

DOI: 10.13376/j.cbls/2023021

文章编号: 1004-0374(2023)02-0148-09

靶向端粒抗肿瘤药物的研究进展

郑睿伶, 韩昊益, 殷星悦, 张鑫, 郑小辉*

(温州医科大学药学院, 温州 325035)

摘要: 端粒是真核生物线性染色体末端的特殊结构, 由端粒重复序列 DNA 和端粒结合蛋白组成, 具有保护线性 DNA 末端、维持染色体稳定性等重要作用。随着细胞分裂次数的增加, 端粒长度会逐渐缩短, 最终引起细胞衰老或凋亡。端粒长度的维持对持续分裂的肿瘤细胞具有重要的意义。所以, 端粒是肿瘤治疗的一个重要靶点, 端粒长度维持机制及其相关靶向药物(端粒酶抑制剂、端粒延伸替代机制阻断剂、端粒 G-四链体稳定剂以及端粒类似物 T-oligo) 的研究对于肿瘤治疗有着重要指导意义及临床应用价值。本文聚焦上述四个方向, 对以端粒为靶点的抗肿瘤药物的最新研究进展进行综述。

关键词: 端粒; 肿瘤; 端粒酶; 端粒延伸替代机制; G-四链体; T-oligo

中图分类号: R737.31 文献标志码: A

Research progress of potential anticancer drugs targeting telomere

ZHENG Rui-Ling, HAN Hao-Yi, YIN Xing-Yue, ZHANG Xin, ZHENG Xiao-Hui*

(School of Pharmaceutical Science, Wenzhou Medical University, Wenzhou 325035, China)

Abstract: Telomere is the structure at chromatin end in eucaryotic cell, which could protect linear DNA ends and stabilize genome. In human cells, telomeric DNA is 5'-TTAGGG-3' repeats binding with shelterin complex. Telomere length would be shortened along with DNA replication, and the cells would go through senescence or apoptosis when they have too short telomeres. In this case, telomere length maintenance is critical for tumor cells. Therefore, telomere is the important target for cancer therapy. The study of telomere maintenance mechanism and its related targeting drugs, such as telomerase inhibitors, alternative lengthening of telomeres blockers, telomere G-quadruplex stabilizers, and telomere analogue T-oligo, has important guiding significance and clinical application value for cancer therapy. This review focuses on the latest research progress of anticancer drugs targeting telomere.

Key words: telomere; cancer; telomerase; alternative lengthening of telomeres (ALT); G-quadruplex; T-oligo

端粒是真核生物线性染色体末端的特殊结构, 由端粒重复序列 DNA 和端粒结合蛋白 (shelterin) 组成, 具有保护线性 DNA 末端、维持染色体稳定性等重要作用^[1-3]。随着细胞分裂次数的增加, 端粒长度会逐渐缩短, 最终引起细胞死亡^[4]。所以, 端粒长度的维持对持续分裂的肿瘤细胞具有重要的意义。据统计, 85%~90% 的肿瘤细胞依赖端粒酶维持端粒长度^[5-7], 剩余 10%~15% 的肿瘤细胞依赖端粒延伸替代机制 (alternative lengthening of telomeres, ALT) 维持端粒长度^[8-9]。所以, 端粒是肿瘤治疗的一个重要靶点, 端粒长度维持机制的研究对于肿瘤治疗有着重要指导意义及实际临床应用价值^[8, 10]。

近年来, 以端粒为靶的抗肿瘤研究主要集中于端粒酶抑制剂^[7, 11]、端粒 G-四链体 (G4) 及其稳定剂^[12-14]、端粒类似物寡核苷酸 T-oligo^[15] 等。然而, 近几年的研究发现, 某些依赖于端粒酶的肿瘤细胞在肿瘤治疗过程中会转化为 ALT 肿瘤细胞, 从而使得以端粒酶为靶标的治疗无效, 增加了癌症治疗的难

收稿日期: 2022-08-30; 修回日期: 2022-10-21

基金项目: 国家自然科学基金项目(82273995); 浙江省自然科学基金项目(LY22H310004); 温州医科大学本科生项目(wyx2021101030)

*通信作者: E-mail: zhengxh@wmu.edu.cn

度^[16]。此外, 端粒 G4 稳定剂由于体内靶向性差或药代动力学性能不好等各种原因, 迟迟无法获得临床上的应用^[17-18]。T-oligo 是单链端粒 DNA 的类似物, 在以端粒为靶的抗肿瘤治疗中具有独特优势, 但是其单链结构的不稳定性大大阻碍了它的应用前景^[19-20]。本文将结合本课题组的研究工作, 对以端粒为靶点的抗肿瘤药物的研究进展进行综述。

1 端粒与肿瘤

肿瘤的发生是基因的异常重启或是某些生理功能紊乱的过程。肿瘤被认为是一种衰老导致的疾病, 其发生率与衰老程度成正相关^[21]。肿瘤细胞的本质特征是细胞的无限增殖。大量的研究表明, 在肿瘤的发生发展中, 端粒起着重要的作用^[7]。

研究表明, 在肿瘤发生过程中, 会出现两次端粒危机(图 1)^[7]。(1) 由于线性 DNA 的末端不完全复制导致端粒在每次细胞分裂结束后都存在不可避免的丢失。细胞分裂次数越多, 端粒越短, 当端粒的长度短到临界值时, 将会激活 DNA 损伤应答。细胞周期检查点的存在导致细胞周期停滞, 这就是 DNA 复制诱导的细胞衰老, 也是端粒的第一次危机。(2) 此时大部分细胞会停止分裂, 进入衰老阶段。但是有些细胞内的基因发生突变, 使得细胞能够通过细胞周期检查点继续分裂, 导致端粒的继续缩短。当多数端粒的长度达到临界值, 不足以维持端粒的功能, 细胞又将停止分裂, 这是端粒的第二次危机。在此过程中, 只有部分细胞通过激活端粒酶或者 ALT 维持端粒长度, 度过此次危机。此时, 正常细

