

【 药物转运体专栏 】

寡肽转运体在生理、药物转运的重要作用及临床相关性

舒 蓉, 刘克辛*

大连医科大学药学院临床药理教研室, 辽宁 大连 116044

摘 要: 寡肽转运体 (PEPTs) 属于溶质转运体 (SLC) 大家族, 以 H^+ 梯度为驱动力, 包括 PEPT1 和 PEPT2。PEPT1 是低亲和力、高容量转运蛋白, 主要表达于小肠; 而 PEPT2 是高亲和力、低容量的转运蛋白, 主要在肾脏、脑和肺中表达, 在生物体中分布较广。PEPTs 除重吸收二肽和三肽以及维持脑中神经肽的稳态作用外, 还能够吸收和处置许多重要的化合物, 如一些氨基头孢菌素、血管紧张素转化酶抑制剂、抗病毒前药等, 而且 PEPTs 也与一些肠道疾病和癌症相关。因此综述了 PEPTs 在生理、药物转运中的重要作用及临床相关性。

关键词: 寡肽转运体; 组织分布; 功能

中图分类号: R962.2

文献标志码: A

文章编号: 1674-6376 (2017) 09 - 1189 - 08

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2017.09.001

Vital role of oligopeptide transporters in physiology and drug transport and their clinical relevance

SHU Rong, LIU Ke-xin

Department of Clinical Pharmacology, College of Pharmacy, Dalian Medical University, Dalian 116044, China

Abstract: The oligopeptide transporters (PEPTs), including PEPT1 and PEPT2, belong to the SLC family and are driven by H^+ gradient. PEPT1, the low-affinity and high-capacity transporter, is mainly expressed in small intestine, whereas PEPT2, the high-affinity and low-capacity transporter, is mainly expressed in kidney, brain and lung and has a broader distribution in the organism. The PEPTs are responsible for the absorption and conservation of dietary protein digestion products in intestine and kidney, respectively, and in maintaining homeostasis of neuropeptides in brain. They are also responsible for the absorption and disposition of a number of pharmacologically important compounds including some aminocephalosporins, angiotensin-converting enzyme inhibitors, antiviral prodrugs and others. And PEPTs are also associated with some intestinal diseases and cancer. Therefore, this article summarizes the important role of PEPTs in physiology and drug transport and their clinical relevance.

Key words: oligopeptide transporters; localization-expression; function

转运体广泛分布在肠、肝、肾、脑、肺等器官和各种生理屏障中, 它们可以识别和调节生理性、内源性物质 (如胆汁酸和电解质) 以及外源性物质 (如药物、环境中的毒物和有害异物) 的转运。转运蛋白超家族可以分为 ATP 结合盒 (ATP-binding cassette, ABC) 家族和溶质转运体 (solute carrier family, SLC) 家族。SLC 家族是体内最大的转运体超家族, 以电化学梯度作为转运驱动力, 介导各

种溶质 (包括离子、代谢物、肽以及药物) 的跨膜转运, 并影响着内环境稳态和药物的体内过程。其中对药物的影响最大的是 SLC15A、SLC21A、SLC22A 家族。在哺乳动物中, SLC15A 家族包括寡肽转运蛋白 1 (Oligopeptide transporter 1/SLC15A1, Pept1)、寡肽转运蛋白 2 (Oligopeptide transporter 2/SLC15A2, Pept2)、肽/组氨酸转运蛋白 1 (peptide/histidine transporter 1/SLC15A4, Pht1)

收稿日期: 2017-06-05

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81473280)

作者简介: 舒 蓉 (1995—), 女, 江西人, 硕士研究生, 研究方向为药物转运体与药动学。Tel: (0411)84110415 E-mail: 925028182@qq.com

*通信作者 刘克辛, 男, 博士, 教授, 博士生导师, 研究方向为药物转运体与药动学。Tel: (0411)86110407 E-mail: liukexin89@163.com

和肽/组氨酸转运蛋白 2 (peptide/histidine transporter 2/SLC15A3, Pht2) 等 4 个成员。PHT1 和 PHT2 转运体的作用还没有完全确定。在人体, 寡肽转运体 (PEPTs) 家族的两个同系物转运体被克隆和功能分类, 他们分别被命名为 Human Oligopeptide transporter 1 (hPEPT1) 和 Human Oligopeptide transporter 2 (hPEPT2)。它们都含有 12 个跨膜区 (transmembrane domains), 羧基和羧基末端都在细胞液内。介导了肽类和肽样药物的细胞转运, 对许多药物体内吸收、代谢发挥着重要的作用, 也成为前药设计和许多疾病治疗的新靶点。目前对 PEPT1 转运体的研究大部分集中在肠道, PEPT2 主要集中在肾脏上。

1 PEPTs 的组织分布及生理功能

在很大程度上, PEPTs 的生理功能是通过其在肠、肾和脑的表达水平和细胞定位来确定的。

1.1 肠道

PEPT1/Pept1 在小鼠和人十二指肠、空肠和回肠中的肠细胞的顶膜上大量表达^[1-2]。尽管已经有人在肠神经胶质细胞和组织沉积巨噬细胞中发现了 Pept2 的表达, 但 Pept2 不可能介导胃肠道深层神经肌肉层二、三肽的吸收^[3]。在人和大鼠肠组织中也发现编码 PHT1/Pht1 和 PHT2/Pht2 的 SLC15A4 和 SLC15A3 基因的转录产物^[4], 免疫组织化学分析表明小肠绒毛上皮中表达了 PHT1/Pht1, 但是它们在肽模拟物吸收中的相关性尚未确定^[5]。似乎高容量、低亲和力的肠转运蛋白 PEPT1 仅负责吸收食物来源和胃肠道分泌物中的二、三肽。

