

半分子转运蛋白 ABCG2 的肿瘤 多药耐药性研究及其应用*

王英泽^{1, 2, 3)} 段相林^{2)**} 李永福⁴⁾ 梁兴杰^{1)**}

¹⁾国家纳米科学中心纳米材料生物医学效应和纳米安全中国科学院重点实验室, 北京 100190;

²⁾河北师范大学生命科学学院铁代谢分子生物学研究室, 石家庄 050016;

³⁾河北科技大学生物科学与工程学院生命科学系, 石家庄 050018;

⁴⁾Laboratory of Cell Biology, Center for Cancer Research, National Cancer Institute, Maryland 20892, USA)

摘要 肿瘤常对临床上传统使用的多种化学治疗显示其内源性或获得性的药物耐受性即多药耐药性(multidrug resistance, MDR). 这种多药耐药性主要是由一类称为 ABC(ATP-binding cassette)转运体蛋白超家族的跨膜蛋白引起的, 它们结合并利用水解 ATP 提供的能量来转运药物, 导致肿瘤细胞呈现抗药性. 半分子转运蛋白 ABCG2 是近年来才发现的可归于 ABC 转运体大家族中的一个新成员, 在肠、肝、胎盘和血脑屏障等部位大量表达, 与全分子转运蛋白如 P-gp (P-glycoprotein)和多药耐药蛋白(multi-drug resistance protein, MRP)相似, 可以主动地把具有不同化学结构和作用于细胞内不同靶位点的化疗药物泵出胞外, 从而引起肿瘤对多种抗癌药物(包括最新开发的药物)产生抗性. 最近的一些十分有趣的研究还表明, ABCG2 可能与干细胞分化状态和保护干细胞发育过程中免受周围环境的影响有关, 而且还发现, 它在侧群骨髓和神经干细胞内大量存在, 因此, ABCG2 可能在基因治疗中作为选择性的蛋白质标记正受到研究者的极大关注. 同时, ABCG2 的单核苷酸多态性影响其结合并转运不同的底物/药物. 鉴于 ABCG2 在肿瘤抗药性研究中的重要性以及它的一些新功能的初步研究表明, 对 ABCG2 的生物学功能和作用机理以及在医学实践中的应用研究必将受到更大的关注. 主要阐述了半分子 ABC 转运蛋白 ABCG2 的发现、重要的生化特性和生理功能及其相关的新研究进展和问题.

关键词 ABCG2, ABC 转运蛋白, 多药耐药性, 癌症化疗

学科分类号 R96, Q279

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2009.00245

近年来, 随着化疗方法的改进, 尽管癌症化疗取得了长足的进步, 但是肿瘤细胞的多药耐药性(multidrug resistance, MDR), 即癌细胞同时对多种化学结构和作用机理不同的药物产生抗性, 仍一直是临床肿瘤化疗失败的主要原因之一^[1]. 近 30 年来, 有关多药耐药性研究的最重要成果是, 发现在细胞膜上过量表达与 MDR 相关的一类 ABC (ATP-binding cassette)转运蛋白(transporter), 它们将化疗药物泵出胞外从而导致肿瘤细胞产生耐药性. 比如在 20 世纪 70 年代中期发现的 P-型糖蛋白(P-glycoprotein, P-gp), 在 90 年代初期发现的多药耐药蛋白(multidrug resistance protein, MRP)等. 这些是由 2 个或 3 个跨膜结构域(trans-membrane domain, TMD)和 2 个核苷酸结合结构域(nucleotide binding domain, NBD)构成的全分子 ABC 转运体

(full ABC transporter). 而在 20 世纪 90 年代末, 人们又发现了 ABC 转运体超家族中的一个被称为 ABCG2 的新成员, 但它却是由一个 TMD 和一个 NBD 构成的所谓半分子 ABC 转运体(half ABC transporter), 它是一类与 MDR 密切相关的多药耐药跨膜蛋白, 而近年的研究进一步表明, 它具有新的重要生理功能, 越来越引起研究者的极大兴趣和

* 中国科学院“百人计划”项目(07165111ZX), 中芬纳米科技合作项目(2008DFA01510)和国家重点基础研究发展计划(973)(2009CB930200)资助项目.

** 通讯联系人.

梁兴杰. Tel: 010-82545569, E-mail: liangxj@nanoctr.cn

段相林. Tel: 0311-86269159, E-mail: xlduan0311@163.com

收稿日期: 2009-04-17, 接受日期: 2009-06-08

关注, 成为当前 ABC 转运体结构与功能及其与多药耐药性相关研究的重要热点之一.

