

耐药逆转剂对人乳腺癌细胞 P-糖蛋白、EMMPRIN 和 MMP 表达的影响

李海霞¹ 唐峰¹ 王文娟² 李清泉² 包芸¹ 陈琦² 许祖德^{1,2Δ}

(¹ 复旦大学附属华山医院病理科 上海 200040; ² 复旦大学上海医学院病理学系 上海 200032)

【摘要】 目的 观察耐药逆转剂川芎嗪(tetramethylpyrazine, TMP)对人乳腺癌 MCF7/Adr 细胞 P-糖蛋白(P-glycoprotein, P-gp)、基质金属蛋白酶诱导物(extracellular matrix metalloproteinase inducer, EMMPRIN)和基质金属蛋白酶 2(matrix metalloproteinase 2, MMP2)、MMP9 表达的影响。方法 采用四甲基偶氮唑盐(MTT)比色法检测药物对 MCF7/Adr 细胞的毒性作用; 荧光分光光度法测定细胞内阿霉素(adriamycin, ADM)的荧光强度; Real time RT-PCR 和 Western blot 检测细胞 P-gp、EMMPRIN、MMP2 和 MMP9 mRNA 和蛋白水平的变化。结果 TMP 与 ADM 联合作用于细胞, 与单用 ADM 相比, ADM 对细胞的杀伤效应及细胞内 ADM 的荧光强度明显升高($P < 0.05$), 且有浓度依赖性; 与对照组相比, ADM 能上调细胞 P-gp、EMMPRIN 和 MMP2、MMP9 蛋白表达; TMP 能抑制 ADM 对细胞 P-gp、EMMPRIN、MMP2 和 MMP9 蛋白和 mRNA 水平的上调作用。结论 TMP 在有效逆转肿瘤多药耐药的同时, 还能抑制 ADM 对 P-gp、EMMPRIN、MMP2 和 MMP9 的上调。

【关键词】 多药耐药; 逆转; 川芎嗪; P-糖蛋白; 基质金属蛋白酶诱导物; 基质金属蛋白酶

【中图分类号】 R 285.5 **【文献标识码】** A

Effects of multidrug resistance reversing agent on P-glycoprotein, EMMPRIN and MMP expression in human breast cancer cells

LI Hai-xia¹, TANG Feng¹, WANG Wen-juan², LI Qing-quan²,

BAO Yun¹, CHEN Qi², XU Zu-de^{1, 2Δ}

(¹ Department of Pathology, Huashan Hospital, Fudan University, Shanghai 200040; ² Department of Pathology, Shanghai Medical College, Fudan University, Shanghai 200032, China)

【Abstract】 Objective To investigate the effects of multidrug resistance (MDR) reversing agent tetramethylpyrazine (TMP) on P-glycoprotein (P-gp), EMMPRIN, MMP2 and MMP9 expression in human breast cancer cells. **Methods** The toxicity of the drugs to MCF7/Adr cells was assessed by MTT colorimetric assay; The fluorescence intensity of adriamycin (ADM) in MCF7/Adr cells was detected with fluorescence spectrophotometer; Expression of P-gp, EMMPRIN, MMP2 and MMP9 was detected by Western blot analysis and reverse transcription and quantitative real-time polymerase chain reaction (Real time RT-PCR). **Results** The combination of TMP and ADM enhanced the cytotoxicity of ADM and elevated the fluorescence intensity of ADM in MCF7/Adr cells as compared with the ADM group ($P < 0.05$), and these effects were dose-dependent. Compared with the control group, P-gp, EMMPRIN, MMP2 and MMP9 were up-regulated by ADM at expression level and the up-regulation was inhibited by TMP at both mRNA and protein levels. **Conclusions** TMP not only reversed MDR effectively, but also inhibited the up-regulation of P-gp, EMMPRIN, MMP2 and MMP9 by ADM.

