

- [5] Glue P, Fang JW, Rouzier-Panis R, *et al*. Pegylated interferon- α 2b; pharmacokinetics, pharmacodynamics, safety, and preliminary efficacy data[J]. *Clin Pharmacol Ther*, 2000, 68(5):556.
- [6] Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR, *et al*. Peginterferon α -2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection[J]. *N Engl J Med*, 2002, 347(13):975.
- [7] Lindsay KL, Trepco C, Hemtges T, *et al*. A randomized, double-blind trial comparing pegylated interferon α -2b to interferon α -2b as initial treatment for chronic hepatitis C[J]. *Hepatology*, 2001, 34(2):395.
- [8] Manns MP, McHutchison JC, Gordon SC, *et al*. Peginterferon α -2b plus ribavirin compared with interferon α -2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomized trial[J]. *Lancet*, 2001, 358(9286):958.
- [9] McHutchison JG, Manns M, Patel K, *et al*. Adherence to combination therapy enhances sustained response in genotype-1-infected patients with chronic hepatitis C[J]. *Gastroenterology*, 2002, 123(4):1061.
- [10] Poynard T, McHutchison J, Manns M, *et al*. Impact of pegylated interferon α -2b and ribavirin on liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C[J]. *Gastroenterology*, 2002, 122(5):1303.
- [11] Fried MW. Side effects of therapy of hepatitis C and their management[J]. *Hepatology*, 2002, 36(5 suppl):S237.
- [12] Russ MW, Fried MW. Side effects of therapy for chronic hepatitis C[J]. *Gastroenterology*, 2003, 124(6):1711.
- [13] Peck-Radosavljevic M, Wichlas M, Homonick-Kraml M, *et al*. Rapid suppression of hematopoiesis by standard or pegylated interferon- α [J]. *Gastroenterology*, 2002, 123(1):141.
- [14] Gomez-Rangel JD, Ruiz-Delgado GJ, Ruiz-Arguelles GJ. Pegylated-interferon induced severe bone marrow hypoplasia in a patient with multiple myeloma receiving thalidomide[J]. *Am J Hematol*, 2003, 74(4):290.
- [15] Abi-Nassif S, Mark EJ, Fogel RB, *et al*. Pegylated Interferon and ribavirin-induced interstitial pneumonitis With ARDS[J]. *Chest*, 2003, 124(1):406.

收稿日期:2005-06-08

抗肿瘤新药酪氨酸激酶抑制剂 STI571 研究进展

庄东平(福建省惠安县人民医院药剂科,福建 惠安 362100)

摘要 STI571 是一种靶向治疗慢性髓细胞性白血病(CML)的酪氨酸激酶抑制剂,抑制 Bcr - abl 激酶呈高度特异性。本文介绍其体内药理学作用、临床应用及耐药性等最新进展。

关键词 STI571; 慢性髓性白血病; 酪氨酸激酶

中图分类号:R979.1⁺2

文献标识码:A

文章编号:1006 - 0111(2005)06 - 0353 - 04

STI571 (Gleevec, CGP57148B, imatinib mesylate) 是一种小分子的 2 - 苯胺嘧啶衍生物,具有蛋白酪氨酸激酶(protein tyrosine kinase, PTK)抑制活性,2001 年已获美国食品药品监督管理局(FDA)批准,成为慢性髓性白血病(CML)有效的选择性治疗药物。本文就该药临床前研究结果和临床应用及存在的问题作一综述。

1 慢性髓性白血病与 Bcr - Abl

慢性髓性白血病(chronic myelogenous leukemia, CML)是一种克隆性造血干细胞异常的疾病,临床分为急性期和慢性期。慢性期特征表现为白细胞克隆丧失中止分化的能力,正常分化的髓性细胞过多。经过 4 ~ 6 年时间,通过“加速期”转化为致命的“爆炸性危象”或急性白血病。慢性髓性白血病可能是目前在分子水平上了解得最清楚的人类肿瘤之一。由于后天遗传变异,9 号染色体和 22 号染色体相互易位,产生了较短的 22 号染色体即 Philadelphia 染色体(Ph),其中 c - Abl 基因的第三个外显子被 Bcr 基因替代,而形成了 Bcr - Abl 融合基因。

