

新型吲哚胺2,3-二加氧酶抑制剂及其治疗人类疾病的研究*

杨云云** 李锡帅 杨青***

(复旦大学 上海 200433)

摘要 吲哚胺2,3-二加氧酶(indoleamine 2,3-dioxygenase, IDO)是催化色氨酸沿犬尿氨酸代谢途径分解的限速酶,已被证实与肿瘤、阿尔茨海默病、抑郁症和白内障等多种人类疾病的发病机制密切相关。IDO抑制剂是具有新药靶、新机制的广谱药物,应用前景非常广阔。

关键词 吲哚胺2,3-二加氧酶 吲哚胺2,3-二加氧酶抑制剂 药物发现靶标 肿瘤 阿尔茨海默病

中图分类号:R965.1;R914.2

文献标识码:C

文章编号:1006-1533(2012)09-0016-04

Research of the new indoleamine 2,3-dioxygenase inhibitors and its treatment of human diseases*

YANG Yun-yun**, LI Xi-shuai. YANG Qing***

(School of Life Sciences, Fudan University, Shanghai, 200433)

ABSTRACT Indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) is a monomeric 45 kDa heme-containing dioxygenase that catalyzes the initial and rate limiting step of L-tryptophan (L-Trp) catabolism along the kynurenine pathway (KP). IDO has been confirmed to have the close relationship of the pathogenesis mechanism with cancer, Alzheimer's disease, depression, age-related cataract as well as other diseases characterized by pathological tryptophan metabolism. It is a broad-spectrum agent with the new molecular target and mechanism, which has the promising application prospects.

KEY WORDS indoleamine 2,3-dioxygenase; inhibitor; drug discovery target; tumor; Alzheimer's disease

吲哚胺2,3-二加氧酶(indoleamine 2,3-dioxygenase, IDO)是一种细胞内含亚铁血红素的酶,广泛分布于人和动物的许多组织和细胞中,包括晶状体、脑、肺、肾、脾和巨噬细胞。IDO催化色氨酸沿犬尿氨酸途径(KP)分解代谢生成N-甲酰犬尿氨酸,后者可以水解生成犬尿氨酸,继而转变为包括神经毒素喹啉酸在内的一些代谢产物^[1]。色氨酸的KP异常通常伴随着IDO活性的提高和喹啉酸水平的上调,与神经系统炎症和神经退行性紊乱密切相关^[2]。大量证据表明,IDO和KP在阿尔茨海默病(AD)和抑郁症的发病机制中发挥着至关重要的作用。IDO的另一重要功能——免疫耐受功能直到1998年才被人们发现。IDO通过降解色氨酸造成缺乏色氨酸的微环境、切断T细胞的活化。由于T细胞对色氨酸耗竭

特别敏感,故在色氨酸浓度较低时,T细胞增殖就会停止在G1期^[3]。基于这种机制,在胎盘中表达的IDO可保护胎儿免遭母体排斥,而在肿瘤中表达的IDO则介导了肿瘤的免疫逃逸。最近研究发现,抗原提呈细胞如巨噬细胞、树突状细胞上的IDO均可通过抑制T细胞增殖来诱导T细胞对肿瘤抗原的免疫耐受。

IDO已被证实是一个重要的药物发现靶标。IDO抑制剂具有治疗肿瘤、AD、抑郁症和白内障等多种疾病的潜能,是具有新药靶、新机制的药物,应用前景非常广阔^[4,5]。遗憾的是,现有的IDO抑制剂大多抑制效力低下,1-甲基色氨酸(1-MT)作为唯一用于各种体内、外实验的IDO抑制剂,其抑制常数(Ki)为34 μM。目前,世界上还没有IDO抑制剂类药物上市^[6]。虽然IDO抑制剂

* 国家自然科学基金面上项目(30873153)资助

** 作者简介:杨云云(1989-),女,硕士研究生。E-mail: 11210700169@fudan.edu.cn

*** 通讯作者:杨青,教授

治疗肿瘤的效果已在动物中得到验证^[7]，但对 AD 的治疗作用尚未见报道。因此，发现高活性的新型 IDO 抑制剂不仅在新药寻找方面有重要意义，而且其治疗方面的尝试或者应用可以阐明药物的作用机制，为明确 IDO 与疾病的关系提供直接的证据。

