

• 综述 •

肽酰精氨酸脱胺酶抑制剂 YW3-56 的研究进展

贾桂岩¹(综述),赵自刚^{2*}(审校)

(1.河北北方学院基础医学院/微循环研究所,河北 张家口 075000;2.河北省急危重症发病机制及干预重点实验室,河北 石家庄 050017)

[摘要] 6-二甲基氨基萘酚-2-基-N-S-[1-苄基氨甲酰基-4-(2-氯乙酰氨基丁基)]-甲酰胺(YW3-56)水溶性较差,是肽酰精氨酸脱胺酶的特异性抑制剂,分子结构比较复杂。YW3-56可以通过调节自噬、中性粒细胞胞外诱捕网以及炎症反应等作用,在结直肠癌、乳腺癌、非小细胞肺癌、鼻咽癌等多种肿瘤以及脓毒症、严重失血、急性肾损伤、腹主动脉瘤破裂等危重病发挥着重要的干预作用。现综述近年来 YW3-56 的应用进展,期望加深对 YW3-56 药理学作用的认识,并为肿瘤以及危重病的治疗提供新思路。

[关键词] 肿瘤;肽酰精氨酸脱胺酶;YW3-56 doi:10.3969/j.issn.1007-3205.2024.09.022

[中图分类号] R739.9 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1007-3205(2024)09-1108-05

6-二甲基氨基萘酚-2-基-N-S-[1-苄基氨甲酰基-4-(2-氯乙酰氨基丁基)]-甲酰胺(YW3-56),分子式为 C₂₇H₃₂CIN₅O₂,是肽酰精氨酸脱胺酶(peptidyl arginine deiminase, PAD)的新型抑制剂。PAD家族由5种密切相关的蛋白质(PAD1-4和PAD6)组成,是组蛋白翻译后修饰的重要酶,具有将甲基化的精氨酸转化为瓜氨酸的功能,且有组织和底物特异性^[1],从而参与多种重要的生物过程,进而参与许多人类疾病或病理过程的发生、发展进程,如肿瘤、心血管疾病、缺血再灌注等。YW3-56作为PAD的抑制剂,成为与PAD相关疾病或病理过程的有效候选药物,从而具有重要作用。本文综述YW3-56的应用进展,期望加深YW3-56药理学作用的认识,拓展YW3-56的应用前景,为相关疾病的防治提供新思路。

1 YW3-56 的结构

YW3-56水溶性较差, π - π 堆垛是YW3-56形成2个折叠构象1和2的驱动力,PAD4活性位点的分子对接倾向于折叠构象2,分子间的相互作用引导YW3-56的5个分子形成环状五聚体,环状五聚体

之间的分子间相互作用驱动它们迅速形成纳米环,纳米环逐渐组装到纳米胶囊上。Zhu等^[2]通过将YW3-56溶解于乙醇中,形成0.1 μ mol/L的溶液,置于室温下保持30 min或4 $^{\circ}$ C下保持7 d,之后将溶液滴在铜栅上并将网格风干过夜,随后使用透射电子显微镜观察,显示在乙醇和室温下30 min,直径约5 nm的环五聚体可组装成直径150~600 nm的纳米环,在乙醇中,4 $^{\circ}$ C反应7 d,环状五聚体形成直径约50 nm的纳米胶囊。观察结果表明,快速形成的纳米环可以逐渐转化为纳米胶囊。扫描电子显微镜显示,室温乙醇溶液析出的析出相是一些直径50~500 nm纳米环的聚集物,而4 $^{\circ}$ C乙醇溶液析出的析出相是直径88~529 nm纳米胶囊的聚集物。原子力显微镜图像显示,室温乙醇溶液析出的析出相是直径为83~762 nm纳米环的聚集物,而4 $^{\circ}$ C乙醇溶液析出的析出相是直径为14~54 nm纳米胶囊的聚集物。

2 YW3-56 的药理作用

2.1 YW3-56 抗肿瘤作用 最初,YW3-56被开发为一种有效的PAD4抑制剂,用于多种癌症的治疗。先导化合物YW3-56在低微摩尔浓度下抑制癌细胞生长,抑制率比氯脒(Cl-amidine, CLA)增加了60倍以上。YW3-56高效的抑制肿瘤细胞生长效果是由于2个可能的因素:通过优化骨架增加对PAD4的抑制程度;通过在N α 位置添加疏水性更强的二甲基酰胺-萘部分和在C α 位置添加苯基环,大大提高了YW3-56的膜渗透性^[3]。

