

• 综述 •

肿瘤多药耐药模型的建立与评价方法

张峰¹, 岑娟^{2*}

1. 河南大学 药学院, 河南 开封 475004

2. 河南大学 天然药物与免疫工程重点实验室, 河南 开封 475004

摘要: 开发多药耐药肿瘤的细胞模型和动物模型对于其相关基础研究和药物评价意义重大。综述了肿瘤多药耐药模型的建模方法, 分别对细胞模型和荷瘤动物模型的建立类型、各自特点、评价手段及研究意义等进行了分析和总结。为建立优势肿瘤多药耐药模型、优化现有抗肿瘤药物评价方法提供参考, 有助于阐明多药耐药相关机制, 并为临床用药提供指导。

关键词: 肿瘤多药耐药; 细胞模型; 动物模型; 药物评价

中图分类号: R965.1 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2013)05-0377-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2013.05.014

Establishment of tumor multidrug resistance model and its evaluation methods

ZHANG Feng¹, CEN Juan²

1. Department of Pharmacology, Henan University, Kaifeng 475004, China

2. Key Laboratory of Natural Medicine and Immune Engineering, Henan University, Kaifeng 475004, China

Abstract: This study intends to review the methods of building tumor multidrug resistance (MDR) models and animal model. The establishment methods, characteristics, evaluation tools, and the study significance of the models including MDR cells and MDR animals were analyzed and summarized. It could provide a reference to establish an advanced MDR model, and to optimize the evaluation model of antitumor drugs. It could also be helpful to clarify the mechanisms of MDR and may provide the guidance for the clinical usage of antitumor drugs.

Key words: tumor multidrug resistance; cellular model; animal model; drug evaluation

多药耐药 (MDR) 是指肿瘤细胞接触某一种抗肿瘤药物后产生抗药性, 也对结构不同、机制各异的多种抗肿瘤药物产生交叉耐药, 是临床上肿瘤化疗中最常见的问题, 至今未能解决^[1]。开发多药耐药肿瘤的细胞模型和动物模型对于其相关基础研究和药物评价意义重大。MDR 的形成机制复杂, 主要包括外排蛋白的表达增加或活性提高、细胞解毒系统活力增强、抗肿瘤靶点改变以及凋亡应答失敏等。这些因素并非独立存在, 它们往往相互关联, 共同介导了肿瘤多药耐药的形成和维持^[2-3]。因此, 借助单一因素建立的多药耐药肿瘤模型难以模拟真实情况。另有少量研究直接使用临床上获取的多药耐药肿瘤细胞^[4]。这样尽管具有较高的参考价值, 但是

科研成本高、可重复性差、来源不稳定、体外有效存活时间短等问题极大地限制了其普遍应用。当今临床前研究的对象主要是通过体外模拟临床耐药形成条件、建立的多药耐药的肿瘤细胞株及荷瘤动物。本文主要针对此类模型的建立方法、特点及相应评价手段进行归纳整理, 以期为相关研究提供参考。

1 肿瘤多药耐药模型的建立方法

1.1 多药耐药细胞株的建立

化疗药物诱导敏感细胞株向耐药细胞株转化的方法可大体分为药物浓度递增法、大剂量冲击法、大剂量冲击结合浓度递增法、转基因结合药物筛选法 4 种。在此基础上, 有些研究在建模之前会选用诱变剂如甲基磺酸乙酯对细胞进行预处理, 加速细

收稿日期: 2012-05-08

基金项目: 国家自然科学基金 (U1204830); 河南省教育厅科学技术研究重点项目资助计划 (13A310064)

作者简介: 张峰 (1983—), 男, 博士, 讲师, 研究方向为抗耐药肿瘤活性天然产物的研究。Tel: (0378)2864665 E-mail: zhangfeng_825@163.com

*通信作者 岑娟, 博士, 讲师。Tel: (0378)2864665 E-mail: chengzidechengzi@163.com

胞的恶性化。此外, 药物诱导的耐药细胞培养不仅可在敏感株中进行, 还可针对不同药物培养的耐药株进行。

1.1.1 药物浓度递增法 药物浓度递增法又称为逐步诱导法、低浓度加量持续诱导法、小剂量间歇诱导法、小剂量逐步增加剂量持续给药法等。其主要方式是首先选用低于某种化疗药半数抑制率 (IC_{50}) 的药物浓度对细胞进行首次诱导, 之后逐渐加大剂量, 直至细胞在较高浓度下可正常生长。

