

细胞穿透肽经皮促渗应用进展

张楠, 张宇佳, 魏曼, 宋辉, 郑稳生

(北京协和医学院、中国医学科学院药物研究所药物传输技术及新型制剂北京市重点实验室, 北京 100050)

摘要 经皮给药是一种非侵入性的给药方式, 具有其他给药途径所无法比拟的优点。但由于皮肤角质层的屏障作用以及上皮细胞间的紧密连接屏障, 很多药物需要通过各种促渗手段才能通过经皮给药途径吸收。细胞穿透肽作为一种高效低毒的短肽, 已被证明能够促进小分子、多肽、蛋白质、脂质体、核酸等的渗透作用, 其促渗机制尚不明确, 但在经皮给药领域应用广泛。该文综述细胞穿透肽在经皮给药系统中的应用。

关键词 细胞穿透肽; 经皮给药; 局部给药

中图分类号 R977.6

文献标识码 A

文章编号 1004-0781(2017)08增-0062-05

DOI 10.3870/j.issn.1004-0781.2017.z1.031

经皮给药作为一种非侵入性的给药途径, 可应用于治疗全身性疾病和局部皮肤疾病。它能够避免肝脏的首关效应和胃肠道刺激, 提高药物生物利用度; 作为一种体表给药方式, 经皮给药在实现无创给药的同时能随时中断给药, 提高患者的依从性; 此外, 经皮给药具有缓释作用, 可减少给药次数, 并能维持血浆浓度长时间处于治疗窗内^[1]。由于其具有很多口服给药不具备的优点, 近年来已成为制剂行业的研究热点。

皮肤作为人体面积最大的器官, 有多种功能, 包括光保护、温度调节、激素合成、感官知觉和免疫屏障功能^[2]。其中与药物吸收最相关的是免疫屏障功能。皮肤从外到内分为表皮层(包括角质层、透明层、颗粒层、棘层、基底层)、真皮层和皮下组织。经皮给药根据药物作用区域不同可以分为经皮局部给药和经皮全身性给药。经皮局部给药需要药物能够透过角质层但滞留在皮肤中, 而全身性给药则需要药物透过角质层、真皮层, 最终进入血液循环。药物通过经皮吸收途径进入血液循环主要有以下两种途径: 通过角质层进入血液循环, 或者通过皮肤附属器进入血液循环。皮肤附属器途径包括通过外泌汗腺、顶泌汗腺和毛囊以及它们相关的皮脂腺。这些附属器占全部皮肤面积的约 0.1%, 因此这种跨毛囊(分流)途径被认为是次要的^[3]。由此可见, 全身性给药中, 通过角质层进入血液循环的占经皮给药途径的大部分。无论是局部给药还是全身性给药, 角质层都是经皮给药系统必须通过的障碍。而上皮细胞间还存在紧密连接, 这则是对经皮给药系统的另一大阻碍。对于主要穿过完整表皮角质层的药物而言, 存在两种可能的微型进入途径, 细胞内途径和细胞间途径。角质层富含脂质(40%脂质、40%蛋白质以及只有 20%水)且含水量低, 药物渗透过皮肤通过何种方法主要取决于分配系数(log*K*)。亲水性药物分子优先进入细胞间区域, 通过角质层传递的少; 而亲脂性渗透物因和角质层中细胞的细胞间脂质具有可混合性^[4], 则是通过细胞

内通路穿过角质层而传递多一点。角质层的阻隔性使得药物若要有效穿过角质层进入真皮层必须满足以下几个条件: ①相对分子质量<500; ②log*P*(*P*=辛醇/水分配系数)值通常为 3~5; ③熔点较低(<85℃)。因此, 需要应用多种促渗技术来扩大经皮给药的用药范围。目前常用的方法有物理方法, 如离子导入、微针等, 化学方法包括使用通透促进剂、纳米载体、制备脂质体等, 其中, 细胞穿透肽(cell-penetrating peptides, CPPs)作为一种低毒有效的生物活性分子细胞内转运工具, 在细胞生物学和细胞免疫学, 尤其是在药物开发、基因生物治疗以及肿瘤靶向治疗等领域成为研究热点^[5]。笔者综述近几年细胞穿透肽在经皮给药领域的应用。

