

靶向纤溶酶原激活物抑制剂1的 肿瘤治疗研究进展*

刘吉昊^{1,4)} 唐述志^{1,4)} 胡立宏³⁾ 黄明东^{2)**} 陈卓^{1,4)**}

(¹⁾ 中国科学院福建物质结构研究所结构化学国家重点实验室, 福州 350002; ²⁾ 福州大学化学学院, 福州 350116;

³⁾ 中国科学院上海药物研究所, 上海 201203; ⁴⁾ 中国科学院大学, 北京 100049)

摘要 肿瘤是严重危害人类健康的疾病. 研究表明, 实体瘤周围环境中的胞外基质蛋白、浸润性免疫细胞和间充质细胞分泌的蛋白质组等均与肿瘤的发生、发展以及肿瘤治疗的耐受性等密切相关. 肿瘤微环境中一个重要调控因子, 纤溶酶原激活物抑制剂1 (plasminogen activator inhibitor-1, PAI-1), 不仅与组织型纤溶酶原激活物 (tissue-type plasminogen activators, tPA) 构成调节纤溶活性的一对关键物质, 而且参与肿瘤的侵袭、浸润和转移等多个环节并扮演重要角色. 本文针对近年来 PAI-1 的结构和功能方面研究新进展及其与肿瘤微环境的相关性进行综述, 并提出 PAI-1 可作为抗肿瘤治疗的重要靶点. 同时, 本文也分析了 PAI-1 抑制剂对肿瘤干预的研究现状, 指出 PAI-1 抑制剂对肿瘤治疗的潜在应用价值.

关键词 肿瘤治疗, 纤溶酶原激活物抑制剂1, 肿瘤微环境
中图分类号 R73

DOI: 10.16476/j.pibb.2019.0011

随着人口老龄化趋势的加剧、环境及生活方式的改变, 肿瘤已成为危害我国居民健康和社会发展的主要疾病之一. 肿瘤是正常细胞长期在很多外因和内因作用下, 发生基因质变而导致过度增殖的后果. 长期以来, 科学家们将治疗肿瘤的重点放在肿瘤细胞, 如利用药物抑制肿瘤细胞的增殖或(及)迁移等. 随着近年来分子生物学的发展, 以及人们对肿瘤相关发病机制研究的不断深入, 愈来愈多的研究结果表明: 肿瘤部位浸润的免疫细胞、间质细胞及所分泌的活性介质等与肿瘤细胞共同构成的肿瘤微环境 (tumor microenvironment, TME) 在肿瘤细胞的增殖、扩散转移以及对多种疗法的耐受性产生中均扮演重要角色. 其中, 在转移性肿瘤和耐受性肿瘤的治疗中, 靶向 TME 的治疗策略正逐渐引起人们关注^[1-2]. 本文将近年来针对 TME 中的一个重要调控因子, 纤溶酶原激活物抑制剂 1 (plasminogen activator inhibitor-1, PAI-1), 在肿瘤的发生、发展过程中的重要发现进行阐述, 分析其作为肿瘤治疗新靶标的可能性.

1 PAI-1简介

体内的纤维蛋白溶解过程 (图1) 大致分为两个阶段: 纤溶酶原激活和纤维蛋白 (原) 溶解. 首先是纤溶酶原在纤溶酶原激活物的作用下变成纤溶酶. 产生的纤溶酶可水解纤维蛋白原和纤维蛋白. 纤溶酶原激活物抑制剂 (plasminogen activator inhibitor, PAI) 通过抑制纤溶酶原激活物, 从而发挥抑制纤溶作用. 可见, 由纤溶酶原激活物 (plasminogen activator, PA)、纤溶酶原激活物受体 (urokinase receptor, uPAR) 及其抑制剂 PAI 组成的纤溶酶原激活系统 (plasminogen activation system, PA system), 参与了体内纤溶活性的调控.

* 科技部重点专项 (2017YFE0103200), 国家自然科学基金 (31370737, 81572944), 中国科学院国家外国专家局创新国际团队项目和福建省引进高层次创业创新人才项目 (闽委人才[2018]8-1) 资助.

** 通讯联系人. Tel: 0591-63173094

黄明东. E-mail: mhuang@fjirsm.ac.cn

陈卓. E-mail: zchen@fjirsm.ac.cn

收稿日期: 2019-01-17, 接受日期: 2019-05-24

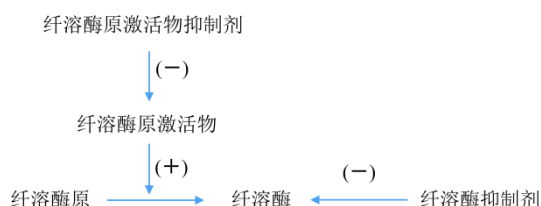
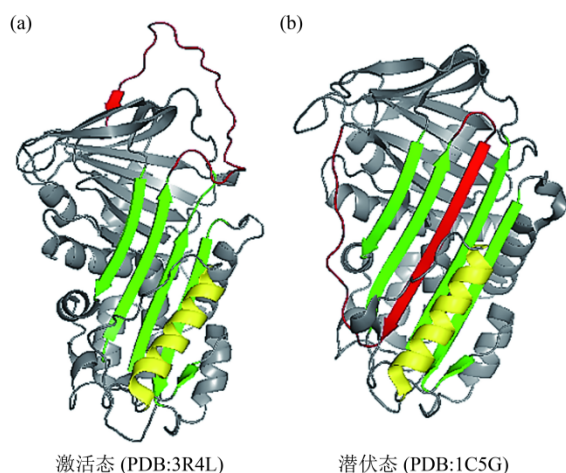


Fig. 1 Composition of fibrinolytic system

图1 纤溶系统的组成

PAI-1在血浆中的浓度约为0.1~0.4 nmol/L, 且存在昼夜及季节变化规律. PAI-1的三维结构(图2)是由3个 β 折叠、9个 α 螺旋以及1个活性中心环(reactive centre loop, RCL)组成^[3]. 在生理条件下, 激活态的PAI-1(图2a)很快被氧化而失活呈潜伏态(图2b). 潜伏态PAI-1(图2b)在体外某些外界条件下(如尿素、十二烷基硫酸钠(sodium dodecyl sulfate, SDS)等变性剂)可被激活而成为激活态PAI-1, 但其在体内是否也一样能够被激活尚无定论.



