

学校编码: 10384  
学号: 32620141150575

分类号 \_\_\_\_\_ 密级 \_\_\_\_\_  
UDC \_\_\_\_\_

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

多功能铁蛋白纳米颗粒用于药物共递送逆  
转肿瘤多药耐药

Multifunctional ferritin-based nanoparticles for co-drug  
delivery to circumvent cancer resistance

高海燕

指导教师姓名:	刘刚教授
专业名称:	转化医学
论文提交日期:	2017年4月
论文答辩日期:	2017年5月

2017年4月

## 厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为( )课题(组)的研究成果,获得( )课题(组)经费或实验室的资助,在( )实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名):

年 月 日

## 厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

1. 经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，  
于 年 月 日解密，解密后适用上述授权。

2. 不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

年 月 日

## 目 录

摘 要 .....	I
Abstract .....	II
第一章 绪论 .....	1
1.1 癌症的治疗 .....	1
1.2 肿瘤耐药性的产生 .....	2
1.3. 肿瘤耐药性产生的分子机制 .....	2
1.3.1 P-糖蛋白高表达介导的多药耐药.....	3
1.3.2 铁蛋白高表达介导的多药耐药.....	5
1.4 基因干扰 .....	6
1.5 理想的药物递送载体 .....	8
1.5.1 被动靶向.....	8
1.5.2 主动靶向.....	9
1.6 基于蛋白纳米医学的药物递送平台 .....	10
1.6.1 病毒衣壳载体.....	10
1.6.2 小热休克蛋白载体.....	12
1.6.3 铁蛋白/去铁铁蛋白载体.....	13
1.7. 本课题的选题依据及研究内容 .....	17
第二章 纳米蛋白载体的制备.....	19
2.1 前言 .....	19
2.2 材料和方法 .....	20
2.2.1. 主要仪器.....	20
2.2.2. 主要试剂.....	21
2.2.3 质粒构建及其他试剂.....	22
2.2.4 细胞培养.....	22
2.2.5. 整个实验过程所用的试剂配制.....	22

2.2.6 融合铁蛋白的合成.....	23
2.2.7 基于融合蛋白基因递送系统的构建.....	25
2.2.8 基于融合蛋白载药系统的构建.....	26
2.2.9 终产物及中间产物的表征.....	26
<b>2.3 结果和讨论 .....</b>	<b>26</b>
2.3.1 融合铁蛋白的合成和表征.....	26
2.3.2 融合蛋白结合 siRNA.....	28
2.3.3 融合蛋白装载阿霉素.....	30
<b>2.4 本章小结 .....</b>	<b>33</b>
<b>第三章 蛋白纳米颗粒作为多功能载体可行性分析 .....</b>	<b>34</b>
<b>3.1 前言 .....</b>	<b>34</b>
<b>3.2 材料和方法 .....</b>	<b>34</b>
3.2.1 融合蛋白毒性检测.....	35
3.2.2 细胞对材料的摄取验证.....	35
3.2.3 融合蛋白作为基因递送载体可行性实验.....	36
<b>3.3 结果与讨论 .....</b>	<b>36</b>
3.3.1 TAT-Fn 的毒性分析.....	36
3.3.2 细胞对材料的摄取.....	37
3.3.3 TAT-Fn 作为基因载体可行性分析.....	39
<b>3.4 本章小结 .....</b>	<b>40</b>
<b>第四章 纳米载体蛋白逆转肿瘤耐药的机制研究 .....</b>	<b>42</b>
<b>4.1 前言 .....</b>	<b>42</b>
<b>4.2 材料与方法 .....</b>	<b>42</b>
4.2.1 细胞耐药性检测.....	42
4.2.2 逆转耐药机制检测.....	43
4.2.3 外源性蛋白药物对 SCG 7901/VCR 细胞耐药性的影响.....	45
4.2.4 外源性蛋白药物对 SCG 7901/VCR 细胞内源性 HFn 表达影响.....	45
4.2.5 阿霉素入胞实验.....	46
<b>4.3 结果与讨论 .....</b>	<b>46</b>
4.3.1 细胞耐药性检测.....	46
4.3.2 纳米颗粒逆转耐药机制检测.....	47