1 概述

CPPs 也称细胞转导域(protein transduction domains, PTDs), 被定义为一类由 5~30 个氨基酸组成的短肽, 能够溶于水。由于有多个精氨酸, 其通常带正电, 或具有两性^[6-7]。该类型的多肽最早出现在 1988 年, 人们发现 I 型人类免疫缺陷病毒(HIV-1)编码转录的反式激活因子(Tat)多肽, 这是第一个发现能够改变细胞膜的位置并进入细胞内的多肽^[8]。几年后, CPPs 开始用于小的外源性多肽给药。随后发现在这些 CPPs 中小的结构域通常负责细胞摄取。因此与最初的 Tat 多肽比较, 这些 CPPs 的序列能够被缩短至几个氨基酸残基, 且不损失细胞渗透能力。从那时开始, CPPs 的功能不断丰富起来, 并且数量持续增长, 作为具有细胞膜穿透能力的小分子多肽, 它能携带生物活性物质进入细胞内, 既不影响转导物质的生物活性, 也不会损伤细胞, 已经更多地用于多种分子物质, 如小分子、小干扰 RNA、载药纳米颗粒、蛋白质和多肽的体内外给药, 是一种非常理想的运载工具^[9]。

2 CPPs 在经皮给药中的运用

2.1 小分子药物 由于小分子药物经皮进入血液循环有多种促渗方法, 用于局部给药时也往往通过常见的化学促渗剂、脂质体等方法就可有效促进小分子药物的渗透作用, 因此将 CPPs 用于小分子药物经皮给药的研究并不多。COHEN-AVRAHAMI 等^[10]将一种两性亲细胞穿透肽 RALA 溶解在热力学稳定的反向六边形溶质液晶中介相(H_{II}LC)中形成凝胶型基质, 并将双氯芬酸钠溶解于其中用于经皮给药。通过小角度 X 射线衍射

收稿日期 2016-08-08 修回日期 2016-09-22

作者简介 张楠(1993-), 女, 安徽池州人, 在读硕士, 研究方向: 药物制剂。电话: 010-63165233, E-mail: natinanan@163.com。

通信作者 郑稳生(1966-), 男, 安徽潜山人, 研究员, 主要从事中西药物制剂关键技术研究。电话: 010-63165233, E-mail: zhengwensheng@imm.ac.cn。

(small angle X-ray scattering, SAXS)、衰减全反射-傅里叶变换红外光谱法(attenuated total reflectance - Fourier transform infrared, ATR-FTIR)等研究方法表明, RALA 导致液晶组成成分甘油单油酸酯(glycerol monooleate, GMO)有效端基面积因水合作用逐步增加, 并导致液晶由六边形结构转向薄层状结构。Franz 扩散池实验表明多肽促渗剂(RALA)将双氯酚酸钠从液晶中渗透入皮肤的量提高 2.2 倍。随后 COHEN-AVRAHAMI 等^[11]研究比较 RALA、penetratin (PEN) 以及寡聚精氨酸(oligoarginine, NONA)等多种 CPPs 对双氯芬酸钠经皮递送的影响, 并研究药物和 CPPs 在中介相液晶中的分布。通过差示量热扫描法(differential scanning calorimetry, DSC)和 ATR-FTIR 发现双氯芬酸钠分布在中介相的表面活性剂链之间的界面区(interfacial region), 使得 H_{II} LC 更加密集。亲水性的 NONA 插入中间相水性的柱面中引起它们的膨胀, 这诱导 GMO 羧基合物和它们周围的物质的氢键相互作用明显增加; 而两亲性的 PEN 则如 RALA, 会首先在 GMO 的端基区域溶解, 与 GMO 的羧基相互作用, 当 GMO 端基区域位点 PEN 达到饱和时, 则分布于外部的界面区, 与 GMO 的界面区域相互作用。在此基础上, COHEN-AVRAHAMI 等^[12]还比较另一种细胞穿透肽 TAT 对药物从立方体中介相和薄片状中介相中扩散速率的影响。研究发现立方体系统中 TAT 二级结构是无规则卷曲的, 而当其被嵌入密堆积的薄片状系统中, 则变成更有序的 β -转角的紧密状态, 排列在 GMO 的头部基团附近。而由于在薄片状中介相中 TAT 的结构有序性更强, 更为紧密, 因此 TAT 对药物从薄片状中介相中扩散出来的速率促进相对弱一些。TAT 使得双氯芬酸钠和塞来昔布从立方体系统中扩散的量分别增加 6 倍和 9 倍, 从薄片状系统中扩散的量则分别增加 1.3 倍和 1.7 倍。在 CPP- H_{II} LC 系统中, 反向六边中介相作为增溶贮库和凝胶骨架, 能起到缓释的作用; 而细胞穿透肽则起到促进药物经皮渗透的作用。

此外, CPPs 也被用于某些小分子物质的局部经皮给药, 除促进药物进入角质层之外, 还具有使药物滞留在皮肤内的效果。KUMAR 等^[13]将 SPACE 多肽联合皮质类固醇使用。皮质类固醇自身可以通过皮肤进入体循环, 而该类药物通常用于治疗局部炎症等疾病, 进入体循环后会带来较多的系统不良反应。KUMAR 等将其与 SPACE 多肽联合使用, 加强其在表皮层的富集, 同时进一步加大通过角质层进入皮肤的量, 抑制药物进入体循环, 同时也能降低药物用量。该研究可为 CPPs 的使用方法提供一种新的思路。

