

· 综述 ·

# 转铁蛋白受体介导的药物转运 在急性脑梗死治疗中的应用

温仲民 包仕尧 钱忠明

**摘要** 在急性脑缺血的超早期,完整的血脑屏障(BBB)使许多治疗药物无法在有效治疗时间窗内进入脑组织发挥作用。转铁蛋白受体(TfR)单克隆抗体能有效通过受体介导的细胞内吞作用使结合的药物通过 BBB,从而大大增加了治疗药物的定向选择性,使之更好地发挥治疗作用。

**关键词** 转铁蛋白;脑梗死;血脑屏障;单克隆抗体

## Application of the Transferrin Receptor-mediated Drug Delivery Systems in the Treatment of Acute Cerebral Infarction

Wen Zhongmin<sup>1</sup>, Bao Shiyao<sup>1</sup>, Qian Zhongming<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Neurology, the Second Affiliated Hospital of Suzhou University, Suzhou 215004, China; <sup>2</sup>Department of Applied Biology and Chemical Technology, Hong Kong Polytechnic University

**ABSTRACT** In the super early phase of acute cerebral ischemia, many therapeutic drugs cannot penetrate into the complete blood-brain barrier (BBB) and enter brain tissues within the effective time window. The transferrin receptor(TfR) monoclonal antibodies can effectively penetrate BBB via receptor-mediated endocytosis and make the combined drugs penetrate BBB, and thus increasing the orientation selectivity of the therapeutic drugs considerably, and developing their better therapeutic effect.

**KEY WORDS** transferrin ■ cerebral infarction ■ blood-brain barrier ■ monoclonal antibodies

急性脑梗死早期,由于血脑屏障(BBB)并没有完全破坏,许多治疗药物不能有效透过 BBB 发挥治疗作用。目前,通过破坏了 BBB 和特异性的药物转运系统,使治疗药物在治疗时间窗内透过 BBB 发挥治疗作用的研究得到了广泛的开展。

### 1 增加 BBB 通透性的研究

BBB 是一层将脑组织和血液系统分隔开来的物理屏障,其基本结构成分是单层脑毛细血管内皮细胞及其相互间的紧密连接, BBB 自身缺乏窗孔供物质自由通过。与身体其他部位的毛细血管具有良好的通透性不同,由脑毛细血管内皮细胞为主组成的 BBB 构成“超级滤网”,阻止血液中大部分物质进入脑组织,在起到保护脑组织的同时,也阻碍了许多治疗药物进入脑内发挥治疗作用。长期以来,人们一直认为物质能否通过 BBB 主要取决于物质的分子大小和脂溶程度。分子量小、脂溶性高的物质容易

通过 BBB 进入脑内,但脑毛细血管内皮细胞膜不只是一个机械性的膜屏障,而且也是一个活动的具有选择性的膜屏障,在脑毛细血管内皮细胞膜上存在多种物质转运机制<sup>[1]</sup>。物质除了通过被动转运方式进入脑内外,还可通过其他方式,如受体介导的物质转运、载体介导的物质转运等方式进入脑实质内,这些转运方式有利于脑对所需物质的主动摄取,从而保证脑的功能正常。

为了使更多的治疗药物进入脑组织,发挥更好的治疗作用,研究人员采取了许多方法来增加 BBB 的通透性。用于人类治疗的第一个方法是 BBB 破坏法(BBBD),通过颈内动脉注射高渗糖使 BBB 短暂开放,高渗糖通过渗透作用吸出脑血管内皮细胞中的水分使其收缩,从而使细胞间连接开放, BBB 通透性增加。动物实验表明,与不注射高渗糖相比,使用该方法可使药物转运效率提高 10~100 倍,但其作用只能持续 20~30 min,但在如此短暂的时间内,治疗药物仍然无法大量进入脑组织。BBBD 在美国处于 I、II 期临床研究阶段,主要用于脑肿瘤患者的

作者单位: 215004 苏州大学附属第二医院神经内科(温仲民、包仕尧);香港理工大学应用与化学技术系(钱忠明)

治疗。但 BBB 具有侵袭性,需要有相应的临床经验等。通过静脉注射化学复合物 RMP7,使 RMP7 结合到血管内皮细胞表面受体,激发级联化学反应可使细胞间的紧密连接松开。尽管在早期临床研究中,这一方法显示出良好的应用前景和治疗效果,但即使是非常短暂的 BBB,也会使脑组织感染等不良反应的机会大大增加。即使在周围血循环中无毒的白蛋白进入脑组织后也会引起严重的后果,而且只有一部分无其他有效治疗手段的脑肿瘤患者才适合应用这一技术。以上诸多局限性,使得 BBB 在临床上的应用正逐步被放弃<sup>[2]</sup>。

