布托啡诺逆转 ABCB1 蛋白诱导的白血病多重耐药的效果和机制

邹志聪[1]，温　婧[2]，戴龙彬[1]，李晋飞[3]，徐康清[3]
(1. 嘉应学院医学院附属医院麻醉科，广东 梅州 514031；2. 中山大学附属第二医院麻醉科，广东 广州 510120；
3. 中山大学附属第一医院麻醉科，广东 广州 510080)

摘　要：【目的】研究布托啡诺在临床使用剂量范围内通过抑制 ABCB1 的转运功能增加白血病耐药细胞的化疗药物敏感性。【方法】采用 HL60 及其 ABCB1 过表达的耐药细胞株 HL60/VCR、K562 及其 ABCB1 过表达的耐药细胞株 K562/ADR 均在培养环境中加入含胎牛血清的 DMEM 或 RPMI-1640 的培养液中进行培养。采用 MTT 法检测布托啡诺的细胞毒性，通过流式细胞仪检测阿霉素(DOX)在 HL60/VCR 细胞内的累积程度；加入布托啡诺培养 72 h 后用免疫荧光观察 ABCB1 在细胞膜表面的形态和分布变化以及采用 Western Blotting 检测 ABCB1 的表达水平。【结果】布托啡诺能将 K562/ADR 细胞的阿霉素的抵抗倍数由 48.1 倍下降到 9.6 倍，长春新碱(VCR)的抵抗倍数由 108.4 倍下降到 20.7 倍，HL60/VCR 的 DOX 的抵抗倍数由 37.8 倍下降到 7.6 倍，长春新碱抵抗倍数由 23.4 下降到 4.8 倍，差异均有统计学意义。ABCB1 的表达水平及其在细胞膜上的定位没有变化。【结论】布托啡诺明显降低阿霉素和长春新碱在 ABCB1 过表达的白血病耐药细胞株中的 IC_{50}，有效增加阿霉素在 HL60/VCR 细胞内的累积水平。布托啡诺不改变 HL60/VCR 和 K562/ADR 细胞 ABCB1 的表达水平和 ABCB1 在细胞膜表面的形态和定位。

关键词：多重耐药；ABCB1；阿片类；布托啡诺
中图分类号：R453.9；R551.3　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1672-3554(2018)04-0526-06

Efficiency and Mechanism Sensitizing ABCB1-mediated Multidrug Resistance of Leukemia Cells by Butorphanol as a Synthetic Opioid

ZOU Zhi-cong[1], WEN Jing[2], DAI Long-bin[1], LI Jin-fei[3], XU Kang-qing[3]
(1. Department of Anesthesiology, The Affiliated Hospital of Medical School of Jiaying University, Meizhou 514031, China;
2. Department of Anesthesiology, The Second Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510120, China;
3. Department of Anesthesiology, The First Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, China)
Corresponding to: XU Kang-qing; E-mail: prof_xkq@163.com

Abstract: 【Objective】To explore whether Butorphanol, at a clinically used dose, can increase the chemosensitivity of drug-resistant leukemia cells to conventional anticancer drugs through inhibiting the functions of ABCB1. Therefore, exploring potentially chemotherapeutic sensitizers from previously approved drugs in clinic maybe a more promising approach。【Methods】 HL60 cells and their ABCB1-overexpressing cells HL60/VCR, K562 cells and their ABCB1-overexpressing cells K562/ADR were obtained from the Institute of Hematology, the Chinese Academy of Medical Sciences. All the cells were cultured in DMEM and RPMI-1640 with FBS. The cytotoxicity of Butorphanol was determined through MTT assay. The concentration required to inhibit cell growth by 50% (IC_{50}) was calculated from survival curves using the Bliss methods. The resistance-fold was calculated by dividing the IC_{50} value for the MDR cells with or without inhibitor by that of the parental cells without inhibitor. The intracellular doxorubicin (DOX) accumulation assay were performed by flow cytometry. Western blotting was used to determine the ABCB1 protein levels. Immunofluorescence staining was used to observe cellular membrane locations of ABCB1. Model of molecular docking for Butorphanol binding

