

蛋白质翻译后修饰在肝纤维化中的作用

陈俊名^{1,2}, 廖麟荣^{1,3*}, 温优良², 刁颖修^{1,2}, 屈家阳², 潘嘉慧^{1,4} (1.广东医科大学附属东莞第一医院, 广东东莞 523710; 2.赣南医科大学康复学院, 江西赣州 341000; 3.广东医科大学第二临床医学院, 广东东莞 523000; 4.广东医科大学医学技术学院, 广东东莞 523000)

摘要: 肝纤维化(HF)由多种细胞、介质和信号通路调控,最终导致细胞外基质和胶原过度沉积的复杂病理过程。蛋白质翻译后修饰(PTMs)是DNA转录成mRNA并进一步翻译成蛋白质后,底物与功能基团的一种化学修饰。HF的过程经历了广泛的PTMs。该文就蛋白质磷酸化和亚硝基化修饰对HF的作用进行综述。

关键词: 肝纤维化; 蛋白质翻译后修饰; 磷酸化; 亚硝基化

中图分类号: R 493

文献标志码: A

文章编号: 2096-3610 (2024) 01-0099-06

Role of protein translational modifications in hepatic fibrosis

CHEN Jun-ming^{1,2}, LIAO Lin-rong^{1,3*}, WEN You-liang², DIAO Ying-xiu^{1,2}, QU Jia-yang², PAN Jia-hui^{1,4} (1.The First Dongguan Affiliated Hospital of Guangdong Medical University, Dongguan 523710, China; 2.School of Rehabilitation Medicine, Gannan Medical University, Ganzhou 341000, China; 3.The Second Clinical Medical College, Guangdong Medical University, Dongguan 523000, China; 4.Medical Technology College, Guangdong Medical University, Dongguan 523000, China)

Abstract: Hepatic fibrosis (HF) is complex pathological process that is regulated by a variety of cells, mediators, and signaling pathways, and leads to excessive deposition of extracellular matrix and collagens. Protein translational modifications (PTMs) are chemical modifications of substrates and functional groups after DNA is transcribed into mRNA and further translated into proteins. The HF process undergoes extensive PTMs. This paper reviews the role of protein phosphorylation and nitrosylation in HF.

Key words: hepatic fibrosis; PTMs; phosphorylation; nitrosylation

肝纤维化(HF)是由肝损伤引起,细胞外基质和胶原过度沉积的复杂病理过程^[1-2]。蛋白质翻译后修饰(PTMs)是在一个或多个氨基酸残基上添加化学基团^[3]。目前,研究发现超过450种PTMs^[4],其中包括磷酸化、糖基化、乙酰化、泛素化和亚硝基化等。本文就蛋白质磷酸化和亚硝基化修饰对HF的作用作一综述。

1 HF的细胞分子机制概述

慢性肝损伤引起驻留免疫细胞和炎症细胞分泌促炎因子,进而使静止的肝星状细胞(HSC)激活,激活的HSC迁移到损伤部位,生成肌成纤维细胞并分

泌细胞外基质蛋白(ECM),产生纤维性瘢痕从而导致HF^[5]。慢性肝损伤发展成HF的核心驱动因素是HSC的激活,HSC在正常生理条件下表现为非增殖的静止表型^[6]。目前,转化生长因子 β (TGF- β)被认为是肝、肺和肾纤维化反应的主要介质,是迄今为止最有效的促纤维化细胞因子之一^[7]。值得注意的是,虽然损伤的肝细胞本身不足以直接激活HSC,但受损的肝细胞分泌的外泌体包含能激活HSC的MicroRNA,从而加速HF的形成^[8]。

目前大部分的HF研究集中在肝星状细胞^[9]、巨噬细胞^[10]、肝窦内皮细胞^[11]、肌成纤维细胞^[12]和炎症信号通路^[13]之间的相互作用。PTMs通过在一个或多个

收稿日期: 2023-04-21

基金项目: 东莞市社会发展科技项目重点项目(20221800905692)

