

靶向PD-L1相关抑制剂以及降解剂的研究进展



肖 瑶, 祝亚文

武汉科技大学附属武昌医院药学部 (武汉 430063)

【摘要】 肿瘤免疫疗法正在彻底改变癌症的治疗方式, 其提高了多种癌症患者的总生存期和无进展生存期。免疫检查点抑制剂通过阻断程序性死亡受体 1 (PD-1) 和程序性死亡受体配体 1 (PD-L1) 的相互结合, 重新激活细胞毒性 T 细胞 (CTL) 的抗癌活性, 发挥免疫抗肿瘤作用。然而, PD-1/PD-L1 单抗临床有效率为 10%~30%, 同时会产生严重的治疗相关不良反应, 如免疫性心肌炎。小分子化合物在药动学方面具有诸多优势, 如口服生物利用度好、对相关组织和肿瘤细胞渗透率高、半衰期合理等。目前, 小分子肿瘤免疫药物的研发已成为癌症免疫治疗领域的热门方向。本文将总结近 5 年肿瘤免疫治疗小分子调节剂的最新进展, 包括 PD-L1 小分子抑制剂、基于蛋白水解靶向嵌合体和溶酶体靶向嵌合技术的 PD-L1 降解剂, 并讨论 PD-L1 小分子调节剂的未来发展方向, 为肿瘤免疫治疗提供新的理论参考。

【关键词】 免疫治疗; 降解剂; 小分子抑制剂; 程序性死亡受体 1/ 程序性死亡受体配体 1; 蛋白水解靶向嵌合体; 溶酶体靶向嵌合体

【中图分类号】 R979.5 **【文献标识码】** A

Research progress in targeted PD-L1 related inhibitors and degraders

XIAO Yao, ZHU Yawen

Department of Pharmacy, Wuchang Hospital Affiliated to Wuhan University of Science and Technology, Wuhan 430063, China

Corresponding author: ZHU Yawen, Email: Zhuyawenhb@163.com

【Abstract】 Tumor immunotherapy is revolutionizing the treatment approach for cancer, and has significantly improved overall survival and progression-free survival in various types of cancer patients. The mechanism of action for immune checkpoint inhibitors involves blocking the interaction between programmed death-1 (PD-1) and programmed death-ligand 1 (PD-L1), thereby reactivating the anti-cancer activity of cytotoxic T cells and exerting an immune-mediated anti-cancer effect. However, the PD-1/PD-L1 monoclonal antibody has a clinical efficacy rate of only about 10%-30%, and can also cause severe treatment-related adverse reactions such as immune myocarditis. Small molecule compounds have several advantages in terms of pharmacokinetics, such as better oral bioavailability, higher penetration into relevant tissues and tumor cells, and reasonable half-life. Currently, the development of small-molecule tumor immunotherapeutic drugs has become a highly active research field in cancer

DOI: [10.12173/j.issn.2097-4922.202405038](https://doi.org/10.12173/j.issn.2097-4922.202405038)

基金项目: 武汉市自然科学基金探索计划 (晨光计划) 项目 (2024040801020386)

通信作者: 祝亚文, 主任药师, Email: Zhuyawenhb@163.com

immunotherapy. This article aims to summarize the recent advancements in small molecule research for tumor immunotherapy over the past five years, including PD-L1 small molecule inhibitors, PD-L1 degraders based on proteolysis-targeting chimeras, and lysosome-targeting chimeras technologies, and discuss the future directions for the development of small molecule inhibitors, providing new theoretical references for tumor immunotherapy.

【Keywords】 Immunotherapy; Degraders; Small molecule inhibitors; Programmed death-1/programmed ligand death-1; Proteolysis-targeting chimeras; Lysosome-targeting chimeras technologies

近年来, 肿瘤治疗领域的研究重点已逐渐转向分子靶向药物, 这类药物通过选择性抑制异常信号通路或过度表达的受体蛋白等环节, 从分子水平上阻断肿瘤细胞的生长^[1-2]。然而, 分子靶向治疗也存在一些局限性, 其只对某些特定基因突变的患者有效, 并且易产生耐药性^[3]。分子靶向药物间变性淋巴瘤激酶 (anaplastic lymphoma kinase, ALK) 抑制剂塞瑞替尼仅对所有非小细胞肺癌中 3%~7% 的 ALK 基因重排阳性患者有效^[4]。分子靶向药物人表皮生长因子受体 -2 (human epidermal growth factor receptor 2, HER2) 抑制剂拉帕替尼仅对所有乳腺癌患者中约 15%~20% 的 HER2 阳性患者有效。中国癌症发病率的快速增加导致其对抗癌药物的需求也会随之大幅增长^[5]。与此同时, 免疫检查点抗体疗法成为了另一种备受关注的抗癌治疗手段。肿瘤免疫治疗通过增强肿瘤微环境中细胞毒性 T 细胞的抗癌活性, 进一步增强机体对癌细胞的免疫应答和杀灭能力^[6-7]。在免疫治疗领域中, 程序性死亡受体 1 (programmed death 1, PD-1) / 程序性死亡受体配体 1 (programmed death-ligand 1, PD-L1) 抗体是取得最快进展的药物之一, 其中纳武利尤单抗注射液 (通用名: 欧狄沃) 和帕博利珠单抗注射液 (商品名: 可瑞达) 在黑色素瘤和非小细胞肺癌方面显示出良好的治疗效果^[8]。尽管化学治疗和分子靶向治疗仍然是主要手段, 但在过去十年中, 肿瘤免疫疗法发挥了重要作用, 并展示出巨大的潜力^[9]。肿瘤免疫疗法利用人体免疫系统来消灭癌细胞, 是目前最具前景的治疗方向之一^[10]。

目前, 癌症免疫治疗主要使用大分子生物抗体作为药物。然而, 大分子抗体药物存在明显的缺点: 首先, 其对相关组织和肿瘤细胞的穿透性较差, 代谢半衰期长且基本只能通过注射给药, 口服生物利用度低^[11-12]; 其次, 抗体药物具有免疫原性, 因

此会导致严重的不良反应, 如免疫因子风暴综合征和致死性心肌炎^[13]; 此外, 抗体药物的制造和纯化过程非常复杂, 导致生产成本较高^[14]。相比之下, 小分子化合物在药动力学方面具有许多优势, 例如小分子化合物一般可以通过口服方式给药, 具有较好的口服生物利用度, 并能更好地渗透相关组织和肿瘤细胞, 在体内的半衰期也更合理。目前, 许多小分子药物针对这些肿瘤免疫靶点已经进入临床研究阶段^[15], 热门的癌症免疫治疗靶点包括 PD-1/PD-L1、干扰刺激因子 (stimulator of interferon genes, STING)、吡嗪胺 2,3-双加氧酶 (indoleamine 2,3-dioxygenase, IDO) / 色氨酸 2,3-双加氧酶 (trp 2,3-dioxygenase, TDO) 等。

