

血-视网膜屏障上腺嘌呤核苷三磷酸结合盒外排转运体的研究进展

金梦梦, 刘李*, 刘晓东**

(中国药科大学药学院 药物代谢研究中心, 江苏 南京 211198)

[摘要] 血-视网膜屏障 (BRB) 是眼部重要的生物学屏障, 能够调节血液和视网膜组织之间的物质交换, 防止大分子和其他潜在的有害物质进入视网膜, 维持视网膜微环境的稳定。BRB 上表达多种外排及摄取转运体, 在一些必需营养物质的摄取和神经递质代谢物、激素和药物的外排转运中发挥关键作用。通过对 BRB 的功能、相关外排转运体的表达和分布以及疾病状态下外排转运体的改变进行综述, 以期治疗视网膜疾病和维持视网膜功能健康的新药研发提供重要信息。

[关键词] 血-视网膜屏障; 外排转运体; 糖尿病; 年龄相关性黄斑病变

[中图分类号] R969.1 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1001-5094 (2021) 05-0393-08

Research Progress of ATP-Binding Cassette Efflux Transporters on Blood-Retina Barrier

JIN Mengmeng, LIU Li, LIU Xiaodong

(School of Pharmacy & Center of Drug Metabolism and Pharmacokinetics, China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, China)

[Abstract] As an important biological barrier of the eyes, blood-retina barrier (BRB) can regulate the material exchange between blood and retinal tissue, prevent macromolecules and other potentially harmful substances from entering the retina, and maintain the stability of the retinal microenvironment. It can express a variety of efflux and uptake transporters, which play a key role in the uptake of some essential nutrients and the efflux of neurotransmitter metabolites, hormones and drugs. This paper describes the function of BRB, the expression and distribution of related efflux transporters, and the changes of efflux transporters in disease states, providing important information for the development of new drugs for the treatment of retinal diseases and the maintenance of retinal functional health.

[Key words] blood-retina barrier; efflux transporter; diabetes; age-related macular degeneration

眼是人体最复杂的感觉器官之一, 主要作用是将外部信息转变成信号传送给大脑。眼对外源性物质具有选择通透性, 这种选择主要是通过眼部的生理屏障来实现。血-视网膜屏障 (blood-retina barrier, BRB) 是调节外来物质进入眼组织的关键屏障, 限制药物从体循环进入眼后段和药物在眼后节的组织分布^[1]。与 BRB 相关的疾病, 如视网膜

静脉阻塞、糖尿病性视网膜病变、年龄相关性黄斑病变^[2], 需要相关药物的治疗。与血脑屏障类似, BRB 上存在腺嘌呤核苷三磷酸结合盒 (ATP-binding cassette, ABC) 转运体的表达, 包括 P-糖蛋白 (P-glycoprotein, P-gp)^[3]、乳腺癌耐药蛋白 (breast cancer resistance protein, BCRP)^[4] 以及多药耐药蛋白 1 (multidrug resistance protein 1, MRP1)^[4] 等重要外排转运体, 以上转运体限制环孢素 A^[5]、光敏性毒素、荧光素^[6] 等物质在视网膜的分布。随着对 BRB 上转运蛋白的研究越来越深入, 许多外源性物质被证明是 BRB 上转运蛋白的底物或抑制剂, 外排转运体的存在对眼部疾病的药物治疗带来新的挑战。

因外排转运体在眼部药物分布以及治疗过程中发挥着重要作用, 本文重点对 BRB 的功能、BRB 上的外排转运体表达和分布以及疾病状态下 BRB 上

接受日期: 2021-02-05

项目资助: 国家自然科学基金项目 (No. 82073922, No. 81872930, No. 81673505); 江苏省“333 工程” (No. BRA2020287)

*** 通信作者:** 刘李, 教授;

研究方向: 药理学和药物代谢动力学研究;

Tel: 025-83271006; **E-mail:** liulee@cpu.edu.cn

**** 通信作者:** 刘晓东, 教授;

研究方向: 药理学和药物代谢动力学研究;

Tel: 025-83271006; **E-mail:** xdlu@cpu.edu.cn

外排转运体的改变进行综述, 以期治疗视网膜疾病和维持视网膜功能健康的新药研发提供重要信息。

1 血-视网膜屏障概述

BRB 在眼部处于独特的位置, 它将视网膜与循环血液分离开, 并调节血液和视网膜组织之间的物质交换, 防止大分子和其他潜在的有害物质进入视网膜, 保持视网膜微环境的稳定^[7]。如图 1 所示, BRB 包括视网膜毛细血管内皮细胞 (retinal capillary endothelial cells, RCECs)、视网膜色素上皮 (retinal pigment epithelium, RPE) 细胞以及 Bruch's 膜和脉络膜共同作用形成的内、外屏障^[8]。RCECs 和 RPE 细胞形成紧密的单分子层, 其通常阻止溶质通过细胞旁通路在循环血液和神经视网膜之间的单层被动扩散。人类视网膜的 2/3 由内 BRB 滋养, 其余部分被外 BRB 的绒毛膜覆盖, 感光细胞的必需营养物质是通过外 BRB 供应的, 而神经元细胞如神经节细胞、

