

## 以趋化因子受体为靶点的抗哮喘小分子药物研究进展

吉海杰<sup>1,2</sup>, 胡金凤<sup>1</sup>, 陈乃宏<sup>1\*</sup>

(1. 中国医学科学院、北京协和医学院药物研究所天然药物活性物质与功能国家重点实验室, 北京 100050;  
2. 山西省中医药研究院, 山西 太原 030012)

**摘要:** 哮喘是一种以气道炎症、气道高反应性及气道重塑为特征并伴随支气管炎症细胞浸润的慢性呼吸道疾病。趋化因子通过与趋化因子受体结合介导炎症细胞向支气管迁移, 在哮喘发病中起着重要的作用。以趋化因子及其受体为靶点是目前抗炎、抗哮喘药物研究的热点。本文主要针对近年来趋化因子受体的小分子拮抗剂在抗哮喘方面的研究成果予以综述, 将有助于抗哮喘药物设计, 为进一步研究提供参考。

**关键词:** 趋化因子受体; 小分子拮抗剂; 抗哮喘作用

中图分类号: R963

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2011) 11-1286-05

## Advances in the study of small molecule antagonists of chemokine receptors as anti-asthma agents

JI Hai-jie<sup>1,2</sup>, HU Jin-feng<sup>1</sup>, CHEN Nai-hong<sup>1\*</sup>

(1. State Key Laboratory of Bioactive Substances and Functions of Natural Medicines, Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100050, China;  
2. Shanxi Province Academy of Traditional Chinese Medicine, Taiyuan 030012, China)

**Abstract:** Asthma is a chronic inflammatory respiratory disease accompanied with airway inflammation, airway remodeling and bronchial hyperresponsiveness. Chemokines are important for the recruitment of immune cells to the lung, which play an important role in the formation and development of asthma. Targeting the chemokine receptors to anti-inflammation and anti-asthma is a new strategy and some candidate drugs are discovered recently. This review is focused on the development of chemokine receptor antagonists for anti-asthma, which will promote the compound designations.

**Key words:** chemokine receptor; small molecule antagonist; anti-asthma effect

哮喘是一种病因繁多、发病机制复杂、难以治愈的常见呼吸道疾病, 发病于各个年龄段的人群, 严重威胁人类生命健康。目前临床上治疗哮喘的有效药物主要是 $\beta_2$ 受体激动剂和糖皮质激素<sup>[1]</sup>, 前者易引起心血管副作用, 后者长期应用可发生感染、骨质疏松等多种不良反应。现代医学认为哮喘是伴随气道炎症细胞浸润、气道高反应性及气道重塑为特征的一种慢

性炎症性疾病, 因此抗炎是治疗哮喘的一种重要、有效途径, 以气道炎症发生的各个环节为靶点是研究、发现抗哮喘药物的一种重要策略。随着趋化因子及其受体在炎症领域研究的深入, 近年来发现趋化因子通过与其相应受体结合介导炎症细胞向支气管迁移, 在哮喘的形成和发病中起着重要作用。目前针对趋化因子系统研究抗哮喘药物的途径主要有: 寻找趋化因子及其受体的中和抗体; 对内源性趋化因子进行结构修饰, 寻找引起拮抗效应的修饰产物; 寻找趋化因子受体特异性小分子拮抗剂。本文将重点对趋化因子受体小分子拮抗剂在抗哮喘方面的研究进行综述。

收稿日期: 2011-05-03.

基金项目: 国家高技术研究发展计划 (863 计划) 资助项目 (2006AA020501); 国家自然科学基金重点项目 (90713045).

\*通讯作者 Tel / Fax: 86-10-63165177, E-mail: chennh@imm.ac.cn

## 1 趋化因子及其受体与哮喘

趋化因子是一类结构、功能相似, 分子质量在 8~15 kD 的小分子分泌型蛋白质。绝大多数趋化因子在一级结构上包含有 4 个保守的半胱氨酸残基, 根据氨基端 2 个半胱氨酸残基的相对位置可分为 CXC、CC、C 及 CX3C 等 4 大类<sup>[2]</sup>。目前已发现的人趋化因子有 50 多种<sup>[3]</sup>。趋化因子受体属于 G 蛋白偶联受体 A 家族中的视紫红质样受体, 目前已经发现 20 个趋化因子受体<sup>[4]</sup>。趋化因子受体根据其结合趋化因子种类的不同分为 CXCR、CCR、XCR 及 CX3CR 等 4 大类。多数趋化因子与趋化因子受体的结合并非简单一一对应关系, 一种趋化因子可与多种趋化因子受体结合, 一种趋化因子受体也可与多种趋化因子结合<sup>[3]</sup>。