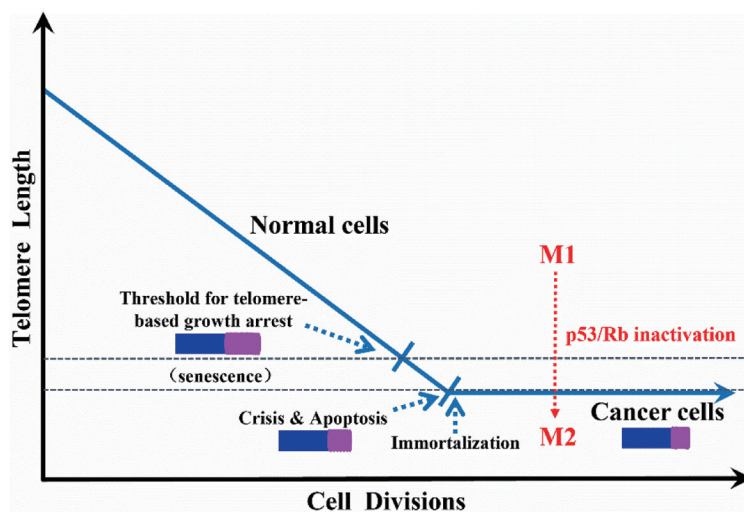
胞向肿瘤细胞转化的过程才完成, 从而拥有了持续分裂的能力。这是肿瘤发生过程中的端粒两次危理论, 阐明了端粒在细胞癌变中的重要作用。

2 以端粒维持机制为靶的抗肿瘤药物

肿瘤是威胁人类健康的主要疾病之一。目前临床上常用的治疗手段有手术切除、放射疗法、化学疗法、靶向分子疗法、免疫疗法等。但是, 这些治疗手段都存在着一一定的不足或者疗效不佳^[22]。鉴于端粒长度维持对于肿瘤细胞的重要性, 以端粒维持机制为靶的抗肿瘤药物研发一直是研究的热点^[23-25]。肿瘤细胞中端粒长度维持机制包括端粒酶和 ALT 机制。其中, 以抑制端粒酶为目标的抗肿瘤药物研究已经非常成熟, 多项药物研发已经进入临床试验阶段。但是针对 ALT 机制的抗肿瘤药物研发并不多, 可能与 ALT 分子机制尚不清楚有关。下面将分类介绍以端粒维持机制为靶标的抗肿瘤药物研发进展。

2.1 以端粒酶为靶的抗肿瘤药物

端粒酶特异性地在约 85% 的肿瘤细胞中高表达, 是被普遍认可的肿瘤标志物。因此, 端粒酶是抗肿瘤药物研发的重要靶标。大量研究表明, 通过抑制端粒酶的活性可以破坏肿瘤的端粒维持机制, 诱导肿瘤细胞衰老或者凋亡, 起到抗肿瘤的效果。相对于正常细胞, 肿瘤细胞的端粒相对较短, 因此更容易通过缩短端粒长度诱导细胞衰老或凋亡^[26]。与诱导 DNA 损伤的传统抗肿瘤药物相比, 端粒酶抑制剂具有特异性好、副作用低等优点。但以端粒酶为靶点的抗肿瘤药物也存在缺点: 由于端粒酶抑



端粒长度与细胞的分裂能力呈负相关, 是细胞的“生命时钟”。

图1 肿瘤细胞的端粒危机^[7]

制剂的抗肿瘤作用依赖于端粒长度的缩短, 所以整体治疗周期较长, 起效较慢; 同时, 还有报道称临床长期使用端粒酶抑制剂会诱导肿瘤细胞激活 ALT 机制, 从而维持端粒长度, 使端粒酶抑制剂失去抗肿瘤作用。尽管有诸多缺点, 端粒酶抑制剂作为抗肿瘤药物依然有着广阔的发展及应用前景^[27]。因此, 本文将基于几款经典的端粒酶抑制剂详细阐述其抗肿瘤机制^[28]。

2.1.1 直接抑制端粒酶活性

端粒酶的核心亚基包括逆转录酶 hTERT 和 RNA 模板 hTERC。通过小分子抑制逆转录酶的活性中心是研究的热点^[29], 其中小分子药物 BIBR1532 可以非特异性地结合到逆转录酶 hTERT 的酶活中心, 影响端粒酶与端粒复合物的定位以及阻止端粒酶在端粒上的移动, 使端粒酶从端粒末端解离下来, 进而引起端粒长度的缩短和细胞生长的抑制^[30-31]。此外, BIBR1532 还能增敏其他抗肿瘤药物的抗肿瘤活性^[32], 因此是目前很有前景的 hTERT 特异性抑制剂。反义寡聚核苷酸 GRN163L 是针对 RNA 模板 hTERC 的代表性抗肿瘤药物^[29]。抗肿瘤机制研究表明, GRN163L 进入细胞后直接结合到 hTERC 的模板区域, 使端粒酶无法正常延伸端粒, 并在肺癌、肝癌、乳腺癌等多种肿瘤中均表现出较好的抗肿瘤疗效^[33-35]。

2.1.2 抑制端粒酶的招募

G4 是由富含鸟嘌呤的核酸单链形成的高级结构, 极易存在于人体端粒末端 G-Overhang 上^[36]。G-Overhang 形成 G4 后会抑制端粒酶的结合, 因此, G4 稳定剂是一种潜在的端粒酶抑制剂。进一步的抗肿瘤机制研究表明, G4 稳定剂自身并不会影响端粒酶的活性, 它通过诱导并稳定端粒末端 G4 结构来抑制端粒酶与 G-Overhang 的结合^[37]。

2.2 以ALT为靶的抗肿瘤药物

尽管仅有约 15% 的肿瘤细胞是依赖 ALT 维持端粒长度的, 但是相较于端粒酶过表达肿瘤, ALT 肿瘤细胞具有更高的恶性程度、更强的浸润迁移能力和更好的抗药性。同时, 目前许多抗肿瘤药物对 ALT 肿瘤的治疗效果并不理想; 而且, 端粒酶抑制剂的长期使用会促使端粒酶过表达肿瘤细胞通过激活 ALT 机制进而对端粒酶抑制剂产生抗性, 表现出更高的恶性程度。因此, 针对 ALT 肿瘤的靶向药物研究迫在眉睫。由于对 ALT 分子机制的研究尚不深入, 靶向抗肿瘤药物的研究也进展缓慢。大量研究发现 ALT 细胞中存在持续的 DNA 损伤信号,

