

进展评述

血脑屏障通透性增效方法的研究进展

梁 静 刘 军 贺全国*

(湖南工业大学绿色包装与生物纳米技术应用湖南省重点实验室 株洲 412007)

摘 要 血脑屏障作为脑部的屏障系统,具有较强的保护作用,维持着中枢神经系统的内环境的稳定,同时也阻止药物进入脑部治疗中枢神经系统疾病。多年来,在提高血脑屏障通透性的研究方面有了很大进展,让药物靶向入脑,为治疗中枢神经系统疾病提供了很大的帮助。本文系统介绍血脑屏障的结构,其中主要介绍产生血脑屏障的解剖和功能结构,并对提高其通透性的增效方法和机制进行了概括,主要从物理、化学、生物学和纳米给药载体等方面阐述了提高血脑屏障透过方式,并简要介绍了一些具体药物的输送的应用。

关键词 血脑屏障 脑部给药 中枢神经系统 疾病

Research Progress in Methods of Improving Blood Brain Barrier Permeability

Liang Jing, Liu Jun, He Quanguo*

(Key Laboratory of Green Packaging and Application Biological Nanotechnology of Hunan Province, Hunan University of Technology, Zhuzhou 412007)

Abstract The Blood Brain Barrier (BBB) as a brain barrier system is crucial in protecting the brain and is essential for maintaining their bathing microenvironment. This makes it difficult to deliver beneficial drugs across the BBB to treat Central Nervous System (CNS) diseases. Great progress has been made in research efforts in improving the BBB permeability in recent years, thus providing a lot of help to delivery drug to the targeted brain part and to treat CNS diseases. This paper discusses the anatomical and functional structures of the BBB and summarizes the methods and mechanisms of increasing BBB permeability comprehensively. It also elaborates on the physics, chemistry, biology and nanocarrier aspects to improve drug delivery to the brain, and introduces some specific drug delivery.

Keywords Blood brain barrier, Drug delivery system to brain, Central nervous system, Diseases

血脑屏障(BBB)是机体最重要的屏障之一。它是由毛细血管内皮细胞形成的血液与脑组织间的屏障。BBB 不仅可以阻止有害的物质进入脑内,还可以选择性地有害物质或过剩物质泵出脑外,为脑组织提供了一个相对稳定的内环境。对于中枢神经系统(CNS)疾病,如阿尔茨海默症(AD)、帕金森症(PD)和癫痫等,必须使药物穿过血脑屏障才能达到治疗目的。考虑到全球神经类药物的潜在庞大市场及能穿过 BBB 的 CNS 药物的稀少,研究和发展跨 BBB 药物转运技术将成为学术研究方面的当务之急。跨 BBB 药物转运问题已引起了很多科学家的兴趣,从一些简单的制备脂溶性分子到纳米技术的应用,新的方法不断被人们发现。本文将就 BBB 的结构特性、穿透 BBB 的方法及其研究进展等进行介绍,为后来新方法的发现提供参考。

1 BBB 的发现和结构

19 世纪末,微生物学家 Paul Ehrlich 在一个实验中发现了 BBB。他发现当将苯胺静脉注入生物体内

贺全国 博士,教授, E-mail: hequanguo@126.com

2014-11-05 收稿, 2015-01-12 接受

的时候,生物体的所有器官都会被染色,唯独脑细胞没有被染色。当时,他将此现象归咎为脑细胞没有吸收足够的染色剂。若干年后,他的学生 Edwin Goldmann 将苯胺直接注入脊髓中,这时脑细胞被染色了,但是身体其他地方却没有被染色^[1, 2]。这个现象,明显展现出脑和身体其他组织间有一层屏障。直到扫描式电子显微镜用于医学研究的时候,这层神秘的屏障-BBB 才发现。BBB 是血-脑、血-脑脊液和脑脊液-脑 3 种屏障的总称^[3],通透性低,只允许小分子物质和脂溶性高的物质通过,其结构见图 1,内层为脑毛细血管内皮细胞(Endothelial cells, ECs)及其之间的紧密连接(Tight junctions, TJs),中间为基膜和周细胞,外层为星形胶质细胞和细胞外基质,其中 ECs 和细胞间紧密连接是 BBB 的基本结构^[4, 5]。BBB 特异的结构决定了它特异的功能^[6, 7]。TJs 是 BBB 的结构和基础,是具有调节作用的复杂的细胞系统。TJs 蛋白由跨膜蛋白、胞质附着蛋白和细胞骨架蛋白共同组成。跨膜蛋白又包括咬合蛋白(Occludin)、闭合蛋白(Claudin)和连接黏附分子(Junctional adhesive molecule, JAM) 3 种完整的膜蛋白。胞质附着蛋白有 3 种,即闭合小环蛋白 ZO-1、ZO-2 和 ZO-3。这些蛋白的表达与排列方式与 BBB 的功能密切相关。一些药物或预处理可以影响 TJs 蛋白的表达,从而间接的影响 BBB 通透性的表达^[8, 9]。

ECs 的腔面上还存在 P-糖蛋白外排系统(P-gp),它是一种依赖于三磷酸腺苷(ATP)转运的磷酸糖蛋白^[10]。P-糖蛋白在 ATP 的作用下,将细胞毒物逆浓度从胞内转运到胞外,以降低胞内药物浓度。同时 ECs 腔面上的 P-gp 表达量是脑膜的 400~500 倍,呈高表达性。P-gp 的高表达是肿瘤多药耐药性(multiple drug resistance, MDR)的重要机制之一,也是许多亲脂性药物难以进入 CNS 发挥治疗作用的重要原因之一。P-糖蛋白抑制剂用于临床研究在国外已开展十多年,近年来,人们对 P-糖蛋白的研究越来越深入。有效的 P-糖蛋白抑制剂可抑制 P-糖蛋白的药物外排作用,进而逆转肿瘤 MDR。此外,也可通过寻找改善 P-糖蛋白在人体内代谢的途径,从而改变 P-糖蛋白的作用机制,使药物充分发挥其作用。BBB 自身还存在多种氨基酸、糖类和有机酸的转运系统。虽然不允许大分子物质通过,但自身需要的小分子物质,还可以通过内皮细胞上的特殊转运体透过 BBB。因此 BBB 不仅具有解剖结构还具有一个功能形态的结构。

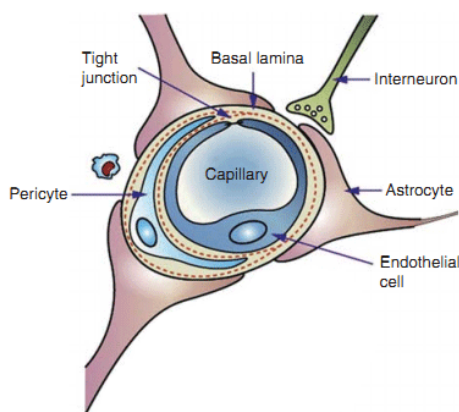


图 1 血脑屏障结构^[33]

