

环腺苷酸磷酸二酯酶 4 抑制剂靶向治疗 炎症性疾病研究新进展

宋顺德, 汤慧芳

浙江大学医学院浙江呼吸药物研究实验室, 浙江 杭州 310058

[摘 要] 环腺苷酸(cAMP)特异性磷酸二酯酶 4(PDE4)抑制剂是治疗炎症性疾病药物研究热点之一。PDE4 抑制剂可通过增加 cAMP 浓度,进而抑制多种炎症细胞的炎症反应。许多针对炎症的 PDE4 靶向抑制剂目前正处于各期临床试验,如 GSK256066 治疗哮喘,罗氟司特和 GSK256066 治疗慢性阻塞性肺病,替托司特治疗炎症肠病,apremilast 治疗皮肤病及关节炎等。本文就 PDE4 抑制剂靶向治疗炎症性疾病的研究新进展作一综述。

[关键词] 环 AMP; 磷酸二酯酶抑制剂/治疗应用;炎症/药物治疗;肺疾病,慢性阻塞性/药物治疗;哮喘/药物治疗;结肠炎,溃疡性;关节炎,类风湿;综述

[中图分类号] R96 **[文献标志码]** A

Progress in PDE4 targeted therapy for inflammatory diseases

SONG Shun-de, TANG Hui-fang (Zhejiang Respiratory Drugs Research Laboratory, Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou 310058, China)

Corresponding author: TANG Hui-fang, E-mail: tanghuifang@zju.edu.cn

[Abstract] cAMP – specific phosphodiesterase type 4 (PDE4) is one of the hot targets for treatment of inflammatory diseases. PDE4 inhibitors can suppress inflammation by increasing the concentration of cAMP in inflammatory cells. The efficacy and safety evaluations of several PDE4 inhibitors are currently carried on in clinical trials, for example GSK256066 in asthma, roflumilast and GSK256066 in chronic obstructive pulmonary disease, tetomilast in inflammatory bowel disease, and apremilast in dermatitis and arthritis etc. This article reviews the recent progress on PDE4 – targeted therapy for inflammatory diseases.

[Key words] Cyclic AMP; Phosphodiesterase inhibitors/therapeutic use; Inflammation/drug therapy; Pulmonary disease, chronic obstructive/drug therapy; Asthma/drug therapy; Colitis, ulcerative/ drug therapy; Arthritis, rheumatoid/drug therapy; Review

[J Zhejiang Univ(Medical Sci), 2014, 43(3): 353-358.]

收稿日期:2014-03-08 接受日期:2014-04-20

基金项目:国家自然科学基金项目(30800497, 81170536);浙江省医药卫生优秀青年科技人才专项科研基金(2008QN009)。

作者简介:宋顺德(1988-),硕士研究生,从事呼吸药理学研究;E-mail: songshunde@foxmail.com

通讯作者:汤慧芳(1973-),博士,副教授,从事抗炎免疫药理学研究;E-mail: tanghuifang@zju.edu.cn

环腺苷酸(3',5'-cyclic adenosine monophosphate, cAMP)和环鸟苷酸(3',5'-cyclic guanosine monophosphate)是细胞内重要的第二信使,而磷酸二酯酶(phosphodiesterases, PDEs)是降解前两者的唯一途径。目前已知cAMP在细胞许多生物学功能中具有重要作用,包括免疫和炎症反应、平滑肌舒张和细胞凋亡等^[1]。目前在哺乳动物的基因组中已鉴别出21个编码PDEs的基因。根据PDEs基因序列的相关性、调控的动力学模型、药理性质,PDEs可分成11个家族(PDE1~PDE11)^[1]。PDE4家族是其中维持cAMP稳态的重要调节者。已有许多研究证明PDE4抑制剂在体内外具有广泛的药理作用,包括抗炎和免疫调节作用、抗抑郁和增强认知功能等,尤其是在抑制炎症方面的功能受到广泛的关注。由于使用后患者出现恶心、呕吐和腹泻等不良反应,绝大部分PDE4抑制剂最后止步于临床试验阶段。近年来,发现PDE4B亚型选择性抑制剂可能保留更多有益的抗炎效果,且没有催吐这一副作用^[2]。另外,吸入剂型和皮肤外用剂型的出现,可能提高PDE4抑制剂在呼吸系统炎症性疾病和皮肤病中的疗效^[3]。目前已经有许多新型PDE4抑制剂在各种炎症模型和临床试验中表现出良好的疗效,本文就近年来PDE4抑制剂治疗炎症性疾病的研究进展进行综述。

