论著

文章编号:1000-5404(2011)04-0376-05

姜黄素逆转结肠癌裸鼠移植瘤多药耐药的研究

卢伟东,傅仲学,覃 勇,李 雷,杨 闯 (400016 重庆,重庆医科大学附属第一医院普通外科)

【摘要】 **目的** 探讨姜黄素体内对人结肠癌耐长春新碱细胞株 HCT-8/VCR 多药耐药的逆转作用及其可能机制。**方法** 将 HCT-8/VCR 种植于裸鼠皮下,建立肿瘤耐药模型。移植瘤裸鼠 20 只依据治疗方法的不同分为对照组(PBS)、长春新碱(Vincristine,VCR 2 mg/kg)组、姜黄素(50 mg/kg)组、姜黄素联合 VCR(50 mg/kg 姜黄素 +2 mg/kg VCR)4 组,每组 5 只。治疗 2 周后收集标本,称量各组瘤体质量,采用 RT-PCR、Western blot 分别检测瘤组织内 MDR1 mRNA、survivin mRNA 和 P-gp、survivin 蛋白的表达水平,HE 染色观察瘤组织细胞形态学变化,评估姜黄素在不同处理因素中逆转肿瘤多药耐药的效果。**结果** 姜黄素联合 VCR 能显著抑制瘤体的生长,姜黄素联合 VCR 组瘤质量[(0.42 ±0.23) g]明显低于对照组[(1.21 ±0.25) g]、VCR 组[(1.13 ±0.27) g]、姜黄素组[(0.75 ±0.27) g]($P<0.05$)。RT-PCR、Western blot 结果显示姜黄素能够下调 MDR1 mRNA、survivin mRNA 和 P-gp、survivin 蛋白的表达,姜黄素联合 VCR 组 MDR1 mRNA(0.18 ±0.05)、survivin mRNA(0.63 ±0.04)、P-gp(0.15 ±0.02)、survivin(0.31 ±0.09)和姜黄素组 MDR1 mRNA(0.39 ±0.11)、survivin mRNA(0.80 ±0.12)和 P-gp(0.34 ±0.07)、survivin(0.40 ±0.11)蛋白表达明显低于对照组 MDR1 mRNA(0.99 ±0.23)和 survivin mRNA(1.19 ±0.32)表达,以及 P-gp(0.71 ± 0.23)、survivin(0.88 ±0.15)蛋白表达($P<0.05$)。HE 病理切片显示姜黄素组和姜黄素联合 VCR 组较其他 2 组有较多的淋巴细胞浸润,核固缩较多,核分裂相少,坏死更为广泛。**结论** 多种机制参与姜黄素体内逆转肿瘤多药耐药,姜黄素可能通过下调 MDR1、survivin mRNA 表达和 P-gp、survivin 蛋白的表达,促进肿瘤细胞凋亡等多种途径逆转肿瘤的多药耐药性。

【关键词】 姜黄素;抗药性,多药;移植,异种;肿瘤;逆转;小鼠,裸

【中图法分类号】 R285.5;R735.35 【文献标志码】 A

Curcumin reverses multidrug resistance in HCT-8/VCR nude mice xenograft

Lu Weidong, Fu Zhongxue, Qin Yong, Li Lei, Yang Chuang (Department of General Surgery, First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing, 400016, China)

【**Abstract**】 **Objective** To investigate the multi-drug resistance reversal effects of curcumin on xenografts derived from multi-drug resistant human colon carcinoma cell line HCT-8/VCR, and to explore the possible mechanism. **Methods** The models of HCT-8/VCR xenograft (100 mm^3) in nude mice were established through implanting 0.1 ml cells at 4×10^7 cells/ml. Twenty nude mice bearing HCT-8/VCR tumors were randomized into 4 groups according to different treatments, that is, group A: control group, group B: VCR group (2 mg/kg injected around the tumor mass, once per 2 d, for 7 times), group C: curcumin group (50 mg/kg, injected around the tumor mass, once per 2 d, for 7 times), group D: curcumin plus VCR group (as combined the treatment of groups B and C). Tumor volume was calculated with $L\times D^2/2$ which were measured once per 2 d, for 14 d. Tumor weight was measured and specimens were collected from the mice in each group in 2 weeks after the interventions. Morphology of xenografts were investigated by HE staining. The expressions of MDRl, P-glycoprotein (P-gp) and survivin were observed with reverse transcriptase PCR and Western blot assay respectively. Effects of curcumin on reversing multi-drug resistance of tumor in different treatments were evaluated. **Results** Curcumin plus VCR significantly inhibited the growth of xenografts, with the tumor weight of group D (0.42 ±0.23 g) significantly lower than those of the other 3 groups (group A 1.21 ±0.25 g, group B 1.13 ±0.27 g and group C 0.75 ±0.27 g, $P<0.05$). RT-PCR and Western blotting results showed that the