Fig.1 Schematic representation of the structure of BBB^[33]

2 透过 BBB 的研究进展

BBB 仅允许小分子(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)通过,而 98%以上的药物无法透过 BBB 入脑。过去人们使用的药物转运入脑的传统手段包括:经颅或经鼻脑部药物转运、BBB 中断(动脉注射高渗溶液)、小分子脂质化等(见表 1)。然而,这些方法会引起 CNS 感染及从脑组织快速清除(短脑半衰期)的风险。以上方法过于陈旧,

不再赘述, 现在简要介绍一些比较新颖的穿透方法。

2.1 物理方法

超声最早应用于成像, 其图像具有良好的空间和时间分辨率。若用足够的压力幅度, 可得到一个可接受的信噪比。其目的是获得所需的诊断信息, 而不伤害细胞组织。Skauen 等^[22]发现超声可以促进药物进入体内, 增加药物活性。后来证明, 超声可以破坏局部的 TJs, 超声波能提高 BBB 的通透性, 其原理见图 2。研究认为这是由于超声波通过空化作用所致的声孔效应, 引起内皮细胞收缩, TJs 相关蛋白合成减少, TJs 开放以及诱导细胞凋亡等增加了细胞的通透性。这种方法可以可逆地、选择性地开放 BBB, 且对脑组织损伤甚微^[23]。

表 1 穿过血脑屏障的不同给药方法^[11]

Tab.1 Different methods investigated to get around the BBB to deliver drugs to the brain^[11]

方法	优点	缺点	参考文献
直接注射	局部用药, 可避免全身给药	可行性差, 重复性差, 有副作用	12~14
鼻腔给药	无创, 可重复给药	适用于体积小的药物, 存在个体差异, 可造成局部损伤	15,16
动脉注射高渗溶液	可使药物进入脑部大部分区域, 有大量临床经验	需全身麻醉, 有副作用, 重复性差	17,18
小分子脂质化	方法简单, 可行性好	适用于易脂化的药物, 存在局限性	19~21

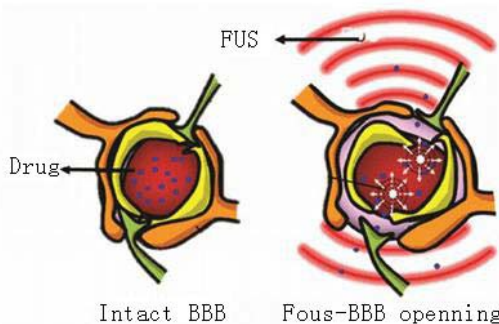


图 2 超声破坏血脑屏障原理^[27]

Fig.2 Schematic of ultrasound temporarily disrupts the BBB^[27]

超声可以用于提高 BBB 渗透的报告发表于 20 世纪 50 年代。付赤学等^[24]发现, 超声联合微泡可选择性、可逆性地开放大鼠的 BBB, 其开放时间长达 4h 以上, 且不导致大鼠神经行为及脑细胞形态学的改变。这一发现对 CNS 疾病的治疗具有潜在的应用价值。与目前临床常用的可逆性开放 BBB 的方法(如高渗糖等)相比, 该方法无创、对 BBB 的开放时间较长, 开放部位具有一定的选择性, 无明显副作用, 可反复多次使用。早期的研究显示, 超声可以增加 BBB 的渗透性, 但是, 它伴有出血或热凝固。超声开放 BBB 是热效应和空化效应介导的。在 BBB 渗透性的区域观察到热损伤, 其阈值与 BBB 的组织损伤相关联, 在一般情况下, 出血和发生组织损伤与脉冲持续时间、脉冲数与重复频率等有关。虽然 BBB 开放是可能的, 相关的生物效应仍有待于进一步研究。

Polat 等^[25]利用 42.6 kHz 的低频超声联合微泡诱导血管平滑肌细胞凋亡, 实现细胞通透性的改变, 通过减少 TJs 相关蛋白的表达并改变其分布, 疏松 TJs, 开放血-肿瘤屏障, 通过超声联合微泡促渗, 缩短利多卡因发挥局麻作用的时间, 这一技术已得到 FDA 的批准, 并成功地应用到临床(包括运用于成人及儿童)。杨钰楠等^[26]用诊断超声联合微泡的方法促进了顺铂进入 BBB, 用胶体金作为检测物质。通过透射电镜观察超微结构的变化和胶体金的含量变化。用高效液相色谱法测 24 h 内顺铂含量的变化。结果表明, 超声联合微泡组细胞间 TJs 大量增宽, 甚至模糊、消失, 内皮细胞胞饮小泡增多, 细胞内可见胶

体金颗粒分布,其他组少见或未见金颗粒。在 20 h 左右声联合微泡组顺铂的透过性最大。此方法安全性及可行性高,同时还具有参数可控性好,使用便捷,易操作,对临床疾病诊断和治疗环境要求不高等优点。但这种方法会损伤内皮细胞,只能暂时性的开放 BBB。长时间超声会对 BBB 产生危害。这对未来人们研究 BBB 的通透性提供了新的参考。

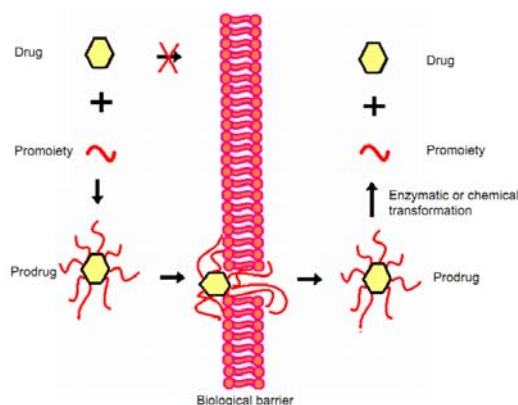
表 2 超声及微泡对血脑屏障破坏的不同参数^[11]Tab.2 Reported effects of different parameters on BBB disruption via FUS and microbubbles^[11]

参数	对 BBB 的破坏
压力振幅	BBB 破坏程度随着压力振幅增大而增大, 高压振幅下会产生血管损伤
超声频率	BBB 损伤随着频率的降低而降低
突发长度	对于突发长度小于 10 ms, BBB 损伤会增加, 此后突发长度减少, BBB 的损伤也减少
脉冲重复频率	BBB 破坏程度会在一定程度上随着重复频率的增加而增加
超声造影剂剂量	BBB 破坏的幅度随剂量增加而增加
超声时间	持续时间较长或反复超声对增加 BBB 损害
微泡直径	大直径的微泡对 BBB 破坏增加

