

Bromodomains 抑制剂及其在疾病治疗中的作用研究进展

卞媛媛, 马宇, 陈亚东, 唐伟方*

(中国药科大学理学院, 江苏 南京 211198)

[摘要] Bromodomains (BRDs) 是一类能够特异性识别乙酰化赖氨酸并形成驱动活性转录的蛋白质复合物的保守蛋白结构域, 而组蛋白赖氨酸的 N 端乙酰化或去乙酰化修饰可改变染色质的结构, 调控基因的转录激活和转录抑制。BRDs 小分子抑制剂能够和乙酰化赖氨酸竞争性地与 BRDs 的疏水口袋结合, 在表观遗传调控中发挥重要作用, 在治疗肿瘤、炎症、自身免疫疾病和心血管疾病等方面也显示出巨大的研究潜力。综述 BRDs 抑制剂及其在疾病治疗中的作用研究进展, 为高效、选择性 BRDs 小分子抑制剂的设计与开发提供参考。

[关键词] 表观遗传学; bromodomain; 调控机制; 抑制剂; 疾病治疗

[中图分类号] R914

[文献标志码] A

[文章编号] 1001-5094 (2018) 03-0214-08

Advances in Research on Bromodomain Inhibitors and Their Applications in Human Diseases

BIAN Yuanyuan, MA Yu, CHEN Yadong, TANG Weifang

(School of Science, China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, China)

[Abstract] Bromodomains (BRDs) are a type of conserved protein domains that recognize acetyl-lysine and facilitate the formation of protein complexes that drive active transcription. N-terminal acetylation or deacetylation of histone lysine modifies the structure of chromatin, thereby regulating transcriptional activation and inhibition. Small-molecule inhibitors of BRDs compete with acetyl-lysine in binding the hydrophobic pocket of BRDs, playing important roles in epigenetic regulation and showing great potential in the treatment of tumor, inflammation, autoimmune diseases and cardiovascular diseases. The progress in BRDs inhibitors and their roles in the treatment of diseases, so as to provide reference for the design and development of efficient and selective small-molecule inhibitors of BRDs.

[Key words] epigenetics; bromodomain; regulation mechanism; inhibitor; disease treatment

基因表达的表观遗传 (epigenetics) 调控是一个动态和可逆的形成正常或疾病状态细胞表型的过程^[1]。表观遗传是指 DNA 序列不发生变化, 但基因表达却发生了可遗传的改变。表观遗传的调控机制包括 DNA 甲基化、组蛋白翻译后修饰 (post-translational modifications, PTMs) 以及染色质重构等。组蛋白赖氨酸残基尾部的甲基化和乙酰化是 PTMs 的最主要方式, 其中组蛋白乙酰化可精确调节细胞中染色质的结构和组蛋白结合基因的表达^[2]。该修饰方式在不引起 DNA 碱基序列改变的情况下, 使基因功能发生可遗传的变化并最终导致表型的变化。

Bromodomains (BRDs) 通常存在于参与蛋白-蛋白相互作用 (protein-protein interactions, PPIs) 的染色质和转录相关蛋白中, 是一类能够特异性识别乙酰化赖氨酸 (KAc) 并形成驱动活性转录的蛋白质复合物的保

守蛋白结构域^[3]。BRDs 小分子抑制剂能够和 KAc 竞争性地与 BRDs 的疏水口袋结合, 从而阻断或部分阻断 KAc 在基因转录和调节染色质结构方面的作用。在疾病发生时, 含有 BRDs 的蛋白 (bromodomain containing proteins, BCPs) 表达水平通常处于失调的状态, 提示 BRDs 可能对疾病发生机制具有关键作用。BCPs 与疾病的关联性促进了以药物发现为目标的 BRDs 抑制剂的开发, 尤以 BET (bromodomain and extra-terminal) 抑制剂的发展最为迅速^[4]。

BET 家族包含 BRD2、BRD3、BRD4 和 BRDT (bromodomain testis-specific protein)^[5]。BET 蛋白在生理状态下执行转录调节功能, 调控正常的细胞进程; 而在异常状态下, BET 蛋白募集各种蛋白质到染色质和转录位点, 调节与疾病密切相关的基因转录。以 BRD4 为例, BRD4 在细胞间期以正性转录延伸因子 (positive transcription elongation factorb, P-TEFb) 依赖性方式募集蛋白质, 并通过与 RNA 聚合酶 II (RNAP II) 偶联来调节转录过程, 从而促进 *c-Myc*、*NF-κB*、*Aurora B* 和 *BCL-2* 等致癌基因的异常表达 (见图 1)。BET 蛋白作为转录调控因子, 通过调节下游效应蛋白的表达参与疾

接受日期: 2017-06-28

项目资助: 国家自然科学基金 (No. 81673301)

***通讯作者:** 唐伟方, 教授;

研究方向: 化学药物的设计与合成;

