

组蛋白去乙酰化酶抑制剂在抗病毒药物研究中的进展

许 丽, 毛念栋, 张 航, 何兴瑞*, 叶向阳*, 谢 恬*

(杭州师范大学药学院, 浙江省榄香烯类抗癌中药重点实验室, 浙产中药材资源开发与应用浙江省工程实验室, 浙江省浙八味等浙产中药材综合利用开发2011协同创新中心, 浙江 杭州 311121)

摘要: 组蛋白去乙酰化酶 (HDACs) 是一类关键的表现遗传修饰酶。目前, 已经有5个小分子HDACs抑制剂获批上市, 主要应用于抗肿瘤领域。近年来, 有关HDACs抑制剂在抗病毒方面的研究越来越多。本文从药物化学的视角, 按艾滋病毒 (HIV-1)、新型冠状病毒 (SARS-CoV-2)、EB病毒 (EBV) 和其他病毒等分类归纳, 系统总结了近年来HDACs抑制剂在辅助抗病毒领域的进展。本综述旨在帮助药学工作者了解掌握HDACs抑制剂在抗病毒方面的最新成果, 展望HDACs抑制剂在抗病毒领域应用的挑战和前景。

关键词: 组蛋白去乙酰化酶抑制剂; HIV-1; SARS-CoV-2; EBV

中图分类号: R914 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2022)04-0917-14

Research progress of histone deacetylases inhibitors in antiviral drugs discovery

XU Li, MAO Nian-dong, ZHANG Hang, HE Xing-rui*, YE Xiang-yang*, XIE Tian*

(School of Pharmacy, Key Laboratory of Elemene Class Anti-Cancer Chinese Medicines; Engineering Laboratory of Development and Application of Traditional Chinese Medicines; Collaborative Innovation Center of Traditional Chinese Medicines of Zhejiang Province, Hangzhou Normal University, Hangzhou 311121, China)

Abstract: Histone deacetylases (HDACs) are a class of key enzymes that regulate epigenetics. There are 5 small-molecule HDACs inhibitors having been approved for anti-cancer therapy on the market. In recent years, there have been more and more studies on the antiviral aspects of HDACs inhibitors. This article classifies viruses into human immunodeficiency virus 1 (HIV-1), new coronavirus (SARS-CoV-2), Epstein-Barr virus (EBV) and other viruses, systematically summarizes the recent advances of antiviral effects of the HDACs inhibitors from the perspective of medicinal chemistry. This review aims to provide the researchers the convenience of accessing the latest advances of the antiviral effects of HDACs inhibitors, and to analyze the challenges and prospects of this field in future drug discovery.

Key words: histone deacetylases inhibitor; HIV-1; SARS-CoV-2; EBV

收稿日期: 2021-11-08; 修回日期: 2021-12-07.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (82073686, 81730108, 81973635); 杭州市“115”引进国(境)外智力项目计划 (20200215, 20210120); 杭州师范大学(卓越人才计划科研启动基金2019QDL003和校级、院级教改项目); 国家科技部外国专家项目 (G20200217005, G2021017004).

*通讯作者 Tel: 86-571-28860236,

E-mail: hexingrui163@163.com; xyyc@hznu.edu.cn;

xbs@hznu.edu.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2021-1594

组蛋白乙酰化酶 (histone acetyltransferases, HATs) 和组蛋白去乙酰化酶 (histone deacetylases, HDACs) 是两种表现遗传修饰酶, 两者分别通过调节组蛋白的乙酰化和去乙酰化水平, 影响染色质结构的形态, 进而控制DNA的转录^[1]。在癌细胞中, HDACs的过度表达导致乙酰化作用增强, 促使组蛋白带正电荷, 进而增加DNA与组蛋白之间的引力, 使松弛的核小体变得紧密, 影响特定基因表达, 如抑癌基因, 因此HDACs抑制

剂通过提高染色质特定区域的组蛋白乙酰化, 调控细胞凋亡及分化。靶向HDACs用于癌症治疗已在临床上获得验证, 且有小分子抑制剂获批上市^[2]。HDACs分为4个不同的类型: I型(HDAC1、HDAC2、HDAC3和HDAC8)、II型(HDAC4、HDAC5、HDAC6、HDAC7、HDAC9和HDAC10)、IV型(HDAC11)及III型Sirtuins(SirT1–7)^[3], 其中I型、II型和IV型属于金属Zn²⁺依赖酶, III型属于NAD⁺依赖酶。除直接影响基因表达外, 高剂量的HDACs抑制剂, 可实现对调节性T细胞(regulatory T cells, Treg)的抑制, 降低调节性T细胞对肿瘤的保护作用, 有助于清除肿瘤细胞^[4,5]。

截至目前已有5种药物被FDA批准用于治疗各种类型的淋巴瘤, 分别是: vorinostat (SAHA, **1**)、romidepsin (FK-228, **2**)、belinostat (PXD-101, **3**)、tucidinostat (HBI-8000, **4**)和panobinostat (LBH-589, **5**)。它们都属于泛HDACs (pan-HDACs) 抑制剂^[6,7] (图1), 对HDACs的各个亚型缺乏选择性。

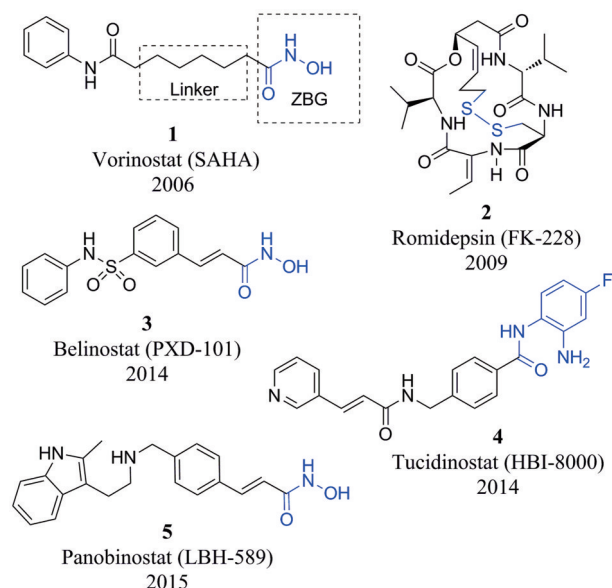


Figure 1 The approved anticancer drugs targeting HDACs

过去10年有关HDACs的研究性文章和临床数据大量出现, 充分表明HDACs仍然是一个热门并备受关注的研究靶点^[8]。截至今天, <https://www.medchemexpress.cn/>网站上关于HDACs的激动剂或阻断剂共有137个, 另外关于HDACs与其他靶点的双靶点抑制剂用于抗肿瘤也有报道^[9], 比如化合物**6** [JAK (Janus kinase)] (图2)^[10]是一种有效的JAK2/HDACs双重抑制剂, 对一些血液肿瘤细胞株有抗增殖和促凋亡作用, 其对JAK2和HDACs的IC₅₀值分别为4和2 nmol·L⁻¹。含有HDACs药效团的双靶点抑制剂是近年来国际上药物研究与开发的热点, 备受关注^[11,12]。

近期研究发现, 病毒病原体与HDAC具有关键的相互作用, 尤其是在维持病毒的潜伏以及致癌病毒诱导肿瘤发生的过程中。HDAC似乎参与了维持病毒的潜伏期以保护病毒免受免疫反应的清除, 因此促使病毒在细胞库中长期存在; 而在病毒诱导肿瘤发生的过程中, 由病毒介导的失调的HDAC会使被感染细胞的抑癌基因被抑制, 从而使这些细胞更容易发生肿瘤^[13]。随着2019年新型冠状病毒引起的全球性肺炎疾病的大流行, 关于抗病毒药物的研发和老药新用的例子越来越多, 涉及HDACs抑制剂在临床上的抗冠状病毒的研究也有不少报道。因此, 本文对近年来HDACs抑制剂在抗病毒方面的最新进展进行综述, 希望对抗病毒适应症的拓展有所帮助。

1 HDACs抑制剂在抗HIV-1病毒中的应用

艾滋病病毒 (human immunodeficiency virus, HIV) 是一种RNA病毒, 分为一型和二型两种; 一型较二型而言, 传播范围更广, 致病性更强。一型在全世界范围内比较常见, 二型多见于非洲。据世界卫生组织官方文件报道, 迄今为止大约有3 500万人死于艾滋病。现阶段艾滋病仍然无法治愈, 感染后HIV-1病毒会整合到受感染的细胞基因组中^[14]。HIV-1感染会导致两种不同的情况: 生产性感染和潜伏感染。生产性感染最常发生, 感染的细胞释放子代病毒后死亡; 在罕见的潜伏感染期间, HIV-1基因在病毒整合后不表达, 这些完全具有复制能力的HIV-1可以在细胞中休眠数年, 然后被重新激活^[15,16]。因此强制重新激活潜伏期的病毒已成为治疗慢性感染HIV-1患者的有希望的策略。

1996年由何大一^[17]首次提出的高效抗逆转录病毒疗法 (highly active antiretroviral therapy, HAART) 是目前治疗HIV-1最常用的策略, 又称“鸡尾酒疗法”。该疗法是将目前国际上治疗艾滋病的6大类药物 (包括复合制剂): 核苷逆转录酶抑制剂 (nucleoside reverse transcriptase inhibitors, NRTIs) 和非核苷逆转录酶抑制剂 (non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors, NNRTIs)、蛋白酶抑制剂 (protease inhibitors, PIs)、整合酶抑制剂 (integrase strand transfer inhibitors, INSTIs)、膜融合酶抑制剂 (fusion inhibitor, FIs) 和趋化因子受体5抑制剂 (C-C chemokine receptor type 5 inhibitors, CCR5) 等的两种或者3种联合应用去抑制HIV-1的复制, 能够在一定程度上减少单一药物带来的不良反应^[18-21]。尽管鸡尾酒疗法能够抑制病毒复制, 但HIV-1会潜伏在不同细胞和组织区室中, 其中中枢记忆CD4⁺T细胞被认为是最重要的HIV-1细胞储存库。这些病毒库是从受感染患者身上根除HIV-1的主要障碍, 中断HAART的治疗会迅速导致储存库中的病毒被激活, 因

