

• 综述 •

## 蛋白翻译后修饰与肿瘤免疫治疗

金 晶, 季 鸣, 陈晓光\*

(中国医学科学院、北京协和医学院药物研究所, 天然药物活性物质与功能国家重点实验室/  
创新药物非临床药物代谢及PK/PD研究北京市重点实验室, 北京 100050)

**摘要:** 蛋白翻译后修饰是一种蛋白功能调节的重要方式, 对生理和病理条件下蛋白质的结构和功能都至关重要, 且修饰种类繁多。肿瘤的免疫治疗是指通过激活体内的免疫细胞或使失能的免疫细胞正常化从而治疗肿瘤的有效方法。近年来研究发现, 许多类型的蛋白翻译后修饰都参与了肿瘤微环境中免疫细胞的增殖、活化以及代谢重编程等过程, 并可能影响肿瘤免疫治疗的疗效。因此, 本文就几类不同蛋白翻译后修饰对肿瘤微环境中免疫细胞的作用进行综述, 旨在为肿瘤免疫治疗提供新的思路。

**关键词:** 蛋白翻译后修饰; 肿瘤; 肿瘤微环境; 肿瘤免疫治疗

中图分类号: R966 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2019)10-1711-07

## Post-translational modifications of proteins and cancer immunotherapy

JIN Jing, JI Ming, CHEN Xiao-guang\*

(State Key Laboratory of Bioactive Substances and Functions of Natural Medicines/Beijing Key Laboratory of Non-clinical Drug Metabolism and PK/PD Study, Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100050, China)

**Abstract:** Post-translational modifications (PTMs) of proteins is an important mode of protein function regulation, which is essential for the structure and function of proteins under physiological and pathological conditions, and the types of modifications is wide. Cancer immunotherapy refers to an effective method for cancer treatment by activating or normalizing disabled immune cells. In recent years, researchers have found that many types of PTM are involved in the process of proliferation, activation and metabolic reprogramming of immune cells in cancer microenvironment, and may affect the efficacy of cancer immunotherapy. Therefore, this article reviews the effects of several different PTMs on immune cells in cancer microenvironment, and aims to provide new ideas for cancer immunotherapy.

**Key words:** post-translational modifications of proteins; cancer; cancer microenvironment; cancer immunotherapy

肿瘤免疫治疗是指根据免疫学原理, 通过激活体内的免疫细胞或是失能的免疫细胞正常化从而增强机体的抗肿瘤免疫应答, 克服肿瘤的免疫逃逸, 抑制肿瘤恶性增殖的治疗方法。从1893年Coley发现术后化脓

性链球菌感染能够意外地使肉瘤患者肿瘤消退, 到上世纪90年代Rosenberg使用白介素2 (interleukin 2, IL-2) 及IL-2联用干扰素 $\gamma$  (interferon gamma, IFN $\gamma$ ) 治疗转移性黑色素瘤, 直到2011年FDA批准首个细胞毒性T淋巴细胞抗原4 (cytotoxic T lymphocyte antigen 4, CTLA-4) 抗体ipilimumab用于黑色素瘤治疗, 肿瘤的免疫疗法已经成为继手术、放疗和化疗之后的第四大疗法, 并被Science杂志评为了十大科学突破之首<sup>[1,2]</sup>。

收稿日期: 2019-08-29; 修回日期: 2019-09-05.

基金项目: “十三五”国家“重大新药创制”科技重大专项 (2018ZX09711001-003).

\*通讯作者 Tel: 86-10-63165207, E-mail: chxg@imm.ac.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2019-0695

自用于治疗白血病的嵌合抗原受体T细胞免疫疗法(chimeric antigen receptor T-cell immunotherapy, CAR-T)以及用于实体肿瘤治疗的程序性死亡受体1/程序性死亡受体-配体1(programmed cell death protein 1/programmed cell death-ligand 1, PD-1/PD-L1)抗体取得重大突破性进展后,肿瘤免疫疗法愈发成为肿瘤治疗领域的研究热点。新的免疫哨卡及相应的抗肿瘤治疗药物被不断发现,肿瘤治疗策略也从干预肿瘤细胞自身增殖侵袭的特性逐步转向针对肿瘤微环境中免疫细胞的类型、状态、表型转换以及能量代谢调解等。

蛋白质是组成生命体的重要物质,也是生命活动的主要能量来源,迄今发现,人类细胞中约50%~90%的蛋白质都存在着不同类型的翻译后修饰,蛋白翻译后修饰能够在生理及病理条件下,通过影响蛋白的活性、稳定性、定位以及信号转导等,快速调节细胞内的各种生命活动,并扩大蛋白功能的多样性<sup>[3-5]</sup>,如经典的磷酸化、泛素化、甲基化修饰,以及非经典的糖基化、乙酰化、丙二酰化、琥珀酰化修饰等<sup>[6]</sup>。近年来研究发现,蛋白的翻译后修饰对免疫应答及免疫细胞信号调控具有非常重要的作用,与免疫细胞的配体/受体、信号转导分子及功能蛋白的活化、转位、组装及代谢重编程等过程密切相关,并可能影响肿瘤免疫治疗的疗效。因此,本文就几类不同的蛋白翻译后修饰对肿瘤微环境中免疫细胞重要功能蛋白的影响及其对肿瘤免疫治疗的潜在作用做一综述。

