

DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2016.01.018

## 出核转运抑制剂的抗肿瘤临床转化研究进展

### Current advances in the anti-cancer clinical translational research of nuclear export inhibitor

刘沁颖, 应敏刚, 郑秋红(福建省肿瘤医院 福建医科大学教学医院 福建省肿瘤生物治疗重点实验室, 福建 福州 350014)

**[摘要]** 真核生物由于双层核膜的存在, 蛋白及大分子物质需依赖核质转运受体进行跨核膜转运。核输出蛋白 1 (exportin 1, XPO1) 是最重要的出核转运受体之一, 负责多种蛋白和 RNAs 的出核转运。XPO1 往往在肿瘤细胞中过量表达, 导致多种抑癌基因蛋白及生长调节蛋白亚细胞定位及功能的紊乱, 从而促进了肿瘤的发生发展。XPO1 不仅可作为肿瘤患者预后判断的指标, 还是抗肿瘤治疗的潜在靶标。近年来, 一系列 XPO1 小分子抑制剂的研发, 尤其是高效低毒的 SINE 系列抑制剂的抗肿瘤临床研究, 揭示了 XPO1 抑制剂在治疗难治性、耐药性、转移复发性血液恶性肿瘤及实体肿瘤的独特疗效, 并引起广泛关注。本文就出核转运抑制剂的临床转化研究进展进行综述。

**[关键词]** 核输出蛋白 1; 出核转运受体; 出核转运信号; 出核转运抑制剂; SINE

**[中图分类号]** R979.1; R730.5

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1007-385X(2016)01-0106-08

双层核膜的存在是真核生物的重要标志之一。小分子可通过主动扩散在核质间穿梭, 但大于 40 kD 的 mRNA、蛋白和大分子复合物则需要依赖核质转运受体介导的主动运输过程进行跨核膜转运。蛋白和大分子复合物的跨核膜转运在真核细胞中是一个高度协调、时空变化的过程, 这一过程的微妙平衡调控着细胞的生长及死亡<sup>[1-3]</sup>。核输出蛋白 1 (exportin 1, XPO1), 也称为 CRM1 (chromosomal maintenance 1), 是 karyopherin- $\beta$  家族最重要的出核转运受体之一, 负责超过 240 种蛋白的出核转运, 其中包括了多种抑癌基因蛋白 (tumor suppressor proteins, TSPs), 如 P53、P73 和 FOXO1 等; 生长调节蛋白 (growth regulatory proteins, GRPs), 如 I $\kappa$ B、Rb、P21、P27、BRCA1 和 APC 等; 以及抗凋亡蛋白, 如 NPM、survivin 和 AP-1 等<sup>[4]</sup>。在特定的肿瘤细胞中, XPO1 过量表达, 并导致多种 TSPs、GRPs 及抗凋亡蛋白发生亚细胞定位及功能的紊乱, 从而抑制肿瘤细胞的凋亡进程, 促进肿瘤的发生发展。XPO1 作为抗癌治疗的潜在靶标, 通过抑制 XPO1 的出核转运过程, 阻止 TSPs、GRPs 及抗凋亡蛋白的过度出核转运, 从而保持核内有效浓度并发挥抑癌作用<sup>[5]</sup>。尽管靶向 XPO1 的抗癌治疗 20 年前就被提出, 但直至近期一系列可口服、低毒高效的新型 XPO1 抑制剂才面世, 尤其是出核转运选择性抑制剂 (selective inhibitors of nuclear export, SINE) 系列药物的研发及临床尝试, 已逐渐显示出 XPO1 抑制剂在抗肿瘤临床转化中的巨大潜力。

### 1 XPO1 介导的出核转运异常与肿瘤发生

真核细胞中因双层核膜的存在, 相对分子质量大于 40 000 的蛋白在进行跨核膜转运时需要依赖转运受体的协助作用。XPO1 是一个泛素化的出核转运受体, 能结合含有疏水性出核转运信号 (nuclear export signal, NES) 的货物蛋白或 RNAs。“NESdb” 数据库目前收集的含有出核转运信号的 XPO1 货物蛋白超过了 240 种, 且不断有新的货物蛋白被发现<sup>[6]</sup>。出核转运信号由 8 ~ 15 个氨基酸残基组成, 以 3 ~ 4 个疏水性氨基酸残基相间排列为特点<sup>[7-8]</sup>。其通用模式如下:  $\Phi$ -X(2-3)- $\Phi$ -X(2-3)- $\Phi$ -X- $\Phi$  ( $\Phi$  为亮氨酸 Leu, 缬氨酸 Val, 异亮氨酸 Ile, 苯丙氨酸

**[基金项目]** 国家自然科学基金青年科学基金资助项目 (No. 31201034); 福建省科技厅重点资助项目 (No. 2012Y0017); 福建省卫生教育联合攻关资助项目 (No. WKJ-FJ-14); 福建省自然科学基金面上资助项目 (No. 2014J01301); 国家临床重点专科建设资助项目。Project supported by the National Natural Science Fund for Young Distinguished Scholars of China (No. 31201034), the Key Project of Bureau of Science and Technology in Fujian Province (No. 2012Y0017), the Joint Project of Ministry of Sanitation and Ministry of Education of Fujian Province (No. WKJ-FJ-14), the Natural Science Foundation of Fujian Province (No. 2014J01301), and the National Clinical Key Specialty Construction Program

**[作者简介]** 刘沁颖 (1981 -), 女, 福建省福州市人, 博士, 主管技师, 主要从事肿瘤生物治疗研究, E-mail: liuqinyingbio@163.com

**[通信作者]** 郑秋红 (ZHENG QiuHong, corresponding author), E-mail: zqh2858@foxmail.com

Phe 或甲硫氨酸 Met; X 为任意氨基酸残基<sup>[9]</sup>。在细胞核内, XPO1 和 RanGTP 与含有 NES 的货物蛋白结合, 形成稳定的出核转运复合体, 并通过 XPO1 与核孔蛋白的相互作用, 穿越核孔复合体中央通道; 进入细胞质后, 在 RanGAP 的作用下, RanGTP 被水解为 RanGDP, 出核转运复合体解聚, 货物蛋白被释放(图 1)<sup>[10]</sup>。

