

# 转铁蛋白-转铁蛋白受体系统在药物运输和定向给药中的应用

常彦忠 袁其朋 钱忠明\*

(香港理工大学应用生物及化学科技学系代谢实验室, 香港. \* 联系人, E-mail: bczmqian@polyu.edu.hk)

**摘要** 近年来, 药物的定向运输和定点给药系统的研究已取得了可喜的进展. 转铁蛋白-转铁蛋白受体系统在抗癌药物和蛋白质的定向运输以及作为基因载体在扩散的恶性肿瘤细胞基因治疗中的应用研究已接近临床使用阶段. 药物经转铁蛋白-转铁蛋白受体介导通过血脑屏障进入脑内发挥药效的给药途径的研究也给脑疾病的治疗带来了巨大希望.

**关键词** 转铁蛋白 转铁蛋白受体 药物定向运输 基因治疗

在疾病的治疗过程中, 为了提高药效减轻毒副作用, 药物定向运输和靶细胞特异治疗的策略已经引起了人们极大的兴趣<sup>[1]</sup>. 人们正在探索药物定点和定向转运系统可能的应用方案, 如聚合体药物和脂质体转运系统等<sup>[2]</sup>. 过去几年中, 配体-受体介导的转运系统备受关注<sup>[3,4]</sup>. 正常情况下, 配体和受体的结合, 不仅能使配体导入到特定的位置, 而且它们还能被生物所分解, 无毒、无免疫原性. 利用转铁蛋白与转铁蛋白受体转运途径, 将治疗性药物特异性的转运至转铁蛋白受体过度表达的部位以治疗恶性肿瘤的研究已经取得了令人振奋的结果. 新的研究也显示用转铁蛋白和转铁蛋白受体系统作为药物运载体将药物运入脑内以达到治疗脑疾病是可行的<sup>[5]</sup>.

## 1 转铁蛋白和转铁蛋白受体介导的内吞作用

转铁蛋白和转铁蛋白受体介导的内吞作用是生物体细胞最具特点的转运过程之一. 转铁蛋白是铁结合蛋白家族的成员之一, 是铁吸收、储存和利用的关键环节<sup>[6]</sup>. 在生理氧浓度下, 机体吸收的二价铁被氧化成稳定的三价铁, 转铁蛋白可以与三价铁结合, 形成稳定的铁-转铁蛋白复合物, 每一个转铁蛋白分子可以与两个三价铁结合. 中性 pH 下, 三价铁溶解度很低, 极易形成沉淀, 当与转铁蛋白结合后, 溶解度大大增加, 成为可溶的形式. 铁-转铁蛋白复合物随血液循环将铁转运到正常生长发育需铁的组织细胞. 转铁蛋白受体在人体内广泛表达, 但表达量有明显差别. 原始红细胞是转铁蛋白受体表达最高的细胞群, 几乎占正常人体转铁蛋白受体总数的 80%. 脑

细胞和脑毛细血管内皮细胞转铁蛋白受体的表达也较丰富, 增殖细胞如癌细胞、活化的淋巴细胞和血清诱导的成纤维细胞都有转铁蛋白受体的高表达. 脑铁的摄取主要是通过血脑屏障血管内皮细胞膜上转铁蛋白受体介导<sup>[7,8]</sup>. 转铁蛋白受体的表达量主要受细胞铁状态的调节. 在转铁蛋白受体 mRNA 的 3' 未翻译区存在 5 个高度相关的回文序列元件称为铁反应元件(iron-responsive elements, IREs), IREs 可以与细胞质内的铁调节蛋白(ironregulatory proteins, IRPs) 结合, 通过它们的结合调节转铁蛋白受体 mRNA 的稳定性, 控制它的表达情况<sup>[9,10]</sup>. 目前已经发现有 IRP1 和 IRP2 两种<sup>[11,12]</sup>铁调节蛋白. IRP1 具有两种不同的作用, 在细胞内高铁情况下, IRP1 具有一个立方体的 4Fe-4S 簇, 它可以阻止与 IREs 的结合, 并且还具乌头酸酶活性, 使转铁蛋白受体 mRNA 的降解加速, 减少它的表达. 反之, 当细胞缺铁时, Fe-S 簇就不存在, IRP1 与 IREs 具有高的亲和力, 从而使之稳定性及表达量增加<sup>[13,14]</sup>. 与 IRP1 一样, IRP2 对不同 mRNA 的 IREs 有高亲和力<sup>[15]</sup>, 但受铁的调节不同. IRP2 的量及其与 IREs 结合的程度是通过铁依赖的蛋白水解酶进行调节的, 并且不具有乌头酸酶的作用<sup>[15,16]</sup>. 除了铁状态可以调节 IRPs 外, 一氧化氮和氧化紧张性也能够调节 IRPs 进而影响转铁蛋白的表达.

