

塞来昔布联合 5-Fu 对人结肠癌裸鼠皮下移植瘤生长的影响

张德庆¹, 陈卫昌¹, 王磊¹, 陈桂林², 谢学顺²

Effect of Celecoxib Combined with 5-Fu on Treatment of Human Colorectal Cancer in BALB/C Nude Mice Subcutaneous Xenograft Model

ZHANG De-qing¹, CHEN Wei-chang¹, WANG Lei¹, CHEN Gui-lin², XIE Xue-shun²

1. Department of Digestion Internal Medicine, The First Affiliated Hospital, SuZhou Medical University, Su Zhou 215006, China, 2. Department of Neurology

Corresponding Author: CHEN Wei-chang, E-mail: wchangchen@126.com

Abstract :Objective To investigate the anti-tumor effect and explore its mechanisms of celecoxib (a selective cox-2 inhibitor) combined with 5-fluorouracil (5-Fu) on the treatment of human colorectal cancer in BALB/C nude mice subcutaneous xenograft model. **Methods** Effects of celecoxib combined 5-Fu on the proliferatic in xenograft carcinoma induced by HT-29 were investigated. Simultaneously the method of immunohistochemistry and western blot were used to estimate the expression of Cytochrome C, caspase-3 and caspase-9, the apoptosis morphous was detected by electron microscope and the apoptosis of tumor cell was detected by TUNEL to determine apoptotic index (AI). **Results** The effect of synergistic usage of 5-Fu and celecoxib for the treatment of human colorectal cancer was better than other groups. The respective rates of the tumor inhibition of B group, C group and D group were 27.81%, 53.02%, 78.37%, and the differences compared with control group (0) were significant ($P < 0.01$). Compared with control group the apoptosis of tumor cell in treated groups notably raised and the statistical differences of the apoptotic index (AI) among treated groups were significant ($P < 0.01$). The means of fimmunohistochemistry and western blot display that the expression of Cytochrome C, caspase-3 and caspase-9 of treated groups increased obviously compared with the control group. Meanwhile the statistical differences of the expression of Cytochrome C, caspase-3 and caspase-9 among the treated groups were also significant ($P < 0.05$). **Conclusion** Celecoxib and 5-Fu have respective effect to inhibit the growth of tumor. Compared with celecoxib or 5-Fu individual drug group, Celecoxib combined with 5-Fu significantly inhibited the growth of human colorectal cancer in nude mice subcutaneous xenograft. The mechanism of antitumor maybe is correlate with inducing apoptosis and activation mitochondrion accommodation pathway by up-regulating the expression of Cytochrome C, caspase-3 and caspase-9.

Key words: Colorectal cancer; Celecoxib; Cytochrome C; Apoptosis; Signal transduction

摘要:目的 探讨选择性环氧化酶-2 (Cyclooxygenase-2, Cox-2) 抑制剂-塞来昔布 (celecoxib) 联合 5-氟尿嘧啶 (5-fluorouracil, 5-Fu) 对实验性人结肠癌裸鼠皮下移植瘤生长的影响及作用机制。方法 建立人结肠癌裸鼠皮下移植瘤模型, 模型建立后 32 只实验裸鼠随机分为四组, 分别给予塞来昔布及 5-Fu 药物干预后观察各组皮下移植瘤体积、瘤重和裸鼠实验前后的体重变化, 计算抑瘤率。电镜观察细胞凋亡形态, 原位凋亡染色检测凋亡指数 (AI), 免疫组化及 Western blot 印迹法检测细胞色素 C、caspase-3 及 caspase-9 表达。结果 塞来昔布干预组、5-Fu 干预组和联合干预组肿瘤生长明显抑制, 塞来昔布干预组、5-Fu 干预组抑瘤率分别为 27.81% 和 53.02%, 联合干预组抑瘤率为 78.37% ($P < 0.01$)。干预组较对照组肿瘤细胞凋亡明显增加, 干预组各组之间凋亡指数比较差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。透射电镜下见干预组瘤细胞呈现明显凋亡形态改变, 联合干预组凋亡表现尤为典型, 对照组无明显凋亡形态改