黄在菊等^[5]取 IC_{50} 为 0.23 $\mu\text{g/L}$ 的卵巢癌 A2780 细胞首先接种在含紫杉醇 (TAX) 0.2 $\mu\text{g/mL}$ 的培养液中, 作用 24 h, 经药物选择耐药细胞继续生长。弃去培养液, 换新鲜的培养基培养, 待细胞恢复生长, 用该浓度持续培养 2~3 周, 当细胞能在该浓度下稳定生长时再进行下一个高浓度的筛选。由此逐渐提高 TAX 的浓度, 培养 9 个月后得到可耐受 2.5 $\mu\text{g/mL}$ TAX 的细胞株, 冻存 3 个月后复苏, 测得其耐药指数为 28.83。高瑞萍等^[6]采用此法建立人卵巢癌耐药细胞株 (OVCAR/DDP), 顺铂 (DDP) 的加药浓度依次为 2.5、5、10、15、20、30、40、50 $\mu\text{mol/L}$, 每次加入含 DDP 的细胞培养液, 连续作用 48~72 h 后更换无药的新鲜培养基, 大部分细胞死亡, 存活细胞缓慢生长, 待存活细胞数量稳定后维持或提高加药浓度, 如此反复加药、换液、传代, 25 代后所得的细胞株最终可在 50 $\mu\text{mol/L}$ DDP 中稳定生长, 耐药指数达 19.8。朱金武等^[7]用 1/50 的 TAX IC_{50} 浓度连续诱导人急性 T 淋巴细胞白血病细胞 (CCRF-CEM), 最初使用的 TAX 浓度为 0.11 mg/L , 随着细胞耐药程度的增加, IC_{50} 逐渐提高, 加药浓度也按比例提升, 当传至第 90 代时, 此细胞株对 TAX 的耐药倍数高达 256.4 倍。

药物浓度递增法是建立多药耐药细胞株最有效、最常用的方法, 所建立的耐药细胞系耐药性稳定、可靠, 所建立的耐药株在冻存或撤药之后仍能保持较高的耐药性, 耐药倍数普遍高于其他方式建立的耐药细胞株。其缺点是耐药株建立时间较长, 细胞耐药性与培养时间成正比。

1.1.2 大剂量冲击法 大剂量冲击法又称大剂量间歇诱导法、高浓度短间接接触培养法。此法一般选用数十或数百倍于 IC_{50} 的药物, 培养 1~2 h 后立即更换不含药物的培养基间歇培养, 待细胞生长至对数生长期再重复剂量冲击。

人浆液性卵巢癌细胞 SKOV3 对 DDP 的 IC_{50}

为 0.5 $\mu\text{mol/L}$, 对其加入含 100 $\mu\text{mol/L}$ 的 DDP 培养 1 h 后, 弃含药培养基, 待细胞进入对数生长期后, 重复冲击, 12 个月后测得其对顺铂耐药 3.7 倍^[8]。对比发现, 此类方法建立的多药耐药细胞株其耐药倍数较低, 培养时间优势并不显著。近年来, 不同课题组对此法进行了改变与优化。闫雪冬等^[9]在 SKOV3 细胞培养基中首先加入 100 $\mu\text{mol/L}$ 的 DDP 反复冲击 20 次, 再用 200 $\mu\text{mol/L}$ DDP 冲击 10 次, 由此建立的 SKOV3/DDP-P 细胞耐药倍数为 4.12, 优于单剂量冲击的结果。马胜林等^[10]根据临床药物合用配比对人肺癌细胞株 D6 采用丝裂霉素+长春地辛+顺铂 (MMC+VDS+DDP, MVP) 药物合用的大剂量间歇诱导法, 建立的耐药肺癌细胞模型 D6/MVP 经 13 个月培养, 其半数致死浓度增加 13.3 倍。陈婕等^[11]在对人喉癌 Hep-2 细胞进行大剂量冲击培养时, 加入了浓度递增因素, 对 5-氟尿嘧啶 (5-FU) IC_{50} 为 0.38 $\mu\text{mol/L}$ 的亲本敏感细胞从 10 $\mu\text{g/mL}$ 起始培养, 浓度经 4 次提升至 30 $\mu\text{g/mL}$, 建立的 Hep-2/5-FU 耐药细胞株耐药倍数达 25.97 倍, 且明显缩短了细胞培养时间。

