



蛋白质翻译后修饰在肝癌免疫治疗中的作用机制*

唐 怡¹⁾ 王国泰^{2)**} 蒋雨涵¹⁾ 曹忠强²⁾⁽¹⁾ 陕西中医药大学第一临床医学院, 咸阳 712099; ⁽²⁾ 陕西中医药大学附属医院肝胆胰外科, 咸阳 712099)

摘要 蛋白质翻译后修饰 (PTM) 是蛋白质活性调节、定位、表达以及与其他细胞分子相互作用的调节机制, 能引起蛋白质性质和功能的变化, 其传统形式包括磷酸化、糖基化、甲基化、泛素化等。越来越多的研究表明, PTMs 不仅调节肝癌的发生和发展, 而且在抗癌免疫反应中起着至关重要的作用。本文综述了目前几种传统类型的 PTMs 在肝癌免疫治疗中的作用机制, 为肝癌治疗提供新的见解和未来研究方向。

关键词 蛋白质翻译后修饰, 肝癌, 免疫治疗

中图分类号 R730.3

DOI: 10.16476/j.pibb.2024.0027

原发性肝癌 (简称肝癌) 是全球最常见的恶性肿瘤之一。根据 2020 年全球癌症统计数据, 肝癌是第六大诊断癌症, 也是第三大癌症死亡原因^[1]。据统计, 到 2020 年, 全球约有 90 万人被诊断为肝癌, 其中约 80 万人死于肝癌, 而到 2040 年预计肝癌诊断人数可能达到 130 万^[2]。肝癌主要病理学类型包括 4 种: 肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC)、肝母细胞瘤 (hepatoblastoma, HB)、肝内胆管癌 (intrahepatic cholangiocarcinoma, ICC)、HCC-ICC 混合型肝癌, 少见未分化型肝癌。其中, HCC 是肝癌的主要类型, 占 75%~85%, 主要发生于乙型肝炎、丙型肝炎、脂肪肝等慢性肝病患者中^[3]。随着肝癌诊疗技术水平的提升、新型抗肿瘤药物的不断研发与应用, 患者生存率以及生存状况得到明显改善, 但目前肝癌仍以外科根治性治疗为主。

蛋白质翻译后修饰 (post-translational modification, PTM) 是对特定氨基酸残基的化学修饰, 其常见形式包括磷酸化、糖基化、甲基化、泛素化等, 而新兴研究强调了乙酰化、乳酸化、巴豆酰化、琥珀酰化和异烟酸化等。越来越多的研究表明, PTMs 在调节肿瘤的免疫逃逸和免疫治疗中起着至关重要的作用^[4]。本综述总结了几种传统修饰类型的 PTMs 影响肝癌发展和免疫治疗的潜在机制 (图 1)。

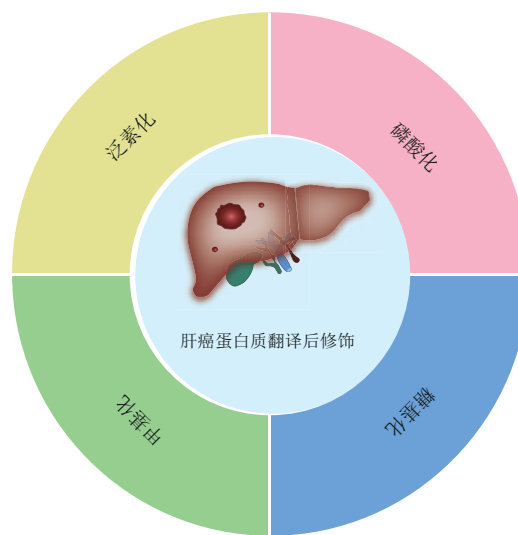


Fig. 1 Conventional post-translational modifications are closely associated with liver cancer immunity

图1 传统蛋白质翻译后修饰与肝癌免疫密切相关

* 陕西省中医药管理局重点研发项目 (2021-ZZ-JC024) 和咸阳市中青年科技领军人才项目 (L2022CXNLR018) 资助。

** 通讯联系人。

Tel: 18391818106, E-mail: wangtai_52@126.com

收稿日期: 2024-01-23, 接受日期: 2024-04-11

1 磷酸化

蛋白质磷酸化是生物体中调节蛋白质功能和活性最常见和最重要的调节机制之一,在细胞分裂、信号转导、基因表达调控和蛋白质相互作用中起着重要作用,可通过调控肿瘤细胞增殖、侵袭和转移以及抑制细胞凋亡而影响癌症的发生和发展^[5]。研究发现,磷酸化蛋白质组图谱对于肿瘤的分子分型、致病机制研究和治疗靶点选择,都有着非常重要的意义。例如,对159位HCC病人的配对癌组织和癌旁肝组织进行多组学研究,在磷酸化蛋白质组部分,对差异表达的磷酸化蛋白进行通路富集,将肿瘤队列分型,得到3种预后不同亚型^[6]。

肿瘤相关巨噬细胞(tumor-associated macrophages, TAM)是肿瘤微环境中浸润的一种重要的免疫细胞,在不同的刺激因素作用下,可以向经典激活型巨噬细胞(M1型)或选择性激活型巨噬细胞(M2型)极化。在肝癌中,巨噬细胞主要为M2型,可以诱导调节性T细胞(regulatory T cells, Treg)的分化,抑制效应T细胞和单核细胞等的活性,从而抑制针对癌细胞的免疫反应。在巨噬细胞中,卵泡抑素样蛋白1(follistatin-like protein 1, FSTL1)通过调节M2型丙酮酸激酶(M2 pyruvate kinase, PKM2)的细胞内功能,促进PKM2磷酸化和核易位,并诱导M1型极化和炎症来促进肝纤维化的进展^[7]。锌指蛋白64(ZFP64)在抗程序性死亡1(programmed death-1, PD-1)耐药HCC患者的肿瘤组织中表达经常上调。升高的ZFP64通过将巨噬细胞极化转移到M2型并促进抑制性肿瘤微环境来驱动抗PD-1耐药性^[8]。丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶4(STK4)被认为是肝癌中的一个关键抑癌基因。在HCC患者分离的巨噬细胞中,STK4表达显著下调。此外,白介素-6(IL-6)水平高的HCC患者血清STK4水平特异性降低^[9]。

自然杀伤(natural killer, NK)细胞来源于骨髓淋巴样干细胞,主要分布在骨髓、外周血、肝、脾、肺和淋巴结,是先天免疫系统的重要组成部分,无需特异性识别肿瘤抗原即可被肿瘤表面的配体激活并具有广谱杀伤各类肿瘤细胞的功能。肝脏含有两种不同类型的NK细胞:一种与循环NK细胞(cNK细胞)相似,而另一种主要存在于肝脏组织(trNK细胞)中。NK细胞的功能障碍与肝癌进展密切相关^[10]。磷脂酰肌醇3激酶(PI3K)/蛋白

激酶B(Akt)/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)信号通路在HCC的发生发展和NK细胞对肝癌的免疫应答中起着重要作用,同时PI3K/AKT/mTOR通路对IL-15介导的NK细胞活化至关重要,影响NK细胞的发育和细胞毒性能力^[11-12]。Tan等^[13]发现,HCC患者中的trNK和cNK细胞都显著减少,而T细胞免疫球蛋白和黏蛋白结构域蛋白3(Tim-3)在肿瘤浸润的trNK和cNK细胞中均显著上调,并抑制其细胞因子分泌和细胞毒性活性。磷酸化Tim-3减少了PI3K p110与p85结合的机会,并导致下游AKT/mTOR途径的活性降低,从而抑制了肝脏NK细胞(包括cNK和trNK)的活性,促进肝癌细胞的生长。Xu等^[14]发现,肝脏慢性炎症反应诱发肝细胞核因子(NF)- κ Bp65表达上调,进一步通过 β -arrestin1介导NF- κ Bp65-Ser536位点磷酸化,继而激活下游Akt/mTOR信号通路,促进肝癌的发生与发展。

