

· 药学前沿 ·

肺动脉高压发生机制及治疗药物的研究进展

宋洁梅,温小安,孙宏斌*

(中国药科大学新药研究中心,南京 210009)

摘要 肺动脉高压(PAH)是一种以肺血管阻力和肺动脉压力渐进性升高为特征,最终导致患者右心衰竭而死亡的疾病。本文综述了近年来有关PAH发生的细胞和分子机制及其治疗药物的研究进展。

关键词 肺动脉高压;病理特征;发生机制;分子机制;治疗药物

中图分类号 TQ460.31; R914.2 文献标志码 A 文章编号 1000-5048(2013)01-0001-10

Progress in pathogenesis and therapeutic drugs of pulmonary arterial hypertension

SONG Jiemei, WEN Xiaoan, SUN Hongbin*

Center of Drug Discovery, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China

Abstract Pulmonary arterial hypertension(PAH) is a progressive and fatal disease, characterized by elevated pulmonary vascular resistance and pulmonary arterial pressure, most often resulting in right-sided heart failure. The mechanisms of action, approved PAH therapies and the latest agents in late-stage clinical development were reviewed and described in this paper.

Key words pulmonary arterial hypertension; pathologic features; pathogenesis; molecular mechanism; therapeutic drugs

This study was supported by the National Natural Science Foundation of China(No. 81072519)

肺动脉高压(PAH)是一种预后差、患者病死率高的疾病。其主要特征为肺动脉阻塞引起肺血管阻力及肺动脉压力渐进性升高,伴随不可逆的肺血管重构,最终导致右心衰竭而死亡。2008年,WHO第4次肺高压(PH)会议将PAH归属为第1类肺高压,其中包括特发性PAH(IPAH)、遗传性PAH、药物或毒物诱导的PAH、疾病(如结缔组织疾病、HIV感染等)相关性PAH、新生儿持续性PH。WHO定义PAH的诊断标准为:静息状态下肺动脉平均压(PAP)大于25 mmHg,肺血管阻力(PVR)大于3个Wood单位^[1]。

PAH是一种罕见病,由于确诊困难,其全球患病率尚不清楚。但据美国、苏格兰和法国的最新调查,每百万人中可能有15~56人患PAH。据美国REVEAL研究(PAH注册登记研究),PAH中以IPAH发病率最高,约占PAH病

人的46.2%,且女性发病率比男性高2~3倍^[2],因骨形态发生蛋白受体-2(BMPR2)或活化素受体样激酶-1(ALK1)突变引起的遗传性PAH占2.7%,结缔组织疾病引起的PAH占25.3%,先天性心脏病引起的占9.8%,肝病引起的占5.3%,HIV感染引起的占1.9%,药物(如抑制食欲的药物anorexigen)引起的占5.3%,肺静脉闭塞或肺毛细血管瘤引起的占0.5%^[3]。

PAH的预后很差。尽管目前已有前列环素(PGI₂)及其类似物、内皮素(ET)受体拮抗剂、磷酸二酯酶-5(PDE-5)抑制剂等用于PAH的临床治疗,但PAH患者的1年病死率仍高达15%,IPAH患者的3年存活率低至35%。疾病相关PAH的预后随相应疾病的的不同而不同,例如先天性心脏病相关的PAH患者3年存活率为77%,硬皮病相关的PAH患者3年存活率则为34%~47%^[4]。

* 收稿日期 2012-09-17 *通信作者 Tel:025-83271198 E-mail:hbsun2000@yahoo.com
基金项目 国家自然科学基金资助项目(No. 81072519)

1 PAH 的病理生理特征

引起 PAH 的病理因素很多,但各类 PAH 有着共同的病理生理特征,即血管收缩、原位血栓及肺血管壁重构,其中血管壁增生和重构所导致的肺动脉闭塞被认为是 PAH 发病的标志。

肺血管过度收缩是 PAH 的一个重要特点。这种过度的血管收缩与钾通道及内皮组织功能失常有关,例如内皮组织失常导致血管舒张因子一氧化氮(NO)和前列环素(PGI₂)的合成与分泌均减少,同时血管收缩因子内皮素-1(ET-1)的分泌量大大增多^[1],引发肺血管收缩异常。据研究,肺血管过度收缩在 PAH 的早期即已发生。

PAH 的另一个特点是原位血栓。它的形成与内皮受损有关:内皮下层的胶原纤维因内皮受损而暴露,进而与血小板发生相互作用,使血小板黏附其上,同时血小板释放出大量血栓烷素(TXA2)、血小板激活因子及 5-羟色胺(5-HT),进一步促进血小板聚集,形成原位血栓^[1]。

肺血管壁重构是 PAH 的又一重要特点,表现为血管壁增厚。这种血管壁增厚是由于一种或多种类型细胞的肥大和增生及细胞外基质成分的增加而导致的,几乎涉及血管壁的内、中、外膜各层细胞。肺血管壁重构主要包括以下 4 种:①非肌型微动脉远端肌化,指与呼吸作用相关的非肌型微动脉中出现一层由平滑肌细胞组成的新膜,而正常情况下,这些微动脉是不含平滑肌细胞的。②肌型动脉肌化增加,即中层的平滑肌细胞发生肥大和增生,外层的成纤维细胞亦发生增生。该过程与内皮组织受损有关。③新内膜的形成。严重 PAH(如 IPAH 和结缔组织疾病相关 PAH)的肺血管内膜和内弹性膜之间会形成一层由肌纤维母细胞和细胞外间质组成的新内膜。新内膜细胞的起源尚不清楚,可能由内皮细胞转分化而来,也可能由中层平滑肌细胞样的细胞或者外层成纤维细胞迁移而来。④丛状样病变的形成。这是重症 PAH 患者的另一重要特征,约 80% IPAH 患者会出现不同程度的该病变,主要由于内皮细胞增殖紊乱导致^[1]。

2 PAH 形成的病理机制

2.1 内皮细胞因素

内皮细胞对于维持血管的正常功能有着重要作用,内皮细胞代谢失常可导致缩/扩血管物质失衡、平滑肌细胞增殖的激活剂和抑制剂失衡、促血栓和抗血栓调节剂失衡以及致炎因子和抗炎因子失衡。

2.1.1 PGI₂、NO、血管活性肠肽及 ET-1 PGI₂ 属于内源性前列腺素类家族的一员,在环氧合酶(COX)和 PGI₂ 合酶等关键酶的作用下,经花生四烯酸(AA)代谢而成。PGI₂ 通过作用于细胞表面的 G 蛋白偶联受体即前列环素受体(IP),激活腺苷酸环化酶(AC),使细胞内的 cAMP 浓度升

高,增强对蛋白激酶 A 的激活,发挥舒张血管的作用。除此之外,PGI₂ 还能抑制平滑肌细胞的增殖以及血小板的聚集。PGI₂ 主要在血管内皮细胞内生成,占血管内皮细胞 AA 代谢产物的 60%^[5]。然而研究发现,在 PAH 患者内皮细胞中 PGI₂ 的合成有所减少^[6]。

内皮细胞中 NO 信号分子通过激活鸟苷酸环化酶(GC)使细胞内 cGMP 浓度升高,抑制细胞外钙离子内流,起到降低细胞内游离钙离子浓度的作用,从而发挥舒张血管的作用。此外,NO 还能抑制平滑肌细胞的生长。NO 在内皮细胞中来源于底物 L-精氨酸,经 NO 合酶催化合成而来。然而,研究发现,PAH 患者的内皮细胞中 NO 合酶的表达减少,可与该酶竞争底物 L-精氨酸的精氨酸酶 II 的表达却增加。大量的证据都表明 NO 的匮乏与 PAH 的发生发展过程密切相关^[7]。

