

红细胞载药递送系统的研究进展[△]

周超培^{1,2*}, 刘芊芊², 杨春荣^{1#}, 杨阳², 高春生²(1. 佳木斯大学药学院药理学系, 黑龙江佳木斯 154007; 2. 军事科学院军事医学研究院毒物药物研究所/抗毒药物与毒理学国家重点实验室, 北京 100850)

中图分类号 R943 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2020)02-0238-08

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2020.02.21

摘要 目的:了解红细胞作为载药系统的研究进展,以期为其相关研究和应用提供参考。方法:以“红细胞”“载药体系”“Red blood cell”“Erythrocyte”“Drug delivery system”等关键词,对PubMed、Elsevier、中国知网等国内外数据库中收录的于1960—2019年发表的文献进行单一或组合搜索,据此综述红细胞作为载药系统的研究进展。结果与结论:共检索到相关文献214篇,其中有效文献70篇。红细胞作为人体的内源性成分,不需要通过合成就可作为天然的载药体系。目前红细胞的载药方法包括渗透法、化学干扰法、电穿孔法、内吞包埋法、电融合包埋法、脂质体融合法等,其中渗透法又包括低渗稀释法、改良低渗稀释法、低渗溶血法、等渗渗透溶解法和低渗透析法等;此外,还可以采用红细胞包载机或者将药物偶联到红细胞膜上等方式。红细胞作为药物载体,可实现药物靶向性递送,延长药物在体内的半衰期,增强药物在体内的稳定性,提高药物的生物相容性。目前,其已用于包载抗肿瘤药、抗炎药、镇痛药、抗感染药、心血管系统药物和免疫抑制剂等小分子药物,还可包载部分大分子药物和诊断剂等,被认为是一种良好的药物载体。但红细胞载药系统尚存在来源复杂、理化性质不统一、载药过程可能对红细胞造成破坏、储存过程中如何保持其生物活性等问题。

关键词 红细胞;药物载体;载药系统;细胞膜

- drome: diagnostic and therapeutic dilemmas[J]. *Behav Neurol*, 2005, 16(1):9-13.
- [22] HIRAGA A, KUWABARA S. Malignant syndrome and serotonin syndrome in a general hospital setting: clinical features, frequency and prognosis[J]. *Intern Med*, 2017, 56(21):2865-2869.
- [23] KOMATSU T, NOMURA T, TAKAMI H, et al. Catatonic symptoms appearing before autonomic symptoms help distinguish neuroleptic malignant syndrome from malignant catatonia[J]. *Intern Med*, 2016, 55(19):2893-2897.
- [24] DREWS JD, CHRISTOPHER A, EVANS DC. Neuroleptic malignant syndrome in the trauma intensive care unit: diagnosis and management of a rare disease in a challenging population[J]. *Int J Crit Illn Inj Sci*, 2017, 7(2):119-121.
- [25] TEO DC, WONG HK, TAN SN. Atypical neuroleptic malignant syndrome precipitated by clozapine and quetiapine overdose: a diagnostic challenge[J]. *Innov Clin Neurosci*, 2018, 15(7/8):20-22.
- [26] 彭晓晗, 祝东林, 胡君, 等. 帕金森病撤药恶性综合征1例报告[J]. *临床神经病学杂志*, 2018, 31(5):395-396.
- [27] VAN RENSBURG R, DECLOEDT EH. An approach to the pharmacotherapy of neuroleptic malignant syndrome[J]. *Psychopharmacol Bull*, 2019, 49(1):84-91.
- [28] NGO V, GUERRERO A, LANUM D, et al. Emergent treatment of neuroleptic malignant syndrome induced by antipsychotic monotherapy using dantrolene[J]. *Clin Pract Cases Emerg Med*, 2019, 3(1):16-23.
- [29] ROSENBERG MR, GREEN M. Neuroleptic malignant syndrome. Review of response to therapy[J]. *Arch Intern Med*, 1989, 149(9):1927-1931.
- [30] YACOUB A, FRANCIS A. Neuroleptic malignant syndrome induced by atypical neuroleptics and responsive to lorazepam[J]. *Neuropsychiatr Dis Treat*, 2006, 2(2):235-240.
- [31] VERMA K, JAYADEVA V, SERRANO R, et al. Diagnostic, treatment, and system challenges in the management of recurrent neuroleptic malignant syndrome on a general medical service[J]. *Case Rep Psychiatry*, 2018. DOI: 10.1155/2018/4016087.
- [32] 汪加朋, 徐化强, 周权, 等. 恶性综合征继发横纹肌溶解1例报道[J]. *中国神经精神疾病杂志*, 2018, 44(8):499-500.
(收稿日期:2019-03-28 修回日期:2019-12-16)
(编辑:陈宏)

[△] 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81874305);国家重大新药创制科技重大专项(No.2018ZX09711003-008-001);黑龙江省自然科学基金面上项目(No.H2017073)

* 硕士研究生。研究方向:靶向缓释给药系统及新药开发。E-mail:947923758@qq.com

通信作者:教授,硕士生导师。研究方向:靶向缓释给药系统及新药开发。E-mail:yangchunrong98@163.com

大多数药物都存在着一一定的不良反应及生物相容性差、半衰期短等缺点。为了克服这些缺点,研究人员常采用改变药物剂型的方式,例如使用合成类的载药系统等。但是诸多合成材料生物相容性较差,且在降解期间会产生毒副产物^[1],为此,研究者开始将人体内源性物质作为药物载体进行研究。近年来,将红细胞作为药物载体受到了国内外学者的广泛关注。作为人体内源性物质,红细胞具有生物相容性良好、体内半衰期长等优点,并且由于成熟的红细胞没有细胞核,呈现两侧凹型的圆碟形,最薄处仅有1 μm^[2],这给物质交换和药物载入提供了很好的机会。但如何将药物包载入红细胞内,成为最为重要的研究热点之一。近年来,随着对红细胞载药系统研究的深入,有不少研究报道了红细胞的载药方法及其应用。为了解目前红细胞载药系统的研究进展,笔者以“红细胞”“载药体系”“Red blood cell”“Erythrocyte”“Drug delivery system”等为关键词,对PubMed、Elsevier、中国知网等国内外数据库中收录的于1960—2019年发表的文献进行单一或组合搜索,结果共检索到相关文献214篇,其中有效文献70篇。现对红细胞载药递送系统的相关研究进行总结归纳,以期为该载药体系的开发和应用提供参考。

