

靶向肠道固有免疫系统和适应性免疫系统的 药物开发与应用

陈盈盈¹, 李睿岩^{1,2}, 陈欢^{1,2}, 张玉彬^{1,2*}

(中国药科大学¹天然药物活性组分与药效国家重点实验室;²生化教研室, 南京 210009)

摘要 肠道固有免疫系统和T细胞介导的适应性免疫系统在炎症性肠病的发生、发展及转化中发挥着重要作用。炎症性肠病难以彻底治愈,但近年来针对肠道免疫系统的药物的开发和应用引起了极大的关注。其中靶向肠道固有免疫系统常见药物有:靶向肠道固有免疫信号传导、信号分子以及固有淋巴细胞的药物;靶向肠道适应性免疫系统的药物则有抑制肠道T细胞激活和分化,调节T细胞因子和T细胞平衡的药物。本文主要介绍了肠道固有免疫系统、适应性免疫系统以及靶向于肠道固有免疫系统和适应性免疫系统的药物研究等4个方面,并对未来的靶向肠道免疫系统药物的开发和应用进行了展望。

关键词 炎症性肠病;肠道固有免疫系统;肠道适应性免疫系统;药物开发

中图分类号 R392 **文献标志码** A **文章编号** 1000-5048(2016)04-0388-09

doi:10.11665/j.issn.1000-5048.20160402

引用本文 陈盈盈,李睿岩,陈欢,等. 靶向肠道固有免疫系统和适应性免疫系统的药物开发与应用[J]. 中国药科大学学报,2016,47(4):388–396.

Cite this article as: CHEN Yingying, LI Ruiyan, CHEN Huan, *et al.* Development and application of drugs targeting the innate and adaptive immune system in the colon[J]. *J China Pharm Univ*, 2016, 47(4): 388–396.

Development and application of drugs targeting the innate and adaptive immune system in the colon

CHEN Yingying¹, LI Ruiyan^{1,2}, CHEN Huan^{1,2}, ZHANG Yubin^{1,2*}

¹State Key Laboratory of Natural Medicines; ²Department of Biochemistry, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China

Abstract Recent advances in immunology and genetics have verified that the innate immune and adaptive immune responses that mediated by T cells, have been considered to play an important role in inducing inflammatory bowel disease. It's difficult to cure the disease due to the complexity of the disease. However, the development and application of medicine, which target the immune response in the colon, attract great attention in recent years. In present, there are two types of targeting drugs in the intestinal immune systems: one of them targets the intestinal innate immune system, which includes targeting signal transduction, signal molecule and lymphocytes while the other targets adaptive immune system that includes inhibition of intestinal T cell activation, differentiation and regulation of T cell cytokines and balance of T cell. This article mainly gives a comprehensive overview in four aspects, which include the intestinal innate immune response, adaptive immune response, drugs targeting in the intestinal innate and adaptive immune response. Furthermore, research directions are also pointed out in the review.

Key words inflammatory bowel disease; intestinal innate immune system; intestinal adaptive immunity system; drug development

This study was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81573484)

炎症性肠病,包括溃疡性结肠炎(ulcerative colitis,UC)和克罗恩病(Crohn's disease,CD),是一种发生于结肠黏膜的慢性炎症性及溃疡性反复发作的疾病,其发病率逐年上升。研究表明,肠道固有免疫系统和适应性免疫系统和炎症性肠病患者肠道异常的炎症反应紧密相关。治疗炎症性肠病的常规药物主要有氨基水杨酸类、糖皮质激素和免疫抑制剂^[1],但其在有效性和安全性方面仍具有局限性^[2]。因此,治疗炎症性肠病药物的研发仍是亟待解决的问题。现已有大量的针对肠道免疫系统的生物分子进入临床研究或上市,其中于2007年国内上市的抗肿瘤坏死因子TNF- α 单抗英夫利昔(infliximab)在治疗CD疾病上已取得了良好的临床效果。本文以免疫系统与炎症性肠病的关系为切入点,综述了肠道固有免疫系统和适应性免疫系统与炎症性肠病的关系以及目前靶向于肠

道免疫系统的药物的研究。

1 肠道固有免疫系统与炎症性肠病

肠道是人体最大的淋巴器官,由于肠腔表面不断地与病原微生物接触,因而肠道固有免疫系统在局部防御中起关键作用。肠道固有免疫系统主要包括肠黏膜上皮屏障、固有免疫细胞和固有免疫分子等组成。其中,肠道黏膜屏障是机体抵御细菌侵入的首道防线,杯状细胞、潘氏细胞和其他上皮细胞分泌抗菌多肽和防御素抵御细菌的侵袭和生长。上皮细胞,基质细胞和固有免疫细胞(如巨噬细胞,树突状细胞)则能通过细胞内外的模式识别受体(Toll样受体和NOD样受体)感应入侵的细菌,通过募集炎症细胞,分泌炎症因子,快速启动炎症反应。位于黏膜固有层的固有淋巴细胞也有助于细胞因子的产生和炎症细胞的募集(图1)。

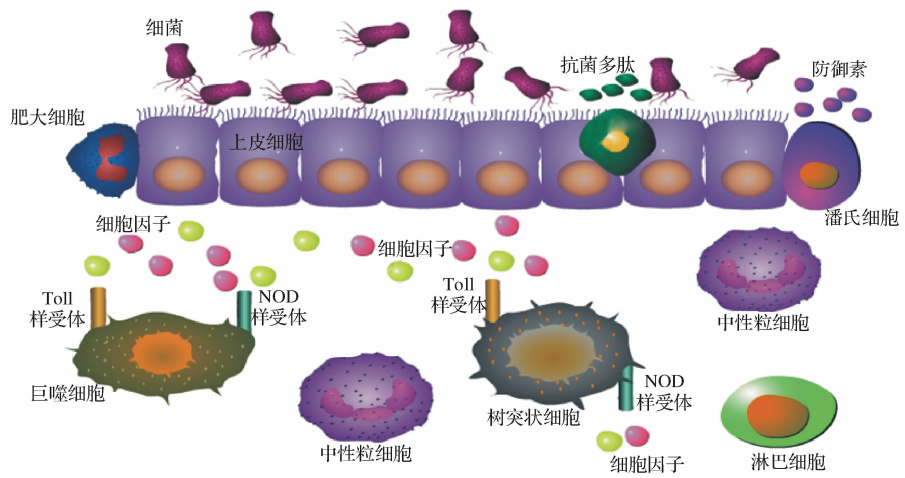


图1 肠道固有免疫系统。图示代表了肠道固有免疫系统的组成成分:肠黏膜上皮屏障、固有免疫细胞和固有免疫分子的组成和功能等,各组分相互作用,共同抵御细菌的侵袭,维持肠道系统的平衡

