

布鲁顿酪氨酸激酶 (BTK) 抑制剂在治疗 炎症免疫性疾病中的研究进展

任玮杰, 岑丽芳, 邹毅*

(中国药科大学药学院, 南京 211198)

摘要 布鲁顿酪氨酸激酶 (Bruton's tyrosine kinase, BTK) 是一种胞质酪氨酸激酶, 参与 B 细胞和粒细胞的活化, 在 B 细胞和 Fc γ 受体下游发挥作用。临床前研究表明, 抑制 BTK 活性可能成为自身免疫性疾病和过敏等炎症免疫相关病症的潜在治疗方法。本文总结了 BTK 在免疫相关疾病中的作用机制, 并对目前临床在研的 BTK 抑制剂用于免疫相关疾病治疗的研究情况进行了综述, 以期对 BTK 抑制剂在非肿瘤适应症的研究提供新思路。

关键词 布鲁顿酪氨酸激酶; 炎症免疫; 自身免疫性疾病; 过敏; 临床研究

中图分类号 R914; R593 文献标志码 A 文章编号 1000-5048(2024)01-0063-10

doi: 10.11665/j.issn.1000-5048.2023121103

引用本文 任玮杰, 岑丽芳, 邹毅. 布鲁顿酪氨酸激酶 (BTK) 抑制剂在治疗炎症免疫性疾病中的研究进展 [J]. 中国药科大学学报, 2024, 55(1): 63 - 72.

Cite this article as: REN Weijie, CEN Lifang, ZOU Yi. Research progress of Bruton's tyrosine kinase (BTK) inhibitors in the treatment of inflammatory and immune-mediated diseases[J]. *J China Pharm Univ*, 2024, 55(1): 63 - 72.

Research progress of Bruton's tyrosine kinase (BTK) inhibitors in the treatment of inflammatory and immune-mediated diseases

REN Weijie, CEN Lifang, ZOU Yi*

School of Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, China

Abstract Bruton's tyrosine kinase (BTK), a cytoplasmic tyrosine kinase, plays a central role in the activation of B cells and granulocytes, operating downstream of B cell and Fc γ receptors, and is considered an attractive target for treating autoimmune diseases. Preclinical investigations have demonstrated that inhibition of BTK activity holds promise as a potential therapeutic strategy for inflammatory immune responses such as autoimmune diseases and allergies. This review provides an overview of the mechanisms by which BTK contributes to immune-related diseases and summarizes current research on the development of BTK inhibitors for treating these conditions, aiming to offer novel insights into non-oncology applications for BTK inhibitors.

Key words BTK; inflammatory immunity; autoimmune diseases; allergy; clinical research

炎症免疫反应是机体一种重要的免疫防御机制。当组织受到毒素或细菌的破坏或感染, 受热或其他原因的伤害时, 就会进入正常的自我保护和损伤修复状态, 所以炎症反应也是人体对刺激的一种防御反应。正常的炎症免疫反应是人体免疫力的一种表现, 对人体是有利的。但是, 过度的炎症免疫反应则会引起机体损伤, 导致炎症免疫性疾病。炎症免疫反应是众多疾病共同的病理学基础和药

物治疗的主要环节^[1], 并已成为影响全球健康的重要威胁, 并且已经演变成严重危害人类健康和社会经济可持续发展的重要公共卫生问题。传统的炎症免疫性疾病包括类风湿性关节炎、系统性红斑狼疮、银屑病等, 是一类全身性的炎症免疫功能紊乱为特征的疾病, 至今尚无有效的防治方法^[2]。因此, 目前临床上急需寻找新的抗炎靶点, 为患者带来全新的治疗选择。

布鲁顿酪氨酸激酶 (Bruton's tyrosine kinase, BTK) 属于 TEC 激酶家族, 是细胞质内的非受体型酪氨酸激酶之一, 除 T 细胞、终末分化浆细胞和自然杀伤细胞外, 在所有造血细胞中均有表达^[3]。该激酶的首次发现可追溯到 1952 年, 美国儿科医生奥格登·布鲁顿 (Ogden Bruton) 博士首次报告了 1 例患有遗传性免疫缺陷疾病 X 连锁无丙种球蛋白血症 (X-linked agammaglobulinaemia, XLA) 的 8 岁男童的病例, 该男童表现出反复发作的细菌性脓毒症、骨髓炎和耳炎, 并且存在 γ 球蛋白的部分缺乏以及抗体产生障碍现象^[4]。直到 20 世纪 90 年代初期, 才揭示出这种免疫缺陷的根本原因, 即与 B 细胞发育相关的一种细胞质酪氨酸激酶有关, 该激酶随后被命名为布鲁顿氏酪氨酸激酶。BTK 位于 X 染色体, 在 XLA 患者中该激酶的表达异常升高^[5]。

BTK 广泛参与 B 细胞活化、增殖、存活; 同时参与 Fc γ 受体 (Fc γ receptor, Fc γ R), 细胞因子、趋化因子等信号通路, 是 B 细胞及免疫调节的关键激酶。BTK 抑制剂在肿瘤治疗领域已有 6 种药物上市, 分别为伊布替尼 (ibrutinib)、阿卡替尼 (acalabrutinib)、泽布替尼 (zanabrutinib)、替拉鲁替尼 (tirabrutinib)、奥布替尼 (orelabrutinib) 和吡妥布替尼 (pirtobrutinib), 它们在治疗 B 细胞恶性肿瘤方面表现出显著的疗效, 适应症覆盖慢性淋巴细胞白血病 (chronic lymphocytic leukemia, CLL)、套细胞淋巴瘤 (mantle-cell lymphoma, MCL)、Waldenstrom 大球蛋白血症 (Waldenström's macroglobulinemia, MW) 等。目前, 学术界和产业界对 BTK 抑制剂的关注热度居高不下。除了肿瘤以外, BTK 抑制剂正逐步向炎症免疫类疾病拓展, 有望成为治疗免疫系统紊乱相关疾病的有效策略之一。

1 BTK 及其信号通路

人 BTK 基因的染色体定位为 Xq21.3~Xq22, 基因全长 37.5 kb, 编码 659 个氨基酸。全长的 BTK 是共分为 5 个结构域: 2 个 SRC 同源 (SH, 包括 SH2 和 SH3) 结构域、1 个激酶 (TK) 结构域、1 个 N-末端普列克底物蛋白 (pleckstrin homology, PH) 结构域和 1 个 TEC 同源 (TH) 结构域 (图 1)。其中, SH2 结构域与磷酸化的酪氨酸相互作用, 以便与适配蛋白 B 细胞连接蛋白 (B cell linker protein, BLNK) 结合, 通过锚定多个蛋白质进行信号交互。当胞质中的 BTK 被招募到细胞膜后可在 LYN 原癌基因 (Lck/Yes novel tyrosine kinase, LYN) 和脾脏酪氨酸激酶 (spleen tyrosine kinase, SYK) 的参与下磷酸化 BTK 结构域的 551 位点而被激活^[6]。此过程还需要 BLNK 的参与来促进 SYK 参与此相互作用^[7-8]。SH3 可调节 Tyr223 的自磷酸化状态来提高 BTK 与多种蛋白的亲和力。因此, 除了酶活性外, BTK 还能作为适配分子发挥重要作用^[9]。PH 结构域含有 BAP-135/TFII-I 等转录因子的结合位点, 调节 BTK 与第二信使磷脂酰肌醇-3,4,5-三磷酸 (PIP3) 的相互作用。TH 结构域包含一个锌指基序, 其对蛋白质的最佳活性和稳定性极其重要。BTK 各结构域各司其职, 使 BTK 能够发挥各项正常的生理作用。

