

调节蛋白质间相互作用 的新疗法的发展

小组成员及分工:

张雪莹: 文献翻译, ppt展示

杨晨曦: 文献翻译, ppt制作

卢楠: 文献翻译, ppt制作

目录

CONTANTS

- 01 研究背景
- 02 PPIs的“阴面”
- 03 PPIs的“阳面”
- 04 结论和前景



1

研究背景

概述

蛋白质间的相互作用（PPIs）是最基础的生物学过程，由于对一系列疾病新的治疗靶位的极大医疗需求，PPIs在药物发现领域未知潜能的研究兴趣在不断提高。到目前为止，其导致乐重大进展的药物开发，同时PPI的稳定性有了进展。在这篇综述中，我们提供了大量控制关键的调控途径和建立的新的治疗目标的PPIs的重点概述。我们讨论PPIs已经在临床试验中的追捧的调节小分子。此外，我们回顾了一些依然还在深入研究但是初步数据已经在治疗靶标中进行运用的PPIs。

为什么要研究调节蛋白质间相互作用的新疗法

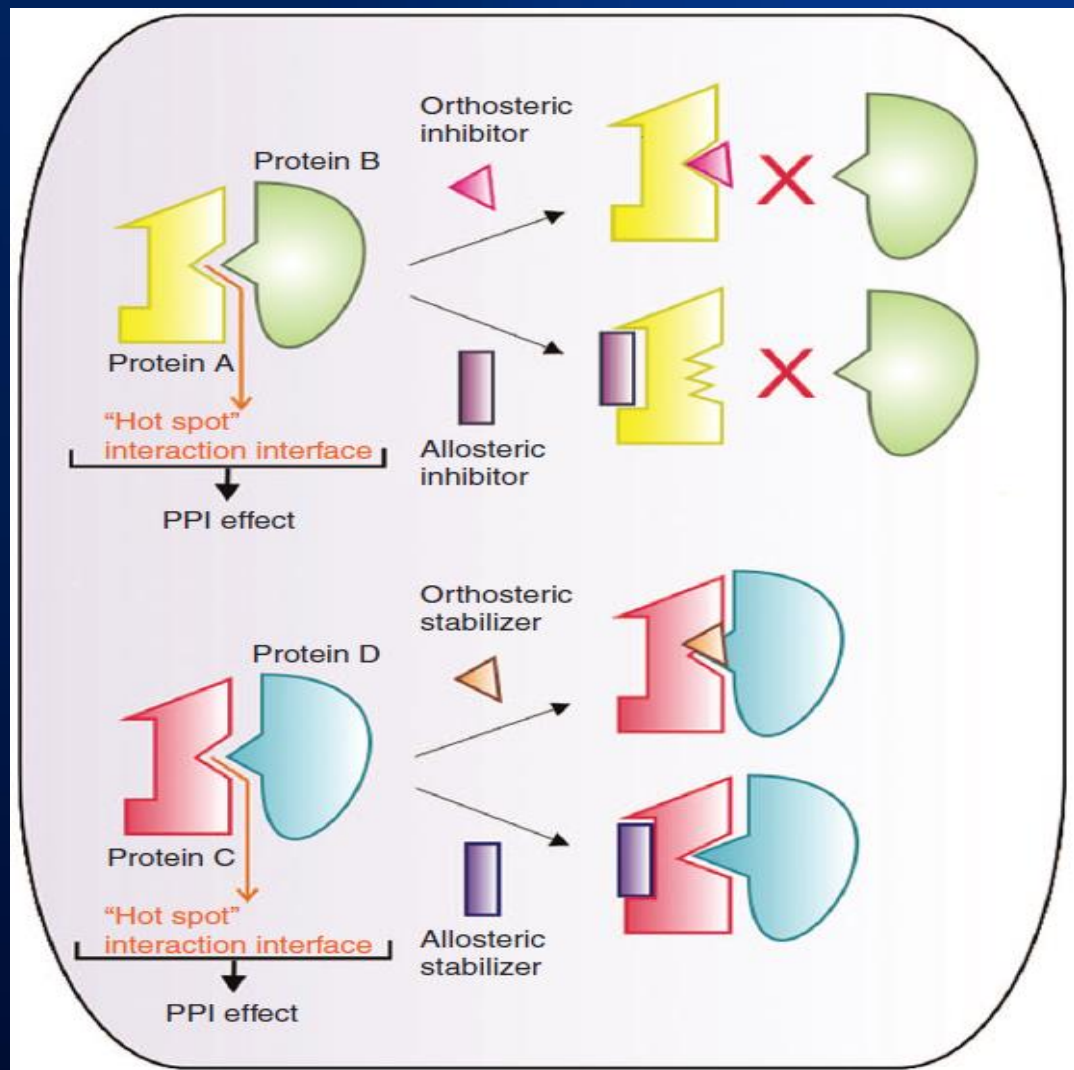
- 1 . 很长时间以来，蛋白质相互作用表面典型表现为大且扁平，通常不具有明显特征（比如说囊、沟或裂缝），无法为小分子抑制剂提供潜在的停靠点，这使研究人员无法将PPIs作为药物靶点开展研究。但假如其表面具有这些特征的话，那么表面结构复杂性就通常会带来额外的挑战。
- 2 . PPIs表面的结合表位通常是由第二或第三蛋白质结构产生的，因此就 无法用线性肽序列作为模板构建一个新的治疗分子 ， 例如小分子模拟肽。另外，由于药物设计缺乏作为备选起点的小分子配体 ， 这又是另外一个主要障碍。当在PPI表面发现所谓的“热点”，也就是那些提供大部分结合能的明确区域后，用小分子药物对准治疗更广范围的PPIs变得切实可行。
- 3 . 调节PPIs的小分子化合物能够直接瞄准蛋白质相互作用表面，破坏或稳定它们（正构PPI抑制剂或稳定剂）。或者，PPI-调节化合物能够绑定到其中一个互作蛋白的邻近点，通过改变它的构造（变构的PPI抑制剂或稳定剂），抑制或改善PPI。