1.1 肠道黏膜屏障与抗菌多肽

肠黏膜屏障是由肠道黏膜层、肠黏液、肠道相关淋巴组织、肠道菌群以及肠上皮细胞等形成的肠道防御体系,在抵抗病原体侵袭中发挥着重要作用。其中黏膜层由位于内层的紧密层和位于外层的疏松层构成,外层的疏松层是机体抵抗病原体和肠道炎症的第一道防线。位于内层的黏膜层即肠上皮,是机体防御的第二道屏障,其主要由肠细胞和特殊的肠上皮细胞构成,如杯状细胞和潘氏细胞等。Mucin4 敲除小鼠实验证实肠黏膜屏障与肠炎甚至是肠癌的发生紧密相关^[3]。临床研究也表

明,UC 和 CD 患者的肠上皮完整性遭到破坏,肠黏膜屏障损坏^[4]。

肠道上皮细胞除了形成物理屏障对抗细菌侵入,还可以分泌一定数目的抗菌多肽,如由潘氏细胞产生的 α -防御素和由大多数上皮细胞产生的 β -防御素。这些抗菌多肽既可直接产生,又可通过上皮细胞模式识别受体(pattern recognition receptors, PRRs)识别病原体诱导产生^[5]。现已有报道,在CD患者体内观察到 α -防御素(HD5和HD6)明显减少^[6]。有趣的是,HD5和HD6表达的降低和患者携带核苷酸结合寡聚化结构域蛋白(nucleotide-

binding oligomerization domain, NOD)2 移码易感突变体有明显相关性,此结果表明抗菌多肽的缺失可能和 NOD2 紧密相关^[7]。

1.2 肠道免疫细胞信号传导

识别病原微生物的免疫细胞有巨噬细胞和树突状细胞,也有非免疫细胞,如肠上皮细胞和肌成纤维细胞。肠病发生时,肠上皮细胞和活化的吞噬细胞通过 PRRs 识别病原相关分子模式,启动信号传导。PRRs 主要包括 Toll 样受体 (Toll-like receptors, TLR) 和 NOD 样受体 (NOD-like receptors, NLR) 两种,它们的激活可上调共刺激因子的水平,从而促进抗原递呈细胞的成熟和 T 细胞的激活分化,在肠道固有免疫系统和适应性免疫系统中起关键作用。PRR 级联反应激活下游 NF- κ B 信号通路,诱导产生一系列细胞因子,如 TNF- α 、IL-6、IL-12、IFN- β 和 IL-8,抵抗入侵的病原体。

TLR 是最主要的一类 PRR,属膜型 PRR,其广泛分布于免疫细胞尤其是非特异免疫细胞以及某些体细胞的表面,可直接识别结合病原相关分子模式。TLR 也能识别细菌上特异性受体被激活,通过髓样分化因子 88 (myeloid differentiation primary response protein 88, MyD88) 和 β 扰素 TIR 结构域衔接蛋白 (TIR-domain-containing adaptor inducing interferon- β , TRIF) 信号通路,激发细胞内的级联反应^[8]。

NLR 属胞浆型 PRR,负责识别“内部”信号,在肠道固有免疫应答中发挥独特功能,其配体识别及信号转导与 TLR 有重叠。目前,在人类中共发现了 22 个 NLR 家族成员,其中包括 14 个核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白分子 (NLR protein, NLRP) 和 5 个 NLRC/NOD 分子。其中, NOD1 和 NOD2 被细菌肽聚糖不同成分激活,激活后的 NOD1 信号通过 TNF 受体相关因子 (TNF receptor associated factor, TRAF)2 和 TRAF5 激活 NF- κ B,而 NOD2 信号则通过受体相互作用蛋白激酶 (receptor interacting protein kinase, RIPK)2 激活 NF- κ B。肠道单核吞噬细胞、肠上皮细胞、中性粒细胞等均表达 NOD2,其发生突变可显著增加 CD 易感性,可能是由于其突变后无法识别和结合其配体胞壁酰二肽,从而使树突状细胞分泌 IL-23 和 IL-1 降低,进而抑制 Th17 细胞分泌 IL-17^[9]。其他形式的 NLR 通过形成炎症体,导致细胞凋亡蛋白酶半胱天冬酶

(caspase) 的激活和 IL-1 的分泌^[10]。NLRP3 炎症体结构和 NOD2 相似,近年来在肠道炎症反应中的作用受到了较多的关注。有报道称, NLRP3 炎症体可维持肠道内稳态,对结肠炎小鼠具有保护作用,但也有文献称抑制 NLRP3 炎症体的激活和下游炎症因子的释放有助于降低肠道的炎症反应^[11-12]。除此之外,也有文献报道 NLRs 成员之一 NLRC5 可结合激活的 NF- κ B 通路中的核因子 κ B 激酶抑制剂 (inhibitor of nuclear factor κ B kinase, IKK) α 和 IKK β 蛋白,从而阻止 NF- κ B 通路下游信号的激活^[13]。

1.3 肠道固有淋巴细胞和 IL-23

肠道固有淋巴细胞 (innate lymphoid cells, ILCs) 位于肠道黏膜固有层,表型和天然杀伤细胞相似。最近的实验表明,人的固有淋巴细胞在发育和功能上都和淋巴组织诱导细胞相似^[14]。ILCs 在维持免疫系统的平衡中起着重要的作用,主要包括 1 型 ILCs (ILC1s), 2 型 ILCs (ILC2s) 和 3 型 ILCs (ILC3s) 3 种类型^[15]。ILC1s 与 Th1 细胞相似,以分泌 IFN- γ 和 TNF- α 等细胞因子为主,其主要成员包括经典自然杀伤细胞、组织驻留自然杀伤细胞和黏膜 ILC1s,主要在抵抗病毒、病原微生物和支原体感染等疾病中发挥重要作用。ILC2s 广泛分布淋巴组织、肠道和皮肤等部位,主要分泌 IL-5、IL-9 和 IL-13 等细胞因子,是免疫应答早期阶段 2 型细胞因子的主要来源,在蠕虫感染和损伤修复中发挥关键作用^[16]。ILC3s 分泌细胞因子 IL-22,促进上皮细胞产生抗菌多肽和黏膜素,从而防御病原菌的侵入^[17]。然而,在螺杆菌感染情况, IL-17 和 IFN- γ 刺激产生的 ILC3s 诱导肠炎的产生^[18]。这些结果也表明,在不同的情况下 ILC3s 可抵抗或者诱发肠道炎症反应。