【基金项目】 重庆市卫生局中医药重点项目(2009-1-2)

【通信作者】 傅仲学,电话:(023)89012302,E-mail:fzx990521@sina.com

expressions of MDRl mRNA (0.39 ± 0.11), P-gp (0.34 ± 0.07), survivin mRNA (0.80 ± 0.12) and protein (0.40 ± 0.11) in group C and those of MDRl mRNA (0.18 ± 0.05), P-gp (0.15 ± 0.02), survivin mRNA (0.63 ± 0.04) and protein (0.40 ± 0.11) in group D were significantly lower than those in group A (MDRl mRNA 0.99 ± 0.23, P-gp 0.71 ± 0.23, survivin mRNA 1.19 ± 0.32 and protein 0.88 ± 0.15, $P < 0.05$), indicating that curcumin down regulated these expressions. HE staining revealed that group C and D had more lymphocytic infiltration, more nuclear pyknosis, fewer mitotic figures, and more extensive necrosis when compared to the other groups. **Conclusion** Curcumin has strong reversal effects on multidrug resistance in HCT-8/VCR cells through down-regulating mRNA and protein expressions of MDR1 and survivin.

[Key words] curcumin; multidrug resistance; xenograft; neoplasms; reversal; nude mice

Supported by the Key Project of Traditional Chinese Medicine of Chongqing Municipal Health Bureau (2009-1-2). Corresponding author: Fu Zhongxue, Tel: 86-23-89012302, E-mail: fzx990521@sina.com

肿瘤细胞的多药耐药性(multidrug resistance, MDR)是肿瘤患者化疗有效的主要障碍之一,P糖蛋白(P-glycoprotein, P-gp)的过度表达是MDR产生的主要原因。此外,还有一产生MDR的重要机制就是凋亡受阻,survivin作为凋亡抑制基因,其过量表达可引起肿瘤耐药[1]。寻找能有效逆转MDR的逆转剂是当前肿瘤化疗亟待解决的难题。姜黄素(curcumin, Cur)是从中药姜黄中提取的主要有效成分,具有抗肿瘤、降血脂、抗炎、利胆、抗氧化等作用,且长期应用无明显毒副反应[2]。近年来研究发现姜黄素还能逆转肿瘤的多药耐药[3]。虽然对于姜黄素逆转肿瘤细胞多药耐药的作用及其机制做了大量的研究工作,但在姜黄素逆转结肠癌细胞多药耐药方面还研究较少,而且很多研究都集中在体外。本研究旨在模拟人体内的肿瘤生长环境,探讨姜黄素逆转肿瘤多药耐药的作用及其机制,为临床姜黄素治疗多药耐药肿瘤患者提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 细胞与动物

人结肠癌耐药细胞株HCT-8/VCR购自上海润成生物化学有限公司;BALB/c-nu/nu裸小鼠(4~6周龄),雌雄各半,体质量16~20 g,共20只,购自中国医学科学院中国协和医科大学实验动物研究所,合格证号是SCXK(京)2009-0004,饲养于重庆医科大学实验动物中心SPF条件下。

1.2 主要药物及试剂

硫酸长春新碱(Vincristine, VCR,深圳万乐药业有限公司);姜黄素、DMSO(Sigma公司);RPMI1640、胎牛血清(Gibco公司);P-gp抗体(一抗),survivin抗体(一抗)及HRP标记的羊抗兔IgG二抗(北京博奥森生物技术有限公司);Trizol、RT-PCR与Western blot试剂盒(TaKaRa公司)。

1.3 方法

1.3.1 细胞培养 用含10%胎牛血清的RPMI1640培养液(含青霉素、链霉素各100 U/ml)于37 ℃、5% CO_2、饱和湿度培养箱中常规培养,培养体系中加入终浓度为2 μg/L的VCR以维持耐药性,实验前2周停用VCR常规培养。