除了小分子免疫抑制剂之外, 靶向蛋白质降解 (targeted protein degradation, TPD) 提供了一种新颖的治疗策略, 其通过消除功能异常的蛋白质, 可以从源头上消除致病蛋白。蛋白水解靶向嵌合体 (proteolysis-targeting chimeras, PROTACs) 和溶酶体靶向嵌合体 (lysosome-targeting chimeras, LYTACs) 作为新兴的制药技术, 利用细胞降解机制选择性地降解致病蛋白, 引起了学术界和工业界的极大关注。与传统治疗性小分子药物相比, 其具有许多优势^[16], 例如能够克服靶点突变导致的药物耐药问题^[17], 并且可以针对不可成药靶点^[18]。PROTACs 分子主要降解细胞内的靶蛋白, 而 LYTACs 分子可降解细胞外靶点如细胞因子和膜蛋白 (图 1)^[19-21]。这两种技术相互补充, 在推动靶向蛋白质降解技术发展方面起到了巨大作用。目前除了小分子 PD-L1 抑制剂外, 还有许多基于蛋白质降解技术的 PD-L1 降解剂分子^[19]的报道。本文将总结近 5 年肿瘤免疫治疗小分子研究的进展, 包括 PD-L1 小分子抑制剂以及基于 PROTACs 和 LYTACs 技术的 PD-L1 降解剂, 并探讨未来小分子抑制剂的发展方向, 旨在为肿瘤免疫治疗提供参考。

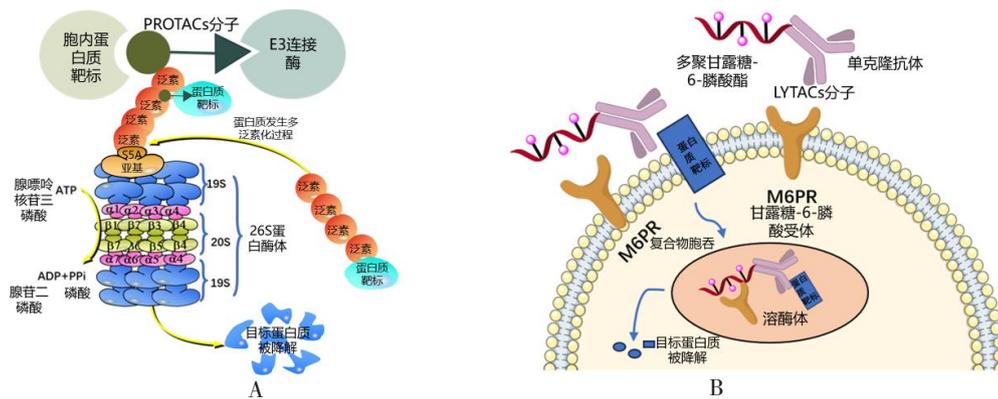


图1 PROTACs降解技术^[18]和LYTACs降解技术^[22]的作用机制

Figure 1. The mechanism of PROTACs degradation technology^[18] and LYTACs degradation technology^[22]

注：A. PROTACs降解技术的作用原理图；B. LYTACs降解技术的作用机制图。

1 PD-1/PD-L1小分子抑制剂国内外研究现状

PD-1 是一种重要的免疫抑制分子，对于抑制与肿瘤、病毒感染等相关的抗原特异性 T 细胞应答起着关键作用。多项研究表明，许多肿瘤组织如黑色素瘤、霍奇金淋巴瘤、肺癌、肝癌和结肠癌都存在过表达 PD-L1。当肿瘤表面的 PD-L1 与 T 细胞表面的 PD-1 结合时，会抑制免疫效应 T 细胞的活性，导致癌细胞免疫逃逸。在具体机制上，当免疫 T 细胞表面的 PD-1 识别到癌细胞表面的 PD-L1 后，患者的 T 细胞效应功能下调，从而抑制了抗肿瘤免疫应答，导致 T 细胞衰竭。PD-1/PD-L1 抑制剂可阻断 PD-1 和 PD-L1 之间的结合，增强体内免疫 T 细胞对肿瘤细胞的识别能力，并达到杀灭肿瘤的作用^[22]。

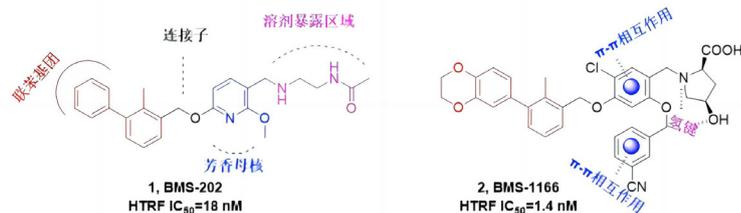
近年来，国内外对于靶向 PD-1/PD-L1 结合位点的新型小分子化合物进行了大量研究，这些小分子目前正处于不同的临床前或临床发展阶段（图 2）。国外方面，美国 Bristol-Myers Squibb (BMS) 公司的研究人员首次发现了一类联苯类小分子抑制剂，该类化合物具有较高的抑制 PD-1/PD-L1 结合的生物活性，部分化合物的体外抑制活性小于 100 nmol/L。其中化合物 1 的半抑制浓度（half maximal inhibitory concentration, IC_{50} ）达到了 22 nmol/L^[23]。随后，研究人员通过在联苯环末端引入 1,4- 苯并二恶烷，并在中间苯环上引入间氰基苯醇结构，获得了更强活性的小分子抑制剂。代表性化合物 2 的 IC_{50} 为 1.4 nmol/L^[24]。此外，在化合

物 1 和化合物 2 结构基础上，研究人员还合成了一系列呈“中心对称”的化合物，如化合物 3 ($IC_{50}=3.0$ nmol/L) 和化合物 4 ($IC_{50}=0.4$ nmol/L)，这些化合物均显示出较强的抑制 PD-1/PD-L1 结合的生物活性^[25]。

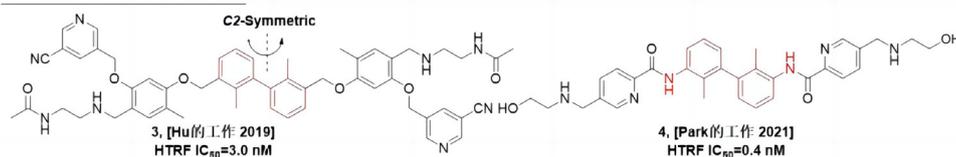
国内方面，科研机构开发了许多全新骨架结构的 PD-L1 抑制剂，如沈阳药科大学团队开发的化合物 5 ($IC_{50}=132.8$ nmol/L)，以及化合物 6 ($IC_{50}=32.3$ nmol/L)^[26]。中国医学科学院药物研究所也发现了全新的 PD-L1 抑制剂，如化合物 7 ($IC_{50}=9.6$ nmol/L)^[27]。此外，中国药科大学以及南方医科大学科研人员也发现了一系列高活性的 PD-L1 抑制剂，代表性化合物 8 ($IC_{50}=3.8$ nmol/L)，化合物 9 ($IC_{50}=1.4$ μ mol/L)、化合物 10 ($IC_{50}=1.8$ nmol/L)、化合物 11 ($IC_{50}=12.5$ nmol/L)、化合物 12 ($IC_{50}=9.1$ nmol/L) 和化合物 13 ($IC_{50}=9.1$ nmol/L)，这些化合物不仅具有良好的 PD-L1 抑制活性，在小鼠荷瘤模型中也展现出很好的抗肿瘤药效^[28-29]。除此之外，国内科研人员通过高通量筛选，获得了许多全新母核的 PD-L1 抑制剂，如化合物 14、化合物 15 和化合物 16，这些化合物来源于天然产物中，具有一定的 PD-L1 抑制活性^[30]。