收稿日期：2018-03-22
基金项目：广东省科技计划项目(2016A020215210)
作者简介：邹志聪，主治医师，E-mail:52835107@qq.com; 徐康清，通信作者，教授，E-mail: prof_xkq@163.com

with ABCB1 was used to predict the most suitable binding site.【Results】Butorphanol obviously decreased the resistance folds of DOX and VCR from 48.1 to 9.6, 108.4 to 20.7 in K562/ADR, respectively. In HL60/VCR, the resistance folds of DOX and VCR were decreased from 37.8 to 7.6, 23.4 to 4.8, respectively. Butorphanol did not alter the ABCB1 protein expression levels in the HL60/VCR and K562/ADR cells and their localizations in the plasma membranes of HL60/VCR cells.【Conclusions】Butorphanol decreased the IC_{50} values and resistance folds of ABCB1 substrates Doxorubicin (DOX) and Vincristine (VCR) in the ABCB1-overexpressing HL60/VCR and K562/ADR cells; Butorphanol dramatically increased the intracellular accumulation levels of Doxorubicin in the HL60/VCR cells. Mechanistic investigations demonstrated that Butorphanol did not alter the protein expression or localization of ABCB1 in HL60/VCR and K562/ADR.

Key words: multidrug resistance; ABCB1; opioid; Butorphanol

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2018, 39(4): 526-531]

在神经胶质瘤的裸鼠模型中，将吗啡和肿瘤杀伤药物阿霉素联合使用，可以明显降低阿霉素的使用剂量，并且阿霉素透过血脑屏障达到中枢神经系统的浓度也明显提高，而这一效果与吗啡抑制血脑屏障中的ABCB1(ATP-binding cassette subfamily B member 1)功能有关[1]。作为合成的吗啡同源类似物，布托啡诺是典型的阿片受体激动拮抗型镇痛剂，镇痛效果是吗啡的5～8倍，呼吸抑制发生率仅为吗啡的1/5。布托啡诺被广泛用于围术期镇痛和癌性止痛，其中包括恶性白血病镇痛[2]。为此，我们探索布托啡诺是否也能降低ABCB1诱导的白血病多重耐药性及其可能存在的机制。

1　材料与方法

1.1　细胞株与细胞培养

HL60/VCR(中国血液病医学科学研究中心提供)与K562/ADR(天津第一中心医院国际医学中心提供)细胞株均在含有体积分数为10%的胎牛血清、100 IU/mL青霉素、100 IU/mL链霉素的DMEM和RPMI-1640的培养液中培养，培养液恒温37 ℃并加入体积分数5%的CO_2。HL60/VCR和K562/ADR细胞培养时分别加入一定浓度的长春新碱和阿霉素维持其耐药性，实验前1周停用。取对数生长期的细胞进行实验。

1.2　细胞毒性实验

使用MTT法检测细胞毒性评估布托啡诺对白血病细胞的杀伤作用以及确定布托啡诺的实验浓度。取对数生长期的HL60、HL60/VCR、K562和K562/ADR细胞悬液190 μL接种于96孔培养板(8 000细胞/孔)，放置一晚待细胞贴壁后加入10 μL不同浓度的布托啡诺和维拉帕米(ABCB1经典抑制剂)，放置1 h后，加入10 μL不同浓度的化疗药物阿霉素(DOX)，长春新碱(VCR)和顺铂(Cisplain)。68 h后，每孔加入IMTT(5 mg/mL)20 μL培养4 h直到MTT由黄色转为黑蓝色结晶。弃去培养液，每孔加入120 μL DMSO，待完全溶解显色后，使用酶标仪540/655 nm双波长测定每孔吸光度值($D_{540/655\ nm}$)。使用Bliss方法测定IC_{50}值[3]。耐药细胞加入或不加入抑制剂的IC_{50}值除以其对应的未加入抑制剂的细胞的IC_{50}得到抵抗倍数(resistance-fold)。

