

中药的选择性作用与免疫性疾病的新型疗法

徐 强*

南京大学生命科学学院医药生物技术国家重点实验室, 南京 210093

【摘要】 免疫性疾病需要新的治疗药物, 选择性免疫调控是一条新颖且可行的途径。本文通过发现并阐明一些中药及其成分的选择性免疫抑制特性, 提出不同于现有免疫抑制剂的崭新作用方式和药物发现途径。

【关键词】 选择性免疫调控; 中药; Astilbin; T 细胞; 免疫性疾病

【中图分类号】 R967 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1672-3651(2007)05-0333-05

1 关于免疫性疾病与中医药的概述

许多免疫性疾病属于慢性难治性疾病, 如类风湿性关节炎、系统性红斑狼疮、多发性硬化症等, 需要长期甚至终身服药。这些疾病的发病机理大多不明, 其治疗药物的研究亦相当滞后, 常采用激素、抗癌药物以及抗炎药物等进行治疗, 在这些治疗中, 因毒副作用不得不停药的现象时常发生, 给疾病的反复与恶化提供了机会。因此, 寻找和发现具有疾病针对性、靶点特异性的疗法和药物是医药工作者长期以来的愿望。

另一方面, 祖国医药学在我国人类繁衍、健康以及社会发展中发挥了重要的作用, 对于一些疑难杂症建立了独特的理论体系和治疗原则。可以认为, 中医药对于现代医药尚束手无策的慢性疾病具有一定的长处。但必须指出, 传统医学的理论和治疗尚缺乏科学的证明, 许多药物的有效成分不明、作用机理亦不清楚。鉴于中医药的丰富资源和现代医药的存在问题, 人们对传统医药领域的关注日益增加, 如不少跨国公司以不同的方式与我国科学家展开合作, 借助分子和细胞评价体系, 对中药所含成分进行广泛筛选, 期望从中找到作用特点独特的药物或先导化合物。可是, 中药的作用往往是多个成分的综合效应, 纯化成各

单个成分后, 除一些毒性较大的成分外, 许多成分本身往往欠缺较为强烈的效应, 这是研究中药不得不正视的一个事实。因此, 如何利用中医药在慢性病治疗上的长处, 发现并研制与现有药物不同、又具有显著效应的新型药物是摆在我们面前的一个艰巨任务。

2 免疫性疾病的药物治疗能否不伤及无辜

药物对疾病的治疗需要经过机体的吸收、代谢、分布、到达靶组织或靶器官发挥作用, 最后排出体外。根据药物性质的不同, 其在体内的分布和停留时间不同; 根据疾病机理的不同, 所希望药物的作用方式也不同。由于免疫性疾病的发病机理大多不明, 其治疗药物的针对性往往不够, 目前常采取减轻症状或错杀三千式的治疗模式。可以说, 以细胞毒为指标的药物治疗, 其作用与副作用往往是不可分割的。那么, 怎样才能发现毒副作用低且药效明确可靠的药物呢?

对于免疫性疾病来说, 过剩的免疫应答可引起炎症反应和组织损伤, 其发生多与 T 淋巴细胞的活化与效应有关, 通常用免疫抑制剂治疗。由于免疫性疾病的进展常伴随复杂的机体免疫机能失调, 而正常的免疫应答是机体所必需的, 无选择的免疫抑制必然会带来严重的毒副作用, 从皮质激素到抗癌药环磷酰胺等均属于这种非选择性的免疫抑制剂。直到 70 年代末环孢素 A 的问世, 成为免疫抑制剂向选择性发展的转折点, 具有划时代的意义, 目前已被作为器官移植和自身免疫性疾病治疗的首选药物之一。但是, 随着作用机制及临床研究的深入, 人们发现环孢素类药物能

【收稿日期】 2007-08-04

【基金项目】 国家自然科学基金重点项目 (No. 30230390); 国家杰出青年基金项目 (No. 39925041); 面上项目 (No. 30472174, No. 20572043 等)