临床研究方面，CA-170 作为首个进入临床研究肿瘤免疫小分子抑制剂，受到广泛关注。CA-170 是一种选择性作用于 PD-L1 和 T 细胞活化的 V 结构域 Ig 抑制因子 (V-domain ig suppressor of T-cell activation, VISTA) 的小分子抑制剂，这两个靶点都具有调节免疫系统功能的能力。临床前研究表明，CA-170 具有很高的口服生物利用度，

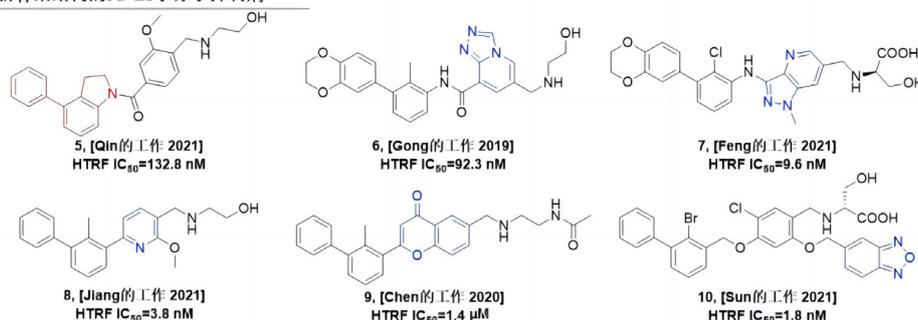
●BMS 公司报道的PD-L1小分子抑制剂



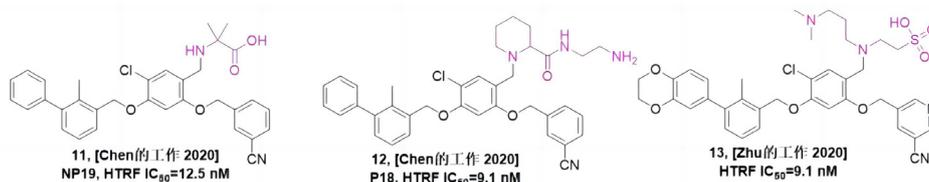
●C2对称的PD-L1小分子抑制剂



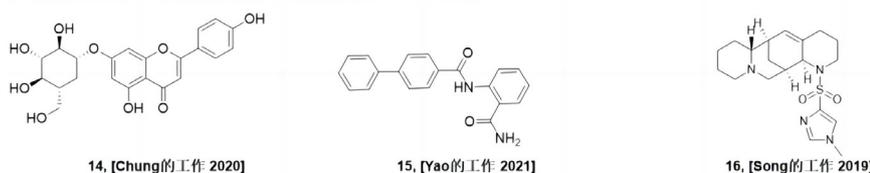
●新骨架结构的PD-L1小分子抑制剂



●对PD-L1靶点溶剂暴露区域优化获得的PD-L1小分子抑制剂



●通过高通量筛选获得的全新结构PD-L1小分子抑制剂



●处于临床研究的PD-L1小分子抑制剂

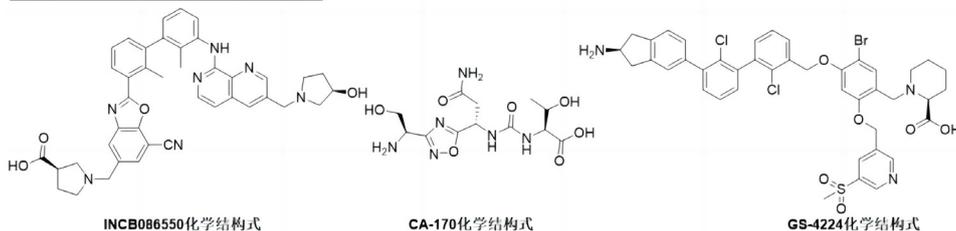


图2 代表性的小分子PD-1/PD-L1抑制剂^[23]

Figure 2. Structures of representative small molecule PD-L1 inhibitors^[23]

在 50~800 mg 剂量范围内未相关报道其毒性有剂量限制。目前，CA-170 正在进行 2 期临床研究，应用于淋巴瘤和晚期实体肿瘤的治疗（临床试验登记号：NCT02812875）。在 2 期临床试验中，CA-170 在非小细胞肺癌和霍奇金淋巴瘤治疗方面取得了重大突破，整体临床获益率均超过

70%。临床试验结果表明，CA-170(400 mg 剂量组)的临床获益率可与 PD-1/PD-L1 抗体相当，除了 CA-170，包括 Incyte 公司研发的 INCB086550（临床试验登记号：NCT03762447），以及吉利德公司开发的 GS-4224 也处在 I 期临床研究中（临床试验登记号：NCT04049617）^[31]。

除了上述联苯类小分子 PD-L1 抑制剂外, 最新文献报道了许多非联苯结构的小分子化合物, 这些化合物也可以有效降低 PD-L1 的表达, 给靶向 PD-1/PD-L1 通路提供了一种新策略^[32-33]。例如, 化合物 10058-F4, 是一种有效的小分子 c-Myc 抑制剂, 能够有效降低癌细胞中 PD-L1 的表达^[34]。另有文献报道, c-Myc 和 PD-L1 水平之间存在明显的相关性, 在食管鳞癌细胞中通过抑制 c-Myc、缺失和过表达来调控 PD-L1 的表达^[35]。还有研究发现, 一种名为瑞帕利辛的新型 CXC 趋化因子受体 2 小分子调节剂被证实也可以有效降低 PD-L1 的

表达, 并增强肿瘤免疫治疗效果^[36]。研究发现选择性 Sigma1 抑制剂化合物 IPAG 可诱导癌细胞中异常 PD-L1 的自噬降解^[37]。此外, 两种新的酰胺类化合物—TPFS 化合物 (TPFS201 和 TPFS202), 被发现可以下调 PD-L1 的 mRNA 和蛋白水平^[38]。另外, 选择性 STAT3 抑制剂化合物 S3I-201, 被证明可以有效下调人舌鳞癌细胞 CAL 27 细胞系中 PD-L1 的表达^[39]。同时, 用于光动力疗法的光敏剂化合物 verteporfin, 也发现其可显著下调 PD-L1 表达, 这些新发现的小分子化合物为下调/降解 PD-L1 提供新的策略以及先导化合物 (图 3)^[40-41]。