调节蛋白质相互作用的新疗法的发展的现状

不断进步的科技在PPIs小分子调节剂方面起到了重要作用。在检测初始小分子匹配点的蛋白质相互作用表面间的低亲和作用时，还需要一些敏感的筛选方法。一些高通量的筛选兼容试验已经为化学优化提供了许多有用的起点，包括荧光共振能量转移、扩增冷光邻近均相法筛选（AlphaScreen; PerkinElmer），表面等离子体共振以及荧光偏振。此外，由结构性方法驱动的PPI抑制剂探索计划也证明很成功。PPI接触面——通过X射线晶体学、核磁共振或同源建模得到——的结构信息使电脑筛选虚拟的化合物库成为可能。在下一个阶段，这些有前途的匹配点将在一个合适的蛋白结合或互作试验中被合成并进行测试。

应用这套高度多样化的探索工具后，针对广谱的蛋白复合物，强大的PPI调节剂不断得到开发，并且其中一些早已进入临床试验阶段。

PPI调节剂的基本原理



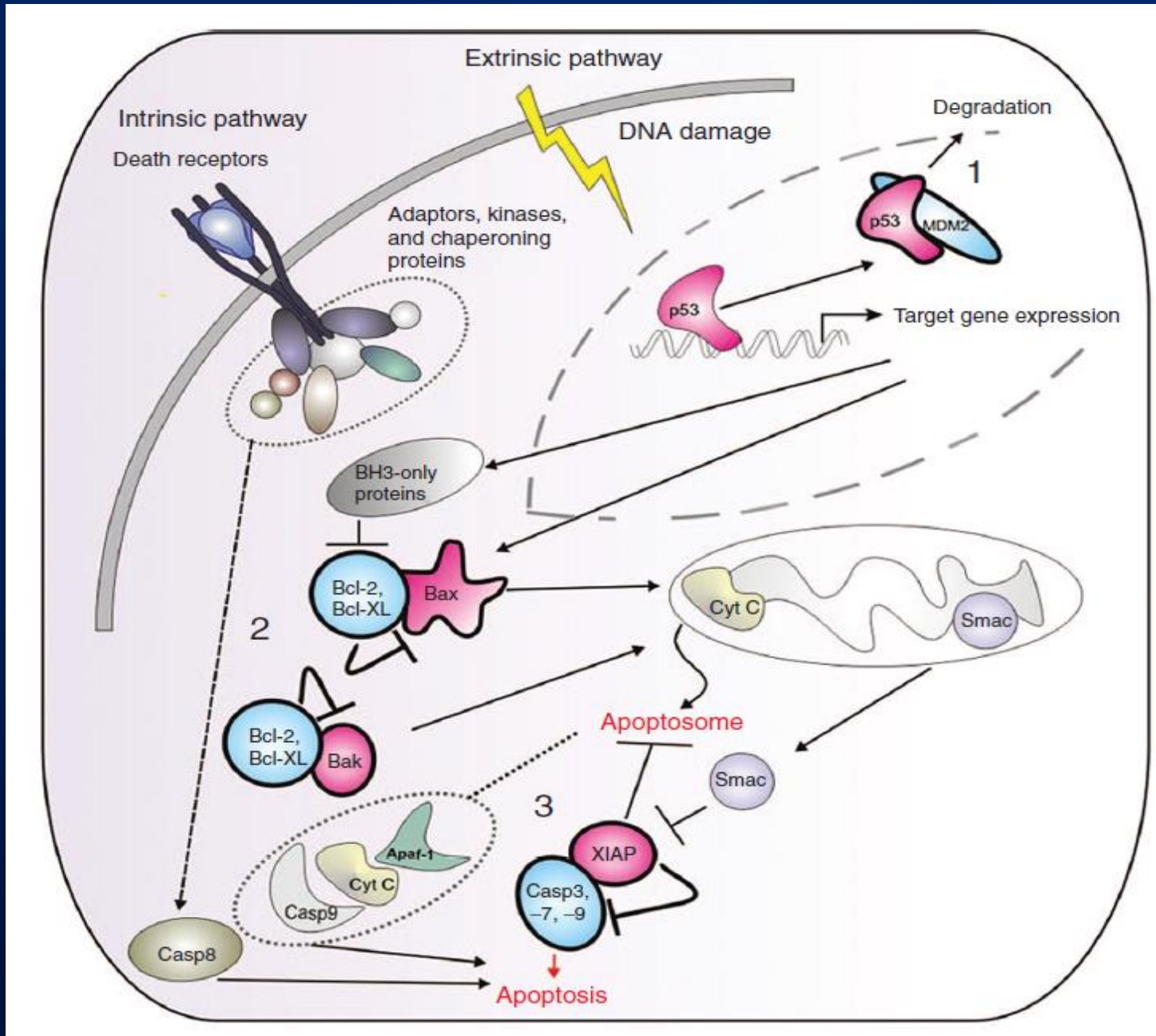
上半部分：一个正构小分子抑制剂绑定到了两个蛋白质的反应界面，从而阻止了两者的相互作用。另一个变构抑制剂则吸附到了PPI表面外的互作蛋白A上，引起构象改变从而抑制它与蛋白质B的相互作用。下半部分：同样地，一个正构小分子稳定剂吸附到了PPI表面，从而稳定了蛋白质B和C之间的相互作用，而变构稳定剂则改变了蛋白质C的构象，所以蛋白质D在与之绑定时才能更具亲和力。



2

PPIs的“阴面”