## 1 蛋白糖基化与肿瘤免疫治疗

糖基化是一种非常普遍的蛋白翻译后修饰方式,通过糖基转移酶,糖与多种蛋白质氨基酸残基结合形成糖苷键,进而形成糖蛋白,对蛋白质的折叠与稳定、细胞生长、受体活化、细胞黏附和免疫应答等方面都发挥了重要的调控作用<sup>[7-9]</sup>。根据糖苷键的不同,糖基化主要分为2种:O位糖基化和N位糖基化。O-乙酰氨基葡萄糖(O-GlcNAcylation)修饰是O位糖基化的一种,目前研究发现O-GlcNAcylation修饰在肿瘤免疫治疗方面有重要作用,与T/B淋巴细胞的增殖活化、中性粒细胞的活化以及单核巨噬细胞的功能密切相关<sup>[10]</sup>。O-GlcNAcylation修饰是由Torres和Hart<sup>[11]</sup>于1984年首次发现,在糖代谢过程中,葡萄糖可通过己糖胺合成通路(hexosamine biosynthesis pathway, HBP)合成UDP-N-乙酰基葡萄糖胺(uridine 5'-diphosphate-N-acetylglucosamine, UDP-GlcNAc),进而被N-乙酰葡萄糖胺转移酶(O-GlcNAc transferase, OGT)作为底物进行蛋白质的O-GlcNAcylation。

肿瘤微环境中的T细胞大多处于能量耗竭状态,失去了杀伤肿瘤的作用<sup>[12]</sup>。因而如何使耗竭的T细胞正

常化从而恢复功能已成为肿瘤免疫治疗最重要的一个突破口,也是现有包括靶向PD1、PD-L1、淋巴细胞活化基因3(lymphocyte-activation gene 3, LAG3)等肿瘤免疫治疗剂的作用基础。Swamy等<sup>[13]</sup>发现相对初始T细胞,激活的效应T细胞含有更多的O-GlcNAcylation修饰蛋白,T细胞在活化的重要阶段可通过葡萄糖的HBP介导蛋白的糖基化修饰,从而介导细胞活化。此外OGT对胸腺中T祖细胞Notch介导的自我更新以及T细胞抗原受体(T cell receptor, TCR)激活的外周T细胞扩增至关重要。O-GlcNAcylation除了通过影响免疫细胞的活化对肿瘤免疫产生重要作用之外,对肿瘤本身的抗原特性也发挥重要作用。目前,针对肿瘤表面特异性抗原的治疗策略亦是肿瘤免疫治疗非常重要的思路和方法。Lavrsen等<sup>[14]</sup>发现乳腺癌细胞表面黏蛋白1(mucin 1, MUC1)异常的糖基化可成为特异性抗原作为免疫治疗的靶点。此外,大量研究表明,许多肿瘤都存在着O-GlcNAcylation的增加及关键酶的表达异常<sup>[15]</sup>。O-GlcNAcylation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。由此推测,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。

## 2 蛋白泛素化修饰与肿瘤免疫治疗

泛素化修饰是经典的翻译后修饰,在生命活动中几乎无处不在。一个或者多个泛素分子在一系列酶作用下与底物蛋白质分子进行可逆的共价结合,对靶蛋白进行修饰。被泛素化修饰的蛋白少数改变其定位、稳定与功能<sup>[16]</sup>,多数通过泛素-蛋白酶体降解途径而降解,从而在细胞的增殖、凋亡、转录<sup>[17]</sup>、信号转导、损伤修复、免疫、肿瘤生成等生命活动中起到重要的调控作用<sup>[18-20]</sup>。目前已发现3种泛素酶(E1、E2和E3)参与了泛素化修饰,并且可由去泛素化酶(deubiquitinating proteins, DUBs)<sup>[21]</sup>进行逆向调控。E3酶在泛素修饰途径中决定底物特异性,目前约有600种,通过与靶蛋白赖氨酸残基结合发挥作用。目前研究认为,E3泛素连接酶在机体的自身免疫和肿瘤免疫过程中起到了非常重要的作用<sup>[22,23]</sup>。

E3泛素连接酶cbl-b(casitas B-lineage lymphoma proto-oncogene b)是cbl蛋白家族的成员,是T细胞中一个关键的免疫耐受因子,与T细胞活化直接相关。研究表明,cbl-b缺陷小鼠能自发地排斥各种癌症<sup>[24]</sup>。并且在缺乏共刺激的情况下,cbl-b缺陷的T细胞在抗原刺激下也会增殖并产生大量的IL-2<sup>[25,26]</sup>。Naramura等<sup>[27]</sup>研究发现c-cbl敲除的T细胞在CD3刺激下反应性明显增强,并发现cbl家族蛋白通过促进结合的TCR

