

## 基于红细胞的地塞米松递送系统

荣若男,郑梦园,苏靖\*

上海交通大学 药学院,上海 200240

**【摘要】**红细胞是一种生物相容性的载体,在过去几十年里,人们已开发了许多策略将药物包封或连接到红细胞上。地塞米松(DEX)是一种具有高度抗炎、抗毒性和抗过敏活性的糖皮质激素,在临床上已广泛应用,然而其在血液中半衰期较短,需较高的给药频率和剂量,易引起全身毒副作用。利用红细胞负载DEX则可大大提高药物递送量,且易于穿过细胞膜进入血液,从而达到缓慢、连续释放的目的。目前封装DEX的红细胞制剂已经进入临床试验阶段,以期用于治疗各类疾病。本文重点介绍了基于红细胞的DEX递送系统临床研究进展,并总结了其发展前景和局限性,以期对相关研究和进一步发掘其应用潜力提供参考。

**【关键词】**红细胞;地塞米松;临床进展

**【中图分类号】** R943

**【文献标识码】** B

**【文章编号】** 1672-3384(2021)06-0047-05

**Doi:** 10.3969/j.issn.1672-3384.2021.06.004

### Dexamethasone delivery system based on red blood cells

RONG Ruo-nan, ZHENG Meng-yuan, SU Jing\*

School of Pharmacy, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China

红细胞是最大的血细胞群,人体中的成熟红细胞通常没有细胞核,形态为双凹面盘状,具有中央苍白区域,为氧气的输送提供了巨大的体表面积<sup>[1-2]</sup>。红细胞的直径约为7.8  $\mu\text{m}$ ,在通过毛细管时具有良好的弹性和可塑性<sup>[3]</sup>。人正常红细胞的生命周期约为(120 $\pm$ 20)d,当红细胞衰老后会发生某些分解代谢变化,导致细胞失去弹性。这些变化会阻碍红细胞通过微血管,导致红细胞在循环中裂解或在网状内皮系统(reticuloendothelial system, RES)中被吞噬<sup>[4]</sup>。基于上述特点,红细胞被作为一种潜在的生物相容性载体,用来递送不同的生物活性物质。

“载体红细胞”这一术语在1979年首次被用来描述载药红细胞<sup>[5]</sup>,此后许多研究团队开始尝试将各种不同的物质包裹于红细胞中。使用红细胞作为载体,一方面可以起到药物储库的作用,实现药物持续释放,延长药物循环时间<sup>[6]</sup>;另一方面,红细胞可以作为生物反应器,底物可以穿过细胞膜与被包封物质反应,从而躲避免疫系统,避免过早失活<sup>[7]</sup>。目前,红

细胞可以用来递送多种药物,包括治疗性酶、抗肿瘤药物和糖皮质激素等<sup>[8]</sup>。

地塞米松(Dexamethasone, DEX)是一种具有高度抗炎、抗毒性和抗过敏活性的糖皮质激素,在临床上已被广泛应用于炎症性和自身免疫性疾病的治疗。DEX在血液中半衰期较短(3.5~4.5 h)<sup>[9]</sup>,给药频率和剂量较高,这使得血药浓度易超过治疗窗口范围,引起毒副作用。地塞米松磷酸钠(DEX21-P)是DEX的一种非扩散前药,载入红细胞可提高DEX的递送量。包封后的DEX21-P在红细胞内源酶的作用下缓慢代谢为DEX。后者很容易穿过细胞膜进入血液,从而达到缓慢、连续释放的目的。在过去的几年里,基于细胞的药物传递系统已经成为一种安全有效的替代频繁给药的方法。在这些输送技术中,以红细胞为基础的输送系统是最先进。