4.3.3 外源性蛋白药物对 SCG 7901/VCR 细胞耐药性影响 .....	49
4.3.4 外源性蛋白药物对 SCG 7901/VCR 细胞 HFn 表达的影响 .....	50
4.3.5 阿霉素在细胞内的分布 .....	50
<b>4.4 本章小结 .....</b>	<b>52</b>
<b>第五章 纳米载体蛋白增强肿瘤化疗效果 .....</b>	<b>53</b>
<b>5.1 前言 .....</b>	<b>53</b>
<b>5.2 材料与方法 .....</b>	<b>53</b>
5.2.1 纳米蛋白复合物增强化疗效果的细胞实验研究 .....	53
5.2.2 纳米蛋白复合物的体内治疗效果 .....	54
5.2.3 裸鼠主要器官 HE 染色 .....	54
5.2.4 肿瘤的凋亡检测 .....	55
5.2.5 肿瘤的免疫组化分析 .....	56
<b>5.3 结果与讨论 .....</b>	<b>57</b>
5.3.1 纳米蛋白复合物增强化疗效果的细胞实验研究 .....	57
5.3.2 纳米蛋白复合物的体内治疗效果 .....	58
5.3.3 裸鼠主要器官 HE 染色 .....	60
5.3.4 肿瘤的 HE 和 TUNEL 染色 .....	61
5.3.5 肿瘤免疫组化分析 .....	62
<b>5.4 本章小结 .....</b>	<b>63</b>
<b>第六章 总结与展望 .....</b>	<b>64</b>
<b>硕士期间发表论文情况 .....</b>	<b>66</b>
<b>已发表论文情况 .....</b>	<b>66</b>
<b>待发表论文情况 .....</b>	<b>66</b>
<b>参 考 文 献 .....</b>	<b>67</b>
<b>致 谢 .....</b>	<b>80</b>

## Table of Contents

<b>Abstract in Chinese</b> .....	<b>1</b>
<b>Abstract in English</b> .....	<b>11</b>
<b>Chapter 1 Introduction</b> .....	<b>1</b>
<b>1.1 Cancer Therapy</b> .....	<b>1</b>
<b>1.2 Drug Resistance</b> .....	<b>2</b>
<b>1.3. Molecular Mechanism of Tumor Resistance</b> .....	<b>2</b>
1.3.1 P-glycoprotein overexpression-mediated multidrug resistance .....	3
1.3.2 Ferritin - mediated expression of multidrug resistance. ....	5
<b>1.4 Gene interference</b> .....	<b>6</b>
<b>1.5 The ideal drug delivery carrier</b> .....	<b>8</b>
1.5.1 Passive targeting .....	8
1.5.2 Active targeting .....	9
<b>1.6 Drug Delivery Platform Based on Protein Nanometer Medicine</b> .....	<b>10</b>
1.6.1 Virus capsid carrier .....	10
1.6.2 Small heat shock protein carrier .....	12
1.6.3 Ferritin/Apoferritin carrier .....	13
<b>1.7. basis and content of the research</b> .....	<b>17</b>
<b>Chapter 2 Preparation of Nanoparticle Carrier</b> .....	<b>19</b>
<b>2.1 Introduction</b> .....	<b>19</b>
<b>2.2 Materials and Methods</b> .....	<b>20</b>
2.2.1. Instruments .....	20
2.2.2. reagents .....	21
2.2.3 Plasmid construction and other reagents .....	22
2.2.4 Cell culture .....	22
2.2.5. Preparation of reagents .....	22
2.2.6 Synthesis of fusion ferritin .....	23

