

· 前沿与进展 ·

ADVANCES IN
PHARMACEUTICAL SCIENCES

小分子靶向 c-Fms 抑制剂的研究进展

王凯成, 张方青, 杨晓骏, 张惠斌, 周金培*

(中国药科大学药物化学教研室, 江苏 南京 210009)

[摘要] 巨噬细胞集落刺激因子受体 (c-Fms) 是原癌基因 *fms* 编码的产物, 为 III 型酪氨酸激酶。c-Fms 及其配体 CSF-1 在肿瘤相关巨噬细胞的增殖、生长、分化过程中起着重要作用。c-Fms 在多种恶性肿瘤和炎症疾病中异常表达, CSF-1/c-Fms 轴可能成为治疗恶性肿瘤的有效途径。许多以 c-Fms 为靶标的小分子抑制剂正在研究与临床开发中。简介 c-Fms 的结构特征和作用机制, 对小分子靶向 c-Fms 抑制剂的研究进展进行综述, 以期对相关研究提供参考。

[关键词] c-Fms 抑制剂; 抗肿瘤; 巨噬细胞集落刺激因子; 肿瘤相关巨噬细胞

[中图分类号] R914.2; R979.1 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1001-5094 (2018) 07-0517-10

Progress in Small-Molecular Inhibitors Targeting c-Fms

WANG Kaicheng, ZHANG Fangqing, YANG Xiaojun, ZHANG Huibin, ZHOU Jinpei

(Department of Medicinal Chemistry, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

[Abstract] Macrophage colony stimulating factor receptor (c-Fms), the product encoded by proto-oncogene *fms*, is a type III receptor tyrosine kinase. c-Fms and its ligand CSF-1 play important roles in the proliferation, growth and differentiation of tumor-associated macrophages. c-Fms is abnormally expressed in a variety of malignant and inflammatory diseases. The CSF-1/c-Fms axis might be an effective approach to the treatment of malignant tumors. Many small molecular inhibitors targeting c-Fms are under research and clinical development. This article describes the mechanisms of c-Fms and its roles in tumor immunotherapy, and reviews the latest research progress in small-molecule inhibitors of c-Fms, so as to provide reference for follow-up studies.

[Key words] c-Fms inhibitor; anti-cancer; macrophage colony stimulating factor; tumor-associated macrophage

肿瘤相关巨噬细胞 (tumor-associated macrophage, TAM) 具有肿瘤容留、免疫抑制特性, 这使其成为肿瘤免疫治疗的一个重点。TAM 由髓源抑制细胞或组织中的巨噬细胞发育而来, 在肿瘤生长、转移的各个步骤中起关键作用^[1]。巨噬细胞集落刺激因子受体 (c-Fms) 及其配体巨噬细胞集落刺激因子 (CSF-1) 参与调节 TAM 的功能^[2]。c-Fms 是原癌基因 *c-fms* 编码的受体型酪氨酸激酶, 也称为 M-CSFR、CSF-1R 或 CD115。c-Fms 是 CSF-1 和白细胞介素 -34 (IL-34) 的受体^[3], 与干细胞因子受体 (c-kit)、FMS 样酪氨酸激酶-3 (Flt-3) 以及血小板衍生生长因子受体 (PDGFR) 中的 PDGFR α 、PDGFR β 同属 III 型酪氨酸激酶 (receptor

tyrosine kinase, RTK) 家族。

1 c-Fms 结构与功能概况

c-Fms 分子由 972 个氨基酸组成, 包括 512 个氨基酸残基组成的胞外配体结合结构域 (含 5 个免疫球蛋白环)、含 25 个氨基酸残基的跨膜结构域和含 435 个氨基酸的胞内激酶域。其中胞内激酶域由胞内近膜结构域、腺嘌呤核苷三磷酸 (ATP) 结合结构域、激酶插入区、2 个酪氨酸激酶主结构域和 C 端尾组成。在胞内激酶域中, 酪氨酸磷酸化位点有 8 个, 分布在近膜区 (Tyr546 和 Tyr561)、激酶插入区 (Tyr699、Tyr708 和 Tyr723) 和远端激酶区 (Tyr809、Tyr923 和 Tyr969)。

在 c-Fms 中, 近膜结构域通过抑制激活环表现出活性构象来介导自身抑制作用。c-Fms 与配体结合, 形成受体-配体复合物, 继而被细胞内吞, 在溶酶体内被

接受日期: 2018-04-10

*通讯作者: 周金培, 教授;

研究方向: 抗肿瘤药物研发;

Tel: 025-83271302; E-mail: jpzhou668@163.com

降解, 这一过程称作 c-Fms 的内化 (internalization)。c-Fms 与配体结合后产生细胞信号, 诱导受体链的非共价二聚化, 通过磷酸化 Tyr561 (人体内为 Tyr561, 小鼠体内为 Tyr559) 来解除自身抑制。Tyr561 是首先被磷酸化的酪氨酸残基, 其磷酸化对于之后的酪氨酸磷酸化和 c-Fms 的完全激活至关重要。胞内激酶域中的磷酸化位点能够成为多种蛋白的停靠位点, 这些蛋白

包括磷脂酰肌醇 3-激酶 (PI3K) 的 p85 亚单位、蛋白磷酸酶 2 (PP2A)、生长因子受体结合蛋白-2 (Grb-2) 和泛素连接酶 (c-Cbl) 等^[4]。当 c-Fms 与配体结合时, 诱导受体链非共价二聚化, Tyr561 磷酸化, 解除抑制状态, 触发一系列胞内信号级联反应, 实现对单核巨噬细胞增殖、存活、内化、分化以及黏附与运动能力的调控 (见图 1)^[5]。