激活态 (PDB:3R4L)

潜伏态 (PDB:1C5G)

Fig. 2 Two different conformation of PAI-1

图2 PAI-1的两种不同构象^[4]

PAI-1通过其RCL发挥抑制组织型纤溶酶原激活物(tissue-type plasminogen activators, tPA)和尿激酶纤溶酶原激活物(urokinase-type plasminogen activators, uPA)活性的作用. 其中, PAI-1与tPA之间的快速动态平衡对维持血浆纤维蛋白溶解系统(简称纤溶系统)的稳态起决定性作用. PAI-1对tPA的抑制限于血浆中游离的tPA, 而对和纤维蛋白结合的tPA活性较低或不起作用. 灭

活的tPA及tPA-PAI复合物可被肝脏迅速从血浆中清除. 此外, PAI-1可通过其F螺旋紧密结合于玻连蛋白(vitronectin, Vn)^[5], 从而延长其半衰期. 由此可见, PAI-1是纤溶酶原激活系统最重要的生理调节剂. 通过抑制PAI-1的活性或形成的化合物可抑制血栓形成, 用于治疗因血栓导致的疾病, 如血栓性疾病等. 近年来的研究表明: PAI-1不仅是血栓形成性疾病的危险因素, 它还参与肿瘤的侵袭、浸润和转移等多个环节并扮演重要角色^[6-9].

2 PAI-1的表达调控

PAI-1的表达调控过程受肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白介素1(interleukin-1, IL-1)、激素、受体蛋白、转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β)、线粒体代谢释放的活性氧簇(reactive oxygen species, ROS)等多种因素影响(图3).

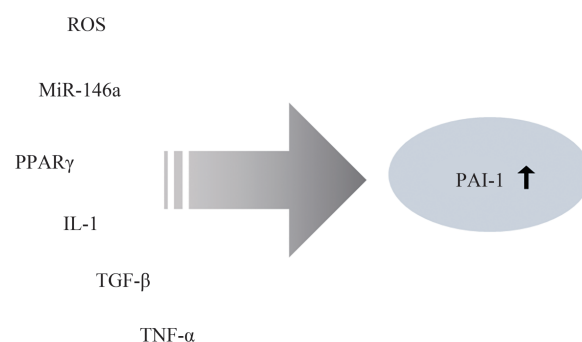


Fig. 3 Factors that influence transcriptional regulation of PAI-1

图3 影响PAI-1转录调控的因素

在上述这些因子中, 有的可通过直接结合PAI-1基因调控序列, 增强PAI-1转录. 如过氧化物酶体增殖剂激活受体 γ (peroxisome proliferators-activated receptor γ , PPAR γ)通过位于PAI-1基因启动子区的-206 bp至-194 bp之间的顺式作用元件(TCCCCCATGCCCT)上调PAI-1^[10]. 有的因子则是通过复杂的通路传感激活PAI-1转录. 如TGF- β 1募集和磷酸化激活Smads蛋白, 后者结合PAI-1基因启动子-734 bp至-731 bp处的Smad结合元件(SBE), 激活PAI-1转录. 此外, PAI-1的转录调控过程还受到MAPK通路的协同调控: MAPK-ERK可激活上游刺激因子(upstream stimulatory factor,

USF), 活化的 USF 结合 PAI-1 启动子非对称序列 E-box, 增强 PAI-1 的转录^[11].

3 PAI-1与乳腺癌及卵巢癌

乳腺癌和卵巢癌是女性常见的恶性肿瘤, 发病率高. 患癌的风险既包括外在的环境和行为因素, 也包括内在的遗传因素. 比较常见的一种遗传性卵巢癌综合征, 遗传性乳腺癌-卵巢癌综合征, 就表明乳腺癌与卵巢癌之间存在的微妙遗传因素关系. 目前已有越来越多的临床资料显示, 乳腺癌和卵巢癌都是容易发生转移的肿瘤, 甚至淋巴结无转移的早期癌症患者也存在一定的远处转移发生率. 因此, 寻找乳腺癌和卵巢癌的有效预后指标, 尽早检出预后不佳的高危患者, 对提高患者生存率和生存质量具有重要意义.

研究发现, PAI-1 水平与乳腺癌及卵巢癌的预后密切相关: PAI-1 是淋巴结转移阴性的乳腺癌患者独立预后不良预测因子, 肿瘤组织 PAI-1 高表达患者的乳腺癌复发和死亡的风险提升了 2~8 倍^[12]. PAI-1 在卵巢癌患者血浆中的高水平表达也与卵巢癌的高值临床分期密切相关^[8]. 全球领先的肿瘤专业学术组织——美国临床肿瘤学协会 (American Society for Clinical Oncology, ASCO) 以及德国乳腺癌协会 (German Breast Cancer Society, GBCS) 已将 PAI-1 在乳腺癌血浆中的水平检测纳入指导乳腺癌患者治疗策略^[8-9], 但血浆中 PAI-1 的表达水平对乳腺癌及卵巢癌发生肿瘤转移的预后作用机制还亟待进一步完善, 尤其是 PAI-1 与常见免疫组化标记物 (如雌激素受体 ER、孕激素受体 PR、人表皮生长因子受体 HER-2) 之间的相关性尚不十分明确^[13-14]. 尽管如此, 鉴于乳腺癌及卵巢癌患者与 ER 及 HER2 等表达的密切相关性, 可能联合检测 PAI-1 水平将有助于判断上述肿瘤的恶性程度及预测其生物学行为.

