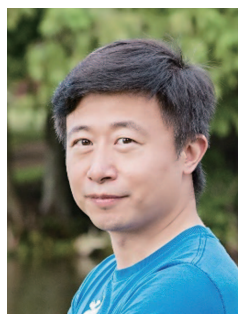


特约综述



赵蔚, 中山大学中山医学院干细胞与组织工程中心教授, 国家“青年千人计划”获得者。2009年在南京大学获博士学位, 博士毕业后在美国贝勒医学院细胞与基因治疗中心从事博士后研究, 2011年来到康奈尔大学威尔医学院附属卫理公会医院从事助理研究员工作, 2015年通过中山大学“百人计划”和国家“青年千人计划”引进到中山大学。赵蔚教授主要从事诱导多能干细胞(iPS细胞)和肿瘤细胞表观遗传分子机制研究。目前的研究方向包括: (1) iPS细胞定向分化的表观遗传分子机制研究; (2) 肿瘤细胞去分化的表观遗传分子机制研究; (3) 表观遗传药物对干细胞和肿瘤细胞命运决定的调控作用。研究成果发表在*Cell*、*Leukemia*等刊物上。

<http://zssom.sysu.edu.cn/Teacher/TeacherInfoc965.html?level=1&typeid=0f296673-c1b3-4292-8e07-5925c1f9061d&tid=036b076a-61fd-4894-bf08-bf61bfa880ee>

表观遗传药物在肿瘤治疗中的应用

陈德林 蒋坤泰 贺宁 赵蔚*

(中山大学中山医学院, 干细胞与组织工程教育部重点实验室, 广州 510080)

摘要 表观遗传调控基因的突变在许多肿瘤中都被发现, 所造成后果主要体现在DNA启动子高甲基化、DNA广泛低甲基化、组蛋白和其相关修饰改变和染色质结构异常四个方面。使用表观遗传药物, 如DNA甲基化酶抑制剂、组蛋白修饰酶抑制剂和其他表观遗传相关蛋白特异性的抑制剂, 已成为肿瘤治疗的一种新途径。目前, 表观遗传药物治疗在多种肿瘤中已取得明显的效果, 许多表观遗传药物处于临床试验, 部分已投入临床使用。因此, 该文对肿瘤中突变的表观遗传基因相关表观遗传药物治疗的研究进展以及目前存在的问题进行简要综述。

关键词 表观遗传药物; DNA甲基化; 组蛋白甲基化; 组蛋白去甲基化; BET抑制剂

Current Status of Epigenetic Drugs in Cancer Treatment

Chen Delin, Jiang Kuntai, He Ning, Zhao Wei*

(Key Laboratory of Stem Cells and Tissue Engineering Ministry of Education of China,
Zhongshan School of Medicine, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, China)

Abstract Mutations in epigenetic regulatory genes are common in human cancers. The change of epigenetic proteins will lead to at least four consequences: DNA promoter hypermethylation, genome-wide DNA hypomethylation, abnormal histone and histone modification, and abnormal chromatin structures. With the inhibitors of the abnormal epigenetic factors, such as DNA methylation enzymes, histone modification enzymes,

*通讯作者。Tel: 020-87334540, E-mail: zhaowei23@mail.sysu.edu.cn

*Corresponding author. Tel: +86-20-87334540, E-mail: zhaowei23@mail.sysu.edu.cn

网络出版时间: 2018-04-16 11:52:57

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20180416.1152.004.html>

therapeutic strategies are now being developed to target cancers with epigenetic gene mutations. So far, epigenetic drugs showed an encouraging curative effect in many tumors treatment. More epigenetic drugs are now being tested in several clinical trials. In this review, we present recent advances in epigenetic drug development and future directions in this area.

Keywords epigenetic drugs; DNMT; HMT; HDM; BET inhibitor

表观遗传学(epigenetics)主要研究基因的核苷酸序列不发生改变的情况下, 基因表达的可遗传的变化。遗传突变、表观遗传突变、生活方式和环境因素共同影响着人类的健康与疾病。编码表观遗传调控基因突变在肿瘤中是很常见的, 后果主要体现在DNA启动子高甲基化、DNA广泛低甲基化、组蛋白修饰改变和染色质结构异常四个方面。启动子高甲基化造成抑癌基因转录的抑制。而DNA广泛低甲基化导致基因组的不稳定性, 可能导致癌基因的异常激活。肿瘤中组蛋白修饰酶的突变, 包含组蛋白甲基化酶、去甲基化酶、乙酰化酶突变等, 也会造成基因表达异常从而决定肿瘤细胞表型。所有这些表观遗传变化会影响肿瘤细胞的生长、免疫逃逸、转移、异质性和耐药性等, 甚至部分可能直接导致了肿瘤的发生。针对表观遗传突变的治疗策略成为了新的肿瘤治疗方向, 多种表观遗传药物已经开始了临床试验。另外, 这种治疗策略还在神经、自身免疫、心血管疾病以及发育和衰老等方面也有很大应用前景^[1]。我们根据表观遗传药物靶点的不同, 从以下几个方面进行综述。

