

## 以 S-腺苷同型半胱氨酸水解酶为潜在靶点的新药研究进展

付云峰, 吴庆莉, 杨以阜, 左建平\*

(中国科学院上海药物研究所免疫药理研究室, 上海 201203)

**摘要:** S-腺苷同型半胱氨酸水解酶(SAHH)是细胞内广泛存在的一种酶,它催化 S-腺苷同型半胱氨酸(AdoHcy)水解生成腺苷和同型半胱氨酸。抑制 SAHH 将导致细胞内甲基化抑制物 AdoHcy 的堆积,从而对转甲基反应产生反馈性抑制作用。而甲基化对于维持细胞的活性是必需的。鉴于 SAHH 在调节生物体转甲基化反应中的核心地位,它已被选择作为多种新药研发的重要靶点,包括免疫抑制剂、抗病毒药、防治动脉粥样硬化和阿尔茨海默病药物。SAHH 抑制剂全新的化学结构、良好的作用效果和独特的作用靶点已引起国内外研究者广泛的兴趣。

**关键词:** S-腺苷同型半胱氨酸水解酶;自身免疫性疾病;病毒;动脉粥样硬化;阿尔茨海默病

**中图分类号:** R977

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1000-3002(2006)06-0510-05

在生物体蛋氨酸循环过程中,由食物中摄入的蛋氨酸首先转化为 S-腺苷蛋氨酸(S-adenosylmethionine, AdoMet)。AdoMet 在甲基转移酶的作用下,将甲基转移给其他物质,参与生成多种含甲基的重要生物活性物质如蛋白质、脂质和核酸。体内的 AdoMet 通过上述反应提供甲基后,转变为 S-腺苷同型半胱氨酸(S-adenosyl-L-homocysteine, AdoHcy),AdoHcy 是 AdoMet 依赖的转甲基反应的抑制剂。S-腺苷同型半胱氨酸水解酶(S-adenosyl-L-homocysteine hydrolase, SAHH)是一种细胞内广泛存在的酶,它催化 AdoHcy 水解生成腺苷(adenosine, Ado)和同型半胱氨酸(homocysteine, Hcy)<sup>[1,2]</sup>。抑制 SAHH 将导致细胞内 AdoHcy 的堆积,从而对转甲基反应产生反馈性抑制作用<sup>[1~4]</sup>。由于蛋白质、脂质和核酸等生物分子的甲基化对于维持细胞的活性是必需的,而且一些细胞膜信号分子的翻译后加工也需要甲基化的参与,所以抑制 SAHH 可能影响这些重要分子的甲基化。鉴于 SAHH 在调节生物体转甲基化反应中的核心地位,它已被选择作为多种新药研发的重要潜在靶点,包括免疫抑制剂、抗

病毒药、防治动脉粥样硬化和阿尔茨海默病药物<sup>[1,2]</sup>。

SAHH 抑制剂全新的化学结构、良好的作用效果和独特的作用靶点与机理引起了国内外研究者的广泛兴趣。根据对 SAHH 抑制机制的不同,SAHH 抑制剂可分为 3 型<sup>[2]</sup>。I 型 SAHH 抑制剂,如 MDL28842, c<sup>3</sup>Ado, DHCEA 和 DHCA 等,利用酶的 3'氧化活性以一种不可逆的方式将酶结合的 NAD<sup>+</sup> 还原成 NADH;在反应的同时,抑制剂本身陷入到酶关闭状态的活性部位中。II 型 SAHH 抑制剂利用酶的 5'水解活性对酶的活性部位进行共价修饰,这种使酶失活的方式也是不可逆的。III 型 SAHH 抑制剂与酶的开放状态可逆结合,在药物作用消退后,酶的活性可以恢复;因此,与前两型相比,它们的细胞毒性是最小的。在这 3 型酶抑制剂中,针对 I 型抑制剂的研究最多。遗憾的是,SAHH 在体内广泛存在,不可逆地抑制此酶会产生严重的毒副作用,所以限制了 I 型 SAHH 抑制剂作为药物在临床上的应用<sup>[1,2]</sup>。早期的研究发现,II 型抑制剂具有抗病毒作用,同时也有严重的毒副作用<sup>[2]</sup>。研究者的注意力正逐渐转移到 III 型 SAHH 抑制剂。

### 1 S-腺苷同型半胱氨酸水解酶抑制剂的免疫抑制作用

与机体的其他细胞相比,淋巴细胞的活化更依赖于这种由 SAHH 调控的甲基化作用<sup>[5]</sup>。因此,选用淋巴系统特异的 SAHH 抑制剂来阻止淋巴细胞内的转甲基化反应可以产生免疫抑制作用。