【*通讯作者】 徐强: 教授, 博导, 长江学者, Tel/Fax: 025-83597620

影响 T 细胞从激活到效应的全过程, 仍非真正意义上的选择性, 譬如, 除抑制 T 细胞的活化与功能外, 还可影响胸腺的自身结构^[1,2]; 除抑制 IL-2 的转录外, 对 IL-4、IL-5、IL-13、IFN- γ 、TNF- α 等多种细胞因子的表达亦有显著的抑制作用^[3], 因此, 长期使用仍会造成机体抗感染能力下降、肾毒性、神经毒性、肿瘤发生率增加等^[4,5]。毋庸置疑, 这些毒副作用的发生与其作用的低选择性密切相关。事实上, 免疫应答引起机体炎症反应的具体过程中并非所有细胞和分子都参与, 不同环节中参与的细胞和分子的种类也不同, 而上述免疫抑制剂在抑制免疫应答效应细胞的同时, 也损伤了许多其它正常的组织细胞。因此, 我们的问题是: 免疫抑制疗法能否不伤及无辜?

3 选择性调控——发挥中医药长处的重要途径之一

免疫性疾病大多需要长期用药, 这就要求所用药物具有较好的疗效和较低的毒副作用。提高疗效、降低毒副作用的方法之一是提高药物作用的选择性。如果说环孢素类药物的问世开始了调控免疫反应的新时代, 对免疫应答进行分阶段的选择性调控将成为今后的重点研究领域之一。针对免疫应答过程的某些关键功能分子如各种细胞黏附分子、细胞因子及其受体、信号分子等, 可望发现高特异性的抑制剂或激动剂, 从而控制免疫应答的过程。但是, 必须指出, 许多功能分子往往由于分布较广或有多种亚型, 其抑制剂或激动剂作用于细胞、组织或器官时的选择性并不高, 实际应用仍可能出现较大的毒副作用。由此可见, 对于选择性的一个直观解释是希望调控引起疾病的主要因素而不影响其他无关或次要的因素, 其含义至少应包括靶分子的选择性和靶细胞(组织)的选择性。毫无疑问, 现有的免疫抑制剂并不能同时满足这两个尤其是第二个条件, 也就是说, 目前国内尚无真正意义上的选择性免疫抑制剂。以 T 淋巴细胞介导的相关疾病为例, 经抗原刺激而活化的 T 淋巴细胞是引起组织炎症和损伤的主要效应细胞, 而 T 淋巴细胞在机体的抗感染和免疫防御应答中又是不可或缺的, 针对全体 T 细胞的药物治疗无疑会降低机体的免疫功能。在特定的疾病时期, 将与该病直接相关的活化 T 细胞从全体 T 细胞中区分开来并加以影响应该是一种理想的选

择性调控模式, 从而达到抑制病理性效应 T 细胞所引起的炎症反应和组织损伤而不影响正常免疫功能的目的。问题是如何进行这样的区分?

在这样的背景下, 通过常规的现代药学研究方法寻找并发现选择性更高的免疫抑制剂事实上是困难的。另一方面, 中医药治病的长处是整合调节机体的各项功能, 使药物的副作用降到最低。从这个意义上, 如果我们的研究仅仅把目标定位在以某一靶点为指标从中药中筛选找到某种有效成分, 若该单体成分的效应并不显著或该活性并无明显的特色, 即使副作用较小, 亦难以期待其对免疫性疾病治疗产生实质性的贡献; 若仍然维持传统的混合制剂, 则存在作用机理阐明困难、疗效判别难度较大、是否具有选择性等问题。

那么, 怎样才能实现对免疫应答的选择性调控呢?

