

选择性组蛋白去乙酰化酶抑制剂抗肿瘤作用的研究进展

郑逸轩, 朱雍, 陆涛* (中国药科大学有机化学教研室, 南京 210009)

摘要: 核心组蛋白的乙酰化和去乙酰化在调节基因表达方面起着重要作用, 与肿瘤的发生密切相关。**目的** 讨论单一组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylase, HDAC)亚型作为抗肿瘤药物靶点的可行性以及他们在癌症中的致癌能力。**方法** 大量的组蛋白去乙酰化酶抑制剂已被研发, 并且在临床实验中进行评估, 表现出了较好的抗肿瘤活性。**结果** 这些化合物大部分都不具有选择性, I 期临床中表现出了很多方面的副作用。**结论** 这个领域最值得研究的方向就是设计出选择性的抑制剂, 仅仅作用于肿瘤细胞, 而对正常细胞不造成影响。

关键词: HDAC 抑制剂; 选择性; 肿瘤治疗; 作用机制; 临床应用

中图分类号: R962.1

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2010)11-1089-08

Progress in the Research of Selective Histone Deacetylase Inhibitors

ZHENG Yixuan, ZHU Yong, LU Tao* (*Organic Chemistry Staffroom, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China*)

作者简介: 郑逸轩, 男, 硕士生
E-mail: lut163@163.com

Tel: 13770674646

E-mail: zyxbku@163.com

***通信作者:** 陆涛, 男, 教授, 博导

Tel: 15205163001

ABSTRACT: It is very important for acetylation and deacetylation of chromatin histone to regulate the gene transcription by histone deacetylase, which is closely related with tumor. **OBJECTIVE** The aim of this review is to discuss the possibility of a single HDAC family member as drug targets in cancer and their oncogenic potential in cancer disease. **METHODS** The first HDAC inhibitors have been evaluated in clinical trials and show activity against several cancer diseases. **RESULTS** However, these compounds don't act selectively against most parts of HDAC family, and they show a lot of side effects in clinical phase I. **CONCLUSION** So the question in this field is to find the cancer relevant HDAC family members in the certain tumor and to design selective HDAC inhibitors, which target cancer cells but leave out normal cells.

KEY WORDS: HDAC inhibitor; selective; tumor therapy; mechanism; clinical application

基因有序的转录调控是机体细胞维持正常功能的前提, 如果基因转录调控功能紊乱, 细胞可能发生癌变。遗传调控和表观遗传调控共同控制真核基因的表达。表观遗传调控是真核基因组一种独特的调控机制。表观遗传调控包括 DNA 甲基化、RNA 干涉、组蛋白修饰这 3 方面, 其中组蛋白修饰而引起的染色体局部构象的改变, 在真核生物基因表达调控中发挥着重要的作用。组蛋白修饰主要包括了对组蛋白尾部的赖氨酸和精氨酸残基的乙酰化、甲基化、磷酸化和泛素化。其中, 组蛋白的乙酰化修饰较为普遍。调控组蛋白乙酰化和去乙酰化的是一对功能相互拮抗的酶——组蛋白乙酰转移酶(histone acetyl transferases, HAT)和组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylase, HDAC), 两者之间的竞争决定了组蛋白的乙酰化程度, 它们各自形成的基因转录调控复合物, 分别称为辅助激活因子(CoA)和辅助抑制因子(CoR)。HAT 催化 CoA 上的乙酰基转移到蛋白氨基末端, 有利于转录因子与 DNA 结合, 转录激活。而 HDAC 的功能则相反, 它使转录因子不能接近目标 DNA, 转录抑制。因此, 可以通过对 HDAC 功能的抑制, 达到治疗肿瘤的目的。

1 组蛋白去乙酰化酶的分类

目前, 已在哺乳动物体内发现了 18 种 HDAC 亚型, 按其酵母菌同源基因 Rpd3, Hda1, Sir2 的序列同源性, 可以分为 4 类^[1-2]。第 I 类 HDAC 与酵母菌 Rpd3 蛋白相似, 包括 HDAC1, HDAC2, HDAC3 和 HDAC8。第 II 类 HDAC 与酵母菌 Hda1 蛋白相似, 又分为 2 类, II a 和 II b。II a 类的 HDAC 有 HDAC4, HDAC5, HDAC7 和 HDAC9; II b 类 HDAC 包括 HDAC6 和 HDAC10。第 III 类 HDAC 与酵母菌转录抑制因子 Sir2 序列相近, 包括 7 个亚型(SIRT1~SIRT7)。HDAC11 是最新发现的一种 HDAC 亚型, 最近从分子进化角度将其单独作为第 IV 类 HDAC。I 类、II 类和 IV 类被认为是“经典”的 HDAC, 其结构中都含有锌离子催化口袋。

