

综 述

基于 c-Met 信号通路的抗癌药物研究进展

王海勇, 王 林*, 杨晓明

(军事医学科学院放射与辐射医学研究所, 北京 100850)

摘要: c-Met 的持续激活将破坏肿瘤细胞间的粘附、促进细胞运动及肿瘤新生血管的生成, 使肿瘤细胞易于进入血液循环并获得侵袭转移的能力。因而, c-Met 已成为抗癌药物研究的一个极有希望的新靶点。本文简要阐述了近年来基于 c-Met 信号通路的抗癌药物研究进展, 重点综述了其中的 ATP 竞争性酪氨酸激酶小分子抑制剂。

关键词: c-Met; c-Met 抑制剂; 抗肿瘤药

中图分类号: R979.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-0440(2007)06-0401-05

Anti-cancer drugs based on c-Met signal pathway: a review of recent research

WANG Hai-yong, WANG Lin, YANG Xiao-ming

(Institute of Radiation Medicine, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China)

Abstract: The continuous activation of c-Met signaling can lead to cell proliferation, scattering, angiogenesis, enhanced cell motility, invasion and eventual metastasis. Thus, c-Met has become a promising new target for the discovery of drugs against cancer. There have been considerable efforts in the identification of its inhibitors as novel anticancer drugs for several years. This review mainly summarizes the recent advances in the research on anti-cancer drugs based on c-Met signal pathway, particularly the small molecular inhibitors as ATP antagonist directed at c-Met kinase.

Key words: c-Met; c-Met inhibitors; antineoplastic agents

征服癌症对医学不断提出重大挑战, 尽管各国政府及业界向癌症研究投入了大量资金, 而且在癌细胞遗传学、生物化学及功能改变方面做出了大量发现, 然而, 当与其他重大疾病相比较时, 一般认为癌症被现代医学控制的程度最低。事实上, 当同时考虑到年龄因素的影响时, 21 世纪的癌症死亡率与 50 年前大致相同, 然而, 心脏病、脑血管病及感染性疾病的死亡率已经下降了大约三分之二^[1]。

现已知肝细胞生长因子(HGF)/c-Met 信号通路在原发性肿瘤的形成及继发转移中起着至关重要的作用^[2]。c-Met 是 HGF 的高亲和性配体, 为 45 ku

的 α 链和 145 ku 的跨膜 β 链组成的糖蛋白。c-Met 广泛表达于多种人体正常组织, 但在肺癌、结肠癌、肝癌、直肠癌、胃癌、卵巢癌、肾癌、神经胶质瘤、黑色素瘤、乳腺癌、前列腺癌等肿瘤组织中呈现出异常的高表达、突变或活性改变。当 HGF 与 c-Met 结合后, HGF/c-Met 信号通路即被活化, 首先 c-Met 靠近胞内区的 4 个磷酸化位点的酪氨酸残基发生自身磷酸化, 募集下游的 Gab-1, Grb-2, Shc 和 c-Cbl 等衔接蛋白(adaptor), 接着通过一系列的磷酸化反应活化 PI-3K, ERK1/2, PLC- γ , STAT 和 FAK 等重要的信号分子及相应的信号通路, 从而调节肿瘤细胞的增殖、迁移和侵袭能力^[3]。此外, HGF/c-Met 信号通路还可以影响 β 4-整联蛋白(integrins)、CD44 和非激酶性结合分子的活化, 与肿瘤细胞的侵袭能力增强和肿瘤组织血管形成密切相关^[4]。c-Met 的持续激活将破坏肿瘤细胞间的粘附, 促进细胞运动, 此外, 还参与肿瘤新生血管的生成, 使肿瘤细胞易于进入血液循环并获

收稿日期: 2007-05-15

基金项目: 国家重点基础研究发展计划(973 计划)资助项目(2004CB518903)

作者简介: 王海勇, 男, 博士研究生, 研究方向: 药物化学, Tel: 010-66932239, E-mail: haiywang2000@yahoo.com.cn

* 通讯作者: 王 林, 男, 博士生导师, 研究方向: 新药设计与合成, Tel: 010-66932239, E-mail: wanglin@nic.bmi.ac.cn