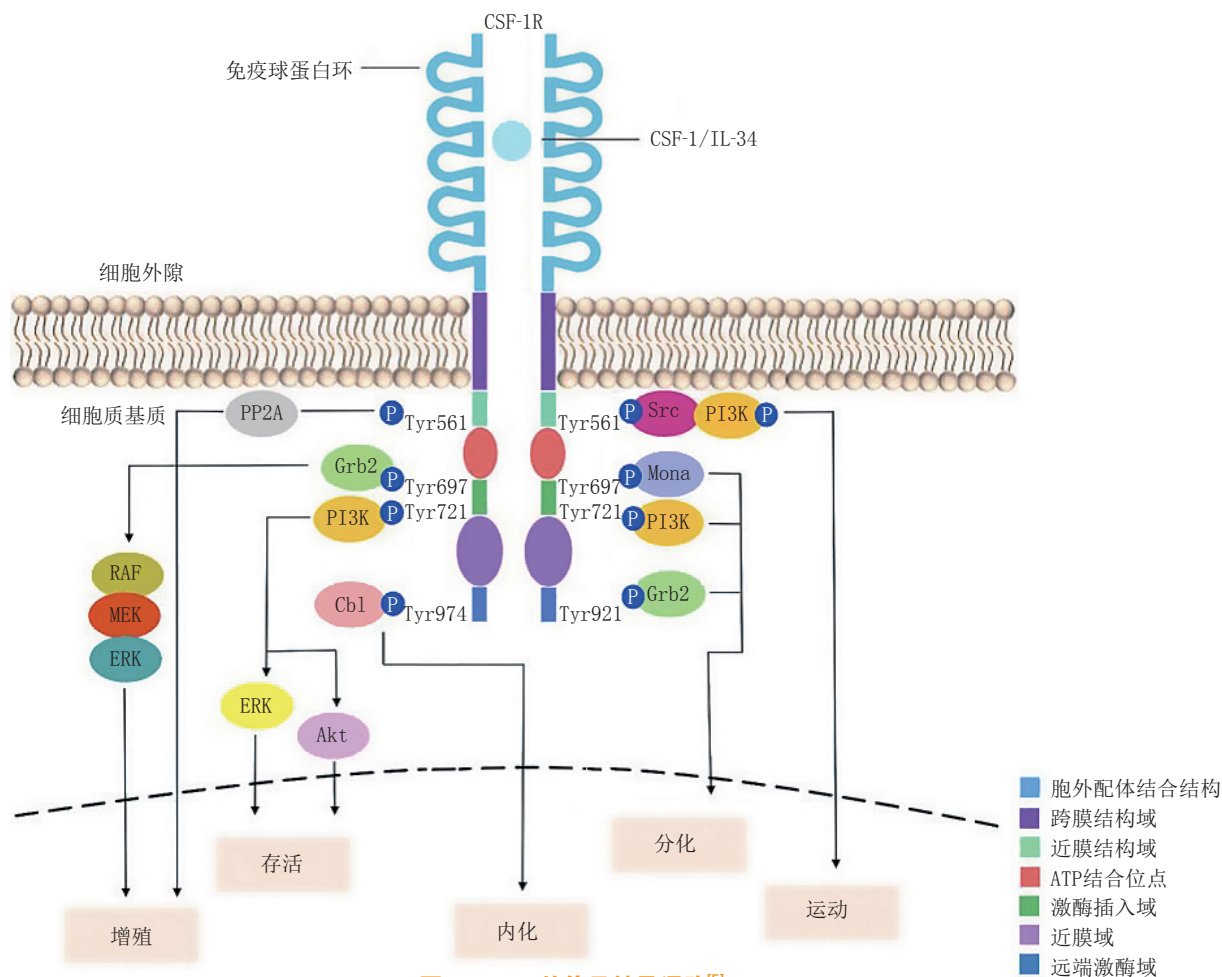


图1 c-Fms的信号转导通路^[5]

Figure 1 Signaling pathway of c-Fms

c-Fms 在乳腺癌、子宫颈癌、子宫内膜癌、卵巢癌、肺癌、前列腺癌、肾癌以及典型的霍奇金淋巴瘤 (CHL) 和间变性大细胞淋巴瘤 (ALCL) 等多种肿瘤中过度表达^[6]。此外, c-Fms 在某些炎症中如色素沉着绒毛结节性滑膜炎 (PVNS) 中也过度表达^[7]。c-Fms 的配体 CSF-1 主要的生理角色是巨噬细胞生长因子, 可促进髓细胞生长、增殖、分化成为巨噬细胞。在多个肿瘤如乳腺癌、卵巢癌、结肠癌和胰腺癌以及霍奇金淋巴瘤患者的血液中, CSF-1 的水平远高于正常人^[8]。这些发现预示着细胞因子 CSF-1 及其受体 c-Fms 的共表达可

能推动着肿瘤的生长和发展。c-Fms 可以以自分泌的方式 (通过肿瘤细胞与 CSF-1 共表达) 或以旁分泌的方式被激活。在 Balb/c 小鼠 (对致癌因子敏感) 体内, 具有分泌 CSF-1 能力的成纤维细胞和上皮细胞中 c-Fms 呈高表达, 最终导致肿瘤形成^[9]。CSF-1 和 c-Fms 高表达水平还与肿瘤细胞侵袭性以及癌症晚期患者的不良预后呈正相关^[10]。c-Fms 能够激活多种信号转导途径, 但并非所有途径都对癌细胞有直接的影响。研究发现, c-Fms 依赖性巨噬细胞在肿瘤血管生成中起到重要作用。在 c-Fms 敲除的小鼠中, 肿瘤血管生成受到了抑制,

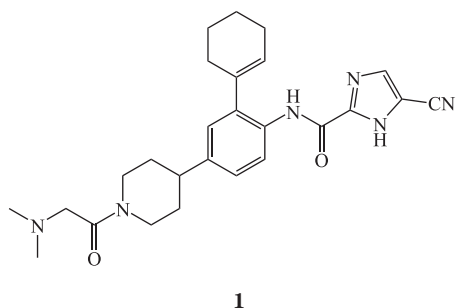
相反在过表达 c-Fms 小鼠体内, 肿瘤浸润巨噬细胞的数量和肿瘤血管密度显著增加^[11]。因此, c-Fms 有望成为治疗恶性肿瘤的有效靶点。

2 小分子靶向 c-Fms 抑制剂

截至目前, 已报道的小分子 c-Fms 抑制剂的作用机制均为占据 c-Fms 的 ATP 结合位点, 抑制 c-Fms 与 ATP 结合, 使 c-Fms 激酶的酪氨酸残基不能发生自磷酸化, 从而抑制 c-Fms 激活。根据化学结构可将 c-Fms 抑制剂分为以下 5 类。

2.1 芳基酰胺类

JNJ-28312141 (**1**) 是强生公司开发的一种口服有效的氨基咪唑甲酰胺衍生物^[12]。在转染表达 c-Fms 的 HEK 细胞中, JNJ-28312141 抑制 CSF-1 诱导的 c-Fms 磷酸化的半数抑制浓度 (IC_{50}) 为 $5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。JNJ-28312141 对 c-Fms 的 IC_{50} 为 $0.69 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 对髓源巨噬细胞 (BMDM) 的 IC_{50} 为 $2.6 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$; 激酶选择性试验结果显示, 其对其他 98 个激酶的 IC_{50} 高于 $1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 对于干细胞因子受体激酶 Kit、AXL (Anexelekto) 激酶、酪氨酸激酶 A (TRKA)、FMS 样酪氨酸激酶-3 (FLT-3) 和淋巴细胞特异性蛋白酪氨酸激酶 (LCK) 的 IC_{50} 分别为 5、12、15、30、88 $\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 均小于 $0.1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ^[13]。JNJ-28312141 还具有良好的药动学和药效学性质, 在人和小鼠肝微粒体的代谢稳定性试验中, 10 min 时化合物 **1** 在肝微粒体中剩余量分别为 87% 和 81%; 对小鼠模型进行静注给药时, 半衰期为 1.36 h, 表观分布容积为 $7.11 \text{ L} \cdot \text{kg}^{-1}$, 清除率为 $60.6 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$; 经口给药时, 半衰期为 2.33 h, 峰浓度 (C_{max}) 为 $296 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, 生物利用度达到 83%^[13]。在小鼠的类风湿性关节炎模型中, JNJ-28312141 可有效减轻炎症和骨侵蚀; JNJ-28312141 可能成为急性骨髓性白血病 (AML) 的候选药物, 并可改善 CSF-1 依赖性巨噬细胞促进的肿瘤生长及破骨细胞导致的骨骼损害^[13]。



Manthey 等^[14-15]运用 Thermofluor 技术筛选出化合物 **2**。其对 c-Fms 抑制活性较好 ($IC_{50}=1 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$), 但生物利用度较差 (12%), 且与钠离子和钙离子通道结合, 可能会导致心血管系统的不良反应。

