

TANK 结合激酶 1 在固有免疫应答中的作用及其泛素化调控

徐赫男^{1,2*}, 李新宇^{1,2*}, 方敏^{1,3}, 姜威¹

1 中国科学院微生物研究所 中国科学院病原微生物与免疫学重点实验室, 北京 100101

2 中国科学院大学 存济医学院, 北京 100049

3 中国科学院大学 国际学院, 北京 100049

徐赫男, 李新宇, 方敏, 等. TANK 结合激酶 1 在固有免疫应答中的作用及其泛素化调控. 生物工程学报, 2021, 37(4): 1189-1204.

Xu HN, Li XY, Fang M, et al. Biological functions and ubiquitin modification of TBK1 in innate immunity. Chin J Biotech, 2021, 37(4): 1189-1204.

摘要: 固有免疫系统通过模式识别受体识别病原微生物表面的病原相关分子模式启动固有免疫反应, 经级联信号转导, 激活下游转录因子 NF- κ B 和干扰素调节因子 IRFs, 进而产生炎性细胞因子以及 I 型干扰素, 抵抗病原微生物感染。TANK 结合激酶 1 (TANK binding kinase 1, TBK1) 作为一个中心节点蛋白, 参与多条固有免疫信号通路的传导, 可同时激活 NF- κ B 和 IRFs, 是机体抗感染过程中关键的蛋白激酶。TBK1 的精准调控对维持机体免疫稳态、抵抗病原体入侵至关重要。文中综述了 TBK1 在固有免疫应答中的作用及其泛素化调控机制, 期为病原体感染及自身免疫病的临床治疗提供理论基础。

关键词: TANK 结合激酶 1, 信号通路, 泛素化修饰, 固有免疫, 干扰素

Biological functions and ubiquitin modification of TBK1 in innate immunity

Henan Xu^{1,2*}, Xinyu Li^{1,2*}, Min Fang^{1,3}, and Wei Jiang¹

1 CAS Key Laboratory of Pathogenic Microbiology and Immunology, Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China

2 Savaid Medical School, University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

3 International College, University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

Abstract: The innate immune system initiates innate immune responses by recognizing pathogen-related molecular

Received: June 30, 2020; **Accepted:** August 26, 2020

Supported by: National Natural Science Foundation of China (No. 31970164).

Corresponding author: Wei Jiang. Tel: +86-10-64806039; E-mail: jiangw@im.ac.cn

*These authors contributed equally to this study.

国家自然科学基金 (No. 31970164) 资助。

网络出版时间: 2020-09-10

网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1998.Q.20200909.1146.003.html>

patterns on the surface of pathogenic microorganisms through pattern recognition receptors. Through cascade signal transduction, it activates downstream transcription factors NF- κ B and interferon regulatory factors (IRFs), and then leads to the production of inflammatory cytokines and type I interferon, which resists the infection of pathogenic microorganism. TBK1 is a central adapter protein of innate immune signaling pathway and can activate both NF- κ B and IRFs. It is a key protein kinase in the process of anti-infection. The finetuning regulation of TBK1 is essential to maintain immune homeostasis and resist pathogen invasion. This paper reviews the biological functions and ubiquitin modification of TBK1 in innate immunity, to provide theoretical basis for clinical treatment of pathogenic infections and autoimmune diseases.

Keywords: TBK1, signal pathway, ubiquitin modification, innate immunity, interferon

TANK 结合激酶 1 (TANK binding kinase 1, TBK1) 属于 IKKs 家族, 是一种非经典的 IKK 激酶, 与同为非经典的 IKK 激酶 IKK ϵ 在氨基酸序列上有 67% 的同源性, 功能上重叠互补^[1]。过表达 TBK1 可激活 NF- κ B, 从而激活下游的基因表达, 因此 TBK1 也被称为 NF- κ B 激活蛋白 (NF- κ B-activating kinase, NAK)^[2]。TBK1 包含 4 个结构域: N 端激酶结构域 (Kinase domain, KD)、泛素样结构域 (Ubiquitin-like domain, ULD)、 α 螺旋形脚手架二聚化结构域 (Scaffold dimerization domain, SDD) 和 C 末端结构域 (C-terminal domain, CTD) (图 1)^[3]。其中, 激酶结构域是 TBK1 发挥其丝氨酸磷酸化的重要结构域^[4], 而泛素样结构域则与

其激酶活性、底物结合相关^[5]。

固有免疫系统通过模式识别受体, 包括 Toll 样受体 (TLRs)、RIG-I 样受体 (RLRs)、核苷酸结合寡聚化域 NOD 样受体 (NLRs) 和 DNA 受体等, 识别入侵机体的病原相关分子模式 (Pathogen-associated molecular pattern, PAMP) 或损伤相关分子模式 (Damage associated molecular pattern, DAMP), 经一系列信号转导, 激活转录因子 NF- κ B 和干扰素调节因子 (Interferon regulatory factors, IRFs), 产生炎症细胞因子, 抵抗病原微生物的入侵^[6-7]。TBK1 作为能够同时激活 NF- κ B 转录因子和 IRFs 的关键蛋白, 对其作用机制进行深入了解, 有助于全面认识固有免疫系统^[8]。

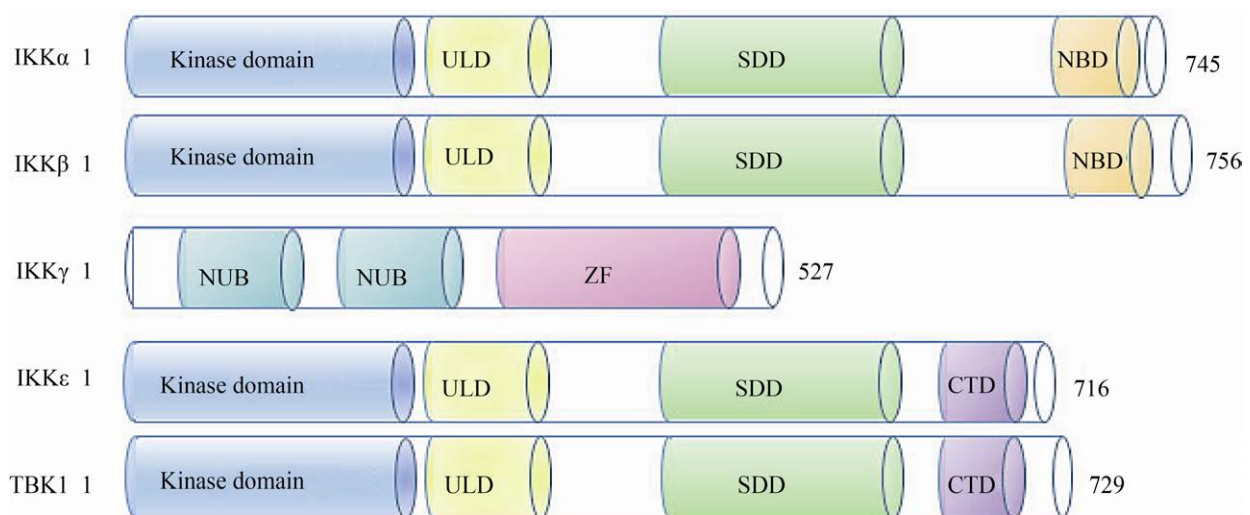


图 1 IKK 家族成员结构模式图

Fig. 1 The structural pattern diagram of IKK family.

1 TBK1 与 NF- κ B 信号通路

NF- κ B (Nuclear factor-kappa B, NF- κ B) 是体内一种重要的多功能核转录因子,广泛存在于人体组织和细胞中,在调控机体免疫、炎症反应及凋亡等方面发挥重要作用^[9]。NF- κ B 系统由 NF- κ B 家族及其抑制物 I κ B 家族组成,其中 NF- κ B 是由 Rel 蛋白家族成员组成的二聚体。在哺乳动物中,这些蛋白包括 RelA、RelB、c-Rel、p50/p105 和 p52/p100,其 N 端均含有一个保守的 Rel 同源结构域 (RHD),该结构域参与 DNA 结合、同源或异源二聚化、核定位及与 I κ B 家族成员相互作用等过程^[10]。NF- κ B 的抑制蛋白 I κ B 家族则包括 I κ B α 、I κ B β 、I κ B γ 、I κ B ϵ 和 Bcl-3 等^[11],可与 NF- κ B 的 Rel 同源结构域相互作用,使其失活无法进入细胞核发挥功能。I κ B 家族受其激酶家族调控,经典的 I κ B 激酶 (IKK) 包含催化亚基 IKK α (85 kDa)、IKK β (87 kDa) 以及调节亚基 IKK γ (亦称 NEMO, NF- κ B-essential modulator, 48 kDa)^[12]。其中 IKK α 和 IKK β 在氨基酸序列上同源性高达 52%,均包含有活性的激酶结构域 (KD)、泛素样结构域 (ULD)、二聚化结构域 (SDD) 和 NEMO 连接结构域 (NBD),可与 NEMO 形成一个 IKK $\alpha/\beta/\gamma$ 复合物。IKK γ 缺少激酶结构域,但含有两个泛素结合结构域 (NUB) 和锌指结构域 (ZF),可特异性识别 K63 连接的泛素链,并在维持酶复合体的空间构型以及酶复合体的活化和信息传递等方面发挥重要作用 (图 1)^[13]。

根据激活机制和功能的不同,NF- κ B 信号通路又分为经典 NF- κ B 信号通路 (Canonical NF- κ B pathway) 和非经典 NF- κ B 信号通路 (Non-canonical NF- κ B pathway)。静息状态下,NF- κ B 在胞质中与 I κ B α 结合,处于非活化状态。当细胞受到外界信号 (如促炎细胞因子、抗原配体、PAMPs、Toll 样受体等^[14]) 刺激时,经典的 I κ B 激酶复合物

