

· 药学前沿 ·

转录因子——新型抗肿瘤药物作用靶点

刘楠, 陈依军*

(中国药科大学化学生物学研究室, 南京 210009)

摘要 真核生物基因的调控机制是当前分子生物学较为活跃的研究领域之一, 而转录水平的调控是基因发挥功能的一个复杂过程。转录因子因其存在的广泛性和调控靶基因的多样性, 与肿瘤细胞的生长、增殖、凋亡、浸润转移及血管生成等各个环节密切相关。随着对转录因子及其作用机制的深入研究, 针对转录因子活化与抑制从不同环节寻找药物用于靶向治疗和预防与转录因子调控相关的肿瘤疾病, 已成为当今新的研究热点, 有望成为研究新型抗肿瘤药物作用机制的有效途径。

关键词 转录因子; 抗肿瘤; 核转录因子; 信号转导和转录激活因子; 活化 T 细胞核因子

中图分类号 R541.6; Q786 **文献标识码** A **文章编号** 1000-5048(2010)02-0097-07

Transcription factors as new targets for cancer therapy

LIU Nan, CHEN Yi-jun*

Laboratory of Chemical Biology, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China

Abstract Mechanism studies in the gene regulation in the eukaryotic cells is one of the momentous areas in molecular biology. Regulation at transcription level is a complex progress with multiple steps with the presence of the gene functions. There exist ubiquitous occurrence of transcription factors in mammalian tissues and biodiversity in the factors. These transcription factors are found to relate closely to various carcinogeneses, including cell proliferation, apoptosis, invasion and angiogenesis. Understanding of transcription factors and their action mechanisms, through the activation and inhibition of transcription factors, would potentially lead to the discovery of new entities in the targeting treatment and prevention of the cancer diseases.

Key words transcription factor; anti-tumor; NF- κ B; signal transducer and activator of transcription; nuclear factor of activated T-cells

随着生命科学研究的飞速发展, 科学家们对恶性肿瘤产生机制有了深入的认识, 但是与肿瘤细胞生长、增殖、转移等过程相关的分子机制尚未完全阐明。因此, 发现和验证特异性抗肿瘤药物靶点是当今科学研究中的一个重要课题。转录因子(transcription factor)作为一种具有特殊结构、行使调控基因表达功能的蛋白质分子, 在肿瘤的发生、发展和浸润、转移中起着重要作用, 正受到越来越多的关注, 有望成为新型抗肿瘤药物的作用靶点。本文就转录因子的种类、一些重要转录因子在肿瘤发生中的作用、转录因子与肿瘤间的关系以及转录因子靶向抑制剂的研究等方面进行概述和展望。

1 概述

转录因子是广泛存在于机体各种组织细胞中并能够

结合在某种基因上游特异核苷酸序列上的蛋白质, 这些蛋白质通常能调控特定基因的转录。目前在人类基因组中已发现了超过 2 000 种的转录因子^[1]。转录因子一般包括 3 个主要功能域, 即 DNA 特定序列结合域(DNA-binding domain)、转录激活结构域(activation domain)及蛋白质与蛋白质之间的调节结构域。另外, 还有一些转录因子具有转录后调节结构域, 如二聚化结构域和磷酸化位点。转录因子对多种信号分子如细胞因子、生长因子、细胞黏附因子、抗凋亡蛋白基因的调控起关键作用, 并且在多种疾病的发病机制中发挥重要的作用。Darnell 等^[2]认为选择转录因子作为抗肿瘤靶点是十分合理的。一些小分子化合物能影响转录因子的二聚体形成或影响转录因子与 DNA 分子的结合, 因此它们可以改变转录因子介导的基因调控^[3]。

另一方面,转录因子通常是一把双刃剑^[4]:在细胞质中进行信号转导,在细胞核中进行基因转录,涉及多个信号转导网络,其发挥生物学功能的过程相当复杂,从而在炎症、肿瘤等疾病的发生、发展的不同阶段产生促进和抑制双重作用,这种复杂性极大地增加了阐明转录因子与疾病相关性的难度。

转录因子与转录共激活子或转录共抑制子结合形成复合物,并与染色体上特异的 DNA 序列结合而发挥作用。根据转录因子存在的形式不同,可将其按照参与细胞信号通路的机制分为以下 3 种^[2]:(1) 特异性转录因子的激活——蛰伏的转录因子经由细胞表面的酪氨酸或丝氨酸激酶磷酸化激活后,与转运蛋白(importin) 绑定,从而进入细胞核内参与调节基因转录,选择性调控某种或某些基因的转录和表达。(2) 非特异性转录因子的激活——蛰伏的转录因子非特异性的与转运蛋白绑定并激活后进入细胞核内参与调节基因转录,选择性调控某种或某些基因的转录和表达。(3) 组成型核内转录因子的激活——组成型核内转录因子经由核内的蛋白激酶激活,接着与共激活子结合后参与调节基因转录。

2 转录因子的种类及其与肿瘤等疾病的关系

最初,人们主要根据结构特征来划分转录因子。然而,仅根据转录因子中的 DNA 结合的功能域或与之相连的特定辅因子的结构来划分转录因子无法明确界定转录因子的种类。因此,Brivalou 等^[5] 根据转录因子在细胞信号网络中的不同功能将其划分为两大类(图 1):组成型(constitutively active nuclear factors) 和调节型转录因子(regulatory transcription factors)。调节型转录因子又可分为细胞选择型和信号依赖型转录因子。研究表明,信号依赖型转录因子中的类固醇受体家族、组成型核转录因子[如激活蛋白-1(activator protein-1, AP-1)] 及蛰伏型胞质因子(STAT、NF- κ B 及 NFAT 等) 与人类肿瘤等疾病具有重要联系。以下就几种研究较多的转录因子进行重点阐述。

