

端粒酶抑制剂 GRN163L 在肿瘤治疗中的研究进展

喻嫦娥,余忠华

(广东医学院附属医院,广东 湛江 524001)

摘要:GRN163L 是一种针对 hTR (端粒酶 RNA)的反义核苷酸药物,它能够抑制端粒酶的活性,引起肿瘤染色体末端端粒长度的不断缩短,诱导肿瘤细胞停止分裂。作为针对 hTR 基因靶向治疗的前沿药物,GRN163L 逐渐成为临床研究的热点。全文拟从端粒及端粒酶、GRN163L 的理化性质、生物学功能及肿瘤治疗的相关研究进展作一综述。

关键词:端粒酶;GRN163L;恶性肿瘤

中图分类号:R73 **文献标识码:**A **文章编号:**1671-170X(2013)03-0231-04

Progress in Telomerase Inhibitor GRN163L in the Treatment for Cancer

YU Chang-e, YU Zhong-hua

(The Affiliated Hospital of Guangdong Medical School, Zhanjiang 524001, China)

Abstract: GRN163L (Geron Presentations on Imetelstat) is an antisense nucleotide drugs arm-ing at hTR (telomerase RNA), which can inhibit the activity of telomerase, cause telomere length of tumor chromosome ends constantly shortened and induce tumor cells to stop splitting. As a therapy forefront drug targetting the hTR gene, GRN163L gradually become the focus of clinical research. This paper will expound telomeres and telomerase, physical and chemical properties of GRN163L, biological function of GRN163L and research progress of tumor therapy.

Subject words: telomerase; GRN163L; tumor

端粒本质是一种核蛋白结构,在每一次 DNA 复制时都通过自身磨损从而保护了真核生物染色体的末端。无论是在老化的组织中,或是在与癌症相关的组织增生性疾病中,端粒的磨损现象都是存在的。如果端粒发生功能性障碍,其结果就会导致组织的不衰老或是恶性肿瘤的无限增殖,由此可见其无限增殖能力与端粒长短密切相关。肿瘤细胞染色体的端粒长度较正常组织短,在增殖的过程中其继续缩短会引起染色体融合和细胞死亡。而端粒酶的主要作用就是维持端粒的长度,并且在多例癌症晚期患者的检测中发现了活化的端粒酶。近期研究发现,端粒酶的活化与癌症的发生是有一定关联的。绝大多数的人类肿瘤细胞表达端粒酶活性,正是端粒酶的激活维持了端粒的长度,为肿瘤的继续分裂

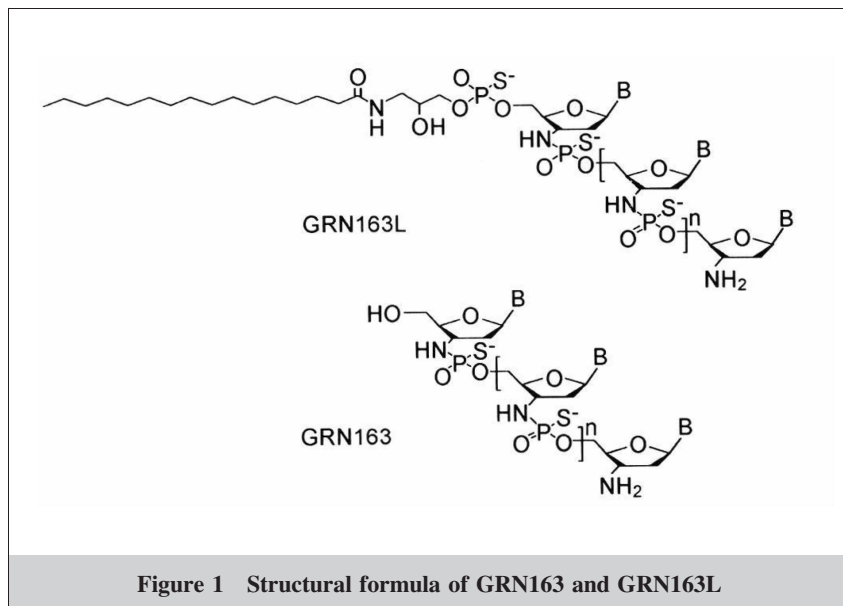
及增殖生存提供保障^[1]。因此,抑制端粒酶活性对肿瘤的防治有着重要意义。近年来端粒酶作为抗肿瘤治疗的一个理想的靶点,逐渐成为恶性肿瘤治疗的热点。而端粒酶抑制剂 GRN163L (Geron Presentations on Imetelstat)正是在这样的背景下研究开发出来的,其独特抑制端粒酶活性的作用及其联合现有的抗肿瘤治疗方法的研究取得了很大的进展^[2]。