1 PDE4 简介

PDE4广泛分布于哺乳动物的各种细胞和组织,这提示其具有多样的生物学功能。目前已知PDE4家族可分为4个亚类:PDE4A、4B、4C、4D,每个亚类都由不同的基因编码和染色体定位。由于每个基因的多剪接位点和多启动子,每个亚类有多个转录本^[1]。PDE4也是大多数免疫和炎症细胞内主要的cAMP-PDE同功酶,包括T细胞、B细胞、嗜酸性粒细胞、中性粒细胞、单核细胞和巨噬细胞^[2]。在这些免疫和炎症细胞中PDE4亚型主要以PDE4A、PDE4B、PDE4D为主,PDE4C表达很少。PDE4亚型基因敲除小鼠的研究结果提示PDE4B涉及脂多糖(LPS)介导的单核细胞和巨噬细胞合成TNF- α ^[4]及小鼠过敏性哮喘模型Th2细胞功能调控^[5],而PDE4D是呕吐不良反应的可能原因^[6]。各PDE4亚型在细胞内的表达水平因不同炎症刺激而呈现差异,如LPS可选择性

地诱导人类循环单核细胞的PDE4B2 mRNA表达。而吸烟诱导外周血单核细胞PDE4A4和PDE4B2高表达,且吸烟的慢性阻塞性肺病(chronic obstructive pulmonary diseases, COPD)患者的肺泡巨噬细胞内PDE4A4明显高表达。只有部分PDE4抑制剂能抑制LPS介导人肺泡巨噬细胞的TNF- α 释放。这可能是由于巨噬细胞中存在PDE3,而PDE3和PDE4的双重抑制剂可以完全抑制LPS的这种效应。中性粒细胞以PDE4B2为主,而嗜酸性粒细胞以PDE4A为主。PDE4抑制剂能够抑制中性粒细胞及嗜酸性粒细胞释放多种促炎介质及延缓细胞的凋亡^[3]。

2 GSK256066 治疗哮喘

已有大量的研究表明,口服和吸入PDE4抑制剂均能抑制过敏原介导的豚鼠、小鼠和大鼠肺嗜酸细胞增多,还能抑制小鼠过敏原介导的气道高反应性和用力肺活量(FVC)减少,抑制卵白蛋白介导的啮齿类模型中黏液产生和杯状细胞增生,抑制气道重塑等^[7]。前期虽有许多PDE4抑制剂进入临床试验,但均因安全性问题没能成功上市。GSK256066是目前第一个临床有效治疗哮喘的吸入型PDE4抑制剂。GSK256066对PDE4具有高度选择性,是PDE1、2、3、5、6的380 000倍以上,是PDE7的2500倍以上,与PDE4的A-D亚型具有相等的亲合力,对咯利普兰(rolipram)结合位点具有高度亲合力。GSK256066对PDE4B具有缓慢而紧密的结合能力[表观半数抑制浓度(IC₅₀)=3.2 pmol;稳态IC₅₀<0.5 pmol]比以往报道的任何化合物都要强大,比如罗氟司特(roflumilast, IC₅₀=390 pmol)、替托司特(tetomilast, IC₅₀=1.6 nmol)、西洛司特(cilomilast, IC₅₀=74 nmol)^[8]。GSK256066吸入能抑制卵白蛋白诱导的BN大鼠肺部嗜酸性粒细胞炎症[半数有效量(ED₅₀)=0.4 μ g/kg],作用优于糖皮质激素氟替卡松(ED₅₀=33 μ g/kg),且用雪貂检测无呕吐反应^[9]。II期临床试验中,GSK256066 87.5 μ g每天1次吸入7 d后进行抗原攻击,24 h后测定患者乙酰甲胆碱(methacholine)的反应性。结果表明,与安慰剂比较,GSK256066能显著抑制早期喘息反应,能抑制第1秒用力呼气量(FEV1)谷值和加权平均FEV1的下降,抑制率分别为40.9%($P=0.014$)