III 类 HDAC 被命名为 sirtuins, 不属于锌离子依赖性酶, 它需要 NAD⁺作为催化去乙酰化的辅助因子。因此, “经典”类 HDAC 抑制剂(如氧肟酸类), 对 sirtuins 没有活性。临床试验中的“HDAC 抑制剂”通常是指以经典的第 I 类, 第 II 类和第 IV 类 HDAC 作为靶点的化合物。目前研究的 HDAC 抑制剂大多不具有特定的选择性, 他们对大多数 HDAC 亚型甚至是全部都具有抑制作用。

2 组蛋白去乙酰化酶抑制剂的构效关系

目前已经报道了多种 HDAC 抑制剂, 并且结构特征也多种多样, 通过 HDAC 抑制剂构效关系的研究, 对设计合成新的抑制剂具有指导作用, HDAC 抑制剂的结构详见表 2。关于构效关系以小分子氧肟酸类抑制剂的研究最为深入。

目前研究的 HDAC 抑制剂的结构大致可分为以下几个部分: 表面识别区(CAP), 连接基团(connection unit, CU), 疏水连接区(hydrophobic spacer, HS), 锌离子结合区(zinc-binding group, ZBG)^[3], 如图 1 所示。

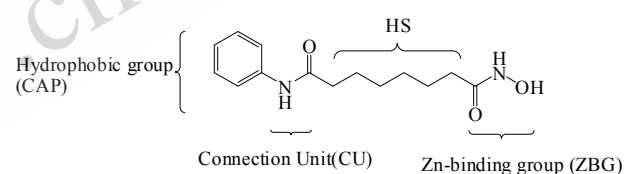


图 1 HDAC 抑制剂的结构

Fig 1 The structure of HDAC inhibitor

CAP 区: 该区位于 HDAC 催化口袋的入口处, 由于该区域的空间比较大, 因此, CAP 区连接的基团都具有较大的体积, 通常包括单一的芳杂环, 多元芳杂环和环肽类结构。该区可与酶活性位点边缘的氨基酸残基相互作用, 从而决定抑制剂对酶的识别及结合强度, 辅助金属整合基团与锌离子结合; 这不仅仅影响其对酶的抑制效果, 也可能影响抑制剂对酶亚型的选择^[4]。

CU 区: 该区是连接 CAP 和 HS 区的连接基团, 通常是一些含 $sp^2[0]$ 杂化原子的基团, 如羰基、酰

胺基、磺酰胺基以及芳杂环等。

HS 区: 该区位于 HDAC 催化口袋的疏水性通道中,起连接 CAP 与 ZBG 基团的作用。该区域可以是链状或环状结构,也可以是饱和烃类或不饱和烃类机构。但通常在直链烃长度为 5~6 个亚甲基时活性最优。

ZBG 区: 该区域是抑制剂与 HDAC 的催化中心锌离子的结合区域。HDAC 抑制剂可以和酶中的锌离子形成双齿或单独成配位键作用。因此,ZBG 通常为能与金属离子形成配位作用的基团,如氧肟酸、苯甲酰胺、羧酸、三氟甲基酮、巯基等。其中,氧肟酸是 HDAC 抑制剂中最常见的一类,其结构中的羰基氧原子和羟基氧原子不仅可以和锌离子形成双齿螯合作用,而且还可以和周围的氨基酸残基形成氢键作用。

因此,对大量 HDAC 抑制剂的研究表明^[5-6],其构效关系为:①CAP 区如果加入一些疏水性的芳香基团能明显的提高其抑制活性。②位于 HS 区和 CAP 区结合部位的 CU 区采用 sp^2 杂化的碳原子时,使邻近的芳香基团和脂肪链成 110° 的夹角,会有利于抑制剂和活性位点边缘的残基相互作用,从而提高活性。③在 HS 区的化合物的直链长度为 5~6 个亚甲基时活性最优,相比之下如果长

度过短,可能使得 ZBG 基团不能到达活性位点与锌离子结合,使得活性降低。④氧肟酸作为锌离子结合基团,其对 HDAC 的抑制活性要高于其他类型的基团,并能达到纳米级的抑制活性。⑤在 ZBG 的末端引入一疏水性芳环,可以提高抑制剂对 HDAC1 的抑制活性,并降低对其他亚型的作用。