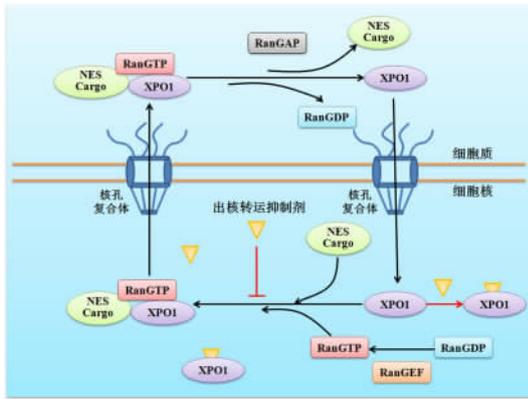


图 1 XPO1 介导的蛋白出核转运循环模式图

蛋白正常的核质穿梭及亚细胞定位是细胞维持正常细胞周期及增殖调控所必须的, 并影响多种重要的细胞进程, 包括细胞生长与存活、增殖与凋亡、炎症反应、细胞转化、血管生成、细胞黏附和转移侵袭等<sup>[11]</sup>。具有核质穿梭功能的肿瘤相关蛋白有 P53、P21、P27、I $\kappa$ B、FOXO、BCR-ABL 和拓朴异构酶 II 等<sup>[4]</sup>。这些蛋白定位于细胞核时, 能有效抑制细胞生长以及存活, 而当 XPO1 过量表达时, 则过量定位于细胞质, 并失去抑癌功能, 从而促进肿瘤细胞的生长与存活(图 2)<sup>[11]</sup>。同时, 这些蛋白也可通过突变、结合其他蛋白或各种形式的蛋白翻译后修饰, 如磷酸化、去磷酸化、类泛素化、泛素化和乙酰化等, 改变其三维结构, 并导致 NES 信号的暴露或隐藏, 进而影响蛋白的出核转运及亚细胞定位<sup>[12-18]</sup>。例如, 研究发现<sup>[19-20]</sup> 多发性骨髓瘤( multiple myeloma, MM)中具有两种不同磷酸化状态的拓朴异构酶 II  $\alpha$ : 第 1 524 位丝氨酸位点高度磷酸化的拓朴异构酶 II  $\alpha$  因暴露了 NES 位点而促进了出核转运, 并主要分布于细胞质中, 而低磷酸化状态的拓朴异构酶 II  $\alpha$  则大部分滞留在细胞核内; 通过抑制拓朴异构酶 II  $\alpha$  第 1 524 位丝氨酸位点的磷酸化, 可以有效抑制拓朴异构酶 II  $\alpha$  的出核转运, 使对阿霉素产生耐药的 MM 细胞重新获得敏感性。

多种血液恶性肿瘤及实体瘤, 如淋巴瘤、胶质瘤、卵巢癌、骨肉瘤、胰腺癌、胃癌、子宫颈癌和黑素

瘤等都有过量表达 XPO1 的特点, 并且与不良预后密切相关。在特定的恶性肿瘤中, XPO1 蛋白的表达情况可作为预后判断及疾病进展的重要标志。

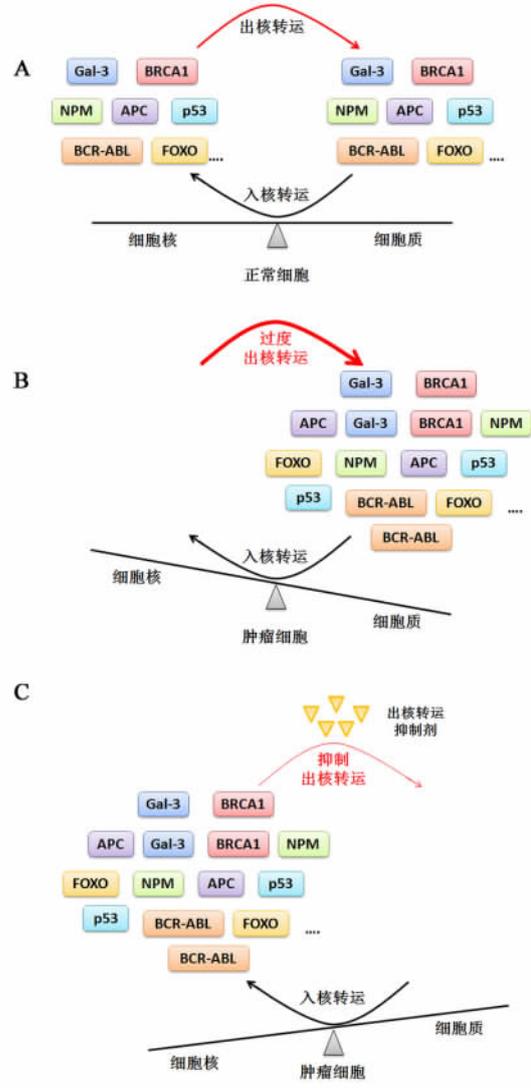


图 2 正常及肿瘤细胞的核质转运模式及出核转运抑制剂的抗肿瘤作用机制

- A: 在正常细胞中, 蛋白的核内外转运达到平衡;
- B: 在肿瘤细胞中, 蛋白过度的出核转运, 导致平衡被打破, 促进肿瘤的发生发展;
- C: 当肿瘤细胞使用出核转运抑制剂处理时, 能抑制蛋白的出核转运, 促进肿瘤细胞的凋亡, 抑制细胞增殖, 并增加肿瘤细胞对抗肿瘤药物的敏感性 (图 2 引自文献 [11])

研究<sup>[21]</sup>发现, 骨肉瘤中的 XPO1 蛋白水平异常升高, 与肿瘤大小、病理分级等呈正相关, 与患者无进展生存期( progression-free survival, PFS)及总生存期( overall survival, OS)呈负相关, 且与血清中的碱性磷酸酶( alkaline phosphatase, ALP)水平成正比。

宫颈癌中, XPO1 在肿瘤细胞核内及细胞质中的表达量均有升高, 且细胞质定位的 XPO1 水平与有丝分裂指数、肿瘤生长及临床分期等呈正相关, 而与患者 OS 呈负相关<sup>[22]</sup>。此外, XPO1 是预测胰腺癌患者 PFS 及 OS 的重要临床指标<sup>[23]</sup>。I、II 期胰腺癌患者其肿瘤组织 XPO1 水平也发生异常升高, 并与患者血清中 CEA 及 CA199 水平成正比, 而且患者肿瘤大小、是否出现远端转移也与 XPO1 的异常表达密切相关。XPO1 在胃癌中也具有辅助预后判断的作用, 与邻近的癌旁组织 (6.7%) 相比, XPO1 在胃癌组织中 (57.8%) 显著高表达; 同时, XPO1 与胃癌患者血清中 CEA 水平、肿瘤临床分期、HER2 阳性和远端转移等也密切相关<sup>[24]</sup>。