1 红细胞载药方法

1.1 渗透法

1.1.1 低渗稀释法 低渗稀释法是将药物载入红细胞的一种最简单、最快速的方法。该方法用2~20倍体积含有药物的溶液稀释红细胞,之后通过加入高渗缓冲液来恢复红细胞膜的张力;然后离心,所得混合物弃去上清液,再用等渗缓冲液洗涤沉淀物,便可得到载有药物的红细胞^[3]。但是该方法有着明显的缺点,例如包封率低,因为离心过程造成的大量血红蛋白和其他细胞组分的损失使红细胞遭到破坏,从而减少了红细胞的载药量及其在体内的循环时长。低渗稀释法较常用于加载诸如半乳糖苷酶类、阿霉素和多功能纳米粒等^[4-6]。例如,缪婉琳等^[5]采用低渗稀释法,制备得到红细胞同时装载有磁性纳米颗粒和阿霉素,将其回输到小鼠体内之后,在外加磁场的作用下载体红细胞可聚集到肿瘤部位。与游离的阿霉素相比,通过载体红细胞给药,可以抑制肿瘤细胞的生长,同时可以降低给药剂量,从而减小药物副作用。

1.1.2 改良低渗稀释法 该方法于1975年由Martin R首次提出,并由David J等对低渗稀释法的载药方式进行了改良^[7]。其原理和低渗稀释法基本相同,不同的是,该方法通过梯度递减、缓慢降低溶液渗透压的方式,保证红细胞肿胀形成小孔的同时不至于溶解;之后,通过低速离心回收肿胀的红细胞,将小体积的水溶性药物溶液通过小孔加载进红细胞内。由于红细胞膨胀缓慢,可使细胞质成分得到很好的保留,因此红细胞在进入体内后具有良好的存活率。该方法比低渗稀释法更简单、快

速,对红细胞造成的损害较小。目前,使用该方法可包封在红细胞中的药物有长春瑞滨和吉西他滨等^[8-9]。例如,温旭智^[8]利用改良低渗透法建立了载长春瑞滨的红细胞载药体系,其包载率为70.92%;该研究还评价了载药红细胞对人肺腺癌细胞株A549的抑制作用,结果显示当长春瑞滨浓度为0.012 5、0.025 mg/mL时,载长春瑞滨红细胞组的A549细胞增殖抑制率显著高于长春瑞滨裸药组($P<0.05$)。

1.1.3 低渗溶血法 该方法是基于红细胞具有特殊的可逆形状变化能力,即由于红细胞的表面积是固定的,因此其体积的增加(红细胞体积可以增加25%~50%)可使其从双凹形变为球形,在150 mOsm/kg的渗透压下可保证红细胞在膨胀的同时保持其完整性,此时红细胞膜外形成200~500 Å的一些瞬时孔,可以释放出细胞内容物^[10]。Mambrini G等^[11]采用该方法将地塞米松磷酸钠(DSP)加载入红细胞膜的内部,主要包括3个步骤:(1)使用渗透压180 mOsm/kg和pH 4.5~7.0的低渗溶液处理红细胞,使其适当肿胀;(2)使用渗透压120 mOsm/kg和pH 4.5~7.0的低渗溶液处理红细胞,使其进一步的肿胀而形成“小孔”,再将红细胞放入含有DSP的等渗溶液中,使得DSP通过小孔进入红细胞中;(3)使用渗透压285 mOsm/kg和pH 7.4±1.2的磷酸盐-肌苷-葡萄糖-丙酮酸盐-腺嘌呤(PIGPA)高渗溶液将红细胞的“小孔”封闭,封装DSP并恢复红细胞初始的渗透压,从而制得载入DSP的红细胞。Coker SA等^[12]将制得的载DSP红细胞进行体内药动学考察,对10名志愿者经静脉注射给药后发现,地塞米松的血药浓度在1 h时达到峰值,并且在注射后14 d和35 d时仍然可以检测到地塞米松的持续释放。

1.1.4 等渗渗透溶解法 该方法也称为渗透压脉冲法,主要是通过物理和化学方法实现红细胞等渗溶血。红细胞在具有高膜透性物质的溶液中温育时,由于具有浓度梯度,溶质会扩散到细胞中,为了保持渗透平衡,此时大量的水也会流入红细胞内,溶于水的药物就会随之进入到红细胞内。目前,尿素、聚乙二醇和氯化铵等化合物的溶液已被用于等渗溶血^[13-14]。早在1987年,Franco RS等^[15]开发了一种将红细胞悬浮在二甲基亚砜(DMSO)等渗溶液中的方法,成功将肌醇六磷酸(IHP)载入到红细胞中,其采用DMSO来平衡红细胞悬浮液的渗透压,然后用等渗IHP溶液快速稀释来诱导渗透压梯度的形成。由于IHP可与血红蛋白结合并降低其对氧的亲合力,因此该方法可用于制备用于临床和实验中的低氧亲和力红细胞。与用磷酸盐缓冲溶液(PBS)作为稀释剂比较,IHP诱导血红蛋白渗漏在稀释后约1 s内完成,而PBS诱导渗漏的时间较长,约10~120 s,且容易导致红细胞裂解。这项研究还表明,红细胞经过低浓度DMSO处理后,细胞膜的渗透性可达到90%以上。

1.1.5 低渗透析法 1959年,Klibansky C等^[16]首次提出

了低渗透析法,该方法的原理是将具有半透膜性的红细胞裂解后,重密封时可使细胞内载入的大分子药物到达最大量。低渗透析法的基本过程为:首先,将红细胞悬浮液和药物溶液混合,以达到所需的血细胞比容,然后将该混合物置于透析管中,用管线将透析管的两端连接起来,透析管内部容积中留出接近25%的气体空间,将透析管置于含有100 mL裂解液的锥形瓶中,并将锥形瓶放置在4 ℃恒温的磁力搅拌器上进行间歇搅拌;将透析管置于100 mL等渗的PBS溶液(25~30 ℃,pH 7.4)中进行重密封;在4 ℃用冷PBS洗涤,由此获得载药的红细胞^[14]。该方法可以获得较好的包封率。目前,研究者已运用该方法将戊脒富拉霉素、白细胞介素2、去铁胺、介孔二氧化硅纳米粒子、双磷酸盐和抗生素等药物包载入红细胞中^[17-22]。例如,Chen ZA等^[20]合成了一系列直径范围为10~200 nm的荧光聚乙二醇化介孔二氧化硅纳米粒子(MSN),并通过低渗透析的方法将其包封于人红细胞中;根据荧光图像和流式细胞仪分析,发现直径低于30 nm的MSN可以成功地嵌入红细胞内。

