

槐耳清膏体外逆转人肝癌耐药细胞 BEL-7402/5-Fu 多药耐药性

喻 喆, 吴 涛, 张 阳

(大连医科大学附属第二医院, 辽宁 大连 116027)

摘 要: [目的] 研究槐耳清膏对人肝癌耐药细胞 BEL-7402/5-Fu 多药耐药性逆转作用及可能机制。[方法] MTT 法检测槐耳清膏对 BEL-7402/5-Fu 细胞的抑制率及无细胞毒性浓度的槐耳清膏对化疗药物的逆转作用; 流式细胞仪检测细胞内罗丹明-123 和阿霉素荧光强度; RT-PCR 检测 *MDR1*、*ABCG2* 和 *LRP* 基因表达情况; Western blot 检测 P-gp 表达情况。[结果] 0.01mg/ml 槐耳清膏对 BEL-7402/5-Fu 细胞无细胞毒作用, 对氟尿嘧啶、表阿霉素和紫杉醇的逆转倍数分别为 3.67 倍、2.38 倍和 2.16 倍, 相对逆转率分别为 72.8%、70.1% 和 74.9%; 流式细胞仪检测显示 BEL-7402/5-Fu 细胞内阿霉素和罗丹明-123 浓度明显增加; RT-PCR 显示 *MDR1* 表达明显下降, 对 *ABCG2* 和 *LRP* 表达无明显影响; Western blot 显示 P-gp 表达明显下降。[结论] 槐耳清膏具有部分逆转肝癌多药耐药的作用, 可能与下调 *MDR1*/P-gp 表达、抑制 P-gp 功能以及增加细胞内化疗药物浓度有关; 而此作用可能与 *ABCG2* 和 *LRP* 无关。

主题词: 肝肿瘤; 人肝癌细胞株; 槐耳清膏; 多药耐药性; P-糖蛋白

中图分类号: R735.7 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2013)06-0443-05

The Reversal Effects of *Trametes robiniophila* Murr. on Multidrug Resistance in Resistant Human Hepatocellular Carcinoma Cell Line BEL-7402/5-Fu

YU Zhe, WU Tao, ZHANG Yang

(Second Affiliated Hospital of Dalian Medical University, Dalian 116027, China)

Abstract: [Purpose] To evaluate the reversal effect of *Trametes robiniophila* Murr. on multidrug resistance in drug resistant human hepatocellular carcinoma cell line BEL-7402/5-Fu, and explore its mechanism. [Methods] The growth inhibition of BEL-7402/5-Fu cell and the reversal effects of *Trametes robiniophila* Murr. were measured by MTT assay. Intracellular accumulation of doxorubicin and rhodamine-123 were detected by flow cytometry (FCM). The mRNA expressions of *MDR1*, *ABCG2* and *LRP* were detected by RT-PCR. The expression of P-gp was detected by Western Blot. [Results] The IC_{50} of chemotherapeutics agents in BEL-7402/5-Fu cells decreased obviously by adding non-cytotoxic concentration of *Trametes robiniophila* Murr. Reversal fold (RF) of *Trametes robiniophila* Murr. on 5-Fu, EPI and PTX were 3.67-fold, 2.38-fold and 2.16-fold, respectively, and relative reversal rate (RRR%) were 72.8%, 70.1% and 74.9%, respectively. FCM results showed that both *Trametes robiniophila* Murr. significantly enhanced intracellular accumulation of doxorubicin and rhodamine-123 compared to the control in BEL-7402/5-Fu cells. RT-PCR results showed that the mRNA expression level of *MDR1* decreased significantly after treated with *Trametes robiniophila* Murr. compared to the control in BEL-7402/5-Fu cells, while the mRNA expression levels of *ABCG2* and *LRP* are not significantly changed. Western blot showed P-gp protein expression level was decreased in BEL-7402/5-Fu cells after treated with *Trametes robiniophila* Murr. [Conclusions] *Trametes robiniophila* Murr. can partially reverse MDR by down-regulating the mRNA and protein expression levels of *MDR1*/P-gp, inhibiting the function of P-gp and enhancing intracellular accumulation of chemotherapeutic agents in human hepatocellular carcinoma in vitro. The reversal effect of *Trametes robiniophila* Murr. on MDR may be irrelevant to *ABCG2* and *LRP*.