2.2 化学方法

目前穿过 BBB 的化学方法主要有以下 3 种。一是制成亲脂性前药, 前药是药物分子生物可逆的衍生物, 它在体内经酶和(或)化学转化释放出有活性的母体药物。制成前药掩蔽药物分子内的极性和可电离基团, 以增加药物的脂溶性, 改善药物的膜渗透性。另一是一些芳香类物质如冰片、麝香等, 作为开窍类中药可开放 BBB。再一是化学传递的方法。化学传递系统(chemical delivery system, CDS)基本结构是药物与配体的复合体, 具有亲脂性和立体空间结构, 能透过 BBB。

对药物进行化学修饰, 制亲脂性前药是药化领域最早的研究思路, 被作为通过 BBB 的非侵入性方法。含-OH、-NH₂、-COOH 结构的脂溶性差的药物可通过酯化、醚化、环化(开环化)等化学反应制成脂溶性大的药物, 进入 CNS 后其亲脂性基团可被水解而释放出活性药物。镇痛药吗啡的 2 个羟基分别引入乙酰基得到海洛因, BBB 通透性增加了 100 倍; 在巴比妥酸分子中引入非极性基团得到的苯巴比妥、海索比妥等则可穿越 BBB 进入脑中发挥作用。但单纯增加脂溶性仍有很大局限性, 目前成功的实例比较少。这是因为 BBB 上存在 P-糖蛋白(P-gP)外排泵, 能将许多脂溶性好、易透过 BBB 的药物外排出脑组织。利用此原理对紫杉醇进行结构修饰, 在 C10 位羟基上引入丁二酸得到了 Tx-67, 它可以减少 P-gP 的外排作用并且也表现出较好的 BBB 通透性。因此在保证药物具有较好脂溶性的同时, 需考虑对药物进行结构修饰以减少 P-gP 对药物的外排。

图 3 前药作用示意图^[28]Fig.3 Illustration of the prodrug approach^[28]

现在对于冰片能促进 BBB 开放的机制受到人们的重视。实验证明, 冰片可使 BBB 的超微结构发生可逆性改变^[29]。贾钰铭等^[30]证明, 冰片能促进顺铂、丙戊酸钠和三氧化二砷等透过 BBB。卡马西平

(carbamazepine, CBZ) 是中亲脂性药物, 主要作用于 CNS 的大脑皮层, 达到抗癫痫的作用。动物实验表明, 冰片可提高 CBZ 的生物利用度, 减慢代谢。对癫痫患者血清和脑脊液 CBZ 药物浓度实验表明, 冰片可以增加 BBB 的通透性, 增加 CBZ 在 CNS 内的药物浓度。这样可以减少全身用量和副作用。Zhang 等^[31]制备了香豆素 6 标记的抑肽酶纳米粒子(NP-C6), 用并流式细胞仪定量测定了冰片促进其透过 BBB 的荧光强度(见图 4)。因此, 冰片是一个很好的增强剂, 可以促进药物进入脑部。

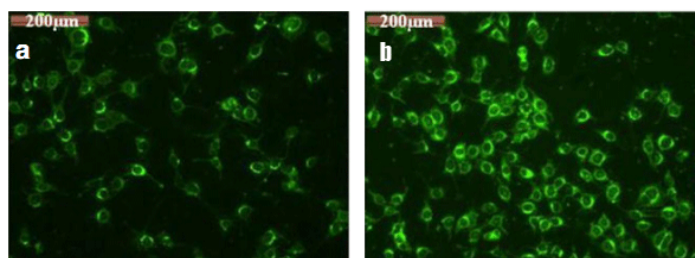


图 4 单独 NP-C6 和冰片结合 NP-C6 荧光在体外内皮细胞的荧光显微镜图^[31]
Fig. 4 The fluorescent intensity of NP-C6 and NP-C6 joined with borneol (0.1 mg/ml) in vitro in 15 min^[31]
(a): NP-C6, (b): NP-C6 with borneol

目前较为成熟的 CDS 包括二氢吡啶类脑靶向 CDS 和硫胺素类脑靶向传递系统(TDS)^[32]。化学给药系统可以靶向给药即通过化学合成反应或者化学修饰合成药物的非活性衍生物使药物与特殊设计的载体及其他辅助单元以共价键的方式相连, 在到达靶向组织、器官或者细胞内后, 再利用酶断开共价键, 从而释放出活性药物。二氢吡啶类脑靶向 CDS 是以二氢吡啶却比啉离子的氧化还原反应为基础, 一般为将含-OH、-NH₂、-COOH 的药物共价连接上 1 个含二氢吡啶单元的功能团。活性化合物需要与二氢吡啶等片段进行拼合, 形成脂溶性前药, 进而快速达到中枢及外周分布平衡。达到分布平衡后, 二氢吡啶部分氧化形成渗透性较差的吡啶盐, 中枢外的吡啶盐可以被快速清除, 而 CNS 中的吡啶盐则会停留在中枢系统, 通过水解缓慢释放出活性化合物。采用 CDS 的前药修饰策略, 可以有效增加药物进入 CNS 的浓度。但二氢吡啶前药不稳定, 需要注射给药。将 γ -分泌酶抑制剂 A 与 N-甲基二氢吡啶片段拼合, 形成 CDS 前药 B。其给药后, 2 h 脑浓度可达到 345 ng/g, 约为化合物 A (240 ng/g) 的 1.5 倍。因此, 通过 CDS 前药修饰, 可以有效改善化合物的脑通透性, 增加化合物的脑内浓度。



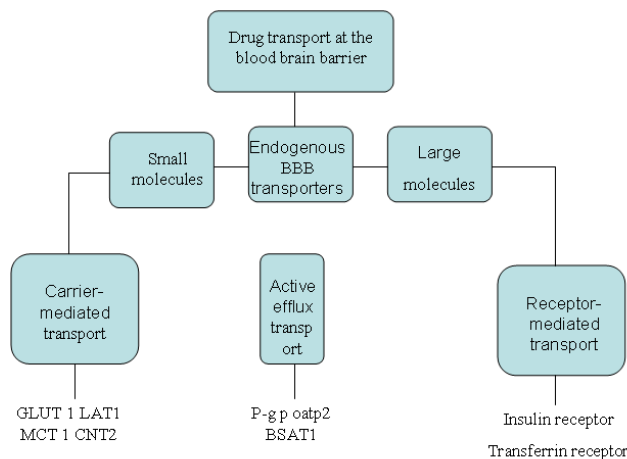
图 5 CDS 增加 γ -分泌酶抑制剂的脑浓度示意图^[33]
Fig.5 Illustration of increasing the cerebral concentration of γ -secretase inhibitors by CDS^[33]

