

CXCR4 阻断剂在转移性肿瘤治疗中的应用

Application of CXCR4 Antagonist in the Treatment for Metastatic Cancer
SONG Qi-bin, CHU Yu-xin, HU Wei-guo.

宋启斌, 褚玉新, 胡伟国
(武汉大学人民医院肿瘤中心, 湖北 武汉 430060)

摘要:肿瘤转移受到趋化因子受体和黏附分子的严密调控。肿瘤细胞表达的 CXCR4 是一种 7 次跨膜的 G-蛋白耦联受体。肿瘤微环境中的间质细胞可以分泌 CXCL12, 是 CXCR4 的配体。CXCR4 与 CXCL12 相互作用会诱导癌细胞迁移并粘附到间质细胞, 促进癌细胞转移和耐药。CXCR4 阻断剂, 如 AMD3100 和 T140 类似物(TN14003/BKT140)可以抑制 CXCR4 介导的癌细胞与间质细胞的黏附, 增加癌细胞对化疗药的敏感性, 因此, 阻断 CXCR4/CXCL12 轴是治疗肿瘤的一种新的有效方法。全文论述近年来 CXCR4 阻断剂在转移性肿瘤治疗中的应用。

关键词:肿瘤; CXCR4; 阻断剂; 转移

中图分类号: R730.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-0242(2012)10-0771-04

趋化因子 CXCL12/CXCR4 生物学轴是指由趋化因子 CXCL12 与其特异性受体 CXCR4 相互作用而构成的一个与细胞间信息传递、细胞迁移密切相关的耦联分子对^[1]。CXCL12 是一种小分子多肽类趋化因子, 又称前 B 细胞生长刺激因子, 主要由骨髓基质细胞及不成熟的成骨细胞分泌产生, 分子量 8~10kD, 属于趋化因子 CXC 亚家族中的成员。大量研究已经证实, CXCL12 能调控许多重要的生物过程, 包括胚胎发育、干细胞迁移、血管形成、细胞的增殖凋亡及肿瘤的侵袭转移^[2]。CXCR4 是 CXCL12 的主要受体, 由 352 个氨基酸组成, 为 G 蛋白耦联的 7 次跨膜受体, 在免疫系统和中枢神经系统中广泛表达。有报道称 CXCR4 是癌细胞转移到分泌 CXCL12 的器官的主要原因。在肿瘤微环境中, CXCR4/CXCL12 轴有助于癌细胞存活、生长和肿瘤血管的形成^[3]。

1 CXCR4 在肿瘤转移中的作用

在非小细胞肺癌(NSCLC)中, 高表达 CXCR4 的非小细胞肺癌更加容易转移。NSCLC 的主要转移部

位(淋巴结、骨、肝脏、肾上腺和脑)都是高表达 CXCL12 的部位。因此, CXCR4/CXCL12 轴被认为是 NSCLC 转移的主要机制。Phillips 等^[4]研究发现, 在小鼠 NSCLC 模型中, 抗 CXCL12 的抗体可以明显减少肿瘤转移。Oonakahara 等^[5]也发现 CXCR4 的表达量与 NSCLC 向胸膜腔的扩散有关联。最近 Chen 等^[6]报道高水平的 CXCR4 表达与 NSCLC 向脑转移密切相关。

骨髓微环境是小细胞肺癌容易转移的地方。癌细胞高表达 CXCR4, 可以稳固黏附骨髓间质细胞, 导致癌细胞耐药和整合素激活, 通过增加基质中金属蛋白酶-9 的表达来增强肺癌细胞的侵袭力^[7]。CXCL12 诱导整合素激活会促进癌细胞与纤连蛋白和胶原纤维黏附。这种 CXCR4 诱导的细胞黏附是由 $\alpha 2$ 、 $\alpha 4$ 、 $\alpha 5$ 和 $\beta 1$ 整合素介导的, 可以被 CXCR4 阻断剂抑制。间质细胞可以保护癌细胞免受化疗药的伤害, 这种保护也可以被 CXCR4 阻断剂抑制^[8]。

2 阻断肿瘤中 CXCR4 受体

肿瘤细胞表达 CXCR4 会促进癌细胞迁移并定

收稿日期: 2012-07-30

通讯作者: 褚玉新, E-mail: 258438514@qq.com

植到 CXCL12⁺的间质细胞部位。这意味着癌细胞转移是靶组织中趋化因子/受体和黏附分子介导的。肿瘤细胞利用这一机制进入生长微环境,如骨髓微环境。肿瘤微环境提供了促进癌细胞生长的各种因子,保护癌细胞免受化疗药的毒害。例如,肺癌细胞表达高水平的 CXCR4,以依赖于 CXCR4 的方式迅速黏附到间充质干细胞(MSC)上。MSC 保护癌细胞免受依托泊苷的杀灭,CXCR4 阻断剂 TN14003 可以消除这种耐药性^[9]。CXCL12 也可以诱导内皮祖细胞迁移到肿瘤局部,促进肿瘤血管形成。