4 PAI-1与免疫逃逸

尽管人体内具有强大的免疫监视功能, 但仍难以阻止肿瘤的发生和发展, 这是因为肿瘤细胞可通过多种机制逃避人体的免疫攻击. 肿瘤细胞这种通过多种机制逃避机体免疫系统识别和攻击, 从而得以在体内生存和增殖的现象, 称为肿瘤免疫逃逸 (tumor immune escape). 这个过程涉及到肿瘤细胞的生物学特殊性、人体的免疫状态以及两者之间的力量对比等诸多因素. 近年来的研究发现: 含有免

疫细胞的 TME 在癌症的发展中起着至关重要的作用. 其中, 占肿瘤总重量 50% 的肿瘤巨噬细胞 (tumor associated macrophage, TAM) 不仅阻止 T 细胞攻击肿瘤细胞, 而且分泌生长因子滋养肿瘤细胞, 促进肿瘤血管生成、肿瘤细胞转移扩散^[15].

在针对非小细胞肺癌 (non-small cell lung cancer, NSCLC) 患者的研究中发现^[16]: 患者高表达 PAI-1 与 TAM 产生的免疫抑制细胞因子 (IL-6、CCL-17、CCL-22) 正相关; PAI-1 引起细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 中 TGF- β 水平上调, 而 TGF- β 对 PAI-1 又具有正反馈作用. 而用 shRNA (short hairpin RNA) 干扰人纤维肉瘤细胞 HT1080 的 PAI-1 表达后, 发现浸润到肿瘤组织的 TAM 明显减少^[17]. 最近, 科学家们在针对肿瘤细胞如何逃避治疗的研究中发现^[18]: PAI-1 通过与周围正常组织相互作用, 招募免疫系统中常见参与者 (如 IL-6 和 STAT3), 将巨噬细胞推入另一种癌前状态 (称为 M2), 从而改变巨噬细胞的行为, 支持而非攻击肿瘤细胞. 因此, 含有高 PAI-1 水平的肿瘤更具侵袭性, 并且与较差的治疗结果相关. 很显然, 对 PAI-1 如何与巨噬细胞通信以改变其活性的理解可能改变我们对癌症的治疗方法.

5 PAI-1与细胞增殖

细胞增殖是生物体生长、发育、繁殖和遗传的基础. 癌变的细胞紊乱了细胞分裂、凋亡和组织自稳性的正常调控而无限增殖. PAI-1 具有正调控细胞分裂作用. Evan 等^[19]报道: 利用基因敲除的方法可降低膀胱癌 T24 细胞的 PAI-1 表达水平, 可导致该细胞增殖能力下降、G0/G1 期的细胞数量增加. 顺铂化疗的食管鳞癌患者, 进行食管鳞癌细胞 KYSE-450 及肿瘤相关纤维母细胞 (cancer-associated fibroblasts, CAFs) 分泌的细胞因子、炎症因子等检测中^[20], 也证实 PAI-1 具有促食管鳞癌细胞 KYSE-450 增殖的作用, 并发现肿瘤微环境中的 CAFs 是 PAI-1 的主要来源之一. 我们知道, CAFs 通过分泌细胞因子、炎症因子和血管生成因子与癌细胞之间产生广泛的交互对话 (cross-talk), 在肿瘤细胞的增殖、转移和血管形成等方面扮演十分重要的角色. 可见, PAI-1 作为化疗的副产物, 反过来影响着化疗的治疗效果.

新型口服 PAI-1 抑制剂 Tiplaxtinin (PAI-039) 对 T24、HeLa、UM-UC-14 等多种肿瘤细胞的增殖均具有显著抑制作用, 而且随着其浓度升高, 处于

G0/G1期的肿瘤细胞数量明显增加, G1/S期转化相关的周期调控蛋白(cyclin D3、CDK4/6、cdk2和cyclin E等)明显下调. 因此, 尽管PAI-1抑制剂的临床应用目前还存在一定风险, 但其与化疗药物联合应用势必有助于增强化疗药物的疗效.

6 PAI-1与细胞侵袭转移

肿瘤细胞侵袭转移的过程是肿瘤细胞与宿主细胞之间相互作用的连续过程, 这个过程是复杂、多步骤的. 肿瘤侵袭是肿瘤扩散的第一步, 是肿瘤细胞与周围间质相互作用的结果, 其标志是肿瘤细胞突破基底膜. 肿瘤转移是肿瘤细胞从原发部位侵入淋巴管、血管或体腔, 至靶组织或靶器官, 形成与原发肿瘤不相连续而组织学类型相同的肿瘤. 肿瘤转移是恶性肿瘤最显著的生物学特性之一, 也是临床肿瘤患者的主要死因. 近年来, 随着对肿瘤细胞侵袭转移的分子机制和临床现状的了解, 人们在寻找有效的抗肿瘤细胞侵袭及转移药物的领域已取得显著进展.

其中, 在PAI-1与细胞侵袭转移能力的相关性研究中发现, PAI-1会引起正常贴壁生长的细胞发生细胞悬浮的现象. PAI-1沉默对骨肉瘤肺转移具有抑制作用^[21], 被敲除了PAI-1的小鼠(PAI-1^{-/-})的肿瘤细胞侵袭能力明显削弱^[22]. 研究者们构建了Vn敲除的小鼠模型并表达PAI-1突变株的腺病毒(分别为AdPAI1^{R346M, M347S}——具备Vn结合能力但没有蛋白酶抑制剂活性、AdPAI1^{Q123K}——具备蛋

白酶抑制剂活性但不结合Vn), 发现只有腺病毒AdPAI1^{Q123K}治疗组可恢复肿瘤细胞的侵袭转移能力, 这个实验结果提示: PAI-1可独立影响肿瘤细胞侵袭转移能力, 与是否结合Vn无关. 因此, 抑制PAI-1活性或其形成的化合物具有抑制肿瘤细胞侵袭转移的能力, 并对由细胞侵袭转移引起的疾病具有一定治疗作用.

