

## · 编 译 ·

## 抗 HIV 药物跨血液-中枢神经系统转运

连艳菊<sup>1,2</sup>, 苏 畅<sup>1</sup>, 杜丽娜<sup>1</sup>, 金义光<sup>1,2</sup>

**[摘要]** 高效抗逆转录病毒疗法(包括 HIV 蛋白酶抑制剂、核苷逆转录抑制剂、非核苷逆转录抑制剂、核苷酸逆转录抑制剂)的出现显著降低了发达国家 HIV 感染的发病率和死亡率,但每年仍有几百万人死于 HIV。尽管治疗失败的原因很多,但最重要的因素是中枢神经系统(CNS)中 HIV 的治疗和控制。由于受限制性细胞旁活动、强效代谢酶和很多转运子(包括 ATP 结合盒和可溶性载体超家族)的影响,抗 HIV 药物的 CNS 传递受血-脑屏障(BBB)和血-脑脊液屏障的限制。对位于脑屏障的转运子的深入认识将极大推动对抗 HIV 药物脑内渗透受限机制的了解,并有助于开发新型抗 HIV 药物和药物联用,提高其在 CNS 中的疗效。本文概述抗 HIV 药物跨 BBB 和脉络丛转运的研究进展。

**[关键词]** AIDS; HIV; 抗 HIV 药物; 中枢神经系统; 药物递送

**[中图分类号]** R943.42 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-0440(2010)01-0056-04

## 1 前言

据联合国艾滋病规划署 2008 年流行病学调查,全球约有 3300 万人感染 HIV 病毒。中枢神经系统(CNS)是 HIV 的主要靶点,在病毒感染初期就受其感染,血清反应阳性患者若未加治疗,CNS 感染将不断持续。

CNS 中 HIV 的感染与认知、运动和行为功能障碍的发展有关,包括无症状神经认知损伤、HIV 相关性轻症神经认知障碍(MND)、HIV 性痴呆症(HAD)或 AIDS 痴呆综合征。HIV 患者脑脊液(CSF)重要特征是:起初血浆中病毒相同,随着感染持续,病毒种群分化,在 HAD 患者中分化最明显。

AIDS 后期,CNS 易受几种严重机会性疾病的攻击,包括隐球菌性脑膜炎和原发性 CNS 淋巴瘤。所有这些神经系统疾病均具有高发病率和死亡率。由于缺少高效抗逆转录病毒治疗(HAART),这种状况在欠发达国家尤为严重。HIV 感染性 CNS 疾病目前尚无最佳治疗方法。临床资料表明,对认知损伤患者,通过 CSF 透过性抗逆转录病毒药物治疗,可明显提高药物在 CNS 中的有效率。根据文献资料、药物理化性质、CSF 中浓度和 CNS 中疗效,抗逆转录病毒药物可分为低 CNS 渗透(0 级)、中 CNS 渗透(0.5 级)和高 CNS 渗透(1 级)3 类。药物联合应用的分级通过各个药物的级别来定。近期研究表明位于血-脑屏障(BBB)的转运子阻碍抗 HIV 药物大量进入 CNS,对转运子进行药理调节有利于药物转运。

**作者简介:**连艳菊,女,在读硕士研究生,研究方向:药物新剂型与新技术,Tel:010-66931220,E-mail:lianyj668@163.com

**作者单位:**1. 100850 北京,军事医学科学院放射与辐射医学研究所(连艳菊,苏 畅,杜丽娜,金义光);2. 475004 开封,河南大学药学院(连艳菊,金义光)

**通讯作者:**金义光,男,副研究员,研究方向:新型药物传递系统,Tel: 010-66931220,E-mail:jinyg@yahoo.com.cn

本文介绍目前的抗 HIV 药物,分析药物穿透血-CNS 界面受限的原因,并对与核苷类逆转录酶抑制剂(NRTI)、非核苷类逆转录酶抑制剂(NNRTI)、核苷酸逆转录酶抑制剂(NtRTI)和蛋白酶抑制剂(PI)的分布和疗效有关的膜转运子进行简要概述。

## 2 抗 HIV 药物

抗 HIV 治疗的目标是在治疗最初的 4~6 个月内病毒载量 < 50 拷贝/ml。传统抗 HIV 药物主要有 NRTI、NNRTI、NtRTI 和 PI。其他还包括整合酶抑制剂和进入抑制剂,如融合抑制剂和 CCR5 抑制剂。HARRT 是 3 种或更多抗 HIV 药物的联用。目前推荐的一线治疗方法是 NNRTI、依法韦仑、泰诺福韦 + 恩曲他滨(Truvada)和拉米夫定 + 阿巴卡韦(Truvada)联用。

