

靶向肝 X 受体的抗动脉粥样硬化药物研究进展

付育¹, 李霓^{2,3}

(1.河北科技大学生物科学与工程学院,河北省石家庄市 050018;2.中国医学科学院北京协和医学院药物研究所天然药物活性物质与功能国家重点实验室,北京市 100050;3.中国医学科学院北京协和医学院医药生物技术研究所国家新药微生物筛选实验室,北京市 100050)

[关键词] 肝 X 受体; 激动剂; 动脉粥样硬化; 胆固醇代谢

[摘要] 肝 X 受体(LXR)是机体胆固醇稳态维持的重要调控因子,通过调控下游靶基因表达,参与调节各组织中的胆固醇代谢。LXR 激动剂能够促进胆固醇逆向转运,发挥抗动脉粥样硬化作用,具有潜在治疗心血管疾病的作用。本文围绕近年来新型 LXR 激动剂,从不同来源、特点和作用机制等角度对其发挥抗动脉粥样硬化作用进行综述。

[中图分类号] R363;R5

[文献标识码] A

Research progress of anti-atherosclerotic drugs targeting liver X receptors

FU Yu¹, LI Ni^{2,3}

(1.College of Bioscience and Bioengineering, Hebei University of Science and Technology, Shijiazhuang, Hebei 050018, China; 2. State Key Laboratory of Bioactive Substance and Function of Natural Medicines, Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences, Peking Union Medical College, Beijing 100050, China; 3. National Center for Microbial Drug Screening, Institute of Medicinal Biotechnology, Chinese Academy of Medical Sciences, Peking Union Medical College, Beijing 100050, China)

[KEY WORDS] liver X receptors; agonist; atherosclerosis; cholesterol metabolism

[ABSTRACT] Liver X receptors (LXRs) are nuclear factors and play important roles in the regulation of cholesterol homeostasis in the body. LXRs regulate cholesterol metabolism in different tissues through regulating their target genes. LXR agonists can promote the reverse cholesterol transport in order to inhibit atherosclerosis, and have potential therapeutic effects on cardiovascular diseases. In this paper, the new LXR agonists in recent years are reviewed for their anti-atherosclerotic effects from different sources, characteristics and mechanisms.

心血管疾病是危害人类健康的主要病症,而动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)是心血管疾病发生发展中的主要病理基础,并在世界范围内呈逐年上升趋势^[1]。As 是以脂质代谢紊乱、内皮损伤、单核-巨噬细胞浸润及血栓形成为主要病理特征的慢性炎症性疾病,机体内胆固醇等血脂水平的异常升高更是诱发 As 发生和发展的直接原因^[2]。肝 X 受体(liver X receptors, LXRs)是机体内胆固醇代谢的感受器,直接调控胆固醇代谢途径中诸多关键靶基因的表达,对于维持机体胆固醇内环境稳态起到至

关重要的作用,是抗动脉粥样硬化的重要靶点^[3]。能够激活 LXR 并引起其下游靶基因转录的配体称为 LXR 的激动剂(agonist)。2000 年和 2002 年, Venkateswaran 等^[4]和 Joseph 等^[5]先后发现,LXR 内源性激动剂和合成类激动剂 GW3965 能够通过上调转运蛋白 ATP 结合盒蛋白家族(ATP-binding cassette, ABC)中 A1(ABCA1)和 G1(ABCG1)的表达水平,促进小鼠巨噬细胞 RAW267.4 中的胆固醇外排,减少 LDLR^{-/-}小鼠体内主动脉斑块的形成。2006 年,Wang 等^[6]发现 GW3965 能够促进小鼠巨

[收稿日期] 2018-10-10

[修回日期] 2018-11-21

[基金项目] 国家自然科学基金(81503065,81402305);河北省自然科学基金项目(H2015208141);河北省高等学校科学技术基金项目(BJ2016024)

[作者简介] 付育,博士,副教授,研究方向为 RNA 结合蛋白在炎症性疾病中的功能和机制,E-mail 为 fuyu@hebust.edu.cn。通信作者李霓,博士,副研究员,研究方向为新型抗动脉粥样硬化药物发现及机制,E-mail 为 lini@imm.ac.cn。

噬细胞中胆固醇外排,同时促进肝脏中胆固醇的分泌,从而首次在体内水平证明 LXR 激动剂能够通过促进胆固醇逆向转运(reverse cholesterol transport, RCT)而抑制 As 发生。因此,LXR 激动剂被认为是极具潜力的新型抗 As 药物^[7]。

1 LXR 抗动脉粥样硬化的研究概况

LXR 是核受体家族的重要成员,包括 LXR α 和 LXR β 两个亚型,LXR α 主要分布在肝脏、肾、脾、肠和脂肪等组织,而 LXR β 在各组织中均有分布。LXR 是配体激活型转录因子,在细胞核中与视黄醇类 X 受体形成异源二聚体,结合靶基因的调控区域。在配体缺失时,LXR 募集核内共抑制因子(co-repressor),抑制靶基因转录;当配体与 LXR 的配体结构域(ligand-binding domain, LBD)结合时,LXR 构象发生改变,释放共抑制因子,随后募集共激活因子(co-activator),从而激活靶基因的表达^[8]。该转录过程涉及许多共激活因子与共抑制因子的共同调控,参与不同组织中 LXR 相关靶基因表达的调整。

LXR 对于胆固醇代谢的调控是通过调节其下游靶基因的表达水平来实现的^[9]。ABCA1 和 ABCG1 是 LXR 的重要靶基因,主要负责将细胞内多余的胆固醇外排,从而减少细胞内胆固醇含量。ABCA1 主要将胆固醇和磷脂从细胞膜转运至无脂质的载脂蛋白 A-1(apolipoprotein A-1, ApoA-1),而 ABCG1 主要将胆固醇转运至高密度脂蛋白(high-density lipoprotein, HDL)。在人类和啮齿动物中,LXR α 和 LXR β 均能够通过上调 ABCA1 和 ABCG1 基因的表达,从而使细胞内胆固醇外排,促进 RCT。LXR 的激活同样可以通过上调肝脏中转运蛋白 ABCG5 和 ABCG8 的表达,促进肝脏中胆固醇分泌;并且在人的小肠上皮细胞 Caco-2 和小鼠的小肠中,激活 LXR 可以显著上调 ABCG5 和 ABCG8 的表达,以减少肠内胆固醇的吸收^[10]。另外,载脂蛋白 E(apolipoprotein E, ApoE)、胆固醇 7 α 羟化酶(cholesterol 7 α -hydroxylase, CYP7A1)和胆固醇酯转运蛋白(cholesterol ester transfer protein, CETP)等对于维持机体内胆固醇稳态也十分重要,同样受到 LXR 的直接调控。

随着 LXR 在不同组织细胞的胆固醇稳态维持中的作用逐步揭示,以 LXR 为靶点的药物研发日趋增多。但是,LXR 除了在胆固醇代谢中发挥关键作用,也是肝脏脂肪合成的重要调控因子。在配体激

