

· 综 述 ·

## 组蛋白去乙酰化酶抑制剂在甲状腺癌治疗中的进展\*

于丽菠 综述,袁耿彪<sup>△</sup> 审校

(重庆医科大学附属第二医院核医学科 400010)

关键词:甲状腺癌;组蛋白;组蛋白去乙酰化酶;放射性碘

中图分类号:R736.1

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2010)08-0988-03

甲状腺癌(thyroid carcinoma, TC)是最常见的内分泌系统肿瘤,占人类所有恶性肿瘤发病率的1%~2%。死亡率较低,不同种族、地区、性别及年龄间存在较大差别。近20年来,甲状腺癌发病率增加20%,尤以女性明显,其中最多见的是乳头状癌。据报道,2007年美国的甲状腺癌新发患者数达到33550例<sup>[1]</sup>。对于分化型甲状腺癌(differentiated thyroid carcinoma, DTC)目前国际上公认的综合治疗措施为甲状腺全切或近全切除术加术后<sup>131</sup>I内照射靶向治疗加甲状腺激素抑制治疗<sup>[2]</sup>。但其在发展过程中,有1/3患者会产生失分化;癌细胞的形态、功能发生改变,丧失了正常甲状腺滤泡细胞的摄碘、碘有机化以及甲状腺素的合成和释放等特异功能,从而给放射性碘治疗带来了困难。目前,有很多研究尝试寻找新的方法,其中组蛋白去乙酰化酶抑制剂(histone deacetylase inhibitor, HDACs)为一类具有良好应用前景的抗肿瘤药物,因其具有抑制肿瘤细胞增殖、诱导肿瘤细胞再分化和促进凋亡、在体外能以正常细胞毒性浓度的10%或更低浓度选择性杀伤肿瘤细胞的作用,而备受关注。本文综述HDACs在TC中的应用。

## 1 组蛋白乙酰化与去乙酰化

核小体是真核细胞中染色质的基本结构,由核心颗粒与连接区组成。核心颗粒为DNA缠绕组蛋白八聚体(H2A, H2B, H3, H4各两分子组成)而成,连接区由组蛋白H1和DNA链构成。组蛋白被修饰所引起的染色质结构改变在真核生物基因表达调控中发挥重要作用,这些修饰包括乙酰化、甲基化、磷酸化和泛素化等,其中组蛋白乙酰化尤为重要。乙酰化可以影响组蛋白与DNA的亲合性而改变染色质的状态,从而影响转录因子与DNA序列的结合。乙酰化修饰位点在组蛋白分子N端赖氨酸残基上,是一由组蛋白乙酰化酶(histone acetylase, HAT)和组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylase, HDAC)动态调控的可逆过程。在HAT作用下,乙酰辅酶A上的乙酰基被转移到组蛋白N端赖氨酸的ε-氨基上,中和一个正电荷,减弱了核小体中碱性赖氨酸与DNA的静电吸引力,使DNA与组蛋白之间的空间位阻增大,削弱了DNA与组蛋白的相互作用,使染色体处于开放状态,有利于转录因子的进入,促进基因的转录。HDAC是多亚基辅抑制物复合体的一部分,能使组蛋白去乙酰化,去乙酰基的组蛋白氨基端赖氨酸残基的正电荷增加,加强了组蛋白与DNA的接触,染色质呈致密卷曲的阻抑结构,产生了封闭的染色质环境,不利于转录因子的结合,从而抑制某些特定基因的转录。正常细胞中HAT与HDAC处于平衡状态,目前已证实组蛋白乙酰化异常与肿瘤的发生、发展有着直接关系,研究表明<sup>[3-7]</sup>HDACs在多种肿瘤中异常表达。

人HDAC家族非常庞大,根据氨基酸序列可分为3类:第1类包括HDAC1~3和8,广泛存在于人体的各种器官;第2类包括HDAC4~7、9、10,具有组织特异性,多在心脏、肺、骨骼肌表达。酵母中的SIR2(silent information regulator 2)及其相关蛋白构成了高等真核生物的第3类HDAC(class III)。在人类中有7种SIR2同源物,分别为SIRT1~7。HDAC11是HDAC家族的新成员,其序列与3类HDAC相似性很低,尚无法将其归类。上述HDAC家族成员,大多学者认为第1类HDAC对于基因调节作用更重要一些。随着研究的深入,人们已经明确了HDAC1~7的染色体定位,它们都定位于染色体上易于断裂,或者易于通过突变、易位、缺失而发生改变的区。去乙酰化作为一种重要的表观遗传修饰,可改变癌基因和抑癌基因的转录调控,进而改变细胞增殖周期、细胞分化以及细胞凋亡等。这种组蛋白去乙酰化状态的失衡就参与了许多恶性肿瘤的发生发展。