【Key words】 multidrug resistance(MDR); reversal; tetramethylpyrazine (TMP); P-glycoprotein; EMMPRIN; MMP

肿瘤多药耐药(multiple drug resistance, MDR)和浸润转移是肿瘤临床治疗中的两大难点。在引起MDR的诸多机制中,mdr1/P-糖蛋白(P-glycoprotein, P-gp)在耐药细胞中过度表达是最主要的,P-gp通过药物泵作用,维持了肿瘤细胞内化疗药物的低浓度,从而达到对相关药物的耐药。目前,寻求肿瘤MDR逆转剂或逆转方法的研究也主要针对这一机制,中药钙通道阻滞剂川芎嗪(tetramethylpyrazine, TMP)即为众多MDR逆转剂中的一员,研究报道TMP能下调肿瘤细胞P-gp的表达,提高细胞内化疗药物浓度,逆转肿瘤细胞耐药^[1]。而在肿瘤浸润转移的诸多因素中,基质金属蛋白酶诱导物(extracellular matrix metalloproteinase inducer, EMMPRIN)起着重要作用,其在多种肿瘤细胞中高表达^[2],通过诱导基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMP)的分泌促进了肿瘤的浸润、转移^[3,4]。本课题组在前期研究中发现肿瘤MDR与浸润转移之间存在着一定的内在联系:MCF-7/Adr耐药细胞株比其相应的敏感细胞株MCF-7表达更高的EMMPRIN;用P-gp的底物长春新碱、紫杉醇和阿霉素(adriamycin, ADM)孵育MCF-7/Adr细胞,可以引起细胞EMMPRIN、P-gp、MMP2和MMP9表达升高,细胞迁移能力增强,而P-gp中和抗体可阻断上述效应^[5]。以上研究提示临床上不恰当的化疗有可能促进癌细胞的浸润转移,对肿瘤患者的病情产生不利影响。而应用耐药逆转剂能否抑制化疗药物的上述不利影响尚有待于研究。本实验通过采用TMP逆转人乳腺癌细胞MCF7/Adr对ADM的耐药,观察耐药逆转过程中细胞P-gp、EMMPRIN、MMP表达的变化,对此问题进行了初步探讨。

材料和方法

材料 人耐药乳腺癌细胞MCF7/Adr(购自中科院上海细胞研究所);RPMI 1640培养基、新生小牛血清(NBS,购自Invitrogen公司);盐酸阿霉素(ADM,购自浙江海正药业公司);盐酸川芎嗪注射液(山东潍坊制药有限公司生产);四甲基偶氮唑盐(MTT,购自上海实生生物有限公司);兔抗EMMPRIN、MMP2、MMP9多抗(购自Santa Cruz公司);鼠抗P-gp单抗(购自Calbiochem公司);鼠抗 β -actin单克隆

抗体(购自Sigma公司);荧光二抗(羊抗兔及羊抗鼠,购自Rockland公司);Trizol(购自上海生工生物工程技术服务有限公司);M-MLV逆转录酶(购自Promega公司);SYBR Premix Ex Taq(购自TaKaRa公司);其余试剂均为国产分析纯试剂。

实验中细胞分组为对照组:加入等量的注射用溶剂;不同浓度ADM组:ADM终浓度分别为0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 1 μ g/mL;不同浓度TMP组:TMP终浓度分别为320, 640, 960, 1 280 μ g/mL;TMP+ADM组:ADM浓度为1 μ g/mL, TMP终浓度分别为320, 640, 960, 1 280 μ g/mL。药物作用24 h或36 h。

MTT法检测药物的细胞毒性 MCF7/Adr以 4×10^3 个细胞/孔接种于96孔板,用含10%NBS的RPMI 1640完全培养液培养。当细胞长至30%的融合度时,换成RPMI 1640无血清培养基并加入相应的药物。每组均设4个复孔。当细胞培养至36 h,加MTT(5 mg/mL) 20 μ L/孔,于37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂培养箱孵育4 h,弃去培养液,加150 μ L二甲基亚砜(DMSO),振荡至结晶充分溶解,用酶标仪检测490 nm处吸光度值 D_{490} 。细胞存活率(%) = 实验组 D_{490} /空白对照组 D_{490} 。实验均至少重复3次。

