

## CC趋化因子受体4及其抑制剂研究进展

孙朝晖<sup>1</sup>, 魏菊<sup>2</sup>

**[摘要]** CC趋化因子受体4(CCR4)是G蛋白偶联受体家族成员之一,由包含7次跨膜结构域的多肽链组成,表达于多种细胞或组织中。CCR4通过与其内源性配体CCL17、CCL22及CKLF1作用介导多种炎症反应,尤其在哮喘发生和发展的病理过程中起重要作用,因此可能是某些炎症性疾病、特别是哮喘的潜在治疗靶点。本文对CCR4及其抑制剂的研究进展做一综述。

**[关键词]** 趋化因子,CC;受体,趋化因子,拮抗剂;受体,G蛋白偶联;自身免疫性疾病;哮喘

**[中图分类号]** R976;R962.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-0440(2010)01-0029-03

## CC chemokine receptor 4 and its inhibitors: research advances

SUN Zhao-hui<sup>1</sup>, WE Ju<sup>2</sup>

(Department of Pharmacy, Affiliated Hospital, Chifeng College, Chifeng 024000, China;

Fangchen Traditional Chinese Medicine Hospital, Nanyang 473200, China)

**[Abstract]** CC chemokine receptor 4(CCR4), a member of G protein coupled receptor family, is consisted of a polypeptide chain containing seven-transmembrane domains and expressed on various cells and tissues. CCR4 can mediate inflammatory reaction by interacting with its ligands such as CCL17, CCL22 and CKLF1, which especially plays an important role in occurrence and development of asthma, thus it could be a potential target for treating inflammatory diseases, especially for asthma. In this paper, the research progress of CCR4 and its inhibitors is summarized.

**[Key words]** chemokine, CC; receptor, chemokine, antagonist; receptor, G protein coupled; autoimmune diseases; asthma

### 1 前言

趋化因子家族是一类由免疫或非免疫细胞分泌的一级结构相似的小分子蛋白,具有多种生物活性,在炎症和免疫反应中有重要作用,相对分子质量为8~10 ku。根据其氨基酸序列上前两个半胱氨酸的相对位置不同,可以分为4类:CXC趋化因子(CXCL),前两个半胱氨酸之间有一个非保守氨基酸相隔;CC趋化因子(CCL),前两个半胱氨酸相邻;C趋化因子(CL),只有第2和第4个为半胱氨酸;CX<sub>3</sub>C趋化因子(CX<sub>3</sub>CL),前两个半胱氨酸被其他3个非保守氨基酸隔开。目前已发现28种CCL、16种CXCL、2种CL和1种CX<sub>3</sub>CL,其相应的G-蛋白偶联受体有:10种CXC趋化因子受体(CXCR)、6种CC趋化因子受体(CCR)、1种C趋化因子受体(CR)和1种CX<sub>3</sub>C趋化因子受体(CX<sub>3</sub>CR)<sup>[1]</sup>。研究发现,趋化因子及其受体参与体内许多重要的生理和病理效应,并与炎症、肿瘤、自身免疫性疾病、变态反应、艾滋病等疾病相关。本文主要阐述CCR4及其抑制剂的研究进展。

### 2 CCR4

CCR4是一种由CCR4基因编码的G蛋白偶联受体,近来被命名为CD194,广泛表达于星形胶质细胞、小胶质细胞、结肠细胞、成骨细胞、破骨细胞、嗜碱性粒细胞、嗜酸性粒细胞、巨噬细胞、肥大细胞、单核细胞、中性粒细胞、NK细胞、血小板、树突状细胞和T细胞中。在Th2细胞上,CCR4呈高表达,但其功能与表达不相关<sup>[2]</sup>。血液中许多记忆性T淋巴细胞都表达CCR4,成人霍奇金淋巴瘤的Reed-Sternberg细胞和Sezary综合征的T细胞也有CCR4的表达<sup>[3]</sup>。

#### 2.1 CCR4的功能性配体

CCR4的内源性配体主要包括下列几种CC类趋化因子:(1)CCL2,又称单核细胞趋化蛋白1(MCP-1),其基因位于人17号染色体,能够趋化单核细胞、记忆性T细胞和树突状细胞向感染部位的募集,在成骨细胞和破骨细胞都有表达,并在人破骨细胞的分化过程中起重要作用。CCL2还能引起嗜碱性粒细胞和肥大细胞的脱颗粒。(2)CCL17,又称胸腺活化调节趋化因子(TARC),其基因位于人16号染色体,在胸腺中表达,但只短暂地存在于植物血凝素刺激的外周血单核细胞中。该趋化因子与CCR4特异性结合并诱导T细胞的趋化作用。(3)

作者简介:孙朝晖,女,副主任药师,研究方向:中蒙药药理学

作者单位:1. 024000 赤峰,赤峰学院附属医院药剂科(孙朝晖);2.

