

· 综 述 ·

多肽、蛋白质类药物新型给药系统的研究进展

温 辉¹, 戴亚妮²综述, 周 红²审校

(1. 武警重庆市总队医院药剂科 400061; 2. 甘肃奇正藏药有限公司, 兰州 730000)

关键词: 多肽; 蛋白质; 新型给药系统; 新技术

中图分类号: R943; R977.6

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2010)03-0365-05

近年来,随着生物技术的发展,多肽、蛋白质类药物已成为生物技术新药(new biotechnology drug)的主要品种。与传统的化学合成药物相比,其优点受到了广泛的关注,即与体内正常生理物质十分接近,更易为机体吸收,其药理活性高、针对性强、毒性低。但由于多肽、蛋白质类药物(1)分子质量大、稳定性差、易被胃肠道中的蛋白水解酶降解;(2)生物半衰期短、生物膜渗透性差、生物利用度不高、不易通过生物屏障等,故其给药系统的研究一直是药剂学领域的一个热点。许多学者曾尝试对肽类、蛋白质类药物进行化学修饰、制成前体药物、应用吸收促进剂、使用酶抑制剂、采用离子电渗法皮肤给药以及设计各种给药系统解决上述问题,此类药物一般注射给药,基本剂型是注射剂和冻干粉针剂,但常需频繁注射,患者顺从性差,且加重了患者的身体、心理和经济负担。近年来,脂质体、微球、纳米粒等制剂新技术发展迅速并逐渐完善,国内外学者将其广泛应用于多肽、蛋白质类药物给药系统(drug delivery system, DDS)的研究中,为此类药物的临床应用铺平了道路。

本文就多肽、蛋白质类药物的新型给药系统及新技术进行综述,介绍两类新型给药系统,即新型注射给药系统和新型非注射给药系统。

1 新型注射给药系统

1.1 控释微球制剂 为了达到多肽、蛋白质类药物控制释放,将其制成生物可降解的微球制剂,目前已经实际应用的生物可降解材料主要有淀粉、明胶、葡聚糖、清蛋白、聚乳酸(PLA)、聚乳酸-乙醇酸共聚物(PLGA)、聚邻酯、聚内酯和聚酞等;其中 PLGA 最为常用,改变乳酸与乙醇酸的比例或相对分子质量,可得到不同降解时间的微球。胰高血糖素样肽-1(GLP-1)是由小肠和大肠的内分泌细胞及脑的神经细胞分泌的多肽,具有多种生物活性。GLP-1 有很强的刺激胰岛素分泌作用,这种作用具有严格的血糖浓度依赖性,还具有抑制胰高血糖素分泌的作用,可抑制食欲和减缓胃排空。然而 GLP-1 在体内易被降解失活,体内半衰期很短(小于 2min),必须持续静滴或多次皮下注射给药才能获得理想的疗效,这制约了其作为药品的开发和利用。尹东锋等^[1-3]采用体内可生物降解的高分子材料聚乳酸-聚羟基乙酸嵌段共聚物(PLGA)将 GLP-1 包被成微球,一次给药可使药效持续 4 周,从而提高用药质量和患者的顺应性。文章同时指出,采用可生物降解的聚合物 PLGA 作为载体材料,可将其制备成缓释 1 个月的注射用微球,微球 1 个月的体外累积释放可达 85%,其释放行为符合近似零级释放模式。GLP-1 微球可显著降低糖尿病模型小鼠的血糖水平,降糖作用可维持 1 个月。PLGA 微球相对于常规注射剂具有如下优点:(1)释药周期长,避免频繁给药;(2)使用安全;(3)药理作用增强;(4)避免发生明显的不良反应;(5)生物利用度显著提高。

1.2 脉冲式给药系统 普通注射剂(疫苗、类毒素)一般至少接种 3 次,才能确保免疫效果,血药浓度波动大,且不能保证在疾病发作时相应的血药浓度。而脉冲给药制剂具有普通制剂不可比拟的优点,它可以根据患者发病的节律性提前给药,使给药时间与释药时间有一个与生理周期相匹配的时间差,从而预防发病,降低药物的不良反应,且不易产生耐受性,提高患者的顺应性,是现代药剂学研究的新模式。注射剂型一般都带有外用或埋植的程序,如脉冲注射系统,一种程序化的轻便注射泵,它具有 4 个 30mL 的注射器,每个注射器都可在计算机辅助下按照程序独立地以任何速度注射。有的还具备计算机定时的蠕动泵和药物贮库,如 Niu 和 Chiu^[4]、Johansen^[5] 等研制的缩胺酸类脉冲制剂及破伤风类毒素多元酯微囊脉冲注射剂。

2 非注射给药系统

2.1 口服给药系统

2.1.1 纳米粒 多肽、蛋白质类药物口服给药主要存在 4 个问题:(1)在胃内酸催化降解;(2)在胃肠道内的酶水解;(3)对胃肠道黏膜的透过性差;(4)存在肝的首过效应。因此研制新的剂型,提高多肽、蛋白质类药物的生物利用度是人们关注的热点。