T细胞的发育、分化和活化受到靶向各种转录因子的磷酸化事件的调节,这些磷酸化事件在决定T细胞命运和功能中起着关键作用。例如,在HCC患者中,Th1细胞因子的血清水平经常受到抑制,而Th2细胞因子经常升高。IL-6是Th2细胞因子之一,也是生存的独立预测因素,Th1细胞因子应答和IL-6水平对HCC预后具有重要的免疫学作用^[15]。Chan等^[16]发现,IL-6可通过激活Janus激酶1(JAK1)磷酸化程序死亡受体配体1(programmed death-ligand 1, PD-L1),进而催化PD-L1糖基化并维持其稳定性,促进肿瘤免疫逃逸。在动物模型中,IL-6抗体靶向IL-6与抗Tim-3疗法联合使用时诱导协同T细胞杀伤作用。Th17细胞是辅助性T细胞的一个特定亚群,通过产生IL-17在免疫应答中发挥关键作用^[17]。Treg/Th17细胞失衡可能作为确定HCC进展和预后的重要指标。Th17细胞可能参与促进HCC的侵袭和进展。与健康个体相比,HCC患者的Th17细胞水平升高,并与肿瘤恶性程度呈正相关^[18]。

考虑到磷酸化对肿瘤特征的显著影响,激酶或磷酸酶可用作肿瘤治疗的靶点^[19]。例如,索拉非尼(sorafenib)是首个治疗晚期HCC患者的靶向药物,其作为多激酶抑制剂(MKI),通过下调Ras蛋白(Ras)/Raf激酶(Raf)/有丝分裂原活化蛋白激酶激酶(MEK)/细胞外信号调节激酶(ERK)通路抑制肿瘤细胞增殖。此外还通过抑制血小板衍

生生长因子受体 β (PGFR- β)、血管内皮生长因子受体2 (VEGFR-2)、肝细胞因子受体 (c-KIT) 和其他蛋白质以抑制血管生成^[20]。但在临床中, 大约只有30%的患者能从索拉非尼中获益, 并且随着索拉非尼的长期给药, 其耐药性多在6个月内出现。幸运的是, 随着近年来HCC相关研究的发展, 仑伐替尼 (lenvatinib)、多纳非尼 (donafenib)、瑞戈非尼 (regorafenib) 等相继上市, 已成为HCC治疗指南的一、二线用药。其中, 仑伐替尼作为另一MKI, 是继索拉非尼之后的肝癌治疗一线靶向药物, 能够多重抑制血管内皮生长因子 (VEGF)、成纤维细胞生长因子 (FGF)、PDGFR等通路, 同时调节免疫微环境, 具有靶免双重特性。Kudo等^[21]发现, 在未经治疗的晚期肝细胞癌中, 使用仑伐替尼的患者中位生存期 (median overall survival, mOS) 为13.6个月, 中位疾病进展时间 (median time to progression, mTTP) 为8.9个月, 客观缓解率 (objective response rate, ORR) 为24%, 均高于使用索拉非尼的对照组 (12.3个月, 3.7个月和9%)。

T细胞在免疫系统和肿瘤免疫应答中发挥核心作用。一些靶向T细胞疗法, 例如嵌合抗原受体T细胞 (chimeric antigen receptor T cell, CAR-T) 以及寻找免疫检查点和免疫检查点抑制剂 (immune checkpoint inhibitor, ICI), 是肿瘤免疫治疗领域研究热点之一^[4]。目前, 临床常见的ICI主要为针对PD-1、PD-L1以及细胞毒性T淋巴细胞相关抗原4 (CTLA-4)。而瑞戈非尼和其他MKI可增强HCC抗PD-1治疗的抗肿瘤疗效, 其机制除了抗血管生成外, 还与增强抗肿瘤免疫力有关^[22]。基于MKI的免疫治疗双重组合疗法同样也备受瞩目。Kim等^[23]通过一项开放标签、多中心、单臂II期研究 (RENOBATE) 发现, 纳武利尤单抗+瑞戈非尼疗效显著, 能够为晚期HCC患者带来良好的生存获益, 同时也为免疫治疗+MKI治疗方案提供新的证据。此外, IMbrave150研究和HIMALAYA研究证实, 与MKI单药 (索拉非尼) 相比, PD-L1抑制剂+VEGF单抗 (阿替利珠单抗+贝伐珠单抗) 和PD-L1抑制剂联合CTLA-4抑制剂 (度伐利尤单抗+替西木单抗) 可以显著改善晚期HCC患者的生存获益^[24-25]。总的来说, MKI扩大了治疗免疫性疾病的选择, 但仍需努力提高选择性并充分阐明机制。同时, 目前免疫治疗+MKI治疗的前景尚不明朗, 疗效结果不一, 尚待更多的研究数据进一步

证实。

2 糖基化

蛋白质的糖基化是一种涉及聚糖与蛋白质连接的PTM, 主要分为两种类型: O-糖基化和N-糖基化。其中, 聚糖与蛋白质苏氨酸或丝氨酸残基的羟基上的氧原子连接称为O-糖基化, 聚糖与天冬酰胺残基连接称为N-糖基化^[26]。异常糖基化不仅会促进肝癌细胞的增殖和转移, 而且在免疫识别和免疫逃逸中起重要作用。

蛋白质的N-乙酰氨基葡萄糖 (GlcNAc) 修饰是一种广泛存在于细胞浆和细胞核蛋白质丝/苏氨酸上的O-连接的单糖修饰。研究表明, 异常升高的O-GlcNAc糖基化水平与肿瘤的恶性增殖、进展和转移均相关^[27]。因此, 研究O-GlcNAc糖基化的生物学功能可能为肝癌发生机制和免疫治疗策略研究提供新方向。最新研究证明, 高糖高脂饮食会通过诱导O-GlcNAc糖基化促进癌症进展。Zhou等^[28]基于此进一步发现果糖衍生的乙酸盐和谷氨酰胺合成酶 (GLUL) 过表达共同导致尿苷二磷酸-乙酰氨基葡萄糖 (UDP-GlcNAc) 水平升高, 促进肝癌中的O-GlcNAc糖基化修饰和肿瘤进展。O-GlcNAc可以通过抑制PD-L1溶酶体降解促进肿瘤免疫逃逸。Zhu等^[29]研究发现, O-GlcNAc抑制酪氨酸激酶底物 (HGS) 糖基化的方式激活T细胞介导的抗肿瘤免疫, 并且与PD-L1抗体联合使用可协同促进抗肿瘤免疫反应。此外, 大量研究表明, O-GlcNAc糖基化直接参与调控肿瘤的增殖、凋亡、侵袭转移、血管生成以及代谢重编程。由此可见, 调控免疫细胞如T效应细胞或者直接调控肿瘤细胞的蛋白糖基化或可成为肿瘤免疫治疗的有效靶点。

甲胎蛋白 (AFP) 作为肝癌最传统的肿瘤标志物, 对肿瘤免疫监视具有抑制作用。研究表明, 肝癌中的AFP与正常AFP相比经历不同的糖基化, 且肝癌来源的AFP减少树突状细胞的分化和T细胞活化, 所以临床上常用AFP来鉴别、确诊肝癌与其他肝良性疾病^[30-31]。虽然AFP是肝癌早期检测中应用最广泛的生物标志物, 但不同AFP水平肝癌患者在分子、肿瘤的发生发展和临床造影等方面均存在差异, 并且已有诸多研究指出, AFP无法准确检测早期HCC, 对HCC的灵敏度仅为47%~64%。近年来, 蛋白质糖基化分析作为发现新的血清生物标志物和提高现有常用生物标志物临床价

值的方法获得了大量关注。例如, Kim等^[32]使用稳定同位素标记的糖肽作为内标在人血清中N-糖基化AFP的绝对定量方法有助于发现和验证人血清和血浆中异常的糖蛋白生物标志物, 提高诊断准确性。同时AFP的核心岩藻糖基化(AFP-L3)能够区分HCC与其他肝脏疾病, 具有诊断AFP阴性HCC的潜在能力^[33]。Cong等^[34]通过合并血清糖组中3个聚糖峰, 建立早期HCC预测模型Glycomics-EHCC。在247例患者样本中, Glycomics-EHCC模型在临界值为-0.39时, 区分EHCC与肝纤维化/肝硬化的灵敏度为84.6%, 特异性为85.0%。此外, Glycomics-EHCC模型能够预测未来的EHCC诊断, 灵敏度和特异性分别超过90%和85%。Kohansal-Nodehi团队^[35]应用位点特异性糖蛋白质组学方法发现触珠蛋白(Hp), 作为一种诊断性糖生物标志物, 随着疾病从肝硬化进展到早期和晚期HCC, Hp聚糖的岩藻糖基化、分支和唾液酸化以及高甘露糖聚糖的表达显著增加。Ang等^[36]对HCC患者和慢性肝病患者的Hp血清浓度及其糖基化进行了系统分析。Hp对HCC诊断的敏感性为79%, 特异性为95%。Cao等^[37]发现, β -2-糖蛋白1(APOH)、 α -1-酸性糖蛋白2(ORM2)和补体C3(C3)3种糖蛋白的诊断敏感性分别为0.901、0.945、0.944, 而AFP的诊断敏感性仅为0.633。结果证明, APOH、ORM2和C3可用于区分HCC患者和健康人的生物标志物。

