

文章编号:1000-7423(2008)-02-0141-05

【综述】

# 恶性疟原虫对氯喹抗性及其逆转剂的研究进展

权红, 汤林华\*

**【提要】** 恶性疟原虫对氯喹抗性的出现和广泛传播迫使人类调整治疗疟疾的用药策略并寻找更加有效的新型抗疟药。然而, 在一些贫困的疟疾流行区, 氯喹仍被用于治疗恶性疟。了解氯喹抗性机制、探索逆转其抗性的方法, 将使氯喹这一价廉高效的抗疟药继续发挥作用。抗性逆转剂的研究和发展为上述目标提供了线索, 当与氯喹合用时它能够部分恢复氯喹对氯喹抗性株的作用。为此, 本文对恶性疟原虫氯喹抗性机制及其逆转剂的研究进展作一综述。

**【关键词】** 恶性疟原虫; 氯喹抗性; 抗性逆转剂

中图分类号:R382.312 文献标识码:A

## Research Progress on Chloroquine Resistance in *Plasmodium falciparum* and Resistance Reversal Agent

QUAN Hong, TANG Lin-hua\*

(National Institute of Parasitic Diseases, Chinese Center for Disease Control and Prevention, WHO Collaborating Centre for Malaria, Schistosomiasis and Filariasis, Shanghai 200025, China)

**【Abstract】** Emergence and broad spread of chloroquine resistance urge human beings to change drug policy in malaria control and to find more effective new drugs. Nevertheless, chloroquine is still used in the treatment of falciparum malaria in some poor endemic regions due to economic and development reasons. It should be of great significance to understand the mechanism of chloroquine resistance and find the way to reverse it in order to bring chloroquine with high efficacy and low cost back to the first line of the combat to malaria. Advent and development of resistance reversal agents provide a new clue for this purpose. When used together with chloroquine, it can partly restore the efficacy of chloroquine in resistant *Plasmodium falciparum*. The article summarizes the research progress on chloroquine resistance in *P. falciparum* and resistance reversers.

**【Key words】** *Plasmodium falciparum*; Chloroquine resistance; Resistance reverser

\* Corresponding author, E-mail: ipdtlh@public3.sta.net.cn

疟疾是世界上危害严重的寄生虫病, 每年造成约 250 万人死亡, 多数是儿童。感染人类的 4 种疟原虫中, 以恶性疟原虫引起的恶性疟最为严重。4-氨基喹啉类药物氯喹因其安全、廉价、有效, 曾在治疗疟疾中发挥重要作用<sup>[1-3]</sup>。

20 世纪 50 年代末, 恶性疟原虫对氯喹的抗性同时出现于东南亚和南美, 随后迅速传播至大部分疟区<sup>[4,5]</sup>。抗氯喹恶性疟原虫对人类健康已构成严重威胁, 成为全球控制疟疾传播的主要障碍之一, 调整用药策略势在必行。同时, 也在寻找治疗抗氯喹恶性疟的新型药物<sup>[6-11]</sup>。

### 1 恶性疟原虫的氯喹抗性机制

作者单位: 中国疾病预防控制中心寄生虫病预防控制所, 世界卫生组织疟疾、血吸虫病和丝虫病合作中心, 上海 200025

\* 通讯作者, E-mail: ipdtlh@public3.sta.net.cn

了解恶性疟原虫对氯喹抗性的状况和机制对于制定用药策略、开发新型药物有着重要意义<sup>[12]</sup>。目前, 对氯喹抗性机制的研究包括其生理学基础与遗传学基础两个方面<sup>[13]</sup>。

**1.1 生理学基础** 关于恶性疟原虫对氯喹抗性的生理学基础, 存在各种观点, 且争议很大。目前倾向于氯喹在细胞中聚集减少、或流出增加、或不能结合到靶点<sup>[13]</sup>的学说。Fitch<sup>[14]</sup>首先报道氯喹在抗性株中聚集比在敏感株中少。氯喹聚集减少成为氯喹抗性各种假说的基础, 但是以何种方式减少意见不一。

此后, Krogstad 等<sup>[15]</sup>提出氯喹在抗性株中的外流比敏感株快速观点, 指出抗性株中氯喹外流的速度比敏感株中快 40~50 倍, 且这个过程是能量依赖性的。后来该观点先后受到两个研究组的质疑<sup>[16,17]</sup>, 他们的研究显示抗性株和敏感株中氯喹外流速度相似,

