

复方三根制剂对MDR细胞株K562/ADR和K562/VCR逆转作用的研究

谢长生, 周维顺, 冯正权, 郭 勇, 吴良村(浙江省中医院肿瘤科, 浙江 杭州 310006)

摘要:目的:研究复方中药——复方三根制剂对多药耐药(MDR)细胞株的逆转作用。方法:应用MTT比色法,观察复方三根制剂对MDR细胞的逆转作用。运用流式细胞仪(FCM),测定其对耐药细胞积聚和外排阿霉素(ADR)的影响,以及对耐药株细胞表达P-gp的影响。结果:复方三根制剂可部分恢复K562/ADR和K562/VCR耐药细胞对ADR的敏感性,而对VCR抗药性的逆转作用不明显;可增加K562/ADR和K562/VCR耐药细胞内ADR的积聚,并对外排ADR有一定影响;可部分下调P-gp的表达。结论:复方三根制剂可部分逆转耐药细胞的抗药性。

关键词:复方三根制剂;多药耐药(MDR);逆转P-gp

中图分类号:R285.5 文献标识码:B 文章编号:1005-9903(2003)04-0026-05

The Study on the Reversal Effects of Fufang Sangen Mixture in Multidrug Resistant Cell Lines K562/ADR and K562/VCR

XIE Chang-shang, ZHOU Wei-shun, FANG Zheng-quan, GUO Yong, WU Liang-cun

(Oncology Department, Zhejiang Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, 310006)

Abstract: Objective To observe the reversal effect of Fufang Sangen Mixture (FFSG) in multidrug resistant (MDR) cell lines K562/ADR and K562/VCR. Methods We used MTT assay to observe the mixture's reversal effect. Then, we determined the effect of FFSG on intracellular adriamycin (ADR) accumulation, drug efflux and the expression of P-gp by flow cytometry (FCM). Results 10mg/ml, 20mg/ml of FFSG can reverse the K562/ADR cell's resistance to adriamycin to some degree and 20mg/ml FFSG can also partly reverse the K562/VCR cell's resistance to adriamycin. 10mg/ml, 20mg/ml concentration of FFSG can enhance the intracellular adriamycin accumulation in K562/ADR and K562/VCR cell lines. FFSG also has the effect on the efflux of intracellular adriamycin and decreasing the expression of P-gp in MDR cell lines. Conclusion FFSG can partly reverse the resistance of MDR cell lines.

Key words: Fufang Sangen Mixture; Multidrug Resistance (MDR); reverse, P-gp

肿瘤多药耐药(multidrug resistance, MDR)的产生是化疗失败的重要原因,多药耐药性是指肿瘤细胞能对多种化学结构、功能和作用机制均不同的抗癌药物产生交叉抗药性。虽然引起MDR的机制比较复杂,但mdr-1基因及其产物P-gp的过度表达是其主要原因之一^[1]。P-gp是一种跨膜糖蛋白,通过能量依赖机制,可降低细胞毒药物在细胞内的积聚,从而使肿瘤细胞获得多药抗药性^[3]。继Tsuruo等(1981年)首次报导维拉帕米通过抑制P-gp的药物外排功能,而逆转肿瘤细胞的耐药以来^[4],已发现许多具有逆转MDR的物质,如环孢霉素及类似物SDZ PSC 833、三氟拉嗪、三苯氧胺等,称之为MDR逆转剂(chemosensitizer, modulator),但大多数体外有效的

逆转剂在体内无效或毒性较大,只有少部分进入临床试验,而且目前真正能较好应用于临床的逆转剂尚未发现,因此,进一步探索新的临床有效、低毒的逆转剂,不断引起人们的兴趣。

1 材料

1.1 细胞株 K562:人红白血病细胞株(敏感株);K562/ADR:由K562细胞株经ADR抗药诱导得到;K562/VCR:由K562细胞株经VCR抗药诱导得到,均由浙江大学肿瘤研究所提供。

1.2 药物 速溶性阿霉素(Adriamycine, doxorubicin, ADR):意大利FARMITALIA CARLO ERBA公司产品;硫酸长春新碱(Vincristine, VCR):杭州民生药厂产品;维拉帕米(Verapamil, VER):江苏盐城新曹制药厂产品;复方三根制剂(FFSG):由浙江中医学院制剂室提供(经低温干燥而成)。