1.3　阿霉素(DOX)累积实验

使用流式细胞仪检测DOX在HL60和ABCB1过表达的HL60/VCR细胞株内的累积程度。将细胞接种于6孔板中，细胞贴壁后分别加入不同浓度的布托啡诺(1、2、4 μmol/L)或维拉帕米(5 μmol/L)，在37 ℃环境下放置3 h。之后加入10 μmol/L DOX培养3 h。收集细胞，用冰PBS液洗涤两次后重新悬浮在400 μL冰PBS液中，将细胞离心分离制成单细胞悬液后使用470 nm和590 nm波长进行流式细胞学检测分析。为了深入研究布托啡诺的逆转能力，我们使用流式细胞分析仪检测DOX在敏感细胞株和耐药细胞内的积累水平。

1.4　检测蛋白的表达变化

收集布托啡诺处理组和对照组的细胞，离心，用冰PBS洗涤2次后加入1×SDS裂解液充分裂解后，100 ℃孵育15 min后变性，12 000 r/min(离心机半径r = 3 cm)离心10 min后取上清液分装，在-80 ℃保存。分别取裂解好的样品2 μL，加入98 μL去离子水稀释50倍，另取100 μL去离子水设为空白对照。用Western Blot法测定ABCB1的

蛋白质浓度变化水平。

1.5 统计分析

所有实验数据使用SPSS 13.0统计软件分析，计量资料的检测结果以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示，采用单因素方差分析进行统计分析，当$P < 0.05$时认为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 布托啡诺对肿瘤细胞无杀伤作用

选择4 μmol/L浓度作为布托啡诺的实验浓度[4]，MTT法检测布托啡诺对白血病细胞及其耐药细胞的细胞毒作用，结果显示布托啡诺高至4 μmol/L浓度时，有 > 85%细胞存活，布托啡诺对各个细胞系的细胞没有明显的细胞毒性作用(表1，表2)。HL60和HL60/VCR的IC_{50}分别是1.76 ± 0.09、1.64 ± 0.10。K562和K562/ADR的IC50分别是1.89 ± 0.14、1.43 ± 0.09。

表1 布托啡诺对K562和ABCB1过表达的K562/ADR细胞株的逆转效果

Table 1 Reversal effect of butorphanol in ABCB1-overexpression and K562-overexpression K562/ADR cell line [($\bar{x} \pm s$, μmol/L)(Resistance folds)]

Treatments	IC_{50} K562	IC_{50} K562/ADR
DOX	0.154 ± 0.015(1.00)[1)]	7.412 ± 0.117(48.1)
+Butor 1 μmol/L	0.149 ± 0.008(0.97)	3.32 ± 0.094(21.6)[2)]
+Butor 2 μmol/L	0.155 ± 0.014(1.01)	2.32 ± 0.037(15.0)[2)]
+Butor 4 μmol/L	0.146 ± 0.001(0.95)	1.482 ± 0.021(9.6)[2)]
+verapamil 5μmol/L	0.153 ± 0.011(0.99)	1.457 ± 0.018(9.4)[2)]
VCR	0.030 ± 0.002(1.00)[1)]	3.252 ± 0.381(108.4)
+Butor 1 μmol/L	0.029 ± 0.001(0.98)	1.47 ± 0.172(49.0)[2)]
+Butor 2 μmol/L	0.029 ± 0.001(0.98)	1.08 ± 0.105(36.0)[2)]
+Butor 4 μmol/L	0.031 ± 0.002(1.03)	0.62 ± 0.081(20.7)[2)]
+verapamil 5 μmol/L	0.029 ± 0.001(0.97)	0.61 ± 0.085(20.1)[2)]
Cisplatin	1.630 ± 0.174(1.00)[1)]	2.35 ± 0.481(1.4)
+Butor 1 μmol/L	1.520 ± 0.165(0.93)	2.40 ± 0.427(1.5)
+Butor 2 μmol/L	1.630 ± 0.152(1.00)	2.34 ± 0.445(1.4)
+Butor 4 μmol/L	1.600 ± 0.149(0.98)	2.27 ± 0.385(1.39)
+verapamil 5 μmol/L	1.550 ± 0.161(0.95)	2.28 ± 0.392(1.30)

n = 3. 1) IC_{50} fold: IC_{50} in the presence over absence of inhibitor, or IC_{50} with over without inhibitor. 2) $P < 0.01$, significantly different from those obtained in the absence of inhibitor.