在空肠中, Pept1 主要在绒毛上皮细胞表达。沿隐窝-绒毛轴的 Pept1 的表达和功能研究表明, 该转运体对二、三肽吸收过程至关重要。Zhang 等^[6]观察到 Pept1 敲除小鼠体质量减轻和肠道微绒毛减少的现象。敲除 Pept1, 沿着隐窝-绒毛轴的 miRNA 的分布及绒毛和隐窝的 miRNA 谱有所改变。使用 miRNA-target 预测和 2D-DIGE/质谱法对绒毛和隐窝样品进行分析, 发现 Pept1 的敲除进一步直接或间接地改变了某些蛋白质的表达水平。这说明沿着隐窝-绒毛轴 miRNA 和蛋白质的失调与 Pept1 的敲除高度相关, Pept1 有助于保持小肠稳态和维护正常功能。

PEPT1 在正常结肠中几乎没有表达, 但有报导, PEPT1/Pept1 在啮齿动物和人类的远端结肠中表达并有助于水的吸收。Wuensch 等^[7]对小鼠、大鼠和人类健康结肠组织中 PEPT1/Pept1 mRNA 和蛋白质

水平进行系统分析来重新评估其在结肠的表达, 不同品系小鼠 (C57BL/6N, 129/Sv, BALB/c) 的结肠免疫荧光分析结果显示在结肠的远端部分存在 Pept1, 近端结肠中不存在, 大鼠和人结肠显示出与小鼠相似分布, 然而人乙状结肠顶端膜表达水平低。使用 [¹⁴C]Gly-Sar 评估小鼠结肠组织中 Pept1 的功能活性, 发现远端结肠 Pept1 的功能活性是近端结肠的 5.7 倍。在 Pept1 基因敲除小鼠的肠组织中, 没有检测到 [¹⁴C]Gly-Sar 的转运, 但是粪便样品的含水量比野生型小鼠高得多, 表明 Pept1 有助于结肠水的吸收。

1.2 肾脏

在肾脏中, 显微切割管状区段的逆转录 PCR 和原位杂交研究已经表明, Pept1 和 Pept2 在大鼠近端小管中差异表达^[8-9]: Pept1 在大鼠近端小管 S1 片段的刷状缘表达, Pept2 则在近端小管 S2 和 S3 片段刷状缘表达, 在大鼠肾单位的其他区段没有检测到 Pept1 和 Pept2 的表达。肾脏 β -半乳糖苷酶的表达式和荧光团缀合二肽的积累间接定位研究证明小鼠近端小管 Pept1 和 Pept2 的分布与大鼠相同。使用荧光和放射性肽作为探针, 观察到 Pept2 基因敲除动物肾组织中二肽积累减少 70%^[10], 如果说基因敲除动物中二肽的蓄积是因为 Pept1 的存在, 那么另一种 Pept2 基因敲除小鼠模型的研究则发现只有约 14% 二、三肽的吸收归因于 Pept1。所以, 肾脏 Pept2 在二肽重吸收中起主导作用^[11-12]。

1.3 脑

在大脑中, Pept2 mRNA 在大鼠星形胶质细胞、肾上腺细胞、室管膜细胞和脉络丛的上皮细胞中表达^[13]。随后的免疫印迹和免疫组织化学研究发现, Pept2 在大脑皮质中表达最强, 在嗅球、基底节、小脑、后脑中的表达次之^[14]。此外, Pept2 的表达存在与年龄相关的差异: Pept2 仅在成年和新生动物脉络丛上皮的顶端膜 (即脑脊髓液), 以及成年和新生动物的神经元和新生动物星形胶质细胞中表达, 并且在大脑皮层表达水平上表现出与年龄相关的降低 (胚胎和新生动物 > 成年动物)^[15]。另一方面, 在血脑屏障的内皮细胞中没有分子或功能的证据证明 Pept2 的表达, 也没有证据证明脑中 Pept1 的表达^[16]。使用 Pept2 基因敲除动物模型的研究已经确定了 Pept2 参与从脑脊液 (CSF) 中去除神经肽, 肽片段和肽样药物维持细胞外液神经肽平衡的作用^[11,17]。

1.4 其他组织

除了小肠和肾近端小管 S1 片段外, 另有研究表明在血液-房水屏障、血液-视网膜屏障、角膜、鼻黏膜、肝外胆管上皮细胞膜、胰腺、睾丸亦有 Pept1 表达^[18-20]。

Pept2 在其他组织中也有表达, 例如肺、眼、前列腺、脾脏、子宫、乳腺和皮肤^[21-22]。Pept2 已经通过其表达和对模型化合物的摄取功能在支气管、气管上皮细胞和 II 型肺细胞中被鉴定^[24-25]。Bahadduri 等^[26]也证实了人上呼吸道肺上皮分化原代培养物中 hPEPT2 (SLC15A2) 的表达和功能, 并提出 PEPT2 可能是肽和肽模拟物肺部输送的靶点^[27]。Pept2 在乳腺腺体和管道上的上皮细胞表达^[28-29], 可以介导乳腺中的乳蛋白水解积累的小肽的再摄取^[30]。Kudo 等^[31]通过逆转录聚合酶链反应 (RT-PCR) 和定量 RT-PCR 方法, 确定了 3 种角质形成细胞系[正常人表皮角化细胞 (NHEK)、永生角化细胞和恶性角化细胞]中 PEPT2 mRNA 的表达。通过使用液相色谱/串联质谱法测定寡肽含量来研究角质细胞转运功能。发现 NHEK 中的糖基肌氨酸摄取是 pH 依赖性的, 角质形成细胞可以在内向 H⁺梯度的存在下吸收小肽。同时使用皮肤替代物进行几种寡肽的皮肤渗透性测试, 二肽和三肽能主动通过表皮。这说明了皮肤角质细胞中 PEPT2 的存在及其摄取寡肽的功能。