1.3.2 裸小鼠移植瘤动物模型的建立 取对数生长期的HCT-8/VCR细胞制成4×10^7/ml悬液,用1 ml一次性注射器吸取悬液接种于裸小鼠右侧腹股沟皮下,每只注射0.1 ml。整个操作在SPF条件下进行。待肿瘤平均体积长到100 mm^3时,即接种后第14天,将裸小鼠均分为4组:阴性对照组(PBS)、VCR组(2 mg/kg VCR)、姜黄素组(50 mg/kg)、姜黄素联合VCR组(50 mg/kg姜黄素 + 2 mg/kg VCR),然后开始用药,VCR(2 mg/kg)、姜黄素(50 mg/kg)以给药体积0.01 ml/g注射于瘤体周围,每2天1次,共7次。每隔1 d测量肿瘤最长径(L)和最短径长(D),按下式计算肿瘤体积(V):$L \times D^2/2$,观察至给药14 d结束。颈椎脱臼处死裸鼠,取瘤组织,称瘤质量,绘制肿瘤生长曲线,并计算肿瘤抑制率,抑瘤率 = (1 − 实验组平均瘤质量/对照组平均瘤质量) × 100%;按金正均法计算q值来判断姜黄素与VCR合用的效果:$q = E_{a+b}/(E_a + E_b - E_a \times E_b)$,式中$E_{a+b}$为合用药物肿瘤抑制率;$E_a$, E_b分别为单用药物肿瘤抑制率。q值在0.85~1.15:两药作用单纯相加;q值 > 1.15:两药作用为协同;q值 < 0.85:两药作用为拮抗。

1.3.3 RT-PCR检测MDR1、survivin基因的表达 用Trizol法提取瘤组织总RNA,然后进行逆转录反应。按TaKaRa说明书配制25 μl逆转录反应体系,反应条件为94 ℃ 5 min, 94 ℃ 30 s, 58 ℃ 30 s, 72 ℃ 60 s,共30个循环。72 ℃延伸10 min终止反应。PCR引物由上海生工合成。MDR1引物序列为:上游5′-CAAGGAAGCCAATGCCTATGAC-3′,下游5′-ATCCAGAGCCACCTGAACCACT-3′,扩增产物大小为211 bp;Survivn引物序列为:上游5′-GACCACCGCATCTCTACATTC-3′,下游5′-GTTCTTGGCTCTTTCTCTGTCC-3′,扩增产物大小为300 bp。内参照GAPDH引物序列为:上游5′-ACCACAGTCCATGCCATCAC-3′,下游5′-TCCACCACCCTGTTGCTGTA-3′,扩增产物大小为450 bp。扩增产物于2%琼脂糖凝胶电泳进行检测,凝胶成像系统(Bio-Rad, Gel Doc2000)扫描成像,扩增条带用Quantity one软件分

析，用 MDR-l、survivin 与 GAPDH 的灰度比值表示 MDR-l、survivin 基因的表达水平。

1.3.4 Western blot 检测瘤组织内 P-gp、survivin 蛋白的表达

取约 300 mg 肿瘤组织，剪切成小碎片，加入适量的裂解液 400 μl，匀浆器匀浆，然后 12 000 r/min 离心 3 min，取上清，测定蛋白浓度，取等量蛋白样品 50 μg 进行 8% SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳（SDS-PAGE），然后将蛋白转移至 PVDF 膜上，经 5% 脱脂奶粉封闭，分别与 P-gp 抗体（一抗），survivin 抗体（一抗）、β-actin 多克隆抗体 4℃反应过夜及相应的羊抗兔二抗反应 1 h，加入化学发光剂 ECL 反应，显色，计算 P-gp、survivin 蛋白相对表达量。

1.3.5 瘤体病理组织学观察 取瘤组织用 4% 的甲醛固定，常规脱水，石蜡包埋，切片经 HE 染色，在光镜下观察瘤组织病理改变情况。

1.4 统计学分析

实验结果原始数据输入 SPSS 13.0 统计软件包进行统计分析，计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示。各组之间比较采用单因素方差分析。