## 2 出核转运抑制剂 (nuclear export inhibitors, NEI)

蛋白的出核转运可通过 XPO1 抑制剂来进行抑制。XPO1 抑制剂主要通过修饰第 528 位半胱氨酸残基活性位点 (Cys528), 并阻止 XPO1 与货物蛋白 NES 信号的结合来发挥作用<sup>[25]</sup>。XPO1 抑制剂作为单剂能诱导肿瘤细胞系的凋亡, 减缓小鼠移植瘤模型中肿瘤生长速度, 并改善生存, 是潜在的抗肿瘤药物。目前已知的 XPO1 小分子抑制剂包括 Leptomycin B (LMB) 及其衍生物 KOS-2464、Ratjadones、缬草素 (Valtrate)、乙酰氧基胡椒酚乙酸酯 (acetoxycavicolacetate, ACA)、PKF050-638、CBS9106 及 SINE 等。

### 2.1 LMB 及其衍生物 KOS-2464

LMB 是最早发现的 XPO1 抑制剂, 其结构是一条不饱和长链脂肪酸, 末端带有一个  $\gamma$ -内酯环。1997 年, Wolff 等<sup>[26]</sup>首次发现 LMB 能抑制 HIV-1 Rev 蛋白以及 RRE (rev response element, 一种与 Rev 结合的高度结构化的病毒 mRNA) 的出核转运。而后的研究表明<sup>[27]</sup>, LMB 可通过结合 XPO1 第 528 位半胱氨酸 (Cys528) 来抑制出核转运复合物的形成, 并进一步抑制 DNA 合成及 DNA 聚合酶的活性, 在多种肿瘤细胞系及小鼠移植瘤模型中都具有抗肿瘤作用。LMB 是第一个进入临床试验的 XPO1 抑制剂, 但 1996 年针对多种实体瘤的 I 期临床试验研究数据显示, LMB 具有严重的剂量限制性毒性, 主要表现为乏力、厌食、呕吐和恶心等, 致使临床试验就此停止<sup>[28]</sup>。

此后, 通过化学修饰研发产生一系列 LMB 半合成衍生物, 这些衍生物既保持了 LMB 高效的抗肿瘤活性, 又大幅度降低 LMB 的毒性。其中 KOS-2464 在多种小鼠移植瘤模型中显示出理想的抗肿瘤效果, 且不影响正常细胞的生长, 其体内毒性与 LMB

相比降低了 16 倍以上。利用 KOS-2464 处理 P53 野生型肿瘤细胞株, 还能促进 P53 的细胞核定位和上调表达<sup>[29]</sup>。KOS-2464 的相关实验数据说明 LMB 的副作用可能与它的脱靶效应有关, 而出核转运抑制本身在体内产生的副作用则是完全可控的。

### 2.2 Ratjadones

Ratjadones 是 1995 年从粘杆菌 (*Sorangium cellulosum*) 中分离得到的一种抗肿瘤化合物, 与 LMB 化学结构相似, 具有抑制蛋白出核转运的功能, 同时还对细胞周期有阻滞作用<sup>[30-31]</sup>。合成的同型物 Ratjadone C 能在纳摩尔级水平有效抑制拓扑异构酶 II  $\alpha$  的出核转运, 从而逆转耐药型 MM 细胞对多柔比星、依托泊苷等拓扑异构酶 II  $\alpha$  抑制剂的敏感性<sup>[19]</sup>。目前 Ratjadones 化合物的抗肿瘤研究还停留在临床前实验阶段。

### 2.3 缬草素和 ACA

缬草素和 ACA 是两种天然的 XPO1 抑制剂。其中缬草素从缬草 (*Valeriana fauriei*) 中分离得到, 而 ACA 则是从大高良姜 (*Alpinia galangal*) 中提取的精油主成分。缬草素和 ACA 都具有抑制 HIV-1 RNA 出核转运, 进而抑制 HIV 病毒复制的作用, 但其抗肿瘤作用尚未得到充分研究<sup>[32-34]</sup>。

### 2.4 PKF050-638

Daelemans 等<sup>[35]</sup>发现的合成小分子化合物 PKF050-638, 是一个 XPO1 的高度专一性且可逆性抑制剂, 其相对分子质量为 292 700, 能在微摩尔水平破坏 XPO1 与 HIV-1 Rev 蛋白的 NES 信号间相互作用; PKF050-638 与 LMB 原理相似, 可通过结合 XPO1 的半胱氨酸残基来抑制 XPO1 的出核转运活性。

### 2.5 CBS9106

CBS9106 是一种可口服的小分子化合物, 具有可逆性抑制 XPO1 调控的出核转运作用, 目前作为抗癌药已进入临床前研究。CBS9106 能通过促进蛋白酶体依赖的 XPO1 蛋白降解来降低细胞中 XPO1 蛋白表达水平, 但不影响其 mRNA 的表达。作为单剂, CBS9106 能在乳腺癌、结直肠癌、鼻咽癌和膀胱癌等 60 多种不同肿瘤细胞系中引起细胞周期的可逆性停滞, 并诱导细胞凋亡。口服 CBS9106 能抑制 MM 小鼠的肿瘤生长, 延长生存时间, 且不影响小鼠体重<sup>[36-37]</sup>。此外, XPO1 蛋白水平的下降也在 CBS9106 治疗小鼠分离的细胞中被观测到<sup>[36-37]</sup>。未来还需进行相关毒理实验来验证 CBS9106 进入临床研究的可能性。

### 2.6 SINE

SINE 是利用计算机模拟合成的一系列 XPO1

小分子抑制剂,包括 KPT-330( Selinexor )、KPT-335( Verdinexor )、KPT-185、KPT-276、KPT-251、KPT-115 和 KPT-127 等<sup>[5]</sup>。晶体结构显示 SINE 可通过一种慢速可逆及高选择方式结合 XPO1 的第 528 位半胱氨酸残基。在进行体外细胞毒性实验时,SINE 显示出对血液恶性肿瘤及实体瘤细胞系的广泛抗肿瘤活性<sup>[5, 38]</sup>。对于大部分肿瘤细胞系,SINE 的 IC<sub>50</sub> 值范围介于 20 至 2000 nmol/L 之间,其中 95% 的肿瘤细胞系的 IC<sub>50</sub> 值低于 500 nmol/L<sup>[5]</sup>。但 SINE 对正常细胞的毒性却很小。