共晶模型显示, 化合物 **2** 的酰胺氮上的氢原子可与自身咪唑环的 2 位氮原子形成氢键, 稳定自身构象 (见图 2)^[13]。

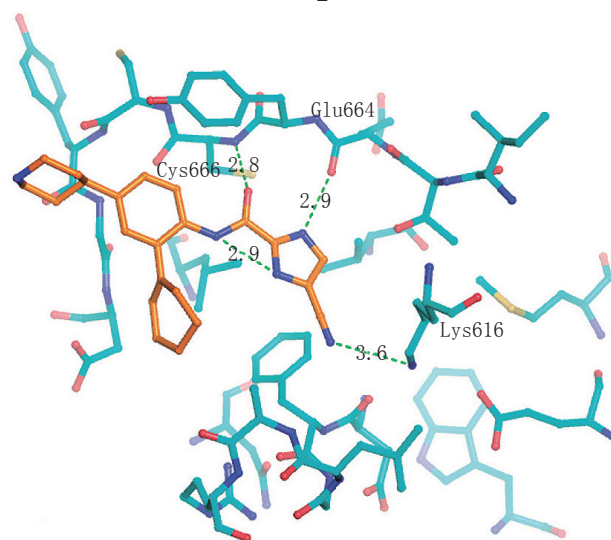
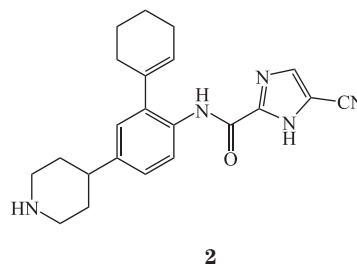


图2 化合物2与c-Fms的共晶模型 (PDB ID: 3KRJ)^[13]

Figure 2 Co-crystal structure of c-Fms and compound 2 (PDB ID: 3KRJ)

Patch 等^[16]根据电子等排原理对氨基咪唑甲酰胺类抑制剂进行改造得到氨基咪唑甲酰胺类 c-Fms 抑制剂 (**3**)。化合物 **3** 的 IC_{50} 为 $24 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 对 c-Fms 具有良好选择性, 使用 24 种激酶对化合物 **3** 进行选择评估试验显示, 其在 $1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时只对酪氨酸激酶 A (TRKA) 的抑制率超过 50%。在 BMDM 试验中, 化合物 **3** 可抑制 CSF-1 诱导的溴脱氧尿嘧啶核苷进入小鼠巨噬细胞, 其 IC_{50} 为 $110 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ^[12]。化合物 **3** 与 c-Fms 的相互作用发生在 ATP 口袋的铰链区。对接模型显示, 化合物 **3** 的酰胺基中的羰基可与 Cys666 骨架氮上的氢形成氢键; 含氰基的五元环占据了腺嘌呤口袋, 与 Phe797 形成堆积作用; 其他范德华作用由疏水口袋周

围的 Val596、Lys616、Thr668、Leu785 和 Arg801 介导; 对甲基哌啶位于糖口袋; 羟甲基-芳基环投射到溶剂区, 羟甲基与 Tyr665 的酚羟基形成微弱的氢键(见图3)^[17]。

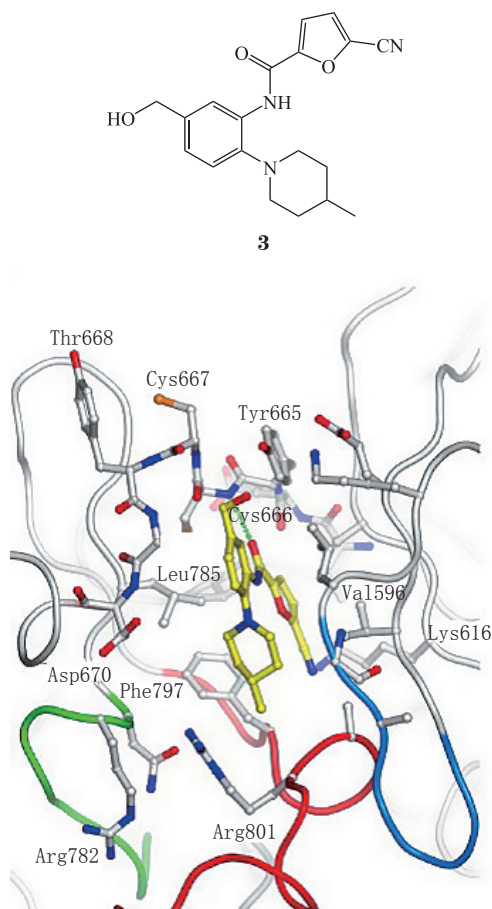


图3 化合物3与c-Fms的模拟对接模型^[17]

Figure 3 Ligand interaction diagram of compound 3 docked into c-Fms

2015年, Im等^[18]报道了一类4-芳基酰氨-3-甲基异噁唑类c-Fms抑制剂。首先通过抗人组织细胞性淋巴瘤细胞U937和人黑色素瘤细胞A375P增殖试验, 筛选得到具有选择性抑制c-Fms活性($IC_{50}=216\text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$)的化合物2-甲基-N-(5-甲基异噁唑-4-基)苯甲酰胺, 随后将其作为先导化合物进行结构优化得到化合物4; 化合物4可选择性抑制U937细胞($IC_{50}=16\text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$), 对A375P和正常细胞HS27基本无抑制作用; 对30种激酶的筛选试验显示, 化合物4仅对c-Fms具有良好抑制活性($IC_{50}=9.95\text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$), 对V600E、B-Raf、C-Raf、Lyn也有一定作用(IC_{50} 分别为 $5.96\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $668\text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $65.9\text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $44.8\text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$), 对其余激酶的抑制率则均低于10%^[18]。

对接模型显示, 化合物4通过4个氢键、2个阳离

子- π 作用, 以及离子相互作用与c-Fms的ATP位点结合(见图4)^[18]。5-甲基异噁唑的氮原子与Cys666的氨基氢原子形成氢键, Thr663的氧原子与-NH形成氢键, 表明异噁唑环是与受体结合的重要官能团。化合物4的中心苯环与Lys616的氨基存在阳离子- π 作用, 同时哌啶环中带正电荷的N原子与His776之间也存在阳离子- π 作用, 其余2个氢键位于酰胺键: N-H与Glu633的氧原子, 以及羰基氧原子与Asp776的骨架氢。此外, 哌啶环中质子化的N与带负电的Asp796之间存在强的离子作用, 可增强化合物4与c-Fms的结合。

2017年, Ramachandran等^[19]利用高通量筛选技术得到了具有芳基双酰胺结构的化合物5, 其对Kit和c-Fms均有一定抑制作用, 通过结构优化得到对c-Fms抑制活性和选择性均良好的化合物6(对c-Fms的 IC_{50} 为 $1\text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$)。化合物6在人体及大鼠体内的药物吸收、分布、代谢与排泄(ADME)实验结果显示, 其在人和大鼠的肝微粒中不稳定, 且在等渗磷酸盐缓冲液中的溶解度较低。大鼠体内的药物代谢动力学(PK)研究显示, 化合物6经静脉注射给药后清除率较高, 是肝血流速度的3倍($4.4\text{ L}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}$); 同时其口服生物利用度低(12%)。对化合物6进行体内代谢研究发现, 其在肝微粒体中发生哌啶环的去甲基化, 得到代谢产物化合物7(对c-Fms的 IC_{50} 为 $1.6\text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$); 化合物7保留了对c-Fms的选择性, 但细胞活性较差; 将化合物7的甲基哌啶环去掉得到化合物8(对c-Fms的 IC_{50} 为 $370\text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$), 活性较化合物7明显下降; 利用吡啶环替代化合物8中与甲基吡啶环相连的苯环, 得到化合物9; 将化合物9的甲基苯环替换为2-甲基吡啶得到化合物10。化合物9和10对c-Fms的抑制活性显著提高, IC_{50} 分别为5和 $9\text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。体外稳定性试验显示, 化合物10在肝微粒体中比化合物6稳定; 化合物10在小鼠体内的PK研究显示, 与化合物6相比, 全身清除率显著降低(为小鼠肝血流量的50%), 口服生物利用度增加(64%)。