## 2 组蛋白去乙酰化酶抑制剂

HDACs是一类从生物体内提取或化学合成的化合物,能够靶向作用于HDAC,对HDAC活性的抑制有助于HAT的作用,利于乙酰化水平提高和DNA打开,使原本无法与启动子相接触的区域成为潜在的或新的转录因子的靶位,以高度选择性的方式恢复抑癌基因的表达,诱导细胞生长阻滞,促进细胞分化、凋亡。

HDACs的分类<sup>[8]</sup>:根据化学结构,HDACs主要分为6大类:(1)羧化物,即短链脂肪酸类,包括丁酸盐和丙戊酸(VPA);(2)小分子羟肟酸盐,包括suberoylanilide hydroxamic acid(SAHA)、曲古抑素(trichostatin A, TSA)等;(3)亲电子甲酮,包括TPX和AOE等;(4)环肽类,包括达帕丝肽(FK228)和Apicidin;(5)苯甲酰胺类,包括MS-275和CI-1994等;(6)其他类化合物,包括PXD101和CHAPs等。根据HDACs作用于细胞内不同的HDAC,其又可以划分为I类、IIa和IIb类及III类HDACs。

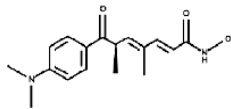
已有的体外研究证实<sup>[9-12]</sup>HDACs具有明显的抗肿瘤作用,虽然具体机制未完全明确,但较为公认的控制肿瘤进展的3个机制包括:(1)阻滞细胞周期、促进分化,是通过上调p21实现的;(2)诱导凋亡,可通过半胱氨酸天冬氨酸特异性蛋白酶(Caspase)依赖和非依赖的多种途径促进细胞凋亡;(3)间接抑制血管生成因子,阻断肿瘤的供血。HDACs的主要生物效应包括诱导肿瘤细胞分化、细胞周期阻滞和细胞凋亡,增强化疗和放疗敏感性,具有延缓实验动物肿瘤生长,逆转转移性肿瘤的恶性表型等抗肿瘤效应。

近年来,发现HDACs可抑制甲状腺肿瘤细胞生长,促进

\* 基金项目:重庆市科委自然科学基金资助项目(2007BB5310)。 <sup>△</sup> 通讯作者, E-mail: yuan\_gb@126.com。

其凋亡及再分化。甲状腺分化癌(differentiated thyroid carcinoma, DTC)中约 1/3 的患者在疾病的发生、发展过程中发生失分化,甚至最终发展为无分化型癌,主要表现为摄碘能力的下降。其机制尚不明确,目前认为引起 DTC 细胞失分化的原因有:(1)经<sup>131</sup>I 治疗后,未被杀死的 DTC 细胞或非肿瘤细胞的代谢过程都可能因辐射作用的影响发生改变,特别是甲状腺球蛋白(thyroglobulin, TG)的合成和碘代谢受影响,从而失去摄碘能力。(2)在<sup>131</sup>I 治疗前就可能存在具有不同摄碘能力的肿瘤细胞克隆,<sup>131</sup>I 治疗选择性地杀死摄碘能力强的细胞,而转移灶 DTC 细胞的形态和功能均发生明显的改变,细胞摄取<sup>131</sup>I 的功能明显减低。TC 的再分化是指在一些物质的诱导作用下,恶性肿瘤细胞可向正常细胞演变分化,甚至完全转变为正常细胞,这种现象又称为肿瘤细胞的诱导分化或肿瘤逆转。

