

· 论 著 ·

川芎嗪对人卵巢癌顺铂耐药细胞株 COC1/DDP 的逆转作用研究*

刘明华,任美萍,李 蓉,章 卓,肖顺汉[△]
(泸州医学院药理教研室,四川泸州 646000)

摘要:目的 建立人卵巢癌顺铂耐药细胞株 COC1/DDP,探讨川芎嗪对 COC1/DDP 顺铂耐药性的逆转作用及其机制。方法 采用逐步递增 DDP 浓度、体外间歇诱导法诱导建立人卵巢癌顺铂耐药细胞株 COC1/DDP;CCK-8(cell counting kit-8)检测川芎嗪对 COC1/DDP 细胞顺铂耐药性的逆转作用;GSH 和 GSSG 试剂盒检测细胞内 GSH 的水平,高效液相色谱测定细胞内顺铂的含量。结果 历时 5 个月建立了在 1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ DDP 作用下生长良好的耐药细胞株 COC1/DDP,耐药指数为 9.44,对卡铂、长春新碱和阿霉素有不同程度的交叉耐药性;川芎嗪 0.25 mg/mL 对 COC1/DDP 的顺铂耐药性有逆转作用,逆转倍数达到 3.76 倍;与 COC1 比较,COC1/DDP 细胞内 GSH 水平增高,顺铂含量下降,但经川芎嗪 0.25 mg/mL 干预后,COC1/DDP 胞内的 GSH 水平降低,顺铂的含量增加($P < 0.01$)。结论 川芎嗪对 COC1/DDP 的顺铂耐药性有逆转作用,其机制可能与干预 COC1/DDP 细胞内 GSH/GST- π 解毒系统,增加细胞内顺铂的含量有关。

关键词:川芎嗪;顺铂;COC1/DDP;多药耐药性

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2011.20.003

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2011)20-1982-03

Reversal effect of tetramethylpyrazine on cisplatin-resistant ovarian cancer cell line COC1/DDP*

Liu Minghua, Ren Meiping, Li Rong, Zhang Zhuo, Xiao Shunhan[△]

(Pharmacology Department of Luzhou Medical College, Luzhou, Sichuan 646000, China)

Abstract: **Objective** To establish a cisplatin-resistant ovarian cancer cell line COC1/DDP, and observe the reversal effect and mechanism of tetramethylpyrazine on COC1/DDP cell. **Methods** COC1/DDP cell line was established by gradually increasing the concentration of cisplatin and intermittent-induced method to COC1 cell line in vitro. Reversal effect of tetramethylpyrazine on COC1/DDP cell proliferation was detected by Cell Counting Kit-8. The level of GSH was determined by GSH and GSSG Kit. The content of cisplatin was detected by HPLC. **Results** COC1/DDP was developed after 5 month, with stable resistance to cisplatin, not only resistance index was 9.44, but also exhibited cross-resistance to carboplatin, vincristine and adriamycin at different degree. Tetramethylpyrazine 0.25 mg/mL displayed the reversal effect on COC1/DDP cell line and the reversal fold was 3.76. Compared to the COC1 cell line, the level of GSH increased but the cisplatin content decreased in COC1/DDP cells, however, after the intervention of tetramethylpyrazine 0.25 mg/mL , the level of GSH decreased while the cisplatin content increased in COC1/DDP cell ($P < 0.01$). **Conclusion** Tetramethylpyrazine exhibits the reversal effect on COC1/DDP, its mechanism may be related to increasing the content of cisplatin by effecting on GSH/GST- π detoxification systems in COC1/DDP cells.

