

芬戈莫德的非免疫抑制效应研究进展*

韩冰综述, 刘苏[△]审校(重庆医科大学附属第二医院眼科 400010)

【关键词】 芬戈莫德; 非免疫抑制效应; 中枢神经系统

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2015.07.053 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2015)07-0997-03

芬戈莫德(FTY720)是一种新型的免疫抑制剂,是从冬虫夏草(子囊菌亚门赤僵菌)中提取出来的抗菌药物成分多球壳菌素(ISP-1)经过化学修饰改造而成。关于 FTY720 的免疫抑制效应一直是研究的热点,如 FTY720 在多种器官移植模型及自身免疫病、肿瘤等疾病研究中均显示了良好的效果^[1-3]。2010 年 9 月美国食品药品监督管理局(FDA)已经批准 FTY720 作为第 1 种口服药用于多发性硬化(MS)的临床治疗^[4]。而关于 FTY720 的非免疫抑制效应报道甚少。新的研究发现 FTY720 除了强大的免疫抑制效应外,还存在其他非免疫抑制效应。而这些研究提示 FTY720 还具有更强大的临床应用前景。本文将对 FTY720 的非免疫抑制效应做一综述。

1 FTY720 在中枢神经系统疾病的作用

1.1 FTY720 对神经酰胺合成的抑制

既往对 FTY720 的免疫抑制机制的研究主要是,FTY720 在体内经鞘氨醇激酶 2 转化成单磷酸酯化合物 FTY720-P 后发挥作用。FTY720-P 与 1-磷酸鞘氨醇(S1P)有高度的同源性。FTY720-P 与 S1P 竞争结合淋巴细胞表面 S1P1 受体,从而导致淋巴细胞阻滞于次级淋巴器官,达到免疫抑制的目的。而 Lahiri 等^[5]发现,除了上述机制之外,FTY720 还可调节神经酰胺的合成。研究发现,FTY720 可以通过非竞争性抑制酰基辅酶 A 和鞘氨醇而抑制神经酰胺的合成,并且这种抑制作用是在鞘氨醇高浓度时发挥的。为了证明是 FTY720 还是 FTY720-P 发挥抑制作用,他们将 FTY720-P 与高表达神经酰胺合成酶 2(Cers2)的人胚肾细胞系共同孵育后,并没有发现明显的抑制效果。因此证明是 FTY720 本身而非 FTY720-P 抑制神经酰胺合成酶的活性。Chen 等^[6]在研究光损伤诱导的视网膜变性中发现,作为凋亡第 2 信使的神经酰胺在其中发挥着重要的作用。研究发现,在光损伤动物模型中,神经酰胺显著的升高,与光感受器细胞的凋亡密切相关,并且用 FTY720 干预后,能有效减少神经酰胺的合成从而抑制光感受器的凋亡。这些表明 FTY720 可以通过减少神经酰胺合成酶的活性从而减低神经酰胺的水平。

1.2 FTY720 对少突胶质祖细胞的保护

FTY720 在多发性硬化(MS)治疗中的作用一直是备受肯定的。MS 是一种慢性、退行性中枢神经系统脱髓鞘疾病,其病理特点是轴索退化及少突胶质细胞的死亡。一直以来,大部分治疗都是针对抗感染、免疫抑制等方面。FTY720 因为其强大的免疫抑制作用而用于 MS 的治疗中。Coelho 等^[7]研究发现,在 MS 中,除了免疫抑制作用之外,FTY720 还可以直接作用于少突胶质祖细胞,不仅能提高少突胶质细胞的存活率,也可以促进它的成熟。该发现显示在 MS 治疗中,除了抗感染及免疫抑制机制,FTY720 还可能存在着其他的机制。

