

## 肽转运载体与肽和仿肽类药物肺部转运

张 旋, 李 健, 李 莉, 王殿华

(昆明医学院 云南省天然药物药理重点实验室, 云南 昆明 650031)

[摘要] 新近发现, 定位于呼吸道的肽转运载体在肽和仿肽类药物肺部转运过程中起重要作用. 将对肽转运载体的结构、定位、功能和转运机制研究作一综述.

[关键词] 肽转运载体; 肺部给药; 仿肽药物; 药物转运

[中图分类号] R966; R974 [文献标识码] A [文章编号] 1003 - 4706 (2007) 06 - 0106-05

## Pulmonary Peptidomimetic Drug and Peptide Transportand Peptide Transporters

ZHANG Xuan, LI Jian, LI Li, WANG Dian-hua

(Yunnan Key Laboratory of Pharmacology for Natural Products, Kunming Medical College, Kunming 650031, China)

[Abstract] Recent studies show that peptide transporters expressed in respiratory tract play a major role in pulmonary peptidomimetic drug and peptide transport. In this article we reviewed the structure, localization, function and the transport mechanism of peptide transporters.

[Key words] Peptide transporters; Pulmonary drug delivery; Peptidomimetic drug; Drug transport

随着药物设计和雾化给药技术的进展, 近年来肽和仿肽类药物(peptidomimetic drug)经肺部给药治疗肺疾病和全身疾病已成为现实<sup>[1]</sup>. 由于肺部给药具有吸收表面积大, 吸收部位血流丰富, 能避免肝脏的首关消除效应, 酶活性较低, 上皮屏障较薄及膜通透性高等优点, 因此, 肽和仿肽类药物肺部给药已成为目前医学研究的新领域<sup>[2]</sup>. 近年来, 肽转运载体 (peptide transporters, PEPT) 在肽和仿肽类药物肺部给药中的重要作用研究已经引起学者们的关注.

### 1 PEPT 结构与定位

现已从人体内克隆出两种肽转运载体 PEPT1 和 PEPT2. PEPT1 是具有低亲和力和高负载的转运载体,  $K_m$  在 200 ~ 10 mM 之间, 而 PEPT2 是一个具有高亲和力和低负载的转运载体,  $K_m$  在 5 ~ 500  $\mu$ M 之间. 人 PEPT2 基因位于染色体的 3q13.3-q21 上<sup>[3]</sup>. PEPT2 属于质子依赖性寡肽转运载体家族 (proton-dependent oligopeptide trans

[基金项目] 云南省教育厅基金项目 (5Z0384C)

[作者简介] 张旋 (1979 ~), 男, 山西运城市人, 医学硕士, 助教, 主要从事呼吸药理学研究工作.

[通讯作者] 王殿华. E-mail: wangdianhua Km@126.com

porters, POT), 该家族包括 70 个克隆转运载体. 这一家族的转运载体由 450 ~ 700 个氨基酸组成. PEPT2 的 cDNA 包含 2 190 个碱基对的开放读码框架和 729 个氨基酸组成的蛋白质. 人 PEPT2 的分子大小尚未确定, 但已有研究表明, 人与家兔的 PEPT2 有高度同源性, 家兔 PEPT2 糖基化后分子量约为 170 kD, 而非糖基化分子量约为 83 kD. 研究发现, PEPT2 与存在于小肠的 PEPT1 结构相似, 也有 12 个跨膜结构域 (transmembrane domains, TMDs), N- 末端和 C- 末端都面向细胞质 (见图 1).

PEPT1-PEPT2 嵌合体转运载体实验研究表明: PEPT2 和 PEPT1 的第 2 和第 4 个 TMD 中的保守组氨酸残基为转运载体的转运活性所必需; PEPT2 的前 6 个 TMD 和环状结构决定其大部分表型特征, 其中前 59 个氨基酸与底物结合有关. 第 60 ~ 91 个氨基酸与  $\text{Na}^+$ - $\text{H}^+$  交换有关; 第 7 和第 9 个 TMD 与其亲和力密切相关<sup>[4,5]</sup>.

