

郭 荔, 胡冬民, 戴小华, 等. 糖尿病大鼠 P-糖蛋白编码基因 *Abcb1* mRNA 的表达及其对口服恩诺沙星药动学的影响[J]. 江苏农业学报, 2017, 33(4): 874-880.

doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2017.04.023

糖尿病大鼠 P-糖蛋白编码基因 *Abcb1* mRNA 的表达及其对口服恩诺沙星药动学的影响

郭 荔, 胡冬民, 戴小华, 王丽平

(南京农业大学动物医学院, 江苏 南京 210095)

摘要: 试验旨在研究糖尿病大鼠肝脏、肾脏、空肠和回肠中 P-糖蛋白编码基因 *Abcb1* mRNA 的表达水平及其对口服恩诺沙星药动学的影响。通过链脲佐菌素 (STZ) 诱导建立清洁级雄性 Sprague-Dawley (SD) 大鼠的糖尿病模型, 采用实时荧光定量法检测并比较 2 组 (健康组和糖尿病组) 大鼠不同器官中 *Abcb1* mRNA 的表达差异, 采用高效液相色谱法 (HPLC) 进一步测定糖尿病大鼠口服恩诺沙星的血药浓度。结果表明, 糖尿病大鼠肝脏和回肠中 *Abcb1a* mRNA 的表达量显著高于健康组 ($P < 0.05$), 肾脏和空肠中 *Abcb1a* mRNA 的表达量虽有波动, 但差异不显著 ($P > 0.05$)。健康大鼠各器官中 *Abcb1b* mRNA 的表达水平与糖尿病大鼠相比未见显著差异 ($P > 0.05$)。口服恩诺沙星的药动学结果表明, 糖尿病组大鼠血液中恩诺沙星的峰浓度、0~12 h 的药-时曲线下面积和表观分布容积与健康组大鼠相比, 均发生显著变化 ($P < 0.01$, $P < 0.05$, $P < 0.05$), 其他药动学参数虽有变化, 但差异不显著 ($P > 0.05$)。推测, 糖尿病会导致大鼠体内 *Abcb1a* mRNA 的表达量发生变化, 进一步导致口服药物在大鼠体内药动学过程发生变化。

关键词: P-糖蛋白编码基因 *Abcb1*; 大鼠; 糖尿病; 药动学参数

中图分类号: S859.79 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2017)04-0874-07

Abcb1 mRNA expression levels in different organs of diabetic rats and the effect on pharmacokinetics of oral enrofloxacin

GUO Li, HU Dong-min, DAI Xiao-hua, WANG Li-ping

(College of Veterinary Medicine, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: To detect the *Abcb1* mRNA expression in liver, kidney and intestines of diabetic rats and analyze its effect on the pharmacokinetics of oral enrofloxacin, the diabete model was firstly established. Real time RT-PCR method was used to detect the expression level of *Abcb1* mRNA in different organs of diabetic and healthy rats. High performance liquid chromatography was applied to determine the concentration of enrofloxacin in diabetic rats. The results showed that the *Abcb1a*

mRNA expression levels were increased significantly in the liver and ileum of diabetic rats ($P < 0.05$), but the differences were small in the jejunum and kidney ($P > 0.05$). The expression levels of *Abcb1b* showed in significant differences in the organs of both diabetic and healthy rats ($P > 0.05$). The pharmacokinetic parameters C_{\max} and AUC_{0-12h} significantly decreased ($P < 0.01$, $P < 0.05$), and

收稿日期: 2017-03-20

基金项目: 国家重点研发计划 (2016YFD0501309); 江苏省高校“青蓝工程”中青年学术带头人项目 (2014)

作者简介: 郭 荔 (1990-), 女, 内蒙古包头人, 硕士研究生, 主要从事兽医药理学与毒理学研究。 (E-mail) 1183820727@qq.com

通讯作者: 王丽平, (E-mail) wlp71@163.com

V/F significantly increased ($P < 0.05$) in diabetic rats. Other parameters did not show significant difference from those of healthy rats. Diabete might have led to the expression change of *Abcb1a* mRNA in rats, which could further cause the pharmacokinetics change of oral medications.