1.3 FTY720 对酸性鞘磷脂酶的抑制

Dawson 等^[8]研究发现,FTY720 在 0~10 μmol/L 浓度范围时能够以剂量依赖的

方式抑制溶酶体酸性鞘磷脂酶(ASMase)的活性。用 FTY720 处理细胞 24 h 后发现,它对酸性鞘磷脂酶的活性抑制超过 80%,而对中性鞘磷脂酶的活性并没有影响。同时发现,多球壳菌素及 S1P 均不能够抑制 ASMase 的活性。FTY720 的这种抑制作用与三环类抗抑郁药地昔帕明相似。地昔帕明和 FTY720 处理细胞都可以降低 ASMase 的活性,而对其他溶酶体水解酶没有明显的作用。作为一种两性阳离子药,地昔帕明是通过干预酶与晚期胞内体和溶酶体内膜的结合而发挥作用,从而降解细胞内酸性鞘磷脂酶及酸性神经酰胺酶,但中性或阴离子药并没有这一作用。该研究结果表明 FTY720 对酸性鞘磷脂酶的抑制作用是通过两性阳离子而发挥的。

1.4 FTY720 与细胞间黏附分子-1(ICAM-1)的作用

ICAM-1 在周围神经轴索显微外科手术和糖尿病视网膜病变等模型中均显示出不良作用。FTY720 在 MS 的临床治疗中显示出明显的抗感染作用。而 Rau 等^[9]在将 FTY720 用于髓鞘少突胶质细胞糖蛋白诱发的视神经炎模型时,发现 FTY720 表现出了明显的抗感染及降低脱髓鞘和轴索损伤作用的同时并没有明显阻止视神经节细胞(RGCs)免于凋亡。同时检测发现,在 FTY720 处理组中出现了 ICAM-1 水平的上调。推测 FTY720 通过上调一些神经毒性细胞因子和下调神经保护性细胞因子而将视神经中的炎性环境转变成了神经毒性环境,因而没有有效地阻止 RGCs 的凋亡。而又有研究表明,ICAM-1 与 S1P 受体引发的对 T 淋巴细胞的迁移的抑制作用是密切相关的^[10],说明 FTY720 与 ICAM-1 有着潜在的相互作用。

1.5 FTY720 对大麻素 CB1 受体的拮抗作用

S1P 受体和大麻素受体都属于 G 蛋白偶联受体家族,在体内分别调节 S1P 及大麻素的作用。大麻素受体分为 CB1 和 CB2 受体。CB1 和 S1P 受体都可以刺激中枢神经系统(CNS)中 G 蛋白的活化。S1P 和大麻素受体有着 35% 的序列同源性,FTY720 又与 S1P 结构的相似性竞争结合 S1P 受体,由于这种序列同源性及 FTY720 在 CNS 一些炎症性疾病中的效应,Paugh 等^[11]在探索 FTY720 与大麻素受体之间可能的相互作用时发现,在表达 CB1 细胞系及小鼠小脑中,FTY720 和鞘氨醇都可以以浓度依赖的方式抑制 CB1 选择性拮抗剂(³H]SR141716A)和大麻素受体激动剂(³H]CP55,940)的结合。然而对 CB2 受体与 ³H]CP55,940 的结合却没有影响。在表达 CB1 受体的 CHO 细胞系中,FTY720 和鞘氨醇可以通过大麻素激动剂 WIN55,212-2 抑制胞外信号调节激酶 1 和 2 及 AKT 的活化并且减弱 WIN55,212-2 刺激的 CB1 受体的内化。并且 FTY720 和鞘氨醇可以使 G 蛋白活化中的大麻素兴奋剂浓度效应曲线右移。这些结果都表明 CB1 受体是一个新的 FTY720 作用靶点,鞘氨醇是一种内源性 CB1 受体拮抗剂。