[收稿日期]2023-04-25

[基金项目]国家自然科学基金面上项目(82270524);河北省硕士在读研究生创新能力培养资助项目(CXZZSS2023150)

[作者简介]贾桂岩(1999-),女,河北保定人,河北北方学院医学硕士研究生,从事病理学研究。

* 通信作者。E-mail:zhaozg@hebeinu.edu.cn

肿瘤细胞对 YW3-56 治疗有非常快的反应性。Wang 等^[4]将 YW3-56 加入 U2OS 人骨肉瘤细胞 6 h 后,利用 YW3-56 结构中的萘基产生的内在荧光信号评估细胞对 YW3-56 的吸收,结果显示,与未处理的细胞相比,经过 YW3-56 处理后的所有细胞荧光信号都显著增加,表明 YW3-56 在 PAD4 抑制和细胞膜穿透方面具有更好的功效,从而对癌细胞有很高的杀伤力。此外,还观察到细胞形态发生了明显的变化,表现为细胞附着缺失和胞质气泡形成,且肿瘤细胞的膜高通透性与药物数 h 内立即诱导应激诱导蛋白 2(Sestrin 2, SESN2)和 DNA 损伤诱导转录 4(DNA damage-induced transcript 4, DDIT4)的基因表达相一致。一般来说,自噬是细胞对各种应激信号的重要适应反应,SESN2 一旦表达,即可与 TSC1-TSC2 蛋白复合物一起,抑制雷帕霉素靶蛋白复合物 1(mechanistic target of rapamycin complex 1, mTORC1)介导蛋白质合成过程中的靶蛋白磷酸化,引起蛋白质翻译速率降低,伴随细胞自噬增加^[5]。SESN2 受 PAD4 直接调控,是调控 mTORC1 底物 p70S6 激酶(p70S6 kinase, p70S6K)磷酸化的充分因子;YW3-56 激活 SESN2 表达,抑制 p70S6K 磷酸化,成为 YW3-56 诱导自噬的机制之一。YW3-56 处理亦可导致自噬体和自噬溶酶体积累以及 p62/螯合体 1(sequestosome 1, SQSTM1)积累,表明 YW3-56 通过抑制自噬囊泡降解来加剧自噬负担。因此, YW3-56 通过诱导 SESN2 表达、随后抑制 mTORC1 信号通路,以 p53 依赖性方式抑制 U2OS 人骨肉瘤细胞的生长。研究表明^[4],在 2~4 μm 浓度下, YW3-56 主要通过减缓细胞分裂表现出细胞抑制作用,而在较高浓度下,则通过改变细胞形态和杀死细胞发挥细胞毒性作用。

有学者对人结直肠癌 HCT-116 细胞进行了研究^[6],将 YW3-56 与 HCT-116 细胞共同孵育,流式细胞术分析显示随着孵育时间的延长, YW3-56 显著增加了细胞凋亡率,同时应用蛋白质印迹技术表明 YW3-56 抑制了瓜氨酸化组蛋白 H3(citrulline histone H3, CitH3)的活性,增加了微管相关蛋白轻链 3(microtubule-associated protein light chain 3, LC3)-I 和 LC3-II 蛋白表达,降低了 PAD4 表达,表明 YW3-56 抑制了 HCT-116 细胞溶酶体对自噬囊泡的破坏,在 HCT-116 异种移植小鼠模型中, YW3-56 亦抑制了肿瘤生长。Lu 等^[7]构建了 S-180 的肉瘤小鼠异种移植模型,静脉注射 YW3-56 后获取肿瘤组织,显示 YW3-56 抑制了肿瘤生长的活性

并显著抑制肿瘤组织中组蛋白 H3 瓜氨酸化;在人非小细胞肺癌 A549 荷瘤小鼠模型上, YW3-56 治疗后,肺部未见明显转移性结节,且血管周围炎症细胞浸润减少,减少了外周血白细胞和淋巴细胞的数量,增加了肿瘤细胞自噬体的数量,以上结果表明 YW3-56 通过诱导自噬发挥抑制肿瘤生长、减少肿瘤转移和炎症浸润等作用。