1 DNA甲基化酶抑制剂(DNA methyltransferase inhibitor, DNMTi)

DNA甲基化是最早发现的表观遗传修饰途径之一。DNA甲基化能引起染色质结构、DNA构象、DNA稳定性及DNA与蛋白质相互作用方式的改变, 从而调控基因表达。在DNA甲基转移酶(DNA methyl-transferase, DNMT)的催化下, DNA的CG两个核苷酸的胞嘧啶被选择性地添加甲基, 形成5-甲基胞嘧啶, 这常见于基因的5'-CG-3'序列^[2]。在白血病和肺癌、乳腺癌、胃癌和结肠直肠癌中, 由于DNMT的高表达造成了DNA启动子高甲基化水平。基因启动子高甲基化的后果是选择性地抑制了基因的转录过程, 最终导致低表达相应的蛋白, 其中也包括很多抑癌基因。通过使用DNMTi, 可以降低启动子甲基化水平, 重新激活被抑制的抑癌基因如*p15*、

p16、*Rb*等^[3]。

DNMTi有两种, 一种是核苷酸类似物, 结合到DNA上形成共价复合物, 复合物会促进DNMT的降解^[4]。阿扎胞苷(azacitidine)和地西他滨(decitabine)均为此类DNMTi, 已经进行过200多次的白血病、实体瘤相关的临床试验, 目前已被美国食品与药物管理局(The U.S. Food and Drug Administration, FDA)和欧洲药监局(The European Medicines Agency, EMA)批准用于治疗急性髓性白血病(acute myelogenous leukemia, AML)、慢性粒单核细胞白血病(chronic myelomonocytic leukemia, CMML)和骨髓增生异常综合征(myelodysplastic syndromes, MDS)^[5]。核苷酸类似物是具有细胞毒性的, 例如Zebularine, 其特点虽然是细胞毒性较小, 但是低剂量下疗效并不乐观, 因此其还没有进入临床试验阶段。还有很多核苷酸类似物DNMTi正在研发, 如5azaC、SGI-110、CP4200等。另一种就是非核苷酸类似物的DNMTi, 它能直接结合在DNMT起甲基化作用的区域^[6], 使酶无法发挥作用。这类药物在抗肿瘤方面的应用还处于研究阶段, 如普鲁卡因酰胺、SGI-1027、DC-05类似物和Quinazoline、Propiophenone、Pyrrolopyridine衍生物等^[7]。

值得注意的是, DNMTi降低甲基化重新激活基因的选择不具有特异性, 可能重新激活癌基因。核苷酸类似物DNMTi对正常的细胞存在一定的毒性, 可能干扰DNA合成, 诱发DNA损伤; 而非核苷酸类DNMTi虽然毒性小, 但临床试验中其药效和特异性未被广泛测试。因此, 目前的临床试验中DNMTi仅以小剂量作为致敏剂用于辅助放、化疗和免疫治疗^[8]。

2 组蛋白甲基转移酶抑制剂(histone methyltransferase inhibitor, HMTi)

组蛋白是真核生物染色质中的碱性蛋白质, 富含精氨酸和赖氨酸等碱性氨基酸。组蛋白甲基化修饰可发生在N-端末尾的精氨酸和赖氨酸, 由

多种组蛋白甲基化酶(histone methyltransferase, HMT)催化并可以被一次或多次甲基化,如赖氨酸可以发生单、双或三甲基化^[9]。HMT是一个很大的家族,有超过60种不同的酶,包含组蛋白赖氨酸甲基转移酶(histone-lysine methyltransferase, HKMT)和蛋白质精氨酸甲基转移酶(protein arginine N-methyltransferase, PRMT)。组蛋白异常的甲基化对转录的抑制和激活、DNA的复制和修复有着重要影响^[10]。与DNA甲基化不同,组蛋白甲基化的结局和其甲基化的位置与数量有着重要联系。比如, H3K4me3[即核小体中组蛋白H3的N末端第4位赖氨酸(K4)三甲基化修饰(me3),命名缩写下同]会增加染色质开放区,提高转录; H3K9me3则会压缩染色体; H3K36me3促进同源重组修复DNA,而H3K36me2则促进非同源重组修复DNA^[11]。

G9a[又称作常染色质组蛋白赖氨酸N-甲基转移酶2(euchromatic histone-lysine N-methyltransferase 2, EHMT2)]和G9a类似蛋白(G9a-like protein, GLP)是催化H3K9me1和H3K9me2的HKMT,与SUV39H1、SUV39H2和SETDB1共同组成催化H3K9的酶系。G9a和GLP在体内会形成复合物,这种复合物已经被证实能促进肿瘤细胞的生长,影响细胞周期和细胞代谢途径。G9a和GLP的抑制剂已经问世很久,比如底物竞争性BIX-01294和腺苷甲硫氨酸(S-adenosyl methionine, SAM)竞争性BIX-01338。BRD9539、BRD4770等新型G9a抑制剂目前已经合成,细胞毒性低,同时药效有了显著增强^[12]。