2.2 喹啉和喹诺酮类

Scott等^[20]报道了喹啉类c-Fms抑制剂(11, AZ683), 其具有良好的体内PK性质, 对c-Fms显示出高选择性($IC_{50}=16\text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$)。在对84种激酶的筛选试验中, 当化合物11的浓度为 $1\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 其对c-Fms和ARK5的抑制率分别为96%和51%, 而对其他82种激酶的抑制率均小于24%。

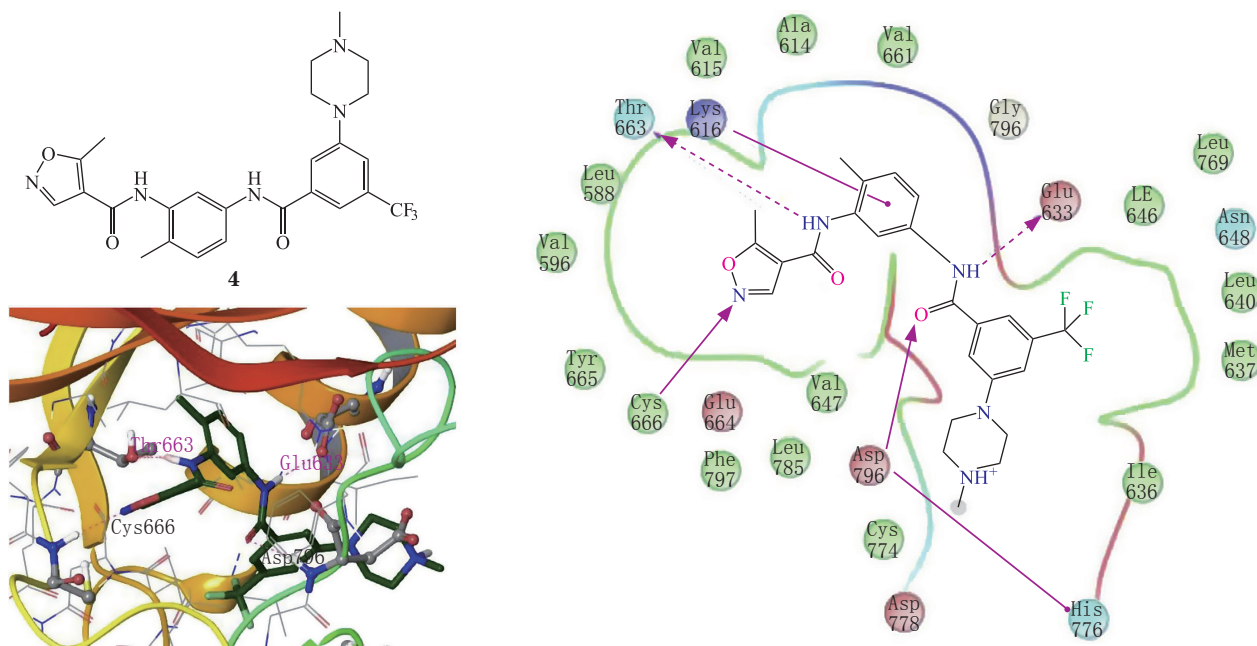
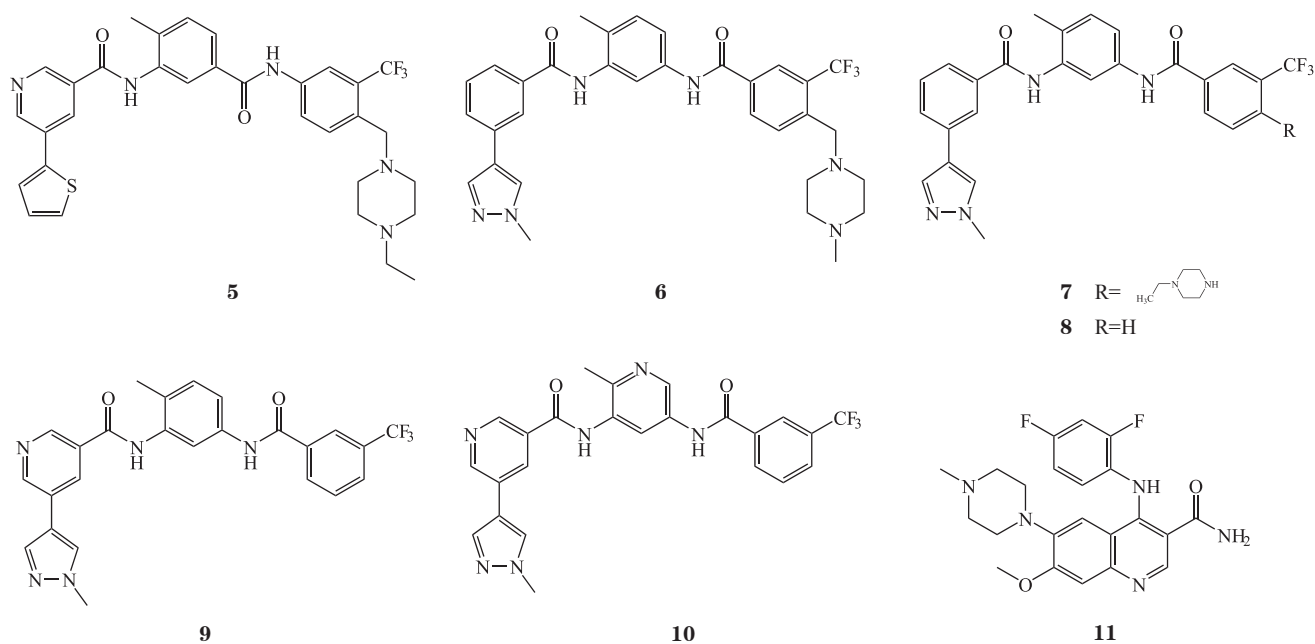
图4 化合物4与c-Fms的模拟对接模型^[18]

Figure 4 Ligand interaction diagram of compound 4 docked into c-Fms



Wall 等^[21]报道了3,4,6-三取代的2-喹啉酮化合物 **12** (对 c-Fms 的 IC_{50} 为 $140 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 和 **13**。对接模型显示, 化合物 **12** 的含氯芳环结合在腺嘌呤口袋上, 喹啉酮环的酰胺氧和氮分别与铰链区骨架上的 Cys666 和 Glu664 残基形成氢键 (见图 5)^[17]; 利用电子等排原理, 用2-甲基咪唑取代化合物 **12** 的异噁唑环, 氟基替代氯原子, 并在4-苯基上引入乙基得到了活性和选择性更高的化合物 **13** (对 c-Fms 的 IC_{50} 为 $2.5 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$);

在大鼠体内试验中, 化合物 **13** 的 PK 曲线显示该化合物具有良好的口服生物利用度 (56%)^[21]。

Ki20227 (**14**) 是由日本 Kirin Brewery 公司研发的喹啉类 c-Fms 抑制剂, Ki20227 能有效抑制 c-Fms 的磷酸化 ($IC_{50}=2 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$)^[22]。Ki20227 可通过抑制 CSF-1 诱导的破骨细胞体内积聚, 抑制溶骨性骨质破坏; Ki20227 在体外和体内均可抑制破骨细胞分化, 从而抑制转移性肿瘤诱导的骨溶解; 在骨转移模型中,