1.1.3 大剂量冲击结合浓度递增法 大剂量冲击结合浓度递增法又称逐步增加药物浓度和大剂量冲击相结合的方法。可先对敏感细胞短期孵育大剂量化疗药, 也可先对敏感细胞长期孵育较低浓度的化疗药, 之后两种方式交替进行, 同时伴随着低浓度化疗药剂量逐渐升高。陶黎阳等^[12]对 DDP IC_{50} 为 1.34 $\mu\text{mol/L}$ 的人肺腺癌细胞 A549, 先在含 DDP 0.1 $\mu\text{mol/L}$ 的培养基里孵育 4 周后, 用 2 $\mu\text{mol/L}$ DDP 冲击培养 12 h, 然后更换培养液, 待细胞稳定生长后加入 0.2 $\mu\text{mol/L}$ DDP 培养 4 周后, 再次用 2 $\mu\text{mol/L}$ DDP 冲击培养 12 h, 待细胞稳定生长后加入 0.4 $\mu\text{mol/L}$ DDP, 依此不断增加 DDP 浓度, 直到 A549 细胞在 DDP 浓度 1 $\mu\text{mol/L}$ 下稳定生长传代, 8 个月后诱导出耐药倍数为 8 倍的 A549/DDP 细胞株。此法运用多年来, 很多学者进行了尝试。江润德等^[13]用实时检测法跟踪不断变化的 IC_{50} 值, 用 IC_{50} 浓度作为逐渐增加剂量的依据, 历时 10 个月建立的鼻咽癌低分化细胞 CNE2 对 DDP 耐药株耐药倍数可至 27.9 倍。褚玉敏等^[14]通过同时增加 TAX 大剂量冲击浓度和低剂量递增浓度, 历时 5 个月获得人鼻咽癌细胞株 CNE-1/TAX 耐药细胞株, 耐药倍数为 8.43 倍。王伟霞等^[15]基于此法进行改进, 设计了“临床血浆峰浓度冲击与逐步增加剂量相结合

诱导”的方法,用吉西他滨培养出 A549 耐药株,耐药指数高达 115。此类方法建立的耐药株一般比大剂量冲击法建立的耐药细胞株其耐药倍数高且稳定性好,但操作更为复杂,在培养时间方面没有更多优势。

1.1.4 转基因结合药物筛选法 转基因结合药物筛选法建立的耐药细胞株具有耗时短、耐药强度高且稳定等特点,是近年来新兴的耐药细胞株建立方法。基因转移主要通过物理方法或生物方法向亲本敏感株中转染多药耐药蛋白,其中脂质体是最常用的物理转基因方法。Gershon 等^[16]使用了一种多价阳离子脂质体[1-(2,3-二油酰基)]-N,N,N-三甲胺丙烷甲基硫酸盐(DOTAP),与 DNA、RNA 等物质自发而迅速地形成复合物,介导基因转移。在生物学方法中,逆转录病毒载体是应用最广泛的载体,如 Metz 等^[17]改造的 Harvey 小鼠肉瘤病毒的前病毒 DNA 带有 *mdr1* cDNA 全长序列,导入细胞后表达、翻译成 P-糖蛋白(P-gp),使细胞出现高强度 MDR 表型。基因转染后,需要进行药物筛选以确保其转染表达的外排蛋白具有活性。李波等^[18]利用脂质体转染人肝癌细胞 HepG₂,通过阿霉素短暂诱导和 G418 筛选,筛选出稳定表达 P-gp 的细胞株 HepG₂/R,对阿霉素和丝裂霉素的耐药性分别增加了 35.7、125 倍。

