

基于 ATP-结合盒转运蛋白逆转肿瘤多药耐药的研究进展

魏 宁*, 孙 华, 刘耕陶

(中国医学科学院、北京协和医学院药物研究所, 北京 100050)

摘要: ATP-结合盒 (ATP-binding cassette, ABC) 转运蛋白是 ATP 依赖性药物外排泵, 其表达或功能异常是肿瘤细胞产生多药耐药 (multi-drug resistance, MDR) 的重要机制之一。目前, 以 ABC 转运蛋白为靶点的逆转肿瘤 MDR 的研究最为广泛与深入。本文总结了 ABC 转运蛋白的结构与功能、ABC 转运蛋白与肿瘤 MDR 的关系及其为靶点的 MDR 逆转剂与逆转策略的研究进展。

关键词: 多药耐药; ABC 转运蛋白; P-糖蛋白; 多药耐药相关蛋白; 乳腺癌耐药蛋白

中图分类号: R963

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2010) 10-1205-07

Advances in the targeting ATP-binding cassette transporters to overcome tumor multi-drug resistance

WEI Ning*, SUN Hua, LIU Geng-tao

(Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100050, China)

Abstract: ATP-binding cassette (ABC) transporters are a family of proteins that mediate multi-drug resistance (MDR) via ATP-dependent drug efflux pumps. Abnormally expression and function would result in tumor MDR. That is the most important mechanism of MDR. The inhibition of ABC transporters as a strategy to reverse MDR in cancer has been studied extensively. In this review, we reviewed the structure and function of ABC transporters, and focused on the research advances in the mechanism of tumors MDR mediated by ABC transporters and the development of their modulators and reversal strategies.

Key words: multi-drug resistance; ABC transporter; P-glycoprotein; multi-drug resistance associated protein; breast cancer resistance protein

当前肿瘤化学治疗最大障碍之一就是肿瘤细胞对化疗药物的耐受性。所谓肿瘤多药耐药 (multi-drug resistance, MDR) 是指肿瘤接触了某些抗癌药物后产生对其他多种未接触过的、结构无关和作用机制完全不同的抗癌药物的耐药性。1976 年由 Juliano 等^[1]首次提出肿瘤细胞耐药机制是通过跨膜转运蛋白的药泵作用, 降低 MDR 细胞内的抗肿瘤药物水平, 后来被称为“经典 MDR”。此后, 大量研究集中于转运蛋白及其与 MDR 的关系, 认为广泛存在于生物

界的这些跨膜转运蛋白大多属于 ATP 结合盒 (ATP-binding cassette, ABC) 转运蛋白家族。调控 ABC 转运蛋白的表达与功能成为有效逆转 MDR 策略之一。本文对 ABC 转运蛋白的结构与功能及以 ABC 转运蛋白为靶点的 MDR 逆转剂与逆转策略的研究予以综述。

1 ABC 转运蛋白的结构与功能

目前已发现 48 种 ABC 基因家族蛋白。根据序列和结构的同源性可分为 ABCA、ABCB、ABCC、ABCD、ABCE、ABCF、ABCG 等 7 个亚家族。其中研究最多的 ABC 蛋白依次为 ABCB1、ABCC、ABCG2 等。

1.1 ABCB1(即 P-糖蛋白) P-糖蛋白(P-glycoprotein,

收稿日期: 2010-03-30.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30630069).

*通讯作者 Tel: 86-10-63165203, Fax: 86-10-63017757,

E-mail: weining@imm.ac.cn

Pgp, 图 1A) 由位于人类染色体 7q21.1 的 ABCB1 (MDR1) 基因所编码, 是由 1 280 余个氨基酸残基组成的单链跨膜糖蛋白。其中多肽链占 140 kDa, 由于糖基化程度的不同其分子质量略有变化, 约为 170 kDa。Pgp 是最具代表性的 ABC 转运蛋白, 其结构由两个疏水性跨膜结构域 TMD1 和 TMD2 (trans-membrane domain) 及两个核苷酸结合结构域 NBD1、NBD2 (nucleotide-binding domain) 交叉排列组成, 其中糖基化位点位于第 1 个胞外环^[2, 3]。TMD 由 6 个疏水性跨膜 α 螺旋组成, 可形成药物结合位点及药物转运通道, 而 NBD 位于胞浆膜内侧具有结合和水解 ATP 活性。当 Pgp 底物与 TMD 结合后, 两个 NBD 相互靠近并与 ATP 结合, 中心部分形成孔道结构, Pgp 的构象发生改变促使中心孔道开放, 直接将疏水药物经中心孔道泵出细胞外^[4]。