**2.1 曲古抑素 A (trichostatin A, TSA)** 分子式: C<sub>17</sub> H<sub>22</sub> N<sub>2</sub> O<sub>3</sub>, 分子量: 302.37。



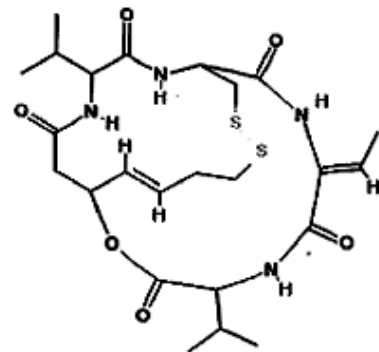
TSA 为发现的第一个能抑制 HDAC 的天然产物,属于小分子氧肟酸盐类,源自链霉菌属代谢产物,最先作为抗真菌药物使用。其具有很强的抑制组蛋白去乙酰化酶活性,主要通过与底物竞争性结合 HDAC 上的催化位点而发挥作用,并在 nmol 浓度时即可显著抑制 HDAC。TSA 因其高特异性、高效性、稳定性、低毒性而备受关注。现已进入临床试验阶段,在血液系统肿瘤和实体瘤的治疗中都取得了较好的效果。

进一步研究显示, TSA 可以通过降低多种细胞周期蛋白依赖性激酶(cyclinD1, cyclinA)等而使细胞增殖周期停滞在 G1 和 G2/M 期。Greenberg 等研究表明, TSA 在 500 nM 时即可使转移 TC 细胞凋亡并阻滞其细胞周期。同时,影响半胱天冬酶(caspase)通路中多种调控基因的表达,诱导细胞凋亡。另有研究显示, TSA 可通过降低 P16<sup>INK4a</sup> 基因启动子区的甲基化水平而有效抑制腺样囊性癌细胞(ACC-2)生长。研究<sup>[13-14]</sup>证实 TSA 有免疫抑制功能,主要是通过抑制 HDAC 影响基因的表达,诱导合成某些负性调节 CD<sub>4</sub> 表达的生物因子,从而调控 T 细胞的变化,影响 T 细胞参与的免疫应答过程。此外,有一系列关于 TSA 应用于改变甲状腺肿瘤细胞摄碘状况即诱导甲状腺癌细胞再分化的研究。研究表明, TSA 在 30 ng/mL 时,即可使 BHP18~12V 细胞和 ARO 细胞重新表达甲状腺特异基因和蛋白,包括: 钠碘转运体(sodium iodide symporter, NIS), 过氧化物酶(peroxydase, TPO), 甲状腺球蛋白(thyroglobulin, Tg)。肿瘤细胞摄碘功能恢复,对有效放射性碘治疗至为重要。近年来 Zarnegar 等研究表明 TSA 具有明显的组蛋白脱乙酰化酶抑制作用,在 80~330 nmol/L 时能明显提高甲状腺癌细胞系(TPC-1, XTC-1, FTC-133) NIS mRNA 的表达,同时还降低碘转运体 PDA mRNA 的表达,增强<sup>131</sup>I 在 TC 细胞中的滞留,对失分化甲状腺癌有显著疗效。

**2.2 达帕丝肽(depsipeptide, FK228)**

FK228 为一种环肽,最初是从紫色杆菌的发酵产物中分离出来的,是一种不含环氧酮基的环四肽类化合物,具有一个独特的双环结构,由 4 个氨基酸残基(L-Val, L-2-amino-2-butylenoic acid, D. Cys, D. Val)和 Hm7(3S, 4R-3-hydroxy-7-mercapto-4-heptenoic acid)通过二硫键形成双环内酯结

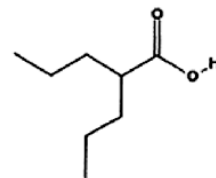
构。该药物需在胞内被还原为还原状态才起作用。已验证 FK228 在 nmol 浓度水平即可对肺癌、乳腺癌 MCF7、MDAMB231 细胞、膀胱癌 J82 细胞、前列腺癌以及甲状腺癌等多种人类肿瘤细胞<sup>[15]</sup>有明显的抑制增殖和促进凋亡的作用,且药物毒性作用低。该药物目前已进入对皮肤 T2 细胞淋巴瘤(cutaneous T cell lymphoma, CTCL)、肾细胞癌(renal cell carcinoma, RCC)及其他实体瘤以及多发骨髓瘤(multiple myeloma, MM)的临床 II 期研究阶段,且在 CTCL 患者中,总体应答率达 50%,已被美国食品药品监督管理局(food and drug administration, FDA)指定用于单一疗法治疗难治性或复发的 CTCL<sup>[16]</sup>。