IL-23 在启动早期反应清除病原体过程中发挥重要作用,同时也是调控肠道固有免疫系统和适应性免疫系统相互作用的关键因子。在人体和小鼠中,由树突状细胞产生的 IL-23 激活 ILC3s 反应^[17]。Buonocore 等^[19]发现对 IL-23 敏感的 ILCs,其可通过分泌 IL-17A 或 IFN- γ 募集其他炎性细胞,在炎性肠病中发挥重要作用。

2 肠道适应性免疫系统与炎症性肠病

近 30 年,肠道适应性免疫系统的异常受到越

来越多的关注。适应性免疫反应具有高度的特异性、记忆性、排他性和获得性等,系统中各成分相互作用,清除入侵的病原体。炎症状态下,在 IL-12/IL-18、IL-6/TGF- β 或 IL-4 的作用下,肠道 Th0 细胞分别分化为 Th1、Th2 和/或 Th17 细胞。激活的 Th1 细胞产生大量的 TNF- α 和 IFN- γ 。IFN- γ 激活巨噬细胞,进一步产生 TNF- α ,触发上皮细胞的凋亡。TNF- α 还可促进基质细胞分化为激活的肌成纤维细胞,产生大量的基质金属蛋白酶。Th2 细胞

主要介导黏膜损伤,是 IL-13 的主要来源。IL-13 的分泌可增加肠黏膜的通透性,诱导肠上皮细胞的分化和凋亡。IL-17 细胞分泌 IL-17A,主要负责向炎症部位募集中性粒细胞,IL-21 则诱导基质细胞分泌金属蛋白酶,金属蛋白酶降解细胞外基质和基底膜,从而导致肠上皮细胞的凋亡^[21]。Treg 细胞主要分泌抗炎因子 IL-10 和 TGF- β ,抑制 Th0 细胞的分化^[22](图 2)。

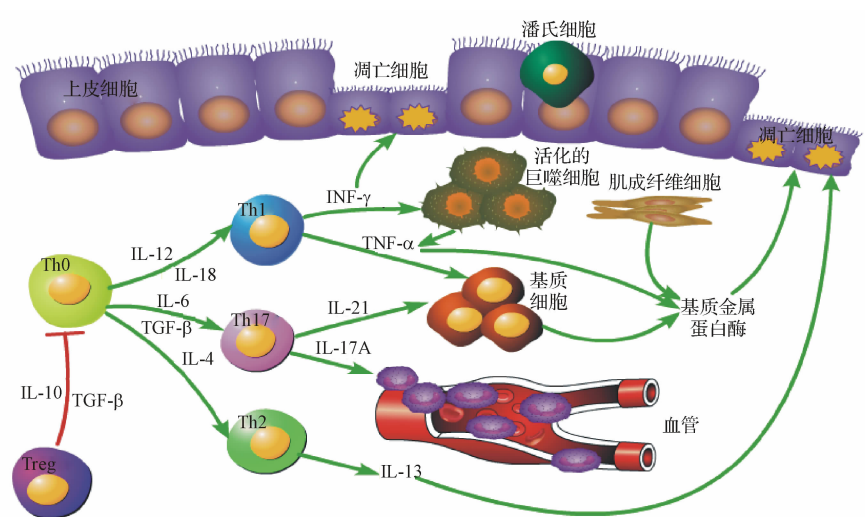


图 2 肠道适应性免疫系统。图示代表了肠炎过程中,肠道损伤有关的 T 细胞亚型以及 T 细胞分泌的炎症因子的主要功能

2.1 Th1 细胞和 Th2 细胞

Th1 细胞主要分泌 IFN- γ 和 IL-2,而 Th2 细胞则主要分泌 IL-4、IL-5 和 IL-13^[17]。Th1 细胞和 Th2 细胞通过分泌细胞因子调节对方的生长分化,从而维持两者之间的平衡,这一平衡的破坏与 IBD 的发生密切相关。研究表明 CD 患者体内 IL-2 和 IFN- γ 含量明显增多,而 UC 患者肠道内 T 细胞分泌的 IL-5 和 IL-13 含量则相对增加。因此,UC 通常被认为是过量表达 IL-5 和 IL-13 等的 Th2 介导的疾病,而 CD 则是以 Th1 免疫反应为主要特征的肠道疾病^[20]。但是,针对 UC 和 CD 的 T 细胞分型,也有不同的观点。活体组织培养检测表明 UC 和 CD 患者 IFN- γ 的表达均较高且基本等量^[23]。另有研究发现,UC 患者体内 IL-13 的含量明显低于 CD 患者^[24]。Bernardo 等^[25]体外培养 UC 患者肠组织发现,炎症因子 IL-6 占主导地位,但并没有检测到 IL-13 的表达。

2.2 Th17 细胞

Th0 细胞在 IL-6 和 TGF- β 的诱导下分化成

Th17 细胞,IL-23 对这一过程有促进作用^[26]。Th17 细胞主要分泌表达 IL-17A、IL-17F、IL-21 和 IL-22,其中 IL-21 又能进一步增加 IL-23 的受体,对 Th0 细胞分化成 Th17 细胞起着正向反馈作用^[27]。也有报道称分段丝状菌也能诱导 Th17 细胞的形成^[28]。Margherita 等^[29]发现 Th17 在 IL-1 β 介导的慢性肠炎中发挥着重要的作用。除此之外,另一种主要分泌 IFN- γ 和 IL-17A 的 T 细胞亚型 Th1/Th17 细胞也已被鉴定出来^[30]。实验证明,肠炎患者结肠黏膜固有层 Th17 和 Th1/Th17 细胞含量明显增多,分泌的 IL-17A 含量明显上升^[31]。动物实验表明,Th17 细胞分泌表达的 IL-21 在炎性肠黏膜中明显上调,IL-21 缺失的小鼠对 Th1/Th17 细胞驱动的肠炎有明显的抵抗作用^[32]。