甚至敏感株还稍快些。

近来,食物泡中氯喹摄入减少的观点代替了外流机制假说<sup>[13]</sup>,其前提是食物泡中 pH 值增加,一些早期研究也显示抗性株食物泡中的 pH 值确实增加。2000 年 Dzekunov 等<sup>[18]</sup>通过单细胞水平食物泡 pH 值分析方法证实抗性株 Dd2 的 pH 值比敏感株 HB3 低。然而 2006 年 Hayward 等<sup>[19]</sup>用一系列连接右旋糖苷的 pH 值敏感性染料证实抗性株和敏感株的食物泡 pH 值无明显差异。

1.2 遗传学基础 目前基本确定恶性疟原虫对氯喹产生抗性与恶性疟原虫氯喹抗性转运基因 (*pfcr*) 和恶性疟原虫多药抗性基因 (*pfmdr1*) 的点突变有关,这两个基因分别编码食物泡跨膜蛋白 PfCRT 和 Pgh1<sup>[20,21]</sup>。

1.2.1 *pfcr* 基因和 PfCRT 蛋白 控制氯喹抗性的 *pfcr* 基因位于恶性疟原虫基因组第 7 号染色体上一段长 36 kb 的片段中,为单拷贝,含有 13 个外显子。该基因呈多态性,已确定 20 多种不同的氨基酸序列<sup>[22]</sup>。*pfcr* 基因发生突变,在第 76 位点上由不带电荷的苏氨酸 (T76) 代替带电荷的赖氨酸,是恶性疟原虫产生氯喹抗性的主要遗传机制<sup>[23,24]</sup>。*pfcr* 基因在恶性疟原虫对不同结构抗疟药产生抗性过程中起着关键性作用。

PfCRT 蛋白相对分子质量 ( $M_r$ ) 为 48 600,有 10 个跨膜区。通过比较 PfCRT 与其他 10 个跨膜转运蛋白的序列,发现它同药物/代谢产物转运蛋白 (DMT) 超家族中的核苷蔗糖转运蛋白相似性很高,因而认为它是一个转运蛋白<sup>[23]</sup>。推测 PfCRT 作为流出转运蛋白,以二聚体形式发挥功能,K76 残基指向食物泡腔,K76 突变为中性残基造成阳性质子化的氯喹分子外流<sup>[13]</sup>。Sanchez 等<sup>[25]</sup>证实氯喹抗性株中很可能存在底物特异性并且可抑制药物外流的系统。维拉帕米 (verapamil) 的质子化氨基基团带正电荷,可以补偿突变的赖氨酸,与 PfCRT 结合可阻止氯喹外流<sup>[26]</sup>。

K76T 突变存在于所有氯喹抗性株中<sup>[27]</sup>。来源于非洲和东南亚的恶性疟原虫氯喹抗性株携带编码氨基酸 CVIET (残基 72-76) 的 *pfcr* 等位基因,而大多数来源于南美的抗性株携带编码 SVMNT 的等位基因,而全球疟区的氯喹敏感株则编码 CVMNK<sup>[27,28]</sup>。

所有带有 *pfcr* T76 突变的疟原虫同时也带有 *pfcr* T74、E75、S220 和 I371 突变<sup>[27]</sup>。存在数个突变对于维持 PfCRT 蛋白的功能可能是必需的,同时还赋予疟原虫以氯喹抗性。某些氯喹敏感性克隆不含 T76 突变,但含有其他类型的 *pfcr* 突变,如 S220、S236、T356 或 I371 突变中的一种或多种突变,更加

支持了 T76 突变对氯喹抗性的主要性。

*pfcr* T76 突变对于体外氯喹抗性的获得<sup>[27]</sup>及临床上恶性疟对氯喹产生抗性起着决定作用<sup>[20]</sup>。曾报道现场分离的氯喹抗性株无 K76T 突变及携带 K76T 突变的患者氯喹治疗有效,提示其他蛋白 (Pgh-1) 以及患者的免疫力对于临床治疗的成败也起着重要作用<sup>[29]</sup>。在疟疾传播非常严重的地区,对疟疾的免疫出现早并且快速,有些患者即使在 *pfcr* K76T 存在的情况下也能清除疟原虫血症。

