 어떻게 UFM1의 변형이 mTOR의 활성을 억제하는가에 대해서는 앞으로 연구되어야 할 것이다.

VIII. DNA 손상 회복 조절

DNA 손상을 일으키는 내/외적 인자들은 게놈의 안정성을 떨어트려서 결국에는 발암의 원인이 된다. DNA 손상 가운데에서도 쌍가닥 DNA의 절단(double strand DNA break: DSB)은 가장 독성이 커서 빠르고 정교히 회복되어야 하는데, 이 과정은 ATM(ataxia-telangiectasia mutated)이라는 단백질 인산화 효소를 통하여 이루어진다. 세포 내에 DSB가 일어나면 Mre11-Rad50-Nbs1(MRN 복합체) 또는 Tip60라는 아세틸-전달효소(acetyl transferase)가 ATM의 인산화를 유도하여 활성화시키고, 활성화된 ATM은 DNA 손상 회복에 관여하는 단백질들을 인산화하여 활성화시킴으로써, 상동-재조합(homologous recombination: HR) 또는 비상동-말단연결(non-homologous end joining)이라는 과정을 통한 DSB의 회복을 유도한다 [Jackson and Bartek 2009; Ciccia and Elledge 2010].

최근에 ATM의 활성화 과정에 UFM1이 중요한 작용을 함이 밝혀진 바 있다 [Fang and Pan 2019; Da Costa and Schmidt 2020]. 그 하나는, DSB가 일어나면 UFL1이 Mre11을 UFM1로 변형(mono-ufmylation)시키어 MRN 복합체의 형성을 촉진하고, 이 복합체를 손상된 DNA 부위로 이끌어 들임으로써 ATM을 활성화한다는 것이다 [Wang et al. 2019] (그림 12). 다른 하나는, UFL1이 히스톤 복합체(histone complex)를 구성하는 단백질의 하나인 H4를 UFM1으로 변형(mono-ufmylation)시키어, SUV39H1(histone methyl-transferase)와 Tip60

(acetyl-transferase)를 순차적으로 끌어 들임으로써 ATM을 활성화한다는 것이다 [Qin et al. 2019]. 이와 같이 활성화된 ATM은 많은 타겟 단백질들을 인산화시키어, HR 또는 NHEJ 과정을 통해 손상된 DNA를 회복시킴으로써 DSB에 의한 세포의 암화를 억제한다. 따라서 UFM1과 UFL1은 DSB에 의해 일어날 수 있는 발암에 대한 억제인자로 작용함을 시사한다.

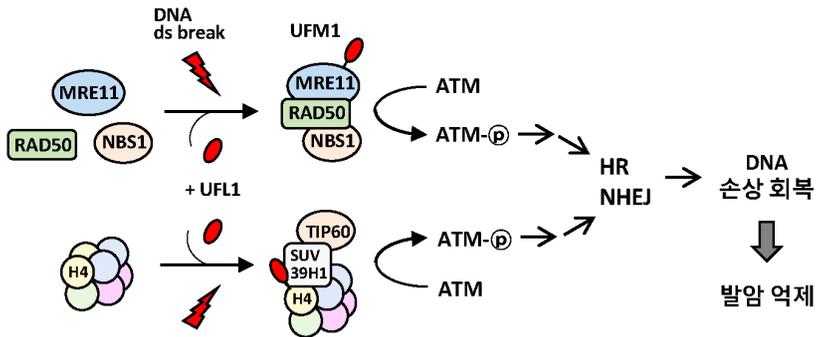


그림 12. MRE11 및 H4의 UFM1 변형에 의한 DNA 손상 회복 조절. 내/외적 요인에 의해 DNA가 절단되면 MRE11과 H4가 UFM1에 의해 변형되는데, 그 결과 MRE11의 경우에는 RAD50 및 NBS1를 끌어들이어 MRB 복합체를 형성하고 H4는 SUV39H1과 TIP60를 절단된 DNA에 끌어들이어, 각각 ATM의 인산화를 촉진하고, 이는 DNA 손상 회복을 유도함으로써 발암을 억제한다.

