

· 综述 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2017.30.037

组蛋白去乙酰化酶抑制剂与肿瘤治疗研究进展*

陈恒屹 综述,何 勇[△] 审校

(第三军医大学大坪医院野战外科研究所呼吸内科,重庆 400010)

[关键词] 组蛋白去乙酰化酶抑制剂;肿瘤细胞死亡;联合治疗

[中图分类号] R73-3

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2017)30-4280-03

组蛋白及非组蛋白乙酰化状态失衡与肿瘤的发生、发展密切相关,被认为是肿瘤治疗的新靶点。组蛋白去乙酰化酶抑制剂(histone deacetylase inhibitor, HDACi)通过影响组蛋白乙酰化转移酶(histone acetyltransferases, HAT)和组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylases, HDACs)对细胞核内乙酰化与去乙酰化过程的调控,诱导肿瘤细胞分化、抑制肿瘤细胞周期、诱发 DNA 损伤以及肿瘤细胞死亡,发挥抗癌作用,逐渐成为抗癌治疗和肿瘤靶向治疗联合用药领域的新热点。本文将对 HDACi 的抗癌作用,特别是在诱导肿瘤细胞程序性死亡中的重要作用的研究进展以及临床应用前景进行综述。

1 HDACs 家族和 HDACi

HDACs 是一个广泛存在于真核生物中的超基因家族,在多种肿瘤细胞中过表达。主要分为 4 大类,共 18 个亚型^[1]:即 I 类(HDACs 1、2、3 和 8)、II 类(HDACs 4、5、6、7、9 和 10)、III 类(SIRT1-SIRT7)、IV 类(HDAC 11)。其中, I、II、IV 类为 Zn⁺ 依赖性酶。HDACs 通过作用于组蛋白和非组蛋白,以及抑癌因子 P53 等细胞因子直接或间接参与许多重要的细胞通路,调控基因表达,影响肿瘤细胞增殖、分化、迁移和凋亡^[1]。

自 20 世纪 90 年代以来,人们已获得了多种结构不同的 HDACis,据其化学结构可分为 6 类:(1)异羟肟酸类,如伏立诺他(suberoyl anilide hydroxamic acid, SAHA)、制滴菌素 A (Trichostatin A, TSA);(2)短链脂肪酸类,如异戊酸、丁酸钠;(3)亲电子酮类,如三氟甲基酮;(4)环四肽类,如 Romidepsin (depsipeptide, FK228)、Trapoxin;(5)苯甲酰胺类,如 mocetinstat(MGCD0103);(6)其他类化合物。

2 HDACi 诱导肿瘤细胞死亡

肿瘤细胞的程序性死亡途径在肿瘤发生、发展和治疗中起重要作用。研究发现,HDACi 对肿瘤细胞的凋亡、自噬以及坏死的程序性死亡途径均产生显著影响。

2.1 HDACi 诱导凋亡 凋亡是介导肿瘤细胞死亡的主要途径,与抗癌药耐药的发生存在密切联系^[2]。而 HDACi 对肿瘤细胞的内源性和外源性凋亡两种途径均有诱导作用。内源性凋亡途径是细胞毒性药物诱导肿瘤细胞凋亡的主要途径,主要由 B 细胞淋巴瘤因子 2(B-cell lymphoma 2, Bcl-2)家族抗凋亡和促凋亡蛋白的相互作用实现。研究发现,BIM 是一种促凋亡 BH3-only 蛋白,是介导 HDACi 诱导肿瘤细胞内源性凋亡的关键蛋白。沉默 BIM 的表达能减少 HDACi 诱导的线粒体膜电位降低^[3],消除 HDACi 诱导的细胞凋亡。发生 BIM 基因缺失的淋巴瘤小鼠模型对 SAHA 的治疗反应显著降低,在治疗早期即出现肿瘤复发^[4]。此外,HDACi 还通过促进基因启

动子区 H3 和(或)H4 组蛋白乙酰化抑制抗凋亡蛋白 Bcl-2、Bcl-XL 等蛋白基因转录并降低其蛋白表达水平^[5]。但与此同时,HDACi 也会诱导 BIM 与抗凋亡蛋白 Bcl-2 或 Bcl-XL 形成复合物,减弱 HDACi 的促凋亡效应,甚至导致肿瘤细胞对 HDACi 耐药^[6]。