氯喹压力消失后,抗性疟原虫将失去生存优势,此时会发生补偿性突变以便使它们能够继续生存下去<sup>[30]</sup>。由于氯喹抗性恶性疟广泛传播,我国海南省于 1979 年停止使用氯喹治疗恶性疟,此后 *pfcr* 76T 水平持续下降<sup>[31]</sup>。

推测恶性疟原虫对氯喹的抗性是通过与 *pfcr* K76T 相关的多重进化途径获得<sup>[27]</sup>,*pfcr*T76 突变被认为是对恶性疟原虫氯喹抗性进行流行病学监测可靠的遗传标记,PfCRT 作为新型抗疟药的靶蛋白很有潜力。

1.2.2 *pfmdr1* 基因 *pfmdr1* 基因位于恶性疟原虫基因组第 5 号染色体上,在第 86 位点发生突变由酪氨酸 (Y86) 代替天冬酰胺酸,与氯喹抗性相关,但不是恶性疟原虫产生氯喹抗性的主要因素<sup>[32]</sup>。*pfmdr1* 其他位点的突变与体内氯喹抗性也无相关性,体内抗性感染可以由无 *pfmdr1* Y86 突变的疟原虫引起。遗传实验也提示氯喹抗性的表型与 *pfmdr1* 基因的遗传是分离的,同时仅有部分现场研究发现 *pfmdr1* 突变与氯喹抗性相关。近期的转化实验显示获得 *pfmdr1* 突变的氯喹敏感性恶性疟原虫对氯喹并不产生抗性<sup>[32]</sup>。

*pfmdr1* Y86 突变的发生很大程度上依赖于 *pfcr* T76 突变<sup>[32]</sup>。*pfcr* T76 突变与氯喹抗性的相关性较 *pfmdr1* Y86 突变或者同时存在 *pfcr* T76 和 *pfmdr1* Y86 两种突变都要强。*pfmdr1* Y86 突变通过补偿 *pfcr* 突变造成的疟原虫适应性减弱或增强抗性水平使疟原虫获得抵抗氯喹的能力<sup>[32]</sup>。

1.2.3 *cg2* 基因 *cg2* 基因位于恶性疟原虫基因组第 7 号染色体上长 36 kb 的片段中,它所编码的  $M_r$  约为 330 000 的蛋白具有复杂的多态性。曾认为 *cg2* 基因的多态性与氯喹抗性高度相关,但已被等位基因修饰实验排除<sup>[29]</sup>。最近的遗传转化实验证实:*cg2* 基因的多态性与氯喹抗性明显相关更多是因为在第 7 号染色体上 *cg2* 和 *pfcr* 基因距离比较近,而不是因为 *cg2* 基因决定氯喹抗性<sup>[29]</sup>。

## 2 恶性疟原虫对氯喹抗性逆转剂的研究进展

2.1 抗性逆转剂的概念 抗性逆转剂指本身没有抗

疟活性但与抗疟药合用后能够恢复抗药性恶性疟原虫对该药敏感性的化合物<sup>[33]</sup>。但最近发现维拉帕米和其他钙通道阻断剂及某些有抗性逆转作用的吩噻嗪在与氯喹相似的浓度范围时,对新出现的南美氯喹抗性株具有抗疟作用而没有提高氯喹活性的作用。这种异常反应原因不明,可能与 *pfcr* 突变有关<sup>[13]</sup>。

某些呈弱碱性的两性分子仅有非常弱的杀灭裂殖体的活性,但能够协同氯喹抑制氯喹抗性株<sup>[34]</sup>。例如,当氯喹与维拉帕米或氯丙嗪合用时,杀灭抗性株的氯喹剂量与杀灭敏感株的相同。这些化合物许多都具有某些共同的结构特征,如 1 个疏水性杂环系统和 1 个烃基侧链,末端有胺。实际上,具有抗性逆转活性的化合物可能在结构上与抗疟药密切相关。已证实将 1 个三盐基侧链加到氯丙嗪上会使其杀灭裂殖体的活性提高 100 倍,但也使其丧失了协同氯喹的作用。氯喹的母核 7-氯-4-氨基喹啉无碱性侧链,仅有非常弱的杀灭裂殖体的活性,可用作抗性逆转剂<sup>[34]</sup>。