3 CXCR4 受体阻断剂

CXCR4 阻断剂的原理是基于肿瘤微环境中存在 CAF/MSC,间质细胞分泌 CXCL12 会诱导癌细胞向间质细胞迁移并黏附。特异性的 CXCR4 阻断剂,如 TN14003,可以阻碍间质细胞黏附,拮抗 CAM-DR,增加癌细胞对化疗药的敏感性,减少微小残留灶和防止肿瘤复发^[9]。

CXCR4 阻断剂最初用来治疗 HIV-1 感染。在 20 世纪 90 年代,人们发现 CXCR4 阻断剂 T140 及其类似物 AMD3100 和 ALX-4C 有抗 HIV 活性。后来,当人们发现 CXCR4 也是 T-tropic HIV-1 的共受体,各种不同类型的 CXCR4 阻断剂被迅速研制出来。当前主要有 4 类 CXCR4 阻断剂:①非肽类 CXCR4 阻断剂,如 AMD3100;②小肽类 CXCR4 阻断剂,如 T140 及其类似物 (TN14003 等);③各种 CXCR4 抗体;④修饰的 SDF-1/CXCL12 阻断剂。

3.1 非肽类 CXCR4 阻断剂

AMD3100 是一种生物烷,最初合成于 20 世纪 90 年代早期,有很强的抗 HIV 活性。AMD3100 也是一种特异性的 CXCR4 阻断剂,可以与 CXCR4 结合,抑制 CXCL12 诱导的趋化性,而且不会与其它趋化因子受体产生交叉反应^[10]。最初研发这种药物主要着眼于 AMD3100 的抗 HIV 活性,AMD3100 可以阻断 HIV 进入细胞时 Gp120 和 CXCR4 相互作用。然而,在健康志愿者和艾滋病患者的 I/II 期临床试验中发现,AMD3100 可以使白细胞迅速增多,因为 AMD3100 可以动员各种造血细胞(包括 CD34⁺HSC)进入外周血^[10]。后来,加拿大的 AnorMED 公司把 AMD3100 作为一种 HSC 动员剂来研究,一系列的

临床试验都说明 AMD3100 无论是单独使用还是与 G-CSF 联合使用都能有效地动员 HSC^[11]。AMD3100 动员 HSC 的具体机制尚未研究清楚。AMD3100(最近又称为 Plerixafor 或 MozobilTM)现在归 Genzyme 公司 (MA, USA)所有。经美国 FDA 批准,Plerixafor 可经皮下注射,联合 G-CSF 动员 HSC 进入外周血,然后收集 HSC 用于患者的自体移植,可以治疗非霍奇金淋巴瘤和多发性骨髓瘤^[12]。目前,Plerixafor 也用于白血病患者,可以动员白血病细胞进入外周血,然后用传统化疗药杀灭。已经有报道称,在很多动物肿瘤模型中,Plerixafor 可以抑制 CXCR4 与 CXCL12 结合,进一步抑制癌细胞转移和下游的信号转导。这些研究显示,Plerixafor 在体外和动物肿瘤模型中,可以抑制乳腺癌、NSCLC、胰腺癌、胆管细胞癌、恶性黑色素瘤、神经胶质瘤、结直肠癌、卵巢癌、胶质母细胞瘤和髓母细胞瘤^[13]。AMD070 是另一种口服吸收的小分子 CXCR4 阻断剂,有抗 HIV 活性^[14]。KRH-1636 也是一种口服吸收的非肽类 CXCR4 阻断剂,可以抑制 X4 HIV-1 感染,阻断 CXCL12 的刺激反应,如钙的动员。

3.2 小肽类 CXCR4 阻断剂

起初,人们在研究天然多肽的抗 HIV 活性时,发现了小肽类 CXCR4 阻断剂。在这一过程中,速肽和蜚肽被发现,经过化学修饰,合成了抗 HIV 的多肽 T22、T134 和 T140。最初这些药物用于抑制 HIV-1-T 细胞融合或病毒脱壳。T22 可以特异性抑制 CXCR4,阻断 HIV 进入细胞,防止与 CXCL12 结合。T140 是最强的 CXCR4 阻断剂,但是其 C-末端 Arg 容易裂解,缺少血清稳定性。因此,人们研发了 C-末端酰胺化的 T140 类似物,TN14003 和 TC14012,可以克服 T140 的血清不稳定性^[15]。深入研究发现 T140 的结合位点是细胞外结构域和 CXCR4 的疏水核心区,与 AMD3100 的结合位点截然不同。此外,在一系列研究 CXCR4 信号转导机制的实验中,人们发现 T140 可以减少野生型 CXCR4 的自主信号转导以及突变型 CXCR4 的持续性激活,使 T140 成为一种逆转 CXCR4 的药物^[16]。很多临床前研究都发现 T140 及其衍生物有阻断 CXCR4 的疗效,包括体外和体内的各种肿瘤模型,如 SCLC、乳腺癌、黑色素瘤、类风湿性关节炎等^[13]。其它研究也探索了 T140 在急慢性白血病、多发性骨髓瘤、恶性黑色素