Ki20227 可抑制溶骨性骨质破坏和乳腺癌的骨转移, 同时 Ki20227 经口给药可抑制炎症细胞浸润和骨质破坏^[23]。在体外, Ki20227 可抑制 CSF-1- 依赖性脂多糖 (LPS) 诱导的 BMDM 细胞中肿瘤坏死因子 (TNF) 的产生^[24]。

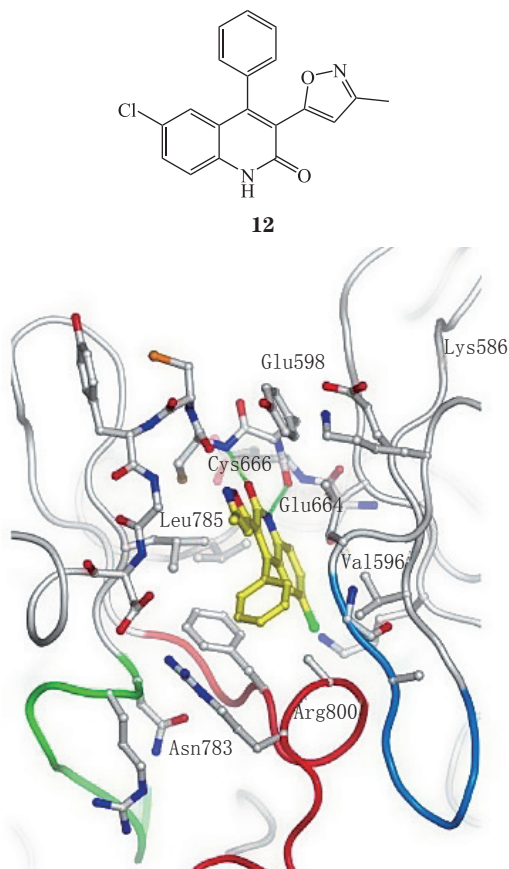


图5 化合物12与c-Fms的模拟对接模型^[17]

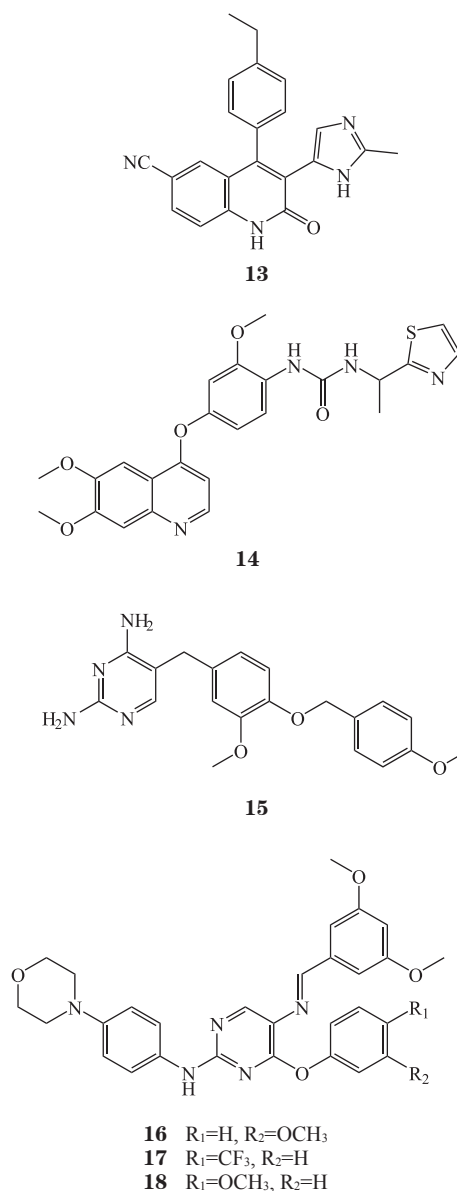
Figure 5 Ligand interaction diagram of compound 12 docked into c-Fms

2.3 芳基嘧啶类

GW2580 (15) 是葛兰素史克公司研发的芳基嘧啶类口服 c-Fms 抑制剂 ($IC_{50}=30 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$)^[25]。GW2580 可抑制巨噬细胞系和肿瘤细胞中的 CSF-1 信号通路, 其浓度为 $1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时能够完全抑制 CSF-1 诱导的小鼠髓性白血病淋巴细胞 M-NFS-60 骨髓细胞和人单核细胞的生长。GW2580 具有选择性强、抑制活性高、生物利用度较好等特点, 因此其常被用作阐明 c-Fms 激酶作用途径与机制的探针; 此外, 其还具有在体外抑制骨钙流失、骨质侵蚀、骨质增生、关节空隙缩小和体内抑制 CSF-1 依赖性肿瘤生长的能力^[25]。研究显示, GW2580 可减轻胶原诱导性关节炎及胶原抗体诱导性关节炎, 并与伊马替尼具有同等疗效^[26]。使用 GW2580 抑制 c-Fms

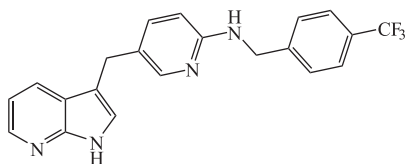
信号传导来测定其对 M2 型巨噬细胞的功能的影响实验结果显示, 给药 1 周后, 心脏精氨酸酶-1 和 CD206 (指示 M2 型巨噬细胞活性) 的表达水平降低, 心脏中 M2 型巨噬细胞的数量减少^[27]。

2017 年 Farag 等^[28] 报道了一类芳基嘧啶类 c-Fms 抑制剂 (16~18), 其对 c-Fms 抑制活性良好 (IC_{50} 分别为 8.6、14 和 $4.6 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$)。激酶选择性实验显示化合物 18 仅对 c-Fms 有活性, 对 KDR、P38a、Tie2 等其他激酶无活性; 细胞抗炎活性实验显示, 在 RAW 264.7 巨噬细胞中, 化合物 18 可以抑制脂多糖 (LPS) 诱导的一氧化氮 (NO) 和前列腺素 E2 (PGE2) 的产生; 在浓度为 $12 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 其可抑制 LPS 诱导的炎症因子 TNF- α 和 IL-6 的产生^[28]。



2.4 吡咯并吡啶类

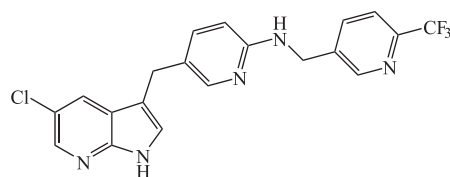
Zhang 等^[29]报道的 PLX-647 (**19**) 是一种吡咯并吡啶类的 c-Fms 和 Kit 抑制剂。PLX-647 对 c-Fms 和 Kit 的 IC₅₀ 分别为 28 和 16 nmol·L⁻¹。在对 400 种激酶的选择性试验中, PLX-647 在 1 μmol·L⁻¹ 浓度下, 对除 c-Fms 和 Kit 之外的其他激酶的抑制率均小于 50%; 在体外试验中, PLX-647 可以抑制 c-Fms 依赖的 BCR-c-Fms 细胞的增殖 (IC₅₀=92 nmol·L⁻¹)^[29]。在大鼠中进行的 PLX-647 的体内 PK 研究显示, 以 2 mg·kg⁻¹ 静脉给药时, PLX-647 的系统清除率为 11.7 mL·min⁻¹·kg⁻¹, 分布容积为 2.14 L·kg⁻¹; 以 10 和 40 mg·kg⁻¹ 剂量经口给药时, 生物利用度为 45%~81%; PLX647 在急性肾炎、胶原诱导性关节炎、肿瘤诱导的骨痛和骨质溶解模型中均具有良好活性^[29]。



