

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2023.19.001

· 基础研究 ·

丙戊酸协同顺铂抑制乳腺癌和结直肠癌细胞生长*

成含月 杨怡静 张亚丽 王 涛 李 玲 王彩云 徐 璐[△]

(上海交通大学医学院药理学与化学生物学系 上海 200025)

摘要 目的:探究丙戊酸(Valproic acid, VPA)协同顺铂抑制乳腺癌和结直肠癌细胞增殖。**方法:**首先使用 Western blot 检测 VPA 对 Acetyl-Histone H3 蛋白水平的影响,使用 Cell Counting Kit-8(CCK-8)法检测 VPA 对乳腺癌和结直肠癌细胞的细胞活力的影响。其次单药顺铂、VPA 和联合用药处理乳腺癌细胞 MDA-MB-231 和结直肠癌细胞 HCT-15, 使用 IncuCyte 动态检测细胞生长过程和生长终点。**结果:**发现 VPA 可抑制组蛋白去乙酰化酶的功能,升高 Acetyl-Histone H3 的蛋白水平,VPA 可抑制乳腺癌细胞和结直肠癌细胞增殖,且对 VPA 的药物敏感性相似;顺铂和 VPA 连用后可显著抑制乳腺癌和结直肠癌细胞增殖和活力。**结论:**本文发现 VPA 抑制组蛋白去乙酰化酶发挥抑制乳腺癌和结直肠癌细胞生长的新机制, 并可以与顺铂连用提高抗肿瘤效果和药物敏感性,为同时患有癫痫和肿瘤的人群提供新的治疗思路。

关键词:乳腺癌;结直肠癌;丙戊酸;顺铂

中图分类号:R-33;R735.3;R737.9 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2023)19-3601-05

Valproic Acid and Cisplatin Inhibit the Growth of Breast Cancer and Colorectal Cancer Cells*

CHENG Han-yue, YANG Yi-jing, ZHANG Ya-li, WANG Tao, LI Ling, WANG Cai-yun, XU Lu[△]

(Department of Pharmacology and Chemical Biology, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai, 200025, China)

ABSTRACT Objective: To explore the inhibitory effect of Valproic acid (VPA) and cisplatin on the proliferation of breast cancer and colorectal cancer cells. **Methods:** Firstly, Western blot was used to detect the effects of VPA on Acetyl-Histone H3 protein levels, and Cell Counting Kit-8 (CCK-8) was used to detect the effects of VPA on the cell viability of breast cancer and colorectal cancer cells. Secondly, breast cancer cells MDA-MB-231 and colorectal cancer cells HCT-15 were treated with single drug cisplatin, VPA and a combination of drugs. IncuCyte was used to dynamically detect the cell growth process and growth endpoint. **Results:** It was found that VPA could inhibit the function of histone deacetylase and increase the Acetyl-Histone H3 protein level. VPA could inhibit the proliferation of breast cancer cells and colorectal cancer cells, and the drug sensitivity to VPA was similar. The combination of cisplatin and VPA can significantly inhibit the proliferation and viability of breast cancer and colorectal cancer cells. **Conclusions:** This study found that VPA inhibits histone deacetylase to play a new role in inhibiting the growth of breast cancer and colorectal cancer cells, and can be combined with cisplatin to improve the antitumor effect and drug sensitivity, providing a new therapeutic idea for patients with epilepsy and tumor.

Key words: Breast cancer; Colorectal cancer; Valproic acid; Cisplatin

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R735.3; R737.9 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2023)19-3601-05

前言

乳腺癌和结肠癌的发病和死亡人数居世界前列^[1]。乳腺癌目前是全球女性中最常见的恶性肿瘤^[2]且死亡率居世界第一的恶性肿瘤^[3],严重危害着全球女性的身心健康。结直肠癌在女性中是诊断出的第二恶性肿瘤,在男性中排第三^[4]。在女性中,结直肠癌的发病率和死亡率比男性低 25%^[5]。

顺铂(cisplatin, DDP)是目前临床一线广谱抗肿瘤药物,对

于一般化疗药物不敏感和实体瘤效果显著^[6]。顺铂可干扰肿瘤细胞中 DNA 复制,导致 DNA 损伤,激活多种信号转导,最终导致细胞凋亡^[7];顺铂还可与血液中某些成分如血浆白蛋白、转运蛋白、半胱氨酸等结合,最终导致癌细胞失活死亡^[8]。虽然顺铂的抗肿瘤效果十分显著,但也不可避免的出现耐药,同时还伴随肾毒性、肝毒性、心血管系统异常等毒副作用^[9]。有研究表明顺铂的不良反应与个体差异显著相关,抗肿瘤药物与顺铂具有协同治疗效果,无交叉耐药性,可提高顺铂的治疗效果^[10]。

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81372522;82073868)