2 结果

2.1 各组瘤体的生长情况

自接种细胞之日起，每日观察接种部位的形态变化，刚开始接种部位皮下肿胀，略红，以后肿胀范围逐日变小，3 d 后减为绿豆大小的白色小肿块，质硬，可移动，后肿块逐渐长大，色泽变红润，形态不规则，其上布有血管。以后肿瘤包块逐渐增大（图 1）。各组移植瘤的生长曲线如图 2 所示。



A：对照组；B：VCR 组；C：姜黄素组；D：姜黄素联合 VCR 组

图 1 干预治疗 14 d 后各组有代表性的裸鼠移植瘤情况

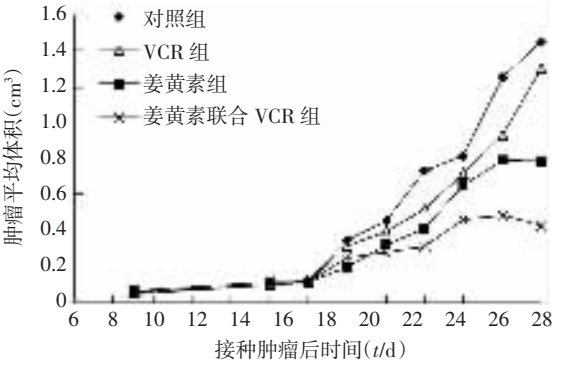


图 2 姜黄素对肿瘤生长曲线的影响

大体观察，对照组、VCR 组的瘤体较大，增长明显，多呈不规则形，质地柔软，瘤体表面清晰可见丰富的血管网。姜黄素组和姜黄素联合 VCR 组的瘤体体积与对照组和 VCR 组相比较小，增长缓慢，至用药结束时，姜黄素组和姜黄素联合 VCR 组瘤体体积和肿瘤抑制率与对照组、VCR 组相比，差异有统计学意义（$P<0.01$）。姜黄素联合 VCR 组与其他用药组相比，具有更高的肿瘤抑制率，与姜黄素及 VCR 单独用药组相比差异有统计学意义（$P<0.05$），按金正均法计算 $q=1.46$，说明姜黄素联合 VCR 治疗后的效应为协同作用，用药后各组肿瘤平均体积的变化及肿瘤抑制率见表 1。

表 1 各组干预后平均瘤质量、抑瘤率及干预前后瘤体的平均体积变化（$n=5$，$\bar{x} \pm s$）

组别	平均瘤质量(g)	抑瘤率(%)	平均体积(mm^3)	
			治疗前	治疗后
对照组	1.21 ± 0.25	–	98.2 ± 34.5	1 406.6 ± 128.3
VCR 组	1.13 ± 0.27	9.3	106.1 ± 39.3	1 338.4 ± 109.5
姜黄素组	0.75 ± 0.27	39.1	102.3 ± 41.5	782.5 ± 109.2[ab]
姜黄素联合 VCR 组	0.42 ± 0.23	65.3	103.5 ± 40.8	402.3 ± 58.4[ab]

a：$P<0.01$，与对照组比较；b：$P<0.05$，与 VCR 组、姜黄素组比较

2.2 多药耐药基因（MDR1）、survivinm RNA 的表达

RT-PCR 结果显示，姜黄素组 MDR1 mRNA、survivin mRNA 的表达水平较对照组均显著下调，联合用药组 MDR1 mRNA、survivin mRNA 的表达水平下调更为明显，与对照组比较差异显著（$P<0.05$），姜黄素组与姜黄素联合 VCR 组比较，MDR1 mRNA、survivin mRNA 的表达量 2 组间差异有统计学意义（$P<0.05$）（图 3）。

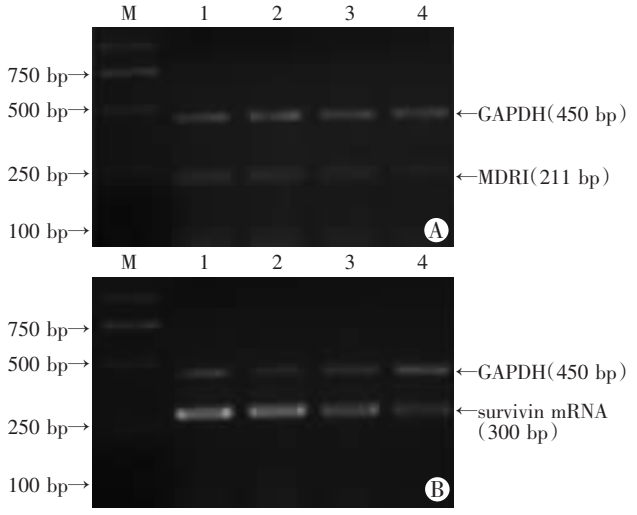
2.3 多药耐药蛋白（P-gp）、survivin 蛋白的表达

Western blot 结果显示，姜黄素组、姜黄素联合 VCR 组的 P-gp、survivin 蛋白的表达较其它各组均明显降低，与对照组比较，差异有统计学意义（$P<0.05$。见图 4。