#### 1.1 SAHH 抑制剂在体外对免疫细胞活性和功能的抑制

##### 1.1.1 对 T 细胞活性和功能的抑制

国外学者研究发现, I 型 SAHH 抑制剂 MDL28842 对 T 细胞丝裂原伴刀豆蛋白 A(concanavalin A, Con A)和 T 细胞依赖的 B 细胞丝裂原美洲商陆(pokeweed mitogen)刺激的人外周血单个核细胞增殖具有浓度依赖性的抑制作用<sup>[6]</sup>。Saso 等<sup>[3]</sup>和 Wolos 等<sup>[6]</sup>研究发现, I 型 SAHH 抑制剂 MDL28842, DHCA 和 DHCEA 对 Con A 刺激的小鼠脾细胞增殖也有明显的抑制作用。进一步的研究发现,MDL28842 对 Con A 刺激的小鼠纯化 T 淋巴细胞、III 型 SAHH 抑制剂 DZ2002 对 CD3 和 CD28 刺激的小鼠纯化 T 淋巴细胞的增殖都具有明显的抑制作用<sup>[6,7]</sup>。Con A 与 T 细胞表面的丝裂原受体结合或者 CD3 与 T 细胞表面的 T 细胞抗原受体(T cell antigen receptor, TCR)结合后,启动胞内活化信号传递,胞内 Ca<sup>2+</sup> 内流,蛋白激酶 C 激活,从而推动细胞进入分裂周期,出现克隆扩增并向效应细胞分化。植物血凝素(phytohemagglu-

**收稿日期:** 2006-04-10 **接受日期:** 2006-07-13

**基金项目:** 中科院知识创新项目(KSCX2-SW-202);国家自然科学基金资助项目(30572195);上海科学技术委员会资助课题(03DZ19228)

**作者简介:** 付云峰(1976-),男,博士研究生,主要从事免疫和心血管药理学研究;左建平(1960-),男,研究员,主要从事免疫药理学和病毒学研究。

\* 联系作者 E-mail: jpzuo@mail.shcnc.ac.cn Tel and Fax: (021)50806701

tinin)能够刺激胞内  $\text{Ca}^{2+}$  内流,佛波酯(phorbol 12-myristate-13-acetate, PMA)能够激活蛋白激酶C,两者联用能够刺激小鼠纯化T淋巴细胞增殖;研究发现MDL28842对植物血凝素和PMA诱导的T淋巴细胞增殖也具有抑制作用<sup>[6]</sup>。T细胞受到丝裂原或特异性抗原激活数小时后合成大量IL-2,细胞表面表达IL-2受体,而IL-2和IL-2受体共同介导了T细胞的克隆性增生。研究发现,MDL28842和DHCaA能够浓度依赖性地抑制Con A刺激的小鼠脾细胞产生IL-2<sup>[3,6]</sup>,MDL28842还能抑制Con A刺激的小鼠脾细胞表达IL-2受体<sup>[6]</sup>。总之,这些研究证实SAHH抑制剂能够作用于T细胞活化增殖的各个阶段。

混合淋巴细胞培养中表达在刺激细胞上的异体抗原,主要是组织相容性抗原,刺激效应T细胞增殖。作者最近的研究发现,Ⅲ型SAHH抑制剂DZ2002能显著抑制混合淋巴细胞反应中小鼠脾脏淋巴细胞的增殖<sup>[4]</sup>。Wolos等<sup>[8]</sup>研究也发现,MDL28842能够抑制混合淋巴细胞反应中细胞毒性T细胞的产生,流式细胞仪检测也证实CD8(细胞毒性T细胞的表面标志)阳性的细胞比例降低。怀孕母亲排斥胎儿,以及输血、器官移植后,异体抗原是引起机体排斥反应的主要原因,而体外混合淋巴细胞培养模拟了这种免疫反应。SAHH抑制剂在混合淋巴细胞培养中显示了良好的抑制作用,提示可进一步研究它们在预防器官排斥反应中的作用。

