

吲哚美辛增强阿霉素对胶质瘤 U251细胞毒性的研究

黄宁程远*

(重庆医科大学附属第二医院神经外科, 重庆 400010)

摘要 非甾体类抗炎药物(nonsteroidal anti-inflammatory drugs, NSAIDs)能增强化疗药物对肿瘤细胞的细胞毒性作用。该研究首先筛选出无细胞毒性剂量的吲哚美辛,采用MTT法和流式细胞仪分别检测阿霉素或阿霉素联合低剂量吲哚美辛对U251细胞增殖和早期凋亡的影响;并应用RT-PCR和Western blot检测吲哚美辛对ABCG2、MDR1和MRP1的影响。结果显示,20 $\mu\text{mol/L}$ 吲哚美辛对胶质瘤U251细胞无显著生长抑制($P>0.05$),可作为无细胞毒性剂量使用;0.8 mg/L阿霉素组和20 $\mu\text{mol/L}$ 吲哚美辛联合0.8 mg/L阿霉素组与对照组相比细胞增殖显著下降($P<0.05$),且吲哚美辛联合阿霉素组较单独使用阿霉素组的生长抑制作用更为显著($P<0.05$);72 h后单独使用阿霉素组和阿霉素联合吲哚美辛组细胞早期凋亡率均增加($P<0.01$),但阿霉素联合吲哚美辛组较阿霉素组凋亡率上升更为明显($P<0.05$);RT-PCR和Western blot证实吲哚美辛能够下调ABCG2、MDR1和MRP1的表达($P<0.05$)且呈现出浓度依赖性。提示吲哚美辛能够增强阿霉素对胶质瘤U251细胞的生长抑制作用,其机制与吲哚美辛下调耐药基因的表达有关。

关键词 胶质瘤;吲哚美辛;阿霉素;耐药基因

Enhanced Cell Toxicity of Adriamycin by Indomethacin on U251 Glioma Cell

Huang Ning, Cheng Yuan*

(Department of Neurosurgery, Second Affiliated Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing 400010, China)

Abstract Nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) can enhance cell toxicity of chemotherapy on tumor cells. In this experiment, indomethacin with non-toxicity dose was screened out. When U251 glioma cells were treated with adriamycin alone or adriamycin combined with low dosage of indomethacin, the cell proliferation and early apoptosis rate were observed by MTT and flow cytometry, respectively. The impacts of indomethacin on ABCG2, MDR1 and MRP1 were detected by RT-PCR and Western blot. The results showed that cell growth was not influenced by 20 $\mu\text{mol/L}$ indomethacin ($P>0.05$) which was used as a non-toxicity dosage. Compared with control group, proliferation rate was decreased ($P<0.05$) when exposed to 0.8 mg/L adriamycin or 20 $\mu\text{mol/L}$ indomethacin combined with 0.8 mg/L adriamycin, but proliferation rate was lower in indomethacin combined with adriamycin group than that in adriamycin alone group ($P<0.05$). The early apoptosis rate was increased in U251 cells treated with 0.8 mg/L adriamycin alone or 20 $\mu\text{mol/L}$ indomethacin combined with 0.8 mg/L adriamycin for

收稿日期: 2012-12-04 接受日期: 2013-01-25

*通讯作者。Tel: 023-63693538, E-mail: chengyuan023@yahoo.com.cn

Received: December 4, 2012 Accepted: January 25, 2013

*Corresponding author. Tel: +86-23-63693538, E-mail: chengyuan023@yahoo.com.cn

网络出版时间: 2013-04-12 15:21 URL: http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20130412.1521.002.html

72 h ($P < 0.01$). However, early apoptosis rate was higher in indomethacin combined with adriamycin group than that in adriamycin alone group ($P < 0.05$). The results of RT-PCR and Western blot showed the levels of ABCG2, MDR1 and MRP1 were down-regulated significantly ($P < 0.05$) by indomethacin in a dose-dependent manner. The results suggested that indomethacin enhanced cell toxicity of adriamycin on U251 glioma cells and the mechanisms were involved in down-regulation of drug-resistance genes.