表2 布托啡诺对HL60和ABCB1过表达的HL60/VCR的逆转效果

Table 2 Reversal effect of butorphanol in ABCB1-overexpression and HL60-overexpression HL60/VCR cell line [($\bar{x} \pm s$, μmol/L)(Resistance folds)]

Treatment	IC_{50} HL60	IC_{50} HL60/VCR
DOX	67.0 ± 11.0(1.00)[1)]	2533 ± 151(37.8)
+Butor 1 μmol/L	65.0 ± 9.0(0.97)	1327 ± 232(19.8)[2)]
+Butor 2 μmol/L	69.0 ± 10.0(1.03)	703 ± 34(10.5)[2)]
+Butor 4 μmol/L	60.0 ± 8.0(0.92)	506 ± 36(7.56)[2)]
+verapamil 5 μmol/L	62.0 ± 8.2(0.93)	482 ± 23(7.2)[2)]
VCR	2.70 ± 0.80(1.00)[1)]	63.8 ± 8.5(23.4)
+Butor 1 μmol/L	2.58 ± 0.75(0.95)	28.4 ± 3.8(10.53)[2)]
+Butor 2 μmol/L	2.63 ± 0.87(0.97)	19.4 ± 2.6(7.2)[2)]
+Butor 4 μmol/L	2.85 ± 0.61(1.06)	13.0 ± 1.5(4.8)[2)]
+verapamil 5 μmol/L	2.78 ± 0.70 (1.03)	10.6 ± 2.2 (3.9)[2)]
Cisplatin	1374 ± 90(1.00)[1)]	1701 ± 94(1.23)
+Butor 1 μmol/L	1410 ± 103(1.02)	1649 ± 93(1.20)
+Butor 2 μmol/L	1319 ± 88(0.96)	1662 ± 92(1.21)
+Butor 4 μmol/L	1370 ± 85(1.00)	1648 ± 91(1.20)
+verapamil 5 μmol/L	1358 ± 190(0.99)	1608 ± 91(1.17)

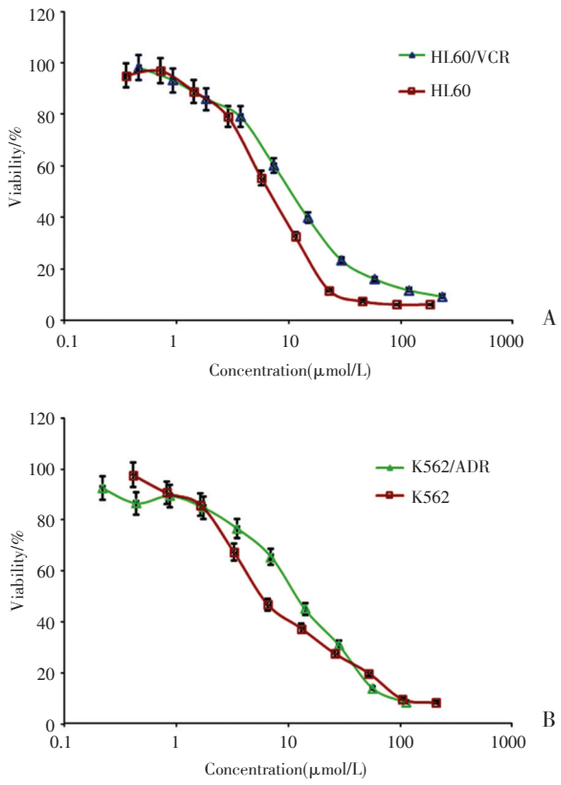
n = 3. 1) IC_{50} fold: IC_{50} in the presence over absence of inhibitor, or IC_{50} with over without inhibitor. 2) $P < 0.01$, significantly different from those obtained in the absence of inhibitor.

