

## 榄香烯乳剂对肺癌 A549/DDP 细胞株耐药逆转作用及其机制

姚成才<sup>1,2</sup>, 涂远荣<sup>2</sup>, 杜好信<sup>1</sup>, 姜杰<sup>3</sup>, 耿国军<sup>1</sup>, 张义<sup>1</sup>, 陈隽鹏<sup>1</sup>, 陈端扬<sup>1</sup>, 叶社房<sup>4</sup>

### The effect of elemene on reversal multidrug resistance and the expression of P-glycoprotein in A549/DDP

Yao Chengcai<sup>1,2</sup>, Tu Yuanrong<sup>2</sup>, Du Haoxin<sup>1</sup>, Jiang Jie<sup>3</sup>, Geng Guojun<sup>1</sup>, Zhang Yi<sup>1</sup>, Chen Junpeng<sup>1</sup>, Chen Duanyang<sup>1</sup>, Ye Shefang<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Department of Thoracic Surgery of Xiamen TCM Hospital of Fujian University of Traditional Chinese Medicine Fujian Xiamen 361009, China; <sup>2</sup>Department of Thoracic Surgery of the First Affiliated Hospital of Fujian Medical University, Fujian Fuzhou 355000, China; <sup>3</sup>Department of Thoracic Surgery of the First Affiliated Hospital of Xiamen University Fujian Xiamen 361001, China; <sup>4</sup>College of Molecular Biology and Material of Xiamen University Fujian Xiamen 361003, China.

**【Abstract】 Objective:** To investigate the elemene (ELE) reversal of human lung adenocarcinoma A549/DDP cell resistance and its mechanism. **Methods:** Cytotoxicity of ELE alone or in combination with DDP in A549/DDP cells was determined by MTT assay. Based on flow cytometric technology, the effect of ELE on the uptake of rhodamine-123 (Rho123) in A549/DDP cells was detected by measuring Rho123 mean fluorescence intensity (MFI). P-gp protein expression on the A549/DDP cell membrane were detected by Western blot. **Results:** Different concentration elemene inhibited the A549/DDP cell proliferation in a time-dose-dependent manner ( $P < 0.05$ ). Alonely used DDP,  $IC_{50}$  was 15.46  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ; combined 20  $\mu\text{g}/\text{ml}$  elemene for 24h, DDP  $IC_{50}$  was 4.15  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , the reversal activity was 3.63 times higher than that of DDP. Elemene increased intracellular accumulation of Rh123 of the A549/DDP cells, reduced the expression of P-gp on the cell membrane in a dose-dependent manner, indicating that elemene reduce A549/DDP cells for drug efflux and inhibition of P-gp protein pump function. **Conclusion:** The reversal activity of DDP is possible related to inhibition of P-gp function and expression in vitro, which lead to an increased intracellular accumulation of anticancer drugs.

**【Key words】** lung cancer; resistance; elemene; P-glycoprotein; A549/DDP cell strains

Modern Oncology 2013, 21(12): 2670-2673

**【摘要】** 目的: 探讨榄香烯乳 (elemene, ELE) 逆转人肺癌 A549/DDP 细胞株耐药性及其机制。方法: 采用 MTT 法检测榄香烯乳单用的细胞毒作用及与顺铂 (cisplatin, DDP) 合用时耐药逆转作用; 采用流式细胞术检测榄香烯乳对 A549/DDP 细胞内罗丹明-123 (rhodamine-123, Rh123) 蓄积的影响; 采用 Western blot 检测榄香烯乳对耐药细胞 A549/DDP 细胞膜上 P-gp 蛋白表达的影响。结果: 不同浓度榄香烯对 A549/DDP 细胞均有一定的抑制作用, 呈时间-剂量依赖性效应。单用 DDP 的  $IC_{50}$  为 15.46  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 合用 20  $\mu\text{g}/\text{ml}$  榄香烯 24h,  $IC_{50}$  为 4.15  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 逆转耐药倍数为 3.63。同时, 榄香烯增加 A549/DDP 细胞内 Rh123 的蓄集, 降低细胞膜上 P-gp 的表达, 且呈剂量依赖性, 表明榄香烯能减少 A549/DDP 细胞对药物的外排和抑制 P-gp 蛋白的表达。结论: 榄香烯在体外逆转肿瘤细胞耐药性可能与其抑制 P-gp 的功能和表达有关。