#### 1.1.2 对巨噬细胞活性和功能的抑制

抗原提呈细胞(antigen presenting cell, APC)包括巨噬细胞活化后产生大量细胞因子参于免疫和炎症过程。另一方面,APC摄取外源性抗原并将其处理成免疫原性多肽,以MHC分子-抗原肽复合物的形式表达于APC表面,供T细胞的TCR识别;同时,APC表达的协同刺激分子CD80, CD86与T细胞表面CD28结合,进而激活抗原特异性T细胞。早期有研究报道, $\text{c}^3\text{Ado}$ 抑制LPS诱导的人外周血单个核细胞产生IL-1<sup>[9]</sup>。DZA, DZAri和DZNep抑制LPS诱导的小鼠巨噬细胞株RAW264.7产生TNF- $\alpha$ <sup>[10]</sup>。随后Lambert等<sup>[11]</sup>研究发现,MDL28842能抑制巯基乙醇酸盐诱导的小鼠腹腔巨噬细胞产生IL-1和TNF- $\alpha$ <sup>[11]</sup>,降低IFN- $\gamma$ 刺激后MHC-Ⅱ分子的表达强度。最近,我们的研究也发现,Ⅲ型SAHH抑制剂DZ2002抑制活化的小鼠腹腔巨噬细胞和THP-1人单核细胞株产生IL-12和TNF- $\alpha$ ,抑制活化的THP-1细胞表达共刺激分子CD80和CD86<sup>[4]</sup>。总之,这些研究结果表明,SAHH抑制剂能够抑制巨噬细胞活化后产生的细胞因子(IL-1, IL-12和TNF- $\alpha$ ),以及细胞表面糖蛋白的表达。

为了探讨SAHH对APC抗原提呈能力是否有影响,Lambert等<sup>[11]</sup>用MDL28842和抗原预先处理小鼠腹腔巨噬细胞2h,除去MDL28842和抗原后将巨噬细胞与2B4T细胞(T细胞杂交瘤)共培养,发现MDL28842对2B4T细胞分泌IL-2的水平无影响;提示MDL28842对APC抗原提呈能力没有抑制作用。相反,MDL28842、抗原和2B4T细胞同时加入,对IL-2的产生呈现浓度依赖性的抑制;提示MDL28842能直接阻断T细胞的激活<sup>[11]</sup>。最近我们在小鼠体内给予DZ2002,体外T细胞、巨噬细胞交叉培养的实验中观察到相似的结果<sup>[7]</sup>。这些研究提示,虽然SAHH抑制剂能轻微降低MHC-

Ⅱ的表达强度或者协同刺激分子CD80, CD86的表达,但这并不足以影响APC的抗原提呈能力。

#### 1.2 SAHH抑制剂在体内的免疫抑制作用

##### 1.2.1 迟发型超敏反应

迟发型超敏反应是免疫学上经典的 $\text{CD4}^+$ T细胞介导免疫反应的模型,常用于模拟过敏性皮炎等疾病。Saso等<sup>[3]</sup>发现,在用二硝基氟苯(2,4-dinitrofluorobenzene, DNFB)攻击前1h给予DHCaA,就能剂量依赖性地抑制小鼠迟发型超敏反应耳肿胀;并且小鼠脾脏中SAHH酶活性也呈剂量依赖性的降低,表明DHCaA的免疫抑制活性与它对SAHH酶的抑制活性相关。最近我们也发现,Ⅲ型SAHH抑制剂DZ2002也能抑制DNFB诱导的小鼠迟发型超敏反应耳肿胀<sup>[4]</sup>。这些研究为SAHH抑制剂用于防治过敏性疾病提供了实验依据。

##### 1.2.2 卵清蛋白诱导的抗原特异性免疫反应

卵清蛋白(ovalbumin, OVA)是从鸡蛋清中提取出来的,对于小鼠而言是一种异体蛋白,免疫小鼠可诱导OVA特异性免疫反应。Wolos等<sup>[6]</sup>研究发现,给OVA免疫的小鼠腹腔注射MDL28842,能够明显抑制T细胞OVA抗原特异性增殖反应,而且给药组小鼠血清中抗OVA抗体IgG的水平也明显降低。我们最近的研究也发现,Ⅲ型SAHH抑制剂DZ2002体内给药,也能剂量依赖性地抑制小鼠脾细胞和淋巴结细胞OVA特异性增殖反应,减少OVA诱导的淋巴细胞产生IL-2和IFN- $\gamma$ ,降低血清中抗OVA抗体IgG的水平<sup>[12]</sup>。这些研究提示,SAHH抑制剂抑制了T细胞的激活,从而阻断了T细胞依赖的抗OVA的IgG抗体;另一种可能就是SAHH抑制剂在体内也抑制了B细胞的激活。

