

世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2003 年 6 月 15 日 第 11 卷 第 6 期 (Volume 11 Number 6)



6/2003

ISSN 1009-3079



名誉总编辑
潘伯荣
总编辑
马连生

World Journal of Gastroenterology® 被 SCI®-E, Research Alert®,
Current Contents®/Clinical Medicine, Journal Citation Reports®
Index Medicus, MEDLINE, Chemical Abstracts, EMBASE/
Excerpta Medica 收录. 2001 年 JCR® 报告 WJG 影响因子
1.445. 世界华人消化杂志® 被 Chemical Abstracts, EMBASE/
Excerpta Medica 收录. 2001 年中国科技期刊引证报告:
世界华人消化杂志® 影响因子 3.733, WJG 影响因子 2.920.

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ●

2003 年 6 月 15 日 第 11 卷 第 6 期 (总第 110 期)

述 评

689 肝脏胶原蛋白检测进展与评析 刘成海

病毒性肝炎

693 甲型肝炎减毒活疫苗(LA-1 株)大规模免疫长期效果观察 龚健,李荣成,徐志一,江世平,罗东,杨进业,李艳萍,陈修荣,黄贵彪,凌文武,韦光武,汪莹怡

697 HCV-Fc 融合基因疫苗真核表达载体的构建及表达 冯志华,王全楚,周永兴,郝春秋,聂青和

701 胸腺肽 $\alpha 1$ 对慢性乙型肝炎患者免疫系统的影响 段国荣,聂青和,周永兴,王全楚,田长印,刘拉羊,薛红安

705 蛋白激酶 C 对肾小球前小动脉平滑肌细胞 I 型 IP_3 受体表达影响 王静艳,刘沛,韩峰

肝 癌

708 抗肝癌单链免疫毒素基因修饰的 PBMCs 在动物体内的抑瘤作用 程虹,刘彦仿,张惠中,沈万安,张菊,张静

712 经皮穿刺氩氦刀冷冻治疗肝癌 31 例 钱国军,陈汉,吴孟超

716 大鼠肝细胞癌形成过程中 MMP-2mRNA 的表达及应用 BB-94 的影响 张志,方石岗,高毅,蒋泽生,孙尔维

基 础 研 究

719 西安酒精性肝病流行病学 鲁晓岚,陶明,罗金燕,耿燕,赵平,赵红莉

723 蛋白激酶 C 在肝细胞缺氧预处理中的作用 单毓强,高毅,王瑜,潘明新

726 肝硬化不同病期 ET-1, NO 对离体肝脏血流动力学的调节作用 姚冬梅,姚希贤,杨川杰,冯志杰,房红梅,高军萍

730 大鼠肝纤维化中细胞外信号调节激酶的作用 梁增文,张国,王天才

733 环氧合酶-2 反义核酸对人胆管癌细胞增生的影响 吴高松,武小勇,邹声泉,裘法祖

737 ONO-3403 对胆囊收缩素刺激的大鼠胰腺外分泌的影响 陈少夫,刘维新,山本光胜,大槻真

741 内皮抑素-可溶性血管内皮细胞生长抑制因子融合基因重组腺病毒的包装与鉴定 李喆,潘欣,潘卫,曹贵松,闻兆章,方国恩,戚中田,毕建成,华积德

745 激活素 A 对肝星状细胞细胞外基质合成的影响 刘清华,李定国,黄新,尤汉宁,潘勤,徐雷鸣,徐芹芳,陆汉明

749 脾静脉结扎诱导继发性脾功能亢进犬动物模型的评价 刘全达,马宽生,何振平,丁钧,董家鸿

753 IL-6 与整合素家族细胞黏附分子在大鼠急性坏死性胰腺炎合并多器官损伤模型中的表达 孙威,张俊东,赵滢,赵宇,王强

临 床 研 究

756 老年消化道多原发癌的早期诊断及综合治疗 蔡昌豪,吴本伊,吴道宏,邵勇,王孟薇

焦 点 论 坛

760 进一步深化慢性乙型肝炎诊断治疗的实用性研究 李梦东,聂青和

762 慢性乙型肝炎临床分度、诊断的一些问题 周永兴

766 慢性乙型肝炎的鉴别诊断及常见并发症 聂青和

768 特殊人群乙型肝炎的临床特点及处理 罗新栋,聂青和

772 病理学检测在慢性乙型肝炎诊断治疗中的价值 郎振为

775 经皮肝脏活体穿刺活检技巧及研究进展 滕光菊,聂青和

776 乙型肝炎的实验检查及其临床意义 郝春秋,聂青和

780 慢性乙型肝炎的抗病毒治疗 程明亮,吴亚云

783 慢性乙型肝炎的免疫治疗 施光峰

785 慢性乙型肝炎的中医药治疗 申德林,王全楚,焦栓林

787 乙型肝炎病毒携带者的诊断与治疗 江家骥,朱琪

789 慢性乙型肝炎肝纤维化的诊断与治疗 蔡卫民,张彬彬

791 乙型肝炎病毒慢性感染和肝癌发生 苏勤

795 治疗性疫苗-慢性乙型肝炎患者的希望 王全楚,聂青和

