

肠胃清对长春新碱诱导的人结肠癌耐药细胞株 Y 盒结合蛋白核移位及 P-糖蛋白表达的影响

许建华 邓皖利 范忠泽 孙 珏 张 勇 梁 芳 韩建宏 李朝衡

摘要 **目的** 观察肠胃清对长春新碱诱导的人结肠癌耐药细胞株 HCT8/V 的 Y 盒结合蛋白(YB-1)核移位、多药耐药基因 MDR1 及 P-糖蛋白(P-gp)表达的影响,进一步探讨该方逆转肿瘤多药耐药的分子机制。**方法** 制备大鼠灌胃后的肠胃清药物血清,以 Western blot 方法检测肠胃清药物血清作用下 HCT8/V 细胞胞浆、胞核 YB-1 表达情况,EMSA 法分析 YB-1 与 MDR1 基因启动子结合活性,RT-PCR 检测 MDR1、YB-1、多药耐药相关蛋白(MRP) mRNA 转录水平,流式细胞仪检测细胞膜表面 P-gp 表达。**结果** 在 1.25%、2.5%、5% 药物血清作用下,HCT8/V 细胞核内 YB-1 表达逐渐减弱,细胞质内 YB-1 表达则逐渐增强;YB-1 与 MDR1 基因启动子结合活性逐渐下降($P < 0.01$);MDR1 mRNA 转录水平逐渐降低($P < 0.05$, $P < 0.01$),YB-1 和 MRP mRNA 的水平无明显变化($P > 0.05$);细胞膜表面 P-gp 表达荧光强度值减弱($P < 0.05$, $P < 0.01$)。**结论** 肠胃清可通过影响耐药细胞 YB-1 的核移位、降低 MDR1/P-gp 的表达,逆转结肠癌细胞的耐药。

关键词 肠胃清;多药耐药;结肠癌;Y 盒结合蛋白

Effects of Changweiqing on Nuclear Translocation of Y-Box Binding Protein-1 and Expression of P-glycoprotein in Human Colon Cancer Cell Line with Drug-resistance Induced by Vincristine XU Jian-hua, DENG Wan-li, FAN Zhong-ze, et al *Putuo Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai (200062)*

ABSTRACT **Objective** To evaluate the effects and molecular mechanism of action of Changweiqing (CWQ) in reversing multidrug resistance by observing its impacts on nuclear translocation of Y-box binding protein-1 (YB-1), multi-drug resistance gene (MDR1) expression and P-glycoprotein (P-gp) expression in human colon cancer cell line HCT8/V with drug-resistance induced by vincristine. **Methods** Cultured HCT8/V cells were exposed to the CWQ-containing rat serum prepared by drug perfusion. YB-1 expressions in cell plasma and nuclei were examined by Western blot; the binding activity of YB-1 to MDR1 gene promoter sequences was detected by electrophoretic mobility shift assay (EMSA); the mRNA transcription levels of MDR1, YB-1 and multi-resistance related protein (MRP) were examined by RT-PCR; the expression of P-gp on cell membrane was determined by flow cytometry. **Results** Along with the increasing drug's concentration of CWQ-containing serum from 1.25% up to 2.5% and 5%, the expressions of YB-1 decreased in HCT8/V cell nuclear and increased in cytoplasm gradually; the binding activity of YB-1 to MDR1 gene promoter weakened ($P < 0.01$), MDR1 mRNA expression and fluorescence intensity of P-gp on cell membrane attenuated ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), while YB-1 and MRP mRNA unchanged ($P > 0.05$). **Conclusion** CWQ could reverse the drug-resistance of colon cancer cells by influencing nuclear translocation of YB-1 and reducing the expression of MDR1/P-gp.