1.2 ABCC 亚族 (通常称 MRP 亚族) 1992 年 Cole 等^[5]发现阿霉素选育的人小细胞肺癌 H69AR 耐药细胞系可对多种化疗药物产生耐药, 却无 Pgp 高表达, 而是多药耐药相关蛋白 (multidrug resistance associated protein, MRP, 图 1B) 表达升高。MRP 是第一个被发现的 ABCC 亚族转运蛋白, 现称之为 MRP1 或 ABCC1, 编码 MRP 的基因位于人类染色体 16p13.1。MRP 由 1 531 个氨基酸残基组成, 分子质量为 190 kDa。目前已在人类发现 12 种 ABCC 亚族转运蛋白, 其分子结构可以分为两类: 一类与 Pgp 结构相似, 如 MRP4、MRP5、MRP8、MRP9; 另一类除具有与 Pgp 相似结构外, N 末端区域还有一个由 5 个疏水性跨膜 α 螺旋组成的跨膜结构域 TMD0, 如 MRP1、MRP2、MRP3、MRP6、MRP7^[6]。

1.3 ABCG2 (即乳腺癌耐药蛋白) 1998 年 Doyle 等^[7]用 RNA 指纹法从 Pgp 和 MRP 均阴性表达的人乳腺癌耐药细胞系 MCF-7/AdrVP 中克隆得到一段 2.4 kb 的过表达 mRNA, 编码基因位于染色体 4q22-23, 产物为 655 个氨基酸的磷酸化蛋白, 命名为乳腺癌耐药蛋白 (breast cancer resistance protein, BCRP, 图 1C),

分子质量为 72 kDa。BCRP 由 1 个 TMD 和 1 个 NBD 组成, 属于半转运蛋白。BCRP 可形成二聚体结构的活性转运复合物, 以“药泵”形式减少胞内 ATP 依赖性药物蓄积而产生耐药^[8]。

此外, 许多正常组织细胞中发现 ABC 转运蛋白也呈高表达, 如肾上腺皮质、肝脏、胰腺、肾脏、小肠、大肠、脑及睾丸等的上皮细胞及某些组织的内皮细胞。其生理功能涉及将外源性物质分泌到胆管、尿液、肠腔内, 减少毒素的吸收; 转运甾体类激素及胆固醇等; 维持血脑、血胎盘及血睾屏障的正常功能, 减少外源性异物进入大脑、胎儿体内及睾丸组织等^[9]。下表列出了目前与 MDR 相关的 ABC 转运蛋白家族的成员、组织分布及生理底物 (表 1)。

2 ABC 转运蛋白家族与肿瘤多药耐药的关系

早在 1987 年 Fojo 等^[10]就研究了肿瘤多药耐药基

表 1 人类 ABC 转运蛋白家族^[2]

名称	组织分布	生理底物
ABCA2	脑、肺、心、肾	甾体
ABCA3	脑、肺	表面活性物质
ABCB1 (Pgp)	肾上腺皮质、肝、胰腺、肾、胃肠道、脑及睾丸等	磷脂、中性和阳离子有机物
ABCB2	肝、肾、胎盘	多肽
ABCB3	肝、心、骨骼肌、脾	多肽
ABCB4	肝、脑、心	磷脂酰胆碱
ABCB5	肾	色素
ABCB6	肝、心、脑、肾	卟啉
ABCB11	肝	胆汁盐
ABCC1 (MRP1)	普遍存在	白三烯
ABCC2	小肠、肾、肝等	谷胱甘肽结合物、有机胺
ABCC3	肾上腺、小肠、肾	谷胱甘肽、胆汁盐、多肽
ABCC4	膀胱、肺、肌肉、胰腺等	有机胺、环核苷酸
ABCC5	普遍存在	有机胺
ABCC6	肝、肾	谷胱甘肽结合物
ABCC10	肝、肾、胎盘	谷胱甘肽结合物、白三烯
ABCC11	肝、肾脏	有机胺、环核苷酸、白三烯
ABCG2 (BCRP)	乳腺、胃肠道、肝、胎盘	吡啶嗪

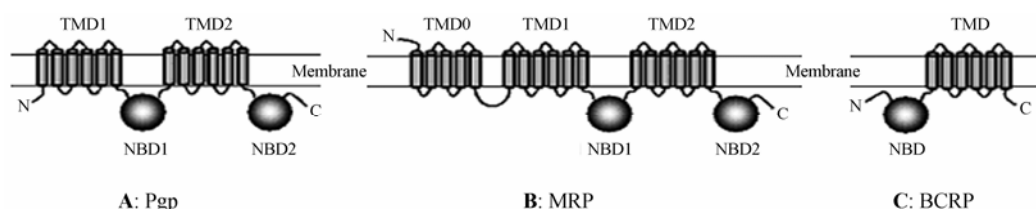


图 1 A: P-糖蛋白 (P-glycoprotein, Pgp); B: 多药耐药相关蛋白 (multidrug resistance associated proteins, MRP); C: 乳腺癌耐药蛋白 (breast cancer resistance protein, BCRP); TMD: 跨膜结构域 (trans-membrane domain); NBD: 核苷酸结合结构域 (nucleotide-binding domain)