得转移的能力。由于 c-Met 是导致肿瘤形成及转移的许多通路的交叉点^[5],因而,以 Met 为靶标可相对较容易地实现对许多通路的同时干扰,一旦肿瘤细胞中异常活化的 HGF/c-Met 信号通路被阻断,肿瘤细胞就会出现细胞形态改变、增殖减缓、成瘤性降低、侵袭能力下降等一系列的变化。因而 c-Met 已成为抗肿瘤转移治疗的一个极有希望的新靶点^[6,7]。

1 c-Met 的晶体结构

鉴于靶蛋白的晶体结构对于合理设计药物的重要性,随着 c-Met 在肿瘤形成及侵袭转移过程中重要地位的确立,与其高度同源的成纤维细胞生长因子受体 (FGFR)^[8] 以及 c-Met^[9] 激酶的晶体结构已先后被研究报道 (图 1,2)。此外,也有文献报道了 FGFR 和 c-Met 激酶与某些受体酪氨酸激酶抑制剂复合物的结构及对接研究^[10]。

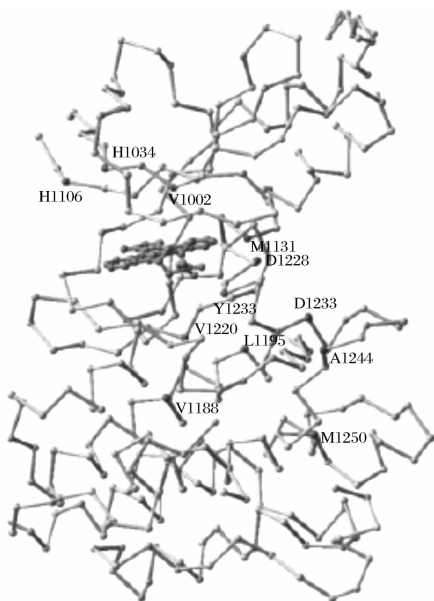


图 1 c-Met 激酶与非选择性酪氨酸激酶抑制剂 K-252a 的复合物

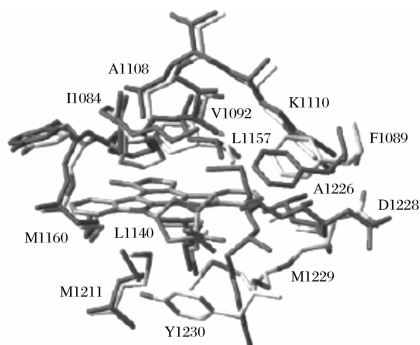
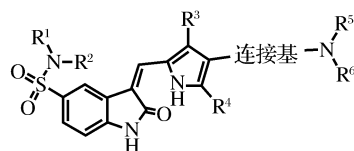


图 2 K-252a 在 c-Met 激酶上的结合位点

在 c-Met 的晶体结构被报道之前,c-Met 的合理设计主要是基于与其高度同源的 FGFR 激酶,在此基础上发现了一系列高效特异的 c-Met 抑制剂,并开展了初步的构效关系分析:(1)有效的 c-Met 抑制剂都包含有一个六元芳香环并五元芳香/非芳香环的稠环母核结构,特别是 2-氧化吡咯结构,这与此类抑制剂均为 ATP 的竞争性抑制剂相一致;(2)当 2-氧化吡咯母核的 3 位以双键与吡咯或其衍生物连接时形成的化合物活性较理想,特别是在吡咯部分再连接一个包含氮原子的部分活性最为理想;(3)在 2-氧化吡咯母核的 5 位引入一个磺胺基团可进一步增加化合物的活性(通式 1 的化合物)^[8]。



通式 1

R¹~R⁶ 为烷基或芳香基

在 c-Met 的晶体结构被报道之后,分析发现 c-Met 的晶体结构与已经报道的其他蛋白激酶的结构基本一致。不同之处在于活化环 (activation loop) 呈独特的抑制构象,与 SH2 结合的第 1 个基序 (¹³⁴⁹YVHV) 呈伸展构象,与 Grb2-SH2 结合的第 2 个基序 (¹³⁵⁶YVNV) 呈 II 型 β 转角,中间部分¹³⁵³NATY 呈 I 型 β 转角。c-Met 胞内区含多功能的酪氨酸磷酸化位点 Tyr¹³⁴⁹ 和 Tyr¹³⁵⁶,它们位于受体 C 端尾部,另两个位点为 Tyr¹²³⁴ 和 Tyr¹²³⁵,它们正向调节受体的激酶活性,是受体激酶活性的关键部位,对信号转导起着重要的作用^[9,10]。目前,已经出现了一些针对 c-Met 合理设计的化合物,这些化合物结构多样,大多数都突破了上述针对 FGFR 总结的 3 点构效关系。

