

药物透过血脑屏障的研究进展

康健磊, 王寅千 综述 于书卿 审校*

首都医科大学附属北京天坛医院, 北京 100050

摘要: 血脑屏障能够有效地阻止有害物质进入脑组织中,但同时会限制药物的转运,不利于神经系统疾病的治疗。因而如何增加药物的脑内浓度是当前神经系统疾病治疗面临的一个重要问题。目前的一些研究表明可以通过改变药物结构、改变给药途径、促进血脑屏障的开放以及增加药物的转运等方法来促进药物通过血脑屏障,提示我们可以根据药物的不同性质采取相应的方法,从而达到安全、有效的治疗疾病的目的。

关键词: 血脑屏障; 药物; 转运

血脑屏障(blood brain barrier, BBB)是维持中枢神经系统内环境稳定的重要组织结构。它能够有效地阻止血管内的蛋白质等大分子物质进入脑组织,而使水、电解质、氨基酸及葡萄糖等小分子物质可以通过,同时可以排出脑内的代谢产物。然而正是由于 BBB 的这种特殊屏障作用,阻碍了多数药物进入脑组织,这给中枢神经系统疾病的药物治疗造成了困扰。

1 血脑屏障结构

Paul Ehrlich 于 19 世纪 80 年代发现了脑内血脑屏障的存在,但直到 20 世纪 60 年代才在电镜下明确其结构^[1]: 脑毛细血管内皮细胞(endothelial cells, ECs)、周细胞(pericytes, PCs)、基膜(basal lamina, BL)及星形细胞(astrocytes, ACs)的足突^[2]。BBB 的特殊屏障作用正是由其独特的组织结构决定的,主要包括以下几个方面:①相邻的内皮细胞之间存在由一些跨膜蛋白和胞质蛋白组成的紧密连接(tight junction, TJ),封闭了细胞之间的间隙,使得大分子物质难以通过。②内皮细胞胞膜上的孔窗以及胞内的吞饮小泡在大分子的转运中起到很重要的作用,而 BBB 的内皮细胞缺乏这两种结构,不利于大分子物质的通过。③内皮细胞的胞膜上表达各种转运蛋白,既包括葡萄糖载体、氨基酸载体、胰岛素受体、转铁蛋白受体等转入蛋白,还存在 P-糖蛋白(P-glycoprotein, P-gp)多药耐药性蛋白(multidrug resistance-related proteins, MRPs)、乳腺癌耐药蛋白(breast cancer resistance proteins, BCRRs)

等外排蛋白。④周细胞内的平滑肌肌动蛋白具有收缩功能的,从而可以调节血脑屏障的通透性^[3]。

2 物质通过方式

目前的研究表明,物质透过 BBB 主要有四条途径:①小分子经细胞间隙扩散。②脂溶性分子的融膜扩散。③特异受体介导的吞饮。④特异载体通道和酶系统的激活。通过这些途径进入脑内需要满足一定的条件,主要包括分子量、脂溶/水溶性、电荷性质以及与特殊受体的结合能力^[4]。总体来说,分子量小、脂溶性高的物质容易通过。然而大部分的药物分子量较大,不易通过 BBB,这就需要研究一些方法增加药物的通透率。

3 促进药物通过方式

3.1 改变给药途径

3.1.1 鞘内/脑室内给药 通过直接将药物注入或植入脑内,从而不经过血脑屏障,能够获得很高的药物浓度^[5]。目前主要应用于颅内感染的抗生素治疗及脑肿瘤术后化疗,但是此种方法会增加颅内感染机会,也会引发药物的毒性作用。

3.1.2 鼻腔给药 近年来的研究发现,鼻腔给药可以提高某些药物的脑内浓度,同时还具有生物利用度高、吸收迅速、使用方便等优点。目前认为可以通过以下几种途径入脑:嗅神经通路,嗅粘膜上皮通路,鼻腔粘膜入血通路^[6]。尤其前两种入脑途径能够绕过血脑屏障进入脑脊液,从而大大增加了药物浓度。目前研究表明仅仅对于脂溶性强、分子量小、解离度小的药物有较好的效果,并且药物作

