

综述

蛋白质乳酸化修饰在肝脏疾病中的作用

马一捷¹, 余和芬^{2*}¹首都医科大学附属复兴医院, 北京 100038; ²首都医科大学基础医学院生物化学与分子生物学系, 北京 100069)

摘要: 中国是肝病大国, 各种肝脏疾病如肝炎、肝硬化、肝癌、非酒精性脂肪性肝病等已严重威胁到我国国民的身体健康, 如何有效治疗肝病一直都是研究的热点。蛋白质乳酸化修饰是一种由乳酸介导的新型蛋白质翻译后修饰, 参与炎症、纤维化等多种病理生理过程, 也是潜在的药物新靶标。本文介绍了乳酸化修饰的发现和调控及其在不同肝脏疾病发生、发展中的作用, 并对基于乳酸化修饰的新型抗肝细胞癌策略进行了讨论, 以期对疾病的干预和治疗提供新思路。

关键词: 乳酸化修饰; 肝脏疾病; 翻译后修饰

The roles of protein lactylation in liver diseases

MA Yijie¹, YU Hefen^{2*}¹Fuxing Hospital, Capital Medical University, Beijing 100038, China; ²Department of Biochemistry and Molecular Biology, School of Basic Medical Sciences, Capital Medical University, Beijing 100069, China)

Abstract: China is a major country in liver disease, and various liver diseases such as hepatitis, cirrhosis, liver cancer, non-alcoholic fatty liver disease, etc. have seriously threatened the physical health of our citizens. How to effectively treat liver disease has always been a research hotspot. Protein lactylation modification is a novel post-translational modification of proteins mediated by lactate, which participates in various pathophysiological processes such as inflammation and fibrosis, and is also a potential new drug target. In this paper, the discovery and regulation of lactylation modification and its role in the occurrence and development of different liver diseases are reviewed, and the novel anti-hepatocellular carcinoma strategies based on lactylation modification were discussed in order to provide new ideas for disease intervention and treatment.

Key Words: lactylation; liver disease; post-translational modification

蛋白质翻译后修饰(post-translational modification, PTM)是指在翻译后的蛋白质氨基酸残基上通过添加或移除特定的基团进行化学修饰, 从而调节蛋白质的活性、定位、折叠以及蛋白质与其他生物大分子之间的相互作用。目前已有大量研究证实, 蛋白质的磷酸化、乙酰化、甲基化、泛素化等修饰在揭示生命活动机制、筛选疾病临

床标志物、鉴定药物作用靶点中具有重要意义。这让我们深刻意识到许多重要的生命活动和疾病的发生发展不仅与蛋白质的丰度有关, 各种翻译后修饰也在其中起到举足轻重的作用。乳酸化修饰作为一种新型PTM, 广泛调控各种生物学功能, 其在疾病中发挥的作用已成为当前的研究热点。

收稿日期: 2024-06-25

第一作者: E-mail: mayijie6316@163.com

*通信作者: E-mail: yhf23@ccmu.edu.cn

1 乳酸化修饰的发现

2019年, Zhang等^[1]通过质谱法发现了一种全新的蛋白质翻译后修饰——乳酸化修饰, 这是一种由乳酰基与组蛋白赖氨酸残基共价偶联, 从而影响染色质基因表达的新型表观遗传修饰。他们在人类乳腺癌细胞中观察到3个蛋白水解肽的赖氨酸残基上发生了72.021道尔顿的质量偏移, 这与在赖氨酸残基上添加一个乳酰基所引起的质量偏移相同, 从而推测这种变化是由乳酸的增加导致的。进一步的同位素葡萄糖和乳酸代谢标记研究以及免疫印迹实验均验证了赖氨酸乳酸化(lysine lactylation, K1a)这一发现的可靠性。Zhang等^[1]发现的乳酸化修饰为酶促依赖方式, 除此之外, Gaffney等^[2]还发现了非酶促乳酸化修饰。他们证明, 乳酸化修饰中的乳酰基可直接来源于糖酵解中间体乳酸谷胱甘肽(lactoyl-glutathione, LGSH), 并由乙二醛酶2(glyoxalase 2, GLO2)调控LGSH的水平。2022年, Wan等^[3]应用串联质谱法发现, 由线性铵离子转变而成的环状铵离子能够准确指示赖氨酸的乳酸化, 并证明乳酸化修饰不仅存在于组蛋白上, 在非组蛋白中也广泛存在。现今, 随着乳酸化修饰的神秘面纱被揭开, 越来越多的研究发现, 这种修饰与多种疾病密切相关, 如肝癌^[4]、结肠癌^[5]、非小细胞肺癌^[6]、阿尔兹海默病^[7]、眼部黑色素瘤^[8]等。因此, 乳酸化修饰不仅为代谢组学与表观遗传的研究指明了新方向, 更为人类在疾病的诊断与治疗领域打开了新思路。

