基础研究 文章编号:0253-3626(2009)11-1482-05

环孢素 A 对 THP-1 细胞多药耐药相关蛋白 -1 表达的影响

葛群芳,陈建斌,廖 洋,卢前微,杨泽松
(重庆医科大学附属第一医院血液内科,重庆 400016)

【摘 要】目的:观察环孢素 A(Cyclosporin A,CsA)处理后急性单核细胞白血病细胞株 THP-1 多药耐药相关蛋白 -1(Multidrug resistance associated protein-1,MRP1)表达量和活性的变化,探讨 CsA 逆转 MRP1 的相关机制及 THP-1 细胞对柔红霉素(Daunorubicin,DNR)的增敏作用。方法:免疫细胞化学法和 Western blot 法检测 CsA 处理后 THP-1 细胞 MRP1 表达量的改变,噻唑蓝(MTT)法、荧光分光光度法、共聚焦激光扫描显微镜(Confocal laser scanning microscopy,CLSM)法分别检测 CsA 处理后 50%THP-1 细胞生长受抑的 DNR 浓度 (IC_{50})、THP-1 细胞内 DNR 含量及分布。结果:CsA 处理组较对照组 MRP1 表达量定性、定量检测均增加($P<0.05$);IC_{50} 明显下降(0.558 4 ± 0.067 0 与 1.499 7 ± 0.233 8,$P<0.01$),细胞内 DNR 含量明显增加(126.500 0 ± 14.781 5 与 20.900 0 ± 2.497 5,$P<0.01$),分布更加均匀。结论:CsA 增加 MRP1 的表达量,但降低其活性,提示 CsA 通过降低 MRP1 活性而非减少其表达量实现对 MRP1 的逆转作用和对 THP-1 细胞的增敏作用

【关键词】环孢素 A;细胞株,THP-1;多药耐药相关蛋白 -1
【中国图书分类法分类号】R733.7 【文献标识码】A 【收稿日期】2008-09-01

Effect of cyclosporin A on expression of multidrug resistance associatedprotein-1 in THP-1 cells

GE Qun-fang, et al
(*Department of Hematology, the First Affiliated Hosptial, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To observe the changes of expression and activity of multidrug resistance associated protein-1 (MRP1) in acute monocytic leukemia THP-1 cells treated by cyclosporin A(CsA), and to explore the mechanism that the function of MRP1 can be reversed by CsA making the THP-1 cells sensiting to chemotherapy. *Methods*: Expression of MRP1 in THP-1 cells treated by CsA is detected by Immunocytochemistry and Western blot in sequence.50% inhibiting concentration (IC_{50}) of daunorubicin(DNR) to THP-1 cells, content and distribution of DNR in THP-1 cells treated by CsA are examined by MTT method, Spectrofluorometer method and Confocal laser scanning microscopy method, respectively. *Results*: Compaed with Control Group, in Group CsA the expression of MRP1 increased both in quality while quantity($P<0.05$) and IC_{50} decreased obviously(1.499 7 ± 0.233 8 vs 0.558 4 ± 0.067 0, $P<0.01$); content of DNR increased obviously(20.900 0 ± 2.497 5 vs 126.500 0 ± 14.781 5, $P<0.01$), and DNR distributed more evenly. *Conclusion*: CsA can increase the expression of MRP1 and decreased its activity, showing that the resistance of MRP1 is reduced by decreasing the activity of MRP1, not the amount of expression, as well as increasing chemotherapy sensitivity of THP-1 cells.

【Key words】Cyclosporin A; Cell line, THP-1; Multidrug resistance associated protein-1

多药耐药相关蛋白(Multidruy resistance accociated protein-1,MRP1)是继 P-糖蛋白(P-Glycoprotein,Pgp)后发现的又一类重要的耐药蛋白,其耐药作用越来越受到人们的重视。急性单核细胞白血病(M5)是成人急性髓细胞白血病中发病率和耐药性均较高的一种亚型[1,2],对 DNR 等化疗药物不敏感[3],目前研究发现 MRP1 是构成其耐药性的主要成份,Pgp 等不起作用[4]。CsA 是公认的 Pgp 的耐药逆转剂,而对 MRP1 耐药逆转作用研究尚少,关于具体耐药途径的研究更少,亦未见作用于急性单核细胞白血病的报道。本实验通过观察 CsA 处理后急性单核细胞白血病细胞株 THP-1 的 MRP1 表达量和活性的改变,研究 CsA 对 MRP1 的耐药逆转作用,并探讨