KEYWORDS Changweiqing; multidrug resistance; colon cancer; Y-box binding protein-1

随着饮食结构和生活习惯的改变,结直肠癌的发

病率持续增加,目前我国发达地区其发病率已上升到各种恶性肿瘤中的第 3 位,上海则已居第 2 位。由于缺乏有效的早期发现、早期诊断方法,大肠癌 5 年生存率一直徘徊在 50% 左右。化疗是治疗大肠癌的重要手段,但肿瘤细胞对药物不敏感,即耐药,限制了化疗的疗效。有认为发生转移的癌症患者 90% 以上因耐药而治疗失败。因此,提高癌细胞对化疗药物的敏感

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No. 672683);上海市教委科研基金资助项目(No. 05CZ16)

作者单位:上海中医药大学附属普陀医院中医肿瘤科(上海 200062)

通讯作者:范忠泽, Tel: 021 - 62572723 转 8172, E-mail: fanzhongze@citiz.net

性,是减少大肠癌化疗失败的重要途径,也是目前亟待解决的问题。

我们既往的临床研究表明,具有健脾化湿解毒作用的中药复方肠胃清口服液,可增加晚期胃肠道肿瘤化疗的效果^[1],实验研究也证实肠胃清可降低口腔表皮瘤耐药细胞株 KB-A-1 多药耐药基因 MDR1 和 P-糖蛋白(P-gp)的表达,逆转肿瘤细胞的耐药^[2]。新近的研究表明,MDR1 基因启动子区有一反向 CCAAT 位点(又称 Y 盒),该位点可被一种核转录因子 Y 盒结合蛋白(Y-box binding protein 1, YB-1)结合, YB-1 通过与 Y 盒的结合调控 MDR1/P-gp 的表达^[3]。本研究从 YB-1 通路进一步探讨肠胃清逆转肠癌耐药的分子机制。

材料与方法

1 细胞系和细胞培养 人大肠癌细胞株 HCT8 及耐长春新碱细胞株 HCT8/V 购于南京凯基生物公司,分别接种于含 10% 小牛血清的 RPMI 1640 培养液(含青霉素、链霉素各 100 U/mL)中,37℃、5% CO₂、饱和湿度培养箱中常规培养, HCT8/V 细胞(其耐药倍数为 20.24 倍)培养体系中加入终浓度为 2 000 ng/mL 硫酸长春新碱以维持耐药性,所有实验均在停用长春新碱培养 2 周后取处于对数生长期的细胞进行。

2 药品试剂和仪器设备 肠胃清药物血清制备:肠胃清口服液由生黄芪、生白术、八月札、野葡萄藤、藤梨根等组成,由本院药剂科负责制剂,每毫升含生药 1.33 g。SD 大鼠 20 只,体重 200~250 g,雌雄各半,随机分为 2 组,每组 10 只,肠胃清药物血清组,50 g/kg 的剂量给大鼠灌胃;空白对照组,灌服等体积的生理盐水。连续给药 5 天,末次给药后禁食(12 h)不禁水 2 h 后,腹主动脉采血,离心,分离血清,56℃水浴 30 min 灭活,使用 0.22 μm 微孔滤膜过滤除菌分装, -80℃冰箱保存备用。

新生牛血清(美国 GIBCO 公司),RPMI-1640 培养基干粉(美国 GIBCO 公司),PCR 引物由 SAGON 公司合成, Trizol(GIBCO 公司),RT-PCR 试剂盒(上海生物工程有限公司),YB-1 羊抗人第一抗体(Cell Signaling technology 公司),兔抗山羊二抗(北京中杉金桥公司),P-gp 鼠抗人单抗(美国 Chemico 公司),FITC 标记 IgG 抗体(美国 Chemico 公司),EMSA 试剂盒(Promega 公司),CO₂ 恒温培养箱(CELL240 型,德国贺利氏公司);倒置显微镜(日本 Olympus 公司);PCR 仪(Bio-Rad 公司);低温高速离心机(美国 Beckman 公司);流式细胞仪(Becton Dickinson 公司);凝胶成像系统(上海复日科技公司)。

3 Western blot 方法检测肠胃清药物血清对 HCT8/V 细胞中 YB-1 核移位的影响 实验分为 HCT8 组、HCT8/V 组、HCT8/V 加空白血清组、HCT8/V 加 1.25% 肠胃清药物血清组、HCT8/V 加 2.5% 肠胃清药物血清组、HCT8/V 加 5% 肠胃清药物血清组,经药物血清预处理细胞 24 h 后,裂解细胞,分离细胞质蛋白和细胞核蛋白,蛋白定量后, -80℃冻存。将变性总量为 40 μg 蛋白上样,SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳后,转移至固相支持体,室温下,将膜在 PBST 缓冲液中漂洗 3 次,滴加 YB-1 羊抗人第一抗体溶液(1:1000 稀释),4℃下过夜;将膜在 PBST 缓冲液中漂洗 3 次,加入兔抗山羊二抗溶液(1:1000 稀释),室温下 2 h;NBT/BCIP 显影,结果进行扫描和密度分析。