19

PLX-3397 (**20**) 又名 pexidartinib, 是 Plexxikon 公司 (现已被第一三共公司收购) 开发的口服吡咯并吡啶类多靶点 c-Fms、Kit 和 Flt3 受体酪氨酸激酶抑制剂, 其 IC₅₀ 分别为 20、10 和 160 nmol·L⁻¹^[30]。单独用药时, PLX-3397 在肺癌小鼠中可降低肿瘤负荷, 并降低 TAM 的密度和浸润性^[31]。PLX3397 可与自抑制状态的 c-Fms 结合, 并与近膜区直接接触, 关键氢键作用见图 6 (红色虚线)^[32]。除了吡啶和近膜区 Trp550 之间的 π-π 堆积作用, 吡啶中的极性氮也参与水介导的氢键网络, 有助分子在 c-Fms 自抑制状态下在近膜区的锚定。在荷有 GL261 肿瘤的 C57 小鼠体内, PLX-3397 能够抑制恶性胶质瘤细胞侵袭^[33]。在关节炎小鼠体内, PLX-3397 通过减少小鼠尾巴和爪子中腐蚀性骨损伤和循环巨噬细胞炎性蛋白 1α (MIP-1α) 的水平, 自身炎症疾病得到缓解^[34]。在荷有 B16F10 黑色素瘤的小鼠中, PLX-3397 (45 mg·kg⁻¹, 经口给药) 能够增强 CD8 介导的黑色素瘤免疫疗法的治疗效果^[35]。Denardo 等^[30]发现, 在 M-NFS-60、Bac1.2F5 以及 M-07e 细胞中, PLX-3397 能够抑制 CSF-1 依赖性增殖, 其 IC₅₀ 分别为 0.44、0.22 和 0.1 μmol·L⁻¹; 在乳腺癌 MMTV-PyMT 小鼠中 PLX-3397 与紫杉醇联合用药时, 可使乳腺肿瘤内

CD31⁺ 血管密度显著减少, 减缓原发肿瘤的生长和转移, 最终提高乳腺癌小鼠的存活率。Kim 等^[36]发现, PLX-3397 可降低由基因敲除导致的小鼠胃肠道基质瘤 (GIST) 的质量, 也可降低人类 GIST 移植瘤的质量。目前, PLX-3397 对难治性急性白血病、多发性神经纤维瘤、Kit 突变型黑色素瘤等肿瘤已开展 I 期、II 期临床试验; 对腱鞘滑膜性巨细胞瘤 (TGCT) 开展 III 期临床试验^[37]。2017 年 10 月, 第一三共公司宣布 PLX-3397 针对 TGCT 的 III 期安慰剂对照临床试验 (NCT02371369) 达到终点, 该临床研究通过肿瘤体积的减小量来评估 TGCT 患者的抗肿瘤应答能力。对于 TGCT 患者而言, 传统的手术切除治疗可能导致机体功能受限恶化, 增加危重并发症的发生概率, 利用肿瘤免疫治疗可在一定程度上规避这些风险。基于 PLX-3397 针对 TGCT 的收益/风险的综合评估正在进行之中, 该评估结果将为下一步的研究工作提供指导依据。



20

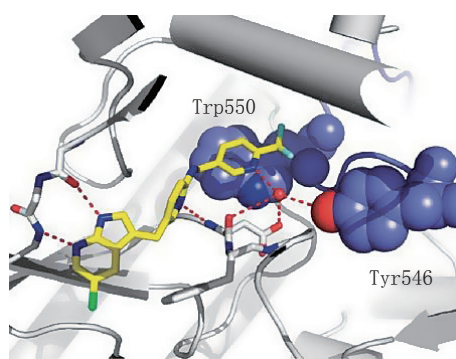
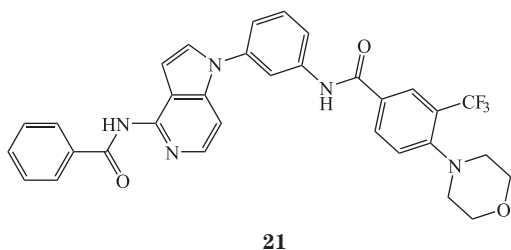


图6 PLX-3397与c-Fms的关键氢键作用^[32]

Figure 6 Chemical structure of PLX3397 and its key hydrogen bonds with c-Fms

EL-Gamal 等^[38]报道了特异性 c-Fms 抑制剂 (**21**), 其是一个具有吡咯并 [3, 2-c] 吡啶骨架的新型双酰胺类化合物: 在 1 mmol·L⁻¹ 单剂量浓度下测试化合物 **21** 对 47 种激酶的选择性结果显示, 化合物 **21** 对 c-Fms 和 KDR 激酶的抑制率分别为 90% 和 71%, 对其他所测试的激酶抑制率较低; 进一步测试显示, 化合物 **21** 对 c-Fms 和 KDR 的 IC₅₀ 分别为 96 和 1 058 nmol·L⁻¹, 即化合物 **21** 对 c-Fms 的选择性是 KDR 的 11 倍。



化合物 **21** 对 7 种卵巢癌、2 种前列腺癌和 6 种乳腺癌细胞系的抗增殖实验显示, 在 $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的单剂量浓度下, 化合物 **21** 对 SK-OV-3 卵巢癌细胞系和 MDA-MB-468 乳腺癌细胞系的抑制率接近 100%, 对 IGROV1 卵巢癌细胞系和 T-47D 乳腺癌细胞系的抑制率大于 90%; 此外, 其对所测试的 3 种癌症类型中的 8 个细胞系的抑制率均大于 73%^[38]。化合物 **21** 对 5 种卵巢癌、2 种前列腺癌和 3 种乳腺癌细胞系的 IC_{50} 在 $100 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 以下; 其对 OVCAR-3 卵巢癌细胞系和 DU-145 前列腺癌细胞系的总生长抑制浓度分别为 45 和 $98 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 同时对正常细胞 HS-27 的毒性较小^[38]。

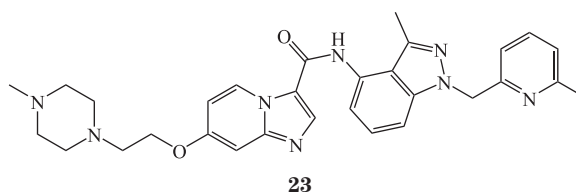
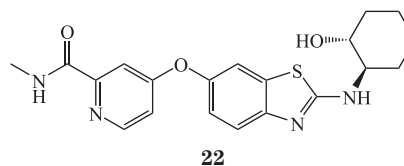
2.5 其他类

BLZ945 (**22**) 是由诺华公司研发的可口服的高效、具有选择性作用的芳基醚类 c-Fms 抑制剂, 对 c-Fms 的 IC_{50} 为 $1 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。Pyontek 等^[39]发现, BLZ-945 在体外可特异性抑制骨髓源性巨噬细胞的 CSF-1 依赖性增殖, 并抑制 c-Fms 的磷酸化; 其还可阻止巨噬细胞与神经胶质瘤细胞之间相互作用, 抑制肿瘤扩散和肿瘤生长。Strachan 等^[40]发现 BLZ-945 可增加荷有胶质母细胞瘤小鼠的存活率, 并预防乳腺和宫颈病毒驱动的癌变。目前, 作为单一疗法或与 PDR-1 (抗 PD-1 抗体) 组合用药治疗胰腺癌、三阴乳腺癌和复发性胶质母细胞瘤等几类晚期实体瘤正处于临床 I/II 期评估阶段。