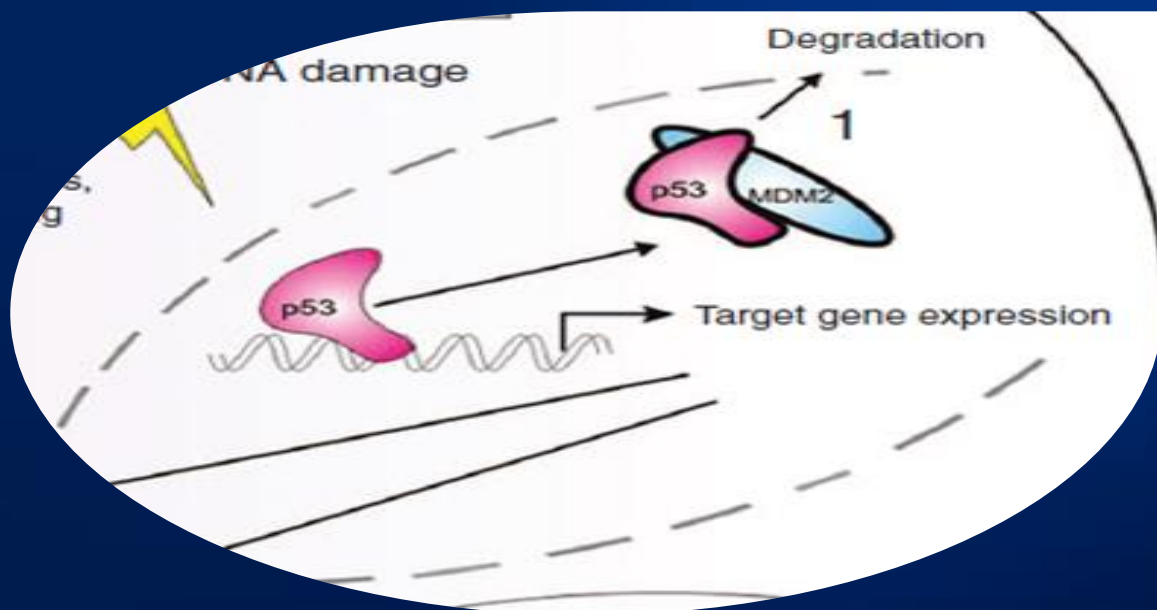
PPIs的“阴”面——PPIs在药物设计中的抑制作用，这是细胞周期所涉及的相互作用，可作为潜在癌症治疗靶点。我们在这里将介绍几种在临床上很重要的PPIs。



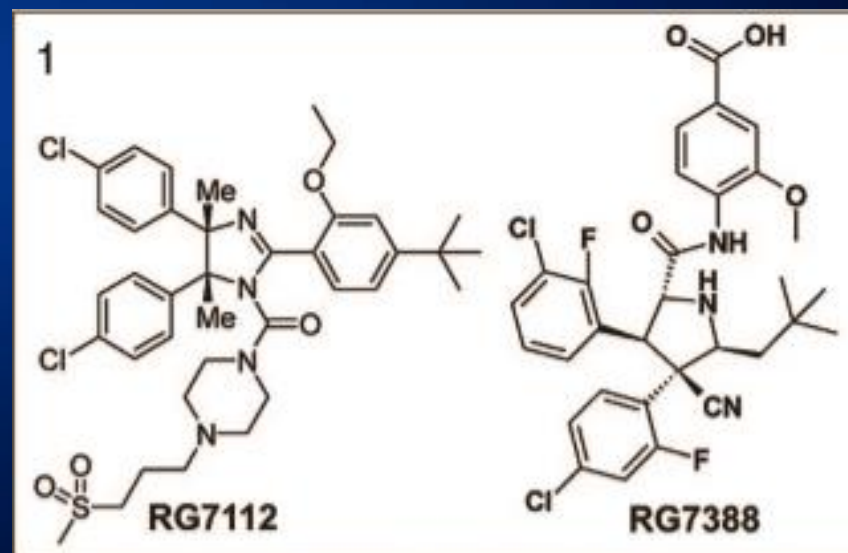
小分子抑制剂在临床和临床前期干扰PPIs, 并作为一种抗癌疗法涉及凋亡途径。这种方案阐明了三种在临床上很重要的PPIs:

- 1) MDM2/P53;
- 2) Bcl2, Bc-XL/Bak;
- 和3) IAP/半胱天冬酶, 以及它们在细胞凋亡级联反应中的作用。

MDM2/P53



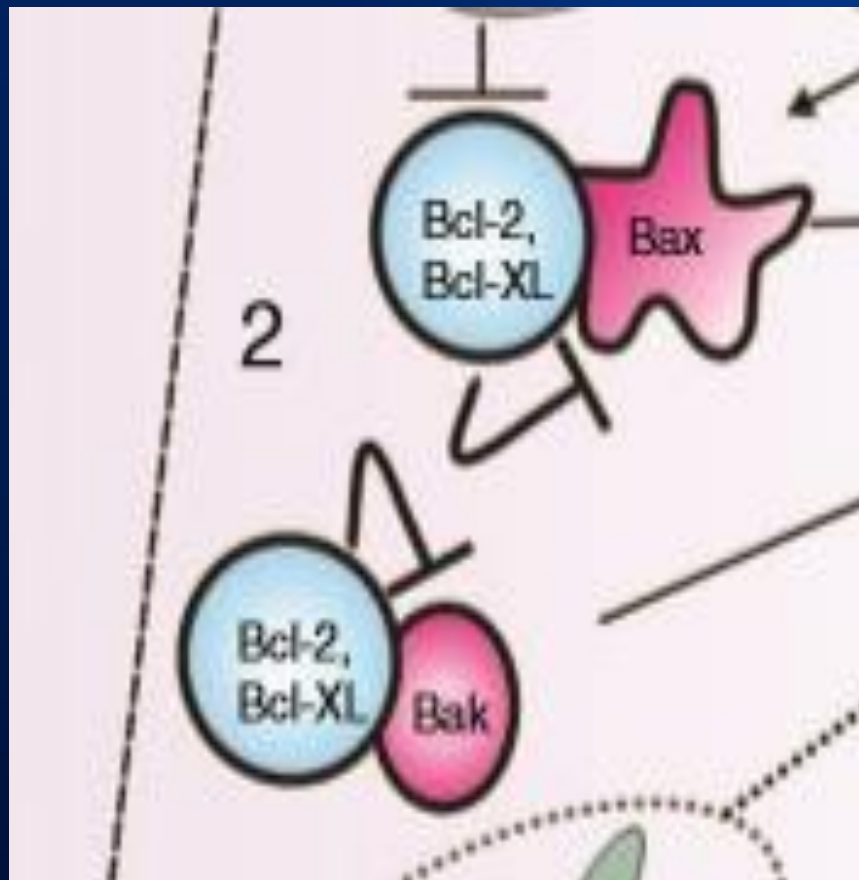
癌症研究中，有关PPIs研究最透彻的内容的其中之一就是鼠双微体2（MDM2）和P53之间的相互作用。P53是一种有效的抑癌基因。在50%的人体癌症中，P53的抗肿瘤活性由于其基因内部的突变而受到破坏。MDM2或人体中的HDM2是P53的主要抑制剂。干预MDM2/P53相互作用能够改善P53的抗肿瘤作用，从而得到更高效的抗癌治疗方法。



研究人员通过模仿P53肽并进行更深入的化学优化得到化合物RG7112，MI-77301等。

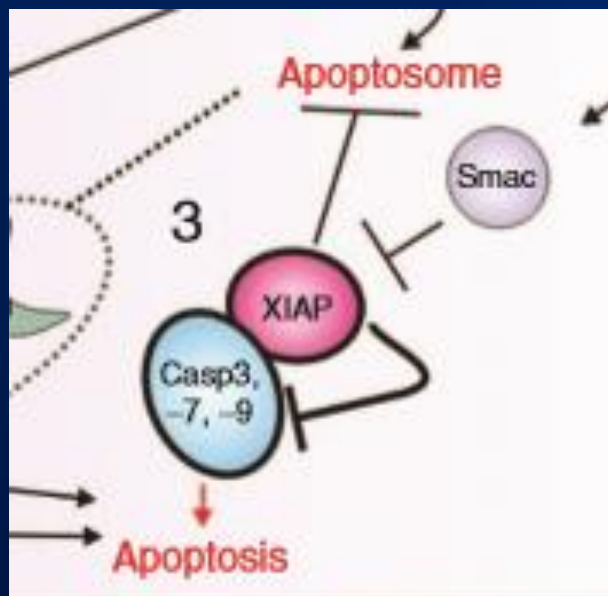
例如：RG7112的临床试验对那些带有MDM2扩增脂肪肉瘤患者的治疗结果，明显存在P53再活化和细胞生长抑制。不幸的是，长期用药与血液系统细胞毒性相关，包括嗜中性白血球减少症和血小板减少症。该公司还合成了药理性质更优的化合物RG7388，目前，RG7388已准备进入第二期临床试验。

Bcl2家族



淋巴瘤B细胞（Bcl2）家族的蛋白有20多个成员。一些抑制凋亡，如Bcl2,Bcl-XL等，而另一些则促进凋亡，如Bax, Bak1等。家族成员能够通过PPIs来调节凋亡途径。抑制凋亡的成员通过抑制促进凋亡成员的活性来防止细胞凋亡。在一些癌症类型中，抑制凋亡的成员是过表达的。

The caspase 9, XIAP/BIR3, SMAC system



The caspase 9

内在调控的的细胞凋亡蛋白酶。caspase-9(半胱天冬酶9)是酶中最原始的一种酶，它能够使caspase-3和caspase-7断裂或者激活。

XIAP

细胞凋亡抑制剂（IAPs）在肿瘤细胞中是过表达的或是出于激活状态，导致细胞不能凋亡。The XIAPs是IAPs家族中最有效的抑制剂。XIAP包括三个BIR域和一个环状域。XIAP通过结合BIR3域与caspase 9发生相互作用，通过结合BIR1/2域与caspase-3和caspase-7相互作用。BIR3通过抑制催化反应中的二聚作用来抑制caspase 9。

SMAC

当细胞受到凋亡刺激时，线粒体释放Smac蛋白到细胞质中，后者与IAPs结合，使其丧失抑制蛋白质酶活性的作用，从而促进细胞凋亡。通过与SMAC N端出现的AVPI四肽的相互作用，对凋亡蛋白酶具有拮抗作用。

Bromodomains（布罗莫结构域）

有助于形成动态转录复合物的PPIs能够确定染色质的变化，如乙酰化作用，从而控制特定基因位点的转录速率。Bromodomains能够识别组蛋白上乙酰化的赖氨酸并调节转录复合物来激活基因。一个由保守天冬酰胺和五个水分子构成的hydrophobic pocket用来识别乙酰化的赖氨酸。BRD4已经被用作为一种抗癌的药剂，其他基于JQ1结构的BRD4抑制剂已经用于临床癌症的治疗。RVX-208主要针对于BRD3抑制剂，现在已经用于动脉硬化临床治疗的第二阶段。

在临床前阶段的肿瘤相关的PPI指标

PAC3是蛋白酶体构造中很重要的一种同源二聚体。TB1是通过互补试验即抑制PAC3的聚合作用来识别的，能够抑制癌细胞的生长。JBIR-22主要用于抑制PAC3的聚合作用，从而抑制功能蛋白酶体的组装。