2 c-Met 抑制剂

目前已经发现了许多能够阻断 HGF/c-Met 信号转导途径的化合物。这些化合物针对前述的 c-Met 信号通路的各个环节,其中大部分化合物都是单一环节的特异性抑制剂,有些化合物同时作用于通路的多个环节。

2.1 蛋白及肽类 c-Met 抑制剂

2.1.1 HGF 的拮抗剂 HGF 是一种多功能细胞因子,其分子为异二聚体糖蛋白,包括 NK1, NK2, NK4 三个变种。理论上, NK2 和 NK4 都是 HGF 的拮抗

剂或激动剂。NK2 包括 HGF 的 N 结构域及前两个 Kringle 结构域,视靶细胞及培养条件的不同可以成为 HGF 的激动剂或拮抗剂。据报道,NK2 虽然抑制了 NK2-HGF 双重转基因小鼠的包含 c-Met 的黑素细胞的增殖,然而却又促进其转移^[11]。最早以 HGF/Met 为靶标干扰癌症进程是 20 世纪末 NK4 的使用。NK4 由 HGF α 链 N 端的发夹样结构和 4 个 Kringle 结构域组成,其可以与 c-Met 结合竞争性地抑制 HGF 和 c-Met 的相互作用,影响 HGF/c-Met 信号转导途径,从而抑制 N3F 诱导的肿瘤细胞侵袭转移过程。体外实验表明,其与 c-Met 结合后并不激活受体,起着完全的拮抗剂作用,此外,由于其与血管抑制素结构类似,也具有抗血管生成的活性^[12]。然而,在大量的动物模型上的实验表明,NK4 并不能干扰肿瘤的进程^[13,14]。此外,可溶的嵌合形式的 c-Met 也保留了结合 HGF 的全部能力,因而具有中和 HGF 的活性^[15]。

2.1.2 c-Met 肽类抑制剂 在体外实验中,衍生于 c-Met 受体尾部而非活化环区域的肽能够与受体结合,抑制受体的活性,然而,这些肽也能够抑制 Ron 的活性。针对激酶活化环位置的 c-Met 酪氨酸残基的肽,以及针对 c-Met 羧基尾部酪氨酸的肽有望特异性地抑制 c-Met 的活性^[16]。

2.2 格尔德霉素类 c-Met 抑制剂

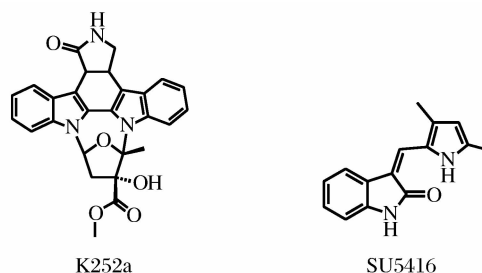
体外研究表明,某些格尔德霉素家族成员能够通过多种机制抑制 HGF/c-Met 信号^[16],可在低于其生长抑制的纳摩尔浓度下抑制 HGF 对狗肾癌细胞株(MDCK)的离散效应,下调 c-Met 蛋白的表达。格尔德霉素类 c-Met 抑制剂的作用机制似乎是直接抑制 HSP90 的分子伴侣功能^[17]。此类抑制剂的缺点是选择性较差,可以下调包括许多酪氨酸及丝/苏氨酸激酶在内的许多细胞信号蛋白的表达。

2.3 小分子抑制剂

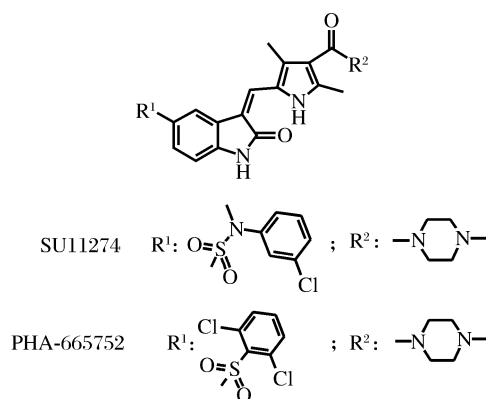
在研究阻断 HGF/c-Met 信号转导途径的策略中,小分子抑制剂研究起步相对较晚。随着小分子酪氨酸激酶抑制剂伊马替尼的诞生,极大地促进了对 c-Met 小分子抑制剂的研究。目前已经发现的小分子化合物基本上都是 ATP 的竞争性抑制剂,通过阻断酪氨酸磷酸化发挥抑制 c-Met 激酶的作用。