活时,LXR 能够诱导固醇调节元件结合蛋白 1c(sterol regulatory element-binding protein-1c, SREBP-1c)、脂肪酸合成酶(fatty acid synthase, FAS)、硬脂酰辅酶 A 脱氢酶-1(stearoyl-coA desaturase-1, SCD-1)和碳水化合物反应元件结合蛋白(carbohydrate response element-binding protein, ChREBP)等脂肪生成相关基因的表达,从而造成血浆和肝脏中甘油三酯水平上升^[11]。正因如此,目前尚未开发出可用于临床治疗的 LXR 激动剂。理想的 LXR 激动剂应该是在促进 RCT 的同时,避免肝脏中脂肪生成的不良反应。由此可见,LXR 选择性激动剂的研发在目前抗动脉粥样硬化药物开发领域是热点也是难点。本文将主要围绕 LXR 内源激动剂、天然产物激动剂和合成类激动剂 3 个方面展开讨论。

2 LXR 激动剂

2.1 LXR 内源激动剂

尽管最初 LXR 作为孤儿受体被发现,但在随后的研究中,氧固醇(oysterol)被证明是内源性的 LXR 天然配体^[12]。氧固醇的氧化衍生物能够激活 LXR,包括 20(S)-、22(R)-、24(S)-、25-和 27-羟基胆固醇等(图 1),该类配体能够同时激活 LXR α 和 LXR β ,并且具有很强的结合能力,Kd 值一般在 0.1~0.4 $\mu\text{mol/L}$ 范围内^[14-15]。比如,24(S)-羟基胆固醇由于在脑中富集,由 24-羟化酶所合成,因而也称为脑甾醇,能够明显激活 ABCA1 的表达^[16-17];25-羟基胆固醇由 25-羟化酶所合成,在小鼠肝脏中能够增加 LXR 靶基因脂蛋白酯酶(lipoprotein lipase, LPL)、ABCG5 和 ABCG8 的表达。该研究发现,如果将 3 个关键的羟化酶敲除后,继续喂养胆固醇的小鼠,其体内 LPL、ABCG5 和 ABCG8 这 3 个 LXR 的靶基因不会上调,而 SREBP-1c 和 CYP7A1 等基因表达依然升高,这说明由羟化酶所合成的膳食内源性胆固醇对于 LXR 通路的激活具有重要作用^[18]。

另一类能够激活 LXR 的氧化胆固醇来源于胆固醇生物合成过程的中间代谢产物(图 1)。比如 24(S),25-环氧胆固醇,它是甲羟戊酸途径旁路中产生的唯一氧化胆固醇,减少 24(S),25-环氧胆固醇能够抑制 LXR 靶基因 ABCA1 的表达^[19]。此外,其他一些参与胆固醇代谢的中间产物(图 1)同样对 LXR 有激活作用,如胆固醇前体链甾醇(desmosterol)和酵母甾醇(zymosterol)激活 LXR 转录,而胆汁酸途径产生的 6 α -羟胆酸能够选择性激

活 LXR α 的转录^[20-21]。2017 年研究发现,7-脱氢胆固醇(7-dehydrocholesterol)的中间代谢产物能够激

活 LXR 并且对 SREBP-1c 具有一定下调作用,其作用独特,是 LXR 的选择性激动剂^[22]。

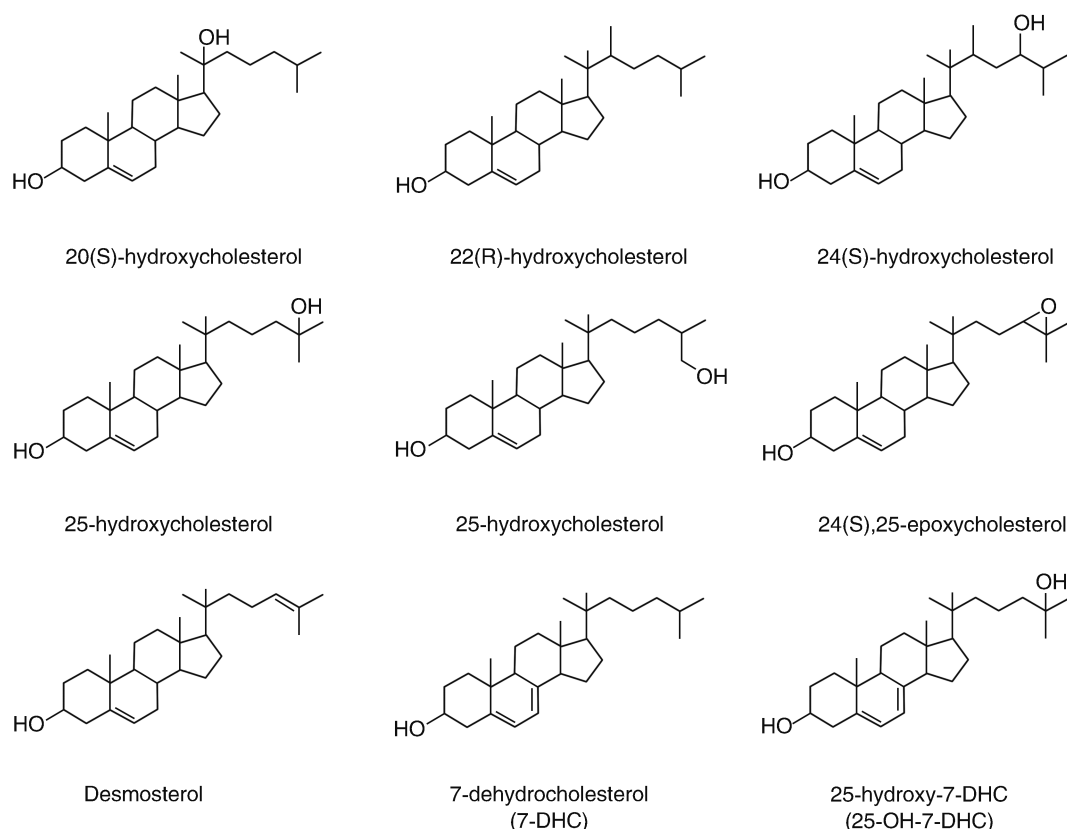


图 1. LXR 内源激动剂

Figure 1. Endogenous LXR agonists

2.2 LXR 天然激动剂

天然产物是新药发现的宝库,大量的植物和微生物资源为新型化合物的开发研究提供了丰富的储备,值得不断探索。近年研究发现,除了内源配体外,一些来源于植物或者真菌中的天然产物(图 2)同样具有调控 LXR 活性的功能,并且这些化合物在促进 RCT 的同时,还会避免或者减少高甘油三酯血症等不良反应^[23-24]。因此,寻找更多能够激活 LXR 的天然产物对于治疗高胆固醇引起的 As 疾病具有重要意义。

