

新型促吸收剂研究进展 ——以细胞间紧密连接为靶点

康安, 梁艳, 郝海平, 谢林, 王广基*

(中国药科大学 药物代谢动力学重点实验室, 江苏 南京 210009)

摘要: 亲水性小分子药物、多肽和蛋白质主要通过胞旁通路吸收。这类药物膜通透性较差,口服生物利用度较低。紧密连接是构成胞旁通路的结构基础,传统的胞旁通路促吸收剂一般对黏膜损伤较大,限制了这些药物的临床应用。近年来,随着对紧密连接结构、功能认识日益加深,许多特异性的促吸收剂被发现,如 NO 供体、CPE 和 Zot 等,实验表明,通过瞬间可逆的打开紧密连接,这些促吸收剂可显著增加胞旁转运标志物和亲水性药物的吸收,而其毒副作用较传统的促吸收剂大为降低。总之,新型促吸收剂提供了一个增加亲水性药物生物利用度的有益思路。

关键词: 胞旁通路; 紧密连接; 促吸收

中图分类号: R943.4

文献标识码: A

文章编号: 0513 - 4870(2007)11 - 1122 - 07

Advances in study of novel absorption enhancers based on tight junctions

KANG An, LIANG Yan, HAO Hai-ping, XIE Lin, WANG Guang-ji[†]

(Key Lab of Drug Metabolism and Pharmacokinetics, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

Abstract: Hydrophilic low molecular drugs, peptides and proteins, which are always poor in bioavailability, are mainly absorbed through the paracellular way in which the tight junction is the elementary framework. The tight junctions are a multiple unit structure composed of multiprotein complex that affiliates with the underlying apical actomyosin ring. Tight junction proteins are identified including transmembrane proteins (occludin, claudin and JAM), cytoplasmic plaque proteins (ZO-1, ZO-2, ZO-3 and cingulin) and cytoskeleton. Traditional absorption enhancers can usually impair mucous membranes which constraint the utilization of these enhancers. Recently, with the increasing knowledge of the structure and function of tight junctions, many new absorption enhancers have been developed such as NO donor, CPE, Zot, and so on. *In vivo* and *in vitro* studies have shown that these enhancers could be effectively used to increase the absorption of paracellular markers and low bioavailable drug across intestinal epithelium with lower side effect. In short, the transient opening of the tight junctions by these enhancers provides new ideas that could help in novel drug delivery of therapeutic agents.

Key words: paracellular pathway; tight junction; absorption enhancer

细胞间紧密连接 (tight junctions) 位于上皮细胞或内皮细胞之间,由一些跨膜蛋白 (occludin、claudin 和 JAM 蛋白)、胞质蛋白 (ZO-1、ZO-2、ZO-3 和 cingulin 蛋白) 和细胞骨架蛋白组成,起着连接相邻细胞的作用。它是许多生理性屏障发挥机体保护作用

用的结构和功能基础^[1]。肠上皮细胞间的紧密连接可阻止毒素和抗原的吸收,调控肠腔和黏膜下层的离子和营养物质交换。在血脑屏障上,血管内皮细胞间紧密连接的存在,可阻止有害物质进入脑组织,维持脑内环境的相对稳定,从而保证血脑屏障正常的生理功能。

细胞间紧密连接是构成胞旁通路的结构基础。许多亲水性药物很难透过细胞膜,多数通过胞旁通路转运进入体内;一些中药单体跨膜通透性较差,也常通过胞旁转运吸收。这些药物的生物利用度极

收稿日期: 2007-04-20.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30630076); 国家高技术
研究发展计划 (863 计划) 资助项目 (2005AA2Z3C70).