作者介绍:葛群芳(1982-),女,硕士,
研究方向:急性单核细胞白血病耐药研究。
通讯作者:陈建斌,男,教授,E-mail:cqchenjianbin2007@126.com。

相应逆转途径,为增加急性单核细胞白血病的化疗敏感性提供实验依据。

1 材料和方法

1.1 试剂

CsA(Novartis Phama Schweiz AG,Switzerland),DNR(pharmacia Italia S.p.A.),RPMI1640 培养液、胎牛血清(Gibico,美国),MTT(Sigma),SABC 免疫组化试剂盒、SDS-PAGE 凝胶配制试剂盒(武汉博士德生物公司),ECL 检测液(凯基生物公司),兔抗人 MRP1 多克隆抗体(北京博奥森生物公司),辣根酶标记山羊抗兔 IgG(H+L)(北京鼎国昌盛生物公司),β-Actin 抗体(重庆百瑞生物公司)。

1.2 细胞培养

THP-1 细胞株购于重庆医科大学传染病学实验室。5% CO_2、37℃条件下,在含 10%胎牛血清的 RPMI1640 培养液中培养传代,实验用细胞均处于对数生长期。

1.3 台盼兰拒染法检测 CsA、DNR 毒性

THP-1 细胞接种于 96 孔板,每孔细胞数 1×10^4 个,CsA 组分别给予 0、1、2、4、8 μg/ml 5 个最终浓度的 CsA;DNR 组分别给予 0、0.25、0.5、1、2 μg/ml 5 个最终浓度的 DNR。37℃、5%CO_2 下分别培养 24、48、72 h,以 1:1 加入台盼蓝,计算细胞存活率,得出对细胞生长无明显影响(存活率 >90%)的 CsA、DNR 浓度。存活率计算公式:存活率%=(1-着色细胞数/总细胞数)×100%

1.4 免疫细胞化学法测定不同浓度 CsA 组 THP-1 细胞 MRP1 蛋白的表达量

实验设 CsA 组(最终浓度分别为 1、2、4 μg/ml),药物作用 48 h,同时设细胞对照组和以 PBS 代替 MRP1 一抗的阴性对照组。参照 SABC 试剂盒中的说明书进行。

1.5 Western blot 法测定不同浓度 CsA 组 THP-1 细胞 MRP1 蛋白的表达量

实验分组同免疫细胞化学法(上述),作用 48 h 后,以每 1×10^7 细胞加入全蛋白提取液 150 μl、蛋白酶抑制剂 PMSF 1.5 μl 比例提取蛋白,并经 BCA 法测定蛋白含量,-70℃保存。配分离胶(8%)、浓缩胶(5%),按 60 μg/孔等蛋白含量上样。浓缩胶 80 V 电泳 42 min;分离胶 130 V 电泳 20 min,后 100 V 电泳至目的条带跑至分离胶上 1/3~1/2。根据预染蛋白切胶。低温下恒压 100 V 转膜 190 min。摇床上 37℃封闭 1 h。于 1:200 稀释 MRP1 一抗中 4℃过夜。后于 1:1 000 稀释羊抗兔 IgG 二抗中,37℃孵育 1 h。临时配置 ECL 工作液,覆盖 PVDF 膜,在凝胶成像仪中曝光显影。β-Actin 作为内参照。

1.6 MTT 法检测不同浓度 CsA 组 IC_{50} 值

THP-1 细胞接种于 4 块 96 孔板,每孔细胞数 1×10^4 个,每板分别加入 0、1、2、4 μg/ml 4 个最终浓度的 CsA,37℃、5% CO_2 下培养 30min。后每板均加入 0.344 3、0.687 6、1.375 0、2.75、5.5 μg/ml 5 个试剂浓度的 DNR,每板各设 6 个平行孔,同时设细胞对照和试剂对照组。继续培养 48 h。在所有培养孔中加入 MTT (5 mg/ml)20 μl,再培养 4 h。离心弃上清液。每孔加入二甲亚砜 200 μl。酶标仪上测定波长 570 nm 的吸光度值(A),计算细胞抑制率,由此求出不同浓度 CsA 组 IC_{50} 值(IC_{50} 计算软件),重复实验 3 次。细胞抑制率计算公式:细胞抑制率%=$(1-A_{实验组}/A_{细胞对照组})\times100\%$