此该疗法无法应对 HIV-1 持续感染性问题^[22]。故找到一种可靠的方法激活潜伏的 HIV-1 原病毒库, 使其暴露, 从而被 HARRT 中的药物杀死至关重要。

1.1 HDACs 抑制剂具有激活潜伏 HIV-1 原病毒的作用 目前治疗 HIV-1 的策略之一是“休克和杀死”^[23]。利用一些有药理作用的潜伏逆转剂 (latency reversing agent, LRA) 逆转 HIV-1 潜伏期, 并在潜伏感染的 CD4⁺ T 细胞中启动病毒蛋白质生产。结合 HARRT 疗法, 会使这些细胞受到免疫介导的机制或者是细胞病变效应从而被杀死。迄今为止, 用不同的感染 HIV-1 的潜伏细胞模型已经发现了 87 种不同的 LRA, 包括蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC) 激动剂、HDACs 抑制剂、组蛋白甲基转移酶抑制剂 (histone methylase inhibitors, HM-Ti)、DNA 甲基转移酶抑制剂 (DNA methyltransferase inhibitor, DNMTi)、溴结构域蛋白 (bromodomain, BRD) 和溴结构域末端外结构域蛋白 (bromodomain and extra-terminal protein inhibitors, BETi) 以及特异性的乙醛脱氢酶 1 型抗体 (ALDH1) 抑制剂如双硫仑 (disulfiram)^[24]。从这些药物的临床试验结果来看, 最有希望的 LRA 是 HDACs 抑制剂^[25]。HDACs 抑制剂和 HAART 联合使用, 通过改变组蛋白的乙酰化状态, 影响病毒 RNA 的转录, 重新激活病毒表达, 调整机体免疫状态, 提高抗病毒药物的疗效, 从而达到持续性病毒感染疾病治愈的目的^[26]。

2014 年, Mejia 等^[27]以感染 HIV-1 并处于潜伏期的记忆 T 细胞为模型进行潜伏激活剂的筛选, 发现热休克蛋白 90 (heat shock protein 90, HSP90) 抑制剂 **7** (radicol, 图 2) 具有一定的重新激活潜伏 HIV-1 病毒的效力 ($EC_{50} = 9.1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), 但是 HDACs 抑制剂 **8** (psammaplin A, $EC_{50} = 0.2 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 图 2)、**9** (apicidin, $EC_{50} = 0.3 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,

图 2)、**2** (romidepsin, $EC_{50} = 0.003 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 和 **1** (SAHA, $EC_{50} = 0.6 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 显示出更强的激活潜伏 HIV-1 的效力。2020 年, Hashemi 等^[25]利用虚拟筛选技术 (virtual screening, VS), 识别了 4 个 HDACs 抑制剂新型 LRA 候选物 (化合物 **10**~**13**, 图 2), 虽然这 4 个化合物的活性远不如阳性对照药 panobinostat (**5**), 但是这项研究显示虚拟筛选技术在研究 HDACs 抑制剂在激活潜伏期病毒方面取得了一定进展, 可供后续科学工作者借鉴。

据相关文献^[28-30]报道, 没有亚型选择性的泛 HDACs 抑制剂, 在临床试验中可能会导致显著的不良影响 (adverse effects, AEs)。具有亚型选择性的 HDACs 抑制剂有可能增加 HIV-1 激活的治疗窗口 (therapeutic index, TI)。HDACs 抑制剂对 HDACs 亚型的选择性与抑制剂中锌离子结合基团 (zinc binding group) 的类型有关。2019 年, Bresciani 等^[31]报道一系列基于乙酰酮作为锌离子结合基团的选择性 HDACs 抑制剂, 化合物 **14** (图 3) 对经典的 I 类 HDACs 表现出好的选择性, 对 HDAC1-3 的 IC_{50} 分别为 13、18 和 12 $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。通过对 **14** 与 HDAC2 酶复合晶体的 X-ray 分析, 发现芳香酮较乙酰酮与锌离子的结合更紧密 (图 4); 随后, Liu 等^[32]应用平行化学快速合成法, 以 **14** 为先导化合物进行结构优化, 合成一系列以芳基酮为锌离子结合基团的化合物。细胞测试结果显示, **14** 激活潜伏 HIV-1 的 2C4 细胞能力一般 ($EC_{50} = 198 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$), 而其类似物 **15** (图 3), 以 3-异恶唑基酮为锌结合基团, 激活 2C4 细胞的能力有很大提升 ($EC_{50} = 4.7 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$), **15** 与 HDAC2 酶复合晶体结构见图 4。在酶水平测试中, 化合物 **15** 显示出优异的 HDAC1、2、3 的选择性及抑制活性 (对 HDAC1、HDAC2、HDAC3 和 HDAC6 的 IC_{50} 分别为

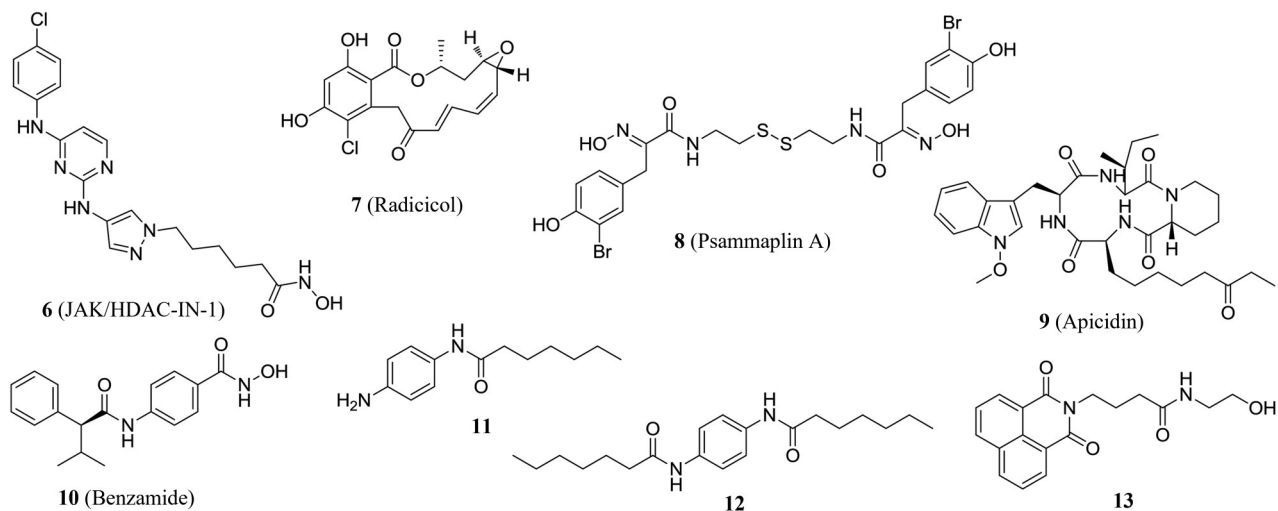


Figure 2 Structures of compounds 6-13

0.10、0.47、0.09 和 $> 45\ 000\ \text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$)。另外小鼠和大鼠的药代动力学研究表明, 该抑制剂的半衰期大于 4 h, 生物利用度分别为 18% 和 16%, 具备一定的成药性。

Gunst 等^[33]以潜伏感染 HIV-1 的 J-lat Tat-GFP 和 ACH-2 细胞系为模型, 以上市的 HDACs 抑制剂 romidepsin (**2**) 为对照药, 测试 HDACs/PI3K 双重抑制剂 fimepinostat (**16**, 又名 CUDC-907, 图 5) 激活潜伏 HIV-1 病毒的潜力。Fimepinostat 可以同时有效抑制 I 型 PI3K 以及 I 和 II 型 HDACs 酶, 对 PI3K α /PI3K β /PI3K δ ($\text{IC}_{50} = 19/54/39\ \text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 和 HDAC1/HDAC2/HDAC3/HDAC10 ($\text{IC}_{50} = 1.7/5.0/1.8/2.8\ \text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 有很强的抑制作用。将长期接受 HARRT 疗法的 HIV-1 患者的 CD4⁺ T 细胞离体, 经体外刺激, 用绿色荧光蛋白 (green fluorescent protein, GFP) 的强度来表征 HIV-1 转录水平, 发现在潜伏感染 HIV-1 的 ACH-2 细胞中, 在 **16** 与 romidepsin 的最佳药用浓度时, 都影响了 HIV-1 的 RNA

转录水平, 但是 **16** 比 romidepsin 趋向诱导产生更多 HIV-1 p24 gap。另外在潜伏感染的 J-lat Tat-GFP 细胞中, **16** 和 romidepsin 显示出类似的潜伏逆转效应 ($P = 0.42$), 暗示 **16** 抗 HIV-1 病毒的机制和能力与 romidepsin 可能相同。分化抗原簇 69 (cluster of differentiation 69, CD69) 是 T 细胞活化后最早表达的一个膜表面分子, 刺激后 1~2 h 可在 T 细胞表面被检测到, 故 CD69 常用于表征 T 细胞活化的程度。Ki67 是细胞核上的一种非组蛋白, 与细胞的有丝分裂有关, 常用于对 T 细胞增殖的表征, 该数值越大, 细胞增殖越快。以 HIV-1 阴性捐助者的外周血单核细胞 (peripheral blood mononuclear cells, PBMCs) 为研究对象, 作者以 CD69 和 Ki67 为指标, 测定了 **16** 对 T 细胞活化增殖的影响。研究发现 **16** 激活中央记忆 T 细胞 (central memory T cell, TCM) 和效应记忆 T 细胞 (effective memory T cell, TEM) 的能力远弱于 romidepsin, 文中没有给出具体的数值, 在柱状图中

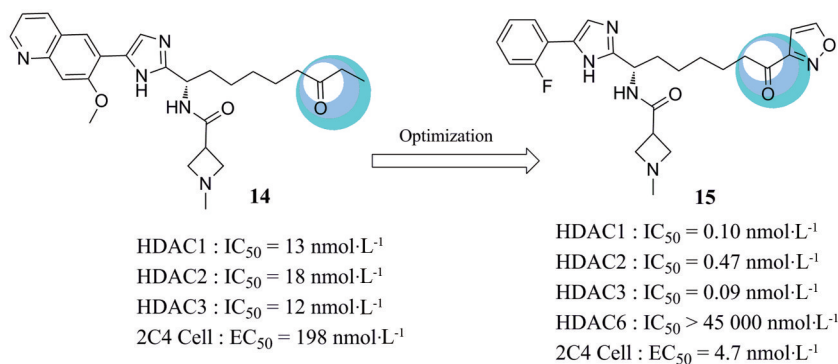


Figure 3 Optimization of HDACs pharmacophore from alkyl ketone **14** to heteroaryl ketone **15** resulted in significant improvement of HDACs inhibitory activities