* 通讯作者 Tel: 86 - 25 - 85391035, Fax: 86 - 25 - 85306750,
E-mail: guangjiwang@hotmail.com

低,限制了口服制剂的研制^[2]。许多中枢神经系统药物特别是亲水性药物,无法透过血脑屏障而发挥治疗作用。如何提高这类药物的生物利用度或血脑屏障通透性引起人们的广泛兴趣。近年来,随着对细胞间紧密连接的分子结构、功能及调节的认识越来越深,发现了许多新型的胞旁转运促吸收剂。这些促吸收剂通过可逆瞬时打开细胞间紧密连接,促进药物通过胞旁通路,增加药物的生物利用度。本文主要对细胞间紧密连接的结构、功能、信号调节及调节剂的作用机制进行介绍,并探讨了新型促吸收剂的应用前景。

1 胞旁通路转运

胞旁通路是由细胞间连接组成,包括3个部分:紧密连接、黏着连接(adherens junction)和桥粒(desmosomes)。紧密连接位于细胞的顶端,是物质通过胞旁通路的限制因素。体内一些离子、氨基酸和葡萄糖等物质通过胞旁通路转运,调节肠腔和黏膜下层之间的营养物质和离子交换。

药物胞旁转运是指药物通过胞旁通路进入体内的一种转运方式,通常被认为是一种被动扩散。一些蛋白质和多肽类药物、核酸类药物和亲水性药物(阿替洛尔、西米替丁和咪塞米等)为亲水性,膜通透性较差,常通过胞旁通路被吸收^[3]。由于肠上皮细胞间隙面积仅为整个小肠面积的0.1%,限制了药物通过胞旁被动扩散进入体内,因而这类药物生物利用度较低。此外胞旁转运对药物也有一定的选择性,阳离子型药物的胞旁通透性高于阴离子型药物。

细胞间紧密连接的改变可表现为细胞跨膜电阻的改变和一些胞旁转运标志物如甘露醇、荧光素、萤黄(lucifer yellow)和PEG 4000等在细胞上膜通透系数(P_{app} 值)的变化。通常细胞的跨膜电阻(TEER)升高,这些标志物的 P_{app} 值降低;反之,当TEER值降低时,这些标志物的 P_{app} 值常增加^[1]。如果一些药物具有打开细胞间紧密连接的作用,可通过TEER值和胞旁转运标志物的 P_{app} 值反映。

2 细胞间紧密连接的结构和功能

细胞间紧密连接为动态复合结构,它在多种蛋白质相互作用下形成。跨膜蛋白、胞质蛋白和细胞骨架蛋白构成了细胞间的紧密连接。相邻细胞间跨膜蛋白的胞外洋相互作用,跨膜蛋白的胞内域与胞质蛋白相连,胞质蛋白作为桥梁连接跨膜蛋白和细胞骨架蛋白,使细胞间紧密连接形成网状结构,从而封闭细胞间的间隙并将细胞顶部与基侧部分开。

2.1 跨膜蛋白

细胞间紧密连接中的主要跨膜蛋白为occludin、claudin和JAM蛋白。3个跨膜蛋白的胞外部分与相邻细胞的胞外部分相互作用,形成细胞间胞旁通路,胞内部分则与紧密连接中的胞浆蛋白相连。

2.1.1 Occludin Occludin是细胞间紧密连接中最早被发现的跨膜蛋白,分子质量约65 kDa。Occludin经4次跨膜,N端和C端位于胞浆内,其胞内域的氨基酸残基带有大量电荷。它的两个胞外洋(extrocellular loop)所含氨基酸残基数分别为44和45。两个胞外洋同源性较差,但均有一疏水域并含大量甘氨酸和酪氨酸^[4]。

Occludin在细胞间发挥黏附分子的作用,维持和调节紧密连接屏障功能。相邻细胞间occludin的两个胞外洋相互作用,形成细胞间隙;胞内域由于带有大量电荷,与ZO-1和ZO-3直接作用而结合,ZO-1再与肌动蛋白骨架连接形成稳定的连接系统。许多研究表明在细胞间紧密连接形成过程中occludin并不是关键蛋白。Schulzke等^[5]采用基因敲除小鼠模型研究了occludin在细胞间紧密连接中的作用,结果表明基因敲除小鼠的胃肠道形态学改变不明显,小肠上皮细胞和膀胱上皮细胞功能正常,但胃上皮细胞分泌功能下降。

