

鼻用生物制品的进展与挑战

马琳莎^{1,2}, 贾国舒³, 周一萌⁴, 曹萌⁴, 刘芬^{4*} (1.中国科学院大学, 北京 100049; 2.上海科技大学, 上海 201210; 3.中国药科大学, 南京 211198; 4.上海药品审评核查中心, 上海 201210)

摘要: 生物制品发展迅猛, 在应对多类疾病的治疗时展现出其独特的优势与潜力。然而目前常用的口服、注射等给药方式中, 生物制品常存在稳定性差、体内半衰期短、中枢神经系统利用度差等问题, 限制了生物制品的应用范围与发展。通过鼻腔对生物制剂进行给药的鼻用生物制品, 充分利用鼻腔中天然存在的鼻脑通路、黏膜免疫淋巴组织等功能组分递送药物分子, 具有高效递送、提高药物利用度的潜力, 成为一种很有前景的策略。本文通过已发表文献、临床试验数据库、相关产品信息等公开资料, 从作用机制、应用现状、发展前景等方面对鼻用大分子治疗药物、鼻用疫苗及鼻用细胞疗法等鼻用生物制品主要类别的研究现状进行总结, 进一步对鼻用生物制品的发展提出建议。

关键词: 鼻用生物制品; 大分子药物; 疫苗; 细胞治疗

中图分类号: R945 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2023)20-2802-09

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.20231878

引用本文: 马琳莎, 贾国舒, 周一萌, 等. 鼻用生物制品的进展与挑战[J]. 中国现代应用药学, 2023, 40(20): 2802-2810.

Advances and Challenges in Intranasal Biologics

MA Linsha^{1,2}, JIA Guoshu³, ZHOU Yimeng⁴, CAO Meng⁴, LIU Fen^{4*} (1. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; 2. ShanghaiTech University, Shanghai 201210, China; 3. China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, China; 4. Shanghai Center for Drug Evaluation and Inspection, Shanghai 201210, China)

ABSTRACT: Biologics are developing rapidly and have demonstrated their unique advantages in the treatment of many diseases. And with common administration, like oral and injection, biological products often have problems in instability, short half-life and poor utilization of the central nervous system, which limits the application scope and development of biological products. Intranasal biologics are promising strategy taking advantages in nasal administration that bypass the restrictions *in vivo*, like blood-brain-barrier, to improve the drug availability in the target site, which have potential to improve efficient delivery and the availability. According to published literature, clinical databases, industry guidelines around the world, this review highlighted the recent progress in intranasal macromolecular drugs, intranasal vaccine and intranasal cell therapy, which were the main fields of intranasal biologics, offering perspectives suggestions for the further development of this field.

KEYWORDS: intranasal biopharmaceutical; macromolecular drugs; vaccine; cell therapy

生物制剂市场规模发展迅速, 在治疗多类疾病, 如中枢神经系统(central nervous system, CNS)疾病方面展现出独特的优势。美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)官网上关于生物制剂定义及特质的问答中提及, 生物制品包括广泛的产品类型, 具有特殊的性质(大多数生物制剂是复杂的混合物, 不容易识别或表征, 往往对热敏感, 易受微生物污染), 通常代表了生物医学研究的前沿, 并且随着时间的推移, 可以提供有效的方法来治疗目前没有其他治疗方法的疾病。在中国, 国家药品监督管理局近年来推出及修订了多项生物制品相关的法规、条例,

如 2019 年推出了《中华人民共和国疫苗管理法》, 2020 年公布了《药品生产质量管理规范(2010 年修订)》生物制品附录修订稿。生物制品的独特优势及关注度不断展现。

然而生物制品应用过程中, 借助常用的给药方式(如口服、注射等), 生物活性分子存在易降解、不稳定、难以透过生理屏障等问题, 限制了生物制剂的应用。尤其在 CNS 疾病治疗方面, 生物分子极难透过血脑屏障, 因而在中枢神经系统中几乎没有生物利用度。鼻腔给药利用鼻腔内存在的鼻脑通路, 具有丰富的血管、神经及淋巴组织分布, 能为生物制剂提供一条高效的递送途径, 提

作者简介: 马琳莎, 女, 博士生 E-mail: linsha003@126.com

*通信作者: 刘芬, 女, 硕士, 高级工程师 E-mail: ysluifen@smda.sh.cn

高生物药物分子的生物利用度,是绕开生物分子生理条件下的限制的一种递送策略。本文按照当下鼻用生物制剂的应用方向,重点介绍了鼻用大分子治疗用生物制品、鼻用疫苗和鼻用细胞疗法的应用现状、作用机制、发展趋势,并在此基础上总结了鼻用大分子生物制剂发展的共性问题,为该领域的发展提供建议。

1 鼻用生物大分子

多肽和蛋白制品在靶向治疗领域有着广泛应用。特别在缺少小分子抑制剂的蛋白相互作用靶点或所谓“不能成药”靶点的药物开发方面,大分子治疗用生物制品有着较大的应用空间。但是多肽和蛋白制品容易发生水解降解,往往难以采用口服给药形式;此外,由于多数大分子治疗用生物制品具有较高的生物活性,在应用于 CNS 时,注射给药的方式下药物通过血液输送到大脑需要一定的时间,难以透过血脑屏障,且易与血浆蛋白结合,生物大分子不仅可能会被快速清除,并且会因需要较大的给药剂量而造成脱靶效应、全身药物递送的外周副作用等安全性问题^[1-2]。鼻腔给药有助于解决生物利用度(特别是脑内)的问题,因此已经成为大分子药物递送方面很有前景的一种策略,有望用于内分泌、癫痫、抑郁、阿尔茨海默病等疾病的治疗。

1.1 特点

鼻腔给药可能通过鼻嗅上皮的颅骨解剖间隙绕过血脑屏障,在神经连接到嗅球的区域,多肽可通过嗅觉上皮细胞进入大脑,然后沿着嗅觉和三叉神经通路进一步以非侵入性方式进入大脑远端,虽然针对 CNS 的鼻腔给药治疗的确切机制、部位和作用途径仍在研究中,但药物和示踪分子研究显示其很可能通过脑脊液、嗅觉神经和三叉神经周围血管间隙的细胞外液分布在整个大脑中^[3]。鼻腔给药大分子还有可能直接进入体循环,避免胃肠道的水解降解和肝脏的首过代谢^[4]。