2.2 多肽蛋白质类药物 目前对 CPPs 用于大分子的经皮给药的研究主要集中在局部给药。由于某些治疗皮肤病和改善皮肤性能的大分子物质的重要性, 人们更多研究这些多肽或蛋白质的局部给药。但大分子如多肽、蛋白质和核酸类物质的真皮给药或经皮给药依然是一个重大的挑战。研究者们已经尝试使用多种工具, 如化学促渗剂、给药载体和不同渗透方法来发展大分子的局部制剂。但促进大分子通过皮肤渗透的化学和物理方法都有其局限性, 包括化学促渗剂在高浓度时的皮肤毒性、在家使用促渗电气设备的不便性以及复杂给药系统的高成

本。因此, 研究者们考虑将有效、低毒的 CPPs 用于大分子的局部经皮给药, 希望能够用来治疗某些皮肤病或其他局部疾病, 改善皮肤状况^[9]。STOUT 等^[14]演示一种细胞穿透肽 RMR-丝聚合蛋白(filaggrin)复合体(RMR-FLG)的成功运用, 将小鼠丝聚合蛋白基因的简单重复片段与一种细胞穿透肽(RMR)基序共价结合, 并转入原核培养系统用于表达蛋白。所得 RMR-FLG 能很好被 HEK-293T 细胞摄取, 重组人表皮(reconstructed human epidermis, RHE)模型的免疫染色实验表明 RMR-FLG 能够有效渗透入表皮组织, 并且缺乏丝聚合蛋白的 Flaky-Tail 小鼠在局部使用后出现病理学特征上的恢复状态, 表明该复合体对于过敏性皮炎的患者可能有治疗效果。在全身性给药研究方面, MANOSROI 等^[15]将鲑鱼降钙素(sCT)和细胞穿透肽 Tat 以摩尔比 1:1 在室温下共同孵育 1 h, 所得 sCT-CPPs 复合物能够使 sCT 更多渗透过皮肤, Franz 扩散池实验中, 6 h 后, 经过大鼠皮肤进入接收池的 sCT 最大值约为总药量的(58.36±12.33)%, 是游离 sCT 渗透数量的 3.5 倍。且在 4, 25 和 45 °C 下储存 1 个月后, Tat-sCT 的稳定性也比游离鲑降钙素的要好。HOU 等^[6]使用一种无毒的富含精氨酸的细胞内传递(AID)多肽, 以一种非融合蛋白和非共价结合依赖性的方式, 促进多种蛋白质快速穿过皮肤组织, 且在使用化学促渗剂之后渗透量会再次增加。并考察 AID 多肽促进蛋白渗透的机制, 使用胞饮抑制剂 EIPA 和纤维状肌动蛋白阻聚剂 CytD 处理人 A549 细胞后发现蛋白转导量显著降低, 这表明 AID 介导的入胞和经皮传递涉及巨胞饮和肌动蛋白重组。虽然目前机制尚不确定, 但为疫苗、新药和蛋白质类药物提供一种简单有效的给药途径。随后, AHMAD 等^[17]采用相同的简单混合的方法, 制备 Pep-1/弹性蛋白复合物。并使用光子相关光谱和等温变学法考察分别在 -20, 4 和 25 °C 下储存的 Pep-1/弹性蛋白复合物的生物物理学特性, 使用荧光显微法和柯达 FX Pro 活体成像系统考察该复合物转导入细胞和皮肤组织的能力, 发现 Pep-1 和弹性蛋白相互作用形成球状纳米颗粒。将该复合物用于小鼠皮肤 1 和 3 h, 并与皮下注射结果进行对比, 发现两者渗透入皮肤的方式相似, 随时间延长, 渗透量增加, 而弹性蛋白自身不能穿透皮肤, 有力证明了 CPPs 的促渗效果。GENNARI 等^[18]筛选出一种合成七肽 DRTTLTN, 证明其能促进普通肝素(unfractionated heparin, UFN)透过皮肤的量。但与其他研究中将 CPPs 与物质简单混合不同, 该实验发现简单混合不能促进 UFN 的渗透, 而是需要亚胺盐酸盐和 *N*-羟基二十碳四烯钠盐将 DRTTLTN 与 UFN 共价结合, 结合所得的 CPPs-UFN 的渗透量相比于无修饰 UFN 增加 24~26 倍。由此可以证明, 每种多肽的促渗作用机制并不相同, 取决于 CPP 的自身特点。

