

## 炎症性疾病中糖皮质激素抵抗机制的研究进展

张书印<sup>1,2</sup>, 丁选胜<sup>2</sup>, 方 芸<sup>1\*</sup>

1. 南京大学附属鼓楼医院, 江苏 南京 210008

2. 中国药科大学, 江苏 南京 211198

**摘 要:** 糖皮质激素因其强效的抗炎作用在临床上广泛使用, 但是使用中发现在严重哮喘、慢性阻塞性肺病、急性淋巴细胞白血病、间质性肺病等炎症性疾病中有部分患者存在激素抵抗, 限制了糖皮质激素的使用及预后。激素治疗患者存在糖皮质激素抵抗主要是由于糖皮质激素受体蛋白表达差异、基因多态性和基因突变、细胞转录因子的异常等引起的。不同疾病存在的糖皮质激素抵抗的机制也存在差异, 对于哮喘和间质性肺病患者糖皮质激素抵抗主要是由于糖皮质激素受体基因多态性, 急性淋巴细胞白血病患者主要是受体蛋白的表达差异, 而糖皮质激素对于慢性阻塞性肺病患者可能无效。

**关键词:** 糖皮质激素; 糖皮质激素抵抗; 炎症性疾病; 哮喘; 慢性阻塞性肺病; 间质性肺病; 急性淋巴细胞白血病

中图分类号: R965 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376 (2017) 12-1811-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2017.12.028

## Research advance on resistance mechanism of glucocorticoid in inflammatory diseases

ZHANG Shu-yin<sup>1,2</sup>, DING Xuan-sheng<sup>2</sup>, FANG Yun<sup>1</sup>

1. Nanjing Drum Tower Hospital, Nanjing 210008, China

2. China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, China

**Abstract:** Glucocorticoid is used widely for its potent anti-inflammatory effects in clinic, however, it is found that some patients emerged resistant of hormone in some diseases such as severe asthma, chronic obstructive pulmonary, acute lymphoblastic leukemia, and interstitial lung disease, et al. This phenomenon restrict the use and prognosis of glucocorticoid. The existence of hormone resistance in patients with these diseases primarily because of glucocorticoid receptors diverse expression, gene polymorphisms, gene mutations, and abnormality of transcription factors. The mechanisms of glucocorticoid resistance are different in those diseases. In patients with asthma and interstitial lung disease, glucocorticoid resistance is mainly due to the polymorphism of the glucocorticoid receptor gene. Glucocorticoid resistance in the patients with acute lymphoblastic leukemia is primarily due to the expression difference of receptor protein, while glucocorticoid may have no effect in patients with chronic obstructive pulmonary disease.

**Key word:** glucocorticoid; resistance of glucocorticoid; inflammatory disease; asthma; chronic obstructive pulmonary; idiopathic pulmonary fibrosis; acute lymphoblastic leukemia

糖皮质激素 (glucocorticoid, GC) 是由肾上腺皮质中束状带分泌的一类甾体激素, 主要为皮质醇, 具有抑制免疫应答、抗炎、抗毒、抗休克作用<sup>[1]</sup>。但是在一部分长期使用 GC 患者中效果很差甚至无效, 称这种现象为“糖皮质激素抵抗”, 该现象极大地限制了 GC 在临床上的使用<sup>[2]</sup>。本文根据糖皮质激素抵抗的作用机制, 就其在不同类型的炎症性疾病中的抵抗机制研究进展进行综述, 以便更好地

认识 GC 抵抗, 指导临床更加地合理用药。

### 1 哮喘

低剂量的 GC 便可以控制哮喘<sup>[3]</sup>, 因此 GC 成为大多数哮喘患者的一线用药。但是随着 GC 大量应用, 一些哮喘患者 GC 抵抗出现, 通常把“激素抵抗型哮喘”定义为患者应用大剂量 GC 后其临床症状没有改善的一类哮喘<sup>[4]</sup>。哮喘患者 GC 的不敏感现象在 1968 年首次报道, Peter 发现 6 位患者应