4 EMSA 法分析肠胃清药物血清对 HCT8/V 细胞中 YB-1 与 MDR1 基因启动子结合活性的影响 细胞在含不同浓度的肠胃清药物血清的培养基中培养 48 h,提取细胞核总蛋白,进行 YB-1 探针标记(Promega 公司)。合成双链寡聚核苷酸序列 5'-ATCAG-CATTCAGTCAATCCGGGCC-3',其中包括 CAAT 基序。按照要求配置 8% 非变性聚丙烯酰胺凝胶;将 2 μL 超纯水同 2 μL Buffer E 混合均匀,于室温 20 min;100 ng DNA 模板和 50 μg 细胞核总蛋白加入上述管中,室温 20 min;8% 非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳;电泳后,清水洗净聚丙烯酰胺凝胶;聚丙烯酰胺凝胶置于 50 mL 1×TBS 和 5 μL 核酸染料中,室温,避光染色 20 min;用清水洗净聚丙烯酰胺凝胶后,置于凝胶成像系统中扫描分析,以灰度值表示。

5 RT-PCR 检测肠胃清药物血清对 HCT8/V 细胞中 MDR1 mRNA 的影响 细胞在含不同浓度的肠胃清药物血清的培养基中培养 48 h 后, Trizol 法提取总 RNA,逆转录后的 PCR 扩增条件为 97℃ 5 min;95℃ 30 s,55℃ 30 s,72℃ 1 min,30 次循环;72℃ 10 min;4℃ 30 min。取 PCR 扩增产物 4 μL 在 1.5% 琼脂凝胶电泳,用凝胶成像分析系统,以 GAPDH 作内参照进行目的基因表达水平的半定量分析。各个基因的引物序列见表 1。

表 1 引物序列

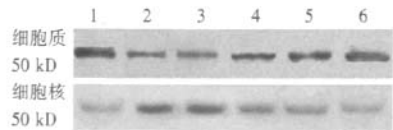
Gene	Sequence	Product
MDR1	5'-CGAAACCGTATCAGTCCTCG-3'	554 bp
	5'-CTTGACTCTGACAGACCACC-3'	
MRP1	5'-GTGGAATTCGGAACTAC-3'	244 bp
	5'-CGGAGCTCGTGCAGGCCG-3'	
YB-1	5'-CGGAGGCAGCAATGTTA-3'	318 bp
	5'-CACCTGTGTTCAGCAC-3'	
GAPDH	5'-GTCAACCGATTGTGTCGTATT-3'	507 bp
	5'-AGTCTTCTGGGTGGCAGTGAT-3'	

6 流式细胞仪检测肠胃清药物血清对 HCT8/V 细胞膜表面 P-gp 表达的影响 使用不同浓度的肠胃清药物血清处理 48 h 后,用 0.25% 胰蛋白酶消化后收集细胞,PBS 清洗 1 次,于 4 ℃ 1 000 r/min 离心 10 min。离心后弃上清,将敏感和耐药细胞浓度调至 1×10^6 cells/mL,取细胞悬液 100 μ L,加入鼠抗人 P-gp 单抗(美国 Chemico 公司)2 μ L,4 ℃ 避光 30 min,PBS 洗 3 次,加入 FITC 标记 IgG(美国 chemico 公司)1 μ L,4 ℃ 避光 30 min,PBS 洗 3 次后用流式细胞术测定细胞表面荧光强度值。

7 统计学分析 用四川大学华西公共卫生学院卫生统计学教研室研制 PEMS 3.1 统计软件进行统计学分析。各组数据指标用 $\bar{x} \pm s$ 表示,方差齐性检验后,采用单因素多样本均数比较,均数间两两比较采用 SNK-q 检验(Student-Newman-Keuls 法)。