Tel: 025-86185182; **E-mail:** tangwf126@126.com

病的发生、发展, 故靶向 BET 蛋白的抑制剂的成功开发 为多种疾病的治疗提供了新的思路和方法。

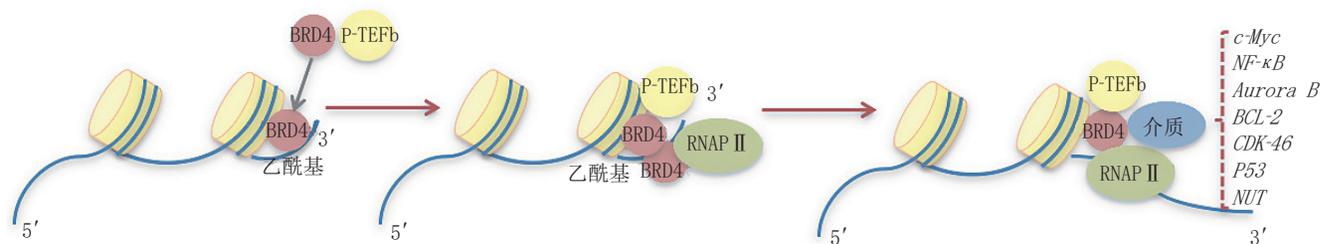


图 1 BRD4 调节转录的过程

Figure 1 Transcriptional regulation by BRD4

BRDs 家族非 BET 蛋白中 CBP (CREB-binding protein) 和 p300 也非常值得关注, 其被开发作为心血管疾病、炎症以及白血病的药理学靶标^[6]; 与癌症相关的非 BET 蛋白包括 BAZ2A/2B (bromodomain adjacent to zinc finger domain protein 2A/2B)、ATAD2 (ATPase family, AAA domain containing 2)、TRIM24 (tripartite motif-containing 24) 和 BRD7/9 等。非 BET bromodomain 抑制剂的研究, 有助于阐明非 BET 蛋白的生物学作用, 促进相关新药的开发^[7]。新型 BRDs 小分子抑制剂的研究, 使得人们对疾病的调控机制有了更深入的了解, 并可能作为表观遗传领域内的新药, 为癌症、炎症、自身免疫疾病及心血管疾病等许多临床疾病的治疗, 提供极大的帮助^[8]。

1 Bromodomains 抑制剂

1.1 BET bromodomain 抑制剂

2009 年三菱制药公开了一系列可抑制 BET 家族 BRD4 的甲基三唑并二氮杂萘类化合物的专利, 该类化合物具有抑制肿瘤细胞增殖的活性, 且对一些难治性癌症显示出一定的治疗潜力^[9]。2010 年 Filippakopoulos 课题组在三菱制药公开的上述专利化合物的基础上发现了第 1 个具有甲基三唑并二氮杂萘类骨架结构的选择性 BET bromodomain 抑制剂 JQ1 (**1**), 其可抑制睾丸核蛋白 (the nuclear protein of the testis, NUT) 中线癌 (nut midline carcinoma, NMC) 模型中细胞的增殖和分化^[10]。通过对 JQ1 与 BRD4 的结合模型 (见图 2) 分析发现, JQ1 的甲基三唑环 3 位氮原子可与 BRD4 的 KAc 识别口袋中的 140 位天冬酰胺 (Asn140) 形成关键性氢键, 同时三唑的 2 位氮原子通过水分子与 97 位酪氨酸 (Tyr97) 形成网状氢键结构。KAc 口袋内部稳定存在着 6 个排列有序的水分子, 这些水分子与周围氨基

