文章编号:1000-5404(2011)15-1615-05

论著

甲基莲心碱对 Tca8113/CBP 卡铂耐药性的逆转作用

王启明,李 勇,李 显,童 熹,李 婷 (400015 重庆,重庆医科大学附属口腔医院口腔颌面外科)

[摘要] **目的** 建立人舌鳞癌卡铂耐药细胞株 Tca8113/CBP,探讨甲基莲心碱 Nef 对 Tca8113/CBP 卡铂耐药性的逆转作用及其机制。**方法** 采用逐步递增卡铂浓度、体外间歇诱导法建立 Tca8113/CBP 耐卡铂细胞株;MTT 法检测 Nef 对 Tca8113/CBP 卡铂耐药性的逆转作用;RT-PCR 法检测 Nef 作用前后 Tca8113/CBP 内耐药相关基因肺耐药蛋白 LRP 与成纤维细胞肌型原肌球蛋白 FMT 的表达水平;免疫荧光观察 Nef 作用前后细胞形态结构变化。**结果** 历时 5 个月建立的 Tca8113/CBP 细胞株对卡铂耐药性稳定,耐药指数为 4.06。Nef 对 Tca8113/CBP 的卡铂耐药性有逆转作用,逆转倍数达到 2.12 倍;与 Tca8113/CBP 细胞比较,经 Nef 干预后,Tca8113/CBP 细胞内 LRP 与 FMT mRNA 表达水平明显降低($P < 0.01$),细胞内 F-actin 的含量也明显下降,排列整齐,分布趋于均匀,接近非耐药 Tca8113 细胞水平。**结论** Nef 对 Tca8113/CBP 的卡铂耐药性有逆转作用,其机制可能与干预 Tca8113/CBP 细胞内 LRP 和 FMT 表达,增加 Tca8113/CBP 细胞内卡铂的含量,改变微丝结构,降低细胞黏附能力,干扰细胞增殖周期有关。

[关键词] 甲基莲心碱;Tca8113/CBP;卡铂;耐药性;逆转;成纤维细胞肌型原肌球蛋白
[中图法分类号] R285.5; R739.86; R979.11 [文献标志码] A

Neferine reverses resistance to carboplatin in Tca8113/CBP cells

Wang Qiming, Li Yong, Li Xian, Tong Xi, Li Ting (Department of Maxillofacial Surgery, Stomatology Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing, 400015, China)

[**Abstract**] **Objective** To establish a carboplatin (CBP)-resistant tongue squamous carcinoma cell line, Tca8113/CBP cells, and to observe the reversal effect of neferine in these cells. **Methods** Tca8113/CBP cell line was established by gradually increasing the concentration of carboplatin and intermittent inducement to Tca8113 cells. Methyl thiazolyl tetrazolium (MTT) assay was used to evaluate the reversal effect of neferine on proliferation in Tca8113/CBP cells. mRNA expression of drug-resistance-associated genes, lung related resistant protein (LRP) and fibroblast muscle-type tropomyosin (FMT) were monitored by RT-PCR in the cells before and after resistance establishment. Morphology of the cells was observed under fluorescent microscopy, and the intracellular changes of cytoskeleton between reversed Tca8113/CBP and non-reversed Tca8113/CBP were compared. **Results** After 5 month's CBP treatment, Tca8113/CBP cells which can be stably resistant to carboplatin (16 μg/ml) was successfully established. The resistance index is 4.06. Neferine reversed the resistance of Tca8113/CBP cells with a reversal fold of 2.12. Compared to the Tca8113 cells, the expression of LRP and FMT at mRNA level was increased obviously in Tca8113/CBP cells. Whereas they were decreased after neferine treatment ($P < 0.01$), and the intracellular F-actin content was also decreased, arranged in neat rows, more evenly distributed close to the level of non-resistant Tca8113 cells. **Conclusion** Neferine exhibits the reversal effect on Tca8113/CBP cells, which may be relate to decrease of LRP and FMT expression, increase of intracellular content of carboplatin, change of the microfilament, reduce of mechanical properties of adhesion, and interference of cell cycle in Tca8113/CBP cells.