2.3 脂质体等胶粒载体 除了以上的应用之外, 还有很多研究者使用 CPPs, 通过静电作用或共价结合等方式对脂质体、囊泡等载体进行修饰后包载大分子蛋白、多肽类药物或中药提取物等, 共同增进药物的透皮效果, 加强药物的局部疗效。KWON 等^[19]采用硫醇-马来酰亚胺反应将细胞穿透肽结合在 DOPC 脂质体上, 以改善不溶性蒽蒽提取物的经皮效果, 达到抗皱目的。若要药物能够对皮肤起到抗皱效果, 药物应穿过角质层进入皮

肤的真皮层。DOPC 脂质体和 CPP-DOPC 脂质体的粒径均约为 120 nm, 包封率为 83%; 两者 Zeta 电位却显著不同, DOPC 脂质体为 -45 mV, 而由于 CPP 上带有很多带正电的精氨酸, CPP-DOPC 脂质体的 Zeta 电位为 42 mV。用罗丹明 B 和异硫氰酸荧光素对所制备的脂质体进行标记, 使用共聚焦激光扫描显微镜 (CLSM) 研究脂质体在 Franz 扩散池中通过雌性裸鼠背部皮肤 (去毛去脂肪层) 的扩散情况。采用两种不同极性的染料发现, 随着时间的推移, 亲脂性染料异硫氰酸荧光素分散在角质层细胞间脂质中, 而 CPP-DOPC 脂质体处理过的皮肤组中, 进入亲水核的亲水性染料罗丹明 B 则通过角质层, 进入更深层的皮肤, 证明 CPP-DOPC 脂质体能够促进药物穿透角质层, 进入深层皮肤, 从而达到药效。体内实验首先比较未使用 UV 照射小鼠 (对照组) 和使用 UV 照射小鼠背部的皱纹情况, 证明 UV 照射能使小鼠背部皱纹数量增多加深。随后比较在同等 UV 照射下, 使用溶剂溶解蒹蓄提取物处理的小鼠、使用 DOPC 脂质体包载蒹蓄提取物处理的小鼠和使用 CPP-DOPC 脂质体包载蒹蓄提取物的小鼠背部皮肤皱纹数量、深度, 皮肤的胶原蛋白、弹性蛋白、金属蛋白酶的数量, 证明 CPP-DOPC 脂质体能够有效促进蒹蓄提取物的经皮效果。PATLOLLA 等^[20] 使用纳米液晶纳米粒 (nano lipid crystal nanoparticles) 包载荧光染料 (DID-oil), 将山嵛酸甘油酯、辛酸葵酸三酰甘油和 DOGS-NTA-Ni 脂质通过热熔均质法制备成脂质纳米粒, 并在表面覆盖 TAT 多肽或对照 YKA 多肽。应用于小鼠皮肤上 24 h 后, 在毛囊和上皮 120 μm 深处出现荧光, 且荧光主要出现在毛囊中。共焦显微拉曼光谱法显示在 80 和 120 μm 处, TAT 修饰的纳米粒荧光强度高于 YKA 多肽修饰的纳米粒。将荧光染料替换成塞来昔布, 出现相似的情况, TAT 纳米粒包载塞来昔布的促渗效果分别是 YKA 纳米粒包载塞来昔布和无修饰纳米粒包载的 3 倍和 6 倍。

2.4 核酸类药物

很多研究者都研究过 CPPs 协助传递核酸药物进入细胞内。在这之前, 由于寡核苷酸的大小和高度带负电荷的性质, 核酸通过细胞膜的有效传递有些障碍, 病毒载体是唯一克服寡核苷酸传递的细胞膜阻碍的工具, 但它具有严重的致癌性和免疫原性。因此, 带正电或两亲性的 CPPs 是寡核苷酸如 siRNA 全身性或局部给药的病毒载体的一种有效且毒性更小的替代选择^[9,21]。但 CPPs 主要还是用于穿透肿瘤细胞或设计成靶向载体进入肿瘤细胞等方向。在经皮给药中运用得并不是很多, 往往是被用于局部给药治疗某些皮肤疾病如过敏性皮炎。siRNA 是过敏性皮炎的一种潜在疗法, 因为它们能特异沉默过敏性皮炎基因表达的一种相关因子。虽然对于过敏性皮炎患者的皮肤来说, 角质层已经被破坏, 不足以维持正常的屏障作用, 但表皮层中细胞之间的紧密连接对于 siRNA 的经皮给药来说依然是一个巨大的障碍。为了克服紧密连接的限制, UCHIDA 等^[22] 使用一种合成的六肽 AT1002 联合 Tat 共同促进 siRNA 的经皮给药。其中, AT1002 是一种紧密连接调节剂, 能够可逆促进分子通过细胞间转运穿过表皮屏障。通过对 PAM212 细胞中 RelA 的 mRNA 沉默效应的考察, 证明相比于无修饰的 siRelA, Tat/siRelA 复合物能够进入细胞。使用荧光免疫分析法分析 AT1002 对小鼠皮肤上一种紧密蛋白 ZO-1 结构