Kawashima 等^[6]以降钙素为模型药物制备壳聚糖包衣 PLGA 纳米粒来评价黏膜黏附纳米粒对肽类药物吸收的影响。体外实验表明,壳聚糖包衣 PLGA 纳米粒对十二指肠、空肠和回肠的黏膜黏附效应无部位特异性,且壳聚糖的黏附特性要强于聚乙烯醇和海藻酸钠。药物的释放特性与未包衣纳米粒相比没有变化。大鼠口服给予包衣和未包衣的纳米粒后,测定其血浆中钙的浓度降低值来评价生理效应。口服壳聚糖包衣纳米粒,其降血钙效应可提高 1 倍以上。这主要是由于壳聚糖纳米粒具有黏膜黏附特性,并可渗透到黏膜层,延长了载药纳米粒在吸收部位的滞留时间。基于此特点,这种以黏膜黏附材料包衣的 PLGA 纳米粒可用于肽类药物的口服给药。Bilati 等^[7]以 D,L-聚乳酸乙醇酸共聚物(PLGA)为囊材,通过 w(1)/o/w(2)复乳法制备了异硫氰酸荧光素标记的牛血清清蛋白(FITC-BSA)纳米粒,声裂法用在 2 次乳化过程中,BSA 的包封率大于 80%,药物的包封率不依赖于混合持续的时间和强度,却与 D,L-乙醇酸共聚物固有的特性如高分子质量、强亲水性、游离的末端羧基有关。实验已经证实,加入大量的 w(1)水相并以二氯甲烷作为有机溶剂制得的纳米粒包封率高达 100%,但同时有机溶剂的加入增大了聚合物的浓度,导致纳米粒平均粒径增大很多。利用此方法制备的牛血清清蛋白纳米粒,增加了药物的包封率,提高了靶区的药物浓度,同时药物的生物利用度增加,不良反应降低。Chalasanani 等^[8]以琥珀酸葡聚糖为材料,采用乳化聚合法制备胰岛素纳米粒,然后以维生

素 B₁₂ 衍生物与琥珀酸葡聚糖交联修饰纳米粒,制备了口服胰岛素纳米粒(维生素 B₁₂-Dextran nanoparticles, 维生素 B₁₂ NP)。利用小肠黏膜表面 ileocytes 受体-配体系统介导的维生素 B₁₂ 内吞作用作为增加胰岛素纳米粒的吸收。研究表明,低交联度的维生素 B₁₂ NP 粒径大,胰岛素包封率较高,释药快。这可解释为粒径较大的维生素 B₁₂ NP 由于有较大的表面积,从而在纳米粒表面吸附更多的胰岛素,低交联度修饰的维生素 B₁₂ NP 没有高交联度修饰的维生素 B₁₂ NP 的结构致密,因此药物更易释放^[9]。

2.1.2 微球 微球(microspheres)是指药物溶解或分散于高分子材料中形成的直径为 1~250 μ m 的微小球状实体。生物可降解聚合物[聚乳酸-乙醇酸共聚物(PLGA)]作为微球的骨架材料,由于其良好的生物相容性和可降解性,在多肽、蛋白质类药物的口服给药系统中得到广泛应用。但是这种疏水的聚合体系药物包封率低,突释、负载亲水性的蛋白质不稳定,药物释放不完全。为了克服上述 PLGA 微球的缺陷,Zheng 等^[10]研制了一种海藻酸盐(alginate)-壳聚糖(chitosan)-丙交酯乙交酯共聚物(PLGA)混合微球,提高蛋白质的包封率,降低药物的突释。以牛血清清蛋白(BSA)作为模型药物,通过改进的乳化方法封装在海藻酸盐和壳聚糖双重囊壁构成的微囊中,用异丙醇洗去残留的有机溶剂,药物的突释通过壳聚糖包衣控制,为了获得理想的释药性能,alginate/chitosan 双重囊壁的微囊结合 PLGA 通过 W/O 乳化法制备混合微球。混合微球的平均直径为(31 \pm 9) μ m,BSA 的包封率是 81%~87%,而传统的 PLGA 微球的包封率为 61%~65%。此外包含 PLGA 的混合微球,调整 PLGA 中乳酸与乙醇酸的比例能降低 BSA 的突释,乳酸/乙醇酸分别为 50:50 和 70:30 时,体外释放在磷酸盐缓冲液中进行,24h 内的突释降至 24%和 8%,而传统的 PLGA 微球的突释分别为 48%和 52%。在一种软接触镜的保护液中降低突释的效果更明显,24h 内的突释降至 5%和 2%;同时也可通过调整乳酸与乙醇酸的比例来实现预期的释放要求,因此这种新的混合微球是一种很有潜力的递药系统,适合水溶性的蛋白质和肽类药物释放。