Key words glioma; indomethacin; adriamycin; drug-resistance gene

胶质瘤占神经系统肿瘤的40%~50%，恶性程度极高。因手术难以全切，术后放化疗成为其重要的治疗手段。但多数胶质瘤对放化疗不敏感，采用手术加术后放化疗后，患者平均生存期仍只有12~15个月^[1]。因此，增强胶质瘤对放化疗的敏感性从而抑制其复发对治疗该疾病具有重大临床意义。有研究表明，非甾体类抗炎药物(nonsteroidal anti-inflammatory drugs, NSAIDs)能增强肿瘤对放化疗的敏感性^[2]。其主要的增敏机制为下调耐药基因使ATP依赖性药物的外排功能减弱，因此化疗药物能够大量进入细胞内而抑制肿瘤细胞生长^[3]。本实验通过MTT和流式细胞技术证实吲哚美辛具有增强阿霉素对胶质瘤细胞生长抑制的作用，并观察到吲哚美辛对耐药基因ABCG2、MDR1和MRP1的影响，揭示了NSAIDs增强胶质瘤细胞对化疗药物敏感性的机制。

1 材料与方法

1.1 主要试剂

DMEM高糖培养基、胎牛血清和青/链霉素购自美国Hyclone公司；Annexin V-PE/7-AAD凋亡试剂盒购自南京凯基生物科技发展有限公司；RNA裂解液、逆转录试剂盒、DNA聚合酶和扩增引物均购自TaKaRa公司；乳腺癌耐药蛋白(breast cancer resistance protein, BCRP)、P-糖蛋白(P-glycoprotein, P-gp)和 β -actin抗体购自美国Santa Cruz公司；多药耐药相关蛋白1(mul-tidrug resistance-associated protein 1, MRP1)购自中国中杉金桥生物技术有限公司；吲哚美辛购自美国Sigma公司；阿霉素由本科室提供。

1.2 细胞培养

U251胶质瘤细胞购自中国科学院上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研究所细胞库，培养于含10%胎牛血清、100 U/mL青霉素和100 μ g/mL链霉素的DMEM高糖培养基中。培养条件为37 $^{\circ}$ C、5% CO₂、饱和湿度。

1.3 MTT法检测细胞增殖

取对数生长期的U251细胞按每孔8 000个细胞接种于96孔板中，贴壁后进行药物干预。其后每孔加入20 μ L MTT液继续培养4 h，弃上清后加入DMSO 120 μ L轻微震荡10 min，492 nm波长检测每孔吸光度值(D)。

1.4 Annexin V-PE/7-AAD双染法检测细胞凋亡

将细胞种于六孔板中，每孔 2×10^5 个细胞。用0.8 mg/L阿霉素或0.8 mg/L阿霉素联合20 μ mol/L吲哚美辛处理U251细胞72 h后将其收集。PBS洗细胞两次，加入1 μ L Annexin V-PE和5 μ L 7-ADD于细胞悬液中混匀，室温闭光10 min，使用流式细胞仪进行检测。

1.5 RT-PCR

Trizol法提取细胞总RNA并将其反转录为cDNA。扩增引物为：*MRP1*(Forward: 5'-CCG TGT ACT CCA ACG CTG C-3'; Reverse: 5'-CTG GAC CGC TGA CGC CGT GAC-3', 326 bp); *MDR1*(Forward, 5'-CAT GCT CAG ACA GGA TGT GAG T-3'; Reverse: 5'-AGT AGC GAT CTT CCC AGA ACC T-3', 310 bp); *ABCG2*(Forward: 5'-TAA AGT GGC AGA CTC CAA GGT TG-3'; Reverse: 5'-CCA ATA AGG TGA GGC TAT CAA ACA-3', 266 bp); *β -actin*(Forward: 5'-GAC CCA GAT CAT GTT TGA GAC C-3'; Reverse: 5'-ATC TCC TTC TGC ATC CTG TCG-3', 594 bp)。扩增条件为：94 $^{\circ}$ C预变性5 min; 94 $^{\circ}$ C变性30 s, 54 $^{\circ}$ C退火30 s, 72 $^{\circ}$ C延伸35 s; 30个循环，最后72 $^{\circ}$ C延伸10 min。