在临床前研究中,利用小鼠移植瘤模型、原位肿瘤模型、原发肿瘤模型以及白血病模型,均证实 SINE 作为单剂具有体内抗肿瘤效果,并在血液系统恶性肿瘤中,特别在非霍奇金淋巴瘤( non-Hodgkin's lymphoma, NHL)、慢性淋巴细胞性白血病( chronic lymphocytic leukemia, CLL)、急性骨髓性白血病( acute myeloid leukemia, AML)以及 MM 模型中,显示具有显著的生存优势<sup>[5, 38-44]</sup>。此外,SINE 还具有改变肿瘤微环境的作用。其中 KPT-185 是体外实验中应用最多,且抗肿瘤活性最好的化合物,但体内实验却显示其药代动力学方面的不足,而 KPT-251、KPT-276 以及 KPT-330 因其良好的药代动力学和药效学特性,以及其口服生物利用度则更适用于体内使用。这些药物已在多种实体瘤及血液系统恶性肿瘤中开展了临床试验。尤其是 KPT-330,由于其免疫毒性极低,目前已进入 I/II 期临床试验,是 SINE 中最有希望实现临床转化的抗肿瘤药物。

### 3 SINE 的临床研究进展

#### 3.1 KPT-330( Selinexor )的临床转化研究进展

KPT-330 不仅在前列腺癌、卵巢癌、子宫内膜癌、乳腺癌、肺癌、恶性黑色素瘤、胰腺癌、胃癌、结肠癌、脑胶质瘤以及肉瘤等实体瘤和多种血液系统恶性肿瘤,如套细胞淋巴瘤( mantle cell leukemia, MCL)、MM、急性淋巴细胞性白血病( acute lymphoblastic leukemia, ALL)、CLL、AML、NHL 以及骨髓增生异常综合征( myelodysplastic syndrome, MDS)等中显示强大的单剂疗效;同时,在与多种化疗药物及靶向药物如顺铂、紫杉醇、拓扑异构酶 I 和 II 抑制剂、吉西他滨、地塞米松、阿糖胞苷、蛋白酶体抑制剂、依鲁替尼、酪氨酸激酶抑制剂( tyrosine kinase inhibitors, TKIs)以及利妥昔单抗等的联合治疗时,也显示出了明显的协同效应<sup>[5, 38, 41, 44-50]</sup>。目前,多项 I 期及 II 期临床试验正在进行中(表 1)。

KPT-330 针对晚期血液系统恶性肿瘤及实体瘤

的 I 期临床研究开始于 2012 年 6 月。2013 年 ASH( American Society of Hematology )年会上发表的研究<sup>[51-53]</sup>结果显示,KPT-330 对 MCL、MM、原发性巨球蛋白血症、ALL、CLL、AML 以及 NHL 的许多亚类都具有显著疗效。其中 14 例 AML 中有 4 例获得完全缓解( complete response, CR );15 例 NHL/ CLL 中有 3 例淋巴结缩小超过 50%;15 例 MM 中 1 例获得部分缓解( partial response, PR ),6 例获得轻微缓解( minor response, MR )。同时,治疗前后的样本检测显示 KPT-330 能增加 TSPs 在肿瘤细胞核内的滞留,其中一例 MCL 显示肿瘤组织中 P53 核内定位的增加;一例 MM 显示肿瘤组织中 P53、FOXO3 和 IκB 核内定位的增加;在 ALL 肿瘤组织中也检测到了 pRb、survivin 和 IκB 核内定位的增加<sup>[51-53]</sup>。

2014 年 ASCO( American Society for Clinical Oncology )年会上又相继发表了 KPT-330 在实体瘤 I 期临床试验中的相关数据。研究结果显示 KPT-330 在结直肠癌、头颈癌、卵巢癌、宫颈癌以及前列腺癌中均有减轻肿瘤负荷的效果<sup>[54-56]</sup>。103 个患者( 59 男/44 女;中位年龄 61 岁)在一个疗程( 28 d)中给予 10 ~ 12 个剂量梯度,共 8 ~ 10 次的 KPT-330 治疗。研究表明患者可承受 65 mg/m<sup>2</sup> 每周 2 次( BIW )的剂量,剂量限制性毒性( dose limiting toxicities, DLT )主要表现为脱水、疲劳、恶心等症状。药物的半衰期不依赖于剂量,大约为 7 h。在可评估患者中,共有 87 例有反应,其中 39 例病情稳定( stable disease, SD ),12 例稳定期超过 6 个月。12 例结直肠癌中有 4 例 CEA 水平下降,1 例获得 PR,6 例获得 SD;5 例激素及化疗难治性前列腺癌都达到了 SD;13 例头颈鳞癌中 9 例达到 SD;黑色素瘤( BRAF 野生型)及卵巢腺癌各 1 例获得 PR;宫颈癌患者以及子宫内膜间质瘤患者也显示长期病情稳定<sup>[54-56]</sup>。同时,配对检验还发现多种肿瘤中包括 P53、P27、IκB、BRCA2 和 FOXO3 在内多种 TSPs 的核内定位增加<sup>[54-56]</sup>。

总之,KPT-330 I 期临床试验获得了巨大成功,其结果与临床前动物模型得到的数据较为相似,显示 KPT-330 在多种血液恶性肿瘤和实体瘤中均具有明显的抗肿瘤效果,其可口服、吸收迅速的特点,以及与剂量成正比、无累积性药代动力学特征,将为其临床转化奠定良好的基础。此外,患者对 KPT-330 也具有较好的耐受性,其主要不良反应包括恶心、呕吐、腹泻、血小板减少和体重减轻等,但通过支持性护理即可控制。

