



杨大俊, 肿瘤遗传学博士, 苏州亚盛药业有限公司董事长, 兼任中山大学肿瘤防治中心教授及博导、中国药科大学产业教授、中国药促会研发专委会副主任委员等职。于2009年共同创办苏州亚盛药业有限公司, 并在细胞凋亡及自噬双通道调节新靶点药物开发领域内取得重大突破, 成功将9种具有全球范围内“First-in-class”或“Best-in-class”类潜力原创新药推进到中国、美国、澳大利亚三地临床开发阶段。先后承担国家“863”专项、重大新药创制专项等重大科研攻关项目近10项。课题组近五年来获得了国家自然科学基金、广东省重大新药创制重大科技专项基金以及广州市健康医疗协同创新重大专项基金等支持, 在*Theranostics*、*J Exp Clin Canc Res*等国际知名SCI杂志发表论文10余篇, 先后发表学术论文及摘要100多篇, 有20多项国内外发明专利。2022年原创并推动中国首个携T315I突变耐药慢粒白血病用药(奥雷巴替尼·耐立克入选国内十大新药)上市, 填补治疗空白。研究方向: 肿瘤学、细胞凋亡机理与新药研发。



邱妙珍, 中山大学肿瘤防治中心内科主任医师、主诊教授、华南恶性肿瘤防治全国重点实验室PI, 博士生导师。美国约翰霍普金斯大学博士后。国家高层次青年人才, 广东省自然科学杰出青年基金获得者, 入选2024全球前2%顶尖科学家“年度科学影响力排行榜”, 获人民好医生(胃癌领域)金山茶花杰出贡献奖以及ESMO Merit Award。荣获国家科技进步二等奖和省部级科技进步一等奖等奖励5项, 主持科技重大专项子课题、国家自然科学基金面上等科研基金10余项, 在*BMJ*、*JAMA Oncol*、*Signal Transduct Target Ther*等杂志发表第一/通信作者SCI论文80余篇, H指数为45。CSCO胃癌专家委员会委员、CSCO胃癌指南撰写成员。研究方向: 消化道肿瘤的药物疗法、新药临床研究、遗传性胃癌的筛查和咨询。

新型靶向细胞凋亡的小分子抑制剂的研究进展 与临床应用潜力

石珊¹ 邱妙珍^{1*} 杨大俊^{1,2*}

(¹华南恶性肿瘤防治全国重点实验室, 广东省恶性肿瘤临床医学研究中心, 中山大学肿瘤防治中心, 广州 510060;

²苏州亚盛药业有限公司, 苏州 215100)

摘要 凋亡是程序性细胞死亡的一种形式, 是多细胞生物用来清除受损或冗余细胞的自然过程。这一过程受到高度精细的调控, 其失衡往往与癌症、自身免疫性疾病、神经炎症发生等密切相关。细胞对凋亡的抵抗性成为了一个显著特征, 这往往源自于内源性及外源性生存信号与促凋亡信号之间错综复杂的失衡状态。促凋亡和抗凋亡信号通过调控Bcl-2蛋白家族的促凋亡成员, 决定了细胞的生存或死亡。多年来, 研究者们一直致力于开发并研究各类药物或途径以促进肿瘤细胞凋亡, 进而达到控制肿瘤发展的目的。其中以Bcl-2家族蛋白、IAPs家族成员及MDM2-p53通路为靶点的小分子抑制剂在促进肿瘤细胞凋亡的研究中表现出显著的临床应用潜力。该综述旨在

收稿日期: 2024-11-27 接受日期: 2025-01-17

*通信作者。Tel: 020-87342490, E-mail: qiumzh@sysucc.org.cn; Tel: 020-87342285, E-mail: yangdj@sysucc.org.cn

Received: November 27, 2024 Accepted: January 17, 2025

*Corresponding authors. Tel: +86-20-87342490, E-mail: qiumzh@sysucc.org.cn; Tel: +86-20-87342285, E-mail: yangdj@sysucc.org.cn

系统性阐述这些关键靶点的基本结构与生理功能, 早期抑制剂的疗效及其局限性, 并详细探讨由亚盛医药研究团队开发的新型靶向细胞凋亡的小分子抑制剂在抗肿瘤治疗中的研究进展与应用前景。

关键词 细胞凋亡; 小分子抑制剂; Bcl-2; IAPs; MDM2-p53

Research Progress and Clinical Application Potential of Novel Small Molecule Inhibitors Targeting Apoptosis

SHI Shan¹, QIU Miaozen^{1*}, YANG Dajun^{1,2*}

(¹State Key Laboratory of Oncology in South China, Guangdong Provincial Clinical Research Center for Cancer,

Sun Yat-sen University Cancer Center, Guangzhou 510060, China;

²Ascentage Pharma (Suzhou) Co. Ltd, Suzhou 215100, China)

Abstract Apoptosis represents a form of programmed cell death, integral to the physiological processes by which multicellular organisms eliminate damaged or surplus cells. This highly regulated phenomenon is frequently disrupted, correlating strongly with various pathological conditions, including malignancies, autoimmune disorders, and neuroinflammatory diseases. A hallmark of cancer is the resistance to apoptosis, which often stems from a complex dysregulation between intrinsic and extrinsic survival signals and pro-apoptotic factors. The balance between pro-apoptotic and anti-apoptotic signals, primarily mediated by members of the Bcl-2 protein family, ultimately dictates cellular fate. Over the years, considerable effort has been devoted to the identification and development of pharmacological agents aimed at inducing apoptosis in neoplastic cells to inhibit tumor progression. Particularly, small molecule inhibitors targeting the Bcl-2 family, IAPs (inhibitors of apoptosis proteins), and the MDM2-p53 signaling pathway have demonstrated substantial clinical potential in facilitating tumor cell apoptosis. This review seeks to systematically elucidate the fundamental structures and physiological roles of these critical targets, assess the efficacy and limitations of early-stage inhibitors, and provide a comprehensive overview of the advancements and future applications of novel small molecule inhibitors developed by Ascentage Pharma research team, specifically designed to enhance apoptotic pathways in oncological therapy.

Keywords cell apoptosis; small molecule inhibitors; Bcl-2; IAPs; MDM2-p53

凋亡, 是指程序性细胞死亡的一种特定形式。细胞凋亡对后生动物的发育和体内平衡至关重要, 其失调导致许多人类病理过程, 包括癌症、自身免疫性疾病和神经退行性疾病^[1]。过去二十年的研究已经鉴定了数百种基因, 这些基因控制着几种物种中细胞凋亡的启动、执行和调节^[2]。凋亡的途径在进化上是保守的, 最终激活死亡蛋白酶和半胱氨酸蛋白酶(以具有 Asp 底物特异性的半胱氨酸蛋白酶命名)^[3]。在哺乳动物细胞中, 凋亡有两种形式, 内源性和外源性, 分别由细胞内外环境的细胞死亡刺激触发。细胞内刺激如 DNA 损伤, 通常导致仅含一个 Bcl-2 同源结构域 3(Bcl-2 homology domain 3, BH3)的 B 细胞淋巴瘤 2(B-cell lymphoma-2, Bcl-2)蛋白家族的激活, 导致促凋亡因子从线粒体的膜间隙释放到细胞质

中^[4]。释放过程由 Bax 和 Bak 介导, 并被抗凋亡蛋白 Bcl-2 和 Bcl-xL 拮抗。释放的蛋白质因子之一细胞色素 c 直接激活 Apaf-1, 并在 dATP 或 ATP 存在的情况下诱导形成被称为“凋亡小体”的多聚体复合物。凋亡小体介导起始半胱天冬酶(caspase-9)的激活, 随后激活效应半胱天冬酶(caspase-3 和 caspase-7), 后者负责凋亡细胞的解体。活性胱天蛋白酶受到凋亡抑制因子(inhibitor of apoptosis proteins, IAPs)蛋白家族的抑制^[5]。Smac/DIABLO 是细胞凋亡过程中由线粒体释放的一种关键蛋白质, 它能够特异性结合多种 IAPs, 并通过这种相互作用解除 IAPs 对 caspase 酶的抑制作用。TP53 是一个重要的肿瘤抑制基因, p53 为野生型时, 其功能经常被小鼠双微体 2(murine double minute 2, MDM2)抑制, 这是癌细胞逃避凋亡的另一个重要

途径^[6]。p53作为凋亡的关键调节因子在凋亡级联反应的上游发挥作用,其可以通过直接作用于细胞凋亡促进因子(*BCL2L11*、*Bim*)、凋亡调节因子(p53 upregulated modulator of apoptosis, *PUMA*)、Bcl-2相关X蛋白(Bcl-2 associated X protein, *Bax*)和Bcl-2拮抗剂(Bcl-2 antagonist, *Bak*)^[7-8]等促凋亡Bcl-2家族分子的转录激活,以及促凋亡蛋白和抗凋亡蛋白[(Bcl-2、Bcl-xL和髓细胞白血病-1(myeloid cell leukemia-1, *MCL-1*)]之间相互作用的平衡来决定肿瘤细胞是存活还是死亡^[9]。此外也有研究认为, *MCL-1*的高表达可能有助于Bcl-2抑制剂的内在和获得性抗性,而p53激活可以调节*MCL-1*磷酸化并促进其降解^[10]。

细胞是否发生凋亡主要依赖于p53-Bcl-2-IAP之间错综复杂的调节体系。它们既相互独立又存在相互调节与制约的关系。Bcl-2基因家族成员控制促凋亡和抗凋亡的细胞内信号。在癌症中,通过特定Bcl-2家族基因的失调来逃避凋亡是一个反复发生的事件。因此,选择性抑制特定的抗凋亡Bcl-2家族蛋白为癌症治疗提供了新的可能^[11]。另外IAPs的成员XIAP、cIAP1和cIAP2也是细胞死亡和存活

的关键调节因子,并且已经成为新的癌症治疗中有吸引力的靶点。而线粒体衍生的胱天蛋白酶激活剂(*Smac*)蛋白是细胞凋亡过程中从线粒体释放的内源性IAPs拮抗剂,可以通过激活胱天蛋白酶而抑制IAPs来促进凋亡。模拟IAPs和*Smac*之间结合相互作用的小分子,被称为“*Smac*模拟物”,可以抑制IAPs的表达,导致胱天蛋白酶激活^[12]。而p53则可以与细胞质中的Bcl-2蛋白家族发生功能性相互作用,从而激活线粒体凋亡途径,导致细胞凋亡。然而,MDM2缺失能够促进p53的核排斥(部分通过影响泛素化),从而促进凋亡反应并有助于p53的肿瘤抑制活性^[13]。因此有人提出,阻断MDM2-p53相互作用的小分子抑制剂可能通过重新激活p53肿瘤抑制功能,进而有效治疗p53野生型肿瘤^[14]。本综述将重点总结上述靶点已有的小分子抑制剂的功能与局限性,并就本团队研发的新型靶向细胞凋亡的小分子抑制剂(如APG-1252/APG-2575、APG-1387、APG-115)在抗肿瘤治疗领域的研究展开讨论,以探讨其在细胞凋亡调控和维持中的作用及临床应用的前景。其中表1展示了现阶段由苏州亚盛药业有限公司(亚盛医药)主导的这

表1 亚盛医药研发主导的靶向细胞凋亡的新型小分子抑制剂临床实验汇总

Table 1 Summary of clinical trials evaluating novel small molecule inhibitors targeting apoptosis developed by Ascentage Pharma group