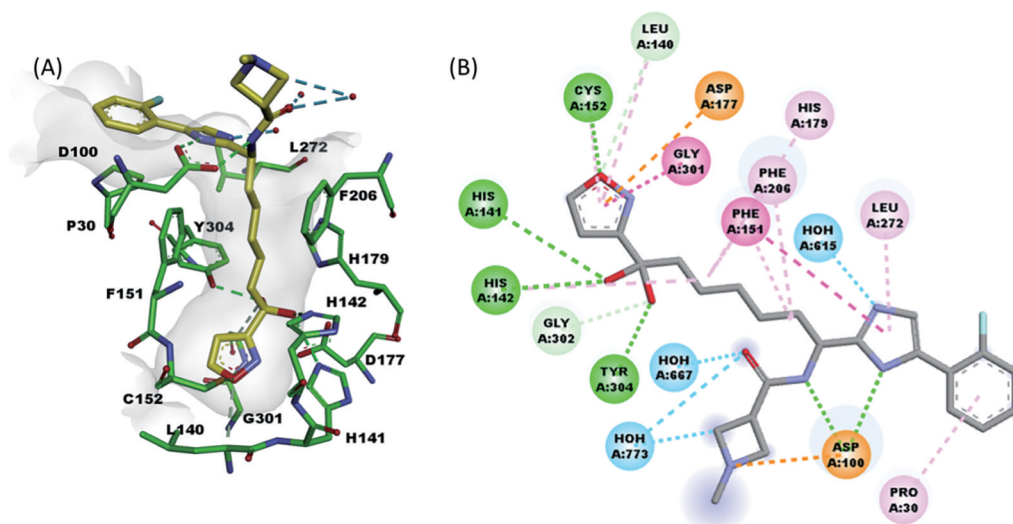


Figure 4 X-ray crystal structure of HDACi **15** bound to HDAC2 enzyme. (A) 3D binding models; (B) 2D binding models. Green dashes = conventional hydrogen; Pink dashes = π - π T-shaped or amide- π stacked; Yellow dashes = attractive charge or π -anion; Blue dashes = water hydrogen bond

用统计学 P 值来表示是否有显著性差异。**16** 的最佳浓度为 $25 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$, romidepsin 的最佳浓度为 $5 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。在二者各自的最佳浓度时, 通过检测 Ki67 发现, romidepsin 活化 CD4^+ T 细胞的百分数远大于 **16** 以及没有加药组, 且均具有显著性差异, P 值都为 0.03; **16** 与没有加药组之间没有显著性差异, $P = 0.06$ 。另外 **16** 和 romidepsin 对没有加药组而言, 均减少了 T 细胞的增殖, P 值均为 0.03, **16** 和 romidepsin 二者之间没有显著性差异, $P > 0.05$ 。由此可得出 **16** 不同于 romidepsin, 它不会影响 HIV-1 阴性捐助者 PBMCs 的 CD4^+ T 细胞活化, 是一个比较理想的 LRA。

苯甲酰胺类 HDACs 抑制剂是众多 HDACs 抑制剂中用于抗病毒研究最活跃之一^[34]。与其他 3 种泛 HDACs 抑制剂 (SAHA、panobinostat 和 romidepsin) 相比, 在临床最佳浓度 (由药时曲线决定) 下, tucidinostat (**4**) 在体外具有最小细胞毒性, 并显示对包括 HSP90、核因子 κB (nuclear factor kappa-B, NF- κB) 和激活蛋白 1 (transcription factor AP-1, AP-1) 在内的非组蛋白优异的机械作用^[35], 是一个比较理想的 LRA。此外, Wightman 等^[36]研究发现, 苯甲酰胺类 I 型 HDACs 抑制剂 **17** (图 5) 也具有逆转 HIV-1 潜伏期的能力。

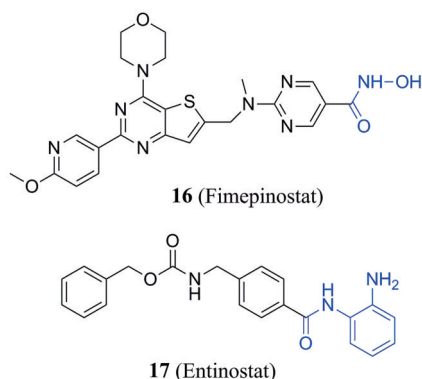


Figure 5 Structures of compounds **16** and **17**

1.2 HDACs 抑制剂与蛋白激酶激活剂联用 某些 HDACs 抑制剂如 SAHA 和化合物 **18** (trichostatin A, TSA, 图 6) 与蛋白激酶 A (protein kinase A, PKA) 激活剂环磷腺苷 (adenosine cyclophosphate, cAMP) 具有类似的功能, 可以诱导 HIV-1 再激活。2017 年, Lim 等^[37]将 cAMP 和 SAHA 或者 **18** 二者组合处理 HIV-1 潜伏感染的细胞模型 ACH2 和 NCHA1, 与单一药物组相比, 联合给药组的上清液和细胞内的 HIV-1 p24 蛋白水平显著增加, 但是具体的作用模式还不太清楚。2018 年, Huang 等^[38]研究发现, 在体外低浓度下成功接受 HARRT 治疗患者的 PBMCs 中, 蛋白激酶 C 激活剂化合物 **19** (gnidimacrin, GM, 图 6) 在潜伏感染 HIV-1 的

U1 细胞模型中抗病毒能力 $\text{EC}_{50} = 18.0 \pm 5.7 \text{ pmol}\cdot\text{L}^{-1}$, 对患者的组织淋巴瘤细胞 (U937 细胞) 的毒性较小 ($\text{CC}_{50} = 4.8 \pm 0.55 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), 并有较好选择性, 选择性指数 (selectivity index, SI = 260 000)。化合物 **19** 对无 HIV-1 感染的人外周白血病 T 细胞 (Jurkat 细胞) 同样具有较低的毒性 ($\text{CC}_{50} = 5.3 \pm 0.45 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)。 **19** 也是一种药理作用的潜伏逆转剂, 能激活 PKC 信号通路引起 NF- κB 和 AP-1 活化, 从而激活潜伏感染的 HIV-1。此外, 以上述潜伏感染 HIV-1 的 U1 细胞为模型, 对一些已知的 HDACs 抑制剂进行试验, 发现 HDAC1/2 选择性抑制剂化合物 **20** (图 6) 具有较好激活潜伏感染 HIV-1 的能力 (TPB, $\text{EC}_{50} = 0.93 \pm 0.34 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), 且细胞毒性相对较弱 (U937 细胞 $\text{CC}_{50} = 14.0 \pm 1.7 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, SI = 15.5; Jurkat 细胞 $\text{CC}_{50} = 12.6 \pm 1.13 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)。将化合物 **20** 和 **19** 联用, 可加强 **19** 抗 HIV-1 能力 ($\text{EC}_{50} = 5.6 \pm 2.7 \text{ pmol}\cdot\text{L}^{-1}$, 对 U937 细胞毒性为 $\text{CC}_{50} = 4.2 \pm 0.38 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, SI = 750 000) (图 7)。这些实验结果表明, HDACs 抑制剂与蛋白激酶激活剂联用也许是未来激活潜伏 HIV-1 病毒库一个潜在的方法。

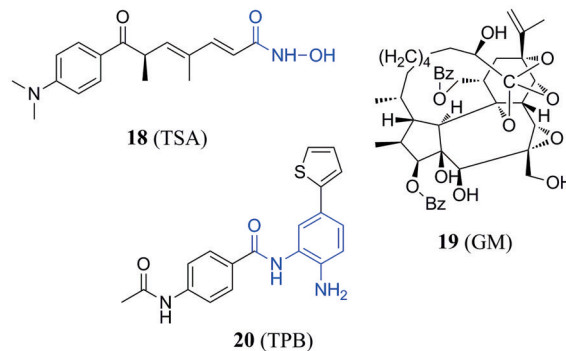


Figure 6 Structures of compounds **18-20**

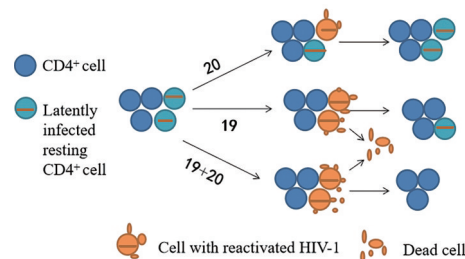


Figure 7 Effects of compounds **19** and **20** in latently infected resting CD4^+ cell models^[38]

1.3 HDACs 抑制剂和 AV6 联用 2011 年, Micheva-Viteva 等^[39]在 24STNLSG 细胞和 ACH-2 模型中, 采用高通量筛选方法, 筛得抗病毒化合物 **22** (AV6, 图 8), 可导致活化 T 细胞的核因子 (nuclear factors of activated T cells, NFAT) 与 J-Lat clone 9.2 细胞中病毒启动子的结

合增强,引起潜伏感染的原代静息 CD4⁺ T 细胞活化,产生的 GFP 强度比 HDACs 抑制剂 **21** (valproic acid, 图 8) 的最佳浓度产生的高 2~3 倍,另外 **21** 和 **22** 可以协同逆转 HIV-1 潜伏期。基于此研究,2018 年, Ao 等^[40] 基于片段药物设计原理,将异羟肟酸片段通过连接链连接到 **22** 上,设计并合成了一系列 **22** 类似物,通过逆转 HIV-1 潜伏期能力测试,确定了两个活性较好的化合物 **23** 和 **24**,并通过分子对接确定了 **23** 和阳性对照 SAHA (**1**) 与 HDAC2 的结合位点和相互作用(图 9),再通过生物信息学等技术,发现 **23** 和 **24** 通过双重机制重新激活 HIV-1 潜伏期,通过抑制 HIV-1 基因表达所需的 HDAC 和 NFAT,还发现二者可以通过促进正转录延伸因子 b (positive transcription elongation factor b, P-TEFb) 从与 7SK 核糖核蛋白复合体 (7SK small nuclear ribonucleoprotein, 7SK snRNP) 结合的非活化形式释放出来,介导转录复合物的磷酸化,来重新激活 HIV-1 转录,因此可作为有效的 HIV-1 的 LRA,用于进一步研究。同时也给后人研究带来启发,将不同机制的药物融合,构建双靶点甚至多靶点药物,但是要关注融合药物的脱靶效应以及可能带来的不良影响。