1.6 Western blot

用RIPA裂解液提取细胞蛋白并用BCA法测蛋白浓度。每孔按35 μ g蛋白样品电泳，用PVDF膜转膜，封闭后加一抗4 $^{\circ}$ C过夜。次日加入HRP标记的二抗并在37 $^{\circ}$ C孵育1 h后ECL显影。以 β -actin为内参，用Quantity One 4.6软件分析各条带光密度值，目的蛋白与内参比值为目的蛋白表达相对水平。

1.7 统计学分析

所有数据重复3次($n=3$)并以 $\bar{x} \pm s$ 表示，采用 t 检验

和方差分析, $P < 0.05$ 为差异具有显著性。

2 结果

2.1 吲哚美辛和阿霉素对U251细胞生长的影响

20 $\mu\text{mol/L}$ 吲哚美辛在 24, 48, 72 h 对 U251 细胞均无增殖抑制作用 ($P > 0.05$), 40 $\mu\text{mol/L}$ 吲哚美辛仅在 72 h 能抑制 U251 细胞生长, 80, 160 $\mu\text{mol/L}$ 吲哚美辛在不同时间均能显著抑制 U251 细胞的生长 (表1)。因此, 为避免该药物自身对胶质瘤增殖的影响, 20 $\mu\text{mol/L}$ 吲哚美辛被用于后续实验。0.2, 0.4, 0.8 mg/L 阿霉素孵育 U251 细胞后均能不同程度抑制 U251 细胞的增殖, 但 0.1 mg/L 阿霉素却无抑制作用 (表2)。

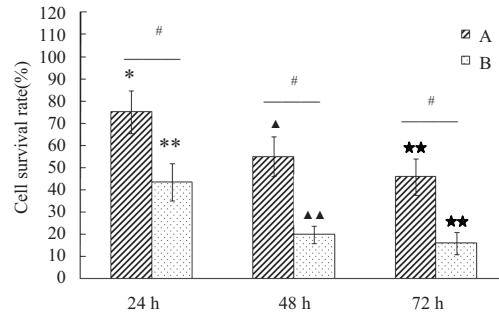
2.2 吲哚美辛联合阿霉素对胶质瘤U251细胞增殖抑制的影响

将细胞分为对照组、单用 0.8 mg/L 阿霉素组和 0.8 mg/L 阿霉素联合 20 $\mu\text{mol/L}$ 吲哚美辛组。如图1所示, 24, 48, 72 h 后单用 0.8 mg/L 阿霉素组细胞增殖分别为对照组的 75.01% \pm 9.59%、54.93% \pm 9.02%、45.80% \pm 8.24%; 0.8 mg/L 阿霉素联合 20 $\mu\text{mol/L}$ 吲哚美辛组细胞增殖分别为对照组的 43.37% \pm 8.26%、19.18% \pm 3.92%、15.80% \pm 4.99%。该结果显示, 吲哚美辛联合阿霉素组较单用阿霉素组增殖抑制作用显

著加强。

2.3 吲哚美辛联合阿霉素对胶质瘤U251细胞早期凋亡的影响

诱导细胞 72 h 后, 使用 Annexin V-PE/7-AAD 双染法检测细胞早期凋亡。流式细胞仪分析结果显示 (图2), 与对照组 (1.93% \pm 0.23%) 相比, 0.8 mg/L 阿霉素



A: 0.8 mg/L 阿霉素组; B: 0.8 mg/L 阿霉素联合 20 $\mu\text{mol/L}$ 吲哚美辛组。
* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, 与 24 h 对照组相比; $\blacktriangle P < 0.05$, $\blacktriangle\blacktriangle P < 0.01$, 与 48 h 对照组相比; $\blackstar P < 0.01$, 与 72 h 对照组相比。# $P < 0.05$, 阿霉素联合吲哚美辛组与单用阿霉素组相比。

A: 0.8 mg/L adriamycin alone group; B: 20 $\mu\text{mol/L}$ indomethacin combined with 0.8 mg/L adriamycin group. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs control of 24 h; $\blacktriangle P < 0.05$, $\blacktriangle\blacktriangle P < 0.01$ vs control of 48 h; $\blackstar P < 0.01$ vs control of 72 h; # $P < 0.05$ vs indomethacin alone group.