靶点 Target	药物 Agent	临床实验方案 Clinical trial protocol	应用领域 Application domain	临床实验标识符 Trials and/or refs	临床开发时期 Clinical status
Bcl-2	APG-1252	Single therapy	SCLC or other solid tumors	NCT03080311	Phase I
		Combination therapy with osimertinib	EGFR TKI resistant NSCLC patients	NCT04001777	Phase I
		Single therapy	SCLC, advanced-stage solid tumours	NCT03387332	Phase I
		Combination therapy with APG-1252 plus paclitaxel	Relapsed/refractory small cell lung cancer	NCT04210037	Phase I/II
		Monotherapy or combination with other therapeutic agent	Relapsed or refractory non-Hodgkin lymphoma	NCT05186012	Phase I/II
		Combination therapy with cobimetinib	Recurrent ovarian and endometrial cancers	NCT05691504	Phase I
		Monotherapy and combination with ruxolitinib	Previously ruxolitinib treated myelofibrosis patients	NCT04354727	Phase I/II
	APG-2575	Single therapy	Neuroendocrine tumors	NCT04893759	Phase
		Single therapy	Hematological malignancy	NCT03537482	Early phase I
		Single agent or combination with ibrutinib or rituximab	Waldenström macroglobulinemia (MAPLE-1)	NCT04260217	Phase I
		Monotherapy or combination with lenalidomide/DXMS	Relapsed or refractory multiple myeloma	NCT04674514	Phase I/II
		Single agent or combination with other therapeutic agents	CLL/SLL	NCT04215809	Phase I

续表1

靶点 Target	药物 Agent	临床实验方案 Clinical trial protocol	应用领域 Application domain	临床实验标识符 Trials and/or refs	临床开发时期 Clinical status
IAP	APG-1387	Single therapy	Relapsed/refractory CLL/SLL	NCT05147467	Phase II
		Single therapy	ER ⁺ /HER2 ⁻ mBC	NCT04946864	Phase I/II
		Single agent and combination with HHT/AZA	Relapsed/refractory AML	NCT04501120	Phase I/II
		Combination with azacitidine	AML (acute myeloid leukemia)	NCT04964518	Phase I/II
		Combination with Pd/DRd	RR (relapsed/refractory) MM (multiple myeloma)	NCT04942067	Phase I/II
		Single therapy	Investigate the absorption properties, as well as to evaluate the mass balance and elucidate the pathways of biotransformation	NCT05517616	Phase I
		Single agent and combination therapy	Relapsed/refractory CLL/SLL	NCT04494503	Phase I/II
		Combined with olverembatinib	Relapsed/refractory Ph ⁺ ALL	NCT05495035	Phase I
		Single therapy	Hematologic malignancies	NCT03913949	Phase I
		Single therapy	Mild-to-moderate systemic lupus erythematosus	NCT06182969	Phase I/II
		Combined with azacytidine	AML	NCT06389292	Phase III
		Combined with azacytidine	Higher-risk myelodysplastic syndrome (GLORA-4)	NCT06641414	Phase III
		Combined with acalabrutinib	Newly diagnosed CLL/SLL	NCT06319456	Phase III
		Combination with BTK inhibitors	CLL/SLL	NCT06104566	Phase III
		Combination with entecavir	Chronic hepatitis B	NCT04568265	Phase II
		Combination with toripalimab	Solid tumors	NCT04284488	Phase I/II
		Single therapy	Chronic hepatitis B patients	NCT03585322	Phase I
		Combination with either pembrolizumab or the chemotherapeutic agents	Advanced solid tumors or hematologic malignancies	NCT03386526	Phase I
		Combination with nab-paclitaxel and gemcitabine	Advanced pancreatic adenocarcinoma	NCT04643405	Phase I/II
	MDM2-p53 APG-115	Single therapy	Patients with advanced solid tumor or lymphoma	NCT 02935907	Phase I/II
		Combination therapy with SOC drugs	AML	NCT04358393	
		Monotherapy or combination with pembrolizumab	Solid tumor	NCT 03611868	Phase I/II
		APG-115+/-carboplatin	p53 wild-type malignant salivary gland cancer	NCT03781986	Phase I/II
		Combination with APG-2575	Non-hodgkins lymphoma, T-prolymphocytic leukemia	NCT04496349	Phase II
		Combination with PD-1 inhibitor	Advanced solid tumor, liposarcoma	NCT04785196	Phase I/II
		Single therapy or combination with APG-2575	Neuroblastoma, solid tumor	NCT05701306	Phase I
		Single therapy or combination with azacitidine or cytarabine	AML and MDS	NCT04275518	Phase I
		Single therapy or combined with azacitidine	AML, CMML or MDS	NCT04358393	Phase I/II
		Single therapy	BAP1 cancer syndrome and early-stage mesothelioma	NCT06654050	Phase II

些新型的小分子抑制剂的临床试验和在临床开发过程中单药或联合应用的临床试验信息。

1 抗凋亡Bcl-2蛋白家族

1.1 选择性抑制特定的抗凋亡Bcl-2家族蛋白可以促进细胞凋亡

Bcl-2基因家族成员通过控制促凋亡和抗凋亡的细胞内信号,在调节程序性细胞死亡中起着重要作用^[15]。Bcl-2家族蛋白的结构包含一个短的保守序列,被称为Bcl-2同源(Bcl-2 homology, BH)结构域^[16]。抗凋亡蛋白包括Bcl-2、Bcl-xL、MCL-1、Bcl-w和BFL-1,允许肿瘤细胞通过上调一种或多种抗凋亡蛋白来逃避凋亡^[17]。促凋亡蛋白分为两种类型:仅含BH3的蛋白和效应蛋白。仅含一个BH3结构域的BH3蛋白,包括Bim、Bid、Puma、Bad、Noxa、Bik、Bmf和Hrk。Bim、Bid和Puma可以直接激活效应蛋

白。而其他仅含BH3的蛋白与抗凋亡蛋白结合,从而阻止这些抗凋亡蛋白与Bim、Bid和Puma结合,进而激活效应蛋白。效应蛋白包括Bax和Bak^[18],通过形成线粒体外膜透化(mitochondrial outer membrane permeabilisation, MOMP)复合物启动细胞凋亡。Bcl-2蛋白家族的抗凋亡蛋白和促凋亡蛋白之间的平衡可以抑制或激活MOMP,最终决定细胞的命运^[19]。

在癌症中,通过特定Bcl-2家族基因的失调来逃避凋亡是一个反复发生的事件。这些蛋白质作为癌症治疗靶点已经被深入研究了超过20年,已经发现了具有不同选择性的靶向Bcl-2家族蛋白的高效小分子抑制剂(表2):包括Navitoclax(ABT-263),一种有效的Bcl-2和Bcl-xL双重抑制剂^[20];Venetoclax(ABT-199),一种Bcl-2选择性抑制剂^[21];以及其他选择性Bcl-xL和MCL-1抑制剂^[22]。Venetoclax是FDA批准的唯一一种用于血液肿瘤的Bcl-2抑制剂,其对慢性淋巴

表2 针对Bcl-2靶点开发的主要药物及其临床实验汇总
Table 2 Summary of main drugs developed targeting Bcl-2 and their clinical trials

药物 Agent	临床实验方案 Clinical trial protocol	应用领域 Application domain	临床实验标识符 Trials and/or refs	临床开发时期 Clinical status
Genasense	Single therapy	Solid tumors	NCT00636545	Phase I
	Combination of genasense (oblimersen), carboplatin, and paclitaxel (GCP)	Uveal melanoma	NCT01200342	Phase II
G3139	Single therapy	Solid tumors	NCT00543231	Phase I
SPC-2996	Single therapy	CLL	NCT00285103	Phase I/II
ABT-737	Single therapy	Ovarian tumors	NCT01440504	Observational
Navitoclax	Combination with venetoclax and decitabine	Aggressive myelodysplastic syndrome	NCT05564650	Phase I/II
	Venetoclax and navitoclax	Relapsed or refractory ALL or LL	NCT05215405	Expanded access
Venetoclax	Azacitidine combined with venetoclax	Higher-risk chronic myelomonocytic leukemia	NCT05768711	Phase II
	Single therapy	CLL/SLL	NCT02966756	Phase II
	Single therapy	CML	NCT05701215	Phase II
S55746	BCL201 combined with idelalisib	FL and MCL	NCT02603445	Phase I
	Single therapy	CLL, B-cell NHL and MM	NCT02920697	Phase I
ABBV-155	Combination with taxane therapy	Relapsed and/or refractory solid tumors	NCT03595059	Phase I
MIK665	Single therapy	AML, NHL, MM	NCT04702425	Phase I
	Single therapy	Refractory or relapsed lymphoma or multiple myeloma	NCT02992483	Phase I
	Single therapy	Acute myeloid leukaemia or myelodysplastic syndrome	NCT02979366	Phase I
AZD5991	Combination S64315 with azacitidine	Acute myeloid leukaemia	NCT04629443	Phase I/II
	Alone or combination with venetoclax	Relapsed or refractory haematologic	NCT03218683	Phase I
	Single therapy	Acute myeloid leukemia	NCT03013998	Phase I/II

细胞性白血病和急性髓细胞性白血病非常有效,而对实体瘤无效,因为大多数实体瘤优先依赖 Bcl-xL 和/或 MCL-1 蛋白而不是 Bcl-2 蛋白存活^[23]。为克服 Bcl-xL 靶向治疗引发的血小板减少症^[24],我们开发了前药策略以保持抗肿瘤活性并显著降低脱靶毒性,最终成功研制出了新型 Bcl-2/Bcl-xL 双靶点抑制剂 Pelcitoclax (APG-1252)。此外,基于对 Bcl-2 调控凋亡通路的深入研究,我们开发了 BH3 结构域模拟物 APG-2575,该小分子化合物通过特异性结合促凋亡蛋白 Bcl-2,直接诱导肿瘤细胞凋亡(图1)。

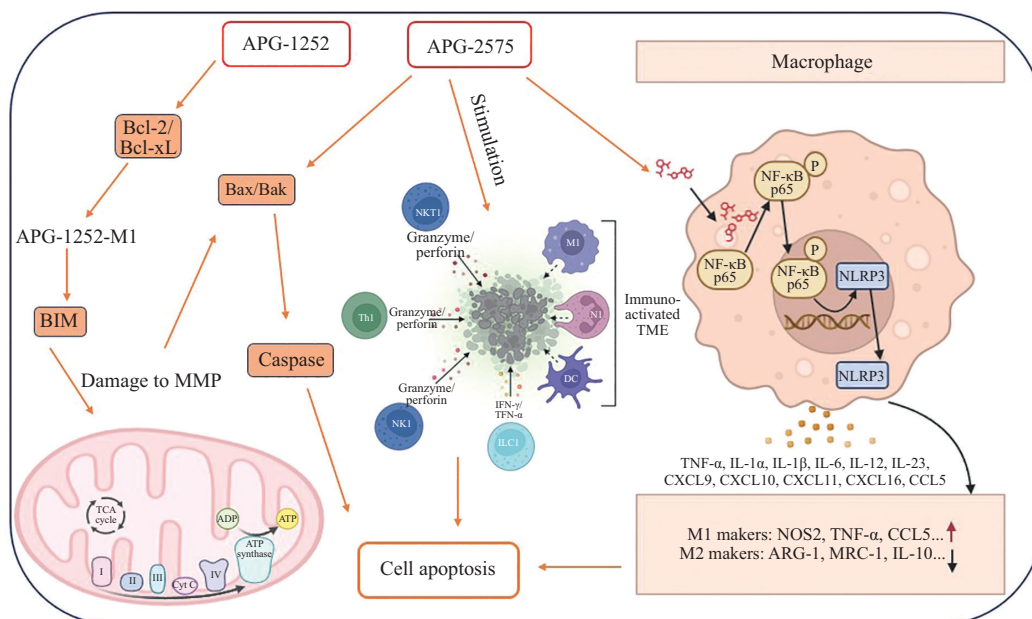
1.2 Bcl-2/Bcl-xL 双靶点抑制剂 Pelcitoclax (APG-1252) 的研究进展