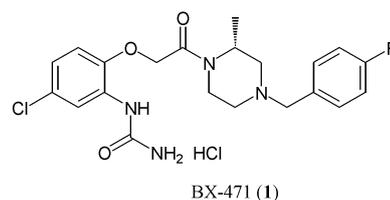
研究表明多种细胞参与趋化因子的表达与分泌<sup>[3]</sup>, 其与表达于巨噬细胞、单核细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞、中性粒细胞、肥大细胞及淋巴细胞等细胞表面的趋化因子受体结合, 介导炎症细胞定向迁移; 另一方面, 募集的炎症细胞同时表达并分泌大量、多种趋化因子, 进一步加剧炎症损伤。哮喘的发生涉及 Th2 淋巴细胞、肥大细胞、嗜酸性粒细胞、中性粒细胞及纤维细胞等多种细胞的共同作用, 炎症细胞在趋化因子的趋化下定向迁移于支气管黏膜层, 其中 Th2 淋巴细胞主要表达 CCR3 和 4, 嗜酸性粒细胞主要表达 CCR1 和 3, 肥大细胞主要表达 CCR3 和 CXCR3, 中性粒细胞主要表达 CXCR2 (图 1<sup>[3]</sup>)。由此可见, 针对这些趋化因子受体设计并发现其拮抗剂是寻找抗哮喘药物的重要途径。

## 2 趋化因子及其受体拮抗剂的抗哮喘作用研究

### 2.1 CCR1 拮抗剂

趋化因子受体 CCR1 主要表达于嗜酸性粒细胞、中性粒细胞、肥大细胞及淋巴细胞,

趋化因子 CCL3、5、7、8、13-15 等是 CCR1 的内源性配体, 结合后引起炎症细胞的迁移, 在体内主要参与多发性硬化症、哮喘等疾病<sup>[5]</sup>。BX-471 (1) 是 Berlex 公司开发的哌嗪类小分子化合物<sup>[6]</sup>, 可以竞争 CCL3 (MIP-1a)、CCL5 (RANTES) 及 CCL7 (MCP-3) 与 CCR1 的结合 ( $K_i$  为 1~5.5 nmol·L<sup>-1</sup>), 抑制 CCR1 介导的钙动员、CD11b 表达和白细胞的迁移; BX-471 对 CCR1 具有特异选择性, 与 28 种人 G 蛋白偶联受体相比超过 10 000 倍<sup>[7]</sup>。在真菌诱导与激发的小鼠慢性哮喘模型实验中, 腹腔注射 BX-471 能剂量依赖性地抑制气道炎症细胞浸润、气道高反应性和气道重塑, 以 10 mg·kg<sup>-1</sup> 效果显著<sup>[8]</sup>。



### 2.2 CCR3 拮抗剂

CCR3 主要表达于嗜酸性粒细胞, 其他如 Th2 细胞、嗜碱性粒细胞、肥大细胞等也有表达<sup>[9]</sup>, 这些细胞在哮喘的发生和发展中起重要作用, 因此 CCR3 在哮喘中有特殊的意义。趋化因子 eotaxin-1、2、3、RANTES 及 MCP-2、3、4 均是 CCR3 的内源性配体, 其中 eotaxin-1、2、3 能特异性地与 CCR3 结合, 而 MCP-3 也可与 CCR1、CCR10 结合, MCP-4 可与 CCR2 结合, RANTES 可与 CCR1、CCR5 结合<sup>[10]</sup>。这些趋化因子与 CCR3 结合后可产生一系列生化反应, 选择性促进嗜酸性粒细胞趋化、迁移到气道局部, 其活化后释放多种颗粒蛋白尤其是碱性蛋白, 通过对气道上皮细胞膜的损害而产生细胞毒作用以及气道高反应性。已发现受抗原攻击后的 CCR3 缺陷小鼠哮喘模型的肺内嗜酸性粒细胞数量明显减少<sup>[11]</sup>。