Key words: P-glycoprotein-encoding gene *Abcb1*; Sprague-Dawley rat; diabete; pharmacokinetic parameter

继 Juliano 和 Ling^[1] 在中国仓鼠卵巢细胞中发现 P-糖蛋白(P-glycoprotein, P-gp)后,又有研究者发现其在其他肿瘤细胞及机体正常组织中也高量表达^[2-5]。进一步研究结果表明,P-gp 由 *Abcb1* 基因编码,相对分子量约为 170 000,由 2 个跨膜结构域(TMD)和 2 个核苷酸结构域(NBD)组成,TMDs 可识别并转运底物,NBDs 则与三磷酸腺苷(Adenosine triphosphate, ATP)水解偶联底物以及跨膜转运有关^[6-7],所以机体 P-gp 可借助 ATP 水解产生的能量结合底物并将其外排到细胞外,有利于机体将有害物质排出体外,从而保护机体不受外源化合物的影响^[8-9]。随着药剂学的发展,发现 P-gp 对药物的体内过程也会产生显著影响,如 Zhang 等^[10]发现肠道中 P-gp 和 CYP450 的存在显著降低了某些药物的口服生物利用度。Bunting 等^[11]发现血睾和血脑屏障组织中含有丰富的 P-gp,可减少大脑和睾丸组织中部分药物的进入量。目前,对 P-gp 表达和调控机制的研究已成为药剂学研究领域的热点。

糖尿病是严重危害人类健康的慢性内分泌代谢性疾病之一,其并发症是继心脑血管疾病和肿瘤之后人类的第三大致死原因^[12]。兽医临床中,宠物糖尿病的发生比例也逐渐升高,而临床中对糖尿病动物体内 P-gp 表达与功能活性变化的研究较少,尤其是关于 P-gp 表达以及功能变化之后其与药物相互作用关系的研究更为少见。有学者采用体外方法研究高糖水平对 P-gp 表达和功能的影响,如 Liu 等^[13]对原代脑微血管内皮细胞 P-gp 进行研究,结果表明,治疗剂量的胰岛素可促进细胞内 P-gp 表达。Zhang 等^[14]发现不同糖浓度处理人视网膜上皮细胞(D407)后 *Abcb1* mRNA 和 P-gp 表达水平均下降,并明确了葡萄糖主要是通过 iNOS 通路调控 P-gp 的表达与功能。温绍艳等^[15]发现,MCF-7/ADR 细胞的 *Abcb1* mRNA 表达水平与葡萄糖浓度有直接关系。本研究以此为切入点,拟在糖尿病大鼠模型中进一步探究大鼠 P-gp 编码基因 *Abcb1* 的 2 个亚型 *Abcb1a* 和 *Abcb1b* mRNA 在不同组织中表达水平的变化及其对恩诺沙星药动学的影响,以期对糖尿病动

物临床合理用药提供依据。

1 材料与方法

1.1 试剂

链脲佐菌素(STZ)为 Sigma 公司产品,血糖检测仪为三诺安稳有限公司产品,RNATM Plus 试剂为 TaKaRa 公司产品,*M-MLV* 酶为 Promega 公司产品,RNase inhibitor、dNTP 和随机引物均为生兴生物技术有限公司产品,普通 PCR Mix 和 SYBY Green Mix 均为诺唯赞生物技术有限公司产品,Agilent 高效液相色谱仪为 Agilent 公司产品,恩诺沙星标准品由中国兽医药品监察所提供。

1.2 试验动物

清洁级健康雄性 Sprague-Dawley (SD)大鼠,40 日龄,体质量(200 ± 20) g,购自江苏南京青龙山动物养殖基地。饲喂无抗生素的饲料,自由饮水,适应饲养 7 d,待大鼠状态良好时开始试验。

1.3 糖尿病大鼠模型制备

参照文献[16]推荐的方法制备模型。选择血糖正常($3.0 \sim 6.0$ mmol/L)的健康大鼠,处理前禁食 12.000 h,不禁水,腹腔注射链脲佐菌素液 65 mg/kg,每日 1 次,连续处理 9 d,每天都用血糖检测仪检测大鼠空腹血糖浓度。血糖浓度大于 16.7 mmol/L 作为构建成功的标准,体质量、尿量、饮水量作为辅助指标,共筛选出 16 只大鼠用于试验。