**2.2 抗性逆转现象及逆转剂的作用机制** 恶性疟原虫氯喹抗性逆转现象表现为对氯喹的  $IC_{50}$  值下降以及氯喹在抗性株内特异性聚集增加。在逆转剂存在时,抗性株对氯喹的敏感性依然比敏感株低,氯喹在抗性株中的聚集无法达到在敏感株中的水平。因而,与肿瘤细胞中的多药抗性逆转现象不同,逆转剂只能部分逆转恶性疟原虫对氯喹的抗性<sup>[13]</sup>。

对于抗性逆转剂的作用机制有两种假说:一是抑制药物外流;二是抑制抗疟药代谢性降解。它们都无法解释所有逆转剂的作用机制<sup>[33]</sup>。逆转剂对人体的毒性限制了它们的应用前景。

近 5 年来,对氯喹抗性及抗性逆转剂结构与功能关系的研究有了很大进展,虽然其中的机制还不是很清楚,但很多证据提示:*pfcr* 中的 K76T 突变导致氯喹抗性。PfCRT 是转运蛋白,质子化的氯喹可通过突变的 PfCRT 沿着浓度梯度扩散。氯喹能够结合于突变的 PfCRT,结合位点很可能包括位点 76。逆转剂与氯喹竞争这个结合位点,可能是通过疏水性芳香族基团、氢键和静电作用与位点结合。药效基团包括两个芳香环,以及一个能够质子化的氮原子,当这些基团位于正确的空间位置时,可赋予逆转剂逆转抗性的能力<sup>[13]</sup>。

有些化合物无上述结构特点也可逆转氯喹抗性,例如一种不带电荷、携带 30 个乙氧基化物残基的壬基苯酚表面活性剂 (NP30, nonylphenol surfactant with 30 ethoxylate units)、羧苯磺胺和西咪替丁,并且部分化合物除了能够逆转氯喹抗性,也能够逆转甲氧喹抗性。某些能减少细胞中谷胱甘肽水平的化合物

也能够提高疟原虫对氯喹的敏感性。这些化合物逆转抗性的机制以及是否只能逆转氯喹抗性尚需进一步研究。

**2.3 抗性逆转剂的种类** 过去 10 年中,已证实多种化合物能够逆转体外培养的分株、动物模型和疟患者中的氯喹抗性<sup>[26]</sup>。这些药物或分属于不同的药理学种类,如钙通道阻断剂、三环抗抑郁剂、抗精神病类钙调素拮抗剂、组胺 H1-受体拮抗剂、解热镇痛剂和非固醇类抗炎药物;或分属于不同的化学种类,如合成表面活性剂、传统药用植物中提取的生物碱、吡咯烷氨基链烷以及萜类衍生物<sup>[35-39]</sup>。以上药物可能是通过干预与药物排出、摄取相关的跨膜蛋白来发挥逆转抗性的作用<sup>[26,40]</sup>。最近发现间日疟根治药伯氨喹也有逆转抗性的作用<sup>[34]</sup>。

**2.4 维拉帕米的抗性逆转作用** 维拉帕米是第一个被证实能够逆转氯喹抗性的药物<sup>[13]</sup>。它能够提高氯喹抗性株中氯喹的作用,但对抗性株本身没有作用。它逆转喹啉类药物的抗性是通过疏水性结合到发生突变的 PfCRT 蛋白上实现的。

**2.5 8-氨基喹啉类药物协同氯喹的作用** Bray 等<sup>[34]</sup>发现许多 8-氨基喹啉类药物包括伯氨喹都能与氯喹协同作用对抗氯喹抗性疟原虫。伯氨喹和氯喹通常用来根治间日疟,而不用于恶性疟的治疗。伯氨喹协同氯喹抗击氯喹抗性疟原虫可能是通过 PfCRT 实现的。

8-氯苯乙烯氯喹 (Tafenoquine, TQ), 是新型 8-氨基喹啉类药物,在患者体内的半衰期比伯氨喹长得多,氯喹/TQ 组合治疗恶性疟感染可能更加有效<sup>[34]</sup>。