表1 目前正在进行的 KPT-330 临床试验

试验阶段	疾病	联合用药	NCT 号	起始年份
I 期	儿童复发性 ALL、AML		NCT02091245	2014
I 期	无法手术的黑素瘤		NCT02120222	2014
I 期	晚期或转移性实体瘤亚洲患者		NCT02078349	2014
I 期	异基因造血干细胞移植后的 AML 和 高风险 MDS		NCT02485535	2015
I 期	复发性、难治性 CLL 或侵袭性 NHL	依鲁替尼	NCT02303392	2014
I 期	AML	拓扑异构酶 II 抑制剂	NCT02299518	2014
I 期	局部晚期结肠癌	基于标准卡培他滨治疗的放化疗	NCT02137356	2014
I a/ I b 期	胃癌、远端食管腺癌	伊立替康	NCT02283359	2014
I 期	晚期卵巢、子宫内膜癌	紫杉醇、卡铂	NCT02269293	2014
I 期	诱导缓解的 AML	以大剂量阿糖胞苷和米托蒽醌为主的化疗	NCT02573363	2015
I 期	复发性、难治性侵袭性 B 细胞淋巴瘤	利妥昔单抗、依托泊甙、卡铂、异环磷酰胺、地塞米松	NCT02471911	2015
I b 期	晚期恶性肿瘤	卡铂、紫杉醇、艾瑞布林、多柔比星、环磷酰胺、培美曲塞、拓扑替康	NCT02419495	2015
I 期	转移性结直肠癌	mFOLFOX6	NCT02384850	2015
I b/ II 期	复发性、难治性 MM		NCT02343042	2015
I / II 期	难治性、复发性白血病或 MDS	氟达拉滨、阿糖胞苷	NCT02212561	2014
I / II 期	复发性、难治性 MM	脂质体多柔比星	NCT02186834	2014
I / II 期	AML	索拉非尼	NCT02530476	2015
I / II 期	复发性、难治性 AML	克拉屈滨、G-CSF、阿糖胞苷、骨髓活检	NCT02416908	2015
I b/ II 期	转移性胰腺癌	吉西他滨、蛋白结合型紫杉醇	NCT02178436	2014
II 期	复发性、难治性弥漫性大 B 细胞淋巴瘤		NCT02227251	2014
II 期	MDS		NCT02228525	2014
II 期	Richter 综合征		NCT02138786	2014
II 期	复发性 AML 老年患者		NCT02088541	2014
II 期	骨干治疗的 MDS		NCT02431351	2015
II 期	复发性脑胶质瘤		NCT01986348	2013
II 期	晚期妇科恶性肿瘤、转移性乳腺癌		NCT02025985	2013
II 期	低分化肺癌、胃肠胰腺癌		NCT02250885	2014
II 期	转移性激素不敏感性前列腺癌		NCT02146833	2014
II 期	接受过阿比特龙或杂鲁胺治疗的转移性去势耐受性前列腺癌		NCT02215161	2014
II 期	复发性、难治性小儿恶性实体瘤		NCT02323880	2014
II 期	复发性小细胞肺癌		NCT02351505	2015
II 期	转移性三阴乳腺癌		NCT02402764	2015
II 期	难治性、复发性 AML	阿糖胞苷、去甲氧柔红霉素	NCT02249091	2014
II 期	复发性、难治性 MM	卡非佐米、地塞米松	NCT02199665	2014
II b 期	接受硼替佐米、卡非佐米、来那度胺、泊马度胺治疗的患者	地塞米松	NCT02336815	2015
II / III 期	晚期不能切除的去分化脂肪肉瘤		NCT02606461	2015

所有临床试验信息均可查阅 [http:// clinicaltrials.gov](http://clinicaltrials.gov)。ALL:急性淋巴细胞性白血病( acute lymphoblastic leukemia );AML:急性骨髓性白血病( acute myeloid leukemia );MDS:骨髓增生异常综合征( myelodysplastic syndrome );CLL:慢性淋巴细胞性白血病( chronic lymphocytic leukemia );NHL:非霍奇金淋巴瘤( non-Hodgkin's lymphoma );MM:多发性骨髓瘤( multiple myeloma );G-CSF:粒细胞集落刺激因子( granulocyte-colony stimulating factor )。

KPT-330 I 期临床试验的成功促使 II 期临床试验的迅速开展。在最近开展的两项针对 NHL 亚型(分别为弥漫大 B 淋巴瘤和 Richter 综合征)的 II 期临床研究中(资料来源于美国一家处于临床试验阶段的制药公司:Karyopharm Therapeutics Inc,其主要致力于发现和开发针对核质转运的药物用于肿瘤及其他疾病的治疗;http://karyopharm.com),研究者募集了大约 200 位复发性、难治性弥漫大 B 淋巴瘤患者,给予每周 2 次的 KPT-330 与地塞米松联合治疗,同时募集了 50 位复发性、难治性 Richter 综合征患者,给予每周 2 次的 KPT-330 治疗。此外还有一项针对老年 AML 患者的血液恶性肿瘤类 II 期临床试验,将募集大约 150 位患者,其中 2/3 将接受 55 mg/m<sup>2</sup> BIW 剂量的 KPT-330 治疗,1/3 采用其他治疗方式。在实体瘤方面,针对妇科恶性肿瘤、成胶质细胞瘤、前列腺癌、头颈鳞癌等的 II 期临床试验也在进行中。

KPT-330 的 II 期临床试验将重点关注:(1)单剂治疗各种难治性、复发性、转移性晚期肿瘤,如卵巢癌、宫颈癌及子宫内膜癌等晚期妇科恶性肿瘤,前列腺癌,弥漫大 B 淋巴瘤,晚期鳞癌,三阴乳腺癌,外周 T 细胞淋巴瘤和皮肤 T 细胞淋巴瘤,低分化肺、胃肠道和胰腺神经内分泌肿瘤,非小细胞肺癌,成胶质细胞瘤等;(2)联合常规化疗药物治疗耐药性晚期肿瘤,如与地塞米松联合治疗 MM,联合去甲氧柔红霉素或阿糖胞苷治疗 ALL,联合氟达拉滨或阿糖胞苷治疗白血病或 MDS 等(表 1)。初步试验结果显示,KPT-330 对于那些难治性、复发性、耐药性肿瘤患者来说具有较好的安全性,其不良反应也在可控范围内<sup>[57]</sup>。

### 3.2 KPT-335(Verdinexor)的临床研究进展

淋巴瘤是犬类最常见的恶性肿瘤之一,且进展迅速,若放弃治疗,部分犬类仅能存活几个星期。有研究<sup>[58-59]</sup>尝试将 KPT-335 用于犬淋巴瘤的治疗,在进行犬类 NHL 的 I/II 期临床试验中,KPT-335 显示出单剂抗肿瘤活性,客观有效率为 34%(20/58),其中 19 只犬获得部分缓解,1 只患有 T 细胞淋巴瘤的犬则获得完全缓解;研究结果显示,犬类对 KPT-335 具有良好的药物耐受性,仅出现厌食等常见的药物不良反应。

## 4 结 语

蛋白和大分子复合物的跨核膜转运在真核细胞中是一个高度协调的微妙平衡过程,蛋白和大分子复合物正确的时空定位调控着细胞的生长及死亡。

XPO1 是负责蛋白及大分子复合物出核转运的核心受体蛋白,其失调可导致多种 TSPs、GRPs 及抗凋亡蛋白的亚细胞定位紊乱,并促进肿瘤的发生和发展。XPO1 在多种肿瘤中具有上调表达的现象,并可作为临床预后判断的指标之一。