水平细胞、无长突细胞的必需营养物质主要是通过内 BRB 供应的。

BRB 限制外源性物质在视网膜上的转运从而保持视网膜微环境的稳定。由于 BRB 的存在, 口服或静脉滴注等给药方式使药物不能有效地作用于眼部, BRB 限制神经视网膜和循环血液之间的非特异性运输。然而, BRB 并不是一个不可渗透的屏障, 因为必需的营养物质可以从循环血液中有目的地转移到视网膜, 而内源性和外源性药物则可以通过 BRB 选择性地从视网膜中清除^[9-10]。关于 BRB 的最新研究进展表明, 视网膜内皮细胞和视网膜色素细胞表达多种独特的转运体, 在必要分子的内流转运和神经递质代谢物、激素和药物的外排转运中发挥关键作用^[10-11]。如 BRB 上的 P-gp 通过外排作用限制环孢素 A、奎尼丁等药物在眼内的分布, 为在视网膜上获得足够浓度的药物, 需要提高剂量, 但这样可能会对其他组织产生毒性^[10]。

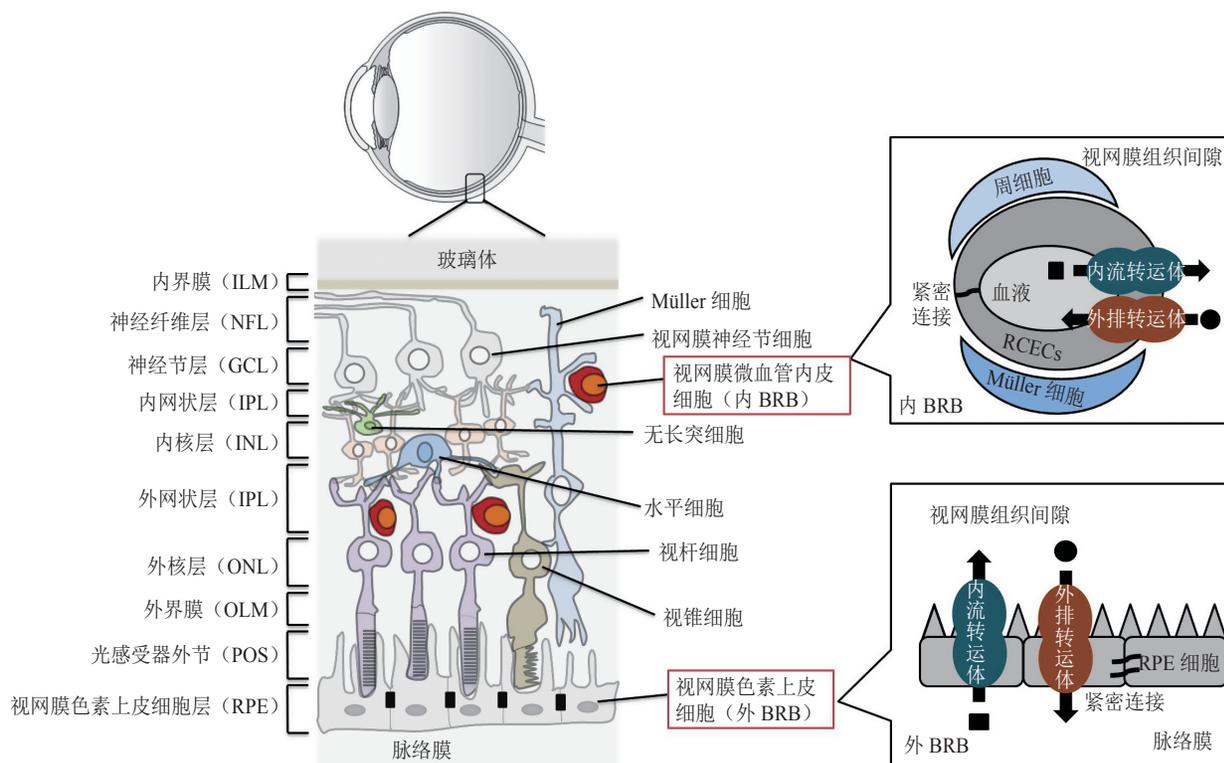


图 1 BRB 的结构示意图

Figure 1 Schematic diagram of the BRB

2 BRB 上的 ABC 外排转运蛋白

外排转运蛋白主要属于 ABC 转运体家族, 几种

常见的 ABC 外排转运蛋白如 P-gp、BCRP、MRPs 在 BRB 上存在 (见表 1)。BRB 上的外排转运体限

制一些特异性底物在视网膜上的递送, 外排转运蛋白的存在成为决定视网膜组织液中底物浓度的主要影响因素, 是视网膜重要的保护系统。

2.1 P-糖蛋白

2.1.1 P-糖蛋白的结构 P-gp 的相对分子质量约为 1 700 000, 含有 2 条氨基酸链, 每条链由 6 个跨膜结构域和 1 个核苷酸结合结构域组成^[12]。N 端和 C 端均为细胞质, 第 1 个细胞外环含有 3 个糖基化位点^[13]。作为一种膜结合 ATP 依赖的外排转运蛋白, P-gp 能快速清除各种化疗药物和亲脂化合物。