特别是端粒部位的 DNA 损伤, ATM/ATR 等 DNA 损伤应答蛋白被持续激活。进一步的研究发现 ATR 的抑制剂特异性地诱导 ALT 细胞凋亡, 而 ATM 的抑制剂则没有作用^[38]。此外, 在 DNA 损伤及修复信号的转导过程中, ATM 抑制剂主要是作用于 DNA 损伤检测点, 因此经常被用于化疗和放射的增敏剂; 相反, ATR 抑制剂主要作用于 DNA 复制叉的检测 (如 G₂/M 检查点激活、复制叉稳定性和延迟复制起点等)^[39-40]。因此, ATR 可能是 ALT 抗肿瘤药物研发的一个潜在靶点^[38]。ATR 抑制剂 BAY1895344、VX-970 和 AZD6738 能通过阻断 ALT 机制的信号转导抑制肿瘤细胞 ALT 的表型, 促进肿瘤细胞的选择性死亡^[41-42]。其中以 VX-970 和 AZD6738 为代表的 ATR 抑制剂目前已进入临床 I/II 期试验, AZD6738 由于具有较高的口服生物利用度, 展现了强大的潜在临床应用性^[41]。

此外, 由于 ALT 机制类似于端粒同源重组, 在 ALT 对端粒的维持过程中需要 G 单链侵入模板 DNA 中^[9]。因此, 能抑制单链 DNA 侵入模板 DNA 的药物理论上能抑制端粒 DNA 的同源重组, 最终导致 ALT 细胞端粒的缩短, 促进 ALT 细胞的死亡。但是, 由于同源重组是正常细胞中普遍存在的现象, 对于修复 DNA 损伤及维持染色体的完整性具有重要作用^[43], 抑制同源重组会不可避免地引起正常细胞的死亡或突变。因此, 不加选择地抑制同源重组不能成为治疗 ALT 肿瘤的手段。这也进一步突显出了特异性抑制端粒 DNA 同源重组的重要性。基于此, 端粒 G4 稳定剂也是潜在的 ALT 肿瘤治疗候选药物^[44-45]。ALT 肿瘤中的端粒 G4 稳定剂的抗肿瘤机制是通过稳定 ALT 细胞中 G-Overhang 上的 G4 结构, 阻止 RAD51 在 G-Overhang 上的结合, 进而阻止了 G 单链插入到模板 DNA 内^[15]。

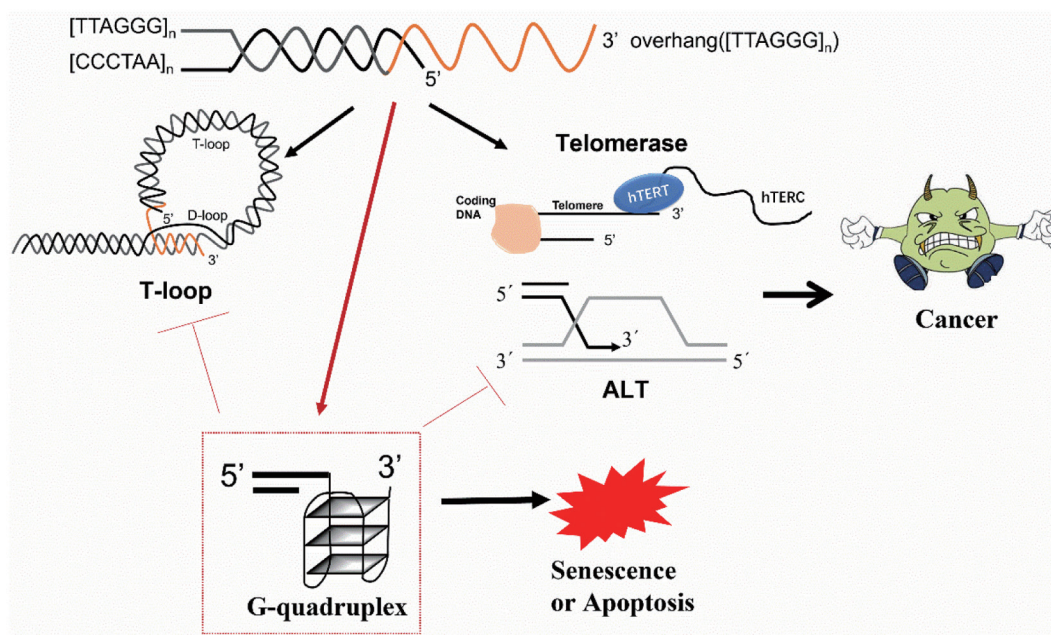
2.3 以端粒G4为靶的抗肿瘤药物

G4 广泛存在于 DNA 和 RNA 的富 G 序列上^[46], G4 的形成及稳定调控 DNA 复制、转录、mRNA 剪切、蛋白质翻译和表观遗传学^[47]。端粒区 DNA G4 的形成及稳定不但能够抑制端粒酶或 ALT 的活性, 阻碍端粒长度的维持, 还能破坏 T-loop 的结构, 引起强烈的端粒 DNA 损伤, 促进肿瘤细胞的死亡 (图 2)^[48-49]。此外, 端粒 G4 能够通过阻断端粒结合蛋白对端粒的保护作用, 发挥抗肿瘤的生物学功能^[50]。因此, 端粒 G4 是个具有极其强大临床应用价值的抗肿瘤靶点。