YM-344484 (2)<sup>[12]</sup>是 Astellas 公司合成的具有拮抗 CCR3 受体和组胺 H1 受体的双重效应小分子化合物。体外实验表明, 该化合物可以抑制 CCL11、组胺诱导的钙动员,  $K_b$  分别为 1.8 和 47 nmol·L<sup>-1</sup>; 能抑制 CCL11/CCR3 介导的细胞趋化运动,  $IC_{50}$  为 6.2 nmol·L<sup>-1</sup>; 并且抑制人源嗜酸性粒细胞释放神经毒素的  $IC_{50}$  为 19 nmol·L<sup>-1</sup>。动物研究表明, YM-344484 对组胺引起的血管通透性增加具有抑制作用, 能显著降低卵蛋白致敏哮喘小鼠支气管肺泡灌洗液中嗜酸

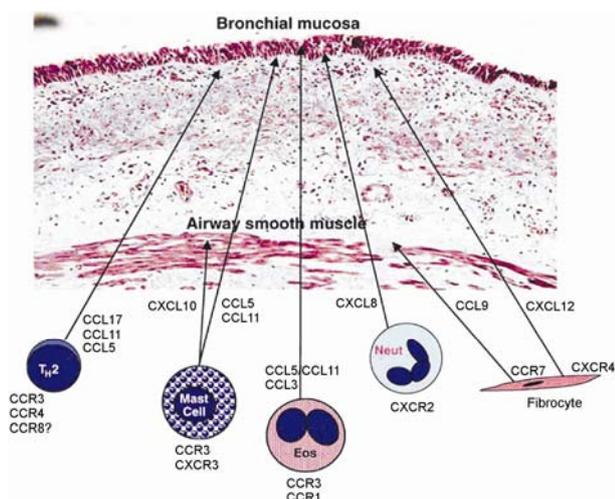
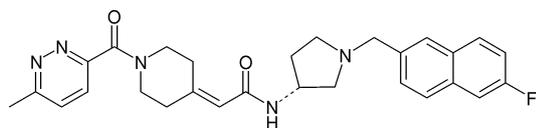


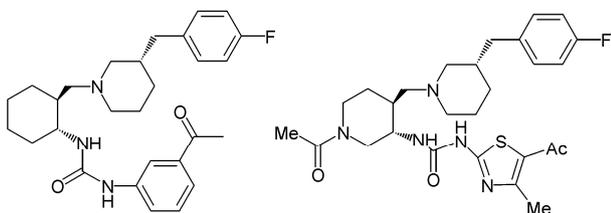
图 1 参与哮喘发生的趋化因子及其受体

性粒细胞数量,但对中性粒细胞和单核细胞数量无影响。动物实验表明,YM-344484 具有良好的抗组胺和抗哮喘作用,其抗哮喘的临床疗效有待进一步研究。



YM-344484 (2)

DPC168 (3)<sup>[13]</sup>是 Bristol-Myers Squibb 公司开发的 CCR3 拮抗剂,其拮抗 CCL11 与 CCR3 结合的 IC<sub>50</sub> 为 2 nmol·L<sup>-1</sup>,抑制 CCL11 诱导细胞趋化运动的 IC<sub>50</sub> 为 10~60 pmol·L<sup>-1</sup>。动物实验表明,化合物 DPC168 能减少 CCL11 和卵蛋白诱发哮喘模型小鼠支气管肺泡灌洗液中嗜酸性粒细胞;其在小鼠、犬和黑猩猩的生物利用度分别为 22%、8%和 22%,与血浆蛋白结合率达到 96.3%。该化合物治疗过敏性呼吸疾病的 I 期临床试验已经完成,但尚未见研究结果报道。另有研究发现,DPC168 抑制细胞色素 P450 (CYP2D6) 的 IC<sub>50</sub> 为 30 nmol·L<sup>-1</sup>,与其他抗抑郁、抗心律不齐等药物合用可能有副反应发生;基于这一原因 Pruitt 等对 DPC168 进行结构修饰得到化合物 BMS-570520 (4),其抑制 CYP2D6 的 IC<sub>50</sub> 达到 1 300 nmol·L<sup>-1</sup>,而其他参数与 DPC168 基本一致<sup>[14]</sup>,但化合物 BMS-570520 尚未见动物水平抗哮喘研究报道。

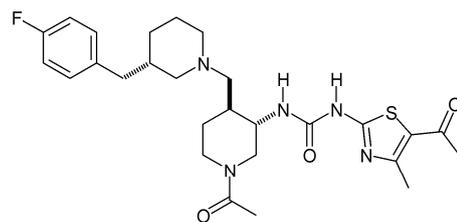


DPC168 (3)

