

赖氨酸乙酰化的研究进展及应用

杨雨薇, 尚爽, 胡卓伟, 花芳*

(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,
新药作用机制研究与药效评价北京市重点实验室 (BZ0150), 北京 100050)

摘要: 蛋白质乙酰化是指在乙酰基转移酶的作用下, 蛋白质的赖氨酸残基添加乙酰基的过程。它是连接乙酰辅酶 A 代谢与细胞信号转导的重要蛋白质翻译后修饰类型。近年来, 质谱鉴定技术的发展提高了研究者对赖氨酸乙酰化的认识, 赖氨酸乙酰化参与基因转录、蛋白降解、细胞代谢、应激反应等多个细胞过程, 通过调节蛋白质相互作用、活性、稳定性和定位影响其生物学功能, 在代谢相关疾病、肿瘤、心血管疾病等多种疾病中发挥重要调控作用。目前, 去乙酰化酶抑制剂已经在肿瘤、代谢相关疾病及其他多种疾病中显示出巨大的治疗潜力。本文围绕乙酰化的研究历程、生物学功能及应用进行了归纳和探讨, 并对未来研究进行了展望和讨论。

关键词: 乙酰化作用; 代谢; 蛋白质修饰; 转译

中图分类号: R966 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2019)05-0778-10

Advances and applications of lysine acetylation

YANG Yu-wei, SHANG Shuang, HU Zhuo-wei, HUA Fang*

(State Key Laboratory of Bioactive Substance and Function of Natural Medicines, Beijing Key Laboratory of New Drug Mechanisms and Pharmacological Evaluation Study (BZ0150), Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100050, China)

Abstract: Protein acetylation is a process of adding an acetyl group to a protein lysine residue with the help of acetyltransferase, which is a pivotal protein post-translational modification linking acetyl-CoA metabolism and cell signal transduction. Recently, the development of mass spectrometry has deepened our understanding of lysine acetylation. Lysine acetylation is involved in many processes such as gene transcription, protein degradation, cellular metabolism, and stress response, which affects biological processes by regulating protein interactions, activity, stability and localization. Protein acetylation is widely happened and plays important regulatory roles in a diversity of human diseases such as metabolic diseases, tumors and cardiovascular diseases. Besides, deacetylase inhibitors have displayed a great potential in the treatment of various diseases especially tumors and metabolic associated diseases. In this review, we summarized the advances and application of acetylation, and discussed the remaining problems in this area.

Key words: acetylation; metabolism; protein modification; translational

蛋白质乙酰化是蛋白质翻译后修饰的主要形式之一, 是乙酰基供体 (如乙酰辅酶 A) 通过酶学或非酶学

的方式将乙酰基团共价结合到赖氨酸残基上的过程。此外, 蛋白质也可发生其他酰基化修饰, 如丙酰化、丁酰化和琥珀酰化。其中, 蛋白质乙酰化参与了机体多种病理、生理过程调节, 是近年来的研究热点。

乙酰化修饰是在细胞核或细胞质的亚细胞器内广泛存在的翻译后修饰调控机制, 参与了转录、趋化、新陈代谢、细胞信号转导、应激反应、蛋白质水解、细胞凋

收稿日期: 2019-01-05; 修回日期: 2019-03-05.

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (81472717, 81673474); 北京市自然科学基金面上项目 (7162133); 中国医学科学院医学与健康科技创新工程 (2016-I2M-1-007).

*通讯作者 Tel: 86-10-83165034, E-mail: huafang@imm.ac.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2019-0014

亡,以及神经元的发育等多个过程。乙酰化修饰是一个动态可逆的过程,有3类蛋白质参与了乙酰化修饰调节:赖氨酸乙酰转移酶(lysine acetyltransferase, KAT)负责将乙酰基团共价连接到蛋白的赖氨酸残基上,被形象地称为“书写者(writer)”;而赖氨酸去乙酰化酶(lysine deacetylase, KDAC)则介导将乙酰基团从蛋白质中的赖氨酸残基上移除,被称为“橡皮擦(eraser)”;赖氨酸的乙酰化修饰为乙酰化赖氨酸结合蛋白,如溴结构域蛋白提供结合信号,使之选择性与乙酰化蛋白相互作用,这些蛋白被称为“读者”(reader)。目前在哺乳动物中已知的乙酰化酶约有20多个^[1,2],主要分为3个家族:GNAT家族、CBP/p300家族和MYST家族^[3];去乙酰化酶根据其催化机制不同分为两类:Zn²⁺依赖的组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylase, HDAC)家族^[4]和NAD⁺依赖的Sirtuin(SIRT)家族^[5](图1A)。溴结构域(bromodomains, BRDs)蛋白通过识别和结合乙酰化赖氨酸残基,在基因表达和表观遗传方面发挥重要调节作用^[6]。

本综述首先概述了乙酰化研究的发展历程,然后讨论了赖氨酸乙酰化修饰介导的主要细胞生物学功能,最后探讨了乙酰化在多种疾病发生、发展过程中的作用和机制及其在治疗学中的意义。

1 赖氨酸乙酰化的研究历程

1964年,研究者发现组蛋白的赖氨酸存在可逆的乙酰化修饰^[7]。此后,人类对蛋白质乙酰化的研究越来越广泛,且研究主要集中于组蛋白。与此同时,蛋白质磷酸化参与细胞信号转导的关键调节作用开始受到研究者重视,由于检测技术的突破,蛋白质磷酸化修饰研究领域迅速发展。相比之下,由于乙酰化位点鉴定

受到技术层面的限制,使得这一领域的研究相对滞后。从发现组蛋白乙酰化到开始研究非组蛋白乙酰化历经20余年^[8]。20世纪90年代,肿瘤抑癌基因p53和人类免疫缺陷病毒HIV转录调控蛋白Tat相继被发现受到乙酰化修饰的调节^[9]。

近年来,基于高分辨率质谱的蛋白质组学在技术层面取得突破性进展,能够实现从单个实验中鉴定出数千个乙酰化位点,并对乙酰化修饰水平进行相对定量,开创了乙酰组学研究时代^[10,11]。

2 赖氨酸乙酰化的调节及生物学功能

乙酰化修饰在细胞内广泛存在,其修饰程度受机体代谢状态的精细调控。蛋白乙酰化修饰对蛋白质功能具有重要调节作用,参与基因转录、蛋白降解、细胞代谢、应激反应等多个细胞过程。

2.1 代谢产物参与调节赖氨酸乙酰化和去乙酰化

细胞信号传导可以对营养素和生长因子产生应答,进而调节机体代谢过程。近来的研究证据显示,细胞代谢物特别是代谢中间体直接参与调节赖氨酸乙酰化修饰^[12-14]。

乙酰辅酶A是乙酰转移酶催化赖氨酸残基乙酰化修饰的辅因子。它是碳分解代谢途径和能量代谢中的关键中间体,这些代谢过程包括糖酵解和丙酮酸氧化,以及脂肪酸 β -氧化。不同组织中,乙酰辅酶A的含量不尽相同^[12,15]。乙酰辅酶A可以调节细胞中蛋白乙酰化水平。乙醇可以代谢成乙酰辅酶A,在乙醇诱导肝损伤的大鼠和小鼠模型中,可观察到蛋白乙酰化水平受到乙醇影响^[16]。在酵母中的研究发现,乙酰辅酶A代谢紊乱影响芽生酵母中的乙酰化修饰水平^[17]。尽管乙酰化与乙酰辅酶A的产生相关,但乙酰辅酶A水平

