

文章编号: 1000-7423(2007)-05-0419-03

【综述】

转运通路——疟疾治疗药物新靶点

徐涛 综述, 朱淮民* 审校

【提要】 处于红内期的疟原虫为摄取营养, 在红细胞产生新的转运通路。由于其转运通路具有一系列生物学特性, 故既可以作为直接的药物靶点, 也可以作为药物寻靶途径间接引导细胞毒药物到达细胞内的作用位点, 发挥抗疟作用。研究并应用该转运通路是抗疟药的研究方向之一。

【关键词】 疟原虫; 转运; 靶点

中图分类号: R531.3

文献标识码: A

New Channels and Transporters as Anti-malaria Drug Targets

XU Tao, ZHU Huai-min*

(Department of Parasitology, The Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

【Abstract】 In order to get more nutrition from outside the erythrocyte, new channels were induced by malaria parasite. These channels play an important role in physiology of the parasitized cell. They are of interest both as potential targets in their own right and as potential drug targeting routes capable of mediating the entry of cytotoxic drugs into the appropriate compartment of the infected cell. It is hoped that this new anti-malarial strategy will help to create a sustainable anti-malaria-drug-development portfolio for the treatment of malaria.

【Key words】 Malaria parasite; Transport; Target

* Corresponding author, E-mail: hmzhu@hotmail.com

1 抗疟药研究的需求及可能性

疟疾患者的死亡率逐年上升, 主要原因是疟原虫对有限的抗疟药能很快地适应, 产生了严重的耐药性^[1]。治理抗性的对策主要是针对新靶点研制新药物。研制新抗疟药必须注意, 疟原虫位于宿主的红细胞(RBC)内, 抗疟药需要转运到疟原虫体内才可以发挥作用, 在到达虫体内的靶点之前, 药物必须经过多层膜, 包括宿主的红细胞膜(host cell membrane, HCM)、原虫食物泡膜(parasitophorous vacuolar membrane, PVM)和原虫胞浆膜(parasite plasma membrane, PPM)。由于药物作用位点不同, 可能还要通过一些细胞器的膜, 如内含体膜或线粒体膜等。

人类红细胞有一部分通道和转运体在未被疟原虫感染的情况下就有活性, 介导少量溶质出入红细胞膜。被疟原虫感染的红细胞(infected red blood cell, iRBC)可以表现出对某些可溶性粒子的通透性增强, 如单糖、小分子多元醇、氨基酸、肽、核苷、小型季胺类化合物、一价无机阴离子及阳离子等^[2]。生理学研究表明, iRBC 在疟原虫作用下可出现新通路(new permeation pathway, NPP), 通过 NPP 可以到

达 PVM、PPM, 进而到达 RBC 内的疟原虫。该通路可以作为一个新的给药靶点。

2 新通路(NPP)的生物学特性

为了获得足够的营养成分, 疟原虫诱导产生了 NPP, 可以增加低相对分子质量溶质进入 RBC 的量。NPP 的出现可以作为 RBC 被疟原虫感染的特征。从已经了解的资料来看, NPP 是一个阴离子选择性的通路, 在离子体积大小相似的情况下, 通过的阴离子比阳离子多。它在毫摩尔浓度以下不会饱和, 也没有立体选择性。

对于 NPP 特征的认识, 目前仍存在争议, 主要围绕该通路是单一通道形式还是多通道形式而展开。Desai 等^[3]在电生理方面的研究表明, 被成熟裂殖体感染的 RBC 内电流约为未感染 RBC 的 150 倍, 他们认为这主要是由于低电导率(<10 pS)的内向整流型阴离子通道活动所致。在 iRBC 上, 这样的通道大约有 1 000 个。Wanger 等^[4]发现, 从电生理角度入手的全细胞电流计数(whole-cell current recording)提示, 胞内的电流与一部分溶质向胞内转运增强有关。

Huber 等^[5]从全细胞电流计数实验中发现两种不同的阴离子通道, 并通过对抑制剂的敏感程度及对电

作者单位: 第二军医大学病原生物教研室, 上海 200433

* 通讯作者, E-mail: hmzhu@hotmail.com

压的依赖性两方面区分它们,认为这两种阴离子通道,一种是内向整流型(inwardly rectifying),另一种是外向整流型(outwardly rectifying)。同时,还发现了阳离子通道。它存在于正常 RBC,被疟原虫感染后激活。对离子的通透性为 $Cs^+ > Na^+ > K^+ > Li^+$ 。在向胞内摄取有机、无机阳离子时,它还表现出阴离子依赖性,提示 iRBC 对阳离子的通透性增强至少有一部分是由于该阳离子通道的存在。