激活转录因子 4(activating transcription factor 4, ATF4)是基本区域-亮氨酸拉链(basic region-leucine zipper, bZip)的一个转录因子,同时也是一种由包括缺氧、内质网应激、氨基酸剥夺和氧化应激在内的应激信号诱导的转录因子,控制着广泛的适应性基因的表达,常在癌症细胞中表达上调,参与细胞存活、凋亡、自噬和衰老的下游靶基因队列转录的调控^[8];同时, ATF4 激活亦可激活 SESN2,从而抑制哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mechanistic target of rapamycin, mTOR)信号通路^[9]。研究^[10]表明, YW3-56 可以通过蛋白激酶 R 样内质网激酶(protein kinase R-like ER kinase, PERK)-真核细胞起始因子 2 α (eukaryotic translation initiation factor 2 α , eIF2 α)-ATF4 信号级联诱导内质网应激,在人乳腺癌细胞 MDA-MB-231 中,经 YW3-56 处理后,细胞自噬囊泡增加,线粒体减少,自噬体向自噬溶酶体转化受到抑制, LC3B-II 和 p62/SQSTM1 蛋白降解被抑制。可见, YW3-56 介导乳腺癌细胞的细胞死亡以线粒体耗竭和自噬干扰为特征。此外, YW3-56 治疗可有效抑制裸鼠三阴性乳腺癌异种移植肿瘤的生长。

鼻咽癌是一种起源于鼻咽上皮的鳞状细胞癌,具有独特的发病地理模式,它在中国南方最为普遍,与多种危险因素有关,包括 EB 病毒(Epstein-Barr virus, EBV)感染、遗传易感性和环境因素,同时也是发病率较高的头颈部肿瘤^[11]。研究表明,经过 YW3-56 腹腔注射处理后,鼻咽癌小鼠的肿瘤体积明显变小,免疫组织化学染色测定显示磷酸化-磷脂酰肌醇 3-激酶(phosphorylated phosphatidylinositol-3-kinase, p-PI3K)阳性增殖肿瘤细胞明显减少,通过蛋白质印迹分析移植组织 BCL-2 相关 X 蛋白(BCL-2-associated X protein, Bax)、BCL2 拮抗剂/杀伤剂 1(BCL2 antagonist/killer 1, Bak)、Bim、Bad 和 cleaved caspase-3 表达水平升高, Bcl-2、Bcl-xl、Mcl-1 表达水平降低。可见, YW3-56 对鼻咽癌细胞生长具有明显的抑制作用,表现在促进了 DNA 损伤、细胞凋亡,提高了放射敏感性^[12]。上述结果表明, YW3-56 对多种肿瘤

细胞生长具有明显的抑制作用,主要机制涉及诱导自噬、线粒体损伤、细胞凋亡等,详细机制仍需进一步明确。

2.2 YW3-56 在危重病领域的应用 脓毒症是机体对严重感染适应失调出现的威胁生命健康的致死性器官功能衰竭的疾病,是重症患者死亡的主要原因之一。CitH3 因其出现早、特异度高、半衰期长、对治疗干预的反应性强,成为脓毒症的生物标志物之一^[13]。PAD4 催化了组蛋白的瓜氨酸化,形成的 CitH3 是体内中性粒细胞胞外诱捕网(neutrophil extracellular traps, NETs)形成的核心,中性粒细胞通过释放 NETs 在先天免疫中起关键作用。严重感染后,NETs 释放到血液中,过量的 NETs,并引起局部组织损伤。因此,以抑制 PAD4、减少 NETs 释放成为脓毒症防治的新方向。研究^[14-16]显示,在脓毒症小鼠模型上,YW3-56 治疗减弱了脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)诱导的 PAD4 激活、减少了 CitH3 产生,显著降低了外周血中 CitH3 水平以及炎性细胞因子白细胞介素(interleukin, IL)-6、肿瘤坏死因子(interleukin, TNF)- α 、IL-1 β 、游离 DNA (circulating-free cell DNA, cf-DNA)水平,并且增加了中性粒细胞的数量,改变了中性粒细胞组织稳态,减少了小鼠肺部 NETs 形成以及炎症反应,从而阻断 LPS 引起的肺血管渗漏,减轻肺组织水肿与结构损伤,并显著提高了脓毒症小鼠的生存率。转录组学分析显示,YW3-56 治疗逆转了 LPS 引起肺组织多种炎症基因与受体的高表达,包括 Il1a、Il1b、Il1rn、Il1f9、Il6、Il12a、Il15、Il17c、Il23a、Ifnb1、Ifng、Csf3、Lif、Osm、Gdf2、Gdf5、Gdf15、Inhbb 等细胞因子的基因, Il1r1、Il1r2、Il2rb、Il12rb2、Il13ra1、Il15ra、Il17ra、Osmr、Edar 等细胞因子受体, Ccl3、Ccl4、Ccl5、Ccl11、Ccl17、Ccl19、Ccl20、Ccl22、Ccl28、Cxcl1、Cxcl2、Cxcl3、Cxcl5、Cxcl9、Cxcl10、Cxcl11、Cxcl14、Cxcl17 等趋化因子、以及趋化因子受体 Ccr7 和 Ccr8, NF-kappa B、IL-17、Toll 样受体(Toll-like receptor, TLR)信号通路相关基因(Nfkbia、Myd88、Lbp、Traf6)^[16]。以上研究结果表明,YW3-56 对脓毒症肺损伤具有防治作用,这一作用与抑制 NETs、炎症反应有关。其详细机制有待深入研究。