图1 吲哚美辛联合阿霉素对细胞生存率的影响

Fig.1 The influences on cell survival rate after treated with indomethacin combined with adriamycin

表1 不同浓度吲哚美辛处理U251细胞后D值变化

Table 1 The changes of U251 cells D values with indomethacin at different concentrations

时间 Time	D值 D values				
	对照组 Control group	20 $\mu\text{mol/L}$ 吲哚美辛 20 $\mu\text{mol/L}$ indomethacin	40 $\mu\text{mol/L}$ 吲哚美辛 40 $\mu\text{mol/L}$ indomethacin	80 $\mu\text{mol/L}$ 吲哚美辛 80 $\mu\text{mol/L}$ indomethacin	160 $\mu\text{mol/L}$ 吲哚美辛 160 $\mu\text{mol/L}$ indomethacin
24 h	0.303 \pm 0.023	0.294 \pm 0.037	0.296 \pm 0.040	0.221 \pm 0.034*	0.204 \pm 0.036*
48 h	0.433 \pm 0.040	0.417 \pm 0.052	0.403 \pm 0.054	0.239 \pm 0.049#	0.159 \pm 0.047#
72 h	0.553 \pm 0.051	0.566 \pm 0.035	0.385 \pm 0.067 \blacktriangle	0.259 \pm 0.045 \blacktriangle	0.117 \pm 0.097 \blacktriangle

* $P < 0.05$, 与 24 h 对照组相比; # $P < 0.05$, 与 48 h 对照组相比; $\blacktriangle P < 0.05$, 与 72 h 对照组相比。

* $P < 0.05$ vs control of 24 h; # $P < 0.05$ vs control of 48 h; $\blacktriangle P < 0.05$ vs control of 72 h.

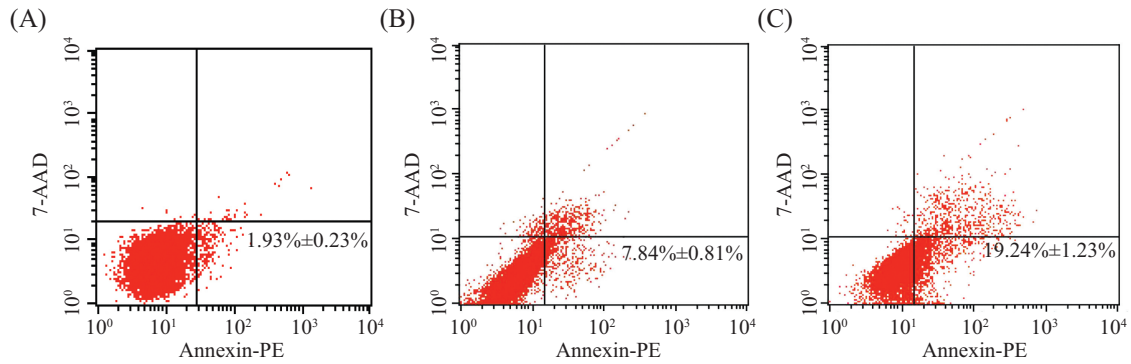
表2 不同浓度阿霉素处理U251细胞后D值变化

Table 2 The changes of U251 cell D values with adriamycin at different concentrations

时间 Time	D值 D values				
	对照组 Control group	0.1 mg/L 阿霉素 0.1 mg/L adriamycin	0.2 mg/L 阿霉素 0.2 mg/L adriamycin	0.4 mg/L 阿霉素 0.4 mg/L adriamycin	0.8 mg/L 阿霉素 0.8 mg/L adriamycin
24 h	0.325 \pm 0.023	0.318 \pm 0.033	0.309 \pm 0.034	0.276 \pm 0.038*	0.218 \pm 0.041*
48 h	0.465 \pm 0.034	0.451 \pm 0.043	0.338 \pm 0.038#	0.292 \pm 0.013#	0.221 \pm 0.033#
72 h	0.571 \pm 0.054	0.565 \pm 0.048	0.428 \pm 0.030 \blacktriangle	0.301 \pm 0.042 \blacktriangle	0.190 \pm 0.037 \blacktriangle

* $P < 0.05$, 与 24 h 对照组相比; # $P < 0.05$, 与 48 h 对照组相比; $\blacktriangle P < 0.05$, 与 72 h 对照组相比。

* $P < 0.05$ vs control of 24 h; # $P < 0.05$ vs control of 48 h; $\blacktriangle P < 0.05$ vs control of 72 h.