收稿日期:2012-05-06;修回日期:2012-08-06

作者简介:康健磊(1988-),男,在读硕士研究生,研究方向:神经外科术后颅内感染的治疗。

通讯作者:于书卿(1964-),男,博士,教授,硕士生导师,主任医师,研究方向:神经外科术后感染的治疗;胶质瘤术中超声造影;神外术后下肢静脉血栓的防治。

用于鼻粘膜会对其造成一定的损害。

3.2 改变药物结构

通过增加一些化学基团,比如酯化或者酰胺化,制成有效成分的前药,以增加药物的脂溶性利于通过 BBB,但这同时会增加药物的毒副作用。随着纳米技术的发展,关于纳米药物载体的研究越来越多,借助于纳米载体的靶向特征,可以促使药物通过血脑屏障,作用于特定的部位。目前运用纳米粒载体已成功转运入脑的药物有洛哌丁胺、筒箭毒碱、阿霉素及 NMDA 受体拮抗剂 MRZ 1/576 等^[7]。目前制约纳米载体的发展主要是技术工艺要求较高及载体的稳定性问题。

3.3 促进血脑屏障开放

3.3.1 应用化学制剂 研究表明通过颈内动脉注射高渗溶液(如甘露醇),能够导致血脑屏障短暂可逆性开放。其机制在于高渗透压导致 ECs 皱缩、脑血管扩张,并细胞骨架和 TJ 收缩状态,从而导致 ECs 之间的间距增大,物质容易通过^[8]。然而这种方法的不足在于:①开放为非选择性开放,会导致一些有害物质会进入脑内,引起包括癫痫发作等反应。②颈内动脉注射具有一定的操作难度和风险。国内外有研究表明静脉注射甘露醇也有一定的效果,但不如动脉注射明显。另外,油酸等也能够通过与细胞膜上的脂质的相互作用从而增加 BBB 通透性。

3.3.2 应用生物制剂 Huber 等^[9]报道,组胺、血管内皮生长因子、缓激肽及其类似物 RMP-7 (receptor-mediated permeabilizer-7) 等血管活性物质会导致紧密连接的结构发生变化,细胞间的紧密连接开放,从而增加 BBB 的通透性。近年来发现一种 54 kD 大小的小带毒素 (Zonula occludens toxin, ZOT),有人以蔗糖及菊粉为渗透性标志进行实验^[10],发现 ZOT 会导致牛脑毛细血管内皮细胞的通透性增加,停止用药数小时,通透性恢复正常。此外,还可促进 P-gp 的底物之一紫杉醇的浓度增加,这点对于临床中的应用有较大的意义。

3.3.3 应用物理方法 许多研究证实,超声波照射会引起 BBB 开放,机制包括胞吞转运增强、内皮细胞间连接增宽开放、部分紧密连接开放以及受损内皮处的通透性增加等。Hynynen 等^[11]利用聚焦超声协同微泡实现了短暂开放动物的 BBB,并且在微泡存在的情况下,所需的超声能量明显降低,可减少超声对于脑组织的损伤。最近,有人运用抗淀

粉样蛋白抗体治疗 AD 小鼠,辅以 MRI 引导下的聚焦超声照射,照射 4 天后的病理表明,淀粉样蛋白斑明显减少^[12]。这些显示了超声在促进药物转运方面很有前景。

3.4 通过转运蛋白介导

3.4.1 载体介导的转运 (carrier mediated transport, CMT) ECs 上存在包括葡萄糖载体、氨基酸载体等载体,可以将血液中的葡萄糖、氨基酸等营养物质运入脑内^[13]。利用载体进行转运,必须使得药物与这些营养物质相似,包括分子量及分子类型等,可以通过对药物进行一些修饰,使这些前药成为底物,典型的代表如多巴胺的前药左旋多巴。

