

雷公藤内酯醇在组织器官移植中的研究

王曙东, 宋炳生, 李 克

(南京军区南京总医院, 江苏 南京 210002)

雷公藤内酯醇 (triptolide, Tri) 是从卫矛科植物雷公藤 *Tripterygium wilfordii* Hook. f. 中分离出来的一种含有 3 个环氧基的二萜内酯化合物, 作为免疫抑制药物, Tri 可应用于许多自身免疫性疾病的治疗。国内外学者对其药理及临床进行了大量的研究, 对组织器官移植抗排斥及其作用机制的分子水平研究已有不少报道。本文将近年来的有关文献报道综述如下。

1 对组织器官移植抗排斥作用的实验研究

近年来组织器官移植的应用日趋广泛, 其面临的主要障碍是移植排斥反应, 使用免疫抑制剂仍然是临床抑制排斥反应的主要措施。环孢霉素 (CsA)、硫唑嘌呤 (Aza)、强的松 (Pred)、头孢霉素等在临床上的应用, 极大地推动了临床同种异基因器官移植的开展。但由于自身免疫疾病病程长, 长期服用激素类免疫抑制剂副作用大, 常合并肝、肾损坏及感染, 其治疗不能从根本上纠正免疫异常, 不能有效地控制疾病的发生、发展, 并且因广泛的副作用及价格昂贵, 患者常难以坚持长期用药。因此, 降低 CsA 等免疫抑制剂的使用剂量, 联合应用与 CsA 等有协同效应的免疫抑制剂, 有效地抗移植排斥并减少严重并发症的发生, 成为解决上述问题的有效方法。刘齐贵等^[1]研究雷公藤多苷 (其生理活性由二萜类、生物碱、三萜类等协同产生) 对肾移植术后患者的免疫抑制治疗效果, 将雷公藤多苷作为辅助性免疫抑制剂与环孢霉素 (CsA)+ 硫唑嘌呤 (Aza)+ 强的松 (Pred) 三联方案同时应用 15 例, *po* 剂量为 0.5~1 mg/(kg·d), 作为三联方案替代剂应用 13 例, *po* 剂量为 1~2 mg/(kg·d), 其中替代 CsA 5 例, Pred 5 例, Aza 3 例, 结果表明, 作为辅助用药可减少 CsA 用量 1~2 mg/(kg·d), 减少 Pred 用量为 5~10 mg/(kg·d), 作为替代用药, 可替代 CsA, Aza 或 Pred。林建峰等^[2]采用小鼠耳后心脏移植模型, 观察不同剂量的 Tri *po* 对心脏移植存活时间的影响, 结果表明, Tri 12.5~100 μ g/(kg·d) 的剂量能明显延长小鼠心脏移植物的存活时间, 与 CsA 比较, Tri 具有较强的抗移植排斥作用。邹小明等^[3]利用相同的动物模型, 观察 Tri 在抗排斥反应中的作用效果, 实验显示, 应用 Tri 0.1~0.5 mg/(kg·d) 均可明显延长移植心脏存活期, 与 CsA 等药物效果相近, 认为其抗排斥反应效果与给药剂量和给药时间有关, 术前给予 Tri 无抗排斥反应作用, 其抗排斥反应的作用发生于排斥反应期间, 作用方式可能为直接抑制排斥反应或者减轻排斥反应的严重程度, 何靖康等^[4]研究表明, 在同种异位大鼠心脏移植中, Tri

能够减轻供心的缺血再灌注损伤, 延长移植物的存活时间。

对机体免疫功能严重受损的特重烧伤病人, 通过降低皮片的抗原性是减轻植皮排斥反应的一种主要方法。王少根等^[5]采用 Wisdar 大鼠作为供皮片, SD 大鼠作为受皮鼠, 以 Tri 液浸泡供皮片, 行同种异体移植, 观察其对排斥反应的影响, 结果表明, 浸泡过药液的供皮片 (行同种异体移植后) 其开始排斥时间推迟, 平均成活时限延长, 其中用 Tri 液 (3.3 μ g/mL), 37℃ 下浸泡 3 h 供皮片是处理异体供皮免疫原性的较好方法, 既可使抗原降低, 又不影响皮肤活力。刘湘玲等^[6]研究表明, Tri 联合供体特异性抗原原注 (DST) 并同时联合 DST 和抗受体胸腺细胞血清 (ATS), 可明显延长受小鼠移植皮片存活时间。

PG27 是从雷公藤中提取的具有免疫抑制作用的有效部位, 主要含有雷公藤内酯醇等十几种化学成分, Wang 等^[7]采用腹膜内注射或 *po* PG27 来观察其对大鼠同种异体心、肾移植的免疫抑制作用, 并与 CsA 作比较。结果表明, PG27 所具有的免疫抑制活性延长了心、肾同种异体移植物的存活时间, 并与 CsA 具有协同作用, 两者联用能改善同种异体移植物的功能, 明显增强心、肾同种异体移植物的生存时间。同时, CsA 剂量可比单独使用时减少 50%~70%。杨俊伟等^[8]研究表明, 雷公藤内酯醇具有明显地抗同种异体急性排斥反应的作用, 并与 CsA 有一定的协同作用。