EZH2(enhancer of zeste homolog 2)能催化H3K27me3,促进异染色质的形成和抑制转录过程。EZH2在多种肿瘤(如胶质母细胞瘤、黑色素瘤、淋巴瘤、乳腺癌、前列腺癌、子宫内膜癌、膀胱癌、肝癌、肺癌和卵巢癌)中发现都有显著增高。目前学者认为,在癌症中,过量表达EZH2是肿瘤转移的生物标志之一,与不良预后正相关。EZH2抑制剂机理相似,如CPI-169能够抑制EZH2酶的活性,减少靶基因H3K27me3修饰,在不同的肿瘤细胞中形成细胞周期停滞和促进凋亡。目前,多个EZH2抑制剂用于临床试验中,例如,EPZ6438运用在B细胞和滤泡性淋巴瘤、间叶肿瘤、间皮瘤和晚期实体肿瘤治疗; GSK126运用在B细胞、滤泡和其他非霍奇金淋巴瘤、实体瘤和多发性骨髓瘤治疗中; CIP-1205运用在B细胞淋巴瘤中。

DOT1L(disruptor of telomeric silencing 1-like)是唯一的无SET域的HKMT,其突变存在于多种肿瘤中,在混合谱系白血病(mixed lineage leukemia, MLL)细胞生长和增殖中必不可少。在NSD2(nuclear receptor binding SET domain protein 2)发现之前, DOT1L被认为是唯一催化H3K79me2的酶。2014年, Kryczek等^[13]发现,使用DOT1L抑制剂EPZ00477能够抑制原发性结直肠癌细胞的生长。另一个DOT1L抑制剂EPZ5676在白血病和骨髓增生异常综合征的临床试验第一阶段已经完成^[14]。在MLL的研究中,单独使用EPZ5676并未取得效果,但是低剂量EPZ5676联用化疗药物在急性淋巴细胞白血病治疗中显现出抑制肿瘤细胞存活和促进肿瘤细胞凋亡的协同作用^[15]。

另外,还有很多药物针对不同的HKMTs(表1),目前,PRMT抑制剂的研究仍然处于临床试验前阶段。CARM1(coactivator-associated arginine methyltransferase 1)又称PRMT4催化H3R17me2和H3R26me2,在前列腺癌和乳腺癌进程中高表达,化合物TBBB和含有吡唑的派生物能够抑制CARM1活性^[16]。PRMT5催化H4R3me2和H3R8me2,还能修饰非组蛋白如p53、程序性细胞凋亡因子4(programmed cell death 4, PDCD4)等,在胃癌、肺癌、淋巴瘤中表达异常。Chan等^[17]运用其抑制剂GSK3235025在抑制淋巴瘤细胞增殖中取得成效。目前,改进的GSK3235025在实体瘤和非霍奇金淋巴瘤的研究,已进入临床试验(NCT02783300)剂量升级阶段。

3 组蛋白去甲基化酶抑制剂(histone demethylase inhibitor, HDMi)

人体内共有30多种组蛋白去甲基化酶(histone demethylases, HDMs),根据其活性区域的不同分为黄素腺嘌呤二核苷酸(flavin adenine dinucleotide, FAD)依赖的KDM1和 α -酮戊二酸(α -ketoglutaric acid, α -KG)依赖的JMJC(KDM2-8)家族。KDM1家族有各自对应的H3去甲基化区域,根据结合的蛋白不同, KDM1A(别名LSD1)能催化去甲基化H3K4me、H3K4me2或H3K9me。尽管有很多结合位点,但是目前运用在临床试验的药物只有四种: GSK2879552、反苯环丙胺(tranylcypromine)、INCB059872和ORY-1001,均作用于KDM1A。KDM1A过表达在卵巢

癌、肝癌、乳腺癌中均被发现, 预后较差, 与细胞周期相关基因上调有关。这些药物抑制KDM1A的作用是通过降低H3K4me2水平从而促进细胞分化基因的表达。在MLL-MLLT3融合型白血病中, 反苯环丙胺通过抑制KDM1A, 促进细胞凋亡和细胞分化; GSK2879552能有效抑制肺小细胞癌的生长。

KDM4A和KDM4B能将H3K9me2、H3K9me3、H3K36me2、H3K36me3去甲基化。Black等^[31]在分析8类1 700多个肿瘤组织样本后发现, 18.7%的肿瘤中KDM4A的基因拷贝异常扩增, 在前列腺癌、乳腺癌、结肠直肠癌、肺癌、胃癌、食道癌和肾癌等均有高表达现象, 特别是前列腺癌、乳腺癌中, KDM4A和KDM4B能刺激编码雌雄激素受体蛋白的基因表达, 对肿瘤的生长、增殖具有重要作用。目

前, KDM4A的抑制剂NSC636819正在开发中。另外, KDM5A(H3K4me3去甲基化酶)的抑制剂CHIP-455能防止肿瘤耐药性的出现^[33]。KDM6A和KDM6B(又名JMJD3)的抑制剂GSK-J4能增加H3K27me3的水平, 抑制神经胶质瘤细胞增殖和迁移, 促进细胞凋亡^[32](表2)。

4 组蛋白去乙酰化酶抑制剂(histone deacetylase inhibitor, HDACi)