1 ABCG2 的发现

ABC 转运体蛋白超家族在人类基因组中已确定的约有 50 种之多, 根据氨基酸序列的同源性和对二级结构的预测结果可分为 7 个亚家族即 ABCA 至 ABCG. ABCG2 是先后由三个研究小组独立地在不同细胞株中发现的并确定为 ABC 转运蛋白超家族中的一个新成员. Doyle 等^[2]首先在既不表达 P-gp 也不表达 MRP1 蛋白, 并对多柔比星、柔红霉素和米托蒽醌具有很高抗性的乳腺癌细胞系 MCF-7/Adr-Vp3000 中发现它而称之为乳腺癌耐药蛋白 (breast cancer resistance protein, BCRP), 其后, Allikmets 等^[3]发现它在胎盘中大量表达, 称之为 ABCP (ABC transporter in placenta); 接着 Brangi

等^[4]在抗米托蒽醌 (mitoxantrone) 的结肠癌细胞株 S1-M1-80 中发现 ABCG2, 所以它又被称为抗米托蒽醌耐药蛋白 (mitoxantrone resistance protein, MXR). ABCG2 由 655 个氨基酸构成, 只含有 1 个跨膜结构域和 1 个 ATP 结合域, 因而被称为半分子 ABC 转运蛋白. 人的 ABCG2 基因含有 16 个外显子, 总长为 66 kb, 位于 4q22 染色体上, 是迄今为止在 4 号染色体上发现的唯一 ABC 转运蛋白^[5]. ABCG2 在结构上与 P-gp 或 MRP1 明显不同, 其 ATP 结合域位于 N 端, 而跨膜结构域位于 C 端 (图 1). 在人类基因组中, 目前已确定有 ABCG1, ABCG2, ABCG4, ABCG5 和 ABCG8 等共 5 个成员. ABCG2 与 P-gp 或 MRP1 的同源性仅限于 NBD, 而与 ABCG 亚家族其他成员的保守性则限于 TMD. 它与决定果蝇眼色素相关的 White, Brown 以及 Scarlet 等蛋白质具有高度同源性.

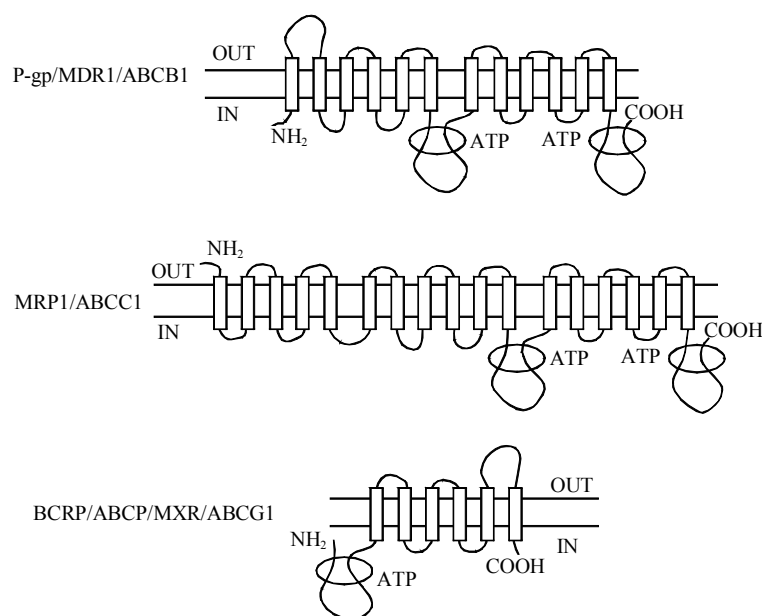


Fig. 1 Diagrams of predicted topology of P-gp, MRP1 and ABCG2

图 1 P-gp, MRP1 和 ABCG2 的分子结构图

跨膜 α 螺旋以圆柱表示, 核苷酸结合部位以 ATP 表示.

2 ABCG2 的表达和功能

2.1 ABCG2 的表达与分布

在人体正常组织胎盘中 ABCG2 高表达, 是其他组织表达量的 100 倍, 而在脑、前列腺、小肠、睾丸、卵巢和肝脏中次之. 但在心脏、肺、骨骼肌、肾脏、胰腺、脾脏、胸腺和外周血白细胞中却没有表达. Allikmets 等^[3]的研究认为, ABCG2 在

胎盘部位高表达是受到性激素的调节, 这提示 ABCG2 在两性机体内的表达上很可能存在差异. 随后 Merino 等^[6]的研究不仅表明 ABCG2 在小鼠各器官中的表达及其药物代谢动力学存在两性差异, 还指出该差异与性激素受体表达有关. 目前, 对 ABCG2 表达的研究主要集中在转录水平, 研究发现, 存在于 ABCG2 启动子区的两个顺式元件即雌激素反应元件和低氧反应元件以及位于 ABCG2 基