2.3 生物学方法

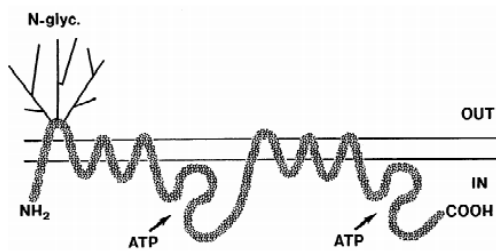
以生物学方法为基础的脑靶向给药系统是以内源性转运体作为研究开发新药物的突破口。内源性 BBB 运输系统(图 6)可大致归类为载体介导的转运(CMT)、主动外排转运(AET)和受体介导的转运(RMT), 这些 BBB 转运系统都位于大脑毛细血管内皮的管腔和近腔膜。

大分子药物可以在 RMT(如胰岛素或者转铁蛋白受体)的协助下进入大脑, 小分子药物则可以在 CMT 的协助下通过 BBB^[35]。BBB 的内皮细胞上高度表达的受体不仅包括胰岛素受体、转铁蛋白受体、低密度脂蛋白受体及其相关蛋白, 还包含目前正在探索中的其他类型受体。研究最广泛的是在高度增殖细胞(如肿瘤细胞)上表达的转铁蛋白受体(TfR)^[36,37], BBB 内皮细胞上表达的 TfR 比体内其他部位内皮细胞上的表达水平高很多。TfR 是 II 类跨膜糖蛋白二聚体, 由 2 个相同的分子质量约 90 kDa 的单体经 2 个

二硫键交联而成。赵浩等^[38]采用过尾静脉注射的方式,利用转铁蛋白靶向脂质体将趋化因子 SDF-1 基因转运至脑缺血大鼠脑内,观察 SDF-1 在老鼠脑内的表达,发现其可以促进新生血管的发生,构建成熟的血管网,为脑缺血区域提供血流,促进神经功能的恢复。转铁蛋白结合物能改善化疗不敏感脑肿瘤患者的治疗效果。物质经 RMT 转运到脑组织的过程可分为 4 个步骤: (1)配体与特异受体结合,形成直径约 10 nm 的内吞小体; (2)配体与初级溶酶体融合成次级溶酶体,溶酶体膜再与内皮细胞膜融合,经胞吐作用使配体释放; (3)受体与配体的分离; (4)配体与脑细胞上的特异受体结合,发挥生物学作用。RMT 效率高,靶向性良好。但还得继续探索作为药物载体的稳定性、有效性和靶向性,以设计更好更安全的药物载体,大分子受体介导转运的潜在问题是长期治疗可能引发免疫反应。

图 6 透过 BBB 的生物学方法^[34]Fig.6 Outline of a program for developing BBB drug targeting strategies by biology methods^[34]

脑内毛细血管内皮细胞上存在着多种内源性载体,利用 CMT 可为脑部提供必须的小分子营养物质^[39,40],例如,葡萄糖载体 GLUT1 能转运葡萄糖和其他己糖^[41];氨基酸载体 LAT1 可转运大小中性氨基酸,包括一些氨基酸药如 L 型多巴甲基、多巴等;阳离子氨基酸载体可转运天然氨基酸,如精氨酸与赖氨酸;一元羧酸载体 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;核苷载体 CNT2 可转运嘌呤核苷和一些嘧啶核苷如尿核苷。血液循环中的营养物质可以借助 CMT 穿过 BBB 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)。多巴胺因其亲水性而不易通过 BBB,不能用于治疗帕金森病,然而, L-DOPA 作为 BBB 上 L 型氨基酸载体 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 BBB, L-DOPA 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。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。

图 7 P-糖蛋白组织结构示意图^[42]Fig.7 Schematic of the transmembrane structural organization of human P-glycoprotein (1280 amino acids long)^[42]

BBB 上存在一种 P-糖蛋白, 它是在 BBB 上起外排作用的一种蛋白^[43,44], 被认为是导致临床上小分子药物无法进入脑内的最主要原因。P-糖蛋白具有下列特征: (1) P-糖蛋白是 ATP 依赖性主动排出泵; (2) 当细胞内药物浓度达到一定程度时, P-糖蛋白的外排作用可达到饱和状态; (3) P-糖蛋白的底物广泛, 包括抗肿瘤药、镇痛药、受阻胺、钙通道阻滞抗抑郁药、抗生素等; (4) 底物之间存在相互竞争关系, 当 2 种底物均可与 P-糖蛋白竞争性结合时, 亲和力大者易于结合被泵出细胞, 亲和力小者则在细胞内蓄积。因此, 亲和力大的 P-糖蛋白底物能用作 P-糖蛋白抑制剂。目前关于 P-糖蛋白的活性和确切作用机制尚未完全清楚。P-糖蛋白的实际作用要比目前研究所了解的复杂得多。在增加药物治疗效果的同时, P-糖蛋白抑制剂也可能会增加脑内药物的毒性^[45]。

2.4 微粒给药载体

纳米粒子(NPs)和脂质体是近几年来发展起来的新的转运体^[46]。纳米技术被称为是“今后十年最能使人发生巨大变化的十大技术”之一。NPs 是由聚合物或脂质组成的粒径在 10~1000 nm 之间的固态胶体粒子^[47]。近年来成功通过 NPs 穿过 BBB 转运入脑的药物有: 6 肽 dalarginz、2 肽 kyorphin、咯派丁胺、筒剑毒碱、多柔比星、NMDA 受体拮抗剂 MRZ2/576 和阿霉素等。作为 NPs 转运的特点主要有: 生物降解性低和生物相容性好、血液中物理性质稳定、药物控释体系可调节性。目前已开发的 NPs 有脂质体、高分子聚合物 NPs、固体脂质 NPs 和磁性 NPs^[48-50]。

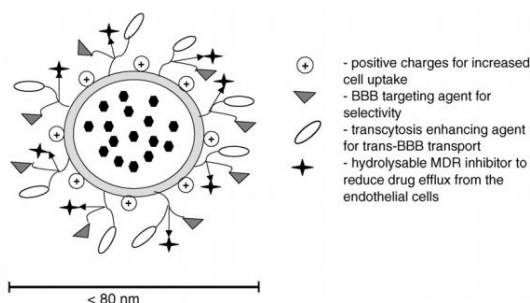


图 8 穿过 BBB 的纳米粒子传递系统结构模型^[51]

Fig.8 Structure model of nanoparticles delivery system across BBB^[51]