正常的组蛋白乙酰化中和了组蛋白赖氨酸残基的正电荷, 使蛋白与负电荷DNA链之间的吸引力降低, DNA形成开放片段, 增加与转录因子的接触, 使DNA得以表达。组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylases, HDACs)的过度表达会使得基因表达

表1 组蛋白赖氨酸甲基转移酶与其抑制剂治疗肿瘤的进展状况

Table 1 The research progress of HKMTs and HMTi in cancer therapy

酶 Enzyme	修饰位点 Modification sites	抑制剂 Inhibitor	适应症 Indications	参考文献 References
SMYD2	H3K4me	BAY-598	Esophageal squamous cell carcinoma, bladder cancer, gastric cancer	[18]
Protein MLL	H3K4me2	LLY-507	Esophageal squamous cell carcinoma	[19]
		MM-401,	MLL	[20]
		MIV-6R	MLL	[21]
SUV39H1, SUV39H2	H3K9me3	Chaetocin	Myeloma, melanoma, non-small cell renal carcinoma	[22-25]
G9a	H3K9me2	A-366	Leukemia	[26]
		UNC0642,	Lung cancer	[27]
		UNC0638	AML	[28]
NSD1, NSD2	H3K36me2	In research		
DOT1L	H3K97me2	EPZ-5676	Lung cancer	[29]
		SGC0946	Glioblastoma	[30]

表2 组蛋白去甲基化酶与其抑制剂治疗肿瘤的进展状况

Table 2 The research progress of HDMs and HDMi in cancer therapy

酶 Enzyme	修饰位点 Modification sites	其抑制剂名称 Inhibitor	适应症 Indications	参考文献 References
KDM5A KDM5B	H3K4me3	CPI-455	Melanoma, non-small cell lung cancer	[33]
KDM1A	H3K4me1/2	GSK2879552	Hepatocellular carcinoma	[34]
	H3K9me1/2	Tranylcypromine	Acute myelogenous leukemia, oral cancers	[35-36]
KDM6A KDM6B	H3K27me2 H3K27me3	GSK-J4	Mammary cancer, pleural endotheliomas	[37-38]
KDM4A KDM4B	H3K9me3 H3K27me3	NSC636819	Prostatic cancer	[39]

能力受到抑制。目前学者认为, HDACi发挥作用途径是通过增加组蛋白的乙酰化, 从而重新激活抑癌基因 $p21$, 同时降低HDACs的水平(HDACs还能对非组蛋白去乙酰化, 使其失去正常功能, 如 $p53$ 、NF- κ B)。HDACs的过表达导致的异常低乙酰化在前列腺癌、胃、结肠直肠癌、宫颈癌和子宫内膜癌中均有发现。

HDACi有用于治疗皮肤T细胞瘤(cutaneous T cell lymphoma, CTCL)的伏立诺他(Vorinostat)、治疗外周T细胞瘤(peripheral T cell lymphoma, PLCL)的贝利司他(Belinostat)以及同时对CLCL和PLCL有效的罗米地辛(Romidepsin), 这3种药物已经被FDA通过, 并投入临床使用。另外, 有14种不同的HDACi在治疗血液和实体肿瘤的130多项临床试验中被运用。在恶性黑色素瘤的研究中, VPA、LBH589、LAQ824、vorinostat、SBHA、TSA等多种HDACi小分子, 能有效抑制黑色素瘤细胞的生长增殖水平, 提示HDACi有不错的研究前景^[40]。

目前, HDACi的详细机制并不清楚, 而且其对酶(HDACs被发现有18种)、对基因的重新激活的选择性也不明确。另外, 多项临床试验表明, 在实体瘤中, 单独使用HDACi效果并不明显。如今研究中主要与DNMTi一类重新激活基因的药物联合使用。

5 BET(bromodomain and extra-terminal) 抑制剂

组蛋白赖氨酸乙酰化的识别是HDAC参与表观遗传调控的关键步骤, 乙酰化的组蛋白赖氨酸可以被BRDs(bromodomains)结构域所特异性地识别。BET蛋白能够结合乙酰化组蛋白的残基, 介导了随后的RNA聚合酶II活性改变, 启动基因转录, 从而调节下游相关通路的功能, 比如染色质重构、转录调节等。BET是一个很大的家族, 包括BRD2、BRD3、BRD4和BRDT。首次发现BET蛋白的致癌性是在一种罕见的鳞状上皮细胞癌(NUT midline carcinoma)中, BRD3或BRD4基因易位结合NUTM1, 产生癌基因蛋白BRD3-NUT、BRD4-NUT, 癌基因蛋白通过上调 $c-Myc$ 基因的表达抑制上皮分化, 促进肿瘤细胞增生^[41]。目前, 在多种肿瘤(淋巴瘤、急性髓系白血病、多发性骨髓瘤、神经母细胞瘤、神经管细胞瘤、前列腺癌、乳腺癌、胰腺癌、卵巢和非小细胞肺癌)治疗中发现, 抑制BET都能够有效抑制癌细胞的生

