

P 糖蛋白表达对 HIV-1 蛋白酶抑制剂在体内吸收与分布的影响

姚瑶, 胡卓汉(上海医药工业研究院国家上海新药安全评价研究中心, 上海 201203)

摘要: 目的 通过介绍体内各屏障高度表达的 P 糖蛋白外排作用对 HIV-1 蛋白酶抑制剂的影响, 探讨如何通过有效调节 P 糖蛋白, 优化对艾滋病患者的治疗。方法 查阅国外文献进行总结和归纳。结果 综述了 P 糖蛋白表达对 HIV-1 蛋白酶抑制剂在体内吸收、分布的影响。结论 P 糖蛋白一定程度地阻碍了 HIV-1 蛋白酶抑制剂在体内的吸收和分布, 通过抑制 P 糖蛋白的活性, 可以增加 HIV-1 蛋白酶抑制剂的化学疗效, 未来艾滋病的治疗, P 糖蛋白抑制剂的选择和使用将是一项艰巨的任务。

关键词: P 糖蛋白; 分布; 屏障

中图分类号: R962.2 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2010)04-0312-04

The Role of P-Glycoprotein Expression on Absorption and Distribution of HIV-1 Protease Inhibitors

YAO Yao, HU Zhuohan(*Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry, Shanghai 201203, China*)

ABSTRACT: OBJECTIVE By introducing the efflux function of P-glycoprotein(P-gp), the way to optimize the treatment of HIV-1 infection by modulation of P-gp was discussed. **METHODS** Searching and summarizing literatures about HIV-1 protease inhibitor and P-gp. **RESULTS** The effect of P-gp expression for HIV-1 protease inhibitor absorption and distribution was summarized. **CONCLUSION** P-gp can hamper the absorption and distribution of HIV-1 protease inhibitor. The therapeutic effect of HIV-1 protease inhibitors can be improved by modulating P-gp properly, however, the selection and use of P-gp inhibitor will be an arduous mission in the future.

KEY WORDS: P-glycoprotein; distribution; barrier

P-glycoprotein(P-gp), 是 1976 年由 Juliano 和 Ling^[1]在中国仓鼠卵母细胞中发现的依赖于 ATP 的输出转运蛋白。它的分子量为 170 ku, 作为一种糖蛋白, 它可以调节细胞膜对某些药物的通透性, 因此又称为 P 糖蛋白。P-gp 由 2 个同源对称结构组成, 总共包括 1 280 个氨基酸, 2 个 ATP 结合区域, 12 个跨膜区, 这 2 个同源结构相互作用形成独立的功能基团。当底物与细胞内 P 糖蛋白的特定基团结合后, ATP 水解将底物排出细胞。P-gp 在人体主要分布在肾脏和肾上腺^[2], 其次分布在肝脏、小肠、结肠、大脑和胎盘, 另外在皮肤、心脏、外周血淋巴细胞中也有分布。它把进入细胞内的药物泵出, 减少机体对药物的吸收, 是药物吸收的一个重要生

化屏障, 是口服药物生物利用度低, 波动大的一个影响因素。最近几年来, 出现了不少新的 P-gp 底物, 例如地高辛、HIV-1 蛋白酶抑制剂(HIV-1 protease inhibitors 简称 PIs)、免疫抑制剂等, 某些底物也是 P-gp 的诱导剂或抑制剂, 因此在给药时, 不可避免地会产生药物相互作用。

现在获得 FDA 认可的 PIs 包括 ritonavir, indinavir, lopinavir, atazanavir, tipranavir 等 10 种 PIs, 它们是一类亲脂性的大分子化合物, 在体内的生物利用度较低。PIs 在体内主要被肝脏的 CYP3A4 酶代谢, 同时它们也是 P-gp 的底物, P-gp 在 PIs 吸收、分布及排泄的各个阶段都发挥了作用, 特别在血脑屏障、胎盘屏障, P-gp 的泵出作用减弱了药

