

## 蛋白质 Neddylaton 修饰与肿瘤关系的研究进展

李清梅, 王淑珍\*

(中国药科大学生命科学与技术学院, 南京 210009)

**摘要** 蛋白质的 Neddylaton 修饰异常与多种肿瘤的发生发展密切相关。研究表明, 参与 Neddylaton 修饰的酶在肿瘤中的水平高于正常邻近组织, 因此 Neddylaton 修饰与肿瘤的关系受到高度关注。目前 Neddylaton 修饰已成为一种新的抗肿瘤治疗靶标。全球首创的蛋白质 Neddylaton 修饰的小分子抑制剂 MLN4924 可诱导肿瘤细胞发生细胞周期阻滞、凋亡、衰老以及自噬, 并通过抑制新生血管生成和调节免疫细胞活性等机制发挥显著抗肿瘤作用。本文就蛋白质 Neddylaton 修饰和其参与肿瘤细胞周期、凋亡、衰老、自噬、血管生成及免疫细胞调节的最新进展进行综述, 为研发靶向 Neddylaton 修饰的抗肿瘤药物提供理论参考。

**关键词** Neddylaton 修饰; 细胞周期; 凋亡; 衰老; 自噬; 血管生成; 免疫调节; 抗肿瘤

**中图分类号** Q816 **文献标志码** A **文章编号** 1000-5048(2018)03-0272-07

doi:10.11665/j.issn.1000-5048.20180303

**引用本文** 李清梅, 王淑珍. 蛋白质 Neddylaton 修饰与肿瘤关系的研究进展[J]. 中国药科大学学报, 2018, 49(3): 272–278.

**Cite this article as:** LI Qingmei, WANG Shuzhen. Advances of relationship between protein Neddylaton and cancer[J]. J China Pharm Univ, 2018, 49(3): 272–278.

## Advances of relationship between protein Neddylaton and cancer

LI Qingmei, WANG Shuzhen\*

School of Life Science and Technology, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China

**Abstract** Abnormal modification in protein Neddylaton is closely related to the occurrence and progression of various tumors. Studies have shown that the level of enzymes participating in Neddylaton is higher than that in normal neighboring tissues, so the relationship between Neddylaton and cancer has aroused much concern. Neddylaton has been considered to be a novel anticancer target. Neddylaton inactivation by a first-in-class small molecular inhibitor, MLN4924, induces cell cycle arrest, apoptosis, senescence and autophagy in different tumor cells. MLN4924 also exerts significant anticancer effects by inhibiting tumor angiogenesis and regulating the function of immune cells. In this review, the latest progress of protein Neddylaton and tumor cell cycle, apoptosis, senescence, autophagy, angiogenesis and regulation of immunocyte were briefly introduced to provide theoretical reference for the development of antitumor drugs targeting Neddylaton.

**Key words** Neddylaton; cell cycle; apoptosis; senescence; autophagy; angiogenesis; regulation of immunocyte; antitumor

蛋白质的可逆性翻译后修饰在真核细胞生物过程的调控中发挥着重要作用, 常见的修饰类型包括糖基化、乙酰化、磷酸化、甲基化和泛素化等<sup>[1]</sup>。蛋白质 Neddylaton 修饰的机制与泛素化相似, 神经前体细胞表达的发育下调蛋白 8 (neuronal precursor cell-expressed developmentally down-regulated

protein 8, NEDD8) 在其激活酶 NAE (NEDD8 activating enzyme, NAE)、结合酶 E2、连接酶 E3 催化的多步级联酶促反应下, 共价结合到底物蛋白质上, 从而调节靶蛋白的生物学功能<sup>[2]</sup>。近期研究表明, 蛋白质 Neddylaton 修饰异常与多种肿瘤的发生发展密切相关, 因此 Neddylaton 修饰已经成为

一种新的抗肿瘤治疗的靶标<sup>[3]</sup>。小分子抑制剂 MLN4924 (pevonedistat) 是 NAE 的选择性抑制剂,能通过抑制 NAE 的活性阻断后续蛋白质的 Neddylaton 修饰反应,从而抑制多种肿瘤相关信号通路,在各种临床前肿瘤动物模型中表现出良好的抑瘤效果,目前已进入 I/II 期临床试验<sup>[4]</sup>。本文就蛋白质 Neddylaton 修饰和其参与肿瘤细胞周期、凋亡、衰老、自噬、血管生成及免疫细胞调节的最新研究进展进行简要介绍。