1.6 FTY720 对朊病毒病中神经细胞的保护作用

朊病毒是

* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(81271035/H1205)。

△ 通讯作者, E-mail: liusu2836@sina.com。

一类侵犯人和动物中神经系统的病原体,在朊病毒疾病中其正常形式 PrP^C 转化成错误折叠形式 PrP^{Sc} 而发挥病理作用。朊病毒病中神经细胞的死亡机制之一为凋亡。PrP(106~126)是人工合成朊病毒蛋白肽,它保持着 PrP^{Sc} 的很多特性,因此可以成功地制造朊病毒损伤模型。Moon 等^[12] 研究发现 FTY720-P 能够保护 PrP(106~126) 导致的神经细胞免于死亡,并且发现 FTY720 可以通过调节 JNK 蛋白的活化而抑制线粒体功能障碍。用 SH-SY5Y 细胞系和不同浓度的 FTY720-P 共同孵育后添加 PrP(106~126), 结果发现 PrP(106~126) 单独处理组 P-JNK 水平是显著升高的,而 FTY720-P 处理组 P-JNK 水平普遍降低,并且这种抑制呈现出剂量依赖性。JNK 蛋白可以促进 Bax 蛋白迁移至线粒体及线粒体细胞色素 C 的释放,导致线粒体功能障碍及凋亡。因此推测,FTY720 通过调节 JNK 的磷酸化阻止线粒体功能障碍而对神经细胞起到保护作用。这又揭示了 FTY720 在朊病毒疾病中又一个潜在的治疗靶点。

1.7 FTY720 对 β 淀粉样多肽的抑制作用 阿尔兹海默病(AD)是慢性进行性中枢神经系统变性疾病。AD 的发病机制尚未阐明,其典型的病理特征是形成 β 淀粉样蛋白(A β) 沉积。Takasugi 等^[13] 研究发现,FTY720 可以明显降低 AD 中 A β 的产生。在人工培养的原代皮质神经元细胞中,FTY720 能够以剂量依赖的方式明显的降低 β 淀粉样多肽的产生。Doi 等^[14] 在研究 AD 等神经变性疾病时也发现,FTY720-P 可以减弱 A β 引起的神经毒性作用,在这个过程中显著提高了脑源性神经营养因子(BDNF)的水平。BDNF 的神经保护效应是通过它的受体 TrkB 实现时。在验证 FTY720 的神经保护效应是否是通过提高 BDNF 实现时,他们用 TrkB 抑制剂及 BDNF 清除剂来阻断 BDNF-TrkB 信号通路,结果发现,FTY720-P 的神经保护效应被完全阻断了。说明 FTY720 在减弱 A β 的神经毒性作用中是通过升高 BDNF 的水平实现的。该研究提示 FTY720 作为 AD 等神经变性疾病的一种潜在治疗手段。

2 FTY720 对消化系统的作用

2.1 FTY720 对丙型肝炎病毒(HCV)复制的抑制 Amemiya 等^[15] 研究发现,多球壳菌素可以以剂量依赖的方式抑制 HCV 的复制。他们推测这一作用与多球壳菌素对丝氨酸棕榈酰转移酶(SPT)的抑制作用相关。而 Ciesek 等^[16] 研究发现,FTY720 同样可以抑制 HCV 的复制。他们用 Luc-Jc1 病毒基因组或 JFH1 复制子去转染稳定表达 HCV 核心蛋白的 Huh7-Lunet/CD81 细胞,4 h 后在细胞培养基中添加不同浓度的 FTY720 或多球壳菌素,48 h 后用荧光素酶活性分析定量检测 HCV RNA。结果发现,无论是 2.3 μ g/mL 的 FTY720 还是 2.9 μ g/mL 的多球壳菌素,都可以使 HCV 复制减少 50%。然而在多球壳菌素转化为 FTY720 的过程中,抑制 SPT 的能力是消失了的。因此不能解释其抗病毒活性是通过抑制 SPT 的抑制而实现的。并且在 FTY720 和多球壳菌素相同浓度条件下,分别添加了鞘氨醇及鞘磷脂与 Luc-Jc1 转染的细胞共同孵育后发现,只有在鞘氨醇存在下 HCV 的复制才能够被抑制。这一发现表明多球壳菌素与 FTY720 抗病毒的活性并不归因于对 SPT 的抑制而是与它们跟鞘氨醇结构相似性相关。FTY720 的这一发现可以作为潜在的 HCV 的治疗方向。