BTK 是 B 细胞表面抗原受体 (BCR) 信号通路的关键成员, 在 B 细胞的发育、分化和活化中发挥极其重要的作用, 在先天免疫、适应性免疫反应以及细胞因子产生过程中发挥主导作用。当抗原与膜表面 Ig 的结合会使 BCR 复合物 (抗原特异性的免疫球蛋白 Ig 和与其相连的 CD79a 和 CD79b 分子) 在膜上移动并聚合, 从而启动 BCR 信号通路; BCR 复合物的二聚或多聚化会促使 LYN 激酶将 CD79a

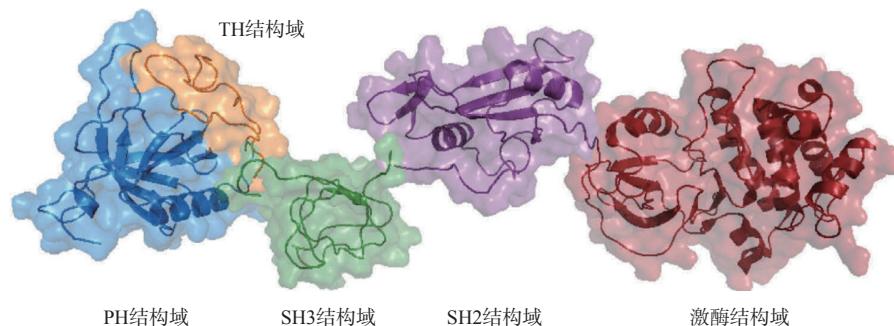


图 1 全长布鲁顿酪氨酸激酶 (BTK) 的三维结构及各结构域

PH: N-末端普列克底物蛋白; TH: TEC 同源; SH: SRC 同源

和 CD79b 分子末端的免疫受体酪氨酸活化基序 (immunoreceptor tyrosine-based activation motifs, ITAMs) 磷酸化而激活; 随后, 活化的 ITAMs 募集 SYK 并使其磷酸化, 活化的 SYK 和 LYN 进一步磷酸化 CD19 分子, 从而促进磷脂酰肌醇-3-激酶 (phosphoinositide 3-kinase, PI3K) 的结合和活化, 进而将磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸 (phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate, PIP₂) 磷酸化为第二信使磷脂酰肌醇 3,4,5-三磷酸 (PIP₃); 后者与 BTK 的 PH 结构域结合从而促使 BTK 从细胞质转位到细胞膜上。而活化的 SYK 通过磷酸化 BLNK 来促使 BTK 的 Tyr551 发生自磷酸化而发生构象变化, 随后 BTK 的 Tyr223 发生自磷酸化而处于激活状态; 最后, 活化的 BTK 通过磷酸化磷脂酶 C γ 2 (phosphorylate

phospholipase C gamma 2, PLC γ 2), 从而剪切 PIP₂ 产生肌醇 1,4,5-三磷酸 (inositol 1,4,5-triphosphate, IP₃) 和甘油二酯 (diacylglycerol, DAG) 两个第二信使^[10]。IP₃ 可结合其内质网上的受体, 促进钙离子流动, 使转录因子活化 T 细胞核因子 (transcription factor nuclear factor of activated T cells, NFAT) 向核内运输, 从而促进下游多种转录因子的活化。DAG 激活蛋白激酶 C β 以及下游的 NF κ B 通路^[11] 和丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 通路(图 2)^[12]。

除 BCR 信号通路外, BTK 还参与了体内其他部分信号通路。如 BTK 的过度活化可激活巨噬细胞的 Fc γ 受体 (Fc γ R) 信号通路, 导致 TNF α 、IL-1 β 和 IL-6 等炎症因子的过多释放而引发炎症^[13]。BTK