2.1.2 Claudin Claudin是细胞间紧密连接的主要组成成分,作为跨膜蛋白,它主要在相邻细胞间聚合形成紧密连接的主链,维持细胞间紧密连接的功能。Claudin家族迄今已发现24个成员,各成员具有相似的结构^[6]。

Claudin也为4次跨膜蛋白,其N端和C端位于细胞内,形成两个胞外洋和一个胞内洋。C端氨基酸残基通过PDZ结构域与ZO-1、ZO-2、ZO-3等胞质蛋白相互作用。两个胞外洋含不同数目的带电氨基酸残基,使claudin的 pK_i 值有一定差异。第1个胞外洋在物质选择通透上发挥作用^[7];第2个胞外洋常为一些细菌毒素的受体,一些细菌通过与claudin的第2个胞外洋上的受体结合,导致肠上皮细胞的通透性改变而引起胃肠道疾病。Claudin在各组织中表达具有一定的特异性:如claudin-5主要表达于血脑屏障上的相邻内皮细胞间,claudin-4和claudin-8存在于肾脏中。

Claudin在维持细胞间连接上发挥着不可替代的作用。Claudin-1主要表达于表皮细胞,采用基因敲除技术使小鼠不表达claudin-1,放射性示踪实验显示示踪剂可透过小鼠皮肤,表明其皮肤屏障功能

丧失。小鼠常由于电解质和水从皮肤中流失而死亡^[8]。

2.1.3 JAM蛋白 (Junctional adhesion molecules)

JAM膜蛋白属于免疫球蛋白家族成员,包括 JAM-1、JAM-2、JAM-3 和 JAM-4。JAM-1 可连接 ZO-1、cingulin和 MUPPI。JAM-1 在内皮细胞迁移、跨膜信号转导和维持血管功能上均发挥作用。JAM-2 在肾和淋巴内皮细胞中高表达,而 JAM-3 主要表达于肾、脑和胎盘中的内皮细胞间。JAM-4 主要发挥细胞间的黏附作用并参与调控细胞间紧密连接的渗透性和白细胞的迁移等^[1,4]。

2.2 胞质蛋白

细胞间紧密连接中的胞内部分由胞质蛋白组成。大部分胞质蛋白均含有多个 PDZ结构域,可与其他蛋白相互作用,起连接膜蛋白与细胞骨架的作用及传递信号分子的作用。主要的胞质蛋白有 ZO-1、ZO-2、ZO-3 和 cingulin等。

ZO-1 和 ZO-2 均属于膜相关鸟氨酸激酶 (MAGUK)家族,它们可相互连接。ZO-1 的 PDZ1 结构域与 claudin-1 和 claudin-8 的 C端部分结合。ZO-1 通过 occludin位于胞质内的 C端直接相连^[9]。ZO-1 还可与肌动蛋白和 JAM蛋白相互作用,在细胞间紧密连接中起着枢纽作用。ZO-2 与 ZO-1 有一定的同源性。ZO-2 的 N端与 claudin和 occludin相互作用,而其 C端则与肌动蛋白相连^[10]。ZO-3 的 C端部分含有 1 个酸性结构域,在第 1、2 个 PDZ 结构域间含有 1 个碱性结构域。体内 3 个 ZO 蛋白一般以 ZO-1/ZO-2 和 ZO-2/ZO-3 复合体的形式存在^[4]。

Cingulin为一个磷酸化蛋白,位于胞浆内膜。Cingulin的 N端与 ZO-1 和肌球蛋白相结合。F肌动蛋白可与 cingulin的第 101 ~ 294 位氨基酸残基结合。Cingulin在紧密连接中发挥着连接细胞骨架与胞浆蛋白的作用^[11]。

2.3 细胞骨架蛋白

细胞骨架蛋白主要包括 F肌动蛋白、肌球蛋白和原肌球蛋白。一些胞质蛋白作为桥梁,将细胞骨架蛋白和跨膜蛋白相连,使细胞间紧密连接形成网状结构。

3 细胞间紧密连接的信号调节

紧密连接蛋白的组装和改变是一个动态过程,涉及体内许多信号传导机制。许多内源性或外源性物质可激发体内某些信号传导通路,改变生理性屏障的功能,适应机体需要或诱发病理性损害。细胞

间紧密连接调节所涉及的信号传导分子主要有磷脂酶 C、Rho GTP 酶、 Ca^{2+} 、NO、肌球蛋白轻链激酶 (myosin light chain kinase, MLCK)和蛋白激酶 C (PKC)等。这些信号通路的最终效应可分为以下两点:(1)改变肌动蛋白收缩性,影响细胞间紧密连接;(2)使一些紧密连接蛋白如 ZO-1 和 occludin等磷酸化、去磷酸化,调节紧密连接的通透性^[4,12,13]。