2.1 核转录因子(nuclear factor kappa B, NF- κ B)

2.1.1 NF- κ B 的生物学特征

NF- κ B 由 Sen 等^[6] 于 1986 年首先在 B 淋巴细胞中发现,它是一种能与 B 淋巴细胞免疫球蛋白 κ 轻链基因的增强子 κ B 序列特异性结合的蛋白,属于 NF- κ B/Rel 蛋白家族成员。它广泛存在于各种真核细胞内,也是哺乳动物中研究最多的一类转录因子。大量研究结果^[7-8] 证实, NF- κ B 是应激和炎症反应的关键调节因子,参与细胞增殖和凋亡等过程,在肿瘤发生和发展过程的信号传递中发挥重要作用,与肿瘤细胞的浸润转移等也密切相关。目前已知,许多内源性物质和外界环境因素,包括肿瘤坏死因子(TNF- α)、白细胞介素 1(IL-1)、内毒素、活性氧、病毒感染、细胞因子、紫外线照射等,可以通过诱导 NF- κ B 活化而调控相关基因的转录。当细胞受到这

些胞外信号刺激时,通过一个或多个信号转导途径,激活一系列蛋白激酶,通过磷酸化过程传递信号分子。

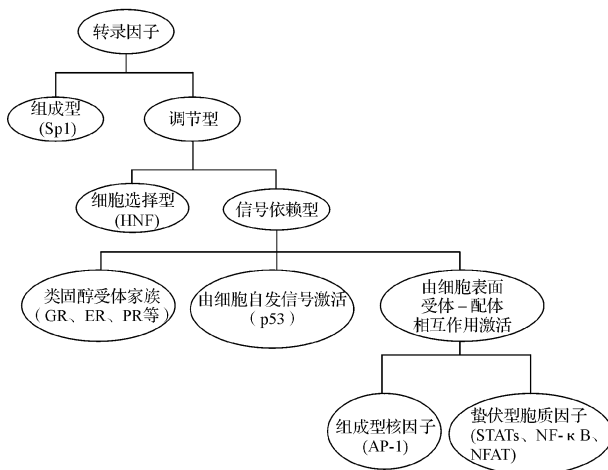


图 1 转录因子的分类

HNF: 肝细胞核因子; GR: 糖皮质激素受体; ER: 雌激素受体; PR: 孕激素受体

NF- κ B 是以同源或异源二聚体形式组成,分别包含与其他 Rel 蛋白、DNA 和 NF- κ B 抑制蛋白(inhibitor κ B, I κ B) 结合的区域,以及核定位序列^[9]。目前已知哺乳动物中的 NF- κ B 家族共有以下 5 个成员: NF- κ B1 (p50/p105)、NF- κ B2 (p52/p100)、c-Rel、RelA (p65) 和 RelB。它们在 N 端都具有一个由 300 个氨基酸组成的 Rel 同源区(RHD)。该区域含有二聚体化区、DNA 结合区和核定位信号区,分别具有与同源或异源亚基形成二聚体、与 DNA 上的 κ B 序列结合、与 I κ B 家族成员相互结合等功能。在非激活条件下, NF- κ B 通常与 I κ B 结合形成非活性状态的 NF- κ B/I κ B 三聚体复合物而存在于细胞质中,其活性受 I κ B 调控。

2.1.2 NF- κ B 参与的主要信号通路

NF- κ B 参与的细胞信号通路主要为经典途径(canonical pathway) 及非经典途径(non-canonical pathway) 两部分^[10], 其中与肿瘤密切相关的是经典途径。在非激活状态下, RelA 与 p50 的二聚体与 I κ B 结合形成非活性状态的 NF- κ B/I κ B 三聚体复合物而存在于细胞质中。当各种细胞外刺激信号激活 I κ B 激酶(I κ B kinase, IKK), IKK 复合物由 3 个亚基(IKK α 、IKK β 、IKK γ) 构成。IKK β 引起 I κ B 磷酸化及泛素化,被磷酸化并被泛素化的 I κ B 释放出 NF- κ B (RelA/p50) 二聚体, NF- κ B 进入核内,进而与靶基因上的顺式调节元件 κ B 位点发生特异性结合,调控一系列抗凋亡和促生长因子的表达水平。在非经典途径中, NF- κ B 与 I κ B 结合形成非活性状态的复合物而存在于细胞质中,当各种细胞外刺激信号激活 NF- κ B 诱导激酶(Nck-interacting kinases, NIK) 后, NIK 又激活 IKK α 磷酸化,后者引起 NF- κ B2 中 C 端 p100 的磷酸化及泛素化,被磷酸化并被泛素化的 p100 被蛋白酶体(proteasomes) 降解随后释放出来的 p52 与 RelB 结合成为二聚体易位到

细胞核中,诱导靶基因的表达。

2.2 信号转导和转录激活因子(signal transducer and activator of transcription, STAT)