**【关键词】** 肺癌; 耐药性; 榄香烯; P 糖蛋白; A549/DDP 细胞株

**【中图分类号】** R730.53; R734.2 **【文献标识码】** A **DOI:** 10.3969/j.issn.1672-4992.2013.12.08

**【文章编号】** 1672-4992-(2013)12-2670-04

**【收稿日期】** 2013-06-18

**【修回日期】** 2013-07-25

**【基金项目】** 福建省自然科学基金面上项目 (编号: 2010D014)

**【作者单位】** <sup>1</sup>福建中医药大学厦门中医院胸外科, 福建 厦门 361009

<sup>2</sup>福建医科大学附属第一医院胸外科, 福建 福州 355000

<sup>3</sup>厦门大学附属第一医院胸外科, 福建 厦门 361001

<sup>4</sup>厦门大学分子生物学与材料学院, 福建 厦门 361003

**【作者简介】** 姚成才 (1973-), 男, 安徽安庆人, 副主任医师, 博士, 主要从事乳腺、胸部肿瘤的早期诊断和治疗。E-mail: yao-130@163.com

临床上发现的肺癌患者多为晚期,确诊时约2/3患者已失去手术机会,因而化疗是大多数患者的主要治疗手段之一。而肺癌细胞对化疗药物的耐药是导致肺癌化疗失败的重要原因之一。榄香烯乳( elemene ,ELE)是从中药莪术中提取的抗癌新药,其有效成分为 $\beta$ -榄香烯。近年研究发现它可逆转肿瘤细胞的耐药性<sup>[1]</sup>。我们于2011年7月-2013年6月期间,观察了榄香烯乳对人肺腺癌耐药性细胞株A549/DDP多药耐药药的逆转作用,并探讨其可能的作用机制,现报告如下。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要材料

人肺腺癌顺铂耐药细胞株A549/DDP购自军事医学科学院。顺铂(云南个旧生物制药有限公司,批号:090202);榄香烯乳剂注射液(大连金港制药有限公司,批号:081152);罗丹明-123(rhodamin-123,Rh123)购自Sigma公司,P-gp单抗、二抗及内参等购自Santa Cruz公司产品。四甲基氮唑蓝(MTT)、二甲基亚砜(DMSO)、RPMI 1640培养基和其他生化试剂均为美国Sigma公司产品。紫外分光光度计(Eppendorf)、电泳仪及转膜设备(Bio-rad)、FACS Calibur流式细胞仪为美国BD公司产品。

### 1.2 方法

**1.2.1 细胞培养** A549/DDP细胞用含10%胎牛血清的RPMI 164培养基培养,用2 $\mu$ g/ml的DDP维持其耐药性,在37 $^{\circ}$ C、5%CO<sub>2</sub>的培养箱中培养,2d传代1次。实验前1周将A549/DDP细胞换用无DDP的培养基培养,选取对数生长期的细胞进行实验。

**1.2.2 MTT法测定ELE对耐药细胞A549/DDP的细胞毒性** 取对数生长期A549/DDP细胞,胰酶消化后,用含10%胎牛血清的RPMI 1640培养基配成细胞悬液,以5 $\times$ 10<sup>3</sup>/孔接种96孔板内。细胞贴壁后,实验组加入浓度分别为10 $\mu$ g/ml、20 $\mu$ g/ml、40 $\mu$ g/ml、80 $\mu$ g/ml的ELE,对照组加相同浓度的药物溶解介质,每个浓度设3个平行孔。孵育12、24、48、72h后,每孔分别加入20 $\mu$ l MTT液(5mg/ml),继续培养4h,然后以1000r/min离心3min,弃上清,每孔加入150 $\mu$ l二甲基亚砜,置摇床上低速振荡10min,使结晶物充分溶解。全自动酶标仪于570nm处测定各孔吸光值(A值),参比波长为630nm。每个浓度作平行3孔,实验重复3次,取3孔平均值计算细胞生长率。生长率(%)=实验组A值/对照组A值 $\times$ 100%。规定生长率>95%的药物浓度为该药的非细胞毒性剂量,并作为最佳逆转耐药浓度。