从细胞表面清除而负性调节 T 细胞活化, 对终止 TCR 信号有重要调控作用。cbl-b 不仅对特异性免疫系统的 T 细胞活性有调节作用, 对固有免疫同样有重要影响。酪氨酸激酶受体 tyro-3、axl 和 mertk 在各种先天免疫细胞中发挥作用。Penninger 团队<sup>[28]</sup>发现 cbl-b 可通过与这几种酪氨酸激酶受体泛素化结合, 从而限制自然杀伤细胞 (natural killer cell, NK) 的功能。此外, 含有 HECT (homologous to E6AP C terminus) 结构域的 E3 连接酶 Itch (E3 ubiquitin-protein ligase Itchy homolog) 亦可通过影响下游转录因子 jun-B (transcription factor jun-B, JUNB) 的泛素化降解调控 T 细胞活化的信号转导通路, 进而影响辅助型 T 细胞 2 (T helper 2 cell, Th2) 的分化。敲除 Itch 可以使 T 细胞的活化与增殖能力明显增强<sup>[29]</sup>。淋巴细胞蛋白中与无能相关的基因 (gene related to anergy in lymphocytes protein, Grail) 作为一种 E3 连接酶在活化异常的 T 细胞中高表达, 通过促进 CD3 的泛素化降解从而限制 TCR 激活介导的免疫应答<sup>[30,31]</sup>。有研究表明, 在人结直肠癌和小鼠结直肠癌模型中, I 型干扰素受体 (interferon alpha/beta receptor 1, IFNAR1) 处于下调状态, 这是导致肿瘤微环境中细胞毒性 T 细胞免疫耐受的重要原因<sup>[32]</sup>。E3 泛素连接酶 SCFHOS 通过泛素化修饰 IFNAR1 使其降解, 并介导 I 型 IFN 下调, 从而限制 T 细胞的活性和功能, 促进肿瘤生长<sup>[33]</sup>。另外, 陈兰芬课题组<sup>[34]</sup>研究发现, 转录辅助因子 (transcriptional coactivator with PDZ-binding motif, TAZ) 不仅可作为辅助性 T 细胞 17 (T helper cell 17, Th17) 分化决定性转录因子 (nuclear receptor ROR-gamma, ROR $\gamma$ t) 共刺激转录因子促进 Th17 表达, 还可以介导 RNA 结合蛋白 fox-1 同源物 3 (RNA binding protein fox-1 homolog 3, Fox3) 通过泛素化-蛋白酶体途径降解, 抑制 T 细胞向调节性 T 细胞 (regulatory T cells, Treg) 的分化, 从而增强机体的免疫应答, 减轻肿瘤微环境的免疫抑制。

免疫哨卡及其抑制剂的寻找是目前肿瘤免疫治疗领域最热的研究方向之一<sup>[35,36]</sup>。有研究表明, 在活化的 T 细胞中, PD-1 的表达受到 E3 连接酶 F 盒蛋白 38 (F-box only protein 38, Fbxo38) 的调控, 经由泛素化-蛋白酶体途径降解<sup>[37]</sup>。条件性敲除小鼠 T 细胞 Fbxo38 可通过提高肿瘤浸润 T 细胞内 PD-1 的水平从而促进肿瘤生长, 而通过 IL-2 刺激上调 Fbxo38 的转录, 可降低 T 细胞中 PD-1 的表达水平, 增强其抗肿瘤活性。此外, E3 泛素连接酶 cbl-b 缺失亦能够导致 T 细胞和 NK 细胞对 PD-1 介导的免疫耐受调节不敏感<sup>[38,39]</sup>。

E3 泛素连接酶不仅调节免疫细胞的活性与功能, 对肿瘤细胞本身和肿瘤微环境也有重要的调节作用。

多种肿瘤细胞都存在 E3 连接酶失调<sup>[40,41]</sup>。研究发现, 肿瘤抑制因子早幼粒细胞白血病蛋白 (promyelocytic leukemia protein, PML) 对肿瘤的侵袭和转移有负向调节作用。PML 水平降低还能通过上调 CD73、尿激酶型纤溶酶原激活物受体 (urokinase plasminogen activator surface receptor, UPAR) 和血清淀粉样蛋白 A2 (serum amyloid A-2 protein, SAA2), 增加肿瘤微环境中 Treg 细胞和 M2 巨噬细胞的数量, 同时降低 CD8<sup>+</sup> T 细胞的数量, 达到免疫抑制作用。在肺癌中, 泛素连接酶 CRL4WDR4 泛素化降解 PML, 通过促进肿瘤微环境的免疫抑制促进肺癌的进展<sup>[42]</sup>。因此, 通过对与免疫调节相关的 E3 泛素化连接酶或其底物蛋白进行靶向调控可能为肿瘤免疫治疗提供新的机会。

