

· 综 述 ·

跨血脑屏障药物转运的研究进展

周 宓, 王志强*

(同济大学 蛋白质研究所, 中国上海 200092)

摘 要: 血脑屏障(Blood-brain barrier, BBB)的存在成为人们治疗中枢神经系统疾病(Central nervous system, CNS)所面临的一道难题,因为基本上 100%的大分子药物及大于 98%的小分子药物均无法穿过血脑屏障。因此,如何使 CNS 药物跨越血脑屏障从血液进入脑内且发挥药效成为解决难题的关键所在。如今一些借助内源性 BBB 载体使药物转运入脑的技术发展起来,并处于实验研究和临床试验阶段,例如借助载体介导的转运系统、受体介导的转运系统的药物治疗策略,以及纳米技术的运用等,都有着良好的应用前景。这些新发现及新技术将为跨血脑屏障药物转运的研究提供新思路,并有望实现对 CNS 疾病患者的成功治疗。

关键词: 血脑屏障; 脑药物转运; 载体介导的转运; 受体介导的转运; 外排转运; 纳米粒子

中图分类号: R945; R965

文献标识码: A

文章编号: 1007-7847(2009)04-0370-07

Advances in Drug Delivery Across the Blood-brain Barrier

ZHOU Mi, WANG Zhi-qiang*

(Institute of Protein Research, Tongji University, Shanghai 200092, China)

Abstract: Blood-brain barrier (BBB) is the major challenge for the treatment of various central nervous system (CNS) diseases, because 100% of large-molecule drugs and >98% of small-molecule drugs do not cross the BBB essentially. So how to make CNS drug cross the BBB into the brain parenchyma and have therapeutic effects becomes the key factor. Several strategies which enable transport into the brain via endogenous BBB transporters have been developed and tested in experimental and clinical research. Among them, pharmacological strategies such as the use of receptor-mediated transport system and carrier-mediated transport system and nanotechnology-based approaches appear to be the most promising methods. These recent discoveries and new strategies will provide new insight into the drug delivery across the BBB and hopefully lead toward successful treatment to patients with CNS diseases.

Key words: blood-brain barrier; brain drug delivery; receptor-mediated transport; carrier-mediated transport; efflux transport; nanoparticle

(Life Science Research, 2009, 13(4) 370~376)

中枢神经系统(Central nervous system, CNS)疾病,如阿尔茨海默症(Alzheimer's Disease, AD)、帕金森症(Parkinson's Disease, PD)、脑癌、中风等已成为越来越常见的疾病,而用于治疗这些疾病的新药的开发却受到许多因素制约,

其中最主要的就是药物如何通过血脑屏障。基本上 100%的大分子药物,包括多肽、重组蛋白、单克隆抗体、基于 RNA 干扰技术的药物、基因治疗相关药物等都无法穿越血脑屏障^[1],且大于 98%的小分子药物也无法穿过血脑屏障。在药物

收稿日期: 2009-03-20; 修回日期: 2009-06-08

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30700124)

作者简介: 周宓(1985-),女,上海人,硕士研究生,主要从事蛋白质化学方面的研究; *通讯作者: 王志强(1983-),男,黑龙江北安市人,博士,主要从事蛋白质化学方面的研究, Tel: 021-65988805, E-mail: cxm44999@yahoo.com.cn.

化学百科(Comprehensive Medicinal Chemistry, CMC)数据库中有超过7 000种药物,其中仅有5%用于治疗CNS疾病,而这些治疗CNS的药物也仅限于治疗忧郁症、精神分裂症、失眠症这3种病症。

到2020年,全球大于65岁的人口数量将增加一倍,患有CNS疾病的人数则随着人口老龄化的加剧而逐年增加,每3个人中至少会有1人在其一生中患有CNS疾病,仅美国一年用于治疗阿尔茨海默症的费用预计将达到500亿美元。因此在未来几年中,全球神经类药物市场将会扩大5倍,并等同于心血管疾病类药物,成为最大的市场之一。考虑到全球神经类药物的潜在庞大市场及能穿过血脑屏障的CNS药物的稀少,研究和发​​展跨血脑屏障药物转运技术将成为学术研究方面的当务之急。

跨血脑屏障药物转运问题的解决需要开发新的技术方法,一些旧的方法如经颅药物转运,或利用化学方法将水溶性小分子脂化等将因种种不足而被摒弃。这里提出的新技术主要是借助处于血脑屏障上的内源性运载体,通过改变药物结构或设计药物载体等方法,使其能借助内源性转运系统穿过血脑屏障。本文将就血脑屏障的特性、跨血脑屏障的几类机制作简要概括,并重点介绍目前用于促进药物跨血脑屏障转运的新方法及其研究进展。