收稿日期: 2017-06-12

作者简介: 张书印, 男, 在读硕士, 研究方向临床药学。Tel: 15605172678 E-mail: shuyinzhang123@126.com

\*通信作者 方 芸, 主任药师, 硕士生导师。E-mail: njglfy@163.com

用激素后症状没有改善,且血液中嗜酸粒细胞增多<sup>[2]</sup>,可能是 GC 在体内抗炎作用的缺陷,严重的哮喘患者大剂量使用 GC 后,对激素的敏感性变差<sup>[5]</sup>,推测激素的抵抗可能是造成哮喘恶化的原因,因此 GC 作用的靶点——糖皮质激素受体基因家族(nuclear receptor subfamily 3 group C member 1, NR3C1)引起了研究者的关注。

NR3C1 的基因多态性多表现为单个核苷酸的多态性(single-nucleotide polymorphism, SNP),目前已经发现的 SNP 有上万个,其中研究最多的 SNP 集中在 BCL-1、TH111、N363S、ERK233 等,糖皮质激素治疗患者的 NR3C1 的多态性直接影响这对激素的敏感性<sup>[6]</sup>。关于激素抵抗的哮喘患者中 NR3C1 多态性的研究发现,患者 NR3C1 的 BCL-1 位点表达与激素的敏感性相关,GG 基因型在激素抵抗患者中更容易出现<sup>[7]</sup>。Panek 等<sup>[8]</sup>对 NR3C1 多态性与哮喘严重程度的研究发现,Th111I、BclI、ER22/23EK 3 个位点在轻度或者中度哮喘患者与健康人群中表达没有显著性差异,但是 Th111I 位点的表达在严重哮喘患者和健康人群中则出现显著性差异,证明严重哮喘出现激素抵抗的和糖皮质激素受体基因多态性有关。在众多出现激素抵抗的疾病中,支气管哮喘的研究最多,且研究结果较为统一,一致认为 NR3C1 的多态性与哮喘患者使用激素敏感性有关。

## 2 慢性阻塞性肺病

与哮喘患者不同,多数慢性阻塞性肺病(chronic obstructive pulmonary, COPD)患者对于大剂量的激素(泼尼松 40 mg/d)效果很差,疾病进展和死亡率没有得到明显的改善,临床多应用于 COPD 急性进展期改善肺功能<sup>[9]</sup>。诸多研究表明,吸入 GC 并未减少气道的炎症反应<sup>[10]</sup>,仅有 10% 的 COPD 患者吸入激素后炎症症状改善,这些患者中大多出现嗜酸粒细胞增多和气管可逆性增加的现象<sup>[11]</sup>,表明很有可能伴随哮喘,应用激素有效是因为哮喘得到缓解<sup>[12]</sup>。

Schwabe 等<sup>[13]</sup>研究发现 N363S、BCL1、ER2223EK 的表达在 COPD 患者和健康人群中的表达没有显著性差异。与哮喘患者相比, COPD 患者激素的不敏感与糖皮质激素受体基因的多态性无关,或者说激素对 COPD 本没有效果,临床应用只是缓解了哮喘的症状。因此,笔者认为 COPD 患者和严重哮喘患者中存在的糖皮质激素抵抗机制可

能不同,激素对于 COPD 患者和哮喘患者的效果不佳是完全不同的。

## 3 急性淋巴细胞白血病

在急性淋巴细胞白血病(acute lymphoblastic leukemia, ALL)的治疗中,糖皮质激素可以很好地缓解 ALL 的进展,但是仍然有约 10% 的人群出现激素抵抗<sup>[14-16]</sup>,激素的抵抗已经成为 ALL 治疗失败的主要因素之一。在一项临床试验中,定义了 ALL 患者中激素敏感人群和激素抵抗人群,在应用强的松 7 d 后,外周血中幼稚淋巴细胞  $< 1 \times 10^9/L$  为激素敏感人群,反之则为抵抗人群;相比敏感人群,抵抗人群的预后和 5 年生存率都会大大降低<sup>[17]</sup>。

