

## · 前沿与进展 ·

ADVANCES IN  
PHARMACEUTICAL SCIENCES

## 基质金属蛋白酶抑制剂类抗肿瘤药物临床研究进展

韩艳珍, 薛建鹏, 胡加亮\*, 徐寒梅\*\*

(中国药科大学多肽药物创制工程研究中心, 江苏 南京 211198)

**[摘要]** 基质金属蛋白酶是一类锌离子和钙离子依赖的蛋白水解酶, 能够降解细胞外基质和基膜, 在介导肿瘤血管新生、转移和侵袭等过程中发挥重要作用, 基质金属蛋白酶抑制剂已成为当前抗肿瘤新药研发的热点之一。总结基质金属蛋白酶抑制剂用于抗肿瘤治疗的临床研究进展, 为其进一步研究与应用提供参考。

**[关键词]** 基质金属蛋白酶; 基质金属蛋白酶抑制剂; 选择性; 抗肿瘤; 临床进展

**[中图分类号]** R979.1

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1001-5094 (2018) 02-0129-09

## Advances in Clinical Research of Matrix Metalloproteinase Inhibitors as Anticancer Agents

HAN Yanzhen, XUE Jianpeng, HU Jialiang, XU Hanmei

(Engineering Research Center of Peptide Drug Discovery, China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, China)

**[Abstract]** Matrix metalloproteinases (MMPs) are a group of zinc and calcium dependent proteolytic enzymes that degrade extracellular matrix and basement membrane. They play very important roles in the processes of tumor angiogenesis, metastasis and invasion. MMP inhibitors (MMPIs) have become the focus of anticancer agents R&D. This paper reviewed the progress in clinical development of MMPIs as anticancer agents, so as to provide references for their further investigation and application.

**[Key words]** matrix metalloproteinase; matrix metalloproteinase inhibitor; selectivity; anticancer; clinical development

据世界卫生组织 (WHO) 报道, 在世界范围内, 肿瘤是发病和死亡的主要原因, 2015 年导致 880 万人死亡, 预计今后 20 年新发病例数将增加约 70%, 从全球情况看, 近 1/6 的死亡由肿瘤造成。研究发现, 肿瘤转移是 90% 的肿瘤病人死亡的原因, 是肿瘤临床治疗中的世界性难题。鉴于此, 寻找和研发有效的具有抗肿瘤转移作用的药物将是降低肿瘤病死率的重要策略。肿瘤转移是一个多步骤的复杂过程, 基质金属蛋白酶

(matrix metalloproteinase, MMP) 在此过程中发挥着非常重要的作用, 是肿瘤侵袭转移过程中最重要的调控分子之一。若能以此为靶点, 研制出可抑制肿瘤转移的基质金属蛋白酶抑制剂 (MMP inhibitor, MMPI), 将具有巨大的社会意义和经济价值。本文结合近年来 MMPI 的相关报道, 对已进入临床试验的 MMPI 的特点及研究进展进行综述, 为后续 MMPI 的研究提供参考。

**接受日期:** 2017-12-09

**项目资助:** 中央高校基本科研项目 (No.2016ZPY009); 江苏省自然科学基金青年项目 (No.BK20160757)

**\* 通讯作者:** 胡加亮, 教授;

**研究方向:** 微生物与生化药学;

**Tel:** 025-86185437; **E-mail:** jialiang\_hu51@aliyun.com

**\*\* 通讯作者:** 徐寒梅, 教授, 中组部“万人计划”入选者、南京市领军人才;

**研究方向:** 多肽类药物研究与开发;

**Tel:** 025-86185437; **E-mail:** 13913925346@126.com

## 1 基质金属蛋白酶

MMP 是一类锌离子和钙离子依赖的蛋白水解酶, 可以催化细胞外基质的水解。MMP 和组织金属蛋白酶抑制剂 (tissue inhibitor of matrix metalloproteinase, TIMP) 一起调控细胞外基质的降解, 调控机制的不平衡会使细胞外基质过度降解, 导致一系列疾病如肺气肿、多发性硬化症、关节炎、牙周炎和肿瘤的侵袭转移等<sup>[1]</sup>。传统抗肿瘤药物的研究, 强调利用药物直接杀

死肿瘤细胞, 然而肿瘤的转移才是导致肿瘤患者死亡的主要原因。细胞外基质和基底膜的降解是肿瘤侵袭和转移的关键环节, MMP 是目前已知能降解细胞外基质的重要酶类。因此, MMP 是肿瘤治疗的新靶点, 开发能抑制 MMP 生成和活性的药物有助于抑制肿瘤的进程, 提高肿瘤治疗效果。许多 MMPI 的抗肿瘤临床研究正在进行中<sup>[2]</sup>。

MMP 是一类可以降解细胞外基质的酶, 需要锌离子和钙离子活化之后才能发挥其活性。1962 年 Gross 首次在蝌蚪尾巴退化过程发现这种酶, 人类现已发现 20 多种 MMP。基于 MMP 的底物特异性和结构特点, MMP 可分为 6 类: 胶原酶类、明胶酶类、基质降解酶类、间质溶解素类、膜型基质金属蛋白酶 (membrane type

MMP, MT-MMP) 和其他 MMP。信号肽区、前肽区、催化活性区、铰链区域和羧基末端区共同组成了 MMP 的基本结构 (见图 1)。信号肽位于蛋白酶的氨基末端, 新生成的肽通过信号肽序列的引导进入胞浆; 前肽结构域含有半胱氨酸开关, 该半胱氨酸可以和锌结合, 从而使 MMP 酶原不能被活化; 催化结构域在其活性中心有 3 个组氨酸与锌离子结合; 一个富含脯氨酸的铰链区域将催化活性区和羧基末端区连接在一起, 羧基末端区识别特异性的底物或配体, 以及与内源性抑制剂的结合, 有助于对亚细胞定位和诱导各种 MMP 的活化或抑制。除了这 5 种基本结构外, 哺乳动物的 MMP 的结构不断发生演变, 有的 MMP 还有其他特殊结构<sup>[3]</sup>。

