

GCN2 激酶及其抑制剂/激动剂研究进展

陈 瀚¹, 刘 鹏¹, 王 瑞¹, 李灵君¹, 刘 巍^{1,2,3*}

1. 天津药物研究院 天津市新药设计与发现重点实验室, 天津 300301

2. 天津药物研究院 药物成药性评价与系统转化全国重点实验室, 天津 300301

3. 中国医学科学院 药物代谢新技术创新单元, 北京 100050

摘 要: General control non-derepressible 2 (GCN2) 属于一种压力应答丝氨酸/苏氨酸激酶, 在整合应激反应 (ISR) 中负责感受氨基酸缺乏应激后产生一系列反应。GCN2 的激活对于细胞的氧化应激、增殖、自噬、凋亡、免疫、蛋白质毒性和血管生成等均有关键的调节作用, 与肿瘤、心肌损伤、肺纤维化等的发生发展有一定的相关性。综述 GCN2 的生物学功能、结构特征、作用机制和疾病关联性, 并总结分析 GCN2 抑制剂或激动剂的研发现状, 重点阐述 GCN2 抑制剂或激动剂在抗肿瘤方向的临床应用潜力, 为靶向 GCN2 激酶的新药开发提供参考。

关键词: GCN2; 整合应激反应; eIF2 α ; 激活转录因子 4; 肿瘤; 抑制剂; 激动剂

中图分类号: R979.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2025)07-2016-15

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2025.07.028

Advances in study of GCN2 kinase and its inhibitors/agonists

CHEN Han¹, LIU Peng¹, WANG Rui¹, LI Lingjun¹, LIU Wei^{1,2,3}

1. Tianjin Key Laboratory of Molecular Design and Drug Discovery, Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300301, China

2. State Key Laboratory of Druggability Evaluation and Systematic Translational Medicine, Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300301, China

3. Research Unit for Drug Metabolism, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100050, China

Abstract: GCN2 is a kind of to a stress-responsive serine/threonine kinase, which is responsible for sensing a series of responses after amino acid deficiency stress in the integrative stress response. The activation of GCN2 plays a key regulatory role in cellular oxidative stress, proteotoxicity, angiogenesis, proliferation, autophagy, apoptosis, immunity, and has a certain correlation with the occurrence and development of tumours, myocardial injury, lung fibrosis, etc. This article reviews the biological functions, structural characteristics, mechanism of action, disease relevance, and it also analyses the status quo of research on GCN2 inhibitors or agonists and focus on highlighting the clinical application potential of GCN2 inhibitors or agonists in the field of cancer treatment. So as to provide a reference for the development of new drugs targeting GCN2 kinase.

Key words: GCN2; ISR; eIF2 α ; ATF4; cancer; inhibitors; agonists

GCN2 (general control non-derepressible 2), 又称 eIF2AK4, 是一种对氨基酸敏感的蛋白激酶, 属于真核起始因子 2 的 α 亚基 (eIF2 α) 激酶家族成员之一。通常, 细胞在增殖、分化、衰老及凋亡等生物学活动中会受到细胞内外环境和生理特性变化的影响, 而响应这一系列刺激进行的细胞信号转导依赖于 eIF2 α 的磷酸化^[1]。GCN2 激酶负责感受来

自氨基酸缺乏的应激, 并通过调节 eIF2 α 的磷酸化从起始调控蛋白质的合成, 进一步对氨基酸缺乏引起的刺激做出调控^[2]。

GCN2 不仅在酵母和哺乳动物的真核细胞中作为激酶调控生物学活动, 在植物当中也发现了 GCN2 的关键调控作用^[3]。早在 1993 年, Dever 等^[4]在酿酒酵母的研究中发现, 蛋白激酶 GCN2 感受到氨基酸

收稿日期: 2024-12-05

基金项目: 中国医学科学院医学与健康科技创新工程国家医学健康科技战略平台与体系建设专项项目资助 (2022-I2M-2-003)

作者简介: 陈 瀚 (1998—), 硕士, 研究实习员, 主要从事新药筛选与评价研究。E-mail: chenhan@tipr.com.cn

*通信作者: 刘 巍, 博士, 研究员, 主要从事新药发现与评价研究。E-mail: liuw@tipr.com.cn

缺乏应激后,通过磷酸化酵母细胞中丝氨酸-51 上的 $eIF2\alpha$ 来促进 GCN4 的翻译,进而调控酵母细胞的生长分裂,因此,GCN2 又被描述为丝氨酸蛋白激酶,参与氨基酸缺乏应答。Zhang 等^[5]发现,通过基因工程手段敲除小鼠的 GCN2 基因后,小鼠未出现明显的异常生物学行为,但喂食缺乏单一氨基酸-亮氨酸的饲料一段时间后,小鼠行为异常且濒临死亡,结果表明,GCN2 在哺乳动物真核细胞中可以维持蛋白的正常水平表达。Zhang 等^[6]植物学者在研究植物在生长繁育过程中应对外界环境变化所构建的防御机制过程中发现,GCN2 在多数植物中表达,研究中对水稻、小麦、拟南芥、烟草、大麦等高等植物进行了基因序列的检测分析,发现在这些高等植物中仅有一种类型的 $eIF2\alpha$ 激酶,即 GCN2。

研究结果显示,GCN2 是目前发现唯一在所有真核生物中保守表达的 $eIF2\alpha$ 激酶,负责接收真核生物细胞中氨基酸缺乏的应激信号,并通过进一步磷酸化 $eIF2\alpha$ 来调控蛋白的翻译。

1 GCN2 的分子结构

GCN2 包含多种结构域,由 1 个真核激酶结构域(KD)、1 个假激酶结构域(PKD)、1 个 N 端功能结构域(RWD)、1 个 C 端核糖体结合二聚体化结构域(RB)、1 个组氨酸 tRNA 合成酶相关结构域(His/Rs)共 5 部分结构域组成,其中 RWD 和 His/Rs 结构域负责感受应激信号,为其活性功能结构域^[7]。如图 1 所示(<https://www.rcsb.org/3d-view/7QWK/1>)。

研究表明,RWD 功能结构域可以影响调控 GCN2 的激酶活性^[8]。Wang 等^[9]在研究中发现,细胞感受到营养缺乏时会促使 GCN1 结合至 GCN2 的 RWD 结构域,进一步催化 KD 结构域激活,使 $eIF2\alpha$ 磷酸化。

关于 His/Rs 结构域,研究发现,未带电的 tRNA 可以与该结构域的相关区域结合,进一步诱导 $eIF2\alpha$ 磷酸化^[10-11]。Hey 等^[12]在对代谢和应激信号间通道接口的探究中发现,未带电的 tRNA 结合 His/Rs 结构域后可进一步促使 KD 结构域的激活,从而诱导 GCN2 的 $eIF2\alpha$ 磷酸化催化。Dong 等^[10]研究证明,未带电的 tRNA 通过取代 2 段可与 His/Rs 结构域结合的蛋白激酶来实现与 His/Rs 结构域的结合,进而实现 GCN2 的激活。

GCN2 的 C 端 RB 结构域赋予了 GCN2 与核糖体结合的能力。Zhu 等^[13]早在 1998 年提出,GCN2



图 1 GCN2 的蛋白结构和结构域组成

Fig. 1 Protein structure and domain composition of GCN2

的 RB 结构域可促进激酶靶向结合核糖体,影响 GCN2 与 RNA 的结合,进而影响 GCN2 的翻译控制功能。Agnieszka 等^[14]研究证明 GCN2 与核糖体的结合是其识别和结合未带电 tRNAs 的关键,这一过程中 GCN1 通过与特定的应激期间的翻译核糖体相互作用来促进 GCN2 的激活。此外,研究报道真核翻译延伸因子($eEF1A$)在氨基酸缺乏应激环境下可以通过结合至 GCN2 的 C 端,起到抑制 GCN2 活性的作用^[15],提示氨基酸缺乏应激条件下 GCN2 调节细胞氨基酸稳态的复杂性。

2 GCN2 的作用机制

2.1 GCN2 与整合应激反应(ISR)

ISR 是一种真核细胞内信号传递途径^[2](图 2),可以被各种内外在应激因素激活,影响整体蛋白质合成和某些关键基因表达,以恢复胞内平衡或诱导细胞发生凋亡,形成一种进化保守的细胞内信号网络^[16]。已知的外在应激因素包括氨基酸缺乏、缺氧、葡萄糖缺乏、病毒感染、血红素缺乏、活性氧(ROS)积累、UV 照射和 DNA 损伤等^[16-17];内在应激因素包括蛋白质毒性应激和蛋白质错误折叠^[18],也称之为内质网应激(ER)^[17]。

ISR 的核心是 $eIF2\alpha$ 的磷酸化激活, $eIF2\alpha$ 激酶家族在 ISR 中起第一反应作用,每种 $eIF2\alpha$ 家族激酶都被不同的细胞应激激活^[19]。 $eIF2\alpha$ 激酶可以响应不同种类和区域的应激,取决于与其相互作用的配体或蛋白,在感受和应对应激过程中其表达水平也会发生急剧变化,从而诱导有序的激活机制参与调控^[20]。