[**Key words**] neferine; Tca8113/CBP; carboplatin; resistance; reverse; fibroblast muscle-type tropomyosin

Corresponding author: Li Yong, Tel: 86-23-89035821, E-mail: cq-liyong@163.com

多药耐药(multidrug resistance,MDR)常使化疗难以奏效并最终导致化疗失败[1],因此,耐药逆转剂成为了研究逆转肿瘤 MDR 的一种趋势[2],它们能增加肿瘤细胞对化疗药物的敏感性,特别是中药逆转剂的多靶点作用,可通过作用于多个耐药相关蛋白达到逆

[通信作者] 李 勇,电话:(023)89035821,E-mail: cq-liyong@163.com

转多药耐药的作用,而且其不良反应较小,同时可调节机体免疫系统,协同发挥治疗作用[3];肺耐药蛋白(lung related resistant protein,LRP)是一种新型的与肿瘤MDR相关的糖蛋白,其主要导致细胞内药物聚集缺陷,研究证实LRP参与多种肿瘤对化疗药物的耐药[4-7];成纤维细胞肌型原肌球蛋白(fibroblast muscle-type tropomyosin,FMT)是原肌球蛋白的一种亚型,是肌动蛋白结合蛋白家族中的一员[8]。在恶性肿瘤MDR中原肌球蛋白会过度表达并使肿瘤转移速度加快[9-10];卡铂(carboplatin,CBP)是第2代铂类复合物药物,由于其抗肿瘤活性较强,对头颈部癌、宫颈癌、生殖细胞癌及肺癌均有较好疗效,但铂类药物的耐药性常常导致化疗失败[11];因此,提高头颈部肿瘤的化疗敏感性、降低化疗耐药,尤其是降低最常用的化疗药物CBP的耐药性是改善临床预后的关键。本研究采用人舌鳞癌细胞株Tca8113为诱导对象,应用逐步递增CBP浓度、间歇作用的体外诱导法建立人舌癌卡铂耐药细胞株Tca8113/CBP,并研究中药成分甲基莲心碱(neferine,Nef)对Tca8113/CBP卡铂耐药性的逆转作用及其机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验药物 甲基莲心碱,白色结晶粉末,每支20 mg,购自顺勃生物工程公司,用微量10% DMSO溶解成高浓度母液20 mg/ml,临用前用RPMI1640细胞培养液稀释成所需终浓度。

1.1.2 细胞株 人舌鳞状细胞癌Tca8113细胞株购于四川大学口腔疾病研究国家重点实验室。细胞在含15%胎牛血清的RPMI1640培养液中,37 ℃、5% CO_2培养箱中培养。

1.1.3 主要试剂 RPMI1640细胞培养液(HyClone,美国),胎牛血清(杭州四季青公司),注射用卡铂(齐鲁制药),胰蛋白酶、MTT、DMSO(Sigma,美国),RNAiso Reagent总RNA提取试剂盒、PrimeScript^{RT} Reagent Kit试剂盒、PCR Premix *Taq* Version 2.0(TaKaRa,日本)。肺耐药蛋白(lung related resistant protein,LRP)、成纤维细胞肌型原肌球蛋白(fibroblast muscle-type tropomyosin,FMT)和内参(β-actin)靶基因序列见表1,均由上海生物工程技术服务有限公司设计合成。GoldView核酸染料、琼脂糖(大连宝生物公司),FITC标志的鬼笔环肽(FITC phalloidin,Sigma,美国)。

1.1.4 主要设备 Air Tech超净工作台(苏净集团安泰公司),TDZ5-WS多管架自动平衡离心机(湘仪离心机厂),37 ℃恒温水浴箱(DK-60,上海贺德实验设备厂),Nikon ECLIPSE TE 2000-u倒置相差显微镜,YCP-200二氧化碳孵箱(上海易亮医疗器械有限公司),PCR仪(Bio-Rad,美国),NanoDrop ND-2000C微量紫外分光光度计(NanoDrop,美国),leica DM6000荧光显微镜(莱卡,德国)。