2 乳酸化修饰的调节酶

p300是一种经典的组蛋白乙酰转移酶^[9], 由Zhang等^[1]首次报道其具有乳酸化写入功能。另外, p300的同源物CBP(CREB-binding protein)也具有该酶促作用。在脓毒症中, 升高的乳酸水平以p300/CBP依赖机制促进巨噬细胞外泌体分泌高迁移率族蛋白B1(high mobility group box-1, HMGB1)及其乳酸化, 从而诱导内皮细胞功能障碍^[10]。虽然已有大量研究表明p300/CBP可作为乳酸化修饰的“写入者”, 但乳酸化和乙酰化修饰都偏好以赖氨酸作为PTM的残基, 并会同时竞争p300/CBP, 从而发生串扰现象^[1]。在转录因子Glis1诱导的组蛋白修饰中, p300被证明能在启动子处同时增加H3K27的

乙酰化修饰和H3K18的乳酸化修饰, 激活基因表达并促进体细胞重编程^[11]。目前, 关键写入酶p300/CBP在蛋白质中选择编码哪种PTM的决定机制尚不清楚, 可能是由响应细胞代谢的辅助因子的差异性募集来调控的^[12]。在p300/CBP催化体系中, 乳酸化修饰需以乳酰辅酶A(lactyl-coenzyme A, lactyl-CoA)作为乳酰基的供体, 但在哺乳动物细胞中负责产生lactyl-CoA的酶尚不明确, 且lactyl-CoA的胞内浓度仅约为乙酰辅酶A的千分之一^[13]。但Ju等^[14]研究发现, 丙氨酰-t-RNA合成酶1(alanyl-transfer RNA synthetase 1, AARS1)可以直接利用乳酸和ATP催化蛋白质的乳酸化修饰, 是一种具有较高催化效率的乳酰转移酶。与促乳酸化相反, 组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylase, HDAC)可作为“擦除者”去乳酸化。根据辅因子的不同, HDAC可分为I-IV四类, 其中I、II和IV类等11个亚型均为Zn²⁺依赖型蛋白, III类的7个亚型SIRT1-7则以NAD⁺为催化活性位点^[15]。已有研究表明, HDAC除了可以擦除乙酰化修饰, I类HDAC1-3和SIRT1-3还能够降低组蛋白的乳酸化修饰水平, 且HDAC3被证明是K1a最有效的擦除剂^[16]。有研究发现, I类HDAC抑制剂通过上调H3K18ac水平可以竞争性抑制H3K18la^[17], 所以对于乳酸化修饰的“擦除者”来说, PTM的串扰现象同样存在。除此之外, 在非真核生物大肠杆菌中, YiaC和CobB也被证实为一对乳酸化和去乳酸化酶, 参与细胞代谢和细菌生长, 这为K1a介导的原核生物代谢调节机制提供了新的见解^[18]。

3 乳酸化修饰对肝脏疾病的影响

Warburg效应^[19]是肿瘤重要的代谢特征, 即使在有氧条件下, 肿瘤细胞也倾向于通过糖酵解途径进行能量代谢, 而不是通过线粒体进行氧化磷酸化, 从而导致肿瘤细胞内外的乳酸浓度大大提升, 这与肿瘤患者较短的总生存期和较高的转移发生率密切相关^[20,21]。大量研究已表明, 蛋白质乳酸化修饰水平与乳酸含量呈正相关。由于Warburg效应, 乳酸在肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)中高度积聚, 为肝细胞癌、肝内胆管细胞癌中的乳酸化修饰提供了必要条件。除此之外, 乳酸化修饰还参与炎症的激活、纤维化等多种病理

调控机制,在肝纤维化、肝损伤等疾病的进展中同样发挥重要作用。

3.1 乳酸化修饰在肝细胞癌中的作用

肝癌是全球第六大常见的恶性肿瘤,也是癌症相关死亡的第三大原因。其中,肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是最常见的肝癌类型,约占肝癌总病例的80%^[22]。在中国, HCC高度流行,占世界新诊断病例和死亡病例的一半以上^[23]。乙型和丙型肝炎病毒感染是HCC发展的主要危险因素,但在西方,与代谢综合征或糖尿病相关的非酒精性脂肪性肝炎正成为更常见的危险因素^[24]。尽管目前对于HCC患者的各种治疗方案如手术、化疗、放疗和免疫治疗等^[25]已被证明有效,但其预后往往不佳,晚期患者的5年总生存率不高于12%^[26]。因此,从新的角度探索HCC的干预和治療措施具有重要意义。

