

泛素特异性蛋白酶 USP30 及其抑制剂在神经退行性疾病治疗中的研究进展

付琪峰^{1,2,3}, 张晓焜^{1,2,3}, 张雍鑫^{1,2,3}, 袁 静^{1,2,3*}, 李灵君^{1,2,3*}

1. 天津药物研究院有限公司 药物成药性评价与系统转化全国重点实验室, 天津 300301

2. 天津市新药设计与发现重点实验室, 天津 300301

3. 朴创医药科技(天津)有限公司, 天津 300301

摘 要: 泛素特异性蛋白酶 30 (USP30) 是定位于线粒体外膜与过氧化物酶体的关键去泛素化酶, 通过调控线粒体自噬维持细胞器稳态, 这一机制的失调已被证实是帕金森病、阿尔茨海默病等神经退行性疾病发生发展的核心环节。系统梳理 USP30 的分子结构特征与生物学功能, 按结构类型对现有 USP30 抑制剂进行分类评述。在此基础上, 深入剖析当前 USP30 抑制剂开发面临的靶点选择性、血脑屏障通透性及临床转化瓶颈等关键挑战, 为下一代高选择性 USP30 抑制剂的理性设计与临床前开发提供策略指引。

关键词: 泛素; 泛素特异性蛋白酶 30; USP30 抑制剂; 神经退行性疾病; 线粒体自噬

中图分类号: R971 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2026)10-3460-10

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2026.10.008

Research progress on USP30 and its inhibitors in treatment of neurodegenerative diseases

FU Qifeng^{1,2,3}, ZHANG Xiaokun^{1,2,3}, ZHANG Yongxin^{1,2,3}, YUAN Jing^{1,2,3}, LI Lingjun^{1,2,3}

1. State Key Laboratory of Druggability Evaluation and Systematic Translational Medicine, Tianjin Institute of Pharmaceutical Research Co., Ltd., Tianjin 300301, China

2. Tianjin Key Laboratory of Molecular Design and Drug Discovery, Tianjin 300301, China

3. Puchuang Pharmaceutical Technology (Tianjin) Co., Ltd., Tianjin 300301, China

Abstract: Ubiquitin-specific protease 30 (USP30) is a deubiquitinase anchored to the outer mitochondrial membrane and peroxisomes, where it serves as a critical checkpoint in regulating mitophagy and preserving organelle homeostasis. The dysregulation of this quality-control machinery has emerged as a pivotal driver in the pathogenesis of neurodegenerative disorders, including Parkinson's and Alzheimer's diseases. This review provides a systematic characterization of the molecular architecture and biological functions of USP30, alongside a classified evaluation of existing inhibitors stratified by their chemotypes. Crucially, we dissect the prominent bottlenecks impeding clinical translation—specifically off-target effects, blood-brain barrier (BBB) permeability, and pharmacokinetic limitations. By synthesizing current structure-activity relationships and addressing these developmental hurdles, this review offers strategic insights for the rational design of next-generation, high-selectivity USP30 inhibitors, highlighting their therapeutic potential in combating neurodegenerative pathologies.

Key words: ubiquitin; USP30; USP30 inhibitors; neurodegenerative diseases; mitophagy

泛素是一种进化上高度保守的蛋白质, 广泛存在于所有真核细胞中, 它的主要功能是标记需要分解掉的蛋白质。泛素化是指泛素在一系列酶的催化作用下共价结合到靶蛋白的过程。泛素化过程通常需要 3 种泛素化酶的协同作用: 泛素激活酶 (E1)、

泛素偶联酶 (E2) 和泛素连接酶 (E3), 其具体历程如图 1 所示。首先, 泛素活化酶水解腺嘌呤核苷三磷酸 (ATP) 将一个泛素分子腺苷酸化。然后, 泛素被转移到 E1 的活性中心的半胱氨酸残基上, 并伴随着第 2 个泛素分子的腺苷酸化。被腺苷酸化的泛

收稿日期: 2026-05-29

作者简介: 付琪峰, 硕士, 研究实习员, 研究方向为肿瘤领域创新药开发。E-mail: fuqifeng@tipr.com.cn

*通信作者: 袁 静, 硕士, 研究员, 研究方向为心脑血管领域创新药开发。E-mail: yuanj@tipr.com.cn

李灵君, 硕士, 研究员, 研究方向为心脑血管与肿瘤领域创新药开发。E-mail: lilj@tipr.com.cn

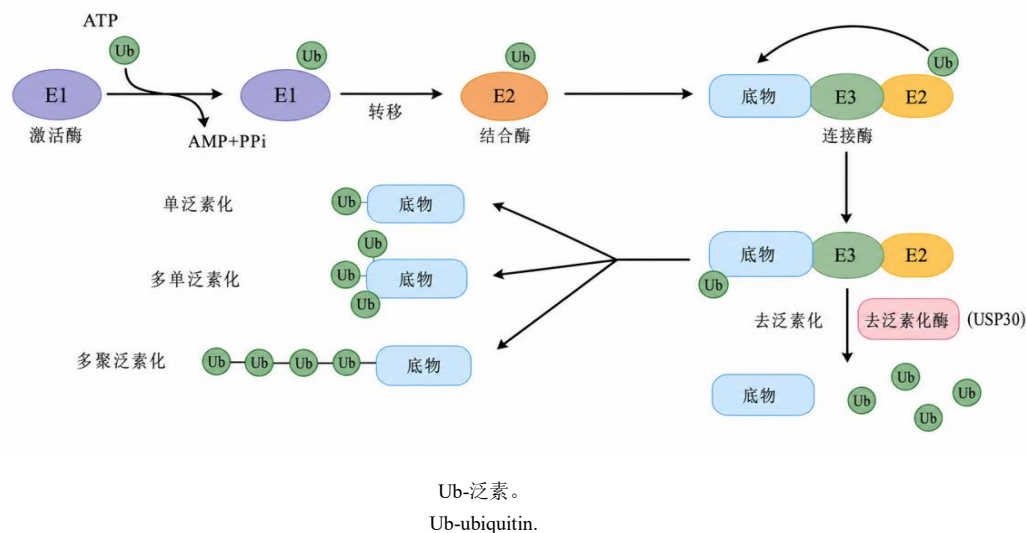


图 1 泛素化与去泛素化的关键过程

Fig. 1 Key processes of ubiquitination and deubiquitination

素分子接着被转移到泛素偶联酶的半胱氨酸残基上。最后，高度保守的 E3 识别特定的需要被泛素化的靶蛋白，并催化泛素分子从 E2 上转移到靶蛋白上。泛素化主要负责 26 S 蛋白酶体的蛋白质降解，同时也负责调节转录、DNA 修复、细胞周期控制、炎症和细胞凋亡等进程^[1]。