本实验室研发的新型小分子 Pelcitoclax (APG-1252) 作为 Bcl-2/Bcl-xL 双靶点抑制剂,通过独特的 BH3 模拟机制特异性结合两种蛋白的疏水结构域。该前药在体内经代谢激活转化为活性形式 APG-1252-M1,通过竞争性解离 Bcl-2/Bcl-xL 与促凋亡蛋白(特别是 Bim)的复合物,破坏线粒体膜电位稳态,进而激活 Bax/Bak 依赖性线粒体凋亡通路,最终通过 caspase 级联反应诱导细胞程序性死亡^[25]。作为 Bcl-2/Bcl-xL 双靶点抑制剂, Pelcitoclax 展现出对 Bcl-xL 更强的结合亲和力。在 *Bcl-xL* mRNA 表达模型中,该化合物通过差异化结合

偏好特异性靶向并解离 Bcl-xL 蛋白复合物,同时维持甚至上调 Bcl-2 复合物水平,揭示了其对不同抗凋亡蛋白的精准调控机制。这些发现提示了 Bcl-xL 与 Bcl-2 靶点存在竞争性结合化合物的关系^[26]。Pelcitoclax 的药物特性决定了其在不同形式的人类癌症治疗中的有效性,我们前期研究已揭示了 Pelcitoclax 对肝癌、胃癌、鼻咽癌和急性髓细胞白血病 (acute myeloid leukemia, AML) 具有治疗效果^[27-29]。

我们的研究表明, Pelcitoclax 单一疗法抑制原发性肝癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 细胞的增殖和迁移,并诱导 HCC 细胞凋亡。Pelcitoclax 和卡博替尼 (Cabozantinib) 的组合显示出显著的协同抗肿瘤作用^[15]。这种协同作用主要是通过促进 HCC 细胞凋亡,抑制细胞的增殖、迁移和侵袭的;抑制 MEK/ERK 和 CREB/Bcl-xL 途径,上调促凋亡蛋白 Bax,下调抗凋亡蛋白 MCL-1 而发挥协调抗肿瘤作用。由于受体、激酶和 RAS 抑制剂的遗传变异, MAP/ERK 途径在对酪氨酸激酶抑制剂有抗性的 HCC 细胞系中过度激活^[30]。Pelcitoclax 联合卡博替尼为 HCC 患者提供了一个更有效的治疗策略,值得进一步的临床研究。

Pelcitoclax 在多种癌细胞系中表现出强烈的 Bax/Bak 依赖性和 caspase 介导的抗增殖和凋亡活



APG-1252 通过激活 Bcl-2/Bcl-xL 双靶点促进细胞凋亡。APG-2575 通过激活 Bax/Bak 靶点,刺激抗肿瘤免疫微环境以及激活 NF-κB 等多重途径促进细胞凋亡。

APG-1252 promotes cell apoptosis by activating the dual targets of Bcl-2/Bcl-xL. APG-2575 promotes cell apoptosis through multiple pathways such as activating Bax/Bak targets, stimulating the anti-tumor immune microenvironment, and activating NF-κB.

图1 APG-1252和APG-2575药物在抗肿瘤免疫调节等多方面发挥重要作用

Fig.1 APG-1252 and APG-2575 drugs play important roles in various aspects such as anti-tumor immune regulation

性。我们的前期研究表明, APG-1252-M1无论是单独使用还是与化疗联合使用, 都可以通过内在的线粒体凋亡途径在胃癌中表现出抗肿瘤作用^[31]。APG-1252-M1诱导细胞色素c释放, 随后激活胱天蛋白酶3和PARP-1, 并最终导致细胞凋亡^[32]。APG-1252-M1只作用于肿瘤细胞, 而对其他细胞不敏感的原因可能有两方面: 首先, Bcl-2(或Bcl-xL)的构象改变是引发死亡的信号。这些信号激活单体Bax或Bak, 它们与Bcl-2的疏水沟相连, 从而激活肿瘤细胞凋亡^[33]; 其次, 起始死亡信号必须超过MCL-1的信号, MCL-1不是APG-1252-M1的目标。在一些实体瘤中, 高水平的MCL-1与对Bcl-2抑制剂的耐药性相关。此外, 我们的研究表明Pelcitoclax和紫杉烷类可通过多种机制协同诱导凋亡的发生, 除了已开展的I期试验(NCT03080311)外, 我们近期已经启动了另一项针对复发/难治性小细胞肺癌(small cell lung cancer, SCLC)患者使用APG-1252加紫杉醇联合治疗的多中心、开放标签Ib/II期研究(NCT04210037), 以及APG-1252联合奥希替尼(AZD9291)在EGFR TKI耐药NSCLC患者中的安全性和有效性的Ib期研究(NCT04001777)。这些研究有希望在临床前和首次人类临床数据支持下进一步开发Pelcitoclax作为一种有效的Bcl-2和Bcl-xL双重特异性抑制剂, 用于不同形式的人类癌症, 特别是与靶向MCL-1的药物联合使用^[26]。

1.3 选择性Bcl-2抑制剂Lisafoclax(APG-2575)的研究进展

APG-2575是一种新型口服生物可利用的BH3模拟物、高选择性Bcl-2抑制剂, 对多种恶性肿瘤具有有效的抗肿瘤活性, 主要用于治疗复发或难治性慢性或小淋巴细胞白血病(CLL/SLL)和其他血液系统恶性肿瘤(hematological malignances, HMs)患者^[34]。Bcl-2的小分子抑制剂可以增强HMs的癌细胞凋亡^[35]。对促凋亡蛋白和抗凋亡蛋白之间相互作用的结构分析推动了第一个BH3模拟物Venetoclax(ABT-263)的发现和临床开发^[36]。尽管在晚期癌症中具有临床疗效, 但由于靶向Bcl-xL介导的血小板抑制引起的重度血小板减少症阻碍了其发展^[37]。为了解决这些问题, 我们研发了具有强大的Bcl-2抑制作用和独特的药代动力学特征的新型分子Lisafoclax。相较于Venetoclax, Lisafoclax(APG-2575)有着多方面的优势: (i) 更快速的细胞摄取, 在多发性骨髓瘤细胞中有更高的累积; (ii) 对Bcl-2:Bim复合物有更强的破坏作用;

(iii) Lisafoclax可以促使BH3的前体蛋白Bim及BH3从胞质溶胶向线粒体的快速转移; (iv) Lisafoclax可以促使仅含BH3的前体蛋白Noxa的水平显著增加。我们的研究表明在基于细胞和异种移植模型中, Lisafoclax触发线粒体介导的Bax/Bak依赖性凋亡, 对线粒体功能有广泛影响。一些Ib期和II期临床试验已经启动, 以评估Lisafoclax作为单一疗法或与抗CD20抗体或BTK抑制剂联合治疗在血液肿瘤中的作用(NCT03537482、NCT04260217)^[38]。我们的前期研究发现, APG-2575与布鲁顿酪氨酸激酶(Bruton's tyrosine kinase, BTK)和MDM2-p53抑制剂一起发挥合成致死作用, 抑制弥漫性大B细胞淋巴瘤(diffuse large B cell lymphoma, DLBCL)的增殖^[39]。此外, APG-2575与olverambatinib/HQP-1351或高三尖杉酯碱(homoharringtonine, HHT)^[40]的组合在AML中也表现出协同抗肿瘤作用。最近的一项研究还首次提供了APG-2575治疗癌症患者的独特机制并为其与免疫治疗相联合的策略提供了临床前证据^[41]。

最新的研究表明, 使用免疫检查点抑制剂(immune checkpoint inhibitors, ICIs)的主要挑战在于部分肿瘤具有免疫抑制的肿瘤微环境和缺乏活化CD8⁺ T细胞的充分浸润。将肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)从“冷”转变为“热”, 从而更有可能增强ICIs的效果, 这是一种有前途的癌症治疗策略^[42]。在我们的团队研究过程中惊喜地发现在同系和人源化CD34⁺小鼠模型中, 选择性Bcl-2抑制剂APG-2575可以增强抗PD-1疗法的抗肿瘤效果。使用单细胞RNA测序发现APG-2575使M2样免疫抑制巨噬细胞向M1样免疫刺激表型极化, CCL5和CXCL10分泌增加, 恢复T细胞功能并增敏免疫治疗效果。因此, APG-2575诱导的巨噬细胞向M1极化可以重塑肿瘤免疫微环境, 从而改善肿瘤免疫抑制, 进一步增强抗肿瘤T细胞免疫。这可能是支持用Bcl-2抑制剂治疗癌症患者的独特而可行的机制。我们的研究为未来临床试验中评估一种新的潜在组合策略提供了临床前证据^[41]。

2 凋亡抑制因子IAPs

2.1 IAPs的结构特征及作为癌症治疗靶点的研究现状

IAPs的成员XIAP、cIAP1和cIAP2是细胞死亡和存活的关键调节因子, 并且是癌症治疗有吸引力

的新靶点^[43]。它们在内源性和外源性凋亡途径的调节中起主要作用。IAPs蛋白通过抑制胱天蛋白酶的活性来抑制凋亡。XIAP是唯一通过直接结合抑制胱天蛋白酶活性的IAPs蛋白,而cIAP1和cIAP2间接抑制胱天蛋白酶活性。XIAP的BIR2结构域和前面的接头区域分别与IAPs结合基序和胱天蛋白酶-3和-7的活性位点结合^[44]。由于效应子胱天蛋白酶-3和胱天蛋白酶-7在外源性和内源性途径的凋亡执行中起关键作用,并且胱天蛋白酶-9是内源性途径中的关键起始胱天蛋白酶,因此XIAP可以有效地抑制内源性和外源性凋亡途径^[45]。cIAP1和cIAP2对凋亡途径的调节集中于其环域的E3泛素连接酶活性。RING结构域的二聚化增强了IAPs蛋白的泛素连接酶活性——允许其他IAPs蛋白的自身泛素化以及交叉泛素化^[46]。cIAP蛋白的泛素连接酶功能使它们能够调节各种信号通路,最显著的是NF- κ B信号通路。除了正向调节经典的NF- κ B信号转导外,cIAP蛋白也是非经典NF- κ B信号转导的关键负向调节因子。静止时,cIAPs通过泛素化控制NIK的稳定性,从而阻止下游IKK α 的激活。然而在缺乏cIAPs的情况下,NIK积累导致IKK α 的磷酸化。根据刺激和细胞环境的不同,NF- κ B除了最常见的促存活功能外,还可以通过调节参与细胞死亡途径的蛋白质的表达来促进细胞凋亡,包括诱导死亡的肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)超家族配体和受体。肿瘤坏死因子- α (tumour necrosis factor- α , TNF- α)的自分泌/旁分泌产生已被证明介导第二种线粒体衍生的胱天蛋白酶激活剂(Smac)模拟物诱导的凋亡^[47]。因此,Smac模拟物刺激的NF- κ B激活是Smac模拟物刺激细胞凋亡的核心。