变。免疫组化及 Western blot 印迹法显示干预组其细胞色素 C、caspase-3 及 caspase-9 的表达明显高于对照组, 且干预组各组之间比较其表达差异也有统计学意义 ($P < 0.05$)。结论 塞来昔布及 5-Fu 均具有明显的抗肿瘤作用, 联合应用时具有协同作用, 可显

收稿日期: 2007-09-26; 修回日期: 2008-02-02

基金项目: 江苏省卫生厅重大科研课题基金资助项目 (K200507)

作者单位: 1. 215006 江苏苏州大学附属第一医院消化科, 2. 脑神经研究室

通讯作者: 陈卫昌, E-mail: weichangchen@126.com

作者简介: 张德庆 (1978-), 男, 硕士, 主要从事消化道肿瘤的防治研究

著抑制人结肠癌裸鼠皮下移植瘤的生长,其作用机制可能与上调细胞色素 C、caspase-3 及 caspase-9 蛋白表达、激活细胞色素 C 依赖性凋亡信号通路有关。

关键词:结肠癌;塞来昔布;细胞色素 C;细胞凋亡;信号转导

中图分类号:R735.3⁺4 文献标识码:A

文章编号:1000-8578(2008)06-0394-05

0 引言

近年来研究表明,环氧化酶-2(COX-2)过表达与肿瘤,特别是消化道肿瘤的发生发展密切相关,而选择性 COX-2 抑制剂对多种实体肿瘤包括结肠癌的生长均有抑制作用,并也有报道它还可增强多种化疗药物对肿瘤的杀伤作用^[1]。本研究利用选择性 COX-2 抑制剂塞来昔布联合 5-Fu 对实验性人结肠癌裸鼠皮下移植瘤进行干预,探讨联合治疗对肿瘤生长的影响及可能的作用机制,为选择性 COX-2 抑制剂进一步运用于肿瘤临床联合治疗提供实验和理论依据。

1 材料和方法

1.1 细胞系和实验动物

人结肠癌 HT-29 细胞株购自于中国科学院上海细胞生物研究所。4~5 周龄 BALB/C nu/nu 雌性裸鼠(体重 15~17 g)32 只,购自中国科学院上海试验动物中心(获合格证书),SPF 级环境饲养。

1.2 药物和试剂

塞来昔布(celecoxib,生产批号 639 T)购自美国辉瑞公司,鼠抗人细胞色素 C 抗体、caspase-9 抗体及 caspase-3 抗体均购自 Santa Cruz 公司。B-actin 抗体(鼠源性)为苏州大学血液研究所提供。McCoy's 5A 培养液(含谷氨酰胺和 10%胎牛血清)购自 Gibco 公司。辣根过氧化物酶(HRP)标记羊抗鼠、兔抗羊二抗及 NC 膜购自华美生物工程公司, TUNEL 试剂盒购自 Roche 公司, ECL Western 印迹检测试剂盒购自 Sigma 公司。

1.3 细胞培养及结肠癌裸鼠皮下移植瘤模型

人大肠癌细胞株 HT-29 采用 McCoy's 5A 细胞培养基(含谷氨酰胺和 10%胎牛血清),常规培养于含 5%CO₂ 的 37 培养箱中,当细胞达 70%~80%融合时,用 0.25%胰酶消化传代继续培养。收集对数生长期 HT-29 细胞,接种于裸小鼠背部靠近后肢部位皮下,每只裸鼠接种约 8×10⁶ 个细胞,接种完毕后采用区组随机化法随机分为四组,SPF 级环境下饲养 1 周,皮下成瘤直径均可达 0.5 cm 左右,成瘤率为 100%。对照组(A 组)为纯水自由摄入,B 组为塞来昔布干预组(1 500 ppm,1.5 mg/ml),C 组为 5-Fu