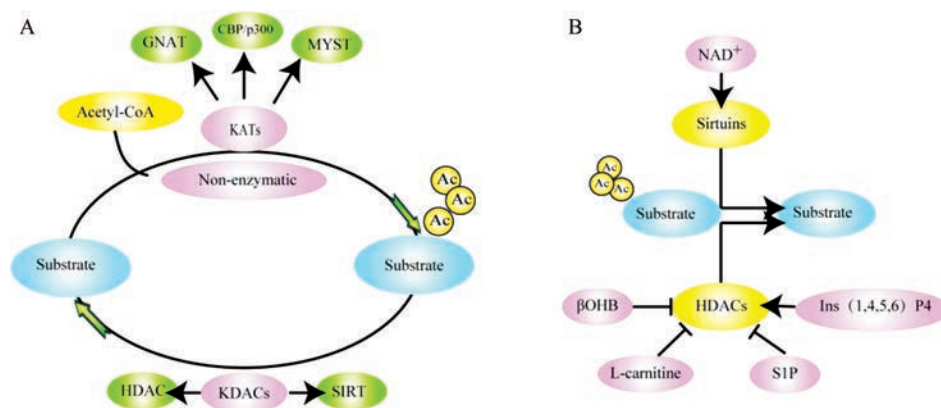


Figure 1 Metabolites regulate acetylation and deacetylation. A: The metabolism of acetyl-coenzyme A (acetyl-CoA) mediates lysine acetylation. Acetylation is catalyzed by lysine acetyltransferase (KATs) with acetyl-CoA as a cofactor and reversed by lysine deacetylase (KDACs). Acetyl-CoA can also mediate acetylation of lysine non-enzymatically; B: NAD⁺ is an essential cofactor for sirtuin deacylase. Inositol 1,4,5,6-tetrphosphate (Ins(1,4,5,6)-P4) binds to HDAC1, HDAC2 and HDAC3, then increases the catalytic activity of these deacetylases. These enzymes are inhibited by several other metabolites, including *D*- β -hydroxybutyrate (β OHB), *L*-carnitine, and sphingosine phosphate (S1P)

是否对所有 KATs 的活性具有限速作用尚不清楚, 因为大多数 KATs 对乙酰辅酶 A 具有低于生理乙酰辅酶 A 浓度的结合亲和力^[18]。一些 KATs 对辅酶 A 具有与对乙酰辅酶 A 相似的亲和力, 结合辅酶 A 可以抑制 KATs 活性, 因此乙酰辅酶 A 与辅酶 A 的比率可能是调节 KAT 活性更重要的指标。此外, 乙酰辅酶 A 可能对赖氨酸残基进行非酶促乙酰化修饰, 并且这种乙酰化严格依赖于乙酰辅酶 A 的浓度。此外, 通过生理或遗传操作手段影响乙酰辅酶 A 代谢也可对乙酰化水平产生影响^[17]。

近年来, 人们发现一些非乙酰化代谢物是去乙酰化酶的重要调节剂(图 1B)。如二核苷酸 NAD⁺ 是参与细胞电子传递链的关键代谢物, 它在去乙酰化酶发挥介导蛋白去乙酰化过程中扮演必需辅助因子的角色^[19]。去乙酰化酶催化的去乙酰化将 NAD⁺ 转化为烟酰胺, 它可作为去乙酰化酶活性的竞争性抑制剂^[20]。NAD⁺/NADH 比率反映了细胞氧化还原状态, 可影响去乙酰化酶活性, 从而影响蛋白乙酰化水平。禁食或卡路里限制期间出现的代谢产物 *D*-β-羟基丁酸酯 (*D*βhydroxybutyrate, βOHB) 水平升高, 与组蛋白乙酰化修饰增高有关^[21]。βOHB 能与 HDAC1、HDAC2 和 HDAC3 结合, 并抑制它们的活性, 导致组蛋白乙酰化升高。代谢物左旋肉碱 (*L*-carnitine) 是活细胞中产生代谢能量的必需物质, 可抑制 HDAC1 和 HDAC2, 从而增加组蛋白乙酰化^[22]。脂质介质鞘氨醇-1-磷酸 (sphingosine-1-phosphate, S1P) 也能与 HDAC1 和 HDAC2 结合并抑制其去乙酰酶活性^[23], 而丙酮酸能抑制 HDAC1 和 HDAC3 的活性。有趣的是, HDAC1、HDAC2 和 HDAC3 也与肌醇-1,4,5,6-四磷酸 [Ins (1,4,5,6) P4] 结合, 增加去乙酰酶的催化活性^[24]。细胞代谢物影响蛋白的乙酰化和去乙酰化修饰, 这意味着蛋白质乙酰化可以反映细胞代谢状态。细胞代谢状态与机体可利用的营养物水平相关, 因此乙酰化和其他营养敏感的翻译后修饰可以作为将代谢与基因表达调控程序联系起来的评价指标。

2.2 赖氨酸乙酰化参与转录活性调节 机体通过调控 DNA 结合蛋白、转录因子或者与转录相关蛋白的乙酰化来控制基因表达。组蛋白乙酰化与转录活性密切相关, 高乙酰化组蛋白特异地聚集于活性染色质功能区。SIRT2 催化 H4K16 去乙酰化, 维持浓缩的异染色质状态, 关闭基因转录; 而组蛋白 H4K16 乙酰转移酶 Sas2 则抵消了这种作用^[25]。用 TSA (trichostatin A) 抑制去乙酰化酶后, 组蛋白 H4 乙酰化程度提高, 可引起人类脐静脉内皮细胞中组织纤溶酶原激活因子产量增加^[26]。

自从发现第一个非组蛋白 p53 的赖氨酸乙酰化修饰以来, 越来越多的非组蛋白赖氨酸乙酰化修饰相继被发现, 这其中有很多是转录因子。如 p300/CBP 介导 p53 的 C 端结构域发生多个赖氨酸位点的乙酰化修饰, 激活 p53 的 DNA 结合区域活化; 同时, HDAC1 和 SIRT1 等去乙酰化酶也可调控 p53 的转录活性。SIRT1 可介导 p53 蛋白 K382 位点的去乙酰化, 从而抑制 p53 对下游靶基因, 如 p21 以及 BAX 等的转录激活作用^[27]。本课题组最近的研究发现, 应激蛋白 TRIB3 可通过增强乙酰化转移酶 KAT5 与转录因子 SMAD3 的相互作用而增强 SMAD3 第 333 位赖氨酸乙酰化, 维持 SMAD3 转录活性并诱导 TRIB3 表达^[28]。可逆的赖氨酸乙酰化修饰在转录因子中广泛存在, 乙酰化酶和去乙酰化酶通过调节转录因子或辅助因子的乙酰化修饰, 调控细胞的转录过程, 进而影响细胞的生命活动。