**1.2.3 MTT法测定A549/DDP细胞对DDP的敏感性** 取对数生长期A549/DDP细胞,胰酶消化后,用含10%胎牛血清的RPMI 1640培养基配成细胞悬液,以5 $\times$ 10<sup>3</sup>/孔接种96孔板内。对照组分别加入终浓度为0.25、0.5、1、2、4、8、16、32 $\mu$ g/ml的DDP,实验组在对照组基础上分别再加入20 $\mu$ g/ml ELE。作用24h后,每孔加入20 $\mu$ l MTT液(5mg/ml),继续培养4h,然后以1000r/min离心3min,弃上清,每孔加入150 $\mu$ l二甲基亚砜,置摇床上低速振荡10min,使结晶物充分溶解。全自动酶标仪于570nm处测定各孔吸光值(A值),参比波长为630nm。每个浓度作平行3孔,实验重复3次,取3孔平均值计算细胞增殖抑制率。增殖抑制率=(1-实验组A值/对照组A值) $\times$ 100%。采用直线回归方程计算出细胞生长抑制率为50%时的DDP浓度,即为半数抑制浓度

(IC<sub>50</sub>)。同时,根据测定的各组A570nm值,得出各组细胞的IC<sub>50</sub>(生存率为50%时的药物浓度),计算耐药细胞的耐药倍数。耐药倍数=耐药细胞的IC<sub>50</sub>/敏感细胞的IC<sub>50</sub>。逆转倍数=耐药细胞逆转前的IC<sub>50</sub>/耐药细胞逆转后的IC<sub>50</sub>。

**1.2.4 Rhodamine-123 滞留试验检测A549/DDP细胞P-gp的功能** 罗丹明-123(rhodamin123,Rh123)是P-gp的荧光底物,可通过检测肿瘤细胞内Rh123荧光强度的变化考查细胞表面P-gp的表达水平变化,肿瘤细胞内Rh123荧光强度越高则表示细胞表面P-gp的表达水平越低,药物泵出细胞外的能力越弱。对数生长期细胞中加入10 $\mu$ g/ml、20 $\mu$ g/ml、40 $\mu$ g/ml浓度ELE,对照组加相同体积的磷酸盐缓冲液(PBS),37 $^{\circ}$ C、5%CO<sub>2</sub>培养箱孵育24h,胰酶充分消化,将培养细胞用1640培养液漂洗1次,制成2 $\times$ 10<sup>6</sup>单细胞悬液,在流式上样管中加入1 $\times$ 10<sup>5</sup>/ml细胞悬液,37 $^{\circ}$ C孵育30min,之后每管加入终浓度达5 $\mu$ g/ml的Rhodamine-123,再在37 $^{\circ}$ C孵育60min,1500r/min离心2min,去除培养液,用冷冻培养液清洗2次,在冷冻培养液中重新悬浮。用FACS Calibur流式细胞仪检测荧光强度,激发波长为488nm,发射波长为530nm。计算平均荧光强度(mean fluorescent intensity,MFI)检测细胞内Rh123含量的变化。

**1.2.5 应用Western blot检测耐药细胞A549/DDP细胞P-gp蛋白表达情况** 肿瘤细胞多药耐药的产生主要与细胞表面P-糖蛋白(P-glycoprotein,P-gp)的过度表达有关,P-gp作为能量依赖型药泵,可将多种结构及作用机制不同的药物泵出细胞外,导致多药耐药。取处于对数生长期的A549/DDP细胞,分为2组。对照组加入DDP(终质量浓度为4 $\mu$ g/ml),实验组在对照组基础上再加入20 $\mu$ g/ml、40 $\mu$ g/ml逆转浓度的榄香烯乳。药物作用24h后,PBS洗3次,离心收集细胞,加入细胞裂解液,冰上放置15min,4 $^{\circ}$ C,13000r/min离心10min后留取沉淀并进行蛋白定量;取50 $\mu$ g蛋白样品经12%的SDS-PAGE电泳,转膜采用聚二氟乙烯(PVDF)膜;5%脱脂牛奶封闭2h,TBST洗膜,一抗4 $^{\circ}$ C过夜(1:1000),抗 $\beta$ -actin抗体为1:2000)进行孵育,TBST洗膜后辣根过氧化物酶(HRP)标记的二抗室温孵育2h,采用ECL试剂盒进行化学发光法显影。采用自动电泳凝胶成像分析仪(Chemi Imager 5500,USA)进行图像扫描。以每条蛋白电泳带的灰度值表示P-gp蛋白的表达量。

