

## 去乙酰化酶抑制剂 HDACIs 抗胶质瘤研究进展

李仲颖<sup>1,2</sup> 综述 牛朝诗<sup>1,2,3</sup> 审校

1. 安徽医科大学附属省立医院神经外科,安徽 合肥 230001
2. 脑功能与脑疾病安徽省重点实验室,安徽 合肥 230001
3. 安徽省脑立体定向神经外科研究所,安徽 合肥 230001

**摘要:** DNA 甲基化和组蛋白乙酰化是表观遗传学经典的调节途径。其中,组蛋白乙酰化途径在脑胶质瘤发生过程中起到重要作用,并受组蛋白乙酰基转移酶(histone acetyltransferase, HAT)和组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylase, HDAC)两类酶调节。组蛋白去乙酰化酶抑制剂(HDAC inhibitors, HDACIs)可以通过改变细胞内组蛋白乙酰化程度改变染色质空间结构,从而抑制目的基因转录,对肿瘤发生起到关键作用。本文就组蛋白乙酰化修饰与脑胶质瘤的关系及 HDACIs 在脑胶质瘤治疗中的应用进行综述。

**关键词:** 组蛋白乙酰化修饰; 去乙酰化酶抑制剂; 神经胶质瘤; 表观遗传学

表观遗传学是与遗传学相对应的概念,指在基因的 DNA 序列没有发生改变的情况下,基因功能发生了可遗传变化,并最终导致了表型的变化。表观遗传调控的方式主要包括 DNA 甲基化,组蛋白修饰以及小 RNA 调节三种。而组蛋白修饰作为表观遗传学调节中的主要调节方式,又包括甲基化、乙酰化和磷酸化等。其中,乙酰化和去乙酰化修饰在脑胶质瘤的发生和发展过程中扮演了重要角色,目前已知的 HDAC 酶共有 18 种,分为 4 类,广泛的分布于多种组织中,在不同的组织,生命过程中不同的 HDAC 的功能不同,如 HDAC1 与肿瘤血管增生有关而 HDAC4 则与肿瘤细胞增生蛋白相关<sup>[1]</sup>。

研究表明,HDACs 在脑组织中的过度表达与肿瘤的发生关系密切<sup>[2]</sup>,进一步研究表明,其参与了肿瘤细胞增殖、分化、凋亡等多个过程<sup>[3]</sup>,还可对特定蛋白进行转录后修饰<sup>[4]</sup>,干扰正常细胞代谢过程,而 HDACIs 可以逆转 HDACs 表达过度所造成的调节紊乱,两者形成一个平衡。因此,HDAC 常常被认为是具有发展前景的抗癌药物靶标,而 HDACs 则是一类具有抗肿瘤组织而不损伤正常组织潜力的药物。详细阐明脑胶质瘤发生的组蛋白乙酰化修饰调节机制,可为胶质瘤的治疗,以及 HDACIs 的临床应用提供可能性和理论基础。

### 1 组蛋白乙酰化修饰概述

乙酰化修饰是指在蛋白质分子上结合一个乙酰基分子,改变了蛋白原有的空间结构,导致蛋白质功能发生变化。19 世纪 60 年代 Vincent<sup>[5]</sup> 提出了组蛋白乙酰化修饰的概念,真核细胞染色质的基本组成单位是核小体,由核心组蛋白(H2A、H2B、H3 和 H4)、H1 和 DNA 组成,核小体结构修饰是复制、转录、翻译和修饰过程中的关键步骤之一,组蛋白乙酰化修饰是指在核心组蛋白的 N 末端尾部暴露在核小体表面并可发生共价修饰,通过改变蛋白间的力学变化,导致其空间构象发生变化,修饰后的蛋白质功能改变,可以对细胞内的各类通路进行精确的调节与控制<sup>[6]</sup>。

### 2 组蛋白乙酰化修饰与脑胶质瘤

研究表明<sup>[2,7]</sup> HDAC 在脑组织中的表达异常可以直接引起肿瘤发生。Milde 等<sup>[1]</sup>发现,HDAC5、9 的表达水平与髓母细胞瘤恶性程度正相关,而与预后负相关,预示 HDAC5、9 在髓母细胞瘤危险度分级中可作为一个独立的危险评估因子或成为未来髓母细胞瘤治疗中一种新型的药物靶点。另一项研究指出<sup>[7]</sup>,高表达 HDAC8 的病人,常伴随一些预示不良预后的指标如 1p 和 11q 畸变等的表达,肿瘤的恶性程度也较高,而在胶质瘤细胞系中敲除 HDAC8 后,则会抑制胶质瘤细胞增殖。除了 HDAC