## 1 蛋白质 Neddylaton 修饰概述

### 1.1 蛋白质 Neddylaton 修饰的基本过程

NEDD8 是由 81 个氨基酸组成且与泛素相似性高达 80% 的小蛋白,在真核生物中高度保守<sup>[2]</sup>。

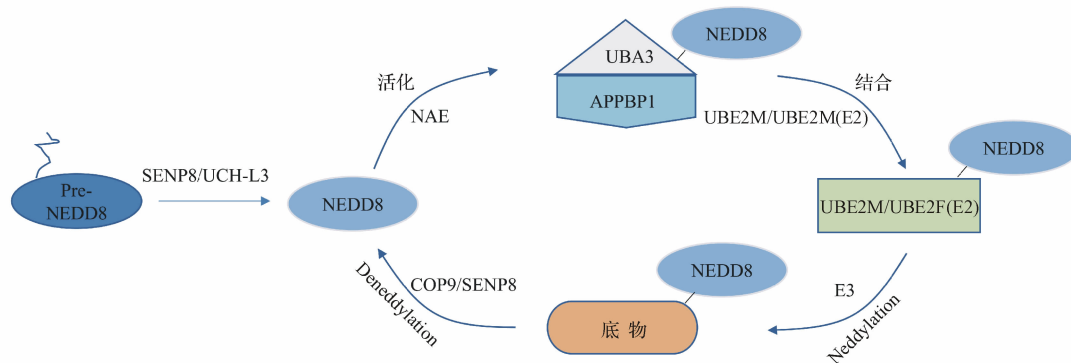


图 1 蛋白质 Neddylaton 修饰过程

SENP8/UCH-L3: NEDD8 前体加工酶; UBA3 与 APPBP1 的异二聚体 (NAE): NEDD8 激活酶; UBE2M/UBE2F (E2): NEDD8 结合酶; E3: NEDD8 连接酶; COP9/SENP8: 去 NEDD8 修饰酶

### 1.2 参与蛋白质 Neddylaton 修饰的关键酶

参与蛋白质 Neddylaton 修饰的关键酶主要包括 NEDD8 前体加工酶、NEDD8 激活酶 NAE、NEDD8 结合酶 E2 和 NEDD8 连接酶 E3 以及去 NEDD8 修饰酶。

**1.2.1 NEDD8 前体加工酶** NEDD8 前体加工酶主要包括泛素羧基末端水解酶 L3 (ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase isozyme L3, UCH-L3) 和 NEDD8 特异性蛋白酶 1 (NEDD8-specific protease 1, NEDP1/DEN1/SENP8) 两种。UCH-L3 除了可以水解 NEDD8 外还可以加工泛素,但是 SENP8 只特异性水解 NEDD8<sup>[6]</sup>。

**1.2.2 NEDD8 激活酶与结合酶** NEDD8 激活酶 NAE 是由淀粉样前体蛋白结合蛋白 1 (amyloid precursor protein-binding protein 1, APPBP1) 和泛素样修饰激活酶 3 (ubiquitin like modifier activating

蛋白质 Neddylaton 修饰过程主要包括以下 4 步酶促反应 (图 1): (1) NEDD8 在其前体加工酶的作用下,被水解为 C 端暴露 Gly76 残基的成熟 NEDD8; (2) 在 NEDD8 激活酶 NAE 的作用下,成熟 NEDD8 的 Gly76 与其活性位点的 Cys 形成一个高能量的硫酯键; (3) 活化的 NEDD8 通过转硫醇反应被转移到 NEDD8 结合酶 E2 (UBE2M/UBE2F) 上; (4) NEDD8 连接酶 E3 将 NEDD8 从 E2 酶转移到底物蛋白上,使 NEDD8 通过共价键与底物的 Lys 残基结合完成对特定蛋白的 Neddylaton 修饰<sup>[5]</sup>。此外,在去 NEDD8 修饰酶的作用下, NEDD8 也可以从底物蛋白上释放出来重新进入循环,即 Deneddylaton,以维持蛋白质 Neddylaton 修饰的动态平衡<sup>[2]</sup>。

enzyme 3, UBA3) 构成的异源二聚体<sup>[7]</sup>。NEDD8 结合酶 E2 则主要包括泛素结合酶 E2M (ubiquitin conjugating enzyme E2M, UBE2M/UBC12) 和泛素结合酶 E2F (ubiquitin conjugating enzyme E2F, UBE2F) 两种。

**1.2.3 NEDD8 连接酶** 与泛素化修饰的特异性一样, Neddylaton 修饰的特异性主要体现在 NEDD8 E3 连接酶催化的最后一步酶促反应上。目前已知的 NEDD8 E3 连接酶的数目远远少于泛素 E3 连接酶,包括: 环指蛋白 (RING-box protein, RBX)、鼠双微体 2 (murine double minute 2, MDM2)、c-CBL (casitas B-lineage lymphoma)、凋亡抑制因子 (inhibitor of apoptosis, IAPs) 和最近报道的神经突触受体相关蛋白 (rapsyn) 等<sup>[4,8]</sup>。其中, RBX 家族的 NEDD8 E3 连接酶研究的最为清楚, RBX1 可与 UBE2M 联合作用催化 Cullin-RING 泛素连

接酶(Cullin RING ligases, CRLs)家族成员 Cullin-1, -2, -3, -4A 和 -4B 的 Neddylolation 修饰, 而 RBX2 可与 UBE2F 联合作用催化 Cullin-5 的 Neddylolation 修饰<sup>[9]</sup>。