Subject words: liver neoplasms; human hepatocellular cell line; *Trametes robiniophila* Murr.; multidrug resistance; P-glycoprotein

原发性肝癌, 特别肝细胞性肝癌 (hepatocellular

carcinoma, 以下简称肝癌), 全球每年新发病例约 62.6 万, 发病率排所有恶性肿瘤第 6 位, 死亡率为第 3 位。中国的肝癌每年新发病例约占世界的 55%, 死亡约占全球的 53%, 近年来肝癌的发病率还在逐渐

通讯作者: 张 阳, 科主任, 教授, 博士; 大连医科大学附属第二医院
肿瘤内科, 辽宁省大连市沙河口区中山路 467 号 (116027);
E-mail: zydl@medmail.com.cn

收稿日期: 2013-03-12; **修回日期:** 2013-05-19

增加^[1]。大多数肝癌患者诊断时便是晚期,已失去手术和肝移植机会,而药物治疗是晚期肝癌的主要治疗手段之一,但是化疗在肝癌治疗中存在局限性,可能与多药耐药(multidrug resistance, MDR)现象有关。MDR是指对一种抗肿瘤药物产生耐药性的同时对不同结构、不同作用机制的其他药物也产生耐药性,以往研究发现的MDR抑制剂包括:维拉帕米、环孢素A、PSC 833、MS-209、VX-710和LY335979等,大都因为机体难以耐受的不良反应无法应用于临床^[2]。因此目前MDR抑制剂研究的方向是无毒性或低毒性的高效逆转剂。槐耳是我国民间重要药用真菌,临床上,槐耳颗粒对肝癌等多种恶性肿瘤有直接抑制肿瘤生长、增强机体免疫功能、与化疗合用有协同作用及提高生存质量等多方面作用^[3]。研究发现槐耳清膏能部分逆转肺癌和乳腺癌MDR^[4,5],对化疗有增敏作用,因此我们研究槐耳清膏和肝癌MDR之间的关系,并初步探讨相关机制。

1 材料与方法

1.1 细胞系

人肝癌细胞株BEL-7402、人肝癌耐氟尿嘧啶细胞株BEL-7402/5-Fu,均购自南京凯基生物公司。

1.2 药物与试剂

槐耳清膏(江苏启东盖天力);表柔比星(EPI,江苏恒瑞);阿霉素(ADM,Pharmacia);氟尿嘧啶(5-Fu,天津金耀);紫杉醇(PTX,江苏恒瑞);维拉帕米(上海禾丰制药);MTT(Ameresco);DMSO(Sigma);0.25%胰蛋白酶/EDTA(Invitrogen);凯基RPMI 1640完全培养基(南京凯基);罗丹明-123(Ameresco);Trizol Reagent试剂盒(Invitrogen);RT-PCR试剂盒(TaKaRa);RT-PCR所用引物均由TaKaRa合成;鼠抗人P-gp单克隆抗体(LABVISION);山羊抗小鼠辣根过氧化物酶抗体(SANTA)。槐耳清膏(20mg/ml):电子天平精确称取槐耳清膏200mg,加入10ml RPMI 1640完全培养基,充分溶解后以0.22μm滤器滤过除菌,4℃冰箱保存。

1.3 主要仪器

CO₂细胞孵育箱(Forma Scientific,USA);超净工作台(SW-CJ-2FD,苏州安泰);流式细胞仪(FACS Calibur, Becton Dickinson, San Jose, CA, USA);全自

动酶标读数仪(Thermo Multiskan MK3, USA);梯度PCR仪(Eppendorf Mastercycler gradient 5331, Germany);低温离心机(Eppendorf Centrifuge 5804R, Germany);凝胶成像系统(UVP Transilluminator M-26, USA)。

1.4 细胞毒性实验

将BEL-7402/5-Fu对数生长期细胞配成 1×10^5 /ml单个细胞悬液,每孔100μl分别接种于96孔板,细胞贴壁后,加入不同浓度的槐耳清膏(10、5、2、1、0.1和0.01mg/ml),每个浓度组设3个复孔,每孔终体积200μl,培养48h后,MTT法检测吸光度。于酶联免疫分析仪上检测490nm处吸光度值(A值),计算细胞抑制率 $= [1 - (A_{\text{加药组}} - A_{\text{空白组}}) / (A_{\text{对照组}} - A_{\text{空白组}})] \times 100\%$ 。重复3次取平均值。