Smac蛋白是细胞凋亡过程中从线粒体释放的内源性IAPs拮抗剂,可以通过激活胱天蛋白酶而抑制IAPs来促进凋亡。模拟IAPs和Smac之间结合相互作用的小分子被称为“Smac模拟物”,可以抑制IAPs的表达,导致胱天蛋白酶激活。目前已开发出多种Smac模拟物药物,其基本信息与主要应用领域总结在表3。原则上,Smac模拟物作为癌症治疗药物的发展既有希望也有挑战。IAPs蛋白是肿瘤治疗中的重要靶标,它们在人类肿瘤中频繁过度表达,并在促进肿瘤细胞逃避程序性死亡中起关键作用,这是癌症的一个显著标志。尽管初步临床研究已表明,Smac模拟物在临床可达到的血液浓度下能有效导

致IAPs耗竭,并且在单独使用时展现出了一定的抗肿瘤活性,但关于这种药效学作用能否切实转化为实际临床疗效的问题,目前仍悬而未决。尽管所有Smac模拟物都是泛选择性抑制剂,这意味着原则上它们能中和cIAP1、cIAP2和XIAP,但它们拮抗这些IAPs蛋白的能力各不相同。在临床前研究中,已证明通过激活NF- κ B驱动的自分泌/旁分泌TNF- α 信号环路抑制cIAP蛋白是Smac模拟物诱导的细胞死亡所必需的^[48]。此外,XIAP对胱天蛋白酶的抑制作用的破坏已被证明有助于这些凋亡效应分子的完全激活^[49]。然而在临床研究中,仍需确定Smac模拟物的哪种抑制模式能产生最大的抗肿瘤活性和最小的毒性^[50]。现有的临床前研究显示,Smac模拟物仅能在部分人类恶性肿瘤中有效诱导细胞死亡。然而,这些研究也揭示了Smac模拟物与多种细胞毒性疗法之间存在协同作用,并强调了其通过降低细胞死亡阈值来增强癌细胞对细胞毒性治疗敏感性的潜力。鉴于此,随后的多数试验开始采用精心设计的联合治疗方案^[51]。

2.2 新型Smac模拟物APG-1387的研究进展及应用前景

APG-1387是一种有效的二价Smac模拟物,由亚盛医药开发用于治疗癌症患者^[52]。在中国和美国的实体瘤患者中进行的一项I期临床试验显示,在0.3至60 mg的范围内该药物安全性良好^[53-54]。证据表明二价Smac模拟物比单价Smac模拟物具有更高的抗肿瘤活性和更高的IAPs降解能力。此前,APG-1387的抗增殖和抗肿瘤活性已在一组癌细胞系和异种移植肿瘤模型中得到充分证明^[55-56]。正如和其他IAPs拮抗剂一样,APG-1387已被证明可诱导IAPs的蛋白酶体降解,中断IAPs介导的胱天蛋白酶抑制,并促进细胞死亡^[57]。我们在不同癌种中研究了APG-1387的多种联合治疗策略,提供了临床治疗新思路(图2)。

首先我们发现APG-1387联合TNF- α 通过诱导大多数鼻咽癌(nasopharyngeal carcinoma, NPC)细胞系的凋亡,有效地降低了NPC细胞的活力^[58]。事实上,只要单独或与TNF- α 一起使用APG-1387,在敏感和抗性细胞系中cIAP1、cIAP2、XIAP和livin的蛋白水平都会降低。受体相互作用蛋白激酶1(receptor-interacting protein kinase 1, RIPK1)的敲除逆转了APG-1387诱导的凋亡。而且无论EBV感染的状态如何,只要给予APG-1387和TNF- α 治疗,IAPs就降低。我们的数据表明,APG-1387诱导的细胞死亡是RIPK1

表3 针对IAP/Smac通路的药物开发

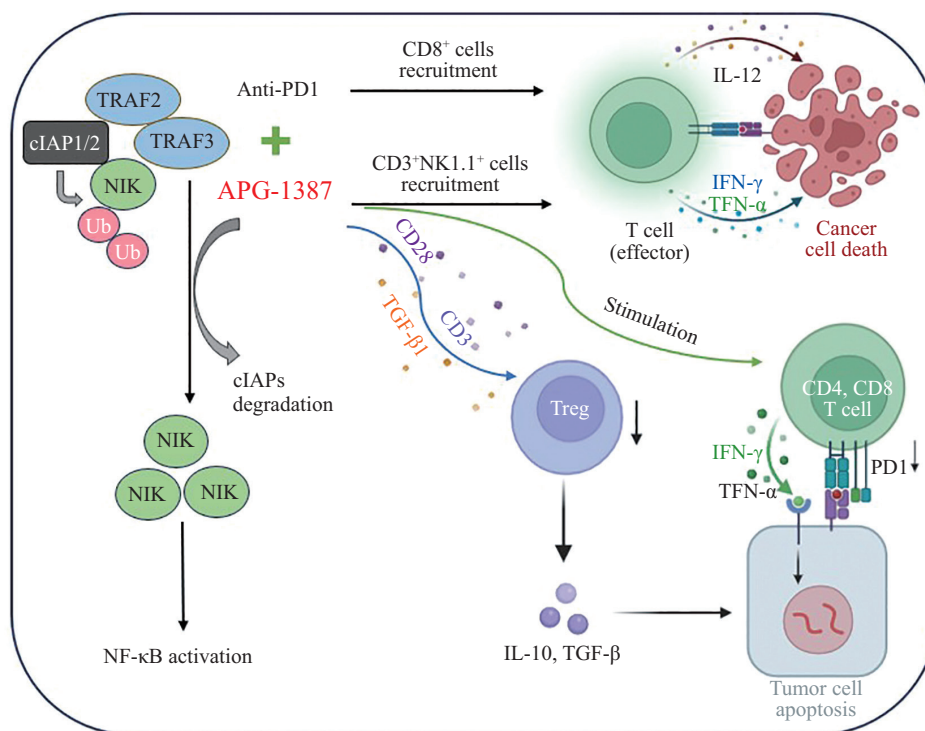
Table 3 Drug development targeting the IAP/Smac pathway

药物 Agent	临床实验方案 Clinical trial protocol	应用领域 Application domain	临床实验标识符 Trials and/or refs	临床开发时期 Clinical status
Embelin	Fractionated CO ₂ laser with and without clobetasol	Vulvar lichen sclerosis	NCT04951206	Phase IV
	Rebamipide (regular & nanoparticulated) vs clobetasol	Rheumatoid arthritis	NCT04649697	Phase III
	Versus clobetasol propionate	Psoriasis	NCT06555497	Early phase I
	laser vs clobetasol	Lichen sclerosis	NCT05010421	Phase III
AEG35156	Combination with docetaxel	Solid tumors	NCT00357747	Phase I
	Combination with high-dose cytarabine and idarubicin	AML following failure of a single standard dose cytarabine based frontline induction regimen	NCT01018069	Phase II
	Single therapy	CLL and indolent B-cell lymphomas	NCT00768339	Phase I/II
	Combination with gemcitabine	Advanced pancreatic cancer	NCT00557596	Phase I/II
LY2181308	Combination with docetaxel	Hormone refractory prostate cancer	NCT00642018	Phase II
	Combination with docetaxel	Non-small cell lung cancer	NCT01107444	Phase II
	Single therapy	Advanced hepatocellular carcinoma	NCT00415155	Phase I/II
	Combination with idarubicin and cytarabine	Relapsed or refractory AML (acute myeloid leukemia)	NCT00620321	Phase II
LCL161	Single therapy	Advanced solid tumors	NCT01968915	Phase I/II
	Single therapy	Primary myelofibrosis, post-polycythemia vera myelofibrosis, or post-essential thrombocytosis myelofibrosis	NCT02098161	Phase II
	Weekly paclitaxel with or without LCL161	Triple negative breast cancer	NCT01617668	Phase II
	Alone or with cyclophosphamide	Relapsed or refractory multiple myeloma	NCT01955434	Phase II
Birinapant	Single therapy	Advanced or metastatic solid tumors	NCT01188499	Phase I/II
	Combination with conatumumab	Relapsed ovarian cancer	NCT01940172	Phase I
	Combination with 5-azacitidine	Myelodysplastic syndrome who are naïve, have relapsed or have failed prior 5-azacitidine therapy	NCT01828346	Phase I/II
	Single therapy	Refractory solid tumors or lymphoma	NCT00993239	Phase I

依赖性的^[59], 而不依赖于 IAPs、USP11 或 EBV。值得注意的是, NF- κ B 或 AKT 通路的抑制使耐药 NPC 细胞对 APG-1387/TNF- α 的治疗产生反应。在体内实验中, APG-1387 作为单一药物, 在可耐受剂量下展现出了显著的抗肿瘤活性, 这一效果甚至在体外耐药细胞系中也得到了验证。综上所述, 我们的研究表明, APG-1387 对 NPC 具有强大的抗肿瘤作用。这些发现为 APG-1387 作为晚期 NPC 潜在治疗方案的临床评估提供了有力支持。

我们还评估了 Smac 模拟物 APG-1387 在 HCC 中的抗肿瘤潜力^[60]。与正常肝组织相比, HCC 肿瘤中 IAPs 包括 cIAP1、cIAP2 和 XIAP 的 mRNA 和蛋白表达水平增加。单独使用 APG-1387 治疗能显著降低

IAPs 的蛋白水平, 但对体外 HCC 细胞的生存力和凋亡影响较为有限。然而, 当 APG-1387 与 TNF- α 或肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体 (TNF-related apoptosis inducing ligand, TRAIL) 联合使用时, 能显著抑制细胞活力和增殖, 并在 HepG2 细胞及具有癌症干细胞样特性的 HCCLM3 细胞中诱导凋亡。这些协同杀伤作用依赖于半胱天冬酶, 且部分依赖于 RIPK1 激酶活性。此外, APG-1387 治疗还导致 NF- κ B 诱导激酶 (NF- κ B inducing kinase, NIK) 积累, 并以剂量和时间依赖的方式促进 p100 加工为 NF- κ B2/p52, 进一步证实了非典型 NF- κ B 途径的激活^[61], 并且该组合疗法通过诱导异种移植小鼠模型中的细胞凋亡而显著抑制肿瘤生长。综上所述, 我们的研究揭示了 APG-1387 能



APG-1387可以通过招募免疫细胞并进一步释放多种细胞因子, 还可以通过激活NF-κB途径发挥促进肿瘤细胞凋亡的作用, 且其与抗PD-1治疗有良好的协同作用。具体内容请参见正文。

APG-1387 can recruit immune cells and further release various cytokines, and can also promote tumor cell apoptosis by activating the NF-κB pathway. And it has a good synergistic effect with anti-PD-1 therapy. Please refer to the main text for specific content.

