

糖皮质激素抵抗机制的研究进展

王培,刘仁慧,王秀娟*
(首都医科大学中医药学院,北京 100069)

[摘要] 糖皮质激素临床上常被用于治疗各种炎性疾病,但许多疾病都存在激素抵抗的现象。现代医学解释糖皮质激素抵抗的机制与激素代谢异常、受体基因改变、靶基因乙酰化/去乙酰化等环节有关;传统中医理论认为激素抵抗与肾阴、肾阳虚损有关。本文综述了糖皮质激素抵抗的现代和传统中医学理论的发病机制研究进展。

[关键词] 糖皮质激素;糖皮质激素抵抗;发病机制
[中图分类号] R285.5 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2011)06-0283-04

Pathogenesis Progress in Glucocorticoid Resistance

WANG Pei, LIU Ren-hui, WANG Xiu-juan*
(School of Traditional Chinese Medicine, Capital Medical University, Beijing 100069, China)

[Abstract] Glucocorticoid is an effective medicine to cure inflammatory disease in clinic, but the glucocorticoid resistance always takes place. Modern medicine thinks that the resistance has relevant with glucocorticoid metabolism, the gene change of glucocorticoid receptor and the histone acetylase and deacetylases of target gene, etc. On the other hand, Traditional Chinese medicine regards the resistance related with the yin and yang deficit of kidney. This review is to summarize the pathogenesis progress of glucocorticoid resistance in both modern medicine and traditional chinese medicine.

[Key words] glucocorticoid; glucocorticoid resistance; pathogenesis

糖皮质激素(glucocorticoid,GC)临床上常被用于治疗哮喘、肾病综合征、类风湿性关节炎等慢性炎症和自身免疫性疾病。然而,适用于GC的病人中少数病人对GC反应很差或无反应,被称为“糖皮质激素抵抗”。GC抵抗的发病机制至今仍未被阐明,本文对糖皮质激素抵抗的现代和传统中医学理论的发病机制研究进展进行综述。

1 现代医学关于GC抵抗的分子机制研究进展

GC经细胞膜被动转运进入靶细胞,必须与胞浆内糖皮质激素受体(glucocorticoid receptor,GCR)结合后进入细胞核才能发挥其作用,影响GC,GCR及二者之间结合作用的诸多

因素均可能与GC抵抗的发生有关。

1.1 GC可利用度降低 GC可利用度降低与多耐药基因(MDR-1)的编码产物P-糖蛋白(P-gp170)有关。P-gp170是位于细胞膜上的糖蛋白,可将GC及其类似物运出细胞,导致细胞内激素浓度下降,产生激素抵抗。谢腾芳^[1]发现原发性肾病综合征(idiopathic nephritic syndrome,INS)耐药患儿肾组织P-gp170表达较肾病综合征(NS)敏感患儿及正常儿童明显升高;Tsujimura等^[2]在风湿性关节炎(RA)患者中发现了相似的现象,并且用P-gp拮抗剂对顽固性RA药物抵抗有缓解作用。

1.2 GCR 陪伴蛋白——热休克蛋白(heat shock protein,HSP)-90异常 HSP-90具有与激素受体结合、调节其空间构型、增加与配体的亲和力、跨膜运转已结合的受体进核等功能。欧阳涓等^[3]对INS研究显示,激素抵抗型INS患者HSP-90表达高于激素敏感型INS患者。进一步研究发现^[4],HSP-90的增加会降低GCR的由核内转回胞浆的速度,使GCR在核内滞留时间延长,GC进入胞核减少,可能是导致GC抵抗的原因之一。HSP-90的重要辅助因子p23可与HSP-90结合,具有稳定HSP-90-GCR复合体并影响GCR配

[收稿日期] 2010-11-16
[基金项目] 国家自然科学基金项目(30801494);北京市优秀人才项目(20081D0501800209)
[第一作者] 王培,硕士研究生,Tel: 010-83911624, E-mail: wangpei19871022@yahoo.com.cn
[通讯作者] *王秀娟,教授,研究临床中药学,Tel: 010-83911624, E-mail: wxj0517@sina.com