1 建立 IDO 抑制剂筛选平台

我们克服了 IDO 尚未商品化的困难，利用基因工程表达、纯化了重组人 IDO (rhIDO)，建立了酶活性检测方法和体系。使用该体系检测 1-MT 的抑制活性，结果(图 1)与文献报道的结果相符，证明我们建立的 IDO 活性检测体系可信。这是国内建立的首个 IDO 抑制剂筛选平台。

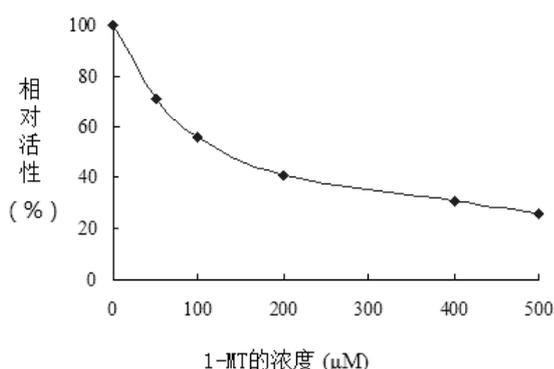


图 1 利用 rhIDO 建立的酶活性检测体系验证了 1-MT 的抑制活性

2 天然和化学合成的 IDO 抑制剂及与 IDO 蛋白的三维对接试验

采取天然提取和化学合成手段，在数百个化合物中筛选出 20 余个优良的 IDO 抑制剂，并完成了这些 IDO 抑制剂的酶动力学测试、细胞水平抑制活性测试及与 IDO 蛋白的三维对接试验(表 1、表 2 和图 2)。

3 黄连解毒汤 (OGT) 不同给药剂量和不同提取部位抑制 IDO 活性的比较

体外酶活性实验证实，OGT 治疗 AD 的分子机制之一是抑制 IDO 活性，且其给药剂量不同对 IDO 的抑制活性也不同(图 3)。此外，与现有 IDO 抑制剂 1-MT 进行比较，我们还证实 OGT 不同提取部位对 IDO 的抑制活性有显著差异(图 4)。

4 在荷瘤动物模型中研究 IDO 抑制剂对肿瘤的抑制效果

我们在荷瘤动物模型中测试 IDO 抑制剂的抗肿瘤效果并研究其作用机制，通过 T 细胞增殖实验和测量肿瘤大小来检测 IDO 抑制剂的抑瘤活性，结果证实我们合成

表 1 天然来源的 IDO 抑制剂的 Ki

化合物	抑制剂的类型	Ki(μM)	IC ₅₀ (μM)	
			rhIDO-1	HEK 293-hIDO-1
1-MT	竞争性	34	380	18.4
AM	非竞争性	8	9.3	7
AK	不可逆性		157	3
AD	不可逆性		206	17.8
AE	可逆性	5.76	6.31	7.11

表 2 化学合成的 IDO 抑制剂的 Ki

化合物	抑制剂的类型	Ki(μM)	IC ₅₀ (μM)	
			rhIDO-1	HEK 293-hIDO-1
1-MT	竞争性	34	380	18.4
PTA	非竞争性	22.5	143	251
BPTA	非竞争性	18	148	31
CPTA	非竞争性	14.5	86	19
CX-47	非竞争性	0.1	0.5	0.1