去泛素化酶（DUBs）作为泛素-蛋白酶体系统的关键调控元件，近年来已成为生物医学研究的重要靶点。这类酶能够特异性切割泛素分子与底物蛋白之间的异肽键，逆转蛋白质的泛素化修饰过程。研究表明，DUBs 参与调控几乎所有重要的细胞生物学过程，包括蛋白质稳态、DNA 损伤修复、细胞周期调控、免疫应答等，其功能异常与多种人类疾病密切相关，特别是肿瘤、神经退行性疾病和自身免疫性疾病^[2]。

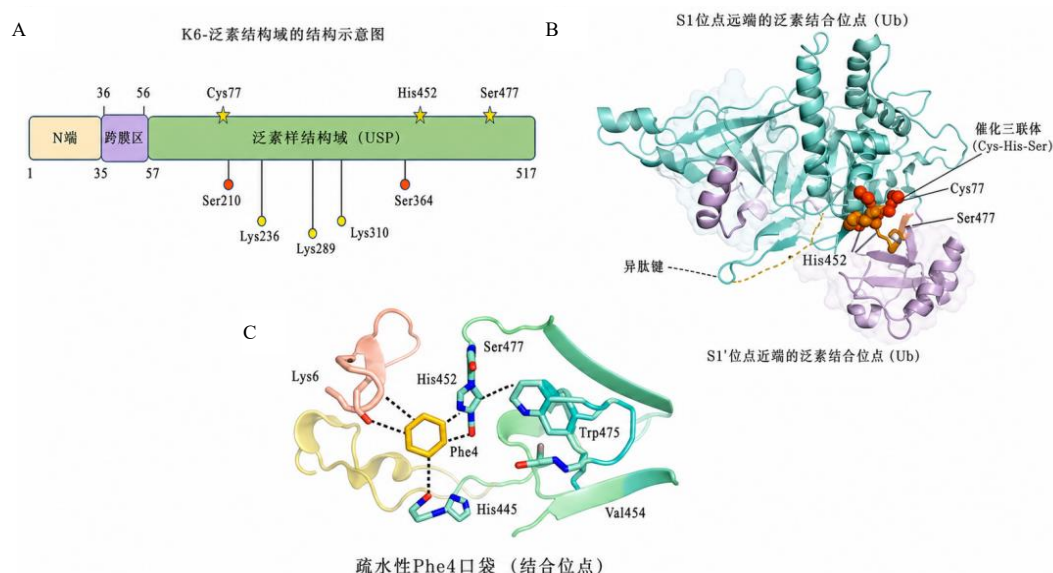
目前已知的 DUBs 可分为 7 个家族：泛素特异性蛋白酶（USP）、泛素 C 端水解酶（UCH）、卵巢肿瘤蛋白酶（OTU）、含 Machado-Joseph 结构域蛋白酶（MJD）、MINDY 家族、ZUFSP 家族以及 JAMM 金属蛋白酶家族。其中 USP 家族成员最多（58 个），在功能上也最为多样化^[3]。USP30 是 USP 家族的成员之一，其基因位于染色体位点 12q24.11，由 18 个外显子组成。它在人体骨骼肌、心脏、肝脏和肾脏组织以及肝癌和卵巢癌等肿瘤组织中高表达。USP30 作为线粒体外膜锚定蛋白，参与多种生物过程^[4]。大量研究表明，USP30 的异常表达或活性改变与线粒体功能障碍引起的帕金森病（PD）等多种

神经退行性疾病密切相关，提示其具有成为治疗靶点的巨大潜力。基于此，本文对 USP30 的结构特征、生物学功能及其在神经退行性疾病中的作用机制进行系统总结，并分类总结近年来针对 USP30 开发的抑制剂及其在疾病治疗中的应用进展，为靶向 USP30 的药物研发和临床转化提供参考。

1 USP30 结构

作为 DUBs 家族的独特成员，USP30 具有独特的结构特征。免疫组织化学研究表明，其主要定位于线粒体外膜和过氧化酶体，在特定条件下在细胞质和核区室中可检测到存在。如图 2 所示，USP30 具有三重结构域的组织：N-末端线粒体靶向序列（残基 1~35）、中央跨膜锚（残基 36~56）和 C-末端催化 USP 结构域（残基 57~517）。跨膜结构域充当分子钳，将 USP30 固定在细胞器膜上，同时通过其暴露的催化结构域实现功能灵活性。

晶体学的突破进一步阐明了 USP30 的分子结构。5OHK（2.34 Å，1 Å=0.1 nm）和 5OHN（3.60 Å）结构捕获了 USP30 与泛素酰丙酰胺的复合物，揭示了 USP30 与泛素疏水口袋的保守相互作用。5OHP 结构（2.80 Å）证明了 USP30 与 K6 连接的双泛素的特异性结合，8D0A 和 8D1T 结构（分别为 3.19 Å 和 2.94 Å）则展示了其抑制剂结合模式。USP30 酶活性的核心是一个非常规的催化三联体：Cys77、His452 和 Ser477，如图 2-A 所示，这种构型与大多数 USP 家族成员的经典 Cys-His-Asp/Asn 三联体不同。这种独特的三联体与相邻的结构元



A-USP30 的结构域组成与翻译后修饰位点; B-K6 型双泛素结合状态下的 USP30 晶体结构; C-泛素 Phe4 功能基序结合于 USP30 催化三联体附近的疏水表面。

A-Domain organization and post-translational modification sites of USP30; B-Crystal structure of USP30 in complex with K6-linked diubiquitin; ubiquitin molecules are shown as pale yellow transparent surface representations, and the catalytic triad is highlighted in red; C-Phe4 motif of ubiquitin binds to the hydrophobic surface adjacent to the catalytic triad of USP30.