## 2 介导转运的药物和转运方法

研究人员寄希望于通过脑血管内皮细胞表面的受体和载体介导药物转运来提高脑组织中治疗药物的浓度,从而发挥更好的治疗效果。科学家们发现,在脑血管内皮细胞上存在许多受体和载体,如转铁蛋白受体<sup>3)</sup>和胰岛素受体等。研究表明,胰岛素受体的转运效率要比转铁蛋白受体高 10 倍。目前已知的载体有 15 种,据估计至少有 50 种。研究较多的是转铁蛋白受体,其功能是参与铁的转运。结合了铁的转铁蛋白(Fe-Tf)与血管内皮细胞表面的转铁蛋白受体(TfR)结合,然后 Fe-Tf-TfR 复合物经过细胞的内吞作用形成内吞体,内吞体在内皮细胞内 pH 值降至 5.5 左右时释放出所结合的铁,在酸性 pH 下失去铁的转铁蛋白(apo-Tf)仍与 TfR 结合并一起返回到细胞表面,在生理 pH 值环境下 apo-Tf 与 TfR 分离,apo-Tf 回到循环系统再结合铁,从而完成向脑组织运送铁的循环<sup>[4,5]</sup>。

受体和载体介导药物转运的优点是其能采取灵活的治疗方法,但比较昂贵。由于受到治疗药物能否与受体和载体特异性抗体结合,以及转运受体和载体的数量及转运能力的限制,目前仅有很少一部分治疗药物可通过这一方法转运到脑组织。

急性脑梗死是临床常见疾病,发病率、致残率和病死率都很高,严重影响了人的健康。在目前众多的治疗方法中,神经保护治疗日益受到重视,但是绝大多数神经保护剂,如神经生长因子(NGF)等无法在急性脑梗死早期,即 BBB 还没有完全开放时进入脑组织发挥治疗作用。在脑缺血早期,NGF 与神经细胞表面高亲和性受体结合后,启动多种信号转导过程,诱导新基因表达和蛋白质合成,使神经元能对抗缺氧、低血糖、兴奋性氨基酸、Ca<sup>2+</sup> 超载、自由基和 NO 等多种因子的损伤作用,同时还可作为内源性信号蛋白对细胞的增生、分化和功能具有很强的调节作用。在脑缺血恢复期,NGF 能刺激神经生长,

进一步促进神经功能恢复。在中枢神经系统具有调节效应的生长因子还有很多,如脑源性神经营养因子(BDNF)、碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)、胰岛素样生长因子(IGF)、转化生长因子(TGF)和血管内皮生长因子(VEGF)等。BDGF 能维持神经元存活,促进其生长和分化,bFGF、NGF 属于多潜能生长因子,能对多种类型的细胞发挥多种作用<sup>[6]</sup>。

bFGF 的相对分子质量为  $18 \times 10^3$ ,是由 154 个氨基酸组成的多肽,能维持脑神经元、胶质细胞、血管内皮细胞的存活和生长,抵抗多种有害因子对神经元的损伤。在新生鼠急性局灶性缺血模型上,缺血前 30 min 腹腔内注射 bFGF(100 μg/kg)可使梗死体积缩小 40%,且神经功能恢复较好。放射自显影研究表明,标记的 bFGF 静脉注射后能通过被破坏的 BBB 进入缺血脑区,但不能进入正常脑区。在动物实验中,神经营养因子大多是预先干预性给药的,这并不符合临床实际。此外研究还表明,神经营养因子主要是通过破坏的 BBB 进入脑组织,而在绝大多数急性脑梗死患者 3~6 h 的有效治疗时间窗内,BBB 大多完整或仅有部分受损,单用静脉给药无法使足量的神经营养因子进入脑组织内发挥治疗作用。神经营养因子通过外周静脉注射起到治疗作用必须克服 2 个障碍:(1)延长神经营养因子的生物活性,减缓肝脏代谢清除。通过聚乙二醇(PEG)技术进行免疫抑制处理,使其 PEG 化<sup>[7]</sup>可克服这一障碍。(2)静脉注射的神经营养因子能与 BBB 上的受体或载体转运系统结合从而通过 BBB。通过嵌合肽(chimeric peptide)技术和亲和素-生物素技术可使神经营养因子与转运载体结合。目前的研究表明,鼠 TfR 及其单克隆抗体(Ox26mAb)是一种高效的药物运载体系统,PEG 化的神经营养因子与单克隆 Ox26 和链菌素结合成 Ox26/SA,约 60% 的 Ox26mAb 与 BBB TfR 结合通过内吞作用进入内皮细胞,从而极大地提高神经营养因子进入脑组织的效率和有效剂量,同时还可在急性脑梗死患者 BBB 相对完整的治疗时间窗内通过静脉给药进行治疗。