图2 APG-1387通过多重抗肿瘤免疫调节作用增敏PD-1抗体

Fig.2 APG-1387 sensitizes PD-1 antibodies through its multifaceted anti-tumor immunomodulatory effects

够增强HCC细胞对细胞因子或免疫细胞介导的细胞杀伤的敏感性, 并预示着基于Smac模拟物的联合免疫疗法在治疗HCC方面具有潜力。在体内外实验中, Smac模拟物APG-1387的使用改善了NK细胞对HCC细胞的细胞毒性作用, 这表明NK细胞免疫疗法结合Smac模拟物可能是一种有前景的未来抗肿瘤策略。

除此之外, 研究还表明APG-1387在体外对T细胞功能有正向调节作用, 首先, 在CD3和CD28包被刺激和TGF-β1的条件下, APG-1387显著降低Treg数量; 其次, 我们发现APG-1387可以在没有CD28的刺激降低CD4⁺ T和CD8⁺ T细胞中的PD1表达水平, 尤其是在CD4⁺ T细胞中。APG-1387在体外可以刺激CD4⁺ T和CD8⁺ T细胞分别分泌TNF-α和IFN-γ, 使肿瘤细胞对IAPs抑制剂敏感, 从而导致肿瘤细胞凋亡^[62]。TNF-α可以增加肿瘤细胞系对APG-1387的敏感性。在以往的研究中, 尽管APG-1387在体外作为NPC的单一治疗药物效果有限, 但我们在体内模型中却发现其作为单一药物具有显著疗效。除了肿瘤微环境中众多免疫细胞因子可能与Smac模拟物产生协同作用外, 我们的研究还证实APG-1387能通过激活非经典

NF-κB通路, 刺激肿瘤细胞上调I型干扰素(interferon I, IFN I)转录因子。此外, 它还可能诱导大量免疫细胞因子的产生, 从而激活免疫系统。我们还首次报道了APG-1387在体内和体外均能促进NK细胞增殖^[52]。这可能在很大程度上与XIAP受APG-1387的影响较小以及IAPs参与的抗凋亡以外的额外信号通路的复杂性有关。除了NF-κB外, IAPs还在许多其他信号通路如MAPK、JNK、Myc和PI3K-AKT中发挥重要作用^[63-64]。未来需要涉及不同信号通路的研究来探讨APG-1387诱导NK细胞增殖的机制^[65]。综上所述, 我们认为APG-1387和PD-1抗体有协同抗肿瘤作用, APG-1387联合抗PD-1单克隆抗体的临床试验正在开展中^[66]。

另一份研究还显示APG-1387通过促进肿瘤细胞分泌IL-12, 将肿瘤浸润性CD3⁺NK1.1⁺细胞数量上调近2倍。阻断IL-12分泌抑制了MC38和ID8模型中APG-1387和抗PD-1抗体的协同作用^[67]。肿瘤组织中APG-1387诱导的CD3⁺NK1.1⁺细胞浸润在介导APG-1387和抗PD-1治疗的协同效应中起重要作用。如我们所知, CD3⁺NK1.1⁺细胞通常被称为NKT细胞,

具有与NK细胞相似的杀伤功能,是恶性细胞消除的第一前沿细胞^[68]。CD3⁺NK1.1⁺细胞介导了APG-1387在实体瘤中的关键免疫调节作用。而且我们发现IL-12是一种仅由某些肿瘤产生的独特的细胞因子,这表明IAPs抑制剂与抗PD-1的协同作用是模型依赖的。IL-12可以用作预测这种协同效应的生物标志物。这些有希望但初步的发现为在临床研究中评估该组合的安全性和治疗效果提供了理论基础,特别是涉及晚期实体瘤或恶性血液病患者的I/II期试验(NCT03386526)。

3 MDM2-p53间接调控凋亡

3.1 阻断MDM2-p53相互作用的小分子抑制剂可重新激活p53肿瘤抑制功能

由于MDM2是p53肿瘤抑制功能的主要抑制分子,因此阻断MDM2-p53相互作用的药物可以重新激活野生型p53^[69-70],成为一种新的癌症治疗策略。研究表明,p53可以与细胞质中的Bcl-2蛋白家族发

生功能性相互作用,从而激活线粒体凋亡途径,导致细胞死亡^[71-72]。因此旨在阻断MDM2-p53相互作用的小分子抑制剂可能通过重新激活p53肿瘤抑制功能并激活p53介导的凋亡途径进而有效治疗p53野生型的人类癌症。经过近二十年的不懈努力,研究者们已经成功设计和开发了许多结构独特、功效极强的非肽类MDM2-p53相互作用小分子抑制剂(MDM2抑制剂),目前有多种此类化合物已作为新型抗癌药物进入人体临床试验^[73](表4)。

Nutlins: 首个强效且特异的MDM2-p53相互作用小分子抑制剂。Nutlins是小分子顺式咪唑啉类似物,可与MDM2结合,阻断深层p53结合口袋^[74]。Nutlins(例如Nutlin-3a、idasanutlin)抑制MDM2-p53相互作用已被证实可恢复p53通路,导致细胞周期停滞、细胞凋亡和临床前模型(包括裸鼠异种移植)中肿瘤的生长抑制^[75]。Nutlin-3a能够高效地激活癌细胞中的野生型p53,它以剂量依赖性的方式显著抑制携带野生型p53的癌细胞生长。相较于携带p53突变

表4 以MDM2-p53通路为靶点的肿瘤治疗药物汇总				
Table 4 Summary of tumor therapeutic drugs targeting the MDM2-p53 pathway				
药物 Agent	临床实验方案 Clinical trial protocol	应用领域 Application domain	临床实验标识符 Trials and/or refs	临床开发时期 Clinical status
INGN201	Single therapy	Advanced bladder cancer	NCT00003167	Phase III
	Single therapy	Premalignant carcinoma of the oral cavity or pharynx	NCT00064103	Phase I/II
	Combination with docetaxel and doxorubicin	Locally advanced breast cancer	NCT00286247	Phase II
	Combining chemotherapy	Stage III or stage IV breast cancer	NCT00044993	Phase II
SCH58500	Single therapy	Primary ovarian, fallopian tube, or peritoneal cancer (C95084)	NCT00002960	Phase I
	Single therapy	Recurrent or progressive brain tumors	NCT00004080	Phase I
	Paclitaxel plus carboplatin with or without SCH-58500	Newly diagnosed stage III ovarian or stage III primary peritoneal cancer	NCT00003880	Phase II/III
Amifostine	With autologous stem cell rescue	High risk, relapsed or refractory pediatric solid tumors	NCT05167370	Phase II
	Single therapy	Colorectal cancer	NCT00601198	Phase II
	Reducing the bowel side effects of radiation treatment	Prostate cancer	NCT00040365	Phase II
	Radiation therapy, amifostine, and chemotherapy	Newly diagnosed nasopharyngeal cancer	NCT00274937	Phase III
Prima-1	Combination with azacitidine	TP53 mutant myeloid neoplasms	NCT03072043	Phase I/II
Rituximab	Single therapy	ST-elevation myocardial infarction (RITA-MI2)	NCT05211401	Phase II
	PDT vs RFA vs PDT+RFA	Extrahepatic cholangiocarcinoma	NCT05519319	Not applicable
Idasanutlin	Combination with ixazomib citrate, and dexamethasone	Relapsed multiple myeloma	NCT02633059	Phase I/II

续表4

药物 Agent	临床实验方案 Clinical trial protocol	应用领域 Application domain	临床实验标识符 Trials and/or refs	临床开发时期 Clinical status
AMG-232	Combination with either chemotherapy or venetoclax	Relapsed/refractory acute leukemias or solid tumors	NCT04029688	Phase I/II
	Single therapy	Polycythemia vera and essential thrombocythemia	NCT02407080	Phase I
	Combination with trametinib	Acute myeloid leukemia	NCT02016729	Phase I
Siremadlin	Single therapy	Advanced solid tumors or multiple myeloma	NCT01723020	Phase I
	Single therapy	Metastatic melanoma	NCT02110355	Phase I
	Alone or combination with pazopanib	P53 wild-type advanced/metastatic soft tissue sarcomas (AMPHISARC)	NCT05180695	Phase I/II
Milademetan	Combination with venetoclax plus azacitidine	AML (acute myeloid leukemia)	NCT05155709	Phase I
	Combination with novel ruxolitinib	Myelofibrosis	NCT04097821	Phase I/II
	Single therapy	Advanced solid tumors or lymphomas	NCT01877382	Phase I
Brigimadlin	Single therapy	Relapsed or refractory AML	NCT03671564	Phase I
	Combination with radiation therapy	Newly diagnosed glioblastoma	NCT05376800	Phase I
	Single therapy	Biliary tract, pancreas, lung or bladder	NCT05512377	Phase II
ALRN-6924	Single therapy	Solid tumours	NCT06619509	Phase II
	Single therapy	Acute myeloid leukemia or advanced myelodysplastic syndrome	NCT02909972	Phase I
	Single therapy	Pediatric cancer	NCT03654716	Phase I
APR-246	Single therapy	Advanced solid tumors or lymphomas	NCT02264613	Phase I/II
	Combination with azacitidine	TP53 mutated AML or MDS (myelodysplastic syndromes)	NCT03931291	Phase II
	Combination with venetoclax and azacitidine	TP53-mutant myeloid malignancies	NCT04214860	Phase I
	Combination chemotherapy with or without APR-246	Recurrent high grade serous ovarian cancer	NCT02098343	Phase I/II
	Combination with pembrolizumab	Solid tumor malignancies	NCT04383938	Phase I/II

或p53缺失的癌细胞系, Nutlin-3a对野生型p53的癌细胞展现出高达10倍的选择性作用^[76]。Roche公司的科学家进一步优化了Nutlin-3a, 以提高其与MDM2的结合亲和力、细胞效力、药代动力学和化学稳定性, 最终发现了RG7112^[77]。RG7112(RO5045337)是首个进入人体临床试验的MDM2抑制剂, 它对MDM2的结合亲和力(IC₅₀¼ 18 nmol), 优于Nutlin-3a。它可有效抑制野生型p53癌细胞的生长(IC₅₀¼ 0.18~2.20 mmol), 效力远优于Nutlin-3a。RG7112对具有p53突变的癌细胞系表现出良好的选择性(IC₅₀¼ 5.7~20.3 mmol)。它在体外和体内有效激活野生型p53, 并在小鼠中表现出良好的口服药代动力学特性^[78]。但RG7112的临床数据表明, 在未来的MDM2抑制剂临床试验中应考虑癌症晚期血液毒性, 尤其是血小板减少症。相较于较新的抑制剂, 早期的MDM2抑制剂在特异性和效力方面表现

较差, 这可能会限制其最大使用剂量, 从而导致观察到的临床益处有限。此外, 这些早期抑制剂还存在对MDMX的脱靶效应, MDMX是一种与MDM2高度相关的蛋白, 它能与MDM2结合形成异二聚体, 并以高亲和力泛素化p53。最后, 高毒性水平一直是早期MDM2抑制剂面临的一个主要难题^[75,79], 且在临床前研究中发现的MDM2拮抗剂最常见的耐药机制涉及TP53的获得性突变以及其他基因如MDMX也显示出在MDM2抑制后获得性突变^[80-81]。对于p53野生型肿瘤, 靶向MDM2-p53蛋白质-蛋白质相互作用仍是一种有吸引力的癌症治疗策略, 因此设计一款更有效毒性更小的MDM2靶点药物迫在眉睫。依据上述研究背景及在早期MDM2抑制剂结构的基础上, 我们团队不断改进并合成了新一代有效的靶向MDM2-p53的小分子抑制剂, 并对其开展了一系列临床前研究。其中最为成功的为APG-115, 已在不

