

经典 Wnt 信号通路抑制剂在多发性骨髓瘤中的研究进展*

陈鑫丽¹ 吴婷婷¹ 叶宝东² 周郁鸿²

[关键词] 多发性骨髓瘤; Wnt/ β -catenin 信号通路; 抑制剂

doi:10.13201/j.issn.1004-2806.2016.03.024

[中图分类号] R733.3 [文献标志码] A

Advances in research on inhibitors of canonical Wnt signaling pathways in multiple myeloma

Summary Multiple myeloma (MM) is a disease characterized by clonal proliferation of malignant plasma cells, mainly including osteolytic bone destruction, anemia, renal dysfunction and other symptoms. Canonical Wnt signaling pathway, the most important and fully understood Wnt signaling pathways, has been implicated in the development and progression of many cancers, especially solid tumors. Studies have discovered that abnormal activation of Wnt/ β -catenin in MM can promote excessive proliferation of MM cells, which is a potential therapeutic target for MM. In recent years, the inhibitors of canonical Wnt signaling pathways in MM have become a hot spot of research. Here, we review the newest studies on the interaction between MM and inhibitors of canonical Wnt signaling pathways.

Key words multiple myeloma; Wnt/ β -catenin signaling pathway; inhibitor

多发性骨髓瘤(multiple myeloma, MM)是一种浆细胞克隆性增殖的恶性肿瘤,常伴有溶骨性骨质破坏、贫血、肾衰竭和骨髓瘤细胞髓外浸润所致的各种损伤。经典 Wnt 信号通路是 Wnt 通路中目前研究最为清楚的信号通路,此通路对 MM 细胞具有重要的促增殖作用。有研究发现 MM 细胞中存在 β -catenin 的过度表达以及 Wnt 信号通路的异常激活,且与 MM 的预后和分期密切相关^[1-2]。因此 Wnt/ β -catenin 信号通路抑制剂成为探索治疗 MM 的新热点。

1 概述

经典 Wnt 信号通路又称 β -catenin 依赖性通路,由 Wnt 糖蛋白、 β -catenin、卷轴受体(Frizzled receptor)、低密度脂蛋白受体相关蛋白(LRP5/6)、酪蛋白激酶(CK1 α)、糖原合成激酶(GSK-3 β)及转录因子淋巴样增强因子(LEF)/T 细胞因子(TCF)等组成^[3]。Wnt 蛋白为经典 Wnt 信号通路的起始因子。当 Wnt 信号受抑制时,靶细胞胞质内的 β -catenin 与轴蛋白(Axin)、CK1 α 、GSK-3 β 、结肠腺瘤性息肉病蛋白等形成一个多蛋白的降解复合物,其中 CK1 α 、GSK-3 β 可使 β -catenin 磷酸化,最终被泛素/蛋白酶体途径降解,从而使胞质内游离的 β -catenin 水平处于极低状态^[4],无法激活下游的靶基因。当 Wnt 信号被激活时,Wnt 蛋白大量产生,其

与细胞膜表面的 Frz 和 LRP5/6 结合,使降解复合物解聚,阻碍了 β -catenin 的降解,最终导致 β -catenin 在细胞质中稳定积累。当 β -catenin 累积到一定量后便转位到细胞核内,与 LEF/TCF 结合,特异性启动下游靶基因如 cyclin D1(细胞周期蛋白)、c-myc(原癌基因)等的转录^[5]。Wnt/ β -catenin 信号通路具体见图 1^[6]。

因此, β -catenin 是 Wnt 信号通路中重要的信号分子,对 Wnt 信号向细胞核内传导发挥至关重要的作用,它的地位是其他因子无法替代的。

2 Wnt/ β -catenin 信号通路抑制剂与 MM

MM 是一种难以治愈的克隆增殖性疾病,虽然来那度胺和硼替佐米等新型药物的应用明显提高了 MM 的临床疗效,但它仍然是医学上难以攻克难题。大量以往研究证明了 Wnt/ β -catenin 信号通路的异常激活是 MM 常见的发病机制之一,这为临床上治疗 MM 提供了一个潜在的靶点。近年来,Wnt/ β -catenin 信号通路抑制剂成为了国内外研究 MM 新的治疗途径的热点,该抑制剂包括药物类抑制剂、酶类抑制剂、倍半萜醌类抑制剂、微小 RNA 等。