2 PEPTs 在药物转运中的作用

PEPTs 在 Na⁺/H⁺交换系统的协助下, 以 H⁺梯度为跨膜动力逆浓度梯度转运二肽、三肽、肽类似物 β -内酰胺类抗生素、ACE 抑制剂、抗癌药物、核苷酸类药物等。

2.1 PEPT1 在药物转运中的作用

PEPT1 是低亲和力、高转运能力的转运蛋白, 主要在肠道表达, 与药物的吸收相关, 在药物的体内过程中起着至关重要的作用。以小肠中的 PEPT1 作为靶点, 可以有效提高口服生物利用度低的药物的吸收。例如头孢羟氨苄是用于 PEPT1 转运研究的优选底物, 因为这种头孢菌素以相当高的亲和力结合于转运蛋白, 并且由 PEPT1 跨细胞膜转运。Posada 等^[32]的研究确定了 Pept1 对野生型和 Pept1 基因敲除小鼠头孢羟氨苄的渗透性和口服吸收的作用。Pept1 的敲除导致头孢羟氨苄 C_{max} 降低为原来的 1/23, 口服给药后体内曝光量降低为原来的 1/14。因而得出结论, Pept1 可以影响头孢羟氨苄的小肠

通透性和生物利用度吸收。

本实验室发现具有抗肝炎活性的二肽 JBP485 (环-反式-4-L-羟基脯氨酸-L-丝氨酸) 是 PEPTs 的底物。口服给药后 JBP485 被大鼠肠吸收良好。而且 JBP485 在 Caco-2 细胞中的摄取是依赖于 pH 的, 可被 Gly-Sar 抑制。JBP485 的顶端至基底外侧上皮转运率比基底侧顶转运高 1.8 倍。JBP485 由 PEPT1 主动运输, 这一事实有助于解释口服后胃肠道对 JBP485 的快速吸收^[33-35]。JBP485 与 ACEI 类药物赖诺普利联合用药后可产生转运体介导的药物相互作用, 口服联用后相互竞争肠道 PEPT1 而使彼此的吸收减少^[36]。JBP485 与头孢氨苄口服合用二者竞争肠道 PEPT1 而使彼此的吸收减少, 二者静脉联合用药后二者竞争肾脏 OATs、PEPT2 等转运体进而排泄减少^[37]。JBP485 与 ZnSO₄ 联合用药后可发生显著的药物相互作用^[37], 锌离子抑制 PEPT1 转运底物的活性降低 JBP485 肠道吸收。这些都表明 JBP485 与 PEPTs 的底物或调节剂合用时可能发生转运体介导的药物相互作用, 提示临床联合用药时应考察药物与转运体之间的作用进行给药方案的调整, 以避免不良的药物相互作用和确保药物的疗效。

Smith^[38]的结果证明了 Pept1 在伐昔洛韦的肠道通透性的作用。伐昔洛韦是用于口服治疗病毒感染的前药和已知的 Pept1 底物。Pept1 基因敲除小鼠原位肠灌流中伐昔洛韦的有效通透性 (P_{eff}) 约为野生型动物的 10%, 其吸收程度降低为原来的 1/5~1/3。在野生型动物中 Gly-Sar 和头孢羟氨苄显著降低伐昔洛韦的 P_{eff} , 但氨基酸 1-缬氨酸或 1-组氨酸、有机酸对氨基马尿酸、有机碱四乙胺并没有降低伐昔洛韦的 P_{eff} 。以上说明 Pept1 对伐昔洛韦的口服吸收有很大的影响。

抗帕金森二肽前药 L- α -甲基多巴-L-Phe 和 L-多巴-L-Phe 显示出比 L- α -甲基多巴和 L-多巴更高的肠通透性。这两个二肽前药通过 Pept1 转运穿过肠细胞膜, 然后在细胞内水解。Wang 等^[39]发现 D-苯基甘氨酸-L-多巴在大鼠肠刷状缘膜囊泡 (BBMV) 中通过 Pept1 转运, D-苯基甘氨酸-L-多巴的 BBMV 摄取被 Gly-Pro, Gly-Phe 和头孢拉定 (典型的 Pept1 底物) 抑制, 但不被氨基酸苯丙氨酸或 L-多巴抑制。而且 D-苯基甘氨酸-L-多巴的大鼠空肠灌流中的跨膜通透性高于 L-多巴, 口服生物利用度是左旋多巴的 32 倍。阿米顿的小组^[40]以改善抗流感药物扎那米韦渗透性和口服吸收为目的, 合成了几种与氨基

酸缀合的扎那米韦酰氧基酯前药,并评估了前药的稳定性,转运和组织活化能力。扎那米韦的 *L*-缬氨酸前药竞争性抑制 Caco-2 细胞中的 [^3H]Gly-Sar 摄取 ($\text{IC}_{50}=1.2\text{ mmol/L}$), HeLa/hPEPT1 细胞的摄取量是野生型 HeLa 细胞的 3 倍, Caco-2 单层的跨上皮通量测量显示增强的跨细胞通透性,这都表明扎那米韦和奥司他韦前药经 Pept1 介导吸收。更重要的是,前药的转运不仅表现出增强还表现出活化。抗逆转录病毒药物去羟肌苷 (Videx, 5'-*O*-2'-3'-脱氨基二氢赖氨酸) 生物利用度低,限制了其临床应用。Yan 等^[41]设计了 5 种去羟肌苷的拟肽前体药物,通过靶向 PEPT1 改善其口服生物利用度,并提高化学稳定性。使用渗透支持物上生长的 Caco-2 细胞筛选前药,去羟肌苷的 5'-*O*-*L*-缬氨酸酯前药显示出最高的膜通透性,被选作用于进一步的研究。前药抑制 Caco-2 细胞对 Gly-Sar 的摄取,反之 Gly-Sar 也抑制前药的摄取。最重要的是,大鼠灌胃给予去羟肌苷前药后,发现前药的绝对生物利用度远高于去羟肌苷。当与 Gly-Sar 共同给药时,前药生物利用度降低。以上说明以 PEPT1 为靶点设计前药可以改善药物的体内转运和疗效。

