

DOI:10.3724/SP.J.1008.2011.01027

• 综述 •

雷公藤内酯醇治疗常染色体显性多囊肾病的现状及前景

李楠, 郁胜强*

第二军医大学长征医院肾内科, 解放军肾脏病研究所, 上海 200003

[摘要] 常染色体显性多囊肾病(autosomal dominant polycystic kidney disease, ADPKD)是人类最常见的单基因遗传性肾脏疾病,其特点是双肾无数囊肿形成并进行性增大,破坏肾脏正常结构和功能,最后进展至终末期肾脏疾病。目前临床上尚无有效抑制囊肿形成和增大的治疗措施。雷公藤内酯醇(triptolide, TL)是从中药雷公藤中提取的环氧二萜类化合物,具有抗炎、抗增殖等多种作用,多个动物实验研究显示其具有抑制囊肿形成以及保护肾功能的作用,为将来的临床应用奠定了基础。

[关键词] 常染色体显性多囊肾;雷公藤内酯醇;治疗

[中图分类号] R 692.12 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2011)09-1027-03

Triptolide in treatment of autosomal dominant polycystic kidney disease: present and future

LI Nan, YU Sheng-qiang*

Department of Nephrology, Changzheng Hospital, Second Military Medical University, Nephrology Institute of PLA, Shanghai 200003, China

[Abstract] Autosomal dominant polycystic kidney disease(ADPKD) is the most common single gene hereditary kidney disease, which is characterized by formation and persistent growth of renal cysts, damaging the structure and function of the kidneys and finally leading to end stage renal disease. By now there has been no effective therapy in clinical practice. Triptolide, an active diterpene extracted from a traditional Chinese medicine *Leigongteng*, has anti-inflammation and anti-proliferation effect. Animal studies have shown that triptolide can inhibit cyst formation and protect the renal function, laying a foundation for future clinical use.

[Key words] autosomal dominant polycystic kidney; triptolide; therapy

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2011, 32(9):1027-1029]

常染色体显性多囊肾病(autosomal dominant polycystic kidney disease, ADPKD)是人类最常见的单基因遗传性肾病,发病率约为1/1 000~1/500,据此估计我国约有150万ADPKD患者^[1]。大约50%的ADPKD患者60岁时最终发展至终末期肾病^[2]。上海地区统计数据 displays 多囊肾病所致的透析患者占整个透析人群的5.6%,位于慢性肾小球肾炎、糖尿病肾病和良性肾小动脉硬化之后,居第4位^[3]。目前ADPKD的治疗主要以对症和肾脏替代治疗为主。近年来学者们通过研究认识到控制血压、抑制液体分泌、调控细胞增殖及凋亡、调节细胞周期等在ADPKD的治疗中具有一定的潜力^[4-7]。多个多囊肾病动物实验研究结果提示,传统中药雷公藤提取物雷公藤内酯醇(triptolide, TL)可能具有抑制多囊肾囊肿生成及延缓肾功能进展的作用^[8-10]。