1.2 相关产品及研究

部分典型的鼻腔给药生物大分子相关产品和候选药物^[1,2,5-7]见表 1。

1.3 发展前景

近年来,大分子鼻用制剂快速发展,提供了一种安全、无创、靶向治疗的治疗方案。特别是用于鼻脑递送的亲水性短肽,由于体积小,可有效利用嗅觉/三叉神经和筛状间隙穿过血脑屏障,并在水性 CNS 环境中保持生物活性。在多数研究

中没有发现严重的脱靶效应,进一步支持了这种递送途径的靶向性。和口服小分子疗法相比,鼻用大分子疗法在靶向蛋白-蛋白相互作用(protein-protein interactions, PPIs)方面也具有优势,而 PPIs 长期以来被认为是一个“不可成药的靶点”。大分子鼻腔给药技术已成为一种可行的临床方法,用于安全、靶向递送中枢神经系统治疗药物,但是同时也存在以下挑战:①已报道的各项鼻内给药研究的治疗结果是复杂的,依赖于剂量和治疗时间,并且对于不同的疾病,单一大分子的治疗作用具有较高的变异性^[1];②由于递送生物大分子的表面和结构特点(如大小、亲脂性和解离能力)不同,鼻内制剂生物利用度有较大的差异,控制难度较大^[5];③需要进一步阐明药物从鼻腔转移到大脑的机制。

对鼻脑递送来说,脑疾病的鼻用脑内溶酶制剂的成功开发需要对脑分布模式的全面了解,特别是脑实质和脑脊液之间的药物交换。而且,准确了解疾病病理和靶点因素对于设计有效的给药系统至关重要。由于脑内的药物浓度难以通过现有分析技术直接测定,而且,嗅区的位置和表面积限制了鼻脑递送剂量,嗅觉细胞和神经通路多种摄取或外排转运机制也对药物的脑内分布有影响,外加复杂的脑靶点结合动力学,大分子在脑中往往不能进一步分布,鼻用生物大分子的药动学方面尚缺乏科学且通用的评价方法。此外,需要进一步阐明大分子药物从鼻腔转移到大脑的机制,以便开发合适的装置将药物递送到鼻腔的特定区域。

因此,未来还需要更加全面的临床设计,获得更多的研究数据,以更充分地理解大分子鼻腔给药的药理、药效、安全性和可靠性^[2]。此外,多肽和蛋白制品在制剂研究中的新进展^[8],也有望改善鼻腔给药的嗅觉吸附、吸收效率和稳定性。

2 鼻用疫苗

鼻用疫苗是鼻用生物制剂中的重要组成部分。早在 20 世纪 30 年代,国外就开展了鼻用疫苗的临床研究^[9]。20 世纪 70 年代鼻用流感疫苗首用于人体,随后也有多个鼻用疫苗应用于呼吸道疾病预防^[10]。近代以来,以呼吸道疾病为主的疾病大流行频发,如新型冠状病毒感染大流行,鼻用疫苗能在人体黏膜(如呼吸道)表面诱导产生黏膜免疫,在呼吸道病毒入侵人体的“门户”上构建防线,弥补了传统肌注型疫苗诱导黏膜免疫方面的不足,因而吸引了越来越多的关注^[11-12]。

表 1 鼻用生物大分子已上市产品及相关临床、临床前研究实例

Tab. 1 Summary of marked, clinical and pre-clinical human intranasal biologics products

药物名称	主要适应证(目前阶段)
鲑降钙素(Salmon calcitonin)	骨质疏松症(已上市: Miscalcic®诺华/山道士, Fortical®尤尼基实验室)
醋酸去氨加压素(Desmopressin acetate)	原发性夜间遗尿、中枢性脑积水(已上市: Minirin®瑞士辉凌、去氨加压素 USP 鼻喷剂-加拿大奥贝泰克)
胰高血糖素(Glucagon)	严重低血糖急救(已上市: Baqsimi®礼来)
肾上腺素(Epinephrine)	I 型过敏反应(已上市: Neffy®ARS Pharma)
醋酸布舍瑞林(Buserelin acetate)	前列腺癌, 子宫内腺异位(已上市: Suprecur®赛诺菲-安万特)
醋酸那法瑞林(Nafarelin acetate)	子宫内腺异位症, 中枢性早熟(已上市: Synarel®辉瑞)
戈那瑞林, LHRH(Gonadorelin, LHRH)	隐睾(已上市: Kryptocur®)
普罗瑞林(Protirelin)	甲状腺功能减退和肢端肥大症(已上市: Antepan®赛诺菲-安万特)
氰钴胺素(维生素 B ₁₂)(Cyanocobalamin)	维生素 B ₁₂ 缺乏症(已上市: Nascobal®爱尔兰远藤国际)
胰岛素(Insulin)	阿尔茨海默病(Phase 2/3), 轻度认知障碍(Phase 2), 帕金森病(Phase 2), 多系统萎缩(Phase 2)
神经生长因子(NGF)	创伤性脑损伤(Phase 2), 急性缺血性脑卒中(Phase 4), 重度抑郁症(pre-clinical)、额颞叶痴呆(pre-clinical)
碱性成纤维生长因子(bFGF)	阿尔茨海默病(pre-clinical)
血管活性肠肽(VIP)	偏头痛、鼻窦炎(Phase 4), 阿尔茨海默病(pre-clinical)
S14G-Humanin (S14G-HN)	阿尔茨海默病(pre-clinical)
β 片层阻断肽(H102 peptide)	阿尔茨海默病(pre-clinical)
清除肽(V24P)	阿尔茨海默病(pre-clinical)
催产素(OT)	子宫收缩(已上市: Syntocinon™诺华), 普拉德-威利综合征(Phase 2), 神经性厌食症(Early Phase 1), 经前焦虑症(Phase 2/3), 精神分裂症(Early Phase 1)
精氨酸加压素(Arginine vasopressin)	自闭症(Phase 2/3)
脑源性神经营养因子(BDNF)	重度抑郁症(pre-clinical)
促红细胞生成素(EPO)	帕金森病(Phase 1/2)
胶质细胞源性神经营养因子(GDNF)	帕金森病(pre-clinical)
胰高血糖素样肽-1(GLP-1)	阿尔茨海默病(pre-clinical)
NEMO 结合域肽(NBD)	神经退行性疾病(pre-clinical)
神经肽 Y(NPY)	创伤后应激障碍(Phase 1/2), 情绪障碍、焦虑症(Phase 2)
垂体腺苷酸环化酶激活肽(PACAP)	阿尔茨海默病(pre-clinical), 亨廷顿氏舞蹈症(pre-clinical)