1.2 化学干扰法

该方法的原理是:红细胞暴露于某些化学物质时细胞膜通透性将会显著增加,使得药物可以顺利进入红细胞内。Kitao T等^[24]采用该方法将抗肿瘤药物道诺霉素包载在人和小鼠红细胞中。此外,Lin W等^[25]使用氟烷也可达到化学干扰的目的。但是,Ahur VM等^[26]在研究中发现,经铅处理的红细胞的渗透性有所增加,但其渗透脆性也有所增加,所观察到的红细胞寿命较正常红细胞有所缩短。因此,化学干扰法会对细胞膜引起不可逆的破坏^[27],该方法的应用并不广泛。

1.3 电穿孔法

该方法也被称为介电张力法,其原理是采用电击引起红细胞膜的变化:通过介电击打从而击穿红细胞膜形成孔,电击穿可能发生在脂质区域或细胞膜中的脂质蛋白质连接处^[28];随后,在37 ℃的等渗溶液中温育,孔被重新密封。实验证明,将电击的条件设定为2 kV/cm的变化电压、20 μs的极化时间,可使得红细胞膜被介电击穿,且孔形成的程度取决于悬浮介质的电场强度、脉冲持续时间和离子强度^[29]。该方法可包载的药物包括伯氨喹、8-氨基喹啉、长春碱、氯丙嗪和一些功能性纳米粒等^[29-31]。

Rao L等^[29]在研究中证明了微流体电穿孔可以有效地促进红细胞-纳米粒载体(CM-NP)的合成。该研究发现,将Fe₃O₄磁性纳米颗粒(MN)和红细胞膜衍生的囊泡同时注入微流体装置中,当MN和红细胞囊泡的混合物流过电穿孔区时,电脉冲可以有效地促进MN进入红细胞囊泡之中;之后,该团队又研究了该载体在大鼠体内的抗肿瘤效果,结果发现由于MN核的优异磁性和光热性质以及红细胞囊泡具有的体内长循环特性,使得该载体可以有效地聚集于肿瘤部位;与空白组比较,该载体

组大鼠体内的肿瘤重量由600 mg以上减小至300 mg以下,可见通过电穿孔制备的CM-NP具有用于癌症诊断和治疗的潜力。

1.4 内吞包埋法

Stanley SL等^[32]于1987年首先报道了内吞包埋法。该方法的基本操作是将1倍体积的红细胞,加入9倍体积的含有2.5 mmol腺嘌呤核苷三磷酸(ATP)、2.5 mmol氯化镁(MgCl₂)和1 mmol氯化钙(CaCl₂)的缓冲液中,在室温下孵育2 min,使红细胞膜上形成孔;之后于37 ℃下在154 mmol/L氯化钠(NaCl)药物溶液中温育2 min,使得孔被重新密封,药物通过内吞作用被包载入红细胞内^[33]。该方法的优点是:从红细胞膜上分离的囊泡膜可将药物与细胞质分离,从而保护药物免受红细胞内环境的影响。目前通过该方法包载进红细胞的药物包括:普萘洛尔、丁卡因和维生素A等^[31,34-35]。例如Harisa G等^[35]通过内吞包埋法成功将普伐他汀载入人红细胞中,同时发现,当普伐他汀浓度为10 mg/mL时,红细胞的载药量在37 ℃的条件下可达到最大,为0.069 mg/mL;当普伐他汀浓度为4 mg/mL时,在37 ℃条件下,包封率达到最大(94%),并且细胞回收率可以达到87%~93%。该研究还发现,载有普伐他汀的红细胞的血液学参数和渗透脆性行为与天然红细胞相似;扫描电子显微镜显示载红细胞形态没有明显变化。这表明,该方法对红细胞本身结构并无影响,载药物红细胞可能具有与正常细胞相同的寿命。

1.5 电融合包埋法

该方法是指先将药物分子包载到红细胞膜(血影细胞)中,然后将这些载药血影细胞黏附到靶细胞上,通过与靶细胞的融合完成包埋药物的释放,施加电脉冲还可以加强、加快融合的过程^[36]。目前,已有研究将特异性单克隆抗体细胞加载到血影细胞上,载药红细胞可以通过与靶细胞表面的特异性受体蛋白进行特异性结合,从而将细胞导向靶细胞^[37]。Li LH等^[38]通过电融合包埋法实现了不同尺寸细胞之间的高效电融合。该团队在特别设计的离心-电融合室中,以700 g的转速连续离心形成5层沉淀,从而实现将较大的靶细胞堆叠在较小的血影细胞中。该研究发现,以80 μs、300 V的电脉冲使沉淀物进行混合,可以得到80%以上的融合效果,并且电融合后细胞活力保持在80%以上。这种高效融合技术可用于介导药物和基因转移至靶细胞,并用来制备细胞来源有限的杂交细胞。

1.6 脂质体融合法

该方法的基本原理是:含有药物的脂质囊泡可以直接与人红细胞融合,从而使得脂质囊泡中的药物分子直接包载入红细胞中^[39]。例如有研究者将载IHP的单层脂质囊泡通过与红细胞融合将IHP包埋入红细胞内^[40]。IHP可以与血红蛋白紧密结合,由于IHP降低了血红细胞与氧气的结合能力,因此通过该方法可使红细胞的氧

气释放能力增加至正常值的270%，并且由于玻尔效应的增大，也增加了人体二氧化碳的传输；同时，该研究证明脂质囊泡的掺入并未对红细胞的精细结构有所损伤。但是由于脂质体的粒径过大，并且与红细胞膜的相容性不好，使得融合率较低，因此该方法的药物包封率极低，仅能达到1%^[41]。