2.2 FTY720 对骨髓间充质干细胞循环的抑制 最近有新的研究表明 FTY720 在多种纤维化动物模型中显示了良好的效果,大都通过抑制炎症反应和微血管的内皮功能障碍^[17-18]。Kong 等^[19] 在研究 FTY720 是否对肝纤维化有作用时发现,在 CCl₄ 诱导的肝脏纤维化模型中,用 FTY720 预处理 4 周后,肝脏纤维化标志物 α -SMA、I 型骨胶原及 III 型骨胶原均明显下

降,并且循环血中骨髓间充质干细胞(BMSC)也明显下降。众所周知,肝脏肌成纤维细胞在肝脏纤维化中发挥着重要的作用。并且在肝脏纤维化中,BMSC 来源的肌成纤维细胞占着很高的比例。因此推测,在肝脏纤维化进程中,FTY720 通过阻止 BMSC 的循环而使其产生的肌成纤维细胞数量下降,从而缓解肝脏纤维化程度。这又揭示了 FTY720 的另一个潜在治疗手段。

2.3 FTY720 对瞬时受体电位离子通道蛋白 7(TRPM7)和 ANO1 的抑制作用 间质细胞 Cajal(ICC)是胃肠道的起搏细胞,它产生有节奏的膜电位振幅而形成慢波。在鼠科动物小肠中,ICCs 起搏的激活主要取决于非选择性阳离子通道或 Cl⁻ 通道的周期性激活。瞬时受体电位离子通道蛋白(TRPM)是位于细胞膜上的一类重要的阳离子通道家族,在鼠科小肠 ICCs 起搏活化中,作为针对非选择性阳离子通道应答起着非常重要的作用。Ca²⁺ 激活 Cl⁻ 通道也参与 ICCs 中慢波电位的形成,在 HEK293 细胞系中编码 ANO1 通道的表达。因此,TRPM 和 ANO1 是潜在的胃肠道蠕虫障碍治疗的新的靶点。Qin 等^[20] 研究发现,在稳定表达 TRPM7 的 HEK293 细胞系中,当 TRPM 电位达到稳定水平时添加 FTY720 进行干预,1 μ mol/L 浓度的 FTY720 可以完全阻断 TRPM 的表达,并且以浓度依赖的方式对它进行抑制。说明 TRPM 是 FTY720 的一个潜在作用靶点。Nam 等^[21] 对 FTY720 是否影响 ANO1 进行了研究。结果发现,FTY720 明显降低了 ICCs 起搏电位的振幅,抑制了 TRPM7 电流的同时,也抑制了 ANO1 在 HEK293 细胞系中的表达。这些结果提示 FTY720 在 ICCs 起搏活化中起到非常重要的作用,它能够抑制 TRPM 和 ANO1 而减弱胃肠道的运动。

3 FTY720 在变态反应性疾病中的作用

花生四烯酸从甘油磷脂的释放是所有花生酸类生物合成的限速阶段。这一过程在体内是通过磷脂酶 A2(PLA2)介导的。在哮喘等疾病中,花生酸类物质起着重要的作用。Payne 等^[22] 研究发现,FTY720 可以明显抑制胞浆型磷脂酶 A2 的活性,从而减少花生四烯酸来源的花生酸类、前列腺素 D2(PGD2)和半胱氨酸-白三烯(CysLTs)的产生。这对减少呼吸道炎症、支气管高反应性、淋巴细胞及嗜酸性粒细胞的渗透有着很好的作用。并且这一作用独立于 FTY720-P 和 S1P 受体。Xin 等^[23] 在研究 FTY720 在肾小球系膜细胞中的抗感染效果时也发现,FTY720 能够以剂量依赖的方式抑制 II A 分泌型磷脂酶 A2(II A-sPLA2)的分泌及活化,以及由此产生的前列腺素 E2。这些发现提示 FTY720 除了免疫抑制以外,具有抗感染的另一种潜在的作用机制。