### 1.3 统计学分析

采用SPSS 11.5统计分析软件包对所有数据进行统计学分析,统计数据用 $\bar{x}\pm s$ 表示,两组间比较采用t检验,多组之间比较采用单因素方差分析或卡方检验。规定P<0.05为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 榄香烯乳对A549/DDP细胞的增殖抑制作用

不同浓度ELE作用于A549/DDP细胞,于波长570nm处检测各孔OD值。以剂量为横轴,每一时点的平均光密度值[A(OD)]为纵轴绘制细胞生长曲线,结果见图1。不同浓度ELE对A549/DDP细胞均有一定的抑制作用,并具有剂量依赖性效应,即随着ELE浓度增加抑制作用增强。10、20、40、80( $\mu$ g/ml)ELE作用于A549/DDP细胞24h,其存活率分别为96.11%、97.03%、95.12%、88.59%,与无药(0 $\mu$ g/ml)对照组比较,40 $\mu$ g/ml、80 $\mu$ g/ml有显著差异性(P<0.01),而10 $\mu$ g/ml、20 $\mu$ g/ml无差异;作用于48h,其存活率分别为

96.93%、93.42%、70.89%、61.42%，与对照组(0 μg/ml)比较，40 μg/ml、80 μg/ml 有显著差异性 ( $P < 0.01$ )，而10 μg/ml、20 μg/ml 无统计学差异(图 2,3)。按上述规定，20 μg/ml 及以下浓度 ELE 对 A549/DDP 细胞认定为无细胞毒性，40 μg/ml 及以上浓度 ELE 对 A549/DDP 细胞为高细胞毒性，20 μg/ml 以上至 40 μg/ml 以下为中细胞毒性。故认为 ELE 逆转耐药性试验的最佳浓度为 20 μg/ml，孵育 24h 为最佳逆转时间。

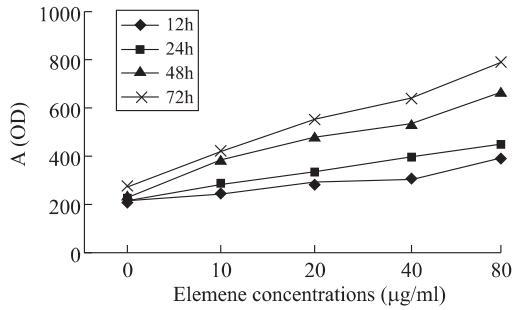


图 1 不同浓度 ELE 作用于 A549/DDP 细胞 12、24、48、72h 细胞的平均光密度值

Fig. 1 The Rho123 mean fluorescence intensity when different concentrations of ELE played on the A549/DDP cells for 12, 24, 48, 72h

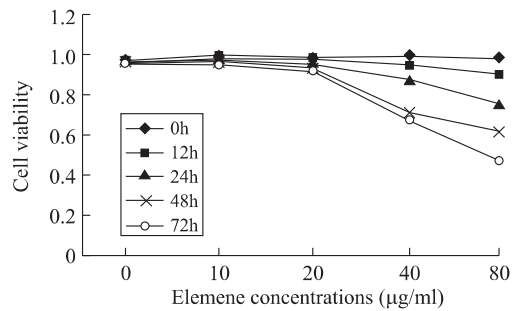


图 2 不同浓度 ELE 作用于 A549/DDP 细胞 12、24、48、72h 细胞的存活率

Fig. 2 The survival rate when different concentration of ELE acted on A549/DDP cells for 12, 24, 48, 72h

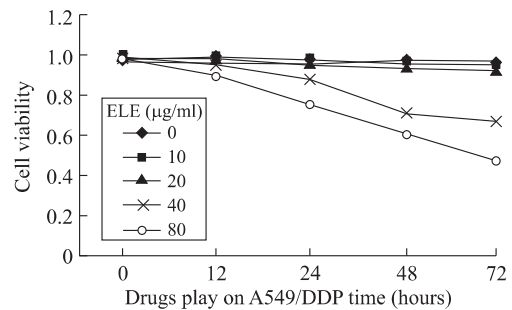


图 3 不同时间点下各种浓度 ELE 作用于 A549/DDP 细胞的存活率

Fig. 3 The survival rate of different time points when various concentration of ELE acted on A549/DDP cells