许多病理过程与细胞间紧密连接的破坏有关,如中风、炎症性肠道疾病 (IBD)等。研究表明,在中风过程中血管及神经经历了缺氧及缺氧后再复氧,此过程伴随着细胞内 Ca^{2+} 和 NO浓度的增加,激活 PKC,紧密连接蛋白磷酸化并导致细胞骨架的重排,使血脑屏障的紧密性遭到破坏^[14]。炎症性肠道疾病是由于一些肠道致病菌通过激活 PKC或上调细胞内 NO合成酶表达,导致肌动蛋白磷酸化或氧化细胞骨架蛋白而引起细胞骨架重排,破坏了小肠生理性屏障而引起胃肠道疾病^[15]。

4 新型促吸收剂

一些主要通过胞旁转运的药物,尤其是生物大分子,生物利用度极低而限制了其口服制剂的研制。一些中枢神经类药物由于其较差的血脑屏障通透性,而无法达到起效部位。通过一些外源性物质即胞旁通路促吸收剂可控、可逆地调节细胞间紧密连接,提高这些药物的吸收或脑内分布,达到疗效的目的。这种方法尤其适合于蛋白质和多肽类药物。

4.1 传统的胞旁通路促吸收剂

传统的促吸收剂有表面活性剂、钙离子螯合剂、脂肪酸及其衍生物。它们的促吸收作用强,但特异性差,毒性较大。如传统的表面活性剂十二烷基磺酸钠、去氧胆酸钠和鹅脱氧胆酸主要通过增加膜的流动性并溶解细胞膜成分,不可逆的损伤细胞膜,在促进药物吸收的同时也使体外毒素进入体内,而产生毒副作用^[16]。 Ca^{2+} 螯合剂主要通过和细胞外 Ca^{2+} 螯合,减少细胞外 Ca^{2+} 浓度,激活 PKC,打开胞旁通路。由于钙离子螯合剂可能和细胞内 Ca^{2+} 螯合,发生一系列不良后果。癸酸钠 (C_{10})是最常见的脂肪酸类促吸收剂,作为促吸收剂,已应用于临床使用的氨比西林钠栓剂。尽管癸酸钠在丹麦和日本已经被批准用于临床,但它对黏膜损害仍较大^[17]。

采用一些辅料及剂型改良也可显著增加药物的胞旁吸收。壳聚糖及其衍生物促吸收作用与其所带阳离子电荷数密切相关,体内部分壳聚糖及其衍生物首先与黏液层所含阴离子结合,其余部分再与细

胞间紧密连接相互作用,打开紧密连接,促进药物吸收,但壳聚糖及其衍生物对肠黏膜的损失仍需进一步评价^[16]。最近,沙先谊等^[18]研究了自乳化系统(SMES)对人小肠上皮细胞间紧密连接的影响。分散体系微乳能可逆的改变肌动蛋白和ZO-1在细胞内的分布,打开细胞间紧密连接,促进药物吸收。但免疫组化实验显示细胞内部出现许多强力纤维,表明细胞承受外部的压力,这可能是由于微乳与细胞膜静电吸引并富集在细胞表面,这也是SMES有轻微细胞毒作用的原因。

4.2 NO供体

生物活性分子NO,在体内作用广泛,可作为信使参与机体许多生理和病理过程。NO具有调节上皮细胞和血管通透性的作用。当生物体内NO浓度升高时,NO可以激活PKC,使紧密连接中的跨膜蛋白如occludin蛋白磷酸化或使细胞骨架蛋白重排,可逆地打开细胞间紧密连接,增加某些药物的胞旁吸收。Yamamoto^[19]采用在体外吸收模型发现NO供体 NO_2^- 和 NO_3^- 可以显著增加5(6)羟基荧光素(CF)和荧光素右旋糖酐(FD)在结肠上的吸收。TEER值及甘露醇转运实验显示,NO供体可逆地打开了细胞间紧密连接,从而达到促吸收作用,MTT实验及LDH释放实验显示 NO_3^- 和 NO_2^- 的细胞毒性较小。

L精氨酸是人体内主要的生理NO供体。当低分子量肝素(LMWH)制剂中含2%L精氨酸时,LMWH在大鼠体内的口服生物利用度显著提高,而大鼠胃肠道形态学未见明显改变,表明L精氨酸作为口服吸收促进剂,其毒副作用较小^[20]。