图 2 USP30 结构

Fig. 2 Structure of USP30

件协作,可精确识别 K6 连接的泛素链。USP30 泛素识别的分子编排涉及 2 个协同结合位点,如图 2-B 所示,主要 S1 位点由手指、拇指和手掌子域形成,通过 β 链介导的氢键与远端泛素建立强大的相互作用。二级 S1 位点虽然表现出较弱的结合亲和力,但通过以 Phe4 残基为中心的疏水区域选择性地结合 K6 连接链中的近端泛素。结构分析表明保守残基 His445、His452 和 Trp475 形成一个几何约束的催化口袋,优先容纳 K6 连接的泛素拓扑(图 2-C)。这种空间区分机制是 USP30 特异性的基础,生化分析表明 K6 连接链的切割效率比 K48 连接链高 5 倍以上^[5]。

2 USP30 的生物功能

2.1 USP30 在线粒体中的作用

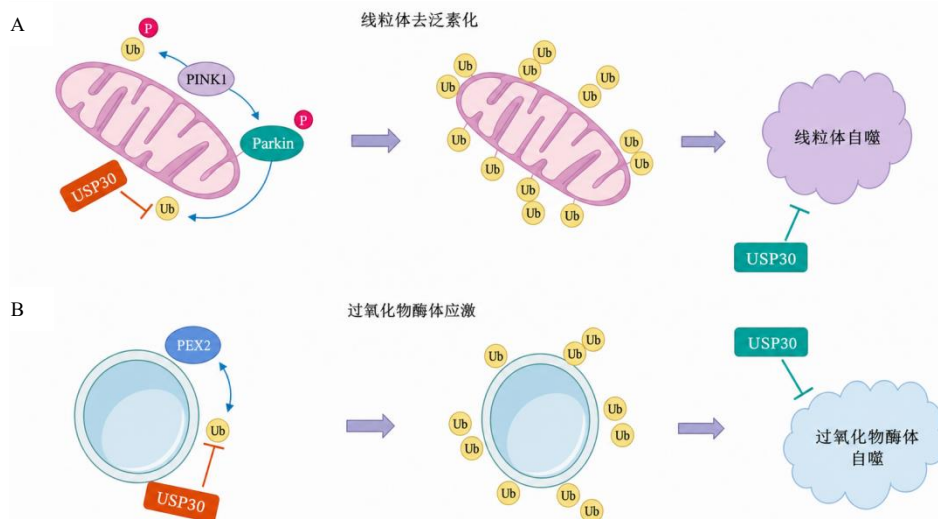
线粒体作为细胞能量代谢和信号调节的关键细胞器,其数量和功能的完整性在维持细胞稳态中发挥着决定性作用。为了确保线粒体质量控制系统的有效运行,细胞进化出了 2 种协同机制,分别是线粒体动力学和线粒体自噬^[6]。线粒体动力学通过持续裂变和融合的动态平衡来调节细胞器的形态和分布,线粒体动力相关蛋白 1 (DRP1) 通过收缩线粒体膜来促进线粒体裂变,而线粒体融合蛋白 1 和 2 (MFN1/2) 通过束缚相邻线粒体来介导外膜融

合^[7]。作为这一过程的补充,线粒体自噬通过 PTEN 诱导的假定激酶 1 (PINK1) 泛素化级联选择性地识别和降解受损的线粒体,具体过程为线粒体去极化后,激酶 PINK1 积聚在线粒体外膜上,激活 Parkin,通过泛素依赖性信号传导触发自噬体自噬^[8]。定位于线粒体外膜的 USP30 在线粒体动力学和线粒体自噬中表现出双重调节功能。如图 3 所示,一方面,USP30 可以通过去泛素化稳定融合蛋白(例如 MFN1/2),维持线粒体融合能力;另一方面,USP30 通过裂解 Parkin 沉积的泛素链来减弱线粒体自噬,有效阻断自噬信号传播。这种双重功能使 USP30 成为桥接线粒体形态可塑性和质量监测的关键分子节点^[9]。

2.2 USP30 在过氧化物酶体中的作用

过氧化物酶体是人体内普遍存在的真核细胞器,对于许多代谢过程至关重要,其中包括长链和支链脂肪酸的 β -氧化、过氧化氢解毒以及胆汁酸、醚磷脂和类异戊二烯等特殊脂质的生物合成。与在线粒体自噬中的作用不同,USP30 在过氧化物酶体稳态中表现出独特的调节功能,独立于 PINK1-Parkin 通路调节的基础自噬^[10]。

过氧化物酶体自噬在营养缺乏或缺氧等应激条件下受到严格调控。在氨基酸饥饿状态下,哺乳



A-在膜去极化条件下, USP30 抑制 Parkin 活化与线粒体泛素化修饰, 从而拮抗线粒体自噬; B-USP30 还可逆转过氧化物酶体生物发生因子 2 (PEX2) 介导的过氧化物酶体泛素化, 进而抑制过氧化物酶体自噬。

A-Under membrane-depolarized conditions, USP30 inhibits Parkin activation and mitochondrial ubiquitination, thus counteracting mitophagy; B-USP30 also reverses PEX2-mediated peroxisomal ubiquitination, thereby repressing pexophagy.

图 3 USP30 在线粒体中的作用

Fig. 3 Role of USP30 in mitochondria

动物雷帕霉素靶蛋白 (mTOR) 的抑制可以稳定 E3 泛素连接酶—过氧化物酶体生物发生因子 2 (PEX2) 在过氧化物酶体膜上的定位。PEX2 随后对过氧化物酶体膜蛋白 [如 PEX5 和相对分子质量为 70 000 的过氧化物酶体膜蛋白 (PMP70)] 进行泛素化修饰, 通过招募自噬受体 NBR1 和 p62 标记过氧化物酶体以供自噬清除^[11]。USP30 通过拮抗 PEX2 介导的泛素化作用来对抗这一过程。USP30 的过表达在基础状态和应激条件下均能维持过氧化物酶体数量, 其机制可能是通过去泛素化 PEX5 和 PMP70 来抑制过氧化物酶体自噬。这一调控机制使 USP30 成为抑制过氧化物酶体过度周转的关键抑制因子^[12]。

尽管多种研究证明 USP30 是维持过氧化物酶体完整性的关键调控因子, 但仍存在较大的认知空白, USP30 与 PEX2 及其他过氧化物酶体自噬介导因子之间的精确分子相互作用还亟待阐明。

