

线性泛素化研究进展

周轩平 陈欣仪 陈鸿翔 许伟榕*

(上海交通大学医学院, 上海 200240)

摘要 线性泛素化是一种新型泛素化修饰方式, 不同于赖氨酸介导的多聚泛素化, 其主要通过泛素分子的首尾相连对蛋白质进行翻译后修饰, 以线性泛素化复合体(LUBAC)作为E3连接酶, 参与细胞的抗凋亡、抗病毒作用, 以及炎症反应等细胞生命活动。该文主要介绍了线性泛素化的组成、对蛋白质进行修饰的主要方式, 其参与调控的体内生理活动信号通路, 并讨论了其在肿瘤、自身免疫病等发生发展过程中所起到的表观遗传学调控作用。

关键词 线性泛素化; LUBAC; 去泛素化酶

Research Progress of Linear Ubiquitination

CHEW Sienping, TAN Xinyi, TAN Hongxiang, XU Weirong*

(Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200240, China)

Abstract Linear ubiquitination is a new kind of ubiquitin modification. Compared with the polyubiquitination mediated by lysine, linear ubiquitination mainly involves head-to-tail connection between ubiquitin molecules. Linear ubiquitination is mediated by LUBAC (linear ubiquitination complex), an E3 ligase, which participates in myriad cellular activities including anti-apoptosis, antiviral effect, and inflammation of cells. This review mainly introduces the composition and the modification ways of linear ubiquitination, the signaling pathways that linear ubiquitination has participated in, and its epigenetic regulatory roles in pathogenesis of diseases such as tumors, autoimmune diseases, etc.

Keywords linear ubiquitination; LUBAC; DUB

蛋白质的泛素化修饰是真核生物中一种常见的蛋白质翻译后修饰, 其过程主要有泛素活化酶E1、泛素结合酶E2及泛素连接酶E3的参与^[1-2]。E1活化酶结合泛素之后将其转移到E2结合酶, 整个过程是一个耗能的过程, E3连接酶随后介导了泛素与底物之间的结合。蛋白质泛素化修饰调控真核细胞的信号转导、细胞周期以及炎症应答等多个重要生命活动^[1-3]。

根据泛素与底物的连接方式不同, 可将蛋白质泛素化修饰分为单泛素化与多聚泛素化。单泛素化与多聚泛素化的差异在于单泛素化修饰是在底物上连接一个泛素蛋白分子, 而多聚泛素化修饰是在底

物上连接结构较为复杂的泛素链。7种泛素蛋白分子赖氨酸残基(K6、K11、K27、K29、K33、K48、K63) N-端的 ϵ -氨基与另一泛素蛋白分子甘氨酸残基C-端的羧基形成的异肽链连接是常见的多聚泛素化修饰方式(图1)。近年发现的线性泛素化修饰虽然也是一种多聚泛素化修饰, 但其泛素蛋白分子的连接方式有所不同, 即以泛素蛋白分子的甲硫氨酸(Met)残基N-端的 α -氨基与另一泛素甘氨酸残基C-端的羧基形成肽键, 使线性泛素化形成的泛素链不同于其他7种多聚泛素化修饰, 有着“首尾相连”的连接方式^[4-7](图1)。泛素链连接方式的不同所导致的构象差异和与之结合的蛋白底物的不同, 会引发下游一系列不同的反应, 从而在生命活动中发挥不同的作用。在已知的8种连接方式中, 以K48和K63研究得较为清楚, 近年来线性泛素化因其在众多信

收稿日期: 2021-06-16

接受日期: 2021-08-20

*通讯作者。Tel: 13917140400, E-mail: xu_weirong@163.com

Received: June 16, 2021

Accepted: August 20, 2021

*Corresponding author. Tel: +86-13917140400, E-mail: xu_weirong@163.com

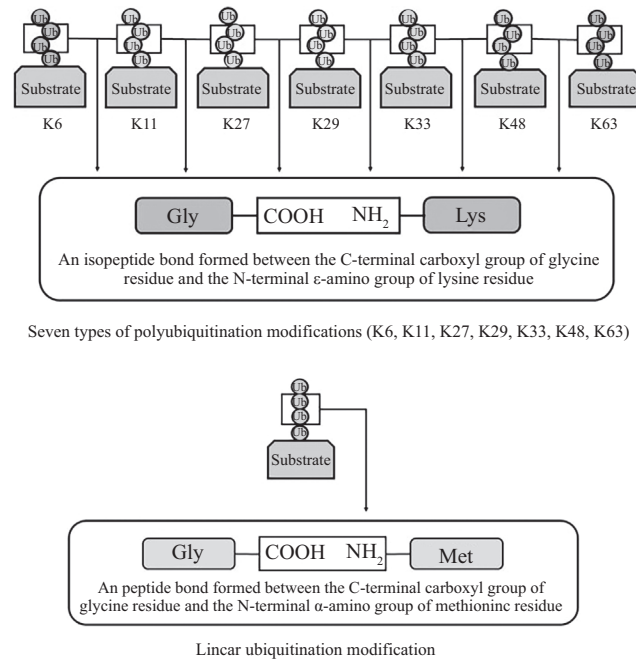


图1 多聚泛素化修饰中所涉及的不同泛素分子间连接

Fig.1 Different linkages between ubiquitin molecules involved in polyubiquitination

号转导通路中发挥的调控作用而受到广泛关注,其中包括核因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)、JAK-STAT等信号通路以及这些信号通路所介导的细胞自噬过程、细胞抗病毒作用、先天性免疫反应以及炎症反应^[5,7]。本文将着重介绍线性泛素化结构组成,以及其对底物蛋白进行线性泛素化的过程和调控机制,并阐明线性泛素化修饰在相关疾病发生发展中所起的作用。

1 线性泛素化

1.1 线性泛素化复合体

线性泛素化修饰依赖于线性泛素化复合体(linear ubiquitination complex, LUBAC)的存在, LUBAC主要由HOIL-1L相互作用蛋白(HOIL-1L interacting protein, HOIP)、血红素调节蛋白的泛素化连接酶1(heme-oxidized IRP2 ligase-1L, HOIL-1L)和SHANK相关RH结构域相互作用蛋白(SHANK-associated RH domain interacting protein, SHARPIN)共同组成^[1-2,7]。其中, HOIP由环指蛋白31(ring finger protein 31, *RNF31*)基因所编码; HOIL-1L由*RBCK1*(RanBP-type and C3HC4-type zinc finger containing 1)基因所编码; SHARPIN由*SHARPIN*基因所编码。在转录水平的调控上, *LUBAC*的转录表达可受NF- κ B以及有丝分裂原-活化蛋白激酶(mitogen-activated pro-

tein kinase, MAPK)信号通路的影响,如当NF- κ B通路被激活时,核因子可进入细胞核内与相应的DNA结合位点结合,促使LUBAC组件的转录^[8-10]。另外, LUBAC的3个组件可发生磷酸化、泛素化等翻译后修饰,从而对LUBAC的稳定性、组件间的相互作用以及LUBAC的活性进行调控。例如, *RNF31*(S383、S466)、*RBCK1*(S50、Y330)和*SHARPIN*(S165、S312)的多个氨基酸位点发生磷酸化修饰后对维持LUBAC稳定性和其组件之间的相互结合有重要作用^[11-14]。此外, LUBAC的自身泛素化修饰会抑制LUBAC自身的活性,此抑制作用可通过与其共因子和底物结合而被抵制^[15]。

LUBAC是目前发现的唯一能够进行线性泛素链组装的泛素连接酶E3^[5]。泛素连接酶E3可分为RING型、HECT型和兼有RING和HECT功能特征的RBR型, LUBAC属于同时兼有RING和HECT功能特征的RBR型。RBR型具有RING1和RING2 2个结构域, RING1具有RING的功能特性,即RING1在识别负载泛素的E2(E2-ub)后,将其转移到具有HECT特性的RING2上与泛素形成硫酯中间体,之后再将其转移到LUBAC的底物中,由此完成线性泛素链的组装过程^[7,16]。