1 血脑屏障的生理特性及转运机制

血脑屏障是存在于血液和脑组织间的一道生理屏障,对于维持中枢神经系统的稳定起着重要作用。它如同脑和脊髓内的毛细血管与神经组织之间的一个动态调节界面,在正常生理情况下仅允许气体分子及相对分子质量小于400~600的脂溶性小分子通过,除了被动保护作用外,它还能选择性地将脑内有害或过剩物质泵出脑外,从而保持脑的内环境稳定,使中枢神经系统能有效地执行功能。

血脑屏障主要由毛细血管内皮细胞、内皮细胞紧密连接、星形细胞、神经胶质细胞和基膜组成,其中毛细血管内皮细胞和细胞间紧密连接是血脑屏障的基本结构成分。血脑屏障之所以能使处于循环中的内源性和外源性物质无法轻易穿过自身进入脑组织,主要是其组成部分之一——毛细血管内皮细胞所起的作用,脑内的毛细血管

内皮细胞在形态、生理、功能上与其它外周组织器官中的内皮细胞存在差别^[2]。

对于那些处于外周血液循环中、构成毛细血管床的内皮细胞,它们之间能通过周期性连接蛋白相互连接,而细胞间相对松散的连接则产生大小为6~7 nm的裂隙,细胞间裂隙会使细胞与细胞间形成小孔。同时此类内皮细胞表面内会生成胞饮小泡囊,并最终形成内陷开口,使血液中的物质能扩散并被转运进入然后穿过内皮细胞。与外周组织器官中内皮细胞不同的是,脑内的毛细血管内皮细胞有着连续的紧密连接、胞饮作用活力低、不存在开孔^[3],并且周围还环绕着基膜、细胞外基质、周边细胞及星形胶质细胞足突,从而进一步构成血脑屏障并调控其渗透性。星形胶质细胞的突起末端膨大形成脚板,覆盖内皮细胞表面积的90%,并能释放化学因子和信号参与调控脑内毛细血管内皮细胞即血脑屏障的渗透性。

外周血液循环中的物质要进入脑组织,可以通过被动转运或者主动转运两种途径穿过血脑屏障。被动转运即自由扩散,仅适合只能通过主动转运系统跨过血脑屏障的小分子、非极性、亲脂性物质,而水溶性或极性物质,此过程则需要依赖血脑屏障即毛细血管内皮细胞的腔面到基底面上表达的内源性运载体^[4,5],其参与的主动转运方式包括载体介导的转运、受体介导的转运、吸附介导的转运等,另外主动外排转运可将内源性物质从脑内排出到血液中。

1.1 被动转运

Mahar Doan等^[6]通过分析用于治疗CNS及非CNS疾病药物的18种不同生理特性,归纳出对治疗脑部疾病有效的药物特性,认为CNS药物需要具备以下条件:含较少氢键供体、含较少正电荷、亲脂性高、极性表面少、柔韧性强,这些特性能提高药物对膜的渗透性。因而跨血脑屏障自由扩散仅限于那些小分子(相对分子质量小于400)、非极性、亲脂性物质^[1],例如安定几乎能100%通过,苯妥因、苯巴比妥、2-甲基戊酸钠也均能有效通过血脑屏障。

1.2 载体介导的转运

脑内毛细血管内皮细胞上存在着多种内源性载体,利用载体介导的转运系统(Carrier-mediated transport, CMT),可为脑部提供必须的小分子营养物质。例如,葡萄糖运载体GLUT1能转运葡萄糖和其他己糖;氨基酸运载体LAT1

可转运大、小中性氨基酸,包括一些氨基酸药物如 L 型多巴、 α -甲基-多巴等;阳离子氨基酸运载体可转运天然氨基酸,如精氨酸与赖氨酸;一元羧酸运载体 MCT1 可转运乳酸盐、酯类、酮类,以及某些一元羧酸药物如丙磺舒;核苷运载体 CNT2 可转运嘌呤核苷和一些嘧啶核苷如尿核苷^[4]。

1.3 受体介导的转运

血液中一些大分子多肽如胰岛素、转铁蛋白等主要借助受体介导的转运系统(Receptor-mediated transport, RMT)穿过血脑屏障,即作为配体的内源性物质与血脑屏障腔面上表达的特异受体结合,通过胞吞作用形成内吞小体,再经胞吐作用释放配体,使其能穿过血脑屏障进入脑组织发挥生物学作用。例如,血液中的胰岛素利用内源性胰岛素受体跨越血脑屏障;脑中的铁来源于循环中转铁蛋白,而转铁蛋白是通过转铁蛋白受体穿过血脑屏障的;1、2 型胰岛素受体分别介导胰岛素样生长因子 1、2 的转运;血脑屏障上表达的新生儿 Fc 受体通过逆胞吞作用将脑中的免疫球蛋白 IgG 迅速转运至血液中;被修饰的脂蛋白如乙酰化低密度脂蛋白,可经 1 型清道夫受体(SCARB1)介导的转运途径进入脑内毛细血管内皮细胞中^[1]。