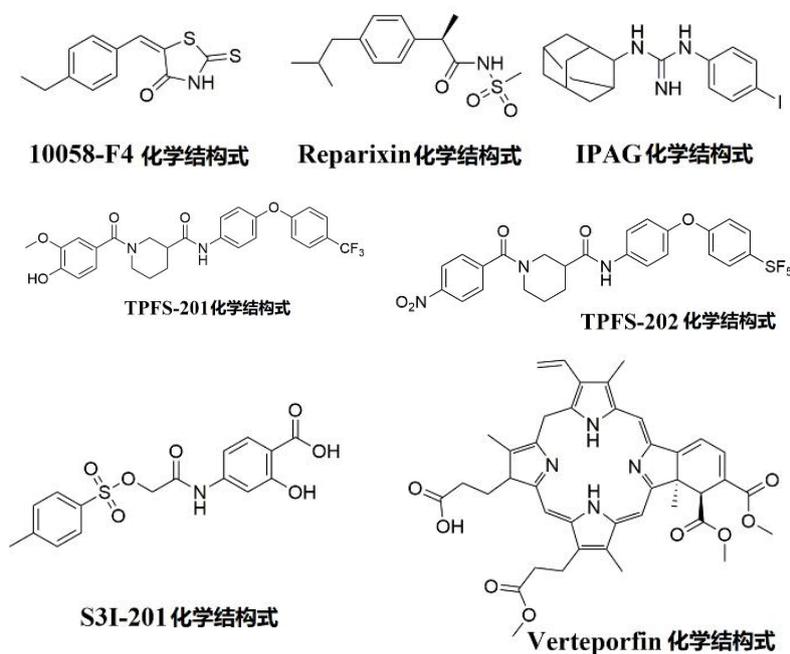


图3 非联苯类PD-L1小分子下调/降解物的化学结构式^[40-41]

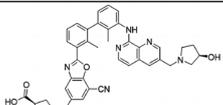
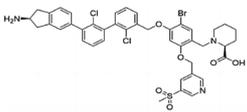
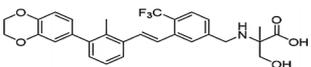
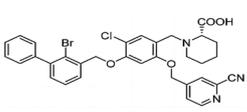
Figure 3. Chemical structure of small molecule downregulators/degraders of PD-L1^[40-41]

目前有许多 PD-L1 小分子抑制剂正在进行临床试验研究, 具体表 1。I 期研究结果显示 (临床试验登记号: NCT03762447), 在 68 例晚期肿瘤患者中, 化合物 INCB86550 的总体缓解率为 11.8%, 其中包括 1 例完全缓解和 7 例部分缓解和 5 例患者病情稳定, 疾病控制率为 19.1%。在安全性方面, INCB86550 显示, 与单克隆抗体免疫检查点抑制剂相一致的免疫相关不良反应, 但同时存在较高的周围神经病变风险。GS-4224 是吉利德科学开发的一种口服 PD-L1 小分子抑制剂, 用于乙肝适应症, 该适应症目前处于临床 I 期 (临床试验登记号: NCT04049617)。GS-4224 治疗乙肝主要通过刺激自身免疫系统来增强

其抗病毒作用。再极医药开发的 MAX-10181 已完成澳大利亚临床 I 期试验 (临床试验登记号: NCT04122339), 在白种人中表现出良好的安全性、耐受性和药动学数据。在 PD-L1 表达水平小于 5% 的患者中, MAX-10181 与 K 药的疾病控制率相似。更重要的是, 在 PD-1/PD-L1 抗体耐药或不耐受的患者中获得了积极的疗效数据。艾姆地芬 (IMMH-010) 是天津红日药业开发的口服 PD-L1 小分子抑制剂, 已获批进行临床 I 期试验 (临床试验登记号: NCT04343859)。该试验计划招募 96 例恶性实体瘤患者, 旨在评估不同剂量 (60、120、240、360 mg) 艾姆地芬的安全性和耐受性。研究的主要目标包括确定艾姆地芬的最

表1 小分子PD-1/PD-L1抑制剂在临床的研究进展

Table 1. Small molecule inhibitors of PD-1/PD-L1 interaction in clinical trials

公司名称	产品名称	分子结构	开发阶段	适应症
Incyte	INCB086550		I期临床 NCT03762447	实体瘤
Gilead	GS-4224		I期临床 NCT04049617	实体瘤
再极医药	MAX-10181		I期临床 NCT04122339	实体瘤
红日药业	IMMH-010		I期临床 NCT04343859	实体瘤
阿诺医药	AN4005	结构暂未公布	I期临床 NCT04999384	实体瘤

大耐受剂量和 II 期推荐剂量，同时考察食物对晚期实体瘤患者药动力学的影响。此外，阿诺医药近期宣布已向美国食品药品监督管理局提交了口服 PD-L1 抑制剂 AN4005 的临床试验申请（临床试验登记号：NCT04999384），重点评估其安全性和药动学。AN4005 是一种口服特异性 PD-L1 拮抗剂，在临床前展现出卓越的抗肿瘤活性。该药能有效诱导和稳定 PD-L1 二聚体的形成，进而强力破坏 PD-1/PD-L1 蛋白间的相互作用。这一临床试验的目标在于确定 AN4005 的最大耐受剂量和 II 期推荐剂量，同时研究食物对晚期实体瘤患者药动力学的影响。这些新药的研发为口服 PD-L1 小分子抑制剂领域带来了新的希望。

2 基于PROTACs技术的PD-L1降解剂

目前，有两种策略用于开发靶向 PD-1/PD-L1 通路的小分子调节剂：一是如前所述，设计可以直接阻断 PD-1/PD-L1 相互作用的新型小分子化合物。然而，由于 PD-L1 的结合口袋具有疏水性和平坦性，因此开发小分子抑制剂具有相当的挑战性。二是采用可以下调或降解 PD-L1 蛋白水平的小分子，例如 PROTACs 降解剂。PROTACs 降解剂是一种利用泛素-蛋白酶体系统来去除致病蛋白的新策略。最近的研究表明，细胞内的 PD-L1 蛋白受到泛素/蛋白酶体介导的降解作用影响。因此，基于 PROTACs 技术设计新

型的 PD-L1 小分子降解剂是可行的。

沈阳药科大学团队基于不同的 PD-L1 小分子抑制剂和 E3 连接酶配体（cereblon、von hippel-Lindau、凋亡抑制蛋白和 Mdm2），开发了 4 个系列的基于 PROTACs 技术的 PD-L1 降解剂^[42]。其中，化合物 BMS-37-C3 被确定为最有效的 PROTACs 分子，在 B16-F10 和 A375 细胞中，BMS-37-C3 通过泛素蛋白酶体体系降解 PD-L1 蛋白，并增强了 T 细胞对 A375 细胞的杀伤能力。通常认为 PROTACs 主要降解细胞内蛋白质，但 BMS-37-C3 则降低了细胞表面上 PD-L1 的表达水平，可能原因是 BMS-37-C3 干扰了 PD-L1 从细胞质向细胞膜的转位过程（图 4）。

南开大学研究团队基于 BMS-37 和沙利度胺的结构，开发了一种新型的 PROTACs 分子（21a）（图 4）。研究表明，这种分子能够有效地通过泛素蛋白酶体系统降解多种肿瘤细胞中的 PD-L1，包括 MC-38、Skno-1、Kasumi-1、HL-60、MCF-7、MB-49、SW-480 和 PC-3 细胞^[43]。此外，将化合物 21a 静脉注射到 C57BL/6 小鼠皮下接种了 MC-38 细胞后，观察到 21a 具有良好的抗肿瘤效果，进一步对肿瘤组织进行免疫组化分析发现，21a 能够诱导 PD-L1 降解，并促进 CD8⁺T 细胞侵入肿瘤组织。