2.3 USP30 在细胞凋亡中的作用

细胞凋亡是指为维持内环境稳定, 由基因控制的细胞自主的有序的死亡, 是一种程序性细胞自我毁灭机制。线粒体是细胞凋亡的中央调节器, 特别是介导以线粒体调节和非受体介导的启动为特征的内在凋亡途径^[13]。目前, 已有许多研究表明 USP30 是细胞凋亡过程的关键调节剂。

蛋白激酶 B (Akt) /mTOR 信号通路的作用是控制细胞生长、增殖、代谢和生存, 由线粒体应激所激活, 并由 Parkin-USP30 轴调节。Parkin 在线粒体自噬过程中抑制 Akt/mTOR 信号传导, 与下游效应子真核翻译起始因子 4E 结合蛋白 1 (4EBP1) 和核糖体蛋白 S6 激酶 (P70S6K) 的下调相关。USP30 过表达抵消 Parkin 介导的抑制, 维持 Akt/mTOR 活性并抑制细胞凋亡^[14]。实验数据表明 USP30 抑制剂和 Akt/mTOR 通路抑制剂在治疗白血病方面具有潜在的协同作用, 同时也可作为实体瘤的新兴治疗靶点。

另外, 抑制 USP30 可减轻创伤性脑损伤后的氧化应激和神经细胞凋亡。在耳毒性模型中, 抑制 USP30 可防止新霉素诱导的毛细胞凋亡, 这可通过增加存活毛细胞和减少末端脱氧核苷酸转移酶 dUTP 缺口末端标记阳性细胞来证明^[15]。

2.4 USP30 在炎症中的作用

炎症是对病原体、细胞损伤或刺激物等有害刺激的保护性生物反应, 其作用是消除威胁并启动组织修复。最近有研究表明 USP30 通过不同的分子机制参与炎症调节^[16]。

七氟烷是一种挥发性麻醉剂, 通过上调 USP30 加剧神经毒性, USP30 会破坏线粒体自噬并激活含有吡啶结构域 1 (NLRP1) 炎症小体介导的神经炎症的 NOD 样受体^[17], 这凸显了 USP30 将线粒体质

量控制与炎症信号传导联系起来的作用。

Ren 等^[18]将 CDK5-USP30-MAVS 轴确定为 PD 模型中的关键通路。在 1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶/1-甲基-4-苯基吡啶 (MPTP/MPP⁺) 诱导的神经变性中,细胞周期蛋白依赖性激酶 5 (CDK5) 磷酸化 USP30 以抑制线粒体自噬,从而激活线粒体抗病毒信号蛋白 (MAVS) 依赖性炎症级联反应。CDK5 抑制 USP30,减弱 MAVS 通路激活,并在体外 (MPP⁺ 处理的神经元细胞) 和体内 (MPTP 诱导的小鼠) PD 模型中发挥保护作用。这些干预措施减少了神经退行性变并减轻了运动缺陷,因此 CDK5-USP30-MAVS 通路是与线粒体功能障碍相关的神经炎症性疾病的潜在治疗靶点。

3 USP30 在神经退行性疾病中的作用机制

神经退行性疾病是一类以神经元进行性变性、凋亡及神经功能不可逆衰退为核心特征的异质性疾病,包括 PD、阿尔茨海默病 (AD)、亨廷顿舞蹈症 (HD) 和肌萎缩侧索硬化症等,是全球老龄化社会最严峻的神经系统公共卫生难题之一。目前全球神经退行性疾病患者总数已突破 5 700 万,且受人口老龄化加剧影响,患病人数每 20 年将翻倍增长,疾病致残率、致死率及社会医疗负担持续攀升^[19]。在各类亚型中,AD 为发病率最高的神经退行性疾病,是老年人群痴呆的首要诱因;PD 为第 2 大高发亚型,全球患者超 600 万,其中我国患者占比近 50%,60 岁以上人群患病率达 1%~2%,80 岁以上高龄人群患病率升至 4%~5%,且发病呈年轻化趋势。整体而言,该类疾病具有隐匿起病、进行性加重、无法自愈、预后极差的特点,目前尚无根治手段,给患者家庭及全球医疗体系造成沉重负担。研究表明,抑制 USP30 可以增强线粒体自噬,减少氧化应激并改善神经元的损伤。在此背景下,USP30 被认为是一个潜在的治疗靶点。

许多神经退行性疾病的一个特征是错误折叠的蛋白质的积累,如 β -淀粉样蛋白、 α -突触核蛋白和亨廷顿蛋白在大脑的不同区域聚集。此外,许多类型的非降解性泛素信号对于神经元的生存和线粒体稳态也至关重要。多种证据表明,线粒体功能障碍与 PD 的发生密切相关^[14]。最近,有研究人员发现 USP30 与 Parkin 或 PINK1 缺陷果蝇中由致病性突变引起的线粒体自噬缺陷有关,抑制多巴胺能神经元中的 USP30 可以改善果蝇运动和机体存活的缺陷^[20]。此外,有研究敲除了小鼠的 USP30 基因,并检查 USP30

敲除小鼠的海马神经元的线粒体功能,发现其线粒体自噬加速了 50%^[21]。总之,抑制 USP30、增强线粒体自噬、清除受损的线粒体和保护多巴胺能神经元构成了 PD 具有前途的疾病缓解策略。

对于 AD,目前已有体内实验表明,一种名为 miR137-5p 的由人类基因 MIR137 编码的成熟微小 RNA 可增强 AD 小鼠的认知和活动能力,显著减少海马和皮质区域内的 $A\beta_{1-42}$ 沉积、Tau 微管相关蛋白过度磷酸化和神经元凋亡^[22]。从机制上讲,miR137-5p 会抑制小鼠中的 USP30 水平,这代表了 USP30 是一种新颖且有前途的 AD 治疗靶点。

USP30 在 HD 中的作用机制尚未明确,但最近有科学团队提供了重要研究线索。该团队探究了鞘氨醇-1-磷酸合成关键酶——鞘氨醇激酶亚型 SPHK1 与 SPHK2 对神经元蛋白泛素化修饰的调控作用。研究发现,原代纹状体神经元中 SPHK2 过表达可显著上调细胞泛素化底物水平;而药物抑制 SPHK2 活性后,多种泛素化相关蛋白表达下调,包括 E3、E2 及 USP15、USP30。同时,HD 模型小鼠的纹状体组织中存在 SPHK2 与 HUWE1 异常高表达的现象^[23]。上述研究表明,包含 USP30 在内的泛素化通路紊乱参与了 HD 的病理进程,但仍需进一步明确 USP30 在该疾病中的具体调控机制。