文 献 综 述

799 抗乙型肝炎病毒肝靶向药物制剂的研究进展 王九平,白雪帆

803 腺病毒载体的特点及其在 HCV 研究中的应用 郝春秋,冯志华,聂青和

806 HCVC 区 DNA 疫苗的研究现状 孙利,周永兴

810 病毒性肝炎基因治疗的研究和面临的挑战 贾战生,冯志华,周永兴

文献综述	815 抗 HCV 树突状细胞疫苗的制备及功能研究 王全楚,冯志华,周永兴 819 疫苗新概念及新型疫苗的研制 冯志华,王全楚 823 特殊状态下的逆行胰胆管造影检查术 智发朝 824 胃肠道出血的内镜诊治 陈村龙,宋于刚,周殿元 827 介入内镜学在胆胰疾病中的应用 刘思德 829 老年期消化性溃疡与恶性肿瘤溃疡、应激性溃疡的鉴别 吴保平,肖冰 831 老年人消化道急症 黄纯炽
研究快报	834 肠癌细胞 BAI1 基因表达的检测及其抗肿瘤作用 王志华,康熙雄,张智清,申宝忠,李莹 836 三氧化二砷对鸡胚移植胆管癌生长的抑制作用 喻智勇,王曙光,郑秀海,李昆 838 小鼠实验性肝损伤中 NO 的动态检测及意义 陈会松,柳利明,黄华,杨晋辉
临床经验	841 结肠黑变病 25 例 孙军,李岩 842 保留胰腺的脾动脉干及脾切除术在胃癌根治术中的意义 陈志新,胡建昆,张波,陈佳平,周总光 844 萎缩性胃炎临床证型分类研究 朱方石,姒健敏,王良静 846 叶酸对胃癌前细胞凋亡的影响 曹大中,刘顺英,赵建学 848 短肠综合征的远期并发症 4 例 周伟,江志伟,姜军,朱维铭,张佃良,李宁,黎介寿 851 幽门螺杆菌感染与慢性肝病的临床关系 焦建中,聂青和,赵春林,吴永胜,文绍先,吴群 853 内支架术与腔内近距离放射治疗联合应用治疗晚期食管癌 8 例 申宝忠,于友涛 855 组织黏合剂 Histoacryl 治疗胃静脉曲张活动性出血的疗效 曾黎明,陈村龙,智发朝 856 肝病患者血清肿瘤坏死因子 α 水平变化 徐学刚,张美稀,董惠芳,杨协珍,金树根,陈建杰,王灵台 859 尼美舒利引起肝脏损害 14 例 关英,徐峰,胡莲,周甘平 861 脾脏体积、脾静脉血流及血细胞计数在门静脉高压症分期中的意义 王秀艳,游晓功,施宝民,穆庆岭,吴泰璜 863 大连地区糖尿病患者与健康成年人肠内菌群的比较 孙艳,刘波,赵静玫,王海岩,徐和利,李雪松 865 影像学检查对肝门部胆管癌进展范围评价的临床价值 张国梁,韦斌,朱春兰,任旭 867 分离培养在 Hp 感染诊断中的重要地位 史济经,闵海阳,王青,杨慧芳,王洪涛,张振华 870 HBV 感染者 HBV DNA 与抗原抗体标志物的关系 陈雪娟,李刚,刘淑芳,陈文思,李桂侠 871 乙型肝炎肝组织中细胞间黏附分子-1 及 Fas 的表达及意义 张闯峰,郑瑞丹,孟家榕,郭以河,林福地 873 轮状病毒全身感染对肝胆胰的影响 姚英氏,李宁,欧巧群 877 良性肝病患者血清 AFP 升高的临床意义 程天霞 875 胆源性胰腺炎手术治疗 58 例 黄建勇,马清涌,马建新 879 经皮肝穿刺胆道引流治疗外伤后胆瘘 汪邵平,霍枫,张玉新,裴世强
病例报告	840 以肠梗阻为首表现的原发性小肠肿瘤 4 例 赵永玲,魏芳
编委来信	707 711 江学良
投稿细则	附 1-4 世界华人消化杂志投稿细则
封面故事	730 大鼠肝纤维化中细胞外信号调节激酶的作用 梁增文,张国,王天才

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名
陈可冀 题写版权刊名

(月刊)
创刊 1993-01-15
改刊 1998-01-25
出版 2003-06-15
原刊名 新消化病学杂志

总顾问 陈可冀
黄象谦
黄志强
黎介寿
刘耕陶
裘法祖
汤钊猷
王宝恩
危北海
吴孟超
吴咸中

张金哲
张学庸
赵东海
周殿元
社长总编辑 马连生
中文编辑 潘伯荣
王瑾晖
英文编辑 张建中
排版 李少华
校对 李天华

编辑 世界华人消化杂志编辑委员会
030001, 山西省太原市双塔西街 77 号
E-mail:wcjd@wjgnet.com
出版 世界胃肠病学杂志社
100023, 北京市 2345 信箱
E-mail: wcjd @ wjgnet.com
http://www.wjgnet.com
电话 (010)85381892
传真 (010)85381893
印刷 北京科信印刷厂
发行 国内 北京报刊发行局
国外 中国国际图书贸易总公司
(100044, 北京 399 信箱)
订购 全国各地邮电局
邮购 世界胃肠病学杂志社发行部
(100023, 北京市 2345 信箱)
电话:(010)85381892
传真:(010)85381893
2003 年版权归世界胃肠病学杂志社所有