1.5 化疗药物逆转效果试验

取对数生长期BEL-7402和BEL-7402/5-Fu配成 1×10^5 /ml单个细胞悬液,以100μl/孔接种到96孔板,培养24h后同时加入无细胞毒的槐耳清膏(0.01mg/ml)联合不同浓度的化疗药物(5-Fu、EPI和PTX),每个浓度组设置3个复孔,同时设维拉帕米(5μg/ml)为槐耳清膏的对照,每孔终体积200μl,继续培养48h后,MTT法检测抑制率。以药物浓度的对数为横轴,抑制率为纵轴绘制细胞抑制率曲线,得到IC₅₀。计算逆转倍数(reversal fold, RF) $= IC_{50 \text{ BEL-7402/5-Fu+化疗药}} / IC_{50 \text{ BEL-7402/5-Fu+化疗药+槐耳清膏}}$,相对逆转效率(relative reversal rate, RRR%) $= (IC_{50 \text{ BEL-7402/5-Fu+化疗药}} - IC_{50 \text{ BEL-7402/5-Fu+化疗药+槐耳清膏}}) / (IC_{50 \text{ BEL-7402/5-Fu+化疗药}} - IC_{50 \text{ BEL-7402+化疗药}}) \times 100\%$ 。重复3次取平均值。

1.6 细胞内ADM/罗丹明-123累积量

将BEL-7402/5-Fu分为不加药的对照组和加入0.01mg/ml槐耳清膏实验组,培养48h后,以 1×10^6 /ml重悬于PBS中,并加入ADM(5μg/ml)或罗丹明-123(5μg/ml)培养2h,以4℃PBS(0.01mol/L, pH 7.4)洗3次后行流式细胞仪检测细胞内ADM或罗丹明-123荧光强度,激发波长为488nm,接收波长ADM为575nm,罗丹明-123为525nm^[6]。重复3次取平均值。

1.7 RT-PCR检测耐药基因表达

将BEL-7402/5-Fu培养于含0.01mg/ml槐耳清膏的RPMI 1640培养液中48h,同时设BEL-7402和BEL-7402/5-Fu对照组,按Trizol Reagent说明书

的操作步骤提取细胞总 RNA。引物序列:MDR1 (573bp) 上游序列:5'-CTGAAGAGGTCTTGGCAGCA-3' 下游序列:5'-CATAGAGCCTCTGCATCAGC-3'; ABCG2(482bp)上游序列 5'-TGGCTTAGACTCAAG-CACAG-3'下游序列 5'-TAGCAGAAGGAGGTGGTGT-3'; LRP (285bp) 上游序列 5'-ACTTCTCTCCCTTGACCA-3'下游序列 5'-TTCTGGATTTGGTGGACG-3'; β -actin(500bp)上游序列 5'-GGCATGGGTCAGAAG-GATTCC-3'下游序列 5'-ATGTCACGCACGATTTC-CGC-3'。根据 RT-PCR 试剂盒说明书进行逆转录反应合成 cDNA 和 PCR 反应:94℃ 2min 1 个循环预变性;94℃变性 30s,60℃退火 30s,72℃延伸 1min,共 30 个循环,得到扩增产物。2%琼脂糖凝胶电泳后,凝胶成像系统分析。

1.8 Western blot 检测 P-gp 表达

实验分组同 RT-PCR;加入细胞裂解液提取细胞蛋白质;6%SDS-PAGE 电泳约 1.5h;电转膜至 PVDF 膜上,封闭 PVDF 膜;加入稀释后的一抗(1:800),4℃过夜,加入 HRP 标记二抗 2h;浸入 ECL 工作液压片显影。

1.9 统计学处理

采用 SPSS 16.0 进行回归分析 (细胞毒性实验数据)和 *t* 检验,*P*<0.05 为差异具有统计学意义。

2 结 果

2.1 槐耳清膏的细胞毒性实验

槐耳清膏对 BEL-7402/5-Fu 细胞的细胞毒性作用呈剂量依赖性(Table 1),当槐耳清膏为 0.01mg/ml 时,细胞抑制率<5%,对 BEL-7402/5-Fu 无细胞毒性,故我们选择此浓度研究槐耳清膏对 BEL-7402/5-Fu 细胞 MDR 的逆转作用。