IX. 항암제 개발

타겟 단백질의 UFM1에 의한 변형이 발암을 촉진하는 경우, 그 변형을 막는 것은 발암을 억제하는 효과를 나타낼 것이다. 그 예로, ASC1 또는 에스트로젠-수용체가 UFM1에 의해 변형되는 것을 억제하는 물질은 곧 유방암의 치료제가 될 수 있을 것이다. 따라서 타겟 단백질의 UFM1에 의한 변형을 촉매하는 첫 번째 E1 효소인 UBA5에 대한 억제제가 개발되기 시작하였다. 그 하나는 UBA5의 3차구조를 토대로 합성된 adenosine zinc(II)cyclen 변형체이다 [da Silva et al. 2016] (그림 13A). 이 물질은 UBA5의 기질 중의 하나인 ATP에 대해 비경쟁적 억제제(noncompetitive inhibitor)로 작용함으로써 타겟 단백질의 UFM1에 의한 변형을 저해하는데, A549 및 MRC9과 같은 폐암 세포의 증식을 억제하는 효과를 보인다. 또 다른 하나는 UBA5의 활성화 부위에 존재하는 cysteine의 thiol

유비퀴틴-유사체 UFM1에 의한 암 발생 조절

그룹에 공유결합을 하여 UFM1 활성화 작용을 억제하는 DMK 2-93이라는 물질이다 [Roberts et al. 2017] (그림 13B). 이 물질은 PaCa2 또는 Panc1과 같은 췌장암 세포의 증식을 억제하는 효과를 보인다. 최근에 UBA5의 억제 물질로 찾아진 usenamime A는 지의류 중의 하나인 *Usena longissimi*에서 추출된 천연 물질이다 [Fang et al. 2021] (그림 13C). 이 물질은 세포사멸 및 자가포식 (autophagy)을 유도하여 유방암세포를 죽이는 효과를 보인다. 따라서 상기한 물질들은 항암제의 후보로 개발될 여지가 크고, 유방암 치료에도 효과를 보일 것으로 기대된다.

상술한 바와는 반대로, 타겟 단백질의 UFM1에 의한 변형이 발암을 억제하는 경우에는 그 변형을 촉진 또는 유지시키는 물질이 발암을 억제하는 효과를 나타낼 것이다. 그 예로, UFSP2 활성 억제제는 결합된 UFM1이 PD-L1로부터 떨어져 나가지 못하게 막음으로써 피부암 등의 진행을 억제할 수 있을 것이다. 이러한 배경에서 Zhou 등[2023]은 UFSP2의 3차원 구조를 바탕으로 이 효소의 활성화 부위에서 촉매 역할을 하는 Cys에 결합하는 작은 화합물들을 virtual screening을 통하여 chemical library로부터 색출하여 compound-8이라 명명하였다 (그림 13D). 이 compound-8은 UFSP2의 활성을 효과적으로 억제할 뿐만 아니라, xenograft 분석을 통하여 유방암세포(MDA-MB-231 cells) 및 직장암세포(MC38 cells)에 의한 종양 생성을 억제하는 효과를 보인다 [Zhou et al. 2023]. 따라서 compound-8은 항암제의 후보로 개발될 여지가 크고, 상기한 암 외에도 피부암을 비롯하여 여러 종류의 암의 치료에 효과를 보일 것으로 기대된다.

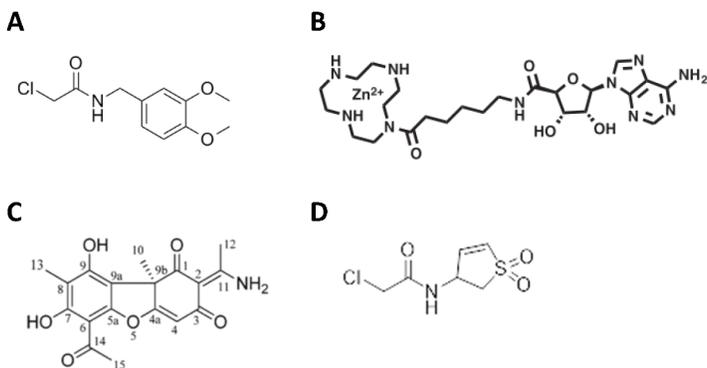


그림 13. UBA5와 UFSP2를 타겟으로 개발된 항암제 후보물질. A. Adenosine zinc(II)cyclen 변형체. B. DMK 2-93. C. Usenamime A. D. Compound-8.