### 2.2 ELE 对 A549/DDP 细胞耐药的逆转作用

各组随 DDP 浓度的增加，20 μg/ml ELE 对孵育 24h 的 A549/DDP 细胞增殖抑制率不断增加(均  $P < 0.05$ )。实验组 DDP 的  $IC_{50}$  为 4.15 μg/ml，对照组为 15.46 μg/ml，ELE 的逆

转耐药倍数为 3.63。见表 1 图 4。

表 1 ELE 对 A549/DDP 细胞多药耐药的逆转作用

Tab. 1 The effect of elemene on reversal multidrug resistance of A549/DDP cell

| DDP (μg/ml) | Cell proliferation inhibition rate( % $\bar{x} \pm s$ ) |                         |
|-------------|---|-------------------------|
|             | The control groups                                      | The experimental groups |
| 0.25        | 6.35 ± 1.03   | 16.79 ± 1.85            |
| 0.5         | 9.88 ± 0.99   | 24.20 ± 0.13            |
| 1           | 15.89 ± 0.46  | 30.14 ± 0.47            |
| 2           | 17.55 ± 1.35  | 39.64 ± 0.09            |
| 4           | 28.11 ± 0.65  | 49.34 ± 0.05            |
| 8           | 37.21 ± 1.45  | 65.37 ± 1.05            |
| 16          | 55.96 ± 2.03  | 78.21 ± 0.79            |
| 32          | 80.44 ± 0.77  | 94.85 ± 0.91            |

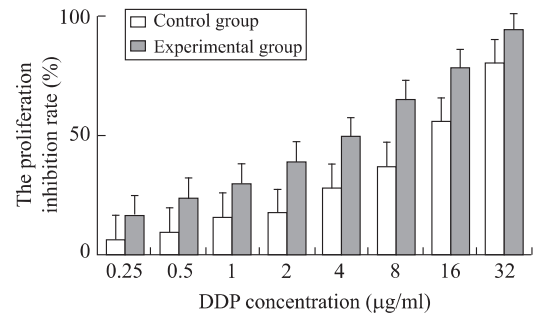


图 4 20 μg/ml ELE 对不同 DDP 浓度下孵育 24h 的 A549/DDP 细胞增殖抑制作用

Fig. 4 Inhibition A549/DDP cell proliferation when 20 μg/ml ELE in combination with concentration of DDP were incubated for 24h

### 2.3 Rhodamine - 123 滞留试验检测 A549/DDP 细胞 P-gp 的功能

流式细胞仪检测 A549/DDP 细胞内 rhodamine - 123 滞留试验结果显示，ELE 可以降低 Rh123 外排，提高 A549/DDP 细胞内 Rh123 浓度，在 10 μmol/ml、20 μmol/ml 和 40 μmol/ml 的 ELE 作用 24h，A549/DDP 细胞内荧光强度曲线明显右移，且浓度越高者曲线右移越明显，与对照组比较，A549/DDP 细胞内 Rh123 荧光强度较对照组分别提高约 4.5% ( $P > 0.05$ )、21.5% ( $P < 0.05$ ) 和 34.7% ( $P < 0.05$ )，图 5)。说明 ELE 增加 A549/DDP 细胞内 rhodamine - 123 的蓄集，且呈剂量依赖性，表明 ELE 减少 A549/DDP 细胞对药物的外排，即抑制 P-gp 蛋白的泵出功能。

### 2.4 ELE 对 A549/DDP 细胞膜 P-gp 表达的影响

Western blot 蛋白印迹反应显示：10、20 和 40 μg/ml 的 ELE 作用于 A549/DDP 细胞 24h，其细胞表面 P-gp 表达为对照组的 95.49% ( $P > 0.05$ )、79.47% ( $P < 0.05$ ) 和 65.28% ( $P < 0.05$ )，图 6)。A549/DDP 细胞株中 P-gp 的表达降低呈剂量依赖性。结果表明 20 和 40 μg/ml 的 ELE 可明显下调 P-gp 的表达，从而逆转细胞耐药。