2.1 免疫机制

生物体内的适应性免疫的经典例子包括体液免疫及细胞免疫。而黏膜免疫系统是除了经典细胞免疫与体液免疫之外, 存在于机体的另一套结构完整、调节完善的免疫系统^[13]。对生物体而言, 黏膜不断暴露于外部环境, 是各种外来抗原(包括病原体)的主要进入位点, 能根据捕获到的抗原, 诱导机体产生相应的特异性免疫球蛋白并在黏膜表面分布, 成为保护机体的第一道强大的免疫屏障^[14-15]。对于外界致病性抗原而言, 它能产生强大的免疫反应。对于非致病性抗原而言, 它能保持免疫耐受。鼻咽相关淋巴组织(nasopharyngeal-associated lymphoid tissue, NALT)是鼻腔内黏膜免疫产生的主要场所, 也是鼻用疫苗主要的效应组织^[16]。尤其 NALT 能够同时产生黏膜、经典的细胞及体液免疫三重免疫应答, 而其他黏膜组织(如

口腔黏膜、阴道黏膜)并不具有这一特性。

NALT 及紧邻覆盖的上皮层构成了一系列的“免疫产生器”: 上皮层里包含了专门负责摄取抗原的微皱壁细胞(下称 M 细胞), NALT 里包含了树突细胞、B 细胞、T 细胞以及巨噬细胞。当抗原接触黏膜上皮时, M 细胞摄取周围的抗原传递给其下方聚集分布的抗原呈递细胞(如树突细胞)。抗原呈递细胞吞噬并将抗原处理成抗原肽, 呈递给周围的 T 细胞。T 细胞受到抗原肽的刺激后, 产生特定的细胞因子, 激活 B 细胞。B 细胞被激活后分化产生能表达特异性免疫球蛋白(IgA)的 B 细胞。这些抗原特异性的 T 细胞以及 IgA⁺B 细胞通过胸导管或血液循环从免疫反应的产生部位迁移至作用部位(如鼻黏膜)。免疫过程中产生的特异性记忆 B 细胞长期存在于 NALT 中, 在人体再次暴露于相同或类似病原体时能迅速应答, 抵御病原

体的入侵^[17-21]。此外,由于淋巴细胞归巢通路的存在,鼻腔内产生的黏膜免疫能传递到机体其他黏膜部位,诱导产生相同的免疫反应,因而能够在呼吸道、消化道及生殖上皮等部位构建起联合的防护屏障^[22]。

2.2 优势

目前广泛应用的注射型疫苗能诱导机体产生特异性的体液免疫及细胞免疫,但刺激黏膜细胞分泌产生免疫球蛋白 A 效率不高。而与注射型疫苗不同,鼻用疫苗将抗原或偶联修饰后的抗原递送到鼻腔黏膜的表面,诱导机体产生全身的系统性免疫,尤其能在黏膜表面分布特异性 IgA 抗体,预防或减轻病原体经黏膜途径入侵造成的人体损伤^[12]。临床研究结果显示,肌注型疫苗通常对上呼吸道的病毒复制和脱落几乎没有提供任何保护(因为这种保护需要存在局部 sIgA 免疫反应)^[19]。正如布莱尔等^[23]研究者发布的论文指出,腺病毒(Ad26)和 mRNA(mRNA-1273)肌注型疫苗的临床前研究表明,“尽管动物得到了疫苗的保护,但鼻拭子中的病毒持续存在”。对仓鼠和恒河猴鼻内疫苗的研究^[24]普遍表明,鼻用疫苗不仅在病毒的入口(例如鼻腔)中,而且在下呼吸道中,都会诱导黏膜免疫反应并防止或显著减少病毒脱落,从而防止或显著减少动物之间的传播。

此外鼻用疫苗为无损伤接种方式,避免了接种者因接种而产生疼痛与恐惧。当使用安全、友好的给药装置后,鼻用疫苗具有创建零医护人员参与的自我接种模式的潜力,在大规模接种以及医护工作者紧缺的欠发达地区推广方面具有优势。

2.3 上市及临床研究现状

目前全球多项预防新型冠状病毒感染、流感等疾病的疫苗选用鼻腔途径开发疫苗产品。截至 2022 年末,全球共上市了 7 个人用鼻喷疫苗产品,分别应用于预防流感病毒感染及新型冠状病毒感染^[11]。

结合参考文献及 Insight 数据库检索整理所得的鼻喷疫苗上市产品见表 2。

已上市的鼻喷流感病毒疫苗有 4 个,均为减毒病毒疫苗。20 世纪 70 年代苏联实验医学研究所研制出了第 1 个人用鼻喷疫苗-Ultravac[®]冷适应减毒流感疫苗。美国 FDA 2003 年批准了鼻喷流感减毒活疫苗 FluMist[®]上市使用,也是目前美国境内唯一获批的鼻喷疫苗产品^[25]。FluMist[®]的欧洲版本 Fleunz Tetra[®] 2013 年在欧洲获批上市,同时也在日本等多个国家投入使用。中国长春百克生物科技有

限公司及印度血清研究所也分别于 2020 年、2014 年推出各自的鼻用流感疫苗产品。

表 2 鼻用疫苗上市产品
Tab. 2 Summary of marked human intranasal vaccine

产品名称	适应证	上市地区及时间	研发机构
Ultravac [®]	流感病毒感染	苏联(1987)	苏联实验医学研究所
Nasovac-S [®]	流感病毒感染	印度(2014)	印度血清研究所
感雾 [®]	流感病毒感染	中国(2020)	长春百克生物科技股份有限公司
FluMist [®]	流感病毒感染	美国(2003)	阿斯利康制药公司
Fleunz Tetra [®]	流感病毒感染	欧洲(2013)	
dNS1-RBD	新型冠状病毒感染	中国(2022)	北京万泰生物药业股份有限公司
Salnavak [®]	新型冠状病毒感染	俄罗斯(2022)	俄罗斯 Gamaleya 研究所
Covaxin [®]	新型冠状病毒感染	印度(2022)	巴拉特生物技术公司