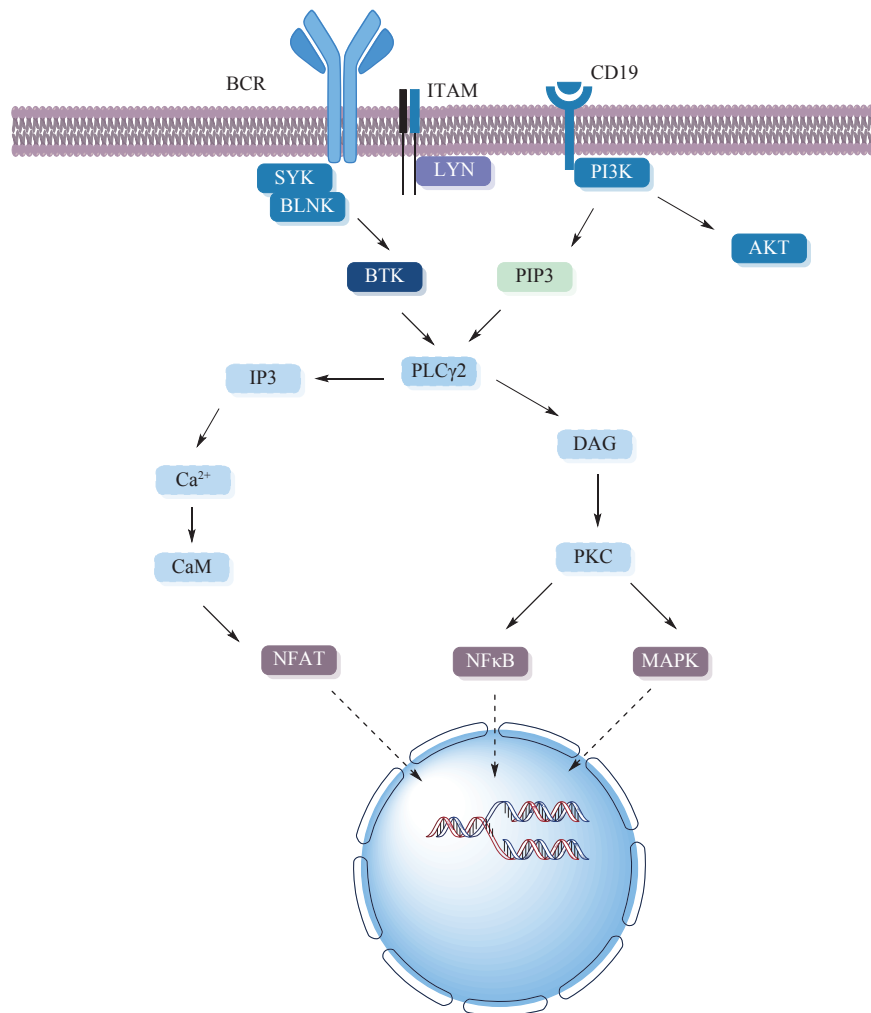


图 2 B 细胞表面抗原受体 (BCR) 信号通路示意图

ITAM: 免疫受体酪氨酸活化基序; SYK: 脾脏酪氨酸激酶; LYN: Lck/Yes 新酪氨酸激酶; BLNK: B 细胞连接蛋白; PI3K: 磷脂酰肌醇-3-激酶; PIP₃: 磷脂酰肌醇 3,4,5-三磷酸; AKT: 丝/苏氨酸蛋白激酶; PLC γ 2: 磷酸化磷脂酶 C γ 2; IP₃: 肌醇 1,4,5-三磷酸; DAG: 甘油二酯; NFAT: 转录因子活化 T 细胞核因子; PKC: 蛋白激酶 C; NF κ B: 核因子 κ B; MAPK: 丝裂原活化蛋白激酶

还可通过 Fc γ R 信号通路介导肥大细胞的脱颗粒过程^[14]。此外, BTK 还参与了 Toll 样受体(Toll-like receptors, TLR)介导的信号通路。当 LPS 结合到 TLR 后,可招募髓系分化原发性反应 88 蛋白(myeloid differentiation primary response 88, MYD88),使 BTK 与其相互作用。有报道显示,在自身免疫性疾病中, BTK 与 TLR 信号通路间存在串扰现象,与疾病的发生存在一定的相关性^[15]。

2 BTK 与炎症免疫性疾病

2.1 BTK 与自身免疫性疾病

自从 BTK 在 XLA 中被发现以来,人们对各种自身免疫性疾病进行了大量的研究,逐渐揭示出 BTK 在驱动自身免疫性疾病发生机制中的作用,并进一步明确了 BTK 与自身免疫之间的关联。比如,在系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)和类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)等多种自身免疫性疾病中, BTK 均存在过度激活的情况^[16-17],从而激活了自身反应性 B 细胞,并介导自身抗体的产生^[18]。有研究表明,若使用利妥昔单抗(一种抗 CD20 单克隆抗体)治疗,可降低成熟 B 细胞的水平,对某些自身免疫性疾病具有较好的临床疗效^[19]。由此可见, BTK 的过度激活可引起自身免疫疾病,而降低其表达水平可改善疾病进程。

2.2 BTK 与过敏反应

机体受到抗原首次刺激,特异性 B 细胞产生 IgE,通过其 Fc 段与肥大细胞和嗜碱性粒细胞表面高亲和力受体(Fc ϵ RI)结合。当机体再次受到抗原刺激时,相邻 IgE 相互结合,使肥大细胞嗜碱性粒细胞表面的 Fc ϵ RI 激活,并依次使 SYK 和 BTK 磷酸化,最终释放细胞因子等促炎分子,介导过敏反应的发生^[20]。经体外实验证实,抑制 BTK 可减少人嗜碱性粒细胞中炎性介质的释放以及减少人肥大细胞中 IgE 介导的脱颗粒和细胞因子的产生^[21]。

2.3 BTK 与 NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3(NOD-like receptor thermal protein domain associated protein 3, NLRP3)炎症小体

NLRP3 炎症小体是与人类多种 IL-1 细胞因子活性相关的重要炎症复合物。作为正调节因子, BTK 直接影响 NLRP3 炎症小体,进一步证实了该激酶在免疫中的关键作用^[22]。BTK 与 NLRP3 的凋亡相关斑点样蛋白(apoptosis-associated speck-like protein

containing a CARD, ASC)相互结合,诱导了 ASC 寡聚化,并激活了 caspase-1。使用 BTK 抑制剂或基因敲除 BTK 均能显著削弱 NLRP3 的激活,为相关炎症疾病的治疗提供了新的机会^[23]。此外, BTK 对 NLRP3 的酪氨酸磷酸化和 IL-1 β 释放是必需的,前者可作为一种分子开关,对其调节有望成为一种新型的治疗策略^[24]。

3 BTK 抑制剂用于炎症治疗

BTK 的持续异常激活会导致 B 细胞凋亡减慢,且易将 B 细胞转化为自身反应性 B 细胞,从而诱导 B 细胞淋巴瘤和炎症等相关疾病的发生和发展^[25-27]。通过影响 B 细胞受体、Fc 受体和 RANK 受体信号传导, BTK 抑制剂可以通过抑制 B 细胞的激活、抗体类别转换、扩增和细胞因子产生来治疗炎症免疫性疾病。因此,除了 B 细胞血液恶性肿瘤之外,靶向 BTK 也有望成为治疗免疫系统紊乱相关疾病的有效策略之一^[28-29]。目前, BTK 抑制剂已在多种自身免疫性疾病和过敏等炎症性疾病中受到了广泛关注,多种适应证处于临床研究中,包括自身免疫性溶血性贫血(autoimmune hemolytic anemia, AIHA)、免疫性血小板减少(immune thrombocytopenia, ITP)、多发性硬化症(multiple sclerosis, MS)、特应性皮炎(atopic dermatitis, AD)、RA、SLE、干眼综合征(Sjögren's disease, SD)以及慢性天疱疮(pemphigus vulgaris, PV)等。此外, BTK 抑制剂还在进行过敏、慢性感染和非感染性疾病的治疗研究,包括慢性自发性荨麻疹(chronic spontaneous urticaria, CSU)、哮喘和移植抵抗宿主病(graft versus host disease, GVHD)^[30]。BTK 抑制剂主要靶向的是 ATP 结合口袋,根据其结合模式可将其分为可逆与不可逆的 BTK 抑制剂。本文主要介绍 BTK 抑制剂在各种炎症免疫性疾病中的应用研究。

3.1 可逆的 BTK 抑制剂

可逆 BTK 抑制剂主要是通过竞争性地占据 BTK 蛋白的 ATP 结合口袋,阻碍 ATP 与 BTK 的结合,从而抑制 BTK 磷酸化,进而阻滞其信号转导。其代表性化合物如图 3 所示。

2006 年, CGI 制药公司和 Genentech 公司联合开发获得了一种有效的、选择性的可逆性 BTK 抑制剂 GDC-0834,该化合物具有良好的 BTK 抑制活性(IC₅₀=2.3 nmol/L)。人全血实验结果显示, GDC-