体结合性的作用^[5]。在缺乏组蛋白脱乙酰基酶 6 (HDAC6) 的细胞中^[6],乙酰化的 HSP-90 导致其与 p23 的解离,乙酰化的 HSP-90 积聚,依赖 HSP-90 的 GCR 配体结合、核转运、转录等活动都产生缺陷。

1.3 GCR 基因水平异常 GCR 基因命名为 NR3C1,其外显子 9 有 2 个剪接变体,最后翻译为 2 个亚型 GCR α ,GCR β 。一般认为 GCR α 活化后产生经典的激素效应,而 GCR β 因不具备与激素结合的能力,不产生激素抗炎效应,所以 GCR β 一直被归类为 GCR α 的“内源性拮抗剂”。Xu 等^[7]研究发现,剪接因子 SRp30c 可刺激正常人中性粒细胞 GCR pre-mRNA 的选择性剪接途径,从而刺激 GCR β 生成增多。杨昊等^[8]对 GC 抵抗患者的研究显示,GCR β mRNA 和 SRp30c mRNA 均显著高于正常组和 GC 敏感型患者,且 SRp30c mRNA 表达水平与 GCR β mRNA 表达水平呈正相关。也有学者发现^[9],Hela 细胞中 SRp40 以细胞特异性的方式促进 GCR 外显子 9 在剪接时对 9 α 的“跳跃”以及 9 β 的保留,导致选择性剪接优势呈现由 GCR α 向 GCR β 的逆转。

GCR 基因水平异常亦与其基因突变有关。Ruiz 等^[10]发现了 GCR 基因 2 个新的突变 R477H 和 G679S,其中 R477H 突变使 GCR 失去转录激活功能,G679S 突变使 GCR 与 GC 的亲和力下降 50%。进一步研究显示^[11-12],GCR 基因 R477H 和 G679S 的多态性与激素抵抗性哮喘的产生有关,其等位基因 A 可能是激素抵抗产生的易感基因。ER22/23EK 是发生 GC 抵抗的一个 GCR 基因多态位点,与第 2 外显子 22 和 23 密码子处相隔 1 个碱基的 2 个突变点相关,该两处均为 G>A 突变,A 等位基因降低 GC 的敏感性^[13]。

1.4 丝裂原活化蛋白激酶家族 目前研究证实,丝裂原活化蛋白激酶家族 (MAPKs) 中的 c-Jun 氨基末端激酶 (JNK)、丝氨酸/酪氨酸激酶 (p38 MAPKs)、细胞外信号调节蛋白激酶 (ERK) 与 GC 抵抗有关。JNK 可磷酸化大鼠丝氨酸 246 位 (Ser246) (相当于人类 Ser226),导致 GCR 胞内转录活性明显降低^[14];而 JNK 磷酸化的人类 Ser226 可使 GCR 外运出核增多,阻碍 GCR 介导的基因转录,提示 JNK 是 GCR 转录活性降低的原因^[15]。GC 抵抗型患者肺泡巨噬细胞中 p38 MAPKs 活性明显增强^[16],对 IL-2,IL-4 诱导的 GC 抵抗细胞模型使用 p38 MAPKs 拮抗剂后,GC 抵抗情形明显好转^[17]。微生物超抗原诱导的 T 细胞 GC 抵抗是由于活化 ERK 通路出现 GCR 磷酸化导致的^[18];在儿童 INS 激素耐药的研究中也发现,无论在体内还是体外,GC 抵抗与显著持续的 ERK 活化有关,同时 ERK 抑制剂可以逆转 GC 抵抗的发生^[19]。

1.5 细胞因子信号途径 Webster 等^[20]发现使用 TNF- α 处理培养的 HeLaS3 细胞,可使 GCR α mRNA 的表达增加 1.5 倍,GCR β mRNA 的表达增加 2.0 倍;用 TNF- α 或 IL-1 处理 CEMC7 淋巴细胞也得到类似的结果。Brode 等^[21]对 EOS 的研究发现,IL-5 可以抑制 GC 引起的细胞凋亡,与获得性 GC 抵抗有一定关联。在对细胞因子导致的激素抵抗体外模型中,Omar 等^[22]发现干扰素调节因子 (interferon regulatory

factor 1,IRF-1) 显著增多,并推测 IRF-1 可能通过抑制 GCR α 的活性产生 GC 抵抗。魏民等^[23]验证了 IL-1 β 可以引起体外分离 PBMCs 中 GCR 表达减少,并证明了其机制与 p38 MAPKs 和 JNK 信号转导通路有关。GC 抵抗型哮喘患者 IL-2,IL-4 明显增多,实验证明 IL-2,IL-4 共同使用或单独使用,以及单独使用 IL-13 可导致 PBMCs 中 GCR 亲和力和降低,GCR β 表达增加,而该机制可能与 p38 MAPKs 介导的 GCR 磷酸化有关^[17]。