2.1.2 P-糖蛋白的表达 在生理条件下, 正常细胞通过 P-gp 排出特异性物质, 而在 P-gp 过表达的肿瘤细胞中, 抗癌药物通过这些外排体转运到细胞外基质中^[7]。据相关文献报道, P-gp 作为一种外排转运体在血脑屏障的管腔侧表达^[14-15], 其参与代谢物和外来物质包括药物的脑-血转运。在眼睛中, P-gp 表

达在内 BRB 的管腔侧和外 BRB 的根尖和基底侧^[16-17], 以及在血-房水屏障的虹膜、睫状肌和非色素的睫状上皮细胞中^[18-19]; 在外 BRB 中, P-gp 主要表达在基底外侧膜上, 介导底物从 RPE 主动转运到血液中, 并在限制底物从脉络膜基质跨越 RPE 细胞扩散到神经视网膜的过程中起关键作用。在小鼠中, P-gp 在外 BRB 上低表达或无表达^[20]。在色素上皮细胞中, 如表 1 所示, P-gp 在人 RPE 和猪 RPE 原代细胞中表达, P-gp 的免疫反应性主要与人的 RPE 的根尖和基底外侧细胞膜的定位有关^[21]。在色素上皮细胞系中, P-gp 仅在 D407 细胞中表达^[22], 重要的是 P-gp 的表达和功能在 D407 细胞的线粒体中被证实, 并且被过氧化氢上调^[17]。在视网膜微血管内皮细胞中, P-gp 在大鼠和牛视网膜微血管中表达, 在永生细胞系 TR-iBRB 中也有所表达^[22]。

表 1 BRB 上的外排转运体

Table 1 Efflux transporters of BRB

| 家族成员 | 表达部位 | 功能证据 | 转运药物 |
|------|--|---|--------------------------------------|
| P-gp | 人 RPE、猪 RPE、D407、大鼠和牛视网膜微血管、TR-iBRB | 人原代 RPE、D407、TR-iBRB 细胞 P-gp 抑制剂或底物, 罗丹明 123 产生蓄积; 口服给药后环孢素 A 不能通过 (兔、大鼠、人) BRB | 环孢素 A、柔红霉素、阿霉素、伊立替康、紫杉醇、奎尼丁、维拉帕米、长春碱 |
| BCRP | 鼠视网膜血管、TR-iBRB、D407、原代小鼠 RPE、人 hfRPE、猪 RPE、人 RPE | 在 TR-iBRB 细胞中, BCRP 抑制剂存在时, 脱镁叶绿酸 a 和原叶啉 IX 蓄积 | 阿霉素、聚谷氨酰甲氨蝶呤、米托蒽醌、拓扑替康、多柔比星 |
| MRP1 | 人原代 RPE 细胞、ARPE-19、猪 RPE | 在 ARPE-19 和 HRPE 细胞中, MRP1 抑制剂如丙磺舒、吡喹酮存在时, 荧光素蓄积增加 | 荧光素、柔红霉素、阿霉素、长春碱 |
| MRP4 | 人原代 RPE 细胞、D407、ARPE-19 | 未披露 | 对氨基马尿酸、苜蓿芽素、荧光素、6-巯基代谢物 |
| MRP5 | 人原代 RPE 细胞、D407、ARPE-19 | 未披露 | 甲氨蝶呤、5-氟尿嘧啶、GSH 结合物 |

GSH: glutathione (谷胱甘肽); TR-iBRB: conditionally immortalized retinal capillary endothelial cell line (条件永生视网膜微血管内皮细胞系); hfRPE: human fetal retinal pigment epithelium (人胚胎视网膜色素上皮细胞系); ARPE-19: adult retinal pigment epithelial cell line-19 (成人视网膜色素上皮细胞系-19); HRPE: human retinal pigment epithelial cell (人视网膜色素上皮细胞)

2.1.3 P-糖蛋白的转运底物 P-gp 可以转运多种结构的底物^[23], 其中包括很多临床上的药物如化疗药物、艾滋病病毒蛋白酶抑制剂、免疫抑制剂等。在 BRB 上, 如表 1 所示, P-gp 主要转运的药物有抗肿瘤药物^[10] (长春碱和紫杉醇)、抗生素^[10] (氧氟沙星和红霉素)、咪康唑^[22]、类固醇^[22]、免疫抑制剂^[22] (地塞米松和氢化可的松)、奎尼丁^[10]、维拉帕米等^[10]。环孢素 A 也是 P-gp 的底物, 虽然在血浆中检测到显著水平的环孢素 A, 但在环孢素 A 治疗的兔子^[24]、大鼠^[5] 的眼内组织中未检测到。这些证据表明, BRB 上的 P-gp 在保护视网膜免受外来物质