2.3 赖氨酸乙酰化参与蛋白稳定性调控 蛋白质乙酰化修饰还参与了蛋白稳定性调控^[29]。核糖核酸酶 RNase R 存在于细菌中, 对细菌的生存至关重要。RNase R 的表达受多种逆境诱导, 乙酰化修饰能促进 tmRNA 和 SmpB 复合物的结合, 改变 RNase R 的结构, 从而导致其被蛋白酶降解。在逆境条件下, RNase R 乙酰化水平降低, 稳定性得以保持^[30,31]。帕金森疾病和阿尔茨海默症以 Tau 蛋白过度磷酸化为特征, 如降低 Tau 水平可改善帕金森疾病和阿尔茨海默症^[32]。研究发现, 乙酰转移酶 p300 和去乙酰化酶 SIRT1 可以调节 Tau 的乙酰化。Tau 的乙酰化水平增加可抑制磷酸化 Tau 的降解。抑制乙酰化酶 p300, 可以促进 Tau 去乙酰化, 降低 Tau 的磷酸化, 从而促进 Tau 的降解。调节 Tau 乙酰化可能是减少 Tau 介导的神经病变的新治疗策略^[33]。脂肪酸合成酶 (fatty acid synthase, FASN) 是新生脂肪形成的终末酶, 其抑制剂在治疗癌症、肥胖症和其他疾病中的作用已进入临床试验阶段, 是治疗代谢相关多种疾病的重要潜在靶点。研究表明, 去乙酰化酶 HDAC3 逆转乙酰化酶 KAT8 对 FASN 的乙酰化修饰, 减弱 FASN 与 E3 泛素连接酶 Trim21 的相互作用, 从而维持其在细胞中的稳定性。HDAC3 可通过增加 FASN 的蛋白水平促进肿瘤细胞脂肪生成并促进肿瘤细胞生长^[34], 提示 HDAC3 介导的 FASN 去乙酰化是肿瘤治疗的潜在靶点。

2.4 赖氨酸乙酰化与其他蛋白质翻译后修饰相互调控 翻译后修饰是调控蛋白质功能的重要机制, 目前, 多种蛋白翻译后修饰被深入探讨, 包括泛素化、磷酸化、琥珀酰化等^[35]。赖氨酸乙酰化可以和其他翻译后修饰相互影响, 相互协调, 从而调控整个细胞信号通路。

泛素化是广泛存在的蛋白质翻译后修饰,参与了蛋白质稳定性及多种功能调控。乙酰化与泛素化密切相关,相互之间存在交互调控。如中心体蛋白 PLK2 乙酰化可以抑制其泛素化;同时,去乙酰化酶 SIRT1 介导的去乙酰化可促进 PLK2 泛素化降解^[36]。泛素分子本身的乙酰化修饰则会抑制多泛素链的延长^[37]。反之,泛素化修饰也参与了乙酰化修饰调控。组蛋白去乙酰化酶 SIRT1 在 DNA 损伤应答过程中具有重要作用。MDM2 可介导 SIRT1 泛素化修饰,这种修饰在不同的 DNA 损伤情况下,对 SIRT1 的稳定性和酶活性起到不同的调节作用,从而对乙酰化修饰进行调控^[38]。蛋白质磷酸化是一种可逆的翻译后修饰,对蛋白质合成、细胞增殖、细胞凋亡和信号转导等至关重要。研究发现,蛋白质的乙酰化与磷酸化相互调节,在心脏中,组蛋白去乙酰化酶抑制剂 (histone deacetylase inhibitors, HDACIs) 在应激条件下抑制了磷酸酶基因表达,并且 HDACIs 抑制剂对蛋白质乙酰化的改变,导致双特异性磷酸酶 5 和细胞外信号调节激酶 1/2 的去磷酸化,减轻应激性心脏肥大。因此,HDACIs 可以调节乙酰化-磷酸化的串扰从而调节心脏功能^[39]。

2.5 赖氨酸乙酰化参与氧化应激调节 活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 是一类性质活泼的含氧分子。在细胞信号传导中起重要的调节作用。在线粒体中,ROS 为氧化能量代谢的副产物。ROS 过度产生与癌症、糖尿病、动脉粥样硬化、神经退行性疾病和类风湿性关节炎等疾病的发病有关。过量的 ROS 造成胞内蛋白质和 DNA 等生物大分子氧化损伤,导致细胞处于氧化压力下,产生氧化应激反应^[40,41]。

赖氨酸乙酰化可以增强大肠杆菌抵抗外界环境刺激的能力。如在大肠杆菌中,通过提高乙酰转移酶 YfiQ 的浓度增加蛋白乙酰化水平,可提高大肠杆菌抗热和抗氧化能力^[42];而去乙酰化酶 CobB 过量则产生相反的作用^[43]。在哺乳动物中,超氧化物歧化酶 2 (superoxide dismutase 2, SOD2) 位于线粒体中,发挥消除氧化压力的作用。SOD2 受乙酰化修饰调控,去乙酰化酶 SIRT3 可激活 SOD2,提高细胞自我保护能力,减少氧化损伤^[44,45]。异柠檬酸脱氢酶 2 (isocitrate dehydrogenase 2, IDH2) 也位于线粒体中,可帮助细胞提高抗氧化能力。去乙酰化酶 SIRT3 可激活 IDH2,提高其催化能力以及 NADPH 的水平,从而降低细胞氧化损伤^[46]。在胞浆中,葡萄糖-6-磷酸脱氢酶 (glucose-6-phosphate dehydrogenase, G6PD) 是磷酸戊糖途径的关键酶,通过催化产生细胞内重要的还原剂 NADPH。氧化刺激可激活去乙酰化酶 SIRT2,降低 G6PD 乙酰化水平,提高其催化活力。这种调控机制可保护机体内

红细胞免受氧化物质威胁^[47]。

2.6 赖氨酸乙酰化参与调控相变 细胞内含有多种无膜细胞器,如应力颗粒 (stress granules, SGs),可以控制不同的细胞生物学进程。含有内在无序区 (intrinsically disordered regions, IDRs) 的蛋白质的液-液相分离 (liquid-liquid phase separation, LLPS) 是一种无膜细胞器形成的机制,严格控制 IDR 行为可确保 LLPS 仅在必要时进行。研究显示, IDR 乙酰化和去乙酰化可调节 LLPS 和 SGs 的产生。RNA 解旋酶 DDX3X 是 SGs 的重要组成部分, DDX3X 的乙酰化破坏了液滴的形成,抑制了 IDRs 的 LLPS。去乙酰化酶 HDAC6 对 DDX3X-IDR 的去乙酰化可增强 LLPS,有利于 SG 成熟。这项研究阐明了 IDRs 的乙酰化和去乙酰化调节 LLPS 的新机制,以及对体内无膜细胞器形成的作用^[48]。无序微管相关蛋白 Tau 的神经病理学聚集是阿尔茨海默病的标志,蛋白 Tau 能够进行 LLPS 从而启动聚集过程。研究发现,乙酰化转移酶 P300 对 Tau 的乙酰化,通过抑制其 LLPS 过程而干扰了 Tau 蛋白聚集及相应微管的组装。该乙酰化过程虽然抑制了 Tau 蛋白聚集所产生的神经毒性作用,但却造成因 Tau 蛋白失能而导致的病理反应^[49]。