2.4 瘤组织病理学变化

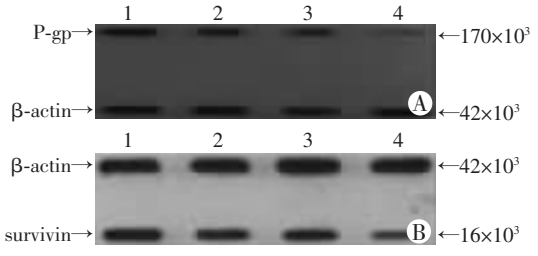
经 HE 染色后，光镜下可见对照组瘤细胞呈圆形或椭圆形、多角形，体积较大，胞核深染，核浆比较大，核分裂相多见，异质性强，核固缩较少，瘤组织可见部分坏死。姜黄素组和姜黄素联合 VCR 组细胞形态各异，核固缩较多，核分裂相少，有较多淋巴细胞浸润，瘤组织有不同程度的坏死，坏死区较对照

组广泛,而 VCR 组此表现相对较少(图 5)。



M:标准 1:对照组 2:VCR 组 3:姜黄素组 4:姜黄素联合 VCR 组

图 3 RT-PCR 检测瘤组织内 MDR-1(A)及 survivin mRNA(B)的变化



1:对照组 2:VCR 组 3:姜黄素组 4:姜黄素联合 VCR 组

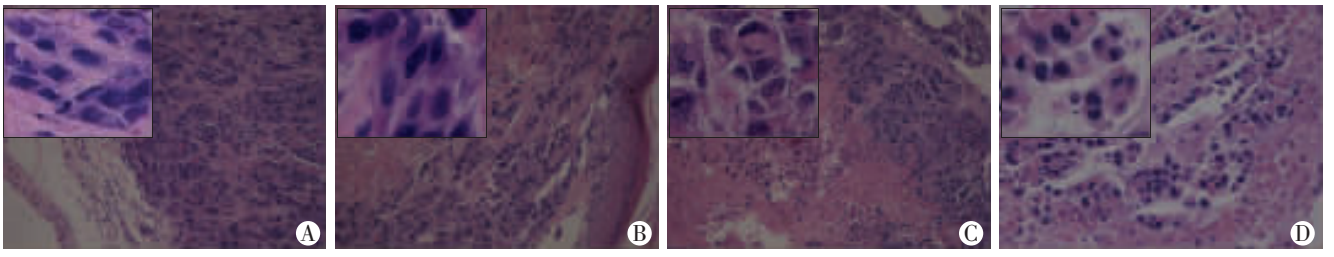
图 4 Western blot 检测瘤组织内 P-gp(A)、survivin(B)蛋白的表达

3 讨论

MDR 形成的机制异常复杂,近年的研究[4]表明,MDR1/ P-gp 高表达和凋亡抑制是化疗药物诱发肿瘤细胞 MDR 的主要机制。P-gp 为一依赖能量的药物外排泵,主要由 MDR1 基因编码,能将细胞内带阳性电荷的亲脂类化疗药物逆浓度泵至细胞外,使细胞内化疗药物达不到有效作用浓度从而产生耐药性。此外,P-gp 还通过抑制 Caspase-3 和 Caspase-8 的激活而抑制依赖 Caspases 激活途径的细胞凋亡[5-6]。因此,应用多药耐药的逆转剂或逆转方法是提高临床化疗效果的重要手段。