长。

JQ1是BRD4的抑制剂, 它与BRD4-NUT发挥竞争性抑制的作用。Wu等^[42]发现, JQ1可以通过提高 $c-Myc$ 诱导的miR-1271-5p的表达提高化疗药物ABT-263对具有耐药性的结直肠癌的疗效。目前, TEN-010在AML和MDS治疗中处于临床试验阶段, 其机制与JQ1相类似。另两种BET抑制剂OTX015和cpi-0610已经被证明在晚期血液恶性肿瘤中是有效的。除此之外, 还有很多BET抑制剂处于试验阶段, 如GSK525762、MK-8628、ABBV-075、ZEN003694、BMS-986158和PLX51107等。

6 异柠檬酸脱氢酶抑制剂(isocitrate dehydrogenase inhibitor, IDHi)

异柠檬酸脱氢酶(isocitrate dehydrogenases, IDHs)有三种, IDH1(细胞质中)和IDH2(线粒体中)主要催化异柠檬酸生成 α -KG, IDH3(线粒体中)则参与三羧酸循环(tricarboxylic acid cycle, TAC)。IDH能催化异柠檬酸氧化脱羧生成 α -KG和 CO_2 , 反应脱下的氢由 NAD^+ 接受生成NADP。IDH突变会催化 α -KG生成一种致癌代谢物D-2-羟戊二酸(D-2HG), 结果是导致了DNA、组蛋白的过度甲基化和激活mTOR通路, 进而影响肿瘤的生长增殖、侵袭转移。IDH1(R132H)和IDH2(R140Q、R172K)的突变, 最初是在20%的AML和50%~80%的胶质瘤和其他实体瘤(包括软组织瘤和甲状腺瘤)患者中通过外显子组测序发现的。IDH抑制剂可以通过减少致癌代谢物的堆积, 诱导H3K9me3的去甲基化, 来达到治疗肿瘤的目的。

AGI-5198是首个被Agiros制药公司发现的IDH1/R132H突变型抑制剂^[43], 能够诱导组蛋白H3K9me3去甲基化, 同时诱导与胶质相关分化基因的表达。同为Agiros制药公司研发的AG-120作用靶点与AGI-5198相似, 用于治疗mIDH1肿瘤患者。一项AML的临床试验结果显示, 药物有效率为33%(21/63), AG-120目前处于II期临床试验阶段^[44]。AG-221是IDH2(R140Q/R172K)的口服抑制剂, 在IDH2突变阳性的晚期血液系统恶性肿瘤中表现良好。另一项AML的临床试验中, 在接受28天的AG-211治疗后, 158位受试者情况好转的超过40%, 其中16.5%(26/158)患者的骨髓细胞形态学和血小板、中性粒细胞计数恢复正常^[45]。AG-211现处于III期临

床研究, 已获FDA孤儿药和指定快速通道。AGI-6780^[46](抑制IDH2/R140Q)能够逆转DNA和组蛋白过度甲基化, 1期初步临床数据为7例AML患者中有6例客观应答, 3例完全缓解、另有2例完全缓解但是血小板没能完全恢复。AG-881则能同时抑制IDH1和IDH2, Agios官网宣称AG-881可以完全透过大脑屏障, 成为胶质瘤患者治疗的选择之一, 目前处于临床试验阶段。

7 MLL-fusion蛋白

基因*MLL*编码的蛋白具有酶的功能, 可催化HDAC和H3K4的甲基化, 同时还能促进*Hox*、*Meis-1*等基因的表达^[47]。目前已发现的MLL蛋白有1~5五种亚型, 研究最多的是MLL1。单独的MLL1催化H3K4me3作用并不强, 但它与WDR5、ASH2L等形成复合物后则具有很强的催化能力, 因此, 抑制它与WDR5的相互作用是一种抑制甲基化的有效方式。

在75%的婴儿和5%~10%的儿童和成人的急性白血病中, 第11号染色体上会出现基因重排、易位等情况, 从而形成MLL-fusion基因^[48], 预后很差, 死亡率很高。MLL-fusion基因编码的是一个类似于组装平台的蛋白, 招募其他蛋白形成蛋白复合体来发挥功能。MLL-fusion蛋白没有SET功能域, 目前并没有靶向于它的抑制剂^[49]。Menin蛋白是介导MLL-fusion蛋白调控靶基因的关键蛋白, 并能作为癌基因辅助因子参与上调特定基因的转录, 促进MLL的发生。王少萌研究组^[50]设计的MCP-1能有效地结合Menin从而阻断MLL1与Menin的相互作用。MLL-fusion蛋白不具有甲基转移酶的功能, 它们促进*Hox*和*Meis-1*等基因表达的共同机制之一是利用融合蛋白招募另一种甲基转移酶DOT1L, 因此, DOT1L的抑制剂对阻断MLL融合蛋白发挥功能有一定效果。因为融合蛋白的特性, 在治疗的过程中, 只能通过抑制其结合的蛋白质和相应蛋白下游相关通路来抑制它的功能, 从而达到治疗目的。