荧光分光光度法检测细胞内阿霉素的荧光强度

本实验利用ADM有自发荧光的特性,用通用微孔板酶标仪测定细胞内ADM的荧光强度,以显示细胞内ADM的聚积情况。MCF7/Adr接种于10 cm培养皿中,生长至30%~40%融合度时,换成RPMI 1640无血清培养基,TMP+ADM组加不同浓度TMP,对照组、不同浓度ADM组加注射用溶剂,当药物作用于细胞36 h时,不同浓度ADM组、TMP+ADM组加入ADM,对照组、不同浓度TMP组加等量注射用溶剂,继续培养3 h收集细胞,0.01 mol/L pH7.3的PBS缓冲液洗3次(4 $^{\circ}$ C),用含0.3 mol/L HCl的95%乙醇消化1 h使细胞破裂,离心沉淀,取上清液用BIO-TEK Elx800型通用微孔板酶标仪(复旦大学上海医学院药理研究中心提供,激发光波长470 nm,发射光波长585 nm,狭缝8 nm)测定各样品的荧光强度。实验至少重复3次。

Real time-RT PCR法检测 mRNA 细胞加药处理24 h后,抽提细胞总RNA。各样品RNA取2 μ g逆转录为cDNA,取1 μ L cDNA,1 mmol/L上下游引物、2 \times SYBR green mix于20 μ L反应体系

中进行 Real time PCR。各基因的引物设计如表 1。

反应过程由 Rotor-Gene 6.0 软件控制进行。以 GAPDH 作为内参照,求出各检测样品中各目的基因拷贝数相对于各自 GAPDH 拷贝数的比值,应用 SPSS13.0 统计软件对数据进行处理。实验均至少重复 3 次。

Western blot 检测 MCF7/Adr 接种于 10 cm 培养皿中,生长至 30%~40% 融合度时,换成 RPMI 1640 无血清培养基,加相应的药物作用 36 h,收取

总蛋白,按常规方法进行 8% SDS-PAGE 变性电泳、转膜。一抗为兔抗 EMMPRIN、MMP2、MMP9 多克隆抗体(1:300)及鼠抗 P-gp 单抗(1:1 000),鼠抗 β -actin 单抗(1:2 000),二抗为荧光标记的羊抗兔及羊抗鼠(1:300),于 LI-COR Odyssey 进行荧光显色并测定反应条带灰度值,以 β -actin 作为内参,计算相对值。实验均至少重复 3 次。

统计学处理 所有数据均用 SPSS 13.0 统计分析软件做单因素方差分析。

表 1 各基因的引物

Tab 1 Primers of the genes

Gene	Primer sequence(5'-3')	Product length(bp)	Anncaling temperature(°C)	Fluorescence acquiring temperature(°C)
mdr1	For:CCCATCATGCAATAGCAGG Rev:GTTCAAACCTTCTGCTCCTGA	133	50.2	78
EMMPRIN	For:CGAGATCCAGTGGTGGTTTG Rev:TCGTAAGTGCCCGTGTC	177	54.4	85
MMP-2	For:GGCCTCTCCTGACATTGACCTT Rev:GGCCTCGTATACCGCATCAATC	241	56	87.5
MMP-9	For:TTTGACAGCGACAAGAAGTGG Rev:AGGGCGAGGACCATAGAGG	308	61	84
GAPDH	For:CATCAAGAAGGTGGTGAAGC Rev:GGAAATTGTGAGGGAGATGC	208	52.2	82

For:forward primer; Rev:reverse primer

结 果

阿霉素(ADM)和川芎嗪(TMP)的细胞毒作用

MTT 检测结果显示,0.05~1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ADM 作用于 MCF7/Adr 细胞 36 h,细胞存活率 $\geq 96\%$,与对照组相比其差异不具有显著性意义($P>0.05$),表明细

胞对 $\leq 1 \mu\text{g}/\text{mL}$ 的 ADM 完全耐受(图 1A)。320~1 280 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 TMP 作用于 MCF7/Adr 细胞 36 h,细胞存活率 $\geq 92.9\%$,与对照组相比其差异均没有显著性意义($P>0.05$),表明 TMP 在 320~1 280 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度范围内无细胞毒性(图 1B)。因此,在后续实验中 ADM 和 TMP 分别采用无细胞毒性的 $\leq 1 \mu\text{g}/\text{mL}$ 和 $\leq 1 280 \mu\text{g}/\text{mL}$ 的浓度。