IKK $\alpha/\beta/\gamma$ 被激活并磷酸化 I κ B 抑制物 N 端 2 个丝氨酸残基。随后 E3 泛素连接酶识别磷酸化的丝氨酸残基,并对 I κ B 进行多聚泛素化使其降解,从而解除对 NF- κ B 的抑制作用。活化后的 NF- κ B 转位进入细胞核激活靶基因的转录。与经典 NF- κ B 信号通路的激活方式不同,非经典 NF- κ B 信号通路由肿瘤坏死因子受体超家族蛋白分子 TNFRSF (包括 LT β R、CD40、BAFFR、RANK、TNFR2、CD27 等^[15]) 所活化。当细胞接收到 TNFRSF 的刺激后,下游接头分子 TRAF2 招募 cIAP1/2 并介导其 K63 型泛素化,接下来活化的 cIAP1/2 诱导 TRAF3 的 K48 型泛素化使其泛素化降解。由于 TRAF3 可导致 NF- κ B 诱导激酶 (NF- κ B-inducing kinase, NIK) 的 K48 型泛素化和降解,因此 TRAF3 的减少有利于 NIK 的大量积累。NIK 可磷酸化 IKK α 复合体使其活化并继续磷酸化下游的 p100,磷酸化的 p100 发生剪切形成 p52,与 RelB 组成二聚体进入细胞核调控相关基因的转录 (图 2)^[16]。

在 NF- κ B 信号通路中,TBK1 主要通过与其他蛋白相互作用而发挥调控作用,如 TRAF3、TRIF、MAVS、STING 等信号通路中的接头分子^[17]。TBK1 的 CTD 含有两个 Coiled-Coil (CC) 结构域,其中 CC2 区可结合接头蛋白 TANK、NF- κ B 活化激酶相关蛋白 1 (Activating kinase-associated protein 1, NAP1) 及 NAP1 类似的 TBK1 接头蛋白 (Similar to NAP1 TBK1 adaptor, SINTBAD),共同调控 NF- κ B 信号通路活化^[18]。其中, NAP1 可直接与 TBK1 相互作用,刺激其激酶活性并导致其寡聚化,进而促进 TBK1 对 NF- κ B 亚基 p65 的磷酸化,最终活化 NF- κ B 信号通路^[19]。在非经典的 NF- κ B 信号通路中, TBK1 可促进 NIK 的磷酸化,该磷酸化位点 Ser862 位于 NIK 的降解决定区,其磷酸化促进了 NIK 的降解,进而抑制了非经典 NF- κ B 信号通路的活化 (图 2)^[20]。

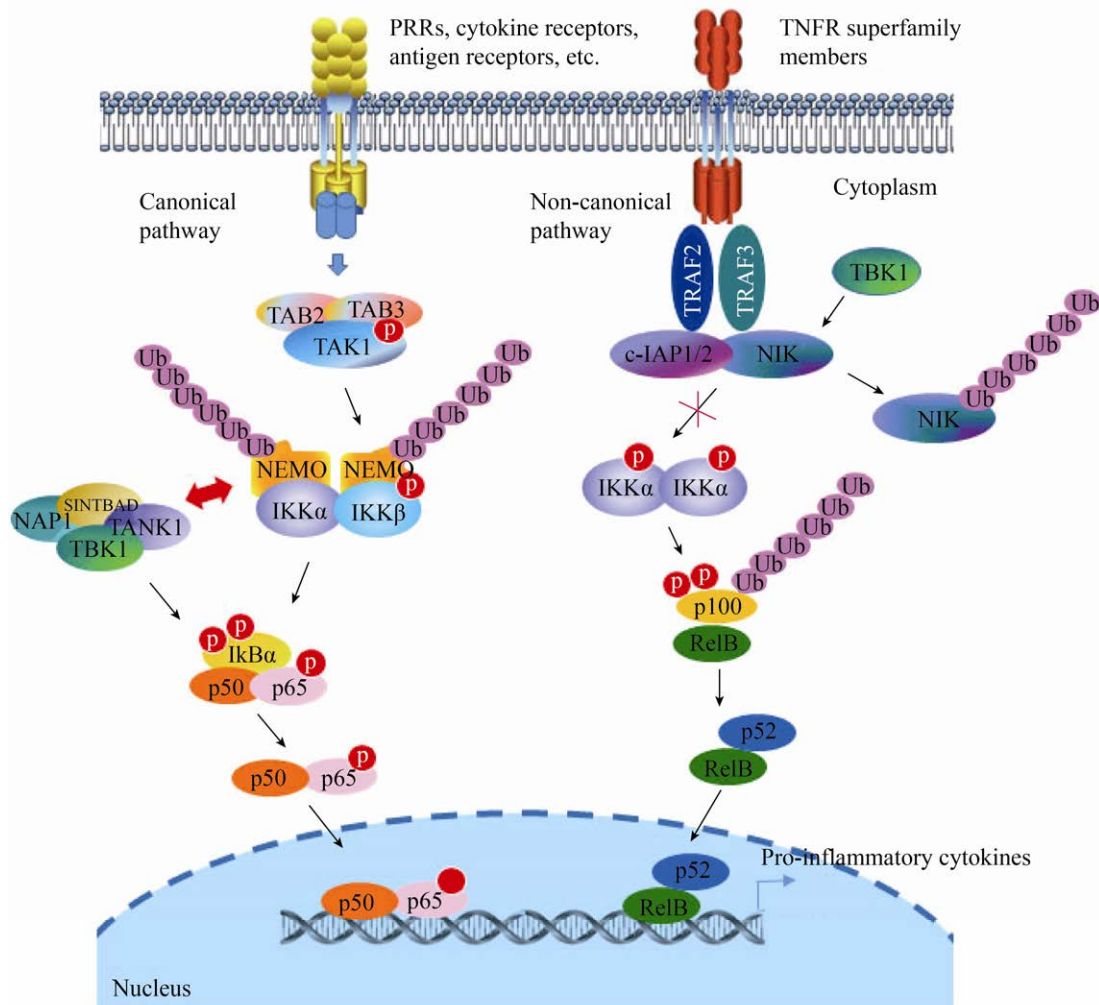


图 2 TBK1 与 NF- κ B 信号通路

Fig. 2 TBK1 and NF- κ B signaling pathway.

2 TBK1 与干扰素信号通路

TBK1 能同时接受 TLRs、RLRs、NLRs 以及胞浆 DNA 受体等多种模式识别受体的激发信号, 可被 TLR3/4-TRIF、RIG-I-MAVS、cGAS-cGAMP-STING 等信号通路活化, 进而磷酸化 IRF3 和 IRF7, 使其异源二聚化并异位到细胞核形成有活性的转录复合物, 启动 I 型干扰素 (IFN α/β) 基因转录^[21-23]。IFNs 在机体中具有抗病毒、抗细菌、抗肿瘤和免疫调节的作用, TBK1 对 IFNs 的精准调控对于维持机体免疫稳态具有重大意义。

2.1 TBK1 与 Toll 样受体

Toll 样受体 (Toll-like receptor, TLR) 家族主要参与非特异性免疫过程, 是连接非特异性免疫和特异性免疫的桥梁^[24]。目前, 在哺乳动物及人类中已发现 13 种 TLRs 家族成员^[25], 根据其分布可大致分为两类: 一类位于细胞膜表面, 主要识别细菌、真菌和原生动物的表面结构成分^[26], 包括 TLR1、TLR2、TLR4、TLR5、TLR6 和 TLR10^[27]; 另一类则存在于细胞内, 主要是 TLR3、TLR7、TLR8 和 TLR9, 识别来自细菌和病毒的核酸^[28-29]。上述受体通常包含一个位于细胞外的亮氨酸重复序列

(Leucine-rich repeat, LRR) 结构域, 一个跨膜结构域和一个细胞内的负责信号传递的 TIR (Toll interleukin-1 receptor) 结构域^[30]。

TLR3、TLR4、TLR7、TLR8 和 TLR9 在细菌和病毒的成分刺激下, 可诱导机体产生 I 型干扰素, 其中 TLR3 特异识别病毒复制的中间产物 ds-RNA, 激活 RIG-I/MDA5 信号转导通路, STING 与 MAVS 相互作用招募 TBK1, 自身寡聚化形成 MAVS-STING-TBK1-IRF3 复合物, 促进 TBK1 对 IRF3 的磷酸化激活, 从而诱导 I 型干扰素的产生。TRL4 介导的 IRF3 激活依赖 TRIF 对 TRAF3 的招募^[31-33]。TRAF3 是一种 E3 泛素连接酶, 其活性通过自身寡聚化激活, 并在 E2 泛素交联酶的协同作用下对自身进行 K63 泛素化修饰, 泛素化

的 TRAF3 与 NEMO 结合作用于 TBK1, 激活 IRF3 单体使其二聚化促进 IFN 的表达 (图 3)^[34-35]。

由于 TLR 家族成员均为跨膜蛋白, 因此它们只能识别细胞外或内体中的病毒, 对于进入宿主细胞质中的病毒则无法作出反应。

2.2 TBK1 与 RIG-I 样受体

RIG-I 样受体 (RIG-I-like receptor, RLR) 是胞质溶胶中探测病毒 RNA 的传感元件, 在触发抗病毒免疫信号中发挥重要作用。目前发现的 RLR 家族成员主要包括: RIG-I (Retinoic acid inducible gene I)、MDA5 (Melanoma differentiation associated gene 5) 和 LGP2 (Laboratory of genetics and physiology 2)^[36-38]。以病毒感染为例, 当病毒感染细胞后, 胞内的病毒 RNA 被 RIG-I 样受体识别,