ARRY-382 (**23**) 是由 ARRAY 生物制药公司研发的特异性、选择性 c-Fms 小分子抑制剂, 对 c-Fms 自磷酸化具有抑制作用 ($\text{IC}_{50}=9 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$): 在细胞实验中, ARRY-382 对破骨细胞分化和骨吸收均表现出有效的抑制作用 (IC_{50} 分别为 4 和 $58 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$); 在使用 HEK-293 细胞的小鼠肿瘤模型中, ARRY-382 能够抑制 c-Fms ($\text{ED}_{50}=3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$); 目前 ARRY-382 与抗 PD-1 抗体帕姆单抗联合用药, 在晚期实体瘤或肿瘤转移患者中正开展 I/II 期临床试验^[41]。

2016 年, Smith 等^[42]报道的 DCC-3014 (结构未公开) 是 Decipheras 公司研发的高选择性 c-Fms 抑制剂,

其对 c-Fms 的 IC_{50} 为 $5 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$; DCC-3014 对 c-Fms 的选择性是 FLT3、KIT、PDGFR α 和 PDGFR β 的 100 倍以上^[43]。DCC-3014 可抑制 THP-1 单核细胞 ($\text{IC}_{50}=11 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$), MNFS-60 单核细胞 ($\text{IC}_{50}=4 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 和人的破骨细胞 ($\text{IC}_{50}=9 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$), 在小鼠模型中可持续抑制 c-Fms 和肿瘤浸润, 并与抗 PD-1 抗体具有协同作用。目前正在开展针对实体瘤的 I 期临床试验^[43]。



在已上市的药物中, 伊马替尼和舒尼替尼均对 c-Fms 显示出良好的抑制活性。伊马替尼临床用于治疗急变期、加速期慢性髓性白血病 (CML) 或是 α -干扰素治疗失败后的慢性期 CML 患者; 细胞试验中, 伊马替尼可抑制 c-Fms ($\text{IC}_{50}=1.4 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)^[44]。舒尼替尼是一种吡啶酮类似物, 其主要靶标是血管内皮细胞生长因子受体 2 (VEGFR-2) 和 PDGFR β , 临床用于治疗恶性肾细胞癌、伊马替尼耐受的胃肠间质瘤、胰腺转移的恶性肾细胞瘤。细胞试验研究显示, 舒尼替尼对 c-Fms 具有抑制作用 ($\text{IC}_{50}=61 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$)^[45]。

3 结语与展望

综上所述, c-Fms 介导的细胞信号转导系统广泛参与了单核巨噬细胞系的生长、增殖和分化, 与肿瘤免疫息息相关。c-Fms 在乳腺癌、宫颈癌、子宫内膜癌、卵巢癌、肺癌、前列腺癌等多种肿瘤中过度表达, 在炎症中也发现了 c-Fms 的异常高表达, 因此靶向 c-Fms 的小分子抑制剂作为治疗肿瘤、免疫相关疾病的潜在药物具有广阔的前景, 研发高选择性小分子 c-Fms 抑制剂具有重大意义。近年来, 随着肿瘤免疫治疗技术的不断发展, 以及对 c-Fms 抑制剂研究的不断深入, 多个活性良好的 c-Fms 抑制剂陆续被公开, 其中诺华公司的 BLZ-945、第一三共公司的 PLX-3397、ARRAY 生物制药公司的 ARRY-382 已进入临床研究阶段。虽然目前还没有

以c-Fms为靶点的药物上市,但随着研究的进一步深入,未来将有小分子c-Fms抑制剂作为药物应用于恶性肿瘤和免疫疾病的治疗。

【参考文献】

- [1] Chanmee T, Ontong P, Konno K, *et al.* Tumor-associated macrophages as major players in the tumor microenvironment[J]. *Cancers*, 2014, 6(3): 1670-1690.
- [2] Zhang Q W, Liu L, Gong C Y, *et al.* Prognostic significance of tumor-associated macrophages in solid tumor: a meta-analysis of the literature[J]. *PLoS One*, 2012, 7(12): e50946.
- [3] Lin H, Lee E, Hestir K, *et al.* Discovery of a cytokine and its receptor by functional screening of the extracellular proteome[J]. *Science*, 2008, 320(5877): 807-811.
- [4] Chitu V, Stanley E R. Colony-stimulating factor-1 in immunity and inflammation[J]. *Curr Opin Immunol*, 2006, 18(1): 39-48.
- [5] Achkova D, Maher J. Role of the colony-stimulating factor (CSF)/CSF-1 receptor axis in cancer[J]. *Biochem Soc Trans*, 2016, 44(2): 333-341.
- [6] Lamprecht B, Walter K, Kreher S, *et al.* Derepression of an endogenous long terminal repeat activates the CSF1R proto-oncogene in human lymphoma[J]. *Nat Med*, 2010, 16(5): 571-579.
- [7] Sherr C J, Rettenmier C W, Sacca R, *et al.* The c-fms proto-oncogene product is related to the receptor for the mononuclear phagocyte growth factor, CSF1[J]. *Cell*, 1985, 41(3): 665-676.
- [8] Kowalska M, Tajer J, Chechlinska M, *et al.* Discriminant analysis involving serum cytokine levels and prediction of the response to therapy of patients with hodgkin lymphoma[J]. *Tumour Biol*, 2012, 33(5): 1733-1738.
- [9] Rohrschneider L R, Rothwell V M, Nicola N A. Transformation of murine fibroblasts by a retrovirus encoding the murine c-fms proto-oncogene[J]. *Oncogene*, 1989, 4(8): 1015-1022.
- [10] Kascinski B. Expression of CSF-1 and its receptor CSF-1R in non-hematopoietic neoplasms[J]. *Cancer Treat Res*, 2002, 107: 285-292.
- [11] Wang L, Zheng G G, Ma C H, *et al.* A special linker between macrophage and hematopoietic malignant cells: membrane form of macrophage colony-stimulating factor[J]. *Cancer Res*, 2008, 68(14): 5639-5647.
- [12] Illig C R, Chen J, Wall M J, *et al.* Discovery of novel FMS kinase inhibitors as anti-inflammatory agents[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2008, 18(5): 1642-1648.
- [13] Illig C R, Manthey C L, Wall M J, *et al.* Optimization of a potent class of arylamide colony-stimulating factor-1 receptor inhibitors leading to anti-inflammatory clinical candidate 4-cyano-N-[2-(1-cyclohexen-1-yl)-4-[1-[(dimethylamino)acetyl]-4-piperidinyl]phenyl]-1H-imidazole-2-carboxamide(JNJ-28312141)[J]. *J Med Chem*, 2011, 54(22): 7860-7883.
- [14] Manthey C L, Johnson D L, Illig C R, *et al.* JNJ-28312141, a novel orally active colony-stimulating factor-1 receptor/FMS-related receptor tyrosine kinase-3 receptor tyrosine kinase inhibitor with potential utility in solid tumors, bone metastases, and acute myeloid leukemia[J]. *Mol Cancer Ther*, 2009, 8(11): 3151-3161.
- [15] Wilson K J, Illig C R, Chen J, *et al.* Reducing ion channel activity in a series of 4-heterocyclic arylamide FMS inhibitors[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2010, 20(13): 3925-3929.
- [16] Patch R J, Brandt B M, Asgari D, *et al.* Potent 2'-aminoanilide inhibitors of c-Fms as potential anti-inflammatory agents[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2007, 17(22): 6070-6074.
- [17] Schubert C, Schalk-hihi C, Struble G T, *et al.* Crystal structure of the tyrosine kinase domain of colony-stimulating factor-1 receptor (c-Fms) in complex with two inhibitors[J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(6): 4094-4101.
- [18] Im D, Jung K, Yang S, *et al.* Discovery of 4-arylamido-3-methyl isoxazole derivatives as novel FMS kinase inhibitors[J]. *Eur J Med Chem*, 2015, 102: 600-610.
- [19] Ramachandran S A, Jadhavar P S, Miglani S K, *et al.* Design, synthesis and optimization of bis-amide derivatives as CSF1R inhibitors[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2017, 27(10): 2153-2160.
- [20] Scott D A, Balliet C L, Cook D J, *et al.* Identification of 3-amido-4-anilinoquinolines as potent and selective inhibitors of CSF-1R kinase[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2009, 19(3): 697-700.
- [21] Wall M J, Chen J, Meegalla S, *et al.* Synthesis and evaluation of novel 3,4,6-substituted 2-quinolones as FMS kinase inhibitors[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2008, 18(6): 2097-2102.
- [22] Ohno H, Uemura Y, Murooka H, *et al.* The orally-active and selective c-Fms tyrosine kinase inhibitor ki20227 inhibits disease progression in a collagen-induced arthritis mouse model[J]. *Cent Eur J Immunol*, 2008, 38(1): 283-291.
- [23] Ohno H, Kubo K, Murooka H, *et al.* A c-fms tyrosine kinase inhibitor, ki20227, suppresses osteoclast differentiation and osteolytic bone