2023年, Hong等^[27]利用乳酸化组学测序,全面分析了正常肝组织、HCC组织和HCC肺转移组织中乳酸化修饰位点的分布和丰度,发现正常肝组织和HCC组织中存在大量组蛋白和非组蛋白的乳酸化修饰,且修饰丰度存在差异。该研究还表明,泛素特异性肽酶14(ubiquitin-specific protease 14, USP14)和ATP结合盒亚家族F成员1(ATP-binding cassette subfamily F member1, ABCF1)特异性K1a位点是HCC及其转移的诊断指标。之后, Yang等^[4]对HCC组织进行了更深入的组学分析,成功鉴定出9 275个K1a位点,其中9 256个K1a位点位于非组蛋白上,这进一步证实K1a具有除组蛋白转录调控之外更广泛的生物学功能。K1a优先影响重要的代谢途径,包括碳水化合物代谢、三羧酸循环、氨基酸代谢、脂肪酸代谢和核苷酸代谢,这些代谢途径中较高的K1a水平与HCC的侵袭性和驱动突变密切相关。他们还验证了腺苷酸激酶2(adenylate kinase 2, AK2)第K28位点发生的乳酸化修饰会抑制AK2的自身功能,从而促进HCC的增殖和转移。除此之外,许多关键蛋白的乳酸化修饰在HCC的发生发展中起到关键作用。Jin等^[28]发现,乳酸化的细胞周期蛋白E2(cyclin E2, CCNE2)可以促进HCC细胞生长,而SIRT3作为一种去乳酸化酶可以通过降低CCNE2的K1a水平,调节细胞周期,从而逆转这一过程。SIRT3的小分子激活剂厚

朴酚可以增强SIRT3的去乳酸化活性,进一步诱导HCC细胞凋亡。内皮细胞特异性分子1(endothelial cell-specific molecule 1, ESM1)参与多种癌症过程,在HCC中高表达并发挥致癌作用。H3K91a和H3K561a可激活ESM1转录,促进HCC细胞的增殖、迁移、侵袭和上皮细胞-间充质转化过程^[29]。Liao等^[30]研究发现,着丝粒蛋白A(centromere protein A, CENPA)第K124位点的乳酸化修饰可以加速自身转录激活,进而与转录因子YY1相互作用形成CENPA/YY1复合物,促进YY1、CCND1和NRP2的转录活性来驱动HCC增殖。靶向CENPA-YY1-CCND1/NRP2轴可能为HCC的治疗提供候选方案。磷脂酰肌醇蛋白聚糖3(glypican 3, GPC3)是治疗HCC的一种新型药物靶点,在大多数HCC组织中高表达,并与HCC患者的不良预后有关^[31]。Yao等^[32]发现,敲低GPC3可降低缺氧处理的HCC细胞中c-Myc的K1a水平,减弱c-Myc的表达和蛋白质的稳定性,从而抑制HCC的进展。因此, GPC3介导的K1a对于探索HCC的特异性治疗可能具有重要意义。某些天然药物成分也可以通过抑制乳酸产生和蛋白质乳酸化修饰来发挥抗HCC作用。肝癌干细胞(liver cancer stem cell, LCSC)具有致瘤性、自我更新等特性,直接参与HCC的进展和复发,是HCC的重要诊断标志物^[33]。Pan等^[34]发现,三萜类抗肿瘤化合物去甲泽拉木醛(demethylzeylasteral, DML)可通过减少乳酸的产生,抑制H3K9和H3K56位点的乳酸化修饰,从而抑制LCSC增殖、迁移并促进LCSC凋亡。Xu等^[35]发现,蜂王浆酸(royal jelly acid, RJA)也可通过抑制H3K9和H3K14位点的乳酸化修饰来抑制HCC的发展,进一步说明降低H3组蛋白的K1a水平在抗HCC中所发挥的重要作用。

3.2 乳酸化修饰在肝内胆管细胞癌中的作用

肝内胆管细胞癌(intrahepatic cholangiocarcinoma, iCCA)是一种罕见的原发性肝脏恶性肿瘤,起源于肝内胆管上皮细胞,具有高度侵袭性^[36]。由于缺乏有效的治疗选择,临床上对iCCA的治疗和管理仍是不小的难题。核仁素(nucleolin, NCL)是核仁中最丰富的RNA结合蛋白,被鉴定为与iCCA发生和进展相关的功能性乳酸化修饰靶点。在糖酵解过度的情况下, NCL第K477位点在p300的作用下

发生乳酸化修饰, 乳酸化的NCL与有丝分裂原激活酶活化死亡结构域蛋白(MAPK-activating death domain protein, MADD)的初级转录本结合, 通过规避提前产生终止密码子的可变剪接来确保MADD的有效翻译。乳酸化的NCL、MADD和随后被激活的ERK信号共同促进肿瘤的生长, 并与iCCA患者的总生存期相关^[37]。这些发现揭示了代谢重编程和经典致癌通路之间的新联系, 为临床iCCA的预后评估和靶向治疗提供了新的生物标志物。