1.4 吸附介导的转运

血浆质膜表面带负电荷,通过静电作用,带正电荷的多肽片断可透过血脑屏障,这种吸附介导的转运(Absorptive-mediated transport, AMT)是能量和浓度依赖型的,和受体介导的转运相比,具有亲和性低和载药量高的优点。若希望神经活性多肽药物能通过吸附介导转运,应进行修饰,使多肽具有酶稳定性和带正电荷的特点。研究发现,啡肽的类似物 E-2078 和促肾上腺皮质激素类似物 Ebiratide 的等电点为 10,在生理 pH 值下均带正电荷,可通过吸附介导的转运入脑发挥止痛和治疗阿尔茨海默症的效果。

1.5 主动外排转运

虽然亲脂性的药物被认为易于通过自主扩散穿越血脑屏障,但实际上此类药物中却有不少对血脑屏障的渗透性较低^[7],比如高脂溶性的环孢素 A、长春新碱、秋水仙碱等就很少透过血脑屏障。那是因为血脑屏障上主动外排转运系统(Active efflux transport, AET)的存在介导了流入物质的排出,避免脑组织受到内源性和外源性有害物质的侵袭。主动外排转运系统中研究得最多

的就是 P-糖蛋白,是一种 ATP 依赖性的药物外排泵^[8],生理条件下可抵挡生物碱和神经毒性物质进入脑内,许多 CNS 活性药物包括抗肿瘤药物、免疫抑制药物、CNS 镇痛药物、抗抑郁药物、抗生素等都是 P-糖蛋白的底物,因此这些药物在脑内的浓度远低于治疗浓度。其它主动外排运载体还包括 ATP 结合盒运载体 ABCG2、有机阴离子运载体 OATP2、有机阳离子运载体 OCTs、多药耐药相关蛋白 MRP 等。

2 促进药物跨血脑屏障转运的研究现状

由于血脑屏障的存在,仅小分子(相对分子质量 < 600,短链 < 6 个氨基酸)、脂溶性药物(如氯霉素、红霉素等抗生素类药物,巴比妥类中枢镇静药)能通过,而 98% 以上的药物无法透过血脑屏障入脑而达到治疗浓度。因此使药物跨过血脑屏障进入脑组织,是药物治疗有效性的先决条件,并具有决定意义。

过去人们使用的药物转运入脑的手段包括:经颅药物转运、经鼻脑部药物转运、血脑屏障中断、小分子脂质化等^[4]。经颅药物转运入脑,利用侧脑室注射或脑内移植的方法将药物注入脑。但由于脑脊液从脑中流出的速度远快于溶液从室管膜表面扩散入脑实质的速度,因此注射后进入血液的药物要远大于进入脑的药物,且另一方面,在脑内药物的扩散能力会随扩散距离的增加呈指数级降低;经鼻药物转运入脑,通过鼻内灌输药物,造成鼻屏障的局部损伤,鼻黏膜屏障中断,而使药物扩散穿过鼻黏膜屏障,穿过蛛网膜,进入嗅觉脑脊液,再进入普通脑脊液,但若通过经鼻转运系统注射入的药物无法引起局部损伤,该药物就无法进入脑脊液;血脑屏障中断,血脑屏障可被某些方法短暂中断,如高渗溶液的内在颈动脉灌输、有害剂如血管活性成分、脑局部超声放射,但基于血脑屏障中断的脑部药物转运存在一个问题,即血浆蛋白会浸入脑,白蛋白对星形胶质细胞是有毒性的,当脑与血液相接触,会引发星形胶质细胞增生,引起脑内血管病理学和慢性神经病理学变化;小分子的脂质化,利用药物化学技术,将不能穿过血脑屏障的水溶性药物转化为可以穿过血脑屏障的脂溶性药物,但事实上,很难通过酯化修饰将水溶性药物重塑成脂溶性药物,除了将吗啡乙酰化成海洛因,目前还没有一种药物能成功从无法穿过血脑

屏障被转化成能穿过血脑屏障。

基于上述转运系统存在的局限性,近年来科学家在这方面已做了很多工作,也取得了令人鼓舞的成果,许多新的药物转运入脑的方法发展起来,具体如下:

2.1 外排运载体的抑制剂

由于血脑屏障上外排运载体参与的转运系统介导了流入物质包括化疗药物的外排,因此,寻找能有效抑制此类外排运载体的药物成为帮助药物摄入、逆转多药耐药性的新途径。

P-糖蛋白由 MDR1 基因编码,其过表达会引发癌细胞的多药耐药性,从而对一系列结构和功能完全不同的抗肿瘤药物,如氨苄环霉素(阿霉素和道诺霉素)、长春花碱类药物、鬼臼毒素、放线菌素等产生抵抗力。因此,有效的 P-糖蛋白抑制剂可以抑制其介导的药物外排,逆转癌细胞的多药耐药性,从而增加抗肿瘤药物在 CNS 的浓度。该抑制剂现已经历了 3 代,第一代 P-糖蛋白抑制剂包括维拉帕米(verapamil)、环孢霉素 A、孕酮等,但由于其无法在一定剂量内达到对肿瘤多药耐药性的逆转、溶解性低、毒副作用大,因而没能通过临床实验。第 2、3 代 P-糖蛋白抑制剂是第 1 代的派生物,包括 VX-710(biricodar)、PSC-833 (valspodar)、MS-209、GF120918 (elacridar)、LY335979 (zosuquidar)、R101933 (laniquidar)、XR9051、XR9576(tariquidar)、IDN5109 等^[9],体外实验和初期临床实验证明它们相比第 1 代更有效且毒性小,但仍存在溶解性低、对抗肿瘤药物代谢动力学造成不利影响等不足之处^[10]。在动物模型中,注射 P-糖蛋白抑制剂能明显增加颅内治疗药物的浓度,例如,事先注射 PSC-833 或 GF120918 能使秋水仙碱和长春碱在小鼠脑内的转运量增加 3 倍^[11];给口服 PSC-833 的小鼠静脉注射紫杉醇,可减少肿瘤体积达 90%^[12]。

其他流出运载体抑制剂包括多药耐药相关蛋白 MRP1 的抑制剂丙磺舒 (probenecid)、吲哚美辛(indomethacin)和同样身为 P-糖蛋白抑制剂的 VX-710,以及 ATP 结合盒运载体 ABCG2 的抑制剂 fumitremorgin C 和 GF120918,但由于它们所引起的细胞毒性等原因,临床应用受限。

2.2 载体介导的药物转运

血液循环中的营养物质可以借助载体介导的转运系统穿过血脑屏障进入脑组织,以维持 CNS 正常功能,因此若药物能设计成该类转运系

统中运载体的底物,就可以与营养物质一样以相同方式被转运入脑,例如作为多巴胺前体药的左旋多巴(L-DOPA)。多巴胺(dopamine)因其亲水性而不易通过血脑屏障,故不能用于治疗帕金森病,然而左旋多巴作为血脑屏障上 L 型氨基酸运载体 LAT1 的底物,能借助 LAT1 介导的载体转运系统从血液进入脑内,一旦跨过血脑屏障,左旋多巴可在芳香族氨基酸脱羧酶作用下脱去羧基重新形成多巴胺,补充纹状体中多巴胺的不足,起到抗帕金森病的疗效^[13]。烷化剂美法仑(melphalan)、抗癫痫药物加巴喷丁(gabapentin)、肌肉松弛剂巴氯芬(baclofen)作为 L 型氨基酸运载体的底物,能以相同途径从血液被转运入脑^[14]。

此外,载体转运系统中的那些运载体也可能成为潜在的药物靶点。肌酸(creatine)在脑部的能量存储、神经保护方面起着重要作用,脑内的肌酸主要依赖定位在脑内毛细血管内皮细胞腔膜和基底膜上的肌酸运载体(CRT)从血液循环中摄取,保持和增加脑内肌酸水平有助于在多种疾病状态下保护神经细胞。而由于血脑屏障处的 CRT 对于血液中的肌酸几乎是饱和的,连续 4 周每天口服 20 g 肌酸只能使人类脑内肌酸总量增加 9%,因此诱导 CRT 表达对于增加脑内肌酸水平、预防神经退行性疾病具有可行性,比如增强糖皮质激素诱导的蛋白激酶 SGK1 及哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)的表达,能刺激 CRT 对肌酸的转运^[15,16];牛磺酸(taurine)和肌酸一样具有神经保护作用,依靠血脑屏障上牛磺酸运载体(TAUT)运送入脑,而 TNF- α 可诱导 TAUT 的表达,从而增加牛磺酸的摄入^[17]。因此,调控载体转运系统中运载体的表达,可有助于该运载体底物的药效发挥,同样可作为新药开发的一个研究方向。

2.3 受体介导的药物转运

由于血液中的一些内源性大分子如胰岛素、转铁蛋白,能被脑内毛细血管内皮细胞腔面上表达的相应受体所识别,然后通过转胞吞作用释放进入脑组织^[2],因此人们通过设计血脑屏障上各种受体的相应配体,用来作为药物转运的载体,利用受体介导的转运途径运送药物入脑。相关研究成果如下:

转铁蛋白受体(TfR)在脑内毛细血管上高表达,因此其天然配体转铁蛋白(Tf)能通过 TfR 介导的转运途径帮助铁向脑内运输。但由于 TfR 对

于内源性的 Tf 是饱和的,意味着载有药物分子的 Tf 需要与天然配体竞争结合 TfR. 因此人们设计了小鼠 TfR 的单克隆抗体 OX26,它能与 TfR 的抗原决定部位而非天然 Tf 的结合部位结合,避免了靶向 Tf 的药物与天然配体的竞争,可携带不同的药物分子穿越血脑屏障入脑. 如脑源性神经营养因子(BDNF)与 OX26 偶联形成的 OX26-BDNF,对小鼠静脉注射后,在治疗大脑中动脉永久性梗死方面有着显著效果^[18].