2.2 PEPT2 在药物转运中的作用

PEPT1 和 PEPT2 转运体具有高度重叠的底物特异性。PEPT2 转运体对底物的亲和力是 PEPT1 的 10~15 倍, PEPT2 可以顺序独立地传输超过 400 个二肽和 8 000 个三肽并且具有更强的选择性和特异性。

PEPT2 底物的优选构型和构象特征应包括以下内容: (1) 2 至 3 个氨基酸残基的肽骨架; (2) 二肽必须是两性离子形式,相反电荷的 NH_2 基和 COOH 基之间的距离在 500~630 pm; (3) 正确定位于骨架的羰基; (4) α 或 β 位游离氨基; (5) 具有 *L*-氨基酸和反式构象异构体; (6) 手性中心在 α 碳和骨架扭转角 ψ , ϕ 和 ω ; (7) 3 位氨基酸残基不带电荷的三肽; (8) 疏水侧链或 C 末端酸性基团可以改善底物的亲和性^[21]。

在大脑中, PEPT2 在大脑皮层、神经元、星形胶质细胞、室管膜和室管膜下的细胞以及脉络丛上皮细胞等集中表达^[30]。

头孢氨苄,一种 β -内酰胺抗生素,不仅是 PEPT1 的底物还是 PEPT2 底物。Smith^[42]的实验研究了 Pept2 对小鼠脑中头孢羟氨苄分布的影响。在实验中,使用体内脑微量透析的方法,在野生型和 Pept2

基因敲除小鼠中研究了头孢羟氨苄的药动力学和局部脑分布。头孢羟氨苄以 0.15 mg/(min·kg) 静脉输注 4 h,从血浆、脑细胞外液 (ECF)、脑脊液 (CSF) 和脑组织获得样品,并进行了渗透性面积实验。其中 0.15 mg/(min·kg) 头孢羟氨苄静脉输注 10 min 的血浆和脑组织样品表明: Pept2 基因敲除小鼠脑 ECF 和 CSF 头孢羟氨苄水平显著增加 (2~2.5 倍),未分配的体积分数降低了 60%,野生型和 Pept2 基因敲除小鼠脑细胞中头孢羟氨苄的量没有显著差异,这说明 Pept2 不影响头孢羟氨苄的流入量,从而可以排除两种基因型在药物进入血脑屏障中的差异。这些发现首次表明 PEPT2 对脑 ECF 的影响以及 PEPT2 从 CSF 去除肽样药物 (如头孢羟氨苄) 的作用。

在肾脏, PEPT2 主要在肾髓质细胞和上皮细胞的刷状缘膜侧表达,可以介导小肽和肽样药物的重吸收。例如,口服或静脉注射的 β -内酰胺类抗生素几乎都经肾排泄, Daniel、Gananpathy 和 Luckner 等^[43-45]的研究证实了肾脏 Pept2 对这些药物的重吸收起着关键作用。Xu^[46]的转染细胞摄取实验、体外肾灌注实验及体内药理学实验明确尿液中 25% 的恩替卡韦经 PEPT2 重吸收。Smith^[47]使用 Pept2 基因敲除小鼠说明肾脏 Pept2 在头孢氨苄肾脏重吸收中的重要作用。

3 PEPTs 与临床相关性

3.1 结肠炎

PEPT1 与肠道炎症相关。PEPT1 在健康成年人结肠中不表达,但在溃疡性结肠炎、克罗恩病和短肠综合征患者的结肠组织样品中被上调^[48-49]。甲酰基-Met-Leu-Phe 是一种来源于细菌的肽衍生物,也是嗜中性粒细胞诱导剂。PEPT1 能够转运甲酰基-Met-Leu-Phe 进入上皮细胞,与天然免疫受体结合,激活炎症信号转导通路,诱导炎症反应。细胞因子干扰素- α 和肿瘤坏死因子 γ 通过翻译后修饰上调 Pept1 的表达,进而增加其介导的肠吸收^[50]。Ayyadurai 等^[51-52]使用 Pept1 基因敲除小鼠来探讨葡聚糖硫酸钠 (DSS) 诱导的结肠炎免疫细胞中 Pept1 的作用。与野生型动物相比, Pept1 基因敲除小鼠结肠结构较少被破坏,髓过氧化物酶活性低,免疫细胞浸润到黏膜和黏膜下层的程度减少且趋化性明显下降,编码促炎症细胞因子白细胞介素 IL-6、IL-12、单核细胞趋化蛋白 1、干扰素- γ 的 mRNA 水平显著降低。说明 Pept1 调节细菌或细菌产物引发

的促炎症细胞因子的分泌,在诱导结肠炎中起重要作用。

3.2 胰腺癌

AsPC-1 是已知高度表达 PEPT1 的人胰腺癌细胞。Mitsuoka 等^[53]合成了两种新型的二肽 1-苯丙氨酰肌氨酸 (Phe-Sar) 和 4-(4-甲氧基苯基)-1-苯丙氨酰肌氨酸[Bip (OMe)-Sar], 并检测了它们对人胰腺癌 AsPC-1 细胞生长的影响,发现这两种肽和典型的 PEPT1 底物 Gly-Sar 浓度相关性抑制 AsPC-1 细胞的生长并且 AsPC-1 细胞的生长抑制程度与 PEPT1 活性抑制程度一致,而且这两种肽还分别抑制 PEPT1 介导的^[3H]Gly-Sar 摄取。这说明 PEPT1 是 AsPC-1 细胞生长所必需的,抑制 PEPT1 可以抑制 AsPC-1 细胞的生长。因此,PEPT1 似乎是抑制胰腺癌进展的潜在的靶点。