的影响方面起着重要的作用, 阻碍药物在视网膜上的转运。

2.2 乳腺癌耐药蛋白

2.2.1 乳腺癌耐药蛋白的结构 BCRP 是大型 ABC 转运蛋白超家族 G 亚家族的第 2 个成员, 被命名为 ATP 结合盒转运蛋白 G2 (ATP binding cassette subfamily G member 2, ABCG2)。BCRP 是一个多结构域的跨膜蛋白, 含有 655 个氨基酸, 相对分子质量约为 72 000, 其 N 端为细胞质, 单个糖基化位点位于第 3 个细胞外环上^[25]。BCRP 的特征使其区别于包括 P-gp 和 MRP1 在内的大多数 ABC 转运体,

作为一种半 ABC 转运体, 只有 1 个核苷酸结合结构域和 1 个跨膜结构域^[7]。

2.2.2 乳腺癌耐药蛋白的表达 近年来, 通过免疫标记法证明在小鼠、大鼠视网膜毛细血管内皮细胞和永生化细胞系 TR-iBRB 的管腔侧有 BCRP 的表达^[22]。一些报道也证实 BCRP 在外 BRB 中的表达。液相色谱-串联质谱 (LC-MS/MS) 分析显示 BCRP 在人胚胎 RPE 和 ARPE-19 中无表达^[26], 但在猪的内 BRB 和外 BRB 中仍检测到高水平的 BCRP 蛋白^[27]。如表 1 所示, 在被检测的 3 种人 RPE 细胞系 (ARPE-19、D407 和 HRPEpiC) 和牛原代细胞中, BCRP 只在 D407 细胞中被检测到^[28], 但是 BCRP 的 mRNA 在神经视网膜、RPE 眼窝和原代小鼠 RPE 细胞中都有检测到。蛋白免疫反应表明 BCRP 的蛋白表达几乎只局限于 RPE 细胞层, 主要在 RPE 的基底外侧膜^[21]。在内 BRB 中, BCRP 在小鼠的视网膜中有表达^[29]; 在外 BRB 中, BCRP 表达于人的 hfRPE 细胞中、猪的视网膜色素上皮组织中和小鼠的视网膜色素上皮中^[29]。

2.2.3 乳腺癌耐药蛋白的转运底物 BCRP 可以同时转运带正电荷和负电荷的药物, 如化疗药物、酪氨酸激酶抑制剂、核苷和核苷酸类似物等。在 BRB 中, BCRP 不仅可以转运米托蒽醌、多柔比星和阿霉素^[10]等药物, 也可以转运光敏感毒素, 包括与卟啉有关的叶绿素来源的膳食光毒素^[3] (见表 1)。视网膜是一个高度感光器官, 很容易受到光毒性化合物的光照造成的损害, Asashima 等^[30]证明 BCRP 作为光敏感毒素如脱镁叶绿酸和原卟啉 IX 的外排转运体, 限制光毒素和外源性物质在视网膜上的分布, 在内 BRB 上发挥重要作用。

2.3 多药耐药蛋白

2.3.1 多药耐药蛋白的结构 MRP1 又称 ATP 结合盒转运蛋白 C1 (ATP binding cassette subfamily c member 1, ABCC1), 相对分子质量约为 190 000, MRPs 的结构与 P-gp 的结构相似, 其核心功能单位由 2 个跨膜结构域和 2 个核苷酸结合结构域组成, 每个跨膜结构域由 5~6 个跨膜螺旋结构组成, 胞外 N 端携带 2 条寡糖链, 其 C 端为细胞质, 在胞外环上有一个附加的糖基化位点^[31]。人 MRP1 (ABCC1)

包含 1 531 个氨基酸, 哺乳动物中 MRP1 蛋白 N-糖基化且磷酸化。MRP4 (ABCC4) 是 MRP 蛋白结构中最小的, 长度为 1 325 个氨基酸, 二级结构与 MRP5 (ABCC5) 相似^[23]。