Egée 等^[6]的实验得到了和 Desai 相似的结果,并指出正常 RBC 中也存在这样特征性的阴离子通道,通过蛋白激酶 A 和 ATP 结合,或者膜伸展都可以在正常条件下激活它们。这两种方法也可能是 iRBC 中该种通道激活的机制。同时,在少量(<5%)未感染细胞中发现了可使电流流向胞外的阴离子通道,但在 iRBC 中却没有发现。

3 可能的药物靶点

3.1 以 NPP 作为药物靶点

3.1.1 抑制 NPP 的活性 由于正常 RBC 缺乏活跃的转运机制,疟原虫所需要的很多营养物质(如必需氨基酸、维生素、泛酸等)必须通过 NPP 来获得。故可将 NPP 看作一个新的药物靶点。一些可抑制 NPP 的药物[如根皮苷(phlorizin)、磺酰脲(sulfonyl ureas)、肉桂酸衍生物(cinnamic acid derivatives)、苯甲醛缩苯乙酮^[7](chalcones)、格列本脲和维生素 H 衍生物^[8,9]等]能表现出对疟原虫生长的抑制,但是否通过作用于 NPP 而表现出抑制作用不得而知。呋塞米同型物可以直接抑制 NPP,但其血清浓度过低时(小于亚微摩尔数量级),抑制作用就会减弱甚至消失,其原因可能是它结合了白蛋白^[10]。

3.1.2 促进 NPP 对 Na^+ 的通透性 由于血红蛋白带的是负电荷,因此具有吸引胞外正电荷,尤其是吸引 Na^+ 的能力,正常情况下,由于红细胞膜上缺乏有效的转运机制,因此少量进入胞内的 Na^+ 可以被 Na^+ 泵完全清除。病理情况下,由于 iRBC 上有 NPP 的存在,使其对 Na^+ 的通透性大大加强。大量 Na^+ 和水分子涌入胞内,使细胞体积膨胀。疟原虫自身可以通过消化血红蛋白,减少对 Na^+ 的吸引力^[11], Na^+ 泵活性也会增强以清除多余的 Na^+ ,但都无法阻止 iRBC 内 Na^+ 浓度的不断提高。通常情况下,在 iRBC 溶胀以前,有充足的时间供疟原虫完成复制过程^[12]。但若使用药物使得 NPP 对 Na^+ 的通透性增强,就可以使 iRBC 提前溶胀从而使疟原虫无法完成整个复制过程。目前正在研究可以在达到上述的目的同时不损伤正常 RBC 的 Na^+ 载体。

此外,由于 NPP 也是 iRBC 排出各种代谢产物如乳酸(来自糖酵解)、氨基酸(来自对血红蛋白的消化)等的重要途径,这些代谢产物的转运体也可能成为潜在的药物靶点。

3.2 以 PPM 上的转运体作为药物靶点

3.2.1 阻断己糖运载体 iRBC 内的疟原虫不断从外界摄取己糖作为糖酵解的原料以获取 ATP,研究表明如使用 O-3 己糖衍生物可阻断 PPM 上的己糖运载体 PfHT,抑制疟原虫对葡萄糖和果糖的摄取,从而降低 ATP 水平,打乱胞内 pH 稳态,最终导致细胞的死亡。Joet 等^[13]Saliba 等^[14]还指出,胞外己糖浓度越低,抑制剂扰乱离子平衡的效果越好。重症疟疾患者通常会出现低血糖,抑制剂的效果会增强。该抑制剂还具有抑制疟原虫增殖的功能,在体内和体外都有效。这有可能作为疟疾治疗的新方向。此外, PfHT 不仅能迅速抑制寄生虫摄入葡萄糖,同时不影响脑血屏障运载体 GLUT1,防止脑型疟患者的滞留在脑部的疟原虫与脑细胞竞争利用葡萄糖。

3.2.2 阻断腺苷转运体 对 NPP 的研究发现,其突出的特点是可以使很多原本不能进入正常红细胞的物质(如核苷类似物等)进入红细胞内,还可以通过 PPM 上的腺苷转运体 PfNT1 进入 iRBC。这就为阻断嘌呤代谢提供了靶点^[15]。现在已经合成了一些化合物可以选择性的阻断疟原虫的嘌呤代谢,但这只处于初级阶段,还需进一步实验。