酸形成了一个氢键网络。

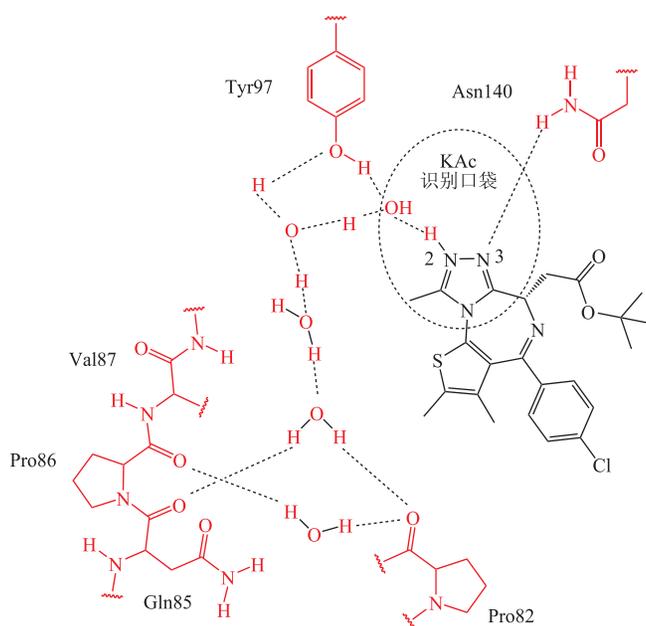


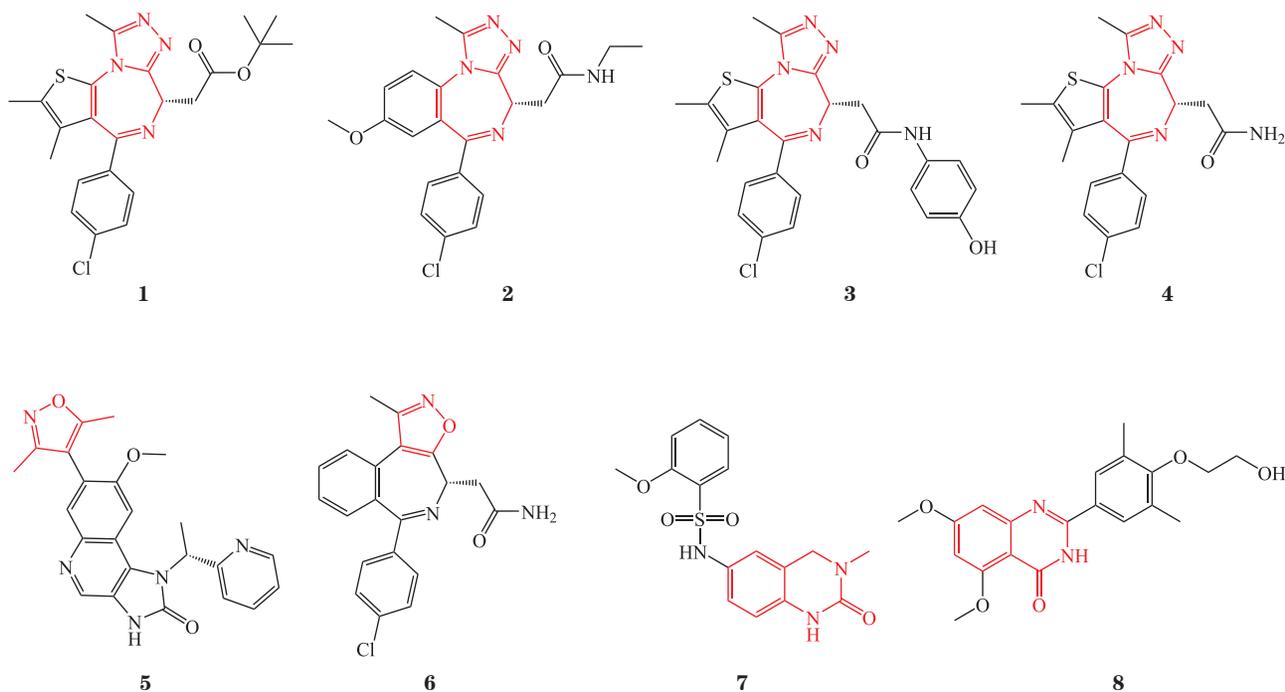
图 2 JQ1 与 BRD4 二维结合模式图

Figure 2 Two dimensional model of binding between JQ1 and BRD4

BET bromodomain 小分子抑制剂与 KAc 识别口袋的结合对其活性具有关键作用, 其化学结构主要包括带有氢键受体的刚性芳香骨架, 如三唑并二氮杂萘、异噁唑和喹唑啉酮。除 JQ1 外, 三唑并二氮杂萘类 BET bromodomain 抑制剂的另一个代表化合物是 I-BET762 (**2**), 其能在脂多糖 (lipopolysaccharides, LPS) 诱导的巨噬细胞模型中抑制炎症基因表达^[11]。OTX015 (**3**) 于 2012 年进入用于急性白血病和其他血液恶性肿瘤的临床试验^[12]。同时由 Constellation 制药公司开发的 JQ1 类似物 CPI-203 (**4**) 也表现出一定的抗淋巴瘤活性^[13]。由于三唑并二氮杂萘骨架的刚性限制了其化学修饰的空间, 研究人员发现了更易于结构优化的 3,5-二甲基

异噁唑。葛兰素史克 (GSK) 公司报道了一个甲基异噁唑类 BET bromodomain 抑制剂 I-BET151 (5), 用于混合性白血病 (mixed lineage leukemia, MLL) 的治疗^[14]。Constellation 制药公司设计合成的异噁唑类 BET bromodomain 抑制剂 CPI-0610 (6) 以异噁唑替换 I-BET762 的三氮唑环, 目前其已进入用于血液恶性肿瘤的临床试验^[15]。二氢噁唑啉酮类 BET bromodomain

抑制剂 PFI-1 (7) 对 Aurora B 激酶具有抑制作用, 对白血病细胞也有一定的抑制活性^[16]。由 Resverlogix 公司开发的噁唑啉酮类 BET bromodomain 抑制剂 RVX-208 (8) 可诱导血浆中高密度脂蛋白 *ApoA1* 基因的表达, 用于治疗动脉粥样硬化相关的心血管疾病^[17], 鉴于其在临床方面的优异表现, 已于 2015 年进入 III 期临床试验。



BET 蛋白家族已日益成为表观遗传领域内的新兴药物靶标, 引起了各大制药公司和研究机构的关注。

截至 2017 年 3 月, 已有 14 个 BET bromodomain 抑制剂进入临床试验阶段 (见表 1)^[18]。

表 1 临床在研的 BET bromodomain 抑制剂
Table 1 Inhibitors of BET bromodomain in clinical trials

抑制剂	公司	研究阶段	临床试验	适应症
OTX-015	Oncoethix (Merck)	I 期	NCT01713582	急性白血病和其他血液恶性肿瘤
		I 期	NCT02259114	晚期实体瘤
		II 期	NCT02296476	复发性多形性胶质母细胞瘤
CPI-0610	Constellation Pharmaceuticals	I 期	NCT01949883	进行性淋巴瘤
		I 期	NCT02157636	多发性骨髓瘤
		I 期	NCT02158858	急性白血病、骨髓增生异常综合征、骨髓增生异常-骨髓增殖性肿瘤
TEN-010	Tensha Therapeutics	I 期	NCT01987362	实体瘤
		I 期	NCT02308761	急性髓细胞白血病 (AML)、骨髓异常综合征
I-BET762	GSK	I 期	NCT01587703	中线瘤和其他癌症
		I 期	NCT01943851	血液恶性肿瘤
		II 期	NCT02964507	雌激素受体阳性乳腺癌