作者简介:成含月(1997-),女,硕士研究生,主要研究方向:肿瘤药理学,E-mail: 345065953@qq.com

[△] 通讯作者:徐璐(1975-),女,硕士生导师,副研究员,主要研究方向:肿瘤药理学,E-mail: luxupharm@163.com

(收稿日期:2023-03-15 接受日期:2023-04-11)

因此寻找具有前景的抗肿瘤药物与顺铂联合治疗成为目前临床亟待解决的难题。

癌症的发生发展十分复杂,与许多因素有关^[1]。组蛋白去乙酰化酶(HDACs)在癌细胞中过量表达,使得正常基因的乙酰化平衡状态被打破,导致肿瘤发生^[2]。组蛋白去乙酰化酶抑制剂(histone deacetylase inhibitors, HDACi)是一类特征良好的癌症治疗药物,患者在耐受性良好的情况下对血液肿瘤和实体瘤具有有很好的临床活性^[3]。有文献报道 HDACi 通过改变组蛋白蛋白的泛素化和蛋白酶体降解而产生不稳定效应^[4]。HDACi 可增加肿瘤细胞中组蛋白的乙酰化水平,重新激活沉默的抑癌基因,促进肿瘤细胞凋亡^[5]。近年来开发 HDACi 成为抗肿瘤药物领域的热门方法,具有很好的治疗前景^[6]。

经课题组前期筛选,筛选出一种 HDACi -- 丙戊酸(valproic acid, VPA)可以抑制肿瘤生长。VPA 是衍生自戊酸的支链短链脂肪酸。目前临床应用的抗癫痫药,还可治疗双相情感障碍和精神分裂症^[6]。1997 年起开始有文献报道 VPA 有抗癌作用,可增强化疗药物的效果,例如可以穿过血脑屏障,有效清除患者大脑中的转移性乳腺癌细胞,诱导细胞凋亡并抑制细胞周期^[7]。VPA 作为一种广泛应用于临床的药物,生物利用率高^[8],临床稳定性十分可靠^[9],可作为与顺铂连用的潜在药物。本研究将围绕 VPA 是否影响组蛋白去乙酰化水平展开,并深入探究 VPA 协同顺铂影响乳腺癌和结直肠癌细胞的增殖效果,我们通过免疫印迹法检测 Acetyl-Histone H3 的蛋白表达情况,Cell Counting Kit-8(CCK-8)法检测药物处理后的细胞活力,Incucyte 动态实时检测细胞生长过程,为临床寻找新的治疗策略。

1 材料与方法

1.1 细胞系与试剂

细胞系:人乳腺癌细胞系 MDA-MB-231 和人结直肠癌细胞系 HCT15 均在上海交通大学药理系与化学生物学系保存并使用。

试剂:RPMI 1640 培养基、DMEM 培养基、ECL 显色液、BCA 定量试剂盒购自 Thermo Fisher Scientific(美国)公司;胎牛血清购自 Gemini(美国)公司;0.25%胰蛋白酶、磷酸缓冲盐溶液、青霉素-链霉素(双抗)溶液及谷氨酰胺溶液购自上海源培生物科技股份有限公司;预染蛋白分子量 marker、细胞冻存液、快速封闭液均购自苏州新赛美生物科技有限公司;Acetyl-Histone H3、Histone H3 抗体购自 Abcam(英国); β -actin 抗体购自 Santa Cruz Biotechnology(美国)公司;CCK-8 试剂盒、丙戊酸和环己酰亚胺(Cycloheximide, CHX)购自 MedChemexpress(美国)公司;无菌无酶吸头、丙烯酰胺/甲叉双丙烯酰胺 30%溶液、磷酸酶抑制剂、蛋白酶抑制剂。

1.2 实验仪器

Incucyte Zoom 活细胞成像系统购自 Essen Bioscience(美国)公司;生物安全柜、37℃、CO₂ 细胞培养箱购自 Thermo Fisher Scientific(美国)公司;蛋白电泳及转印系统、多功能酶标仪购自 Bio-Rad(美国)公司;制冰机购自 Scotsman(美国)公司;超纯水系统购自 Millipore(美国)公司;Odyssey 双色红外成像系统购自 LI-COR(美国)公司;荧光定量 PCR 仪购自 Roche(瑞士)公司。

1.3 实验方法

1.3.1 细胞培养及传代 配制 RPMI 1640 完全培养基(10%胎牛血清,1%青霉素-链霉素,1%谷氨酰胺)。提前 37℃ 水浴加热 PBS 和 0.25%胰蛋白酶。待 25 cm³ 培养瓶中的细胞汇合度约 80%左右时传代,用干净的无菌无酶的吸头吸去原培养基,用 1 mL PBS 缓冲液清洗,加入 500 μ L 0.25%胰蛋白酶,消化 2 分钟,轻轻拍打,使用新鲜完全培养基终止消化。1:3 传代,观察细胞状态。