473200 南阳,河南省方城县中医院(魏菊)

通讯作者:孙朝晖,E-mail:fsyysy@163.com

CCL22, 又称巨噬细胞源趋化因子(MDC), 在人体中由位于16号染色体的 *CCL22* 基因编码, 由树突状细胞和巨噬细胞分泌产生, 通过与细胞表面受体如 CCR4 结合, 对 T 淋巴细胞、B 淋巴细胞和树突状细胞的分化、发育、增殖和定位起重要的调控作用。(4) 趋化素样因子 1 (chemokine-like factor 1, CKLF1) 也是 CCR4 的功能性配体之一, 是一种多功能细胞因子, 与 CC 家族趋化因子在相邻两个半胱氨酸附近有数个关键氨基酸相同。CKLF1 对人中性粒细胞、淋巴细胞和单核细胞有明显的趋化活性。(5) CCR4 的内源性配体还有 CCL4 (MIP-1) 和 CCL5 (RANTES)。

## 2.2 CCR4 与相关疾病

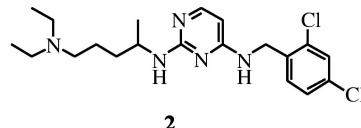
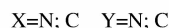
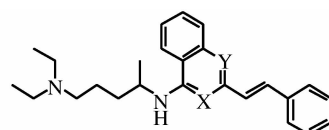
CCR4 与趋化因子 CCL2、CCL17、CCL22 和 CKLF-1 结合, 参与许多生理和病理过程。研究表明, CCR4 在人类过敏性皮炎、类风湿性关节炎、系统性红斑狼疮等自身免疫性疾病和糖尿病等发病时表达量明显增加, 提示 CCR4 在免疫性疾病中起着重要作用。通过 CCR4 可使 CCL22 和 CCL17 激活血小板, 说明 CCR4 可能在血栓性疾病中也发挥重要作用。慢性阻塞性肺炎、慢性支气管炎和哮喘等肺部疾病的肺泡和支气管上皮细胞表面也有 CCR4 的高表达。不表达 CCR4 的小鼠可正常生长, 其脾细胞和胸腺细胞对 CCR4 配体 CCL17 和 CCL22 不产生应答, 其 Th2 细胞的分化也正常, 但这种小鼠对细菌脂多糖(LPS)的反应性明显降低, LPS 处理后血中的肿瘤坏死因子(TNF)- $\alpha$ 、白细胞介素(IL)-1 $\beta$  和巨噬细胞炎性蛋白(MIP)-1 $\alpha$  明显减少。在慢性心脏移植排斥模型中, CCR4 缺陷小鼠表现出生存期延长<sup>[4,5]</sup>。

## 3 CCR4 受体抑制剂

### 3.1 嘧啶类似物

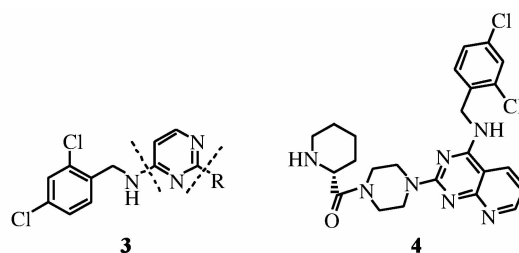
CCR4 在 CD4<sup>+</sup> 胸腺细胞向胸腺的迁移以及穿过胸腺的过程中起着重要作用, 此过程也是 T 细胞成熟和分化的一部分, CCR4 抑制剂可能阻止 CD4<sup>+</sup> Th2 细胞向炎症部位的募集, 可能对哮喘、风湿性关节炎和牛皮癣起治疗作用。Purandare 等<sup>[6]</sup> 用 CCR4/MDC 结合试验筛选出了几个苗头化合物(1), 这些化合物对 CCR4 有一定的抑制活性, 但细胞毒性较大, 其 IC<sub>50</sub> 值为 3.6 ~ 6.1  $\mu\text{mol/L}$ , 而细胞毒性 CC<sub>50</sub> 为 3 ~ 5  $\mu\text{mol/L}$ 。通过结构优化发现了一个活性更强且细胞毒性较小的化合物 2, 其 IC<sub>50</sub> 值为 0.27  $\mu\text{mol/L}$ , 细胞毒性 CC<sub>50</sub> 值 > 100  $\mu\text{mol/L}$ 。