1.4 HDACs 抑制剂和免疫调节剂联用 化合物 **25** (cGAMP, 图 10) 是环状 GMP 和 AMP 的二聚物,是多细胞动物内源性第二信使,能激发干扰素 (interferon, IFN) 产生,也是一种免疫调节剂。它既是干扰素 (IFN) 基因刺激蛋白 (stimulator of interferon genes, STING) 配

体,也是 STING 激动剂,可刺激 I 型 IFN 和 NF- κ B 信号传导以调节 HIV-1 转录^[41,42]。化合物 **26** (resminostat, 图 10) 是一种有效的 HDAC1、HDAC3 和 HDAC6 抑制剂,对上述 3 个亚型的 IC₅₀ 值分别为 42.5、50.1、71.8 nmol·L⁻¹。对 HDAC8 抑制作用较弱 (IC₅₀ = 877 nmol·L⁻¹)。实验证明化合物 **26** 可刺激潜伏感染 HIV-1 的 CD4⁺ T 细胞活化和增殖。Palermo 等^[43] 以潜伏感染 HIV-1 的 J-lat Tat-GFP 细胞和未感染 HIV-1 的 Jurkat 细胞为模型,将 **25** 与 **26** 联用,发现可以导致 GFP 表达增强, cGAS-STING (cyclic-GMP-AMP synthetase-STING) 通路被激活^[44], NF- κ B 相关基因表达增加,实验结果证明所施加的潜伏逆转效应的协同增强是通过每种单一药物实现的。另外机制研究发现,再激活发生机制部分依赖于 NF- κ B 信号传导,但是不依赖于 Tat 蛋白,选择性杀死携带 HIV-1 的细胞是由细胞的内在凋亡机制所触发的。最后令人兴奋的是,二者联用时检测发现 HIV-1 感染的 TCM 细胞被再次激活的数量较二者单用时降低很多。结果表明 **26** 和 **25** 可以重新激活潜在 HIV-1 病毒,并在体外诱导感染细胞的特异性凋亡,另外与 **26** 单药相比,组合用药表现出较低的细胞毒性。这些结果提供了一种将先天免疫和 HDACs 抑制剂联用作为根除 HIV-1 的策略。但是这种组合是否会引起特定的免疫反应还有待进一步研究。

综上所述,HDACs 抑制剂和其他药物联用,在感染 HIV-1 的细胞模型中表现对 CD4⁺ T 细胞的活化和增殖为慢性 HIV-1 患者治疗提供了一种可能性。但是

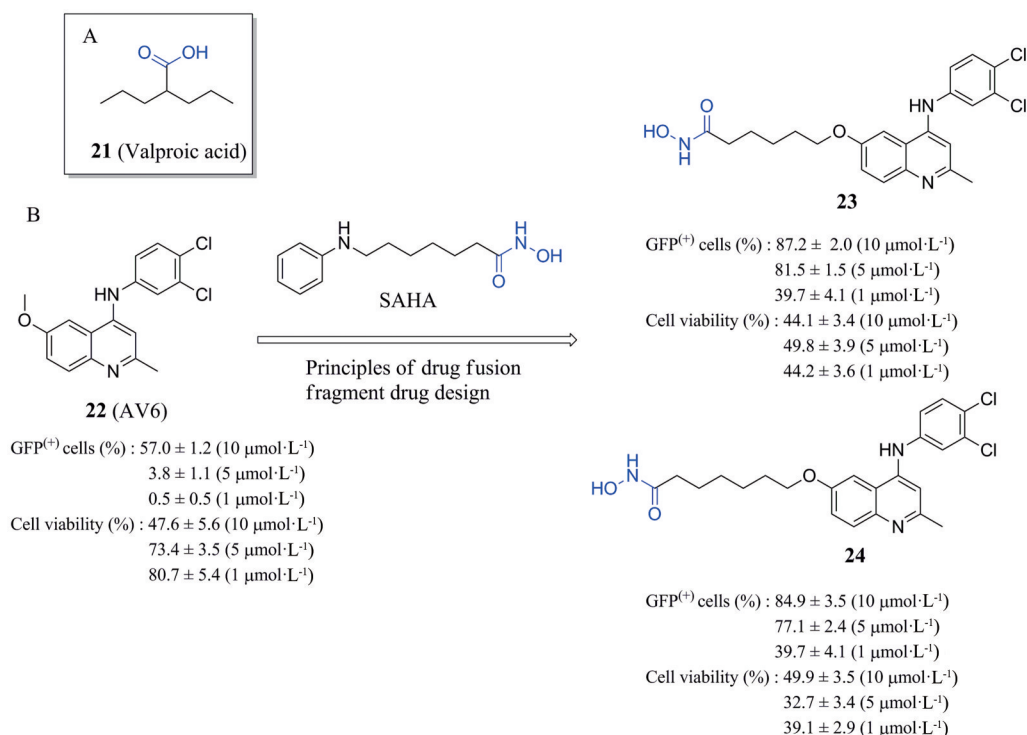


Figure 8 Structures of compound **21** (A) and compound **22** and HDACs inhibitor hybrid compounds **23** and **24** (B)

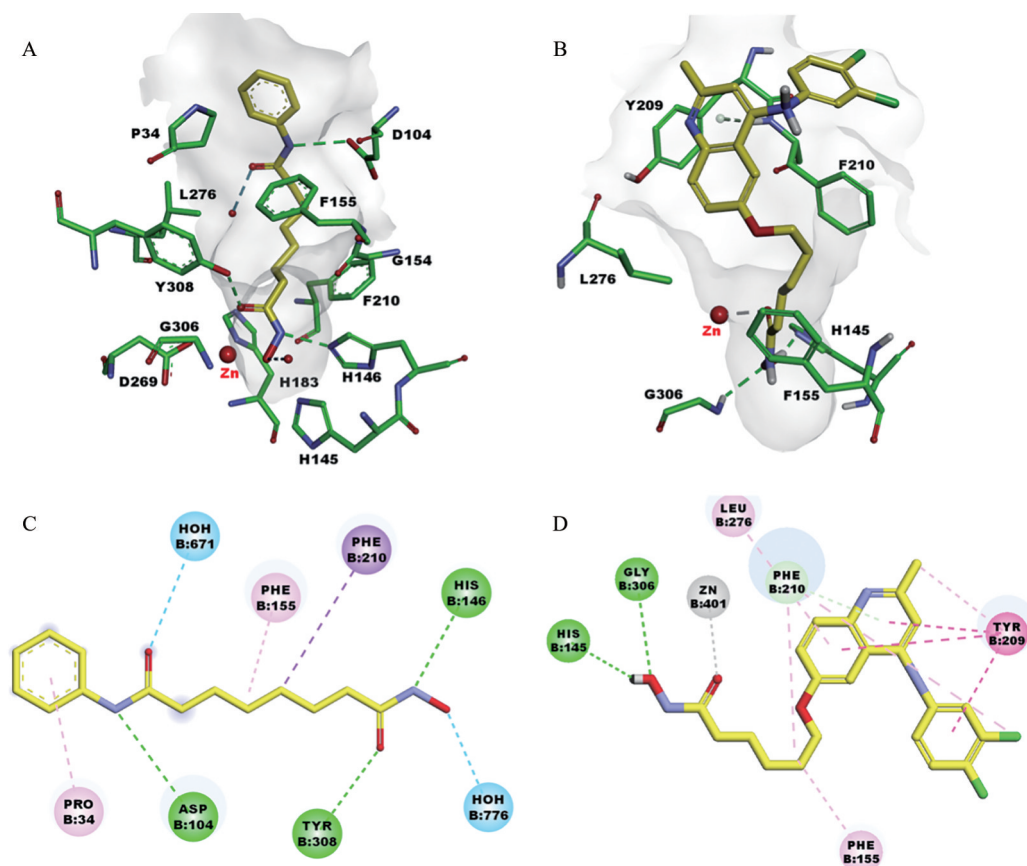


Figure 9 The co-crystal structure of SAHA complexed with HDAC2 (A and C) (PDB code: 4LXZ) and the **23** docked into the active site of HDAC2 (B and D). SAHA and **23** are shown in stick with yellow carbon. The catalytic zinc in magenta CPK representation. The HDAC2 is presented with the pocket shown in gray. Green dashes = conventional hydrogen; Pink dashes = π - π T-shaped or amide- π stacked; Yellow dashes = attractive charge or π -anion; Blue dashes = water hydrogen bond; Purple dashes = π - σ

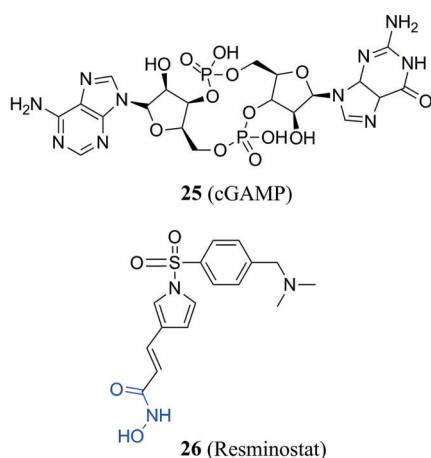


Figure 10 Structures of compounds **25** and **26**

很多HDACs抑制剂对正常的细胞有一定毒性,因此开发新的低毒或者无毒的HDACs抑制剂以及采用组合药物疗法来治疗HIV-1患者也许是未来抗病毒药物研发的趋势之一。