血管活性肠肽(VIP)是一种由 28 个氨基酸组成的具有强扩张血管效应的神经肽,同时也能抑制平滑肌细胞的增殖及减少血小板的聚集。VIP 通过作用于受体 VPAC-1 和 VPAC-2,激活细胞内 cAMP 和 cGMP 系统发挥作用。然而,研究表明,IPAH 患者血浆中的 VIP 浓度及 VIP 免疫反应性均降低。与此相反,VIP 受体在平滑肌细胞上却存在高表达。

ET 是由 21 个氨基酸组成的多肽,主要由内皮细胞分泌。ET 的前体是由 39 个氨基酸组成的无活性的多肽,被称为 pro-ET。pro-ET 在 ET 转化酶的作用下水解成活性形式 ET。缺氧条件及体内多种生长因子、细胞因子等都会促进细胞内 ET 的生物合成,NO 和 PGI₂ 则会抑制其合成。ET 有 3 种亚型:ET-1、ET-2 和 ET-3,其中 ET-1 是迄今为止已知的最强缩血管物质。内皮细胞主要分泌 ET-1。ET-1 的受体有两种亚型:ET-A 和 ET-B。ET-A 主要分布于平滑肌细胞,而 ET-B 则主要分布于内皮细胞,平滑肌细胞上也有少量 ET-B 分布。ET-1 与受体 ET-A 结合后,激活蛋白激酶 C,使细胞内储存的钙离子释放入胞浆,细胞内游离钙离子浓度升高,导致血管收缩。ET-1 与内皮细胞上 ET-B 结合后,可介导 PGI₂ 和 NO 的分泌,PGI₂ 和 NO 再通过抑制 pro-ET 的转化而对 ET-1 的生成起负反馈调节作用。ET-B 还介导了 ET-1 的清除。位于平滑肌细胞上的 ET-B 与内皮细胞上的 ET-B 作用正好相反,即导致血管收缩。ET-1 还是一种强的促有丝分裂物质,可促进平滑肌细胞和内皮细胞的增生,该过程由 ET-A 和 ET-B 共同介导^[8]。研究表明,PH 动物模型及 PH 患者体内均存在 ET 系统激活,且 ET-1 的浓度与疾病严重程度密切相关^[9]。然而,ET-1 可能并不是导致 PAH 的最初因素。Migneault 等^[10] 研究发现,长期向大鼠体内注射 ET-1 并不会导致 PH,但会导致肺血管对 NO 反应性降低。

2.1.2 Rho-GTP 酶 Rho(Ras homologous)-GTP 酶是真核细胞内一类重要的信号转导分子,由 200~300 个氨基酸组

成,相对分子质量为 21~30 kD。因其具有 GTP 酶活性,故称为 Rho GTP 酶。在水解 GTP 时激活下游的效应因子 Rho 激酶,从而导致一系列细胞反应,如基因转录、细胞分化及凋亡等。该家族中研究得最深入的是 Cdc42、Rac1 及 RhoA 3 类,其中 RhoA 下游的激酶为 ROCK。

研究表明,PAH 的发生过程中存在 RhoA/ROCK 通路的激活。该通路激活可导致血管过度收缩、原位血栓形成以及细胞增殖等^[11]。

2.1.3 血管生成素-1 和内皮特异性酪氨酸激酶 血管生成素-1(Ang-1)属血管生成素家族(Ang-1,2,3,4)中重要一员,于 1996 年被发现,是由血管平滑肌细胞、周细胞及肿瘤细胞分泌的一种糖蛋白,通过作用于内皮细胞表面的跨膜受体内皮特异性酪氨酸激酶(TIE2),在血管生成、发育、成熟及维持血管稳定性方面发挥作用。

研究表明,在大多数非遗传性 PAH 中,Ang-1 存在过度表达的情况,通过抑制内皮细胞凋亡、促进内皮细胞出芽、迁移等作用促进血管重构。但是,Kuqathasan 等^[12]在转基因小鼠上的研究却发现,激活 Ang-1/TIE2 信号通路反而可避免 PAH 的发生。因此,该信号通路在 PAH 中的作用仍存在争议。

2.2 平滑肌细胞因素

2.2.1 5-羟色胺、5-羟色胺转运体及 5-羟色胺受体 5-羟色胺(5-HT)又名血清素,在外周组织中,通过作用于 5-羟色胺受体 1B/D、2A、2B 发挥缩血管作用。5-HT 还可以在 5-羟色胺转运体(5-HTT)参与下完成细胞内噬作用,从而促进细胞有丝分裂。研究发现,在 PAH 患者血浆中 5-HT 的水平大大升高,而血小板中 5-HT 的贮存量则降低,另外,5-HT 合成过程的限速酶色氨酸羟化酶的表达也增加^[13]。

5-HTT 在肺动脉平滑肌细胞上表达丰富,介导 5-HT 的促有丝分裂作用。实验和临床研究均发现 PAH 中存在 5-HTT 表达上调现象。

5-HT 有 14 种受体亚型,其中 5-HT_{2A}、5-HT_{2B}、5-HT_{1B}与 PAH 的关系最大。通过非人类哺乳动物,已明了 5-HT_{2A}不仅调节肺循环的血管收缩,也调节体循环的血管收缩。相应地,针对该受体亚型的拮抗剂对肺部血管亦无专属性。Launay 等^[14]研究发现,IPAH 的 5-HT_{2B}受体转录物增加,而 5-HT_{2B}基因敲除小鼠的慢性缺血性 PH 症状得以缓解。Keegan 等^[15]研究进一步表明,抑制 5-HT_{1B}受体能减少低氧诱导的肺血管重构。由此看来,5-HT_{2B}、5-HT_{1B}是治疗 PAH 的潜在靶点。

2.3 基因突变

约 60% 的遗传性 PAH 患者以及 10%~20% 的散发性 IPAH 患者均存在骨形态发生蛋白受体 II(BMPR II)基因突变的情况。骨形态发生蛋白(BMPs)调节体内多种类型细胞的生长、分化及凋亡,其受体 BMPR II 属于生长因子受体 TGF-β 超家族的一员。BMPR II 为组成型丝氨

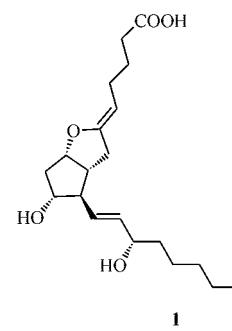
酸-苏氨酸激酶受体,广泛存在于肺血管内皮细胞中,在平滑肌细胞和成纤维细胞中也有少量表达。在 BMPR II 基因突变的患者中,肺血管中的 BMPR II 表达降低。某些 PAH 患者的 BMP 其他受体如活化素样激酶 1 等也存在突变。然而,BMPR II 基因突变参与 PAH 发生的具体机制尚不清楚。