1.2 多药耐药荷瘤动物类型的建立

多药耐药动物模型一般分为移植型和诱导型两种。直接接种耐药细胞株或肿瘤组织到动物体内的方法称为移植型;先建立荷瘤动物模型,再体内诱导其耐药性的方法称为诱导型。研究证明前者简单易行,在已有耐药细胞株的前提下实验周期短、且利于不同耐药浓度细胞株的同时接种,应用较广;后者周期较长,且需要大量动物进行传代或者在成瘤后仍需不断诱导其耐药性,较为费时费力,但更能模拟临床实际情况。吴智春等^[19]取对数生长期肿瘤耐药细胞 A549/DDP 制备细胞悬液,于裸鼠腋下接种,待裸鼠皮下瘤块长大后取出,制备成细胞悬液,继续在裸鼠腋下接种,如此鼠间传代至第 4 代,建立的移植瘤细胞和原代细胞对顺铂的耐药倍数无差异,且成瘤率 100%。沙慧芳等^[20]把肺癌耐药细胞株 A549/Taxol 先接种于 SCID 小鼠皮下,待形成肿瘤后,将瘤块一部分作原代培养,经传代再接种 SCID 小鼠致瘤,反复 3 次后,将该细胞接种于三联免疫缺陷(BNX)小鼠,以同样的方法经过皮下致瘤、体外培养、皮下移植,再反复 3 次后细胞致

瘤的速度和成功率大为提高,由此建立的耐药肺癌 BNX 小鼠皮下移植瘤模型其耐药倍数达 520 倍。曹渊等^[21]以低剂量阿霉素体内持续用药 8 周,诱导建立了裸鼠 MDR 表达耐药动物模型,耐药指数高达 40.78。后来另有研究结合了以上两种类型建模的优越性,对建模方案进行了调整。朱园园等^[22]把自建的人肺腺癌 A549/MTX 耐药细胞接种至雄性 Balb/c 裸鼠体内,待耐药组瘤体体积增至约 100 mm³时,经尾静脉给予相应耐受剂量的甲氨蝶呤(MTX),在体内诱导维持其耐药性,既方便实验又避免体内移植瘤耐药性丢失,是快捷、可靠的建立耐药模型的方法。

2 建立模型的评价方法

模型建立得成功与否由其有效性的评价结果决定。相关评价方法一般包括:耐药倍数的检测、耐药标志物的检测及耐药机制的检测。检测时间一般选在药物孵育结束时和撤药或冻存一段时间后,此外药物诱导前、诱导过程中也可实时监测。检测动物模型的耐药性,需将动物断颈处死,无菌条件下分离瘤块,筛网法制成单细胞悬液,检测耐药性的变化。

2.1 耐药倍数的检测

用一种化疗药物培养建立的多药耐药细胞株一般需要选取同种、同类及不同类型的其他化疗药物检测细胞的敏感性,以衡量其多药耐药性。常用于筛选耐药性的抗肿瘤药有:紫杉醇、秋水仙碱、多柔比星、表柔比星、比柔比星、高三尖杉酯碱、鬼臼乙叉苷、依托泊苷、5-氟尿嘧啶、米托蒽醌、拓扑替康、吉西他滨、长春瑞滨、多西他赛、顺铂、奥沙利铂、环磷酰胺、异环磷酰胺、足叶乙苷、甲氨蝶呤等。耐药性一般由耐药倍数表示,实验常用 MTT 法或 SRB 法检测。此外,光学显微镜、透射电镜观察细胞形态及超微结构变化、台盼蓝染色活细胞技术绘制生长曲线计算检测细胞倍增时间、Patterson 法计算细胞群体倍增时间、Hambur-Salmon 法计算集落生成率、胰酶-姬姆萨 G 显带法进行染色体分析、计算染色体数平板克隆形成率,这些均是检测所建耐药细胞株耐药程度的常用方法。

2.2 耐药标志物的检测

耐药标志物包括多药耐药蛋白及其他标志恶性功能分子。常用作检测指标的相关耐药蛋白有 P-gp、多药耐药相关蛋白 1(MRP1)、肺耐药相关蛋白(LRP)、乳腺癌耐药相关蛋白(BCRP)等,

其他检测较多的功能分子有拓扑异构酶 II (TOP II)、存活素(survivin)、谷胱甘肽转移酶- π (GST- π)、基质金属蛋白酶 (MMP)、雌激素受体 (ER)、孕激素受体 (PR) 等。检测手段主要涉及荧光法检测外排蛋白底物累积, PCR 法检测功能分子基因表达, 免疫印迹法、流式细胞术检测蛋白表达等。成功建立的多药耐药模型一般都具有以上标志物的过表达特征。