因上游序列的过氧化物酶激活受体 g(peroxisome proliferator-activated receptor g, PPARg)反应元件均可控制 ABCG2 基因的表达^[6]。另外, Wang 等^[7]发现黄体酮亦可通过启动子区的黄体酮反应元件来上调 ABCG2 基因的表达。一些细胞生长因子也可影响到 ABCG2 基因的表达, 如 Yin 等^[8]利用转移生长因子处理 ABCG2 基因高表达的 MCF-7 细胞, 发现可以降低 ABCG2 基因的表达。Evseenko 等^[9]利用肿瘤坏死因子或 IL-1 β 处理滋养层细胞可降低 ABCG2 的 mRNA 水平和蛋白质表达水平, 相反, 用胰岛素样生长因子 II 处理可增加其表达。深入研究 ABCG2 的表达特征将有助于进一步揭示其功能从而对癌症的临床治疗提供更丰富的信息。

2.2 ABCG2 的药物外排泵功能

ABCG2 在细胞中的表达水平影响其 ATP 酶活性与底物/药物的转运, 比如, 在昆虫细胞或乳酸菌中 ABCG2 的表达使其具有 ATP 酶水解活性和依赖 ATP 的向外转运底物或药物外排泵功能。另外, 富集于孕妇胎盘质膜上的 ABCG2 在母体和胎儿血液循环间形成的保护屏障中亦具有外排泵功能。有研究表明, 目前在临床上使用的人拓扑异构酶 I (Topo I) 和 II (Topo II) 抗癌药物之所以表现出抗性亦与 ABCG2 相关^[10]。在急性髓性成人白血病患者病例中发现, ABCG2 表达量的提高与化疗药物在细胞内累积浓度的降低呈正相关。而对抗癌药物 SN-38 和 CPT 衍生物的抗性研究也显示 ABCG2 与其外排直接相关。上述这些试验证据清楚表明, ABCG2 是多药耐药 ABC 转运蛋白家族的新成员。

2.3 ABCG2 的单核苷酸多态性研究是提高癌症化疗药物有效筛选的重要途径

在 ABC 转运体功能的研究中, 有关单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphisms, SNPs) 的研究使人们对 ABC 转运蛋白的抗药性分子机理有了更加深入的认识。对用不同药物筛选的细胞株中克隆的 ABCG2 基因序列分析表明, 在 ABCG2 的第 482 位点的精氨酸可被甘氨酸或苏氨酸所替换。正是这个点突变解释了为什么 ABCG2 可以识别并转运不同的药物底物。Robey 等^[11]利用不同药物处理 HEK-293 (人胚肾) 细胞发现, 它所表达的 ABCG2 会显示不同的药物谱, 这些因不同药物而自然发生的单一位点突变体 R482G 或 R482T, 均比野生株对米拖蒽醌 (mitoxantrone) 或阿霉素 (doxorubicin) 表现出更高的抗药性, 而且转运罗丹明 123 (rhodamine123) 的能力也加强, 底物谱也更

宽, 因而被称为功能获得性突变体 (gain-of-function)。Bosch 等^[12]分析了 100 个健康人的血样 DNA 序列, 发现在 ABCG2 基因中存在 19 个 SNPs, 其中 7 个是未曾发现的, 这说明不同人的 ABCG2 表达变化与 SNPs 的多样性是直接相关的。ABCG2 基因的变化直接影响到癌细胞对抗癌药物的外排能力, 从而改变患者对药物的敏感性。在 SNPs 中的 V12M 或 Q141K 单一位点突变会影响 ABCG2 的表达并降低其 ATP 酶的活力, 其中 Q141K 点突变在中国人和日本人群中出现率很高, 个体一旦出现这种突变, 会使 ABCG2 的外排功能受到限制, 从而使其对抗癌药物的敏感性提高^[13]。Li 等^[14]发现, 在出现 Q141K 突变病人体内的酪氨酸激酶抑制剂吉非替尼 (gefitinib) 的积累量远远高于未发生此突变的病人, 说明此种突变确可影响抗癌药物的治疗效果。这提示, 通过对 SNPs 的深入研究将有助于医生根据患者的个体差异预测患者对药物治疗的反应, 从而提高临床治疗效果。有关这方面的研究还需深入和亟待加强。