研究表明, FK228 可抑制 TC 细胞增殖。在 1 ng/mL 水平, FK228 即可抑制甲状腺滤泡细胞癌和 ATC 细胞增殖。此外, FK228 可诱导 TC 细胞再分化,上调 TC 细胞的甲状腺球蛋白水平及钠碘同向转运体(sodium iodide symporter, NIS)蛋白的表达;同时,可增强细胞摄取<sup>125</sup>I 的能力,为 TC 的治疗提供新途径。对低分化甲状腺癌及 ATC 细胞的研究表明, 10 ng/mL FK228 可诱导细胞再分化并增强碘积累能力。在低浓度(1~10 ng/mL)时, FK228 可诱导碘吸收及有机化,经其处理过的肿瘤细胞聚碘能力明显增强。体内试验表明, FK228 注入小鼠体内 48 h 后其扫描结果显示: TC 病灶碘滞留率为对照组的 4 倍。因此, FK228 对低分化、ATC 甲状腺癌有临床治疗意义。

另有研究<sup>[17]</sup>表明, FK228 可影响分化型甲状腺癌及未分化型甲状腺癌细胞 TTF-1 和 PAX8 mRNA 水平;通过 PPAR $\gamma$  通路上调人类 ATC 细胞中 RhoB mRNA 及蛋白的表达。

**2.3 丙戊酸(valproic acid, VPA)**



VPA 为一短链脂肪酸,作为抗惊厥药而被广泛应用,现已有实验表明其具有抑制 HDAC 的作用,属于 I/II 类 HDACi。但具体作用机制并不明确。VPA 的不良反应包括骨髓毒性、神经变性、休克及超敏反应等,且其不良反应为浓度依赖性的。因此,其临床应用(尤其是在老年患者中)受到限制。

研究<sup>[18]</sup>表明, VPA 达到治疗癫痫的浓度时,可促进细胞生长并增强低分化甲状腺癌细胞的吸碘能力。另有研究<sup>[19]</sup>表明, VPA 可通过干扰 AKT 途径及其他不同的机制而增强其他抗肿瘤药物的作用。对 ATC 细胞系(CAL-62, ARO)的研究表明, VPA 通过影响小管的乙酰化状态而明显增强紫杉醇对细

胞活性、细胞凋亡的影响。VPA 还可增强甲状腺癌细胞对阿霉素的敏感性<sup>[20]</sup>。VPA 可明显增强阿霉素引起的细胞周期在 G2/M 期的停滞。体外条件下,该作用不是通过影响 ROS 的途径完成的。对低分化甲状腺癌细胞的研究表明,在 1 mmol/L 浓度时,VPA 还可通过影响 NIS 蛋白的表达及其在膜上的定位而诱导肿瘤细胞再分化;并可通过在基因及蛋白水平上调 P21,下调 cyclinA 而影响肿瘤细胞凋亡。

HDACs 是一类新型有较好抗肿瘤生物活性的化合物,主要是通过组蛋白的乙酰化程度来改变染色质的结构,从而调控基因的表达。它可在体内外诱导甲状腺肿瘤细胞的生长阻滞、分化和凋亡,为甲状腺肿瘤,尤其是失分化甲状腺肿瘤、未分化甲状腺肿瘤的治疗提供新的思路。由于该类药物具有有效性及有效抑制剂量范围内低毒性的优点,而成为一种具有广泛应用前景的治疗肿瘤的新药。一种新型 HDAC 酶靶标特异性抑制剂已经被发现,如一种新的 HDAC 抑制剂 Tubacin 能够特异性抑制 HDAC-6 活性,其杀伤肿瘤的效果有待证实,能否应用于 TC 也有待于证实。医学科技工作者期待尽早研制出靶向治疗 TC 的新型 HDACs,尤其是针对失分化、未分化甲状腺癌的药物,解决 TC 治疗的难题,提高 TC 的治愈率,为 TC 患者带来福音。