A: 对照组; B: 阿霉素组; C: 阿霉素联合吲哚美辛组。

A: control group; B: adriamycin alone group; C: indomethacin combined with adriamycin group.

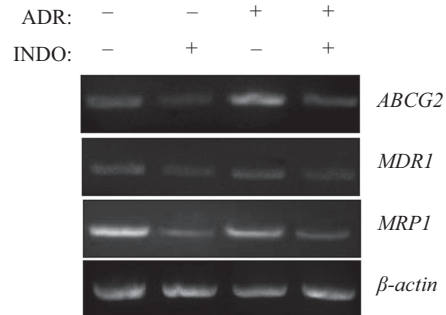
图2 阿霉素单独或联合吲哚美辛对细胞早期凋亡率的影响

Fig.2 The influences on early apoptosis rate after treatment with indomethacin separated or combined with adriamycin

组(7.84%±0.81%)和0.8 mg/L阿霉素联合20 μmol/L吲哚美辛组(19.24%±1.23%)细胞早期凋亡比例显著增多($P<0.01$), 但阿霉素联合吲哚美辛组早期凋亡细胞比例较单用阿霉素组更高($P<0.05$)。三组之间细胞早期凋亡率有明显差异。

2.4 吲哚美辛对U251细胞耐药基因mRNA表达的影响

将细胞分为空白对照组、20 μmol/L吲哚美辛组、0.8 mg/L阿霉素组和0.8 mg/L阿霉素联合20 μmol/L吲哚美辛组。细胞经72 h干预后提取总RNA并进行RT-PCR。结果显示, 20 μmol/L吲哚美辛组较空白对照组 $ABCG2$ 、 $MDR1$ 和 $MRP1$ mRNA均下调($P<0.05$); 0.8 mg/L阿霉素联合20 μmol/L吲哚美辛组较单独使用0.8 mg/L阿霉素组三个基因的mRNA水平也下降($P<0.05$)(图3和表3)。该结果说明无论阿霉素存在与否, 20 μmol/L吲哚美辛均能抑制 $ABCG2$ 、 $MDR1$ 和 $MRP1$ 的mRNA表达。



ADR: 阿霉素; INDO: 吲哚美辛。空白对照组、吲哚美辛组、单独使用阿霉素组和阿霉素联合吲哚美辛处理组中 $ABCG2$ 、 $MDR1$ 和 $MRP1$ mRNA的表达。

ADR: adriamycin; INDO: indomethacin. $ABCG2$, $MDR1$ and $MRP1$ mRNA expression in blank control group, indomethacin group, adriamycin group and indomethacin combined with adriamycin group.

图3 RT-PCR分析吲哚美辛作用后耐药基因的表达

Fig.3 Expression of drug-resistance genes after treatment with indomethacin by RT-PCR

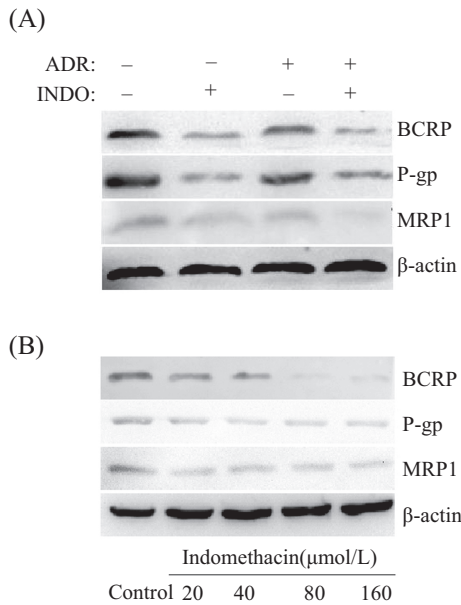
表3 不同处理组 $ABCG2$ 、 $MDR1$ 和 $MRP1$ 相对表达量

Table 3 Relative expression quantity of $ABCG2$, $MDR1$ and $MRP1$ in different groups