1.4 大鼠肝脏、肾脏和肠组织 *Abcb1* mRNA 相对表达水平检测

取健康和糖尿病大鼠各 8 只,断头处死后采集肝脏、肾脏、空肠和回肠组织。按照 Trizol 说明书提取各组织总 RNA。检测 RNA 纯度、完整性以及有无污染后,采用两步法将 RNA 反转录为 cDNA,以反转得到的 cDNA 为模板,以 β -actin 为检测基因进行 PCR 扩增,检测 RNA 是否反转成功。反转成功后以 SYBR Green 为染料,检测目的基因 *Abcb1* 的相对表达量。参照文献[17]合成大鼠目的基因 *Abcb1* (*Abcb1a*、*Abcb1b*)和内参基因 β -actin 引物(表 1),采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法处理数据,分析 *Abcb1* 相对表达量的差异。

表 1 Real-time RT-PCR 基因引物序列

Table 1 Primers used in real-time RT-PCR

目的基因	上游引物(5'→3')	下游引物(5'→3')	产物长度(bp)
<i>Abcb1a</i>	GCCCTGTTCTTGGACTGT	GGCCGTGATAGCTTTCTT	351
<i>Abcb1b</i>	GCCCATCCTGTTTGACTG	CGCTTCTGACGACCTT	351
β -actin	TGACGTGGACATCCGCAAAG	CTGGAAGGTGGACAGCGAGG	365

1.5 糖尿病大鼠口服恩诺沙星的药动学研究

1.5.1 动物处理及血样采集 取健康和糖尿病大鼠各 8 只,给药前取足量大鼠空白血浆。2 组大鼠分别口服单剂量(5 mg/kg)恩诺沙星后,分别于 0.083 h、0.250 h、0.500 h、0.750 h、1.000 h、1.500 h、2.000 h、3.000 h、4.000 h、5.000 h、6.000 h、8.000 h、12.000 h 和 24.000 h 从尾静脉无菌采血,置于肝素抗凝管中。3 500 r/min 离心 10 min,吸取上层血浆于新的 1.5 ml EP 管中,−20 ℃下保存,备用。

1.5.2 血浆样品处理 参照文献[18]处理样品。取 100 μ l 血浆,加入 2 ml 二氯甲烷振荡 3 min,然后离心 10 min(4 ℃、8 000 r/min),下层有机相于 35 ℃下用氮气吹干,随后复溶,涡旋 3 min 混合均匀,随后加入正己烷除脂,离心 10 min(4 ℃、8 000 r/min),吸取 20 μ l 下层样品进行分析。

1.5.3 标准曲线制备 取 180 μ l 大鼠空白血浆,加入 20 μ l 不同浓度的恩诺沙星标准工作液,使血浆的终浓度分别为 0.025 μ g/ml、0.050 μ g/ml、0.100 μ g/ml、0.200 μ g/ml、0.500 μ g/ml、0.800 μ g/ml、1.000 μ g/ml、2.000 μ g/ml、5.000 μ g/ml、10.000 μ g/ml,每个浓度设置 5 个重复,依据 1.5.2 所示方法处理血浆样品后,按上述色谱条件进行检测,记录色谱峰面积,以恩诺沙星峰面积为纵坐标(Y)对恩诺沙星浓度(x)进行线性回归,得出恩诺沙星标准曲线方程。

1.5.4 专属性考察及回收率和精密度测定 参照 1.5.2 所示的样品处理方法,制备健康大鼠的空白血浆、空白血浆添加恩诺沙星(1.000 μ g/ml)以及口服恩诺沙星后 1.000 h 时的血浆样品,进行恩诺沙星的专属性考察。根据空白流动相的基线噪音值求其平均值,按信噪比 S/N 为 3 求出检测限(LOD),按 S/N 为 10 求出定量限(LOQ)。同时采用恩诺沙星低浓度(0.100 μ g/ml)、中浓度(1.000 μ g/ml)、高浓度(10.000 μ g/ml)3 个浓度测定恩诺沙星的回

收率和精密度。

1.6 数据处理

采用 SPSS 19.0 软件分析数据,采用 3p97 药动学软件处理数据,选择最佳房室吸收模型,求出药动学参数,并采用 Graphpad prism 6.0 制得药-时曲线图。

2 结果与分析

2.1 糖尿病大鼠模型的建立

大鼠连续注射 STZ 期间,观察其生活状态并与健康大鼠进行比较,发现 STZ 组大鼠出现多饮、多食、多尿和体质量减少情况,血糖值(>16.7 mmol/L)较稳定,表明糖尿病大鼠模型建立成功。