作者简介: 姚瑶, 女, 硕士生 Tel: (021)50800333-116 E-mail: yaoyao110016@163.com

物对病毒复制和储存部位的作用。本文主要综述了 P-gp 对 PIs 在体内的吸收、分布的影响。

1 P-gp 对 PIs 吸收的影响

1.1 PIs 的吸收过程

药物的吸收过程是指药物由胃肠道进入门静脉的过程，小分子物质通过自由扩散透过肠壁细胞，大分子物质由载体转运。决定药物吸收的首先是药物的理化性质，其次是肠壁细胞内转运蛋白的转运。PIs 是分子量较大的亲脂性分子，随着胃肠道 pH 的不同溶解度也有差异，酸性条件下溶解度好，生理 pH 下溶解度较差，溶解后的药物通过肠道上皮细胞进入血液循环。

肠壁细胞内分布着各种转运蛋白，其中就包括 P 糖蛋白。它一方面限制药物由肠道进入血液循环，降低药物生物利用度；另一方面也参与药物由血液循环排泄入肠道的过程，促进药物排泄。在肠道^[3]，P-gp 主要集中在回肠和结肠，在空肠和十二指肠的分布较少，也就是说由近心端至远心端，P-gp 的分布逐渐增加。肠道内同时也分布着一些药物代谢酶，其中最主要的是 CYP3A4，与 P-gp 相反，由近心端至远心端分布逐渐减少。尽管如此，P-gp 与 CYP3A4 仍有很多共同的底物，很多研究者认为 P-gp 与 CYP3A4 在促进药物代谢消除上具有协同作用，一方面 P-gp 延长了药物在肠细胞的滞留时间，促进代谢酶将药物充分代谢；另一方面 P-gp 将药物代谢物泵入肠腔，促进代谢物的排泄以防止代谢酶达到饱和。

1.2 P-gp 对 PIs 吸收过程影响

Kim 等^[4]研究发现 P-gp 基因敲除小鼠 *mdr1a*(-/-) 体内 indinavir, saquinavir, nelfinavir 浓度较野生型小鼠高 2~5 倍，说明 P-gp 减少了这些 PIs 在体内的生物利用度。对于某些生物利用度非常低的 PIs，例如 saquinavir 的生物利用度只有 4%，较低的血浆浓度以及较大的个体差异使病毒更容易产生耐药性。有报道^[5]称通过优化前体药物结构，可以避免 P-gp 对药物的作用，达到理想的生物利用度。体外实验发现在 PIs 的羧基上结合不同氨基酸或者肽链，减少 P-gp 对它们的识别，可以提高 PIs 的吸收速度。许多药物可以调节 P-gp 的表达，Lohner 等^[6]发现黄酮类化合物可以增加小鼠胃肠道特别是结肠部分 P-gp 的表达，因此当它们与 PIs 联合给药时，可能会降低药物在体内的浓度。淋巴组织是 HIV-1 病毒在体内主要储存和复制的部位，Griffin 等^[7]发现 P-gp 与

CYP3A4 酶协同作用限制了肠系膜淋巴循环对 saquinavir 的摄取，使用 P-gp 抑制剂可以选择性地升高淋巴循环的药物浓度。某些 PIs 在治疗过程中，口服剂量较大，生物利用度较高，例如 indinavir，吸收后肠道转运蛋白迅速达到饱和，P-gp 的外排作用对它们吸收过程的影响可以忽略不计。

2 P-gp 对 PIs 体内分布的影响

HIV-1 病毒在感染初期由被感染的免疫细胞进入脑组织，引起神经系统识别紊乱，进一步发展成为认知、行动、行为障碍。PIs 虽然脂溶性较好，但由于分子量较大，蛋白结合率高，能够进入血脑屏障的药物十分有限，大量文献报道说明 P-gp 介导的泵出作用是造成脑中药物浓度较低的主要原因。