1.7 荧光分光光度计法测定不同浓度 CsA 组 THP-1 细胞内 DNR 含量

调整细胞浓度为 5×10^5 个/ml,分别加入 0、1、2、4 μg/ml 4 个最终浓度的 CsA,37℃、5%CO_2 下培养 30 min。加入 0.5 μg/m LDNR,同时设试剂对照组。37℃、5%CO_2 培养 1 h,PBS 洗涤后离心弃去上清液,再次调节细胞浓度为 5×10^5 个/ml。超声破碎仪碎裂细胞膜后,4 000 r/min 离心 30 min,取上清液。在荧光分光光度计(激发波长为 475 nm、吸收波长为 550 nm、夹缝各 15 nm)测定荧光强度,重复实验 3 次。

1.8 荧光显微镜和 CLSM 观察 CsA 组细胞内 DNR 的分布

调整细胞浓度为 5×10^5 个/ml,实验设 DNR 对照组和 CsA 组,前者仅加 0.5 μg/ml DNR,后者先加入 4 μg/ml 的 CsA,37℃、5% CO_2 下培养 30 min 后加入 DNR;继续培养 1 h,PBS 洗涤后残留细胞液涂片,50%甘油封片。先于荧光显微镜下初步观察,再置 CLSM (ZEISS510 德国)下观察(激光 488 nm,发射光 550 nm)2 组细胞内 DNR 的分布。

1.9 统计学处理

使用 SPSS 10.0 软件包对结果进行统计学处理,2 组均数比较采用两独立样本均数比较的 t 检验,检验水准:$\alpha=0.05$。

2 结 果

2.1 台盼兰拒染法检测 CsA、DNR 毒性

台盼兰拒染实验显示:在 48 h 内,CsA 浓度≤4 μg/ml、DNR 浓度≤0.5 μg/ml 对 THP-1 细胞均无毒性作用(表 1、2)。

2.2 免疫细胞化学法测定不同浓度 CsA 组 THP-1 细胞 MRP1 的表达量

作用 48 h 后各浓度 CsA 组 THP-1 细胞:MRP1 在对照组细胞胞膜上表达明显,胞浆表达少。各浓度 CsA 组 MRP1 表达增加,增加的蛋白主要分布在细胞浆中,并且 CsA 浓度越大,MRP1 增加越明显(图 1)。利用分析测量图像软件 Imagepro-Plus5.0 进行半定量分析[5],各浓度 CsA 组的平均光密度值与细胞对照组经统计分析,均得 $P<0.05$(表 3)。

2.3 Western blot 法定量测定不同浓度 CsA 组 THP-1 细胞 MRP1 的表达量

作用 48 h 后细胞对照组和各浓度 CsA 组均可见明显的 MRP1 表达,在药物作用组上表达尤其明显。将各浓度 CsA 组 MRP1/ 内参光密度比值分别与细胞对照组进行统计分析均得 $P<0.05$(见图 2、表 4)。

表 1 72 h 内不同浓度 CsA 组存活率($\bar{x}\pm s$, n=3)

CsA 分组	24 h	48 h	72 h
0 μg/ml	100% ± 0%	100% ± 0%	100% ± 0%
1 μg/ml	100% ± 0%	100% ± 0%	100% ± 0%
2 μg/ml	100% ± 0%	98% ± 1%	100% ± 1%
4 μg/ml	100% ± 1%	100% ± 0%	95% ± 2%
8 μg/ml	100% ± 0%	80% ± 3%	60% ± 5%

表 2 72 h 内不同浓度 DNR 组存活率($\bar{x}\pm s$, n=3)