2.3.2 多药耐药蛋白的表达 MRPs 在视网膜内屏障和外屏障都有表达, 但主要表达在外 BRB 上。如表 1 所示, BRB 上表达较高的是 MRP1、MRP4 和 MRP5。在分离的小鼠^[32]和大鼠视网膜毛细血管内皮细胞^[9]中验证内 BRB 的 MRPs 的转录水平, 其中, MRP4 (ABCC4) 的表达水平最高, 而小鼠的 MRP3 (ABCC3) 和 MRP6 (ABCC6) 以及大鼠的 MRP6 (ABCC6) 的表达水平较低, 并且 MRP4 蛋白定位在小鼠内 BRB 的管腔膜上^[33]。MRPs 的几种基因型中, MRP1、MRP4 和 MRP5 在原代培养的 RPE 细胞和 ARPE-19 细胞中表达^[22]。虽然这些 MRPs 的定位尚不清楚, 但功能实验提示 MRPs 位于 RPE 细胞的基底外侧膜上^[34]。除在人原代 RPE 和 ARPE-19 细胞表达外, MRP1 还在猪 RPE 细胞中表达, MRP4 和 MRP5 在 D407 中表达^[22]。MRP 底物荧光素在血-眼通透性中的方向性支持 MRP 活性的潜在临床意义。在猴子和人类中, 荧光素在玻璃体到血液方向的平均速度约为 $10^{-5} \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$, 而在相反方向的速度仅为 $10^{-7} \sim 10^{-6} \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$ ^[35-37]。与以上早期研究一致, 荧光素在离体猪 RPE 组织片的视网膜到脉络膜方向的通透性比相反方向高 11.3 倍^[38]。当加入 MRP1 抑制剂丙磺舒时, 渗透率差相等, 表明 MRP1 转运体在 RPE 脉络膜侧表达。最近有研究表明, MRPs 在小鼠外 BRB 的基底膜侧存在表达和活性, 使用 MRPs 的广谱抑制剂 MK571, 视网膜中齐多夫定的含量增加^[20]。

2.3.3 多药耐药蛋白的转运底物 MRPs 主要转运的是有机阴离子化合物, 如葡萄糖醛酸结合物和 GSH 结合物^[3]。BRB 上表达较高的是 MRP1、MRP4 和 MRP5。MRP1 在保护某些特定的组织免受外源物质的入侵中发挥重要的作用, 并介导促进炎症发生的半胱氨酰白三烯 C4 以及大量的其他内源和外源性有机阴离子物质的流出。在 BRB 中, MRP1 转运的药物有亲脂性药物、有机阳离子萘环类药物^[22]、长春碱^[10]、表鬼臼毒素^[22]、柔红霉素^[10]、依托泊苷^[16]

等, MRP4 转运的药物包括有机阴离子药物^[16]、有机阳离子药物^[16]、对氨基马尿酸^[16]、6-巯基嘌呤^[16]、 β -内酰胺类抗生素^[10]等。MRP5 转运的药物主要是 II 相生物转化产物^[22]、胆红素双葡萄糖酸^[22]、GSH 结合物^[22]、5-氟尿嘧啶^[22]、甲氨蝶呤^[10]等(见表 1)。

3 疾病状态下血-视网膜屏障以及其外排转运体的改变

糖尿病视网膜病变是糖尿病的一种并发症,其产生与 BRB 功能和结构的改变有关。糖尿病视网膜病变通常表现为微血管病变,但其他细胞如 RPE 细胞也会受到影响。与 BRB 有关的糖尿病视网膜病变的产生机制^[23]主要有: 1) 高血糖状态下炎症因子生成和释放的增加、诱导微血管连接蛋白重新分布、白细胞活化、细胞间黏附分子-1 的释放以及其他细胞黏附分子的释放从而增加血管通透性。2) 糖尿病视网膜病变通常与视网膜血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF) 升高有关, VEGF 主要通过 2 种方式在糖尿病视网膜病变中产生病理生理效应^[39], 一种是 VEGF 通过影响内皮细胞紧密连接增加血管通透性, 导致液体外渗和视网膜水肿; 另一种是 VEGF 引起视网膜微血管内白细胞聚集, 引起局部细胞因子的产生和炎症细胞通过内皮细胞迁移, 促进 BRB 的破坏。3) 高血糖引起细胞内山梨醇积累, 导致 RCECs 和 RPE 细胞渗透损伤, 周细胞丢失, 基底膜厚度改变和氧化应激, 最终导致内 BRB 破裂。

疾病状态下可能会影响视网膜上外排转运体的表达。据文献报道, 注射链脲佐菌素 24 周后的糖尿病小鼠视网膜上 P-gp 和 BCRP 显著下调, 内 BRB 分解, 这可能与早期糖尿病视网膜病变的发病机制有关^[40]。在 D407 细胞中, 高糖暴露显著降低 P-gp mRNA 和蛋白的表达水平, 降低 P-gp 的活性, 增加诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS) mRNA 和蛋白的表达。高糖暴露也降低妊娠烷 X 受体 mRNA 的表达。一种选择性 iNOS 抑制剂可部分阻断高糖环境引起的这些改变。以上结果表明, 在人外 BRB 上, 高血糖可诱导

iNOS 下调 P-gp 的功能和表达^[40]。

氧化应激诱导糖尿病视网膜病变和老年性黄斑病变中 RPE 细胞的功能障碍, RPE 细胞中的还原型 GSH 在细胞抗氧化过程中发挥重要作用。RPE 细胞主要通过 MRP1 外排 GSH 来维持胞内 GSH 水平。在 ARPE-19 细胞中, MRP 抑制剂 MK571 可显著抑制 GSH 的外排, 使用 MRP1 特异性 siRNA 沉默 MRP1 也能显著减少 GSH 外排。此外, MRP1 的下调可抵抗 H₂O₂ 诱导的细胞死亡。相反, MRP1 过表达易受到 H₂O₂ 诱导的细胞死亡的影响, 这与 MRP1 过表达细胞中 GSH 水平降低一致^[41]。这些结果表明, MRP1 通过外排 GSH 在氧化诱导的细胞死亡中发挥作用, MRP1 可能是氧化应激相关的视网膜退行性疾病的潜在治疗靶点。