3 赖氨酸乙酰化在疾病发生、发展中的作用

蛋白质乙酰化和去乙酰化的平衡在基因表达调控和信号转导中具有重要调节作用,影响一系列关键的细胞过程。乙酰化修饰障碍与多种疾病发生、发展密切相关,如代谢性疾病、肿瘤、心血管疾病、神经退行性疾病及免疫疾病等。

3.1 乙酰化参与葡萄糖代谢调控与糖尿病发生、发展 乙酰化可以通过调节代谢酶活性或相关基因的表达调控血糖,参与糖尿病发生、发展的调控。在糖尿病中,持续性高血糖本身可以提高乙酰辅酶 A 的水平,但持续的高血糖也可以增强脂肪酸的氧化,从而产生大量的乙酰辅酶 A。正是这种过量的乙酰辅酶 A 通过乙酰化机制攻击蛋白质,从而导致蛋白质功能受损 (图 2)。肝脏中的糖酵解和糖异生等代谢环节中,乙酰化修饰也广泛存在。在糖尿病大鼠模型中的研究证实,蛋白乙酰化程度高的器官易患糖尿病并发症^[50]。

高糖诱导的蛋白乙酰化修饰参与了糖尿病的发生、发展。含有 66 kDa Src 同源性 2 结构域的蛋白质 (p66Shc) 是 ROS 的主要调节因子,在许多组织中表达,其通过促进氧化应激导致器官功能障碍。在脉管系统中, p66Shc 诱导的 ROS 引起内皮功能障碍。p66Shc 是赖氨酸去乙酰化酶 SIRT1 的直接靶标,并且 SIRT1 调节的 p66Shc 乙酰化决定了其诱导 ROS 的能力。p66Shc 在高葡萄糖条件下被乙酰化,促进其丝氨



Figure 2 Excess acetyl-CoA produced in diabetes increases acetylation of proteins. Excessive acetyl-CoA produced by hyperglycemia in diabetic patients increases non-enzymatic acetylation of proteins *via* lysine residues

酸的磷酸化并转运至线粒体,从而促进氢过氧化物产生。SIRT1 促进第 81 位赖氨酸去乙酰化,全身敲入第 81 位赖氨酸突变 p66Shc 的转基因小鼠没有糖尿病氧化应激和血管内皮功能障碍。这些发现为 p66Shc 赖氨酸乙酰化在糖尿病中的重要作用提供了有力的实验证据^[51]。目前,开发小分子抑制剂或激活剂,以降低赖氨酸乙酰化,为控制糖尿病的发生、发展提供了新的潜在策略。

3.2 乙酰化影响肿瘤发生、发展 赖氨酸乙酰化在肿瘤发生、发展中扮演重要的角色。研究表明,乳腺癌、肝癌、鼻咽癌等多种肿瘤组织中均有乙酰化修饰异常,乙酰化导致了肿瘤细胞内增殖、分化、凋亡相关基因表达紊乱。

激素代谢失调与乳腺癌密切相关,4 型 17 β -羟基类固醇脱氢酶 (17 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 4, HSD17B4) 催化雌二醇 (estradiol, E2) 向雌酮 (estrone, E1) 转化,促进乳腺癌发生发展。E1 上调 HSD17B4 赖氨酸 669 (K669) 乙酰化,促进 HSD17B4 降解, K669 单突变阻碍 HSD17B4 降解,促进乳腺癌细胞迁移和转移。cAMP 应答元件结合蛋白 (cAMP response element binding, CREB) 结合蛋白也被称为 CREBBP 或 CBP,具有乙酰化酶活性,它和去乙酰化酶 SIRT3 共同调控 HSD17B4 的 K669 乙酰化水平。更重要的是, K669 乙酰化与人乳腺癌组织中的 HSD17B4 呈负相关,揭示了乙酰化在乳腺癌恶性进展中的关键作用^[52]。肝癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 是世界上发病率较高的癌症之一。在正常氧含量状态下,肿瘤细胞优先使用糖酵解而不是氧化磷酸化,从而产生过量的乳酸和中间代谢产物,这种现象称为瓦伯格效应 (Warburg effect)。瓦伯格效应对癌细胞生长非常重要。果糖-1,6-二磷酸酶 (fructose-1,6-bisphosphatase, FBP1) 是糖异生中的限速酶,在多种类型的癌症中出现表达丢失。

在 HCC 患者肿瘤组织中 FBP1 表达下调,且 FBP1 的表达降低与 HCC 预后不良相关。FBP1 的低表达与 HCC 患者组织中高水平的 HDAC1 和 HDAC2 蛋白相关。使用 HDAC 抑制剂或敲低 HCC 细胞 HDAC1 或 HDAC2,可恢复 FBP1 表达并抑制 HCC 细胞生长。HDAC 介导的 FBP1 表达抑制与 FBP1 增强子中组蛋白 H3 赖氨酸 27 位乙酰化 (H3K27Ac) 的减少相关。恢复的 FBP1 表达导致葡萄糖减少和乳酸分泌,抑制了体外 HCC 细胞生长和小鼠肿瘤生长。因此,HDAC 对 FBP1 的抑制对 HCC 的预后和治疗具有重要意义^[53]。在鼻咽癌 (nasopharyngeal carcinoma, NPC) 中, p300 表达上调,是鼻咽癌的独立预后因素。在鼻咽癌细胞系中敲除 p300 后,上皮表型标志物 E-钙黏附素和 α -连环素的上调;间质表型标志物 N-钙黏附素和波形蛋白的下调,肿瘤细胞的迁移和侵袭能力明显受到抑制。p300 通过促 TGF- β 信号通路中 Smad2 和 Smad3 的乙酰化,促进上皮-间质转变 (epithelial-mesenchymal transition, EMT)^[54]。上述研究提示,乙酰化修饰在肿瘤发生、发展过程中具有重要调节作用,靶向蛋白乙酰化修饰是肿瘤治疗的新思路。

3.3 乙酰化参与心血管生理和病理过程调节 心脏持续的收缩决定了其对能量和 ATP 的高需求。心脏可以利用多种物质作为产生能量的底物,其中脂肪酸氧化产生的 ATP 占了所需总量的 50%~70%。心脏增加对脂肪酸的利用是肥胖和糖尿病的典型特征,由此伴随的循环游离脂肪酸、甘油三酯增高,以及脂肪酸氧化酶含量增加和活性增强,促进了心肌细胞脂质堆积和功能障碍。长期高脂肪饮食喂养的小鼠,其心脏线粒体脂肪酸氧化酶和丙酮酸氧化酶的乙酰化水平显著增加,这种变化与线粒体乙酰转移酶相关蛋白 (GCN5-like protein 1, GCN5L1) 丰度增加有关。在 H9C2 细胞中敲低 GCN5L1 可降低线粒体脂肪酸氧化酶的乙酰化水平,继而降低细胞内脂肪酸氧化^[55]。