本刊已被国内外 检索系统收录

美国《化学文摘(CA)》
荷兰《医学文摘库/医学文摘(EM)》
俄罗斯《文摘杂志(PJ)》
中国科技论文统计与分析
中国学术期刊文摘
中国中医药信息服务网
中国生物医学文献光盘数据库
《中文科技资料目录(医药卫生)》
中国生物医学期刊目录数据库
中国医学文摘外科学分册(英文版)
中国医学文摘内科学分册(英文版)

特别声明

本刊刊出的所有文章不代表世界胃肠病学杂志社和本刊编委会的观点,除非特别声明.本刊如有印装质量问题,请向本刊编辑部调换.

ISSN 1009-3079
CN 14-1260/R

邮发代号 82-262
国外代号 M 4481

国内定价 每期 24.00 元 全年 288.00 元

广告经营许可证
1401004000050

抗乙型肝炎病毒肝靶向药物制剂的研究进展

王九平,白雪帆

王九平,白雪帆,中国人民解放军第四军医大学唐都医院全军感染病诊疗中心 陕西省西安市 710038
项目负责人:王九平, 710038, 陕西省西安市, 中国人民解放军第四军医大学唐都医院全军感染病诊疗中心.
收稿日期:2002-10-25 接受日期:2002-11-19

摘要

乙型肝炎病毒感染严重危害人类健康,全身抗病毒和调节免疫功能的治疗效果尚不理想,近年来国内外开展肝靶向药物的研究,即用某中具有特殊亲和力的载体把抗乙肝病毒药物运送到肝靶器官,达到了小剂量、高效应,低毒副性反应的目的,靶向抗乙肝病毒药物可能成为肝炎治疗中确实有效的方法之一。

王九平,白雪帆. 抗乙型肝炎病毒肝靶向药物制剂的研究进展. 世界华人消化杂志 2003;11(6):799-802
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/11/799.asp>

0 引言

乙型肝炎是由乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染引起的一种严重危害人类健康的传染病^[1-10]. 全世界大约有 20 亿人感染过 HBV, 3.5 亿携带 HBV, 而持续 HBV 感染会导致肝硬化和原发性肝癌, 死亡率^[11-17]很高. 尽管国内外医学家采用全身抗病毒和调节免疫功能的方法, 但治疗效果尚不理想, 其主要原因可能是药物在 HBV 主要复制部位 - 肝脏中分布较少. 虽然可通过肝动脉或门静脉给药来提高药物在肝脏的分布, 但有一定的创伤. 针对这一问题, 近年来开展肝靶向药物(targeted drug system)抗乙肝病毒的研究, 即采用医学生物技术将治疗药物与靶向载体结合, 以使药物能被特异运送至靶器官与靶细胞, 较好地达到了小剂量、高效应, 低毒副性反应的目的. 因此, 通过靶向抗乙肝病毒药物可能成为肝炎治疗中确实有效的方法之一^[18-29]. 现将肝靶向给药抗乙肝病毒的研究现状及应用前景作一综述.

1 主动靶向

1.1 肝细胞半乳糖受体介导的肝靶向药物 肝细胞半乳糖受体(hepatocyte galactose receptor, H-Gal-R)仅存在于哺乳动物的肝实质细胞膜上, 他能特异的识别和结合以非还原半乳糖或 N-乙酰半乳糖为末端的糖蛋白, 该受体介导的胞吞作用的糖蛋白定向转运到胞内溶酶体进行代谢. 利用 H-Gal-R 介导的各种药物、酶或基因定向转运到肝细胞内发挥作用. Hashida et al^[30] 实验证实, H-Gal-R 介导系统对肝有较高的亲和性, 且肝吸收迅速.

干扰素(IFN)是目前 HBV 治疗的首选药^[31-34], 但临床应用中存在用量大、毒副作用大、费用昂贵等缺点. 将以 D-半乳糖为起始物合成 2-亚氨基-2-甲氧基-1-硫代-β-D-半乳糖吡糖苷(IME-半乳糖苷)与 INFα₁ 相结合获得共轭物 Gal-INFα₁^[30]. 研究表明:Gal-INFα₁ 具有明显的趋肝性, INFα₁ 效价为 345 901 kU/L, 而 Gal-INFα₁ 的效价为 958 668 kU/L, 后者为前者的 2.27 倍. 这一结果显示, 将半乳糖引入 INFα₁ 后, 不仅可提高 INFα₁ 在肝脏的分布, 而且也增强了 INFα₁ 的生物活性.

