

实验室介绍



陈坤, 同济大学生命科学与技术学院研究员, 博士生导师。课题组围绕固有免疫与炎症性疾病的调控机制进行研究。具体包括揭示机体固有免疫应答在抗感染以及炎症反应中表观修饰、蛋白质翻译后修饰的调控机制; 研究重大慢性炎症性疾病中异常的调控机制与疾病发生发展的关系, 探索新型治疗方法。

<https://life.tongji.edu.cn/cb/8c/c12618a183180/page.htm>

新型翻译后修饰调控固有免疫应答 及其在炎症性疾病中的研究进展

乔晓月 陈坤*

(同济大学生命科学与技术学院, 同济大学附属东方医院心脏病全国重点实验室, 上海 200092)

摘要 翻译后修饰(post-translational modifications, PTMs)是指特定的化学基团或蛋白质共价偶联到一个或多个氨基酸残基上的一种化学修饰, 具有调节蛋白构象、活性、亚细胞定位及蛋白相互作用等功能。固有免疫是抵御病原体感染的第一道防线, 但其异常活化与慢性炎症性疾病的发生发展密切相关。在此过程中, PTM通过调控关键信号蛋白的募集、稳定、基因转录等多个方面对固有免疫信号进行精确调控。近年来, 除了磷酸化、泛素化等经典的PTM外, 新型PTM如类泛素化修饰、ADP-核糖基化修饰、由细胞内小分子代谢物(例如: 乳酸、琥珀酸、棕榈酸等)介导的修饰以及糖基化修饰同样参与调控固有免疫应答, 其在炎症性疾病中的作用越来越受到关注。该文重点阐述了新型PTM调控固有免疫信号的重要作用及其在固有免疫异常活化所致的炎症性疾病中的功能。靶向异常的PTM将为自身免疫性疾病、慢性炎症疾病或感染性疾病的防治提供新的视角和思路。

关键词 蛋白质翻译后修饰; 固有免疫; 信号转导; 类泛素化修饰; ADP-核糖基化修饰; 代谢物介导的蛋白质修饰; 糖基化修饰; 炎症性疾病

The Role of New Post-Translational Modifications in Regulation of Innate Immune Response and Inflammatory Diseases: a Comprehensive Review

QIAO Xiaoyue, CHEN Kun*

(State Key Laboratory of Cardiovascular Diseases and Medical Innovation Center, Shanghai East Hospital, School of Life Sciences and Technology, Tongji University, Shanghai 200092, China)

收稿日期: 2024-07-31

接受日期: 2024-09-03

上海市青年科技启明星计划(批准号: 21QA1407600)资助的课题

*通信作者。Tel: 021-65987206, E-mail: Chenk@tongji.edu.cn

Received: July 31, 2024

Accepted: September 3, 2024

This work was supported by the Shanghai Rising-Star Program (Grant No.21QA1407600)

*Corresponding author. Tel: +86-21-65987206, E-mail: Chenk@tongji.edu.cn

Abstract PTMs (post-translational modifications) refer to the chemical modification alterations of proteins which are covalently conjugated with certain chemical groups or proteins. PTMs play essential roles in modulating the conformation, activity, subcellular localization and protein-protein interactions of target proteins. Innate immunity is the first line of defense against infection, and its abnormal activation is closely related to the pathogenesis of chronic inflammatory diseases. In this process, PTMs precisely regulate innate immune response by modulating the recruitment, stabilization, and transcription of key signaling proteins. In addition to classic PTMs (including phosphorylation, ubiquitination, etc.), some new PTMs, such as ubiquitin-like modification, ADP-ribosylation and metabolites (lactate, succinate, palmitate, etc.)-mediated modifications, glycosylation, have been recently revealed to regulate innate immune response and be involved in the development of inflammatory diseases. This review mainly focuses on discussing the regulatory mechanism of new PTMs in innate immune signaling and their functions in inflammatory diseases caused by abnormal activation of innate immunity.

Keywords post-translational modifications; innate immunity; signaling transduction; ubiquitin-like modification; ADP-ribosylation; metabolites-mediated modifications; glycosylation; inflammatory diseases

固有免疫是哺乳动物抵御病原体感染和维持组织稳态的第一道防线。不同于适应性免疫主要通过基因重排表达特异性的T/B细胞表面受体来识别抗原,固有免疫主要由固有免疫细胞表达的模式识别受体(pattern recognition receptor, PRR)识别病原体。因此,它能够响应更广泛病原且响应速度更快^[1]。固有免疫细胞可识别病原体中结构高度保守的分子例如脂多糖、脂磷壁酸、病原体核酸等,这些物质被称为病原相关的分子模式(pathogen-associated molecular pattern, PAMP)^[1],也可识别由应激或受损细胞释放的内源性分子,即损伤相关分子模式(damage-associated molecular pattern, DAMP)^[2],随后诱导炎症因子、I型干扰素(type I interferon, IFN-I)或趋化因子等表达,从而发挥抗感染和维持组织稳态的功能。

PRR主要分为跨膜型、胞质型和分泌型,常见的有Toll样受体(Toll-like receptor, TLR)、NOD(nucleotide oligomerization domain)样受体(NOD-like receptors或nucleotide-binding leucine-rich repeat receptor, NLR)、视黄酸诱导基因I(retinoic acid-inducible gene I, RIG-I)样受体(RIG-I like receptor, RLR)、环鸟苷酸-腺苷酸合成酶(cyclic GMP-AMP synthase, cGAS)等。TLR是最先被发现的PRR,其中TLR1、TLR2、TLR4和TLR5定位于细胞膜,而TLR3、TLR7、TLR8、TLR9和TLR13定位于内体膜。TLR可以识别病原微生物的PAMP和一些自身来源的DAMP^[3]。人源NLR家族有22种蛋白,通常包含三个核心结构域:用于信号转导的N-端可变结构

域、具有核苷酸结合能力的中心寡聚化结构域、富含亮氨酸重复序列(leucine-rich repeat, LRR)的C-端结构域,NLR也能识别多种PAMP和DAMP,并以非炎症小体或炎症小体形式诱导炎症反应^[4]。RLR主要识别胞质RNA,包括RIG-I、黑色素瘤分化相关抗原5(melanoma differentiation associated gene 5, MDA5)和遗传学生理学实验室蛋白2(laboratory of genetics and physiology 2, LGP2)^[5]。其中RIG-I和MDA5可识别单链RNA(single-stranded RNA, ssRNA)或双链RNA(double-stranded RNA, dsRNA),它们通过N-端的CARD结构域与下游线粒体抗病毒信号蛋白(mitochondrial antiviral-signaling protein, MAVS)结合以激活抗病毒固有免疫^[5]。cGAS能感应胞内双链DNA(double-stranded DNA, dsDNA),通过激活干扰素基因刺激因子(stimulator of interferon genes, STING)进而启动下游信号转导^[6]。这些PRR识别PAMP和DAMP后主要通过激活下游NF- κ B信号、MAPK信号、IRF信号导致炎症因子和IFN-I的释放,或者通过炎症小体信号诱导细胞焦亡,从而清除病原体和维持组织稳态。在此过程中,为了避免固有免疫应答异常活化而造成机体损伤,体内存在多种复杂的机制,如表观遗传修饰、代谢调控、PTM等^[7]来调节固有免疫信号活化和消退。

其中,PTM是指特定的化学基团或蛋白质共价偶联到一个或多个氨基酸残基上的一种化学修饰,具有调控蛋白活性、亚细胞定位、构象等功能,对于固有免疫信号转导调控十分重要^[8]。除了经典PTM如磷酸化、泛素化等可实现对固有免疫信号关

键分子的调控以外,近年来随着质谱和蛋白质组学技术的发展而发现的一些新型PTM如与泛素化修饰过程相似的类泛素化(ubiquitin-like, UBL)修饰、以ADP-核糖作为供体的ADP-核糖基化修饰(ADP-ribosylation, ARylation)、由细胞内小分子代谢物(如乳酸、琥珀酸、棕榈酸等)介导的修饰以及糖基化修饰等在固有免疫及炎症性疾病中也发挥着关键作用。本文重点阐述了新型PTM调控固有免疫信号的重要作用及其在固有免疫异常活化所致的炎症性疾病中的功能,为探究固有免疫信号的异常活化在自身免疫性疾病、慢性炎症疾病或感染性疾病发病中的作用和临床诊治提供更多视角和思路。