4 针对疾病阶段及细胞亚群的选择性调控

为探讨药物对免疫应答的调节作用, 十多年来, 我们从清热类中药着手, 以典型的细胞免疫反应——迟发型变态反应(delayed-type hypersensitivity, DTH) 为指标, 对 DTH 具有抑制作用的物质进行了系统的探讨, 结果发现: 一些清热中药及其成分能选择性地抑制 DTH 反应的不同阶段。比如, 蒺藜选择性地抑制诱导相^[9]; 龙胆^[7]、二妙散^[8]抑制诱导相和效应相但无抗炎活性; 土茯苓^[9]、白鲜皮^[10]及苦参、地肤子、赤芍^[11]则选择性地抑制效应相; ruscogenoside C^[12]抑制两相但不抑制免疫器官等。这些活性明显不同于糖皮质激素和现有免疫抑制剂的非选择性, 提示其应用于免疫性疾病治疗的重要价值。在此基础上将这些中药及成分用于 DTH 机制所引起的肝损伤动物模型, 未出意料, 蒺藜、二妙散^[13]、龙胆^[14]及 ruscogenoside C 于诱导相给药, 土茯苓、白鲜皮^[13]及 ruscogenoside C 于效应相给药, 土茯苓和白鲜皮^[13]于慢性期给药, 均显著地改善了该免疫性肝损伤的各种症状。进一步将这些中药分别于诱导相和效应相配伍给药, 蒺藜与土茯苓、二妙散与白鲜皮的配伍有明显的协同作用^[13]。这些结果表明, 中药中存在能选择性调节免疫应答不同阶段的物质, 这种选择性调控对于免疫性疾病的治疗十分重要, 很可能也是中药副作用较低的重要原因。那么, 一个必须指出的问题是, 这种选择性作用在治疗强度上能

否达到要求？

为了解副作用小的中药或成分是否仍有较强的治疗活性,我们集中对抑制 T 细胞效应的药物展开了研究,其中对于土茯苓提取物及其成分 Astilbin 的作用机理进行了深入的探讨,发现两者于效应相给药均可显著抑制 DTH 反应所致的耳壳炎症反应和肝损伤,而于诱导相给药则无影响。取肝损伤小鼠的肝浸润 T 淋巴细胞用药物处理,土茯苓提取物和 Astilbin 均可时间、剂量依赖性地抑制 T 淋巴细胞杀伤肝细胞的能力,处理 60 min 以上即可完全阻断 T 淋巴细胞杀伤肝细胞的能力;经口给药后分离获得的肝浸润 T 淋巴细胞与不给药的对照组相比其杀伤肝细胞的能力显著受抑,与此时血清转氨酶活力的低下相平行,表明上述体外试验良好地反映了药物在体内作用的实际;但用其处理肝细胞则无保护肝细胞的作用,预防给药对于 CCL₄所致小鼠肝损伤亦无保护作用,提示其改善肝损伤并非通过保护肝细胞膜而系作用于因抗原攻击活化的 T 淋巴细胞,通过促进其凋亡从而消除其功能^[14, 15]。这种选择性消除过度激活的免疫细胞功能而不伤及正常功能的作用特点过往几无报道,明显不同于肝细胞保护药之被动防御,也有别于免疫抑制剂的非选择性,因此具有催生新类型肝炎药的价值。

在上述基础上,为进一步将其作用推广至因过剩的免疫应答引起的其他疾病,有必要从理论上阐明药物选择性作用的分子基础,包括选择性作用的条件、选择性的机理及其与治疗疾病的相关关系等。我们用 PHA 处理人 Jurkat T 细胞 120 h 使之达到较好的活化状态,此时细胞产生大量的 IL-2,且 IL-2 的动态变化与 Astilbin 的诱导凋亡作用有良好的一致性。令人感兴趣的是, Astilbin 对非活化的 Jurkat 细胞并无诱导凋亡的作用。这种对特定状态细胞的选择性作用使其能够选择性消除某些病理状态下的特定淋巴细胞群。以上结果表明, Astilbin 的促凋亡作用依赖于特定的 T 淋巴细胞活化状态,且与产生 IL-2 的能力呈相关性^[16]。我们对其体外诱导淋巴细胞凋亡的试验进行了反复的验证,包括细胞的种类如 Jurkat 细胞、Hut-78 细胞、活化的脾和淋巴结 T 细胞等,细胞活化的条件如活化的时间、活化剂的种类等。这里必须指出的是,在这些体外试验中, Astilbin 诱导细胞的凋

亡率仅占细胞总数的小部分,众所周知,由于药物吸收、代谢等诸多的原因,体外试验有效的药物被应用于体内实验时其效应往往要打折扣,那么, Astilbin 在体外的“低”效应是否能期待其在体内发挥应有的治疗作用呢?