3 选择性的组蛋白去乙酰化酶抑制剂

HDAC 抑制剂的广谱抗肿瘤活性已经在细胞培养和动物模型中得到验证。目前,非选择性 HDAC 抑制剂有 Vorinostat(SAHA, **1**)和 Trichostatin A(TSA, **2**)。前者是第 1 个通过美国 FDA 批准用于表皮 T 细胞淋巴瘤的此类临床治疗药物^[7-8]。这 2 个化合物均含有氧肟酸结构,对人体 2%~10%左右的正常基因的表达具有影响。如 I 期和 II 期临床研究表明 Vorinostat 有很多不良反应,包括骨髓抑制、腹泻、体重减轻、疲劳和心率失常等^[9]。因此以单一 HDAC 亚型为靶向的选择性 HDAC 抑制剂是今后研发的方向。

所讨论的 HDAC 抑制剂对亚型的选择性以及这些化合物所处的研究阶段见表 1。

笔者主要介绍以经典 HDAC 为靶点的选择性 HDAC 抑制剂。其作用方式皆是通过与活性结合位点的口袋底部锌离子螯合作用^[10]。

表 1 HDAC 抑制剂及其主要作用亚型

Tab 1 HDAC inhibitors and its principal functional subunit

抑制剂	研究阶段	作用的主要 HDAC 亚型
非选择性 HDAC 抑制剂	Vorinostat(SAHA)	已上市
	NVP-LAQ82	临床 I 期
	Panbinostat	临床 II 期
	Belinostat	临床 II 期
	PCI-24781	临床 I 期
第 I 类抑制剂	MS-275	临床 II 期
	Depsipeptide	临床 II 期
	Valproic acid	临床 II 期
	R306465	临床 I 期
	APHA derivatives	临床前
第 II 类抑制剂	Tubacin	临床前
	Mercaptoacetamide	临床前
	NCT-10a/14a	临床前

3.1 第 I 类 HDAC 抑制剂

第 I 类 HDAC 被认为是和癌症治疗最相关的靶点,对 HDAC1, HDAC2, HDAC3 具有活性的抑制剂通常都表现出强的抗增殖活性和诱导细胞

凋亡的作用。同时,在 HIV 治疗方面,第 I 类 HDAC 也具有作用,它能诱导 HIV 启动子在细胞株中的表达,从而使得 HIV-1 被激活^[11-12]。

3.1.1 HDAC1, HDAC2, HDAC8 的选择性抑制

剂 苯甲酰胺类化合物 MS-275^[6](**3**)就是一个仅对 HDAC1、HDAC9 有选择性的抑制作用,而对同属第 I 类亚型的 HDAC2 和 HDAC3 没有作用^[13]。此化合物诱导组蛋白去乙酰化,但对微管蛋白无此作用。MGCD0103^[14](**4**)和 MS-275 结构相近,在纳摩尔级时即对 HDAC1 和 HDAC2 有抑制作用,但对其他的第 I 类,第 II 类 HDAC 作用很弱^[13],该化合物在 II 期临床评估中对各种癌症患者的治疗均取得良好疗效。环状四肽 (FK228^[15]即 Romidepsine, **5**)对 HDAC1 有非常强的活性,而对 HDAC2 的活性较弱。在较高的浓度下,也可抑制 HDAC4。目前已进入 II 期临床研究。Trapoxin(**6**)和其他环状四肽都对 HDAC1 有很高的活性,比对 HDAC6 的活性高 100 到 1 000 倍。但是,它对其他经典的 HDAC 亚型的作用没有得到确证。Bispyridinium diene(**7**)对 HDAC1 有选择性抑制,活性高于其对 HDAC3 和 HDAC4 的抑制活性,并且它不改变微管蛋白的乙酰化,表明 HDAC6 不是该化合物的靶点^[16]。R306465(**8**)是一个新的具有氧肟酸结构的 HDAC 抑制剂,对 HDAC1 和 HDAC8 的活性高于 HDAC6。临床前研究表明对实体瘤和血液恶性肿瘤具有广谱的抗肿瘤活性。

目前有几个化合物已被确定为 HDAC8 选择性抑制剂。如 SB-379278A(**9**), PCI-34051(**10**)。PCI-34051 诱导 T 淋巴细胞的凋亡,但对实体瘤细胞没有效果,表明它的抗肿瘤活性是针对特定的肿瘤类型。在成神经瘤细胞中,HDAC8 选择性抑制的化合物 Cpd2 诱导神经元分化,抑制增殖^[17]。研究发现,相对于其他第 I 类 HDAC 选择性抑制剂,上述 3 个 HDAC8 抑制剂诱导肿瘤细胞的凋亡、细胞周期阻断和分化,并不通过诱导组蛋白在特定的启动位点去乙酰化,而是影响组蛋白以外的其他蛋白质,改变它们的乙酰化而起作用^[18]。