1.2.4 去 NEDD8 修饰酶 去 NEDD8 修饰酶主要包括 SENP8 和组成型光形态发生因子 9 (constitutive photomorphogenesis 9, COP9) 信号复合体。SENP8 发挥 Deneddylolation 功能时倾向于将 NEDD8 从多聚 NEDD8 修饰的底物蛋白上移除而保留单 NEDD8 修饰形式, 非 Cullin 底物蛋白的 Deneddylolation 修饰一般由 SENP8 负责<sup>[2,6]</sup>。COP9 信号复合体由 8 个不同的亚基 (COP9 signalosome subunit, CSN) 组成, 其相对分子质量从大到小依次称为 CSN1 (57 kD) ~ CSN8 (22 kD), 其 Deneddylolation 过程主要由 CSN5 负责<sup>[10]</sup>。

### 1.3 发生 Neddylolation 修饰的底物蛋白质

到目前为止, 已知发生 Neddylolation 修饰的底物蛋白质大部分都是 Cullin 家族成员, 包括 Cullin-1, -2, -3, -4A, -4B 和 -5。Cullin 被 Neddylolation 修饰后可通过泛素-蛋白酶体系统调控多种半衰期较短的关键性调节因子的泛素化修饰与降解, 如信号转导因子、细胞周期调节因子、转录因子、肿瘤抑制因子和原癌蛋白等<sup>[4]</sup>。p53 是迄今为止细胞中最为重要的肿瘤抑制因子之一, MDM2 不仅催化其发生泛素化修饰, 也介导了其 Neddylolation 修饰。与泛素化降解不同, p53 的 Neddylolation 修饰只会抑制 p53 的转录活性, 而不影响其降解<sup>[11]</sup>。核糖体蛋白 L11 (ribosome protein L11, RPL11) 和核糖体蛋白 S14 (ribosome protein S14, RPS14) 等也可以在 MDM2 催化下发生 Neddylolation 修饰, 从而调节 RPL11、RPS14 的稳定性和亚细胞定位<sup>[12-13]</sup>。乳腺癌相关蛋白 3 (breast cancer-associated protein 3, BCA3)、 $\beta$ -淀粉样前体蛋白胞内结构域 (the intracellular domain of amyloid precursor protein, AICD) 和环中间的环型 (RING in between RING, RBR) E3 连接酶 Parkin 等也可以发生 Neddylolation 修饰, 参与调控各种生理或病理过程<sup>[14-16]</sup>。此外, 除了常规功能性蛋白质之外, 作为染色体结构的组蛋白同样也可以发生 Neddylolation 修饰, 这种表观遗传修饰与肿瘤的发生发展关系密切<sup>[4,17]</sup>。例如, 在 HCT116 细胞中, 组蛋白 2A (histone 2A, H2A) 会在 E3 连接酶 RNF168 的作用下发生 Neddylolation 修

饰, 拮抗 H2A 的泛素化修饰, 从而抑制 DNA 的损伤修复<sup>[18]</sup>。尽管还有很多其他蛋白质也可以发生 Neddylolation 修饰, 但是其对应的 NEDD8 E3 连接酶并不清楚, 因此, 目前文献报道的 NEDD8 E3 连接酶及其对应的底物的种类并不是很多, 总结如表 1 所示。

表 1 NEDD8 E3 连接酶及其对应的底物

NEDD8 E3 连接酶	底物	参考文献
CRLs	p21, p27, NF- $\kappa$ B, DEPTOR, HIF1 $\alpha$ , RhoA, ATF4	[19-31]
RBX1	Cullin-1, -2, -3, -4A, -4B	[9]
RBX2	Cullin-5	[9]
RNF111\RNFI68	Histone H4\H2A\H2B	[4]; [18]
MDM2	p53, RPL11, RPS14, HuR	[4]; [12-13]
c-CBL	TGF $\beta$ RII	[4]
IAPs	Caspase7	[4]
FBXO11	p53	[4]
TFB3	Cullin-3, -4	[4]
Rapsyn	AchR- $\delta$ subunit	[8]

## 2 蛋白质 Neddylolation 修饰与肿瘤的生物学过程

除了 Neddylolation 修饰在肿瘤和正常组织中存在差异外, 用 NAE 的抑制剂 MLN4924 处理肿瘤细胞时, 会影响肿瘤细胞的多种生物学过程。目前研究 Neddylolation 修饰涉及的肿瘤生物学内容主要包括: 调控肿瘤细胞周期、参与细胞凋亡、衰老、自噬、调节血管生成及调控免疫细胞, 如图 2 所示。

### 2.1 Neddylolation 修饰与肿瘤细胞周期

用 MLN4924 处理不同类型肿瘤细胞或动物模型, 发现抑制 Neddylolation 修饰会诱导肿瘤细胞周期阻滞, 但是阻滞阶段并不相同, 提示 MLN4924 诱导肿瘤细胞周期阻滞存在多种不同机制<sup>[32]</sup>。Milhollen 等<sup>[24]</sup>用 MLN4924 处理弥漫大 B 细胞淋巴瘤 (diffuse large B lymphoma, DLBCL) 细胞时发现, 在 MLN4924 诱导下激活的 B 细胞样 (activated B-cell-like, ABC) DLBCL 会快速增加磷酸化 I $\kappa$ B- $\alpha$  的水平, 减少 p65 蛋白的核内表达, 通过降低 NF- $\kappa$ B 的转录活性引起 G<sub>1</sub> 期阻滞; 但是在生发中心 B 细胞样 (germinal center B-cell-like, GC) DLBCL 模型中, MLN4924 则通过增加 DNA 复制因子 Cdt-1 的累积, 诱导 DNA 重新复制造成 S 期阻滞。最近暨南大学潘景轩教授课题组发现, 用 MLN4924 阻滞 Neddylolation 修饰, 对携带 T315I 点突变 Bcr-Abl 融合的慢性粒细胞白血病细胞和白