3.3 前列腺癌

近年来, Tai 等^[54-55]在前列腺癌细胞系 LNCaP 和 PC-3 中通过 RT-PCR 和 Western blotting 等方法分别检测到 PEPT2 和 PEPT1 显著表达。荧光二肽探针 δ -Ala-Lys-AMCA (肽转运蛋白的底物) 特异性地积累在 LNCaP 和 PC-3 的细胞质中。用放射性同位素标记的^[3H]Gly-Sar 测定细胞的摄取功能,发现摄取是时间和 pH 相关性的,竞争性抑制实验表明前列腺癌细胞中的肽转运蛋白表现出广泛的底物特异性,而且 Gly-Sar 通过抑制肽转运蛋白活性进而抑制 LNCaP 和 PC-3 细胞的生长。这提示 PEPT1 和 PEPT2 可以作为肿瘤特异性药物递送的靶点。Huo 等^[56]首次在 PC3 和 U118 人癌细胞系的线粒体膜上检测到了 PEPT1 与 PEPT2。发现 PEPT1 与 PEPT2 可以促进褪黑素转运到线粒体中诱导 PC3 和 U118 细胞的凋亡。说明 PEPT1/2 可以潜在地在褪黑素癌细胞靶向递送系统中发挥重要作用,以增强褪黑素在癌症治疗中的治疗效果。

3.4 肝癌

Gong 等^[57]将多柔比星与 Glycylglycylglycine (Gly-Gly-Gly, PEPT1 的底物) 缀合并证实其通过 PEPT1 实现靶向递送和对人肝癌的抗肿瘤作用,而且多柔比星缀合三肽后的毒性和副作用有所改善。研究结果表明,靶向 PEPT1 可能有助于多柔比星向肝癌细胞的有效递送和药物毒性的降低,PEPT1 有望成为肝癌治疗的新靶点。

3.5 卟啉症相关肾病及神经毒性和铅相关神经毒性

大多数急性间歇性卟啉症 (AIP) 患者体内 δ -

氨基乙酰丙酸 (δ -ALA) 积累并促进管状细胞死亡和肾小管间质损伤。近端肾小管细胞表达的 PEPT2 介导 δ -ALA 的再吸收,PEPT2 的变体对 ALA 具有不同的亲和力。Tchernitchko 等^[58]分析了 2003—2013 年随访的 122 例 AIP 患者的数据,并对 PEPT2 进行了基因分型,发现 PEPT2*1*1 基因型 (更高亲和力变体) 的携带者比低亲和力变体 PEPT2*1/*2 和 PEPT2*2/*2 的携带者显示更差的肾功能[肾小球滤过率 (eGFR) 分别为 (54.4 ± 19.1)、(66.6 ± 23.8)、(78.1 ± 19.9) mL/min], PEPT2*1/*1、PEPT2*1*2、PEPT2*1*2 的携带者 10 年间 eGFR 的变化分别为 (-11.0 ± 3.3)、(-4 ± 1.9)、(3.4 ± 2.6) mL/min, 68% 的 PEPT2*1*1 携带者的 eGFR < 1.65 mL/min, 这是 PEPT2*1*2 携带者的 37%, PEPT2*2*2 的携带者 15%。这证实了 PEPT2 基因型影响卟啉症相关肾脏疾病严重程度和预后的假说,因此,PEPT2 的变体可以预测卟啉症相关性肾病的严重程度。

PEPT2 能够清除脉络丛 CSF 中肽和肽类似物,进而限制其在脑中的分布。有相关报导^[59],给予 Pept2 缺陷小鼠 5-ALA 导致其生存能力降低,神经肌肉功能障碍恶化,CSF 浓度升高 8~30 倍。Pept2 限制脑脊液 5-ALA 分布的能力表明,在大脑中的表达的 Pept2 可以避免 5-ALA 的神经毒性。

长期以来,儿童期低水平铅暴露与认知神经发育的改变和认知功能减退有关。Sobin 等^[60-61]发现 PEPT2*2 突变的儿童血铅浓度升高,表明这种 PEPT2 常见的遗传变异是增加最低水平铅暴露神经毒性的生物标志物。

3.6 δ -ALA 的光动力疗法和光动力学诊断

5-ALA 的光动力疗法和光动力学诊断在临床上可用于癌症治疗^[62-63]。内源性光敏剂 δ -ALA 是 PEPT1 和 PEPT2 的高亲和力底物^[64],PEPT1 在肝外胆管肿瘤细胞中表达并介导^[3H] δ -ALA 的转运,使 δ -ALA 在光动力学肿瘤治疗之前在细胞中积累^[65-66]。 δ -ALA 的光动力疗法和光动力学诊断中给予 δ -ALA 可以使光敏原卟啉 IX (PpIX) 在肿瘤细胞特异性积累而且 δ -ALA 的光细胞毒性与 PpIX 水平相关。Hagiya 等^[67-68]发现 PEPT1 (δ -ALA 流入转运蛋白) 的高表达和 ATP 结合盒转运蛋白 ABCG2 (光敏原卟啉流出转运蛋白) 的低表达共同决定了 δ -ALA 诱导的 PpIX 产生和胃癌细胞光敏性。这说明 PEPT1 和 ABCG2 是调节细胞内 PpIX 水平和确