NF- $\kappa$ B 在机体的炎症免疫反应中发挥重要作用。细胞在静息状态时, NF- $\kappa$ B 被 I $\kappa$ B 家族蛋白复合物“禁锢”在胞浆, NF- $\kappa$ B 核定位信号 (nuclear localization signal, NLS) 被阻断。在对外部刺激的反应中, I $\kappa$ B 迅速以泛素依赖性的方式被降解, 释放 NF- $\kappa$ B 入核, 激活信号转导与下游基因转录<sup>[43]</sup>。有研究发现, B 细胞内的去泛素化酶 Otud7b 可以特异性调控非经典 NF- $\kappa$ B 信号通路, 介导 B 细胞的成熟与活化<sup>[44,45]</sup>。Otud7b 亦在 TCR 信号通路转导中发挥关键作用, 可通过去泛素化 TCR 信号通路的酪氨酸激酶 Zap70, 调节 T 细胞的活化和分化<sup>[46]</sup>。由此推测, 调节相关蛋白的泛素化修饰过程可能成为肿瘤免疫治疗的有效手段。

### 3 蛋白乙酰化修饰与肿瘤免疫治疗

赖氨酸乙酰化的发现可追溯至 1964 年, 是一种可逆的 PTM, 通常由两类酶调控, 赖氨酸乙酰化酶 (lysine acetyltransferase, KAT) 和赖氨酸去乙酰化酶 (lysine deacetyltransferase, KDAT), 由于乙酰化修饰最早在组蛋白上被发现, 也常称作组蛋白乙酰化酶 (histone acetyltransferase, HAT) 和组蛋白去乙酰化酶 (histone deacetylase, HDAC)<sup>[47]</sup>。它们分别在核内或胞内发挥各自的功能, 如转录调节和参与代谢, 研究表明乙酰化的平衡在细胞生长、年龄衰老和癌症等疾病发生的过程中发挥关键作用<sup>[48,49]</sup>。在肿瘤发生过程中, HAT 和 HDAC 都可能发生突变, 导致原癌基因和抑癌基因的异常表达<sup>[50,51]</sup>。因此, HDAC 抑制剂也被开发用于癌症治疗, 自 2006 年伏立诺他 (vorinostat) 被批准用于 T 细胞淋巴瘤后, 后续又有 3 个 HDAC 抑制剂—罗米地辛、贝利司他和帕比司他被 FDA 批准用于癌症治疗<sup>[52]</sup>。

蛋白赖氨酸残基的乙酰化可调节许多蛋白的结构和功能, 组蛋白的乙酰化可对染色质重塑并激活多种基因转录。HDAC 抑制剂除了能够直接抑制肿瘤生长,

其引发的肿瘤细胞死亡尚能够激活免疫系统,引发强烈的肿瘤免疫反应。Khan等<sup>[53]</sup>发现经HDAC抑制剂处理的黑色素瘤细胞上主要组织相容性复合体II(major histocompatibility complex II, MHC II)、CD40和活化B7-1/2抗原(activation B7-1/2 antigen, B7-1/2)的表达显著增加从而提升抗原提呈能力。另一方面,高迁移率族蛋白B1(high mobility group protein B1, HMGB1)可促进树突状细胞(dendritic cell, DC)成熟,致敏T细胞<sup>[54]</sup>。正常凋亡情况下, HMGB1是与染色质紧密结合的,但Bonaldi等<sup>[55]</sup>发现,在乙酰化状态下, HMGB1可从凋亡的细胞中释放,协同其他促炎因子引发更加强烈的免疫反应,在肿瘤凋亡基础上更有效地杀伤肿瘤。此外, Finn<sup>[56]</sup>亦提出乙酰化的蛋白与过表达或错误折叠等原因产生的肿瘤相关抗原相似,也可作为抗原激活免疫反应。NK细胞可通过其表面活化的II型完整膜蛋白(NKG2-D type II integral membrane protein, NKG2D)识别并杀伤肿瘤细胞, HDAC抑制剂可提高包括视黄酸-早期诱导型克隆-1(retinoic acid-early-inducible clone-1, RAE-1)在内的肿瘤细胞NKG2D配体的表达量<sup>[57]</sup>。López-Soto等<sup>[58]</sup>发现I型HDAC在肿瘤中的表达增加(即肿瘤内蛋白乙酰化水平降低),会减少肿瘤NKG2D配体的表达并抑制NK细胞对肿瘤的免疫反应。除HDAC抑制剂外, HAT抑制剂也对肿瘤免疫治疗有一定的影响。FOXP3是对Treg细胞生长发挥重要功能的转录调节因子,其活性主要受乙酰化调节,乙酰化能使其与染色质结合能力增强,从而增加Treg细胞的数量和活性<sup>[59]</sup>。经HDAC抑制剂治疗的小鼠体内, Treg细胞数量和免疫抑制功能均有增加,抑制免疫系统的抗肿瘤效应<sup>[60]</sup>。因此,小分子HAT抑制剂能够下调Treg活性,达到增强肿瘤免疫治疗的目的。此外,在代谢相关酶中,乙酰化也常常发挥开/关的作用,因此肿瘤的发生也常常与代谢酶乙酰化异常相关<sup>[61]</sup>。例如,烯醇化酶 $\alpha$ ( $\alpha$ -enolase, ENOA)是丙酮酸合成过程中的代谢酶,在白血病和宫颈癌等多种癌症细胞中, ENOA的乙酰化会高于正常水平<sup>[62]</sup>。

