

## 靶向肝星状细胞的肝纤维化治疗研究进展

靳雪源, 赵平

靳雪源, 赵平, 解放军第三〇二医院国际肝病诊疗中心  
北京市 100039

靳雪源, 主任医师, 主要从事肝病的临床与实验研究.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目, No. 30972626.

作者贡献分布: 本文由靳雪源初步完成; 赵平审校.

通讯作者: 赵平, 主任医师, 100039, 北京市丰台区西四环中路100号, 解放军第三〇二医院国际肝病诊疗中心.  
zhaop9262@sina.com  
电话: 010-669334322

收稿日期: 2017-06-28

修回日期: 2017-07-31

接受日期: 2017-08-14

在线出版日期: 2017-10-08

### Hepatic stellate cell-targeted therapy for hepatic fibrosis

Xue-Yuan Jin, Ping Zhao

Xue-Yuan Jin, Ping Zhao, International Center for Liver Disease Treatment, the 302<sup>nd</sup> Hospital of Chinese PLA, Beijing 100039, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 30972626.

Correspondence to: Ping Zhao, Chief Physician, International Center for Liver Disease Treatment, the 302<sup>nd</sup> Hospital of Chinese PLA, 100 Xisihuan Zhong Road, Fengtai District, Beijing 100039, China. zhaop9262@sina.com

Received: 2017-06-28

Revised: 2017-07-31

Accepted: 2017-08-14

Published online: 2017-10-08

### Abstract

Hepatic fibrosis is the ultimate pathological

feature of all forms of chronic hepatic damage. There is currently no clinical cure for advanced liver fibrosis. Activation and proliferation of hepatic stellate cells (HSCs) is a key step in the development of liver fibrosis, and therefore, HSCs are target cells for hepatic fibrosis treatment. Targeted delivery of drugs to activated HSCs would increase the drug concentration in the liver at the sites of active fibrogenesis and avoid undesirable systemic effects. Mannose 6-phosphate modified human serum albumin, vitamin A, and hyaluronic acid are three kinds of the most investigated carriers that deliver drugs to the activated HSCs specifically. Conjugation of these carriers with molecules with anti-fibrosis activity such as angiotensin receptor blockers, activin-like kinase 5 inhibitors, Rho-kinase inhibitors, small interfering RNAs, hepatocyte growth factor gene, or nitrogen monoxide can lead to specific distribution and effects in HSCs. This review will focus on these preclinical developments of HSCs-targeted drug conjugates for the treatment of liver fibrosis.

© The Author(s) 2017. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Hepatic fibrosis; Hepatic stellate cells; Targeted delivery; Conjugate

Jin XY, Zhao P. Hepatic stellate cell-targeted therapy for hepatic fibrosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2017; 25(28): 2495-2502 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v25/i28/2495.htm> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v25.i28.2495>

### 摘要

肝纤维化是各种形式慢性肝损伤进展的共

### 背景资料

肝纤维化是各种形式慢性肝损伤进展的共同病理特征. 尽管在最近十年对肝纤维化的发病机制及干预措施进行了大量卓有成效的研究, 但是目前临床尚缺乏安全有效的肝纤维化治疗药物. 对已有研究结果进行总结, 有利于肝纤维化治疗药物的开发和转化.

### 同行评议者

刘旭东, 博士, 教授, 广西中医学院附属瑞康医院肝病科; 吕小平, 硕士, 教授, 广西医科大学第一附属医院消化内科; 张晓岚, 主任医师, 河北医科大学第二附属医院消化内科

# 研究前沿

目前, 肝纤维化治疗领域研究的热点以及亟待解决的问题主要有: (1) 现有治疗药物往往具有系统不良反应, 影响了其疗效的发挥; (2) 现有靶向肝星状细胞 (hepatic stellate cells, HSCs) 的肝纤维化治疗药物的成药性和实用性有待提高。

同病理特征。目前临床尚无有效的肝纤维化治疗药物。肝星状细胞 (hepatic stellate cells, HSCs) 的活化和增生是肝纤维化进展的关键步骤, 是肝纤维化治疗的靶细胞。将药物选择性递送于HSCs, 能够有效降低其系统不良反应。甘露糖-6-磷酸酯-人血清白蛋白偶合物、维生素A及透明质酸是最常用的靶向载体。将具有抗肝纤维化活性的血管紧张素1受体阻断剂、活化素样激酶5抑制剂、小干扰RNA、肝细胞生长因子基因、一氧化氮等与靶向载体偶联, 能够特异性分布于HSCs, 发挥抗肝纤维化作用。

© The Author(s) 2017. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 肝纤维化; 肝星状细胞; 靶向给药; 偶合物

**核心提要:** 本文全面系统地总结了将药物选择性递送于肝星状细胞, 以提高肝纤维化治疗的疗效, 同时降低其系统不良反应的最新研究进展, 为开发肝纤维化治疗药物和治疗技术, 及其在临床的转化应用具有一定的指导作用。

靳雪源, 赵平. 靶向肝星状细胞的肝纤维化治疗研究进展. 世界华人消化杂志 2017; 25(28): 2495-2502 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v25/i28/2495.htm> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v25.i28.2495>

## 0 引言

肝纤维化是各种慢性肝病进展至肝硬化的必经阶段, 迄今为止临床上尚缺乏有效逆转或阻止其进展的治疗药物。肝脏受到病毒或炎症介质等致病因素的持续作用引起反复的肝损伤, 造成以胶原为主的细胞外基质各成分的合成增多, 降解减少, 沉积在肝内导致肝纤维化; 随着肝损伤进一步的发展及胶原组织增生的加剧, 凋亡及坏死的肝细胞数量增多, 肝脏结构发生变化, 导致肝细胞再生, 假小叶形成, 最终形成肝硬化; 肝硬化形成后, 出现肝内代谢及免疫等多种功能失常, 常伴随出现门静脉高压及肝腹水等并发症, 并可能会引起肝癌的发生。因此, 肝纤维化成为慢性肝病治疗面临的挑战<sup>[1,2]</sup>。