1.3 主要试剂及仪器设备 RPMI-1640 培养基: GIBCOBRL 公司产品; 小牛血清: 上海华美生物工程公司产品; 四氮甲基唑蓝[MTT]: Sigma 产品; p-gp 单抗: 法国 Immunotech aconlter company 产品, Cat No. 1864, 其它试剂均为国产分析纯。倒置显微镜: Olympus PH-2 型, 日本 OLYMPUS 公司产品; 比色计: VICTOR 1420 MULTILABEL CONUTER, 芬兰 WALLAC 公司产品; 流式细胞仪: FACScan, 美国 BECTON DICKINSON 公司产品。

2 方法

2.1 细胞培养 细胞 K562、K562/ADR、K562/VCR 常规培养于 RPMI-1640 完全培养液中(含 15% 小牛血清, 青霉素 100u/ml, 链霉素 100u/ml)。

2.2 细胞抗药性及其逆转试验——MTT 法^{15,61} 取对数生长细胞接种于 96 孔培养板内, 每孔 1×10^4 (100 μ l/孔), 分别加入抗癌药或复方三根制剂(FFSG)、VER(100 μ l/孔), 置于二氧化碳孵箱中, 37 $^{\circ}$ C, 培养 72h 后, 每孔加入 1mg/ml 的 MTT 50 μ l, 再 5% CO₂, 37 $^{\circ}$ C 置 4~6h, 平板离心机 2000rpm 离心, 倾去上清液, 每孔加入二甲基亚砜 100 μ l, 微量振荡器振荡, 待蓝色结晶完全溶解后, 用比色计 570nm 波长处比色, 求出半数抑制浓度 IC₅₀ 及抗药倍数(resistant factor, RF)。而逆转试验方法与细胞抗药性试验相同, 只是在加入抗癌药物前 15min 分别加入 VER(6 μ g/ml)、复方三根制剂(FFSG) 10、20mg/ml, 分别计算逆转倍数(reversal index, RI), 实验重复三次, 每次三复孔。

$$RF = IC_{50}(\text{抗药细胞株}) / IC_{50}(\text{敏感细胞株})$$

$$RI = IC_{50}(\text{阴性对照}) / IC_{50}(\text{逆转剂})$$

2.3 复方三根制剂对细胞内药物积聚的影响^{16,71} 将 1×10^6 /ml 细胞与各种浓度的逆转剂孵育 15min

后, 再与 ADR(10 μ g/ml), 37 $^{\circ}$ C, 摇床温育 120min, 以 PBS 洗 2 次, 收集细胞, 配成 1×10^6 /ml 细胞悬液, 用 FACScan 流式细胞仪(FCM) 测定细胞内 ADR 荧光强度, 以其荧光强度任意单位表示相对细胞内 ADR 浓度, 实验重复三次。

2.4 复方三根制剂对细胞内药物外排的影响^{6,71} 将 1×10^6 /ml 细胞与 ADR(10 μ g/ml), 37 $^{\circ}$ C, 摇床温育 120min, 用 PBS 洗 2 次, 加入复方三根制剂后, 分别在 0、15min、30min、60min、90min 时点, 用 FCM 测定细胞内 ADR 荧光强度, 方法同上。

2.5 给药后耐药株 p-gp 的表达⁸¹ 取对数生长期细胞接种于 24 孔培养板, 1×10^5 细胞(1ml/孔) 分别加入复方三根制剂终浓度 20mg/ml(1ml)、VER 终浓度 6 μ g/ml(1ml)、空白对照(0 孔) 加 1ml 培养液(置于 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ 培养箱内), 每组设 9 孔, 24h 后各组取 3 孔。先 PBS 洗 2 次, 离心, 留取约 100 μ l 左右液体, 加 p-gp 单抗避光反应 30min, 再用 PBS 洗 2 次, 1000rpm 离心, 吸去上清液, 加入 1% 多聚甲醛 600 μ l 固定后, 用流式细胞仪测定 p-gp 含量。48h、72h 后处理方法同上。

