

- [7] Tomasini R, Samir AA, Carrier A, et al. TP53INP1s and homeodomain-interacting protein kinase-2(HIPK2) are partners in regulating p53 activity[J]. J Biol Chem, 2003, 278(39): 37722-37729.
- [8] Dahia PL, FitzGerald MG, Zhang X, et al. A highly conserved processed PTEN pseudogene is located on chromosome band 9p21[J]. Oncogene, 1998, 16(18): 2403-2406.
- [9] Greco A, Pierotti MA, Bongarzone I, et al. TRK-T1 is a novel oncogene formed by the fusion of TPR and TRK genes in human papillary thyroid carcinomas[J]. Oncogene. 1992, 7(2): 237-242.
- [10] Hase ME, Cordes VC. Direct interaction with nup153 mediates binding of Tpr to the periphery of the nuclear pore complex[J]. Mol Biol Cell, 2003, 14(5): 1923-1940.
- [11] Krull S, Thyberg J, Björkroth B, et al. Nucleoporing as components of the nuclear pore complex core structure and Tpr as the architectural element of the nuclear basket[J]. Mol Biol Cells. 2004, 15(9): 4261-4277.
- [12] Tratner I, Ofir R, Verma IM. Alteration of a cyclic AMP-dependent protein kinase phosphorylation site in the c-FOS protein augments its transforming potential [J]. Mol Cell Biol. 1992, 12(3): 998-1006.
- [13] Liu G, Ding W, Liu X, et al. c-Fos is required for TGF-beta1 production and the associated paracrine migratory effects of human colon carcinoma cells[J]. Mol Carcinog, 2006, 45(8): 582-593.
- [14] Zhang J, Zhang L, Jiao H, et al. c-FOS facilitates the acquisition and extinction of cocaine-induced persistent changes [J]. J Neurosci, 2006, 26(51): 13287-13296.
- [15] Sasaki T, Kojima H, Kishimoto R, et al. Spatiotemporal regulation of c-FOS by ERK5 and the E3 ubiquitin ligase UBR1, and its biological role[J]. Mol Cell, 2006, 24(1): 63-75.
- (收稿日期: 2007-09-01)

聚腺苷二磷酸核糖聚合酶抑制剂的作用机制和应用前景

黄晓菲 曹建平

【摘要】聚腺苷二磷酸核糖聚合酶家族由众多调控细胞进程的酶组成,其参与人体内多种生理及病理生理过程。近些年,人们对此酶及其抑制剂进行了广泛的研究,其中侧重于聚腺苷二磷酸核糖聚合酶抑制剂在辐射增敏、化学药物增敏、神经保护等方面所发挥的作用。现已有聚腺苷二磷酸核糖聚合酶抑制剂进入临床药物试验,预示其具有良好的应用前景。

【关键词】辐射耐受性; 药物耐受性; 聚腺苷二磷酸核糖聚合酶抑制剂

The mechanism of action of poly (ADP-ribose) polymerases inhibitors and its application perspective

HUANG Xiao-fei, CAO Jian-ping

(Department of Radiation Biology, School of Radiation Medicine and Public Health, Soochow University, Suzhou 215123, China)

【Abstract】 Poly (ADP-ribose) polymerases (PARP) constitute a family of enzymes involved in the regulation of many cellular processes. It plays a vital role in many physical and physiopathological processes. In the past ten years scientists have conducted extensive research on PARP and its inhibitors, among which the role of PARP inhibitors in radiosensitization, chemopotential and neuroprotection have been placed close attention. There have been several PARP inhibitors entering the clinical trials, which predicts its sound application perspectives.