PD-L1作为体内重要免疫调控靶点, 在癌症免疫治疗中起重要作用。PD-L1的糖基化修饰可以稳定其蛋白质表达。Shi等^[38]通过靶向TMUB1(transmembrane and ubiquitin like domain containing 1)调节PD-L1多泛素化和糖基化来促进抗肿瘤免疫并抑制肿瘤生长。然而, 由于PD-L1被高度糖基化, PD-L1免疫组化读数可能与患者反应不一致。Lee等^[39]通过去除N-糖基化改善了抗PD-L1抗体结合亲和力和信号强度, 增强PD-L1检测并预测抗PD-1/PD-L1的治疗效果。角质形成细胞相关蛋白2(KRTCAP2)编码参与N-糖基化的相应蛋白质。HCC肿瘤微环境中KRTCAP2显著增加且与HCC预后相关, 高水平的KRTCAP2与肿瘤区域及周围基质中的CD8⁺T细胞和CD68⁺巨噬细胞的浸润减少相关。此外, HCC中KRTCAP2的表达水平与PD-L1的表达呈负相关^[40]。PD-1及PD-L1是重要的免疫检查点分子, 目前以PD-1/PD-L1抑制性抗体为代表的免疫检查点阻断已广泛用于多种晚期实

体瘤的临床治疗, 但如何提高其疗效是当下亟待解决的临床难题。

IL-12由p40和p35亚基组成, 可产生p70异二聚体和游离p40, 是诱导细胞免疫的主要细胞因子之一。在肿瘤微环境中, IL-12刺激活化的T细胞和NK细胞释放毒杀性的酶类或分泌效应细胞因子如 γ 干扰素(IFN- γ), 这些效应分子对于肿瘤的清除至关重要。IL-12作为未成熟的异二聚体在细胞内长期存在, 翻译后糖基化是调节IL-12分泌的关键步骤^[41-42]。Ha等^[43]通过分子生物学技术发现, N-糖基化位点(小鼠p40的N220和人p40的N222)的突变减少了p40的分泌, 然而, 这些突变对IL-12分泌的影响较小, 它们能增强长期CD8⁺T细胞应答, 并提供针对肿瘤攻击的保护。

3 甲基化

蛋白质甲基化由甲基化酶催化, 作用于蛋白质的特定残基, 是一种重要的动态修饰和生物学现象, 参与信号通路的调控。常见的甲基化修饰包括DNA甲基化、RNA甲基化和组蛋白甲基化。其中, 组蛋白甲基化(histone methylation)作为一种重要的表观遗传学调控机制, 对了解肝癌的发生机制以及开展相应的预防和免疫治疗具有重要的理论和实践意义。

组蛋白甲基化是发生在H3和H4组蛋白N端赖氨酸或精氨酸残基上的甲基化, 其过程主要由组蛋白甲基转移酶(histone methyltransferase, HMT)催化, 并被组蛋白去甲基化酶(histone demethylase, HDM)去除。HMT或HDM表达的异常可诱导组蛋白甲基化状态的全基因组改变, 从而影响癌基因或肿瘤抑制基因的表达, 可能导致肿瘤发生。HMT使用甲基供体S-腺苷甲硫氨酸(SAM)将其甲基转移生成S-腺苷同型半胱氨酸(SAH)和甲基化底物。最近的研究表明, 肝脏可以被认为是人体的SAM工厂, 近85%的甲基化反应发生在肝脏, 这表明异常的SAM水平或异常的组蛋白甲基化可能在癌症的发生中起重要作用。Gou等^[44]解析了代谢酶PCK1介导代谢信号和组蛋白甲基化修饰之间的交互调控, 揭示S100A11蛋白通过与AKT1蛋白相互作用激活PI3K/AKT通路的分子机制, 并发现补充SAM或干预S100A11在小鼠肝癌模型中具有潜在的抗肿瘤效应。研究最广泛的组蛋白甲基化位点, 组蛋白H3第4位赖氨酸(H3K4)、组蛋白H3第36位赖氨酸(H3K36)和

组蛋白 H3 第 79 位赖氨酸 (H3K79), 通常与转录激活有关, 而组蛋白 H3 第 9 位赖氨酸二甲基化 (H3K9me2)、组蛋白 H3 第 9 位赖氨酸三甲基化 (H3K9me3) 和组蛋白 H3 第 27 位的赖氨酸三甲基化 (H3K27me3) 通常作为抑制标记。据报道, 组蛋白甲基化调节了肝癌中与增殖和转移相关的基因子集的表达。组蛋白赖氨酸甲基转移酶 EZH2 可通过对 H3K27me3 进行甲基化来改变下游靶基因的表达, 同时 EZH2 在肝癌中高表达, 并与患者低生存率相关。而组蛋白甲基转移酶 SETD2 是目前已知的唯一一种能够催化 H3K36me3 的酶。Li 等^[45] 证明了 SETD2 缺失是肝癌的驱动因素之一。SETD2 通过介导 H3K36me3 修饰直接调控胆固醇外排转运蛋白 ABCA1、ABCG5、ABCG8 的表达调控胆固醇稳态, 进而影响肝癌发生发展。因此, 控制脂代谢稳态平衡极有可能成为治疗 SETD2 突变肝癌患者的一种有效办法。与邻近的非肿瘤肝组织相比, KMT7 (也称为 SETD7) 在 HCC 肿瘤组织中高表达, 并且与肿瘤大小和肿瘤分化不良呈正相关^[46-47]。H3K9me3 与转录抑制有关, 并受组蛋白赖氨酸甲基转移酶 (如 SUV39H1 和 ESET) 调节。SUV39H1 表达升高和 H3K9me3 水平升高在 HCC 的发生和发展中起着重要作用, 因此, 用毛壳素药理学抑制 SUV39H1 增加了 HCC 细胞的凋亡, 可能在 HCC 中起到良好治疗效果^[48]。

赖氨酸去甲基化酶 1A (KDM1A) 在多种癌症类型中过表达, 是一种靶向组蛋白和非组蛋白的赖氨酸去甲基化酶。Lü 等^[49] 发现 KDM1A 可以通过 FKBP8-BCL2 轴促进肝癌细胞生长, 同时 KDM1A 和 BCL2 蛋白水平增加, 而抑制 KDM1A 可以拮抗索拉非尼耐药性。赖氨酸特异性去甲基化酶 5B

(KDM5B) 在肝癌组织中的表达明显上调, 并且其表达与不良预后呈正相关^[50]。KDM5B 通过调节 PTEN/PI3K/Akt 通路影响 HCC 细胞中 CSC 特性和索拉非尼耐药性, KDM5B 可作为临床治疗 HCC 的潜在靶点^[51]。Qu 等^[52] 通过数据库挖掘发现组蛋白赖氨酸去甲基化酶 (KDMs) 的功能主要与组蛋白去甲基化酶活性和细胞周期、p53 信号通路、癌症通路、癌症转录失调、病毒致癌和 FoxO 信号通路有关。此外, KDM1A/1B/3A/4A/5B/5C 和 KDM6A 的表达与 HCC 免疫浸润显著相关。Shen 等^[53] 将 ARID3A 确定为肝癌中上调最多的干性相关转录因子之一, 发现 ARID3A 和 CEP131 通过激活 KDM3A 促进 ES 细胞基因特征, 并导致肝癌患者的不良预后, ARID3A/CEP131-KDM3A 调控电路可作为肝癌的预后指标和潜在治疗靶点。Nakatsuka 等^[54] 发现, KDM3A 通过 PI3K 通路促进肝肿瘤的形成, 研究表明 KDM3A 在 PI3K/AP-1 致癌轴中起着关键作用, 并提出了在 PI3K 通路激活下抑制 KDM3A 对抗肝肿瘤发展的新策略。