2.1 P-gp 对 PIs 在血脑屏障转运的影响

Polli 等^[8]利用 Caco-2 细胞实验发现 amprenavir 自基底膜向顶膜转运速度大于逆向的转运，P-gp 抑制剂 GF120918 可以逆转这种转运差异，说明 amprenavir 的外排作用是由 P-gp 所介导的。Megard 等^[9]利用内皮细胞和星状细胞建立的血脑屏障 (BBB) 模型，发现 indinavir 由基底侧向顶端的转运要大于逆向的转运，P-gp 抑制剂可以逆转这一过程，增加 indinavir 在细胞内的浓度，体内实验也证实 indinavir 在 *mdr1a*(-/-) 小鼠脑组织的浓度是 *mdr1a*(+/+) 小鼠的 5 倍。Park 等^[10]使用在体大鼠脑灌注的方法发现 saquinavir 是 P-gp 和多药耐药蛋白 (Mrps) 的底物。Hamidi^[11]研究了 P-gp 在大鼠体内对 indinavir 组织分布的影响，使用 P-gp 抑制剂 PSC833 (环孢菌素 D 的衍生物) 使 indinavir 在脑组织摄取大大增加。Bousquet 等^[12]利用 BBB 模型发现在 P-gp 抑制剂 PSC833 作用下，atazanavir 从脑细胞的泵出明显减少，说明 P-gp 也参与 atazanavir 的转运过程。无论是体外还是体内，这些结果都说明了 P-gp 作为转运蛋白，参与调节了 PIs 在脑组织的分布。

由于 P-gp 的表达限制了脑组织对 PIs 的摄取，科学家们开始使用特定的抑制剂来抑制 P-gp 的外排作用。有实验^[13]表明静脉注射 P-gp 抑制剂 LY-335979 可以使 nelfinavir 在脑中浓度增加 37 倍。PIs 本身也可以调节 P-gp 的表达，Zastre 等^[14]发现体外微血管内皮细胞长期暴露于 atazanavir 和 ritonavir 一定药物浓度下，P-gp 的表达会上调。一些中草药也会调节 P-gp，例如圣约翰草 (St. john's

wort)可以诱导 P-gp,降低 indinavir 和 saquinavir 在组织的浓度。因此在艾滋病治疗中,不仅需要有良好的 P-gp 抑制剂,还要避免使用可以诱导 P-gp 的药物,从而延缓艾滋病脑病的发生。

2.2 P-gp 对 PIs 在胎盘屏障转运的影响

药物通过胎盘屏障的能力取决于药物的脂溶性、分子量、血浆蛋白的结合率等。在怀孕妇女用药时,胎盘屏障可以避免胎儿暴露在药物环境中,然而对于感染 HIV-1 的妇女,为了避免母婴传播,特别是感染率较高的怀孕后期和生产过程,需要维持胎盘中的有效的药物浓度。

Smit 等^[15]研究药物 digoxin, saquinavir, paclitaxel 在 3 种不同 P-gp 基因型小鼠 Mdr1a(+ +)/1b(+ +), Mdr1a(+ -)/1b(+ -), Mdr1a(- -)/1b(- -)的胎盘转运,发现基因敲除小鼠胎盘药物浓度分别是野生型小鼠的 2.4, 7, 16 倍,说明 P-gp 限制了这些药物在胎盘的转运。Sudhakaran 等^[16-17]通过离体胎盘灌注实验研究 indinavir 的双向转运,发现 indinavir 由母体向胎儿的转运明显低于反方向的转运, P-gp 抑制剂 PSC833 使得 indinavir 由母体向胎儿的转运明显增高,首次证明了 indinavir 在母体和胎儿之间的转运差异。Camus 等^[18]研究了 HIV-1 感染妇女怀孕期间 P-gp 在胎盘的表达,PCR 定量显示 P-gp 在艾滋病妇女中的表达量是正常妇女的 3.3 倍,因此怀孕艾滋病感染者需要适量地增加药物剂量,或服用 P-gp 抑制剂来维持胎儿外环境的药物浓度。P-gp 抑制剂对于防止母婴传播艾滋病有一定的作用,很多研究也证实胎盘中的 P-gp 可以完全被抑制,然而所伴随的药物毒性还不确定,在使用 P-gp 抑制剂治疗时,母体和胎儿的生理因素都要考虑,如何合理地使用 P-gp 抑制剂将是未来的一大挑战。