的影响, 证明 AT1002 能导致 ZO-1 蛋白发生络氨酸磷酸化, 并且该反应可能是可逆的。将 AT1002 与 Tat 联合使用, 发现 siRNA 抗核糖核酸酶的能力大大提升。且由于 AT1002 和 Tat 的共同作用, siRNA 通过角质层细胞旁途径从皮肤表面或者毛囊通道广泛地分布在皮肤中。随后, UCHIDA 等^[23] 使用 AT1002/Tat 联合一种抗 RelA 的 siRNA (小鼠皮肤上核因子- κ B 家族的一员) 涂抹在患有 AD 的 NC/Nga 小鼠耳朵上, 最终发现小鼠的耳朵厚度、皮炎症状、局部细胞因子水平, 以及血清 IgE 产物量均有所改善。KANAZAWA 等^[24] 使用一种功能性细胞穿透硬脂酰-寡肽 OK-102 (functional cell-penetrating stearyl-oligopeptide OK-102), 作为一种细胞质应答纳米载体递送新型治疗 AD 的 RNA 干扰剂 (RNAi)——nkRNA 和 PnkRNA。相比于无包载的 nkRNA 和 PnkRNA, 该复合物能有效沉默巨噬细胞中的 RelA mRNA, 并在小鼠 AD 模型中表现出明显的治疗效果。VIJ 等^[25] 在恒速的涡流下, 通过向一种两亲性多肽 Mgpe9 溶液中逐滴加入质粒 DNA 的方法通过静电相互作用制备稳定的 Mgpe9/质粒纳米复合物, 并发现 Mgpe9 可能是通过短暂改变皮肤脂质分布、可逆破坏细胞间紧密连接的方式促进纳米复合物透过角质层进入上皮细胞中。并与市场上销售的促渗载体如 Lipofectamine 2000TM 进行比较, 证明 Mgpe9/质粒纳米复合物对皮肤和细胞的伤害比 Lipofectamine 2000TM 更小。

3 CPPs 的作用机制

目前, 关于细胞穿透肽如何穿透细胞膜进入细胞并没有确定的解释, 但现在研究者普遍对多数 CPPs 的细胞易位机制比较认同^[26]。CPPs 透过细胞膜主要有以下几个特点: ①渗透量具有细胞系种类的依赖性, 但是否渗透不具有细胞特异性; ②与温度、时间、CPPs 浓度相关; ③CPP 与小分子的结合物的人胞机制是静电作用或易位、跨膜转导作用; 而 CPP 与大分子的结合物是通过能量依赖的内吞作用进入细胞等。马冬旭等^[27] 研究不同细胞系对细胞穿透肽摄取的不同效果, 并比较它们的穿透机制。采用异硫氰酸荧光素标记 CPPs, 发现 CPPs 穿透细胞没有选择性, 但摄取量与细胞种类有关。在采用的 4 种肿瘤细胞系 (MCF-7、MDA-MB-231、C6 和 B16F10) 中, MCF-7 对 CPPs 的摄取量最大。而随细胞的孵化时间的延长, 细胞内的荧光强度逐渐增强; 且当增加 CPPs 的浓度时, 细胞内的荧光强度也会明显增高。

但细胞穿透肽通过皮肤角质层的机制似乎与穿过细胞膜的机制并不完全相同。因为角质层中的细胞是死细胞, 因此这些细胞只有代谢活性环境, 而不会有内吞作用。只有某些由于皮炎而导致角质层缺损的经皮研究中, 可以忽略角质层带来的促渗机制上的差异。除此之外, 角质层和普通细胞膜在细胞间的脂域、脂质成分、含水量和脂质/蛋白质比率等方面也有很多不同点^[9]。因此, 可能代谢活性、角质层的非活性细胞和脂质和 PTDs 之间的相互作用在 CPPs 通过角质层运中起到重要作用^[28-29]。HOU 等^[16] 的研究已表明巨胞饮和肌动蛋白重组都涉及到 CPPs 促进药物经皮给药。此外, 多项研究表明^[22,25], CPPs 能够可逆地作用于上皮细胞间的紧密连接蛋白, 使得皮肤结构发生短暂变化, 从而促进药物渗透。近期, WANG 等^[30] 发

现,上皮细胞上的 Na^+/K^+ -ATP 酶 β 亚基(ATP1B1)对 TD1(一种 11 个氨基酸残基构成的短肽)调节的药物促渗有重要作用。通过 ELISA 和免疫沉淀法验证在酵母和哺乳动物细胞中 TD1 与 ATP1B1 能特异性结合。TD1 主要与 ATP1B1 的羧基端相互作用,不仅能够影响 ATP1B1 的表达和分布,还影响上皮的结 构。该相互作用可被外源性 ATP1B1 竞争性拮抗,或被哇巴因(一种可以特异性抑制 ATP1B1 的抑制剂)抑制,这会导致大分子药物通过皮肤的递送量降低。该研究将 CPPs 促渗机制锁定到某一个分子的级别,对未来 CPPs 促渗研究有着重要的影响。但至今 CPPs 通过皮肤层的准确机制还未彻底阐明,需要进一步的研究来确认 CPPs 介导从非活性至活性皮肤层的转运机制。