血管内皮功能紊乱是引发心血管疾病的主要原因,而内皮细胞功能障碍的特征之一是合成一氧化氮 (nitric oxide, NO) 不足。内皮细胞中负责合成 NO 的酶主要是内皮一氧化氮合酶 (endothelial nitric oxide synthase, eNOS)。SIRT1 和 eNOS 相互作用可降低后者乙酰化水平,激活 eNOS 活性,催化内皮细胞产生一氧化氮,促进血管舒张^[56]。血管紧张素 II 在包括衰老、心血管疾病和肾脏疾病在内的多种疾病的病理生理学中具有重要意义,是一种多功能激素。转录激活因子 PGC-1 α 是能量代谢和 ROS 清除酶的关键调节因子。血管紧张素 II 可以增强乙酰化酶 GCN5 诱导的 PGC-1 α 乙酰化,从而抑制过氧化氢酶转录^[57]。这些研究提

示, 蛋白乙酰化修饰在心血管生理和病理过程中发挥了重要调节作用。

4 赖氨酸乙酰化修饰的应用转化

乙酰化的失调涉及许多人类疾病, 如乙酰转移酶 CBP 和 p300 的突变经常在肿瘤中检测到^[58,59]。靶向参与乙酰化调节的蛋白质, 如 HDACs^[60] 和含溴结构域蛋白质^[61] 的小分子抑制剂已经显示出治疗多种疾病的潜力。靶向参与乙酰化信号传导的蛋白质为医学干预开辟了新途径。

以抗肿瘤药物为例, HDACs 作为一类新型抗肿瘤药物, 能抑制肿瘤发生、发展和转移。Romidepsin (FK-228) 是用于治疗皮肤 T 细胞淋巴瘤 (cutaneous T-cell lymphoma, CTCL) 和外周 T 细胞淋巴瘤 (peripheral T-cell lymphomas, PTCL) 的组蛋白去乙酰化酶抑制剂。FK-228 在低浓度下对 HDAC1 和 HDAC2 具有抑制作用, 抗肿瘤功效已在多种癌症模型中得到证实^[60]。目前, 多种 HDACs 已进入临床试验, HDACs 在临床试验中不仅展现了良好的抗肿瘤效果, 而且具有毒副作用小的特点 (表 1)^[62-97]。

BRDs 是一种能识别乙酰化赖氨酸残基的蛋白结构域。含有溴结构域的蛋白质作为肿瘤抑制因子, 参

与抑制肿瘤形成和生长。BRD7 是哺乳动物 SWI/SNF (switch/sucrose non-fermenting) 复合物的组分, 其在结肠癌细胞系、癌组织及卵巢癌组织中的表达较正常组织降低。研究发现, SWI/SNF 复合物在特定组织中, 通过调控其乙酰化而抑制肿瘤的生长^[6]。在 Trim 家族中, 含溴结构域蛋白质 Trim24 可以在不同肿瘤类型中突变或过表达。相比之下, Trim24 还与其他 Trim 家族成员 (如 Trim28 和 Trim33) 形成复合物, 复合物与视黄酸受体的配体相互作用, 导致其乙酰化水平降低, 转录活性的抑制, 从而产生抑瘤效果^[98]。这些发现显示了含溴结构域蛋白质在肿瘤治疗领域的潜力。

除肿瘤外, 赖氨酸乙酰化在其他疾病的治疗中也颇具潜力。研究发现, 乙酰化功能可抑制人巨细胞病毒 (human cytomegalovirus, HCMV) 产生, 在病毒感染条件下, 乙酰化增多, K134R 突变导致细胞核中病毒衣壳无法穿过细胞核膜。蛋白质乙酰化的动态变化是细胞防御和病毒入侵的关键点^[99]。超罕见发育障碍的病因谱仍有待完全确定, MSL3 编码了染色质相关的雄性特异性致死 (male-specific lethal, MSL) 复合物的成员, 该复合物促进苍蝇和哺乳动物体内的大量组蛋白 H4 赖氨酸 16 乙酰化 (histone H4 lysine 16 acetylation,

Table 1 Specific histone deacetylase (HDAC) inhibitors in cancer therapy. CTCL: Cutaneous T-cell lymphoma; PTCL: Peripheral T-cell lymphomas

Type	HDACs	Specificity	Cancer type	Stage	Reference
Class I	Romidepsin (Depsipeptide/FK228)	HDAC1, 2	CTCL and PTCL	FDA approved	62
	BRD8430	HDAC1, 2	Neuroblastoma	Preclinical	63
	Compound 60	HDAC1, 2	Neuroblastoma	Preclinical	64
	MRLB-223	HDAC1, 2	Lymphomas	Preclinical	65
	Entinostat (MS-275)	HDAC1, 2, 3	Multiple cancer cells	Clinical trial	66
	CHR-3996	HDAC1, 2, 3	Multiple cancer cells	Clinical trial	67, 68
	Apicidin	HDAC1, 2, 3	Multiple cancer cells	Preclinical	69, 70
	RGFP966	HDAC3	CTCL	Preclinical	71
	BG45	HDAC3	Myeloma	Preclinical	72
	T247 and T326	HDAC3	Colon and prostate cancer	Preclinical	73
	PCI-34051	HDAC8	Lymphoma, neuroblastoma	Preclinical	74
	Compound 2 (Cpd2)	HDAC8	Neuroblastoma	Preclinical	74, 75
	C149 (NCC149)	HDAC8	Multiple cancer cells	Preclinical	75, 76
	Compound 22 d	HDAC8	Lung cancer	Preclinical	77
	Class IIa	TMP269	HDAC4, 5, 7, 9	Multiple myeloma	Preclinical
MC1568		HDAC4, 5, 6, 7, 9	Gastric, colorectal, pancreatic and breast cancer	Preclinical	80, 81, 82
Class IIb	LMK235	HDAC4, 5,	Multiple cancer cells	Preclinical	83
	Ricolinostat (ACY-1215)	HDAC6	Multiple myeloma, lymphoma, glioblastoma	Clinical trial	84, 85, 86, 87
	Tubacin	HDAC6	Multiple cancer cells	Preclinical	88
	Tubastatin A	HDAC6	Multiple cancer cells	Preclinical	89
	C1A	HDAC6	Multiple cancer cells	Preclinical	90
	HPOB	HDAC6	Multiple cancer cells	Preclinical	91
	Nexturastat A	HDAC6	Melanoma	Preclinical	92
	Compound 12	HDAC6	Colorectal cancer	Preclinical	93
	Befexamac	HDAC6, 10	Neuroblastoma, lung cancer	Preclinical	94, 95, 96, 97

H4K16AC), 研究发现, HDACs 可重新平衡乙酰化水平, 减轻患者症状^[100]。

5 未来展望

赖氨酸乙酰化和去乙酰化在体内处于动态平衡, 维持细胞稳态。除了乙酰化以外, 各种类型的赖氨酸酰化都可能在细胞信号传导中起重要作用, 而这些酰化修饰还有很多科学问题有待解决。如是否所有酰基化都被酶调节, 它们是否以位点选择性方式被催化? 酰化是否发生在不同的亚细胞区域? 不同的乙酰化会介导不同的功能, 它们之间是否存在交互调节? 随着蛋白质检测技术的迅速发展, 如高分辨率质谱技术和蛋白质芯片的广泛应用, 将帮助研究者加深对酰基化调节机制的理解, 而对这一领域的研究将极大丰富研究者对生命的认识, 为疾病治疗提供更多机会。