3.1.2 第 I 类 HDAC 抑制剂的分子机制 对第 I 类 HDAC 具有选择性抑制作用的化合物,主要通过诱导 CDK 抑制因子 1A (p21^{Waf1/Cip1})的转录,阻断细胞分裂周期,抑制肿瘤细胞的增殖,如 HDAC1 或 HDAC2 的选择性抑制剂 MS275^[19], Apicidin^[20](**11**)和 Depsipeptide(**12**)等。这表明通过抑制 HDAC1 和 HDAC2 的作用,能够充分激活抑癌基因的表达。敲除胚胎成纤维细胞的 HDAC1 的基因,可上调 p21^{Waf1/Cip1}的表达并抑制细胞增长。在抑制 HDAC,并激活 p21^{Waf1/Cip1}的转录过程中,

伴随着 p21^{CIP1/WAF1} 启动子区组蛋白 H4 中 5, 8, 12 位赖氨酸的乙酰化,组蛋白 H3 中 9, 14 位赖氨酸的乙酰化和组蛋白 H3 中 4 位赖氨酸的甲基化作用^[21]。

第 I 类 HDAC 抑制剂 MS275 的浓度依赖性表现为:在低浓度下,MS275 诱导 p21^{CIP1/WAF1} 的表达,细胞周期阻断和分化。在高浓度下,化合物诱导活性氧簇(ROS)的产生、线粒体的凋亡、半胱天冬酶的激活并引起细胞程序性死亡^[19]。

除了直接诱导 p21^{CIP1/WAF1} 的表达外,第 I 类的 HDAC 抑制剂 Depsipeptide 也能通过激活 p53,介导 p21 的转录。Depsipeptide 使得 p53 在 373、382 位赖氨酸乙酰化从而避免被蛋白酶体降解^[22]。

Depsipeptide 不仅增强组蛋白乙酰化,还有效地抑制 DNA 甲基化。Depsipeptide 对很多基因的启动子有脱甲基作用,包括 p16, SALL3 和 GATA4。它减少了 DNMT1 与这些基因启动子的结合。同时由于抑制了组蛋白甲基转移酶 G9A 和 SUV39H1 的表达,因此也会降低这些基因启动子附近的 H3K9 的二甲基化或三甲基化。然而,非选择性 HDAC 抑制剂 TSA 没有诱导 DNA 甲基化的作用,也表明了第 I 类 HDAC 选择性抑制剂的特殊功能。

HDAC8 的选择性抑制剂 PCI-34051 通过诱导磷脂酶 C γ 1 介导的信号通路,释放内质网中钙离子以及线粒体中的细胞色素 C,从而引起 T 细胞淋巴瘤细胞的凋亡。在成神经瘤细胞中,HDAC8 的选择性抑制剂并不能诱导细胞凋亡,但能刺激轴突的生长和 MAP2、神经微丝以及神经营养因子 A 受体激酶的表达,并能下调干细胞标记物,从而诱导神经元的分化。因此,选择性抑制 HDAC8 不同于组蛋白大量乙酰化的途径,它是通过诱导肿瘤细胞的凋亡或分化而起作用^[17]。

3.1.3 临床应用 第 I 类 HDAC 选择性抑制剂 MS275, Depsipeptide 和 MGCD0103 在实体瘤、淋巴瘤和白血病患者中均有应用。SUZUKI 等^[23]发现 MS275 具有口服生物活性。研究表明,接种各种肿瘤细胞的鼠口服 MS-275 后,发现肿瘤生长都能被抑制。I 期临床找了 28 位血液系统恶性肿瘤的患者作为研究对象,研究发现,MS-275 最大耐受量是每周 10 mg·m⁻²(13 例患者的服药周期是 28 d,第 1 天和第 8 天服用量分别是 6, 8 mg·m⁻²,其他 15 例患者以 42 d 作为一个服药周期,在第 1, 8, 15, 22 天服药剂量分别为 8, 8, 10, 10 mg·m⁻²)。

有 6 例患者病情得到遏制。其不良反应和非选择性 HDAC 抑制剂类似,包括了疲劳、恶心、呕吐、腹泻、血小板和中性白细胞减少。目前 MS-275 进入 II 期临床与阿扎胞苷联用以治疗非小细胞肺癌实体瘤^[24]。另一个第 I 类 HDAC 选择性抑制剂 MGCD0103 是根据 MS-275 结构修饰获得的,同样也具有口服生物活性,口服生物利用度为 47%。I 期临床研究的 23 例白血病的患者一周 3 次服用 MDGD0103,剂量低于 80 mg·m⁻²,耐受良好。在实体瘤临床研究中,患者每周 3 次以 12.5, 20, 27, 36, 45 mg·m⁻² 的剂量服用,持续 3 周,耐受良好,主要的不良反应有疲劳、恶腹呕吐等,降低剂量会有所改善。Depsipeptide 在早期临床研究中表现出了心脏毒性,但在随后的大多数实验中并未出现。