核苷类药物在抗乙型肝炎病毒药物中也占有相当重要的地位^[35-37]. 但疗效不很理想, 主要是由于乙型肝炎病毒核心抗原存在于肝细胞内, 核苷类药物需进入肝细胞, 并经胸腺嘧啶核苷激酶催化三磷酸化后方显效. 而核苷类药物不易透过肝细胞, 且乙肝病毒感染的细胞缺少胸腺嘧啶核苷激酶, 宿主细胞磷酸化作用缓慢, 达不到抑制病毒复制的有效浓度. 大剂量给药可提高血药浓度, 但在血中未被磷酸化的药物可迅速经肾排泄而出现血尿和肾功能障碍等毒副作用. 为了提高核苷类药物治疗乙型肝炎的疗效并降低其毒性, 在国内外广泛开展 H-Gal-R 介导的肝靶向核苷类抗病毒药物的研究. 实验研究证明^[38,39], 以乳糖化人血清白蛋白(L-HAS)为载体的阿糖腺苷-乳糖化人血清白蛋白(L-HAS-Ara-AMP)和无环鸟苷-乳糖化人血清白蛋白(L-HSA-ACV-A); 以 NGA 为载体的无环鸟苷-半乳糖基新糖白蛋白(NGA-ACV-A); 以 CMD 为载体的半乳糖化羧甲基葡聚糖-阿糖胞苷(Gal-CMD-Ara-C). 动物体内示踪表明交联物能迅速积聚于肝细胞, 并延长药物作用时间. 交联物在肝内与游离药物有相同的抑制病毒 DNA 合成的作用, 所需导向药物的剂量较游离药少 5-10 倍, 其毒副作用极低. 无环鸟苷(ACV)乳糖血清白蛋白(LSA)交联物可显著减少在肾脏的堆积. 小鼠经 0.6 μg/g 已经证明阿糖腺苷和单磷酸阿糖腺苷能抑制乙肝病毒(HBV)复制, 但剂量相关的神经肌肉疼痛综合征阻碍了该药的临床应用. 将单磷酸阿糖腺苷与含末端半乳糖残基的乳糖化血清清蛋白形成偶联物乳糖化清蛋白单磷酸阿糖腺苷(L-HSA-Ara-AMP), L-HSA 是半乳糖末端糖蛋白, 通过受体介导可选择性进入肝脏, 提高了肝脏中单磷酸阿糖腺苷(Ara-AMP)的浓度, 而且还因良好的靶向性而降低了药物的使用剂量. Xie et al^[40] 采用麻鸭乙肝病毒动物模型, 用单磷酸阿糖腺苷(Ard-AMP)与半乳糖化血清白蛋白交联物(L-HSA-Ara-AMP)治疗 10 d, 观察用药前后血清中鸭乙肝病毒(DHBV)DNA,

DHBsAg, 肝组织病理学变化及药物的不良反应. 结果表明, L-HSA-Ara-AMP 用药后能使血清 DHBV DNA 水平降低, 对血清 DHBsAg 作用相对缓慢, 治疗过程中未见 L-HSA-Ara-AMP 不良反应, 既降低 Ara-AMP 的使用剂量, 避免了 Ara-AMP 的不良反应, 又能抑制 DHBVDNA 的复制, 在体内达到了抗 DHBV 的作用. Fiumme et al^[41]临床上用 Ara-AMP 半乳糖化共轭物 35 mg/kg 治疗 5 例慢性乙型肝炎患者, 结果 3 例血清 HBV-DNA 消失, 另 2 例治疗期 HBA-DNA 水平明显下降, 而其药量比游离药物低 3-6 倍.

反义寡核苷酸(antisense oligodeoxynucleotides, ASODN)能有效抑制培养细胞中的乙型肝炎病毒基因的表达, 是值得研究的新型抗病毒药剂, 但 ASODN 的生物利用度和稳定性较差, 因此还需要积极寻找新的 ASODN 修饰方法, 从而增强 ASODN 的生物利用度和稳定性. 郭军 et al^[42]以人工合成 2 种糖化多聚赖氨酸导向配体, 与互补 HBVmRNA 多聚腺苷酸的反义寡核苷酸复合物结合, 体外肝细胞和小鼠体内实验显示, 两种导向配体-ASODN 复合物可使 2.2.15 细胞荧光染色率达 75.3% 和 83.8%, 而单纯 ASODN 组则为 24.3% 和 1.8%. 冰冻切片观察荧光染色主要聚集在肝脏中. 说明导向配体无论在体内外均具有良好的导向 ASODN 进入肝细胞的功能. 另有实验证明半乳糖化白蛋白和半乳糖化多聚赖氨酸连接的 ASODN 也明显提高了抗乙肝病毒的活性.