目前,越来越多的出核转运抑制剂得以研发,SINE 以其卓越的抗肿瘤活性以及可口服性成为临床转化研究进展最快的出核转运抑制剂,其中 KPT-330 相关 I/II 期临床试验已在血液系统恶性肿瘤以及实体瘤中迅速开展。虽然干扰出核转运可能会伤害所有活跃的细胞,但 SINE 的临床前研究及临床试验显示其对肿瘤细胞具有偏好性,而对正常细胞的毒性较小。对 SINE 的持续研究将进一步检测药物使用的安全性。

由于 SINE 具独特的逆转肿瘤耐药性的功能,尤其对于难治性、耐药性、转移复发性肿瘤效果显著,因此其与常规抗肿瘤化疗药物及靶向药物的联合协同效应将成为未来临床转化研究及应用的发展方向。

## [参 考 文 献]

- [1] FORNEROD M, OHNO M, YOSHIDA M, et al. CRM1 is an export receptor for leucine-rich nuclear export signals [J]. Cell, 1997, 90(6): 1051-1060. DOI: http://dx.doi.org/10.1016/S0092-8674(00)80371-2.
- [2] FUKUDA M, ASANO S, NAKAMURA T, et al. CRM1 is responsible for intracellular transport mediated by the nuclear export signal [J]. Nature, 1997, 390(6657): 308-311. DOI:10.1038/36894.
- [3] OSSAREH-NAZRI B, BACHELERIE F, DARGERMONT C. Evidence for a role of CRM1 in signal-mediated nuclear protein export [J]. Science, 1997, 278(5335): 141-144. DOI: 10.1126/science.278.5335.141.
- [4] ISHIZAWA J, KOJIMA K, HAIL N Jr, et al. Expression, function, and targeting of the nuclear exporter chromosome region maintenance 1 (CRM1) protein [J]. Pharmacol Ther, 2015, 153: 25-35. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2015.06.001.
- [5] PARIKH K, CANG S, SEKHRI A, et al. Selective inhibitors of nuclear export (SINE)--a novel class of anti-cancer agents [J]. J Hematol Oncol, 2014, 7: 78. DOI: 10.1186/s13045-014-0078-0.
- [6] XU D, GRISHIN N V, CHOOK Y M. NESdb: a database of NES-containing CRM1 cargoes [J]. Mol Biol Cell, 2012, 23(18): 3673-3676. DOI: 10.1091/mbc.E12-01-0045.
- [7] DONG X, BISWAS A, SUEL K E, et al. Structural basis for leucine-rich nuclear export signal recognition by CRM1 [J]. Nature, 2009, 458(7242): 1136-1141. DOI: 10.1038/nature07975.
- [8] HENDERSON B R, ELEFTHERIOU A. A comparison of the activity, sequence specificity, and CRM1-dependence of different nuclear export signals [J]. Exp Cell Res, 2000, 256(1): 213-