2.4 ABCG2 的功能与其结构的关系

有关包括 ABCG2 在内的 ABC 转运体在行使其功能时是与其二聚体或四聚体或寡聚体形式相关至今亦无定论。一般认为半分子 ABC 转运蛋白以同源或异源二聚体形式发挥其功能。果蝇的 White 与 Brown 或 Scarlet 的 ABC 转运蛋白形成两种异源二聚体并分别转运不同的底物。人的 ABCG5 和 ABCG8 也必须通过翻译后修饰形成异源二聚体并实现从内质网膜向细胞膜上转运的功能。在非还原条件下的 SDS-PAGE 上呈现二聚体的表观分子质量, 而在还原条件下只显示单体的表观分子质量, 这表明二硫键可能参与同源二聚体的形成。但也有证据提示 ABCG2 亦可以四聚体或寡聚体形式存在^[15]。但有关半胱氨酸残基是如何参与二聚体或四聚体等的形成以及它们与其转运活性的相互关系等问题有待进一步阐明, 它是否可能以异源二聚体的形式存在仍不清楚。值得一提的是, 像二聚体或四聚体 P-gp 的功能也可能因其来源而不同。而 MRP 的 22Å 分辨率的三维结构提示, 它可能是以二聚体形式存在, 但它在天然膜上是否是二聚体至今尚不清楚。有关 ABC 转运体和它们不同结构域的较高分辨率的三维结构信息知之更少。显然, 包括 ABCG2 在内的 ABC 转运体在天然膜上存在的形式更是一个十分有趣和值得关注的重要问题, 但也是一个难题。

3 对 ABCG2 转运药物拮抗作用的研究

3.1 ABCG2 转运的底物/药物特征

ABC 转运体超家族中的 P-gp 主要转运各种中性或阴离子药物分子, MRP 主要转运谷胱甘肽共轭药物(GS-X)或将药物与谷胱甘肽共同外排, 而 ABCG2 则主要转运亲水性或半亲水性分子. 对高表达 ABCG2 蛋白的 MCF-7 和 MDA-MB-231 细胞的药敏试验研究显示, 耐药细胞降低了柔红霉素(daunorubicin)和罗丹明 123(rhodamine 123)的胞内积累, 并且去除 ATP 可逆转 rhodamine 123 积累的降低^[6]. 通过 sulforhodamine B 细胞的毒性测定, ABCG2 高表达细胞对米托蒽醌(mitoxantrone)、daunorubicin、阿霉素(doxorubicin)和拓普替康(topotecan)呈高度耐药性, 而对顺铂(cisplatin)、紫杉醇(paclitaxel)、表鬼臼毒吡喃葡萄糖苷(etoposide)和长春新碱(vincristine)等与对照株相比无显著交叉耐药, 在不同细胞内 ABCG2 的高表达常伴随有对 mitoxantrone、daunorubicin、双蒽生(bisantrone)、topotecan、哌唑嗪(prazosin)、lysotracker 和 rhodamine 123 的积累显著降低^[7]. 耐药细胞除了胞内抗癌药物的累积减少, 同时细胞内药物的分布也发生变化, 细胞核内药物所占比重减少, 细胞内 Topo II 活性显著下降. 近年来发现 Topo II 抑制剂 topotecan、伊里诺坎(irinotecan)和 SN-38 等也能有效地诱导 ABCG2 的高表达^[11]. 目前, 为了深入地研究 ABCG2 的药物转运动力学, 常用可发荧光的底物 Hoechst 33342 作为测定其外排泵功能的标记物. 用 BODIPY 荧光标记的 prazosin 来检测 ABCG2 介导的底物转运变化.

3.2 ABCG2 逆转剂的研究是提高肿瘤化疗效果的关键和发展方向

寻找和发现可逆转 MDR 的调节剂是提高化疗效果的战略选择之一, 是当前肿瘤耐药性研究中的重要发展方向. 对 ABCG2 的拮抗作用研究表明, 传统的逆转剂如维拉帕米(verapamil)、环孢菌素 A(cyclosporin A)、P-gp 的强抑制剂环孢菌素 A 类似物(PSC-833)以及新型拮抗剂 XR9576 和 LY335979 等对 ABCG2 引起的多药耐药性均无逆转作用. 但是 fumitremorgin C (FTC), 一种从霉菌 *Aspergillus fumigatus* 发酵产物中提取的化学有效成分, 却能特异性地逆转大部分高表达 ABCG2 细胞株的耐药性, 并可降低野生型和 482 位点突变株 ABCG2 的 ATP 酶活性^[11]. 利用库马霉素(coumermycin)和新生霉素(novobiocin)与表达 ABCG2 的抗药性细胞共同培养时, 可以通过降低 daunorubicin 的选择性而部分逆转 ABCG2 介导的多药耐药性. 此外, 第二代 P-gp 逆转剂 GF120918、acridone carboxamide, 以及 ErbB1 酪氨酸激酶抑制剂(tyrosine kinase inhibitors, TKIs) CII033、SN-38 和抗雌激素(antiestrogens)也可对表达 ABCG2 细胞的耐药性有明显的逆转效应(表 1). Shi 等^[18]最新的研究表明, 表皮生长因子受体酪氨酸激酶抑制剂(EGFR-TKI) AG1478、埃罗替尼(erlotinib)和 Shukla 等^[19]报道的舒尼替尼苹果酸盐(SU11248)亦有抑制 ABCG2 的功能, 并且对细胞的毒性小. 另外很有意义的是, Shukla 等^[20]以大鼠的脑微血管为模型, 用光亲和标记的柳氮磺胺吡啶(sulfasalazine)作为 ABCG2 转运的底物, 在动物整体水平上证实了姜黄素(curcumin)可以有效抑制 ABCG2 介导的外排功能,