目前,基于红细胞的DEX递送系统研究已进入临床试验阶段,适合工业发展的载药方法也正在开发中。本文介绍了基于红细胞的DEX递送系统临床研

\*通信作者:苏靖, E-mail: jingsu@sjtu.edu.cn

究进展,包括载药过程和临床试验结果,并总结了完整红细胞的 DEX 递送系统发展前景和局限性,以期为相关研究和进一步发掘其应用潜力提供参考。

## 1 红细胞载药策略

由于药物可以连接于红细胞的表面或被包封于红细胞内,基于完整红细胞的载药策略可以分为包封载药和表面偶联载药<sup>[10]</sup>(见图1)。包封的策略是指当外部条件改变或红细胞性质改变时,待包封物质进入红细胞内,形成载体红细胞。主要方法有低渗溶血法、电穿孔法、脂质融合法和穿膜肽介导法<sup>[11]</sup>。其中,基于渗透的方法最常用。其原理是在低渗溶液下,红细胞会发生膨胀,细胞膜上出现短暂的孔道,细胞外的物质经由孔道进入红细胞中。当随后加入高渗溶液以恢复正常渗透压条件时,孔隙闭合,物质便以合适的浓度留在红细胞内从而实现包封<sup>[12]</sup>。目前,较为成熟的载药技术有低渗预膨胀法和低渗透析法<sup>[13]</sup>。此外,还可以将治疗剂通过生物素-亲和素偶联技术、氨基酸和硫醇基团共价偶联以及静电相互作用等方法连接于红细胞的表面进行递送<sup>[14]</sup>。

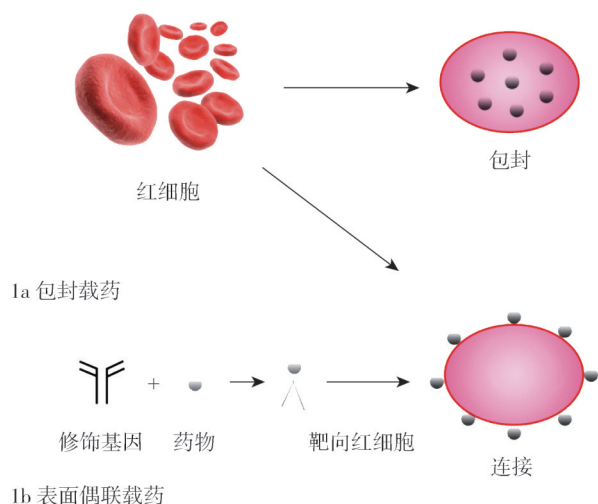


图1 基于完整红细胞的载药策略

1998年,Magnani等<sup>[15]</sup>发明了一种名为“Red Cell Loader”的载药设备,用于将非扩散性的 DEX21-P 包封进入红细胞中,然后慢慢转化为 DEX。这一设备的载药原理是基于低渗预膨胀的方法,具体包括以下步骤<sup>[16]</sup>:首先将 50 mL 自体红细胞悬浮于渗透压约为 180 mosm/kg 的低渗溶液 I 中,使得红细胞的形状变为球形,但不发生溶血。随后离心,再将膨胀的红细

胞置于渗透压约为 128 mosm/kg 的低渗溶液 II 中,细胞进一步膨胀发生溶血。之后通过一个血液过滤器将溶血的红细胞浓缩至 1 个小室中,并向小室中加入待包封的 DEX21-P,使其与红细胞共同孵育 20~30 min,随后加入高渗溶液重新密封红细胞。最终得到的载药红细胞被收集到一次性塑料袋中,以备重新输注于患者体中。完成此过程需 90 min,并可以在临床中心直接进行<sup>[17]</sup>。

近年来,该设备得到了很大的改进,并从研究阶段发展到 EryDex 系统(EDS),此系统是由意大利 EryDel 公司开发的专门的自动化设备,用于制备和分析包封 DEX21-P 的红细胞,EryDex 系统使用专用医疗设备红细胞装载机(Red Cell Loader)、EryKit(一次性无菌设备)和专用工艺自动将 DEX21-P 包封入红细胞中。