血病干细胞具有显著抑制效果。其研究也显示 MLN4924 可诱导多种 p53 野生型慢性粒细胞白血

病细胞系以及 CD34<sup>+</sup> 干细胞中细胞周期抑制因子 p27 蛋白表达水平升高,引起 G<sub>2</sub>/M 期阻滞<sup>[22]</sup>。

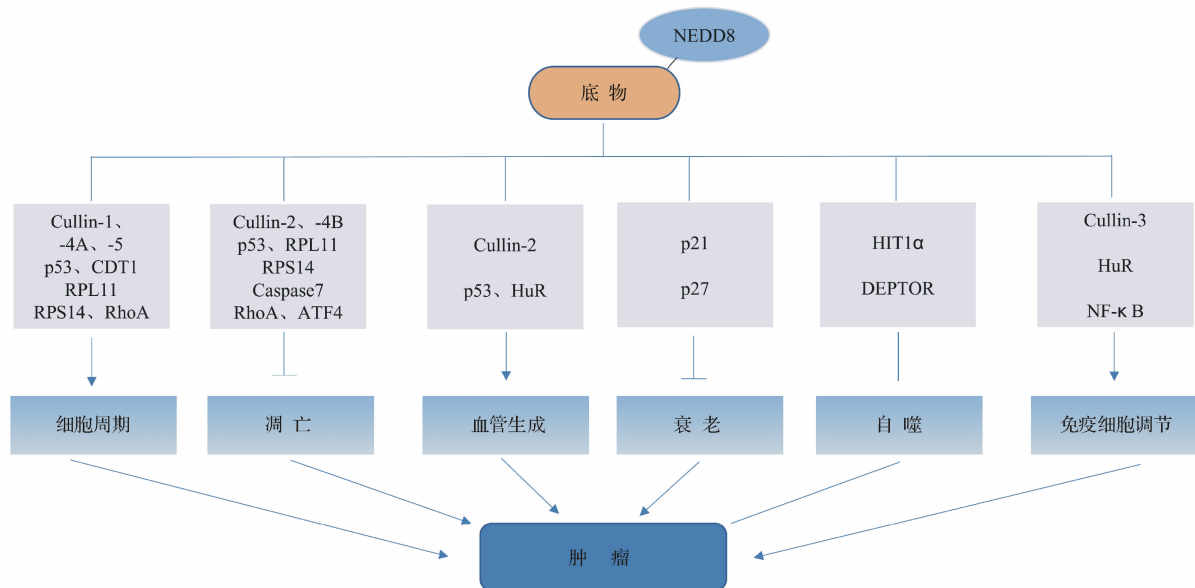


图 2 蛋白 Neddylaton 修饰与肿瘤的生物学过程

## 2.2 Neddylaton 修饰与肿瘤细胞凋亡

抑制 Neddylaton 修饰造成 DNA 重新复制和 NF- $\kappa$ B 信号通路失活后,不仅会诱导肿瘤细胞发生细胞周期阻滞,还会导致多种肿瘤细胞发生凋亡<sup>[25]</sup>。在慢性淋巴性白血病 B 细胞模型中,Godbersen 等<sup>[26]</sup>发现 MLN4924 可通过失活 NF- $\kappa$ B 信号,调节 Bcl-2 家族促凋亡蛋白 Bim 和 Noxa 的水平导致细胞凋亡。在淋巴瘤细胞中,MLN4924 可通过增加促凋亡相关蛋白(如 Bik)和降低抗凋亡蛋白(如 XIAP、c-IAP1 和 c-IAP2)的表达,激活内源性凋亡信号通路<sup>[23]</sup>。Chen 等<sup>[31]</sup>用 MLN4924 处理人食管鳞状细胞癌细胞发现,抑制 Neddylaton 修饰会增加 CRLs 底物激活转录因子 4 (activating transcription factor 4, ATF4) 的稳定性,激活转录因子 CHOP,诱导死亡受体 5 (death receptor 5, DR5) 的表达,从而激活外源性凋亡信号介导的凋亡通路。此外,在急性淋巴细胞白血病细胞 (acute lymphoblastic leukemic cells, ALL) 模型中,MLN4924 还可通过激活 eIF2 $\alpha$  和 mTOR 信号通路诱导内质网应激和未折叠蛋白反应 (unfolded protein response, UPR) 介导的细胞死亡<sup>[33]</sup>。