1 ADPKD的发病机制及治疗现状

ADPKD主要病理特征是双肾广泛形成囊肿,并进行性增大,最终破坏肾脏正常结构和功能,最终发展至终末期肾脏疾病。ADPKD除累及肾脏外,还可引起肝、胰囊肿,心瓣

膜病、结肠憩室和颅内动脉瘤等肾外病变。

目前发现ADPKD的主要致病基因有2个:*Pkd1*和*Pkd2*,分别定位于人类染色体16p13.3和4q21.22,其编码蛋白产物为多囊蛋白-1(polycystin-1, PC-1)和多囊蛋白-2(polycystin-2, PC-2)^[11-12]。PC-1主要功能是介导细胞与细胞、细胞与基质间相互作用;促进上皮细胞分化、维持细胞极性,可能还有离子通道的作用。PC-2是一种阳离子通道。PC-1或PC-2功能发生异常可导致肾脏囊肿生成。肾脏囊肿形成及进展的病理生理过程变化较复杂,如细胞增殖和凋亡异常、细胞极性改变和分化不良、液体分泌增加、细胞外基质重塑及间质纤维化^[13]。目前ADPKD的发病机制主要有以下几种:“二次打击”学说、“初级纤毛致病”学说、“三次打击”学说和“Coil-Coil相互作用”假说。近几年关于发病机制研究的热点为“初级纤毛致病”学说,其内容为:初级纤毛是一种流体的机械传感器,通过纤毛上的多囊蛋白复合物感受流体变化,引起纤毛弯曲刺激钙离子流入细胞内及内质网钙离子释放,进一步引起细胞信号转导通路改变,从而导致囊肿形成^[14]。

基因治疗是一种根本的治疗ADPKD方法,但仍存在许

[收稿日期] 2011-04-27

[接受日期] 2011-05-30

[作者简介] 国家自然科学基金(30871178), Supported by National Natural Science Foundation of China(30871178).

* 通信作者(Corresponding author). Tel: 021-81885399, E-mail: ysqdd@hotmail.com

多问题待解决。如何早期通过药物干预囊肿形成、延缓多囊肾病进展仍是一个亟待解决的世界性难题^[13]。2006年一项大型临床研究(Consortium for Radiologic Imaging Studies of Polycystic Kidney Disease, CRISP)对241例未出现氮质血症的多囊肾病患者进行了为期3年的随访观察,发现多囊肾病患者囊肿生长导致肾体积的增大与肾功能下降程度一致,且囊肿生长的速度与肾功能下降的速度也一致,提示有效抑制囊肿生成、减缓囊肿生长速度是治疗ADPKD的重点^[15]。

针对ADPKD的分子机制来确定治疗靶标一直是治疗研究的方向^[16],其中最主要的是针对细胞增殖及凋亡机制的研究。细胞及动物实验证明,雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)抑制剂、细胞周期依赖性蛋白激酶(cyclin-dependent kinase, CDK)抑制剂、血管加压素受体拮抗剂(asopressin V2 receptor antagonist)、PPAR γ 激动剂等具有抑制囊肿生长的作用,目前大多数正处于临床试验阶段^[17]。已在多种多囊肾病动物模型中证明有治疗效果的西罗莫司,近期国外已有临床试验结果证实单用西罗莫司对ADPKD患者并无益处^[18-19]。

2 TL治疗ADPKD的作用机制及动物实验研究

TL是从卫矛科雷公藤属植物雷公藤中分离提取的一种环氧二萜类化合物,分子式为C₂₀H₂₄O₆,相对分子质量约为360,具有抗炎、抗增殖及免疫调节等多种作用。近年来研究发现,TL具有广谱的抗肿瘤作用,并可抑制多囊肾的囊肿进展、保护肾功能^[20]。TL的不良反应主要有肝肾功能损害、抑制生殖系统及造血系统功能。

2.1 TL治疗ADPKD的作用机制

2.1.1 诱导细胞凋亡 ADPKD作为一种肿瘤疾病,其主要病理生理过程包括囊肿衬里上皮细胞的增殖异常,因此抑制肾囊肿衬里上皮细胞增殖、诱导细胞凋亡是ADPKD治疗的核心。Leuenroth等^[21]用³H标记的TL与HeLa细胞共孵育,发现其主要与细胞的膜成分结合从而发挥诱导细胞凋亡的作用,这种结合是可逆的,且呈现出饱和性。Leuenroth等^[8]进一步通过基质辅助激光解吸/电离质谱(MALDI-MS)分析、蛋白质印迹分析等方法,发现与TL结合的结合蛋白(相对分子质量约为110 000)可能为PC-2,并证实从传统中药雷公藤中提取的TL能有效抑制小鼠肾上皮细胞增殖,其促进细胞凋亡抑制增殖的作用是通过调节细胞内钙离子浓度实现的。经TL处理可导致*Pkd2*^{+/-}小鼠肾上皮细胞内钙离子浓度升高,细胞快速凋亡,并检测到caspase-3的激活量增加;而PC-2编码基因敲除的小鼠肾上皮细胞则无细胞内钙离子浓度的变化及细胞凋亡,极少量caspase-3被激活;再表达PC-2编码基因的细胞株对TL调节钙离子浓度、诱导细胞凋亡的作用重现。其他研究也发现TL具有诱导细胞凋亡的作用^[22-23],TL诱导细胞凋亡的途径与激活caspase通路、诱导p53蛋白的表达、活化MAPK通路、抑制NF- κ B的表达等有关^[24-26]。