2 HDACs抑制剂和SARS-CoV-2病毒的关系

2020年,新型冠状病毒在全世界范围内暴发,严重

危害到人们身体健康,各国科学家迅速对新冠展开了研究^[45,46]。严重急性呼吸综合征冠状病毒2号(severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2)的生命周期大概包括以下几个部分,首先丝氨酸蛋白酶2(transmembrane protease serine 2, TMPRSS2)对携带SARS-CoV-2病毒的S蛋白(spike protein)切割;随后切割后的部分和血管紧张素转化酶2(angiotensin-converting enzyme 2, ACE2)结合;经膜融合发生内吞作用,扩散到人体细胞内部空间;最后SARS-CoV-2的RNA释放到人体细胞的细胞质中^[47,48]。

几种传统抗病毒药物通过不同的机制用于治疗SARS-CoV-2,比如白细胞介素6(IL-6)抑制剂托珠单抗(tocilizumab)和沙立芦人单抗(sarilumab)结合IL-6受体,防止IL-6受体激活,抑制IL-6信号;甲磺酸卡莫司他(camostat mesylate)抑制TMPRSS2防止病毒进入细胞;阿比朵尔(arbidol)抑制病毒包膜的膜融合;氯喹(chloroquine)和羟氯喹(hydroxychloroquine)通过多种机制以及宿主免疫调节作用抑制病毒进入和内吞作用^[49];洛匹那韦(lopinavir)和达芦那韦(darunavir)

抑制3-胰凝乳蛋白酶样蛋白酶,阻止蛋白水解^[50];利巴韦林(ribavirin)、瑞德西韦(remdesivir)和法匹拉韦(favipiravir)阻止RNA的合成^[51,52]。遗憾的是这些老药在实验中没有表现出理想效果,因此还需研究更多药物。从SARS-CoV-2病毒生命周期看,阻止病毒进入细胞是治疗新型冠状病毒肺炎的一种途径,可研制抑制剂来靶向下面3种蛋白:ACE2、TMPRSS2和S蛋白。此外通过表观遗传学潜在改变基因表达,从而影响病毒的复制和转录也可能获得突破,因此表观遗传药物HDACs抑制剂也被用来研究抗新型冠状病毒。本文接下来将总结前人的研究成果,对这一方面做简述。

Liu等^[53]基于高通量筛选和细胞假型病毒系统(293T细胞),对临床上药物进行筛选,发现临床上5个HDACs抑制剂影响携带SARS-CoV-2病毒的细胞增殖,且抑制SARS-CoV-2病毒RNA转录(表1,图11)。进一步机制研究发现HDACs抑制剂也可能是通过弱化和阻断S蛋白和ACE2的相互作用从而影响SARS-CoV-2病毒的进入。

Teodori等^[54]通过对SARS-CoV-2病毒的miRNet分析,预测miR-335-5p和miR-26b-5p受S蛋白和ACE2以及HDAC途径调控。通过机制研究发现S蛋白和ACE2相互作用,导致过量的血管紧张素II(angiotensin II, Ang II)积累,然后激活血管紧张素II受体1型(angiotensin II type 1 receptor, AT1R),后者反过来刺激HDAC上调ACE2的表达和合成,促进SARS-CoV-2感染,另外再生的乙酰辅酶可以促进胆固醇合成,合成的胆固醇会结合ACE2受体,从而减少ACE2受体数量(图12)。因此可采用HDACs抑制剂减少ACE2的表达和合成,减少SARS-CoV-2病毒入侵。丙戊酸是较弱的HDACs抑制剂,常用于癫痫治疗,现发现可以用于

SARS-CoV-2病毒感染引起的COVID-19^[55,56]。Pitt等^[57]对丙戊酸抗新冠的研究进行了综述,提出阻止SARS-CoV-2病毒进入细胞的机制可能是通过降低ACE2和TMPRSS2表达的观点。Li等^[58]以正常血压大鼠肠道上皮类器官为研究对象,采用高通量RNA测序手段,发现HDACs抑制剂短链脂肪酸丁酸盐通过降低膜ACE2转录并增加其脱落和减少S蛋白激活来抑制病毒感染性,还可通过下调高迁移率族蛋白1(high mobility group box-1 protein, Hmgb1)表达来控制SARS-CoV-2复制。但是这方面的研究还需要更多临床试验数据加以支持。

据报道,组织纤维化是导致COVID-19发病率和死亡率主要原因,大部分幸存者也存在肺部纤维化的问题^[59-61]。使用尼达尼布(nintedanib)和吡非尼酮(pirfenidone)治疗可以减少肺纤维患者用力肺活量以及抑制纤维细胞胶原蛋白的产生,但是都不能显著缓解症状,还会有腹痛、恶心和呕吐等不良影响^[62-64]。HDACs抑制剂可抑制转化生长因子 β 1(transforming growth factor- β 1, TGF- β 1)信号,显示出有希望的抗纤维化作用^[65]。2019年,Saito等^[66]研究发现选择性HDAC8抑制剂对TGF- β 1诱导的促纤维化蛋白,如 α -平滑肌肌动蛋白(alpha-smooth muscle actin, α -SMA)、一型胶原蛋白、纤连蛋白、结缔组织生长因子(connective tissue growth factor, CTGF)、纤溶酶原激活物抑制剂-1(plasminogen activator inhibitor-1, PAI-1)和蜂窝通信网络因素1(cellular communication network factor 1, CCN1)具有较好的抑制作用,因此可以用于治疗肺的纤维化,以及其他因肺纤维化导致的疾病。2021年,Krishna等^[67]对SARS-CoV-2导致的肺部纤维化机制进行了阐述,发现在COVID-19幸存者中TGF- β 信

Table 1 Effectiveness of compounds against SARS-CoV-2

Name	Target	IC ₅₀ to cell proliferation/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	EC ₅₀ (transduction inhibition)/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	SI = IC ₅₀ /EC ₅₀
Romidepsin	HDAC1-3	17.5 ± 6.4	0.09 ± 0.05	194.4
Panobinostat	HDACs	0.05 ± 0.05	2.8 ± 1.0	0.02
Compound 27 (Givinostat hydrochloride monohydrate)	HDAC1, HDAC3	0.28 ± 0.2	6.8 ± 4.1	0.04
Compound 28 (CAY10603)	HDAC6	0.6 ± 0.5	13.5 ± 9.4	0.04
Compound 29 (Sirtinol)	ySir2	34.5 ± 3.5	82.9 ± 61.1	0.4

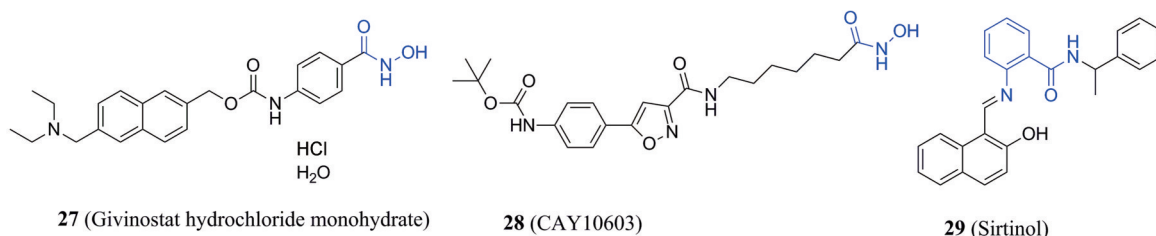


Figure 11 Structures of compounds 27–29

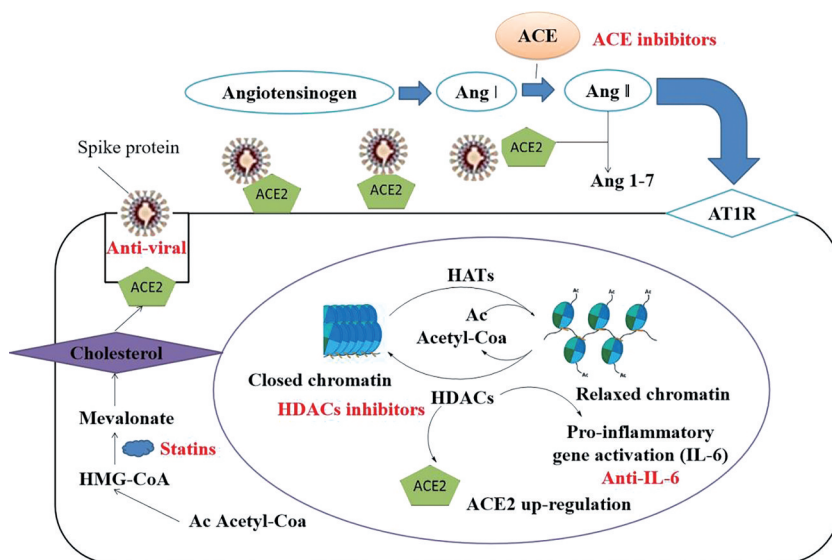


Figure 12 The interaction between the renin-angiotensin system and HDACs^[54]

号会促进肺纤维化,因此抑制 TGF- β 信号可能会缓解甚至治愈肺纤维化问题。作者还分析了泛 HDACs 抑制剂抑制 TGF- β 信号的机制,提出用上市的 HDACs 抑制剂治疗肺纤维化患者的观点。

SARS-CoV-2 突变株 Delta 毒株的传播能力快和临床致病性强,已经成为目前全球 COVID-19 的主要致病变异株,引起了人们广泛关注^[68]。虽然接种疫苗可以有效避免重症,但是还没有药物可以治愈。HDACs 抑制剂表现出潜在抗病毒的可能性,因此研究人员可以对已有的 HDACs 抑制剂开展更多临床试验或者是对 HDACs 这个靶标设计更多化合物,以期找到一个理想的解决方法。

3 HDACs 抑制剂和 EBV 病毒的关系

EB 病毒 (Epstein-Barr virus, EBV) 是一种 DNA 人类疱疹病毒,主要感染人体细胞的 B 淋巴细胞和上皮细胞,被证实与多种人类恶性肿瘤相关,包括伯基特淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤、鼻咽癌和胃癌等^[69-71]。与 HIV-1 病毒类似,EBV 也经历两个周期:潜伏期和裂解期^[72]。