2.1 药物类抑制剂

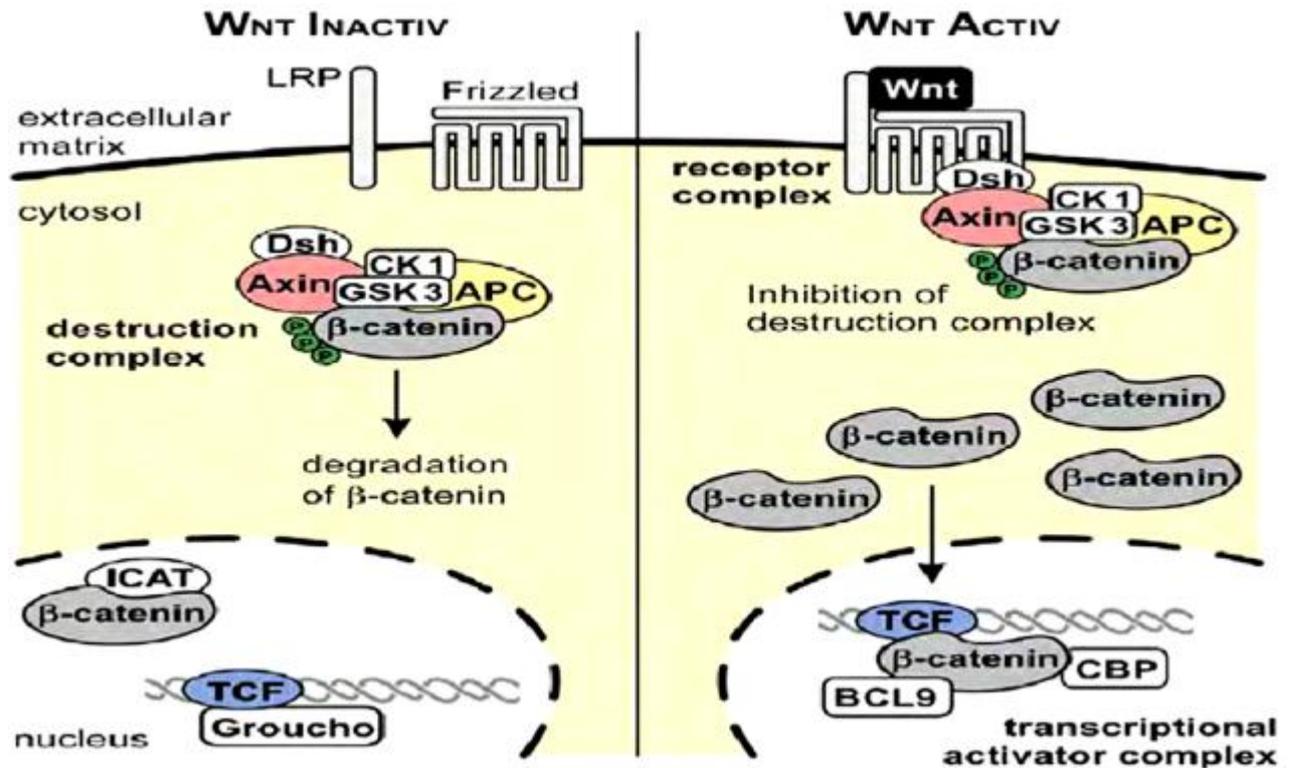
Kim 等^[7]通过小鼠骨髓瘤模型的在体实验证实了利尿剂依他尼酸(EA)能够抑制骨髓瘤中 Wnt/ β -catenin 信号。研究显示,与未经治疗的骨髓瘤小鼠相比,经过 EA 处理的骨髓瘤小鼠体内肿瘤生长显著减弱,总生存期显著延长,且 EA 抑制骨髓瘤的效果比来那度胺更好。该结果证实了 EA

* 基金项目:浙江省高等教育质量工程-中青年学科带头人资助项目(No:GK2011,2012)

¹ 浙江中医药大学第一临床医学院(杭州,310006)

² 浙江中医药大学附属第一医院血液科

通信作者:叶宝东,E-mail:13588453501@163.com

图1 Wnt/β-catenin 信号通路^[6]

对于 MM 有很好的治疗效果。此外, Kim 等^[8] 还通过小鼠骨髓瘤模型的在体和离体实验证实了抗真菌剂环吡酮胺(CIC)能下调 MM 细胞中 β-catenin 的表达。离体实验表明与单用一种药物相比, CIC 联合来那度胺可以产生叠加的效果。在体实验表明与未经治疗的骨髓瘤小鼠相比, 经过 CIC 处理的小鼠肿瘤生长显著减慢, 总生存期显著延长。以上研究均表明, CIC 有显著的促细胞凋亡作用, 对治疗 MM 有一定的疗效。Schmeel 等^[9] 了解到 EA 和 CIC 均能抑制经典 Wnt 信号通路, 而桂利嗪和 CIC 有相似的化学特征。为了进一步探索 MM 的靶向治疗, 进行了桂利嗪攻击 MM 细胞的离体实验。通过流式细胞分析术发现桂利嗪在 MM 细胞中有显著的细胞凋亡活性, 且呈浓度依赖性, 同时正常的细胞不受其影响。实验结果表明桂利嗪有显著的选择性促 MM 细胞凋亡作用, 可能是通过抑制 Wnt 信号引起的。Schmeel 等^[10] 再次采用氟桂利嗪进行离体实验, 获得了与上述实验相似的结果。