##### 1.2.3 关节炎

肽聚糖诱导的大鼠关节炎病理表现为慢性进行性和侵蚀性滑膜炎,牛Ⅱ型胶原诱导的DBA/1小鼠关节炎病理表现为严重的侵蚀性滑膜炎和多关节损伤,都是常用的类风湿性关节炎模型。研究发现,从肽聚糖免疫大鼠后d7开始,用DHCaA给大鼠灌胃,能剂量依赖性减轻关节炎大鼠的足爪肿胀程度,降低关节炎大鼠的组织学评分,减少大鼠关节腔内IL-1 $\beta$ 的浓度。此外,DHCaA还能剂量依赖性地抑制关节炎大鼠脾脏和关节腔内SAHH酶的活性,表明DHCaA的免疫抑制活性与它对SAHH酶的抑制活性相关<sup>[3]</sup>。Wolos等<sup>[13]</sup>也发现,从Ⅱ型胶原免疫小鼠前1d开始,用MDL28842灌胃,能降低关节炎的发病率,降低小鼠血清中抗Ⅱ型胶原IgG抗体的水平,抑制Ⅱ型胶原特异性T细胞增殖反应。而且,免疫小鼠出现关节炎症状以后用MDL28842治疗,也能够明显降低关节炎指数和病理学评分。总之,SAHH抑制剂在大鼠和小鼠关节炎模型中都显示了良好的防治作用。

##### 1.2.4 实验性自身免疫性脑脊髓膜炎

实验性自身免疫性脑脊髓膜炎(experimental autoimmune encephalomyelitis, EAE)是T细胞介导的中枢神经系统自身免疫性疾病,它是重要的神经系统疾病多发性硬化的实验动物模型。EAE的主要病理变化是中枢神经系统淋巴细胞和单核细胞的浸润和脱髓鞘病变。大量的研究表明,Th1细胞在EAE的发生发展中起着关键作用。我们用髓磷脂少突细胞糖蛋白35~55肽段(myelin oligodendrocyte glycoprotein

35-55, MOG 35-55) 诱导 C57BL/6 小鼠以及髓磷脂蛋白 139~151 肽段 (myelin proteolipid protein peptide 139-151, PLP1 39-151) 诱导 SJL/J 小鼠 EAE, 发现 DZ2002 能明显降低 EAE 的发病率, 延迟 EAE 的发病时间, 降低平均临床评分, 减轻疾病的严重程度。而且, 给药组小鼠脾细胞和淋巴结细胞抗原特异性增殖反应、Th1 细胞因子 (IL-2 和 INF- $\gamma$ ) 的产生也明显低于模型组<sup>[7]</sup>。这为临床防治多发性硬化提供了新的思路。

### 1.2.5 同种异体移植

同种异体移植中移植物的主要组织相容性抗原抗原引起强烈的排斥反应, 受体的 CD4<sup>+</sup>T 细胞激活释放多种炎性细胞因子, CD8<sup>+</sup>T 细胞发挥细胞毒效应, 在这一过程中起着主要作用。Wolos 等<sup>[8]</sup>研究发现, 将照射过的 C57BL/6 小鼠的脾细胞在 BALB/c 小鼠足垫处注射, 用 MDL28842 给受体 BALB/c 小鼠灌胃, 能剂量依赖性地抑制受体鼠脑内淋巴结的增生; 同时在小鼠同种异体皮肤移植实验中, MDL28842 能够明显延长移植皮瓣的存活时间。而且在大鼠同种异体心脏移植研究中, MDL28842 也明显抑制了排斥反应的发生<sup>[8]</sup>。这些研究提示, 在寻找抗排斥反应的免疫抑制药中 SAHH 抑制剂也是一个新的选择。

## 2 SAHH 抑制剂的免疫抑制作用

### 2.1 抗病毒作用

许多病毒 mRNA 的 5' 端甲基化帽子结构对于 mRNA 有效地翻译成蛋白十分重要。而 SAHH 抑制剂抑制甲基化反应, 引起病毒 mRNA 5' 端的低甲基化, 最终可能导致病毒 mRNA 不能有效地翻译成蛋白<sup>[1,2,14]</sup>。研究证实, SAHH 抑制剂对大量的 DNA 病毒 (比如牛痘病毒), RNA 病毒包括纤丝病毒 (马尔堡和埃博拉病毒)、棒状病毒 (狂犬病毒、水泡性口炎病毒)、正粘病毒 (甲型流感病毒)、副粘病毒 (副流感病毒、麻疹病毒、呼吸道合胞病毒)、逆转录病毒 (艾滋病病毒) 都有强大而广谱的抑制活性<sup>[1,2,14-19]</sup>。相反, 有些病毒的 mRNA 或者 DNA 并不需要帽子结构, 或者 5' 端帽子结构不需要甲基化, 比如脊髓灰质炎病毒; SAHH 抑制剂对这类病毒的复制就没有抑制作用<sup>[2]</sup>。