Wnt1是小鼠乳腺癌的致癌基因。Wnt信号的干扰与扩散的速度和人类癌症中细胞凋亡的抑制有关，其通过提高 β -连环蛋白的转录活性来显示。一些涉及Wnt途径的PPIs已经用于限制癌症发展过程中的副作用。FRZ和DVL的相互作用是该途径的第一步。药物设计就是要观察与FRZ7受体的致癌基因以及在肿瘤细胞中过表达的DVL和FRZ7相关的Wnt信号。通过小分子FJ9来抑制FRZ和DVL的相互作用，可以诱导人类癌症细胞的凋亡，抑制活体小鼠体内肿瘤的生长。ICG-001能够诱导结肠细胞和小鼠异种移植的模型的细胞凋亡。

针对PPIs来打击病原体感染

大多数病毒通过利用宿主细胞的结构侵入细胞内，来完成组装和复制。病毒与宿主蛋白间的PPIs在宿主临床靶标的维护中是很重要的。IN是逆转录病毒（如人类免疫缺陷病毒）产生的一种酶，能够通过催化3'端和链转反应使其基因融入到被感染细胞的DNA中。人类蛋白质晶体上皮细胞衍生物的生长因子是细胞辅助因子，该辅助因子通过将蛋白质复合物结合到染色体上来促进病毒的整合，避免IN发生水解。LEDGINS不仅干扰蛋白质的相互作用，还会抑制IN的催化功能。最有效的LEDGF-IN抑制剂是tBPQA的衍生物，包括临床混合物BI224436，是通过基于结构的药物设计进行定义的。tBPQA在抑制病毒复制的整个周期，保证更好的临床发展。

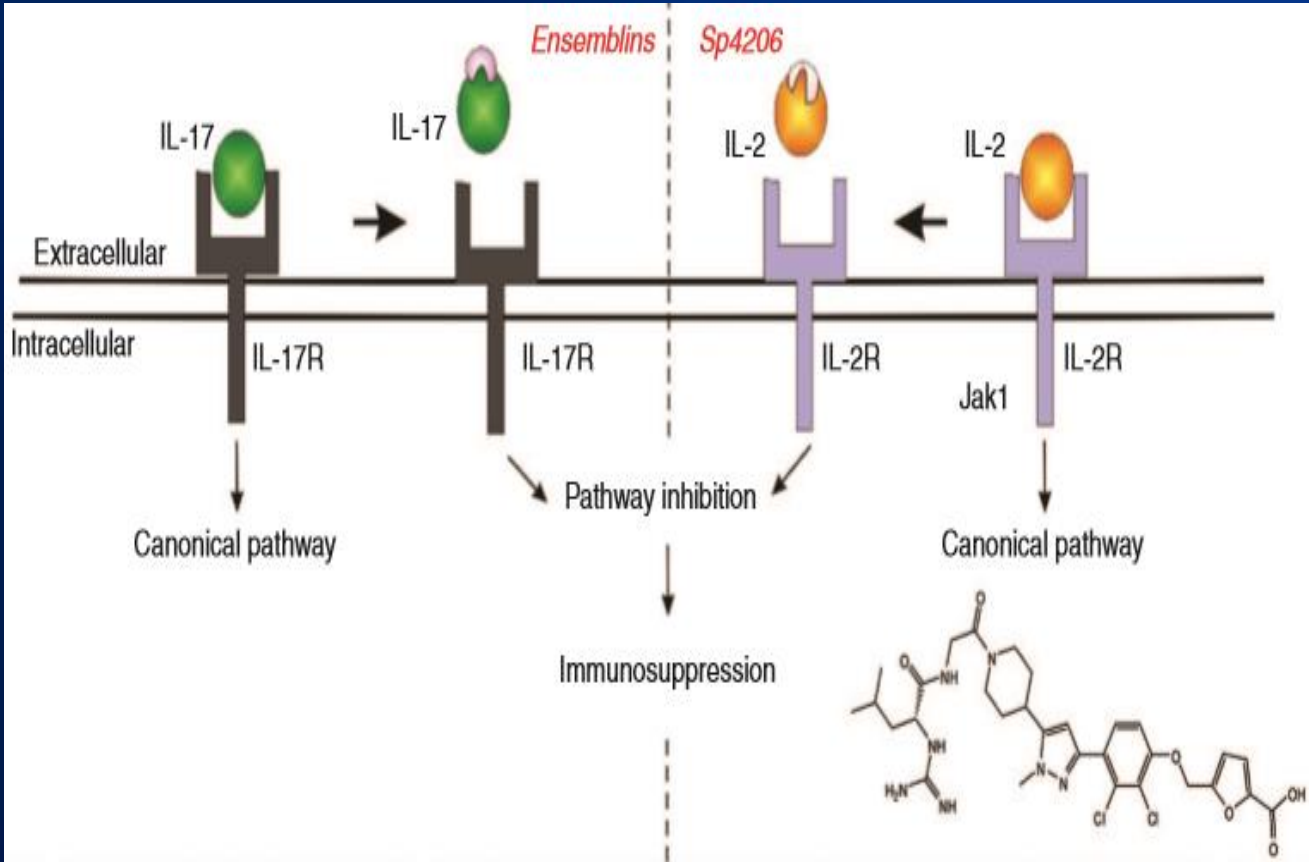
用于抑制人类刺瘤病毒复制的靶标是病毒蛋白质的PPI，而不是病毒与宿主蛋白间的PPI。人类刺瘤病毒11一旦引入宿主细胞中，需要E1解旋酶来与E2转录因子在特定DNA位点进行结合，BILH434能够干扰这个反应。