2.3 Treg 细胞

以叉头蛋白 3 (forkhead box P3, Foxp3) 的表达为主要特征的 Treg 细胞抑制 Th0 的增值分化,在维持肠黏膜屏障的平衡,抑制肠道共生菌或者食物抗原引起的非正常免疫反应中发挥关键性作

用^[33]。动物实验已证实, Treg 细胞在肠炎发生过程中主要发挥抗炎作用。上调 TGF- β 信号通路的抑制剂 Mad 和 Sma 蛋白及其类似物 7 (sma-and mad-related protein 7, Smad7), Treg 细胞的功能明显被抑制^[34]。使用 Smad7 的反义寡核苷酸后, 肠炎患者的效应 T 细胞被激活^[35]。因此, Treg 细胞抗炎活性的减弱和效应 T 细胞的增强在肠炎病理变化过程中发挥着同等重要的作用。实验发现在细胞因子刺激下, Treg 细胞也可分化为其他 T 细胞表型。IL-6 处理过后的 Treg 细胞 Foxp3 表达下降, IL-17 表达上升, 显示出 Th17 细胞的表型特点, 且 Treg 细胞转化为 Th17 细胞具有不可逆性^[36]。截至目前, 尚未有 Th17 细胞向 Treg 细胞转化的报道。这种不可逆性也从另一方面解释了肠黏膜慢性炎症的机制。

2.4 T 细胞分泌的炎症因子

T 细胞分泌的细胞因子如图 2 所示。Th1 细胞分泌的 IFN- γ 诱导肠上皮细胞的凋亡和激活巨噬细胞分泌 TNF- α 。同时, Th1 细胞也能分泌 TNF- α , 诱导基质细胞分化为肌成纤维细胞, 分泌基质金属蛋白酶, 消化基质膜, 诱导肠上皮细胞的凋亡^[37]。因此, TNF- α 连接固有免疫和适应性免疫反应, 在炎症性肠病的病理过程中起关键作用, 现已研发靶向于 TNF- α 的生物制剂。Th2 细胞免疫反应在肠炎的病理变化过程中的作用仍有争议。实验证明 Th2 细胞分泌的 IL-13 可增加肠黏膜的通透性, 诱导肠上皮细胞的分化和凋亡^[38]。Th17 细胞分泌的 IL-17A 诱导中性粒细胞向炎症部位聚集, 上调一系列炎症分子, 如一氧化氮诱导合酶 (iNOS) 和 IL-1 β 。

3 靶向肠道固有免疫治疗肠炎的药物

3.1 靶向肠道固有免疫信号传导和信号分子的药物

3.1.1 抗 TNF- α 抗体 靶向于肠道固有免疫信号分子的药物主要为抗体(表 1), 目前应用最广的是抗 TNF- α 单抗英夫利昔单抗。英夫利昔单抗是研究较多、应用较广, 也是美国 FDA 最先批准用于治疗 CD 患者的抗 TNF- α 抗体, 并于 2007 年 9 月 1 日在国内正式上市。英夫利昔是一种小鼠抗人 TNF- α 嵌合型 IgG1 抗体, 主要通过拮抗 TNF- α 、免疫细胞细胞毒性及诱导 T 细胞凋亡发挥作用。除

英夫利昔单抗外, 尚有阿达木单抗 (adalimumab) 与聚乙二醇化赛妥珠单抗 (certolizumab pegol, 曾用名: CDP-870) 两种 TNF- α 单抗制剂^[39]。阿达木单抗是重组人源性 IgG₁ 型 TNF- α 单抗, 对于对英夫利昔过敏和无效的 CD 患者仍有效^[40]。聚乙二醇化赛妥珠单抗则是由一个与聚乙二醇“尾”相连接的 Fab' 片段组成的人源化制剂, 于 2008 年 4 月通过美国 FDA 批准用于 CD 治疗。这 3 种制剂的给药途径不同: 英夫利昔需静脉给药, 而阿达木单抗与聚乙二醇化赛妥珠单抗均皮下给药。

3.1.2 IL-6 抑制剂 目前 IL-6 抑制剂的研发仍是免疫调节药物研究领域中的热点研究方向之一, 各大制药公司研发管线上均有该类产品。抗 IL-6 受体单抗 tocilizumab 可通过抑制血管黏附分子和诱导肠道固有层炎症细胞凋亡, 有效预防和治疗炎症性肠病。采用人类 IL-6R 单克隆抗体治疗活动性 CD 患者, 结果显示单抗治疗组 (tocilizumab, 8 mg/kg, 1 次/2 周) 临床反应率明显高于安慰剂组 ($P=0.019$)。目前, Femta 公司研发的靶向于 IL-6 的 FM-101 正处于注册阶段 (IND 申请), 辉瑞公司研发的 PF-04236921 和 UCB 公司研发的靶向于 IL-6 受体的 CDP-6038 正处于临床 II 期阶段^[41]。

3.1.3 TLR 受体及 NF- κ B 信号传导抑制剂 临床实验表明, TLR 受体阻断剂 DIMS0150 和 BL-7040 能很好地缓解 UC 患者病症^[42]。除了抗体药物外, 传统的中药单体在治疗炎症性肠病中也引起大家的关注。研究表明, 姜黄素通过抑制 NF- κ B 活化, 阻断结肠黏膜胞内 I κ B 蛋白降解和促炎性细胞因子的转录和翻译, 在结肠炎症中起到保护作用^[43]。许雅清等^[44]通过给予久泻灵颗粒治疗灌服大黄水煎液, 肌肉注射氢化可的松并结合 2, 4, 6-三硝基苯磺酸 (TNBS) 混合乙醇灌肠建立的脾肾阳虚型 UC 大鼠发现, 久泻灵颗粒可下调 TLR4/NF- κ B 信号通路, 减轻结肠黏膜炎症反应。