对于潜伏期的病毒需要寻找合适的激活剂,使其激活。很多研究^[73-76]表明十四烷酰佛波醇乙酸酯 (TPA) 和 Ig 抗体是 EBV 的两个诱导剂。Tsai 等^[77]以携带 EBV 的上皮细胞系作为模型系统,发现化合物 **30** (丁酸钠,图 13) 和 TSA 这两个 HDACs 抑制也可以有效激活 EBV,从机制上讲,这两种诱导剂通过 PKC 依赖性 Sp1 磷酸化,影响 Sp1 和 HDAC2 底物之间的相互作用,从 Zp 释放 HDAC2,激活 Zta 表达,重新激活的 Zta 则通过 PKC 途径引发病毒复制。

传统抗疱疹病毒药物如更昔洛韦 (ganciclovir, GCV) 不能诱导潜伏期 EBV 表达所需的胸苷激酶

(thymidine kinase, TK) 表达,因此对于潜伏期 EBV,通过诱导 EBV 潜伏期基因表达,结合暴露于抗疱疹病毒药物,是一种有希望针对 EBV 相关淋巴瘤的靶向疗法^[78]。2010 年, Jones 等^[79]以一例复发的 EBV 阳性侵袭性淋巴瘤患者为研究对象,首次采用 HDACs 抑制剂丙戊酸钠 (VPA) 和抗病毒药 GCV 联合治疗,检测到裸露的循环 EBV-DNA,这为上述提到的 EBV 相关淋巴瘤靶向疗法提供了支持性证据。另外 VPA/GCV 不会损害 EBV 特异性 CD8⁺ T 细胞免疫。基于此理论,2012 年, Ghosh 等^[80]通过进一步研究,发现除了 SAHA 和 belinostat,短链脂肪酸如化合物 **30** 和丙戊酸、异羟肟酸如化合物 **31** (oxamflatin, 图 13)、化合物 **32** (scriptaid, 图 13) 和 panobinostat、苯甲酰胺类化合物如 **17**、环状四肽如 apicidin、海洋天然产物 largazole 类化合物如 **33~35** (图 13) 都可以诱导 TK 的表达,且均有效地增加 EBV⁺淋巴瘤细胞对 GCV 的敏感性,因此它们均有可能用作抗病毒药物增敏剂。

另外针对细胞可塑性的分化疗法是淋巴瘤另一种重要疗法,但是在实体恶性肿瘤治疗中的应用一直较为滞后^[81,82]。鼻咽癌 (nasopharyngeal cancer, NPC) 具有分化差和 EBV 的高流行率感染^[83,84]。2021 年, Xie 等^[85]报道了 EBV 潜伏膜蛋白 1 (Lmp latent membrane protein 1, LMP1) 的表达通过增强子结合蛋白 α (enhancer binding protein α , CEBPA) 的转录抑制诱导去分化和茎样状态,具有高可塑性。从机制上讲, LMP1 上调信号传导及转录激活蛋白 5A (signal transducer and activator of transcription 5A, STAT5A) 并将 HDAC1/2 招募到 CEBPA 基因组以减少其组蛋白乙酰化。而 HDACs 抑制剂可以恢复 CEBPA 表达^[86,87],从而逆转细胞去分化

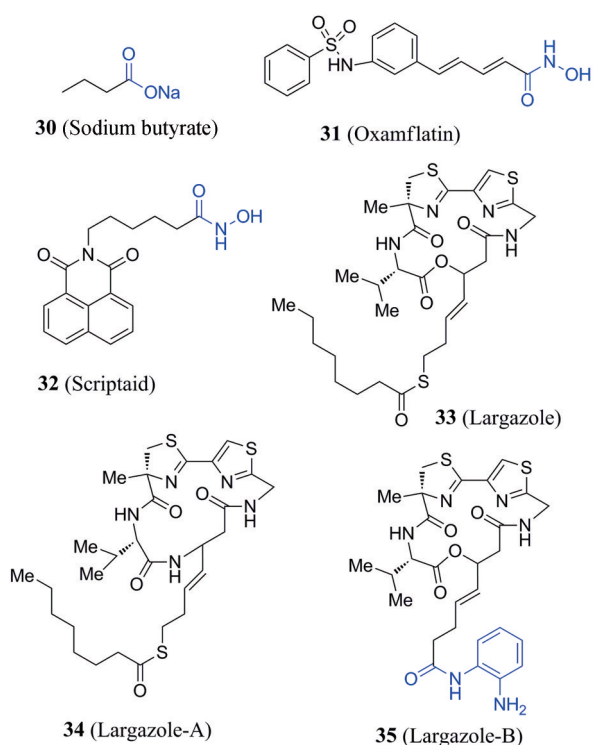


Figure 13 Structures of compounds 30–35

和小鼠异种移植模型中的茎样状态。这些发现为病毒诱导细胞可塑性提供了一种新的基于表观遗传学的见解,揭示了用HDACs抑制剂对实体瘤进行靶向细胞可塑性分化治疗的可能。

4 HDACs抑制剂和其他病毒的关系

除了上面讨论的HIV-1、COVID-19以及EBV,HDACs抑制剂在其他病毒上的抗病毒研究和应用,也有一些报道。

Lu等^[88]研究发现,选择性HDAC6抑制剂**36**(tubacin,图14)和**37**(tubastatin A,又称TBSA,图14)对日本脑炎病毒(Japanese encephalitis virus, JEV)有一定抑制作用。**36**($IC_{50} = 0.26 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)、**37**($IC_{50} = 1.75 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)可以抑制JEV诱导的细胞病变和凋亡,以及降低人小脑髓母细胞瘤细胞的病毒含量。此外当**36**($IC_{50} = 1.52 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)时,能有意降低细胞内JEV的含量。机制研究发现,**36**可能抑制了JEV感染细胞的相关蛋白(NS5)表达和反义RNA基因组合成。因此**36**具有成为JEV的宿主靶向剂的潜力。Panella等^[89]通过研究不同HDACs抑制剂对流感病毒A/Puerto Rico/8/34/H1N1(PR8病毒)在Madin-Darby犬肾细胞中复制的能力,发现选择性HDAC6/8抑制剂**38**(MC1568,图14,对HDAC6和HDAC8的 IC_{50} 分别为 5.94 和 $1.81 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)可以抑制PR8病毒复制,降低病毒蛋白及其mRNA的表达。进一步机制研究表明用**38**处理

过的样品,细胞核内病毒聚合酶PB1和PB2的含量降低,且病毒RNA转录受到限制。此外,当化合物**38**的浓度达到能够抑制HDAC6和HDAC8活性时,它可能会影响HSP90的活性,影响病毒聚合酶进入细胞核,从而影响病毒的转录,但是这种影响只是暂时的。因为在病毒复制后期,其本身会诱导HSP90超乙酰化,从而加速转录。因此在PR8病毒复制的早期阶段抑制HDAC6/8活性可能会抑制流感。Shapira等^[90]以疱疹病毒1(herpes simplex virus 1, HSV-1)荧光表达重组体的感染细胞为模型,考察3种HDACs抑制剂(SAHA、TSA和VPA)对病毒基因组影响,研究发现它们均可以减少病毒基因组表达。这可能是由于HDACs抑制剂处理的细胞过表达了参与内在抗病毒防御的宿主蛋白(nuclear dot 10, ND10),过表达的ND10核体与传入的疱疹基因组相互作用并抑制病毒复制,从而导致启动病毒表达的基因组数量减少。

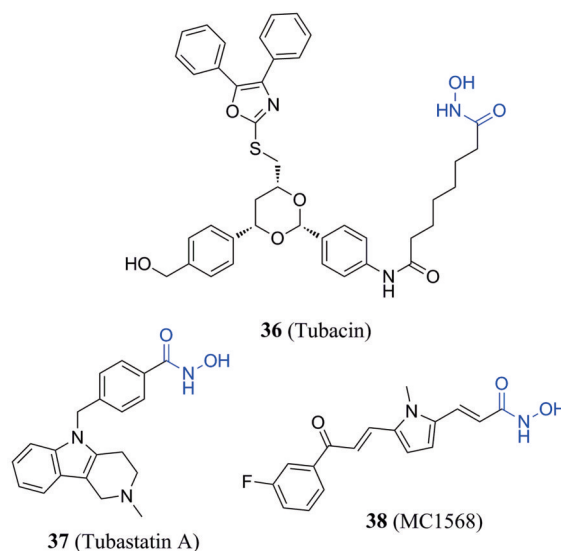


Figure 14 Structures of compounds 36–38

HDACs抑制剂在某些病毒的治疗中可能存在不良反应,比如Zhou等^[91]于2017年报道用SAHA或TSA治疗柯萨奇病毒B3(Coxsackie virus B3, CVB3)感染的BALB/c小鼠,发现抑制HDACs活性增强了心肌自噬体的形成,增加了CVB3复制并导致心肌细胞凋亡,从而导致病毒性心肌炎加重。因此不论在临床前还是临床治疗中使用HDACs抑制剂作为抗病毒的辅助治疗,都应仔细评估它们可能产生的潜在不良反应。

5 总结和展望

传统的抗病毒药物治标不治本,不能消除潜伏期的病毒,且长期使用存在耐药性问题。靶向表观遗传蛋白酶HDACs的小分子抑制剂在治疗癌症特别是血液肿瘤方面已经研究很深入,并有多个批准上市的药

物。在拓展HDACs小分子抑制剂的适应症方面,科学家们正在进行深入的研究,并有了不少新的发现和进展。其中治疗病毒感染和作为抗病毒的辅助药物方面,HDACs抑制剂也具有潜在的效果。上面讨论和总结了HDACs抑制剂在一型艾滋病毒(HIV-1)、新型冠状病毒(SARS-CoV-2)、EB病毒(EBV)和其他病毒等领域研究成果,旨在为本领域的科学工作者提供便利,并激发在这方面研究的新思路。