$eIF2\alpha$ 磷酸化激酶家族由 4 种特征明确的丝氨

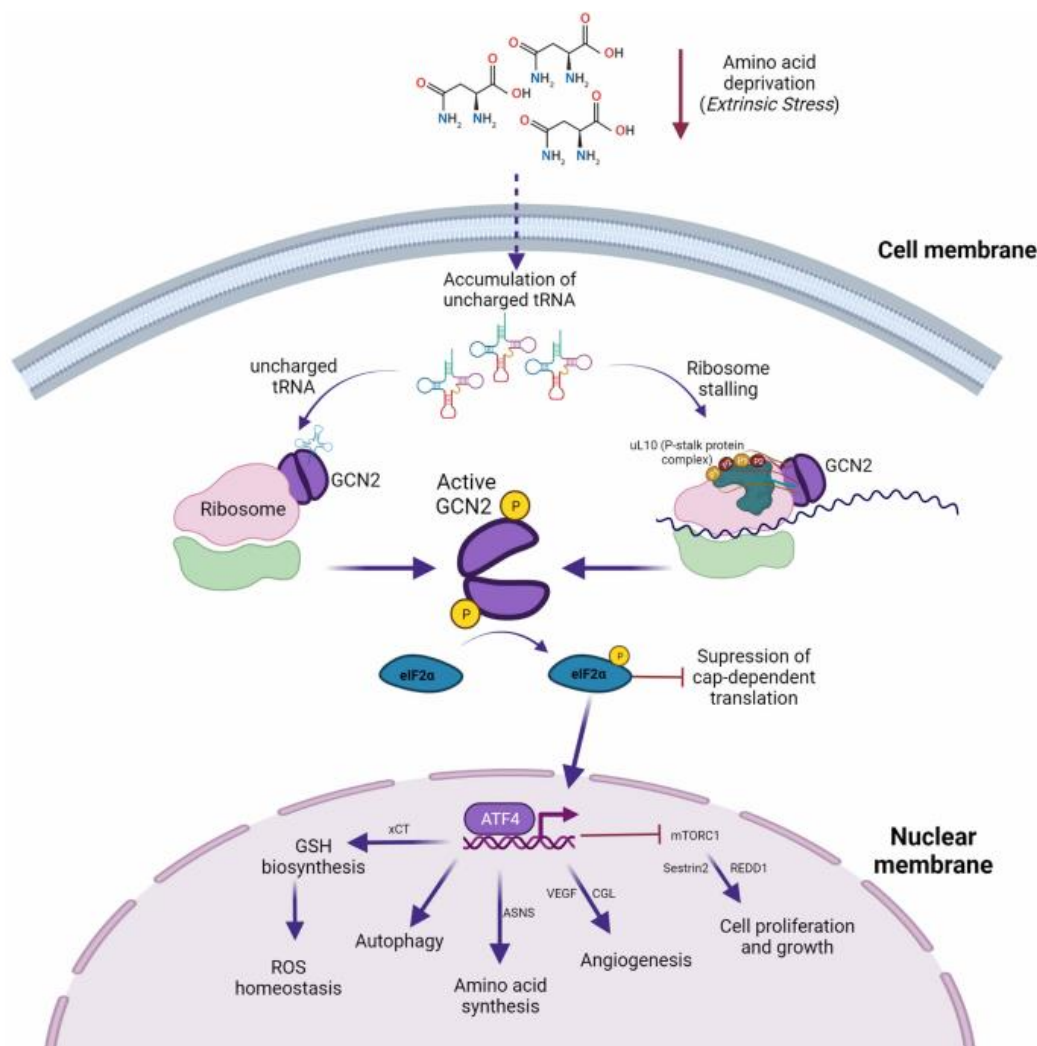


图 2 ISR 中 GCN2 介导轴^[2]
Fig. 2 GCN2-mediated axis in ISR

酸-苏氨酸激酶组成^[7], 包括负责感受 ER 的类磷酸化酶 ER 激酶 (PERK)、负责感应病毒感染和压力蛋白激酶的双链 RNA 依赖蛋白激酶 (PKR)、负责感受氨基酸缺乏的 GCN2 和负责感受血红素缺乏的血红素调节抑制剂, 这些 eIF2 α 激酶在应对细胞内必需营养素缺乏时发挥必不可少的作用, 在生物体正常发育和肿瘤形成过程中也发挥着重要作用。

相较于其他 eIF2 α 激酶, GCN2 是唯一在所有真核生物中保守表达的 ISR 相关激酶, 它可被更广泛的应激原激活, 也被称之为初级 eIF2 α 激酶^[21], 而感受细胞 ER 的 PERK 为次级 eIF2 α 激酶。Carlson 等^[22]在研究中证明了当 GCN2 正常表达时, 可分别激活氨基酸缺乏应激和 ER 反应, 但 PERK 激活途径的 p-eIF2 α 水平的增加程度远低于 GCN2 激活途径; 当 GCN2-KO 状态下, PERK 激活途径中 p-eIF2 α 水平的增幅明显提升。由此可见, GCN2 对 ISR 应

激的强度有关键的调控作用, 甚至影响其他 eIF2 α 激酶的作用。

2.2 GCN2 与激活转录因子 4 (ATF4) 激活

ATF4 是碱性亮氨酸拉链 (BZIP) 转录因子家族的成员, 与 ATF、FOS/JUN 和 CCAAT 增强结合蛋白 (C/EBP) 亚家族成员一起形成异源二聚体, 并进一步与 cAMP 应答元件 (CREs) 或 C/EBP-ATF 应答元件 (CAREs) 的 DNA 序列结合, 控制靶基因表达^[23]。

ISR 机制中的 4 种 eIF2 α 激酶共享一个相同的下游效应蛋白 ATF4^[23]。ATF4 是细胞对应激反应的主要效应机制的调节器, 它的大多数下游靶基因都参与促进细胞存活的各种挽救途径, 但也有一些基因在特定情况下被激活表达, 诱导细胞的凋亡途径、细胞周期停滞及衰老^[24-26]。研究表明, 脱酰基 tRNA 的积累激活 GCN2 并进一步磷酸化 eIF2 α 后,

通过激活下游转录因子 ATF4 实现 ISR 机制的传动,即形成 GCN2-eIF2 α -ATF4 通路完成应激反应^[24]。当 eIF2 α 被磷酸化时,包括 ATF4 在内的一组应激反应 mRNA 的翻译效率更高,ATF4 的这种变化与 mRNA 5'UTR 的 2 个上游开放阅读窗密切相关^[25],这 2 个元件在非应激条件下抑制 ATF4 的翻译,但在应激条件下促进其翻译(eIF2 α 磷酸化)^[26],该模式首先在酵母中被发现,后来发现也存在于哺乳动物细胞中^[27]。

尽管特定 eIF2 α 激酶以特定的靶向方式调节 ATF4 的活性,但它们在平衡 ATF4 的促细胞生存和抗细胞生存功能方面的重要性目前还难以评估,GCN2 由于其表达的保守性,在这些调节 ATF4 活性的相关酶中占据非常重要的地位,因此,使用全基因组分析来确定这些 eIF2 α 激酶在促适应性生存和促凋亡表达的抉择中具有重要意义^[23]。因此,靶向具备调控 ATF4 表达功能的关键酶或者与 ATF4 相关的转录后修饰途径中的表观遗传修饰因子可能是潜在的新药研究方向。

2.3 GCN2 与 ROS 稳态

ROS 是细胞代谢不可避免的产物,在细胞信号转导和调节微环境稳态平衡中具有重要作用^[28]。在感受到外界压力刺激时,ROS 水平会通过线粒体作用急剧增加,可引起相关生长因子、转录因子的降解等,进而导致细胞发生凋亡。

研究表明,GCN2 与 ROS 通过氨基酸缺乏紧密相关。Chen 等^[29]在对三阴性乳腺癌的研究中发现,半胱氨酸的缺乏会导致线粒体功能障碍,引起肿瘤细胞内 ROS 和 p-GCN2 水平升高,但 PERK 途径并未激活,提示 ROS 的产生是由 GCN2-ATF4 途径介导的,进而通过激活谷胱甘肽降解酶来降解谷胱甘肽(GSH),促进细胞凋亡。但是,也有研究表明,GCN2-ATF4 途径的激活可介导下游半胱氨酸/谷氨酸转运体的表达^[30],并维持胞内 GSH 的水平,当氨基酸缺乏应激时仍能维持胞内 ROS 稳态。提示,GCN2-ATF4 途径在肿瘤细胞 ROS 稳态中可能发挥双向调控作用。

目前,针对 GCN2 和 ROS 相关的研究发现,GCN2 的激活表达有助于肿瘤细胞的生存及获得性耐药的发生。利用抑制剂 GCN2iB 处理多发性骨髓瘤细胞后,可有效减缓细胞群体活力的恢复^[31]。同样,该现象在胶质母细胞瘤和肾癌细胞中也被报道^[32],Mic60/Mitofilin 是线粒体接触位点和嵴组织系统

MICOS 复合体的重要组成,在该肿瘤细胞中,Mic60 表达量的微量下调就会导致线粒体功能的严重紊乱,并导致氧化和氨基酸饥饿应激的增加,从而促进细胞转移和死亡逃避,转录组学研究结果发现该过程中 ISR 整体表达上调,使用 GCN2 抑制剂处理可有效抑制肿瘤细胞的转移。

2.4 GCN2 与蛋白质毒性

当细胞内发生蛋白质的错误折叠并不断积累,超出了蛋白酶体和自噬体对细胞蛋白质质量控制的调控能力,蛋白毒性应激就会发生^[33]。该现象的发生破坏了氨基酸平衡,造成氨基酸缺乏,进而激活 ISR 机制。相关报道称,激活 GCN2-ATF4 途径后可进一步触发自噬机制,并抑制哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTORC1)信号,调节肿瘤细胞中的蛋白质稳态,降低内质网压力,使肿瘤细胞得以生存或转移^[34]。此外,Sannino 等^[35]也证明,在氨基酸缺乏,GCN2 途径激活的背景下,蛋白毒性应激诱导的细胞凋亡由 mTORC1 的异常激活所介导。由此可见,GCN2 可由蛋白质毒性应激引起的氨基酸缺乏所激活,从而激活 ATF4 及其下游靶标,维持细胞的生存,在此过程中,如果长时间因缺乏关键成分或异常成分的补充而无法恢复蛋白质稳态,则诱导细胞走向凋亡。

Schmidt 等^[36]在研究致癌基因 MYC 与 GCN2-eIF2 α 负反馈回路中发现,MYC 的表达可以上调微环境内蛋白质合成,导致氨基酸和能量大量消耗,进而诱导蛋白毒性应激并导致 MYC 依赖性细胞凋亡。在这种情况下,GCN2 通过 GCN2-eIF2 α 负反馈环对氨基酸缺乏做出应激来促进细胞存活,该负反馈环通过 eIF2 α 激活来阻止 MYC 介导的转录增加,保存代谢物,降解蛋白毒素的积累,阻止细胞凋亡。

2.5 GCN2 与细胞增殖

细胞增殖是活细胞的重要生理功能之一,是生物体的重要生命特征。mTOR 信号转导在调节营养感知和生长因子信号转导等过程中起着核心作用^[37]。研究报道,mTORC1 接收并整合来自多种生长因子和营养物质的信号,来促进细胞增殖^[38]。有趣的是,GCN2 激活介导的促进细胞增殖存活并不是通过激活 mTORC1 活性实现的,相反,当氨基酸缺乏,GCN2 激活的情况下,mTORC1 活性被抑制^[2]。Nikonorova 等^[39]构建了单次注射天冬酰胺酶诱导氨基酸应激的小鼠遗传模型,发现 GCN2 的缺失抑