4 USP30 抑制剂

在探索神经退行性疾病机制的过程中,科学家发现 USP30 抑制剂有望成为以线粒体功能障碍为特征的神经退行性疾病的治疗策略。目前,在研或上市的 USP30 抑制剂包括小分子化合物以及金属基抑制剂等类型^[24]。这些抑制剂可通过多种途径给药,包括口服、肌肉注射、静脉注射、动脉内注射、腹腔注射或皮下注射等,其给药方式的多样性显著拓宽了其治疗应用的潜力。

基于对 USP30 抑制作用的研究已发现一系列相关化合物,涵盖金属基抑制剂与结构复杂的小分子化合物。这些开创性探索虽具有先导意义,却普遍存在特异性不足的问题。例如,研究人员对于金属基 DUBs 抑制剂的研究,包括金诺芬 (图 4)、吡啶硫酮铜、吡啶硫酮锌、吡啶硫酮铂和吡啶硫酮镍,结果显示这类药物更倾向于作用于蛋白酶体相关去泛素化酶,如泛素 C 端水解酶 L5 (UCHL5) 和 USP14,从而使其对 USP30 的作用效果被掩盖^[24]。尽管如此,近期研究有了极具前景的进展,相关研究方向正转向靶向 USP30 的特异性抑制剂。

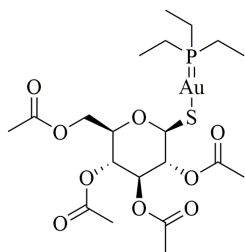


图 4 金诺芬的化学结构

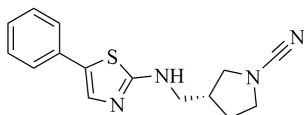
Fig. 4 Chemical structure of auranofin

4.1 *N*-氰基吡咯烷类

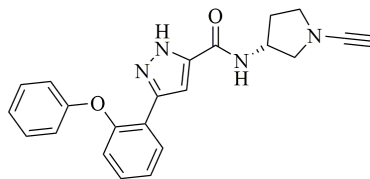
N-氰基吡咯烷类化合物的发现标志着一项重大突破,其最初源自组织蛋白酶 C 抑制剂的设计思路,却被证实对 USP30 具有抑制活性。研究表明,这类抑制剂对泛素羧基末端水解酶 L1 (UCHL1) 和 USP30 均表现出抑制活性,因此如何提升其选择性与特异性成为了研究热点。2020 年,Phu 等报道了 USP30 抑制剂 USP30i (图 5),并进一步系统阐明了 USP30i 的细胞生物学特征^[25]。线粒体外膜转位酶 (TOM20) 是公认的 USP30 生理性底物,通过检测 TOM20 的泛素化水平发现,USP30i 可上调泛素化 TOM20 的蛋白表达量,其半数有效浓度 (EC₅₀) 为 2.45 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。研究人员分别对 USP30 敲除型人胚胎肾细胞 HEK293T 与 USP30i 处理的野生型细

胞进行泛素组测序,全面评估该抑制剂的脱靶效应,结果发现,USP30i 存在多个脱靶作用靶点,且大多属于 DUBs 家族,包括 UBP4、UBP45 及 UBP47,表明 USP30i 的靶点选择性较差^[25]。

2020 年,一种经过结构优化的 *N*-氰基吡咯烷衍生物 FT3967385 (简称 FT385) 被成功开发并系统表征。基于筛选结果显示,FT385 在 0.20 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 以内对 USP30 表现出高度的选择性抑制作用,而在更高浓度下 (1.00 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 其靶点特异性会有所下降。在表达内源性 Parkin 的人神经母细胞瘤 SH-SY5Y 细胞中开展的蛋白质组学分析进一步证实,相较于传统同类化合物,FT385 对 USP30 具有更优异的选择性。功能实验表明,FT385 能够模拟 USP30 基因敲除所产生的生物学效应,在线粒体膜电位去极化后显著提升线粒体外膜蛋白 TOM20 的泛素化水平并促进其降解,且该过程不影响 PINK1 的蛋白表达^[26]。在人视网膜色素上皮细胞 RPE-1 和 SH-SY5Y 细胞中,FT385 均能有效提高线粒体自噬通量,特异性抑制 USP30、增强 Parkin 依赖的线粒体泛素化与清除过程从而发挥细胞保护作用^[26]。尽管目前已证实 FT385 具有良好的体外保护效应,但其在动物模型中的药效、药动学特性以及潜在的脱靶风险仍有待进一步深入研究。



USP30i



FT385

图 5 USP30 抑制剂 USP30i 和 FT385 的结构

Fig. 5 Structures of USP30 inhibitors USP30i and FT385

Okarmus 等^[27]采用诱导多能干细胞技术,构建了野生型及 PARK2 基因敲除的同基因多巴胺能神经元,用这种创新研究方法深入探究了 PARK2 基因缺失如何影响线粒体应激状态下的线粒体自噬,同时也评估了 *N*-氰基吡咯烷类化合物 (化合物 3、37, 图 6) 效能。研究发现,这类化合物可显著增强神经元线粒体自噬水平、降低氧化应激反应,且该效应不受 Parkin 蛋白存在与否的影响。由此表明,USP30 抑制剂具有更广泛的应用前景,有望应用于 PD 及多种伴线粒体功能障碍疾病的治疗。

Tsefou 等^[28]于 2021 年合成了 USP30Inh-1、

USP30Inh-2 及 USP30Inh-3 3 种化合物,进一步拓展了 USP30 抑制剂的研究领域。该类化合物的结构设计基于多项专利中已公开的母核化合物结构。该类抑制剂均含有氰基酰胺官能团,该官能团可与 USP30 的活性位点形成共价键,是发挥 USP30 抑制作用的关键结构。体外实验表明,在 1.00 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度下,USP30Inh-1、USP30Inh-2 及 USP30Inh-3 对 40 余种已知 DUBs 均表现出良好的选择性;然而,当浓度升高时,其选择性显著降低,且对 USP6、USP21 及 USP45 存在明显的脱靶抑制效应,这一现象可能与氰基酰胺官能团的存在相关。研究证