与 TfR 一样,在脑内毛细血管内皮细胞腔面上表达的胰岛素受体,可以通过 RMT 系统转运胰岛素. 但考虑到胰岛素在血液中的半衰期只有 10 min,且若干扰天然胰岛素平衡会引起低血糖,所以在设计携带药物的载体时,设计了人类胰岛素受体的小鼠单克隆抗体 83-14,将与 83-14 连接的 BDNF 静脉注射恒河猴,可在脑内检测到 BDNF 的含量比内源性 BDNF 高 10 倍之多^[19];将胶质源性神经营养因子(GDNF)与人类胰岛素受体的单克隆抗体连接形成融合蛋白并表达,能在大鼠大脑中动脉栓塞模型中发挥活性并使中风面积减少 77%^[20]; α -L-艾杜糖醛酸酶(α -L-iduronidase, IDUA)与人类胰岛素受体的单克隆抗体连接形成的融合蛋白,能有效降低粘多糖的聚集达 70%,为治疗粘多糖贮积症 型即贺勒氏症(Hurler's Syndrome)提供了新方法^[21].

低密度脂蛋白受体相关蛋白 1 (LRP1) 和 2 (LRP2)的配体同样被用来作为药物转运的载体. 作为 LRP1 配体之一的黑素转铁蛋白,即人类黑色素抗原 p97 能成功携带抗癌药物阿霉素入脑,并在注射患 C6 神经胶质瘤的小鼠体内后,与只注射阿霉素的对照组相比,小鼠存活率增加 60%^[22,23];另外,人们利用阿朴脂蛋白 B(ApoB)存在低密度脂蛋白受体 (LDLR) 结合域的特点,设计了慢病毒载体,该载体中除了含有所需表达的溶酶体葡萄糖脑苷脂酶序列,还插入了 ApoB 上的 LDLR 结合域序列,通过实验发现,该重组蛋白能穿过血脑屏障,并能使动物中枢神经系统的酶活性相比对照组提高 50%,此法可用于治疗涉及神经退变的溶酶体贮积病,例如戈谢病 (Gaucher's disease)^[24].

除了上述几种研究比较多的 RMT 系统外,近期 Kumar^[25]首次提出,一段截取自狂犬病毒糖蛋白(rabies virus glycoprotein, RVG)的 29 肽,能传递 siRNA 跨血脑屏障入脑. 狂犬病毒 G 基因

编码的糖蛋白在狂犬病毒感染后的嗜神经性、神经侵袭性及神经功能损伤方面起着重要作用,其中嗜神经性主要是因为其能与神经细胞表达的乙酰胆碱受体(AchR)的 $\alpha 7$ 亚基特异性结合,通过 RMT 途径促使狂犬病毒侵入神经细胞. 在 RVG 29 肽的 C 末端添加 9 个精氨酸,使这段带正电的多肽能与带负电的 siRNA 结合,在静脉注射小鼠后,仅在脑细胞而非脾细胞、肝细胞中检测到 siRNA 上荧光标记发出的信号,并证实该 siRNA 在转入脑细胞后确实能使相关基因沉默.

2.4 纳米粒子的应用

纳米粒子是由聚合物或脂质组成的粒径在 10~1 000 nm 之间的固体胶态粒子,活性组分(药物、生物活性材料等)通过溶解、包裹作用置于粒子内部,或通过吸附作用位于粒子表面^[26]. 目前已开发了多种能运载 CNS 药物入脑并发挥作用的纳米粒子,包括聚氰丙稀酸丁酯 (polybutylcyanoacrylate, PBCA) 纳米粒子、聚乳酸 (poly lactic acid, PLA)、乳酸-羟基乙酸共聚物 (poly lactic-co-glycolic acid, PLGA) 纳米粒子、聚乙二醇 (poly ethylene glycol, PEG) 纳米粒子、微乳胶纳米粒子和脂质纳米粒子等.

关于纳米粒子跨血脑屏障所采用的方法,运用最多的即用聚山梨酯 80 包裹纳米粒子,它可将血浆中的阿朴脂蛋白 ApoB 和 ApoE 吸附到其表面,利用 ApoB、ApoE 能与脑内毛细血管内皮细胞上低密度脂蛋白受体结合的特点,借助受体介导的胞吞作用穿过血脑屏障进入脑组织并释放药物;由转铁蛋白包裹的 PLGA 纳米粒子同样能依靠受体介导的胞吞作用增加其在脑内的转运;此外,由聚氧乙烯 21 硬脂基醚组成、且表面附着有维生素 B1 的纳米粒子,能通过维生素 B1 运载体的相互作用穿越血脑屏障^[27].