埃博拉病毒 (刚果) 在人类引起致死性出血热, 主要是通过体液传播, 病死率高达 90%。迄今为止, 临床上还没有有效的方法去预防接种和进行抗病毒治疗。最近 Huggins 等<sup>[16]</sup>发现, SAHH 抑制剂 C-c<sup>3</sup>Ado 和 C<sup>3</sup>-NpcA 在体外对埃博拉病毒的复制有很强的抑制作用。体内研究发现, 埃博拉病毒感染 BALB/c 小鼠, 死亡率为 100%, 平均死亡时间为 6 d; 在感染后 1 d 或者 2 d 给小鼠皮下注射 C-c<sup>3</sup>Ado 或者 C<sup>3</sup>-NpcA, 几乎没有小鼠死亡, 血中病毒滴度与模型组相比降低了 1000 倍<sup>[17]</sup>; 而在埃博拉病毒感染的免疫系统缺陷的 SCID 小鼠中, C-c<sup>3</sup>Ado 和 C<sup>3</sup>-NpcA 能够使感染小鼠的死亡时间延迟 1~2 d, 却不能降低死亡率<sup>[18]</sup>。SAHH 抑制剂在这两种埃博拉病毒感染小鼠模型中抗病毒作用的差异提示, 完整的免疫系统对于 SAHH 抑制剂充分发挥抗病毒作用十分重要。SAHH 抑制剂可能是通过两个方面来发挥作用: 首先, 抑制

病毒复制, 降低血中病毒滴度; 其次, 保护机体免疫系统, 进一步抑制病毒复制, 最终清除病毒。Bray 等<sup>[18]</sup>研究证实了这种假设, 他们发现在埃博拉病毒感染的 BALB/c 小鼠中, C<sup>3</sup>-NpcA 能诱导具有抗病毒作用的 IFN- $\alpha$  大量产生。总之, SAHH 抑制剂可能是目前最具有应用前景的防治埃博拉病毒的候选药物。

目前全球有近 4000 万人感染了艾滋病病毒, 病死率几乎高达 100%。至今尚未研制出根治艾滋病的特效药物, 也没有可用于预防的有效疫苗。目前临床防治艾滋病的药物主要是抑制 HIV 的逆转录酶, 比如齐多夫定。由于长期使用齐多夫定, 现在耐药的患者越来越多。Mayers 等<sup>[19]</sup>研究发现, 在植物血凝素刺激的人外周血单个核细胞中, SAHH 抑制剂 DZNep, NepA, DZAri 和 DZA 均能有效地抑制 HIV-1 的复制。其中 DZNep 和 NepA 对于接触过齐多夫定而且已经耐药患者来源的 HIV-1 的抑制作用更强, 药物强度分别增加 3 倍和 18 倍 (与未用齐多夫定治疗的患者来源的 HIV-1 相比)。这一发现具有很大的临床应用前景。进一步的研究发现, DZNep 和 DZAri 能抑制 HIV-1 感染的 H9 细胞 (CD4<sup>+</sup>人细胞株) 中合胞体的生成、逆转录酶的释放和 P24 抗原的产生; 在转染了 HIV-1 长片段重复性氯霉素乙酰转移酶 (long terminal repeat chloramphenicol acetyl-transferase, LTR-CAT) 的 T 细胞株和巨噬细胞株, DZNep 和 DZAri 能抑制基础和转录因子 tat 诱导的 LTR-CAT 的活性, 这就提示 DZNep 和 DZAri 在感染水平和转录水平都抑制了 HIV-1 的复制<sup>[19]</sup>。

### 2.2 对动脉粥样硬化的防治作用

动脉粥样硬化是严重危害人类健康的常见心血管疾病。白细胞粘附、浸润血管壁是动脉粥样硬化的重要病理过程, 白细胞与内皮细胞相互作用的分子基础在于细胞表面 E-选择素 (E-selectin)、细胞间粘附分子-1 (intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1) 和血管细胞粘附分子 (vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1) 等粘附分子的表达。寻找抑制内皮细胞粘附分子表达, 抗白细胞粘附的药物对防治动脉粥样硬化具有重要意义。体外实验发现, SAHH 抑制剂 c<sup>3</sup>Ado 抑制 TNF- $\alpha$  活化的人脐静脉内皮细胞表达 ICAM-1, 凝血酶活化的人主动脉内皮细胞表达 E-选择素, 减少白细胞与活化内皮细胞的粘附<sup>[20,21]</sup>。动物实验发现, 在高胆固醇饲料喂养的 C57BL/6 小鼠和载脂蛋白 E 缺陷的动脉粥样硬化小鼠模型, c<sup>3</sup>Ado 抑制血管内皮表达 ICAM-1 和 VCAM-1, 减少单核细胞的粘附和浸润, 阻止血管内膜增生和脂质斑块的形成<sup>[22,23]</sup>。