7 PAI-1与分子肿瘤学

肿瘤细胞利用肿瘤微环境的信号, 促使肿瘤发展. PAI-1与TGF- β 之间的正反馈调控促进了上皮细胞向CAFs转变^[23], CAFs通过分泌PAI-1使该过程得以持续. PAI-1通过AKT、ERK等通路刺激肿瘤细胞增殖, 并诱发细胞耐受化疗产生的ROS. Bajou等^[24]指出, PAI-1抑制内皮细胞(endothelial cells, ECs)经Fas/FasL信号调控的凋亡途径. 在PAI-1信号刺激下, ECs分泌CCL5. 三阴性乳腺癌细胞MDA-MB-231的CCR5受体结合CCL5后, 通过正反馈途径维持PAI-1信号, 促使肿瘤转移^[25]. 目前, 虽然在细胞膜上没有发现PAI-1的受体蛋白, 但PAI-1可与uPA-uPAR-integrin复合物结合, 随后PAI-1介导低密度脂蛋白受体相关蛋白(low density lipoprotein receptor-related protein, LRP)与复合物结合(图4). 经内吞作用复合物中的PAI-1和uPA被清除掉, 受体随胞内体返回细胞膜. 内吞过程促使细胞膜Integrin和uPAR与细胞外基质配体分离, 增加了细胞黏附的灵活

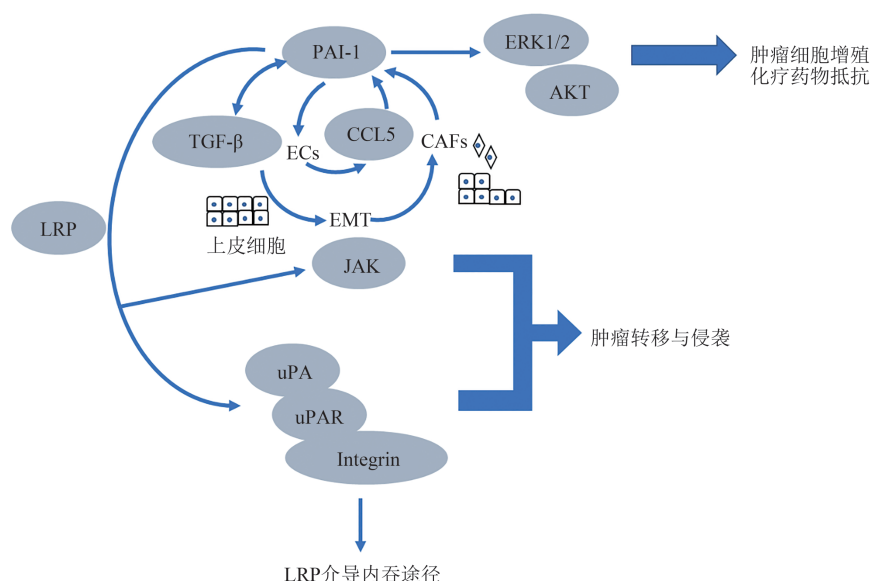


Fig. 4 PAI-1 and molecular oncology

图4 PAI-1与分子肿瘤学

性. 这些蛋白质周期性地重新分布, 驱动了细胞的黏附——去黏附——再黏附过程^[7], 促进肿瘤的转移. 也有研究指出, PAI-1 通过非胞吞依赖的 LRP1/JAK/STAT1 途径调控肿瘤的转移^[26].

8 PAI-1抑制剂

PAI-1 是体内纤溶系统的重要负调控因子, PAI-1 水平的异常升高会导致血栓形成. 此外, PAI-1 通过介导血管新生 (angiogenesis)、细胞增殖等生理过程参与肿瘤的侵袭和转移. 因此 PAI-1 是抗血栓性疾病和抗肿瘤药物作用的重要潜在靶标, PAI-1 抑制剂的发现与设计具有十分重要的意义和应用前景.

关于 PAI-1 抑制剂的研究, 最早始于 20 世纪 90 年代中期, 研究者们从微生物链激菌属中分离得到两种二酮哌嗪 XR330 和 XR334, 发现这两种化合物均能在体内提高纤溶活性, 具有抑制小鼠血栓形成作用^[27]. 之后, 在 XR334 基础上进行结构修饰得到 XR5118, 发现其具有抑制 PAI-1 活性及良好的溶栓效果^[28]. 此外, 香豆酮衍生物 WAY-140312 (口服用药) 在动物实验中也展示出具有提高动脉血流、抑制血栓形成的作用^[29]. 吡啶类 Tiplaxtinin (PAI-039) 对小鼠动静脉血管损伤模型具有抗血栓形成作用, 但不影响血小板凝集^[30-31]. 近年来发现的 PAI-1 抑制剂, 如 TM5275, 对非人类的灵长目动物血管的血栓形成具有抑制作用, 但不影响血流时间^[32], PAI-749 具有抗血栓作用, 但不影响血液系统的基础凝血和纤溶, 从天然中药丹参中提取的丹参酮和隐丹参酮对 PAI-1 具有良好的抑制作用^[33], 早期用于降脂的他汀类药物, 通过多种蛋白质信号下调 PAI-1 水平^[34]. 这些 PAI-1 抑制剂的研究进展对于研发疗效更好、更廉价以及更安全的新型药物具有重要的理论意义和应用价值.

目前 PAI-1 抑制剂 (表 1) 根据种类不同, 分为小分子、单克隆抗体、多肽等. 其中, 小分子抑制剂包括二酮哌嗪类 (如 XR334、XR5118)、吡啶类 (如 PAI-039), 以及多酚类、苯并噻吩类和丁二烯类在体外实验中也发现具有一定抑制 PAI-1 的活性^[35], 但 PAI-039、TM5275、TM5441 和 Loureirin B 等小分子抑制 PAI-1 能力和特异性都有待提高. Cale 等^[36]报道的多酚类 PAI-1 抑制剂 (CDE066) 效果佳, 我们课题组开展了 PAI-1 与 CED066 及其类似物没食子酸相关的结构机理研究^[3]. 此外, 我们课题组从 1 600 个天然产物库中

利用高通量筛选法筛选得到 PAI-1 抑制剂——信筒子醌 (embelin, IC_{50} 为 $1.62 \mu\text{mol/L}$)^[37], 复合物晶体结构研究阐明了该化合物的作用机制在于减少了 PAI-1 的结构灵活性, 使其无法抑制其底物 (尿激酶或 tPA). 以信筒子醌为先导化合物, Chen 等^[38]合成系列不同结构的化合物并开展相关构效关系的研究.