3.3 乳酸化修饰在肝纤维化中的作用

肝纤维化是由多种慢性肝损伤引起的异常伤口修复反应, 目前除了肝移植外, 没有十分有效的方法治疗肝纤维化^[38]。在肝损伤过程中, 静止的肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)活化并转分化为 α -平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA)阳性的肌成纤维细胞, 后者是肝纤维化中胶原生成的主要贡献者。Hyunsoo等^[17]发现, 己糖激酶2(hexokinase 2, HK2)介导的H3K18la在HSC的活化中起着关键作用, HSC的持续活化最终导致肝纤维化的发生。通过敲除HK2, 抑制乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)或丙酮酸脱氢酶激酶(pyruvate dehydrogenase kinase, PDHK)干扰乳酸产生, 降低H3K18la, 可减少下游纤维化相关转录因子SOX9(SRY-related high mobility group box gene 9)的转录, 从而减少细胞外基质生成, 减慢肝纤维化进展^[39]。因此, 干预HK2/H3K18la/SOX9轴是一种潜在的肝纤维化治疗策略。同样, Zhou等^[40]发现, 抑制胰岛素样生长因子2 mRNA结合蛋白2(insulin like growth factor 2 mRNA binding protein 2, IGF2BP2)可以降低糖酵解代谢途径中关键靶点醛缩酶A(transcriptional levels of aldolase A, ALDOA)的表达, 降低乳酸水平, 下调H3K18la从而抑制HSC的活化。

肝纤维化的病理过程是长期的, 往往伴随由巨噬细胞M1型极化引起的炎症反应^[41]。Kupffer细胞是肝脏的特化巨噬细胞, 存在于肝血窦中, 是肝脏抵御外来分子的第一道防线^[42]。有研究表明, 在肝损伤后丹酚酸B(salvianolic acid B, Sal B)可使Kupffer细胞中LDHA、核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白3(nucleotide-binding oligomerization

domain-like receptor pyrin domain containing 3, NLRP3)和白细胞介素1 β (interleukin 1 β , IL-1 β)的基因启动子区域的H3K18la水平降低, 进而下调糖酵解代谢来抑制巨噬细胞的M1型极化, 从而对肝损伤产生保护作用^[43]。因此, Sal B有望成为通过抑制组蛋白乳酸化和干预巨噬细胞M1型极化来治疗肝纤维化的潜在药物。之后, Sung等^[44]鉴定出永生小鼠的Kupffer细胞中存在181个乳酸化蛋白和289个K1a位点, 提示在Kupffer细胞中所发生的乳酸化修饰可能在肝纤维化的进展中具有重要作用。

3.4 乳酸化修饰在非酒精性脂肪性肝病中的作用

非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)是指非酒精和其他明确损肝因素所致的以肝细胞内脂质过度沉积为主要特征的临床病理综合征, 包括单纯性脂肪肝(simple fatty liver, SFL)、非酒精性脂肪性肝炎(nonalcoholic steatohepatitis, NASH)及相关肝硬化。NAFLD的全球发病率约为30%, 随着病情发展, 可直接导致失代偿期肝硬化及肝细胞癌^[45,46]。脂质沉积作为重要的病理特征和始动因素, 在NAFLD的发病机制中占据关键地位。Gao等^[47]研究证实, 线粒体丙酮酸载体1(mitochondrial pyruvate carrier 1, MPC1)在NAFLD中的表达与肝脏内脂质沉积程度呈正相关。脂肪酸合成酶(fatty acid synthase, FASN)第K673位点的乳酸化修饰可抑制FASN的自身活性, 从而介导MPC1对肝脏内脂质蓄积的下调作用。除此之外, 在用游离脂肪酸(free fatty acid, FFA)刺激后的肝细胞中, 中药复方化浊调脂颗粒可以增加肝细胞中的乳酸浓度, 上调组蛋白H2B和H4的乳酸化修饰, 从而降低血清总胆固醇(total cholesterol, TC)和低密度脂蛋白胆固醇(low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C)水平以及肝脏内脂质的蓄积程度^[48]。

3.5 乳酸化修饰在对乙酰氨基酚所致肝损伤中的作用

对乙酰氨基酚所致肝损伤(APAP induced liver injury, AILI)是由于药物过量而引起的急性肝损伤。如错过最佳治疗期, 肝移植是提高AILI患者生存率的唯一选择。氧化应激是AILI原发性损伤的主要机制, 但其他因素是否影响这一过程的继