#### 4 蛋白丙二酰化修饰与肿瘤免疫治疗

丙二酰化是最近发现的一种蛋白翻译后修饰,以丙二酰辅酶A作为底物,使赖氨酸发生丙二酰化,从而影响蛋白构成以及与靶蛋白的结合<sup>[63,64]</sup>。它与脂肪酸合成及氧化、线粒体呼吸、糖酵解和组蛋白的修饰密切相关<sup>[65]</sup>。然而目前人们对蛋白丙二酰化后的具体作用仍知之甚少。巨噬细胞作为固有免疫的第一道防线,也是组成肿瘤免疫微环境中的重要细胞。传统分类方法可以将其分为促炎的M1型(表达一氧化氮合酶)以及抑炎的M2型(表达精氨酸酶I)巨噬细胞。M1型巨

噬细胞能够产生大量肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor  $\alpha$ , TNF $\alpha$ )等炎症因子,有助于抗肿瘤治疗,而M2型巨噬细胞主要分泌白介素-10(interleukin-10, IL-10)等抑炎因子,不但能够造成肿瘤微环境的免疫抑制状态而且能够促进肿瘤的侵袭转移。大量研究表明,肿瘤相关的巨噬细胞(tumor-associated macrophages, TAM)基本为M2表型<sup>[66,67]</sup>。因此,促进肿瘤微环境中M2向M1极化,使更多的M0向M1转化已经成为了抗肿瘤免疫治疗的一个重要方向。Galván-Peña等<sup>[68]</sup>研究发现,静息期巨噬细胞内的甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH),通常能够结合于许多包括TNF $\alpha$ 在内的炎症相关mRNA上,从而抑制其翻译。而在脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)刺激下, GAPDH的第213位赖氨酸会发生丙二酰化,致使其从这些mRNA上解离,促进这些炎症相关mRNA的翻译,进一步产生TNF $\alpha$ 和IL-1 $\beta$ 等促炎因子,使M0巨噬细胞向M1型转化。由此推测,调控这种保守蛋白的丙二酰化,能够通过调节巨噬细胞炎症因子的产生及表型改变,从而有助于肿瘤免疫治疗。

#### 5 蛋白琥珀酰化修饰与肿瘤免疫治疗

蛋白琥珀酰化也是近年来新发现的一类蛋白翻译后修饰,影响众多细胞功能,并与蛋白乙酰化相关<sup>[69]</sup>。琥珀酸作为三羧酸循环重要的中间产物,不但参与线粒体ATP的产生、细胞能量代谢,还能通过调节低氧诱导因子-1 $\alpha$ (hypoxia inducible factor-1 $\alpha$ , HIF-1 $\alpha$ )参与炎症及肿瘤信号转导途径<sup>[70-72]</sup>。琥珀酸对肿瘤免疫治疗中M1型巨噬细胞、DC细胞及T细胞,都具有重要的功能调节作用<sup>[72,73]</sup>。研究表明,大部分肿瘤中都存在琥珀酸脱氢酶(succinate dehydrogenase, SDH)的突变<sup>[74]</sup>,而SDH突变导致的琥珀酸堆积及蛋白赖氨酸的琥珀酰化,可能是促进肿瘤发展的重要因素<sup>[75]</sup>。近年来研究发现,肉碱脂酰转移酶1A(carnitine palmitoyl-transferase-1A, CTP1A)介导的S100A10蛋白第47位赖氨酸的琥珀酰化能够增加胃癌的侵袭转移<sup>[76]</sup>。乳腺癌的进展也与肿瘤细胞内的琥珀酰化密切相关<sup>[77]</sup>。组蛋白的翻译后修饰对DNA损伤修复及肿瘤免疫治疗起到重要作用,最近研究表明,组蛋白亦能够被琥珀酰化修饰<sup>[78,79]</sup>,而其修饰后对肿瘤及肿瘤免疫治疗的影响仍有待进一步研究。

#### 6 小结与展望

蛋白翻译后修饰的类型众多并在免疫反应中扮演重要角色,尽管目前诸如泛素化和糖基化等PTM已越来越多地被证实与肿瘤微环境中各类免疫细胞的功能相关,但其他类型的PTM(如乙酰化、琥珀酰化、丙二

酰化、棕榈酰化、巴豆酰化等) 在肿瘤免疫中的作用依然知之甚少, 同时是否存在其他 PTM 类型并会对肿瘤免疫治疗产生潜在影响也仍然未知, 需要未来更加深入地研究。此外, PTM 除了能够调节包括免疫哨卡 PD1 等现有成熟的肿瘤免疫治疗靶点, PTM 对肿瘤细胞和免疫细胞自身代谢重编程的关键酶也有重要的调控作用, 不仅可以影响肿瘤细胞自身的能量代谢, 并且会改变肿瘤微环境中免疫细胞的代谢重编程从而影响整个肿瘤微环境。因此, 针对这些 PTM 中关键蛋白/酶的发现及相应激动剂/抑制剂的寻找, 肿瘤免疫治疗乃至肿瘤免疫微环境中的细胞代谢治疗, 将会成为未来肿瘤治疗的重要研究方向。