后者翻译成 Bcr - Abl 嵌合蛋白,具有异常的酪氨酸激酶活性,诱导髓性细胞增殖。所有的 CML 病人都表达 Bcr - Abl 蛋白。大约 50% Ph 阳性的成人急性淋巴母细胞白血病(acute lymphoblastic leukemia, ALL)病人表达 210kD Bcr - Abl 蛋白,剩余 50% Ph 阳性的 ALL 成年病人以及 Ph 阳性的 ALL 儿童患者则表达 185kD 的 Bcr - Abl 蛋白。此外,体外研究及动物模型研究证明 Bcr - Abl 单独足以引起 CML,而且突变分析证明该蛋白酪氨酸激酶活性为其致癌活性所必需。因此,Bcr - Abl 成为慢性髓性白血病的理想治疗靶点。

2 STI571 体外药效学研究

在阐明慢性髓性白血病发病机制的基础上,近十年来,人们一直在寻找针对 Bcr - Abl 蛋白酪氨酸激酶的抑制剂。现在已经发现了许多化合物具有相对高的选择性,如杀莠素 A (herbimycin A), tyrosinase 以及最重要的 2 - 苯胺嘧啶类(2 - phenylamino-pyrimidine)信号转导抑制剂 STI571 (signal transduction inhibitor STI571)。

2.1 STI571 对 Abl 蛋白激酶的作用 测定重组的酪氨酸和丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶底物磷酸化, 试验 STI571 对蛋白激酶的抑制作用。结果表明, STI571 能有效地抑制细胞的 Abl (cellular Abl, c - Abl) 和癌基因病毒型 Abl (v - Abl) 酪氨酸激酶活性, IC_{50} 值分别为 0.2mM 和 0.038mM。用免疫沉淀法测定 STI571 对转染细胞裂解物中 c - Abl 的抑制作用, IC_{50} 值为 0.025mM。但是, STI571 对 Kdr、Flt - 1、Tek、FGF - R1、c - Met 和 Src 家族 (c - Src、c - Fgr、c - Lyn、Lck) 蛋白激酶的抑制作用很弱或无作用。

在细胞水平测定 STI571 对细胞酪氨酸磷酸化的抑制作用, 结果表明, STI571 能显著抑制细胞构成型的 Abl 酪氨酸激酶活性, 如 v - Abl、p210Bcr - Abl、p815Bcr - Abl 以及 Tel - Abl, IC_{50} 值为 0.1 ~ 0.35 μ M。更为重要的是, G 也能抑制 p210Bcr - Abl 阳性的髓性细胞系和 p815Bcr - Abl 阳性的淋巴瘤细胞白血病细胞系以及 Ph 阳性的 CML 和 ALL 患者原代白血病细胞的 Abl 酪氨酸激酶活性。

2.2 STI571 对受体介导的信号转导作用 基于细胞水平的酪氨酸激酶活性分析表明, STI571 对配体激活的血小板源衍生因子 (PDGF) 受体和干细胞因子 (SCF) 受体 (c - Kit) 信号转导具有抑制作用。

STI571 抑制 PDGF α 和 b 刺激的 Swiss 3T3 细胞受体磷酸化, IC_{50} 值为 0.1 μ M, 对 PDGFBB 介导的大鼠平滑肌细胞 A10 丝裂原活化蛋白 (MAP) 激酶活性也有抑制作用, 还能抑制 PDGF 诱导的磷脂酰肌醇释放。同样 STI571 对 SCF 诱导的 MO7e 细胞 c - Kit 磷酸化和 MAP 激酶活性也有抑制作用, IC_{50} 值为 0.1 ~ 1 μ M。