3.2.3 阻断胆碱转运体 研究发现,RBC 被感染后,会选择性的通过 NPP 摄取一些胆碱类似物。实验表明,一些胆碱类似物可以抑制恶性疟原虫和间日疟原虫在体外的活性^[17-19]。在夜猴和恒河猴体内也可以很好地抑制恶性疟原虫和食蟹猴疟原虫(*Plasmodium cynomolgi*)的活性^[20]。正常 RBC 内不存在磷脂代谢,而在 iRBC 内则代谢很旺盛,代谢过程中需要利用宿主血清内大量的胆碱,而具有抗疟作用的胆碱类似物可以抑制这一途径^[18]。推测这些胆碱类似物可能是通过抑制 PPM 上胆碱转运体而起到抗疟作用^[20]。

对于跨 PPM 的胆碱转运体了解甚少。Biagini 等^[16]在无皂苷(以排除 HCM 上胆碱转运体的干扰)的情况下发现,跨 PPM 的胆碱摄取是耗能过程,且不依赖 Na^+ 浓度的受体介导。Lehane 等^[21]也得到了相似的结果。比较 iRBC 和游离于 RBC 外的疟原虫两者的胆碱摄取速率,结果发现,疟原虫 PPM 上的转运体摄取速率是 iRBC 内多重系统(HCM、PPM 等)摄取速率的 60 倍。由此可见,在稳定条件下,HCM 起到胆碱摄取的限速作用。表明细胞内的胆碱浓度比血清低,而 PPM 则如同一个泵,利用这个浓度差,不断摄取胆

碱。同时,有研究表明,这种胆碱转运体与神经元中高亲和力的胆碱转运体不同,与硕大利什曼原虫(*Leishmania major*)中的胆碱转运体则有一定亲缘关系^[23]。这些特点就适合作为药物靶点。

有研究者发现,胆碱的摄取可以被戊氧苯咪(pentamidine)或 T16 抑制,通过对药物和胆碱的放射标记研究表明,药物的抑制作用主要表现在它们与胆碱竞争性的结合 PPM 上的转运体,这说明药物和胆碱都可以通过转运体进入疟原虫体内。有趣的是,虽然戊氧苯咪和 T16 都有抑制胆碱转运的作用,但其抗疟的原理似乎并不在此。原因是戊氧苯咪的 IC_{50} 为 70 nmol/L,但是对 PPM 胆碱转运体的抑制常数 K_i 为 3 μ mol/L (在 T16 中也有同样的差异)。说明所观察到的磷脂代谢抑制现象本质上可能并不是因为胆碱转运体受到抑制,而是因为磷脂代谢通路(Kennedy pathway)受到了抑制。这些药物的抗疟作用可能主要是通过其在细胞内与高铁血红蛋白 IX 结合,高度浓集而实现的^[17,22]。当寄生虫体内的药物浓度到达毫摩尔数量级的时候,杀死疟原虫也就不奇怪了。

4 结语

iRBC 是一个由多层膜结构组成的复合体,通道和转运体在营养素的摄取和代谢、代谢废物和外源性化学物质的排出、胞内电化学梯度的维持等生理过程中扮演着十分重要的角色。同时,它可以作为药物靶点,并能直接影响药物的转运或是通过调节电化学梯度间接影响药物的分布。疟原虫感染后诱导宿主红细胞形成的新通路 NPP 和由其编码的膜 PVM、PPM 就是这样一条转运通路。相信在不久的将来,针对这条通路可以开发出更有效、特异性更高的药物来应对疟原虫的抗药性。