LUBAC的3个组件具有各自的结构域,不同组件的结构域之间发生相互作用,使得LUBAC得以

稳定存在并行使其功能。HOIP作为LUBAC的功能单位,具有5个主要的结构域,分别为C-端线性泛素链决定域(linear ubiquitin chain determining domain, LDD)、RBR结构域、泛素相关结构域(ubiquitin-associated domain, UBA)、核蛋白定位蛋白4锌指结构域(nuclear protein localization protein 4 zinc finger, NZF)以及N-聚糖酶和含有UBA或UBX的蛋白质(PNGase/UBA or UBX-containing protein, PUB)结构域^[16-17]。RBR结构域是LUBAC进行线性泛素化修饰的关键活性区域;LDD结构域对E2所转移的泛素分子N-端进行定位,从而对被定位的泛素分子进行组装,形成线性泛素链^[17]。

HOIL-1L的作用主要是调控HOIP的活性及稳定LUBAC的结构。HOIL-1L具有4个主要的结构域,分别为泛素样蛋白结构域(ubiquitin-like domain, UBL)、RBR结构域、NZF结构域以及LUBAC锚定基序(LUBAC-tethering motif, LTM)^[16,18]。HOIL-1L的RBR结构域具有E3连接酶活性,能促进蛋白质发生泛素化;NZF结构域能够特异性结合线性泛素链辅助LUBAC在NF- κ B信号通路中的调控作用^[19-20]。

SHARPIN的功能与HOIL-1L相类似,具有辅助LUBAC催化活性的激活和维持LUBAC结构稳定性的作用。SHARPIN具有3个主要的结构域,分别为UBL结构域、NZF结构域以及LTM结构域。SHARPIN与HOIL-1L具有许多相似的结构域,通过与其他组件的相互作用行使不同功能。例如SHARPIN和HOIL-1L可通过两者均具有的UBL结构域与HOIP的UBA结构域结合,从而改变HOIP UBA结构域的构象,促进E2中的泛素分子转移到LUBAC,并辅助HOIP的线性泛素化的催化活性激活^[17,21]。另外,SHARPIN与HOIL-1L可通过两者均具有的LTM结构域相互作用形成异源二聚体,抑制LUBAC的分离,维持LUBAC的稳定性。此外,虽然HOIL-1和SHARPIN的NZF结构域高度同源,但两者对于泛素链的亲合力不同,因此两者在功能上略微不同。以LUBAC在NF- κ B通路中的调控作用为例,HOIL-1L的NZF结构域能够特异性结合线性泛素链,从而促进LUBAC对NF- κ B信号通路的激活,但是HOIL-1L的NZF结构域不结合K63泛素链,也不结合K48泛素链;而SHARPIN的NZF结构域在该通路中则能够识别并结合K63泛素链、K48泛素链和线性泛素链^[20,22]。所以相较于HOIL-1, SHARPIN

的NZF结构域能通过识别K63泛素链从而更有效地将LUBAC募集到肿瘤坏死因子受体(tumor necrosis factor receptor, TNFR)复合体中,再进一步促进NF- κ B信号通路的激活,抑制肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)所介导的细胞死亡^[22]。因此,LUBAC的HOIL-1和SHARPIN中的NZF结构域通过协同作用,可辅助LUBAC在NF- κ B信号通路中的调控作用^[20]。

1.2 去泛素化酶

泛素化修饰是一个受到严格调控的动态可逆过程,去泛素化为其调控的方式之一,且去泛素化过程由去泛素化酶(deubiquitinating enzyme, DUB)介导。DUB可选择性地作用于泛素蛋白分子之间的连接从而进行去泛素化修饰^[23]。目前已知能够进行去线性泛素化的DUB主要包括卵巢肿瘤结构域线性链接特异性去泛素化酶(OTU deubiquitinase with linear linkage specificity, OTULIN)和圆柱瘤基因(cylindromatosis gene, CYLD)蛋白^[1]。

1.2.1 OTULIN OTULIN是DUB家族卵巢肿瘤相关蛋白酶(ovarian tumour proteases, OTUs)亚族成员之一,为特异性解聚线性泛素链的去泛素化酶^[24-25]。OTULIN分子的高度特异性取决于分子中3个高度保守的氨基酸残基(Cys129、His339、Asn341),这些氨基酸残基通过空间位置的改变激活OTULIN的酶水解功能,使其对线性泛素链具有高亲合力及高度特异性^[5,26]。OTULIN由FAM105B基因所编码,其转录表达受NF- κ B信号通路等的影响^[27]。OTULIN重要结构域包括OTU结构域和PUB交互基序(PUB-interacting motif, PIM)结构域,其中OTU结构域是其主要的催化中心^[28]。OTULIN可以通过PIM结构域和HOIP的N-端PUB结构域进行相互作用,在去磷酸化的情况下,OTULIN与LUBAC结合并发挥去线性泛素化作用,而PIM结构域中Tyr56的磷酸化抑制了其与PUB结构域的结合,导致OTULIN的去线性泛素化作用受到抑制^[29-30]。此外,当OTULIN的Tyr56位点发生突变时也同样会抑制OTULIN与HOIP的结合,抑制OTULIN的去线性泛素化作用^[23,28]。另外,由于OTULIN在线性泛素化修饰中有负调控的作用,因此OTULIN可参与一系列与线性泛素化相关的信号通路的调控,其中包括细胞死亡、血管新生、机体免疫等生理活动的调控^[24,31-32]。OTULIN在内皮细胞、造血细胞以及角质形成细胞等细胞中通

过与LUBAC结合调节TNF信号通路,参与细胞的死亡调节,对细胞死亡有抑制作用,若OTULIN发生缺陷则会促进细胞死亡^[24,33]。除此之外,OTULIN也可以通过调控活化素受体样激酶1(activin receptor-like kinase 1, ALK1)的泛素化介导血管新生,OTULIN与LUBAC结合的结构域若发生点突变(W96DR、D336E)则可导致OTULIN的失活,造成血管生成缺陷^[32,34]。OTULIN也具有抑制机体单核细胞产生I型干扰素的作用,当OTULIN的功能存在缺陷时,可导致特定干扰素趋化因子含量升高,导致机体免疫功能亢进^[31]。而OTULIN功能发生缺陷也会导致疾病的发生例如早发且呈全身性炎症的OTULIN相关自身炎症综合征(OTULIN-related autoinflammatory syndrome, ORAS)^[35]。

1.2.2 CYLD CYLD为DUB的泛素特异性蛋白酶(ubiquitin-specific proteases, USPs)亚族成员之一,其转录翻译调控受NF- κ B及MAPK信号通路的影响^[25,36-38]。OTULIN与CYLD均为负调控线性泛素化的去泛素化酶,两者间具有协同和相互竞争的关系。CYLD除了具有C-端USP催化结构域以外,还具有3个细胞骨架关联蛋白甘氨酸富含结构域(cytoskeleton-associated protein glycine-rich domain, CAP-Gly domain)以及2个脯氨酸结构域(proline-rich domain, PR domain)^[39]。OTULIN与CYLD的作用特性主要有两点不同。第一,OTULIN能直接和LUBAC中的HOIP连接,从而介导线性泛素链发生水解,而CYLD则是在和LUBAC作用前,需要先通过其USP结构域与精子发生相关蛋白2(spermatogenesis-associated protein 2, SPATA2)的PUB结构域结合,再与LUBAC的HOIP结合,从而介导去泛素化作用^[25,36]。由此可见,与OTULIN直接和HOIP相连接不同,CYLD与HOIP属于间接连接。第二,由于OTULIN结构的特殊性,因此其仅能够特异性针对线性泛素化链进行水解,而CYLD在参与去泛素化时具有双重特异性,即可对K63泛素链和线性泛素链进行修饰^[40]。值得注意的是,CYLD对K11-连接以及K48-连接也有较弱的去泛素化作用^[41]。以上两点表明,OTULIN和CYLD均能特异性地移除线性泛素链,对蛋白进行去线性泛素化修饰,拮抗LUBAC的去线性泛素化作用。此外,由于OTULIN和CYLD-SPATA2与LUBAC的结合区域均为LUBAC中HOIP的PUB