有研究显示, 白皮杉醇也是一种 Wnt/β-catenin 信号通路的抑制剂, 它可以在基本不影响正常细胞的情况下诱导 MM 细胞的凋亡, 对体内治疗 MM 具有显著效果^[11]。此外, 还有研究表明, 与单独应用一种药物相比, EA 与白皮杉醇、CIC 与白皮杉醇的联合应用对于抑制骨髓瘤细胞的活性有显著的累加效应, 并且基本不影响健康的细胞。另

外, EA 和 CIC 能改变 β-catenin 本身及其下游因子的表达。这些数据显示 Wnt 抑制剂的联合应用为 MM 患者提供了一种更有效的治疗策略^[12]。

2.2 酶类抑制剂

Pyk2 是一种富含脯氨酸的酪氨酸激酶, 是与肿瘤发展关系密切的粘着斑激酶家族中的一员。与健康志愿者相比, MM 患者高表达 Pyk2。研究显示, 体内应用 Pyk2 抑制剂能延缓 MM 细胞的生长, 同时离体实验也证实了 Pyk2 抑制剂能延缓细胞的增殖, 降低细胞粘附能力。具体机制为: Pyk2 抑制剂通过破坏 β-catenin 降低 Wnt/β-catenin 信号通路的活性, 导致 c-myc 和 cyclin D1 表达的下调。此外, 在体内外运用 FAK/Pyk2 的抑制剂 VS-4718 处理 MM 细胞能够抑制其生长^[13]。以上数据均表明, Pyk2 抑制剂通过破坏 β-catenin 降低 Wnt/β-catenin 信号通路的活性, 从而抑制 MM 细胞活性, 可作为 MM 治疗选择的一种新策略。

2.3 倍半萜醌类抑制剂

倍半萜醌类化合物 ilimaquinone 和 ethylsmenoquinone 是一种海绵代谢物。Park 等^[14] 研究表明, 在经过 ilimaquinone 和 ethylsmenoquinone 处理的骨髓瘤细胞 RPMI-8226 中, 胞质内累积的 β-catenin 持续降解, 阻断了 β-catenin 下游靶基因 cyclin D1、c-myc 等的表达, 抑制了骨髓瘤细胞的增殖。此外, ilimaquinone 和 ethylsmenoquinone 能显著诱导 RPMI-8226 G0/G1 细胞周期停滞和细胞

凋亡。以上数据表明 ilimaquinone 和 ethylsmenoquinone 通过阻滞 Wnt/ β -catenin 信号通路发挥抗癌活性,给临床上治疗 MM 提供了一个新的选择。

2.4 微小 RNA

有研究表明 Wnt 信号通路在体内稳态中发挥了许多关键的作用,因此使用针对该信号通路的广谱药物治疗 MM 会有很大的不良反应。而微小 RNA 具有定向调节基因表达的功能,且与 MM 的发病机制相关,具有更优越的前景。已有研究显示 MM 细胞与骨髓间质细胞相互作用可引起微小 RNA 的下调,进而高表达 Wnt 信号通路的转录激活因子 BCL9,而 BCL9 正是促进 MM 细胞增殖、存活、迁移、耐药和骨髓瘤干祖细胞形成的重要因子^[15-16]。因此,Wnt/ β -catenin/BCL9 复合体可能会成为一个针对 MM 有前景和相对安全的靶向治疗途径。

2.5 其他

Narayanan 等^[17] 研究发现,使用 iCRTs (β -catenin 调节转录抑制剂)能抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路的活性,下调 β -catenin 的表达,进而抑制 MM 细胞的增殖,且此过程呈剂量依赖性,最佳剂量接近 15 μ mol/L。此外,iCRTs 以最佳剂量并不会影响 Wnt/ β -catenin 上游组件的表达,表明 iCRTs 在 MM 细胞中可能只瞄准 β -catenin。另外,研究数据显示经由 iCRTs 处理的 MM 细胞与骨髓基质细胞(在 MM 中骨髓基质细胞能够分泌激活 Wnt 信号的配体)共培养后表现为血管内皮生长因子的表达和细胞迁移受抑制。