1.6 转录因子的影响 在 GC 抵抗疾病的研究中,转录因子核因子- κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 和活化蛋白-1 (activator protein-1, AP-1) 增多,可使 GCR 与糖皮质激素反应元件 (GCRE) 结合减少,抗炎蛋白合成减少。此外,NF- κ B, AP-1 和 GCR 相互竞争转录的共激活因子 CBP/p300,竞争结果使得 GCR 和 NF- κ B 及 AP-1 相互抑制对方的转录活性^[24]。

1.7 组蛋白乙酰、去乙酰化程度降低 激活的 GCR 可直接和转录辅激活因子 CBP 以及其他共激活因子结合,抑制组蛋白乙酰化酶 (histone acetylase, HAT) 活性,阻止组蛋白的进一步乙酰化,同时募集共抑制因子组蛋白去乙酰化酶 (histone deacetylases, HDAC),阻止炎性基因转录。因此,组蛋白乙酰/去乙酰化程度的变化可能是产生 GC 抵抗的原因之一。Matthews 等^[25]在对 GC 抵抗型哮喘的研究中发现,某些患者 GC-GCR 复合物能够正常进入细胞核,但是组蛋白 H4K5 乙酰化程度明显降低。Ito 等^[26]发现慢性阻塞性肺疾病 (COPD) 患者随着病情加重,导致 HDAC 活性下降,使激素抗炎作用减弱,而 HAT 活性并无明显改变。在抵抗型哮喘患者 PBMCs 中也有相似发现,GC 抵抗患者 HDAC 活性显著降低^[27]。

2 传统中医学理论关于 GC 抵抗的病机研究进展

GC 抵抗是由于临床滥用 GC 或个体自身原因而对现代药物“GC”产生的耐药抵抗反应,因此中医古籍没有 GC 抵抗的相关记载,现代学者几乎均将 GC 抵抗的病因归结为“药毒”,认为激素类似于“纯阳壮火”药物,大量长期作用于人体,盛阳耗损人体阴液,出现腰膝酸软、手足心热、口渴、盗汗、耳鸣、小便短赤、大便干燥等阴虚火旺之证。伴随激素的减量,产生的助阳作用亦减弱,加之迁延日久,阴损及阳,出现肾阳亏虚之证,表现为形寒怕冷、肢冷便溏等阳虚证,由此可见 GC 抵抗与肾阴虚和肾阳虚有密切关系。虽然由于原发病的不同,激素抵抗也可存在其他脏腑功能失调的病机,但肾虚是其主要病机^[28-29]。

中医治疗 GC 抵抗类疾病的文献报道主要集中于激素抵抗型哮喘和激素抵抗型肾病综合征。邵长荣^[30]认为,禀赋不足、肾气虚衰、痰浊内蕴于肺,是激素抵抗型哮喘的发病机理。更多学者将激素使用分为 3 个时期分别进行辨证,即激素撤停前、撤停中、撤停后。激素撤停前,多表现为阴虚火旺,痰热内蕴,升降失司;激素撤停中多表现为阴阳两虚,寒热错杂,痰瘀互结;激素撤减后,多表现为肾阳亏虚,气血失

和,气机不畅^[31]。武维屏^[32]认为,激素抵抗型哮喘总的病机特点为虚实夹杂、寒热兼见、阴阳俱损、气血同病。虚以气虚、阴虚、气阴两虚、阴阳俱虚为多见,实则以络瘀、痰阻、风伏、气滞为关键。在激素撤减过程中,存在着撤停前阴虚火旺证候为主,撤停中阴阳两虚证候为主,撤停后肾阳亏虚证候为主的病机演变规律,而痰瘀互阻则贯穿整个激素撤减过程的始终。对于激素抵抗型肾病综合症的中医辨证分型中,以气阴两虚和肝肾阴虚者居多;兼证以瘀血及湿热者居多。原因可能与疾病特点以及患者服用大剂量激素有关。慢性肾脏病绵长的病理过程,一方面耗伤正气,另一方面又因虚致实,加之药物的毒副作用,以致病理产物潴留^[33]。