铁-转铁蛋白-转铁蛋白受体复合物的内吞作用是细胞铁摄入的主要途径<sup>[17]</sup>(如图 1 所示). 这一过程一般认为包括 6 个阶段: 结合、内吞、酸化、解离和还原、移位和细胞质内转运<sup>[18]</sup>. 首先, 铁-转铁蛋白结合到细胞表面的转铁蛋白受体上, 结合的亲和力取

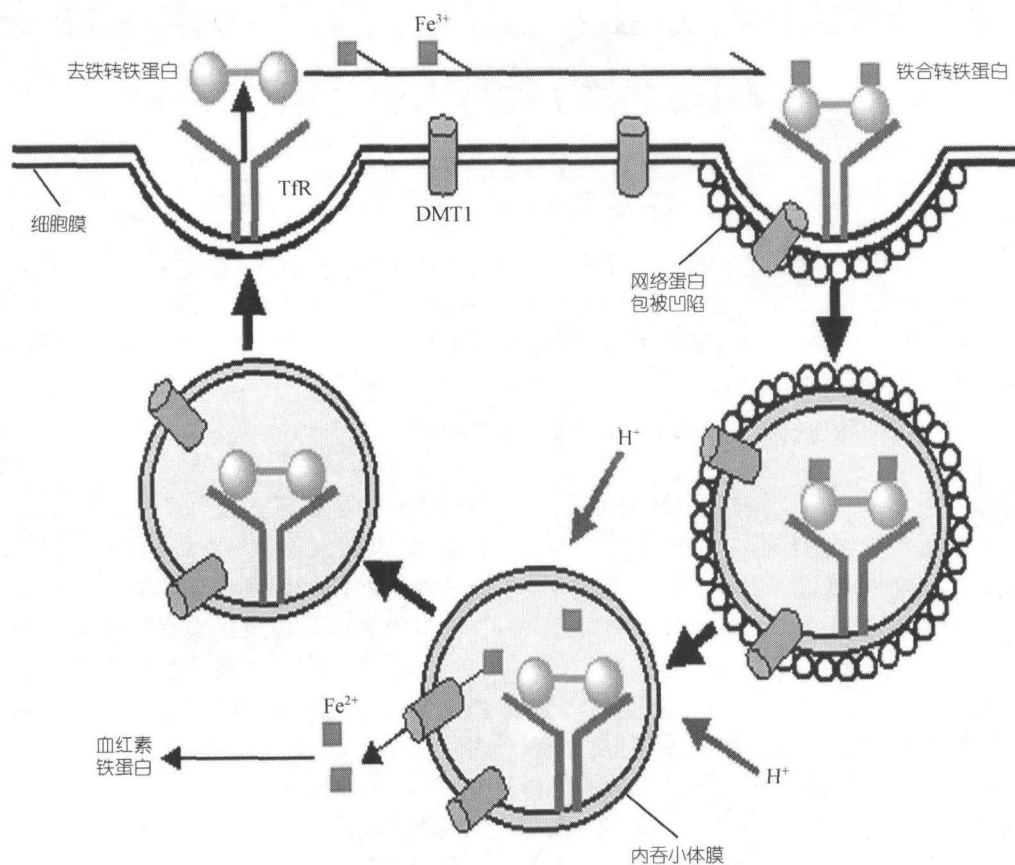


图1 转铁蛋白-转铁蛋白受体介导细胞铁摄取途径模式图

在细胞表面,铁合转铁蛋白( $Fe^{3+}$ )与转铁蛋白受体结合后,于网络蛋白包被的凹陷处内吞,形成内吞小体,在质子泵的作用下,内吞小体酸化,铁从转铁蛋白上释放出来,还原为 $Fe^{2+}$ ,通过二价金属离子转运体(divalent metal transporter, DMT1)进入细胞质,脱铁转铁蛋白-转铁蛋白受体循环回到细胞表面,在胞外生理pH下,脱铁转铁蛋白与转铁蛋白受体解离,进入细胞质的铁,在非网织红细胞内,储存在铁蛋白和血红素内