干预组(20 mg/kg),D 组为塞来昔布与 5-Fu 联合干预组(塞来昔布 1 500 ppm + 5-Fu 20 mg/kg)。塞来昔布给药方式为消毒蒸馏水溶解塞来昔布配制成新鲜溶液,裸鼠每日饮水自由摄入至实验结束。5-Fu 给药方式为裸鼠腹腔注射,分组后当天给药,每日给药 1 次,连续给药 5 天,每只裸鼠根据体重计算所需用药剂量,并调整注射液量为每只裸鼠注射 1 ml,A 组与 B 组裸鼠予生理盐水 1 ml 作为溶媒,分组后当天即给予腹腔注射,连续 5 天,每天注射 1 次。观察 28 天后处死裸鼠,解剖剥取肿瘤标本,用游标卡尺测量瘤块的长度(a)和宽度(b),按照公式计算肿瘤的近似体积(V): $V = a \times b^2 / 2$ 。瘤块称重并计算抑瘤率(%) = [(对照组平均瘤重 - 治疗组平均瘤重) / 对照组平均瘤重] × 100%。

1.4 TUNEL 法检测凋亡细胞

按试剂盒所提供说明书操作。凋亡细胞胞核染色成黑褐色,而未凋亡细胞的细胞核呈淡蓝色。每张切片选取 10 个高倍视野(×400),计数 1 000 个细胞中的阳性细胞数,凋亡率(%) = (凋亡阳性细胞数 / 1 000) × 100%。

1.5 透射电镜检测细胞凋亡

取移植瘤组织块 60 mg 固定于 2.5%戊二醛 2 小时以上后用 70%乙醇配制饱和醋酸铀,搅拌 30 min 后静置,以磷酸缓冲液漂洗 3 次后用 4%锇酸固定,50%乙醇漂洗后包埋剂复温,将样品放入胶囊,烤箱 63 聚合 72 h,48 h 后溶胶囊,电镜下观察凋亡情况,拍照,洗片。

1.6 免疫组化法检测细胞色素 C、caspase-3 与 caspase-9 的表达

移植瘤组织石蜡切片常规脱蜡,梯度酒精水化,1% H₂O₂ 封闭 15 min,0.01 mol/L PBS 洗涤,微波抗原修复。2%正常羊血清封闭 1 h,分别滴加鼠抗人 caspase-3、caspase-9 单克隆抗体一抗(均为 1:1 000),细胞色素 C 单抗(1:500),4 孵育过夜,PBS 洗涤后滴加 HRP 标记的二抗(1:200)室温孵育 2 h,DAB 显色 15 min,苏木素复染。

阳性结果判断:免疫组织化学阳性表达为境界清楚,突出背景的棕黄色或棕褐色颗粒,选择 5 个以上高倍视野,计数不少于 500 个结肠粘膜细胞中的阳性细胞。用半定量法即肿瘤细胞阳性率与染色强度评分的乘积来表示分别推算整个肿瘤组织中细胞色素 C、caspase-3 与 caspase-9 的表达情况,分别按以下比例记分:肿瘤细胞染色率在 0~4%记 0 分、5%~24%记 1 分、25%~49%记 2 分、50%~74%记 3 分、75%~100%记 4 分,染色强度用 0 分(阴性)、1 分(弱阳性)、2 分(阳性)来表示。具体结果分

析按 Krajewska 等^[2]推荐方法进行。

1.7 Western blot 印迹测定细胞色素 C、caspase-9 和 Caspase-3 蛋白表达

取裸鼠新鲜瘤组织约 40 mg 迅速置于预冷的生理盐水中预处理后放入机械组织匀浆器中,加入裂解液进行匀浆,离心收集上清并加入 Laemmli 样品缓冲液水浴加热、离心,提取总蛋白。每组各取 100 μg 总蛋白样品在 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离,电转移至 NC 膜,分别将鼠源性一抗细胞色素 C(1 500)、鼠源性一抗 caspase-9 (1 1 000) 和鼠源性一抗 caspase-3 (1 1 000) 与膜孵育 1 h, PBS 洗膜。HRP 标记羊抗鼠二抗(1 500)与膜孵育 1 h。用同样方法标记鼠单克隆抗体 β -actin 作内对照。ECL 试剂盒检测蛋白信号。