续表1

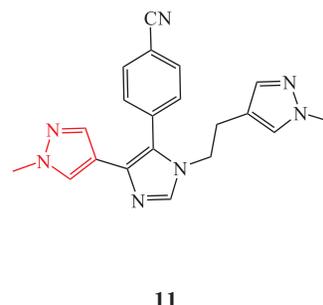
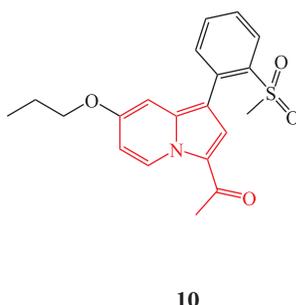
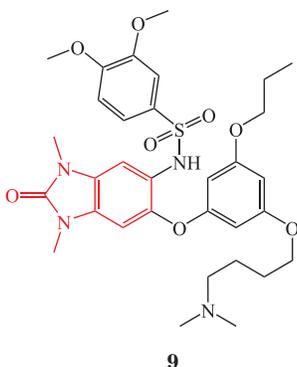
抑制剂	公司	研究阶段	临床试验	适应证
RVX-208	Resverlogix	II 期	NCT00768274	血脂异常、动脉粥样硬化、冠心病
		II 期	NCT01058018	动脉粥样硬化、冠心病
		II 期	NCT01067820	冠心病
		II 期	NCT01423188	血脂异常、冠心病
		II 期	NCT01728467	糖尿病
		III 期	NCT02586155	2型糖尿病、冠心病
ABBV-075	AbbVie	I 期	NCT02391480	乳腺癌、多发性骨髓瘤 (MM)、非小细胞肺癌、AML
INCB 054329	Incyte	III 期	NCT02431260	晚期恶性肿瘤
BMS-986158	Bristol-Myers Squibb	III 期	NCT02419417	三阴性乳腺癌、卵巢癌、小细胞肺癌
FT-1101	Forma Therapeutics	I 期	NCT02543879	AML、骨髓异常综合征
BI 894999	BoehringerIngelheim	I 期	NCT02516553	肿瘤
GSK2820151	GSK	I 期	NCT02630251	急性实体瘤、复发性实体瘤
ZEN-3694	Zenith Epigenetics	I 期	NCT02711956 NCT02705469	转移性去势抵抗性前列腺癌 (CRPC)
		I 期	NCT02392611	实体瘤、淋巴瘤
GS-5829	Gilead Sciences	III 期	NCT02607228	CRPC
		I 期	NCT02468687	复发性难治性多发性骨髓瘤

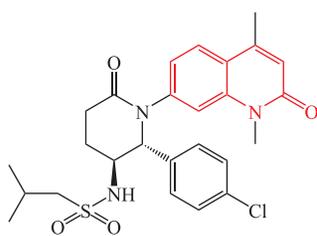
1.2 非 BET bromodomain 抑制剂

目前非 BET 家族 bromodomain 抑制剂也逐渐成为研究的热点。大多数非 BET 蛋白的生物学功能尚未知, 故已报道的非 BET bromodomain 抑制剂常作为分子探针, 用来研究各靶标的生物学功能。目前已报道了多种高选择性靶向 TRIM24、BAZ2A/2B、BRD7/9 和 CBP/p300 的非 BET bromodomain 抑制剂。

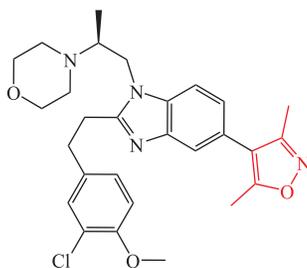
2014 年, 美国安德森癌症中心 (MD Anderson Cancer Center) 开发了一种选择性苯并咪唑酮类 TRIM24 和 BRPF1 (bromodomain and PHD finger containing 1) 双靶点抑制剂 IACS-9571 (**9**), 其具有较好的细胞活性和药代动力学特征^[19]。结构基因组学联盟 (SGC) 在非 BET 蛋白研究领域也取得了较大进展。SGC 与 GSK 公司合作开发的 GSK2801 (**10**) 是首个选择性结

合 BAZ2A/2B 蛋白的抑制剂^[20]。BAZ2A/2B 是核仁重塑复合体的主要成分, 可调节非编码 RNA 的转录。SGC 还通过虚拟筛选开发了 BAZ2A/2B 选择性抑制剂 BAZ2-ICR (**11**), 该化合物具有良好的药效特征^[21]。LP99 (**12**) 是 SGC 开发的对 BRD7/9 有效的抑制剂, 其具有较好的选择性和细胞抗增殖活性, 对于癌症和炎症的治疗可发挥作用^[22]。近期 SGC 还开发了针对自身免疫疾病的抑制剂 CBP30 (**13**), 可选择性抑制 CBP 及其同源蛋白 p300。CBP 和 p300 与 AML 及一系列神经退行性疾病的发生有关^[23]。另一个代表性的 CBP/p300 抑制剂是由 Mount Sinai 医院开发的 Ischemin (**14**), 其可有效阻断 CBP 与 p53 结合, 并对抑癌基因 p53 突变引发的多种恶性肿瘤有效^[24]。