## References

- [1] Lesterhuis WJ, Haanen JB, Punt CJ. Cancer immunotherapy--revisited [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2011, 10: 591-600.
- [2] Chen DS, Mellman I. Oncology meets immunology: the cancer-immunity cycle [J]. *Immunity*, 2013, 39: 1-10.
- [3] Doyle HA, Mamula MJ. Post-translational protein modifications in antigen recognition and autoimmunity [J]. *Trends Immunol*, 2001, 22: 443-449.
- [4] Seet BT, Dikic I, Zhou MM, et al. Reading protein modifications with interaction domains [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2006, 7: 473-483.
- [5] Karve TM, Cheema AK. Small changes huge impact: the role of protein posttranslational modifications in cellular homeostasis and disease [J]. *J Amino Acids*, 2011, 2011: 207691.
- [6] Liu J, Qian C, Cao X. Post-translational modification control of innate immunity [J]. *Immunity*, 2016, 45: 15-30.
- [7] Rudd PM, Elliott T, Cresswell P, et al. Glycosylation and the immune system [J]. *Science*, 2001, 291: 2370-2376.
- [8] Ohtsubo K, Marth JD. Glycosylation in cellular mechanisms of health and disease [J]. *Cell*, 2006, 126: 855-867.
- [9] Pinho SS, Reis CA. Glycosylation in cancer: mechanisms and clinical implications [J]. *Nat Rev Cancer*, 2015, 15: 540-555.
- [10] Li Y, Xie M, Men L, et al. *O*-GlcNAcylation in immunity and inflammation: an intricate system [J]. *Int J Mol Med*, 2019, 44: 363-374.
- [11] Torres CR, Hart GW. Topography and polypeptide distribution of terminal *N*-acetylglucosamine residues on the surfaces of intact lymphocytes. Evidence for *O*-linked GlcNAc [J]. *J Biol Chem*, 1984, 259: 3308-3317.
- [12] Chang CH, Qiu J, O'Sullivan D, et al. Metabolic competition in the tumor microenvironment is a driver of cancer progression [J]. *Cell*, 2015, 162: 1229-1241.
- [13] Swamy M, Pathak S, Grzes KM, et al. Glucose and glutamine fuel protein *O*-GlcNAcylation to control T cell self-renewal and malignancy [J]. *Nat Immunol*, 2016, 17: 712-720.
- [14] Lavrsen K, Madsen CB, Rasch MG, et al. Aberrantly glycosylated MUC1 is expressed on the surface of breast cancer cells and a target for antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity [J]. *Glycoconj J*, 2013, 30: 227-236.
- [15] Fardini Y, Dehennaut V, Lefebvre T, et al. *O*-GlcNAcylation: a new cancer hallmark? [J]. *Front Endocrinol*, 2013, 4: 99.
- [16] Senft D, Qi J, Ronai ZA. Ubiquitin ligases in oncogenic transformation and cancer therapy [J]. *Nat Rev Cancer*, 2017, 18: 69-88.
- [17] Muratani M, Tansey WP. How the ubiquitin-proteasome system controls transcription [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2003, 4: 192-201.
- [18] Rock KL, Gramm C, Rothstein L, et al. Inhibitors of the proteasome block the degradation of most cell proteins and the generation of peptides presented on MHC class I molecules [J]. *Cell*, 1994, 78: 761-771.
- [19] Lecker SH, Goldberg AL, Mitch WE. Protein degradation by the ubiquitin-proteasome pathway in normal and disease states [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2006, 17: 1807-1819.
- [20] Li Y, Zhang D, Xu J, et al. Discovery and development of natural heat shock protein 90 inhibitors in cancer treatment [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2012, 2: 238-245.
- [21] Sahtoe DD, Sixma TK. Layers of DUB regulation [J]. *Trends Biochem Sci*, 2015, 40: 456-467.
- [22] Zinngrebe J, Montinaro A, Peltzer N, et al. Ubiquitin in the immune system [J]. *EMBO Rep*, 2014, 15: 28-45.
- [23] Nurieva RI, Liu X, Dong C. Molecular mechanisms of T-cell tolerance [J]. *Immunol Rev*, 2011, 241: 133-144.
- [24] Loeser S, Penninger JM. The ubiquitin E3 ligase Cbl-b in T cells tolerance and tumor immunity [J]. *Cell Cycle*, 2007, 6: 2478-2485.
- [25] Bachmaier K, Krawczyk C, Kozieradzki I, et al. Negative regulation of lymphocyte activation and autoimmunity by the molecular adaptor Cbl-b [J]. *Nature*, 2000, 403: 211-216.
- [26] Chiang YJ, Kole HK, Brown K, et al. Cbl-b regulates the CD28 dependence of T-cell activation [J]. *Nature*, 2000, 403: 216-220.
- [27] Naramura M, Jang IK, Kole H, et al. c-Cbl and Cbl-b regulate T cell responsiveness by promoting ligand-induced TCR down-modulation [J]. *Nat Immunol*, 2002, 3: 1192-1199.
- [28] Paolino M, Choidas A, Wallner S, et al. The E3 ligase Cbl-b and TAM receptors regulate cancer metastasis *via* natural killer cells [J]. *Nature*, 2014, 507: 508-512.
- [29] Fang D, Elly C, Gao B, et al. Dysregulation of T lymphocyte function in itchy mice: a role for Itch in TH2 differentiation [J]. *Nat Immunol*, 2002, 3: 281-287.
- [30] Anandasabapathy N, Ford GS, Bloom D, et al. GRAIL: an E3 ubiquitin ligase that inhibits cytokine gene transcription is expressed in anergic CD4<sup>+</sup> T cells [J]. *Immunity*, 2003, 18: 535-547.
- [31] Nurieva RI, Zheng S, Jin W, et al. The E3 ubiquitin ligase