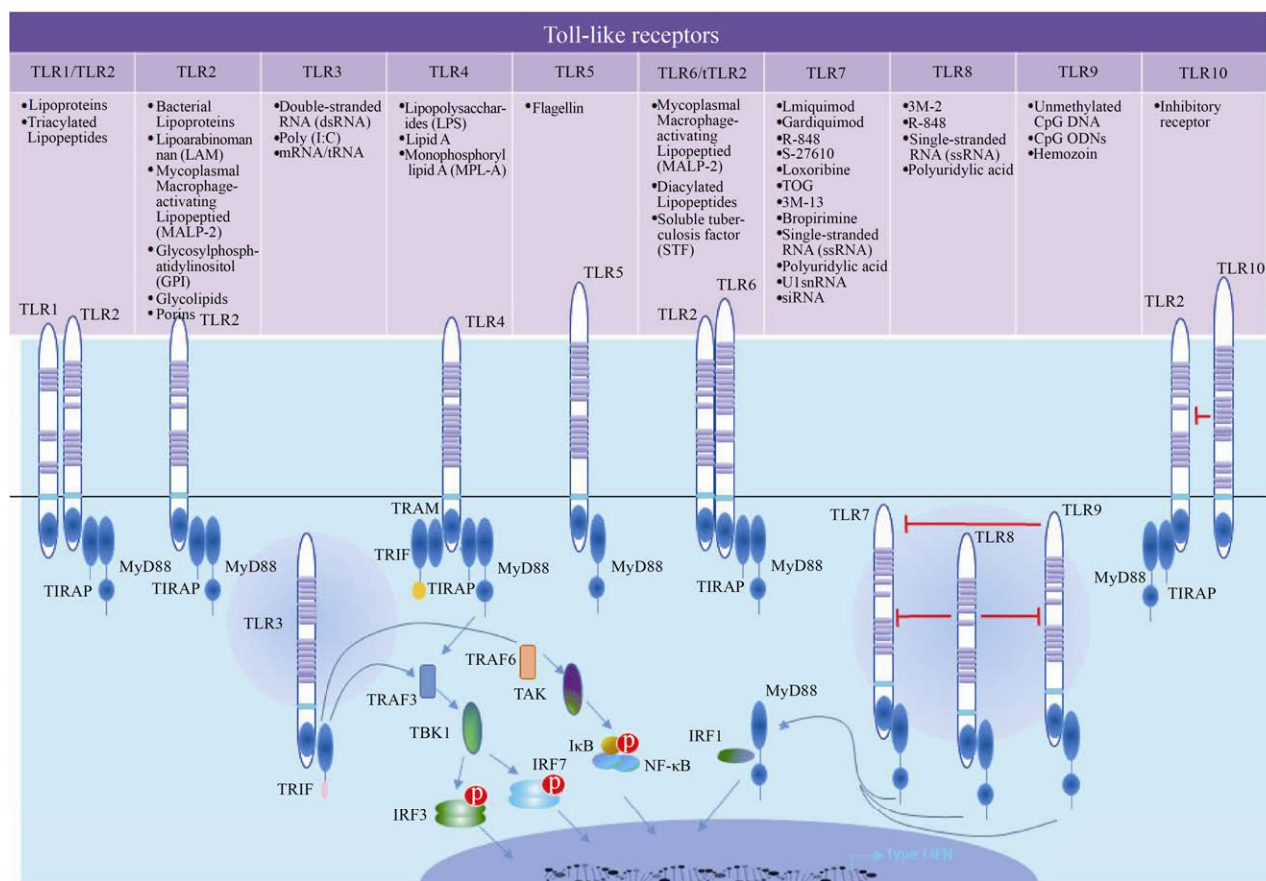


图 3 TBK1 与 Toll 样受体

Fig. 3 TBK1 and Toll like receptors.

受体结合线粒体蛋白 MAVS (又称为 VISA、IPS-1 或 CARDIF), 促使其在线粒体膜上的多聚化, 从而招募 TBK1 磷酸化 IRF3/7 使其入核, 最终诱导 IFN- α/β 及一系列抗病毒因子的表达, 抑制病毒复制 (图 4)^[39-40]。

与 TLR 不同, RIG-I 主要识别胞质溶胶中病毒复制产生的双链 RNA, 并且 TLR 多表达于树突状细胞, 而 RIG-I 可表达于各种病毒感染的细胞, 其抗病毒意义可能更大^[41]。然而, 许多病毒能通过隔离病毒 RNA、结合 RIG-I、裂解衔接蛋白和阻断 IRF3 磷酸化等策略干扰 RIG-I 信号通路, 从而逃避 RIG-I 介导的抗病毒效应^[42]。

2.3 TBK1 与 NOD 样受体

NOD 样受体家族现已发现 22 个成员, 主要识别胞质的病原相关分子模式, 诱导免疫应答。NLR 属于胞浆型 PRR^[43-44], 包含 3 个基本结构域。其中 NACHT 结构域位于 NLR 分子的中央, 对于 NLR 的寡聚化和活化非常重要^[45]。LRR 结构域位于 NLR 分子的 C 端, 富含亮氨酸重复序列

(Leucine-rich repeats, LRR), 负责探测和识别配体。除这两个结构域外, NLR 家族成员还有位于 N 端的效应结构域, 根据该效应域的不同可为 5 个亚家族: (1) NLRA (含 Acidic activation domain, AD); (2) NLRB (含 Baculovirus inhibit or of apoptosis protein repeat domain, BIR 结构域); (3) NLRC (含 Caspase-activating and recruitment domain, CARD 结构域); (4) NLRP (含 Pyrin domain, PYD 结构域); (5) NLRX (图 5)^[46]。

NLR 信号通路起始于 C 端 LRR 结构域, 当其识别相应的 PAMP 后, NLR 分子构象变化, 暴露出 NACHT 结构域, 从而触发寡聚化, 同时暴露出 N 端的效应结构域。效应结构域通过同型相互作用, 募集下游具有相同结构域的接头分子和信号蛋白, 进而活化下游分子, 激活信号通路的转导。NLR 家族的部分成员也可形成炎症小体, 进一步促进 IL-1 β 和 IL-18 的剪切和成熟, 包括: NAIP、NOD1/2、NLRC4、NLRP1/3/6/12 (图 6)^[47-52]。

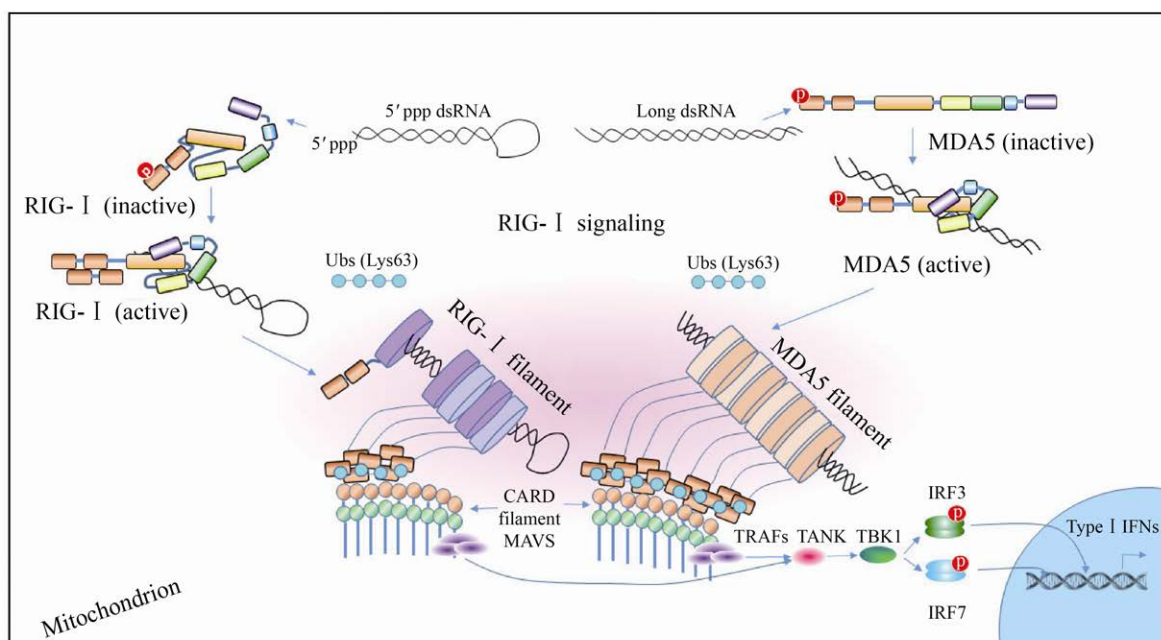


图 4 TBK1 与 RIG-I 样受体

Fig. 4 TBK1 and RIG-I like receptors.

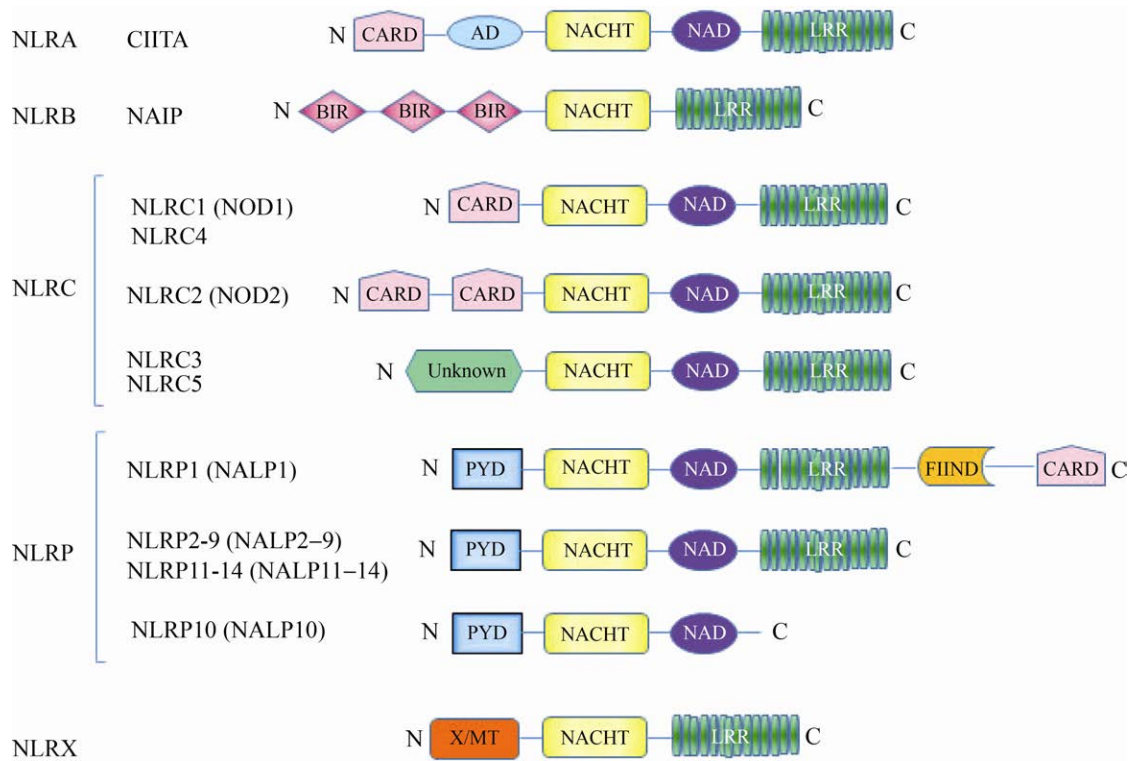


图 5 人 NLR 家族成员的组成和结构

Fig. 5 The structure of human NLR family.