随着对肝纤维化发生的细胞和分子机制研究的深入, 人们发现了多种具有不同作用机制的抗肝纤维化药物。如肾素-血管紧张素受体拮抗剂能够阻断血管紧张素1型(AT1)受体, 降低活化肝星状细胞 (hepatic stellate cells,

HSCs) 的沉积, 抑制炎症和纤维化的发展; 活化素样激酶5 (activin-like kinase 5, ALK5) 抑制剂能够通过阻断转化生长因子 $\beta$  (transforming growth factor  $\beta$ , TGF- $\beta$ ) 通路发挥抗肝纤维化作用; 小干扰RNA (small interfering RNA, siRNA) 能够抑制与肝纤维化相关的细胞因子的基因表达, 抑制HSCs的活化与增殖, 增加细胞外基质的降解; 一氧化氮能够抑制白介素-1 $\beta$  (interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ )、IL-18等多种细胞因子的释放, 抑制肝内炎症的形成与发展, 而且能够降低肝内压, 抑制星形细胞的活性, 改善或逆转肝纤维化。但是, 由于这些药物对正常组织的不良反应, 限制了其临床应用。

肝纤维化是一个由多种细胞因子和分子途径参与的复杂病理变化。肝纤维化发生过程中, 多种促炎、促纤维化因子以自分泌和旁分泌的形式作用于HSCs, 使其发生活化和表型转化, 具备增殖、纤维形成、收缩反应和趋化性等特性。活化的HSCs分泌成纤维化因子, 刺激门脉纤维细胞、成纤维细胞及骨髓衍生的肌成纤维细胞产生胶原蛋白、促进纤维化, 在肝纤维化的发生、发展及转归过程中发挥关键作用。HSC活化增殖、凋亡、衰老以及静息恢复等过程中涉及的关键分子和信号通路均可作为肝纤维化治疗的潜在靶点<sup>[3,4]</sup>。因此, HSCs的活化和增生是肝纤维化进展的关键步骤, 是肝纤维化治疗的靶细胞<sup>[5]</sup>。

将药物选择性递送于HSCs, 能够有效降低其系统不良反应。HSC是维生素A (vitamin A, VA) 的储存细胞, VA能够通过HSC表面的视黄醇结合蛋白 (retinol binding protein, RBP) 介导的特异性途径进入HSC。活化的HSCs表面高表达甘露糖-6-磷酸酯受体, 该受体对甘露糖-6-磷酸酯修饰的人血清白蛋白 (M6P-HSA) 具有高亲和力和高度选择性。CD44在肝纤维化时的表达显著升高, 在肝损伤时活化HSC迁移中发挥重要作用; 透明质酸 (hyaluronic acid, HA) 可与CD44特异性结合并内化。因此, 甘露糖-6-磷酸酯-人血清白蛋白偶合物、VA及透明质酸等成为最常用的HSCs的靶向载体。具有抗肝纤维化活性的血管紧张素1受体阻断剂、ALK5抑制剂、siRNA、肝细胞生长因子基因、一氧化氮等与这些靶向载体偶联后, 能够特异性分布于HSCs, 在发挥抗肝纤维化作用, 避免或降低其全身不良反应。

## 1 以M6P-HSA为载体的靶向肝纤维化治疗药物

在肝纤维化进程中, 活化的HSCs表面高表达甘露糖-6-磷酸酯受体, 该受体对M6P-HSA具有高亲和力和高度选择性. M6P-HSA作为HSC的载体, 可以将抗肝纤维化药物如己酮可可碱、甘草次酸等选择性地投放于HSCs, 提高抗肝纤维化作用的选择性<sup>[6-9]</sup>.

**1.1 M6P-HSA-AT1受体拮抗剂靶向偶合物** 肾素-血管紧张素受体在纤维化肝脏中呈现过表达, 血管紧张素II通过AR1受体在激活的HSCs中诱导炎症和成纤维化反应; 阻断AT1受体、降低活化HSCs的沉积, 能够抑制炎症和纤维化. 因此, 肾素-血管紧张素受体拮抗剂在动物模型及临床试验中显示出一定的肝纤维化治疗作用<sup>[10]</sup>.

为了降低AT1受体拮抗剂对心血管系统的作用, Moreno等<sup>[11]</sup>将AT1受体拮抗剂氯沙坦, 以铂为连接子通过配位键分别与氯沙坦和M6P-HSA偶联, 形成平均每分子M6P-HSA连接7分子氯沙坦的氯沙坦-M6P-HSA偶合物. 用胆管结扎或CCl<sub>4</sub>所致大鼠晚期肝纤维化模型评价其抗肝纤维化作用. 模型大鼠分别给予盐水、氯沙坦-M6P-HSA偶合物(相当于125 μg losartan/kg)、载体M6P-HSA及氯沙坦[5 mg/(kg·d)], 1次/d, 连续给药3 d.

组织分布实验结果表明, 肺、脾、心肌肾组织中均检测不到氯沙坦-M6P-HSA, 只有非实质肝细胞中能够检测到氯沙坦-M6P-HSA. 氯沙坦-M6P-HSA组动物肝脏中氯沙坦的含量高达末次给药剂量的81%, 而氯沙坦组肝脏中药物量只有末次给药剂量的15%. 溶剂组和M6P-HSA组胆管结扎模型大鼠呈现严重的间隔纤维化, 肝脏胶原含量显著升高; 氯沙坦-M6P-HSA组动物纤维化及胶原沉积显著降低, 而氯沙坦组动物没有显著改变. 模型组动物前胶原α2(I)基因表达上调10倍, M6P-HSA给药后, 能使前胶原α2(I)基因表达降低60%, 而氯沙坦没有显著影响. 这些数据表明, M6P-HSA能够减轻晚期肝纤维化的进展. 在CCl<sub>4</sub>所致大鼠肝纤维化模型中, M6P-HSA显示出类似的抗肝纤维化作用; 而且M6P-HSA对心脏和肾脏没有不良反应.