因在人类肿瘤与正常组织中的表达差异,发现大多数肿瘤组织的 *MDR1* 基因呈高表达。结肠、肾、肾上腺皮质、肝等 *MDR1* 内源性高表达组织癌变后,具内源性 *MDR* 表型。在化疗后某些肿瘤 *MDR1* 基因表达增加,检测 *MDR1* 基因表达有助于有效实施肿瘤化疗方案。1999 年 Nooter 等^[11]根据 *MDR1* 基因表达水平将肿瘤划分为 3 类:一是 *MDR1* 基因高度表达的肿瘤,如肾癌、结肠癌、胰腺癌等,在这些组织本身 *MDR1* 基因就有中度以上水平表达,多表现为原发耐药性,化疗效果差;二是 *MDR1* 基因中度表达的肿瘤,如乳腺癌、神经母细胞瘤、白血病等,对化疗药物较前者敏感甚至可以达到完全缓解,但大部分患者存在复发的问題,并且复发后 *MDR1* 基因表达水平更高,导致对原先敏感的化疗药物产生耐药;三是 *MDR1* 基因低度表达的肿瘤,如卵巢癌、食道癌、小细胞肺癌等对化疗药物敏感,但仍可产生继发耐药性。

在多种类型肿瘤,如急性髓系白血病、各种儿童肿瘤和局部区域进展乳腺癌、软组织肉瘤等,已证实 Pgp 的表达水平与肿瘤化疗的不良预后、肿瘤多药耐药、肿瘤的复发密切相关^[12, 13]。

1997 年 Nooter 等^[14]发现 MRP 与原发乳癌细胞的侵袭能力以及对化疗药物耐药性的细胞生物学改变有关,推测 MRP 基因表达可能与肿瘤患者预后相关。MRP1 能够转运同谷胱甘肽非共价键结合的天然来源的药物。在多种肿瘤组织中检测到 MRP1 基因的表达,如乳腺癌、膀胱癌等。Leonessa 等^[15]对多篇关于 MRP1 在乳腺癌中表达与临床关系的文献分析后认为,在未治疗的乳腺癌中 MRP1 表达率为 50%,化疗后其表达水平增高,治疗失败的可能性增加。在不同患者的肿瘤组织样品中也检测到 MRP2 表达,在顺铂化疗 FIGO III 期膀胱癌患者中,有效抑制 MRP2 表达能够延长患者的生存时间。此外,在不同类型的肿瘤组织中也检测到 MRP3-8 表达,但是 MRP3-8 表达与肿瘤多药耐药之间的关系尚不清楚,有待于进一步研究。

尽管乳腺癌耐药蛋白 (BCRP) 被发现的较晚,但已有大量 BCRP 与 MDR 相关的报道。Ota 等^[16]认为采用顺铂治疗进展期非小细胞肺癌患者中,生物活检样本 BCRP 和 ERCC1 免疫组织化学表达水平可作为预测患者生存时间的影响因素。Yuan 等^[17]研究发现 5-氟尿嘧啶可能是 BCRP 的一种特异性底物,能与 BCRP 结合,BCRP 表达水平能预测乳腺癌对 5-氟

尿嘧啶的敏感性。以 BCRP 为靶点可逆转乳腺癌对 5-氟尿嘧啶的耐药性。

随着 ABC 转运蛋白与肿瘤 MDR 研究的深入,ABC 转运蛋白的表达或功能异常是肿瘤细胞产生 MDR 的重要机制之一这一观点已达成共识。

3 针对 ABC 转运蛋白介导肿瘤 MDR 的逆转策略

3.1 基于化学药物逆转 ABC 转运蛋白介导的肿瘤 MDR

基于化学药物逆转肿瘤 MDR 的研究最早,也是研究最多的逆转策略。早在 1981 年 Tsuruo 等^[18]就发现维拉帕米 (verapamil) 能直接与抗癌药物竞争 ABC 转运蛋白的外排作用,具有逆转 MDR 作用。此后发现环孢素 A、红霉素、奎宁等非特异性 MDR 逆转剂。这些 MDR 逆转剂对 ABC 转运蛋白的亲和力低,需要增加给药剂量,导致高毒性,其临床应用被限制。在此基础上进行结构改造,合成 MDR 逆转活性强且毒副作用低的逆转剂,如: PSC833、VX-710、右旋维拉帕米 (dexverapamil)、dextriguldipine 等。PSC833 是环孢素 D 的衍生物,比环孢素 A 逆转 MDR 作用强 10~20 倍。但 PSC833 抑制细胞色素氧化酶 P450-3A4 介导的紫杉醇和长春新碱代谢,使患者血浆内化疗药物水平升高而增加毒副作用^[19]。VX-710 能同时抑制 Pgp 和 MRP 活性,具有较高的逆转活性,但 VX-710 在与紫杉醇联合用药时能显著降低肿瘤患者的紫杉醇清除率^[20]。Gandhi 等^[21]评价 VX-710 与阿霉素和长春碱合用治疗小细胞肺癌 II 期临床试验,结果发现 VX-710 无显著增加抗肿瘤活性或延长生存时间作用。合用 MDR 逆转剂可能干扰化疗药物的清除 (如干扰胆汁清除) 或代谢 (如干扰细胞氧化酶 P450 系统),显著升高化疗药物的血药浓度,从而导致毒副作用增加^[22]。此外,这些 MDR 逆转剂的组织特异性不高,可抑制某些正常组织的 ABC 转运蛋白从而降低正常组织细胞对细胞毒药物的防御作用。例如:非特异性抑制血脑屏障 ABC 转运蛋白而导致化疗药物的中枢神经系统毒副作用增加^[23]。