决于转铁蛋白结合铁的程度,受体与双铁转铁蛋白的结合力比脱铁转铁蛋白高几十倍,因此一般认为只有含铁的转铁蛋白分子才会被受体结合<sup>[17,18]</sup>. HFE(与遗传性血色素沉着病相关的蛋白质)调节铁-转铁蛋白和转铁蛋白受体的相互作用,影响转铁蛋白介导的铁摄取<sup>[19,20]</sup>. 然后,铁-转铁蛋白-转铁蛋白受体复合物成簇地聚集在细胞表面网络蛋白包被的凹陷部位,小窝凹陷、内吞从细胞膜上脱落进入细胞形成内吞小体;在质子泵的作用下,利用ATP提供的能量,质子进入内吞小体中,使内吞小体中的pH值降低到5~6<sup>[21]</sup>,在这种情况下,铁与转铁蛋白的结合力减弱,释放出铁.在内吞小体内,释放出的三价铁在氧化还原酶的作用下还原为二价铁,然后通过二价金属离子转运体(divalent metal transporter,

DMT1)将其运至胞液中<sup>[22,23]</sup>. 最后,脱铁转铁蛋白-转铁蛋白受体复合物经囊泡外排回到细胞表面,在细胞外生理pH条件下,脱铁转铁蛋白与转铁蛋白受体的结合力减弱,因而从转铁蛋白受体上释放出来进入循环体系中重复使用.而释放到胞浆中的铁可用作亚铁血红素和核苷酸还原酶的辅因子或储存在铁蛋白中<sup>[6,17,18]</sup>.

## 2 转铁蛋白与金属药物的转运

正常情况下,只有部分的血清转铁蛋白被铁所饱和,因而,它与某些具有治疗和诊断作用的金属离子仍保留很高的结合能力.

铋作为药品已经用了两个多世纪,不同铋复合物可用来治疗多种疾病,如梅毒、高血压、感染、皮

肤病和胃肠疾病。但是这一制剂的运输和作用机理一直都不很清楚。人们推测铋可能与血清白蛋白相结合进行运输。近来的研究显示转铁蛋白才可能是转运铋进入细胞的载体。铋可以与转铁蛋白和乳铁蛋白(lactoferrin)上铁的特异性结合位点结合,其亲和力与铁相近。这说明铋的转运可能与铁的转运相似,都通过转铁蛋白受体介导的内吞途径到达组织细胞<sup>[24]</sup>。铋的作用机理可能是由于转铁蛋白对它的结合和运输不仅阻止了铁的摄入,在细胞内释放后,还能通过抑制细菌生存所必需的酶活性达到抗菌目的<sup>[25]</sup>。

钌( $\text{Ru}^{3+}$ )具有很强的抗肿瘤作用,在血液中通过与转铁蛋白和血清白蛋白结合进行运输。注射钌( $\text{Ru}^{3+}$ )-转铁蛋白后,钌在肿瘤细胞内有高的特异性吸收。由于实体瘤细胞膜上的转铁蛋白受体表达比正常细胞显著增高,由此认为转铁蛋白-转铁蛋白受体系统是钌复合物抗肿瘤的主要转运途径<sup>[26]</sup>。此外还发现转铁蛋白-钌复合物的抗人类结肠癌细胞的活性明显高于白蛋白结合的钌及钌本身形成的复合物<sup>[5,26]</sup>。

镓( $^{67}\text{Ga}$ )是一弱的释放 $\gamma$ 射线的核素,在癌症的诊断和治疗中用途广泛。镓与转铁蛋白的亲合力与铁相近,它也是结合在转铁蛋白铁的特异性结合位点上。血液中的镓与转铁蛋白紧密结合,它主要通过转铁蛋白受体介导的途径转运。转铁蛋白能够增加 EMT-6 肿瘤细胞对  $^{67}\text{Ga}$  的摄取,人白血病 HL60 细胞能够摄取镓-转铁蛋白,并阻止铁依赖的核苷酸还原酶的活性。人们期望  $\text{Ga}^{3+}$  能够通过转铁蛋白、乳铁蛋白和铁蛋白的结合,集中分布到转铁蛋白受体、乳铁蛋白受体和铁蛋白集中的部位,如肿瘤、炎症区域以及奶和泪中。研究已经发现转铁蛋白受体的表达和  $^{67}\text{Ga}$  的分布具有极好的相关性<sup>[27]</sup>。高浓度镓在肿瘤组织中的分布是  $^{67}\text{Ga}$  用于成像诊断恶性组织的基础。当转铁蛋白减少或被铁和其他金属离子饱和时,镓也可通过非转铁蛋白依赖的机理进入肿瘤和其他细胞<sup>[5,26]</sup>。