**1.2 M6P-HSA-ALK5抑制剂靶向偶合物** TGF-β是肝纤维化过程中主要的前纤维化细胞因子; 肝纤维化时, HSC主要由TGF-β激活, 而ALK5

是TGF-β发挥作用的关键受体<sup>[12]</sup>. ALK5-抑制剂能够通过阻断TGF-β通路发挥抗肝纤维化作用. 但是, TGF-β的传导在与细胞分化相关的肿瘤抑制、免疫调节及很多生理功能方面也具有重要作用. 为了避免ALK5-抑制剂所致的不良反应, van Beuge等<sup>[13]</sup>通过类似的策略, 将ALK5-抑制剂LY-364947与M6P-HSA偶联, 制备了HSC靶向的LY-364947-M6P-HSA偶合物, 每分子M6P-HSA连接10分子的LY-364947. 体内分布实验结果表明, CCl<sub>4</sub>所致急性肝损伤小鼠模型给予靶向偶合物后, 只有HSC细胞中检出偶合物, 而Kupffer细胞、内皮细胞及肝实质细胞均未检出偶合物; 除脾脏检出少量药物, 心脏、肾脏及肺均无偶合物分布. 高剂量[相当于1.3 mg/(kg·d)的LY-364947]和低剂量[相当于0.65 mg/(kg·d)的LY-364947]的LY-364947-M6P-HSA偶合物显著降低I型胶原的表达, 而LY-364947作用较弱; 高剂量的LY-364947-M6P-HSA偶合物能够显著降低III型胶原和纤维连接蛋白的沉积, 而LY-364947无效. 进一步评价结果表明, 低剂量LY-364947-M6P-HSA偶合物即对结缔组织生长因子具有强抑制作用, 而低剂量LY-364947未显示抑制作用.

**1.3 M6P-HSA-Rho-激酶抑制剂靶向偶合物** Rho-激酶对HSC的活化也具有调节作用; Rho-激酶抑制剂对肝纤维化具有抑制作用<sup>[14]</sup>. 将Rho-激酶抑制剂Y27632与M6P-HSA偶联, 制备了HSC靶向的Y27632-M6P-HSA偶合物, 每分子M6P-HSA连接7分子的Y27632<sup>[15]</sup>. 体内分布实验结果表明, CCl<sub>4</sub>所致急性肝损伤小鼠模型给予靶向偶合物后, 只有纤维化的肝脏中检出偶合物, 除脾脏检出少量药物, 心脏、肾脏及肺均无偶合物分布. 等摩尔剂量给药, 靶向偶合物组肝脏中药物含量高达游离药物组的10倍, 而且持续达48 h. 偶合物能够显著抑制HSC的活化, 而对HSC的数量没有影响; 游离药物对HSC的活化没有影响.

## 2 以VA为载体的靶向肝纤维化治疗药物

HSC是VA的储存细胞, VA是HSC的天然配基. 因此, VA能够通过HSC表面的RBP介导的特异性途径进入HSC, 成为研究最多的HSC靶向配基<sup>[16,17]</sup>.

**2.1 VA靶向的siRNA** siRNA是长度为20-25个核苷酸的双股RNA, 能够高效、特异地破坏

### 创新盘点

本文重点阐述了利用HSCs特异性的载体, 将具有抗肝纤维化活性的药物分子选择性递送至HSCs, 发挥抗肝纤维化作用的最新研究进展.



### 应用要点

利用HSCs特异性的载体, 将抗肝纤维化药物选择性递送于HSCs, 能够在提高抗肝纤维化治疗作用的同时, 降低其系统不良反应的最新研究进展, 显示了较好的应用前景. 今后的研究重点是进一步提高靶向偶合物的成药性和实用性.

mRNA的完整性, 抑制疾病相关基因的表达, 在基因治疗领域显示出广阔应用前景. 利用siRNA抑制与肝纤维化相关的细胞因子的基因表达, 抑制HSCs的活化与增殖, 增加细胞外基质的降解, 可成为肝纤维化治疗的有效手段<sup>[18]</sup>; 微小RNA(microRNA, miRNA)通过调节促增殖蛋白的表达及促纤维化形成信号通路来调控HSC增殖和纤维化形成, 也是肝纤维化治疗研究的重要方向<sup>[19]</sup>. 但是, 酶解失活、脱靶效应和激发免疫反应, 是siRNA和miRNA应用中有待克服的瓶颈. 应用脂质体给药系统能够有效避免siRNA和miRNA的酶解, 将siRNA或miRNA的脂质体表面以特异性配基修饰, 可以进一步提高给药的靶向性, 克服脱靶效应和降低免疫反应.

热休克蛋白47(heat shock protein 47, HSP47)是胶原特异性的分子伴侣, 能够促进胶原的分泌<sup>[20]</sup>. siRNAgp46是针对编码大鼠gp46(HSP47的一种同源蛋白)mRNA的siRNA, 能够抑制gp46的表达和胶原蛋白的分泌<sup>[21]</sup>.