嘧啶类似物 3 具有 CCR4 抑制作用, 此类化合

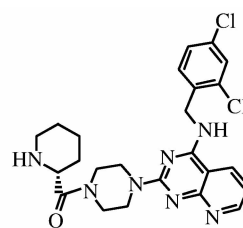


2

物与 CCR4 结合的基本药效团可分为 3 部分, 即 2 个侧链和 1 个嘧啶环核心。通过对侧链和核心的结构改造发现了化合物 4, 其 CCR4 抑制活性更强, 且具有高度选择性, 小鼠过敏性肺炎模型证明其在体内也有较好的效果<sup>[7]</sup>。



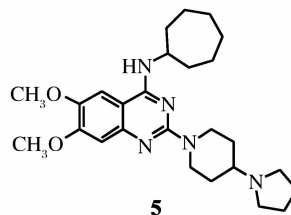
3



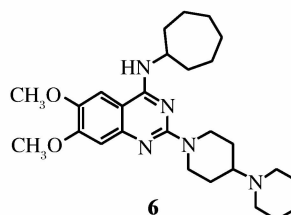
4

Yokoyama 等<sup>[8]</sup> 利用人 CCL22 [<sup>35</sup>S]GTP $\gamma$ S 结合试验对其化合物库进行筛选, 发现 2,4-二氨基-6,7-二甲氧基嘧啶生物(5)有 CCR4 抑制活性, 于是以其为先导物, 设计并合成了一系列的结构类似物, 经 [<sup>35</sup>S]GTP $\gamma$ S 和 [<sup>125</sup>I]CCL22 结合试验筛选发现化合物 6 的抑制活性最强, 并且对人和小鼠表达 CCR4 细胞的趋化作用都有抑制作用。

遗传性过敏性皮炎是一种以瘙痒和湿疹性损伤为特征的皮肤炎性疾病, 许多报道支持 Th1/Th2 失衡假说, 临床数据证明, CCL17、CCL22 和 CCR4 在过敏性皮炎的病理过程中起重要作用。为了寻找有效的抗过敏药, Nakagami 等<sup>[9]</sup> 对其化合物库进行筛选, 发现化合物 7 (RS-1154) 可抑制 [<sup>125</sup>I]CCL17 与表达人 CCR4 的中国仓鼠卵巢细胞(CHO 细胞)结

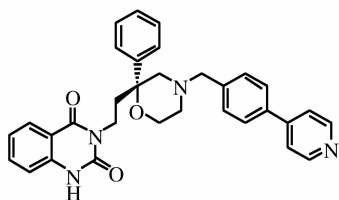


5



6

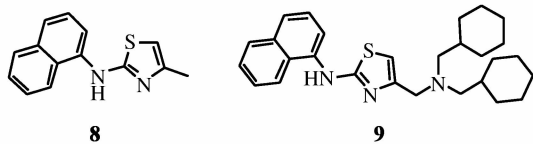
合( $IC_{50}$  值为 27.7 nmol/L), 并抑制 DO11.10 鼠源 Th2 细胞的迁移,  $IC_{50}$  值为 1.5 nmol/L。口服 RS-1154 可改善由卵清蛋白引起的耳肿胀, 并可减少血中的 IL-4 含量, 因此, RS-1154 或其某个类似物可能用于治疗遗传性过敏性皮炎。



7 (RS-1154)