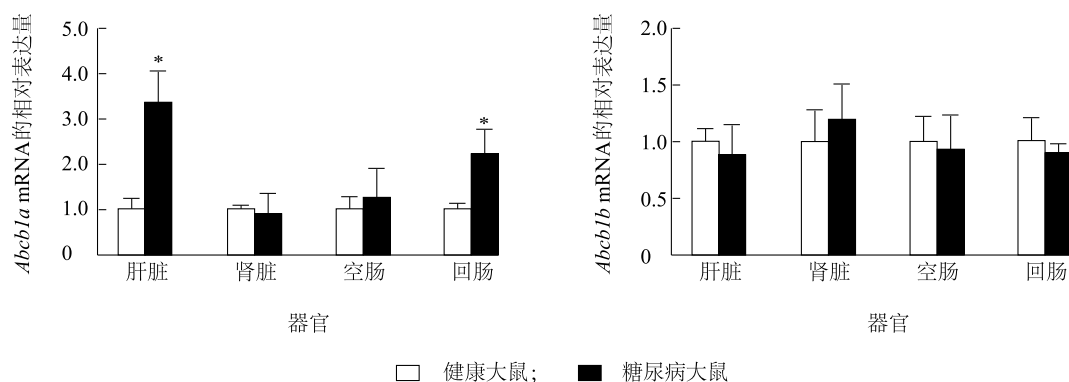
2.2 糖尿病大鼠肝脏、肾脏和肠道中 P-gp mRNA 表达量变化

比较了健康大鼠和糖尿病大鼠各器官中 *Abcb1a* mRNA 和 *Abcb1b* mRNA 表达量的差异。图 1 显示,与健康组大鼠相比,糖尿病组大鼠肝脏和回肠中 *Abcb1a* mRNA 表达量显著升高($P<0.05$),空肠和肾脏中 *Abcb1a* mRNA 的表达量虽有波动,但差异均不显著($P>0.05$)。*Abcb1b* mRNA 在糖尿病组大鼠肝脏、空肠、回肠和肾脏中的表达量与健康大鼠相比,均无显著差异($P>0.05$)。

图 2 显示,健康大鼠 *Abcb1a* mRNA 和 *Abcb1b* mRNA 的表达量在肝脏、肾脏和肠道中的分布无显著差异($P>0.05$),而糖尿病大鼠肝脏和回肠中 *Abcb1a* 的表达量极显著和显著高于 *Abcb1b* 的表达量($P<0.01$ 、 $P<0.05$),但在肾脏和空肠中二者差异不显著($P>0.05$)。

2.3 糖尿病大鼠体内恩诺沙星的药动学

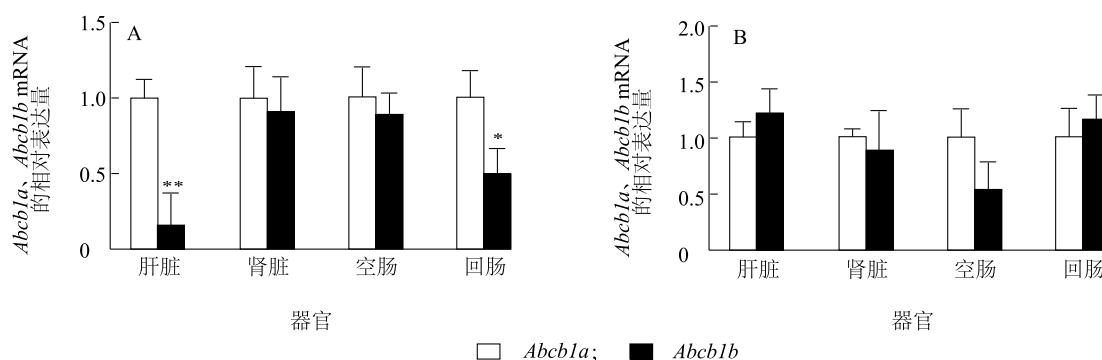
2.3.1 恩诺沙星的标准曲线及检测限和定量限 以峰面积(Y)为纵坐标,其对应的浓度(x , μ g/ml)为横坐标,进行线性回归,得到恩诺沙星浓度的标准曲线方程为 $Y=123\,897.000x+994.670$,表明血浆中恩诺沙星浓度为 0.025~10.000 μ g/ml 时,浓度与峰面积的线性关系良好。