但是, STI571 对内皮细胞生长因子 (EGF)、胰岛素、胰岛素样生长因子 I (IGF - I)、成纤维细胞生长因子 (FGF) 和佛波醇酯介导的信号转导不敏感, 而且也不影响 Flt - 3、克隆刺激因子 1 (CSF - 1, c - Fms) 受体、非受体酪氨酸激酶 Src 以及介导包括白细胞介素 - 3 (IL - 3)、粒细胞克隆刺激因子 (G - CSF) 和红细胞生成素 (EPO) 等一系列细胞因子受体信号转导的 Jak - 2 酪氨酸激酶活性。

2.3 STI571 体外对细胞增殖的抑制作用

2.3.1 STI571 体外单独对细胞增殖的抑制作用 利用直接细胞计数法和四氮唑蓝分析法 (MTT assay), 试验了 STI571 对生长因子依赖的表达 p210Bcr - Abl 的 32D 细胞 (32Dp210) 和 MO7e 细胞 (MO7p210) 及其对应的未表达 Bcr - Abl 细胞的增殖抑制作用。结果表明, 1 μ M STI 能有效抑制表达 p210Bcr - Abl 的 MO7e 细胞 (图 2), 而对 MO7e 细胞或 v - src 转型的细胞, 10 μ M STI 仍无作用。STI

也能诱导人 p210Bcr - Abl 阳性的 K562 细胞向红细胞转化和死亡, 抑制 p185Bcr - Abl - 和 Tel - Abl - 转型的细胞增殖。同样, STI 能选择性诱导 Bcr - Abl 阳性的 CML 和 ALL 细胞系凋亡。抑制来自于 CML 急性期病人具 KU812 和 MC3 Bcr - Abl 阳性的白血病细胞系增殖, IC_{50} 值为 0.1 ~ 0.3 μ M。STI 能诱导从 Ph 阳性的 CML 和 ALL 病人中分离的白血病细胞死亡, 但不影响 Ph 阴性的 ALL 和急性髓性未成熟细胞。

STI 能显著地抑制 v - sis 转染的 BABL/c 3T3 细胞对自分泌 PDGF 反应引起的细胞增殖作用。还能浓度依赖地抑制 PDGF 刺激的大鼠平滑肌 A10 细胞增殖, 但对血清诱导的细胞增殖无作用。STI 对表达 Tel - PDGF 受体的细胞也很敏感。与抑制 c - Kit 酪氨酸激酶平行, STI 也能抑制 SCF 刺激的小细胞肺癌细胞生长。但是, 对表达活化 ras 基因的人膀胱癌 T24 细胞则相对不敏感, 对 EGF 依赖的 BABL/MK 细胞和 IL - 3 依赖的 FDC - P1 细胞仅有很弱的生长抑制作用。

STI 对来自于病人的 CML 克隆形成也有选择性抑制作用。STI 1 μ M 可选择性抑制 Ph 阳性的 CML 病人外周血和骨髓细胞克隆的形成, Bcr - Abl 阳性克隆降低了 92% ~ 98%, 但对正常造血细胞几乎无作用。在基质依赖的长期培养 (long - term culture, LTC) 条件下, STI 对外周血祖细胞增殖的抑制作用证实了上述结果。STI 10 μ M 与 Bcr - Abl 阳性的祖细胞在 LTC 条件下培养 1 周, 可抑制祖细胞 80% ~ 90%, 培养 2 ~ 8 周抑制率达到 90%, 而对正常细胞刚刚起毒性作用。

2.3.2 STI571 体外合用其它化疗药物对细胞增殖的作用 STI571 与 α_2 IFN、长春新碱联合使用对 Ph 阳性白血病细胞系的细胞毒作用呈协同作用, 与羟基脲、环磷酰胺、高三尖杉酯碱、阿霉素及依托泊苷、环磷酰胺等合用则有相加作用, 而氨甲喋呤与 STI571 有拮抗作用。对 Bcr - Abl 阳性细胞系, STI571 与 IFN、柔红霉素及阿糖胞苷呈协同或相加效应, 与抗白血病药物 As₂O₃ 合用可以有效诱导细胞的分化和凋亡。对患者标本的克隆, 上述药物与 STI571 联用均比单用 STI571 有更显著抑制肿瘤增殖的作用。