基金项目:国家自然科学基金项目(编号:81172407);安徽省重点实验室绩效考核项目(编号:1306c083028)

收稿日期:2013-11-14;修回日期:2014-05-04

作者简介:李仲颖(1988-),男,硕士研究生,主要从事脑肿瘤发病机制方面的研究。

通讯作者:牛朝诗,男,教授,博士,主要从事胶质瘤分子机制、基因治疗和干细胞等方向的研究。

与脑胶质瘤的直接作用关系,HDAC 调控异常的间接致癌作用也不容忽视。在髓母细胞瘤中,HDAC4 的高表达可导致胞内与胞质运输有关的微管蛋白过度去乙酰化,促使肿瘤细胞增殖活跃,而使用组蛋白去乙酰化酶抑制剂(histone deacetylase inhibitor,HDACI)处理髓母细胞瘤细胞系后发现,HDAC4 表达水平降低,微管蛋白呈乙酰化修饰,肿瘤细胞有丝分裂受阻,细胞增殖抑制<sup>[1]</sup>。Yang 等<sup>[8]</sup>也发现,在脑胶质瘤中,HDACs 水平的高表达可引起人端粒酶催化亚单位(hTERT)和端粒酶活性增高,促使胶质瘤肿瘤细胞生长活跃,而 HDACIs 可以通过 Akt 蛋白激酶依赖的信号调节通路,降低 hTERT 的磷酸化水平,从而最终降低端粒酶的活性,减弱胶质瘤细胞的增殖活性。

### 3 HDACIs 的分型与机制

#### 3.1 HDACIs 的分型

HDACIs 靶向作用于 HDAC,主要通过抑制 HDAC 活性使组蛋白乙酰化程度升高,引起染色质重组,造成目的基因转录活化或抑制。根据其化学结构,HDACIs 通常分为<sup>[9]</sup>: 氧蒽酸盐类,如古曲抑菌素 A(trichostatin A,TSA)和辛二酰苯胺异羟肟酸(suberoylanilide bishydroxamine,SAHA),主要作用于 I 型和 II 型 HDACs; 短链脂肪酸类,如丙戊酸(valproic acid,VPA),丁苯酸钠,主要作用于 I 型和 II a 型 HDACs; 环形肽类,如 Trapoxin 和 Apicidin,Trapoxin 主要作用于 I 型和 II a 型 HDACs,Apicidin,在较低浓度范围时能够抑制 HDAC2 和 HDAC3 的活性,在较高浓度时能够抑制 HDAC8 的活性,但并不影响 HDAC1 或 II 型 HDAC 的活性; 苯甲酰胺衍生物类,如恩替诺特(entinostat,MS-275),主要作用于 HDAC1、2、3 和 9,经口服后能够很容易地透过血脑屏障,未观察到明显的毒副作用。

#### 3.2 HDACIs 抗胶质瘤的作用机制

3.2.1 细胞周期停滞、促细胞分化、诱导细胞凋亡 Sun 等<sup>[10]</sup>研究报道,TSA 可引起组蛋白高度乙酰化状态,减弱 P70S6 蛋白激酶(P70S6K)磷酸化的作用,同时促使微管蛋白乙酰化,提高微管蛋白之间的黏附作用,形成异常的纺锤体,抑制细胞分裂,并上调肿瘤抑制基因 p21WAF1 的表达,从而达到细胞周期的阻滞作用; 体外实验发现<sup>[11-13]</sup>,VPA 不仅能促使细胞停留于 G2/M 期,还通过上调细胞膜上 Fas 和 MICA/B 的表达,激活 Fas 和 NK 细胞诱导的杀伤途径,增强癌细胞自我溶解作用,最

终导致细胞凋亡。Mandl-Weber 等<sup>[14]</sup>试验表明,一种新型的 HDACIs: Resminostat,可以通过抑制 HDAC1、3、6 的活性,促使 H3 乙酰化并激活 Caspases3、8 和 9 通路导致肿瘤细胞凋亡,同时减少细胞周期蛋白 D1、CDC25A、CDK4 和 pRb 的表达,阻滞细胞停留在 G0/G1 期。Stankov 等<sup>[15]</sup>证明,与一般抗肿瘤药物相比,HDACIs 还可通过抑制细胞自噬作用针对性的诱导肿瘤细胞凋亡,而正常细胞不受影响。