*表示与健康大鼠相比,糖尿病大鼠的基因表达量差异达显著水平($P < 0.05$)。

图1 *Abcb1a* 和 *Abcb1b* 在健康大鼠和糖尿病大鼠不同器官中的表达变化

Fig.1 Expression levels of *Abcb1a* and *Abcb1b* in different tissues or organs of healthy and diabetic rats



A: 糖尿病大鼠; B: 健康大鼠; *表示大鼠同一器官中的 *Abcb1a* 表达量与 *Abcb1b* 表达量差异达显著水平($P < 0.05$)。**表示大鼠同一器官中的 *Abcb1a* 表达量与 *Abcb1b* 表达量差异达极显著水平($P < 0.01$)。

图2 *Abcb1a* 和 *Abcb1b* mRNA 表达量在糖尿病大鼠和健康大鼠不同器官中的比较

Fig.2 The comparison between *Abcb1a* and *Abcb1b* mRNA expression levels in healthy and diabetic rats

空白血浆、空白血浆加药以及给药后 1.000 h 的血浆样品均无内源性物质干扰恩诺沙星分离,色谱峰的平均保留时间约为 9.8 min。以信噪比 ≥ 10 为标准,恩诺沙星的最低定量限为 0.05 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。以信噪比 ≥ 3 为标准,恩诺沙星的最低检测限为 0.02 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。本试验条件下,恩诺沙星的提取回收率均大于 82%,低浓度、中浓度和高浓度 3 个浓度连续检测 3 d,日内和日间变异系数均小于 11%,符合试验要求。

2.3.2 恩诺沙星在大鼠体内的血药浓度变化 健康组和糖尿病组大鼠口服 5 mg/kg 恩诺沙星的药-时曲线如图 3 显示,恩诺沙星在 2 组大鼠体内的达峰时间均约为 0.500 h,差异不明显,但峰浓度差异明显,健康组大鼠约为 2.20 $\mu\text{g}/\text{ml}$,而糖尿病组大鼠约为 1.45 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。约 24.000 h 时,恩诺沙星在 2 组

大鼠体内的浓度下降至定量限以下。

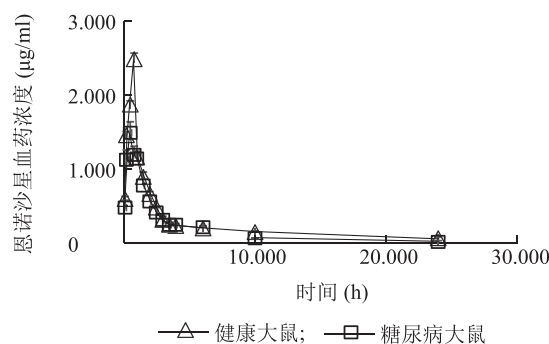


图3 恩诺沙星的药-时曲线

Fig.3 Concentration-time curve of enrofloxacin in rats

2.3.3 恩诺沙星在大鼠体内的药动学参数 经 3p97 软件处理后,得出主要的药动学参数(表 2)。

表明单次口服恩诺沙星后,健康组大鼠体内达峰时间为 (0.49 ± 0.03) h,峰浓度为 (2.48 ± 0.10) $\mu\text{g/ml}$,药-时曲线下面积为 (3.36 ± 0.09) $(\mu\text{g/ml}) \cdot \text{h}$,清除率为 (1.49 ± 0.04) ml/min ,表观分布容积为 (1.56 ± 0.10) $(\text{mg/kg})/(\mu\text{g/ml})$ 。恩诺沙星在糖尿病大鼠体内的药动学过程有所变化,表现为峰浓度和药-时曲线下面积显著或显著下降($P < 0.01$ 、 $P < 0.05$),表观分布容积显著增加($P < 0.05$)。其他参数虽有波动,但差异不显著($P > 0.05$)。

表 2 恩诺沙星在健康与糖尿病大鼠中的药物代谢动力学参数

Table 2 Pharmacokinetic parameters of oral enrofloxacin in healthy and diabetic rats