结 果

1 肠胃清药物血清对 HCT8/V 细胞中 YB-1 核移位的影响(图 1,表 2) 在 HCT8 细胞,YB-1 表达细胞质强于细胞核,而在 HCT8/V 细胞,细胞核 YB-1 表达增强。不同浓度的药物血清处理后,HCT8/V 细胞核内的 YB-1 的表达逐渐减弱,细胞质内的 YB-1 的表达逐渐增强,但细胞质和细胞核内灰度值的总和差异不明显($P > 0.05$)。



注: 1 为 HCT8 组; 2 为 HCT8/V 组; 3 为 HCT8/V 加空白血清组; 4 为 HCT8/V 加 1.25% 药物血清组; 5 为 HCT8/V 加 2.5% 药物血清组; 6 为 HCT8/V 加 5% 药物血清组; 图 2 同

图 1 肠胃清药物血清对 HCT8 及 HCT8/V 细胞中 YB-1 核移位的影响。

2 肠胃清药物血清对 HCT8/V 细胞中 YB-1 与 MDR1 基因启动子结合活性的影响(表 2) HCT8/V 细胞 YB-1 与 MDR1 基因启动子结合带灰度值明显高

于 HCT8 细胞,在肠胃清药物血清的作用下,其结合带灰度值逐渐下降,呈剂量依赖性,至 5% 药物血清的浓度时其值接近敏感细胞水平,提示肠胃清药物血清能够降低 YB-1 与 MDR1 基因启动子结合的活性而起到逆转耐药的作用。

表 2 各组 YB-1 及 DNA 结合灰度值比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	YB-1(胞质)	YB-1(胞核)	DNA 结合灰度值
HCT8	3	155 $\pm$ 13	46 $\pm$ 5	465 $\pm$ 45
HCT8/V	3	85 $\pm$ 8**	120 $\pm$ 9**	1 490 $\pm$ 119**
HCT8/V 加空白血清	3	94 $\pm$ 9**	115 $\pm$ 11**	1 415 $\pm$ 124**
HCT8/V 加 1.25% 药物血清	3	123 $\pm$ 13* Δ	81 $\pm$ 7** $\Delta\Delta$	1 116 $\pm$ 89** $\Delta\Delta$
HCT8/V 加 2.5% 药物血清	3	137 $\pm$ 12 $\Delta\Delta$	59 $\pm$ 8 $\Delta\Delta$	893 $\pm$ 76** $\Delta\Delta$
HCT8/V 加 5% 药物血清	3	143 $\pm$ 14 $\Delta\Delta$	57 $\pm$ 6 $\Delta\Delta$	758 $\pm$ 42* $\Delta\Delta$

注: 与 HCT8 组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与 HCT8/V 组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$

3 肠胃清药物血清对 HCT8/V 细胞中 MDR1、MRP 和 YB-1 mRNA 的影响(图 2、表 3) HCT8/V 细胞中的 MDR1 水平明显高于 HCT8 细胞,且随着肠胃清药物血清作用浓度的增加,其光密度比值逐渐降低,呈现剂量依赖关系,与 HCT8/V 比较,差异具有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$)。而 MRP 和 YB-1 的水平无明显变化,与 HCT8 细胞相比,差异无统计学意义($P > 0.05$)。

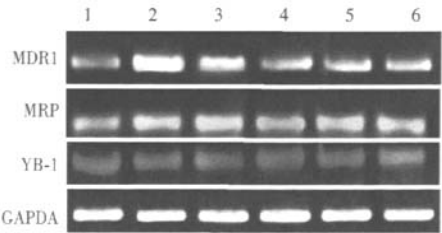


图 2 肠胃清药物血清对耐药相关基因的 mRNA 表达影响的电泳图

4 肠胃清药物血清对 HCT8/V 细胞膜表面 P-gp 表达的影响(表 3) 结果表明,HCT8/V 细胞膜表面的荧光强度值明显高于 HCT8 细胞,在肠胃清药物血清作用后,HCT8/V 细胞的荧光强度值减弱($P < 0.05$, $P < 0.01$),逐渐接近敏感细胞水平。提示肠胃清逆转 HCT8/V 的耐药机制可能通过下调细胞膜表面的 P-gp 表达来完成。