8 结语

特异性是限制表观遗传药物用于肿瘤临床治疗的最大困难之一。首先, 突变的表观遗传因子并不只单一修饰某个基因、某段DNA、组蛋白和染色质, 所造成的结果可能是一对一, 也可能是一对多。其次, 在用药物治疗的时候, 也同样存在这样的问

题, 比如DNMTi的作用甚广, 并不具有特异性。当运用DNMTi重新激活被抑制的抑癌基因的同时, 也存在高表达癌基因的风险。另外, 在不同组织细胞肿瘤, 在肿瘤进展的时期, 突变也是在不断变化中。个体因素是否对表观遗传药效有影响还需进一步研究。如何解决高剂量依赖和提高药效也是需要突破的难点。

虽然尚有很多问题难以解决, 但是相较于传统药物治疗, 表观遗传治疗显现出一定的新优势。表观遗传改变在肿瘤免疫中起着重要作用^[51], 肿瘤抗原由于抗原基因的启动子高度甲基化导致表达量减少, 抗原呈递细胞(antigen presenting cell, APC)无法识别, 从而造成免疫逃逸。在早期的临床试验中发现一些表观遗传药物(比如DNMTi)能够有效刺激组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC)的表达, 增强效应T细胞对肿瘤的杀伤作用。因此在免疫治疗中, 联用表观遗传药物能够达到提高疗效的目的。另一方面, 治疗肿瘤时, 传统抗癌药物所存在的耐药性一直是难以解决的问题。耐药的癌细胞中表现出高度的染色质抑制和KDM5A的高水平表达, 运用表观遗传药物(HDAC或KDM5A抑制剂)可以抑制耐药性的产生, 增强药效。同时, 表观遗传药物能直接作用于已产生耐药性的癌细胞, 抑制或杀死细胞。我们推测, 更多的表观遗传药物在未来几年会被批准上市, 这类新兴的药物势必为肿瘤治疗注入新的活力。

参考文献 (References)

- 1 Arrowsmith CH, Bountra C, Fish PV, Lee K, Schapira M. Epigenetic protein families: a new frontier for drug discovery. *Nat Rev Drug Discov* 2012; 11(5): 384-400.
- 2 Menezo YJ, Silvestris E, Dale B, Elder K. Oxidative stress and alterations in DNA methylation: two sides of the same coin in reproduction. *Reprod Biomed Online* 2016; 33(6): 668-83.
- 3 Rondelet G, Wouters J. Human DNA (cytosine-5)-methyltransferases: a functional and structural perspective for epigenetic cancer therapy. *Biochimie* 2017; 139: 137-47.
- 4 Ghoshal K, Datta J, Majumder S, Bai S, Kutay H, Motiwala T, et al. 5-aza-deoxycytidine induces selective degradation of DNA methyltransferase 1 by a proteasomal pathway that requires the KEN box, bromo-adjacent homology domain, and nuclear localization signal. *Mol Cell Biol* 2005; 25(11): 4727-41.
- 5 Erdmann A, Halby L, Fahy J, Arimondo PB. Targeting DNA methylation with small molecules: what's next? *J Med Chem* 2015; 58(6): 2569-83.
- 6 Brueckner B, Garcia BR, Siedlecki P, Musch T, Kliem HC. Epigenetic reactivation of tumor suppressor genes by a novel