已上市的鼻喷新型冠状病毒疫苗有 3 个,疫苗类型相对多样。Covaxin[®]为灭活全病毒疫苗,添加了咪唑喹啉(imidazoquinoline, IMDG)和十二水硫酸铝钾 2 种佐剂以提高免疫原性^[26]。值得一提的是,IMDG 是一种新型佐剂,以往从未在任何疫苗中使用过。俄罗斯境内上市的 Salnavak[®]是联合载体的疫苗。国内市场上,北京万泰生物生产的 dNS1-RBD 是基于双重减毒的流感病毒载体开发出的携带新型冠状病毒 RBD 基因的疫苗。

根据 WHO 官网的数据,截至 2023 年 3 月,全球共有 183 项新型冠状病毒疫苗相关的临床研究,其中 16 项为鼻喷疫苗。目前也有多项鼻喷疫苗研发项目处于临床研究或临床前研究阶段,见表 3。如长春百克生物科技股份有限公司已有一个冻干流感鼻喷疫苗产品上市,同时还有非冻干流感减毒活疫苗处于临床 II 期研究中。妙佑医疗国际有限公司的无佐剂鼻内新型冠状病毒疫苗加强针处于临床 I 期研究中。

除流感病毒及新型冠状病毒感染预防这 2 种主要的适应证外,鼻喷疫苗在类鼻疽、百日咳及结核等疾病预防方面也有临床研究在进行中。

2.4 研究关注点:有效诱导黏膜免疫及安全性

能否有效诱导黏膜免疫是鼻用疫苗的重要效用指标。而部分研究结果显示,良好的黏膜免疫诱导可能与疫苗的制剂策略相关^[27]。如一项开发中的鼻腔喷雾疫苗在 I 期研究中表现不佳,研究者认为该现象可能与疫苗在鼻腔能停留时间短,免

表 3 鼻用疫苗临床及临床前研究案例

Tab. 3 Examples of clinical and pre-clinical intranasal vaccine

产品名称	适应证	研究阶段	研发机构
非冻干流感减毒活疫苗	流感病毒感染	临床 II 期	长春百克生物科技股份公司
无佐剂鼻内新型冠状病毒疫苗加强针	新型冠状病毒感染	临床 I 期	妙佑医疗国际
经鼻给药新型冠状病毒 mRNA 疫苗-NanoCelle	新型冠状病毒感染	临床前	耶鲁大学
冻干鼻喷新型冠状病毒减毒活疫苗	新型冠状病毒感染	临床前	Medlab Clinical
鼻喷三价新型冠状病毒-三价流感病毒疫苗	新型冠状病毒感染	临床前	华兰生物疫苗股份有限公司
鼻喷 NDV 载体多价新型冠状病毒疫苗	新型冠状病毒感染	临床前	长春百克生物科技股份公司
鼻内新型冠状病毒疫苗	新型冠状病毒感染	临床前	浙江迪福润丝生物科技有限公司
类鼻疽疫苗	类鼻疽	临床前	陆军军医大学第二附属医院
鼻喷三价流感疫苗	流感病毒感染	临床前	浙江迪福润丝生物科技有限公司
鼻喷三价新型冠状病毒-三价流感病毒疫苗	流感病毒感染	临床前	北京万泰生物药业股份有限公司

疫原性不够有关。鼻喷疫苗作用的环境是鼻腔独特的生理环境。鼻腔内天然存在的纤毛、黏液清除及稀释机制,使得疫苗成分在鼻腔黏膜表面的接触时间及含量十分有限,使得疫苗效果的发挥需要针对性地开发一套行之有效的制剂策略,如搭配有效的递送系统、独特的增强免疫原性的佐剂^[28]。此外鼻腔独特的生理环境还体现在鼻内给药时,疫苗容易引发 Th17 免疫反应,这可能不利于肺部 SARS-CoV-2 的清除^[29]。因而选择引发特定适应性免疫反应的抗原也是鼻喷疫苗考量因素之一^[28]。

鼻喷疫苗的成分安全性需要谨慎评估。疫苗制品成分存在经鼻脑通路运输到 CNS 的可能性。鼻腔在解剖学上的一个特点是靠近 CNS。鼻腔靠后端的上部为嗅觉神经集中分布的区域—嗅区。在嗅区,嗅觉神经的中央轴突穿过筛板与 CNS 的嗅球相连,药物分子能够通过这一途径从鼻腔迁移至 CNS。这同时也意味着疫苗的成分也有迁移至中枢神经,引发神经系统异常的风险^[11]。在鼻喷疫苗独特的生理作用的大前提下,鼻喷疫苗的开发面临着许多新的佐剂及制剂体系,如前文所提首次用于疫苗的 IMDG。如何从研发开始就将使用的疫苗成分的安全性纳入考量,在临床中又如何对其安全性进行研究,尤其是 CNS 的安全性考量,是业界需要谨慎思考及评估的内容。此外疫苗本身毒性及病毒抗原毒力逆转等方面的安全性也是不可缺少的考量因素。

3 鼻用细胞疗法

鼻用细胞疗法是先进治疗产品研发的一个新的热点,在脑损伤修复、CNS 疾病治疗等方面有着一定的前景。作为一种新型给细胞方式,鼻内

给细胞有望绕过血脑屏障,利用间脑内第三脑室壁高渗透性、毛细血管多孔和缺乏正常的血脑屏障的特点,有效、无创地治疗脑部疾病^[30-31]。鼻内递送活细胞制剂发挥药效的生理基础与其他给药方式有所不同,存在较高的研发难度,并且仅适用于特定的作用机制,但相比于其他递送方式,仍存在其特有优势。经文献调研,全球范围暂未查见按药品获批上市的鼻用细胞疗法。美国临床试验数据库查询到目前经鼻递送干细胞产品临床研究约 8 项,大多处于 I 期或 II 期阶段。