研究表明, 细胞内有 20 多种 G4 解旋酶, 例

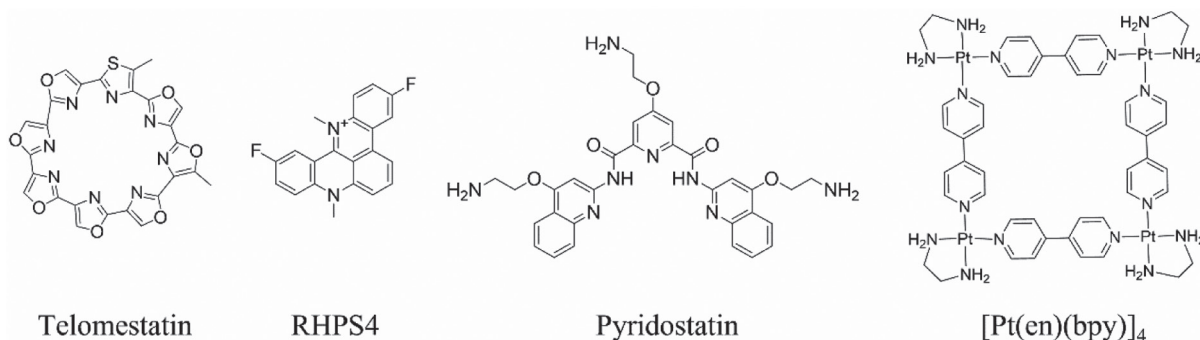
如 FANCI 和 Pif1 等, 能够解开生理条件下形成的 G4 结构^[51]。基于此, 为了充分发挥 G4 的生物学功能, 其稳定剂的研发不可或缺。近年来, 已有大量小分子 G4 稳定剂陆续被报道能够诱导和稳定 G4 的形成、干扰癌细胞的信号转导、抑制癌基因的转录和表达、抑制端粒酶活性, 从而抑制肿瘤细胞的增殖, 促使其凋亡^[17, 51-52]。阳离子卟啉 TMPyP4 是最早被发现能够稳定端粒 G4 的小分子化合物之一, 其除了稳定端粒 G4 外, 还能够稳定启动子区的 G4 结构, 例如 *c-myc* 和 *bcl2* G4 等, 但对不同来源 G4 的选择性较差^[49, 53]。从 *Streptomyces anulatus* 3533-SV4 中分离获得的 Telomestatin (图 3) 能够高选择性和高亲和力地稳定端粒 G4, 进而有效抑制端粒酶的活性, 获得较好的抗肿瘤活性^[54-55]。BRACO19、

Pyridostatin (图 3) 和 RHPS4 (图 3) 是目前最有临床应用前景的小分子 G4 稳定剂。BRACO19 能够特异性地结合端粒 G4, 破坏端粒结构的完整性, 在体内外均能快速诱导子宫肌瘤、神经胶质瘤、骨肉瘤等肿瘤细胞的衰老^[56]。Pyridostatin 通过诱导端粒 G4 的形成及稳定, 阻碍端粒结合保护蛋白 POT1 与端粒的结合, 破坏端粒结构的完整性, 进而引起强烈的端粒 DNA 损伤, 最终诱导肿瘤细胞的死亡^[57]。吡啶类衍生物 RHPS4 也是一款能高选择性和高亲和力稳定端粒 G4 的小分子化合物, 最主要的是其联合用药过程中还能增敏其他抗肿瘤药物的疗效^[58]。在 BRACO19、Pyridostatin 和 RHPS4 的构效关系上, 分别发展而来的 GTC365、RG260、BMPQ-1 具有更优异的抗肿瘤活性和更低的毒副作用^[59-62]。



端粒G4抑制T-loop的形成、破坏端粒结构的完整性, 阻断端粒酶或ALT机制对端粒的延伸, 达到抗肿瘤效果。

图2 端粒G4的抗肿瘤策略



大环化合物(Telomestatin等)、稠环芳香化合物(RHPS4等)、非共平面化合物(Pyridostatin等)和无机金属配合物([Pt(en)(bpy)]₄等)。

图3 端粒G4的代表性小分子稳定剂

相对于有机小分子稳定剂,无机金属配合物因具有多变的几何结构、丰富的电化学性质、合成步骤简单等优势,已成为近十余年来 G4 稳定剂的研究热点^[52, 63-65]。其中,铂类配合物因铂类抗肿瘤化疗药物在临床上的成功应用,已成为最具发展前景的 G4 稳定剂^[66-67]。席夫碱铂配合物是最早用于端粒 G4 稳定剂研究的金属配合物,该类铂配合物具有更多可变性的刚性几何结构并能通过在不同位置上引入不同取代基增强其与 G4 结构的选择性和亲和性^[68]。Vilar 课题组报道了一款带荧光的席夫碱铂配合物,其实现了细胞水平 G4 稳定能力的可视化^[69];随后,该课题组还报道了一款基于氧化还原激活的铂配合物^[70]。本课题组长期从事铂类配合物作为端粒 G4 稳定剂的研究,其中 [Pt(en)(bpy)]₄(图 3)能够特异性诱导端粒 G4 的形成,不但能同时阻断端粒酶和 ALT 对端粒长度的维持,还能快速引起强烈的端粒 DNA 损伤,诱导肿瘤细胞死亡^[15, 71-72]。

到目前为止,端粒 G4 小分子稳定剂主要可以分为以下四大类^[73-77]:大环化合物(端粒酶抑制素 Telomestatin 及其类似物、卟啉类等)、稠环芳香化合物(吡啶类如 RHPS4、小藜碱类、吡啶并喹啉类、喹诺酮类等)、非共平面化合物(Pyridostatin 等)以及金属配合物([Pt(en)(bpy)]₄等)(图 3)。其中,大环化合物由于结构类似 G-四分体,可以有效地与 G-四分体相匹配,进而可以与之很好地发生末端 π - π 堆积作用,且选择性也较高,因此成为研究 G4 结构和功能的有效工具,但是这类化合物往往具有较复杂的分子结构且拥有较大的体积,所以从研制新药的角度来考虑的话就存在明显的不足。而稠环芳香化合物由于其含有一个几乎完全平面结构的母核,使其能非常容易地以插入模式与双链 DNA 发生作用,这种特性使得该类化合物在具有较高的 G4 DNA 稳定能力的同时,也表现出了极差的选择性,大大增加了该类化合物对正常组织和正常细胞的毒副作用。为了提高该类化合物的选择性,很多研究小组采取了各种改造策略(如增大母核的平面结构、增加侧链个数和侧链长度等)对其进行了改造。虽然这样的改造在一定程度上可以适当地提高该类化合物的选择性,但是这样做无疑也大大增大了该类化合物的体积,如此庞大的体积使得成药的可能性大大降低。最后发展起来的非共平面化合物由于分子体积较小和分子本身均具有一定的柔韧性,在与 G4 的作用过程中就可以适当地调整自身构象来与之匹配,从而特异性识别 G4,甚至对不