表 3 各组 MDR1 mRNA、MRP mRNA、YB-1 mRNA 及 P-gp 表达的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	MRP mRNA	YB-1 mRNA	MDR1 mRNA	P-gp(荧光强度)
HCT8	3	13.30 $\pm$ 1.99	20.95 $\pm$ 1.14	30.31 $\pm$ 0.94	46.78 $\pm$ 7.12
HCT8/V	3	16.06 $\pm$ 0.31	21.32 $\pm$ 1.04	75.63 $\pm$ 1.21**	100.00 $\pm$ 14.11**
HCT8/V 加空白血清	3	15.61 $\pm$ 1.05	22.01 $\pm$ 1.90	72.98 $\pm$ 1.01**	95.26 $\pm$ 9.17**
HCT8/V 加 1.25% 药物血清	3	14.91 $\pm$ 0.83	19.85 $\pm$ 0.99	60.34 $\pm$ 0.97** Δ	88.68 $\pm$ 4.65** Δ
HCT8/V 加 2.5% 药物血清	3	16.87 $\pm$ 1.26	18.97 $\pm$ 1.29	40.13 $\pm$ 1.30** $\Delta\Delta$	75.23 $\pm$ 7.45** $\Delta\Delta$
HCT8/V 加 5% 药物血清	3	18.91 $\pm$ 1.04	19.07 $\pm$ 1.31	36.19 $\pm$ 0.90 $\Delta\Delta$	56.87 $\pm$ 4.32* $\Delta\Delta$

注: 与 HCT8 组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与 HCT8/V 组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$

讨 论

肿瘤多药耐药 (MDR) 是指肿瘤细胞接触一种抗癌药物后,除了对该药产生耐药,对结构不同作用机制不同的其他药物也产生耐药。MDR 产生的机制非常复杂,可能包括:药物的外排增加和摄入减少;药物作用靶标改变;代谢转化改变;DNA 损伤修复增强;凋亡相关通路改变;细胞增殖速率变化等等^[4],其中研究最多的是药物外排机制。一般认为典型的 MDR 具有以下特点:(1)多出现在天然来源的抗肿瘤药物,如长春碱、长春新碱、秋水仙碱、鬼臼毒素及其人工半合成衍生物(如鬼臼乙叉甙、鬼臼噻吩甙)、蒽环类抗生素(如阿霉素、柔红霉素等)、丝裂霉素等;(2)细胞内抗肿瘤药物积聚减少;(3)细胞膜上出现一种名为 P-gp 的特殊蛋白质^[5]。本实验所采用的人大肠癌耐长春新碱细胞株 HCT8/V 由长春新碱诱导而成,其耐药倍数为 20.24 倍,且对 5-氟尿嘧啶、顺铂、羟基喜树碱、丝裂霉素 4 种结构和作用机制各异的化疗药物的耐药倍数分别为:3.16、40.86、1.72、3.59 倍,有交叉耐药现象,具有多药耐药性。流式细胞仪检测也提示耐药细胞表面 P-gp 荧光强度明显高于亲代细胞,以上均符合典型的 MDR 特点。

P-gp 作为药物外排泵。能量依赖性地将化疗药物转运出细胞外,减少药物在细胞内的蓄积,导致 MDR,同时 P-gp 还抑制 Caspases 活性,引起广泛的抗凋亡作用^[6]。P-gp 由 MDR1 基因编码,MDR1 基因启动子中含有多个正调控和负调控元件,多种转录因子和阻遏蛋白参与了 MDR1 基因的表达调控。近年来转录因子 YB-1 在调控 MDR1 基因的转录、肿瘤细胞的耐药形成方面越来越受到重视^[7]。

YB-1 是一种分子量为 43-kDa 的蛋白质,一般分布于细胞的胞浆,当细胞受到抗癌药物、紫外线照射、高温等刺激后,YB-1 由胞浆进入细胞核,在细胞核内与靶基因启动子区反向 CCAAT 位点相结合,从而调控靶基因的转录^[8]。本研究表明,经化疗药物长春新碱诱导的结肠癌细胞 HCT8/V MDR1 基因表达增加,同时 YB-1 胞浆表达减少,胞核增加,与亲代细胞 HCT8 相比,整个细胞 YB-1 mRNA 及蛋白的表达没有明显变化,说明 MDR1 基因表达增加与 YB-1 的核内移位有关。EMSA 分析表明,耐药细胞中 YB-1 与 MDR1 基因启动子结合活性也有增加。Fujita^[9]的研究证明,33% 的乳腺癌患者使用紫杉醇后,既有 YB-1 的核移位,又有 P-gp 的高表达,YB-1 核移位与 P-gp 表达显著相关。一系列临床研究也表明,卵巢癌、乳腺