2.1.3 脂质体 脂质体作为多肽、蛋白质类药物载体可以保护药物的生物活性,提高稳定性,延长半衰期,延缓释放。因其可与人体细胞发生吸附、融合、内吞、脂质交换等作用,从而促进药物吸收,增强药物的细胞靶向性。制成脂质体的多肽、蛋白质类药物有胰岛素、IL-2、IFN、天门冬酰胺酶、葡萄糖氧化酶、超氧化物歧化酶、阿糖腺苷、各种疫苗等。

胰岛素为有降血糖作用的蛋白多肽类药物,张恒等^[11]以胰岛素为蛋白多肽类模型药物,与卵磷脂制备胰岛素脂质体。通过荧光扫描、胰蛋白酶降解与聚丙烯酰胺电泳等实验,研究胰岛素脂质体的结构特点,重点阐述胰岛素与脂质体的结合方式以及在脂质体中的位置。结果表明胰岛素脂质体平均粒径为 218.3nm,分散度多为 0.073,拟合度为 7.2,形态多为圆球或近圆球形。HPLC 测定结果显示,胰岛素脂质体中含有胰岛素。荧光扫描结果显示胰岛素脂质体中无胰岛素荧光发射峰,说明胰岛素可能存在的方式为:被包裹在内部,或者是吸附在表面,但可发射荧光的 A14 和 A19 未暴露在表面。胰蛋白酶降解实验表明,胰岛素脂质体可抵抗胰蛋白酶对胰岛素降解,而与空白脂质体简单混合的胰岛素降解情况与胰岛素溶液相同,说明空白脂质体对胰岛素无保护作用,只有被包裹在脂质体内部的胰岛素才能得到保护。聚丙烯酰胺凝胶电泳结果再

次证实了胰岛素脂质体中胰岛素是被包裹在脂质体的内部,因此可抵抗胰蛋白酶的降解。Kisel 等^[12]给雄性 Wistar 糖尿病大鼠口服磷脂酰乙醇醇(phosphate-dylethanol)脂质体,在给药后 0.5、1.5、3.5、24h 尾静脉采血,测定胰岛素浓度和血糖浓度。口服包封胰岛素的脂质体,血浆中免疫反应胰岛素的浓度在 1.5h 达到峰值,该相对高浓度能维持在 3.5h 以内,同时血糖浓度由 2.7g/L 降至接近正常值 1.4g/L;口服胰岛素与空白脂质体的物理混合物,血浆中免疫反应胰岛素和血糖浓度均无变化,若材料中加入 20%的合成类脂棕榈酰十八烷基蔗糖会降低脂质体中胰岛素的降血糖活性。Song 和 Kim^[13]制备了低分子肝素(low-molecular-weight heparin, LMWH)的阳离子、中性和阴离子柔性脂质体(Flexosome),发现阳离子柔性脂质体(cflexosome)的包封率好于中性柔性脂质体(cflexosome)和阴离子柔性脂质体(aFlexosome),同时皮肤渗透率和深层皮肤的药物浓度也明显优于其他 2 种脂质体和游离药物,提出 cFlexosome 是一种理想的定位深层皮肤的局部药物递送系统。

2.2 环境敏感给药系统

2.2.1 温度敏感给药系统 水凝胶为智能高分子材料的一种,它能对周围的环境刺激因素,如温度、pH 值、离子、电场、磁场、溶剂、反应物、光或应力等做出有效响应并且自身性质也随之发生变化。温度敏感的水凝胶在 LCST(相变温度)以下分子取伸展构象,溶液清澈透亮;而当温度升高至 LCST 时溶液分相,析出沉淀,再降温时,沉淀溶解,因此通过温度调节实现对药物的控制释放。聚合水凝胶运送蛋白质有很好的发展前景,通过定位凝胶系统控制大分子的释放方面有很大的优势,如减轻连续服药的痛苦,简化的制备工艺,不需要复杂的操作条件等。通常水凝胶与蛋白质药物有良好的相容性,与组织有很好的亲和力,因为其高亲水性为蛋白质药物提供了友好的环境,适于蛋白质药物的缓式释放。在这种智能给药系统中蛋白质释放时 pH 值没有降低,且无残留有机溶剂的影响,蛋白质从水凝胶中释放是由材料大量降解引起的,不象其他系统是由材料表面溶蚀造成的。Chenite 等^[14-16]报道了一种可逆的温度敏感的智能凝胶系统,他们应用了壳聚糖和甘油磷酸二钠盐为载体,在中性条件下,这种聚成物呈单一的均相,在室温条件下呈澄清的液体,在体温 37 $^{\circ}$ C 呈凝胶状,其释药机制为:当环境温度升到相变温度(LCST)以上时,水凝胶表面形成一个薄而致密的皮层,阻止凝胶内部的水和药物向外释放,此时水凝胶处于“关”的状态;当温度低于 LCST 时,皮层溶胀消失,水凝胶处于“开”的状态,内部的药物以自由扩散的方式向外快速释放,此即药物控释的“开关”模式。胶凝化温度随着聚合物中壳聚糖脱乙酰化程度的降低而增加,但壳聚糖分子量对胶凝化温度没有明显的影响,这种凝胶包载骨蛋白保证了蛋白质的生物活性,药物在数周内达到了缓慢释放。Qiao 等^[17]将 PEG 和 PLGA 开环缩聚成低分子量的 PLGA-PEG-PLGA 三嵌段聚合物,作为蜂毒素的载体。研究表明,对于温度敏感水凝胶递药系统,药物与共聚物间的静电作用直接影响药物在最低临界温度以下的释放率及溶液-凝胶转变过程中凝胶强度。因为共聚物在合成水凝胶的过程中,蜂毒素中的 N-H 基与共聚物中的羰基形成氢键,氢键的相互作用减缓了蜂毒素的释放和水凝胶的降解,而不影响蜂毒素的生物活性。