2.2.1 STAT的生物学特征 STAT是一类由细胞因子、生长因子等多肽类配体激活的转录因子,对正常细胞的分化、增殖和凋亡起着重要的调节作用^[4]。目前,在人体中已发现由不同基因编码的7个成员,分别为STAT1、STAT2、STAT3、STAT4、STAT5a、STAT5b、STAT6。现有研究表明STAT3存在于大部分肿瘤细胞中,而在正常细胞中不表达^[11]。STAT家族由750~900个氨基酸组成,在结构上均可分为6个功能区,分别是N端的氨基酸保守序列、螺旋区、DNA结合域、连接区、SH2结构域和C端的转录活性域。

2.2.2 STAT参与的主要信号通路 STAT家族主要通过JAK/STAT途径激活多种细胞因子的转录和表达^[12]。细胞表面受体结合其配体后,受体分子发生二聚化,活化与受体偶联的Src/JAK(Janus kinase),从而激活受体酪氨酸蛋白激酶(receptor protein tyrosine kinase)。受体的酪氨酸残基随之发生磷酸化,形成STAT蛋白与受体复合物结合的停泊位点。同时,激活后的受体对STAT上的SH2结构域进行磷酸化。活化后的STAT单体分子通过SH2结构域与另一个STAT分子磷酸化的酪氨酸残基相互作用形成同源或异源二聚体,进入核内,与目的基因的启动区域结合,诱导目的基因表达。作用结束后,STAT通过细胞核内的酪氨酸磷酸酶脱磷酸化或被蛋白酶降解,从而终止信号的转导。此外,STAT与其他转录因子的相互作用也是其信号调控的一部分。Lee等^[13]通过RNA干扰技术证实了STAT3与NF- κ B在肿瘤细胞以及肿瘤相关的免疫细胞中的相互结合。STAT3通过乙酰基转移酶p300调节RelA乙酰化,阻止NF- κ B从核内转运至胞质而延长NF- κ B在核内的停留,从而调节肿瘤的发生、发展、转移和新生血管形成等。

2.3 活化T细胞核因子(nuclear factor of activated T-cells, NFAT)

2.3.1 NFAT的生物学特征 1988年NFAT1作为可诱导的核因子被首次发现,它能够与活化T细胞的IL-2启动子相结合^[14]。迄今发现的NFAT家族成员有5种,包括NFAT1(NFATp/NFATc2)、NFAT2(NFATc1)、NFAT3(NFATc4)、NFAT4(NFATx/NFATc3)和NFAT5。NFAT广泛存在于哺乳动物细胞和组织。研究发现^[15],NFAT家族作为细胞内多种信号转导通路的关键分子参与调节IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、TNF- α 和环氧化酶-2(COX-2)等多种细胞因子和酶的表达水平,影响机体的基础免疫和应对肿瘤免疫的状态。虽然在各种人实体瘤和肿瘤细胞株中均发现NFAT的过度表达和持续激活,但Robbs等^[16]的体外实验结果证实NFAT既是一种肿瘤抑制因子,也是一种致癌因子。

环孢素A(CsA)和FK506是以NFAT为作用靶点的药物,它们分别结合其胞内特异性受体——环孢亲和素(cyclophilin A, CyPA)和12 kD的FK506结合蛋白(12 kD FK506-binding protein, FKBP12),然后与钙调磷酸酶(CaN)形成三聚体复合物,最终抑制NFAT的活化以及下游基因的转录和表达。

2.3.2 NFAT介导的信号调节 细胞表面受体被活化后,磷脂酶C(phospholipase C, PLC)水解膜上的磷脂酰肌醇二磷酸(phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate, PIP2)为三磷酸肌醇(inositol 1,4,5-triphosphate, InsP3)和甘油二酯(diacylglycerol, DAG)。在DAG激活Ras/PKC途径的同时,InsP3作用于肌浆网/内质网上的InsP3受体,使胞内贮存的Ca²⁺释放进入胞浆,使Ca²⁺浓度迅速升高,而高浓度的Ca²⁺与CaN的调节亚基特异性结合,促进钙调蛋白(calmodulin, CaM)与CaN的催化亚基结合,从而彻底激活CaN。活化的CaN使NFAT的N端调节区(NFAT homology region, NHR)多个残基去磷酸化,增强了NFAT与靶DNA的亲和力,使NFAT进入核内诱导靶基因的转录。反之,当胞内Ca²⁺浓度降低时,CaN又恢复到原非活性状态。胞质内磷酸化的NFAT无法进入核内,而已在核内的NFAT在蛋白激酶的作用下又重新磷酸化后转回胞质中,细胞恢复到原来的非活化状态^[17]。双特异性酪氨酸磷酸化调节激酶(dual specificity tyrosine phosphorylation-regulated kinase, DYRK)为新发现的一类转译激酶^[18-19],它们参与NFAT的亚细胞定位,其中DYRK2和酪蛋白激酶1(casein kinase 1)对胞质中的NFATs进行磷酸化以阻止其进入核内,而DYRK1和糖原合成激酶3(glycogen synthase kinase 3)磷酸化核内的NFATs并将其转运至胞质。