同癌种中进行多项单药或药物联合的临床试验,具有良好的发展前景。

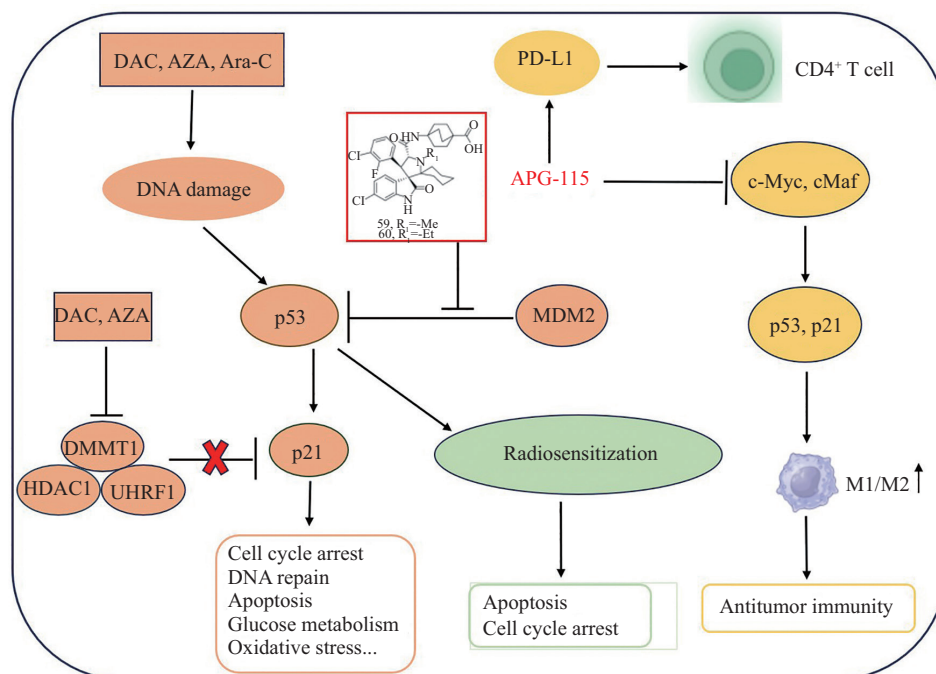
3.2 APG-115的研究进展及临床应用价值

在MDM2-P53相互作用的结构基础上,我们团队不断推陈出新并将化合物MI-77301推进到临床开发阶段^[81]。但我们发现MI-77301及其早期类似物的缺点之一是它们在溶液中会缓慢异构化^[82-83]。为了克服这种稳定性问题,我们开发了新型螺环吡啶的设计,该化合物在吡咯烷环的C-2处含有两个相同的取代基,可以快速且不可逆地转化为单个非对映异构体,这项研究促进了APG-115的发现。APG-115是一种高效、化学稳定且有效的MDM2抑制剂,已进入癌症治疗的临床开发阶段(APG-115的ClinicalTrials.gov: NCT02935907)。APG-115对MDM2具有非常高的结合亲和力($K_i < 1$ nmol),可有效激活野生型p53。APG-115在携带野生型p53的人类癌细胞系中以低纳摩尔 IC_{50} 值抑制细胞生长,并对携带野生型p53的人类癌细胞系表现出出色的细胞选择性。APG-115在溶液中非常稳定,具有出色的口服药代动力学,单次口服给药后可有效激活小鼠SJSA-1异种移植肿瘤组织中的p53。值得注意的是,APG-115可使小鼠体内的SJSA-1异种移植肿瘤完全且持久地

消退,并在耐受性良好的剂量方案下在急性白血病模型中表现出强大的抗肿瘤活性^[84]。多项研究表明,APG-115可以从以下三个方面发挥强大的抗肿瘤活性:(1) 激活p53/p21通路;(2) 抑制细胞增殖;(3) 诱导细胞凋亡和细胞周期停滞^[85-86]。我们针对细胞凋亡这一块中APG-115的最新研究进展做了论述与总结(图3)。

我们团队前期证实了APG-115作为单药在去分化的状甲状腺癌(dedifferentiated papillary thyroid carcinoma, DePTC)中具有显著的抗肿瘤效果。APG-115降低了p53野生型DePTC细胞的活力,并诱导了细胞周期停滞和细胞凋亡。在人类异种移植小鼠模型中,APG-115引发了强劲的肿瘤消退和细胞凋亡^[87]。APG-115促进p53转录靶标P21(泛环素依赖性激酶抑制剂)和PUMA(参与p53凋亡活性的标记物)的mRNA表达上调,但与此同时MDM2也反馈性的表达水平增加。我们还发现APG-115在体外对细胞周期阻断先于细胞凋亡诱导。我们的发现为APG-115治疗p53野生型DePTC患者提供了临床前依据。

我们团队的另一项临床前基础研究发现APG-115对p53野生型胃癌细胞有放射增敏作用^[88]。



APG-115不仅能促进抗肿瘤免疫,而且还具有放射增敏性以及多种化疗药物的协同抗肿瘤作用。

APG-115 not only promotes anti-tumor immunity, but also has radiosensitivity and synergistic anti-tumor effects with various chemotherapy drugs.

图3 APG-115作为MDM2-p53的抑制剂在抗肿瘤免疫及各种治疗联合方面发挥重要作用

Fig.3 APG-115 plays an important role as an inhibitor of MDM2-p53 in anti-tumor immunity and various treatment combinations

APG-115的放射增敏作用主要依赖于MDM2-p53信号通路。体内实验中, APG-115与放射联合治疗比单独治疗更能显著抑制异种移植瘤的生长。此外, 与单药治疗组相比, 联合治疗组的增殖细胞数(Ki-67)明显减少而MDM2、p21、PUMA和Bax的mRNA表达水平显著升高。APG-115放射增敏胃癌细胞并以p53依赖的方式导致DNA损伤。APG-115显著增强了野生型p53的AGS和MKN45的放射敏感性, 并诱导了细胞停滞在G₀/G₁期。电离辐射造成的DNA损伤可激活共济失调毛细血管扩张突变(ataxia telangiectasia-mutated, ATM)激酶和p53肿瘤抑制蛋白。MDM2对ATM的磷酸化是p53稳定和对DNA损伤的激活反应所必需的。MDM2减弱了p53在细胞周期停滞、细胞凋亡和对DNA损伤的反应中的作用^[89]。APG-115和放射治疗在体内研究中表现出显著的抗肿瘤能力, 表明APG-115可能是一种良好的放射增敏剂, 且无明显毒性。这是首次报道APG-115的放射敏感性, 为胃腺癌放疗与APG-115联合治疗的临床试验提供了理论依据^[90]。APG-115作为放射增敏剂, 仍需要进一步的临床试验来证实。目前APG-115正在实体瘤患者开展临床试验以评估其抗肿瘤疗效(NCT02935907、NCT03611868)。

我们团队还发现APG-115强效抑制TP53野生型AML细胞增殖并诱导细胞凋亡和细胞周期停滞。APG-115与标准化疗: 阿扎胞苷(AZA)、丁西他滨(DAC)和阿糖胞苷(Ara-C)联合使用可协同抑制AML细胞增殖并诱导TP53野生型AML细胞凋亡。鉴于单药APG-115可增强细胞周期停滞, 但与标准化疗药物联合使用时细胞周期阻滞的作用不会进一步增加, APG-115联合标准化疗药物的抗白血病作用主要是由APG-115诱导的AML细胞生长抑制和上调细胞凋亡介导的。APG-115与SOC疗法联合使用可协同增强抗白血病活性。APG-115与AZA或Ara-C的组合协同激活P53通路并下调TP53野生型AML细胞中涉及细胞周期进展和错配修复的基因的表达。APG-115与标准化疗药物联合治疗AML的I/II期临床试验正在进行中(NCT04358393)^[91]。除此之外, 我们的另一项重要研究表明, 将BCL-2抑制剂Lisafoclax(APG-2575)与MDM2抑制剂Alrizomadlin(APG-115)组合使用, 在两种不同类型的癌细胞系以及对venetoclax敏感和venetoclax不敏感的人AML和急性淋巴细胞白血病(acute lymphoblastic leukemia, ALL)的细胞衍生

异种移植(cell derived xenotransplantation, CDX)和患者衍生异种移植(patient derived xenotransplantation, PDX)模型中, 均展现出了强烈的协同抗增殖、抗凋亡和抗肿瘤活性。这种显著的协同作用可能归因于促凋亡蛋白Bax的上调以及抗凋亡蛋白(包括MCL-1和Bcl-xL)的下调, 这种变化使得细胞的生存与死亡平衡明显偏向细胞死亡一侧。除了对线粒体凋亡途径产生深远影响外, Lisafoclax还能显著增强p53驱动的细胞周期调节, 进一步促进G₁期凋亡细胞的积累。目前, Lisafoclax(APG-2575)和Alrizomadlin(APG-115)正处于积极的临床开发阶段, 作为单一疗法或联合疗法, 用于治疗各种血液和实体恶性肿瘤, 为癌症患者提供了新的治疗希望和可能性(NCT02935907、NCT03611868、NCT04275518、NCT03781986、NCT03913949、NCT03537482、NCT04215809和NCT04260211218)。

多项研究表明p53在癌症免疫治疗中呈现出重要作用, 为了深入探索这一作用我们使用临床开发中的MDM2受体阻滞剂APG-115作为药理学p53激活剂, 研究了APG-115与PD-1阻滞联合治疗中的作用^[87]。结果表明, 用APG-115体外处理骨髓源性巨噬细胞导致p53和p21激活, 并通过下调c-Myc和cMaf的表达来减少免疫抑制性M2巨噬细胞数量。在接受APG-115治疗的小鼠的脾脏中观察到促炎性M1巨噬细胞极化比例增加。此外, APG-115对T细胞具有共刺激活性, 并呈剂量依赖性增加肿瘤细胞中PD-L1的表达, 这可能会使这些细胞对抗PD-1治疗敏感。我们的结果表明, 无论肿瘤本身的TP53状态如何, 由APG-115介导的p53激活都会促进TME中的抗肿瘤免疫。相反, 这种作用取决于TME中TP53野生型免疫细胞中的p53激活。总的来说, 在TP53野生型肿瘤中, APG-115激活了适应性和先天性抗肿瘤反应。APG-115作为单一药物在调节免疫反应方面发挥多种作用, 包括增加T细胞增生、增强CD4⁺ T细胞激活、上调肿瘤细胞上PD-L1表达以及增加体外或体内M1巨噬细胞数量。这些数据表明, MDM2抑制作用是肿瘤微环境中重要的免疫调节剂^[92]。因此, 在联合治疗中, MDM2抑制剂APG-115提高了抗PD-1治疗的疗效。重要的是, 联合治疗的协同效应与肿瘤本身的TP53状态无关, 此外, APG-115激活的免疫区室似乎与抗PD-L1疗法的免疫区室是互补的。根据这些数据, 我们已启动一项Ib期临床试验,

以评价APG-115与帕博利珠单抗联合治疗实体瘤患者(包括TP53突变型肿瘤患者)的效果。

早期的MDM2抑制剂临床试验数据显示,在适当的剂量方案下,MDM2抑制剂能够有效激活野生型p53肿瘤患者的p53,并观察到抗肿瘤效果,同时安全性在可接受范围内。这些初步的临床数据为以下基本假设提供了有力支持:阻断MDM2-p53相互作用可激活野生型p53,这可能成为一种创新的癌症治疗策略^[69]。然而,根据这些初步临床数据,我们也面临两个重大挑战。首先,MDM2抑制剂的剂量限制性毒性似乎是血液学毒性,包括血小板减少和中性粒细胞减少,这是由于骨髓中p53的激活所致。因此,确定每种MDM2抑制剂的最佳剂量方案非常重要,这样才能在血液学毒性最小或至少可控的情况下实现强大的p53激活。其次,检测到接受SAR405838治疗的脂肪肉瘤患者出现p53突变,这表明将MDM2抑制剂与能有效靶向p53突变肿瘤细胞的药物相结合,对于MDM2抑制剂的成功临床开发至关重要。此外,值得注意的是,一些传统化疗或较新的分子靶向抗癌药物的抗肿瘤活性与肿瘤的p53状态无关^[70]。因此,探索将MDM2抑制剂与能够有效杀死携带p53突变的肿瘤细胞的药物组合使用,显得尤为重要。值得庆幸的是,我们目前对于APG-115单药或联合用药的研究结果已经显示出其更大的临床有效性及更小的血液学毒性。更重要的是,我们还发现了APG-115与免疫治疗、放射治疗联合使用的可能性。作为最具潜力的MDM2抑制剂之一,APG-115的更多作用机制及临床应用价值值得被广泛探索和深入研究。