将VA与脂质体悬浮液混合, 制备VA偶联的脂质体, 然后加入siRNAgp46, 制备VA修饰的siRNAgp46脂质体VA-lip-siRNAgp46<sup>[22]</sup>. 体外评价结果表明, HSC能够通过RBP介导的特异性途径摄取VA-lip-siRNAgp46, 抗-RBP抗体能够抑制HSC对脂质体的摄入. HSC与荧光标记的靶向脂质体VA-lip-siRNAgp46-FAM孵育, 30 min内细胞浆中出现微弱的颗粒状荧光; 2 h后, 细胞核周围出现较深的颗粒状荧光; 而未以VA修饰的lip-siRNAgp46-FAM与HSC孵育30 min, 细胞浆中未见绿色荧光, 2 h细胞核周围的荧光很淡, 表明靶向偶合物对HSC具有高度特异性.

在二甲基亚硝基胺(dimethylnitrosamine, DMN)所致大鼠肝硬化模型中, 荧光标记的靶向脂质体VA-lip-siRNAgp46-FAM注射给药后24 h, 荧光主要分布于肝脏中平滑肌肌动蛋白( $\alpha$ -smooth muscle actin,  $\alpha$ -SMA)阳性细胞即HSC细胞的区域, 分布比例高达61.2%, 而未以VA修饰的lip-siRNAgp46-FAM给药后 $\alpha$ -SMA阳性区域的荧光分布比例只有5.6%. 将肝脏中各类细胞分离后检测发现, 靶向脂质体主要分布于 $\alpha$ -SMA阳性的HSC细胞中, 而Kupffer细胞和肝实质细胞中分布较少. VA修饰脂质体及未修饰脂质体给药后在肺和脾组

织中显示相似分布, 表明巨噬细胞对脂质体具有非特异的摄取.

药代动力学研究结果表明, [<sup>3</sup>H]VA修饰的靶向脂质体[<sup>3</sup>H]VA-lip-siRNAgp46尾静脉注射给药后, 在肝硬化大鼠的半衰期为19 min, 在正常大鼠的半衰期为61 min; 24 h后, 放射性几乎全部分布于肝脏. 有意义的是, 正常大鼠注射同等剂量的[<sup>3</sup>H]VA-lip-siRNAgp46, 在所有器官中具有放射性分布; 表明正常大鼠HSC未增殖. 靶向脂质体给药对肝脏中gp46的表达的抑制可持续3 d.

肝硬化大鼠成膜后给予PBS、VA、VA-lip、VA-lip-随机组合siRNA偶合物或未经VA修饰的lip-siRNAgp46, 2次/wk, 所有动物在52 d内死亡. 而VA-lip-siRNAgp46 2次/wk给药, 能够剂量(分别为0.10、0.50、0.75 mg/kg)依赖性的提高肝硬化大鼠的存活率, 在0.75 mg/kg剂量存活率达到5/6; 如果按0.75 mg/kg剂量3次/wk给药, 存活率更是高达100%. 肝硬化大鼠按0.75 mg/kg剂量VA-lip-siRNAgp46给药5次后, 肝脏样本中的胶原含量、前胶原I型及TIMP-1 mRNA均显著抑制, 羟脯氨酸的含量显著降低; 肝纤维化的组织学进展及结构改变显著抑制; 最为重要的是, VA-lip-siRNAgp46治疗能够逆转肝纤维化, 治疗后肝组织学结构几近恢复正常. 进一步研究结果表明, VA-lip-siRNAgp46还能通过诱导细胞凋亡, 清除纤维化组织中的HSC, 最终阻断胶原蛋白在这些组织的蓄积. 0.75 mg/kg剂量的VA-lip-siRNAgp46每2 d给药1次, 给药5次, 能够使肝硬化大鼠的胆红素、透明质酸、转氨酶及白蛋白水平完全或几近恢复正常. VA-lip-siRNAgp46对大鼠肝、脾及肺组织中的干扰素- $\alpha$ (interferon alpha, IFN- $\alpha$ )mRNA的表达没有影响; 血浆中的IFN- $\alpha$ 和IL-12水平亦保持正常, 表明VA-lip-siRNAgp46不引发免疫反应.

对于CCl<sub>4</sub>或胆管结扎所致肝硬化大鼠, VA-lip-siRNAgp46也能够缩小纤维化区域, 抑制羟脯氨酸的水平 and gp46的表达, 降低胆红素、透明质酸水平, 显示出同样的抗肝纤维化作用.

### 2.2 VA靶向的基因治疗

肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)能够通过抑制TGF- $\beta$ 1和胶原蛋白III的表达, 发挥抗纤维化的作用<sup>[23]</sup>.

将HGF基因质粒与VA偶联的脂质体包聚, 形成的VA-Lip-HGF能够特异性将HGF基因转染于活化的HSC<sup>[24]</sup>. 在体外, 转染靶基因的纤

维细胞能够显著降低纤维化标记物如TGF- $\beta$ 1的表达;在DMN所致大鼠肝硬化模型上,VA-Lip-HGF给药组动物的谷草转氨酶(aspartate transaminase, AST)和乳酸脱氢酶显著下降,HGF在 $\alpha$ -SMA阳性的细胞中的表达显著升高,肝组织坏死水平降低;扫描电镜分析结果表明,治疗组肝窦状隙结构正常; $\alpha$ -SMA蛋白、TGF- $\beta$ 1和胶原蛋白I水平显著降低, $\alpha$ -SMA阳性细胞数降低,肝纤维化进展逆转。

**2.3 VA靶向的一氧化氮释放药物** 一氧化氮在肝内可以抑制IL-1 $\beta$ 、IL-18、肿瘤坏死因子- $\alpha$ 、干扰素及血小板生长因子等多种细胞因子的释放,抑制肝内炎症的形成与发展,防止肝细胞凋亡,修复肝损伤;降低细胞外基质的生成与沉积,改善肝纤维化;同时一氧化氮能够降低肝内压,抑制星形细胞的活性,改善肝内的血液动力学性质,利于肝纤维化的改善或逆转其进展<sup>[25,26]</sup>。