3.1 生理基础

基础研究方面,对于细胞经鼻-脑迁移的路线尚无定论,目前推测很可能与嗅神经、脑膜、三叉神经有关。根据 Danielyan 等^[32]的研究,经鼻递送的细胞可以沿筛骨水平板-前脑路线,从鼻黏膜通过筛骨水平板迁移到大脑和脑脊液,以绕过血脑屏障。在细胞穿过筛骨水平板后,有 2 条可能的迁移路径。①嗅觉神经途径:干细胞通过胞吞、胞饮和被动扩散,沿着嗅觉神经迁移到嗅球和大脑的其他部位;②脑脊液吸收途径:通过沿着皮层表面的运动进入脑脊液,继而进入脑实质(脑膜循环路线)^[33]。另外,有研究指出细胞还可能通过三叉神经或吻侧迁移流实现从鼻至脑;脑膜循环、颈部淋巴结和“血管周围泵”对于细胞的鼻脑迁移也有可能的促进作用,这方面还有待进一步研究^[34]。

3.2 优势

除经鼻递送的方式外,将细胞递送至大脑主要可通过静脉、动脉、脑室、脊髓等路线完成,而这些方式在操作复杂性、麻醉方式、创伤程度、细胞分布区域、脱靶率等方面各不相同^[35]。

3.2.1 静脉注射 属于应用广泛的全身给药途

径, 并发症少。但可能导致细胞在肺、肝脏等外围器官损失, 细胞归巢到局部病灶的数量较少。另外, 和其他生物大分子相似, 细胞通过该方法难以突破血脑屏障^[36]。

3.2.2 动脉注射 使用导管将细胞植入颈动脉或大脑动脉环, 相比于静脉注射而言, 在体内的生物分布更为广泛, 但插管术操作对设备和操作者要求较高, 且动脉中干细胞可能形成微血栓阻塞血管, 有缺血性中风的风险^[36]。

3.2.3 鞘内注射 通过腰椎穿刺可直接将干细胞送入脑脊液中, 缺点在于患者手术后多出现腰椎穿刺并发症, 并且干细胞可能被脑脊液冲走, 无法到达靶区^[36]。

3.2.4 直接移植 将治疗细胞移植到大脑是促进 CNS 损伤或疾病恢复最常用的侵入性方法之一, 通过手术将细胞移植到 CNS 所需的位置^[36]。但直接移植存在两大缺陷: 一是具有移植免疫排斥反应; 二是产生严重机械性组织损伤。通过啮齿动物模型研究发现, 相较于鼻内递送, 直接移植的细胞更易脱靶^[32,34]。

3.2.5 侧脑室注射 与局灶性分布的脑实质内注射相比, 注入侧脑室的骨髓间充质干细胞一般呈弥漫性分布于整个脑室和大脑的各部位, 且该方法对设备和操作者的要求较高^[37]。

相比上述给药方式来说, 鼻内递送细胞的优点包括: ①绕开血脑屏障, 直接靶向 CNS; ②侵入性小, 微创或无创; ③减少全身暴露, 防止细胞在外围器官损失过多; ④细胞迁移到 CNS 速度快; ⑤操作复杂性较低; ⑥相较于颅内注射无需全身麻醉, 可实现干细胞的多次重复给药。

3.3 在研鼻用细胞制剂及其适应证

3.3.1 鼻用细胞制剂在研情况 较多临床前研究涉及胚胎干细胞、间充质干细胞、脑源性神经干细胞、造血干细胞、诱导多能干细胞。其中在鼻用细胞疗法方面, 间充质干细胞相关的临床研究较多, 其次是神经干细胞。

间充质干细胞是目前开展研究最多的干细胞种类, 具有易获取、易处理、移植后免疫排斥反应弱的优点, 能够分化成多种细胞, 且与胚胎干细胞相比伦理争议小^[38]。

骨髓间充质干细胞主要位于骨髓中, 也可从脐带血、胎盘等胚胎外组织分离获得。另外, 人脐带华通氏胶(Wharton's Jelly)中也可较容易地分

离获得间充质干细胞^[38]。相较于成人骨髓间充质干细胞, 出生相关组织来源的干细胞具有更强的增殖潜能和分化能力、更快的自我更新速度^[39]。在治疗机制方面, 已有研究证明, 骨髓间充质干细胞可分化为神经元和星形胶质细胞, 增加乙酰胆碱神经递质、脑源性神经营养因子、神经生长因子的局部浓度, 可以通过内源性修复机制治疗脑损伤、神经系统疾病^[39,41]。并且, 有研究显示鼻内递送间充质干细胞不仅能够改善运动功能障碍, 还可提高认知功能^[42]。

计算机检索美国临床试验数据库(ClinicalTrials.gov), 选取“Other terms: cell”和“Intervention/treatment: intranasal”作为检索字段, 截至 2023 年 4 月 17 日, 共检索到 144 项, 筛选出 8 项符合要求的鼻用细胞疗法临床试验登记项目, 见表 4。

3.3.2 临床研究针对的适应证总结 骨髓间充质干细胞经鼻递送的治疗潜力主要体现在脑血管疾病/损伤、神经退行性疾病和免疫介导的神经系统疾病等领域, 包括但不限于脑血管疾病、中风、创伤性脑损伤、多发性硬化症、阿尔茨海默病、帕金森病、脊髓病变和糖尿病神经病变^[36,43]。以上疾病的共同特征通常包括神经元或胶质细胞丢失、CNS 炎症和氧化应激等。

人胚胎干细胞和神经干细胞相比于间充质干细胞而言, 经鼻递送的临床试验项目较少。如果不考虑伦理问题的局限性, 人类胚胎干细胞具有广泛的临床应用, 如 Shroff^[44]将胚胎干细胞用于自闭症谱系障碍患者运动障碍和认知障碍的治疗。