4 总结与展望

细胞凋亡是维持细胞稳态的关键过程,然而在肿瘤细胞中,凋亡机制常常受到诸如p53、Bcl-2家族蛋白和IAPs等分子的异常调控,进而促进肿瘤的发生和发展。近年来,针对这些关键分子的小分子抑制剂的研发取得了显著进展。例如,Lisaftoclax(APG-2575)和Pelcitoclax(APG-1252)作为Bcl-2家族蛋白抑制剂,能够通过抑制Bcl-2及Bcl-xL的功能,诱导细胞凋亡,特别是在血液系统恶性肿瘤中展现了显著的抗肿瘤活性;APG-1387作为Smac模拟物,通过促使IAPs降解,从而激活胱天蛋白酶,促进凋亡;此外,APG-115通过抑制MDM2-p53相互作用,

恢复p53肿瘤抑制功能,已在多个肿瘤模型中表现出强大的抗肿瘤潜力。

展望未来,针对细胞凋亡通路的靶向治疗将进一步向多靶点联合疗法发展,以期通过协同作用克服耐药性并增强治疗效果。例如,APG-2575与免疫疗法或BTK抑制剂联合使用的策略,已在临床前研究中展现出潜在的协同抗肿瘤作用。此外,随着精准医学的发展,个性化治疗方案将依据患者的分子特征、基因突变和肿瘤微环境进行定制,以提高治疗的选择性和效果。未来,优化这些靶向小分子抑制剂的药代动力学特性,减少其毒副作用,提升治疗效果,将是进一步提升临床疗效的关键。随着临床试验的深入推进,这些新型靶向治疗策略有望为癌症患者提供更多的治疗选择,特别是在晚期癌症的治疗中,发挥重要作用。

参考文献 (References)

- [1] YAN N, SHI Y. Mechanisms of apoptosis through structural biology [J]. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2005, 21: 35-56.
- [2] DANIAL N N, KORSMEYER S J. Cell death: critical control points [J]. *Cell*, 2004, 116(2): 205-19.
- [3] RIEDL S J, SHI Y. Molecular mechanisms of caspase regulation during apoptosis [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2004, 5(11): 897-907.
- [4] CORY S, ADAMS J M. The Bcl2 family: regulators of the cellular life-or-death switch [J]. *Nat Rev Cancer*, 2002, 2(9): 647-56.
- [5] SALVESEN G S, DUCKETT C S. IAP proteins: blocking the road to death's door [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2002, 3(6): 401-10.
- [6] QIN J J, LI X, HUNT C, et al. Natural products targeting the p53-MDM2 pathway and mutant p53: recent advances and implications in cancer medicine [J]. *Genes Dis*, 2018, 5(3): 204-19.
- [7] HUDSON C D, MORRIS P J, LATCHMAN D S, et al. Brn-3a transcription factor blocks p53-mediated activation of proapoptotic target genes Noxa and Bax *in vitro* and *in vivo* to determine cell fate [J]. *J Biol Chem*, 2016, 291(30): 15909.
- [8] MIYASHITA T, REED J C. Tumor suppressor p53 is a direct transcriptional activator of the human bax gene [J]. *Cell*, 1995, 80(2): 293-9.
- [9] KALE J, OSTERLUND E J, ANDREWS D W. BCL-2 family proteins: changing partners in the dance towards death [J]. *Cell Death Differ*, 2018, 25(1): 65-80.
- [10] PAN R, RUVOLO V, MU H, et al. Synthetic lethality of combined Bcl-2 inhibition and p53 activation in AML: mechanisms and superior antileukemic efficacy [J]. *Cancer Cell*, 2017, 32(6): 748-60.e6.
- [11] ASHKENAZI A, FAIRBROTHER W J, LEVERSON J D, et al. From basic apoptosis discoveries to advanced selective BCL-2 family inhibitors [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2017, 16(4): 273-84.
- [12] BAILL, SMITH D C, WANG S. Small-molecule SMAC mimetics as new cancer therapeutics [J]. *Pharmacol Ther*, 2014, 144(1):

- 82-95.
- [13] KRUSE J P, GU W. Modes of p53 regulation [J]. *Cell*, 2009, 137(4): 609-22.
 - [14] AZER S A. MDM2-p53 interactions in human hepatocellular carcinoma: what is the role of nutlins and new therapeutic options [J]? *J Clin Med*, 2018, 7(4): 64.
 - [15] DI T, LUO Q Y, SONG J T, et al. APG-1252 combined with Cabozantinib inhibits hepatocellular carcinoma by suppressing MEK/ERK and CREB/Bcl-xl pathways [J]. *Int Immunopharmacol*, 2024, 139: 112615.
 - [16] SATO T, IRIE S, KRAJEWSKI S, et al. Cloning and sequencing of a cDNA encoding the rat Bcl-2 protein [J]. *Gene*, 1994, 140(2): 291-2.
 - [17] STRASSER A, CORY S, ADAMS J M. Deciphering the rules of programmed cell death to improve therapy of cancer and other diseases [J]. *EMBO J*, 2011, 30(18): 3667-83.
 - [18] GREEN D R, KROEMER G. The pathophysiology of mitochondrial cell death [J]. *Science*, 2004, 305(5684): 626-9.
 - [19] KALKAVAN H, GREEN D R. MOMP, cell suicide as a BCL-2 family business [J]. *Cell Death Differ*, 2018, 25(1): 46-55.
 - [20] SHOEMAKER A R, MITTEN M J, ADICKES J, et al. Activity of the Bcl-2 family inhibitor ABT-263 in a panel of small cell lung cancer xenograft models [J]. *Clin Cancer Res*, 2008, 14(11): 3268-77.
 - [21] SOUERS A J, LEVERSON J D, BOGHAERT E R, et al. ABT-199, a potent and selective BCL-2 inhibitor, achieves antitumor activity while sparing platelets [J]. *Nat Med*, 2013, 19(2): 202-8.
 - [22] TRON A E, BELMONTE M A, ADAM A, et al. Discovery of Mcl-1-specific inhibitor AZD5991 and preclinical activity in multiple myeloma and acute myeloid leukemia [J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 5341.
 - [23] BEROUKHIM R, MERMEL C H, PORTER D, et al. The landscape of somatic copy-number alteration across human cancers [J]. *Nature*, 2010, 463(7283): 899-905.
 - [24] MASON K D, CARPINELLI M R, FLETCHER J I, et al. Programmed anuclear cell death delimits platelet life span [J]. *Cell*, 2007, 128(6): 1173-86.
 - [25] ZHAI Y, TANG Q, FANG D D, et al. Lisoftoclax in combination with alrizomadlin overcomes venetoclax resistance in acute myeloid leukemia and acute lymphoblastic leukemia: preclinical studies [J]. *Clin Cancer Res*, 2023, 29(1): 183-96.
 - [26] LAKHANI N J, RASCO D, WANG H, et al. First-in-human study with preclinical data of BCL-2/BCL-xL inhibitor pelcitolax in locally advanced or metastatic solid tumors [J]. *Clin Cancer Res*, 2024, 30(3): 506-21.
 - [27] LLOVET J M, RICCI S, MAZZAFERRO V, et al. Sorafenib in advanced hepatocellular carcinoma [J]. *N Engl J Med*, 2008, 359(4): 378-90.
 - [28] CHENG A L, KANG Y K, CHEN Z, et al. Efficacy and safety of sorafenib in patients in the Asia-Pacific region with advanced hepatocellular carcinoma: a phase III randomised, double-blind, placebo-controlled trial [J]. *Lancet Oncol*, 2009, 10(1): 25-34.
 - [29] KUDO M, FINN R S, QIN S, et al. Lenvatinib versus sorafenib in first-line treatment of patients with unresectable hepatocellular carcinoma: a randomised phase 3 non-inferiority trial [J]. *Lancet*, 2018, 391(10126): 1163-73.
 - [30] CARUSO S, CALATAYUD A L, PILET J, et al. Analysis of liver cancer cell lines identifies agents with likely efficacy against hepatocellular carcinoma and markers of response [J]. *Gastroenterology*, 2019, 157(3): 760-76.
 - [31] YI H, QIU M Z, YUAN L, et al. Bcl-2/Bcl-xl inhibitor APG-1252-M1 is a promising therapeutic strategy for gastric carcinoma [J]. *Cancer Med*, 2020, 9(12): 4197-206.
 - [32] LIU X, KIM C N, YANG J, et al. Induction of apoptotic program in cell-free extracts: requirement for dATP and cytochrome c [J]. *Cell*, 1996, 86(1): 147-57.
 - [33] DEL GAIZO MOORE V, SCHLIS K D, SALLAN S E, et al. BCL-2 dependence and ABT-737 sensitivity in acute lymphoblastic leukemia [J]. *Blood*, 2008, 111(4): 2300-9.
 - [34] FANG D D, ZHU H, TANG Q, et al. FLT3 inhibition by olverembatinib (HQP1351) downregulates MCL-1 and synergizes with BCL-2 inhibitor lisoftoclax (APG-2575) in preclinical models of FLT3-ITD mutant acute myeloid leukemia [J]. *Transl Oncol*, 2022, 15(1): 101244.
 - [35] AILAWADHI S, CHEN Z, HUANG B, et al. Novel BCL-2 inhibitor lisoftoclax in relapsed or refractory chronic lymphocytic leukemia and other hematologic malignancies: first-in-human open-label trial [J]. *Clin Cancer Res*, 2023, 29(13): 2385-93.
 - [36] OLTERSDORF T, ELMORE S W, SHOEMAKER A R, et al. An inhibitor of Bcl-2 family proteins induces regression of solid tumours [J]. *Nature*, 2005, 435(7042): 677-81.
 - [37] WILSON W H, O'CONNOR O A, CZUCZMAN M S, et al. Navitoclax, a targeted high-affinity inhibitor of BCL-2, in lymphoid malignancies: a phase 1 dose-escalation study of safety, pharmacokinetics, pharmacodynamics, and antitumour activity [J]. *Lancet Oncol*, 2010, 11(12): 1149-59.
 - [38] DENG J, PAULUS A, FANG D D, et al. Lisoftoclax (APG-2575) is a novel BCL-2 inhibitor with robust antitumor activity in pre-clinical models of hematologic malignancy [J]. *Clin Cancer Res*, 2022, 28(24): 5455-68.
 - [39] LUO Q, PAN W, ZHOU S, et al. A novel BCL-2 inhibitor APG-2575 exerts synthetic lethality with BTK or MDM2-p53 inhibitor in diffuse large B-cell lymphoma [J]. *Oncol Res*, 2020, 28(4): 331-44.
 - [40] WEI W, HUANG S, LING Q, et al. Homoharringtonine is synergistically lethal with BCL-2 inhibitor APG-2575 in acute myeloid leukemia [J]. *J Transl Med*, 2022, 20(1): 299.
 - [41] LUO F, LI H, MA W, et al. The BCL-2 inhibitor APG-2575 resets tumor-associated macrophages toward the M1 phenotype, promoting a favorable response to anti-PD-1 therapy via NLRP3 activation [J]. *Cell Mol Immunol*, 2024, 21(1): 60-79.
 - [42] ELHANANI O, BEN-URI R, KEREN L. Spatial profiling technologies illuminate the tumor microenvironment [J]. *Cancer Cell*, 2023, 41(3): 404-20.
 - [43] KUMAR S, FAIRMICHAEL C, LONGLEY D B, et al. The multiple roles of the IAP super-family in cancer [J]. *Pharmacol Ther*, 2020, 214: 107610.
 - [44] RIEDL S J, RENATUS M, SCHWARZENBACHER R, et al. Structural basis for the inhibition of caspase-3 by XIAP [J]. *Cell*, 2001, 104(5): 791-800.
 - [45] FULDA S, VUCIC D. Targeting IAP proteins for therapeutic intervention in cancer [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2012, 11(2): 109-24.
 - [46] DAMGAARD R B, NACHBUR U, YABAL M, et al. The ubiqu