4 总 结

综上所述,FTY720 作为新型免疫抑制剂除了免疫抑制效应之外,还具有多种非免疫抑制效果,目前的研究大多集中在中枢神经系统疾病中,这些都为拓展 FTY720 新的药理作用及临床治疗新靶点提供了新的思路。

参考文献

- [1] Hoitsma AJ, Woodle ES, Abramowicz D, et al. FTY720 combined with tacrolimus in de novo renal transplantation: 1-year, multicenter, open-label randomized study[J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2011, 26(11): 3802-3805.
- [2] Yoshida Y, Tsuji T, Watanabe S, et al. Efficacy of combination treatment with fingolimod (FTY720) plus pathogenic autoantigen in a glucose-6-phosphate isomerase peptide (GPI 325-339)-induced arthritis mouse model[J]. *Bi-*

- ol Pharm Bull, 2013, 36(11):1739-1746.
- [3] Marvaso G, Barone A, Amodio N, et al. Sphingosine analog fingolimod (FTY720) increases radiation sensitivity of human breast cancer cells in vitro[J]. *Cancer Biol Ther*, 2014, 15(6):797-805.
- [4] Alroughani R, Ahmed SF, Behbehani R, et al. Use of fingolimod in patients with relapsing remitting multiple sclerosis in Kuwait[J]. *Clin Neurol Neurosurg*, 2014, 119:17-20.
- [5] Lahiri S, Park H, Laviad EL, et al. Ceramide synthesis is modulated by the sphingosine analog FTY720 via a mixture of uncompetitive and noncompetitive inhibition in an Acyl-CoA chain length-dependent manner[J]. *J Biol Chem*, 2009, 284(24):16090-16098.
- [6] Chen H, Tran JTA, Eckerd A, et al. Inhibition of de novo ceramide biosynthesis by FTY720 protects rat retina from light-induced degeneration[J]. *J Lipid Res*, 2013, 54(6):1616-1629.
- [7] Coelho RP, Payne SG, Bittman R, et al. The immunomodulator FTY720 has a direct cytoprotective effect in oligodendrocyte progenitors[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2007, 323(2):626-635.
- [8] Dawson G, Qin J. Gilenya (FTY720) inhibits acid sphingomyelinase by a mechanism similar to tricyclic antidepressants[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2011, 404(1):321-323.
- [9] Rau CR, Hein K, Sättler MB, et al. Anti-inflammatory effects of FTY720 do not prevent neuronal cell loss in a rat model of optic neuritis[J]. *Am J Pathol*, 2011, 178(4):1770-1781.
- [10] Ledgerwood LG, Lal G, Zhang N, et al. The sphingosine 1-phosphate receptor 1 causes tissue retention by inhibiting the entry of peripheral tissue T lymphocytes into afferent lymphatics[J]. *Nat Immunol*, 2008, 9(1):42-53.
- [11] Paugh SW, Cassidy MP, He H, et al. Sphingosine and its analog, the immunosuppressant 2-amino-2-(2-[4-octylphenyl] ethyl)-1, 3-propanediol, interact with the CB1 cannabinoid receptor[J]. *Mol Pharmacol*, 2006, 70(1):41-50.
- [12] Moon MH, Jeong JK, Lee YJ, et al. FTY720 protects neuronal cells from damage induced by human prion protein by inactivating the JNK pathway[J]. *Int J Mol Med*, 2013, 32(6):1387-1393.
- [13] Takasugi N, Sasaki T, Ebinuma I, et al. FTY720/fingolimod, a sphingosine analogue, reduces amyloid- β production in neurons[J]. *PLoS One*, 2013, 8(5):64050.
- [14] Doi Y, Takeuchi H, Mizoguchi H, et al. Granulocyte-colony stimulating factor attenuates oligomeric amyloid β neurotoxicity by activation of neprilysin[J]. *PLoS One*, 2014, 9(7):103458.