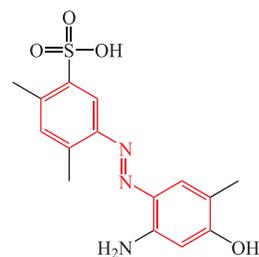




12



13



14

2 Bromodomains 抑制剂在疾病治疗中的作用

2.1 作为抗癌药物

2.1.1 作用于液体瘤 AML 是一类与 BRDs 蛋白相关的液体瘤。侵袭性白血病的形成主要涉及 *MLL* 融合基因的染色体易位, 而 *MLL* 融合体的形成与 BRDs 蛋白相关。*MLL-p300* 和 *MLL-CBP* 融合基因分别由 AML 染色体 $t(1;22;11)(q44;q13;q23)$ 和 $t(11;16)(q23;q13)$ 易位造成。*CBP/p300* 是组蛋白乙酰转移酶 (HAT) 中重要的大分子蛋白之一, 其本身具有乙酰转移酶活性^[25]。单核细胞性白血病锌指蛋白 (MOZ) 也可通过转移到其他基因座, 与 *CBP/p300* 发生融合。*MOZ-CBP/p300* 融合蛋白通过 AML 的染色体 $t(8;16)(p11;p13)$ 相互易位产生。这些含 MOZ 的嵌合蛋白的赖氨酸乙酰转移酶 (KAT) 结构域高度保守, 表明融合蛋白可通过乙酰化诱导 AML (见图 3)。在 *MLL-CBP* 和 *MOZ-CBP* 融合蛋白中的 KAT 结构域可通过转录因子 (如 *AML1*、*c-Myb*、*GATA-1* 和 *CREB*) 的异常乙酰化促成白血病的发生^[26]。

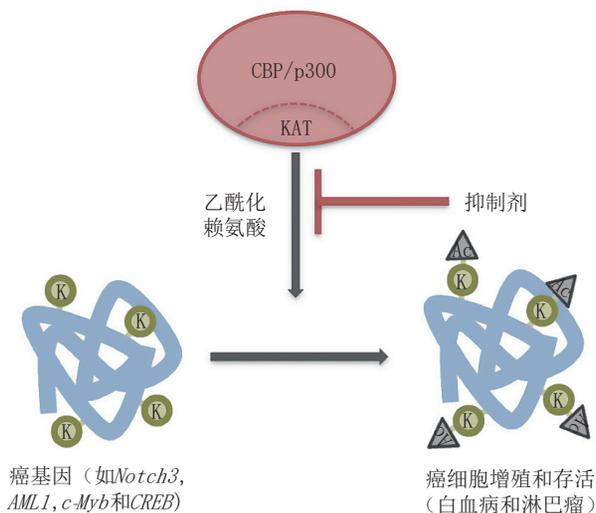


图 3 CBP/p300 乙酰化促进白血病和淋巴瘤发生

Figure 3 CBP/p300 acetylation promotes leukemogenesis and lymphomagenesis

淋巴瘤是起源于淋巴造血系统的恶性肿瘤, 其中发病率较高的是非霍奇金淋巴瘤 (NHL)^[27]。弥漫大 B 细胞淋巴瘤 (DLBCL) 是 NHL 最常见的类型, 可分为生发中心 B 细胞 (GCB) 亚型和活化 B 细胞 (ABC) 亚型^[28]。临床上发现, ABC 亚型是更具侵袭性的变异, 其通过 NF- κ B 激活并促进淋巴瘤形成。BET bromodomain 抑制剂可抑制包括 NF- κ B 在内的超级增强子介导的转录, 用于 ABC 型 DLBCL 的治疗。相反, GCB 型 DLBCL 对标准免疫化疗更敏感, 常涉及 *c-Myc*、*BCL-2* 或 *BCL-6* 等基因的染色体易位^[29]。

MM 是以骨髓中功能浆细胞的异常增殖为特征的恶性肿瘤, 通常导致异常免疫球蛋白表达增多和潜在器官功能障碍^[30]。与 NHL 类似, 激活 *c-Myc* 和 NF- κ B 靶基因的表达在 MM 发病机制中起重要作用。此外, 转录因子干扰素调节因子 4 (interferon regulatory factor 4, IRF4) 的激活以及白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6) 信号传导也能促进 MM 的发展。

目前, 已有多个 BET bromodomain 抑制剂进入用于血液恶性肿瘤的临床试验。OTX015 于 2012 年进入 AML、B 细胞淋巴瘤、MM 和其他血液恶性肿瘤特异性适应证的临床试验, 现已完成口服 I 期临床试验, 其 II 期试验在复发性多形性胶质母细胞瘤患者中展开^[12]。I-BET151 在 *MLL* 模型中表现出较好的治疗潜力, 其能诱导模型中 *MLL* 的细胞周期停滞和凋亡, 包括侵袭性小儿急性淋巴细胞白血病 (ALL) 和成年 AML 亚型, 且对不同 MM 模型也有效^[14]。JQ1 在许多 *MLL* 和非 *MLL* 急性白血病细胞株中产生作用, 其在原位 MM 模型中也表现出很好的疗效并改善了存活率^[10]。由 Constellation 公司开发的 CPI-0610 于 2013 年进入用于淋巴瘤治疗的 I 期临床试验, 其开展的第 2 个 CPI-0610 I 期临床试验主要针对具有复发性或难治性 MM 的患者。

2.1.2 作用于实体瘤 BRDs 在实体瘤中作用机制十分复杂, 其中一种致癌机制涉及 *BRD4-NUT* 融合基因的形成^[31]。*BRD4-NUT* 融合基因通过染色体易位产生, 这种易位使得位于 15 号染色体上的 *NUT* 基因和 19 号染色体上的 *BRD4* 基因发生融合, 少数情况下也可观察到 *BRD3-NUT* 融合基因。*BRD3-NUT* 和 *BRD4-NUT* 融合基因存在于细胞核内, 表明 BRDs 通过与离散基因座处的乙酰化染色质相互作用从而保留细胞核中的 *NUT* 基因。敲除 *BRD4-NUT* 和 *BRD3-NUT* 基因, 导致 NMC 细胞出现鳞状分化和细胞周期停滞。