最近,报道了第一个钛( $\text{Ti}^{4+}$ )-蛋白质复合物,即钛( $\text{Ti}^{4+}$ )-转铁蛋白复合物,这对于进一步了解钛抗癌活性的作用机制具有突破性意义<sup>[25]</sup>。钛与转铁蛋白的结合与铁和转铁蛋白的结合形式相似,钛-转铁蛋白很可能通过转铁蛋白受体进入癌细胞,在癌细胞内酸性微环境下,从转铁蛋白上释放出来,随后攻击

目标 DNA。进一步研究表明,钛( $\text{Ti}_2$ )-转铁蛋白复合物既能阻止铁( $\text{Fe}_2$ )-转铁蛋白与人胎盘绒毛膜癌细胞(human placental choriocarcinoma cell line, BeWo cells)膜的结合也能阻止细胞铁的摄入。这一发现对于我们了解钛相关的抗肿瘤药物的作用机理具有十分重要的意义<sup>[5,28]</sup>。

### 3 转铁蛋白复合物与药物和基因转运

瘤细胞表面存在大量的转铁蛋白受体,同时药物-转铁蛋白复合物在血浆中比较稳定,可延长药物在血浆中的半衰期,控制药物从复合物中的释放速度,所以用转铁蛋白进行药物的定向转运显得十分重要。

一般有两种方法可以构建转铁蛋白复合物。一种是通过化学方法的连接,最初,研究者<sup>[29~32]</sup>用直接法将阿霉素与转铁蛋白结合起来,他们将适量的阿霉素与转铁蛋白溶解在 150 mmol/L 的 NaCl 溶液中,然后逐滴加入戊二醛,最后用乙醇胺中止反应,对反应物进行纯化鉴定。由于直接法存在很多缺点,人们又尝试用间接法来合成转铁蛋白复合物<sup>[33,34]</sup>。按照这种方法,先合成一种带有中间结构的药物衍生物,如具有顺丁烯二酰亚胺中间结构的药物,然后再将这一药物的衍生物结合到载体蛋白上,在药物与中间结构物质间应含有酶切位点,当药物进入细胞后被释放出来发挥作用。另一种是用蛋白质工程技术方法产生转铁蛋白复合物,最近,Ali 等人报道了利用转铁蛋白对治疗性药物进行细胞转运的新方法。通过蛋白工程技术把一种能被 HIV-1 蛋白酶水解的多肽序列插入到人血清转铁蛋白的不同部位,这种重组的蛋白仍然能够保持原来转铁蛋白的功能,并使插入的多肽序列露在表面,这种重组蛋白已被克隆和表达<sup>[35]</sup>。可以预测转铁蛋白不仅能作为某些药物定向转运的载体蛋白,而且它本身颇具有被开发为新型治疗药物的潜力。

近几年,数项研究已经证实药物通过转铁蛋白吸收途径可以大大提高对动物模型和人类癌症的治疗效果,如具有抗癌作用的阿霉素与转铁蛋白结合后,避免了阿霉素引起的心血管毒性和抗药性的形成<sup>[34]</sup>;点突变的白喉毒素(CRM107)与转铁蛋白的结合物,转铁蛋白-CRM107 可以选择性的杀死转铁蛋白受体高度表达的细胞,如瘤细胞。将转铁蛋白-CRM107 注入恶性脑瘤病人的脑内,大约一半病人表现出瘤体的减小,但高剂量转铁蛋白-CRM107 注射

的病人表现出明显的神经系统的缺陷,这与脑毛细血管内皮细胞膜上的转铁蛋白受体低表达造成的内皮性损伤的表现相一致.新近的研究找到了一种应用转铁蛋白-CRM107 治疗脑瘤的新方法,当给予一种抗疟疾的特效药——氯喹后,可阻止大鼠脑内因注入转铁蛋白-CRM107 造成的毒性.所以,在不抑制抗肿瘤功效的前提下,氯喹为减轻转铁蛋白-CRM107 治疗过程中的毒性和增加转铁蛋白-CRM107 治疗脑瘤的效果开辟了一条新的途径<sup>[36]</sup>.