高同型半胱氨酸 (Hcy) 血症是动脉粥样硬化等心血管疾病的一个独立的危险因素。流行病学调查表明, 血中 Hcy 水平每增加 5  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ , 男性和女性心血管疾病的发生率分别增加 60% 和 80%<sup>[24]</sup>。在哺乳动物细胞中 Hcy 的唯一来源是由 SAHH 催化 AdoHcy 水解生成。Hcy 有 3 条代谢途径, 再甲基化途径生成蛋氨酸、转硫途径生成半胱氨酸和输出到血液中<sup>[25,26]</sup>。Hcy 代谢途径中一些关键酶的基因缺陷, 或者 B 族维生素摄取不足都会导致高 Hcy 血症。一些研究已经证实, 用维生素 B<sub>6</sub>、维生素 B<sub>12</sub> 和叶酸降低血中 Hcy 的水平, 能够降低心血管疾病的发生率<sup>[27]</sup>。但是 B 族维生素和

叶酸只对轻度和部分中度高 Hcy 血症患者有效,对于大部分中度和重度高 Hcy 血症患者无效。抑制 SAHH 将减少细胞内 Hcy 的生成,可能降低这些患者血中 Hcy 的水平。在胱硫醚  $\beta$  合酶缺陷的自发性重度高 Hcy 血症小鼠,SAHH 抑制剂在 1 h 内就能迅速地将小鼠血中 Hcy 的水平降至正常<sup>[2]</sup>;而且在高胆固醇饲料喂养的载脂蛋白 E 缺陷的动脉粥样硬化小鼠模型,SAHH 抑制剂  $c^3$ Ado 能降低小鼠血中 Hcy 的水平,阻止动脉粥样硬化的发生发展<sup>[23]</sup>。

### 2.3 防治阿尔茨海默病的作用

近年来大量研究表明,氧化应激导致神经变性在阿尔茨海默病的发生发展中起着重要作用。引起氧化应激的原因很多,包括基因缺陷以及食物中叶酸缺乏导致神经毒素 Hcy 蓄积等。用不含叶酸和维生素 E 的饲料喂养载脂蛋白 E 缺陷小鼠,会导致脑组织中 Hcy 蓄积,氧化应激增加,迷宫实验中小鼠的空间记忆能力下降,能很好地模拟神经退行性病变的表现<sup>[28,29]</sup>。Shea 等<sup>[28]</sup>和 Tchanchou 等<sup>[29]</sup>研究发现,在上述小鼠模型的饲料中添加 SAHH 抑制剂  $c^3$ Ado 能降低脑组织中神经毒素 Hcy 的水平,减少氧自由基的含量,改善小鼠在 Y-迷宫实验中的学习记忆能力。体外研究也发现,用缺乏叶酸的培养液孵育分化的人神经瘤细胞,培养液中 Hcy 和氧自由基的含量增加;加入  $c^3$ Ado 共同培养,能逆转这种作用<sup>[29,30]</sup>。因为叶酸缺乏、高 Hcy 水平和载脂蛋白 E 缺陷都是阿尔茨海默病的危险因素,而 SAHH 抑制剂  $c^3$ Ado 对这些因素所致的认知能力障碍有很好的改善作用,所以 SAHH 抑制剂可能有助于延缓阿尔茨海默病患者的神经退行性病变。

### 3 结语

SAHH 抑制剂为研发新药用于自身免疫性疾病、抗病毒、防治动脉粥样硬化和阿尔茨海默病提供了新的思路。SAHH 抑制剂在不同疾病中的作用不尽相同,作用机制也较为复杂。首先,SAHH 抑制剂导致细胞内 AdoHcy 的堆积,从而对转甲基反应产生反馈性抑制作用;其次,抑制 SAHH 将减少细胞内 Hcy 的生成;最后,还有一些非特异性作用。对这些具体作用机制的深入研究,将有助于推动高效低毒 SAHH 抑制剂的进一步发展。此外,结合现有的 SAHH 抑制剂进行结构改造,继续寻找更高效低毒的化合物,通过各种疾病动物模型筛选它们的最佳适应证,为 SAHH 抑制剂早日成为新药走上临床提供更多的实验依据。

### 4 参考文献:

- [1] Chiang PK. Biological effects of inhibitors of S-adenosylhomocysteine hydrolase[J]. *Pharmacol Ther*, 1998, **77**(2):115-134.
- [2] Yuan CS, Saso Y, Lazarides E, Borchardt RT, Robins MJ. Recent advances in S-adenosyl-L-homocysteine hydrolase inhibitors and their potential clinical applications[J]. *Exp Opin Ther Patents*, 1999, **9**(9):1197-1206.
- [3] Saso Y, Conner EM, Teegarden BR, Yuan CS. S-Adenosyl-L-homocysteine hydrolase inhibitor mediates immunosuppressive effects *in vivo*: suppression of delayed type hypersensitivity ear