BRDs 还可与晚期癌症中的致癌驱动基因相互作用。其中 CRPC 主要受雄激素受体 (AR) 介导的信号转导途径调节^[32]。*BRD4* 直接与 AR 的 N 末端结构域相互作用, 抑制 *BRD4* 可阻碍 AR 募集到其靶基因, 从而阻止 AR 介导的基因表达。其他 BRDs 蛋白也作为 AR 介导的信号转导的共激活因子, 经 AR 拮抗剂刺激后可增强 AR 活性。CBP 蛋白在晚期前列腺癌中高度表达, 并直接与 AR 接触。CBP 是 AR 和各种核信号转导途径 (即 NF- κ B) 之间的介质, CBP 的调节对于 AR 转录至关重要。

基于 *BRD4-NUT* 和 *BRD3-NUT* 基因融合体的研究, Tensha Therapeutics 公司开发的 BET 抑制剂 TEN-010 于 2013 年底进入用于实体瘤的 I 期临床试验。研究人员在筛选癌细胞株时发现, 有 4 种神经母细胞瘤细胞对 JQ1 敏感^[33]。此外, GSK 公司于 2012 年始开展 I-BET762 用于 NMC、MM、小细胞肺癌、结肠直肠癌和神经母细胞瘤等癌症的 I 期临床试验^[11]。

2.2 作为抗炎药物

炎症是一类十分常见的疾病, 过度的免疫应答是许多炎症性疾病的主要特征。病原体与免疫系统细胞的相互作用导致炎症基因表达, 这种反应虽然对于免疫防御至关重要, 但由于炎症蛋白的过度产生, 对宿主通常是有害的。炎症反应关键在于激活控制炎症基因调节的信号蛋白和诱导组装引发 mRNA 表达的核染色质复合物^[34]。BRDs 蛋白可控制调节炎症基因表达的组蛋白乙酰化依赖性染色质复合物的组装。此外, BRDs 蛋白还可选择性调节炎症基因的转录, 如 *BRD4* 可充当 NF- κ B 的共激活因子增加炎症基因的转录。BRDs 抑制剂通过破坏 mRNA 转录、延伸和剪接所必需的染色质复合物的形成, 可有效介导炎症基因的表达^[35]。

实验证明, I-BET762 可抑制一些重要的促炎因子

和趋化因子 (如 IL-1 β 、IL-6、IL12、CXCL9 和 CCL12) 在骨髓来源的巨噬细胞中的表达。在 LPS 诱导的巨噬细胞模型中用 I-BET762 处理, *BRD2*、*BRD3* 和 *BRD4* 在启动子基因 *IL-6* 和 *TNF* 处的结合能力显著降低。在 LPS 诱导和加热灭活的鼠伤寒沙门菌诱导的内毒素休克模型中, I-BET762 处理可延长小鼠的寿命^[11]。

2.3 作为抗自身免疫性疾病药物

BRDs 抑制剂主要治疗 Th17 细胞异常激活介导的自身免疫性疾病^[36]。Th17 细胞除高度促炎外, 还促进 B 细胞产生抗体, 进而中和入侵的病原体^[37]。Th17 细胞株通常在 IL-23、IL-1、IL-6 和 TGF- β 的共同作用下发生分化, 且与 IL-17A、IL-17F、IL-21 和 IL-22 等特征性细胞因子的生成相关。Th 亚型的过度激活会导致遗传易感性患者的慢性组织炎症, 其中 Th17 细胞迁移到组织中并招募宿主的炎性细胞, 可产生持续的炎性伤害。研究显示, 几种主要的自身免疫性疾病均与 Th17 细胞有关, 如多发性硬化、类风湿性关节炎、银屑病和结肠炎^[38]。

实验证明, 针对类风湿性关节炎和骨关节炎患者, JQ1 可减少细胞因子 (TNF- α 、IL-1b、IL-6 和 IL-8) 的分泌、基质金属蛋白酶 (MMP-1、MMP-3 和 MMP-13) 的表达和成纤维细胞样滑膜细胞的增殖^[39]。最近研究发现, 选择性抑制 CBP 和 p300 可作为自身免疫性疾病的潜在治疗策略^[40]。非 BET bromodomain 抑制剂 CPB30 能抑制从健康供体和强直性脊柱炎 (AS) 及银屑病关节炎患者中纯化的 CD4⁺T 细胞的 IL-17A 分泌。实验显示, CPB30 对源自健康供体和 AS 患者的 CD4⁺T 细胞基因表达的影响范围较 JQ1 更窄, 并且未产生如 JQ1 和 I-BET762 等泛 BET bromodomain 抑制剂类似的脱靶效应。

2.4 作为抗心血管疾病药物

BRDs 抑制剂可作为心血管疾病 (cardiovascular diseases, CVD) 的潜在治疗药物。缺血性心脏病的主要表现是心肌细胞凋亡, 该过程由响应心肌缺血诱导 DNA 损伤的抑癌基因 *p53* 介导^[41], 而 *p53* 介导的对基因毒性应激的反应通过 CBP 蛋白调节, CBP 具有乙酰转移酶活性, 通过乙酰化诱导 *p53* 的核转运, 从而导致基因的激活。研究人员发现, 中度选择性 CBP 抑制剂 Ischemin, 可阻断 CBP 与 *p53* 结合, 抑制 DNA 损伤诱导的 *p53* 靶基因激活和人类骨癌细胞中的细胞周期停滞, 并阻碍 DNA 损伤应激下的原代新生大鼠心肌细胞