- GRAIL regulates T cell tolerance and regulatory T cell function by mediating T cell receptor-CD3 degradation [J]. *Immunity*, 2010, 32: 670-680.
- [32] Katlinski KV, Gui J, Katlinskaya YV, et al. Inactivation of interferon receptor promotes the establishment of immune privileged tumor microenvironment [J]. *Cancer Cell*, 2017, 31: 194-207.
- [33] Kumar KGS, Tang W, Ravindranath AK, et al. SCFHOS ubiquitin ligase mediates the ligand-induced down-regulation of the interferon- $\alpha$  receptor [J]. *EMBO J*, 2003, 22: 5480-5490.
- [34] Geng J, Yu S, Zhao H, et al. The transcriptional coactivator TAZ regulates reciprocal differentiation of TH17 cells and Treg cells [J]. *Nat Immunol*, 2017, 18: 800-812.
- [35] Wei SC, Duffy CR, Allison JP. Fundamental mechanisms of immune checkpoint blockade therapy [J]. *Cancer Discov*, 2018, 8: 1069-1086.
- [36] Couzin-Frankel J. Breakthrough of the year 2013. Cancer immunotherapy [J]. *Science*, 2013, 342: 1432-1433.
- [37] Meng X, Liu X, Guo X, et al. FBXO38 mediates PD-1 ubiquitination and regulates anti-tumour immunity of T cells [J]. *Nature*, 2018, 564: 130-135.
- [38] Fujiwara M, Anstadt EJ, Clark RB. Cbl-b deficiency mediates resistance to programmed death-ligand 1/programmed death-1 regulation [J]. *Front Immunol*, 2017, 8: 42
- [39] Peer S, Baier G, Gruber T. Cblb-deficient T cells are less susceptible to PD-L1-mediated inhibition [J]. *Oncotarget*, 2017, 8: 41841-41853.
- [40] Bertrand MJM, Milutinovic S, Dickson KM, et al. cIAP1 and cIAP2 facilitate cancer cell survival by functioning as E3 ligases that promote RIP1 ubiquitination [J]. *Mol Cell*, 2008, 30: 689-700.
- [41] Honda R, Tanaka H, Yasuda H. Oncoprotein MDM2 is a ubiquitin ligase E3 for tumor suppressor p53 [J]. *FEBS Lett*, 1997, 420: 25-27.
- [42] Wang YT, Chen J, Chang CW, et al. Ubiquitination of tumor suppressor PML regulates prometastatic and immunosuppressive tumor microenvironment [J]. *J Clin Invest*, 2017, 127: 2982-2997.
- [43] Hayden MS, Ghosh S. Shared principles in NF- $\kappa$ B signaling [J]. *Cell*, 2008, 132: 344-362.
- [44] Hu H, Brittain GC, Chang JH, et al. OTUD7B controls non-canonical NF- $\kappa$ B activation through deubiquitination of TRAF3 [J]. *Nature*, 2013, 494: 371-374.
- [45] Schweighoffer E, Tybulewicz VLJ. Signalling for B cell survival [J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2018, 51: 8-14.
- [46] Hu H, Wang H, Xiao Y, et al. Otud7b facilitates T cell activation and inflammatory responses by regulating Zap70 ubiquitination [J]. *J Exp Med*, 2016, 213: 399-414.
- [47] Allfrey VG, Faulkner R, Mirsky AE. Acetylation and methylation of histones and their possible role in the regulation of RNA synthesis [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1964, 51: 786-794.
- [48] Choudhary C, Kumar C, Gnäd F, et al. Lysine acetylation targets protein complexes and co-regulates major cellular functions [J]. *Science*, 2009, 325: 834-840.
- [49] Choudhary C, Weinert BT, Nishida Y, et al. The growing landscape of lysine acetylation links metabolism and cell signalling [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2014, 15: 536-550.
- [50] Ogryzko VV, Schiltz RL, Russanova V, et al. The transcriptional coactivators p300 and CBP are histone acetyltransferases [J]. *Cell*, 1996, 87: 953-959.
- [51] Ford E, Voit R, Liszt G, et al. Mammalian Sir2 homolog SIRT7 is an activator of RNA polymerase I transcription [J]. *Genes Dev*, 2006, 20: 1075-1080.
- [52] Li Y, Seto E. HDACs and HDAC inhibitors in cancer development and therapy [J]. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2016. DOI: 10.1101/cshperspect.a026831.
- [53] Khan AN, Magner WJ, Tomasi TB. An epigenetic vaccine model active in the prevention and treatment of melanoma [J]. *J Transl Med*, 2007, 5: 64.
- [54] Scaffidi P, Misteli T, Bianchi ME. Release of chromatin protein HMGB1 by necrotic cells triggers inflammation [J]. *Nature*, 2002, 418: 191-195.
- [55] Bonaldi T, Talamo F, Scaffidi P, et al. Monocytic cells hyperacetylate chromatin protein HMGB1 to redirect it towards secretion [J]. *EMBO J*, 2003, 22: 5551-5560.
- [56] Finn OJ. Cancer immunology [J]. *N Engl J Med*, 2008, 358: 2704-2715.
- [57] Gasser S, Orsulic S, Brown EJ, et al. The DNA damage pathway regulates innate immune system ligands of the NKG2D receptor [J]. *Nature*, 2005, 436: 1186-1190.
- [58] López-Soto A, Folgueras AR, Seto E, et al. HDAC3 represses the expression of NKG2D ligands ULBPs in epithelial tumour cells: potential implications for the immunosurveillance of cancer [J]. *Oncogene*, 2009, 28: 2370-2382.
- [59] van Loosdregt J, Vercoulen Y, Guichelaar T, et al. Regulation of Treg functionality by acetylation-mediated Foxp3 protein stabilization [J]. *Blood*, 2010, 115: 965-974.
- [60] Betts G, Twohig J, Van den Broeck M, et al. The impact of regulatory T cells on carcinogen-induced sarcogenesis [J]. *Br J Cancer*, 2007, 96: 1849-1854.
- [61] Yang XJ, Seto E. Lysine acetylation: codified crosstalk with other posttranslational modifications [J]. *Mol Cell*, 2008, 31: 449-461.
- [62] Kim SC, Sprung R, Chen Y, et al. Substrate and functional diversity of lysine acetylation revealed by a proteomics survey [J]. *Mol Cell*, 2006, 23: 607-618.
- [63] 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: M111.012658.
- [64] Xie Z, Dai J, Dai L, et al. Lysine succinylation and lysine malonylation in histones [J]. *Mol Cell Proteomics*, 2012, 11: 100-