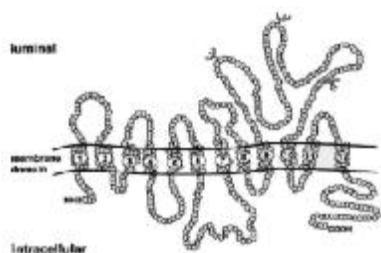


图 1 PEPT2 结构示意图

PEPT1 主要位于肠道、肾脏和胆管上皮, 而 PEPT2 主要分布于气道、肾脏、周围和中枢神经系统以及乳腺. PEPT2 首先被发现存在于人肾脏, 其分子结构也被鉴定. 目前, 已从人、家兔、大鼠和小鼠组织中克隆出 PEPT2. 新近研究表明, 在气道上皮细胞、II 型肺泡上皮细胞和肺小静脉内皮细胞有 PEPT2 蛋白和 mRNA 表达, 主要集中在气道上皮细胞和 II 型肺泡上皮细胞<sup>[6]</sup>. 免疫组化研究证实人与大、小鼠气道 PEPT2 的表达方式一致<sup>[7]</sup>.

## 2 PEPT2 转运机制

研究表明, 气道 PEPT2 转运肽和仿肽类药物

的机制是将底物转位与跨膜电化学质子梯度 (transmembrane electrochemical proton gradient) 相偶联. 跨膜电化学质子梯度由气道细胞膜上被继发性激活的  $\text{Na}^+$ - $\text{H}^+$  交换泵 ( $\text{Na}^+$ - $\text{H}^+$  exchanger, NHE) 来维持<sup>[8]</sup> (见图 2). 目前已发现 NHE 有 9 种 (NHE1-9), NHE1 是一种广泛表达于哺乳动物组织中的嵌合膜蛋白 (integral membrane protein), 其功能是调节细胞内的 pH 值. 现已证明, 在消化道, NHE3 被继发性激活参与肽的转运, 气道上皮的转运可能与 NHE1 有关<sup>[9,10]</sup>.

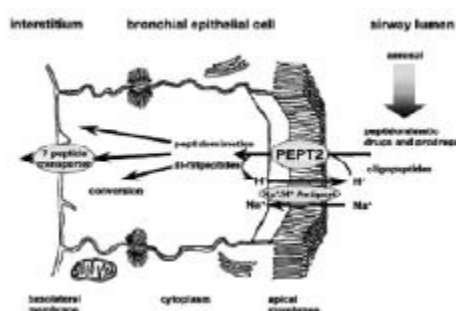


图 2 PEPT2 转运机制示意图

PEPT2 依靠跨膜电化学质子梯度将肽和仿肽类药物转运进入气道细胞内, 同时将细胞外的  $\text{H}^+$  转运到细胞内, 因此 PEPT2 可以被认为是气道上的酸性载体. NHE 通过反向转运作用将气道细胞内的  $\text{H}^+$  转运至细胞外, 同时将气道细胞外的  $\text{Na}^+$  转运到细胞内, 从而维持跨膜电化学质子梯度和细胞内 pH 值的稳定. PEPT2 识别、摄取和转运底物的机制取决于细胞膜电位和细胞外 pH 值. PEPT2 对肽和仿肽类药物的转运过程是生电性 (electrogenic) 的, 取决于底物所带的静电荷, 其最适 pH 值为 4.5 ~ 6.5<sup>[11]</sup>.

被转运进入气道上皮细胞后的二肽 / 三肽, 迅速被细胞内的肽酶水解. 水解后的氨基酸用于细胞的特异性合成和满足细胞的营养需求, 或通过细胞基底膜上的多种氨基酸载体转运进血液循环. 相反, 由 PEPT2 转运的抗水解的仿肽药物不被肽酶水解, 可在气道细胞内堆积, 再通过细胞基底膜上的某种转运系统转运进入血液循环, 但这种转运系统的分子结构尚未明确.

呼吸道上皮表层液体微环境相对稳定, 呈弱

酸性 (pH 值 6.5), 在生理条件下 (pH 值 6.5), 对不带电荷的肽和仿肽类药物的转运最佳. 研究发现, 在病理条件下 (如支气管哮喘), 细胞外 pH 值下降, 细胞膜电位超极化, PEPT2 选择性转运药物的功能增强.