目前多药耐药的逆转剂多存在体内活性小,毒副作用大的缺点,理想的 MDR 逆转剂应具有毒副作用低而本身有抗癌活性 2 个基本特点。姜黄素的抗肿瘤作用及逆转肿瘤的多药耐药性及其机制正受到日益重视。文献[7-8]报道,姜黄素能抑制癌细胞增殖及促进其凋亡的作用。Shankar 等[9]研究说明姜黄素能抑制肿瘤的生长转移和血管发生,可以单独或联合 TRAIL 应用于前列腺癌的预防和治疗。Andjelkovic 等[10]研究了姜黄素和嘌呤类似物 sulfinosine 对非小细胞肺癌耐药株 NCI-H460/R 的协同效应,发现 sulfinosine 和姜黄素单独应用时均能下调 MDR1 的表达,但两者合用时 MDR1 下调更为显著,从而克服非小细胞肺癌的多药耐药。此外,姜黄素可以通过下调某些肿瘤细胞 P-gP 蛋白的表达,从而逆转由 MDR1 所介导的肿瘤多药耐药[11-13]。这些研究提示姜黄素有可能作为某些化疗药物的增敏剂而逆转肿瘤的多药耐药。

本实验应用姜黄素联合 VCR 对结肠癌耐药细胞 HCT-8/VCR 裸鼠移植瘤模型进行干预处理,发现:对照组、长春新碱组肿瘤体积增长明显,姜黄素组及姜黄素联合长春新碱组增长相对缓慢,姜黄素联合长春新碱组的肿瘤抑制率(65.3%)明显高于单独应用姜黄素(39.1%)或 VCR 时的肿瘤抑制率(9.3%),差异有统计学意义($P<0.05$)。按照金正均法计算合并用药后的效应,计算 q 为 1.46,即 q 值 >1.15,说明长春新碱和姜黄素合并用药后的效应为协同作用。由此推测姜黄素与 VCR 联合作用于肿瘤细胞时,可能通过某种机制使肿瘤细胞对 VCR 的敏感性增加,进而抑制了肿瘤细胞的增殖,致使姜黄素联合 VCR 组的肿瘤平均体积明显低于单独应用姜黄素或 VCR 时的肿瘤平均体积。通过 RT-PCR、Western blot 检测 P-gp 的表达,发现



A:对照组 B:VCR 组 C:姜黄素组 D:姜黄素联合 VCR 组;图左上方小图:较典型变化的放大效果

图 5 姜黄素逆转结肠癌裸鼠移植瘤瘤组织病理变化 (HE ×200)

姜黄素组和姜黄素联合 VCR 组 P-gp 的表达明显降低，作者推测姜黄素可能通过下调 P-gp 的表达，进而解除 P-gp 对凋亡途径的抑制效应从而促进肿瘤细胞凋亡。此外，还可能是姜黄素作用于肿瘤细胞后使细胞膜上 P-gp 的表达下降，可能因此减少了细胞膜上 P-gp 的数量，影响了其功能，阻止了药物的外排，从而使细胞内药物浓度得以提高，达到杀灭肿瘤细胞的药物浓度，逆转了耐药。

survivin 是迄今发现的最强的凋亡抑制因子，几乎在所有的恶性肿瘤中均有表达。化疗药物可通过诱导 survivin 的表达上调，上调的 survivin 可与 Caspases 特异性结合，抑制 Caspase-3 和 Caspase-7 的活性从而阻断多种凋亡信号诱导的细胞凋亡过程，从而导致肿瘤耐药的形成[14-15]。Moriai 等[16]证实，K562/ADR 耐药细胞 survivin mRNA 的表达比其亲本 K562 细胞高 1.7 倍；survivin 反义寡核苷酸能下调 K562 细胞 survivin mRNA 的表达，从而提高 K562 细胞内化疗药物浓度，降低细胞的耐药性[17]。李琳等[18]也认为 survivin 过表达与肿瘤细胞耐药的产生有重要关系。由此可见 survivin 除了抑制肿瘤细胞凋亡外，可能还参与了肿瘤耐药的形成。本实验通过 RT-PCR、Western blot 方法发现，姜黄素组和姜黄素联合 VCR 组的 survivin 的转录和翻译水平都显著降低，survivin 的表达量减少，从而使 survivin 的抗凋亡功能下降，诱导肿瘤细胞凋亡，进而阻断了肿瘤细胞的耐药机制，逆转了耐药。至于姜黄素对 P-gp、survivin 影响的具体作用过程及 P-gp与 survivin 之间的相互关系，还有待于进一步深入研究。

总之，姜黄素在裸鼠体内能逆转肿瘤细胞的多药耐药性，抑制耐药细胞移植瘤的生长，其机制可能与姜黄素下调 P-gp、survivin 的基因和蛋白表达有关，姜黄素来源广泛，价格低廉，高效低毒，有着很大的发展潜力，值得进一步深入研究。

参考文献：

[1] 于月新，李巨. 紫草素逆转绒癌细胞 JAR/MTX 耐药与 survivin 和 Bcl-2 表达关系研究[J]. 第三军医大学学报，2007，29(19)：1880-1882.