4.3 C_{14} -OP₉₀₋₁₀₃

从细胞间紧密连接的形态学上看,相邻细胞间occludin胞外域的相互作用在物质胞旁转运中发挥作用。Tavelin等^[21]合成了一系列不同长度occludin的两个胞外域多肽及脂肽类衍生物,研究了不同肽段对Caco-2细胞上TEER值、细胞毒作用和胞旁转运标志物 P_{app} 值的影响。其中OP₉₀₋₁₃₅(第1个胞外域多肽)和OP₉₀₋₁₀₃(第1个胞外域的羧基端)对Caco-2促吸收作用明显,但由于AP侧蛋白酶对多肽的降解,作者又将OP₉₀₋₁₀₃衍生生成脂多肽 C_{14} -OP₉₀₋₁₀₃时,其在AP侧促吸收作用明显,细胞毒作用较小,免疫组化显示 C_{14} -OP₉₀₋₁₀₃可使occludin定位改变但可渐渐恢复正常。 C_{14} -OP₉₀₋₁₀₃的促吸收机制可能是脂多肽的脂类部分引导 C_{14} -OP₉₀₋₁₀₃分布于细胞膜,再在酶水解下释放OP₉₀₋₁₀₃。OP₉₀₋₁₀₃

上富含带电氨基酸可与细胞上occludin蛋白胞外域上的带电氨基端残基相互作用而打开紧密连接发挥促吸收作用。OP₉₀₋₁₀₃可逆地打开细胞间紧密连接,但对细胞间紧密连接中的其他蛋白如claudin蛋白、ZO-1、ZO-2等的细胞间定位及表达均无显著性影响。Everett等^[22]在人呼吸道上皮细胞上也发现了相似的结果,并将 C_{14} -OP₉₀₋₁₀₃用于促进基因转移载体进入呼吸道上皮细胞,促进基因治疗药物的发展。 C_{14} -OP₉₀₋₁₀₃作为一种靶向性促吸收剂,具有很好的应用前景。但作为多肽类药物,如何解决其口服时的药物降解,及其毒性作用和临床疗效还有待进一步研究。

4.4 产气荚膜梭菌肠毒素

Claudin在各组织中表达具有组织特异性,因此以claudin为靶点的促吸收剂可能具有一定的组织靶向性。

产气荚膜梭菌肠毒素(*Clostridium perfringens* enterotoxin, CPE)是导致人食物中毒、腹泻的原因之一。CPE破坏人小肠上皮细胞间的紧密连接,使小肠上皮细胞通透性改变并可导致肠上皮细胞脱落。CPE为分子质量约35 kDa的单链多肽,由319个氨基酸组成,分为氨基端(细胞毒性区)和羧基端(受体结合区),其中C端部分为从第184~319个氨基酸残基。CPE的C端部分(C-CPE)可特异性作用于MDCK细胞紧密连接中的claudin-3和claudin-4,破坏细胞间紧密连接,从而增加胞旁通透性^[23]。

Masuyama等^[24]研究了C-CPE在大鼠空肠和结肠上对主要通过胞旁通路转运的药物促吸收作用。C-CPE对胞旁转运标记物荧光素右旋糖酐(FD)在空肠上的促吸收作用明显。与临床上广泛使用的促吸收剂癸酸钠相比,FD空肠上的促吸收作用较癸酸钠更强,且C-CPE对空肠的毒性较癸酸钠明显降低。作者还发现C-CPE中的第303~319个氨基酸残基端在其促进药物吸收中发挥关键作用,当去除C-CPE中的氨基端部分(第184~200个氨基酸)时,C-CPE₂₀₀₋₃₁₉对claudin-4的亲和力消失,尽管C-CPE₂₀₀₋₃₁₉可以降低Caco-2细胞的TEER值,但对药物的促吸收作用不明显。C-CPE的N端部分可能发挥着与不同claudin蛋白特异性结合的作用。因此,通过改变C-CPE的N端氨基酸序列,开发出有组织特异性的促吸收剂^[25]。C-CPE的具体促吸收机制仍不清楚,可能通过与claudin蛋白直接结合,使claudin蛋白在细胞间形成的网状结构发生