3 转录因子在肿瘤变异和转移中的作用

3.1 转录因子与恶性血液疾病

NF- κ B所具有的抗凋亡、促细胞增殖和免疫激活等功能是导致正常细胞恶变的潜在因素。在多种恶性血液肿瘤细胞中已发现NF- κ B的持续激活,如人T淋巴细胞白血病病毒1(human T-cell leukemia/lymphoma virus type 1, HTLV-1)中的TAX原蛋白经由NF- κ B的经典和非经典信号通路同时激活IKK复合物,导致原发性人急性淋巴瘤细胞中NF- κ B蛋白表达升高^[20]。在拮抗NF- κ B后,促使T细胞白血病细胞的凋亡,感染病毒的细胞数量相应减少。在急性粒细胞白血病(AML)的CD34⁺细胞模型中^[21],NF- κ B的组成型表达与毛细血管扩张性共济失调突变蛋白(ataxia telangiectasia mutated, ATM)的磷酸化密切相关。因ATM促使NF- κ B进入核内,ATM的活性降低导致NF- κ B相关的肿瘤病变。该发现将使区分NF- κ B的正常活性和致癌活性的难题有望解决,为设计涉及NF- κ B通路的抑制剂提供了理论基础。此外,现有研究认为NF- κ B可作为慢

性淋巴瘤白血病 (CLL) 一项观测指标^[22], 并且 NF- κ B 的不同亚基在体内的表达量可体现病情的发展, 如 p65 可正确预测总生存率和病人对化疗的耐受程度。通过对上百名 CLL 病人的临床统计, 证实 Rel A 蛋白 DNA 结合区域表达量的多少直接反映病人的临床治疗效果^[23]。

在 STAT 家族中, STAT3 和 STAT5 均在 AML、急性淋巴细胞白血病 (ALL) 和慢性粒细胞白血病 (CML) 病人中大量表达^[24], Harir 等^[25]首次发现了 STAT5 在白血病细胞中的双重功能, 一方面它通过与 PI3-K 的 p85 亚基形成复合物激活 AKT/PKB 途径; 另一方面大量磷酸化的 STAT5 是一种胞质信号因子。NFAT2 则存在于 Burkitt 淋巴瘤、高弥散性 B 细胞淋巴瘤及侵袭性 T 细胞淋巴瘤中^[26-28], 并且与 CaN 的活性密切相关。在老鼠模型上, 一旦 CaN 的活性被抑制, 则肿瘤生长加剧。

3.2 转录因子与肿瘤血管生成

血管内皮细胞生长因子 (VEGF) 被认为是目前最有效的促血管生成因子, 在肿瘤的血管形成中起重要的作用, 同时它还可促进肿瘤淋巴内皮细胞的生长, 在肿瘤的浸润和转移中起着极为重要的作用。VEGF 的表达受多种因素的调节, NFAT、STAT 和 NF- κ B 等转录因子均可调控 VEGF 的表达。动物模型和人体病理学研究均一致证明了 NFAT 蛋白家族通过激活 COX-2 的活性来促进肿瘤血管生成^[15]。在 VEGF 受体主导的新生儿血管瘤病灶中^[29], 随着 NFAT 活性的降低, VEGF 受体的转录也被抑制, 病灶相应减弱, 说明在儿童病例中也存在 NFAT 调控 VEGFR 活性的机制。此外, NFAT 家族不仅调节肿瘤血管生成还促进淋巴管形成^[30-31]。在淋巴管内皮细胞出芽后, NFAT2 特异性地通过促进血管瓣的生成来调节淋巴管生成。在小鼠骨髓细胞中, STAT3 也调控 VEGF 和 bFGF 的活性, 进而激活了肿瘤血管生成^[32]。另一方面, 血管生长抑制剂能激活 NF- κ B 的活性^[33]。Kisseleva 等^[34]发现在 I κ B α 基因突变小鼠中, 肿瘤组织周围血管增多, 证明 NF- κ B 对肿瘤组织血管存在抑制作用, 这提示我们在研究针对 NF- κ B 通路的抗肿瘤药物时并不能仅仅考虑抑制 NF- κ B 的活性。

3.3 转录因子与炎症相关的肿瘤

多年来, 炎症一直被认为和肿瘤的发生和发展密切相关, 并且大量研究证明转录因子在炎症反应和肿瘤间起着双向调节作用。Rebouissou 等^[35]首次报道了在炎性肝细胞腺瘤的炎性细胞中存在 GP130 的体细胞突变, 高度激活 IL-6-GP130-JAK-STAT3 的信号途径, 从而促进了肿瘤的发生, 说明在其他炎性肿瘤中也可能存在由 STAT3 激活的炎症转变为恶性肿瘤的现象。除了上述信号通路外, 如前所述, STAT3 也可通过 p300 与 NF- κ B 的相互作用形成信号环路, 产生放大效应, 从而促进肿瘤微环境形成, 最终激活炎症诱发的恶性肿瘤^[13]。

4 以转录因子为作用靶点的肿瘤治疗现状及展望

目前, 虽然已有多个针对转录因子及其信号转导通路的抗肿瘤先导化合物, 但迄今成功应用于临床治疗的实例极为少见, 目前仅有少数针对 NF- κ B 的抑制剂正在进行临床试验, 而针对 STAT 及 NFAT 抑制活性的多为体外实验结果。