Yao 等^[18] 了解到 AV-65 是一种新型的 Wnt/ β -catenin 信号通路的抑制剂,通过在体实验表明 AV-65 能降低 β -catenin 的水平,减弱 TCF 的转录活性,从而抑制骨髓瘤细胞的增殖。同时,AV-65 还可延长骨髓瘤小鼠的生存期。这些数据表明 AV-65 可作为 MM 的一种新的治疗选择。

3 总结与展望

综上所述,Wnt/ β -catenin 信号通路是目前临床上治疗 MM 最有前景的靶点之一。本文综述近几年国内外关于 Wnt/ β -catenin 信号通路抑制剂的研究,表明 Wnt/ β -catenin 信号通路的抑制剂(EA、CIC、白皮杉醇、Pyk2 抑制剂、微小 RNA 等)能够通过调节信号分子及相关蛋白,抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路活性,从而抑制 MM 细胞增殖,促进 MM 细胞凋亡。目前国内外的研究主要是体内和体外实验,这些实验数据证实了 Wnt/ β -catenin 信号通路是治疗 MM 有效的靶点,这也为将来进行前期临床实验提供了理论依据。因此,在大量实验研究的基础上,人们可以进行 Wnt/ β -catenin 信号通路的前期临床实验研究,进一步证明 Wnt/ β -catenin 信号通路是治疗 MM 有效的靶点,为临床

上应用 Wnt/ β -catenin 信号通路治疗 MM 提供一个有力的依据。此外,也有研究表明此通路参与体内许多其他的生理反应,使用广谱药物治疗会有很大的不良反应。因此,人们可以从更多的角度探索 MM 中特有的信号靶点,并获得基于该靶点治疗 MM 的可能。

参考文献

- [1] Derksen PW, Tjin E, Meijer HP, et al. Illegitimate Wnt signaling promotes proliferation of multiple myeloma cells[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2004, 101: 6122-6127.
- [2] 李娟,张殿宝,罗绍凯,等. β -catenin 在多发性骨髓瘤中的表达及其临床意义[J]. 癌症, 2007, 26(9): 1010-1014.
- [3] Cadigan KM, Liu YI. Wnt signaling: complexity at the surface[J]. J Cell Sci, 2006, 119: 395-402.
- [4] Gough NR. Focus issue: Wnt and β -catenin signaling in development and disease[J]. Sci Signal, 2012, 5: eg2.
- [5] Amin N, Vincan E. The Wnt signaling pathways and cell adhesion[J]. Front Biosci (Landmark Ed), 2012, 17: 784-804.
- [6] 李津,钟清玲,刘德伍,等. β -catenin 信号分子的生物学功能及其在创伤修复中的研究进展[J]. 南昌大学学报(医学版), 2014, 54(7): 87-91.
- [7] Kim Y, Gast SM, Endo T, et al. In vivo efficacy of the diuretic agent ethacrynic acid against multiple myeloma[J]. Leuk Res, 2012, 36: 598-600.
- [8] Kim Y, Schmidt M, Endo T, et al. Targeting the Wnt/ β -catenin pathway with the antifungal agent ciclopirox olamine in a murine myeloma model[J]. In Vivo, 2011, 25: 887-893.
- [9] Schmeel LC, Schmeel FC, Kim Y, et al. In vitro efficacy of cinnarizine against lymphoma and multiple myeloma[J]. Anticancer Res, 2015, 35: 835-841.
- [10] Schmeel LC, Schmeel FC, Kim Y, et al. Flunarizine exhibits in vitro efficacy against lymphoma and multiple myeloma cells[J]. Anticancer Res, 2015, 35: 1369-1376.
- [11] Schmeel FC, Schmeel LC, Kim Y, et al. Piceatannol exhibits selective toxicity to multiple myeloma cells and influences the Wnt/ β -catenin pathway[J]. Hematol Oncol, 2014, 32: 197-204.
- [12] Schmeel LC, Schmeel FC, Kim Y, et al. Targeting the Wnt/ β -catenin pathway in multiple myeloma[J]. Anticancer Res, 2013, 33: 4719-4726.
- [13] Zhang Y, Moschetta M, Huynh D, et al. Pyk2 promotes tumor progression in multiple myeloma[J]. Blood, 2014, 124: 2675-2686.
- [14] Park S, Yun E, Hwang IH, et al. Ilimaquinone and ethylsmenoquinone, marine sponge metabolites, suppress the proliferation of multiple myeloma cells by down-regulating the level of β -catenin[J]. Mar Drugs, 2014, 12: 3231-3244.