1.7 使用红细胞包载机

Magnani M等^[42]开发了一种将非扩散性药物包埋入红细胞的新方法，即“红细胞包载机”。该方法用50 mL的血液样品，于室温条件下，在2 h内可以将不同的生物活性化合物包载到红细胞中。该过程需要连续两次使用低渗溶液洗涤红细胞，然后用血滤器浓缩，再通过等渗溶液对红细胞进行重新密封。其载药量可达到30%，细胞回收率为35%~50%。

1.8 将药物偶联到红细胞上

目前所有的红细胞载药方法尤其是电穿孔法，或多或少会对红细胞膜的性质造成影响，进而影响红细胞-药物复合物的生物相容性、半衰期等。开发无损的药物包载方式，是当前迫切需要解决的问题。基于这种想法，研究者开发了将药物偶联到红细胞表面的载药方法。Skorokhod OA等^[43]用戊二醛将柔红霉素偶联到红细胞上，并在14名白血病患者身上进行初步临床试验，对其药动学特征和耐药性等进行了研究。结果发现，静脉给药后，其药物的峰浓度和消除率低于游离的柔红霉素，且患者耐受性良好；在接受3次载药红细胞输注的9名患者中，副作用发生的频率低于使用游离柔红霉素治疗的患者。Muzykantov VR等^[44]将链激酶偶联到红细胞上，连接效率可达90%，平均每个红细胞上可附着约 5×10^5 个链激酶分子；该复合物能够溶解血管内的纤维蛋白凝块，以用来预防血管手术时血栓的形成。Müller M等^[45]将巯基化的低分子量肝素通过一种偶联试剂连接到红细胞上，该复合物也有着长期抗凝和预防血栓的潜能。Brenner JS等^[46]则开发了“红细胞搭便车”(Red blood cell-hitchhiking)技术，将药物制备成纳米颗粒，再将纳米颗粒吸附到红细胞上，然后通过静脉注射或者动脉血管插管的方式，将载药红细胞输注给患者，可实现多个器官的靶向功能。

2 红细胞作为药物载体的优点

由于红细胞自身的一些性质，其载药后可发挥诸多功能，包括增强药物的靶向性，延长药物在体内的半衰期，同时还能减少药物的不良反应等。

2.1 实现药物靶向性递送

当红细胞膜表面的性质发生变化，在体内经过脾、肝、肺等器官时可以被网状内皮系统识别和吞噬，因此红细胞可以作为人体内源性的网状内皮系统天然靶向载体^[47]。最早关于红细胞网状内皮系统靶向性的报道是在20世纪80年代末，由Suyama K和Tanemura A等人将人、猫和鼠类的免疫缺陷病毒(即HIV-1、FIV、

LP-BM5)选择性抑制剂的磷酸化核苷类似物分别包载入人、猫和小鼠的红细胞中，可以直接作用于巨噬细胞。通过体外和体内分析发现，包封入哺乳动物红细胞中的磷酸化核苷类似物非常稳定，并可有效地被递送到巨噬细胞中，从而通过逆转录病毒感染的方式保护巨噬细胞^[48-50]。

红细胞除了对网状内皮系统具有靶向性之外，还可以通过磁化红细胞实现其他部位的靶向性。目前，关于此项研究的方向以抗肿瘤药物为主。抗肿瘤药物由于在抑制/杀死肿瘤细胞的同时还可作用于正常细胞而引起不良反应，而使用磁化的红细胞载药可以解决这一问题。例如吴江等^[51]通过电穿孔法使用纳米级的 Fe_3O_4 磁流体用来制备磁化红细胞和磁化载多柔比星红细胞，在体外磁场的引导下，磁化载多柔比星红细胞可以准确地作用于肿瘤细胞，使用较少的剂量即可起到常规化疗剂量的效果。

2.2 延长药物在体内的半衰期

正常的红细胞半衰期为26 d，将药物包载入红细胞内可以显著延长药物在体内的半衰期。霍晶^[52]分别向大鼠注射载有甲氨蝶呤的红细胞和游离甲氨蝶呤，药动学分析结果显示，游离的甲氨蝶呤在体内的代谢符合三室模型，消除半衰期为 (3.9 ± 0.8) h，而载甲氨蝶呤的红细胞在体内的代谢符合二室模型，消除半衰期为 (13.5 ± 2.0) h。吴江等^[51]对长春新碱进行了相似的对比研究，结果显示，游离长春新碱半衰期为1.53 h，而载长春新碱红细胞在体内半衰期为4.1 h，为前者的2.68倍。

2.3 增强药物在体内的稳定性，降低免疫系统对药物的免疫活性

由于药物被包载入红细胞内后，在来自人体内源性的红细胞内形成了一个相对隔离的空间，从而保护药物不受体内内源性物质干扰，提高了药物在体内的稳定性。而一些外源性的大分子药物，如蛋白质、酶等，直接进入体内大多会引起免疫反应。Bernhardt I等^[53]使用红细胞来运输L-天冬酰胺酶，对单剂量L-天冬酰胺酶包载于红细胞后的释药特征进行了评价。结果显示，药物的半衰期明显延长：当注射剂量为30 IU/kg时，L-天冬酰胺酶在10 d内可被清除；而如果注射剂量提高到150~200 IU/kg时，其作用可延长至50 d。该研究未测得有害的免疫反应发生，这也证明了红细胞载L-天冬酰胺酶可以有效降低免疫系统对药物的免疫活性。

2.4 提高药物的生物相容性，减小不良反应

红细胞作为人体内源性物质，不存在生物不相容的问题，并且在体内降解后也不会产生有害物质。一些较为敏感的人群静脉注射纳米制剂类药物时会引起心肺方面的不良反应，而Wibroe PP等^[54]将聚苯乙烯材料的纳米制剂黏附于红细胞表面后，有效地避免了巨噬细胞对纳米制剂的识别，从而减小了药物对患者心肺功能的

不良反应。

3 红细胞载药递送系统的常见用途

3.1 包载小分子药物

3.1.1 抗肿瘤药物 目前,由于肿瘤的高发性,红细胞载抗肿瘤药物的研究日益广泛。常见的抗肿瘤药物,如长春新碱、甲氨蝶呤、紫杉醇和多柔比星,均可见采用红细胞包载的相关报道^[55-58]。载肿瘤药物的红细胞可以发挥红细胞的诸多优点。例如 Zarrin A 等^[58]将载多柔比星的红细胞与传统给药进行比较,发现前者体内药物浓度-时间曲线下面积(AUC)是传统给药方式的5倍;Yuan SH 等^[56]比较了载甲氨蝶呤的红细胞(MTK-RBCs)与游离甲氨蝶呤的药动学参数,结果显示游离甲氨蝶呤的 $t_{1/2}$ 为 (3.9 ± 0.8) h,而MTK-RBCs的 $t_{1/2}$ 为 (13.5 ± 2.0) h,并且后者的平均滞留时间(MRT)也由 (5.7 ± 1.2) 延长到 (19.5 ± 5.9) h。这说明,经过红细胞包载的甲氨蝶呤在体内的半衰期较传统给药方式明显延长。