3.2 第 II 类 HDAC 抑制剂

第 II 类 HDAC 分子量较大,组织分布具有特异性,能够往返于细胞核和细胞质,因此,可以推测这类 HDAC 还可能参与细胞质中蛋白质的去乙酰化。因此第 II 类 HDAC 抑制剂的抗肿瘤机制与第 I 类相比有很大的不同。HDAC6 对于肿瘤的发生和转移起着重要的作用,HDAC6 的过度表达引起 Ras 途径的改变。通过对成纤维细胞中 HDAC6 的缺失研究发现,其可抑制致癌基因 Ras 及 ErbB2 的转录,说明 HDAC6 对诱导致癌基因的

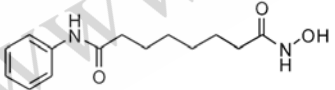
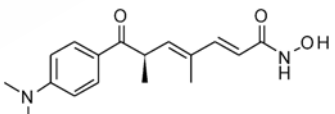
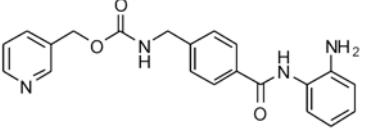
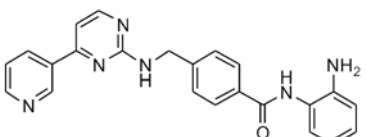
转录起着至关重要的作用。然而,目前对第 II 类 HDAC 抑制剂机制的研究还不够深入,因此关于第 II 类 HDAC 抑制剂的研究将成为今后选择性 HDAC 抑制剂研究的重要方向之一。

3.2.1 HDAC4 选择性抑制剂 APHA(13)及其衍生物属于第 II 类选择性抑制剂,对 HDAC4 的抑制活性是 HDAC1 的 120 倍。但对 U937 白血病细胞,APHA 并不会诱导细胞凋亡、细胞周期紊乱或者分化。

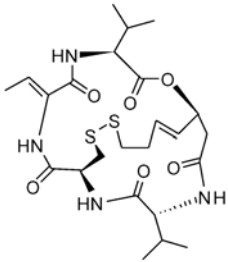
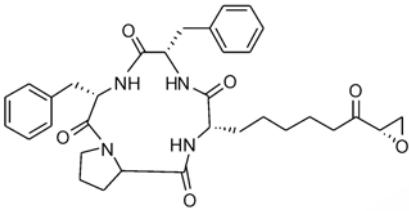
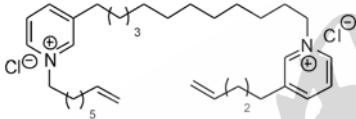
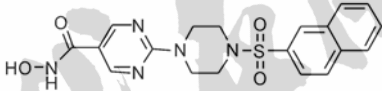
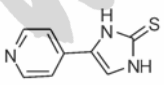
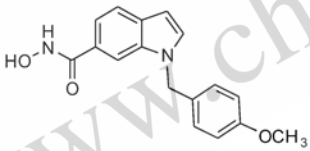
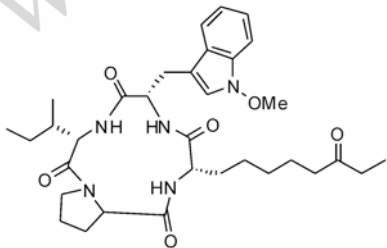
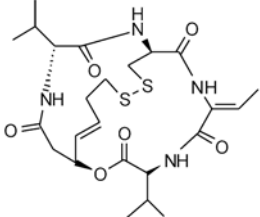
3.2.2 HDAC6 选择性抑制剂 Tubacin(14)是第 1 个被发现的 HDAC6 选择性抑制剂。通过抑制 HDAC6 使得哺乳动物细胞的 α 微管蛋白乙酰化,但不影响组蛋白乙酰化。在乳腺癌细胞中,Tubacin 防止雌二醇刺激细胞迁移。Tubacin 也可抑制肿瘤细胞上皮间质转变,进而促进细胞运动性和侵占性。其作用的分子基础是干扰 TGF β -SMAD3 信号通路^[25]。Tubacin 还可阻断侵袭素的作用,侵袭素是依赖 HDAC6 的活性来减少泛素化蛋白的展开和错误折叠。近来发现硫醇盐类似物 NCT-10a^[26](15)和 NCT-14a^[26](16)可作为 HDAC6 的选择性抑制剂^[27-28]。化合物本身并不表现出抑制细胞生长的活性,但是他们能增强紫杉醇的作用并且抑制雌激素依赖性的乳腺肿瘤细胞的生长^[29]。巯基乙酸盐最近也被发现是 HDAC6 的选择性抑制剂,它能保护神经元免于被氧化应激破坏^[30]。