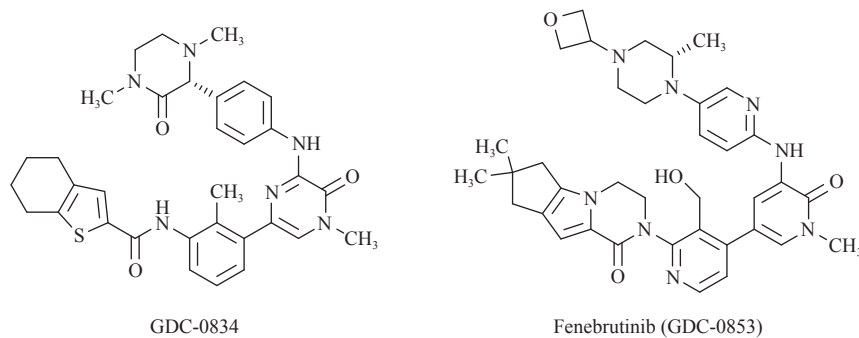


图 3 可逆 BTK 抑制剂

0834 能够抑制 B 细胞中 CD69 分子的表达, IC_{50} 为 $0.38 \mu\text{mol/L}$ 。此外, 在小鼠胶原诱导性关节炎 (CIA) 模型中, GDC-0834 能剂量依赖性地减弱关节肿胀^[31]。而且 GDC-0834 在大鼠和狗中均显示出良好的药代动力学 (pharmacokinetics, PK) 性质和安全性^[32]。然而在临床试验中, GDC-0834 在人体内的 PK 性质并不理想, 推测可能是由于分子中的酰胺键在体内易被水解为活性低的衍生物所致, 最终导致 GDC-0834 的临床试验被迫终止。

为了提高 GDC-0834 的代谢稳定性, Genentech 公司通过结构优化得到了 fenebrutinib (GDC-0853)。该化合物对野生型 BTK 及突变型 C481S、C481R、T474I、T474M 的 K_i 分别为 0.91 nmol/L 及 $1.6, 1.3, 12.6$ 和 3.4 nmol/L ^[33]。Fenebrutinib 可抑制人 B 细胞中抗 IgM 诱导的 BTK Tyr223 磷酸化 ($IC_{50}=1.2 \text{ nmol/L}$), 并降低抗 IgM 和 CD40L 诱导的 B 细胞增殖 ($IC_{50}=1.4 \text{ nmol/L}$)。Fenebrutinib 还能有效抑制人单核细胞中 $Fc\gamma R$ 介导的 $TNF\alpha$ 释放 ($IC_{50}=1.3 \text{ nmol/L}$)。Fenebrutinib 具有良好的临床前药代动力学特性, 支持每日 1 次的口服给药方案。体内实验数据显示, 该药物在治疗类风湿关节炎和其他由 B 细胞或髓系细胞介导的自身免疫性疾病方面具有较大的潜力。在针对 RA (NCT02833350) 和 SLE (NCT02908100) 的 II 期临床试验中, fenebrutinib 显示出非常高的抗炎活性和较好的安全性^[34-35], 且不会增加感染风险^[36-37]。目前, fenebrutinib 在 MS 领域也开展了一项临床 III 期研究 (NCT04544449)。

3.2 不可逆的 BTK 抑制剂

不可逆抑制剂主要通过分子中的亲电性“弹头”与靶蛋白的亲核氨基酸残基形成共价键, 不可逆地改变目标蛋白的功能。由于与蛋白的结合时间延长, 化合物通常具有更强的药理活性、更长的

作用时间和更高的选择性等优点^[38]。在 BTK 中, 其 ATP 结合口袋外侧存在 Cys481, 该氨基酸暴露于溶剂区, 易与亲核试剂发生化学反应, 可作为设计不可逆 BTK 抑制剂时优先考虑的共价结合部位^[39]。另一方面, 酶谱分析发现在所有蛋白激酶中只有 11 个激酶在该位置存在保守的半胱氨酸, 包括 BLK、BTK、BMX、EGFR、ErbB2、ErbB4、ITK、JAK3、TEC、TXK 和 MAP2K7, 因此, 针对 BTK Cys481 进行不可逆抑制剂的设计能够保证一定的选择性^[40]。图 4 为部分代表性的 BTK 共价抑制剂。

伊布替尼 (ibrutinib) 为吡唑并嘧啶类衍生物, 是首个针对 Cys481 而设计的不可逆 BTK 抑制剂^[41], 其抑制 BTK 的 IC_{50} 达到 0.5 nmol/L , 在 B 细胞淋巴瘤 DoHH2 细胞中, 伊布替尼能抑制 BTK Tyr223 的自磷酸化 ($IC_{50}=11 \text{ nmol/L}$) 以及其下游底物 PLC γ 2 的磷酸化 ($IC_{50}=29 \text{ nmol/L}$)。基于临床试验中的良好表现, 伊布替尼于 2013 年 2 月获得 FDA “突破性疗法”认证, 并于 2013 年 11 月 3 日被 FDA 批准用于治疗复发/难治性 MCL, 成为第 1 个获 FDA 批准上市的 BTK 抑制剂。2016 年, Sakkas 等^[42] 发现 90% 以上的系统性硬化症 (SSc) 患者体内带有自身抗体, 说明 B 细胞在 SSc 的进展中具有重要作用。2020 年, Einhaus 等^[43] 通过体外实验发现, 在培养的 SSc 细胞中加入伊布替尼可减少 IL-6、 $TNF\alpha$ 和 SSc 特异性的自身抗体的生成。虽然还需要更多实验验证, 但该实验结果也提示 BTK 抑制剂具有治疗 SSc 的潜力。同年, Cavazzini 等^[44] 报道了伊布替尼有望用于继发 AIHA 的治疗, 这是一类自身抗体介导的溶血性疾病, 而 B 细胞在自身抗体产生中发挥了重要作用。目前, 一项关于伊布替尼用于治疗难治性/复发性 AIHA 的安全性和有效性的多中心、开放的 II 期临床试验 (NCT04398459) 正在进行中。

