

- [6] Jang Y X, Yan L, Yu J Q. Comparison of effects of ephedrine, pseudoephedrine, and their salicy late derivative on central nervous system in mice [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2004, 35(11): 1274-1277.
- [7] Xu S Y, Bian R L, Chen X. *Methodology in Pharmacological Experiments* (药理实验方法学) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1991.
- [8] Zhu C G. *Neuroanatomy* (神经解剖学) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2002.
- [9] Yang G M, Zhang X R, Hu J T, et al. Effect of lidocaine on four types of seizure [J]. *J Nanchang Univ* (南昌大学学报), 1995, 19(3): 210-213.

适合中药研究的小鼠 S_{180} 肿瘤获得性多药耐药模型的建立及稳定性研究

陈 强¹, 李贵海², 孙付军², 尹格平³

(1. 济南市中心医院, 山东 济南 250013; 2. 山东省中医药研究院, 山东 济南 250014;

3. 济南军区总医院, 山东 济南 250031)

摘要:目的 模拟临床化疗 PFC (顺铂、环磷酰胺、5-氟脲嘧啶) 方案, 诱导小鼠 S_{180} 肿瘤细胞多药耐药 (MDR) 相关生物因子的异常表达, 建立获得性多药耐药基因表达产物 P_{170} (P 糖蛋白)、LRP (肺耐药相关蛋白) 及拓扑异构酶 II (TOPO II) 表达小鼠载体模型, 并观察模型稳定性, 为探讨药物干预 MDR 的有效途径提供实验模型, 同时为临床提供全面定量检测肿瘤耐药程度的方法。方法 应用流式细胞术动态检测 MDR 表达产物 P_{170} 、LRP、TOPO II 表达情况及 S_{180} 细胞凋亡指标 (Fas 因子、CD95), 同法检测同期外周血淋巴细胞上述指标, 模型小鼠传代后 ig 给予苦参碱 100 mg/kg, 再次检测上述指标。结果 实验组小鼠自化疗后 1 周 P_{170} 、LRP、TOPO II 表达逐渐增高, 自第 4 周后显著性增加 ($P < 0.05$); 而 S_{180} 细胞凋亡率、细胞杀伤率及 Fas 因子表达率则随化疗时间的延长而逐渐下降。MDR 相关基因表达显著性增加时, S_{180} 细胞凋亡率等则显著性降低 ($P < 0.05$)。第 5 周时实验组 MDR 阳性表达小鼠占 61.4%。实验组外周血淋巴细胞、凋亡率与 S_{180} 细胞有显著相关性。结论 传代后模型小鼠 MDR 相关基因表达稳定, 给予钙离子拮抗剂苦参碱可逆转上述指标的表达。

关键词: 化疗; 多药耐药; P_{170} ; 细胞凋亡; 苦参碱

中图分类号: R286.91

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2006)11-1691-04

Establishment of obtained multidrug resistance model of S_{180} cell in mice used for study on Chinese materia medica and its stability

CHEN Qiang¹, LI Gui-hai², SUN Fu-jun², YIN Ge-ping³

(1. Jinan Central Hospital, Jinan 250013, China; 2. Shandong Academy of Traditional Chinese Medicine,

Jinan 250014, China; 3. Jinan Military General Hospital, Jinan 250031, China)

Key words: chemotherapy; multidrug resistance (MDR); P_{170} ; apoptosis; matrine

以往对肿瘤细胞化疗耐药研究多采用细胞系作体外研究的方法^[1~3]。但在体内化疗过程中, 恶性肿瘤细胞的消亡受到机体免疫系统及化疗药物的影响, 故应用恶性肿瘤细胞系做体外化疗耐药的研究, 难以模拟化疗药物及内环境对肿瘤细胞多药耐药 (MDR) 形成的影响。且中药由其性质决定了难以适合体外细胞培养的要求, 故应建立适合中药干预肿瘤 MDR 的研究载体细胞模型。小鼠肿瘤细胞多药耐药基因的结构和功能与人类肿瘤有相关性^[3]。本研究模拟目前临床常用的 PFC (顺铂、环磷酰胺、5-氟脲嘧啶) 化疗方案, 反复刺激 S_{180} 细胞荷瘤小鼠, 建立获得性 MDR 表达模型, 观察传代后及给予