为此,我们应用 II 型胶原所致小鼠关节炎等模型观察了 Astilbin 的作用。胶原关节炎与人类类风湿性关节炎的特征较为相似,主要由 CD4⁺ T 细胞介导。我们发现,腹腔注射 Astilbin 2.5、5 和 10 mg·kg⁻¹能显著抑制小鼠胶原关节炎,其抑制率达到 80%以上,对于某些指标,如关节肿胀的临床评分以及关节炎的发生率等有时甚至出现几乎完全的抑制作用^[17]。这种治疗效果很难想象是由体外试验中的小部分效应所引起的,这使得我们不得不思考这样的问题——治疗某些免疫性疾病是否仅需抑制占细胞总数小部分的病理性效应细胞?如果假设这种关节炎主要是由少数的效应细胞所引起,那么对于这少数细胞的打击在理论上足可控制该疾病的发生。事实上,为解释这个现象,我们的后续研究采用特定的方法从总淋巴细胞群中分离得到了对 Astilbin 敏感的细胞群,其得率仅 20%左右, Astilbin 对这个细胞群可显著地诱导其凋亡,而对剩余的占 80%的细胞群则无影响。若将 80%的部分比作无辜的细胞群, Astilbin 在不影响这大多数的无辜群体的前提下实现了治疗关节炎的效果,这样的现象鲜见于其他的报道,其作为某些难治性疾病的新治疗原则及新的药物研制策略的可能性值得关注。必须强调指出,这种选择性抑制作用在整体疾病模型上显示强大的免疫抑制效应的同时,却无现有药物常见的毒副作用,比如动物的体重、免疫器官的重量等。事实上,在针对土茯苓的五类中药新药的临床前安全性试验中,很高剂量下也未发现明显的毒性作用,这种低毒性很可能与其作用的选择性有关。

此外, Astilbin 对于 picryl chloride 诱导的小鼠接触性皮炎和其他免疫性疾病模型亦有显著的抑制作用^[18, 19]。这些结果表明, Astilbin 对于细胞免疫反应的抑制作用是肯定的,选择性消除病理性的 CD4⁺ T 淋巴细胞对于许多免疫性疾病的治疗具有良好的可行性。

综合上述结果, Astilbin 及其类似物在从以下层面显示了典型的选择性免疫抑制特色:选择性地抑制 T 细胞免疫反应的效应相而不影响诱导

相;选择性地抑制浸润至炎症组织的 T 淋巴细胞而不影响其他组织细胞;选择性地抑制活化的 T 细胞(活化的 Jurkat 细胞、疾病模型脾 T 细胞、炎症组织浸润 T 细胞)而不影响非活化的 T 细胞及正常淋巴细胞;选择性地抑制 Th1 细胞而不影响 Th2 细胞。这种选择性未见其他相关的报道,不仅有助于相关药物的研制,对于开辟新型选择性免疫抑制疗法也将具有重要意义。我们的后续研究已在其构效关系^[20]、相关化合物^[21-23]、检测方法^[24]、药代动力学性质和体内活性代谢物^[25,26]、调控活化 T 淋巴细胞功能^[18,19]、调控相关细胞因子^[19,27]、诱导活化 T 细胞凋亡的通路、其结合的靶蛋白及其新型调控机制等方面取得了显著的进展,这些成果已报道或将陆续报道。

5 结 语

免疫抑制剂的研究开发历史揭示了免疫抑制药物从低选择性高毒性向高选择性低毒性发展的过程。但是,毋庸讳言,自环孢素以来人们对于免疫抑制剂的选择性问题的研究仍未取得突破性的进展,包括提高选择性的化学结构信息、选择性作用的分子机理等,人们似乎很难期待找到选择性更高的免疫抑制药物。

通过中药作用的选择性研究,可以认为,选择性调控免疫应答、从而治疗免疫性疾病是可能的。这种选择性作用的发现从另一角度体现了中医药学的丰富内涵;同时,选择性作用的理论基础研究将有助于推动药物研制的实践,对于寻找先导化合物、创制新型免疫抑制剂具有重要意义。

参 考 文 献

[1] Damoiseaux JG, Beijlvelde LJ, van Breda Vriesman PJ. Multiple effects of cyclosporin A on the thymus in relation to T-cell development and autoimmunity [J]. *Clin Immunol Immunopathol*, 1997, **82**(3): 197-202.