参 考 文 献

- [1] Snow RW, Trape JF, Marsh K, et al. The past, present and future of childhood malaria mortality in Africa[J]. Trends Parasitol, 2001, 17: 593-597.
- [2] Kirk. K. Channels and transporters as drug targets in the *Plasmodium*-infected erythrocyte[J]. Acta Trop, 2004, 89: 285-298.
- [3] Desai SA, Bezrukov SM, Zimmerberg J, et al. A voltage-dependent channel involved in nutrient uptake by red blood cells infected with the malaria parasite[J]. Nature, 2000, 406: 1001-1005.
- [4] Wagner MA, Andemariam B, Desai SA, et al. A two-compartment model of osmotic lysis in *Plasmodium falciparum*-infected erythrocytes[J]. Biophys J, 2003, 84: 116-123.
- [5] Huber SM, Uhlemann AC, Gamper NL, et al. *Plasmodium falciparum* activates endogenous Cl-channels of human erythrocytes by membrane oxidation[J]. EMBO J, 2002, 21: 22-30.
- [6] Egée S, Lapaix F, Decherf G, et al. A stretch-activated anion channel is upregulated by the malaria parasite *Plasmodium falciparum* [J]. J Physiol, 2002, 542: 795-801.
- [7] Go ML, Liu M, Wilairat P, et al. Antiplasmodial chalcones inhibit sorbitol-induced hemolysis of *Plasmodium falciparum*-infected erythrocytes[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2004, 48: 3241-3245.
- [8] Baumeister S, Endermann T, Charpian S, et al. A biotin derivative blocks parasite induced novel permeation pathways in *Plasmodium falciparum*-infected erythrocytes[J]. Mol Biochem Parasitol, 2003, 132: 35-45.
- [9] Cohn JV, Alkhalil A, Wagner MA, et al. Extracellular lysines on the plasmodial surface union channel involved in Na^+ exclusion[J]. Mol Biochem Parasitol, 2003, 132: 27-34.
- [10] Staines HM, Dee BC, O'Brien M, et al. Furosemide analogues as potent inhibitors of the new permeability pathways of *Plasmodium falciparum*-infected human erythrocytes[J]. Mol Biochem Parasitol, 2004, 133: 315-318.
- [11] Lew VL, Tiffert T, Ginsburg H. Excess haemoglobin digestion and the osmotic stability of *Plasmodium falciparum*-infected red blood cells[J]. Blood, 2003, 101: 4189-4194.
- [12] Allen RJ, Kirk K. Cell volume control in the *Plasmodium*-infected erythrocyte[J]. Trends Parasitol, 2004, 20: 7-10.
- [13] Joet T, Eckstein-Ludwig U, Morin C, et al. Validation of the hexose transporter of *Plasmodium falciparum* as a novel drug target[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2003, 100: 7476-7479.
- [14] Saliba KJ, Krishna S, Kirk K. Inhibition of hexose transport and abrogation of pH homeostasis in the intraerythrocytic malaria parasite by an O-3-hexose derivative[J]. FEBS Lett, 2004, 570: 93-96.
- [15] Gero AM, Dunn CG, Brown DM, et al. New malaria chemotherapy developed by utilization of a unique parasite transport system[J]. Curr Pharm Des, 2003, 9: 867-877.
- [16] Biagini GA, Pasini EM, Hughes R, et al. Characterization of the choline carrier of *Plasmodium falciparum*: a route for the selective delivery of novel antimalarial drugs[J]. Blood, 2004, 104: 3372-3377.
- [17] Stead AM, Brav PG, Edwards IG, et al. Diamidine compounds: selective uptake and targeting in *Plasmodium falciparum* [J]. Mol Pharmacol, 2001, 59: 1298-1306.
- [18] Ancelin ML, Calas M, Bompard J, et al. Antimalarial activity of 77 phospholipid polar head analogs: close correlation between inhibition of phospholipids metabolism and *in vitro Plasmodium falciparum* growth[J]. Blood, 1998, 91: 1426-1437.
- [19] Ancelin ML, Calas M, Vidal-Sailhan V, et al. Potent inhibitors of *Plasmodium* phospholipid metabolism with a broad spectrum of *in vitro* antimalarial activities[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2003, 47: 2590-2597.
- [20] Wengelink K, Vidal V, Ancelin ML, et al. A class of potent antimalarials and their specific accumulation in infected erythrocytes[J]. Science, 2002, 295: 1311-1314.
- [21] Lehane AM, Saliba KJ, Allen RJ, et al. Choline uptake into the malaria parasite is energized by the membrane potential [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2004, 320: 311-317.
- [22] Biagini GA, Richier E, Bray PG, et al. Heme binding contributes to antimalarial activity of bis-quaternary ammoniums [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2003, 47: 2584-2589.
- [23] Zufferey R, Mamoun CB. Choline transport in *Leishmania major* promastigotes and its inhibition by choline and phosphocholine analogs[J]. Mol Biochem Parasitol, 2002, 125: 127-134.

(收稿日期: 2006-03-28 编辑: 高石)