2.2.2 pH 敏感给药系统 pH 敏感型水凝胶由于(1)在水中能通过溶胀与收缩控制体积大小不同的分子扩散,其中含水量

子能为药物分子提供一个“友好”的环境；(2)具有与生物组织相似的“软而湿”的物理特征，能够把引起组织发炎的可能性降低到最小限度；(3)表面张力低，对身体内流体中的蛋白质吸收极少；(4)在载体的制作中可以避免使用有机溶剂；(5)载药条件温和等优点。因此 pH 敏感型水凝胶非常适合用于各类药物，尤其是多肽和蛋白质类药物的载体材料。

徐晖等^[18]研究 pH 敏感聚(甲基丙烯酸-泊洛沙姆)共聚物水凝胶的性质及其用于胰岛素口服给药的降血糖作用。在不同 pH 值的介质中研究凝胶溶胀、药物扩散和药物释放性质；含胰岛素的凝胶经口服给予糖尿病大鼠，结果水凝胶具有 pH 敏感的性质，糖尿病大鼠口服给予含胰岛素的聚合物后有明显的剂量依赖的降血糖作用。水凝胶的 pH 敏感性是口服胰岛素凝胶发挥降糖作用的原因之一；胰岛素分子包埋在聚合物内可减少与蛋白酶接触的机会，避免活性药物在胃内被破坏，药物主要在小肠中释放；另外，丙烯酸聚合物能使局部介质酸化，从而抑制蛋白酶的降解作用。泊洛沙姆分子本身的亲水/亲油结构也可能起到防止胰岛素分子聚集的作用，从而增加药物吸收。目前，这种水凝胶有望用作蛋白质药物传递的载体。Brahim 等^[19]用甲基丙烯酸-2-羟乙酯(HEMA)、甲基丙烯酸二甲氨基乙酯(DMAEMA)、甲基丙烯酸-3-(三甲氧基-甲基硅烷基)正丙酯(PMA)、四甘醇二丙烯酸酯(TEGDA)4 种单体以一定比例合成一种 pH 敏感型水凝胶，以胰岛素和鱼精蛋白为模型药物在体外作了载药和释药试验，发现在 pH4.0~7.4 范围内随着 pH 值的降低，释药速度明显加快，其过程符合经典的 Fickian 扩散方程。由于鱼精蛋白的等电点(pH10.0)高于胰岛素(pH5.3)，在酸性溶液中更易质子化，因此随 pH 降低的释药速度变化更快。Murthy 等^[20]合成了一种缩醛交联水凝胶，以牛血清清蛋白(BSA)为模型进行体外释药实验，发现在 pH 7.4 的条件下交联物紧密团聚一起，释药速率非常缓慢，释尽时间需要 24h；而在 pH 5.0 的酸性条件下，由于酸解，交联缩醛的孔径不断增大，包裹的 BSA 迅速释放，释尽时间仅需 5.5min。

2.3 经皮给药系统 蛋白质多肽类药物经皮给药必须克服皮肤角质层牢固的屏障作用，对药物成分进行处理、修饰或瞬间提高皮肤渗透性以及各种绕过或清除最外层皮肤的方法都可促进药物进入皮肤。目前应用较多的技术为离子导入技术(iontophoresis)^[21]，即借助电流控制离子化药物释放速度和释放时间，并促进药物进入皮肤。电流电压、皮肤阻抗、离子强度等因素都可影响药物离子电导入，而将离子导入技术与电致孔、超声导入技术以及化学促渗剂相结合则能较好地解决以上问题。如 Nair 和 Panchagnula^[22]比较了月桂酸、油酸、亚油酸乙醇液类脂肪酸吸收促进剂和离子导入技术的促精氨酸抗利尿激素经皮吸收作用，结果发现，亚油酸乙醇液可破坏角质层，且与离子导入技术联合应用更有助于药物的透皮吸收。此外，由于柔性脂质体具有高度的自身形变作用，相比普通脂质体，柔性脂质体受角质层水合作用产生的渗透压的影响后可发生形变，从而促进药物渗透入皮肤，因而将离子导入技术与柔性脂质体相结合，可更有效地促进药物的透皮吸收^[23]。