纳米粒子作为药物载体,为不能透过血脑屏障的 CNS 药物入脑提供了新途径,在 CNS 疾病治疗中起到了重要作用,研究最多的无疑是借助纳米粒子实现抗肿瘤药物对 CNS 肿瘤的靶向性. 紫杉醇 (paclitaxel) 虽能对一系列肿瘤产生药效,但因难溶于水,且其早期常用的药物载体聚氧乙烯蓖麻油及无水乙醇会引起超敏反应,因此在临床应用方面受到限制. 利用 PLGA 纳米粒子包裹紫杉醇,不仅能达到很高的封装率,增加紫杉醇的水溶性,提高其理化稳定性,同时能减少紫杉醇固有毒性及副反应,且药物释放动力学能被很

好的控制,在 29 例不同的癌细胞株包括神经细胞的体外实验中,其引起的癌细胞死亡率是对照组的 13 倍^[28];将阿霉素(doxorubicin)载入表面经聚山梨酯 80 修饰的 PBCA 纳米粒子,将其注射脑部灌输胶质瘤的大鼠,能明显抑制癌细胞增殖,增加大鼠存活率,并且无神经毒性^[29]。

其它 CNS 药物,例如用人血清白蛋白纳米粒子包裹本无跨血脑屏障能力的药物洛哌丁胺(Loperamide),并与转铁蛋白或转铁蛋白受体的单克隆抗体 OX26 共价结合,能够借助血脑屏障上转铁蛋白受体介导的转胞吞作用进入脑组织,产生强烈的抗伤害性药效^[30];酪氨酸羟化酶(TH)是多巴胺合成通路上的限速酶,常被用来作为帕金森病基因治疗时的目的基因,以注射了 6-羟多巴胺的帕金森病大鼠为动物模型,将 TH 表达质粒封装入 85 nm 大小且表面经 OX26 修饰的 PEG 脂质纳米粒子,通过静脉注射实验大鼠,能检测到纹状体中 TH 酶活性被标准化并有所上升^[31];将神经生长因子载入表面经聚山梨酯 80 修饰的 PBCA 纳米粒子,注射帕金森病小鼠模型后,可在 21 d 内持续发挥抗帕金森病的疗效^[32];抗菌药物环丙沙星(Ciprofloxacin)装载入表面修饰了 HIV-1 反式激活蛋白(TAT)的 PEG 纳米粒子,利用 TAT 能将异源蛋白导入细胞内或穿过血脑屏障的特点,通过检测发现该抗菌药物能被人类星型胶质细胞摄取,此法还可用于其他抗生素跨越血脑屏障,从而治疗脑部感染^[33]。

纳米技术的应用为中枢神经系统疾病的治疗提供了一种新方法,不但能增加药物对血脑屏障的通透性,还能使药物在脑内持续发挥作用,但也存在一些亟待解决的问题,如纳米粒子被细胞内吞后可能具有细胞毒性;载药纳米粒子通过血脑屏障后,药物释放的速度不易控制;纳米粒子作为载体用于基因治疗时,由于转染方法和操作步骤还不成熟,需要运载的核苷酸片段的包载率和转染率都较低。但是相信随着研究的深入,这种易于透过血脑屏障、实现靶向性和缓释性给药的纳米粒子转运系统将会广泛用于中风和癫痫等中枢神经系统疾病的治疗。

3 总结与展望

由于血脑屏障的存在,许多治疗 CNS 疾病的药物发挥药效受到很大限制,因而如何促进药物跨血脑屏障转运成为近年来研究的热点,也是

CNS 药物开发亟待解决的难题。血脑屏障是一道架在血液循环和脑组织间的保护性生物屏障,上面存在着多种类型的转运系统,可以起到帮助小分子转运和 CNS 功能保护的作用。一些流入转运系统如载体介导的转运系统及受体介导的转运系统,能向脑内输送葡萄糖、氨基酸等营养物质,若经过设计后的药物能被此类转运系统识别,将能大大提高药物对血脑屏障的渗透性;另一方面,外排转运系统中的运载体如在内皮细胞腔膜上表达的 P-糖蛋白等,能将脑内产生的代谢物和神经毒素排出到血液中,若药物被此类转运系统识别,则会降低药物对血脑屏障的渗透性和在脑内的浓度。因此人们通过改变药物结构或设计药物载体等方法,借助内源性转运系统使血液循环中的药物能穿过血脑屏障进入脑内发挥疗效。虽然目前一些研究成果还仅处于动物实验阶段,但相信随着人们对血脑屏障的进一步认识及对相关转运系统研究的日渐成熟,这些新技术终将应用于临床,从而攻克血脑屏障这道难关,为 CNS 患者带来福音。

参考文献(References):