3 PAH 治疗药物的研究进展

传统的 PAH 治疗药物包括抗凝剂、利尿剂、钙通道阻滞剂等。这种治疗虽然可改善 PAH 患者的症状,却不能延缓 PAH 的发展进程。20 年来,新治疗药物不断出现,使 PAH 患者的预后有了明显改善,存活率也有了较大提高,1、3、5 年存活率分别从 68%、48%、34% 提高至 86%、69%、61%^[16]。这些新药物包括前列环素及其类似物、ET-1 受体拮抗剂、磷酸二酯酶-5(PDE-5)抑制剂。近年来,还涌现出大量新颖的靶向治疗药物,如激酶抑制剂、可溶性鸟苷酸环化酶激活剂等,逐渐成为 PAH 领域的研究热点。

3.1 前列环素及其类似物

3.1.1 依前列醇 依前列醇(epoprostenol,1)是合成的前列环素。依前列醇化学稳定性差,在水溶液及 pH < 10.5 条件下不稳定,其半衰期很短(<5 min),在体内很快代谢成无活性的 6-酮 PGF_{1α}。

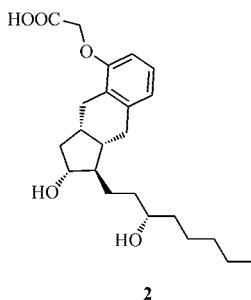


GSK 公司旗下商品名为 Flolan 的依前列醇钠盐注射剂,1995 年获 FDA 批准用于治疗 PAH,是前列环素类药物中首个上市药物。依前列醇的物理化学性质决定了 Flolan 的给药方式为持续静脉注射。该给药方式须给患者植入中心静脉导管,并使用便携式输液泵,因而存在很多弊端,如治疗过程的瞬间中止可能导致右心室衰竭、局部感染发生概率升高以及败血症等。此外,治疗过程中还会出现与剂量相关的多种不良反应,如颌痛、头痛、面部潮红、腹泻、恶心等^[17]。尽管如此,依前列醇仍是心功能 IV 级 PAH 患者的首选药物,也是接受肺移植手术病人的过渡用药。

Flolan 在使用时须用附带的专用稀释液配制,且配制成溶液后只能在 2~8 °C 保存不超过 48 h。Actelion 公司也开发了依前列醇钠盐的注射剂,商品名 Veletri,于 2008 年被 FDA 批准上市。Veletri 比 Flolan 有所改进,它可以直接用注

射用水或 0.9% 生理盐水配制,且配成的溶液可在室温保存 48 h,在 2~8 ℃甚至可放置 5 d。Veletri 与 Flolan 主要区别在于,Veletri 中添加有精氨酸,而 Flolan 添加的是甘氨酸。

3.1.2 曲前列尼尔 曲前列尼尔(treprostinil,2)是化学性质稳定的前列环素类似物,在室温和中性 pH 条件下稳定,并与依前列醇具有相似的药效学性质。



2

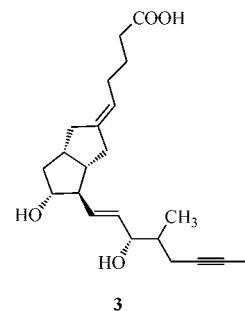
由联合治疗公司(United Therapeutics Corporation)开发的曲前列尼尔钠盐注射剂,于 2002 年被美国 FDA 批准上市用于治疗 PAH,商品名为 Remodulin。Remodulin 可皮下或静脉注射,但均需持续注射。Nadler 等^[3]研究证明,曲前列尼尔皮下注射和静脉注射具有生物等效性,两者的消除半衰期较接近,分别为 4.6 h 和 4.4 h,而有效半衰期有一定差别,分别少于 60 min 和 10 min。皮下注射曲前列尼尔的最大不良反应为注射部位红斑和疼痛,且发生率高。

为了避免输液的弊端,联合治疗公司还开发了曲前列尼尔吸入剂,商品名为 Tyvaso,并于 2009 年经 FDA 批准上市。这是继依诺前列素吸入剂 Ventavis 后 PAH 治疗药物中第 2 个吸入剂。二者对肺血管阻力(PVR)的降幅相近,但曲前列尼尔的作用时间更持久,全身性不良反应也更少,最常见的不良反应为咳嗽(12.5%)、头痛(4%)以及颌痛(2%)。吸入型给药将曲前列尼尔直接送至肺泡毛细血管,尽管减少了全身不良反应,但由于吸入的量少,其疗效不如皮下注射和静脉注射。

此外,联合治疗公司还在开发曲前列尼尔二乙醇胺(UT-15C)缓释片。Tapson 等^[18]对 UT-15C 开展了一项名为 FREEDOM-C 的Ⅲ期临床试验,检验 UT-15C 的有效性和安全性。然而,由于起始剂量设计过高,导致无法对部分病人进行剂量调整,试验最终未能就主要指标——6 分钟步行距离(6MWD)取得具统计学意义的结果。在名为 FREEDOM-M 的Ⅲ期临床试验中,剂量方案经过调整,试验取得了预期结果,治疗组患者的 6MWD 提高了 25 m,对照组则下降了 5 m^[19]。而当名为 FREEDOM-C(2)的Ⅲ期临床试验完成后,联合治疗公司再一次宣布未能就主要指标(6MWD)取得具统计学意义的结果^[20]。

3.1.3 依诺前列素 依诺前列素(iloprost,3)是另一前列环素类似物,室温和光照下稳定,半衰期为 20~30 min,可通过静脉注射和吸入途径用药。

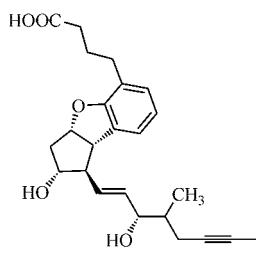
Actelion 公司的依诺前列素吸入剂,商品名为 Ventavis,是 FDA 批准的 PAH 治疗药物中首个吸入剂。2004 年在美国上市,此后陆续在法国、德国、爱尔兰等上市,用于治疗心功能Ⅱ~Ⅲ级的 PAH。Ventavis 最大的缺点是作用时间短,每天需用药 6~9 次^[3],常见不良反应为脸部潮红。Ventavis 以消旋体上市,然而研究表明依诺前列素 4S 构型异构体的扩血管作用强于 4R 构型异构体^[17]。Schering 公司则开发了依诺前列素氨丁三醇的注射剂,商品名 Ilomedin,在新西兰上市用于治疗 PAH,而在欧洲则用于血管闭塞性脉管炎。



3

也有研究指出,依诺前列素长期治疗并不能提高患者的存活率,尽管短期治疗可明显改善 PAH 患者的症状,这可能与受体脱敏有关^[21]。

3.1.4 贝前列素 贝前列素(beraprost,4)是稳定、口服有效的前列环素类似物,半衰期为 35~40 min。早在 1995 年,Kaken 和 Yamanouchi 株式会社的贝前列素钠片(商品名分别为 Procylin 和 Dorner)就在日本获批用于特发性 PAH 的治疗,1 日 3~4 次。贝前列素在韩国也已上市,商品名 Berasil。2007 年,Toray 和 Astellas 公司(前 Yamanouchi 公司)的贝前列素钠缓释片(Careload® LA)在日本获批用于治疗 PAH,成为前列环素类药物中第 1 个缓释剂。同年,Kaken 株式会社的贝前列素钠缓释片(Berasus® LA)也在日本被批准上市。



