

· 专家述评 ·

DOI:10.12095/j.issn.2095-6894.2018.05.002

组蛋白伴侣 FACT 复合物抑制剂 CBL0137——恶性胶质瘤治疗新药物?

金明珠¹, 徐煜¹, 金卫林²

(¹上海交通大学医学院, 上海 200025; ²上海交通大学电子信息与电气工程学院, 智能诊疗仪器工程中心, 纳米生物医学工程研究所, 上海 200240)

CBL0137 targeting histone chaperone FACT complex: a new chemotherapeutic agent for glioblastoma multiforme?

JIN Ming-Zhu¹, XU Yu¹, JIN Wei-Lin²

¹Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200025, China, ²Institute of Nano Biomedicine and Engineering, Shanghai Engineering Center for Intelligent Diagnosis and Treatment Instrument, School of Electronic Information and Electronic Engineering, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China

【Abstract】 Glioblastoma multiforme (GBM) is one of the most common primary central nervous system cancers. Surgery combined with radiotherapy and chemotherapy is the main strategy for its treatment. However, the impossibility of complete removal of tumor lesions by surgery and the drug resistance of the first-line chemotherapeutic agent temozolomide lead to the poor therapeutic effect, and tumor recurrence of GBM. CBL0137 can cross the blood-brain barrier, and inhibit the function of facilitates chromatin transcription (FACT) in promoting the formation of chromatin transcription complexes, thus activate p53 and downregulate NF- κ B in GBM. CBL0137 might bring about a new opportunity for the treatment of GBM once tested by multiple clinical trials.

【Keywords】 CBL0137; glioblastoma multiforme; chemotherapeutic agent; facilitates chromatin transcription complex; temozolomide

【摘要】 恶性胶质瘤(MG),尤其是多形性胶质母细胞瘤(GBM)是临床上最常见的致命中枢神经系统肿瘤,手术联合放化疗的综合治疗方案是其治疗的主要手段。然而,手术无法完全切除肿瘤病灶及一线化疗药物替莫唑胺耐药导致其治疗效果欠佳,且肿瘤极易复发。CBL0137作为组蛋白伴侣分子FACT复合物的小分子抑制剂能透过血脑屏障,直接调控FACT促染色质转录活性,下调NF- κ B,激活p53,从而抑制了肿瘤的生长。进一步临床试验的开展将推进CBL0137成为恶性胶质瘤治疗新药物。

【关键词】 CBL0137;恶性胶质瘤;化疗药物;FACT促染色质转录复合物;替莫唑胺

【中图分类号】 R73 **【文献标识码】** A

0 引言

恶性胶质瘤(malignant gliomas, MG)恶性程度高,手术难以全部切除,放疗、化疗抗性也增加了治疗的难度和治疗后的复发率,导致恶性胶质瘤患者五年生存率仅为5.5%^[1]。一方面,替莫唑胺(temozolomide, TMZ)作为一线化疗药物,其耐药性机制的探索一直是当前研究的热点。另一方面,寻找新型化疗药物也具有重要临床意义和价值。

1 恶性胶质瘤治疗的研究现状

1.1 胶质瘤背景介绍 恶性胶质瘤源自脑或脊柱中的胶质细胞,是最常见的恶性脑肿瘤,约占总脑肿瘤

的30%,总恶性脑肿瘤的80%。根据病理特征,WHO将胶质瘤分为室管膜肿瘤、星形细胞肿瘤、少突胶质细胞肿瘤、少突-星形细胞瘤等。又根据肿瘤生物学行为,可分为瘤细胞核的多形性、核分裂象、有丝分裂的数目、内皮增生、组织有无坏死等,WHO采用四级法对胶质瘤进行分级,其中I、II级为低级别肿瘤,预后较好;III、IV级为高级别肿瘤,预后差^[2-3]。