- small-molecule inhibitor of human DNA methyltransferases. *Cancer Res* 2005; 65: 6305-11.
- 7 Pechalrieu D, Etievant C, Arimondo PB. DNA methyltransferase inhibitors in cancer: From pharmacology to translational studies. *Biochem Pharmacol* 2017; 129: 1-13.
 - 8 Juergens RA, Wrangle J, Vendetti FP, Murphy SC, Zhao M, Coleman B, *et al.* Combination epigenetic therapy has efficacy in patients with refractory advanced non-small cell lung cancer lung cancer. *Cancer Discov* 2011; 1(7): 598-607.
 - 9 Berger SL. The complex language of chromatin regulation during transcription. *Nature* 2007; 447(7143): 407-12.
 - 10 Michalak EM, Visvader JE. Dysregulation of histone methyltransferases in breast cancer-opportunities for new targeted therapies? *Mol Oncol* 2016; 10(10): 1497-515.
 - 11 Pfister S, Ahrabi S, Zalmas LP, Sarkar S, Aymard F. SETD2-dependent histone H3K36 trimethylation is required for homologous recombination repair and genome stability. *Cell Rep* 2014; 7(6): 2006-18.
 - 12 Yuan Y, Wang Q, Paulk J, Kubicek S, Kemp MM, Adams DJ, *et al.* A small-molecule probe of the histone methyltransferase G9a induces cellular senescence in pancreatic adenocarcinoma. *Acs Chem Biol* 2012; 7(7): 1152-7.
 - 13 Kryczek I, Lin Y, Nagarsheth N, Peng D, Zhao L, Zhao E, *et al.* IL-22⁺CD4⁺ T cells promote colorectal cancer stemness via STAT3 transcription factor activation and induction of the methyltransferase DOT1L. *Immunity* 2014; 40(5): 772-84.
 - 14 Spurr SS, Bayle ED, Yu W, Li F, Tempel W, Vedadi M, *et al.* New small molecule inhibitors of histone methyl transferase DOT1L with a nitrile as a non-traditional replacement for heavy halogen atoms. *Bioorg Med Chem Lett* 2016; 26(18): 4518-22.
 - 15 李丽红, 王 晶, 克晓燕. 一种新型的DOT1L抑制剂EPZ-5676的作用机制及其研究进展. *中国实验血液学杂志*(Li Lihong, Wang Jing, Ke Xiaoyan. Mechanism of a new DOT1L inhibitor EPZ-5676 and its research progress. *Journal of Experimental Hematology*) 2016; 24(6): 1909-12.
 - 16 Selvi BR, Batta K, Kishore AH, Mantelingu K, Varier RA, Balasubramanyam K, *et al.* Identification of a novel inhibitor of coactivator-associated arginine methyltransferase 1 (CARM1)-mediated methylation of histone H3 Arg-17. *J Biol Chem* 2010; 285(10): 7143-52.
 - 17 Chan-Penebre E, Kuplast KG, Majer CR, Boriack-Sjodin PA, Wigle TJ, Johnston LD, *et al.* A selective inhibitor of PRMT5 with *in vivo* and *in vitro* potency in MCL models. *Nat Chem Biol* 2015; 11(6): 432-7.
 - 18 Eggert E, Hillig RC, Koehr S, Stöckigt D, Weiske J, Barak N, *et al.* Discovery and characterization of a highly potent and selective aminopyrazoline-based *in vivo* probe (BAY-598) for the protein lysine methyltransferase SMYD2. *J Med Chem* 2016; 59(10): 4578-600.
 - 19 Nguyen H, Allali-Hassani A, Antonysamy S, Chang S, Chen LH, Curtis C, *et al.* LLY-507, a cell-active, potent, and selective inhibitor of protein-lysine methyltransferase SMYD2. *J Biol Chem* 2015; 290(22): 13641-53.
 - 20 Karatas H, Li Y, Liu L, Ji J, Lee S, Chen Y, *et al.* Discovery of a highly potent, cell-permeable macrocyclic peptidomimetic (MM-589) targeting the WD repeat domain 5 protein (WDR5)-mixed lineage leukemia (MLL) protein-protein interaction. *J Med Chem* 2017; 60(12): 4818-39.
 - 21 He S, Senter TJ, Pollock J, Han C, Upadhyay SK, Purohit T, *et al.* High-affinity small-molecule inhibitors of the menin-mixed lineage leukemia (MLL) interaction closely mimic a natural protein-protein interaction. *J Med Chem* 2014; 57(4): 1543-56.
 - 22 Vo MC, Nguyen-Pham TN, Lee HJ, Jung SH, Choi NR. Chaetocin enhances dendritic cell function via the induction of heat shock protein and cancer testis antigens in myeloma cells. *Oncotarget* 2017; 8: 46047-56.
 - 23 Liu X, Guo S, Liu X, Su L. Chaetocin induces endoplasmic reticulum stress response and leads to death receptor 5-dependent apoptosis in human non-small cell lung cancer cells. *Aoiotosis* 2015; 20(11): 1499-507.
 - 24 Rombo R, Weiher H, Schmidt-Wolf I. Effect of chaetocin on renal cell carcinoma cells and cytokine-induced killer cells. *Ger Med Sci* 2016; doi: 10.3205/000231.
 - 25 Han X, Han Y, Zheng Y, Sun Q, Ma T, Zhang J, *et al.* Chaetocin induces apoptosis in human melanoma cells through the generation of reactive oxygen species and the intrinsic mitochondrial pathway, and exerts its anti-tumor activity *in vivo*. *PLoS One* 2017; 12(4): e175950.
 - 26 Pappano WN, Guo J, He Y, Ferguson D, Jagadeeswaran S, Osterling DJ, *et al.* The histone methyltransferase inhibitor A-366 uncovers a role for G9a/GLP in the epigenetics of leukemia. *PLoS One* 2015; 10(7): e131716.
 - 27 Cheng C, Chang J, Huang SC, Lin H, Ho A, Lim K, *et al.* YM155 as an inhibitor of cancer stemness simultaneously inhibits autophosphorylation of epidermal growth factor receptor and G9a-mediated stemness in lung cancer cells. *PLoS One* 2017; 12(8): e182149.
 - 28 Lai Y, Chen J, Tsai H, Chen T, Hung W. The SUV39H1 inhibitor chaetocin induces differentiation and shows synergistic cytotoxicity with other epigenetic drugs in acute myeloid leukemia cells. *Blood Cancer J* 2015; 5(5): e313.
 - 29 Evanno E, Godet J, Piccirilli N, Guilhot J, Milin S. Tri-methylation of H3K79 is decreased in TGF- β 1-induced epithelial-to-mesenchymal transition in lung cancer. *Clin Epigenetics* 2017; doi: 10.1186/s13148-017-0380-0.
 - 30 Wong M, Tee AE, Milazzo G, Bell JL, Poulos RC, Atmadibrata B. The histone methyltransferase DOT1L promotes neuroblastoma by regulating gene transcription. *Cancer Res* 2017; 77(9): 2522-33.
 - 31 Black JC, Manning AL, Van Rechem C, Kim J, Ladd B, Cho J, *et al.* H3K9/36me3 demethylase KDM4A promotes site-specific copy gain and re-replication of regions amplified in tumors. *Cell* 2013; 154(3): 541-55.
 - 32 Sui A, Xu Y, Li Y, Hu Q, Wang Z. The pharmacological role of histone demethylase JMJD3 inhibitor GSK-J4 on glioma cells. *Oncotarget* 2017; 8(40): 68591-98.
 - 33 Vinogradova M, Gehling VS, Gustafson A, Arora S, Tindell CA. An inhibitor of KDM5 demethylases reduces survival of drug-tolerant cancer cells. *Nat Chem Biol* 2016; 12(7): 531-8.
 - 34 Huang M, Chen C, Geng J, Han D, Wang T, Xie T, *et al.* Targeting KDM1A attenuates Wnt/ β -catenin signaling pathway to eliminate sorafenib-resistant stem-like cells in hepatocellular carcinoma. *Cancer Lett* 2017; 398: 12-21.
 - 35 Przespolewski A, Wang ES. Inhibitors of LSD1 as a potential