Table 1 Substrates transport and modulators of ABCG2

表 1 ABCG2 的转运底物和逆转剂

抗癌药物	荧光标记物	逆转剂
米拖蒽醌(Mitoxantrone)	烟酸己可碱 33342(Hoechst 33342)	细胞周期抑制剂(Fumitremorgin C)
依托泊苷(Etoposide)	罗丹明 123(Rhodamine 123)	细胞周期抑制剂类似物(K0143)
托泊替康(Topotecan)	哌唑嗪(BODIPY-prazosin)	吡啶蒽蒹衍生物(GF120918)
替尼泊苷(Teniposide)	溶酶体标记物(Lysotracker)	雌酮(Estrone)
伊立替康(Irinotecan, CPT-11)	氮杂-蒽吡啶(Aza-anthrpyrazole, BBR-3390)	抗雌激素类(Antiestrogens)
阿霉素(Doxorubicin)		己烯雌酚(Diethylstilbesterol)
黄酮类抗肿瘤药(Flavopirido)		新生霉素(Novobiocin)
柔红霉素(Daunorubicin)		吉非替尼(Gefitinib)
表柔比星(Epirubicin)		伊马替尼(Imatinib)
比生群(Bisantrone)		酪氨酸激酶抑制剂(CII033)
甲氨蝶呤(Methotrexate)		ABCG2 单克隆抗体(5D3)
齐多夫定(Zidovudine, AZT)		拉帕替尼(Lapatinib)
拉米夫定(Lamivudine)		

从而达到增强化疗药物作用的目的。这些研究充分表明, 在分子、细胞和动物整体水平的研究是发现新 MDR 逆转剂的重要途径。但需注意的是, 包括 ABCG2 在内的多药耐药性蛋白, 在正常组织中也有表达并发挥其正常生理功能, 这提示, 应当注意临床上使用特异抑制剂是否会产生药物副作用的问题。作为靶点药物如埃罗替尼/拉帕替尼(erlotinib/lapatinib)、吉非替尼(gefitinib)等均可逆转 ABCG2 介导的 MDR。针对 ABCG2 特异性靶点药物的研发对逆转抗药性和降低药物副作用会起到积极的作用。因此, 专一、高效和副作用小的新一代 MDR 逆转剂的研发必将为改善癌症临床治疗效果提供重要的基础, 也是 MDR 研究中必须充分重视和关注的发展方向。

4 ABCG2 可能作为干细胞分化的标记

在骨髓和神经干细胞中有一侧群(side population, SP) 干细胞, 约占总干细胞的 0.05%。来源不同的侧群干细胞具有保守的细胞表型, 并能向不同类型或不同胚层的组织细胞分化。用 Hoechst 33342 的弱激发荧光特性的研究结果表明, 在不同来源的侧群干细胞均有 ABCG2 基因的高表达, 而且它的表达与侧群干细胞的表型密切相关。Zhou 等^[21]发现, ABCG2 基因敲除的小鼠骨髓细胞 SP 表型完全丢失, 这表明在骨髓细胞中 ABCG2 可能是侧群干细胞表型形成的决定因素。由于侧群干细胞在发育过程中具有横向分化潜能, 与成体干细胞的多器官形成的可塑性密切相关, 而 ABCG2 可随血细胞发育阶段的不同而表达、消失、再表达。因此, ABCG2 可能通过维持干细胞的静息状态或影响造血增殖分化从而参与造血系统的发育过程。Apati 等^[22]通过检测 ABCG2 在人类胚胎干细胞中的表达发现, 在未分化的人体胚胎干细胞(human embryonic stem cell, HuES)中高表达 ABCG2, 而在早期分化的细胞中表达明显降低, 这进一步表明 ABCG2 可能作为鉴别未分化的 HuES 的标记。显然, 深入研究 ABCG2 表达的精确调控与干细胞分化分子机制的相互关系, 必将对干细胞的临床应用提供新的信息。同时, 有研究表明, 在高度表达 ABCG2 的干细胞中, 通过 ABCG2 泵出诱导干细胞分化的物质从而参与调控干细胞的发育。而干细胞的外排特性也是通过其膜上的转运蛋白 ABCG2/BCRP1 来实现的, 因为 ABCG2 基因敲除后的小鼠对米脱蒽醌等化疗药物表现敏感即对化疗药物的外排作用