3.2.2 抑制肿瘤细胞的迁移、浸润 Yasui 等<sup>[16]</sup>在胃癌组织中发现,组蛋白 H4 的乙酰化水平与肿瘤的浸润深度和淋巴结的转移数目呈负相关,提示组蛋白乙酰化水平可能与肿瘤细胞的浸润和转移程度有关,而应用 TSA 治疗后,多种抑制肿瘤细胞迁移蛋白的基因得以转录激活,表达出相应的产物如基质金属蛋白酶抑制剂和 nm23H1/H2(一种细胞迁移抑制蛋白),从而抑制了肿瘤细胞侵袭及转移。另外,RECK 是一种膜锚定糖蛋白,可负调节基质金属蛋白酶(Matrix metalloproteinases,MMPs)和抑制肿瘤转移和血管生成<sup>[17]</sup>。TSA 可以扭转 HER-2/neu 通过细胞外信号调节激酶 ERK 通路对 RECK 的抑制作用,增加 RECK 的转录,同时降低基质金属蛋白酶 2 和 9(MMP2、MMP9)的活性,显著地抑制肿瘤细胞的侵袭和迁移能力<sup>[18]</sup>。Aquldassi 等<sup>[2]</sup>还发现,胰腺癌浸润性扩散和转移的早期形成与 E 钙粘着蛋白缺失有关,其表达受 HDAC1 和 HDAC2 调控,HDAC1、2 过表达可降低 E 钙粘着蛋白水平,使肿瘤细胞播散及转移能力增强,而 HDACIs 可抑制 HDAC 的活性,从而降低肿瘤细胞的增殖和迁移能力。Liao 等<sup>[3]</sup>证实,HDAC 通过影响 E 钙粘着蛋白基因 RNA 转录后修饰,使其 RNA 剪切与拼接时产生错误,导致 E 钙粘着蛋白合成受阻。E 钙粘着蛋白表达下降会进一步增加上皮细胞-间质转型(epithelial-mesenchymal transformation,EMT)过程,使得具有极性上皮细胞型的肿瘤细胞向具有活动能力的间质细胞分化并获得侵袭和迁移能力,最终导致肿瘤细胞迁移能力增强。HDACIs 可以逆转 HDAC 导致的 E 钙粘着蛋白的转录后修饰异常,使其重新表达,从而抑制了 EMT 过程,由此产生抑制肿瘤迁移抑制的作用。

3.2.3 抑制肿瘤组织的血管生成 近年来研究发现,HDACs 与肿瘤血管生成有密切关系。HDACs 在肿瘤组织中表达增加,高表达的 HDACs 可引起

抑癌基因 P53 等转录受阻,血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)等转录增多,从而刺激肿瘤血管生成<sup>[19]</sup>。Deroanne 等<sup>[20]</sup>证实, TSA 能增加人类脐带血管内皮细胞中一种被认为是 VEGF 的竞争因子臂板蛋白 3(semaphorin III)的转录,抑制 VEGF 受体和神经纤维网蛋白 1 的表达,进而抑制细胞血管生成。Osuka 等<sup>[21]</sup>发现, VPA 可以抑制神经胶质瘤细胞分泌 VEGF 因子,并能够直接抑制神经胶质瘤血管生成。同时在神经母细胞瘤中。

#### 4 HDACIs 联合应用化疗药物

目前脑胶质瘤的根治方式仍是采用肿瘤全切除加以术后的辅助化、放疗。而传统化、放疗的主要作用机制是通过破坏 DNA 的合成来杀伤和抑制高增殖状态的肿瘤细胞,对正常细胞也会产生杀伤效应。由于药物对肿瘤组织的选择性较差,导致体质较弱的患者对药物的耐受性不强。HDACIs 类药物可以杀灭肿瘤细胞而对正常细胞不产生明显的杀伤作用,同时其与经典化疗药物联合使用可有协同作用, HDACIs(如 VPA)与胶质瘤经典化疗药替莫唑胺的联合应用在体外实验中可以明显增强抗肿瘤治疗效果,提高药物的效能<sup>[22]</sup>。