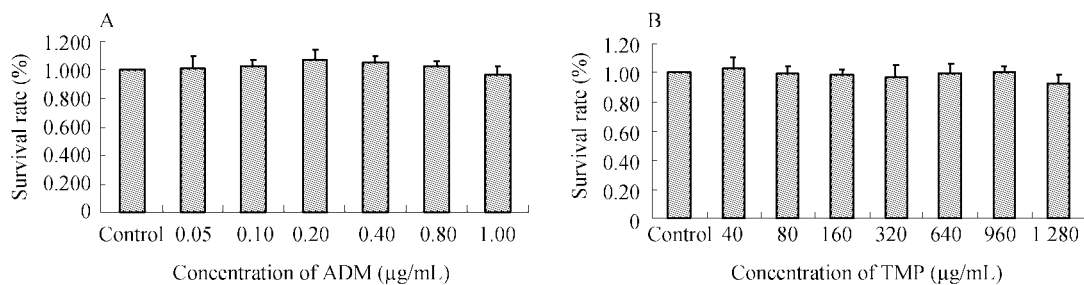


图 1 MTT 示 ADM 和 TMP 对 MCF7/Adr 细胞的毒性作用

Fig 1 Cytotoxicity of ADM and TMP in MCF7/Adr cells as determined by the MTT assay

A: ADM; B: TMP

川芎嗪(TMP)的耐药逆转作用 MTT 检测结果显示 320, 640, 960, 1 280 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 TMP 与 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 ADM 联合应用,细胞存活数分别是单用 ADM 组的 74%, 50%, 39%, 29%, 其差异均具有显著性意义($P<0.05$)(图 2),表明 TMP 能显著增强 ADM 对 MCF7/Adr 细胞的毒性作用。通过

检测细胞内荧光强度发现,320, 640, 960, 1 280 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 TMP 与 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ADM 联合作用于细胞,细胞内 ADM 荧光强度分别是 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ADM 单独作用组的 1.32, 1.68, 1.77, 1.96 倍,其差异均具有显著性意义($P<0.05$)(图 3),表明 TMP 能显著减少 ADM 的外排,提高 ADM 在细胞内的蓄积,从而增

强 ADM 对肿瘤细胞的杀伤作用。以上结果显示 TMP 具有显著的耐药逆作用,并呈浓度依赖性。

TMP 对 P-gp、EMMPRIN 和 MMP2、MMP9 蛋白和 mRNA 水平的影响 前期结果显示 TMP 具有显著的耐药逆转作用,在此基础上我们对 TMP 可能的耐药逆转机制作了进一步研究。

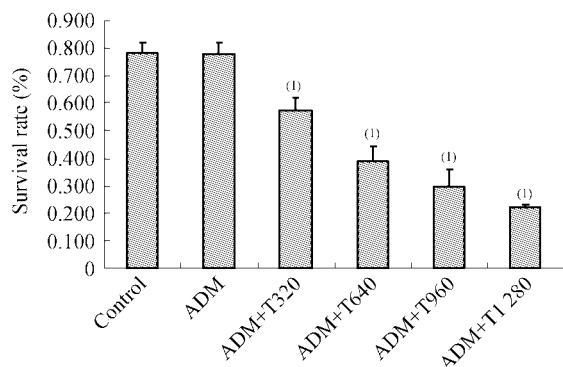


图 2 MTT 示 TMP 对 MCF7/Adr 细胞的耐药逆作用
Fig 2 Reversal effect of TMP on MDR in MCF7/Adr cells as determined by the MTT assay

⁽¹⁾ $P < 0.05$, vs control and ADM group. ADM dose: $1 \mu\text{g}/\text{mL}$; T: TMP; TMP dose: $320 \mu\text{g}/\text{mL}$, $640 \mu\text{g}/\text{mL}$, $960 \mu\text{g}/\text{mL}$, $1280 \mu\text{g}/\text{mL}$.