[2] Milicevic NM, Milicevic Z. Cyclosporin A-induced changes of the thymic microenvironment. A review of morphological studies [J]. *Histol Histopathol*, 1998, **13**(4): 1183-1196.

[3] Viola JP, Rao A. Role of the cyclosporin-sensitive transcription factor NFAT1 in the allergic response [J]. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 1997, **92** (Suppl 2): 147-155.

[4] Gijtenbeek JM, van den Bent MJ, Vecht CJ. Cyclosporine neurotoxicity: a review [J]. *J Neurol*, 1999, **246**: 339-346.

[5] Mihatsch MJ, Kyo M, Morozumi K, et al. The side-effects of cyclosporine-A and tacrolimus [J]. *Clin Nephrol*, 1998, **49**(6):

356-363.

[6] 徐 强(Xu Q), 赵 红(Zhao H), 杭秉茜(Hang BQ). 蒺藜对迟发型变态反应的抑制作用[J]. *中国药科大学学报(J China Pharm Univ)*, 1991, **22**: 12-16

[7] 徐 强(Xu Q), 徐丽华(Xu LH). 龙胆对迟发型变态反应的抑制作用[J]. *中药药理与临床(Pharmacol Clin Chin Mater Med)*, 1993, **9**(5): 25-26.

[8] 徐 强(Xu Q), 陈 婷(Chen T), 朱梅芬(Zhu MF), 等. 二妙散对迟发型变态反应的抑制作用[J]. *中国免疫学杂志(Chin J Immunol)*, 1993, **9**: 244-245.

[9] 徐 强(Xu Q), 王 蓉(Wang R), 徐丽华(Xu LH), 等. 土茯苓对细胞免疫和体液免疫的影响[J]. *中国免疫学杂志*, 1993, **9**: 39-42.

[10] 王 蓉(Wang R), 徐 强(Xu Q), 徐丽华(Xu LH), 等. 白鲜皮的免疫药理学研究 I. 对细胞免疫和体液免疫的影响[J]. *中国药科大学学报(J China Pharm Univ)*, 1992, **23**: 234-238.

[11] 徐 强(Xu Q), 赵 红(Zhao H), 王 蓉(Wang R). 数种中药对迟发型变态反应的影响[J]. *中药药理与临床(Pharmacol Clin Chin Mater Med)*, 1993, **9**(4): 30-33.

[12] 徐 强(Xu Q), 王 蓉(Wang R), 余伯阳(Yu BY). 短葶山麦冬皂甙 C 对迟发型变态反应及炎症反应的影响[J]. *中国药科大学学报(J China Pharm Univ)*, 1993, **24**: 98-101.

[13] Xu Q, Yuan KW, Lu JF, et al. A new strategy for regulating the immunological liver injury—Effectiveness of DTH-inhibiting agents on DTH-induced liver injury to picryl chloride [J]. *Pharmacol Res*, 1997, **36**: 401-409.

[14] Xu Q, Wu FH, Cao JS, et al. Astilbin selectively induces dysfunction of liver-infiltrating cells - novel protection from liver damage [J]. *Eur J Pharmacol*, 1999, **377**: 93-100.

[15] Xu Q, Cao JS, Wu FH, et al. Aqueous extract from Rhizoma Smilacis Glabrae improves the immunological liver damage by selectively facilitating the dysfunction of liver-infiltrating lymphocytes [J]. *Pharm Pharmacol Comm*, 2000, **6**: 41-47.

[16] Yan R, Xu Q. Astilbin selectively facilitates the apoptosis of interleukin-2-dependent phytohemagglutinin-activated Jurkat cells [J]. *Pharmacol Res*, 2001, **44**: 135-139.

[17] Cai Y, Chen T, Xu Q. Astilbin suppresses collagen-induced arthritis via causing the dysfunction of T lymphocytes [J]. *Inflamm Res*, 2003, **52**: 334-340.

[18] Cai Y, Chen T, Xu Q. Astilbin suppresses delayed-type hypersensitivity by inhibiting the lymphocyte migration [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2003, **55**: 691-696.

[19] Wang J, Zhao Y, Xu Q. Astilbin prevents concanavalin A-induced liver injury by reducing TNF- α production and T lymphocyte adhesion [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2004, **56**: 495-502.