与小分子药物比较, 多肽类药物通常具有高活性、高特异性以及低毒副作用等优势, 但其在临床应用上受到很多限制, 如稳定性低、体内半衰期短等. 单克隆抗体类 PAI-1 抑制剂主要是通过免疫学方法获得^[39]. 目前已报道的抗 PAI-1 抗体都不同程度受 PAI-1 糖基化、PAI-1 种属特异性的影响.

我们课题组近年来在 PAI-1 抑制剂的筛选及其机理研究方面开展了系列工作, 并取得重要进展: 在解析 PAI-1 与 tPA 或与 uPA 的米氏复合物晶体结构^[40]的基础上, 针对 uPA 的催化结构域进行活性位点突变, 并成功筛选出 uPA 的失活突变体 PAItrap^[41-42]. 这个多肽类 PAI-1 抑制剂不仅与 PAI-1 结合 (结合常数 K_d 值为 0.15 nmol/L), 形成稳定的米氏复合物而阻止 PAI-1 对活性 uPA 的抑制作用 ($IC_{50}=10 \text{ nmol/L}$), 而且该抑制剂具有高度选择性, 对结构上与 PAI-1 类似的其他 Serpin 蛋白, 如 PAI-2、PN-1、antithrombin-3 和 α_2 -antiplasmin 的抑制能力弱 ($IC_{50} > 14 \mu\text{mol/L}$). 为了克服该多肽类 PAI-1 抑制剂半衰期较短的不足, 我们利用白蛋白融合技术, 成功获得了半衰期可长达约 500 min 的 PAI-1 抑制剂 PAItrap2^[41-42]. 这种长效多肽类 PAI-1 抑制剂的成功研发为今后深入开展其在体动物实验研究提供了重要工具.

9 PAI-1抑制剂与肿瘤治疗

肿瘤的生物行为, 包括肿瘤的生长、侵袭和转移, 是一个多因素的复杂过程. 随着对 PAI-1 的测定及其与疾病关系的深入研究, 发现 PAI-1 与许多实体肿瘤有密切关系^[43], PAI-1 在肿瘤的侵袭、转移等生物学行为中起重要作用, 尤其肿瘤组织中表达的 PAI-1 可能不仅参与血管生成的调节, 而且同时防止肿瘤组织自身及基质的降解. 已有的研究表明: 抑制 PAI-1 活性可望成为肿瘤治疗的新策略.

近年来, 寻找 PAI-1 抑制剂在抗肿瘤药物的研发中日益受到重视, 也是目前相关领域研究的热点之一. 探索 PAI-1 抑制剂的代谢及其功能必将对肿瘤的诊断、治疗及预后提供极大帮助. 已报道的

PAI-1 抑制剂中, PAI-039 对宫颈癌细胞 HeLa、纤维肉瘤细胞 HT1080 的细胞增殖、细胞黏附能力等均具有明显的抑制作用^[19], 但其作用机制尚不十分明确, IMD-4482 被认为是通过干扰 PAI-1 与 uPAR-uPA 复合物的结合, 中断 uPAR 下游 ERK 信号传递, 从而发挥其抑制卵巢癌细胞迁移和增殖作用^[44], 其相关抗肿瘤临床前研究仍尚待完善。

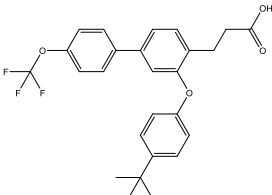
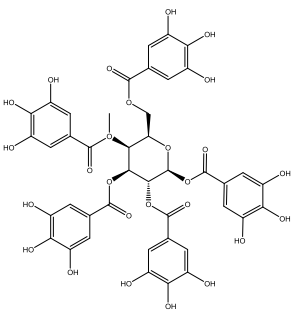
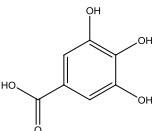
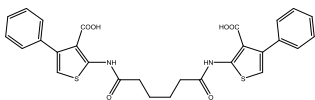
此外, 作用于不同靶点的联合用药是肿瘤治疗的重要策略之一。靶向酪氨酸激酶 Src 的抑制剂对乳腺癌具有一定疗效, 但其应用上受肿瘤的抗药性限制。Fang 等^[45] 检测到对 Src 抑制剂产生抗药性的乳腺癌细胞系 (SKBR-3/SI) PAI-1 水平明显高于非抗药性细胞系, 而且高水平内源或外源 PAI-1 可降低 Src 抑制剂 (Saracatinib) 对该细胞系的增殖抑制作用。经 PAI-1 小分子抑制剂 PAI-039 处理后, 该细胞系对 Src 抑制剂的抗药性明显减弱。由此可见, PAI-1 抑制剂可作为其他抗肿瘤药物的辅助性药物, 联合用药, 提高抗肿瘤效果。

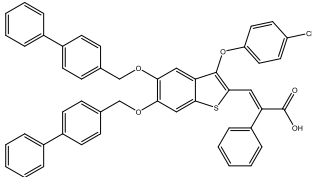
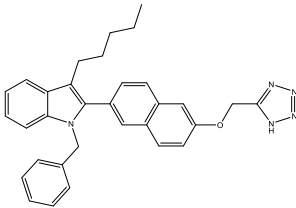
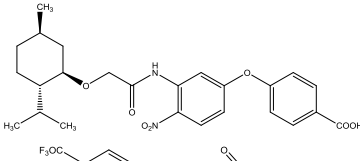
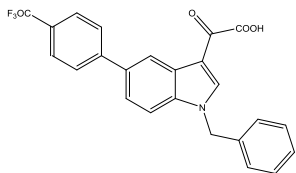
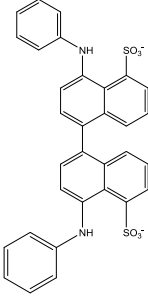
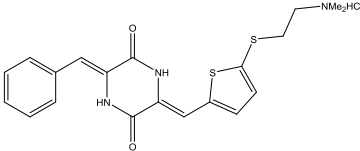
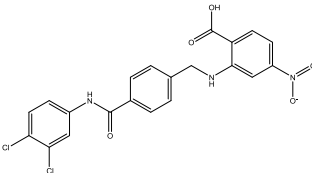
10 结 语