糖皮质激素受体(glucocorticoid receptor, GR)表达的差异是造成糖皮质激素抵抗的主要原因<sup>[18]</sup>。GR 主要有 5 个亚型,分别是 GR $\alpha$ 、GR $\beta$ 、GR $\gamma$ 、GRA、GRP,其中 GR $\alpha$  可以和激素正常结合发挥抗炎作用,而 GR $\beta$  和激素结合则竞争性的抑制 GR $\alpha$ ,当机体内的 GR $\alpha$  和 GR $\beta$  表达出现失衡时就会发生激素抵抗<sup>[6]</sup>。在 Kino 等<sup>[19]</sup>的研究中发现,GR $\beta$  不仅有负性调节作用,还可以影响与激素作用相关 mRNA 的表达来影响激素的敏感性。另有研究表明,在急性淋巴细胞白血病人群中不同 GR 受体亚型的表达会影响对激素的敏感性,敏感人群有更高的 GR $\alpha$ /GR $\gamma$ ,更低的 GR $\alpha$ /GRP、GR $\gamma$ /GRP<sup>[20]</sup>。

Labuda 等<sup>[21]</sup>研究了 310 例 ALL 患儿 NR3C1 多态性与激素使用预后的关系,发现 BCL-1 位点的表达可能与激素敏感性相关,另外有研究表明,相对于初发的 ALL 患者,复发的 ALL 出现 GC 抵抗的几率更大,结论是 ALL 患者出现 GC 的抵抗很有可能与 NR3C1 的多态性和不同患者个体 GR 亚型的表达差异有关。

## 4 间质性肺病

间质性肺病(interstitial lung disease, ILD)是以一组肺泡为单位的炎症和间质纤维化为基本病变的异质性非肿瘤和非感染性肺部疾病的总称,是一类复杂病种,目前共有 200 多种疾病囊括在该病下,临床上较难诊断,可以用影像学、病因、病理等多种表现形式来诊断分类。ILD 的治疗中激素有着不可替代的作用,但 GC 对不同种类的 ILD 疗效有很大差异,其中特发性肺纤维化(idiopathic pulmonary fibrosis, IPF)<sup>[22]</sup>、肺泡蛋白沉积症(pulmonary alveolar proteinosis, PAP)、肺泡微石症

(pulmonary alveolar microlithiasis, PAM) 等使用激素后效果不明显。Pujols 等做过一项研究, 对比了 IPF 和非 IPF 人群中 GR $\alpha$  mRNA 和 GR $\beta$  mRNA 的表达量发现, 在非特异性间质性肺病 (non-specific interstitial pneumonia, NSIP) 和隐源性肺炎 (cryptogenic pneumonia, COP) 中 GR $\alpha$  mRNA 的表达远远大于 IPF 人群, 这说明 GR $\alpha$  的表达很有可能决定了对糖皮质激素的应答反应是否敏感<sup>[23-24]</sup>。

在新的一项研究中, 发现 IPF 和 Non-IPF、慢性过敏性肺炎、结缔组织病相关间质性肺病相比, 在血清和 BAL 水平 CC16 蛋白表达明显升高<sup>[25]</sup>。在另一项单独研究 IPF 人群中基质金属蛋白酶-9 (matrix metalloproteinase 9, MMP-9) 1526 C>T 与激素疗效的研究中发现, TT 基因型相比健康人群在 IPF 中更容易出现, 并且在使用激素治疗效果较显著的部分患者里, CC 基因型出现的概率显著高于其他两种。前人的研究说明 CC16 蛋白的表达可能跟 IPF 对于激素不敏感有关, 而 MMP-9 1526 C>T 也许可以成为预测 IPF 患者中对于激素敏感性的指标<sup>[26]</sup>。不同类型的 ILD 对激素应答的差异是跟疾病类型的发病机制有关, 还是单纯地与个体人群基因多态性的差异有关, 需要更多的深入研究给予解答。