将包聚NO供体亚硝基谷胱甘肽(S-nitroso-glutathione, GSNO)的纳米粒以VA修饰,能够将NO特异性投放于HSC,发挥抗肝纤维化作用,选择性降低肝硬化大鼠的门静脉压<sup>[27]</sup>。靶向纳米粒能够被大鼠和人HSC细胞摄取,释放NO,抑制活化HSC细胞的 $\alpha$ -SMA和胶原蛋白I的水平及相关基因的表达,没有显著的细胞毒性。靶向的GSNO纳米粒不仅显著降低引发HSC收缩的内皮素-1的含量,而且能够立即缓解胆管结扎所致门静脉高压的血液动力学异常,降低门静脉压幅度达25%(12 mmHg),而对主动脉压没有影响。

体内分布实验评价结果表明,VA修饰的纳米粒尾静脉注射给药后2 h,迅速聚集于正常及胆管结扎大鼠的肝脏,胆管结扎大鼠肝脏的分布高于正常大鼠。肾脏也有一定的分布,可能是排泄所致;而眼睛、心脏及脾脏的分布极低,小肠及肺的分布可以忽略不计。药代动力学研究结果表明,注射后15 min,只有肝脏中有高强度的荧光分布,而其他组织没有荧光;肝脏中的荧光强度持续保持48 h,96 h逐渐降低,至120 h完全消失。

体外实验结果表明,HSC对VA偶联的纳米粒的摄取显著高于Kupffer细胞和肝实质细胞。将大鼠原代HSC和人LX-2细胞系与VA偶联的包聚GSNO的纳米粒孵育,导致胶原蛋白I、CTGF及 $\alpha$ -SMA分别降低60%、40%和40%;而

VA偶联的未包聚GSNO的纳米粒对胶原蛋白I、CTGF及 $\alpha$ -SMA水平没有影响。

### 3 以透明质酸为载体的靶向肝纤维化治疗药物

HA为分布于细胞外基质、连接组织及器官的黏多糖,是具有生物兼容性、生物可降解性、非免疫原性、非致炎性、非毒性的线性多糖,为常用的药物递送载体<sup>[28]</sup>。HA可与CD<sub>44</sub>特异性结合并内化;而CD<sub>44</sub>在肝纤维化时的表达显著升高,在肝损伤时活化HSC迁移中发挥重要作用。

利用量子点(quantum dots, QDots)技术研究了HA-QDot偶合物的靶向性,结果表明HA偶合物主要分布于肝脏,与肝实质细胞相比,HSC的分布更高;而且偶合物的清除较慢,静脉给药后8 d,肝脏中仍有偶合物检出<sup>[29]</sup>。

**3.1 透明质酸靶向的氯沙坦** 将HA与5- $\beta$ 胆烷酸(cholanic acid, CA)偶联,制备HA-CA胶束;然后与氯沙坦混合,制备包聚氯沙坦的HA-CA胶束<sup>[30]</sup>。在体外,hHSC(代表HSCs)对胶束的摄取显著高于FL83B细胞(代表正常肝实质细胞);高浓度Losartan-HA未显示细胞毒性。

5 mg/kg HA注射给药后,纤维化肝中的荧光强度显著高于正常肝( $P<0.05$ )。与未包聚氯沙坦的HA胶束相比,氯沙坦-HA胶束能够更显著地降低谷丙转氨酶(alanine transaminase, ALT)、AST、CK、乳酸脱氢酶及羟脯氨酸水平;用荧光标记法测定了氯沙坦-HA胶束对纤维化肝 $\alpha$ -SMA活化的影响;HA胶束组和氯沙坦组肝脏显示强的绿色荧光,表明HSC处于活化状态;而氯沙坦-HA胶束组没有荧光,未检出 $\alpha$ -SMA的表达。肝样本的免疫组织化学测定结果表明,氯沙坦-HA胶束组肝脏 $\alpha$ -SMA的含量显著低于氯沙坦组,二者均低于胶束组。HA胶束组和氯沙坦组肝脏显示出桥接纤维化,显示纤维化的进展;而氯沙坦-HA胶束组仅局限于间隔纤维化,表明其对纤维化的进展有改善作用。

**3.2 透明质酸靶向的肿瘤坏死因子相关的凋亡诱导配基** 肿瘤坏死因子相关的凋亡诱导配基(tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand, TRAIL)能够选择性地诱导肿瘤细胞凋亡;有报道<sup>[31]</sup>称,TRAIL-相关的致死受体5在活化的HSC表面高度表达,而且活化的HSC对TRAIL-诱导的凋亡比正常细胞更敏感。

但是,TRAIL稳定性差,体内半衰期短,限

**□ 同行评价**  
本文系统性阐述了靶向HSCs治疗肝纤维化的研究进展,复习文献较为全面,为临床判断预后及诊疗带来很大帮助,具有重要指导意义,文章条理清晰、可读性较强。

制了其应用. 将分子量为17 kDa和100 kDa的HA通过醛基活化后, 与TRAIL的末端氨基交联, 制备得到每分子HA(分子量17 kDa)与1分子TRAIL交联的偶合物TRAIL<sub>1</sub>-HA<sub>17000</sub>和每分子HA(分子量100 kDa)与2分子TRAIL交联的偶合物TRAIL<sub>2</sub>-HA<sub>100000</sub><sup>[32]</sup>, 体外活性评价结果, 由于大分子的位阻作用, 偶合物对HCT116细胞的抑制作用低于未交联的TRAIL(TRAIL、TRAIL<sub>1</sub>-HA<sub>17000</sub>和TRAIL<sub>2</sub>-HA<sub>100000</sub>的IC<sub>50</sub>分别为9.82、54.32和76.17 ng/mL), 偶合物的细胞凋亡活性亦低于未交联的TRAIL.