References

- [1] Roth SY, Denu JM, Allis CD. Histone acetyltransferases [J]. *Annu Rev Biochem*, 2001, 70: 81-120.
- [2] Lee KK, Workman JL. Histone acetyltransferase complexes: one size doesn't fit all [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2007, 8: 284-295.
- [3] Berndsen CE, Denu JM. Catalysis and substrate selection by histone/protein lysine acetyltransferases [J]. *Curr Opin Struct Biol*, 2008, 18: 682-689.
- [4] Haberland M, Montgomery RL, Olson EN. The many roles of histone deacetylases in development and physiology: implications for disease and therapy [J]. *Nat Rev Genet*, 2009, 10: 32-42.
- [5] Finkel T, Deng CX, Mostoslavsky R. Recent progress in the biology and physiology of sirtuins [J]. *Nature*, 2009, 460: 587-591.
- [6] 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.
- [7] 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.
- [8] L'Hernault SW, Rosenbaum JL. Chlamydomonas alpha-tubulin is posttranslationally modified by acetylation on the epsilon-amino group of a lysine [J]. *Biochemistry*, 1985, 24: 473-478.
- [9] Gu W, Roeder RG. Activation of p53 sequence-specific DNA binding by acetylation of the p53 C-terminal domain [J]. *Cell*, 1997, 90: 595-606.
- [10] Jensen ON. Interpreting the protein language using proteomics [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2006, 7: 391-403.
- [11] Choudhary C, Mann M. Decoding signalling networks by mass spectrometry-based proteomics [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2010, 11: 427-439.
- [12] Wellen KE, Thompson CB. A two-way street: reciprocal regulation of metabolism and signalling [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2012, 13: 270-276.
- [13] He W, Newman JC, Wang MZ, et al. Mitochondrial sirtuins: regulators of protein acylation and metabolism [J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2012, 23: 467-476.
- [14] Gut P, Verdin E. The nexus of chromatin regulation and intermediary metabolism [J]. *Nature*, 2013, 502: 489-498.
- [15] Li Y, Silva JC, Skinner ME, et al. Mass spectrometry-based detection of protein acetylation [J]. *Methods Mol Biol*, 2013, 1077: 81-104.
- [16] Fritz KS, Galligan JJ, Hirshey MD, et al. Mitochondrial acetylome analysis in a mouse model of alcohol-induced liver injury utilizing SIRT3 knockout mice [J]. *J Proteome Res*, 2012, 11: 1633-1643.
- [17] Weinert BT, Iesmantavicius V, Moustafa T, et al. Acetylation dynamics and stoichiometry in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *Mol Syst Biol*, 2014, 10: 716.
- [18] Albaugh BN, Arnold KM, Denu JM. KAT (ching) metabolism by the tail: insight into the links between lysine acetyltransferases and metabolism [J]. *Chembiochem*, 2011, 12: 290-298.
- [19] Sultani G, Samsudeen AF, Osborne B, et al. NAD⁺: a key metabolic regulator with great therapeutic potential [J]. *Neuroendocrinol*, 2017. DOI: 10.1111/jne.12508.
- [20] Zhao X, Allison D, Condon B, et al. The 2.5 Å crystal structure of the SIRT1 catalytic domain bound to nicotinamide adenine dinucleotide (NAD⁺) and an indole (EX527 analogue) reveals a novel mechanism of histone deacetylase inhibition [J]. *Med Chem*, 2013, 56: 963-969.
- [21] Shimazu T, Hirshey MD, Newman J, et al. Suppression of oxidative stress by β -hydroxybutyrate, an endogenous histone deacetylase inhibitor [J]. *Science*, 2013, 339: 211-214.
- [22] Huang H, Liu N, Guo H, et al. L-Carnitine is an endogenous HDAC inhibitor selectively inhibiting cancer cell growth *in vivo* and *in vitro* [J]. *PLoS One*, 2012, 7: e49062.
- [23] Hait NC, Allegood J, Maceyka M, et al. Regulation of histone acetylation in the nucleus by sphingosine-1-phosphate [J]. *Science*, 2009, 325: 1254-1257.
- [24] Millard CJ, Watson PJ, Celardo I, et al. Class I HDACs share a common mechanism of regulation by inositol phosphates [J]. *Mol Cell*, 2013, 51: 57-67.
- [25] Zhu X, Liu B, Carlsten JO, et al. Mediator influences telomeric silencing and cellular life span [J]. *Mol Cell Biol*, 2011, 31: 2413-2421.
- [26] Olsson M, Hultman K, Dunoyer-Geindre S, et al. Epigenetic regulation of tissue-type plasminogen activator in human brain tissue and brain-derived cells [J]. *Gene Regul Syst Bio*, 2016, 10: 9-13.
- [27] Lee JT, Gu W. SIRT1: regulator of p53 deacetylation [J]. *Genes Cancer*, 2013, 4: 112-117.
- [28] Li K, Zhang TT, Hua F, et al. Metformin reduces TRIB3 expression and restores autophagy flux: an alternative antitumor action