1.8 统计学方法

用 SPSS 11.0 统计软件包对数据进行统计学分析。所有数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,各均数间比较采用方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 塞来昔布与 5-Fu 对皮下移植瘤生长的影响

干预组与对照组相比,移植瘤体积显著缩小,瘤重明显减轻,两两比较差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), A、B、C 和 D 组抑瘤率分别为 0, 27.81%, 53.02% 和 78.37%, 干预组抑瘤率明显高于对照组, 尤以联合治疗组抑瘤率最高, 瘤体体积最小、瘤重最轻, 差异具有统计学意义 ($P < 0.01$), 见表 1、图 1。

表 1 各组移植瘤大小和瘤鼠体重变化比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab 1 Tumor size and mouse weight ($\bar{x} \pm s$)

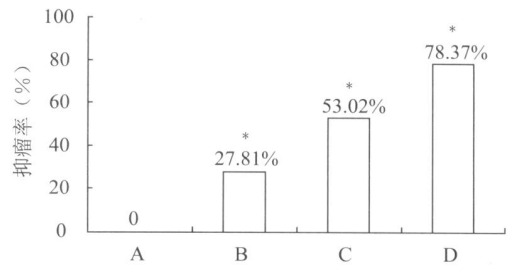
| 组别 | 瘤体体积 (cm ³) | 瘤体重量 (g) | We-Wt (g) |
|-----|-------------------------|------------------------|--------------------------|
| A 组 | 0.5367 \pm 0.0532 | 0.5924 \pm 0.0612 | -0.1723 \pm 3.0014 |
| B 组 | 0.3429 \pm 0.0875 * | 0.4276 \pm 0.0629 ** | 1.7286 \pm 1.5298 *** |
| C 组 | 0.1947 \pm 0.0386 * | 0.2783 \pm 0.0314 ** | 2.7518 \pm 1.6186 *** |
| D 组 | 0.0428 \pm 0.0236 * | 0.1281 \pm 0.0219 ** | -0.6471 \pm 1.2587 *** |

各组之间瘤体体积两两比较 * $P < 0.05$; 各组之间瘤重两两比较 ** $P < 0.01$; 各组之间鼠重变化比较 *** $P > 0.05$; 为实验结束时瘤鼠的重量-实验开始时瘤鼠的重量

2.2 塞来昔布与 5-Fu 对移植瘤肿瘤细胞凋亡的影响

TUNEL 检测发现, 各干预组中凋亡细胞数较对照组明显增多, 凋亡率从对照组 9.5% 分别上升至 B、C、D 组的 47.5%、68.5% 和 80.1%, 与对照组相比差异均具有统计学意义 ($P < 0.01$), 见图 2。透射电镜下干预组可见瘤细胞有凋亡形态改变, 细胞外形多极不规则, 胞体缩小, 核缩小, 核膜完整, 核仁

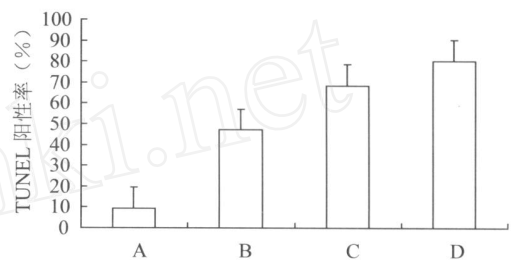
区完全消失, 染色质凝集、致密, 向核膜下集中, 部分线粒体肿胀膨大, 细胞膜完整, 核裂解, 细胞间散在着膜包裹的凋亡小体, 内含残核和细胞器, 联合用药组 (D 组) 上述凋亡表现尤为典型, 而对照组则无上述表现, 见图 3。



A: Control; B: TZD 1.5 mg/ml; C: 5-Fu 3 mg/ml; D: TZD 1.5 mg/ml + 5-Fu 3 mg/ml ($P < 0.01$)