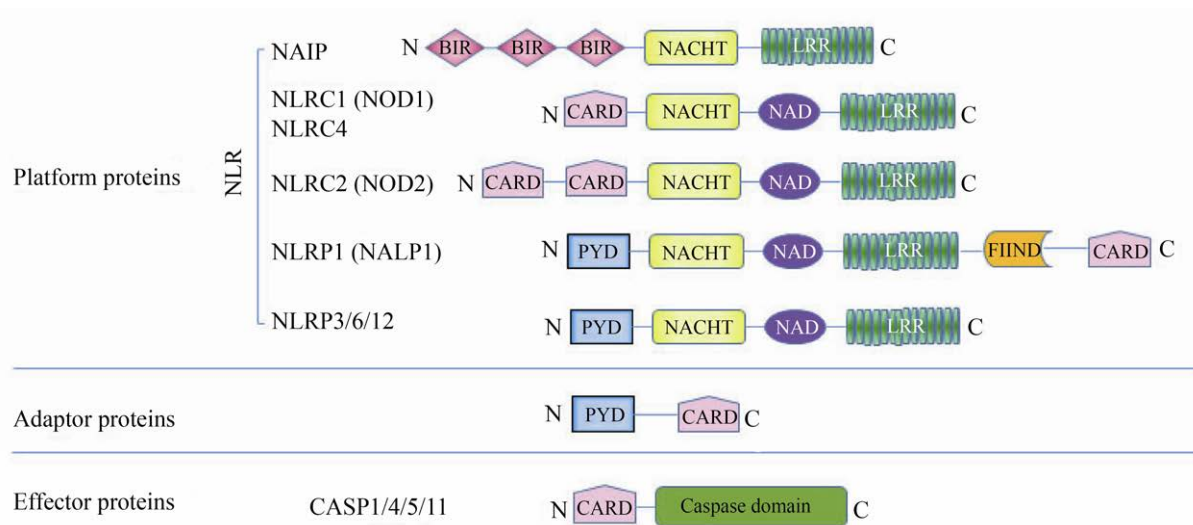


图 6 人 NLR 家族成员形成的炎症小体

Fig. 6 Inflammation bodies formed by human NLR family members.

除形成炎症小体外，还有一些成员也参与炎症反应的调控^[53]。研究表明 NLRC3 可通过抑制 TRAF6 的活化抑制 NF- κ B 信号通路^[54]。同时，NLRC3 也能够影响 STING-TBK1 的相互作用及

下游 I 型干扰素的产生^[55]。NLRP12 通过与 TRAF2 和 NIK 的相互作用负调控非经典 NF- κ B 信号通路^[56]。NLRX1 是唯一定位于线粒体的 NLR 分子，通过 LRR 结构域与线粒体外膜蛋白 MAVS 的

CARD 结构域结合, 抑制其将信号向下游的 IRF3 传导, 从而抑制 I 型干扰素的产生^[57] (图 7)。

NLR 同 TLR、RLR 一样是重要的固有免疫受体, 在病原入侵或组织损伤时能迅速产生免疫反应。三者的作用往往存在着复杂的联系, 这种关联在纵向上包括配体、信号通路、炎症分子等各个层面, 在横向上则包含了细菌、真菌、病毒感染以及自身免疫性疾病等多种类型。

2.4 TBK1 与 c-GAS 信号通路

胞质的核酸识别并启动的抗病毒固有免疫存在于我们机体大多数类型的细胞中, 对病毒感染与防御至关重要。DNA 通常存在于细胞核中, 研究表明在胞浆中异常定位的 DNA 与病毒感染或肿瘤的发生有关。环状 GMP-AMP 合成酶 (Cyclic GMP-AMP synthase, cGAS) 可感知胞质中不应存在的 DNA, 催化 GTP 和 ATP 发生化学反应生成环鸟苷酸 (Cyclic GMP-AMP, cGAMP)。cGAMP 可直接结合二聚化的 STING 蛋白 (Stimulator of

interferon genes, STING), 改变其构象以解除抑制状态, 活化的 STING 蛋白通过自噬小体由内质网经高尔基体转移到内体, 募集 TBK1 和 IRF3, 促使 TBK1 磷酸化并激活 IRF3, 诱导 I 型干扰素和其他免疫应答基因表达 (图 8)^[58]。STING 作为 c-GAS 信号通路中关键的接头蛋白^[59]。了解其发生核周转移并激活 TBK1 的具体机制, 更有助于深入了解 TBK1 在 c-GAS 信号通路的作用。

STING (也称 MITA、MPYS 或 ERIS) 通过 N 端的跨膜结构域 (TM) 锚定于内质网、线粒体或线粒体相关膜结构上, 通过 C 端的 CTD 结构域与第二信使 cGAMP 结合^[60]。王琛研究组发现 STING 通过 INSIG1 (Insulin induced gene 1) 招募内质网蛋白 AMFR (Autocrine motility factor receptor), 而 AMFR 能够催化 STING 发生 K27 型多聚泛素化修饰, 并以此为分子平台招募 TBK1, 将 STING 和 TBK1 转移到核外周小体上^[61-62]。舒红兵课题组证实内质网相关蛋白 ZDHHC1 可组成

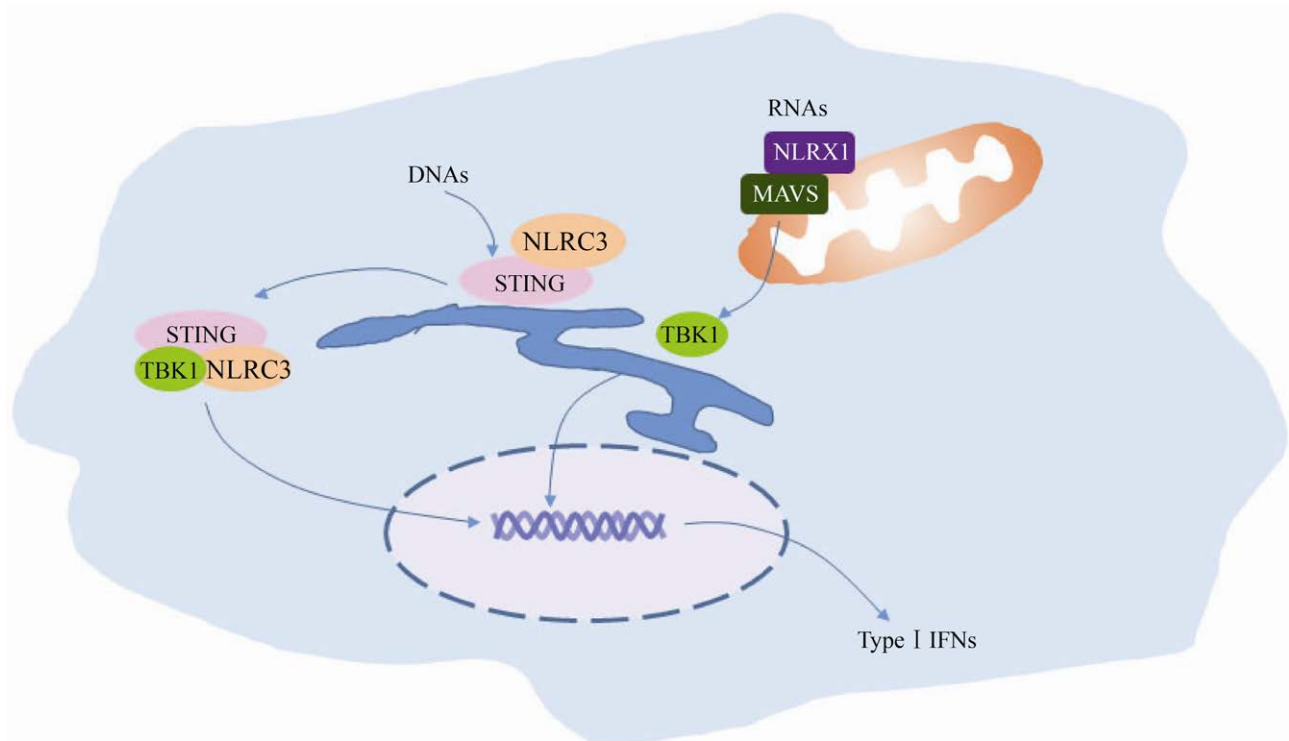


图 7 TBK1 与 NLR 家族成员的关系

Fig. 7 The relationship between TBK1 and NLR family members.

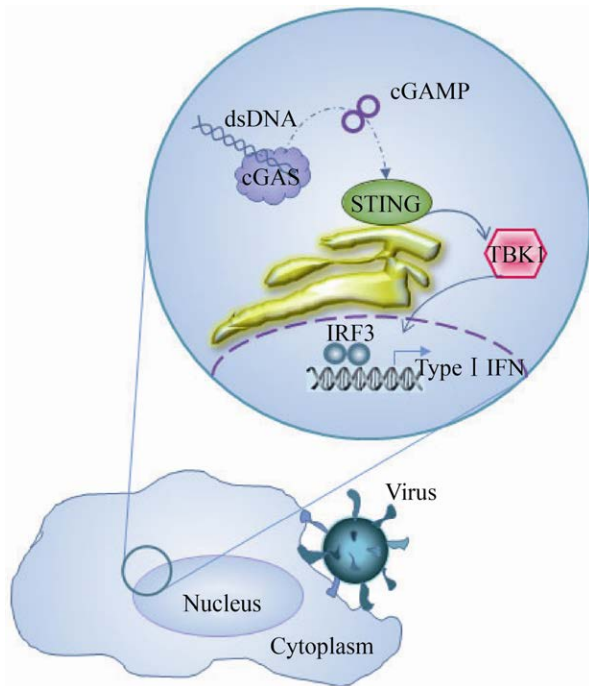


图 8 TBK1 与 c-GAS 信号通路

Fig. 8 TBK1 and c-GAS signaling pathway.