综上所述,在治疗炎症性疾病的现代方法中,GC 是应用广泛的抗炎药物,但由于个体差异和长时间给药造成的 GC 抵抗为临床用药带来了很大困难。近年来中药越来越多的用于辅助治疗激素依赖性疾病,由于中医重在辨证论治,因此对于不同疾病的激素抵抗或者相同疾病不同阶段的激素抵抗,中医药具有个体性和针对性的优点,是一个极具研究价值的方向。尽管现阶段针对中医药防治机制的研究还很少,也不够深入,但相信随着中药越来越多的用于糖皮质激素抵抗类疾病,其疗效也逐渐被认可,其作用机制将逐渐被人们所认知。糖皮质激素抵抗类疾病未来的临床治疗不是单纯的应用西药或者中药,而是取长补短,中西药联合应用,中药的介入为研究 GC 抵抗提供了新的方向。

[参考文献]

- [1] 谢腾芳. P-糖蛋白 170 在儿童原发性肾病综合征肾脏组织的表达及意义[D]. 湖南:中南大学, 2007.
- [2] S Tsujimura, K Saito, M Nawata, et al. Overcoming drug resistance induced by P-glycoprotein on lymphocytes in patients with refractory rheumatoid arthritis[J]. *Ann Rheum Dis*, 2008, 67: 380.
- [3] 欧阳涓, 姜悦. 热休克蛋白 90 在糖皮质激素抵抗中的作用研究[A]. 中国生物化学与分子生物学会临床应用生物化学与分子生物学分会成立大会暨第一届临床应用生物化学与分子生物学学术大会[C]. 2005.
- [4] Katsuya Tago, Fujiko Tsukahara, Mitsuhide Naruse, et al. Regulation of nuclear retention of glucocorticoid receptor by nuclear Hsp90[J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2004, 213: 131.
- [5] Yoshihiro Morishima, Kimon C Kanelakis, Patrick J M Murphy, et al. The Hsp90 cochaperone p23 is the limiting component of the multiprotein Hsp90/Hsp70-based chaperone system *in vivo* where it acts to stabilize the client protein Hsp90 complex[J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(49): 48754.
- [6] Jeffrey J Kovacs, Patrick J M Murphy, Stéphanie Gaillard, et al. HDAC6 Regulates Hsp90 acetylation and chaperone-dependent activation of glucocorticoid receptor[J]. *Mol Cell*, 2005, 18: 601.
- [7] Qing X u, Donald Y M Leung, Kevin O Kisich. Serine-arginine-rich protein p30 directs alternative splicing of glucocorticoid receptor pre-mRNA to glucocorticoid receptor β in neutrophils[J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(29): 27112.
- [8] 杨昊, 刘荣玉. 糖皮质激素敏感型与抵抗型患者 GR α 、GR β 及 SRp30c mRNA 表达水平[J]. *中华内科杂志*, 2006, 45(3): 223.
- [9] 唐辰虹. 剪接因子 SR 蛋白和 hnRNPA1 对糖皮质激素受体外显子 9 选择性剪接调控的影响[D]. 合肥: 安徽医科大学, 2006.
- [10] Mini Ruiz, Ulrika Lind, Mats Gäfvels, 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.
- [11] 赵峰, 蔡累, 遆新宇, 等. 糖皮质激素受体基因 R477H 多态性与激素抵抗型哮喘的相关性[J]. *临床肺科杂志*, 2009, 14(5): 597.
- [12] 赵峰, 遆新宇, 蔡累, 等. 糖皮质激素受体基因 G679S 多态性与激素抵抗型哮喘的相关性[J]. *第四军医大学学报*, 2009, 30(6): 541.
- [13] Henk Russcher, Elisabeth F C van Rossum, Frank H de Jong, et al. Increased expression of the glucocorticoid receptor-A translational isoform as a result of the ER22/23EK polymorphism[J]. *Mol Endocrinol*, 2005, 19(7): 1687.
- [14] Inez Rogatsky, Susan K Logan, Michael J Garabedian. Antagonism of glucocorticoid receptor transcriptional activation by the c-Jun N-terminal kinase[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95: 2050.
- [15] Mitoh, M Adachi, H Yasui, et al. Nuclear export of glucocorticoid receptor is enhanced by c-Jun N-Terminal kinase-mediated phosphorylation[J]. *Mol Endocrinol*, 2002, 16(10): 2382.
- [16] P Bhavsar, M Hew, N Khorasani, et al. Relative corticosteroid insensitivity of alveolar macrophages in severe asthma compared with non-severe asthma[J]. *Thorax*, 2008, 63: 784.
- [17] Elvis Irusen, John G Matthews, Atsushi Takahashi, et al. P38 Mitogen-activated protein kinase-induced glucocorticoid receptor phosphorylation reduces its activity: Role in steroid-insensitive asthma[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2002, 109: 649.