体内分布实验研究结果表明, Balb/c尾静脉注射TRAIL-HA后, 偶合物主要分布于肝脏, TRAIL<sub>2</sub>-HA<sub>100000</sub>的肝靶向分布高于TRAIL<sub>1</sub>-HA<sub>17000</sub>, 且可持续5 d; 而未交联的TRAIL快速通过肾清除, 1 d后即完全消失. 药代动力学研究表明, 大鼠静脉给药(500 μg/kg TRAIL), 偶合物组动物血浆中TRAIL可以持续72 h, 而游离TRAIL给药后, 24 h内快速清除, 表明与HA的交联降低了TRAIL肾清除和酶降解速率.

DMN所致肝纤维化大鼠注射6 mg/kg的TRAIL<sub>2</sub>-HA<sub>100000</sub>, 1次/d, 连续5 d. ALT、AST、BIL及白蛋白的测定结果显示, TRAIL<sub>2</sub>-HA<sub>100000</sub>极大降低了肝纤维化的症状; 与模型组相比肝组织中的细胞因子水平如TNF-α、IL-6、IL-1β及体质量均显著改善; 免疫组织化学分析结果表明, TRAIL<sub>2</sub>-HA<sub>100000</sub>能够极大减少结节的形成, 桥接纤维化及胶原蛋白的着色面积显著低于模型组; Western blot分析结果表明, 肝组织中MMP-1、胶原蛋白-1、α-SMA及肌间线蛋白的表达均显著降低.

#### 4 结论

HSCs的活化和增生是肝纤维化进展的关键步骤, 是肝纤维化治疗的靶细胞. 将具有肝纤维化治疗作用的生物活性物质, 通过HSCs特异性的载体M6P-HSA、VA或HA偶联, 能够将药物分子选择性地递送于HSCs, 有效降低其系统不良反应, 显示了较好的应用前景. VA修饰的靶向热休克蛋白47 siRNA ND-L02-s0201已进入临床研究, 在晚期肝纤维化患者身上显示了良好的耐受性, 并观察到纤维化在组织结构上的改善.

肝纤维化是各种病因所致的慢性肝细胞损伤持续发展的共同病理特征, 是一个由多种

细胞因子和分子途径参与的复杂病理变化. 靶向HSCs的肝纤维化治疗的实验研究取得了较好的结果, 但是这些靶向治疗药物还必须经过临床试验验证才能证明其有效性, 并最终造福广大肝病患者. 影响其临床应用的主要原因有3个方面: (1)由于肝纤维化病因的复杂性, 针对某个单一途径的药物不足以产生可见的疗效, 或者不能对所有肝纤维化患者得益. 因此, 应该开发个体化的精准的肝纤维化治疗方案, 以提高其有效性; (2)现有肝纤维化治疗药物的评价模型与临床肝纤维化的相关性有待提高; (3)现有靶向肝纤维化治疗药物的成药性和实用性有待提高.

对肝纤维化发生及发展的机制研究的深入, 为肝纤维化治疗药物的研发提供了重要的理论依据和治疗靶点<sup>[33]</sup>, 随着靶向治疗技术的完善, 相信会有越来越多的靶向肝纤维化治疗药物走向临床, 并最终造福广大的肝纤维化患者.

#### 5 参考文献

- Ramachandran P, Henderson NC. Antifibrotics in chronic liver disease: tractable targets and translational challenges. *Lancet Gastroenterol Hepatol* 2016; 1: 328-340 [PMID: 28404203 DOI: 10.1016/S2468-1253(16):30110-8]
- 曾志萍, 郭津生. 肝纤维化发生机制及治疗研究进展. *世界华人消化杂志* 2017; 25: 569-575
- Puche JE, Saiman Y, Friedman SL. Hepatic stellate cells and liver fibrosis. *Compr Physiol* 2013; 3: 1473-1492 [PMID: 24265236 DOI: 10.1002/cphy.c120035]
- Zhang CY, Yuan WG, He P, Lei JH, Wang CX. Liver fibrosis and hepatic stellate cells: Etiology, pathological hallmarks and therapeutic targets. *World J Gastroenterol* 2016; 22: 10512-10522 [PMID: 28082803 DOI: 10.3748/wjg.v22.i48.10512]
- Elpek GÖ. Cellular and molecular mechanisms in the pathogenesis of liver fibrosis: An update. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 7260-7276 [PMID: 24966597 DOI: 10.3748/wjg.v20.i23.7260]
- Beljaars L, Olinga P, Molema G, de Bleser P, Geerts A, Groothuis GM, Meijer DK, Poelstra K. Characteristics of the hepatic stellate cell-selective carrier mannose 6-phosphate modified albumin (M6P(28)-HSA). *Liver* 2001; 21: 320-328 [PMID: 11589768 DOI: 10.1034/j.1600-0676.2001.210504.x]
- Fiome L, Manerba M, Di Stefano G. Albumin-drug conjugates in the treatment of hepatic disorders. *Expert Opin Drug Deliv* 2014; 11: 1203-1217 [PMID: 24773257 DOI: 10.1517/1742524.7.2014.913567]
- Gonzalo T, Talman EG, van de Ven A, Temming K, Greupink R, Beljaars L, Reker-Smit C, Meijer DK, Molema G, Poelstra K, Kok RJ. Selective targeting of pentoxifylline to hepatic stellate cells using a novel platinum-based linker technology. *J Control*