性结合 STING, 介导其二聚化, 招募 TBK1 和 IRF3^[63]; 并且发现 iRhom2 招募易位子相关蛋白 TRAP β 至 STING 复合物处, 促进了 STING 的核周转移^[64]; 后继实验发现 UL82 蛋白能够破坏 STING-iRhom2-TRAP β 易位复合物形成, 从而抑制 STING 向核周转移, 同时也可削弱 STING 对 TBK1 和 IRF3 的募集^[65]。Akira 课题组发表文章称, TRIM56 可使 STING 的 K150 位点发生泛素化修饰^[66], 并诱导 STING 二聚化, 而二聚化又是 STING 募集 TBK1、引起干扰素产生的前提条件。蒋争凡课题组发现 IKK α/β 和 TBK1/IKK ϵ 相互活化的机制同样存在于 cGAS-STING 通路中, 其中 STING 主要通过 TRIM32 和 TRIM56 合成泛素链来活化 NEMO-IKK α/β , 进而促进 TBK1/IKK ϵ 的活化^[67]。

以上结果提示 STING 在体内的活化可能是通过二聚化、泛素化实现的。活化的 STING 发生膜运输, 通过高尔基体从内质网转移到细胞核周围。随后 STING 作为一个支架招募 TBK1 和 IRF3, 同时活化的 TBK1 可磷酸化 STING 的多个丝氨酸

位点 (hSTING Ser358、Ser353、Ser379), 增强 STING 对 IRF3 的亲合性, 并刺激 TBK1 磷酸化 IRF3, 从而诱导 IRF3 二聚化入核^[68]。Ishikawa 研究小组揭示了另一种 STING 激活 TBK1 的可能机制。该机制中 STING 与易位子 SEC61 的 β 亚基以及 TRAP (Translocon-associated protein) 复合体成员 SSR2 相互作用, 经胞内 DNA 刺激后, STING 与 TBK1 相互作用以共定位的方式进行膜运输。因为易位子可与 exocyst 复合体 (进化上保守的八聚体, 促进膜泡运输) 相互作用, 所以 STING 与 TBK1 从内质网经高尔基体最后转移到含有 Sec5 (exocyst 复合体的成员之一) 的核周内质网上, Sec5 能够招募激活 TBK1, 进而诱导 I 型 IFN 合成^[69] (图 9)。

3 TBK1 的泛素化修饰

TBK1 作为能够同时激活 NF- κ B 和 IRFs 的重要节点蛋白, 其活化受泛素化修饰、磷酸化修饰及表观遗传修饰等一系列机制复杂而精密的调控, 从而维持机体的免疫平衡 (图 10)。其中 TBK1 的磷酸化修饰与其活化水平密切相关, 磷酸化的 TBK1 可通过反式自活化的方式激活更多的 TBK1, 从而达到级联放大的活化效果^[70]。同时 TBK1 的乙酰化修饰对其活化也具有重要作用。组蛋白去乙酰化酶 9 (Histone deacetylase, HDAC9) 可去除 TBK1 第 241 位赖氨酸残基的乙酰化修饰, 进而活化 TBK1 并激活下游信号通路^[71]。泛素化和去泛素化是调节 TBK1 活性的主要方式, 而 K63 连接的泛素化修饰是 TBK1 活化的重要过程。将 TBK1 的 K30 或 K401 位点突变后, 会直接影响 TBK1 的 K63 泛素化, Ser172 的磷酸化也被显著抑制。而 TBK1 作为一种磷酸激酶, 其激酶结构域活化环上 Ser172 位点的磷酸化对其激酶活性尤为重要, 无磷酸化功能的 S172A 突变体也不再具有 TBK1 活化功能。因此研究 TBK1 的泛素化调控具有重要意义^[70]。

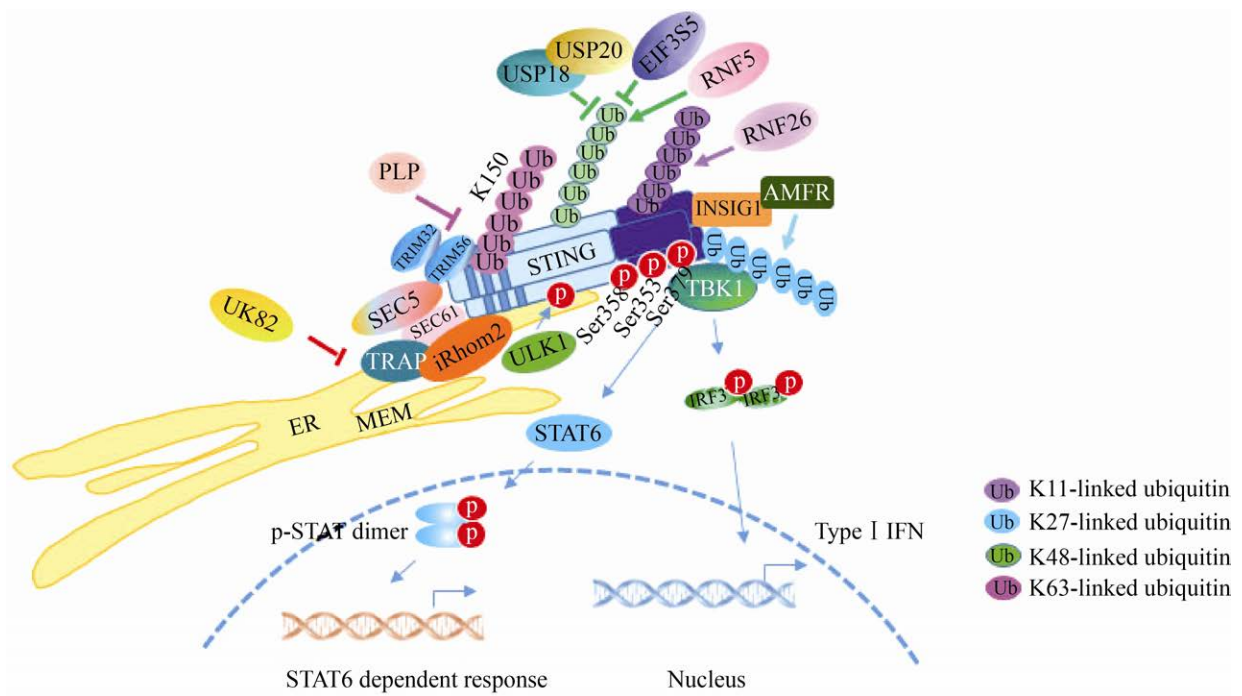


图 9 STING 与 TBK1 的相互作用

Fig. 9 The interaction between STING and TBK1.

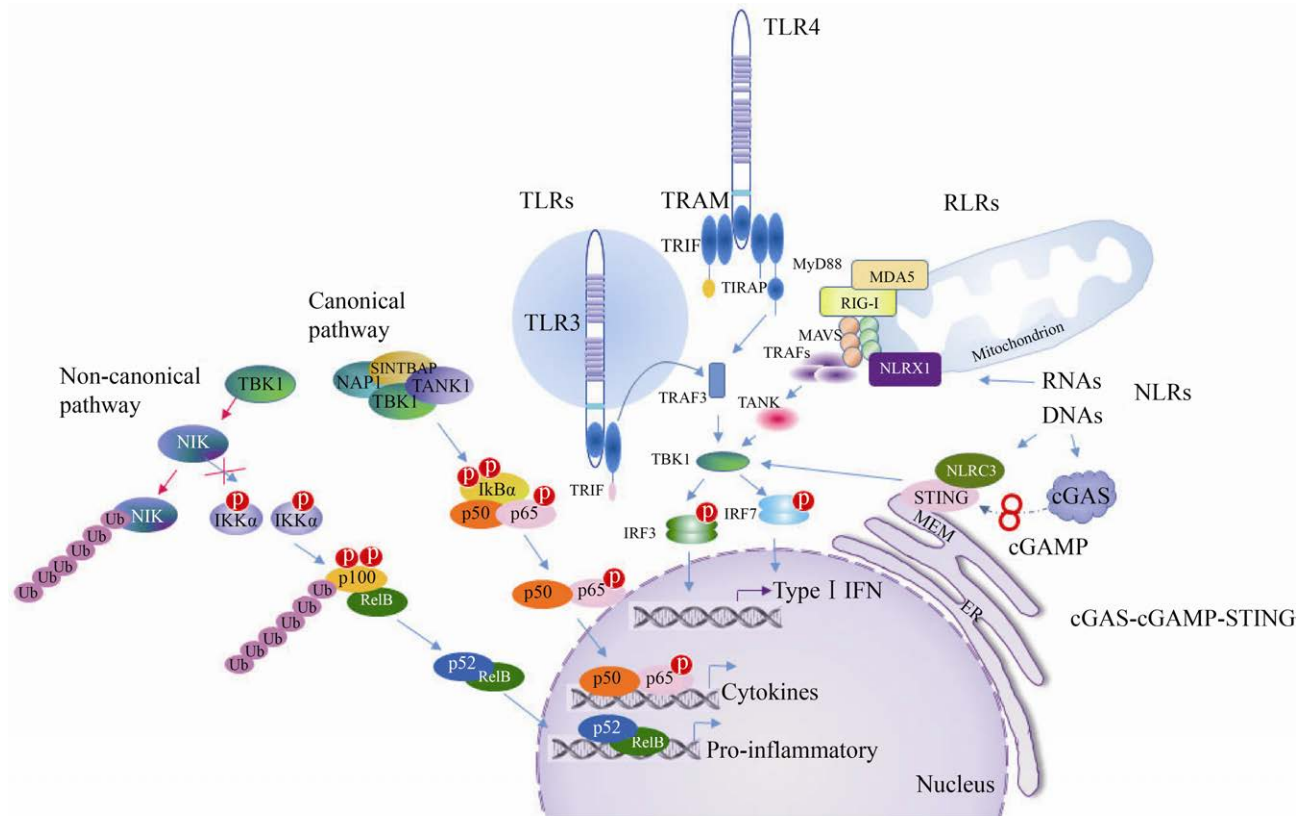


图 10 TBK1 相关信号通路图

Fig. 10 The diagram of TBK1 correlation signaling pathway.