3.4.2 受体介导的转运 (receptor mediated transport, RMT) ECs 表面存在多种受体,能通过胞吞作用转运大分子的物质,最早发现的受体是胰岛素受体,但是胰岛素一方面在血中半衰期短,另一方面会影响血糖浓度,不适合作为转运药物的载体。目前大多利用胰岛素的单克隆抗体 (83-14) 进行试验研究,Boado 等^[14]在一系列动物试验中证实,包括一些神经营养因子、 β 淀粉样蛋白抗体等可以与 83-14 联合,从而通过血脑屏障。转铁蛋白受体也是较早发现的,但血液中存在很高浓度的内源性转铁蛋白,限制了其作为药物载体的价值,抗转铁蛋白受体单克隆抗体 (OX26) 的出现解决了这一问题。OX26 作为抗体与转铁蛋白受体的结合位点和转铁蛋白与受体的结合位点不同,故避开了竞争抑制作用,并且其载体活性是转铁蛋白的 9 倍。在动物实验中证实了多种神经营养因子可以被其转运^[15]。但 OX26 仅仅对大鼠有特异性,不能识别人的转铁蛋白受体,还需要进行进一步的研究改进。此外,目前还有脂蛋白受体、白喉毒素受体等也被用来作为载体。

3.4.3 吸附介导的转运 (adsorptive mediated transport, AMT) 是指利用递药系统物质表面的正电荷与 BBB 膜上阴离子间的静电作用,诱导胞吞转运传递药物入脑。多数药物自身不带有正电荷,可以用一种带正电荷的两性分子—细胞穿透多肽 (cell-penetrating peptides, CPPs) 为载体,有实验^[16]表明 CPPs 可以增加鼠脑内的阿霉素浓度达 30 倍之高。还有 SynB3,一种与生物膜亲和力很高的多肽分子,Boer 等^[17]在临床试验中证实其可以增加吗啡在脑中的浓度。

3.5 抑制外排系统

3.5.1 P-gp P-gp 是由 Juliano 和 Ling 在 1976 年首先发现的一种相对分子质量为 170 k, 由多药耐药 (multidrug resistance, MDR) 基因编码的蛋白结构, 在人体的多个器官上均有表达, 如肝、肾、睾丸和脑等。在脑中, P-gp 主要位于 ECs 的管腔面, 能够主动将某些进入脑中的脂类物质转运回脑外的血管, 阻止了药物在脑内的积聚。P-gp 具有以下的特点: ①P-gp 对底物的特异性低, 易与多种底物结合。包括心血管药物 (奎尼丁、维拉帕米等)、抗生素 (红霉素等)、抗肿瘤药物 (长春新碱等、丝裂霉素、放线菌素) 等。②两种 P-gp 底物可以与其竞争性结合。当两种亲和力不同的底物同时存在时, 亲和力强的底物易与 P-gp 结合而被泵到细胞外, 亲和力小的底物与 P-gp 结合少则易在细胞内蓄积。③P-gp 的药物外排作用具有 ATP 依赖性。④P-gp 的药物外排作用具有饱和性^[18]。可以针对以上四种特点进行抑制剂开发。目前 P-gp 抑制剂的大致经历了三代的发展^[19]: 以维拉帕米为代表的第一代抑制剂, 其效能低, 选择性差, 当达到所需的抑制效能时, 所需剂量较大并会产生较严重的副作用。以伐司朴达 (Valspodar) 代表的第二代抑制剂抑制能力更强, 然而这类药物同时会抑制 CYP 酶的活性, 降低抗肿瘤药物的药效, 不利于在临床上的应用。第三代抑制剂, 如 Tariquida、elacridar 等, 特异性强, 生物利用度低, 不影响所药物的代谢, 不抑制其他的转运体, 不存在和其他抗肿瘤药物发生相互作用, 具有很好的临床前景。目前 P-gp 抑制剂的种类多种多样, 但仅有少数处于临床试验中, 如何使抑制剂变得高效、低毒是目前需要解决的问题。