DNA的成功导入靶细胞是进行基因治疗的基础,基因治疗为各种各样疾病的治疗提供了可能.目前,几乎所有的治疗方法都因为DNA的低效转运和表达而受到很大限制.过去10年中,转铁蛋白受体的应用研究十分活跃,已能利用转铁蛋白-多聚赖氨酸(polylysine, pLL)复合物与DNA结合,通过受体的介导途径将DNA送入细胞内.然而,由于转染功效低下、目标性不强,以及无法解决与血清蛋白间的相互作用而限制了药物的定向导入,因此,大多数的研究都处于临床前的探索阶段.最近,合成了一种新的聚合体包被的pLL-DNA复合物,这种新的聚合体由多聚[N-(2-羟丙基)甲基丙烯氨](poly-[N-(2-hydroxypropyl) methacrylamide], pHPMA)和附着在它上面的寡肽(Gly-Phe-Leu-Gly)侧链组成,这一聚合体可以和多聚赖氨酸起反应而形成复合物.这种复合物能够完全消除蛋白间的相互作用,与没有被pHPMA包被的pLL-DNA及非定向性pHPMA包被的复合物相比,转铁蛋白与这一复合物结合后,能够明显地增强细胞对DNA的摄取(6倍)和转染活性(15倍).按照这种方法,通过结合不同的寡肽链进而调控复合物的活化程度,达到设计新型药物的目的.另外,将具有导向能力的配体结合到作为基因载体的稳定脂质体表面所制备的基因定向导入复合体,也非常新颖并具易变形的特点.由此看来,这一类由聚合体改良的DNA前体药物,不管是在离体还是将来在体的基因定向导入中都具有很重要的潜在应用价值<sup>[37]</sup>.

#### 4 转铁蛋白受体在脑用药物运输中的作用

由于血脑屏障脑毛细血管内皮细胞对药物的低渗性,使得治疗药物进入大脑受到了严格的限制.然而在脑毛细血管内皮细胞上存在特定的受体介导转运机制,根据这种转运机制我们可以考虑通过它将药物运送到脑内<sup>[38,39]</sup>.抗受体的抗体,特别是抗大鼠

转铁蛋白受体的单克隆抗体 OX26 为脑内药物的转运提供了可行性途径<sup>[40]</sup>. OX26 抗体与转铁蛋白结合到转铁蛋白受体的位置域明显不同,因此, OX26 转运系统并不像转铁蛋白-药物复合物转运系统,不容易被转铁蛋白循环所抑制.带有 OX26 抗体的治疗药物与脑毛细血管内皮细胞膜上转铁蛋白受体结合,经由受体介导途径,穿过细胞,通过血脑屏障<sup>[15,26,40]</sup>.这一系统目前已经成功用于放射性药物的转运,通过成像系统观察早期基因表达变化,确保对中枢神经系统疾病的及早确诊和治疗<sup>[41]</sup>.另外,这一系统还成功将治疗性多肽或蛋白转运进入了大脑.最近的研究表明脑源性的神经营养因子(BDNF)与 OX26 结合后,也能被运入脑内,这为治疗急性中风提供了可能性<sup>[42,43]</sup>.

近来报道了一种新的载体,免疫性脂质体(抗体导向的脂质体)载体(如图2所示),它能够转运药物和基因进入脑内<sup>[26,44]</sup>.此种载体集合了脂质体技术、pegylation 技术、血脑屏障靶向技术、质粒载体基因治疗技术,这一载体的结构是将小分子药物或外源性质粒 DNA 结合到中性脂质体内部,把分子量 2000 Da 的聚乙二醇(PEG)连于脂质体表面,然后再将小鼠抗大鼠的转铁蛋白受体的单克隆抗体 OX26 连于 PEG2000 末端.利用这种载体已成功将抗肿瘤的小分子药物道诺霉素(daunomycin)导入到大鼠脑内.这一 PEG-免疫性脂质体的优点在于增加了携带药物的