4 泛素化

泛素是由 76 个氨基酸组成的高度保守的多肽, 广泛存在于真核细胞中。而泛素化是指泛素蛋白分子在一系列特殊的酶作用下, 对细胞中靶蛋白进行进行特异性修饰的过程。泛素化在蛋白质的定位、代谢、功能、调节和降解过程中发挥着重要作用, 参与细胞周期、增殖、凋亡、分化等^[55]。目前研究发现, 泛素化在不同水平受到泛素活化酶 (E1)、泛素结合酶 (E2)、泛素连接酶 (E3) 和一系列去泛素化酶 (deubiquitinating enzyme, DUB) 调控, 并且这些酶与肝癌免疫治疗密切相关 (表 1)。

Table 1 Ubiquitination modifications, enzymes and their biological functions associated with hepatocellular carcinoma
表1 与肝癌相关的泛素化修饰、酶及其生物学功能

酶	生物学功能	参考文献
E3		
CBL-b	抑制T细胞转录活性, 促进免疫耐受性	[56]
SKP2	靶向SKP2的O-GlcNAc修饰能够抑制肝癌细胞增殖	[57]
SYVN1	促进HCC转移和免疫逃逸	[58]
TRIM 7	直接负调控Src和调节Src-mTORC 1-S6 K1轴来抑制HCC进展	[59]
TRIM21	与HCC呈正相关	[60]
TRIM26	控制ZEB1稳定性进而激活EMT途径的发展和肝癌细胞的增殖和迁移	[61]
DTL	促进HCC细胞的生长, 迁移和侵袭	[62]
ZFP 91	抑制HCC葡萄糖代谢重编程、细胞增殖和转移	[63]

续表1

酶	生物学功能	参考文献
DUB		
USP1	通过去泛素化和稳定其底物而参与HCC的肿瘤发展，在HCC中高表达并且与肿瘤的免疫浸润呈正相关	[64]
USP7	去泛素化转录共激活因子YAP，促进细胞增殖、抑制细胞凋亡	[65]
USP8	提高OGT蛋白的稳定性	[66]
USP10	通过去泛素化和稳定YAP/TAZ促进肝癌细胞增殖；稳定HCC细胞中的AMPK α 和PTEN来负调控mTORC1激活和AKT磷酸化	[67-68]
USP14	增强HIF-1 α 的转录活性，并通过去泛素化增强HIF-1 α 的稳定性，进而促进HCC细胞的迁移和侵袭	[69]
USP22	增强PD-L1靶向免疫治疗效果并提高抗癌免疫力	[70]
USP27	USP27的上调导致SETD3表达升高，进而促进细胞增殖、侵袭、迁移和肿瘤发生	[71]
USP39	下调E3泛素连接酶TRIM26的表达，间接降低了 β -catenin的泛素化水平，促进HCC的进展	[72]

泛素连接酶 E3 是泛素化反应中的关键酶，决定泛素-蛋白酶体系统结合的底物蛋白特异性。由于泛素化参与调节肿瘤免疫的多个过程，E3 泛素连接酶可能是联合肿瘤免疫治疗的潜在治疗靶点，靶向 E3 泛素连接酶在肿瘤免疫治疗中表现出巨大的潜力^[73]。E3 泛素连接酶 Casitas B 系淋巴瘤 (CBL-b) 是最具特征的 E3 泛素连接酶，是一种与 T 细胞活化直接相关的免疫耐受因子，具有多个检查点抑制作用和极小的自身免疫毒性，是未来靶向癌症免疫治疗的药物靶点蛋白^[56]。而 S 期激酶相关蛋白 2 (S-phase kinase-associated protein 2, SKP2) 是最早被发现的泛素连接酶之一，最新研究发现，E3 泛素连接酶 SKP2 存在 O-GlcNAc 修饰，其修饰水平在肝癌中显著上调^[57]。Xie 等^[58]发现，E3 泛素连接酶 SYVN1 能够调控 FoxO1/PD-L1 轴促进 HCC 转移和免疫逃逸。越来越多的证据表明，在 60% 以上的 HCC 患者中检测到原癌基因酪氨酸激酶 Src 表达和激活增加。Zhu 等^[59]发现 E3 泛素连接酶 TRIM7 通过直接靶向 Src 蛋白抑制肝细胞癌的进展。Wang 等^[60]研究发现，TRIM21 的表达与 HCC 呈正相关，TRIM21 的基因消融可减少氧化性肝损伤和肝癌发生。DTL (denticles E3 ubiquitin protein ligase) 是一种 E3 泛素连接酶，在调节 DNA 复制和细胞周期中发挥重要功能。研究发现，DTL 在肝癌组织显著高表达，并且 DTL 可能促进 HCC 细胞的生长，迁移和侵袭^[62]。Chen 等^[63]发现，E3 连接酶锌指蛋白 91 (ZFP91) 可以被确定为肝癌发生和 HCC 代谢重编程的肿瘤抑制因子，能够抑制 HCC 葡萄糖代谢重编程、细胞增殖和转移。而泛素结合酶 E2O (UBE2O) 在 HCC 组织中显著过表达，UBE2O 的下调抑制了 HCC 细胞的增殖、迁移和侵袭，故 UBE2O 可能是 HCC 预后生物标志物^[74]。

DUBs 的主要功能是去除底物上的泛素链，从而改变底物的生物活性。USP1 是泛素特异性蛋白酶 (USP) DUBs 家族的一个成员，USP1 在 HCC 中高表达并且与肿瘤的免疫浸润呈正相关，可能预示着患者的预后不良^[64]。Su 等^[75]研究发现，新型癌基因 USP27X-AS1 的高表达预示着 HCC 患者的不良预后，USP27X-AS1 通过使 USP7 与 AKT 相互作用来促进 HCC 的增殖和转移。USP8 去泛素化修饰 O-GlcNAc 转移酶 (OGT) 蛋白，提高其蛋白质的稳定性，后者通过糖基化调控铁死亡关键蛋白 SLC7A11。使用小分子抑制剂靶向 USP8 可降低 OGT 的稳定性来抑制肝癌的进展并诱导铁死亡^[66]。而另一种 DUBs 家族成员 USP10 是一种高度保守的去泛素化酶，广泛参与多种癌症的发生发展。但是 USP10 在肿瘤发生中的作用因其相互作用的底物而异。Yuan 等^[76]指出，晚期 HCC 的转移可能与转化生长因子 β (TGF- β) 和 SAMD 4 的持续激活密切相关。USP10 使 SAMD 4 去泛素化，维持其蛋白质表达水平，并激活 TGF- β 信号转导，从而促进 HCC 转移。长链非编码 RNA (lncRNA) GASAL1 被发现在 HCC 中起致癌作用。GASAL1 可以通过与 miR-193b-5p 竞争性结合上调 USP10。USP10 可以通过使增殖细胞核抗原 (PCNA) 去泛素化来增强细胞增殖和迁移能力。YAP (Yes-associated protein) 和 TAZ 均为 Hippo 信号通路的转录共激活因子，在人类癌症特别是 HCC 中起着重要的致癌作用。YAP 是 USP7 和 USP10 调控肝癌的重要靶点，USP7 和 USP10 去泛素化转录共激活因子 YAP，促进细胞增殖、抑制细胞凋亡^[65, 67]。但相反的是，Lu 等^[68]发现，USP10 可以作为一种肿瘤抑制因子，通过稳定 HCC 细胞中的 AMPK α 和 PTEN 来负调控 mTORC1 激活和 AKT 磷酸化。以上相互矛盾的结果表明，USP10 可能促进 HCC 增