1.3.2 免疫印迹法(Western Blot) 清洗并烘干玻璃板和梳子,装进灌胶架。按比例分别配置 10%或 12%分离胶和浓缩胶,先加入双蒸水检漏,再将分离胶倒入玻璃板间隙,等待 40 分钟,再倒入浓缩胶插入梳子等待 40 分钟。上样完成后,将电压调为 60 V 跑电泳 1 小时后将电压调至 90 V 至蛋白样品跑至分离胶底部,关闭机器。使用甲醇活化 PVDF 膜 3 分钟。取出凝胶板,弃去浓缩胶。转膜夹黑色夹板连接负极,白色夹板连接正极,按照从下到上黑色夹板-海绵-滤纸-凝胶-PVDF 膜-滤纸-海绵-白色夹板的顺序装入转膜夹。于 4℃ 冷库或冰浴中 0.22 A 恒流转膜 2 小时;5%脱脂牛奶室温水平摇床封闭 1.5 小时;弃去封闭液加入一抗,于室温慢摇 2 h 或冷库水平摇床过夜孵育 10-12 小时;室温兔/鼠二抗孵育 1.5 小时;用 ECL 显影液显影。

1.3.3 IncuCyte 活细胞实时动态成像分析 待培养瓶中的细胞汇合度约 80%左右时传代,用干净的无菌无酶吸头吸去原培养基,用 1 mL PBS 缓冲液清洗 1-2 遍,加入 500 μ L 0.25%胰蛋白酶,消化 2 分钟,摇晃细胞培养瓶使胰蛋白酶溶液铺满整个瓶底;将培养瓶放入温度为 37℃、CO₂ 浓度为 5%的恒温培养箱消化 2 min 后取出,轻轻拍打瓶身,使细胞从瓶底脱离,肉眼可见为流沙状。并于显微镜下观察细胞完全脱落,细胞形态变为高亮圆球状,加入胰蛋白酶体积 3-4 倍新鲜完全培养基 1500 μ L-2000 μ L 终止消化;轻柔缓慢吹打细胞悬液,避免吹打过程中产生气泡。使用细胞计数仪进行细胞计数,根据实验需要吸去新鲜完全培养基稀释细胞悬液至 3000-5000 个细胞/100 μ L 浓度;在 96 孔板靠近外圈孔内试种 100 μ L 细胞悬液,等待 3-5 min 待细胞下沉后显微镜下观察细胞密度,密度适中则将细胞悬液按照 100 μ L/孔接种于 96 孔板中。注意每行接种完要上下颠倒重新摇匀细胞悬液,以防止细胞沉降导致细胞悬液浓度改变造成孔间细胞数不均一。最外侧孔内加入 200 μ L PBS,防止培养基蒸发导致细胞干燥死亡。在 96 孔板表面标记好细胞种类、细胞来源、细胞代数及接种日期,放于 37℃,5% CO₂ 恒温培养箱中预培养 24 h;根据实验要求用新鲜完全培养基稀释药物母液,配置所需药物浓度。向 96 孔培养板加入梯度稀释浓度的待测药物,每孔加入 100 μ L 药物溶液。注意计算药物浓度时不要忽略孔内原有 100 μ L 体积,加入药物浓度应为实验要求浓度的 2 倍且现配现用。将 96 孔板转移至 IncuCyte 实时动态细胞成像分析仪中继续培养,先短时 2 min 扫描孔板位置是否对齐后,在设置拍摄程序,每隔 4 h 拍照一次。加药后 72-96 h 后,观察到对照组细胞汇合度达到 80%-100%时停止培养,取出 96 孔板进行 CCK-8 实验或直接丢弃;用 IncuCyte 实时动态细胞成像分析仪自带的 IncuCyte2016A 软件分析每个时间点每个孔内的细胞数和细胞汇合数并导出,

使用 GraphPad Prism8.0 软件绘制生长曲线。

1.3.4 统计学分析 实验结果采用 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示, 两组间比较采用 Student's T 检验, 多组间比较采用单因素方差分析, 使用 GraphPad Prism 8.0 软件作图。 $P < 0.05$ 表示有显著性差异 (其中 $P < 0.05$ 用 "*" 表示, $P < 0.01$ 用 "**" 表示, $P < 0.001$ 用 "***" 表示, $P < 0.0001$ 用 "****" 表示)。

2 结果

2.1 VPA 可升高乙酰化组蛋白的表达水平

肿瘤的发生和进展与组蛋白乙酰化紊乱相关, 组蛋白去乙酰化酶是肿瘤中过度表达的蛋白酶, 常被认为是抑制肿瘤的重要靶点^[20]。为了探究 VPA 对乙酰化组蛋白的影响, 根据体外细胞实验结果发现 VPA 作用于肿瘤细胞时浓度为 1.5 mM 效果较好, 于是我们选用浓度为 1.5 mM 的 VPA 处理 MDA-MB-231 细胞和 HCT-15 细胞 72 h, Western Blot 检测 Acetyl-Histone H3 和 Histone H3 蛋白水平。实验结果显示, VPA 可抑制组蛋白去乙酰化酶的功能, 升高 Acetyl-Histone H3 的蛋白水平; 且总蛋白 Histone H3 未变 (图 1)。