定 δ -ALA 对胃癌细胞体外的光毒性疗效的关键因素, 评估 PEPT1 和 ABCG2 基因的表达水平可用于预测 δ -ALA 的光动力疗法的功效。

4 结语

PEPTs 是人体内重要的寡肽转运体, 介导了肽类和肽样药物的细胞转运, 对许多药物体内吸收、代谢发挥着重要的作用, 也成为许多疾病治疗的新靶点。目前对 PEPT1 转运体功能的研究大部分集中在肠道中, PEPT2 集中在肾脏上, 脑中 PEPT2 的研究也在逐渐深入。但对其分布的其他组织和器官如角膜、鼻黏膜、皮肤等影响的研究较少, 现阶段, 对于 PHT1 和 PHT2 转运体的研究还不够深入。探索 PEPTs 的组织分布及表达能更好地预测底物药物的体内过程、潜在的药物相互作用以及设计靶向药物与靶向治疗。

参考文献

- [1] Groneberg D A, Doring F, Eynott P R, et al. Intestinal peptide transport: *ex vivo* uptake studies and localization of peptide carrier PEPT1 [J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2001, 281(3): 697-704.
- [2] Jappar D, Wu S P, Hu Y, et al. Significance and regional dependency of peptide transporter (PEPT) 1 in the intestinal permeability of glycylsarcosine: *in situ* single-pass perfusion studies in wild-type and Pept1 knockout mice [J]. Drug Metab Dispos, 2010, 38(10): 1740-1746.
- [3] Ruhl A, Hoppe S, Frey I, et al. Functional expression of the peptide transporter PEPT2 in the mammalian enteric nervous system [J]. J Comp Neurol, 2005, 490(1): 1-11.
- [4] Herrera-Ruiz D, Wang Q, Gudmundsson O S, et al. Spatial expression patterns of peptide transporters in the human and rat gastrointestinal tracts Caco-2 *in vitro* cell culture model and multiple human tissues [J]. AAPS J, 2001, 3(1): E9.
- [5] Bhardwaj R K, Herrera-Ruiz D, Eltoukhy N, et al. The functional evaluation of human peptide/ histidine transporter 1 (hPHT1) in transiently transfected COS-7 cells [J]. Eur J Pharm Sci, 2006, 27(5): 533-542.
- [6] Zhang Y, Viennois E, Zhang M, et al. PepT1 expression helps maintain intestinal homeostasis by mediating the differential expression of miRNAs along the Crypt-Villus Axis [J]. Sci Rep, 2016, 6: 27119.
- [7] Wuensch T, Schulz S, Ullrich S, et al. The peptide transporter PEPT1 is expressed in distal colon in rodents and humans and contributes to water absorption [J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2013, 305(1): 66-73.
- [8] Smith D E, Pavlova A, Berger U V, et al. Tubular localization and tissue distribution of peptide transporters in rat kidney [J]. Pharm Res, 1998, 15(8): 1244-1249.
- [9] Shen H, Smith D E, Yang T, et al. Localization of PEPT1 and PEPT2 proton-coupled oligopeptide transporter mRNA and protein in rat kidney [J]. Am J of Physiol, 1999, 276(2): F658-F665.
- [10] Rubio-Aliaga I, Frey I, Boll M, et al. Targeted disruption of the peptide transporter Pept2 gene in mice defines its physiological role in the kidney [J]. Mol Cell Biol, 2003, 23(9): 3247-3252.
- [11] Shen H, Smith D E, Keep R F, et al. Targeted disruption of the PEPT2 gene markedly reduces dipeptide uptake in choroid plexus [J]. J Biol Chem, 2003, 278(7): 4786-4791.
- [12] Ocheltree S M, Shen H, Hu Y, et al. Role and relevance of peptide transporter 2 (PEPT2) in the kidney and choroid plexus: *In vivo* studies with glycylsarcosine in wild-type and PEPT2 knockout mice [J]. J Pharmacol Exp Ther, 2005, 315(1): 240-247.
- [13] Berger U V, Hediger M A. Distribution of peptide transporter PEPT2 mRNA in the rat nervous system [J]. Anat Embryol (Berl.), 1999, 199(5): 439-449.
- [14] Shen H, Smith D E, Keep R F, et al. Immunolocalization of the proton-coupled oligopeptide transporter PEPT2 in developing rat brain [J]. Mol Pharm, 2004, 1(4): 248-256.
- [15] Hu Y, Xie Y, Keep R F, et al. Divergent developmental expression and function of the proton-coupled oligopeptide transporters Pept2 and PhT1 in regional brain slices of mouse and rat [J]. J Neurochem, 2014, 129(6): 955-965.
- [16] Uchida Y, Zhang Z, Tachikawa M, et al. Quantitative targeted absolute proteomics of rat blood-cerebrospinal fluid barrier transporters: comparison with a human specimen [J]. J Neurochem, 2015, 134(6): 1104-1115.
- [17] Ocheltree S M, Shen H, Hu Y, et al. Mechanisms of cefadroxil uptake in the choroid plexus: Studies in wild-type and PEPT2 knockout mice [J]. J Pharmacol Exp Ther, 2004, 308(2): 462-467.
- [18] 刘畅, 魏刚, 陆伟跃. 寡肽转运载体 PepT1 的转运机制及其介导的药物吸收 [J]. 中国医药工业杂志, 2013, 44(6): 618-624.
- [19] Agu R, Cowley E, Shao D, et al. Proton-coupled oligopeptide transporter (POT) family expression in human nasal epithelium and their drug transport potential [J]. Mol Pharm, 2011, 8(3): 664-672.
- [20] Su L, Zhang Y, Cheng Y C, et al. Slc15a1 is involved in the transport of synthetic F5-peptide into the seminiferous epithelium in adult rat testes [J]. Sci Rep, 2015, 5(5): 16271.