## 3 BBB 和血-CSF 屏障

物质能通过内皮组织细胞间隙(细胞旁)、直接穿过细胞壁[主动转运和(或)被动扩散]或囊泡转运(细胞内吞)等各种方式跨越无阻碍毛细血管壁。但是,BBB 中脑毛细血管内皮细胞之间连接紧密,不易打开,内吞囊泡的缺乏及多种代谢酶、不同转运子系统的存在,使上述 3 条途径受限。因此抗 HIV 药物通过未调节途径或渗漏作用进入靶位的方式受到限制。

另外,脉络丛也是血液循环与脑脊液之间的屏障,且是脑脊液的生产地,位于侧脑、第三和第四脑室,其屏障功能归咎于内皮细胞间的紧密连接、组织自身的新陈代谢及外排作用。

## 4 转运子

不同底物有不同转运子,这些转运子可分为两

大类:ATP结合盒(ABC)转运子和溶质载体(SLC)超家族。

#### 4.1 ABC转运子

对ABC转运子的研究最为广泛,它是利用ATP水解产生的能量将不同分子排出细胞外。P-糖蛋白(P-gp)是ABC转运子中最典型的一种。此超家族的其它成员还包括多药耐药相关蛋白(MRP)和乳腺癌耐药蛋白(BCRP)。最新研究表明,这些转运子在BBB和诸如淋巴细胞、CD4<sup>+</sup>T细胞和小胶质细胞及其他细胞中的表达对抗HIV药物进入细胞和HIV库起决定作用。

**4.1.1 P-gp** P-gp是由多药耐药基因1(MDR-1)编码的相对分子量在150~180 ku的膜蛋白,在肝、肾、肠和BBB的网状膜及上皮组织脉络丛中广泛表达。它位于BBB上阻止疏水性分子和药物进入脑。不带电的和弱碱性分子能被P-gp高效转运,酸性化合物也能被转运。PI类药物是P-gp的底物,这类药物跨越BBB受限与P-gp这种外排性转运子的活性相关。P-gp也是限制阿巴卡韦渗透到脑的主要转运子。齐多夫定(AZT)在P-gp高表达的CEM VBL100细胞中蓄积减少,其抗病毒活性也相应减低。利用Caco-2细胞中的P-gp研究发现,NNRTI类药物奈韦拉平、依法韦仑、地拉韦定(delaviridine)并非P-gp底物,但能诱导P-gp表达并增强其功能,且奈韦拉平更有效。近期通过大鼠星型胶质原代细胞研究表明,当暴露于HIV病毒包膜蛋白gp120后P-gp的表达和转运功能下调。这些将病毒隐藏在CNS中的重要神经胶质细胞在BBB后形成动态屏障,阻碍抗HIV药物进入CNS中的感染区。

炎症是大多数CNS疾病的生理病理机制,可通过注射病毒内毒素脂多糖(LPS)仿造。LPS注入到大鼠颅脑室内后P-gp表达下调,机制未知。这导致P-gp底物如地高辛在脑内蓄积。其他研究表明致炎细胞因子TNF- $\alpha$ 能迅速、可逆地使大鼠脑毛细血管中P-gp失活。慢性炎症还能通过上调P-gp表达而收紧BBB,使作为P-gp底物的CNS药物更难进入。炎症疼痛模型中也观察到大鼠脑内皮细胞中P-gp上调,从而导致P-gp底物吗啡进入脑内量降低,痛阈降低。HIV-Tat是一种能引发血管异常和神经毒性的蛋白,也能引发脑内皮细胞P-gp的表达,这与P-gp转运功能上调有关。这些研究表明选择性抑制P-gp有利于PI和某些NRTI进入病毒潜伏区,增加抗病毒药物浓度以达到治疗剂量。

**4.1.2 MRP** MRP是ATP驱动的外排转运子,位于脑毛细血管内皮细胞网状膜的MRP是BBB具有

非渗透性的主要原因。MRP和葡萄糖醛酸苷、谷胱甘肽或底物共同转运药物。MRP家族有9个成员,MRP1~9,前5种(MRP1~5)与治疗药物外排有关。MRP1~3能转运亲水性阴离子化合物、大分子和类肽物;而MRP~4和MRP~5能转运小分子极性化合物如核苷、环状核苷酸和核苷类似物。