和 57.2% ($P=0.014$); 同时也能改善晚期喘息反应, 与安慰剂比较, 能改善 FEV1 谷值和加权平均 FEV1 的下降, 改善率分别为 26.2% ($P=0.007$) 和 34.3% ($P=0.005$); 且耐受性好, 吸入用药后 4 h, 大多数患者血浆中无法测到药物, 即全身暴露少^[10]。另一吸入型 PDE4 抑制剂 CHF-6001 也已在英国的 3 个临床试验中心完成临床 II 期安全性评估, 但结果尚未见报道^[11]。

3 罗氟司特、GSK256066 治疗 COPD

罗氟司特(roflumilast, 商品名 daliresp) 是近十多年来首个获美国食品与药品监督管理局及欧盟批准的新一类 COPD 治疗药物, 目前已在欧盟、美国、加拿大上市。该药服用量为口服 500 μg , 每天 1 次, 适用于治疗伴支气管炎的严重 COPD 患者的咳嗽及黏液过多症状, 但不适用于原发性肺气肿等其他类型 COPD。罗氟司特作为一类新药已经纳入 COPD 治疗的全球倡议指南^[12]。临床前在体研究表明, 罗氟司特能减轻 COPD 疾病的关键机制, 包括烟草烟雾诱导的肺部炎症、黏膜纤毛异常、肺纤维化和肺气肿重塑、氧化应激、肺血管重建和肺动脉高压。体外实验中, 罗氟司特的代谢物 N 氧化物能影响许多细胞, 如中性粒细胞、单核细胞/巨噬细胞、CD4⁺ 和 CD8⁺ T 细胞、内皮细胞、上皮细胞、平滑肌细胞和成纤维细胞。通过影响这些细胞, 罗氟司特能减少病情加重和改善肺功能^[13]。COPD 是多组分疾病, 需要药物具备广泛作用, 而这种作用可能由 PDE4 抑制来实现, 但罗氟司特不是直接支气管扩张剂。近期一项关于罗氟司特治疗 COPD 的安全性和有效性的系统分析纳入了 8 项临床试验 (8698 例), 结果显示, 与安慰剂相比, 罗氟司特显著减少中度至重度急性发作, 但不减少严重恶化和病死率。相对安慰剂组, 罗氟司特显著改善患者肺功能而不是生活质量。罗氟司特引起的不良事件和由于不良事件导致的治疗停药比安慰剂组更频繁。但在 COPD 的安全性数据库里 (12 054 例), 严重不良事件的总发生率两组间差异无统计学意义。然而, 与安慰剂比较, 采用罗氟司特者发生心房颤动 (0.4% 与 0.2%, $P=0.02$) 和自杀倾向 (0.08% 与 0) 更频繁^[14]。2013 年, 由中国大陆、中国香港和新加坡 12 个医学研究中心历时两年共同完成了罗氟司特对亚洲人群的安全性和有效性临床 III 期研究。结果表明罗氟司特能持续

改善支气管扩张剂使用前后 FEV1 和 FVC, 最常见的不良反应为腹泻 (6.0% 与 1.0%), 提示其能明显改善亚洲人群重症 COPD 患者的肺功能, 且耐受性较好^[15]。

GSK256066 的临床前体外和体内研究表明, GSK256066 能抑制 LPS 诱导人外周血单核细胞产生 TNF- α ($\text{IC}_{50}=0.01 \text{ nmol}$), 而罗氟司特、替托司特、西洛司特的 IC_{50} 值分别是 5、22、389 nmol ^[8]。GSK256066 气道给药能抑制 LPS 诱导的大鼠肺中性粒细胞炎症, ED_{50} 为 1.1 g/kg (混悬液) 和 2.9 g/kg (干粉), 比糖皮质激素氟替卡松混悬液作用更强大 ($\text{ED}_{50}=9.3 \text{ g/kg}$)^[9]。目前吸入性 PDE4B 抑制剂 GSK256066 也已通过针对中度 COPD 患者的临床 II 期安全性评估。该临床研究中, 与常规沙丁胺醇 (商品名舒喘灵) 治疗相比, GSK256066 在抗炎、改善肺功能方面相似, 但有更好的疗效趋势和较少的不良反应发生^[16]。这些提示 PDE4 应用于 COPD 还有待进一步研究。