严重出血通过招募中性粒细胞和促进炎性细胞因子的释放引起平民创伤和战伤患者发病和死亡的常见原因。循环中性粒细胞化学引诱剂 1 (cytokine-induced neutrophil chemoattractant 1, CINC-1)水平被用作器官炎症和损伤后续发展的早

期标志物。PAD 抑制剂 YW3-56 显著提高了致命性出血性休克(失血量为全血量的 55%)大鼠的存活率,降低了细胞间黏附分子 1 (intercellular adhesion molecules-1, ICAM-1)和 CINC-1 表达并减弱了中性粒细胞在肺部的浸润,降低了血清 CINC-1 水平,进一步减轻了肺损伤;YW3-56 降低缺氧/复氧刺激巨噬细胞 TNF- α 和 IL-6 的产生,显著保护巨噬细胞免于死亡,提高了细胞活性^[17]。这一研究显示了 YW3-56 的良好抗休克作用,但是否与 NETs 有关及其详细机制还需要进一步关注。

急性肾损伤(acute kidney injury, AKI)是一种常见的临床疾病,引起的内环境紊乱成为重症患者高病死率的一个危险因素^[18]。缺血/再灌注(ischemia/reperfusion, I/R)是引起 AKI 的常见原因之一。小鼠肾 I/R 后 24h,肾组织出现白细胞浸润,PAD4 高度表达,CitH3 增多,NETs 生成增多,促炎细胞因子增多,随后肾功能逐渐恶化;PAD4 缺陷小鼠、YW3-56 治疗小鼠或脱氧核糖核酸 I (deoxyribonuclease I, DNase I)治疗小鼠的上述指标得到改善,48 h 后肾功能恢复;来自野生型小鼠的中性粒细胞通过静脉注射到正常小鼠后,引起了肾功能损害,而 PAD4 缺陷小鼠的中性粒细胞则无此作用;以上结果表明抑制 PAD4 可以保护小鼠免受 I/R 引起的肾损伤,YW3-56 干预 AKI 的药理学作用是通过抑制 NETs 实现的^[19]。

腹主动脉瘤(abdominal aortic aneurysm, AAA)破裂会引起高达 70%的 30 d 病死率^[20]。AAA 在灾难性破裂事件之前通常无临床症状,伴有进行性腹主动脉扩张 3.0 cm 或更大,当血液脉动产生的血流动力学超过了 AAA 壁强度时,就会发生 AAA 破裂,引起大出血,发生休克。这一过程涉及多个病理过程,包括炎症细胞浸润、新生血管形成、各种蛋白酶和细胞因子的产生和活化、细胞外基质降解和血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cell, VSMC)凋亡。在血管紧张素 II (angiotensin II, Ang II)输注诱导的 AAA 小鼠模型中,CitH3、髓过氧化物酶(myeloperoxidase, MPO)和中性粒细胞弹性蛋白酶(neutrophil elastase, NE)水平升高,说明在 AAA 发生过程中有 NETs 的形成;同时用 NETs 刺激 VSMC 24 h,利用流式细胞术分析 Annexin V-FITC/PI 染色结果,表明 NETs 的处理增加了 VSMC 凋亡,并且在 NETs 刺激后对 VSMC 进行蛋白免疫印迹技术检测,结果表明 NETs 给药后 p38 丝裂原活化蛋白激酶(p38 mitogen activated protein kinase, p38MAPK)和 c-Jun 氨基末端激酶

(c-Jun N-terminalkinase, JNK)的磷酸化水平显著升高,证实 NETs 通过 p38MAPK/JNK 信号通路加速 VSMC 凋亡;经过静脉注射 YW3-56 治疗 AAA 小鼠,减少了 Ang II 诱导的 NETs 形成,缓解炎症反应,从而使主动脉直径减小、VSMC 凋亡减弱、弹性蛋白降解减少,进而有效地缓解了 Ang II 诱导的 AAA 破裂^[21]。