表1 靶基因引物序列及PCR反应条件

GenBank^{TM}登录号	靶基因	引物序列(5′→3′)	退火温度(℃)	循环次数	产物大小
X79882	LRP	正义链:GAGCAGTTCACAGTGTTGTCC			
		反义链:GTTGTAGGCCAGCTGCAGTTA	59	30	156 bp
M12125	FMT	正义链:CGAAGCCGACAAGAAGCAA			
		反义链:TGAATCCTCAGCGATGTGC	57	30	400 bp
NM_001101	β-actin	正义链:CCATGTACGTTGCTATCCAGG			
		反义链:TCTCCTTAATGTCACGCACGA	58	30	250 bp

1.2 方法

1.2.1 耐药细胞系的建立 使用含15%胎牛血清的RPMI1640完全培养基,在37 ℃,5% CO_2条件下常规培养Tca8113细胞。细胞呈贴壁生长,待生长稳定后,取对数生长期Tca8113细胞在含CBP的RPMI1640培养液中培养,逐步提高CBP浓度间歇诱导,剂量依次为1、2、4、8、12、16 μg/ml,最终获得1株能完全耐受16 μg/ml CBP的细胞株。细胞诱导成功后,将耐药细胞株在无药物的培养基中培养,稳定传代5次后用于进行各项实验。

1.2.2 Tca8113/CBP对卡铂耐药指数的测定 方法参考文献[12]取对数生长期的Tca8113/CBP细胞吹打成密度为1×10^5/ml的细胞悬液,接种于96孔板,每孔200 μl,培养24 h后分别加入终浓度为0.2、2、20、200、2 000 μg/ml的卡铂。每个浓度设3个重复孔。阴性对照组加等体积无血清RPMI1640,并设空白对照组。药物作用24 h后每孔加入浓度为5 mg/ml MTT 20 μl,4 h后吸去测试孔内溶液,加入DMSO液150 μl,振荡10 min后在570 nm波长下酶标仪检测每孔光密度值[D(570)]。细胞抑制率={1-[给药组D(570)-空白对照组D(570)]/[阴性对照组D(570)-空白对照组D(570)]}×100%。以细胞抑制率为纵坐标,以预设不同卡铂浓度,10为底的对数值为横坐标,求出直线方程($y=ax+b$),得出当$y=0.5$时对应的x值,进而求出各组细胞对CBP的半数抑制浓度(IC_{50}),算出耐药指数(resistance index,RI),RI=IC_{50}(耐药细胞)/IC_{50}(原代细胞)。

1.2.3 甲基莲心碱的逆转作用

1.2.3.1 甲基莲心碱最适逆转浓度的确定 将不同浓度的Nef(0.01、0.1、1、10、100 μg/ml)加入含有Tca8113/CBP的96孔板,测定细胞存活率,确定Nef对Tca8113/CBP的毒性作用,以Tca8113/CBP细胞存活率(1-细胞抑制率)=95%时Nef的浓度作为最适逆转浓度。

1.2.3.2 甲基莲心碱对Tca8113/CBP卡铂耐药性的逆转作用

将细胞分为耐药组、逆转组和对照组(耐药组和逆转组为Tca8113/CBP细胞,对照组为Tca8113细胞)。按1×10^5/ml密度接种至96孔板中,每孔加200 μl。培养24 h后,逆转组加入Nef最适逆转浓度和不同浓度CBP的混合液,耐药组只加入不同浓度CBP,逆转组和耐药组CBP的终浓度分别为0.2、2、20、200、2 000 μg/ml。每个浓度设3个重复孔。对照组加等体积无血清RPMI1640培养基,并设空白对照组。药物作用24 h后加入浓度为5 mg/ml MTT 20 μl,4 h后吸去测试孔内溶液,加入DMSO液150 μl,振荡10 min后在570 nm波长下酶标仪检测每