2.4 鼻腔给药系统 鼻腔给药系统是多肽和蛋白质类药物在非注射剂型中最有希望的给药途径之一。由于鼻腔黏膜中动静脉和毛细淋巴管分布十分丰富，鼻腔呼吸区细胞表面具有大量微小绒毛，鼻腔黏膜的穿透性较高而酶相对较少，对蛋白质类药物的分解作用比胃肠道黏膜低，因而有利于药物直接进入

体内血液循环。Pluronic[®](BASF)是聚氧化丙烯(PPO)和聚氧化乙烯(PEO)三嵌段共聚物(PEO-PPO-PEO)，在体温时疏水 PPO 链段聚集成特殊凝胶，PPO 聚集成胶束使亲油的药物在水溶液介质中溶解并缓慢释放。Hoffman 等注册了 Pluronic[®]接枝壳聚糖，它在 pH 值 7.4、温度从 4℃ 升至 37℃ 时形成凝胶。此共聚物可用于通过鼻腔的受体蛋白质给药，由于此类蛋白质是阴离子型，所以它们和凝胶基质的阳离子壳聚糖骨架结合很强。体外试验表明，释放出的蛋白质药物仍保持其活性范围。Yarshosaz 等^[24]用 200~400mg 的壳聚糖，70~140mg 的交联剂(抗坏血酸或抗坏血酸棕榈酸盐)，通过乳化交联过程制备了经鼻吸收的胰岛素壳聚糖微囊，并对 4 组糖尿病鼠经鼻给药观察疗效。结果发现，该制剂的载药量为 4.7%~6.4% (w/w)，平均粒径在 20~45μm。抗坏血酸用量增加后，在增加微囊稳定性的同时，也降低了载药量和生产效率。而增加壳聚糖用量，则会增加粒径，提高胰岛素从微囊中的释放率。相比静脉注射，含有壳聚糖 400mg 和抗坏血酸棕榈酸盐 70mg 的胰岛素壳聚糖微囊经鼻吸收后，可降低 67% 的血糖量，并且胰岛素的生物利用度为 44%。这说明该制剂适用于胰岛素的鼻腔给药。Gao 等^[25]研究了用外源凝集素修饰的香豆素聚乙二醇-聚乳酸(PEG-PLA)纳米粒的鼻黏膜吸收作用。先将顺丁烯二酰亚胺与 PEG-PLA 分子混合，由于顺丁烯二酰亚胺的硫氢基能与麦胚凝集素(WGA)的经 2-iminothiolane(一种交联剂)交联作用形成的硫醇盐结合成共轭化合物，从而制成了经 WGA 修饰的纳米粒。血细胞凝集测试表明，其吸收进入脑组织的作用约为不经修饰的香豆素纳米粒的 2 倍，该制剂尤适于蛋白质、基因类药物的脑靶向给药。此外，Matsuyama 等^[26]研究发现，在鲑鱼降钙素喷雾制剂中加入含 5% N-乙酰-L-半胱氨酸(NAC)和 1% 聚乙二醇单十二醚 25(laureth-25)的盐溶液后，其绝对生物利用度可从(7.7±2.1)% 提高到(26.8±2.2)%，并经对照实验证实，NAC 和 laureth-25 联合应用能有效地促进蛋白质多肽类药物的经鼻吸收。

2.5 肺部给药系统 人肺的吸收表面积有 140m²，血流量达 5 000mL/min，蛋白酶活性相对于胃肠道较低，不存在肝脏首过效应，肺泡壁比毛细血管壁还要薄，通透性好。动物实验表明，一些肽类药物经肺部给药后，生物利用度相当高，可达 20%~50%。选用合适的给药装置将药物输送到肺泡组织是肺部给药的关键。为了使药物达到肺的深部，要求气溶胶的粒子要小于 7μm。目前有 3 种肺部给药方法：(1)定量吸入气雾剂；(2)喷雾法；(3)干粉吸入法。定量吸入气雾剂一般需要氟利昂，但氟利昂对环境有污染，故无氟利昂的压力系统越来越受到重视。对于纳米粒气溶胶递送系统，喷雾方法是最好的选择，因为喷雾剂应用方便，并且适用于细颗粒混悬剂甚至水性溶液。Takeuchi 等^[27]制备了黏膜黏附纳米粒进行肺部给药实验，通过豚鼠实验验证，壳聚糖包衣的纳米粒要比未包衣的纳米粒在肺内的消除慢。由于壳聚糖的黏膜黏附特性，壳聚糖-纳米粒黏附于黏膜表面，缓慢释放药物。在此基础上，Takeuchi 等^[27]又制备了壳聚糖包衣的降钙素纳米粒和降钙素溶液，对豚鼠进行肺部给药，测定豚鼠的血钙水平。载药纳米粒的粒径为 650nm，药物溶液给药后血钙水平迅速下降，未包衣的纳米粒降血钙效应稍长于溶液，可达 8h，而壳聚糖包衣纳米粒的降血钙效应较前两者明显延长，可达 24h，是未包衣纳米粒的 3 倍。这是因为未包衣的纳米粒从肺部迅速清除而不能完全释放药物，壳聚糖纳米粒由于其与肺组织黏附，因此肺内滞留时