星形细胞肿瘤好发于大脑额叶和颞叶,可见多叶受累。根据其组织学特征,可分为毛细胞型星形细胞瘤(WHO I级)、弥漫性星形细胞瘤(WHO II级)、间变型星形细胞瘤(WHO III级)、胶质母细胞瘤(WHO IV级)等,其中胶质母细胞瘤恶性程度最高,发展迅

收稿日期:2018-04-22;接受日期:2018-04-27

基金项目:上海交通大学医工交叉项目(YG2015MS20)

作者简介:金明珠。研究方向:临床医学。E-mail:mingzhujin@sjtu.edu.cn。

徐煜(共同第一作者)。研究方向:临床医学。E-mail:xuyu1224@126.com

通讯作者:金卫林。博士,副教授。研究方向:转化神经科学。E-mail:weilinjin@sjtu.edu.cn

速,预后极差^[2-4]。

少突胶质细胞瘤(WHO II级)和间变型少突胶质细胞瘤(WHO III级)都好发于大脑半球的皮质和白质。少突胶质细胞瘤进展缓慢,间变型少突胶质细胞瘤进展迅速,难以彻底切除,术后都易复发^[2-4]。

室管膜下瘤(WHO I级)、黏液乳头型室管膜瘤(WHO I级)、室管膜瘤(WHO II级)和间变型室管膜瘤(WHO III级)可发生于脑室任意部位,进展缓慢。室管膜瘤是最常见的室管膜肿瘤,间变型室管膜瘤预后极差^[2-4]。

恶性胶质瘤的病因尚未明确,浸润性生长,手术难切除,预后差,易复发,所以关于恶性胶质瘤治疗的研究十分重要。

1.2 胶质瘤分子分型 根据基因表达谱,恶性胶质瘤主要分为前神经元型、神经元型、经典型以及间质^[5]。每种亚型的分子特点均不相同,主要标志物包括血小板源性生长因子受体A(platelet derived growth factor receptor, PGFR)、异柠檬酸脱氢酶1(isocitrate dehydrogenase 1, IDH1)、表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)、神经纤维瘤病I型蛋白(neurofibromin 1, NF1)等,如前神经元型以 PGFR 扩增和 IDH1 突变为,间质型以 NF1 缺失,肿瘤坏死因子和 NF- κ B 高表达为主^[6]。又根据表观遗传水平,胶质瘤被分为胶质瘤 CpG 岛甲基化表型(Glioma-CpG island methylator phenotype, G-CIMP)和非 G-CIMP 型。两者的标志物也不相同,如 G-CIMP 型以甲基鸟嘌呤甲基转移酶(methylguanine methyl transferase, MGMT)基因的 DNA 甲基化为主^[6]。胶质瘤分子分型的深入理解将会对胶质瘤精准治疗策略提供更好的理论依据。

1.3 胶质瘤治疗现状 目前恶性胶质瘤的治疗方法主要包括手术治疗、放射治疗、化学治疗、免疫治疗等。手术切除辅以术后放射治疗、TMZ 同期及辅助化疗为标准治疗方案^[7]。通过手术切除肿瘤是最直接的治疗方法,但是恶性胶质瘤呈浸润性生长,与周围组织界线不明显,难以完全切除,故术后因辅通过电离辐射作用的放射治疗及通过化学药物作用的化学治疗抑制肿瘤。免疫治疗逐步被重视,通过调节机体自身免疫防御机制抑制肿瘤,但目前仍在研究阶段。其他还有光动力治疗以及基因治疗等^[7]。尽管近年来的神经外科手术技术、设备以及放疗的技术、设备都在不断改善,但是疗效改善有限。同时,标准治疗方案疗效仍不佳,复发率高。所以研究新的恶性胶质瘤治疗方法尤其重要。