结构域,因此两者间存在与同一个LUBAC结合的竞争关系^[40]。作为DUB的成员之一,CYLD参与了NF- κ B等信号通路的调控,从而影响机体免疫、炎症等生理反应的调控过程,并在肿瘤发生等病理过程中有着重要的治疗意义^[25,33,42]。除此之外,CYLD对K11-连接以及K48-连接也有较弱的去泛素化作用,而其中CYLD通过对K48-连接进行去泛素化作用,可稳定干扰素基因刺激因子(stimulator of interferon genes, STING)的结构以及活性,并使得机体的先天性免疫能够持续运行^[41,43]。

2 线性泛素化参与调控的信号转导通路

在机体内,LUBAC可通过介导不同底物的线性泛素化,参与调控细胞的生命活动,如细胞死亡、炎症、自噬反应以及抗病毒信号转导等。

2.1 线性泛素化对细胞死亡的调控

正常生理情况下,肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)信号转导通路主要通过调节NF- κ B的转录,继而对特定基因起到激活的作用,这也是第一个被发现受线性泛素化调控的信号通路^[2]。TNF信号转导通路始于TNF受体(tumor necrosis factor receptor, TNFR)与TNF之间的特异性结合。TNF-TNFR的结合招募受体相互作用蛋白激酶1(receptor-interacting serine/threonine-protein kinase 1, RIPK1)和肿瘤坏死因子受体相关死亡域蛋白(tumor necrosis factor receptor type 1-associated death domain, TRADD)至TNFR,三聚化形成肿瘤坏死因子受体信号复合体(TNFR signaling complex, TNFRSC),即复合体I。复合体I可招募TNF受体相关因子-2(TNF receptor-associated factor 2, TRAF2),而TRAF2与之结合后可招募细胞凋亡抑制蛋白1/2(cellular inhibitor of apoptosis protein 1/2, cIAP1/2)参与复合体的形成。cIAP1/2被激活后,可吸引并诱导LUBAC对复合体I组件中的各种底物如NEMO、TRADD、RIPK1和TNFR进行线性泛素化修饰^[2,44]。底物中,NF- κ B必需调节蛋白(NF- κ B essential modulator, NEMO)特有的泛素结合结构域UBAN(ubiquitin binding in ABIN and NEMO)对线性泛素链的亲和力相比于其他底物(如RIPK1、TRADD等)高约100倍,而这正反映了线性泛素化在此通路中的关键调控作用^[45]。NEMO在受到线性泛素化后可促使I κ B激酶(I κ B kinase, IKK)复合体向TNFRSC靠拢。该复合体含有2个亚基,分别为IKK α

和IKK β ^[2]。当IKK复合物向TNFRSC靠拢时,IKK α/β 将发生反式自磷酸化活化,并借此激活下游的NF- κ B,使其进入细胞核激活生存所需的基因如FLICE样抑制蛋白(FLICE-like inhibitory protein, FLIP)、B淋巴细胞瘤-xL(B-cell lymphoma-extra large, BCL-xL)等^[45]。

LUBAC介导TNF信号转导通路中复合体I的形成,并通过对NEMO进行线性泛素化修饰促进NF- κ B信号通路的激活,使细胞得以存活。但在LUBAC不存在的情况下,TNF信号通路可通过形成复合体II,从而起到促进细胞死亡的作用。这是因为当LUBAC缺失时,RIPK1可从复合体I中释放,参与复合体II的形成(图2)。复合体II存在于细胞质内,主要由RIPK1招募Fas相关死亡结构域(Fas-associated death domain, FADD)、半胱天冬酶8(caspase-8)、FLICE样抑制蛋白(cellular FLICE-like inhibitory protein, cFLIP)、RIPK3和混合谱系激酶域样蛋白(mixed lineage kinase domain-like protein, MLKL)等组成^[2]。涉及该调控中的复合体II主要分为IIa、IIb、IIc 3种类型。不同类型的复合体II具有不同的作用。复合体IIa和IIb主要介导细胞的凋亡。因此,未被泛素化的RIPK1需被半胱天冬酶原8-FLIP-异二聚体(pro-caspase-8-FLIP heterodimer)或活性半胱天冬酶8(active caspase-8)切除,以防止细胞发生坏死性凋

亡。若RIPK1没有被切除或发生裂解,RIPK1则会参与复合体IIc的形成,通过激活MLKL导致质膜完整性被破坏,从而诱导细胞发生坏死性凋亡^[2,46](图2)。综上所述,LUBAC可对其底物进行线性泛素化修饰,从而影响TNF信号转导通路的下游通路,且其缺失会诱导细胞死亡的发生。

2.2 线性泛素化对自噬过程的调控

自噬(autophagy)是真核生物体内高度保守的,对细胞内物质进行分解代谢再利用的过程,该过程主要包括受损蛋白或细胞器形成自噬体(autophagosome),自噬体与溶酶体结合,产物最后被降解或再利用^[47]。自噬过程受机体多种信号通路调控,近期有研究发现在自噬过程中,自噬相关蛋白13(autophagy-related protein 13, ATG13)是线性泛素化的底物,提示线性泛素化修饰参与了自噬过程的调控。在机体处于应激状态时,ATG13可被线性泛素化修饰,并通过募集Unc-51样自噬激活激酶1(Unc-51 like autophagy activating kinase 1, ULK1)、RB1的诱导卷曲蛋白(RB1 inducible coiled-coil 1, RB1CC1)和ATG101,形成Unc-51样激酶1(Unc-51 like autophagy activating kinase 1, ULK1)复合体。ULK1复合体是调控自噬过程起始的关键复合物,ULK1可靠拢自噬前体膜(phagophore),促进膜的延伸,形成自噬小体。除了LUBAC外,OTULIN在此过程中也起着重要作