作者简介: 陈俊名(1992-),男,硕士研究生,主管物理治疗师, E-mail: chenjunming_0@163.com

通信作者: 廖麟荣(1979-),男,博士,副教授,硕士生导师, E-mail: liaolinrong@gdmu.edu.cn

氨基酸残基上添加化学基团,改变蛋白质的理化性质,在调控 HF 的过程中起着重要的作用(图 1)。

2 与 HF 相关的 PTMs

2.1 蛋白质磷酸化修饰

蛋白质磷酸化修饰是一种普遍存在并被广泛研究的 PTMs,它几乎参与了包括细胞生长、分化、凋亡、基因表达调控和细胞信号转导在内的所有生命活动^[14]。随着分子生物学技术的不断进步,质谱(MS)技术可以在一次实验中快速和定向地发现数百个磷酸化位点,这大大增加了被识别的磷酸化位点数量^[15]。

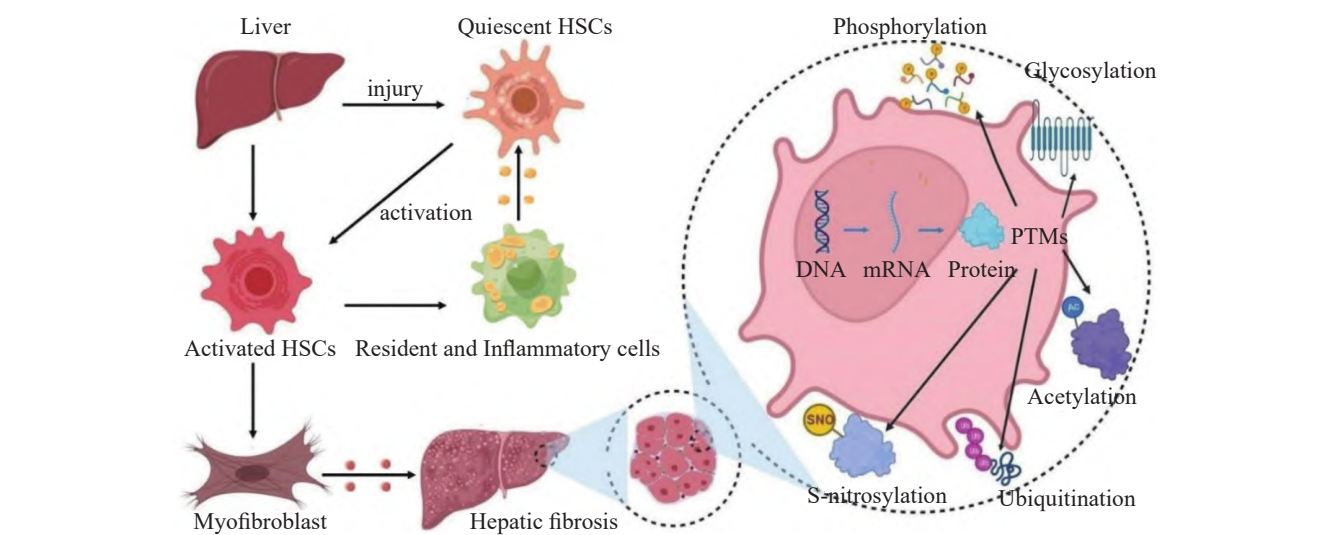
如今,基于 MS 的磷酸化蛋白质组学已经成为全球范围内研究蛋白质磷酸化修饰动态变化的常规方法^[16]。蛋白质磷酸化修饰与 HF 的发生发展密切相关^[17-23],在调节细胞稳态和新陈代谢等生理和病理过

程中发挥重要的作用(表 1)。

2.2 蛋白质糖基化修饰

糖基化是所有真核细胞中最丰富多样的 PTMs 之一,通过酶或非酶糖基化的方式,蛋白质中的赖氨酸和精氨酸残基与葡萄糖中的醛基发生反应形成糖苷键,最终生成糖基化终末产物^[24]。根据糖苷链的类型,蛋白质糖基化的常见类型有 O-糖苷键和 N-糖苷键。在 O-糖基化过程中,丝氨酸、苏氨酸、羟赖氨酸和羟脯氨酸的羟基作为连接点形成 O-糖苷键,调节蛋白质的结构、稳定性和功能,这是 PTMs 中最丰富、最多样化的类型之一^[25]。研究表明,超过 50% 的真核蛋白是经 N-糖基化修饰,它在蛋白质折叠、质量控制和识别等生命过程起着重要作用^[26]。