【Key words】 Raditolerance; Drug tolerance; Poly(ADP-ribose)polymerase inhibitor

聚腺苷二磷酸核糖聚合酶[poly (adenosine diphosphate-ribose) polymerase, PARP]是一类存在

作者单位: 215123, 苏州大学放射医学与公共卫生学院放射生物教研室

通讯作者: 曹建平(E-mail: jpciao@suda.edu.cn)

于所有哺乳动物细胞及大部分真核生物细胞中的蛋白翻译后修饰酶,可被断裂的DNA链激活,并利用烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(nicotinamide adenine dinucleotide, NAD⁺)把腺苷二磷酸核糖转移到蛋白

质的谷氨酸残基上,参与聚腺苷二磷酸核糖基化过程。很多生理过程都涉及 PARP,包括染色质降解、DNA 复制、DNA 修复、基因表达、细胞分裂和分化以及细胞凋亡,并在转录水平调控各种蛋白的表达。

大部分 PARP 抑制剂均与酶的烟酰胺结合区域相互作用,作为 NAD⁺ 的竞争性抑制剂而发挥作用,如 3-氨基苯甲酰胺及其结构类似物。在正常生理状态下,PARP 抑制剂会扰乱特定过程,可能造成不良反应。但在某些疾病状态下,PARP 抑制剂则与 NAD⁺ 竞争 PARP 的催化位点,具有临床治疗作用。

1 抑瘤作用

PARP 参与多种因素所导致的 DNA 损伤的修复,如促进转录因子、DNA 修复因子及信号转导因子等发生聚腺苷二磷酸核糖基化作用,也与缺口感受器,如 DNA 连接酶 III、X 射线修复交叉互补基因 1 及 DNA 修复效应器(如 DNA 多聚酶 β 和 DNA 连接酶 III)等相互作用。研究表明,PARP 作为肿瘤治疗靶点的可能性,人们可通过抑制 PARP 治疗癌症。Shiobara 等^[1]发现,肝癌细胞较正常肝组织细胞中的 PARP 活性显著增强,这提示一些针对 PARP 的抑制因子也许可以直接对肿瘤组织发挥毒性作用。2005 年, Bryant 等^[2]和 Farmer 等^[3]分别报道了单独使用 PARP 抑制剂对实验动物的乳腺肿瘤有显著抑制作用。而更多的研究则关注于 PARP 抑制因子对电离辐射或化学药物的增敏作用。

PARP 化学抑制剂可增加肿瘤细胞对 γ 射线及 X 射线的辐射敏感性^[4-7]。研究表明,抑制 PARP 可使处于细胞周期 S 及 G₂ 期的细胞对辐射的敏感性增强^[5,7]。还有报道显示,PARP 抑制剂和 DNA 依赖性蛋白激酶的联合应用对辐射诱导的 DNA 损伤有协同作用^[8]。PARP 剔除小鼠可以正常生长,但是它们对高剂量的 γ 辐射却具有极度敏感性。此发现提示,特异性抑制 PARP 不仅使细胞对辐射敏感,而且对非受照组织无毒性作用。PARP 缺失小鼠对遗传毒性制剂的反应也表现为基因组的不稳定性,其证据是微核(损伤的染色体碎片)及染色单体断裂的增多。无论是否染毒,无 PARP 基因的小鼠

姐妹染色单体交换出现的频率显著增加,比正常小鼠高 2~3 倍^[9]。

活体内临床前期的实验也得到了相关结论, Tentori 等^[10]报道,向患脑淋巴瘤的鼠大脑中注射 PARP 抑制剂 NU1025 可提高其存活率, Calabrese 等^[4]证实,腹膜内注射 PARP 抑制剂 AG14361 可减少结肠癌的皮下移植瘤,增加肿瘤细胞对替莫唑胺(一种多功能的广谱抗肿瘤甲基化剂,主要针对于脑部原发肿瘤及来源于恶性黑色素瘤的转移灶)诱导的抗增殖效应的敏感性。Miknyoczki 等^[11]研究表明,皮下注射 PARP 抑制剂 CEP-6800 可增强替莫唑胺对多形性恶性胶质瘤皮下异种移植物的疗效。人们还研究了 PARP 抑制剂对广谱抗肿瘤甲基化剂之外的其他种类化疗药物的增敏效果及机制,如选择性 N3 腺嘌呤甲基化剂 Me-Lex,其与 PARP 的联合应用可诱导明显的生长抑制效应,并伴随转录调节因子 c-Myc 蛋白的显著下调及 DNA 单链断裂的形成和凋亡,这是因为碱基切除修复介导的对甲基嘌呤修复过程的扰乱而产生的^[12]。临床前期体内试验证实,新近研发的一组 PARP 抑制剂可极大增强结肠癌异种移植瘤皮下模型中依立替康(进入临床试验的第一个喜树碱衍生物)的抗肿瘤活性,认为此作用可能源于拓扑异构酶 I 自身介导的链断裂再接合^[13]。以前的体内试验表明,烟酰胺与顺铂的联合应用可极大地增强顺铂抵抗性卵巢癌细胞株动物的存活率,而最近的研究指出,新型 PARP 抑制剂 AG14361 不会引起用于实验的任何卵巢癌细胞株对顺铂的敏感性^[14],所以有关此方面的问题还有待进一步的研究。