基于上述问题又设计合成了一系列新型 MDR 逆转剂,如 LY335979、XR9576、CBT-1 等特异性高、逆转活性强、尤其是对化疗药物代谢动力学无明显影响的新型化合物。LY335979 属于一种二苯基喹啉类衍生物,不是 Pgp 底物,但对 Pgp 具有高度特异性,作用水平在几十纳摩尔水平,是迄今发现的最强的 Pgp 抑制剂之一。临床前实验表明,LY335979 与阿霉素合用能够明显减小荷瘤小鼠的肿瘤体积,并提高实验动物的生存率;值得注意的是 LY335979 不影响化疗

药物的代谢动力学。I/II期临床试验与阿霉素、长春新碱合用治疗非霍奇金淋巴瘤, LY335979 有效逆转非霍奇金淋巴瘤对阿霉素、长春新碱的 MDR 作用且毒副作用小; 对阿霉素的药代动力学无显著影响, 对长春新碱的药代动力学有轻微影响^[24]。XR9576 是合成的邻氨基甲酸的新型衍生物, 具有极强的逆转活性和对 Pgp 高度的选择性, 同时还能抑制 Pgp 的 ATP 酶活性。体内实验表明, XR9576 能够显著增强阿霉素、长春新碱及紫杉醇等细胞毒类药物的疗效, 并不影响这些药物的药代动力学。在 I 期和 II 期临床试验中紫杉醇和长春瑞滨合用治疗膀胱癌取得较好效果。目前正在非小细胞肺癌患者中开展 III 期临床试验^[25]。CBT-1 属于双苄基异喹啉生物碱, 是 Pgp 的抑制剂^[26], 竞争性抑制^[125]I-IAAP 标记 Pgp, IC₅₀ 仅为 0.14 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 并且低浓度的 CBT-1 ($<1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 能够激活 Pgp 介导的 ATP 水解。1 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ CBT-1 能够显著逆转 SW620 Ad20 耐药细胞对长春碱、紫杉醇的耐药性。在 MRP1 过表达的肿瘤耐药细胞, 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ CBT-1 能够完全抑制 MRP1 介导的钙黄绿素转运。CBT-1 逆转肿瘤多药耐药的临床试验正在进行中。

此外, 近来研究发现许多小分子酪氨酸激酶抑制剂, 如 gefitinib、erlotinib、vandetanib、cediranib、nilotinib、lapatinib 及 AG1478 等^[27-30], 能够逆转 ABC 转运蛋白介导的肿瘤 MDR。其分子机制与抑制 ABC 转运蛋白 ATP 酶活性, 干扰药物外排泵的转运功能, 从而增加耐药细胞内抗癌药物浓度有关。这些发现为小分子酪氨酸激酶抑制剂 TKIs (tyrosine kinase inhibitors) 与其他化疗药物联合应用提供理论依据, 相关研究正在进行中。目前, 研究显示组蛋白去乙酰化酶抑制剂 SAHA、VPA 等具有良好的抗耐药效果, 对耐药株细胞的杀伤效果更强^[31]。有趣的是, 最新研究报道称组蛋白去乙酰化酶抑制 apicidin 在 HeLa、SiHa、DLD-1 细胞诱导 Pgp 表达, 而在 A172、U87、KB 细胞并不诱导 Pgp 表达, 具有细胞选择性。采用表观遗传学方法分析 apicidin 诱导 Pgp 表达分子机制表明, 组蛋白去乙酰化酶 1 解离并募集 CAAT 盒增强子结合蛋白 β 与 pCAF 到启动子区域, 是 apicidin 活化 Pgp 基因启动子区域染色质结构的必要条件^[32]。

3.2 基于天然产物及其衍生物逆转 ABC 转运蛋白介导的肿瘤 MDR 值得关注的是, 研究人员发现许多天然产物及其衍生物具有逆转 ABC 转运蛋白介导的肿瘤 MDR 作用, 如汉防己碱及其衍生物、紫杉烷