PI类抗HIV药物沙奎那韦、利托那韦和洛匹那韦(lopinavir)是MRP1和MRP2的底物,因此这些转运子可能和PI这类药物脑渗透受限有关。最新体外实验表明,NNRTI(地拉夫定、依法韦仑、奈韦拉平)、NRTI(阿巴卡韦、恩曲他滨、拉米夫定)以及Nt-NRTI(替诺福韦)能以浓度依赖性方式抑制MRP1-3。地拉韦定、依法韦仑和恩曲他滨的抑制更明显。此前研究表明MRP4过表达能增加核苷类抗HIV药物的外排,而利托那韦以浓度依赖性方式诱导MRP1表达。

**4.1.3 BCRP** BCRP是新型ABC转运子,位于包括大脑内皮细胞在内的各种组织。PI类药物如利托那韦、沙奎那韦、那非那韦是有效的抑制剂,但不是此转运子的底物。研究发现BCRP是一种与NRTI耐药性有关的细胞因子。近期,大鼠的同源蛋白同BCRP被用来研究对阿巴卡韦和AZT定向转运的作用。数据表明这些药物是Bcrp1的底物,进一步定向转运研究证实体外Bcrp1在阿巴卡韦和AZT极性转运中的作用。抗HIV药物,无论是BCRP的底物、抑制剂还是二者均有,当与BCRP联用时,BCRP的这种外排作用对药物向病毒潜伏区递送起着重要作用。

#### 4.2 SLC超家族

大量数据显示SLC超家族对有机化合物、特别是有机阴离子跨BBB外排转运起关键性作用。此超家族的成员包括有机阴离子转运多肽(OATP)、有机阴离子转运子(OAT)和有机阳离子转运子(OCT)。这种ATP和Na<sup>+</sup>非依赖性多肽在多个组织中表达,包括脑毛细血管内皮细胞和脉络丛上皮细胞,调节药物穿透脑屏障。

**4.2.1 OATP** 所有Oatp/OATP是SLC21家族的成员,目前已确定在人、小鼠和大鼠中有36种Oatp/OATP。研究表明这些转运子在有机化合物外排中有一定作用。

**4.2.2 OAT** 此类转运子包括OAT1, OAT2, OAT3, OAT4和肾特异性转运子(RST)。UST1、UST3和OAT5可能也是有机阴离子载体,但尚未证实。许多药物在生理pH条件下是以有机阴离子形式存在,因此OAT对此类化合物转运有重要作用。

Oat3 存在于大鼠脑毛细血管。扎西他滨和 AZT 能被 OAT 家族清除。OAT1 和 OAT3 在人、大鼠和小鼠脉络丛中表达,并在很大程度上决定 CSF 中有机阴离子的存在。Anthonypillai 等研究了 NRTI 类药物泰诺福韦前药 PMPA 在脑、CSF 和脉络丛中的分布。有趣的是,这种前药到达脑的很少,但能到达 CSF。

**4.2.3 OCT** 关于 OCT 在大脑表达的文献报道有时相互矛盾,这可能与物种差异和转运子在脑内表达水平和区域不同有关。已确定 OCTN2 位于人、大鼠、猪和牛的大脑毛细血管内皮细胞的腔面。OCT2、OCT3、CTN1 和 OCTN2(不是 OCT1)在大鼠脉络丛也有表达。人 OCT 在许多阳离子化合物肾脏清除的最初阶段起关键作用。

最新研究表明,PI 类药物奈非那韦、利托那韦、沙奎那韦和茚地那韦可能是 OCT1 和 OCT2 的抑制剂。NRTI 类药物拉米夫定和扎西他滨是 OCT1 和 OCT2 的底物。在对健康者和 HIV 感染患者的淋巴结 OCT 表达的检测发现,OCT1 和 OCT2 在 HIV 感染患者的淋巴结中表达上调,说明 OCT 底物在患者淋巴结中蓄积较多。这可能与免疫系统激活和 HIV 感染所致细胞因子效应相关。

### 4.3 核苷转运子

核苷转运子分为低亲和性(SLC29)和高亲和性(SLC28)两大类,用于转运某些 NRTI。

**4.3.1 平衡性核苷转运子(ENT)** SLC29 家族有 4 个成员。hENT1 是此家族成员中第一个被确证的成员,同 hENT2 有着相似的底物特异性。这些转运子在核苷和核苷碱基的顺浓度梯度跨膜摄取方面发挥重要作用。根据对硝基苯甲基硫化肌苷的敏感性,ENT 又可分为平衡敏感性(*es*)和平衡不敏感性转运子(*ei*)。