- [J]. *Autophagy*, 2018, 14: 1278-1279.
- [29] Sang Y, Ren J, Qin R, et al. Acetylation regulating protein stability and DNA-binding ability of HilD, thus modulating salmonella typhimurium virulence [J]. *J Infect Dis*, 2017, 216: 1018-1026.
- [30] Liang W, Deutscher MP. Transfer-messenger RNA-SmpB protein regulates ribonuclease R turnover by promoting binding of HslUV and Lon proteases [J]. *J Biol Chem*, 2012, 287: 33472-33479.
- [31] Liang W, Malhotra A, Deutscher MP. Acetylation regulates the stability of a bacterial protein: growth stage-dependent modification of RNase R [J]. *Mol Cell*, 2011, 44: 160-166.
- [32] Klein HU, McCabe C, Gjonneska E, et al. Epigenome-wide study uncovers large-scale changes in histone acetylation driven by tau pathology in aging and Alzheimer's human brains [J]. *Nat Neurosci*, 2019, 22: 37-46.
- [33] Min SW, Cho SH, Zhou Y, et al. Acetylation of tau inhibits its degradation and contributes to tauopathy [J]. *Neuron*, 2010, 67: 953-966.
- [34] Lin HP, Cheng ZL, He RY, et al. Destabilization of fatty acid synthase by acetylation inhibits *de novo* lipogenesis and tumor cell growth [J]. *Cancer Res*, 2016, 76: 6924-6936.
- [35] Zhao S, Zhang X, Li H. Beyond histone acetylation-writing and erasing histone acylations [J]. *Curr Opin Struct Biol*, 2018, 53: 169-177.
- [36] Ling H, Peng L, Wang J, et al. Histone deacetylase SIRT1 targets Plk2 to regulate centriole duplication [J]. *Cell Rep*, 2018, 25: 2851-2865.
- [37] Ohtake F, Saeki Y, Sakamoto K, et al. Ubiquitin acetylation inhibits polyubiquitin chain elongation [J]. *EMBO Rep*, 2015, 16: 192-201.
- [38] Peng L, Yuan Z, Li Y, et al. Ubiquitinated sirtuin 1 (SIRT1) function is modulated during DNA damage-induced cell death and survival [J]. *J Biol Chem*, 2015, 290: 8904-8912.
- [39] Habibian J, Ferguson BS. The crosstalk between acetylation and phosphorylation: emerging new roles for HDAC inhibitors in the heart [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 20: 102.
- [40] Moloney JN, Cotter TG. ROS signalling in the biology of cancer [J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2018, 80: 50-64.
- [41] Zandalinas SI, Mittler R. ROS-induced ROS release in plant and animal cells [J]. *Free Radic Biol Med*, 2018, 122: 21-27.
- [42] Lima BP, Antelmann H, Gronau K, et al. Involvement of protein acetylation in glucose-induced transcription of a stress-responsive promoter [J]. *Mol Microbiol*, 2011, 81: 1190-1204.
- [43] Ma Q, Wood TK. Protein acetylation in prokaryotes increases stress resistance [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2011, 410: 846-851.
- [44] Qiu X, Brown K, Hirschey MD, et al. Calorie restriction reduces oxidative stress by SIRT3-mediated SOD2 activation [J]. *Cell Metab*, 2010, 12: 662-667.
- [45] Chen Y, Zhang J, Lin Y, et al. Tumour suppressor SIRT3 deacetylates and activates manganese superoxide dismutase to scavenge ROS [J]. *EMBO Rep*, 2011, 12: 534-541.
- [46] Yu W, Dittenhafer-Reed KE, Denu JM. SIRT3 protein deacetylates isocitrate dehydrogenase 2 (IDH2) and regulates mitochondrial redox status [J]. *J Biol Chem*, 2012, 287: 14078-14086.
- [47] Wang YP, Zhou LS, Zhao YZ, et al. Regulation of G6PD acetylation by SIRT2 and KAT9 modulates NADPH homeostasis and cell survival during oxidative stress [J]. *EMBO J*, 2014, 33: 1304-1320.
- [48] Saito M, Hess D, Eglinger J, et al. Acetylation of intrinsically disordered regions regulates phase separation [J]. *Nat Chem Biol*, 2019, 15: 51-61.
- [49] Ferreón JC, Jain A, Choi KJ, et al. Acetylation disfavors tau phase separation [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 4: 19.
- [50] Kosanam H, Thai K, Zhang Y, et al. Diabetes induces lysine acetylation of intermediary metabolism enzymes in the kidney [J]. *Diabetes*, 2014, 63: 2432-2439.
- [51] Kumar S, Kim YR, Vikram A, et al. Sirtuin1-regulated lysine acetylation of p66Shc governs diabetes-induced vascular oxidative stress and endothelial dysfunction [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2017, 114: 1714-1719.
- [52] Zhang Y, Xu YY, Yao CB, et al. Acetylation targets HSD17B4 for degradation *via* the CMA pathway in response to estrone [J]. *Autophagy*, 2017, 13: 538-553.
- [53] Yang J, Jin X, Yan Y, et al. Inhibiting histone deacetylases suppresses glucose metabolism and hepatocellular carcinoma growth by restoring FBP1 expression [J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 43864.
- [54] Liao ZW, Zhao L, Cai MY, et al. P300 promotes migration, invasion and epithelial-mesenchymal transition in a nasopharyngeal carcinoma cell line [J]. *Oncol Lett*, 2017, 13: 763-769.
- [55] Thapa D, Zhang M, Manning JR, et al. Acetylation of mitochondrial proteins by GCN5L1 promotes enhanced fatty acid oxidation in the heart [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2017, 313: H265-H274.
- [56] Chen Z, Peng IC, Cui X, et al. Shear stress, SIRT1, and vascular homeostasis [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107: 10268-10273.
- [57] Xiong S, Salazar G, San Martin A, et al. PGC-1 alpha serine 570 phosphorylation and GCN5-mediated acetylation by angiotensin II drive catalase down-regulation and vascular hypertrophy [J]. *J Biol Chem*, 2010, 285: 2474-2487.
- [58] Pasqualucci L, Dominguez-Sola D, Chiarenza A, et al. Inactivating mutations of acetyltransferase genes in B-cell lymphoma [J]. *Nature*, 2011, 471: 189-195.
- [59] Mullighan CG, Zhang J, Kasper LH, et al. CREBBP mutations in relapsed acute lymphoblastic leukaemia [J]. *Nature*, 2011, 471: 235-239.
- [60] Matzuk MM, McKeown MR, Filippakopoulos P, et al. Small-molecule inhibition of BRDT for male contraception [J]. *Cell*,