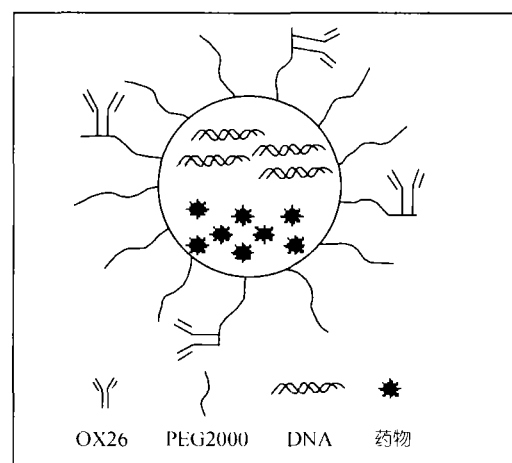


图2 免疫脂质体结构模式图

小分子的药物或质粒DNA包被在脂质体内部,聚乙二醇(PEG,分子量为2000 Da)结合在脂质体表面,抗鼠转铁蛋白受体的单克隆抗体OX26连在聚乙二醇的尾巴上,通过转铁蛋白受体介导途径,小分子药物和治疗用的基因可有效地通过血脑屏障进入脑内发挥作用

能力, 可达单克隆抗体携带量的4个对数数量级, 进入脑内的药物浓度可至微摩尔量级, 使许多小分子具有了药理学活性. 利用这种载体, 当静脉给予编码 $\beta$ -半乳糖苷酶和荧光素酶的表达质粒后, 在脑内得到了普遍的基因表达<sup>[44]</sup>. 尽管在外周组织如肝脏和脾脏也看到了基因表达, 但这种非特异性可以通过使用脑内特异性的启动子载体而除掉, 如GFAP(glial fibrillary acidic protein)的启动子<sup>[45,46]</sup>. 由于这类载体无毒、无免疫原性, 将来在诊断和治疗广泛的中枢神经系统疾病中会有更广泛的用途.

## 5 结束语

毋庸置疑, 在广泛的治疗药物如抗癌药、多肽、蛋白甚至基因的定向导入过程中, 尤其是向转铁蛋白受体过度表达的细胞定向导入中, 转铁蛋白和转铁蛋白受体具有很重要的应用价值, 特别是, 转铁蛋白受体在脑内药物和基因的转运<sup>[5,26]</sup>. 最近数年转铁蛋白-转铁蛋白受体系统研究的飞速发展研究这一系统的药物定向和运载中的应用提供了依据<sup>[47]</sup>, 然而, 目前仍有一些因素限制了它的临床应用, 尤其是基因运输的定向性较差, 转染效率还比较低. 今后应该对药物或基因载体进行进一步研究, 使之在携带药物的种类和数量上、在运输过程中的稳定性方面以及到达靶位后药物的释放程度有明显提高. 此外, 还应着重研究转铁蛋白受体表达的调节, 这一点在药物的跨血脑屏障转运中尤其重要, 如何在一定时期内, 造成血脑屏障部位转铁蛋白受体高表达, 使治疗或诊断药物、基因运送到脑内的浓度增加, 提高治疗效果和诊断准确性, 同时也应该注意铁的转运与药物转运的联系, 尽管铁是人体必需的最丰富的微量元素之一, 参与重要的生理反应, 但过量铁是导致某些神经退行性疾病的直接原因之一<sup>[7]</sup>. 相信随着材料科学、药学、蛋白质工程和生物学的快速发展, 从这一领域的基础研究迈向临床应用特别是中枢神经系统疾病治疗的过程将会大大缩短.

**致谢** 本工作为香港特别行政区政府 University Grant Council (UGC)和香港理工大学研究基金资助项目.

## 参 考 文 献

- 1 Li H, Sun H, Qian Z M. The role of the transferrin-transferrin-receptor system in drug delivery and targeting. *Trends Pharmacol Sci*, 2002, 23(5): 206-209
- 2 Langer R. Drug delivery and targeting. *Nature*, 1998, 392(6679)