---

2.2.7 Construction of gene delivery system based on fusion protein . . . . .	25
2.2.8 Construction of Drug Delivery System Based on Fusion Protein . . . . .	26
2.2.9 Characterization of the products . . . . .	26
<b>2.3 Results and Discussion . . . . .</b>	<b>26</b>
2.3.1 Synthesis and Characterization of Fusion Ferritin. . . . .	26
2.3.2 Fusion protein binding with siRNA. . . . .	28
2.3.3 fusion protein loading with doxorubicin . . . . .	30
<b>2.4 Summary . . . . .</b>	<b>33</b>
<b>Chapter 3 Protein Nanoparticles as a Multifunctional Carrier . . . .</b>	<b>34</b>
<b>3.1 Introduction . . . . .</b>	<b>34</b>
<b>3.2 Materials and Methods . . . . .</b>	<b>34</b>
3.2.1 The toxicity of protein . . . . .	35
3.2.2 Cell uptake. . . . .	35
3.2.3 TAT-Fn as a gene delivery vector. . . . .	36
<b>3.3 Results and Discussion . . . . .</b>	<b>36</b>
3.3.1 The toxicity analysis of TAT-Fn. . . . .	36
3.3.2 Cell uptake. . . . .	37
3.3.3 TAT-Fn as a gene delivery vector. . . . .	39
<b>3.4 Summary . . . . .</b>	<b>40</b>
<b>Chapter 4 Study on the Mechanism of Nano Carrier Protein</b>	
<b>Reversing Cancer Resistance . . . . .</b>	<b>42</b>
<b>4.1 Introduction . . . . .</b>	<b>42</b>
<b>4.2 Materials and Methods . . . . .</b>	<b>42</b>
4.2.1 Detection of cell resistance . . . . .	42
4.2.2 Reverse of drug resistance . . . . .	43
4.2.3 Effects of Exogenous Protein Drugs on Drug Resistance of SCG 7901 / VCR Cells. . . . .	45
4.2.4 Effects of Exogenous Protein Drugs on Endogenous HFn Expression in SCG 7901 / VCR Cells. . . . .	45
4.2.5 The distribution of doxorubicin in cells. . . . .	46
<b>4.3 Results and Discussion . . . . .</b>	<b>46</b>



---

4.3.1 Detection of cell resistance .....	46
4.3.2 Resistance mechanism of drug resistance .....	47
4.3.3 Effects of Exogenous Protein Drugs on Drug Resistance of SCG 7901 / VCR Cells.....	49
4.3.4 Effects of Exogenous Protein Drugs on Endogenous HFn Expression in SCG 7901 / VCR Cells.....	50
4.3.5 The distribution of doxorubicin in cells.....	50
<b>4.4 Summary.....</b>	<b>52</b>
<b>Chapter 5 Nano Carrier Protein Enhances Tumor Chemotherapy .</b>	<b>53</b>
<b>5.1 Introduction .....</b>	<b>53</b>
<b>5.2 Materials and Methods .....</b>	<b>53</b>
5.2.1 TAT-Fn protein complexes enhance the chemotherapeutic therapy vitro .	53
5.2.2 In vivo treatment of TAT-Fn protein complexes .....	54
5.2.3 HE staining of major organs .....	54
5.2.4 Tumor HE and TUNEL staining .....	55
5.2.5 Immunohistochemical analysis of the tumor.....	56
<b>5.3 Results and Discussion.....</b>	<b>57</b>
5.3.1 TAT-Fn protein complexes enhance the chemotherapeutic therapy vitro .	57
5.3.2 In vivo treatment of TAT-Fn protein complexes .....	58
5.3.3 HE staining of major organs .....	60
5.3.4 Tumor HE and TUNEL staining .....	61
5.3.5 Immunohistochemical analysis of the tumor.....	62
<b>5.4 Summary.....</b>	<b>63</b>
<b>Chapter 6 Conclusions and outlooks .....</b>	<b>64</b>
<b>Publications during Master Study .....</b>	<b>66</b>
<b>References .....</b>	<b>67</b>
<b>Acknowledgements .....</b>	<b>80</b>