殖,同时它也可能起肿瘤抑制剂的作用,需要更多的研究来阐明 USP10 在 HCC 中的确切作用。USP14 可以参与调节与人类疾病相关的各种信号通路,如癌症、自噬、免疫反应和病毒感染等。USP14 在 HCC 样本中高度表达,并且 USP14 的高表达与不良预后呈正相关。进一步研究表明,USP14 通过其去泛素化活性维持缺氧诱导因子 1 α (hypoxia inducible factor-1 α , HIF-1 α) 的稳定性,为 HCC 的早期诊断和治疗提供了潜在的生物标志物^[69]。USP22 在不同肿瘤微环境中能够发挥促癌或抑癌的双重作用,在肝癌中扮演着重要角色。USP22 为 PD-L1 的新型去泛素化酶,靶向 USP22 可以增强 PD-L1 靶向免疫治疗效果并提高抗癌免疫力。USP22 的基因缺失以免疫系统依赖性方式抑制肝癌生长,增加肿瘤免疫原性和肿瘤浸润淋巴细胞^[73]。HCC 中 PR 结构域锌指 1 (PRDM1) 是 PD-L1 的重要调节因子,同时 PRDM1 可能通过上调 PD-L1 的表达促进肿瘤免疫逃逸,进而抑制其本身的抗肿瘤作用^[77]。去泛素化酶 USP27 通过稳定组蛋白甲基转移酶 SETD3 促进细胞增殖和肝细胞癌进展^[71]。研究发现,泛素特异性蛋白酶 USP39 和 E3 泛素连接酶 TRIM26 通过拮抗作用而非竞争关系,在控制锌指 E 盒结合同源蛋白 1 (zinc finger E-box-binding homeobox protein 1, ZEB1) 稳定性进而激活上皮-间质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) 途径,并促进肝癌细胞的增殖和迁移。在此基础上,研究人员进一步发现了 USP39 通过直接去泛素化 β -catenin 促进 HCC 的进展^[72]。

CAR-T 虽然在肝癌中的应用仍处于早期阶段,但它是一项极具前景的肿瘤免疫治疗技术。近年来, CAR-T 细胞疗法在原发性肝癌治疗临床前研究中已经取得了很大进展,部分针对肝癌的 CAR-T 项目已经处于临床研究阶段^[61]。而 CAR-T 治疗失败的原因往往是由 CAR-T 细胞功能障碍引起的,需要其他方法来克服限制抗肿瘤效力的抑制信号。最近的研究表明,通过引入靶向参与 CAR 泛素化的氨基酸残基的特定突变,可以显著提高 CAR-T 细胞的长期杀伤能力^[78]。而 Lane 团队^[79]使用 SARA 蛋白的结构域靶向 SMAD2 和 SMAD3 来阻断 SMAD 依赖性 TGF- β 信号传导,重新编程 E3 连接酶靶标特异性,加强靶向泛素化和蛋白质降解,有望增强 CAR-T 细胞疗法的效力。CAR-T 细胞疗法治疗肝癌研究大部分仍处于临床前研究阶段,一部分临床试验也在进行,但其安全性和有效性仍

不明确。在未来研究中要着重解决如何进一步增强 CAR-T 细胞克服肿瘤微环境的能力,如何寻找更特异性的抗原,如何更好地控制细胞毒性等。

5 总结和展望

肝癌是一种常见的恶性肿瘤,对人类的健康和生命构成了极大的威胁。尽管目前对肝癌的起源和分子特征的认识取得了巨大进步,但能够显著提高患者生存率和改善患者生活质量的治疗方案仍较少。现代研究发现,在翻译过程中,蛋白质经历一系列的化学修饰,这些翻译后修饰能通过酶的激活与失活、蛋白质稳定性调控、各类 PTMs 相互作用等影响蛋白质功能。而在肿瘤中,越来越多的研究证明,PTMs 和免疫治疗在肝癌的发生发展,乃至肝癌的免疫监视、治疗与预后中起着重要作用。

目前已知 PTMs 超过 400 种,极大增加了蛋白质组研究的多样性。而在传统类型 PTMs 中,PD-L1 与磷酸化、糖基化、泛素化等多种 PTMs 有关,深入研究肿瘤细胞 PD-L1 表达调控机制,有望提高 PD-1/PD-L1 疗效,并且靶向 PD-L1 的 PTMs 或调节 PD-1/PD-L1 的表达水平都有望成为未来探索肝癌免疫治疗的新领域。同时探索各种类型 PTMs 与 PD-L1 的关系有利于进一步研究 PD-L1 的生物学功能。研究发现,PD-L1 除与肿瘤细胞密切相关外,还多表达于 CD8⁺T 细胞、CD68⁺巨噬细胞等免疫细胞,故探索 PD-1/PD-L1 在非肿瘤细胞中的 PTM 形式及其生物学意义有望提高免疫治疗效果。

除了传统类型的 PTMs,目前发表的研究工作也已鉴定出多种新型 PTMs,尤其是近年来也发现了如乳酸化、巴豆酰化、琥珀酰化等新型酰化修饰,它们与传统乙酰化修饰无论是结构、理化性质以及功能调节方面都存在较大差异,作为近年来研究热点,进一步深入研究 PTMs 对筛选疾病临床标志、鉴定药物靶点、揭示生命活动机理等方面具有重要意义。对于新型 PTMs 与肝癌的关系和对其他未被发现的 PTMs 类型的探索仍在进行中,并且对于不同癌症类型 PTMs 之间的关联性、共同调控模式以及不同 PTMs 相互形成的调控网络仍知之甚少,未来研究将集中于更全面地认识和理解 PTMs,以及探索新的 PTMs 类型和机制。

中药具有多成分、多靶点、多通路的作用特点,因此,越来越多中药应用于抗肿瘤与免疫治疗中。目前已有中药成分通过 PTM 作用于具体信号通路或者分子靶点(相关蛋白 SUMO 化修饰为治

疗靶点)的相关报道。例如:有研究发现丹参能够通过激活 SUMO 循环通路途径,提高神经元中 SUMO2/3 的表达,诱导 SUMO2/3 由细胞质向细胞核发生位移,发挥对缺血神经元的保护作用。槲皮素能够通过下调 SENP1 和 SENP2,上调 SENP3,显著增加 HIF-1 α 的 SUMO 化偶联护神经元免受损伤。蒙药珍宝丸可能通过激活 HIF-1 α 和 SUMO1~3 的表达发挥对大鼠脑缺血缺氧损伤的保护作用^[80]。但中医对肿瘤的靶向免疫治疗仍处于起步阶段,且目前研究多集中于中药某单一活性成分为研究对象,忽略了中药通常是以多种活性成分叠加且中药复方对人体具有整体调节作用。从中药单体及中药复方整体来探讨其抗肿瘤机制以及免疫治疗的研究十分缺乏。中医中药在肝癌治疗中一直发挥着重要作用,但其发挥抗肿瘤活性成分及作用机制尚待进一步挖掘。未来仍需在遵循中医药发展规律的基础上,采用现代医学研究方法,不断探索多种类型中药活性成分的协同作用,研究中药与肿瘤免疫治疗的作用机制。

肝癌的表观遗传学是高度复杂的,虽然大量表观遗传学研究慢慢确定了肝癌治疗干预的潜在靶点,但目前肝癌 PTMs 的相关研究多数都是基于实验水平,从理论的角度结合生物信息学进行肝癌相关 PTMs 的研究仍然较少,尤其是关于 PTMs 与基因表达之间关系的研究相对较少。并且大多数研究缺乏深入验证,仍处于体内外研究阶段,临床治疗中尚未得到充分证实。在肝癌中,糖蛋白 AFP 作为目前临床应用最广最普遍的诊断标志物,在临床实际也有一定局限性,很多肝癌病例中 AFP 阴性,因此未来也可寻找是否具有更特异性的 PTMs 作为肝癌标志物。总的来说,PTMs 是肿瘤免疫的调节剂,影响 T 细胞活化、细胞因子产生、肿瘤微环境等各种免疫过程,进一步研究 PTMs 在肿瘤免疫中的作用有助于发现新的生物标志物,开发更有效和个性化的癌症免疫疗法和靶向疗法,扩展对癌症生物学的了解。