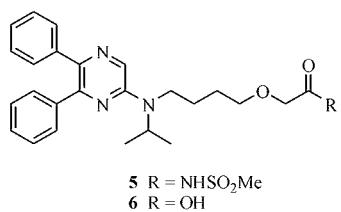
4

然而,Ikeda 等^[22]研究却发现贝前列素只在治疗早期才表现出较好的疗效。这可能也是导致贝前列素用于治疗 PAH 的审批在亚洲以外国家受限的主要原因。

3.1.5 NS-304 NS-304(selexipag,5)是可口服的前列环素受体激动剂,化学结构特征与上述前列环素及类似物不同。

NS-304 是前药,在肝微粒体内代谢成活性代谢物 MRE-269 (6)。MRE-269 的半衰期长达 8 h。NS-304 与前列环素受体 IP 的亲和力低,而 MRE-269 与受体 IP 的亲和力较前列环素和依诺前列环素均高,且具有高度的受体结合特异性,即对其他前列环素受体无激动作用^[23]。MRE-269 的这一优势和口服特性使其成为治疗 PAH 的理想候选药物。

Kuwano 等^[24]研究表明,NS-304 在疗效及安全性等方面均优于贝前列环素,不仅可改善血管内皮细胞功能、减少肺动脉壁肥大及降低右心室收缩压,还能提高存活率。2010 年,一份对 43 例 PAH 患者的 IIa 临床试验报告指出,治疗组患者的肺血管阻力较对照组有显著降低^[25]。目前,一项国际性的大型 III 期临床试验正在进行,预计 2013 年完成^[26]。

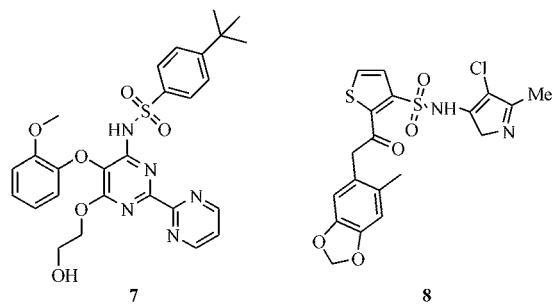


3.2 内皮素受体拮抗剂

3.2.1 波生坦 波生坦(bosentan,7)是磺胺类化合物,由 Actelion 生物医药公司研发。2001 年,商品名为 Tracleer 的口服波生坦被美国 FDA 批准上市,用于治疗 PAH。

波生坦能不可逆地阻断 ET-1 与内皮素受体(ET-A 和 ET-B)的结合,从而使肺血管舒张。波生坦被称为非选择性内皮素受体拮抗剂,与受体 ET-A 和 ET-B 的亲和力之比约为 40:1。

波生坦的主要不良反应为肝脏毒性,可引起转氨酶升高。该不良反应与剂量相关,且为可逆损伤^[27]。因此,使用波生坦的患者应在服药后每个月对体内丙氨酸转氨酶及天冬氨酸转氨酶水平进行监测。此外,波生坦还有致畸风险,因内皮多肽在胎儿的生长发育中发挥重要作用。因此,孕妇被禁止使用该药。波生坦的其他不良反应还包括血红蛋白减少、头痛等。另据研究,波生坦易与某些药物如格列本脲、环孢素 A 等发生相互作用,用药时需注意。



3.3 磷酸二酯酶-5 抑制剂

PDE-5 是磷酸二酯酶(PDE)超家族成员,广泛分布于

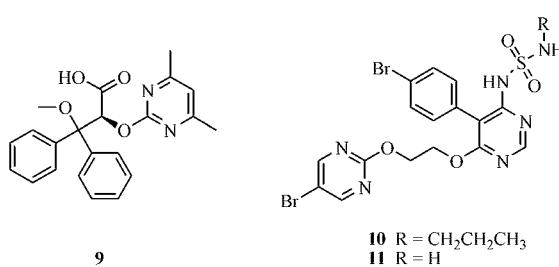
3.2.2 西他生坦 西他生坦(sitaxsentan,8)也属磺胺化合物,为选择性的 ET-A 受体拮抗剂,对 ET-A 和 ET-B 受体的亲和力之比约为 6 000:1。商品名为 Thelin 的口服西他生坦原由 Encysive 制药公司研发,2006 年在欧洲上市,用于治疗 PAH。2008 年,Pfizer 公司收购 Encysive。然而,由于西他生坦严重的肝脏损伤,Pfizer 在 2010 年 12 月份主动将该药撤出市场,所有相关研究也已被终止。

3.2.3 安倍生坦 安倍生坦(ambrisentan,9)是羟基丙酸衍生物,被认为是选择性的 ET-A 受体拮抗剂,与 ET-A 和 ET-B 的亲和力之比为 100:1。安倍生坦分别于 2007、2008 年在美国和欧洲上市(商品名分别为 Letairis 和 Voliris)。每天只需口服 1 次,可持续改善 6MWD 和呼吸困难症状,且具有良好的耐受性,与其他药物发生相互作用的风险也低^[28]。

安倍生坦在肝脏毒性方面明显优于波生坦和西他生坦。一项由 202 例 PAH 患者参加的临床试验发现,服用安倍生坦 12 周,患者转氨酶异常的发生率为零,而 6MWD 及生存质量均有显著提高。另一项涉及 383 例 PAH 患者的临床试验同样表明,服用安倍生坦 1 年,仅有 2.1% 患者出现转氨酶升高,且 1 年存活率高达 95%,主要不良反应为外周水肿和头痛。Oudiz 等^[29]研究发现,PAH 患者即使服用安倍生坦 2 年,转氨酶异常的发生率仍然非常低。

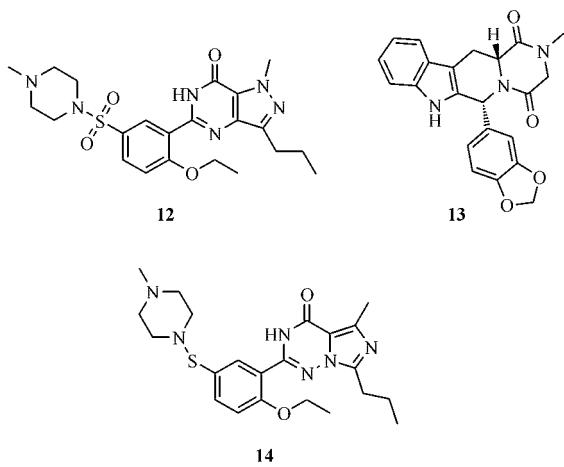
本课题组对安倍生坦进行了结构改造,合成了一系列新颖的活性较好的化合物,尤其是将安倍生坦结构中的甲氧基替换成氰基的化合物,其对由内皮素诱导的兔胸主动脉环收缩的抑制活性与安倍生坦相当,深入的研究正在进行中^[30]。

3.2.4 马西替坦 马西替坦(macitentan,10)是 Actelion 医药公司的在研药物。马西替坦为双重内皮素受体拮抗剂,安全性和耐受性良好,药物-药物相互作用的风险也较小。此外,因具有良好的组织渗透性,其组织靶向性优于其他内皮素受体拮抗剂。马西替坦在体内主要代谢为 ACT-132577(11)而起效^[31]。最近完成的Ⅲ期临床试验显示,与安慰剂相比,服用马西替坦 10 mg 剂量的 PAH 患者其疾病恶化的可能性降低 45%^[32]。