## 5 其他疾病

GC 抵抗在其他炎性疾病中也有报道。热休克蛋白 90 (hot shock protein 90, HSP90) 作为 GR 的重要分子伴侣蛋白, 与 GC 的效应有密切关系, 巨噬细胞游走抑制因子 (macrophage migration inhibitory factor, MIF) 是一种促炎因子, 参与了许多炎症性疾病的发病。在一项关于系统性红斑狼疮人群中的研究发现, 激素抵抗人群较敏感人群 HSP90 和 MIF 明显升高<sup>[18]</sup>。在一项关于大疱性疾病的研究中, 结果显示 Bcl I (rs41423247), N363S (rs6195) 和 ER22/23EK (rs6189 与 rs6190) 3 个位点的基因表达与激素抵抗没有关联<sup>[27]</sup>。

多药耐药基因 (multidrug resistance gene, MDR) 表达产物 P-170 糖蛋白是 GC 在体内的转运蛋白, P-170 糖蛋白的异常可以使细胞内激素的浓度降低, 降低药效甚至出现抵抗。在炎症性肠病中, GC 抵抗患者约占 20%, GC 的抵抗除了与 NR3C1 的多态性有关, 还与编码 P-170 糖蛋白的 MDR 的基因多态性有关<sup>[28]</sup>。

Suvanto 等<sup>[29]</sup>对肾病综合征中 GC 抵抗患者做

了一项研究, 共检测了血管生成素蛋白 4、磷脂酰基醇蛋白聚糖 5、白介素-13、MIF、神经一氧化氮合成酶、MDR1、NR3C1 等 8 个基因的多态性, 结果显示只有 MDR1 的 rs1236、rs2677、rs3435 共 3 个位点的表达与激素敏感性有关, 其他基因的关联性很小。

基因突变也是产生 GC 抵抗的一个重要原因, Ruiz 等<sup>[30]</sup>发现了 GR 基因中 R477H 突变使 GR 失去转录激活功能, G679S 突变使 GR 与 GC 的结和力降低, 后续研究发现 R477H 和 G679S 的多态性与激素的敏感性有关, 而且在家族遗传性 GC 的案例报道中, 也发现了 GC 受体 (glucocorticoid receptor, GR) 的突变<sup>[31-32]</sup>。另外在一项人体内源性 GC 缺乏的研究中发现, 促皮质素原基因的突变可以引起促肾上腺皮质激素的异常, 从而导致体内激素分泌不足<sup>[33]</sup>。细胞生长转化因子  $\beta$ 1 (transforming growth factor- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 1) 可以激活促分裂原活化蛋白激酶通路, 使 AP-1 过度表达, 减少组蛋白脱乙酰化酶 2 (histone deacetylase, HDAC-2) 的表达, 增加 P-糖蛋白转运激素药物的流失<sup>[34]</sup>。

## 6 结语

GC 发挥作用必须要与细胞核内的 GR 结合, 被激活后的 GR 可以与共激活因子配对, 逆转炎症基因的组蛋白乙酰化, 从而抑制炎症基因的转录, 达到炎症抑制的作用<sup>[35]</sup>。GC 还可以与转录因子如激活蛋白 1 (activator protein-1, AP-1)、核转录因子- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) 相互作用, 抑制其活性, 最终抑制抗炎基因的表达。基于 GC 的作用机制和人体分子生物学的特点, 研究者对于 GC 抵抗的研究也主要集中在蛋白表达、基因多态性和基因突变、细胞转录因子的异常 3 个层次。

GC 抵抗一直是临床用药上的难题, 限制了其正常使用, 并且有些医生不分析其疗效不佳的原因, 盲目地增加剂量, 随着其剂量的加大也会增加不良反应的发生, 同时也加重了患者的经济负担。因此, 现在急需一种常规有效的方法去判断患者对 GC 敏感与否, 决定是否应用激素及使用激素的剂量, 在疗效和不良反应之间取得最大治疗收益。本综述中所提示的严重哮喘、慢性阻塞性肺病、急性淋巴细胞白血病、间质性肺病等炎症性疾病中, NR3C1 基因多态性的检测结果与激素的疗效表现出了显著的特异性, 通过测定患者 NR3C1 特定位点多态性可以给出激素用药方案的合理建议, 真正