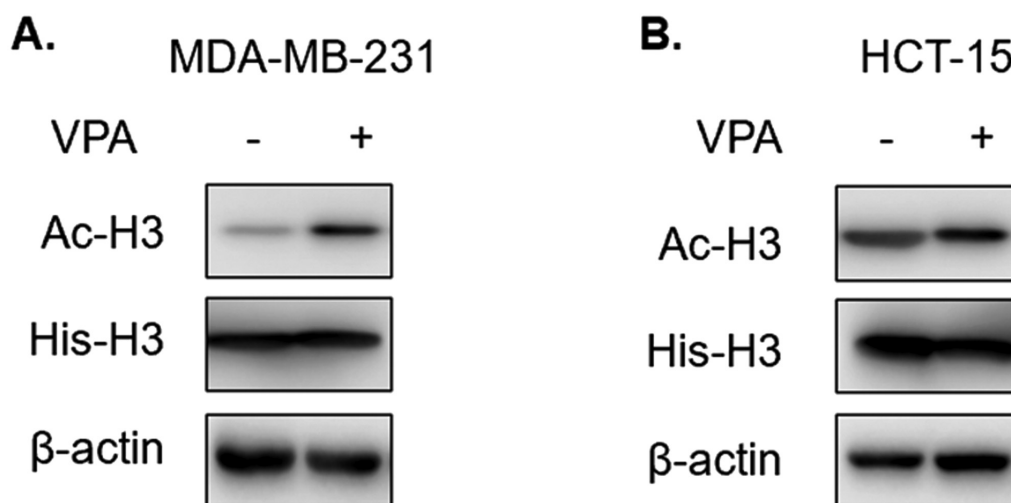


表 1 VPA 可提高乙酰化组蛋白的表达水平

Fig.1 VPA can increase the expression level of acetylated histone

Note: A. Breast cancer cells; B. Colorectal cancer cells;

Protein levels of Acetyl-Histone H3 and Histone H3 after VPA drug treatment by western blot.

2.2 VPA 抑制携带突变体 p53 乳腺癌细胞和结直肠癌细胞增殖

为了探究乳腺癌细胞 MDA-MB-231 和结直肠癌细胞 HCT-15 对 VPA 是否敏感, 我们采用最高浓度为 15 mM VPA, 三倍稀释至 9 个浓度梯度, 作用于 MDA-MB-231 细胞和

HCT-15 细胞 72 h, 使用 CCK-8 法检测细胞活力, 计算药物敏感性 (图 2), 结果显示, VPA 抑制携带突变体 p53 乳腺癌细胞和结直肠癌细胞增殖, 且 MDA-MB-231 细胞和 HCT-15 细胞对 VPA 敏感性相似, IC_{50} 均在 5 mM 左右。

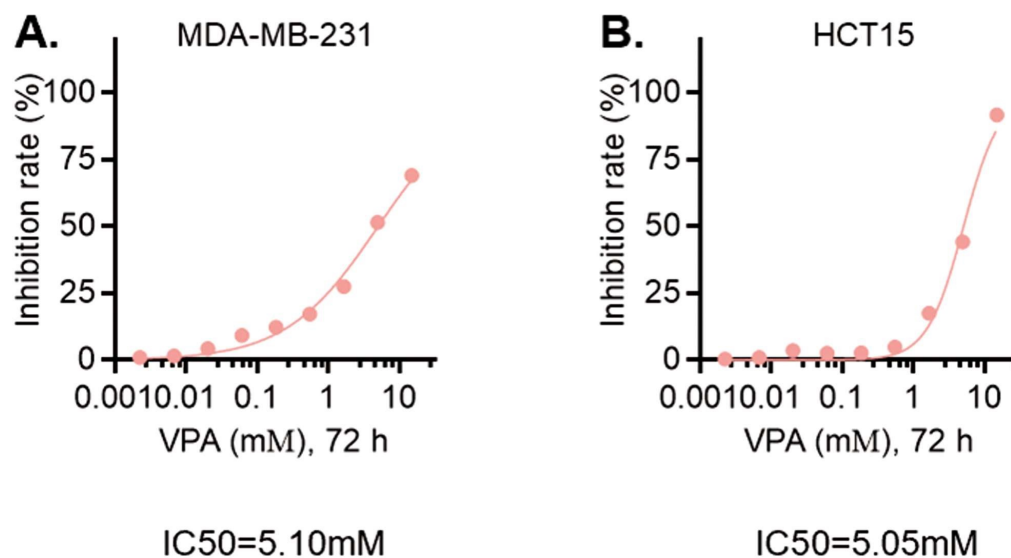


图 2 VPA 抑制携带突变体 p53 乳腺癌细胞和结直肠癌细胞增殖

Fig.2 VPA inhibits the proliferation of breast cancer cells and colorectal cancer cells carrying mutant p53

Note: A. Breast cancer cells; B. Colorectal cancer cells; Cell activity inhibition of VPA was tested by CCK-8 assay.