3.1.2 抗炎药物 对于炎症性疾病的治疗,Millán CG 等^[59]研究了红细胞载皮质类固醇和抗生素来实现低剂量给药以减少药物的毒副作用。Coker SA 等^[12]将地塞米松-21-磷酸(地塞米松的非扩散性前药)载入红细胞中,其在红细胞中可被常驻酶转化为具有可扩散活性的地塞米松(DSP),从而实现药物的缓慢释放。该研究表明,患者在单次静脉输注地塞米松红细胞后,35 d内可检测到地塞米松的持续释放。

3.1.3 镇痛药物 骆璇等^[60]比较了冠状动脉旁路移植术患者应用红细胞载吗啡(RBC-M)溶液与0.01%游离吗啡的镇痛效果,分别于患者术前、镇痛前及镇痛开始后1、2、3、8、12、24、36、48 h时对其疼痛、镇静和舒适状态进行评分。结果显示,与游离吗啡组比较,RBC-M组患者在镇痛开始后2 h内疼痛感降低,镇静效果增强;RBC-M溶液的药动学模型为二室模型,半衰期为15.37 h,清除率为 $2.1 \text{ mL}/(\text{kg} \cdot \text{min})$,稳态表观分布容积为 $0.088 \text{ L}/\text{kg}$,AUC为 $7\,911.6 \text{ ng} \cdot \text{h}/\text{mL}$ 。这表明,RBC-M与游离吗啡相比更为有效。

3.1.4 抗感染药物 Alanazi FK 等^[61]通过胞吞作用将抗疟药物伯氨喹载入红细胞中,结果表明,在伯氨喹的药物浓度为 $8 \text{ mg}/\text{mL}$ 时具有较高的载药量。与未载药的红细胞相比,该药物浓度下载药红细胞的谷胱甘肽含量下降。这使得红细胞膜脂质和蛋白质更易于氧化修饰,从而使得载伯氨喹的红细胞更易被网状内皮器官识别而起到靶向作用,同时可使药物的释放时间延长到18 h以上。

3.1.5 心血管系统药物 Harisa GI 等^[62]采用低渗透析法将普伐他汀载入到红细胞中:将普伐他汀溶于0.6%的NaCl溶液,在 $10 \text{ mg}/\text{mL}$ 的药物浓度下孵育1 h可以达到34%的包封率;体外溶出实验结果显示,普伐他汀在磷酸盐缓冲液(PBS)中23 h后的释放率为83%。这表明,普伐他汀成功地被包埋在红细胞中,且可以有效

延长其释放。

3.1.6 免疫抑制剂 环孢菌素A(CsA)和他克莫司(FK506)具有免疫抑制活性,能够改善器官移植导致的排斥反应,但其生物利用度较低,且具有较高的毒性。Biagiotti S 等^[63]将红细胞作为药物递送系统以改变两者的药动学行为,并达到抑制毒性的目的。其通过低渗透析和等渗重新密封程序将CsA和FK506加载到红细胞中。结果表明,由于相应的靶蛋白的靶向作用,上述两种免疫抑制剂可被捕获到红细胞中,并可有效地抑制人体免疫器官产生的特异性免疫反应。这表明,该红细胞载药系统可作为潜在的免疫抑制剂药物递送系统。

3.2 包载大分子药物

目前红细胞载药系统包载的大分子药物主要有酶、蛋白质以及核酸等。红细胞载药系统可以解决一些大分子药物本身固有的诸如半衰期短、药物毒性、过敏反应等问题。例如He H 等^[64]使用膜转位低分子量鱼精蛋白(LMWP)在红细胞中加载L-天冬酰胺酶,结果发现载药红细胞的表面形态与正常红细胞没有差异,可以通过控制给药剂量,有效地延长L-天冬酰胺酶在体内的作用时间,其缓释时长可以控制在10~50 d。除此之外,如尿激酶、葡萄糖氧化酶和己糖激酶,也被用于红细胞载药的研究中^[65]。另外,纤溶酶原激活剂(PA)通过抗原-抗体结合或抗生物素蛋白-生物素桥的方式可与红细胞形成偶联复合物(RBC-PA)^[66-67],有助于延长药物的体内循环时间,增强生物利用度。

3.3 包载诊断剂等其他药物

除了药物之外,红细胞还可用于包载核磁共振成像造影剂等诊断性药物,如磁共振成像(MRI)造影剂,超顺磁性氧化铁(SPIO)、超小型超顺磁性氧化铁(USPIO)纳米粒等^[68]。有研究利用结合到人红细胞中的金纳米颗粒(AuNPs)的高X射线吸收特性,用于实现对血流动态运动情况的观察^[69]。该研究表明,AuNPs具有更好的空间分辨率和更强的血流图像对比度。

4 结语

尽管与传统的载药系统相比,红细胞载药系统存在着诸多优势,但其仍有一些不足之处,其中最关键的问题就是红细胞的存储和来源^[70]。由于红细胞来源于人体,自身就有着个体差异性,很难做到理化性质的统一;其次,红细胞载药过程中对红细胞的破坏是另一大问题;再次,如何保持红细胞在储存过程中的生物活性也是亟待解决的问题。但是随着相关研究的深入,在不久的将来这些问题都有望解决,红细胞载药体系在临床应用方面具有很可观的潜力。

参考文献

- [1] LUCAS A, LAM D, CABRALES P. Doxorubicin-loaded red blood cells reduced cardiac toxicity and preserved anti-cancer activity[J]. *Drug Deliv*, 2019, 26(1): 433-442.
- [2] 唐华非,李霞,贡联兵.红细胞载药体系研究现状[J].中国