制了肝脏中 eIF2 α 对天冬酰胺酶的磷酸化,但激活了 mTORC1,这表明 GCN2-eIF2 α 途径在氨基酸缺乏时影响 mTORC1 活性,GCN2-eIF2 α 激活可抑制 mTORC1 触发的蛋白质合成进而促进细胞存活和增殖。

2.6 GCN2 与血管生成

血管生成是在缺血时,由血管内皮生长因子(VEGF)对缺氧/营养缺乏的适应性反应^[40]。缺氧是血管生成的最佳触发因素和常见的促血管生成途径,在多种细胞类型中稳定缺氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)可促进 VEGF 的表达。除缺氧因素外,相关研究报道,氨基酸缺乏生态中 VEGF 表达受 GCN2 的调控^[41]。Zhang 等^[40]通过基因工程技术构建 GCN2-KO 型小鼠分离的原代内皮细胞,在比对不同培养环境后发现,含硫氨基酸缺乏和 GCN2-ATF4 依赖的氨基酸缺乏应激是独立于缺氧、HIF-1 α 或过氧化物酶体增殖物激活受体 γ -辅激活因子 1- α (PGC-1 α)的 VEGF 表达和血管生成增加的新触发因素。Wang 等^[42]在小鼠异种移植的 UM-SCC-22B 鳞状癌肿瘤模型中发现,GCN2 敲低可降低 VEGF 水平,导致血管密度和肿瘤体积减少。

2.7 GCN2 与自噬

自噬途径在细胞生命活动中非常重要,是细胞消化清除受损细胞器和大分子的重要过程之一^[43]。研究报道,ISR 机制可以通过激活自噬途径来使细胞存活或走向死亡,由应激诱导的自噬激活的关键调节因素是 eIF2 α 在 S51 位点的磷酸化^[1]。eIF2 α 的磷酸化激活可由相应的激酶感受不同的应激刺激,不同功能的信号因子对自噬进行双重调节,进而影响细胞活性^[16]。

Ye 等^[5]发现,肿瘤细胞的快速分裂增殖,其生存环境氨基酸的缺乏,激活 GCN2 后,可导致 eIF2 α 的磷酸化,激活自噬,提高了肿瘤细胞对细胞质组分的循环利用,维持了细胞生物合成能力和 ATP 水平,以促使其在氨基酸缺乏应激状态下存活,采用 GCN2 敲除的细胞模型,发现细胞自噬标志物(LC3)的表达显著下调,并且 eIF2 α 的 S51 位点发生突变后无法介导 LC3 的表达上调,证明了 GCN2 介导的 eIF2 α 的 S51 位点磷酸化对自噬激活的关键作用。此外,相关研究提出, p-eIF2 α 刺激 ATF4 的选择性翻译是自噬维持的关键^[44],进而刺激 LC3 的表达,即 AAR(amino acid reduction)-GCN2-eIF2 α -ATF4 是调节自噬的中心轴机制之一。

关于自噬相关基因的表达,研究发现,氨基酸缺乏应激时,相关的必需自噬基因如 LC3 和 ATG5 参与自噬小体的生物发生和功能表达,且存在 ATF4 依赖性的转录上调, AAR-GCN2-eIF2 α -ATF4 的激活可刺激 Atg3、Atg5、Atg7、Atg10、Atg12、Atg16、Becn1、Gabarap、Gabarap12、Map1lc3b 和 Sqstm1 等参与自噬的基因上调^[45]。

关于自噬诱导细胞死亡,研究表明自噬的激活可以通过细胞成分的改变导致灾难性地分解,进而诱导细胞出现死亡,但未明确说明与 GCN2 途径相关^[23]。且往往是凋亡导致细胞死亡,伴随着自噬相关因子的表达。然而,有研究明确提出自噬的促生存作用与氨基酸缺乏导致的 GCN2 激活密切相关^[46-47]。

2.8 GCN2 与细胞凋亡

在氨基酸缺乏的条件下,GCN2 的激活可以使细胞由应激状态恢复至稳态,有助于细胞的存活,而如果适应应激的恢复性反应在一定时间内无法恢复细胞生态的平衡,ISR 途径中的相关靶标可能会调控其他的下游因子,进而诱导细胞凋亡性死亡^[48-49],提示可以在特定条件下通过激活 GCN2 途径治疗肿瘤。

Qing 等^[49]研究发现,谷氨酰胺缺乏在 MYC 致癌基因介导的神经母细胞瘤中导致 GCN2-eIF2 α -ATF4 途径激活,ATF4 敲低后,可有效抑制 Gln 缺乏的 Kelly、IMR32 和 NLF 神经母细胞瘤细胞中凋亡相关因子 PUMA、NOXA 和 TRB3 的激活和细胞的死亡,且该机制中 ATF4 的激活仅依赖于 GCN2 激酶,与其他的 eIF2 α 激酶相互作用较弱或无。

此外,研究表明,ISR 诱导细胞死亡的机制之一是通过 ATF4 介导的 CHOP 活化^[48]。在一些细胞模型中,CHOP 已被证明通过上调凋亡执行蛋白(BH3-only)的 BCL-2 家族成员 BCL2L11 和 BBC3 来诱导细胞死亡,从而促进 ER 诱导的细胞凋亡^[48]。该机制中 ATF4 的激活与 PERK 途径相关,但尚未明确是否与 GCN2 有关。

Lehman 等^[50]研究发现,GCN2 的激活能够诱导 CIP/KIP 家族的成员 p21Cip1,造成细胞周期 G₁ 期停滞,进而诱导肿瘤细胞死亡,这可能也是 GCN2 促进死亡的途径之一。然而,p21 具有促肿瘤和抗肿瘤的双重作用,提示 GCN2-eIF2 α 途径的复杂性和双重性,推测 GCN2 在促存活或促凋亡作用方面的差异可能是取决于肿瘤细胞的代谢亚群。例如,在谷氨酰胺依赖的肿瘤细胞中,氨基酸缺乏会导致

GCN2 介导的细胞凋亡,与 TNF 相关凋亡诱导配体受体 2 (TRAIL-R2) 密切相关。

2.9 GCN2 与免疫反应

氨基酸是免疫细胞在器官发育、组织稳态和免疫反应过程中的基本营养物质^[51]。GCN2 作为氨基酸的中枢感受器,可调节氨基酸的代谢平衡,在各种免疫细胞的增殖和功能表达、肿瘤的生长、转移和治疗耐药性等方面发挥着关键性作用^[52]。研究表明,GCN2 的活化可激活并下调脂肪酸合成关键酶,而脂肪酸合成是 CD4⁺T 细胞增殖和分化的先决条件,提示 GCN2 活性可能减弱免疫应答^[52]。Van 等^[53]发现,GCN2 可控制细胞毒性 T 细胞的增殖适应性和运输,GCN2 的缺失在一定程度上会导致 T 细胞增殖出现阻碍。GCN2 与免疫细胞的细胞周期也关系紧密,相关研究表明精氨酸的耗损可以激活 GCN2 来损害细胞周期蛋白 D3 和细胞周期蛋白依赖性激酶 4 (CDK4) 活性,使 T 细胞停滞在 G₁ 期从而抑制 T 细胞的增殖^[54]。

髓源性抑制细胞 (MDSCs) 常在癌症、细菌感染和创伤等病理情况下产生和积累^[55]。研究发现,在黑色素瘤小鼠模型中,GCN2-ATF4 路径的激活,可促进 MDSCs 的快速成熟和积累,ATF4 和 GCN2 的缺乏会减慢黑色素瘤的生长速度^[56]。由此可见,肿瘤细胞和免疫相关细胞之间对于氨基酸的竞争与 GCN2 联系紧密,GCN2-ATF4 调节途径可能成为提高肿瘤免疫治疗效率的潜力机制。

另一方面,针对 GCN2 缺乏引起的 T 细胞增殖障碍问题,Michael 等^[57]发现,使用 GCN2 激动剂 Halofuginone (halo) 在体外激活效应 CD8⁺T 细胞中的氨基酸饥饿反应可增强氧化代谢和效应功能,将经 halo 处理的 CD8⁺T 细胞过继转移到患有肿瘤的小鼠体内可显著抑制肿瘤的生长,增强抗肿瘤治疗效果,可见使用激动剂干预激活 GCN2 可增强 T 细胞功能和抗肿瘤能力,GCN2 激动剂联合免疫治疗也可能成为抗肿瘤免疫治疗的重要探索方向。

3 GCN2 与疾病的关系

作为氨基酸缺乏的感应激酶,GCN2 激酶在细胞的生理和病理活动中起关键的调控作用。氨基酸参与体内代谢,调节生理功能,且种类众多,以此为基本单元合成功能独特的蛋白质在体内发挥作用。氨基酸的缺乏,影响正常组织细胞向肿瘤细胞的转变、心血管系统的运转以及糖尿病、脂肪肝、神经类疾病和肾脏疾病的发生等生理及病理过程,

因此,GCN2 与这些疾病也存在较紧密的联系,除此之外,研究报道 GCN2 基因的表达或缺失亦影响呼吸系统功能的正常行使。

3.1 GCN2 与肿瘤

ISR 的核心是 eIF2 α 激酶,GCN2 作为 eIF2 α 激酶家族一员,在氨基酸缺乏应激时与肿瘤密切相关,具有促生存和促凋亡的双重作用。

一方面,GCN2 正向调控肿瘤生存发展。Ye 等^[5]观察到,与正常组织相比,结肠癌、肺癌、乳腺癌和肝癌组织样本中 GCN2 的表达和磷酸化 GCN2 的表达水平均有所增加。Wang 等^[42]在对人类口腔鳞状细胞癌研究中发现,GCN2-ATF4 途径可通过血管生成来促进肿瘤生存与发展。Furnish 等^[58]在转移性前列腺癌研究中发现,GCN2-ATF4 的激活可以增加该癌细胞线粒体外膜蛋白的表达,有效促进了肿瘤的生长。此外,Ge 等^[59]发现,沉默 GCN2 可以抑制肾癌细胞的活力与增殖,进一步研究表明,GCN2 蛋白水平与不良临床病理参数 (如肿瘤体积增大、TNM 分期增高、Fuhrman 分级增高和淋巴结转移) 显著相关,GCN2 可以作为预测乳头状肾癌不良预后的重要标志物。近期,Carlson 等^[22]在对 GCN2 的抑制剂 GCN2iB (Med. Chem. Express #HY-112654) 的体外研究中发现,当药物浓度高于 0.1 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,可抑制 GCN2 的激活,可作为联合用药之一治疗急性淋巴细胞白血病、急性髓细胞性白血病和胰腺癌。在 GCN2 高表达依赖的多发性骨髓瘤 (MM) 和胶质母细胞瘤中,通过分析 TCGA 数据库中患者信息发现,GCN2 依赖的该类肿瘤具有更强的侵袭能力,建议临床中应尽早干预及放疗^[60]。