## 2.3 Neddylaton 修饰与肿瘤细胞衰老

衰老是一种抑制肿瘤细胞增殖的重要机制,诱导肿瘤细胞衰老已成为治疗肿瘤的策略之一。越

来越多研究表明,MLN4924 不仅可以诱导肿瘤细胞凋亡,还可通过诱导肿瘤细胞衰老发挥抗肿瘤作用<sup>[4]</sup>。MLN4924 诱导的衰老过程是不可逆的,其机制与肿瘤抑制因子 p21 蛋白的持续累积以及 DNA 损伤反应的持续激活有关<sup>[19]</sup>。例如, Benamar 等<sup>[20]</sup>研究发现,在黑色素瘤细胞中抑制 Neddylaton 修饰后,会使 CRL4-CDT2-SET8/p21 轴泛素化和降解失活,从而诱导 DNA 重新复制和细胞衰老。在 CKS1B 基因特异性高表达的多发性骨髓瘤细胞中,MLN4924 可以通过增加 p21 的蛋白稳定性诱导细胞衰老,干扰 p21 的表达后,会使这些细胞丧失对 MLN4924 的敏感性<sup>[21]</sup>。此外,在淋巴瘤细胞 Raji 和 U937 中,MLN4924 可显著上调衰老标志物  $\beta$ -半乳糖苷酶的表达,增加肿瘤抑制因子 p21/p27 的蛋白稳定性,促进细胞衰老<sup>[23]</sup>。

## 2.4 Neddylaton 修饰与肿瘤细胞自噬

自噬作为一种双功能的细胞信号途径,既可以在药物作用时作为一个促凋亡信号发挥作用,也可以作为促生存的信号引起肿瘤细胞耐药<sup>[34]</sup>。研究发现 MLN4924 可以降低磷酸化 mTOR 的蛋白水平,通过抑制 mTOR 活性引起细胞自噬。Zhao 等<sup>[29]</sup>在研究中发现,MLN4924 可通过调节 HIF1-REDD1-TSC1-mTORC1-DEPTOR 信号轴诱导多种肿瘤细胞系(例如,人宫颈癌 HeLa 细胞、乳腺癌 SK-BR3 和

MDA-MB-231 细胞)发生时间和剂量依赖性的细胞自噬。深入分析发现抑制 Neddylaton 修饰后,引起 CRLs 的底物低氧诱导因子 HIF1 $\alpha$  和 mTOR 的抑制因子 DEPTOR 的水平升高,从而抑制 mTOR 活性<sup>[29]</sup>。此外,MLN4924 还可通过提高活性氧自由基(reactive oxygen species, ROS)水平引发自噬<sup>[35]</sup>。

### 2.5 Neddylaton 修饰与肿瘤血管生成

恶性肿瘤的发生和发展依赖于新生血管增殖与形成,新生血管可为不断增殖的肿瘤细胞提供营养,抑制新生血管生成策略在临床上已表现出了显著的抗肿瘤效果。研究表明,Neddylaton 修饰不仅对内皮细胞的正常生理功能(例如,屏障功能和血管内皮通透性)的调节非常重要<sup>[36]</sup>,也参与了肿瘤新生血管的生成<sup>[30]</sup>。Yao 等<sup>[30]</sup>用 MLN4924 处理人脐静脉血管内皮细胞(human umbilical vein endothelial cells, HUVECs)发现,抑制 Neddylaton 修饰后很快会引起 Rho GTP 酶家族成员 RhoA 的累积,破坏血管内皮细胞的血管生成活性,随后会造成其他肿瘤抑制性 CRLs 蛋白底物的累积,引发 DNA 损伤反应、细胞周期阻滞和凋亡。之后,他们在大鼠主动脉环实验、鸡胚绒毛尿囊膜实验和基质胶栓等经典的血管生成实验模型中也证明了 MLN4924 的有效性<sup>[30]</sup>。Jin 等<sup>[27]</sup>发现抑制 Neddylaton 修饰可破坏肿瘤干细胞特征,干扰 NF- $\kappa$ B 介导的 VEGF-C 的旁分泌,抑制新生血管生成,从而有效抑制葡萄膜恶性黑色素瘤的肝脏转移。

### 2.6 Neddylaton 修饰与免疫细胞调节

肿瘤微环境中存在多种类型的免疫细胞,它们在肿瘤发生、发展、侵袭与转移过程中发挥着极为重要的作用<sup>[37]</sup>。研究表明,Neddylaton 修饰可以通过调节 CRLs 的底物(如 NF- $\kappa$ B 等转录因子)的活性影响巨噬细胞、树突状细胞和 T 细胞等免疫相关细胞的功能,参与调节肿瘤微环境的形成和重塑<sup>[28]</sup>。Chang 等<sup>[38]</sup>课题组用 MLN4924 处理脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)刺激的巨噬细胞样 THP-1 细胞,或用 siRNA 干扰巨噬细胞中 NEDD8 或 UBC12 的表达后,显著降低了 TNF- $\alpha$  和 IL-6 等促炎细胞因子的产生,证明 Neddylaton 修饰对于 LPS 诱导巨噬细胞炎性细胞因子的分泌是必需的。Asare 等<sup>[39]</sup>的最新研究结果表明,MLN4924 处理 LPS 刺激的巨噬细胞会使其从促炎的 M1 型向抗炎的 M2 型极化。同样,MLN4924 也能降低 LPS 诱