除了针对上述疾病或症状进行治疗外, 鼻内递送细胞还可用于构建脑肿瘤模型, 探索肿瘤细胞经过鼻腔转移到大脑的路径^[36]。

3.4 鼻用细胞疗法的挑战

由于经鼻递送是一种较新的给药方式, 在作用机制以及临床应用方面尚有待进一步研究。

3.4.1 生理作用机制有待进一步阐明 ①鼻脑迁移通路: 现有研究尚未明确细胞从鼻黏膜迁移到大脑的确切路径, 尤其是关于嗅神经/吻侧迁移流/三叉神经通路的证实, 以及从嗅球到大脑迁移路径的研究^[36]。②淋巴结和血管周围泵的作用: 小鼠模型上的研究结果显示, 经鼻递送的人类胶质瘤细胞可以迁移到包括嗅球、额叶皮质和海马区在内的多个大脑区域, 淋巴系统和深颈淋巴结可能是其潜在的迁移途径。但目前对于该假设的

表 4 鼻用细胞治疗临床试验项目(来源: ClinicalTrials.gov)

Tab. 4 Registered clinical trials of nasal cell therapy(From: ClinicalTrials.gov)

细胞种类	临床试验主题	疾病或症状	登记号	试验开始时间
脂肪基质细胞 (自体来源)	评估自体脂肪来源基质细胞在阿尔茨海默病患者中的安全性和效果的研究	阿尔茨海默病	NCT02912169	2015 年 11 月 1 日(已撤销)
骨髓间充质干细胞 (自体来源)	神经干细胞治疗研究	神经系统疾病、神经退行性疾病、中风、创伤性脑损伤、脑血管疾病、肌萎缩侧索硬化症、糖尿病神经病、阿尔茨海默病、痴呆、认知障碍等 26 项	NCT02795052	2016 年 6 月
人胎儿神经干细胞 (异体来源)	评估人类神经干细胞对帕金森病患者(hNSCPD)的安全性和有效性的研究	帕金森病	NCT03128450	2017 年 4 月 15 日
骨髓干细胞 (自体来源)	干细胞脊髓损伤外骨骼和虚拟现实治疗研究(SciExVR)	脊髓损伤、脊髓压迫、脊髓缺血、脊髓疾病、脊髓麻痹、截瘫等 10 项	NCT03225625	2017 年 7 月 1 日
脐带间充质干细胞	通过不同途径移植脐带来源的间充质干细胞	脑性瘫痪	NCT03414697	2018 年 4 月
骨髓干细胞 (自体来源)	阿尔茨海默氏症自闭症和认知障碍干细胞治疗研究	阿尔茨海默病、阿尔茨海默氏痴呆症、路易体病、帕金森-痴呆综合征、亨廷顿舞蹈症痴呆症、创伤性脑损伤、自闭症谱系障碍、等 19 项	NCT03724136	2018 年 10 月 24 日
骨髓间充质干细胞 (异体来源)	围产期动脉卒中鼻内基质细胞治疗(PASSIoN)	围产期动脉缺血性卒中、新生儿中风	NCT03356821	2020 年 2 月 11 日
脐带来源的间充质干细胞	条件培养基和脐带间充质干细胞联合治疗急性脑卒中梗死	缺血性中风	NCT05008588	2022 年 5 月 30 日

探究尚不充分。另外,有研究提出由动脉驱动“血管周围泵”可能参与了脑实质内细胞的快速运输,血管周围泵对于鼻脑递送的意义仍有待发掘^[31]。

③干细胞迁移至受损部位的机制:经鼻递送的骨髓间充质干细胞有向受损脑区或病变部位所在的一侧迁移的趋势,机制尚未明确^[42]。

3.4.2 临床前和临床研究有待完善 ①物种差异的问题:与啮齿类动物相比,人类的嗅球发育较差。如果在灵长类动物模型中能够观察到类似的研究获益,在证明其有效性方面可能更有说服力^[39]。②临床研究方案的问题:包括但不限于最佳治疗时机的确定,移植细胞的最佳数量以及长期安全问题^[39]。③降低致癌性风险:临床前的啮齿动物研究和临床研究都有自体造血干细胞、异体胎儿神经干细胞和基因工程间充质干细胞移植导致肿瘤形成的相关报道^[38]。尤其是对于基因修饰干细胞,风险随着治疗时间的推移而增加。因此,要着重关注细胞移植的致癌性风险,以及生长因子分泌过多诱导产生内源性肿瘤的风险^[39]。④提高鼻内递送效率:研究发现,即使施用了增强鼻黏膜通透性的透明质酸酶,在鼻内给药 1 h 后,上鼻腔内仍有大量干细胞残留。一方面,可能人类鼻腔的

生理结构存在一些天然障碍,如黏膜屏障、鼻黏液纤毛清除、外排转运蛋白和多种代谢酶;另一方面,可能干细胞的递送时间>1 h,或递送的效率仍然偏低^[36]。因此,未来还需探索开发适于干细胞递送的渗透增强剂和递送细胞设备。⑤间充质干细胞的可及性:无论哪种给药方式,干细胞疗法普遍存在着局限性,目前医疗机构普遍未建立异体相关组织来源的间充质干细胞生物库,而自体相关组织来源的间充质干细胞无法及时投入治疗,可及性问题亟待解决^[34]。

4 讨论与展望

4.1 鼻用生物制剂的监管考量

鼻用生物制剂作为创新型药械组合产品类别之一,除了需要面对鼻用制剂监管体系及技术不断完善的要求外(体内外表征方法、新指标、安全性评估的日趋改进),还需要充分考量生物药物本身固有的特性和安全性,如生物活性分子储存条件的要求、推进剂压力及装置参数等因素对于生物分子活性及递送效率的影响,又如生物分子经鼻进入人体后的代谢等相关指标的确定及安全性评估。

生产监管方面考量,由于生物制品往往对热

敏感,易受微生物污染,生产过程还应当关注以下事项:①应按产品要求制定相符合的生产操作区域的洁净度级别、仪器维修区域的洁净级别;②关注仪器的校验、维护及验证,仪器设备的校验标准是否与工艺要求相适应;③关注仪器的确认执行情况,是否包含了工艺相关参数范围的性能测试,如灌装机的罐装速度;④关注设备共线生产及清洁验证情况;⑤冷库、冷链的确认与验证,按产品工艺及生产规范确定明确、及时的流程。