2.4.1 脂质体 药物输送系统的大脑传递的发展是最具挑战性的研究课题, 在克服 BBB 这个问题上, 脂质体受到越来越多的关注。脂质体作为药物运输的载体已经很久了。脂质体是一种磷脂双分子膜, 主要组成是磷脂和胆固醇, 一端有亲水基, 一端有疏水基^[52]。脂质体具有性质稳定、抗氧化性强、成品稳定和毒性低等特点。脂质体作为脑部载药的载体目前也得到了广泛的关注^[53, 54](图 9)。但是, 脂质体进入体内极易被网状内皮系统(RES)摄取、清除, 在血液中存在的半衰期较短。因此, 为了克服这一问题。选择聚乙二醇(PEG)来修饰脂质体可以增加半衰期和在血液中的稳定性^[55]。不过, PEG 修饰的脂质体仍无法穿过 BBB, 如果在 PEG 化脂质体表面搭载一些小分子肽、蛋白或其他一些表面接枝或者改性, 则能够使脂质体以受体介导的胞转、胞吞等方式载运药物进入 BBB^[56-60]。

备受关注的转铁蛋白受体单克隆抗体是 OX-26 单克隆抗体, 它可以高效地转运入脑, 普通脂质体的血浆清除率高, PEG 修饰的脂质体可以明显降低血浆清除率^[61], 但却无法穿透 BBB, 通过共价结合 OX-26 和 PEG 后的脂质体的透 BBB 能力远大于游离柔红霉素、普通脂质体和 PEG 化脂质体。Gosk 等^[62]分别将连接 OX-26 的 PEG 化脂质体和未连接 OX-26 的脂质体注入大鼠体内, 用原位灌注法得出, 脑毛细血管内皮细胞对前者的摄取量约为后者的 2 倍; 放射标记发现, 灌注 15 min 后前者脑毛细血管内皮细胞摄取率比后者高出 16 倍; OX-26 选择性分布在脑毛细血管内皮细胞上, 但在脉络丛上皮神经元和神经胶质细胞上没有显示; 未连接 OX-26 的脂质体在脑毛细血管内皮细胞上未见显影; 将连接 OX-26 的 PEG

化脂质体用白蛋白灌注 15 min 后并没有神经元或神经胶质细胞的显影, 故判断 BBB 的完整性没有受到破坏, 因此, OX-26 脂质体可作为一种良好的药物转运载体。

在治疗脑血管系统疾病中, 一些被修饰过的脂质体明显比未修饰的效果好^[63], 神经生长因子(NGF)是一个多肽。它不易穿过 BBB, 这限制了它对神经性疾病如暂时性的脑缺血或阿尔茨海默氏病的临床患者使用。2005 年, Xie 等^[64]通过神经因子的脂质体克服了这个缺点。体外测试表明, 装载有神经因子的稳定脂质体可用于穿过脑血管内皮细胞。这比单纯的神经因子和传统包覆神经因子的脂质体有较好的 BBB 渗透性^[65-67]。推断 NGF 通过血脑屏障的可能原因主要有以下几个方面: (1) 由于在制备的脂质体中添加了长循环辅料 PEG, 有效地延长了 NGF-脂质体在循环系统中的作用时间, 为将 NGF-脂质体送达脑部提供了保证; (2) NGF-脂质体到达 BBB 周围后, 表面带有的正电荷与 BBB 内皮细胞基膜上的负电荷相吸, 使得 NGF-脂质体聚集在 BBB 周围; (3) BBB 的内皮细胞通过吞饮或与细胞膜融合再进行降解、释放被脂质体包裹的 NGF 到脑脊液中。有学者认为, BBB 本身对 NGF 有某种渗透性。

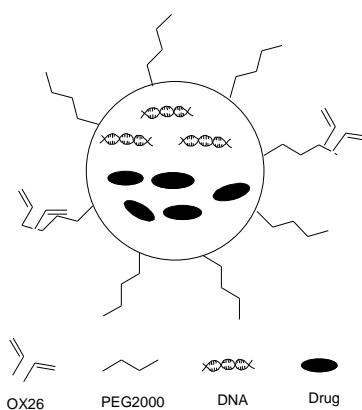


图 9 免疫脂质体结构模式图^[68]

Fig.9 Schematic diagram of immunoliposomes^[68]

2.4.2 聚合物 NPs NPs 是将药物包载于载体材料骨架中或药物通过共价连接/吸附作用修饰在载体材料的表面形成的具有紧实结构的纳米级药物递释系统^[69](图 10)。载体材料一般包括聚合物和脂质或者两者的混合体系^[70], 主要有壳聚糖(chitosan)、聚乳酸(PLA)、聚乳酸-羟基乙酸共聚物(PLGA)、聚氰基丙烯酸丁酯(PBCA)等^[71]。合成 PLA 和 PLGA 的 NPs 通过乳化-挥发和沉淀的方法, 而 PBCA NPs 是由乳液聚合和 NPs 沉淀合成的^[73, 74]。

Kreuter^[75]的实验表明, 用吐温 80 包裹的丁酯 NPs 可输送 dalargin, 但在随后的实验中证明, 没有聚合物包裹的用氩标记的 dalargin 对脑部的输送率明显降低。因此推测, 吐温包裹的 NPs 运载药物的作用是通过脑毛细血管内皮细胞的胞饮作用实现的。吐温 80 或 20、40、60 包裹的 NPs 可以使血浆中的载脂蛋白 E 黏附于其表面, 类似低密度脂蛋白(LDL)颗粒, 与内皮细胞上的 LDL 受体相互作用激发胞饮作用。

PLA 是以乳酸为主要单体聚合得到的聚合物, 是一种可降解的功能高分子, 具有良好的生物相容性, 安全、无毒。但是, 由于 PLA 主链侧甲基的存在, 使得亲水性较差, 因此引入亲水性的 PEG 可以改变这一情况。Xia 等^[76]构建了细胞穿膜肽修饰的 PEG-PLA NPs 给药系统, 以实现大脑的药物运输。所获得的穿膜肽-NPs 的颗粒尺寸约 100 nm。穿膜肽-NPs 可能是一种很有前途的脑靶向给药系统。PLGA 由乳酸和羟基乙酸两种单体随机聚合而成, 它的特点与 PLA 相似, 可以用于阿尔茨海默病治疗。阿霉素(Doxorubicin, DOX)是一种作用于 DNA 的药物, 可用来治疗小鼠中的胶质瘤。Stefanie 等^[77, 78]研究表明, 泊洛沙姆 188 包覆可以帮助 DOX/PLGA NPs 更好地通过 BBB, 进而使药物在肿瘤组织中达到有效的治疗浓度。