外源性凋亡途径又被称为死亡受体途径。研究发现,HDACi 可以在基因水平上增加肿瘤细胞 TNF 相关的凋亡诱导配体(TNF-related apoptosis inducing ligand, TRAIL)的表达,并且与重组人源 TRAIL 产生协同诱导外源性凋亡的作用^[7]。

2.2 HDACi 诱导自噬 近年来研究发现,乙酰化与去乙酰化在自噬调控过程中发挥重要作用,HDACi 在诱导凋亡的同时,可诱导多种肿瘤细胞的非 Caspase 依赖性的自噬。但 HDACi 诱导的自噬与细胞死亡之间的关系在不同的肿瘤细胞、肿瘤模型以及联合用药方式中存在不同,其作用及机制尚需进一步探讨,是目前研究的热点之一。

HDACi 诱导自噬的机制十分复杂,涉及哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)、核因子(NF)- κ B 以及活性氧族(reactive oxygen species, ROS)等信号通路^[8-9]。大部分研究认为,HDACi 诱导的自噬在肿瘤细胞中发挥着细胞保护作用。经典的自噬抑制剂氯喹可显著增强 SAHA 在慢性髓细胞性白血病细胞中的抗癌效应,克服 Bcr-Abl 基因突变介导的靶向治疗药物伊马替尼耐药^[10];并显著增强 HDACi 诱导的急性髓系白血病细胞死亡^[11]。提示自噬抑制剂与 HDACi 联合用药的方案有望成为特定类型白血病的有效治疗措施。在胶质母细胞瘤中,敲除自噬信号通路关键基因 Atg7 的表达,SAHA 所诱导的凋亡增加^[12]。相关研究在口腔鳞状细胞癌细胞、乳腺癌细胞、结肠癌细胞、急性 T 细胞白血病细胞、恶性横纹肌样瘤、恶性外周神经鞘瘤中亦发现类似结果,即使在使用药物阻断凋亡途径后,抑制自噬同样可以增强 HDACi 诱导的非凋亡性细胞死亡^[12]。

与之相反的是,有部分研究表明,HDACi 诱导的自噬可以发挥细胞毒性作用,促进细胞死亡^[13-14]。在肝细胞癌中联用自噬抑制剂 3-MA 或敲除自噬关键基因 Atg5 基因会减弱 SAHA 的细胞毒性作用^[13]。在 T790M 基因突变介导的获得性耐药的肺腺癌中,SAHA 与不可逆表皮生长因子酪氨酸激酶抑制剂(epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor, EGFR-TKI)联用所诱导的自噬能协同增加肺癌细胞的凋亡^[14]。此外,一项在 Atg5 和 Atg7 缺失的淋巴瘤小鼠模型中进行的体内研究则发现,抑制自噬未对 HDACi 诱导

* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(81472189)。 作者简介:陈恒屹(1983-),主治医师,博士,主要从事晚期肺癌相关临床和基础研究。 [△] 通信作者, E-mail:heyong8998@126.com。

的细胞死亡产生明显影响^[15]。

2.3 HDACi 诱导坏死 细胞坏死是细胞程序性死亡的另一形式。当凋亡途径被 Caspase 抑制剂抑制后,活化的死亡受体则会激活细胞坏死途径,导致细胞死亡。透射电镜技术观察发现,HDACi 会诱导恶性横纹肌样瘤细胞发生坏死样形态改变,表现为细胞肿胀、质膜破裂^[16]。另外,SAHA 与抗鼠肉瘤病毒癌基因同源物 B1 (v-Raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1, BRAF) 抑制剂联用,通过非 caspase 依赖性释放高迁移率族蛋白 B1 (high-mobility group protein B1, HMGB1),诱导黑色素瘤细胞坏死^[17]。此外,ROS 的异常产生在 TNF 介导的细胞坏死过程中发挥作用,SAHA、TSA、丁酸盐等 HDACis 诱导的肿瘤细胞 ROS 的产生和积累很可能是 HDACi 调控细胞坏死过程的潜在机制。但目前关于 HDACi 与坏死性细胞死亡之间关系的报道很少,HDACi 对细胞坏死的影响有待进一步的研究。