参数	健康组	糖尿病组	P 值
K_e (1 h)	0.97 ± 0.06	0.85 ± 0.15	0.456
K_a (1 h)	3.82 ± 0.46	3.49 ± 1.03	0.949
$T_{1/2K_a}$ (h)	0.19 ± 0.02	0.23 ± 0.06	0.237
$T_{1/2K_e}$ (h)	0.73 ± 0.05	0.90 ± 0.15	0.269
T_{peak} (h)	0.49 ± 0.03	0.58 ± 0.13	0.446
C_{max} ($\mu\text{g/ml}$)	2.48 ± 0.10	$1.49 \pm 0.15^{**}$	0.002
$AUC_{0-12\text{h}}$ [$(\mu\text{g/ml}) \cdot \text{h}$]	3.36 ± 0.09	$2.89 \pm 0.37^*$	0.030
CL/F (ml/min)	1.49 ± 0.04	2.75 ± 0.66	0.155
V/F [$(\text{mg/kg})/(\mu\text{g/ml})$]	1.56 ± 0.10	$3.17 \pm 0.38^*$	0.021

K_e :消除速率常数; K_a :吸收速率常数; $T_{1/2K_a}$:吸收半衰期; $T_{1/2K_e}$:消除半衰期; T_{peak} :达峰时间; C_{max} :峰浓度; $AUC_{0-12\text{h}}$:0~12 h 的药-时曲线下面积; CL/F :清除率; V/F :表观分布容积。*表示与健康大鼠相比,糖尿病大鼠的药物代谢动力学参数差异达显著水平($P < 0.05$)。**表示与健康大鼠相比,糖尿病大鼠的药物代谢动力学参数差异达极显著水平($P < 0.01$)。

3 讨论

在中国,随着人和动物糖尿病患病率的升高,药物治疗成为研究重点,胃肠道含有多种药物转运体,如 ABC 转运蛋白等^[19],并有研究发现糖尿病的治疗药物大都是 P-gp 的底物药物^[20-23]。恩诺沙星作为动物专用抗菌药^[24],是 P-gp 的底物药物^[25]。因此,详细了解糖尿病状态下动物肝脏、肾脏和肠道中 P-gp 表达量的变化及恩诺沙星在糖尿病动物体内的药动学变化,对临床糖尿病患者或糖尿病动物的合理用药具有十分重要的意义。

研究结果表明,P-gp 在肠道组织中的表达是影响药物吸收的重要因素,如 Shimizu 等^[26]发现,P-gp 抑制剂环孢霉素与帕珠沙星合用,会导致静注帕珠沙星在大鼠体内的肾脏清除率下降。Brillault 等^[27]的研究结果表明,P-gp 抑制剂 PSC-833 导致莫西沙星的转运减少,而诱导剂利福平导致莫西沙星的转运增加。Dautrey 等^[28]发现,当使用 P-gp 抑制剂维拉帕米后,环丙沙星在大鼠体内的药-时曲线下面积显著提高,胆汁和肠道清除率显著下降。

除了受到外源化合物的影响外,疾病等因素也会影响 P-gp 的表达与功能。本试验探讨了糖尿病对大鼠 P-gp 的影响,糖尿病大鼠的 P-gp 表达水平在不同器官中存在差异,具有器官特异性,与许多研究结果^[18,29]一致。糖尿病大鼠肝脏、回肠中 *Abcb1a* mRNA 表达量显著升高,而肾脏中 *Abcb1* mRNA 表达量无明显变化,表明糖浓度升高会影响肝脏与肠道 *Abcb1* mRNA 的表达,但对其他组织影响不显著。Kameyama 等^[30]也发现,STZ 诱导 8 d 的 Wistar 大鼠,其肝脏中 *Abcb1a* 和 *Abcb1b* mRNA 表达量均显著升高。Zhang 等^[31]用 STZ 诱导大鼠 35 d 时,*Abcb1* mRNA 在其肾脏中的表达情况与本试验基本一致,但诱导 56 d 时,*Abcb1a* 和 *Abcb1b* mRNA 表达量均显著升高,表明处理时间可能也会对其表达产生影响。而 Anger 等^[32]用 STZ 诱导大鼠 9 d 后,发现其肝脏中 *Abcb1a* mRNA 表达量显著下调。Nawa 等^[33]用 STZ 诱导雄性 ddY 小鼠 9 d,其肠道中 iNOS(NO)通路被激活,导致 P-gp 表达量显著下调,而在另一诱导试验^[34]中,ddY 小鼠肠道中 P-gp 的表达量在诱导 3 d 时略有上升,5 d 时显著下调,与本试验结果存在差异。上述研究结果表明,动物种属、血糖浓度也可能造成糖尿病动物肝脏、肠道中 P-gp 的表达出现差异。