2.3 VPA 协同顺铂增加乳腺癌细胞和结直肠癌细胞对顺铂敏感性

顺铂(Cisplatin)是一种非特异性化疗药物,具有广谱抗肿瘤作用。虽然顺铂的抗肿瘤效果显著,然而不可避免出现肾毒性的毒副作用和耐药问题。经多项研究发现,顺铂与抗肿瘤药物连用具有协同作用,且无交叉耐药性^[9]。我们选择单药 1.5 mM

VPA, 0.5 μ M Cisplatin 处理乳腺癌细胞 MDA-MB-231; 1.5 mM VPA, 3 μ M Cisplatin 处理结直肠癌细胞 HCT-15, IncuCyte 动态检测细胞生长,发现单药效果不是十分显著。分别联合用药后,显著增加了 MDA-MB-231 细胞和 HCT-15 细胞对顺铂的敏感性。(图 3)。

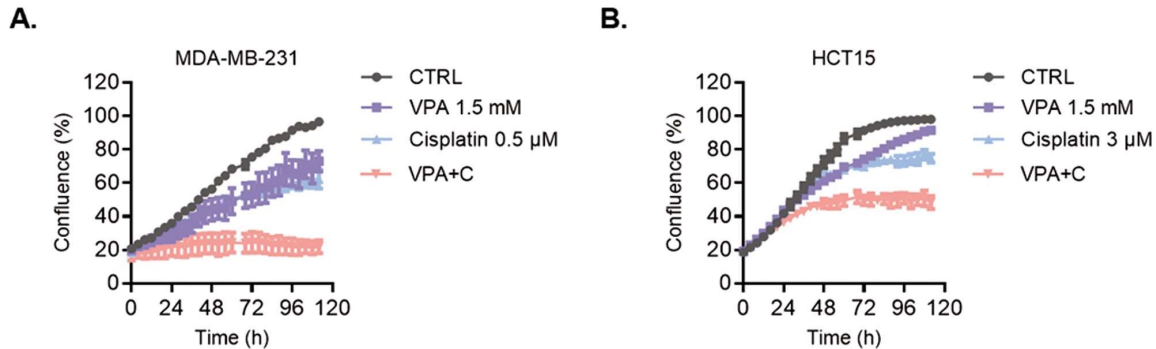


图 3 VPA 协同顺铂增加乳腺癌细胞和结直肠癌细胞对顺铂敏感性

Fig.3 VPA synergistically increases cisplatin sensitivity of breast cancer cells and colorectal cancer cells

Note: A. Breast cancer cells; B. Colorectal cancer cells; Phase Object Confluence was tested by IncuCyte.

2.4 VPA 协同顺铂抑制乳腺癌细胞和结直肠癌细胞生长

为了探究单药 VPA、顺铂与联合用药对乳腺癌细胞和结直肠细胞生长的影响,我们选择单药 1.5 mM VPA, 0.5 μ M Cisplatin 处理乳腺癌细胞 MDA-MB-231; 1.5 mM VPA, 3 μ M Cis-

platin 处理结直肠癌细胞 HCT-15, 药物处理时间为 72 h, 对时间终点的细胞汇合度进行分析统计。我们发现单药处理仅能微弱的抑制乳腺癌细胞和结直肠癌细胞生长,联合用药后可显著抑制癌细胞生长(图 4),与图 2 结果相符。