#### 参考文献:

- [1] Jemal A, Siegel R, Ward E, et al. Cancer statistics, 2007 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2007, 57(1):43.
- [2] Cooper DS, Doherty GM, Haugen BR, et al. Management guidelines for patients with thyroid nodules and differentiated thyroid cancer; the American thyroid association guidelines taskforce [J]. *Thyroid*, 2006, 16(2):109.
- [3] Jung M, Kozikowski A, Dritschilo A. Rational design and development of radiation sensitizing histone deacetylase inhibitors [J]. *Chem Biodivers*, 2005, 2(11):1452.
- [4] Backs J, Song K, Bezprozvannaya S, et al. CaM kinase II selectively signals to histone deacetylase 4 during cardiomyocyte hypertrophy [J]. *J Clin Invest*, 2006, 116(7):1853.
- [5] Kim S, Kang JK, Kim YK, et al. Histone deacetylase inhibitor apicidin induces cyclin E expression through Spl sites [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, 342(4):1168.
- [6] Rokhlin OW, Glover RB, Guseva NV, et al. Mechanisms of cell death induced by histone deacetylase inhibitors in androgen receptor positive prostate cancer cells [J]. *Mol Cancer Res*, 2006, 4(2):113.
- [7] Verdone L, Agricola E, Caserta M, et al. Histone acetylation in gene regulation [J]. *Brief Funct Genomic Proteomic*, 2006, 5(3):209.
- [8] Monneret C. Histone deacetylase inhibitors [J]. *Eur J Med Chem*, 2005, 40(1):1.
- [9] Bolden JE, Peart MJ, Johnstone RW, et al. Anticancer activities of histone deacetylase inhibitors [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2006, 5(9):769.
- [10] Bhalla KN. Epigenetic and chromatin modifiers as targeted therapy of hematologic malignancies [J]. *Clin Oncol*, 2005, 23(17):3971.
- [11] Peart MJ, Smyth G, Van LR, et al. Identification and functional significance of genes regulated by structurally different histone deacetylase inhibitors [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(10):3697.
- [12] Nebbioso A, Clarke N, Voltz E, et al. Tumor-selective action of HDAC inhibitors involves TRAIL induction in acute myeloid leukemia cells [J]. *Nat Med*, 2005, 11(1):77.
- [13] 周荣睿, 田臻, 黄枫豪, 等. 曲古抑菌素 A 对腺样囊性癌细胞 ACC-2 增殖及 P16<sup>INK4a</sup> 启动子区甲基化、mRNA 表达的影响 [J]. *中国口腔颌面外科杂志*, 2008, 6(3):194.
- [14] Kozłowska A, Jagodziński PP. Effect of Trichostatin A on CD4 surface density in peripheral blood T cells [J]. *Folia Histochem Cytobiol*, 2006, 44(4):259.
- [15] Choudhary S, Wang HC. Proapoptotic ability of oncogenic H-Ras to facilitate apoptosis induced by histone deacetylase inhibitors in human cancer cells [J]. *Mol Cancer Ther*, 2007, 6(3):109.
- [16] Whittaker S, McCulloch W, Robak T, et al. International multicenter Phase II study of the HDAC inhibitor (HDACi) depsipeptide (FK228) in cutaneous T-cell lymphoma (CTCL): Interim report [J]. *Clin Oncol*, 2006, 24(18):3063.
- [17] Puppini C, D'Aurizio F, Cesaratto L, et al. Effects of histone acetylation on sodium iodide symporter promoter and expression of thyroid-specific transcription factors [J]. *Endocrinology*, 2005, 146(9):3967.
- [18] Catalano MG, Poli R, Pugliese M, et al. Valproic acid enhances tubulin acetylation and apoptotic activity of paclitaxel on anaplastic thyroid cancer cell lines [J]. *Endocrine-Related Cancer*, 2007, 14(3):839.
- [19] Catalano MG, Pugliese M, Poli R, et al. Effects of the histone deacetylase inhibitor valproic acid on the sensitivity of anaplastic thyroid cancer cell lines to imatinib [J]. *Oncology Reports*, 2009, 21(2):515.
- [20] Catalano MG, Fortunati N, Pugliese M, et al. Valproic acid, a histone deacetylase inhibitor, enhances sensitivity to doxorubicin in anaplastic thyroid cancer cells [J]. *Journal of Endocrinology*, 2006, 191(2):465.

(收稿日期:2009-10-12 修回日期:2009-12-17)