

LukS-PV 通过下调 HDAC3 抑制肝癌细胞增殖

汪自然, 马凡, 丁篷生, 马筱玲

摘要 目的 研究金黄色葡萄球菌杀白细胞素 S 组分 (LukS-PV) 对肝癌 (HCC) 细胞增殖的影响并初步探究其机制。方法 不同浓度 (0.25、0.5、0.75、1 $\mu\text{mol/L}$) 的 LukS-PV 处理肝癌 HepG2 和 Huh7 细胞后, 利用 CCK-8 法评估各组细胞增殖能力。泛乙酰化抗体检测 LukS-PV 作用后总体乙酰化水平的改变。定量蛋白组学检测 LukS-PV 作用 HepG2 细胞后蛋白表达谱的改变。利用 TCGA 数据库分析组蛋白去乙酰化酶 3 (HDAC3) 在 HCC 中的表达情况及预后相关性。使用 RT-PCR 和 Western blot 验证不同浓度 LukS-PV 作用 HepG2 和 Huh7 细胞后 HDAC3 mRNA 和蛋白水平的改变。使用特异性 siRNA 敲低 HDAC3 后检测 HCC 细胞增殖能力的变化。结果 LukS-PV 可以降低 HCC 细胞的增殖能力且呈时间依赖性和浓度依赖性。LukS-PV 可以增加 HepG2 细胞的乙酰化水平, 定量蛋白组学结果显示 LukS-PV 作用 HepG2 细胞后 HDAC3 表达下调。TCGA 数据分析表明 HCC 组织中 HDAC3 mRNA 表达水平高于正常组织, 高表达 HDAC3 的患者生存期低于低表达患者。LukS-PV 在 HepG2 和 Huh7 细胞株中可以下调 HDAC3 的 mRNA 和蛋白水平。敲低 HDAC3 后可以降低 HCC 细胞 HepG2 和 Huh7 细胞的增殖能力。结论 LukS-PV 可能通过下调 HDAC3 的表达抑制 HCC 细胞的增殖, 为 HCC 的精准靶向治疗提供了新的研究思路。

关键词 杀白细胞素; 肝细胞癌; 组蛋白去乙酰化酶 3

中图分类号 R 735.7

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2020)06-0926-06
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2020.06.020

肝癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 是临床上尤为常见的消化道恶性肿瘤之一, 在全球癌症相关死亡的主要原因中排名第二^[1]。虽然近年来 HCC 的诊疗水平已有了较大幅度提升, 但临床疗效依旧不理想。晚期 HCC 患者的 5 年生存率仍旧处于较低水平。因此, 寻找新的靶向治疗药物对于降低 HCC 的死亡率意义重大。LukS-PV 是金黄色葡萄球

菌分泌的一种毒素—杀白细胞素 (Panton-Valettine leukocidin, PVL) 中的 S 组分。课题组前期研究^[2]表明, LukS-PV 靶向 C5aR 诱导白血病细胞株 THP-1 凋亡。最近研究^[3]表明, LukS-PV 能够抑制乳腺癌细胞株 MAD-MB-231 增殖, 促进其凋亡, 并诱导其周期阻滞。目前, LukS-PV 对 HCC 细胞的影响及作用机制仍不清楚。组蛋白去乙酰化酶 3 (histone deacetylase 3, HDAC3) 是一种在真核细胞中广泛表达的 I 类组蛋白去乙酰化酶^[4]。HDAC3 能够通过调控相关基因转录催化组蛋白的去乙酰化, 并参与肝脏的各种生物代谢过程^[5]。该研究首先研究 LukS-PV 对 HCC 细胞增殖的作用, 进一步检测泛乙酰化水平改变以及使用定量蛋白组学测序, 初步探讨 LukS-PV 对 HCC 细胞增殖的影响及机制。

1 材料与方法

1.1 主要材料 人 HCC 细胞株 HepG2 和 Huh7 购于上海中科院细胞库; DMEM 高糖培养基及胎牛血清购于以色列 BI 公司; 青-链霉素、胰酶、BCA 蛋白浓度测定试剂盒购于上海碧云天公司; CCK-8 试剂购于合肥睿捷生物科技有限公司; Opti-MEM、转染试剂 Lipofectamine2000 购于美国 Invitrogen 公司; HDAC3 干扰序列由上海吉玛公司合成; 逆转录酶和 SYBR 试剂购于日本 TaKaRa 公司; HDAC3、GAPDH 引物由安徽通用生物公司合成; 一抗 HDAC3、GAPDH 抗体购于武汉三鹰生物公司; 一抗泛乙酰化抗体购于杭州景杰生物科技有限公司; 二抗 (羊抗鼠 IgG 和羊抗兔 IgG) 购于武汉 Abclonal 公司; SDS-PAGE 配胶试剂盒、快速封闭液、化学发光液 ECL 购于上海雅酶生物公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 HCC 细胞株 HepG2、Huh7 在添加了 10% 胎牛血清、100 U/ml 青-链霉素的 DMEM 培养基中培养。