植物中的胆固醇类似物,包括植物甾醇(sterol)和甾烷醇(stanol),是一类重要的天然 LXR 激动剂,不仅能够激活 LXR α 和 LXR β ,增加小肠上皮细胞 Caco-2 中 ABCA1 蛋白的表达,还可以降低血清中低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDLC)^[20]。同时,植物甾醇还可以增加小肠中 ABCA1 表达,促进小肠中胆固醇外排以减少胆固醇吸收^[25]。但是,随后有研究发现,植物甾醇和甾烷醇还可以通过非依赖于 LXR 通路的途径,抑制肠腔

中胆固醇吸收^[26]。在海藻中含量丰富的岩藻甾醇(fucoesterol)具有减少胆固醇水平并提高血浆中 HDL 活性的作用。岩藻甾醇通过募集共激活因子,激活 LXR α 和 LXR β 的转录活性,从而增加 ABCA1、ABCG1 和 ApoE 的表达并促进细胞内胆固醇外排。此外,该类化合物在肝癌细胞 HepG2 并不会诱导甘油三酯的积累,因而有可能避免肝脏中的脂肪生成^[27]。YT-32 由麦角固醇(tergosterol)和菜子甾醇(brassicasterol)衍生而来,该化合物能够直接结合 LXR α 和 LXR β ,并介导 LXR α 与共激活因子的结合。与经典合成类激动剂 T0901317 不同的是, YT-32 通过增加 ABCG5 和 ABCG8 表达,抑制小肠中胆固醇吸收的同时,不会引发血浆中甘油三酯水平升高,因此 YT-32 是选择性地调控小肠中的胆固醇代谢^[28]。二萜类化合物广泛分布于植物和昆虫中,属于天然类固醇衍生物,这类化合物中有些能够促进胆固醇外排,具有选择性激活 LXR 的作用^[29]。

除此之外,来源于传统的中草药的天然化合

物,同样具有 LXR 激动剂活性。厚朴酚(honokiol)是从中药厚朴中分离的木脂素类成分,结构如图 2 所示,具有良好的抗菌、抗炎、抗氧化及抗肿瘤活性。研究表明,厚朴酚在人星形胶质瘤细胞 U251-MG 中激活 LXR 转录活性并增加 ABCA1 的 mRNA 和蛋白水平的表达;在人巨噬细胞 THP-1 中增加 ABCA1、ABCG1 和 ApoE 的表达水平,调控机体胆固醇代谢^[30]。罗汉松酸(podocarpic acid)是来自于树脂中的天然非甾醇类 LXR 激动剂,在金黄地鼠模型上明显对血浆总胆固醇具有显著的调控作用,使

HDLC 水平增加 22%,LDLC 降低 11%,但使甘油三酯水平也增加 51%^[31]。2015 年研究发现,紫苏的提取物(purple *Perilla frutescens* extracts, PPE)能够增加 ABCA1 和 ABCG1 的表达,促进胆固醇外排。其中己烷提取产物 α -细辛醚(α -asarone)是使 ABCA1 和 ABCG1 表达上调的主要化学成分,并且 α -asarone 可以减少泡沫细胞形成,促进胆固醇外排,推测其有可能通过 LXR 激活的途径促进胆固醇外排^[32]。

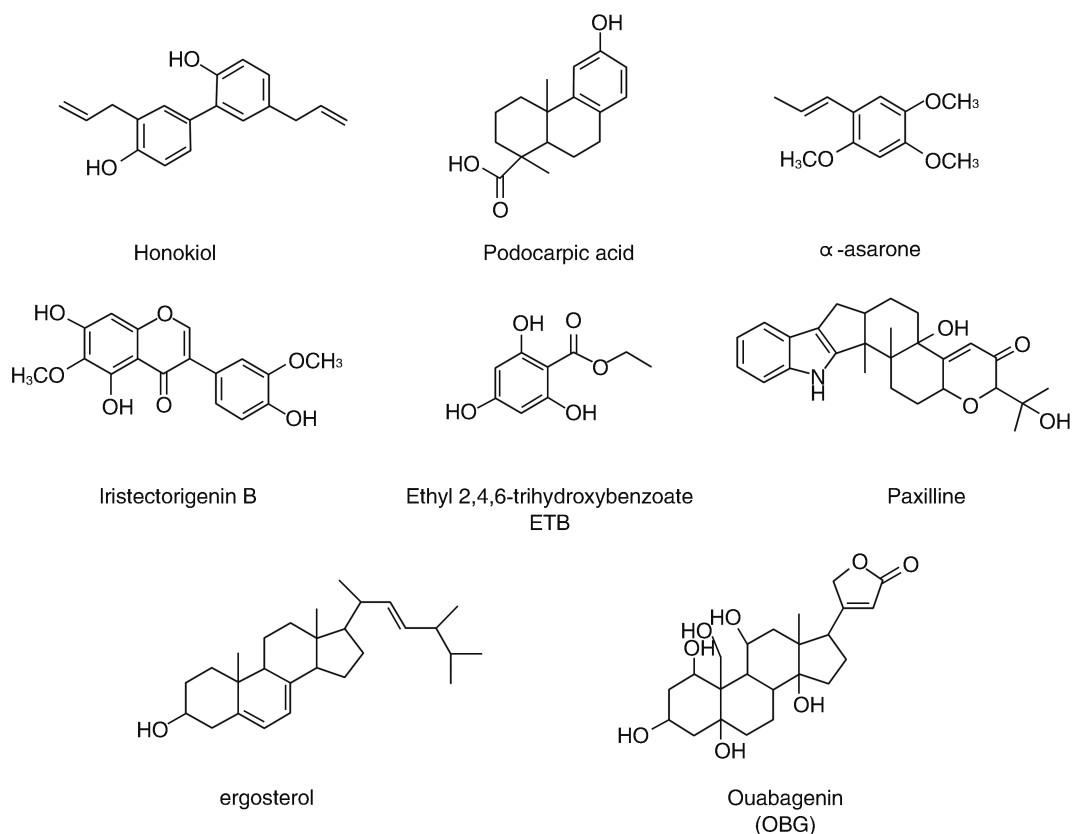


图 2. LXR 天然激动剂

Figure 2. Natural LXR agonists

一些来源于中草药的天然化合物不仅是 LXR 的潜在选择性激活剂,并且其对肝脏中脂肪生成的影响较小,因此有望成为理想的抗动脉粥样硬化药物。比如提取自射干的鸢尾甲黄素 B (iristectorigenin B),来源于紫弹朴的 2,4,6-三羟基苯甲酸乙酯(ethyl 2,4,6-trihydroxybenzoate, ETB) 以及桉油素(cineole)等,不仅能够激活 LXR,增加其靶基因 ABCA1 和 ABCG1 等蛋白表达,促进胆固醇外排,同时,在肝细胞中不会诱导脂肪合成相关基因如 SREBP-1c、FAS 以及 SCD-1 的表达,避免甘油三酯积