PAI-1 在体内的水平会随着年龄的增加而逐渐增加。PAI-1 的主要生理功能是抑制纤溶、调控凝血和纤溶之间平衡。但有趣的是, PAI-1 缺失的小鼠并不影响其生存, 只是出现因纤维化相关补偿因子表达失调而引起的心肌纤维化失调^[46]。缺乏 PAI-1 的患者也没有明显的病理特征。此外, PAI-1 具有调控细胞外基质重塑、影响血管生成、细胞迁移以及细胞增殖等作用。在肿瘤生物学中, PAI-1 因具有促进肿瘤迁移和增殖作用, 而被认为是乳腺癌的一个重要指标, 与肿瘤的不良预后密切相关。这是因为 PAI-1 广泛分布于 ECM, 与 TME 中组分 (如 uPA、Vn 等) 相互作用, 共同调控肿瘤的进展^[47]。因此, PAI-1 也被认为是抗肿瘤治疗、抑制肿瘤转移的重要靶点。目前由于 PAI-1 三维结构的特点, 尚无成药性好、特异性高的 PAI-1 小分子抑制剂, 但我们相信, 随着 PAI-1 抑制剂研发的备受关注, 新型 PAI-1 抑制剂的出现指日可待。

Table 1 Inhibitors of PAI-1

表1 PAI-1抑制剂

名称	结构	IC ₅₀	年份	参考文献
IMD4482		—	2017	[44]
PAItrap2	蛋白质	~ 5 nmol/L	2017	[41]
PAItrap	蛋白质	10 nmol/L	2016	[42]
CDE-066		10 nmol/L	2010	[36]
Gallic acid		6.6 μmol/L	2010	[36]
TM5001		28.6 μmol/L	2008	[48]

				续表
名称	结构	IC ₅₀	年份	参考文献
S35225		260 μmol/L	2007	[49]
PAI-0749		87 nmol/L	2007	[50]
ZK4044		644 nmol/L	2005	[51]
PAI-039		2.7 μmol/L	2004	[52]
Bis-ANS		570 nmol/L	2001	[53]
XR5118		3.5 μmol/L	2001	[53]
AR-H029953XX		25 μmol/L	1998	[54]

参 考 文 献

[1]

Bajaj J, Konuma T, Lytle N K, *et al.* CD98-mediated adhesive signaling enables the establishment and propagation of acute myelogenous leukemia. *Cancer Cell*, 2016, **30**(5): 792-805

[2]

Smyth M J, Ngiow S F, Ribas A, *et al.* Combination cancer immunotherapies tailored to the tumour microenvironment. *Nat Rev Clin Oncol*, 2016, **13**(3): 143-158

[3]

Hong Z B, Lin Z H, Gong L H, *et al.* Crystal structure of PAI-1 in complex with gallate. *Chinese J Struc Chem*, 2013, **32**(7): 1005-1012

[4]