蛋白质经过糖基化修饰后形成糖蛋白,糖基化可以调节小分子和多肽的生理特性,具有促进新陈代谢、



Activated HSCs: 活化的肝星状细胞; Quiescent HSCs: 静止的肝星状细胞; Resident and Inflammatory cells: 驻留免疫细胞和炎症细胞; Myofibroblast: 肌成纤维细胞; Phosphorylation: 磷酸化; Glycosylation: 糖基化; Acetylation: 乙酰化; Ubiquitination: 泛素化; S-nitrosylation: 亚硝基化

图 1 PTMs 在 HF 中的作用

表 1 蛋白质磷酸化修饰调控 HF

靶蛋白的磷酸化 (下调↓/上调↑)	信号调控机制	HF (抑制↓/ 促进↑)
AMPK 磷酸化↑	Sestrin 2 可能通过上调 AMPK 磷酸化,抑制 mTOR 信号通路和 HSC 活化,改善 HF ^[17] 。	↓
JAK2/STAT3 磷酸化↓	JQ-1 抑制 JAK2/STAT3 信号通路 JAK2/STAT3 磷酸化蛋白的表达,抑制 HSC 的活化和增殖 ^[18] 。	↓
JNK/Smad3 磷酸化↓	姜黄素下调 JNK/Smad3 的磷酸化,使 GSH、NF-κB、JNK-Smad3、TGF-β-Smad3 通路正常化,抑制 HSC 活化 ^[19] 。	↓
PI3K/Akt 磷酸化↑	OPC 可能通过上调 JNK/ERK MAPK 和 PI3K/Akt 磷酸化来抑制 NF-κB 信号通路,从而抑制 HSC 的活化和转分化 ^[20] 。	↓
Smad1/5/8 磷酸化↑	Rsjp40 通过促进 YB1 核转位,上调 Smad1/5/8 磷酸化,激活 BMP-7/Smad1/5/8 信号通路,抑制 HSC 活化 ^[21] 。	↓
Smad3 磷酸化↓	通过下调 PRR 可失活 ERK/TGF-β1/Smad3 信号通路和抑制 Smad3 的磷酸化,从而减轻 HF ^[22] 。	↓
Smad2 磷酸化↑	LPS 在 HSC-T6 中通过 PI3K/Akt 和 MAPK 级联诱导 Smad2 磷酸化,以及 I 型胶原和 α-SMA 的过表达,促进 HSC 的活化和转分化 ^[23] 。	↑

改善膜通透性、生物分布和配体-靶标相互作用等功能^[27]。核苷酸糖供体的组成、浓度以及各种糖基转移酶和糖苷酶的表达是蛋白质糖基化修饰的基础^[28]。研究证实,Mac-2结合蛋白糖基化异构体(M2BPGi)是一种新型HF血清标志物,经蛋白质糖基化修饰的M2BPGi源于HSC,通过诱导Kupffer细胞表达Mac-2,进而激活HSC,增加 α 平滑肌肌动蛋白的表达^[29]。这些结果提示M2BPGi水平的变化与HF分期密切相关,M2BPGi对HF的诊断具有重要的临床意义。

2.3 蛋白质乙酰化修饰

蛋白质乙酰化修饰可通过改变蛋白质的大小和电荷来影响酶活性。赖氨酸是一种两亲性小分子,其残基上的蛋白质乙酰化修饰是一种进化保守的PTMs,与细胞生理和功能密切相关^[30]。赖氨酸乙酰化修饰是细胞复制、分裂、分化和凋亡的重要调节方式之一^[6]。由于赖氨酸的氨基可同时存在多种类型的PTMs,例如乙酰化、甲基化、泛素化、泛素样修饰,这可能导致不同的PTMs竞争性的修饰相同的赖氨酸残基^[31]。

多项研究证实,蛋白质乙酰化修饰在调控HF和肝星状细胞活化的过程中发挥着重要的作用,经由多种PTMs整合信号,可极大地提高其调控HF的潜力。例如,C/EBP- α 的K298、K302和K326位点赖氨酸乙酰化可促进其与Beclin1的结合,诱导活化的HSC发生自噬^[32]。死亡相关蛋白6(Daxx)通过结合Smad2的MH1结构域,干扰Smad2乙酰化,从而降低Smad2的转录活性,减轻了硫代乙酰胺诱导的HF^[33];烟酰胺核苷(NR)通过抑制TGF- β 诱导的LX-2细胞活化,调节Smads信号通路的乙酰化,减轻CCl₄诱导的HF^[34]。另有学者证实,曲古菌素A(TSA)通过增强C/EBP- α 乙酰化,抑制其泛素化介导的蛋白质降解,从而改善CCl₄诱导的HF^[35]。