南方医科大学研究团队报道了一种基于间苯二酚的 PROTACs 小分子的降解剂，并评估了

其作为 PD-L1 蛋白的潜在降解剂和双重抑制剂的生物活性 (图 4)^[29]。通过 hPD-1/hPD-L1 均质时间分辨荧光结合实验, 结果显示大多数降解剂对人 PD-1/PD-L1 相互作用表现出显著的抑制活性, IC_{50} 在 25~200 nmol/L 之间。其中, 化合物 P22 表现出非常好的抑制活性, IC_{50} 值为 39.2 nmol/L。除了抑制 hPD-1/hPD-L1 蛋白的相互作用外, 化合物 P22 还能够解除肿瘤 (Hep3B/OS-8/hPD-L1) /T 细胞 (CD3 T 细胞) 共培养模型中对肿瘤免疫的抑制效应。此外, Western Blot 数据显示化合物 P22 以溶酶体依赖方式适度降低 PD-L1 蛋白的水平。

中国纳米科学与技术中心团队基于 PROTACs 技术, 开发了一种基于碳点的 PROTACs (CDTACs), 其能够通过泛素-蛋白酶体系统降解膜蛋白。通过将 BMS-1166 (一种 PD-L1 配体) 和沙利度胺偶联到碳点上的氨基上 (图 4), 成功构建了靶向 PD-L1 的 CDTACs。研究结果表明, 这种 CDTACs 能够在体外和体内有效地诱导

B16-F10 和 CT26 细胞内的 PD-L1 降解。具体机制是, CDTACs 首先与细胞表面的 PD-L1 结合, 然后被细胞内吞到溶酶体中, 使得这些 PD-L1 在溶酶体中被降解并释放出 CDTACs。在细胞质内, CDTACs 与新合成的 PD-L1 结合, 导致 PD-L1 泛素化并最终被蛋白酶体降解。CDTACs 成功降解 PD-L1 的应用为通过 PROTACs 技术降解膜蛋白提供了一种新途径^[44]。

除了与 PD-L1 胞外区结合的配体外, 上海交通大学团队还发现亨廷顿蛋白相互作用蛋白 1 可作为 PD-L1 的内源性配体该内源性配体能够与 PD-L1 胞内区结合, 并以溶酶体依赖的方式促进 PD-L1 的降解。此外, 他们还设计了一种嵌合肽 (PD-LYSO), 成功实现了溶酶体依赖性的 PD-L1 降解 (图 4)。其可以通过靶向 PD-L1 的胞内区域来开发药物, 为针对膜蛋白的治疗提供了新策略, 通过设计多肽、拟肽和小分子与 PD-L1 胞内区域结合, 从而解除 PD-L1 的免疫抑制功能^[45]。

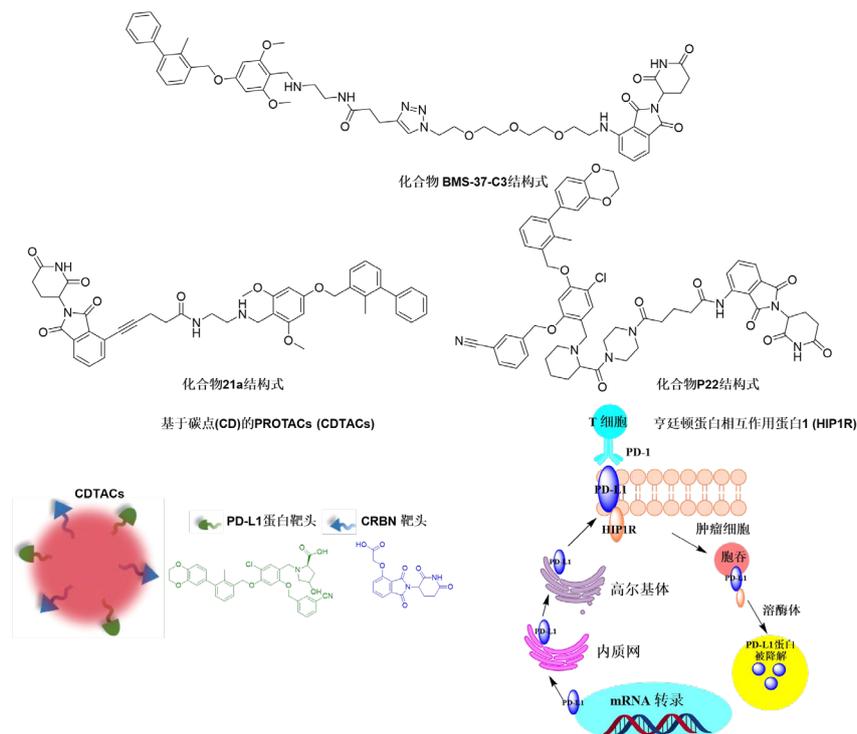


图4 基于PROTACs技术的PD-L1降解剂的设计策略

Figure 4. Design of PD-L1-targeting PROTACs inhibitors

3 基于LYTACs技术PD-L1的降解剂

溶酶体靶向嵌合体 LYTACs 与 PROTACs 不同, 其通过自噬-溶酶体途径降解细胞外和膜上

的靶蛋白, 为靶向蛋白降解领域提供了新的扩展。LYTACs 是一种由抗体与糖肽激动剂/配体融合而成的双功能分子。抗体 (如 PD-L1 抗体) 能够高效结合细胞外/膜蛋白, 而糖肽配体能够与

受体 CI-M6PR 结合。如图 5A 所示, LYTACs 首先与细胞外或细胞膜上的靶蛋白结合, 然后通过 M6PR 识别糖肽配体形成复合物, 并经过内吞和随后的溶酶体降解靶蛋白。Bertozzi 团队发现较大的肽和小分子均可作为 LYTACs 的弹头, 用于降解膜蛋白(如 PD-L1), 这是首个证明 LYTACs 能够降解 PD-L1 的概念验证研究。然而, 对于进一步应用 LYTACs 进行治疗来说, 仍然存在一个关键挑战, 即如何调节药代动力学特性, 以最大限度地减少特定 LYTACs 的脱靶副作用。因此, 需要进行更深入的研究来评估 LYTACs 在治疗方面的潜力^[16]。

中国科学院团队开发了一种整合素促进的溶酶体降解(Integrin-facilitated lysosomal degradation, IFLD)策略, 与 LYTACs 类似, 它

可以以整合素和溶酶体依赖的方式降解细胞外和膜相关蛋白^[46]。IFLD 分子也是由靶蛋白配体、整合素配体和连接体组成的双功能分子。当靶蛋白与 IFLD 分子和整合素形成三元复合物时, 会进行内吞和溶酶体降解靶蛋白(图 5B)。通过将 BMS-8 作为 PD-L1 配体, cRGD(一种环肽)作为 $\alpha V\beta 3$ 整合素配体, 研究人员成功设计出了 3 个靶向 PD-L1 的 IFLD 分子。其中, BMS-L1-RGD 在 MDA-MB-231 细胞中表现出最强的降解活性, 以整合素和溶酶体依赖的方式对 PD-L1 进行降解。荷瘤小鼠的研究结果显示, BMS-L1-RGD 能够显著抑制肿瘤生长并诱导 PD-L1 的降解。然而, 目前还存在着 IFLD 药动学性质差的问题, 这可能限制了 IFLD 分子的进一步发展。