间延长而充分释放药物使药效延长。

2.6 微组装给药系统(microfabricated drug delivery systems)

这类给药系统有微型注射器、生物可降解微囊和埋植剂等。微型注射器经皮注射将药物直接释放到皮下而避免口服引起的首过效应和胃肠道的降解,如上市多年的注射用精蛋白重组人胰岛素诺和灵(Novolin[®])和英国生产的低分子肝素钠。McAllister 及同事开发了一种微型注射给药系统,能够将半径达 50 nm 的生物大分子经皮肤注射给药,每次给药体积可达数毫升^[28-29]。此外,将胰岛素瘤细胞包裹在可降解微囊内预示生物反应器在体治疗的可行性^[30]。

3 结束语

多肽、蛋白质类药物在人类疾病治疗中的地位日趋重要。随着制药技术、药用新辅料、药物新剂型以及新型给药系统的发展,相信在不久的将来一定会开发出高效、安全、低毒、使用方便的多肽、蛋白质类药物制剂,提高其生物利用度,从而提高患者的生活质量。

参考文献:

- [1] 尹东锋,吴诚,鲁莹,等. 胰高血糖素样肽 21 长效注射微球的研究[J]. 药学报,2006,41(7):603.
- [2] 尹东锋,吴诚,鲁莹,等. 胰高血糖素样肽-1 长效注射微球的制备及其体外释放研究[J]. 药学服务与研究,2005,5(3):243.
- [3] 尹东锋. 胰高血糖素样肽-1 长效注射微球的研究[J]. 第二军医大学,2006,41(7):22.
- [4] Niu CH, Chiu YY. FDA perspective on peptide formulation and stability tissues[J]. J Pharm Sci, 1998, 87(11): 1331.
- [5] Johansen P, Men Y, Audran R, et al. Improving stability and release kinetics of microencapsulated tetanus toxoid by coencapsulation of additives[J]. Pharm Res, 1998, 15(7):1103.
- [6] Kawashima Y, Yamamoto H, Takeuchi H, et al. Mucoadhesive D, L-lactide/glycolide copolymer nanospheres coated with chitosan to improve oral delivery of elcatonin[J]. Pharm Dev Technol, 2000, 5(1):77.
- [7] Bilati U, Allemann E, Doelker E. Poly(D, L-lactide-co-glycolide) protein-loaded nanoparticles prepared by the double emulsion method—processing and formulation issues for enhanced entrapment efficiency[J]. J Microencapsul, 2005, 22(2):205.
- [8] Chalasani KB, Russell-Jones GJ, Jain AK, et al. Effective oral delivery of insulin in animal models using vitamin B12-coating dextran nanoparticles[J]. J Control Release, 2007, 122(2):141.
- [9] Chalasani KB, Russell-Jones GJ, Yandrapu SK, et al. A novel vitamin B12-nanosphere conjugate carrier system for peroral delivery of insulin [J]. I Control Release, 2007, 117(3):421.
- [10] Zheng CH, Gao JQ, Zhang YP. A protein delivery system: biodegradable alginate-chitosan-poly (lactic-co-glycolic acid) composite microspheres[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2004, 323:1321.
- [11] 张恒,张强,齐宪熔. 胰岛素脂质体的结构特点[J]. 药学报,2001,36(6):448.
- [12] Kisel MA, Kulik LN, Tsybovsky IS, et al. Liposomes with phosphatidylcholine as a carrier for oral delivery of insulin; studies in the rat [J]. Int J Pharm, 2001, 216(1-2): 105.
- [13] Song YK, Kim CK. Topical delivery of low-molecular-weight heparin with surface-charged flexible liposomes [J]. Biomaterials, 2006, 27(2):271.
- [14] Chenite A, Chaput C, Wang D, et al. Novel injectable neutral solutions of chitosan form biodegradable gels in situ [J]. Biomaterials, 2000, 21:2155.
- [15] Gariepy ER-O, Chenite A, Chaput C, et al. Characterization of thermosensitive chitosan gels for the sustained delivery of drugs[J]. Int J Pharm, 2000, 203:89.
- [16] Chenite A, Buschmann M, Wang D, et al. Rheological characterization of thermogelling chitosan/glycerol-phosphate solutions[J]. Carbohydr Polym, 2001, 46:39.
- [17] Qiao MX, Chen DW, Hao TN, et al. Effect of bee venom peptide copolymer interactions on thermosensitive hydrogel delivery systems[J]. Int J Pharm, 2007, 345:116-124.
- [18] 徐晖,赵倩,魏刚,等. 一种 pH 敏感水凝胶的性质及用于胰岛素口服给药的研究[J]. 沈阳药科大学学报,2002,19(2):83.
- [19] Brahim S, Narinesing H, Guiseppi-Elie A. Release characteristics of novel pH sensitive P(HEMA-DMAEMA) hydrogels containing 3-(trimethoxy-silyl) propylethacrylate[J]. Biomacromolecules, 2003, 4(5):1224.
- [20] Murthy N, Thng YX, Schuck S, et al. A novel strategy for encapsulation and release of protein: Hydrogels and microgels with acid-labile cross linkers[J]. J Am Chem Soc, 2002, 124(42):12398.
- [21] Stamatiadis DF, Rolevink HH, Koops GH. Passive and iontophoretic controlled delivery of salmon calcitonin through artificial membranes[J]. Curr Drug Deliv, 2004, 1(2):137.
- [22] Nair VB, Panchagnula R. Effect of iontophoresis and fatty acids on permeation of arginine vasopressin through rat skin [J]. Pharmacol Res, 2003, 47(6):563.
- [23] 郑宁,高永良. 蛋白多肽类药物制剂学研究进展[J]. 科学技术与工程,2004,4(4):317.
- [24] Yarshosaz J, Sadrai H, Alinagari R. Nasal delivery of insulin using chitosan microspheres[J]. J Microencapsul, 2004, 21(7):761-774.
- [25] Gao X, Tao W, Lu W, et al. Lectin-conjugated PEG-PLA nanoparticles; preparation and brain delivery after intranasal administration[J]. Biomaterials, 2006, 27(18): 3482.
- [26] Matsuyama T, Morita T, Horikiri Y, et al. Enhancement of nasal absorption of large molecular weight compounds by combination of mucolytic agent and nonionic surfactant[J]. J Control Release, 2006, 110(2):347.
- [27] Takeuchi H, Yamamoto H, Kawashima Y. Mucoadhesive