3.5.2 MPRs MPRs 也存在于 ECs 的管腔面, 主要用于外排谷胱甘肽和葡糖苷酸等, 所以含有这两种分子结构的药物易被泵出脑内, 这些药物包括抗肿瘤药物 (长春新碱)、抗癫痫药 (卡马西平) 等。对一些长期服用卡马西平的受试者研究表明: MPRs 的 mRNA 及蛋白的表达水平增加, 这可能与耐药性癫痫的产生有关。Sun 等^[20] 通过敲除 MPR1 基因的小鼠与正常小鼠进行试验, 发现丙磺舒、吡哆美辛等可增加脑内荧光剂的浓度, 表明这些药物可抑制 MPRs。

3.5.3 BCRPs 相对于 P-gp 和 MPRs, BCRPs 的研究刚刚开始, 主要影响较多的抗肿瘤药物: 米托蒽

醌、托泊替米、拓扑替康、罗丹明 123、阿霉素等。Zhang 等^[21] 研究发现, 与 P-gp 和 MPRs 相比, 脑胶质瘤血管的 BCRP 的表达明显增加, 表明其与脑胶质瘤产生耐药性有关。JAI-51 与 NSC73306 被在动物试验中证实对 BCRP 具有抑制作用^[22,23]。

3.6 传统中药

传统中药冰片、麝香、石菖蒲等开窍药物可以促进药物通过 BBB。张星虎等^[24] 通过冰片对于丙戊酸钠透过血脑屏障的影响发现, 冰片可以促进丙戊酸在脑脊液中的浓度。葛朝莉^[25] 进一步从电镜下观察冰片对于血脑屏障的结构的影响, 发现紧密连接出现缝隙, 并且于 48 h 后恢复正常, 表明了这种改变是可逆的。

4 总结

近年来, 随着生物及制药技术的发展, 促进药物通过血脑屏障的方法越来越多, 但大多仍处于实验室阶段, 需要进一步的进行安全性、可靠性方面的研究, 相信随着新技术的发展, 最终能找出特异性强、对人体安全的药物转运方法。

参 考 文 献

- [1] Engelhardt B. Development of the blood-brain barrier. *Cell Tissue Res*, 2003, 314(1): 119-129.
- [2] Liebner S, Cathrin CJ, Wolburg H. Current concepts of blood-brain barrier development. *Int. J. Dev. Biol*, 2011, 55(4-5): 467-476.
- [3] Ballabh P, Braun A, Nedergaard M. The blood-brain barrier: an overview Structure, regulation, and clinical implications. *Neurobiology of Disease*, 2004, 16(1): 1-13.
- [4] Lee G, S Dallas S, Mer Hong M, et al. Drug Transporters in the Central Nervous System: Brain Barriers and Brain Parenchyma Considerations. *Pharmacol Rev*, 2011, 53(2): 569-596.
- [5] Huynh GH, Deen DF, Szoka FC Jr. Barriers to carrier mediated drug and gene delivery to brain tumors. *J Control Release*, 2006, 110(2): 236-259.
- [6] Graff CL, Pollack GM. Nasal drug administration: potential for targeted central nervous system delivery. *J Pharm Sci*, 2005, 94(6): 1187-1195.
- [7] Patel MM, Goyal BR, Bhadada SV, et al. Getting into the brain: approaches to enhance brain drug delivery. *CNS Drugs*, 2009, 23(1): 35-58.
- [8] Farkas A, Szatmari E, Orbok A, et al. Hyperosmotic mannitol induces Src kinase-dependent phosphorylation of beta-catenin in cerebral endothelial cells. *J Neurosci Res*, 2005, 80(6): 855-861.
- [9] Huber JD, Witt KA, Hom S, et al. Inflammatory pain alters