1.2 抗体介导的靶向药物 普通的靶向抗病毒药不能选择感染与非感染的细胞, 因此对正常的细胞可造成一定的损害, 在原发性肝癌的治疗中, 就是利用抗体的高度特异性, 用抗体将药物导向肿瘤细胞. 将博来霉素 A 6 与抗人肝癌单抗 H 111 偶联, 在体外, 对人肝癌细胞抑制率达 90%; 在裸鼠, 对移植的人肝癌细胞抑制率为 78%, 而等剂量游离 A 6 的抑癌率仅为 30%. H 111 A 6 对人肝癌的抑制作用明显高于游离 A 6. 为增强导向治疗的“弹头”杀伤效果, 胡晓华 et al^[43]制备了同时携带¹³¹I 和 MMC 的双弹头马抗人 A FP 抗体(¹³¹I A FPAb MMC), 对荷人肝癌裸鼠的定位显像,¹³¹I A FPAb MMC 有良好的定位作用, 抑癌率可达 73.55%. 对 22 例配对的中晚期原发性肝癌的治疗显示: 治疗组有效率为 63.2%, 明显高于对照组(31.8%); 治疗组 1a 生存率(52.6%)也明显高于对照组(22.7%), 且无严重副作用. 由此可以推测, 若在交联物或在抗病毒药物上交联某一特异性的抗 HBV 的抗体, 有可能将药物导向感染的细胞. 叶维法 et al^[44]以抗 HBV 单抗抗抗体[抗-HBs 的 F(ab')₂ 片段]体[抗-HBs 为载体交联干扰素, 并使用慢性乙型肝炎的治疗, 结果显示, HBeAg 转阴率达 79.4%, HBV-DNA 转阴率达 75%, 显著高于文献报告的普通干扰素的疗效, 且不良反应明显减轻.

2 被动靶向制剂

2.1 脂质体介导的靶向药物 脂质体(liposome) 是由脂质

双分子层组成类似生物膜结构的封闭小囊, 药物包裹于囊室内无需化学键形成, 有利于保持药物活性. 脂质体对肝脏有良好的靶向性, 进入机体可迅速被肝内丰富的网状内皮系统吸收, 一旦脂质体到达靶组织, 可经多种途径发挥作用. 药物-脂质体进入细胞, 溶酶体破坏, 载体被溶酶体酶所分解, 药物将被释放入胞质, 发挥细胞毒作用. 另外, 脂质体与抗原决定簇相结合, 使脂质体内包含的药物在细胞表面高浓度地持续释放, 所释放的药物将通过被动扩散或细胞膜运输系统进入细胞. 脂质体还可作为免疫佐剂, 调节机体的免疫应答, 而制备脂质体的多种天然磷脂还是肝细胞保护剂, 所以, 脂质体包裹抗病毒药物在乙型肝炎的治疗中^[45-48], 即可靶向抗病毒, 又有可以调节免疫和保护细胞功能. 干扰素制成脂质体的体外试验证明其抗乙肝作用病毒为等量游离干扰素的 10-1 000 倍. 陈启荣 et al^[49]作了脂质体介导反义寡核苷酸体外抗乙型肝炎病毒作用的研究, 以 2, 2, 15 细胞为靶细胞, 针对 HBVS 基因和 Pre C 基因翻译起始区设计合成了 16 聚硫代反义寡核苷酸, 脂质体促进转染. 用放射免疫测定法(RIA)测乙型肝炎病毒 HBsAg 和 HBeAg 含量. 结果显示: 脂质体介导 PS-ASON 在浓度 1 μ mol/L 时特异性抑制 90% HBsAg 和 92% HBeAg 的产生, 同时未见对细胞的毒性作用. 脂质体介导反义寡核苷酸的抗病毒作用显著高于单独用 ASODN ($P < 0.01$). 脂质体介导的 ASODN 是一种很有潜力的抗 HBV 药物.

2.2 微球介导的肝靶向药物 微球(microspheres)是将药物分子分散或黏附于高分子物质载体中而形成的微粒分散系统. 其微粒大小不等, 一般为几个微米, 已知肝脏大量存在的网状内皮细胞能对血液中 0.7-7 μ m 的颗粒产生内吞和融合作用. 将药物和载体(白蛋白、明胶、乙基纤维素、淀粉等)结合制成微球, 与脂质体比较具有稳定性好、载药量大、有肝靶向和缓慢释药的特点^[50-52], 微球还具有促进抗原靶向抗原呈递细胞(APCs); 活化 T 及 B 细胞, 促进信号传递和淋巴细胞的增生活化; 诱导 T 及 B 细胞的免疫记忆^[53-55]等作用, 因而备受人们的关注. 张志荣 et al^[56]肝靶向万乃洛韦毫微粒的研究, 用乳化聚合法制备了万乃洛韦聚氰基丙烯酸正丁酯毫微粒, 对其形态、大小及其分布、体外释药特性、载药量、初步稳定性、动物体内的分布和体外肝细胞的摄取情况进行了研究. 结果表明: 对肝细胞具有通透性; 静注后 15 min 有 74.5% 集中在肝脏. 提示, 万乃洛韦毫微粒对于提高万乃洛韦对病毒性乙型肝炎的治疗效果和降低其对肾脏的毒性有意义.