参 考 文 献

- [1] Sung H, Ferlay J, Siegel R L, *et al.* Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*, 2021, **71**(3): 209-249
- [3] 中华医学会肝病学会. 原发性肝癌三级预防共识(2022 年版). *中华肝脏病杂志*, 2022, **30**(8): 832-845
Hepatology Branch of Chinese Medical Association. *Chin J*
- Hepatol, 2022, **30**(8): 832-845
- [4] Morad G, Helmink B A, Sharma P, *et al.* Hallmarks of response, resistance, and toxicity to immune checkpoint blockade. *Cell*, 2021, **184**(21): 5309-5337
- [5] Xia S, Zhai Y, Wang X, *et al.* Phosphorylation of polysaccharides: a review on the synthesis and bioactivities. *Int J Biol Macromol*, 2021, **184**: 946-954
- [6] Gao Q, Zhu H, Dong L, *et al.* Integrated proteogenomic characterization of HBV-related hepatocellular carcinoma. *Cell*, 2019, **179**(2): 561-577.e22
- [7] Rao J, Wang H, Ni M, *et al.* FSTL1 promotes liver fibrosis by reprogramming macrophage function through modulating the intracellular function of PKM2. *Gut*, 2022, **71**(12): 2539-2550
- [8] Wei C Y, Zhu M X, Zhang P F, *et al.* PKC α /ZFP64/CSF1 axis resets the tumor microenvironment and fuels anti-PD1 resistance in hepatocellular carcinoma. *J Hepatol*, 2022, **77**(1): 163-176
- [9] Li W, Xiao J, Zhou X, *et al.* STK4 regulates TLR pathways and protects against chronic inflammation-related hepatocellular carcinoma. *J Clin Invest*, 2015, **125**(11): 4239-4254
- [10] Kalathil S G, Thanavala Y. Natural killer cells and T cells in hepatocellular carcinoma and viral hepatitis: current status and perspectives for future immunotherapeutic approaches. *Cells*, 2021, **10**(6): 1332
- [11] Tian L Y, Smit D J, Jücker M. The role of PI3K/AKT/mTOR signaling in hepatocellular carcinoma metabolism. *Int J Mol Sci*, 2023, **24**(3): 2652
- [12] Ali A K, Nandagopal N, Lee S H. IL-15-PI3K-AKT-mTOR: a critical pathway in the life journey of natural killer cells. *Front Immunol*, 2015, **6**: 355
- [13] Tan S, Xu Y, Wang Z, *et al.* Tim-3 hampers tumor surveillance of liver-resident and conventional NK cells by disrupting PI3K signaling. *Cancer Res*, 2020, **80**(5): 1130-1142
- [14] Xu X, Lei Y, Chen L, *et al.* Phosphorylation of NF- κ Bp65 drives inflammation-mediated hepatocellular carcinogenesis and is a novel therapeutic target. *J Exp Clin Cancer Res*, 2021, **40**(1): 253
- [15] Lee H L, Jang J W, Lee S W, *et al.* Inflammatory cytokines and change of Th1/Th2 balance as prognostic indicators for hepatocellular carcinoma in patients treated with transarterial chemoembolization. *Sci Rep*, 2019, **9**(1): 3260
- [16] Chan LC, Li CW, Xia W, *et al.* IL-6/JAK1 pathway drives PD-L1 Y112 phosphorylation to promote cancer immune evasion. *J Clin Invest*, 2019, **129**(8): 3324-3338
- [17] Sahu U, Khare P. Role of interleukin-17 in human papillomavirus infection and associated malignancies. *Microb Pathog*, 2021, **161**(PtB): 105294
- [18] Lan Y T, Fan X P, Fan Y C, *et al.* Change in the Treg/Th17 cell imbalance in hepatocellular carcinoma patients and its clinical value. *Medicine*, 2017, **96**(32): e7704
- [19] Pan S, Chen R. Pathological implication of protein post-translational modifications in cancer. *Mol Aspects Med*, 2022, **86**: 101097
- [20] Tang W, Chen Z, Zhang W, *et al.* The mechanisms of sorafenib resistance in hepatocellular carcinoma: theoretical basis and

- therapeutic aspects. *Signal Transduct Target Ther*, 2020, **5**(1): 87
- [21] Kudo M, Finn RS, Qin S, *et al*. Lenvatinib versus sorafenib in first-line treatment of patients with unresectable hepatocellular carcinoma: a randomised phase 3 non-inferiority trial. *Lancet*, 2018, **391**(10126): 1163-1173
- [22] Ou D L, Chen C W, Hsu C L, *et al*. Regorafenib enhances antitumor immunity *via* inhibition of p38 kinase/Creb1/Klf4 axis in tumor-associated macrophages. *J Immunother Cancer*, 2021, **9**(3): e001657
- [23] Kim H D, Jung S, Lim H Y, *et al*. Regorafenib plus nivolumab in unresectable hepatocellular carcinoma: the phase 2 RENOBATE trial. *Nat Med*, 2024, **30**(3): 699-707
- [24] Kudo M, Finn RS, Cheng AL, *et al*. Albumin-Bilirubin grade analyses of atezolizumab plus bevacizumab versus sorafenib in patients with unresectable hepatocellular carcinoma: a post hoc analysis of the phase III IMbrave150 study. *Liver Cancer*, 2023, **12**(5):479-493
- [25] Sangro B, Chan S L, Kelley R K, *et al*. Four-year overall survival update from the phase III HIMALAYA study of tremelimumab plus durvalumab in unresectable hepatocellular carcinoma. *Ann Oncol*, 2024, **35**(5):448-457
- [26] Magalhães A, Duarte H O, Reis C A. The role of O-glycosylation in human disease. *Mol Aspects Med*, 2021, **79**: 100964
- [27] He X F, Hu X, Wen G J, *et al*. O-GlcNAcylation in cancer development and immunotherapy. *Cancer Lett*, 2023, **566**: 216258
- [28] Zhou P, Chang W Y, Gong D A, *et al*. High dietary fructose promotes hepatocellular carcinoma progression by enhancing O-GlcNAcylation *via* microbiota-derived acetate. *Cell Metab*, 2023, **35**(11): 1961-1975.e6
- [29] Zhu Q, Wang H, Chai S, *et al*. O-GlcNAcylation promotes tumor immune evasion by inhibiting PD-L1 lysosomal degradation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2023, **120**(13): e2216796120
- [30] Vessella R L, Santrach M A, Bronson D, *et al*. Evaluation of AFP glycosylation heterogeneity in cancer patients with AFP-producing tumors. *Int J Cancer*, 1984, **34**(3): 309-314
- [31] Pardee A D, Shi J, Butterfield L H. Tumor-derived α -fetoprotein impairs the differentiation and T cell stimulatory activity of human dendritic cells. *J Immunol*, 2014, **193**(11): 5723-5732
- [32] Kim KH, Lee SY, Kim DG, *et al*. Absolute quantification of N-glycosylation of Alpha-Fetoprotein using parallel reaction monitoring with stable Isotope-Labeled N-Glycopeptide as an internal standard. *Anal Chem*, 2020, **92**(18):12588-12595
- [33] Puangpila C, Anukulkich N, Chiapleam S, *et al*. Development of lectin-based lateral flow assay for fucosylated alpha-fetoprotein. *J Cell Biochem*, 2023, **124**(10): 1546-1556
- [34] Cong M, Ou X, Huang J, *et al*. A predictive model using N-glycan biosignatures for clinical diagnosis of early hepatocellular carcinoma related to hepatitis B virus. *OMICS*, 2020, **24**(7): 415-423
- [35] Kohansal-Nodehi M, Swiatek-de Lange M, Kroeniger K, *et al*. Discovery of a haptoglobin glycopeptides biomarker panel for early diagnosis of hepatocellular carcinoma. *Front Oncol*, 2023, **13**: 1213898
- [36] Ang I L, Poon T C W, Lai P B S, *et al*. Study of serum haptoglobin and its glycoforms in the diagnosis of hepatocellular carcinoma: a glycoproteomic approach. *J Proteome Res*, 2006, **5**(10): 2691-2700
- [37] Cao W Q, Jiang B Y, Huang J M, *et al*. Straightforward and highly efficient strategy for hepatocellular carcinoma glycoprotein biomarker discovery using a nonglycopeptide-based mass spectrometry pipeline. *Anal Chem*, 2019, **91**(19): 12435-12443
- [38] Shi C, Wang Y, Wu M, *et al*. Promoting anti-tumor immunity by targeting TMUB1 to modulate PD-L1 polyubiquitination and glycosylation. *Nat Commun*, 2022, **13**(1): 6951
- [39] Lee H H, Wang Y N, Xia W, *et al*. Removal of N-linked glycosylation enhances PD-L1 detection and predicts anti-PD-1/PD-L1 therapeutic efficacy. *Cancer Cell*, 2019, **36**(2): 168-178.e4
- [40] Sun P, Zhang H, Shi J, *et al*. KRTCAP2 as an immunological and prognostic biomarker of hepatocellular carcinoma. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2023, **222**: 113124
- [41] Bohnacker S, Hildenbrand K, Aschenbrenner I, *et al*. Influence of glycosylation on IL-12 family cytokine biogenesis and function. *Mol Immunol*, 2020, **126**: 120-128
- [42] Carra G, Gerosa F, Trinchieri G. Biosynthesis and posttranslational regulation of human IL-12. *J Immunol*, 2000, **164**(9): 4752-4761
- [43] Ha S J, Chang J, Song M K, *et al*. Engineering N-glycosylation mutations in IL-12 enhances sustained cytotoxic T lymphocyte responses for DNA immunization. *Nat Biotechnol*, 2002, **20**(4): 381-386
- [44] Gou D, Liu R, Shan X, *et al*. Gluconeogenic enzyme PCK1 supports S-adenosylmethionine biosynthesis and promotes H3K9me3 modification to suppress hepatocellular carcinoma progression. *J Clin Invest*, 2023, **133**(13): e161713
- [45] Li X J, Li Q L, Ju L G, *et al*. Deficiency of histone methyltransferase SET domain-containing 2 in liver leads to abnormal lipid metabolism and HCC. *Hepatology*, 2021, **73**(5): 1797-1815
- [46] Chen Y, Yang S, Hu J, *et al*. Increased expression of SETD7 promotes cell proliferation by regulating cell cycle and indicates poor prognosis in hepatocellular carcinoma. *PLoS One*, 2016, **11**(5): e0154939
- [47] Batista I A A, Helguero L A. Biological processes and signal transduction pathways regulated by the protein methyltransferase SETD7 and their significance in cancer. *Signal Transduct Target Ther*, 2018, **3**: 19
- [48] Chiba T, Saito T, Yuki K, *et al*. Histone lysine methyltransferase SUV39H1 is a potent target for epigenetic therapy of hepatocellular carcinoma. *Int J Cancer*, 2015, **136**(2): 289-298
- [49] Lü S, Zhao X, Zhang E, *et al*. Lysine demethylase KDM1A promotes cell growth *via* FKBP8-BCL2 axis in hepatocellular carcinoma. *J Biol Chem*, 2022, **298**(9): 102374
- [50] Jose A, Shenoy G G, Sunil Rodrigues G, *et al*. Histone demethylase KDM5B as a therapeutic target for cancer therapy. *Cancers (Basel)*, 2020, **12**(8): 2121
- [51] Liu J, Nie C. KDM5B regulates the PTEN/PI3K/Akt pathway to