Shang L, Xue G P, Gong L H, *et al.* A novel ELISA for the detection

- of active form of plasminogen activator inhibitor-1 based on a highly specific trapping agent. *Anal Chim Acta*, 2019, **1053**: 98-104
- [5] Zhou A W, Huntington J A, Pannu N S, *et al.* How vitronectin binds PAI-1 to modulate fibrinolysis and cell migration. *Nat Struct Biol*, 2003, **10**(7): 541-544
- [6] Li S J, Wei X H, He J Y, *et al.* Plasminogen activator inhibitor-1 in cancer research. *Biomed Pharmacother*, 2018, **105**: 83-94
- [7] Czekay R P, Wilkins-Port C E, Higgins S P, *et al.* PAI-1: an integrator of cell signaling and migration. *Int J Cell Biol*, 2011, **2011**: 562481
- [8] Sturgeon C M, Duffy M J, Stenman U H, *et al.* National academy of clinical biochemistry laboratory medicine practice guidelines for use of tumor markers in testicular, prostate, colorectal, breast, and ovarian cancers. *Clin Chem*, 2008, **54**(12): E11-E79
- [9] Harris L, Fritsche H, Mennel R, *et al.* American society of clinical oncology 2007 update of recommendations for the use of tumor markers in breast cancer. *J Clin Oncol*, 2007, **25**(33): 5287-5312
- [10] Chen J G, Li X, Huang H Y, *et al.* Identification of a peroxisome proliferator responsive element (PPRE)-like cis-element in mouse plasminogen activator inhibitor-1 gene promoter. *Biochem Bioph Res Co*, 2006, **347**(3): 821-826
- [11] Samarakoon R, Overstreet J M, Higgins S P, *et al.* TGF-beta 1 -> SMAD / p53 / USF2 -> PAI-1 transcriptional axis in ureteral obstruction-induced renal fibrosis. *Cell Tissue Res*, 2012, **347**(1): 117-128
- [12] Manders P, Tjan-Heijnen V C G, Span P N, *et al.* Predictive impact of urokinase-type plasminogen activator: Plasminogen activator inhibitor type-1 complex on the efficacy of adjuvant systemic therapy in primary breast cancer. *Cancer Res*, 2004, **64**(2): 659-664
- [13] Viala M, Alexandre M, Thezenas S, *et al.* Prognostic impact of the inclusion of uPA/PAI-1 for adjuvant treatment decision-making in ER+/Her2-pN0 early breast cancers. *Breast Cancer Res Tr*, 2017, **165**(3): 611-621
- [14] Pusina S. Correlation of serum levels of urokinase activation plasminogen (uPA) and its inhibitor (PAI-1) with hormonal and HER-2 status in the early invasive breast cancer. *Med Arch*, 2018, **72**(5): 335-340
- [15] Talmadge J E, Gabrilovich D I. History of myeloid-derived suppressor cells. *Nat Rev Cancer*, 2013, **13**(10): 739-U779
- [16] Zhu C J, Shen H, Zhu L J, *et al.* Plasminogen activator inhibitor 1 promotes immunosuppression in human non-small cell lung cancers by enhancing TGF-B1 expression in macrophage. *Cell Physiol Biochem*, 2017, **44**(6): 2201-2211
- [17] Placencio V R, Miyata T, Declerck Y A. Abstract 1548: Pharmacologic inhibition of PAI-1 increases apoptosis and inhibits macrophage migration in cancer. *Cancer Res*, 2013, **73**: 1548-1548
- [18] Kubala M H, Punj V, Placencio-Hickok V R, *et al.* Plasminogen activator inhibitor-1 promotes the recruitment and polarization of macrophages in cancer. *Cell Rep*, 2018, **25**(8): 2177-2191
- [19] Giacoia E G, Miyake M, Lawton A, *et al.* PAI-1 leads to G(1)-phase cell-cycle progression through cyclin D3 / cdk4 / 6 upregulation. *Mol Cancer Res*, 2014, **12**(3): 322-334
- [20] Che Y, Wang J, Li Y, *et al.* Cisplatin-activated PAI-1 secretion in the cancer-associated fibroblasts with paracrine effects promoting esophageal squamous cell carcinoma progression and causing chemoresistance. *Cell Death Dis*, 2018, **9**(7): 759
- [21] Hirahata M, Osaki M, Kanda Y, *et al.* PAI-1, a target gene of miR-143, regulates invasion and metastasis by upregulating MMP-13 expression of human osteosarcoma. *Cancer Med-U.S.*, 2016, **5**(5): 892-902 - 9 -
- [22] Bajou K, Masson V, Gerard R D, *et al.* The plasminogen activator inhibitor PAI-1 controls *in vivo* tumor vascularization by interaction with proteases, not vitronectin: implications for antiangiogenic strategies. *J Cell Biol*, 2001, **152**(4): 777-784
- [23] Caja L, Dituri F, Mancarella S, *et al.* TGF-beta and the tissue microenvironment: relevance in fibrosis and cancer. *Int J Mol Sci*, 2018, **19**(5): 1294
- [24] Bajou K, Peng H, Laug W E, *et al.* Plasminogen activator inhibitor-1 protects endothelial cells from FasL-mediated apoptosis. *Cancer Cell*, 2008, **14**(4): 324-334
- [25] Zhang W W, Xu J, Fang H H, *et al.* Endothelial cells promote triple-negative breast cancer cell metastasis via PAI-1 and CCL5 signaling. *Faseb J*, 2018, **32**(1): 276-288
- [26] Jeon H, Kim J H, Kim J H, *et al.* Plasminogen activator inhibitor type 1 regulates microglial motility and phagocytic activity. *J Neuroinflamm*, 2012, **9**(1): 149
- [27] Garcia L, Hernandez I, Sandoval A, *et al.* Pirfenidone effectively reverses experimental liver fibrosis. *J Hepatol*, 2002, **37**(6): 797-805
- [28] Chanda D, Lee C H, Kim Y H, *et al.* Fenofibrate differentially regulates plasminogen activator inhibitor-1 gene expression via adenosine monophosphate-activated protein kinase-dependent induction of orphan nuclear receptor small heterodimer partner. *Hepatology*, 2009, **50**(3): 880-892
- [29] Crandall D L, Elokda H, Di L, *et al.* Characterization and comparative evaluation of a structurally unique PAI-1 inhibitor exhibiting oral *in-vivo* efficacy. *J Thromb Haemost*, 2004, **2**(8): 1422-1428
- [30] Hennen J K, Morgan G A, Swillo R E, *et al.* Effect of tiplaxtinin (PAI-039), an orally bioavailable PAI-1 antagonist, in a rat model of thrombosis. *J Thromb Haemost*, 2008, **6**(9): 1558-1564
- [31] Gorlatova N V, Tale J M, Elokda H, *et al.* Mechanism of inactivation of plasminogen activator inhibitor-1 by a small molecule inhibitor. *J Biol Chem*, 2007, **282**(12): 9288-9296
- [32] 任美萍, 李蓉, 陈妮, 等. 小鼠颈动脉血栓模型的建立. *西南医科大学学报*, 2014, **37**(3): 261-262
- Ren M P, Li R, Chen N, *et al.* Journal of Southwest Medical University, 2014, **37**(3): 261-262
- [33] Iacoviello L, Agnoli C, De Curtis A, *et al.* Type 1 plasminogen activator inhibitor as a common risk factor for cancer and ischaemic vascular disease: the EPICOR study. *BMJ Open*, 2013, **3**(11): e003725
- [34] De Faria C A, Zanette D L, Silva W A, *et al.* PAI-1 inhibition by