吴晓蓉 et al^[57]将疫苗包裹在可生物降解的微球中, 制成一种极有潜力的新型疫苗载体系统. 采用聚-DL-乳酸-聚乙二醇共聚物(PELA)为材料, 包裹乙型肝炎表面抗原(HBsAg), 制成缓释微球疫苗, 以皮下注射或口服的方式免疫 balb/c 小鼠, 研究其免疫原性. 同时以乙肝常规铝佐剂疫苗免疫两剂作为对照. 结果表明, 皮下注射单剂微球疫苗后, 在 14 wk, 小鼠血清 IgG 滴度

可达到与铝佐剂疫苗组相当的水平, 维持较高的滴度; 此外, 口服微球疫苗组诱导的血清 IgG 滴度较低, 但其 SIgA 明显高于对照组和皮下注射微球疫苗组, 可见, 口服微球疫苗可诱导更高水平的黏膜抗体反应. PELA 微球作为疫苗载体系统是可行的, 采用可生物降解的聚合物制备缓释的微球疫苗具有潜在的优势, 初步试验表明单剂乙肝微球疫苗皮下注射可达到与多剂注射常规疫苗相似的免疫保护水平.

总之, 不同途径介导的抗乙肝病毒药物靶向制剂具有不同的特点, 不同的选择性, 有些药物也已进入临床研究阶段, 但要用于临床还有一些问题亟待解决. 如脂质体对某些药物包封率低, 药物易于渗漏, 脂质也易被氧化, 稳定性差等. 理想的脂质体应具备以下条件: (1)保持较长的循环半衰期; (2)耦联方法应该有效、简单、快速并适用于人体; (3)抗体的存在不应干扰药物的装载及释放; (4)脂质体药物应保留他们在体内的靶识别作用, 能够以足够的剂量与靶细胞结合并释放药物, 使其治疗功效高于单独用药或无导向器的脂质体药物. 抗体介导给药虽然能进一步选择感染与非感染细胞, 但仍存在的许多问题: (1)稳定性差, 如对 pH 值变化敏感, 对热不稳定, 提纯过程中易变性等; (2)特异性较低, 易于正常细胞交叉反应, 产生抗抗体等. 尽管肝靶向药物还存在着许多问题, 随着靶向制剂理论进一步阐明, 肝靶向药物仍有广阔的临床应用前景.