- blood brain barrier permeability and tight junctional protein expression. *J Physiol Heart Circ Physiol*, 2001, 280 (3) : 1241-1248.
- [10] Karyekar CS, Fasano A, Rajee S, et al. Zonula occludens toxin increases the permeability of molecular weight markers and chemotherapeutic agents across the bovine brain microvessel endothelial cells. *J. Pharm. Sci*, 2003, 92 (2) : 414-423.
- [11] Hynynen K, McDannold N, Sheikov N A, et al. Local and reversible blood-brain barrier disruption by noninvasive focused ultra-sound at frequencies suitable for transskull sonications. *Neuroimage*, 2005, 24 (1) : 12-20.
- [12] Jordao JF, Ayala-Grosso CA, Markham K. Antibodies targeted to the brain with image-guided focusedultrasound reduces amyloid-beta plaque load in the TgCRND8 mouse model of Alzheimer's disease. *PLoS One*, 2010, 5 (5) : e10549.
- [13] Chen Y, Liu L. Modern methods for delivery of drugs across the blood- brain barrier. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2012, 64 (7) : 640-665.
- [14] BoadoR J, Zhang Y, Pardridge WM. Humanization of anti-human insulin receptor antibody for drug targeting across the human blood-brain barrier. *Biotechnol. Bioeng*, 2007, 96 (2) : 381 -391.
- [15] Ulbrich K, Hekmatara T, Herbert E. Transferrin- and transferrin-receptor- antibody-modified nanoparticles enable drug delivery across the blood - brain barrier (BBB). *Eur. J. Pharm. Biopharm*, 2009, 71 (2) : 251 - 256.
- [16] Rousselle C, Clair P, Lefauconnier JM, et al. New advances in the transport of doxorubicin through the blood - brain barrier by a peptide vector- mediated strategy. *Mol. Pharmacol*, 2000, 57 (4) : 679 - 686.
- [17] De Boer AG, Gaillard PJ. Drug targeting to the brain. *Annual Re Pharmacol Toxicol*, 2007, 47 : 323 -355.
- [18] Fromm MF. P-glycoprotein : a defense mechanism limiting oral bioavailability and CNS accumulation of drugs. *Int J Clin Pharmacol Ther*, 2000, 38 (2) : 69-74.
- [19] Thoms H, Coley HM. Overcoming multidrug resistance in cancer : an update on the clinical strategy of inhibiting p-glycoprotein. *Cancer Control*, 2003, 10 (2) : 159-165.
- [20] Sun H, Johnson DR, Finch RA, et al. Transport of fluorescein in MDCK-MRP1 transfected cells and mro1-knockout mice. *Biochem Biophys Res Commun*, 2001, 284 (2) : 863-869.
- [21] Zhang W, Mojsilovic-Petrovic J, Andrade MF, et al. The expression and functional characterization of ABCG2 in brain endothelial cells and vessels. *FASEB*, 2003, 17 (14) : 2085 - 2087.
- [22] Boumendjel A, McLeer-Florin A, Champelovier P, et al. A novel chalcone derivative which acts as a microtubule depolymerising agent and an inhibitor of P-gp and BCRP in-vitro and in-vivo glioblastoma models. *BMC Cancer*, 2009, 9 : 242.
- [23] Wu CP, Shukla S, Calcagno AM, et al. Evidence for dual mode of action of a thiosemicarbazone, NSC7336 : a potent substrate of the multidrug resistance linked ABCG2 transporter. *Mol. Cancer Ther*, 2007, 6 (12) : 3287-3296.
- [24] 张星虎, 刘凤芹, 赵志刚. 冰片开放血脑屏障对实验性细菌性脑膜炎治疗影响的研究. *中国神经免疫学和神经病学杂志*, 2007, 2 : 93-96.
- [25] 葛朝莉, 韩漫夫, 白润涛, 等. 冰片促进血脑屏障开放的超微结构研究. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2008, 6 (10) : 1183-1185.