4 替托司特治疗炎症性肠病

已有大量的研究证明, 在各种临床前动物模型上, PDE4 抑制剂能预防肠炎及逆转已发生的肠炎^[17]。三硝基苯磺酸和吡喹酮美辛介导的肠炎模拟了克罗恩病和溃疡性结肠炎——两种人类主要的炎症性肠病。PDE4 抑制剂除了对这些模型有明确的抗炎作用外, 还具有抑制组织重塑的作用。在三硝基苯磺酸诱导的大鼠大肠炎模型上, 咯利普兰 (rolipram) 可以防止肠道胶原蛋白沉积^[18]。而 PDE4 抑制剂替托司特 (tetomilast, OPC-6535) 不仅能抑制黏附分子形成和中性粒细胞破裂、氧自由基产生, 还能抑制 TNF- α 等促炎性细胞因子分泌和核因子 κB 活化^[19]。替托司特治疗活动性溃疡性结肠炎的 II 期临床结果显示: 与安慰剂组比较, 在严重疾病发生方面能显著改善^[20]。替托司特治疗中度溃疡性结肠炎的 III 期临床研究与 II 期临床研究比较, 治疗效果和安全性更明显; 与美沙拉嗪比较, 替托司特呈现更好的疗效趋势^[19]。

5 Apremilast 等治疗皮肤病

早在 1980 年, 有研究发现过敏性皮炎患者的白细胞中 PDEs 具有高活性, 导致白细胞高反应性和炎症^[21]。在小鼠皮炎模型上, 日本研究人员发现 PDE4 抑制剂西洛司特、咯利普兰等能

抑制皮炎组织中的髓过氧化物酶活性^[22]。在后续研究中,研究者发现 PDE4B 抑制剂 KF66490 能明显抑制皮炎小鼠耳朵厚度的增加,抑制 IL-4 和 IL-1 β 水平,抑制成纤维细胞和 CD3⁺T 细胞扩散,且与咯利普兰相比,KF66490 催吐副作用较轻^[23]。Apremilast(CC10004)对 PDE4 亚型的抑制效力中等,对 PDE4A4、PDE4B2、PDE4C2 和 PDE4D3 的 IC₅₀ 值分别是 20、49、50 和 30 nmol,而对其他 PDEs 酶活性、腺苷受体或激酶没有影响,提示 apremilast 是一个高选择性 PDE4 抑制剂^[21]。Apremilast 通过靶向抑制 PDE4 调控多种炎症通路。在人的细胞模型上,apremilast 能抑制炎症介质如 TNF- α 、IL-12、IL-2、IFN- γ 、IL-5、IL-8、LTB4 及黏附分子 CD18/CD11b (Mac-1) 等的产生^[24]。目前已完成 apremilast 治疗过敏性皮炎^[24]、贝赫切特综合征^[25]及银屑病^[26]的 II 期临床试验。Apremilast 按 20 mg 每天两次给药 3 个月能显著改善皮肤瘙痒和皮肤病患者生活质量指数(DLQI)。Apremilast 按 30 mg 每天两次给药 3 个月能显著降低患者 DLQI 和湿疹面积及严重程度指数(EASI);给药 6 个月,DLQI、视觉模拟评分、EASI 均明显下降,提示 apremilast 具有良好的治疗效果。以上临床试验的病例数较少,仍需进一步开展临床有效性和安全性评估。另外,外用 PDE4 抑制剂也能明显改善其不良反应,如 AN2728、AN2898、E6005 等目前已完成 II 期临床试验,可能进入 III 期临床试验。这些药物与非甾体类抗炎药疗效相当,但具更好的安全性和耐受性^[27]。

6 Apremilast 治疗关节炎

临床前研究表明,apremilast 能剂量依赖地降低小鼠类风湿关节炎模型的关节炎临床评分,维持关节正常结构。此外,apremilast 能剂量依赖地抑制培养的风湿关节炎患者滑膜细胞自发释放 TNF- α 。最重要的是,与第一代 PDE4 抑制剂咯利普兰相比,apremilast 对患者无明显行为影响^[28]。体外研究表明 apremilast 能抑制外周血单个核细胞产生趋化因子 CXCL9、CXCL10 及细胞因子 TNF- α 、IFN- γ 、IL-2、IL-12、IL-23 等,抑制自然杀伤细胞和角质细胞产生 TNF- α 。在体研究表明,apremilast 能显著降低上皮的厚度和增殖,降低银屑病特征性病理改变,降低损伤皮肤 TNF- α 、人白