4.1 针对 NF- κ B 的抑制剂

近年来针对 NF- κ B 抑制剂的设计和研究的抑制劑已进行了大量工作, 目前处于临床和临床前实验的抑制劑主要为 4 大类^[10]: (1) 天然产物, 如小白菊内酯、姜黄素、染料木素等; (2) 合成类小分子, 如 Bortezomib、MG-132、Bay11-7082 等; (3) 细胞膜穿透性肽类, 如 SN-50 等; (4) 基因治疗方法, 如过量表达 I κ B α 上游的抑制因子等。但是, 目前仅有两个化合物进入临床试验阶段。

4.1.1 小白菊内酯的二甲氨基衍生物 小白菊内酯的二甲氨基衍生物^[36] (dimethylaminoparthenolide, DMAPT, 图 2) 已在英国开展 I 期临床试验, 用于靶向治疗急性粒细胞白血病 (acute myeloid leukemia, AML)。小白菊内酯 (parthenolide, 图 2) 在 10 μ mol/L 浓度下可杀死 84% 的白血病细胞, IC₅₀ 为 1.4 μ mol/L, 然而其在血清中溶解度仅为 0.169 mmol/mL, 成药性差。因此, Crooks 等合成了 DMAPT, 通过体内外实验证明, 相对于小白菊内酯, 其二甲氨基衍生物的水溶性提高了 100 倍并且抗肿瘤活性更优, 在 10 μ mol/L 浓度下可杀死 93% 的白血病细胞, IC₅₀ 为 1.7 μ mol/L, 在大鼠中的口服生物利用度达 70%。研究表明, DMAPT^[37] 通过诱导白血病干细胞中的氧化压力, 抑制 NF- κ B 的活性, 激活 p53, 实现选择性杀死白血病干细胞及组细胞。

4.1.2 Bortezomib^[38] Bortezomib (万珂, PS-341, 图 2) 是美国 FDA 批准的第一个蛋白酶体抑制剂, 用于治疗初治或复发性、难治性多发性骨髓瘤的一线药物。Bortezomib 抑制蛋白酶体的机制是通过阻断 26S 蛋白酶体活性, 抑制 I κ B α 的解离, 使 NF- κ B 依赖性基因转录无法进行, 影响细胞内多种信号级联导致肿瘤细胞生长延迟或死亡。

4.2 针对 STAT 的抑制剂

目前直接抑制 STAT 活性的抑制劑共分为 3 种^[39]: (1) 与 STAT 的 DNA 结合区域结合; (2) 与 STAT 的 SH2 区域结合; (3) 与 STAT 的 N 端区域结合。虽然已获得了多个可抑制不同 STAT 分子的化合物, 但尚未有成功进入临床试验的实例报道。

4.2.1 选择性与 STAT3 的 DNA 结合区域结合的抑制劑 目前发现一类新型铂类化合物 (NSC 295558, 图 2)^[40] 可特异性与 STAT3 的 DNA 结合区域结合, 抑制 STAT3 的信号通路, 从而杀死多种肿瘤细胞株, 如人乳腺癌 (MDA-MB-231、MDA-MB-435、MDA-MB-453 及 MDA-MB-468) 胰腺癌

(Panc-1)及前列腺癌细胞株(DU145),而对STAT5及STAT1无抑制作用。NSC 295558与STAT3的DNA结合抑制属于非竞争性型动力学,可诱导肿瘤细胞在G0/G1期生长停滞和凋亡。

4.2.2 与STAT的SH2区域结合的抑制剂 S3I-201(NSC-74859,图2)^[41]是一种抑制STAT3活性的小分子化合物,来自于美国国家癌症研究院化合物库,是通过与STAT3的分子模型比对获得的。体外实验结果与计算机模拟结果一致,其可选择性抑制被持续激活STAT3的肿瘤细胞的生长和引起凋亡,并且通过与STAT3的SH2区域结合而抑制STAT3调节的多种细胞因子的表达,如cyclin D1, bcl-x_L及Survivin等。体内实验也证实了NSC-74859可抑制人乳腺癌细胞生长。

Stattic(图2)是通过高通量筛选获得的STAT3抑制剂,属于噻吩类化合物^[42]。其通过抑制磷酸化的酪氨酸基序与STAT3的SH2区域结合,从而选择性抑制STAT3的活性、二聚化以及核转位,引起STAT3依赖型乳腺癌细胞的凋亡。

4.2.3 与STAT的N端区域结合的抑制剂 STAT3的N端序列由130个氨基酸组成,共有8个螺旋,在基因转录中介导了蛋白质与蛋白质的相互作用,因此可设计短肽类物质与STAT3结合,仅抑制其转录活性而不影响STAT3的磷酸化程度。基于STAT4的NMR数据,发现人工合成的STAT4的类似物的2个螺旋结构可与STAT3的N端结合,合成了一系列含有STAT3的2个螺旋结构的短肽类物质,并且与穿膜肽融合解决细胞膜渗透性的问题。其中序列为RQIKIWFNRR-Nle-KWKK-NH₂^[43]可在低浓度下(IC₅₀ < 10 μmol/L)特异性诱导人乳腺癌细胞株(MDA-MB-231、MDA-MB-435及MCF-7)的凋亡及死亡,但其作用机制尚未证实。