同样，涉及细菌感染的PPIs也已用作治疗的靶标。例如，FtsZ和ZipA相互作用来调节细胞分裂，且该PPI也得到了证实，可以作为一个靶标来限制感染。在活体中，带有indolo-quinolizin-7-one结构的复合物能够抑制该相互作用。此外，核磁共振筛选方法显示了一系列能够通过结合ZipA C端来抑制FtsZ/ZipA相互作用的方法。

参与神经疾病的PPIs

老年痴呆症患者大脑中血小板主要是由 $A\beta$,特别是 $A\beta_{40}$ 和 $A\beta_{42}$ 。 $A\beta$ 形成的主要因素是 β 分泌酶和 γ 分泌酶,它们是最基本的淀粉蛋白酶。 APP 的分裂是由 β 分泌酶调节的,生成两个产物,即 $sAPPb$ 和 $C99$ 。 $C99$ 直接作用于 γ 分泌酶,生成 $A\beta_{40}$ 和 $A\beta_{42}$,有利于推进老年痴呆症的发展。 γ 分泌酶和 $APPs$ 相互作用的抑制剂是老年痴呆症治疗的新方法。遵循不同的方法来设计 γ 分泌酶抑制剂,如转换类似物的状态等。小分子复合物 $LY450139$ 和 $Semagacestat$ 是 γ 分泌酶抑制剂,已在2005年用于临床试验。不幸的是,临床第三阶段的结果显示 $Semagacestat$ 与受损的淋巴细胞的分化和高风险的皮肤癌相关,所以现在不用了。

配体受体PPI调制



配位的受体的PPI抑制剂。小分子设计通过各自的受体，IL-17R和IL-2R抑制IL-17和IL-2的细胞因子信号。

1. 由于白介素-17 (IL-17) 是多种炎症疾病，如牛皮癣、类风湿性关节炎和克罗恩氏病等病理的有效促炎细胞因子，因此它和受体间的交互作用正在进一步调查，以找到抑制白介素的方法。

2. Ensemble公司公布了首创小分子IL-17拮抗剂的临床前口服疗效有利数据。相同地，核磁共振方法借助3mM的 IC_{50} 生成了Ro26-455，Ro26-455是IL-2的竞争性抑制剂，对受体IL-2Ra产生束缚作用。在基于片段的方法中，Ro26-4550进一步演化，生成更加有效、更具药性的IL-2/IL-2Ra抑制剂，从而导致SP4206的产生。

3. 然而，我们仍需对抑制剂功能进行进一步研究，从而对该分子干扰IL-2信号的重要性和有效性进行评估。

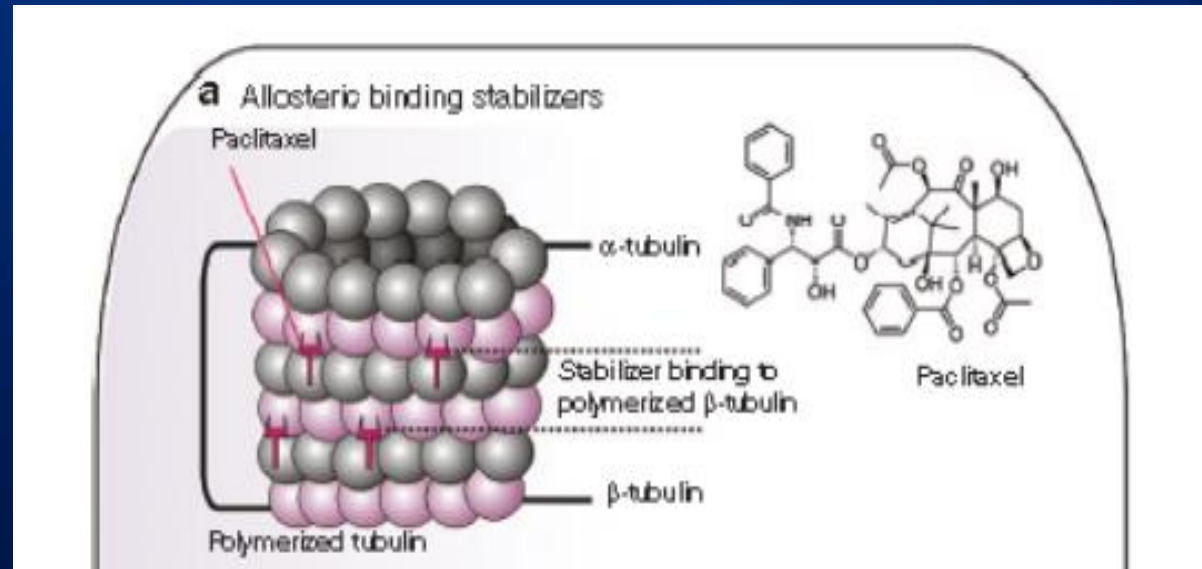


PPIs的“阳面”

PPIs的“阳”面——稳定有益PPIs。PPI控制的“另一面”就是它的稳定性。小分子PPI稳定剂通过两种截然不同的机制发挥作用。首先，变构稳定剂与复合物其中一个互作对象相互作用，增加作用蛋白的交互亲和力。然后，直接稳定剂可能与蛋白质络合物的交界表面相互作用，从而与参与作用的对象相互接触，同理，它也会增加亲和力。