2.3 P-gp 对 PIs 在外周血淋巴细胞转运的影响

Ford 等^[19]分别测定了血浆和细胞内 saquinavir 和 ritonavir 的浓度,发现在血浆中药物浓度低于有效浓度时,体内药物仍具有抑菌活性,这是因为药物在细胞中的半衰期大于血浆中的半衰期,说明细胞内药物浓度监测在临床上具有一定意义。淋巴细胞是艾滋病病毒攻击和复制的主要部位,早期 Lee 等^[20]发现淋巴细胞内 MDR-1 基因(编码 P-gp)的过表达会降低 CD4⁺细胞对病毒的敏感性,避免 HIV-1 病毒对细胞的侵染。后来 Chaillou 等^[21]发现艾滋病感染者淋巴细胞内 MDR-1 基因的过表达减少了 PIs 在细胞内的聚集。因此, P-gp 在淋巴细胞中究竟是

外排作用占主导,还是降低细胞敏感性占主导还需要进一步的探讨。

Sankatsing^[22-23]通过单克隆抗体实验发现 HIV-1 感染者的 CD4⁺细胞中 P-gp 表达增加,外排能力却减弱,这说明艾滋病患者体内 P-gp 的功能减弱了。Colombo 等^[24]收集了 133 名 HIV-1 感染者服药后各个时间点的血浆和外周血淋巴细胞,发现 PIs 在细胞内的浓度与 P-gp 的表达没有关系。他还研究了 P-gp 的活性对病毒载量的净效应,发现 P-gp 介导的外排作用并不影响细胞内的药物浓度,与临床相关性较小。然而 Janneh 等^[25]研究了 P-gp 特异性抑制剂对 lopinavir 在细胞内的转运的影响,通过抑制 P-gp 使 lopinavir 在淋巴细胞内的聚集增加了。Bramuglia^[26]研究 indinavir 在体内的药动学与 P-gp 在外周血淋巴细胞表达活性的关系,发现 P-gp 的活性与 indinavir 的暴露水平负相关,但由于使用的是健康受试者,还不能真实模拟艾滋病感染者的状况。目前还不清楚这些结论相互矛盾的原因,可能是由于不同的试验条件以及多种转运蛋白参与了细胞内 PIs 的转运所造成的。总之,无论 P-gp 的哪一种作用占主导,我们都可以利用它的特点,来改善对艾滋病患者的治疗。

3 结语

艾滋病感染者的治疗,最重要的是维持血浆和组织有效的血药浓度,防止耐药菌株的产生。通过一定程度地抑制 P-gp 的活性,可以增加底物 PIs 的疗效。简单的说,使用有效的 P-gp 抑制剂,通过抑制肠壁细胞的 P-gp 来增加 PIs 的吸收和肠系膜淋巴循环的药物浓度;通过抑制组织中的 P-gp 来增加药物在脑组织、胎盘组织的分布;通过调节细胞中的 P-gp 来降低细胞的敏感性或增加淋巴细胞内 PIs 的浓度。Huisman^[27]针对 P-gp 抑制剂的使用提出了 3 点问题:患者身体的接受能力;是否存在有效的抑制剂以及抑制剂的使用;是否能有效增加治疗效果。研究发现 P-gp 基因敲除小鼠与正常小鼠相比,对药物毒性反应更加敏感,更容易产生细菌引起的肠道炎症,因此要在人体内长期地抑制 P-gp 的活性还需要慎重。目前所使用的 P-gp 抑制剂主要有环孢菌素 A 类似物(PSC833)、吡啶类衍生物(GF120918)等,它们虽然一定程度增加了抗病毒药物的生物利用度,也不可避免产生了毒性。近几年比较流行在一些中草药中寻找可以抑制 P-gp 的成分,然而这一想法还有待进一步的研究。P-gp 作为