DNR 分组	24 h	48 h	72 h
0 μg/ml	100% ± 0%	100% ± 0%	100% ± 0%
0.25 μg/ml	100% ± 0%	100% ± 0%	100% ± 0%
0.5 μg/ml	100% ± 0%	96% ± 3%	62% ± 5%
1 μg/ml	83% ± 5%	45% ± 3%	21% ± 3%
2 μg/ml	20% ± 3%	10% ± 2%	3% ± 0%

表 3 48 h 各浓度 CsA 组 THP-1 细胞 MRP1 平均光密度值($\bar{x}\pm s$, n=3)

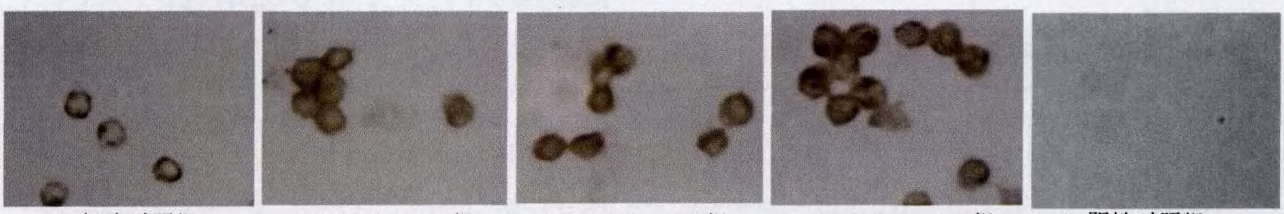
分组	重复 3 次实验的平均光密度值			$\bar{x}\pm s$	P 值
	1	2	3		
细胞对照组	0.161 5	0.170 9	0.169 6	0.167 3 ± 0.005 1	–
1 μg/ml	0.192 1	0.200 0	0.198 9	0.197 0 ± 0.004 3	0.001 5[a]
2 μg/ml	0.217 1	0.209 0	0.201 2	0.209 1 ± 0.008 0	0.001 6[a]
4 μg/ml	0.225 3	0.207 8	0.217 8	0.217 0 ± 0.008 8	0.001 1[a]

注:[a]P<0.01,与细胞对照组比较

表 4 作用 48 h 各浓度 CsA 组 THP-1 细胞 MRP1 与内参的光密度比值($\bar{x}\pm s$, n=3)

CsA 分组	重复 3 次实验的平均光密度值			$\bar{x}\pm s$	P 值
	1	2	3		
细胞对照组	0.265 0	0.273 2	0.293 7	0.277 3 ± 0.014 8	–
1 μg/ml	0.311 2	0.332 1	0.328 5	0.323 9 ± 0.011 2	0.012 1[a]
2 μg/ml	0.341 5	0.338 1	0.346 8	0.342 1 ± 0.004 4	0.001 9[b]
4 μg/ml	0.361 0	0.362 1	0.329 6	0.350 9 ± 0.018 5	0.005 7[b]

注:[a]P<0.05,与细胞对照组比较;[b]P<0.01,与细胞对照组比较



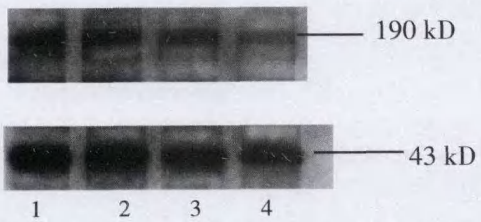
A. 细胞对照组 B. CsA 1 μg/ml 组 C. CsA 2 μg/ml 组 D. CsA 4 μg/ml 组 E. 阴性对照组

图 1 48 h 后各浓度 CsA 组 THP-1 细胞 MRP1 表达(SABC,×400)

表 5 48 h 内不同浓度 CsA 组 THP-1 细胞 IC_{50} 值($\bar{x}\pm s$, n=3)

CsA 分组	重复实验 3 次的 IC_{50} 值			$\bar{x}\pm s$	P 值
	1	2	3		
0 μg/ml	1.313 9	1.762 3	1.423 0	1.499 7 ± 0.233 8	–
1 μg/ml	1.128 2	0.938 3	1.141 1	1.069 2 ± 0.113 5	0.045 5[a]
2 μg/ml	0.752 3	0.612 2	0.723 8	0.696 1 ± 0.074 0	0.004 8[b]
4 μg/ml	0.593 2	0.481 2	0.600 8	0.558 4 ± 0.067 0	0.002 5[b]