- 医院用药评价与分析,2011,11(10):959-960.
- [3] IHLER GM, TSANG CW. Hypotonic hemolysis methods for entrapment of agents in resealed erythrocytes[J]. *Method Enzymol*, 1987, 149(1):221-229.
- [4] DELOACH JR, HARRIS RL, IHLER GM. An erythrocyte encapsulator dialyzer used in preparing large quantities of erythrocyte ghosts and encapsulation of a pesticide in erythrocyte ghosts[J]. *Anal Biochem*, 1980, 102(1):220-227.
- [5] 缪婉琳.鼠源红细胞装载阿霉素与磁性纳米颗粒用于靶向治疗肿瘤的研究[D].南京:东南大学,2016.
- [6] 陈伯玮,史澍睿,万国运,等.多功能纳米红细胞载药体系构建及其光热/光动力效应[J].国际生物医学工程杂志,2018,41(1):32-37.
- [7] GOEL V, KAUR C, DEVI R, et al. Nautiyal resealed erythrocytes a specified tool in novel drug delivery system: a review[J]. *Int J Pharm Med Res*, 2017, 5(1):420-429.
- [8] 温旭智.载长春瑞滨红细胞载药体系的建立及其体外评价[D].南京:东南大学,2015.
- [9] 席芸.负载吉西他滨的红细胞载药系统的建立及体外抗肿瘤作用评价[D].南京:东南大学,2014.
- [10] GATKAL SH, GAIKWAD NM, PATIL PM, et al. Re-sealed erythrocytes: a novel drug delivery system[J]. *Int J Pharm Sci Rev Res*, 2012, 12(2):42-50.
- [11] MAMBRINI G, MANDOLINI M, ROSSI L, et al. Ex vivo encapsulation of dexamethasone sodium phosphate into human autologous erythrocytes using fully automated biomedical equipment[J]. *Int J Pharm*, 2016, 517(1):175-184.
- [12] COKER SA, SZCZEPIORKOWSKI ZM, SIEGEL AH, et al. A study of the pharmacokinetic properties and the in vivo kinetics of erythrocytes loaded with dexamethasone sodium phosphate in healthy volunteers[J]. *Transfus Med Rev*, 2018, 32(2):102-110.
- [13] SAHDEV AK, SETHI B. Important role, isolation and basic concept of resealed erythrocytes[J]. *RJPT*, 2019, 12(5):2603-2611.
- [14] KUMARI R, PANDA PD, SINGH R, et al. Resealed erythrocyte: an approach to targeted drug delivery[J]. *To Chem J*, 2018, 1(1):1-11.
- [15] FRANCO RS, BARKER R, NOVICK S, et al. Effect of inositol hexaphosphate on the transient behavior of red cells following a DMSO-induced osmotic pulse[J]. *J Cell Physiol*, 1986, 129(2):221-229.
- [16] KLIBANSKY C, KATCHALSKY A. The penetration of albumin and hemoglobin in the erythrocytes during hemolysis[J]. *Pathol Biol*, 1960, 8(5):2005-2014.
- [17] DE FA, BENATTI U, GUIDA L, et al. Encapsulation of adriamycin in human erythrocytes[J]. *P Natl Acad Sci USA*, 1986, 83(18):7029-7033.
- [18] DELOACH JR, ANDREWS K, SHEFFIELD CL, et al. Subcutaneous administration of [35-S] r-IL-2 in mice carrier erythrocytes: alteration of IL-2 pharmacokinetics[J]. *Adv Biosci*, 1987, 67(12):183-190.
- [19] JRADE M, VILLERREAL MC, BOYNARD M, et al. Rheological approach to human red blood cell carriers desferrioxamine encapsulation[J]. *Adv Biosci*, 1987, 67(12):29-36.
- [20] CHEN ZA, WU SH, CHEN PL, et al. Critical features for mesoporous silica nanoparticles encapsulated into erythrocytes[J]. *ACS Appl Mater Inter*, 2019, 11(5):4790-4798.
- [21] RAFFAELLA S, ANTONELLA A, SERAFINA B, et al. Macrophage depletion by free bisphosphonates and zoledronate-loaded red blood cells[J]. *PloS One*, 2014, 9(6):1-12.
- [22] WANG PY, WANG XD, LUO Q, et al. Fabrication of red blood cell-based multimodal theranostic probes for second near-infrared window fluorescence imaging-guided tumor surgery and photodynamic therapy[J]. *Theranostics*, 2019, 9(2):369-380.
- [23] DEUTICKE B, KIM M, ZÖLLNER C. The influence of amphotericin B on the permeability of mammalian erythrocytes to nonelectrolytes, anions and cations[J]. *BBA-Bio-membranes*, 1973, 318(3):345-359.
- [24] KITAO T, HATTORI K, TAKESHITA M. Agglutination of leukemic cells and daunomycin entrapped erythrocytes with lectin in vitro and in vivo[J]. *Experientia*, 1978, 34(1):94-95.
- [25] LIN W, FREITAS DMD, ZHANG Q, et al. Nuclear magnetic resonance and oxygen affinity study of cesium binding in human erythrocytes[J]. *Arch Biochem Biophys*, 1999, 369(1):78-88.
- [26] AHUR VM, ANIKA SM, UDEM SC. Perturbations of erythrocyte membrane integrity by subchronic low-level lead exposure in New Zealand white rabbits[J]. *J Clin Pathol*, 2018, 27(4):893-900.
- [27] SOLANKI D. Resealed erythrocytes: a biocarrier for drug delivery[J]. *J Pharm Pharm Sci*, 2017, 129(4):836-852.
- [28] 李小曼,万利杰,王晓娟.脉冲电场在医学中的基础研究及电穿孔的临床应用[J].现代生物医学进展,2017,17(6):1195-1199,1186.
- [29] RAO L, CAI B, BU L L, et al. Microfluidic electroporation-facilitated synthesis of erythrocyte membrane-coated magnetic nanoparticles for enhanced imaging-guided cancer therapy[J]. *ACS Nano*, 2017, 11(4):3496-3505.
- [30] CONNOR J, SCHROIT AJ. Red blood cell recognition by the reticuloendothelial system[J]. *Adv Biosci*, 1987, 67(12):163-171.
- [31] SELVAMANI P, LATHA S, MONISHA A, et al. A review on resealed erythrocyte as a novel drug delivery system[J]. *Asian J Pharm Clin Res*, 2015, 8(4):101-107.
- [32] SCHRIER SL. Drug-induced endocytosis and entrapment in red cells and ghosts[J]. *Methods Enzymol*, 1987, 149(1):260-270.
- [33] MISHRA A, KESHARWANI R, TIWARI AK, et al. Re-