人体各组织,尤以阴茎海绵体和肺部最丰富,其功能为使 cGMP 水解成 GMP 而失活。cGMP 是体内 NO 信号通路的

第二信使,细胞内 cGMP 浓度升高可抑制细胞外钙离子内流,发挥舒张血管的作用^[33]。抑制 PDE-5 的活性,可减少 cGMP 的降解而使得细胞内 cGMP 的浓度增加,发挥 NO 舒张血管和抑制细胞增殖的作用。PDE-5 抑制剂西地那非(sildenafil,12)、他达那非(tadalafil,13)和伐地那非(vardenafil,14)等原被 FDA 批准用于治疗男性勃起功能障碍(ED),由于观察到 PDE-5 在 PAH 患者肺部的表达上调,引发人们开始关注 PDE-5 抑制剂在 PAH 治疗中的应用。目前,西地那非和他达那非已在多个国家上市,用于治疗 PAH,伐地那非正在研究当中。



3.3.1 西地那非 西地那非(sildenafil,12)是被批准用于治疗 PAH 的首个 PDE-5 抑制剂。2005 年,美国 FDA 批准 Pfizer 制药公司的西地那非用于 PAH 的治疗,商品名 Revatio,以区别于治疗 ED 的 Viagra。2009 年,其注射剂型也被 FDA 批准,用于暂时不能口服西地那非的 PAH 患者。口服西地那非的体内半衰期约 4 h,扩张血管作用的达峰时间为 60 min。经肝脏代谢,其中 75% 由 CYP3A4 酶代谢为活性比西地那非弱的 N-去甲基产物,其余则由 CYP2C9 代谢^[34]。西地那非在 PAH 动物模型和 PAH 患者身上均表现出了可选择性降低肺血管阻力的作用。Wilkins 等^[35]的比较研究表明,西地那非在心功能和运动能力方面的作用与波生坦相当。

西地那非的不良反应主要有两类:①由扩张血管作用引起的头痛、潮红、鼻充血、消化系统紊乱(如消化不良、恶心)、肌痛等,多为暂时性的,且与剂量有关;②对 PDE-6 抑制引起的对光敏感性增加、视物模糊等视觉障碍^[36]。

3.3.2 他达那非 他达那非(tadalafil,13)原为 ED 治疗药物(Cialis®),2008 年美国礼来公司将他达那非用于 PAH 治疗的商业拓展权出售给联合治疗公司。2009 年,FDA 批准他达那非在美国用于 PAH 的治疗,商品名 Adcirca。他达那非用于 PAH 治疗时 1 天只需口服 1 次,它在体内半衰期长达 17.5 h,比西地那非作用时间更长,服药后扩张血管作用的达峰时间为 75~90 min^[34]。他达那非在肝脏代谢

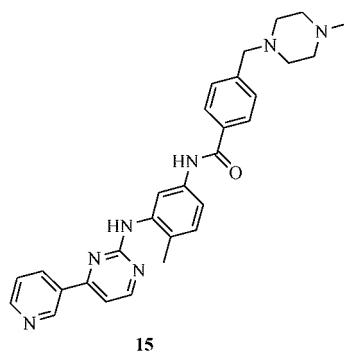
为无活性形式。

一项含有 405 例 PAH 患者的临床试验表明,接受他达那非治疗的患者其临床恶化的时间得到明显延迟^[36]。Wrishko 等^[37]研究发现,同时服用波生坦及他达那非会降低后者的血药浓度达 40%,表明波生坦与他达那非存在一定的药物间相互作用。他达那非的不良反应与西地那非类似。

3.4 酪氨酸激酶抑制剂

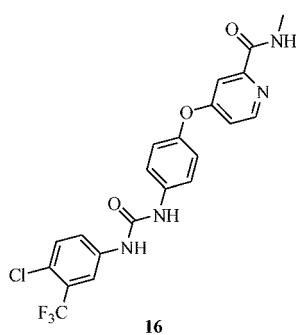
越来越多的研究表明 PAH 具备肿瘤的某些特征,如细胞增殖/凋亡失衡、糖酵解作用增强等^[38]。研究发现 PAH 患者肺中血小板衍生生长因子(PDGF)及其酪氨酸激酶受体(PDGFR)的水平升高,在已发生丛状样病变的 PAH 患者肺中,血管内皮生长因子(VEGF)的水平也升高^[39]。PDGF、VEGF 等生长因子作为强的促有丝分裂物质,可通过跨膜的酪氨酸激酶受体激活下游的增殖信号通路,导致细胞增殖、迁移及抗凋亡,从而促进血管重构。因此,人们将对抗肿瘤的抗增殖策略应用于对抗 PAH 中。

3.4.1 伊马替尼 伊马替尼(imatinib,15)是具口服活性的 Bac-Alb 酪氨酸激酶抑制剂,最初作为抗肿瘤药物(Gleevec®),主要针对慢性骨髓白血病及 c-Kit 阳性的胃肠道癌,进一步研究发现伊马替尼也是 PDGFR 酪氨酸激酶的抑制剂。近年来,人们开始关注伊马替尼在 PAH 治疗中的潜力。据报道,一些严重 PAH 患者用伊马替尼辅助治疗后,临床症状及血流动力学状态均得到改善^[40]。2010 年,Ghofrani 等^[41]也观察到伊马替尼能改善对既有治疗方案响应不足 PAH 患者的血流动力学状态,尽管未能对 6WMD 的提高表现出优势。目前,一项涉及 200 多例 PAH 患者的Ⅲ期临床试验已经完成,结果有待公布^[42]。然而,即便伊马替尼有望正式获批用于 PAH 治疗,仍值得注意的是长期使用伊马替尼可能存在左心室失常及心力衰竭的风险。

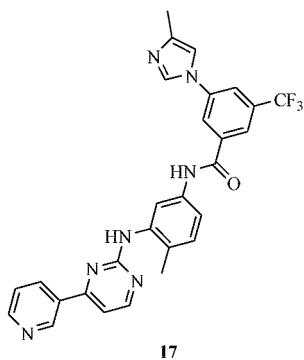


3.4.2 索拉菲尼 索拉菲尼(sorafenib,16)为多激酶抑制剂,属拜耳公司产品(Nexavar®),原用于治疗晚期肾癌和肝癌。最近研究发现,索拉菲尼可减轻 PH 小鼠的肺血管重构及改善血流动力学状态。一项为期 16 周、涉及 12 例 PAH 患者的临床试验表明,口服索拉菲尼可提高患者运动能力,常见不良反应为中度皮疹及脱发。值得注意的是在

治疗过程中患者存在心输出量减少的情况,提示该类药物可能对心脏有一定影响^[43]。目前,芝加哥大学联手拜耳公司正在就索拉菲尼用于治疗 PAH 的安全性及耐受性进行 I 期临床评估^[44]。



3.4.3 尼罗替尼 尼罗替尼(nilotinib, **17**)是新一代酪氨酸激酶抑制剂,为诺华制药公司产品(Tasigna®),原用于治疗对伊马替尼耐药的慢性骨髓白血病。尼罗替尼同样存在心脏风险,但较伊马替尼安全性更高,且动物实验表明,前者降低右心室压力的作用比后者强。最近研究表明,尼罗替尼强烈抑制 PAH 大鼠肺动脉平滑肌细胞中血小板衍生生长因子(PDGF)诱导的 Stat3、Akt 和 Erk1 磷酸化,从而减少 PDGF 诱导的细胞增殖、细胞周期基因调节和转移,有效缓解肺动脉血管重构^[45]。目前,诺华公司正在进行Ⅱ期临床试验,评估尼罗替尼治疗 PAH 的有效性、安全性及耐受性^[46]。同时,Cleveland Clinic 临床基地也在就 PAH 经尼罗替尼治疗后肥大细胞祖细胞和肥大细胞生物标记物进行检测,研究这些标记物是否与尼罗替尼的临床应答相关,以确定尼罗替尼对 PAH 的临床效果是否受益于对肥大细胞祖细胞增殖、转移和分化的抑制^[47]。