- uitin ligase XIAP recruits LUBAC for NOD2 signaling in inflammation and innate immunity [J]. *Mol Cell*, 2012, 46(6): 746-58.
- [47] VARFOLOMEEV E, GONCHAROV T, FEDOROVA A V, et al. c-IAP1 and c-IAP2 are critical mediators of tumor necrosis factor alpha (TNFalpha)-induced NF-kappaB activation [J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(36): 24295-9.
- [48] PETERSEN S L, WANG L, YALCIN-CHIN A, et al. Autocrine TNFalpha signaling renders human cancer cells susceptible to Smac-mimetic-induced apoptosis [J]. *Cancer Cell*, 2007, 12(5): 445-56.
- [49] NDUBAKU C, VARFOLOMEEV E, WANG L, et al. Antagonism of c-IAP and XIAP proteins is required for efficient induction of cell death by small-molecule IAP antagonists [J]. *ACS Chem Biol*, 2009, 4(7): 557-66.
- [50] FULDA S. Promises and challenges of Smac mimetics as cancer therapeutics [J]. *Clin Cancer Res* 2015, 21(22): 5030-6.
- [51] VINCE J E, WONG W W, KHAN N, et al. IAP antagonists target cIAP1 to induce TNFalpha-dependent apoptosis [J]. *Cell*, 2007, 131(4): 682-93.
- [52] PAN W, LUO Q, YAN X, et al. A novel SMAC mimetic APG-1387 exhibits dual antitumor effect on HBV-positive hepatocellular carcinoma with high expression of cIAP2 by inducing apoptosis and enhancing innate anti-tumor immunity [J]. *Biochem Pharmacol*, 2018, 154: 127-35.
- [53] XU R H, LI Y H, JI J, et al. A phase I study of a novel IAP inhibitor APG-1387 in patients with advanced solid tumors [J]. *J Clin Oncol*, 2018, 36: 2593.
- [54] JAIN J, PHAM T N Q, BEGUM S, et al. Bivalent SMAC mimetic APG-1387 reduces HIV reservoirs and limits viral rebound in humanized mice [J]. *iScience*, 2024, 27(12): 111470.
- [55] LI B X, WANG H B, QIU M Z, et al. Novel smac mimetic APG-1387 elicits ovarian cancer cell killing through TNF-alpha, Ripoptosome and autophagy mediated cell death pathway [J]. *J Exp Clin Canc Res*, 2018, 37(1): 53.
- [56] JI J, YU Y, LI Z L, et al. XIAP limits autophagic degradation of sox2 and is a therapeutic target in nasopharyngeal carcinoma stem cells [J]. *Theranostics*, 2018, 8(6): 1494-510.
- [57] VARFOLOMEEV E, BLANKENSHIP J W, WAYSON S M, et al. IAP antagonists induce autoubiquitination of c-IAPs, NF-kappaB activation, and TNFalpha-dependent apoptosis [J]. *Cell*, 2007, 131(4): 669-81.
- [58] LI N, FENG L, HAN H Q, et al. A novel Smac mimetic APG-1387 demonstrates potent antitumor activity in nasopharyngeal carcinoma cells by inducing apoptosis [J]. *Cancer Lett*, 2016, 381(1): 14-22.
- [59] YUAN J, AMIN P, OFENGEIM D. Necroptosis and RIPK1-mediated neuroinflammation in CNS diseases [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2019, 20(1): 19-33.
- [60] CHEN Z, CHEN J, LIU H, et al. The SMAC mimetic APG-1387 sensitizes immune-mediated cell apoptosis in hepatocellular carcinoma [J]. *Front Pharmacol*, 2018, 9: 1298.
- [61] YU H, LIN L, ZHANG Z, et al. Targeting NF-kB pathway for the therapy of diseases: mechanism and clinical study [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2020, 5(1): 209.
- [62] KEARNEY C J, LALAOUI N, FREEMAN A J, et al. PD-L1 and IAPs co-operate to protect tumors from cytotoxic lymphocyte-derived TNF [J]. *Cell Death Differ*, 2017, 24(10): 1705-16.
- [63] SALEEM M, QADIR M I, PERVEEN N, et al. Inhibitors of apoptotic proteins: new targets for anticancer therapy [J]. *Chem Biol Drug Des*, 2013, 82(3): 243-51.
- [64] MORRISH E, BRUMATTI G, SILKE J. Future therapeutic directions for Smac-mimetics [J]. *Cells*, 2020, 9(2): 406.
- [65] BEUG S T, BEAUREGARD C E, HEALY C, et al. Smac mimetics synergize with immune checkpoint inhibitors to promote tumour immunity against glioblastoma [J]. *Nat Commun*, 2017, 15(8): 14278.
- [66] LIU F R, WEI X L, FENG W N, et al. Inhibitor of apoptosis proteins (IAP) inhibitor APG-1387 monotherapy or in combination with programmed cell death 1 (PD-1) inhibitor toripalimab in patients with advanced solid tumors: results from two phase I trials [J]. *ESMO Open*, 2024, 9(8): 103651.
- [67] PAN W, LUO Q, LIANG E, et al. Synergistic effects of Smac mimetic APG-1387 with anti-PD-1 antibody are attributed to increased CD3⁺NK1.1⁺ cell recruitment secondary to induction of cytokines from tumor cells [J]. *Cancer Cell Int*, 2024, 24(1): 181.
- [68] IWABUCHI K, IWABUCHI C, TONE S, et al. Defective development of NK1.1⁺ T-cell antigen receptor alphabeta⁺ cells in zeta-associated protein 70 null mice with an accumulation of NK1.1⁺ CD3⁺ NK-like cells in the thymus [J]. *Blood*, 2001, 97(6): 1765-75.
- [69] WANG S, ZHAO Y, AGUILAR A, et al. Targeting the MDM2-p53 protein-protein interaction for new cancer therapy: progress and challenges [J]. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2017, 7(5): a026245.
- [70] WADE M, LI Y C, WAHL G M. MDM2, MDMX and p53 in oncogenesis and cancer therapy [J]. *Nat Rev Cancer*, 2013, 13(2): 83-96.
- [71] DUMONT P, LEU J I, DELLA PIETRA A C, 3RD, et al. The codon 72 polymorphic variants of p53 have markedly different apoptotic potential [J]. *Nat Genet*, 2003, 33(3): 357-65.
- [72] MIHARA M, ERSTER S, ZAIKAA A, et al. p53 has a direct apoptogenic role at the mitochondria [J]. *Mol Cell*, 2003, 11(3): 577-90.
- [73] TRAWEEK R S, COPE B M, ROLAND C L, et al. Targeting the MDM2-p53 pathway in dedifferentiated liposarcoma [J]. *Front Oncol*, 2022, 12: 1006959.
- [74] LU J, WOOD D, INGLE Y E, et al. Update on genomic and molecular landscapes of well-differentiated liposarcoma and dedifferentiated liposarcoma [J]. *Mol Biol Rep*, 2021, 48(4): 3637-47.
- [75] SOMAIAH N, TAP W. MDM2-p53 in liposarcoma: the need for targeted therapies with novel mechanisms of action [J]. *Cancer Treat Rev*, 2024, 122: 102668.
- [76] VASSILEV L T, VU B T, GRAVES B, et al. *In vivo* activation of the p53 pathway by small-molecule antagonists of MDM2 [J]. *Science*, 2004, 303(5659): 844-8.
- [77] DING Q, ZHANG Z, LIU J J, et al. Discovery of RG7388, a potent and selective p53-MDM2 inhibitor in clinical development [J]. *J Med Chem*, 2013, 56(14): 5979-83.
- [78] VU B, WOVKULICH P, PIZZOLATO G, et al. Discovery of RG7112: a small-molecule Mdm2 inhibitor in clinical development [J]. *ACS Med Chem Lett*, 2013, 4(5): 466-9.
- [79] BURGESS A, CHIA K M, HAUPT S, et al. Clinical overview of MDM2/X-targeted therapies [J]. *Front Oncol*, 2016, 6: 7.
- [80] GOUNDER M M, BAUER T M, SCHWARTZ G K, et al. A first-

- in-human phase i study of milademetan, an MDM2 inhibitor, in patients with advanced liposarcoma, solid tumors, or lymphomas [J]. *J Clin Oncol*, 2023, 41(9): 1714-24.
- [81] WAGNER A J, BANERJI U, MAHIPAL A, et al. Phase I trial of the human double minute 2 inhibitor MK-8242 in patients with advanced solid tumors [J]. *J Clin Oncol*, 2017, 35(12): 1304-11.
- [82] AGUILAR A, SUN W, LIU L, et al. Design of chemically stable, potent, and efficacious MDM2 inhibitors that exploit the retro-mannich ring-opening-cyclization reaction mechanism in spirooxindoles [J]. *J Med Chem*, 2014, 57(24): 10486-98.
- [83] ZHAO Y, LIU L, SUN W, et al. Diastereomeric spirooxindoles as highly potent and efficacious MDM2 inhibitors [J]. *J Am Chem Soc*, 2013, 135(19): 7223-34.
- [84] AGUILAR A, LU J, LIU L, et al. Discovery of 4-((3R,4'S,5'R)-6''-Chloro-4'-(3-chloro-2-fluorophenyl)-1'-ethyl-2''-oxodispiro[cyclohexane-1,2'-pyrrolidine-3',3''-indoline]-5'-carboxamido)bicyclo[2.2.2]octane-1-carboxylic acid (AA-115/APG-115): a potent and orally active murine double minute 2 (MDM2) inhibitor in clinical development [J]. *J Med Chem*, 2017, 60(7): 2819-39.
- [85] KONOPEVA M, MARTINELLI G, DAVER N, et al. MDM2 inhibition: an important step forward in cancer therapy [J]. *Leukemia*, 2020, 34(11): 2858-74.
- [86] ZHOU J, KRYCZEK I, LI S, et al. The ubiquitin ligase MDM2 sustains STAT5 stability to control T cell-mediated antitumor immunity [J]. *Nat Immunol*, 2021, 22(4): 460-70.
- [87] CHEN H, LUO D, ZHANG L, et al. Restoration of p53 using the novel MDM2-p53 antagonist APG115 suppresses dedifferentiated papillary thyroid cancer cells [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(26): 43008-22.
- [88] YI H, YAN X, LUO Q, et al. A novel small molecule inhibitor of MDM2-p53 (APG-115) enhances radiosensitivity of gastric adenocarcinoma [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2018, 37(1): 97.
- [89] VOGELSTEIN B, KINZLER K W. p53 function and dysfunction [J]. *Cell*, 1992, 70(4): 523-6.
- [90] OLINER J D, KINZLER K W, MELTZER P S, et al. Amplification of a gene encoding a p53-associated protein in human sarcomas [J]. *Nature*, 1992, 358(6381): 80-3.
- [91] FANG D D, TANG Q, KONG Y, et al. MDM2 inhibitor APG-115 exerts potent antitumor activity and synergizes with standard-of-care agents in preclinical acute myeloid leukemia models [J]. *Cell Death Discov*, 2021, 7(1): 90.
- [92] GRAZIANO F, VICENZI E, POLI G. Human monocyte-derived macrophages (MDM): model 2 [J]. *Methods Mol Biol*, 2022, 2407: 97-101.