累^[33-35]。2018 年研究发现,乌本甙元(ouabagenin)具有 LXR 激动剂活性,且不会造成脂肪变性。这类化合物曾被索马里部落用作箭上的毒药,后来又被开发为治疗充血性心力衰竭的药物。随着对中药药理作用机制的探究,追踪到许多传统的中药成分具有多重功效并非仅用于单一疾病的治疗^[36]。

除了植物和中草药中的天然产物,一些真菌中衍生物也具有 LXR 激动剂活性,比如在蕈青霉(*Penicillium paxilli*)中的蕈青霉素(paxilline),能够直接结合 LXR,并激活 LXR 靶基因 ABCA1 和

SREBP-1c^[37]。另有研究利用 LXR 闪烁逼近分析法筛选微生物天然产物库时,分离到五种麦角甾烷(ergosterol)和一种环木菠萝烷衍生物能够激活 LXR,大多数化合物 IC₅₀ 值在 0.5~9 mmol/L 之间,对 LXR α 具有较强的亲和力^[38]。

2.3 LXR 合成类激动剂

由于天然来源的 LXR 配体其结构复杂、合成困难,用于大规模生产以作为药物开发具有一定局限性。因此在 2000 年初期,世界各大制药公司纷纷积极研发化学合成类 LXR 激动剂。率先诞生的 LXR 激动剂是由 Tularik 公司开发的 T0901317,它是非固醇类的 LXR α/β 全激动剂(pan-agonist),在体内和体外水平均可以调控 LXR 靶基因的表达。但其特异性较差,除 LXR α 外,T0901317 对于其它核受体,比如孕烯醇酮 X 受体(pregnenolone X receptor, PXR)和法尼酯 X 受体(farnesoid X receptor, FXR)

同样具有激活作用。随后葛兰素史克公司开发出对 LXR 具有更高选择性的激动剂 GW3965,该化合物同样是 LXR α/β 全激动剂^[39]。在小鼠体内模型研究显示,这些全激动剂能够有效抑制动脉粥样硬化发展(表 1),但是,这两个化合物均会使血液中甘油三酯水平升高,造成肝脏中明显的脂肪堆积,而引起脂肪肝甚至肝脏病变等不良反应^[40]。因此,T0901317 和 GW3965(图 3)未能应用于临床研究中,目前作为经典的阳性对照化合物用于 LXR 相关基础研究。由于它们具有较优的活性,围绕其基本骨架和活性基团进行化合物结构改造,为后续大量新型 LXR 激动剂的开发提供了重要基础^[41]。同时,很多研究工作以这两个激动剂作为探针,寻找新的 LXR 靶基因以及探索 LXR 在胆固醇代谢调控中的作用机制。

表 1. LXR 激动剂在动脉粥样硬化动物模型中的主要实验

Table 1. Key experiments of LXR agonist in atherosclerosis animal models

LXR 激动剂	实验模型	主要发现	参考文献
T0901317	LDLR ^{-/-} 小鼠(西方饮食)	主动脉及其根部损伤区域减少,巨噬细胞含量减少,胶原含量增多	[48-50]
	ApoE ^{-/-} 小鼠(西方饮食)	主动脉弓巨噬细胞含量减少	[51]
	ApoE*3-Leiden 转基因小鼠(高胆固醇饲喂/无胆固醇饲喂)	主动脉根部损伤区域减少,血浆甘油三酯和总胆固醇含量上升	[52]
	Sprague-Dawley 大鼠(链脲霉素诱导糖尿病模型)	主动脉损伤区域减少,主动脉内膜衰老	[53]
GW3965	LDLR ^{-/-} 小鼠(西方饮食)	主动脉根部损伤区域减少	[5]
	ApoE ^{-/-} 小鼠(正常饮食)		
LXR-623 (WAY-252623)	LDLR ^{-/-} 小鼠(高脂高胆固醇饮食)	主动脉弓损伤区域减少	[54]
	金黄地鼠	血浆和肝脏的胆固醇,甘油三酯不升高	[54]
	食蟹猕猴	血浆总胆固醇和 LDLC 减少	[54]
WYE-672	LDLR ^{-/-} 小鼠	减少主动脉病灶,血浆及肝脏中甘油三酯水平不升高	[46]

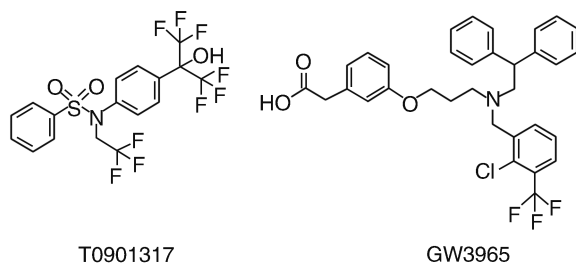


图 3. 经典 LXR 合成类激动剂 T0901317 与 GW3965
Figure 3. Classic synthetic LXR agonists T0901317 and GW3965

LXR 激动剂对于调节胆固醇代谢意义重大,但由于其带来的肝脏中脂肪过量生成的不良反应,使其在开发成为抗 As 药物的过程中一波三折。因此,寻找能够避免引起肝脏中脂肪过量生成的 LXR 激动剂成为各大制药公司和研究人员的一项重要目标。2006 年,惠氏公司开发的 LXR α/β 部分激动剂 LXR-623 成为第一个进入临床研究的靶向 LXR 药物,结构如图 4 所示。研究表明,LXR-623 对 LXR α 和 LXR β 的 IC₅₀ 值分别为 24 和 179 nmol/L^[42],能够上调 LXR 靶基因 ABCA1 和 ABCG1,同时血清中 LDLC 水平下降,从而增强 RCT。只有在

LXR-623 高剂量时,发现 SREBP-1c 活性增加,导致肝脏高甘油三酯血症,相比于第一代 LXR 全激动剂有所改善。LXR-623 可明显上调人外周血单核细胞、T 细胞和 B 细胞中 ABCA1 和 ABCG1 的表达水平;啮齿类动物在口服 LXR-623 后,外周血细胞中 ABCA1 和 ABCG1 的转录水平升高,同时还可上调小肠中 ABCG5 和 ABCG8 的表达(表 1)。然而,后续研究发现 LXR-623 对中枢神经系统存在有害影

响,而导致该化合物最终止步于临床研究阶段。迄今为止其他 LXR 激动剂未被报道过相似的中枢神经系统毒性,目前推测原因可能与 LXR-623 的体内脱靶效应或者 LXR 在大脑中参与的其他通路调控有关^[42-43]。除 LXR-623 以外,进入 I 期临床试验的 LXR α/β 部分选择性激动剂还包括 CS-8080、BMS-779788 (XL-652) 和 BMS-852927 (XL-041) (图 4), 但均由于不良反应而中止(表 2)^[44]。