4.2 鼻用生物制品存在的共性问题及展望

不同细分领域的鼻用生物制品面临的共同问题在于鼻腔天然环境的限制、制品生物学属性的限制以及递送基础机制深入研究的需求。

鼻腔内天然生理环境为鼻用生物制剂的递送效率带来了挑战。鼻腔内存在的鼻脑递送通路,具有丰富的毛细血管、神经末梢及淋巴组织的分布,使得鼻腔给药具有起效快,绕开血脑屏障,避免首过效应以及减少全身暴露不良反应等优势,但同时鼻腔内独特的物理及生理屏障是需要面对的问题^[27-28]。生理屏障包括毛细血管屏障、鼻黏液、黏液清除和鼻代谢。如 pH 值、可能的药物-黏液相互作用和黏液的黏度也可能影响鼻腔给药的药物扩散和吸收。黏液纤毛清除和排出也会大大限制药物停留时间。物理化学屏障(如药物的分子量及其亲脂性和电离度)也决定了药物的吸收机制。鼻黏膜对大的亲水性药物($M_r > 1 \text{ kDa}$)如肽和蛋白质表现出较差的渗透性^[5]。

药物分子在鼻腔内吸收的机制目前仍需要深入探究,尤其对于鼻脑通路的研究。如细胞经鼻-脑迁移的路线尚无定论,目前推测很可能与嗅神经、脑膜、三叉神经有关。阐明嗅觉和三叉神经在药物及其制剂从鼻子到大脑或身体其他部位的运输中的作用是一个重要的基础研究问题,它将为治疗方法开辟新的可能性^[33-34]。

综上,需要基因或细胞治疗方法的适应证,临床需求尚需满足的 CNS 疾病以及季节性出现的流行病和肺部疾病,都将可能受益于未来优化和强大的鼻用制剂系统。

REFERENCES

[1] BOSE M, FARIAS QUIPILDOR G, EHRLICH M E, et al. Intranasal peptide therapeutics: A promising avenue for overcoming the challenges of traditional CNS drug development[J]. *Cells*, 2022, 11(22): 3629.

[2] AGRAWAL M, SARAF S, SARAF S, et al. Nose-to-brain drug delivery: An update on clinical challenges and progress towards approval of anti-Alzheimer drugs[J]. *J Control Release*, 2018(281): 139-177.

[3] LOCHHEAD J J, DAVIS T P. Perivascular and perineural pathways involved in brain delivery and distribution of drugs after intranasal administration[J]. *Pharmaceutics*, 2019, 11(11): 598.

[4] YADAV S, GATTACCECA F, PANICUCCI R, et al. Comparative biodistribution and pharmacokinetic analysis of cyclosporine-a in the brain upon intranasal or intravenous administration in an oil-in-water nanoemulsion formulation[J]. *Mol Pharm*, 2015, 12(5): 1523-1533.

[5] ALABSI W, EEDARA B B, ENCINAS-BASURTO D, et al. Nose-to-brain delivery of therapeutic peptides as nasal aerosols[J]. *Pharmaceutics*, 2022, 14(9): 1870.

[6] CHUNG S, PETERS J M, DETYNECKI K, et al. The nose has it: Opportunities and challenges for intranasal drug administration for neurologic conditions including seizure clusters[J]. *Epilepsy Behav Rep*, 2022(21): 100581.

[7] MAENG J, LEE K. Systemic and brain delivery of antidiabetic peptides through nasal administration using cell-penetrating peptides[J]. *Front Pharmacol*, 2022(13): 1068495.

[8] ROHRER J, LUPO N, BERNKOP-SCHNÜRCH A. Advanced formulations for intranasal delivery of biologics[J]. *Int J Pharm*, 2018, 553(1/2): 8-20.

[9] RUDENKO L, VAN DEN BOSCH H, KISELEVA I, et al. Live attenuated pandemic influenza vaccine: Clinical studies on A/17/California/2009/38 (H1N1) and licensing of the Russian-developed technology to WHO for pandemic influenza preparedness in developing countries[J]. *Vaccine*, 2011, 29(Suppl 1): A40-A44.

[10] KHAN A S, POLEZHAEV F, VASILJEVA R, et al. Comparison of US inactivated split-virus and Russian live attenuated, cold-adapted trivalent influenza vaccines in Russian schoolchildren[J]. *J Infect Dis*, 1996, 173(2): 453-456.

[11] GE H, JIANG L Y, LIU S, et al. Nasal immunization and research progress of the development of COVID-19 vaccine[J]. *Chin J New Drugs*(中国新药杂志), 2022, 31(9): 863-870.

[12] NAKAHASHI-OUCHIDA R, FUJIHASHI K, KURASHIMA Y, et al. Nasal vaccines: Solutions for respiratory infectious diseases[J]. *Trends Mol Med*, 2023, 29(2): 124-140.

[13] KEHAGIA E, PAPAKYRIAKOPOULOU P, VALSAMI G. Advances in intranasal vaccine delivery: A promising non-invasive route of immunization[J]. *Vaccine*, 2023, 41(24): 3589-3603.

[14] SATO S, KIYONO H. The mucosal immune system of the respiratory tract[J]. *Curr Opin Virol*, 2012, 2(3): 225-232.

[15] CORTHÉSY B. Multi-faceted functions of secretory IgA at mucosal surfaces[J]. *Front Immunol*, 2013(4): 185.

[16] TURNER J S, O'HALLORAN J A, KALAIIDINA E, et al. SARS-CoV-2 mRNA vaccines induce persistent human germinal centre responses[J]. *Nature*, 2021, 596(7870): 109-113.

[17] BADEN L R, EL SAHLY H M, ESSINK B, et al. Efficacy and safety of the mRNA-1273 SARS-CoV-2 vaccine[J]. *N Engl J Med*, 2021, 384(5): 403-416.

[18] DEBERTIN A S, TSCHERNIG T, TÖNJES H, et al.