참고문헌

- Abe, O., Abe, R., Enomoto, K., Kikuchi, K., Koyama, H., Masuda, H., Nomura, Y., Sakai, K., Sugimachi, K., Tominaga, T. et al. 2005. Effects of chemotherapy and hormonal therapy for early breast cancer on recurrence and 15-year survival: an overview of the randomized trials. *Lancet* 365: 1687-1717
- Banerjee, S., Kumar, M. and Wiener, R. 2020. Decrypting UFMylation: How proteins are modified with UFM1. *Biomolecules* 10: 1442
- Brahmer, J.R., Tykodi, S.S., Chow, L., Hwu, W., Topalian, S.L., Hwu, P., Drake, C.G., Camacho, L.S., Kauh, J., Odunsi, K., Pitot, H.C., Hamid, O., Bhatia, S., Martins, R., Eaton, K., Chen, S., Salay, T.M., Aaraparthi, S., Grosso, J.F., Korman, A.J., Parker, S.M., Agrawal, S., Goldberg, S.M., Pardoll, D.M., Gupta, A. and Wigginton, J.M. 2012. Safety and activity of anti-PD-L1 antibody in patients with advanced cancer. *New Engl. J. Med.* 366: 2455-2465.
- Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA and Jemal A. 2018. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J. Clin.* 68: 394-424.
- Brooks, C.L. and Gu, W. 2006. p53 Ubiquitination: Mdm2 and beyond. *Mol. Cell* 21: 307-315.
- Chen, F., Sheng, L., Zhou, T., Yan, L., Loveless, R., Li, H., Teng, Y. and Cai, Y. 2023. Loss of Uf1/Ufbp1 in hepatocytes promotes liver pathological damage and carcinogenesis through activating mTOR signaling. *J. Exp. Clin. Cancer Res.* 42: 110.
- Chen, E., Zhou, B., Bian, S., Ni, W. and Chen, Z. 2021. The lncRNA B3GALT5-AS1 function as an HCC suppressor by regulating the miR-934/UFM1 axis. *J. Oncol.* 2021: 1776432.
- Ching, Y.P., Qi, Z and Wang, J.H. 2000. Cloning of three novel neuronal Cdk5 activator binding proteins. *Gene.* 242: 285-294.
- Chung, C.H. and Yoo, H.M. 2022. Emerging role of protein modification by UFM1 in cancer. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 633: 61-63.