图 1 各组抑瘤率比较

Fig 1 Rate of antitumor effect



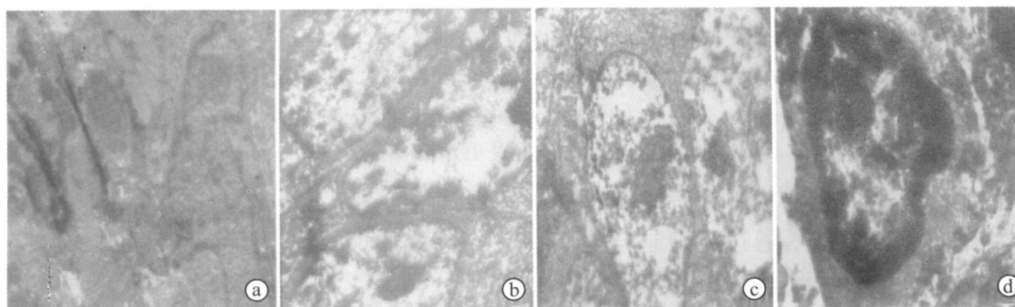
A: control; B: celecoxib; C: 5-Fu; D: celecoxib + 5-Fu

图 2 塞来昔布及 5-Fu 对结肠癌裸鼠皮下移植瘤细胞凋亡率的影响

Fig 2 Effect of combined celecoxib and 5-Fu therapy against rate of tumor apoptosis of human colon cancer in mouse model

2.3 塞来昔布与 5-Fu 对移植瘤细胞胞浆中细胞色素 C、caspase-9 和 caspase-3 蛋白表达的影响

免疫组化检测发现细胞色素 C、caspase-9 和 caspase-3 蛋白主要表达在凋亡细胞中, 在凋亡的肿瘤细胞中细胞色素 C、caspase-9 和 caspase-3 蛋白阳性表达的染色主要为胞质着色, 少数为胞核及核膜着色, 呈棕黄色颗粒。实验结果发现干预组细胞色素 C、caspase-9 和 caspase-3 蛋白的表达较对照组明显增加 ($P < 0.05$), 且塞来昔布联合 5-Fu 组 (D 组) 表达最强, 其次依次为 5-Fu 单药干预组 (C 组) 和塞来昔布单药干预组 (B 组), 各干预组间差异具有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 2。Western blot 印迹检测发现, 胞浆中细胞色素 C、caspase-9 和 caspase-3 的蛋白表达干预组明显高于对照组 (A 组), 且塞来昔布联合 5-Fu 组 (D 组) 表达最强, 其次依次为 5-Fu 单药干预组 (C 组) 和塞来昔布单药干预组 (B 组), 见图 4。



a:control;b:celecoxib;c:5-Fu;d:celecoxib+5-Fu

图3 塞来昔布及 5-Fu 对人结肠癌裸鼠皮下移植瘤细胞凋亡电镜下的观察 (×6 000)

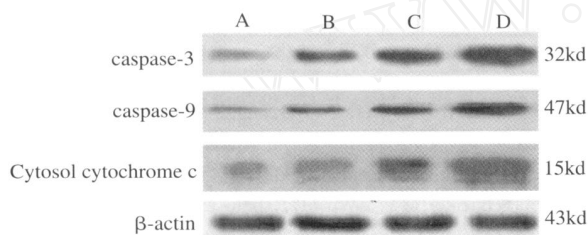
Fig 3 Apoptosis by electron microscope induced combining celecoxib and 5-Fu against human colon cancer in mouse model (×6 000)

表 2 各组移植瘤细胞细胞色素 C、caspase-9 和 caspase-3 表达 ($\bar{x} \pm s$)

Tab 2 Expression of Cytochrome C, caspase-3 and caspase-9 ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | 细胞色素 C | caspase-9 | caspase-3 |
|----|------------------|------------------|------------------|
| A | 3.7542 ±1.1869 | 3.1837 ±1.3627 | 2.7562 ±1.2761 |
| B | 5.7397 ±1.2963 * | 5.0527 ±1.0667 * | 5.9242 ±1.6728 * |
| C | 7.6286 ±1.0629 * | 6.9782 ±1.2869 * | 7.7197 ±1.1869 * |
| D | 8.9784 ±1.1265 * | 8.7281 ±1.0691 * | 8.9942 ±1.0014 * |