同 G4 结构间也有一定的识别。金属配合物在结合模式方面,除了能与 G4 通过 π - π 堆积作用之外,还能通过与碱基或者磷酸骨架形成共价键的方式稳定 G4 结构。

3 端粒类似物 T-oligo 靶向端粒的新疗法

以端粒为靶的最前沿研究逐步指向端粒寡核苷酸序列的探究,利用寡核苷酸的新疗法是克服传统以端粒为靶的癌症治疗引起的毒副作用的一个新途径^[78-79],因此全面了解该寡核苷酸的作用机制及其潜在应用对开发新的治疗方法至关重要。

3.1 T-oligo 结构与功能

寡核苷酸是由 DNA 或 RNA 的短片段组成的分子,广泛用于医学和生物医学研究领域,同时由于本身具有的不同功能,寡核苷酸已被应用于许多疾病模型的研究中。有研究表明,寡核苷酸在癌症治疗中也发挥着重要作用^[80]。因为它们具有结合和调节特定核苷酸序列的能力,使许多不同癌症的病因和治疗研究成为可能。T-oligo 是最被寄予厚望的寡核苷酸分子,目前已被用于靶向不同互补的 DNA 和 RNA 序列,来调节涉及各种癌症的异常蛋白水平和酶活性。因此, T-oligo 近年来已成为靶向端粒抗癌治疗领域的一颗最耀眼的新星。T-oligo 通常由 11~16 个核苷酸序列组成,与端粒 3' 悬出末端的单链 DNA 序列同源,因此可进入细胞内模拟去“帽”端粒悬突 DNA 序列,干扰端粒酶与端粒的结合,完成端粒延伸,进而对细胞产生毒性作用。在引入 T-oligo 后,它在细胞核中的积累可能诱发 DNA 损伤应答机制,如周期阻滞和凋亡等,因此 T-oligo 在肿瘤治疗中发挥着重要作用^[81]。

3.2 T-oligo 的抗肿瘤研究

T-oligo 在多种体外癌细胞系中显示出抗肿瘤活性,如黑色素瘤、淋巴瘤、肺癌、乳腺癌、神经胶质细胞瘤等^[82-83]。早期研究表明, T-oligo 在小鼠体内,或对黑色素细胞及其他正常细胞的毒性很小,甚至没有毒性^[82]。在肿瘤细胞中, T-oligo 能靶向调控某些异常信号通路,如 DNA 损伤应答。Wojdyla 等^[83]发现 T-oligo 具有治疗结肠直肠癌的能力,能通过调控 p53/p73 途径介导 DNA 损伤反应,抑制结肠直肠癌细胞的增殖,进而诱导恶性细胞的衰老或凋亡。同时, ATM 和 P-JNK 通路的激活也是细胞对于 DNA 损伤的一个应答机制。在 T-oligo 处理之后的黑色素瘤细胞中,可以明显观察到 P-JNK 水平的上升,以及在乳腺癌细胞中, ATM 的激活导

致 p53、p73、p95/Nbs1、E2F1、p21 和 BAX 水平的上调, 这充分说明 T-oligo 通过引起 DNA 损伤以及 DNA 损伤应答来对抗肿瘤细胞的活性^[84]。

T-oligo 的抗癌过程除了与诱导 DNA 损伤应答信号相关之外, 还涉及多条信号通路。一项研究表明, T-oligo 可以诱导自噬的发生来阻碍恶性人脑胶质瘤细胞的恶化, 并能保留正常星形胶质细胞的活性^[85]; 在 T-oligo 处理 72 h 后观察到大量自噬空泡的出现, 但无凋亡标志物^[85]。在非小细胞肺癌中, Puri 等^[86]证明 T-oligo 能抑制非小细胞肺癌增殖, 进一步研究发现 T-oligo 可能通过在体内和体外诱导衰老和衰老相关蛋白 p21 等的表达, 以及通过降低 VEGF 信号和增加 TSP-1 表达, 最终抑制肿瘤生长并抑制新生血管的生成。

此外, Chhabra 等^[82]证明 T-oligo 能在体外成功形成 G- 四链体, 并在黑色素瘤细胞中导致 DNA 复制受到抑制, 引起 DNA 损伤及细胞衰老和凋亡, 同时 T-oligo 形成 G- 四链体的抗肿瘤作用可能是通过作用于端粒保护蛋白 POT1、TRF2 及通过 JNK 激活, 选择性地抑制 hTERT 的表达。以上抗肿瘤药理药效及其药理作用机制的研究充分显示了 T-oligo 的显著抗癌活性, 这提示 T-oligo 的运用有望成为一种有效的抗癌治疗方法, 具有良好的临床应用前景。

4 总结与展望

端粒与肿瘤之间的密切关系使得端粒成为当今肿瘤防治领域最受重视的靶点之一。因此, 靶向端粒抗肿瘤药物的研发是抗肿瘤药物领域的研究热点。尽管目前以端粒为靶的抗肿瘤药物研发已经取得了里程碑式的进展, 但这些药物距离临床应用仍然是道阻且长。虽然端粒酶特异性地在近 85% 的肿瘤细胞中高表达, 但是端粒酶抑制剂除了起效慢、用药周期长、易耐药外, 其长期使用还会诱导肿瘤细胞额外激活 ALT 机制, 使肿瘤恶化。另外, 目前对于 ALT 的机制研究进展缓慢, 致使 ALT 靶向药物暂无法高效研发, 也大大增加了以端粒为靶抗肿瘤药物的研发难度。端粒 G4 稳定剂确实可以通过诱导端粒 G4 的形成及稳定, 不但能同时抑制端粒酶和 ALT 的活性, 破坏端粒结构, 还能引发强烈的端粒 DNA 损伤, 诱导细胞死亡。如何开发出端粒 G4 高亲和力、高靶向性且高生物安全性的小分子稳定剂已成为目前急需攻克的最大壁垒之一。寡核苷酸 T-oligo 由于是端粒的同源类似物, 具有