1 经典PTM与固有免疫信号

1.1 TLR信号

TLR1/2或TLR2/6、TLR4、TLR5、TLR9、TLR13分别识别细菌的脂蛋白、脂多糖、鞭毛蛋白、非甲基化CpG、核糖体RNA成分;TLR3、TLR7、TLR8、TLR9可分别识别内体中病毒dsRNA、胞质游离鸟苷酸/病毒ssRNA、胞质游离尿苷酸、ssRNA/含非甲基化CpG的病毒DNA^[9]。另外,组织损伤后的胞内成分及胞外基质成分如脂质、蛋白、核酸和代谢物也能被TLR识别。识别PAMP或DAMP后,TLR胞外结构域会形成二聚体诱导胞内的TIR[Toll-IL-1 receptor (IL-1R)-resistance]结构域二聚化并激活胞内信号转导^[3]。TLR下游可活化两种类型的信号,即髓样分化因子88(myeloid differentiation primary response gene 88, MyD88)依赖的信号和 β 干扰素TIR结构域衔接蛋白(TIR domain-containing adaptor inducing IFN- β , TRIF)依赖的信号。MyD88依赖的信号可被除TLR3之外的其他所有TLR激活。在该信号中,MyD88结合并激活丝氨酸苏氨酸激酶(interleukin-1 receptor activated kinases, IRAKs)家族,后者进一步招募E3泛素连接酶肿瘤坏死因子受体相关因子6(tumor necrosis factor receptor-associated factor 6, TRAF6),TRAF6发生第63位赖氨酸残基(K63)连接的多聚泛素化后激活转化生长因子 β 活化激酶1(transforming growth factor β -activated kinase 1, TAK1)来刺激核因子 κ B抑制蛋白(inhibitor of nuclear factor- κ B, I κ B)介导的NF- κ B活化、丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)介导的激活蛋白-1(activator protein-1, AP-1)转录活性^[9]。此

外,浆细胞样树突状细胞中TLR7和TLR9也可通过MyD88招募IRAK1、TRAF6和I κ B激酶 α (I κ B kinase α , IKK α),诱导干扰素调节因子7(interferon regulatory factor 7, IRF7)磷酸化及入核,促进IFN-I表达^[10]。而TRIF依赖的信号由TLR3和TLR4介导,在该信号中接头蛋白TRIF与TRAM结合来诱导依赖于E3泛素连接酶TRAF3的TANK结合激酶1(TANK binding kinase 1, TBK1)的激活,TBK1进一步磷酸化IRF3,后者入核促进IFN-I的表达^[9]。

1.2 NLR信号

NLR家族可识别多种胞质内PAMP和DAMP,并激活炎症小体和非炎症小体等不同固有免疫信号,产生炎症因子、诱导细胞焦亡。根据N-端结构域的不同,哺乳动物的NLR可以分为NLRC(N-端含有CARD结构域)、NLRP(N-端含有PYD结构域)等^[11]。由于NLRP3炎症小体是目前研究最为广泛的炎症小体,本文将以此为例介绍PTM在炎症小体激活及其诱导细胞焦亡过程中的调控作用。NLRP3炎症小体的激活首先经历启动阶段,通过NF- κ B激活NLRP3、Caspase-1、pro-IL-1 β 和pro-IL-18等炎症小体组分表达;接着,细菌鞭毛蛋白、III型分泌系统成分如杆状蛋白和针状蛋白、肽聚糖、核酸,以及胞内稳态的破坏如钾离子外排、活性氧产生和溶酶体破裂等这些胞内微环境危险因素进一步激活NLRP3炎症小体的组装^[11]。NLRP3通过NACHT结构域相互作用并与凋亡相关斑点样蛋白(apoptosis associated speck-like protein containing a CARD, ASC)结合,招募Caspase-1形成炎症小体。炎症小体的形成启动了Caspase-1的自我切割及Caspase-1对pro-IL-1 β 、pro-IL-18、成孔蛋白GSDMD(gasdermin D)的剪切,形成成熟的炎症因子IL-1 β 和IL-18,以及具有成孔能力的N-GSDMD,后者经过寡聚化可在质膜上形成孔隙导致炎症因子释放,并造成细胞破裂诱导细胞焦亡^[11]。畸样激酶1(misshapen/NIK-related kinase 1, MINK1)可与NLRP3的LRR结构域结合并磷酸化NLRP3的第725位的丝氨酸残基(S725)促进NLRP3炎症小体的激活^[12],c-Jun氨基末端激酶1(c-Jun N-terminal kinase 1, JNK1)和布鲁顿酪氨酸激酶(Bruton's tyrosine kinase, BTK)也可通过磷酸化NLRP3促进NLRP3炎症小体的组装^[13]。而蛋白激酶B(protein kinase B, PKB)通过磷酸化NLRP3抑制NLRP3寡聚化和ASC的招募^[14]。E3泛素连接酶AHRH2及TRIM65分别介

导NLRP3发生K48和K63连接的泛素化修饰从而抑制NLRP3炎症小体的激活^[15-16]。而E3泛素连接酶Pellino-2和E2泛素偶联UBE2N(ubiquitin conjugating enzyme E2N)能诱导NLRP3的K63连接泛素化正向调节NLRP3炎症小体活性^[17-18]。

1.3 RIG/MDA5信号

RIG-I和MDA5可识别胞质中的细菌、病毒或自身RNA并诱导IFN-I的表达。RIG-I或MDA5与MAVS结合后可招募TRAF3、TRAF6和IKK家族(IKK ϵ 、TBK1、IKK α 和IKK β),进而激活IRF3和IRF7诱导IFN-I的表达^[5]。单纯疱疹病毒1(herpes simplex virus type 1, HSV-1)的丝氨酸/苏氨酸激酶US3与RIG-I结合使RIG-I发生S8位磷酸化,进而抑制了E3泛素连接酶TRIM25介导的RIG-I泛素化、RIG-I与MAVS的结合以及IFN-I的表达^[19]。SARS-CoV-2病毒辅助蛋白ORF9b能与RIG-I、MDA-5、MAVS相互作用,抑制IRF3的磷酸化和入核,从而负调控抗病毒免疫^[20]。RNA病毒感染中,TBK1介导的芳香烃受体相互作用蛋白(aryl hydrocarbon receptor interacting protein, AIP)在第40位苏氨酸残基(T40)发生磷酸化使AIP能够与IRF7相互作用阻止IRF7入核,从而防止IFN-I的过度表达^[21]。此外,E2泛素偶联酶UBE2M(ubiquitin conjugating enzyme E2M)通过阻碍RIG-I和E3泛素连接酶STUB1的相互作用即减弱RIG-I的泛素化来抑制RIG-I降解,从而导致抗病毒IFN-I信号激活^[22]。miR-26a通过抑制去泛素化酶USP15的表达和促进RIG-I赖氨酸K63泛素化来增强IFN-I反应^[23]。

1.4 cGAS-STING信号

cGAS主要识别胞内dsDNA成分,如病毒和细菌产生的DNA、受损的核DNA、细胞死亡产生的自身DNA及线粒体DNA等,结合DNA片段后cGAS会产生构象变化催化胞内ATP和GTP生成第二信使环鸟苷酸-腺苷酸(cyclic GMP-AMP, cGAMP)^[6]。之后,内质网膜上的STING便与cGAMP结合并通过内质网-高尔基体中间室(endoplasmic reticulum-Golgi intermediate compartment, ERGIC)转移至高尔基体。此时STING招募并促进TBK1的自磷酸化,活化的TBK1反过来磷酸化STING并与之结合,进一步招募IRF3使其发生磷酸化形成二聚体转移至细胞核中,最终诱导IFN-I以及炎症因子IL-6和IL-12等的表达^[6]。

2 新型PTM与固有免疫信号

2.1 类泛素化修饰调控的固有免疫信号

2.1.1 UFMylation UFMylation,也称犹素化修饰,是一种新发现的类泛素化修饰,且在多数真核生物中是保守的,它指将犹素1(ubiquitin-fold modifier 1, UFM1)共价连接到靶蛋白的过程^[24]。UFM1与泛素的序列相似程度不超过21%,但在结构上极为相似。通常,UFM1以前体形式的pro-UFM1存在,通过UFM1特异性蛋白酶(UFM1-specific proteases, UFSP)剪切其C-端暴露出甘氨酸残基成为成熟的UFM1,之后通过异肽键与靶蛋白内的赖氨酸共价连接^[24]。UFMylation需要三步酶促反应来实现,该过程与泛素化修饰类似。目前已发现有UFM1-E1激活酶UBA5、UFM1-E2偶联酶UFC1、UFM1-E3连接酶UFL1及其底物DDRKG1,还有其他对于UFMylation比较重要的分子如CDK5RAP3。目前仅报道了细胞中UFM1通过K69连接的多聚UFMylation,但在体外重建体系中也发现了K7和K9连接的UFM1链^[24]。

UFMylation参与多种生命活动的调节,除了维持内质网蛋白稳态和调节细胞周期进程外^[24],UFMylation还调控固有免疫和炎症信号的转导(图1)。UFM1和DDRKG1表达水平在LPS刺激的小鼠子宫内膜炎症反应中显著增加,提示UFMylation可能参与抗细菌感染的固有免疫^[25]。此外,UFMylation缺陷会上调巨噬细胞在IFN- γ 和LPS刺激下的一氧化氮水平和促炎因子转录水平^[26]。RNA病毒感染时UFL1与RIG-I一起转移至线粒体相关内质网膜处的MAVS信号转导位点^[27],UFL1先与14-3-3 ϵ 结合再被激活的RIG-I招募,这促进了UFM1与14-3-3 ϵ 的偶联即增加了14-3-3 ϵ 的UFMylation水平从而加强下游固有免疫信号转导,而细胞中UFMylation的缺失阻止了14-3-3 ϵ 与RIG-I的相互作用进而影响了RIG-I与MAVS的结合^[28]。还有研究发现UFL1是维持STING稳定性和抗病毒功能的关键调节因子,UFL1的缺失可导致STING发生K48连接的泛素化修饰,促进其发生蛋白酶体降解,从而抑制了IFN-I和炎症因子的产生^[29]。由此可见,目前UFMylation修饰主要在抗细菌感染的RIG/MDA5信号和cGAS-STING信号转导中具有一定的正向调节作用,然而其是否调控固有免疫和炎症反应中的其他关键蛋白的活性和功能是一个值得研究的问题。