人体 BBB 存在编码 *es* 核苷转运子的 ENT1 蛋白,该蛋白也负责豚鼠双脱氧肌苷的跨 BBB 转运。有趣的是 *es* 转运子在人淋巴细胞中也有活性,有利于 NRTI 转运到 HIV 储库。ENT2 是一种 *ei* 转运子,转运嘌呤和嘧啶类核苷,但比 ENT1 亲和性低。确定哪种异构体负责抗 HIV 药物跨细胞膜转运对于如何将药物靶向至感染细胞以及理解药物-药物相互作用和治疗失败的原因很有价值。

**4.3.2 浓度型核苷转运子(CNT)** 在 SLC28 家族中,有 3 种 Na<sup>+</sup> 依赖型 CNT 亚型(CNT1-3)。CNT1 是嘧啶特异性转运子,CNT2 是嘌呤特异性转运子,也能转运尿嘧啶核苷。CNT3 是广泛选择性核苷转运子。这些转运子位于肝、肠、肾和脉络丛。而且,

浓度依赖性核苷转运子仅存在于体内脑脊液侧,说明此屏障可将核苷排出脑。

应用大鼠和人组织克隆出了 CNT 和 ENT 的 cDNA,通过非洲蟾蜍卵母细胞考察了其功能特性。研究发现,CNT1、CNT3 和 ENT2 而非 CNT2 或 ENT1 转运 AZT,但比内源性核苷亲和性低。而且 AZT 通过脉络丛上皮细胞进入 CSF 不受内源性核苷的影响。

## 5 其他

在 HIV 感染中,BBB 损伤为受感染细胞进入脑打开了第一道门,导致神经病理学改变,如 HIV 性脑炎(HIVE)和 HAD。HIV 患者形态学改变如皮质血管的直径增加、基底膜细化和内皮细胞上糖蛋白的缺失是 BBB 损伤的特征。而且认为有其他机制损伤了 BBB 完整性而引起内皮细胞凋亡和紧密连接破坏。

HIV 感染与一系列血管性疾病有关,包括小血管、中血管和大血管病变,HIV 感染中所有血管性疾病的一个共同特征是血管壁的潜在炎症。近期研究表明,HIV-1 增加了 BBB 对全身 LPS 导致破坏的敏感性。破坏脑屏障有利于药物进入 CNS 从而减轻 HAD 症状。

体内外研究及临床观察表明,传统的抗 HIV 药物有严重毒性。NRTI 临床毒性包括周围神经病变、骨骼肌病变、乳酸性酸中毒和高乳酸血症。和 HAART 有关的 CNS 副作用有 2 类:(1)直接药物毒性;(2)与免疫再生功能和毒性有关的免疫病理学反应。近期研究显示,长期使用 HAART 和衰老在由胰岛素降解酶抑制或淀粉样前体蛋白转运子损伤所致 HIV 痴呆中发挥重要作用。

近来创建了“免疫重建炎症综合征”(IRIS)一词用以描述 HAART 开始几周后免疫系统的改善。如果 IRIS 不治疗并影响了 CNS,它将会导致严重的发病率和死亡率。

## 6 结语

HIV/AIDS 自发现已有 30 多年,已开发出大量抗 HIV 药物。为杀死 HIV 及阻止病毒潜伏区的形成,抗病毒药物需进入脑。但 BBB 和血-脑脊液屏障能保护大脑被有害物质侵害,阻碍了抗 HIV 药物渗透入脑,促使病毒复制和耐药性产生,并最终使到达脑部的药物浓度低于治疗剂量,导致治疗失败。

血脑屏障上作为选择性门户守护者的转运子的过表达,是抗病毒治疗的主要障碍。疏水性化合物的

多药转运子的底物特异性相互重叠,某些抗 HIV 药物所共用的外排转运子的重叠使同时抑制几种转运子成为可能,可能成为提高抗 HIV 药物进入 CNS 的一种途径。同时给予转运子特异性抑制剂及 HAART 实施的转运子药理学调节可能是提高抗 HIV 药物在脑中的浓度且不引起全身性副作用的替代方法。更重要的是,已逐步揭示个体组织中特异性转运子的相对重要性功能,并建立了膜转运蛋白的定量图谱。