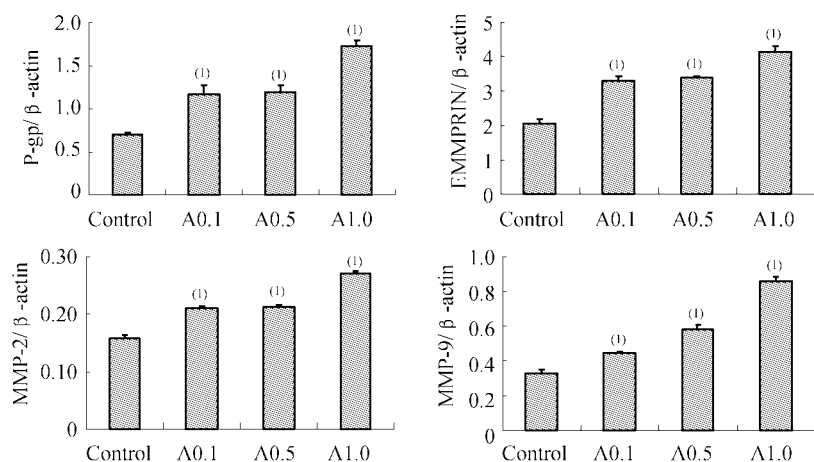


图 4 Western blot 检测 ADM 对 P-gp、EMMPRIN 和 MMP2、MMP9 蛋白的影响

Fig 4 Effect of ADM on P-gp, EMMPRIN, MMP2 and MMP9 detected with Western blot

Bar graphs represent mean \pm SD of three independent experiments, ⁽¹⁾ $P < 0.05$ vs control.

A: ADM; ADM dose: $0.1, 0.5, 1.0 \mu\text{g}/\text{mL}$.

进而我们又观察了 TMP 对细胞 P-gp、EMMPRIN、MMP2 和 MMP9 表达的影响。Western blot(图 5)和 Real time RT PCR(图 6)结果显示不仅 TMP 本身能下调细胞 P-gp、EMMPRIN、MMP2、MMP9 蛋白和 mRNA 水平,并且当 TMP 与 ADM 联合应用时, TMP 也能明显抑制 ADM 对细胞上述蛋白和 mRNA 水平的上调($P < 0.05$),且 TMP 对上述蛋白表达的下调与 TMP 浓度相关, TMP 浓度为 $1280 \mu\text{g}/\text{mL}$ 时作用最为明显。

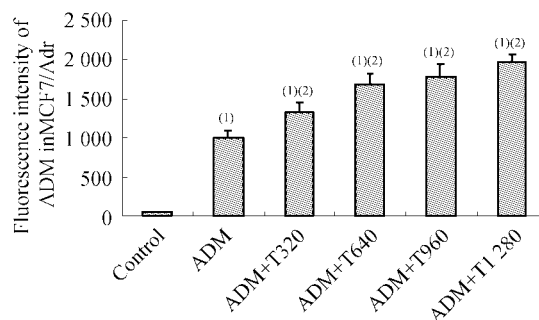


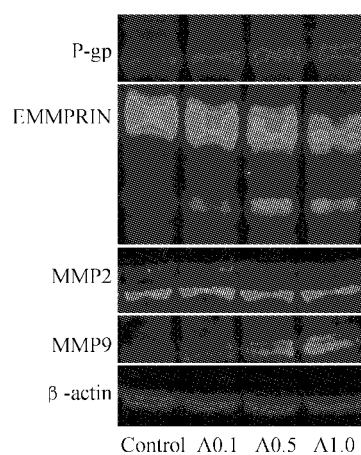
图 3 荧光分光光度法示 MCF7/Adr 细胞内 ADM 的荧光强度

Fig 3 The fluorescence intensity of ADM in MCF7/Adr cells as detected with fluorescent-spectrophotometry

⁽¹⁾ $P < 0.05$, vs control; ⁽²⁾ $P < 0.05$, vs ADM $1 \mu\text{g}/\text{mL}$ group.

ADM dose: $1 \mu\text{g}/\text{mL}$; T: TMP; TMP dose: $320 \mu\text{g}/\text{mL}$, $640 \mu\text{g}/\text{mL}$, $960 \mu\text{g}/\text{mL}$, $1280 \mu\text{g}/\text{mL}$.

首先我们检测了 ADM 对细胞 P-gp、EMMPRIN 和 MMP2、MMP9 蛋白表达的影响, Western blot 检测结果显示 $0.1, 0.5, 1 \mu\text{g}/\text{mL}$ 的 ADM 作用于 MCF7/Adr 细胞 36 h, 与对照组相比, 细胞 P-gp、EMMPRIN 和 MMP2、MMP9 蛋白表达升高($P < 0.05$)(图 4)。



讨 论

肿瘤的 MDR 和浸润转移是肿瘤临床治疗中难以克服的两大障碍,也是目前研究的热点,我们前期研究表明 P-gp 底物化疗药物可以促进 P-gp、EMMPRIN、MMP 的表达^[5],人们研究开发的多种针对 P-gp 的耐药逆转剂是否可以逆转化疗药物的上述不良作用值得探讨。