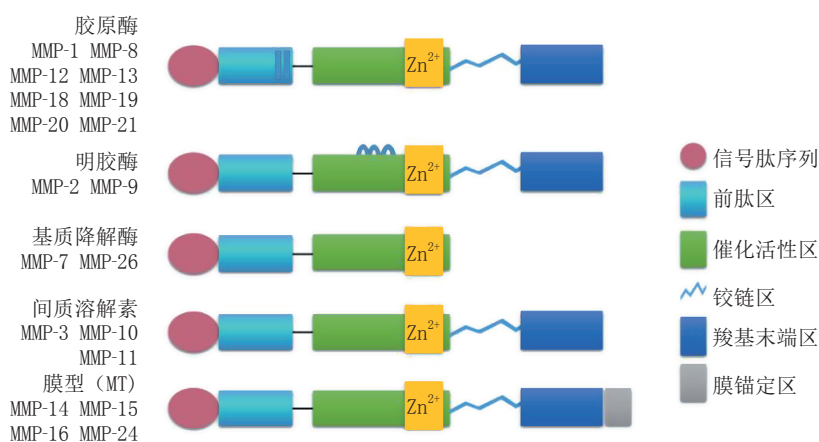


图 1 MMPs 家族及其结构域

Figure 1 MMPs family and their structural domains

## 2 基质金属蛋白酶抑制剂

自 20 世纪 90 年代以来, MMPI 的发展尤为迅速。至今为止, 科学家们设计并合成了大量的 MMPI, 其中部分已进入临床试验。通过对现有的 MMPI 进行总结, 根据来源可将 MMPI 分为 3 类: 1) 内源性抑制剂, 即体内存在的 MMP 抑制因子, 如人体中的 TIMP; 2) 人工合成或表达的抑制剂, 包括基于肽的 MMP 抑制剂、双磷酸盐类以及单抗等; 3) 从天然产物中分离得到的抑制剂, 如四环素类及其衍生物、苔藓抑素类、新伐司他 (neovastat) 及一些黄酮类化合物等。

### 2.1 内源性抑制剂

TIMP 作为内源性的特异的抑制剂, 对 MMP 有强效抑制作用, 但是 TIMP 半衰期短、易失活, 故其临床应用受到限制。另外, TIMP 除了可抑制过度表达的 MMP 外, 对发挥正常生理功能的 MMP 也有作用, 即

缺乏选择性。因此这类内源性 MMPI 要应用于临床, 就必须通过修饰和改造来消除其对正常功能的 MMP 的抑制作用。

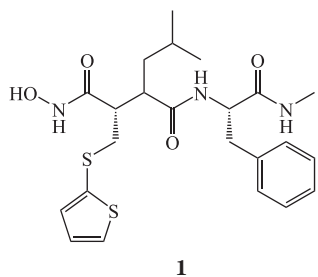
### 2.2 人工合成或表达的抑制剂

人工合成的 MMPI 具有造价低、合成方法相对简单、可大量生产且抑制肿瘤侵袭和转移效果显著等特点。近些年随着研究的深入, 人们开发了很多合成类 MMPI。

2.2.1 基于肽的基质金属蛋白酶抑制剂 基于肽的 MMPI 又可进一步分为拟肽类和非肽类 MMPI<sup>[4]</sup>。

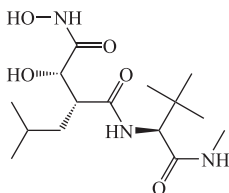
拟肽类 MMPI 是作用于 MMP 活性部位的伪肽类衍生物, 为底物类似物, 如巴马司他 (batimasta, BB-94, **1**), 其结构系模拟胶原酶。这类抑制剂可以螯合 MMP 的活性部位的锌离子, 从而抑制 MMP 的活性。最常见的锌离子结合基有异羟肟酸、羧酸、次磷酸及

硫二亚胺等, 其中异羟肟酸类的活性最好<sup>[5]</sup>。目前用于癌症治疗的拟肽类 MMPI, 除了属于异羟肟酸类的 3 种化合物进入临床试验外, 其他拟肽类 MMPI 目前仍在临床前研究阶段。

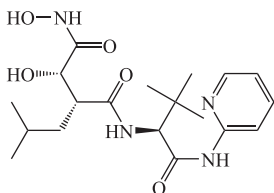


1

巴马司他、马马司他 (marimastat, BB-2516, **2**) 和索利司他 (solimastat, BB-3644, **3**) 是目前最为常见的异羟肟酸类 MMPI, 均为纤维胶原的小肽类似物, 通过螯合锌离子抑制 MMP 的活性。



2



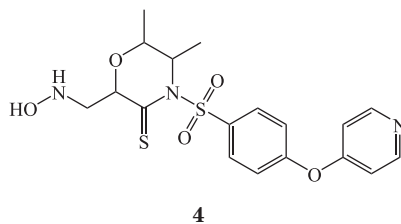
3

巴马司他是异羟肟酸类化合物, 对 MMP 无选择性, 对多种 MMP 均有抑制作用, 可抑制 MMP-1、MMP-2、MMP-3、MMP-8、MMP-9 和 MMP-14 的活性。巴马司他是首个进入临床试验的 MMPI, 是胶原酶类似物, 利用异羟肟酸基团与锌离子的结合, 使得 MMP 失活, 从而发挥其抑制效果。巴马司他可溶性差, 口服生物利用度和选择性低, 可致恶心、呕吐等不良反应, 其临床试验已终止<sup>[6]</sup>。最近有研究报道, 可利用纳米颗粒提高巴马司他的靶向性, 将其用于治疗腹主动脉瘤<sup>[7]</sup>。