## 摘要

胃癌在最常诊断的癌症中居全球第四，癌症患者中，因胃癌死亡的原因占据第三。全球每年有 951,600 新病例和 723,100 死亡数。尽管胃癌的患病率在整个全球都很高，但在东亚是最高的。根据肿瘤进展情况，可选择手术、化疗和放射治疗对胃癌进行治疗。化疗是治疗转移性胃癌患者的首选，但是仅仅依靠手术治疗效果非常有限。并且化疗药物除了对机体有明显副作用外，另一个重要问题便是癌细胞对药物的耐受性增加，即耐药性出现（MDR）。而且一旦出现耐药性，即便是寻找可替代的化疗药物或者加大药物的使用量，都很难从根本上解决问题。因而，迫切需要新的方法解决癌症耐药性难题。

我们从癌症耐药的主要机制——药物转运蛋白 P-糖蛋白（P-gp）和 H 链铁蛋白(HFn)高表达入手，采用目前常用的纳米颗粒包裹化疗药物和 siRNA 疗法，将 siRNA 和化疗药物共递送，实现耐药性癌症的增强治疗。在 siRNA 的作用下，细胞膜上的 P-糖蛋白表达降低，化疗药物排出细胞外减少，更多的滞留在胞浆中，发挥治疗效果。同时包裹了化疗药物的纳米颗粒，影响了内源性 H 链铁蛋白的表达，降低了的内源性 H 链铁蛋白，避免了由于其高表达对化疗药物产生的活性氧的清除，增强了药物的治疗效果。

本研究中，我们利用天然的纳米笼结构蛋白 H 链铁蛋白（Fn）作为载体，利用基因工程在亚基外部 N 端修饰阳富含精氨酸的阳离子穿膜肽，形成融合蛋白 TAT-Fn 纳米颗粒，通过静电吸附作用，负载负电荷的 Pgp siRNA，同时，利用铁蛋白的空腔结构，将化疗药物阿霉素（Dox）包裹进去，形成 PgpsRNA-TAT-Fn- Dox 的纳米复合物，对耐药性肿瘤 SCG 79011/VCR 协同治疗。实验证明，TAT-Fn 纳米颗粒非常稳定，可以有效的结合 P-gp siRNA 及高效负载 Dox，不仅逆转了肿瘤的多药耐药，同时避免了单独化疗药物的系统毒性。除此之外，我们首次发现外源性的铁蛋白负载药物之后，降低了性 H 链铁蛋白的表达的，协同逆转肿瘤多药耐药，实现了化疗增强效果。

**关键词：**多药耐药；基因干扰；H 链铁蛋白；P-gp

## Abstract

gastric cancer was the fourth most frequently diagnosed cancer, the cause of death due to gastric cancer occupies the third. There are 951,600 new cases and 723,100 deaths worldwide. Although the prevalence of gastric cancer is high in the world, but in East Asia is the highest. Depending on the state of the tumor, surgery, chemotherapy and radiotherapy may be used to treat gastric cancer. Chemotherapy is the first choice for patients with metastatic gastric cancer, but only by surgery is very limited. In addition to the side effects of chemotherapy drugs on the body, another important issue is the increased tolerance of cancer cells to drugs, that is, drug resistance (MDR). And once the emergence of drug resistance, even to find alternative chemotherapy drugs or increase the use of drugs, can not fundamentally solve the problem. Thus, there is an urgent need for new ways to tackle cancer resistance problems.

The main mechanism of cancer drug resistance are the high expression of P-gp and heavy chain ferritin (HFn), Co-delivery of anticancer chemotherapeutics and siRNAs targeting MDR genes in the same nanoparticle can drastically enhance therapeutic efficacy. The expression of P-glycoprotein on the cell membrane decreased by siRNA, Reduced the efflux of chemotherapy drugs, the drugs stay in the cytoplasm do a therapeutic effect. At the same time, nanoparticles which encapsulated chemotherapy drugs play a role on endogenous heavy chain ferritin, improve the therapeutic effect of the drug. Because high expression of endogenous heavy chain ferritin contribute to protect reactive oxygen species produced by chemotherapy drugs from elimination. In this study, we used the natural protein cage heavy chain ferritin (Fn) as a vector, The N-terminal of exterior surfaces subunit was modified the cell-penetrating, a cationic peptide rich in arginine genetically, forming the fusion protein TAT-Fn. Then the P-gp siRNA was binding with TAT-Fn through electrostatic interaction, and chemotherapeutic drug doxorubicin was