非常高的靶向性、生物安全性及生物兼容性, 为以端粒为靶的抗肿瘤治疗提供了新的途径。但是, 其也存在一定的缺陷, 如容易被核酸酶降解、在体内的传递受到阻碍等。综上所述, 目前靶向端粒抗肿瘤药物的研究较多, 但仍无相关药物获得临床应用。

虽然目前暂无端粒 G4 靶向性小分子药物进入临床前研究, 但是它能够从结构上阻断端粒酶和 ALT 对端粒的延长, 并破坏端粒的结构完整性, 快速促进肿瘤细胞的死亡。因此, 端粒 G4 稳定剂具有极大的临床应用前景和开发价值。有研究表明, T-oligo 能够在体外被诱导形成 G4 结构, 增强其稳定性, 帮助其在体内运输和靶向肿瘤细胞^[82]。另外, 本课题组新发现的一种阳离子多肽形成的纳米复合物具有良好的生物利用度, 前期研究数据表明其能帮助 T-oligo 在体内传递(未发表)。尽管这些都还需要进一步的实验研究证实, 却已为推动以端粒为靶点的抗肿瘤药物研发打开了新的窗口。

[参 考 文 献]

- [1] Muller HJ. The remaking of chromosomes. *Collecting Net*, 1938, 8: 182-95
- [2] Moyzis RK, Buckingham JM, Cram LS, et al. A highly conserved repetitive DNA sequence, (TTAGGG)_n, present at the telomeres of human chromosomes. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1988, 85: 6622-6
- [3] Smith S, Lange TD. TRF1, a mammalian telomeric protein. *Trends Genet*, 1997, 13: 21-6
- [4] Olovnikov AM. A theory of marginotomy. The incomplete copying of template margin in enzymic synthesis of polynucleotides and biological significance of the phenomenon. *J Theor Biol*, 1973, 41: 181-90
- [5] Wu RA, Upton HE, Vogan JM, et al. Telomerase mechanism of telomere synthesis. *Annu Rev Biochem*, 2017, 86: 439-60
- [6] Shay JW, Wright WE. Telomeres and telomerase: three decades of progress. *Nat Rev Genet*, 2019, 20: 299-309
- [7] Shay JW. Role of telomeres and telomerase in aging and cancer. *Cancer Discov*, 2016, 6: 584-93
- [8] Gao J, Pickett HA. Targeting telomeres: advances in telomere maintenance mechanism-specific cancer therapies. *Nat Rev Cancer*, 2022, 22: 515-32
- [9] Cesare AJ, Reddel RR. Alternative lengthening of telomeres: models, mechanisms and implications. *Nat Rev Genet*, 2010, 11: 319-30
- [10] Neidle S, Parkinson G. Telomere maintenance as a target for anticancer drug discovery. *Nat Rev Drug Discov*, 2002, 1: 383-93
- [11] Chen Y, Zhang Y. Functional and mechanistic analysis of telomerase: an antitumor drug target. *Pharmacol Ther*, 2016, 163: 24-47