- increase sorafenib-resistance in hepatocellular carcinoma. *Anticancer Drugs*, 2022, **33**(9): 840-849
- [52] Qu LH, Fang Q, Yin T, *et al.* Comprehensive analyses of prognostic biomarkers and immune infiltrates among histone lysine demethylases (KDMs) in hepatocellular carcinoma. *Cancer Immunol Immunother*, 2022, **71**(10):2449-2467
- [53] Shen M, Li S, Zhao Y, *et al.* Hepatic ARID3A facilitates liver cancer malignancy by cooperating with CEP131 to regulate an embryonic stem cell-like gene signature. *Cell Death Dis*, 2022, **13**(8): 732
- [54] Nakatsuka T, Tateishi K, Kudo Y, *et al.* Impact of histone demethylase KDM3A-dependent AP-1 transactivity on hepatotumorigenesis induced by PI3K activation. *Oncogene*, 2017, **36**(45):6262-6271
- [55] Han S, Wang R, Zhang Y, *et al.* The role of ubiquitination and deubiquitination in tumor invasion and metastasis. *Int J Biol Sci*, 2022, **18**(6):2292-2303
- [56] Kumar J, Kumar R, Kumar Singh A, *et al.* Deletion of Cbl-b inhibits CD8⁺ T-cell exhaustion and promotes CAR T-cell function. *J Immunother Cancer*, 2021, **9**(1): e001688
- [57] Feng Z, Yin J, Zhang Z, *et al.* O-GlcNAcylation of E3 ubiquitin ligase SKP2 promotes hepatocellular carcinoma proliferation. *Oncogene*, 2024, **43**(15): 1149-1159
- [58] Xie W, Shi L, Quan H, *et al.* SYVN1 ubiquitinates FoxO1 to induce β -catenin nuclear translocation, PD-L1-mediated metastasis, and immune evasion of hepatocellular carcinoma. *Cell Oncol (Dordr)*, 2023, **46**(5):1285-1299
- [59] Zhu L, Qin C, Li T, *et al.* The E3 ubiquitin ligase TRIM7 suppressed hepatocellular carcinoma progression by directly targeting Src protein. *Cell Death Differ*, 2020, **27**(6): 1819-1831
- [60] Wang F, Zhang Y, Shen J, *et al.* The ubiquitin E3 ligase TRIM21 promotes hepatocarcinogenesis by suppressing the p62-Keap1-Nrf2 antioxidant pathway. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*, 2021, **11**(5): 1369-1385
- [61] Li X, Yuan J, Song C, *et al.* Deubiquitinase USP39 and E3 ligase TRIM26 balance the level of ZEB1 ubiquitination and thereby determine the progression of hepatocellular carcinoma. *Cell Death Differ*, 2021, **28**(8): 2315-2332
- [62] Dong R, Zhang D, Han B, *et al.* DTL is a novel downstream gene of E2F1 that promotes the progression of hepatocellular carcinoma. *Curr Cancer Drug Targets*, 2023, **23**(10): 817-828
- [63] Chen D, Wang Y, Lu R, *et al.* E3 ligase ZFP91 inhibits hepatocellular carcinoma metabolism reprogramming by regulating PKM splicing. *Theranostics*, 2020, **10**(19): 8558-8572
- [64] Zhao Y, Xue C, Xie Z, *et al.* Comprehensive analysis of ubiquitin-specific protease 1 reveals its importance in hepatocellular carcinoma. *Cell Prolif*, 2020, **53**(10): e12908
- [65] Sun X, Ding Y, Zhan M, *et al.* Usp7 regulates Hippo pathway through deubiquitinating the transcriptional coactivator Yorkie. *Nat Commun*, 2019, **10**(1): 411
- [66] Tang J, Long G, Hu K, *et al.* Targeting USP8 inhibits O-GlcNAcylation of SLC7A11 to promote ferroptosis of hepatocellular carcinoma via stabilization of OGT. *Adv Sci (Weinh)*, 2023, **10**(33):e2302953
- [67] Zhu H, Yan F, Yuan T, *et al.* USP10 promotes proliferation of hepatocellular carcinoma by deubiquitinating and stabilizing YAP/TAZ. *Cancer Res*, 2020, **80**(11): 2204-2216
- [68] Lu C, Ning Z, Wang A, *et al.* USP10 suppresses tumor progression by inhibiting mTOR activation in hepatocellular carcinoma. *Cancer Lett*, 2018, **436**: 139-148
- [69] Lv C, Wang S, Lin L, *et al.* USP14 maintains HIF1- α stabilization via its deubiquitination activity in hepatocellular carcinoma. *Cell Death Dis*, 2021, **12**(9): 803
- [70] Huang X, Zhang Q, Lou Y, *et al.* USP22 deubiquitinates CD274 to suppress anticancer immunity. *Cancer Immunol Res*, 2019, **7**(10): 1580-1590
- [71] Zou T, Wang Y, Dong L, *et al.* Stabilization of SETD3 by deubiquitinase USP27 enhances cell proliferation and hepatocellular carcinoma progression. *Cell Mol Life Sci*, 2022, **79**(1): 70
- [72] Wang W, Lei Y, Zhang G, *et al.* USP39 stabilizes β -catenin by deubiquitination and suppressing E3 ligase TRIM26 pre-mRNA maturation to promote HCC progression. *Cell Death Dis*, 2023, **14**(1): 63
- [73] Martínez-Jiménez F, Muñíos F, López-Arribillaga E, *et al.* Systematic analysis of alterations in the ubiquitin proteolysis system reveals its contribution to driver mutations in cancer. *Nat Cancer*, 2020, **1**(1): 122-135
- [74] Lan L, Ding D, Wang W, *et al.* High level of ubiquitin conjugate enzyme E2O indicates poor prognosis of patients with hepatocellular carcinoma. *Curr Med Sci*, 2023, **9**(1): 93-103
- [75] Su C, Zhang H, Mo J, *et al.* SP1-activated USP27X-AS1 promotes hepatocellular carcinoma progression via USP7-mediated AKT stabilisation. *Clin Transl Med*, 2024, **14**(1): e1563
- [76] Yuan T, Chen Z, Yan F, *et al.* Deubiquitinating enzyme USP10 promotes hepatocellular carcinoma metastasis through deubiquitinating and stabilizing Smad4 protein. *Mol Oncol*, 2020, **14**(1): 197-210
- [77] Li Q, Zhang L, You W, *et al.* PRDM1/BLIMP1 induces cancer immune evasion by modulating the USP22-SPI1-PD-L1 axis in hepatocellular carcinoma cells. *Nat Commun*, 2022, **13**(1): 7677
- [78] Li W, Qiu S, Chen J, *et al.* Chimeric antigen receptor designed to prevent ubiquitination and downregulation showed durable antitumor efficacy. *Immunity*, 2020, **53**(2): 456-470.e6
- [79] Lane I C, Kembuan G, Carreiro J, *et al.* Genetic retargeting of E3 ligases to enhance CAR T cell therapy. *Cell Chem Biol*, 2024, **31**(2): 338-348.e5
- [80] 陈祥宇, 阳晶晶, 梅志刚, 等. 中医药靶向调节线粒体动力学及相关蛋白SUMO化修饰防治脑缺血/再灌注损伤的研究进展. *中草药*, 2022, **53**(16): 5205-5214
- Chen X Y, Yang J J, Mei Z G, *et al.* *Chin Tradit Herb Drugs*, 2022, **53**(16): 5205-5214