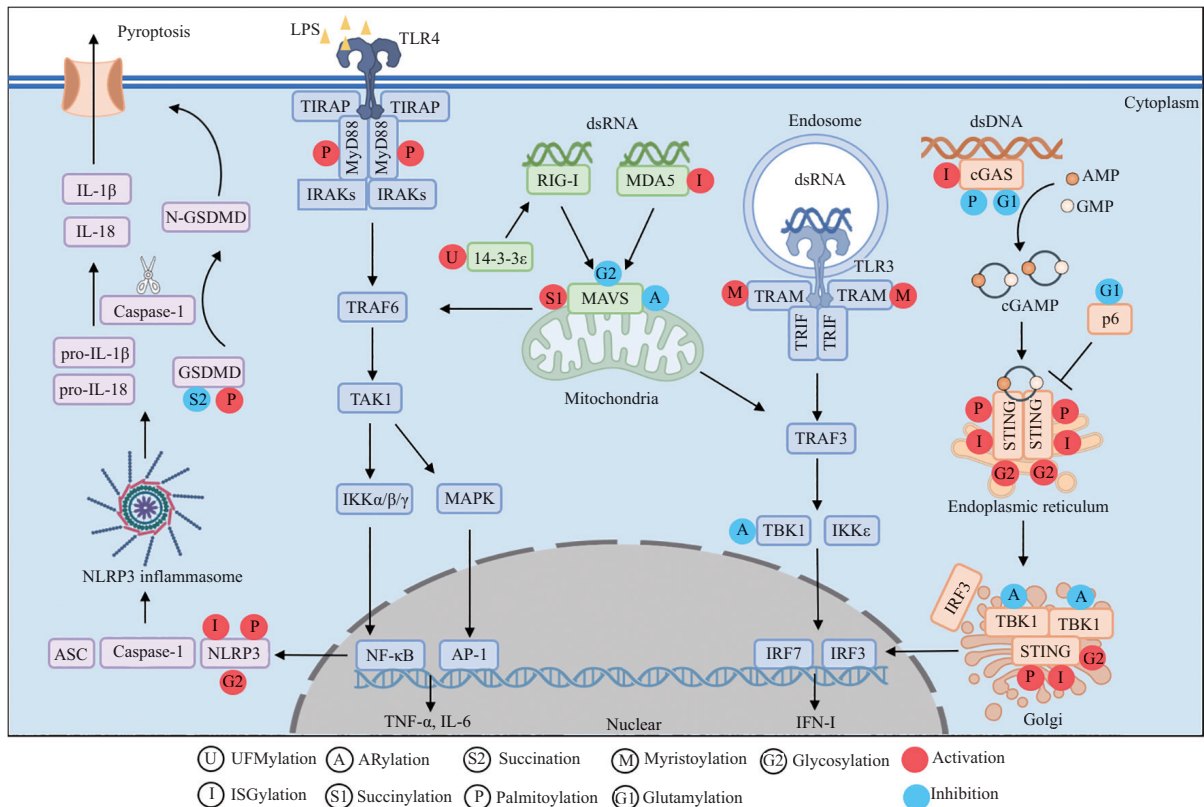


图1 固有免疫信号中的新型PTM

Fig.1 New PTMs in innate immune signaling

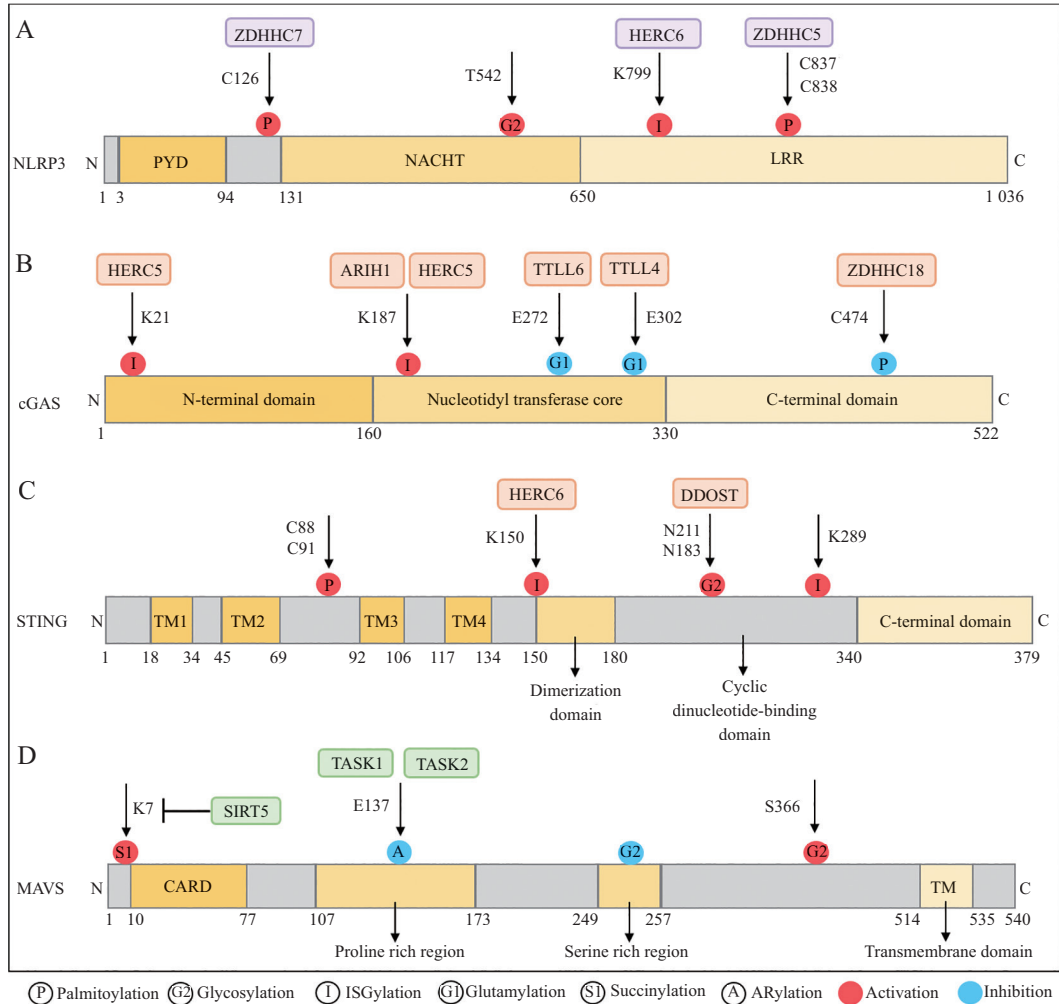
2.1.2 ISGylation ISGylation, 又称扰素化, 是指干扰素刺激基因 15(interferon-stimulated gene 15, ISG15)蛋白与靶蛋白结合后形成的一类泛素修饰。ISG15含有两个UBL结构域(UBL1和UBL2), 可由 IFN-I 诱导表达, 其成熟形式的蛋白与其他类泛素化修饰蛋白相似, 需要由前体蛋白经过酶的水解暴露 C-端的双甘氨酸残基后与靶蛋白相偶联, 形成 ISGylation^[30]。其中的水解酶主要是 Ubp1 及 Ubp1 相关蛋白。尽管 ISG15 蛋白在不同真核生物中具有大量突变, 但 C-端双甘氨酸基序在不同物种中是保守的^[31]。ISGylation 的发生同样需要酶促级联反应, 首先 ISG15-E1 激活酶 UBA7 或称 UBE1L 通过 ATP 依赖性方式形成高能硫酯中间体来激活 ISG15 的 C-端结构域, ISG15-E2 偶联酶 UBCH8 随后与激活的 ISG15 蛋白结合并将其转移至 ISG15-E3 连接酶如 HERC5、HERC6 和 EFP, 最后将 ISG15 蛋白与靶蛋白连接^[30]。

ISGylation 在抗细菌感染中具有保护作用, 李斯特菌感染期间细胞以非干扰素依赖性方式诱导 ISG15 的表达, 并通过 ISGylation 限制李斯特菌的