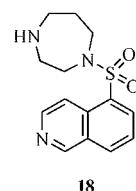


3.5 Rho 激酶抑制剂

法舒地尔(fasudil, **18**)作为第 1 代 Rho 激酶抑制剂,在 PAH 动物模型上表现出了良好的治疗作用。在 PAH 患者身上,静脉滴注与吸入法舒地尔均表现出了良好的扩张血管作用^[48]。Mouchaers 等^[49]以野百合碱诱导的 PAH 小鼠为研究对象,比较法舒地尔、波生坦及西地那非的作用,发现法舒地尔降低肺血管阻力的作用最强,且只有法舒地尔

能显著性降低右心室收缩压、肺动脉压及减少肺动脉壁的重构,表明 Rho 激酶抑制剂对 PAH 的作用可能比波生坦和西地那非更强。因而,该类抑制剂有望成为治疗 PAH 的新型药物。

羟基-3-甲基-戊二酰辅酶 A(HMG Co-A)抑制剂(他汀类药物)也能抑制 Rho-GTPases/Rho 激酶通路,该类药物曾在 PAH 动物模型中表现出良好的作用。然而,随一项涉及 43 例 PAH 患者的小型随机试验中,代表药物辛伐他汀却并没表现出持久的治疗作用^[50]。另一项由 NIH 发起的 ASA-STAT 实验也因辛伐他汀没有达到预期的效果而终止^[51]。

**18**

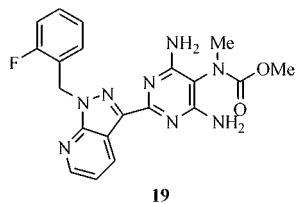
3.6 血管活性肠肽

研究发现血管活性肠肽(VIP)基因敲除的小鼠表现出肺血管重构及严重的 PH,而在给予 VIP 治疗后其血管病变和右心室重构均有所改善。一项涉及 20 例 PAH 患者的研究表明吸入 VIP 的类似物——阿肽地尔(Aviptadil)可引起短暂的肺血管扩张以及每搏输出量和混合静脉血氧饱和度增加的现象^[52]。然而一项涉及 56 例 PAH 患者的Ⅱ期临床研究却发现,对已服用 ET-1 受体拮抗剂、PDE-5 抑制剂或二者兼有的患者给予阿肽地尔治疗后,患者的运动能力及血流动力学状态并无明显改善^[53]。因此,阿肽地尔对 PAH 的治疗效果存在争议性,能否用于 PAH 治疗仍需进一步深入研究。

3.7 可溶性鸟苷酸环化酶激动剂

PDE-5 抑制剂在 PAH 中的成功应用使人们开始寻找作用于 NO 信号通路的其他药物。可溶性鸟苷酸环化酶(sGC)是该信号通路中除 PDE-5 外的另一关键酶,sGC 在 NO 的激活下催化 GMP 转化成 cGMP,产生血管扩张、抑制血小板聚集和平滑肌细胞增殖的效应。

Riociguat(**19**)是由德国拜耳公司研发的首个 sGC 激动剂,它不依赖体内 NO 水平,直接激活 sGC,并且能增强 sGC 对低水平 NO 的敏感性。由于 PAH 患者体内 NO 水平降低,因此相对于依赖体内 NO 水平的 PDE-5 抑制剂而言,Riociguat 的作用效果更强^[54]。早期动物实验表明 Riociguat 可改善小鼠的野百合碱诱导的 PAH 症状^[55]。一项涉及 75 例 PAH 患者的Ⅱ期临床试验表明,患者口服 Riociguat 12 周后心肺功能、运动能力和血流动力学情况都有明显改善^[56]。目前,另一项涉及 462 例 PAH 患者的Ⅲ期临床试验已经结束,该试验旨在评价 Riociguat 的有效性和安全性,试验结果有待公布^[57]。

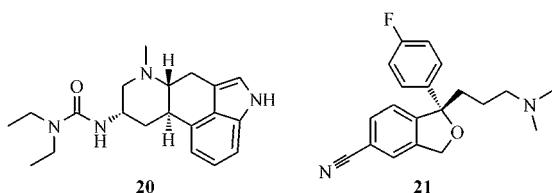


3.8 肾上腺髓质素

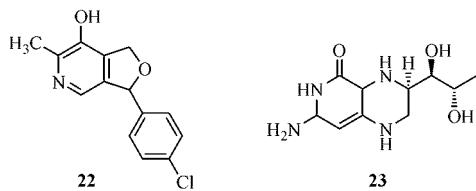
肾上腺髓质素是一种具强烈扩张血管作用的多肽,同时也能抑制平滑肌细胞的增殖。肾上腺髓质素主要由血管内皮细胞和平滑肌细胞分泌,通过激活cAMP、NO-cGMP等信号通路发挥作用。研究表明,静脉滴注或吸入肾上腺髓质素均可降低PAH患者的肺血管阻力。肾上腺髓质素有望成为新型的PAH治疗药物^[58]。

3.9 其他在研药物

特麦角脲(terguride,20)原由瑞士Ergonex医药公司研发,可调控体内多种神经递质如多巴胺、5-羟色胺等与各自受体的相互作用。作为一种强的5-HT拮抗药物,特麦角脲能够抑制5-HT_{2A/2B}从而调控PAH的发病进程。体外试验表明,特麦角脲可剂量依赖性地抑制肺动脉平滑肌细胞的增殖和转移。目前,有关该药的Ⅱ期临床试验正在一些欧盟国家进行^[59]。艾司西酞普兰(escitalopram,21)是西酞普兰的S-对映体,为选择性的5-HT再吸收抑制剂,对5-HTT有高度亲和力。作为抗抑郁和抗焦虑药物已在美国和欧洲上市。最近,一项关于艾司西酞普兰是否对轻中度PAH患者有效的Ⅲ期临床试验已经结束,结果有待公布^[60]。



西氯他宁(cicletanine,22)可增加内皮型NO合酶的活性及增强心房利钠肽的扩血管作用。该药在欧洲一些国家被批准用于高血压的治疗。最近,该药物在PAH中的Ⅱ期临床试验宣告失败,Gilead最终决定终止其研发^[61]。沙丙蝶呤(sapropterin,6r-BH4,23)是四氢生物蝶呤(BH4)的光学纯形式。BH4是NO合酶的辅酶,在内皮NO合成中发挥重要作用。Robbins等^[62]报道沙丙蝶呤联合西地那非或内皮素受体拮抗剂治疗PAH患者8周后,患者的6MWD得到提高,且耐受性好。目前,沙丙蝶呤联合其他药物治疗PAH的Ⅰ期临床试验正在进行中^[63]。