2.6 统计学处理 均数比较用 *t* 检验。

3 结果

3.1 K562/ADR 及 K562/VCR 细胞株的耐药特性 表 1 显示了 K562/ADR 和 K562/VCR 耐药株对蒽环类(ADR) 和植物碱类(VCR) 两种主要 MDR 药物的抗药性, 以及复方三根制剂的细胞毒性, 其中对 VCR 的抗药性很强, 两株耐药细胞的 IC₅₀ 均大于 50 μ g/ml, 耐药倍数(Resistant Factor, RF) 大于 8197 倍。对 ADR 的抗药性, K562/ADR 耐药株为 90.34 倍, K562/VCR 耐药株为 42.24 倍。而复方三根制剂对三株细胞的 IC₅₀ 均约在 40mg/ml 左右, 无耐药性。

表 1 K562/ADR 及 K562/VCR 耐药株的抗药性

细胞株	IC ₅₀			RF(倍数)		
	+ ADR(μ g/ml)	+ VCR(μ g/ml)	+ FFSG(mg/ml)	+ ADR	+ VCR	+ FFSG
K562	0.058 \pm 0.014	0.0061 \pm 0.0001	43.92 \pm 4.92	-	-	-
K562/ADR	5.24 \pm 0.070	> 50	41.10 \pm 1.73	90.34	> 8197	-
K562/VCR	2.45 \pm 0.99	> 50	42.91 \pm 2.43	42.24	> 8197	-

$$RF = IC_{50}(\text{耐药株}) / IC_{50}(\text{敏感株})$$

3.2 复方三根制剂和维拉帕米对耐药细胞 K562/ADR 的逆转作用 表 2 所示, 10mg/ml、20mg/ml 浓度的复方三根制剂对 K562/ADR 耐药株的 ADR 抗药性有明显的逆转作用, 逆转倍数(RI) 分别在 7.53 倍和 10.31 倍, 与阴性对照(0 孔) 比较, 差异显著 ($P <$

0.05), 而阳性对照维拉帕米也显示了相似的逆转作用, 但复方三根制剂和 VER 对 VCR 抗药性均无明显逆转作用, 其半数抑制浓度均 IC₅₀ > 50 μ g/ml。

3.3 复方三根制剂和维拉帕米对 K562/VCR 耐药株的逆转结果 表 3 中显示: 复方三根制剂在 10mg/

ml 20mg/ml 浓度时对 K562/VCR 耐药株的 ADR 抗药性有不同程度的逆转作用,其逆转倍数分别在 1.88 倍和 6.18 倍,其中 20mg/ml 浓度时逆转作用明显,与阴性对照组比较,具有统计学意义($P < 0.05$),而阳性对照组维拉帕米对 ADR 抗药性有明显的逆转作用($P < 0.05$),逆转倍数达 27.80 倍,具有很好的逆转效果。但对 VCR 抗药性均无明显逆转作用,其 IC_{50} 均大于 $50\mu\text{g/ml}$ 。

表 2 复方三根制剂对 K562/ADR 耐药株的逆转作用

浓度 (mg/ml)	IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)		RI(倍数)	
	+ ADR	+ VCR	+ ADR	+ VCR
0	5.57 ± 0.24	> 50	1.0	-
10	0.74 ± 0.08*	> 50	7.53	-
20	0.54 ± 0.06*	> 50	10.31	-
VER	0.46 ± 0.13*	> 50	12.11	-

注:与空白组比较* $P < 0.05$ (下同)

表 3 复方三根制剂对 K562/VCR 耐药株的逆转作用

浓度 (mg/ml)	IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)		RI(倍数)	
	+ ADR	+ VCR	+ ADR	+ VCR
0	2.78 ± 0.90	> 50	1.0	-
10	1.48 ± 0.86	> 50	1.88	-
20	0.45 ± 0.20*	> 50	6.18	-
6 $\mu\text{g/ml}$	0.10 ± 0.07*	11.80 ± 10.26	27.80	> 4.24

3.4 复方三根制剂对细胞内药物积聚的影响

反映了三株细胞在加入复方三根制剂 0、10mg/ml、20mg/ml 及阳性对照 VER 6 $\mu\text{g/ml}$ 后测定的细胞内 ADR 荧光强度,以荧光强度表示相应的阿霉素浓度,显示了 10mg/ml 20mg/ml 两浓度的复方三根制剂对 K562 细胞内 ADR 的积聚无明显改变($P > 0.05$),而对 K562/ADR 及 K562/VCR 耐药株摄取 ADR 的能力有明显的增加($P < 0.05$),而且 6 $\mu\text{g/ml}$ 的维拉帕米对 K562/ADR 及 K562/VCR 耐药株积聚 ADR 的增强作用更加明显($P < 0.05$)。结果与 MTT 法测定的逆转效果和对 ADR 的耐药情况基本相符,即 K562 及 K562/VCR K562/ADR 细胞内积聚 ADR 的能力与其对 ADR 的耐药性相一致。