做到个体化给药,做到精准医疗。为了尽快达到上述目的,需要药物研究者与临床用药者多方面共同努力,继续进行更深入的研究,找出更多的确凿证据。

#### 参考文献

- [1] 张 岩, 刘 朋. 2014 年天津市红桥医院糖皮质激素类药物的使用情况分析 [J]. 现代药物与临床, 2015, 30(9): 1154-1157.
- [2] Peter J, Barnes I, Adcock M. Glucocorticoid resistance in inflammatory diseases [J]. *Lancet*, 2009, 373(9678): 1905-1917.
- [3] Bateman E D, Hurd S S, Barnes P J, et al. Global strategy for asthma management and prevention: GINA executive summary [J]. *Eur Respir J*, 2008, 31(1): 143-178.
- [4] Barnes P J, Greening A P, Crompton G K. Glucocorticoid resistance in asthma [J]. *Am J Resp Crit Care Med*, 1995, 152(2): 125-140.
- [5] Moore W C, Bleecker E R, Curraneverett D, et al. Characterization of the severe asthma phenotype by the national heart, lung, and blood institute's severe asthma research program [J]. *J Allerg Clin Immunol*, 2007, 119(2): 405-413.
- [6] Mohamed N A, Abdel-Rehim A S, Farres M N, et al. Influence of glucocorticoid receptor gene NR3C 1646 C>G polymorphism on glucocorticoid resistance in asthmatics: a preliminary study [J]. *Clin Immunol*, 2015, 40(3): 325-330.
- [7] Pietras T, Panek M, Tworek D, et al. The Bcl I single nucleotide polymorphism of the human glucocorticoid receptor gene h-GR/NR3C1 promoter in patients with bronchial asthma: pilot study [J]. *Mol Biol Rep*, 2011, 38(2011): 3953-3958.
- [8] Panek M, Pietras T, Fabijan A, et al. Effect of glucocorticoid receptor gene polymorphisms on asthma phenotypes [J]. *Exp Therap Med*, 2013, 5(2): 572-580.
- [9] Vogelmeier C F, Criner G J, Martinez F J, et al. Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive lung disease 2017 report: GOLD executive summary [J]. *Am J Resp Crit Care Med*, 2017, 195(5): 557-582.
- [10] Bourbeau J, Christodouloupoulos P, Maltais F, et al. Effect of salmeterol fluticasone propionate on airway inflammation in COPD: a randomised controlled trial [J]. *Thorax*, 2007, 62(11): 938-943.
- [11] Culpitt S V, Rogers D F, Shah P, et al. Impaired inhibition by dexamethasone of cytokine release by alveolar macrophages from patients with chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2003, 167(1): 24-31.
- [12] Brightling C E, McKenna S, Hargadon B, et al. Sputum eosinophilia and the short term response to inhaled mometasone in chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Thorax*, 2005, 60(3): 193-198.
- [13] Schwabe K, Vacca G, Duck R, et al. Glucocorticoid receptor gene polymorphisms and Potential a ssociation to chronic obstructive plumonary disease susceptibility and severity [J]. *Eur J Med Res*, 2009, 14(4): 210-215.
- [14] Mattano L A, Devidas M, Nachman J B, et al. Effect of alternate-weekversus continuous dexamethasone scheduling on the risk of osteonecrosis in paediatric patients with acute lymphoblastic leukaemia: results from the CCG-1961 randomised cohort trial [J]. *Lancet Oncol*, 2012, 13(9): 906-915.
- [15] Schlossmacher G A, Stevens A, White A, et al. Glucocorticoid receptor mediated apoptosis: mechanisms of resistance in cancer cells [J]. *J Endocrinol*, 2011, 211(1): 17-25.
- [16] Inaba H, Pui C H. Glucocorticoiduse in acute lymphoblastic leukaemia [J]. *Lancet Oncol*, 2010, 11(11): 1096-1106.
- [17] Moricke A, Reiter A, Zimmermann M, et al. Risk-adjusted therapy of acute lymphoblastic leukemia can decrease treatment burden and improve survival: treatment results of 2169 unselected pediatric and adolescent patients enrolled in the trial ALL-BFM 95 [J]. *Blood*, 2008, 111(9): 4477-4489.
- [18] 关艳春, 张艳敏, 方美云, 等. 系统性红斑狼疮患者糖皮质激素受体  $\alpha$ mRNA、热休克蛋白 90mRNA 和巨噬细胞抑制因子蛋白表达及其与糖皮质激素抵抗的关系 [J]. *中华内科学*, 2015, 54(11): 922-925.
- [19] Kino T, Manoli I, Kelkar S, et al. Glucocorticoid receptor (GR) beta has intrinsic, GR alpha -independent transcriptional activity [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 381(4): 671-675.
- [20] Sun X, Fang M, Guan Y. Changes of glucocorticoid receptor isoforms expression in acute lymphoblastic leukemia correlate with glucocorticoid resistance [J]. *Pharmazie*, 2015, 5(70): 316-321.
- [21] Labuda M, Gahier A, Gagné V, et al. Polymorphisms in glucocorticoid receptor gene and the outcome of childhood acute lymphoblastic leukemia (ALL) [J]. *Leuk Res*, 2010, 34(4): 492-497.
- [22] Flaherty K R, Toews G B, Lynch J P, et al. Steroids in idiopathic pulmonary fibrosis: a prospective assessment