泛素 (Ubiquitin, Ub) 是一种由 76 个氨基酸组成的小分子蛋白质, 序列保守, 广泛存在于真核细胞中。泛素化是指泛素在一系列酶的催化下共价结合到靶蛋白的过程。首先 E1 泛素激活酶 (Ubiquitin-activating enzyme) 利用 ATP 提供的能量在泛素 C 端赖氨酸 (Lys) 残基上的羧基基团与自身半胱氨酸 (Cys) 残基上的巯基基团间形成高能硫酯键, 从而活化泛素分子。之后活化的泛素通过硫酯键结合到 E2 泛素偶联酶 (Ubiquitin-conjugating enzymes) 的 Cys 残基上。最终活化的泛素可通过 E2 泛素偶联酶直接连接到蛋白底物上, 或经 E3 泛素连接酶 (Ubiquitin-ligase enzymes) 将泛素转移到靶蛋白上^[72]。单个泛素分子结合到靶蛋白为单泛素化; 若靶蛋白上多个 Lys 残基同时被单个泛素分子修饰为多泛素化; 而靶蛋白的单个 Lys 残基被多个泛素标记时则为多聚泛素化^[73]。

泛素分子上包含 N 端的甲硫氨酸 (Met) 位点、C 端的甘氨酸 (Gly) 位点以及 7 个赖氨酸位点 (K6、K11、K27、K29、K33、K48、K63)。其中发生 K11 与 K48 多聚泛素化修饰的底物蛋白可被 26S 蛋白酶体识别并降解; 而 K63 型多聚泛素化修饰则介导了底物蛋白的活化及相关细胞信号转导。

目前已有多项研究发现 E3 泛素连接酶可通过促进 TBK1 泛素化调控其表达及活化。E3 泛素连接酶 Nrdp1 可直接结合 TBK1, 并通过 K63 泛素化修饰活化 TBK1^[74]; MIBs (Mindbomb, MIB1 和 MIB2) 同样通过 K63 泛素化作用活化 TBK1^[75]; RNF128 (RING finger protein 128) 能够与 TBK1 发生相互作用, 促进 TBK1 发生 K63 泛素化, 而当 TBK1 K30 或 K401 位突变后, 泛素化作用明显减弱^[76]。另一方面, 为了维持机体的稳态, 泛素化修饰也是一个被严格调控的可逆过程^[77]。去泛素化酶 CYLD (Cylindromatosis) 和 USP2b 可剪切 TBK1 分子上连接的 K63 泛素链, 对 TBK1 的活化起负调控作用^[78-79]。此外, 有研究发现 A20

调节复合体可拮抗 K63 泛素链连接到 TBK1 上^[80], RNF11 也能够与 Tax1 结合蛋白相互作用以阻碍 K63 泛素链与 TBK1 的结合^[81]。

TBK1 的 K63 泛素化多发生在病原感染早期, 而 K48 型泛素化的降解作用往往在晚期对 TBK1 发挥调控作用。E3 泛素连接酶 DTX4 可被 NLRP4 募集, 在 TBK1 的 Lys670 进行 K48 泛素化降解, 从而参与信号通路的调控^[82]。另外, E3 泛素连接酶 TRIP、TRIM27、SOCS3 能直接结合 TBK1 并介导其发生 K48 泛素化, 从而负调机体的免疫反应^[83-85]。泛素特异性蛋白酶 1 (Ubiquitin specific peptidase, USP1) 作为一种泛素特异性蛋白酶, 能够去除一系列底物的泛素化修饰, 可与 USP1 相关因子 1 (USP1-associated factor 1, UAF1) 结合形成一个去泛素化酶复合体, 并特异性结合 TBK1, 去除其 K48 位偶联的泛素化修饰, 进而稳定 TBK1 的蛋白表达^[86]。

TBK1 的稳定性受泛素化调节体系 NLRP4-USP38-DTX4/TRIP 严格调控, 并维持抗病毒反应中的免疫平衡。与 NLRP4 和 TRIP 类似, 笔者研究发现 SOCS3 也可介导 TBK1 的 K48 泛素化, 从而负向调控 IFN- β 信号通路。同时进一步确定了 SOCS3 调控 TBK1 的两个关键泛素化位点 K341 和 K344^[85]。此外, TBK1 的激酶结构域也参与了 SOCS3-TBK1 复合物的形成。曹雪涛课题组研究发现 TRIM27 可对 TBK1 Lys251 和 Lys372 进行 K48 型多聚泛素化修饰^[84]。当病毒入侵时, TBK1 会经历不止一种形式的多聚泛素化修饰, 包括 K63、K48 和 K33 型等。有时不同种泛素化修饰之间存在相互排斥的竞争关系。研究显示, USP38 会切除从 TBK1 的 K670 位点上延伸出的 K33 型多聚泛素链, 从而使之“让位”于同样从 K670 位点开始的 K48 泛素化修饰, 同时对 K63 泛素化修饰无明显影响^[87]。

除泛素化修饰外, 还存在类泛素化修饰。例如 SUMO (Small ubiquitin related modifier), 一种

新发现的泛素样分子,也可参与蛋白质翻译后修饰,这种泛素化修饰被称为 Sumoylation。研究发现,SUMO 化修饰也是 TBK1 的一种修饰形式。TBK1 的 K694 可被 SUMO 化,进而促进 TBK1 与 NAP1、SINTBAD 和 TANK 的结合,参与 TBK1 的功能调控^[88]。同样的修饰还有类泛素化 Neddylaton,其中 NEDD8 和泛素有 80% 的相似性。Nedd8 敲除的小鼠体内 TBK1 的磷酸化水平会受到影响,同时 I κ B α 降解受到阻碍^[89]。UFMylation 和 ISGylation 是新发现的两种泛素化修饰,对固有免疫信号通路的影响还有待进一步研究(图 11)。

4 总结与展望

TBK1 作为固有免疫信号通路中的一个中心节点蛋白,在抵抗病毒感染、维持机体免疫稳态过程中发挥至关重要的作用。明确 TBK1 激活的信号转导通路和调控机制,可以为病原感染及自身免疫病的临床治疗提供新方向。病原微生物的

感染往往会伴随炎症细胞因子的大量产生,严重时会造成细胞因子风暴引起急性呼吸窘迫综合征,威胁人类生命健康,因此精准调控 TBK1 的激活可避免免疫系统的过度反应。氯化锂可显著抑制 TBK1 的活性,有效降低仙台病毒感染小鼠体内 IFN- β 的表达水平,减轻小鼠肺部单核细胞渗出和组织破坏情况,在治疗病原感染引起的过度炎症反应方面具有潜在的应用价值^[90]。笔者实验室在抗病毒天然免疫领域也有所涉猎,目前已通过酵母双杂交实验筛选到了多个影响 TBK1 发挥功能的宿主蛋白,或可为 TBK1 的调控提供新的切入点和方向。此外,还有研究表明 TBK1 可通过提高 NF- κ B 的活性增加机体内促炎症因子的表达,这与类风湿关节炎和系统性红斑狼疮等自身免疫病的炎症反应密切相关。Hasan 等^[91]筛选到了一种 6-氨基吡啶嘧啶衍生物(复合物 II),可特异性抑制 TBK1 的磷酸化,阻碍下游 IRF3 的磷酸化进而抑制其介导的 I 型干扰素反应。经复合物 II 处理后,自身免疫病患者淋巴母细胞中干扰素

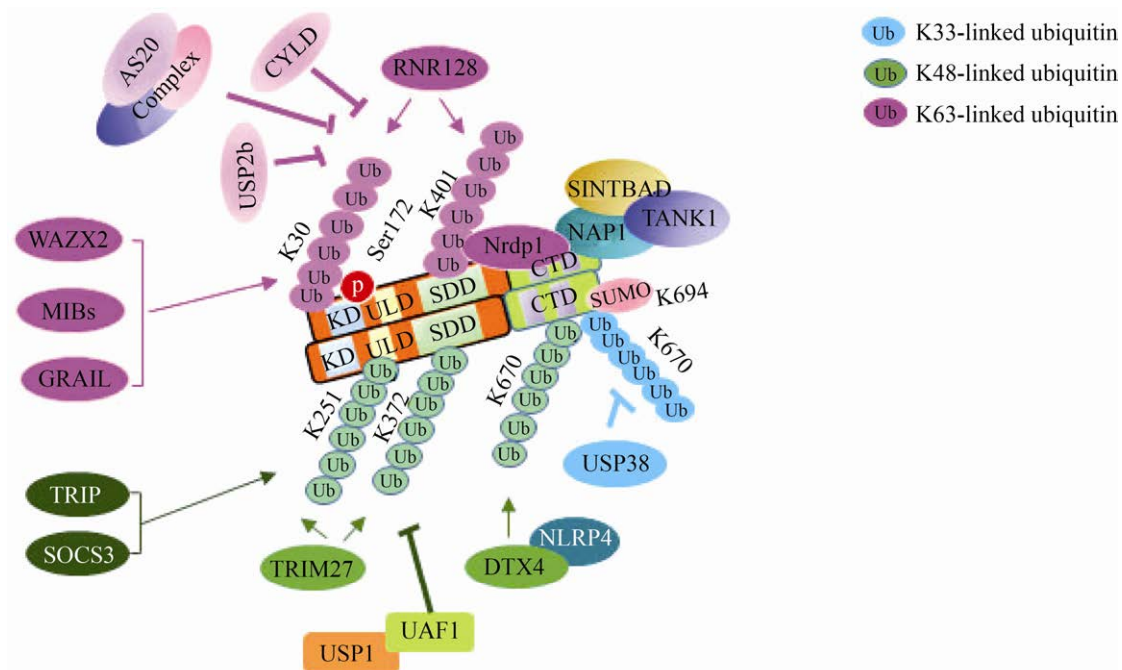


图 11 TBK1 的泛素化修饰

Fig. 11 The ubiquitin modification of TBK1.