3 STI571 体内对移植瘤的抑制作用

Bcr - Abl 转染的 32D 细胞接种于同源 C3H/HEJ 小鼠背部, 7d 后, ip 注射 STI 571 2.5 ~ 50 mg/kg, 连续注射 10d, STI571 可剂量依赖抑制肿瘤生长, 但是, STI571 50mg/kg 对 v - src 转染的 32D 肿

瘤却无作用,这个结果与其缺乏抑制 src 激酶活性相符。

KU812 细胞系(来源于急性期 CML 病人, Bcr - Abl 为阳性)接种于 CD - 1 裸鼠,灌胃给予 STI571 160mg/kg,每日 3 次,连续 11d。结果显示,给药 2d,肿瘤结节开始消退,呈现显著肿瘤生长抑制作用,给药 8d,则肿瘤完全消退。对照组肿瘤则随时间延长而增大。但是,12 只小鼠中,4 只在 48 ~ 60d 复发,剩下的 8 只小鼠维持无肿瘤状态达 200d。STI571 对 Bcr - Abl 阴性的 U937 髓性肿瘤无作用。

4 STI571 的临床研究

临床研究显示 STI571 具有显著抗白血病活性,而且毒性很低,目前已成为新诊断的 CML 患者的一线治疗药物。

Druker BJ 等选择 83 例经 α_2 干扰素治疗失败慢性髓细胞性白血病(CML)患者进行临床研究,发现 STI571 耐受性良好,而且有明显的抗 CML 作用,对于 α_2 干扰素治疗失败的患者尤为明显。血液学完全缓解率随着每日用药剂量增加而升高。54 例接受 300mg/d 以上 STI571 的治疗,其中 53 例用药 4 周内获得完全血液学缓解,血细胞都保持在正常范围内,说明 STI571 可以恢复正常的白细胞克隆。在白血病克隆被正常造血细胞增殖或是被白血病造血干细胞分化替代后,白血病克隆即停止,随即出现细胞遗传学缓解。研究发现,患者治疗时间长于 5 个月,53% 患者获得细胞遗传学缓解,其中的 13% 为细胞遗传学完全缓解。细胞遗传学缓解最早出现在 STI571 治疗后 2 个月,最晚 10 个月,细胞遗传学完全缓解出现的平均时间为 148(48 ~ 331)天。7 例中 2 例原位杂交荧光检测 Bcr - abl 阴性,1 例多聚酶链反应(PCR)检测 Bcr - abl mRNA 阴性。

STI571 治疗最常见副作用是恶心、水肿、肌痛和腹泻,其中大部分为轻度反应,可以耐受。在对急性白血病患者研究中也出现了类似现象。有近 1/4 的患者出现骨髓抑制,引起的贫血、白细胞和血小板减少,可以通过暂时停药和减少剂量而得到控制。

临床试验中也发现,CML 急性淋巴细胞病变的患者在 STI571 应用初期反应良好,但平均缓解期远低于慢性期患者,说明有耐药现象出现。深入探讨 CML 细胞对 STI571 耐药现象,发现最常见的机制包括:①细胞过表达 Bcr - abl;②Bcr - abl 激酶结构域突变,致使 STI571 不能与该酶主要触点结合;③Bcr - abl 激酶构型变化使 STI571 不能结合。近年来针对 STI571 耐药问题,研究出多种克服耐药的方法,

包括增加药物用量、与其它化疗药联合应用、选择其它的 Bcr - abl 抑制剂、以及使用 Bcr - abl 激酶信号转导通路下游的激酶抑制剂如 Src 激酶抑制剂等。

5 结语

STI571 是近年开发的用于治疗慢性髓细胞性白血病的酪氨酸激酶抑制剂,对 bcr - abl 激酶有高度特异性的抑制作用。STI571 开发成功是应用药物基因组学开发分子靶向治疗药物的典范,必将为发展其它肿瘤的分子靶向治疗药物提供示范作用。进一步研究慢性髓细胞性白血病分子机制以及研究如何特异性针对细胞内异常靶分子,将有助于设计和开发新的慢性髓性白血病治疗药物。