3 HDACi 的其他抗癌机制

HDACi 在影响肿瘤细胞死亡途径的同时,被证实还可以活化核转录因子 NF- κ B,诱导促炎症因子生成,进而抑制抗氧化途径,诱导氧化应激反应,导致肿瘤细胞 DNA 损伤^[18];与此同时,HDACi 还下调参与碱基切除修复 (base-excision repair, BER) 和核苷酸切除修复 (nucleotide excision repair, NER) 的相关蛋白,从而抑制氧化损伤的修复和线粒体膜去极化^[18],引起肿瘤细胞 ROS 累积,进一步加剧 DNA 损伤。研究发现,由于 HDACi 对 DNA 修复的抑制及其所诱导的细胞周期依赖性 DNA 损伤^[19],以及对转录基因 P21 的活化^[20],经 HDACi 处理的肿瘤细胞会发生细胞周期阻滞,使细胞周期停滞在 G1/S 或 G2/M 期。此外,HDACi 通过激活因组蛋白异常乙酰化而被抑制的基因表达,诱导肿瘤细胞向高分化方向发展。HDA-Cis 还可抑制肿瘤血管生成,发挥抗癌效应。

4 HDACi 的临床应用前景

4.1 HDACi 的临床研发 自首个天然化合物 TSA 于 1976 年被发现以来,其人工合成的结构类似物 SAHA 在 T 细胞淋巴瘤和骨髓异常增生综合征患者中显示出肯定的临床疗效,已于 2006 年经 FDA 批准上市,用于血液系统肿瘤的治疗,成为首个进入临床的 HDACi。Fujisawa 公司的 FK228 亦于 2009 年和 2011 年经 FDA 批准上市用于皮肤 T 细胞淋巴瘤和外周 T 细胞淋巴瘤的治疗。随后,belinostat (PXD101) 和 Panobinostat (LBH-589) 分别于 2014 年和 2015 年经 FDA 批准用于皮肤 T 细胞淋巴瘤和多发性骨髓瘤的治疗。此外,西达本胺 (CS055/HBI-8000) 于 2009 年成为国内首个经 SFDA 批准进入临床试验的 HDACi。CUDC-101、JNJ-26481585、MGCD0103 等均已逐渐进入临床研究阶段。

4.2 HDACi 在实体肿瘤治疗中的局限及解决策略 虽然 HDACi 在血液系统肿瘤中的治疗地位已被确立,但前期临床数据显示,单用 HDACi 在实体肿瘤中的疗效远不及血液系统肿瘤,其可能的原因为 HDACi 在实体肿瘤中抗癌效应的不稳定性^[21]。肿瘤对 HDACi 耐药,以及泛 HDACi 可能同时在实体肿瘤中发挥抑癌和促癌的双重效应^[22]。如前所述,HDACi 在促凋亡的同时会诱导部分抗凋亡蛋白表达水平升高,并促进促凋亡蛋白与抗凋亡蛋白复合物的形成,减弱促凋亡效应,且在抗凋亡蛋白高表达的实体肿瘤中,Bcl-XL、Mcl-1 等的高表达也会减弱 HDACi 的促凋亡作用^[23];HDACi 所诱导的自噬在多种肿瘤细胞中发挥保护作用。此外,HDACi 在部分肿瘤中可以活化核转录因子 NF- κ B^[24],并诱导 IL-8 等炎症因子的

释放^[21],产生促癌效应。因此,开发高选择性 HDACi、探索 HDACi 在不同肿瘤中的异质性作用,尤其是基于 HDAC 抑制的联合用药方案成为进一步研究的重点。

4.3 HDACi 联合用药策略 联合用药是肿瘤治疗中提高疗效、减少不良反应的发生和克服耐药的重要策略。近年来,已有大量研究探索基于 HDAC 抑制的联合用药方案在实体肿瘤治疗中的作用。

首先,HDACi 与其他抗癌治疗方案联用协同增加抗癌治疗效果。HDACi 诱导的凋亡增加非小细胞肺癌对培美曲塞的敏感性^[25],并在横纹肌肉瘤、胶质母细胞瘤、膀胱癌等多种肿瘤细胞中发挥化疗增敏的作用。不仅如此,HDACi 可在多种肿瘤细胞中调节 T 细胞趋化因子的表达,与 PD-1 抑制剂联用提高免疫治疗反应^[26];增加骨肉瘤、胶质瘤、乳腺癌、肺癌等对放疗的敏感性。