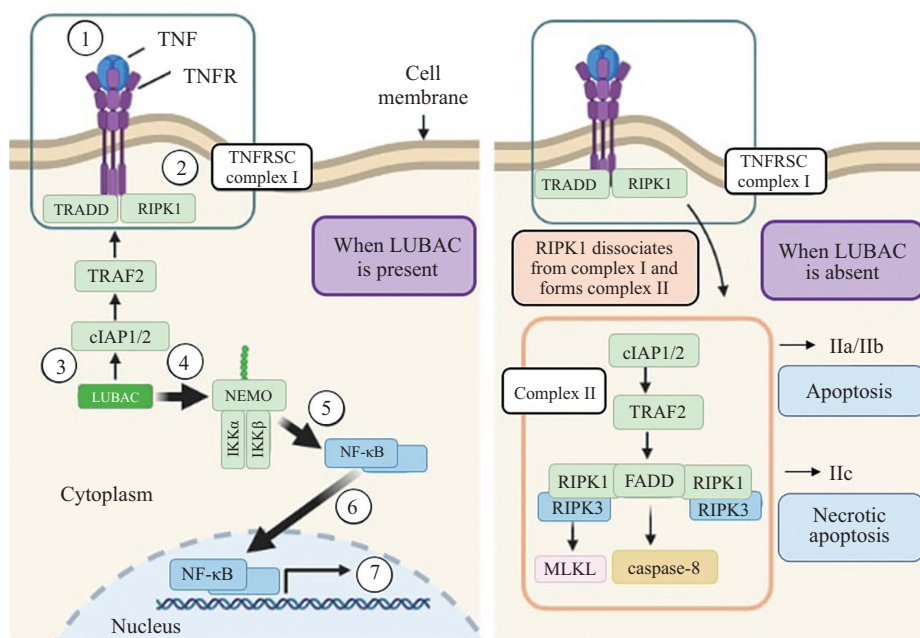


图2 线性泛素化通过TNF信号通路参与细胞死亡调控

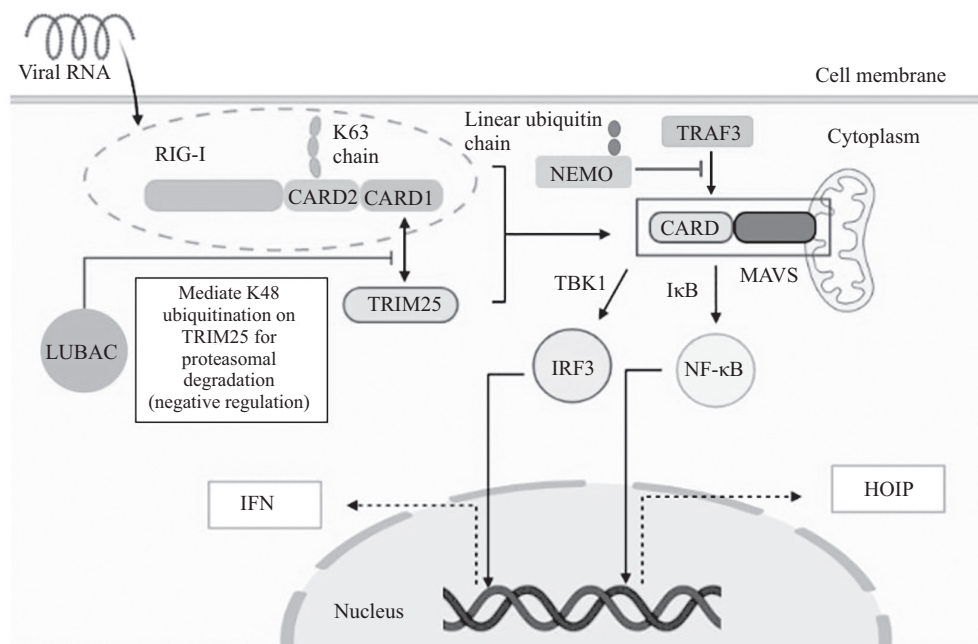
Fig.2 Linear ubiquitination participates in the regulation of cell death via TNF signaling pathway

用, OTULIN能够对ATG13进行去线性泛素化,解聚ULK1复合体,防止自噬前膜过度延伸。同时,OTULIN也能够促进自噬体的成熟,在自噬过程中发挥重要的调节作用^[48]。

2.3 线性泛素化对抗病毒信号通路的调控

病毒入侵机体时,病毒RNA会与维甲酸诱导基因-I(retinoic acid-inducible gene-I, RIG-I)结合,促使RIG-I的半胱天冬酶募集结构域(caspase recruitment domain, CARD)与三重基序蛋白25(tripartite motif containing protein 25, TRIM25)结合,并诱导RIG-I的CARD2结构域发生K63泛素化,继而促使RIG-I转移至线粒体中。在线粒体中,RIG-I和肿瘤坏死因子受体相关因子3(TNF receptor-associated factor 3, TRAF3)结合至线粒体抗病毒信号蛋白(mitochondrial antiviral-signaling protein, MAVS)上,MAVS受结合激活后可通过TANK-结合激酶1(TANK-binding kinase 1, TBK1)和IKK分别诱导下游的IRF3和NF- κ B途径,促进干扰素和HOIP的生成^[8,49-51](图3)。在上述途径中,LUBAC对TRAF3与MAVS的结合有着负调控的作用,LUBAC可对NEMO进行线性泛素化,受线性泛素化修饰后的NEMO可结合TRAF3并

阻止TRAF3与MAVS的结合,从而抑制干扰素的生成^[49]。生成的HOIP和干扰素在抗病毒信号通路中对STAT1(signal transducer and activator of transcription 1)的线性泛素化修饰分别起着介导和调控的作用。STAT1蛋白在静息细胞中受HOIP高度线性泛素化而失活,失活时并无抗病毒作用。在病毒入侵机体时,受诱导生成的I型干扰素(interferon I, IFN I)可与细胞膜上的干扰素 α/β 受体2(interferon-alpha/beta receptor 2, IFNAR2)结合,诱导OTULIN对STAT1蛋白进行去线性泛素化。去线性泛素化后的STAT1蛋白在干扰素与细胞膜上的IFNAR1或IFNAR2结合后被招募至该受体的胞内段,在Janus激酶1(Janus kinase 1, JAK1)的催化下,于该受体酪氨酸第701位点被磷酸化。磷酸化后的STAT1形成了IFN-诱导基因因子3(IFN-stimulated gene factor 3, ISGF3)复合体,然后转移入细胞核内与干扰素诱导应答元件(IFN-stimulated response element, ISRE)位点结合,诱导抗病毒IFN刺激基因(IFN-stimulated gene, ISG)的表达^[8](图4)。ISG所编码的蛋白在抗病毒感染中有重要作用,如增强机体对病毒感染的固有免疫应答^[52]。

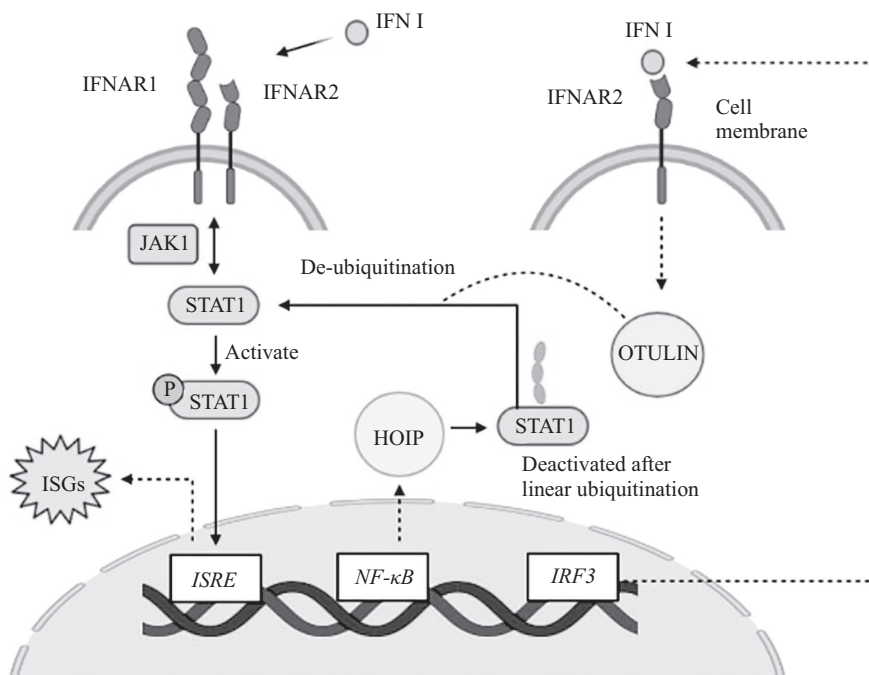


实线箭头为信号通路进展的途径;虚线箭头为该通路生成产物的途径;T型箭头所指向的途径为受抑制途径;虚线圆圈为RIG-I分子;实线方框为MAVS分子。

Solid arrow represents the progression of the signalling pathway; dotted arrow represents the pathway of generating the product; the pathway connected by the T-shaped arrow indicates that the pathway is under inhibition; dotted circle represent the RIG-I molecule; square represents the MAVS molecule.

图3 病毒感染时HOIP和干扰素的生成机制

Fig.3 Mechanism of HOIP and interferon production during viral infection



实线箭头为直接影响; 虚线箭头为通过一系列中间机制而导致的影响。

Solid arrow represents the direct effect; dotted arrow represents the effect brought by a series of underlying mechanism.