诱导基因 CXCL10 和 RSAD2 的表达水平显著下降, 同时 *trex1*^{-/-} 小鼠自身免疫性疾病的表型也明显改善, 存活率有所提高, 表现出了良好的治疗效果。尽管目前已发现多种 TBK1 抑制剂, 但除 Amlexanox 获批上市用于治疗哮喘及口腔溃疡外, 尚无更多特异性 TBK1 抑制剂进入临床研究^[92]。因此仍需研发新型高特异性 TBK1 抑制剂, 为病原感染及自身免疫病的临床治疗提供药物候选化合物。同时还需进一步细化研究 TBK1 在不同疾病、不同细胞类型中的潜在生物学功能及作用机制, 不同生命过程中 TBK1 对下游因子的调控方式有何区别, 是否还存在未知的调控机制或调控因子, 都是亟待解决的问题。相信随着研究的不断深入, 对 TBK1 及其相关信号通路的了解也会更加清晰, 今后针对病原体感染、自身免疫病等疾病的治疗也将更加精准。

REFERENCES

- [1] Chau TL, Gioia R, Gatot JS, et al. Are the IKKs and IKK-related kinases TBK1 and IKK- ϵ similarly activated? *Trends Biochem Sci*, 2008, 33(4): 171-180.
- [2] Durand JK, Zhang Q, Baldwin AS. Roles for the IKK-related kinases TBK1 and IKK ϵ in cancer. *Cells*, 2018, 7(9): 139.
- [3] Weil R, Laplantine E, Génin P. Regulation of TBK1 activity by Optineurin contributes to cell cycle-dependent expression of the interferon pathway. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2016, 29: 23-33.
- [4] Peters RT, Maniatis T. A new family of IKK-related kinases may function as I κ B kinase kinases. *Biochim Biophys Acta*, 2001, 1471(2): M57-M62.
- [5] Ikeda F, Hecker CM, Rozenknop A, et al. Involvement of the ubiquitin-like domain of TBK1/IKK-*i* kinases in regulation of IFN-inducible genes. *EMBO J*, 2007, 26(14): 3451-3462.
- [6] Perry AK, Chen G, Zheng DH, et al. The host type I interferon response to viral and bacterial infections. *Cell Res*, 2005, 15(6): 407-422.
- [7] Yu T, Yi YS, Yang YY, et al. The pivotal role of TBK1 in inflammatory responses mediated by macrophages. *Mediators Inflamm*, 2012, 2012: 979105.
- [8] Zhao W. Negative regulation of TBK1-mediated antiviral immunity. *FEBS Lett*, 2013, 587(6): 542-548.
- [9] Taniguchi K, Karin M. NF- κ B, inflammation, immunity and cancer: coming of age. *Nat Rev Immunol*, 2018, 18(5): 309-324.
- [10] Jimi E, Fukushima H. NF- κ B signaling pathways and the future perspectives of bone disease therapy using selective inhibitors of NF- κ B. *Clin Calcium*, 2016, 26(2): 298-304.
- [11] Zhang Q, Lenardo MJ, Baltimore D. 30 years of NF- κ B: a blossoming of relevance to human pathobiology. *Cell*, 2017, 168(1/2): 37-57.
- [12] Israël A. The IKK complex, a central regulator of NF- κ B activation. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2010, 2(3): a000158.
- [13] Clark K, Nanda S, Cohen P. Molecular control of the NEMO family of ubiquitin-binding proteins. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2013, 14(10): 673-685.
- [14] Bonizzi G, Karin M. The two NF- κ B activation pathways and their role in innate and adaptive immunity. *Trends Immunol*, 2004, 25(6): 280-288.
- [15] Sun SC. The noncanonical NF- κ B pathway. *Immunol Rev*, 2012, 246(1): 125-140.
- [16] Shih VFS, Tsui R, Caldwell A, et al. A single NF- κ B system for both canonical and non-canonical signaling. *Cell Res*, 2011, 21(1): 86-102.
- [17] Chen SN, Zou PF, Nie P. Retinoic acid-inducible gene I (RIG-I)-like receptors (RLRs) in fish: current knowledge and future perspectives. *Immunology*, 2017, 151(1): 16-25.
- [18] Sasai M, Matsumoto M, Seya T. The kinase complex responsible for IRF-3-mediated IFN- β production in myeloid dendritic cells (mDC). *J Biochem*, 2006, 139(2): 171-175.
- [19] Fujita F, Taniguchi Y, Kato T, et al. Identification of NAPI, a regulatory subunit of I κ B kinase-related kinases that potentiates NF- κ B signaling. *Mol Cell Biol*, 2003, 23(21): 7780-7793.
- [20] Cildir G, Low KC, Tergaonkar V. Noncanonical NF- κ B signaling in health and disease. *Trends Mol Med*, 2016, 22(5): 414-429.
- [21] Cui J, Chen YJ, Wang HY, et al. Mechanisms and pathways of innate immune activation and regulation in health and cancer. *Hum Vaccin Immunother*, 2014, 10(11): 3270-3285.
- [22] Solis M, Goubau D, Romieu-Mourez R, et al. Distinct functions of IRF-3 and IRF-7 in IFN- α

- gene regulation and control of anti-tumor activity in primary macrophages. *Biochem Pharmacol*, 2006, 72(11): 1469-1476.
- [23] Hu YW, Zhang J, Wu XM, et al. TANK-binding kinase 1 (TBK1) isoforms negatively regulate Type I interferon induction by inhibiting TBK1-IRF3 interaction and IRF3 phosphorylation. *Front Immunol*, 2018, 9: 84.
- [24] Gulati A, Kaur D, Prasad GVRK, et al. PRR function of innate immune receptors in recognition of bacteria or bacterial ligands//Chattopadhyay K, Basu S, Eds. *Biochemical and Biophysical Roles of Cell Surface Molecules*. Singapore: Springer, 2018, 1112: 255-280.
- [25] Delneste Y, Beauvillain C, Jeannin P. Innate immunity: structure and function of TLRs. *Med Sci (Paris)*, 2007, 23(1): 67-74.
- [26] Kawai T, Akira S. The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors. *Nat Immunol*, 2010, 11(5): 373-384.
- [27] Guan Y, Ranao DRE, Jiang S, et al. Human TLRs 10 and 1 share common mechanisms of innate immune sensing but not signaling. *J Immunol*, 2010, 184(9): 5094-5103.
- [28] Rodell CB, Arlauckas SP, Cuccarese MF, et al. TLR7/8-agonist-loaded nanoparticles promote the polarization of tumour-associated macrophages to enhance cancer immunotherapy. *Nat Biomed Eng*, 2018, 2(8): 578-588.
- [29] Chuang TH, Ulevitch RJ. Cloning and characterization of a sub-family of human Toll-like receptors: hTLR7, hTLR8 and hTLR9. *Eur Cytokine Netw*, 2000, 11(3): 372-378.
- [30] Anthony N, Foldi I, Hidalgo A. Toll and Toll-like receptor signalling in development. *Development*, 2018, 145(9): dev156018.
- [31] Lakhdari O, McAllister CS, Wang M, et al. TLR3 signaling is downregulated by a MAVS isoform in epithelial cells. *Cell Immunol*, 2016, 310: 205-210.
- [32] Kaukinen P, Sillanpää M, Nousiainen L, et al. Hepatitis C virus NS2 protease inhibits host cell antiviral response by inhibiting IKK ϵ and TBK1 functions. *J Med Virol*, 2013, 85(1): 71-82.
- [33] Ghosh R, Roy S, Franco S. PARP1 depletion induces RIG-I-dependent signaling in human cancer cells. *PLoS One*, 2018, 13(3): e0194611.
- [34] Jiang JY, Tang H. Mechanism of inhibiting type I interferon induction by hepatitis B virus X protein. *Protein Cell*, 2010, 1(12): 1106-1117.
- [35] Bist P, Kim SSY, Pulloor NK, et al. ArfGAP domain-containing protein 2 (ADAP2) integrates upstream and downstream modules of RIG-I signaling and facilitates type I interferon production. *Mol Cell Biol*, 2017, 37(6): e00537-16.
- [36] Liu J, Li J, Xiao J, et al. The antiviral signaling mediated by black carp MDA5 is positively regulated by LGP2. *Fish Shellfish Immunol*, 2017, 66: 360-371.
- [37] Bruns AM, Horvath CM. LGP2 synergy with MDA5 in RLR-mediated RNA recognition and antiviral signaling. *Cytokine*, 2015, 74(2): 198-206.
- [38] Bruns AM, Horvath CM. Antiviral RNA recognition and assembly by RLR family innate immune sensors. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2014, 25(5): 507-512.
- [39] Liu SQ, Cai X, Wu JX, et al. Phosphorylation of innate immune adaptor proteins MAVS, STING, and TRIF induces IRF3 activation. *Science*, 2015, 347(6227): aaa2630.
- [40] Paz S, Sun Q, Nakhaei P, et al. Induction of IRF-3 and IRF-7 phosphorylation following activation of the RIG-I pathway. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*, 2006, 52(1): 17-28.
- [41] Chow KT, Gale MJr., Loo YM. RIG-I and other RNA sensors in antiviral immunity. *Annu Rev Immunol*, 2018, 36: 667-694.
- [42] Si YB, Zhang YL, Chen ZJ, et al. Posttranslational modification control of inflammatory signaling//Xu D, Ed. *Regulation of inflammatory signaling in health and disease*. Singapore: Springer, 2017, 1024: 37-61.
- [43] Fekete T, Bencze D, Szabo A, et al. Regulatory NLRs control the RLR-mediated type I interferon and inflammatory responses in human dendritic cells. *Front Immunol*, 2018, 9: 2314.
- [44] Dolasia K, Bisht MK, Pradhan G, et al. TLRs/NLRs: Shaping the landscape of host immunity. *Int Rev Immunol*, 2018, 37(1): 3-19.
- [45] Platnich JM, Muruve DA. NOD-like receptors and inflammasomes: A review of their canonical and non-canonical signaling pathways. *Arch Biochem Biophys*, 2019, 670: 4-14.
- [46] Kim YK, Shin JS, Nahm MH. NOD-like receptors in infection, immunity, and diseases. *Yonsei Med J*, 2016, 57(1): 5-14.
- [47] Hu ZH, Chai JJ. Structural mechanisms in NLR inflammasome assembly and signaling//Backert S,