解聚作用,或者是通过抑制 claudin 蛋白的聚合作用,破坏 claudin 蛋白形成网状结构而发挥促吸收作用^[26]。

4.5 Zot(Zonula occludens toxin)

Zot是由霍乱弧菌编码的第2个毒素,分子质量为44.8 kDa,含399个氨基酸。它可逆地打开小肠上皮细胞和血脑屏障上细胞间的紧密连接,从而增加这些生理性屏障的通透性。Zot的生物学活性部分称为 ΔG ^[27],为一段分子质量为12 kDa的肽段。由于Zot和 ΔG 的独特生物学性质,可开发生物大分子的口服制剂,应用于疫苗和蛋白质类药物的剂型设计,同时在促进药物透过血脑屏障方面也有一定的应用前景。

Karyekar等^[28]在脑血管内皮细胞模型(BMEC)上发现,Zot可逆地打开细胞间紧密连接,而细胞毒作用较小,这种作用呈时间和剂量依赖型。通过Zot改变细胞间转运通路,增加具有CNS活性药物的血脑屏障通透性,甚至抗肿瘤药的通透性,以达到治疗中枢性疾病的目的。Zot还可作为免疫佐剂^[29],用于疫苗剂型设计。它可以模拟体内内源性紧密连接调节方式,可逆的打开黏膜上皮细胞间紧密连接,使抗原进入黏膜下层,从而增强黏膜免疫的效果。

ΔG 为Zot的活性部分,它可导致细胞内肌动蛋白骨架重排并脱离细胞间紧密连接,从而打开细胞间紧密连接。体外研究表明, ΔG 可显著提高生物大分子标记物如PEG 4000在Caco-2细胞上的表现通透系数。由于 ΔG 口服后被代谢失活,当SD大鼠同时口服PEG 4000、 ΔG 和蛋白酶抑制剂时,PEG 4000生物利用度显著提高。 ΔG 对低生物利用度的治疗药物也有显著的促吸收作用,但机制与生物大分子有所不同^[27]。

Zot和 ΔG 与内源性细胞间紧密连接调节剂zonulin有一段结构类似的肽段,且Zot和zonulin在体内有共同的受体。Zonulin在正常生理功能或病理状态下起着调节细胞间紧密连接功能的作用。Zonulin及其受体在人的小肠、心脏、鼻上皮细胞和血脑屏障上均可被检测到^[30]。Zot和 ΔG 的促吸收作用机制可能和zonulin类似,通过激活体内某些信号传导通路,激活PKC- α ,导致肌丝的解聚作用,从而打开细胞间紧密连接,发挥促吸收作用^[1]。

4.6 其他

许多药物和中药具有可逆性打开细胞间紧密连接的作用。灭特复星(miltefosine)是近年来合成的

一种治疗内脏利什曼病的药物,为PLC- β 的特异性抑制剂,主要通过胞旁转运吸收入血。研究表明它能可逆性的打开细胞间紧密连接,从而增加自身的生物利用度。灭特复星也可抑制p-GP的外排作用,当灭特复星与p-GP底物或主要通过胞旁通路吸收的药物合用时,其临床疗效优于其他联合用药方案^[31]。

18- β -甘草次酸(glycyrrhetic acid, GA)为甘草根中的五环三萜类化合物。GA具有促进多肽药物如降钙素的吸收。Motlekar等^[32]采用Caco-2细胞,在体肠灌流和体内模型研究了GA对LMWH的促吸收作用。结果表明GA可逆地打开细胞间紧密连接,体内外数据表明GA对LMWH有明显的促吸收作用。0.02% GA对Caco-2细胞有一定的细胞毒作用,此浓度下GA对胃肠道形态学改变不明显,表明GA有潜力成为一种安全有效低毒的药物促吸收剂。还有一些中药成分如刺嫩芽中的皂苷类成分、啤酒花提取物、毛果槭及高良姜都具有一定的促进药物胞旁吸收的作用^[33]。

食物中也有一些成分,如辣椒素可逆地打开细胞间紧密连接,增加氨苄西林的胞旁吸收量^[34]。辣椒素可以显著增加细胞内 Ca^{2+} 浓度,打开紧密连接的过程可能是通过对cofilin蛋白的去磷酸化作用,cofilin的去磷酸化导致了细胞骨架的重排,可逆地打开细胞间紧密连接,从而增加氨苄西林的胞旁吸收量^[35]。