Key words: tetramethylpyrazine; cisplatin; COC1/DDP; MDR

肿瘤化疗新的治疗手段中,耐药逆转剂是一类很有实用价值的新型药物,它们能增加肿瘤细胞对化疗药物的敏感性,从而提高药物疗效^[1]。顺铂(cisplatin, DDP)为一广谱、高效抗癌药,对卵巢癌、睾丸癌、头颈部癌及肺癌均有较高疗效,但由于耐药性的产生使其不能发挥应有的作用,常常导致化疗失败^[2-3]。因此,提高卵巢癌的化疗敏感性,降低化疗耐药尤其是常用化疗药物顺铂的耐药性是改善临床预后的关键^[4-5]。本研究采用人卵巢癌细胞株 COC1 为诱导对象,采用逐步递增 DDP 浓度、间歇作用的体外诱导法,建立人卵巢癌顺铂耐药细胞株 COC1/DDP,并研究川芎嗪对 COC1/DDP 顺铂耐药性的逆转作用及其机制。

1 材料与与方法

1.1 药物与试剂 川芎嗪(tetramethylpyrazine),无色针状结晶,纯度大于或等于 98%,由上海楚柏实验室设备有限公司提供。精确称取川芎嗪 100 mg ,溶于 10 mL 单 RPMI-1640 培养液,以 0.22 μm 超滤除菌器过滤除菌,制成 10 mg/mL 的川芎嗪浓缩含药培养液,临用前用培养液稀释备用。顺铂注射液来

自云南个旧生物药业有限公司, RPMI-1640 为 Gibco 公司产品,胰蛋白酶为美国 Sigma 公司产品,胎牛血清为天津灏洋生物制品科技责任有限公司产品, CCK-8(cell counting kit-8)、谷胱甘肽(glutathione, GSH)和 GSSG 试剂盒为碧云天生物技术研究所产品。

1.2 细胞株 亲代卵巢癌细胞 COC1 来自分化差的人卵巢癌患者的癌性腹水,由中国医学科学院肿瘤医院 1993 年建株,由中国典型培养物保藏中心(CCTCC)提供。采用含 10%胎牛血清的 RPMI-1640、pH 7.4 完全培养基,在 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 条件下常规培养。

1.3 耐药细胞系耐药性的建立 COC1 细胞采用含 10%胎牛血清的 RPMI-1640 完全培养基, 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 条件下常规培养,细胞呈悬浮生长。待生长稳定后,取对数生长期 COC1 细胞培养在含 DDP 的 RPMI-1640 培养液中,逐步提高 DDP 浓度间歇诱导,剂量为 0.1、0.2、0.4、0.8、1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$,最终获得 1 株能完全耐受 1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ DDP 的细胞株,细胞诱导成功后,将细胞在无药物的培养基中培养 1 个月,再进行各项实验。

* 基金项目:四川省卫生厅科学研究基金资助项目(060058)。

[△] 通讯作者, Tel:(0830)3193872; Email:liumhvip@163.com。

1.4 COC1/DDP 对各种抗癌药的耐药指数 取对数生长期的 COC1/DDP 细胞制成细胞悬液,细胞浓度 1×10^5 /mL,接种于 96 孔板,每孔 90 μ L,空白孔加入 90 μ L RPMI-1640,并加入终浓度分别为 0.01、0.1、1、10、100 μ g/mL 的顺铂、卡铂、长春新碱、阿霉素等 4 种抗癌药物,每一浓度重复 3 孔,阴性对照组加等体积无血清 RPMI-1640,并设空白对照组,置 37 $^{\circ}$ C,5% CO₂ 孵箱内培养 48 h 后每孔加入 CCK-8 继续培养 1 h,酶标仪 450 nm 波长下检测各孔吸光度 A 值,按下列公式计算抑制率:细胞增殖抑制率 = $[1 - (A_{\text{给药组}} - A_{\text{空白孔}}) / (A_{\text{阴性对照组}} - A_{\text{空白孔}})] \times 100\%$,LOGIT 法计算各种抗癌药物的半数抑制浓度(IC₅₀)及耐药指数(resistance index, RI),RI = IC₅₀(耐药细胞)/IC₅₀(亲本细胞)。

1.5 细胞生长曲线和群体倍增时间测定 将 5×10^4 /mL 对数生长期单细胞悬液接种至 24 孔培养板中,37 $^{\circ}$ C,5% CO₂ 条件下培养。每日取 3 孔细胞进行计数,连续观察 7 d。以培养时间为横轴,细胞数为纵轴绘制细胞生长曲线,并按 Patterson 公式计算群体倍增时间(doubling time, TD)。TD = $T \times \log 2 / (\log N_t - \log N_0)$ (其中 N₀ 为初始细胞数, N_t 为终末细胞数, T 为 N_t - N₀ 时间)。