1.2.2 LukS-PV 的制备 LukS-PV 按照常文娇等^[6]提供的方法表达、纯化, 并进行蛋白定量。

1.2.3 CCK-8 法检测细胞增殖能力 取对数生长期的 HepG2、Huh7 细胞计数, 按 4 000 个/孔铺于 96

2020-01-13 接收

基金项目: 国家自然科学基金 (编号: 81972001)

作者单位: 安徽医科大学附属医院检验科, 合肥 230001

作者简介: 汪自然, 男, 硕士研究生;

马筱玲, 女, 博士, 教授, 主任医师, 博士生导师, 责任作者,

E-mail: maxiaoling@ustc.edu.cn.

孔中,过夜贴壁后加入不同浓度(0.25、0.5、0.75、1 $\mu\text{mol/L}$)的 LukS-PV 处理,分别在处理后 12、24、36 h 每孔加入 10 μl 的 CCK-8 试剂,继续孵育 2 h 后使用酶标仪测每孔在 450 nm 处的吸光度(optical density, OD)。每组分别设置 5 个复孔,同时设置空白孔。按照细胞存活率 = $\text{OD}_{(\text{实验组}-\text{空白组})} / \text{OD}_{(\text{对照组}-\text{空白组})} \times 100\%$ 公式计算评估各组细胞增殖能力。

1.2.4 定量蛋白组学 定量蛋白组学由杭州景杰生物科技有限公司完成。取对数生长期的 HepG2 细胞分为 2 组进行培养,一组加入 0.5 $\mu\text{mol/L}$ 的 LukS-PV,另外一组加入等量的 PBS 作为对照。培养 24 h 后离心收集细胞,去除培养液,加入裂解液超声裂解 4 $^{\circ}\text{C}$ 、12 000 r/min 离心 15 min 留取上清液并使用 BCA 试剂盒测定蛋白浓度。酶解后的肽段采用 TMT 标记并使用高 pH 反向 HPLC 分级,处理后的肽段再采用液相色谱-串联质谱分析。二级质谱数据最后使用 Maxquant (v1.5.2.8) 进行检索并进行生物信息学分析。

1.2.5 TCGA 数据库分析 HDAC3 在 HCC 中的作用 使用 UALCAN 网站分析 TCGA 数据库中 HDAC3 基因在 HCC 组织及正常肝组织中的表达差异以及高表达和低表达 HDAC3 患者的预后差异。

1.2.6 实时荧光定量 PCR(RT-PCR) 提取细胞 RNA,并对 RNA 浓度进行定量, RNA 纯度 $\text{OD}_{260} / \text{OD}_{280}$ 需在 1.8~2.0 之间方可进行后续实验。按逆转录酶 2 μl , RNA 500 ng,总体系 10 μl 进行逆转录,反应条件为 37 $^{\circ}\text{C}$ 、15 min, 85 $^{\circ}\text{C}$ 、5 s。PCR 定量使用罗氏 480 仪器,PCR 体系为 TB 10 μl , ddH₂O 7.2 μl ,上下游引物各 0.4 μl , cDNA 2 μl 。反应条件为 95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 30 s; PCR 扩增 95 $^{\circ}\text{C}$ 、5 s, 60 $^{\circ}\text{C}$ 、30 s, 共计 40 个循环; 融解曲线分析 95 $^{\circ}\text{C}$ 、5 s, 60 $^{\circ}\text{C}$ 、1 min。以 GAPDH 为内参基因,采用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法计算 HDAC3 mRNA 相对表达量。

1.2.7 Western blot 分析蛋白表达量 预冷的 PBS 清洗细胞 3 次,加入蛋白裂解液冰上放置 15 min,使用细胞刮将细胞刮至一侧后继续置于冰上裂解 20 min,期间多次吹打细胞与裂解液使其充分混匀。4 $^{\circ}\text{C}$ 、12 000 r/min 离心 20 min 后留取上清液使用 BCA 试剂盒进行蛋白定量。获得的蛋白样本使用 10% 的 SDS-PAGE 分离后,转至 NC 膜上,转膜条件为 200 mA 90 min。使用雅酶快速封闭液室温封闭 30 min 后,分别放入一抗 HDAC3、GAPDH 和泛乙酰化抗体(1:1 000)中 4 $^{\circ}\text{C}$ 摇晃孵育过夜。次日,使