导的树突状细胞促炎细胞因子的产生,还能使未成熟的树突状细胞发生坏死性死亡<sup>[40–41]</sup>。此外,用 MLN4924 处理或敲除 UBC12 也都能降低效应 T 细胞的激活、增殖和细胞因子的释放<sup>[42–43]</sup>。

## 3 结 语

Neddylaton 修饰是蛋白质翻译后修饰方式之一,它不仅造成多种 Cullin 家族的底物蛋白泛素化降解,还可通过修饰其他非 Cullin 家族的底物蛋白,广泛参与多种信号传导途径的调节。越来越多研究结果证明 Neddylaton 修饰与肿瘤发生发展关系密切,参与调控肿瘤的细胞周期、凋亡、衰老、自噬、血管生成以及免疫细胞等多种过程。因此,进一步对 Neddylaton 修饰中未知 NEDD8 E3 连接酶、蛋白底物及其调控各种细胞生物学过程机制的研究将对肿瘤治疗具有十分重要的临床意义及应用前景。

## 参 考 文 献

- [1] Karve TM, Cheema AK. Small changes huge impact: the role of protein posttranslational modifications in cellular homeostasis and disease[J]. *J Amino Acids*, 2011, **2011**(2): 207691.
- [2] He S, Zhang LQ, He FC. Research progress on the function and regulation mechanism of ubiquitin-like Neddylaton[J]. *Pro Biochem Biophys* (生物化学与生物物理进展) 2009, **36**(9): 1089–1094.
- [3] Jiang Y, Jia L. Neddylaton pathway as a novel anti-cancer target: mechanistic investigation and therapeutic implication[J]. *Anti-cancer Agents Med Chem*, 2015, **15**(9): 1127–1133.
- [4] Zhou L, Zhang W, Sun Y, et al. Protein neddylaton and its alterations in human cancers for targeted therapy[J]. *Cell Signal*, 2018, **44**: 92–102.
- [5] Wang X, Li L, Liang Y, et al. Targeting the neddylaton pathway to suppress the growth of prostate cancer cells; therapeutic implication for the men's cancer[J]. *Biomed Res Int*, 2014, **21**(17): 2383–2400.
- [6] Coleman KE, Békés M, Chapman JR, et al. SENP8 limits aberrant neddylaton of NEDD8 pathway components to promote cullin-RING ubiquitin ligase function[J]. *Elife*, 2017, **6**: e24325.
- [7] Walden H, Podgorski MS, Huang DT, et al. The structure of the APPBP1-UBA3-NEDD8-ATP complex reveals the basis for selective ubiquitin-like protein activation by an E1[J]. *Mol Cell*, 2003, **12**(6): 1427–1437.
- [8] Li L, Cao Y, Wu H, et al. Enzymatic activity of the scaffold protein rapsyn for synapse formation[J]. *Neuron*, 2016, **92**(5): 1007–1019.