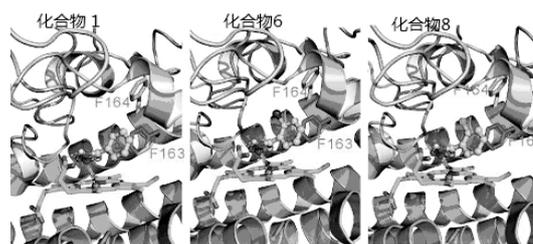


图 2 IDO 抑制剂与 IDO 蛋白的空间对接

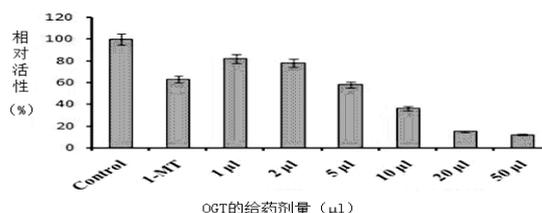


图 3 OGT 的 IDO 抑制效力优于 1-MT

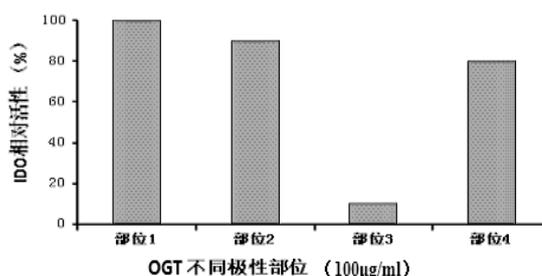


图 4 OGT 不同提取部位的 IDO 抑制效力

的 IDO 抑制剂具有良好的肿瘤抑制效果(图 5、图 6)。

5 在 AD 小鼠上测试 IDO 抑制剂的抗 AD 效果

免疫组织化学实验发现，APP/PS1 转基因 AD 小鼠(8 月龄)的海马体与皮层中有明显的 β-淀粉肽沉积和

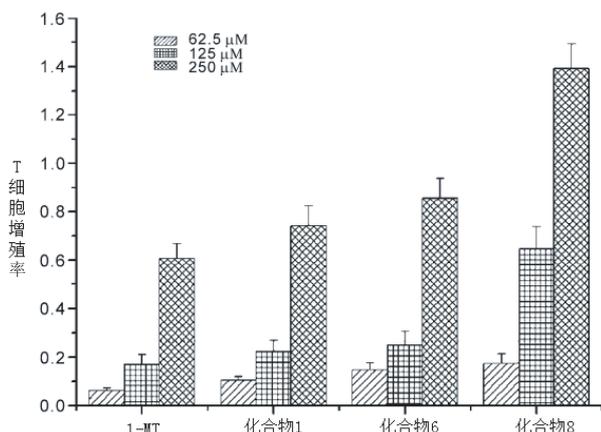


图5 IDO 抑制剂化合物 1、6 和 8 显著增加 T 细胞的增殖

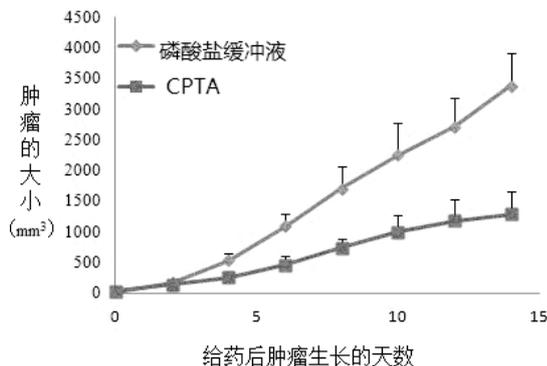


图6 IDO 抑制剂 CPTA 缩小肿瘤体积且延缓了肿瘤生长速度

IDO 表达，而在野生型小鼠中未检测到。利用高效液相色谱分析法测定小鼠血清样品中犬尿氨酸和色氨酸的浓度，发现 AD 小鼠体内的犬尿氨酸和色氨酸浓度之比升高，说明 AD 小鼠血清中 KP 途径上调。

使用具有自主知识产权的 IDO 抑制剂进行的 AD 小鼠治疗学研究工作正在进行中。

6 结语

国外有关 IDO 的研究始于上世纪 70 年代，90 年代末开始升温，现则进入了发展阶段。截至 2010 年，有关 IDO 的研究论文至少有 1 420 篇，IDO 抑制剂研发专利 52 项。由于 IDO 尚未商品化，建立 IDO 活性检测体系具有一定难度，造成国内 IDO 抑制剂筛选工作未能及时展开。