用 TBST 洗去未结合的一抗,加入羊抗鼠或者羊抗兔 IgG 的二抗(1:5 000)中,室温孵育 2 h, TBST 洗去未结合的二抗。最后使用 ECL 显影液于天能曝光仪中显影。

1.2.8 细胞转染 分别取对数生长期的 HepG2 和 Huh7 细胞铺于 6 孔板中,待细胞汇合度达到 50%~70% 时转染。分别取 5 μl 的 SiRNA 和 5 μl 的 Lipofectamine2000 轻轻加入 125 μl 的 Opti-MEM 中,室温静置 5 min 后将二者混合继续室温孵育 20 min。期间将各孔培养液更换为无血清 DMEM 培养基,并将上述混合物加入各组细胞中。培养箱中孵育 6 h 后将培养液更换为含 10% 血清的完全培养基后继续培养 48 h。提取细胞检测 HDAC3 mRNA 和蛋白表达量确定敲低效率较高后再进行后续实验。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 16.0 进行分析, Graphpad 7.0 绘图。所有实验独立重复 3 遍,正态分布数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,偏态分布数据使用中位数表示。两组间数据比较使用 t 检验、秩和检验,多组之间数据比较采用方差分析(ANOVA)。采用 Kaplan-Meier 法绘制生存曲线。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 LukS-PV 对 HepG2 和 Huh7 细胞增殖的影响

采用不同浓度的 LukS-PV 作用 HepG2 和 Huh7 细胞,并使用 CCK-8 方法于 12、24、36 h 检测细胞增殖能力的改变。结果显示随着 LukS-PV 浓度的增加,细胞抑制率逐渐增高,且细胞抑制率随着作用时间延续增加更为明显,表明 LukS-PV 可以降低 HCC 细胞的增殖能力且呈时间依赖性和浓度依赖性。见图 1。

2.2 定量蛋白组学表明 LukS-PV 作用后 HDAC3 下调 蛋白翻译后修饰在肿瘤的发生发展中起到了重要的作用。近年来,乙酰化作为一种常见的表观遗传学修饰在肿瘤中的作用引起了广泛的关注。为了探究 LukS-PV 抑制 HCC 细胞增殖的机制,首先使用泛乙酰化抗体检测 LukS-PV 作用后总体乙酰化水平的改变。结果显示 0.5 $\mu\text{mol/L}$ LukS-PV 作用 24 h 后 HepG2 细胞中蛋白的总体乙酰化水平与 PBS 组相比增高(图 2B)。进一步使用定量蛋白组学分析 LukS-PV 作用后蛋白表达谱的改变。通过检索定量蛋白组学结果显示 HDAC3 表达下调(图 2A)。为了初步探究 HDAC3 在 HCC 中的作用,课题组分析了 TCGA 数据库中 HCC 数据,其中 HCC

组织 371 例,正常肝组织 50 例。图 2C 结果表明, HCC 组织中 HDAC3 mRNA 表达水平(中位数 26.146)明显高于正常组织中 HDAC3 mRNA 表达水平(中位数 17.996),差异有统计学意义($P <$

0.05)。图 2D 生存分析结果进一步表明高表达 HDAC3 的患者生存期明显低于低表达患者($P <$ 0.05)。因此,HDAC3 可能是 HCC 中的一个重要的致癌基因。