- Suppl): 5-10
- 3 Vyas S P, Singh A, Sihorkar V. Ligand-receptor-mediated drug delivery: an emerging paradigm in cellular drug targeting. *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst*, 2001, 18(1): 1-76
- 4 Vyas S P, Sihorkar V. Endogenous carriers and ligands in non-immunogenic site-specific drug delivery. *Adv Drug Deliv Rev*, 2000, 43(2-3): 101-164
- 5 Qian Z M, Li H Y, Sun H Z, et al. Targeted drug delivery via the transferrin receptor-mediated endocytosis pathway. *Pharmacological Reviews*, 2002, 54(4): 561-587
- 6 Qian Z M, Tang P L. Mechanisms of iron uptake by mammalian cells. *Biochim Biophys Acta*, 1995, 1269(3): 205-214
- 7 Qian Z M, Shen X. Brain iron transport and neurodegeneration. *Trends Mol Med*, 2001, 7(3): 103-108
- 8 Qian Z M, Ke Y. Rethinking the role of ceruloplasmin in brain iron metabolism. *Brain Res Rev*, 2001, 35(3): 287-294
- 9 Mullner E W, Kuhn L C. A stem-loop in the 3' untranslated region mediates iron-dependent regulation of transferrin receptor mRNA stability in the cytoplasm. *Cell*, 1988, 53(5): 815-825
- 10 Rao K, Harford J B, Rouault T, et al. Transcriptional regulation by iron of the gene for the transferrin receptor. *Mol Cell Biol*, 1986, 6(1): 236-240
- 11 Leibold E A, Munro H N. Cytoplasmic protein binds in vitro to a highly conserved sequence in the 5' untranslated region of ferritin heavy- and light-subunit mRNAs. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1988, 85(7): 2171-2175
- 12 Henderson B R, Seiser C, Kuhn L C. Characterization of a second RNA-binding protein in rodents with specificity for iron-responsive elements. *J Biol Chem*, 1993, 268(36): 27327-27334
- 13 Mullner E W, Neupert B, Kuhn L C. A specific mRNA binding factor regulates the iron-dependent stability of cytoplasmic transferrin receptor mRNA. *Cell*, 1989, 58(2): 373-382
- 14 Koeller D M, Casey J L, Hentze M W, et al. A cytosolic protein binds to structural elements within the iron regulatory region of the transferrin receptor mRNA. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1989, 86(10): 3574-3578
- 15 Guo B, Yu Y, Leibold E A. Iron regulates cytoplasmic levels of a novel iron-responsive element-binding protein without aconitase activity. *J Biol Chem*, 1994, 269(39): 24252-24260
- 16 Henderson B R, Kuhn L C. Differential modulation of the RNA-binding proteins IRP-1 and IRP-2 in response to iron. IRP-2 inactivation requires translation of another protein. *J Biol Chem*, 1995, 270(35): 20509-20515
- 17 Qian Z M, Tang P L, Wang Q. Iron crosses the endosomal membrane by a carrier-mediated process. *Prog Biophys Mol Biol*, 1997, 67(1): 1-15
- 18 Qian Z M, Pu Y M, Tang P L. Transferrin-bound iron uptake by reticulocyte: Current knowledge and aspects to be investigated.