- [1] PARDRIDGE W M. Blood-brain barrier drug targeting: the future of brain drug development[J]. *Mol Interv*, 2003, 3(2): 90-105.
- [2] DEEKEN J F, LOSCHER W. The blood-brain barrier and cancer: transporters, treatment, and Trojan horses[J]. *Clin Cancer Res*, 2007, 13(6): 1663-1674.
- [3] WOLBURG H, LIPPOLDT A. Tight junctions of the blood-brain barrier: development, composition and regulation [J]. *Vascul Pharmacol*, 2002, 38(6): 323-337.
- [4] PARDRIDGE W M. Blood-brain barrier delivery[J]. *Drug Discov Today*, 2007, 12(1-2): 54-61.
- [5] LOSCHER W, POTSCHEKA H. Drug resistance in brain diseases and the role of drug efflux transporters[J]. *Nat Rev Neurosci*, 2005, 6(8): 591-602.
- [6] MAHAR DOAN K M, HUMPHREYS J E, WEBSTER L O, et al. Passive permeability and P-glycoprotein-mediated efflux differentiate central nervous system(CNS) and non-CNS marketed drugs[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2002, 303(3): 1029-1037.
- [7] GOLDEN P L, POLLACK G M. Blood-brain barrier efflux transport[J]. *J Pharm Sci*, 2003, 92(9): 1739-1753.
- [8] MILLER D S, BAUER B, HARTZ A M. Modulation of P-glycoprotein at the blood-brain barrier: opportunities to improve central nervous system pharmacotherapy[J]. *Pharmacol Rev*, 2008, 60(2): 196-209.
- [9] BATES S F, CHEN C, ROBEY R, et al. Reversal of multi-drug resistance: lessons from clinical oncology[J]. *Novartis Found Symp*, 2002, 243: 83-96.
- [10] PEER D, MARGALIT R. Fluoxetine and reversal of multi-drug resistance[J]. *Cancer Lett*, 2006, 237(2): 180-187.
- [11] CISTERMINO S, ROUSSELLE C, DAGENAIS C, et al.

- Screening of multidrug-resistance sensitive drugs by *in situ* brain perfusion in P-glycoprotein-deficient mice[J]. *Pharm Res*, 2001, 18(2) :183-190.
- [12] FELLNER S, BAUER B, MILLER D S, *et al.* Transport of paclitaxel(Taxol) across the blood-brain barrier *in vitro* and *in vivo*[J]. *J Clin Invest*, 2002, 110(9) :1309-1318.
- [13] KAGEYAMA T, NAKAMURA M, MATSUO A, *et al.* The 4F2hc / LAT1 complex transports L-DOPA across the blood-brain barrier[J]. *Brain Res*, 2000, 879(1-2) :115-121.
- [14] OHTSUKI S, TERASAKI T. Contribution of carrier-mediated transport systems to the blood-brain barrier as a supporting and protecting interface for the brain ; importance for CNS drug discovery and development[J]. *Pharm Res*, 2007, 24(9) :1745-1758.
- [15] SHOJAIEFARD M, CHRISTIE D L, LANG F. Stimulation of the creatine transporter SLC6A8 by the protein kinase mTOR [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, 341(4) 945-949.
- [16] SHOJAIEFARD M, CHRISTIE D L, LANG F. Stimulation of the creatine transporter SLC6A8 by the protein kinases SGK1 and SGK3[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 334(3) :742-746.
- [17] KANG Y S, OHTSUKI S, TAKANAGA H, *et al.* Regulation of taurine transport at the blood-brain barrier by tumor necrosis factor-alpha, taurine and hypertonicity[J]. *J Neurochem*, 2002, 83(5) :1188-1195.
- [18] ZHANG Y, PARDRIDGE W M. Blood-brain barrier targeting of BDNF improves motor function in rats with middle cerebral artery occlusion[J]. *Brain Res*, 2006, 1111(1) 227-229.
- [19] BOADO R J, ZHANG Y, PARDRIDGE W M. Genetic engineering, expression, and activity of a fusion protein of a human neurotrophin and a molecular Trojan horse for delivery across the human blood-brain barrier[J]. *Biotechnol Bioeng*, 2007, 97(6) :1376-1386.
- [20] BOADO R J, ZHANG Y, ZHANG Y, *et al.* GDNF fusion protein for targeted-drug delivery across the human blood-brain barrier[J]. *Biotechnol Bioeng*, 2008, 100(2) 387-396.
- [21] BOADO R J, ZHANG Y, ZHANG Y, *et al.* Genetic engineering of a lysosomal enzyme fusion protein for targeted delivery across the human blood-brain barrier[J]. *Biotechnol Bioeng*, 2008, 99(2) :475-484.
- [22] GABATHULER R, ARTHUR G, KENNARD M, *et al.* Development of a potential protein vector (NeuroTrans) to deliver drugs across to the blood-brain barrier[J]. *Int Congress Series*, 2005, 1277 :171-184.
- [23] KARKAN D, PFEIFER C, VITALIS T Z, *et al.* A unique carrier for delivery of therapeutic compounds beyond the blood-brain barrier[J]. *PLoS ONE*, 2008, 3(6) :2469.
- [24] SPENCER B J, VERMA I M. Targeted delivery of proteins across the blood-brain barrier[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2007, 104(18) :7594-7599.
- [25] KUMAR P, WU H Q, MCBRIDE J L, *et al.* Transvascular delivery of small interfering RNA to the central nervous system[J]. *Nature*, 2007, 448(7149) 39-43.
- [26] SILVA G A. Nanotechnology approaches to crossing the blood-brain barrier and drug delivery to the CNS[J]. *BMC Neurosci*, 2008, 9 (Suppl 3) S4.
- [27] LOCKMAN P R, OYEWUMI M O, KOZIARA J M, *et al.* Brain uptake of thiamine-coated nanoparticles[J]. *J Control Release*, 2003, 93(3) 271-282.
- [28] FENG S S, MU L, WIN K Y, *et al.* Nanoparticles of biodegradable polymers for clinical administration of paclitaxel[J]. *Curr Med Chem*, 2004, 11(4) :413-424.
- [29] STEINIGER S C, KREUTER J, KHALANSKY A S, *et al.* Chemotherapy of glioblastoma in rats using doxorubicin-loaded nanoparticles[J]. *Int J Cancer*, 2004, 109(5) :759-767.
- [30] ULBRICH K, HEKMATARA T, HERBERT E, *et al.* Transferrin- and transferrin-receptor-antibody-modified nanoparticles enable drug delivery across the blood-brain barrier (BBB)[J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2009, 71(2) 251-256.
- [31] ZHANG Y, CALON F, ZHU C, *et al.* Intravenous nonviral gene therapy causes normalization of striatal tyrosine hydroxylase and reversal of motor impairment in experimental parkinsonism[J]. *Hum Gene Ther*, 2003, 14(1) :1-12.
- [32] KURAKHMAEVA K B, VORONINA T A, KAPICA I G, *et al.* Antiparkinsonian effect of nerve growth factor adsorbed on polybutylcyanoacrylate nanoparticles coated with polysorbate-80[J]. *Bull Exp Biol Med*, 2008, 145(2) 259-262.
- [33] LIU L, VENKATRAMAN S S, YANG Y Y, *et al.* Polymeric micelles anchored with TAT for delivery of antibiotics across the blood-brain barrier [J]. *Biopolymers*, 2008, 90(5) :617-623.