- 107.
- [65] Colak G, Pougovkina O, Dai L, et al. Proteomic and biochemical studies of lysine malonylation suggest its malonic aciduria-associated regulatory role in mitochondrial function and fatty acid oxidation [J]. *Mol Cell Proteomics*, 2015, 14: 3056-3071.
- [66] Poh AR, Ernst M. Targeting macrophages in cancer: from bench to bedside [J]. *Front Oncol*, 2018, 8: 49.
- [67] Yang L, Zhang Y. Tumor-associated macrophages: from basic research to clinical application [J]. *J Hematol Oncol*, 2017, 10: 58.
- [68] Galván-Peña S, Carroll RG, Newman C, et al. Malonylation of GAPDH is an inflammatory signal in macrophages [J]. *Nat Commun*, 2019, 10: 338.
- [69] Zhang Z, Tan M, Xie Z, et al. Identification of lysine succinylation as a new post-translational modification [J]. *Nat Chem Biol*, 2011, 7: 58-63.
- [70] Tannahill GM, Curtis AM, Adamik J, et al. Succinate is an inflammatory signal that induces IL-1 $\beta$  through HIF-1 $\alpha$  [J]. *Nature*, 2013, 496: 238-242.
- [71] Mills E, O'Neill LA. Succinate: a metabolic signal in inflammation [J]. *Trends Cell Biol*, 2014, 24: 313-320.
- [72] Aspúria PP, Lunt SY, Varemo L, et al. Succinate dehydrogenase inhibition leads to epithelial-mesenchymal transition and reprogrammed carbon metabolism [J]. *Cancer Metab*, 2014, 2: 21.
- [73] Jiang S, Yan W. Succinate in the cancer-immune cycle [J]. *Cancer Lett*, 2017, 390: 45-47.
- [74] Bardella C, Pollard PJ, Tomlinson I. SDH mutations in cancer [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2011, 1807: 1432-1443.
- [75] Guzy RD, Sharma B, Bell E, et al. Loss of the SdhB, but not the SdhA, subunit of complex II triggers reactive oxygen species-dependent hypoxia-inducible factor activation and tumorigenesis [J]. *Mol Cell Biol*, 2008, 28: 718-731.
- [76] Wang C, Zhang C, Li X, et al. CPT1A-mediated succinylation of S100A10 increases human gastric cancer invasion [J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23: 293-305.
- [77] Liu C, Liu Y, Chen L, et al. Quantitative proteome and lysine succinylome analyses provide insights into metabolic regulation in breast cancer [J]. *Breast Cancer*, 2019, 26: 93-105.
- [78] Wang Y, Guo YR, Xing D, et al. Supramolecular assembly of KAT2A with succinyl-CoA for histone succinylation [J]. *Cell Discov*, 2018, 4: 47.
- [79] Wang Y, Jin J, Chung MWH, et al. Identification of the YEATS domain of GAS41 as a pH-dependent reader of histone succinylation [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2018, 115: 2365-2370.