癌、骨肉瘤、前列腺癌、肝癌等肿瘤,YB-1 表达与肿瘤的预后关系密切,因此,YB-1 既可作为肿瘤的预后指标,又可作为肿瘤治疗有希望的作用靶点^[10]。

本研究表明,中药复方肠胃清药物血清处理后,整个 HCT8/V 细胞 YB-1 表达水平并没有明显变化,主要变化是胞浆核 YB-1 表达的比例水平,随着药物血清浓度的增加,HCT8/V 细胞胞浆 YB-1 表达逐渐增加,胞核表达逐渐减少。RT-PCR 方法检测 YB-1 mRNA 的表达情况,提示中药肠胃清对此无明显影响,说明肠胃清对 YB-1 的影响主要在核移位方面。应用 EMSA 法分析肠胃清药物血清对 YB-1 与 MDR1 基因启动子结合活性的影响,发现随着药物血清浓度的增加,HCT8/V 细胞核中 YB-1 与 MDR1 基因启动子的结合活性逐渐减弱。我们检测了 YB-1 靶基因 MDR1 以及由其编码的蛋白 P-gp 水平,结果提示,随着药物血清浓度的增加,HCT8/V 细胞 MDR1、P-gp 表达逐渐减弱,而对于多药耐药相关蛋白(MRP)影响不大。

既往的研究表明,中药复方或中药单体可抑制 P-gp 的外排功能,恢复药物蓄积,还可抑制 MDR1 mRNA 的转录,下调 P-gp 的过高表达^[11,12]。本研究在此基础上,进一步探讨了中药引起 MDR1 mRNA 的转录下调的机制。研究证实,中药复方肠胃清可通过抑制 YB-1 的核移位、降低 YB-1 与 MDR1 基因启动子结合活性,抑制 MDR1、P-gp 过表达。由于肠胃清是复方制剂,成分复杂,可能作用于耐药细胞的多个靶点,而且 YB-1 可调控许多基因的表达,因此肠胃清逆转结肠癌细胞耐药可能具有多个更加复杂的途径。

参 考 文 献

- [1] 许建华,范忠泽,孙珏,等. 肠胃清治疗晚期胃癌及对 外周血 MDR1 mRNA 的影响[J]. 上海中医药杂志, 2007, 41(5):40-42.
- Xu JH, Fan ZZ, Sun J, et al. Effects of "Chang Wei Qing" in treating advanced gastrointestinal cancer and its effects on peripheral blood MDR1 mRNA[J]. Shanghai J Tradit Chin Med, 2007, 41(5):40-42.
- [2] 许建华,范忠泽,孙珏,等. 肠胃清药物血清对人口腔表皮癌细胞株 KB-A-1 多药耐药的逆转作用[J]. 肿瘤, 2005, 25(6):563-565.
- Xu JH, Fan ZZ, Sun J, et al. Reversal of multidrug resistance by Changweiqing oral liquid on human oral epidermoid carcinoma cell line KB-A-1[J]. Tumor, 2005, 25(6): 563-565.
- [3] Mantwill K, Köhler-Vargas N, Bernshausen A, et al. Inhibition of the multidrug-resistant phenotype by targeting