1.6 川芎嗪对 COC1/DDP 顺铂耐药性的逆转作用

1.6.1 最适逆转浓度的确定 将不同浓度的川芎嗪(1、0.5、0.25、0.125、0.062 5 mg/mL)加入 96 孔板,测定细胞存活率,确定川芎嗪对 COC1/DDP 的毒性作用,以 COC1/DDP 细胞存活率大于或等于 90% 作为最适逆转浓度。

1.6.2 对 COC1/DDP 顺铂耐药性的逆转作用 COC1/DDP 细胞按 1×10^5 /mL 接种至 96 孔培养板,经 24 h 培养后,每孔加药 10 μ L。对照组加入不同浓度 DDP,逆转组加入川芎嗪最适逆转浓度和不同浓度 DDP 的混合液(对照组和逆转组 DDP 的终浓度分别为 0.01、0.1、1、10、100 μ g/mL)。阴性对照组每孔加入磷酸盐缓冲液(PBS)10 μ L,并设空白对照。置 37 $^{\circ}$ C,5% CO₂ 培养箱内培养 48 h 后加入 CCK-8 10 μ L,继续培养 1 h,酶标仪 450 nm 波长下检测各孔吸光度 A₄₅₀ 值,计算 IC₅₀ 及逆转倍数。

1.7 细胞内 GSH 水平测定 将 COC1、COC1/DDP 及经川芎嗪最适逆转浓度预处理 12 h 的 COC1/DDP 细胞,按 GSH 和

GSSG 检测试剂盒说明书检测细胞内 GSH 的含量。

1.8 高效液相色谱仪测定细胞内顺铂含量 取 COC1、COC1/DDP 及经川芎嗪最适逆转浓度预处理 12 h 的 COC1/DDP 细胞,在含有 5 μ g/mL 顺铂培养液中培养 4 h,用冷 PBS 洗 2 次,2 700 r/min 离心 5 min,然后用高效液相色谱测定细胞内顺铂的含量(顺铂的浓度用测定每 1×10^6 个细胞中的顺铂量表示)。色谱条件为:氨基键合硅胶柱,二甲基甲酰胺为样品溶剂,流动相为乙酸乙酯:甲醇:二甲基甲酰胺:水(25:16:5:5,V/V/V/V),在 310 nm 检测,流速 1.5 mL/min,进样量 20 μ L。

1.9 统计学处理 结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示,用 SPSS13.0 统计软件行单因素方差分析(组间比较用 SNK 法),以 $\alpha = 0.05$ 为检验水准。

2 结 果

2.1 COC1/DDP 耐药细胞株的建立及多药耐药特征 历时 5 个月获得了 1 株在 1.0 μ g/mL DDP 作用于生长良好的耐药细胞株 COC1/DDP,CCK-8 试剂盒检测表明 COC1/DDP 细胞对顺铂的 IC₅₀ 值为 COC1 细胞的 9.44 倍,并对卡铂(Carboplatin)、长春新碱(VCR)和阿霉素(ADM)的耐药性也提高了约 2~5 倍不等(表 1)。

2.2 COC1 和 COC1/DDP 细胞生长曲线和倍增时间 COC1 和 COC1/DDP 细胞的生长曲线(图 1)。COC1 细胞的倍增时间为 (32.99 \pm 0.20) h, COC1/DDP 细胞的倍增时间为 (40.15 \pm 0.54)h,耐药细胞的倍增时间延长 1.22 倍。

2.3 川芎嗪对 COC1/DDP 顺铂耐药性的逆转作用 川芎嗪单独应用,低浓度对 COC1/DDP 几无明显毒性作用,在 0.25 mg/mL 时对 COC1/DDP 细胞的抑制率为接近 10%,因此将川芎嗪在 0.25 mg/mL 设为该药物的最适逆转浓度。DDP 单独作用于 COC1/DDP 细胞时 IC₅₀ 为 (9.63 \pm 0.24) μ g/mL,但当川芎嗪 0.25 mg/mL 与不同浓度的 DDP 合用时 DDP 的 IC₅₀ 为 (2.56 \pm 0.02) μ g/mL,逆转倍数达到 3.76 倍,结果见表 2。