4 总结

与上世纪90年代相比,有关PAH的研究,无论是发生机制还是药物研发等方面均取得了巨大进步。然而,至今尚未寻找到能完全治愈PAH的药物。在已上市的药物中,依前列醇是重症PAH患者的首选用药,但昂贵的价格、严重的不良反应及复杂的给药方式限制了它的应用。越来越多的临床研究表明ET-1受体拮抗剂较为安全有效,其口服给药方式较前列环素类药物更令人向往。然而不可否认的是,该类药物的多种不良反应同样限制了它的使用。另一类PDE-5抑制剂,给药方便、不良反应轻微、无需临床监控,且价格较前列环素类药物和ET-1受体拮抗剂低廉,但对于心功能IV级的严重PAH患者却束手无策。随着PAH新治疗靶点的出现,涌现出一系列新候选药物,如马西替坦、Rho激酶抑制剂、Riociguat等。相信在不久的将来,这些新型药物能够应用于临床,为PAH患者带来希望,将治愈PAH成为可能。

参考文献

- [1] Schermuly RT, Ghofrani HA, Wilkins MR, et al. Mechanisms of disease: pulmonary arterial hypertension [J]. *Nat Rev Cardiol*, 2011, **8**(8): 443–455.
- [2] Badesch DB, Raskob GE, Elliott CG, et al. Pulmonary arterial hypertension-baseline characteristics from the REVEAL registry [J]. *Chest*, 2010, **137**(2): 376–387.
- [3] Nadler ST, Edelman JD. Inhaled treprostinil and pulmonary arterial hypertension [J]. *Vasc Health Risk Manag*, 2010, **6**(1): 1115–1124.
- [4] Archer SL, Weir EK, Wilkins MR. Basic science of pulmonary arterial hypertension for clinicians: new concepts and experimental therapies [J]. *Circulation*, 2010, **121**(18): 2045–2066.
- [5] Vane J, Corrin RE. Prostacyclin: a vascular mediator [J]. *Eur J Vasc Endovasc Surg*, 2003, **26**(6): 571–578.
- [6] Kreymborg K, Uchida S, Gellert P, et al. Identification of right heart-enriched genes in a murine model of chronic outflow tract obstruction [J]. *Mol Cell Cardiol*, 2010, **49**(4): 598–605.
- [7] Crosswhite P, Sun Z. Nitric oxide, oxidative stress and inflammation in pulmonary arterial hypertension [J]. *Hypertens*, 2010, **28**(2): 201–212.
- [8] Raja SG. Endothelin receptor antagonists for pulmonary arterial hypertension: an overview [J]. *Cardiovasc Ther*, 2010, **28**(5): e65–e67.
- [9] Dupuis J, Hoeper MM. Endothelin receptor antagonists in pulmonary arterial hypertension [J]. *Eur Respir J*, 2008, **31**(2): 407–415.
- [10] Migneault A, Sauvageau S, Villeneuve L, et al. Chronically elevated endothelin levels reduce pulmonary vascular reactivity to nitric oxide [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2005, **171**(5): 506–513.

- [11] Morrell NW, Adnot S, Archer SL, et al. Cellular and molecular basis of pulmonary arterial hypertension [J]. *Am Coll Cardiol*, 2009, **54**(1S):S20–31.
- [12] Kuqathasan L, Ray JB, Deng Y, et al. The angiopietin-1-Tie2 pathway prevents rather than promotes pulmonary arterial hypertension in transgenic mice [J]. *Exp Med*, 2009, **206**(10):2 221–2 234.
- [13] Eddahibi S, Guignabert C, Barlier-Mur AM, et al. Crosstalk between endothelial and smooth muscle cells in pulmonary hypertension: critical role for serotonin-induced smooth muscle hyperplasia [J]. *Circulation*, 2006, **113**(15):1 857–1 864.
- [14] Launay JM, Hervé P, Tournous C, et al. Function of the serotonin 5-hydroxytryptamine 2B receptor in pulmonary hypertension [J]. *Nat Med*, 2002, **8**(10):1 129–1 135.
- [15] Keegan A, Morecroft I, Smillie D, et al. Contribution of the 5-HT_{1B} receptor to hypoxia-induced pulmonary hypertension: converging evidence using 5-HT_{1B}-receptor knockout mice and the 5-HT_{1B}-receptor antagonist GR127935 [J]. *Circ Res*, 2001, **89**(12):1 231–1 239.
- [16] Thenappan T, Shah SJ, Rich S, et al. Contemporary survival in patients with pulmonary arterial hypertension: a reappraisal of the NIH risk stratification equation [J]. *Eur Respir J*, 2010, **35**(5):1 079–1 087.
- [17] Safdar Z. Treatment of pulmonary arterial hypertension: the role of prostacyclin and prostaglandin analogs [J]. *Respir Med*, 2011, **105**(6):818–827.
- [18] Tapson VF, Torres F, Kermeen F, et al. Results of the FREEDOM-C study: a pivotal study of oral treprostinil for the treatment of PAH [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2009, **179**(A17):A1 040.
- [19] United Therapeutics. FREEDOM-M Trial of oral treprostinil in pulmonary arterial hypertension meets primary endpoint [EB/OL]. (2011-06-06) [2012-09-06]. <http://ir.unither.com/releasedetail.cfm?ReleaseID=582876>.
- [20] ClinicalTrials. A 16-week, international, multicenter, double-blind, randomized, placebo-controlled study of the efficacy and safety of oral UT-15C sustained release tablets in subjects with pulmonary arterial hypertension (FREEDOM-C2) [EB/OL]. (2011-05-05) [2012-09-06]. <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00887978>.
- [21] Yin N, Kaestle S, Yin J, et al. Inhaled nitric oxide versus aerosolized iloprost for the treatment of pulmonary hypertension with left heart disease [J]. *Crit Care Med*, 2009, **37**(3):980–986.
- [22] Ikeda D, Tsujino I, Sakaue S, et al. Pilot study of short-term effects of a novel long-acting oral beraprost in patients with pulmonary arterial hypertension [J]. *Circ J*, 2007, **71**(11):1 829–1 831.
- [23] Lai YJ, Pullamsetti SS, Dony E, et al. Role of the prostanoid EP4 receptor in iloprost-mediated vasodilation in pulmonary hypertension [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2008, **178**(2):188–196.
- [24] Kuwano K, Hashino A, Noda K, et al. A long-acting and highly selective prostacyclin receptor agonist pro-drug, 2-[4-[(5,6-diphenylpyrazin-2-yl) (isopropyl) amino] butoxy] -N-(methylsulfonyl) acetamide (NS-304), ameliorates rat pulmonary hypertension with unique relaxant responses of its active form, MRE-269, on rat pulmonary artery [J]. *Pharmacol Exp Ther*, 2008, **326**(3):691–699.
- [25] Simonneau G, Lang I, Torbicki A, et al. Efficacy, safety and tolerability of ACT-293987, a novel oral, non-prostandoid, prostaglandin I₂ (IP) receptor agonist; results from a phase II study in pulmonary arterial hypertension (PAH) [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2010, **181**:A2515.
- [26] ClinicalTrials. Act-293987 in pulmonary arterial hypertension [EB/OL]. (2012-08-03) [2012-09-06]. <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01106014>.
- [27] Humbert M, Segal ES, Kiely DG, et al. Results of European post-marketing surveillance of bosentan in pulmonary hypertension [J]. *Eur Respir J*, 2007, **30**(2):338–344.
- [28] Frampton JE. Ambrisentan [J]. *Am J Cardiovasc Drugs*, 2011, **11**(4):215–226.
- [29] Oudiz RJ, Galie N, Olschewski H, et al. Long-term Ambrisentan therapy for the treatment of pulmonary arterial hypertension [J]. *Am Coll Cardiol*, 2009, **54**(21):1 971–1 981.
- [30] Xia J, Song J, Zhen L, et al. Synthesis and *in vitro* evaluation of ambrisentan analogues as potential endothelin receptor antagonists [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2011, **21**(13):3 894–3 897.
- [31] Bruderer S, Hopfgartner GR, Seiberling M, et al. Absorption, distribution, metabolism and excretion of macitentan, a dual endothelin receptor antagonist, in humans [J]. *Xenobiotica*, 2012, **42**(9):901–910.
- [32] ClinicalTrials. Study of ACT-064992 on morbidity and mortality in patients with symptomatic pulmonary arterial hypertension [EB/OL]. (2012-04-30) [2012-09-06]. <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00660179>.
- [33] Buckley MS, Staib RL, Wicks LM, et al. Phosphodiesterase-5 inhibitors in management of pulmonary hypertension: safety, tolerability, and efficacy [J]. *Drug Health Patient Saf*, 2010, **2**:151–161.
- [34] Wright PJ. Comparison of phosphodiesterase type 5 (PDE5) inhibitors [J]. *Int J Clin Pract*, 2006, **60**(8):967–975.
- [35] Wilkins MR, Paul GA, Strange JW, et al. Sildenafil versus endothelin receptor antagonist for pulmonary hypertension (SERAPH) study [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2005, **171**(11):1 292–1 297.
- [36] Galie N, Brundage BH, Ghofrani HA, et al. Tadalafil therapy for pulmonary arterial hypertension [J]. *Circulation*, 2009, **119**(22):2 894–2 903.
- [37] Wrishko RE, Dingemanse J, Yu A, et al. Pharmacokinetic interaction between tadalafil and bosentan in healthy male subjects [J]. *Clin Pharmacol*, 2008, **48**(5):610–618.
- [38] Sakao S, Tatsumi K. Vascular remodeling in pulmonary arterial hypertension: multiple cancer-like pathways and possible treat-