5 结语

随着对细胞间紧密连接功能的认识日益加深,目前已经发现了许多特异性的胞旁吸收促进剂。这些促吸收剂在促进药物转运的同时,也增加了毒物进入体内的概率,尽管其细胞毒作用小于已应用于临床的癸酸钠,但它们的安全性仍需深入评估。另外有些促吸收剂本身是多肽,如何提高其本身的稳定性,防止其在胃肠道内的降解也是今后需要研究的内容。但随着对紧密连接的功能及调节机制认识的提高,安全、有效的促吸收剂必将研制出来。

一些中药成分可以瞬间可逆地打开细胞间紧密连接,促进中药其他有效成分的胞旁吸收或发生中药-西药相互作用。这些促吸收成分可能是通过阻断或激活体内某些信号传导途径,如PKC、 Ca^{2+} 、NO,可逆地打开细胞间紧密连接。随着这些活性成分促吸收作用机制的阐明,可以有助于理解某些中药的配伍规律,防止中药-西药相互作用所导致的不良反应。

References

- [1] Salama NN, Eddington ND, Fasano A. Tight junction modulation and its relationship to drug delivery [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2006, 58: 15 - 28.
- [2] Han M, Han LM, Wang QS, et al. Mechanism of oral absorption of panaxnotoginseng saponins [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2006, 41: 498 - 505.
- [3] Nagahara N, Tavelin S, Artursson P. Contribution of the paracellular route to the pH-dependent epithelial permeability to cationic drugs [J]. *J Pharm Sci*, 2004, 93: 2972 - 2984.
- [4] Feldman GJ, Mullin JM, Ryan MP. Occludin: structure, function and regulation [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2005, 57: 883 - 917.
- [5] Schulzke JD, Gitter AH, Mankertz J, et al. Epithelial transport and barrier function in occludin-deficient mice [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2005, 1669: 34 - 42.
- [6] Morita K, Furuse M, Fujimoto K, et al. Claudin multigene family encoding four transmembrane domain protein components of tight junction strands [J]. *Proc Natl Acad Sci*, 1999, 96: 511 - 516.
- [7] Colegio OR, Van Itallie CM, Mccrea HJ, et al. Claudins create charge-selective channels in the paracellular pathway between epithelial cells [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2002, 283: 142 - 147.
- [8] Furuse M, Hata M, Furuse K. Claudin-based tight junctions are crucial for the mammalian epidermal barrier: a lesson from claudin-1 - deficient mice [J]. *J Cell Biol*, 2002, 156: 1099 - 1111.
- [9] Müller SL, Portwich M, Schmidt A, et al. The tight junction protein occludin and the adherens junction protein α -catenin share a common interaction mechanism with ZO-1 [J]. *J Biol Chem*, 2005, 280: 3747 - 3756.
- [10] Utepergenov DI, Fanning AS, Anderson JM, et al. Dimerization of the scaffolding protein ZO-1 through the second PDZ domain [J]. *J Biol Chem*, 2006, 281: 24671 - 24677.
- [11] Cordenonsi M, D' Atri F, Hammar E, et al. Cingulin contains globular and coiled-coil domains and interacts with ZO-1, ZO-2, ZO-3, and myosin [J]. *J Cell Biol*, 1999, 147: 1569 - 1581.
- [12] Shen L, Black ED, Witkowski ED, et al. Myosin light chain phosphorylation regulates barrier function by remodeling tight junction structure [J]. *J Cell Sci*, 2006, 119: 2095 - 2106.
- [13] Benais-Pont G, Punn A, Flores-Maldonado C, et al. Identification of a tight junction-associated guanine nucleotide exchange factor that activates Rho and regulates paracellular permeability [J]. *J Cell Biol*, 2003, 160: 729 - 740.
- [14] Fleegal MA, Hom S, Borg LK, et al. Activation of PKC modulates blood-brain barrier endothelial cell permeability changes induced by hypoxia and posthypoxic reoxygenation [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2005, 289: H2012 - H2019.
- [15] Farhadi A, Banan A, Fields J, et al. Intestinal barrier: an interface between health and disease [J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2003, 18: 479 - 497.
- [16] Li YH, Zhang M, Wang JC, et al. Effects of absorption enhancers on intestinal absorption of lumbrokinase [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2006, 41: 939 - 944.
- [17] Lindmark T, Kimura Y, Artursson P. Absorption enhancement through intracellular regulation of tight junction permeability by medium chain fatty acids in Caco-2 cells [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 1998, 284: 362 - 369.
- [18] Sha XY, Fang XL. Effect of self-microemulsifying system on cell tight junctions [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2006, 41: 30 - 35.
- [19] Yamamoto A, Tatsumi H, Maruyama M. Modulation of intestinal permeability by nitric oxide donors: implications in intestinal delivery of poorly absorbable drugs [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2001, 296: 84 - 90.
- [20] Motlekar NA, Srivenugopal KS, Wachtel MS. Modulation of gastrointestinal permeability of low-molecular-weight-heparin by L-arginine: *in vivo* and *in vitro* evaluation [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2006, 58: 591 - 598.
- [21] Tavelin S, Hashimoto K, Malkinson J, et al. A new principle for tight junction modulation based on occludin peptides [J]. *Mol Pharmacol*, 2003, 64: 1530 - 1540.
- [22] Everett RS, Vanhook MK, Barozzi N, et al. Specific modulation of airway epithelial tight junctions by apical application of an occludin peptide [J]. *Mol Pharmacol*, 2006, 69: 492 - 500.
- [23] Kondoh M, Masuyama A, Takahashi A, et al. A novel strategy for the enhancement of drug absorption using a claudin modulator [J]. *Mol Pharmacol*, 2005, 67: 749 - 756.
- [24] Masuyama A, Kondoh M, Seguchi H, et al. Role of N-terminal amino acids in the absorption-enhancing effects of the C-terminal fragment of *Clostridium perfringens* enterotoxin [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2005, 314: 789 - 795.
- [25] Kondoh M, Takahashi A, Fujii M, et al. A novel strategy for a drug delivery system using a claudin modulator [J]. *Biol Pharm Bull*, 2006, 29: 1783 - 1789.
- [26] Sonoda N, Furuse M, Sasaki H, et al. *Clostridium perfringens* enterotoxin fragment removes specific claudins from tight junction strands: evidence for direct involvement of claudins in tight junction barrier [J]. *J*