孔光密度值[$D(570)$]。计算 IC_{50}及逆转倍数。

1.2.4 耐药相关基因 LRP 和 FMT mRNA 水平检测 将细胞分为耐药组、逆转组和对照组(耐药组和逆转组为 Tca8113/CBP 细胞,对照组为 Tca8113 细胞),逆转组取对数生长期的 Tca8113/CBP 细胞,加入含有最适逆转浓度 Nef 的 RPMI1640 培养基,作用 24 h 后与耐药组 Tca8113/CBP 和对照组 Tca8113 细胞采用 RT-PCR 法检测 LRP 和 FMT mRNA 表达水平:细胞总 RNA 提取后需用 NanoDrop 微量紫外分光光度计测得 RNA 浓度,半定量后再进行逆转录和 PCR 反应,总 RNA 提取、逆转录和 PCR 反应根据相应的试剂盒及 *Taq* DNA 聚合酶说明按常规方法进行。靶基因引物及反应条件见表 1,产物用 3% 琼脂糖凝胶 110 V 电压做电泳分析,各泳道设 5 个重复样本。

1.2.5 细胞微丝结构的免疫荧光学观察 将细胞分为耐药组、逆转组和对照组(耐药组和逆转组为 Tca8113/CBP 细胞,对照组为 Tca8113 细胞),逆转组取对数生长期 Tca8113/CBP 细胞,加入含有最适逆转浓度 Nef 的 RPMI1640 培养基,作用 24 h 后与耐药组 Tca8113/CBP 和对照组 Tca8113 同时滴加到多聚赖氨酸包被的玻片上,在室温下静置 15 min 后,用 4% 的多聚甲醛室温下固定 20 min,PBS 清洗 2 次,每次 10 min;0.1% 的聚乙二醇辛基苯基醚(Triton X-100)室温下作用 10 min,PBS 清洗 2 次,每次 10 min;0.5% 的牛血清蛋白于 37 ℃孵育 40 min,PBS 洗 2 次,每次 10 min;5 mg/L FITC-鬼笔环肽室温下染色 30 min,PBS 清洗 2 次,每次 10 min;50% 的缓冲甘油封片。上述操作应注意避光,然后在荧光显微镜下观察细胞的微丝结构。

1.3 统计学方法

RCR 荧光强度用 Quantity One 软件读取,免疫荧光用 Image Pro Plu 软件读取,实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,用 PASW 18.0 统计软件行单因素方差分析(组间比较用 SNK 法)。

2 结果

2.1 Tca8113/CBP 耐药细胞株的建立及耐药倍数

经过 5 个月逐步递增卡铂浓度、间歇诱导,获得可稳定耐受 CBP 浓度为 16 μg/ml 且生长良好的卡铂耐药细胞株 Tca8113/CBP,MTT 检测表明 Tca8113 细胞对 CBP 的 IC_{50}浓度为(16.77 ± 1.64) μg/ml,而 Tca8113/CBP 细胞对 CBP 的 IC_{50}浓度为(68.24 ± 2.42) μg/ml,Tca8113/CBP 的耐药指数为 4.06 倍($P<0.05$)。

2.2 甲基莲心碱对 Tca8113/CBP 卡铂耐药性的逆转作用

Nef 对 Tca8113/CBP 的细胞毒性成一定浓度依赖关系,当 Nef 浓度为 9.63 μg/ml 时 Tca8113/CBP 细胞的存活率为 95%,因此将 9.63 μg/ml 设为 Nef 的最适逆转浓度。CBP 单独作用于 Tca8113/CBP 细胞时 IC_{50}为(68.24 ± 2.42) μg/ml,但当最适逆转浓度 9.63 μg/ml 的 Nef 与不同浓度的 CBP 合用时 Tca8113/CBP 的 IC_{50}为(32.05 ± 3.02) μg/ml,与单用 CBP 比较,逆转倍数达到 2.12 倍($P<0.01$),各浓度对应的抑制率见表 2。