- Ciccia, A. and Elledge, S.J. 2010. The DNA damage response: making it safe to play with knives. *Mol. Cell.* 40, 179-204.
- Cohen, H.T. and McGovern F.J. 2005. Renal-cell carcinoma. *N. Engl. J. Med.* 353: 2477-90.
- Conrad, M., Kagan, V.E., Bayir, H., Pagnussat, G.C., Head, B., Traber, M.G. and Stockwell, B.R. 2018. Regulation of lipid peroxidation and ferroptosis in diverse species. *Genes Dev.* 32: 602-619.
- Craig, A.J., Von Felden, J., Garcia-Lezana, T., Sarcognato, S. and Villanueva, A. 2020. Tumour evolution in hepatocellular carcinoma, *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 17: 139-152.
- Da Costa, I.C. and Schimdt, C.K. 2020. Ubiquitin-like proteins in DNA damage response: the next generation. *Essays Biochem.* 64: 737-752.
- Da Silva, S.R., Paiva, S.L., Bancercz, M., Geletu, M., Lewis, A.M., Chen, J., Cai, Y., Lukkarila, J.L., Li, H. and Gunning, P.T. 2016. A selective inhibitor of the UFM1-activating enzyme, UBA5. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 26: 4542-4547.
- Daniel, J. and Liebau, E. 2014. The ufm1 cascade. *Cells* 3: 627-638.
- Dieterle, A.M., Böhler, P., Keppeler, H., Alers, S., Berleth, N., Drießen, S., Hieke, N., Pietkiewicz, S., Löffler, A.S., Peter, C., Gray, A., Leslie, N.R., Shinohara, H., Kurosaki, T., Engelke, M., Wienands, J., Bonin, M., Wesselborg, S. and Stork, S. 2014. PDK1 controls upstream PI3K expression and PIP3 generation. *Oncogene* 33: 3043-3053.
- Fang, B., Li, Z., Qiu, Y., Cho, N. and Yoo, H.M. 2021. Inhibition of UBA5 expression and induction of autophagy in breast cancer cells by usenamine A. *Biomol.* 11: 1348.
- Fang, Z. and Pan, Z. 2019. Essential role of ubiquitin-fold modifier 1 conjugation in DNA damage response. *DNA Cell Biol.* 38: 1030-1039.
- Flotho, A. and Melchior, F. 2013. Sumoylation: a regulatory protein modification in health and disease. *Annu. Rev. Biochem.* 82: 357-385.
- Jeon, Y.J., Yoo, H.M. and Chung, C.H. 2010. ISG15 and immune diseases. *Biochim. Biophys. Acta* 1802: 485-496.
- Ha, B.H., Jeon, Y.J., Shin, S.C., Tatsumi, K., Komatsu, M., Tanaka, K., Watson, C.M., Wallis, G., Chung, C.H. and Kim, E.E. 2011. Structure

- of ubiquitin-fold modifier 1-specific protease UfSP2. 286: 10248-10257.
- Hassig, A. and Schreiber, S.L. 1997. Nuclear histone acetylases and deacetylases regulation: HATS off to HDACs. *Curr. Opin. Chem. Biol.* 1: 300-308.
- Hoeller, D., Hecker, C-M. and Dikic, I. 2006. Ubiquitin and ubiquitin-like proteins in cancer pathogenesis. *Nat Rev Cancer* 6: 776-788.
- Hu, Z., Wang, X., Li, D., Cao, L., Cui, H. and Xu, G. 2021. UFBP1, a key component in ufmylation, enhances drug sensitivity by promoting proteasomal degradation of oxidative stress-response transcription factor Nrf2. *Oncogene* 40: 647-662.
- Ikeda, F. and Dikic, I. 2008. Atypical ubiquitin chains: new molecular signals. *EMBO Rep.* 9: 536-542.
- Ivanova, T., Zouridis, H., Wu, Y., Cheng, L.L., Tan, I.B., Gopalakrishnan, V., Ooi, C.H., Lee, J., Qin, L., Wu, J., Lee, M., Rha, S.Y., Huang, D., Liem, N., Yeoh, K.G., Yong, W.P., Teh, B.T. and Tan, P. 2013. Integrated epigenomics identifies BMP4 as a modulator of cisplatin sensitivity in gastric cancer. *Gut* 62: 22-33.
- Jackson, S.P. and Bartek, J. 2009. The DNA-damage response in human biology and disease. *Nature* 461, 1071-1078.
- Jung, D., Sung, H., Goo, Y., Lee, H.M., Park, O.K., Jung, S., Lim, J., Kim, H., Lee, S., Kim, T.S., Lee, J.W. and Lee, Y.C. 2002. Novel transcription coactivator complex containing activating signal cointegrator 1. *Mol. Cell. Biol.* 22: 5203-5211.
- Kang, S.H., Kim, G.R., Seong, M., Baek, S.H., Seol, J.H., Bang, O.S., Ovaa, H., Tatsumi, K., Komatsu, M., Tanaka, K. and Chung, C.H. 2007. Two novel ubiquitin-fold modifier 1 (Ufm1)-specific proteases, UfSP1 and UfSP2. *J. Biol. Chem.* 282: 5256-5262.
- Kerscher, O., Felberbaum, R. and Hochstrasser, M. 2006. Modification of proteins by ubiquitin and ubiquitin-like proteins. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 22: 159-180.
- Kim, H.J., Yi, J.Y., Sung, H.S., Moore, D.D., Jhun, B.H., Lee, Y.C. and Lee, J.W. 1999. Activating signal cointegrator 1, a novel transcription