[2] Lin J K，Lin-shiau S Y. Mechanisms of cancer chemoprevention by curcumin[J]. Proc Natl Sci Counc Repub China B，2001，25(2)：59-66.

[3] 英焕春，张淑兰，吕靖. 姜黄素逆转卵巢癌耐药细胞株 COC1/DDP 耐药性及机制的研究[J]. 现代肿瘤医学，2007，15(5)：604-607.

[4] 唐郡，阎晓初，彭贵勇，等. 食管鳞状细胞癌 P-gp、GST-π、Topo Ⅱ的表达及临床意义[J]. 第三军医大学学报，2007，29(17)：1692-1695.

[5] Ruefli A A，Smyth M J，Johnstone R W. HMBA induces activation of a caspase-independent cell death pathway to overcome P-glycoprotein-mediated multidrug resistance [J]. Blood，2000，95(7)：2378-2385.

[6] Johnstone R W，Cretney E，Smyth M J. P-glycoprotein protects leukemia cells against caspase-dependent，but not caspase-independent，cell death[J]. Blood，1999，93(3)：1075-1085.

[7] 吴晓健，吴凯南. 姜黄素对人乳腺癌 MCF-7 细胞抗增殖作用的研究[J]. 第三军医大学学报，2006，28(18)：1870-1872.

[8] 杨家荣，陈磊，杨慧，等. 姜黄素对膀胱癌细胞增殖及凋亡的影响[J]. 第三军医大学学报，2007，29(24)：2350-2353.

[9] Shankar S，Ganapathy S，Chen Q，*et al*. Curcumin sensitizes TRAIL-resistant xenografts：molecular mechanisms of apoptosis，metastasis and angiogenesis[J]. Mol Cancer，2008，7：16.

[10] Andjelkovic T，Pesic M，Bankovic J，*et al*. Synergistic effects of the purine analog sulfinosine and curcumin on the multidrug resistant human non-small cell lung carcinoma cell line (NCI-H460/R)[J]. Cancer Biol Ther，2008，7(7)：1024-1032.

[11] 张炎，鲁功成. 姜黄素逆转多药耐受糖蛋白介导的膀胱肿瘤多药耐药的实验研究[J]. 临床泌尿外科杂志，2003，18(8)：492-493.

[12] 常宏宇，潘凯丽，李琦，等. 姜黄素对 K562/A02 细胞上 P-gp 的表达及其功能的影响[J]. 细胞与分子免疫学杂志，2005，21(2)：240-242.

[13] Tang X Q，Bi H，Feng J Q，*et al*. Effect of curcumin on multidrug resistance in resistant human gastric carcinoma cell line SGC7901/VCR[J]. Acta Pharmacol Sin，2005，26(8)：1009-1016.

[14] Shin S，Sung B J，Cho Y S，*et al*. An anti-apoptotic protein human survivin is a direct inhibitor of caspase-3 and -7[J]. Biochemistry，2001，40(4)：1117-1123.

[15] Li F，Ambrosini G，Chu E Y，*et al*. Control of apoptosis and mitotic spindle checkpoint by survivin [J]. Nature，1998，396(6711)：580-584.

[16] Moriai R，Asanuma K，Kobayashi D，*et al*. Quantitative analysis of the anti-apoptotic gene survivin expression in malignant haematopoietic cells[J]. Anticancer Res，2001，21(1B)：595-600.

[17] 杨山，徐西华，温贤浩，等. survivin 反义寡核苷酸对 K562 细胞耐药性的影响[J]. 四川大学学报：医学版，2008，39(6)：905-908.

[18] 李琳，周敏，姚彬，等. survivin 在卵巢癌中的表达与化疗耐药和预后关系[J]. 中国现代医药杂志，2009，11(6)：24-27.

(收稿 2010-09-30 修回 2010-11-16)

(编辑 王 红)