#### 5 展望

HDACIs 作为一种新型的抗神经胶质瘤的化疗药物,主要是通过改变组蛋白的乙酰化程度来调节目基因的转录,最终引起细胞周期阻滞,抑制胶质瘤细胞增殖,诱导细胞分化和凋亡。在体外实验中,无论是单独应用还是与其他药物联合化疗或放疗,都取得了明显的抗肿瘤效果,近年来已有 HDACIs 类药物进入 I 期临床试验。如 Resminostat,应用于 19 例晚期实体肿瘤病人后,研究者发现约 11 例患者的病情得以稳定,而 1 例转移性癌症患者的肿瘤体积减少了 27%。试验证明<sup>[23]</sup>,在最大耐受剂量范围之内, Resminostat 是安全且有效的抗肿瘤药物。随着对 HDACIs 及肿瘤发生机制的不断深入认识, HDACIs 在抗肿瘤尤其是恶性胶质瘤的治疗领域中会有更大的突破和进展。但 HDACIs 仍存在着一些问题,如 HDACIs 对 HDAC 特异性识别作用, HDACIs 是通过何种途径,能杀伤肿瘤细胞而对正常细胞无明显杀伤作用,具体机制尚有待进一步研究。另一方面, HDACIs 现在面临的问题是个体差异,如何将 SNP 信息纳入来指导个体化治疗,是未来的研究方向。

#### 参 考 文 献

- [1] Yang YL, Huang PH, Chiu HC, et al. Histone deacetylase inhibitor AR42 regulates telomerase activity in human glioma cells via an Akt-dependent mechanism. *Biochem Biophys Res Commun*, 2013, 435(1): 107-112.
- [2] Milde T, Oehme I, Korshunov A, et al. HDAC5 and HDAC9 in medulloblastoma: novel markers for risk stratification and role in tumor cell growth. *Clin Cancer Res*, 2010, 16(12): 3240-3252.
- [3] Aghdassi A, Sendler M, Guenther A, et al. Recruitment of histone deacetylases HDAC1 and HDAC2 by the transcriptional repressor ZEB1 downregulates E-cadherin expression in pancreatic cancer. *Gut*, 2012, 61(3): 439-448.
- [4] Liao W, Jordaan G, Srivastava MK et al. Effect of epigenetic histone modifications on E-cadherin splicing and expression in lung cancer. *Am J Cancer Res*. 2013, 3(4): 374-389.
- [5] Allfrey VG, Faulkner R, Mirsky AE. Acetylation and methylation of histones and their possible role in the regulation of RNA synthesis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1964, 51: 786-794.
- [6] Dell'Aversana C, Lepore I, Altucci L. HDAC modulation and cell death in the clinic. *Exp Cell Res*, 2012, 318(11): 1229-1244.
- [7] Lee SJ, Krauthauser C, Maduskuie V, et al. Curcumin-induced HDAC inhibition and attenuation of medulloblastoma growth in vitro and in vivo. *BMC Cancer*, 2011, 11: 144.
- [8] Oehme I, Deubzer HE, Wegener D, et al. Histone deacetylase 8 in neuroblastoma tumorigenesis. *Clin Cancer Res*, 2009, 15(1): 91-99.
- [9] Monneret C. Histone deacetylase inhibitors. *Eur J Med Chem*, 2005, 40(1): 1-13.
- [10] Sun DF, Zhang YJ, Tian XQ, et al. Inhibition of mTOR signalling potentiates the effects of trichostatin A in human gastric cancer cell lines by promoting histone acetylation. *Cell Biol Int*, 2013, 38(1): 50-63.
- [11] Han BR, You BR, Park WH. Valproic acid inhibits the growth of HeLa cervical cancer cells via caspase-dependent apoptosis. *Oncol Rep*, 2013, 30(6): 2999-3005.
- [12] Yamanegi K, Yamane J, Kobayashi K, et al. Valproic acid cooperates with hydralazine to augment the susceptibility of human osteosarcoma cells to Fas- and NK cell-mediated cell death. *Int J Oncol*, 2012, 41(1): 83-91.
- [13] White MC, Frampton AR Jr. The histone deacetylase inhibitor valproic acid enhances equine herpesvirus type 1 (EHV-1)-mediated oncolysis of human glioma cells. *Cancer Gene Ther*, 2013, 20(2): 88-93.
- [14] Mandl-Weber S, Meinel FG, Jankowsky R, et al. The novel inhibitor of histone deacetylase resminostat (RAS2410) inhibits