钙离子拮抗剂苦参碱后模型小鼠相关指标的表达情况, 观察小鼠肿瘤 MDR 实验模型相关因子的稳定性, 并探讨临床早期发现化疗耐药和建立全面定量检测耐药程度的方法。

1 材料

1.1 药品: 苦参碱由西安山川生物制品有限公司提供, 质量分数 98%, 批号 20020516; 注射用顺铂 (Pt), 山东齐鲁制药厂产品, 批号 01111611; 环磷酰胺 (Cytosan, CTX), 上海华联制药有限公司产品, 批号 030703; 5-氟脲嘧啶 (5-Fu), 天津金耀氨基酸有限公司产品, 批号国药准字 H12020959。

1.2 动物: 昆明种小鼠 19~21 g, 雌雄各半, 由山

收稿日期: 2006-02-03

基金项目: 山东省自然科学基金资助项目 (Y2002C37)

作者简介: 陈 强 (1962—), 男, 山东省济南市人, 副主任中医师, 中西医结合专业硕士, 研究方向为老年病及微循环。

东大学实验动物中心提供,合格证号为鲁动质字:200204011;小鼠 S_{180} 细胞腹水型传代瘤种由山东省医学科学院药物研究所提供。

1.3 试剂:碘化丙啶 (PI),美国 Sigam 公司产品,批号 NO. 247-081-0;异硫氰酸荧光素 (FITC) 标记的鼠抗鼠单克隆抗体、Fas 因子 (细胞凋亡因子 CD95/Apo1)、MDR 表达产物 P_{170} (P 糖黏蛋白、P-gp)、LRP (肺耐药相关蛋白)、拓扑异构酶 II (TOPO II) 及用于免疫阴性对照的兔抗羊 IgG FITC 均为美国 Pharmigen 的产品,由北京岳泰生物公司提供。藻红蛋白 (EB) 标记 P_{170} 、 CD_{95} (T 淋巴细胞标记物) 及用于免疫阴性对照的兔抗羊 IgG PE 抗体购自美国贝克曼库尔特生物公司。

1.4 仪器:FACScan 型流式细胞仪,美国 BD 公司产品;梅特勒 GB-303 电子天平,美国梅特勒公司产品。

2 方法

2.1 模型建立

2.1.1 分组及给药:化疗诱导 S_{180} 实验组 (给药组) 20 只。化疗方案及用法:实验组采用目前临床常用的 PFC 联合化疗方案:(1) Pt, 3 mg/kg, 每周 ip 给药 1 次;(2) CTX, 5-Fu, 各 3 mg/kg, 每日 ig 1 次, 连续 4 周。正常 S_{180} 对照组 20 只小鼠仅接种, 不用化疗药物。

2.1.2 接种方法:无菌操作抽取荷瘤 S_{180} 种鼠腹水, 无菌 NS 稀释至含细胞数 1×10^6 /mL, 每只小鼠 0.2 mL 腹腔接种。

2.1.3 化疗药物对 S_{180} 细胞的杀伤性观察:① S_{180} 细胞 P_{170} 表达、凋亡情况及细胞杀伤率:每周抽取接种鼠的腹水 2.0 mL, 经 NS 洗涤离心 (1 500 r/min, 5 min) 3 次后分装入 5 支试管用于各项目的检测。取上述 S_{180} 细胞稀释液少许涂片, 加 10 μ L P_{170} 单克隆抗体 20 min 后, 在荧光显微镜下观察瘤细胞 MDR 表达情况并拍照。上述 5 管中的其余 4 管调整细胞数至 1×10^6 /mL, 分别加入 PI 及相应的荧光标记抗 P_{170} 、Fas (CD_{95}) 单抗和免疫阴性对照的抗体工作液进行免疫标记 20 min^[4]。以 NS 10 mL 漂洗、离心 (1 500 r/min, 10 min) 后, 除去上清液, 加入生理盐水 500 μ L 后进行流式细胞仪检测 (FACScan 型美国 BD 公司生产)。上机后收取 2×10^4 个细胞, 计算机记录荧光散射数据、荧光强度后分别以 Cell QuestPlot 软件 (BD 公司生产) 分析 Fas (CD_{95}) 和 P_{170} 表达量, Modifit LT 软件 (BD 公司生产) 分析凋亡率。 S_{180} 细胞各种分子表达率