感染^[32]。ISG15-E3 连接酶 HERC6 能介导 NLRP3 的 K799 位点发生 ISGylation 从而抑制 NLRP3 的泛素化和降解, 促进炎症小体的激活(图 2A)^[33]。在 cGAS-STING 信号中, ISG15-E3 连接酶 ARIH1^[34]、HERC5^[35] 能分别催化 cGAS 的 K187、K21 等位点的 ISGylation 以增强 cGAS 寡聚化和激活, 敲除 ARIH1 或者敲低 HERC5 减弱了 cGAS 的 ISGylation 作用并抑制了 IFN-I 的表达。HIV-1 感染时 STING 蛋白 K289 位的 ISGylation 对其激活和介导的 IFN-I 表达至关重要^[36]。此外, HERC6 通过介导 STING 蛋白 K150 位的 ISGylation 以促进 STING 激活阻止其泛素化及降解^[37]。ISGylation 同样参与调控 RLR 信号转导过程, MDA5 的 CARD 结构域在 K23 位和 K43 位的 ISGylation 修饰促进了 MDA5 的激活和寡聚化, 这对限制 SARS-CoV-2 病毒复制十分重要^[38]。

2.2 ADP-核糖基化修饰调控的固有免疫信号

ARylation 是一种同时存在于原核生物与真核生物中的蛋白修饰, 可通过 ADP-核糖基化酶(ADP-ribosylase)催化将来自于烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(nicotinamide adenine dinucleotide, NAD⁺)的 ADP-



A: NLRP3蛋白的新型PTM修饰位点; B: cGAS蛋白的新型PTM修饰位点; C: STING蛋白的新型PTM修饰位点; D: MAVS蛋白的新型PTM修饰位点。

A: new PTMs sites of NLRP3; B: new PTMs sites of cGAS; C: new PTMs sites of STING; D: new PTMs sites of MAVS.

图2 固有免疫信号关键蛋白的新型PTM修饰位点

Fig.2 New PTMs sites of key proteins in innate immune signaling

核糖部分作为供体转移至底物内的受体基团上, 单个ADP-核糖的连接被称为MARylation[Mono(ADP-ribosyl)ation], 多个ADP-核糖的连接延伸则被称作PARylation[Poly(ADP-ribosyl)ation]^[39]。ARylation通过糖苷键可连接蛋白质的氨基酸残基如丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸、谷氨酸、天冬氨酸、半胱氨酸、精氨酸、赖氨酸和组氨酸, 也可以与核酸的磷酸基团或碱基相连接。ADP-核糖基化酶上主要负责催化ARylation的区域是ART[(ADP-ribosyl)transferases]结构域, 这类蛋白以PARylation聚合酶(PARylation polymerases, PARP)家族为主, 其中研究较为广泛的是在DNA损伤应答和DNA修复中诱导PARylation的PARP1、PARP2、TNKS1、TNKS2, 以及除PARP9和PARP13之外的在细胞核或胞质中诱导MARyla-

tion的PARP^[40]。在真核生物中, ARylation修饰能维持稳态和响应各类压力及应激, 涉及转录、翻译、RNA稳定、纺锤体组装、细胞分裂和DNA损伤应答的过程^[39]。近年来也有研究报道了ARylation在固有免疫炎症信号中的调控作用。*PARP9*的表达水平在人和小鼠结核病期间上调, *Parp9*缺陷小鼠易受结核分枝杆菌感染且cGAS、cGAMP、IFN-I表达水平增加, 而阻断IFN-I受体信号逆转了*Parp9*缺陷小鼠对细菌的易感性, 说明细菌感染中PARP9具有限制IFN-I产生的作用^[41]。芳香烃受体(aryl hydrocarbon receptor, AhR)在病毒感染中能上调ADP-核糖基化酶TIPARP的表达, 通过对TBK1进行ARylation修饰抑制其活性从而负向调控IFN-I介导的抗病毒反应^[42]。病毒感染可诱导ADP-核糖基化酶TNKS1和

TNKS2表达并使其从胞质转移到线粒体上对MAVS蛋白第137位谷氨酸残基(E137)进行PARylation修饰(图2D),进而导致MAVS发生多泛素化介导的降解,说明MAVS的PARylation抑制了病毒诱导的固有免疫信号转导^[43]。然而,目前研究仅报道了ARylation参与干扰素相关的固有免疫信号转导(图1),这种修饰在哺乳动物其他固有免疫信号中的调控作用还未知。

2.3 代谢物修饰调控的固有免疫信号

免疫细胞内代谢物水平的变化会对细胞功能和免疫应答过程产生特定的影响^[44],除了参与合成与分解生命所需的物质和能量外,代谢物还能通过PTM的方式来调控固有免疫反应。

2.3.1 乳酰化 乳酸是细胞无氧糖酵解的最终产物,在有氧条件下一些增殖较快的免疫细胞或肿瘤细胞也具有较高水平的糖酵解过程,这一过程会产生过量乳酸^[44]。之前,乳酸被认为是一种无用的代谢产物,而2019年的研究发现乳酸能介导蛋白质发生乳酰化(lactylation)。在缺氧或细菌刺激下,lactylation通过修饰组蛋白赖氨酸残基参与调控巨噬细胞的极化^[45]。在细胞中主要是L-乳酸而不是D-乳酸的乳酰辅酶A的乳酰基部分,能通过一系列酰化酶连接到靶蛋白的赖氨酸的 ϵ -氨基上完成乳酰化^[46]。乳酰化在组蛋白上的修饰能改变染色质结构从而调节基因的转录,而目前发现的非组蛋白修饰底物主要是转录因子和代谢酶,乳酰化能影响其活性、稳定性、相互作用和定位^[46]。在LPS刺激的巨噬细胞中,TLR以BACP(B-cell adapter for phosphoinositide 3-kinase)蛋白依赖性方式激活PI3K-AKT通路并抑制炎症信号,其中AKT的活化增强了糖酵解和乳酸的积累^[47],而BACP缺陷的巨噬细胞AKT活化减弱且乳酸水平减少从而影响组蛋白乳酰化介导的修复基因表达,影响巨噬细胞从促炎型向组织修复型的转变^[48]。细颗粒物(particulate matter)刺激的小鼠巨噬细胞中乳酸脱氢酶活性、乳酸含量和组蛋白乳酰化水平均显著上调,使用乳酸脱氢酶A抑制剂可缓解组蛋白乳酰化诱导的肺部炎症和肺纤维化,说明细颗粒物诱导的糖酵解和组蛋白乳酰化在肺部炎症中有着重要作用^[49]。然而,目前乳酰化修饰在固有免疫炎症中的研究主要聚焦在对组蛋白赖氨酸残基的修饰和其对巨噬细胞表型的影响,对于固有免疫识别信号转导中乳酰化修饰的调控作用

还有待更深入的探究。

2.3.2 琥珀酰化和琥珀化 2011年,赖氨酸琥珀酰化(succinylation)被首次报道,这种修饰在原核生物和真核生物中是高度保守的^[50]。介导琥珀酰化有两种机制:(1)在线粒体中这一过程不依赖于酶的催化,可能与三羧酸循环的代谢产物琥珀酰辅酶A有关,因为琥珀酰辅酶A水平与琥珀酰化修饰水平、琥珀酸的水平呈明显的正相关;(2)细胞质中的琥珀酰辅酶A可在琥珀酰转移酶的作用下修饰靶蛋白的赖氨酸残基,从而改变蛋白的电荷性质^[51]。目前已发现了四种琥珀酰转移酶CPT1A、HAT1、KAT2A、CBP,和两种去琥珀酰化酶SIRT5和SIRT7^[51]。LPS刺激的巨噬细胞内,糖酵解水平和琥珀酸水平上调,促进了HIF- α 的稳定表达进而特异性增加了IL-1 β 和蛋白琥珀酰化的水平,说明琥珀酰化可以促进固有免疫信号转导^[52]。病毒感染时MAVS蛋白的K7位发生琥珀酰化(图2D),而SIRT5能催化MAVS去琥珀酰化,并减少MAVS寡聚化,抑制MAVS激活和IFN-I产生^[53]。

此外,不同于琥珀酰化,蛋白还可以发生琥珀化(succination),它指的是富马酸自发与谷胱甘肽或蛋白质中的游离半胱氨酸或半胱氨酸残基的巯基团连接而形成的一种修饰^[54]。目前研究认为半胱氨酸与富马酸的螯合作用在真核生物中是不可逆的,其生理意义还不明确^[44]。琥珀化在固有免疫信号中的研究尚处于初步探究阶段,目前仅报道了富马酸在LPS刺激的巨噬细胞中累积并与GSDMD上的半胱氨酸残基发生化学连接,GSDMD的琥珀化可防止其与Caspase-1相互作用,从而抑制GSDMD的剪切、寡聚化和细胞焦亡^[55]。

2.3.3 棕榈酰化 棕榈酸是一种十六碳饱和脂肪酸,存在于磷脂、鞘脂和甘油三酯中,可通过硫酯键与蛋白的半胱氨酸残基或丝氨酸和苏氨酸残基连接,这种PTM被称为棕榈酰化(palmitoylation)^[56]。棕榈酰化是一种可逆反应,其中棕榈酰转移酶和去棕榈酰化酶参与催化这个过程。棕榈酰化参与调控细胞凋亡、神经元发育和信号转导等多个过程^[56]。目前研究发现棕榈酰化可修饰多种固有免疫信号蛋白(图1)。细胞内源性脂肪酸合成和CD36介导的外源性脂肪酸转运有助于棕榈酰转移酶ZDHHC6催化MyD88第113位半胱氨酸残基(C113)发生棕榈酰化,这促进了MyD88与IRAK4结合及TLRs信号转导^[57]。