Bray 等认为抗性逆转剂通过模拟氯喹环系统的分子结构发生作用。与氯喹相似,它们通常也是两性杂环化合物。但氯喹在生理 pH 值时为双盐基,而抗性调节剂为单盐基,且疏水性更强。由于 8-氨基喹啉类化合物与氯喹结构相似可以进入突变的 PfCRT 分子的孔径中,加之其相对亲脂的性质,可结合于孔径的相应位点阻挡氯喹的通道。

伯氨喹疗法的缺点是可能出现副作用,且疗程长。目前正寻找疗程更短、更容易耐受的疗法。与其他组合相比,氯喹/伯氨喹组合的主要优势是成本低。

8-氨基喹啉类药物协同氯喹的作用提示,通过将已批准用于人体的抗疟药两两新组合能够用来治疗氯喹抗性疟疾,该方法能有效延长氯喹的临床作用时间<sup>[34]</sup>。但仍需有力证据来确定是否能够应用于现场。

**2.6 抗性逆转剂的临床应用前景** 目前,抗性逆转剂对人体造成的毒性是临床常规应用的主要障碍<sup>[41]</sup>。由于大多数氯喹抗性逆转剂的最佳浓度均对人体产生毒性,目前建议应用“鸡尾酒”疗法,即将逆转剂联合

使用,应用浓度低于最佳逆转浓度<sup>[13,42]</sup>。逆转剂之间协同作用提高氯喹的功效,以这种方式可避免单个逆转剂的毒性。"鸡尾酒"疗法应选择功能不同的逆转剂,否则会产生相同毒性的累加。

抗疟治疗中使用逆转剂还应考虑某些重要的药物动力学因素。因为氯喹的抗疟作用有赖于逆转剂的存在,两种药物的吸收率需要很好地匹配,并且半衰期相似,这样氯喹在吸收后才能发挥最大功效。将逆转剂和氯喹化学偶联能解决这个问题,可使它们同时被吸收<sup>[13]</sup>。新型抗性逆转剂的设计应强调以最低浓度发挥最大功效,尽量减轻对人体的毒性。

应用逆转剂无疑会增加抗疟治疗的成本,这一因素也抵消了氯喹廉价的优势<sup>[13]</sup>,大多数患者来自第三世界,无法承担昂贵的费用,因此可能阻碍逆转剂的使用。

2.7 疟原虫逃避抗性逆转剂的作用 疟原虫也能够逃避抗性逆转剂的作用<sup>[43]</sup>。作为抗性逆转剂体内试验的模型,伯氏疟原虫氯喹抗性株在高抗性水平时不再对抗性逆转剂敏感,并产生多药抗性,对相关药物如氨酚喹、奎宁和甲氟喹产生交叉抗性,抗性程度同它们与氯喹的相似程度有关。推测原来的抗性机制失效,被另外一个或多个抗性模式取代。恶性疟原虫没有这个现象,氯喹压力并不造成很高的抗性水平,主要是因为恶性疟原虫在宿主体内不发生抗性机制的转换。

### 3 结语

随着人类在预防和控制疟疾领域不断取得的成就,疟原虫也在不断地进化和演变以获得新的生存优势。事实也证明每一种新型的抗疟药在应用一段时间后都会使疟原虫产生对该药物的抗性,就连青蒿素及其衍生物也难以幸免。今后,探索疟原虫抗药性机制、解决抗性问题、使抗疟药发挥最大功效仍是疟疾研究领域的重点之一。

### 参 考 文 献

[1] Zhang H, Howard EM, Roepe PD. Analysis of the antimalarial drug resistance protein PfCRT expressed in yeast[J]. J Biol Chem, 2002, 277(51): 49767-49775.  
 [2] Foley M, Tilley L. Quinoline antimalarials: mechanisms of action and resistance and prospects for new agents[J]. Pharmacol Ther, 1998, 79(1): 55-87.  
 [3] Chan CW, Lynch D, Spathis R. Flashback to the 1960s: utility of archived sera to explore the origin and evolution of *Plasmodium falciparum* chloroquine resistance in the Pacific[J]. Acta Trop, 2006, 99(1): 15-22.  
 [4] Mita T, Kaneko A, Hombhanje F, et al. Role of pfmdr1 mutations on chloroquine resistance in *Plasmodium falciparum* isolates with pfCRT K76T from Papua New Guinea[J]. Acta Trop, 2006, 98(2): 137-144.