(Fas 或 P_{170} 等) = 各种分子阳性表达的细胞数/受检细胞数 $\times 100\%$; 其中 1 管用 0.4% 台盼蓝染色后, 显微镜下计数活细胞, 按下式求出药物对细胞的杀伤率 (%): 细胞杀伤率 = (对照组细胞存活数 - 给药组细胞存活数) / 对照组细胞存活数 $\times 100\%$ 。② S_{180} 小鼠外周血淋巴细胞各指标的比较: 分别于接种日起每 7 天在抽取腹水测定 S_{180} 各项指标的同时, 各组均抽取 3 只小鼠眼球后静脉血, 肝素抗凝后分离其淋巴细胞, 并将细胞分入 4 管, 每管 500 μ L, 每支试管均加入抗 CD_3 (PE 标记) 工作液 20 μ L, 再分别加入 FITC 标记的抗 Fas (CD_{95})、 P_{170} 的工作液 20 μ L, 免疫标记 20 min 后加入 500 μ L NS。同法进行流式细胞仪检测, 以判断化疗过程中外周血 T 淋巴细胞 MDR、Fas (CD_{95}) 表达情况及与 S_{180} 细胞上述指标表达的相关性。

2.2 MDR 模型化疗敏感性及稳定性观察

2.2.1 MDR 模型化疗敏感性观察: 依照 2.1 方法建立小鼠 MDR 模型。实验组末次给予 CTX 和 5-FU 24 h 后, 无菌抽出腹水, 由 NS 稀释至含瘤细胞 1×10^7 /mL, 无菌接种于小鼠左腋下, 每只小鼠 0.2 mL, 接种 24 h 后, 随机分为 3 组: NS 对照组、20 mg/kg CTX 组和苦参碱 (100 mg/kg) + CTX (20 mg/kg) 组; 另设未化疗诱导 S_{180} NS 组和 S_{180} + 20 mg/kg CTX 对照组。每组 10~12 只, 雌雄各半。除两个 NS 对照组外, 其余各组均每日 sc 20 mg/kg CTX, NS 对照组 ig NS 0.2 mL/10 g, 苦参碱组 ig 0.5% 苦参碱溶液 0.2 mL/10 g, 给药 10 d。末次给药 24 h 后, 处死小鼠, 剥离瘤体, 称质量, t 检验进行组间比较, 并按 (对照组瘤质量 - 药物组瘤质量) / 对照组瘤质量 $\times 100\%$, 计算抑瘤率; 按 (药物组抑瘤率 - 对照组抑瘤率) / 对照组抑瘤率 $\times 100\%$, 计算药物对抑瘤作用的提高率。

2.2.2 MDR 模型化疗稳定性观察: 无菌抽取化疗诱导 4 周的 MDR 小鼠 S_{180} 腹水, 由无菌 NS 稀释至含细胞数 1×10^6 /mL, 每只小鼠 0.2 mL 腹腔接种, 并取各化疗诱导 4 周的 MDR 小鼠 S_{180} 腹水 2 mL, 肝素抗凝, PBS 液洗脱 3 次后, 70% 乙醇固定, 4 $^{\circ}$ C 保存。小鼠接种耐药 S_{180} 细胞后 24 h, 随机分为对照组、苦参碱 100 mg/kg 组, 每组 14 只, 对照组 ig 水 0.2 mL/10 g, 苦参碱组 ig 0.5% 苦参碱溶液 0.2 mL/10 g, 连续 10 d, 于末次给药 24 h 后, 无菌抽出腹水, 肝素抗凝, pH 7.4 PBS 液洗涤, 1 500 r/min 离心 5 min, 共 3 次, 后用 70% 乙醇固定, 检测 S_{180} 肿瘤细胞相关生物因子 P_{170} 、LRP、TOPO II, 观察

MDR 模型鼠瘤细胞传代后上述生物因子的表达情况及苦参碱对其的治疗作用。

2.3 统计学方法:两组间比较采用 t 检验,多组间比较采用方差分析。

3 结果

3.1 MDR 模型的检测结果

3.1.1 第 1~3 周 S_{180} 细胞杀伤率、 P_{170} 表达、凋亡率和 Fas (CD_{95}) 表达水平:见表 1。结果提示:正常 S_{180} 组中各指标在第 1、2、3 周均无显著性改变,两周后小鼠出现死亡,于第 3 周剩余 6 只;化疗诱导组随化疗时间延长, P_{170} 水平逐步上升,至第 5 周显著高于第 1 周,第 5 周明显表达 MDR 小鼠有 8 只,占 61.4%,凋亡率、细胞杀伤率及 Fas (CD_{95}) 表达水平至第 1、2 周呈较高水平,显著高于正常 S_{180} 组,第