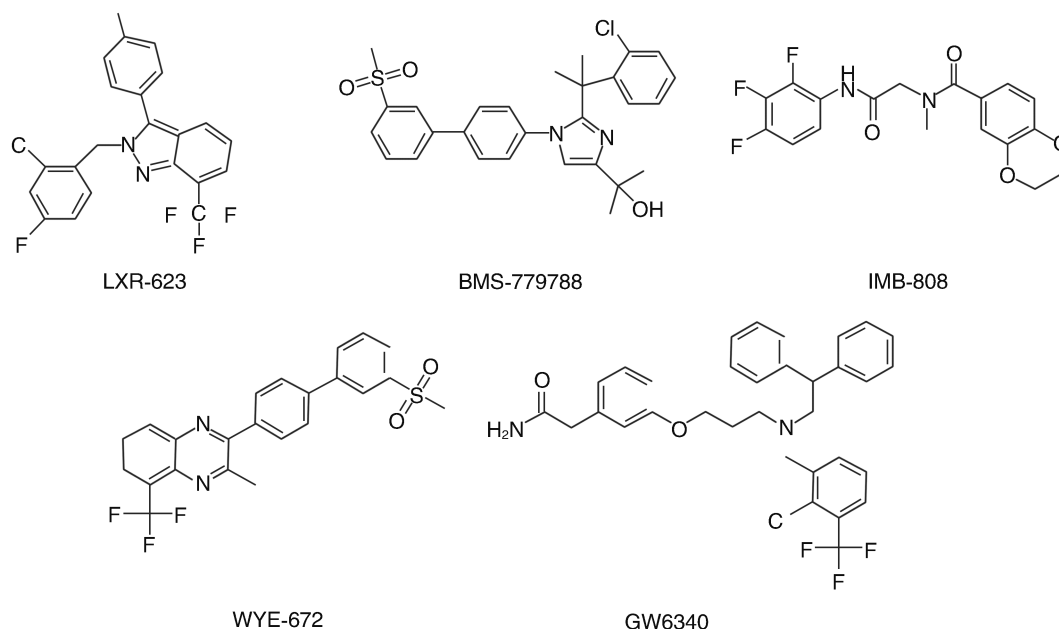


图 4. LXR 合成类激动剂

Figure 4. Synthetic LXR agonists

表 2. LXR 激动剂的临床研究

Table 2. LXR agonists tested in clinical trials

LXR 激动剂	临床数据库编号	临床实验及受试群体	结果	参考文献
LXR-623	NCT00366522	临床 I 期,健康成人	完成,未报告结果	[42-43]
	NCT00385489	临床 I 期,健康日本成人	完成,未报告结果	
	NCT00379860	临床 I 期,健康成人	中止,中枢神经系统相关不良反应	
CS-8080	NCT00613431	临床 I 期,健康志愿者	完成,未报告结果	[3]
	NCT00796575	临床 I 期,健康志愿者	中止,未披露安全问题	
BMS-779788 (XL-652)	NCT00836602	临床 I 期,健康受试者	完成,未报告结果	[44]
BMS-852927 (XL-041)	NCT01651273	临床 I 期,高胆固醇血症病人	中止,血浆和肝脏甘油三酯水平上升,血浆 LDLC、ApoB、ApoE 和 CETP 增多,嗜中性粒细胞循环水平下降	[55]

化合物 IMB-808 (图 4) 是作者实验室发现的 LXR α/β 部分激动剂,相对于 T0901317 具有较弱的激动活性,在 LXR α 和 LXR β 上的 EC₅₀ 值分别为 150 nmol/L 和 530 nmol/L。研究表明,IMB-808 能

够增加 RCT 中的 LXR 靶基因表达,促进巨噬细胞胆固醇外排并降低细胞中脂质积累。同时在体外实验中,IMB-808 对 HepG2 细胞中的脂肪生成基因没有显著影响^[45]。通过计算机辅助设计软件将

IMB-808 分别与 LXR α 和 LXR β 的 LBD 活性中心关键氨基酸进行虚拟对接,发现该化合物结合的关键氨基酸同 T0901317 有一定差别,导致其对 LXR 共激活因子/共抑制因子的募集/解离与 T0901317 不同,推测这可能是造成两种化合物对不同靶基因表达差异的作用机制。目前作者初步发现 IMB-808 在 ApoE^{-/-} 小鼠体内具有明显的抗动脉粥样硬化的效果,对于肝脏脂质累积影响及化合物作用机制尚在评价阶段,该化合物有潜力开发成为新型具有抗动脉粥样硬化作用的靶向 LXR 激动剂。

组织选择性 LXR 激动剂最具代表性的为 WYE-672 和 GW6340 (图 4)。WYE-672 对 LXR β 的 IC₅₀ 为 53 nmol/L,而基本不结合 LXR α ,同时具有一定组织特异性,其在肾细胞 HEK293 中激活 LXR β ,但是在肝细胞 HUH7 中不能激活 LXR β 。在 THP-1 细胞中,WYE-672 能够提高 ABCA1 表达,并且促进 THP-1 细胞中胆固醇外排。在 LDLR^{-/-} 小鼠中,WYE-672 能够减少主动脉病灶且不升高血浆及肝脏中甘油三酯水平^[46]。葛兰素史克公司研发的 GW6340 是肠道特异 LXR 激动剂,为 GW3965 的酯化形式。GW6340 只在小肠中明显上调表达 LXR 靶基因 ABCA1、ABCG5 和 ABCG8,在野生型小鼠中促进巨噬细胞中 RCT,而在肝脏中不影响 SREBP-1c 的表达,即可避免 GW3965 导致的高甘油三酯血症^[47]。

2.4 LXR β 选择性激动剂

研究表明,LXR α 是调控肝内脂肪生成、造成血液中甘油三酯升高的主要亚型,而 LXR β 被激活时,并不会引起类似的不良反应^[56-57]。因此,开发 LXR β