我们自 2006 年开始开展 IDO 抑制剂研发工作，已经打下良好基础并获得一些成果，包括利用遗传工程表达并纯化了重组人 IDO 酶，建立了酶活性检测体系和 IDO 抑制剂筛选平台；获得了一些新型高效 IDO 抑制剂，抑酶效力（抑制常数达到纳摩尔级）远高于 1-MT，且在细胞水平上也显示出优良的抑制活性；发现具有 AD 治疗效果的传统中药 OGT 拥有 IDO 抑制效力，为 AD 治疗提供了新的思路。我们已申请了一些有关 IDO 抑制

剂的中国发明专利^[8-11]，发表了若干篇有关 IDO 抑制剂的研究论文^[12,13]。

参考文献

- [1] Takikawa O, Yoshida R, Kido R, *et al.* Tryptophan degradation in mice initiated by indoleamine 2, 3-dioxygenase [J]. *J Biol Chem*, 1986, 261(8): 3648-3653.
- [2] Heyes MP, Saito K, Crowley JS, *et al.* Quinolinic acid and kynurenine pathway metabolism in inflammatory and non-inflammatory neurological disease [J]. *Brain*, 1992, 115(Pt 5): 1249-1273.
- [3] Munn DH, Shafizadeh E, Attwood JT, *et al.* Inhibition of T cell proliferation by macrophage tryptophan catabolism [J]. *Exp Med*, 1999, 189(9): 1363-1372.
- [4] Muller AJ, DuHadaway JB, Donover PS, *et al.* Inhibition of indoleamine 2, 3-dioxygenase, an immunoregulatory target of the cancer suppression gene Bin1, potentiates cancer chemotherapy [J]. *Nature Med*, 2005, 11(3): 312-319.
- [5] Hou DY, Muller AJ, Sharma MD, *et al.* Inhibition of indoleamine 2, 3-dioxygenase in dendritic cells by stereoisomers of 1-methyl-tryptophan correlates with antitumor responses [J]. *Cancer Res*, 2007, 67(2): 792-801.
- [6] Cady SG, Sono M. 1-Methyl-DL-tryptophan, beta-(3-benzofuranyl)-DL-alanine (the oxygen analog of tryptophan), and beta-[3-benzo(b)thienyl]-DL-alanine (the sulfur analog of tryptophan) are competitive inhibitors for indoleamine 2, 3-dioxygenase [J]. *Arch Biochem Biophys*, 1991, 291(2): 326-333.
- [7] Katz JB, Muller AJ, Prendergast GC. Indoleamine 2, 3-dioxygenase in T-cell tolerance and tumoral immune escape [J]. *Immunol Rev*, 2008, 222(1): 206-221.
- [8] 杨青, 匡春香, 黄伟达. 复方制剂黄连解毒汤在制备抑制 IDO 活性药物中的用途: 中国, 200910047739.7[P]. 2010-09-22.
- [9] 杨青, 于存静, 匡春香, 等. 小檗碱及其衍生物在制备吡啶胺 2, 3-双加氧酶抑制剂中的用途: 中国, 201010115191.8[P]. 2010-09-29.
- [10] 杨青, 匡春香, 郑茂发, 等. 1, 2, 3-三氮唑化合物及其在制备吡啶胺 2, 3-双加氧酶抑制剂中的用途: 中国, 201010134217.3[P]. 2010-07-28.
- [11] 匡春香, 杨青, 江玉波. 一种含(E)-4-(β-溴乙烯基)苯氧基结构的 IDO 抑制剂及其制备方法: 中国, 101429151B[P]. 2009-05-13.
- [12] Yu CJ, Zheng MF, Kuang CX, *et al.* Oren-gedoku-to and its constituents with therapeutic potential of Alzheimer's disease inhibit indoleamine 2, 3-dioxygenase activity *in vitro* [J]. *J Alzheimers Dis*, 2010, 22(1): 257-266.
- [13] Huang Q, Zheng MF, Yang SS, *et al.* Structure-activity