2.2 槐耳清膏对 BEL-7402/5-Fu 细胞 MDR 的逆转作用

槐耳清膏可显著降低 BEL-7402/5-Fu 细胞对 5-Fu、EPI 和 PTX 的 IC₅₀(Table 2),但均较维拉帕米的逆转作用弱。槐耳清膏分别对 5-Fu、EPI 和 PTX 的 RF 为 3.67 倍、2.38 倍和 2.16 倍。槐耳清膏分别对 5-Fu、EPI 和 PTX 的 RRR% 为 72.8%、70.1% 和 74.9%。

2.3 槐耳清膏对 BEL-7402/5-Fu 细胞内阿霉素/罗丹明-123 累积量的影响

槐耳清膏组和对照组的细胞内 ADM 荧光强度分别为 171.9±14.6 和 122.8±9.2,前者是后者的 1.40 倍(*P*<0.05);槐耳清膏组和对照组细胞内罗丹明-123 荧光强度分别是 745.6±57.7 和 324.1±31.6,前者是后者的 2.30 倍(*P*<0.05)(Figure 1)。说明槐耳清膏能抑制 P-gp 功能明显增加细胞内阿霉素和罗丹明-123 的累积量。

2.4 槐耳清膏对 BEL-7402/5-Fu 细胞耐药基因表达的影响

通过 RT-PCR 检测 BEL-7402/5-Fu 细胞在槐耳清膏作用前后耐药基因 mRNA 的相对表达水平,包括编码 P 糖蛋白(P-gp)、乳腺耐药相关蛋白(ABCG2)和肺耐药相关蛋白 (LRP) 的 MDR1、ABCG2 和 LRP 基因的 mRNA 水平。结果显示(Table 3);BEL-7402/5-Fu 的 MDR1 和 ABCG2 的 mRNA 水平较 BEL-

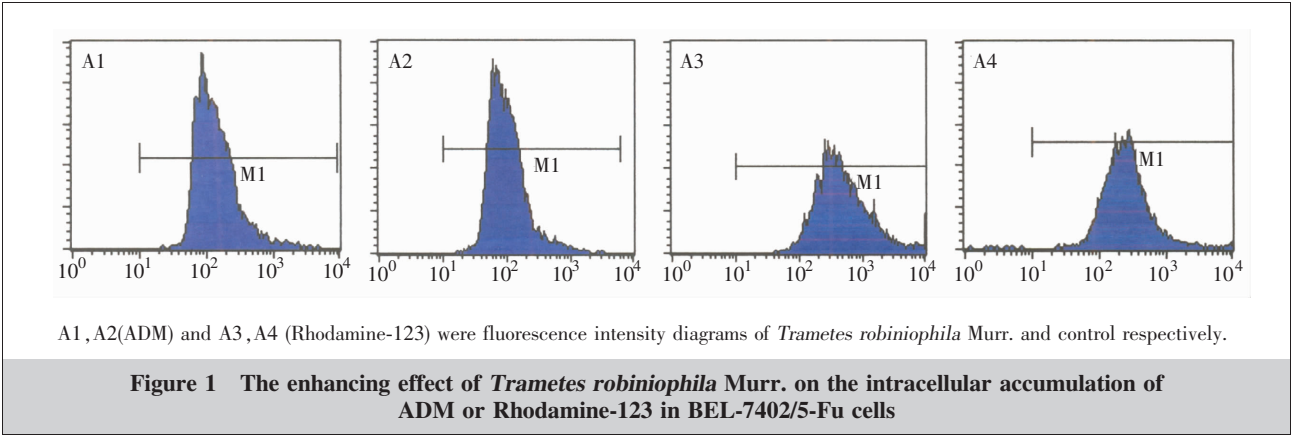
Table 1 The cytotoxicity of *Trametes robiniophila* Murr. on BEL-7402/5-Fu cells

<i>Trametes robiniophila</i> Murr. (mg/ml)	Inhibition rate
10	0.912±0.086
5	0.790±0.071
2	0.266±0.063
1	0.153±0.030
0.1	0.093±0.058
0.01	0.033±0.016

Table 2 The enhancing cytotoxicity effect of *Trametes robiniophila* Murr. in BEL-7402/5-Fu cells