尽管HDACs抑制剂在抗病毒或者作为抗病毒的辅助治疗方面有一定的前景,但是距离开发出有效的靶向HDACs的抗病毒药物和辅助治疗药物,还是有一定的差距。首先,靶向HDACs的抑制剂都对正常细胞具有一定的毒副作用,对于已经被病毒感染的患者采用HDACs抑制剂进行辅助治疗,必须考虑安全性的问题,如潜在的不良反应是否会加剧患者的病情,是否患者能够耐受。因此,在将HDACs抑制剂用于抗病毒的治疗时,需对其治疗增益的分子机制进行深入研究,充分权衡该分子机制所带来的利弊效应。第二,HDACs亚型选择性的问题。众所周知,HDACs有多个亚型,到底哪个或哪些亚型与抗病毒或辅助抗病毒有关系,科学家们还在探索阶段,没有很完全清晰的轮廓。解决选择性和抗病毒关联性问题,就可以更有针对性地开发具有好的抗病毒药效,且比较安全没有不良反应的HDACs抑制剂药物。因此,详尽的阐述HDACs各个亚型与病毒发生发展的相互关系,会对特异性的HDACs抑制剂的应用带来指导,这方面的工作还需要更多的投入和科学家们更多的努力。第三,截止到目前,已经有多个小分子抑制剂和HDACs的共晶结构,这些结构将对进一步设计新的HDACs抑制剂提供有力的支撑,也会加速开发具有抗病毒药效或辅助治疗病毒感染的HDACs抑制剂,以及对进一步拓展HDACs抑制剂在其他疾病领域的适应症起到助力作用。

作者贡献: 许丽、毛念栋负责文献检索及论文撰写;张航、叶向阳和谢恬负责文章选题、指导写作;何兴瑞修改和校对文章。

利益冲突: 本文无利益冲突。

References

- [1] Grunstein M. Histone acetylation in chromatin structure and transcription [J]. *Nature*, 1997, 389: 349-352.
- [2] Li Y, Seto E. HDACs and HDAC inhibitors in cancer development and therapy [J]. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2016, 6: a026831.
- [3] de Ruijter AJ, van Gennip AH, Caron HN, et al. Histone deacetylases (HDACs): characterization of the classical HDAC family [J]. *Biochem J*, 2003, 370: 737-749.
- [4] Lim SA, Wei J, Nguyen TM, et al. Lipid signalling enforces functional specialization of Treg cells in tumours [J]. *Nature*, 2021, 591: 306-311.
- [5] Akimova T, Ge G, Golovina T, et al. Histone/protein deacetylase inhibitors increase suppressive functions of human FOXP3+ Tregs [J]. *Clin Immunol*, 2010, 136: 348-363.
- [6] Bi G, Jiang G. The molecular mechanism of HDAC inhibitors in anticancer effects [J]. *Cell Mol Immunol*, 2006, 3: 285-290.
- [7] He X, Li Z, Zhuo XT, et al. Novel selective histone deacetylase 6 (HDAC6) inhibitors: a patent review (2016-2019) [J]. *Recent Pat Anticancer Drug Discov*, 2020, 15: 32-48.
- [8] Chen D, Shen A, Fang G, et al. Tetrahydroisoquinolines as novel histone deacetylase inhibitors for treatment of cancer [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2016, 6: 93-99.
- [9] Huang Y, Chen S, Wu S, et al. Evodiamine-inspired dual inhibitors of histone deacetylase 1 (HDAC1) and topoisomerase 2 (TOP2) with potent antitumor activity [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2020, 10: 1294-1308.
- [10] Huang Y, Dong G, Li H, et al. Discovery of janus kinase 2 (JAK2) and histone deacetylase (HDAC) dual inhibitors as a novel strategy for the combinational treatment of leukemia and invasive fungal infections [J]. *J Med Chem*, 2018, 61: 6056-6074.
- [11] Gao Y, Zhang H, Lirussi F, et al. Dual inhibitors of histone deacetylases and other cancer-related targets: a pharmacological perspective [J]. *Biochem Pharmacol*, 2020, 182: 114224.
- [12] Suraweera A, O'Byrne KJ, Richard DJ. Combination therapy with histone deacetylase inhibitors (HDACi) for the treatment of cancer: achieving the full therapeutic potential of HDACi [J]. *Front Oncol*, 2018, 8: 92.
- [13] Mirzaei H, Ghorbani S, Khanizadeh S, et al. Histone deacetylases in virus-associated cancers [J]. *Rev Med Virol*, 2020, 30: e2085.
- [14] Stevenson M. HIV-1 pathogenesis [J]. *Nat Med*, 2003, 9: 853-860.
- [15] Freed EO. HIV-1 replication [J]. *Somat Cell Mol Genet*, 2001, 26: 13-33.
- [16] Cohen MS, Shaw GM, McMichael AJ, et al. Acute HIV-1 infection [J]. *N Engl J Med*, 2011, 364: 1943-1954.
- [17] Yeni P. Update on HAART in HIV [J]. *J Hepatol*, 2006, 44: S100-S103.
- [18] Davey RT, Bhat N, Yoder C, et al. HIV-1 and T cell dynamics after interruption of highly active antiretroviral therapy (HAART) in patients with a history of sustained viral suppression [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1999, 96: 15109-15114.
- [19] Buzón MJ, Massanella M, Llibre JM, et al. HIV-1 replication and immune dynamics are affected by raltegravir intensification of HAART-suppressed subjects [J]. *Nat Med*, 2010, 16: 460-465.

- [20] Chesney M. Adherence to HAART regimens [J]. AIDS Patient Care STDS, 2003, 17: 169-177.
- [21] Arts EJ, Hazuda DJ. HIV-1 antiretroviral drug therapy [J]. Cold Spring Harb Perspect Med, 2012, 2: a007161.
- [22] Riddler SA, Smit E, Cole SR, et al. Impact of HIV infection and HAART on serum lipids in men [J]. JAMA, 2003, 289: 2978-2982.
- [23] Deeks SG. HIV: shock and kill [J]. Nature, 2012, 487: 439-440.
- [24] Darcis G, van Driessche B, van Lint C. HIV latency: should we shock or lock? [J]. Trends Immunol, 2017, 38: 217-228.
- [25] Hashemi P, Sadowski I. Diversity of small molecule HIV-1 latency reversing agents identified in low- and high-throughput small molecule screens [J]. Med Res Rev, 2020, 40: 881-908.
- [26] Wightman F, Ellenberg P, Churchill M, et al. HDAC inhibitors in HIV [J]. Immunol Cell Biol, 2012, 90: 47-54.
- [27] Mejia EJ, Loveridge ST, Stepan G, et al. Study of marine natural products including resorcyclic acid lactones from *Humicola fuscoatra* that reactivate latent HIV-1 expression in an *in vitro* model of central memory CD4⁺ T cells [J]. J Nat Prod, 2014, 77: 618-624.
- [28] Duvic M, Talpur R, Ni X, et al. Phase 2 trial of oral vorinostat (suberoylanilide hydroxamic acid, SAHA) for refractory cutaneous T-cell lymphoma (CTCL) [J]. Blood, 2007, 109: 31-39.
- [29] Ellis L, Pan Y, Smyth GK, et al. Histone deacetylase inhibitor panobinostat induces clinical responses with associated alterations in gene expression profiles in cutaneous T-cell lymphoma [J]. Clin Cancer Res, 2008, 14: 4500-4510.
- [30] Søgaard OS, Graversen ME, Leth S, et al. The depsipeptide romidepsin reverses HIV-1 latency *in vivo* [J]. PLoS Pathog, 2015, 11: e1005142.
- [31] Bresciani A, Ontoria JM, Biancofiore I, et al. Improved selective class I HDAC and novel selective HDAC3 inhibitors: beyond hydroxamic acids and benzamides [J]. ACS Med Chem Lett, 2019, 10: 481-486.
- [32] Liu J, Kelly J, Yu W, et al. Selective class I HDAC inhibitors based on aryl ketone zinc binding induce HIV-1 protein for clearance [J]. ACS Med Chem Lett, 2020, 11: 1476-1483.
- [33] Gunst JD, Kjær K, Olesen R, et al. Fimepinostat, a novel dual inhibitor of HDAC and PI3K, effectively reverses HIV-1 latency *ex vivo* without T cell activation [J]. J Virus Erad, 2019, 5: 133-137.
- [34] Feng J, Li JQ. Synthesis and anti-tumor activities of *N*-(amino-pyridine) benzamide derivatives [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2009, 44: 1376-1382.
- [35] Li JH, Ma J, Kang W, et al. The histone deacetylase inhibitor chidamide induces intermittent viraemia in HIV-infected patients on suppressive antiretroviral therapy [J]. HIV Med, 2020, 21: 747-757.
- [36] Wightman F, Lu HK, Solomon AE, et al. Entinostat is a histone deacetylase inhibitor selective for class I histone deacetylases and activates HIV production from latently infected primary T cells [J]. AIDS, 2013, 27: 2853-2862.
- [37] Lim H, Kim KC, Son J, et al. Synergistic reactivation of latent HIV-1 provirus by PKA activator dibutyryl-cAMP in combination with an HDAC inhibitor [J]. Virus Res, 2017, 227: 1-5.
- [38] Huang L, Lai WH, Zhu L, et al. Elimination of HIV-1 latently infected cells by gnidimacrin and a selective HDAC inhibitor [J]. ACS Med Chem Lett, 2018, 9: 268-273.
- [39] Micheva-Viteva S, Kobayashi Y, Edelstein LC, et al. High-throughput screening uncovers a compound that activates latent HIV-1 and acts cooperatively with a histone deacetylase (HDAC) inhibitor [J]. J Biol Chem, 2011, 286: 21083-21091.
- [40] Ao M, Pan Z, Qian Y, et al. Design, synthesis, and biological evaluation of AV6 derivatives as novel dual reactivators of latent HIV-1 [J]. RSC Adv, 2018, 8: 17279-17292.
- [41] Cai X, Chiu YH, Chen ZJ. The cGAS-cGAMP-STING pathway of cytosolic DNA sensing and signaling [J]. Mol Cell, 2014, 54: 289-296.
- [42] Ding C, Song Z, Shen A, et al. Small molecules targeting the innate immune cGAS-STING-TBK1 signaling pathway [J]. Acta Pharm Sin B, 2020, 10: 2272-2298.
- [43] Palermo E, Acchioni C, Di Carlo D, et al. Activation of latent HIV-1 T cell reservoirs with a combination of innate immune and epigenetic regulators [J]. J Virol, 2019, 93: e01194-011919.
- [44] Ma C, Ma X, Jiang B, et al. A novel inactivated whole-cell *Pseudomonas aeruginosa* vaccine that acts through the cGAS-STING pathway [J]. Signal Transduct Target Ther, 2021, 6: 353.
- [45] Hasöksüz M, Kiliç S, Saraç F. Coronaviruses and SARS-CoV-2 [J]. Turk J Med Sci, 2020, 50: 549-556.
- [46] Paraskevis D, Kostaki EG, Magiorkinis G, et al. Full-genome evolutionary analysis of the novel corona virus (2019-nCoV) rejects the hypothesis of emergence as a result of a recent recombination event [J]. Infect Genet Evol, 2020, 79: 104212.
- [47] Shang J, Wan Y, Luo C, et al. Cell entry mechanisms of SARS-CoV-2 [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2020, 117: 11727-11734.
- [48] Kim D, Lee JY, Yang JS, et al. The architecture of SARS-CoV-2 transcriptome [J]. Cell, 2020, 181: 914-921.
- [49] Cortegiani A, Ingoglia G, Ippolito M, et al. A systematic review on the efficacy and safety of chloroquine for the treatment of COVID-19 [J]. J Crit Care, 2020, 57: 279-283.
- [50] Cao B, Wang Y, Wen D, et al. A trial of lopinavir-ritonavir in adults hospitalized with severe COVID-19 [J]. N Engl J Med, 2020, 382: 1787-1799.
- [51] Beigel JH, Tomashek KM, Dodd LE, et al. Remdesivir for the treatment of COVID-19-preliminary report [J]. N Engl J Med, 2020, 383: 992-994.
- [52] Pilkington V, Pepperrell T, Hill A. A review of the safety of favipiravir-a potential treatment in the COVID-19 pandemic? [J]. J Virus Erad, 2020, 6: 45-51.
- [53] Liu K, Zou R, Cui W, et al. Clinical HDAC inhibitors are effective