### 3 讨论

榄香烯乳是从中药莪术中提取的抗癌新药，主要包括 α-榄香烯、β-榄香烯、γ-榄香烯和 δ-榄香烯四种。其中 β-榄香烯发挥主要的抗肿瘤作用，具有最高的抗肿瘤活性，是榄香烯复合物中的一种单体<sup>[2]</sup>。榄香烯注射液是我国自主研发的国家二类非细胞毒性的广谱抗肿瘤新药，具有抗肿瘤

瘤谱广、毒副作用轻微的突出优点。目前临床广泛用于肺癌<sup>[3]</sup>、肝癌<sup>[4]</sup>、消化道恶性肿瘤<sup>[5]</sup>、膀胱癌<sup>[6]</sup>等恶性肿瘤治疗,并取得了较好的治疗效果。

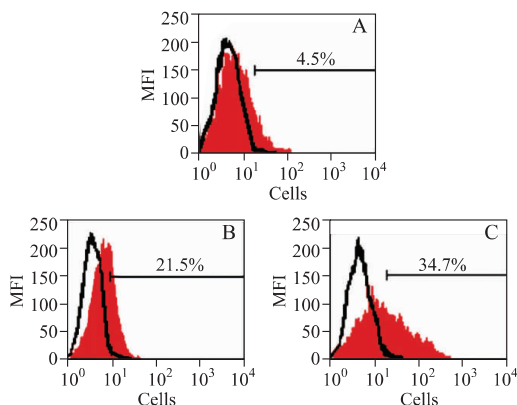


图 5 流式细胞仪检测不同浓度 ELE 作用于 A549/DDP 细胞 24h 细胞内 rhodamine - 123 聚集情况

Fig. 5 The accumulation of intracellular rhodamine - 123 following elemene treatment of A549/DDP cells for 24h by flow cytometric technology (FACS Calibur)

A: ELE 10µg/ml; B: ELE 20µg/ml; C: ELE 40µg/ml.

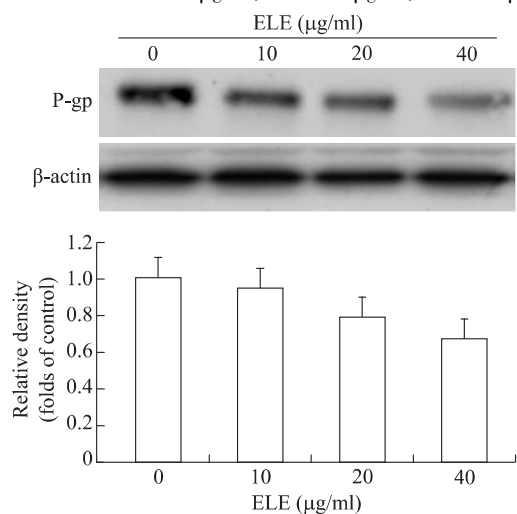


图 6 Western blot 检测不同浓度 ELE 作用 A549/DDP 细胞 24h 细胞中 P - gp 蛋白表达情况

Fig. 6 The P - gp expression when different concentrations of ELE acts on A549/DDP cells for 24h by Western blot

近年研究发现,榄香烯除直接抗肿瘤作用外,还可以逆转肿瘤细胞耐药<sup>[7]</sup>。张晔等<sup>[8]</sup>研究发现 β - 榄香烯明显抑制人白血病细胞株 K562 及其柔红霉素耐药细胞株 K562/DNR 的生长,且呈剂量依赖关系。低毒剂量(5µg/ml) β - 榄香烯作用于 K562/DNR 细胞,提高了化疗药物柔红霉素的细胞毒作用,IC<sub>50</sub>降低,逆转倍数提高为 1.91 倍。与柔红霉素单药组相比,加入低毒剂量 β - 榄香烯后,细胞内药物蓄积明显增加。他还发现 β - 榄香烯作用后诱导 parg 裂解,同时下调 P - gp 蛋白表达,从而认为 β - 榄香烯部分逆转 K562/DNR 细胞对柔红霉素的耐药性,逆转机制与增加细胞内药物蓄积、诱导 parg 裂解及降低 P - gp 表达有关。本研究发现各种浓度梯度的榄香烯均可抑制 A549/DDP 耐药细胞的增殖,且呈时间 - 剂量依赖关系。20µg/ml 非细胞毒浓度榄香烯