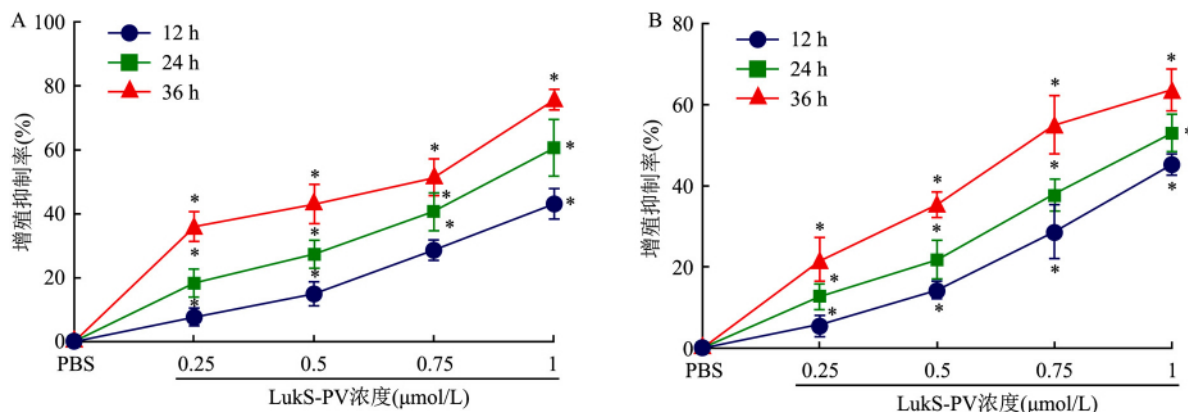


图1 不同浓度 LukS-PV 对 HCC 细胞增殖的影响

A: HepG2 细胞; B: Huh7 细胞; 与 PBS 组比较: * $P < 0.05$

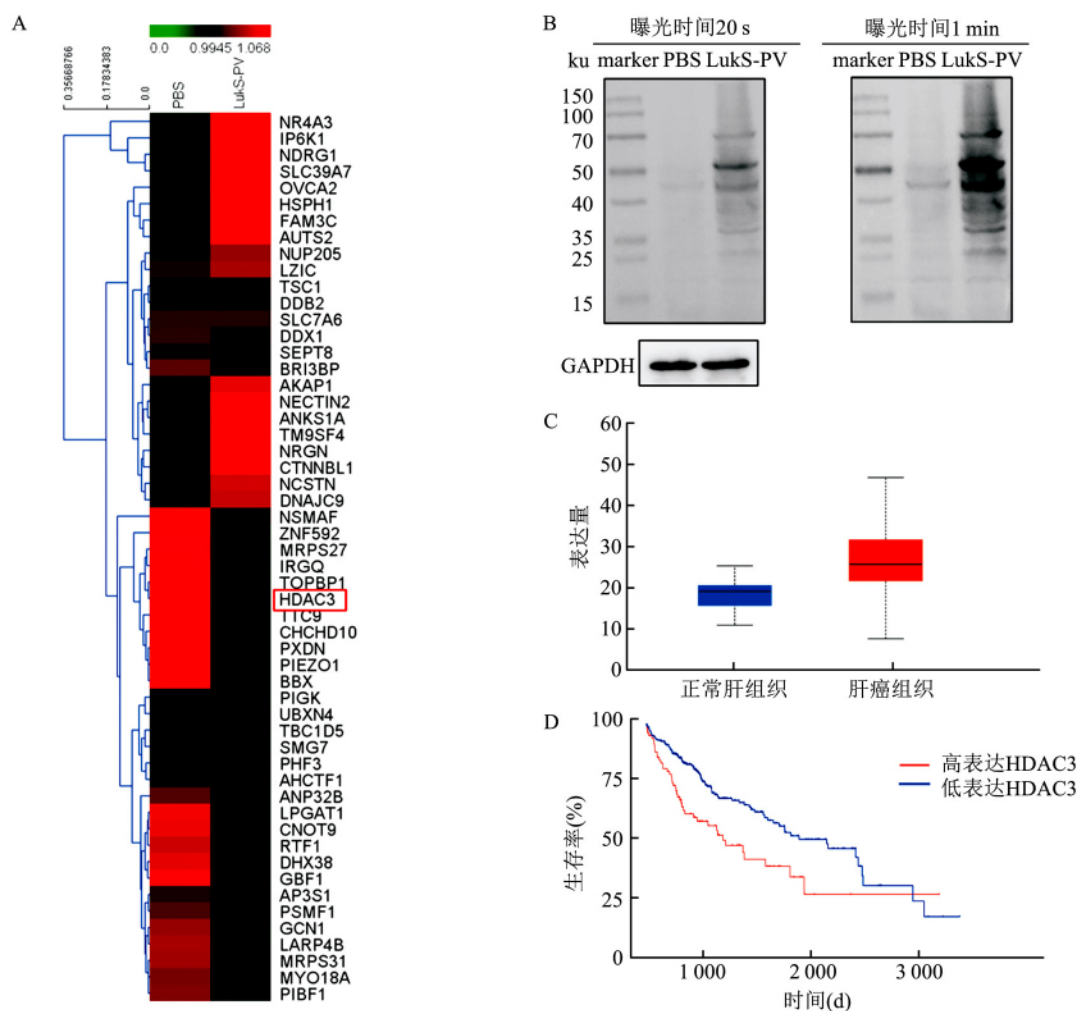


图2 HDAC3 表达下调及在 HCC 中的作用

A: 蛋白组学热图; B: LukS-PV 作用后总体乙酰化水平改变; C: HDAC3 在 HCC 组织和正常组织表达差异; D: 高表达 HDAC3 和低表达 HDAC3 患者预后差异; marker: 分子量标准