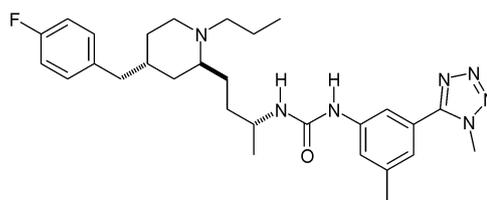
BMS-570520 (4)

Das 等<sup>[15]</sup>研究发现化合物 5 和化合物 6 能拮抗 <sup>125</sup>I-hEotaxin 与人源 CCR3/CHO 的结合,IC<sub>50</sub> 分别为 (1.9±0.35) 与 (0.9±0.20) nmol·L<sup>-1</sup>,并能抑制 hEotaxin 对人嗜酸性粒细胞的趋化,IC<sub>50</sub> 分别为 (0.06±0.02) 与 (0.02±0.00) nmol·L<sup>-1</sup>;在通过鼻腔内给予小鼠 mEotaxin 的实验中,化合物 5 和 6 均能剂量依赖性减少模型小鼠支气管肺泡灌洗液中嗜酸性粒细胞;在抗原诱导嗜酸性粒细胞向小鼠肺部迁移实验中,化合物 5 能显著减少支气管肺泡灌洗液中嗜酸性粒细胞,但对其他炎性细胞无影响,另外对细胞因子

IL-4、IL-5 和 IFN-γ 水平无明显作用,其作用机制有待于进一步研究。



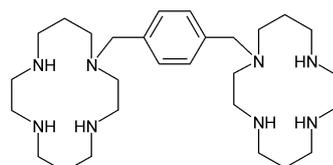
5



6

**2.3 CXCR4 拮抗剂** 趋化因子 CXCL12 是趋化因子受体 CXCR4 唯一内源性配体<sup>[16]</sup>,最近研究发现哮喘患者支气管肺泡灌洗液中 CXCL12 显著升高,与支气管肺泡灌洗液中巨噬细胞、淋巴细胞和嗜酸性粒细胞具有相关性;免疫组织化学研究表明,CXCL12 主要表达于气道上皮细胞,其分泌的 CXCL12 可能趋化炎性细胞向支气管迁移,参与哮喘的发生和发展<sup>[17]</sup>。

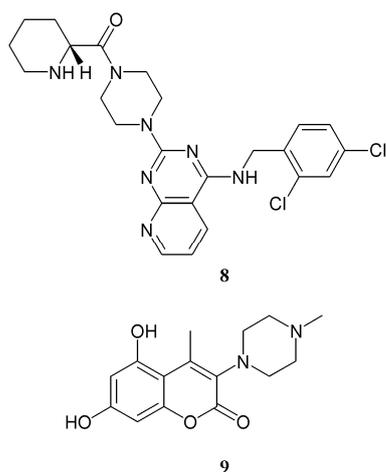
AMD3100 (7) 是 AnorMED 公司开发的 CXCR4 的拮抗剂。体外实验表明,该化合物拮抗 CXCL12 与 CXCR4 结合的 IC<sub>50</sub> 为 (651±37) nmol·L<sup>-1</sup>,抑制 CXCL12/CXCR4 介导钙动员的 IC<sub>50</sub> 为 (570±190) nmol·L<sup>-1</sup>,同时对 CXCR3、CCR1、CCR2b、CCR4、CCR5 及 CCR7 介导的钙动员无抑制作用,表明 AMD3100 选择性作用于 CXCR4<sup>[18]</sup>。在蟑螂过敏原诱导的小鼠哮喘模型中,AMD3100 能显著抑制过敏原诱导的肺部炎症和病理学改变,能明显降低气道反应性,减少嗜酸性粒细胞在支气管周围的聚集,同时观察到 AMD3100 能降低小鼠肺组织中 Th2 类细胞因子 IL-4 和 5,但对 Th1 类细胞因子 IL-12 和 IFN-γ 具有相反作用<sup>[19]</sup>。AMD3100 在人体具有良好的耐受性和安全性<sup>[20]</sup>,但目前尚未见抗哮喘临床报道。



AMD3100 (7)

**2.4 CCR4 拮抗剂** 趋化因子受体 CCR4 主要表达于 T 淋巴细胞、树突细胞及自然杀伤细胞, 最近研究发现趋化因子受体 CCR4 在 Th2 细胞向气道募集发挥着重要作用, 与哮喘发生关系密切<sup>[21]</sup>。趋化因子 CCL17 (TARC) 和 CCL22 (MDC) 是 CCR4 的内源性配体, 研究发现尘螨诱发哮喘发作时患者血清中 TARC 和 MDC 浓度显著升高, 其可能介导炎性细胞向气道趋化<sup>[22]</sup>。由此可见 CCR4 是治疗哮喘的重要靶点之一。