encapsulated in the ferritin, The P-gp siRNA / TAT-Fn- Dox nanocomplex was used co-therapy for multi-drug resistant cancer cells (SCG 7901/VCR). The results show that TAT-Fn nanoparticles are very stable, can effectively load with P-gp siRNA and Doxorubicin (Dox), not only reverses the multidrug resistance of the tumor, while avoiding the systemic toxicity of chemotherapy alone. In addition, we first found that exogenous ferritin-loaded with drugs, not only will not increase the expression of endogenous heavy chain ferritin, but reduced the expression of heavy chain ferritin, on the other hand, reversal of the Tumor multidrug resistance, enhanced the effect of chemotherapy.

**Keywords:** MDR; RNAi; H-Fn; P-gp

## 第一章 绪论

### 1.1 癌症的治疗

癌症伴随着高发病率和死亡率，是中国人口死亡的主要原因，也是一个主要的公共卫生问题<sup>[1]</sup>。癌症死亡率预计在 2030 年增加到 1100 万左右，且大多数发生在贫困地区。癌症给个人和社会带来巨大的经济负担。癌症的存活率取决于很多因素的相互作用，包括不可选择的因素例如年龄、性别、遗传，和可选择的因素等。但大多数取决于个人，社会，卫生系统以及卫生政策。因此，癌症死亡率和存活率随地理，机遇，财富和社会发展而变化。在各种癌症中，胃癌，食管癌和肝癌被诊断为癌症死亡的主要原因。尤其是在发展中国家，胃癌是各种致死率高的癌症中最主要之一。

手术治疗、放射治疗、化学疗法是临床上用于肿瘤治疗的主要方法。手术治疗只对局部肿瘤的进行治疗，对机体正常组织没有伤害，因此其副作用小。手术治疗可以一次性彻底的切除病灶，但只是适用于未发生转移的肿瘤，一旦肿瘤发生转移，手术治疗的效果便受到很大的局限。同时，手术治疗的风险和创伤都很大，且术后也会出现并发症。放射治疗，简称放疗，放射治疗是治疗恶性肿瘤的主要方法之一，其利用放射线对相应的组织产生损伤。放疗对于未发生转移的肿瘤有一定治疗效果，常常也是手术治疗后的一种辅助治疗方法。但放疗除了对正常组织有损伤外，有些癌症也对放疗并不敏感。而且，放疗对设备要求很高。化学疗法也是癌症治疗中最常用的方案。化疗是一种全身性给药的治疗方法，其治疗范围也相当广泛，尤其是对已发生转移的肿瘤，化疗发挥重要的治疗效果，以此，化疗不受肿瘤位置的限制。但化学治疗也有明显的缺点，因为药物随着血液循环到达全身，机体的正常组织器官也会暴露在化疗药物下，受到化疗药物的毒害作用。化疗药物能够治疗肿瘤的原因是肿瘤细胞增殖旺盛，分裂迅速，而增殖旺盛的细胞对药物更加敏感。但是正常细胞如骨髓细胞、毛囊细胞等也具有快速分裂的特点。这就表明，化疗也会杀死正常细胞，出现常见的副作用。

胃癌通常伴随转移，治疗转移性胃癌患者的第一选择是化疗，化疗的主要目的是延长生存，缓解症状和改善生活质量。20 世纪 90 年代，已建立氟尿嘧啶，铂和曲妥珠单抗的联合治疗作为标准一线化疗。为了进一步改善治疗结果，开发

二线和三线化疗非常重要。在本世纪的第一个十年，伊立替康和紫杉醇，细胞毒剂和各种分子靶向药物开始作为二线治疗开发。紫杉醇与靶向血管内皮生长因子受 2 的 ramucirumab 联合的治疗已经成为二线治疗的第一选择。目前正在开发免疫检查点抑制剂，晚期胃癌的治疗策略可能在未来发生重大变化。