[5] Wellems TE, Plowe CV. Chloroquine-resistant malaria[J]. J Infect Dis, 2001, 184(6): 770-776.  
 [6] Basco LK, Ringwald P. Molecular epidemiology of malaria in Cameroon. XXIV. Trends of *in vitro* antimalarial drug responses in Yaounde, Cameroon[J]. Am J Trop Med Hyg, 2007, 76(1): 20-26.  
 [7] Mayengue PI, Ndounga M, Davy MM, et al. *In vivo* chloroquine resistance and prevalence of the pfert codon 76 mutation in *Plasmodium falciparum* isolates from the Republic of Congo[J]. Acta Trop, 2005, 95(3): 219-225.  
 [8] Nsimba B, Jafari-Guemouri S, Malonga DA, et al. Epidemiology of drug-resistant malaria in Republic of Congo: using molecular evidence for monitoring antimalarial drug resistance combined with assessment of antimalarial drug use[J]. Trop Med Int Health, 2005, 10(10): 1030-1037.  
 [9] Franssen FF, Smeijsters LJ. *In vivo* and *in vitro* antiplasmodial activities of some plants traditionally used in Guatemala against malaria[J]. Antimicrob Agents Chemother, 1997, 41(7): 1500-1503.  
 [10] Kamei K, Matsuoka H, Furuhashi SI, et al. Anti-malarial activity of leaf-extract of hydrangea macrophylla, a common Japanese plant[J]. Acta Med Okayama, 2000, 54(5): 227-232.  
 [11] Biot C, Dessolin J, Grellier P, et al. Double-drug development against antioxidant enzymes from *Plasmodium falciparum*[J]. Redox Rep, 2003, 8(5): 280-283.  
 [12] Anderson TJ, Roper C. The origins and spread of antimalarial drug resistance: lessons for policy makers[J]. Acta Trop, 2005, 94(3): 269-280.  
 [13] Van Schalkwyk DA, Egan TJ. Quinoline-resistance reversing agents for the malaria parasite *Plasmodium falciparum*[J]. 2006, 9(4-5): 211-226.  
 [14] Fitch CD. Chloroquine resistance in malaria: a deficiency of chloroquine binding[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1969, 64(4): 1181-1187.  
 [15] Krogstad DJ, Gluzman IY, Kyle DE, et al. Efflux of chloroquine from *Plasmodium falciparum*; mechanism of chloroquine resistance[J]. Science, 1987, 238(4831): 1283-1285.  
 [16] Bray PG, Howells RE, Ritchie GY, et al. Rapid chloroquine efflux phenotype in both chloroquine-sensitive and chloroquine-resistant *Plasmodium falciparum*: a correlation of chloroquine sensitivity with energy-dependent drug accumulation[J]. Biochem Pharmacol, 1992, 44(7): 1317-1324.  
 [17] Martiney JA, Cerami A, Slater AF. Verapamil reversal of chloroquine resistance in the malaria parasite *Plasmodium falciparum* is specific for resistant parasites and independent of the weak base effect[J]. J Biol Chem, 1995, 270(38): 22393-22398.  
 [18] Dzekunov SM, Ursos LM, Roepe PD. Digestive vacuolar pH of intact intraerythrocytic *Plasmodium falciparum* either sensitive or resistant to chloroquine[J]. Mol Biochem Parasitol, 2000, 110(1): 107-124.  
 [19] Hayward R, Saliba KJ, Kirk K. The pH of the digestive vacuole of *Plasmodium falciparum* is not associated with chloroquine resistance[J]. J Cell Sci, 2006, 119(6): 1016-1025.  
 [20] Djimde A, Doumbo OK, Cortese JF, et al. A molecular marker for chloroquine-resistant falciparum malaria[J]. N Engl J Med, 2001, 344(4): 257-263.  
 [21] Vessiere A, Berry A, Fabre R, et al. Detection by real-time PCR of the Pfert T76 mutation, a molecular marker of chloroquine-resistant *Plasmodium falciparum* strains[J]. Parasitol Res, 2004, 93(1): 5-7.  
 [22] Arley F, Fandeur T, Durand R, et al. Invasion of Africa by a single pfert allele of South East Asian type[J]. Malar J, 2006, 5: 34.  
 [23] Bray PG, Martin RE, Tilley L, et al. Defining the role of PfCRT in *Plasmodium falciparum* chloroquine resistance[J]. Mol Microbiol, 2005, 56(2): 323-333.  
 [24] Johnson DJ, Fidock DA, Mungthin M, et al. Evidence for a