## 2 药物代谢动力学

2 项临床试验(NCT01925859 和 NCT02380924)研究了通过 EryDex 系统制备的载药红细胞在健康志愿者体内药物代谢动力学性质和 24 h 细胞恢复率<sup>[18]</sup>。NCT01925859 研究结果表明,在 24 h 内试验组(载 DEX21-P)细胞恢复率约为 77.9%,对照组(载生理盐水)的细胞恢复率约为 72.7%(见图2)。NCT02380924 研究分别单次注射低剂量(1B 组 DEX 平均负载剂量 4.2 mg)和高剂量(2B 组 DEX 平均负载剂量 16.9 mg)载药红细胞后,发现 2B 组 DEX 会快速从红细胞中释放并在给药后 1 h 达到峰值,在 35 d 后仍然可以检测到 DEX 的缓释(见图3)。1B 组和 2B 组 DEX 的药物代谢动力学参数见表1,可观察到 DEX 的末端消除半衰期与剂量呈比例关系,2B 组延长,为 4.5 d,而 1B 组为 0.85 d。与 1B 组相比,2B 组 DEX 血浆水平峰浓度和药时曲线下面积显著升高。以上研究结果表明,使用 EryDex 系统制备的红细胞所受不良影响较小,且为 DEX 提供了一条长期且安全的递送途径。

Bossa 等<sup>[19]</sup>研究了以红细胞为载体的 DEX21-P 治疗类固醇依赖性溃疡性结肠炎的疗效。在每次输注中,平均给予 DEX21-P(10±5) mg,在接下来的 28 d 血浆 DEX 水平平均稳定为 8 μg/L。利用小剂量 DEX21-P 治疗 6 个月后,大多数患者可以停用口服类固醇,减少类固醇相关不良事件(见图4)。

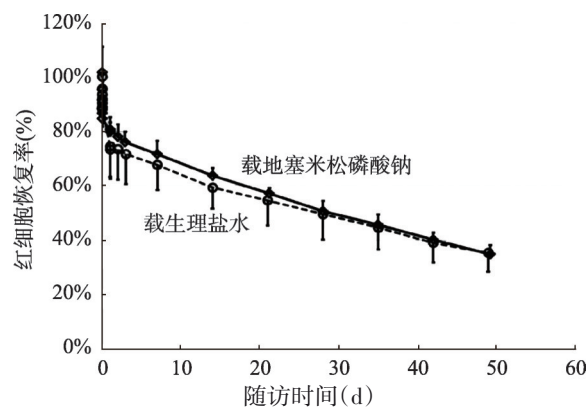
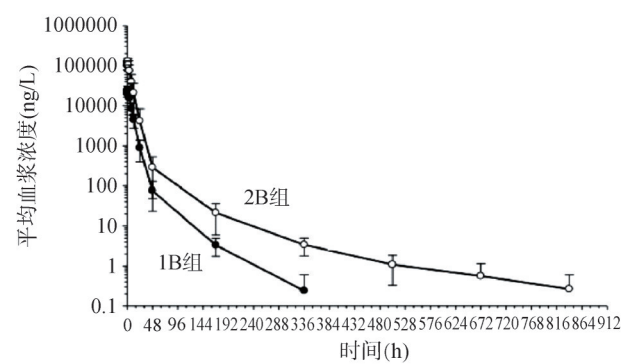


图2 两组细胞恢复率比较



注: 1B组地塞米松平均负载剂量为4.2 mg, 2B组地塞米松平均负载剂量为16.9 mg

图3 低剂量地塞米松(1B组)和高剂量地塞米松(2B组)的平均浓度-时间分布

### 3 临床研究

#### 3.1 共济失调毛细血管扩张

共济失调毛细血管扩张(ataxia telangiectasia, AT)是一种由基因突变引起的罕见遗传综合征,会导致患者出现严重的神经运动障碍、毛细血管扩张、免疫缺陷和反复感染等症状<sup>[20]</sup>。有研究表明,糖皮质激素可以改善AT患者的症状和神经功能,其中DEX可能影