- coactivator of nuclear receptors, and its cytosolic localization under conditions of serum deprivation. *Mol. Cell. Biol.* 19: 6323-6332.
- Klinge, C.M. 2001. Estrogen receptor interaction with estrogen response elements. *Nucleic Acids Res.* 29: 2905-2919.
- Komatsu, M., Chiba, T., Tatsumi, K., Iemura, S., Tanida, I., Okazaki, N., Ueno, T., Kominami, E., Natsume, T. and Tanaka, K. 2004. A novel protein-conjugating system for Ufm1, a ubiquitin-fold modifier. *EMBO* 23: 1977-1986.
- Lakin, N.D. and Jackson, S.P. 1999. Regulation of p53 in response to DNA damage. *Oncogene* 18, 7644-7655.
- Lane., D.P. 1992. p53, guardian of the genome. *Nature* 358, 15-16.
- Lemaire, K., Moura, R.F., Granvik, M., Igoillo-Esteve, M., Hohmeier, H.E., Hendrickx, N., Newgard, C.B., Waelkens, E., Cnop, M. and Schuit, F. 2011. Ubiquitin fold modifier 1 (UFM1) and its target UFBP1 protect pancreatic beta cells from ER stress-induced apoptosis. *PLoS One* 6: e18517.
- Levine, A.J. 1997. p53, the cellular gatekeeper for growth and division. *Cell* 88: 323-331.
- Liang, Q., Jin, Y., Xu, S., Zhou, J., Mao, J., Ma, X., Wang, M. and Cong, Y.S. 2022. Human UFSP1 translated from an upstream near-cognate initiation codon functions as an active UFM1-specific protease. *J. Biol. Chem.* 298: 102016.
- Lin, M., Lian, N., Cao, L., Huang, C., Zheng, C., Li, P., Xie, J., Wang, J., Lu, J., Chen, Q., Li, Y., Peng, Z., Zhang, X., Mei, Y. and Lin, J. 2022. Down-regulated expression of CDK5RAP3 and UFM1 suggests a poor prognosis in gastric cancer patients. *Front. Oncol.* 12: 927751.
- Lin, J., Xie, X., Weng, X., Qiu, S., Yoon, C., Lian, N., Xie, J., Wang, J., Lu, J., Chen, Q., Cao, L., Lin, M., Tu, R., Yang, Y., Huang, C., Zheng, C. and Li, P. 2019. UFM1 suppresses invasive activities of gastric cancer cells by attenuating the expression of PDK1 through PI3K/AKT signaling. *J. Exp. Clin. Cancer Res.* 38: 410.
- Liu, J., Guan, D., Dong, M., Yang, J., Wei, H., Liang, Q., Song, L., Xu, L., Bai, J., Liu, C., Mao, J., Zhang, Q., Zhou, J., Wu, X., Wang, M. and