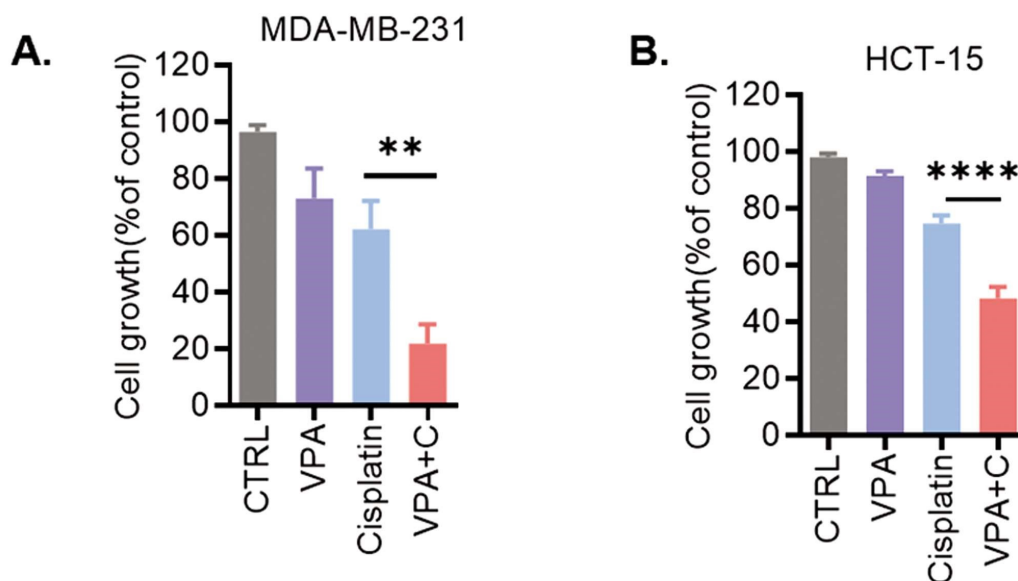


图 4 VPA 协同顺铂抑制乳腺癌细胞和结直肠癌细胞生长

Fig.4 VPA cooperates with cisplatin to inhibit the growth of breast cancer cells and colorectal cancer cells

Note: A. Breast cancer cells; B. Colorectal cancer cells; Cell of growth was tested by IncuCyte.

3 讨论

肿瘤的发生发展与异常的基因表达相关,随着基因研究的不断深入,人们发现表观遗传与肿瘤恶性进展密不可分,表观修饰药物成为热点^[21]。表观遗传是指 DNA 序列不改变的情况下,基因功能产生可遗传的变异,最终导致生物表型改变的现象^[22]。目前表观遗传修饰研究多集中于甲基化修饰和乙酰化修

饰,因此 DNA 甲基转移酶和组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylases, HDACs)成为热门靶点^[23]。在癌细胞中组蛋白去乙酰化酶过度表达,通过去除组蛋白的乙酰基使染色质结构更加紧密,抑制某些抑癌基因正常转录,导致肿瘤发生发展^[24]。抑制组蛋白去乙酰化酶的酶活不仅可以影响细胞凋亡、细胞分化等细胞进程,还可以抑制血管生成^[25]。因此抑制组蛋白去乙酰化酶是一种潜在的治疗方法。

由于原研药研发成本大,风险高,周期长,因此老药新用成为肿瘤领域研究的热点^[26]。课题组前期通过生信数据库分析,筛选到组蛋白去乙酰化酶抑制剂 VPA 具有潜在抗肿瘤的作用。VPA 作为临床使用多年的广谱抗癫痫药,药物安全性十分可靠^[16,27]。根据体外细胞实验结果发现 VPA 作用于肿瘤细胞时浓度为 1.5 mM 较好,我们在体外使用浓度为 1.5 mM 的 VPA 处理乳腺癌细胞 MDA-MB-231 和结直肠癌细胞 HCT-15 72 h。通过 Western blot 检测,我们发现 VPA 可抑制组蛋白去乙酰化酶的功能,升高 Acetyl-Histone H3 的蛋白水平,发挥抑制乳腺癌细胞 MDA-MB-231 和结直肠癌细胞 HCT-15 增殖的功能。

顺铂是目前临床使用最为广泛的抗肿瘤药物,自 1978 年美国批准上市后被广泛用于多种实体肿瘤的治疗中^[7],但在治疗过程中不可避免出现了药物耐药和肿瘤复发的问题^[28]。联合用药能抑制肿瘤细胞不同的代谢途径,有效逆转肿瘤细胞的耐药性,提高抗肿瘤作用^[29]。我们猜想 VPA 能否与顺铂连用从而提高抑制乳腺癌细胞和结直肠癌细胞生长的作用呢?于是我们使用单药 VPA、顺铂和联合使用处理乳腺癌细胞 MDA-MB-231 和结直肠癌细胞 HCT-15,我们发现联合用药后显著抑制了肿瘤细胞的增殖。已有研究表明,贝伐单抗与顺铂连用治疗非小细胞肺癌,连用后可降低顺铂剂量以减少不良反应的发生,并增强疗效^[30]。我们的研究为顺铂联合用药治疗乳腺癌和结直肠癌提供了新的治疗思路。

综上所述,本研究显示抗癫痫药物 VPA 是极具潜力的多靶点小分子抗癌药,VPA 通过抑制组蛋白去乙酰化酶来发挥抗肿瘤作用,首次发现 VPA 与顺铂连用可协同增加肿瘤细胞对顺铂敏感性,抑制乳腺癌细胞和结直肠癌细胞生长。本研究通过表观遗传与传统治疗相结合的方式,为治疗恶性肿瘤提供新的治疗思路和策略,对同时患有癫痫和肿瘤的患者少数患者带来了福音。

参 考 文 献(References)