- of adverse reactions, response to therapy and survival [J]. *Am J Med*, 2001, 110(4): 278-282.
- [23] Pujols L, Xaubet A, Ramirez J, et al. Expression of glucocorticoid receptors  $\alpha$  and  $\beta$  in steroid sensitive and steroid insensitive interstitial lung diseases [J]. *Thorax*, 2004, 59(8): 687-693.
- [24] Petitpierre N, Beigelman C, Letovanec I, et al. Cryptogenic organizing pneumonia [J]. *Rev Mal Respir*, 2016, 8(33): 703-717.
- [25] Buendíaroldán I, Ruiz V, Sierra P, et al. Increased expression of CC16 in patients with idiopathic pulmonary fibrosis [J]. *Plos One*, 2016, 11(12): 1-11.
- [26] Zhang H T, Fang S C, Wang C Y, et al. MMP-9 1562C>T Gene Polymorphism and Efficacy of Glucocorticoid Therapy in Idiopathic Pulmonary Fibrosis Patients [J]. *Genet Test Mol Biomarkers*, 2015, 11(19): 591-597.
- [27] Zhang M, Sun Y, Xu Y, et al. Glucocorticoid receptor polymorphisms: lack of association with glucocorticoid resistance in Chinese bullous disease patients [J]. *Dermatol*, 2015, 42(7): 1-2.
- [28] Gabryel M, Skrzypczakzielinska M, Kucharski M A, et al. The impact of genetic factors on response to glucocorticoids therapy in IBD [J]. *Scand J Gastroenterol*, 2016, 51(6): 654-665.
- [29] Suvanto M, Jahnukainen T, Kestil M, et al. Single nucleotide polymorphisms in pediatric idiopathic nephrotic syndrome [J]. *Int J Nephrol*, 2016, (2016): 1417444-1417456.
- [30] Ruiz M, Lind U, Gafvels M, et al. Characterization of two novel mutations in the glucocorticoid receptor gene in patients with primary cortisol resistance [J]. *Clin Endocrinol*, 2001, 55(3): 363-371.
- [31] Donner K M, Hiltunen T P, Jänne O A, et al. Generalized glucocorticoid resistance caused by a novel two-nucleotide deletion in the hormone-binding domain of the glucocorticoid receptor gene NR3C1 [J]. *Eur J Endocrinol*, 2013, 168(1): 9-18.
- [32] Mair L. Familial glucocorticoid resistance caused by a novel frameshift glucocorticoid receptor mutation [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2010, 95(2): 490-499.
- [33] Mark E, Samuels N, Gallo-Payet S, et al. Bioinactive ACTH causing glucocorticoid deficiency [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2013, 2(98): 736-742.
- [34] Baello S, Iqbal M, Kearney S, et al. Glucocorticoids modify effects of TGF- $\beta$ 1 on multidrug resistance in the fetal blood-brain barrier [J]. *Growth Fact*, 2016, 34(1/2): 34-41.
- [35] Barnes P J. Mechanisms and resistance in glucocorticoid control of inflammation [J]. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2010, 120(2/3): 76-85.