- YB-1 with a conditionally oncolytic adenovirus: implications for combinatorial treatment regimen with chemotherapeutic agents [J]. *Cancer Res*, 2006, 66 (14): 7195–7202.
- [4] Longley DB, Johnston PG. Molecular mechanisms of drug resistance [J]. *J Pathol*, 2005, 205: 275–292.
- [5] 张覃沐主编. 抗肿瘤药物的药理与临床应用 [M]. 郑州: 河南医科大学出版社, 1999: 42–65.
- Zhang QM, editor. Pharmacology and clinical application of anticancer drugs [M]. Zhengzhou: Henan Medical University Press, 1999: 42–65.
- [6] Park SJ, Wu CH, Choi MR, et al. P-glycoprotein enhances TRAIL-triggered apoptosis in multidrug resistant cancer cells by interacting with the death receptor DR5 [J]. *Biochem Pharmacol*, 2006, 72 (3): 293–307.
- [7] Oda Y, Kohashi K, Yamamoto H, et al. Different expression profiles of Y-box-binding protein-1 and multidrug resistance-associated proteins between alveolar and embryonal rhabdomyosarcoma [J]. *Cancer Sci*, 2008, 99 (4): 726–732.
- [8] Stein U, Jürchott K, Walther W, et al. Hyperthermia-induced nuclear translocation of transcription factor YB-1 leads to enhanced expression of multidrug resistance-related ABC transporters [J]. *J Biol Chem*, 2001, 276 (30): 28562–28569.
- [9] Fujita T, Ito K, Izumi H, et al. Increased nuclear localization of transcription factor Y-box binding protein 1 accompanied by up-regulation of P-glycoprotein in breast cancer pretreated with paclitaxel [J]. *Clin Cancer Res*, 2005, 11 (24 Pt 1): 8837–8844.
- [10] Yaseen M, Kajino K, Kano S, et al. The up-regulation of Y-box binding proteins (DNA binding protein A and Y-box binding protein-1) as prognostic markers of hepatocellular carcinoma [J]. *Clin Cancer Res*, 2005, 11 (20): 7354–7361.
- [11] 屈艺, 刘菽秋, 李大成, 等. 三种中药制剂 Ares-11、Fw-13、Tul-17 逆转肿瘤细胞多药耐药性的研究. 天然产物研究与开发, 2006, 18 (6): 932–936.
- Qu Y, Liu SQ, Li DC, et al. Reversal of P-glycoprotein mediated multidrug resistance by traditional Chinese medicines [J]. *Nat Prod Res Dev*, 2006, 18 (6): 932–936.
- [12] 李凌, 王弢, 许志良, 等. 五味子乙素对转染多药耐药 1 基因的 MCF-7 细胞的多药耐药逆转作用 [J]. *中华医学杂志*, 2005, 85 (23): 1633–1637.
- Li L, Wang T, Xu ZL, et al. Effects of schisandrin B on reversing multidrug resistance in human breast cancer cells transfected with mdrl gene [J]. *Natl Med J China*, 2005, 85 (23): 1633–1637.

(收稿: 2009-09-05 修回: 2010-04-26)

第三届中医药现代化国际科技大会学术征文通知

第三届中医药现代化国际科技大会将于 2010 年 11 月 25—26 日在四川成都召开。现将有关征文等事项通知如下:

1 征文内容 分会一: 中医药创新与发展政府论坛: 围绕中医药多边国际合作、标准化建设等征文。投稿邮箱: icetcm_1@163.com; 分会二: 中医药学的现代理念与基础理论研究: 围绕中医药现代理念、基础理论及作用机制等征文。投稿邮箱: icetcm3rd@163.com; 分会三: 中医药防治慢性疾病与疗效评价研究: 围绕慢性疾病中医药诊疗方案、疗效评价等征文。投稿邮箱: icetcm2010clinic@126.com; 分会四: 中医药防治重大传染病的研究: 围绕重大传染病中医药诊疗方案、疗效评价等征文。投稿邮箱: hui931222@sina.com; 分会五: 中药资源的可持续开发和保护: 围绕中药资源保护、中药材规范化种植、质量标准等征文。投稿邮箱: liu_xianwu@yahoo.com.cn; 分会六: 中药创新与产业发展: 围绕中药新药研究开发、关键共性技术及产业发展等征文。投稿邮箱: tcm028@126.com; 分会七: 民族医药发展与创新: 围绕民族医药的保护、传承与发展等征文。投稿邮箱: gujiancd@163.com

2 联系人 学术委员会办公室(成都中医药大学科技处) 彭腾, 电话: 86-28-61800101, 13880376673, E-mail: kjchjz@163.com

3 详细征文要求及更多会议信息请关注大会网站: <http://www.icetcm.org>