3.2 靶向于固有淋巴细胞的药物

炎症细胞表面表达的选择性黏附分子具有调节肠壁黏膜组织血管内的白细胞向组织间游走的功能。CD 在黏附分子表达方面存在着明显的变化。目前临床针对选择性黏附分子靶向治疗应用较多的是那他珠单抗 (重组人源性 IgG4 抗 α 4 整合素单抗 Natalizumab), 其可阻断循环性免疫细胞 (白细胞, 包括淋巴细胞、单核细胞、嗜碱性粒细胞

及嗜酸性粒细胞)向肠黏膜组织内浸润,降低肠黏膜炎症反应。另一种抗 $\alpha 4\beta 7$ 整合素人体化抗体 (vedolizumab, MLN-0002),作为肠道特异的选择性黏附分子抑制剂,仅抑制胃肠道特异性黏膜地址素细胞黏附分子-1 (Madcarn-1) 介导的白细胞黏附作用,其治疗 UC 的研究现已进入Ⅲ期临床,对 CD 的疗效研究也已处于Ⅳ期临床,有望用于 CD 与 UC 的治疗^[45]。

肠上皮细胞在肠黏膜发挥正常生理功能的过程中必不可少。孙阳等^[46]以 TNBS/乙醇灌肠诱导溃疡性结肠炎大鼠为研究对象,灌胃给药乌梅丸发现,乌梅丸可调节 Bcl-2/Bax 蛋白表达,抑制结肠肠上皮细胞的过度凋亡。肠道固有免疫系统中巨噬细胞在机体抵抗入侵的病原体过程中其关键作用。王柏涛^[47]研究发现抗巨噬细胞移动抑制因子 (MIF) 单抗能很好地干预小鼠 UC 的发生。

4 靶向肠道适应性免疫治疗肠炎的药物

4.1 抑制 T 细胞激活和分化的药物

T 细胞完全激活需要抗原特异性和辅助信号分子 (如 CD4 和 CD80) 的刺激。嵌合型抗人 CD40 单体 (ch5D12) 可阻断 CD40/CD40L 协同刺激通路,缓解 CD 症状。另一个药物阿巴西普 (abatacept),已被批准用于中、重度类风湿关节炎的治疗,对炎症性肠病的临床试验也正在进行中^[48]。IL-12 能促进 Th0 向 Th1 细胞分化,从而导致 Th1 型细胞免疫功能紊乱。Sandborn 等^[48]发现服用抗 IL-12 单抗 (ABT-874) 能明显缓解活动性 CD 患者的病情。

4.2 调节 T 细胞因子的药物

4.2.1 调节 Th1 细胞因子的药物 IFN- γ 是一种重要的 Th1 细胞因子,可增加趋化因子的分泌,促进 T 细胞和 B 细胞分化,促进炎症的发生。Fontolizumab 是一种直接抑制 IFN- γ 的人源化抗体。Reinisch 等^[49]临床试验观察到 Fontolizumab 治疗 CD 有良好的效果。

4.2.2 调节 Th2 细胞因子的药物 IL-13 是 Th2 细胞表达的细胞因子之一,与 IL-4 在结构和功能上有许多相似之处,且与 IL-4 共用 II 型受体,在调节超敏反应,黏液分泌过多和 Th2 型肠道炎症反应

过程中起重要作用。因此针对 IL-13 开发的抗 IL-13 单克隆抗体 Anrukizumab 和 Tralokinumab 在治疗 UC 中也有很好的效果,现已进入 II 期临床实验^[50-51]。

4.2.3 调节 Th17 细胞因子的药物 目前比较关注特异靶向于 IL-23 p19 亚基的分子,p19 单抗治疗炎症性肠病小鼠模型已证实有效,其在 CD 患者的临床治疗值得期待。靶向于 IL-17 的 Vidofludimus 可抑制 Th17 细胞分泌的 IL-17A 和 IL-17F,在 IBD 治疗中有良好的效果^[52]。此外,已知 IL-12/IFN- γ 和 IL-23/IL-17 轴与 CD 发病有关,靶向这两个途径的选择性生物学制剂 (IL-12/IL-23p40) 人 IgG₁ 单抗 ABT-874 与 CNTO-1275 (ustekinumab) 已有临床 II 期报告,对中、重度 CD (尤其是对英夫利昔单抗治疗无效的患者) 具有临床效应^[45,53]。王国庆等^[54]在研究发现甘草泻心汤复方通过下调 UC 患者 IL-17 和 IL-23,参与免疫调节,发挥药理活性。

4.2.4 参与调节 Treg 细胞因子的药物 IL-10 主要是 Treg 细胞分泌的细胞因子,具有较强的抗炎作用,能抑制自然杀伤细胞 Th1 反应和巨噬细胞细胞因子 TNF- α 、IL-1 和 IL-12 等的分泌。重组人 IL-10 (rhIL-10) 治疗轻、中度活动性 CD 显示了良好的临床效果^[55]。赖洁莹等^[56]研究双歧三联活菌胶囊辅助治疗 UC 的临床疗效时发现,双歧三联活菌胶囊可增加 CD4⁺CD25⁺ 调节性 T 细胞,提高 IL-10 的水平,在辅助治疗 UC 患者中效果明确。

4.3 调节 T 细胞平衡的药物

研究发现,姜黄素治疗可以降低 TNBS 诱导的结肠炎小鼠 IFN- γ 和 IL-12p40 的水平抑制 Th1 反应,同时诱导 IL-4 的表达增强 Th2 反应,改善结肠黏膜损伤^[57]。谢锋^[58]发现口服白术多糖可显著提高 Th1 和 Th2 型免疫应答,增强小鼠肠道黏膜免疫水平。Li 等^[59]研究结果表明小檗碱可下调 Th1 细胞,抑制 Th17 细胞分化,降低肠炎小鼠肠道炎症因子水平,从而缓解肠道炎症反应。四神丸也被证实可上调派伊尔结中 Treg 细胞数目,减少 Th17 细胞数目,从而具有缓解 TNBS/乙醇法诱导的大鼠结肠炎的作用^[60]。