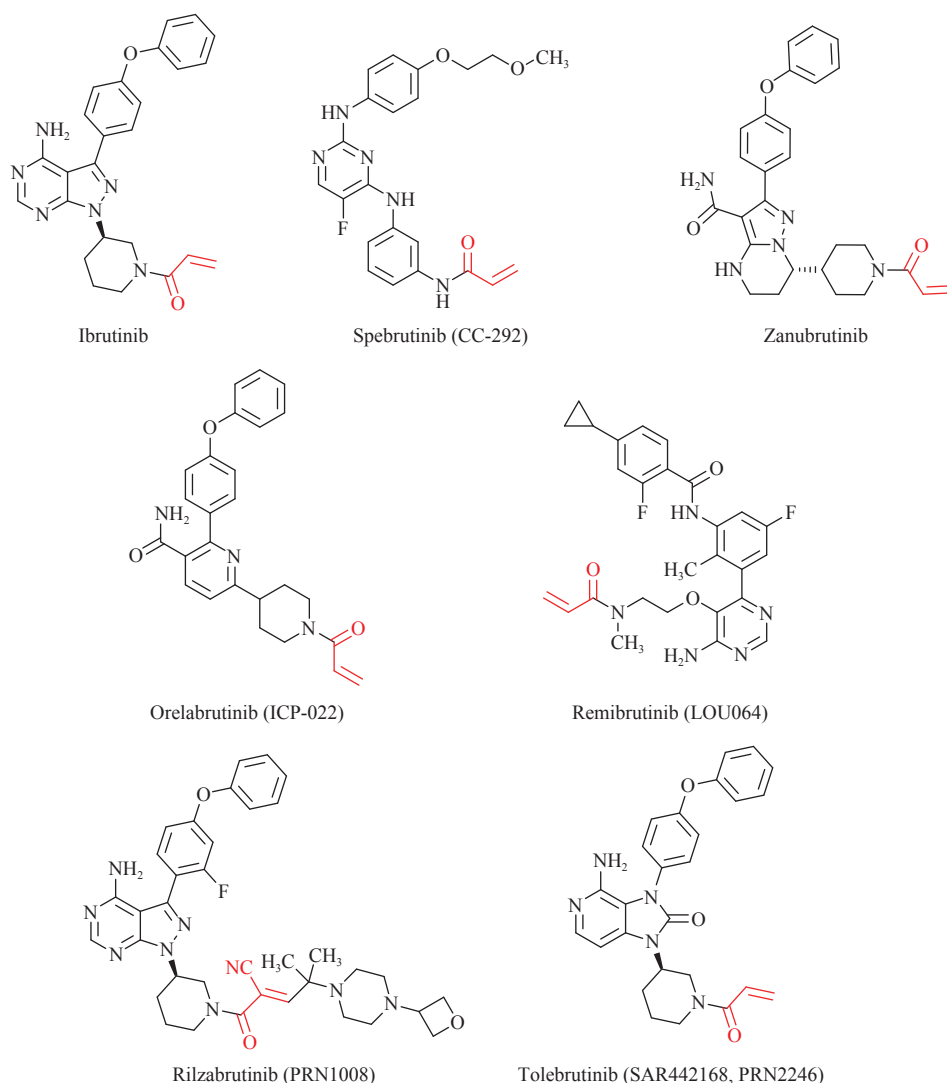


图 4 部分临床在研的 BTK 共价抑制剂(红色部分表示分子中的亲电“弹头”)

Spebrutinib(CC-292, AVL-292)为嘧啶类不可逆 BTK 抑制剂。该化合物抑制 BTK 的 IC_{50} 小于 0.5 nmol/L, 抑制 B 细胞增殖的 IC_{50} 达到 10 nmol/L。Spebrutinib 对 BTK 同源蛋白 ITK、EGFR 和 JAK3 抑制活性弱, 表现出较高的选择性。体外实验表明, spebrutinib 能抑制 Ramos 细胞 BTK Tyr223 的自磷酸化($EC_{50} = 8$ nmol/L), 而对 Tyr551 的磷酸化无抑制作用。在胶原蛋白诱导的小鼠关节炎模型中, 经口给予 spebrutinib(3~30 mg/kg)可剂量依赖性抑制关节和足趾的肿胀度, 减少足趾发红症状, 缓解炎症的发展^[45]。2016 年, spebrutinib 与免疫抑制剂甲氨蝶呤联用以评价其治疗 RA 的效果的临床 II 期试验(NCT01975610)没有达到主要终点而终止。值得一提的是, spebrutinib 是第 1 个处于临床研究中的用于炎症治疗的 BTK 抑制剂。

泽布替尼(zanubrutinib)为 4,5,6,7-四氢吡唑并嘧啶类衍生物, 其抑制 BTK 的 IC_{50} 为 0.3 nmol/L, 抑制 BTK 的 Tyr223 自磷酸化的 IC_{50} 达到 1.8 nmol/L。在临床前动物实验中, 泽布替尼具有良好的口服生物利用度, 具有比伊布替尼更高的组织暴露量和更多的靶点占据, 从而最大程度减小脱靶效应而带来的不良反应^[46-47]。2019 年 11 月 14 日, FDA 宣布加速批准泽布替尼上市, 用于治疗既往接受过至少一项疗法的成年 MCL 患者。除了癌症以外, 泽布替尼用于治疗自身免疫性疾病和炎症性疾病的研究工作也在积极推进中。2020 年 6 月, 泽布替尼获批一项 II 期、多中心、随机、双盲、安慰剂对照临床试验(NCT04643470), 旨在评估泽布替尼治疗活动性增殖型狼疮肾炎(LN)患者的安全性和有效性。2022

年 5 月, 泽布替尼获批了一项 II 期、开放的临床试验(NCT05356858), 用于评估泽布替尼治疗视神经脊髓炎谱系疾病(NMOSD)患者的有效性和安全性实验^[48]。目前认为 NMOSD 与成熟 B 细胞产生的一种特异性水通道蛋白 4 抗体(AQP4-IgG)相关, 高达 80% 患者的血清 AQP4-IgG 阳性^[49]。近年来, 泽布替尼还开展了其他炎症免疫性疾病相关适应证的临床研究, 包括原发性膜性肾病(NCT05707377)、ITP(NCT05214391)、AIHA(NCT05922839, NCT06021977)和 IgG 相关疾病(NCT04602598)。

奥布替尼(orelabrutinib, ICP-022)为吡啶类衍生物, 对 BTK 的选择性高, 其抑制 BTK 的 IC_{50} 为 1.6 nmol/L^[50]。2020 年 12 月 25 日, 奥布替尼获得中国国家药品监督管理局(NMPA)批准, 用于治疗复发/难治性 CLL/SLL 以及复发/难治性 MCL 两项适应证。此外, 奥布替尼正在中国及美国进行多中心、多适应证的临床试验。2023 年 8 月开始的一项在难治性 ITP 患者中评价奥布替尼有效性和安全性的随机、双盲、安慰剂对照的 III 期临床试验(NCT06004856)正在进行中。目前, 奥布替尼临床在研的适应证还包括复发缓解型多发性硬化症(relapsing-remitting multiple sclerosis, RRMS)和 SLE(NCT05688696)。

Remibrutinib(LOU064)是一种结构新型、可口服的共价不可逆 BTK 抑制剂, 具有较好的激酶选择性, 对 BTK、FcγR-induced IL8 和 anti-IgM/IL4-induced CD69 的 IC_{50} 分别为 1.3、2.5 和 18 nmol/L。在大鼠胶原诱导性关节炎模型中, remibrutinib 表现出显著的体内靶点占有率, 其 EC_{90} 为 1.6 mg/kg, 并具有剂量依赖性, 显示出较好的治疗自身免疫性疾病的潜力。2023 年 8 月 9 日, 诺华宣布 remibrutinib 用于 CSU 的两项 III 期临床试验(NCT05030311, NCT05032157)均达到所有主要终点和次要终点, 有望成为第一个上市的用于非肿瘤适应证的 BTK 抑制剂。临床试验结果显示, remibrutinib 治疗 2 周就能快速起效, 迅速控制 CSU 患者症状; 治疗 12 周时患者疾病有临床意义和统计学意义的改善, 总体耐受性和安全性良好。目前 CSU 的一线治疗药物是 H_1 受体拮抗剂类抗组胺药, 然而约 60% 的用药患者的症状未能得到有效控制。研究表明, BTK 是组胺释放的核心酶, 当其自发激活时, 可在 CSU 相关症状中发挥关键作用^[51]。体内实验表明, remibrutinib 与