其次,HDACi 能克服部分肿瘤细胞对化疗或靶向治疗药物耐药。如,HDACi 能克服缺氧诱导的 P53 突变肺癌细胞对顺铂耐药,在发生 BIM 多态性改变非小细胞肺癌中,通过恢复 BIM 的功能恢复该细胞对第 1 代和第 3 代 EGFR-TKI 的敏感性^[27];并通过诱导凋亡克服 T790M 基因突变诱导的 EGFR-TKI 耐药^[14]。

再次,针对 HDACi 在抗癌治疗中的不足或促癌效应进行干预,可进一步增强 HDACi 的抗癌效果。研究发现,HDACi 与血管生成抑制剂、腺苷二磷酸核糖转移酶抑制剂、mTOR 抑制剂、NF- κ B 抑制剂等联用可协同杀伤乳腺癌细胞^[28]、肝癌细胞^[29]等。在高表达抗凋亡蛋白的肿瘤中,联合使用 HDACi 和抑制抗凋亡蛋白表达的药物能协同增强 HDACi 的促凋亡效应。在肺癌和结肠癌中,同时联用自噬抑制剂可增强 HDACi 对化疗或放疗的增敏作用^[25,30]。

目前,已有多个基于 HDACi 的联合用药方案已进入临床研究阶段 (clinicaltrials.gov)。随着大量新型 HDACi 的持续开发、对 HDACi 抗癌机制的深入认识以及联合用药策略的不断优化,HDACi 已逐渐成为很有前途的新型肿瘤治疗药物,在抗癌治疗领域具有广阔的应用前景。

参考文献

- [1] Roche J, Bertrand P. Inside HDACs with more selective HDAC inhibitors[J]. Eur J Med Chem, 2016(121): 451-483.
- [2] Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation[J]. Cell, 2011, 144(5): 646-674.
- [3] Inoue S, Riley J, Gant TW, et al. Apoptosis induced by histone deacetylase inhibitors in leukemic cells is mediated by Bim and Noxa[J]. Leukemia, 2007, 21(8): 1773-1782.
- [4] Lindemann RK, Newbold A, Whitecross KF, et al. Analysis of the apoptotic and therapeutic activities of histone deacetylase inhibitors by using a mouse model of B cell lymphoma[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2007, 104(19): 8071-8076.
- [5] Matthews GM, Newbold A, Johnstone RW. Intrinsic and extrinsic apoptotic pathway signaling as determinants of histone deacetylase inhibitor antitumor activity[J]. Adv Cancer Res, 2012, 116(2): 165-197.
- [6] Chen S, Zhang Y, Zhou L, et al. A Bim-targeting strategy overcomes adaptive bortezomib resistance in myeloma