[18] Ling-bo Li, Elena Goleva, Clifton F Hall, et al. Superantigen-induced corticosteroid resistance of human T cells occurs through activation of the mitogen-activated protein kinase kinase/extracellular signal-regulated kinase (MEK-ERK) pathway [J]. J Allergy Clin Immunol, 2004, 114: 1059.

[19] 仇丽茹, 周建华, 王凤玉. 细胞外信号调节激酶通路在儿童原发性肾病综合征激素耐药中的作用机制探讨[J]. 临床肾病杂志, 2008, 8(9): 408.

[20] Jeffrey C Webster, Robert H Oakley, Christine M Jewell, et al. Proinflammatory cytokines regulate human glucocorticoid receptor gene expression and lead to the accumulation of the dominant negative β isoform: A mechanism for the generation of glucocorticoid resistance [J]. Pro Natl Acad Sci USA, 2001, 98(12):6865.

[21] Brode S, Farahi N, Cowburn A S, et al. Interleukin-5 induces glucocorticoid resistance in human eosinophils [J]. Thorax, 2009, 64: A42.

[22] Omar Tliba, Gautam Damera, Audreesh Banerjee, et al. Cytokines induce an early steroid resistance in airway Smooth muscle cells[J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2008, 38: 463.

[23] 魏民. 白介素-1 导致糖皮质激素抵抗及其信号转导机制的初步研究[D]. 广州:第一军医大学, 2005.

[24] Peter J Barnes, Michael Karin. Nuclear factor- κ B: a pivotal transcription factor in chronic inflammatory diseases[J]. N Engl J Med, 1997, 336(15): 1066.

[25] John G Matthews, Kazuhiro Ito, Peter J Barnes, et al. Defective glucocorticoid receptor nuclear translocation and altered histone acetylation patterns in glucocorticoid-resistant patients [J]. J Allergy Clin Immunol, 2004, 113(6): 1100.

[26] Ito Kazuhiro, Ito Misako, Elliott W Mark, et al. Decreased histone deacetylase activity in chronic obstructive pulmonary disease [J]. N Engl J Med. 2005, 352(19): 1967.

[27] Mark Hew, Pankaj Bhavsar, Alfons Torrego, et al. Relative corticosteroid insensitivity of peripheral blood mononuclear cells in severe asthma [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2006, 174: 134.

[28] 梁文华, 崔红生, 武维屏. 中医药治疗激素依赖型哮喘研究进展 [J]. 中华中医药杂志, 2006, 21(1): 54.

[29] 于敏, 田谧, 史耀勋, 等. 中西医结合治疗激素依赖性肾病综合征研究概况 [J]. 中医药学刊, 2005, 23(9): 1608.

[30] 邵长荣. 激素依赖型哮喘的中医证治 [J]. 江苏中医药, 2007, 39(6): 3.

[31] 崔红生, 武维屏, 任传云, 等. 激素依赖型哮喘撤减激素过程中的证候学变化及其治疗特点 [J]. 中医杂志, 2005, 46(5): 371.

[32] 何丰华, 武维屏. 激素依赖型哮喘因理证治 [J]. 中国民间疗法, 2006, 14(2): 44.

[33] 曹式丽, 边晶. 激素抵抗型肾病综合征的中医证治方案探讨 [J]. 天津中医药, 2009, 26(1): 30.

[责任编辑 何伟]