另一方面,GCN2 持续慢性激活能够发挥抗肿瘤作用。Kato 等^[61]筛选激酶库时发现,在非应激条件下,GCN2 抑制剂 GZD824 在较低的非抑制浓度能够刺激下游 eIF2 α 磷酸化和 ATF4 表达,并呈现 GCN2 表达依赖性抑制肺癌细胞的增殖。Carlson 等^[22]发现 GCN2iB 在体外药物浓度低于 0.1 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,可激活 GCN2 并增加下游 ATF4 的表达,进而抑制 HEK 衍生细胞的增殖。Tang 等^[62]报道,小分子激酶抑制剂例如奈拉替尼、埃洛替尼,在使用浓度远高于有效抑制浓度时,可以激活 GCN2,抑制肿瘤细胞的活性。研究发现,感知 ER 的 PERK 激酶抑制剂 GSK157 和 AMG44 在使用浓度远高于有效抑制浓度时,也可以激活 GCN2^[63]。近期,

Thomson 等^[64]自主设计合成了一种口服的 GCN2 激动剂 HC-7366, 药理研究结果显示出良好的抗肿瘤活性, 且与 GCN2 的表达正相关。

3.2 GCN2 与心血管疾病

缺血性心脏病 (IHD) 在临床治疗中可能引起心肌缺血/再灌注 (I/R) 损伤^[65-66]。能量底物代谢对维持心脏正常结构和功能至关重要, 特别是葡萄糖和脂肪酸代谢的改变, 已被认为是心肌对 I/R 损伤易感性的关键决定因素^[67]。

研究发现, 除了葡萄糖和脂肪酸, 氨基酸也是支持心脏及心血管系统正常运转的重要能量底物。其中支链氨基酸 (BCAA), 由缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸组成, 是心肌组织中可被氧化的一组必需氨基酸。Li 等^[67]发现, BCAA 的积累可抑制 GCN2, 进而上调激活转录因子-6 (ATF6), ATF6 介导过氧化物酶体增殖物激活受体- α (PPAR- α) 的上调, 引起 FAO 相关基因的上调, 进而介导脂质过氧化毒性, 使心肌细胞对 I/R 损伤敏感。但也有研究发现, GCN2 与心力衰竭相关, GCN2 的抑制可以上调抗凋亡蛋白 Bcl-2, 进而激发心肌保护功能, 在主动脉缩窄诱导心肌肥厚的心力衰竭模型中起负调控作用^[68]。此外, GCN2 在有氧运动减轻抗肿瘤药物阿霉素引发的心脏毒性中起关键作用, 有氧运动可能通过抑制 GCN2 及其下游 eIF2 α /ATF4 通路的表达来减轻阿霉素引起的小鼠心肌损伤^[69]。

3.3 GCN2 与呼吸系统疾病

肺动脉高压 (PH) 仍然是最罕见和最致命的疾病之一。相关研究表明, GCN2 的 p.K187 fs 双等位基因突变及 p.Q558*纯合突变被确定为 PH 的遗传易感性原因^[70]。

肺纤维化是一种以广泛的组织重塑为特征的慢性进行性肺部疾病。研究发现, 29%~77% 的肺纤维化患者伴随着 PH^[71]。研究报道^[72], 肺纤维化患者、肺纤维化伴随 PH 的患者以及博来霉素诱导的肺纤维化大鼠均表现出 GCN2 蛋白表达量降低, GCN2^{-/-}基因工程大鼠在博来霉素处理后肺实质纤维化、血管重塑及 PH 程度加剧, 提示在 PH、肺纤维化和与之相关 PH 中, GCN2 为 PH 相关疾病共同的病理生物学途径的靶标之一。鉴于肺纤维化通常是许多化疗药物导致的不良反应, 而 GCN2 的缺失可能会加剧肺纤维化, 因此, 临床上在使用 GCN2 抑制剂时应衡量其抗肿瘤疗效和可能加剧肺纤维化之间的利弊。

过敏性哮喘是气道的一种慢性多细胞炎症性疾病, 辅助性 T 细胞 9 (Th9) 分泌的白细胞介素 9 (IL-9) 可加重过敏性哮喘^[73]。Wang 等^[74]研究发现, GCN2 的基因表达缺失, 导致 CD4⁺ T 细胞的活降低, 进而调控 Th9 细胞数量减少, 减少 IL-9 的分泌, 减轻过敏性哮喘症状。

3.4 GCN2 与其他疾病

GCN2 调控多种人类疾病, 如糖尿病、脂肪肝、神经类疾病和肾脏疾病等^[75]。Xiao 等^[76]研究表明, 亮氨酸的缺乏可激活 GCN2, 进一步抑制 mTORC1 相关通路, 刺激胰岛素分泌, 改善胰岛素敏感性, 有助于 2 型糖尿病患者的血糖控制。Guo 等^[77]研究发现, 在给予小鼠亮氨酸缺乏饮食处理 7 d 后, GCN2 基因敲除的小鼠, 出现显著的肝脏脂肪变性, 而 GCN2 未敲除的小鼠, 其肝脏脂肪合酶活性下降, 进一步探究发现, 造成这一差异的原因是, GCN2 因亮氨酸缺乏而被激活, 从而抑制脂肪生成转录因子和脂肪合成酶的表达。Spaulding 等^[78]研究发现, ISR 的慢性激活促进了腓骨肌萎缩症 (CMT) 的病理进程, 而 GCN2iB 的使用和 GCN2 基因缺失均减轻了周围神经病变, 推测抑制 GCN2 或 ISR 可能是 CMT 潜在的治疗策略。Peng 等^[79]研究表明, 色氨酸的缺乏可激活 GCN2, 进而诱导炎症减少, 保护小鼠肾脏免受缺血损伤。Sturmlechner 等^[80]研究发现, GCN2 的激活可引起肾小管细胞周期停滞, 进而诱导肾小管衰老等慢性疾病的发展。

4 GCN2 相关药物研发现状

4.1 肿瘤药物

GCN2 激酶在肿瘤中的作用较为复杂, 可以作为肿瘤促进因子或肿瘤抑制因子, 具体作用取决于肿瘤类型和微环境。在 DNA 损伤、氨基酸匮乏、氧化应激等急性应激条件下, 可激活 GCN2-eIF2 α -ATF4-ISR 反应轴, 快速上调 DDIT3、TRIB3 等适应性基因的表达, 从而促进癌细胞生存。然而, 在持续性营养缺乏、长期氧化应激、炎症等慢性应激条件下, 可导致 ATF4 的持续激活, 上调 PUMA、NDXA 等促凋亡蛋白的表达, 导致癌细胞死亡。因此, 现阶段已经同时开发了 GCN2 的抑制剂和激动剂, 用于不同条件下的癌症研究。

4.1.1 GCN2 抑制剂 GCN2 作为一种应激反应激酶, 在维持细胞稳态中起关键作用。目前 GCN2 抑制剂的研发情况汇总见表 1。

表 1 GCN2 抑制剂的研发现状
Table 1 Research and development status of GCN2 inhibitors

抑制剂名称	原研企业	适应证	作用机制	研发阶段
NMS-812 (NMS03597812)	Nerviano Medical Sciences	急性髓细胞性白血病、多发性骨髓瘤	PERK 和 GCN2 双重抑制剂，通过抑制 ISR 途径，诱导肿瘤细胞凋亡	临床 I 期
GCN2iB	Takeda	急性淋巴细胞白血病	ASNase 增敏剂；激活 MAPK 通路	临床前
GCN2-IN-7	RAPT Therapeutics	黑色素瘤	缓解 MDSCs 相关的 T 细胞抑制，恢复 T 细胞增殖活性	临床前
AST-05X	Aston Science	实体瘤、胰腺导管腺癌	抑制 ISR 通路，诱导肿瘤细胞凋亡	临床前
PLH3481	首尔大学	头颈部鳞状细胞癌	GCN2 选择性抑制剂	临床前

(1) NMS-812: Nerviano Medical Sciences 开发的一种新型、强效、ATP 竞争性的 PERK/GCN2 抑制剂，它们是 ISR 的未折叠蛋白反应 (UPR) 和氨基酸反应 (AAR) 分支的关键效应因子，并且二者可协同调节癌细胞在应激条件下的存活，当 PERK 受到抑制时，GCN2 会补偿性激活。多发性骨髓瘤 (MM) 和其他蛋白分泌肿瘤由于其高蛋白载量而高度依赖。因此，NMS-812 通过调节 ER 和氨基酸匮乏，抑制癌细胞的 ISR 促生存途径，导致肿瘤细胞凋亡和肿瘤生长抑制^[81]。此外，研发人员在 2023 年 AACR 中披露，在 MM 的异种移植模型，NMS-812 单独给药后可显著延长动物的中位生存时间，并显示出与 MM 护理标准药物的协同活性。NMS-812 显示出良好的药动学特性，表明在临床前物种中具有可接受的口服生物利用度和毒性特征，但是出于数据保密原因，暂未查到 NMS-812 相关的非临床研究数据。现阶段 NMS-812 正处于 I 期临床研究中 (NCT05027594)，用于探索在成年复发或难治性 MM 患者中的安全性、耐受性、药动学和初步抗肿瘤活性，暂时未招募到需求量患者^[82]。基于临床前数据及其对 ISR 中 PERK 和 GCN2 的独特双重靶向作用，NMS-812 具有同类首创的潜力，可作为 MM 和其他 PERK/GCN2 依赖性肿瘤的治疗方法。

(2) GCN2iB: 由武田制药开发的一种具有 ATP 竞争性的 GCN2 抑制剂，在 468 种激酶选择性筛选中，它对 GCN2 激酶的选择性超过 99.5%，其半数抑制浓度 (IC₅₀) 值为 2.4 nmol·L⁻¹。在 MV-4-11 [急性髓细胞性白血病 (AML)] 和 SU.86.86 (胰腺癌) 细胞的人源肿瘤细胞系异种移植 (CDX) 模型中，使用药物 GCN2iB (10 mg·kg⁻¹，每天 2 次) 和 L-天冬酰胺酶 (ASNase, 1 000 U·kg⁻¹，每天 1 次) 进行治疗，疗程为 14 d，每周给药 3 d。观察到单独使用