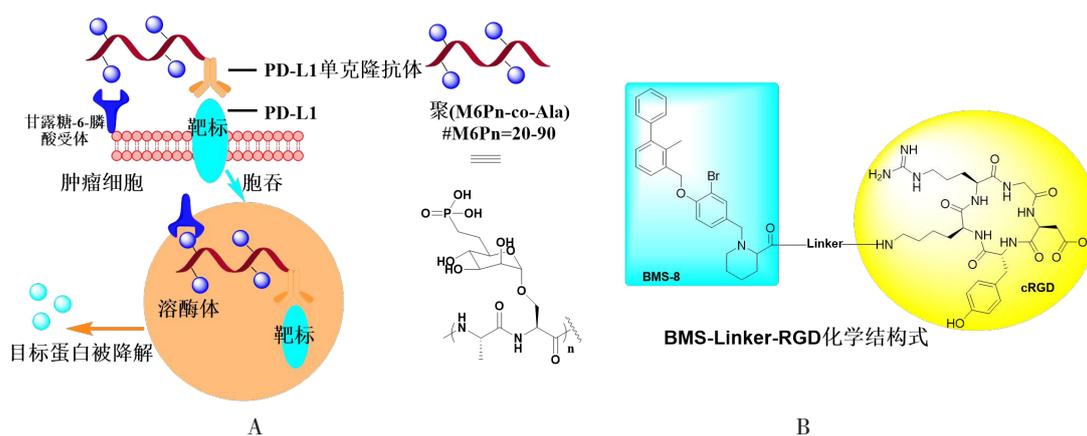


图5 LYTACs降解PD-L1蛋白的作用机制图与使用双功能化合物作为分子降解剂的胞外或膜蛋白的IFLD策略

Figure 5. The mechanism of LYTACs in degrading PD-L1 protein and IFLD strategy for extracellular or membrane proteins using bifunctional compounds as molecular degraders

注: A. LYTACs降解PD-L1蛋白的作用机制图; B. IFLD策略。

4 结语

在临床中, 针对 PD-1/PD-L1 靶点的单克隆抗体药物取得了相当大的成功, 但小分子 PD-1/PD-L1 抑制剂的研发仍处于初级阶段, 迄今为止, 已发现的大多数化合物仍停留在临床前阶段^[47-49]。小分子 PD-1/PD-L1 抑制剂具有与单克隆抗体不同的药动学和药效学特征。然而, 由于 PD-1 和 PD-L1 之间活性位点的高度疏水、平坦和狭长(空间范围约为 1.7Å), 缺乏深度结合位点, 因此设计小分子 PD-1/PD-L1 抑制剂面临着巨大挑战, 因疏水的活性位点可能导致假阳性化合物

的出现。此外, 尽管小分子 PD-L1 抑制剂有望避免单克隆抗体药物的缺点, 但其发展进展滞后, 在目前尚未获批上市的小分子药物。通常情况下, 小分子 PD-L1 抑制剂表现出较差的药动学特性, 并且口服生物利用度较低。这可能是由于这些小分子的联苯基团脂溶性过高, 从而导致化合物高疏水性, 以及较差的口服生物利用度。未来的发展方向之一可以开发具有不同母核的 PD-L1 小分子抑制剂, 以进一步提高其药动学特性。

降低 PD-L1 表达的策略, 如降解剂和下调剂, 已成为 PD-L1 靶向药物领域的研究热点。通常情况下, PD-L1 降解剂与 PD-L1 结合, 并

通过泛素-蛋白酶体系统或溶酶体途径诱导其降解。虽然 PD-L1 是一种膜蛋白，但在蛋白质被回收细胞或在核糖体合成后尚未成熟之前，其可被 PROTACs 降解。因此，开发针对 PD-L1 的 PROTACs 仍然具有重要意义。此外，开发能够与 PD-L1 胞内结构域结合的配体（如亨廷顿蛋白结合蛋白 1）将有助于推动 PD-L1 PROTACs 的开发。与经典的 PROTACs 不同，LYTACs、IFLD 和细胞因子受体靶向嵌合体策略利用细胞膜上的配体蛋白来降解膜上的 PD-L1。探索更多配体蛋白和小分子配体偶联物可能是这项技术下一阶段努力的方向。

LYTACs 是一种通过溶酶体途径有效降解细胞外蛋白的方法。然而，降解/下调细胞外或膜上的蛋白（如 PD-L1）仍然具有挑战性，因尚未明确 PD-L1 蛋白降解/下调的确切机制、ADMET（吸收、分布、代谢、排泄和毒理学）特性、安全性、体内相关性以及潜在的治疗应用。此外，由于目前可用的小分子 PD-L1 调节剂数量有限，设计结构多样化的 PD-L1 降解剂受到了一定程度的阻碍。为了开发新的 PD-1/PD-L1 调节剂，未来可以从以下两个方面着手：第一，根据蛋白质-蛋白质相互作用复合物结构信息进行基于新结构的药物化学设计和虚拟筛选；第二，设计分子使 PD-L1 发生不稳定并发生细胞内吞作用，从而促使其降解；同时还可以开发基于 PD-L1 抑制剂的联合治疗和基于 PD-L1 的多靶点药物。

参考文献

- Alsina M, Arrazubi V, Diez M, et al. Tabernero, current developments in gastric cancer: from molecular profiling to treatment strategy[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2023, 20(3): 155–170. DOI: [10.1038/s41575-022-00703-w](https://doi.org/10.1038/s41575-022-00703-w).
- Brahmer JR, Lee JS, Ciuleanu TE, et al. Five-year survival outcomes with nivolumab plus ipilimumab versus chemotherapy as first-line treatment for metastatic non-small-cell lung cancer in checkmate 227[J]. *J Clin Oncol*, 2023, 41(6): 1200–1212. DOI: [10.1200/JCO.22.01503](https://doi.org/10.1200/JCO.22.01503).
- Damia G. Targeting DNA-PK in cancer[J]. *Mutat Res*, 2020, 821: 111692. DOI: [10.1016/j.mrfmmm.2020.111692](https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2020.111692).
- de Visser KE, Joyce JA. The evolving tumor microenvironment: from cancer initiation to metastatic outgrowth[J]. *Cancer Cell*, 2023, 41(3): 374–403. DOI: [10.1016/j.ccell.2023.02.016](https://doi.org/10.1016/j.ccell.2023.02.016).
- Deng X, Mai R, Zhang C, et al. Discovery of novel cell-penetrating and tumor-targeting peptide-drug conjugate (PDC) for programmable delivery of paclitaxel and cancer treatment[J]. *Eur J Med Chem*, 2021, 213: 113050. DOI: [10.1016/j.ejmech.2020.113050](https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2020.113050).
- Dai MY, Shi YY, Wang AJ, et al. High-potency PD-1/PD-L1 degradation induced by peptide-PROTAC in human cancer cells[J]. *Cell Death Dis*, 2022, 13(11): 924. DOI: [10.1038/s41419-022-05375-7](https://doi.org/10.1038/s41419-022-05375-7).
- Dai X, Wang K, Chen H, et al. Design, synthesis, and biological evaluation of 1-methyl-1H-pyrazolo[4,3-b]pyridine derivatives as novel small-molecule inhibitors targeting the PD-1/PD-L1 interaction[J]. *Bioorg Chem*, 2021, 114: 105034. DOI: [10.1016/j.bioorg.2021.105034](https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2021.105034).
- Geng QH, Jiao PF, Jin P, et al. PD-1/PD-L1 inhibitors for immuno-oncology: from antibodies to small molecules[J]. *Curr Pharm Des*, 2018, 23(39): 6033–6041. DOI: [10.2174/1381612823666171004120152](https://doi.org/10.2174/1381612823666171004120152).
- Gong J, Chehrazhi-Raffle A, Reddi S, et al. Development of PD-1 and PD-L1 inhibitors as a form of cancer immunotherapy: a comprehensive review of registration trials and future considerations[J]. *J Immunother Cancer*, 2018, 6(1): 8. DOI: [10.1186/s40425-018-0316-z](https://doi.org/10.1186/s40425-018-0316-z).
- Gordon SR, Maute RL, Dulken BW, et al. PD-1 expression by tumour-associated macrophages inhibits phagocytosis and tumour immunity[J]. *Nature*, 2017, 545(7655): 495–499. DOI: [10.1038/nature22396](https://doi.org/10.1038/nature22396).
- Keir ME, Butte MJ, Freeman GJ. PD-1 and its ligands in tolerance and immunity[J]. *Annu Rev Immunol*, 2008, 26: 677–704. DOI: [10.1146/annurev.immunol.26.021607.090331](https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.26.021607.090331).
- Koblish HK, Wu L, Wang LS, et al. Characterization of INCB086550: a potent and novel small-molecule PD-L1 Inhibitor[J]. *Cancer Discov*, 2022, 12(6): 1482–1499. DOI: [10.1158/2159-8290.CD-21-1156](https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-21-1156).
- Kuroishi T. Regulation of immunological and inflammatory functions by biotin[J]. *Can J Physiol Pharmacol*, 2015, 93(12): 1091–1096. DOI: [10.1139/cjpp-2014-0460](https://doi.org/10.1139/cjpp-2014-0460).
- Lai Y, Chu X, Di L, et al. Recent advances in the translation of drug metabolism and pharmacokinetics science for drug discovery and development[J]. *Acta*