表 4 复方三根制剂对细胞内 ADR 积聚的影响

浓度 (mg/ml)	细胞内 ADR 浓度(相对荧光强度)		
	K562	K562/ADR	K562/VCR
0	191.97 ± 28.33	86.34 ± 24.94	105.79 ± 6.77
10	199.16 ± 18.98	153.30 ± 17.13*	159.61 ± 11.69*
20	171.24 ± 22.64	155.53 ± 6.32*	153.63 ± 9.19*
VER	229.88 ± 13.82	192.67 ± 7.21*	213.70 ± 24.54*

3.5 复方三根制剂对 K562、K562/ADR、K562/VCR 细胞外排 ADR 的影响 从表 5、6、7 显示,复方三根制剂及阳性对照维拉帕米对 K562 细胞外排 ADR 的影响很小,对 K562/ADR 和 K562/VCR 细胞外排 ADR 具有不同程度的影响,且对 K562/ADR 的影响较 K562/VCR 细胞略大。

表 5 复方三根制剂对 K562 细胞外排 ADR 的影响

时间	0	+ FFSG1(10mg/ml)	+ FFSG2(20mg/ml)	+ VER(6 $\mu\text{g/ml}$)
0	244.47 ± 1.92	252.43 ± 44.47	237.56 ± 34.29	242.64 ± 28.02
15'	244.25 ± 2.23	249.25 ± 45.37	226.48 ± 18.10	241.34 ± 15.37
30'	237.04 ± 6.22	241.02 ± 42.95	228.69 ± 30.55	230.24 ± 27.19
60'	231.59 ± 7.85	234.97 ± 41.29	225.56 ± 25.55	229.75 ± 30.19
90'	217.36 ± 0.88	222.04 ± 27.44	213.45 ± 21.66	223.56 ± 30.44
残留	88.9%	88.0%	89.9%	92.1%

表 6 复方三根制剂对 K562/ADR 细胞外排 ADR 的影响

时间	0	+ FFSG1(10mg/ml)	+ FFSG2(20mg/ml)	+ VER(6 $\mu\text{g/ml}$)
0	63.98 ± 1.22	64.48 ± 2.62	74.82 ± 4.42	68.52 ± 0.66
15'	61.87 ± 2.29	64.13 ± 1.85	77.18 ± 6.21	67.18 ± 0.83
30'	56.99 ± 1.29	61.46 ± 0.49	70.94 ± 7.66	64.94 ± 1.39
60'	54.37 ± 1.34	58.69 ± 0.79	69.26 ± 5.28	63.86 ± 2.59
90'	50.68 ± 1.51	60.01 ± 0.83	69.07 ± 5.69	63.24 ± 2.60
残留	79.2%	93.1%	92.3%	92.3%

表7 复方三根制剂对 K562/VCR 细胞外排 ADR 的影响

时间	0	+ FFSG1(10mg/ml)	+ FFSG2(20mg/ml)	+ VER(6 μ g/ml)
0	103.66 \pm 6.75	107.86 \pm 5.93	105.06 \pm 6.15	109.89 \pm 5.61
15'	100.48 \pm 8.46	104.35 \pm 4.87	108.26 \pm 2.49	106.74 \pm 7.38
30'	94.09 \pm 5.87	97.46 \pm 3.83	98.09 \pm 4.72	101.00 \pm 7.99
60'	88.97 \pm 6.92	93.10 \pm 6.97	94.46 \pm 7.77	97.86 \pm 9.27
90'	81.39 \pm 0.70	88.75 \pm 9.48	91.34 \pm 7.80	96.16 \pm 11.40
残留	78.5%	82.2%	86.9%	87.5%

在 0、10mg/ml、20mg/ml 浓度的复方三根制剂和 6 μ g/ml 的 VER 的影响下, K562/ADR 细胞外排 90min 时, 细胞内残留的阿霉素(以相对荧光强度表示)分别为 79.2%、93.1%、92.3% 和 92.3, 而在 K562/VCR 细胞则分别残留 78.5%、82.2%、86.9% 和 87.5%。