表 1 靶向于免疫系统治疗肠炎的生物分子和药物

生物靶标	抗体/药物	作用机制	CD/UC	研发机构	研究阶段	参考文献
TNF-α	Infliximab	中和 TNF-α	UC 和 CD	Onze Lieve Vrouwe Gasthuis Santeon	Ⅳ期	[39]
	Adalimumab	中和 TNF-α	UC 和 CD	Abbott	Ⅲ期	[39–40]
	Certolizumab pegol	中和 TNF-α	CD	UCB	Ⅲ期	[39]
IL-6 和 IL-6 受体	Tocilizumab	IL-6 抑制剂	CD	Roche	上市	[41]
	PF04236921	IL-6 抑制剂	CD	Pfizer	Ⅱ期	[41]
	FM-101	IL-6 抑制剂	UC 和 CD	Femta	IND 申请	[41]
	CDP-6038	IL-6 受体抑制剂	CD	UCB	Ⅱ期	[41]
TLR	DIMS0150	TLR 受体阻断剂	UC	InDex Pharmaceuticals	Ⅲ期	[42]
	BL-7040	TLR 受体阻断剂	UC	BioLineRx,Ltd.	Ⅱ期	[42]
NF-κB	姜黄素	抑制 NF-κB 活化	CD	广西医科大学附属第一医院	动物实验	[43]
	久泻灵颗粒	下调 TLR4/NF- κB 通路	CD	甘肃中医药大学	动物实验	[44]
α4 整合素	Natalizumab	阻断 α4 整合素	CD	Elan Pharmaceuticals Biogen	Ⅲ期	[45]
α4β7 整合素	Vedolizumab	阻断 α4β7 整合素	UC 和 CD	Takeda	UC-Ⅲ期 CD-Ⅳ期	[45]
CD40	ch5D12	阻断 CD40/CD40 协同刺激通路	UC 和 CD	Catholic University of Leuven	–	[48]
CD28	Abatacept	抑制 CD28 介导的共刺激信号通路	CD	Bristol-Myers Squibb	Ⅲ期	[48]
IL-12	ABT-874	抑制 IL-12	CD	Abbott	Ⅱ期	[48]
IL-23 p19	p19mAb	抑制 IL-23 p19 亚基	CD	Robert-Bosch-Hospital Stuttgart	动物实验	[52]
IL-13	Anrukinzumab	IL-13 拮抗剂	UC	Pfizer	Ⅱ期	[50]
	Tralokinumab	IL-13 拮抗剂	UC	AstraZeneca MedImmune Ltd	Ⅱ期	[51]
IFN-γ	Fontolizumab	抑制 IFN-γ	CD	PDL BioPharma, Inc.	–	[49]
IL-17	Vidofludimus	IL-17A 和 IL-17F 抑制剂	UC 和 CD	4SC AG	Ⅱ期	[52]
IL-12/23	Ustekinumab	阻断 IL-12/23	CD	Centocor, Inc.	Ⅱ期	[53]
	ABT-874	阻断 IL-12/23	CD	Abbott	Ⅱ期	[45]
IL-10	rhIL-10	增加 IL-10	CD	ARMO BioSciences	–	[55]

CD:克罗恩病;UC:溃疡性结肠炎

5 总结与展望

动物和临床实验均表明,肠道上皮屏障紊乱、固有免疫系统和适应性免疫系统的功能失调在炎症性肠病中的发生、发展中占据重要作用。随着对肠道免疫系统与 IBD 关系的研究,中药复方以及中药单体的药效探索和相应的生物治疗分子也不断涌现。本实验室体内外研究发现,葛根芩连汤抑制肠道固有免疫系统 TLR4/NF-κB 信号通路的激活和下游炎症因子 TNF-α、IL-1β 和 IL-6 等,对 DSS 诱导的 UC 小鼠有很好的疗效。除此之外,本实验室也发现中药单体去亚甲基小檗碱可抑制肠道 NF-κB 信号通路的激活,调节 Th1/Th2 细胞的平衡,从而有效缓解 UC 小鼠的症状。

借助全基因组关联实验和微生物组学等技术手段,IBD 中宿主遗传和环境影响之间复杂的相互作用也逐渐被阐述,同时以肠道异常的免疫系统为靶点,设计的药物如抗 TNF-α 抗体和 α4 整合素抑制剂已在临床上应用。然而大多数的临床实验表明,针对特定免疫分子靶点的生物分子或者药物药效并不明显。因此,全面了解 IBD 的发病机制,寻

找肠道固有免疫系统和适应性免疫系统的交叉调控点,在此基础上开发相关药物,可能是未来治疗炎症性肠病的重要方向。

参 考 文 献

[1] Colgan SP. Inflammatory bowel disease therapies; US,8962530 [P]. 2015-02-24[2016-05-22].

[2] Mysha M, Siegel CA. Do inflammatory bowel disease therapies cause cancer [J]? *Inflamm Bowel Dis*, 2013, **19** (6): 1306–1321.

[3] Das S, Rachagani S, Sheinin Y, *et al.* Mice deficient in Muc4 are resistant to experimental colitis and colitis-associated colorectal cancer [J]. *Oncogene*, 2016, **35** (20): 2645–2654.

[4] Salim SY, Soderholm JD. Importance of disrupted intestinal barrier in inflammatory bowel diseases [J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2011, **17**: 362–381.

[5] Uehara A, Fujimoto Y, Fukase K, *et al.* Various human epithelial cells express functional Toll-like receptors, NOD1 and NOD2 to produce anti-microbial peptides, but not proinflammatory cytokines [J]. *Mol Immunol*, 2007, **44** (12): 3100–3111.

[6] Donnarumma G, Paoletti I, Fusco A, *et al.* β-Defensins; work in Progress [J]. *Adv Exp Med Biol*, (2016-02-11) [2016-05-22]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26864271>.