### 3.2 萘环类似物

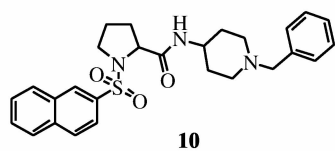
Wang 等<sup>[10]</sup>发现化合物 **8** 可抑制放射性标记的 CCL17 和 CCL22 与人 T 淋巴细胞白血病细胞株 (CEM) 表面的 CCR4 结合, 并抑制 CCL17 诱导的 CEM 细胞的游走。以化合物 **8** 为先导物, 从活性和药代动力学等方面进行优化, 找到了活性更高、药代动力学性质更优的化合物 **9**。



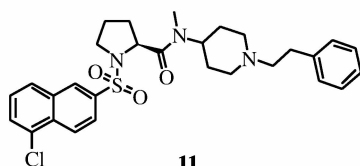
8

9

CCR4 调节  $CD4^+$  Th2 细胞向炎性疾病病变部位的迁移, 受体敲除及抗 CCL17 和 CCL22 的中和性抗体研究表明, CCR4 及其配体在气道高反应性的发生发展中起重要作用。Burdi 等<sup>[11]</sup>通过高通量筛选发现消旋体 **10** ( $K_i$  值为 7.6  $\mu\text{mol/L}$ ) 有抑制 CCR4 活性, 经拆分对映异构体、萘环卤代及延长哌啶环与末端芳基间的烷基链长度等结构修饰, 找到了活性更强的化合物 **11** ( $K_i$  值为 0.1  $\mu\text{mol/L}$ ), 其对炎性细胞向腹膜募集的抑制作用具有剂量依赖性。



10



11

### 4 结语

CCR4 参与许多炎性和自身免疫性疾病的发展过程, 已经被认为是治疗哮喘的潜在靶点。作为一个逐渐被认识的趋化因子受体, CCR4 为多种炎症性疾病、特别是哮喘的治疗提供了一个新的方向。针对 CCR4 的抗炎和免疫抑制药物正在开发研制中, 虽然面临着许多挑战, 但以 CCR4 为药物靶标的治疗方法已显示了一定的潜力。

#### 【参考文献】

- [1] Smit JJ, Lukacs NW. A closer look at chemokines and their role in asthmatic responses[J]. *Eur J Pharmacol*, 2006, 533:277 - 288.
- [2] Morimoto Y, Bian Y, Gao P, et al. Induction of surface CCR4 and its functionality in mouse Th2 cells is regulated differently during Th2 development[J]. *J Leuko Biol*, 2005, 78(3):753 - 761.
- [3] Yoshie O. Expression of CCR4 in adult T-cell leukemia[J]. *Leukemia Lymphoma*, 2005, 46(2):185 - 190.
- [4] Chvatchko Y, Hoogwerf AJ, Meyer A, et al. A key role for CC chemokine receptor 4 in lipopolysaccharide-induced endotoxic shock[J]. *J Exp Med*, 2000, 191(10):1755 - 1764.
- [5] Huser A, et al. CCR4-deficient mice show prolonged graft survival in a chronic cardiac transplant rejection model[J]. *Eur J Immunol*, 2005, 35(1):128 - 138.
- [6] Purandare AV, Gao A, Wan HH, et al. Identification of chemokine receptor CCR4 antagonist [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2005, 15(10):2669 - 2672.
- [7] Purandare AV, Wan HH, Somerville JE, et al. Core exploration in optimization of chemokine receptor CCR4 antagonists [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2007, 17(3):679 - 682.
- [8] Yokoyama K, Ishikawa N, Igarashi S, et al. Discovery of potent CCR4 antagonists: synthesis and structure-activity relationship study of 2,4-diaminoquinazolines[J]. *Bioorg Med Chem*, 2008, 16(14):7021 - 7032.
- [9] Nakagami Y, Kawashima K, Yonekubo K, et al. Novel CC chemokine receptor 4 antagonists RS-1154 inhibits ovalbumin-induced ear swelling in mice[J]. *Eur J Pharmacol*, 2009, 624(1-3):38 - 44.
- [10] Wang XM, Xu F, Xu QG, et al. Optimization of 2-aminothiazole derivatives as CCR4 antagonists [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2006, 16(10):2800 - 2803.
- [11] Burdi DF, Chi S, Mattia K, et al. Small molecule antagonists of the CC chemokine receptor 4 (CCR4) [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2007, 17(11):3141 - 3145.

(收稿日期:2009-12-22 修回日期:2010-01-11)