图4 在干扰素诱导下去泛素化通过激活JAK-STAT信号通路所介导的抗病毒作用

Fig.4 The antiviral function mediated by deubiquitylation through JAK-STAT signalling pathway which is induced by interferon

2.4 线性泛素化对炎症反应的调控

线性泛素化亦参与了炎症反应的调控。炎症的发生由炎性小体(inflammasome)介导,可诱导细胞在炎症应激的病理条件下死亡。炎性小体的组成由线性泛素化底物——凋亡相关斑点样蛋白(apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD, ASC)与Nod样受体蛋白3(Nod-like receptor protein 3, NLRP3)的结合所介导^[45,53]。NLRP3是一种在细胞感染或应激时被激活的蛋白质,其激活可促使炎症细胞因子如IL-1 β 和IL-18的caspase-1依赖性分泌。NLRP3蛋白的激活多源于外源性刺激如钾离子外流和线粒体损伤等。NLRP3蛋白受激活的同时,ASC会被LUBAC进行线性泛素化修饰^[53],然后ASC中的CARD结构域便与pro-caspase-1结合,将其裂解为具有活性的caspase-1。NLRP3蛋白、ASC、caspase-1共同组成了NLRP3炎性体。接着,炎性体可通过caspase-1将机体内的炎症细胞因子前体(pro-IL-1 β 、pro-IL-18)裂解为具有活性的炎症细胞因子(IL-1 β 、IL-18),继而参与炎症的发生^[2,53-54]。因此,线性泛素化在NLRP3/ASC炎性体的装配过程中发挥了重要作用,说明了LUBAC通过其介导的线性泛素化可在固有免疫中

作为一种调节因子,参与炎症的发生。

3 线性泛素化与疾病

LUBAC通过对底物的线性泛素化,在不同组织细胞中发挥不同的生理调节作用。当线性泛素化异常时,会造成机体中各信号通路的紊乱,从而对自身免疫性疾病、神经退行性疾病、肿瘤等疾病的发生发展产生影响。

3.1 线性泛素化与炎症和自身免疫性疾病

LUBAC是免疫系统的重要组成部分,如前所述,LUBAC在促炎信号通路中具有关键作用,当细胞内的LUBAC活性过度增强时,会对相应底物的过度线性泛素化造成过度炎症损伤;而当LUBAC发生缺失和突变时,NF- κ B的活化将被削弱,导致细胞因子的募集不足而不能发挥正常的免疫功能,此外LUBAC还可以通过影响形成复合体II的形成,从而促进细胞凋亡,导致免疫缺陷。最近的研究发现,在缺乏HOIL-1L的人成纤维细胞中,LUBAC的线性泛素化活性降低,此时可观察到人成纤维细胞中由白介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)和TNF所介导的NF- κ B激活程度下降,导致由TNF和IL-1 β 介导的免疫反应削弱,造成免疫缺陷,使机会性感染的易感

性增强^[55-56]。与之相反的是,在 *HOIL-1L* 缺乏的单核细胞中,由 *IL-1 β* 所介导的免疫反应则有过度活化的表现,并引起自发炎症反应。因此,缺乏 *HOIL-1L* 的患者可同时具有自发性炎症反应综合征和化脓性细菌感染的临床表现^[55-56],由此也体现出 *LUBAC* 在不同细胞中发生异常时可引起不同的病理表现。

系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)是一种自身免疫性炎性风湿病,其易感性受到遗传、环境以及两者间相互作用等诸多因素的影响。*UBE2L3* 可作为 E2 泛素结合酶参与细胞增殖和免疫调节。研究发现, *UBE2L3* (ubiquitin-conjugating enzyme E2 L3) 基因是 SLE 的易感基因,其遗传变异与 SLE 的易感性相关,并且在 SLE 患者体内的免疫细胞中发现突变的 *UBE2L3* 含量异常升高^[57]。尤其是在 SLE 患者体内的成浆细胞和浆细胞中特别明显,推测突变的 *UBE2L3* 可通过与 *LUBAC* 的相互作用加强 SLE 患者体内 NF- κ B 的活化,导致 B 细胞异常增殖发育。基于 *UBE2L3* 在细胞增殖和免疫调节方面的作用,因此 *UBE2L3* 被认为是 SLE 和其他自身免疫性疾病的潜在治疗靶标^[57]。

甲型流感病毒(influenza A virus, IAV)的感染与肺炎、呼吸衰竭和死亡都有所关联,其病理机制主要是在病毒感染过程中,肺泡上皮细胞(alveolar epithelial cell, AEC)被非特异性杀伤导致局部损伤和炎症反应,使肺泡渗透压降低,造成水肿和气体交换障碍。而研究标明, AEC 的非特异性损伤也与线性泛素化相关^[58-59]。IAV 进入 AEC 被 RIG-I 识别后,激活具有 *LUBAC* 依赖性的 NF- κ B 和 IRF3 下游信号通路,诱导细胞因子如 IFN 的产生。已感染的 AEC 生成的 IFN 与尚未感染的 AEC 表面的 IFNAR1 结合后激活下游信号通路,产生的 IRF1 上调 AEC 中 *HOIL-1L* 的表达,促使 *LUBAC* 大量生成,引起 *LUBAC* 对 TNFRSC 下游 NF- κ B 信号通路的高度激活,诱使更多的细胞因子产生,加剧细胞因子风暴,最终导致炎症反应过度,造成严重的肺损伤。研究发现,虽然通过敲除 *HOIL-1L* 抑制 *LUBAC* 线性泛素化的能力能有效抑制过度的炎症反应和严重的肺损伤,但敲除 *HOIP* 基因导致的 *LUBAC* 活性完全丧失会造成 IAV 感染期间的预后恶化^[58-59]。

3.2 线性泛素化与神经退行性疾病

神经退行性疾病(neurodegenerative disorders, NDAs)是由蛋白质在机体内被错误加工和折叠从而

形成异常蛋白质聚集体引起的。蛋白质聚集体在细胞中沉淀后,无法通过泛素-蛋白酶体途径或自噬途径降解,导致错误折叠蛋白质在神经细胞集聚产生细胞毒性,引起神经细胞死亡,造成中枢神经系统或周围神经系统逐渐退化。近来有研究发现, *LUBAC* 能够被募集到蛋白质聚集体中,通过对蛋白质聚集体进行线性泛素化修饰来抑制其产生细胞毒性^[60]。

亨廷顿病(Huntington disease, HD)是一种常染色体显性遗传神经退行性疾病,由亨廷顿基因外显子中编码谷氨酰胺的 CAG 三联体序列异常重复所致^[60]。此基因突变可导致谷氨酰胺蛋白的异常聚集,并在细胞内形成不溶性的蛋白质沉淀致使神经细胞死亡。研究发现,异常聚集的蛋白质中存在可被线性泛素化的底物,如在亨廷顿病患者中发现了 *HOIP* 蛋白质的表达水平相较于正常人显著降低。在正常的情况下, *LUBAC* 的 3 个组分均受到转录因子特异性蛋白 1 (specificity protein 1, Sp1) 的转录调控^[61],能够被募集到错误折叠的蛋白质中,并且使其线性泛素化,促使错误折叠的亨廷顿蛋白通过蛋白酶体途径降解或通过自噬过程清除^[61],从而降低错误折叠的蛋白质对神经细胞的损伤。在 HD 中,由于 CAG 序列的扩增增强了 Htt-polyQ 蛋白与 Sp1 的相互作用,抑制了 Sp1 的转录活性,从而也造成了 *LUBAC* 在 HD 中的低表达,抑制了 *LUBAC* 对错误折叠的 Htt 蛋白进行的线性泛素化修饰,导致错误折叠的 Htt 蛋白无法通过蛋白酶体途径降解,并在神经细胞中堆积产生细胞毒性^[60-61]。