- nanoparticulate systems for peptide drug delivery[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2001, 47(1):39.
- [28] Orive G, Gascón AR, Hernández RM, et al. Techniques; New approaches to the delivery of biopharmaceuticals [J]. *Trend Pharmacol Sci*, 2004, 25(7):382.
- [29] Mcallister DV, Wang PM, Davis SP, et al. Microfabricated needles for transdermal delivery of macromolecules and
- nanoparticles; fabrication methods and transport studies [J]. *Proc Natl Deliv Rev*, 2003, 100 (24):13755.
- [30] Desai TA. Micro-and nanoscale structures for tissue engineering constructs[J]. *Med Eng Phys*, 2002, 22(9):595.

(收稿日期:2009-04-22 修回日期:2009-08-14)

· 综 述 ·

一个新的炎症因子 FIZZ1 的研究进展

高凌云^{1#}, 李福平²综述, 何作云^{1△}审校

(第三军医大学新桥医院:1. 心血管内科;2. 心血管外科, 重庆 400037)

关键词: FIZZ1; 炎症因子

中图分类号: R563.13; R562.25

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2010)03-0369-02

发现于炎症区域(found in inflammatory zone, FIZZ)尚无统一的中文译名,是 2000 年新发现的一个富含半胱氨酸的分泌蛋白家族,其共同特征是 N-末端的信号肽和 C-末端富含半胱氨酸残基,具有特异的组织分布性^[1]。这个家族包括 FIZZ1(found in inflammatory zone 1)、FIZZ2(found in inflammatory zone 2)和 FIZZ3(found in inflammatory zone 3),后者即为所谓的抵抗素(resistin)。其成员分布和功能各不相同,FIZZ1 以单体形式分泌,其 mRNA 可在小鼠白色脂肪组织、舌、肺脏、乳腺、胸腺组织检测到,其基因被命名为 Retn1a;FIZZ2 是一种肠源性的分泌激素,只在啮齿类动物和人类的胃肠道特别是回肠中表达,在增殖的内皮细胞中高度表达,在肠道增生中起重要的作用,其基因被命名为 Retn1b;抵抗素主要由脂肪细胞分泌,进入血液循环,在小鼠、人均有表达,可能与人类冠心病、糖尿病、肥胖有关,其基因被命名为 Retn。2003 年发现的 FIZZ 的新成员 FIZZ4 在鼻的呼吸道上皮细胞和白色脂肪组织中表达,其分布和功能与 FIZZ1 较为类似^[2]。目前对 FIZZ1 家族成员的功能及其调控机制还处于初步研究阶段。本文仅对 FIZZ1 结构、分布特点、主要功能及调控作一综述。