[7] Liu TC, Gurram B, Baldridge M, *et al.* O-011 paneth cell pheno-

- types define a subtype of pediatric crohn's disease through alterations in host-microbial interactions [J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2016, **22**(Suppl 1):S4.
- [8] Jang JH, Shin HW, Lee JM, *et al.* An overview of pathogen recognition receptors for innate immunity in dental pulp[J]. *Mediators Inflamm*, 2015, **2015**:1–12.
- [9] Salem M, Seidelin JB, Eickhardt S, *et al.* Species-specific engagement of human NOD2 and TLR signaling upon intracellular bacterial infection: role of Crohn's associated NOD2 gene variants [J]. *Clin Exp Immunol*, 2014, **179**(3):426–434.
- [10] Folkard DL, Marlow G, Mithen RF, *et al.* Effect of Sulforaphane on NOD2 via NF- κ B: implications for crohn's disease [J]. *J Inflamm*, 2015, **12**(1):1–6.
- [11] Zaki MH, Boyd KL, Vogel P, *et al.* The NLRP3 inflammasome protects against loss of epithelial integrity and mortality during experimental colitis[J]. *Immunity*, 2010, **32**(3):379–391.
- [12] Sun Y, Zhao Y, Yao J, *et al.* Wogonoside protects against dextran sulfate sodium-induced experimental colitis in mice by inhibiting NF- κ B and NLRP3 inflammasome activation[J]. *Biochem Pharmacol*, 2015, **94**(2):142–154.
- [13] Yeretsian G. Effector functions of NLRs in the intestine: innate sensing, cell death, and disease [J]. *Immunol Res*, 2012, **54**(1/2/3):25–36.
- [14] Ishizuka IE, Chea S, Gudjonson H, *et al.* Single-cell analysis defines the divergence between the innate lymphoid cell lineage and lymphoid tissue-inducer cell lineage [J]. *Nat Immunol*, 2016, **17**(3):269–276.
- [15] Yazdani R, Sharifi M, Shirvan AS, *et al.* Characteristics of innate lymphoid cells (ILCs) and their role in immunological disorders (an update) [J]. *Cell Immunol*, 2015, **298**(1/2):66–76.
- [16] Peng H, Tian ZG. Advances in innate lymphoid cells[J]. *J Immunol*(中国免疫学杂志), 2015, (2):145–150.
- [17] Leung JM, Loke P. A role for IL-22 in the relationship between intestinal helminths, gut microbiota and mucosal immunity [J]. *Int J Parasitol*, 2012, **3**(3/4):253–257.
- [18] Buonocore S, Ahern PP, Uhlig HH, *et al.* Innate lymphoid cells drive interleukin-23-dependent innate intestinal pathology [J]. *Nature*, 2010, **464**(7293):1371–1375.
- [19] Chen L, He Z, Slinger E, *et al.* IL-23 activates innate lymphoid cells to promote neonatal intestinal pathology[J]. *Mucosal Immunol*, 2015, **8**(2):390–402.
- [20] Hirahara K, Nakayama T. CD4⁺ T cell subsets in inflammatory diseases: beyond the Th1/Th2 paradigm [J]. *Int Immunol*, 2016, **28**(4):163–171.
- [21] Annunziato F, Romagnani C, Romagnani S. The 3 major types of innate and adaptive cell-mediated effector immunity[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2015, **135**(3):626–635.
- [22] Yamada A, Arakaki R, Saito M, *et al.* Role of regulatory T cell in the pathogenesis of inflammatory bowel disease [J]. *World J Gastroenterol*, 2016, **22**(7):2195–2205.
- [23] Rovedatti L, Kudo T, Biancheri P, *et al.* Differential regulation of interleukin 17 and interferon gamma production in inflammatory bowel disease [J]. *Gut* 2009, **58**(12):1629–1636.
- [24] Wilson MS, Ramalingam TR, Rivollier A, *et al.* Colitis and intestinal inflammation in IL10^{-/-} mice results from IL-13R α 2-mediated attenuation of IL-13 activity [J]. *Gastroenterology*, 2011, **140**(1):254–264.
- [25] Bernardo D, Vallejo-Díez S, Mann ER, *et al.* IL-6 promotes immune responses in human ulcerative colitis and induces a skin-homing phenotype in the dendritic cells and T cells they stimulate [J]. *Eur J Immunol*, 2012, **42**(5):1337–1353.
- [26] Bauquet AT, Jin H, Paterson AM, *et al.* The costimulatory molecule ICOS regulates the expression of c-Maf and IL-21 in the development of follicular T helper cells and TH-17 cells [J]. *Nat Immunol*, 2009, **23**(2):167–175.
- [27] Bank S, Andersen PS, Burisch J, *et al.* Polymorphisms in the Toll-like receptor and the IL-23/IL-17 pathways were associated with susceptibility to inflammatory bowel disease in a danish cohort [J]. *PLoS One*, 2015, **10**(12):1–14.
- [28] Ivanov II, Atarashi K, Manel N, *et al.* Induction of intestinal Th17 cells by segmented filamentous bacteria [J]. *Cell*, 2009, **139**(3):485–498.
- [29] Coccia M, Harrison OJ, Schiering C, *et al.* IL-1 β mediates chronic intestinal inflammation by promoting the accumulation of IL-17A secreting innate lymphoid cells and CD4⁺ Th17 cells [J]. *J Exp Med*, 2012, **209**(9):1595–1609.
- [30] Liu W, Guo WJ, Guo LL, *et al.* Andrographolide sulfonate ameliorates experimental colitis in mice by inhibiting Th1/Th17 response [J]. *Int Immunopharmacol*, 2014, **20**(2):337–345.
- [31] Monteleone G, Monteleone I, Fina D, *et al.* Interleukin-21 enhances T-helper cell type I signaling and interferon-gamma production in Crohn's disease [J]. *Gastroenterology*, 2005, **128**(3):687–694.
- [32] Kastirri I, Maglie S, Paroni M *et al.* IL-21 is a central memory T cell-associated cytokine that inhibits the generation of pathogenic Th1/17 effector cells [J]. *J Immunol*, 2014, **193**(7):3322–3331.
- [33] Shimazu Y, Nishikawa H. Suppression of tumor antigen-specific T cell immune responses by regulatory T cells [J]. *Gan To Kagaku Ryoho*, 2014, **41**(9):1057–1061.
- [34] Fahlen L, Read S, Gorelik L, *et al.* T cells that cannot respond to TGF- β escape control by CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells [J]. *J Exp Med*, 2005, **201**(5):737–746.
- [35] Fantini MC, Rizzo A, Fina D, *et al.* Smad7 controls resistance of colitogenic T cells to regulatory T cell-mediated suppression [J]. *Gastroenterology*, 2009, **136**(4):1308–1316.
- [36] Kleinewietfeld M, Hafler DA. The plasticity of human Treg and Th17 cells and its role in autoimmunity [J]. *Semin Immunol*, 2013, **25**(4):305–312.
- [37] Biancheri P, Di Sabatino A, Corazza GR, *et al.* Proteases and the