- central role for PfCRT in conferring *Plasmodium falciparum* resistance to diverse antimalarial agents[J]. Mol Cell, 2004, 15(6): 867-877.
- [25] Sanchez CP, McLean JE, Stein W, et al. Evidence for a substrate specific and inhibitable drug efflux system in chloroquine resistance *Plasmodium falciparum* strains[J]. Biochem, 2004, 43(51): 16365-16373.
- [26] Henry M, Alibert S, Orlandi-Pradines E, et al. Chloroquine resistance reversal agents as promising antimalarial drugs[J]. Curr Drug Targets, 2006, 7(8): 935-948.
- [27] Mehlotra RK, Fujioka H, Roepe PD, et al. Evolution of a unique *Plasmodium falciparum* chloroquine-resistance phenotype in association with pfert polymorphism in Papua New Guinea and South America[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2001, 98(22): 12689-12694.
- [28] Alifrangis M, Dalgaard MB, Lusingu JP, et al. Occurrence of the Southeast Asian/South American SVMNT haplotype of the chloroquine-resistance transporter gene in *Plasmodium falciparum* in Tanzania[J]. J Infect Dis, 2006, 193(12): 1738-1741.
- [29] Basco LK, Ringwald P. Point mutations in the *Plasmodium falciparum* cg2 gene, polymorphism of the kappa repeat region, and their relationship with chloroquine resistance[J]. Trans R Soc Trop Med Hyg, 2001, 95(3): 309-314.
- [30] Laufer MK, Plowe CV. Withdrawing antimalarial drugs: impact on parasite resistance and implications for malaria treatment policies [J]. Drug Resist Updat, 2004, 7(4-5): 279-288.
- [31] Wang X, Mu J, Li G, et al. Decreased prevalence of the *Plasmodium falciparum* chloroquine resistance transporter 76T marker associated with cessation of chloroquine use against *P.falciparum* malaria in Hainan, People's Republic of China[J]. Am J Trop Med Hyg, 2005, 72(4): 410-414.
- [32] Tinto H, Ouedraogo JB, Erhart A, et al. Relationship between the Pfert T76 and the Pfmdr-1 Y86 mutations in *Plasmodium falciparum* and *in vitro* / *in vivo* chloroquine resistance in Burkina Faso, West Africa[J]. Infect Genet Evol, 2003, 3(4): 287-292.
- [33] Verdier F, Pussard E. Role of modulators in *Plasmodium falciparum* resistance to antimalarials[J]. Med Trop (Mars), 1995, 55(Suppl 4): 27-32.
- [34] Bray PG, Deed S, Fox E, et al. Primaquine synergises the activity of chloroquine against chloroquine-resistant *Plasmodium falciparum*[J]. Biochem Pharmacol, 2005, 70(8): 1158-1166.
- [35] Menezes CM, Kirchgatter K, Di Santi SM, et al. *In vitro* evaluation of verapamil and other modulating agents in Brazilian chloroquine-resistant *Plasmodium falciparum* isolates[J]. Rev Soc Bras Med Trop, 2003, 36(1): 5-9.
- [36] Rafatro H, Ramanitrahambola D, Rasoanaivo P, et al. Reversal activity of the naturally occurring chemosensitizer malagashanine in *Plasmodium malariae*[J]. Biochem Pharmacol, 2000, 59(9): 1053-1061.
- [37] Millet J, Alibert S, Torrentino-Madamet M, et al. Polymorphism in *Plasmodium falciparum* drug transporter proteins and reversal of *in vitro* chloroquine resistance by a 9,10-dihydroethanoanthracene derivative[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2004, 48(12): 4869-4872.
- [38] Millet J, Torrentino-Madamet M, Alibert S, et al. Dihydroethanoanthracene derivatives as *in vitro* malarial chloroquine resistance reversal agents[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2004, 48(7): 2753-2756.
- [39] Oduola AM, Sowunmi A, Milhous WK, et al. *In vitro* and *in vivo* reversal of chloroquine resistance in *Plasmodium falciparum* with promethazine[J]. Am J Trop Med Hyg, 1998, 58(5): 625-629.
- [40] Pradines B, Pages JM, Barbe J. Chemosensitizers in drug transport mechanisms involved in protozoan resistance [J]. Curr Drug Targets Infect Disord, 2005, 5(4): 411-431.
- [41] Ward SA, Bray PG. Is reversal of chloroquine resistance ready for the clinic[J]. Lancet, 2001, 357(9260): 904.
- [42] Adovelande J, Deleze J, Schrevel J. Synergy between two calcium channel blockers, verapamil and fantofarone (SR33557), in reversing chloroquine resistance in *Plasmodium falciparum*[J]. Biochem Pharmacol, 1998, 55(4): 433-440.
- [43] Platel DF, Mangou F, Tribouley-Duret J. High-level chloroquine resistance of *Plasmodium berghei* is associated with multiple drug resistance and loss of reversal by calcium antagonists [J]. Int J Parasitol, 1998, 28(4): 641-651.