2.3 耐药机制的检测

P-gp 上调相关的机制研究表明: 蛋白激酶 C(PKC) 激活可促进 P-gp 表达; 药物刺激产生的活性氧 (ROS) 可以通过脯氨酰羟化酶激活 HIF, 促进 HIF-1 α 对 P-gp 的上调作用; 药物激活肿瘤细胞的 IKK 激酶, 促进 NF- κ B 入核, 可激活其在 P-gp 基因上的启动子; ET-1 或 TNF- α 长时间作用可诱导 P-gp 的表达^[23-24]。此外, 其他多药耐药形成机制还涉及细胞因子异常、凋亡通路失敏、周期调控紊乱等, 以上分子的表达或功能在耐药肿瘤和敏感肿瘤中具有显著性差异。c-Myc 蛋白在乳腺癌耐药细胞中呈过表达状态, 而在其亲本敏感株中无表达或低表达^[25]。因此, 一些研究在耐药模型建立成功后, 也会选择上述相关指标进行检测。

此外, 一些新技术也用于耐药细胞株建立后的相关延伸研究。陈公琰^[26]用基因芯片技术检测人肺腺癌耐药细胞模型 Anip973/NVB 与其亲本细胞间的基因表达差异, 获得耐药相关的基因谱信息; 唐三元^[27]采用二维电泳+基质辅助激光解析电离飞行时间质谱 (2-DE+MALDI-TOF-MS) 进行蛋白质组学鉴定, 获得了鼻咽癌顺铂耐药的 CNE2 细胞与其亲本细胞的差异表达谱。

3 结语

自 1988 年 Broggin 等建立结肠癌耐药细胞株以来, 国内外相继建立了一系列的细胞系, 建立方法得到不断的优化和改进, 为相应肿瘤多药耐药的基础研究和药物研究提供了参考和帮助。建立多药耐药模型不仅可为相关研究提供实验对象, 还有助于判断交叉耐药谱、指导临床用药。张莲芬等^[28]研究表明用阿霉素建立的人乳腺癌耐药细胞株对 TAX 无明显耐药性, 而用 TAX 建立的耐药株则对阿霉素交叉耐药, 由此可知临床上属于 MCF-7 细胞系列的乳腺癌病人对 TAX 产生耐药后, 不宜再选用阿霉素治疗。此外, 由于不同的化疗药作用可能导致不同耐药机制产生, 研究不同的多药耐药模型可

为进一步解释耐药机制、寻找抗耐药靶点提供依据。

参考文献

- [1] Higgins C F. Multiple molecular mechanisms for multidrug resistance transporters [J]. *Nature*, 2007, 446(7137): 749-757.
- [2] 岑娟, 李运曼. 多药耐药肿瘤的联合用药 [J]. 国外医药: 抗生素分册, 2009, 30(5): 224-228.
- [3] Filipits M. Mechanisms of cancer: multidrug resistance [J]. *Drug Discov Today: Dis Mech*, 2004, 1(2): 229-234.
- [4] 杨煜, 岑娟, 朱艺林, 等. 四氢异喹啉类化合物 HZ08 通过降低白血病细胞的葡萄糖神经酰胺合成酶和 MDR1 表达水平逆转耐药作用 [J]. 中国药科大学学报, 2011, 42(4): 359-364.
- [5] 黄在菊, 杨守华, 李敏, 等. 不同方法建立卵巢癌紫杉醇耐药细胞株对临床用药方案的启发 [J]. 中国药师, 2005, 11(10): 1135-1137.
- [6] 高瑞萍, 葛秀君, 蒋立艳, 等. 人卵巢腺癌多药耐药细胞株 OVCAR/DDP 的建立及生物学特性评价 [J]. 新医学, 2012, 43(1): 22-25.
- [7] 朱金武, 关勇彪. 紫杉醇诱导的人白血病 CCRF-CEM 多药耐药细胞模型的建立 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2010, 24(2): 134-139.
- [8] 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.
- [9] 闫雪冬, 张明伟, 潘凌亚. 不同方式诱导卵巢癌顺铂耐药细胞系的比较 [J]. 基础医学与临床, 2006, 26(7): 739-744.
- [10] 马胜林, 冯建国, 顾琳惠, 等. 耐药人肺癌细胞模型 D6/MVP 的建立及其生物学特性 [J]. 中华肿瘤杂志, 2003, 25(2): 134-136.
- [11] 陈婕, 王家东. 人喉癌 5-氟尿嘧啶耐药细胞株的建立及其生物学特性 [J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2012, 19(2): 201-205.
- [12] 陶黎阳, 黎渐英. 肺癌 A549 耐药裸鼠移植瘤模型的建立 [J]. 中国医药指南, 2011, 9(7): 5-14.
- [13] 姜润德, 张立新, 岳文, 等. 人鼻咽癌顺铂耐药细胞系 (CNE2/DDP) 的建立及耐药相关基因的筛选 [J]. 癌症, 2003, 22(4): 337-345.
- [14] 褚玉敏, 谭国林, 马艳红. 人鼻咽癌紫杉醇耐药细胞株 CNE-1/Taxol 的建立及其机制初探 [J]. 中国耳鼻咽喉颅底外科杂志, 2007, 13(6): 411-418.
- [15] 王伟霞, 刘晓晴, 刘广贤, 等. 诱导方法对多药耐药细胞系 A549/Gem 建立的影响 [J]. 现代肿瘤医学, 2009, 17(11): 2058-2062.
- [16] Gershon H, Ghirlando R, Guttman S B, et al. Mode of formation and structural features of DNA-cationic