- Cell Biol, 1999, 147: 195 - 204.
- [27] Salama NN, Fasano A, Thakar M. The impact of ΔG on the oral bioavailability of low bioavailable therapeutic agents [J]. J Pharmacol Exp Ther, 2005, 312: 199 - 205.
- [28] Karyekar CS, Fasano A, Raje S, et al. Zonula occludens toxin increases the permeability of molecular weight markers and chemotherapeutic agents across the bovine brain microvessel endothelial cells [J]. J Pharm Sci, 2003, 92: 414 - 423.
- [29] Marinaro M, Fasano A. Zonula occludens toxin acts as an adjuvant through different mucosal routes and induces protective immune responses [J]. Infect Immun, 2003, 71: 1897 - 1902.
- [30] Fasano A. Intestinal zonulin: open sesame [J]. Gut, 2001, 49: 159 - 162.
- [31] Menez C, Buyse M, Chacun H, et al. Modulation of intestinal barrier properties by miltefosine [J]. Biochem Pharmacol, 2006, 71: 486 - 496.
- [32] Motlekar NA, Srivenugopal KS, Wachtel MS, et al. Evaluation of the oral bioavailability of low molecular weight heparin formulated with glycyrrhetic acid as permeation enhancer [J]. Drug Develop Res, 2006, 67: 166 - 174.
- [33] Konishi Y. Modulation of food-derived substances on intestinal permeability in Caco-2 cell monolayers [J]. Biosci Biotechnol Biochem, 2003, 67: 2297 - 2299.
- [34] Komori Y, Aiba T, Sugiyama R, et al. Effects of capsaicin on intestinal cephalixin absorption in rats [J]. Biol Pharm Bull, 2007, 30: 547 - 551.
- [35] Nagumo Y, Han J, Arimoto M, et al. Capsaicin induces cofilin dephosphorylation in human intestinal cells: the triggering role of cofilin in tight-junction signaling [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2007, 355: 520 - 525.