## 1.2 肿瘤耐药性的产生

癌症化疗的设计越来越复杂，没有 100%有效的癌症治疗方法。化疗药物除了对机体有很强的副作用外，耐药性的产生也是治疗的一大难题。对抗癌药物治疗的抗性由多种因素引起，包括患者中的个体差异和肿瘤体细胞遗传差异。通常对药物的抗性是癌症固有的，但随着治疗变得越来越有效，获得性抗性也变得常见。肿瘤对化疗药物不敏感，往往使治疗变得束手无策。虽然可以发展新药物进行替换或者使用多种药物进行联合治疗来解决这一问题，但是癌细胞可以通过一系列机制，主要包括改变膜的通透性而阻滞药物进入，实现自我保护。而且癌症的时间和空间上的异质性<sup>[2]</sup>，其治疗靶标的不断变化，又使得无法避开这一机制恢复对一线化疗药物的使用<sup>[3]</sup>。对癌症耐药机制的研究可以获得重要信息，比如如何规避这种抗性以改善癌症化疗效果，以及对许多常用药物的药代动力学的影响。因此，对癌症耐药性产生的分子机制进行研究，是研究人员主要面对的难题。

## 1.3. 肿瘤耐药性产生的分子机制

在过去 40 年，研究人员已经列出了各种癌细胞对抗癌药物机制，如图 1-1。比如细胞表面受体丧失或药物的转运蛋白作用，药物的特异性代谢或药物的特异性靶标突变，研究员猜想使用多种药物可以有效提高治愈率。然而，细胞可以对许多不同的结构和功能不相关的药物表达抗性机制，这种现象称为多药耐药性，它通过限制吸收，增强外排或影响膜脂质如神经酰胺来限制药物在细胞内的积累。这些变化阻断 (a) 抗癌药物、激活的程序性细胞死亡 (凋亡)，(b) 激活药物解毒机制和修复 DNA 损伤，和 (c) 改变细胞周期等。在这些机制中，我们对改变药物在细胞内积累的机制了解最清楚，这种累积主要由于药物进入和排出细胞之间的不平衡所致。近年来，对肿瘤多药耐药的机制这方面研究进展很快，

主要包括以下方面：多药耐药相关蛋白介导的 MDR，肺耐药相关蛋白介导的 MDR，拓扑异构酶介导的 MDR，谷胱甘肽-S-转移酶(GST)介导的 MDR，蛋白激酶 C 介导的 MDR，抗药蛋白介导的 MDR，乳腺癌耐药蛋白介导的介导的 MDR，细胞色素 P450 介导的 MDR，高表达的铁蛋白介导的 MDR，增加抗癌药物泵出介导的 MDR 等<sup>[4]</sup>。其中多药耐药的主要机制是能量依赖性药物外排泵的表达，或者称为 P-糖蛋白（P-gp）或多药转运蛋白。