3 周后幅度明显下降,但仍显著高于正常 S_{180} 组。两周后小鼠也出现死亡,但死亡率明显低于正常 S_{180} 组,至第 5 周小鼠剩余 13 只。

3.1.2 第 1、3、5 周时外周血淋巴细胞 P_{170} 表达、凋亡率及 Fas (CD_{95}) 表达水平:见表 2。结果提示:化疗诱导组小鼠外周血淋巴细胞凋亡率及 Fas (CD_{95}) 水平于第 1 周明显增加,显著高于正常 S_{180} 组。随化疗时间延长 P_{170} 水平呈上升趋势,至第 3 周时 P_{170} 表达显著增高。第 5 周时 8 只小鼠中 5 例淋巴细胞 MDR 表达阳性,占 62.5%,此时淋巴细胞凋亡率及 Fas (CD_{95}) 表达水平低于第 1 周水平。

相关性检验证实第 1、3、5 周时外周血淋巴细胞 P_{170} 表达水平与 S_{180} 细胞 MDR 表达水平显著相关,相关系数分别为 0.97、0.68、0.86。

表 1 S_{180} 细胞杀伤率、 P_{170} 表达、凋亡率和 Fas (CD_{95}) 表达水平 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Cytotoxicity rate, P_{170} expression, apoptosis rate, and Fas (CD_{95}) expression of S_{180} cells ($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	动物/只	$P_{170}/\%$	凋亡率/%	Fas (CD_{95})/%	细胞杀伤率/%
正常 S_{180} 细胞	第 1 周	20	0.71 $\pm$ 0.35	3.83 $\pm$ 1.43	1.40 $\pm$ 0.20	—
	第 2 周	20	0.75 $\pm$ 0.31	3.91 $\pm$ 1.80	1.56 $\pm$ 0.34	—
	第 3 周	6	0.76 $\pm$ 0.34	4.71 $\pm$ 2.78	1.47 $\pm$ 0.28	—
化疗诱导 S_{180} 细胞	第 1 周	20	0.75 $\pm$ 0.34	21.87 $\pm$ 9.66 $\Delta\Delta\Delta$	7.89 $\pm$ 4.31 $\Delta\Delta\Delta$	60.2
	第 2 周	20	2.44 $\pm$ 1.36*** $\Delta\Delta\Delta$	20.60 $\pm$ 10.41 $\Delta\Delta\Delta$	7.60 $\pm$ 5.12 $\Delta\Delta\Delta$	54.2
	第 3 周	18	2.51 $\pm$ 1.47*** $\Delta\Delta\Delta$	7.45 $\pm$ 4.36***	4.44 $\pm$ 1.78* $\Delta\Delta\Delta$	20.4
	第 5 周	13	7.66 $\pm$ 3.64*** $\Delta\Delta\Delta$	6.54 $\pm$ 4.01***	4.01 $\pm$ 2.07* $\Delta\Delta\Delta$	18.2

与同组第 1 周比较: * $P < 0.05$ *** $P < 0.001$; 与正常组比较: $\Delta\Delta\Delta P < 0.001$ (化疗诱导组第 5 周与正常组第 3 周比较)

* $P < 0.05$ *** $P < 0.001$ vs same group at week 1

$\Delta\Delta\Delta P < 0.001$ vs normal group (chemotherapy group at week 5 vs normal group at week 3)