1.4 胶质瘤一线化疗药物——替莫唑胺 TMZ 是一线烷化剂类化疗药物,是咪唑四嗪的衍生物^[8]。TMZ 最初于 1992 年用来治疗胶质母细胞瘤,随后作为治疗胶质母细胞瘤的一线药物被应用于治疗星形细胞瘤、胶质瘤、神经内分泌肿瘤等。在生理 pH 下,替莫唑胺自发水解,得到活性代谢物 3-甲基-(三嗪-1-咪唑-4-甲酰胺(MTIC)^[9],MTIC 进一步水解生成甲胍。TMZ 通过使 DNA 分子中鸟嘌呤的 N7、O6 位烷基化发挥抗肿瘤作用,诱导癌细胞死亡。TMZ 可与放疗联合治疗,随后作为辅助治疗。TMZ 最大的优点是能够透过血脑屏障,生物利用度接近 100%。

2 TMZ 临床治疗产生耐药性

胶质瘤治疗中常产生 TMZ 的耐药性。现在研究发现 TMZ 耐药有复杂的机制,包括 EGFR 的过表达,miRNA 表达谱改变,DNA 损伤的修复缺陷等。其中,最重要的 TMZ 耐药机制与 MGMT 有关^[8,10]。MGMT 是一种 DNA 修复酶,可以修复 TMZ 产生的鸟嘌呤 O6 位置上的甲基。MGMT 与鸟嘌呤 O6 位发生不可逆的结合,将甲基从鸟嘌呤上转移至其催化中心上的半胱氨酸残基,从而修复 DNA,抑制 TMZ 以及其他烷基化试剂产生的细胞毒性。随后 MGMT 失活,被蛋白酶体降解,不再循环发生作用。MGMT 不仅可以去除 DNA 分子上鸟嘌呤 O6 位置的甲基,还可以去除其他烷基,但是相比之下,MGMT 去除甲基的速度比去除其他烷基的速度快^[8]。研究^[11]表明,O6-苄基胍(O6-benzylguanine, O6-BG)是一种特殊的 MGMT 抑制剂,主要通过将苄基共价转移到 MGMT 的活性半胱氨酸残基上,使其发生不可逆失活,消耗 MGMT,保证替莫唑胺发挥抗肿瘤作用。但是,遗憾的是,O6-苄基胍不仅能恢复由于 MGMT 过表达而被抑制的替莫唑胺的活性,而且对正常细胞毒性较大,故不能在临床上广泛应用^[11]。EGFR 刺激细胞增殖、迁移、血管生成,同时野生型 EGFR(即 K-ras 基因处于正常状态)与配体结合激活 EGFR 下游的两条主要信号通路:Ras/Raf/MEK/ERK-MAPK 通路和 PI3K/Akt/mTOR 通路,导致肿瘤抑制功能减弱,肿瘤细胞凋亡减少,对替莫唑胺产生耐药性^[12-14]。研究^[15]表明,拉帕替尼是一种酪氨酸激酶抑制剂,可阻断 EGFR 通路,减弱对替莫唑胺的耐药性,目前拉帕替尼被用于治疗乳腺癌。众多科学家和临床医生都试图寻找胶质瘤治疗 TMZ 的替代药物,CBL0137 就是其中一个具有潜力的候选药物^[13](图 1a)。