与对照组相比, * P<0.05;各干预组间比较, P<0.05



A:control;B:celecoxib;C:5-FU;D:celecoxib+5FU

图4 塞来昔布及 5-Fu 对移植瘤细胞细胞色素 C、Caspase-9 和 Caspase-3 蛋白表达的影响

Fig 4 Effect of combined celecoxib and 5-Fu therapy against the protein rates of Cytochrome C, caspase-3 and caspase-9

3 讨论

结肠癌是消化系统常见恶性肿瘤之一,并呈逐年上升趋势,目前在我国为癌症发病率的第四位,男女发病率分别为37.2/10万和33.5/10万,并且结肠癌的死亡率很高,超过50%的结直肠癌会发展到晚期或发生转移^[3]。结肠癌早期诊断困难,放疗、化疗仍然是其治疗的主要手段,5-Fu 作为结肠癌临床化疗一线药物,单药有效率为24%~31%,加大剂量可能会出现严重的毒副作用,而且逐渐增加的耐药性也限制了其用量和疗效^[4]。联合治疗是有可能进一步提高肿瘤病人化疗疗效,同时减少单药使用不

良反应的抗肿瘤策略。

近年非细胞毒性药物在肿瘤治疗研究中受到关注^[1],在非细胞毒性药物中,环氧化酶(COX)抑制剂在抑制肿瘤生长方面的研究已有很多进展。塞来昔布是一种高选择性 COX-2 抑制剂,与传统的 NSAIDS 相比,塞来昔布药理作用更强且不良反应较少^[3]。近来的一些研究发现,选择性 COX-2 抑制剂可以提高肿瘤细胞对多种化疗药物的敏感性,使化疗药物的 IC₅₀ 下降近 70%^[5]。Zheng^[6]等以体外培养的多种肺癌细胞株作为研究对象,观察选择性 COX-2 抑制剂尼米舒利对于多种抗肿瘤药物(包括 DDP、VP16 等)的影响,结果表明当尼米舒利与细胞毒化疗药物联合应用时,具有协同效应。张有成^[7]等发现选择性 COX-2 抑制剂 NS-398 可增强 5-Fu 对结肠癌细胞的抑制作用。因此,本研究选择塞来昔布与 5-Fu 对实验性人结肠癌裸鼠皮下移植瘤的生长进行干预,结果发现两者均对皮下移植瘤的生长具有明显抑制作用,塞来昔布干预组、5-Fu 干预组和联合干预组抑瘤率分别为27.81%、53.02%和78.37%,与对照组比较差异具有统计学意义(P<0.05),且干预组之间两两比较抑瘤率差异也具有统计学意义(P<0.01)。四组中联合用药组(D组)瘤体体积最小、瘤重最轻,抑瘤率最高。染色光镜及电镜下可见经药物干预的肿瘤细胞出现典型的凋亡形态学变化,细胞皱缩,细胞核体积缩小,核固缩,核破裂以及凋亡小体形成,凋亡改变尤以联合用药组最为明显。TUNEL 法也表明联合药物干预组其 TUNEL 阳性率明显高于其余三组(P<0.01)。

为了进一步探讨塞来昔布化疗增敏作用的机制,我们检测了胞质中细胞色素 C、caspase-9 和 caspase-3 蛋白的表达,实验中免疫组化和 western-blot 结果均证实塞来昔布与 5-Fu 在诱导肿瘤细胞凋亡过程中均伴有细胞色素 C 蛋白表达明显上调,