表 2 HDAC 抑制剂的结构及 IC₅₀ 值

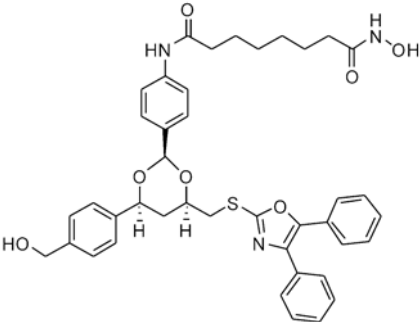
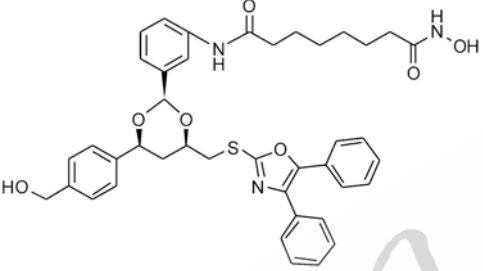
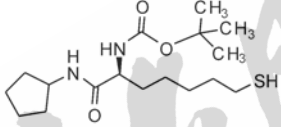
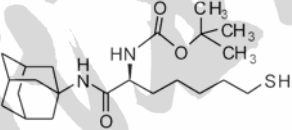
Tab 2 The structure and IC₅₀ of HDAC inhibitors

序号	化合物名称	化合物结构	化合物相关信息
1	Vorinostat(SAHA)		IC ₅₀ =200 nmol·L ⁻¹
2	TSA		IC ₅₀ =12 nmol·L ⁻¹
3	MS-275		HDAC1, IC ₅₀ =540 nmol·L ⁻¹ HDAC2, IC ₅₀ =500 nmol·L ⁻¹ HDAC3, IC ₅₀ =400 nmol·L ⁻¹ HDAC4, IC ₅₀ >10 000 nmol·L ⁻¹
4	MGCD0103		HDAC1, IC ₅₀ =150 nmol·L ⁻¹ HDAC2, IC ₅₀ =290 nmol·L ⁻¹ HDAC3, IC ₅₀ =1 660 nmol·L ⁻¹ HDAC11, IC ₅₀ =590 nmol·L ⁻¹

续表 2

序号	化合物名称	化合物结构	化合物相关信息
5	FK228		HDAC1, $IC_{50}=3.97 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ HDAC2, $IC_{50}=47 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ HDAC4, $IC_{50}=510 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ HDAC6, $IC_{50}=787 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$
6	Trapoxin		$IC_{50}=0.82 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$
7	Bispyridinium diene		
8	R306465		$IC_{50}=6 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$
9	SB-379278A		$IC_{50}=0.5 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$
10	PCI-34051		$IC_{50}=0.6 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$
11	Apicidin		HDAC1, $IC_{50}=44 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ HDAC3, $IC_{50}=9.7 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ HDAC4, $IC_{50}=3\ 600 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ HDAC6, $IC_{50}=4\ 300 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$
12	Depsipeptide		$IC_{50}=6 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$

续表 2

序号	化合物名称	化合物结构	化合物相关信息
13	APHA		$IC_{50}=30 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$
14	Tubacin		HDAC1, $IC_{50}=217\ 000 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ HDAC6, $IC_{50}=2\ 900 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$
15	NCT-10a		HDAC1, $IC_{50}=130 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ HDAC4, $IC_{50}=130 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ HDAC6, $IC_{50}=78 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$
16	NCT-14a		HDAC1, $IC_{50}=3\ 800 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ HDAC4, $IC_{50}=4\ 200 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ HDAC6, $IC_{50}=82 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$

和 HDAC8 选择性抑制剂类似, HDAC6 选择性抑制剂也是以其独立的方式起作用, 而不是使组蛋白乙酰化。相对于非选择性 HDAC 抑制剂, HDAC6 选择性抑制剂并不会明显改变基因的表达, 不改变细胞周期, 也不会导致有丝分裂纺锤体形成变异。这在细胞生物学的范畴上可以很清楚地表明 HDAC6 的选择性抑制剂的不同之处。当大鼠缺失 HDAC6 时, 并不会损害其正常的发育和主要器官的功能, 这预示 HDAC6 选择性抑制剂在用于临床实验时, 可能不会出现很大的不良反应。

Tubacin 和其他的 HDAC6 选择性抑制剂能抑制肿瘤细胞的迁移和转移, 并且和其他诱导应激反应通路的药物合用从而来发挥其肿瘤治疗的作用。这些化合物不是通过组蛋白乙酰化来发挥其在细胞中的作用, 而是通过乙酰化细胞质蛋白如 α 微管蛋白和热激蛋白发挥其功能^[31]。