5-氨基酮戊酸光动力疗法在尖锐湿疣治疗中的应用进展

鲁智勇

(上海交通大学医学院附属新华医院皮肤科 上海 200092)

摘要 尖锐湿疣是由人乳头瘤病毒(HPV)感染所引起的良性上皮肿瘤,性接触是其主要传播途径之一。目前尚没有非常理想的治疗药物与技术,传统的激光、冷冻等创伤性治疗给患者带来痛苦,且复发率高,部分特殊部位无法对其治疗。光动力疗法是一门新兴的消融技术,并在2009年被正式列入美国疾病控制和预防中心(CDC)制定的“性病治疗指南”。近年来5-氨基酮戊酸光动力疗法治疗尖锐湿疣的疗效已获得了普遍的肯定。本文就光动力疗法在尖锐湿疣治疗中的应用进展进行综述。

关键词 尖锐湿疣 光动力疗法 5-氨基酮戊酸

中图分类号: R752.53; R454.2

文献标识码: C

文章编号: 1006-1533(2012)09-0019-03

Advances of photodynamic therapy in the treatment of condyloma acuminata

LU Zhi-yong

(Department of Dermatology, Xinhua Hospital affiliated to School of Medicine, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai, 200092)

ABSTRACT Condyloma acuminatum is a benign epithelial tumor caused by human papillomavirus (HPV) infection. Sexual contact is one of the main modes of transmission. There is currently neither ideal therapy nor technology for its treatment. Traditional laser, freezing and other invasive treatment bring suffering and high recurrence rate to the patient, and can not act on some of the special parts. Photodynamic therapy is a new ablation technique and was officially included in the STD treatment guidelines developed by the U.S. Centers for Disease Control and Prevention (CDC) in 2009. 5-aminolevulinic acid photodynamic therapy for condyloma acuminatum has gained widespread recognition in recent years. Advances of photodynamic therapy in the treatment of condyloma acuminata will be reviewed in this paper.

KEY WORDS condyloma acuminatum; photodynamic therapy; 5 - aminolevulinic acid

尖锐湿疣(condyloma acuminatum, CA)是由人乳头瘤病毒(human papillomavirus, HPV)感染所引起的良性上皮肿瘤,主要通过性传播,在我国的性病发病率中排名第二。由于缺特效的抗HPV药物,治疗上以冷冻、激光、电灼、刮除、腐蚀性药物等局部创伤性治疗为主,必要时辅以全身抗病毒或免疫调节治疗,但全身治疗的疗效难以肯定且费用高昂。鉴于传统治疗方法创伤性较大,术后易形成溃疡和瘢痕,愈合时间长,复发率高,给患者带来了极大的痛苦和心理压力,因此有必要探索新的治疗方法,特别是针对多发性疣和难治性尖锐湿疣的治疗。20世纪90年代初局部5-氨基酮戊酸(5-aminolaevulinic acid, ALA)光动力疗法(photodynamic therapy, PDT)在治疗光化性角化病的成功开启了光动力

疗法在皮肤科应用的新的里程碑,受此启发,人们开始尝试使用局部ALA-PDT治疗病毒疣,现有的临床资料显示该方法可以有效地治疗病毒疣,并且在治疗中有其独特的优势,本文就5-氨基酮戊酸光动力疗法(ALA-PDT)在尖锐湿疣中的应用作一综述。

1 作用机制

PDT的作用机理是靶组织内含有的光敏化学物质,经特定波长和能量光照后,激发产生的光毒作用选择性的破坏病变组织的一种治疗手段。ALA是生物内源性物质,本身不具有光敏作用,但在体内可经生物转化成具有光毒作用的原卟啉IX(protoporphyrin IX, PpIX)。正常情况下,因体内含量少而不产生光敏作用。当大量外

relationship and enzyme kinetic studies on 4-aryl-1H-1, 2, 3-triazoles as indoleamine 2, 3-dioxygenase (IDO) inhibitors

[J]. Eur J Med Chem, 2011, 46(11): 5680-5687.

(收稿日期: 2012-02-24)