- simvastatin as a positive adjuvant in cell therapy. *Molecular Biology Reports*, 2019, **46**(1): 1511-1517
- [35] Placencio V R, Declerck Y A. Plasminogen activator inhibitor-1 in cancer: rationale and insight for future therapeutic testing. *Cancer Res*, 2015, **75**(15): 2969-2974
- [36] Cale J M, Li S H, Warnock M, *et al.* Characterization of a novel class of polyphenolic inhibitors of plasminogen activator inhibitor-1. *J Biol Chem*, 2010, **285**(11): 7892-7902
- [37] Zhonghui L, Jensen J K, Zebin H, *et al.* Structural insight into inactivation of plasminogen activator inhibitor-1 by a small-molecule antagonist. *Chem Biol*, 2013, **20**(2): 253-261
- [38] Chen F, Zhang G, Hong Z, *et al.* Design, synthesis, and SAR of embelin analogues as the inhibitors of PAI-1 (plasminogen activator inhibitor-1). *Bioorg Med Chem Lett*, 2014, **24**(10): 2379-2382
- [39] Van De Craen B, Scroyen I, Abdelnabi R, *et al.* Characterization of a panel of monoclonal antibodies toward mouse PAI-1 that exert a significant profibrinolytic effect *in vivo*. *Thromb Res*, 2011, **128**(1): 68-76
- [40] Lihu G, Min L, Tu Z, *et al.* Crystal structure of the michaelis complex between tissue-type plasminogen activator and plasminogen activators inhibitor-1. *J Biol Chem*, 2015, **290**(43): 25795-25804
- [41] Peng S Z, Xue G P, Gong L H, *et al.* A long-acting PAI-1 inhibitor reduces thrombus formation. *Thromb Haemostasis*, 2017, **117**(7): 1338-1347
- [42] Gong L H, Proulle V, Fang C, *et al.* A specific plasminogen activator inhibitor-1 antagonist derived from inactivated urokinase. *J Cell Mol Med*, 2016, **20**(10): 1851-1860
- [43] 付夏, 夏曙华, 王幼林, 等. PAI-1 与恶性实体肿瘤的相关性研究进展. *中国医药指南*, 2012, **10**(9): 48-50
- Fu X, Xia S H, Wang Y L, *et al.* *Guide of China Medicine*, 2012, **10**(9): 48-50
- [44] Nakatsuka E, Sawada K, Nakamura K, *et al.* Plasminogen activator inhibitor-1 is an independent prognostic factor of ovarian cancer and IMD-4482, a novel plasminogen activator inhibitor-1 inhibitor, inhibits ovarian cancer peritoneal dissemination. *Oncotarget*, 2017, **8**(52): 89887-89902
- [45] Fang H H, Jin J, Huang D D, *et al.* PAI-1 induces Src inhibitor resistance *via* CCL5 in HER2-positive breast cancer cells. *Cancer Sci*, 2018, **109**(6): 1949-1957
- [46] Ghosh A K, Murphy S B, Kishore R, *et al.* Global gene expression profiling in PAI-1 knockout murine heart and kidney: molecular basis of cardiac-selective fibrosis. *Plos One*. 2013, **8**(5): e63825
- [47] Gettins P G W, Dolmer K. The high affinity binding site on plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) for the low density lipoprotein receptor-related protein (LRP1) is composed of four basic residues. *J Biol Chem*, 2016, **291**(2): 800-812
- [48] Izuhara Y, Takahashi S, Nangaku M, *et al.* Inhibition of plasminogen activator inhibitor-1 - Its mechanism and effectiveness on coagulation and fibrosis. *Arterioscl Thromb Vas*, 2008, **28**(4): 672-677
- [49] Rupin A, Gaertner R, Mennecier P, *et al.* S35225 is a direct inhibitor of plasminogen activator inhibitor type-1 activity in the blood. *Thromb Res*, 2008, **122**(2): 265-270
- [50] Gardell S J, Krueger J A, Antrilli T A, *et al.* Neutralization of plasminogen activator inhibitor I (PAI-1) by the synthetic antagonist PAI-749 *via* a dual mechanism of action. *Mol Pharmacol*, 2007, **72**(4): 897-906
- [51] Liang A, Wu F, Tran K, *et al.* Characterization of a small molecule PAI-1 inhibitor, ZK4044. *Thromb Res*, 2005, **115**(4): 341-350
- [52] Elokda H, Mcfarlane G R, Li D Z, *et al.* Tiplaxtinin: a novel orally efficacious inhibitor of PAI-1 for use in treatment of diseases of fibrinolytic dysfunction. *Abstr Pap Am Chem S*, 2004, **227**: U7-U7
- [53] Egelund R, Einholm A P, Pedersen K E, *et al.* A regulatory hydrophobic area in the flexible joint region of plasminogen activator inhibitor-1, defined with fluorescent activity-neutralizing ligands - Ligand-induced serpin polymerization. *J Biol Chem*, 2001, **276**(16): 13077-13086
- [54] Bjorquist P, Ehnebom J, Inghardt T, *et al.* Identification of the binding site for a low-molecular-weight inhibitor of plasminogen activator inhibitor type 1 by site-directed mutagenesis. *Biochemistry*, 1998, **37**(5): 1227-1234

Research Progress in Tumor Therapy Targeting Plasminogen Activator Inhibitor-1*

LIU Ji-Hao^{1,4)}, TANG Shu-Zhi^{1,4)}, HU Li-Hong³⁾, HUANG Ming-Dong^{2)**}, CHEN Zhuo^{1,4)**}

⁽¹⁾State Key Laboratory of Structural Chemistry, Fujian Institute of Research on the Structure of Matter,

Chinese Academy of Sciences, Fuzhou 350002, China;

²⁾College of Chemistry, Fuzhou University, Fuzhou 350116, China;

³⁾Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201203, China;

⁴⁾University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract Cancer is a serious disease that endangers human health. Solid tumors are surrounded by extracellular matrix, infiltrated immune cells, and the secretum of surrounding mesenchymal cells. The tumor microenvironment plays a key role in tumorigenesis, tumor growth, and resistance to antineoplastic therapy. Plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) is an important regulatory factor in tumor microenvironment. PAI-1 not only functions as a key constitution with tissue-type plasminogen activators (tPA) in regulating fibrinolytic activity, but also participates in invasion, infiltration and migration of tumor. In this paper, the structure and function of PAI-1 and its significance in tumor microenvironment in recent years are reviewed. It is considered that PAI-1 may be an important target for anti-cancer therapy. At the same time, the latest research results of PAI-1 inhibitors in the field of anticancer were analyzed, and the potential application value of PAI-1 inhibitors was demonstrated.

Key words tumor therapy, plasminogen activator inhibitor -1, tumor microenvironment

DOI: 10.16476/j.pibb.2019.0011

* This work was supported by grants from National Key R&D Program of China (2017YFE0103200), The National Natural Science Foundation of China (31370737, 81572944), the CAS/SAFEA International Partnership Program for Creative Research Teams, the High-Level Entrepreneurship and Innovation Talents Projects in Fujian Province ([2018]8-1).

** Corresponding author.

Tel: 86-591-63173094

HUANG Ming-Dong. E-mail: mhuang@fjirsm.ac.cn

CHEN Zhuo. E-mail: zchen@fjirsm.ac.cn

Received: January 17, 2019 Accepted: May 24, 2019