### 3 PEPT2 转运功能

PEPT2 最初被认为是一种寡肽 (二肽 / 三肽) 转运载体, 现已证明, 除了转运内源性寡肽, PEPT2 也能转运大量分子结构和理化性质各不相同的仿肽药物.

近年来研究表明, 定位于呼吸道的 PEPT2 在肽和仿肽类药物肺部转运过程中起重要作用.

#### 3.1 PEPT2 与抗生素转运

研究表明, 肺泡和支气管上皮细胞内高浓度的抗生素是杀灭细菌的最关键因素, 因此肺泡和支气管上皮则成为药物转运和治疗的重要靶标. 最新研究证实 PEPT2 在气道上皮细胞转运抗生素的作用, 为抗生素肺部给药治疗肺局部或全身感染性疾病提供了一条新途径<sup>[12,13]</sup>.  $\beta$ -内酰胺类抗生素是最常用高效安全的抗菌药物.  $\beta$ -内酰胺类抗生素的基本结构与三肽相同, PEPT2 对所有兼性离子  $\beta$ -酰胺类抗生素有较高亲和力, 因而大多口服的  $\beta$ -内酰胺类抗生素都可以通过肺内 PEPT2 转运<sup>[14]</sup>. 雾化吸入抗生素, 经气道上皮 PEPT2 转运, 将高浓度的药物沉积在肺感染部位, 可提高治疗效果. 新近研究发现, PEPT2 在肺囊性纤维化患者的气道表达水平不发生改变, 转运功能正常<sup>[15]</sup>. 研究发现, 过敏性哮喘患者气道内的 pH 值降低, 气道内酸性环境增加, PEPT2 转运功能增强<sup>[16]</sup>.

#### 3.2 PEPT2 与抗病毒药物转运

目前对病毒性感染的诊断和治疗比较困难, 由于病毒可在肺上皮细胞内复制, 因而能否将高浓度的抗病毒药物有效转运到肺内感染部位是治疗的关键<sup>[17,18]</sup>. 已经证实: 抗病毒药物 Valacyclovir、治疗巨细胞病毒感染的药物 Valganciclovir 和治疗 HIV 药物 Zidovudine 的 valyl 酯化产物都是 PEPT2 的底物; 肺内 PEPT2 可以将这三种抗病毒药物有效转运到肺内感染部位. 因此, 仿制 PEPT2 底物, 将有氨基酸残基的药

物酯化生成一种前体药物是治疗病毒性肺炎的一种新思路.

#### 3.3 PEPT2 与抗肿瘤药物转运

已有研究发现, PEPT2 在胆管上皮肿瘤细胞系, 胰腺癌细胞系和纤维肉瘤细胞系中有活性和表达. 鉴于 PEPT2 对药物的转运与肿瘤治疗的潜在联系, 仿肽药物在肺肿瘤治疗中具有潜在应用价值, 因此 PEPT2 已经成为研究肺部给予仿肽药物治疗肺肿瘤的新热点. 肽类复合物苯丁亮氨酸是一种间接抗肿瘤药物和增强宿主免疫反应的生理调节剂, 具有抗肿瘤活性, 被证实是 PEPT2 的底物<sup>[19,20]</sup>. PEPT2 在肿瘤选择性药物转运中的作用研究表明, 给予苯丁亮氨酸 1 个月后, 植入的肿瘤细胞的活性明显降低, 可能与竞争性抑制亮氨酸氨基肽酶和氨基肽酶 B 有关.

#### 3.4 PEPT2 与光动力疗法

光动力疗法 (photodynamic therapy, PDT) 是一种利用在肿瘤细胞内堆积各种光敏感物质来治疗癌症的新方法. 当光敏感剂被一定波长的光照射后活化, 产生活性氧, 从而引起肿瘤细胞凋亡或坏死, 达到治疗作用.  $\delta$ -氨基酮戊酸 ( $\delta$ -aminolaevulinic acid,  $\delta$ -ALA) 是一种内源性光动力治疗药物, 也是人体生理过程中血红素合成中的基本原料, 是原卟啉的前体. 已证实 PEPT2 可作为光敏感剂的特定转运载体转运  $\delta$ -ALA, 这为光动力治疗提供了一个新思路. 研究表明在几种肿瘤细胞中可诱导表达 PEPT2. 因此, 口服、注射或局部给予原卟啉的前体  $\delta$ -ALA, 在体内合成原卟啉, 或应用血红素合成途径中的酶抑制, 最终都可造成细胞内原卟啉堆积, 再经一定波长的光照射, 达到 PDT 的治疗作用, 是一种最有前景的治疗肿瘤的方法.  $\delta$ -ALA 的摄取和原卟啉堆积也可用于鉴别和诊断早期呼吸道肿瘤<sup>[21,22]</sup>.