2.3 RT-PCR 和 Western blot 验证 HDAC3 下调

基于定量蛋白组学结果显示 HDAC3 下调,且 HDAC3 在 HCC 组织中高表达,与患者预后密切相关,可能是 LukS-PV 作用的重要靶点。进一步使用 RT-PCR 和 Western blot 核实不同浓度 LukS-PV 作用后 HDAC3 mRNA 水平和蛋白水平的改变。结果表明,LukS-PV 在 HepG2 和 Huh7 细胞株中可以下调 HDAC3 的 mRNA ($F = 14.33, P < 0.05; F = 12.47, P < 0.05$) 和蛋白水平 ($F = 33.66, P < 0.05; F = 57.97, P < 0.05$) ,且呈浓度依赖性。见图 3。

2.4 HDAC3 基因敲低验证 为了探讨 HDAC3 在 HCC 中的作用,实验使用特异性 SiRNA 转染 HepG2 和 Huh7 细胞干扰 HDAC3 的表达,并用 RT-PCR 和 Western blot 检测敲低效率。RT-PCR 结果显示,与 NC 组相比,干扰组 HDAC3 mRNA 表达量下降,差异有统计学意义 ($t = 13.23, P < 0.05; t = 23.21, P < 0.05$) ,见图 4A、B。进一步使用 Western blot 发现

干扰组的 HDAC3 的蛋白表达水平降低,见图 4C、D。

2.5 HDAC3 敲低后对 HCC 细胞增殖的影响 确定 HDAC3 基因干扰效率较高后,课题组进一步探究 HDAC3 基因敲低对 HCC 细胞增殖能力的影响。图 5 结果表明,敲低 HDAC3 后 36 h 开始可以降低 HCC 细胞 HepG2 和 Huh7 细胞的增殖能力 ($t = 3.32, P = 0.04; t = 3.501, P = 0.02$) 。

3 讨论

细菌毒素因其与靶细胞结合的特异性和细胞毒性已成为抗肿瘤药物开发的热点,部分细菌毒素已应用于临床。例如,从白喉杆菌中提取的白喉毒素,在各种临床试验中显示出抗肿瘤活性,包括肾上腺皮质癌、胶质母细胞瘤、皮肤 T 细胞淋巴瘤、乳腺癌和宫颈腺癌^[7-8]。课题组前期研究^[2-3]表明,LukS-PV 对白血病细胞、乳腺癌细胞均展现出良好的抗肿