发性损伤尚不清楚^[49]。已有证据表明,乳酸是AILI的不良预后因素之一^[50]。Li等^[51]的研究结果表明,泛素连接酶神经前体细胞表达发育下调蛋白4(neural precursor cell expressed developmentally down-regulated protein 4, NEDD4)第K33位点的乳酸化会导致其与Caspase-11的结合受到抑制,从而降低Caspase-11的泛素化水平,导致非经典焦亡途径上调,加重AILI的继发性损伤。这种作用依赖于乳酸水平以及p300/SIRT1的活性。研究表明,激活SIRT1/PGC-1 α /LDHB轴可降低肝细胞内乳酸化修饰水平来改善AILI所致肝损伤,其中,过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 共激活因子1 α (peroxisome proliferators-activated receptors gamma co-activator 1 α , PGC-1 α)的上调起核心作用^[52]。

3.6 乳酸化修饰在肝缺血再灌注损伤中的作用

肝缺血再灌注损伤(hepatic ischemia reperfusion injury, HIRI)是肝切除术和肝移植的主要并发症,也见于腹部创伤和失血性休克等疾病。HIRI不仅可引起急性肝功能障碍,还可引起肝纤维化、肝硬化等慢性疾病^[53]。尽管HIRI具有重要的临床意义,但目前仍缺乏有效的治疗措施。Du等^[54]研究发现,热休克蛋白A12A(heat shock protein A12A, HSPA12A)可通过减少糖酵解过程中产生的乳酸,抑制HMGB1的乳酸化和外泌体的分泌、巨噬细胞的活化和趋化以及炎症相关的级联反应,从而对肝细胞产生保护作用。因此,HSPA12A可能是临床治疗HIRI的潜在靶点。

4 基于乳酸化修饰的新型抗肝细胞癌策略

免疫治疗在肿瘤中的有效性和安全性使其在HCC的治疗过程中被广泛应用。抗程序性死亡蛋白-1(programmed death-1, PD-1)疗法已成为HCC患者重要的治疗手段之一^[55],但其疗效存在明显差异。Gu等^[56]研究表明,乳酸化的膜突蛋白(Moesin)可通过增强Treg细胞中的TGF- β 信号传导,维持免疫抑制性TME来促进肿瘤发生。对抗PD-1治疗有反应的HCC患者的Treg细胞中,Moesin乳酸化修饰水平低于无反应的HCC患者,且抗PD-1治疗和LDH抑制剂联合治疗比单独抗PD-1治疗具有更强的抗肿瘤作用^[57]。这可能是由于单独抗PD-1治疗很少能够调节Treg细胞的生成及Moesin的乳酸

化修饰水平,从而使免疫细胞的增殖活化受到抑制所致^[58]。

针对乳酸化修饰的“写入者”和“擦除者”设计开发靶向药物具有广阔前景。大量靶向p300/CBP的药物已经在细胞和动物实验中进行了研究,其中CCS1477和FT-7051两种p300抑制剂已在临床试验中得到验证^[59],提示p300/CBP抑制剂具有重要的临床应用价值。有研究发现,p300抑制剂与抗PD-L1抗体联合应用于肿瘤实验动物,可大大增强p300抑制剂单一疗法的抗癌功效^[60],但目前还没有实验证明联合疗法在抗HCC中的疗效以及乳酸化修饰在其中产生的作用。此外,Cai等^[61]基于HDAC1和HDAC2开发了一个新的风险评估模型用于HCC患者的预后预测,大量的训练和验证数据集测试证明了该模型的有效性和一致性,HDAC1和HDAC2有望成为新的HCC生物标志物。

Cheng等^[62]利用TCGA数据库,已经鉴定并阐明了8个预后差异表达的乳酸化相关基因,以及它们与免疫通路、治疗反应的相关性。除此之外,NR6A1、OSBP2和UNC119B可诱导HCC相关通路的激活,包括Wnt、MAPK、mTOR和Notch信号通路,从而促进HCC进展,并导致治疗抵抗^[63]。这些发现提示,NR6A1、OSBP2和UNC119B可能是HCC免疫治疗和化疗的新靶点。总的来说,乳酸化修饰的发现提供了多种潜在的用于评价HCC临床疗效的生物标志物,为探索 and 开发新型抗HCC治疗策略提供了新的思路。

5 总结

尽管已有多种PTM被研究发现,但乳酸化修饰在细胞代谢方面相较于其他PTM更具有研究价值。肝脏作为人体最重要的物质代谢器官,参与糖代谢、脂肪代谢、蛋白质代谢等多种生理过程,特别是在乳酸循环过程中,为乳酸转化为葡萄糖提供场所,避免体内乳酸堆积而引起酸中毒。因此,乳酸代谢和乳酸化修饰在肝脏疾病的发生发展中起着重要作用。虽然目前对肝脏疾病中的多种乳酸化靶点和信号通路的研究已取得一定进展,但具体的分子机制和作用原理仍需进一步验证和深入探讨,且乳酸化修饰在其他肝脏疾病中的研究还存在巨大空白。已有研究人员建立了K1a位点