2.3 YW3-56 在其他炎症相关疾病中的可能作用

PAD4 在中性粒细胞中高表达并含有核定位信号,对于 NETs 的形成是必不可少的,且 NETs 在免疫性疾病和血栓形成过程的炎症反应密切相关^[22],故 PAD 可能在炎症相关疾病的发展进程中发挥重要作用。研究^[23-25]表明,PAD 活性异常与许多免疫疾病密切相关,如类风湿性关节炎、多发性硬化症、系统性红斑狼疮、牙周炎、新型冠状病毒肺炎、牛皮癣和炎症性肠病,而 YW3-56 作为 PAD 抑制剂,是否参与了这些炎症相关疾病的发生进程,YW3-56 能否成为这些炎症相关疾病的新药物,尚无相关报道。

以上表述说明,YW3-56 对脓毒症、失血性休克、AKI、AAA 破裂等急危重症具有较好的干预作用,整体表现为提高存活率、抑制 NETs 释放、干预失控的炎症反应,但详细机制需要进一步研究。鉴于自噬、线粒体损伤、细胞凋亡在急危重症后组织器官损伤的发生过程中发挥重要作用,YW3-56 的良好作用是否与自噬正常化、减少线粒体损伤与细胞凋亡有关,需要在今后的研究中多多关注。同时,YW3-56 能否成为防治其他炎症相关疾病的新型药物,需要深入研究。

3 总结与展望

综上所述,YW3-56 不仅可以应用于癌症防治的研究领域,在危重病防治领域也取得了一些进展。作为 PAD4 的特异性抑制剂,YW3-56 对 PAD4 介导或参与的各种生物学进程均可发挥抑制作用。一方面,YW3-56 通过诱导自噬、线粒体损伤、细胞凋亡等过程,引起过度生长的肿瘤细胞死亡;另一方面,YW3-56 通过减少 NETs 的产生与释放,降低炎症反应,有效减轻组织细胞损伤,从而提高危重病动物的存活率。应当指出,对 YW3-56 的结构与应用有了一定的了解,但仍存在一定的局限性。首先,YW3-56 水溶性差,结构相对复杂,制造工艺繁琐,不易合成,国内外仅有少数厂家仍在生产、供应药物,使其相关的基础以及临床研究受到了一定程度的阻碍,对其发挥良好药理学作用的分子机制尚不

完全清楚;而 YW3-56 在干预癌症和危重症疾病的实践中具有重要作用,效价极高,因此,研究者应探寻更高效、更低成本的合成方式,为今后的相关研究提供便利条件,加速破解 YW3-56 的分子机制。其次,YW3-56 在不同种属、不同疾病背景下的给药方式和计量均不相同,均有待于进一步对比研究。最后,目前对 YW3-56 的研究多停留在临床前的试验观察,还有待深入研究其作用机制;目前数据以及机制研究均来自动物实验或细胞实验,这些结果距离人体还有很大的差距,因此,如何将 YW3-56 应用至防治肿瘤、危重病的临床实践,仍有很长的路要走。

[参考文献]

- [1] Horibata S, Coonrod SA, Cherrington BD. Role for peptidylarginine deiminase enzymes in disease and female reproduction[J]. *J Reprod Dev*, 2012, 58(3): 274-282.
- [2] Zhu H, Wang Y, Wang Y, et al. Folded conformation, cyclic pentamer, nano-structure and PAD4 binding mode of YW3-56 [J]. *J Phys Chem C Nanomater Interfaces*, 2013, 117(19): 10070-10078.
- [3] Luo Y, Arita K, Bhatia M, et al. Inhibitors and inactivators of protein arginine deiminase 4: functional and structural characterization [J]. *Biochemistry*, 2006, 45 (39): 11727-11736.
- [4] Wang Y, Li P, Wang S, et al. Anticancer peptidylarginine deiminase (PAD) inhibitors regulate the autophagy flux and the mammalian target of rapamycin complex 1 activity [J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(31): 25941-25953.
- [5] Luo C, Zhao S, Zhang M, et al. SESN2 negatively regulates cell proliferation and casein synthesis by inhibition the amino acid-mediated mTORC1 pathway in cow mammary epithelial cells [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 3912.
- [6] Song S, Gui L, Feng Q, et al. TAT-Modified gold nanoparticles enhance the antitumor activity of PAD4 inhibitors [J]. *Int J Nanomedicine*, 2020, 15: 6659-6671.
- [7] Lu Y, Peng Z, Zhu D, et al. RGD peptide and PAD4 inhibitor-loaded gold nanorods for chemo-photothermal combined therapy to inhibit tumor growth, prevent lung metastasis and improve biosafety [J]. *Int J Nanomedicine*, 2021, 16: 5565-5580.
- [8] Wortel IMN, van der Meer LT, Kilberg MS, et al. Surviving stress: modulation of ATF4-mediated stress responses in normal and malignant cells [J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2017, 28(11): 794-806.
- [9] Bruning A, Rahmeh M, Friese K. Nelfinavir and bortezomib inhibit mTOR activity via ATF4-mediated sestrin-2 regulation [J]. *Mol Oncol*, 2013, 7(6): 1012-1018.
- [10] Wang S, Chen XA, Hu J, et al. ATF4 gene network mediates cellular response to the anticancer PAD inhibitor YW3-56 in triple-negative breast cancer cells [J]. *Mol Cancer Ther*, 2015, 14(4): 877-888.