- [21] Zhao D, Lu K. Substrates of the human oligopeptide transporter hPEPT2 [J]. *BioSci Trends*, 2015, 9(4): 207-213.
- [22] Sun D, Wang Y, Tan F, et al. Functional and molecular expression of the proton-coupled oligopeptide transporters in spleen and macrophages from mouse and human [J]. *Mol Pharm*, 2013, 10(4): 1409-1416.
- [23] Groneberg D A, Nickolaus M, Springer J, et al. Localization of the peptide transporter PEPT2 in the lung: Implications for pulmonary oligopeptide uptake [J]. *Am J Pathol*, 2001, 158(2): 707-714.
- [24] Takano M, Horiuchi T, Sasaki Y, et al. Expression and function of PEPT2 during transdifferentiation of alveolar epithelial cells [J]. *Life Sci*, 2013, 93(17): 630-636.
- [25] Takano M, Sugimoto N, Ehrhardt C, et al. Functional Expression of PEPT2 in the Human Distal Lung Epithelial Cell Line NCI-H441 [J]. *Pharm Res*, 2015, 32(12): 3916-3926.
- [26] Bahadduri P M, D' Souza V M, Pinsonneault J K, et al. Functional characterization of the peptide transporter PEPT2 in primary cultures of human upper airway epithelium [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2005, 32(4): 319-325.
- [27] Groneberg D A, Fischer A, Chung K F, et al. Molecular mechanisms of pulmonary peptidomimetic drug and peptide transport [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2004, 30(3): 251-260.
- [28] Groneberg D A, Doring F, Theis S, et al. Peptide transport in the mammary gland: expression and distribution of PEPT2 mRNA and protein [J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2002, 282(5): E1172-E1179.
- [29] Zhou M M, Wu Y M, Liu H Y, et al. Effects of tripeptides and lactogenic hormones on oligopeptide transporter 2 in bovine mammary gland [J]. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)*, 2011, 95(6): 781-789.
- [30] 赵东欣, 赵姗姗, 卢奎. 寡肽转运蛋白 PepT2 的结构与功能研究进展 [J]. *生物技术通报*. 2013, 35(6): 25-31.
- [31] Kudo M, Katayoshi T, Kobayashi-Nakamura K, et al. H(+)/ peptide transporter(PEPT2) is expressed in human epidermal keratinocytes and is involved in skin oligopeptide transport [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, 475(4): 335-341.
- [32] Posada M M, Smith D E. Relevance of PepT1 in the intestinal permeability and oral absorption of cefadroxil [J]. *Pharm Res*, 2013, 30(4): 1017-1025.
- [33] Liu Z, Wang C, Liu Q, et al. Uptake, transport and regulation of JBP485 by PEPT1 *in vitro* and *in vivo* [J]. *Peptides*, 2011, 32(4): 747-754.
- [34] Guo X, Meng Q, Liu Q, et al. Peptide cotransporter 1 in intestine and organic anion transporters in kidney are targets of interaction between JBP485 and lisinopril in rats [J]. *Drug Metab Pharmacokinet*, 2012, 27(2): 232-241.
- [35] Cang J, Zhang J, Wang C, et al. Pharmacokinetics and mechanism of intestinal absorption of JBP485 in rats [J]. *Drug Metab Pharmacokinet*, 2010, 25(5): 500-507.
- [36] Zhang J, Wang C, Liu Q, et al. Pharmacokinetic interaction between JBP485 and cephalixin in rats [J]. *Drug Metab Dispos*, 2010, 38(6): 930-938.
- [37] Miao Q, Liu Q, Wang C, et al. Inhibitory effect of zinc on the absorption of JBP485 via the gastrointestinal oligopeptide transporter (PEPT1) in rats [J]. *Drug Metab Pharmacokinet*, 2011, 26(5): 494-502.
- [38] Yang B, Smith D E. Significance of peptide transporter 1 in the intestinal permeability of valacyclovir in wild-type and PepT1 knockout mice [J]. *Drug Metab Dispos*, 2013, 41(3): 608-614.
- [39] Wang C L, Fan Y B, Lu H H, et al. Evidence of D-phenylglycine as delivering tool for improving Ldopa absorption [J]. *Biomed Sci*, 2010, 17(1): 71.
- [40] Gupta S V, Gupta D, Sun J, et al. Enhancing the intestinal membrane permeability of zanamivir: A carrier mediated prodrug approach [J]. *Mol Pharm*, 2011, 8(6): 2358-2367.
- [41] Yan Z, Sun J, Chang Y, et al. Bifunctionalpeptidomimeticprodrugs of didanosine for improved intestinal permeability and enhanced acidic stability: synthesis, transepithelial transport, chemical stability and pharmacokinetics [J]. *Mol Pharm*, 2011, 8(2): 319-329.
- [42] Chen X, Keep R F, Liang Y, et al. Influence of peptide transporter 2 (PEPT2) on the distribution of cefadroxil in mouse brain: A microdialysis study [J]. *Biochem Pharmacol*, 2017, 1(131): 89-97.
- [43] Daniel H, Adibi S A. Transport of beta-lactam antibiotics in kidney brush border membrane. Determinants of their affinity for the oligopeptide /H⁺ symporter [J]. *J Clin Invest*, 1993, 92(5): 2215-2223.
- [44] Ganapathy M E, Brandsch M, Prasad P D, et al. Differential recognition of β -lactam antibiotics by intestinal and renal peptide transporters, PEPT 1 and PEPT 2 [J]. *J Biol Chem*, 1995, 270, (43): 25672-25677.
- [45] Luckner P, Brandsch M. Interaction of 31 β -lactam antibiotics with the H⁺/peptide symporter PEPT2: analysis of affinity constants and comparison with PEPT1 [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2005, 59(1): 17-24.
- [46] Xu Q, Wang C, Meng Q, et al. The oligopeptide transporter 2-mediated reabsorption of entecavir in rat