注:[a]P<0.05,与 0μg/ml 组比较;[b]P<0.01,与 0 μg/ml 组比较



90 kD 条带为目的条带(MRP1);43 kD 条带为 β-actin 内参条带;1. CsA 1 μg/ml 组;2. CsA 2 μg/ml 组;3. CsA 4 μg/ml 组;4. 细胞对照组

图 2 作用 48 h 各浓度 CsA 组 THP-1 细胞 MRP1 表达

2.4 MTT 法测不同浓度 CsA 组 THP-1 细胞的 IC_{50} 值

不同浓度 CsA 组分别与 DNR 作用 48 h,随 CsA 浓度增大,细胞生长抑制率增大,相应的 IC_{50} 值降低。其中 CsA=4 μg/ml 时,细胞生长抑制率最大,IC_{50} 值最低(表 5)。

2.5 荧光分光光度计法测定不同浓度 CsA 组 THP-1 细胞内 DNR 含量

不同浓度 CsA 组分别与 DNR 0.5 μg/ml,共同作用 1 h,随 CsA 浓度的增加,细胞内 DNR 含量增加。其中 CsA=4 μg/ml 时,细胞内 DNR 含量增高最明显(表 6)。

2.6 荧光显微镜和 CLSM 观察 CsA 组 DNR 在 THP-1 细胞内的分布

CsA 4 μg/ml 与 DNR 0.5 μg/ml,共同作用 1 h 后,由荧光显微镜图初步得出:DNR 组 DNR 荧光主要分布在胞膜,胞内荧光呈局部点棘状、块状分布;CsA+DNR 组进入细胞的荧光明显增多,且在胞浆内均匀分布。CLSM 图见:DNR 组荧光局限于THP-1 细胞浆内局部,呈圆形、块状,分布于细胞浆边缘区,分布不均;CsA+DNR 组胞浆内荧光明显增多,并分布均匀,在核膜处亦可见明显荧光(图 3)。

表 6 不同浓度 CsA 组 THP-1 细胞内 DNR 含量($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

CsA 分组	细胞内 DNR 平均荧光强度			$\bar{x}\pm s$	P 值
	1	2	3		
0 μg/ml	20.10	19.30	23.30	20.90 ± 2.497 5	-
1 μg/ml	20.57	24.20	25.97	23.58 ± 2.752 9	0.252 2[a]
2 μg/ml	26.32	25.58	26.10	26.00 ± 0.380 0	0.014 8[b]
4 μg/ml	130.20	110.22	139.08	126.50 ± 14.781 5	0.000 3[c]

注:[a]$P>0.05$,与 0 μg/ml 组比较;[b]$P<0.05$,与 0 μg/ml 组比较;[c]$P<0.01$,与 0 μg/ml 组比较

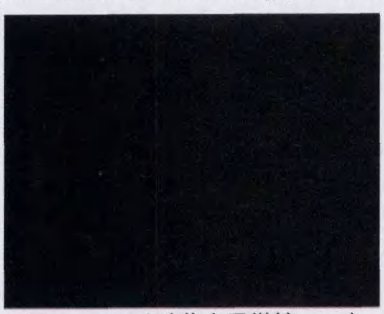


图 1 DNR 组(荧光显微镜×400)



图 2 CsA+DNR 组(荧光显微镜×400)

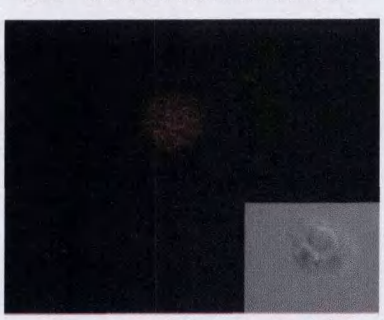


图 3 DNR 组(CLSM×1 000)

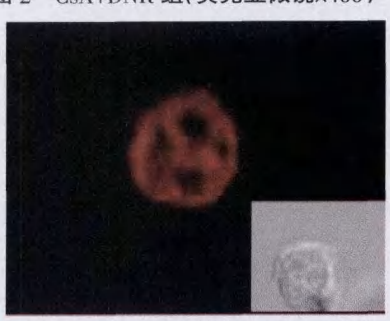


图 4 CsA+DNR 组(CLSM×1 000)