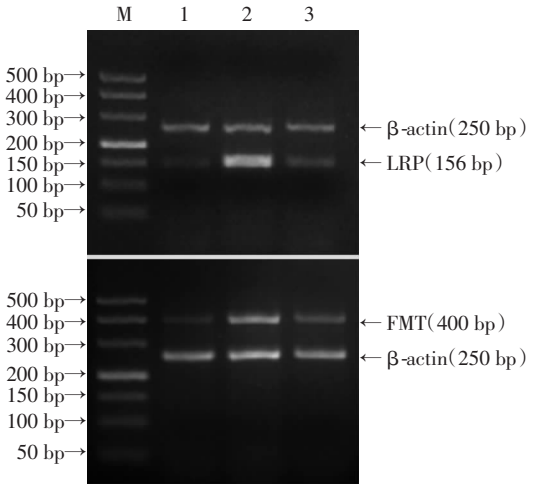
表 2 甲基莲心碱与不同浓度卡铂联用对 Tca8113/CBP 细胞抑制率的影响(%,$n=3$,$\bar{x} \pm s$)

组别	卡铂浓度(μg/ml)				
	0.2	2	20	200	2 000
耐药组	0.43 ± 0.03	20.00 ± 1.32	39.57 ± 2.01	59.14 ± 2.65	78.71 ± 2.77
逆转组	0.27 ± 0.01[b]	22.83 ± 1.74[a]	45.38 ± 1.66[a]	67.94 ± 3.04[a]	90.50 ± 3.65[a]

a:$P<0.01$,b:$P<0.05$,与耐药组比较

2.3 甲基莲心碱作用后 Tca8113/CBP 细胞内 LRP 和 FMT mRNA 水平的表达

经过 CBP 诱导成功的耐药组 Tca8113/CBP 与对照组 Tca8113 相比 LRP 和 FMT 的表达明显增高,2 组间 RT-PCR 条带灰度差异有统计学意义($P<0.01$),经 Nef 作用 24 h 后逆转组 Tca8113/CBP 与耐药组 Tca8113/CBP 相比,LRP 和 FMT 的表达明显降低,2 组间 RT-PCR 条带灰度差异有统计学意义($P<0.01$),见图 1、表 3。



M:Marker;1:对照组;2:耐药组;3:逆转组

图 1 RT-PCR 检测各组细胞 LRP、FMT mRNA 的表达

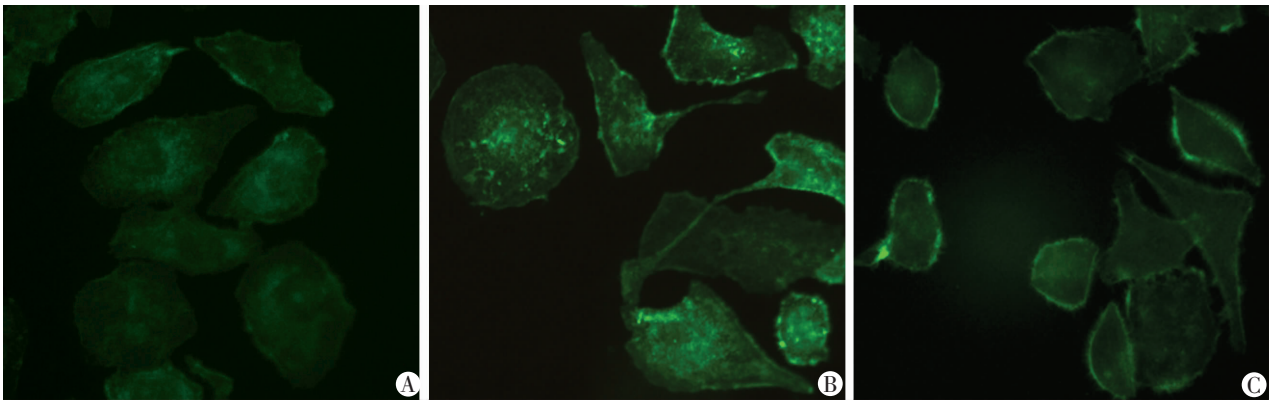
表 3 Nef 作用后 LRP 与 FMT 的荧光强度比较($n=5$,$\bar{x} \pm s$)

组别	LRP	FMT
对照组	2.1 ± 0.4[a]	4.3 ± 1.1[a]
耐药组	18.2 ± 1.9	14.4 ± 1.2
逆转组	4.2 ± 0.7[a]	7.1 ± 0.9[a]