为详尽了解抗 HIV 药物跨脑屏障转运受限的原因,需研究抗 HIV 药物和新近发现的转运子如 URAT1 和 RST 的相互作用。抗逆转录病毒药物的鼻腔给药是一种潜在的克服药物脑低渗透性的给药方式,并能靶向到储存在 CNS 中的 HIV。病毒进入抑制剂-多肽 T 的鼻腔给药已被用于神经性 AIDS 的治疗,如与 HIV 相关性认知损伤。有趣的是,多肽 T 在接受多肽 T 鼻腔给药的 HIV 患者中表现出抗病毒和免疫活性,且单核细胞储库中的病毒载量降低,增加了抗病毒的细胞毒 T 细胞,而不产生相关毒性并提升了 CD4<sup>+</sup> 水平。

未来研究领域应确定是否有其他系统能将药物靶向到脑或使用重组蛋白疗法实现此目的。高分子

科学和纳米技术领域的最新进展为克服药物入脑受限提供可能。已成功开发纳米药物如聚乙二醇包裹的载化疗药脂质体用于全身治疗。其他纳米材料包括纳米粒、聚合物胶束和纳米凝胶。脑微血管内皮细胞的研究表明,普流尼克(Pluronic)聚醚胶束能通过抑制 P-gp 和定向囊泡转运而影响药物转运。多聚醚 P85 能增加抗逆转录病毒药物渗透到脑,且嵌段共聚物本身可能具有抗逆转录病毒的作用,尤其在作为 CNS 中病毒储库的巨噬细胞中更是如此。

HAART 的出现对 HIV/AIDS 及其并发症 HAD、HIVE、MND 影响深远。一些因素使抗 HIV 药物进入脑变得复杂,如 HIV 感染及 CNS、血浆中病毒种群的不同而导致转运子的多特异性及在不同组织的不同表达(如 BBB 与脉络丛)和表达改变等,这也使治疗变得很困难。彻底了解每一种转运子及其定位、表达水平和转运能力有助于提高对 HIV 感染和 AIDS 的疗效。

[编译自: Varatharajan L, Thomas SA. The transport of anti-HIV drugs across blood-CNS interfaces: summary of current knowledge and recommendations for further research[J]. *Antiviral Res*, 2009, 82: A99 - A109.]

(收稿日期:2009-11-06 修回日期:2009-11-27)

(上接第 23 页)

- [15] Wu D, Cederbaum AI. Alcohol, oxidative stress, and free radical damage[J]. *Alcohol Res Health*, 2003, 27(4):277 - 284.
- [16] Melhem A, Muhanna N, Bishara A, et al. Anti-fibrotic activity of NK cells in experimental liver injury through killing of activated HSC[J]. *J Hepatol*, 2006, 45(1):60 - 71.
- [17] Radaeva S, Wang L, Radaev S, et al. Retinoic acid signaling sensitizes hepatic stellate cells to NK cell killing via upregulation of NK cell activating ligand RAE1[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2007, 293(4):G809 - G816.
- [18] Radaeva S, Sun R, Jaruga B, et al. Natural killer cells ameliorate liver fibrosis by killing activated stellate cells in NKG2D-dependent and tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand-dependent manners [J]. *Gastroenterology*, 2006, 130(2):435 - 452.
- [19] Csermely P, goston V, Pongor S. The efficiency of multi-target drugs: the network approach might help drug design[J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2005, 26(4):178 - 182.
- [20] 杨长青, 胡国龄, 周文红, 等. 秋水仙碱对肝纤维化大鼠肝脏基质金属蛋白酶-1 及其抑制因子-1 表达的影响[J]. *中华传染病杂志*, 2000, 18(3):176 - 179.
- [21] 刘平, 吴定中, 刘成海, 等. 扶正化痰中药复方促进 CCl<sub>4</sub> 大鼠肝纤维化逆转的配伍机理研究[J]. *上海中医药大学学报*, 2002, 16(1):37 - 41.
- [22] 钟鸣, 郭力城, 农朝赞, 等. 瑶药猛老虎提取物对大鼠肝星状细胞 I、III 型胶原、MMP-1 和 TGF-β<sub>1</sub> 表达的影响[J]. *中国民族医药杂志*, 2009, 15(2):33 - 36.
- [23] 杨增艳, 滕红丽. 穿破石总黄酮对两种肝纤维化模型大鼠的实验研究[J]. *四川中医*, 2009, 27(7):30 - 31.
- [24] 邝满元, 罗明英, 贾蕾. 藤茶总黄酮对实验性肝纤维化大鼠 TGF-β<sub>1</sub> 表达的影响[J]. *中国民族民间医药*, 2009, 18(6):6 - 8.