1 GRN163L 的理化特性

GRN163 及 GRN163L 两种化合物共同的核苷酸序列为 5'-TAGGGTTAGACAA-3', N3'→P5' 硫代氨基磷酸酯 (NPS) 寡核苷酸是其共同的骨架结构 (Figure 1)^[3]。Geron 公司在实验过程中通过改善寡核苷酸骨架结构,优化得到低纳摩尔级端粒酶抑制剂 GRN163。为解决聚阴离子寡核苷酸很难进入细胞的

通讯作者:余忠华,主任,主任医师,硕士;广东医学院附属医院肿瘤中心 2 区,广东省湛江市霞山区人民大道南 57 号 (524001);E-mail:zhonghua_yu@126.com。

收稿日期:2012-09-17; **修回日期:**2012-12-16



问题, 在 5' 处用十六酰化氨基丙三醇基团对 GRN163 进一步脂质修饰, 得 GRN163L^[2]。

细胞增殖率的降低以及端粒的缩短只发生在有脂质修饰的硫代氨基磷酸酯作用的细胞上, 而没有脂质修饰的硫代氨基磷酸酯作用的细胞 (没有脂质转运体) 不能显著改变细胞增殖率及端粒长度, 因为缺乏脂质转运体时细胞会出现无效摄取, 可能降低硫代氨基磷酸酯的活性^[4]。脂质修饰产物 GRN163L 在体内外没有脂质转运体的情况下均可进入细胞, 增加吸收率从而增强了对端粒酶的抑制作用。

2 GRN163L 的生物学功能

端粒酶包括 hTR 和端粒酶催化亚基 (hTERT) 以及端粒酶相关蛋白 (TP1) 三种组分。其中 hTR 是编码端粒酶的主要核心组件。作为一个单拷贝基因, 它定位于 3q26.3, 是端粒酶复制的模板, 为端粒酶的组装、活性调节以及与其他相关蛋白相互作用所必需^[5]。端粒酶只存在于真核细胞, 可以延长染色体的端粒长度, 从而增强细胞的增殖能力。端粒酶在正常人体组织中的活性被抑制, 在肿瘤中被重新激活, 端粒酶可能参与肿瘤的恶性转化。从而可知, 抑制端粒酶的活性则可能抑制肿瘤的增殖。而 GRN163L 作为一种针对 hTR 基因反义核苷酸药物, 其拥有的 N3' 到 P5' 的硫代氨基磷酸酯寡核苷酸化学骨架, 能够沉默 hTR 基因的 5'-CUAACCCUAAC-3' 核苷酸序列, 从

而具有强而特异抑制端粒酶的活性, 造成肿瘤端粒长度缩短^[5]。当端粒缩短到一定程度时, 肿瘤细胞出现衰老、凋亡等改变^[6]。

3 GRN163L 单药靶向治疗的研究

研究者对 GRN163L 的抗肿瘤作用进行了实验。Amelia 等^[7]用乳腺癌不同细胞株 (HME50-T、MCF-7、HCC1937、SKBK3、MDA-MB-231) 来检测 GRN163L 的作用, 发现 GRN163L 抑制端粒酶的活性, 但对肿瘤细胞产生毒性