目的基因/蛋白 Target genes/protein	空白对照组 Control group	吲哚美辛组 Indomethacin group	阿霉素组 Adriamycin group	阿霉素联合吲哚美辛组 Indomethacin combined with adriamycin group
$MDR1/\beta$ -actin mRNA	0.378±0.017	0.068±0.029*	0.345±0.046	0.127±0.044 [#]
P-gp/ β -actin protein	0.516±0.045	0.185±0.028*	0.407±0.040	0.137±0.043 [#]
$ABCG2/\beta$ -actin mRNA	0.324±0.019	0.094±0.011*	0.349±0.046	0.134±0.041 [#]
BCRP/ β -actin protein	0.381±0.035	0.115±0.034*	0.411±0.020	0.183±0.013 [#]
$MRP1/\beta$ -actin mRNA	0.512±0.021	0.334±0.040*	0.468±0.027	0.289±0.018 [#]
$MRP1/\beta$ -actin protein	0.213±0.032	0.113±0.027*	0.193±0.017	0.066±0.010 [#]

* $P<0.05$, 与空白对照组相比; [#] $P<0.05$, 与阿霉素组相比。

* $P<0.05$ vs control; [#] $P<0.05$ vs adriamycin group.



A: 空白对照组、吲哚美辛组、单独使用阿霉素组和阿霉素联合吲哚美辛处理组中耐药蛋白表达; B: 不同浓度吲哚美辛对BCRP、P-gp和MRP1蛋白表达的影响。

A: expression of drug-resistance related proteins in blank control group, indomethacin group, adriamycin group and indomethacin combined with adriamycin group; B: expression of BCRP, P-gp and MRP1 proteins in U251 cells with different concentrations of indomethacin.

图4 蛋白免疫印迹分析吲哚美辛作用后耐药蛋白的表达
Fig.4 Expression of drug-resistance proteins after treatment with indomethacin by Western blot

2.5 Western blot检测吲哚美辛对耐药蛋白表达的影响

与mRNA结果相似, 吲哚美辛组较空白对照组P-gp、BCRP和MRP1蛋白表达均下调; 而阿霉素联合吲哚美辛组较单独使用阿霉素组三个耐药蛋白表达水平也呈现出下降趋势(图4A和表3)。吲哚美辛对上述三个耐药蛋白的抑制作用呈现出浓度依赖性($P < 0.05$)(图4B)。

3 讨论

胶质瘤的多药耐药性至今仍是神经外科需要解决的难题, 其机制可能与ABC转运体的表达有关。ABC转运体又名ATP结合盒式转运(ATP binding cassette transporters), 在人类的许多恶性肿瘤中扮演了重要角色, 通常参与肿瘤放化疗耐受。ABC基因代表了最大的转运蛋白家族, 迄今已发现的49个ABC基因可分为7个功能特异的亚科, 包括ABCA-ABCG^[4]。已有研究证实, 胶质瘤耐药性主要与P-糖蛋白表达上调有关^[5]。P-gp是由

MDR1(ABCB1)编码的位于细胞膜表面的170 kDa单链跨膜糖蛋白。作为一种能量依赖性药泵, 它能够将通过细胞膜的化疗药物泵出胞外从而降低胞内化疗药物浓度并导致肿瘤耐药; P-gp还能起到翻转酶的作用, 将化疗药物从胞内转移至胞外或者改变膜脂质结构而清除药物。最新研究发现, P-gp过表达可增加细胞内碱性, 通过改变胞内离子环境而降低对多种化疗药的敏感性^[6]。MRP1又名ABCC1, 与MDR1同属于ATP结合盒超家族, 同样在胶质瘤中过表达^[7]。作为药物输出泵, MRP1不仅能逆浓度梯度将细胞毒性化疗药物转出细胞, 而且还可与谷胱甘肽(glutathione, GSH)形成GST-X泵, 将肿瘤细胞中的抗癌药物排出^[8]。BCRP由ABCG2基因编码, 属于ABC家族中的G亚族, 在胶质瘤中随恶性等级上升而表达增高^[9]。BCRP耐药性与P-gp相似, 也能利用ATP水解提供的能量无选择性地主动把胞内药物泵出体外导致胶质瘤化疗失败。