细胞抗原 DR 和 ICAM-1 的表达^[23]。目前 apremilast 正在进行类风湿关节炎和银屑病关节炎的临床 II 期安全性和有效性研究^[26,29]。在银屑病和银屑病关节炎方面,3 个多中心双盲随机研究表明,apremilast 相对于安慰剂能减少 75% 以上患者的银屑病损伤面积和降低严重程度指数,且药物不良反应较少。这为 apremilast 治疗银屑病和银屑病关节炎临床 III 期试验提供了很好的数据支持^[26]。

7 展望

近年来针对炎症性疾病的 PDE4 靶向治疗取得了一定进展,比如第一个 PDE4 抑制剂罗氟司特终于上市。Apremilast 是目前临床试验中发展最前沿的 PDE4 抑制剂,可用于治疗多种自身免疫病,尤其是皮肤病和关节炎。美国新基医药(Celgene Cooperation)的数据显示,apremilast 可能成为第二个上市的 PDE4 抑制剂^[23]。为规避口服给药带来的问题,有些公司开始尝试局部用药,如吸入给药治疗呼吸系统疾病(在结构上增加一个亲脂基团以延长在肺内的贮留时间)、皮肤外用治疗过敏性皮炎、银屑病。此外,开发亚型选择性抑制剂、吸入型靶向 PDE4 反义寡核苷酸也是解决恶心、呕吐等副作用的手段^[7]。另外,单纯靶向 PDE4 可能不能完全解决气道炎症,因为肺组织里还存在许多其他 PDE 类型,因此靶向多个 PDEs 可能发挥理想的呼吸系统抗炎作用^[7]。近年来也出现了许多双向活性的混合型药物,如 PDE3/PDE4 抑制剂 RPL-554,双功能药物 GS-5759(作用与 PDE4 抑制剂罗氟司特+长效 β 2 受体激动剂 indacaterol 相当)^[7,27]。最近美国 deCODE 公司开拓了 PDE4D 的变构调节剂这一新领域,这些化合物与 PDE4D 催化位点的“谷氨酰胺开关”及 UCR2(cAMP 水解的负性调节物)交互作用,不完全抑制酶活性(最大抑制率为 80%~90%),在发挥药效同时减少致呕吐等副作用^[30]。虽然这项研究还处于初期,但前景相当诱人。综上所述,相信新型 PDE4 靶向药物将在不久的将来为慢性炎症性疾病患者带来福音。

参考文献:

- [1] CONTI M, BEAVO J. Biochemistry and physiology of cyclic nucleotide phosphodiesterases: essential components in cyclic nucleotide signaling[J]. *Annu*