- Nasal-associated lymphoid tissue (NALT): frequency and localization in young children[J]. *Clin Exp Immunol*, 2003, 134(3): 503-507. Doi: 10.1111/j.1365-2249.2003.02311.x.
- [19] BLEIER B S, RAMANATHAN M Jr, LANE A P. COVID-19 vaccines may not prevent nasal SARS-CoV-2 infection and asymptomatic transmission[J]. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 2021, 164(2): 305-307.
- [20] TIBONI M, CASETTARI L, ILLUM L. Nasal vaccination against SARS-CoV-2: Synergistic or alternative to intramuscular vaccines?[J]. *Int J Pharm*, 2021(603): 120686.
- [21] YUKI Y, KIYONO H. Mucosal vaccines: Novel advances in technology and delivery[J]. *Expert Rev Vaccines*, 2009, 8(8): 1083-1097.
- [22] DHAMA K, DHAWAN M, TIWARI R, et al. COVID-19 intranasal vaccines: Current progress, advantages, prospects, and challenges[J]. *Hum Vaccin Immunother*, 2022, 18(5): 2045853.
- [23] BLEIER B S, RAMANATHAN M Jr, LANE A P. COVID-19 vaccines may not prevent nasal SARS-CoV-2 infection and asymptomatic transmission[J]. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 2021, 164(2): 305-307.
- [24] AN DOREMALEN N, PURUSHOTHAM J N, SCHULZ J E, et al. Intranasal ChAdOx1 nCoV-19/AZD1222 vaccination reduces viral shedding after SARS-CoV-2 D614G challenge in preclinical models[J]. *Sci Transl Med*, 2021, 13(607): eabh0755. Doi: 10.1126/scitranslmed.abh0755.
- [25] TREANOR J J, KOTLOFF K, BETTS R F, et al. Evaluation of trivalent, live, cold-adapted (CAIV-T) and inactivated (TIV) influenza vaccines in prevention of virus infection and illness following challenge of adults with wild-type influenza A (H1N1), A (H3N2), and B viruses[J]. *Vaccine*, 1999, 18(9/10): 899-906.
- [26] SHARMA R, TIWARI S, DIXIT A. Covaxin: An overview of its immunogenicity and safety trials in India[J]. *Bioinformation*, 2021, 17(10): 840-845.
- [27] DUONG V A, NGUYEN T T L, MAENG H J. Recent advances in intranasal liposomes for drug, gene, and vaccine delivery[J]. *Pharmaceutics*, 2023, 15(1): 207.
- [28] CHAVDA V P, VORA L K, PANDYA A K, et al. Intranasal vaccines for SARS-CoV-2: From challenges to potential in COVID-19 management[J]. *Drug Discov Today*, 2021, 26(11): 2619-2636.
- [29] LINEHAN J L, DILEEPAN T, KASHEM S W, et al. Generation of Th17 cells in response to intranasal infection requires TGF- β 1 from dendritic cells and IL-6 from CD301b⁺ dendritic cells[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2015, 112(41): 12782-12787.
- [30] GANONG W F. Circumventricular organs: Definition and role in the regulation of endocrine and autonomic function[J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2000, 27(5/6): 422-427.
- [31] CHAPMAN C D, FREY W H 2nd, CRAFT S, et al. Intranasal treatment of central nervous system dysfunction in humans[J]. *Pharm Res*, 2013, 30(10): 2475-2484.
- [32] DANIELYAN L, SCHÄFER R, VON AMELN- MAYERHOFER A, et al. Intranasal delivery of cells to the brain[J]. *Eur J Cell Biol*, 2009, 88(6): 315-324.
- [33] LI Y H, FENG L, ZHANG G X, et al. Intranasal delivery of stem cells as therapy for central nervous system disease[J]. *Exp Mol Pathol*, 2015, 98(2): 145-151.
- [34] BAAK L M, WAGENAAR N, VAN DER AA N E, et al. Feasibility and safety of intranasally administered mesenchymal stromal cells after perinatal arterial ischaemic stroke in the Netherlands (PASSIoN): A first-in-human, open-label intervention study[J]. *Lancet Neurol*, 2022, 21(6): 528-536.
- [35] MISRA A, GANESH S, SHAHIWALA A, et al. Drug delivery to the central nervous system: A review[J]. *J Pharm Pharm Sci*, 2003, 6(2): 252-273.
- [36] JIANG Y J, ZHU J H, XU G L, et al. Intranasal delivery of stem cells to the brain[J]. *Expert Opin Drug Deliv*, 2011, 8(5): 623-632.
- [37] PARK S E, LEE N K, NA D L, et al. Optimal mesenchymal stem cell delivery routes to enhance neurogenesis for the treatment of Alzheimer's disease: Optimal MSCs delivery routes for the treatment of AD[J]. *Histol Histopathol*, 2018, 33(6): 533-541.
- [38] DUNCAN T, VALENZUELA M. Alzheimer's disease, dementia, and stem cell therapy[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2017, 8(1): 111.
- [39] VAN VELTHOVEN C T, KAVELAARS A, VAN BEL F, et al. Regeneration of the ischemic brain by engineered stem cells: Fuelling endogenous repair processes[J]. *Brain Res Rev*, 2009, 61(1): 1-13.
- [40] WAGENAAR N, NIJBOER C H, VAN BEL F. Repair of neonatal brain injury: Bringing stem cell-based therapy into clinical practice[J]. *Dev Med Child Neurol*, 2017, 59(10): 997-1003.
- [41] PARK D, YANG G, BAE D K, et al. Human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells improve cognitive function and physical activity in ageing mice[J]. *J Neurosci Res*, 2013, 91(5): 660-670.
- [42] DONEGA V, VAN VELTHOVEN C T, NIJBOER C H, et al. Intranasal mesenchymal stem cell treatment for neonatal brain damage: Long-term cognitive and sensorimotor improvement[J]. *PLoS One*, 2013, 8(1): e51253.
- [43] WEISS J N, LEVY S. Neurologic Stem Cell Treatment Study (NEST) using bone marrow derived stem cells for the treatment of neurological disorders and injuries: Study protocol for a nonrandomized efficacy trial[J]. *Clin Transl Degenerative Diseases*, 2016, 1(4). Doi: 10.4103/2468-5658.196984.
- [44] SHROFF G. Human embryonic stem cells in the treatment of autism: A case series[J]. *Innov Clin Neurosci*, 2017, 14(3/4): 12-16.

收稿日期: 2023-07-05

(本文责编: 曹粤锋)