表 2 外周血淋巴细胞 P_{170} 表达、凋亡率及 Fas (CD_{95}) 表达水平 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 P_{170} expression, apoptosis rate, and Fas (CD_{95}) expression of lymphocyte in peripheral blood ($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	动物/只	$P_{170}/\%$	凋亡率/%	Fas (CD_{95})/%
正常 S_{180} 细胞	第 1 周	20	0.46 $\pm$ 0.21	1.87 $\pm$ 0.41	1.07 $\pm$ 0.34
	第 2 周	20	0.41 $\pm$ 0.17	1.96 $\pm$ 0.48	0.89 $\pm$ 0.35
	第 3 周	6	0.52 $\pm$ 0.23	2.03 $\pm$ 0.56	1.15 $\pm$ 0.41
化疗诱导 S_{180} 细胞	第 1 周	20	0.56 $\pm$ 0.21	6.84 $\pm$ 2.56 $\Delta\Delta\Delta$	6.01 $\pm$ 3.17 $\Delta\Delta\Delta$
	第 3 周	20	1.74 $\pm$ 0.79*** $\Delta\Delta\Delta$	6.88 $\pm$ 3.16 $\Delta\Delta\Delta$	6.87 $\pm$ 4.10 $\Delta\Delta\Delta$
	第 5 周	18	2.01 $\pm$ 1.03*** $\Delta\Delta\Delta$	6.43 $\pm$ 3.97 $\Delta\Delta\Delta$	5.35 $\pm$ 2.78 $\Delta\Delta\Delta$

表注同表 1

Notes are same to Table 1

3.2 MDR 模型化疗敏感性及稳定性

3.2.1 MDR 模型化疗敏感性结果:见表 3。结果提示:PFC 方案给药 4 周使小鼠 S_{180} 肉瘤细胞产生耐药性,降低化疗敏感性,苦参碱明显逆转耐药 S_{180} 细胞的耐药性,提高化疗药物 CTX 的化疗敏感性。

3.2.2 MDR 模型稳定性和药物敏感性检测结果:见表 4。结果提示:传代后对照组各检测指标与化疗诱导 4 周组比较差异无显著性,苦参碱组与对照组比较差异非常显著 ($P < 0.001$)。说明该模型建立后再次传代能够保持模型的稳定性,应用钙离子拮

抗剂苦参碱^[6]可明显的逆转上述各指标的过度表达。

4 讨论

近年来以小鼠作为动物模型进行试验性化疗的研究已取得了一定的进展,但是以化疗方案为依据建立的多种药物所致的肿瘤细胞 MDR 动物模型尚少见报道。本研究以目前临床治疗卵巢癌最常用的化疗方案(顺铂+环磷酰胺+5-氟脲嘧啶)建立了小鼠 MDR 表达动物模型,应用分子生物学技术动态监测腹水 S_{180} 癌细胞受长期持续化疗药物作用

表 3 耐药 S₁₈₀ 肉瘤小鼠化疗敏感性 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Sensitivity to chemotherapy of MDR S₁₈₀ mice ($\bar{x} \pm s$)

组别	动物/只	瘤体质量/g	抑瘤率/%	抑瘤作用提高率/%
正常 S ₁₈₀	12	1.14 ± 0.32	—	—
正常 S ₁₈₀ + CTX (20 mg · kg ⁻¹)	10	0.43 ± 0.25	62.28	—
耐药 S ₁₈₀	10	0.98 ± 0.28	—	—
耐药 S ₁₈₀ + CTX (20 mg · kg ⁻¹)	12	0.86 ± 0.27 ^{△△△}	12.24	—
耐药 S ₁₈₀ + CTX (20 mg · kg ⁻¹) + 苦参碱 (100 mg · kg ⁻¹)	12	0.64 ± 0.20 [*]	34.69	183.42

与耐药 S₁₈₀ + CTX 组比较: * $P < 0.05$

与正常 S₁₈₀ + CTX 组比较: $\Delta\Delta\Delta P < 0.001$

* $P < 0.05$ vs MDR S₁₈₀ + CTX group

$\Delta\Delta\Delta P < 0.001$ vs normal S₁₈₀ + CTX group

表 4 传代后 MDR S₁₈₀ 小鼠表达 ($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Expression of transplanted MDR S₁₈₀ mice ($\bar{x} \pm s$)

组别	动物/只	P ₁₇₀ /%	LRP/%	TOPO1/%
化疗诱导 4 周(传代前)	12	24.01 ± 7.48	70.21 ± 21.75	22.57 ± 12.38
对照(传代后)	11	28.12 ± 9.79	67.65 ± 25.42	24.45 ± 14.35
苦参碱 100 mg/kg(传代后)	12	6.16 ± 3.67 ^{***}	10.75 ± 6.28 ^{***}	8.58 ± 4.10 ^{***}