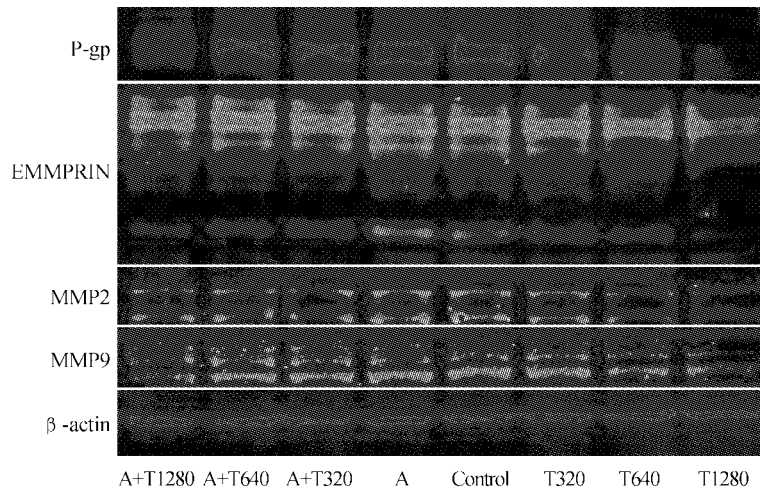
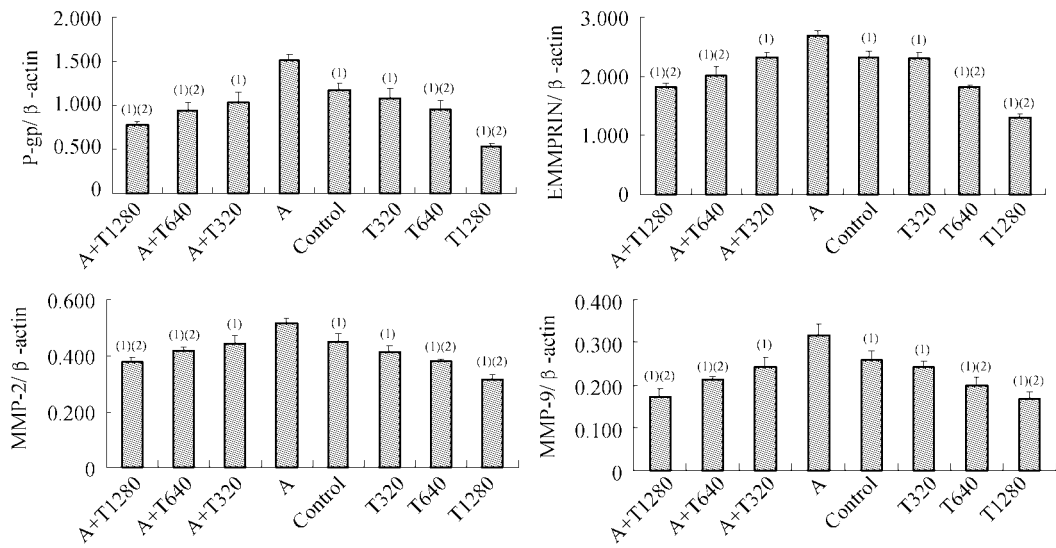


图5 Western blot 检测 TMP 和 ADM 联合或单独应用对细胞 P-gp、EMMPRIN 和 MMP2、MMP9 蛋白的影响

Fig 5 Effect of TMP co-incubation with ADM or TMP itself on P-gp,EMMPRIN, MMP2 and MMP9 expression detected with western blot

Bar graphs represent mean ± SD of three independent experiments, ⁽¹⁾ $P < 0.05$ vs ADM group; ⁽²⁾ $P < 0.05$ vs control. T: TMP; TMP dose: 320, 640, 1 280 μg/mL; A: ADM; ADM dose: 1.0 μg/mL