224. DOI:10.1006/excr.2000.4825.
- [ 9 ] XU D, FARMER A, COLLETT G, et al. Sequence and structural analyses of nuclear export signals in the NESdb database [ J ]. *Mol Biol Cell*, 2012, 23( 18 ): 3677-3693. DOI: 10.1091/mbc.E12-01-00 46.
- [ 10 ] KAU T R, WAY J C, SILVER P A. Nuclear transport and cancer: from mechanism to intervention [ J ]. *Nat Rev Cancer*, 2004, 4( 2 ): 106-117. DOI:10.1038/nrc1274.
- [ 11 ] GRAVINA G L, SENAPEDIS W, McCAULEY D, et al. Nucleocytoplasmic transport as a therapeutic target of cancer [ J ]. *J Hematol Oncol*, 2014, 7: 85. DOI: 10.1186/s13045-014-0085-1.
- [ 12 ] CRAIG E, ZHANG Z K, DAVIES K P, et al. A masked NES in INI1/hSNF5 mediates hCRM1-dependent nuclear export: implications for tumorigenesis [ J ]. *EMBO J*, 2002, 21( 1/2 ): 31-42. DOI: 10.1093/emboj/21.1.31.
- [ 13 ] VOGT P K, JIANG H, AOKI M. Triple layer control: phosphorylation, acetylation and ubiquitination of FOXO proteins [ J ]. *Cell Cycle*, 2005, 4( 7 ): 908-913. DOI: 10.4161/cc.4.7.1796.
- [ 14 ] POON I K, JANS D A. Regulation of nuclear transport: central role in development and transformation ? [ J ] *Traffic*, 2005, 6( 3 ): 173-186. DOI: 10.1111/j.1600-0854.2005.00268.x.
- [ 15 ] POWELL S M, ZILZ N, BEAZER-BARCLAY Y, et al. APC mutations occur early during colorectal tumorigenesis [ J ]. *Nature*, 1992, 359( 6392 ): 235-237. DOI:10.1038/359235a0.
- [ 16 ] YONEDA Y, HIEDA M, NAGOSHI E, et al. Nucleocytoplasmic protein transport and recycling of Ran [ J ]. *Cell Struct Funct*, 1999, 24( 6 ): 425-433. DOI: http://DOI.org/10.1247/csf.24.425.
- [ 17 ] PICHLER A, MELCHIOR F. Ubiquitin-related modifier SUMO1 and nucleocytoplasmic transport [ J ]. *Traffic*, 2002, 3( 6 ): 381-387. DOI: 10.1034/j.1600-0854.2002.30601.x.
- [ 18 ] KUTAY U, GUTTINGER S. Leucine-rich nuclear-export signals: born to be weak [ J ]. *Trends Cell Biol*, 2005, 15( 3 ): 121-124. DOI: http://dx.DOI.org/10.1016/j.tcb.2005.01.005.
- [ 19 ] TURNER J G, MARCHION D C, DAWSON J L, et al. Human multiple myeloma cells are sensitized to topoisomerase II inhibitors by CRM1 inhibition [ J ]. *Cancer Res*, 2009, 69( 17 ): 6899-6905. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-09-0484.
- [ 20 ] TURNER J G, DAWSON J, EMMONS M F, et al. CRM1 inhibition sensitizes drug resistant human myeloma cells to topoisomerase II and proteasome inhibitors both in vitro and ex vivo [ J ]. *J Cancer*, 2013, 4( 8 ): 614-625. DOI: 10.7150/jca.7080.
- [ 21 ] YAO Y, DONG Y, LIN F, et al. The expression of CRM1 is associated with prognosis in human osteosarcoma [ J ]. *Oncol Rep*, 2009, 21( 1 ): 229-235. DOI: 10.3892/or\_00000213.
- [ 22 ] Van der WATT P J, MASKE C P, HENDRICKS D T, et al. The Karyopherin proteins, Crm1 and Karyopherin beta1, are overexpressed in cervical cancer and are critical for cancer cell survival and proliferation [ J ]. *Int J Cancer*, 2009, 124( 8 ): 1829-1840. DOI: 10.1002/ijc.24146.
- [ 23 ] HUANG W Y, YUE L, QIU W S, et al. Prognostic value of CRM1 in pancreas cancer [ J ]. *Clin Invest Med*, 2009, 32( 6 ): e315. PMID:20003838.
- [ 24 ] ZHOU F, QIU W, YAO R, et al. CRM1 is a novel independent prognostic factor for the poor prognosis of gastric carcinomas [ J ]. *Med Oncol*, 2013, 30( 4 ): 726. DOI: 10.1007/s12032-013-0726-1.
- [ 25 ] SUN Q, CARRASCO Y P, HU Y, et al. Nuclear export inhibition through covalent conjugation and hydrolysis of Leptomycin B by CRM1 [ J ]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013, 110( 4 ): 1303-1308. DOI: 10.1073/pnas.1217203110.
- [ 26 ] WOLFF B, SANGLIER J J, WANG Y. Leptomycin B is an inhibitor of nuclear export: inhibition of nucleo-cytoplasmic translocation of the human immunodeficiency virus type 1 ( HIV-1 ) Rev protein and Rev-dependent mRNA [ J ]. *Chem Biol*, 1997, 4( 2 ): 139-147. DOI: http://dx.DOI.org/10.1016/S1074-5521( 97 ) 90257-X.
- [ 27 ] KUDO, MATSUMORI N, TAOKA H, et al. Leptomycin B inactivates CRM1/exportin 1 by covalent modification at a cysteine residue in the central conserved region [ J ]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1999, 96( 16 ): 9112-9117. DOI: 10.1073/pnas.96.16.9112.
- [ 28 ] NEWLANDS E S, RUSTIN G J, BRAMPTON M H. Phase I trial of elactocin [ J ]. *Br J Cancer*, 1996, 74( 4 ): 648-649. DOI: 10.1038/bjc.1996.415.
- [ 29 ] MUTKA S C, YANG W Q, DONG S D, et al. Identification of nuclear export inhibitors with potent anticancer activity in vivo [ J ]. *Cancer Res*, 2009, 69( 2 ): 510-517. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-0858.
- [ 30 ] KOSTER M, LYKKE-ANDERSEN S, ELNAKADY Y A, et al. Ratjadones inhibit nuclear export by blocking CRM1/exportin 1 [ J ]. *Exp Cell Res*, 2003, 286( 2 ): 321-331. DOI: 10.1016/S0014-4827( 03 ) 00100-9.
- [ 31 ] MEISSNER T, KRAUSE E, VINKEMEIER U. Ratjadone and leptomycin B block CRM1-dependent nuclear export by identical mechanisms [ J ]. *FEBS Lett*, 2004, 576( 1/2 ): 27-30. PMID: 15474004.
- [ 32 ] TAMURA S, SHIMIZU N, FUJIWARA K, et al. Bioisostere of valtrate, anti-HIV principle by inhibition for nuclear export of Rev [ J ]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2010, 20( 7 ): 2159-2162. DOI: 10.1016/j.bmcl.2010.02.038.
- [ 33 ] LI X, CHEN T, LIN S, et al. Valeriana jatamansi constituent IVHD-valtrate as a novel therapeutic agent to human ovarian cancer: in vitro and in vivo activities and mechanisms [ J ]. *Curr Cancer Drug Targets*, 2013, 13( 4 ): 472-483. DOI: 10.2174/1568009611313040009.
- [ 34 ] TAMURA S, SHIOMI A, KANEKO M, et al. New Rev-export inhibitor from *Alpinia galanga* and structure-activity relationship [ J ]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2009, 19( 9 ): 2555-2557. DOI: 10.1016/j.bmcl.2009.03.047.
- [ 35 ] DAELEMANS D, AFONINA E, NILSSON J, et al. A synthetic HIV-1 Rev inhibitor interfering with the CRM1-mediated nuclear export [ J ]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2002, 99( 22 ): 14440-14445. DOI: 10.1073/pnas.212285299.
- [ 36 ] SAKAIBARA K, SAITO N, SATO T, et al. CBS9106 is a novel reversible oral CRM1 inhibitor with CRM1 degrading activity [ J ]. *Blood*, 2011, 118( 14 ): 3922-3931. DOI: 10.1182/blood-2011-01-333138.