- drugs to prevent the entry of SARS-CoV2 [J]. ACS Pharmacol Transl Sci, 2020, 3: 1361-1370.
- [54] Teodori L, Sestili P, Madiari V, et al. MicroRNAs bioinformatics analyses identifying HDAC pathway as a putative target for existing anti-COVID-19 therapeutics [J]. Front Pharmacol, 2020, 11: 582003.
- [55] Phiel CJ, Zhang F, Huang EY, et al. Histone deacetylase is a direct target of valproic acid, a potent anticonvulsant, mood stabilizer, and teratogen [J]. J Biol Chem, 2001, 276: 36734-36741.
- [56] Unal G, Turan B, Balcioglu YH. Immunopharmacological management of COVID-19: potential therapeutic role of valproic acid [J]. Med Hypotheses, 2020, 143: 109891.
- [57] Pitt B, Sutton NR, Wang Z, et al. Potential repurposing of the HDAC inhibitor valproic acid for patients with COVID-19 [J]. Eur J Pharmacol, 2021, 898: 173988.
- [58] Li J, Richards EM, Handberg EM, et al. Butyrate regulates COVID-19-relevant genes in gut epithelial organoids from normotensive rats [J]. Hypertension, 2021, 77: e13-e16.
- [59] George PM, Wells AU, Jenkins RG. Pulmonary fibrosis and COVID-19: the potential role for antifibrotic therapy [J]. Lancet Respir Med, 2020, 8: 807-815.
- [60] Vasarmidi E, Tsitoura E, Spandidos DA, et al. Pulmonary fibrosis in the aftermath of the COVID-19 era (Review) [J]. Exp Ther Med, 2020, 20: 2557-2560.
- [61] Tale S, Ghosh S, Meitei SP, et al. Post-COVID-19 pneumonia pulmonary fibrosis [J]. QJM, 2020, 113: 837-838.
- [62] Richeldi L, Collard HR, Jones MG. Idiopathic pulmonary fibrosis [J]. Lancet, 2017, 389: 1941-1952.
- [63] Margaritopoulos GA, Vasarmidi E, Antoniou KM. Pirfenidone in the treatment of idiopathic pulmonary fibrosis: an evidence-based review of its place in therapy [J]. Core Evid, 2016, 11: 11-22.
- [64] Kato M, Sasaki S, Nakamura T, et al. Gastrointestinal adverse effects of nintedanib and the associated risk factors in patients with idiopathic pulmonary fibrosis [J]. Sci Rep, 2019, 9: 12062.
- [65] Wang Y, Zhao L, Jiao FZ, et al. Histone deacetylase inhibitor suberoylanilide hydroxamic acid alleviates liver fibrosis by suppressing the transforming growth factor- β 1 signal pathway [J]. Hepatobiliary Pancreat Dis Int, 2018, 17: 423-429.
- [66] Saito S, Zhuang Y, Suzuki T, et al. HDAC8 inhibition ameliorates pulmonary fibrosis [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2019, 316: L175-L186.
- [67] Krishna MP, Sivashanmugam K, Kandasamy M, et al. Repurposing of histone deacetylase inhibitors: a promising strategy to combat pulmonary fibrosis promoted by TGF- β signalling in COVID-19 survivors [J]. Life Sci, 2021, 266: 118883.
- [68] Mohandas S, Yadav PD, Shete A, et al. SARS-CoV-2 delta variant pathogenesis and host response in Syrian hamsters [J]. Viruses, 2021, 13: 1773.
- [69] Oyama T, Yamamoto K, Asano N, et al. Age-related EBV-associated B-cell lymphoproliferative disorders constitute a distinct clinicopathologic group: a study of 96 patients [J]. Clin Cancer Res, 2007, 13: 5124-5132.
- [70] Carbone A, Gloghini A, Dotti G. EBV-associated lymphoproliferative disorders: classification and treatment [J]. Oncologist, 2008, 13: 577-585.
- [71] Au WY, Pang A, Choy C, et al. Quantification of circulating Epstein-Barr virus (EBV) DNA in the diagnosis and monitoring of natural killer cell and EBV-positive lymphomas in immunocompetent patients [J]. Blood, 2004, 104: 243-249.
- [72] Babcock GJ, Decker LL, Volk M, et al. EBV persistence in memory B cells *in vivo* [J]. Immunity, 1998, 9: 395-404.
- [73] Zur Hausen H, O'Neill FJ, Freese UK, et al. Persisting oncogenic herpesvirus induced by the tumour promoter TPA [J]. Nature, 1978, 272: 373-375.
- [74] Li Z, Chen X, Li L, et al. EBV encoded miR-BHRF1-1 potentiates viral lytic replication by downregulating host p53 in nasopharyngeal carcinoma [J]. Int J Biochem Cell Biol, 2012, 44: 275-279.
- [75] Shimizu N, Yoshiyama H, Takada K. Clonal propagation of Epstein-Barr virus (EBV) recombinants in EBV-negative Akata cells [J]. J Virol, 1996, 70: 7260-7263.
- [76] Thorley-Lawson DA, Geilinger K. Monoclonal antibodies against the major glycoprotein (gp350/220) of Epstein-Barr virus neutralize infectivity [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1980, 77: 5307-5311.
- [77] Tsai PF, Lin SJ, Weng PL, et al. Interplay between PKCdelta and Sp1 on histone deacetylase inhibitor-mediated Epstein-Barr virus reactivation [J]. J Virol, 2011, 85: 2373-2385.
- [78] Faller DV, Ghosh SK, Perrine SP, et al. Histone deacetylase inhibitors: potent inducers of tumor latent EBV thymidine kinase induction [J]. Blood, 2010, 116: 1831.
- [79] Jones K, Nourse J, Corbett G, et al. Sodium valproate in combination with ganciclovir induces lysis of EBV-infected lymphoma cells without impairing EBV-specific T-cell immunity [J]. Int J Lab Hematol, 2010, 32: e169-e174.
- [80] Ghosh SK, Perrine SP, Williams RM, et al. Histone deacetylase inhibitors are potent inducers of gene expression in latent EBV and sensitize lymphoma cells to nucleoside antiviral agents [J]. Blood, 2012, 119: 1008-1017.
- [81] Sell S. Stem cell origin of cancer and differentiation therapy [J]. Crit Rev Oncol Hematol, 2004, 51: 1-28.
- [82] Ambrosio MR, De Falco G, Rocca BJ, et al. Langerhans cell sarcoma following marginal zone lymphoma: expanding the knowledge on mature B cell plasticity [J]. Virchows Arch, 2015, 467: 471-480.
- [83] Hitt MM, Allday MJ, Hara T, et al. EBV gene expression in an NPC-related tumour [J]. EMBO J, 1989, 8: 2639-2651.
- [84] Lee SP, Chan AT, Cheung ST, et al. CTL control of EBV in nasopharyngeal carcinoma (NPC): EBV-specific CTL responses

- in the blood and tumors of NPC patients and the antigen-processing function of the tumor cells [J]. *J Immunol*, 2000, 165: 573-582.
- [85] Xie J, Wang Z, Fan W, et al. Targeting cancer cell plasticity by HDAC inhibition to reverse EBV-induced dedifferentiation in nasopharyngeal carcinoma [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2021, 6: 333.
- [86] Lu GD, Leung CHW, Yan B, et al. *C/EBP α* is up-regulated in a subset of hepatocellular carcinomas and plays a role in cell growth and proliferation [J]. *Gastroenterology*, 2010, 139: 632-643.
- [87] Li G, Yao W, Jiang H. Short-chain fatty acids enhance adipocyte differentiation in the stromal vascular fraction of porcine adipose tissue [J]. *J Nutr*, 2014, 144: 1887-1895.
- [88] Lu CY, Chang YC, Hua CH, et al. Tubacin, an HDAC6 selective inhibitor, reduces the replication of the Japanese encephalitis virus *via* the decrease of viral RNA synthesis [J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18: 954.
- [89] Panella S, Marcocci ME, Celestino I, et al. MC1568 inhibits HDAC6/8 activity and influenza A virus replication in lung epithelial cells: role of Hsp90 acetylation [J]. *Future Med Chem*, 2016, 8: 2017-2031.
- [90] Shapira L, Ralph M, Tomer E, et al. Histone deacetylase inhibitors reduce the number of herpes simplex virus-1 genomes initiating expression in individual cells [J]. *Front Microbiol*, 2016, 7: 1970.
- [91] Zhou L, He X, Gao B, et al. Inhibition of histone deacetylase activity aggravates coxsackievirus B3-induced myocarditis by promoting viral replication and myocardial apoptosis [J]. *J Virol*, 2015, 89: 10512-10523.