- Cong, Y.S. 2020. UFMylation maintains tumour suppressor p53 stability by antagonizing its ubiquitination. *Nat Cell Biol.* 22: 1056-1063.
- Mackereth, C.D., Madl, T., Bonnal, S., Simon, B., Zanier, K., Gasch, A., Rybin, V., Valcárcel, J. and Sattler, M. 2011. Multi-domain conformational selection underlies pre-mRNA splicing regulation by U2AF *Nature* 475: 408-411.
- Mao, M., Cheng, Y., Yang, J., Chen, Y., Xu, L., Zhang, X., Li, Z., Chen, C., Ju, S., Zhou, J. and Wang, L. 2021. Multifaced roles of PLAC8 in cancer. *Biomark Res.* 9: 73.
- Mao, M., Chen, Y., Yang, J., Cheng, Y., Xu, L., Ji, F., Zhou, J., Zhang, X., Li, Z., Chen, C., Ju, S., Zhang, J. and Wang, L. Modification of PLAC8 by UFM1 affects tumorous proliferation and immune response by impacting PD-L1 levels in triple-negative breast cancer. *J. Immunother. Cancer* 10: e005668.
- Meek, D.W. 2009. Tumor suppression by p53: a role for the DNA damage response? *Nat. Rev. Cancer* 9: 714-723.
- Millar, A.H., Heazlewood, J.L., Giglione, C., Holdsworth, M.J., Bachmair, A. and Schulze, W.X. 2019. The Scope, Functions, and Dynamics of Posttranslational Protein Modifications *Annu. Rev. Plant Biol.* 70: 119-151.
- Millrine, D., Cummings, T., Matthews, S.P., Peter, J.J., Magnussen, H.M., Lange, S.M., Macartney, T., Lamoliatte, F., Knebel, A. and Kulathu, Y. 2022. Human UFSP1 is an active protease that regulates UFM1 maturation and UFMylation. *Cell Rep.* 40: 111168.
- Motzer, R.T., Bander, N.H. and Nanus, D.M. 1996. Renal-cell carcinoma. *N. Engl. J. Med.* 335: 865-875.
- Nilsson, S., Makela, S., Treuter, E., Tujague, M., Thomsen, J., Andersson, G., Enamrk, E., Pettersson, K., Warner, M., and Gustafsson, J.A. 2001. Mechanisms of estrogen action. *Physiol. Rev.* 81: 1535-1565.
- Padala, P., Oweis, W., Mashahreh, B., Soudah, N., Cohen-Kfir, E., Todd, E.A., Berndsen, C.E. and Wiener, R. 2017. Novel insights into the interaction of UBA5 with UFM1 via a UFM1-interacting sequence *Sci.*

- Rep. 7: 508.
- Penning, T.M. 2017. Aldo-keto reductase regulation by the Nrf2 system: Implications for stress response, chemotherapy drug resistance, and carcinogenesis. *Chem. Res. Toxicol.* 30: 162-176
- Qin, B., Yu, J., Nowsheen, S., Wang, M., Tu, X., Liu, T., Li, H., Wang, L. and Lou, Z. 2019. UFL1 promotes histone H4 ufmylation and ATM activation. *Nat Commun* 10: 1242.
- Roberts, A.M., Miyamoto, D.K., Huffman, T.R., Bateman, L.A., Ives, A.N., Akopian, D., Heslin, M.J., Contreras, C.M., Rape, M., Skibola, C.F. and Nomura, D.K. 2017. Chemoproteomic screening of covalent ligands reveals UBA5 as a novel pancreatic cancer target. *ACS Chem. Biol.* 12: 899-904.
- Rojo de la Vega, M., Chapman, E. and Zhang, D.D. 2018. NRF2 and the hallmarks of cancer. *Cancer Cell* 34: 21-43.
- Sasakawa, H., Sakata, E., Yamaguchi, Y., Komatsu, M., Tatsumi, K., Kominami, E., Tanaka, K. and Kato, K. 2006. Solution structure and dynamics of Ufm1, a ubiquitin-fold modifier 1. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 343: 21-26.
- Sengupta, S. and Harris, C.C. 2005. p53: traffic cop at the crossroads of DNA repair and recombination. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 6: 44-55.
- Seo, Y.R., Fishel, M.L., Amundson, S., Kelley, M.R. and Smith, M.L. 2003. Implication of p53 in base excision DNA repair: in vivo evidence. *Oncogene* 21: 731-737.
- Sharma, P. and Allison, J.P. 2015. The future of immune checkpoint therapy. *Science* 348: 56-61.
- Sporn, M.B. and Liby, K.T. 2012. NRF2 and cancer: the good, the bad and the importance of context. *Nat. Rev. Cancer* 12: 564-571.
- Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R.L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A. and Bray, F. 2021. Global cancer statistics: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide of 36 cancers in 185 countries. *Ca. Cancer J. Clin.* 71: 209-249.
- Van Cutsem, E., Sagaert, X., Topal, B., Haustermans, K. and Prenen, H. 2016. Gastric cancer. *Lancet* 388: 2654-64.