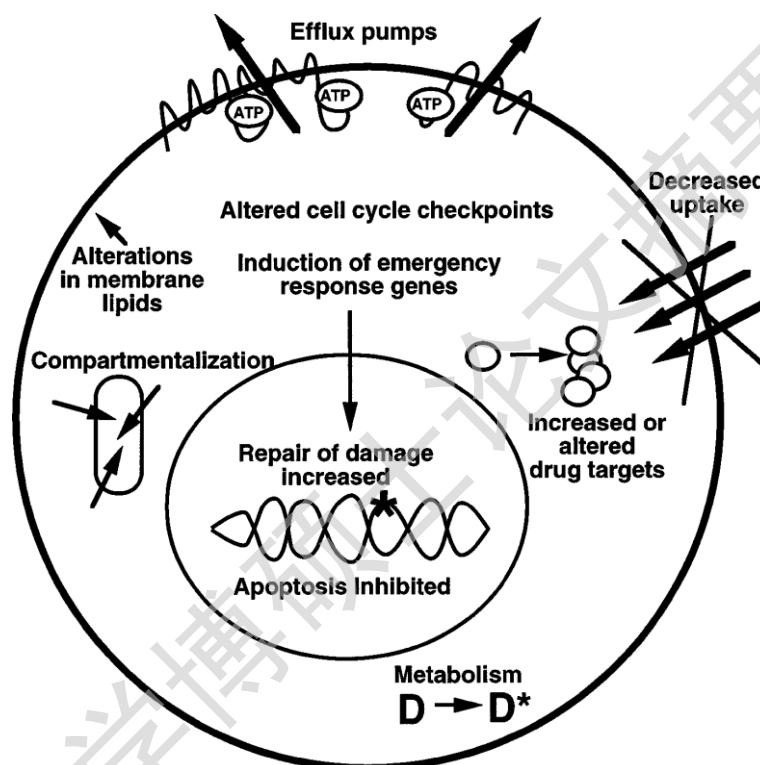


图 1.1 癌细胞的耐药性机制图<sup>[5]</sup>。

Figure. 1.1 The mechanism of cancer cells which are resistant to drugs.

### 1.3.1 P-糖蛋白高表达介导的多药耐药

P-糖蛋白是一种分子量为 170KD 的跨膜糖蛋白，是主要的跨膜药物转运蛋白，1976 年，Juliano 等<sup>[6]</sup>在耐药的中国仓鼠卵巢癌细胞中发现，是人类 MDR1 基因和两个不同的相关基因，mdr1a 和 mdr1b 的产物，是 ATP 结合盒（ABC）家族的转运蛋白之一。P-糖蛋白包括两个 ATP 结合盒和两个跨膜区，其中每个跨膜区包括 6 个跨膜结构域，如图 1-2。几乎所有的人类肿瘤细胞均有不同程度的 MDR/P-gp 的表达，在人类及啮齿类动物的大多数组织中，P-糖蛋白都处于低表达水平，但在覆盖体表的表皮细胞中表达量稍高<sup>[7]</sup>。存在于血液-组织屏障的

P-糖蛋白有助于将物质转运到血液中，限制药物进入机体，避免药物从血液中进入敏感性的器官，例如脑、睾丸等<sup>[8: 9]</sup>。例如，当敲除了 P-糖蛋白的小鼠暴露两亲性药物时，这些药物在脑组织富集的水平显著提高，对小鼠造成了严重的神经毒性<sup>[10]</sup>。可想而知，P-糖蛋白有保护机体不受毒性药物损伤的功能。在通过逐渐增加培养基中细胞毒性药物浓度而培养出的耐药细胞株中，P-糖蛋白通常高表达。这表明，P-糖蛋白在减少细胞胞浆中的药物浓度过程中，发挥着重要的作用<sup>[11]</sup>。P-糖蛋白可以检测和结合大多数进入质膜的疏水性药物。这些药物包括阿霉素、长春碱、长春新碱和紫杉醇等。与药物的结合激活了 ATP 结合结构域，ATP 的水解引起 Pgp 形状发生重大变化，导致药物释放到细胞外，胞浆中药物有效浓度降低，产生耐药<sup>[12]</sup>。因此，将 P-糖蛋白作为药物靶标，抑制其活性，增强化疗药物对肿瘤的杀伤性，是治疗耐药性癌症的重要手段。目前，已开发出三代转运蛋白调节剂，包括第一代的钙离子通道阻滞剂茛菪碱、免疫抑制剂环孢菌素等，这些药物虽具有阻止化疗药物泵出的作用，但也引起了过高的系统毒性，治疗效果有限。第二代 P-糖蛋白表达调节剂多是第一代 P-糖蛋白表达调节剂的衍生物，其对转运蛋白有较高的亲和力，因而在低浓度下即可达到良好的治疗效率。然而，由于 CYP4503A 的抑制，细胞毒性显著增强，药物清除速率降低，限制了药物的用量。对第二代 P-糖蛋白表达调节剂进行了改进，第三代 P-糖蛋白表达调节剂应运而生。第三代 P-糖蛋白表达调节剂虽已取得很大进步，但效果依然不尽人意<sup>[13-15]</sup>。研发特异性 P-糖蛋白表达调节剂越来越受到广泛的关注。



Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to [etd@xmu.edu.cn](mailto:etd@xmu.edu.cn) for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库