构成体内的生理屏障,在艾滋病毒感染的病理生理学过程也发挥了作用,研究发现处于潜伏期的受感染淋巴细胞具有较强的耐药性,在被激活之前对药物及 P-gp 抑制剂均不敏感。除了大脑和淋巴细胞等组织,某些组织细胞也表达 P-gp, P-gp 的抑制是否会影响正常细胞的功能还不得而知。因此 P-gp 抑制剂的安全性还需要进一步临床前及临床研究来证实。未来艾滋病的治疗, P-gp 抑制剂应用的这 3 大问题将是一个值得深入研究的课题。

REFERENCES

- [1] CHAN L M, LOWES S, HIRST B H. The ABCs of drug transport in intestine and liver: efflux proteins limiting drug absorption and bioavailability [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2004, 21(1): 25-51.
- [2] MARCHETTI S, MAZZANTI R, BEIJNEN JH, et al. Concise review: Clinical relevance of drug drug and herb drug interactions mediated by the ABC transporter ABCB1 (MDR1, P-glycoprotein) [J]. *Oncologist*, 2007, 12(8): 927-941.
- [3] TAKANO M, YUMOTO R, MURAKAMI T. Expression and function of efflux drug transporters in the intestine [J]. *Pharmacol Ther*, 2006, 109(1/2): 137-161.
- [4] KIM RB, FROMM MF, WANDEL C, et al. The drug transporter P-glycoprotein limits oral absorption and brain entry of HIV-1 protease inhibitor [J]. *J Clin Invest* 1998, 101(2): 289-294
- [5] JAIN R, AGARWAL S, MAJUMDAR S, et al. Evasion of P-gp mediated cellular efflux and permeability enhancement of HIV-protease inhibitor saquinavir by prodrug modification [J]. *Int J Pharm*, 2005, 303(1/2): 8-19.
- [6] LOHNER K, SCHNABELE K, DANIEL H, et al. Flavonoids alter P-gp expression in intestinal epithelial cells *in vitro* and *in vivo* [J]. *Mol Nutr Food Res*, 2007, 51(3): 293-300.
- [7] GRIFFIN B T, O'DRISCOLL C M. An examination of the effect of intestinal first pass extraction on intestinal lymphatic transport of saquinavir in the rat [J]. *Pharm Res*, 2008, 25(5): 1125-1133.
- [8] POLLI J W, JARRETT J L, STUDENBERG S D, et al. Role of P-glycoprotein on the CNS disposition of amprenavir (141W94), an HIV protease inhibitor [J]. *Pharm Res*, 1999, 16(8): 1206-1212.
- [9] MEGARD I, GARRIGUES A, ORLOWSKI S, et al. A co-culture-based model of human blood-brain barrier: application to active transport of indinavir and *in vivo-in vitro* correlation [J]. *Brain Res*, 2002, 927(2): 153-167.
- [10] PARK S, SINKO P J. P-glycoprotein and multidrug resistance-associated proteins limit the brain uptake of saquinavir in mice [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2005, 312(3): 1249-1256.
- [11] HAMIDI M. Role of P-glycoprotein in tissue uptake of indinavir in rat [J]. *Life Sci*, 2006, 79(10): 991-998.
- [12] BOUSQUET L, ROUCAIROL C, HEMBURY A, et al. Comparison of ABC transporter modulation by atazanavir in lymphocytes and human brain endothelial cells: ABC transporters are involved in the atazanavir-limited passage across an *in vitro* human model of the blood-brain barrier [J]. *AIDS Res Hum Retroviruses*, 2008, 24(9): 1147-1154.
- [13] ANDERSON B D, MAY M J, JORDAN S, et al. Dependence of nelfinavir brain uptake on dose and tissue concentrations of the selective P-glycoprotein inhibitor zosuquidar in rats [J]. *Drug Metab Dispos*, 2006, 34(4): 653-659.