近来研究发现, HDAC 的第 II 类选择性抑制剂在肌肉和心脏相关疾病的治疗上也有着潜在的疗效^[32]。

4 总结和展望

HDAC 抑制剂是一种新型有效的肿瘤治疗药物, 它主要是通过改变组蛋白的乙酰化程度来改变染色质结构, 从而达到调控基因表达的目的。在体内和体外, 它都可诱导肿瘤细胞的生长阻滞、分化和凋亡, 从而达到治疗肿瘤的目的。HDAC 抑制剂对于多种肿瘤模型都有效, 与很多其他作用机制的抗肿瘤药物联合使用后都能产生协同作用, 对肿瘤细胞和正常细胞具有较高的选择性。因此, HDAC 抑制剂的应用标志着一种全新的肿瘤治疗途径的诞生。目前, 对 HDAC 抑制剂的研究主要集中在提高对各种亚型的选择性上, 然而, 由于 HDAC 各亚型催化口袋以及锌离子结合区的氨基酸残基几乎完全相同。所以, 对这些亚型的选择性抑制比较困难。随着肿瘤学研究的深入, 多种 HDAC 抑制剂药物进入临床试验, 以及更多 HDAC 抑制剂的不断发现及其机制的深入认识, HDAC 抑制剂作为治疗肿瘤药物一定会有更广泛的应用前景。