降低^[21]。

也已有研究表明, 在肿瘤组织中也存在着肿瘤干细胞并带有 ABC 转运体, 有关 ABC 转运体在肿瘤干细胞的功能和作用已成为目前癌症治疗中关注的焦点。恶性肿瘤难以根除的原因之一是肿瘤干细胞或肿瘤中的侧群(SP)细胞表达 ABCG2 因而形成抗药性, 导致化疗治疗效果不理想。研究发现, 在鳞状上皮癌细胞(squamous cell carcinomas, SCCs)中存在的类干细胞侧群细胞(stem cell-like side population, SP)具有排除 Hoechst 33342 的能力, 纯化后的 SCC-SP 在体外培养具有无限增殖的能力并在动物体内有很强的致瘤特性, 而当添加 ABC 转运体抑制剂时, SCC-SP 对化疗药物表现出敏感性^[23]。因此, 有可能通过抑制 ABCG2 在肿瘤干细胞中的表达以除去肿瘤干细胞从而达到治愈癌症的目的, 上述这些研究结果表明, 深入探索 ABCG2 的表达与干细胞分化调控及其与肿瘤耐药性的关系, 对于我们如何寻找新的癌症治疗方略将会提供新的思路。

5 ABCG2 在基因治疗中的应用

在癌症化疗过程中, 大多数抗癌药物对机体会产生严重的毒性, 其中一个主要的边缘效应就是引起骨髓发育缺陷。如能有效减少化疗药物对骨髓的毒副作用就可能明显减少患者骨髓发育缺陷的发病率和死亡率。Schiedlmeier 等^[24]首次建立了一套完善的转基因体系, 利用逆转录病毒载体 SF91m3 携带人的 MDR1 转染到人的造血干细胞中, 并将其移植到裸鼠体内。在经过高剂量的紫杉醇治疗后, 发现带有转基因造血干细胞裸鼠的骨髓损伤比正常组明显减轻。由于 ABCG2 是一种半分子转运蛋白, 其 cDNA 相对较小, 仅有 2 kb, 因此在被转染 ABCG2 的细胞内易于高表达并显示活性。高表达的 ABCG2 可以选择性地保护受转染的移植细胞抵抗临床应用的化疗药物, 同时 ABCG2 的高表达并不影响移植细胞的成熟以及相关治疗基因的正常功能。因此, ABCG2 在临床基因治疗中可以有针对性地提高机体对药物的选择性, 与已在临床基因治疗中被广泛应用的 P-gp 相比, ABCG2 更具有易转染的优势。目前, ABCG2 基因作为基因治疗的应用仅仅处于起始阶段, 研究尚待深入。

6 展 望

如上述表明, ABCG2 是 ABC 转运蛋白大家族

中的新成员,它不仅与MDR密切相关,而且新近的一些研究初步表明,它较P-gp或MRP而言,还具有一些尚待进一步探索和阐明的新功能.比如:ABCG2在干细胞的分化发育中的作用,是否可作为鉴别干细胞分化能力的标记物,从而有助于在干细胞移植中选择合适的干细胞为临床应用干细胞治疗提供依据,以及移植干细胞的耐药性与临床化疗疗效的关系等,ABCG2的多核苷酸多态性及其突变与它转运底物或抗癌药物专一性的关系及其相应抑制剂的研发等,至于ABCG2基因在引人入胜的基因治疗热潮中的作用和地位更是初见端倪.同时,目前在临床化疗上应用很广的TKIs类药物,因其对恶性肿瘤细胞生长和癌症转移有显著的特异性抑制作用而被视为最有前途的化疗药物.但最近在抗肿瘤药物研究中发现,ABCG2对属TKIs类的两类药物Gleevec/Imatinib具有很高的亲和力,从而降低TKIs类药物作用于肿瘤靶点的有效性,影响了化疗疗效.因此,如同P-gp和MRP的研究状况一样,如何寻找对ABCG2更具特异性耐药蛋白的新抑制剂,仍是多药耐药性机理研究中和欲克服临床实际应用中的壁垒所面对的迫切问题.还应值得提出的是,鉴于ABCG2仅由一个NBD和一个TMD结构域构成的半分子ABC转运体,其结构相对于P-gp和MRP更简单,因此,利用X射线衍射分析或低温电镜技术获得其较高分辨率的三维结构精确信息,对于阐明ABCG转运体在底物或药物转运过程中的结构或构象变化,对于进一步揭示NBD水解ATP所提供的能量用于ABC转运体向胞外转运底物或药物,这二者功能之间的偶联关系及其分子机理,亦是ABC转运蛋白与MDR相互关系研究中所必须深入探讨、有望尽快获得进展的重要研究课题.