瘤和胰腺癌中的抗肿瘤活性^[13]。除此之外,T140及其衍生物还用于基础研究,探索 CXCR4 在树突状细胞发育和迁移、B 细胞归巢和淋巴组织生发中心定位以及 HSC 归巢中发挥的作用。目前,T140 及其类似物 TN14003 正在临床上用于多发性骨髓瘤的治疗^[9]。

ALX40-4C 是一种含 9 个 Arg 残基的多肽,通过末端保护和 D-氨基酸稳定构象。ALX40-4C 是一种 CXCR4 阻断剂,是第一类用于 I 期和 I/II 期 HIV 患者临床试验的阻断剂。但目前这种药物已经停产,因为配制困难,疗效不佳,口服制剂难以生产。

3.3 anti-CXCR4 抗体

利用 anti-CXCR4 抗体 12G5 干扰 CXCL12 与 CXCR4 之间的相互作用,可以明显抑制 HIV 感染和癌细胞转移。而且,anti-CXCR4 抗体也可以显著抑制动物肿瘤模型中癌细胞的生长和转移,如非霍奇金淋巴瘤、乳腺癌、肺癌、前列腺癌。由于 CXCR4 有多种构象异质性,研制抗 CXCR4 的单抗用于临床治疗是很复杂的,而且,不同的细胞类型对 anti-CXCR4 抗体的敏感性不同。此外,用于研究 CXCR4 最常用的单抗 12G5 只识别原发细胞表面的 CXCR4 分子。结果,这些重要细胞上的 CXCR4 浓度被低估了。改变 CXCR4 构象的因素多数还鲜为人知。CXCR4 被翻译后,N-末端的 Tyr 被巯基化修饰,18 位的 Ser 加上硫酸软骨素链^[17]。这种现象可以部分解释 CXCR4 在构象、抗体特异性和功能上的差异。糖基化修饰改变、多糖新表达、低表达或高表达是癌细胞的典型特征,会显著影响各种 CXCR4 阻断剂的活性。

3.4 其它 CXCR4 阻断剂

CTCE-9908 是加拿大的 Chemokine Therapeutics 公司研发的。CTCE-9908 和 CTCE-0214 都是 CXCL12 的类似物,对 CXCL12 有抑制作用。CTCE-9908 被 FDA 批准用于治疗成骨肉瘤。CTCE-9908 可以减少乳腺癌细胞的生长和黏附以及癌细胞的转移扩散^[18]。人们正在研发查耳酮家族的复合物用于中和 CXCL12 的作用。

另一种方法是用 RNAi 沉默 CXCR4,这涉及到用 siRNA 指导互补 mRNA 降解^[19]。在体外乳腺癌细胞培养中,针对 CXCR4 的 siRNA 抑制了癌细胞的迁移。最近,Jähnichen 等^[20]鉴别出了抗 CXCR4 单一

变化结构域的抗体,称为 nanobody。两种高选择性单价 nanobody 238D2 和 238D4 有很强的抗逆转录病毒活性,可以抵抗 T-cell-tropic 和 dual-tropic HIV-1 病毒,抑制 CXCL12 激活 CXCR4,诱导 CD34⁺干细胞动员。

总之,CXCR4 阻断剂提供了一种新的靶向治疗策略,可以抑制癌细胞黏附间质细胞,逆转肿瘤多耐药性,增加癌细胞对化疗药的敏感性。而且,CXCR4 阻断剂可以逆转 CXCR4 直接诱导的癌细胞生长信号和存活信号,以及间接诱导的肿瘤血管形成。由于 CXCR4 在恶性肿瘤中的表达量相对较高,癌细胞很容易转移到表达 CXCL12 的靶器官,用 CXCR4 阻断剂治疗转移性肿瘤是一种很好的策略。在未来几年里,肿瘤靶向治疗会更多地着眼于肿瘤微环境,而不仅仅是肿瘤细胞。CXCR4/ CXCL12 轴是癌细胞和肿瘤微环境相互作用的复杂桥梁。如果传统化疗药和针对肿瘤微环境的药物联合使用,如 CXCR4 阻断剂,将有助于改善疗效,提高治愈率。