分析的预测器FSL-KIa^[64], 基于大数据分析、人工智能等前沿实验工具, 有助于准确鉴定肝脏组织中乳酸化修饰位点的分布与丰度, 从而加速这一领域的研究进展。总之, 靶向乳酸化修饰位点有望为肝脏疾病的治疗提供新思路和新方法。

参考文献

- [1] Zhang D, Tang Z, Huang H, et al. Metabolic regulation of gene expression by histone lactylation. *Nature*, 2019, 574 (7779): 575-580
- [2] Gaffney DO, Jennings EQ, Anderson CC, et al. Non-enzymatic lysine lactoylation of glycolytic enzymes. *Cell Chem Biol*, 2020, 27(2): 206-213.e6
- [3] Wan N, Wang N, Yu S, et al. Cyclic immonium ion of lactyllysine reveals widespread lactylation in the human proteome. *Nat Methods*, 2022, 19(7): 854-864
- [4] Yang Z, Yan C, Ma J, et al. Lactylome analysis suggests lactylation-dependent mechanisms of metabolic adaptation in hepatocellular carcinoma. *Nat Metab*, 2023, 5(1): 61-79
- [5] Li W, Zhou C, Yu L, et al. Tumor-derived lactate promotes resistance to bevacizumab treatment by facilitating autophagy enhancer protein RUBCNL expression through histone H3 lysine 18 lactylation (H3K18la) in colorectal cancer. *Autophagy*, 2024, 20(1): 114-130
- [6] Jiang J, Huang DL, Jiang Y, et al. Lactate modulates cellular metabolism through histone lactylation-mediated gene expression in non-small cell lung cancer. *Front Oncol*, 2021, 11: 647559
- [7] Pan RY, He L, Zhang J, et al. Positive feedback regulation of microglial glucose metabolism by histone H4 lysine 12 lactylation in Alzheimer's disease. *Cell Metab*, 2022, 34 (4): 634-648.e6
- [8] Yu J, Chai P, Xie M, et al. Histone lactylation drives oncogenesis by facilitating m⁶A reader protein YTHDF2 expression in ocular melanoma. *Genome Biol*, 2021, 22 (1): 85
- [9] Dancy BM, Cole PA. Protein lysine acetylation by p300/CBP. *Chem Rev*, 2015, 115(6): 2419-2452
- [10] Yang K, Fan M, Wang X, et al. Lactate promotes macrophage HMGB1 lactylation, acetylation, and exosomal release in polymicrobial sepsis. *Cell Death Differ*, 2022, 29(1): 133-146
- [11] Li L, Chen K, Wang T, et al. Glis1 facilitates induction of pluripotency via an epigenome-metabolome-epigenome signalling cascade. *Nat Metab*, 2020, 2(9): 882-892
- [12] Dai X, Lv X, Thompson EW, et al. Histone lactylation: epigenetic mark of glycolytic switch. *Trends Genet*, 2022, 38(2): 124-127
- [13] Varner EL, Trefely S, Bartee D, et al. Quantification of lactoyl-CoA (lactyl-CoA) by liquid chromatography mass spectrometry in mammalian cells and tissues. *Open Biol*, 2000, 10(9): 200187
- [14] Ju J, Zhang H, Lin M, et al. The alanyl-tRNA synthetase AARS1 moonlights as a lactyltransferase to promote YAP signaling in gastric cancer. *J Clin Invest*, 2024, 134(10): e174587
- [15] Li Y, Seto E. HDACs and HDAC inhibitors in cancer development and therapy. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2016, 6(10): a026831
- [16] Moreno-Yruela C, Zhang D, Wei W, et al. Class I histone deacetylases (HDAC-3) are histone lysine delactylases. *Sci Adv*, 2022, 8(3): eabi6696
- [17] Rho H, Terry AR, Chronis C, et al. Hexokinase 2-mediated gene expression via histone lactylation is required for hepatic stellate cell activation and liver fibrosis. *Cell Metab*, 2023, 35(8): 1406-1423.e8
- [18] Dong H, Zhang J, Zhang H, et al. YiaC and CobB regulate lysine lactylation in *Escherichia coli*. *Nat Commun*, 2022, 13(1): 6628
- [19] Warburg O, Wind F, Negelein E. The metabolism of tumors in the body. *J Gen Physiol*, 1927, 8(6): 519-530
- [20] Brizel DM, Schroeder T, Scher RL, et al. Elevated tumor lactate concentrations predict for an increased risk of metastases in head-and-neck cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2001, 51(2): 349-353
- [21] Walenta S, Wetterling M, Lehrke M, et al. High lactate levels predict likelihood of metastases, tumor recurrence, and restricted patient survival in human cervical cancers. *Cancer Res*, 2000, 60(4): 916-921
- [22] Singal AG, Kanwal F, Llovet JM. Global trends in hepatocellular carcinoma epidemiology: implications for screening, prevention and therapy. *Nat Rev Clin Oncol*, 2023, 20(12): 864-884
- [23] Chen W, Zheng R, Baade PD, et al. Cancer statistics in China, 2015. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66(2): 115-132
- [24] Llovet JM, Kelley RK, Villanueva A, et al. Hepatocellular carcinoma. *Nat Rev Dis Primers*, 2021, 7(1): 6
- [25] Yang C, Zhang H, Zhang L, et al. Evolving therapeutic landscape of advanced hepatocellular carcinoma. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2023, 20(4): 203-222
- [26] Forner A, Reig M, Bruix J. Hepatocellular carcinoma. *Lancet*, 2018, 391(10127): 1301-1314
- [27] Hong H, Chen X, Wang H, et al. Global profiling of protein lysine lactylation and potential target modified protein analysis in hepatocellular carcinoma. *Proteomics*, 2023, 23(9): e2200432
- [28] Jin J, Bai L, Wang D, et al. SIRT3-dependent delactylation