恩诺沙星在糖尿病大鼠体内的药动学试验结果表明,与健康大鼠相比,糖尿病大鼠的峰浓度和药-时曲线下面积都显著下降,说明恩诺沙星在糖尿病大鼠体内的吸收减少。由于恩诺沙星进入肠道细胞后,可被 P-gp 外排回肠腔,导致吸收量降低使测得的血药浓度下降,故推测此结果与糖尿病大鼠肠道中 *Abcb1a* 表达量的升高有关。而本试验中糖尿病大鼠恩诺沙星的清除率有增加趋势,表明由于糖尿病大鼠肝脏中 *Abcb1a* 的表达量上升,导致 P-gp 对底物恩诺沙星外排至胆汁的含量增加,使得全身循

环中恩诺沙星的含量降低。上述研究结果说明,P-gp 的底物药物在动物体内的药动学过程受 P-gp 表达活性变化的影响非常显著。根据 *Abcb1* mRNA 表达情况和药动学结果推测,糖尿病大鼠恩诺沙星药动学参数的变化与 *Abcb1a* 的表达具有一定的相关性,但是该推测有待进一步验证。

参考文献:

- [1] JULIANO R L, LING V. A surface glycoprotein modulating drug permeability in Chinese hamster ovary cell mutants[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1976, 455(1): 152-162.
- [2] RONINSON I B. Molecular mechanism of multidrug resistance in tumor cells[J]. *Clinical Physiology and Biochemistry*, 1986, 5(3/4): 140-151.
- [3] DEUCHARS K L, DU R P, NAIK M, et al. Expression of hamster P-glycoprotein and multidrug resistance in DNA-mediated transformants of mouse LTA cells[J]. *Molecular and Cellular Biology*, 1987, 7(2): 718-724.
- [4] LING V. Multidrug resistance and P-glycoprotein expression[J]. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1987, 507(1): 7-8.
- [5] 董玲玲,郭 荔,戴小华,等. P-糖蛋白在健康猪肝脏、肾脏和肠组织中的分布及其 mRNA 相对转录水平[J]. *畜牧兽医学报*, 2013, 44(9): 1454-1461.
- [6] CHEN C, CHIN J E, UEDA K, et al. Internal duplication and homology with bacterial transport proteins in the *mdr1* (P-glycoprotein) gene from multidrug-resistant human cells[J]. *Cell*, 1986, 47(3): 381-389.
- [7] SAUNA Z E, KIM I W, AMBUDKAR S V. Genomics and the mechanism of P-glycoprotein (ABCB1) [J]. *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*, 2007, 39(5/6): 481-487.
- [8] 郑婷婷,李 敏,徐 波,等. 基于 P-gp 功能的多药耐药逆转剂高内涵筛选方法的建立与应用[J]. *中国新药杂志*, 2010(10): 861-866.
- [9] LIN J H, YAMAZAKI M. Role of P-glycoprotein in pharmacokinetics[J]. *Clinical Pharmacokinetics*, 2003, 42(1): 59-98.
- [10] ZHANG Y, BENET L Z. The gut as a barrier to drug absorption [J]. *Clinical Pharmacokinetics*, 2001, 40(3): 159-168.
- [11] BUNTING K D. ABC transporters as phenotypic markers and functional regulators of stem cells[J]. *Stem Cells*, 2002, 20(1): 11-20.
- [12] EMERGING RISK FACTORS COLLABORATION. Diabetes mellitus, fasting glucose, and risk of cause-specific death[J]. *N Engl J Med*, 2011, 364: 829-841.
- [13] LIU H, LIU X, JIA L, et al. Insulin therapy restores impaired function and expression of P-glycoprotein in blood-brain barrier of experimental diabetes[J]. *Biochemical Pharmacology*, 2008, 75(8): 1649-1658.
- [14] ZHANG Y, LI C, SUN X, et al. High glucose decreases expression and activity of p-glycoprotein in cultured human retinal pigment epithelium possibly through iNOS induction[J]. *PLoS One*, 2012, 7(2): e31631.
- [15] 温绍艳. 高糖和高胰岛素对 MCF-7/ADR 细胞 P-糖蛋白表达和功能的影响[D]. 天津:天津医科大学, 2012.
- [16] HARITOVA A M, SCHRICKX J A, FINK-GREMMELS J. Functional studies on the activity of efflux transporters in an *ex vivo* model with chicken splenocytes and evaluation of selected fluoroquinolones in this model[J]. *Biochemical Pharmacology*, 2007, 73(6): 752-759.
- [17] ZHANG L, LU L, JIN S, et al. Tissue-specific alterations in expression and function of P-glycoprotein in streptozotocin-induced diabetic rats [J]. *Acta Pharmacologica Sinica*, 2011, 32(7): 956-966.
- [18] 董玲玲. P-糖蛋白在猪肝脏、肾脏和肠组织中的表达及对口服恩诺沙星药动学的影响[D]. 南京:南京农业大学, 2012.
- [19] 刘志浩,刘克辛. 肠道药物转运体及其研究方法[J]. *药学报*, 2011(4): 370-376.
- [21] HEMAUER S J, PATRIKKEVA S L, NANOVSKEYA T N, et al. Role of human placental apical membrane transporters in the efflux of glyburide, rosiglitazone, and metformin[J]. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 2010, 202(4): 383.e1-383.e7.
- [22] LI C, CHOI D H, CHOI J S. Effects of efonidipine on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of repaglinide: possible role of CYP3A4 and P-glycoprotein inhibition by efonidipine[J]. *Journal of Pharmacokinetics and Pharmacodynamics*, 2012, 39(1): 99-108.
- [23] CHU X Y, BLEASBY K, YABUT J, et al. Transport of the dipeptidyl peptidase-4 inhibitor sitagliptin by human organic anion transporter 3, organic anion transporting polypeptide 4C1, and multidrug resistance P-glycoprotein [J]. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 2007, 321(2): 673-683.
- [24] BÉRAUD R, HUNEAULT L, BERNIER D, et al. Comparison of the selection of antimicrobial resistance in fecal *Escherichia coli* during enrofloxacin administration with a local drug delivery system or with intramuscular injections in a swine model[J]. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 2008, 72(4): 311-319.
- [25] SIKRI V, PAL D, JAIN R, et al. Cotransport of macrolide and fluoroquinolones, a beneficial interaction reversing P-glycoprotein efflux[J]. *American Journal of Therapeutics*, 2004, 11(6): 433-442.
- [26] SHIMIZU A, MIYOSHI M, SUGIE M, et al. Possible involvement of P-glycoprotein in renal excretion of pazufloxacin in rats[J]. *European Journal of Pharmacology*, 2004, 501(1): 151-159.
- [27] BRILLAULT J, DE CASTRO W V, HARNOIS T, et al. P-glycoprotein-mediated transport of moxifloxacin in a Calu-3 lung epithelial cell model [J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2009, 53(4): 1457-1462.