K-252a 是最早报道的一个小分子 c-Met 激酶抑制剂,其抑制 c-Met 激酶活性达 $100 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$,然而,其对 c-Met 无选择性,是非选择性酪氨酸激酶抑制剂。SU5416,即 semaxanib,是一个选择性作用于

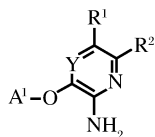
胎肝激酶-1(IC_{50} 为 $20 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$)及激酶功能区受体(IC_{50} 值为 $70 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$)的酪氨酸激酶抑制剂,具有显著的抗血管生成的效果,其 I、II 期临床试验均取得成功,然而在 III 期临床联用盐酸伊立替康注射液、5-FU 和亚叶酸钙治疗 1 300 名晚期结直肠癌时,由于缺乏效果而被 Sugen 公司中止研究。此课题筛选研究又偶然发现 SU5416 为 c-Met 的高效抑制剂,能够有效阻断由 HGF 诱导的 HepG2 肝癌细胞侵袭转移(IC_{50} 值为 $4 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)^[4]。



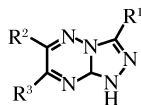
随后,出现了一些基于 FGFR 激酶合理设计的 c-Met 选择性抑制剂^[18]。在已经公开的化合物中,原法玛西亚的 Sugen 公司对 c-Met 晶体结构进行了开拓性的研究,研发了一系列在纳摩尔水平上能够抑制 c-Met 激酶活性的小分子化合物。代表性化合物是 SU11274 及 PHA-665752,其中,后者是第一个报道的 c-Met 选择性抑制剂^[19],两者对 c-Met 激酶的 IC_{50} 值分别为 9 和 $10 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。此外,美国和加拿大的几个公司目前都有针对 c-Met 或主要针对 c-Met 的小分子化合物进入或即将进入临床研究,包括辉瑞公司的 PF2341066、美国 Arqule 公司的 ARQ197、美国 Exelixis 公司的 XL880 以及加拿大 Methylgene 公司的在研产品。其中,Exelixis 公司的 XL880 是第一个进入临床阶段的 c-Met 抑制剂。然而,这些公司采取了一系列的严格保密措施,针对候选化合物申请了一系列专利,采用专利群战略,因而迄今无法获悉它们的确切结构。



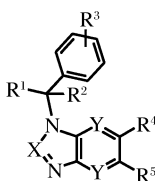
随着 c-Met 晶体结构的公开,以 c-Met 靶标申请的新专利层出不穷,几乎呈级数增长,这也从一个侧面反映了 c-Met 靶点在研制新型抗癌药物中的重要地位。从公开的专利来分析,2004 年以前的绝大部分研究都着重于以 2-氧化吡啶为母核设计 c-Met 抑制剂。此后,出现了大量的新母核,例如通式 2^[20], 3^[21], 4^[22] 和 5^[23] 的化合物。



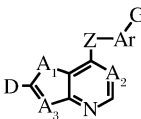
通式 2



通式 3



通式 4



通式 5

通过仔细分析这些针对 c-Met 晶体结构设计的化合物可以发现,先前在 FGFR 激酶基础上初步形成的 3 条 c-Met 抑制剂的构效关系规律基本上都可以突破。深入分析表明,有效的 c-Met 抑制剂至少应具有 1 个或包含 1 个六元疏水的芳香环,同时,六元环上必须有 1 个氨基,其与相隔 2 个化学键范围内的 1 个氢键受体一起提供 2 个氢键作用位点。

3 结语

近年来,随着对 HGF/c-Met 信号通路的深入了解及 c-Met 晶体结构的报道,基于 c-Met 信号通路的抗癌药物研究进入一个全新的阶段,特别是小分子 c-Met 激酶抑制剂已经成为整个抗癌药物研究的重点和热点。目前已有部分小分子化合物进入临床研究阶段,其中 XL880 已经进入 II 期临床研究阶段。相信在不久的将来,同其他酪氨酸激酶抑制剂发展趋势一样,将会有针对 c-Met 信号通路的药物上市,造福癌症患者。