早产儿视网膜病变(retinopathy of prematurity, ROP) 是引起儿童视力丧失的主要原因, 是影响早产婴儿的一种眼病。ROP 的主要原因是视网膜缺氧引起的视网膜血管异常增生。Tagami 等^[33]证明外排转运体 P-gp、BCRP 和 MRP4 的表达在小鼠的整个发育过程中持续存在, 在氧诱导视网膜病变模型中, P-gp 在新生血管中表达不变, 而 BCRP 和 MRP4 表达降低。据报道, P-gp 与 caveolin-1 协同作用, 在体外调节脑内皮细胞迁移和小管生成^[42]。因此, P-gp 可能是血管生成的关键调控因子, 可能成为抗血管生成的潜在治疗靶点。

外排转运体的表达也与年龄相关性黄斑变性相关, Sene 等^[43]研究发现, 年龄相关的 ABC 转运蛋白 ABCA1 和 ABCG1 表达减少损害巨噬细胞的外排能力, 导致胆固醇积累增加, 从而促进年龄相关黄斑变性的发展。

4 结语

BRB 由视网膜毛细血管内皮细胞和视网膜色素上皮细胞形成的内 BRB 和外 BRB 组成, 在神经视网膜与循环血液之间的药物和营养转运中具有不可替代的作用。外源性物质通过 BRB 上转运蛋白的转运(内 BRB 和外 BRB) 才能到达神经视网膜上发挥作用, 这突出了 BRB 上转运蛋白的重要性。BRB 上的有机阴离子转运多肽(organic anion transporting

polypeptide, OATP)、有机阴离子转运体(organic anion transporter, OAT)、MRPs 和 ABCG2 参与阴离子药物的外排转运。因此, 亲水性阴离子药物不能轻易地从循环血液中传递到视网膜。除上述外排转运体之外, 核苷转运体 2 (equilibrative nucleoside transporter 2, ENT2)、还原型叶酸载体 1 (reduced folate carrier 1, RFC1)/ 耦合质子叶酸转运体 (proton-coupled folate transporter, PFCT)、单羧酸转运体 (monocarboxylate transporters, MCTs) 等内流转运体^[3], 也参与底物药物和生理底物从血液

到视网膜的转运。因此可见转运体介导的 BRB 转运比被动扩散具有更大的优势。这些外排转运蛋白通过保护组织免受外源性和内源性物质代谢产物的毒害, 在正常生理和病理生理中发挥重要作用。研发能够跨越 BRB 治疗视网膜疾病的药物时, 设计和选择最佳候选药物中需要重点考虑其能被内流转运体识别, 以及同时能避免 BRB 的外排转运体。通过对视网膜转运蛋白的研究, 有望为治疗视网膜疾病和维持视网膜功能健康的新药研发提供重要信息。

[参考文献]

- [1] 唐仕波, 唐细兰. 眼科药物治疗学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2010.
- [2] 陈祖基. 重视眼部给药系统的研究 [J]. 中华眼科杂志, 2006, 42(4): 292-295.
- [3] Hosoya K, Tomi M, Tachikawa M. Strategies for therapy of retinal diseases using systemic drug delivery: relevance of transporters at the blood-retinal barrier[J]. *Expert Opin Drug Deliv*, 2011, 8(12): 1571-1587.
- [4] Li M S, Xin M, Guo C L, et al. Differential expression of breast cancer-resistance protein, lung resistance protein, and multidrug resistance protein 1 in retinas of streptozotocin-induced diabetic mice[J]. *Int J Ophthalmol*, 2017, 10(4): 515-523.
- [5] Benezra D, Maftzir G. Ocular penetration of cyclosporine A in the rat eye[J]. *Arch Ophthalmol*, 1990, 108(4): 584-587.
- [6] Mannermaa E, Vellonen K S, Urtti A. Drug transport in corneal epithelium and blood-retina barrier: emerging role of transporters in ocular pharmacokinetics[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2006, 58(11): 1136-1163.
- [7] Mao Q C, Unadkat J D. Role of the breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2) in drug transport-an update[J]. *AAPS J*, 2015, 17(1): 65-82.
- [8] Díaz-Coránguez M, Ramos C, Antonetti D A. The inner blood-retinal barrier: cellular basis and development[J/OL]. *Vision Res*, 2017, 139: 123-137[2021-02-05]. <https://doi.org/10.1016/j.visres.2017.05.009>.
- [9] Hosoya K, Tachikawa M. Inner blood-retinal barrier transporters: role of retinal drug delivery[J]. *Pharm Res*, 2009, 26(9): 2055-2065.
- [10] Tomi M, Hosoya K. The role of blood-ocular barrier transporters in retinal drug disposition: an overview[J]. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, 2010, 6(9): 1111-1124.
- [11] Ganapathy V, Thangaraju M, Gopal E, et al. Sodium-coupled monocarboxylate transporters in normal tissues and in cancer[J]. *AAPS J*, 2008, 10(1): 193-199.
- [12] Mollazadeh S, Sahebkar A, Hadizadeh F, et al. Structural and functional aspects of P-glycoprotein and its inhibitors[J/OL]. *Life Sci*, 2018, 214: 118-123[2021-02-05]. [https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0024-3205\(18\)30673-8](https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0024-3205(18)30673-8). DOI: 10.1016/j.lfs.2018.10.048.
- [13] Sharom F J. ABC multidrug transporters: structure, function and role in chemoresistance[J]. *Pharmacogenomics*, 2008, 9(1): 105-127.
- [14] Tsuji A. Small molecular drug transfer across the blood-brain barrier via carrier-mediated transport systems[J]. *NeuroRx*, 2005, 2(1): 54-62.
- [15] Tsuji A, Terasaki T, Takabatake Y, et al. P-glycoprotein as the drug efflux pump in primary cultured bovine brain capillary endothelial cells[J]. *Life Sci*, 1992, 51(18): 1427-1437.
- [16] Shen J, Cross S T, Tang-Liu D D S, et al. Evaluation of an