类衍生物、黄酮类衍生物、麦角生物碱等。3 种紫杉烷类衍生物 Sy1219、Sy1220 和 Sy1221 均能剂量依赖性地逆转口腔上皮癌细胞多药耐药株 KBv200 和人乳腺癌细胞多药耐药株 MCF-7/adr 对长春新碱、紫杉醇、阿霉素和依托泊苷的获得性耐药性。其中 Sy1220 能够抑制 Pgp 和 MRP 蛋白表达水平^[33]。作者实验室先期研究发现, 5-溴代汉防己甲素 (W198) 能够逆转 Pgp 介导的肿瘤 MDR, 其不仅能抑制 ATP 酶活性, 干扰 Pgp 的转运功能, 增加耐药细胞内药物的蓄积, 减少 Pgp 介导的药物外排; 而且显著抑制 Pgp 蛋白表达, 但 W198 对 Pgp 的基因表达水平无影响。此外, W198 能够增加内在耐药肿瘤细胞 Bel7402 对阿霉素诱导凋亡的敏感性, 其机制可能是提高 Bax/Bcl-2 比率, 降低线粒体膜电位, 进而影响线粒体功能, 激活细胞内源性凋亡通路^[34]。体内实验表明, W198 能增加荷 KBv200 裸鼠体内阿霉素的浓度, 逆转肿瘤 MDR。W198 已完成 I 期临床试验, 正拟申请 II 期临床试验^[35, 36]。

作者实验室最新发现汉防己甲素的另一新型衍生物 H1 能够有效逆转 Pgp 介导肿瘤 MDR。0.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ H1 完全逆转 KBv200 细胞对阿霉素、长春新碱、紫杉醇的耐药性; 0.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ H1 完全逆转 MCF-7/adr 细胞对阿霉素的耐药性, 部分逆转 MCF-7/adr 细胞对阿霉素、紫杉醇的耐药性。作者继而评价了 H1 对 Pgp 转运功能的影响, 结果显示 H1 可以显著增加阿霉素、罗丹明 123 在 KBv200 细胞内蓄积, 抑制 Pgp 介导 KBv200 细胞对罗丹明 123 的外排作用, 并具有良好的剂量依赖关系。Pgp 的核苷酸结构域具有水解 ATP 活性, 作者研究显示 H1 能够抑制 Pgp 的 ATP 酶活性, 这与干扰 Pgp 的转运功能有关。作者又考察了 H1 对 Pgp 蛋白与基因表达情况的影响, 结果表明, H1 能显著下调 Pgp 蛋白表达, 但并不影响 Pgp 的 mRNA 表达水平。进一步研究表明: H1 增加 Pgp 泛素化, 促进 Pgp 的降解, 减少 Pgp 的半衰期, 这可能与 H1 能够下调 MEK-ERK 信号通路有关^[37]。

3.3 基于生物技术方法逆转 ABC 转运蛋白介导的肿瘤 MDR 当前, RNAi、单克隆抗体、反义 RNA、核酶等生物技术已应用于逆转肿瘤 MDR 研究。其中, 关于 RNAi 技术在逆转肿瘤 MDR 方面报道较多, 具有广阔的应用前景。采用腺病毒、慢病毒等载体携带小干扰 RNA (siRNA)、短发卡 RNA (shRNA) 靶向沉默 MDR1、MRP1、MRP4、BCRP 等基因, 抑制相应 ABC 转运蛋白表达, 增加耐药细胞内化疗药物的蓄

积,从而逆转肿瘤 MDR。例如:采用 siRNA 靶向沉默 ABC 转运蛋白 MRP4,从而有效逆转胃癌耐顺铂细胞 SGC7901/DDP 对顺铂的耐药性^[38]。Lü 等^[39]采用一个 hU6-RNA 基因启动子驱动表达载体编码干扰 BCRP 的 shRNA,从而稳定逆转 BCRP 介导的 MDR。腺病毒也可携带 shRNA 至耐药细胞抑制靶基因 MDR1 的表达,能够逆转 Pgp 介导的肿瘤 MDR。Ye 等^[40]采用慢病毒携带 siRNA 沉默 MDR1,逆转 Pgp 介导的 K562/A02 细胞对阿霉素的耐药性。此外,共转染 MDR1 和 GCS(谷胱甘肽转移酶) siRNA 沉默靶基因能够恢复 MCF-7/adr 细胞对阿霉素的敏感性^[41]。根据 ABC 转运蛋白的结构,设计靶向 ABC 转运蛋白的特异性抗体抑制转运蛋白的转运功能,增加耐药细胞对化疗药物的敏感性。例如:Guo 等^[42]采用重组双特异性抗 Pgp、抗 CD2 抗体,有效逆转白血病耐药株细胞 K562/A02 对阿霉素的耐药性。一些疏水性肽类可作为 Pgp 高亲和底物,与 Pgp 结合能够逆转 Pgp 介导的 MDR。此外,关于反义 RNA、反义寡核苷酸、核酶等生物技术应用用于逆转肿瘤 MDR 也有报道^[43]。