Groups	IC ₅₀		
	5-Fu(mg/ml)	EPI(μg/ml)	PTX(μg/ml)
BEL-7402	0.008±0.008	0.541±0.270	1.533±0.324
BEL-7402/5-Fu	3.068±0.784	3.107±1.037	5.435±1.166
BEL-7402/5-Fu+ <i>Trametes robiniophila</i> Murr.	0.839±0.313*	1.308±0.457*	2.512±0.908*
BEL-7402/5-Fu+Verapamil	0.453±0.129**	0.019±0.025**	1.492±0.049**

*:Compared with BEL-7402/5-Fu,*P*<0.05;
#:Compared with BEL-7402/5-Fu + *Trametes robiniophila* Murr.,*P*<0.05.



7402 明显增高 ($P<0.05$), LRP 表达水平无明显差异 ($P>0.05$)。经过槐耳清膏作用后,MDR1 基因 mRNA 水平较用药前明显降低($P<0.05$),而 ABCG2 和 LRP mRNA 水平无显著变化 ($P>0.05$) (Figure 2A)。

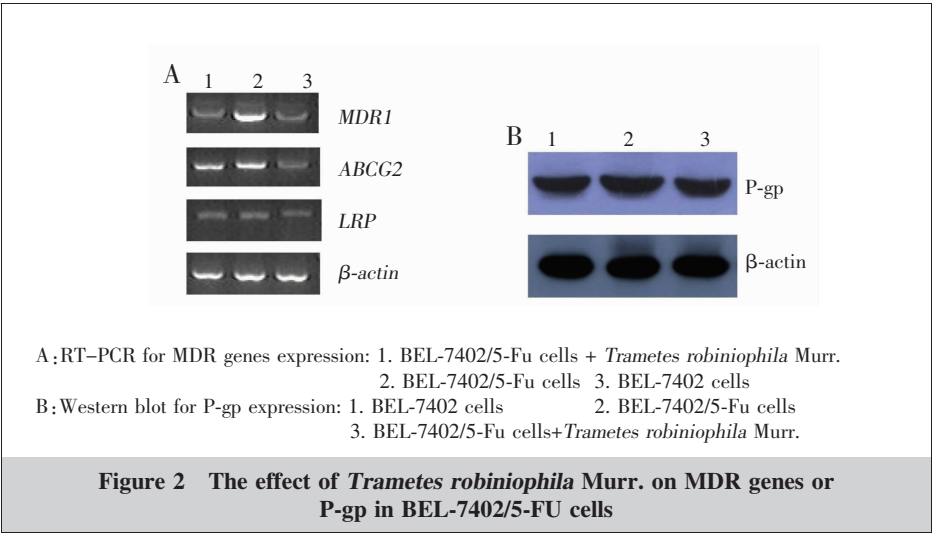
2.5 槐耳清膏对 BEL-7402/5-Fu 细胞 P-gp 表达的影响

Western blot 显示 , BEL-7402/5-Fu 的 P-gp 表达较 BEL-7402 明显增高 (0.55 ± 0.04 vs 0.43 ± 0.03 , $P=0.022$) (Figure 2B), 在 BEL-7402/5-Fu 经过槐耳清膏作用后,P-gp 表达较用药前明显降低 (0.47 ± 0.02 vs 0.55 ± 0.04 , $P=0.046$)。

Table 3 The relative expression levels of MDR genes after treated with *Trametes robiniophila* Murr. groups

Groups	MDR1/ β -actin	ABCG2/ β -actin	LRP/ β -actin
BEL-7402	$0.86\pm0.06^*$	$0.74\pm0.05^*$	$0.37\pm0.03^\Delta$
BEL-7402/5-Fu	1.18 ± 0.08	0.91 ± 0.06	0.36 ± 0.02
BEL-7402/5-Fu+ <i>Trametes robiniophila</i> Murr.	$0.95\pm0.07^*$	$0.82\pm0.06^\Delta$	$0.37\pm0.03^\Delta$

* :Compared with BEL-7402/5-Fu cells, $P<0.05$;
 Δ :Compared with BEL-7402/5-Fu cells, $P>0.05$.