流行病学、临床资料及体内外药理实验已经证实了NSAIDs不仅能够通过抑制IL-6-Stat3、Akt/PKB、β-catenin/T-cell factor、MAPK等信号通路及其上下游癌基因而减少肿瘤的增殖和侵袭并促进肿瘤凋亡^[10-13], 而且通过下调耐药基因ABC家族的表达以提高化疗药进入肿瘤细胞的能力而提高肿瘤对放化疗的敏感性^[14]。Matsunaga等^[15]发现单独使用阿霉素或长春新碱对白血病细胞K562的IC₅₀分别为250, 20.2 nmol/L, 当上述两种化疗药分别联合吲哚美辛处理该细胞后IC₅₀依次减少为50, 5 nmol/L, 其机制为吲哚美辛抑制了白血病细胞中MRP1的表达; Elahian等^[16]也证实, NSAIDs通过抑制ABCG2的活性而促进米托蒽醌对乳腺癌细胞MCF-7的生长抑制作用。目前, 关于吲哚美辛抗胶质瘤的研究主要涉及到该药物自身在体内外实验中均能抑制胶质瘤的生长^[17-18]。此外也有少量研究报道了吲哚美辛和化疗药联合使用增强了对胶质瘤细胞的抑制作用这一现象^[7], 但欠缺其作用机制的报道。

本实验发现, 吲哚美辛自身能够抑制U251细胞活力并呈现出浓度依赖性, 为排除与阿霉素联合使用时吲哚美辛本身对胶质瘤的生长影响, 我们筛选出无细胞毒性的吲哚美辛剂量(20 μmol/L)作为后续实验需要。阿霉素也能够抑制胶质瘤细胞的生长, 但我们发现, 0.1 mg/L阿霉素诱导细胞24, 48, 72 h后却无明显抑制作用, 其原因可能为胶质瘤天生高表达耐

药基因并存在一定程度的耐药性^[19]。MTT结果显示, 0.8 mg/L阿霉素能够在24, 48, 72 h抑制U251细胞增殖, 当其与20 μ mol/L吲哚美辛联合使用后, 增殖抑制作用更加明显; 流式细胞技术观察到0.8 mg/L阿霉素培养细胞72 h后能明显增加细胞早期凋亡率, 但吲哚美辛显著扩大了阿霉素对U251细胞的促凋亡作用。我们也证实了无论阿霉素存在与否, 20 μ mol/L吲哚美辛均能下调U251细胞中ABCG2、MDR1和MRP1 mRNA和蛋白水平, 因此导致U251细胞对阿霉素外排功能减弱, 细胞内阿霉素含量增加而提高化疗疗效。NSAIDs下调肿瘤中耐药基因的表达可能是通过抑制AP-1(activating protein-1)或NF- κ B来实现的。ABC转运体家族基因的启动子包含了AP-1和NF- κ B的结合部位, 当两者激活并与ABC转运体家族基因启动子结合后将促进ABC成员的表达, 因此当AP-1和NF- κ B被NSAIDs抑制后导致耐药基因表达下调^[20]。

该研究为临床应用吲哚美辛作为化疗耐药逆转剂以提高化疗药物对胶质瘤的疗效提供了理论依据及实验基础。吲哚美辛能够逆转胶质瘤的耐药天性, 增强化疗药对胶质瘤细胞的生长抑制作用, 有望成为一种新型的胶质瘤化疗辅助药物。然而, 本实验对于吲哚美辛下调耐药基因及蛋白的具体分子调控机制尚未深入研究, 后续研究还需探讨其作用的信号通路等分子机制。

参考文献 (References)