ZDHHC5介导的NOD1和NOD2棕榈酰化对于将两者招募至细胞膜和识别细菌是必需的^[58]。NLRP3可由ZDHHC5或ZDHHC7分别介导C837或C838、C126位发生棕榈酰化从而促进NLRP3炎症小体的组装和激活(图2A)^[59-60];此外,GSDMD的C191位棕榈酰化被认为是激活其成孔能力的关键调控机制^[61]。另有研究发现多种ZDHHC可以棕榈酰化内体和溶酶体上的干扰素诱导跨膜蛋白3(interferon-induced transmembrane protein 3, IFITM3)来增强其阻断病毒膜融合的抗病毒活性^[62]。在胞质DNA刺激下,cGAS的C474位能被棕榈酰转移酶ZDHHC18棕榈酰化,这抑制了cGAS与DNA的结合,从而负调控了cGAS-STING抗病毒信号^[63]。双链DNA病毒感染期间,STING蛋白C88和C91位的棕榈酰化促进了其在高尔基体的聚集和对TBK1的招募(图2C)^[64],同时对于将STING包裹在细胞外囊泡通过胞吐作用激活未感染细胞抗病毒信号也是必需的^[65]。

2.3.4 肉豆蔻酰化和丙二酰化 长链饱和脂肪酸肉豆蔻酸可在N-肉豆蔻酰转移酶(N-myristoyltransferase, NMT)的催化下与蛋白底物的N末端甘氨酸残基连接,从而发生肉豆蔻酰化,该修饰可以帮助蛋白转运到细胞膜或脂筏中,参与调控细胞死亡和HIV-1感染^[66]。接头蛋白TRAM的肉豆蔻酰化能帮助TRAM定位在质膜和高尔基体上,从而促进LPS诱导的炎症反应^[67]。DNA病毒感染的巨噬细胞中肉豆蔻酸促进了ADP-核糖基化因子1的肉豆蔻酰化并通过促进STING自噬体降解来限制cGAS-STING诱导的IFN-I反应^[68]。脂肪酸合成时,乙酰辅酶A可被酶催化为丙二酰辅酶A,以此为底物可进行丙二酰化修饰^[69],这一过程通过影响氨基酸的静电相互作用将其添加到蛋白质赖氨酸残基来调节蛋白质的结构和功能,在各种代谢过程和应激反应中起着重要作用^[70]。甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)在静息状态下的巨噬细胞中能与*TNF α* 的mRNA结合并抑制其翻译,而在LPS刺激下GAPDH发生了丙二酰化使其与*TNF α* 的mRNA解离,促进了炎症发生^[71]。

2.3.5 基于氨基酸的修饰 由氨基酸介导的PTM通常由酶催化发生在靶蛋白不同的氨基酸侧链或肽键上。由谷氨酰化酶催化在靶蛋白谷氨酸残基的 γ -羧基上连接酸性谷氨酸侧链的过程被称为谷氨酰化(glutamylolation),这种PTM在所有生物中都是高度保

守的^[72]。谷氨酰化修饰的蛋白底物主要是微管蛋白和钙调蛋白^[72]。在固有免疫应答中,谷氨酰化主要作用于cGAS-STING信号影响抗DNA病毒感染能力(图1)。谷氨酰化酶TTLL4和TTLL6分别修饰cGAS发生单谷氨酰化(E302)和多聚谷氨酰化(E272),单谷氨酰化阻断了cGAS合成cGAMP的活性而多聚谷氨酰化影响了cGAS与DNA的结合,去除cGAS的谷氨酰化可增强cGAS的激活作用(图2B)^[73]。HIV-1表达的p6蛋白参与病毒颗粒形成,其E6位的谷氨酰化帮助病毒抑制STING蛋白与TRIM32的相互作用及其K27和K63连接的多泛素化,从而抑制STING的激活,p6谷氨酸残基的突变则部分逆转了抗病毒抑制作用^[74]。

瓜氨酸化(citrullination)又称脱亚胺化,是一种不可逆的氨基酸介导的PTM,通过肽基精氨酸脱亚胺酶将精氨酸转化为瓜氨酸,瓜氨酸是一种非基因编码的氨基酸且瓜氨酸化仅在翻译后发生^[75]。瓜氨酸化修饰的底物可以是细胞核、细胞质、线粒体和细胞膜中的蛋白,涉及蛋白质降解和互作、细胞死亡等过程^[75]。在固有免疫中,肽基精氨酸脱亚胺酶在促炎型巨噬细胞中上调而在抗炎型巨噬细胞中降低,沉默其表达增加了巨噬细胞向抗炎表型的极化水平并上调了固有免疫抗病毒和干扰素信号相关的蛋白表达^[76]。病毒感染巨噬细胞后,肽基精氨酸脱亚胺酶14(peptidylarginine deiminase 14, PAD14)表达水平增加并易位到细胞核与*Ifnb1*启动子结合招募组蛋白去乙酰酶HDAC1,使组蛋白H3和组蛋白H4发生去乙酰化以抑制*Ifnb1*转录减弱抗病毒免疫应答,其中PAD14是否促进胞内蛋白瓜氨酸化未知^[77]。目前来看,瓜氨酸化修饰与固有免疫炎症信号的相关性、修饰水平和作用位点还需要更多的探究。

2.4 糖基化修饰调控的固有免疫信号

糖基化(glycosylation)指聚糖或碳水化合物链在糖基转移酶或糖苷酶的催化下与蛋白质上的羟基等官能团之间形成的共价连接,在调节蛋白质间相互作用、细胞间相互作用、信号转导过程中至关重要^[78]。N-糖基化属于哺乳动物蛋白质糖基化的两种关键类型之一,通过 β 1-糖苷键将N-乙酰葡萄糖胺与天冬酰胺残基相连,而另一种类型是O-糖基化,能将N-乙酰葡萄糖胺(O-GlcNAc)或N-乙酰半乳糖胺连接到丝氨酸或苏氨酸上,这两种糖基化通常只能

发生在内质网和高尔基体上^[78]。其中, *O*-GlcNAc修饰靶蛋白的过程又被称为*O*-GlcNAcylation, 也可发生在细胞外结构域上。伯克霍尔德菌鞭毛蛋白的糖基化可抑制宿主TLR5对细菌鞭毛蛋白的识别^[79], 而TLR5本身的糖基化对其蛋白质稳定性十分重要^[80]。LPS可增加人牙龈成纤维细胞中*O*-GlcNAc转移酶水平促进NLRP3在T542位发生*O*-GlcNAcylation, 最终促使细胞发生焦亡(图2A)^[81]。MAVS在第249至257位的富含丝氨酸区域存在*O*-GlcNAcylation修饰, 可阻碍MAVS与TRAF3相互作用, 阻止IRF3的激活和IFN- β 的产生^[82], 而其S366位的*O*-GlcNAcylation可促进MAVS的激活(图2D)^[83]。HSV-1感染小鼠的STING蛋白可被寡糖基转移酶的非催化亚基DDOST诱导发生*N*-糖基化(N183、N211位点)从而促进STING的激活(图2C)^[84]。

3 新型PTM与炎症性疾病

3.1 炎症性肠病

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是一种慢性复发性胃肠道炎症性疾病, 主要包括溃疡性结肠炎、克罗恩病等, 由环境、遗传、感染和免疫因素相互作用影响患者肠黏膜免疫系统^[85]。多种新型PTM(如ISGylation、PARylation、Palmitoylation、Citrullination和Glycosylation等)的异常调控与IBD进展关系密切。研究发现ISG15蛋白和ISGylation水平在IBD小鼠大肠中上调, 这增强LPS刺激下巨噬细胞ROS表达能力进而激活MAPK信号的p38的表达导致炎症因子产生^[86]。使用PARylation聚合酶PARP1的抑制剂减少IBD小鼠PARylation水平可降低粪便中HMGB1的表达水平并恢复肠黏膜结构^[87], 同样PARP7的缺失也可以减少IBD小鼠的肠道炎症的发生^[88]。长链脂肪酸在IBD小鼠体内被转化为棕榈酰辅酶A后参与了STAT3的棕榈酰化修饰, 加剧了小鼠结肠炎症^[89], 而有研究使用2'-岩藻糖基乳糖抑制STAT3的棕榈酰化和磷酸化则促进了IBD小鼠肠黏膜的恢复, 抑制了溃疡性结肠炎^[90]。瓜氨酸化相关的PAD14缺乏的IBD小鼠结肠炎症和肠道屏障功能得到恢复^[91]。此外, 结肠炎小鼠巨噬细胞中岩藻糖基转移酶8(fucosyltransferase 8, FUT8)的缺失可缓解葡聚糖硫酸钠诱导的小鼠肠炎^[92]。克罗恩病患者和大肠杆菌感染的小鼠肠上皮组织*O*-糖基化水平升高, 抑制IKK β 和NF- κ B中的*O*-糖基化可抑制NF- κ B激