- [28] DAUTREY S, FELICE K, PETIET A, et al. Active intestinal elimination of ciprofloxacin in rats: modulation by different substrates[J]. *British Journal of Pharmacology*, 1999, 127(7): 1728-1734.
- [29] 苏利娅,董玲玲,王丽平. 球虫感染对蛋鸡肝脏和肠道 *mdr_1*、*mrp_2* 和 *bcrp* mRNA 表达水平的影响[J]. *南京农业大学学报*, 2011, 34(6):95-99.
- [30] KAMEYAMA N, ARISAWA S, UHEYAMA J, et al. Increase in P-glycoprotein accompanied by activation of protein kinase C α and NF- κ B p65 in the livers of rats with streptozotocin-induced diabetes[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 2008, 1782(5): 355-360.
- [31] ZHANG L, LU L, JIN S, et al. Tissue-specific alterations in expression and function of P-glycoprotein in streptozotocin-induced diabetic rats[J]. *Acta Pharmacologica Sinica*, 2011, 32(7): 956-966.
- [32] ANGER G J, MAGOMEDOVA L, PIQUETTE - MILLER M. Impact of acute streptozotocin-induced diabetes on ABC transporter expression in rats[J]. *Chemistry & Biodiversity*, 2009, 6(11): 1943-1959.
- [33] NAWA A, FUJITA-HAMABE W, TOKUYAMA S. Altered intestinal P-glycoprotein expression levels in a monosodium glutamate-induced obese mouse model[J]. *Life Sciences*, 2011, 89(23): 834-838.
- [34] NAWA A, FUJITA W, TOKUYAMA S. Inducible nitric oxide synthase-mediated decrease of intestinal P-glycoprotein expression under streptozotocin-induced diabetic conditions[J]. *Life Sciences*, 2010, 86(11): 402-409.

(责任编辑:王 妮)