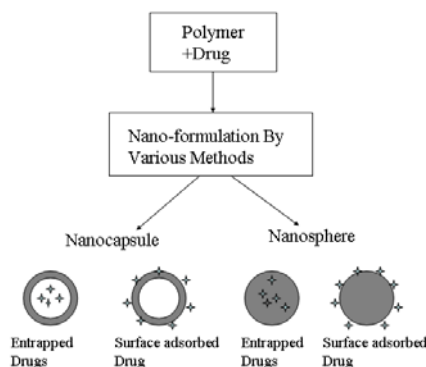


图 10 聚合物纳米粒子的结构类型^[72]
Fig.10 Type of polymer nanoparticles^[72]

2.4.3 固体脂质 NPs 虽然聚合物 NPs 在透过 BBB 上有了新的突破,但是这些聚合物 NPs 的生产过程中会残留污染,例如,各种有机溶剂、有毒单体和有毒的降解产物,而且成本昂贵、难以大规模生产。因此,固体脂质纳米粒子(SLNPs)成为药物输送到大脑的方式的另一种合适的选择。SLNPs 是 20 世纪 90 年代初发展起来的新一代亚微粒给药系统,它是与生理相容的高熔点脂质为骨架材料制成的 NPs^[79]。SLNPs 由固体亲脂性的内核和单磷脂层组成,药物溶解或分散在亲脂性的内核中,磷脂的疏水端牢牢嵌入亲脂性的内核。SLNPs 能保护药物避免其在血浆中降解、避开外排转运蛋白(如 P-gp)从而利于药物靶向入脑,显著增加脑内药物浓度。SLNPs 既具有 NPs 的物理稳定性高、药物泄露少、缓释性好的特点,又有毒性低、易于大规模生产的优点,是具有发展前途的新型传递系统的载体。与聚合物 NPs 相比,它的毒性更低,由于药物被包封在固体脂粒的骨架中,不存在药物在贮存过程中的泄漏问题,具有缓释、控释和靶向作用^[80,81]。Yang 等^[82]给小鼠静脉注射喜树碱-SLNPs 后,发现药物在脑中的浓度高于普通注射剂组,且具有明显脑靶向性,此结果在口服给药实验中也得到证实。Koziara 等^[83]在离体细胞系实验和大鼠的原位脑灌注实验中发现,乳化蜡 SLNPs 载体可以明显提高紫杉醇透过 BBB 的能力。他们认为,这是由于紫杉醇 SLNPs 降解、避开外排转运蛋白 P-gp,减少了药物紫杉醇与 P-gp 的结合,从而避免了被 P-gp 蛋白泵出。目前,有些 SLNPs 已进入了临床实验阶段,如环孢霉素 A 运载的 SLNPs。

2.4.4 磁性 NPs NPs 为药物不能透过 BBB 提供了新的载体。与其他 NPs 相比,具有生物活性的磁性 NPs 具有更多的优点和潜力^[86]。磁性粒子的粒径可缩小至纳米级别,并且据其超顺磁性,可以穿透脑微血管,且不会影响血流或造成栓塞。磁性 NPs 具有药物缓释和磁靶向的双重功能,可以使药物集中在治疗部位,减少对正常细胞的毒副作用。作为磁性 NPs 的一员,人们对氧化铁 NPs 这种潜在的药物载体进行了积极探索。Kong 等^[87]在细胞模型上利用外加磁场实现了磁性 NPs 的跨 BBB 转运。在磁性 NPs 的外部再进行硅材料包覆,可以进一步实现远程药物控制释放,为实现药物的脑靶向递释提供了一种非常有效的策略。Liu 等^[88]在磁性 NPs 的基础上,采用了超声和外加磁场双重协同作用实现了磁性 NPs 的跨 BBB 转运,并有效地蓄积于脑实质中。Liang 等^[89]采用改性壳聚糖和四氧化三铁磁流体与胆固醇合成的具有超顺磁性及生物相容性良好的纳米级磁性载体可连续释放抗肿瘤药物 20 h 以上。

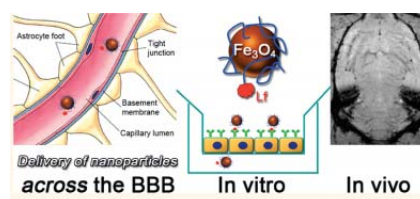
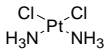
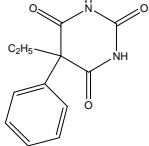

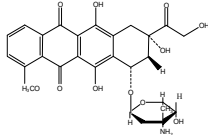
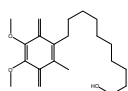


图 11 Fe_3O_4 纳米粒子穿过 BBB 示意图^[90]
Fig.11 The schematic of Fe_3O_4 nanoparticles across the BBB^[90]

表 3 一些穿过血脑屏障的药物及其方法
 Tab.3 Some drugs acrossed the blood-brain barrier

药物	结构式	透过 BBB 方式	作用	参考文献
顺铂		超声	烷化剂, 抗肿瘤作用	91, 92
巴比妥		亲脂性前药	镇静催眠药, 具有镇静催眠、抗癫痫及抗惊厥作用	93, 94
5-氟尿嘧啶		化学传递系统	抗肿瘤药	95, 96
阿霉素		脂质体	抗肿瘤抗生素	97
艾地苯醌		固体脂质纳米粒子	抗老年性痴呆的特效药及脑功能代谢及精神症状改善药	98-101

3 结语

BBB 的存在限制了许多治疗 CNS 疾病的药物发挥药效, 因此, 使药物有效地跨越 BBB 成为近年来研究的热点。改变药物结构或设计药物载体这些提高药物透过 BBB 的手段仍存在一些缺陷, 如 P-gp 对底物作用的特异性低, 易与多种底物结合, 使得亲和力的药物在脑内容易蓄积增加毒性作用; 二氢吡啶类 CDS 在空气中不稳定; CMT 对底物有很强的立体特异性要求, 应用范围比较窄等。

NPs 作为药物载体为不能透过 BBB 的 CNS 药物进入脑内提供了一个崭新的途径, 在 CNS 治疗中起到了重要的作用。纳米给药系统本身的优良特性使之不仅能增加药物脑内浓度, 而且能延长药物脑内滞留时间。NPs 作为脑内药物传递的载体具有较高的实用价值和研究价值。虽然吐温 80 包覆的 PBCA NPs 能有效运载药物, 但它的作用机制尚存在争议, 且由于其对 BBB 的毒性和持续释放药物时间短暂而可能在临床应用中受限。PEG-PLA/PLGA NPs 则由于其血液循环时间长、毒性相对较低、可持续释放药物, 而可能更适合在 CNS 疾病的治疗临床应用中发挥作用。现阶段一些以 NPs 为载体的药物已经进入了临床阶段, 但大部分研究还停留在动物实验阶段。脑靶向纳米给药系统还存在着很多的问题, 例如, 组织相容性、安全性及质量控制、NPs 脑内递释药物的机制、影响 NPs 入脑的因素(如 NPs 材料, 大小、形状, 制备工艺, 表面修饰等)、体外 BBB 模型的完善以及药物在脑内释放情况的准确监测等。此外, 一些脂质纳米粒子也已具备进入临床的重要先决条件, 有望将其投入大规模的生产之中。