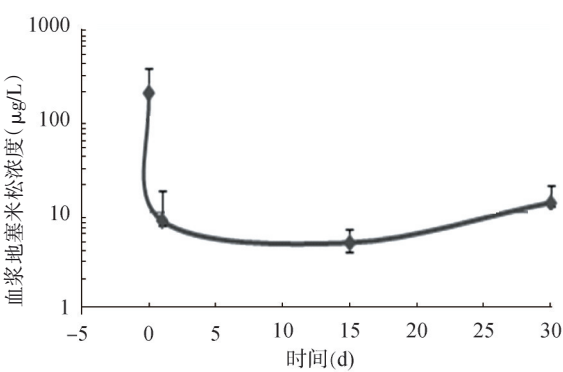


图4 地塞米松磷酸钠载入红细胞后血浆地塞米松浓度变化

响AT细胞中蛋白质的表达和基因的剪切<sup>[21]</sup>。在一项Ⅱ期临床研究对22例AT患者进行了每月递送红细胞载DEX21-P 1次,为期6个月的治疗<sup>[22]</sup>。该项研究以改善患者的神经症状为主要目标,并用国际合作共济失调评价量表(international cooperative ataxia rating scale, ICARS)进行评估<sup>[23]</sup>。结果表明,在试验过程中患者耐受性良好,ICARS评分显著降低,其中意向性分析组降低了4分,符合研究方案组降低了5.2分,这说明AT患者的神经功能得到有效改善。随后对这项研究延长至24个月,结果表明患者持续性地神经系统改善,且未观察到皮质类固醇有关不良反应<sup>[24]</sup>。目前,一项Ⅲ期临床研究正在招募中(NCT02770807),旨在评估2种不重叠剂量范围的红细胞载DEX21-P对AT患者神经症状的影响,且后续还有相应研究用于收集长期安全性和有效性的信息(NCT03563053)。

#### 3.2 炎症性肠病

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是一种影响消化系统的慢性炎症性疾病,主要与血管内皮的迁移和免疫细胞上皮的深层浸润有关<sup>[25]</sup>,临床表现为溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)和克罗恩病(Crohn's disease, CD)<sup>[26]</sup>。已有研究表明糖皮质激素对于IBD的治疗非常有效,对于UC和CD的

表1 地塞米松药物代谢动力学参数在两组中的比较

药物代谢动力学参数	1B组(4.2 mg, n=9)	2B组(16.9 mg, n=8)
药时曲线下面积( $\text{ng} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$ , $\bar{x} \pm s$ )	202±52	1034±416
峰浓度( $\text{ng/mL}$ , $\bar{x} \pm s$ )	26±6	135±16
达峰时间( $\text{h}$ , $T_{\min} \sim T_{\max}$ )	1.1(0.5~2.1)	1.1(0.6~1.2)
半衰期( $\text{h}$ , $\bar{x} \pm s$ )	20±8	107±72
每毫克药时曲线下面积( $\text{ng} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$ , $\bar{x} \pm s$ )	49±10	60±22
每毫克峰浓度( $\text{ng/mL}$ , $\bar{x} \pm s$ )	6.2±0.8	8.0±1.1