GCN2iB 或 ASNase 对肿瘤生长没有显著影响，而两者的联合用药具有协同作用，对 2 个模型均具有强大的抗肿瘤活性 ($P=0.000\ 3$ 和 $P=0.003\ 8$)。此外，在 MV-4-11 模型中，即使在停药 1 周后肿瘤也未显示出明显的生长^[31]。其研究人员还进一步探究了 GCN2 抑制剂的作用机制，即通过阻止天冬酰胺合成酶 (SNS) 的诱导作用，增加急性淋巴细胞白血病 (ALL) 细胞对 ASNase 敏感性，导致从头蛋白质合成水平降低，联合疗法通过诱导激活 MAPK 通路，触发细胞凋亡。

(3) GCN2-IN-7: 由 Jackson 等^[83]研究人员共同发现，期间得到 GCN2-IN-1、GCN2-IN-6 等多个苗头化合物，最终将 GCN2-IN-7 作为候选化合物进行开发，该化合物具有较好的 GCN2 激酶活性 (IC₅₀=5 nmol·L⁻¹)。在体外研究中，将胰腺癌细胞 Pan02 接种于 WT 和 GCN2 KO 小鼠，待肿瘤体积长至 150~200 mm³ 时，分离 MDSCs，并与上述 2 种幼鼠来源的 CD8⁺T 细胞共培养 3 d，研究证实 GCN2-IN-7 (600 nmol·L⁻¹，3 d) 可明显缓解 MDSCs 对共培养 CD8⁺T 细胞增殖的抑制并恢复 T 细胞的增殖，该结果与 GCN2-KO 组相一致。此外，研究人员将小鼠肾癌细胞 RENCA 接种于 Balb/c 小鼠，并给予 GCN2-IN-7 (15 mg·kg⁻¹，ig，每天 2 次) 进行 17 d 治疗，结果显示 GCN2 在肿瘤 (84%， $n=3$) 和脾脏 (80%， $n=3$) 组织中都具有较强的靶向作用，并且药物组小鼠的 ATF4 水平相较于对照组下调了约 65% ($n=2$)。该团队还构建了 LL2 同基因小鼠模型来测试 GCN2-IN-7 的体内药效，结果表明，单药治疗时 (50 mg·kg⁻¹，ig，每天 2 次，17 d) 该化合物就表现出显著的肿瘤生长抑制作用 (抑制率=56%， $P<0.000\ 01$)，并且可增强 VEGFR 介导的抗肿瘤活性 (肿瘤抑制率从 65% 增至 79%， $P<0.001$)，

表明 GCN2 抑制剂与抗 VEGFR 疗法具有一定的联用潜力。

(4) AST-05X: 由 Aston Science 与 KRICT 公司联合开发的 GCN2 和 PERK 双重抑制剂^[84], 研究人员通过体外酶学实验证实了该化合物对 GCN2 激酶的选择性抑制活性, 并于 2024 年 AACR 中披露, 在氨基酸匮乏的 HT-1080 细胞中, 基于 ISR 相关基因表达谱分析结果可知, AST-05X 可明显抑制 HT-1080 肉瘤细胞系 GCN2 和 ISR 下游因子 (如磷酸化 eIF2α、ATF、CHOP) 的表达 ($n=17$)。进一步阐明了 ISR 通路的作用机制, 将其作为具有开发潜力的治疗药物。目前正在探讨该药物在肉瘤患者来源的异种移植模型中的疗效, 但是尚未披露相关的

研究结果。

此外, 还有 GCN2 modulator-1、PLH3481、ISR-M-6904 等多个 GCN2 抑制剂也处于临床前研发阶段, 然而未见披露其最新研究进展及相关数据。

4.1.2 GCN2 激动剂 目前与激酶靶点相关的多种疾病 (如肿瘤、代谢、自免疾病等) 均使用抑制剂作为主要治疗手段, 大量的临床应用也证明了其有效性和安全性, 从而推动了该市场的快速发展。相比之下, 激酶激动剂的研发则相对冷门, 缺乏足够的研发资源和关注度。NXP800 和 HC-7366 是当下处于研究前列的、具代表性的 GCN2 激动剂, 表 2 总结了的一些 GCN2 激动剂的相关信息, 以供参考。

表 2 GCN2 激动剂的研究现状
Table 2 Research status of GCN2 agonists

激动剂名称	原研机构	适应证	作用机制	研发阶段
NXP800 (CCT361814)	Nuvectis Pharma	卵巢癌、胆管癌	激活 GCN2, 磷酸化 eIF2α, 诱导细胞凋亡	临床 I 期
HC-7366	Hiber Cell	肾细胞癌、AML	慢性激活 ISR, 导致细胞凋亡	临床 I 期
T-3861174	武田制药	非上皮性肿瘤	激活 GCN2-ATF4 途径, 诱导肿瘤细胞死亡	临床前
halofuginone	多伦多大学	T 淋巴瘤	激活氨基酸饥饿反应, 增强 T 细胞代谢及其抗肿瘤活性	临床前
OPB-171775	大冢制药	胃肠道间质瘤	与 PDE3A 和 SLFN12 形成三元复合物, 激活 GCN2 信号通路	临床前
neratinib (EGFR 抑制剂)	Puma Biotechnology	胶质母细胞瘤	结合 GCN2 激酶结构域, 激活 GCN2/ATF4 信号通路	上市

(1) NXP800: 由 Nuvectis Pharma 公司开发的一种口服小分子 GCN2 激动剂^[85], 也曾被报道为热休克转录因子 1 (HSF1) 抑制剂。Pasqua 等^[86]研究者证实 NXP800 对 hERG ($IC_{50}>30\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 和 CYP ($IC_{50}>10\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 没有明显的抑制活性, 并且在 Caco-2 细胞实验中表现出较好的体外渗透性 ($P_{appAP-BL}=7.7\times10^{-6}\text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$, efflux ratio=2.8)。通过大鼠的药动力学数据分析可知, NXP800 具有良好的口服生物利用度 (45%)、中等的全血清除率 ($Cl=24\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}$), 以及可接受的半衰期 (3.1 h)。通过体内药效实验证实, NXP800 ($35\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, ig, 每天 1 次, 20 d) 对 SK-OV-3 的 CDX 模型具有较好的抗肿瘤增殖活性, 肿瘤生长抑制率高达 120%, 给药组的相对肿瘤增长率明显低于对照组。Nuvectis 公司于 2021 年 12 月启动 I 期临床试验

(NCT05226507)^[87], 其中 Ia 期试验为 NXP800 的剂量递增试验 ($75、150\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, po, 每天 1 次/每天 2 次), 用于初步探索该药物的最大耐受剂量 (MTD) 以及 II 期临床推荐剂量。Ib 期试验是一项针对铂类耐药、ARID1a 突变的透明细胞卵巢癌、子宫内膜样卵巢癌患者的多中心、单臂、开放标签临床试验, 其目的是进一步验证 NXP800 在目标患者群体中的安全性和初步疗效。该公司于 2024 年美国妇女肿瘤年会 (SGO) 公布了相关试验结果^[88], Ia 期的泛肿瘤治疗常见的突发性不良反应有恶心、呕吐、腹泻、乏力、食欲下降、体质量减轻等, 常见的实验室异常指标包括血小板、肝酶、红细胞的一次性变化, 但均未引起严重的临床后果, 未发现与 NXP800 相关的 4 级/5 级不良反应。通过 Ia 期的初步药动力学数据, 将 Ib 期的用药剂量定为 50、70

$\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ，并将 CHAC1、ATF3、ATF4、HSP27 等蛋白质的表达变化作为关键的监测指标。

此外，FDA 于 2022 年 12 月授予 NXP800 用于治疗铂耐药、ARID1a 突变卵巢癌的快速通道资格，2023 年 8 月，监管机构授予 NXP800 孤儿药资格，用于治疗胆管癌^[89]。

(2) HC-7366: 由 Hiber Cell 公司开发具有口服活性的 GCN2 选择性激动剂。临床前实验表明^[64]，HC-7366 对 GCN2 激酶具有很强的活性， IC_{50} 值为 $12\text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ，该化合物在大鼠药动学实验中具备代谢慢 ($\text{Cl}=0.20\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}$ ， $t_{1/2}=6.3\text{ h}$)、渗透性良好 ($P_{\text{appAP-BL}}=9.7\times 10^{-6}\text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$) 等药动学性质，但是其生物利用度仅为 29%。研究人员发现将 HC-7366 制成钾盐后，HC-7366-K 在空腹态拟肠液 (FasSIF, pH 6.5) 中的溶解度比游离酸高约 250 倍，大鼠的口服血浆暴露量 ($200\,000\text{ mg}\cdot\text{h}\cdot\text{mL}^{-1}$) 和生物利用度 (88%) 可提升约 3 倍。

体内药效实验结果表明，HC-7366 在 HT1080、DLD-1、FaDu、LNCap 等细胞的多个小鼠 CDX 模型中表现出强大单药活性和较好的耐受性。在 AML 的动物模型中，HC-7366 对其 M0-M2 分化亚型的单药活性较强^[90]。实验结果显示 HC-7366 (po, bid) 在 $2\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量下可完全根除 MOLM-16 (M0 型 AML) 异种移植肿瘤；在 $1、3\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量时可使 KG-1 (M1 型) 肿瘤生长停滞 (肿瘤生长抑制率约 90%)；在 $3、30\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量时对 Kasumi-1 (M2 型) 肿瘤的肿瘤生长抑制率分别为 73% 和 77%；HC-7366 于 $10、30\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量治疗 OCI-AML2 (M4 型) 肿瘤的肿瘤生长抑制率分别为 47% 和 51%；并且该药物于 $30\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 治疗剂量对 MV4-11 (M5 型) 肿瘤的肿瘤生长抑制率仅为 45%。近期研究发现，将 HC-7366 ($3\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 与 Venetoclax (BCL2 抑制剂， $50\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 联用于 MV4-11 的 FLT3-ITD 突变模型，可过度激活 ISR 途径 (ASNS 和 PSAT1 蛋白上调)，诱导生成凋亡蛋白 NOXA 和 PUMA，并减少耗氧量和糖酵解。另一方面，该组合疗法可显著下调 S100A8/A9 的水平 ($P<0.01$)，以 GCN2 依赖性方式改善 Venetoclax 对 MV4-11 的耐药性，并证实该疗法具备较好的抗肿瘤活性，可导致 26% 的肿瘤消退^[91]。