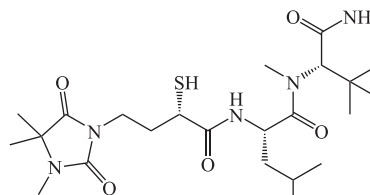
马马司他也是异羟肟酸类 MMPI, 可抑制 MMP-1、MMP-2、MMP-3、MMP-7 和 MMP-9。与巴马司他相比, 马马司他可溶性得到了改善, 是可口服的 MMPI。但同样由于其广谱性, 仍然会引起很多不良反应, 如 III 期临床研究显示使用该药的受试者出现了骨骼肌、关节疼痛和炎症反应等明显的不良反应<sup>[8-9]</sup>。最新研究显示, 马马司他能够消除非洲锯鳞蝰蛇毒引起的全身和局部毒性, 因此可用于蛇咬伤的辅助治疗<sup>[10]</sup>。

索利司他结构与巴马司他、马马司他类似, 是可口服的广谱 MMPI。然而, 有关索利司他的 I 期临床试验显示, 该药治疗实体瘤效果并不显著<sup>[11]</sup>。

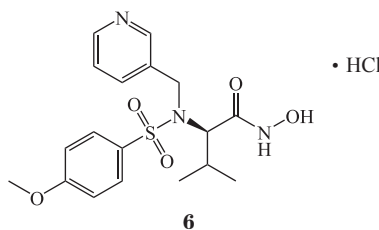
非肽类即通过模拟相关生物活性肽的结构所获得的化合物, 不具备肽的相关特性, 但其结构与肽类似, 可以模拟肽与相关酶的相互作用, 从而激活或阻止相关酶的某种生物功能。拟肽类 MMPI 存在可溶性差、特异性差等问题。目前, 研究人员基于 MMP 三维空间结构, 利用蛋白组学、计算化学和组合化学等技术, 设计并筛选出了大量抑制活性良好、选择性高的 MMPI 候选药物。进入临床研究阶段的用于肿瘤治疗的非肽类 MMPI 有普马司他 (prinomastat, AG 3340, **4**)、rebimastat (BMS-275291, **5**) 和 MMI-270 (CGS27023A, **6**)。



4



5



6

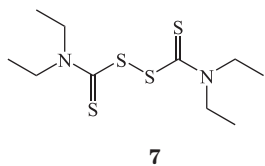
Prinomastat 是一种非肽类 MMPI, 是小分子的胶原类似物, 可抑制 MMP-2、MMP-3、MMP-7、MMP-9、MMP-13 和 MMP-14 的活性。肿瘤异种移植模型研究证实 prinomastat 抗肿瘤效果良好; I 期临床研究显示, prinomastat 可被机体迅速吸收, 给药后 1h 血药浓度达到峰值; III 期临床研究中, 应用 prinomastat 结合化疗治疗晚期非小细胞肺癌未能提高疗效<sup>[12]</sup>; 在晚期食管癌患者参加的 II 期临床研究中, 由于出现意外的血栓栓塞事件, 研究提前结束<sup>[13]</sup>。

Rebimastat 是含有硫醇锌结合基团的可口服的 MMPI, 可抑制 MMP-1、MMP-2、MMP-3、MMP-7、MMP-9 和 MMP-14 的活性。临床前研究显示, rebimastat 能够抑制啮齿类动物肿瘤模型的生长, 在 I 期临床研究中, rebimastat 未表现出剂量相关的毒性<sup>[14]</sup>。

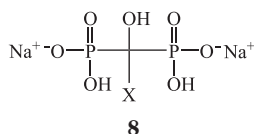
Rebimastat 与化疗药物联合治疗, 可提高晚期非小细胞肺癌患者的生存率<sup>[15-16]</sup>。

MMI-270 是一种广谱的非肽类的异羟肟酸衍生物类 MMPI, 可抑制 MMP-1、MMP-2 和 MMP-3。临床前研究显示, MMI-270 不能抑制肿瘤细胞增殖, 但能阻止肿瘤细胞的侵袭和各种肿瘤模型的血管生成<sup>[17]</sup>。在 I 期临床研究中, MMI-270 在稳定病情方面效果不佳<sup>[18]</sup>, 在高剂量下可诱发不良反应, 如全身性的斑丘疹和肌肉骨骼方面的不良反应。MMI-270 作为一种靶酶选择性药物, 可以用于 MMP 的 PET 成像, 体外试验表明 <sup>18</sup>F-MMI-270 对 MMP-2、MMP-8、MMP-9 和 MMP-13 表达阳性的肿瘤均具有较高诊断效能。

双硫仑 (disulfiram, DSF, **7**) 是一种可口服的氨甲酰衍生物即磺胺类化合物, 一般用于酒精中毒的医治, 有一定的抗肿瘤活性。有研究表明 DSF 可以和 Cu 结合, 促进多种肿瘤如胶质瘤、肺癌、黑色素瘤细胞的凋亡。DSF 具有很强的螯合金属能力, 它的抗肿瘤能力主要依赖其对金属 Cu 的螯合能力, DSF/Cu 可以抑制多种肿瘤相关的信号通路, 从而抑制肿瘤细胞生长<sup>[19]</sup>。研究表明 DSF 能够抑制肿瘤的转移和侵袭, 主要是因为其可以抑制 MMP-2 和 MMP-9 的表达<sup>[20]</sup>。目前 DSF 针对乳腺癌、前列腺癌的 II 期临床研究正在进行。



**2.2.2 双膦酸盐类** 双膦酸盐类 (bisphosphonates, BPs, 通式为 **8**) 也被称为二膦酸盐, 通常用来治疗骨量丢失和骨质疏松。BPs 具有低毒性和良好耐受性, 可用于治疗 MMP 相关的疾病。BPs 可抑制 MMP-1、MMP-2、MMP-3、MMP-7、MMP-8、MMP-9、MMP-12、MMP-13 和 MMP-14。此外, BPs 还能减小肿瘤细胞浸润程度<sup>[21]</sup>。最近有研究报道, BPs 联合唑来膦酸能抑制乳腺癌细胞的生长、迁移侵袭和改善乳腺癌患者的预后<sup>[22]</sup>。