- sealed erythrocytes: an engineering approach for drug delivery and drug targeting[J]. *J Chem Pharma Res*, 2016, 8(5):376-384.
- [34] ALVAREZFIGUEROA MJ, BLANCOMACNDEZ J. Transdermal delivery of methotrexate: iontophoretic delivery from hydrogels and passive delivery from microemulsions[J]. *Int J Pharm*, 2001, 215(1):57-65.
- [35] HARISA G, IBRAHIM MF, ALANAZI FK. Characterization of human erythrocytes as potential carrier for pravastatin: an in vitro study[J]. *Int J Med Sci*, 2011, 8(3):222-230.
- [36] BALASUBRAMANIAN J, NARAYANAN N, KUMAR V. Resealed erythrocytes: a novel drug carrier in drug delivery[J]. *Drug Discov*, 2012, 2(6):30-32.
- [37] HAMIDI M, TAJERZADEH H, DEHPUR AR, et al. In vitro characterization of human intact erythrocytes loaded by enalaprilat[J]. *J Toxicol Sci*, 2001, 8(4):223-230.
- [38] LI LH, HENSEN ML, ZHAO YL, et al. Electrofusion between heterogeneous-sized mammalian cells in a pellet: potential applications in drug delivery and hybridoma formation[J]. *Biophys J*, 1996, 71(1):479-486.
- [39] JAIN T, ADHAV R, VASWANI P. Erythrocytes as drug delivery system: a boon to cure[J]. *Int Res J Pure Appl Chem*, 2015, 1(1):21-26.
- [40] NICOLAU C, GERSONDE K. Incorporation of inositol hexaphosphate into intact red blood cells[J]. *Naturwissenschaften*, 1979, 66(11):563-566.
- [41] JAITELY V, KANAUIA P, VENKATESAN N, et al. Resealed erythrocytes: drug carrier potentials and biomedical applications[J]. *Indian Drugs*, 1996, 33(12):589-594.
- [42] MAGNANI M, ROSSI L, D'ASCENZO M, et al. Erythrocyte engineering for drug delivery and targeting[J]. *Biotechnol Appl Bioc*, 1998, 28(1):1-6.
- [43] SKOROKHOD OA, VITVITSKY VM, ISAEV VG, et al. Pharmacokinetics of erythrocyte-bound daunorubicin in patients with acute leukemia[J]. *Med Sci Monitor*, 2004, 10(4):155-164.
- [44] MUZYKANTOV VR, CHRISTOFIDOU-SOLOMIDOU M, BALLYASNIKOVA I, et al. Streptavidin facilitates internalization and pulmonary targeting of an anti-endothelial cell antibody (platelet-endothelial cell adhesion molecule 1): a strategy for vascular immunotargeting of drugs[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96(5):2379-2384.
- [45] MÜLLER M, BUCHI L, WOODTLI K, et al. Preparation and characterization of "heparinocytes": erythrocytes with covalently bound low molecular weight heparin[J]. *FEBS Letters*, 2000, 468(2):115-119.
- [46] BRENNER JS, PAN DC, MYERSON JW, et al. Red blood cell-hitchhiking boosts delivery of nanocarriers to chosen organs by orders of magnitude[J]. *Nature Commun*, 2018, 9(1):1-14.
- [47] VILLA CH, ANSELMO AC, MITRAGOTRI S, et al. Red blood cells: supercarriers for drugs, biologicals, and nanoparticles and inspiration for advanced delivery systems[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2016, 106(11):88-103.
- [48] SUYAMA K, KAWASAKI Y, MIYAZAKI K, et al. The efficacy of recombinant human soluble thrombomodulin for the treatment of shiga toxin-associated hemolytic uremic syndrome model mice[J]. *Nephrol Dial Transpl*, 2015, 30(6):969-977.
- [49] TANEMURA A, KURIYAMA N, AZUMI Y, et al. Thrombomodulin administration attenuates ischemia-reperfusion injury of the remnant liver after 70% hepatectomy in rats: simulated model of small-for-size graft in living donor liver transplantation[J]. *Transpl P*, 2014, 46(4):1107-1111.
- [50] IKEZOE T, YANG J, NISHIOKA C, et al. Thrombomodulin alleviates murine GVHD in association with an increase in the proportion of regulatory T cells in the spleen[J]. *Bone Marrow Transpl*, 2015, 50(1):113-120.
- [51] 吴江, 钱宝华. 长春新碱载体红细胞制备及性能的实验研究[D]. 上海: 第二军医大学, 2004.
- [52] 霍晶. 甲氨蝶呤红细胞载体的制备及在大鼠体内药代动力学研究[D]. 南京: 南京中医药大学, 2008.
- [53] BERNHARDT I, ELLORY JC. *Red cell membrane transport in health and disease*[M]. Second Edition. Berlin: Springer Science & Business Media, 2013:373-405.
- [54] WIBROE PP, ANSELMO AC, NILSSON PH, et al. Bypassing adverse injection reactions to nanoparticles through shape modification and attachment to erythrocytes[J]. *Nature Nanotechnol*, 2017, 12(6):589-594.
- [55] 张越, 杨阳, 翟美芳. T7 肽修饰的载长春新碱低密度脂蛋白纳米粒的制备及脑胶质瘤靶向性和治疗作用评价[J]. *药学报*, 2018, 53(3):460-466.
- [56] YUAN SH, GE WH, HUO J, et al. Slow release properties and liver-targeting characteristics of methotrexate erythrocyte carriers[J]. *Fund Clin Pharmacol*, 2009, 23(2):189-196.
- [57] 任伟. 融合蛋白 ANTI-EGFR-IRGD 修饰的负载紫杉醇的红细胞膜纳米粒子的构建及其对食管癌的放疗增效作用与机制[D]. 南京: 南京医科大学, 2018.
- [58] ZARRIN A, FOROOZESH M, HAMIDI M. Carrier erythrocytes: recent advances, present status, current trends and future horizons[J]. *Expert Opin Drug Del*, 2014, 11(3):433-447.
- [59] MILLÁN CG, CASTAÑEDA AZ, LÓPEZ F G, et al. Encapsulation and in vitro evaluation of amikacin-loaded erythrocytes[J]. *Drug Deliv*, 2005, 12(6):409-416.
- [60] 骆璇, 汪小海, 徐鑫, 等. 冠脉搭桥术病人红细胞包蔽吗啡溶液术后镇痛的可行性[J]. *中华麻醉学杂志*, 2005, 25(6):410-413.
- [61] ALANAZI FK, GELD H, MAQBOUL A, et al. Biochemically altered human erythrocytes as a carrier for targeted delivery of primaquine: an in vitro study[J]. *Arch Pharm*