目前，HC-7366 处于 I 期临床研究阶段，NCT05121948 研究主要通过“3+3 剂量递增原则”探索该药物 ($10、20、40、75、125、150\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ，

po，每天 1 次) 的最大耐受剂量和 II 期试验推荐剂量，同时评估其安全性和耐受性，其适应证包含头颈部鳞状细胞癌、结直肠癌、非小细胞肺癌、透明细胞肾细胞癌等多个实体瘤^[92]。此外，Hiber Cell 公司于 2024 年启动了 2 项 I 期临床研究，分别为 HC-7366 与 Belzutifan 联用治疗肾细胞癌 (NCT06234605)，用于评估其对于透明细胞肾细胞癌 (CCRCC) 患者的安全性、耐受性和初步疗效^[93]，以及 HC-7366 联合阿扎胞苷和维奈托克治疗复发/难治性 AML 或 MDS AML 患者 (NCT06285890)，2 项研究目前均处于招募阶段，暂时未见相关更新。

(3) neratinib: 是 Puma Biotechnology 公司研发的一种不可逆的泛 ErbB 激酶抑制剂，于 2017 年被 FDA 批准用于 HER2 阳性的乳腺癌患者，也可用于 EGFR 突变的非小细胞肺癌、胶质母细胞瘤 (GBM) 等肿瘤。Tang 等^[62]发现，GCN2 激酶缺失使 GBM 细胞对 neratinib 产生耐药性，细胞存活率约 80%，而 neratinib 通过直接结合 GCN2 激酶结构域，激活 GCN2/ATF4 信号通路，诱导细胞死亡和抑制细胞生长 ($\text{IC}_{50}=100\text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$)，从而增强其抗肿瘤效果。有研究表明^[94]，neratinib 在低浓度 ($<675\text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 时可增强 GCN2 激酶活性，在高浓度时抑制，提示后续研究要注意治疗安全窗的相关问题，也需考虑到 GCN2/ATF4 信号轴激活后引起的细胞应激反应，避免发生一些非特异性副作用。

4.2 多系统疾病药物

研究表明，GCN2 激酶在多种生理和病理过程中发挥重要作用，可作为多种疾病的相关治疗靶点。

Zhou 等^[95]研究证明，在大鼠脑 IR 损伤模型中，其自研方剂 NTF 可通过调控 HSP90-GCN2-ATF4 通路减轻细胞凋亡，提示 NTF 具有潜在的神经保护作用。Yan 等^[96]通过体内外模型证实，Ponatinib 可抑制心肌细胞中 ATP 合成酶活性导致 ATP 缺乏，触发 GCN2 介导的 ISR 过度激活，最终导致线粒体功能受损，小鼠的心脏功能减弱。而使用 GCN2 抑制剂 ($0.5\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 可以预防或逆转诱导的心脏毒性。

GCN2 被证明是一种新的 NRF2 调节因子，可通过 GSK-3 β 途径下调 NRF2 水平。敲除 GCN2 可改善肥胖小鼠的胰岛素抵抗和葡萄糖耐受性，减少肝脏三酰甘油、总胆固醇和非酯化脂肪酸水平。GCN2iB 也能改善肥胖小鼠的胰岛素抵抗、肝脂变性 和氧化应激过程^[97]。这为开发治疗代谢相关

脂肪性肝病的治疗提供了新策略和实验依据。

Michael^[57]调查发现, GCN2 在免疫系统中也起着重要作用, 通过调节免疫细胞的应激反应, 帮助免疫细胞在营养匮乏的环境中存活。GCN2 抑制炎症小体的激活, 控制肠道炎症。在 GCN2 缺失的小鼠中, DSS 诱导的结肠炎敏感性更高、炎症症状更严重。另一方面, GCN2 通过调节巨噬细胞的凋亡细胞清除功能, 可维持免疫系统的平衡。缺乏 GCN2 的巨噬细胞无法有效清除受损的红细胞和回收铁, 导致自身免疫反应增强^[98]。

此外, GCN2 缺失小鼠在应对细菌或病毒感染时, 表现出较低的细胞因子水平, 感染易感性增加。研究指出, GCN2 可通过调节免疫细胞生成细胞因子, 应对外界感染; 也可通过自磷酸化抑制蛋白质合成, 阻碍病毒复制, 抵御 SV、MCMV、HIV-1 等病毒的感染, 有助于宿主细胞在病毒感染早期存活^[96]。

综上所述, 目前处于开发阶段的 GCN2 调节剂主要针对于肿瘤领域, 虽然 GCN2 激酶与心脑血管疾病、代谢病、自免疾病等密切相关, 但是这类研究主要由学术研究机构牵头, 处于早期阶段, 用于探索 GCN2 与疾病发生的机制和潜在的应用方向, 尚未有明确的商业化产品。同时提示, 后续开发 GCN2 靶向药物时, 需考虑到其复杂的生理功能和调控机制、以及可能引起的不良反应和安全性问题。

5 结语

GCN2 激酶作为 ISR 的重要组成部分, 负责感受体内氨基酸缺乏和葡萄糖剥夺, 在 ISR 激活时呈现磷酸化活性形式, 进一步激活下游转录因子 ATF4, 即形成 GCN2-eIF2 α -ATF4 通路响应 ISR, 对真核细胞具有促生存和促死亡的双重作用机制。

在肿瘤细胞中, GCN2-eIF2 α -ATF4 可分别通过降低或上调 GSH 的水平, 来调节 ROS 稳态, 也可由蛋白质毒性应激引起的氨基酸缺乏所激活, 进而调节其下游自噬相关靶标及 mTORC1 信号, 维持细胞的生存, 在此过程中, 如果长时间因缺乏必需氨基酸导致 GCN2 持续慢性激活, 或精氨酸的异常补充而无法恢复蛋白质稳态, 则诱导细胞走向凋亡。GCN2-eIF2 α -ATF4 依赖的氨基酸缺乏应激是独立于缺氧、HIF-1 α 或 PGC-1 α 的 VEGF 表达和血管生成增加的新触发因素, 在肿瘤中, 抑制 GCN2 的活性可降低 VEGF 的表达, 减少血管生成和抑制肿瘤增殖。多数研究表明自噬具有促生存作用, 且与氨基酸缺乏引起的 GCN2 激活密切相关, 也有研究提

到自噬会改变细胞内生态的平衡, 进而导致细胞死亡, 但尚未找到实质证据证明与 GCN2 相关, 而 GCN2 激活后的促凋亡机制与糖酵解、CHOP 促凋亡蛋白的上调以及细胞周期停滞 3 种途径有关。此外, GCN2 的激活可减弱免疫应答, 促进肿瘤的发生发展。

综上, 本文从多个方向较全面地总结了 GCN2 的双重作用机制, GCN2 的急性短时间激活可以促使细胞存活, 其慢性持续性激活可以诱导细胞死亡, 针对 2 种相反的机制可分别用于 GCN2 抑制剂和激动剂的开发。但是, GCN2 在不同病理生理模型中与上下游通路的具体作用机制仍未阐明, 尚需要进一步研究: (1) 何种程度的应激属于慢性持续应激或急性短促应激, 目前, 仅能通过其表型判断, 以及分析其下游的靶标表达来验证, 但多数情况下其促细胞生存和促细胞死亡的靶标信息的表达是共存的, 甚至受到其他 ISR 激酶调控的影响; (2) 如何精准调控 2 种不同程度的应激在细胞生存和细胞死亡应答反应中的平衡, 相关适应证的药物研发还处于临床前或早期临床阶段, 尚未验证临床有效性; (3) GCN2 的激活或抑制与多种疾病关联, 在开发 GCN2 调节剂时应考虑如何避免 GCN2 的正向或反向调节中所伴随发生的不良反应, 虽然目前所披露的 GCN2 抑制剂和激动剂均未发现明显的安全性问题, 但其潜在的风险不可忽视。目前, GCN2 的抑制剂和激动剂均有企业在研, 特别是在肿瘤领域的开发应用, 随着 GCN2 激酶的双重作用的关键调控机制的深入研究, GCN2 抑制剂和激动剂有望得到进一步的开发, 具有解决临床上肿瘤耐药的潜质。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Akman M, Belisario D C, Salaroglio I C, et al. Hypoxia, endoplasmic reticulum stress and chemoresistance: Dangerous liaisons [J]. J Exp Clin Cancer Res, 2021, 40(1): 28.
- [2] Gold L T, Masson G R. GCN2: Roles in tumour development and progression [J]. Biochem Soc Trans, 2022, 50(2): 737-745.
- [3] Lageix S, Lanet E, Pouch-Pélissier M N, et al. Arabidopsis eIF2 α kinase GCN2 is essential for growth in stress conditions and is activated by wounding [J]. BMC Plant Biol, 2008, 8: 134.