BTK 的非活性构象结合, 从而阻止引起瘙痒、荨麻疹/皮疹和肿胀的组胺释放, 没有结合的药物则会从体内清除, 减少全身暴露, 降低不良反应^[52]。针对中度至重度 CSU 患者的 II 期研究结果显示, remibrutinib 能够快速起效, 且持效时间长, 所有剂量组也展现出良好的耐受性。除此以外, remibrutinib 正在进行的炎症免疫性疾病的临床试验还包括 MS(NCT05147220, NCT05156281)、食物过敏(NCT05432388)和干燥综合征(NCT04035668)等免疫介导的疾病。

Rilzabrutinib(PRN1008)是一个可逆的共价 BTK 抑制剂, 其抑制 BTK 的 IC_{50} 为 1.3 nmol/L, 在激酶谱(251 种激酶)测试中, rilzabrutinib 显示了较好的激酶选择性。从结构上看, rilzabrutinib 的二苯醚和氨基嘧啶并吡啶片段与伊布替尼相同, 其特有的亲电性片段使得 rilzabrutinib 靶向 BTK 半胱氨酸的解离速率变缓。在体外洗脱化合物后 18 h, 外周血单核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMC)中化合物与 BTK 结合的保留率为 $(79 \pm 2)\%$ 。当靶标蛋白变性后, 共价结合的半胱氨酸可完全解离。体外实验表明, rilzabrutinib 可抑制抗 IgM 诱导的人 B 细胞增殖(10% 血清)和 B 细胞 CD69 的表达, IC_{50} 分别为 5 和 123 nmol/L^[53]。2018 年 10 月, FDA 授予 rilzabrutinib 治疗 ITP 的孤儿药资格(ODD)。rilzabrutinib 通过降低巨噬细胞介导的血小板破坏和减少致病性自身抗体的产生两种机制来治疗 ITP^[54-56]。在 I/II 期临床试验获得阳性结果之后, 赛诺菲已启动了一项评估 rilzabrutinib 治疗 ITP 的 III 期临床试验(NCT04562766)。2020 年, FDA 授予 rilzabrutinib 治疗 ITP 的快速通道资格(FTD)。然而, rilzabrutinib 用于治疗天疱疮(pemphigus)的临床试验(NCT03762265)因没有达到主要终点和关键次要终点已被终止^[57-58]。目前, rilzabrutinib 用于其他炎症免疫性疾病的临床试验, 包括自身免疫性 IgG4 相关疾病(NCT04520451)、哮喘(NCT05104892)、AD(NCT05018806)、CSU(NCT05107115)和 AIHA(NCT05002777), 正在进行中。

Tolebrutinib(SAR442168, PRN2246)是一种口服有效、可透过血脑屏障的选择性 BTK 抑制剂, 其抑制 Ramos B 细胞和 HMC 小胶质细胞增殖的 IC_{50} 分别为 0.4 和 0.7 nmol/L。Tolebrutinib 可穿过血脑屏障, 有效抑制从中枢神经系统分离的小胶质细胞中的 BTK。一项随机、双盲、安慰剂对照的临床

I 期试验(NCT06106074)显示, tolebrutinib 口服后迅速吸收, 消除半衰期约为 2 h, 并且耐受性良好, 所有与治疗相关的不良事件都是轻微的^[59]。在 2022 年 2 月举行的美洲多发性硬化症治疗和研究委员会 (ACTRIMS) 论坛上, 赛诺菲公司公布了一项 II b 期临床试验(NCT03889639)的长期安全性数据。数据显示, tolebrutinib 使 MS 患者新发钋增强病变数量呈剂量依赖性减少, 其中 60 mg 剂量组显示出较低的年复发率且安全性良好^[60]。然而, 由于正在进行临床试验的患者中出现 5 例药物性肝损伤病例, FDA 已经部分暂停了 tolebrutinib 的 III 期临床试验(NCT04411641)。

4 结论与展望

BTK 抑制剂是一类针对 B 细胞发育相关酪氨酸激酶的药物, 已经在治疗淋巴瘤和白血病等领域取得了显著成果。近年来, 随着研究的深入, 研究人员逐渐发现 BTK 抑制剂在炎症免疫性疾病的治疗中也显示出潜在的应用前景。

炎症免疫反应是机体对抗感染和损伤的重要保护性反应, 但过度或持续的炎症反应可导致多种病理过程, 如自身免疫病、过敏和慢性炎症性疾病。BTK 作为一个重要的信号分子, 参与调节 B 细胞受体和 T 细胞受体介导的信号传导, 因此其抑制剂可以通过影响免疫细胞的功能来抑制炎症反应。多项研究表明, BTK 抑制剂如伊布替尼和泽布替尼在治疗慢性淋巴细胞白血病和淋巴瘤的同时, 也具有显著的抗炎作用。这些药物通过抑制 B 细胞的活化、浸润和趋化等关键步骤, 降低促炎细胞因子的产生和释放, 从而改善炎症相关疾病的症状和病理变化。此外, BTK 抑制剂还可以干扰炎症细胞和炎症介质的相互作用。比如在类风湿性关节炎等自身免疫性疾病中, BTK 抑制剂能够抑制 B 细胞的自身抗体产生, 减少淋巴组织和关节的炎症反应。

虽然 BTK 抑制剂在炎症免疫性疾病治疗中的应用前景广阔, 但也存在诸多挑战。首先, BTK 抑制剂可能导致免疫抑制作用, 增加感染的风险。因此, 临床应用时需要更加准确地选择适合的患者群体, 并进行严密的监测。此外, 由于 BTK 在多种细胞中发挥着不同的生理功能, 研究人员需要深入了解 BTK 信号通路在不同疾病中的调控机制, 以实

现个体化治疗。

综上所述, BTK 抑制剂作为一类新型的炎症治疗药物, 在炎症免疫性疾病的治疗中具有广阔的应用前景。随着对 BTK 信号通路的深入研究和临床试验的不断进行, 相信将有更多的 BTK 抑制剂问世, 并为炎症免疫性疾病的治疗带来新的选择。