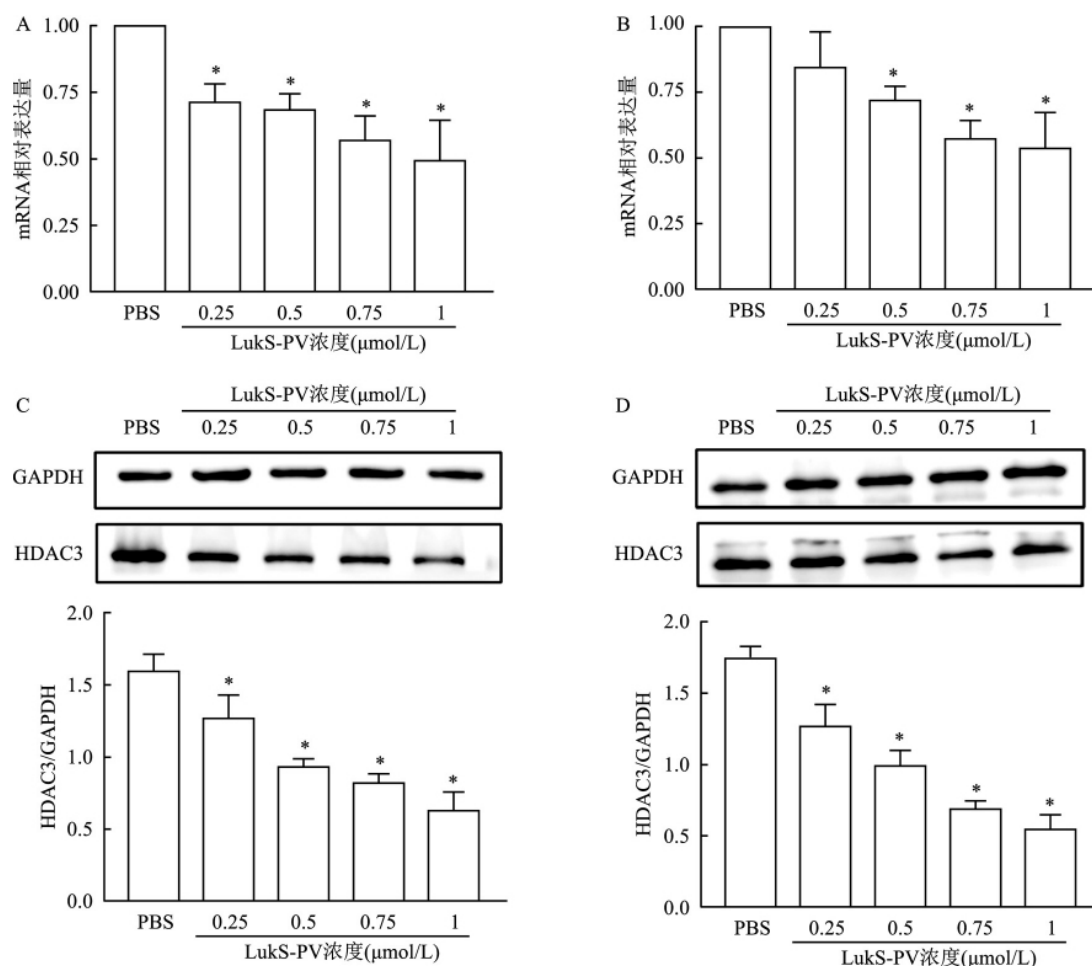


图3 不同浓度 LukS-PV 下调 HDAC3 表达

A、B: RT-PCR 检测不同浓度 LukS-PV 作用 HepG2 与 Huh7 细胞后 HDAC3 mRNA 表达改变; C、D: Western blot 检测不同浓度 LukS-PV 作用 HepG2 与 Huh7 细胞后 HDAC3 蛋白表达改变; 与 PBS 组比较: * $P < 0.05$

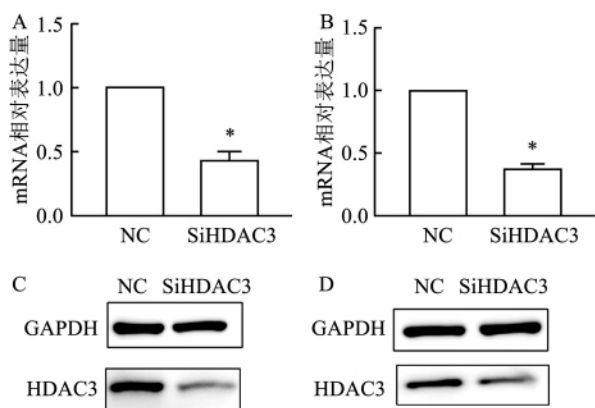


图4 HDAC3 基因敲低验证

A、B: RT-PCR 检测 HepG2 与 Huh7 细胞敲低 HDAC3 后 HDAC3 mRNA 表达量改变; C、D: Western blot 检测 HepG2 与 Huh7 细胞敲低 HDAC3 后 HDAC3 蛋白表达量改变; 与 NC 组比较: * $P < 0.05$

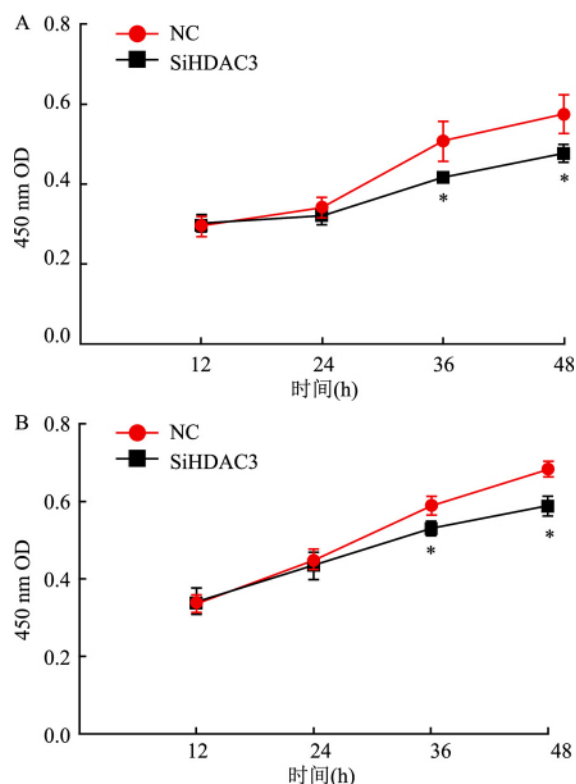


图5 HDAC3 敲低后对 HCC 细胞增殖能力的影响

A: HepG2 细胞; B: Huh7 细胞; 与 NC 组比较: * $P < 0.05$

瘤作用。进一步研究^[9]发现, LukS-PV 靶向 C5aR 诱导白血病细胞凋亡。而 Hu et al^[10]报道, C5aR 在 HCC 中高表达, 且 C5aR 刺激后能激活 ERK1/2 通路, 促进 HCC 的侵袭转移。因此, 课题组推测 LukS-PV 可能对高表达 C5aR 的 HCC 细胞也有作用。