**2.2.3 单抗药物** Andecaliximab (GS 5745) 是 MMP-9

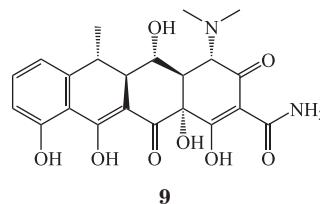
特异性单抗, 尽管其用于治疗溃疡性结肠炎的 II/III 期临床研究因疗效不明显而宣布终止, 但该药针对肿瘤适应证的临床研究, 包括针对实体瘤的 I 期临床试验, 以及联合 PD-1 抑制剂 Opdivo (nivolumab) 治疗胃癌的 III 期临床试验<sup>[23]</sup> 的计划将继续进行。

### 2.3 天然类基质金属蛋白酶抑制剂

人工合成的 MMPI 存在众多缺陷, 如选择性差、生物利用度低、代谢差和不良反应较为明显等。近些年来, 研究人员试图从天然产物中寻找和开发 MMPI, 通过对植物、真菌和海洋生物来源的天然产物的研究, 获得多个有效的天然 MMPI<sup>[24]</sup>。

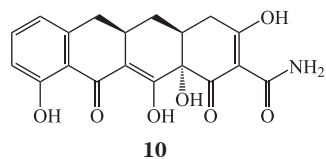
**2.3.1 四环素衍生物** 研究人员在细菌中发现了许多有潜力的 MMPI, 其中最具代表性的就是细菌产生的四环素类抗生素。之后对四环素进行化学结构的修饰, 从而得到了一系列有效的四环素衍生物类的 MMPI。四环素衍生物不仅可抑制 MMP 活性, 而且能抑制 MMP 的产生, 这类 MMPI 包括经典的四环素类如盐酸多西环素 (doxycycline hyclate, **9**)、新型的四环素类似物 (已被化学修饰以消除其抗菌活性) 如 COL-3 等。

盐酸多西环素是一种经典的抗菌四环素, 同时也被作为抗肿瘤药进行了广泛研究。盐酸多西环素能够减少 MMP-2 和 MMP-9 的分泌, 在乳腺癌细胞中, 能够非竞争性地抑制 MMP-2、MMP-9 的活性。在体外活性研究中发现, 盐酸多西环素能够抑制肿瘤细胞的生长和诱导肿瘤细胞凋亡, 从而降低其侵袭和转移能力; 在体内研究中, 盐酸多西环素联合巴马司他可增强抑制肿瘤转移的作用。在治疗肾细胞癌的 II 期临床研究中, 盐酸多西环素和干扰素- $\alpha$  联合用药, 可改善干扰素- $\alpha$  临床疗效。在厄洛替尼治疗非小细胞肺癌患者的 II 期临床研究中, 给予盐酸多西环素能有效减缓患者疾病进展, 延长生存期<sup>[25]</sup>。



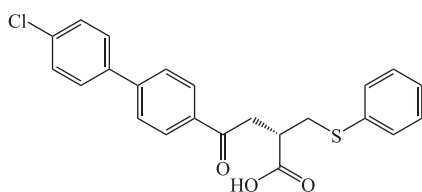
美他司他 (metastat, CMT-3, COL-3, **10**) 是一种化学修饰的四环素, 通过修饰消除了四环素的抑菌活性, 维持了其抑制 MMP 的活性, 该化合物可抑制 MMP-1、MMP-2、MMP-8、MMP-9 和 MMP-13 的活性。在转移性前列腺癌动物模型中, 美他司他可抑制肿瘤

生长和转移。I 期临床试验表明, 美他司他对软组织肉瘤有一定的抑瘤效果<sup>[26]</sup>。

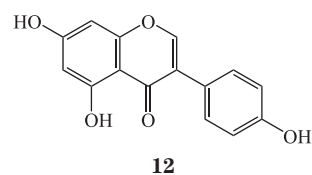


**2.3.2 蛋白类** Neovastat (AE-941) 是一种从鲨鱼软骨中提取的蛋白类 MMPI, 不仅能抑制 MMP-2、MMP-9 和 MMP-12 的活性, 并且对血管新生有抑制作用, 是一种多功能的肿瘤血管生成抑制剂<sup>[27]</sup>。研究人员开展了 neovastat 针对多种肿瘤的临床研究, 正在进行的有针对多发性骨髓瘤和浆细胞瘤的 II 期临床试验, 针对肾细胞癌、乳腺癌、大肠癌的 III 期临床试验<sup>[28]</sup>。

**2.3.3 苔藓抑素类** 坦诺司他 (tanomastat, BAY12-9566, 11) 为苔藓抑素类化合物, 是一种新型的联苯类 MMPI, 可抑制 MMP-2、MMP-3、MMP-9、MMP-13 和 MMP-14 活性。研究表明, 坦诺司他在不同类型的肿瘤模型中均显示出一定的抗肿瘤活性, 此外还可抑制肿瘤血管新生。I 期临床研究显示, 坦诺司他耐受性良好, 未见肌肉骨骼方面的不良反应。然而, 在胰腺癌和小细胞肺癌患者中进行的坦诺司他的 III 期临床研究被终止, 原因是坦诺司他对患者的无进展生存期或总体生存率没有显著影响<sup>[29]</sup>。



**2.3.4 异黄酮类** 研究人员在植物和真菌的提取物中也分离得到了对 MMP 抑制活性良好的化合物。这些化合物大多为多酚类化合物, 其既能抑制 MMPs 的活性, 也能抑制 MMP 的表达。多酚类化合物其中一半是黄酮类化合物, 研究表明黄酮和异黄酮除了抗氧化作用, 还可以下调 MMP 的表达。金雀异黄酮 (genistein, 12) 是从大豆中分离得到的异黄酮类化合物<sup>[30]</sup>, 可抑制 MMP-2、MMP-9 活性, 其针对多种肿瘤如乳腺癌、子宫内膜癌、结肠癌和直肠癌的 I / II 期临床试验正在进行<sup>[31]</sup>。