3 参考文献

- Zhao LS, Qin S, Zhou TY, Tang H, Liu L, Lei BJ. DNA-based vaccination induces humoral and cellular immune responses against hepatitis B virus surface antigen in mice without activation of *c-myc*. *World J Gastroenterol* 2000;6:239-243
- Chen XS, Wang GJ, Cai X, Yu HY, Hu YP. Inhibition of hepatitis B virus by oxymatrine in vivo. *World J Gastroenterol* 2001;7:49-52
- Yotsuyanagi H, Hino K, Tomita E, Toyoda J, Yasuda K, Iino S. Precore and core promoter mutations, hepatitis B virus DNA levels and progressive liver injury in chronic hepatitis B. *J Hepatol* 2002;37:355
- Miranda J, Cabezas C. Hepatitis B among health workers. *Rev Gastroenterol Peru* 2001;21:128-135
- Hu YP, Hu WJ, Zheng WC, Li JX, Dai DS, Wang XM, Zhang SZ, Yu HY, Sun W, Hao GR. Establishment of transgenic mouse harboring hepatitis B virus (adr subtype) genomes. *World J Gastroenterol* 2001;7:111-114
- Amarapurkar D, Das HS. Chronic liver disease in diabetes mellitus. *Trop Gastroenterol* 2002;23:3-5
- Goldmann DA. Blood-borne pathogens and nosocomial infections. *J Allerg Clin Immunol* 2002;110(Pt2):S021-26
- Zheng WC, Qi GR. tRNA-embedded hammerhead ribozymes mediate destruction of HBV (Subtype adr) in vitro. *Shengwu Huaxue Yu Shengwu Wuli Xuebao* 1998;30:432-438
- Kakimi K, Isogawa M, Chung J, Sette A, Chisari FV. Immunogenicity and tolerogenicity of hepatitis B virus structural and nonstructural proteins: implications for immunotherapy of persistent viral infections. *J Virol* 2002;76:8609-8620
- Dikici B, Bosnak M, Bosnak V, Dagli A, Ece A, Yagci RV, Haspolat K. Combination therapy for children with chronic hepatitis B virus infection. *J Gastroenterol Hepatol* 2002;17:1087-1091
- Ding X, Mizokami M, Yao G, Xu B, Orito E, Ueda R, Nakanishi M. Hepatitis B virus genotype distribution among chronic hepatitis B virus carriers in Shanghai, China. *Intervirology* 2001;44:43-47
- Assy N, Paizi M, Gaitini D, Baruch Y, Spira G. Clinical implication of VEGF serum levels in cirrhotic patients with or without portal hypertension. *World J Gastroenterol* 1999;5:296-300
- Merican I, Guan R, Amarapuka D, Alexander MJ, Chutaputti A, Chien RN, Hasnain SS, Leung N, Lesmana L, Phiet PH, Sjalfoellah Noer HM, Sollano J, Sun HS, Xu DZ. Chronic hepatitis B virus infection in Asian countries. *J Gastroenterol Hepatol* 2000;15:1356-1361
- Notas G, Xidakis C, Valatas V, Kouroumalis A, Kouroumalis E. Levels of circulating endothelin-1 and nitrates/nitrites in patients with virus-related hepatocellular carcinoma. *J Viral Hepat* 2001;8:63-69
- Seki S, Sakaguchi H, Kitada T, Tamori A, Takeda T, Kawada N, Habu D, Nakatani K, Nishiguchi S, Shiomi S. Outcomes of dysplastic nodules in human cirrhotic liver: a clinicopathological study. *Clin Cancer Res* 2000;6:3469-3473
- Kubicka S, Rudolph KL, Hanke M, Tietze MK, Tillmann HL, Trautwein C, Manns M. Hepatocellular carcinoma in Germany: a retrospective epidemiological study from a low-endemic area. *Liver* 2000;20:312-318
- Brechot C, Gozuacik D, Murakami Y, Paterlini-Brechot P. Molecular bases for the development of hepatitis B virus (HBV)-related hepatocellular carcinoma (HCC). *Semin Cancer Biol* 2000;10:211-231
- Di Stefano G, Busi C, Camerino A, Nardo B, Fiume L. Enhanced liver blood concentrations of adenine arabinoside accomplished by lactosaminated poly-L-lysine coupling: implications for regional chemotherapy of hepatic micrometastases. *Biochem Pharmacol* 2000;1:301-304
- Wong ET, Chew YP, Lee LA, Lee CG. Therapeutic strategies for hepatitis B virus-associated hepatocellular carcinoma. *Curr Drug Targets* 2002;3:369-378
- Lau GK, He ML, Fong DY, Bartholomeusz A, Au WY, Lie AK, Locarnini S, Liang R. Preemptive use of lamivudine reduces hepatitis B exacerbation after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Hepatology* 2002;36:702-709
- Julyan PJ, Seymour LW, Ferry DR, Daryani S, Boivin CM, Doran J, David M, Anderson D, Christodoulou C, Young AM, Hesslewood S, Kerr DJ. Preliminary clinical study of the distribution of HPMA copolymers bearing doxorubicin and galactosamine. *J Control Release* 1999;57:281-290
- Seymour LW, Ferry DR, Anderson D, Hesslewood S, Julyan PJ, Poyner R, Doran J, Young AM, Burtles S, Kerr DJ. Cancer research campaign phase I/II clinical trials committee. Hepatic drug targeting: phase I evaluation of polymer-bound doxorubicin. *J Clin Oncol* 2002;20:1668-1676
- Hopewell JW, Duncan R, Wilding D, Chakrabarti K. Preclinical evaluation of the cardiotoxicity of PK2: a novel HPMA copolymer-doxorubicin-galactosamine conjugate antitumour agent. *Hum Exp Toxicol* 2001;20:461-470
- Slidregt LA, Rensen PC, Rump ET, van Santbrink PJ, Bijsterbosch MK, Valentijn AR, van der Marel GA, van Boom JH, van Berkel TJ, Biessen EA. Design and synthesis of novel amphiphilic dendritic galactosides for selective targeting of liposomes to the hepatic asialoglycoprotein receptor. *J Med Chem* 1999;42:609-618
- Di Campli C, Wu J, Zern MA. Targeting of therapeutics to the liver: liposomes and viral vectors. *Alcohol Clin Exp Res* 1999;23:950-954
- Di Campli C, Wu J, Gasbarrini A, Gasbarrini G, Zern MA. Gene therapy for human liver diseases. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1999;11:421-429
- Malaguarnera M, Restuccia S, Ferlito L, Mazzoleni G, Giugno I, Pistone G. Antiviral drugs in chronic hepatitis B: review and meta-analysis. *Int J Clin Pharmacol Ther* 2001;39:4-11
- Antiv Torresi J, Locarnini S. Iral chemotherapy for the treatment of hepatitis B virus infections. *Gastroenterology* 2000;118:S83-103
- Takakura Y, Nishikawa M, Yamashita F, Hashida M. Development of gene drug delivery systems based on pharmacokinetic studies. *Eur J Pharm Sci* 2001;13:71-76
- Hashida M, Nishikawa M, Yamashita F, Takakura Y. Cell-