肌萎缩性侧索硬化症(amyotrophic lateral sclerosis, ALS)可分为散发性肌萎缩性侧索硬化症(sporadic ALS, SALS)和家族遗传性肌萎缩性侧索硬化症(familial ALS, FALS),是一种迟发性神经退行性疾病。ALS 的发生与高度磷酸化、泛素化的病理性 TAR-DNA 结合蛋白-43(transactive response DNA binding protein-43, TDP-43)的异常聚集所引起的神经细胞死亡有关,而 *LUBAC* 在 TDP-43 蛋白的清除中发挥了重要的作用^[35]。错误聚集的 TDP-43 蛋白质聚集体在通过 K48 连接介导的蛋白酶体途径降解不足时,会发生线性泛素化和 K63 多聚泛素化所介导的自噬水解。蛋白酶体-降解途径和自噬清除对异常聚集的 TDP-43 蛋白的降解不足造成了蛋白质在大脑和脊髓中的异常沉积,导致细胞死亡和炎症的发生,这是 ALS 发病的重要机制之一^[62]。

3.3 线性泛素化与肿瘤

LUBAC通过线性泛素化NF- κ B信号通路中的相应底物,从而活化NF- κ B信号通路,在肿瘤的发生发展中发挥着重要作用。NF- κ B的过度活化已被证实与肿瘤细胞的过度增殖和存活、肿瘤的耐药性相关^[63]。

研究表明,对B细胞样-弥漫性大B细胞淋巴瘤(activated B-cell like DLBCL, ABC-DLBCL)患者的活组织进行基因筛查时,发现了LUBAC的HOIP基因出现的2个常见的错义突变,即泛素相关结构域(ubiquitin-associated domain, UBA)中的谷氨酰胺584变为组氨酸(Q584H),谷氨酰胺622变为亮氨酸(Q622L)。这2个突变使HOIP和HOIL-1L之间的相互作用增强,导致LUBAC过度活化^[64]。LUBAC的过度活化与ABC-DLBCL患者机体中B细胞受体和Toll样受体(TLR)信号通路中NF- κ B信号通路异常活化相关。一项研究数据显示,有30%的ABC-DLBCL与TLR信号通路中NF- κ B的异常激活有关。NF- κ B异常激活与髓样分化因子88(myeloid differentiation primary response protein 88, MYD88)的第265位氨基酸错义突变相关,MYD88的突变异常激活肿瘤坏死因子,从而激活NF- κ B信号通路^[65]。活性增强的LUBAC与发生突变的MYD88具有协同作用,促进了MYD88介导的信号转导中NF- κ B的过度活化,使癌细胞免于DNA损伤所诱导的死亡,得以快速增殖,较大程度上驱动了B细胞淋巴瘤的发展。不仅如此,在B细胞受体(B-cell receptor, BCR)介导的信号通路中,过度活化的LUBAC促进CBM(CARD11-BCL10-MALT1)衔接子复合体的募集装配,CBM的装配激活IKK,从而促进经典NF- κ B信号通路的激活,使得癌细胞大量增殖,进而促进B淋巴瘤的发展^[65]。因此,过度活化的LUBAC通过影响ABC-DLBCL中异常的两条信号通路(TLR和BCR所介导的通路),在肿瘤的发生和发展中发挥重要的作用^[64-66]。

近期研究还发现在雌激素受体(estrogen receptor, ER)阴性乳腺癌中内吞蛋白(Epsin)同时与LUBAC和NEMO相互作用,促进NEMO募集到TNFR1复合体,LUBAC对NEMO的线性泛素化,使NF- κ B信号通路保持持续活化,阻断细胞凋亡,促进乳腺癌的发展,因而认为Epsin的水平与ER阴性乳腺癌的复发率相关^[67]。在肺鳞状细胞癌(lung squamous cell carcinoma, LSCC)中已发现LUBAC

的含量提高,而LUBAC的含量升高造成了NF- κ B的过度活化,抑制了肿瘤细胞的凋亡,促进了肿瘤的发展。LSCC对化疗剂顺铂产生的肿瘤耐药性被证实与LUBAC相关,当利用LUBAC抑制剂抑制LUBAC活性时,可使LSCC对顺铂药物敏感,因此将LUBAC抑制剂与铂类药物联合使用,或许可以作为治疗LSCC的策略^[63]。

4 以线性泛素化为靶点的疾病治疗研究

如前所述,线性泛素化与疾病的发生发展有密切的关系,因此LUBAC已成为治疗许多疾病的潜在靶标。已知去线性泛素化与线性泛素化在维持细胞稳态中发挥了重要的作用,在正常情况下其能够通过抑制过量的线性泛素化,起到抑制过度炎症反应的作用,当去泛素化酶发生突变或缺失时,LUBAC对相应底物的过度线性泛素化会造成上述所说的过度炎症损伤^[55-56]。

上述线性泛素化靶点治疗方式主要基于两大策略,第一是抑制线性泛素化过度活化的信号通路;第二则是通过敲除或抑制LUBAC组分的募集,从而抑制LUBAC活性。例如,OTULIN是一种特异性的去线性泛素化酶,当其发生突变时,无法负调控LUBAC对NEMO线性泛素化,造成由TNF所诱导的NF- κ B信号通路过度激活,引起OTULIN相关的自身炎症反应综合征(OTULIN-related auto-inflammatory syndrome, ORAS),该疾病会导致严重的炎症和自身免疫反应,而ORAS可用TNF中和抗体进行治疗,TNF中和抗体在未来或许可用于治疗由过量线性泛素化所引起的相应信号通路过度活化所导致的疾病^[2,5,35]。

有研究发现,胶质毒素可以通过与HOIP中的RBR结构域结合而抑制LUBAC,从而抑制NF- κ B的过度活化,也有实验曾经利用胶质毒素抑制LUBAC在肺鳞状细胞癌细胞中的活性,从而使癌细胞对顺铂药物敏感^[68]。但是由于胶质毒素是一些真菌如烟曲霉的代谢产物,因而具有一定的毒性,尚且不能在临床实践中使用^[68]。

HOIPIN-1(HOIP inhibitor-1)及其衍生物HOIPIN-8作为化学抑制剂,能够有效抑制LUBAC的线性泛素化,从而抑制NF- κ B的活化^[69]。其主要通过修饰HOIP中具有催化活性的RING-2活性位点Cys885,抑制HOIP中的RBR之间的相互作用,抑制

由TNF- α 和IL-1 β 所诱导的NF- κ B的活化,从而减轻由LUBAC过度线性泛素化所引起的炎症反应。另外,HOIPIN-1和HOIPIN-8可通过促使复合体II的形成从而增加TNF- α 所诱导的细胞凋亡。因此,HOIPIN-1和HOIPIN-8或许可作为治疗活化B细胞样弥漫性大B细胞淋巴瘤的手段^[69-70]。此外,肽抑制剂能够在癌细胞(包括纤维肉瘤、胰腺瘤、结肠癌、宫颈癌细胞)中通过抑制LUBAC的活性从而降低NF- κ B的活性。由于LUBAC在不同类型的癌症中可能具有特定的功能,因而活性肽在不同类型的癌细胞中对LUBAC抑制作用也有不同之处,因此尚需更多的研究来探讨活性肽在癌症中的治疗作用^[71]。

5 结语

综上所述,LUBAC介导的线性泛素化是一种较新的蛋白质泛素化修饰方式,LUBAC底物的线性泛素化与去线性泛素化的动态平衡是维持机体多种正常生理功能所必需的,其调控的失衡与免疫性疾病、神经退行性疾病、肿瘤等疾病的发生发展高度相关。此外,对于线性泛素化的研究仍有许多疑问,例如是否还有更多受到线性泛素化调控的底物蛋白,是否有其他介导线性泛素化的复合体,线性泛素化是否参与其他信号通路,尚未得到解答。相信对于线性泛素化的进一步研究将有助于探明更多疾病的发生与转归机制,并提供靶向治疗的新思路。

参考文献 (References)