4 结束语

CPPs 作为一种短序列多肽,是具有生物活性的分子细胞内转运工具,转导效率高、低毒、使用方法简单、成本相对较低,对于通过皮肤的局部给药和全身性给药都有一定的促进作用,具有很多促渗方法所不具备的优点。但是由于目前还没有统一关于 CPPs 命名和质量控制的确定,因此目前众多的 CPPs 的经皮促渗效果参差不齐,没有形成一个比较完善的体系。且 CPPs 不具有细胞特异性,需通过其他手段辅助才能实现靶向性给药。此外,近年来发现,细胞穿透肽的应用面临着药物释放率、代谢降解、细胞系的分化状态和 Rho-GTPases 活性的依赖性问题^[31],这些都阻碍 CPPs 的发展。因此,研究者们还应加强对其机制和性能的研究,扩大 CPPs 在蛋白质、多肽、核酸以及各种载体中的经皮应用。

参考文献

- [1] DELGADO-CHARRO M B, GUY R H. Effective use of transdermal drug delivery in children[J]. *Adv Drug Del Rev*, 2014, 73: 63–82.
- [2] SHWAYDER T, AKLAND T. Neonatal skin barrier: structure, function, and disorders[J]. *Dermatol Ther*, 2005, 18(2): 87–103.
- [3] BENSON H A E. Transdermal drug delivery: penetration enhancement techniques[J]. *Curr Drug Del*, 2005, 2(1): 23–33.
- [4] BHOWMICK M, SENGODAN T. Mechanisms, kinetics and mathematical modelling of transdermal permeation, an updated review [J]. *Pharmacie Globale*, 2013, 4(6): 1–4.
- [5] FONSECA S B, PEREIRA M P, KELLEY S O. Recent advances in the use of cell-penetrating peptides for medical and biological applications[J]. *Adv Drug Del Rev*, 2009, 61(11): 953–964.
- [6] BAOUM A, OVCHARENKO D, BERKLAND C. Calcium condensed cell penetrating peptide complexes offer highly efficient, low toxicity gene silencing[J]. *Int J Pharm*, 2012, 427(1): 134–142.
- [7] JONES A T, SAYERS E J. Cell entry of cell penetrating peptides: tales of tails wagging dogs[J]. *J Controlled Rel*, 2012, 161(2): 582–591.
- [8] VIV S E, BRODIN P, LEBLEU B. A truncated HIV-1 Tat protein basic domain rapidly translocates through the plasma membrane and accumulates in the cell nucleus[J]. *J Biol Chem*, 1997, 272(25): 16010–16017.
- [9] NASROLLAHI S A, TAGHIBIGLOU A, AZIZI E, et al. Cell-penetrating peptides as a novel transdermal drug delivery system[J]. *Chem Biol Drug Des*, 2012, 80(5): 639–646.
- [10] COHEN-AVRAHAMI M, ASERIN A, GARTI N. HII mesophase and