- immortalized retinal endothelial cell line as an *in vitro* model for drug transport studies across the blood-retinal barrier[J]. *Pharm Res*, 2003, 20(9): 1357–1363.
- [17] Kennedy B G, Mangini N J. P-glycoprotein expression in human retinal pigment epithelium[J/OL]. *Mol Vis*, 2002, 8: 422–430[2021-02-05]. <http://www.molvis.org/molvis/v8/a50/>.
- [18] Zhang T, Xiang C D, Gale D, *et al.* Drug transporter and cytochrome P450 mRNA expression in human ocular barriers: implications for ocular drug disposition[J]. *Drug Metab Dispos*, 2008, 36(7): 1300–1307.
- [19] Wu J, Zhang J J, Koppel H, *et al.* P-glycoprotein regulates a volume-activated chloride current in bovine non-pigmented ciliary epithelial cells[J]. *J Physiol*, 1996, 491 (Pt3): 743–755.
- [20] Chapy H, Saubaméa B, Tournier N, *et al.* Blood-brain and retinal barriers show dissimilar ABC transporter impacts and concealed effect of P-glycoprotein on a novel verapamil influx carrier[J]. *Br J pharmacol*, 2016, 173(3): 497–510.
- [21] Zhang Y H, Li J, Yang W Z, *et al.* Mitochondrial expression and activity of P-glycoprotein under oxidative stress in outer blood-retinal barrier[J]. *Int J Ophthalmol*, 2017, 10(7): 1055–1063.
- [22] 陈翀, 许迅. 血-视网膜屏障转运载体的研究进展 [J]. 中华实验眼科杂志, 2015, 33(12): 1131–1137.
- [23] Liu L, Liu X D. Roles of drug transporters in blood-retinal barrier[J/OL]. *Adv Exp Med Biol*, 2019, 1141: 467–504[2021-02-05]. https://link.springer.com/chapter/10.1007%2F978-981-13-7647-4_10. DOI: 10.1007/978-981-13-7647-4_10.
- [24] Benezra D, Maftzir G. Ocular penetration of cyclosporin A. The rabbit eye[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 1990, 31(7): 1362–1366.
- [25] Diop N K, Hrycyna C A. N-linked glycosylation of the human ABC transporter ABCG2 on asparagine 596 is not essential for expression, transport activity, or trafficking to the plasma membrane[J]. *Biochemistry*, 2005, 44(14): 5420–5429.
- [26] Pelkonen L, Sato K, Reinisalo M, *et al.* LC-MS/MS based quantitation of ABC and SLC transporter proteins in plasma membranes of cultured primary human retinal pigment epithelium cells and immortalized ARPE19 cell line[J]. *Mol Pharm*, 2017, 14(3): 605–613.
- [27] Zhang Z, Uchida Y, Hirano S, *et al.* Inner blood-retinal barrier dominantly expresses breast cancer resistance protein: comparative quantitative targeted absolute proteomics study of CNS barriers in pig[J]. *Mol Pharm*, 2017, 14(11): 3729–3738.
- [28] Mannermaa E, Vellonen K S, Ryhänen T, *et al.* Efflux protein expression in human retinal pigment epithelium cell lines[J]. *Pharm Res*, 2009, 26(7): 1785–1791.
- [29] Vellonen K S, Hellinen L, Mannermaa E, *et al.* Expression, activity and pharmacokinetic impact of ocular transporters[J/OL]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2018, 126: 3–22[2021-02-05]. [https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0169-409X\(17\)30312-5](https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0169-409X(17)30312-5). DOI: 10.1016/j.addr.2017.12.009.
- [30] Asashima T, Hori S, Ohtsuki S, *et al.* ATP-binding cassette transporter G2 mediates the efflux of phototoxins on the luminal membrane of retinal capillary endothelial cells[J]. *Pharm Res*, 2006, 23(6): 1235–1242.
- [31] Hipfner D R, Almquist K C, Leslie E M, *et al.* Membrane topology of the multidrug resistance protein (MRP). A study of glycosylation-site mutants reveals an extracytosolic NH₂ terminus[J]. *J Biol Chem*, 1997, 272(38): 23623–23630.
- [32] Tachikawa M, Toki H, Tomi M, *et al.* Gene expression profiles of ATP-binding cassette transporter A and C subfamilies in mouse retinal vascular endothelial cells[J]. *Microvasc Res*, 2008, 75(1): 68–72.
- [33] Tagami M, Kusuhara S, Honda S, *et al.* Expression of ATP-binding cassette transporters at the inner blood-retinal barrier in a neonatal mouse model of oxygen-induced retinopathy[J/OL]. *Brain Res*, 2009, 1283: 186–193[2021-02-05]. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2017.12.009>.
- [34] Aukunuru J V, Sunkara G, Bandi N, *et al.* Expression of multidrug resistance-associated protein (MRP) in human retinal pigment epithelial cells and its interaction with BAPSG, a novel aldose reductase inhibitor[J]. *Pharm Res*, 2001, 18(5): 565–572.