**2.3.5 其他** 除了上述已进入临床研究的天然 MMPI, 还有一些天然 MMPI, 在临床前研究中显示出 MMP 抑制活性。例如从大豆中分离得到的染料木素, 已被证明能够抑制 MMP-1、MMP-9、MMP-14、MMP-15 和 MMP-16 的表达; 来自皮柑橘类水果的川陈皮素可以下调 MMP-1、MMP-2、MMP-7 和 MMP-9 的表达; Ageladine 是从海绵中分离得到的荧光生物碱, 能抑制 MMP-1、MMP-2、MMP-8、MMP-9、MMP-12 和 MMP-13 的活性, 令人惊讶的是 ageladine 并没有可以螯合锌离子的化学结构, 其新颖的作用机制值得关注<sup>[32]</sup>; 还有其他能够抑制 MMP-2 或 MMP-9 表达的中药如参七汤等, 但其抗肿瘤研究目前还处于临床前阶段, 尚未进入临床研究。

### 3 提高基质金属蛋白酶抑制剂选择性的策略

目前 MMPI 类药物上市较少, 且其中暂无药物是针对肿瘤适应证的。笔者对已进入临床研究的抗肿瘤 MMPIs 进行了总结(见表 1), 其中大部分药物如双硫仑、双膦酸盐、美他司他、neovastat 和金雀异黄酮正处于临床研究阶段, 还有部分 MMPI 在临床前研究活性显著, 然而临床疗效却不理想, 例如 batimastat、marimastat、solimastat、rebimastat、MMI270 和 doxycycline hyclate 等。

MMPI 临床研究不理想的原因主要是其广谱性, 即不能特异性地抑制某种特定的 MMP。因此开发具有选择性的 MMPI 是肿瘤治疗的重要方向, 目前科学家们致力于开发具有高选择性的 MMPI。根据最新研究报道, 目前提高 MMPI 选择性可行的方法有以下几种。

#### 3.1 基质金属蛋白酶抑制剂的特异性识别

识别并抑制发挥主要病理作用的 MMP, 可以减少 MMPI 可能引起的不良反应。对于不同的肿瘤, 甚至相同肿瘤的不同发展阶段, 发挥主要作用的 MMP 也是不同的, 因此首先需要确定与疾病密切相关的特定的 MMP, 即 MMP 的特异性识别<sup>[33]</sup>。在体内通过利用 MMP 特异性的荧光探针来检测肿瘤细胞中单个 MMP 的活性状态<sup>[34]</sup>; 或通过利用特定 MMP 的沉默或过表达的肿瘤模型, 确定某种 MMP 在特定疾病中的作用机

制。通过区分不同 MMP 在体内的功能特点, 对特定的广谱性引起的毒副作用。肿瘤给予特定的 MMPI 进行治疗, 从而减少因 MMPI

表 1 基质金属蛋白酶抑制剂药物临床研究进展

Table 1 Clinical progress in matrix metalloproteinase inhibitors

药物	化学分类	酶特异性	适应证	研发阶段	目前已发现的问题
巴马司他	异羟肟酸类拟肽类	MMP-1, -2, -3, -8, -9 和 -14	癌症, 恶性腹水, 胸腔积液	III期临床	可溶性差, 可致恶心、呕吐等不良反应
马马司他	异羟肟酸类拟肽类	MMP-1, -2, -7, -9 和 -14	非小细胞肺癌, 乳腺癌, 胰腺癌	III期临床	可致骨髓肌不良反应
索利司他	异羟肟酸类拟肽类		结直肠肿瘤, 炎症性肠病, 类风湿性关节炎	I 期临床	临床试验无效
普马司他	异羟肟酸类非肽类	MMP-2, -9, -13 和 -14	黑色素瘤、乳腺癌、食管癌	III期临床	对晚期患者无明显治疗效果
rebimastat (BMS-275291)	巯基类	广谱	非小细胞肺癌, 激素, 难治性前列腺癌	III期临床	可致肌肉骨骼疼痛和炎症
MM1270	异羟肟酸类非肽类	广谱	晚期癌症, 脑损伤	I 期临床	可致肌肉骨骼不良反应与皮疹
双硫仑	磺胺类	MMP-2, -9	难治性实体瘤、恶性黑色素瘤, 乳腺癌, 前列腺癌	II 期临床	
双膦酸盐类	双膦酸盐类	MMP-1, -2, -3, -7, -8, -9, -12, -13 和 -14	乳腺癌	II 期临床	
andecaliximab (GS 5745)	单抗类	MMP-9	实体瘤, 胃癌	I / III期临床	
多西环素	四环素类	广谱	非小细胞肺癌、胰腺癌、大肠癌、头颈部癌	II / III期临床	
美他司他	四环素类	MMP-2 和 -9	卡波西肉瘤与难治性转移癌	II 期临床	
neovastat (AE941)	蛋白类	MMP-2, -9, -12	肾细胞癌, 多发性骨髓瘤, 乳腺癌, 结直肠癌	III期临床	
坦诺司他	联苯类	MMP-2, -3 和 -9	晚期癌症	III期临床	临床试验无效
金雀异黄酮	黄酮类	MMP-2 和 -9	晚期癌症 (如乳腺癌、前列腺癌和胰腺癌)	I / II 期临床	