2.4 蛋白质泛素化修饰

作为最重要的PTMs之一,蛋白质泛素化修饰通过一个三酶级联(E1-E2-E3)依次结合,并转移小修饰蛋白泛素(Ub)到底物蛋白的赖氨酸残基上^[36]。蛋白质泛素化修饰几乎调控着细胞内一切生命活动,例如蛋白酶降解、脂质代谢、DNA损伤修复、细胞周期等^[37]。

泛素已被证明是非酒精性HF的标志物,它经常在细胞边界或纤维基质内检测到^[38]。Wen等^[39]研究发现,FBG1作为一种泛素连接酶,它通过泛素蛋白酶系统和自噬降解致病突变体(A1AT-Z),使其不能正确折叠并在内质网积聚,最终导致HF的形成。Tang等^[40]发现经TGF- β 1处理后,下调长链非编码RNA

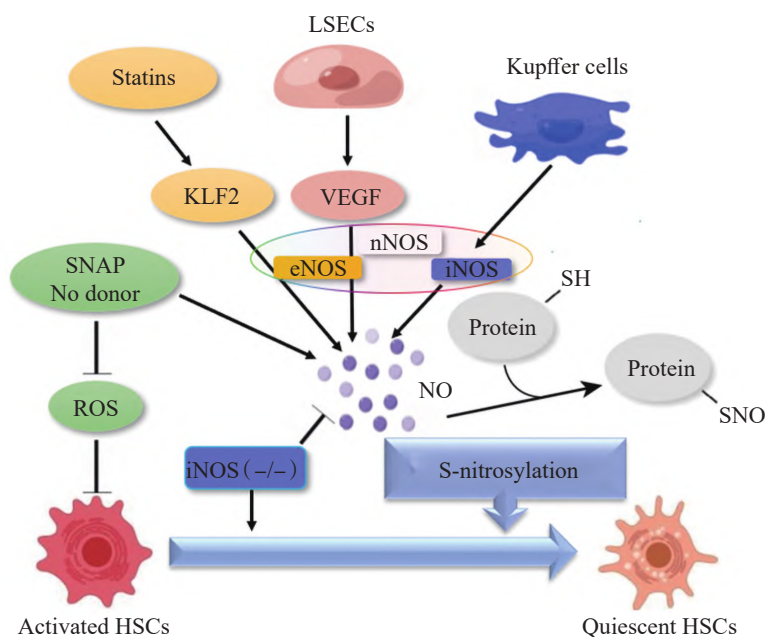
(LINC01093)可介导SIRT1的泛素化,促进肝细胞凋亡,进而减轻HF。另有研究表明,Nrf2/MafG的泛素化增强其异源二聚化,使谷氨酰胺半胱氨酸连接酶亚基(GCLC)的表达增加,进而抑制HSC的激活^[41]。Chen等^[42]研究发过表达环指蛋白20(RNF20)介导组蛋白H2B赖氨酸泛素化来减轻HF。此外,人骨髓间充质干细胞可下调P27泛素化来抑制HSC的增殖^[43]。

2.5 蛋白质亚硝基化修饰

2.5.1 蛋白质亚硝基化修饰概述 蛋白质亚硝基化修饰是一氧化氮(NO)及其衍生物的共价修饰过程,也是NO调控细胞信号转导的重要方式之一,它可以发挥多种生物学功能,干扰蛋白质相互结合以及细胞内定位,调节蛋白质稳定性和反应活性^[44]。NO主要通过PTMs来调控细胞功能,例如转录调节、DNA损伤修复、细胞生长、分化和凋亡,其失调会导致疾病的发生^[45]。因此,蛋白质亚硝基化修饰也被称为NO介导的可逆蛋白质修饰,深入研究其调控机制,筛选相关标志物和靶分子,有助于我们进一步了解HF的发病机制,对逆转HF靶向治疗药物的研究具有重要意义。