注: 1B组地塞米松平均负载剂量为4.2 mg, 2B组地塞米松平均负载剂量为16.9 mg



缓解率可分别达到80%和50%<sup>[27]</sup>,但却存在严重的类固醇戒断反应。Annese等<sup>[28]</sup>证明了使用载有DEX21-P的红细胞治疗类固醇依赖性的IBD患者(包括CD和UC患者)是安全可行的,且有效降低患者的炎症指标水平并缓解对于类固醇的依赖性。随后Castro等<sup>[29]</sup>将载有DEX21-P的红细胞用于长期治疗18例CD儿童,通过反复静脉滴注载有DEX21-P的红细胞,患儿的活动指数显著下降(从23.8降至9.6),且红细胞每日缓慢地释放DEX,可长期维持症状的缓解。Bossa等<sup>[19]</sup>研究了将载有DEX21-P的红细胞用于治疗轻中度UC患者,结果表明载药红细胞给药组能以更低的剂量达到更有效的临床缓解,并不会产生类固醇相关的不良反应。之后该研究团队进一步得出用载有DEX21-P的红细胞进行治疗可使患者完全停用口服类固醇药物,并使病情达到稳定和临床缓解<sup>[19]</sup>(NCT01171807)。后续还开展了Ⅲ期试验以研究其长期治疗的潜力,但由于招募患者方面的难度太大,试验已被中断。

### 3.3 其他疾病

此外,载有DEX21-P的红细胞还可以用于治疗慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)和囊性纤维化(cystic fibrosis, CF)。COPD是一种常见的炎症性肺部疾病,糖皮质激素可以作为作为一种有效药物对其进行治疗<sup>[30]</sup>。Rossi等<sup>[31]</sup>首先报道了使用红细胞装载DEX21-P作为生物反应器用于减轻COPD患者气道内炎症反应的疗效,并初步证明了对于老年COPD患者,红细胞可以作为一种安全的载体代替常用口服药物和吸入药物。CF是一种慢性疾病,以患者的肺部过度炎症为特征。Rebeyrol等<sup>[32]</sup>首先评估了载有低剂量DEX21-P的红细胞用于治疗CF的安全性和有效性,结果表明患者的第1秒用力呼气量(forced expiratory volume in one second, FEV<sub>1</sub>)值显著增加,感染复发减少,且不会产生显著不良反应。后续Lucidi等<sup>[33]</sup>将上述试验的随访时间延长至24个月,且接受治疗患者的FEV<sub>1</sub>值可以得到持续的改善。但是由于研究中登记的患者数量较少,需要一项更加全面的临床试验证实这些初步结果。

## 4 总结与展望

经过数年的体外和临床前研究,少数基于红细胞给药系统的研究已进入临床试验阶段,相应的载药技

术也逐渐实现工业化。临床研究表明,由红细胞装载机制备的红细胞载DEX制剂为DEX治疗疾病提供了一种安全有效的途径。后续还需要开展更全面的临床试验对上述药物进行综合评价,加快其上市的步伐。

然而,使用红细胞作为载体仍然存在以下局限性。①载药方面,当红细胞用于载药时,红细胞结构和功能的完整性会受到损害,使得无法实现长循环递送,应用于体内可能会带来全身或者局部不良反应。因此,应选择较为温和的载药方法并进行优化,提高载药量的同时又不降低红细胞的质量;②DEX不能稳定停留于红细胞中,被包封后会快速从红细胞中渗漏,从而无法实现有效递送,需要考虑通过交联剂的表面处理或通过包封不可扩散的前药来延缓药物的释放;③载药红细胞可以来自自体献血或者同系献血。同种异体载药红细胞的输注可能会使接受者对异体红细胞表面抗原的产生特异性免疫反应。使用自体红细胞进行载DEX更为安全可行,但患者自身的红细胞可能会受到疾病的影响,后续可引发并发症。因此之后仍需要进行更加全面、更大规模的临床试验,以期将红细胞载DEX发展和扩大到商业规模的使用。

受到了多种新兴学科的启发和影响,目前提出了许多具有前景的基于红细胞的递送系统。首先,可以将纳米粒连接于红细胞的表面,从而改善纳米粒在循环中的行为。近几年来,多种纳米药物已被报道可以包封进入红细胞中,这种制剂可以同时结合天然细胞和纳米生物材料的优点。此外,这些新型的递送策略可能改变红细胞原有的分布、靶向和药物代谢动力学性质,因此需要重新对给药剂量和频率等参数进行评估,以确保后续应用的安全性。