- of cyclin E2 prevents hepatocellular carcinoma growth. *EMBO Rep*, 2023, 24(5): e56052
- [29] Zhao P, Qiao C, Wang J, et al. Histone lactylation facilitates hepatocellular carcinoma progression by upregulating endothelial cell-specific molecule 1 expression. *Mol Carcinog*, 2024, 63(11): 2078-2089
- [30] Liao J, Chen Z, Chang R, et al. CENPA functions as a transcriptional regulator to promote hepatocellular carcinoma progression via cooperating with YY1. *Int J Biol Sci*, 2023, 19(16): 5218-5232
- [31] Fu Y, Urban DJ, Nani RR, et al. Glypican-3-specific antibody drug conjugates targeting hepatocellular carcinoma. *Hepatology*, 2019, 70(2): 563-576
- [32] Yao G, Yang Z. Glypican-3 knockdown inhibits the cell growth, stemness, and glycolysis development of hepatocellular carcinoma cells under hypoxic microenvironment through lactylation. *Arch Physiol Biochem*, 2024, 130(5): 546-554
- [33] Fan ST, Yang ZF, Ho DWY, et al. Prediction of posthepatectomy recurrence of hepatocellular carcinoma by circulating cancer stem cells. *Ann Surg*, 2011, 254(4): 569-576
- [34] Pan L, Feng F, Wu J, et al. Demethylzeylasteral targets lactate by inhibiting histone lactylation to suppress the tumorigenicity of liver cancer stem cells. *Pharmacol Res*, 2022, 181: 106270
- [35] Xu H, Li L, Wang S, et al. Royal jelly acid suppresses hepatocellular carcinoma tumorigenicity by inhibiting H3 histone lactylation at H3K9la and H3K14la sites. *Phytomedicine*, 2023, 118: 154940
- [36] Moris D, Palta M, Kim C, et al. Advances in the treatment of intrahepatic cholangiocarcinoma: an overview of the current and future therapeutic landscape for clinicians. *CA Cancer J Clin*, 2023, 73(2): 198-222
- [37] Yang L, Niu K, Wang J, et al. Nucleolin lactylation contributes to intrahepatic cholangiocarcinoma pathogenesis via RNA splicing regulation of MADD. *J Hepatol*, 2024, 81(4): 651-666
- [38] Tan Z, Sun H, Xue T, et al. Liver fibrosis: therapeutic targets and advances in drug therapy. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 730176
- [39] Wu S, Li J, Zhan Y. H3K18 lactylation accelerates liver fibrosis progression through facilitating SOX9 transcription. *Exp Cell Res*, 2024, 440(2): 114135
- [40] Zhou Y, Yan J, Huang H, et al. The m⁶A reader IGF2BP2 regulates glycolytic metabolism and mediates histone lactylation to enhance hepatic stellate cell activation and liver fibrosis. *Cell Death Dis*, 2024, 15(3): 189
- [41] Kumar S, Duan Q, Wu R, et al. Pathophysiological communication between hepatocytes and non-parenchymal cells in liver injury from NAFLD to liver fibrosis. *Adv Drug Deliv Rev*, 2021, 176: 113869
- [42] Tacke F. Targeting hepatic macrophages to treat liver diseases. *J Hepatol*, 2017, 66(6): 1300-1312
- [43] Hu S, Yang Z, Li L, et al. Salvianolic acid B alleviates liver injury by regulating lactate-mediated histone lactylation in macrophages. *Molecules*, 2024, 29(1): 236
- [44] Sung E, Sim H, Cho YC, et al. Global profiling of lysine acetylation and lactylation in Kupffer cells. *J Proteome Res*, 2023, 22(12): 3683-3691
- [45] Kanwal F, Kramer JR, Mapakshi S, et al. Risk of hepatocellular cancer in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*, 2018, 155(6): 1828-1837.e2
- [46] Henry L, Paik J, Younossi ZM. Review article: the epidemiologic burden of non-alcoholic fatty liver disease across the world. *Aliment Pharmacol Ther*, 2022, 56(6): 942-956
- [47] Gao R, Li Y, Xu Z, et al. Mitochondrial pyruvate carrier 1 regulates fatty acid synthase lactylation and mediates treatment of nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*, 2023, 78(6): 1800-1815
- [48] Yin X, Li M, Wang Y, et al. Herbal medicine formula Huazhuo Tiaozhi granule ameliorates dyslipidaemia via regulating histone lactylation and miR-155-5p biogenesis. *Clin Epigenetics*, 2023, 15(1): 175
- [49] Yan M, Huo Y, Yin S, et al. Mechanisms of acetaminophen-induced liver injury and its implications for therapeutic interventions. *Redox Biol*, 2018, 17: 274-283
- [50] Bernal W, Donaldson N, Wyncoll D, et al. Blood lactate as an early predictor of outcome in paracetamol-induced acute liver failure: a cohort study. *Lancet*, 2002, 359(9306): 558-563
- [51] Li Q, Zhang F, Wang H, et al. NEDD4 lactylation promotes APAP induced liver injury through Caspase11 dependent non-canonical pyroptosis. *Int J Biol Sci*, 2024, 20(4): 1413-1435
- [52] Hong W, Zeng X, Wang H, et al. PGC-1 α loss promotes mitochondrial protein lactylation in acetaminophen-induced liver injury via the LDHB-lactate axis. *Pharmacol Res*, 2024, 205: 107228
- [53] Cannistrà M, Ruggiero M, Zullo A, et al. Hepatic ischemia reperfusion injury: a systematic review of literature and the role of current drugs and biomarkers. *Int J Surg*, 2016, 33(S1): S57-S70
- [54] Du S, Zhang X, Jia Y, et al. Hepatocyte HSPA12A inhibits macrophage chemotaxis and activation to attenuate liver ischemia/reperfusion injury via suppressing glycolysis-mediated HMGB1 lactylation and secretion of hepatocytes. *Theranostics*, 2023, 13(11): 3856-3871
- [55] Ju F, Wang D, Huang L, et al. Progress of PD-1/PD-L1