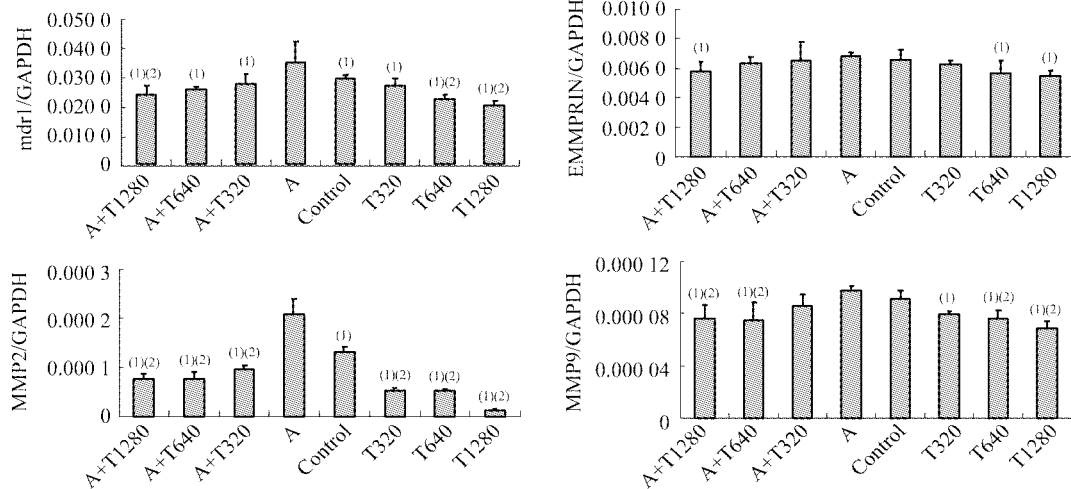


图6 Real time RT-PCR 检测 TMP 和 ADM 联合或单独应用对细胞 mdrl、EMMPRIN 和 MMP2、MMP9 mRNA 的影响

Fig 6 Effect of TMP co-incubation with ADM or TMP itself on mdrl,EMMPRIN, MMP2 and MMP9 expression detected with Real time RT-PCR

Bar graphs represent mean ± SD of three independent experiments, ⁽¹⁾ $P < 0.05$ vs ADM group; ⁽²⁾ $P < 0.05$ vs control. T: TMP; TMP dose: 320, 640, 1 280 μg/mL; A: ADM; ADM dose: 1.0 μg/mL

中药 TMP 是从植物川芎的根茎中提取出的一种生物碱,已证实 TMP 是一种钙通道阻滞剂,临床上被广泛应用于心脑血管疾病的治疗。近来研究报告 TMP 可抑制 *mdr1* 基因表达,减少 P-gp 合成,保持化疗药物在肿瘤细胞内的浓度,从而逆转肿瘤耐药^[1,6]。在本实验中也发现 TMP 能显著增强 MCF7/Adr 细胞对 ADM 的敏感性,提高 ADM 在细胞内的聚积,同时 TMP 还显著下调了 P-gp 的表达,从而证实 TMP 确实具有耐药逆转作用,并且其耐药逆转作用与 P-gp 有关,其可能的机制有:① 钙通道阻滞剂与抗肿瘤药物竞争 P-gp 的结合位点,从而抑制其跨膜泵作用,使抗肿瘤药物的细胞外排降低,提高细胞内瘤药物浓度而逆转耐药^[7],TMP 作为钙通道阻滞剂的一种,也极可能通过上述机制逆转耐药;② 有研究推测 TMP 在竞争 P-gp 药物结合位点的同时,还可能通过直接抑制 P-gp 的活性而影响 P-gp 功能^[8];③ TMP 不仅可阻断外钙内流,而且也可直接作用于钙库,阻断内钙释放,通过以上两条途径,降低细胞中钙浓度^[9]。胞内钙浓度降低可以抑制钙依赖型蛋白激酶 C(PKC)的活化。同时也有研究发现 TMP 在人外周血淋巴细胞中抑制 PKC 的活化^[10]。有研究提示 PKC 可以促进 P-gp 磷酸化,增强其跨膜转运功能,维持细胞 MDR 表型,而抑制 PKC 活性则可以降低 P-gp 磷酸化水平,逆转肿瘤 MDR^[11,12],可以据此推测 TMP 还可能通过 PKC 而抑制 P-gp 的活性和跨膜转运功能。