- Release 2006; 111: 193-203 [PMID: 16466667 DOI: 10.1016/j.jconrel.2005.12.010]
- 9 Luk JM, Zhang QS, Lee NP, Wo JY, Leung PP, Liu LX, Hu MY, Cheung KF, Hui CK, Lau GK, Fan ST. Hepatic stellate cell-targeted delivery of M6P-HSA-glycyrrhetic acid attenuates hepatic fibrogenesis in a bile duct ligation rat model. *Liver Int* 2007; 27: 548-557 [PMID: 17403195 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2007.01452.x]
- 10 Kim G, Kim J, Lim YL, Kim MY, Baik SK. Renin-angiotensin system inhibitors and fibrosis in chronic liver disease: a systematic review. *Hepatol Int* 2016; 10: 819-828 [PMID: 26903052 DOI: 10.1007/s12072-016-9705-x]
- 11 Moreno M, Gonzalo T, Kok RJ, Sancho-Bru P, van Beuge M, Swart J, Prakash J, Temming K, Fondevila C, Beljaars L, Lacombe M, van der Hoeven P, Arroyo V, Poelstra K, Brenner DA, Ginès P, Bataller R. Reduction of advanced liver fibrosis by short-term targeted delivery of an angiotensin receptor blocker to hepatic stellate cells in rats. *Hepatology* 2010; 51: 942-952 [PMID: 20044807 DOI: 10.1002/hep.23419]
- 12 de Gouville AC, Huet S. Inhibition of ALK5 as a new approach to treat liver fibrotic diseases. *Drug News Perspect* 2006; 19: 85-90 [PMID: 16628263 DOI: 10.1358/dnp.2006.19.2.977444]
- 13 van Beuge MM, Prakash J, Lacombe M, Post E, Reker-Smit C, Beljaars L, Poelstra K. Enhanced effectivity of an ALK5-inhibitor after cell-specific delivery to hepatic stellate cells in mice with liver injury. *PLoS One* 2013; 8: e56442 [PMID: 23441194 DOI: 10.1371/journal.pone.0056442]
- 14 Fukushima M, Nakamuta M, Kohjima M, Kotoh K, Enjoji M, Kobayashi N, Nawata H. Fasudil hydrochloride hydrate, a Rho-kinase (ROCK) inhibitor, suppresses collagen production and enhances collagenase activity in hepatic stellate cells. *Liver Int* 2005; 25: 829-838 [PMID: 15998434 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2005.01142.x]
- 15 van Beuge MM, Prakash J, Lacombe M, Gosens R, Post E, Reker-Smit C, Beljaars L, Poelstra K. Reduction of fibrogenesis by selective delivery of a Rho kinase inhibitor to hepatic stellate cells in mice. *J Pharmacol Exp Ther* 2011; 337: 628-635 [PMID: 21383021 DOI: 10.1124/jpet.111.179143]
- 16 Tsuchida T, Friedman SL. Mechanisms of hepatic stellate cell activation. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2017; 14: 397-411 [PMID: 28487545 DOI: 10.1038/nrgastro.2017.38]
- 17 Senoo H, Mezaki Y, Fujiwara M. The stellate cell system (vitamin A-storing cell system). *Anat Sci Int* 2017; 92: 387-455 [PMID: 28299597 DOI: 10.1007/s12565-017-0395-9]
- 18 Omar R, Yang J, Liu H, Davies NM, Gong Y. Hepatic Stellate Cells in Liver Fibrosis and siRNA-Based Therapy. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 2016; 172: 1-37 [PMID: 27534415 DOI: 10.1007/112\_2016\_6]
- 19 Jiang XP, Ai WB, Wan LY, Zhang YQ, Wu JF. The roles of microRNA families in hepatic fibrosis. *Cell Biosci* 2017; 7: 34 [PMID: 28680559 DOI: 10.1186/s13578-017-0161-7]
- 20 Ito S, Nagata K. Biology of Hsp47 (SerpH1), a collagen-specific molecular chaperone. *Semin Cell Dev Biol* 2017; 62: 142-151 [PMID: 27838364 DOI: 10.1016/j.semcdb.2016.11.005]
- 21 Birukawa NK, Murase K, Sato Y, Kosaka A, Yoneda A, Nishita H, Fujita R, Nishimura M, Ninomiya T, Kajiwaru K, Miyazaki M, Nakashima Y, Ota S, Murakami Y, Tanaka Y, Minomi K, Tamura Y, Niitsu Y. Activated hepatic stellate cells are dependent on self-collagen, cleaved by membrane type 1 matrix metalloproteinase for their growth. *J Biol Chem* 2014; 289: 20209-20221 [PMID: 24867951 DOI: 10.1074/jbc.M113.544494]
- 22 Sato Y, Murase K, Kato J, Kobune M, Sato T, Kawano Y, Takimoto R, Takada K, Miyanishi K, Matsunaga T, Takayama T, Niitsu Y. Resolution of liver cirrhosis using vitamin A-coupled liposomes to deliver siRNA against a collagen-specific chaperone. *Nat Biotechnol* 2008; 26: 431-442 [PMID: 18376398 DOI: 10.1038/nbt1396]
- 23 Kwiecinski M, Noetel A, Elfimova N, Trebicka J, Schievenbusch S, Strack I, Molnar L, von Brandenstein M, Töx U, Nischt R, Coutelle O, Dienes HP, Odenthal M. Hepatocyte growth factor (HGF) inhibits collagen I and IV synthesis in hepatic stellate cells by miRNA-29 induction. *PLoS One* 2011; 6: e24568 [PMID: 21931759 DOI: 10.1371/journal.pone.0024568]
- 24 Narmada BC, Kang Y, Venkatraman L, Peng Q, Sakban RB, Nugraha B, Jiang X, Bunte RM, So PT, Tucker-Kellogg L, Mao HQ, Yu H. Hepatic stellate cell-targeted delivery of hepatocyte growth factor transgene via bile duct infusion enhances its expression at fibrotic foci to regress dimethylnitrosamine-induced liver fibrosis. *Hum Gene Ther* 2013; 24: 508-519 [PMID: 23527815 DOI: 10.1089/hum.2012.158]
- 25 Iwakiri Y. Nitric oxide in liver fibrosis: The role of inducible nitric oxide synthase. *Clin Mol Hepatol* 2015; 21: 319-325 [PMID: 26770919 DOI: 10.3350/cmh.2015.21.4.319]
- 26 Beyazit Y, Efe C, Tanoglu A, Purnak T, Sayilir A, Taskiran I, Kekilli M, Turhan T, Ozaslan E, Wahlin S. Nitric oxide is a potential mediator of hepatic inflammation and fibrogenesis in autoimmune hepatitis. *Scand J Gastroenterol* 2015; 50: 204-210 [PMID: 25495215 DOI: 10.3109/00365521.2014.974203]
- 27 Duong HT, Dong Z, Su L, Boyer C, George J, Davis TP, Wang J. The use of nanoparticles to deliver nitric oxide to hepatic stellate cells for treating liver fibrosis and portal hypertension. *Small* 2015; 11: 2291-2304 [PMID: 25641921 DOI: 10.1002/smll.201402870]
- 28 Tripodo G, Trapani A, Torre ML, Giammona G, Trapani G, Mandracchia D. Hyaluronic acid and its derivatives in drug delivery and imaging: Recent advances and challenges. *Eur J Pharm Biopharm* 2015; 97: 400-416 [PMID: 26614559 DOI: 10.1016/j.ejpb.2015.03.032]
- 29 Kim KS, Hur W, Park SJ, Hong SW, Choi JE, Goh EJ, Yoon SK, Hahn SK. Bioimaging for targeted delivery of hyaluronic Acid derivatives to the livers in cirrhotic mice using quantum dots. *ACS Nano* 2010; 4: 3005-3014 [PMID: 20518553 DOI: 10.1021/nn100589y]
- 30 Thomas RG, Moon MJ, Kim JH, Lee JH, Jeong YY. Effectiveness of Losartan-Loaded Hyaluronic Acid (HA) Micelles for the Reduction of