2 种靶基因分别组间比较 $P<0.05$;a:$P<0.01$,与耐药组比较

2.4 甲基莲心碱处理后 Tca8113/CBP 细胞骨架的观察

对照组 Tca8113 细胞质内 F-actin 分布均匀有序,荧光亮度一般(图 2A);耐药组 Tca8113/CBP 细胞质内的 F-actin 数量明显增加,成云雾状分布,荧光亮度明显增高(图 2B);经 Nef 处理 24 h 后的逆转组除有个别未完全贴壁的细胞 F-actin 集中分布于细胞周边,完全贴壁的 Tca8113/CBP 细胞质内 F-actin 分布趋于有序均匀,荧光亮度明显减弱,接近于对照组 Tca8113 细胞的水平(图 2C)。实验结果显示,由 CBP 引起的 Tca8113/CBP 耐药可使 Tca8113/CBP 细胞质内的 F-actin 含量增加且排布改变;Nef 可使 Tca8113/CBP 细胞质内 F-actin 含量降低,分布趋于均匀。



A:对照组;B:耐药组;C:逆转组

图2 经Nef处理后细胞骨架的免疫荧光观察 (×400)

3 讨论

甲基莲心碱(Nef)是中药莲子的主要有效成分,Nef系睡莲科植物莲的成熟种子绿色胚芽中提取出来的一种双苄基异喹啉生物碱,具有钙离子通道阻滞剂作用,通过阻断耐药细胞的药物外排过程而逆转耐药。实验证明具有抗心律失常、降血压、抗血小板聚集、抗自由基活性等药理作用。黄程辉等[13]报道Nef能在一定程度上逆转白血病耐阿霉素细胞K562/A02的多重耐药性;肺耐药蛋白(LRP)是构成人体穹窿蛋白的主要成分,正常情况下主要分布于体腔上皮、分泌器官等与异物接触的组织中,清除外源性物质,起保护作用。Hoffmann等[14]报道表明LRP能诱导P-gp及MRP1不能诱导的铂类、烷化剂等药物的耐药。有研究证实小剂量体外间歇诱导铂类耐药,其诱导的肿瘤耐药细胞中LRP含量与耐药性成正相关[15]。目前认为LRP引起多药耐药的机制主要有[16]:①它使CBP等以细胞核为靶点的药物不能通过核孔进入胞核,即使有些药物进入胞核也很快被运回到胞质中,降低了药物分布的核质比率。②可使进入胞质的药物转运到运输囊泡中,通过胞吐的方式排出细胞外,从而产生耐药;成纤维细胞肌型原肌球蛋白(FMT)是原肌球蛋白的一种亚型,是肌动蛋白结合蛋白家族中的一员,其作用是结合微丝中的肌动蛋白,稳定细胞骨架。而稳定的细胞骨架有助于细胞的黏附和生长信号的传递,从而使细胞进入增殖周期[17]。有报道表明CBP在干扰肿瘤细胞的F-actin同时能破坏其细胞骨架[18],但原肌球蛋白的表达与肿瘤耐药的相关性却鲜有报道。

本实验通过逐步递增卡铂浓度、体外间歇诱导[19]得到的人舌鳞癌耐卡铂细胞Tca8113/CBP对CBP的敏感性与Tca8113相比明显降低,说明其对CBP具有耐药性。应用逆转剂Nef作用后对Tca8113/CBP的生长进行观察,发现其IC_{50}值与逆转前Tca8113/CBP相比明显下降,说明Nef对Tca8113/CBP细胞CBP耐药性有明显的逆转作用。

而Tca8113/CBP的CBP耐药性产生的机制可能与以下两方面有关:①由于耐药细胞Tca8113/CBP与Tca8113相比,耐药相关基因LRP mRNA水平的表达明显升高($P<0.01$)。说明经CBP诱导的Tca8113/CBP细胞中LRP活性增强,细胞解毒作用加快,外排CBP加速,细胞内有效药物浓度迅速降低,产生CBP耐药性。②由于耐药细胞Tca8113/CBP与Tca8113相比,肌动蛋白结合蛋白FMT mRNA水平的表达明显升高($P<0.01$),同时细胞质内F-actin含量增加,且排布成云雾状改变。说明经CBP诱导的Tca8113/CBP细胞由于FMT mRNA水平表达增加,可能带动肌动蛋白F-actin的含量增加,使细胞生长基底的黏附能力增强,从而把由于CBP引起的微丝解聚、细胞骨架破坏、细胞黏附能力下降、生长信号缺失,细胞无法进入增殖周期,干扰细胞存活与增殖的影响减弱,产生CBP耐药性。