4.3 NFAT抑制剂

由于NFAT的活化与CaN的活性密切相关,早期发现的FK506、CsA等小分子抑制剂均造成对CaN活性的直接破坏,导致这类药物具有较强的不良反应,因此出现了一系列毒性较低的FK506及CsA类似物。如Merck公司研制的FK506类似物L-732531^[44]则具有较低的肾毒性,Roche公司的CsA类似物ISATX47^[45]则是一类高效低毒的CsA类似物。然而,这一类药物为免疫抑制剂,其抗肿瘤活性正在动物模型上进行验证,要成为一类新型的抗肿瘤药物尚有一个漫长的过程。在基因治疗方面,Noguchi等^[46]设计了一种细胞可穿膜的VIVIT肽,在小鼠肿瘤模型中,VIVIT肽不仅能通过阻止CaN与NFAT的结合而抑制NFAT的转录活性,而且由于采用了多聚精氨酸的穿透系统,动物体内的半衰期显著增强,并且相对于FK506或CsA等药物不良反应小,有望成为一种新型的肽类药物。

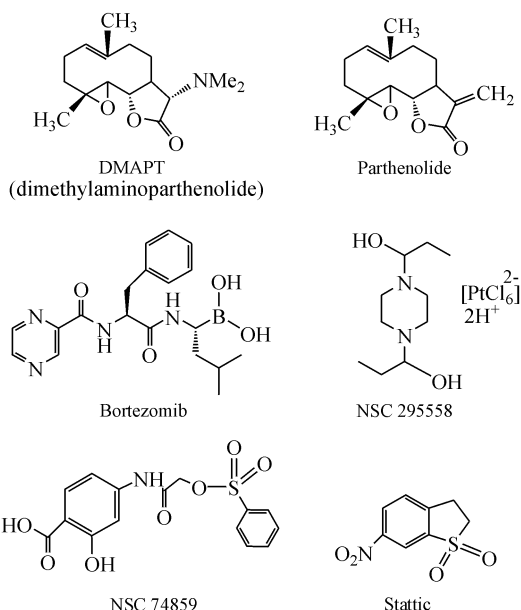


图2 目前在研的转录因子抑制剂

4.4 展望

虽然具有转录因子抑制活性的化合物报道很多,但目前的研究尚局限于活性筛选的早期阶段,主要存在以下问题:首先,难于获得转录因子在正常生理状态和致癌状态中信号通路的平衡。由于转录因子在正常细胞中,特别是细胞的自身免疫系统中起着重要作用,若是长期过度的抑制转录因子活性将不利于正常细胞生长而产生安全性问题,现有抗肿瘤药物均是长期较大剂量给药,故难以获得具有瞬间、高度可逆药效的转录因子抑制剂。其次,很难特异性抑制转录因子的某个信号通路及环节。不同转录因子之间存在相互作用,它们串联构成了一个复杂的信号网络。由于对转录因子在疾病中的作用机制尚未完全阐明,无法确定转录因子在肿瘤细胞和正常细胞中是否存在不同信号通路,或仅是对同一种细胞因子表达水平的调控不同,因此难以设计理想的转录因子抑制剂而特异性地抑制某个转录因子的信号通路而对其他信号通路无影响,并且正确识别转录因子在肿瘤细胞和正常细胞中的不同表达量。再者,难于判断转录因子抑制剂与现有抗肿瘤药物联用后的药效。现有研究表明抗肿瘤药物的联合用药可增强疗效,并减少不良反应的发生。但由于转录因子自身不具备酶的催化活性,无法特异性地测定其活性或作用模式,联合用药时则难以直接评估其药效。同时由于转录因子在肿瘤发生中的双重作用,以何种剂型、何种给药途径及与何种抗肿瘤药物(单克隆抗体、基因治疗、酪氨酸激酶等)联用更是较难理性设计。