2.5.2 NO介导的蛋白质亚硝基化修饰在肝纤维化中的作用 NO由一氧化氮合酶(NOS)的3种亚型产生,此3种亚型分别为内皮型NOS(eNOS)、诱导型NOS(iNOS)和神经元型NOS(nNOS)^[46-47]。Jiang等^[48]研究表明,在炎症状态下iNOS通过脂多糖(LPS)、白细胞介素-1(IL-1)和肿瘤坏死因子(TNF)来催化产生NO。NO还是一种高度扩散和短时存在的第一信使,它可以修饰靶蛋白特定位点半胱氨酸残基上的硫醇基团,并通过亚硝基化修饰改变蛋白质功能^[49-50]。此外,活化的Kupffer细胞通过诱导iNOS可产生大量的NO^[51]。

大量研究证实,NO在HF的发展中起着关键作用(图2)。Svegliati等^[52]研究发现,S-亚硝基-N-乙酰青霉胺(SNAP)作为一种外源性NO供体,它可以通过清除活性氧(ROS)来抑制HSC的激活和增殖,从而预防HF和肝硬化的发生。另外,通过线粒体的信号传导而非半胱氨酸蛋白酶途径,NO可以促进HSC的凋亡,进而抑制HSC的激活^[53]。HSC位于肝窦内皮细胞(LSECs)和肝细胞之间。LSECs释放血管内皮生长因子(VEGF),促进HSC增殖和血管生成^[54]。在eNOS的催化下正常肝脏中的LSECs通过VEGF产生NO,使活化的HSC恢复到静止状态^[55]。在LSECs中eNOS来源的NO对疾病发展具有保护作用,而iNOS衍生的NO影响病理变化过程^[56]。研究表明,他汀类药物(Statins)作为临床上常用的降脂药,它可以通过增强



NO: 一氧化氮; Activated HSCs: 活化的肝星状细胞; Quiescent HSCs: 静止的肝星状细胞; LSECs: 肝窦内皮细胞; VEGF: 血管内皮生长因子; eNOS: 内皮型一氧化氮合酶; iNOS: 诱导型一氧化氮合酶; nNOS: 神经型一氧化氮合酶; Statins: 他汀类药物; KLF2: Krüppel样转录因子2; SNAP: S-亚硝基-N-乙酰青霉胺, NO供体; ROS: 活性氧; iNOS (-/-): iNOS基因敲除

图2 NO介导的蛋白质亚硝基化修饰在HF中的作用

Krüppel样转录因子2 (KLF2) 介导的eNOS催化作用,使活化的HSC转化为静止状态^[57]。与eNOS对HF形成的保护作用相反,iNOS的缺失或突变可逆转HF的发展。Anavi等^[58]研究发现,在高胆固醇饮食喂养6周诱导的HF模型中,iNOS (-/-) 基因敲除小鼠炎症细胞因子和HF基因的表达与野生型小鼠相比均显著降低。

3 小结与展望

PTMs广泛存在于HF发生发展的整个过程,并且几乎参与了细胞的每一个生理和病理过程。在特定蛋白质修饰酶的调控下,不同折叠状态之间的转换或修饰位点的变化可动态调节蛋白质的生物学特性和功能。随着细胞分子生物学技术的发展,特别是蛋白质质谱检测、生物素转化法和免疫印迹等技术的广泛应用,研究人员可通过对细胞和组织裂解物等复杂生物样品进行蛋白多肽的鉴定和被修饰的氨基酸残基化学基团蛋白水平的表达差异,全面评估HF过程中PTMs的动态变化。值得注意的是,大多数哺乳动物蛋白质可被多个PTMs修饰,且它们可以相互影响,这通常被称为PTMs“对话”。PTMs“对话”可以整合多种信号,极大地提高其调控潜力。通过它们介导和维持各自的促进和抑制效应,从而促进或逆转HF,最终使肝脏细胞内环境保持动态的平衡。

尽管PTMs在HF的细胞分子机制方面的研究取

得了巨大的进展,但仍面临许多挑战。例如,同一类型的PTMs在HF的作用有较大差别,以及不同类型的PTMs之间相互“对话”的细胞分子机制有待进一步阐明。同时,是否存在其他形式的PTMs并具有潜在调控HF的PTMs尚不清楚。因此,很难将特定的功能归因于某一种类型的修饰。

为了更加全面地了解PTMs在HF的调控作用,未来的研究需要运用更具有特异性、敏感性的检测手段,进一步将已知的修饰位点与其修饰酶连接起来。因此,我们需要通过更先进的高分辨率质谱测量和综合分析技术平台,开发出针对HF的新型抑制剂和激活剂,阐明其内在的细胞分子作用机制,加快抗HF药物的研发。

参考文献:

- [1] LIU P, QIAN Y, LIU X, et al. Immunomodulatory role of mesenchymal stem cell therapy in liver fibrosis [J]. Front Immunol, 2022, 13: 1096402.
- [2] 王妍璐, 彭伟康, 梁嘉乐, 等. 高脂饮食诱导沙鼠非酒精性脂肪肝性纤维化模型的建立 [J]. 广东医科大学学报, 2022, 40(3): 263-266, 271.
- [3] WANG H, YANG L, LIU M, et al. Protein post-translational modifications in the regulation of cancer hallmarks [J]. Cancer Gene Ther, 2023, 30(4): 529-547.
- [4] ZHOU L, NG D S, YAM J C, et al. Post-translational modifications on the retinoblastoma protein [J]. J Biomed Sci, 2022, 29(1): 33.

- [5] CARVALHO-GONTIJO R, HAN C, ZHANG L, et al. Metabolic injury of hepatocytes promotes progression of NAFLD and AALD [J]. *Semin Liver Dis*, 2022, 42(3): 233-249.
- [6] DU K, MAESO-DÍAZ R, OH S H, et al. Targeting YAP-mediated HSC death susceptibility and senescence for treatment of liver fibrosis [J]. *Hepatology*, 2023, 77(6): 1998-2015.
- [7] XIAO Z, JI Q, FU Y D, et al. Amygdalin ameliorates liver fibrosis through inhibiting activation of $\text{tgf-}\beta/\text{smad}$ signaling [J]. *Chin J Integr Med*, 2023, 29(4): 316-324.
- [8] LEE Y S, KIM S Y, KO E, et al. Exosomes derived from palmitic acid-treated hepatocytes induce fibrotic activation of hepatic stellate cells [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 3710.
- [9] LIU X, TAN S, LIU H, et al. Hepatocyte-derived MASP1-enriched small extracellular vesicles activate HSCs to promote liver fibrosis [J]. *Hepatology*, 2023, 77(4): 1181-1197.
- [10] LI S, ZHOU B, XUE M, et al. Macrophage-specific FGF12 promotes liver fibrosis progression in mice [J]. *Hepatology*, 2023, 77(3): 816-833.
- [11] DE HAAN W, DHEEDENE W, APELT K, et al. Endothelial Zeb2 preserves the hepatic angioarchitecture and protects against liver fibrosis [J]. *Cardiovasc Res*, 2022, 118(5): 1262-1275.
- [12] KISSELEVA T, BRENNER D. Molecular and cellular mechanisms of liver fibrosis and its regression [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2021, 18(3): 151-166.
- [13] ZHANG Z, YUAN Y, HU L, et al. ANGPTL8 accelerates liver fibrosis mediated by HFD-induced inflammatory activity via LILRB2/ERK signaling pathways [J]. *J Adv Res*, 2023, 47: 41-56.
- [14] HUMPHREY S J, JAMES D E, MANN M. Protein phosphorylation: A major switch mechanism for metabolic regulation [J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2015, 26(12): 676-687.
- [15] OCHOA D, JARNUCZAK A F, VIÉITEZ C, et al. The functional landscape of the human phosphoproteome [J]. *Nat Biotechnol*, 2020, 38(3): 365-373.
- [16] CAI X, JIANG Y, CAO Z, et al. Mst1-mediated phosphorylation of Nur77 improves the endometrial receptivity in human and mice [J]. *EBioMedicine*, 2023, 88: 104433.
- [17] HU Y B, YE X T, ZHOU Q Q, et al. Sestrin 2 attenuates rat Hepatic Stellate Cell (HSC) activation and liver fibrosis via an mTOR/AMPK-dependent mechanism [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 51(5): 2111-2122.