- Progress in Biochemistry and Biophysics, 1997, 24(1): 8~13
- 19 Feder J N, Penny D M, Irrinki A, et al. The hemochromatosis gene product complexes with the transferrin receptor and lowers its affinity for ligand binding. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95(4): 1472~1477
- 20 Lebron J A, West A P Jr, Bjorkman P J. The hemochromatosis protein HFE competes with transferrin for binding to the transferrin receptor. *J Mol Biol*, 1999, 294(1): 239~245
- 21 Dautry-Varsat A, Ciechanover A, Lodish H F. pH and the recycling of transferrin during receptor-mediated endocytosis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1983, 80(8): 2258~2262
- 22 Andrews N C. Iron homeostasis: insights from genetics and animal models. *Nat Rev Genet*, 2000, 1(3): 208~217
- 23 柯亚, 钱忠明. 二价金属离子转运蛋白——一个新发现的重要铁转运蛋白. *生物化学与生物物理进展*, 2002, 29(2): 184~188
- 24 Sun H, Li H, Mason A B, et al. Competitive binding of bismuth to transferrin and albumin in aqueous solution and in blood plasma. *J Biol Chem*, 2001, 276(12): 8829~8835
- 25 Sun H, Li H, Weir R A, et al. The first specific  $Ti^{IV}$ -protein complex: potential relevance to anticancer activity of titanocenes. *Angew Chem Int Ed*, 1998, 37: 1577~1579
- 26 Li H, Qian Z M. Transferrin/transferrin receptor-mediated drug delivery. *Med Res Rev*, 2002, 22(3): 225~250
- 27 Weiner R E, Avis I, Neumann R D, et al. Transferrin dependence of  $Ga(NO_3)_3$  inhibition of growth in human-derived small cell lung cancer cells. *J Cell Biochem*, 1996, 24 (Suppl): 276~287
- 28 Guo M, Sun H, McArdle H J, et al.  $Ti(IV)$  uptake and release by human serum transferrin and recognition of  $Ti(IV)$ -transferrin by cancer cells: understanding the mechanism of action of the anticancer drug titanocene dichloride. *Biochemistry*, 2000, 39(33): 10023~10033
- 29 Yeh C J, Faulk W P. Killing of human tumor cells in culture with adriamycin conjugates of human transferrin. *Clin Immunol Immunopathol*, 1984, 32(1): 1~11
- 30 Barabas K, Sizensky J A, Faulk W P. Transferrin conjugates of adriamycin are cytotoxic without intercalating nuclear DNA. *J Biol Chem*, 1992, 267(13): 9437~9442
- 31 Berczi A, Ruthner M, Szuts V, et al. Influence of conjugation of doxorubicin to transferrin on the iron uptake by K562 cells via receptor-mediated endocytosis. *Eur J Biochem*, 1993, 213(1): 427~436
- 32 Singh M, Atwal H, Micetich R. Transferrin directed delivery of adriamycin to human cells. *Anticancer Res*, 1998, 18(3A): 1423~1427
- 33 Kratz F, Beyer U, Roth T, et al. Transferrin conjugates of doxorubicin: synthesis, characterization, cellular uptake, and in vitro efficacy. *J Pharm Sci*, 1998, 87(3): 338~346
- 34 Singh M. Transferrin as a targeting ligand for liposomes and anticancer drugs. *Curr Pharm Des*, 1999, 5(6): 443~451
- 35 Ali S A, Joao H C, Hammerschmid F, et al. Transferrin trojan horses as a rational approach for the biological delivery of therapeutic peptide domains. *J Biol Chem*, 1999, 274(34): 24066~24073
- 36 Hagihara N, Walbridge S, Olson A W, et al. Vascular protection by chloroquine during brain tumor therapy with Tf-CRM107. *Cancer Res*, 2000, 60(2): 230~234
- 37 Dash P R, Read M L, Fisher K D, et al. Decreased binding to proteins and cells of polymeric gene delivery vectors surface modified with a multivalent hydrophilic polymer and retargeting through attachment of transferrin. *J Biol Chem*, 2000, 275(6): 3793~3802
- 38 常彦忠, 钱忠明. 铜蓝蛋白和脑铁代谢. *生理科学进展*, 2002, 33(2): 101~105
- 39 钱忠明. 脑铁代谢和神经变性疾病. *生理科学进展*, 2002, 33(3): 197~203
- 40 Bickel U, Yoshikawa T, Pardridge W M. Delivery of peptides and proteins through the blood-brain barrier. *Adv Drug Deliv Rev*, 2001, 46(1-3): 247~279
- 41 Shi N, Boado R J, Pardridge W M. Antisense imaging of gene expression in the brain in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97(26): 14709~14714
- 42 Zhang Y, Pardridge W M. Neuroprotection in transient focal brain ischemia after delayed intravenous administration of brain-derived neurotrophic factor conjugated to a blood-brain barrier drug targeting system. *Stroke*, 2001, 32(6): 1378~1384
- 43 Zhang Y, Pardridge W M. Conjugation of brain-derived neurotrophic factor to a blood-brain barrier drug targeting system enables neuroprotection in regional brain ischemia following intravenous injection of the neurotrophin. *Brain Res*, 2001, 889(1-2): 49~56
- 44 Shi N, Pardridge W M. Noninvasive gene targeting to the brain. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97(13): 7567~7572
- 45 Shi N, Zhang Y, Zhu C, et al. Brain-specific expression of an exogenous gene after i.v. administration. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(22): 12754~12759
- 46 Shi N, Boado R J, Pardridge W M. Receptor-mediated gene targeting to tissues in vivo following intravenous administration of pegylated immunoliposomes. *Pharm Res*, 2001, 18(8): 1091~1095
- 47 钱忠明. 铁代谢——基础与临床. 北京: 科学出版社, 2000. 123~164

(2002-10-17 收稿, 2002-12-18 收修改稿)