- ment modalities [J]. *Int J Cardiol*, 2011, **147**(1):4–12.
- [39] Perros F, Montani D, Dorfmüller P, et al. Platelet-derived growth factor expression and function in idiopathic pulmonary arterial hypertension [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2008, **178**(1):81–88.
- [40] Chhina MK, Nargues W, Grant GM, et al. Evaluation of imatinib mesylate in the treatment of pulmonary arterial hypertension [J]. *Future Cardiol*, 2010, **6**(1):19–35.
- [41] Ghofrani HA, Morrell NW, Hoeper MM, et al. Imatinib in pulmonary arterial hypertension patients with inadequate response to established therapy [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2010, **182**(9):1 171–1 177.
- [42] ClinicalTrials. Imatinib in pulmonary arterial hypertension (IMPRES) [EB/OL]. (2012-08-13) [2012-09-06]. <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00902174>.
- [43] Gomberg-Maitland M, Maitland ML, Barst RJ, et al. A dosing/cross-development study of the multikinase inhibitor sorafenib in patients with pulmonary arterial hypertension [J]. *Clin Pharmacol Ther*, 2010, **87**(3):303–310.
- [44] ClinicalTrials. Sorafenib study; dosing in patients with pulmonary arterial hypertension (PAH) [EB/OL]. (2012-04-26) [2012-09-06]. <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00452218>.
- [45] Pullamsetti SS, Berghausen EM, Dabral S, et al. Role of src tyrosine kinases in experimental pulmonary hypertension [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2012, **32**(6):1 354–1 365.
- [46] ClinicalTrials. Efficacy, safety, tolerability and pharmacokinetics (PK) of nilotinib (AMN107) in pulmonary arterial hypertension (PAH) [EB/OL]. (2012-07-24) [2012-09-06]. <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01179737>.
- [47] ClinicalTrials. Biomarkers in pulmonary arterial hypertension treated with nilotinib [EB/OL]. (2012-06-08) [2012-09-06]. <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01320865>.
- [48] Fujita H, Fukumoto Y, Saji K, et al. Acute vasodilator effects of inhaled fasudil, a specific Rho-kinase inhibitor, in patients with pulmonary arterial hypertension [J]. *Heart Vessels*, 2010, **25**(2):144–149.
- [49] Mouchaers KT, Schalij I, de Boer MA, et al. Fasudil reduces monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension: comparison with bosentan and sildenafil [J]. *Eur Respir J*, 2010, **36**(4):800–807.
- [50] Wilkins MR, Ali O, Bradlow W, et al. Simvastatin as a treatment for pulmonary hypertension trial [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2010, **181**(10):1 106–1 113.
- [51] Kawut SM, Bagiella E, Lederer DJ, et al. A randomized clinical trial of aspirin and simvastatin for pulmonary arterial hypertension: ASA-STAT [J]. *Circulation*, 2011, **123**(25):2 985–2 993.
- [52] Leuchte HH, Baezner C, Baumgartner RA, et al. Inhalation of vasoactive intestinal peptide in pulmonary hypertension [J]. *Eur Respir J*, 2008, **32**(5):1 289–1 294.
- [53] Galiè N, Boonstra A, Ewert R, et al. Effects of inhaled aviptadil (vasoactive intestinal peptide) in patients with pulmonary arterial hypertension (PAH) [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2010, **181**(B16):A2 516.
- [54] Ghofrani HA, Voswinckel R, Gall H, et al. Riociguat for pulmonary hypertension [J]. *Future Cardiol*, 2010, **6**(2):155–166.
- [55] Schermuly RT, Stasch JP, Pullamsetti SS, et al. Expression and function of soluble guanylate cyclase in pulmonary arterial hypertension [J]. *Eur Respir J*, 2008, **32**(4):881–891.
- [56] Ghofrani HA, Hoeper MM, Halank M, et al. Riociguat for chronic thromboembolic pulmonary hypertension and pulmonary arterial hypertension: a phase II study [J]. *Eur Respir J*, 2010, **36**(4):792–799.
- [57] ClinicalTrials. A study to evaluate efficacy and safety of oral BAY63-2521 in patients with pulmonary arterial hypertension (PAH) [EB/OL]. (2012-06-19) [2012-09-06]. <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00810693>.
- [58] Rubin LJ. Future perspectives in pulmonary arterial hypertension [J]. *Prog Respir Res*, 2012, **41**:276–279.
- [59] Ergonex. Ergonex Pharma initiates phase II clinical trial of terguride in pulmonary arterial hypertension [EB/OL]. (2008-01-29) [2012-09-06]. <http://www.evaluatepharma.com/Universal/View.aspx?>
- [60] ClinicalTrials. Serotonin transporter inhibitor escitalopram in pulmonary hypertension [EB/OL]. (2011-02-17) [2012-09-06]. <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00190333>.
- [61] ClinicalTrials. Study of cicletanine for pulmonary arterial hypertension (PAH) [EB/OL]. (2012-08-22) [2012-09-06]. <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00832507>.
- [62] Robbins IM, Hemnes AR, Gibbs JS, et al. Safety of sapropterin dihydrochloride (6r-bh4) in patients with pulmonary hypertension [J]. *Exp Lung Res*, 2011, **37**(1):26–34.
- [63] ClinicalTrials. 6R-BH4 pulmonary arterial hypertension study [EB/OL]. (2009-04-17) [2012-09-06]. <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00435331>.