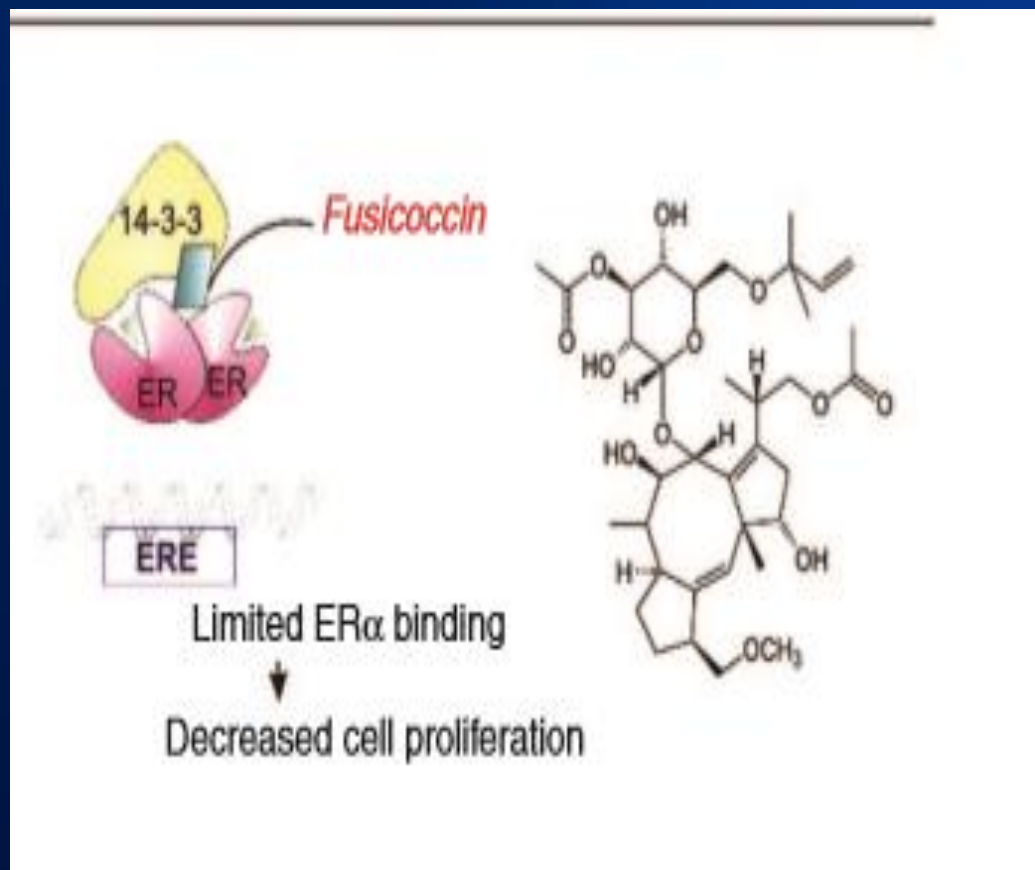
PPI稳定作为一种抗癌治疗法

◁ 紫杉醇



紫杉醇及这类的其他化合物（变构PPI安定剂）通过调节微管的聚合状态诱导细胞周期停滞。微管中包含了 α -和 β -微管蛋白以及位于 β -微管蛋白中疏水袋的结合了高亲和力的紫杉醇，因此，以变构的方式稳定了聚合微管结构。

◀ 14-3-3蛋白质



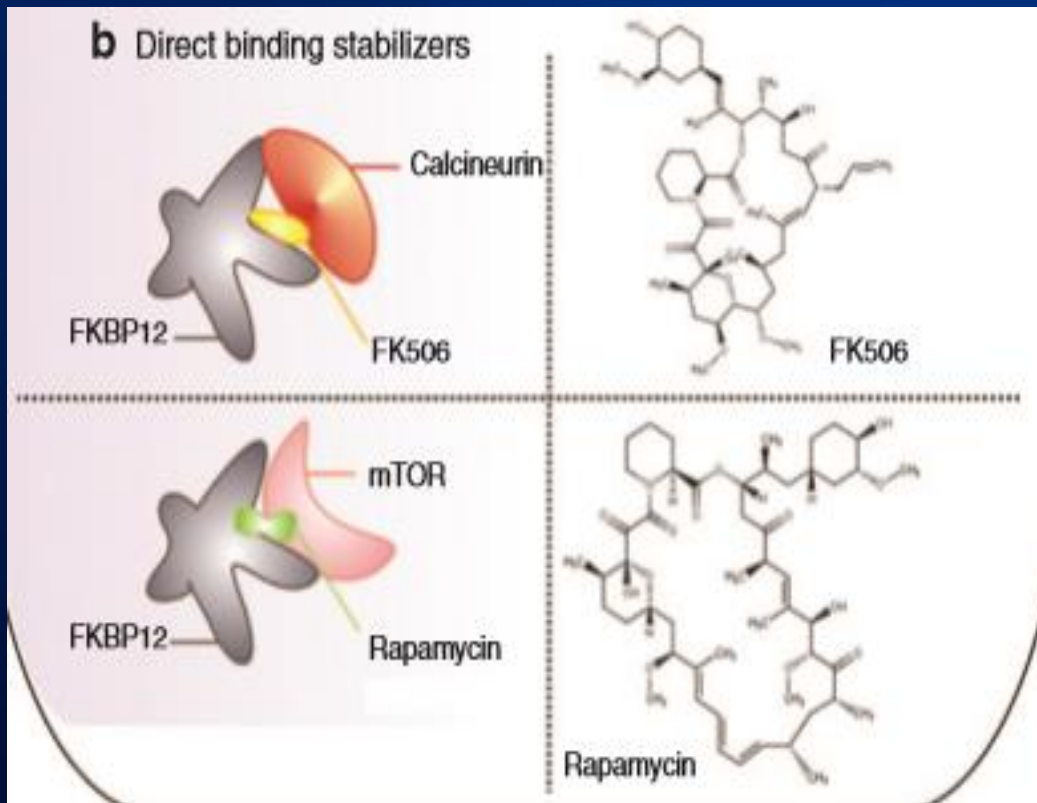
据报道14-3-3蛋白质参与了多种癌症，神经退行性疾病，或者人类致病菌的毒力。由于其通用的行动模式，通过稳定或抑制14-3-3 PPIs，这些蛋白质构成了一个药物干预的新目标类。