References

- [1] Netea MG, Balkwill F, Chonchol M, *et al.* A guiding map for inflammation[J]. *Nat Immunol*, 2017, **18**(8): 826-831.
- [2] Megha KB, Joseph X, Akhil V, *et al.* Cascade of immune mechanism and consequences of inflammatory disorders[J]. *Phytotherapy*, 2021, **91**: 153712.
- [3] Satterthwaite AB, Witte ON. The role of Bruton's tyrosine kinase in B-cell development and function: a genetic perspective[J]. *Immunol Rev*, 2000, **175**: 120-127.
- [4] Bruton OC. Agammaglobulinemia[J]. *Pediatrics*, 1952, **9**(6): 722-728.
- [5] Conley ME, Brown P, Pickard AR, *et al.* Expression of the gene defect in X-linked agammaglobulinemia[J]. *N Engl J Med*, 1986, **315**(9): 564-567.
- [6] Pal Singh S, Dammeijer F, Hendriks RW. Role of Bruton's tyrosine kinase in B cells and malignancies[J]. *Mol Cancer*, 2018, **17**(1): 57.
- [7] Rawlings DJ, Scharenberg AM, Park H, *et al.* Activation of BTK by a phosphorylation mechanism initiated by SRC family kinases[J]. *Science*, 1996, **271**(5250): 822-825.
- [8] Baba Y, Hashimoto S, Matsushita M, *et al.* BLNK mediates Syk-dependent Btk activation[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2001, **98**(5): 2582-2586.
- [9] Middendorp S, Dingjan GM, Maas A, *et al.* Function of Bruton's tyrosine kinase during B cell development is partially independent of its catalytic activity[J]. *J Immunol*, 2003, **171**(11): 5988-5996.
- [10] Corneth OBJ, Klein Wolterink RGJ, Hendriks RW. BTK signaling in B cell differentiation and autoimmunity[J]. *Curr Top Microbiol Immunol*, 2016, **393**: 67-105.
- [11] Petro JB, Khan WN. Phospholipase C-gamma 2 couples Bruton's tyrosine kinase to the NF-kappaB signaling pathway in B lymphocytes[J]. *J Biol Chem*, 2001, **276**(3): 1715-1719.
- [12] Hashimoto A, Okada H, Jiang A, *et al.* Involvement of guanosine triphosphatases and phospholipase C-gamma2 in extracellular signal-regulated kinase, c-Jun NH₂-terminal kinase, and p38 mitogen-activated protein kinase activation by the B cell antigen receptor[J]. *J Exp Med*, 1998, **188**(7): 1287-1295.
- [13] Whang JA, Chang BY. Bruton's tyrosine kinase inhibitors for the treatment of rheumatoid arthritis[J]. *Drug Discov Today*,

- 2014, **19**(8): 1200-1204.
- [14] Kambayashi T, Koretzky GA. Proximal signaling events in Fc epsilon RI-mediated mast cell activation[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2007, **119**(3): 544-552;quiz 553-554.
- [15] Rip J, de Bruijn MJW, Appelman MK, et al. Toll-like receptor signaling drives btk-mediated autoimmune disease[J]. *Front Immunol*, 2019, **10**: 95.
- [16] Liubchenko GA, Appleberry HC, Striebich CC, et al. Rheumatoid arthritis is associated with signaling alterations in naturally occurring autoreactive B-lymphocytes[J]. *J Autoimmun*, 2013, **40**: 111-121.
- [17] Iwata S, Tanaka Y. B-cell subsets, signaling and their roles in secretion of autoantibodies[J]. *Lupus*, 2016, **25**(8): 850-856.
- [18] Crofford LJ, Nyhoff LE, Sheehan JH, et al. The role of Bruton's tyrosine kinase in autoimmunity and implications for therapy[J]. *Expert Rev Clin Immunol*, 2016, **12**(7): 763-773.
- [19] Leandro MJ. B-cell subpopulations in humans and their differential susceptibility to depletion with anti-CD20 monoclonal antibodies[J]. *Arthritis Res Ther*, 2013, **15**(Suppl 1): S3.
- [20] Dispenza MC. The use of Bruton's tyrosine kinase inhibitors to treat allergic disorders[J]. *Curr Treat Options Allergy*, 2021, **8**(3): 261-273.
- [21] MacGlashan D Jr, Honigberg LA, Smith A, et al. Inhibition of IgE-mediated secretion from human basophils with a highly selective Bruton's tyrosine kinase, Btk, inhibitor[J]. *Int Immunopharmacol*, 2011, **11**(4): 475-479.
- [22] Weber ANR. Targeting the NLRP3 inflammasome via BTK[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, **9**: 630479.
- [23] Liu X, Pichulik T, Wolz OO, et al. Human NACHT, LRR, and PYD domain-containing protein 3 (NLRP3) inflammasome activity is regulated by and potentially targetable through Bruton tyrosine kinase[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2017, **140**(4): 1054-1067. e10.
- [24] Bittner ZA, Liu X, Mateo Tortola M, et al. BTK operates a phospho-tyrosine switch to regulate NLRP3 inflammasome activity[J]. *J Exp Med*, 2021, **218**(11): e20201656.
- [25] Zarrin AA, Bao K, Lupardus P, et al. Kinase inhibition in autoimmunity and inflammation[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2021, **20**(1): 39-63.
- [26] Ringheim GE, Wampole M, Oberoi K. Bruton's tyrosine kinase (BTK) inhibitors and autoimmune diseases: making sense of BTK inhibitor specificity profiles and recent clinical trial successes and failures[J]. *Front Immunol*, 2021, **12**: 662223.
- [27] McDonald C, Xanthopoulos C, Kostareli E. The role of Bruton's tyrosine kinase in the immune system and disease[J]. *Immunology*, 2021, **164**(4): 722-736.
- [28] Brullo C, Villa C, Tasso B, et al. Btk inhibitors: a medicinal chemistry and drug delivery perspective[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, **22**(14): 7641.
- [29] Robak T, Witkowska M, Smolewski P. The role of bruton's kinase inhibitors in chronic lymphocytic leukemia: current status and future directions[J]. *Cancers*, 2022, **14**(3): 771.
- [30] Robak E, Robak T. Bruton's kinase inhibitors for the treatment of immunological diseases: current status and perspectives[J]. *J Clin Med*, 2022, **11**(10): 2807.
- [31] Liu LC, Halladay JS, Shin Y, et al. Significant species difference in amide hydrolysis of GDC-0834, a novel potent and selective Bruton's tyrosine kinase inhibitor[J]. *Drug Metab Dispos*, 2011, **39**(10): 1840-1849.
- [32] Liu LC, di Paolo J, Barbosa J, et al. Antiarthritis effect of a novel Bruton's tyrosine kinase (BTK) inhibitor in rat collagen-induced arthritis and mechanism-based pharmacokinetic/pharmacodynamic modeling: relationships between inhibition of BTK phosphorylation and efficacy[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2011, **338**(1): 154-163.
- [33] Crawford JJ, Johnson AR, Misner DL, et al. Discovery of GDC-0853: a potent, selective, and noncovalent bruton's tyrosine kinase inhibitor in early clinical development[J]. *J Med Chem*, 2018, **61**(6): 2227-2245.
- [34] Cohen S, Tuckwell K, Katsumoto TR, et al. Fenebrutinib versus placebo or adalimumab in rheumatoid arthritis: a randomized, double-blind, phase II trial (ANDES study)[J]. *Arthritis Rheumatol*, 2020, **72**(9): 1435-1446.
- [35] Isenberg D, Furie R, Jones NS, et al. Efficacy, safety, and pharmacodynamic effects of the bruton's tyrosine kinase inhibitor fenebrutinib (GDC-0853) in systemic lupus erythematosus: results of a phase II, randomized, double-blind, placebo-controlled trial[J]. *Arthritis Rheumatol*, 2021, **73**(10): 1835-1846.
- [36] Chan P, Yu J, Chinn L, et al. Population pharmacokinetics, efficacy exposure-response analysis, and model-based meta-analysis of fenebrutinib in subjects with rheumatoid arthritis[J]. *Pharm Res*, 2020, **37**(2): 25.
- [37] Geladaris A, Torke S, Weber MS. Bruton's tyrosine kinase inhibitors in multiple sclerosis: pioneering the path towards treatment of progression [J]? *CNS Drugs*, 2022, **36**(10): 1019-1030.
- [38] Liu QS, Sabnis Y, Zhao Z, et al. Developing irreversible inhibitors of the protein kinase cysteinome[J]. *Chem Biol*, 2013, **20**(2): 146-159.
- [39] Xing L, Huang A. Bruton's TK inhibitors: structural insights and evolution of clinical candidates[J]. *Future Med Chem*, 2014, **6**(6): 675-695.
- [40] Leproult E, Barluenga S, Moras D, et al. Cysteine mapping in conformationally distinct kinase nucleotide binding sites: application to the design of selective covalent inhibitors[J]. *J Med Chem*, 2011, **54**(5): 1347-1355.
- [41] Schwarzbich MA, Witzens-Harig M. Ibrutinib[J]. *Recent Results Cancer Res*, 2014, **201**: 259-267.
- [42] Sakkas LI, Bogdanos DP. Systemic sclerosis: new evidence re-