参 考 文 献

- [1] Varmus H. The new era in cancer research[J]. *Science*, 2006, 312(5777):1162-1165.
- [2] Jeffers M, Schmidt L, Nakaigawa N, et al. Activating mutations for the met tyrosine kinase receptor in human cancer[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94(21):11445-11450.
- [3] Furge KA, Zhang YW, Vande Woude GF, et al. Met receptor tyrosine kinase: enhanced signaling through adapter proteins[J]. *Oncogene*, 2000, 19(49):5582-5589.
- [4] Wang SY, Chen B, Zhan YQ. SU5416 is a potent inhibitor of hepatocyte growth factor receptor (c-Met) and blocks HGF-induced invasiveness of human HepG2 hepatoma cells[J]. *J Hepatol*, 2004, 41(2):267-273.
- [5] Corso S, Comoglio PM, Giordano S. Cancer therapy: can the challenge be MET? [J]. *Trends Mol Med*, 2005, 11(6):284-292.
- [6] Ferracini R, Olivero M, Di Renzo MF, et al. Retrogenic expression of the MET proto-oncogene correlates with the invasive phenotype of human rhabdomyosarcomas[J]. *Oncogene*, 1996, 12(8):1697-1705.
- [7] Francesca DB, Michela F, Andrea R. Receptor tyrosine kinases as targets for cancer therapy[J]. *Cancer Ther*, 2004, 2B:317-328.
- [8] Mohammadi M, McMahon G, Sun L, et al. Structures of the tyrosine kinase domain of fibroblast growth factor receptor in complex with inhibitors[J]. *Science*, 1997, 276(5314):955-960.
- [9] Schiering N, Knapp S, Marina M. Crystal structure of the tyrosine kinase domain of the hepatocyte growth factor receptor c-Met and its complex with the microbial alkaloid K-252a[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(22):12654-12659.
- [10] Wang XY, Le PH, Liang CX, et al. Potent and selective inhibitors of the Met [hepatocyte growth factor/scatter factor (HGF/SF) receptor] tyrosine kinase block HGF/SF-induced tumor cell growth and invasion[J]. *Mol Cancer Ther*, 2003, 2(11):1085-1092.
- [11] Otsuka T, Jakubczak J, Vieira W, et al. Disassociation of met-mediated biological responses *in vivo*: the natural hepatocyte growth factor/scatter factor splice variant NK2 antagonizes growth but facilitates metastasis [J]. *Mol Cell Biol*, 2000, 20(6):2055-2065.
- [12] Matsumoto K, Nakamura T. NK4 (HGF-antagonist/angiogenesis inhibitor) in cancer biology and therapeutics[J]. *Cancer Sci*, 2003, 94(4):321-327.
- [13] Heideman DA, van Beusechem VW, Bloemena E, et al. Suppression of tumor growth, invasion and angiogenesis of human gastric cancer by adenovirus-mediated expression of NK4[J]. *J Gene Med*, 2004, 6(3):317-327.
- [14] Michieli P, Cavassa S, Basilico C, et al. An HGF MSP chimera disassociates the trophic properties of scatter factors from their pro-invasive activity[J]. *Nat Biotechnol*, 2002, 20(5):488-495.
- [15] Mark MR, Lokker NA, Zioncheck TF, et al. Expression and characterization of hepatocyte growth factor receptor-IgG fusion proteins. Effects of mutations in the potential proteolytic cleavage site on processing and ligand binding[J]. *J Biol Chem*, 1992, 267(36):26166-26171.
- [16] Haddad R, Lipson KE, Webb CP. Hepatocyte growth factor expression in human cancer and therapy with specific inhibitors