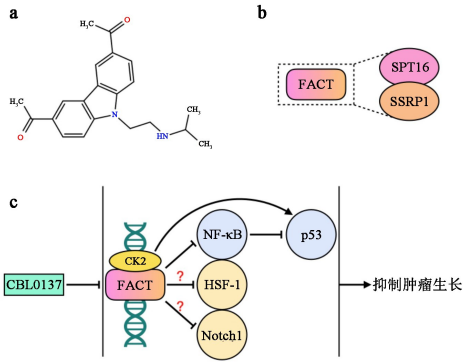


图1 CBL0137 靶向 FACT 发挥恶性胶质瘤抗癌活性

3 CBL0137 能够靶向组蛋白伴侣——FACT 复合物

近年来, Curaxin 作为一种新的抗肿瘤候选药物引起了广泛关注。Curaxin 可以通过调节促核染色质转录因子 (facilitates chromatin transcription, FACT) 激活 p53^[16-17]。Curaxin 的抗肿瘤作用与其结合 DNA 的能力和诱导 FACT 紧密结合核染色质的能力密切相关。CBL0137 属于 Curaxin 系列中最有潜力的一种小分子, 目前作为一种抗肿瘤药物正在进行临床试验 (NCT01905228, NCT02931110)^[17]。FACT 是一种异二聚蛋白复合物 (图 1b), 对于真核生物的 RNA 聚合酶 II (polymerase II, Pol II) 的转录和延长至关重要, 其由 SSRP1 和 SPT16 两个亚基组成, 在很多肿瘤中 FACT 高表达^[16]。例如, FACT 在小细胞肺癌的始祖肿瘤细胞 (tumor-initiating cells, TIC) 高表达, TIC 会引起治疗过程中对于顺铂的耐药性。TIC 对 CBL0137 十分敏感, 因为其可以阻止负调节蛋白 SP3 与肿瘤抑制基因 Notch1 的启动子结合, 增加 Notch1 的表达, 从而降低干细胞转录因子的表达水平^[18]。

有文献^[19]报道, 在非小细胞肺癌中, CBL0137 靶向 FACT, 抑制 NF-κB 信号通道, 与埃罗替尼 (erlotinib) 共同作用, 抑制非小细胞肺癌肿瘤细胞生长。而在胰腺导管腺癌中, CBL0137 可诱导大量增生的肿瘤细胞及胰腺癌干细胞凋亡^[20]。重要的是, 一项来源于小鼠模型动物实验显示 CBL0137 不是直接作用于小鼠乳腺肿瘤启动子, 而是抑制乳腺肿瘤癌变, 在不伤害正常器官和组织的情况下, 有效预防及缓解乳腺癌的发生^[21]。同时, 在胰导管腺癌、结直肠腺癌、黑色素瘤等肿瘤模型中, CBL0137 也有很好的抗癌活性^[20]。

4 CBL0137 小分子在恶性胶质瘤治疗中的临床前研究

目前, CBL0137 在恶性胶质瘤中的研究主要基于细胞系和小鼠移植瘤模型, 胶质瘤细胞和动物模型上 CBL0137 表现出很好的抗癌活性^[13, 17]。FACT、NF-κB 高表达和一些基因位点突变如 EGFR 是恶性胶质瘤及其他肿瘤的特征之一。和其他肿瘤如神经母细胞瘤、小细胞肺癌、胰腺导管癌一样, CBL0137 抗癌机制的研究也主要集中在其调节 FACT 功能上。

FACT 在恶性胶质瘤中的水平远高于正常脑组织, 且在不同的亚型中, FACT 表达水平不同。在高级别、低分化的肿瘤中, FACT 的水平尤其高, 因为 FACT 与干细胞标记物包括 SOX2 (sex determining region Y-box 2)、OCT4 (octamer-binding transcription factor 4)、OLIG2 (oligodendrocyte transcription factor 2) 和 NANOG 转录有关, 使细胞维持在未分化状态, 而 CBL0137 作为 FACT 的抑制剂, 降低这些干性基因的表达水平^[13]。CBL0137 可通过血脑屏障激活 p53, 阻止 NF-κB 转录, 调节 Notch 及热休克因子 (heat shock transcriptional factor 1, HSF1), 从而抑制 FACT 的功能, 诱导肿瘤细胞死亡^[18, 22-24] (图 1c)。