Purandare 等<sup>[23]</sup>研究发现, 化合物 **8** 能拮抗 <sup>125</sup>I-MDC 与 CCR4 结合, IC<sub>50</sub> 为 0.02 μmol·L<sup>-1</sup>, 抑制细胞趋化运动和钙动员的 IC<sub>50</sub> 分别为 0.007 和 0.003 μmol·L<sup>-1</sup>; 动物水平研究表明, 灌胃化合物 **8** (30 mg·kg<sup>-1</sup>) 能显著减少哮喘模型小鼠支气管肺泡灌洗液中嗜酸性粒细胞比例。人趋化素样因子 1 (CKLF1) 是北京大学医学部马大龙教授课题组发现的一种新型趋化因子, 小鼠腿部肌肉电转 CKLF1 真核表达质粒可引起小鼠肺部哮喘样病变<sup>[24]</sup>, 进一步研究证实 CKLF1 是一种 CCR4 的功能性配体<sup>[25]</sup>。研究发现 SARs 及哮喘等患者肺部 CKLF1 呈高表达水平。作者所在实验室针对 CKLF1/CCR4 已成功建立 CCR4 拮抗剂筛选平台, 通过构建 CCR4 高表达细胞株, 利用 CKLF1-FITC 与 CCR4/HKE293 特异性结合原理, 发现香豆素类化合物 **9** 能拮抗 CKLF1-FITC 与 CCR4 结合, IC<sub>50</sub> 为 21.2 nmol·L<sup>-1</sup>, 并且能抑制 CKLF1 介导的钙动员; CKLF1 高表达动物模型结果显示, 化合物 **9** 能减少模型小鼠支气管肺泡灌洗液中白细胞总数, 选择性降低嗜酸性粒细胞比例<sup>[26]</sup>。目前, 正采用其他哮喘动物模型对化合物 **9** 进行抗哮喘药效评价。



### 3 展望

虽然目前医学家们还不能明确哮喘的发病原因,

但哮喘是一种支气管慢性炎症性疾病在医学界已经得到认同。以糖皮质激素为代表的抗炎药物在治疗哮喘方面疗效确切, 但长期应用会给患者带来不良反应, 如免疫抑制和激素样体形等, 大大限制了其推广使用, 在儿童患者治疗时显得十分窘迫。

以趋化因子及其受体为靶点是近年来发现抗哮喘药物的主要思路, 由于参与哮喘炎症发生的趋化因子种类繁多, 趋化因子与趋化因子受体作用错综复杂, 虽然针对趋化因子系统开发的拮抗剂很多, 直至目前还没有真正以趋化因子系统为靶点的抗哮喘药物上市。目前尚未明确哪种趋化因子或(和)趋化因子受体在哮喘发生中占据主要作用, 这就提示药物学家尽可能设计并发现具有拮抗多种受体活性的小分子化合物, 同时具有较小的副作用, 增加发现抗哮喘药物的成功率。随着趋化因子系统在哮喘发病机制的阐明, 以其为靶点的非甾体类抗炎、抗哮喘药物必将出现。

### References

- [1] Peachell P. Targeting the mast cell in asthma [J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2005, 5: 251-256.
- [2] Zlotnik A, Yoshie O. Chemokines: a new classification system and their role in immunity [J]. *Immunity*, 2000, 12: 121-127.
- [3] Palmqvist C, Wardlaw AJ, Bradding P. Chemokines and their receptors as potential targets for the treatment of asthma [J]. *Br J Pharmacol*, 2007, 151: 725-736.
- [4] Locati M, Bonecchi R, Corsi MM. Chemokines and their receptors: roles in specific clinical conditions and measurement in the clinical laboratory [J]. *Am J Clin*, 2005, 123: S82-S95.
- [5] D'Ambrosio D, Panina-Bordignon P, Sinigaglia F. Chemokine receptors in inflammation: an overview [J]. *J Immunol Methods*, 2003, 273: 3-13.
- [6] Ng HP, May K, Bauman JG, et al. Discovery of novel non-peptide CCR1 receptor antagonists [J]. *J Med Chem*, 1999, 42: 4680-4694.
- [7] Liang M, Mallari C, Rosser M, et al. Identification and characterization of a potent, selective, and orally active antagonist of the CC chemokine receptor-1 [J]. *J Biol Chem*, 2000, 275: 19000-19008.
- [8] Carpenter KJ, Ewing JL, Schuh JM, et al. Therapeutic targeting of CCR1 attenuates established chronic fungal asthma in mice [J]. *Br J Pharmacol*, 2005, 145: 1160-1172.
- [9] Peeters D, Peters IR, Clercx C, et al. Real-time RT-PCR quantification of mRNA encoding cytokines, CC chemokines