- [15] Zhao JJ, Lin J, Zhu D, et al. miR-30-5p functions as a tumor suppressor and novel therapeutic tool by targeting the oncogenic Wnt/ β -catenin/BCL9 pathway[J]. *Cancer Res*, 2014, 74:1801-1813.
- [16] Zhao JJ, Carrasco RD. Crosstalk between microRNA30a/b/c/d/e-5p and the canonical Wnt pathway: implications for multiple myeloma therapy[J]. *Cancer Res*, 2014, 74:5351-5358.
- [17] Narayanan BA, Doudican NA, Park J, et al. Antagonistic effect of small-molecule inhibitors of Wnt/ β -catenin in multiple myeloma[J]. *Anticancer Res*, 2012, 32:4697-4707.
- [18] Yao H, Ashihara E, Strovel JW, et al. AV-65, a novel Wnt/ β -catenin signal inhibitor, successfully suppresses progression of multiple myeloma in a mouse model[J]. *Blood Cancer J*, 2011, 1:e43.

(收稿日期:2015-06-02)

BTK 抑制剂治疗套细胞淋巴瘤的研究进展

卜凡丹¹ 刘新月^{1△}

[关键词] 套细胞淋巴瘤;治疗;BTK 抑制剂;依鲁替尼

doi:10.13201/j.issn.1004-2806.2016.03.025

[中图分类号] R733.4 [文献标志码] A

Research advances in treatment of mantle cell lymphoma with bruton tyrosine kinase inhibitor

Summary Mantle cell lymphoma (MCL) is a rare, aggressive and heterogeneous clinical course of non-Hodgkin's lymphoma. Although there are some promising treatment modalities, the patients always relapse early after standard immunochemotherapy regimens and develop resistance to subsequent therapies, and they generally cannot tolerate intensive approaches due to age or comorbidities. Ibrutinib is an oral active Bruton's tyrosine kinase (BTK) inhibitor. It inhibits downstream signaling pathways of BTK that appear critical for the proliferation and survival of MCL. As a single agent, it has shown extremely promising activity in relapsed and refractory MCL patients with well tolerability and acceptable toxicities, and it is likely to fundamentally change the way we treat this disease. In this paper, we will review the research advances in treatment of MCL with BTK inhibitor.

Key words mantle cell lymphoma; treatment; Bruton tyrosine kinase inhibitor; ibrutinib

套细胞淋巴瘤(MCL)是一种恶性程度高、病理组织学形态多样、预后不良的非霍奇金淋巴瘤(NHL),其中位年龄在60岁以上,男性多见,临床诊断时大部分已处于中晚期。虽然MCL患者对一线治疗有效,但大多数患者易复发,预后差,是生存期最短的淋巴瘤亚型之一,且目前没有标准的治疗方案。因此,人们一直在寻求一种新的安全有效的治疗方法。依鲁替尼(ibrutinib)是高效口服的布鲁顿酪氨酸激酶(BTK)抑制剂,它通过抑制B细胞受体(BCR)通路上的BTK从而抑制B细胞的增殖及生存。其作为单药治疗在MCL患者中显示极大的活性且不良反应轻微,给MCL患者的预后带来新的希望,甚至可能改变MCL的治疗模式。以下就BTK抑制剂在MCL治疗中的研究进展作一综述。

1 BTK 抑制剂在 MCL 中的应用

近年来,随着对MCL的病理及发病机制的深入认识,一些新的靶向治疗药物在体内外研究中显示出抗MCL细胞的作用,临床上新的靶向治疗药物也逐渐出现^[1-2],其中最具有吸引力的药物就是依鲁替尼:一种BTK抑制剂。

1.1 BTK 的认识

BTK在B细胞中的功能最早是在1例先天性无丙种球蛋白血症中认识的,由1952年美国的儿科医生Ogden Bruton首次报道,今天我们称之为X-相关无丙种球蛋白血症(XLA)或布鲁顿无丙种球蛋白血症。XLA是一种罕见遗传性疾病,1993年被证实由BTK突变引起,这种突变阻止B细胞前体细胞向成熟B细胞转化,阻碍免疫球蛋白的生成,表现为患者外周血中成熟B淋巴细胞的明显减少及丙种球蛋白的缺失,引起反复的细菌感染^[3]。以此为开端,BTK在B细胞发育中的作用逐渐被认识,而针对BTK抑制剂在B细胞肿瘤中的作用

¹华中科技大学同济医学院附属协和医院血液病研究所(武汉,430022)

[△]审校者

通信作者:刘新月,E-mail:lxny87306548@sina.com