实, 该类抑制剂可有效抑制 USP30 介导的泛素-罗丹明 110 (Ub-Rho110) 的切割反应, 其半数抑制浓度 (IC_{50}) 为 $0.015 \sim 0.030 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。此外, 该研究利用诱导多能干细胞分化获得的多巴胺能神经元进行实验, 结果显示, 该类抑制剂对 USP30 进行药理学抑制后, 可显著增加磷酸化 Ser65 泛素的积累量, 进一步促进线粒体自噬过程^[29]。

Mission Therapeutics 公司于 2021 年研发出了一种强效的 *N*-氰基吡咯烷衍生物 MTX115325 (图 6), 具备良好的口服生物利用度与中枢神经系统穿透能力, 对 USP30 表现出强效抑制作用 ($IC_{50}=0.012 \sim 0.025 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)。无论是在小鼠中敲除 USP30 基因, 还是通过 MTX115325 对 USP30 进行药理学抑制, 均可

修复线粒体自噬功能障碍, 降低 α -突触核蛋白丝氨酸 129 位点的磷酸化水平, 减轻 α -突触核蛋白诱导的黑质纹状体多巴胺能神经元丢失, 进而改善行为学缺陷^[29]。

该公司于 2024 年初启动了 MTX115325 的首次人体临床 I 期试验。2024 年 3 月, 该公司宣布已完成 I 期研究中首批健康志愿者的给药, 研究旨在评估 MTX115325 的安全性、耐受性、药动力学及脑穿透能力。同年, 该公司也相继开展了单次递增剂量、多次递增剂量及老年健康志愿者队列研究, 以全面评估 MTX115325 在体内的行为特征, 并确保其在不同人群中的安全性。MTX115325 目前仍处于临床 I 期研究中, 是唯一一个处于临床研究阶段的治疗神经退行性疾病的 USP30 抑制剂。

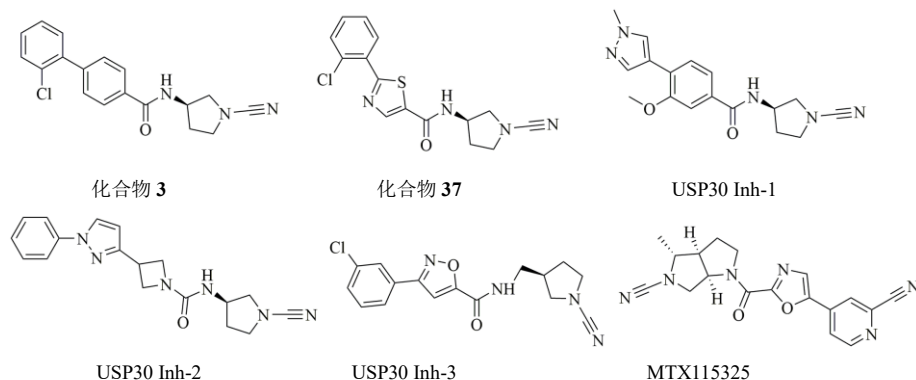


图 6 USP30 抑制剂化合物 3、化合物 37、USP Inh-1、USP Inh-2、USP Inh-3 和 MTX115325 的结构

Fig. 6 Structures of USP30 inhibitors Compound 3, Compound 37, USP Inh-1, USP Inh-2, USP Inh-3 and MTX115325

4.2 苯丙氨酸类

2018 年, Kluge 等^[30]在经过高通量筛选后, 发现外消旋苯丙氨酸衍生物 MF-094 (图 7) 和 MF-095 可作为潜在 USP30 抑制剂, 其中 MF-094 的作用效果更强, 其 IC_{50} 为 $0.12 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。在浓度低于 $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 其对 USP30 的特异性高于其他 USP 家族成员。该化合物可增强蛋白质泛素化水平, 进而促进终末分化的 C2C12 成肌细胞中的线粒体自噬。此外, Luo 等^[31]研发了新一代外消旋苯丙氨酸衍生物 ST-539

(IC_{50} 为 $0.37 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$), ST-539 可通过抑制 USP30 诱导组织特异性线粒体自噬, 在 HeLa 细胞中表现出极低的线粒体毒性, 在小鼠体内具有良好的耐受性。然而, 该类化合物的完整特性分析, 尤其是其体内作用效果, 仍需进一步研究。

4.3 苯磺酰胺类

最近, 苯磺酰胺类化合物 CMPD-39, 因其完善的机制研究脱颖而出。CMPD-39 (图 8) 是一种选择性的 USP30 抑制剂, IC_{50} 为 $0.020 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 对