2.4 细胞内 GSH 水平及顺铂含量的变化 与 COC1 比较, COC1/DDP 细胞内 GSH 的水平增高,顺铂含量下降,但经 0.25 mg/mL 川芎嗪干预后, COC1/DDP 胞内的 GSH 的水平降低,顺铂的含量增加(P < 0.01)。结果见表 3。

表 1 药物对 COC1 和 COC1/DDP 细胞的半数抑制浓度($\bar{x} \pm s, n=3$)

细胞	IC ₅₀ (μ g/mL)			
	顺铂	卡铂	长春新碱	阿霉素
COC1	1.02 \pm 0.07	1.39 \pm 0.02	48.50 \pm 1.82	2.03 \pm 0.29
COC1/DDP	9.63 \pm 0.24**	6.41 \pm 0.11**	79.67 \pm 0.95**	10.05 \pm 0.07**
耐药指数(RI)	9.44	4.61	1.64	4.95

*: P < 0.05, **: P < 0.01, 与 COC1 比较。

表 2 川芎嗪对 COC1/DDP 顺铂耐药性的逆转作用($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	抑制率(%)				
	DDP 0.01 μ g/mL	DDP 0.1 μ g/mL	DDP 1 μ g/mL	DDP 10 μ g/mL	DDP 100 μ g/mL
单用顺铂	0.14 \pm 0.04	1.23 \pm 0.16	12.06 \pm 0.13	48.15 \pm 3.14	90.35 \pm 0.55
顺铂+川芎嗪	4.93 \pm 0.03**	12.86 \pm 1.56*	25.03 \pm 1.13**	57.40 \pm 3.52**	94.46 \pm 1.20**

*: P < 0.05, **: P < 0.01, 与单用顺铂比较。

表 3 川芎嗪对细胞内 GSH 和顺铂含量的影响($\bar{x} \pm s, n=3$)

项目	COC1	COC1/DDP	COC1/DDP+川芎嗪
GSH(nmol/10 ⁶ cells)	4.37±0.32	12.44±0.50**	6.23±0.70*△
顺铂(ng/10 ⁶ cells)	49.57±2.78	25.03±3.81**	34.88±1.86*△△

*: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$, 与 COC1 比较; △: $P < 0.05$, △△: $P < 0.01$, 与 COC1/DDP 比较。

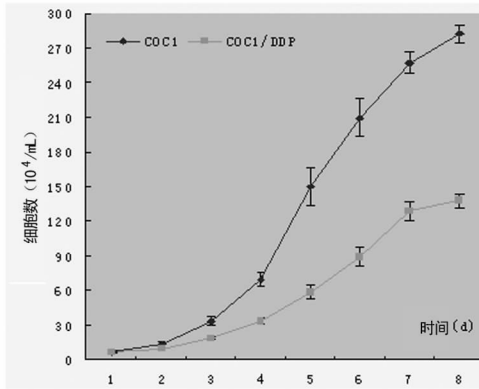


图 1 COC1 和 COC1/DDP 细胞的生长曲线($n=3$)

3 讨论

多药耐药(multidrug resistance, MDR)是指肿瘤细胞一旦对某种化疗药物产生耐药性,同时对其他结构无关、作用机制亦各异的药物也产生交叉耐药性,这是一种独特的广谱耐药现象,是导致肿瘤化疗失败的最主要原因^[6]。本研究采用逐步递增 DDP 浓度、体外间歇诱导法诱导人卵巢癌细胞系 COC1,建立了 1 株在 1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ DDP 作用下生长良好的耐药细胞株 COC1/DDP,耐药指数为 9.44,而且 COC1/DDP 对卡铂、长春新碱和阿霉素的药物敏感性也有不同程度的降低,说明 COC1/DDP 细胞具有多药耐药性。同时实验表明,与亲代细胞 COC1 比较,COC1/DDP 细胞中 GSH 的含量明显增高,顺铂的含量明显降低($P < 0.01$),说明 COC1/DDP 的耐药机制可能与 GSH/GST- π 解毒系统活性增强,使细胞内顺铂主动外排增加有关。