Nef逆转Tca8113/CBP耐药性的机制可能与以下两方面有关:①由于经Nef处理后的Tca8113/CBP细胞与未经处理Tca8113/CBP细胞相比,耐药相关基因LRP在mRNA水平的表达明显降低($P<0.01$)。说明Nef可干预Tca8113/CBP细胞内LRP解毒系统,减弱Tca8113/CBP对CBP的解毒能力,使细胞内CBP有效药物浓度增加,从而逆转耐药。②由于经Nef处理后的Tca8113/CBP细胞与未经处理Tca8113/CBP细胞相比,肌动蛋白结合蛋白FMT在mRNA水平的表达明显降低($P<0.01$)。同时细胞中肌动蛋白F-actin的含量也明显下降,排列和分布也趋于整齐和均匀,说明Nef能降低Tca8113/CBP细胞内肌动蛋白结合蛋白FMT的mRNA水平的表达,可能导致使肌动蛋白F-actin的含量下降,以便CBP解聚细胞微丝,破坏细胞骨架,降低细胞黏附能力,中断细胞生长信号传递,

从而影响细胞增殖周期,干扰细胞的存活与增殖。

当然我们推论 Tca8113/CBP 细胞中肌动蛋白结合蛋白 FMT mRNA 水平表达的变化带动细胞中肌动蛋白 F-actin 含量的同步变化,其相关性还需要下一步继续证明。本研究初步证实了 Nef 体外逆转 Tca8113/CBP 细胞的耐药性作用显著,预示着 Nef 中药逆转剂在临床的广阔开发前景。

参考文献:

[1] Martin L P, Hamilton T C, Schilder R J. Platinum resistance: the role of DNA repair pathways[J]. Clin Cancer Res, 2008, 14(5): 1291-1295.

[2] Li X, Ling V, Li P C. Same-single-cell analysis for the study of drug efflux modulation of multidrug resistant cells using a microfluidic chip [J]. Anal Chem, 2008, 80(11): 4095-4102.

[3] 柏茂树, 伍治平, 王熙才. 肿瘤化疗辅助中药研究进展[J]. 现代肿瘤医学, 2010, 18(3): 597-601.

[4] Sun Z, Zhao Z, Li G, *et al*. Relevance of two genes in the multidrug resistance of hepatocellular carcinoma: *in vivo* and clinical studies[J]. Tumori, 2010, 96(1): 90-96.

[5] Shi L X, Ma R, Lu R, *et al*. Reversal effect of tyroservatide (YSV) tripeptide on multi-drug resistance in resistant human hepatocellular carcinoma cell line BEL-7402/5-FU [J]. Cancer Lett, 2008, 269 (1): 101-110.

[6] Kurata M, Hasegawa M, Nakagawa Y, *et al*. Expression dynamics of drug resistance genes, multidrug resistance 1 (MDR1) and lung resistance protein (LRP) during the evolution of overt leukemia in myelodysplastic syndromes[J]. Exp Mol Pathol, 2006, 81(3): 249-254.

[7] Ugocsai K, Varga A, Molnar P, *et al*. Effects of selected flavonoids and carotenoids on drug accumulation and apoptosis induction in multidrug-resistant colon cancer cells expressing MDR1/LRP[J]. *In Vivo*, 2005, 19(2): 433-438.

[8] Deng H B, Parekh H K, Chow K C, *et al*. Increased expression of dihydrodiol dehydrogenase induces resistance to cisplatin in human ovarian carcinoma cells[J]. J Biol Chem, 2002, 277(17): 15035-15043.