- swelling and peptidoglycan polysaccharide-induced arthritis[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2001, **296**(1):106-112.
- [4] Wu QL, Fu YF, Zhou WL, Wang JX, Feng YH, Liu J, *et al*. Inhibition of S-adenosyl-L-homocysteine hydrolase induces immunosuppression[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2005, **313**(2):705-711.
- [5] German DC, Bloch CA, Kredich NM. Measurements of S-adenosylmethionine and L-homocysteine metabolism in cultured human lymphoid cells[J]. *J Biol Chem*, 1983, **258**(18):10997-11003.
- [6] Wolos JA, Frondorf KA, Davis GF, Jarvi ET, McCarthy JR, Bowlin TL. Selective inhibition of T cell activation by an inhibitor of S-adenosyl-L-homocysteine hydrolase[J]. *J Immunol*, 1993, **150**(8 Pt 1):3264-3273.
- [7] Fu YF, Zhu YN, Ni J, Zhong XG, Tang W, Re YD, *et al*. A reversible S-adenosyl-L-homocysteine hydrolase inhibitor ameliorates experimental autoimmune encephalomyelitis by inhibiting T cell activation[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2006, **319**(2):799-808.
- [8] Wolos JA, Frondorf KA, Babcock GF, Stripp SA, Bowlin TL. Immunomodulation by an inhibitor of S-adenosyl-L-homocysteine hydrolase: inhibition of *in vitro* and *in vivo* allogeneic responses[J]. *Cell Immunol*, 1993, **149**(2):402-408.
- [9] Schmidt JA, Bomford R, Gao XM, Rhodes J. 3-Deazaadenosine - an inhibitor of interleukin 1 production by human peripheral blood monocytes[J]. *Int J Immunopharmacol*, 1990, **12**(1):89-97.
- [10] Jeong SY, Lee JH, Kim HS, Hong SH, Cheong CH, Kim IK. 3-Deazaadenosine analogues inhibit the production of tumour necrosis factor- $\alpha$  in RAW264.7 cells stimulated with lipopolysaccharide[J]. *Immunology*, 1996, **89**(4):558-562.
- [11] Lambert LE, Frondorf KA, Berling JS, Wolos JA. Effects of an S-adenosyl-L-homocysteine hydrolase inhibitor on murine macrophage activation and function[J]. *Immunopharmacology*, 1995, **29**(2):121-127.
- [12] Fu YF, Wang JX, Zhao Y, Yang Y, Tang W, Ni J, *et al*. S-Adenosyl-L-homocysteine hydrolase inactivation curtails ovalbumin-induced immune responses[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2006, **316**(3):1229-1237.
- [13] Wolos JA, Frondorf KA, Esser RE. Immunosuppression mediated by an inhibitor of S-adenosyl-L-homocysteine hydrolase. Prevention and treatment of collagen-induced arthritis[J]. *J Immunol*, 1993, **151**(1):526-534.
- [14] De Clercq E. Antivirals and antiviral strategies[J]. *Nat Rev Microbiol*, 2004, **2**(9):704-720.
- [15] Woyciniuk P, Linder M, Scholtissek C. The methyltransferase inhibitor Neplanocin A interferes with influenza virus replication by a mechanism different from that of 3-deazaadenosine[J]. *Virus Res*, 1995, **35**(1):91-99.
- [16] Huggins J, Zhang ZX, Bray M. Antiviral drug therapy of filovirus infections: S-adenosylhomocysteine hydrolase inhibitors inhibit Ebola virus *in vitro* and in a lethal mouse model[J]. *J Infect Dis*, 1999, **179**(Suppl 1):S240-S247.
- [17] Bray M, Driscoll J, Huggins JW. Treatment of lethal Ebola virus infection in mice with a single dose of an S-adenosyl-L-homocysteine hydrolase inhibitor[J]. *Antiviral Res*, 2000, **45**(2):135-147.