- [14] ZASTRE J A, CHAN G N, RONALDSON P T, et al. Up-regulation of P-glycoprotein by HIV protease inhibitors in a human brain microvessel endothelial cell line [J]. *J Neurosci Res*, 2009, 87(4): 1023-1036.
- [15] SMIT J W, HUISMAN M T, VAN TELLINGEN O, et al. Absence or pharmacological blocking of placental P-glycoprotein profoundly increases fetal drug exposure [J]. *J Clin Invest*, 1999, 104(10): 1441-1447.
- [16] SUDHAKARAN S, GHABRIAL H, NATION R L, et al. Differential bidirectional transfer of indinavir in the isolated perfused human placenta [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2005, 49(3): 1023-1028.
- [17] SUDHAKARAN S, RAYNER C R, LI J, et al. Inhibition of placental P-glycoprotein: impact on indinavir transfer to the foetus [J]. *Br J Clin Pharmacol*, 2008, 65(5): 667-673.
- [18] CAMUS M, DELOMENIE C, DIDIER N, et al. Increased expression of MDR1 mRNAs and P-glycoprotein in placentas from HIV-1 infected women [J]. *Placenta*, 2006, 27(6/7): 699-706.
- [19] FORD J, BOFFITO M, WILDFIRE A, et al. Intracellular and plasma pharmacokinetics of saquinavir-ritonavir, administered at 1 600/100 milligrams once daily in human immunodeficiency virus-infected patients [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2004, 48(7): 2388-2393.
- [20] LEE CG, RAMACHANDRA M, JEANG K T, et al. Effect of ABC transporters on HIV-1 infection: inhibition of virus production by the MDR1 transporter [J]. *FASEB J*, 2000, 14(3): 516-522.
- [21] CHAILLOU S, DURANT J, GARRAFFO R, et al. Intracellular concentration of protease inhibitors in HIV-1-infected patients: correlation with MDR-1 gene expression and low dose of ritonavir [J]. *HIV Clin Trials*, 2002, 3(6): 493-501.
- [22] SANKATSING S U, BEIJNEN J H, SCHINKEL A H, et al. P-glycoprotein in human immunodeficiency virus type 1 infection and therapy [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2004, 48(4): 1073-1081.
- [23] SANKATSING SU, CORNELISSEN M, KLOOSTERBOER N, et al. Antiviral activity of HIV type 1 protease inhibitors nelfinavir and indinavir *in vivo* is not influenced by P-glycoprotein activity on CD4+ T cells [J]. *AIDS Res Hum Retroviruses*, 2007, 23(1): 19-27.
- [24] COLOMBO S, TELENTI A, BUCLIN T, et al. Are plasma levels valid surrogates for cellular concentrations of antiretroviral drugs in HIV-infected patients [J]. *Ther Drug Monit*, 2006, 28(3): 332-338.
- [25] JANNEH O, JONES E, CHANDLER B, et al. Inhibition of P-glycoprotein and multidrug resistance-associated proteins modulates the intracellular concentration of lopinavir in cultured CD4 T cells and primary human lymphocytes [J]. *J Antimicrob Chemother*, 2007, 60(5): 987-993.
- [26] BRAMUGLIA G F, CORTADA C M, CURRAS V, et al. Relationship between P-glycoprotein activity measured in peripheral blood mononuclear cells and indinavir bioavailability in healthy volunteers [J]. *J Pharm Sci*, 2009, 98(1): 327-336.
- [27] HUISMAN M T, SMIT J W, SCHINKEL A H. Significance of P-glycoprotein for the pharmacology and clinical use of HIV protease inhibitors [J]. *AIDS*, 2000, 14(3): 237-242.

收稿日期: 2009-10-26