- [1] TORRE L A, BRAY F, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics, 2012 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2015, 65(2): 87-108
- [2] FERLAY J, SOERJOMATARAM I, DIKSHIT R, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012 [J]. *Int J Cancer*, 2015, 136 (5): E359-86
- [3] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries [J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(3): 209-249
- [4] BRAY F, FERLAY J, SOERJOMATARAM I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68(6): 394-424
- [5] DEKKER E, TANIS P J, VLEUGELS J L A, et al. Colorectal cancer [J]. *Lancet*, 2019, 394(10207): 1467-1480
- [6] STORDAL B, PAVLAKIS N, DAVEY R. Oxaliplatin for the treatment of cisplatin-resistant cancer: a systematic review[J]. *Cancer Treat Rev*, 2007, 33(4): 347-357
- [7] GHOSH S. Cisplatin: The first metal based anticancer drug[J]. *Bioorg Chem*, 2019, 88: 102925
- [8] KELLAND L R, SHARP S Y, O'NEILL C F, et al. Mini-review: discovery and development of platinum complexes designed to circumvent cisplatin resistance [J]. *J Inorg Biochem*, 1999, 77(1-2): 111-115
- [9] HAN Y, WEN P, LI J, et al. Targeted nanomedicine in cisplatin-based cancer therapeutics[J]. *J Control Release*, 2022, 345: 709-720
- [10] DASARI S, NJIKI S, MBEMI A, et al. Pharmacological Effects of Cisplatin Combination with Natural Products in Cancer Chemotherapy[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(3)
- [11] LIPPMAN S M, HAWK E T. Cancer prevention: from 1727 to milestones of the past 100 years [J]. *Cancer Res*, 2009, 69 (13): 5269-5284
- [12] WANG X, WASCHKE B C, WOOLAVER R A, et al. HDAC inhibitors overcome immunotherapy resistance in B-cell lymphoma [J]. *Protein Cell*, 2020, 11(7): 472-482
- [13] DOKMANOVIC M, CLARKE C, MARKS P A. Histone deacetylase inhibitors: overview and perspectives [J]. *Mol Cancer Res*, 2007, 5 (10): 981-989
- [14] MRAKOVIC M, KLEINHEINZ J, FRÖHLICH L F. Histone Deacetylase Inhibitor-Induced Autophagy in Tumor Cells: Implications for p53 [J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(9)
- [15] KHAN O, LA THANGUE N B. HDAC inhibitors in cancer biology: emerging mechanisms and clinical applications [J]. *Immunol Cell Biol*, 2012, 90(1): 85-94
- [16] ROMOLI M, MAZZOCCHETTI P, D'ALONZO R, et al. Valproic Acid and Epilepsy: From Molecular Mechanisms to Clinical Evidences[J]. *Curr Neuropharmacol*, 2019, 17(10): 926-946
- [17] WAWRUSZAK A, HALASA M, OKON E, et al. Valproic Acid and Breast Cancer: State of the Art in 2021[J]. *Cancers (Basel)*, 2021, 13 (14)
- [18] NAGAI G, ONO S, YASUI-FURUKORI N, et al. Formulations of valproate alter valproate metabolism: a single oral dose kinetic study [J]. *Ther Drug Monit*, 2009, 31(5): 592-596
- [19] SUZUKI Y, ITOH H, ABE T, et al. No effect of co-administered antiepileptic drugs on in-vivo protein binding parameters of valproic acid in patients with epilepsy [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2011, 63 (7): 976-981
- [20] RIAZ S K, SAEED M, MALIK M. Clinical and Therapeutic Implications of Histone Acetylation in Breast Cancer [J]. *West Indian Med J*, 2015, 65(2): 337-344
- [21] MORSCHHAUSER F, TILLY H, CHAIDOS A, et al. Tazemetostat for patients with relapsed or refractory follicular lymphoma: an open-label, single-arm, multicentre, phase 2 trial [J]. *Lancet Oncol*, 2020, 21(11): 1433-1442
- [22] ANASTASIADI D, VENNEY C J, BERNATCHEZ L, et al. Epigenetic inheritance and reproductive mode in plants and animals [J]. *Trends Ecol Evol*, 2021, 36(12): 1124-1140
- [23] DUNS G, HOFSTRA R M, SIETZEMA J G, et al. Targeted exome sequencing in clear cell renal cell carcinoma tumors suggests aberrant chromatin regulation as a crucial step in ccRCC development[J]. *Hum Mutat*, 2012, 33(7): 1059-1062
- [24] CLOCCHIATTI A, FLOREAN C, BRANCOLINI C. Class IIa HDACs: from important roles in differentiation to possible implications in tumorigenesis [J]. *J Cell Mol Med*, 2011, 15 (9): 1833-1846