3 讨 论

MRP1 是 MRP 家族中一类重要的多药耐药蛋白,对 DNR 等多种化疗药物有外排作用而发生耐药[4]。急性单核细胞白血病是成人急性髓细胞白血病中耐药性较高,疗效较差的一种亚型[1,2,6],尤其对 DNR 不敏感[3,7],迄今研究发现经典的多药耐药蛋白 Pgp 在急性单核细胞白血病细胞上活性极低,不起耐药作用[4,8,9],而 MRP1 在 THP-1 细胞上表达阳性率高,活性强,是决定急性单核细胞白血病耐药性的主要成份[9,10]。近年有报道经典的 Pgp 逆转剂 CsA 对 MRP1 蛋白也

有逆转作用[11,12],但研究少,尚未有作用在急性单核细胞白血病上的研究,具体耐药途径亦未有报道。最近有研究称耐药逆转剂不降低耐药蛋白的含量,而可能通过影响其活性来降低耐药蛋白耐药性[13],但对 MRP1 尚无相应的研究报道。

本实验选择急性单核细胞白血病细胞株 THP-1 为研究对象,DNR 为研究目标。首先,通过台盼兰拒染实验求得对细胞无毒性作用的 CsA、DNR 浓度:CsA 浓度≤4 μg/ml、DNR 浓度≤0.5 μg/ml 在 48 h 内对细胞均无毒性作用。其次,通过免疫细胞化学和 Western blot 实验对 CsA 处理前后的 THP-1 细胞上 MRP1 表达量进行检测。免疫细胞化学实验得出 MRP1 蛋白在 THP-1 细胞胞膜上高表达,药物作用 48 h 后各 CsA 组 MRP1 的表达量均较细胞对照组明显增加,其中 CsA4 μg/ml 组最明显(0.217 0 ± 0.008 8 与 0.167 3 ± 0.005 1,$P<0.01$),且增加的蛋白主要出现在胞浆内。Western blot 实验进一步证实了上述结果,各 CsA 组细胞 48 h 后 MRP1 含量均较细胞对照组明显增加($P<0.05$),并随 CsA 浓度增大,MRP1 含量增加。由此可见 CsA 处理后 MRP1 蛋白含量并不减少反而增加,这与魏虎来等研究 Pgp 逆转的实验现象相似[13]。MRP1 蛋白是膜蛋白,主要起作用在细胞膜上[4],而增加的蛋白均匀分布在胞浆中,提示为无效增加,借鉴王光海等[14]的观点,考虑 THP-1 细胞对外来药物存在应激性自我保护作用。通过 MTT 实验得出不同浓度 CsA 组较对照组 IC_{50} 有明显下降($P<0.05$),且随 CsA 浓度的增加 IC_{50} 呈下降趋势。通过荧光分光光度计法测得:随 CsA 浓度的增加,细胞内 DNR 含量增加,尤其 CsA=4 μg/ml 时,CsA 组较对照组细胞内 DNR 含量有明显增加(126.500 0 ± 14.781 5 与 20.900 0 ± 2.497 5,$P<0.01$)。通过荧光显微镜、CLSM 发现对照组细胞内 DNR 分布于胞膜或分布于胞浆局部,呈棘状、块状,分布不均匀,而 CsA 组 DNR 可均匀地分布于细胞浆中。通过以上实验,得出 CsA 组较对照组对 THP-1 细胞生长抑制作用增强,细胞内 DNR 含量明显增加,DNR 在细胞浆分布明显均匀,提示 CsA 处理后可降低 THP-1 细胞对 DNR 的耐药性[15,16]。DNR 是 Pgp、MRP1 耐药谱中的药物,Pgp 在 THP-1 细胞上不起作用,而 MRP1 表达量和活性均高,是 THP-1 细胞耐药性的主要成份,故 DNR 在细胞内的改变可反映 MRP1 活性强弱的变化[12,15,16]。