- Pharm Sin B, 2022, 12(6): 2751–2777. DOI: [10.1016/j.apsb.2022.03.009](https://doi.org/10.1016/j.apsb.2022.03.009).
- 15 Cheng B, Yuan WE, Su J, et al. Recent advances in small molecule based cancer immunotherapy[J]. Eur J Med Chem, 2018, 157: 582–598. DOI: [10.1016/j.ejmech.2018.08.028](https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.08.028).
- 16 Banik SM, Pedram K, Wisnovsky S, et al. Lysosome-targeting chimaeras for degradation of extracellular proteins[J]. Nature, 2020, 584(7820): 291–297. DOI: [10.1038/s41586-020-2545-9](https://doi.org/10.1038/s41586-020-2545-9).
- 17 Blevins DJ, Hanley R, Bolduc T, et al. *In vitro* assessment of putative PD-1/PD-L1 inhibitors: suggestions of an alternative mode of action[J]. ACS Med Chem Lett, 2019, 10(8): 1187–1192. DOI: [10.1021/acsmchemlett.9b00221](https://doi.org/10.1021/acsmchemlett.9b00221).
- 18 Bondeson DP, Smith BE, Burslem GM, et al. Lessons in PROTAC design from selective degradation with a promiscuous warhead[J]. Cell Chem Biol, 2018, 25(1): 78–87.e5. DOI: [10.1016/j.chembiol.2017.09.010](https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2017.09.010).
- 19 Bu LL, Yu GT, Wu L, et al. STAT3 induces immunosuppression by upregulating PD-1/PD-L1 in HNSCC[J]. J Dent Res, 2017, 96(9): 1027–1034. DOI: [10.1177/0022034517712435](https://doi.org/10.1177/0022034517712435).
- 20 Burr ML, Sparbier CE, Chan YC, et al. CMTM6 maintains the expression of PD-L1 and regulates anti-tumour immunity[J]. Nature, 2017, 549(7670): 101–105. DOI: [10.1038/nature23643](https://doi.org/10.1038/nature23643).
- 21 Chamberlain PP, Hamann LG. Development of targeted protein degradation therapeutics[J]. Nat Chem Biol, 2019, 15(10): 937–944. DOI: [10.1038/s41589-019-0362-y](https://doi.org/10.1038/s41589-019-0362-y).
- 22 Cheng B, Xiao Y, Xue M, et al. Recent advances in the development of PD-L1 modulators: degraders, downregulators, and covalent inhibitors[J]. J Med Chem, 2020, 63(24): 15389–15398. DOI: [10.1021/acs.jmedchem.0c01362](https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.0c01362).
- 23 Musielak B, Kocik J, Skalniak L, et al. CA-170 – A potent small-molecule PD-L1 inhibitor or not?[J]. Molecules, 2019, 24(15): 2804. DOI: [10.3390/molecules24152804](https://doi.org/10.3390/molecules24152804).
- 24 Qin M, Cao Q, Wu X, et al. Discovery of the programmed cell death-1/programmed cell death-ligand 1 interaction inhibitors bearing an indoline scaffold[J]. Eur J Med Chem, 2020, 186: 111856. DOI: [10.1016/j.ejmech.2019.111856](https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.111856).
- 25 Qin M, Cao Q, Zheng S, et al. Discovery of [1,2,4] triazolo[4,3- a]pyridines as potent inhibitors targeting the programmed cell death-1/programmed cell death-ligand 1 interaction[J]. J Med Chem, 2019, 62(9): 4703–4715. DOI: [10.1021/acs.jmedchem.9b00312](https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.9b00312).
- 26 Shaabani S, Gadina L, Surmiak E, et al. Biphenyl ether analogs containing pomalidomide as small-molecule inhibitors of the programmed cell death-1/programmed cell death-ligand 1 interaction[J]. Molecules, 2022, 27(11): 3454. DOI: [10.3390/molecules27113454](https://doi.org/10.3390/molecules27113454).
- 27 Guzik K, Zak KM, Grudnik P, et al. Small-molecule inhibitors of the programmed cell death-1/programmed death-ligand 1 (PD-1/PD-L1) interaction via transiently induced protein states and dimerization of PD-L1[J]. J Med Chem, 2017, 60(13): 5857–5867. DOI: [10.1021/acs.jmedchem.7b00293](https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.7b00293).
- 28 Hsu JM, Li CW, Lai YJ, et al. Posttranslational modifications of PD-L1 and their applications in cancer therapy[J]. Cancer Res, 2018, 78(22): 6349–6353. DOI: [10.1158/0008-5472.CAN-18-1892](https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-18-1892).
- 29 Cheng B, Ren Y, Cao H, et al. Discovery of novel resorcinol diphenyl ether-based PROTAC-like molecules as dual inhibitors and degraders of PD-L1[J]. Eur J Med Chem, 2020, 199: 112377. DOI: [10.1016/j.ejmech.2020.112377](https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2020.112377).
- 30 Cheng B, Ren Y, Niu X, et al. Discovery of novel resorcinol dibenzyl ethers targeting the programmed cell death-1/programmed cell death-ligand 1 interaction as potential anticancer agents[J]. J Med Chem, 2020, 63(15): 8338–8358. DOI: [10.1021/acs.jmedchem.0c00574](https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.0c00574).
- 31 Chupak LS, Ding M, Martin SW, et al. Compounds useful as immunomodulators (WO2015034820) [EB/OL]. (2015-03-12)[2024-05-09]. <https://patentscope2.wipo.int/search/en/detail.jsf?docId=WO2015034820>.
- 32 Ding Z, Wang S, Shi Y, et al. Discovery of novel d-(+)-biotin-conjugated resorcinol dibenzyl ether-based PD-L1 inhibitors for targeted cancer immunotherapy[J]. J Med Chem, 2023, 66(15): 10364–10380. DOI: [10.1021/acs.jmedchem.3c00479](https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.3c00479).
- 33 Lin DY, Tanaka Y, Iwasaki M, et al. The PD-1/PD-L1 complex resembles the antigen-binding Fv domains of antibodies and T cell receptors[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2008, 105(8): 3011–3016. DOI: [10.1073/pnas.0712278105](https://doi.org/10.1073/pnas.0712278105).
- 34 Maher CM, Thomas JD, Haas DA, et al. Small-molecule sigmal modulator induces autophagic degradation of