- 330.
- [10] Jantzen PT, Connor KE, DiCarlo G, *et al.* Microglial activation and beta-amyloid deposit reduction caused by a nitric oxide-releasing nonsteroidal anti-inflammatory drug in amyloid precursor protein plus presenilin-1 transgenic mice[J]. *J Neurosci*, 2002, 22(6):2246-2254.
- [11] Bernardo A, Ajmone-Cat MA, Gasparini L, *et al.* Nuclear receptor peroxisome proliferator-activated receptor- γ is activated in rat microglial cells by the anti-inflammatory drug HCT1026, a derivative of flurbiprofen[J]. *J Neurochem*, 2005, 92(4):895-903.
- [12] Bernardo A, Gasparini L, Ongini E, *et al.* Dynamic regulation of microglial functions by the non-steroidal anti-inflammatory drug NCX 2216; implications for chronic treatments of neurodegenerative diseases[J]. *Neurobiol Dis*, 2006, 22(1):25-32.
- [13] Fiorucci S, Santucci L, Gresele P, *et al.* Gastrointestinal safety of NO-aspirin (NCX-4016) in healthy human volunteers: a proof of concept endoscopic study[J]. *Gastroenterology*, 2003, 124(3):600-607.
- [14] Bolla M, Momi S, Gresele P, *et al.* Nitric oxide-donating aspirin (NCX 4016): an overview of its pharmacological properties and clinical perspectives [J]. *Eur J Clin Pharmacol*, 2006, 62(Suppl 1):145-154.
- [15] Martelli A, Rapposelli S, Calderone V. NO-releasing hybrids of cardiovascular drugs[J]. *Curr Med Chem*, 2006, 13(6):609-625.
- [16] Ambrosini MV, Mariucci G, Rambotti MG, *et al.* Ultrastructural investigations on protective effects of NCX 4016 (nitroaspirin) on macrovascular endothelium in diabetic Wistar rats[J]. *J Submicrosc Cytol Pathol*, 2005, 37(2):205-213.
- [17] Burke SG, Wainwright CL, Vojnovic I, *et al.* The effect of NCX4016 [2-acetoxy-benzoate 2-(2-nitroxymethyl)-phenyl ester] on the consequences of ischemia and reperfusion in the streptozotocin diabetic rat[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2006, 316(3):1107-1114.
- [18] Gresele P, Momi S. Pharmacologic profile and therapeutic potential of NCX 4016, a nitric oxide-releasing aspirin, for cardiovascular disorders[J]. *Cardiovasc Drug Rev*, 2006, 24(2):148-168.

(上接第 404 页)

- [J]. *Anticancer Res*, 2001, 21(6B):4243-4252.
- [17] Neckers L, Schulte TW, Mimnaugh E. Geldanamycin as a potential anti-cancer agent; its molecular target and biochemical activity[J]. *Invest New Drugs*, 1999, 17(4):361-373.
- [18] Bardelli A, Longati P, Williams TA, *et al.* A peptide representing the carboxylterminal tail of the met receptor inhibits kinase activity and invasive growth[J]. *J Biol Chem*, 1999, 274(41):29274-29281.
- [19] Jean C. Inhibitors targeting hepatocyte growth factor receptor and vascular endothelial growth factor receptor tyrosine kinases [J]. *Expert Opin Ther Patents*, 2006, 16(5):713-718.
- [20] Cui JJ, Bhumralkar D, Botrous I, *et al.* Aminoheteroaryl compounds as protein kinase inhibitors [P]. World (PTC) Patent: WO-2004076412, 2004-09-10.
- [21] Zhang FJ, Vojkovsky T, Huang P. Triazolotriazine compounds and uses thereof [P]. World (PTC) Patent: WO-2005010005, 2005-02-03.
- [22] Cui JR, Botrous I. Arylmethyl triazolo and imidazopyrazines as c-Met inhibitors [P]. World (PTC) Patent: WO-2005004607, 2005-01-20.
- [23] Saavedra OM, Claridge SW, Zhan L. Inhibitors of VEGF receptor and HGF receptor signaling. US Patent: US-2007/0004675A1, 2007-01-04.

《中国药学文摘》2008 年征订启事

《中国药学文摘》(ISSN1003-3521/CN11-2529/R)是由国家食品药品监督管理局主管,国家食品药品监督管理局信息中心主办,国内外公开发行的医药科技性专业期刊。月刊,16开本,每期220页左右,每期约60万字。读者对象:医药生产、科研、教学、流通、医院、药店、药检、情报和监管单位及个人。

单位名称:国家食品药品监督管理局信息中心期刊处

开户名称:国家食品药品监督管理局信息中心

开户银行:建设银行北京展览路支行

通讯地址:北京市西城区北礼士路甲38号

电 话:010-62214715,62214665,88330061

电子邮件:zgyxwa@163.com

账 号:11001016700056002517

邮 编:100810

传 真:010-62214866