然而,随着生命科学的飞速发展,转录因子与肿瘤发生、发展中的相互关系将逐步得以明晰,转录因子参与的信号网络不断得到验证,从而发现能用于肿瘤治疗的直接

作用靶点,为获得安全、有效的治疗药物奠定坚实的基础,并将在肿瘤治疗领域开辟一条新的途径。

参考文献

- [1] Saeki Y, Endo T, Ide K, *et al.* Ligand-specific sequential regulation of transcription factors for differentiation of MCF-7 cells[J]. *BMC Genomics*, 2009, **10**:545.
- [2] Darnell JE Jr. Transcription factors as targets for cancer therapy [J]. *Nat Rev Cancer*, 2002, **2**(10):740-749.
- [3] Blancafort P, Segal DJ, Barbas CF 3rd. Designing transcription factor architectures for drug discovery [J]. *Mol Pharmacol*, 2004, **66**(6):1361-1371.
- [4] Yu H, Pardoll D, Jove R. STATs in cancer inflammation and immunity: a leading role for STAT3 [J]. *Nat Rev Cancer*, 2009, **9**(11):798-809.
- [5] Brivalou AH, Darnell JE Jr. Signal transduction and the control of gene expression[J]. *Science*, 2002, **295**(5556):813-818.
- [6] Sen R, Baltimore D. Inducibility of kappa immunoglobulin enhancer-binding protein NF-kappa B by a posttranslational mechanism[J]. *Cell*, 1986, **47**(6):921-928.
- [7] Hayden MS, Ghosh S. Shared principles in NF-kappaB signaling [J]. *Cell*, 2008, **132**(3):344-362.
- [8] Sethi G, Sung B, Aggarwal BB. Nuclear factor-kappaB activation: from bench to bedside [J]. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2008, **233**(1):21-31.
- [9] Karin M, Yamamoto Y, Wang QM. The IKK NF-kappa B system: a treasure trove for drug development[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2004, **3**(1):17-26.
- [10] Shen HM, Tergaonkar V. NF- κ B signaling in carcinogenesis and as a potential molecular target for cancer therapy[J]. *Apoptosis*, 2009, **14**(4):348-363.
- [11] Aggarwal BB, Kunnumakkara AB, Harikumar KB, *et al.* Signal transducer and activator of transcription-3, inflammation, and cancer; how intimate is the relationship [J]? *Ann N Y Acad Sci*, 2009, **1171**:59-76.
- [12] Li WX. Canonical and non-canonical JAK-STAT signaling [J]. *Trends Cell Biol*, 2008, **18**(11):545-551.
- [13] Lee H, Herrmann A, Deng JH, *et al.* Persistently activated stat3 maintains constitutive NF-kB activity in tumors [J]. *Cancer Cell*, 2009, **15**(4):283-293.
- [14] Shaw JP, Utz PJ, Durand DB, *et al.* Identification of a putative regulator of early T cell activation genes [J]. *Science*, 1988, **241**(4862):202-205.
- [15] Mancini M, Toker A. NFAT proteins: emerging roles in cancer progression [J]. *Nat Rev Cancer*, 2009, **9**(11):810-820.
- [16] Robbs BK, Cruz AL, Werneck MB. Dual roles for NFAT transcription factor genes as oncogenes and tumor suppressors [J]. *Mol Cell Biol*, 2008, **28**(23):7168-7181.
- [17] Medyouf H, Ghysdael J. The calcineurin/NFAT signaling pathway: a novel therapeutic target in leukemia and solid tumors [J]. *Cell Cycle*, 2008, **7**(3):297-303.
- [18] Gwack Y, Sharma S, Nardone J, *et al.* A genome-wide *Drosophila* RNAi screen identifies DYRK-family kinases as regulators of NFAT [J]. *Nature*, 2006, **441**(7093):646-650.
- [19] Arron JR, Winslow MM, Polleri A, *et al.* NFAT dysregulation by increased dosage of DSCR1 and DYRK1A on chromosome 21 [J]. *Nature*, 2006, **441**(7093):595-600.
- [20] Horie R. NF-kappaB in pathogenesis and treatment of adult T-cell leukemia/lymphoma [J]. *Int Rev Immunol*, 2007, **26**(5-6):269-281.
- [21] Grosjean-Raillard J, Tailler M, Adès L, *et al.* ATM mediates constitutive NF-kappaB activation in high-risk myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia [J]. *Oncogene*, 2009, **28**(8):1099-1109.
- [22] Pepper C, Hewamana S, Brennan P, *et al.* NF-kappaB as a prognostic marker and therapeutic target in chronic lymphocytic leukemia [J]. *Future Oncol*, 2009, **5**(7):1027-1037.
- [23] Hewamana S, Lin TT, Rowntree C. Rel A is an independent biomarker of clinical outcome in chronic lymphocytic leukemia [J]. *J Clin Oncol*, 2009, **27**(5):763-769.
- [24] Benekli M, Baumann H, Wetzler M. Targeting signal transducer and activator of transcription signaling pathway in leukemias [J]. *J Clin Oncol*, 2009, **27**(26):4422-4432.
- [25] Harir N, Pecquet C, Kerenyi M, *et al.* Constitutive activation of Stat5 promotes its cytoplasmic localization and association with PI3-kinase in myeloid leukemias [J]. *Blood*, 2007, **109**(4):1678-1686.
- [26] Medyouf H, Alcalde H, Berthier C, *et al.* Targeting calcineurin activation as a therapeutic strategy for T-cell acute lymphoblastic leukemia [J]. *Nat Med*, 2007, **13**(6):736-741.
- [27] Marafioti T, Pozzobon M, Hansmann ML, *et al.* The NFATc1 transcription factor is widely expressed in white cells and translocates from the cytoplasm to the nucleus in a subset of human lymphomas [J]. *Br J Haematol*, 2005, **128**(3):333-342.
- [28] Pham LV, Tamayo AT, Yoshimura LC, *et al.* Constitutive NF- κ B and NFAT activation in aggressive B-cell lymphomas synergistically activates the CD154 gene and maintains lymphoma cell survival [J]. *Blood*, 2005, **106**(12):3940-3947.
- [29] Jinnin M, Medici D, Park L, *et al.* Suppressed NFAT-dependent VEGFR1 expression and constitutive VEGFR2 signaling in infantile hemangioma [J]. *Nat Med*, 2008, **14**(11):1236-1246.
- [30] Kulkarni RM, Greenberg JM, Akeson AL. NFATc1 regulates lymphatic endothelial development [J]. *Mech Dev*, 2009, **126**(5-6):350-365.
- [31] Normén C, Ivanov KI, Cheng J, *et al.* FOXC2 controls formation and maturation of lymphatic collecting vessels through cooperation with NFATc1 [J]. *J Cell Biol*, 2009, **185**(3):439-457.
- [32] Kujawski M, Kortylewski M, Lee H, *et al.* Stat3 mediates myeloid cell dependent tumor angiogenesis in mice [J]. *J Clin Invest*, 2008, **118**(10):3367-3377.
- [33] Tabruyn SP, Griffioen AW. NF-kappa B: a new player in angiostatic therapy [J]. *Angiogenesis*, 2008, **11**(1):101-106.
- [34] Kisseleva T, Song L, Vorontchikhina M, *et al.* NF-kappaB regula-

tion of endothelial cell function during LPS-induced toxemia and cancer[J]. *J Clin Invest*,2006,**116**(11):2 955 -2 963.