相信随着人们对 BBB 的转运机制以及脑内发病机制认识的深入, 脑靶向给药的研究肯定会取得突破性进展, 从而产生巨大的理论意义和经济及社会效益。

参考文献

- [1] M L Brines, P Ghezzi, S Keenan et al. PNAS, 2000, 97(19): 10526~10531.
- [2] B Engelhardt. Cell. Tissue. Res., 2003, 314(1): 119~129.
- [3] B B Booth, N J Dunstone, P R Halloran et al. Nature, 2012, 484(7393): 228~232.
- [4] N J Abbott, A A K Patabendige, D E M Dolman et al. Neurobiol. Dis., 2010, 37(1): 13~25.
- [5] F Pfeiffer, J Schäfer, R Lyck et al. Acta Neuropathol., 2011, 122(5): 601~614.
- [6] R Shaltiel-Karyo, M Frenkel-Pinter, E Rockenstein et al. J. Biol. Chem., 2013, 288(24): 17579~17588.
- [7] F Dyrna, S Hanske, M Krueger et al. J. Neuroimmune. Pharm., 2013, 8(4): 763~773.
- [8] J D Huber, R D Egleton, T P Davis. Trends Neurosci., 2001, 24(12): 719~725.

- [9] J Bicker, G Alves, A Fortuna et al. *Eur. Pharm. Biopharm.*, 2014, 87(3):409~628.
- [10] 朱宝英, 黄静, 王永林 等. *中国药房*, 2011, 22(6):550~552.
- [11] M Aryal, C D Arvanitis, P M Alexander et al. *Adv. Drug Del. Rev.*, 2014, 72(15):94~109.
- [12] R H Bobo, D W Laske, A Akbasak et al. *PNAS*, 1994, 91(6): 2076~2080.
- [13] S S Gill, N K Patel, G R Hotton et al. *Nat. Med.*, 2003, 9(5): 589~595.
- [14] W M Pardridge. *NeuroRx*, 2005, 2(1): 3~14.
- [15] L I Illum. *J. Control. Rel.*, 2003, 87(1): 187~198.
- [16] A Pires, A Fortuna, G Alves et al. *J. Pharm. Sci.*, 2009, 12(3):288~311.
- [17] R A Kroll, E A Neuwelt. *Neurosurgery*, 1998, 42(5): 1083~1099.
- [18] S I Rapoport. *Expert Opin. Inv. Drug*, 2001, 10(10): 1809~1818.
- [19] M A Bellavance, M Blanchette. *AAPS J.*, 2008, 10(1): 166~177.
- [20] W H Oldendorf, S Hyman, L Braun, et al. *Sci.*, 1972, 178(4064): 984~986.
- [21] W M Pardridge. *Drug Discov. Today*, 2007, 12(1): 54~61.
- [22] J W Jenne, A J Krafft, F Maier et al. *AIP Publishing*, 2010, 1215(1): 182~185.
- [23] J M Larsen, D R Martin, M E Byrne. *Curr. Top. Med. Chem.*, 2014, 14(9): 1148~1160.
- [24] 付赤学, 谭开彬, 高云华 等. *临床超声医学杂志*, 2009, 10(11): 721~724.
- [25] B E Polat, D Blankschtein, R Langer. *Expert Opin. Drug Discov.*, 2010, 7(12): 1415~1432.
- [26] 杨钰楠, 高云华, 谭开彬 等. *中国医学影像技术*, 2009 (6): 938~941.
- [27] H L Liu, M Y Hua, H W Yang et al. *PNAS*, 2010, 107(34): 15205~15210.
- [28] C Lu T, Y Z Zhao, H L Wong et al. *Int. J. Nanomed.*, 2014, 9: 2241.
- [29] 贾钰铭, 丁正, 曾令源 等. *四川医学*, 2004, 25(2): 156~157.
- [30] H He, Y Li, X R Jia et al. *Biomaterials*, 2011, 32(2): 478~487.
- [31] L Zhang, L Han, J Qin et al. *Pharm. Res.*, 2013, 30(10): 2560~2572.
- [32] 齐倩倩, 贺艺超, 肖典 等. *国际药学研究杂志*, 2012, 39(6): 460~463.
- [33] 洪玉, 周宇, 王江 等. *药学报*, 2014, 49(6): 789~799.
- [34] W M Pardridge. *Mol. Intervent.*, 2003, 3(2): 90.
- [35] A Misra, V Jogani, K Jinturkar et al. *Recent Pat. Drug Deliv. Formul.*, 2008, 2(1): 25~40.
- [36] A Widera, F Norouziyan, W C Shen. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2003, 55(11): 1439~1466.
- [37] C L Graff, G M Pollack. *J. Pharm. Sci.*, 2005, 94(6): 1187~1195.
- [38] 赵浩, 马建华, 李运军 等. *医学研究杂志*, 2013, 42(8): 26~31.
- [39] H Uchino, Y Kanai, D K Kim et al. *Mol. Pharmacol.*, 2002, 61(4): 729~737.
- [40] W M Pardridge. *请补书名*, Cambridge University Press, 2001
- [41] I S Wood, P Trayhurn. *Br. J. Nutr.*, 2003, 89(01): 3~9.
- [42] A H Schinkel. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 1999, 36(2): 179~194.
- [43] H Asaba, K Hosoya, H Takanaga et al. *J. Neurochem.*, 2000, 75(5): 1907~1916.
- [44] S Ohtsuki, T Terasaki. *Pharm. Res.*, 2007, 24(9): 1745~1758.
- [45] H Kusuhara, Y Sugiyama. *NeuroRx*, 2005, 2(1): 73~85.
- [46] G Tosi, L Costantino, B Ruozi et al. *Expert Opin Drug Deliv*, 2008, 5 (2): 155~174.
- [47] L Juillerat-Jeanneret. *Drug Discov. Today*, 2008, 13(23): 1099~1106.
- [48] I P Kaur, R Bhandari, S Bhandari et al. *J. Control. Rel.*, 2008, 127(2): 97~109.
- [49] 刘洋, 蒋晨. *药学报*, 2013, 48(10): 1532~1543.
- [50] R Alyautdin, I Khalin, M I Nafeeza et al. *Int. J. Nanomed.*, 2014, (9): 795~811.
- [51] 杨纺, 杜丽娜, 金义光. *国际药学研究杂志*, 2009, 36(2): 136~139.
- [52] F Lai, A M Fadda, C Sinico. *Expert Opin. Drug Discov.*, 2013, 10(7): 1003~1022.
- [53] P J Gaillard, C Appeldoorn, J Rip et al. *J. Control. Rel.*, 2012, 164(3): 364~369.
- [54] W T Al-Jamal, K Kostarelos. *Acc. Chem. Res.*, 2011, 44(10): 1094~1104.
- [55] H Chen, L Tang, Y Qin et al. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 2010, 40(2): 94~102.
- [56] Y Malam, M Loizidou, A M Seifalian. *Trends Pharmacol. Sci.*, 2009, 30(11): 592~599.
- [57] E Norsted, B Gömüç, B Meister. *J. Chem. Neuroanat.*, 2008, 36(2): 107~121.
- [58] R Alyautdin, I Khalin, M I Nafeeza et al. *Int. J. Nanomed.*, 2014, (9): 795~811.
- [59] R D Bell, M D Ehlers. *Neuron*, 2014, 81(1): 1~3.
- [60] 张小滨, 袁珊, 雷鹏程 等. *药学报*, 2004, 39(4): 292~295.
- [61] T Ishii, T Asai, D Oyama et al. *FASEB J.*, 2013, 27(4): 1362~1370.
- [62] S Gosk, C Vermehren, G Storm et al. *J. Cerebr. Blood. F. Met.*, 2004, 24(11): 1193~1204.
- [63] Y Qin, H Chen, W Yuan et al. *Int. J. Pharm.*, 2011, 419(1): 85~95.
- [64] Y Xie, L Ye, X Zhang et al. *J. Control. Rel.*, 2005, 105(1): 106~119.
- [65] P J Gaillard, C Appeldoorn, J Rip et al. *J. Control. Rel.*, 2012, 164(3): 364~369.
- [66] A Reijkerkerk, C C M Appeldoorn, J Rip et al. *Invest. Ophth. Vis. Sci.*, 2014, 55(4): 2788~2794.
- [67] M de Boer, C C Visser. *Therap. Deliv.*, 2013, 4(4): 435~438.
- [68] 常彦忠, 袁其朋. *科学通报*, 2003, 48(3): 213~218.
- [69] J Li, C Zhang, J Li et al. *Pharm. Res.*, 2013, 30(7): 1813~1823.
- [70] J Li, L Feng, L Fan et al. *Biomaterials*, 2011, 32(21): 4943~4950.