- specific delivery of genes with glycosylated carriers. *Adv Drug Deliv Rev* 2001;52:187-196
- 31 Sliedregt LA, Rensen PC, Rump ET, van Santbrink PJ, Bijsterbosch MK, Valentijn AR, van der Marel GA, van Boom JH, van Berkel TJ, Biessen EA. Design and synthesis of novel amphiphilic dendritic galactosides for selective targeting of liposomes to the hepatic asialoglycoprotein receptor. *J Med Chem* 1999;42:609-618
 - 32 Tupasi TE, Co VM, Clarin MS, Alesna ET, Divinagrancia EM, Mangubat NV. Randomized, double-blind, placebo-controlled trial of oromucosal low-dose interferon following prednisone withdrawal for chronic hepatitis B infection in Filipino patients. *Int J Infect Dis* 2002;6:37-41
 - 33 Zampino R, Marrone A, Cirillo G, del Giudice EM, Utili R, Karayiannis P, Liang TJ, Ruggiero G. Sequential analysis of hepatitis B virus core promoter and precore regions in cancer survivor patients with chronic hepatitis B before, during and after interferon treatment. *J Viral Hepat* 2002;9:183-188
 - 34 Wu LK, Liu H, Xue PL, Lu ZG, Du KF. Influence of a triplex superimposed treatment on HBV replication and mutation during treating chronic hepatitis B. *Zhonghua Shiyao He Linchuang Bingduxue Zazhi* 2001;15:236-238
 - 35 Zoulim F. A preliminary benefit-risk assessment of Lamivudine for the treatment of chronic hepatitis B virus infection. *Drug Saf* 2002;25:497-510
 - 36 Lok AS. Hepatitis B infection: Pathogenesis and management. *J Hepatol* 2000;1:89-97
 - 37 Little JW. Recent advances in the treatment of viral hepatitis. *Gen Dent* 2000;48:672-679
 - 38 Di Stefano G, Lanza M, Busi C, Barbieri L, Fiume L. Conjugates of nucleoside analogs with lactosaminated human albumin to selectively increase the drug levels in liver blood: requirements for a regional chemotherapy. *J Pharmacol Exp Ther* 2002;301:638-642
 - 39 Fiume L, Di Stefano G, Busi C, Mattioli A, Bonino F, Torrani-Cerenzia M, Verme G, Rapicetta M, Bertini M, Gervasi GB. Liver targeting of antiviral nucleoside analogues through the asialoglycoprotein receptor. *J Viral Hepat* 1997;4:363-370
 - 40 Xie Q, Guo Q, Zhou XQ, Gu RY. Effect of adenine arabinoside monophosphate coupled to lactosaminated human serum albumin on duck hepatitis B virus. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 1999;7:125-126
 - 41 Fiume L, Boinino F, Mattioli A. Inhibition of HBV replication by vidarabine monophosphate conjugated with lactosaminated serum albumin. *Lancet* 1998;332:13
 - 42 郭军,周永兴,姚志强,王升启,温守明,王保成. 半乳糖受体介导的反义硫代寡核苷酸肝细胞导向作用的体内外研究. *中华传染病杂志* 1997;15:16-19
 - 43 胡晓华,吴英德,周德南.“双弹头”抗AFP抗体对肝癌导向综合治疗的实验和临床研究. *中华肿瘤临床* 1998;2:44-46
 - 44 叶维法,钟振义. 肝炎学大典. 第1版. 天津科学技术出版社, 1995:946
 - 45 Lutsiak CM, Sosnowski DL, Wishart DS, Kwon GS, Samuel J. Use of a liposome antigen delivery system to alter immune responses in vivo. *J Pharm Sci* 1998;87:1428-1432
 - 46 Gao Y, Luo D, Cai S. A study of hepatitis B virus(HBV) antigenome and its inhibitory effect on HBV replication. *Zhonghua Neike Zazhi* 2001;40:243-246
 - 47 Kim CK, Jeong EJ, Kim MH. Comparison of in vivo fate and immunogenicity of hepatitis B surface antigen incorporated in cationic and neutral liposomes. *J Microencapsul* 2000;17:297-306
 - 48 Kalenik TN, Motavkina NS, Vorob'ev AA. Liposome-incorporated interferon. The design of liposomal interferon. *Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol* 1999;3:55-58
 - 49 陈启荣,邵俊斌,印慧,喻铮琴. 脂质体介导反义寡核苷酸体外抗乙型肝炎病毒作用的研究. *武警医学* 2000;7:391-393
 - 50 Moynihan JS, Jones DH, Farrar GH, Howard CR. A novel microencapsulated peptide vaccine against hepatitis B. *Vaccine* 2001;19:3292-3300
 - 51 Machluf M, Apte RN, Regev O, Cohen S. Enhancing the immunogenicity of liposomal hepatitis B surface antigen (HBsAg) by controlling its delivery from polymeric microspheres. *J Pharm Sci* 2000;89:1550-1557
 - 52 Moynihan JS, D' Mello FI, Howard CR. 48-mer synthetic peptide analogue of the hepatitis B virus "a" determinant induces an anti-HBs antibody response after a single injection. *J Med Virol* 2000;62:159-166
 - 53 Moynihan JS, Blair J, Coombes A, D' Mello F, Howard CR. Enhanced immunogenicity of a hepatitis B virus peptide vaccine using oligosaccharide ester derivative microparticles. *Vaccine* 2002;20:1870-1876
 - 54 Defoort JP, Martin M, Casano B, Prato S, Camilla C, Fert V. Simultaneous detection of multiplex-amplified human immunodeficiency virus type 1 RNA, hepatitis C virus RNA, and hepatitis B virus DNA using a flow cytometer microsphere-based hybridization assay. *J Clin Microbiol* 2000;38:1066-1071
 - 55 Shi L, Caulfield MJ, Chern RT, Wilson RA, Sanyal G, Volkin DB. Pharmaceutical and immunological evaluation of a single-shot hepatitis B vaccine formulated with PLGA microspheres. *J Pharm Sci* 2002;91:1019-1035
 - 56 张志荣,何勤. 肝靶向万乃洛韦毫微粒的研究. *药学报* 1998;33:702-706
 - 57 吴晓蓉,贾文祥,刘莉,张再蓉,邝玉,李孝红,邓先模. PELA 微球乙型肝炎疫苗的免疫原性研究. *生命科学研究* 2000;2:167-172



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
<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