- Vousden, K.H. and Lu, X. 2002. Live or let die: the cell's response to p53. *Nat. Rev. Cancer* 2: 594-604.
- Wang, Y., Peterson, S.E. and Loring, J.F. 2014. Protein post-translational modifications and regulation of pluripotency in human stem cells. *Cell Res.* 24: 143-160.
- Wang, Z., Gong, Y., Peng, B., Shi, R., Fan, D., Zhao, H., Zhu, M., Zhang, H., Lou, Z., Zhou, J., Zhu, W.G., Cong, Y.S. and Xu, X. 2019. MRE11 UFMylation promotes ATM activation. *Nucleic Acids Res.* 47: 4124-4135.
- Willyard, C. 2018. New human gene tally reignites debate. *Nature* 2018, 558: 354-355.
- Wu, X., Bayle, J.H., Olson, D. and Levine, A.J. 1993. The p53-MDM2 autoregulatory feedback loop. *Genes Dev.* 7: 1126-1132.
- Xu, J., Wu, R-C. and O'Malley, B.W. 2009. Normal and cancer-related functions of the p160 steroid receptor co-activator (SRC) family. *Nat. Rev. Cancer* 9: 615-630.
- Yang, R., Wang, H., Kang, B., Chen, B., Shi, Y., Yang, S., Sun, L., Liu, Y., Xiao, W., Zhang, T., Yang, J., Zhang, Y., Zhu, M., Xu, P., Chang, Y., Jia, Y. and Huang, Y. 2019. CDK5RAP3, a UFL1 substrate adaptor, is crucial for liver development. *Development* 146: dev169235.
- Yang, J., Zhou, Y., Xie, S., Wang, J., Li, Z., Chen, L., Mao, M., Chen, C., Huang, A., Chen, Y., Zhang, X., Khan, N.U.H., Wang, L. and Zhou, J. 2021. Metformin induces Ferroptosis by inhibiting UFMylation of SLC7A11 in breast cancer. *J. Exp. Clin. Cancer Res.* 40: 206.
- Yoo, H.M., Kang, S.H., Kim, J.Y., Lee, J.E., Seong, M.W., Lee, S.W., Ka, S.H., Sou, Y., Komatsu, M., Tanaka, K., Lee, S.T., Noh, D.Y., Baek, S.H., Jeon, Y.J. and Chung, C.H. 2014. Modification of ASC1 by UFM1 is crucial for ER α transactivation and breast cancer development. *Mol. Cell* 56: 261-274.
- Yoo, H.M., Park, J.H., Jeon, Y.J. and Chung, C.H. 2015. Ubiquitin-fold modifier 1 acts as a positive regulator of breast cancer. *Front. Endocrinol.* 6: 1-7.
- Yoo, H.M., Park, J.H., Kim, J.Y. and Chung, C.H. 2022. Modification of ER α

- by UFM1 increases its stability and transactivity for breast cancer development. *Mol. Cells* 45: 425-434.
- Zheng, C.H., Wang, J.B., Lin, M.Q., Zhang, P.Y., Liu, L.C., Lin, J.X., Chen, Q.Y., Cao, L.L., Lin, M., Tu, R.H., Xie, J.W., Li, P. and Huang, C.M. 2018. CDK5RAP3 suppresses wnt/beta-catenin signaling by inhibiting AKT phosphorylation in gastric cancer. *J. Exp. Clin. Cancer Res.* 37: 59.
- Zhou, J., Ma, X., He, X., Chen, B., Yuan, J., Jin, Z., Li, L., Wang, Z., Xiao, Q., Cai, Y. and Zou, Y. 2023. Dysregulation of PD-L1 by UFMylation imparts tumor immune evasion and identified as a potential therapeutic target. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2023 120: e2215732120.
- Zhou, W. and Slingerland, J.M. 2014. Links between oestrogen receptor activation and proteolysis: relevance to hormone-regulated cancer therapy. *Nat. Rev. Cancer* 14: 26-38.