- Rev Biochem**, 2007,76:481-511.
- [2] NAGANUMA K, OMURA A, MAEKAWARA N, et al. Discovery of selective PDE4B inhibitors [J]. **Bioorg Med Chem Lett**, 2009,19(12):3174-3176.
- [3] JIN S L, DING S L, LIN S C. Phosphodiesterase 4 and its inhibitors in inflammatory diseases[J]. **Chang Gung Med J**, 2012,35(3):197-210.
- [4] JIN S L, CONTI M. Induction of the cyclic nucleotide phosphodiesterase PDE4B is essential for LPS-activated TNF-alpha responses[J]. **Proc Natl Acad Sci USA**, 2002,99(11):7628-7633.
- [5] JIN S L, GOYA S, NAKAE S, et al. Phosphodiesterase 4B is essential for T (H) 2-cell function and development of airway hyperresponsiveness in allergic asthma[J]. **J Allergy Clin Immunol**, 2010,126(6):1252-1259.
- [6] ROBICHAUD A, STAMATIOU P B, JIN S L, et al. Deletion of phosphodiesterase 4D in mice shortens alpha (2)-adrenoceptor-mediated anesthesia, a behavioral correlate of emesis [J]. **J Clin Invest**, 2002,110(7):1045-1052.
- [7] PAGE C P, SPINA D. Phosphodiesterase inhibitors in the treatment of inflammatory diseases [J]. **Handb Exp Pharmacol**, 2011,(204):391-414.
- [8] TRALAU-STEWART C J, WILLIAMSON R A, NIALS A T, et al. GSK256066, an exceptionally high-affinity and selective inhibitor of phosphodiesterase 4 suitable for administration by inhalation: in vitro, kinetic, and in vivo characterization[J]. **J Pharmacol Exp Ther**, 2011,337(1):145-154.
- [9] NIALS A T, TRALAU-STEWART C J, GASCOIGNE M H, et al. In vivo characterization of GSK256066, a high-affinity inhaled phosphodiesterase 4 inhibitor[J]. **J Pharmacol Exp Ther**, 2011,337(1):137-144.
- [10] SINGH D, PETAVY F, MACDONALD A J, et al. The inhaled phosphodiesterase 4 inhibitor GSK256066 reduces allergen challenge responses in asthma[J]. **Respir Res**, 2010,11:26.
- [11] CHIESI FARMACEUTICI S. P. A. A study to evaluate the efficacy after allergen challenge, safety and tolerability of inhaled CHF6001 DPI in asthmatics (CHF6001_POC2) [DB/OL]. (2014-3-6). <http://clinicaltrials.gov/show/NCT01689571>.
- [12] GLOBAL INITIATIVE FOR CHRONIC OBSTRUCTIVE LUNG DISEASE. Global strategy for the diagnosis, management and prevention of chronic obstructive pulmonary disease (updated 2010) [Z]. National Heart, Lung and Blood Institute, Bethesda: 2010.
- [13] HATZELMANN A, MORCILLO E J, LUNGARELLA G, et al. The preclinical pharmacology of roflumilast - a selective, oral phosphodiesterase 4 inhibitor in development for chronic obstructive pulmonary disease[J]. **Pulm Pharmacol Ther**, 2010,23(4):235-256.
- [14] OBA Y, LONE N A. Efficacy and safety of roflumilast in patients with chronic obstructive pulmonary disease: a systematic review and meta-analysis[J]. **Ther Adv Respir Dis**, 2013,7(1):13-24.
- [15] ZHENG J, YANG J, ZHOU X, et al. Roflumilast for the treatment of COPD in an Asian population: a randomized, double-blind, parallel-group study[J]. **Chest**, 2014,145(1):44-52.
- [16] WATZ H, MISTRY S J, LAZAAR A L. Safety and tolerability of the inhaled phosphodiesterase 4 inhibitor GSK256066 in moderate COPD[J]. **Pulm Pharmacol Ther**, 2013,26(5):588-595.
- [17] PRESS N J, BANNER K H. PDE4 inhibitors-a review of the current field[J]. **Prog Med Chem**, 2009,47:37-74.
- [18] VIDEA S, VILASECA J, MEDINA C. Selective inhibition of phosphodiesterase-4 ameliorates chronic colitis and prevents intestinal fibrosis [J]. **J Pharmacol Exp Ther**, 2006,316(2):940-945.
- [19] KESHAVARZIAN A, MUTLU E, GUZMAN J P. Phosphodiesterase 4 inhibitors and inflammatory bowel disease: emerging therapies in inflammatory bowel disease [J]. **Expert Opin Invest Drugs**, 2007,16(9):1489-1506.
- [20] SCHREIBER S, KESHAVARZIAN A, ISAACS K L, et al. A randomized, placebo-controlled, phase II study of tetomilast in active ulcerative colitis [J]. **Gastroenterology**, 2007,132(1):76-86.
- [21] SCHAFER P H, PARTON A, GANDHI A K, et al. Apremilast, a cAMP phosphodiesterase-4 inhibitor, demonstrates anti-inflammatory activity in vitro and in a model of psoriasis[J]. **Br J Pharmacol**, 2010,159(4):842-855.
- [22] HARADA D, IKEDA Y, NOSAKA Y, et al. Curative effects of phosphodiesterase 4 inhibitors cilomilast, roflumilast, and rolipram in dermatitis mouse model [J]. **J Dermatol Sci**, 2008,51(3):215-219.
- [23] HARADA D, TAKADA C, NOSAKA Y, et al. Effect of orally administered KF66490, a phosphodiesterase 4 inhibitor, on dermatitis in mouse models [J]. **Int Immunopharmacol**, 2009,9(1):55-62.
- [24] SAMRAO A, BERRY T M, GORESHI R, et al. A pilot study of an oral phosphodiesterase inhibitor