- peptide cell-penetrating enhancers for improved transdermal delivery of sodium diclofenac[J]. *Coll Surf B: Biointerfaces*, 2010, 77(2): 131–138.
- [11] COHEN-AVRAHAMI M, LIBSTER D, ASERIN A, et al. Sodium diclofenac and cell-penetrating peptides embedded in H (II) mesophases: physical characterization and delivery[J]. *J Phys Chem B*, 2011, 115(34): 10189–10197.
 - [12] COHEN-AVRAHAMI M, SHAMES A I, OTTAVIANI M F, et al. HIV-TAT enhances the transdermal delivery of NSAID drugs from liquid crystalline mesophases[J]. *J Phys Chem B*, 2014, 118(23): 6277–6287.
 - [13] KUMAR S, CHEN M, ANSELMO A C, et al. Enhanced epidermal localization of topically applied steroids using SPACE (TM) peptide [J]. *Drug Del Transl Res*, 2015, 5(5): 523–530.
 - [14] STOUT T E, MCFARLAND T, MITCHELL J C, et al. Recombinant filaggrin is internalized and processed to correct filaggrin deficiency [J]. *J Invest Dermatol*, 2014, 134(2): 423–429.
 - [15] MANOSROI J, LOHCHAROENKAL W, G TZ F, et al. Transdermal absorption and stability enhancement of salmon calcitonin by Tat peptide[J]. *Drug Devel Industr Pharm*, 2013, 39(4): 520–525.
 - [16] HOU Y W, CHAN M H, HSU H R, et al. Transdermal delivery of proteins mediated by non-covalently associated arginine-rich intracellular delivery peptides [J]. *Exp Dermatol*, 2007, 16(12): 999–1006.
 - [17] AHMAD N S, TAGHIBIGLOU C, FOULADDEL S, et al. Physicochemical and biological characterization of pep-1/elastic complexes[J]. *Chem Biol Drug Des*, 2013, 82(2): 189–195.
 - [18] GENNARI C G M, FRANZE S, PELLEGRINO S, et al. Skin penetrating peptide as a tool to enhance the permeation of heparin through human epidermis[J]. *Biomacromolecules*, 2016, 17(1): 46–55.
 - [19] KWON S S, KIM S Y, KONG B J, et al. Cell penetrating peptide conjugated liposomes as transdermal delivery system of *Polygonum aviculare* L. extract[J]. *Int J Pharm*, 2015, 483(1/2): 26–37.
 - [20] PATLOLLA R R, DESAI P R, BELAY K, et al. Translocation of cell penetrating peptide engrafted nanoparticles across skin layers[J]. *Biomaterials*, 2010, 31(21): 5598–5607.
 - [21] FARKHANI S M, VALZADEH A, KARAMI H, et al. Cell penetrating peptides: efficient vectors for delivery of nanoparticles, nanocarriers, therapeutic and diagnostic molecules [J]. *Peptides*, 2014, 57: 78–94.
 - [22] UCHIDA T, KANAZAWA T, TAKASHIMA Y, et al. Development of an efficient transdermal delivery system of small interfering RNA using functional peptides, Tat and AT-1002[J]. *Chem Pharm Bull*, 2011, 59(2): 196–201.
 - [23] UCHIDA T, KANAZAWA T, KAWAI M, et al. Therapeutic effects on atopic dermatitis by anti-RelA short interfering RNA combined with functional peptides Tat and AT1002 [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2011, 338(2): 443–450.
 - [24] KANAZAWA T, HAMASAKI T, ENDO T, et al. Functional peptide nanocarriers for delivery of novel anti-RelA RNA interference agents as a topical treatment of atopic dermatitis[J]. *Int J Pharm*, 2015, 489(1/2): 261–267.
 - [25] VIJ M, NATARAJAN P, PATTNAIK B R, et al. Non-invasive topical delivery of plasmid DNA to the skin using a peptide carrier[J]. *J Controlled Rel*, 2016, 222: 159–168.

- [26] 张成豪, 罗华菲, 王浩. 细胞促渗肽在透皮给药中的应用[J]. 世界临床药物, 2014, 35(11): 704-709.
- [27] 马冬旭, 齐宪荣. 不同细胞系对细胞穿透肽的摄取和机制比较[J]. 药学报, 2010, 45(9): 1165-1169.
- [28] DESAI P, PATLOLLA R R, SINGH M. Interaction of nanoparticles and cell-penetrating peptides with skin for transdermal drug delivery[J]. Mol Membr Biol, 2010, 27(7): 247-259.
- [29] ROTHBARD J B, GARLINGTON S, LIN Q, et al. Conjugation of

- arginine oligomers to cyclosporin A facilitates topical delivery and inhibition of inflammation[J]. Nat Med, 2000, 6(11): 1253.
- [30] WANG C, RUAN R, ZHANG L, et al. Role of the Na^+/K^+ -ATPase beta-subunit in peptide-mediated transdermal drug delivery[J]. Mol Pharm, 2015, 12(4): 1259-1267.
- [31] 刘芸, 李锦梅, 谭婷, 等. 细胞穿透肽应用的研究进展[J]. 生物化学与生物物理进展, 2014, 41(8): 731-738.

治疗腹泻型肠易激综合征新药——艾沙度林

夏玲红, 孙黎, 金冠钦

(上海交通大学医学院附属仁济医院药剂科, 上海 200001)

摘要 肠易激综合征(IBS) 是一种常见的胃肠疾病, 艾沙度林是一种混合的 μ 受体激动药、 δ 受体拮抗药、 κ 受体激动药, 用于腹泻型肠易激综合征(IBS-D) 的缓解治疗。研究显示艾沙度林能明显改善 IBS-D 患者的临床症状, 耐受性良好, 不良反应较少。该文对艾沙度林作用机制、药动学、临床研究以及安全性等进行综述。