川芎嗪为中药川芎的主要成份,与维拉帕米相似,具有钙离子通道阻滞剂活性,临床上多用于心、脑血管疾病的治疗。近年来发现川芎嗪可部分纠正阿霉素对小鼠腹水癌的抗药性^[7],逆转肿瘤细胞株 KBV200 多药耐药性^[8],以及对 HL-60/VCR 细胞株及肺癌细胞 SPCA-1/ADM 的 MDR 有逆转作用^[9]。Versantvoort 等^[10]研究表明,在顺铂耐药的卵巢癌细胞株中常发现谷胱甘肽(GSH),GSH 全称 L- γ -谷氨酰-L-半胱氨酸-甘氨酸,GSH 含量增加与细胞对铂类的耐药程度相平行,顺铂耐药与胞质中 GSH 水平的相关系数高达 0.96。GSH 可能从以下几个方面参与了肿瘤细胞耐药机制的形成:(1)GST- π 可催化 GSH 与亲电性抗癌药物迅速结合,加速抗癌药物的降解,使药物在靶部位的积蓄量迅速减少,从而达不到致死浓度^[11-12]。(2)GST- π 可催化脂溶性抗癌药物与胆红素及甾体化合物等结合,加速药物的排泄,并保护膜脂质成分不被自由基等损伤。(3)GSH 作为还原剂还原某些细胞毒性代谢产物。(4)GST- π 可催化 GSH 与细胞核内“药物-DNA”单一功能复合物结合,阻止其形成具有细胞毒性的双功能复合物(如铂-DNA 复合物),并且加强对损伤 DNA 的修复能力,从而使抗

肿瘤药物的细胞毒性降低^[13-14]。(5)GST- π 在癌细胞内表达水平及活性增加,使抗肿瘤药物降解加速,排泄加快,细胞内有效药物浓度持续时间缩短,相应地缩短了抗肿瘤药物有效地作用于靶部位的时间,从而降低抗肿瘤药物的细胞毒性^[15-16]。

本研究应用川芎嗪对人卵巢癌细胞 COC1/DDP 的生长进行观察,其 IC₅₀ 值均有明显下降,说明川芎嗪对 COC1/DDP 细胞有明显的逆转作用,加入川芎嗪后 COC1/DDP 胞内 GSH 含量明显下降,顺铂的含量却明显增加($P < 0.01$)。因此,川芎嗪的逆转作用可能与影响 COC1/DDP 胞内 GSH/GST- π 解毒系统有关,同时也进一步明确了 GSH/GST- π 解毒系统在肿瘤多药耐药性和抗癌药物外排的重要作用。

参考文献:

- [1] Li X, Ling V, Li PC. Same-single-cell analysis for the study of drug efflux modulation of multidrug resistant cells using a microfluidic chip[J]. *Anal Chem*, 2008, 80(11):4095-4102.
- [2] 陈建利,江森,杨瑞芳,等.人卵巢上皮性癌顺铂耐药细胞系 3A0/cDDP 模型的建立及耐药机理的实验研究[J]. *现代妇产科进展*, 2000, 9(3):178-180.
- [3] Poon RT, Fan ST, Wong J. Risk factors, prevention and management of postoperative recurrence after resection of hepatocellular carcinoma[J]. *Ann Surg*, 2000, 232(1):10-12.
- [4] 吴翠芳,曾嵘,周于禄,等.芦荟大黄素对人肺腺癌细胞顺铂多药耐药性的逆转作用[J]. *中国医院药学杂志*, 2008, 28(13):1061-1062.
- [5] 刘振洋,陶一明,向芳,等.不同温度热疗逆转人肺癌细胞 A549/CDDP 耐药性的研究[J]. *肿瘤基础与临床*, 2009, 22(3):189-192.
- [6] 靳胜,陈书恩,张曼,等.姜黄素逆转 HL60/ADR 及 MCF-7/ADR 的多药耐药研究[J]. *重庆医学*, 2010, 39(1):21-23.
- [7] 胡艳平,刘健,王庆端,等.川芎嗪和维拉帕米纠正阿霉素对小鼠艾氏腹水癌的抗药性[J]. *药学学报*, 1993, 28(1):75-78.
- [8] 徐建业,周琦,汤伟.汉防己甲素、罗通定及川芎嗪对肿瘤细胞株 KBV200 多药耐药性逆转作用的研究[J]. *重庆医学*, 2005, 34(9):1383-1386.
- [9] 戚晓敏,单根法,张辅贤,等.川芎嗪逆转肺癌细胞株多药耐药性的研究[J]. *上海第二医科大学学报*, 2003, 3(1):31-33.
- [10] Versantvoort CH, Broxterman HJ, Bawj T, et al. Regulation by glutathione of drug transport in multidrug-resistant human lung turnout cell lines overexpressing multidrug resistance-associated protein[J]. *Br J Cancer*, 1995, 72(1):82-89.
- [11] Zhang T, Guan M, Jin HY. Reversal of multidrug resistance by small interfering double-stranded RNAs in ovarian cancer cells[J]. *Gynecol Oncol*, 2005, 97(2):501-507.
- [12] 梁蓉,杨平地,陈协平,等.川芎嗪对白血病 HL-60/VCR 细胞多药耐药的逆转及其机制的研究[J]. *中华血液学杂志*, 1999, 20(6):323-326.