参考文献:

- [1] Bartram CR, de Klein A, Hagemeijer A, *et al.* Translocation of c-abl oncogene correlates with the presence of a Philadelphia chromosome in chronic myelocytic leukaemia [J]. *Nature*, 1983, 306(5940):277
- [2] Lugo TG, Pendergast AM, Muller AJ, *et al.* Tyrosine kinase activity and transformation potency of bcr-abl oncogene products [J]. *Science*, 1990, 247(4946):1079.
- [3] O'Dwyer ME, Mauro MJ, Druker BJ. Recent advancements in the treatment of chronic myelogenous leukemia [J]. *Annu Rev Med*, 2002, 53:369.
- [4] Buchdunger E, O'Reilly T, Wood J. Pharmacology of imatinib (STI571) [J]. *Eur J Cancer*, 2002, 38 (Suppl 5):S28.
- [5] Buchdunger E, Cioffi CL, Law N, *et al.* Abl protein-tyrosine kinase inhibitor STI571 inhibits in vitro signal transduction mediated by c-Kit and platelet-derived growth factor receptors [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2000, 295(1):139.
- [6] Deininger MW, Goldman JM, Lydon N, *et al.* The tyrosine kinase inhibitor CGP57148B selectively inhibits the growth of BCR-ABL-positive cells [J]. *Blood*, 1997, 90(9):3691.
- [7] Carroll M, Ohno-Jones S, Tamura S, *et al.* GP 57148, a tyrosine kinase inhibitor, inhibits the growth of cells expressing BCR-ABL, TEL-ABL, and TEL-PDGFR fusion proteins [J]. *Blood*, 1997, 90(12):4947.
- [8] Dan S, Naito M, Tsuruo T. Selective induction of apoptosis in Philadelphia chromosome-positive chronic myelogenous leukemia cells by an inhibitor of BCR-ABL tyrosine kinase, CGP 57148 [J]. *Cell Death Differ*, 1998, 5(8):710.
- [9] Thiesing JT, Ohno-Jones S, Kolibaba KS, *et al.* Efficacy of STI571, an abl tyrosine kinase inhibitor, in conjunction with other antileukemic agents against bcr-abl-positive cells [J]. *Blood*, 2000, 96(9):3195.
- [10] La Rosee P, Johnson K, O'Dwyer ME, *et al.* In vitro studies of the combination of imatinib mesylate (Gleevec) and arsenic trioxide (Trisenox) in chronic myelogenous leukemia [J]. *Exp Hematol*, 2002, 30(7):729.
- [11] Waller CF, Ali M, Heinzinger M, *et al.* Growth inhibition of Ph + progenitor cells from CML patients using the tyrosine kinase in-

- hibitor CGP57148B [J]. *Anticancer Res*, 2000, 20(2A):809.
- [12] Le Coutre P, Mologni L, Cleris L, *et al*. In vivo eradication of human BCR/ABL-positive leukemia cells with an ABL kinase inhibitor [J]. *J Natl Cancer Inst*, 1999, 91(2):163.
- [13] Druker BJ, Talpaz M, Resta DJ, *et al*. Efficacy and safety of a specific inhibitor of the BCR-ABL tyrosine kinase in chronic myeloid leukemia [J]. *N Eng J Med*, 2001, 344(14): 1031.
- [14] Martinelli G, Soverini S, Rosti G, *et al*. New tyrosine kinase inhibitors in chronic myeloid leukemia [J]. *Haematologica*, 2005, 90: 534.