近年来, 具有干性的肿瘤细胞被认为是导致肿瘤发生、低氧反应、治疗抗性和复发的重要因素^[25]。CD133 表达与肿瘤自我更新和分化相关, CD133⁺ 的肿瘤细胞被认为更具有成瘤能力。基于分选出的 CD133⁺ 和 CD133⁻ 恶性胶质瘤细胞增殖和凋亡程度, Dermawan 等^[13] 报道称相较于 CD133⁻ 肿瘤细胞, CD133⁺ 肿瘤细胞对 CBL0137 更敏感。CBL0137 使肿瘤干细胞均匀分裂向不均匀分裂转化, 促进细胞分化, 从而有效抑制肿瘤细胞的生长和增殖。这一作用的完成依赖于 FACT 复合物的亚基 SSRP1, 与 FACT 表达水平相关, 提示 CBL0137 对于肿瘤作用较正常脑组织更显著。另一方面, TMZ 耐药性制约了恶性胶质瘤的治疗效果。在 U87MG (TMZ-敏感) 和 A1207 (TMZ-不敏感) 细胞系实验中, TMZ 不仅能降低 U87MG 细胞系中 NF-κB 调控的 IκBα 表达, 而且 CBL0137 在两个细胞系中均能降低 TNF 诱导的转录增加。此外, 在 U87MG 和 A1207 小鼠移植瘤模型中, CBL0137 均能发挥抗癌作用, 并且和 TMZ 联用时, 能增加恶性胶质瘤对 TMZ 的敏感性^[17], 提示 CBL0137 和 TMZ 作为化疗联合用药的可能性。

5 讨论与展望

目前, CBL0137 用于治疗淋巴瘤与转移性或不可

切除的晚期实体瘤在美国正处于一期临床试验(NCT01905228; NCT02931110),但 CBL0137 在恶性胶质瘤中的研究还非常局限,更多机制需要探讨。

肿瘤微环境如缺氧高水平活性氧(ROS)也会对药物效用产生影响^[25],因此构建能够模拟肿瘤微环境和异质性的恶性胶质瘤类器官体作为体外实验模型会比细胞系的研究更能模拟真实肿瘤的情况^[26]。

值得肯定的是,CBL0137 能靶向恶性胶质瘤肿瘤干细胞,抑制 FACT 功能达到抗癌效果,且能穿过血脑屏障,为其临床应用提供可能性。然而,从实验结果到临床转化还需要更多投入和实践。未来,多中心针对 CBL0137 抗癌活性临床研究的开展及 CBL0137 联合 TMZ 化疗、CBL0137 化疗联合免疫治疗等综合治疗方式的深入研究将为恶性胶质瘤难治、易复发的现状带来新的希望。