1 FIZZ1 的结构及分布特点

FIZZ1 是 2000 年发现的一个与炎症相关的缺氧诱导有丝分裂因子(hypoxia induced mitogenic factor, HIMF),属于富含半胱氨酸的 Resistin 家族,是由 111 个氨基酸残基构成的分泌型蛋白,相对分子质量为 9.4kd,结构分为 3 个区域:N 端信号序列、不固定的中间部分、高度保守的半胱氨酸重复基序(1CX112CX83CX4CX35CX106CX7CX8CX99CX10C)构成的独特的 C 末端功能区。该功能区与 Resistin 家族其他成员一致,故又被称为 Resistin-like molecules alpha(RELM α)。在 FIZZ1 基因组序列的 5', 3'侧翼区以及内含子中发现了 NF- κ B(核因子 κ B)、增强子结合蛋白(C/EBP)、信号转导和转录激活因子 6 (STAT6)等多个炎症相关转录因子的结合位点,提示 FIZZ1 的转录可能受到这些因子的调控。

FIZZ1 具有明显的分布特异性,主要位于肺泡上皮细胞、白色脂肪组织、心脏、舌,同时在循环单核细胞及活化的巨噬细胞中也有显著表达。

2 FIZZ1 的主要功能

FIZZ1 被发现时就作为炎症细胞如巨噬细胞被激活的标

志物,称之为“found in inflammatory zone 1, FIZZ1”(发现于炎症地带)^[3],又称为“缺氧诱导有丝分裂因子, HIMF”,表明它兼具炎症因子和生长因子的特性,如促进细胞增殖、迁移、抗凋亡、分化、趋化、收缩血管及促进血管新生等^[4]功能。在肺中的表达提示其与肺部疾病关系密切^[5-6]。目前对 FIZZ1 的研究主要集中在缺氧肺血管重构、肺纤维化、过敏性肺病及肺发育和代偿性增生等过程中。

2.1 在缺氧肺血管重构中的作用 在小鼠慢性缺氧肺血管重构模型的研究中发现,FIZZ1 蛋白在气道上皮细胞、肺泡 II 型细胞表达明显上调,体外重组的 FIZZ1 蛋白明显促进肺血管的收缩和肺动脉平滑肌的增殖、迁移,并呈剂量依赖性,其缩血管效应强于内皮素和血管紧张素 II。近一步的研究显示,磷脂酰肌醇 3 磷酸激酶(PI3K)/Akt 通路参与了 FIZZ1 介导的肺血管平滑肌细胞的增殖和迁移。PI3K 是一种与细胞生长信号调控密切相关的脂质激酶,Akt 是其下游的一个主要靶点,PI3K/Akt 通路介导肺血管平滑肌细胞增殖、迁移的可能机制:活化的 Akt 通过下调细胞周期素依赖激酶的抑制物 p27 与 p21,减少细胞周期调节蛋白 D1(Cyclin D1)的降解,使细胞跨越 G₁~S 期限制点进入 S 期而促进平滑肌细胞增殖;p21 的下调还抑制细胞内组织型转谷氨酰胺酶(tTG)的表达,而 tTG 能够促进细胞外基质间发生交联,稳定细胞外基质,tTG 表达受抑则加速了细胞外基质的降解,从而有利于细胞迁移。已证实 PI3K 的抑制剂 LY294002 仅能部分抑制 FIZZ1 引起的肺血管平滑肌细胞的增殖、迁移,从而提示 PI3K/Akt 可能并非 FIZZ1 刺激血管平滑肌细胞增殖、迁移的唯一通路^[7]。

2.2 在肺纤维化中的作用 肺纤维化的发病机制尚未完全阐明,用博莱霉素复制的大鼠肺纤维化模型与人类特发性肺纤维化病变相似,所以该模型被广泛用于肺纤维化的研究。一般认为,发病最初为肺损伤,继而为肺肺炎,产生的大量炎症因子等引起致纤维化因子的升高,并最终引起间质增生及纤维化^[8]。Liu 等^[9]用基因芯片技术发现在肺纤维化中,FIZZ1 的表达明显上调。原位杂交技术表明 FIZZ1 的表达主要集中在肺泡和气道上皮细胞中,而在体外培养的肺成纤维细胞中未检测到 FIZZ1,但是,将表达 FIZZ1 的 II 型肺泡上皮细胞和成纤维细胞共同培养,成纤维细胞 α -actin 和 I 型胶原的表达增强,这种作用不依赖于 TGF- β ,将表达 FIZZ1 的质粒转入成纤维细胞

[△] 通讯作者, E-mail: HZY3903@163.com. [#] 现在北京安贞医院作博士后研究,电话:13146127668.