- [9] Enchev RI, Schulman BA, Peter M. Protein neddylation; beyond cullin-RING ligases[J]. *Net Rev Mol Cell Biol*, 2015, **16**(1):30-44.
- [10] Li P, Xie L, Gu Y, et al. Roles of Multifunctional COP9 signalosome complex in cell fate and implications for drug discovery[J]. *J Cell Physiol*, 2017, **232**(6):1246-1253.
- [11] Bailly A, Perrin A, Bou Malhab LJ, et al. The NEDD8 inhibitor MLN4924 increases the size of the nucleolus and activates p53 through the ribosomal-Mdm2 pathway[J]. *Oncogene*, 2016, **35**(4):415-426.
- [12] Sundqvist A, Liu G, Mirsalotis A, et al. Regulation of nucleolar signalling to p53 through NEDDylation of L11[J]. *EMBO Rep*, 2009, **10**(10):1132-1139.
- [13] Zhang J, Bai D, Ma X, et al. HCINAP is a novel regulator of ribosomal protein-HDM2-p53 pathway by controlling NEDDylation of ribosomal protein S14[J]. *Oncogene*, 2014, **33**(2):246-254.
- [14] Gao F, Cheng J, Shi T, et al. Neddylation of a breast cancer-associated protein recruits a class III histone deacetylase that represses NF $\kappa$ B-dependent transcription[J]. *Nat Cell Biol*, 2006, **8**(10):1171-1177.
- [15] Lee MR, Lee D, Shin SK, et al. Inhibition of APP intracellular domain (AICD) transcriptional activity via covalent conjugation with Nedd8[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, **366**(4):976-981.
- [16] Kane LA, Lazarou M, Fogel AI, et al. PINK1 phosphorylates ubiquitin to activate parkin E3 ubiquitin ligase activity[J]. *J Cell Biol*, 2014, **205**(2):143-153.
- [17] Shanmugam MK, Arfuso F, Arumugam S, et al. Role of novel histone modifications in cancer[J]. *Oncotarget*, 2017, **9**(13):11414-11426.
- [18] Li T, Guan J, Huang Z, et al. RNF168-mediated H2A neddylation antagonizes ubiquitylation of H2A and regulates DNA damage repair[J]. *J Cell Sci*, 2014, **127**(10):2238-2248.
- [19] Jia L, Li H, Sun Y, et al. Induction of p21-dependent senescence by an NAE inhibitor, MLN4924, as a mechanism of growth suppression[J]. *Neoplasia*, 2011, **13**(6):561-569.
- [20] Benamar M, Guessous F, Du K, et al. Inactivation of the CRL4-CDT2-SET8/p21 ubiquitylation and degradation axis underlies the therapeutic efficacy of pevonedistat in melanoma[J]. *EBio Medicine*, 2016, **10**:85-100.
- [21] Huang J, Zhou Y, Thomas GS, et al. NEDD8 inhibition overcomes CKS1B-induced drug resistance by upregulation of p21 in multiple myeloma[J]. *Clin Cancer Res*, 2015, **21**(24):5532-5542.
- [22] Liu C, Nie D, Li J, et al. Antitumor effects of blocking protein neddylation in T3151-BCR-ABL leukemia cells and leukemia stem cells[J]. *Cancer Res*, 2018, **78**(6):1522-1536.
- [23] Wang Y, Luo Z, Pan Y, et al. Targeting protein neddylation with an NEDD8-activating enzyme inhibitor MLN4924 induced apoptosis or senescence in human lymphoma cells[J]. *Cancer Biol Ther*, 2015, **16**(3):420-429.
- [24] Milhollen MA, Traore T, Adams-Duffy J, et al. MLN4924, a NEDD8-activating enzyme inhibitor, is active in diffuse large B-cell lymphoma models; rationale for treatment of NF- $\kappa$ B-dependent lymphoma[J]. *Blood*, 2010, **116**(9):1515-1523.
- [25] Wu S, Yu L. Targeting cullin-RING ligases for cancer treatment: rationales, advances and therapeutic implications[J]. *Cytotechnology*, 2016, **68**(1):1-8.
- [26] Godbersen JC, Humphries LA, Danilova OV, et al. The Nedd8-activating enzyme inhibitor MLN4924 thwarts microenvironment-driven NF- $\kappa$ B activation and induces apoptosis in chronic lymphocytic leukemia B cells[J]. *Clin Cancer Res*, 2014, **20**(6):1576-1589.
- [27] Jin Y, Zhang P, Wang Y, et al. Neddylation blockade diminishes hepatic metastasis by dampening cancer stem-like cells and angiogenesis in uveal melanoma[J]. *Clin Cancer Res*, 2017. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-17-1703.
- [28] Jin JY, Jing ZF, Wang J, et al. Regulation of immune cells by ubiquitin-like neddylation[J]. *Chin J Immunol*(中国免疫学杂志), 2017, **33**(5):777-780.
- [29] Zhao Y, Xiong X, Jia L, et al. Targeting cullin-RING ligases by MLN4924 induces autophagy via modulating the HIF1-REDD1-TSC1-mTORC1-DEPTOR axis[J]. *Cell Death Dis*, 2012, **3**(9):e386.
- [30] Yao WT, Wu JF, Yu GY, et al. Suppression of tumor angiogenesis by targeting the protein neddylation pathway[J]. *Cell Death Dis*, 2014, **5**(2):e1059.
- [31] Chen P, Hu T, Liang Y, et al. Neddylation inhibition activates the extrinsic apoptosis pathway through ATF4-CHOP-DR5 axis in human esophageal cancer cells[J]. *Clin Cancer Res*, 2016, **22**(16):4145-4157.
- [32] Zhao Y, Sun Y. Cullin-RING ligases as attractive anti-cancer targets[J]. *Curr Pharm Des*, 2013, **19**(18):3215-3225.
- [33] Leclerc GM, Zheng S, Leclerc GJ, et al. The NEDD8-activating enzyme inhibitor pevonedistat activates the eIF2 $\alpha$  and mTOR pathways inducing UPR-mediated cell death in acute lymphoblastic leukemia[J]. *Leuk Res*, 2016, **50**:1-10.
- [34] Singh SS, Vats S, Chia AY, et al. Dual role of autophagy in hallmarks of cancer[J]. *Oncogene*, 2018, **37**(9):1142-1158.
- [35] Chen P, Hu T, Liang Y, et al. Synergistic inhibition of autophagy and neddylation pathways as a novel therapeutic approach for targeting liver cancer[J]. *Oncotarget*, 2015, **6**(11):9002-9017.
- [36] Sakaue T, Fujisaki A, Nakayama H, et al. Neddylated cullin 3 is required for vascular endothelial-cadherin-mediated endothelial barrier function[J]. *Cancer Sci*, 2017, **108**(2):208-215.
- [37] Quail DF, Joyce JA. Microenvironmental regulation of tumor progression and metastasis[J]. *Nat Med*, 2013, **19**(11):1423-1437.
- [38] Chang FM, Reyna SM, Granados JC, et al. Inhibition of neddylation represses lipopolysaccharide-induced proinflammatory cytokine production in macrophage cells[J]. *J Biol Chem*, 2012, **287**