(上接第 369 页)

- [23] XU Steven, HU Jin-guo, FARIS Justin. Molecular characterization of the langdon durum-*Triticum Dicoccoides* chromosome substitution lines using target region amplification polymorphism(Trap) markers[J]. *Wheat Genetics International Symposium Proceedings*, 2003, 1 :91-94.
- [24] MIKLAS P N, HU Jin-guo, GRÜNWARD N J, *et al.* Potential application of TRAP(Targeted Region Amplified Polymorphism) markers for mapping and tagging disease resistance traits in common bean[J]. *Crop Sci*, 2006, 46 :910-916.
- [25] 郭春芳,唐玉海,孙云,等. 11个茶树品种遗传多样性的 ISSR 和 TRAP 比较分析[J]. *中国农学通报*(GUO Chun-fang, TANG Yu-hai, SUN Yun, *et al.* Comparison of genetic diversity of eleven tea [*Camellia sinensis*] cultivars using ISSR and TRAP markers[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*), 2008, 24(1) :340-346.
- [26] 朱玉贤,李毅. 现代分子生物学(第二版)[M]. 北京:高等教育出版社(ZHU Yu-xian, LI Yi. *Modern Molecular Biology (the second edition)*[M]. Beijing: High Education Press), 2002. 370.
- [27] 曹哲明,张志伟,周劲松. TRAP 及 SSCP 检测草鱼微卫星序列多态性[J]. *生物技术*(CAO Zhe-min, ZHANG Zhi-wei, ZHOU Jin-song. Detection of polymorphism in microsatellite sequences by TRAP and SSCP[J]. *Biotechnology*), 2005, 15(6) :22-24.
- [28] 张志伟,韩曜平,曹哲明. 草鱼 TRAP-PCR 反应体系的建立[J]. *生物技术*(ZHANG Zhi-wei, HAN Yao-ping, CAO Zhe-ming. Establishment of TRAP-PCR reaction conditions in grass carp[J]. *Biotechnology*), 2006, 16(2) :31-34.
- [29] 张志伟,曹哲明,周劲松,等. 不同种群草鱼遗传结构 TRAP 分析[J]. *农业生物技术学报*(ZHANG Zhi-wei, CAO Zhe-ming, ZHOU Jing-song, *et al.* Genetic structure analyses of different populations of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) using TRAP technique[J]. *Journal of Agricultural Biotechnology*), 2006, 14(4) :517-521.
- [30] 于秀英,张宁. DNA 分子标记在真菌系统分类与鉴定中的应用[J]. *内蒙古民族大学学报(自然科学版)*(YU Xiu-ying, ZHANG Ning. Application of DNA molecular markers in systematic classification and identification of Fungi[J]. *Journal of Inner Mongolia University for Nationalities*), 2006, 21(4) :411-415.