上述研究结果都预示着 PARP 抑制剂在抗肿瘤方面具有良好的应用前景,但若真正用于临床,还需要考虑的问题包括 PARP 抑制剂的给药方式(GPI 15427 是目前临床前实验模型中惟一可口服利用的 PARP 抑制剂)、与其他化疗药物的相互作用、长期服用的不良反应等问题。例如,3-氨基苯甲酰胺可引发显著的体温降低效应,但是其在无毒剂量下并不会增加抗癌药物的活性^[15]。

2 神经保护

研究发现,脑缺血、外伤性脑损伤及退行性疾病(如帕金森病)中产生的主要毒性物质如过氧亚硝

酸自由基与其他活性氧共同作用可致 DNA 链损伤,病理条件下大量 DNA 损伤可激活 PARP,继而造成细胞内 NAD^+ 的衰竭,一方面可降低细胞内谷胱甘肽水平,弱化细胞的抗氧化损伤能力,导致细胞凋亡;另一方面,利用烟酰胺再合成 NAD^+ 时需要消耗大量能量,最终因能量耗竭也导致细胞死亡。PARP 还发挥“死亡基底物”的作用, caspase-3 的活化可以将其裂解为大小不同的片段,使细胞发生凋亡。上述研究均表明,抑制 PARP 可以保护神经细胞。

已有很多实验证明了 PARP 基因缺失或施用 PARP 抑制剂对神经细胞具有保护作用。LaPlaca 等^[16]报道,使用新型强效 PARP 抑制剂 GPI 6150 可以明显改善创伤性脑损伤后的大脑功能。Weise 等^[17]在鼠视神经轴突切开后向其玻璃体内注入 3-氨基苯甲酰胺,观察到鼠视网膜神经节细胞的 PARP 活性被阻断,最终使存活的视网膜神经节细胞数目明显增多。

由于多种神经受损的细胞中会释放大量谷氨酸,继而激活天冬氨酸受体,提高细胞内 Ca^{2+} 水平,紧接着又刺激一氧化氮合酶的表达,增加的一氧化氮与过氧化物反应引发损伤,所以治疗此类疾病时也可以利用一氧化氮合酶及谷氨酸的抑制剂,但实验验证 PARP 抑制剂胜于上述二者的效果,其原因可能是 PARP 抑制剂通过多种渠道减弱细胞的凋亡,而一氧化氮合酶及谷氨酸仅针对单一的路径发挥作用^[18,19]。还应该指出的是,实验证明,PARP 抑制剂的效力还随着浓度的改变而变化:浓度过低则抑制力太弱,不能充分阻止 caspase 诱导的凋亡过程;浓度过高则过度抑制 PARP 活性及 DNA 的修复^[19]。

3 对心血管疾病的治疗作用

PARP 抑制剂或 PARP 基因缺失在众多急性心血管疾病中表现出显著的治疗效应。例如,对局部缺血心肌的兔再灌注前施加 PARP 抑制剂 3-氨基苯甲酰胺,发现梗死面积、心脏髓性过氧化物酶均减少,血浆肌酸激酶活性下降,代谢状况也得到了改善^[20]。Pacher 等^[21]于 2002 年建立了阿霉素或慢性缺血等因素诱导的心脏受损伤小鼠模型,观察到