- [35] Rebouissou S, Amessou M, Couchy G, *et al.* Frequent in-frame somatic deletions activate gp130 in inflammatory hepatocellular tumours[J]. *Nature*,2009,**457**(7 226):200 -204.
- [36] Neelakantan S, Nasim S, Guzman ML, *et al.* Aminoparthenolides as novel anti-leukemic agents; Discovery of the NF- κ B inhibitor, DMAPT(LC-1) [J]. *Bioorg Med Chem Lett*,2009,**19**(15):4 346-4 349.
- [37] Guzman ML, Rossi RM, Neelakantan S, *et al.* An orally bioavailable parthenolide analog selectively eradicates acute myelogenous leukemia stem and progenitor cells[J]. *Blood*,2007,**110**(13):4 427-4 435.
- [38] Richardson PG, Mitsiades C, Schlossman R, *et al.* Bortezomib in the front-line treatment of multiple myeloma[J]. *Expert Rev Anticancer Ther*,2008,**8**(7):1 053 -1 072.
- [39] Berg T. Signal transducers and activators of transcription as targets for small organic molecules [J]. *Chembiochem*,2008,**9**(13):2 039 -2 044.
- [40] Turkson J, Zhang S, Mora LB, *et al.* A novel platinum compound inhibits constitutive Stat3 signaling and induces cell cycle arrest and apoptosis of malignant cells[J]. *J Biol Chem*,2005,**280**

(38):32 979 -32 988.

- [41] Siddiquee K, Zhang S, Guida WC, *et al.* Selective chemical probe inhibitor of Stat3, identified through structure-based virtual screening, induces antitumor activity [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*,2007,**104**(18):7 391 -7 396.
- [42] Schust J, Sperl B, Hollis A, *et al.* Stat3: a small-molecule inhibitor of STAT3 activation and dimerization [J]. *Chem Biol*,2006,**13**(11):1 235 -1 242.
- [43] Timofeeva OA, Gaponenko V, Lockett SJ, *et al.* Rationally designed inhibitors identify STAT3 N-domain as a promising anti-cancer drug target [J]. *ACS Chem Biol*,2007,**2**(12):799 -809.
- [44] Karanam BV, Miller RR, Colletti A, *et al.* Disposition of L-732531, a potent immunosuppressant, in rats and baboons [J]. *Drug Metab Dispos*,1998,**26**(10):949 -957.
- [45] Abel MD, Aspeslet LJ, Freitag DG, *et al.* ISATX247: a novel calcineurin inhibitor [J]. *J Heart Lung Transplant*,2001,**20**(2):161.
- [46] Noguchi H, Masayuki M, Okitsu T, *et al.* A new cell-permeable peptide allows successful allogeneic islet transplantation in mice [J]. *Nat Med*,2004,**10**(3):305 -309.

· 新信息 ·

药物输送技术为新药创新提供广阔市场

近年来,由于药物输送技术的不断开发,新的和改进的创新配方不断涌现。例如 Orexo 公司的芬太尼 (fentanyl) 舌下片 (口崩片) Abstral, 由于改良了新的口服配方, 新产品与传统产品相比进入血流更快和有更可预期的起效时间, 对于突破痛病人现有治疗方法具有重要意义。又如注射药物的口服配方 Generex 生物技术公司的胰岛素口喷剂 Generex Oral-lyn 和 Oramed 公司正在开发用于 1 型糖尿病的口服胰岛素胶囊 ORMD 080 I (刚进入 II a 期临床) 都具有作为无痛替代物的潜力。

另一个例子是鼻内输送药物, 如英国 CRO Retroscreen Virology 公司正开始进行培养基禽流感 (H5N1) 新疫苗第一项临床研究, 临床研究试图在进入点 (鼻) 阻止病毒。对于减少给药次数, 在延迟释放技术方面, 瑞士 Biopartners 公司正在开发的 1 周给药 1 次的持续释放重组人生长激素, 其 3 年的 II/III 期临床安全性和疗效试验数据公布显示, 其效果可与与有一天给药一次的制剂相当。在为改善病人依从性方面, 药物输送技术甚至开发出更长效的制剂, 如 Ipsen 公司用于治疗局部晚期或转移性激素依赖性前列腺癌的黄体激素释放激素 Decapeptyl (triptorelin, 曲普瑞林) 6 个月持续释放制剂。

此外, 2009 年全球在药物输送领域完成的一系列的合作共同开发加速了新药物输送制剂的开发。其中最为重要的包括口腔膜、无针注射和吸入蒸汽等。例如, BioAlliance 公司从 Applied Pharma Research 转让得到的止吐药昂丹司琼薄膜口服配方 RapidFilm, 其可在舌上迅速溶解不需用水送服。美国 MonoSolRx 公司也将利用专利 PharmFilm 技术开发的昂丹司琼薄膜配方转让给 Strativa 公司。在口服药物输送方面, 另一项最成功的合作是英国 Archimedes 和意大利 Molteni 公司之间的 Oramorph 合作, Oramorph 是一种目前唯一的口服液体——即时释放硫酸吗啡制剂。

(医药经济报, 本刊有删改)