选择性激动剂是寻找具有抗动脉粥样硬化作用的同时又可避免肝脏脂肪过量生成的 LXR 激动剂的新途径。尽管 LXR α 和 LXR β 的 LBD 区域相似度较高,但随着研究的不断推进,不少研究者陆续发现了具有 LXR β 选择性激动活性的化合物(图 5)。AZ876 对人 LXR α 和 LXR β 的 EC₅₀ 值分别为 6 和 73 nmol/L,在 ApoE*3-Leiden 转基因小鼠中研究发现,低剂量 AZ876 能够降低动脉粥样硬化,同时并不影响肝脏及血浆中甘油三酯的水平^[58]。2-氧代色烯类(2-oxochromene)衍生物 43,在高脂高胆固醇饲喂的仓鼠中能够增加 HDLC 水平,但没有显著增加甘油三酯水平,由此仓鼠动脉弓脂质积累明显降低^[59]。1,1-双三氟甲基甲醇(1,1-bistrifluoromethylcarbinol)衍生物 62 在高脂高胆固醇饲喂的仓鼠中降低 LDLC 水平,但不提高甘油三酯水平,并且主动脉弓部脂质积累明显降低^[60]。联芳咪唑类(biaryl imidazole)衍生物 18 能够结合 LXR β 活性位点,在小鼠体内能够上调 ABCA1,并且不明显上调血浆及肝脏中甘油三酯水平^[61]。四氯邻苯二甲酰亚胺(tetrachlorophthalimide)的类似物能够显著选择性激活 LXR β ,更倾向结合 LXR β ,同时这一化合物能够诱导 ABCA1 表达,而不影响 SREBP-1c 的表达^[62]。2-对羟基苯乙酮(2-hydroxyacetophenone)衍生物(-)-56 激活 LXR β 的同时能够增加 HDL 水平,但不上调血浆中甘油三酯水平,高脂高胆固醇饮食的 LDLR^{-/-} 小鼠主动脉弓部斑块明显减少^[63]。另外,2018 年默克公司最新研发的哌啶衍生物 EX11-1 作为 LXR β 选择性激动剂,可用于治疗心血管疾病、阿尔茨海默氏病和帕金森病等^[64]。

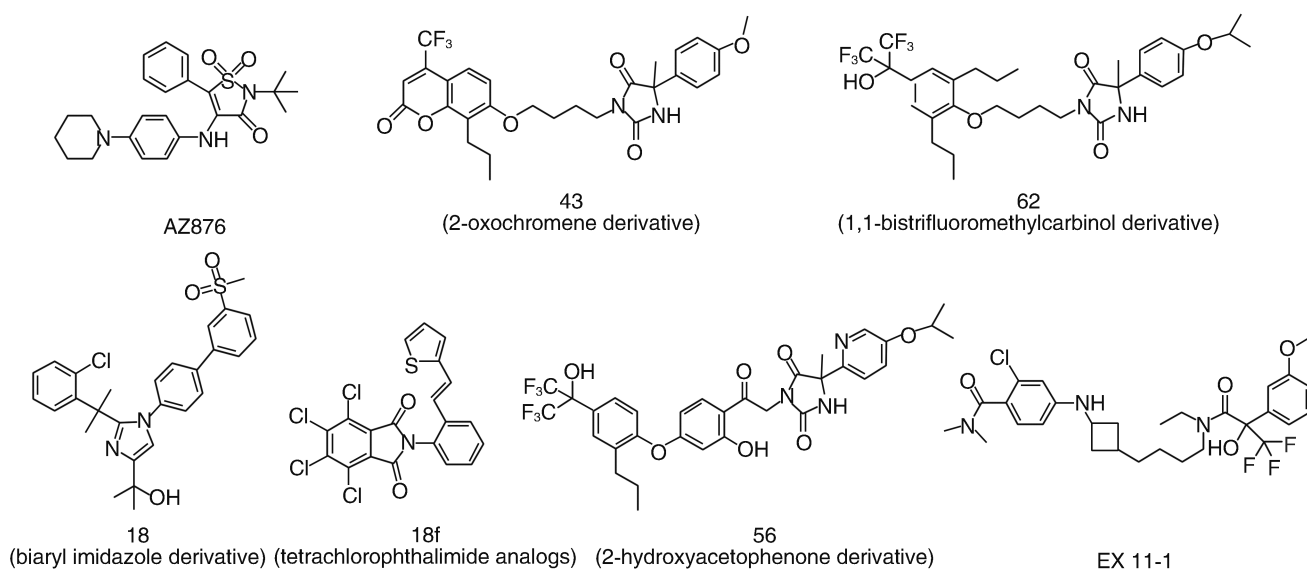


图 5. LXR β 选择性激动剂

Figure 5. LXR β selective agonists

3 展望

LXR 在调控胆固醇代谢过程中起到核心作用,除此之外,LXR 在参与糖代谢、脂质代谢、炎症反应以及先天免疫等方面也发挥重要作用,因此被认为是极具潜力的新药发现重要靶点^[65]。研究发现,LXR 激动剂不仅能够促进 RCT,同时能够抑制炎症发生,从这两方面交叉调控从而发挥抗动脉粥样硬化作用^[66]。LXR 激动剂通过共抑制因子的募集而抑制核转录因子 κB (nuclear transcription factor- κB , NF- κB) 基因表达,从而起到抑制炎症反应发生的作用,这有别于其参与胆固醇代谢调控的作用方式^[67]。然而,LXR 激动剂在脂肪生成方面的不良反应一直备受争议,这成为开发新型 LXR 激动剂道路上的“绊脚石”。令人欣慰的是,越来越多的研究发现,一些天然来源产物具有 LXR β 选择性激活作用,这为寻找理想的 LXR 激动剂提供了新的途径。研究表明,共激活因子或者共抑制因子在参与调控 LXR 靶基因的表达层面具有靶基因选择性,甚至是组织选择性,如 LXR 共激活因子甲状腺激活受体相关蛋白 80(thyroid hormone receptor-associated protein 80, TRAP80)主要调控参与脂肪酸合成的关键蛋白 SREBP-1c,而非 ABCA1^[68]。因此,深入挖掘 LXR 的作用机制,充分了解 LXR 调控胆固醇和脂肪酸等途径的选择性差异,将有助于开发更加安全有效的 LXR 选择性激动剂,也将为未来可用于临床的新型抗动脉粥样硬化药物开发奠定重要基础。

[参考文献]