3.4 基于药物传递系统逆转 ABC 转运蛋白介导的肿瘤 MDR 近年来,将药物传递系统作为肿瘤 MDR 逆转策略已引起人们的广泛关注,其中对纳米粒、脂质体和胶束在逆转肿瘤 MDR 领域的研究较多。纳米粒和脂质体能够携带化疗药物通过胞吞作用进入细胞,避免 ABC 转运蛋白对药物的外排,增加药物在耐药细胞内的蓄积,从而逆转肿瘤 MDR。Susa 等^[44]采用携带 siRNA 的纳米载体靶向抑制 MDR1 表达,提高骨肉瘤细胞 KHOS (R2)、U-2OS (R2) 对化疗药物的敏感性。利用脂质体同时包裹化疗药物与 MDR 逆转剂协同用药,或携带 siRNA 利用基因打靶技术进一步提高靶向性,降低毒副作用,并增强逆转 MDR 疗效^[45]。胶束作为一种药物载体,具有疏水性内核与亲水性外壳,是一种自组装纳米胶体粒子,能用于疏水性药物的给药,具有较高的稳定性和生物相容性。我国学者 Wang 等^[46]采用 Pluronic P105 聚合胶束增溶难溶性药物紫杉醇,并制备成紫杉醇纳米级胶束制剂,该制剂明显逆转卵巢癌耐药细胞 SKOV-3/PTX 对紫杉醇的耐药性。除上述纳米粒、脂质体、胶束外,其他药物传递系统克服 MDR 也取得了一定的进展,如含有 Fe₃O₄ 的磁性纳米球与柔红霉素合用能够逆转白血病耐药株细胞 K652/A02 对柔红霉素的耐药性^[47]。关于纳米粒及胶束给药系统应用于肿瘤 MDR 研究进展已有相关综述报道^[48,49],在此

不予赘述。

4 小结

ABC 转运蛋白家族与肿瘤 MDR 密切相关,在不同类型的肿瘤组织中均发现 ABC 转运蛋白表达或功能异常。抑制 ABC 转运蛋白的表达与功能成为有效逆转 MDR 的手段之一,但需要考虑以下几个问题。

① 对 ABC 转运蛋白的选择性与特异性。一方面是某些正常组织也存在 ABC 转运蛋白表达,并具有特定的生理功能,如对细胞毒剂的保护作用、分泌与排泄作用,因此 MDR 逆转剂要具有一定的组织选择性。另一方面,尽管目前 MDR 逆转剂能调节 ABC 转运蛋白功能,但是亲和力均不高,毒副作用大,诸多因素限制其临床使用,因此需要研发具高亲和力的 MDR 逆转剂。② 对药物代谢酶的影响,尤其是对 P450-3A4 的影响。若 MDR 逆转剂与抗肿瘤药物竞争 P450-3A4,则导致抗癌药物的血药浓度升高,产生不可预料的毒副作用。③ ABC 转运蛋白的表达调控机制十分复杂,涉及转录水平、转录后修饰、翻译水平、翻译后加工、修饰、泛素化降解途径、表观遗传调控等,还需进一步加以阐明,为克服肿瘤 MDR 提供新的靶点。④ 要充分认识到肿瘤细胞耐药机制的复杂性,除 ABC 转运蛋白作为药物外排泵介导“经典 MDR”外,还有相关酶类(拓扑异构酶、GST- π 、PKC 等)介导的 MDR、凋亡基因(P53、Bcl-2、CD95 等)、存活信号通路(Ras-Raf-MEK, PI3K-mTOR-AKT)介导的 MDR 等。⑤ 基于生物技术、药物传递技术的新方法在逆转肿瘤多药耐药方面具有广阔的应用前景,能够提高靶向性,减轻毒副作用。相信随着对 ABC 转运蛋白的结构功能、表达调控方式、MDR 产生的复杂分子机制的不断认识以及新技术、新方法的应用,有望最终解决肿瘤 MDR 这一肿瘤化疗难题。

References

- [1] Juliano RL, Ling V. A surface glycoprotein modulating drug permeability in Chinese hamster ovary cell mutants [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1976, 455: 152-162.
- [2] Gottesman MM, Fojo T, Bates SE. Targeting multidrug resistance in cancer [J]. *Nat Rev Cancer*, 2006, 5: 219-234.
- [3] Stephen GA, Jodie Y, Andrew W, et al. Structure of P-glycoprotein reveals a molecular basis for poly-specific drug binding [J]. *Science*, 2009, 323: 1718-1722.
- [4] Choi CH. ABC transporters as multidrug resistance mechanisms and the development of chemosensitizers for their reversal [J]. *Cancer Cell Int*, 2005, 5: 30.