- [71] I Bala, S Hariharan, M N V RKumar. *Crit. Rev. Thera. Drug Carrier Sys.*, 2004, 21(5):387~422.
- [72] A Kumari, S K Yadav, S C Yadav. *Colloids Surf., B*, 2010, 75(1): 1~18.
- [73] F Danhier, E Ansorena, J M Silva et al. *J. Control. Rel.*, 2012, 161(2): 505~522.
- [74] A A des Rieux, V Fievez, M Garinot et al. *J. Control. Rel.*, 2006, 116(1): 1~27.
- [75] J Kreuter. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2001, 47(1): 65~81.
- [76] H Xia, X Gao, G Gu et al. *Int. J. Pharm.*, 2012, 436(1): 840~850.
- [77] H Karanth, R S R Murthy. *Int. J. Pharm. Sci. Nanotechnol.*, 2008, 1(1): 9~24.
- [78] J C Olivier. *NeuroRx*, 2005, 2(1): 108~119.
- [79] 冯炜玮, 陈志伟. *中国医药生物技术*, 2011, 6(3): 218~221.
- [80] S Das, A Chaudhury. *AAPS Pharm. Sci. Technol.*, 2011, 12(1): 62~76.
- [81] S A Wissing, O Kayser, R H Müller. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2004, 56(9): 1257~1272.
- [82] S Yang, J Zhu, Y Lu et al. *Pharm. Res.*, 1999, 16(5): 751~757.
- [83] J M Koziara, P R Lockman, D D Allen et al. *J. Control. Rel.*, 2004, 99(2): 259~269.
- [84] I P Kaur, R Bhandari, S Bhandari et al. *J. Control. Rel.*, 2008, 127(2): 97~109.
- [85] M A Shevtsov, B P Nikolaev, L Y Yakovleva et al. *Int. J. Nanomed.*, 2014, (9): 273~287.
- [86] G G Enriquez, S A A Rizvi. *Int. J. Nanomed.*, 2013, (8): 1393~1402.
- [87] S D Kong, J Lee, S Ramachandran et al. *J. Control. Rel.*, 2012, 164(1): 49~57.
- [88] H L Liu, M Y Hua, H W Yang et al. *PNAS*, 2010, 107(34): 15205~15210.
- [89] X F Liang, H J Wang, H Luo et al. *Langmuir*, 2008, 24(14): 7147~7153.
- [90] R Qiao, Q Jia, S Hüwel et al. *ACS Nano*, 2012, 6(4): 3304~3310.
- [91] K Hynynen, N McDannold, N Vykhodtseva et al. *Int. J. Neural Surg.*, 2006, 105(3): 445~454.
- [92] N McDannold, N Vykhodtseva, K Hynynen. *Ultrasound Med. Biol.*, 2008, 34(5): 834~840.
- [93] W Chen, J Z Yang, R Andersen et al. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 2002, 303(2): 849~857.
- [94] H A Namanja, D Emmert, D A Davis et al. *J. Am. Chem. Soc.*, 2011, 134(6): 2976~2980.
- [95] P Chen, N Bodor, W M Wu et al. *J. Med. Chem.*, 1998, 41(20): 3773~3781.
- [96] M Sheha, A Al-Tayeb, H El-Sherief et al. *Bioorg. Med. Chem.*, 2003, 11(8): 1865~1872.
- [97] J Huwyler, D Wu, W M Pardridge. *PNAS*, 1996, 93(24): 14164~14169.
- [98] Y Malam, M Loizidou, A M Seifalian. *Trends Pharmacol. Sci.*, 2009, 30(11): 592~599.
- [99] Z Pang, W Lu, H Gao et al. *J. Control. Rel.*, 2008, 128(2): 120~127.
- [100] A Fundarò, R Cavalli, A Bargoni et al. *Pharmacol. Res.*, 2000, 42(4): 337~343.
- [101] S C Yang, L F Lu, Y Cai et al. *J. Control. Rel.*, 1999, 59(3): 299~307.