活^[93]。白藜芦醇可抑制STAT3的*O*-GlcNAcylation和磷酸化进而降低JAK2/STAT3通路的活性, 缓解小鼠结肠炎^[94]。目前, 多数研究只揭示了这些PTM在细胞中的整体水平与IBD发展的相关性, 在PTM具体修饰位点与IBD的发生发展的相关性还有待于进一步研究。

3.2 银屑病

银屑病(psoriasis)是一种以红斑、丘疹和斑块为特征的慢性炎症性皮肤病, 其严重程度取决于遗传和环境因素, 具有临床治疗困难和易复发的特点^[95]。在银屑病患者样本中发现ADP-核糖基化酶PARP的异常激活^[96]以及上调的乳酰化水平^[97]; 而银屑病小鼠模型中棕榈酰转移酶ZDHHC2表达水平上调, 敲除ZDHHC2能显著降低炎症皮肤中促炎细胞因子IFN- α 的表达水平^[98]。

3.3 系统性红斑狼疮

系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)是一种具有严重临床表现的自身免疫性疾病, 会导致多系统多器官损伤。它与免疫信号异常激活密切相关^[99]。研究发现, 棕榈酰化修饰在SLE固有免疫炎症信号调控中发挥重要作用。高尔基体的ZDHHC3和溶酶体的棕榈酰蛋白硫酯酶1(palmitoyl-protein thioesterase 1, PPT1)可分别介导TLR9棕榈酰化的发生(C258和C265)和去除, 从而影响TLR9的运输和释放, 而在SLE小鼠模型中抑制PPT1表达破坏TLR9棕榈酰化的循环可降低小鼠自身抗体水平, 改善肾炎^[100]。此外, 肾脏细胞内糖基化的异常是狼疮性肾炎的重要特征^[101]。其他新型PTM的异常调控是否与SLE相关需要更深入的研究。

3.4 COVID-19

严重急性呼吸系统综合征冠状病毒2(severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2)是导致COVID-19的病原体, 其通过空气传播并感染人体呼吸道细胞导致急性呼吸窘迫综合征和重症肺炎^[102]。研究发现, SARS-CoV-2感染诱导了巨噬细胞中ISG15和ISG15-E3连接酶HERC6表达, HERC6能促进NLRP3的ISGylation修饰抑制NLRP3泛素化和蛋白酶体降解来增强NLRP3炎症小体的激活^[33]; MDA5信号的激活需要在其CARD结构域K23和K43位进行ISGylation修饰加强其寡聚化来限制SARS-CoV-2病毒复制^[38]。此外, 在SARS-CoV-2的刺突蛋白上已鉴定出多个*N*-糖基化位点^[103], CO-

VID-19患者的血浆根据疾病严重程度表现出不同的N-糖基化特征^[104]。

4 讨论与展望

近年来,在蛋白质翻译后修饰的研究中涌现了许多新型修饰方式,这些PTM参与调控正常或应激状态下不同生物途径中的蛋白质功能。本文重点总结了这些新型PTM在固有免疫信号及炎症性疾病中的作用。

这些新型PTM在固有免疫信号与炎症性疾病中的调控作用是复杂多样的,除了对蛋白进行单一的翻译后修饰外,它们也通过直接抑制或促进其他类型PTM来实现对固有免疫炎症信号的调控如UFMylation与泛素化之间的相互调控等。相同蛋白或不同蛋白上PTM的相互调控很大程度上确保了信号转导的速度和密度且在许多情况下可介导同一信号通路的激活和抑制。因此,未来结合蛋白质组学、质谱和生物信息学手段识别或预测蛋白质组范围内PTM的相互调控,再结合实验手段明确PTM相互调控的功能,将拓宽新型PTM的生物学意义,并对固有免疫和炎症反应中的调控作用产生更深的影 响。此外,新型PTM在慢性炎症性疾病和感染性疾病的固有免疫中也起到了复杂的调控作用,尤其是ISGylation和棕榈酰化修饰。疾病状态下血清或细胞中某种PTM整体修饰水平的异常、与疾病相关的PTM具体靶向的蛋白都能为未来临床诊治提供可靠思路。

总体而言,PTM在调控固有免疫应答中发挥至关重要的作用。进一步揭示新型PTM在固有免疫异常所致的炎症性疾病中的作用机制,将为自身免疫性疾病、慢性炎症疾病或感染性疾病等的防治提供更多视角。

参考文献 (References)

- [1] MEDZHITOV R, JANEWAY C A. Innate immunity: impact on the adaptive immune response [J]. *Curr Opin Immunol*, 1997, 9(1): 4-9.
- [2] CHEN G Y, NUNEZ G. Sterile inflammation: sensing and reacting to damage [J]. *Nat Rev Immunol*, 2010, 10(12): 826-37.
- [3] FITZGERALD K A, KAGAN J C. Toll-like receptors and the control of immunity [J]. *Cell*, 2020, 180(6): 1044-66.
- [4] SUNDARAM B, TWEDELL R E, KUMAR S P, et al. The NLR family of innate immune and cell death sensors [J]. *Immunity*, 2024, 57(4): 674-99.
- [5] REHWINKEL J, GACK M U. RIG-I-like receptors: their regulation and roles in RNA sensing [J]. *Nat Rev Immunol*, 2020, 20(9): 537-51.
- [6] DECOUT A, KATZ J D, VENKATRAMAN S, et al. The cGAS-STING pathway as a therapeutic target in inflammatory diseases [J]. *Nat Rev Immunol*, 2021, 21(9): 548-69.
- [7] CAO X. Self-regulation and cross-regulation of pattern-recognition receptor signalling in health and disease [J]. *Nat Rev Immunol*, 2016, 16(1): 35-50.
- [8] CHIANG C, GACK M U. Post-translational control of intracellular pathogen sensing pathways [J]. *Trends Immunol*, 2017, 38(1): 39-52.
- [9] KAWAI T, IKEGAWA M, ORI D, et al. Decoding toll-like receptors: recent insights and perspectives in innate immunity [J]. *Immunity*, 2024, 57(4): 649-73.
- [10] HONDA K, OHBA Y, YANAI H, et al. Spatiotemporal regulation of MyD88-IRF-7 signalling for robust type-I interferon induction [J]. *Nature*, 2005, 434(7036): 1035-40.
- [11] BARNETT K C, LI S, LIANG K, et al. A 360° view of the inflammasome: mechanisms of activation, cell death, and diseases [J]. *Cell*, 2023, 186(11): 2288-312.
- [12] ZHU K, JIN X, CHI Z, et al. Priming of NLRP3 inflammasome activation by Msn kinase MINK1 in macrophages [J]. *Cell Mol Immunol*, 2021, 18(10): 2372-82.
- [13] BITTNER Z A, LIU X, TORTOLA M M, et al. BTK operates a phospho-tyrosine switch to regulate NLRP3 inflammasome activity [J]. *J Exp Med*, 2021, 218(11): e20201656.
- [14] ZHAO W, SHI C S, HARRISON K, et al. AKT regulates NLRP3 inflammasome activation by phosphorylating NLRP3 serine 5 [J]. *J Immunol*, 2020, 205(8): 2255-64.
- [15] KAWASHIMA A, KARASAWA T, TAGO K, et al. ARIH2 ubiquitinates NLRP3 and negatively regulates NLRP3 inflammasome activation in macrophages [J]. *J Immunol*, 2017, 199(10): 3614-22.
- [16] TANG T T, LI P, ZHOU X H, et al. The E3 ubiquitin ligase TRIM65 negatively regulates inflammasome activation through promoting ubiquitination of NLRP3 [J]. *Front Immunol*, 2021, 12.
- [17] HUMPHRIES F, BERGIN R, JACKSON R, et al. The E3 ubiquitin ligase pellino2 mediates priming of the NLRP3 inflammasome [J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 1560.
- [18] NI J, GUAN C, LIU H, et al. Ubc13 promotes K63-linked polyubiquitination of NLRP3 to activate inflammasome [J]. *J Immunol*, 2021, 206(10): 2376-85.
- [19] VAN GENT M, CHIANG J J, MUPPALA S, et al. The US3 kinase of herpes simplex virus phosphorylates the RNA sensor RIG-I to suppress innate immunity [J]. *J Virol*, 2022, 96(4): e0151021.
- [20] HAN L, ZHUANG M W, DENG J, et al. SARS-CoV-2 ORF9b antagonizes type I and III interferons by targeting multiple components of the RIG-I/MDA-5-MAVS, TLR3-TRIF, and cGAS-STING signaling pathways [J]. *J Med Virol*, 2021, 93(9): 5376-89.
- [21] KAZAZ S A, SHAIKH K A, WHITE J, et al. Phosphorylation of aryl hydrocarbon receptor interacting protein by TBK1 negatively regulates IRF7 and the type I interferon response [J]. *J Biol Chem*, 2024, 300(1): 105525.