此外，据报道，结合14-3-3 β 的雌激素受体 α (ER α) 的稳定具有抗癌作用。壳梭孢菌素直接与14-3-3 σ /ER α 的接触面边缘结合，稳定这一相互作用。壳梭孢菌素治疗导致雌二醇介导的ER α 二聚化减少，限制了与染色质，下游基因激活结合的ER α ，降低了细胞增殖。

目前乳腺癌治疗基本建立在通过芳香化酶抑制剂或抗雌激素抑制ER α 转录效力的基础上。

PPIs稳定剂作为免疫抑制剂

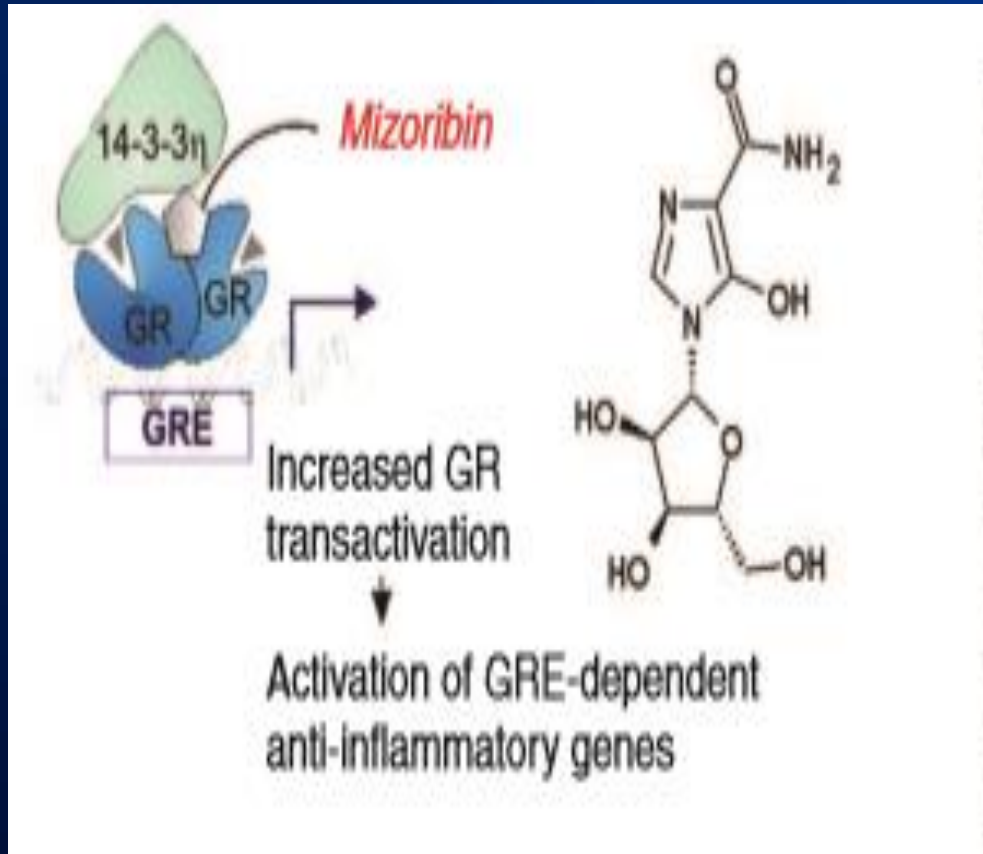
雷帕霉素和FK506



雷帕霉素和FK506这两种直接稳定分子是众所周知的临床上免疫抑制剂。其具有共同的行动机制。FK506和雷帕霉素分别稳定了FKBP12 /蛋白磷酸酶和FKBP12/雷帕霉素靶蛋白之间的相互作用。

在下一步中，FK506/FKBP12和雷帕霉素/FKBP12与钙调磷酸酶和雷帕霉素靶蛋白分别通过新形成的接触面结合。这导致了这些酶的催化活性被抑制。在不同的临床试验中，对雷帕霉素和FK506作为移植患者治疗的免疫抑制剂进行了研究。

◀ 咪唑立宾



咪唑立宾的可能机制是增强 14-3-3 η 与糖皮质激素受体的相互作用从而增强受体活性，然后增加免疫抑制。

咪唑立宾是具有免疫抑制的咪唑核苷。在日本，咪唑立宾已被批准用于狼疮性肾炎、类风湿性关节炎、肾移植术后与糖皮质激素组合的疗法中。



结论和前景

- 👁️ 在这篇综述中描述的抑制剂和稳定剂的案例清楚地表明了PPIs的药物开发潜力。特定PPIs靶向的新型小分子已进入临床试验，在某些案例中已经产生新的疗法或优化治疗。
- 👁️ 在这些使程序成功的技术中值得注意的是各种各样的发现方法。PPI药物发现报告的进展应至少部分归因于日益多样化的可用性，以及挖掘PPI靶点性质的体外和电脑筛选方法的互补组合，同时在复合侧需要符合靶点性质。
- 👁️ 除了小分子外，肽类也被证明为PPI的潜在工具。但是，尽管初步的体外数据令人兴奋，快速肾清除率，较差的代谢稳定性和生物降解性阻碍了肽作为治疗药物的使用。
- 👁️ 药物设计传统上主要面向具有明确的结合袋的靶点，如酶，核受体，离子通道。我们对PPIs，其接触面，以及干扰方式的日益了解开拓了新药开发的视野。解决PPI调节目前构成了一个热点研究的领域，作为潜在的新的治疗剂，大量的蛋白质复合物需要进行进一步研究。



感谢您的倾听

DESIGNED BY PENCIL