与对照组比较: *** $P < 0.001$

*** $P < 0.001$ vs control group

后,其 MDR 基因表达的情况,以及在不同 MDR 表达水平时,S₁₈₀ 细胞的凋亡程度以及同期外周血淋巴细胞 MDR 表达及凋亡程度。建立了可以早期发现以 MDR 表达为基础的耐药的检测体系。同时观察了模型建立后对化疗药物的敏感程度、传代后模型的稳定性及钙离子拮抗剂对模型的影响,进一步考察了该模型的实用性。

研究结果显示,在未用化疗药组(对照组),1~3 周内 S₁₈₀ 细胞 P₁₇₀ 表达量、凋亡率及 Fas (CD₉₅) 表达率均无显著变化,小鼠因癌性腹水的大量增加而体重增加,衰竭而死亡,平均生存期仅 (17.5 ± 4.5) d。实验组随用药时间延长生存期也明显延长,而 MDR 表达呈逐渐上升趋势,到第 5 周时,其 P₁₇₀ 表达量较第 1 周时上升了 10 余倍,与对照组相比有显著性差异;S₁₈₀ 凋亡率、细胞杀伤率、Fas (CD₉₅) 表达水平及生存期明显高于对照组。实验组小鼠 S₁₈₀ 细胞 P₁₇₀ 表达水平随化疗作用时间的延长而增加的

同时,凋亡率、细胞杀伤率及 Fas (CD₉₅) 表达水平增幅却明显下降。给予正常 S₁₈₀ 小鼠和耐药 S₁₈₀ 小鼠相同的化疗条件,观察其对化疗的敏感性,与正常 S₁₈₀ 组比较,耐药 S₁₈₀ 小鼠明显增强对化疗药物的耐受性 ($P < 0.001$),实验组小鼠外周血淋巴细胞 MDR 表达水平亦随化疗作用时间的延长而增加,至第 7 周时已显著增加,且与 S₁₈₀ 细胞 MDR 表达水平有显著的相关性,淋巴细胞的凋亡则呈逐渐下降的趋势,提示淋巴细胞对化疗药物耐受性有所增加。此点提示,化疗使小鼠生存期明显延长,但经数个疗程化疗后,癌细胞 MDR 逐渐表达而对化疗产生抗性,表现在癌细胞凋亡率下降。本实验还提示,在化疗 5 个星期后,应对癌细胞 MDR 表达水平进行检测,以早期发现耐药。如果难以取得癌细胞,可通过检测外周血淋巴细胞 MDR 表达水平间接反应癌细胞 MDR 表达情况。将化疗 4 周的小鼠 S₁₈₀ 腹水液再次传代,并给予钙离子拮抗剂苦参碱,对照组与化疗 4 周组比较无明显差异,提示 MDR 小鼠再次传代后 MDR 相关生物因子表达稳定,应用钙离子拮抗剂是目前公认的治疗 MDR 有效途径^[5],苦参碱可有效逆转 MDR 相关生物因子的过度表达,表明该模型与临床肿瘤化疗引起的获得性 MDR 具有可比性和相关性,能够应用其作为研究治疗 MDR 药物的工具。

References:

- [1] Lü W G, Xie X, Shi Y F. Chemotherapy for recurrentes and platinum-resistant ovarian cancer [J]. *Foreign Med Sci: Gynecol Fasc* (国外医学:妇产科学分册), 1994, 21: 290.
- [2] Yin D M, Zhang X Q. Study for mechanism of chemotherapy resistance in ovarian cancer [J]. *Foreign Med Sci: Gynecol Fasc* (国外医学:妇产科学分册), 1994, 21: 293.
- [3] He Q Y, Zhang H Q, Xue S B. Regulation for expression of multidrug-resistance gene in tumor cells [J]. *Foreign Med Sci: Mol Biol* (国外医学:分子生物学分册), 1995, 17: 277.
- [4] Yin G P, Chen S F, Sun X M. The study of ovarian carcinoma cell apoptosis in chemotherapy combined with calcium antagonist [J]. *Oncology* (癌症), 1999, 18: 273.
- [5] Li W Y, Li S H, Cui K Y. Reversal of daumorbicin resistance by matrine in K562/A 02 leukemia multidrug resistance line [J]. *Chin J Pathophysiol* (中国病理生理杂志), 1998, 14(5): 521-525.