的凋亡^[24]。

BET bromodomain 抑制剂也可作为抗心血管疾病的潜在治疗策略。RVX-208 是正在开发的用于治疗 CVD 的口服活性小分子抑制剂, 目前已进入 III 期临床试验。RVX-208 可通过 BRD4 介导的表观遗传机制增加载脂蛋白 ApoA-I 转录, BRD4 可将 P-TEFb 募集到基因启动子区从而促进转录, 而 RVX-208 选择性结合 BRD4 二型结构域 (BD2) 破坏这种相互作用^[17]。RVX-208 是目前 CVD 临床开发中唯一的 BD2 选择性 BET bromodomain 抑制剂。实验证明, RVX-208 可抑制促炎症、动脉粥样硬化和促血栓形成途径, 从而降低 CVD 的风险。

3 结语

BRDs 蛋白通过特异性识别和结合乙酰化赖氨酸,

发挥着介导转录调控和染色质重塑等重要生物学功能, 是表观遗传学领域研究的热门药物靶标。BRDs 抑制剂的研发, 为进一步探索 BRDs 的生物学功能及其参与的疾病途径, 提供了极大的帮助。

大量的临床数据显示, BRDs 抑制剂对癌症、炎症、自身免疫性疾病及心血管疾病等具有良好的治疗前景, 但也存在诸如耐药性、毒副作用等潜在问题。因此, 开发多靶点的 BRDs 抑制剂, 如激酶/BRDs 小分子抑制剂、HDAC/BRDs 小分子抑制剂, 可在保持甚至提高药效的前提下, 有效降低耐药性和毒副作用。笔者所在课题组将计算机药物辅助设计 (computer-aided drug design, CADD) 和合理的药物设计技术综合运用于 BRDs 抑制剂的开发, 得到了一系列结构新颖、高活性和高选择性的 BRDs 蛋白小分子抑制剂, 以期为寻找基于表观遗传机制的药物研究奠定基础。

【参考文献】

- [1] Arrowsmith C H, Bountra C, Fish P V, *et al.* Epigenetic protein families: a new frontier for drug discovery[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2012, 11(5): 384-400.
- [2] Galdeano C, Ciulli A. Selectivity on-target of bromodomain chemical probes by structure-guided medicinal chemistry and chemical biology[J]. *Future Med Chem*, 2016, 8(13): 1655-1680.
- [3] Josling G A, Selvarajah S A, Petter M, *et al.* The role of bromodomain proteins in regulating gene expression[J]. *Genes(Basel)*, 2012, 3(2): 320-343.
- [4] Sanchez R, Meslamani J, Zhou M M. The bromodomain: from epigenome reader to druggable target[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1839(8): 676-685.
- [5] Fu L L, Tian M, Li X, *et al.* Inhibition of BET bromodomains as a therapeutic strategy for cancer drug discovery[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(8): 5501-5516.
- [6] Picaud S, Fedorov O, Thanasopoulou A, *et al.* Generation of a selective small molecule inhibitor of the CBP/p300 bromodomain for leukemia therapy[J]. *Cancer Res*, 2015, 75(23): 5106-5119.
- [7] Theodoulou N H, Tomkinson N C, Prinjha R K, *et al.* Progress in the development of non-BET bromodomain chemical probes[J]. *Chem Med Chem*, 2016, 11(5): 477-487.
- [8] Smith S G, Zhou M M. The Bromodomain: a new target in emerging epigenetic medicine[J]. *ACS Chem Biol*, 2016, 11(3): 598-608.
- [9] Miyoshi S, Ooike S, Iwata K, *et al.* Antitumor agent: Japan, WO2009084693A1[P]. 2009-07-09.
- [10] Filippakopoulos P, Qi J, Picaud S, *et al.* Selective inhibition of BET bromodomains[J]. *Nature*, 2010, 468(7327): 1067-1073.
- [11] Nicodeme E, Jeffrey K L, Schaefer U, *et al.* Suppression of inflammation by a synthetic histone mimic[J]. *Nature*, 2010, 468(7327): 1119-1123.
- [12] Coude M M, Braun T, Berrou J, *et al.* BET inhibitor OTX015 targets BRD2 and BRD4 and decreases c-MYC in acute leukemia cells[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(19): 17698-17712.
- [13] Moros A, Rodriguez V, Saborit-Villarroya I, *et al.* Synergistic antitumor activity of lenalidomide with the BET bromodomain inhibitor CPI203 in bortezomib-resistant mantle cell lymphoma[J]. *Leukemia*, 2014, 28(10): 2049-2059.
- [14] Dawson M A, Prinjha R K, Dittmann A, *et al.* Inhibition of BET recruitment to chromatin as an effective treatment for MLL-fusion leukaemia[J]. *Nature*, 2011, 478(7370): 529-533.
- [15] Albrecht B K, Gehling V S, Hewitt M C, *et al.* Identification of a benzoisoxazoloazepine inhibitor (CPI-0610) of the bromodomain and extra-terminal (BET) family as a candidate for human clinical trials[J]. *J Med Chem*, 2016, 59(4): 1330-1339.
- [16] Picaud S, Da Costa D, Thanasopoulou A, *et al.* PFI-1, a highly selective protein interaction inhibitor, targeting BET bromodomains[J]. *Cancer Res*, 2013, 73(11): 3336-3346.
- [17] Picaud S, Wells C, Felletar I, *et al.* RVX-208, an inhibitor of