2.1.2 调节细胞周期 细胞周期依赖激酶抑制剂roscovitine已在动物模型上证实具有抑制肾脏囊肿形成的作用^[6]。对细胞周期的调节作用也可能是TL治疗ADPKD的作用机

制之一。TL可减少细胞周期蛋白复合物表达,使细胞周期阻滞于G₀~G₁期^[27]。Leuenroth等^[8]用TL作用于*Pkd1*^{-/-}的小鼠模型肾上皮细胞株,引起少量的细胞死亡,但是能抑制大多数细胞生长,检测到周期蛋白p21的表达上调,并发现这种抑制细胞生长的作用与培养液中钙离子浓度有关,含钙培养液中*Pkd1*^{-/-}细胞的凋亡率是无钙培养的2倍左右。

2.1.3 抑制血管形成与生长 在ADPKD囊肿生成及扩张的过程中存在着血管生成增多^[28],而TL能够抑制血管内皮细胞生长和肿瘤的毛细血管形成^[29]。文献报道TL能够明显抑制PMA诱导的内皮细胞VEGF mRNA表达和VEGF生成与分泌,并呈剂量依赖性^[30]。因此,抑制血管生成可能也是TL治疗ADPKD的机制之一。

2.2 TL抑制ADPKD囊肿生成的动物实验研究 Leuenroth等^[8]应用*Pkd1*^{-/-}小鼠模型,通过孕鼠给药的方式进行了一项动物实验研究。*Pkd1*^{-/-}小鼠模型在妊娠中期表现出严重胚胎发育异常的致死性表型,肾脏及胰腺囊肿分别于孕14.5 d及13.5 d出现。在小鼠胚胎生长至10.5 d时开始给予孕鼠腹腔注射TL[0.07 mg/(kg·d)],对照组给予二甲亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO)注射,直至分娩。结果发现新生*Pkd1*^{-/-}小鼠治疗组和对照组的肾脏矢状切面囊肿面积占总面积百分比分别为(15±2.1)%、(34±2.7)%,治疗组较对照组明显减小。与对照组相比,TL治疗组对小鼠生长发育及妊娠时间长短并无影响。TL治疗组*Pkd1*^{-/-}小鼠肾脏重量较对照组小,但两组差异无统计学意义。结果提示TL有抑制囊肿的生长作用,但可能无抑制囊肿液体分泌作用。

2008年Leuenroth等^[9]在另一种动物模型*Pkd1*^{flax/+};Ksp-Cre小鼠进行了TL的药效学研究。该模型是一种快速进展型ADPKD小鼠模型,出生时囊肿很少,但出生后几天内囊肿快速发展。治疗组在小鼠出生后1~4 d给予母鼠腹腔注射TL,对照组注射DMSO。结果发现TL治疗组总囊肿数目、肾质量及肾脏矢状切面的囊肿面积占总面积百分比明显减少。进一步统计不同大小囊肿占总囊肿的百分比,发现治疗组小囊肿(7~15个细胞组成的囊肿)占百分比明显减少,对小囊肿行Ki-67免疫组化染色发现TL治疗组的染色阳性率明显减少,提示TL具有抑制新囊肿生成的作用,但对已形成囊肿的增大无明显作用。为进一步研究TL的治疗作用,在小鼠出生后6~8 d继续小鼠腹腔注射给药,结果显示治疗组肾质量与体质量比值较对照组减小,肾功能的损害程度也减轻。晚期给药(P4~P12)治疗组与对照组相比囊肿数目减少($P<0.0001$),但两组之间肾脏矢状切面的囊肿面积占总面积百分比及肾功能并无明显差别,提示TL早期给药治疗效果较好。