效应缓慢, 需要连续加用 GRN163L 才会出现端粒长度缩短。Shammas 等^[8]的研究结果显示 GRN163L 有效抑制人类骨髓瘤细胞端粒酶活性, 通常在给药 2~3 周后出现端粒长度改变和细胞凋亡。Joseph 等^[9]研究发现采用 GRN163L 能显著降低乳腺癌和胰腺癌细胞株中肿瘤干细胞的分布, 与 GRN163L 缩短端粒酶长度诱导肿瘤细胞死亡有关。文献报道神经胶质母细胞瘤的干细胞易引起复发导致患者死亡率高, 而其对多种化疗药物耐药, 这可能主要与血脑屏障有关。最近由 Marian 等^[10]临床前研究表明, GRN163L 能穿过血脑屏障, 并抑制人脑胶质瘤细胞, 包括抑制神经母细胞瘤肿瘤干细胞的端粒酶活性。进一步的研究表明 GRN163L 显著抑制神经干细胞的增殖, 抑制神经球形成能力及其自我更新。当短暂地采用 GRN163L 抑制神经干细胞后停药, 肿瘤干细胞的 DNA 修复能力和抵抗凋亡作用会恢复, 这也从另一个侧面佐证了针对肿瘤干细胞的杀伤致凋亡作用是以连续运用 GRN163L 为前提的^[11]。由此可知, GRN163L 的作用很大程度上依赖肿瘤组织端粒的初始长度, 初始长度导致了抗癌剂的作用出现一个明显的延迟期^[10,12]。

Geron 公司 GRN163L 的 I 期临床试验从 2009 年开始, 目前已完成与慢性淋巴细胞白血病和实体肿瘤, 如乳腺癌和非小细胞肺癌患者中的几个 I 期临床试验。这些 I 期临床试验表明, 静脉注射 GRN163L 具有优良的生物利用度、药代动力学和耐

受性^[13]。Ⅱ期增加 GRN163L 药物剂量的临床试验也于 2010 年第二季度相继在晚期乳腺癌和非小细胞肺癌、多发性骨髓瘤、慢性白血病、原发性血小板增多症等患者中开展,目前研究结果表明 GRN163L 能否杀伤剩余的肿瘤细胞是端粒酶抑制剂能否限制肿瘤复发和转移的一个重要因素^[14]。接下来的Ⅱ期临床实验的重点将在乳腺癌中开展 GRN163L 单药与联合紫杉醇或贝伐单抗疗效的比较与分析。端粒酶抑制剂作为一种辅助治疗,当它联合各种现有方法的疗效可能会优于单药治疗。总之,GRN163L 抑制端粒酶活性而使端粒长度逐渐缩短,以及能通过血脑屏障的作用使其在抗肿瘤方面占特殊地位,有待进一步研究。

4 GRN163L 联合化疗的研究

Djojosebrotto 等^[15]给裸鼠接种人类不同肝癌细胞株 (Hep3B 和 Huh7),然后行 GRN163L 和 GRN163 不同剂量、不同时间全身治疗,结果证实 GRN163L 和 GRN163 呈剂量依赖性地抑制端粒酶活性和肿瘤生长。在体外,经 10 μ mol/L GRN163L 培养 35d 和 70d 的肝癌细胞,其染色体端粒游离末端和 DNA 损伤增多,端粒长度缩短,细胞增殖抑制。经加用 GRN163L 培养基培养的 Hep3B 细胞对多柔比星的敏感性增加,但未用 GRN163L 培养基培养的 Hep3B 细胞对多柔比星未表现出明显的敏感性,由此可见,GRN163L 联合化疗药物可以增强化疗药物的敏感性,而其增加化疗敏感性的机制及在细胞和动物模型中的差异有待进一步研究。

Tamakawa 等^[16]用乳腺癌细胞株 MCF-7 和结肠癌细胞株 HT29 和 LS180 行体外试验,结果显示,用 10 μ mol/L GRN163L 培养细胞 24h,三种细胞的功能被抑制,使得引起三种细胞 S 期和 G₂ 期双链 DNA 破裂的依托泊苷和依立替康的量减少,而对博来霉素和奥沙利铂的剂量没有明显影响。因此,端粒酶抑制剂 GRN163L 联合特异性细胞周期作用药物,增加了细胞毒性和 DNA 损伤。Biroccio 等^[17]的研究表明拓扑异构酶 I 抑制剂和端粒酶靶向抑制剂组合具有协同性,造成肿瘤 DNA 持久的损伤,提高了肿瘤化疗的敏感性。GRN163L 抑制端粒酶活性的同时也增加了肿瘤细胞的放化疗敏感性,从而抑制肿瘤的生长和转移^[18]。