异基因骨髓移植过程常发生移植物抗宿主病 (GVHD), 因此, 在骨髓移植中如何防治移植物抗宿主病至关重要。陈捷等^[9]研究表明, 雷公藤内酯醇具有诱导 Balb/c 小鼠自身移植物抗宿主病 (AGVHD), 提示雷公藤内酯醇诱导产生的 AGVHD 在理论上杀肿瘤细胞的效果大于 CsA 诱导 AGVHD, 更具有实用价值。Chen 等^[10]实验表明 PG27 能有效地发挥抗 GVHD 作用, 进一步实验还提示 PG27 能诱导供者特异免疫耐受, 同时保留移植物功能。实验同样表明 PG490-88 (雷公藤内酯醇的半合成物) 在预防小鼠 GVHD 是有效的^[11]。

2 免疫抑制作用机制研究

戴春笋等^[12]通过观察 Tri 诱导 Balb/C 小鼠脾细胞凋亡与细胞活化程度的关系, 结果表明, Tri 不能造成静止状态的淋巴细胞发生细胞凋亡, 只能诱导已活化淋巴细胞发生细胞凋亡, 并以此影响机体的免疫功能。刘栋等^[13]以人外周血 T 细胞为研究对象, 通过观察 Tri 诱导淋巴细胞发生凋亡与细胞周期的关系, 探讨该化合物导致细胞凋亡作用的机制,

* 收稿日期: 2003-03-30

作者简介: 王曙东 (1965-), 男, 副主任药师, 硕士, 主要从事中药制剂工作。Tel (025) 4820173

结果也表明 Tri只能造成活化的 T细胞发生细胞凋亡,且与 Tri的浓度正相关,同时进一步证实 Tri只能造成 S_H G₂/M期细胞发生细胞凋亡,却不能导致 G₀/G₁期细胞发生细胞凋亡,说明 Tri促使细胞凋亡的作用具有明显的细胞周期选择性。邹小明等^[14]利用体外细胞培养方法,检测了 Tri对小鼠脾淋巴细胞 IL-2产生和 IL-2受体表达的影响。结果表明, Tri对 IL-2产生无影响,但对 IL-2受体表达有明显的抑制作用,认为 Tri抗免疫排斥作用主要是通过抑制 IL-2受体表达,从而使 IL-2与 IL-2受体的相互作用受到影响,最终抑制了淋巴细胞增殖。李明松等^[15]研究表明, Tri能抑制树突状细胞(DC)表面人白细胞抗原-DR(HLA-DR)及免疫分子 B₂表达,并进一步抑制 DC免疫功能,提示雷公藤制剂可能是通过抑制 DC免疫活性而调节机体免疫状态。

核因子 κ B(NF κ B)是一种重要的核转录因子,可调节许多基因的转录, NF κ B参与调控的免疫因子包括有一系列重要的细胞因子(如 IL-2, IL-6, IL-8等)和粘附分子(如 VCAM, ICAM等),免疫细胞内的 NF κ B活性改变对于细胞活化的增殖和凋亡均有重要意义,影响免疫细胞内的 NF κ B活性可直接影响整个机体的免疫状态。Liu等^[16]将不同浓度 Tri处理普通培养状态的和同时使用 PMA/PHA激活的 Jurkat细胞,探讨 Tri对 T淋巴细胞中 NF κ B活力及其抑制分子 I κ B的影响,结果表明,在普通培养状态下的 Jurkat细胞中存在有一定活力的 NF κ B,使用 PMA/PHA处理可显著升高 Jurkat细胞 NF κ B的活力, Tri可以降低两种培养状态下的 Jurkat细胞中 NF κ B活力,并以激活状态下更为显著, Tri可以上调 Jurkat细胞中 I κ B mRNA的转录水平。由此认为, Tri对 T细胞内 I κ B基因转录的调控以及抑制 T淋巴细胞内 NF κ B的活力是雷公藤免疫抑制效应的分子机制之一。李恒等^[17]采用体外培养方法,在证实肾小管上皮细胞在 γ 干扰素(IFN γ)及肿瘤坏死因子 α (TNF α)联合刺激下确实具有抗原呈递能力的基础上,观察了雷公藤内酯醇对相关分子表达的影响。结果表明, Tri处理后,细胞表面相容性复合体二类分子(MHCII),共刺激分子(B₇-1, B₇-2)表达明显受到抑制,但细胞间粘附分子-1(ICAM-1)表达无明显变化, Tri对小管上皮细胞呈递抗原以及向 T细胞提供刺激信号均有干扰作用,从而阻抑抗原特异性 CD₄⁺的 T细胞的激活,认为这可能是 Tri治疗自身免疫性肾脏病以及减少移植肾排斥反应的机制之一。