PARP^{-/-}表型及施以 PARP 抑制剂的动物的心脏收缩功能得到明显改善。目前多数实验侧重于研究由冠状动脉缺血-再灌注引起的心肌损伤中 PARP 所发挥的作用,但已有实验证实 PARP 活化同样出现在心肌疾病中:通过比较链脲菌素诱导的糖尿病小鼠组和未患糖尿病小鼠组,可看到前者的心肌收缩能力显著下降并伴随心肌细胞的聚腺苷二磷酸核糖基化能力明显增加;在给予前者 PARP 抑制剂后,其异常的心肌收缩功能得到了有效的恢复^[22]。

4 对其他疾病的治疗作用

PARP 对蛋白质表达的调节机制中较为明确的是涉及到炎性介质,如一氧化氮合酶、胞内粘连分子 1、主要组织相容性复合物等。PARP 也调节几种转录相关因子的功能,如核因子 κB 。核因子 κB 能够促进多种细胞因子、黏附分子和趋化因子的基因转录,是调控炎症反应的重要转录因子,与炎症疾病密切相关。这也提示了 PARP 在炎症反应中的作用。

目前更多学者开始关注 PARP 在乙型肝炎、糖尿病、人免疫缺陷病毒等疾病中所起的作用。PARP 主要在基因整合及转录水平上调节人免疫缺陷病毒的感染,因此抑制 PARP 可通过阻止人免疫缺陷病毒 DNA 在宿主细胞中的整合而达到治疗效果。糖尿病患者长期较高的血糖水平可通过氧化介质及诱导型一氧化氮合酶的大量释放,产生过氧化物,继而导致 DNA 链损伤,PARP 活化,进一步引起一系列病理过程。由此可见,抑制 PARP 可治疗糖尿病^[23]。

有关 PARP 及其抑制剂的研究已历经十多年,但相关药物的研发上市似乎与其他种类的药物相比显得滞后,其中遇到并急需解决的问题可归纳为:长期服药的安全性问题,药物摄入的利用率和药物代谢动力学方面的问题,停药后是否有反弹作用或不利影响问题,与其他治疗措施间是否有潜在交叉影响问题,以及治疗后的风险或收益问题等。这些问题的解决必定依赖于更深入的临床前期实验,需要搜集更多的临床相关数据,因此 PARP 抑制剂作为临床药物真正面市仍将面临重大挑战,但有理由相信,PARP 抑制剂有望成为治疗危及生命的重大