- [1] Lu H, Daugherty A. Atherosclerosis[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2015, 35(3): 485-491.
- [2] Viola J, Soehnlein O. Atherosclerosis-A matter of unresolved inflammation[J]. *Semin Immunol*, 2015, 27(3): 184-193.
- [3] Hong C, Tontonoz P. Liver X receptors in lipid metabolism; opportunities for drug discovery[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2014, 13(6): 433-444.
- [4] Venkateswaran A, Laffitte BA, Joseph SB, et al. Control of cellular cholesterol efflux by the nuclear oxysterol receptor LXR alpha [J]. *Proc Natl Acad Sci*, 2000, 97(22): 12097-12102.
- [5] Joseph SB, Mckilligin E, Pei L, et al. Synthetic LXR ligand inhibits the development of atherosclerosis in mice [J]. *Proc Natl Acad Sci*, 2002, 99(11): 7604-7609.
- [6] Wang X, Collins HL, Ranalletta M, et al. Macrophage ABCA1 and ABCG1, but not SR-BI, promote macrophage reverse cholesterol transport in vivo [J]. *J Clin Invest*, 2007, 117(8): 2216-2224.
- [7] Rasheed A, Cummins CL. Beyond the foam cell: the role of LXRs in preventing atherogenesis[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(8): 1-20.
- [8] Wang B, Tontonoz P. Liver X receptors in lipid signalling and membrane homeostasis [J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2018, 14(6): 452-463.
- [9] 李涛, 向蕾, 涂剑. 肝 X 受体—胆固醇逆转运与炎症的共同平台 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2014, 22(4): 417-420.
- [10] Yu XH, Qian K, Jiang N, et al. ABCG5/ABCG8 in cholesterol excretion and atherosclerosis[J]. *Clin Chim Acta*, 2014, 428(1): 82-88.
- [11] Repa JJ, Liang G, Ou J, et al. Regulation of mouse sterol regulatory element-binding protein-1c gene (SREBP-1c) by oxysterol receptors, LXRalpha and LXRbeta[J]. *Genes Dev*, 2000, 14(22): 2819-2830.
- [12] Janowski BA, Willy PJ, Devi TR, et al. An oxysterol signalling pathway mediated by the nuclear receptor LXR alpha[J]. *Nature*, 1996, 383(6602): 728-731.
- [13] Lehmann JM, Kliewer SA, Moore LB, et al. Activation of the nuclear receptor LXR by oxysterols defines a new hormone response pathway[J]. *J Biol Chem*, 1997, 272(6): 3137-3140.
- [14] Beltowski J, Semczuk A. Liver X receptor (LXR) and the reproductive system: a potential novel target for therapeutic intervention[J]. *Pharmacol Rep*, 2010, 62(1): 15-27.
- [15] Schaffer S, Tandon R, Zipse H, et al. Stereo specific platelet inhibition by the natural LXR agonist 22(R)-OH-cholesterol and its fluorescence labelling with preserved bioactivity and chiral handling in macrophages [J]. *Biochem Pharmacol*, 2013, 86(2): 279-285.
- [16] Okabe A, Urano Y, Itoh S, et al. Adaptive responses induced by 24S-hydroxycholesterol through liver X receptor pathway reduce 7-ketocholesterol-caused neuronal cell death[J]. *Redox Biol*, 2013, 2(12): 28-35.
- [17] Bjorkhem I. Crossing the barrier: oxysterols as cholesterol transporters and metabolic modulators in the brain[J]. *J Intern Med*, 2006, 260(6): 493-508.
- [18] Chen W, Chen G, Head DL, et al. Enzymatic reduction of oxysterols impairs LXR signaling in cultured cells and the livers of mice[J]. *Cell Metab*, 2007, 5(1): 73-79.
- [19] Wong J, Quinn CM, Gelissen IC, et al. Endogenous 24(S), 25-epoxycholesterol fine-tunes acute control of cellular cholesterol homeostasis[J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(2): 700-707.
- [20] Yang C, Mcdonald JG, Patel A, et al. Sterol intermediates from cholesterol biosynthetic pathway as liver X receptor ligands[J]. *J Biol Chem*, 2006, 281(38): 27816-27826.

- [21] Song C, Hiipakka RA, Liao S. Selective activation of liver X receptor alpha by 6alpha-hydroxy bile acids and analogs [J]. *Steroids*, 2000, 65(8): 423-427.
- [22] Endo-Umeda K, Aoyama A, Shimizu M, et al. 1alpha-Hydroxy derivatives of 7-dehydrocholesterol are selective liver X receptor modulators [J]. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2017, 9(172): 136-148.
- [23] Huang C. Natural modulators of liver X receptors [J]. *J Integr Med*, 2014, 12(2): 76-85.
- [24] Komati R, Spadoni D, Zheng S, et al. Ligands of therapeutic utility for the liver X receptors [J]. *Molecules*, 2017, 22(1): 1-24.
- [25] Plat J, Mensink RP. Increased intestinal ABCA1 expression contributes to the decrease in cholesterol absorption after plant stanol consumption [J]. *FASEB J*, 2002, 16(10): 1248-1253.
- [26] Plosch T, Kruit JK, Bloks VW, et al. Reduction of cholesterol absorption by dietary plant sterols and stanols in mice is independent of the Abcg5/8 transporter [J]. *J Nutr*, 2006, 136(8): 2135-2140.
- [27] Hoang MH, Jia Y, Jun HJ, et al. Fucosterol is a selective liver X receptor modulator that regulates the expression of key genes in cholesterol homeostasis in macrophages, hepatocytes, and intestinal cells [J]. *J Agric Food Chem*, 2012, 60(46): 11567-11575.
- [28] Kaneko E, Matsuda M, Yamada Y, et al. Induction of intestinal ATP-binding cassette transporters by a phytosterol-derived liver X receptor agonist [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(38): 36091-36098.
- [29] Traves PG, Hortelano S, Zeini M, et al. Selective activation of liver X receptors by acanthoic acid-related diterpenes [J]. *Mol Pharmacol*, 2007, 71(6): 1545-1553.
- [30] Kotani H, Tanabe H, Mizukami H, et al. Identification of a naturally occurring rexinoid, honokiol, that activates the retinoid X receptor [J]. *J Nat Prod*, 2010, 73(8): 1332-1336.
- [31] Singh SB, Ondeyka JG, Liu W, et al. Discovery and development of dimeric podocarpic acid leads as potent agonists of liver X receptor with HDL cholesterol raising activity in mice and hamsters [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2005, 15(11): 2824-2828.
- [32] Park SH, Paek JH, Shin D, et al. Purple perilla extracts with alpha-asarone enhance cholesterol efflux from oxidized LDL-exposed macrophages [J]. *Int J Mol Med*, 2015, 35(4): 957-965.
- [33] Jun HJ, Hoang MH, Lee JW, et al. Iristectorigenin B isolated from *Belamcanda chinensis* is a liver X receptor modulator that increases ABCA1 and ABCG1 expression in macrophage RAW 264.7 cells [J]. *Biotechnol Lett*, 2012, 34(12): 2213-2221.
- [34] Hoang MH, Jia Y, Jun HJ, et al. Ethyl 2,4,6-trihydroxybenzoate is an agonistic ligand for liver X receptor that induces cholesterol efflux from macrophages without affecting lipid accumulation in HepG2 cells [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2012, 22(12): 4094-4099.
- [35] Tamura S, Okada M, Kato S, et al. Ouabagenin is a naturally occurring LXR ligand without causing hepatic steatosis as a side effect [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 2305-2320.
- [36] Jun HJ, Hoang MH, Yeo SK, et al. Induction of ABCA1 and ABCG1 expression by the liver X receptor modulator cineole in macrophages [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2013, 23(2): 579-583.
- [37] Bramlett KS, Houck KA, Borchert KM, et al. A natural product ligand of the oxysterol receptor, liver X receptor [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2003, 307(1): 291-296.
- [38] Ondeyka JG, Jayasuriya H, Herath KB, et al. Steroidal and triterpenoidal fungal metabolites as ligands of liver X receptors [J]. *J Antibiot (Tokyo)*, 2005, 58(9): 559-565.
- [39] Collins JL, Fivush AM, Watson MA, et al. Identification of a nonsteroidal liver X receptor agonist through parallel array synthesis of tertiary amines [J]. *J Med Chem*, 2002, 45(10): 1963-1966.
- [40] Schultz JR, Tu H, Luk A, et al. Role of LXRs in control of lipogenesis [J]. *Genes Dev*, 2000, 14(22): 2831-2838.
- [41] El-Gendy BEM, Goher SS, Hegazy LS, et al. Recent advances in the medicinal chemistry of liver X receptors [J/OL]. *J Med Chem*, 2018, 30. Doi: 10.1021/acs.jmedchem.8b00045.
- [42] Katz A, Udata C, Ott E, et al. Safety, pharmacokinetics, and pharmacodynamics of single doses of LXR-623, a novel liver X-receptor agonist, in healthy participants [J]. *J Clin Pharmacol*, 2009, 49(6): 643-649.
- [43] Li X, Yeh V, Molteni V. Liver X receptor modulators: a review of recently patented compounds (2007-2009) [J]. *Expert Opin Ther Pat*, 2010, 20(4): 535-562.
- [44] Loren J, Huang Z, Laffitte BA, et al. Liver X receptor modulators: a review of recently patented compounds (2009-2012) [J]. *Expert Opin Ther Pat*, 2013, 23(10): 1317-1335.
- [45] Li N, Wang X, Xu Y, et al. Identification of a novel liver X receptor agonist that regulates the expression of key cholesterol homeostasis genes with distinct pharmacological characteristics [J]. *Mol Pharmacol*, 2017, 91(4): 264-276.
- [46] Hu B, Unwalla RJ, Goljer I, et al. Identification of phenylsulfone-substituted quinoxaline (WYE-672) as a tissue selective liver X-receptor (LXR) agonist [J]. *J Med Chem*, 2010, 53(8): 3296-3304.