- [15] Amemiya F, Maekawa S, Itakura Y, et al. Targeting lipid metabolism in the treatment of hepatitis C virus infection[J]. *J Infect Dis*, 2008, 197(3):361-370.
- [16] Ciesek S, Steinmann E, Manns MP, et al. The suppressive effect that myriocin has on hepatitis C virus RNA replication is independent of inhibition of serine palmitoyl transferase[J]. *J Infect Dis*, 2008, 198(7):1091-1093.
- [17] Ni H, Chen J, Pan M, et al. FTY720 prevents progression of renal fibrosis by inhibiting renal microvasculature endothelial dysfunction in a rat model of chronic kidney disease[J]. *J Mol Histol*, 2013, 44(6):693-703.
- [18] Liu W, Zi M, Tsui H, et al. A novel immunomodulator, FTY-720 reverses existing cardiac hypertrophy and fibrosis from pressure overload by targeting NFAT (nuclear factor of activated T-cells) signaling and periostin[J]. *Circ Heart Fail*, 2013, 6(4):833-844.
- [19] Kong Y, Wang H, Wang S, et al. FTY720, a sphingosine-1 phosphate receptor modulator, improves liver fibrosis in a mouse model by impairing the motility of bone marrow-derived mesenchymal stem cells[J]. *Inflammation*, 2014, 37(4):1326-1336.
- [20] Qin X, Yue Z, Sun B, et al. Sphingosine and FTY720 are potent inhibitors of the transient receptor potential melastatin 7 (TRPM7) channels[J]. *Br J Pharmacol*, 2013, 168(6):1294-1312.
- [21] Nam JH, Kim WK, Kim BJ. Sphingosine and FTY720 modulate pacemaking activity in interstitial cells of cajal from mouse small intestine[J]. *Mol Cells*, 2013, 36(3):235-244.
- [22] Payne SG, Oskeritzian CA, Griffiths R, et al. The immunosuppressant drug FTY720 inhibits cytosolic phospholipase A2 independently of sphingosine-1-phosphate receptors[J]. *Blood*, 2007, 109(3):1077-1085.
- [23] Xin C, Ren S, Eberhardt W, et al. FTY720 suppresses interleukin-1 β -induced secretory phospholipase A2 expression in renal mesangial cells by a transcriptional mechanism[J]. *Br J Pharmacol*, 2007, 150(7):943-950.

(收稿日期:2014-10-05 修回日期:2014-11-22)

(上接第 996 页)

- wide profiles of H2AX and γ -H2AX differentiate endogenous and exogenous DNA damage hotspots in human cells[J]. *Nucleic Acids Res*, 2012, 40(13):5965-5974.
- [33] Redon CE, Weyemi U, Parekh PR, et al. γ -H2AX and other histone post-translational modifications in the clinic[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2012, 1819(7):743-756.
- [34] Ivashkevich A, Redon CE, Nakamura AJ, et al. Use of the γ -H2AX assay to monitor DNA damage and repair in translational cancer research[J]. *Cancer Lett*, 2012, 327(1):123-133.
- [35] Edwards BK, Ward E, Kohler BA, et al. Annual report to the nation on the status of cancer, 1975-2006, featuring colorectal cancer trends and impact of interventions (risk factors, screening, and treatment) to reduce future rates[J]. *Cancer*, 2010, 116(3):544-573.
- [36] Kwa FA, Balcerzyk A, Licciardi P, et al. Chromatin modifying agents-the cutting edge of anticancer therapy[J]. *Drug Discov Today*, 2011, 16(13):543-547.

(收稿日期:2014-11-10 修回日期:2014-12-20)