关键词 艾沙度林; 肠易激综合征; 腹泻型; 阿片受体

中图分类号 R975; R574

文献标识码 A

文章编号 1004-0781(2017)08 增-0066-02

DOI 10.3870/j.issn.1004-0781.2017.z1.032

肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS) 是一种常见的功能性胃肠疾病, 全球发病率 $>10\%$ ^[1]。其主要表现为腹部疼痛或不适, 伴有多次排便或粪便异常, 排便后症状好转, 而无形态学和生态异常变化。使用布里斯托尔粪便量表(Bristol Stool Form Scale, BSFS), IBS 患者可分为腹泻型、便秘型、腹泻便秘交替型和不确定型^[2]。其中以腹泻型 IBS(IBS-D) 最为常见, 约占 40%。美国食品药品监督管理局(FDA) 于 2015 年 5 月批准艾沙度林(eluxadoline) 用于腹泻型 IBS 的缓解治疗, 推荐剂量为 100 mg, 每天 2 次, 与食物同服。艾沙度林具有混合的阿片受体活性—— μ 受体激动药、 δ 受体拮抗药及 κ 受体激动药^[3]。

1 作用机制与药效学

阿片受体在体内广泛分布, 一般可分为 4 种亚型, 包括 μ 受体 κ 受体、 δ 受体及阿片样受体-1^[4]。艾沙度林具有混合的阿片受体活性, 激动 μ 受体, 可以缓解腹泻型 IBS 患者肠道疼痛症状, 同时减慢胃肠蠕动, 从而改善腹泻。从理论上讲, δ 受体拮抗剂可以抵消 μ 受体激动剂对胃肠道的过度抑制作用, 同时增强 μ 受体激动剂的中枢镇痛作用^[5]。艾沙度林激动 μ/κ 受体、拮抗 δ 受体的协同药效学作用的研究资料较少。

2 药动学

艾沙度林目前只有口服制剂。健康受试者单次口服艾沙度林 100 mg 后, 艾沙度林血药浓度峰值(C_{\max}) 为 $2 \sim 4 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$, 血药浓度-时间曲线下面积为 $12 \sim 22 \text{ ng} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。平均血浆消除半衰期的范围为 $3.7 \sim 6.0 \text{ h}$, 血浆蛋白结合率约为 81%, 主要通过粪便消除。在健康受试者中, 艾沙度林表现为线性药动学特征, 每日 2 次给药药物无蓄积^[6]。

3 临床研究

3.1 II 期临床研究 1 项为期 12 周的随机双盲安慰药对照临床试验考察艾沙度林的安全性、有效性、以及耐受性, 共 807 例腹泻型 IBS 患者参加试验。受试者每日 2 次口服安慰药或艾沙度林 5, 25, 100, 200 mg。主要终点为第 4 周的临床疗效; 每日疼痛评分(0~10) 从基线减少 30%, 且至少减少 2 分; 以及每日记录 BSFS 评分(1~7 分) 为 3~4 分的天数达到 66%。第 4 周的临床疗效显示, 艾沙度林 25, 200 mg 剂量组分别有 12%, 13.8% 患者达到主要终点, 而安慰药组为 5.7%, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。与安慰药组比较, 艾沙度林 100, 200 mg 剂量组受试者在排便频率、排便紧迫感、整体状态、生活质量, 以及费用评估方面的改善更加明显($P < 0.05$)。此外, 分析表明, 在 12 周, 艾沙度林 100, 200 mg 剂量组分别有 28.0%, 28.5% 患者达到 FDA 定义的复合疗效终点, 而安慰药组为 13.8%, 差异有统计学意义($P = 0.002$)。艾沙度林耐受性良好, 便秘的不良反应发生率较低^[7]。

3.2 III 期临床研究 2 项大型随机双盲、安慰药对照多中心 III 期临床研究进一步考察艾沙度林的临床疗效及安全性。共有 2 427 例腹泻型 IBS 患者参加试验, 受试者每日 2 次口服艾沙度林 75, 100 mg 或安慰药。试验 IBS-3002 为期 26 周, 共 1 145 例患者参与, 试验 IBS-3001 为期 52 周, 共 1 280 例患者参与。试验主要终点是 1~12 周(或 26 周) 前后受试者腹痛减少、大便稠度改善的天数超过 50%。第 12 周研究结果显示, 与安慰药组比较, 艾沙度林 75 mg 及 100 mg 剂量组更多受试者达到疗效终点, 均差异有统计学意义。试验 IBS-3001: 75 mg 剂量组为 23.9%, 100 mg 剂量组为 25.1%, 安慰药组为 17.1% ($P = 0.01$, $P = 0.004$); 试验 IBS-3002: 75 mg 剂量组为 28.9%, 100 mg 剂量组为 29.6%, 安慰药组为 16.2% ($P < 0.01$)。第 26 周对应比率,

收稿日期 2016-08-30 修回日期 2016-11-28

作者简介 夏玲红(1983-), 女, 上海人, 主管药师, 学士, 主要从事药理学工作。电话: 021-53882129, E-mail: xialinghong37@163.com。