(收稿日期: 2008-01-02 编辑: 杨频)

(上接第 140 页)

- [19] Vanhamme L, Paturiaux-Hanocq F, Poelvoorde P, et al. Apolipoprotein L-1 is the trypanosome lytic factor of human serum[J]. Nature, 2003, 422(6927): 83-87.
- [20] Pérez-Morga D, Vanhollenbeke B, Paturiaux-Hanocq F, et al. Apolipoprotein L-1 promotes trypanosome lysis by forming pores in lysosomal membranes[J]. Science, 2005, 309(5733): 469-472.
- [21] Pays E, Vanhollenbeke B, Vanhamme L, et al. The trypanolytic factor of human serum[J]. Nature, 2006, 4(6): 477-486.
- [22] De Greef C, Hamers R. The serum resistance-associated (SRA) gene of *Trypanosoma brucei rhodesiense* encodes a variant surface glycoprotein-like protein[J]. Mol Biochem Parasitol, 1994, 68(2): 277-284.
- [23] Hager KM, Hajduk SL. Mechanism of resistance of African trypanosomes to cytotoxic human HDL[J]. Nature, 1997, 385(6619): 823-826.
- [24] Gibson WC, Mizen VH. Heritability of the trait for human infectivity in genetic crosses of *Trypanosoma brucei* ssp[J]. Trans R Soc Trop Med Hyg, 1997, 91(2): 236-237.
- [25] Johnson JG, Cross GA. Selective cleavage of variant surface glycoproteins from *Trypanosoma brucei*[J]. Biochem J, 1979, 178(3): 689-697.
- [26] Allen G, Gurnett LP. Locations of the six disulphide bonds in a variant surface glycoprotein (VSG 117) of *Trypanosoma brucei*[J]. Biochem J, 1983, 209(2): 481-487.
- [27] Carrington M, Miller N, Blum M, et al. Variant specific glycoprotein of *Trypanosoma brucei* consists of two domains each having an independently conserved pattern of cysteine residues[J]. J Mol Biol, 1991, 221(3): 823-835.
- [28] Campillo N, Carrington M. The origin of the serum resistance associated (SRA) gene and a model of the structure of the SRA polypeptide from *Trypanosoma brucei rhodesiense*[J]. Mol Biochem Parasitol, 2003, 127(1): 79-84.
- [29] Truc P, Gibson W, Herder S. Genetic characterization of *Trypanosoma evansi* isolated from a patient in India[J]. Infect Genet Evol, 2007, 7(2): 305-307.
- [30] Vanhollenbeke B, Truc P, Poelvoorde P, et al. Human *Trypanosoma evansi* infection linked to a lack of apolipoprotein L-I [J]. N Engl J Med, 2006, 355(26): 2752-2756.
- [31] Vanhamme L, Renauld H, Lecordier L, et al. The *Trypanosoma brucei* reference strain TREU927/4 contains *T.brucei rhodesiense*-specific SRA sequences, but displays a distinct phenotype of relative resistance to human serum[J]. Mol Biochem Parasitol, 2004, 135(1): 39-47.
- [32] Baral TN, Magez S, Stijlemans B, et al. Experimental therapy of African trypanosomiasis with a nanobody-conjugated human trypanolytic factor[J]. Nat Med, 2006, 12(5): 580-584.

(收稿日期: 2007-05-16 编辑: 高石)