作用 A549/DDP 细胞 24h,实验组 DDP 的 IC<sub>50</sub> 为 4.15µg/ml,而对照组为 15.46µg/ml,ELE 的逆转耐药倍数为 3.63。可见 20µg/ml 非细胞毒浓度榄香烯可以提高化疗药物 DDP 的细胞毒作用。

众所周知,顺铂是非小细胞肺癌化疗的一线用药,疗效显著,价格便宜,但后期常产生细胞耐药<sup>[9]</sup>。P - gp 定位在细胞膜,是依赖 ATP 的药物外排泵,它通过将药物泵出细胞膜外而降低细胞内药物浓度导致耐药性的产生<sup>[10]</sup>。目前业界普遍认为化疗耐药性产生与细胞膜上 P - gp 高表达密切相关,通过抑制 P - gp 的功能可部分逆转耐药细胞的化疗抵抗性<sup>[11]</sup>。本实验发现,20µg/ml 和 40µg/ml 的榄香烯作用 A549/DDP 细胞 24 小时,细胞体内 rhodamine - 123 荧光强度增强,荧光曲线明显右移,且浓度越高者曲线右移越明显,与对照组比较,差异有统计学意义(P < 0.05)。同时 Western blot 蛋白印迹反应也显示 20µg/ml 和 40µg/ml 的榄香烯作用于 A549/DDP 细胞 24h,其细胞膜上 P - gp 表达为对照组的 79.47% (P < 0.05) 和 65.28% (P < 0.05),且呈剂量依赖性。这些结果表明 20µg/ml 和 40µg/ml 的 ELE 可以增加化疗药物在细胞内聚集,下调肿瘤细胞膜上 P - gp 的表达而逆转细胞化疗耐药。

#### 【参考文献】

- [1] 郝立宏,赵瑾瑶,高船舟,等. β - 榄香烯对 K562/阿霉素细胞多药耐药性的逆转及其对 P - 糖蛋白表达的影响[J]. 解剖学报, 2006, 37(1): 48 - 52.
- [2] 鞠建峰,于维萍,傅春升,等. β - 榄香烯的现代研究及临床应用概况[J]. 齐鲁药事, 2008, 27(9): 546 - 548.
- [3] 郝少欢,张娟,张涛. 榄香烯乳剂对含铂化疗方案治疗晚期非小细胞肺癌增效减毒作用的观察[J]. 临床荟萃, 2012, 27(17): 1529 - 1531.
- [4] 赵成,张蕴超,孙一予,等. 榄香烯注射液联合介入化疗治疗原发性肝癌的临床研究[J]. 疑难病杂志, 2012, 11(11): 882 - 883.
- [5] 程怀东,杨震,张明军,等. 榄香烯联合紫杉醇/替加氟治疗晚期食管癌的临床疗效观察[J]. 安徽医药, 2012, 16(11): 1679 - 1681.
- [6] 任伟,杜双宽. 榄香烯预防浅表性膀胱癌术后复发 47 例对比研究[J]. 陕西医学杂志, 2012, 41(9): 1151 - 1152.
- [7] 姜志明,吴稚冰,凌志强,等. β - 榄香烯联合热疗和顺铂对人非小细胞肺癌 A549 细胞 HSP70 及耐药基因的影响[J]. 全科医学临床与教育, 2011, 9(1): 38 - 41.
- [8] 张晔,曲秀娟,刘云鹏,等. β - 榄香烯增强柔红霉素杀伤人类白血病细胞的作用及机制[J]. 西安交通大学学报医学版, 2011, 32(6): 664 - 667.
- [9] Krieger ML, Eckstein N, Schneider V, et al. Overcoming cisplatin resistance of ovarian cancer cells by targeted liposomes in vitro [J]. Int J Pharm, 2010, 389(1/2): 10 - 17.
- [10] Aller SG, Yu J, Ward A, et al. Structure of P - glycoprotein reveals a molecular basis for poly - specific drug binding [J]. Science, 2009, 323(5922): 1718 - 1722.
- [11] Jovelet C, Benard J, Forestier F, et al. Inhibition of P - glycoprotein functionality by vandetanib may reverse cancer cell resistance to doxo - rubicin [J]. Eur J Pharm Sci, 2012, 46(5): 484 - 491.

(编校:张志明)