- [1] KIRISAKO T, KAMEI K, MURATA S, et al. A ubiquitin ligase complex assembles linear polyubiquitin chains [J]. *EMBO J*, 2006, 25(20): 4877-87.
- [2] PENG J, SCHWARTZ D, ELIAS J E, et al. A proteomics approach to understanding protein ubiquitination [J]. *Nat Biotechnol*, 2003, 21(8): 921-6.
- [3] KOMANDER D, REYES-TURCU F, LICCHESI J D, et al. Molecular discrimination of structurally equivalent Lys 63-linked and linear polyubiquitin chains [J]. *EMBO Rep*, 2009, 10(5): 466-73.
- [4] KIM H T, KIM K P, LLEDIAS F, et al. Certain pairs of ubiquitin-conjugating enzymes (E2s) and ubiquitin-protein ligases (E3s) synthesize nondegradable forked ubiquitin chains containing all possible isopeptide linkages [J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(24): 17375-86.
- [5] DENG L, MENG T, CHEN L, et al. The role of ubiquitination in tumorigenesis and targeted drug discovery [J]. *Signal Transduct Tar*, 2020, 5(1): 1-28.
- [6] HIRANYAKORN M, YANAKA S, SATOH T, et al. NMR characterization of conformational interconversions of Lys48-linked ubiquitin chains [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(15): 5351.
- [7] FUSEYA Y, FUJITA H, KIM M, et al. The HOIL-1L ligase modulates immune signalling and cell death via monoubiquitination of LUBAC [J]. *Nat Cell Biol*, 2020, 22(6): 663-73.
- [8] ZUO Y, FENG Q, JIN L, et al. Regulation of the linear ubiquitination of STAT1 controls antiviral interferon signalling [J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 1-5.
- [9] VARFOLOMEEV E, GONCHAROV T, MAECKER H, et al. Cellular inhibitors of apoptosis are global regulators of NF- κ B and MAPK activation by members of the TNF family of receptors [J]. *Sci Signal*, 2012, 5(216): ra22.
- [10] HAAS T L, EMMERICH C H, GERLACH B, et al. Recruitment of the linear ubiquitin chain assembly complex stabilizes the TNF-R1 signaling complex and is required for TNF-mediated gene induction [J]. *Mol Cell*, 2009, 36(5): 831-44.
- [11] ZHOU H, DI PALMA S, PREISINGER C, et al. Toward a comprehensive characterization of a human cancer cell phosphoproteome [J]. *J Proteome Res*, 2013, 12(1): 260-71.
- [12] BIAN Y, SONG C, CHENG K, et al. An enzyme assisted RP-RPLC approach for in-depth analysis of human liver phosphoproteome [J]. *J Proteomics*, 2014, 96: 253-62.
- [13] DEPHOURE N, ZHOU C, VILLÉN J, et al. A quantitative atlas of mitotic phosphorylation [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(31): 10762-7.
- [14] OLSEN J V, VERMEULEN M, SANTAMARIA A, et al. Quantitative phosphoproteomics reveals widespread full phosphorylation site occupancy during mitosis [J]. *Sci Signal*, 2010, 3(104): ra3.
- [15] STIEGLITZ B, MORRIS-DAVIES A C, KOLIOPOULOS M G, et al. LUBAC synthesizes linear ubiquitin chains via a thioester intermediate [J]. *EMBO Rep*, 2012, 13(9): 840-6.
- [16] RITTINGER K, IKEDA F. Linear ubiquitin chains: enzymes, mechanisms and biology [J]. *Open Biol*, 2017, 7(4): 170026.
- [17] DITTMAR G, WINKLHOFFER K F. Linear ubiquitin chains: cellular functions and strategies for detection and quantification [J]. *Front Chem*, 2020, 7: 915.
- [18] FUJITA H, TOKUNAGA A, SHIMIZU S, et al. Cooperative domain formation by homologous motifs in HOIL-1L and SHARPIN plays a crucial role in LUBAC stabilization [J]. *Cell Rep*, 2018, 23(4): 1192-204.
- [19] KELSALL I R, ZHANG J, KNEBEL A, et al. The E3 ligase HOIL-1 catalyses ester bond formation between ubiquitin and components of the Myddosome in mammalian cells [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2019, 116(27): 13293-8.
- [20] SATO Y, FUJITA H, YOSHIKAWA A, et al. Specific recognition of linear ubiquitin chains by the Npl4 zinc finger (NZF) domain of the HOIL-1L subunit of the linear ubiquitin chain assembly complex [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108(51): 20520-5.
- [21] LIU J, WANG Y, GONG Y, et al. Structural insights into SHARPIN-mediated activation of HOIP for the linear ubiquitin chain assembly [J]. *Cell Rep*, 2017, 21(1): 27-36.
- [22] SHIMIZU S, FUJITA H, SASAKI Y, et al. Differential involvement of the Npl4 zinc finger domains of SHARPIN and HOIL-1L in linear ubiquitin chain assembly complex-mediated cell death protection [J]. *Mol Cell Biol*, 2016, 36(10): 1569-83.
- [23] TAKIUCHI T, NAKAGAWA T, TAMIYA H, et al. Suppression of LUBAC-mediated linear ubiquitination by a specific interac-