### 3.2 蛋白质工程的应用

利用蛋白质工程技术, 确定 MMP 更加精细的结构表征, 从而设计出高选择性的 MMPI。理想的 MMPI 应表现出高选择性、良好的口服生物利用度和药动学特性, 较低的毒副作用, 在慢性疾病的治疗中尤应如此。为了增加选择性, 新一代的抑制剂应在底物结合特异性的基础上设计, 通过蛋白质工程技术, 确定 MMP 更加精细的结构表征, 从而更好地区分有害的和必需的 MMP<sup>[35]</sup>, 或利用蛋白质工程得到特定 MMP 的特异性抗体<sup>[36]</sup>。目前大部分的 MMPI 是通过螯合锌离子从而发挥其抑制活性, 在设计高选择性的抑制剂时, 同样应该针对 MMP 的其他结构区域进行设计, 这些区域可能对维持 MMP 的三维结构起重要作用<sup>[37]</sup>。

### 3.3 基质金属蛋白酶抑制剂的靶向输送

将 MMPI 靶向运输至特定的病变部位, 从而避免

由于 MMPI 广谱性引起的全身性不良反应。MMPI 常规的给药方式是全身给药, 由于大部分 MMPI 缺乏选择性, 为了避免 MMPI 对正常的 MMP 的抑制作用, 可以对 MMPI 进行靶向性修饰或利用具有靶向性的递送系统, 将其靶向输送到特定的组织器官, 以减少药物剂量和提高药物的生物利用度, 从而避免其引起的全身性不良反应。例如, 基于纳米技术的递送系统可使药物穿过血脑屏障, 选择性地将药物递送至中枢神经系统的特定区域<sup>[38]</sup>。

### 3.4 改造天然类基质金属蛋白酶抑制剂

近年来, 研究人员发现了越来越多 MMP 抑制活性良好、毒副作用小的天然类 MMPI。研究表明, 天然类 MMPI 通过多个分子途径和机制发挥其生物活性, 这些天然类 MMPI 可作为先导化合物, 通过对这些化合物进行改造, 从而有可能得到高选择性的 MMPI。例如通过化学修饰, 使 MMPI 可以同时含有多个锌离子结合

基团, 从而大大提高 MMPI 的药效<sup>[39]</sup>。

### 3.5 “点击化学”策略的应用

“点击化学”策略的原理是目标 MMP 能够催化 2 个特定的小分子进行连接, 反过来这 2 个小分子连接生成的 MMPI 能够与目标 MMP 结合, 从而发挥其抑制作用<sup>[40]</sup>。该策略能够在特定的 MMP 结合口袋内原位自组装成 MMPI, 因而对 MMP 具有高度选择性。

### 3.6 脂质胶束/纳米颗粒的应用

随着纳米技术的发展, 越来越多的脂质胶束/纳米颗粒被用于 MMP 的活性研究。例如使用纳米颗粒作为可沉默 MMP 基因的非病毒基因的递送载体<sup>[41]</sup>, 减少疾病相关的 MMP 的表达, 从而达到治疗效果。或者将脂质胶束/纳米颗粒、MMP 特异性底物片段和荧光基团相连, 构建 MMP 特异性的荧光探针, 利用该探针检测特定 MMP 的活性<sup>[42]</sup>。这类荧光探针可作为筛选高选择性 MMPI 的辅助手段, 此外多肽荧光探针还可单独作为体内肿瘤微环境的诊断工具<sup>[43]</sup>。

## 4 结语

MMPI 的设计与合成已有近 20 年历史。到目前为止, 也已经有多个 MMPI 作为临床候选药物进行抗肿瘤研究, 但是由于缺乏选择性, 部分 MMPI 的临床疗效不佳。

早期的 MMPI 大部分通过自身结构中的锌离子螯

合基团与 MMP 的锌离子螯合而发挥抑制 MMP 的作用, 而锌离子螯合基团这一结构本身就是 MMPI 选择性较差的原因。这些 MMPI 在抑制肿瘤部位的 MMP 的同时, 也抑制了其他发挥生理作用的 MMP。除此之外, 不同类型肿瘤以及同一肿瘤在不同的发展阶段, 发挥作用的 MMP 各不相同, 因此, 鉴别肿瘤中的 MMP 家族成员对于精准治疗的实施非常关键。

近年来, 随着对 MMPI 研究的深入, 人们发现了越来越多的非锌离子螯合剂类 MMPI, 还有能特异性抑制某种 MMP 的 MMPI, 以此为基础进行修饰改造, 有望获得高选择性的 MMPI。可以相信, 随着对 MMP 认识和研究的不断深入, 高选择性抗肿瘤 MMPI 设计开发的成功率会大大提高。

笔者所在课题组近些年来针对 MMP 与肿瘤侵袭转移的关系进行了一系列研究, 设计了结构为“RGD-MMPI-AuNP”多肽纳米制剂, 该设计通过多途径提高 MMPI 多肽的选择性: 包括前期利用计算机辅助肽设计技术设计只针对某种 MMP 的高特异性 MMPI 多肽、在多肽末端连接能特异性靶向肿瘤的 RGD 序列, 以及最终利用纳米金 (Au nanoparticle, AuNP) 作为药物载体输送药物到特定靶点。目前, 在荷有 B16F10 黑色素瘤的 C57BL/6 小鼠中进行的研究表明, 该药物具有一定的抗肿瘤活性, 进一步研究工作还在进行中。