- [18] DING H, YANG X, TIAN J, et al. JQ-1 ameliorates schistosomiasis liver fibrosis by suppressing JAK2 and STAT3 activation [J]. *Biomed Pharmacother*, 2021, 144: 112281.
- [19] HERNÁNDEZ-AQUINO E, QUEZADA-RAMÍREZ M A, SILVA-OLIVARES A, et al. Curcumin downregulates Smad pathways and reduces hepatic stellate cells activation in experimental fibrosis [J]. *Ann Hepatol*, 2020, 19(5): 497-506.
- [20] JIANG M, WU Y L, LI X, et al. Oligomeric proanthocyanidin derived from grape seeds inhibited NF- κ B signaling in activated HSC: Involvement of JNK/ERK MAPK and PI3K/Akt pathways [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 93: 674-680.
- [21] CHEN L, ZHOU Q, LIU E, et al. rSjp40 inhibits activated hepatic stellate cells by promoting nuclear translocation of YB1 and inducing BMP-7/Smad1/5/8 pathway [J]. *Parasit Vectors*, 2019, 12(1): 279.
- [22] KAO Y H, CHEN P H, WU T Y, et al. Lipopolysaccharides induce Smad2 phosphorylation through PI3K/Akt and MAPK cascades in HSC-T6 hepatic stellate cells [J]. *Life Sci*, 2017, 184: 37-46.
- [23] HSIEH Y C, LEE K C, LEI H J, et al. (Pro)renin receptor knockdown attenuates liver fibrosis through inactivation of ERK/TGF- β 1/SMAD3 pathway [J]. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*, 2021, 12(3): 813-838.
- [24] FOURNET M, BONTÉ F, DESMOULIÈRE A. Glycation damage: A possible hub for major pathophysiological disorders and aging [J]. *Aging Dis*, 2018, 9(5): 880-900.
- [25] JOSHI H J, NARIMATSU Y, SCHJOLDAGER K T, et al. SnapShot: O-Glycosylation pathways across kingdoms [J]. *Cell*, 2018, 172(3): 632.
- [26] TAMIR A, EICHLER J. N-glycosylation is important for proper haloferax volcanii S-layer stability and function [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2017, 83(6): e03152-16.
- [27] WADZINSKI T J, STEINAUER A, HIE L, et al. Rapid phenolic O-glycosylation of small molecules and complex unprotected peptides in aqueous solvent [J]. *Nat Chem*, 2018, 10(6): 644-652.
- [28] SILSIRIVANIT A. Glycosylation markers in cancer [J]. *Adv Clin Chem*, 2019, 89: 189-213.
- [29] BEKKI Y, YOSHIKUMI T, SHIMODA S, et al. Hepatic stellate cells secreting WFA(+)-M2BP: Its role in biological interactions with Kupffer cells [J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2017, 32(7): 1387-1393.
- [30] ZHOU Y, JIA K, WANG S, et al. Malignant progression of liver cancer progenitors requires lysine acetyltransferase 7-acetylated and cytoplasm-translocated G protein GaS [J]. *Hepatology*, 2023, 77(4): 1106-1121.
- [31] YANG X J, SETO E. Lysine acetylation: Codified crosstalk with other posttranslational modifications [J]. *Mol Cell*, 2008, 31(4): 449-461.
- [32] HOU C, LU S, SU Y, et al. C/EBP- α induces autophagy by binding to Beclin1 through its own acetylation modification in activated hepatic stellate cells [J]. *Exp Cell Res*, 2021, 405(2): 112721.