作为细胞色素 C 的下游信号 caspase-9 与 caspase-3 其蛋白表达同样明显上调,并且两药联合应用时蛋白表达上调尤为明显,提示两药联合应用时具有协同抗肿瘤作用,其作用机制可能与显著上调细胞色素 C、caspase-3 及 caspase-9 蛋白表达、激活细胞色素 C 依赖性凋亡信号通路有关。另有研究证实某些 NSAIDs 如消炎痛、舒林酸等通过可抑制与化疗药物外流有关的细胞膜上的跨膜蛋白 ATP 依赖性流出泵 (multidrug resistance associated protein, MRP) p2 糖蛋白 (p2170) 的过度表达,以及抑制谷胱甘肽转移酶的活性,从而抑制化疗药物的细胞外流,增加化疗药物及其活性代谢产物在细胞内的浓度,减少肿瘤细胞对化疗药物的多药物耐受^[8] (multiple drug resistance, MDR),这一作用与 COX-2 的酶活性无关,加入 PGD2 或 PGE2 并不能逆转该作用,其机制不明。Yip-Schneider^[9] 等实验表明,NSAIDs 可增加胰腺癌细胞对吉西他滨的敏感性,其作用与 NSAIDs 对胰腺癌细胞的细胞周期阻滞作用有关,NSAIDs 使胰腺癌细胞的 cyclinD1 的表达下调,细胞阻滞于对吉西他滨敏感的 G₁ 期,使细胞对吉西他滨的反应性增加,增强了吉西他滨杀伤肿瘤的作用,并且 COX-2 抑制剂还可能通过抑制血管生成而发挥化疗增敏作用。

目前研究表明,包括选择性 COX-2 抑制剂在内的非甾体类抗炎药 (NSAIDs) 可增强多种肿瘤对化疗药物的敏感性,但其机制目前仍不明了,可能涉及多个分子机制。本实验在建立裸鼠皮下移植瘤模型的基础上应用塞来昔布与 5-Fu 联合进行药物干预,证实塞来昔布及 5-Fu 各有其独立的抗肿瘤作用,均可作为独立的促凋亡信号诱导肿瘤细胞凋亡,两药联合应用时具有协同抗肿瘤作用,初步阐明了其作用机制可能与显著上调细胞色素 C、caspase-3 及

caspase-9 蛋白表达、激活细胞色素 C 依赖性凋亡信号通路有关。

参考文献:

- [1] Ishikawa H, Ohno T, Kato S, et al. Cyclooxygenase-2 impairs treatment effects of radiotherapy for cervical cancer by inhibition of radiation-induced apoptosis[J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2006, 66(5): 1347-1355.
- [2] M Krajewska, S Krajewski, JI Epstein, et al. Immunohistochemical analysis of bcl-2, bax, bcl-X, and mcl-1 expression in prostate cancer[J]. *American Journal of Pathology*, 1996, 148(5): 1567-1576.
- [3] De Gramont A, Figuer A, Seymour M, et al. Leucovorin and fluorouracil with or without oxaliplatin first-line treatment in advanced colorectal cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2000, 18(2): 2938-2942.
- [4] Douillard J Y, Hoff P M, Skillings J, et al. Multicenter phase III study of uracil/tegafur and oral leucovorin versus fluorouracil and leucovorin in patients with previously untreated metastatic colorectal cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2002, 20(6): 3605-3611.
- [5] Parashar B, Latha Shankar S, O'Guin K, et al. Inhibition of human neuroblastoma cell growth by CA Y10404, a highly selective COX-2 inhibitor[J]. *J Neurooncol*, 2005, 71(2): 141-148.
- [6] Zheng Y, Ritzenthaler JD, Roman J, et al. Nicotine Stimulates Human Lung Cancer Cell Growth by Inducing Fibronectin Expression[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2007, 37(6): 681-690.
- [7] 张有成, 王杉, 张辉, 等. 选择性环氧酶-2 抑制剂 NS-398 抗结肠癌机制及对 5-氟尿嘧啶化疗的辅助作用[J]. *中华医学杂志*, 2004, 84(7): 583-586.
- [8] Thomas H, Coley HM. Overcoming multidrug resistance in cancer; an update on the clinical strategy of inhibiting P-glycoprotein[J]. *Cancer Control*, 2003, 10(3): 159-165.
- [9] Yip-Schneider MT, Wu H, Ralstin M, et al. Suppression of pancreatic tumor growth by combination chemotherapy with sulindac and LC-1 is associated with cyclin D1 inhibition in vivo[J]. *Mol Cancer Ther*, 2007, 6(6): 1736-1744.

[编辑:安凤;校对:贺文]