红细胞是一种非常具有前景的药物载体,为血液输送治疗研究提供了新的方式。目前以红细胞为载体的DEX递送系统正在从学术理论研究向临床研究和工业邻域过渡,期待将来可以更多地应用于尚无有效治疗方法的疾病。

### 【参考文献】

- [1] Zhang X, Qiu M, Guo P, et al. Autologous red blood cell delivery of betamethasone phosphate sodium for long anti-inflammation[J]. *Pharmaceutics*, 2018, 10(4): 286-297.
- [2] Villa C H, Pan D C, Zaitsev S, et al. Delivery of drugs bound to erythrocytes: new avenues for an old intravascular carrier [J]. *Ther Deliv*, 2015, 6(7): 795-826.
- [3] Sosa J M, Nielsen N D, Vignes S M, et al. The relationship be-

- tween red blood cell deformability metrics and perfusion of an artificial microvascular network [J]. *Clin Hemorheol Microcirc*, 2014, 57(3): 275–289.
- [4] Villa C H, Anselmo A C, Mitragotri S, et al. Red blood cells: supercarriers for drugs, biologicals, and nanoparticles and inspiration for advanced delivery systems [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2016, 106(Pt A): 88–103.
- [5] Marsden N V, Ostling S G. Accumulation of dextran in human red cells after haemolysis [J]. *Nature*, 1959, 184(Suppl 10): S723–S724.
- [6] Koleva L, Bovt E, Ataullakhanov F, et al. Erythrocytes as carriers: from drug delivery to biosensors [J]. *Pharmaceutics*, 2020, 12(3): 276–319.
- [7] Xie J, Shen Q, Huang K, et al. Oriented assembly of cell-mimicking nanoparticles via a molecular affinity strategy for targeted drug delivery [J]. *ACS Nano*, 2019, 13(5): 5268–5277.
- [8] Sun Y, Su J, Liu G, et al. Advances of blood cell-based drug delivery systems [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2017, 96: 115–128.
- [9] Rossi L, Pierige F, Antonelli A, et al. Engineering erythrocytes for the modulation of drugs' and contrasting agents' pharmacokinetics and biodistribution [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2016, 106(Pt A): 73–87.
- [10] Li W, Su Z, Hao M, et al. Cytopharmaceuticals: an emerging paradigm for drug delivery [J]. *J Control Release*, 2020, 328: 313–324.
- [11] He H, Ye J, Wang Y, et al. Cell-penetrating peptides mediated encapsulation of protein therapeutics into intact red blood cells and its application [J]. *J Control Release*, 2014, 176: 123–132.
- [12] Rossi L, Serafini S, Pierige F, et al. Erythrocyte-based drug delivery [J]. *Expert Opin Drug Deliv*, 2005, 2(2): 311–322.
- [13] Zarrin A, Foroozesh M, Hamidi M. Carrier erythrocytes: recent advances, present status, current trends and future horizons [J]. *Expert Opin Drug Deliv*, 2014, 11(3): 433–447.
- [14] Mock D M, Nalbant D, Kyosseva S V, et al. Development, validation, and potential applications of biotinylated red blood cells for posttransfusion kinetics and other physiological studies: evidenced-based analysis and recommendations [J]. *Transfusion*, 2018, 58(8): 2068–2081.
- [15] Magnani M, Rossi L, D'Ascenzo M, et al. Erythrocyte engineering for drug delivery and targeting [J]. *Biotechnol Appl Biochem*, 1998, 28(1): 1–6.
- [16] Mambrini G, Mandolini M, Rossi L, et al. Ex vivo encapsulation of dexamethasone sodium phosphate into human autologous erythrocytes using fully automated biomedical equipment [J]. *Int J Pharm*, 2017, 517(1/2): 175–184.
- [17] Pierige F, Bigini N, Rossi L, et al. Reengineering red blood cells for cellular therapeutics and diagnostics [J]. *Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol*, 2017, 9(5): e1454.