- [4] Dever T E, Chen J J, Barber G N, et al. Mammalian eukaryotic initiation factor 2 alpha kinases functionally substitute for GCN2 protein kinase in the GCN4 translational control mechanism of yeast [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, 90(10): 4616-4620.
- [5] Ye J B, Kumanova M, Hart L S, et al. The GCN2-ATF4 pathway is critical for tumour cell survival and proliferation in response to nutrient deprivation [J]. *EMBO J*, 2010, 29(12): 2082-2096.
- [6] Zhang K X, Liu G S, Li W W, et al. Cloning and expression analysis of NtGCN2 in *Nicotina tabaccum* [J]. *Plant Physiol*, 2014, 50(9): 1406-1412.
- [7] Donnelly N, Gorman A M, Gupta S, et al. The eIF2 α kinases: Their structures and functions [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2013, 70(19): 3493-3511.
- [8] Lageix S, Rothenburg S, Dever T E, et al. Enhanced interaction between pseudokinase and kinase domains in Gcn2 stimulates eIF2 α phosphorylation in starved cells [J]. *PLoS Genet*, 2014, 10(5): e1004326.
- [9] Wang L J, Li H H, Zhao C Z, et al. The inhibition of protein translation mediated by AtGCN1 is essential for cold tolerance in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant Cell Environ*, 2017, 40(1): 56-68.
- [10] Dong J, Qiu H, Garcia-Barrio M, et al. Uncharged tRNA activates GCN2 by displacing the protein kinase moiety from a bipartite tRNA-binding domain [J]. *Mol Cell*, 2000, 6(2): 269-279.
- [11] Wek S A, Zhu S, Wek R C. The histidyl-tRNA synthetase-related sequence in the eIF-2 alpha protein kinase GCN2 interacts with tRNA and is required for activation in response to starvation for different amino acids [J]. *Mol Cell Biol*, 1995, 15(8): 4497-4506.
- [12] Hey S J, Byrne E, Halford N G. The interface between metabolic and stress signalling [J]. *Ann Bot*, 2010, 105(2): 197-203.
- [13] Zhu S, Wek R C. Ribosome-binding domain of eukaryotic initiation factor-2 kinase GCN2 facilitates translation control [J]. *J Biol Chem*, 1998, 273(3): 1808-1814.
- [14] Pochopien A A, Beckert B, Kasvandik S, et al. Structure of Gcn1 bound to stalled and colliding 80S ribosomes [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2021, 118(14): e2022756118.
- [15] Visweswaraiah J, Lageix S, Castilho B A, et al. Evidence that eukaryotic translation elongation factor 1A (eEF1A) binds the Gcn2 protein C terminus and inhibits Gcn2 activity [J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(42): 36568-36579.
- [16] Tian X B, Zhang S L, Zhou L L, et al. Targeting the integrated stress response in cancer therapy [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 747837.
- [17] Misra J, Carlson K R, Spandau D F, et al. Multiple mechanisms activate GCN2 eIF2 kinase in response to diverse stress conditions [J]. *Nucleic Acids Res*, 2024, 52(4): 1830-1846.
- [18] Masson G R. Towards a model of GCN2 activation [J]. *Biochem Soc Trans*, 2019, 47(5): 1481-1488.
- [19] Wek R C. Role of eIF2 α kinases in translational control and adaptation to cellular stress [J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2018, 10(7): a032870.
- [20] Yan L L, Zaher H S. Ribosome quality control antagonizes the activation of the integrated stress response on colliding ribosomes [J]. *Mol Cell*, 2021, 81(3): 614-628.e4.
- [21] Jiang H Y, Wek S A, McGrath B C, et al. Activating transcription factor 3 is integral to the eukaryotic initiation factor 2 kinase stress response [J]. *Mol Cell Biol*, 2004, 24(3): 1365-1377.
- [22] Carlson K R, Georgiadis M M, Tameire F, et al. Activation of Gcn2 by small molecules designed to be inhibitors [J]. *J Biol Chem*, 2023, 299(4): 104595.
- [23] Wortel I M N, van der Meer L T, Kilberg M S, et al. Surviving stress: Modulation of ATF4-mediated stress responses in normal and malignant cells [J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2017, 28(11): 794-806.
- [24] Ishizawa J, Kojima K, Chachad D, et al. ATF4 induction through an atypical integrated stress response to ONC201 triggers p53-independent apoptosis in hematological malignancies [J]. *Sci Signal*, 2016, 9(415): ra17.
- [25] Frank C L, Ge X C, Xie Z G, et al. Control of activating transcription factor 4 (ATF4) persistence by multisite phosphorylation impacts cell cycle progression and neurogenesis [J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(43): 33324-33337.
- [26] Hiramatsu N, Messah C, Han J, et al. Translational and posttranslational regulation of XIAP by eIF2 α and ATF4 promotes ER stress-induced cell death during the unfolded protein response [J]. *Mol Biol Cell*, 2014, 25(9): 1411-1420.
- [27] Lu P D, Harding H P, Ron D. Translation reinitiation at alternative open reading frames regulates gene expression in an integrated stress response [J]. *J Cell Biol*, 2004, 167(1): 27-33.
- [28] Arriazu E, Pérez de Obanos M P, López-Zabalza M J, et al. Amino acid deprivation decreases intracellular levels of reactive oxygen species in hepatic stellate cells [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2010, 26(3): 281-290.
- [29] Chen M S, Wang S F, Hsu C Y, et al. CHAC1 degradation of glutathione enhances cystine-starvation-induced necroptosis and ferroptosis in human triple negative breast

- cancer cells via the GCN2-eIF2 α -ATF4 pathway [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(70): 114588-114602.
- [30] Wang S F, Chen M S, Chou Y C, et al. Mitochondrial dysfunction enhances cisplatin resistance in human gastric cancer cells via the ROS-activated GCN2-eIF2 α -ATF4-xCT pathway [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(45): 74132-74151.
- [31] Nakamura A, Nambu T, Ebara S, et al. Inhibition of GCN2 sensitizes ASNS-low cancer cells to asparaginase by disrupting the amino acid response [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, 115(33): E7776-E7785.
- [32] Li H, Ruan Y, Zhang K, et al. Mic60/Mitofilin determines MICOS assembly essential for mitochondrial dynamics and mtDNA nucleoid organization [J]. *Cell Death Differ*, 2016, 23(3): 380-392.
- [33] McConkey D J. The integrated stress response and proteotoxicity in cancer therapy [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 482(3): 450-453.
- [34] Nofal M, Wang T, Yang L F, et al. GCN2 adapts protein synthesis to scavenging-dependent growth [J]. *Cell Syst*, 2022, 13(2): 158-172.e9.
- [35] Sannino S, Manuel A M, Shang C W, et al. Non-essential amino acid availability influences proteostasis and breast cancer cell survival during proteotoxic stress [J]. *Mol Cancer Res*, 2023, 21(7): 675-690.
- [36] Schmidt S, Gay D, Uthe F W, et al. A MYC-GCN2-eIF2 α negative feedback loop limits protein synthesis to prevent MYC-dependent apoptosis in colorectal cancer [J]. *Nat Cell Biol*, 2019, 21(11): 1413-1424.
- [37] Dobrenel T, Marchive C, Azzopardi M, et al. Sugar metabolism and the plant target of rapamycin kinase: A sweet operaTOR? [J]. *Front Plant Sci*, 2013, 4: 93.
- [38] You M S, Xie Z L, Zhang N, et al. Signaling pathways in cancer metabolism: Mechanisms and therapeutic targets [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2023, 8(1): 196.
- [39] Nikonorova I A, Mirek E T, Signore C C, et al. Time-resolved analysis of amino acid stress identifies eIF2 phosphorylation as necessary to inhibit mTORC1 activity in liver [J]. *J Biol Chem*, 2018, 293(14): 5005-5015.
- [40] Longchamp A, Mirabella T, Arduini A, et al. Amino acid restriction triggers angiogenesis via GCN2/ATF4 regulation of VEGF and H2S production [J]. *Cell*, 2018, 173(1): 117-129.e14.
- [41] Zhang F, Zeng Q Y, Xu H, et al. Selective and competitive functions of the AAR and UPR pathways in stress-induced angiogenesis [J]. *Cell Discov*, 2021, 7(1): 98.
- [42] Wang Y G, Ning Y, Alam G N, et al. Amino acid deprivation promotes tumor angiogenesis through the GCN2/ATF4 pathway [J]. *Neoplasia*, 2013, 15(8): 989-997.
- [43] Mizushima N, Levine B, Cuervo A M, et al. Autophagy fights disease through cellular self-digestion [J]. *Nature*, 2008, 451(7182): 1069-1075.
- [44] Kroemer G, Mariño G, Levine B. Autophagy and the integrated stress response [J]. *Mol Cell*, 2010, 40(2): 280-293.
- [45] B'Chir W, Maurin A C, Carraro V, et al. The eIF2 α /ATF4 pathway is essential for stress-induced autophagy gene expression [J]. *Nucleic Acids Res*, 2013, 41(16): 7683-7699.
- [46] Zhao Y, Yang J, Liao W J, et al. Cytosolic FoxO1 is essential for the induction of autophagy and tumour suppressor activity [J]. *Nat Cell Biol*, 2010, 12(7): 665-675.
- [47] Yue Z Y, Jin S K, Yang C, et al. Beclin 1, an autophagy gene essential for early embryonic development, is a haploinsufficient tumor suppressor [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(25): 15077-15082.
- [48] Jin L, Alesi G N, Kang S. Glutaminolysis as a target for cancer therapy [J]. *Oncogene*, 2016, 35(28): 3619-3625.
- [49] Qing G L, Li B, Vu A, et al. ATF4 regulates MYC-mediated neuroblastoma cell death upon glutamine deprivation [J]. *Cancer Cell*, 2012, 22(5): 631-644.
- [50] Lehman S L, Cerniglia G J, Johannes G J, et al. Translational upregulation of an individual p21Cip1 transcript variant by GCN2 regulates cell proliferation and survival under nutrient stress [J]. *PLoS Genet*, 2015, 11(6): e1005212.
- [51] Yang L M, Chu Z L, Liu M, et al. Amino acid metabolism in immune cells: Essential regulators of the effector functions, and promising opportunities to enhance cancer immunotherapy [J]. *J Hematol Oncol*, 2023, 16(1): 59.
- [52] Eleftheriadis T, Pissas G, Antoniadis G, et al. Indoleamine 2, 3-dioxygenase depletes tryptophan, activates general control non-derepressible 2 kinase and down-regulates key enzymes involved in fatty acid synthesis in primary human CD4+ T cells [J]. *Immunology*, 2015, 146(2): 292-300.
- [53] Van de Velde L A, Guo X J, Barbaric L, et al. Stress kinase GCN2 controls the proliferative fitness and trafficking of cytotoxic T cells independent of environmental amino acid sensing [J]. *Cell Rep*, 2016, 17(9): 2247-2258.
- [54] Rodriguez P C, Hernandez C P, Morrow K, et al. L-arginine deprivation regulates cyclin D3 mRNA stability in human T cells by controlling HuR expression [J]. *J Immunol*, 2010, 185(9): 5198-5204.
- [55] Roussel M, Ferrell P B, Greenplate A R, et al. Mass cytometry deep phenotyping of human mononuclear