[9] Wang F L, Wang Y, Wong W K, *et al*. Two differentially expressed genes in normal human prostate tissue and in carcinoma[J]. Cancer Res, 1996, 56(16): 3634-3637.

[10] Prasad G L, Masuelli L, Raj M H, *et al*. Suppression of src-induced transformed phenotype by expression of tropomyosin-1[J]. Oncogene, 1999, 18(11): 2027-2031.

[11] Akervall J, Guo X, Qian C N, *et al*. Genetic and expression profiles of squamous cell carcinoma of the head and neck correlate with cisplatin sensitivity and resistance in cell lines and patients[J]. Clin Cancer Res, 2004, 10(24): 8204-8213.

[12] 刘明华, 章卓, 任美萍, 等. 穿琥宁对 COC1/DDP 顺铂耐药性的逆转作用[J]. 中国新药杂志, 2010, 19(20): 1899-1902.

[13] 黄程辉, 谢兆霞, 秦群, 等. 拮新康逆转 K562/A02 细胞多药耐药的机理研究[J]. 湖南中医学院学报, 2004, 24(1): 7-10.

[14] Hoffmann J S, Pillaire M J, Garcia-Estefania D, *et al*. *In vitro* bypass replication of the cisplatin-d(GpG) lesion by calf thymus DNA polymerase beta and human immunodeficiency virus type Ⅰ reverse transcriptase is highly mutagenic[J]. J Biol Chem, 1996, 271(26): 15386-15392.

[15] 程国钧, 李亚里, 田方, 等. 不同方式诱导人卵巢癌顺铂耐药细胞株的比较[J]. 中华肿瘤杂志, 2001, 23(4): 305-308.

[16] Wang W, Ke S, Chen G, *et al*. Effect of lung resistance-related protein on the resistance to cisplatin in human ovarian cancer cell lines [J]. Oncol Rep, 2004, 12(6): 1365-1370.

[17] Lin J J, Warren K S, Wamboldt D D, *et al*. Tropomyosin isoforms in nonmuscle cells[J]. Int Rev Cytol, 1997, 170: 1-38.

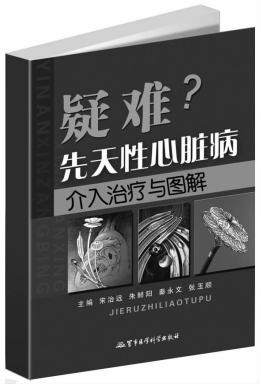
[18] Shen D W, Liang X J, Gawinowicz M A, *et al*. Identification of cytoskeletal [14C]carboplatin-binding proteins reveals reduced expression and disorganization of actin and filamin in cisplatin-resistant cell lines[J]. Mol Pharmacol, 2004, 66(4): 789-793.

[19] 冯戈, 王大章, 陈槐卿, 等. 体外诱导 Tca8113 细胞产生耐药性的分析[J]. 华西口腔医学杂志, 2007, 25(2): 184-187.

(**收稿**:2011-01-11;**修回**:2011-02-11)

(编辑 汪勤俭)

欢迎订购《疑难先天性心脏病介入治疗与图解》



由宋治远、朱鲜阳、秦永文、张玉顺等教授主编的《疑难先天性心脏病介入治疗与图解》已于2011年1月由军事医学科学出版社正式出版。该书编者均为国内一流先天性心脏病介入治疗专家,具有丰富的临床经验,总结了临床常见及少见的疑难先天性心脏病介入治疗方法。全书共10章,收集了各种疑难先天性心脏病180例患者的800余幅影像资料,系统介绍了室间隔缺损、房间隔缺损、动脉导管未闭、主动脉缩窄以及复合畸形等复杂先天性心脏病介入治疗操作技巧与经验教训。本书贴近临床、图文并茂、形象具体、通俗易懂,既有临床操作技巧,又有经验教训分享,是一本难得的具有先进水平的临床参考书,相信会成为广大先天性心脏病介入治疗医师的良师益友。

本书定价198.00元,如需购买请与本刊编辑部联系。

联系人:王 红 **电话**:(023)68752189-84

E-mail:whong@mail.tmmu.com.cn