疾病的新选择。

参 考 文 献

- [1] Shiobara M, Miyazaki M, Ito H, et al. Enhanced polyadenosine diphosphate-ribosylation in cirrhotic liver and carcinoma tissues in patients with hepatocellular carcinoma[J]. J Gastroenterol Hepatol, 2001, 16(3): 338-344.
- [2] Bryant HE, Schultz N, Thomas HD, et al. Specific killing of BRCA2-deficient tumours with inhibitors of poly (ADP-ribose) polymerase [J]. Nature, 2005, 434(7035): 913-917.
- [3] Farmer H, McCabe N, Lord CJ, et al. Targeting the DNA repair defect in BRCA mutant cells as a therapeutic strategy[J]. Nature, 2005, 434(7035): 917-921.
- [4] Calabrese CR, Almasy R, Barton S, et al. Anticancer chemosensitization and radiosensitization by the novel poly (ADP-ribose) polymerase-1 inhibitor AG14361[J]. J Natl Cancer Inst, 2004, 96(1): 56-67.
- [5] Chalmers A, Johnston P, Woodcock M, et al. PARP-1, PARP-2, and the cellular response to low doses of ionizing radiation [J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2004, 58(2): 410-419.
- [6] Brock WA, Milas L, Bergh S, et al. Radiosensitization of human and rodent celllines by INO-1001, a novel inhibitor of poly(ADP-ribose) polymerase [J]. Cancer Lett, 2004, 205(2): 155-160.
- [7] Noël G, Godon C, Fernet M, et al. Radiosensitization by the poly (ADP-ribose)polymerase inhibitor 4-amino-1, 8-naphthalimide is specific of the S phase of the cell cycle and involves arrest of DNA synthesis[J]. Mol Cancer Ther, 2006, 5(3): 564-574.
- [8] Veuger SJ, Curtin NJ, Richardson CJ, et al. Radiosensitization and DNA repair inhibition by the combined use of novel inhibitors of DNA-dependent protein kinase and poly(ADP-ribose)polymerase-1[J]. Cancer Res, 2003, 63(18): 6008-6015.
- [9] Caria H, Quintas A, Chaveca T, et al. The role of poly(ADP-ribose) polymerase in the induction of sister chromatid exchanges and micronuclei by mitomycin C in Down's syndrome cells as compared to euploid cells[J]. Mutat Res, 1997, 377(2): 269-277.
- [10] Tentori L, Leonetti C, Scarsella M, et al. Combined treatment with temozolomide and poly(ADP-ribose)polymerase inhibitor enhances survival of mice bearing hematological malignancy at the CNS site [J]. Blood, 2002, 99(6): 2241-2244.
- [11] Miknyoczki SJ, Jones-Bolin S, Pritchard S, et al. Chemopotentiation of temozolomide, irinotecan, and cisplatin activity by CEP-6800, a poly(ADP-ribose) polymerase inhibitor[J]. Mol Cancer Ther, 2003, 2(4): 371-382.
- [12] Tentori L, Balduzzi A, Portarena I, et al. Poly (ADP-ribose) polymerase inhibitor increases apoptosis and reduces necrosis induced by a DNA minor groove binding methyl sulfonate ester[J]. Cell Death Differ, 2001, 8(8): 817-828.
- [13] Calabrese CR, Batey MA, Thomas HD, et al. Identification of potent nontoxic poly(ADP-Ribose)polymerase-1 inhibitors: chemopotentiation and pharmacological studies[J]. Clin Cancer Res, 2003, 9(7): 2711-2718.
- [14] Curtin NJ, Wang LZ, Yiakouvakis A, et al. Novel poly(ADP-ribose) polymerase-1 inhibitor, AG14361, restores sensitivity to temozolomide in mismatch repair-deficient cells[J]. Clin Cancer Res, 2004, 10(3): 881-889.
- [15] Griffin RJ, Curtin NJ, Newell DR, et al. The role of inhibitors of poly (ADP-ribose) polymerase as resistance-modifying agents in cancer therapy[J]. Biochimie, 1995, 77(6): 408-422.
- [16] LaPlaca MC, Zhang J, Raghupathi R, et al. Pharmacologic inhibition of poly(ADP-ribose)polymerase is neuroprotective following traumatic brain injury in rats [J]. J Neurotrauma, 2001, 18(4): 369-376.
- [17] Weise J, Isenmann S, Bähr M. Increased expression and activation of poly (ADP-ribose)polymerase (PARP) contribute to retinal ganglion cell death following rat optic nerve transection [J]. Cell Death Differ, 2001, 8(8): 801-807.
- [18] Szabó C, Dawson VL. Role of poly (ADP-Ribose)synthetase in inflammation and ischaemia-reperfusion [J]. Trends Pharmacol Sci, 1998, 19(7): 287-298.
- [19] Plashcke K, Kopitz J, Weigand MA, et al. The neuroprotective effect of cerebral poly (ADP-ribose) polymerase inhibition in a rat model global ischemia. Neurosci Lett, 2000, 284(1-2): 109-112.
- [20] Zingarelli B, Cuzzocrea S, Zsengeller Z, et al. Protection against myocardial ischemia and reperfusion injury by 3-aminobenzamide, an inhibitor of poly (ADP-ribose) synthetase [J]. Cardiovasc Res, 1997, 36(2): 205-215.
- [21] Pacher P, Liaudet L, Mabley J, et al. Pharmacologic inhibition of poly (adenosine diphosphate-ribose)polymerase may represent a novel therapeutic approach in chronic heart failure [J]. J Am Coll Cardiol, 2002, 40(5): 1006-1016.
- [22] Pacher P, Liaudet L, Soriano FG, et al. The role of poly (ADP-ribose)polymerase activation in the development of myocardial and endothelial dysfunction in diabetes [J]. Diabetes, 2002, 51(2): 514-521.
- [23] Virag L, Szabo C. The therapeutic potential of poly (ADP-ribose) polymerase inhibitors[J]. Pharmacol Rev, 2002, 54(3): 375-429.

(收稿日期: 2007-07-09)