- Wen PY, Kesari S. Malignant gliomas in adults. *N Engl J Med* 2008; 359(5): 492-507.
- Song JH, Kim SH, Kim HJ, Hwang SY, Kim TS. Alleviation of the drug-resistant phenotype in idarubicin and cytosine arabinoside double-resistant acute myeloid leukemia cells by indomethacin. *Int J Oncol* 2008; 32(4): 931-6.
- Angelini A, Iezzi M, Di Febbo C, Di Ilio C, Cuccurullo F, Porreca E. Reversal of P-glycoprotein-mediated multidrug resistance in human sarcoma MES-SA/Dx-5 cells by nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Oncol Rep* 2008; 20(4): 731-5.
- de Jonge-Peeters SD, Kuipers F, de Vries EG. ABC transporter expression in hematopoietic stem cells and the role in AML drug resistance. *Crit Rev Oncol Hematol* 2007; 62(3): 214-26.
- de Faria GP, de Oliveira JA, de Oliveira JG, Romano Sde O, Neto VM, Maia RC. Differences in the expression pattern of P-glycoprotein and MRP1 in low-grade and high-grade gliomas. *Cancer Invest* 2008; 26(9): 883-9.
- Agarwal S, Sane R, Gallardo JL, Ohlfest JR, Elmquist WF. Distribution of gefitinib to the brain is limited by P-glycoprotein (ABCB1) and breast cancer resistance protein(ABCG2)-mediated active efflux. *J Pharmacol Exp Ther* 2010; 334(1): 147-55.
- Benyahia B, Huguet S, Declèves X, Mokhtari K, Crinière E, Bernaudin JF, *et al.* Multidrug resistance-associated protein MRP1 expression in human gliomas: Chemosensitization to vincristine and etoposide by indomethacin in human glioma cell lines overexpressing MRP1. *J Neurooncol* 2004; 66(1/2): 65-70.
- Deeley RG, Cole SP. Substrate recognition and transport by multidrug resistance protein 1(ABCC1). *FEBS Lett* 2006; 580(4): 1103-11.
- Jin Y, Bin ZQ, Qiang H, Liang C, Hua C, Jun D, *et al.* ABCG2 is related with the grade of glioma and resistance to mitoxantone, a chemotherapeutic drug for glioma. *J Cancer Res Clin Oncol* 2009; 135(10): 1369-76.
- Kim SR, Bae MK, Kim JY, Wee HJ, Yoo MA, Bae SK. Aspirin induces apoptosis through the blockade of IL-6-STAT3 signaling pathway in human glioblastoma A172 cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2009; 387(2): 342-7.
- Lee HC, Park IC, Park MJ, An S, Woo SH, Jin HO, *et al.* Sulindac and its metabolites inhibit invasion of glioblastoma cells via down-regulation of Akt/PKB and MMP-2. *J Cell Biochem* 2005; 94(3): 597-610.
- Lan F, Yue X, Han L, Yuan X, Shi Z, Huang K, *et al.* Antitumor effect of aspirin in glioblastoma cells by modulation of β -catenin/T-cell factor-mediated trans-criptional activity. *J Neurosurg* 2011; 115(4): 780-8.
- Rice PL, Beard KS, Driggers LJ, Ahnen DJ. Inhibition of extracellular-signal regulated kinases 1/2 is required for apoptosis of human colon cancer cells *in vitro* by sulindac metabolites. *Cancer Res* 2004; 64(22): 8148-51.
- Wang CH, Zheng WB, Qiang O, Tang CW. Effects of non-cytotoxic drugs on the growth of multidrug-resistance human gastric carcinoma cell line. *J Dig Dis* 2009; 10(2): 91-108.
- Matsunaga S, Asano T, Tsutsuda-Asano A, Fukunaga Y. Indomethacin overcomes doxorubicin resistance with inhibiting multi-drug resistance protein 1 (MRP1). *Cancer Chemother Pharmacol* 2006; 58(3): 348-53.
- Elahian F, Kalalinia F, Behravan J. Evaluation of indomethacin and dexamethasone effects on BCRP-mediated drug resistance in MCF-7 parental and resistant cell lines. *Drug Chem Toxicol* 2010; 33(2): 113-9.
- Bernardi A, Braganhol E, Jäger E, Figueiró F, Edelweiss MI, Pohlmann AR, *et al.* Indomethacin-loaded nanocapsules treatment reduces *in vivo* glioblastoma growth in a rat glioma model. *Cancer Lett* 2009; 281(1): 53-63.
- Bernardi A, Jacques-Silva MC, Delgado-Cañedo A, Lenz G, Battastini AM. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs inhibit the growth of C6 and U138-MG glioma cell lines. *Eur J Pharmacol* 2006; 532(3): 214-22.
- Calatozzolo C, Gelati M, Ciusani E, Sciacca FL, Pollo B, Cajola L, *et al.* Expression of drug resistance proteins Pgp, MRP1, MRP3, MRP5 and GST-pi in human glioma. *J Neurooncol* 2005; 74(2): 113-21.
- Chen C, Shen HL, Yang J, Chen QY, Xu WL. Preventing chemoresistance of human breast cancer cell line, MCF-7 with celecoxib. *J Cancer Res Clin Oncol* 2011; 137(1): 9-17.