- [35] Blair N P, Rusin M M. Blood-retinal barrier permeability to carboxyfluorescein and fluorescein in monkeys[J]. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 1986, 224(5): 419–422.
- [36] Cunha-Vaz J G, Maurice D M. The active transport of fluorescein by the retinal vessels and the retina[J]. *J Physiol*, 1967, 191(3): 467–486.
- [37] Oguro Y, Tsukahara Y, Saito I, *et al.* Estimation of the permeability of the blood-retinal barrier in normal individuals[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 1985, 26(7): 969–976.
- [38] Steuer H, Jaworski A, Elger B, *et al.* Functional characterization and comparison of the outer blood-retina barrier and the blood-brain barrier[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2005, 46(3): 1047–1053.
- [39] Deissler H L, Lang G K, Lang G E. Capacity of aflibercept to counteract VEGF-stimulated abnormal behavior of retinal microvascular endothelial cells[J/OL]. *Exp Eye Res*, 2014, 122: 20–31[2021-02-05]. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2014.02.024>.
- [40] Lin Y X, Bircsak K M, Gorczyca L, *et al.* Regulation of the placental BCRP transporter by PPAR gamma[J/OL]. *J Biochem Mol Toxicol*, 2017, 31(5): 10.1002/jbt.21880[2021-02-05]. <https://doi.org/10.1002/jbt.21880>.
- [41] Sreekumar P G, Spee C, Ryan S J, *et al.* Mechanism of RPE cell death in α -crystallin deficient mice: a novel and critical role for MRP1-mediated GSH efflux[J]. *PLoS One*, 2012, 7(3): e33420[2021-02-05]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3307734/>. DOI: 10.1371/journal.pone.0033420.
- [42] Barakat S, Turcotte S, Demeule M, *et al.* Regulation of brain endothelial cells migration and angiogenesis by P-glycoprotein/caveolin-1 interaction[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 372(3): 440–446.
- [43] Sene A, Khan A A, Cox D, *et al.* Impaired cholesterol efflux in senescent macrophages promotes age-related macular degeneration[J]. *Cell Metab*, 2013, 17(4): 549–561.



【专家介绍】刘李：教授，博士生导师。江苏省“青蓝工程”学术带头人、“333工程”第三层次和“六大人才高峰”培养对象。专业方向为药物代谢动力学，研究方向：疾病状态下代谢酶和转运体功能与表达调控及其对物质代谢影响。近5年共发表相关SCI论文30余篇，其中Web of Science分区Q1杂志共计7篇，同时也有部分研究工作发表在药代动力学领域权威期刊如*Drug Metab Dispos*、*Biochem Pharmacol*、*Clin Pharmacokinet*、*Drug Metab Dispos*、*Biochem Pharmacol*和*Clin Pharmacokinet*等。主持国家自然科学基金3项和省自然科学基金（2016年面上项目）1项，主持制药企业创新药物研究合作项目6项。



【专家介绍】刘晓东：教授，博士生导师。中国药理学会数学药理学理事、中国药理学会药物代谢动力学专业委员会副主任委员、江苏省青蓝工程跨世纪省级学术带头人培养对象和江苏省“333工程”培养对象（第二层次）。2009年度入选江苏高等学校优秀科技创新团队带头人，享受国务院政府特殊津贴。主要研究方向：中药药物代谢动力学、血脑屏障与药物转运、药物相互作用和创新药物的药代动力学研究。主持多项国家自然科学基金项目，主持教育部双语示范课程建设。发表SCI论文百余篇，获得江苏省科学技术进步一等奖（排第2）1项和国家科学技术进步二等奖（排第2）1项。