近年来, 在肿瘤发生发展过程中起重要作用的表观遗传调控异常逐渐引起关注。乙酰化, 尤其是组蛋白乙酰化, 通过调控染色质结构的稳定性和相

关基因的转录, 进而影响细胞的增殖、凋亡和分化。而组蛋白的乙酰化主要受组蛋白乙酰基转移酶和组蛋白去乙酰化酶调控。HDAC3 作为组蛋白去乙酰化家族 (HDACs) 中的重要成员, 已有多项研究^[11-13]表明其参与 HCC 的发生发展。朱柯亭等^[11]报道, HDAC3 在 HCC 组织中表达上调, 能够通过上调 p-STAT3 促进 HCC 的复发。Wu et al^[12]报道 HDAC3 可以与 TRAF6 结合增加致癌基因 c-myc 的稳定性, 促进其表达。李瑞宝等^[13]报道, 伏立诺他衍生物 N25 能够通过下调 HDAC3 进而诱导 HCC 细胞凋亡。因此, HDAC3 可能是 HCC 中的一个重要致癌基因, 可能成为未来 HCC 诊疗的新靶点。LukS-PV 可抑制 HDAC3 表达, 这种广泛的去乙酰化作用导致细胞增殖作用降低, 其中可能的机制较为复杂。Lou et al^[14]报道 HDAC3 可以与人附睾蛋白 4 结合并活化 PI3K/AKT 信号通路促进卵巢癌细胞的增殖。Lu et al^[15]研究表明沉默 HDAC3 后胞质中 ac-STAT3 向 p-ATAT3 的转化过程被破坏, STAT3 信号通路被抑制进而抑制 HCC 细胞的增殖。

本研究首先研究了 LukS-PV 对 HCC 细胞增殖的影响, 显示 LukS-PV 能够抑制 HepG2 和 Huh7 细胞的增殖。为了进一步探索其机制, 课题组采用泛乙酰化检测和定量蛋白组学研究 LukS-PV 作用后蛋白水平的变化。结果表明 LukS-PV 作用于 HepG2 细胞后, 其蛋白整体乙酰化水平增高。定量蛋白组学研究表明 HDAC3 下调, 与乙酰化水平检测结果相一致。通过对 TCGA 数据库中 HCC 数据的分析, 显示 HDAC3 在 HCC 中高表达, 且高表达 HDAC3 的患者预后不良, 表明 HDAC3 可能是 HCC 发生发展中的重要致癌基因, 其功能可以进一步研究。课题组使用 RT-PCR 和 Western blot 验证了蛋白组学的结果, LukS-PV 可以下调 HDAC3 的表达。进一步使用特异性的 SiRNA 干扰 HDAC3 的表达后, HCC 细胞 HepG2 和 Huh7 的增殖能力降低, 表明 HDAC3 可能在 HCC 细胞增殖调控过程中发挥重要的作用。因此, 本研究揭示了 LukS-PV 可能通过下调 HDAC3 的表达抑制 HCC 细胞的增殖, 为 HCC 的精准靶向治疗提供了新的研究思路。当然, LukS-PV 调控 HDAC3 的具体机制仍需进一步深入研究。

参考文献

- [1] Siegel R L, Miller K D, Jemal A. Cancer statistics, 2017 [J]. CA Cancer J Clin, 2017, 67(1): 7-30.
- [2] 彭静, 马筱玲, 孙晓曦, 等. LukS-PV 通过 C5aR 诱导急性