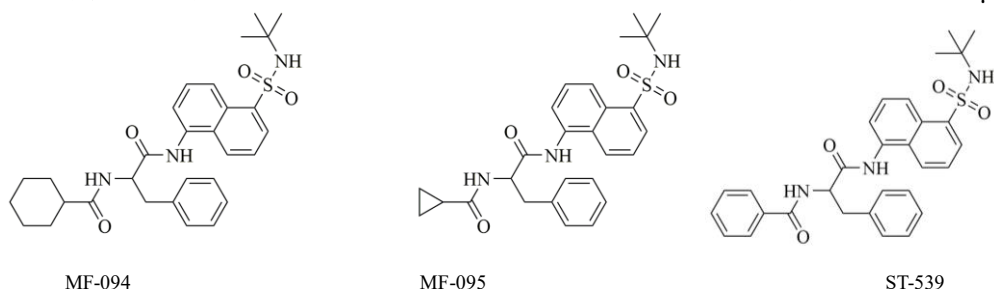


图 7 USP30 抑制剂 MF-094、MF-095 和 ST-539 的结构

Fig. 7 Structures of USP30 inhibitors MF-094, MF-095 and ST-539

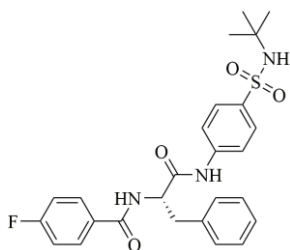


图 8 USP30 抑制剂 CMPD-39 的结构

Fig. 8 Structure of USP30 inhibitor CMPD-39

其他 DUBs 选择性高^[32]。在近期 1 项研究中, Rusilowicz-Jones 等^[33]在细胞和生物学水平对 CMPD-39 进行了全面表征,结果表明,在线粒体急性去极化条件下,1.00 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度的 CMPD-39 可恢复受损的线粒体自噬,其对 USP30 抑制的特异性反应主要表现为增强 TOM20 的泛素化水平,增加磷酸化泛素的积累,同时加快基础线粒体的自噬进程。值得注意的是,在携带 Parkin 基因突变的 PD 患者来源的多巴胺能神经元中,CMPD-39 可显著增加线粒体 DNA 的周转效率,并恢复至与对照组相当的线粒体自噬水平。考虑到 USP30 除在线粒体中存在外,在过氧化物酶体中也有特定分布,该研究还探讨了 CMPD-39 在表达过氧化物酶体自噬荧光报告基因的人骨肉瘤细胞中的作用。结果显示,CMPD-39 可通过抑制 USP30 从而增强基础过氧化物酶体自噬,为通过小分子药物干预提高过氧化物酶体周转效率提供了新途径。综上所述,CMPD-39 作为一种极具潜力的 USP30 抑制剂,具有显著的活性和特异性,可促进线粒体自噬和过氧化物酶体自噬,可显著恢复 PD 患者来源的多巴胺能神经元中受损的线粒体功能。

4.4 其他类

为开发高效 USP30 抑制剂,Yue 等人^[34]开展了 300 种化合物的筛选工作,最终筛选出一种二萜类衍生物抑制剂 15-氧代螺旋内酯(图 9)。研究显示,该化合物在线粒体融合蛋白缺陷的小鼠胚胎成纤维细胞中,表现出显著的线粒体结构修复及氧化呼吸功能恢复能力。

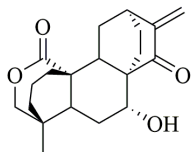


图 9 15-氧代螺旋内酯的结构

Fig. 9 Structure of 15-oxospirolactone

另外,近年来学者们通过研究 USP30 跨膜结构域,发现了一种新型 USP30 抑制机制,为未来 USP30 抑制剂的设计策略提供了新的思路。Q14 是一种源自 USP30 跨膜结构域的多肽,具有抑制 USP30 的去泛素化活性的能力,IC₅₀ 为 0.057 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。Q14 通过抑制 USP30 的跨膜域与其催化域之间的相互作用,导致 USP30 活性的降低。LC3 蛋白在细胞自噬过程中发挥着至关重要的作用,Q14 含有与 LC3 相互作用的基序,这使得其与 LC3 有效结合后能够加速自噬体的形成,进而促进线粒体自噬^[35]。Q14 可用于神经退行性疾病以及线粒体质量控制和细胞代谢的研究,这一突破性发现为开发极具潜力的靶向 USP30 及其他去泛素化酶的精准抑制剂提供了有效参考。

5 结语与展望

本文系统阐述了 USP30 的结构及其生物学功能,同时进一步总结了 USP30 在神经退行性疾病中的研究进展,最后将目前全球在研的治疗神经退行性疾病药物研发领域的 USP30 抑制剂进行了系统性分类梳理。其中,苯磺酰胺类抑制剂 CMPD-39 相较于其他 DUBs 家族成员,对 USP30 展现出优异的特异性与抑制活性,可在体外及体内模型中有效诱导线粒体自噬与过氧化物酶体自噬,具备突出的治疗潜力。此外,N-氰基吡咯烷类 USP30 抑制剂 MTX115325 已进入临床试验阶段,为线粒体功能异常相关神经退行性疾病的治疗提供了全新思路。

尽管 USP30 抑制剂展现出良好前景,但要使其广泛应用于临床治疗,仍需解决诸多问题。目前的 USP30 抑制剂虽对 USP30 具有一定特异性,但仍无法完全排除对其他去泛素化酶产生脱靶效应的可能。未来研究应通过构效关系(SAR)研究提升抑制剂选择性,设计仅靶向 USP30 活性位点、而不影响其他相近 DUBs 的特异性分子。此外,阐明 USP30 与其抑制剂之间精确的结构相互作用至关重要。未来需利用 X 射线晶体衍射、冷冻电镜等技术,从原子水平解析 USP30 抑制剂的结合机制。确保 USP30 抑制剂具备理想的生物利用度、药动学特性与组织靶向性是另一大挑战。用于治疗神经退行性疾病的抑制剂需能够高效穿透血脑屏障(BBB)。因此,未来研究应致力于开发递送系统,或评估 USP30 与其他代偿性 DUBs 的双重抑制能否带来更显著的疗效,为联合用药提供新方向。同时,虽然早期临床前研究证实了 USP30 抑制剂的治疗潜力,