- Advanced Hepatic Fibrosis in C3H/HeN Mice Model. *PLoS One* 2015; 10: e0145512 [PMID: 26714035 DOI: 10.1371/journal.pone.0145512]
- 31 Arabpour M, Cool RH, Faber KN, Quax WJ, Haisma HJ. Receptor-specific TRAIL as a means to achieve targeted elimination of activated hepatic stellate cells. *J Drug Target* 2017; 25: 360-369 [PMID: 27885847 DOI: 10.1080/1061186X.2016.1262867]
- 32 Yang JA, Kong WH, Sung DK, Kim H, Kim TH, Lee KC, Hahn SK. Hyaluronic acid-tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand conjugate for targeted treatment of liver fibrosis. *Acta Biomater* 2015; 12: 174-182 [PMID: 25305513 DOI: 10.1016/j.actbio.2014.10.002]
- 33 Poelstra K, Beljaars L, Melgert BN. Cell-specific delivery of biologicals: problems, pitfalls and possibilities of antifibrotic compounds in the liver. *Drug Discov Today* 2013; 18: 1237-1242 [PMID: 23732178 DOI: 10.1016/j.drudis.2013.05.013]

编辑: 马亚娟 电编: 杜冉冉



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 © 2017 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》消化护理学领域征稿启事

**本刊讯** 为了促进消化护理学领域的事业发展,《世界华人消化杂志》已成立消化护理学编辑委员会. 将主要报道消化护理学的基础研究, 临床研究, 临床护理实践和护理管理等原始和综述性文章.

《世界华人消化杂志》成立消化护理学编辑委员会, 由周谊霞副教授等77位专家组成, 分布在24个省市. 其中上海市11位, 陕西省8位, 山东省7位, 黑龙江省7位, 辽宁省6位, 北京市5位, 广东省5位, 河北省3位, 贵州省3位, 湖北省2位, 浙江省2位, 四川省2位, 福建省2位, 江苏省2位, 云南省2位, 新疆维吾尔自治区2位, 甘肃省1位, 海南省1位, 江西省1位, 山西省1位, 天津市1位, 安徽省1位, 河南省1位和吉林省1位. 均来自高等院校和附属医院, 其中主任护师16位, 教授1位, 副主任护师49位, 副教授4位, 主管护师7位.

《世界华人消化杂志》是一本高质量的同行评议, 开放获取和在线出版的一份学术刊物. 我们真心欢迎消化内科, 消化外科等领域从事护理学工作者积极宣传和踊跃投稿至《世界华人消化杂志》. 请在线投稿, 网址见: <https://www.baishideng.com>

《世界华人消化杂志》2014年收到自由投稿和约稿2192篇. 出版手稿937篇(42.7%), 退稿1220篇(55.7%). 邀请476位编委参与同行评议.

《世界华人消化杂志》被国际检索系统美国《化学文摘》(Chemical Abstracts, CA)、荷兰《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》和俄罗斯《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》收录.

《世界华人消化杂志》由百世登出版集团有限公司(Baishideng Publishing Group, BPG)编辑和出版. BPG主要从事43种国际性生物医学刊物的编辑和出版工作, 包括旗舰刊物《世界胃肠病学杂志(*World Journal of Gastroenterology, WJG*)》. (郭鹏)





Published by **Baishideng Publishing Group Inc**  
7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton,  
CA 94588, USA  
Fax: +1-925-223-8242  
Telephone: +1-925-223-8243  
E-mail: [bpgoffice@wjgnet.com](mailto:bpgoffice@wjgnet.com)  
<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