参 考 文 献

- Liang X J, Aszalos A. Multidrug transporters as drug targets. *Curr Drug Targets*, 2006, **7**(8): 911~921
- Doyle L A, Yang W, Abruzzo L V, *et al.* A multidrug resistance transporter from human MCF-7 breast cancer cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, **95**(26): 15665~15670
- Allikmets R, Schriml L M, Hutchinson A, *et al.* A human placenta-specific ATP-binding cassette gene (ABCP) on chromosome 4q22 that is involved in multidrug resistance. *Cancer Res*, 1998, **58**(23): 5337~5339
- Brangi M, Litman T, Ciotti M, *et al.* Camptothecin resistance: role of the ATP-binding cassette (ABC), mitoxantrone-resistance half-transporter (MXR), and potential for glucuronidation in MXR-expressing cells. *Cancer Res*, 1999, **59**(23): 5938~5946
- Merino G, van Herwaarden A E, Wagenaar E, *et al.* Sex-dependent expression and activity of the ATP-binding cassette transporter breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2) in liver. *Mol Pharmacol*, 2005, **67**(5): 1765~1771
- Szatmari I, Vamosi G, Brazda P, *et al.* Peroxisome proliferator-activated receptor gamma-regulated ABCG2 expression confers cytoprotection to human dendritic cells. *J Biol Chem*, 2006, **281**(33): 23812~23823
- Wang H, Lee E W, Zhou L, *et al.* Progesterone receptor (PR) isoforms PRA and PRB differentially regulate expression of the breast cancer resistance protein in human placental choriocarcinoma BeWo cells. *Mol Pharmacol*, 2008, **73**(3): 845~854
- Yin L, Castagnino P, Assoian R K. ABCG2 expression and side population abundance regulated by a transforming growth factor beta-directed epithelial-mesenchymal transition. *Cancer Res*, 2008, **68**(3): 800~807
- Evseenko D A, Paxton J W, Keelan J A. Independent regulation of apical and basolateral drug transporter expression and function in placental trophoblasts by cytokines, steroids, and growth factors. *Drug Metab Dispos*, 2007, **35**(4): 595~601
- Yoshikawa M, Ikegami Y, Hayasaka S, *et al.* Novel camptothecin analogues that circumvent ABCG2-associated drug resistance in human tumor cells. *Int J Cancer*, 2004, **110**(6): 921~927
- Robey R W, Honjo Y, Morisaki K, *et al.* Mutations at amino-acid 482 in the ABCG2 gene affect substrate and antagonist specificity. *Br J Cancer*, 2003, **89**(10): 1971~1978
- Bosch T M, Kjellberg L M, Bouwers A, *et al.* Detection of single nucleotide polymorphisms in the ABCG2 gene in a Dutch population. *Am J Pharmacogenomics*, 2005, **5**(2): 123~131
- Kobayashi D, Ieiri I, Hirota T, *et al.* Functional assessment of ABCG2 (BCRP) gene polymorphisms to protein expression in human placenta. *Drug Metab Dispos*, 2005, **33**(1): 94~101
- Li J, Cusatis G, Brahmer J, *et al.* Association of variant ABCG2 and the pharmacokinetics of epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors in cancer patients. *Cancer Biol Ther*, 2007, **6**(3): 432~438
- Xu J, Liu Y, Yang Y, *et al.* Characterization of oligomeric human half-ABC transporter ATP-binding cassette G2. *J Biol Chem*, 2004, **279**(19): 19781~19789
- Robey R W, Medina-Perez W Y, Nishiyama K, *et al.* Overexpression of the ATP-binding cassette half-transporter, ABCG2 (Mxr/BCrp/ABCP1), in flavopiridol-resistant human breast cancer cells. *Clin Cancer Res*, 2001, **7**(1): 145~152
- Smith V, Raynaud F, Workman P, *et al.* Characterization of a human colorectal carcinoma cell line with acquired resistance to flavopiridol. *Mol Pharmacol*, 2001, **60**(5): 885~893
- Shi Z, Parmar S, Peng X X, *et al.* The epidermal growth factor tyrosine kinase inhibitor AG1478 and erlotinib reverse ABCG2-mediated drug resistance. *Oncology Reports*, 2009, **21**(2): 483~489
- Shukla S, Robey R W, Bates S E, *et al.* Sunitinib (Sutent, SU11248), a small-molecule receptor tyrosine kinase inhibitor, blocks function of the ATP-binding cassette (ABC) transporters P-glycoprotein (ABCB1) and ABCG2. *Drug Metab Dispos*, 2009, **37**(2): 359~365
- Shukla S, Zaher H, Hartz A, *et al.* Curcumin inhibits the activity of