综上,本实验发现 CsA 通过降低 MRP1 的活性而非减少其含量来逆转 THP-1 细胞上该蛋白的耐药作用。亦提示判断一耐药蛋白的作用应着重检测其活性而非含量,这与 Legrand 等[17]主张一致。急性单核细胞白血病在临床上耐药性高,整体疗效差,而 CsA 是一临床常用药物,除了在免疫抑制方面的使用外,目前尝试作为耐药逆转剂使用。THP-1 为急性单核细胞白血病的经典细胞株[18],本实验研究发现 CsA 对 THP-1 细胞有增敏作用,为 CsA 用于急性单核细胞白血病的临床治疗,提供了体外实验依据。但 THP-1 细胞株与体内的急性单核细胞白血病细胞尚有一定的差异,CsA 在急性单核细胞白血病的临床使用,尚需进行进一步的体内临床实验。

参 考 文 献

[1] 上海市白血病协作组.2867 例急性白血病的临床分析[J].中华血液学杂志,1999,20(2):91-92.

[2] Akihiro Y,Junko O K,Akiko S,et al. Differentiation inhibitory factor nm23 as a new prognostic factor in acute monocytic leukemia[J].Blood,1996,88(1): 3555-3561.

[3] 罗绍凯,李 娟,张国才,等.DA 与 MA 方案诱导缓解急性非淋巴细胞白血病的疗效比较[J].新医学,2003,34(9):549-550,553.

[4] Benderra Z,Faussat A,Sayada L,et al.MRP3,BCRP and P-Glycoprotein activities are prognostic factors in adult acute myeloid leukemia[J]. Clin Cancer Res,2005,11(21):7764- 7772.

[5] 唐 艳,高美华.CD59 基因突变在肿瘤逃逸中的作用[J].青岛大学医学院学报,2008,44(2): 108-110,113.

[6] 陈为民,廖丽升,林 芸,等.急性单核细胞白血病 8 年诊治回顾[J].福建医药杂志,2005,27(5):8-10.

[7] 刘 峰,李 铮.肿瘤多药耐药性的研究进展[J].医学综述,2003,9(3):140-142.

[8] Marzac C,Teyssandier I,Calendini O,et al.Flt3 internal tandem duplication and P-glycoprotin functionality in 171 patients with acute myeloid leukemia[J]. Clin Cancer Res,2006,12(23):7018-7024.

[9] Legrand O,Zompi S,Perrot J Y,et al.P-glycoprotein and multidrug resistance associated protein-1 activity in 132 acute myloid leukemias according to FAB sbutypes and cytogenetic risk groups[J].Haematological,2004,89:34-41.

[10] 胡晓梅,麻 柔.涉及 11q23/MLL 重排的急性白血病[J].白血病·淋巴瘤,2005,14(1):52-56.

[11] Misbah Q,Kieran O,Stacy F,et al.Cyclosporin A is a broad-spectrum multidrug resistance modulator[J].Clin Cancer Res,2005,11:2320-2326.

[12] 龚玉萍,贾永前,刘 霆,等.环孢霉素 A 和 Genistein 逆转多药耐药的实验研究[J].癌症,2004,21(5):544-546.

[13] 魏虎来,葛建国,赵怀顺,等.干扰素和环孢霉素协同逆转细胞对阿霉素的耐药性[J].肿瘤防治研究,2005,32(2):99-101.

[14] 王光海,江 涛.MRP1 与肺癌耐药[J].临床肺科杂志,2005,10(3):367-402.

[15] 柯爱武,李 曦.脂质体逆转肿瘤多药耐药研究进展[J].国外预防诊断.治疗用生物制品分册,2005,28(2):75-80.

[16] 左明新,叶爱军,胡 欣.多药耐药性相关 ATP 结合盒转运蛋白[J].国外医学药学分册,2005,32(6):365-368.

[17] Legrand O, Simonin G, Perrot J Y,et al. Pgp and MRP activities using calcein-AM are prognostic factors in adult acute myeloid leukemia patients[J].Blood, 1998,91(12): 4480-4488.

[18] Tsuchiya S,Yamabe M,Yamaguchi Y,et al.Establishment and characterization of a human acute monocytic leukemia cell line(THP-1)[J]. Int J Cancer,1980,26(2):171-176.

(责任编辑:冉明会)