2010年,Leuenroth等^[10]应用*Pkd1*^{flax/flax};Mx1Cre小鼠模型进行了一项TL药效学实验研究,该动物模型肾脏囊肿进展较前两种缓慢,生存期大于35 d。实验组给予腹腔注射TL治疗20 d(P16~P35),对照组给予注射DMSO。结果发现TL治疗组单个囊肿内Ki-67染色阳性细胞所占百分比、肾脏总囊肿数目及总的肾脏矢状切面囊肿面积所占百分比减少,治疗组血清尿素氮(BUN)水平也较对照组明显下降。

另外还发现较大囊肿的数目减少,最小囊肿(<100个像素点)占总囊肿的比例也明显减少,表明TL有抑制囊肿生成的作用,但不能确定是否为TL的直接作用。

3 展望

TL是目前临床广泛应用的雷公藤多苷片的主要成分,其来源主要为中药提取,相对分子量较小、性质稳定。TL在多种多囊肾病动物模型中有一定的治疗效果,我们相信TL应用于ADPKD的治疗前景广阔,但应用于临床还有待进一步深入研究。

[参考文献]

- [1] Igarashi P, Somlo S. Genetics and pathogenesis of polycystic kidney disease[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2002, 13: 2384-2398.
- [2] Gabow P A. Autosomal dominant polycystic kidney disease[J]. *N Engl J Med*, 1993, 329: 332-342.
- [3] 郁胜强,梅长林. 纤毛在多囊肾病发病中的作用[J]. *诊断学理论与实践*, 2007, 6: 507-509.
- [4] Tao Y, Kim J, Faubel S, Wu J C, Falk S A, Schrier R W, et al. Caspase inhibition reduces tubular apoptosis and proliferation and slows disease progression in polycystic kidney disease[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102: 6954-6959.
- [5] Tao Y, Kim J, Schrier R W, Edeistein C L. Rapamycin markedly slows disease progression in a rat model of polycystic kidney disease[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2005, 16: 46-51.
- [6] Tortes V E. Cyclic AMP, at the hub of the cystic cycle[J]. *Kidney Int*, 2004, 66: 964-973.
- [7] Bukanov N O, Smith L A, Klinger K W, Ledbetter S R, Ibraghimov-Beskrovnaya O. Long-lasting arrest of murine polycystic kidney disease with CDK inhibitor roscovitine [J]. *Nature*, 2006, 444: 949-952.
- [8] Leuenroth S J, Okuhara D, Shotwell J D, Markowitz G S, Yu Z, Somlo S, et al. Triptolide is a traditional Chinese medicine-derived inhibitor of polycystic kidney disease[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104: 4389-4394.
- [9] Leuenroth S J, Bencivenga N, Igarashi P, Somlo S, Crews C M. Triptolide reduces cystogenesis in a model of ADPKD[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2008, 19: 1659-1662.
- [10] Leuenroth S J, Bencivenga N, Chahboune H, Hyder F, Crews C M. Triptolide reduces cyst formation in a neonatal to adult transition *Pkd1* model of ADPKD[J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2010, 25: 2187-2194.
- [11] International Polycystic Kidney Disease Consortium. Polycystic kidney disease; the complete structure of the PKD1 gene and its protein[J]. *Cell*, 1995, 81: 289-298.
- [12] Mochizuki T, Wu G, Hayashi T, Xenophontos S L, Veldhuisen B, Saris J J, et al. PKD2, a gene for polycystic kidney disease that encodes an integral membrane protein[J]. *Science*, 1996, 272: 1339-1342.
- [13] Wilson P D. Polycystic kidney disease[J]. *N Engl J Med*, 2004, 350: 151-164.
- [14] Nauli S M, Alenghat F J, Luo Y, Williams E, Vassilev P, Li X, et al. Polycystins 1 and 2 mediate mechanosensation in the primary cilium of kidney cells[J]. *Nat Genet*, 2003, 33: 129-137.