5 GRN163L 联合放疗的研究

Gomez-Millan 等^[19]研究显示,人乳腺癌细胞 MDA-MB-231 在 GRN163L 长时间暴露后会使细胞增殖率降低。而 GRN163L 联合临床相应剂量(2Gy 和 4Gy)放射线长时间(42d)治疗,在 2Gy 时引起相加作用使细胞生存率从 36%降低到 4%,在 4Gy 时细胞生存率从 10%降低到 7%。Geron 公司公布数据显示,暴露在 GRN163L 中的乳腺癌细胞对放射线更敏感。在持续 80d 的实验中,所有用 GRN163L 加放射线治疗的大鼠均存活,与其他治疗组包括单独给予放疗的大鼠相比,加用 GRN163L 组肿瘤体积显著减小。该研究表明 GRN163L 和放疗之间具有协同效应。由此可见,经加用 GRN163L 的培养基长时间培养可使细胞增殖率降低,增加放疗疗效,明显抑制肿瘤生长。但是这方面的研究数量有限有待进一步完善。

6 总结和展望

端粒、端粒酶在肿瘤细胞的永生化和演进中起重要作用,绝大多数肿瘤细胞通过端粒酶来补偿细胞分裂时相染色体端粒的缩短,但也有少部分肿瘤存在 ALT(替代延长端粒)^[20],它允许细胞 DNA 重组逃避凋亡危机,提示我们 GRN163L 在这部分肿瘤的治疗可能无效。端粒酶抑制剂 GRN163L 单独应用时,需要一段治疗时间使端粒短到足以引发癌细胞死亡。传统的化疗方法不影响端粒长度,导致肿瘤产生耐药,并复发。当与传统的化疗、放疗或其他有针对性的治疗如血管生成抑制剂一起使用时抑制端粒酶活性会增强。GRN163L 如与传统的癌症疗法结合使用,可能导致更持久的 DNA 损伤反应,并减少疾病的复发。GRN163L 也可能被用作长期维持治疗的一种方法,延长患者的生存率,并减少副作用。GRN163L 的另一种潜在用途是作为化疗和放疗的增敏剂,使低剂量的化疗药物和放疗的有效利用。当前和正在进行的临床研究表明,以端粒酶抑制剂 GRN163L 为基础的疗法将成为未来癌症治疗方案的重要组成部分。随着人们对肿瘤分子机制的深入研究与发展,通过综合治疗,肿瘤治疗的疗效将上一个新的台阶。尽管端粒酶抑制作用为治疗人类癌症

提供了令人兴奋的可能性,但我们必须清楚认识到端粒酶抑制初始治疗与疗效显现之间存在一个延迟期,这使端粒酶抑制剂不可能产生快速抗增殖作用,而快速抗增殖是一种必需的前期治疗手段。当然端粒酶抑制剂可以在通过初始化疗、手术以及放疗将大块肿瘤清除后,作为与标准治疗相联合的一种辅助治疗应用于临床。

参考文献:

- [1] Buseman CM, Wright WE, Shay JW. Is telomerase a viable target in cancer[J]. *Mutat Res*, 2012, 730(1-2):90-97.
- [2] Wu QZ, Wu N, Huang ZS, et al. The research progress of the telomerase inhibitor GRN163L [J]. *Journal of Chinese New Drugs*, 2010, 19(16):1411-1414. [吴巧稚, 吴楠, 黄志纾, 等. 端粒酶抑制剂 GRN163L 研究进展[J]. *中国新药杂志*, 2010, 19(16):1411-1414.]
- [3] Herbert BS, Gellert GC, Hochreiter A, et al. Lipid modification of GRN163, an N3→P5 thiophosphoramidate oligonucleotide, enhances the potency of telomerase inhibition[J]. *Oncogene*, 2005, 24(33):5262-5268.
- [4] Li SH, Yu ZH. The research progress human telomerase RNA genes and cancer[J]. *Journal of Chinese Cancer Prevention and Treatment*, 2009, 16(12):955-958. [李淑慧, 余忠华. 人端粒酶 RNA 基因与肿瘤的相关研究进展[J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2009, 16(12):955-958.]
- [5] Ouellette MM, Wright WE, Shay JW. Targeting telomerase expressing cancer cells[J]. *J Cell Mol Med*, 2011, 15(7):1433-1442.
- [6] Wei X, Huang SJ. Telomerase and cancer treatment [J]. *Journal of International Pharmaceutical Research*, 2008, 35(5):381-383. [魏霞, 黄世杰. 端粒酶和癌症治疗[J]. *国际药学研究杂志*, 2008, 35(5):381-383.]
- [7] Amelia EH, Hong LX, Erin M, et al. Telomerase template antagonist GRN163L disrupts telomere maintenance, tumor growth, and metastasis of breast cancer[J]. *Clin Cancer Research*, 2006, 12(10):3184-3192.
- [8] Shamma MA, Koley H, Bertheau RC, et al. Telomerase inhibitor GRN163L inhibits myeloma cell growth in vitro and in vivo [J]. *Leukemia*, 2008, 22(7):1410-1418.
- [9] Joseph I, Tressler R, Bassett E, et al. The telomerase inhibitor imetelstat depletes cancer stem cells in breast and pancreatic cancer cell lines[J]. *Cancer Res*, 2010, 70(22):9494-9504.
- [10] Marian CO, Cho SK, McEllin BM, et al. The telomerase antagonist, imetelstat, efficiently targets tumor initiating cells leading to decreased proliferation and tumor growth [J]. *Clinical Cancer Research*, 2010, 16(1):154-163.
- [11] Sung FL, Poon TC, Hui EP, et al. Antitumor effect and enhancement of cytotoxic drug activity by cetuximab in nasopharyngeal carcinoma cells[J]. *In Vivo*, 2005, 19(1):237-245.
- [12] Hjelmeland AB, Rich JN. Molecular targeting of neural cancer stem cells: TTAGGG, you're it! [J]. *Clin Cancer Res*, 2011, 17(1):3-5.
- [13] Brower V. Telomerase based therapies emerging slowly[J]. *Natl Cancer Inst*, 2010, 102(8):520-521.
- [14] Buseman CM, Wright WE, Shay JW. Is telomerase a viable target in cancer? [J]. *Mutat Res*, 2012, 730(1-2):90-97.
- [15] Djojicubroto MW, Chin AC, Go N, et al. Telomerase antagonists GRN163 and GRN163L inhibit tumor growth and increase chemosensitivity of human Hepatoma [J]. *Hepatology*, 2005, 42(5):1127-1136.
- [16] Tamakawa RA, Fleisig HB, Wong JM. Telomerase inhibition potentiates the effects of genotoxic agents in breast and colorectal cancer cells in a cell cycle specific manner [J]. *Cancer Research*, 2010, 70(21):8684-8694.
- [17] Biroccio A, Porru M, Rizzo A, et al. DNA damage persistence as determinant of tumor sensitivity to the combination of TopoI inhibitors and telomere-targeting agents [J]. *Clin Cancer Res*, 2011, 17(8):2227-2236.
- [18] Kelland LR. Overcoming the immortality of tumour cells by telomere and telomerase based cancer therapeutics current status and future prospects[J]. *Eur J Cancer*, 2005, 41(7):971-979.
- [19] Gomez-Millan J, Goldblatt EM, Gryaznov SM, et al. Specific telomere dysfunction induced by GRN163L increases radiation sensitivity in breast cancer cells [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2007, 67(3): 897-905.
- [20] Fasching CL, Neumann AA, Muntoni A, et al. DNA damage induces alternative lengthening of telomeres (ALT)-associated promyelocytic Leukemia bodies that preferentially associate with linear telomeric DNA[J]. *Cancer Res*, 2007, 67(15):7072-7077.