- [5] Cole SP, Bhardwaj G, Gerlach JH, et al. Over-expression of a transporter gene in a multidrug-resistant human lung cancer cell line [J]. Science, 1992, 5088:1650–1654.
- [6] Lage H. An overview of cancer multidrug resistance: a still unsolved problem [J]. Cell Mol Life Sci, 2008, 65: 3145–3167.
- [7] Doyle LA, Yang W, Abruzzo LV, et al. A multidrug resistance transporter from human MCF-7 breast cancer cells [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1998, 95: 15665–15670.
- [8] Helen MC. Mechanisms and strategies to overcome chemotherapy resistance in metastatic breast cancer [J]. Cancer Treat Rev, 2008, 34: 378–390.
- [9] Bunting KD. ABC transporters as phenotypic markers and functional regulators of stem cells [J]. Stem Cells, 2002, 20: 11–20.
- [10] Fojo AT, Ueda K, Slamon DJ, et al. Expression of a multidrug-resistance gene in human tumors and tissues [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1987, 84: 265–269.
- [11] Nooter K, Herweijer H. Multidrug resistance (mdr) genes in human cancer [J]. Br J Cancer, 1999, 63: 663–669.
- [12] Burger H, Foekens JA, Look MP, et al. RNA expression of breast cancer resistance protein, lung resistance-related protein, multidrug resistance associated proteins 1 and 2, and multidrug resistance gene1 in breast cancer correlation with chemotherapeutic response [J]. Clin Cancer Res, 2003, 9: 827–836.
- [13] Oda Y, Saito T, Tateishi N, et al. ATP-binding cassette super-family transporter gene expression in human soft tissue sarcomas [J]. Int J Cancer, 2005, 114:854–862.
- [14] Nooter K, Brutel RG, Look MP, et al. The prognostic significance of expression of the multidrug resistance-associated protein (MRP) in primary breast cancer [J]. Br J Cancer, 1997, 76: 486–493.
- [15] Leonessa F, Clarke R. ATP-binding cassette transporters and drug resistance in breast cancer [J]. Endocr Relat Cancer, 2003, 10: 43–73.
- [16] Ota S, Ishii G, Goto K, et al. Immunohistochemical expression of BCRP and ERCC1 in biopsy specimen predicts survival in advanced non-small-cell lung cancer treated with cisplatin-based chemotherapy [J]. Lung Cancer, 2008, 25: 312–319.
- [17] Yuan J, Lü H, Peng B, et al. Role of BCRP as a biomarker for predicting resistance to 5-fluorouracil in breast cancer [J]. Cancer Chemother Pharmacol, 2008, 27: 151–156.
- [18] Tsuruo T, Iida H, Tsukagoshi S, et al. Overcoming of vincristine resistance in P388 leukemia *in vivo* and *in vitro* through enhanced cytotoxicity of vincristine and vinblastine by verapamil [J]. Cancer Res, 1981, 41: 1967–1972.
- [19] Bates S, Kang M, Meadows B, et al. A Phase I study of infusional vinblastine in combination with the P-glycoprotein antagonist PSC 833 (valsopodar) [J]. Cancer, 2001, 92: 1577–1590.
- [20] Minderman H, O’Loughlin KL, Pendyala L, et al. VX-710 (biricodar) increases drug retention and enhances chemosensitivity in resistant cells overexpressing P-glycoprotein, multidrug resistance protein, and breast cancer resistance protein [J]. Clin Cancer Res, 2004, 10: 1826–1834.
- [21] Gandhi L, Harding MW, Neubauer M, et al. A phase II study of the safety and efficacy of the multidrug resistance inhibitor VX-710 combined with doxorubicin and vincristine in patients with recurrent small cell lung cancer [J]. Cancer, 2007, 109: 924–932.
- [22] Liscovitch M, Lavie Y. Cancer multidrug resistance: a review of recent drug discovery research [J]. Drugs, 2002, 5: 349–355.
- [23] Dantzig AH, Shepard RL, Law KL, et al. Selectivity of the multidrug resistance modulator, LY335979, for P-glycoprotein and effect on cytochrome P-450 activities [J]. Pharmacol Exp Ther, 1999, 290: 854–862.
- [24] Morschhauser F, Zinzani PL, Burgess M, et al. Phase I/II trial of a P-glycoprotein inhibitor, Zosuquidar.3HCl trihydrochloride (LY335979), given orally in combination with the CHOP regimen in patients with non-Hodgkin’s lymphoma [J]. Leuk Lymphoma, 2007, 48: 708–715.
- [25] Fox E, Bates SE. Tariquidar (XR9576): a P-glycoprotein drug efflux pump inhibitor [J]. Expert Rev Anticancer Ther, 2007, 7: 447–459.
- [26] Robey RW, Shukla S, Finley EM, et al. Inhibition of P-glycoprotein (ABCB1)- and multidrug resistance-associated protein 1 (ABCC1)-mediated transport by the orally administered inhibitor, CBT-1((R)) [J]. Biochem Pharmacol, 2008, 75: 1302–1312.
- [27] Kitazaki T, Oka M, Nakamura Y, et al. Gefitinib, an EGFR tyrosine kinase inhibitor, directly inhibits the function of P-glycoprotein in multidrug resistant cancer cells [J]. Lung Cancer, 2005, 49: 337–343.
- [28] Dai CL, Tiwari AK, Wu CP, et al. Lapatinib (Tykerb, GW572016) reverses multidrug resistance in cancer cells by inhibiting the activity of ATP-binding cassette subfamily B member 1 and G member 2 [J]. Cancer Res, 2008, 68: 7905–7914.
- [29] Shi Z, Tiwari AK, Shukla S, et al. Inhibiting the function of ABCB1 and ABCG2 by the EGFR tyrosine kinase inhibitor AG1478 [J]. Biochem Pharmacol, 2009, 77: 781–793.
- [30] Tao LY, Liang YJ, Wang F, et al. Cediranib (recentin,