图 1、2、3 为在 0、15min、30min、60min、90min 五个不同时点测得的细胞内残留 ADR 的百分比曲线图。

3.6 复方三根制剂对 K562/ADR 和 K562/VCR 不同时段表达 p_{rgp} 量的影响 表 8、9 反映了两株耐药细胞 K562/ADR 和 K562/VCR 在加入复方三根制剂 20mg/ml 及阳性对照 VER(6 μ g/ml) 后测定的结合 p_{rgp} 单抗的荧光强度(以荧光强度表示相应的 p_{rgp} 表达量), 显示了复方三根制剂与 VER 均有下调 p_{rgp} 表达的作用, 并且效果相近, 与空白对照(0 孔)比较, 均有显著性差异(P < 0.05)。

表8 复方三根制剂对 K562/ADR 细胞表达 p_{rgp} 的影响

	0	FFSG(20mg/ml)	VER(6 μ g/ml)
24h	418.3 \pm 2.06	622 \pm 6.56	586 \pm 5.72
48h	418.3 \pm 4.03	730 \pm 4.51	588 \pm 17.34
72h	414.3 \pm 12.23	310 \pm 1.09*	313 \pm 3.05*

表9 复方三根制剂对 K562/VCR 细胞表达 p_{rgp} 的影响

	0	FFSG(20mg/ml)	VER(6 μ g/ml)
24h	726 \pm 5.29	1054 \pm 83.16	839 \pm 3.51
48h	728 \pm 12.56	775 \pm 7.02	792 \pm 10.96
72h	710 \pm 27.23	393 \pm 6.56*	369 \pm 3.51*

4 讨论

化学治疗是目前治疗恶性肿瘤的主要手段之一, 但多药耐药性(MDR)的产生往往是导致化疗失败的重要原因。引起MDR的机理比较复杂, 但mdr-1 基因及其产物 p_{rgp} 的过度表达是其主要原因之一^[1]。p_{rgp} 是一种跨膜糖蛋白, 属于 ATPase 蛋白超家族成员, 能够利用能量, 可降低细胞毒药物在细胞

内的积聚和滞留, 而使肿瘤细胞获得多药抗药性^[2], 典型的MDR 逆转剂, 即 p_{rgp} 抑制剂。自 Tsuruo 等(1981 年)首次报导 verapamil 能逆转肿瘤细胞的耐药以来^[3], 已发现许多药物在体外具有逆转MDR 作用, 但仅少数几种进入临床试验, 主要有维拉帕米、环孢霉素 A 及类似物 PSC 833、三苯氧胺、奎宁等, 而目前真正能较好应用于临床的逆转剂尚未发现。

中医药治疗恶性肿瘤具有悠久的历史, 随着对其研究的深入, 日渐引起了人们的兴趣。也发现了许多中草药对化疗具有一定的增敏作用, 如汉防己、人参皂甙 Rb1^[9]、补骨脂抽提剂^[10]、川芎嗪^[11]等, 均有逆转MDR 作用。本文研究的复方三根制剂是在浙江省中医院肿瘤科七十年代形成的院内制剂——三根糖浆的基础上发展而来, 由虎杖根、藤梨根、水杨梅根、党参、白术、茯苓、楂肉、甘草等组成。经长期、大量的临床实践, 发现它在恶性肿瘤(尤消化道肿瘤)的综合治疗中有一定疗效, 主要体现在: ①对恶性肿瘤术后的抗复发、抗转移方面有效; ②对恶性肿瘤的化疗有一定的增敏作用, 临床上常作为辅助用药, 配合手术、放化疗长期服用。由于是中药复方制剂, 成份复杂, 作用机理不清, 浓度单位也仍采用相当于生药剂量的浓度。本文研究了复方三根制剂在体外MDR 细胞对化疗药物的增敏作用, 资料显示, 复方三根制剂在体外具有较高的逆转MDR 作用。

实验中, 运用 MTT 比色法, 结果显示复方三根制剂可部分逆转 K562/ADR 和 K562/VCR 耐药细胞对 ADR 的抗药性。但由于两株细胞对 VCR 均表现很高的耐药性(均 IC₅₀ > 50 μ g/ml), 复方三根制剂对两株细胞的 VCR 抗性无明显逆转作用, VER 作用也相似。

同时, 由于阿霉素具有自发荧光特性, 文献报导^[7], 流式细胞仪可以直观地检测阿霉素耐药细胞, 具有灵敏、准确、定量的特点, 是肿瘤耐药性灵敏、功能性的检测方法。本实验利用流式细胞技术, 直接