3 讨论

槐耳清膏的主要活性成分是槐耳多糖蛋白(PS-T),许多基础及临床研究表明 PS-T 具有多种抗肿瘤作用,如促进巨噬细胞功能、诱导细胞因子、促进细胞免疫功能、提高体液免疫功能、抑制肿瘤血管生成和诱导肿瘤细胞凋亡等作用^[3]。目前已有其成品槐耳颗粒用于临床,在肝癌治疗上,槐耳颗粒可减少肝癌患者术后复发率,增强机体免疫功能,减轻疼痛^[7];

槐耳颗粒联合介入治疗肝癌和单独介入治疗比较,加用槐耳颗粒的治疗组明显提高生存质量^[8,9]。槐耳颗粒治疗中晚期肝癌可一定程度上延长总生存时间^[10]。肝癌患者术后服用槐耳颗粒,可改善患者免疫功能,下调血清中的 VEGF,降低术后复发转移,提高生存率及改善预后^[11]。

本研究结果表明,无细胞毒浓度的槐耳清膏能增加人肝癌耐药细胞 BEL-7402/5-Fu 对 5-Fu、EPI 和 PTX 半数抑制浓度 (IC_{50})2 倍以上,对 5-Fu、EPI

和 PTX 的 RRR% 均为 70% 以上,说明槐耳清膏能使这三种化疗药物的 IC₅₀ 明显下降,但仍比亲本 BEL-7402 细胞的 IC₅₀ 高。

P-gp 是 MDR 最主要的机制和 MDR 逆转剂主要靶点,它是一种分子量为 170kD 细胞膜糖蛋白,编码基因是 *MDR1*,在耐药肿瘤细胞中高表达。P-gp 通过结合并水解 ATP 将特定分子从细胞内主动运转到细胞外,降低了细胞内药物有效浓度,P-gp 对蒽环类、长春碱类、鬼臼毒素和紫杉类多种化疗药物具有转运作用^[2,12,13],肝癌中 *MDR1* 的表达也与其预后有关^[14]。本研究发现耐药细胞 *MDR1*/P-gp mRNA 和蛋白表达水平较亲本细胞的显著升高,说明耐药细胞 MDR 可能与 *MDR1*/P-gp 过表达有关。本研究发现槐耳清膏能明显增加 BEL-7402/5-Fu 细胞内 ADM 和罗丹明-123 的浓度,说明槐耳清膏能抑制 P-gp 转运底物,具有抑制 P-gp 的功能,而且槐耳清膏能显著下调 *MDR1*/P-gp mRNA 和蛋白表达,这与李戎等的研究结果类似^[5],我们推测槐耳清膏可能是通过下调 P-gp 逆转肝癌耐药细胞 MDR。

本研究表明 BEL-7402/5-Fu 细胞 *ABCG2* 的 mRNA 表达水平较 BEL-7402 显著升高,*LRP* 表达无明显变化,提示 *ABCG2* 基因可能参与 MDR 形成,*ABCG2* 可转运米托蒽醌、喜树碱类等药物^[15]。本研究结果显示,槐耳清膏对 *ABCG2* 的 mRNA 表达有下调趋势,但无显著性变化。*LRP* 可介导铂类、烷化剂等药物的耐药^[16],但文中结果显示槐耳清膏对 *LRP* 的 mRNA 表达无明显影响,提示槐耳清膏部分逆转 MDR 可能并不通过下调 *ABCG2*、*LRP* 表达来实现。

综上所述,无细胞毒剂量的槐耳清膏具有部分逆转肝癌多药耐药的作用,主要可能是通过下调 *MDR1*/P-gp 表达,抑制 P-gp 功能,增加细胞内化疗药物浓度,实现部分逆转肝癌多药耐药的作用;这种逆转作用可能与 *ABCG2* 和 *LRP* 无关。该实验表明槐耳清膏可逆转肝癌 MDR,与化疗联合应用时,可提高化疗有效率,对晚期肝癌的治疗具有重要的临床意义。

参考文献:

- [1] Parkin DM, Bray F, Ferlay J, et al. Global cancer statistics 2002[J]. CA Cancer J Clin, 2005, 55(2): 74-108.
- [2] Szakacs G, Paterson JK, Ludwig JA, et al. Targeting multidrug resistance in cancer [J]. Nat Rev Drug Discov, 2006, (5): 219-234.
- [3] Li LX, Ye SL, Wang YH, et al. Progress on experimental research and clinical application of Trametes robiniophila