- liposome complexes used for transfection [J]. *Biochemistry*, 1993, 32(28): 7143-7151.
- [17] Metz M Z, Best D M, Kane S E. Harvey murine sarcoma virus/MDR1 retroviral vectors: efficient virus production and foreign gene transduction using MDR1 as a selectable marker [J]. *Virology*, 1995, 208(2): 634-643.
- [18] 李波, 夏洪芬, 李德华, 等. 肝癌多药耐药基因工程细胞的建立及特性分析 [J]. 中国现代医学杂志, 2009, 19(14): 2123-2126.
- [19] 吴智春, 季旭明, 于华芸, 等. 人肺腺癌移植瘤多药耐药模型建立及生物学特性的研究 [J]. 中华肿瘤防治杂志, 2011, 18(21): 1661-1668.
- [20] 沙慧芳, 孙强玲, 杨晓华. 耐紫杉醇肺癌细胞 BNX 动物模型的建立 [J]. 第二军医大学学报, 2011, 32(12): 1296-1299.
- [21] 曹渊, 惠璐璐, 秦蓉, 等. 白血病多药耐药裸鼠荷瘤模型的建立 [J]. 西安交通大学学报: 医学版, 2013, 34(3): 302-307.
- [22] 朱园园, 沈佐君, 何晓东, 等. A549/MTX 对映体耐药细胞的裸鼠荷瘤模型的建立 [J]. 临床输血与检验, 2009, 11(3): 203-206.
- [23] Eidus L, Emel'ianov M O, Korystova A F, *et al.* Multidrug resistance increase of tumor cells at the effect of radiation and phorbol ether depends on protein kinase C and reactive oxygen species [J]. *Radiats Biol Radioecol*, 2010, 50(1): 37-41.
- [24] Bauer B, Hartz A M, Miller D S. Tumor necrosis factor alpha and endothelin-1 increase P-glycoprotein expression and transport activity at the blood-brain barrier [J]. *Mol Pharmacol*, 2007, 71(3): 667-675.
- [25] Cen J, Qi Y, Tao Y F, *et al.* HZ08, a great regulator to reverse multidrug resistance via cycle arrest and apoptosis sensitization in MCF-7/ADM [J]. *Eur J Pharmacol*, 2010, 647(1/3): 21-30.
- [26] 陈公琰. 人肺腺癌 Anip973/NVB 耐药细胞系的建立及耐药机制的研究 [D]. 天津: 天津医科大学, 2006.
- [27] 唐三元. 鼻咽癌顺铂耐药细胞系的建立及耐药蛋白质组学研究 [D]. 长沙: 中南大学, 2012.
- [28] 张莲芬, 马晓峰, 张小平, 等. 阿霉素和紫杉醇诱发的人乳腺癌耐药细胞株的比较研究 [J]. 中国药理学通报, 2009, 25(5): 609-613.