- through a novel link between autophagy and apoptosis [J]. *Blood*, 2014, 124(17):2687-2697.
- [7] Carlisi D, Lauricella M, D'Anneo A, et al. The histone deacetylase inhibitor suberoylanilide hydroxamic acid sensitizes human hepatocellular carcinoma cells to TRAIL-induced apoptosis by TRAIL-DISC activation[J]. *Eur J Cancer*, 2009, 45(13):2425-2438.
- [8] Chiao MT, Cheng WY, Yang YC, et al. Suberoylanilide hydroxamic acid (SAHA) causes tumor growth slow-down and triggers autophagy in glioblastoma stem cells [J]. *Autophagy*, 2013, 9(10):1509-1526.
- [9] Shulak L, Beljanski V, Chiang C, et al. Histone deacetylase inhibitors potentiate vesicular stomatitis virus oncolysis in prostate cancer cells by modulating NF- κ B-dependent autophagy[J]. *J Virol*, 2014, 88(5):2927-2940.
- [10] Carew JS, Nawrocki ST, Giles FJ, et al. Targeting autophagy: a novel anticancer strategy with therapeutic implications for imatinib resistance[J]. *Biologics*, 2008(2):201-204.
- [11] Torgersen ML, Engedal N, Boe SO, et al. Targeting autophagy potentiates the apoptotic effect of histone deacetylase inhibitors in t(8;21) AML cells[J]. *Blood*, 2013, 122(14):2467-2476.
- [12] Gammoh N, Lam D, Puente C, et al. Role of autophagy in histone deacetylase inhibitor-induced apoptotic and non-apoptotic cell death[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2012, 109(17):6561-6565.
- [13] Liu YL, Yang PM, Shun CT, et al. Autophagy potentiates the anti-cancer effects of the histone deacetylase inhibitors in hepatocellular carcinoma[J]. *Autophagy*, 2010, 6(8):1057-1065.
- [14] Lee TG, Jeong EH, Kim SY, et al. The combination of irreversible EGFR TKIs and SAHA induces apoptosis and autophagy-mediated cell death to overcome acquired resistance in EGFR T790M-mutated lung cancer[J]. *Int J Cancer*, 2015, 136(11):2717-2729.
- [15] Emily K, Olaf W, Ina O. HDAC family members intertwined in the regulation of autophagy: a druggable vulnerability in aggressive tumor entities[J]. *Cells*, 2015, 4(2):135-168.
- [16] Watanabe M, Adachi S, Matsubara H, et al. Induction of autophagy in malignant rhabdoid tumor cells by the histone deacetylase inhibitor FK228 through AIF translocation[J]. *Int J Cancer*, 2009, 124(1):55-67.
- [17] Lai F, Guo ST, Jin L, et al. Cotargeting histone deacetylases and oncogenic BRAF synergistically kills human melanoma cells by necrosis independently of RIPK1 and RIPK3[J]. *Cell Death Dis*, 2013(4):e655.
- [18] Schäfer C, Göder A, Beyer M, et al. Class I histone deacetylases regulate p53/NF- κ B crosstalk in cancer cells [J]. *Cell Signal*, 2017(29):218-225.
- [19] Bhaskara S, Knutson SK, Jiang G, et al. Hdac3 is essential for the maintenance of chromatin structure and genome stability[J]. *Cancer cell*, 2010, 18(5):436-447.
- [20] Noh EJ, Lim DS, Jeong G, et al. An HDAC inhibitor, trichostatin A, induces a delay at G2/M transition, slippage of spindle checkpoint, and cell death in a transcription-dependent manner [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 378(3):326-331.
- [21] Mai A, Massa S, Rotili D, et al. Histone deacetylation in epigenetics: An attractive target for anticancer therapy [J]. *Med Res Rev*, 2005, 25(3):261-309.
- [22] Halsall JA, Turner BM. Histone deacetylase inhibitors for cancer therapy: An evolutionarily ancient resistance response may explain their limited success[J]. *Bioessays*, 2016, 38(11):1102-1110.
- [23] Thompson RC, Vardinogiannis I, Gilmore TD. The sensitivity of diffuse large B-cell lymphoma cell lines to histone deacetylase inhibitor-induced apoptosis is modulated by BCL-2 family protein activity[J]. *PLoS One*, 2013, 8(5):e62822.
- [24] Abaza MS, Bahman AM, Al-Attayah R. Superior antimetastatic and chemosensitization activities of the combination treatment of the histone deacetylase inhibitor apicidin and proteasome inhibitors on human colorectal cancer cells [J]. *Int J Oncol*, 2014, 44(2):105-128.
- [25] Del Bufalo D, Desideri M, De Luca T, et al. Histone deacetylase inhibition synergistically enhances pemetrexed cytotoxicity through induction of apoptosis and autophagy in non-small cell lung cancer[J]. *Mol Cancer*, 2014(13):230.
- [26] Zheng H, Zhao W, Yan C, et al. HDAC inhibitors enhance T-Cell chemokine expression and augment response to PD-1 immunotherapy in lung adenocarcinoma [J]. *Clin Cancer Res*, 2016, 22(16):4119-4132.
- [27] Nakagawa T, Takeuchi S, Yamada T, et al. EGFR-TKI resistance due to BIM polymorphism can be circumvented in combination with HDAC inhibition[J]. *Cancer Res*, 2013, 73(8):2428-2434.
- [28] Jafary H, Ahmadian S, Soleimani M. The enhanced apoptosis and antiproliferative response to combined treatment with valproate and nicotinamide in MCF-7 breast cancer cells[J]. *Tumour Biol*, 2014, 35(3):2701-2710.
- [29] Peng X, Zhang D, Li Z, et al. mTOR inhibition sensitizes human hepatocellular carcinoma cells to resminostat[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, 477(4):556-562.
- [30] He G, Wang Y, Pang X, et al. Inhibition of autophagy induced by TSA sensitizes colon cancer cell to radiation[J]. *Tumour Biol*, 2014, 35(2):1003-1011.