- tion between LUBAC and the deubiquitinases CYLD and OTULIN [J]. *Genes Cells*, 2014, 19(3): 254-72.
- [24] KEUSEKOTTEN K, ELLIOTT P R, GLOCKNER L, et al. OTULIN antagonizes LUBAC signaling by specifically hydrolyzing Met1-linked polyubiquitin [J]. *Cell*, 2013, 153(6): 1312-26.
- [25] ELLIOTT P R, LESKE D, HRDINKA M, et al. SPATA2 links CYLD to LUBAC, activates CYLD, and controls LUBAC signalling [J]. *Mol Cell*, 2016, 63(6): 990-1005.
- [26] TATEMATSU K, YOSHIMOTO N, OKAJIMA T, et al. Identification of ubiquitin ligase activity of RBCK1 and its inhibition by splice variant RBCK2 and protein kinase C β [J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(17): 11575-85.
- [27] LORK M, VERHELST K, BEYAERT R. CYLD, A20 and OTULIN deubiquitinases in NF- κ B signaling and cell death: so similar, yet so different [J]. *Cell Death Differ*, 2017, 24(7): 1172-83.
- [28] SCHAEFFER V, AKUTSU M, OLMA M H, et al. Binding of OTULIN to the PUB domain of HOIP controls NF- κ B signalling [J]. *Mol Cell*, 2014, 54(3): 349-61.
- [29] DOUGLAS T, SALEH M. Post-translational modification of OTULIN regulates ubiquitin dynamics and cell death [J]. *Cell Rep*, 2019, 29(11): 3652-63.
- [30] ELLIOTT P R, NIELSEN S V, MARCO-CASANOVA P, et al. Molecular basis and regulation of OTULIN-LUBAC interaction [J]. *Mol Cell*, 2014, 54(3): 335-48.
- [31] HEGER K, WICKLIFFE K E, NDOJA A, et al. OTULIN limits cell death and inflammation by deubiquitinating LUBAC [J]. *Nature*, 2018, 559(7712): 120-4.
- [32] FU Y, WANG H, DAI H, et al. OTULIN allies with LUBAC to govern angiogenesis by editing ALK1 linear polyubiquitin [J]. *Mol Cell*, 2021, 81(15): 3187-204.e7.
- [33] SHIMIZU Y, PELTZER N, SEVKO A, et al. The linear ubiquitin chain assembly complex acts as a liver tumor suppressor and inhibits hepatocyte apoptosis and hepatitis [J]. *Hepatology*, 2017, 65(6): 1963-78.
- [34] ELLIOTT P R, KOMANDER D. Regulation of Met1-linked polyubiquitin signalling by the deubiquitinase OTULIN [J]. *FEBS J*, 2016, 283(1): 39-53.
- [35] DAMGAARD R B, WALKER J A, MARCO-CASANOVA P, et al. The deubiquitinase OTULIN is an essential negative regulator of inflammation and autoimmunity [J]. *Cell*, 2016, 166(5): 1215-30.
- [36] LIU Q, WU Y, QIN Y, et al. Broad and diverse mechanisms used by deubiquitinase family members in regulating the type I interferon signaling pathway during antiviral responses [J]. *Sci Adv*, 2018, 4(5): eaar2824.
- [37] BAEK K H, KIM M S, KIM Y S, et al. DUB-1A, a novel deubiquitinating enzyme subfamily member, is polyubiquitinated and cytokine-inducible in B-lymphocytes [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(4): 2368-76.
- [38] XU X, KALAC M, MARKSON M, et al. Reversal of CYLD phosphorylation as a novel therapeutic approach for adult T-cell leukemia/lymphoma (ATLL) [J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(2): 94.
- [39] SUN L, GAO J, HUO L, et al. Tumour suppressor CYLD is a negative regulator of the mitotic kinase Aurora-B [J]. *J Pathol*, 2010, 221(4): 425-32.
- [40] JAHAN A S, ELBK C R, DAMGAARD R B. Met1-linked ubiquitin signalling in health and disease: inflammation, immunity, cancer, and beyond [J]. *Cell Death Differ*, 2021, 28(2): 473-92.
- [41] OHTAKE F, SAEKI Y, ISHIDO S, et al. The K48-K63 branched ubiquitin chain regulates NF- κ B signaling [J]. *Mol Cell*, 2016, 64(2): 251-66.
- [42] MASSOUMI R. CYLD: a deubiquitination enzyme with multiple roles in cancer [J]. *Future Oncol*, 2011, 7(2): 285-97.
- [43] ZHANG L, WEI N, CUI Y, et al. The deubiquitinase CYLD is a specific checkpoint of the STING antiviral signaling pathway [J]. *PLoS Pathog*, 2018, 14(11): e1007435.
- [44] JANG D I, LEE A, SHIN H Y, et al. The role of tumor necrosis factor alpha (TNF- α) in autoimmune disease and current TNF- α inhibitors in therapeutics [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(5): 2719.
- [45] BRAZEE P, DADA L A, SZNAJDER J I. Role of linear ubiquitination in health and disease [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2016, 54(6): 761-8.
- [46] JAROSZ-GRIFFITHS H H, HOLBROOK J, LARA-REYNA S, et al. TNF receptor signalling in autoinflammatory diseases [J]. *Int Immunol*, 2019, 31(10): 639-48.
- [47] SHANWEI S, YI L. Autophagy and its relationship with tumor proliferation, invasion, and treatment [J]. *West Chin J Stomatol*, 2015, 33(1): 98-103.
- [48] CHU Y, KANG Y, YAN C, et al. LUBAC and OTULIN regulate autophagy initiation and maturation by mediating the linear ubiquitination and the stabilization of ATG13 [J]. *Autophagy*, 2020, 28: 1-6.
- [49] BELGNAOUI S M, PAZ S, SAMUEL S, et al. Linear ubiquitination of NEMO negatively regulates the interferon antiviral response through disruption of the MAVS-TRAF3 complex [J]. *Cell Host Microbe*, 2012, 12(2): 211-22.
- [50] SONG K, LI S. The role of ubiquitination in NF- κ B signaling during virus infection [J]. *Viruses*, 2021, 13(2): 145.
- [51] PAULI E K, CHAN Y K, DAVIS M E, et al. The ubiquitin-specific protease USP15 promotes RIG-I-mediated antiviral signaling by deubiquitylating TRIM25 [J]. *Sci Signal*, 2014, 7(307): ra3.
- [52] SCHOGGINS J W. Recent advances in antiviral interferon-stimulated gene biology [J]. *F1000Res*, 2018, 7: 309.
- [53] RODGERS M A, BOWMAN J W, FUJITA H, et al. The linear ubiquitin assembly complex (LUBAC) is essential for NLRP3 inflammasome activation [J]. *J Exp Med*, 2014, 211(7): 1333-47.
- [54] TOURKOCHRISTOU E, AGGELETOPOULOU I, KONSTANTAKIS C, et al. Role of NLRP3 inflammasome in inflammatory bowel diseases [J]. *World J Gastroenterol*, 2019, 25(33): 4796-804.
- [55] BOISSON B, LAPLANTINE E, PRANDO C, et al. Immunodeficiency, autoinflammation and amylopectinosis in humans with inherited HOIL-1 and LUBAC deficiency [J]. *Nat Immunol*, 2012, 13(12): 1178-86.
- [56] BOISSON B, LAPLANTINE E, DOBBS K, et al. Human HOIP and LUBAC deficiency underlies autoinflammation, immunodeficiency, amylopectinosis, and lymphangiectasia [J]. *J Exp Med*, 2015, 212(6): 939-51.
- [57] LEWIS M J, VYSE S, SHIELDS A M, et al. UBE2L3 polymorphism amplifies NF- κ B activation and promotes plasma cell development, linking linear ubiquitination to multiple autoimmune diseases [J]. *Am J Hum Genet*, 2015, 96(2): 221-34.

- [58] BRAZEE P L, MORALES-NEBREDA L, MAGNANI N D, et al. Linear ubiquitin assembly complex regulates lung epithelial-driven responses during influenza infection [J]. *J Clin Invest*, 2020, 130(3): 1301-14.
- [59] BRAZEE P L, SZNAJDER J I. Targeting the linear ubiquitin assembly complex to modulate the host response and improve influenza A virus induced lung injury [J]. *Arch Bronconeumol*, 2020, 56(9): 586-91.
- [60] VAN WELL E M, BADER V, PATRA M, et al. A protein quality control pathway regulated by linear ubiquitination [J]. *EMBO J*, 2019, 38(9): e100730.
- [61] LI S H, CHENG A L, ZHOU H, et al. Interaction of Huntington disease protein with transcriptional activator Sp1 [J]. *Mol Cell Biol*, 2002, 22(5): 1277-87.
- [62] NAKAYAMA Y, TSUJI K, AYAKI T, et al. Linear polyubiquitin chain modification of TDP-43-positive neuronal cytoplasmic inclusions in amyotrophic lateral sclerosis [J]. *J Neuropath Exp Neur*, 2020, 79(3): 256-65.
- [63] RUIZ E J, DIEFENBACHER M E, NELSON J K, et al. LUBAC determines chemotherapy resistance in squamous cell lung cancer [J]. *J Exp Med*, 2019, 216(2): 450-65.
- [64] GRUMATI P, DIKIC I. Germline polymorphisms in RNF31 regulate linear ubiquitination and oncogenic signaling [J]. *Cancer Discov*, 2014, 4(4): 394-6.
- [65] JO T, NISHIKORI M, KOGURE Y, et al. LUBAC accelerates B-cell lymphomagenesis by conferring resistance to genotoxic stress on B cells [J]. *Blood*, 2020, 136(6): 684-97.
- [66] DUBOIS S M, ALEXIA C, WU Y, et al. A catalytic-independent role for the LUBAC in NF- κ B activation upon antigen receptor engagement and in lymphoma cells [J]. *Blood*, 2014, 123(14): 2199-203.
- [67] SONG K, CAI X, DONG Y, et al. Epsins 1 and 2 promote NEMO linear ubiquitination via LUBAC to drive breast cancer development [J]. *J Clin Invest*, 2021, 131(1): e129374.
- [68] SAKAMOTO H, EGASHIRA S, SAITO N, et al. Gliotoxin suppresses NF- κ B activation by selectively inhibiting linear ubiquitin chain assembly complex (LUBAC) [J]. *ACS Chem Biol*, 2015, 10(3): 675-81.
- [69] KATSUYA K, OIKAWA D, IIO K, et al. Small-molecule inhibitors of linear ubiquitin chain assembly complex (LUBAC), HOIPINs, suppress NF- κ B signaling [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 509(3): 700-6.
- [70] OIKAWA D, SATO Y, OHTAKE F, et al. Molecular bases for HOIPINs-mediated inhibition of LUBAC and innate immune responses [J]. *Commun Biol*, 2020, 3(1): 1-7.
- [71] AGUILAR-ALONSO F, WHITING A L, KIM Y J, et al. Biophysical and biological evaluation of optimized stapled peptide inhibitors of the linear ubiquitin chain assembly complex (LUBAC) [J]. *Bioorg Med Chem*, 2018, 26(6): 1179-88.