- (42): 35756–35767.
- [39] Asare Y, Ommer M, Azombo FA, *et al.* Inhibition of atherogenesis by the COP9 signalosome subunit 5 *in vivo* [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2017, **114**(13): E2766–E2775.
- [40] El-mesery M, Seher A, Stühmer T, *et al.* MLN4924 sensitizes monocytes and maturing dendritic cells for TNF-dependent and -independent necroptosis [J]. *Br J Pharmacol*, 2015, **172**(5): 1222–1236.
- [41] Mathewson N, Toubai T, Kapeles S, *et al.* Neddylation plays an important role in the regulation of murine and human dendritic cell function [J]. *Blood*, 2013, **122**(12): 2062–2073.
- [42] Mathewson ND, Fujiwara H, Wu SR, *et al.* SAG/Rbx2-dependent neddylation regulates T-cell responses [J]. *Am J Pathol*, 2016, **186**(10): 2679–2691.
- [43] Jin HS, Liao L, Park Y, *et al.* Neddylation pathway regulates T-cell function by targeting an adaptor protein Shc and a protein kinase Erk signaling [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013, **110**(2): 624–629.

## · 新药信息 ·

### 2018 年 1~3 月 FDA 批准新药

#### 1. HIV 治疗药物

**Biktarvy** 2 月初, 吉利德科学的三联复方产品 Biktarvy 获得批准, 这款日用 1 次的口服片剂药物由 3 种成分组成, 它们是新型的 HIV-1 整合酶抑制剂 Bictegravir、已上市的双核苷逆转录酶抑制剂 (NRTI) 恩曲他滨及替诺福韦艾拉酰胺。Biktarvy 有望成为 2018 年上市的重点品种之一, 它将最大程度地提升吉利德科学的增长, 该药物 2022 年的销售额预计超过 50 亿美元。这款药物最终可能超过目前市场上的主导产品, 即葛兰素史克的 Triumeq, 后者由整合酶抑制剂度鲁特韦 (dolutegravir)、核苷逆转录酶抑制剂阿巴卡韦 (abacavir) 及拉米夫定组成, 它是一款日用 1 次的单片药物, 其 2017 年的销售额为 32 亿美元。

**Ibalizumab** 在 Biktarvy 之后, FDA 还在 3 月初批准了 Theratechnologies 的 Ibalizumab (Trogarzo), 这是十多年来 FDA 批准的首个基于新作用机制的 HIV 治疗药物。这款单克隆抗体药物通过与 CD4 结合, 阻断 HIV 进入宿主细胞的主要受体而发挥作用。该药物现在是为数不多的可用于大剂量预处理 HIV 患者的药物之一, 适用于用其他药物治疗无效的患者。

#### 2. 肿瘤治疗药物

**Lutathera** Lutathera (镥氧奥曲肽) 于 2018 年 1 月底获得批准, 它是诺华的一种放射性镥-177 标记的生长抑素类似物, 是新兴的肽受体放射性核素疗法 (PRRT), 其通过与一种称为生长激素抑制素受体的细胞结合而起作用, 该生长抑素受体可能存在于某些肿瘤上。在与受体结合之后, 药物进入细胞, 释放辐射来损伤肿瘤细胞。该药物获批用于治疗胃肠胰神经内分泌肿瘤 (GEP-NETs), 这是一组罕见的消化道肿瘤。诺华在去年 39 亿美元收购 Advanced Accelerator Applications 时获得 Lutathera, 该交易去年底已经完成。

**Apalutamide** Apalutamide (Erleada) 的获批相比预期提前了几周, 它是强生的一款雄激素受体抑制剂。Apalutamide 是上市用于非转移性前列腺癌的首个产品, 它有望帮助强生抵御即将到来的公司其他前列腺品牌药物仿制品的竞争, 如阿比特龙, 该药物去年的销售额达到 25 亿美元。

#### 3. 囊性纤维化病治疗药物

**Symdeko** 2 月中旬, Vertex 制药也为其第 3 个囊性纤维化病产品 Symdeko 赢得批准。这款药物由伊伐卡托 (ivacaftor) 和 Tezacaftor 组成, 伊伐卡托之前作为囊性纤维化跨膜调节器 (CFTR) 通道增效剂而获得批准, 在患有囊性纤维化病的病人中, 其 CFTR 通道存在功能障碍。Tezacaftor 是一种 CFTR 校正器。与伊伐卡托单药相比, Symdeko 的疗效增强, 适用的患者人群更广, 且不良反应更少, 这意味着该产品有望成为 Vertex 制药最畅销的产品, 至少在其三联复方药物 (目前正在 III 期临床试验中) 上市之前是这样。

#### 4. 银屑病治疗药物

**Tildrakizumab** 银屑病药物 Tildrakizumab (Ilumya) 的获批标志着太阳制药从单纯的仿制药公司转变成一家拥有品牌药物的公司, Tildrakizumab 是特定靶向白介素 (IL)-23 的单克隆抗体。然而, Ilumya 进入的是一个竞争激烈的市场, 该市场有强生的 IL-23 靶向单克隆抗体 Guselkumab (Tremfya), 以及几款靶向 IL-17 的单克隆抗体。另外, Ilumya 还不得不与依那西普及英夫利昔单抗等银屑病生物药的生物类似药相竞争。

(来源: 丁香园 本刊有删改)