- signaling in immune response to liver transplantation for hepatocellular carcinoma. *Front Immunol*, 2023, 14: 1227756
- [56] Gu J, Zhou J, Chen Q, et al. Tumor metabolite lactate promotes tumorigenesis by modulating MOESIN lactylation and enhancing TGF- β signaling in regulatory T cells. *Cell Rep*, 2022, 39(12): 110986
- [57] Kumagai S, Koyama S, Itahashi K, et al. Lactic acid promotes PD-1 expression in regulatory T cells in highly glycolytic tumor microenvironments. *Cancer Cell*, 2022, 40(2): 201-218.e9
- [58] Kamada T, Togashi Y, Tay C, et al. PD-1⁺ regulatory T cells amplified by PD-1 blockade promote hyperprogression of cancer. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2019, 116(20): 9999-10008
- [59] Chen Q, Yang B, Liu X, et al. Histone acetyltransferases CBP/p300 in tumorigenesis and CBP/p300 inhibitors as promising novel anticancer agents. *Theranostics*, 2022, 12(11): 4935-4948
- [60] Liu J, He D, Cheng L, et al. p300/CBP inhibition enhances the efficacy of programmed death-ligand 1 blockade treatment in prostate cancer. *Oncogene*, 2020, 39(19): 3939-3951
- [61] Cai D, Yuan X, Cai DQ, et al. Integrative analysis of lactylation-related genes and establishment of a novel prognostic signature for hepatocellular carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2023, 149(13): 11517-11530
- [62] Cheng Z, Huang H, Li M, et al. Lactylation-related gene signature effectively predicts prognosis and treatment responsiveness in hepatocellular carcinoma. *Pharmaceuticals*, 2023, 16(5): 644
- [63] Wu Q, Li X, Long M, et al. Integrated analysis of histone lysine lactylation (Kla)-specific genes suggests that NR6A1, OSBP2 and UNC119B are novel therapeutic targets for hepatocellular carcinoma. *Sci Rep*, 2023, 13(1): 18642
- [64] Jiang P, Ning W, Shi Y, et al. FSL-Kla: a few-shot learning-based multi-feature hybrid system for lactylation site prediction. *Comput Struct Biotechnol J*, 2021, 19: 4497-4509