- AZD2171) reverses ABCB1- and ABCC1-mediated multidrug resistance by inhibition of their transport function [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2009, 64: 961–969.
- [31] Tang R, Faussat AM, Majdak P, et al. Valproic acid inhibits proliferation and induces apoptosis in acute myeloid leukemia cells expressing P-gp and MRP1 [J]. *Leukemia*, 2004, 18: 1246–1251.
- [32] Kim SN, Kim NH, Lee W, et al. Histone deacetylase inhibitor induction of P-glycoprotein transcription requires both histone deacetylase 1 dissociation and recruitment of CAAT/enhancer binding protein beta and pCAF to the promoter region [J]. *Mol Cancer Res*, 2009, 7: 735–744.
- [33] Zhao X, Gu J, Yin D, et al. Synthesis and biological evaluation of taxinine analogues as orally active multidrug resistance reversal agents in cancer [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2004, 14: 4767–4770.
- [34] Liu XD, Sun H, Liu GT. 5-Bromotetrandrine enhances the sensitivity of doxorubicin-induced apoptosis in intrinsic resistant human hepatic cancer Bel7402 cells [J]. *Cancer Lett*, 2010, 292: 24–31.
- [35] Jin J, Wang FP, Liu GT. Reversal of multidrug resistance of cancer through inhibition of P-glycoprotein by 5-bromotetrandrine [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2005, 55: 179–188.
- [36] Chen LM, Liang YJ, Zhang X, et al. Reversal of P-gp-mediated multidrug resistance by bromotetrandrine *in vivo* is associated with enhanced accumulation of chemotherapeutic drug in tumor tissue [J]. *Anticancer Res*, 2009, 29: 4597–4604.
- [37] Wei N, Sun H, Wang FP, et al. H1, a novel derivative of tetrandrine reverse P-glycoprotein-mediated multidrug resistance by inhibiting transport function and expression of P-glycoprotein [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2010, in press.
- [38] Zhang YH, Wu Q, Xiao XY, et al. Silencing MRP4 by small interfering RNA reverses acquired DDP resistance of gastric cancer cell [J]. *Cancer Lett*, 2010, 291: 76–82.
- [39] Lü H, He Z, Liu X, et al. Reversal of BCRP-mediated multidrug resistance by stable expression of small interfering RNAs [J]. *J Cell Biochem*, 2007, 102: 75–81.
- [40] Ye X, Liu T, Gong Y, et al. Lentivirus-mediated RNA interference reversing the drug-resistance in MDR1 single-factor resistant cell line K562/MDR1 [J]. *Leuk Res*, 2009, 33: 1114–1119.
- [41] Zhang X, Li J, Qiu Z, et al. Co-suppression of MDR1 (multidrug resistance 1) and GCS (glucosylceramide synthase) restores sensitivity to multidrug resistance breast cancer cells by RNA interference (RNAi) [J]. *Cancer Biol Ther*, 2009, 8: 1117–1121.
- [42] Guo H, Jiang W, Liu W, et al. Extracellular domain of 4-1BBL enhanced the antitumoral efficacy of peripheral blood lymphocytes mediated by anti-CD3 x anti-Pgp bispecific diabody against human multidrug-resistant leukemia [J]. *Leukemia*, 2004, 18: 513–520.
- [43] Wu CP, Calcagno AM, Ambudkar SV. Reversal of ABC drug transporter-mediated multidrug resistance in cancer cells: evaluation of current strategies [J]. *Curr Mol Pharmacol*, 2008, 1: 93–105.
- [44] Susa M, Iyer AK, Ryu K, et al. Inhibition of ABCB1 (MDR1) expression by an siRNA nanoparticulate delivery system to overcome drug resistance in osteosarcoma [J]. *Plos One*, 2010, 5: e10764.
- [45] Bartosiewicz D, Krasowska A. Inhibitors of ABC transporters and biophysical methods to study their activity [J]. *Z Naturforsch C*, 2009, 64: 454–458.
- [46] Wang YZ, Fang XL, Li YJ, et al. Preparation, characterization of paclitaxel-loaded pluronic P105 polymeric micelles and *in vitro* reversal of multidrug resistant tumor [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2008, 43: 640–646.
- [47] Chen BA, Dai YY, Wang XM, et al. Synergistic effect of the combination of nanoparticulate Fe₃O₄ and Au with daunomycin on K562/A02 cells [J]. *Int J Nanomed*, 2008, 3: 343–350.
- [48] Chen JN, Shen Q, Li SS. Progress in the study of drug delivery system based on nanoparticles to overcome multi-drug resistance [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2009, 44: 333–337.
- [49] Diao YY, Han M, Chen DW, et al. Progress in the study of micelle delivery system reversing multidrug resistance [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2009, 44: 710–715.