3 展望

器官移植中的排异反应仍是有待解决的重要问题, CsA等免疫抑制剂有暂时的疗效,可使病人存活期延长。但长期服用,不良反应大,并会出现相应的并发症。不能清除病因,只能改善症状,不能有效地从根本上控制疾病的发生、发展。作为一种新型的免疫抑制剂, Tri的抗移植排斥反应作用方式与 CsA等不同,并与 CsA有很好的协同作用。近年来大量的药理研究与临床试验表明, Tri在抗器官排异反应中具有好的应用前景,疗效好且不良反应少,适应范围广,以 Tri为主要有效成分的新制剂研究开发,将为临床提供高效低毒

的免疫辅助和替代治疗药物。

References

- [1] Liu Q G, Qi E R, Xing D S, *et al.* Treatment of patients after renal transplantation with Chinese medicine Tri [J]. *Chin J Exp Clin Immunol* (中国实验临床免疫学杂志), 1999, 16 (6): 123-125.
- [2] Lin J F, Zhu H, Liu X Q, *et al.* The effects of triptolide on mice behind ear cardiac graft survival period [J]. *Strait Pharm J* (海峡药学), 1998, 10(4): 29-30.
- [3] Zhou X M, Lin W, Fang X D, *et al.* Effect of triptolide on cardiac allotraft survival in mice [J]. *Acad J First Med Coll PLA* (第一军医大学学报), 1999, 19(1): 44-45.
- [4] He J K, Gu Z L, Yu S D, *et al.* Triptolide on inhibition of reperfusion injury and prolongation of allograft survival in rat cardiac transplants [J]. *Chin J New Drugs Clin Rem* (中国新药与临床杂志), 2001, 20(6): 423-426.
- [5] Wang S G, Zhu Y Y, Wang H Z. Study of mechanism on triptolide reducing reject reaction in skin allograft [J]. *Jiu-jiang Med J* (九江医学), 2001, 16(1): 1-3.
- [6] Liu X L, Lei S H, Dong X H, *et al.* The effects of triptolide on mouse skin graft survival period, MLR and IL-2 level [J]. *J Xi'an Med Univ* (西安医科大学学报), 1999, 20 (2): 185-187.
- [7] Wang J, Xu R, Jin R, *et al.* Immunosuppressive activity of the Chinese medicinal plant *Tripterygium wilfordii*. I. Prolongation of rat cardiac and renal allograft survival by the PG27 extract and immunosuppressive synergy in combination therapy with cyclosporine [J]. *Transplantation*, 2000, 70 (3): 447-455.
- [8] Yang J W, Fan Z M, Dai C S, *et al.* Anti-renal allograft rejection effects of triptolide in rats [J]. *Chin J Nephrol Dialysis Transplant* (肾脏病与透析肾移植杂志), 1997, 6(3): 214-220.
- [9] Chen J, Yang L F, Li N Q. Triptolide induces autologous graft-versus-host disease of Balb/c [J]. *J Leuk* (白血病), 1999, 8(1): 39-40.
- [10] Chen J, Zeng D, Paul G S, *et al.* PG27 and extract of *Tripterygium wilfordii* Hook. f. induces antigen-specific tolerance in bone marrow transplantation [J]. *Blood*, 2000, 95(2): 705-710.
- [11] Chen B J, Chen Y F, Cui X Y, *et al.* Mechanisms of tolerance induced by PG490-88 in a bone marrow transplantation model [J]. *Transplantation*, 2002, 73(1): 115-121.
- [12] Dia C S, Yang J W, Chen C H, *et al.* Relationship between activities of lymphocytes and apoptosis by triptolide [J]. *Chin J Microbiol Immunol* (中华微生物学和免疫学杂志), 1999, 19(5): 391-394.
- [13] Liu D, Yang J W, Chen C H, *et al.* Relationship between cell cycle and apoptosis of activated T lymphocytes induced by triptolide [J]. *Chin J Immunol* (中国免疫学杂志), 1999, 15(10): 455-459.
- [14] Zhou X M, Lin W, Fang X D, *et al.* Effects of triptolide on the production and expression of IFN-2 in mice [J]. *Acad J First Med Coll PLA* (第一军医大学学报), 1999, 19(6): 507-508.
- [15] Li M S, Wang X Y, Yuan A L, *et al.* Triptolide inhibits immune function of dendritic cell [J]. *Chin Pharm Bull* (中国药理学通报), 2000, 16(6): 711-712.
- [16] Liu H, Liu Z H, Chen Z H, *et al.* Triptolide a potent inhibitor of NF κ B in T-lymphocytes [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 2000, 21(9): 782-786.
- [17] Li H, Liu Z H, Dai C S, *et al.* Triptolide down-regulates induced antigen-presenting cell function of human proximal tubular epithelial cells [J]. *Chin J Nephrol Dialysis Transplant* (肾脏病与透析肾移植杂志), 2001, 10(4): 303-308.