- [12] Carvalho J, Mergny JL, Salgado GF, et al. G-quadruplex, friend or foe: the role of the G-quartet in anticancer strategies. *Trends Mol Med*, 2020, 26: 848-61
- [13] Duchler M. G-quadruplexes: targets and tools in anticancer drug design. *J Drug Target*, 2012, 20: 389-400
- [14] Savva L, Georgiades SN. Recent developments in small-molecule ligands of medicinal relevance for harnessing the anticancer potential of G-quadruplexes. *Molecules*, 2021, 26: 841
- [15] Zheng XH, Nie X, Fang Y, et al. A cisplatin derivative Tetra-Pt(bpy) as an oncotherapeutic agent for targeting ALT cancer. *J Natl Cancer Inst*, 2017, 109: djx061
- [16] De VM, Berardinelli F, Sgura A. Telomere length maintenance in cancer: at the crossroad between telomerase and alternative lengthening of telomeres (ALT). *Int J Mol Sci*, 2018, 19: 606
- [17] Awadasseid A, Ma X, Wu Y, et al. G-quadruplex stabilization via small-molecules as a potential anti-cancer strategy. *Biomed Pharmacother*, 2021, 139: 111550
- [18] Arola A, Vilar R. Stabilisation of G-quadruplex DNA by small molecules. *Curr Top Med Chem*, 2008, 8: 1405-15
- [19] Eckburg A, Dein J, Berei J, et al. Oligonucleotides and microRNAs targeting telomerase subunits in cancer therapy. *Cancers (Basel)*, 2020, 12: 2337
- [20] Schrank Z, Khan N, Osude C, et al. Oligonucleotides targeting telomeres and telomerase in cancer. *Molecules*, 2018, 23: 2267
- [21] Campisi J. Aging, cellular senescence, and cancer. *Annu Rev Physiol*, 2013, 75: 685-705
- [22] Jackson SP, Bartek J. The DNA-damage response in human biology and disease. *Nature*, 2009, 461: 1071-8
- [23] Seimiya H. Crossroads of telomere biology and anticancer drug discovery. *Cancer Sci*, 2020, 111: 3089-99
- [24] Berei J, Eckburg A, Miliavski E, et al. Potential telomere-related pharmacological targets. *Curr Top Med Chem*, 2020, 20: 458-84
- [25] Gao J, Pickett HA. Targeting telomeres: advances in telomere maintenance mechanism-specific cancer therapies. *Nat Rev Cancer*, 2022, 22: 515-32
- [26] Phatak P, Burger AM. Telomerase and its potential for therapeutic intervention. *Br J Pharmacol*, 2007, 152: 1003-11
- [27] Prasad R, Pal D, Mohammad W. Therapeutic targets in telomerase and telomere biology of cancers. *Indian J Clin Biochem*, 2020, 35: 135-46
- [28] Ruden M, Puri N. Novel anticancer therapeutics targeting telomerase. *Cancer Treat Rev*, 2013, 39: 444-56
- [29] Dikmen ZG, Wright WE, Shay JW, et al. Telomerase targeted oligonucleotide thio-phosphoramidates in T24-luc bladder cancer cells. *J Cell Biochem*, 2008, 104: 444-52
- [30] Pascolo E, Wenz C, Lingner J, et al. Mechanism of human telomerase inhibition by BIBR1532, a synthetic, non-nucleosidic drug candidate. *J Biol Chem*, 2002, 277: 15566-72
- [31] Parsch D, Brassat U, Brummendorf TH, et al. Consequences of telomerase inhibition by BIBR1532 on proliferation and chemosensitivity of chondrosarcoma cell lines. *Cancer Invest*, 2008, 26: 590-6
- [32] Ward RJ, Autexier C. Pharmacological telomerase inhibition can sensitize drug-resistant and drug-sensitive cells to chemotherapeutic treatment. *Mol Pharmacol*, 2005, 68: 779-86
- [33] Jackson SR, Zhu CH, Paulson V, et al. Antiadhesive effects of GRN163L-an oligonucleotide N3'->P5' thio-phosphoramidate targeting telomerase. *Cancer Res*, 2007, 67: 1121-9
- [34] Goldblatt EM, Erickson PA, Gentry ER, et al. Lipid-conjugated telomerase template antagonists sensitize resistant HER2-positive breast cancer cells to trastuzumab. *Breast Cancer Res Treat*, 2009, 118: 21-32
- [35] Marian CO, Wright WE, Shay JW. The effects of telomerase inhibition on prostate tumor-initiating cells. *Int J Cancer*, 2010, 127: 321-31
- [36] Tang J, Kan ZY, Yao Y, et al. G-quadruplex preferentially forms at the very 3' end of vertebrate telomeric DNA. *Nucleic Acids Res*, 2008, 36: 1200-8
- [37] Xu Y. Chemistry in human telomere biology: structure, function and targeting of telomere DNA/RNA. *Chem Soc Rev*, 2011, 40: 2719-40
- [38] Flynn RL, Cox KE, Jeitany M, et al. Alternative lengthening of telomeres renders cancer cells hypersensitive to ATR inhibitors. *Science*, 2015, 347: 273-7
- [39] Li S, Wang L, Wang Y, et al. The synthetic lethality of targeting cell cycle checkpoints and PARPs in cancer treatment. *J Hematol Oncol*, 2022, 15: 147
- [40] Lloyd RL, Wijnhoven PWG, Ramos-Montoya A, et al. Combined PARP and ATR inhibition potentiates genome instability and cell death in ATM-deficient cancer cells. *Oncogene*, 2020, 39: 4869-83
- [41] Yuan M, Eberhart CG, Pratilas CA, et al. Therapeutic vulnerability to ATR inhibition in concurrent NF1 and ATRX-deficient/ALT-positive high-grade solid tumors. *Cancers (Basel)*, 2022, 14: 3015
- [42] Roulston A, Zimmermann M, Papp R, et al. RP-3500: a novel, potent, and selective ATR inhibitor that is effective in preclinical models as a monotherapy and in combination with PARP inhibitors. *Mol Cancer Ther*, 2022, 21: 245-56
- [43] Fangaria N, Rani K, Singh P, et al. DNA damage induced nuclear import of HSP90 α is promoted by Aha1. *Mol Biol Cell*, 2022, 33: ar140
- [44] Pennarun G, Granotier C, Gauthier LR, et al. Apoptosis related to telomere instability and cell cycle alterations in human glioma cells treated by new highly selective G-quadruplex ligands. *Oncogene*, 2005, 24: 2917-28
- [45] Jeitany M, Pineda JR, Liu Q, et al. A preclinical mouse model of glioma with an alternative mechanism of telomere maintenance (ALT). *Int J Cancer*, 2015, 136: 1546-58
- [46] Yuan WF, Wan LY, Peng H, et al. The influencing factors and functions of DNA G-quadruplexes. *Cell Biochem Funct*, 2020, 38: 524-32
- [47] Varshney D, Spiegel J, Zyner K, et al. The regulation and functions of DNA and RNA G-quadruplexes. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2020, 21: 459-74