【参考文献】

- [1] Ostrom QT, Gittleman H, Liao P, et al. CBRUS statistical report: primary brain and central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2007–2011[J]. *Neuro Oncol*,2014,16 Suppl 4: iv1–iv63.
- [2] Goodenberger ML, Jenkins RB. Genetics of adult glioma[J]. *Cancer Genet*,2012,205(12):613–621.
- [3] Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, et al. The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system[J]. *Acta Neuropathol*,2007,114(2):97–109.
- [4] Weller M, Wick W, Aldape K, et al. Glioma[J]. *Nat Rev Dis Primers*,2015,1:15017.
- [5] Noushmehr H, Weisenberger DJ, Diefes K, et al. Identification of a CpG island methylator phenotype that defines a distinct subgroup of glioma[J]. *Cancer Cell*,2010,17(5):510–522.
- [6] Verhaak RG, Hoadley KA, Purdom E, et al. Integrated genomic analysis identifies clinically relevant subtypes of glioblastoma characterized by abnormalities in PDGFRA, IDH1, EGFR, and NF1[J]. *Cancer Cell*,2010,17(1):98–110.
- [7] 《中国中枢神经系统胶质瘤诊断和治疗指南》编写组. 中国中枢神经系统胶质瘤诊断与治疗指南(2015)[J]. *中华医学杂志*,2016,96(7):485–509.
- [8] Sengupta S, Marrinan J, Frishman C, et al. Impact of temozolomide on immune response during malignant glioma chemotherapy[J]. *Clin Dev Immunol*,2012,2012:831090.
- [9] Clemente N, Ferrara B, Gigliotti C, et al. Solid lipid nanoparticles carrying temozolomide for melanoma treatment. preliminary in vitro and in vivo studies.[J]. *Int J Mol Sci*,2018,19(2):E255.
- [10] Perazzoli G, Prados J, Ortiz R, et al. Temozolomide resistance in glioblastoma cell lines: implication of MGMT, MMR, P-Glycoprotein and CD133 expression[J]. *Plos One*,2015,10(10):e0140131.
- [11] Stephen ZR, Kievit FM, Veiseh O, et al. Redox-responsive magnetic nanoparticle for targeted convection-enhanced delivery of O6-benzylguanine to brain tumors[J]. *ACS Nano*,2014,8(10):10383–10395.
- [12] Chong DQ, Toh XY, Ho IA, et al. Combined treatment of Nimotuzumab and rapamycin is effective against temozolomide-resistant human gliomas regardless of the EGFR mutation status[J]. *Bmc Cancer*,2015,15:255.
- [13] Dermawan JK, Hitomi M, Silver DJ, et al. Pharmacological targeting of the histone chaperone complex FACT preferentially eliminates glioblastoma stem cells and prolongs survival in preclinical models[J]. *Cancer Res*,2016,76(8):2432–2442.
- [14] Yang X, Yang K, Kuang K. The efficacy and safety of EGFR inhibitor monotherapy in non-small cell lung cancer: A systematic review[J]. *Curr Oncol Rep*,2014,16(6):390.
- [15] Liu CY, Hu MH, Hsu CJ, et al. Lapatinib inhibits CIP2A/PP2A/p-Akt signaling and induces apoptosis in triple negative breast cancer cells[J]. *Oncotarget*,2016,7(8):9135–9149.
- [16] Safina A, Cheney P, Pal M, et al. FACT is a sensor of DNA torsional stress in eukaryotic cells[J]. *Nucleic Acids Res*,2017,45(4):1925–1945.
- [17] Barone TA, Burkhart CA, Safina A, et al. Anticancer drug candidate CBL0137, which inhibits histone chaperone FACT, is efficacious in preclinical orthotopic models of temozolomide-responsive and -resistant glioblastoma.[J]. *Neuro Oncology*,2017,19(2):186–196.
- [18] De S, Lindner DJ, Coleman C, et al. The FACT inhibitor CBL0137 synergizes with cisplatin in small cell lung cancer by increasing NOTCH1 expression and targeting tumor-initiating cells[J]. *Cancer Res*,2018.
- [19] Dermawan JK, Gurova K, Pink J, et al. Quinacrine overcomes resistance to erlotinib by inhibiting FACT, NF-κB, and cell-cycle progression in non-small cell lung cancer[J]. *Mol Cancer Ther*,2014,13(9):2203–2214.
- [20] Burkhart C, Fleyshman D, Kohrn R, et al. Curaxin CBL0137 eradicates drug resistant cancer stem cells and potentiates efficacy of gemcitabine in preclinical models of pancreatic cancer [J]. *Oncotarget*,2014,5(22):11038–11053.
- [21] Koman IE, Commane M, Paszkiewicz G, et al. Targeting FACT complex suppresses mammary tumorigenesis in Her2/neu transgenic mice[J]. *Cancer Prevention Research*,2012,5(8):1025–1035.
- [22] Gasparian AV, Burkhart CA, Purmal AA, et al. Curaxins: anticancer compounds that simultaneously suppress NF-κB and activate p53 by targeting FACT[J]. *Sci Transl Med*,2011,3(95):95ra74.
- [23] Haber M, Murray J, Gamble L, et al. 422 CBL0137, a novel NFκB suppressor and p53 activator, is highly effective in pre-clinical models of neuroblastoma[J]. *Eur J Cancer*,2014,50:135.
- [24] Maluchenko NV, Chang HW, Kozinova MT, et al. Inhibiting the pro-tumor and transcription factor FACT; Mechanisms[J]. *Mol Biol (Mosk)*,2016,50(4):599–610.
- [25] Qiu GZ, Jin MZ, Dai JX, et al. Reprogramming of the tumor in the hypoxic niche: The emerging concept and associated therapeutic strategies[J]. *Trends Pharmacol Sci*,2017,38(8):669–686.
- [26] Jin MZ, Han RR, Qiu GZ, et al. Organoids: An intermediate modeling platform in precision oncology[J]. *Cancer Lett*,2018,414:174–180.