测定细胞内阿霉素(ADR)的荧光强度,了解复方三根制剂对K562及其耐药株积聚和外排ADR的影响。实验数据显示加用复方三根制剂后,可明显增加耐药细胞内ADR的积聚,具有逆转MDR作用,而阳性对照VER组则更明显,与MTT法测定结果基本相符。复方三根制剂可减缓K562/ADR和K562/VCR细胞外排ADR,但对K562细胞外排ADR则无明显影响。

而且,运用流式细胞术检测p-gp是新近比较受重视的方法之一,可定量、正确性高,本实验利用流式细胞术测定结合p-gp单抗的荧光强度,结果显示复方三根制剂及阳性对照维拉帕米对两株耐药细胞均有下调p-gp表达的作用,效果相近,推测下调p-gp表达可能是复方三根制剂和维拉帕米^[12]增敏作用的主要机制之一。

另外,由于MDR机理复杂,MDR细胞K562/ADR和K562/VCR除p-gp介导的机制外,胡汛等^[13]报导尚有其它原因导致MDR,实验结果也证实了这一点。实验中选用的K562/ADR、K562/VCR耐药株在原有抗药性基础上,又经1年多抗癌药物的不断冲击、强化孵育,获得的耐药倍数较建株时报导的要高,但用阳性对照维拉帕米作逆转试验时逆转倍数反而要低,是否提示在与化疗药物的不断接触过程中,发生非p-gp耐药机制的机会就增多,并且这与临床上多次化疗后易产生耐药,尤其是治疗后复发的病人,再次化疗效果更差,两者之间,是否具有相关性,有待于进一步研究、探索。

参考文献:

[1] Goldstein LJ. Clinical reversal of drug resistance[J]. *Curr Probe Cancer*, 1995, 19: 65-69.
[2] Gottesman MM, Pastan I. Biochemistry of multidrug resistance

mediated by the multidrug transporter[J]. *Annu Rev Biochem*, 1993, 62: 385-427.
[3] Tsuruo T, Tida H, Tsukagoshi S, et al. Overcoming of vincristine resistance in P388 leukemia in vivo and in vitro through enhanced cytotoxicity of vincristine and vinblastine by verapamil[J]. *Cancer Res*, 1981, 41: 1967-1972.
[4] Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assay[J]. *J Immuno Method*, 1983, 65: 55-63.
[5] 胡汛, 陈万源, 郑树. K562r细胞对阿霉素的摄取、外排及阿霉素在细胞内的分布[M]. 中国癌症研究进展. 云南科技出版社, 1994. 201-205.
[6] 刘超, 黄一微, 谢彦晖, 等. K562/Adm多药耐药细胞株生物学特性的进一步研究[J]. *癌症*, 1995, 14: 415-417.
[7] 郑国强, 韩复生, 刘叙仪, 等. 流式细胞分析在阿霉素耐药性研究中的重要作用[J]. *中华医学检验学杂志*, 1997, 20: 17-19.
[8] Beck W. J, Grogan T. M, Willman C. L, et al. Method to detect p-glycoprotein associated multidrug resistance in patients' tumors: consensus recommendations[J]. *Cancer Research*, 1996, 56: 3010-20.
[9] 潘启超, 田辉. 多种中药单体逆转肿瘤多药耐药[J]. *科学通报*, 1995, 40: 1901-1904.
[10] 张文卿, 刘叙仪, 韩复生, 等. 中药R3(补骨脂抽提剂)对耐药阿霉素人乳腺癌细胞系(MCF-7/ADR)多药耐药的逆转[J]. *中国肿瘤临床*, 1997, 24: 325-330.
[11] Yang P, Li J, Wang X, et al. Reversal effect of some traditional medicine on multidrug resistance in the K562/ADR cell line[J]. *Anticancer Drugs*, 1994, 5: 35-41.
[12] Catherine Mullar, et al. Verapamil decreases p-gp expression in multidrug resistance human leukemia cell line[J]. *Int. J. Cancer*, 1994, 56: 749-754.
[13] 胡汛, 潘镛荣, 郑树. P-糖蛋白的过表达不能完全解释MDR细胞株K562/DOX的抗癌性[J]. *中华肿瘤杂志*, 1995, 17: 85.