- phagocytes and myeloid-derived suppressor cells from human blood and bone marrow [J]. *J Leukoc Biol*, 2017, 102(2): 437-447.
- [56] Halaby M J, Hezaveh K, Lamorte S, et al. GCN2 drives macrophage and MDSC function and immunosuppression in the tumor microenvironment [J]. *Sci Immunol*, 2019, 4(42): eaax8189.
- [57] St Paul M, Saibil S D, Kates M, et al. *Ex vivo* activation of the GCN2 pathway metabolically reprograms T cells, leading to enhanced adoptive cell therapy [J]. *Cell Rep Med*, 2024, 5(3): 101465.
- [58] Furnish M, Boulton D P, Genther V, et al. MIRO2 regulates prostate cancer cell growth via GCN1-dependent stress signaling [J]. *Mol Cancer Res*, 2022, 20(4): 607-621.
- [59] Ge L Y, Chen W, Cao W M, et al. GCN2 is a potential prognostic biomarker for human papillary renal cell carcinoma [J]. *Cancer Biomark*, 2018, 22(3): 395-403.
- [60] Pathria G, Lee J S, Hasnis E, et al. Translational reprogramming marks adaptation to asparagine restriction in cancer [J]. *Nat Cell Biol*, 2019, 21(12): 1590-1603.
- [61] Kato Y, Kunimasa K, Takahashi M, et al. GZD824 inhibits GCN2 and sensitizes cancer cells to amino acid starvation stress [J]. *Mol Pharmacol*, 2020, 98(6): 669-676.
- [62] Tang C P, Clark O, Ferrarone J R, et al. GCN2 kinase activation by ATP-competitive kinase inhibitors [J]. *Nat Chem Biol*, 2022, 18(2): 207-215.
- [63] Szaruga M, Janssen D A, de Miguel C, et al. Activation of the integrated stress response by inhibitors of its kinases [J]. *Nat Commun*, 2023, 14(1): 5535.
- [64] Thomson C G, Aicher T D, Cheng W W, et al. Discovery of HC-7366: An orally bioavailable and efficacious GCN2 kinase activator [J]. *J Med Chem*, 2024, 67(7): 5259-5271.
- [65] Moran A E, Forouzanfar M H, Roth G A, et al. Temporal trends in ischemic heart disease mortality in 21 world regions, 1980 to 2010: The Global Burden of Disease 2010 study [J]. *Circulation*, 2014, 129(14): 1483-1492.
- [66] Ziegler M, Wang X W, Lim B, et al. Platelet-targeted delivery of peripheral blood mononuclear cells to the ischemic heart restores cardiac function after ischemia-reperfusion injury [J]. *Theranostics*, 2017, 7(13): 3192-3206.
- [67] Li T, Zhang Z, Kolwicz S C Jr, et al. Defective branched-chain amino acid catabolism disrupts glucose metabolism and sensitizes the heart to ischemia-reperfusion injury [J]. *Cell Metab*, 2017, 25(2): 374-385.
- [68] 王月. GCN2 影响阿霉素诱导的心肌毒性的分子机制研究 [D]. 北京: 中国科学院大学, 2018.
Wang Y. Molecular mechanism of GCN2 on adriamycin-induced myocardial toxicity [D]. Beijing: University of Chinese Academy of Sciences, 2018.
- [69] 孙忠广. GCN2 在有氧运动减轻阿霉素诱导的小鼠心肌损伤中的作用和机制 [D]. 上海: 上海体育学院, 2019.
Sun Z G. Role and mechanism of GCN2 in aerobic exercise to attenuate myocardial injury induced by doxorubicin in mice [D]. Shanghai: Shanghai University of Sport, 2019.
- [70] Abou Hassan O K, Haidar W, Arabi M, et al. Novel EIF2AK4 mutations in histologically proven pulmonary capillary hemangiomatosis and hereditary pulmonary arterial hypertension [J]. *BMC Med Genet*, 2019, 20(1): 176.
- [71] Seeger W, Adir Y, Barberà J A, et al. Pulmonary hypertension in chronic lung diseases [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2013, 62(25 Suppl): D109-D116.
- [72] Santos-Ribeiro D, Lecocq M, de Beukelaer M, et al. Disruption of GCN2 pathway aggravates vascular and parenchymal remodeling during pulmonary fibrosis [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2023, 68(3): 326-338.
- [73] Wilhelm C, Hirota K, Stieglitz B, et al. An IL-9 fate reporter demonstrates the induction of an innate IL-9 response in lung inflammation [J]. *Nat Immunol*, 2011, 12(11): 1071-1077.
- [74] Wang P, Xu Y N, Zhang J Y, et al. The amino acid sensor general control nonderepressible 2 (GCN2) controls TH9 cells and allergic airway inflammation [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2019, 144(4): 1091-1105.
- [75] 郑笑慈, 吴滢, 徐昕. 真核翻译起始因子 2 α 激酶在肾脏疾病中的作用研究进展 [J]. *生物化学与生物物理进展*, 2022, 49(8): 1453-1461.
Zheng X C, Wu D, Xu X. Research progress of eukaryotic translation initiation factor 2 α in kidney diseases [J]. *Prog Biochem Biophys*, 2022, 49(8): 1453-1461.
- [76] Xiao F, Huang Z Y, Li H K, et al. Leucine deprivation increases hepatic insulin sensitivity via GCN2/mTOR/S6K1 and AMPK pathways [J]. *Diabetes*, 2011, 60(3): 746-756.
- [77] Guo F F, Cavener D R. The GCN2 eIF2 α kinase regulates fatty-acid homeostasis in the liver during deprivation of an essential amino acid [J]. *Cell Metab*, 2007, 5(2): 103-114.
- [78] Spaulding E L, Hines T J, Bais P, et al. The integrated stress response contributes to tRNA synthetase-associated peripheral neuropathy [J]. *Science*, 2021, 373(6559): 1156-1161.
- [79] Peng W, Robertson L, Gallinetti J, et al. Surgical stress resistance induced by single amino acid deprivation

- p>requires Gcn2 in mice [J].
- Sci Transl Med*
- , 2012, 4(118): 118ra11.
- [80] Sturmlechner I, Durik M, Sieben C J, et al. Cellular senescence in renal ageing and disease [J]. *Nat Rev Nephrol*, 2017, 13(2): 77-89.
- [81] Perrera C, Pulici M, Banfi P, et al. Abstract 1615: NMS-812, a novel potent PERK inhibitor that also inhibits GCN2, exhibits strong anti-tumor activity as single agent and in combination in preclinical models [J]. *Cancer Res*, 2023, 83(7_Supplement): 1615.
- [82] Clinical Trails gov. Study of NMS-03597812 in Adult Patients With Relapsed/Refractory Acute Myeloid Leukemia. [DB/OL]. (2024-10-16)[2025-01-10]. <https://ichgcp.net/clinical-trials-registry/NCT06549790>.
- [83] Jackson J J, Shibuya G M, Ravishankar B, et al. Potent GCN2 inhibitor capable of reversing MDSC-driven T cell suppression demonstrates in vivo efficacy as a single agent and in combination with anti-angiogenesis therapy [J]. *J Med Chem*, 2022, 65(19): 12895-12924.
- [84] Choi Y, Lim J, Park H H, et al. Abstract 1873: AST-05X: A novel GCN2 inhibitor as a promising anti-cancer approach for sarcoma [J]. *Cancer Res*, 2024, 84(6_Supplement): 1873.
- [85] Eskander R N, Monk B J, Slomovitz B M, et al. Abstract A016: NXP800, a novel, small molecule GCN2 kinase activator, demonstrates potent single-agent activity in ARID1A and ARID1B-deficient endometrial cancer xenograft models [J]. *Clin Cancer Res*, 2024, 30(5_Supplement): A016.
- [86] Elisa Pasqua A, Sharp S Y, Chessum N E A, et al. HSF1 pathway inhibitor clinical candidate (CCT361814/NXP800) developed from a phenotypic screen as a potential treatment for refractory ovarian cancer and other malignancies [J]. *J Med Chem*, 2023, 66(8): 5907-5936.
- [87] Clinical Trails gov. A Phase 1 Clinical Study of NXP800 in Subjects With Advanced Cancers and Expansion in Subjects With Ovarian Cancer [DB/OL]. (2021-12-31)[2025-01-10]. <https://clinicaltrials.gov/study/NCT05226507>.
- [88] Banerjee S, Eskander R, Roxburgh P, et al. A phase Ib, multicenter, open-label study of NXP800, a novel GCN2 kinase activator, among patients with platinum-resistant, ARID1A-mutated ovarian cancer (ENGOT-GYN5/NCRI/NXP800-101; GOG-3087) [J]. *Gynecol Oncol*, 2024, 190: S302.
- [89] Clinical Trails gov. NXP800 for the Treatment of Patients With Advanced or Metastatic Cholangiocarcinoma. [DB/OL]. (2024-05-31)[2025-01-10]. <https://clinicaltrials.gov/study/NCT06420349>.
- [90] Bose N, Gargano M, Iglesias J, et al. GCN2 modulator for treating cancer: US, WO 2023/230567 A1 [P]. 2023-11-30.
- [91] Tameire F, Collette N, Fujisawaa S, et al. Activation of GCN2 by HC-7366 results in significant anti-tumor efficacy as monotherapy and overcomes resistance mechanisms when combined with venetoclax in AML [J]. *Blood*, 2023, 142: 2943.
- [92] Clinical Trails gov. A Study of HC-7366 to Establish the Maximum Tolerated Dose (MTD) and Recommended Phase 2 Dose (RP2D) [DB/OL]. (2022-02-23)[2025-01-10]. <https://clinicaltrials.gov/study/NCT05121948>.
- [93] Clinical Trails gov. A Study of HC-7366 in Combination With Belzutifan (WELIREG™) in Patients With Renal Cell Carcinoma [DB/OL]. (2024-04-29)[2025-01-10]. <https://clinicaltrials.gov/study/NCT06234605>.
- [94] Gonçalves E, Segura-Cabrera A, Pacini C, et al. Drug mechanism-of-action discovery through the integration of pharmacological and CRISPR screens [J]. *Mol Syst Biol*, 2020, 16(7): e9405.
- [95] Zhou Y, She R N, Mei Z G, et al. Crosstalk between ferroptosis and necroptosis in cerebral ischemia/reperfusion injury and Naotaifang formula exerts neuroprotective effect via HSP90-GCN2-ATF4 pathway [J]. *Phytomedicine*, 2024, 130: 155399.
- [96] Yan G G, Han Z B, Kwon Y, et al. Integrated stress response potentiates ponatinib-induced cardiotoxicity [J]. *Circ Res*, 2024, 134(5): 482-501.
- [97] Yuan J T, Yu Z R, Gao J L, et al. Inhibition of GCN2 alleviates hepatic steatosis and oxidative stress in obese mice: Involvement of NRF2 regulation [J]. *Redox Biol*, 2022, 49: 102224.
- [98] Altintas O, MacArthur M R. General control nonderepressible 2 (GCN2) as a therapeutic target in age-related diseases [J]. *Front Aging*, 2024, 5: 1447370.

[责任编辑 刘东博]