## 3 实验研究

Wu 等<sup>[8]</sup>在大鼠短暂脑缺血 12 min 后,立即注射 BDNF 和结合 OX26/SA BDNF-PEG 2000 生物素,随后连续注射 7 d。结果发现,注射 BDNF 组海马 CA1 区神经元密度明显下降,而载体转运治疗组海马 CA1 区神经元与正常组无差异。采用同样的方法,在缺氧培养神经元模型中,经处理的 bFGF bio-bFGF/OX26-SA 对神经元有保护作用。静脉注射剂量等同于 25 μg/kg bFGF 的 bio-bFGF/OX26-SA,可

使永久性大脑中动脉闭塞大鼠梗死体积缩小约 80%，神经功能明显改善。bFGF 的保护作用具有时间性，60 min 后注射，可使梗死体积缩小约 67%，而 2 h 后注射则无明显保护作用<sup>[9]</sup>。Yun<sup>[10]</sup>等在大鼠大脑中动脉闭塞 1 h 后静脉注射 BDNF-OX26 鼠抗转铁蛋白受体单克隆抗体复合物，分别在 24 h 和 7 d 后观察皮质梗死体积的变化，发现梗死体积分别缩小 68% 和 70%。

新载体和新药物与转运系统结合技术的发现，将为神经保护剂等治疗药物真正在临床上发挥作用奠定良好的基础，但如何进一步提高与药物的结合率和 BBB 通过率还值得进一步研究。

#### 参考文献

- 1 Tamai I, Tsuji A. Drug delivery through the blood-brain barrier. *Adv Drug Deliv Rev*, 1996, 19: 401 - 424.
- 2 Miller G. Drug targeting: Breaking down barriers. *Science*, 2002, 297: 1116 - 1118.
- 3 Lee HJ, Engelhardt B, Lesley J, et al. Targeting rat anti-mouse transferrin receptor monoclonal antibodies through blood-brain barrier in mouse. *J Pharmacol Exp Ther*, 2000, 292: 1048 - 1052.
- 4 Qian ZM, Tang PL. Mechanisms of iron uptake by mammalian cells. *Biochim Biophys Acta*, 1995, 1269: 205 - 214.
- 5 Qian ZM, Tang PL, Wang Q. Iron crosses the endosomal membrane by a carrier-mediated process. *Prog Biophys Mol Biol*, 1997, 67: 1 - 15.
- 6 Schinkel AH, Wagenaar E, van Deemter L, et al. Absence of the mdr1a P-Glycoprotein in mice affects tissue distribution and pharmacokinetics of dexamethasone, digoxin, and cyclosporin A. *J Clin Invest*, 1995, 96: 1698 - 705.
- 7 Friden PM. Utilization of an endogenous cellular transport system for the delivery of therapeutics across the blood-brain barrier. *J Control Release*, 1997, 46: 117 - 128.
- 8 Wu D, Pardridge WM. Neuroprotection with noninvasive neurotrophin delivery to the brain. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96: 254 - 259.
- 9 Song BW, Vinters HV, Wu D, et al. Enhanced neuroprotective effects of basic fibroblast growth factor in regional brain ischemia after conjugation to a blood-brain barrier delivery vector. *J Pharmacol Exp Ther*, 2002, 301: 605 - 610.
- 10 Zhang Y, Pardridge WM. Neuropotential in transient focal brain ischemia after delayed intravenous administration of brain-derived neurotrophic factor conjugated to a blood-brain drug targeting system. *Stroke*, 2001, 32: 1378 - 1384.

(收稿日期: 2003 - 01 - 20 修回日期: 2003 - 02 - 15)

## · 医学简讯 ·

### 血压与卒中的联系

近几年来,关于血压与卒中之间联系的资料已有了大幅度增加。新西兰奥克兰大学的 Lawes 等对已经发表的降压治疗对卒中影响的试验进行了概述,并将其与队列研究中获得一些结果作了比较。

Lawes 等报告了对前瞻性队列研究和最近对 40 多项降压随机对照试验汇总分析的评价,共包括 188 000 多名参加者和大约 6 800 次卒中发作。队列研究表明,在亚太地区、北美和西欧,60 ~ 79 岁者收缩压每降低 10 mmHg,卒中危险性降低约 1/3。这种联系一直持续到低至少 115/75 mmHg 的水平,并且在性别、地区、卒中亚型以及致死和非致死性卒中之间也一致。这种联系有年龄依赖性,但在 80 岁的老年人中,仍有很强的确切联系。在随机对照试验的资料中,发病时的平均年龄约为 70 岁,结果表明,收缩压每下降 10 mmHg,卒中危险性下降约 1/3。根据基线血压水平和个体是否有心脏病史,各种药物之间收缩压每下降 1 mmHg 对卒中的益处似乎相似。

对于卒中危险性的下降而言,流行病学预期的降压益处不同人群亚组内存在广泛的一致性。血压下降幅度较大对卒中的益处也较大。对于卒中预防来说,开始和维持血压下降比选择哪种药物开始治疗更为重要。

(李宏建)