- 2012, 150: 673-684.
- [61] McGraw AL. Romidepsin for the treatment of T-cell lymphomas [J]. *Am J Health Syst Pharm*, 2013, 70: 1115-1122.
- [62] Frye R, Myers M, Axelrod KC, et al. Romidepsin: a new drug for the treatment of cutaneous T-cell lymphoma [J]. *Clin J Oncol Nurs*, 2012, 16: 195-204.
- [63] Frumm SM, Fan ZP, Ross KN, et al. Selective HDAC1/HDAC2 inhibitors induce neuroblastoma differentiation [J]. *Chem Biol*, 2013, 20: 713-725.
- [64] Schroeder FA, Lewis MC, Fass DM, et al. A selective HDAC 1/2 inhibitor modulates chromatin and gene expression in brain and alters mouse behavior in two mood-related tests [J]. *PLoS One*, 2013, 8: e71323.
- [65] Newbold A, Matthews GM, Bots M, et al. Molecular and biologic analysis of histone deacetylase inhibitors with diverse specificities [J]. *Mol Cancer Ther*, 2013, 12: 2709-2721.
- [66] Knipstein J, Gore L. Entinostat for treatment of solid tumors and hematologic malignancies [J]. *Expert Opin Investig Drugs*, 2011, 20: 1455-1467.
- [67] Moffat D, Patel S, Day F, et al. Discovery of 2-(6-((6-fluoroquinolin-2-yl)methyl)amino)bicyclo[3.1.0]hex-3-yl)-N-hydroxypyrimidine-5-carboxamide (CHR-3996), a class I selective orally active histone deacetylase inhibitor [J]. *J Med Chem*, 2010, 53: 8663-8678.
- [68] Banerji U, van Doorn L, Papadatos-Pastos D, et al. A phase I pharmacokinetic and pharmacodynamic study of CHR-3996, an oral class I selective histone deacetylase inhibitor in refractory solid tumors [J]. *Clin Cancer Res*, 2012, 18: 2687-2694.
- [69] Olsen CA, Montero A, Leman LJ, et al. Macrocyclic peptoid-peptide hybrids as inhibitors of class I histone deacetylases [J]. *ACS Med Chem Lett*, 2012, 3: 749-753.
- [70] Ahn MY, Ahn JW, Kim HS, et al. Apicidin inhibits cell growth by down regulating IGF-1R in salivary mucoepidermoid carcinoma cells [J]. *Oncol Rep*, 2015, 33: 1899-1907.
- [71] Wells CE, Bhaskara S, Stengel KR, et al. Inhibition of histone deacetylase 3 causes replication stress in cutaneous T cell lymphoma [J]. *PLoS One*, 2013, 8: e68915.
- [72] Minami J, Suzuki R, Mazitschek R, et al. Histone deacetylase 3 as a novel therapeutic target in multiple myeloma [J]. *Leukemia*, 2014, 28: 680-689.
- [73] Suzuki T, Kasuya Y, Itoh Y, et al. Identification of highly selective and potent histone deacetylase 3 inhibitors using click chemistry-based combinatorial fragment assembly [J]. *PLoS One*, 2013, 8: e68669.
- [74] Rettig I, Koeneke E, Trippel F, et al. Selective inhibition of HDAC8 decreases neuroblastoma growth *in vitro* and *in vivo* and enhances retinoic acid-mediated differentiation [J]. *Cell Death Dis*, 2015, 6: e1657.
- [75] Suzuki T, Ota Y, Ri M, et al. Rapid discovery of highly potent and selective inhibitors of histone deacetylase 8 using click chemistry to generate candidate libraries [J]. *J Med Chem*, 2012, 55: 9562-9575.
- [76] Suzuki T, Muto N, Bando M, et al. Design, synthesis, and biological activity of NCC149 derivatives as histone deacetylase 8-selective inhibitors [J]. *Chem Med Chem*, 2014, 9: 657-664.
- [77] Huang WJ, Wang YC, Chao SW, et al. Synthesis and biological evaluation of ortho-aryl N-hydroxycinnamides as potent histone deacetylase (HDAC) 8 isoform-selective inhibitors [J]. *Chem Med Chem*, 2012, 7: 1815-1824.
- [78] Lobera M, Madauss KP, Pohlhaus DT, et al. Selective class Iia histone deacetylase inhibition *via* a non chelating zinc-binding group [J]. *Nat Chem Biol*, 2013, 9: 319-325.
- [79] Kikuchi S, Suzuki R, Ohguchi H, et al. Class Iia HDAC inhibition enhances ER stress-mediated cell death in multiple myeloma [J]. *Leukemia*, 2015, 29: 1918-1927.
- [80] Wang G, He J, Zhao J, et al. Class I and class II histone deacetylases are potential therapeutic targets for treating pancreatic cancer [J]. *PLoS One*, 2012, 7: e52095.
- [81] Colarossi L, Memeo L, Colarossi C, et al. Inhibition of histone deacetylase 4 increases cytotoxicity of docetaxel in gastric cancer cells [J]. *Proteomics Clin Appl*, 2014, 8: 924-931.
- [82] Ishikawa S, Hayashi H, Kinoshita K, et al. Statins inhibit tumor progression *via* an enhancer of zeste homolog 2-mediated epigenetic alteration in colorectal cancer [J]. *Int J Cancer*, 2014, 135: 2528-2536.
- [83] Marek L, Hamacher A, Hansen FK, et al. Histone deacetylase (HDAC) inhibitors with a novel connecting unit linker region reveal a selectivity profile for HDAC4 and HDAC5 with improved activity against chemoresistant cancer cells [J]. *J Med Chem*, 2013, 56: 427-436.
- [84] Santo L, Hideshima T, Kung AL, et al. Preclinical activity, pharmacodynamic, and pharmacokinetic properties of a selective HDAC6 inhibitor, ACY-1215, in combination with bortezomib in multiple myeloma [J]. *Blood*, 2012, 119: 2579-2589.
- [85] Amengual JE, Johannet P, Lombardo M, et al. Dual targeting of protein degradation pathways with the selective HDAC6 inhibitor ACY-1215 and bortezomib is synergistic in lymphoma [J]. *Clin Cancer Res*, 2015, 21: 4663-4675.
- [86] Li S, Liu X, Chen X, et al. Histone deacetylase 6 promotes growth of glioblastoma through inhibition of SMAD2 signaling [J]. *Tumour Biol*, 2015, 36: 9661-9665.
- [87] Mishima Y, Santo L, Eda H, et al. Ricolinostat (ACY-1215) induced inhibition of aggresome formation accelerates carfilzomib-induced multiple myeloma cell death [J]. *Br J Haematol*, 2015, 169: 423-434.
- [88] Aldana-Masangkay GI, Rodriguez-Gonzalez A, Lin T, et al. Tubacin suppresses proliferation and induces apoptosis of acute lymphoblastic leukemia cells [J]. *Leuk Lymphoma*, 2011, 52: 1544-1555.
- [89] Butler KV, Kalin J, Brochier C, et al. Rational design and simple

- chemistry yield a superior, neuroprotective HDAC6 inhibitor, tubastatin A [J]. *J Am Chem Soc*, 2010, 132: 10842-10846.
- [90] Kaliszczak M, Trousil S, Åberg O, et al. A novel small molecule hydroxamate preferentially inhibits HDAC6 activity and tumour growth [J]. *Br J Cancer*, 2013, 108: 342-350.
- [91] Lee JH, Mahendran A, Yao Y, et al. Development of a histone deacetylase 6 inhibitor and its biological effects [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013, 110: 15704-15709.
- [92] Bergman JA, Woan K, Perez-Villarroel P, et al. Selective histone deacetylase 6 inhibitors bearing substituted urea linkers inhibit melanoma cell growth [J]. *J Med Chem*, 2012, 55: 9891-9899.
- [93] Lee HY, Tsai AC, Chen MC, et al. Azaindolylsulfonamides, with a more selective inhibitory effect on histone deacetylase 6 activity, exhibit antitumor activity in colorectal cancer HCT116 cells [J]. *J Med Chem*, 2014, 57: 4009-4022.
- [94] Bantscheff M, Hopf C, Savitski MM, et al. Chemoproteomics profiling of HDAC inhibitors reveals selective targeting of HDAC complexes [J]. *Nat Biotechnol*, 2011, 29: 255-265.
- [95] Oehme I, Linke JP, Böck BC, et al. Histone deacetylase 10 promotes autophagy-mediated cell survival [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013, 110: E2592-E2601.
- [96] Li Y, Peng L, Seto E. Histone deacetylase 10 regulates the cell cycle G₂/M phase transition *via* a novel Let-7-HMGA2-cyclin A2 pathway [J]. *Mol Cell Biol*, 2015, 35: 3547-3565.
- [97] Schölz C, Weinert BT, Wagner SA, et al. Acetylation site specificities of lysine deacetylase inhibitors in human cells [J]. *Nat Biotechnol*, 2015, 33: 415-423.
- [98] Fujisawa T, Filippakopoulos P. Functions of bromodomain-containing proteins and their roles in homeostasis and cancer [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2017, 18: 246-262.
- [99] Murray LA, Sheng X, Cristea IM. Orchestration of protein acetylation as a toggle for cellular defense and virus replication [J]. *Nat Commun*, 2018, 9: 4967.
- [100] Basilicata MF, Bruel AL, Semplicio G, et al. *De novo* mutations in MSL3 cause an X-linked syndrome marked by impaired histone H4 lysine 16 acetylation [J]. *Nat Genet*, 2018, 50: 1442-1451.