- [15] Grantham J J, Torres V E, Chapman A B, Guay-Woodford L M, Bae K T, King B F Jr, et al. Volume progression in polycystic kidney disease[J]. *N Engl J Med*, 2006, 354: 2122-2130.
- [16] Qian Q, Harris P C, Torres V E. Treatment prospects for autosomal dominant polycystic kidney disease[J]. *Kidney Int*, 2001, 59: 2005-2022.
- [17] Bennett W M. V2 receptor antagonists in cystic kidney diseases: an exciting step towards a practical treatment[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2005, 16: 838-839.
- [18] Walz G, Budde K, Mannaa M, Nürnberger J, Wanner C, Sommerer C, et al. Everolimus in patients with autosomal dominant polycystic kidney disease[J]. *N Engl J Med*, 2010, 363: 830-840.
- [19] Serra A L, Poster D, Kistler A D, Krauer F, Raina S, Young J, et al. Sirolimus and kidney growth in autosomal dominant polycystic kidney disease[J]. *N Engl J Med*, 2010, 363: 820-829.
- [20] Liu Q. Triptolide and its expanding multiple pharmacological functions[J]. *Int Immunopharmacol*, 2011, 11: 377-383.
- [21] Leuenroth S J, Crews M C. Studies on calcium dependence reveal multiple modes of action for triptolide[J]. *Chem Biol*, 2005, 12: 1259-1268.
- [22] Kim M J, Lee T H, Kim S H, Choi Y J, Heo J, Kim Y H. Triptolide inactivates Akt and induces caspase-dependent death in cervical cancer[J]. *Int J Oncol*, 2010, 37: 1177-1185.
- [23] Mujumdar N, Saluja A K. Autophagy in pancreatic cancer: an emerging mechanism of cell death[J]. *Autophagy*, 2010, 6: 997-998.
- [24] Choi Y J, Kim T G, Kim Y H, Lee S H, Kwon Y K, Suh S I, et al. Immunosuppressant PG490 (triplolide) induces apoptosis through the activation of caspase-3 and down-regulation of XI-AP in U937 cells[J]. *Biochem Pharmacol*, 2003, 66: 273-280.
- [25] Shinoura N, Sakurai S, Shibasaki F, Asai A, Kirino T, Hamada H. Co-transduction of Apaf-1 and caspase 9 highly enhances p53-mediated apoptosis in gliomas[J]. *Br J Cancer*, 2002, 86: 587-595.
- [26] Tai C J, Wu A T, Chiou J F, Jan H J, Wei H J, Hsu C H, et al. The investigation of mitogen-activated protein kinase phosphatase-1 as a potential pharmacological target in non-small cell lung carcinomas, assisted by non-invasive molecular imaging [J]. *BMC Cancer*, 2010, 10: 95.
- [27] Yang S, Chen J, Guo Z, Xu X M, Wang L, Pei X F, et al. Triptolide inhibits the growth and metastasis of solid tumors[J]. *Mol Cancer Ther*, 2003, 2: 65-72.
- [28] Wei W, Popov V, Walocha J A, Wen J, Bello-Reuss E. Evidence of angiogenesis and microvascular regression in autosomal-dominant polycystic kidney disease kidneys: a corrosion cast study [J]. *Kidney Int*, 2006, 70: 1261-1268.
- [29] Ushiro S, Ono M, Nakayama J, Fujiwara T, Komatsu Y, Sugimachi K, et al. New nortriterpenoid isolated from anti-rheumatoid arthritic plant, *Tripterygium wilfordii*, modulates tumor growth and neovascularization[J]. *Int J Cancer*, 1997, 72: 657-663.
- [30] 胡可斌,刘志红,刘栋,黎磊石. 雷公藤内酯醇对内皮细胞血管内皮细胞生长因子活性的影响[J]. *肾脏病与透析肾移植杂志*, 2000, 9: 229-233.