- [J]. China Cancer, 2007, 16(2): 110-113. [李立新, 叶胜龙, 王艳红, 等. 槐耳清膏的实验研究及临床应用进展[J]. 中国肿瘤, 2007, 16(2): 110-113.]
- [4] Huang T, Kong QZ, Lu HD, et al. Reversion of PS-T on cisplatin resistance of human lung adenocarcinoma cell line A549DDP in vitro [J]. China Pharmacist, 2002, 5(9): 517-521. [黄涛, 孔庆志, 卢宏达, 等. 槐耳清膏对耐顺铂人肺腺癌细胞系 A549DDP 逆转的实验研究[J]. 中国药师, 2002, 5(9): 517-521.]
- [5] Li R, Xie S, Zhang L, et al. Primary study on the mechanism of reversal drug-resistance of human breast cancer cell line MCF-7 by Huaier Granule [J]. China Practical Medicine, 2009, (17): 7-9. [李戎, 谢莎, 张莉, 等. 槐耳颗粒逆转人乳腺癌细胞 MCF-7 耐药的初步机制 [J]. 中国实用医药, 2009, (17): 7-9.]
- [6] Shi LX, 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.
- [7] Zhang L, Han F, Ma HB. Jin Ke application in the treatment of primary liver cancer[J]. China Cancer, 2000, 9(8): cover 3. [张玲, 韩风, 马洪波. 金克在原发性肝癌治疗中的应用[J]. 中国肿瘤, 2000, 9(8): 封 3.]
- [8] Zhao HR, Mai NS, Bao YX. Jin Ke (Huaier granule) combined with interventional treatment for primary liver cancer in the near future curative effect observation [J]. Xinjiang Journal of Traditional Chinese Medicine, 2004, 22(5): 31-32. [赵化荣, 买尼沙, 包永星. 金克槐耳颗粒联合介入治疗原发性肝癌近期疗效观察 [J]. 新疆中医药, 2004, 22(5): 31-32.]
- [9] Guo TS, Huang FX, Cao XL. Huaier granule combined curative effect observation of interventional treatment for primary liver cancer [J]. The Journal of Practical Medicine, 2005, 21(16): 115-116. [郭添胜, 黄福喜, 曹小龙. 槐耳颗粒联合介入治疗原发性肝癌的疗效观察[J]. 实用医学杂志, 2005, 21(16): 115-116.]
- [10] Jiang M, Zhou DH. Huaier granules for intermediate and late primary liver cancer in 98 Cases[J]. Shanghai Journal of Traditional Chinese Medicine, 2004, 38(6): 21-22. [蒋梅, 周岱翰. 槐耳冲剂治疗中晚期原发性肝癌 98 例[J]. 上海中医药杂志, 2004, 38(6): 21-22.]
- [11] Zhao JJ, Cai JQ, Bi XY, et al. Clinical effects of Huaier in prevention of postoperative hepatocellular carcinoma recurrence and metastasis [J]. Clinical Medicine of China, 2007, 23(3): 245-247. [赵建军, 蔡建强, 毕新宇, 等. 槐耳颗粒对原发性肝癌术后转移复发的影响[J]. 中国综合临床, 2007, 23(3): 245-247.]
- [12] Gottesman MM, Fojo T, Bates SE. Multidrug resistance in cancer: role of ATP-dependent transporters [J]. Nat Rev Cancer, 2002, (2): 48-58.
- [13] Arceci RJ. Clinical significance of P-glycoprotein in multidrug resistance malignancies[J]. Blood, 1993, 81(9): 2215-2222.
- [14] Chen XJ, Wang XG, Shen YJ, et al. Correlation of *MDR1* single nucleotide polymorphism with prognosis of hepatocellular carcinoma [J]. Journal of Chinese Oncology, 2011, 17(3): 209-211. [陈徐艰, 王晓光, 沈亦珏, 等. *MDR1* 基因单核苷酸多态性与肝细胞肝癌预后的关系[J]. 肿瘤学杂志, 2011, 17(3): 209-211.]
- [15] Polgar O, Robey RW, Bates SE. *ABCG2*: structure, function and role in drug response[J]. Expert Opin Drug Metab Toxicol, 2008, 4(1): 1-15.
- [16] Lara PC, Pruschy M, Zimmermann M, et al. MVP and vaults: a role in the radiation response [J]. Radiat Oncol, 2011, (6): 148.