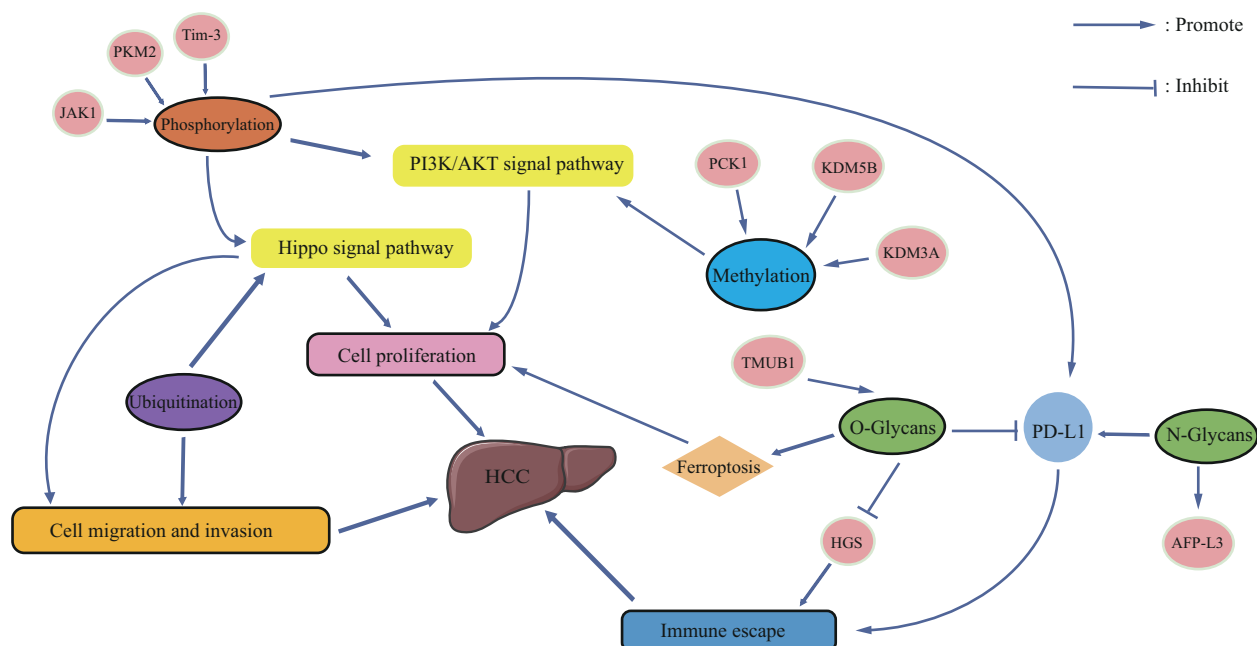
Mechanisms of Protein Post-translational Modifications in Immunotherapy of Hepatocellular Carcinoma*

TANG Yi¹⁾, WANG Guo-Tai^{2)**}, JIANG Yu-Han¹⁾, CAO Zhong-Qiang²⁾

¹⁾First Clinical Medical College, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712099, China;

²⁾Hepatobiliary Pancreatic Surgery, Shaanxi University of Traditional Chinese Medicine Hospital, Xianyang 712099, China)

Graphical abstract



Abstract Hepatocellular carcinoma is one of the most common malignant tumors worldwide, posing a great threat to human health and life. Despite the tremendous progress in understanding the origin and molecular characterization of hepatocellular carcinoma, there are still few therapeutic options that can significantly increase the survival rate and improve the quality of life of patients. Protein post-translational modifications (PTMs) are regulatory mechanisms for protein activity, localization, expression, and interactions with other cellular molecules that induce changes in protein properties and functions. More and more studies have demonstrated that PTMs and immunotherapy play an important role in the development of hepatocellular carcinoma, even in the immunosurveillance of hepatocellular carcinoma and the treatment and prognosis of hepatocellular carcinoma

* This work was supported by grants from Shaanxi Provincial Administration of Traditional Chinese Medicine Key R&D Projects (2021-ZZ-JC024) and Program for Young and Middle-aged Science and Technology Leaders in Xianyang City (L2022CXNLR018).

** Corresponding author.

Tel: 86-18391818106, E-mail: wangtai_52@126.com

Received: January 23, 2024 Accepted: April 11, 2024

patients. Traditional types of PTMs include phosphorylation, glycosylation, methylation, and ubiquitination. Phosphorylation affects cancer development and progression by regulating tumor cell proliferation, invasion and metastasis, and inhibiting apoptosis. There are two main types of glycosylation: O-glycosylation and N-glycosylation. Abnormal glycosylation not only promotes the proliferation and metastasis of hepatocellular carcinoma cells, but also plays an important role in immune recognition and immune escape. Common methylation modifications include DNA methylation, RNA methylation and histone methylation. Among them, histone methylation, as an important epigenetic regulatory mechanism, is of great theoretical and practical significance for understanding the mechanism of hepatocellular carcinoma as well as carrying out the corresponding prevention and immunotherapy. Ubiquitination plays an important role in the localization, metabolism, function, regulation and degradation of proteins, and it is regulated at different levels by ubiquitin-activating enzyme (E1), ubiquitin-conjugating enzyme (E2), ubiquitin-conjugating enzyme (E3), and a series of deubiquitinating enzymes (DUBs) and is closely related to hepatocellular carcinoma immunotherapy. This paper begins with a brief overview of the importance of PTMs of proteins, discusses the importance of these traditional types of PTMs in hepatocellular carcinoma immunotherapy, and summarizes the most recent applications of these approaches in hepatocellular carcinoma in order to explore the mechanism of action of PTMs in hepatocellular carcinoma immunotherapy. Then, we summarize the finding that programmed death-ligand 1 (PD-L1) is associated with a variety of conventional types of PTMs, that in-depth study of the mechanisms regulating PD-L1 expression in tumor cells is expected to improve therapeutic efficacy, and that targeting PD-L1 in PTMs is expected to be a new field for exploring hepatocellular carcinoma immunotherapy in the future. Finally, we discuss the current status of research on PTMs for hepatocellular carcinoma immunotherapy and provide new insights and future research directions. In addition to the traditional types of PTMs, multiple novel PTMs have also been identified in published research reports, while the relationship between novel PTMs and hepatocellular carcinoma and the types of PTMs to other undiscovered proteins are still poorly understood, and future research will be focused on a more comprehensive knowledge and understanding of PTMs as well as on exploring new types and mechanisms of PTMs. Overall, further investigation of the role of PTMs in tumor immunity could help to discover new biomarkers and to develop more effective and personalized cancer immunotherapies and targeted therapies, expanding our understanding of cancer biology.

Key words protein post-translational modification, hepatocellular carcinoma, immunotherapy

DOI: 10.16476/j.pibb.2024.0027