- PD-L1[J]. *Mol Cancer Res*, 2018, 16(2): 243–255. DOI: [10.1158/1541-7786.MCR-17-0166](https://doi.org/10.1158/1541-7786.MCR-17-0166).
- 35 Sandri M. Protein breakdown in cancer cachexia[J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2016, 54: 11–19. DOI: [10.1016/j.semcdb.2015.11.002](https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2015.11.002).
- 36 Dockendorff C, Gandhi DM, Kimball IH, et al. Synthetic analogues of the snail toxin 6-Bromo-2-mercaptotryptamine dimer (BrMT) reveal that lipid bilayer perturbation does not underlie its modulation of voltage-gated potassium channels[J]. *Biochemistry*, 2018, 57(18): 2733–2743. DOI: [10.1021/acs.biochem.8b00292](https://doi.org/10.1021/acs.biochem.8b00292).
- 37 Dömling A, Holak TA. Programmed death-1: therapeutic success after more than 100 years of cancer immunotherapy[J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2014, 53(9): 2286–2288. DOI: [10.1002/anie.201307906](https://doi.org/10.1002/anie.201307906).
- 38 Eggermont AMM, Kicinski M, Blank CU, et al. Association between immune-related adverse events and recurrence-free survival among patients with stage III melanoma randomized to receive pembrolizumab or placebo: a secondary analysis of a randomized clinical trial[J]. *JAMA Oncol*, 2020, 6(4): 519–527. DOI: [10.1001/jamaoncol.2019.5570](https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2019.5570).
- 39 Lai AC, Crews CM. Induced protein degradation: an emerging drug discovery paradigm[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2017, 16(2): 101–114. DOI: [10.1038/nrd.2016.211](https://doi.org/10.1038/nrd.2016.211).
- 40 Liang J, Wang L, Wang C, et al. Verteporfin Inhibits PD-L1 through Autophagy and the STAT1-IRF1-TRIM28 signaling axis, exerting antitumor efficacy[J]. *Cancer Immunol Res*, 2020, 8(7): 952–965. DOI: [10.1158/2326-6066.CIR-19-0159](https://doi.org/10.1158/2326-6066.CIR-19-0159).
- 41 Liang MQ, Yu FQ, Chen C. C-Myc regulates PD-L1 expression in esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Am J Transl Res*, 2020, 12(2): 379–388. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32194890/>.
- 42 Liu Y, Zheng MZ, Ma ZL, et al. Design, synthesis, and evaluation of PD-L1 degraders to enhance T cell killing activity against melanoma[J]. *Chinese Chem Lett*, 2023, 34(5): 107762. DOI: [10.1016/j.ccllet.2022.107762](https://doi.org/10.1016/j.ccllet.2022.107762).
- 43 Wang Y, Zhou Y, Cao S, et al. *In vitro* and *in vivo* degradation of programmed cell death ligand 1 (PD-L1) by a proteolysis targeting chimera (PROTAC)[J]. *Bioorg Chem*, 2021, 111: 104833. DOI: [10.1016/j.bioorg.2021.104833](https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2021.104833).
- 44 Su W, Tan M, Wang Z, et al. Targeted degradation of PD-L1 and activation of the STING pathway by carbon-dot-based PROTACs for cancer immunotherapy[J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2023, 62(11): e202218128. DOI: [10.1002/anie.202218128](https://doi.org/10.1002/anie.202218128).
- 45 Wang H, Yao H, Li C, et al. HIP1R targets PD-L1 to lysosomal degradation to alter T cell-mediated cytotoxicity[J]. *Nat Chem Biol*, 2019, 15(1): 42–50. DOI: [10.1038/s41589-018-0161-x](https://doi.org/10.1038/s41589-018-0161-x).
- 46 Zheng J, He W, Li J, et al. Bifunctional compounds as molecular degraders for integrin-facilitated targeted protein degradation[J]. *J Am Chem Soc*, 2022, 144(48): 21831–21836. DOI: [10.1021/jacs.2c08367](https://doi.org/10.1021/jacs.2c08367).
- 47 符基定, 曾丽斯, 林颖, 等. SOCS3 调控 JAK/STAT3 通路对 PD-1/PD-L1 抑制剂所致小鼠心脏毒性的影响[J]. *西部医学*, 2024, 36(3): 338–343, 350. [Fu JD, Zeng LS, Lin J, et al. Effect of SOCS3 regulated JAK/STAT3 pathway on PD-1/PD-L1 inhibitor-induced cardiotoxicity in mice[J]. *Medical Journal of West China*, 2024, 36(3): 338–343, 350.] DOI: [10.3969/j.issn.1672-3511.2024.03.005](https://doi.org/10.3969/j.issn.1672-3511.2024.03.005).
- 48 康丽梅, 刘欢, 黄靖, 等. 程序性死亡蛋白 1/ 程序性死亡蛋白配体 1 抑制剂相关血管炎的文献评价与现状分析[J]. *华西医学*, 2023, 38(2): 252–260. [Kang LM, Liu H, Huang J, et al. Literature evaluation and current status of programmed death 1 / programmed death-ligand 1 inhibitor-associated vasculitis[J]. *West China Medical Journal*, 2023, 38(2): 252–260.] DOI: [10.7507/1002-0179.202205100](https://doi.org/10.7507/1002-0179.202205100).
- 49 江莹, 张宁萍, 许青, 等. 65 例程序性细胞死亡蛋白-1 抑制剂介导肝损伤患者的临床特点及预后分析[J]. *药物流行病学杂志*, 2022, 31(10): 669–673, 712. [Jiang Y, Zhang NP, Xu Q, et al. Analysis of clinical characteristics and prognosis of 65 patients with liver injury induced by PD-1 Inhibitor[J]. *Chinese Journal of Pharmacoepidemiology*, 2022, 31(10): 669–673, 712.] DOI: [10.19960/j.cnki.issn1005-0698.2022.10.004](https://doi.org/10.19960/j.cnki.issn1005-0698.2022.10.004).

收稿日期: 2024 年 05 月 09 日 修回日期: 2024 年 06 月 13 日
本文编辑: 李 阳 钟巧妮