收稿日期:2005-09-17

中药保护血管内皮细胞功能研究进展

施利兴¹, 闫政² (1. 广东省潮州市中心医院, 潮州 521000; 2. 苏州长征-欣凯制药有限公司, 苏州 215007)

摘要 血管内皮功能失调与心血管系统等多种疾病的发生与发展有密切关系, 研究药物对内皮功能的保护作用受到广泛重视。本文综述了近年来部分中药保护血管内皮功能、防止或减轻内皮功能失调作用的研究概况。

关键词 中药; 血管; 内皮功能; 失调

中图分类号: R961; R972

文献标识码: A

文章编号: 1006-0111(2005)06-0356-03

血管内皮细胞具有机械屏障、物质转运、自分泌、旁分泌等多重功能, 在创伤修复、血管生成、止血、血栓形成、出血性疾病、动脉粥样硬化、糖尿病等一系列生理和病理过程中起着重要作用。血管内皮功能失调与多种心血管疾病的发生和发展关系密切。研究表明, 高血压、高血脂、高血糖、缺氧、衰老、吸烟等许多心血管疾病危险因素, 都会使血管内皮细胞受损, 引起内皮功能障碍。现代医学研究表明, 中药对保护血管内皮细胞、防止和减轻疾病发生发展过程中所存在的血管内皮功能失调有显著作用。现简介近年有关中药保护血管内皮功能作用的研究状况。

1 活血化瘀药

活血化瘀类中药在临床上很常用, 对许多心血管疾病均有明显的防治效果。活血化瘀药的作用机制与其抗氧化、抗黏附、调节血管内皮细胞功能等有密切关系。

1.1 丹参 朱雄翔等¹ 在实验中发现, 早期烧伤血清调理的中性粒细胞(PMN)可以产生大量的氧自由基(OFR)造成血管内皮细胞(VEC)损伤。而丹参能抑制 PMN 的氧化活性, 抑制 OFR 的产生而发挥保护 VEC 的作用。此外, 冠心病中 VEC 的损伤大部分是由于脂质过氧化反应引起的, 丹参对过氧化氢-亚铁离子体系产生的羟自由基和黄嘌呤氧化酶体系产生的 OFR 有明显的清除作用; 丹参酮 IIA 磺酸钠可清除邻苯三酚体系在碱性条件下产生

的 OFR, 从而减轻 VEC 的损伤。另外 Chen 等² 在研究中显示丹参中的丹参酸 B(SalB)和水-乙醇萃取液(SMZ)有显著的抗炎和抗动脉粥样硬化作用。以 SalB 或 SMZ 预处理的人主动脉 VEC 可以显著抑制由肿瘤坏死因子诱导产生的血管黏附分子-1(VCAM-1)的出现, 从而降低白细胞的黏附力。

1.2 川芎 川芎所含有效成分四甲基吡嗪可明显抑制 OFR 导致的肌细胞内脂质过氧化作用, 从而抵制缺氧时脂质过氧化对细胞膜及细胞器的损伤, 发挥保护 VEC 的作用³。王少媛等⁴ 在研究中发现川芎嗪可使急性肺心病病人的 Vwf(冯维勒布兰德因子, 第三因子)下降, 6-酮-前列腺素 Fla(6-keto-PGFla)明显升高, 表明川芎嗪有保护 VEC 的作用, 同时增加人血管内皮细胞 PGI₂ 的合成及分泌。此外, 川芎嗪还具有抗血小板聚集、降低血黏度、改善微循环作用, 对阻塞性动脉硬化症 VEC 损伤患者具有很好的治疗和保护作用。阮秋蓉⁵ 等观察到川芎嗪能通过抑制血管内纤溶酶原激活物抑制剂-1(PAI-1)表达来阻滞血栓的形成。

1.3 红花 作为常用活血化瘀中药之一, 红花用于治疗心脑血管疾病已有数千年的历史。其主要成分红花苷、红花素、黄花素、总黄酮等可通过抑制 TXA₂ 合成酶的活性, 使 TXA₂ 的生成减少, 使 PG 内过氧化物较多地蓄积, 于是通过 PGI₂ 合成酶转变成 6-keto-PGFla 增多, 改善微循环^{6,7}。

1.4 水蛭 李凤文⁸ 等从体内血管内皮细胞入手, 观察其与血液流变的关系, 并探讨了水蛭、丹参及其复方对活体血瘀大鼠 VEC 损伤的保护作用。结果表明: 水蛭、丹参及其复方具有稳定血管壁减轻