- proliferation and induces apoptosis in multiple myeloma (MM) cells. *Br J Haematol* ,2010 ,149(4) : 518-528.
- [15] Stankov MV , El Khatib M , Kumar Thakur B , et al. Histone deacetylase inhibitors induce apoptosis in myeloid leukemia by suppressing autophagy. *Leukemia* 2013 28(3) : 577-588.
- [16] Yasui W , Oue N , Ono S , et al. Histone acetylation and gastrointestinal carcinogenesis. *Ann NY Acad Sci* ,2003 ,983: 220-231.
- [17] Liu LT , Chang HC , Chiang LC , et al. Histone deacetylase inhibitor up-regulates RECK to inhibit MMP-2 activation and cancer cell invasion. *Cancer Res* ,2003 ,63(12) : 3069-3072.
- [18] Jeon HW , Lee YM. Inhibition of histone deacetylase attenuates hypoxia-induced migration and invasion of cancer cells via the restoration of RECK expression. *Mol Cancer Ther* ,2010 ,9(5) : 1361-1370.
- [19] Kim MS , Kwon HJ , Lee YM , et al. Histone deacetylases induce angiogenesis by negative regulation of tumor suppressor genes. *Nat Med* ,2001 ,7: 437-443.
- [20] Deroanne CF , Bonjean K , Servotte S , et al. Histone deacetylases inhibitors as anti-angiogenic agents altering vascular endothelial growth factor signaling. *Oncogene* ,2002 ,21(3) : 427-436.
- [21] Osuka S , Takano S , Watanabe S , et al. Valproic acid inhibits angiogenesis in vitro and glioma angiogenesis in vivo in the brain. *Neurol Med Chir* ,2012 ,52(4) : 186-193.
- [22] Stedt H , Samaranyake H , Pikkarainen J , et al. Improved therapeutic effect on malignant glioma with adenoviral suicide gene therapy combined with temozolomide. *Gene Ther* . 2013 ,20(12) : 1165-1171.
- [23] Brunetto AT , Ang JE , Lal R , et al. First-in-human , Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Phase I Study of Resminostat , an Oral Histone Deacetylase Inhibitor , in Patients with Advanced Solid Tumors. *Clin Cancer Res* ,2013 ,19(19) : 5494-5504.

## 脑胶质瘤干细胞靶向免疫治疗研究进展

陈志杰 综述 石松生\* 陈春美 审校

福建医科大学附属协和医院神经外科 福建 福州 350001

**摘要:** 胶质瘤干细胞(glioma stem cells ,GSCs)因其具有过度增殖、自我更新以及多向分化潜能、成瘤性以及放、化疗抗拒性等特点,被认为是胶质瘤容易复发和难以根治的原因,因此如何有效清除 GSCs 成为神经外科领域的研究热点。针对 GSCs 的免疫治疗因其具有靶向杀伤性和记忆性,比普通胶质瘤细胞的免疫治疗更能抑制肿瘤的发生、发展。本文对近年来关于 GSCs 靶向免疫治疗研究进行综述。

**关键词:** 胶质瘤干细胞; 免疫治疗; 肿瘤疫苗; 树突状细胞

脑胶质瘤是人类侵袭性最强、治疗难度最大的肿瘤之一,由于呈浸润性生长且与周围正常脑组织之间无明显界限,故手术难以将脑胶质瘤全切除。尽管传统的手术、放疗、化疗等方法不断改进和提高,但是治疗效果依然很差,治愈率低,复发率高,恶性胶质瘤脑胶质瘤患者中位生存期仍然少于15个月<sup>[1]</sup>。GSCs 具有神经干细胞样特性的细胞,目前越来越多的研究均表明 GSCs 是胶质瘤治疗后复发的根源。针对 GSCs 的治疗措施很有可能

成为根治胶质瘤的重要方法,而靶向清除 GSCs 的免疫治疗研究众多,并且取得了很大的进展。本文就近年来有关 GSCs 免疫治疗的研究进展进行综述。

### 1 GSCs 的发现和生物学特性

Singh 等<sup>[2]</sup>最早在人脑肿瘤组织中分离出具有神经干细胞样特性的细胞,并将之命名为胶质瘤干细胞(glioma stem cells ,GSCs)。随后众多学者对 GSCs 进行了大量的研究并发现其不仅具有神经干细胞的特性如自我更新、持续增殖能力、多向分化

收稿日期: 2014-02-10; 修回日期: 2014-04-08

作者简介: 陈志杰(1988-),男,硕士,研究方向: 胶质瘤免疫治疗基础研究。

通讯作者: 石松生(1961-),男,主任医师,教授,博士,硕士生导师,研究方向: 胶质瘤基础与临床研究。