(下转第 1987 页)

陷,患者常因时间、经济、美观等方面的原因不能坚持复诊至治疗结束,最终导致治疗失败和病源流失。而 MTA 最突出的优点就是能即刻形成根尖屏障,有效缩短疗程,大大减少患者的就诊次数。

MTA 不仅治疗成功率更高,而且治疗次数、周期和综合成本-效益比远小于 Vitapex。虽然单次的治疗成本高,但减少了需多次复诊带来的间接成本,成本最小化计算结果反而较低。提示患儿及其家长不要忽略由于请假、旷课带来的间接损失。且在完成根诱导后,MTA 填充的根尖部有坚实的封闭,不用担心根充材料的超充,余留空间可用常规方法充填,如快捷的热塑注射牙胶充填。而 Vitapex 诱导的根管口不一定完全闭合,因此,对其进行充填较为复杂,且需较高的充填技术。

考虑到并非所有医院、各个科室或诊所均有条件配置根管显微镜和 MTA 专用输送器、加压器,所以,在医疗条件有限的情况下,采用修整过的光滑髓针充填是一种简单、经济的方法。将光滑髓针剪去部分尖端,套上止动片插入根管内,不断调试,使其可插入根管的长度=根管工作长度-4 mm。而后用调刀将 MTA 置于根管口,以较粗的髓针头沿根管壁不断加压充填,直至用于定位的止动片与洞缘平齐,说明此时 MTA 的厚度已达到 4 mm。此方法可保证充填严密和较好的防止超充,也有利于降低科室固定成本。

在筛选病例时,本文选择牙根发育达到或超过 2/3 的患牙是考虑到 MTA 进行根尖封闭后牙根的长度不会再增加,而 Vitapex 进行诱导时如根尖区仍有健康活髓,根尖还会继续发育,牙根长度会稍有增加。所以,对于牙根发育不足、根尖孔开放、根尖牙髓仍有活力的患牙,还应首选 Vitapex 先行诱导^[9],即使根尖不能闭合,治疗失败,也可以再换行 MTA 封闭。但对于已发生全部牙髓感染或长期牙髓坏死或伴发根尖周炎的患牙,根尖周组织多有明显的骨质破坏,牙乳头已无活力,且超过了牙根继续发育的年龄,尤其对于成年患者无需再使用 Vitapex 进行试验性治疗,而应直接选择 MTA 进行根尖封闭。

治疗完成后请患者填写 MTA 问卷调查,80% 的患者认为可获得良好的根尖屏障,95.5% 的患者认为减少复诊次数是这一技术的优点。64% 的患者认为运用 MTA 治疗的花费过多,还有 50% 的患者认为与传统材料相比,缺乏足够有效病例和长期跟踪随访是它的缺点。国外 Witherspoon 等^[15]对 MTA 治疗开放根尖孔的 144 颗牙齿进行了长达 8 年的回顾性研究,平均一颗牙齿随访时间 19.4 个月,90% 以上的患牙长期保存率良好,而国内尚无这样长期的随访研究报告。提示在未来的研究中强调多分组随机对照实验和设计前瞻性研究的必要。

参考文献:

[1] Finucane D, Kinirons M. No-vital immature permanent in-

cisors; factors that may influence treatment outcome[J]. Endo Dent Traumatol, 1999, 15(6): 273-277.