- enforces the role of B cells[J]. *Autoimmun Rev*, 2016, **15**(2): 155-161.
- [43] Einhaus J, Pecher AC, Asteriti E, *et al*. Inhibition of effector B cells by ibrutinib in systemic sclerosis[J]. *Arthritis Res Ther*, 2020, **22**(1): 66.
- [44] Cavazzini F, Lista E, Quaglia FM, *et al*. Response to ibrutinib of refractory life-threatening autoimmune hemolytic anemia occurring in a relapsed chronic lymphocytic leukemia patient with 17p deletion[J]. *Leuk Lymphoma*, 2016, **57**(11): 2685-2688.
- [45] Evans EK, Tester R, Aslanian S, *et al*. Inhibition of Btk with CC-292 provides early pharmacodynamic assessment of activity in mice and humans[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2013, **346**(2): 219-228.
- [46] Gehringer M, Laufer SA. Emerging and re-emerging warheads for targeted covalent inhibitors: applications in medicinal chemistry and chemical biology[J]. *J Med Chem*, 2019, **62**(12): 5673-5724.
- [47] Tam C, Grigg AP, Opat S, *et al*. The BTK inhibitor, bgb-3111, is safe, tolerable, and highly active in patients with relapsed/refractory B-cell malignancies: initial report of a phase I first-in-human trial[J]. *Blood*, 2015, **126**(23): 832.
- [48] Tian DC, Li ZX, Yuan M, *et al*. Incidence of neuromyelitis optica spectrum disorder (NMOSD) in China: a national population-based study[J]. *Lancet Reg Health West Pac*, 2020, **2**: 100021.
- [49] Bennett JL, O'Connor KC, Bar-Or A, *et al*. B lymphocytes in neuromyelitis optica[J]. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm*, 2015, **2**(3): e104.
- [50] Zhang B, Zhao RB, Liang RX, *et al*. Abstract CT132: Orelabrutinib, a potent and selective Bruton's tyrosine kinase inhibitor with superior safety profile and excellent PK/PD properties[J]. *Cancer Res*, 2020, **80**(16_Supplement): CT132.
- [51] Bernstein JA, Maurer M, Saini SS. BTK signaling - a crucial link in the pathophysiology of chronic spontaneous urticaria[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2023, **S0091-S6749**(23): 02460-0.
- [52] Angst D, Gessier F, Janser P, *et al*. Discovery of LOU064 (remibrutinib), a potent and highly selective covalent inhibitor of Bruton's tyrosine kinase[J]. *J Med Chem*, 2020, **63**(10): 5102-5118.
- [53] Hill RJ, Bradshaw JM, Bisconte A, *et al*. Preclinical characterization of PRN1008, a novel reversible covalent inhibitor of BTK that shows efficacy in a RAT model of collagen-induced arthritis[J]. *Ann Rheum Dis*, 2015, **74**(Suppl 2): 216-217.
- [54] Cooper N, Ghanima W. Immune thrombocytopenia[J]. *N Engl J Med*, 2019, **381**(10): 945-955.
- [55] Efficace F, Mandelli F, Fazi, *et al*. Health-related quality of life and burden of fatigue in patients with primary immune thrombocytopenia by phase of disease[J]. *Am J Hematol*, 2016, **91**(10): 995-1001.
- [56] Langrish CL, Bradshaw JM, Francesco MR, *et al*. Preclinical efficacy and anti-inflammatory mechanisms of action of the bruton tyrosine kinase inhibitor rilzabrutinib for immune-mediated disease[J]. *J Immunol*, 2021, **206**(7): 1454-1468.
- [57] Murrell DF, Patsatsi A, Stavropoulos P, *et al*. Proof of concept for the clinical effects of oral rilzabrutinib, the first Bruton tyrosine kinase inhibitor for pemphigus vulgaris: the phase II BELIEVE study[J]. *Br J Dermatol*, 2021, **185**(4): 745-755.
- [58] Drucker AM, Shear NH. Bruton tyrosine kinase inhibition warrants further study for pemphigus[J]. *Br J Dermatol*, 2021, **185**(4): 691-692.
- [59] Owens TD, Smith PF, Redfern A, *et al*. Phase 1 clinical trial evaluating safety, exposure and pharmacodynamics of BTK inhibitor tolebrutinib (PRN2246, SAR442168)[J]. *Clin Transl Sci*, 2022, **15**(2): 442-450.
- [60] Reich DS, Arnold DL, Vermersch P, *et al*. Safety and efficacy of tolebrutinib, an oral brain-penetrant BTK inhibitor, in relapsing multiple sclerosis: a phase 2b, randomised, double-blind, placebo-controlled trial[J]. *Lancet Neurol*, 2021, **20**(9): 729-738.



[专家介绍] 邹毅, 副研究员, 硕士生导师。2017年毕业于中国药科大学新药研究中心, 获得药物化学博士学位。2017-2020年于中国科学院上海药物研究所药物发现与设计中心(DDDC)从事博士后研究工作。2020年7月加入中国药科大学药学院药物化学系。近五年以第一或者通信作者发表SCI论文8篇, 其中学科顶尖期刊4篇。主要研究方向为计算化学驱动的肿瘤免疫治疗小分子药物的发现。分别主持中国博士后面上基金、国家自然科学基金和江苏省面上基金各1项。