- [47] Yasuda T, Grillot D, Billheimer JT, et al. Tissue-specific liver X receptor activation promotes macrophage reverse cholesterol transport in vivo[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2010, 30(4): 781-786.
- [48] Terasaka N, Hiroshima A, Koieyama T, et al. T-0901317, a synthetic liver X receptor ligand, inhibits development of atherosclerosis in LDL receptor-deficient mice[J]. *FEBS Lett*, 2003, 536(1): 6-11.
- [49] Levin N, Bischoff ED, Daige CL, et al. Macrophage liver X receptor is required for antiatherogenic activity of LXR agonists[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2005, 25(1): 135-142.
- [50] Van Der Stoep M, Li Z, Calpe-Berdiel L, et al. Elimination of macrophages drives LXR-induced regression both in initial and advanced stages of atherosclerotic lesion development[J]. *Biochem Pharmacol*, 2013, 86(11): 1594-1602.
- [51] Feig JE, Pineda-Torra I, Sanson M, et al. LXR promotes the maximal egress of monocyte-derived cells from mouse aortic plaques during atherosclerosis regression[J]. *J Clin Invest*, 2010, 120(12): 4415-4424.
- [52] Verschuren L, De Vries-Van Der Weij J, Zadelaar S, et al. LXR agonist suppresses atherosclerotic lesion growth and promotes lesion regression in apoE*3Leiden mice: time course and mechanisms[J]. *J Lipid Res*, 2009, 50(2): 301-311.
- [53] Hayashi T, Kotani H, Yamaguchi T, et al. Endothelial cellular senescence is inhibited by liver X receptor activation with an additional mechanism for its atheroprotection in diabetes[J]. *Proc Natl Acad Sci*, 2014, 111(3): 1168-1173.
- [54] Quinet EM, Basso MD, Halpern AR, et al. LXR ligand lowers LDL cholesterol in primates, is lipid neutral in hamster, and reduces atherosclerosis in mouse[J]. *J Lipid Res*, 2009, 50(12): 2358-2370.
- [55] Kirchgessner TG, Sleph P, Ostrowski J, et al. Beneficial and adverse effects of an LXR agonist on human lipid and lipoprotein metabolism and circulating neutrophils[J]. *Cell Metab*, 2016, 24(2): 223-233.
- [56] Peet DJ, Turley SD, Ma W, et al. Cholesterol and bile acid metabolism are impaired in mice lacking the nuclear oxysterol receptor LXR alpha[J]. *Cell*, 1998, 93(5): 693-704.
- [57] Quinet EM, Savio DA, Halpern AR, et al. Liver X receptor (LXR)-beta regulation in LXRalpha-deficient mice: implications for therapeutic targeting[J]. *Mol Pharmacol*, 2006, 70(4): 1340-1349.
- [58] Van Der Hoorn J, Linden D, Lindahl U, et al. Low dose of the liver X receptor agonist, AZ876, reduces atherosclerosis in APOE*3 Leiden mice without affecting liver or plasma triglyceride levels[J]. *Br J Pharmacol*, 2011, 162(7): 1553-1563.
- [59] Matsuda T, Okuda A, Watanabe Y, et al. Design and discovery of 2-oxochromene derivatives as liver X receptor beta-selective agonists[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2015, 25(6): 1274-1278.
- [60] Koura M, Matsuda T, Okuda A, et al. Design, synthesis and pharmacology of 1,1-bistrifluoromethylcarbinol derivatives as liver X receptor beta-selective agonists[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2015, 25(13): 2668-2674.
- [61] Kick E, Martin R, Xie Y, et al. Liver X receptor (LXR) partial agonists: biaryl pyrazoles and imidazoles displaying a preference for LXRbeta[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2015, 25(2): 372-377.
- [62] Nomura S, Endo-Umeda K, Makishima M, et al. Development of tetrachlorophthalimides as liver X receptor beta (LXRbeta)-selective agonists[J]. *Chem Med Chem*, 2016, 11(20): 2347-2360.
- [63] Koura M, Yamaguchi Y, Kurobuchi S, et al. Discovery of a 2-hydroxyacetophenone derivative as an outstanding linker to enhance potency and beta-selectivity of liver X receptor agonist[J]. *Bioorg Med Chem*, 2016, 24(16): 3436-3446.
- [64] Rudd M, Meng Z, Wai J, et al. Piperidine derivatives as liver X receptor beta agonists, compositions and their use[P]. United States. WO 2018071315A2. 2018-10-14.
- [65] Lee SD, Tontonoz P. Liver X receptors at the intersection of lipid metabolism and atherogenesis[J]. *Atherosclerosis*, 2015, 242(1): 29-36.
- [66] 尹凯, 唐朝克. 炎症调控胆固醇逆向转运的机制研究[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2018, 26(7): 655-657.
- [67] Jakobsson T, Treuter E, Gustafsson JA, et al. Liver X receptor biology and pharmacology: new pathways, challenges and opportunities[J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2012, 33(7): 394-404.
- [68] Kim GH, Oh GS, Yoon J, et al. Hepatic TRAP80 selectively regulates lipogenic activity of liver X receptor[J]. *J Clin Invest*, 2015, 125(1): 183-193.

(此文编辑 朱雯霞)