[20] Chen T, Li JX, Cao JS, et al. A new compound isolated from Rhizoma Smilacis Glabrae and the structural requirements of its several derivatives for regulating the immunological hepatocyte damage [J]. *Planta Med*, 1999, **65**: 56-59.

[21] Chen T, Li JX, Xu Q. Phenylpropanoid glycosides from Smilax glabra [J]. *Phytochem*, 2000, **53**(8): 1051-1055.

- [22] Chen T, Li JX, Cai Y, *et al.* A Flavonol Glycoside from *Smilax glabra* [J]. *Chin Chem Lett*, 2002, 537-538.
- [23] Yang XL, Sun Y, Xu Q, *et al.* Synthesis and Immunosuppressive Activity of L-Rhamnopyranosyl Flavonoids [J]. *Org Biomol Chem*, 2006, 4: 2483-2491.
- [24] Chen L, Yin Y, Yi HW, *et al.* Simultaneous quantification of five major bioactive flavonoids in *Rhizoma Smilacis Glabrae* by high-performance liquid chromatography [J]. *J Pharmaceut Biomed Anal*, 2007, 43: 1715-1720.
- [25] Guo JM, Xu Q, Chen T. Quantitative determination of astilbin in rabbit plasma by liquid chromatography [J]. *J Chromatography B*, 2004, 805: 357-360.
- [26] Guo JM, Xu Q, Chen T. Identification of a new metabolite of astilbin in rats [J]. *Clin Chem*, 2007, 53: 465-471.
- [27] Fei MJ, Wu XF, Xu Q. Astilbin Inhibits Contact hypersensitivity via Negative Cytokine Regulation Distinct from Cyclosporin A [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2005, 116(6): 1350-1356.

Selective Immunoregulation by Traditional Chinese Medicines as a New Approach to the Treatment of Immune Diseases

XU Qiang*

State Key Laboratory of Pharmaceutical Biotechnology, School of Life Sciences, Nanjing University, Nanjing 210093, China

【ABSTRACT】 Selective immunoregulation may be a new approach to the treatment of immune diseases. This paper summarized the characteristics of some traditional Chinese Medicines and their constituents as selective immunosuppressive agents and raised a possibility to find novel remedies distinct from the present immunosuppressants.

【KEY WORDS】 Selective immunoregulation; Traditional Chinese Medicines; Astilbin; T cells; Immune diseases

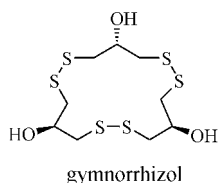
【Foundation Item】 This study was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 30230390, No. 39925041, No. 30472174 and No. 20572043)

。编委风采。

郭跃伟荣获 2007 年度第 7 届“德彪—CCRF 中国奖”一等奖

由本刊编委上海药物所郭跃伟主持的“II 型糖尿病新药先导化合物木榄环六硫醇(MP-1)的结构优化及相关药理药化学研究”，由于项目新颖、科研质量优秀，经过国内初评、国外复评荣获 2007 年度第 7 届“德彪—CCRF 中国奖”一等奖。

木榄环六硫醇(gymnorrhizol)是从采自广西的红树植物木榄 *Bruguiera gymnorrhiza* 中分离得到的具有全新骨架结构的大环多聚二硫醚醇化合物。通过对该化合物的波谱解析结合单晶 X-衍射结构分析，确定化合物是含有三个二硫键，三个羟基结构的十五元大环结构化合物，其中两个羟基是 β 构型，另外一个羟基是 α 构型。



经过体内、外生物活性研究，发现该化合物对 II 型糖尿病靶标 PTP1B 具有良好的抑制作用，其半数抑制浓度 $IC_{50} = 14.9 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ，该化合物在初步的细胞、动物水平的药理实验亦发现具有很好的降糖降脂肪作用，显示该化合物作为抗 II 型糖尿病药物的开发具有良好的应用前景。对该化合物的合成进行了研究，首先以 1,3-二巯基丙醇为原料合成了该化合物并申请了专利(公开号 CN1861595)。另外还以 1-溴-3-氯-2-丙醇为原料通过全合成的方法得到了木榄环六硫醇，并先后申请了中国专利(申请号 CN200610148348.0)。