但其长期安全性仍不明确,需开展全面的慢性体内研究与早期临床试验,评估这类抑制剂在神经退行性疾病中的安全性与有效性。

综上,USP30 作为治疗神经退行性疾病的潜在靶点,其抑制剂的开发仍面临着许多挑战,但同时也蕴藏了广阔前景和无限机遇,如何设计并开发出活性高、选择性好、安全性强的 USP30 抑制剂将成为研究热点。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Dagar G, Kumar R, Yadav K K, et al. Ubiquitination and deubiquitination: Implications on cancer therapy [J]. Biochim Biophys Acta BBA Gene Regul Mech, 2023, 1866(4): 194979.
- [2] Haq S, Ramakrishna S. Deubiquitylation of deubiquitylases [J]. Open Biol, 2017, 7(6): 170016.
- [3] Harrigan J A, Jacq X, Martin N M, et al. Deubiquitylating enzymes and drug discovery: Emerging opportunities [J]. Nat Rev Drug Discov, 2018, 17(1): 57-78.
- [4] Gersch M, Gladkova C, Schubert A F, et al. Mechanism and regulation of the Lys6-selective deubiquitinase USP30 [J]. Nat Struct Mol Biol, 2017, 24(11): 920-930.
- [5] Cunningham C N, Baughman J M, Phu L, et al. USP30 and parkin homeostatically regulate atypical ubiquitin chains on mitochondria [J]. Nat Cell Biol, 2015, 17(2): 160-169.
- [6] Chan D C. Mitochondrial dynamics and its involvement in disease [J]. Annu Rev Pathol Mech Dis, 2020, 15: 235-259.
- [7] Jin J Y, Wei X X, Zhi X L, et al. Drp1-dependent mitochondrial fission in cardiovascular disease [J]. Acta Pharmacol Sin, 2021, 42(5): 655-664.
- [8] Li J, Yang D M, Li Z P, et al. PINK1/Parkin-mediated mitophagy in neurodegenerative diseases [J]. Ageing Res Rev, 2023, 84: 101817.
- [9] Liang J R, Martinez A, Lane J D, et al. USP30 deubiquitylates mitochondrial Parkin substrates and restricts apoptotic cell death [J]. EMBO Rep, 2015, 16(5): 618-627.
- [10] Bingol B, Tea J S, Phu L, et al. The mitochondrial deubiquitinase USP30 opposes parkin-mediated mitophagy [J]. Nature, 2014, 510(7505): 370-375.
- [11] Sargent G, van Zutphen T, Shatseva T, et al. PEX2 is the E3 ubiquitin ligase required for pexophagy during starvation [J]. J Cell Biol, 2016, 214(6): 677-690.
- [12] Waterham H R, Ebberink M S. Genetics and molecular basis of human peroxisome biogenesis disorders [J]. Biochim Biophys Acta BBA Mol Basis Dis, 2012, 1822(9): 1430-1441.
- [13] Bock F J, Tait S W G. Mitochondria as multifaceted regulators of cell death [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2020, 21(2): 85-100.
- [14] Zhang R H, Ozgen S, Luo H K, et al. The mitochondrial deubiquitinase USP30 regulates AKT/mTOR signaling [J]. Front Pharmacol, 2022, 13: 816551.
- [15] Zhang Y H, Fang Q J, Wang H F, et al. Increased mitophagy protects cochlear hair cells from aminoglycoside-induced damage [J]. Autophagy, 2023, 19(1): 75-91.
- [16] Jenab A, Roghanian R, Emtiazi G. Bacterial natural compounds with anti-inflammatory and immunomodulatory properties (mini review) [J]. Drug Des Devel Ther, 2020, 14: 3787-3801.
- [17] Gao T T, Huang Z Q. Novel insights into sevoflurane-induced developmental neurotoxicity mechanisms [J]. Epigenomics, 2024, 16(18): 1231-1252.
- [18] Ren Y X, Wu X, Bai T Y, et al. CDK5-USP30 signaling pathway regulates MAVS-mediated inflammation via suppressing mitophagy in MPTP/MPP(+) PD model [J]. Ecotoxicol Environ Saf, 2024, 279: 116446.
- [19] Dugger B N, Dickson D W. Pathology of neurodegenerative diseases [J]. Cold Spring Harb Perspect Biol, 2017, 9(7): a028035.
- [20] Cornelissen T, Vilain S, Vints K, et al. Deficiency of parkin and PINK1 impairs age-dependent mitophagy in Drosophila [J]. eLife, 2018, 7: e35878.
- [21] Siwach A, Patel H, Khairnar A, et al. Molecular symphony of mitophagy: Ubiquitin-specific protease-30 as a maestro for precision management of neurodegenerative diseases [J]. CNS Neurosci Ther, 2025, 31(1): e70192.
- [22] Jiang Y, Bian W, Chen J, et al. miRNA-137-5p improves spatial memory and cognition in Alzheimer's mice by targeting ubiquitin-specific peptidase 30 [J]. Animal Model Exp Med, 2023, 6(6): 526-536.
- [23] Diaz Escarcega R, Murambadoro K, Valencia R, et al. Sphingosine kinase 2 regulates protein ubiquitination networks in neurons [J]. Mol Cell Neurosci, 2024, 130: 103948.
- [24] Chen X, Yang Q Q, Xiao L, et al. Metal-based proteasomal deubiquitinase inhibitors as potential anticancer agents [J]. Cancer Metastasis Rev, 2017, 36(4): 655-668.
- [25] Phu L, Rose C M, Tea J S, et al. Dynamic regulation of mitochondrial import by the ubiquitin system [J]. Mol Cell, 2020, 77(5): 1107-1123.
- [26] Rusilowicz-Jones E V, Jardine J, Kallinos A, et al. USP30 sets a trigger threshold for PINK1-PARKIN amplification

- of mitochondrial ubiquitylation [J]. Life Sci Alliance, 2020, 3(8): e202000768.
- [27] Okarmus J, Agergaard J B, Stummann T C, et al. USP30 inhibition induces mitophagy and reduces oxidative stress in parkin-deficient human neurons [J]. Cell Death Dis, 2024, 15(1): 52.
- [28] Tsefou E, Walker A S, Clark E H, et al. Investigation of USP30 inhibition to enhance Parkin-mediated mitophagy: Tools and approaches [J]. Biochem J, 2021, 478(23): 4099-4118.
- [29] Fang T Z, Sun Y, Pearce A C, et al. Knockout or inhibition of USP30 protects dopaminergic neurons in a Parkinson's disease mouse model [J]. Nat Commun, 2023, 14: 7295.
- [30] Kluge A F, Lagu B R, Maiti P, et al. Novel highly selective inhibitors of ubiquitin specific protease 30 (USP30) accelerate mitophagy [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2018, 28(15): 2655-2659.
- [31] Luo H K, Krigman J, Zhang R H, et al. Pharmacological inhibition of USP30 activates tissue-specific mitophagy [J]. Acta Physiol, 2021, 232(3): e13666.
- [32] O'Brien D P, Jones H B L, Guenther F, et al. Structural premise of selective deubiquitinase USP30 inhibition by small-molecule benzosulfonamides [J]. Mol Cell Proteomics, 2023, 22(8): 100609.
- [33] Rusilowicz-Jones E V, Barone F G, Lopes F M, et al. Benchmarking a highly selective USP30 inhibitor for enhancement of mitophagy and pexophagy [J]. Life Sci Alliance, 2021, 5(2): e202101287.
- [34] Yue W, Chen Z H, Liu H Y, et al. A small natural molecule promotes mitochondrial fusion through inhibition of the deubiquitinase USP30 [J]. Cell Res, 2014, 24(4): 482-496.
- [35] Qin X, Wang R, Xu H K, et al. Identification of an autoinhibitory, mitophagy-inducing peptide derived from the transmembrane domain of USP30 [J]. Autophagy, 2022, 18(9): 2178-2197.

[责任编辑 刘东博]