- [18] Coker S A, Szczepiorkowski Z M, Siegel A H, et al. A study of the pharmacokinetic properties and the in vivo kinetics of erythrocytes loaded with dexamethasone sodium phosphate in healthy volunteers [J]. *Transfus Med Rev*, 2018, 32(2): 102–110.
- [19] Bossa F, Annese V, Valvano M R, et al. Erythrocytes-mediated delivery of dexamethasone 21-phosphate in steroid-dependent ulcerative colitis: a randomized, double-blind Sham-controlled study [J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2013, 19(9): 1872–1879.
- [20] Chessa L, Ruggieri M, Polizzi A. Progress and prospects for treating ataxia telangiectasia [J]. *Expert Opin Orphan Drugs*, 2019, 7(5): 233–251.
- [21] Menotta M, Orazi S, Gioacchini A M, et al. Proteomics and transcriptomics analyses of ataxia telangiectasia cells treated with dexamethasone [J]. *PLoS ONE*, 2018, 13(4): e0195388.
- [22] Chessa L, Leuzzi V, Plebani A, et al. Intra-erythrocyte infusion of dexamethasone reduces neurological symptoms in ataxia telangiectasia patients: results of a phase 2 trial [J]. *Orphanet J Rare Dis*, 2014, 9: 5.
- [23] Salci Y, Fil A, Keklice H, et al. Validity and reliability of the international cooperative ataxia rating scale (ICARS) and the scale for the assessment and rating of ataxia (SARA) in multiple sclerosis patients with ataxia [J]. *Mult Scler Relat Disord*, 2017, 18: 135–140.
- [24] Leuzzi V, Micheli R, D'Agnano D, et al. Positive effect of erythrocyte-delivered dexamethasone in ataxia-telangiectasia [J]. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm*, 2015, 2(3): e98.
- [25] Lee A, De Mei C, Ferreira M, et al. Dexamethasone-loaded polymeric nanoconstructs for monitoring and treating inflammatory bowel disease [J]. *Theranostics*, 2017, 7(15): 3653–3666.
- [26] Damiao A, de Azevedo M F C, Carlos A S, et al. Conventional therapy for moderate to severe inflammatory bowel disease: a systematic literature review [J]. *World J Gastroenterol*, 2019, 25(9): 1142–1157.
- [27] Targownik L E, Zoann N, Harminder S, et al. Prevalence of and outcomes associated with corticosteroid prescription in inflammatory bowel disease [J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2014, 20(4): 622–630.
- [28] Annese V, Latiano A, Rossi L, et al. Erythrocytes-mediated delivery of dexamethasone in steroid-dependent IBD patients—a pilot uncontrolled study [J]. *Am J Gastroenterol*, 2005, 100(6): 1370–1375.
- [29] Castro M, Rossi L, Papadatou B, et al. Long-term treatment with autologous red blood cells loaded with dexamethasone 21-phosphate in pediatric patients affected by steroid-dependent Crohn disease [J]. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 2007, 44(4): 423–426.
- [30] Zeng Z, Li M, Wang M, et al. Increased expression of siglec-9 in chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 10116.
- [31] Rossi L, Serafini S, Cenerini L, et al. Erythrocyte-mediated delivery of dexamethasone in patients with chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Biotechnol Appl Biochem*, 2001, 33(2): 85–89.
- [32] Rossi L, Castro M, D'Orio F, et al. Low doses of dexamethasone constantly delivered by autologous erythrocytes slow the progression of lung disease in cystic fibrosis patients [J]. *Blood Cells Mol Dis*, 2004, 33(1): 57–63.
- [33] Lucidi V, Tozzi A E, Bella S, et al. A pilot trial on safety and efficacy of erythrocyte-mediated steroid treatment in CF patients [J]. *BMC Pediatr*, 2006, 6(1): 1–6.

收稿日期: 2021-01-26 本文编辑: 任洁