基因多态性与胰高血糖素样肽1受体激动剂疗效的相关性研究进展^Δ

刘东华*,荆凡波,全香花,刘月芬,邢晓敏,周长凯,付 蕾,隋忠国[#](青岛大学附属医院药学部,山东青岛 266000)

中图分类号 979.9 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2020)02-0245-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2020.02.22

摘要 目的:了解基因多态性与胰高血糖素样肽1(GLP-1)受体激动剂疗效的相关性,为GLP-1受体激动剂疗效相关基因多态性的研究和临床个体化用药提供参考。方法:以“胰高血糖素样肽1受体激动剂”“基因多态性”“艾塞那肽”“利拉鲁肽”“液泡蛋白分选受体1”“大麻素受体1”“GLP-1受体”“Glucagon-like peptide-1 receptor agonist”“Exenatide”“Liraglutide”“SORCS1”“Cannabinoid type 1 receptor”“GLP-1 receptor”“Genetic polymorphism”“Type 2 diabetes”“Insulin resistance”等为中英文关键词,在中国知网、万方、维普、PubMed、SpringerLink等数据库中组合查询1991年1月—2019年3月发表的相关文献,对GLP-1受体激动剂相关的遗传因素和基因多态性的研究进展进行总结。结果与结论:共检索到相关文献307篇,其中有效文献33篇。GLP-1受体激动剂与液泡蛋白分选受体1(SORCS1)基因、GLP-1受体(GLP-1R)基因和大麻素受体1(CNR1)基因相关。目前研究表明,基因多态性与GLP-1受体激动剂改善胰岛功能、改善胰岛素抵抗和控制体质量效果相关。但此类研究多为小样本研究,需要更大的样本来确认SORCS1、GLP-1R、CNR1基因多态性与GLP-1受体激动剂疗效的关系,且其他GLP-1受体激动剂(如利司那肽、阿必鲁泰、度拉鲁肽和索玛鲁肽等)和已发现的基因位点多态性的相关性还未知,而与GLP-1受体激动剂疗效相关的新的基因位点还未发现,这可为今后开展相关研究提供方向。

关键词 胰高血糖素样肽1受体;受体激动剂;基因多态性;艾塞那肽;利拉鲁肽;液泡蛋白分选受体1;大麻素受体1

糖尿病是当前威胁全球人类健康的重要慢性疾病之一,我国糖尿病流行特点是以2型糖尿病(T2DM)为主,1型糖尿病及其他类型糖尿病少见。2013年的全国糖尿病流行病学调查显示,我国T2DM患病率为10.4%,且男性患病率高于女性(11.1% vs. 9.6%)^[1]。

降糖药物在T2DM治疗的过程中占有重要地位,近年来,新型降糖药物胰高血糖素样肽1(GLP-1)受体激

动剂以其血糖依赖性的降糖作用和体质量调控优势而成为糖尿病治疗药物的研究热点,为T2DM患者的治疗带来了新的希望^[2]。目前国内上市的GLP-1受体激动剂有艾塞那肽(商品名:百泌达)、利拉鲁肽(商品名:诺和力)、利司那肽(商品名:利时敏)、贝那鲁肽(商品名:谊生泰)、艾塞那肽微球(商品名:百达扬)、度拉糖肽(商品名:度易达)和聚乙二醇洛塞那肽(商品名:孚来美)等,

Res, 2011, 34(4):563-571.

[62] HARISA GI, IBRAHIM MF, ALANAZI FK. Erythrocyte-mediated delivery of pravastatin: in vitro, study of effect of hypotonic lysis on biochemical parameters and loading efficiency[J]. *Arch Pharm Res*, 2012, 35(8): 1431-1439.

[63] BIAGIOTTI S, ROSSI L, BIANCHI M, et al. Immunophilin-loaded erythrocytes as a new delivery strategy for immunosuppressive drugs[J]. *J Control Release*, 2011, 154(3):306-313.

[64] HE H, YE J, WANG Y, et al. Cell-penetrating peptides mediated encapsulation of protein therapeutics into intact red blood cells and its application[J]. *J Control Release*, 2014, 176(1):123-132.

[65] MAGNANI M, ROSSI L. Approaches to erythrocyte-me-

diated drug delivery[J]. *Expert Opin Drug Del*, 2014, 11(5):677-687.

[66] DANIELYAN K, GANGULY K, DING BS, et al. Cerebrovascular thromboprophylaxis in mice by erythrocyte-coupled tissue-type plasminogen activator[J]. *Circulation*, 2008, 118(14):1442-1449.

[67] ZAITSEV S, SPITZER D, MURCIANO JC, et al. Sustained thromboprophylaxis mediated by an RBC-targeted pro-urokinase zymogen activated at the site of clot formation[J]. *Blood*, 2010, 115(25):5241-5248.

[68] ANTONELLI A, SFARA C, BATTISTELLI S, et al. New strategies to prolong the in vivo life span of iron-based contrast agents for MRI[J]. *PLoS One*, 2013, 8(10):1-17.

[69] AHN S, JUNG SY, SEO E, et al. Gold nanoparticle-incorporated human red blood cells (RBCs) for X-ray dynamic imaging[J]. *Biomaterials*, 2011, 32(29):7191-7199.

[70] 孙雅楠,马琳,张彪,等.基于红细胞的载药系统研究进展[J]. *中国药科大学学报*, 2015, 46(4):481-487.

(收稿日期:2019-05-07 修回日期:2019-12-12)

(编辑:孙 冰)

Δ 基金项目:山东省自然科学基金资助项目(No.ZR2019MH077)

* 主管药师,硕士。研究方向:临床药学。E-mail:donghua0209@163.com

通信作者:主任药师。研究方向:临床药学、临床药理学。电话:0532-82911277