- [48] Kosiol N, Juranek S, Brossart P, et al. G-quadruplexes: a promising target for cancer therapy. *Mol Cancer*, 2021, 20: 40
- [49] Teng FY, Jiang ZZ, Guo M, et al. G-quadruplex DNA: a novel target for drug design. *Cell Mol Life Sci*, 2021, 78: 6557-83
- [50] Sanchez-Vazquez R, Martinez P, Blasco MA. AKT-dependent signaling of extracellular cues through telomeres impact on tumorigenesis. *PLoS Genet*, 2021, 17: e1009410
- [51] Gu W, Lin Z, Zhao S, et al. Research progress on G-quadruplexes in human telomeres and human telomerase reverse transcriptase (hTERT) promoter. *Oxid Med Cell Longev*, 2022, 2022: 2905663
- [52] Asamitsu S, Bando T, Sugiyama H. Ligand design to acquire specificity to intended G-quadruplex structures. *Chemistry*, 2019, 25: 417-30
- [53] Ramos CIV, Monteiro AR, Moura NMM, et al. The interactions of H2TMPyP, analogues and its metal complexes with DNA G-quadruplexes-an overview. *Biomolecules*, 2021, 11: 1404
- [54] Temime-Smaali N, Guittat L, Sidibe A, et al. The G-quadruplex ligand telomestatin impairs binding of topoisomerase IIIalpha to G-quadruplex-forming oligonucleotides and uncaps telomeres in ALT cells. *PLoS One*, 2009, 4: e6919
- [55] Tauchi T, Shin-Ya K, Sashida G, et al. Telomerase inhibition with a novel G-quadruplex-interactive agent, telomestatin: *in vitro* and *in vivo* studies in acute leukemia. *Oncogene*, 2006, 25: 5719-25
- [56] Burger AM, Dai F, Schultes CM, et al. The G-quadruplex-interactive molecule BRACO-19 inhibits tumor growth, consistent with telomere targeting and interference with telomerase function. *Cancer Res*, 2005, 65: 1489-96
- [57] Rodriguez R, Muller S, Yeoman JA, et al. A novel small molecule that alters shelterin integrity and triggers a DNA-damage response at telomeres. *J Am Chem Soc*, 2008, 130: 15758-9
- [58] Salvati E, Leonetti C, Rizzo A, et al. Telomere damage induced by the G-quadruplex ligand RHPS4 has an antitumor effect. *J Clin Invest*, 2007, 117: 3236-47
- [59] Wang S, Yang D, Singh M, et al. Thiazole orange-spermine conjugate: a potent human telomerase inhibitor comparable to BRACO-19. *Eur J Med Chem*, 2019, 175: 20-33
- [60] Gao C, Liu Z, Hou H, et al. BMPQ-1 binds selectively to (3+1) hybrid topologies in human telomeric G-quadruplex multimers. *Nucleic Acids Res*, 2020, 48: 11259-69
- [61] Becher J, Berdnikova DV, Ihmels H, et al. Synthesis and investigation of quadruplex-DNA-binding, 9-O-substituted berberine derivatives. *Beilstein J Org Chem*, 2020, 16: 2795-806
- [62] Papi F, Bazzicalupi C, Ferraroni M, et al. Pyridine derivative of the natural alkaloid berberine as human telomeric G4-DNA binder: a solution and solid-state study. *ACS Med Chem Lett*, 2020, 11: 645-50
- [63] Ortiz De Luzuriaga I, Lopez X, Gil A. Learning to model G-quadruplexes: current methods and perspectives. *Annu Rev Biophys*, 2021, 50: 209-43
- [64] Kench T, Vilar R. Metal complexes as G-quadruplex binders. *Annu Rep Med Chem*, 2020, 54: 485-515
- [65] Vilar R. Interaction of metal complexes with G-quadruplex DNA. *Med Chem*, 2020, 75: 425-45
- [66] Cao Q, Li Y, Freisinger E, et al. G-quadruplex DNA targeted metal complexes acting as potential anticancer drugs. *Inorg Chem Front*, 2017, 4: 10-32
- [67] Sun Y, Lu Y, Bian M, et al. Pt(II) and Au(III) complexes containing schiff-base ligands: a promising source for antitumor treatment. *Eur J Med Chem*, 2021, 211: 113098
- [68] Arola-Arnal A, Benet-Buchholz J, Neidle S, et al. Effects of metal coordination geometry on stabilization of human telomeric quadruplex DNA by square-planar and square-pyramidal metal complexes. *Inorg Chem*, 2008, 47: 11910-19
- [69] Karim NHA, Mendoza O, Shivalingam A, et al. Salphen metal complexes as tunable G-quadruplex binders and optical probes. *RSC Advances*, 2014, 4: 3355-63
- [70] Bandeira S, Gonzalez-Garcia J, Pensa E, et al. A redox-activated G-quadruplex DNA binder based on a Platinum(IV)-Salphen complex. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2018, 57: 310-13
- [71] Zheng XH, Zhong YF, Tan CP, et al. Pt(II) squares as selective and effective human telomeric G-quadruplex binders and potential cancer therapeutics. *Dalton Trans*, 2012, 41: 11807-12
- [72] Shen Z, Zheng R, Yang H, et al. G-quadruplex stabilizer Tetra-Pt(bpy) disrupts telomere maintenance and impairs FAK-mediated migration of telomerase-positive cells. *Int J Biol Macromol*, 2022, 213: 858-70
- [73] Zhao L, Ahmed F, Zeng Y, et al. Recent developments in G-quadruplex binding ligands and specific beacons on smart fluorescent sensor for targeting metal ions and biological analytes. *ACS Sens*, 2022, 7: 2833-56
- [74] Nagatsugi F, Onizuka K. Selective chemical modification to the higher-order structures of nucleic acids. *Chem Rec*, 2022, Online ahead of print
- [75] Chaudhary S, Kumar MandKaushik M. Interface of G-quadruplex with both stabilizing and destabilizing ligands for targeting various diseases. *Int J Biol Macromol*, 2022, 219: 414-27
- [76] Biver T. Discriminating between parallel, anti-parallel and hybrid G-quadruplexes: mechanistic details on their binding to small molecules. *Molecules*, 2022, 27: 4165
- [77] Malik MS, Alsantali RI, Jassas RS, et al. Journey of anthraquinones as anticancer agents-a systematic review of recent literature. *RSC Adv*, 2021, 11: 35806-27
- [78] Jafri MA, Ansari SA, Alqahtani MH, et al. Roles of telomeres and telomerase in cancer, and advances in telomerase-targeted therapies. *Genome Med*, 2016, 8: 69
- [79] Vertecchi E, Rizzo A, Salvati E. Telomere targeting approaches in cancer: beyond length maintenance. *Int J Mol Sci*, 2022, 23: 3784
- [80] Cimino-Reale G, Gandellini P, Santambrogio F, et al. miR-380-5p-mediated repression of TEP1 and TSPYL5 interferes with telomerase activity and favours the

- emergence of an "ALT-like" phenotype in diffuse malignant peritoneal mesothelioma cells. *J Hematol Oncol*, 2017, 10: 140
- [81] Syed A, Tainer JA. The MRE11-RAD50-NBS1 complex conducts the orchestration of damage signaling and outcomes to stress in DNA replication and repair. *Annu Rev Biochem*, 2018, 87: 263-94
- [82] Chhabra G, Wojdyla L, Frakes M, et al. Mechanism of action of G-quadruplex-forming oligonucleotide homologous to the telomere overhang in melanoma. *J Invest Dermatol*, 2018, 138: 903-10
- [83] Wojdyla L, Stone AL, Sethakorn N, et al. T-oligo as an anticancer agent in colorectal cancer. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, 446: 596-601
- [84] Yaar M, Eller MS, Panova I, et al. Telomeric DNA induces apoptosis and senescence of human breast carcinoma cells. *Breast Cancer Res*, 2007, 9: R13
- [85] Aoki H, Iwado E, Eller MS, et al. Telomere 3' overhang-specific DNA oligonucleotides induce autophagy in malignant glioma cells. *FASEB J*, 2007, 21: 2918-30
- [86] Puri N, Pitman RT, Mulnix RE, et al. Non-small cell lung cancer is susceptible to induction of DNA damage responses and inhibition of angiogenesis by telomere overhang oligonucleotides. *Cancer Let*, 2014, 343: 14-23