- and CCR3 in bronchial biopsies from dogs with eosinophilic bronchopneumopathy [J]. *Vet Immunol Immunopathol*, 2006, 110: 65–77.
- [10] Duchesnes CE, Murphy PM, Williams TJ, et al. Alanine scanning mutagenesis of the chemokine receptor CCR3 reveals distinct extracellular residues involved in recognition of the eotaxin family of chemokines [J]. *Mol Immunol*, 2006, 43: 1221–1231.
- [11] Gerard C, Rollins BJ. Chemokine and disease [J]. *Nat Immunol*, 2001, 2: 108–115.
- [12] Suzuki K, Morokata T, Morihira K, et al. A dual antagonist for chemokine CCR3 receptor and histamine H (1) receptor [J]. *Eur J Pharmacol*, 2007, 563: 224–232.
- [13] De Lucca GV, Kim UT, Vargo BJ, et al. Discovery of CC chemokine receptor-3 (CCR3) antagonists with picomolar potency [J]. *J Med Chem*, 2005, 48: 2194–2211.
- [14] Pruitt JR, Batt DG, Wacker DA, et al. CC chemokine receptor-3 (CCR3) antagonists: improving the selectivity of DPC168 by reducing central ring lipophilicity [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2007, 17: 2992–2997.
- [15] Das AM, Vaddi KG, Solomon KA, et al. Selective inhibition of eosinophil influx into the lung by small molecule CC chemokine receptor 3 antagonists in mouse models of allergic inflammation [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2006, 318: 411–417.
- [16] Zimmermann N, Hershey GK, Foster PS, et al. Chemokines in asthma: cooperative interaction between chemokines and IL-13 [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2003, 111: 227–242, quiz 243.
- [17] Negrete-García MC, Velazquez, JR, Popoca-Coyotl A, et al. CXCL12/SDF-1 is associated with leukocyte recruitment in asthma [J]. *Chest*, 2010, 138: 100–106.
- [18] Fricker SP, Anastassov V, Cox J, et al. Characterization of the molecular pharmacology of AMD3100: a specific antagonist of the G-protein coupled chemokine receptor, CXCR4 [J]. *Biochem Pharmacol*, 2006, 72: 588–596.
- [19] Lukacs NW, Berlin A, Schols D, et al. AMD3100, a CXCR4 antagonist, attenuates allergic lung inflammation and airway hyperreactivity [J]. *Am J Pathol*, 2002, 160: 1353–1360.
- [20] Hendrix CW, Flexner C, MacFarland RT, et al. Pharmacokinetics and safety of AMD-3100, a novel antagonist of the CXCR-4 chemokine receptor, in human volunteers [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2000, 44: 1667–1673.
- [21] Vijayanand P, Durkin K, Hartmann G, et al. Chemokine receptor 4 plays a key role in T cell recruitment into the airways of asthmatic patients [J]. *J Immunol*, 2010, 184: 4568–4574.
- [22] Kowal K, Zukowski S, DuBuske L, et al. Plasma concentration of CCR4 ligands in asthma patients during bronchial challenge with dermatophagoides pteronyssinus (Dp) allergen [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2007, 119: S139.
- [23] Purandare AV, Wan H, Somerville JE, et al. Core exploration in optimization of chemokine receptor CCR4 antagonists [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2007, 17: 679–682.
- [24] Han W, Lou Y, Tang J, et al. Molecular cloning and characterization of chemokine-like factor 1 (CKLF1), a novel human cytokine with unique structure and potential chemotactic activity [J]. *Biochem J*, 2001, 357: 127–135.
- [25] Wang Y, Zhang YM, Yang X, et al. Chemokine-like factor 1 is a functional ligand for CC chemokine receptor 4 (CCR4) [J]. *Life Sci*, 2006, 78: 614–621.
- [26] Li G, Wang DM, Sun MN, et al. Discovery and optimization of novel 3-piperazinyl coumarin antagonist of chemokine-like factor 1 with oral anti-asthma activity in mice [J]. *J Med Chem*, 2010, 53: 1741–1754.