- [ 37 ] SAITO N, SAKAKIBARA K, SATO T, et al. CBS9106-induced CRM1 degradation is mediated by cullin ring ligase activity and the neddylation pathway [ J ]. *Mol Cancer Ther*, 2014, 13( 12 ): 3013-3023. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-14-0064.
- [ 38 ] GERECITANO J. SINE ( selective inhibitor of nuclear export )--translational science in a new class of anti-cancer agents [ J ]. *J Hematol Oncol*, 2014, 7: 67. DOI: 10.1186/s13045-014-0067-3.
- [ 39 ] GRAVINA G L, TORTORETO M, MANCIINI A, et al. XPO1/CRM1-selective inhibitors of nuclear export ( SINE ) reduce tumor spreading and improve overall survival in preclinical models of prostate cancer ( PCa ) [ J ]. *J Hematol Oncol*, 2014, 7: 46. DOI: 10.1186/1756-8722-7-46.
- [ 40 ] GREEN A L, RAMKISSOON S H, McCAULEY D, et al. Preclinical antitumor efficacy of selective exportin 1 inhibitors in glioblastoma [ J ]. *Neuro Oncol*, 2015, 17( 5 ): 697-707. DOI: 10.1093/neuonc/nou303.
- [ 41 ] MENDONCA J, SHARMA A, KIM H S, et al. Selective inhibitors of nuclear export ( SINE ) as novel therapeutics for prostate cancer [ J ]. *Oncotarget*, 2014, 5( 15 ): 6102-6112. DOI: 10.18632/oncotarget.2174.
- [ 42 ] SENAPEDIS W T, BALOGLU E, LANDESMAN Y. Clinical translation of nuclear export inhibitors in cancer [ J ]. *Semin Cancer Biol*, 2014, 27: 74-86. DOI: 10.1016/j.semcancer.2014.04.005.
- [ 43 ] WANG S, HAN X, WANG J, et al. Antitumor effects of a novel chromosome region maintenance 1 ( CRM1 ) inhibitor on non-small cell lung cancer cells in vitro and in mouse tumor xenografts [ J ]. *PLoS ONE*, 2014, 9( 3 ): e89848. DOI: 10.1371/journal.pone.0089848.
- [ 44 ] ZHENG Y, GERY S, SUN H, et al. KPT-330 inhibitor of XPO1-mediated nuclear export has anti-proliferative activity in hepatocellular carcinoma [ J ]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2014, 74( 3 ): 487-495. DOI: 10.1007/s00280-014-2495-8.
- [ 45 ] TAI Y T, LANDSMAN Y, ACHARYA C, et al. CRM1 inhibition induces tumor cell cytotoxicity and impairs osteoclastogenesis in multiple myeloma: molecular mechanisms and therapeutic implications [ J ]. *Leukemia*, 2014, 28( 1 ): 155-165. DOI: 10.1038/leu.2013.115.
- [ 46 ] WALKER C J, OAKS J J, SANTHANAM R, et al. Preclinical and clinical efficacy of XPO1/CRM1 inhibition by the karyopherin inhibitor KPT-330 in Ph<sup>+</sup> leukemias [ J ]. *Blood*, 2013, 122( 17 ): 3034-3044. DOI: 10.1182/blood-2013-04-495374.
- [ 47 ] SUN H, HATTORI N, CHIEN W, et al. KPT-330 has antitumor activity against non-small cell lung cancer [ J ]. *Br J Cancer*, 2014, 111( 2 ): 281-291. DOI: 10.1038/bjc.2014.260.
- [ 48 ] ETCHIN J, MONTERO J, BEREZOVSKAYA A, et al. Activity of a selective inhibitor of nuclear export, selinexor ( KPT-330 ), against AML-initiating cells engrafted into immunosuppressed NSG mice [ J ]. *Leukemia*, 2015. Epub ahead of print. DOI: 10.1038/leu.2015.194.
- [ 49 ] HING ZA, MANTEL R, BECKWITH KA, et al. Selinexor is effective in acquired resistance to ibrutinib and synergizes with ibrutinib in chronic lymphocytic leukemia [ J ]. *Blood*, 2015, 125( 20 ): 3128-3132. DOI: 10.1182/blood-2015-01-621391.
- [ 50 ] KAZIM S, MALAFA M P, COPPOLA D, et al. Selective nuclear export inhibitor KPT-330 enhances the antitumor activity of gemcitabine in human pancreatic cancer [ J ]. *Mol Cancer Ther*, 2015, 14( 7 ): 1570-1581. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-15-0104.
- [ 51 ] KURUVILLA J, GUTIERREZ M, SHAH B D, et al. Preliminary evidence of anti tumor activity of selinexor ( KPT-330 ) in a phase I trial Ofa first-in-class oral selective inhibitor of nuclear export ( SINE ) in patients ( pts ) with relapsed/refractory Non Hodgkin's lymphoma ( NHL ) and chronic lymphocytic L [ J ]. *Blood*, 2013, 122( 21 ): 90.
- [ 52 ] GUTIERREZ M, GOY A, BYRD J C, et al. A phase I dose-escalation study of the oral selective inhibitor of nuclear export ( SINE ) KPT-330 ( selinexor ) in patients ( pts ) with heavily pretreated non-Hodgkin lymphoma ( NHL ) [ J ]. *J Clin Oncol*, ( 2014 ASCO Annual Meeting Abstracts ), 2014, 32( 15 suppl ): 8518.
- [ 53 ] SAVONA M, GARZON R, BROWN P N, et al. Phase I trial of selinexor ( KPT-330 ), a first-in-class oral selective inhibitor of nuclear export ( SINE ) in patients ( pts ) with advanced acute myelogenous leukemia ( AML ) [ J ]. *Blood*, 2013, 122( 21 ): 1440-1440.
- [ 54 ] MAU-SOERENSEN M, RAZAK A R A, Shields A F, et al. A first-in-class, first-in-human Phase I trial of KPT-330 ( Selinexor ), a Selective Inhibitor of Nuclear Export ( SINE ) in patients ( pts ) with advanced solid tumors [ J ]. *J Clin Oncol* ( 2014 ASCO Annual Meeting Abstracts ), 2014, 32( suppl 15 ): 2537.
- [ 55 ] MAU-SOERENSEN M, RAZAK A, MAHIPAL A, et al. Safety and antitumor activity of selinexor ( KPT-330 ), a first-in-class, oral XPO1 selective inhibitor of nuclear export: A phase I study expanded with colon cancer cohort [ J ]. *J Clin Oncol*, ( 2014 Gastrointestinal Cancers Symposium Abstracts ), 2014, 32( suppl 3 ): 482.
- [ 56 ] YEE K W L, SAVONA M, SOERENSEN M, et al. A phase I dose-escalation study of the oral selective inhibitor of nuclear export ( SINE ) KPT-330 ( selinexor ) in patients ( pts ) with relapsed/refractory acute myeloid leukemia ( AML ) [ J ]. *J Clin Oncol*, ( 2014 ASCO Annual Meeting Abstracts ), 2014, 32( suppl 15 ): 7032.
- [ 57 ] TURNER J G, DAWSON J, CUBITT C L, et al. Inhibition of CRM1-dependent nuclear export sensitizes malignant cells to cytotoxic and targeted agents [ J ]. *Semin Cancer Biol*, 2014, 27: 62-73. DOI: 10.1016/j.semcancer.2014.03.001.
- [ 58 ] BREIT M N, KISSEBERTH W C, BEAR M D, et al. Biologic activity of the novel orally bioavailable selective inhibitor of nuclear export ( SINE ) KPT-335 against canine melanoma cell lines [ J ]. *BMC Vet Res*, 2014, 10: 160. DOI: 10.1186/1746-6148-10-160.
- [ 59 ] LONDON C A, BERNABE L F, BARNARD S, et al. Preclinical evaluation of the novel, orally bioavailable Selective Inhibitor of Nuclear Export ( SINE ) KPT-335 in spontaneous canine cancer: results of a phase I study [ J ]. *PLoS ONE*, 2014, 9( 2 ): e87585. DOI: 10.1371/journal.pone.0087585. eCollection 2014.

[ 收稿日期 ] 2015 - 10 - 10

[ 修回日期 ] 2015 - 12 - 22

[ 本文编辑 ] 阮芳铭