- [11] Lam WKJ, Chan JYK. Recent advances in the management of nasopharyngeal carcinoma [J]. *F1000Res*, 2018, 7: F1000 Faculty Rev-1829.
- [12] Chen H, Wei L, Luo M, et al. PAD4 inhibitor promotes DNA damage and radiosensitivity of nasopharyngeal carcinoma cells [J]. *Environ Toxicol*, 2021, 36(11):2291-2301.
- [13] Osca-verdegal R, Beltrán-garcía J, Paes A B, et al. Histone citrullination mediates a protective role in endothelium and modulates inflammation [J]. *Cells*, 2022, 11(24):4070.
- [14] Pan B, Alam HB, Chong W, et al. CitH3: a reliable blood biomarker for diagnosis and treatment of endotoxic shock [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1):8972.
- [15] Liang Y, Pan B, Alam HB, et al. Inhibition of peptidylarginine deiminase alleviates LPS-induced pulmonary dysfunction and improves survival in a mouse model of lethal endotoxemia [J]. *Eur J Pharmacol*, 2018, 833:432-440.
- [16] Yao H, Cao G, Liu Z, et al. Inhibition of netosis with PAD inhibitor attenuates endotoxin shock induced systemic inflammation [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(21):13264.
- [17] He W, Zhou P, Chang Z, et al. Inhibition of peptidylarginine deiminase attenuates inflammation and improves survival in a rat model of hemorrhagic shock [J]. *J Surg Res*, 2016, 200(2):610-618.
- [18] Sun J, Zhang J, Tian J, et al. Mitochondria in sepsis-induced AKI [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2019, 30(7):1151-1161.
- [19] Raup-konsavage WM, Wang Y, Wang WW, et al. Neutrophil peptidyl arginine deiminase-4 has a pivotal role in ischemia/reperfusion-induced acute kidney injury [J]. *Kidney Int*, 2018, 93(2):365-374.
- [20] Tchanasato V, Sakalihan N, Defraigne JO. Ruptured abdominal aortic aneurysm [J]. *Rev Med Liege*, 2018, 73(5/6):296-299.
- [21] Wei M, Wang X, Song Y, et al. Inhibition of peptidyl arginine deiminase 4-dependent neutrophil extracellular trap formation reduces angiotensin II-induced abdominal aortic aneurysm rupture in mice [J]. *Front Cardiovasc Med*, 2021, 8:676612.
- [22] Cooper PR, Palmer LJ, Chapple IL. Neutrophil extracellular traps as a new paradigm in innate immunity: friend or foe? [J]. *Periodontol 2000*, 2013, 63(1):165-197.
- [23] Ciesielski O, Biesiekierska M, Panthou B, et al. Citrullination in the pathology of inflammatory and autoimmune disorders: recent advances and future perspectives [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2022, 79(2):94.
- [24] Liu X, Arfman T, Wichapong K, et al. PAD4 takes charge during neutrophil activation: Impact of PAD4 mediated NET formation on immune-mediated disease [J]. *J Thromb Haemost*, 2021, 19(7):1607-1617.
- [25] Curran AM, Naik P, Giles JT, et al. PAD enzymes in rheumatoid arthritis: pathogenic effectors and autoimmune targets [J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2020, 16(6):301-315.

(本文编辑:何祯)