REFERENCES

- [1] DE RUIJTER A J, VAN GENNIP A H, CARON H N, et al. Histone deacetylases (HDACs): characterization of the classical HDAC family [J]. *Biochem*, 2003, 370(3): 737-749.
- [2] GREGORETTI I V, LEE Y M, GOODSON H V. Molecular evolution of the histone deacetylase family: functional implications of phylogenetic analysis [J]. *J Mol Biol*, 2004, 338(1): 17-31.
- [3] MAI A, MASSA S, ROTILI D, et al. Exploring the connection unit in the HDAC inhibitor pharmacophore model: novel uracil-based hydroxamates [J]. *Bioorg Med Chem Lett*. 2005, 15(21): 4656-4661.
- [4] ITOH Y, SUZUKI T, MIYATA N. Isoform-selective histone deacetylase inhibitors [J]. *Curr Pharm Des*, 2008, 14(6): 529-544.
- [5] WOO S H, FRECHETTE S, ABOU KHALIL E, et al. Structurally simple trichostatin A-like straight chain hydroxamates as potent histone deacetylase inhibitors [J]. *J Med Chem*, 2002, 45(13): 2877-2885.
- [6] MORADEI O M, MALLAIS T C, FRECHETTE S, et al. Novel aminophenyl benzamide-type histone deacetylase inhibitors with enhanced potency and selectivity [J]. *J Med Chem*. 2007, 50(23): 5543-5546.
- [7] GRANT S, EASLEY C, KIRKPATRICK P. Vorinostat [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2007, 6(1): 21-22.
- [8] MARKS P A, BRESLOW R. Dimethyl sulfoxide to vorinostat: development of this histone deacetylase inhibitor as an anticancer drug [J]. *Nat Biotechnol*, 2007, 25(1): 84-90.
- [9] STAPNES C, ERSVAER E, GJERTSEN B T, et al. Histone deacetylase inhibitors in cancer treatment: a review of the clinical toxicity and the modulation of gene expression in cancer cell [J]. *Curr. Pharm. Biotechnol*, 2007, 8(6): 388-400.
- [10] NIELSEN T K, HILDMANN C, DICKMANN S A, et al. Crystal structure of a bacterial class 2 histone deacetylase homologue [J]. *J Mol Biol*, 2005, 354(1): 107-120.
- [11] ANDREA S, ANTONELLO M, SANDRO N, et al. "Shock and kill" effects of class I-selective histone deacetylase inhibitors in combination with the glutathione synthesis inhibitor buthionine sulfoximine in cell line models for HIV-1 quiescence [J]. *Retrovirology*. 2009, 6(1): 52.
- [12] ARCHIN N M, ESPESETH A, PARKER D, et al. Expression of latent HIV induced by the potent HDAC inhibitor suberoylanilide hydroxamic acid [J]. *AIDS Res Hum Retroviruses*, 2009, 25(2): 207-212.
- [13] KHAN N, JEFFERS M, KUMAR S, et al. Determination of the class and isoform selectivity of small molecule histone deacetylase inhibitors [J]. *Biochem J*, 2008, 409(2): 581-589.
- [14] Zhou N, Moradei O, Raepel S, et al. Discovery of *N*-(2-aminophenyl)-4-[(4-pyridin-3-ylpyrimidin-2-ylamino)methyl]benzamide (MGCD0103), an orally active histone deacetylase inhibitor [J]. *J Med Chem*, 2008, 51(14): 4072-4075.
- [15] YUREK-GEORGE A, CECIL A R, MO A H, et al. The first biologically active synthetic analogues of FK228, the depsipeptide histone deacetylase inhibitor [J]. *J Med Chem*. 2007, 50(23): 5720-5726.
- [16] PÉREZ-BALADO C, NEBBIOSO A, RODRÍGUEZ-GRAÑA P, et al. Bispyridinium diones: histone deacetylase inhibitors with selective activities [J]. *J Med Chem*, 2007, 50(10): 2497-2505.
- [17] BALASUBRAMANIAN S, RAMOS J, LUO W, et al. A novel histone deacetylase 8 (HDAC8) specific inhibitor PCI-34051 induces apoptosis in T-cell lymphomas [J]. *Leukemia* 2008, 22(5): 1026-1034.
- [18] OEHME I, DEUBZER HE, WEGENER D, et al. Histone deacetylase 8 in neuroblastoma tumorigenesis [J]. *Clin Cancer Res*, 2009, 15(1): 91-99.
- [19] ROSATO R R, ALMENARA J A, GRANT S. The histone deacetylase inhibitor MS-275 promotes differentiation or apoptosis in human leukemia cells through a process regulated by generation of reactive oxygen species and induction of p21^{CIP1/WAF1} [J]. *Cancer Res*, 2003, 63(13): 3637-3645.
- [20] JONES P, ALTAMURA S, DE FRANCESCO R, et al. Probing the elusive catalytic activity of vertebrate class IIa histone deacetylases [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2008, 18(6): 1814-1819.
- [21] GUI C Y, NGO L, XU W S, et al. Histone deacetylase (HDAC) inhibitor activation of p21WAF1 involves changes in promoter-associated proteins, including HDAC1 [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(5): 1241-1246.
- [22] ZHAO Y, LU S, WU L, et al. Acetylation of p53 at lysine 373/382 by the histone deacetylase inhibitor depsipeptide induces expression of p21(Waf1/Cip1) [J]. *Mol Cell Bio*, 2006, 26(7): 2782-2790.
- [23] SUZUKI T, ANDO T, TSUCHIYA K, et al. Synthesis and histone deacetylase inhibitory activity of new benzamide derivatives [J]. *J Med Chem*, 1999, 42(15): 3001-3003.
- [24] HOLGER H S, TOMKE U B, DAVID H, et al. MS-275, a potent orally available inhibitor of histone deacetylases-The development of an anticancer agent [J]. *Int J Biochem Cell Bio*, 2007, 39(7/8): 1388-1405.
- [25] BIN S, TSO-PANG Y, YING Z, et al. Requirement of HDAC6 for TGF- β 1 induced epithelial-mesenchymal transition [J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(30): 21065-21073.
- [26] ITOH Y, SUZUKI T, KOUKETSU A, et al. Design, synthesis, structure-selectivity relationship, and effect on human cancer cells of a novel series of histone deacetylase 6-selective inhibitors [J]. *J Med Chem*, 2007, 50(22): 5425-5438.
- [27] SUZUKI T, KOUKETSU A, ITOH Y, et al. Highly potent and selective histone deacetylase 6 inhibitors designed based on a small-molecular substrate [J]. *J Med Chem*, 2006, 49(16): 4809-4812.
- [28] ITOH Y, SUZUKI T, KOUKETSU A, et al. Design, synthesis, structure-selectivity relationship and effect on human cancer cells of a novel series of histone deacetylase 6-selective inhibitors [J]. *J Med Chem*, 2007, 50(22): 5425-5438.
- [29] THOMAS S, MUNSTER P N. Histone deacetylase inhibitor induced modulation of anti-estrogen therapy [J]. *Cancer Lett*, 2009, 280(2): 184-191.
- [30] KOZIKOWSKI A P, CHEN Y, GAYSIN A, et al. Functional differences in epigenetic modulators superiority of mercaptoacetamide-based histone deacetylase inhibitors relative to hydroxamates in cortical neuron neuroprotection studies [J]. *J Med Chem*, 2007, 50(13): 3054-3061.
- [31] SCHÄFER S, SAUNDERS L, ELISEEVA E, et al. Phenylalanine-containing hydroxamic acids as selective inhibitors of class IIb histone deacetylases (HDACs) [J]. *Bioorg Med Chem*, 2008, 16(4): 2011-2033.
- [32] NEBBIOSO A, MANZO F, MICELI M, et al. Selective class II HDAC inhibitors impair myogenesis by modulating the stability and activity of HDAC-MEF2 complexes [J]. *EMBO Rep*. 2009, 10(7): 776-782.

收稿日期: 2010-03-31