## 【参考文献】

- [1] Sampieri C L, Leóncórdoba K, Remestrosche J M. Matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors in gastric cancer as molecular markers[J]. *J Cancer Res Ther*, 2013, 9(3): 356-363.
- [2] Fingleton B. Matrix Metalloproteinases as valid clinical targets[J]. *Curr Pharm Des*, 2007, 13(3): 333-346.
- [3] Cui N, Hu M, Khalil R A. Biochemical and biological attributes of matrix metalloproteinases[J]. *Prog Mol Biol Transl Sci*, 2017, 147: 1-73.
- [4] Devel L, Czarny B, Beau F, *et al*. Third generation of matrix metalloprotease inhibitors: gain in selectivity by targeting the depth of the S1' cavity[J]. *Biochimie*, 2010, 92(11): 1501-1508.
- [5] Puerta D T, Lewis J A, Cohen S M. New beginnings for matrix metalloproteinase inhibitors: identification of high-affinity zinc-binding groups[J]. *J Am Chem Soc*, 2004, 126(27): 8388-8389.
- [6] Macaulay V M, O'Byrne K J, Saunders M P, *et al*. Phase I study of intrapleural Batimastat (Bb-94), a matrix metalloproteinase inhibitor, in the treatment of malignant pleural effusions[J]. *Clin Cancer Res*, 1999, 5(3): 513-520.
- [7] Nosoudi N, Nahar-Gohad P, Sinha A, *et al*. Prevention of abdominal aortic aneurysm progression by targeted inhibition of matrix metalloproteinase activity with batimastat-loaded nanoparticles[J]. *Circ Res*, 2015, 117(11): e80-e89.
- [8] Wojtowicz-Praga S, Torri J, Johnson M, *et al*. Phase I trial of Marimastat, a novel matrix metalloproteinase inhibitor, administered orally to patients with advanced lung cancer[J]. *J Clin Oncol*, 1998, 16(6): 2150-2156.
- [9] Sparano J A, Bernardo P, Stephenson P, *et al*. Randomized phase III trial of marimastat versus placebo in patients with metastatic breast cancer who have responding or stable disease after first-line chemotherapy: eastern cooperative oncology group trial E2196[J]. *J Clin Oncol*, 2004, 22(23): 4683-4690.

- [10] Arias A S, Rucavado A, Gutiérrez J M. Peptidomimetic hydroxamate metalloproteinase inhibitors abrogate local and systemic toxicity induced by *Echis ocellatus* (saw-scaled) snake venom[J]. *Toxicon*, 2017, 6(132): 40-49.
- [11] Peterson J T. Matrix metalloproteinase inhibitor development and the remodeling of drug discovery[J]. *Heart Fail Rev*, 2004, 9(1): 63-79.
- [12] Bissett D, O'Byrne K J, von Pawel J, et al. Phase III study of matrix metalloproteinase inhibitor prinomastat in non-small-cell lung cancer [J]. *J Clin Oncol*, 2005, 23(4): 842-849.
- [13] Heath E I, Burtneß B A, Kleinberg L, et al. Phase II, parallel-design study of preoperative combined modality therapy and the matrix metalloproteinase (MMP) inhibitor prinomastat in patients with esophageal adenocarcinoma[J]. *Invest New Drugs*, 2006, 24(2): 135-140.
- [14] Rizvi N A, Humphrey J S, Ness E A, et al. A phase I study of oral bms-275291, a novel nonhydroxamate sheddase-sparing matrix metalloproteinase inhibitor, in patients with advanced or metastatic cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2004, 10(6): 1963-1970.
- [15] Miller K D, Saphner T J, Waterhouse D M, et al. A randomized phase II feasibility trial of BMS-275291 in patients with early stage breast cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2004, 10(6): 1971-1975.
- [16] Leighl N B, Paz-Ares L, Douillard J Y, et al. Randomized phase III study of matrix metalloproteinase inhibitor BMS-275291 in combination with paclitaxel and carboplatin in advanced non-small-cell lung cancer: National Cancer Institute of Canada-Clinical Trials Group Study BR.18[J]. *J Clin Oncol*, 2005, 23(12): 2831-2839.
- [17] Kasaoka T, Nishiyama H, Okada M, et al. Matrix metalloproteinase inhibitor, MMI270 (CGS27023a) inhibited hematogenic metastasis of B16 melanoma cells in both experimental and spontaneous metastasis models[J]. *Clin Exp Metastasis*, 2008, 25(7): 827-834.
- [18] Levitt N C, Eskens F A, O'Byrne K J, et al. Phase I and pharmacological study of the oral matrix metalloproteinase inhibitor, MMI-270 (CGS27023a), in patients with advanced solid cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2001, 7(7): 1912-1922.
- [19] Jiao Y, Hannafon B N, Ding W Q. Dilsufiram's anticancer activity: evidences and mechanisms[J]. *Anticancer Agents Med Chem*, 2016, 16(11): 1378-1384.
- [20] Cho H J, Lee T S, Park J B, et al. Disulfiram suppresses invasive ability of osteosarcoma cells via the inhibition of MMP-2 and MMP-9 expression[J]. *J Biochem Mol Biol*, 2007, 40(6): 1069-1076.
- [21] Rubino M T, Agamenone M, Campestre C, et al. Biphenyl sulfonylamino methyl bisphosphonic acids as inhibitors of matrix metalloproteinases and bone resorption[J]. *ChemMedChem*, 2011, 6(7): 1258-1268.
- [22] Dedes P G, Ch G, Tsonis A I, et al. Expression of matrix macromolecules and functional properties of breast cancer cells are modulated by the bisphosphonate zoledronic acid[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2012, 1820(12): 1926-1939.
- [23] Adis Insight. Andecaliximab-Gilead Sciences [EB/OL]. (2017-09-10) [2017-09-18]. <http://adisinsight.springer.com/drugs/800038052>.
- [24] Mannello F. Natural bio-drugs as matrix metalloproteinase inhibitors: new perspectives on the horizon? [J]. *Recent Pat Anticancer Drug Discov*, 2006, 1(1): 91-103.
- [25] Deplanque G, Gervais R, Vergnenegre A, et al. Doxycycline for prevention of erlotinib-induced rash in patients with non-small-cell lung cancer (NSCLC) after failure of first-line chemotherapy: a randomized, open-label trial[J]. *J Am Acad Dermatol*, 2016, 74(6): 1077-1085.
- [26] Furlow B. COL-3 benefits patients with AIDS-related Kaposi's sarcoma[J]. *Lancet Oncol*, 2006, 7(5): 368.
- [27] Falardeau P, Champagne P, Poyet P, et al. Neovastat, a naturally occurring multifunctional antiangiogenic drug, in phase III clinical trials[J]. *Semin Oncol*, 2001, 28(6): 620-625.
- [28] Lu C, Lee J J, Komaki R, et al. Chemoradiotherapy with or without AE-941 in stage III non-small cell lung cancer: a randomized phase III trial [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2010, 102(12): 859-865.
- [29] Hirte H, Vergote I B, Jeffrey J R, et al. A phase III randomized trial of BAY 12-9566 (tanomastat) as maintenance therapy in patients with advanced ovarian cancer responsive to primary surgery and paclitaxel/platinum containing chemotherapy: a National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group Study[J]. *Gynecol Oncol*, 2006, 102(2): 300-308.
- [30] Kousidou O C, Mitropoulou T N, Roussidis A E, et al. Genistein suppresses the invasive potential of human breast cancer cells through transcriptional regulation of metalloproteinases and their tissue inhibitors[J]. *Int J Oncol*, 2005, 26(4): 1101-1109.
- [31] Kim M H. Flavonoids inhibit VEGF/bFGF-induced angiogenesis *in vitro* by inhibiting the matrix-degrading proteases [J]. *J Cell Biochem*, 2010, 89(3): 529-538.
- [32] Senthilkumar K, Ramajayam G, Venkatesan J, et al. *Chemical Ecology of Marine Sponges*[M]. New Delhi: Springer-Verlag, 2016: 305-314.
- [33] Vihinen P, Alaaho R, Kahari V M. Matrix metalloproteinases as therapeutic targets in cancer[J]. *Curr Cancer Drug Targets*, 2005, 5(3):