- [22] KONG X, LU X, WANG S, et al. Type I interferon/STAT1 signaling regulates UBE2M-mediated antiviral innate immunity in a negative feedback manner [J]. *Cell Rep*, 2023, 42(1): 112002.
- [23] ZHANG J, LI C, HOU Y, et al. miR-26a exerts broad-spectrum antiviral effects via the enhancement of RIG-I-mediated type I interferon response by targeting USP15 [J]. *Microbiol Spectrum*, 2024, 12(1): e0312423.
- [24] ZHOU X, MAHDIZADEH S J, LE GALLO M, et al. UFMylation: a ubiquitin-like modification [J]. *Trends Biochem Sci*, 2024, 49(1): 52-67.
- [25] XIAO J, LIU S, YU T, et al. UFMylation is associated with LPS-induced inflammatory response in goat endometrial epithelial cells [J]. *Reprod Domest Anim*, 2020, 55(12): 1725-34.
- [26] BALCE D R, WANG Y T, MCALLASTER M R, et al. UFMylation inhibits the proinflammatory capacity of interferon- γ -activated macrophages [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2021, 118(1): e2011763118.
- [27] STAFF P O. Correction: proteomic analysis of mitochondrial-associated ER membranes (MAM) during RNA virus infection reveals dynamic changes in protein and organelle trafficking [J]. *PLoS One*, 2015, 10(4): e0124226.
- [28] SNIDER D L, PARK M, MURPHY K A, et al. Signaling from the RNA sensor RIG-I is regulated by ufmylation [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2022, 119(15): e2119531119.
- [29] TAO Y, YIN S, LIU Y, et al. UFL1 promotes antiviral immune response by maintaining STING stability independent of UFMylation [J]. *Cell Death Differ*, 2023, 30(1): 16-26.
- [30] MIRZALIEVA O, JUNCKER M, SCHWARTZENBURG J, et al. ISG15 and ISGylation in human diseases [J]. *Cells*, 2022, 11(3): 538.
- [31] DZIMIANSKI J V, SCHOLTE F E M, BERGERON E, et al. ISG15: it's complicated [J]. *J Mol Biol*, 2019, 431(21): 4203-16.
- [32] RADOSHEVICH L, IMPENS F, RIBET D, et al. ISG15 counteracts *Listeria monocytogenes* infection [J]. *eLife*, 2015, 4: e06848.
- [33] QIN Y, MENG X, WANG M, et al. Posttranslational ISGylation of NLRP3 by HERC enzymes facilitates inflammasome activation in models of inflammation [J]. *J Clin Invest*, 2023, 133(20): e161935.
- [34] XIONG T C, WEI M C, LI F X, et al. The E3 ubiquitin ligase ARIH1 promotes antiviral immunity and autoimmunity by inducing mono-ISGylation and oligomerization of cGAS [J]. *Nat Commun*, 2022, 13(1): 5973.
- [35] CHU L, QIAN L, CHEN Y, et al. HERC5-catalyzed ISGylation potentiates cGAS-mediated innate immunity [J]. *Cell Rep*, 2024, 43(3): 113870.
- [36] LIN C, KUFFOUR E O, FUCHS N V, et al. Regulation of STING activity in DNA sensing by ISG15 modification [J]. *Cell Rep*, 2023, 42(11): 113277.
- [37] QIN Y, WANG M, MENG X, et al. ISGylation by HERCs facilitates STING activation [J]. *Cell Rep*, 2024, 43(5): 114135.
- [38] LIU G, LEE J H, PARKER Z M, et al. ISG15-dependent activation of the sensor MDA5 is antagonized by the SARS-CoV-2 papain-like protease to evade host innate immunity [J]. *Nat Microbiol*, 2021, 6(4): 467.
- [39] SUSKIEWICZ M J, PROKHOROVA E, RACK J G M, et al. ADP-ribosylation from molecular mechanisms to therapeutic implications [J]. *Cell*, 2023, 186(21): 4475-95.
- [40] LUSCHER B, AHEL I, ALTMAYER M, et al. ADP-ribosyltransferases, an update on function and nomenclature [J]. *FEBS J*, 2022, 289(23): 7399-410.
- [41] THIRUNAVUKKARASU S, AHMED M, ROSA B A, et al. Poly(ADP-ribose) polymerase 9 mediates early protection against *Mycobacterium tuberculosis* infection by regulating type I IFN production [J]. *J Clin Invest*, 2023, 133(12): e158630.
- [42] YAMADA T, HORIMOTO H, KAMEYAMA T, et al. Constitutive aryl hydrocarbon receptor signaling constrains type I interferon-mediated antiviral innate defense [J]. *Nat Immunol*, 2016, 17(6): 687.
- [43] XU Y R, SHI M L, ZHANG Y, et al. Tankyrases inhibit innate antiviral response by PARylating VISA/MAVS and priming it for RNF146-mediated ubiquitination and degradation [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2022, 119(26): e2122805119.
- [44] DISKIN C, RYAN T A J, O'NEILL L A J. Modification of proteins by metabolites in immunity [J]. *Immunity*, 2021, 54(1): 19-31.
- [45] ZHANG D, TANG Z Y, HUANG H, et al. Metabolic regulation of gene expression by histone lactylation [J]. *Nature*, 2019, 574(7779): 575.
- [46] XU B, LIU Y, LI N, et al. Lactate and lactylation in macrophage metabolic reprogramming: current progress and outstanding issues [J]. *Front Immunol*, 2024, 15: 1395786.
- [47] NI M, MACFARLANE A W, TOFT M, et al. B-cell adaptor for PI3K (BCAP) negatively regulates toll-like receptor signaling through activation of PI3K [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109(1): 267-72.
- [48] IRIZARRY-CARO R A, MCDANIEL M M, OVERCAST G R, et al. TLR signaling adapter BCAP regulates inflammatory to reparatory macrophage transition by promoting histone lactylation [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2020, 117(48): 30628-38.
- [49] LI J, ZENG G, ZHANG Z, et al. Urban airborne PM_{2.5} induces pulmonary fibrosis through triggering glycolysis and subsequent modification of histone lactylation in macrophages [J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2024, 273: 116162.
- [50] ZHANG Z, TAN M, XIE Z, et al. Identification of lysine succinylation as a new post-translational modification [J]. *Nat Chem Biol*, 2011, 7(1): 58-63.
- [51] KUBATZKY K F, GAO Y, YU D. Post-translational modulation of cell signalling through protein succinylation [J]. *Explor Target Anti-Tumor Ther*, 2023, 4(6): 1260-85.
- [52] TANNAHILL G M, CURTIS A M, ADAMIK J, et al. Succinate is an inflammatory signal that induces IL-1 β through HIF-1 α [J]. *Nature*, 2013, 496(7444): 238.
- [53] LIU X, ZHU C, ZHA H, et al. SIRT5 impairs aggregation and activation of the signaling adaptor MAVS through catalyzing lysine desuccinylation [J]. *EMBO J*, 2020, 39(11): e103285.
- [54] SAUERLAND M, MERTES R, MOROZZI C, et al. Kinetic assessment of Michael addition reactions of α , β -unsaturated carbonyl compounds to amino acid and protein thiols [J]. *Free Radical Biol Med*, 2021, 169: 1-11.
- [55] HUMPHRIES F, SHMUEL-GALIA L, KETELUT-CARNEIRO N, et al. Succination inactivates gasdermin D and blocks pyroptosis [J]. *Science*, 2020, 369(6511): 1633.
- [56] EI-HUSSEINI A E D, BREDET D S. Protein palmitoylation: a regulator of neuronal development and function [J]. *Nat Rev*