- destruction in a bone metastasis model[J]. *Mol Cancer Ther*, 2006, 5(11): 2634-2643.
- [24] Kubo K, Ohno H, Isoe T, *et al*. Quinoline derivatives and quinazoline derivatives inhibiting autophosphorylation of macrophage colony stimulating factor receptor: US7598258[P]. 2009-10-06.
- [25] Conway J G, McDonald B, Parham J, *et al*. Inhibition of colony-stimulating-factor-1 signaling *in vivo* with the orally bioavailable c-FMS kinase inhibitor GW2580[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(44): 16078-16083.
- [26] Paniagua R T, Chang A, Mariano M M, *et al*. c-Fms-mediated differentiation and priming of monocyte lineage cells play a central role in autoimmune arthritis[J]. *Arthritis Res Ther*, 2010, 12(1): R32.
- [27] Leblond A L, Klinkert K, Martin K, *et al*. Systemic and cardiac depletion of M2 Macrophage through CSF-1R signaling inhibition alters cardiac function post myocardial infarction[J]. *PLoS One*, 2015, 10(9): e0137515.
- [28] Farag A K, Elkamhawy A, Londhe A M, *et al*. Novel LCK/FMS inhibitors based on phenoxy pyrimidine scaffold as potential treatment for inflammatory disorders[J]. *Eur J Med Chem*, 2017, 141: 657-675.
- [29] Zhang C, Ibrahim P N, Zhang J, *et al*. Design and pharmacology of a highly specific dual FMS and KIT kinase inhibitor[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110(14): 5689-5694.
- [30] Denardo D G, Brennan D J, Rexhepaj E, *et al*. Leukocyte complexity predicts breast cancer survival and functionally regulates response to chemotherapy[J]. *Cancer Discov*, 2011, 1(1): 54-67.
- [31] Cuccarese M F, Dubach J M, Pfirschke C, *et al*. Heterogeneity of macrophage infiltration and therapeutic response in lung carcinoma revealed by 3D organ imaging[J]. *Nat Commun*, 2017, 8: 14293.
- [32] Tap W D, Wainberg Z A, Anthony S P, *et al*. Structure-guided blockade of CSF1R kinase in tenosynovial giant-cell tumor[J]. *N Engl J Med*, 2015, 373(5): 428-437.
- [33] Coniglio S J, Eugenin E, Dobrenis K, *et al*. Microglial stimulation of glioblastoma invasion involves epidermal growth factor receptor (EGFR) and colony stimulating factor 1 receptor (CSF-1R) signaling[J]. *Mol Med*, 2012, 18(1): 519-527.
- [34] Chitu V, Nacu V, Charles J F, *et al*. PSTPIP2 deficiency in mice causes osteopenia and increased differentiation of multipotent myeloid precursors into osteoclasts[J]. *Blood*, 2012, 120(15): 3126-3135.
- [35] Sluijter M, Sluis T C V D, Velden P A V D, *et al*. Inhibition of CSF-1R supports T-cell mediated melanoma therapy[J]. *PLoS One*, 2014, 9(8): e104230.
- [36] Kim T S, Cavnar M J, Cohen N A, *et al*. Increased Kit inhibition enhances therapeutic efficacy in gastrointestinal stromal tumor[J]. *Clin Cancer Res*, 2014, 20(9): 2350-2362.
- [37] Butowski N, Colman H, De Groot J F, *et al*. Orally administered colony stimulating factor 1 receptor inhibitor PLX3397 in recurrent glioblastoma: an ivy foundation early phase clinical trials consortium phase II study[J]. *Neuro Oncol*, 2016, 18(4): 557-564.
- [38] EL-Gamal M I, Abdel-Maksoud M S, El-Din M M G, *et al*. Cell-based biological evaluation of a new bisamide fms kinase inhibitor possessing pyrrolo[3,2-c]pyridine scaffold[J]. *Arch Pharm*, 2014, 347(9): 635-641.
- [39] Pyonteck S M, Akkari L, Schuhmacher A J, *et al*. CSF-1R inhibition alters macrophage polarization and blocks glioma progression[J]. *Nat Med*, 2013, 19(10): 1264-1272.
- [40] Strachan D C, Brian R, Yoko O, *et al*. CSF1R inhibition delays cervical and mammary tumor growth in murine models by attenuating the turnover of tumor-associated macrophages and enhancing infiltration by CD8⁺T cells[J]. *Oncoimmunology*, 2013, 2(12): e26968.
- [41] Bendell J C, Tolcher A W, Jones S F, *et al*. Abstract A252: a phase 1 study of ARRY-382, an oral inhibitor of colony-stimulating factor-1 receptor (CSF1R), in patients with advanced or metastatic cancers[J]. *Mol Cancer Ther*, 2013, 12: A252-A252.
- [42] Smith B D, Leary C B, Lu W P, *et al*. Abstract 4889: the highly specific CSF1R inhibitor DCC-3014 exhibits immunomodulatory and anti-invasive activities in cancer models[J]. *Cancer Res*, 2016, 76: 4889-4889.
- [43] Smith B D, Kaufman M D, Leary C B, *et al*. Abstract A53: The specific FMS kinase inhibitor, DCC-3014, durably inhibits FMS kinase *in vivo* and blocks cancer bone invasiveness[J]. *Cancer Res*, 2015, 75: A53-A53.
- [44] Dewar A L, Cambareri A C, Zannettino A C, *et al*. Macrophage colony-stimulating factor receptor c-Fms is a novel target of imatinib[J]. *Blood*, 2005, 105(8): 3127-3132.
- [45] 杨胜乾, 王莉莉. 巨噬细胞集落刺激因子受体激酶及其抑制剂的研究进展[J]. *国际药学研究杂志*, 2010, 37(5): 340-345.