[2] Torabinejad M, Rastegar AF, Kettering JD, et al. Bacterial leakage of mineral trioxide aggregate as a root filling material[J]. J Endod, 1995, 21(3): 109-112.

[3] Yatsushiro JD, Baumgartner CJ, Tinkle JS. Longitudinal study of two root-end filling materials using a fluid conductive system[J]. J Endod, 1998, 24(11): 716-719.

[4] Torabinejad M, Chivian N. Clinical applications of mineral trioxide aggregate[J]. J Endod, 1999, 25(3): 197-205.

[5] 黄弘, 罗俊, 刘鹏. 无机三氧化聚合物用于根管倒充填的临床研究[J]. 重庆医学, 2009, 38(23): 2932-2935.

[6] 赵俊颖, 史俊南, 金爱琼, 等. MTA 应用于牙齿直接盖髓术远期疗效临床研究[J]. 临床口腔医学杂志, 2007, 23(9): 542-544.

[7] El-Meligy OA, Avery DR. Comparison of mineral trioxide aggregate and calcium hydroxide as pulpotomy agents in young permanent teeth[J]. Pediatr Dent, 2006, 28(5): 399-404.

[8] 赵俊颖, 史俊南, 金爱琼, 等. MTA 应用于切髓术、根尖诱导成形术疗效观察[J]. 牙体牙髓牙周病学杂志, 2007, 17(2): 93-94.

[9] 杨婕, 朱玲, 马华思. 根尖诱导成形术对年轻恒牙根尖闭合的影响[J]. 现代口腔医学杂志, 2009, 23(5): 468-471.

[10] 吴友农, 王家良, 史宗道. 儿童龋病充填中两种预防牙科畏惧症方法的成本效果分析[J]. 牙体牙髓牙周病学杂志, 2002, 12(7): 378-381.

[11] 黄爱荣, 黄时美, 黄庭标, 等. 3 种不同药物对高血压患者降压效果及其消费成本的对比分析[J]. 中国医院用药评价与分析, 2009, 9(6): 460-462.

[12] 徐琼, 凌均荣, 谷海晶, 等. MTA 治疗成年患者根尖孔未闭合患牙的疗效评价[J]. 华西口腔医学杂志, 2006, 24(4): 312-314.

[13] 文玲英. 根尖诱导成形术[J]. 牙体牙髓牙周病学杂志, 2000, 10(3): 187-189.

[14] Lee SJ, Monsef M, Torabinejad M. Sealing ability of a mineral trioxide aggregate for repair of lateral root perforations[J]. J Endod, 1993, 19(11): 541-544.

[15] Witherspoon DE, Small JC, Regan JD, et al. Retrospective analysis of open apex teeth obturated with mineral trioxide aggregate[J]. J Endod, 2008, 34(10): 1171-1176.

(收稿日期: 2010-11-13 修回日期: 2011-02-26)

(上接第 1984 页)

[13] 印国兵, 孙治君, 郭丹, 等. Pgp、MRP1 和 GST 介导乳腺癌细胞对 As₂O₃ 耐药的初步研究[J]. 重庆医学, 2010, 39(7): 812-814.

[14] Lewandowicz GM, Bfitt P, Elgie AW, et al. Cellular glutathione content, in vitro chemoresponse, and the effect of BSO modulation in samples derived from patients with advanced ovarian cancer[J]. Gynecol Oncol, 2002, 85(2): 298-304.

[15] 王玲, 刘世坤, 周于禄, 等. 华蟾素对人乳腺癌细胞阿霉素多药耐药性的逆转作用[J]. 中国药理学通报, 2007, 23(5): 677-680.

[16] Wang LS, Chow KC, Wu YC, et al. Inverse expression of dihydrodiol dehydrogenase and glutathione-S-transferase in patients with esophageal squamous cell carcinoma[J]. Int J Cancer, 2004, 111(2): 246-251.

(收稿日期: 2010-11-10 修回日期: 2011-02-10)