- Ed. Inflammation Signaling and Bacterial Infections. Cham: Springer, 2016, 397: 23-42.
- [48] Zhao LR, Xing RL, Wang PM, et al. NLRP1 and NLRP3 inflammasomes mediate LPS/ATP-induced pyroptosis in knee osteoarthritis. *Mol Med Rep*, 2018, 17(4): 5463-5469.
- [49] Hedl M, Abraham C. NLRP1 and NLRP3 inflammasomes are essential for distinct outcomes of decreased cytokines but enhanced bacterial killing upon chronic Nod2 stimulation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2013, 304(6): G583-G596.
- [50] Khorasani MMY, Yousefi A, Zainodini N. NLRP1 and NLRC4 inflammasomes are not responsible for the induction of inflammation in pulp tissues from carious teeth. *J Conserv Dent*, 2019, 22(1): 12-16.
- [51] Chavarria-Smith J, Vance RE. The NLRP1 inflammasomes. *Immunol Rev*, 2015, 265(1): 22-34.
- [52] Jamilloux Y, Pierini R, Querenet M, et al. Inflammasome activation restricts *Legionella pneumophila* replication in primary microglial cells through flagellin detection. *Glia*, 2013, 61(4): 539-549.
- [53] Coutermarsh-Ott S, Eden K, Allen IC. Beyond the inflammasome: regulatory NOD-like receptor modulation of the host immune response following virus exposure. *J Gen Virol*, 2016, 97(4): 825-838.
- [54] Schneider M, Zimmermann AG, Roberts RA, et al. The innate immune sensor NLRC3 attenuates Toll-like receptor signaling via modification of the signaling adaptor TRAF6 and transcription factor NF- κ B. *Nat Immunol*, 2012, 13(9): 823-831.
- [55] Tocker AM, Durocher E, Jacob KD, et al. The scaffolding protein IQGAP1 interacts with NLRC3 and inhibits Type I IFN production. *J Immunol*, 2017, 199(8): 2896-2909.
- [56] Williams KL, Lich JD, Duncan JA, et al. The CATERPILLER protein monarch-1 is an antagonist of toll-like receptor-, tumor necrosis factor alpha-, and *Mycobacterium tuberculosis*-induced pro-inflammatory signals. *J Biol Chem*, 2005, 280(48): 39914-39924.
- [57] Feng H, Lenarcic EM, Yamane D, et al. NLRX1 promotes immediate IRF1-directed antiviral responses by limiting dsRNA-activated translational inhibition mediated by PKR. *Nat Immunol*, 2017, 18(12): 1299-1309.
- [58] Luo WW, Shu HB. Delicate regulation of the cGAS-MITA-mediated innate immune response. *Cell Mol Immunol*, 2018, 15(7): 666-675.
- [59] Liu S, Guan WX. STING signaling promotes apoptosis, necrosis, and cell death: an overview and update. *Mediators Inflamm*, 2018, 2018: 1202797.
- [60] Liu X, Wang C. The emerging roles of the STING adaptor protein in immunity and diseases. *Immunology*, 2016, 147(3): 285-291.
- [61] Wang Q, Liu X, Cui Y, et al. The E3 ubiquitin ligase AMFR and INSIG1 bridge the activation of TBK1 kinase by modifying the adaptor STING. *Immunity*, 2014, 41(6): 919-933.
- [62] Shu HB, Wang YY. Adding to the STING. *Immunity*, 2014, 41(6): 871-873.
- [63] Zhou Q, Lin H, Wang SY, et al. The ER-associated protein ZDHHC1 is a positive regulator of DNA virus-triggered, MITA/STING-dependent innate immune signaling. *Cell Host Microbe*, 2014, 16(4): 450-461.
- [64] Luo WW, Li S, Li C, et al. iRhom2 is essential for innate immunity to DNA viruses by mediating trafficking and stability of the adaptor STING. *Nat Immunol*, 2016, 17(9): 1057-1066.
- [65] Fu YZ, Su S, Gao YQ, et al. Human cytomegalovirus tegument protein UL82 inhibits STING-mediated signaling to evade antiviral immunity. *Cell Host Microbe*, 2017, 21(2): 231-243.
- [66] Tsuchida T, Zou J, Saitoh T, et al. The ubiquitin ligase TRIM56 regulates innate immune responses to intracellular double-stranded DNA. *Immunity*, 2010, 33(5): 765-776.
- [67] Fang R, Wang CG, Jiang QF, et al. NEMO-IKK β are essential for IRF3 and NF- κ B activation in the cGAS-STING pathway. *J Immunol*, 2017, 199(9): 3222-3233.
- [68] Zhang CG, Shang GJ, Gui X, et al. Structural basis of STING binding with and phosphorylation by TBK1. *Nature*, 2019, 567(7748): 394-398.
- [69] Ishikawa H, Barber GN. STING is an endoplasmic reticulum adaptor that facilitates innate immune signalling. *Nature*, 2008, 455(7213): 674-678.
- [70] Ma XL, Helgason E, Phung QT, et al. Molecular basis of Tank-binding kinase 1 activation by transautophosphorylation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109(24): 9378-9383.
- [71] Li X, Zhang Q, Ding YY, et al. Methyltransferase Dnmt3a upregulates HDAC9 to deacetylate the

- kinase TBK1 for activation of antiviral innate immunity. *Nat Immunol*, 2016, 17(7): 806-815.
- [72] Tanaka K, Suzuki T, Chiba T. The ligation systems for ubiquitin and ubiquitin-like proteins. *Mol Cells*, 1998, 8(5): 503-512.
- [73] Neutzner M, Neutzner A. Enzymes of ubiquitination and deubiquitination. *Essays Biochem*, 2012, 52: 37-50.
- [74] Wang C, Chen TY, Zhang J, et al. The E3 ubiquitin ligase Nrdp1 'preferentially' promotes TLR-mediated production of type I interferon. *Nat Immunol*, 2009, 10(7): 744-752.
- [75] Li ST, Wang LY, Berman M, et al. Mapping a dynamic innate immunity protein interaction network regulating type I interferon production. *Immunity*, 2011, 35(3): 426-440.
- [76] Song GH, Liu BY, Li ZH, et al. E3 ubiquitin ligase RNF128 promotes innate antiviral immunity through K63-linked ubiquitination of TBK1. *Nat Immunol*, 2016, 17(12): 1342-1351.
- [77] D'Andrea A, Pellman D. Deubiquitinating enzymes: a new class of biological regulators. *Crit Rev Biochem Mol Biol*, 1998, 33(5): 337-352.
- [78] Zhang MY, Wu XF, Lee AJ, et al. Regulation of I κ B kinase-related kinases and antiviral responses by tumor suppressor CYLD. *J Biol Chem*, 2008, 283(27): 18621-18626.
- [79] Zhang L, Zhao XY, Zhang M, et al. Ubiquitin-specific protease 2b negatively regulates IFN- β production and antiviral activity by targeting TANK-binding kinase 1. *J Immunol*, 2014, 193(5): 2230-2237.
- [80] Parvatiyar K, Barber GN, Harhaj EW. TAX1BP1 and A20 inhibit antiviral signaling by targeting TBK1-IKKi kinases. *J Biol Chem*, 2010, 285(20): 14999-15009.
- [81] Charoenthongtrakul S, Gao LL, Parvatiyar K, et al. RING finger protein 11 targets TBK1/IKKi kinases to inhibit antiviral signaling. *PLoS ONE*, 2013, 8(1): e53717.
- [82] Cui J, Li YY, Zhu L, et al. NLRP4 negatively regulates type I interferon signaling by targeting the kinase TBK1 for degradation via the ubiquitin ligase DTX4. *Nat Immunol*, 2012, 13(4): 387-395.
- [83] Zhang M, Wang LJ, Zhao XY, et al. TRAF-interacting protein (TRIP) negatively regulates IFN- β production and antiviral response by promoting proteasomal degradation of TANK-binding kinase 1. *J Exp Med*, 2012, 209(10): 1703-1711.
- [84] Zheng QL, Hou J, Zhou Y, et al. Siglec1 suppresses antiviral innate immune response by inducing TBK1 degradation via the ubiquitin ligase TRIM27. *Cell Res*, 2015, 25(10): 1121-1136.
- [85] Liu D, Sheng CJ, Gao SJ, et al. SOCS3 drives proteasomal degradation of TBK1 and negatively regulates antiviral innate immunity. *Mol Cell Biol*, 2015, 35(14): 2400-2413.
- [86] Yu ZX, Song H, Jia MT, et al. USP1-UAF1 deubiquitinase complex stabilizes TBK1 and enhances antiviral responses. *J Exp Med*, 2017, 214(12): 3553-3563.
- [87] Lin M, Zhao ZY, Yang ZF, et al. USP38 inhibits type I interferon signaling by editing TBK1 ubiquitination through NLRP4 signalosome. *Mol Cell*, 2016, 64(2): 267-281.
- [88] Saul VV, Niedenthal R, Pich A, et al. SUMO modification of TBK1 at the adaptor-binding C-terminal coiled-coil domain contributes to its antiviral activity. *Biochim Biophys Acta*, 2015, 1853(1): 136-143.
- [89] Bibeau-Poirier A, Gravel SP, Clément JF, et al. Involvement of the I κ B kinase (IKK)-related kinases tank-binding kinase 1/IKKi and cullin-based ubiquitin ligases in IFN regulatory factor-3 degradation. *J Immunol*, 2006, 177(8): 5059-5067.
- [90] Wang LJ, Zhang L, Zhao XY, et al. Lithium attenuates IFN- β production and antiviral response via inhibition of TANK-binding kinase 1 kinase activity. *J Immunol*, 2013, 191(8): 4392-4398.
- [91] Hasan M, Dobbs N, Khan S, et al. Cutting edge: inhibiting TBK1 by compound II ameliorates autoimmune disease in mice. *J Immunol*, 2015, 195(10): 4573-4577.
- [92] Bell J. Amlexanox for the treatment of recurrent aphthous ulcers. *Clin Drug Investigat*, 2005, 25(9): 555-566.

(本文责编 陈宏宇)