- Neurosci, 2002, 3(10): 791-802.
- [57] KIM Y C, LEE S E, KIM S K, et al. Toll-like receptor mediated inflammation requires FASN-dependent MYD88 palmitoylation [J]. *Nat Chem Biol*, 2019, 15(9): 907.
- [58] LU Y, ZHENG Y, COYAUD E, et al. Palmitoylation of NOD1 and NOD2 is required for bacterial sensing [J]. *Science*, 2019, 366(6464): 460.
- [59] YU T, HOU D, ZHAO J, et al. NLRP3 Cys126 palmitoylation by ZDHHC7 promotes inflammasome activation [J]. *Cell Rep*, 2024, 43(4): 114070.
- [60] ZHENG S, QUE X, WANG S, et al. ZDHHC5-mediated NLRP3 palmitoylation promotes NLRP3-NEK7 interaction and inflammasome activation [J]. *Mol Cell*, 2023, 83(24): 4570-85, e7.
- [61] BALASUBRAMANIAN A, HSU A Y, GHIMIRE L, et al. The palmitoylation of gasdermin D directs its membrane translocation and pore formation during pyroptosis [J]. *Sci Immunol*, 2024, 9(94): eadn1452.
- [62] MCMICHAEL T M, ZHANG L, CHEMUDUPATI M, et al. The palmitoyltransferase ZDHHC20 enhances interferon-induced transmembrane protein 3 (IFITM3) palmitoylation and antiviral activity [J]. *J Biol Chem*, 2017, 292(52): 21517-26.
- [63] SHI C, YANG X, LIU Y, et al. ZDHHC18 negatively regulates cGAS-mediated innate immunity through palmitoylation [J]. *EMBO J*, 2022, 41(11): e109272.
- [64] KEMMOKU H, TAKAHASHI K, MUKAI K, et al. Single-molecule localization microscopy reveals STING clustering at the trans-Golgi network through palmitoylation-dependent accumulation of cholesterol [J]. *Nat Commun*, 2024, 15(1): 220.
- [65] DOGRAMMATZIS C, SAUD R, WAISNER H, et al. Tracing the STING exocytosis pathway during herpes viruses infection [J]. *mBio*, 2024, 15(4): e0037324.
- [66] WANG B, DAI T, SUN W, et al. Protein N-myristoylation: functions and mechanisms in control of innate immunity [J]. *Cell Mol Immunol*, 2021, 18(4): 878-88.
- [67] ROWE D C, MCGETTRICK A F, LATZ E, et al. The myristoylation of TRIF-related adaptor molecule is essential for Toll-like receptor 4 signal transduction [J]. *PNAS*, 2006, 103(16): 6299-304.
- [68] JIA M, WANG Y, WANG J, et al. Myristic acid as a checkpoint to regulate STING-dependent autophagy and interferon responses by promoting N-myristoylation [J]. *Nat Commun*, 2023, 14(1): 660.
- [69] PENG C, LU Z, XIE Z, et al. The first identification of lysine malonylation substrates and its regulatory enzyme [J]. *Mol Cell Proteomics*, 2011, 10(12): M111.012658.
- [70] ZOU L, YANG Y, WANG Z, et al. Lysine malonylation and its links to metabolism and diseases [J]. *Aging Dis*, 2023, 14(1): 84-98.
- [71] GALVAN-PENA S, CARROLL R G, NEWMAN C, et al. Malonylation of GAPDH is an inflammatory signal in macrophages [J]. *Nat Commun*, 2019, 10: 338.
- [72] RUSE C I, CHIN H G, PRADHAN S. Polyglutamylation: biology and analysis [J]. *Amino Acids*, 2022, 54(4): 529-42.
- [73] XIA P, YE B Q, WANG S, et al. Glutamylation of the DNA sensor cGAS regulates its binding and synthase activity in antiviral immunity [J]. *Nat Immunol*, 2016, 17(4): 369.
- [74] QIAN G, ZHANG Y, LIU Y, et al. Glutamylation of an HIV-1 protein inhibits the immune response by hijacking STING [J]. *Cell Rep*, 2023, 42(5): 112442.
- [75] WU X, XU M, GENG M, et al. Targeting protein modifications in metabolic diseases: molecular mechanisms and targeted therapies [J]. *Signal Transduction Targeted Ther*, 2023, 8(1): 220.
- [76] STACHOWICZ A, PANDEY R, SUNDARARAMAN N, et al. Protein arginine deiminase 2 (PAD2) modulates the polarization of THP-1 macrophages to the anti-inflammatory M2 phenotype [J]. *J Inflamm*, 2022, 19(1): 20.
- [77] FENG Q, GUO Q, YU W, et al. PADI4 negatively regulates RIG-I-mediated antiviral response through deacetylation of IFN- β promoter via HDAC1 [J]. *BBA-Mol Basis Dis*, 2024, 1870(4): 167092.
- [78] CHATHAM J C, PATEL R P. Protein glycosylation in cardiovascular health and disease [J]. *Nat Rev Cardiol*, 2024, 21(8): 525-44.
- [79] HANUSZKIEWICZ A, PITTOCK P, HUMPHRIES F, et al. Identification of the flagellin glycosylation system in burkholderia cenocepacia and the contribution of glycosylated flagellin to evasion of human innate immune responses [J]. *J Biol Chem*, 2014, 289(27): 19231-44.
- [80] SATO R, SHIBATA T, TANAKA Y, et al. Requirement of glycosylation machinery in TLR responses revealed by CRISPR/Cas9 screening [J]. *Int Immunol*, 2017, 29(8): 347-55.
- [81] YANG H, XIAO L, WU D X, et al. O-GlcNAcylation of NLRP3 contributes to lipopolysaccharide-induced pyroptosis of human gingival fibroblasts [J]. *Mol Biotechnol*, 2024, 66(8): 2023-31.
- [82] SEO J, PARK Y S, KWEON T H, et al. O-linked N-acetylglucosamine modification of mitochondrial antiviral signaling protein regulates antiviral signaling by modulating its activity [J]. *Front Immunol*, 2021, 11: 589259.
- [83] LI T, LI X, ATTRI K S, et al. O-GlcNAc transferase links glucose metabolism to MAVS-mediated antiviral innate immunity [J]. *Cell Host Microbe*, 2018, 24(6): 791.
- [84] TU Y, YIN X J, LIU Q, et al. MITA oligomerization upon viral infection is dependent on its N-glycosylation mediated by DDOST [J]. *PLoS Pathog*, 2022, 18(11): e1010989.
- [85] ANTONIO URANGA J, LOPEZ-MIRANDA V, LOMBO F, et al. Food, nutrients and nutraceuticals affecting the course of inflammatory bowel disease [J]. *Pharmacol Rep*, 2016, 68(4): 816-26.
- [86] FAN J B, MIYAUCHI-ISHIDA S, ARIMOTO K I, et al. Type I IFN induces protein ISGylation to enhance cytokine expression and augments colonic inflammation [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, 112(46): 14313-8.
- [87] VITALI R, MANCUSO A B, PALONE F, et al. PARP1 activation induces HMGB1 secretion promoting intestinal inflammation in mice and human intestinal organoids [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(8): 7096.
- [88] HUTIN D, HAGEN K A, SHAO P, et al. Reduced colonic mucosal injury in 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin poly ADP-ribose polymerase (TIPARP/PARP7)-deficient mice [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(2): 920.
- [89] WEI Y, LI J, LI J, et al. Dietary long-chain fatty acids promote colitis by regulating palmitoylation of STAT3 through CD36-mediated endocytosis [J]. *Cell Death Dis*, 2024, 15(1): 60.
- [90] LI J, WEI Y, LIU C, et al. 2'-fucosyllactose restores the intestinal

- mucosal barrier in ulcerative colitis by inhibiting STAT3 palmitoylation and phosphorylation [J]. *Clin Nutr*, 2024, 43(2): 380-94.
- [91] WANG S, SONG Y, WANG Z, et al. Neutrophil-derived PAD4 induces citrullination of CKMT1 exacerbates mucosal inflammation in inflammatory bowel disease [J]. *Cell Mol Immunol*, 2024, 21(6): 620-33.
- [92] NAKAYAMA K, WAKAMATSU K, FUJII H, et al. Core fucose is essential glycosylation for CD14-dependent toll-like receptor 4 and toll-like receptor 2 signalling in macrophages [J]. *J Biochem*, 2019, 165(3): 227-37.
- [93] SUN Q H, WANG Y S, LIU G L, et al. Enhanced *O*-linked glcnacylation in Crohn's disease promotes intestinal inflammation [J]. *Ebiomedicine*, 2020, 53: 102693.
- [94] ZHANG Y, WU K, ZHU Y, et al. Resveratrol alleviates inflammatory bowel disease by inhibiting JAK2/ STAT3 pathway activity via the reduction of *O*-GlcNAcylation of STAT3 in intestinal epithelial cells [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2024, 484: 116882.
- [95] LEBWOHL M. Psoriasis [J]. *Lancet*, 2003, 361(9364): 1197-204.
- [96] ARROYO A B, BERNAL-CARRION M, CANTON-SANDOVAL J, et al. NAMPT and PARYlation are involved in the pathogenesis of atopic dermatitis [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(9): 7992.
- [97] ZHAO S, WU T, FU M, et al. Histone lactylation participates in psoriasis progression by regulating the adiponectin expression [J]. *Clin Cosmet Inv Derm*, 2024, 17: 219-27.
- [98] ZHOU B, YANG W, LI W, et al. Zdhc2 is essential for plasmacytoid dendritic cells mediated inflammatory response in psoriasis [J]. *Front Immunol*, 2021, 11: 607442.
- [99] HOI A, IGEL T, MOK C C, et al. Systemic lupus erythematosus [J]. *Lancet*, 2024, 403(10441): 2326-38.
- [100] NI H, WANG Y, YAO K, et al. Cyclical palmitoylation regulates TLR9 signalling and systemic autoimmunity in mice [J]. *Nat Commun*, 2024, 15(1): 1.
- [101] ALVES I, SANTOS-PEREIRA B, DALEBOUT H, et al. Protein mannosylation as a diagnostic and prognostic biomarker of lupus nephritis: an unusual glycan-neoepitope in systemic lupus erythematosus [J]. *Glycobiology*, 2021, 31(12): 1709.
- [102] YU S, HU H, AI Q, et al. SARS-CoV-2 spike-mediated entry and its regulation by host innate immunity [J]. *Viruses*, 2023, 15(3): 693.
- [103] ZHU B, CHEN Z, SHEN J, et al. Structural- and site-specific *N*-glycosylation characterization of COVID-19 virus spike with strucGP [J]. *Anal Chem*, 2022, 94(36): 12274-9.
- [104] PATON B, HERRERO P, PERAIRE J, et al. Fucosylated *N*-glycans as early biomarkers of COVID-19 severity [J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1204661.