- therapy for acute myeloid leukemia. *Expert Opin Investig Drugs* 2016; 25(7): 771-80.
- 36 Wang Y, Zhu Y, Wang Q, Hu H, Li Z. The histone demethylase LSD1 is a novel oncogene and therapeutic target in oral cancer. *Cancer Lett* 2016; 374(1): 12-21.
- 37 Taube JH, Sphyris N, Johnson KS, Reisenauer KN, Nesbit TA, Joseph R, *et al.* The H3K27me3-demethylase KDM6A is suppressed in breast cancer stem-like cells, and enables the resolution of bivalency during the mesenchymal-epithelial transition. *Oncotarget* 2017; 8(39): 65548-65.
- 38 Cregan S, Breslin M, Roche G, Wennstedt S, MacDonagh L, Albadri C, *et al.* Kdm6a and Kdm6b: Altered expression in malignant pleural mesothelioma. *Int J Oncol* 2017; 50(3): 1044-52.
- 39 Chu C, Wang L, Hsu K, Chen C, Cheng H, Wang S, *et al.* KDM4B as a target for prostate cancer: structural analysis and selective inhibition by a novel inhibitor. *J Med Chem* 2014; 57(14): 5975-85.
- 40 Garmpis N, Damaskos C, Garmpi A, Dimitroulis D, Spartalis E, Margonis GA, *et al.* Targeting histone deacetylases in malignant melanoma: a future therapeutic agent or just great expectations? *Anticancer Res* 2017; 37(10): 5355-62.
- 41 French CA, Miyoshi I, Kubonishi I, Grier HE, Perez-Atayde AR, Fletcher JA. BRD4-NUT fusion oncogene: a novel mechanism in aggressive carcinoma. *Cancer Res* 2003; 63(2): 304-7.
- 42 Wu Z, Hu Z, Han X, Li Z, Zhu Q, Wang Y, *et al.* The BET-bromodomain inhibitor JQ1 synergized ABT-263 against colorectal cancer cells through suppressing c-Myc-induced miR-1271-5p expression. *Biomed Pharmacother* 2017; 95: 1574-79.
- 43 Popovici-Muller J, Saunders JO, Salituro FG, Travins JM, Yan S, Zhao F, *et al.* Discovery of the first potent inhibitors of mutant IDH1 that lower tumor 2-HG *in vivo*. *Acs Med Chem Lett* 2012; 3(10): 850-5.
- 44 Caino MC, Altieri DC. Molecular pathways: mitochondrial reprogramming in tumor progression and therapy. *Clin Cancer Res* 2016; 22(3): 540-5.
- 45 Stein EM. IDH2 inhibition in AML: finally progress? *Best Pract Res Clin Haematol* 2015; 28(2/3): 112-5.
- 46 Kernysky A, Wang F, Hansen E, Schalm S, Straley K. IDH2 mutation-induced histone and DNA hypermethylation is progressively reversed by small-molecule inhibition. *Blood* 2015; 125(125): 296-303.
- 47 Kouzarides T. Chromatin modifications and their function. *Cell* 2007; 128(4): 693-705.
- 48 Winters AC, Bernt KM. MLL-rearranged leukemias—an update on science and clinical approaches. *Front Pediatr* 2017; doi: 10.3389/fped.2017.00004.
- 49 Steinhilber D, Marschalek R. How to effectively treat acute leukemia patients bearing MLL-rearrangements? *Biochem Pharmacol* 2018; 147: 183-90.
- 50 Zhou H, Liu L, Huang J, Bernard D, Karatas H, Navarro A, *et al.* Structure-based design of high-affinity macrocyclic peptidomimetics to block the menin-mixed lineage leukemia 1 (MLL1) protein-protein interaction. *J Med Chem* 2013; 56(3): 1113-23.
- 51 Dunn J, Rao S. Epigenetics and immunotherapy: the current state of play. *Mol Immunol* 2017; 87: 227-39.