- BET transcriptional regulators with selectivity for the second bromodomain[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110(49): 19754-19759.
- [18] Liu Z, Wang P, Chen H, *et al.* Drug discovery targeting bromodomain-containing protein 4[J]. *J Med Chem*, 2017, 60(11): 4533-4558.
- [19] Palmer W S, Poncet-Montange G, Liu G, *et al.* Structure-guided design of IACS-9571, a selective high-affinity dual TRIM24-BRPF1 bromodomain inhibitor[J]. *J Med Chem*, 2016, 59(4): 1440-1454.
- [20] Chen P, Chaikuad A, Bamborough P, *et al.* Discovery and characterization of GSK2801, a selective chemical probe for the bromodomains BAZ2A and BAZ2B[J]. *J Med Chem*, 2016, 59(4): 1410-1424.
- [21] Drouin L, McGrath S, Vidler L R, *et al.* Structure enabled design of BAZ2-ICR, a chemical probe targeting the bromodomains of BAZ2A and BAZ2B[J]. *J Med Chem*, 2015, 58(5): 2553-2559.
- [22] Picaud S, Strocchia M, Terracciano S, *et al.* 9H-purine scaffold reveals induced-fit pocket plasticity of the BRD9 bromodomain[J]. *J Med Chem*, 2015, 58(6): 2718-2736.
- [23] Hay D A, Fedorov O, Martin S, *et al.* Discovery and optimization of small-molecule ligands for the CBP/p300 bromodomains[J]. *J Am Chem Soc*, 2014, 136(26): 9308-9319.
- [24] Borah J C, Mujtaba S, Karakikes I, *et al.* A small molecule binding to the coactivator CREB-binding protein blocks apoptosis in cardiomyocytes[J]. *Chem Biol*, 2011, 18(4): 531-541.
- [25] Dutta R, Tiu B, Sakamoto K M. CBP/p300 acetyltransferase activity in hematologic malignancies[J]. *Mol Genet Metab*, 2016, 119(1/2): 37-43.
- [26] Serravalle S, Melchionda F, Astolfi A, *et al.* A novel specific signature of pediatric MOZ-CBP acute myeloid leukemia[J]. *Leuk Res*, 2010, 34(11): e292-e293.
- [27] Howlader N, Morton L M, Feuer E J, *et al.* Contributions of subtypes of non-Hodgkin lymphoma to mortality trends[J]. *Cancer Epidem Biomar*, 2016, 25(1): 174-179.
- [28] Scott D W, Mottok A, Ennishi D, *et al.* Prognostic significance of diffuse large B-cell lymphoma cell of origin determined by digital gene expression in formalin-fixed paraffin-embedded tissue biopsies[J]. *J Clin Oncol*, 2015, 33(26): 2848-2856.
- [29] Rosenthal A, Younes A. High grade B-cell lymphoma with rearrangements of MYC and BCL2 and/or BCL6: double hit and triple hit lymphomas and double expressing lymphoma[J]. *Blood Rev*, 2017, 31(2): 37-42.
- [30] Anderson K C. Progress and paradigms in multiple myeloma[J]. *Clin Cancer Res*, 2016, 22(22): 5419-5427.
- [31] Wang R, You J. Mechanistic analysis of the role of bromodomain-containing protein 4 (BRD4) in BRD4-NUT oncoprotein-induced transcriptional activation[J]. *J Biol Chem*, 2015, 290(5): 2744-2758.
- [32] Penning T M. Mechanisms of drug resistance that target the androgen axis in castration resistant prostate cancer (CRPC)[J]. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2015, 153: 105-113.
- [33] Puissant A, Frumm S M, Alexe G, *et al.* Targeting MYCN in neuroblastoma by BET bromodomain inhibition[J]. *Cancer Discov*, 2013, 3(3): 308-323.
- [34] Smale S T. Selective transcription in response to an inflammatory stimulus[J]. *Cell*, 2010, 140(6): 833-844.
- [35] Hargreaves D C, Horng T, Medzhitov R. Control of inducible gene expression by signal-dependent transcriptional elongation[J]. *Cell*, 2009, 138(1): 129-145.
- [36] Ghosh S, Lora J M. Suppression of TH17-mediated pathology through BET bromodomain inhibition[J]. *Drug Discov Today Technol*, 2016, 19: 39-44.
- [37] Patel D D, Kuchroo V K. Th17 cell pathway in human immunity: lessons from genetics and therapeutic interventions[J]. *Immunity*, 2015, 43(6): 1040-1051.
- [38] Zhou L, Littman D R. Transcriptional regulatory networks in Th17 cell differentiation[J]. *Curr Opin Immunol*, 2009, 21(2): 146-152.
- [39] Ferri E, Petosa C, McKenna C E. Bromodomains: structure, function and pharmacology of inhibition[J]. *Biochem Pharmacol*, 2016, 106: 1-18.
- [40] Hammitzsch A, Tallant C, Fedorov O, *et al.* CBP30, a selective CBP/p300 bromodomain inhibitor, suppresses human Th17 responses[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, 112(34): 10768-10773.
- [41] Fujita T, Ishikawa Y. Apoptosis in heart failure. The role of the β -adrenergic receptor-mediated signaling pathway and p53-mediated signaling pathway in the apoptosis of cardiomyocytes[J]. *Circ J*, 2011, 75(8): 1811-1818.