本课题组前期研究发现 P-gp 底物药物 ADM 等促进 EMMPRIN 的表达,进而上调 P-gp, MMP2 和 MMP9 的表达,从而维持肿瘤细胞 MDR 表型,增强肿瘤细胞浸润转移能力,P-gp 中和抗体可以阻断上述效应,而非 P-gp 底物药物博来霉素则无上述作用^[5,13],提示 P-gp 的活性或药物泵功能在此过程中起重要作用。在本次实验中也发现 P-gp 底物 ADM 促进了 MCF7/Adr 细胞 EMMPRIN、P-gp 和 MMP 的表达,这与我们前期研究结果是一致的。同时我们还观察到无论 ADM 是否参与,TMP 都能下调细胞 EMMPRIN、P-gp、和 MMP 的表达,提示 TMP 有可能直接或间接(比如可能通过抑制 PKC 活化而抑制 P-gp 的磷酸化)作用于 P-gp,使其功能减退或失活,从而阻断了 ADM 对细胞 EMMPRIN、P-gp、MMP2 和 MMP9 的上调作用,且 TMP 浓度越高,其作用越明显,这也间接证明了 P-gp 的功能状态在维持耐药细胞 EMMPRIN、P-gp 和 MMP 的高表达,维持肿瘤 MDR 表型中发挥着重要的作用,而 TMP 可抑制 P-gp 的这种作用,但其具体的分子调控机制还需进一步研究。

综上所述,TMP 在有效逆转肿瘤耐药的同时,还能降低 ADM 对 P-gp、EMMPRIN 和 MMP 的上调作用,同时 TMP 还具有价格低廉、毒副作用小等优点,在临床有良好的应用前景。

参 考 文 献

- [1] 解霞,郝立宏,高海波,等. 川芎嗪逆转肿瘤多药耐药性及其机制的研究[J]. 中华肿瘤防治杂志,2006,13(18):1 368 - 1 370.
- [2] Riethdorf S,Reimers N,Assmann V, et al. High incidence of EMMPRIN expression in human tumors[J]. *Int J Cancer*, 2006,119(8):1 800 - 1 810.
- [3] Yang JM,Xu Z,Wu H, et al. Overexpression of extracellular matrix metalloproteinase inducer in multidrug resistant cancer cells[J]. *Mol Cancer Res*,2003,1(6):420 - 427.
- [4] Iacono KT, Brown AL, Greene MI, et al. CD147 Immunoglobulin Superfamily Receptor Function and Role in Pathology[R]. *Exp Mol Pathol*,2007,83(3):283 - 295.
- [5] Li QQ,Wang WJ,Xu JD, et al. Up-regulation of CD147 and matrix metalloproteinase-2,-9 induced by P-glycoprotein substrates in multidrug resistant breast cancer cells [J]. *Cancer Sci*,2007,98(11):1 767 - 1 774.
- [6] 徐珊,徐吕芬. 肿瘤多药耐药性发生机制及中药逆转作用的研究进展[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志,2006,13(6):404 - 411.
- [7] Lee CH. Reversing agents for ATP-binding cassette (ABC) transporters: application in modulating multidrug resistance (MDR)[J]. *Curr Med Chem Anti-Canc Agents*,2004,4(1):43 - 52.
- [8] 宋娟,唐靖,何娟,等. 川芎嗪对 Caco-2 细胞 P-糖蛋白功能和表达的影响[J]. 中南药学,2007,5(5):440 - 443.
- [9] 徐浩. 川芎嗪心血管药理与钙拮抗作用[J]. 中国中西医结合杂志,2003,23(5):376 - 377.
- [10] 刘先胜,徐永健,张珍祥,等. 川芎嗪对人外周血淋巴细胞蛋白激酶 C 通道的影响[J]. 中国病理生理杂志,2003,19(4):507 - 510.
- [11] Hanauske AR,Sundell K,Lahn M. The role of protein kinase C-alpha (PKC-alpha) in cancer and its modulation by the novel PKC-alpha-specific inhibitor aprinocarsen [J]. *Curr Pharm Des*,2004,10(16):1 923 - 1 936.
- [12] Zhan M, Yu D, Liu J, et al. Transcriptional repression of protein kinase Calpha via Sp1 by wild type p53 is involved in inhibition of multidrug resistance 1 P-glycoprotein phosphorylation[J]. *J Biol Chem*, 2005, 280 (6): 4 825 - 4 833.
- [13] Li QQ,Wang WJ,Xu JD, et al. Involvement of CD147 in regulation of multidrug resistance to P-gp substrate drugs and *in vitro* invasion in breast cancer cells[J]. *Cancer Sci*,2007,98(7):1 064 - 1 069.