研究 PEPT2 在各种呼吸系统肿瘤的表达水平, 可以评价其在 PDT 治疗呼吸系统肿瘤中的潜在作用. 呼吸系统肿瘤细胞的代谢和生长需要大量的氨基氮, PEPT2 表达可因营养需求增加而上调. 因此, PEPT2 有将  $\delta$ -ALA 或其它抗肿瘤药物靶向转运到肿瘤细胞的作用, 可作为一种合适的治疗肿瘤分子的工具.

#### 3.5 PEPT2 与跨血管药物转运

跨血管药物转运 (transvascular drug transport)

是药物在肺与血液循环之间相互转运的重要特性. 呼吸道上皮细胞邻近的血管内皮细胞是跨血管药物转运的主要细胞, PEPT2 定位在呼吸道上皮, 推测 PEPT2 有将药转运进血液循环的作用. 研究证实, PEPT2 在一些小的肺部血管内皮细胞有表达, 但对药物转运不起主要作用<sup>[6]</sup>. 迄今为止, 药物离开气道上皮细胞进入血液循环的机制尚未阐明.

#### 4 结语

PEPT2 是最近被证实的呼吸道肽和仿肽类药物转运载体. 应用基因序列分析、非同位素原位杂交等现代分子生物学技术和激光辅助气道细胞收集、形态学分析及药理学方法, 进一步研究 PEPT2 在呼吸疾病的表达及功能, 对合理设计以 PEPT2 为转运载体的药物或前体药物, 在治疗各种肺疾病和全身疾病中发挥作用具有重要意义和实用价值. 因此, 肺部给予肽和仿肽类药物治疗各种呼吸疾病和全身疾病是将来药物开发领域中一条颇具吸引力的给药途径.

#### [参考文献]

- [1] HARSCH I A, HAHN E G, KONTUREK P C. Syringe, pen, inhaler: the evolution of insulin therapy [J]. *Med Sci Monit*, 2001, 7:833-836
- [2] COURRIER H M, BUTZ N, VANDAMME T H F. Pulmonary drug delivery system: recent developments and prospects [J]. *Critical Review in Drug Carrier Systems*, 2002, 19(4-5):425-498
- [3] RAMAMOORTHY S, LIU Y, MA Y, et al. Proton/peptide cotransporter (PEPT2) from human kidney: functional characterization and chromosomal localization [J]. *Biochim Biophys*, 1996, 1240:1-4
- [4] FEI Y J, LIU J C, FUJITA T, et al. Identification of a potential substrate binding domain in the mammalian peptide transporters PEPT1 and PEPT2 using PEPT1-PEPT2 and PEPT2-PEPT1 chimeras [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1998, 246: 39-44
- [5] TERADA T, SAITO H, HASHIMOTO Y, et al. N-terminal halves of rat H<sup>+</sup>-peptide transporters are responsible for their substrate recognition [J]. *Pharm Res*, 2000, 17: 15-20
- [6] GRONEBERG D A, NICKOLAUS M, SPRINGER J, et al. Localization of the peptide transporter PEPT2 in the lung: implications for pulmonary oligopeptide uptake [J]. *Am J Pathol*, 2001, 158:707-714
- [7] GRONEBERG D A, DORING F, DANIEL H, et al. Distribution of the oligopeptide transporter PEPT2 in normal human lung [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2000, 161: A150
- [8] GRONEBERG D A, FISHE R A, CHUNG K F, et al. Molecular mechanisms of pulmonary peptidomimetic drug and peptide transport [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2004, 30: 251-260
- [9] THWAITES D T, KENNEDY D J, RALDUA D, et al. H/dipeptide absorption across the human intestinal epithelium is controlled indirectly via functional Na/H exchanger [J]. *Gastroenterology*, 2002, 122: 1322-1333
- [10] AL-BAZZAZ F J, HAFEZ N, TYAGIS, et al. Detection of Cl-HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> and Na<sup>+</sup>-H<sup>+</sup> exchangers in human airways epithelium [J]. *JOP*, 2001, 2: 285-290
- [11] DANIEL H, RUBIO-ALIAGA I. An update on renal peptide transporters [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2003, 284: F885-892
- [12] SHEN H, SMITH D E, KEEP R F, et al. Targeted disruption of the PEPT2 gene markedly reduces dipeptide uptake in choroid plexus [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278: 4786-4791
- [13] RUBIO-ALIAGA I, FERY I, BOLL M, et al. Targeted disruption of the peptide transporter Pept2 gene in mice defines its physiological role in the kidney [J]. *Mol Cell Biol*, 2003, 23: 3247-3252
- [14] TERADA T, SAITOH, MUKAI M, et al. Recognition of beta lactam antibiotics by rat peptide transporters, PEPT1 and PEPT2, in LLC-PK1 cells [J]. *Am J Physiol*, 1997, 273:F706-711
- [15] GRONEBERG D A, EYNOTT P R, DORING F, et al. Distribution and function of the peptide transporter PEPT2 in normal and cystic fibrosis human lung [J]. *Thorax*, 2002, 57:55-60
- [16] HUNTJ F, ERWIN E, PALMER L, et al. Expression and activity of pH-regulatory glutaminase in human airway epithelium [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2002, 165: 01-107
- [17] MORI N M J, WARNT R A, FIELDS N. Reovirus infection in rat lungs as a model to study the