- ABCG2/BCRP1, a multidrug resistance-linked ABC drug transporter in mice. *Pharmaceutical Research*, 2009, **26**(2): 480~487
- 21 Zhou S, Schuetz J D, Bunting K D, *et al.* The ABC transporter Bcrp1/ABCG2 is expressed in a wide variety of stem cells and is a molecular determinant of the side-population phenotype. *Nat Med*, 2001, **7**(9): 1028~1034
- 22 Apati A, Orban T I, Varga N, *et al.* High level functional expression of the ABCG2 multidrug transporter in undifferentiated human embryonic stem cells. *Biochimica Et Biophysica Acta-Biomembranes*, 2008, **1778**(12): 2700~2709
- 23 Loebinger M R, Giangreco A, Groot K R, *et al.* Squamous cell cancers contain a side population of stem-like cells that are made chemosensitive by ABC transporter blockade. *British J Cancer*, 2008, **98**(2): 380~387
- 24 Schiedlmeier B, Schilz A J, Kuhlcke K, *et al.* Multidrug resistance 1 gene transfer can confer chemoprotection to human peripheral blood progenitor cells engrafted in immunodeficient mice. *Hum Gene Ther*, 2002, **13**(2): 233~242

Multidrug Resistance Mediated by Half ABC Transporter ABCG2*

WANG Ying-Ze^{1,2,3}, DUAN Xiang-Lin^{2**}, LI Yong-Fu⁴, LIANG Xing-Jie^{1**}

¹ Chinese Academy of Sciences Key Laboratory for Biomedical Effects of Nanomaterials and Nanosafety, National Center for Nanoscience and Technology, Beijing 100190, China;

² Laboratory of Iron Metabolism and Molecular Biology, College of Life Science, Hebei Normal University, Shijiazhuang 050016, China;

³ College of Bioscience and Bioengineering, Hebei University of Science and Technology, Shijiazhuang 050018, China;

⁴ Laboratory of Cell Biology, Center for Cancer Research, National Cancer Institute, Maryland 20892, USA

Abstract Cancers are often intrinsically resistant or become resistant to treatment with conventional chemotherapy. This broad-spectrum resistance results in large part, but not solely, from overexpression of a variety of members of the ATP-binding cassette (ABC) superfamily of transport proteins. ABCG2 (ABCP/MXR/BCRP), as a half ABC transporter, is a novel member of the ABC membrane transporters, which can actively transport a wide spectrum of drugs with varying chemical structures or cellular targets. ABCG2 is overexpressed in the intestine, liver, placenta, and the blood-brain barrier, where it plays a role in protecting the organs from potentially harmful ingested toxins. Moreover, ABCG2 is also highly expressed in hematopoietic stem cells, it seems that ABCG2 has a key function in stem cell regulation or protection from a variety of xenobiotics. Multiple of SNP (single nucleotide polymorphisms) in ABCG2 may affect absorption and distribution, altering the effectiveness and toxicity of drugs in patients. Like other members of the ABC transporter superfamily, such as MDR1 and MRP1, ABCG2 is expressed in a variety of malignancies. Overexpression of ABCG2 in tumor cells confers cancer multidrug resistance to a variety of newly developed anticancer drugs including mitoxantrone, topotecan, epirubicin, anthracyclines and camptothecins. Furthermore, ABCG2 are advocated for use as potentially selectable markers in stem cell based gene therapy. Given the profound impact of ABCG2 on multidrug resistance in tumor cells and on *in vivo* pharmacology and toxicology, a complete understanding of the mechanism and biological function of ABCG2 will be important for understanding its normal physiology as well as potentially for the development of novel chemotherapeutic treatment strategies. The discovery, the biochemistry, the normal physiology and the current insight of human ABCG2 were introduced.

Key words ABCG2, ABC transporter, multidrug resistance (MDR), cancer chemotherapy

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2009.00245

*This work was supported by grants from The Chinese Academy of Sciences (CAS) "Hundred Talents Program" (07165111ZX), China-Finland Nanotechnology (2008DFA01510) and National Basic Research Program of China (2009CB930200).

**Corresponding author.

LIANG Xing-Jie. Tel: 86-10-82545569, E-mail: liangxj@nanoctr.cn

DUAN Xiang-Lin. Tel: 86-311-86269159, E-mail: xlduan0311@163.com

Received: April 17, 2009 Accepted: June 8, 2009