- [33] KIM S M, HUR W H, KANG B Y, et al. Death-Associated protein 6 (Daxx) alleviates liver fibrosis by modulating smad2 acetylation [J]. *Cells*, 2021, 10(7): 1742.
- [34] JIANG R, ZHOU Y, WANG S, et al. Nicotinamide riboside protects against liver fibrosis induced by CCl₄ via regulating the acetylation of smads signaling pathway [J]. *Life Sci*, 2019, 225: 20-28.
- [35] DING D, CHEN L L, ZHAI Y Z, et al. Trichostatin A inhibits the activation of hepatic stellate cells by increasing C/EBP- α acetylation in vivo and in vitro [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 4395.
- [36] WEI P, LIANG R, PAN F. Protein ubiquitination assay [J]. *Methods Mol Biol*, 2023, 2559: 137-149.
- [37] LACOURSIERE R E, HADI D, SHAW G S. Acetylation, phosphorylation, ubiquitination (oh my!): Following post-translational modifications on the ubiquitin road [J]. *Biomolecules*, 2022, 12(3): 467.
- [38] LACHIONDO-ORTEGA S, MERCADO-GÓMEZ M, SERRANO-MACIÁ M, et al. Ubiquitin-like post-translational modifications (Ubl-PTMs): Small peptides with huge impact in liver fibrosis [J]. *Cells*, 2019, 8(12): 1575.
- [39] WEN J H, WEN H, GIBSON-CORLEY K N, et al. FBG1 is the final arbitrator of α 1 α -z degradation [J]. *PLoS One*, 2015, 10(8): e0135591.
- [40] TANG Y, MA N, LUO H, et al. Downregulated long non-coding RNA LINC01093 in liver fibrosis promotes hepatocyte apoptosis via increasing ubiquitination of SIRT1 [J]. *J Biochem*, 2020, 167(5): 525-534.
- [41] RAMANI K, TOMASI M L, YANG H, et al. Mechanism and significance of changes in glutamate-cysteine ligase expression during hepatic fibrogenesis [J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(43): 36341-36355.
- [42] CHEN S, DAI X, LI H, et al. Overexpression of ring finger protein 20 inhibits the progression of liver fibrosis via mediation of histone H2B lysine 120 ubiquitination [J]. *Hum Cell*, 2021, 34(3): 759-770.
- [43] WANG L, BAI G, CHEN F. Human bone marrow mesenchymal stem cells suppress the proliferation of hepatic stellate cells by inhibiting the ubiquitination of p27 [J]. *Biochem Cell Biol*, 2017, 95(6): 628-633.
- [44] ZHAO Q, MA J, XIE F, et al. Recent advances in predicting protein s-nitrosylation sites [J]. *Biomed Res Int*, 2021, 2021: 5542224.
- [45] FERNANDO V, ZHENG X, WALIA Y, et al. S-Nitrosylation: An emerging paradigm of redox signaling [J]. *Antioxidants (Basel)*, 2019, 8(9): 404.
- [46] KNOWLES R G, MONCADA S. Nitric oxide synthases in mammals [J]. *Biochem J*, 1994, 298 (Pt 2)(Pt 2): 249-258.
- [47] FRANCISCONI C F, COLAVITE P M, FONSECA A C, et al. Microtomographic, histomorphometric, and molecular features show a normal alveolar bone healing process in iNOS-deficient mice along a compensatory upregulation of eNOS and nNOS isoforms [J]. *J Appl Oral Sci*, 2023, 31: e20220436.
- [48] JIANG W W, KONG L B, LI G Q, et al. Expression of iNOS in early injury in a rat model of small-for-size liver transplantation [J]. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*, 2009, 8(2): 146-151.
- [49] BHATTACHARYYA C, CHAKRABORTY S, SENGUPTA R. NO news: S-(de)nitrosylation of cathepsins and their relationship with cancer [J]. *Anal Biochem*, 2022, 655: 114872.
- [50] YOON S, KIM M, LEE H, et al. S-Nitrosylation of histone deacetylase 2 by neuronal nitric oxide synthase as a mechanism of diastolic dysfunction [J]. *Circulation*, 2021, 143(19): 1912-1925.
- [51] IWAKIRI Y. Nitric oxide in liver fibrosis: The role of inducible nitric oxide synthase [J]. *Clin Mol Hepatol*, 2015, 21(4): 319-325.
- [52] SVEGLIATI-BARONI G, SACCOMANNO S, VAN GOOR H, et al. Involvement of reactive oxygen species and nitric oxide radicals in activation and proliferation of rat hepatic stellate cells [J]. *Liver*, 2001, 21(1): 1-12.
- [53] LANGER D A, DAS A, SEMELA D, et al. Nitric oxide promotes caspase-independent hepatic stellate cell apoptosis through the generation of reactive oxygen species [J]. *Hepatology*, 2008, 47(6): 1983-1993.
- [54] TSUCHIDA T, FRIEDMAN S L. Mechanisms of hepatic stellate cell activation [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2017, 14(7): 397-411.
- [55] DELEVE L D, WANG X, GUO Y. Sinusoidal endothelial cells prevent rat stellate cell activation and promote reversion to quiescence [J]. *Hepatology*, 2008, 48(3): 920-930.
- [56] IWAKIRI Y, KIM M Y. Nitric oxide in liver diseases [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2015, 36(8): 524-536.
- [57] MARRONE G, RUSSO L, ROSADO E, et al. The transcription factor KLF2 mediates hepatic endothelial protection and paracrine endothelial-stellate cell deactivation induced by statins [J]. *J Hepatol*, 2013, 58(1): 98-103.
- [58] ANAVI S, EISENBERG-BORD M, HAHN-OBERCYGER M, et al. The role of iNOS in cholesterol-induced liver fibrosis [J]. *Lab Invest*, 2015, 95(8): 914-924.

(责任编辑: 林加西)