- gut barrier[J]. *Cell Tissue Res*, 2013, **351**(2):269-280.
- [38] Heller F, Fuss IJ, Nieuwenhuis EE, *et al.* Oxazolone colitis, a Th2 colitis model resembling ulcerative colitis, is mediated by IL-13-producing NK-T cells[J]. *Immunity*, 2002, **17**(5):629-638.
- [39] Kawalec P, Mikrut A, Wiśniewska N, *et al.* Tumor necrosis factor- α antibodies (infliximab, adalimumab and certolizumab) in Crohn's disease: systematic review and meta-analysis[J]. *Arch Med Sci*, 2013, **9**(5):765-779.
- [40] Louis E, Löfberg R, Reinisch W, *et al.* Adalimumab improves patient-reported outcomes and reduces indirect costs in patients with moderate to severe Crohn's disease: results from the CARE trial[J]. *J Crohns Colitis*, 2013, **7**(1):34-43.
- [41] Liu LL, Mao YY, Gao LB. Analysis of global hot drug targets in 2014—IL-6-targeted drugs[J]. *Prog Pharm Sci* (药科学进展), 2015, **39**(11):870-873.
- [42] Billmeier U, Admyre C, Knittel T, *et al.* DOP004 Induction of IL-10 positive cells in the colon mucosa of ulcerative colitis patients by the TLR-9 agonist DIMS0150[J]. *J Crohns Colitis*, 2014, **8**(10):S16.
- [43] Zeng ZJ, Zhan LL, Liao H, *et al.* Curcumin improves TNBS-induced colitis in rats by inhibiting IL-27 expression via the TLR4/NF- κ B signaling pathway[J]. *Planta Med*, 2012, **79**(2):102-109.
- [44] Xu YQ. Effects of Jiuxieling granules on the expression of TLR4 and NF- κ B p65 and inflammatory cytokines on ulcerative colitis model rats of the spleen and kidney yang deficiency (久泻灵颗粒对脾肾阳虚型溃疡性结肠炎模型大鼠 TLR4、NF- κ B p65 及炎症细胞因子表达的影响)[D]. Lanzhou: Gansu College Traditional Chinese Medicine, 2015.
- [45] Toshifumi H, Yoshihide F. Biological therapies for inflammatory bowel disease[J]. *J Gastroenterol*, 2013, **37**(14):43-43.
- [46] Sun Y, Zhang X, Li HY, *et al.* Treatment effects of wumei pill on rats with ulcerative colitis and the mechanisms[J]. *Mil Med J South China* (华南国防医学杂志), 2013, **27**(1):5-8.
- [47] Wang BT, Zhang QF, Qiu XF, *et al.* The intervention mechanism research of macrophage migration inhibitory factor monoclonal antibody on ulcerative colitis mice[J]. *Acta Universitatis Medicinalis Anhui* (安徽医科大学学报), 2016, **51**(1):31-35.
- [48] Sandborn WJ, Colombel J, Sands BE, *et al.* Abatacept for Crohn's disease and ulcerative colitis[J]. *Gastroenterology*, 2012, **143**(1):62-69(e4).
- [49] Reinisch W, Hommes DW, Van Assche G, *et al.* A dose escalating, placebo controlled, double blind, single dose and multidose, safety and tolerability study of fontolizumab, a humanised anti-interferon γ antibody, in patients with moderate to severe Crohn's disease[J]. *Gut*, 2006, **55**(8):1138-1144.
- [50] Reinisch W, Panés J, Khurana S, *et al.* Anrukinzumab, an anti-interleukin 13 monoclonal antibody, in active uc efficacy and safety from a phase II randomised multicentre study[J]. *Gut*, 2015, **64**(6):894-900.
- [51] Danese S, Rudziński J, Brandt W, *et al.* Tralokinumab for moderate-to-severe UC: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase IIa study[J]. *Gut*, 2015, **64**(2):243-249.
- [52] Herrlinger KR, Diculescu MM, Fellermann K, *et al.* Efficacy, safety and tolerability of vidofludimus in patients with inflammatory bowel disease: the ENTRANCE study[J]. *J Crohns Colitis*, 2013, **7**(8):636-643.
- [53] Simon EG, Ghosh S, Iacucci M, *et al.* Ustekinumab for the treatment of Crohn's disease: can it find its niche[J]? *Therap Adv Gastroenterol*, 2016, **9**(1):26-36.
- [54] Wang GQ, Wei WH, Yang J. Effects of Gancao Xiexin decoction on serum levels of IL-17 and IL-23 in patients with ulcerative colitis[J]. *J Nanjing Univ Tradit Chin Med* (南京中医药大学学报), 2016, **32**(1):25-28.
- [55] Schreiber S, Fedorak RN, Nielsen OH, *et al.* Safety and efficacy of recombinant human interleukin 10 in chronic active Crohn's disease. Crohn's disease IL-10 cooperative study group[J]. *Gastroenterology*, 2000, **119**(6):1461-1472.
- [56] Lai JY, Hao LP, Song SY. Clinical efficacy of bifidobacteria triple viable capsule and its effects on the levels of CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells and IL-10 in patients with ulcerative colitis[J]. *Hainan Med J* (海南医学), 2016, **27**(1):40-42.
- [57] Hanai H, Sugimoto K. Curcumin has bright prospects for the treatment of inflammatory bowel disease[J]. *Curr Pharm Des*, 2009, **15**(18):2087-2094.
- [58] Xie F. Adjuvant effects of different extract fractions of *Atractylodes macrocephala* Koidz (白术不同提取物免疫佐剂作用的研究)[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2012.
- [59] Li C, Xi Y, Shan L, *et al.* Berberine ameliorates TNBS induced colitis by inhibiting inflammatory responses and Th1/Th17 differentiation[J]. *Mol Immunol*, 2015, **67**(2 Pt B):444-454.
- [60] Liu RY, Xu R, Huang MF, *et al.* Mechanism of Sishen Wan in regulating balance of T lymphocyte subsets and Treg/Th17 in colitis rats[J]. *Chin J Exp Tradit Med Formulae* (中国实验方剂学杂志), 2016, **22**(3):107-111.