- [10] 王凯,刘双,李蒙,等. 忍冬叶化学成分及其保肝活性研究[J]. 中草药, 2022, 53(8): 2285-2291
- [11] 占珠琴, 白海涛. 不同剂量地塞米松对脓毒症肾损伤大鼠血管紧张素 II 及其受体、NO 水平变化的影响[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2021, 26(9): 995-1004
- [12] Lima GC, Yag V, Mt DSS, et al. Hepatoprotective effect of essential oils from hyptis crenata in sepsis-induced liver dysfunction[J]. J Med Food, 2018, 21(7): 709-715
- [13] 任辉邦, 张斌, 尹启超, 等. 山姜素通过 PI3K/Nrf2/HO-1 通路减少炎症和氧化应激反应改善盲肠结扎和穿孔诱导的脓毒症大鼠的急性肺损伤[J]. 免疫学杂志, 2021, 37(7): 575-583
- [14] 兰戴天, 何力, 李茂德, 等. 松果菊苷改善脓毒症大鼠的肝损伤和炎症反应与激活 Nrf 通路相关 [J]. 中国免疫学杂志, 2020, 36(4): 428-432, 438
- [15] Lü Q, Xing Y, Liu J, et al. Lonicerin targets EZH2 to alleviate ulcerative colitis by autophagy-mediated NLRP3 inflammasome inactivation[J]. Acta Pharm Sin B, 2021, 11(9): 2880-2899
- [16] 向弘利, 刘玉新. 基于 ICU 严重脓毒症患者死亡危险因素的系统回顾和 Meta 分析[J]. 创伤外科杂志, 2022, 24(8): 580-588
- [17] Polat G, Ugan RA, Cadirci E, et al. Sepsis and septic shock: Current treatment strategies and new approaches[J]. Eurasian J Med, 2017, 49 (1): 53-58
- [18] Zhang Y, Wang L, Meng L, et al. Sirtuin 6 overexpression relieves sepsis-induced acute kidney injury by promoting autophagy [J]. Cell Cycle, 2019, 18(4): 425-436
- [19] Ghavimi H, Sheidaei S, Vaez H, et al. Metformin-attenuated sepsis-induced oxidative damages: a novel role for met-formin [J]. Iran J Basic Med Sci, 2018, 21(5): 469-475
- [20] 邵琰, 牟微娜, 俞莹莹. 山茱萸提取物经 COX-2/Nrf2 信号通路对脓毒症模型大鼠肝损伤的改善作用 [J]. 浙江中西医结合杂志, 2021, 31(4): 308-313
- [21] 江勉君, 史忠亮, 毛凯凤, 等. 氧化应激在脓毒症中的发病机制[J]. 医学综述, 2020, 26(5): 856-860
- [22] Joffe J, Hellman J. Oxidative Stress and Endothelial Dysfunction in Sepsis and Acute Inflammation [J]. Antioxid Redox Signal, 2021, 35 (15): 1291-1307
- [23] 刘芳, 舒积成, 潘景行, 等. 忍冬苷的合成及其对雷公藤甲素诱导肝损伤的保护作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(5): 72-75
- [24] Jiang J, Chen Q, Chen X, et al. Magnesium sulfate ameliorates sepsis-induced diaphragm dysfunction in rats via inhibiting HMGB1/TLR4/NF- κ B pathway [J]. Neuroreport, 2020, 31 (12): 902-908
- [25] Sun Z, Nyanzu M, Yang S, et al. VX765 Attenuates Pyroptosis and HMGB1/TLR4/NF- κ B Pathways to Improve Functional Outcomes in TBI Mice[J]. Oxid Med Cell Longev, 2020, 2020: 7879629
- [26] 李徽徽, 仇大鹏, 高琴, 等. 选择性激动黑皮质素 4 型受体(MC4R)通过 HMGB1/TLR4/NF- κ B 信号途径对抗大鼠脓毒症致急性肝损伤[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2016, 32(8): 1055-1059, 1064
- [27] 孙鹏, 陈敏, 张细六, 等. 虎杖苷通过调控 HMGB1/TLR4/NF- κ B 信号通路对脓毒症急性肺损伤的保护作用[J]. 浙江中医药大学学报, 2021, 45(7): 691-699

(上接第 3605 页)

- [25] YANG X J, SETO E. The Rpd3/Hda1 family of lysine deacetylases: from bacteria and yeast to mice and men [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2008, 9(3): 206-218
- [26] GNS H S, GR S, MURAHARI M, et al. An update on Drug Repurposing: Re-written saga of the drug's fate [J]. Biomed Pharmacother, 2019, 110: 700-716
- [27] LÖSCHER W. Basic pharmacology of valproate: a review after 35 years of clinical use for the treatment of epilepsy [J]. CNS Drugs, 2002, 16(10): 669-694
- [28] GALLUZZI L, SENOVILLA L, VITALE I, et al. Molecular mechanisms of cisplatin resistance [J]. Oncogene, 2012, 31 (15): 1869-1883
- [29] CONG J, WANG Y, ZHANG X, et al. A novel chemoradiation targeting stem and nonstem pancreatic cancer cells by repurposing disulfiram[J]. Cancer Lett, 2017, 409: 9-19
- [30] FIORELLI A, VICIDOMINI G, DI DOMENICO M, et al. Vascular endothelial growth factor in pleural fluid for differential diagnosis of benign and malignant origin and its clinical applications [J]. Interact Cardiovasc Thorac Surg, 2011, 12(3): 420-424