- [18] Bray M, Raymond JL, Geisbert T, Baker RO. 3-Deazaneplanocin A induces massively increased interferon-alpha production in Ebola virus-infected mice[J]. *Antiviral Res*, 2002, **55**(1):151–159.
- [19] Mayers DL, Mikovits JA, Joshi B, Hewlett IK, Estrada JS, Wolfe AD, *et al.* Anti-human immunodeficiency virus 1 (HIV-1) activities of 3'-deazaadenosine analogs: increased potency against 3'-azido-3'-deoxythymidine-resistant HIV-1 strains[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, **92**(1):215–219.
- [20] Jurgensen CH, Huber BE, Zimmerman TP, Wolberg G. 3-Deazaadenosine inhibits leukocyte adhesion and ICAM-1 biosynthesis in tumor necrosis factor-stimulated human endothelial cells[J]. *J Immunol*, 1990, **144**(2):653–661.
- [21] Shankar R, de la Motte CA, DiCorleto PE. 3-Deazaadenosine inhibits thrombin-stimulated platelet-derived growth factor production and endothelial-leukocyte adhesion molecule-1-mediated monocyte cell adhesion in human aortic endothelial cells[J]. *J Biol Chem*, 1992, **267**(13):9376–9382.
- [22] Walker G, Langheinrich AC, Dennhauser E, Bohle RM, Dreyer T, Kreuzer J, *et al.* 3-Deazaadenosine prevents adhesion molecule expression and atherosclerotic lesion formation in the aortas of C57BL/6J mice[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1999, **19**(11):2673–2679.
- [23] Langheinrich AC, Braun-Dullaeus RC, Walker G, Jeide I, Schilling R, Tammoscheit K, *et al.* Effects of 3-deazaadenosine on homocysteine and atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice[J]. *Atherosclerosis*, 2003, **171**(2):181–192.
- [24] Boushey CJ, Beresford SA, Omenn GS, Motulsky AG. A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. Probable benefits of increasing folic acid intakes[J]. *JAMA*, 1995, **274**(13):1049–1057.
- [25] Fu YF, Xiong Y, Deng HF, Fu SH. Protection of captopril against homocysteine and lysophosphatidylcholine induced endothelium damage in isolated rat aorta[J]. *Chin J Pharmacol Toxicol* (中国药理学与毒理学杂志), 2003, **17**(3):179–183.
- [26] Fu YF, Xiong Y, Guo Z. A reduction of endogenous asymmetric dimethylarginine contributes to the effect of captopril on endothelial dysfunction induced by homocysteine in rats[J]. *Eur J Pharmacol*, 2005, **508**(1–3):167–175.
- [27] Schnyder G, Roffi M, Flammer Y, Pin R, Hess OM. Effect of homocysteine-lowering therapy with folic acid, vitamin B<sub>12</sub>, and vitamin B<sub>6</sub> on clinical outcome after percutaneous coronary intervention: the Swiss Heart Study: a randomized controlled trial[J]. *JAMA*, 2002, **288**(8):973–979.
- [28] Shea TB, Ashline D, Ortiz D, Milhalik S, Rogers E. The S-adenosyl homocysteine hydrolase inhibitor 3-deazaadenosine prevents oxidative damage and cognitive impairment following folate and vitamin E deprivation in a murine model of age-related, oxidative stress-induced neurodegeneration[J]. *Neuromol Med*, 2004, **5**(2):171–180.
- [29] Tchanchou F, Graves M, Ortiz D, Rogers E, Shea TB. Dietary supplementation with 3-deazaadenosine, N-acetyl cysteine, and S-adenosyl methionine provide neuroprotection against multiple consequences of vitamin deficiency and oxidative challenge: relevance to age-related neurodegeneration[J]. *Neuromol Med*, 2004, **6**(2–3):93–103.
- [30] Ho PI, Ashline D, Dhritavat S, Ortiz D, Collins SC, Shea TB, *et al.* Folate deprivation induces neurodegeneration: roles of oxidative stress and increased homocysteine[J]. *Neurobiol Dis*, 2003, **14**(1):32–42.

## Advances in research of novel drugs based on S-adenosyl-L-homocysteine hydrolase as a potential target

FU Yun-Feng, WU Qing-Li, YANG Yi-Fu, ZUO Jian-Ping\*

(Laboratory of Immunopharmacology, Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201203, China)

**Abstract:** S-Adenosyl-L-homocysteine hydrolase (SAHH) is a ubiquitous enzyme catalyzing the hydrolysis of S-adenosyl-L-homocysteine (AdoHcy) to adenosine and homocysteine in mammalian cells. Inhibition of SAHH has been known to result in accumulation of intracellular levels of AdoHcy, which is a potent inhibitor of all S-adenosyl-L-methionine-dependent transmethylation reactions. Based on the observation that mammalian cells appear to be dependent on methylation for activation, SAHH has recently been selected as an attractive specific target for design of agents for immunosuppression, antiviral, treatment of atherosclerosis and Alzheimer's disease. More and more research-

ers have focused their attention on SAHH inhibitors because of the original chemistry structure, potent efficacy, and unique mechanisms.

**Key words:** S-adenosyl-L-homocysteine hydrolase; autoimmune diseases; viruses; atherosclerosis; Alzheimer disease

**Foundation item:** The project supported by Knowledge Innovation Program of Chinese Academy of Sciences (KSCX2-SW-202); National Natural Science Foundation of China (30572195); and Shanghai Science and Technology Commission(03DZ19228)

\* Corresponding author.

(本文编辑 乔虹)