- kidney [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2014, 52(1): 41-47.
- [47] Shen H, Ocheltree S M, Hu Y, et al. Impact of genetic knockout of PEPT2 on cefadroxil pharmacokinetics, renal tubular reabsorption, and brain penetration in mice [J]. *Drug Metab Dispos*, 2007, 35(7): 1209-1216.
- [48] Merlin D, Si-Tahar M, Sitaraman S V, et al. Colonic epithelial hPepT1 expression occurs in inflammatory bowel disease: Transport of bacterial peptides influences expression of MHC class I molecules [J]. *Gastroenterology*, 2001, 120(7): 1666-1679.
- [49] Viennois E, Ingersoll S A, Ayyadurai S, et al. Critical role of PepT1 in promoting colitis-associated cancer and therapeutic benefits of the anti-inflammatory PepT1-mediated tripeptide KPV in a murine model [J]. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*, 2016, 2(3): 340-357.
- [50] Vavricka S R, Musch M W, Fujiya M, et al. Tumor necrosis factor- α and interferon- γ increase PepT1 expression and activity in the human colon carcinoma cell line Caco-2/ bbe and in mouse intestine [J]. *Pflugers Arch*, 2006, 452(1): 71-80.
- [51] Ayyadurai S, Charania M A, Xiao B, et al. PepT1 expressed in immune cells has an important role in promoting the immune response during experimentally induced colitis [J]. *Lab Invest*, 2013, 93(8): 888-899.
- [52] Ingersoll S A, Ayyadurai S, Charania M A, et al. The role and pathophysiological relevance of membrane transporter PepT1 in intestinal inflammation and inflammatory bowel disease [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2012, 302(5): G484-492.
- [53] Mitsuoka K, Kato Y, Miyoshi S, et al. Inhibition of oligopeptide transporter suppress growth of human pancreatic cancer cells [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2010, 40(3): 202-208.
- [54] Sun D, Tan F, Fang D, et al. Expression of proton-coupled oligopeptide transporter (POTs) in prostate of mice and patients with benign prostatic hyperplasia (BPH) and prostate cancer (PCa) [J]. *Prostate*, 2013, 73(3): 287-295.
- [55] Tai W, Chen Z, Cheng K. Expression profile and functional activity of peptide transporters in prostate cancer cells [J]. *Mol Pharm*, 2013, 10(2): 477-487.
- [56] Huo X, Wang C, Yu Z, et al. Human transporters, PEPT1/2, facilitate melatonin transportation into mitochondria of cancer cells: An implication of the therapeutic potential [J]. *J Pineal Res*, 2017, 62(4).
- [57] Gong Y, Wu X, Wang T, et al. Targeting PEPT1: a novel strategy to improve the antitumor efficacy of Doxorubicin in human Hepatocellular carcinoma therapy [J]. *Oncotarget*, 2017, Apr, 15.
- [58] Tchernitchko D, Tavernier Q, Lamoril J, et al. A variant of peptide transporter 2 predicts the severity of porphyria-associated kidney disease [J]. *J Am SocNephrol*, 2016: ASN. 2016080918.
- [59] Hu Y, Shen H, Keep R F, et al. Peptide transporter 2 (PEPT2) expression in brain protects against 5-aminolevulinic acid neurotoxicity [J]. *J Neurochem*, 2007, 103(5): 2058-2065.
- [60] Sobin C, Gutierrez M, Alterio H. Polymorphisms of delta-aminolevulinic acid dehydratase (ALAD) and peptide transporter 2 (PEPT2) genes in children with low-level lead exposure [J]. *Neurotoxicology*, 2009, 30(6): 881-887.
- [61] Sobin C, Flores-Montoya M G, Gutierrez M, et al. δ -Aminolevulinic acid dehydratase single nucleotide polymorphism 2 (ALAD2) and peptide transporter 2*2 haplotype (hPEPT2*2) differently influence neurobehavior in low-level lead exposed children [J]. *Neurotoxicol Teratol*, 2015, 47: 137-145.
- [62] Ito H, Tamura M, Matsui H, et al. Reactive oxygen species involved cancer cellular specific 5-aminolevulinic acid uptake in gastric epithelial cells [J]. *Free Radic Biol Med*, 2014, 76(2): 81-85.
- [63] Yonemura Y, Canbay E, Ishibashi H, et al. 5-Aminolevulinic acid fluorescence in detection of peritoneal metastases [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2016, 17(4): 2271-2275.
- [64] Do ring F, Walter J, Will J, et al. Delta-aminolevulinic acid transport by intestinal and renal peptide transporters and its physiological and clinical implications [J]. *J Clin Invest*, 1998, 101(12): 2761-2767.
- [65] Neumann J, Brandsch M. δ -Aminolevulinic acid transport in cancer cells of the human extrahepatic biliary duct [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2003, 305(1): 219-224.
- [66] Chung C W, Kim C H, Lee H M, et al. Aminolevulinic acid derivatives-based photodynamic therapy in human intra- and extrahepaticcholangiocarcinoma cells [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2013, 85(3): 503-510.
- [67] Hagiya Y, Endo Y, Yonemura Y, et al. Pivotal roles of peptide transporter PEPT1 and ATP-binding cassette (ABC) transporter ABCG2 in 5-aminolevulinic acid (ALA)-based photocytotoxicity of gastric cancer cells *in vitro* [J]. *Photodiagnosis Photodyn Ther*, 2012, 9(3): 204-214.
- [68] Nakayama T, Otsuka S, Kobayashi T, et al. Dormant cancer cells accumulate high protoporphyrin IX levels and are sensitive to 5-aminolevulinic acid-based photodynamic therapy [J]. *Sci Rep*, 2016, 6, 36478.