- 203-220.
- [34] Gerwien H, Hermann S, Zhang X, *et al.* Imaging matrix metalloproteinase activity in multiple sclerosis as a specific marker of leukocyte penetration of the blood-brain barrier [J]. *Sci Transl Med*, 2016, 8(364): 364ra152.
- [35] Levin M, Udi Y, Solomonov I, *et al.* Next generation matrix metalloproteinase inhibitors - Novel strategies bring new prospects [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2017, 1864(11 Pt A): 1927-1939.
- [36] Remacle A G, Cieplak P, Nam D H, *et al.* Selective function-blocking monoclonal human antibody highlights the important role of membrane type-1 matrix metalloproteinase (MT1-MMP) in metastasis [J]. *Oncotarget*, 2016, 8(2): 2781-2799.
- [37] Gege C, Bao B, Bluhm H, *et al.* Discovery and evaluation of a non-Zn chelating, selective matrix metalloproteinase 13 (MMP-13) inhibitor for potential intra-articular treatment of osteoarthritis [J]. *J Med Chem*, 2012, 55(2): 709-716.
- [38] 马一星, 叶青. 突破血脑屏障纳米药物递送系统的研究进展 [J]. *中国药事*, 2016, 30(2): 141-149.
- [39] Rouanetmehouas C, Czarny B, Beau F, *et al.* Zinc-metalloproteinase inhibitors: evaluation of the complex role played by the zinc-binding group on potency and selectivity[J]. *J Med Chem*, 2016, 60(1): 403-414.
- [40] Zapico J M, Puckowska A, Filipiak K, *et al.* Design and synthesis of potent hydroxamate inhibitors with increased selectivity within the gelatinase family[J]. *Org Biomol Chem*, 2015, 13(1): 142-156.
- [41] 赵晓乐, 孔晓军, 李剑勇. 可递送 siRNA 的非病毒纳米载体的设计 [J]. *国际药学研究杂志*, 2016, 43(4): 677-681.
- [42] Chien M P, Carlini A S, Hu D, *et al.* Enzyme-directed assembly of nanoparticles in tumors monitored by *in vivo* whole animal imaging and *ex vivo* super-resolution fluorescence imaging[J]. *J Am Chem Soc*, 2013, 135(50): 18710-18713.
- [43] Sun X, Li Y, Liu T, *et al.* Peptide-based imaging agents for cancer detection[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2016, 110(111): 38-51.



**【专家介绍】胡加亮**: 博士, 教授, 1993—2000 年就读于中国药科大学, 并于 1997 年和 2000 年分别获得中国药科大学生物制药专业学士和硕士学位。2000—2007 年在比利时鲁汶大学 (University of Leuven) 留学, 并于 2006 年 6 月获鲁汶大学医学院免疫生理学博士学位。2008 年 1 月受聘于中国药科大学, 现为中国药科大学生命科学与技术学院教授。2008 年回国后, 将抗炎领域与抗肿瘤领域相结合, 设计获得新型抗肿瘤候选药物 MMPI-ES-2, 并申请了发明专利。先后主持了国家科技重大专项等 4 项课题, 并参加 3 项国际合作课题, 发表 SCI 论文 22 篇, 申请专利 7 项, 其中 5 项已授权。现主要研究领域包括: 酶活力检测、抗肿瘤多肽的药效学研究、抗肿瘤多肽的药代动力学研究, 以及抗肿瘤多肽的分子机制研究等。



**【专家介绍】徐寒梅**: 中国药科大学教授(博士生导师), 海洋药学专业负责人, 国家药典委员会委员, 中组部“万人计划”入选者。多年从事多肽药物的研究, 带领团队自主设计合成了多个多肽药物、转让了 4 个一类多肽新药, 有的已经进入临床研究。近五年在国内外发表学术文章 80 余篇, SCI 35 篇; 主编及参编论著各一部, 主编教材一部; 申请发明专利及软件著作权共 35 项 (其中国际专利 5 项), 获得授权 15 项。近五年以来, 先后带领团队主持了: 国家自然科学基金, 国家“863”高科技发展计划, 国家“十一五”、“十二五”、“十三五”重大新药创制科技重大专项多项, 江苏省校企合作前瞻性研究等项目。2014 年获得江苏省医药科技奖一等奖 (排名第一), 曾获得科技部创新创业人才、南京市领军人才、科技创业家等称号。