- (apremilast) for atopic dermatitis in adults [J]. **Arch Dermatol**, 2012,148(8):890-897.
- [25] CELGENE CORPORATION. A study to evaluate the efficacy and safety of apremilast (CC-10004) in the treatment of behçet disease [DB/OL]. (2014-3-6). <http://clinicaltrials.gov/show/NCT00866359>.
- [26] PALFREEMAN A C, MCNAMEE K E, MCCANN F E. New developments in the management of psoriasis and psoriatic arthritis: a focus on apremilast [J]. **Drug Des Devel Ther**, 2013,7:201-210.
- [27] CAVALDÀ A, ROBERTS R S. Phosphodiesterase-4 inhibitors: a review of current developments (2010-2012) [J]. **Expert Opin Ther Pat**, 2013,23(8):997-1016.
- [28] MCCANN F E, PALFREEMAN A C, ANDREWS M, et al. Apremilast, a novel PDE4 inhibitor, inhibits spontaneous production of tumour necrosis factor-alpha from human rheumatoid synovial cells and ameliorates experimental arthritis [J]. **Arthritis Res Ther**, 2010,12(3):R107.
- [29] BAYLOR RESEARCH INSTITUTE. The controlled trial of apremilast for rheumatoid arthritis treatment [DB/OL]. (2014-3-6). <http://clinicaltrials.gov/show/NCT01250548>.
- [30] BURGİN A B, MAGNUSSON O T, SINGH J, et al. Design of phosphodiesterase 4D (PDE4D) allosteric modulators for enhancing cognition with improved safety [J]. **Nat Biotechnol**, 2010,28(1):63-72.
- [本文编辑 沈 敏 蒋婉洁]

· 学术动态 ·

《自然:医学》报道检测循环肿瘤 DNA 的超灵敏新方法:CAPP-Seq 法

循环肿瘤 DNA(ctDNA)是一种无细胞状态的胞外 DNA,存在于外周血、滑膜液、脑脊液等体液中,亦称血浆 DNA 或血清 DNA,由单链 DNA 或双链 DNA 以及单双链 DNA 混合组成,以 DNA 蛋白质复合物或游离 DNA 两种形式存在。正常人循环血中少量游离 DNA 主要来源于细胞核 DNA 和线粒体 DNA,常小于 10 ng/ml。而肿瘤患者循环 DNA 主要来自肿瘤细胞,其血浆 DNA 浓度平均可达 180 ng/ml。目前,循环 DNA 量和性质的改变与肿瘤相关分析是目前的一个研究热点,尤其对于实体瘤来说,检测 ctDNA 具有无创、可重复监测的优点,且大量一期和二期临床研究数据已证明 ctDNA 在临床肿瘤的早期诊断、疗效观察、预后评估及转移风险分析等具有巨大的应用价值。但由于缺乏高灵敏和高特异检测方法,限制了其在临床的应用。

最近来自 Stanford 大学的研究者们研究出一种经济的且具有高敏感性的定量检测 ctDNA 方法——肿瘤个体化分析深度测序法(cancer personalized profiling by deep sequencing,CAPP-Seq 法)。研究者以非小细胞肺癌(NSCLC)为例向我们展示了 CAPP-Seq 法的科学性及优越性。CAPP-Seq 法就是在肿瘤基因突变数据库(COSMIC)来源寻找复发突变相关的外显子,再从肿瘤基因图谱库的 407 位 NSCLC 患者全基因组测序结果筛选。由于部分 NSCLC 有 ALK、ROS1、RET 相关的重排,也将这些基因中复发突变的外显子或内含子包含在内。最后应用一种最大化迭代算法设计出 NSCLC ctDNA 的“筛选器”(selector),其能识别 139 个复发突变基因中的 521 个外显子及 12 个内含子,长度约为 125 kb,平均能够识别 4 个单核苷酸突变,经过方法优化并以新一代测序法(NGS)测序后,在 96% 的 NSCLC 患者中有效,得到满意的检测效果。研究者在不同时期的 NSCLC 患者中对 CAPP-Seq 的可行性进行了验证,发现 I 期 NSCLC 患者的诊断敏感性为 50%,II~IV 期 NSCLC 患者的诊断敏感性达 100%,而且各期肺癌患者的诊断特异性均在 96% 以上。即使 ctDNA 比例低至 0.02% 时也能检测到。用 CAPP-Seq 测定的 ctDNA 水平与肿瘤体积(用 CT 和 PET 评估测定)之间存在显著相关性($P=0.0002$, $R^2=0.89$)。相关论文“An ultrasensitive method for quantitating circulating tumor DNA with broad patient coverage”见 <http://www.nature.com/nm/journal/v20/n5/full/nm.3519.html>。

未来通过 CAPP-Seq 技术,临床医生有望快速、非侵袭性地诊断并监测实体肿瘤,筛查健康和高危患者,观察患者的治疗反应以及肿瘤随时间推移发生的演变。

(尤良顺 钱文斌)