- pathogenesis of viral pneumonia [J]. J Virol, 1996, 70: 541-548
- [18] GRONEBERG D A, ZHANG L, WELTE T, et al. Severe acute respiratory syndrome : global initiatives for disease diagnosis [J]. QJM, 2003, 96: 845-852
- [19] AKANISH T, TAMAI I, TAKAKI A, et al. Cancer cell-targeted drug delivery utilizing oligopeptide transport activity [J]. Int J Cancer, 2000, 88: 274-280
- [20] NIELSE N C U, BRODIN B. D i/ tri-peptide transporters as drug delivery target: regulation of transport under physiological conditions [J]. Curr Drug Targets, 2003, 4: 373-388
- [21] MAIER A, TOMASELLI F, MATZIV, et al. Comparison of 5-aminolaevulinic acid and porphyrin photosensitization for photodynamic therapy of malignant bronchial stenosis: a clinical pilot study [J]. Lasers Surg Med, 2002, 30:12-17
- [22] UNGERM. Endobronchial therapy of neoplasms [J]. Chest Surg Clin N Am, 2003, 13:129-147  
(2007-08-01 收稿)

(上接第 63 页)

亦须缓慢, 避免黄芩甙锌出现沉淀。

目前, 黄芩甙金属配合物的确切分子式结构、配合物在某些方面比黄芩甙单体具更高的活性是否由于与金属离子产生协同作用, 还有待于进一步研究。另外, 黄芩甙配合物的生物药剂学和药代动力学方面的研究未见报道。因此, 进一步研究黄芩甙的金属配合物, 并且研究探讨其溶解方法, 对新药的开发和合理制药用药提供理论依据。

#### [参考文献]

- [1] 刘雄, 高建德. 黄芩研究进展[J]. 甘肃中医学院学报, 2007, 2:23
- [2] 赵兵, 徐清海. 国内黄酮金属配合物的研究进展 [J]. 化学试剂, 2006, 28(3): 141-143
- [3] 李延峰, 梁绍蓉. 黄芩甙金属配合物研究进展[J]. 时珍国医国药, 1999, 10(2):152-153
- [4] 覃树先. 黄芩甙水溶液性稳定性研究[J]. 广西医学, 2000, 22(4):165
- [5] 周晓红, 甄彦君, 冯敬坤. 黄芩研究进展[J]. 河北中医药学报, 2000, 15(3):16
- [6] 巩喜姣, 薛志宏, 何刚. 黄芩甙生产工艺研究[J]. 中医药学报, 2000, (3):168-170  
(2007-06-25收稿)