- 髓系白血病细胞 THP-1 凋亡的研究[J]. 安徽医科大学学报, 2017, 52(2): 164–8.
- [3] 于文伟, 许良飞, 汪自然, 等. LukS-PV 对乳腺癌细胞 MAD-MB-231 增殖、凋亡及细胞周期的影响[J]. 安徽医科大学学报, 2019, 54(5): 701–4, 709.
- [4] Codina A, Love J D, Li Y, et al. Structural insights into the interaction and activation of histone deacetylase 3 by nuclear receptor corepressors[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(17): 6009–14.
- [5] Jones P L, Shi Y B. N-CoR-HDAC corepressor complexes: roles in transcriptional regulation by nuclear hormone receptors[J]. *Curr Top Microbiol Immunol*, 2003, 274: 237–68.
- [6] 常文娇, 马筱玲, 沈继龙, 等. Panton-Valentine 杀白细胞素原核表达、纯化及生物学活性鉴定[J]. 安徽医科大学学报, 2011, 46(1): 6–10.
- [7] Li Y M, Vallera D A, Hall W A. Diphtheria toxin-based targeted toxin therapy for brain tumors[J]. *J Neurooncol*, 2013, 114(2): 155–64.
- [8] Karpiński T M, Adamczak A. Anticancer activity of bacterial proteins and peptides[J]. *Pharmaceutics*, 2018, 10(2): E54.
- [9] Zhang P, Yu W W, Peng J, et al. LukS-PV induces apoptosis in acute myeloid leukemia cells mediated by C5a receptor[J]. *Cancer Med*, 2019, 8(5): 2474–83.
- [10] Hu W H, Hu Z, Shen X, et al. C5a receptor enhances hepatocellular carcinoma cell invasiveness via activating ERK1/2-mediated epithelial-mesenchymal transition[J]. *Exp Mol Pathol*, 2016, 100(1): 101–8.
- [11] 朱柯亭, 武振汝, 卢徐锋, 等. 肝细胞肝癌中 HDAC3 的表达及临床意义[J]. 世界华人消化杂志, 2017, 25(10): 922–8.
- [12] Wu H, Yang T Y, Li Y, et al. Tumor necrosis factor receptor-associated factor 6 promotes hepatocarcinogenesis by interacting with histone deacetylase 3 to enhance c-myc gene expression and protein stability[J]. *Hepatology*, 2020, 71(1): 148–63.
- [13] 李瑞宝, 王晓翔, 黄美君, 等. 伏立诺他衍生物 N25 下调 HDAC3 诱导肝癌细胞凋亡的研究[J]. 临床医药文献电子杂志, 2019, 6(11): 11–3, 16.
- [14] Lou T, Zhuang H, Liu C, et al. HDAC3 positively regulates HE4 expression to promote ovarian carcinoma progression[J]. *Arch Biochem Biophys* 2019, 675: 108044.
- [15] Lu X F, Cao X Y, Zhu Y J, et al. Histone deacetylase 3 promotes liver regeneration and liver cancer cells proliferation through signal transducer and activator of transcription 3 signaling pathway[J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(3): 398.

LukS-PV inhibited the proliferation of hepatocellular carcinoma cells by down-regulating HDAC3

Wang Ziran, Ma Fan, Ding Pengsheng et al

(Dept of Clinical Laboratory, The Affiliated Provincial Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230001)

Abstract Objective To study the effect of S component of panton-valentine leucocidin (LukS-PV) on proliferation of hepatocellular carcinoma (HCC) cells and its mechanism. **Methods** HepG2 and Huh7 cells were treated with LukS-PV at different concentrations (0.25, 0.5, 0.75, 1 $\mu\text{mol/L}$). Cell proliferation was evaluated by CCK-8 method. Changes in overall acetylation level after LukS-PV treatment were detected by pan-acetylated antibody and changes in protein expression profile of HepG2 cells after LukS-PV treatment were detected by quantitative proteomics. TCGA database was used to analyze the expression of histone deacetylase 3 (HDAC3) in HCC and its prognostic correlation. RT-PCR and Western blot were used to verify the changes of HDAC3 mRNA and protein levels in HepG2 and Huh7 cells treated with different concentrations of LukS-PV. Changes in proliferation capacity of HCC cells were detected after HDAC3 knockdown with specific SiRNA. **Results** LukS-PV could decrease the proliferation ability of HCC cells in a time-dependent and concentration-dependent manner. LukS-PV could increase the acetylation level of HepG2 cells and quantitative proteomics results showed that HDAC3 expression was down-regulated in HepG2 cells after LukS-PV treatment. TCGA data analysis showed that the expression level of HDAC3 mRNA in liver cancer tissues was higher than that in normal tissues and the survival time of patients with high HDAC3 expression was lower than that of patients with low HDAC3 expression. The mRNA and protein levels of HDAC3 were down-regulated by LukS-PV in HepG2 and Huh7 cell lines. Knockdown of HDAC3 reduced the proliferation of HepG2 and Huh7 cells. **Conclusion** LukS-PV may inhibit the proliferation of HCC cells by down-regulating the expression of HDAC3, which provides a new research idea for the precise and targeted treatment of HCC.

Key words leucocidin; hepatocellular carcinoma; histone deacetylase 3