参考文献:

- [1] 刘静,郭华雄.趋化因子 CXCL12/CXCR4 生物学轴在肿瘤中的研究进展 [J]. 临床与实验病理学杂志,2010, 26 (4):477-480.
- [2] 贺玲,贺春艳,李剑. SDF-1/CXCR7 生物学轴与肿瘤的研究进展[J]. 广东医学, 2011, 32(13):1776-1777.
- [3] Li X, Ma Q, Xu Q, et al. SDF-1/CXCR4 signaling induces pancreatic cancer cell invasion and epithelial-mesenchymal transition in vitro through non-canonical activation of Hedgehog pathway [J]. Cancer Lett,2012,322(2): 169-176.
- [4] Phillips RJ, Burdick MD, Lutz M, et al. The stromal derived factor-1/CXCL12-CXCR4 biological axis in non-small cell lung cancer metastasis [J]. Am J Respir Crit Care Med,2003, 167(12):1676-1686.
- [5] Oonakahara K, Matsuyama W, Higashimoto I, et al. Stromal-derived factor-1a/CXCL12-CXCR4 axis is involved in the dissemination of NSCLC cells into pleural space[J]. Am J Respir Cell Mol Biol,2004,30(5):671-677.
- [6] Chen G, Wang Z, Liu XY, et al. High-level CXCR4 expression correlates with brain-specific metastasis of non-small cell lung cancer [J]. World J Surg, 2011,35(1):56-61.
- [7] Tang CH, Tan TW, Fu WM, et al. Involvement of matrix metalloproteinase-9 in stromal cell-derived factor-1/CX-

- CR4 pathway of lung cancer metastasis [J]. *Carcinogenesis*, 2008, 29(1):35–43.
- [8] Hartmann TN, Burger JA, Glodek A, et al. CXCR4 chemokine receptor and integrin signaling cooperate in mediating adhesion and chemoresistance in small cell lung cancer (SCLC) cells [J]. *Oncogene*, 2005, 24 (27): 4462–4471.
- [9] Katia Beider, Michal Begin, Michal Abraham, et al. CXCR4 antagonist 4F-benzoyl-TN14003 inhibits leukemia and multiple myeloma tumor growth [J]. *Exp Hematol*, 2011, 39(3): 282–292.
- [10] De Clercq. The AMD3100 story: the path to the discovery of a stem cell mobilizer (Mozobil)[J]. *Biochem Pharmacol*, 2009, 77(11):1655–1664.
- [11] De Clercq E. Recent advances on the use of the CXCR4 antagonist plerixafor (AMD3100, Mozobil) and potential of other CXCR4 antagonists as stem cell mobilizers[J]. *Pharmacol Therap*, 2010, 128(3):509–518.
- [12] Dipsio JF, Uy GL, Yasothan U, et al. Plerixafor[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2009, 8(2):105–106.
- [13] Burger JA, Peled A. CXCR4 antagonists: targeting the microenvironment in leukemia and other cancers [J]. *Leukemia*, 2009, 23(1):43–52.
- [14] Stone ND, Dunaway SB, Flexner C, et al. Multiple-dose escalation study of the safety, pharmacokinetics, and biologic activity of oral AMD070, a selective CXCR4 receptor inhibitor, in human subjects [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2007, 51(7):2351–2358.
- [15] Hennrich U, Seyler L, Schäfer M, et al. Synthesis and in vitro evaluation of 68Ga-DOTA-4-FBn-TN14003, a novel tracer for the imaging of CXCR4 expression[J]. *Bioorg Med Chem*, 2012, 20(4):1502–1510.
- [16] Boulais PE, Dulude D, Cabana J, et al. Photolabeling identifies transmembrane domain 4 of CXCR4 as a T140 binding site [J]. *Biochem Pharmacol*, 2009, 78 (11):1382–1390.
- [17] Yang H, Lan C, Xiao Y, et al. Antibody to CD14 like CXCR4-specific antibody 12G5 could inhibit CXCR4-dependent chemotaxis and HIV Env-mediated cell fusion[J]. *Immunol Lett*, 2003, 88(1):27–30.
- [18] Huang EH, Singh B, Cristofanilli M, et al. A CXCR4 antagonist CTCE-9908 inhibits primary tumor growth and metastasis of breast cancer[J]. *J Surg Res*, 2009, 155(2): 231–236.
- [19] Kim DH, Rossi JJ. Strategies for silencing human disease using RNA interference[J]. *Nat Rev Genet*, 2007, 8(3): 173–184.
- [20] Jähnichen S, Blanchetot C, Maussang D, et al. CXCR4 nanobodies (VHH-based single variable domains) potently inhibit chemotaxis and HIV-1 replication and mobilize stem cells[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107(47): 20565–20570.