2.2 布托啡诺逆转白血病耐药细胞的多重耐药性

实验发现用4 μmol/L布托啡诺分别处理HL60/VCR和K562/ADR细胞，可以明显降低DOX和VCR在上面两种ABCB1过表达细胞株中的IC_{50}(图1、2)。在HL60/VCR中，DOX的抵抗倍数由最初的37.8倍下降到7.6倍，VCR由23.4倍下降到4.8倍。在K562/ADR中，DOX由最初的48.1倍下降到9.6倍，VCR由之前的108.4倍下降到20.7倍。这种逆转效果与5 μmol/L维拉帕米的效果相当，而维拉帕米是公认的ABCB1经典抑制剂。而在敏感细胞株HL60和K562中，则没有这样的效果。同时，对于不是ABCB1作用底物的顺铂来说，不管在耐药细胞和敏感细胞中，布托啡诺都没有改变它的IC_{50}。

2.3 布托啡诺加强DOX在HL60/VCR细胞中的积累

在没有布托啡诺干预时，DOX在耐药细胞株HL60/VCR细胞内的水平明显低于敏感细胞株HL60细胞内的水平。分别加入1、2、4 μmol/L布托啡诺后，DOX累积水平分别明显提高了2.3倍、



A：HL60 and ABCB1-overexpressing HL60/VCR cells；B：K562 and ABCB1-overexpressing K562/ADR cells. ABCB1：ATP-binding cassette subfamily B member 1.

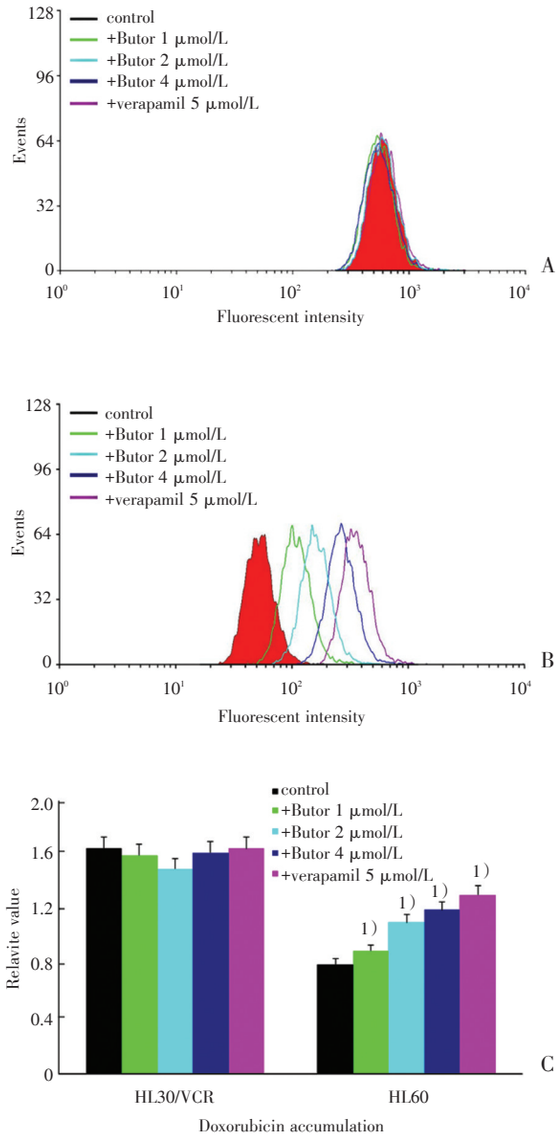
图1　布托啡诺对HL60，HL60/VCR，K562和K562/ADR细胞的细胞毒性

Fig.1　Cytotoxicity effect of Butorphanol on HL60，HL60/VCR，K562 and K562/ADR

3.47倍和5.91倍（图2）。4 μmol/L布托啡诺对DOX的累积效果与5 μmol/L的维拉帕米相似（图3）。

3　讨　论

白血病所致疼痛主要是由于白血病细胞大量增殖浸润骨、脾和神经所致[5]，同时白血病并发症也会导致疼痛，这是由于病人的免疫力下降导致感染，感染部位以口腔、牙龈、咽部、上呼吸道、肺部、消化道以及泌尿道多见。这种骨髓内张力过高导致的骨骼疼痛协同感染导致的炎性痛往往十分剧烈持续，让病人无法耐受，降低了病人的生活质量和治疗效果[6]。吗啡类镇痛药可以有效缓解白血病人的疼痛，包括吗啡、哌替啶、舒芬太尼和布托啡诺等。吗啡和哌替啶虽然是临床上传统的



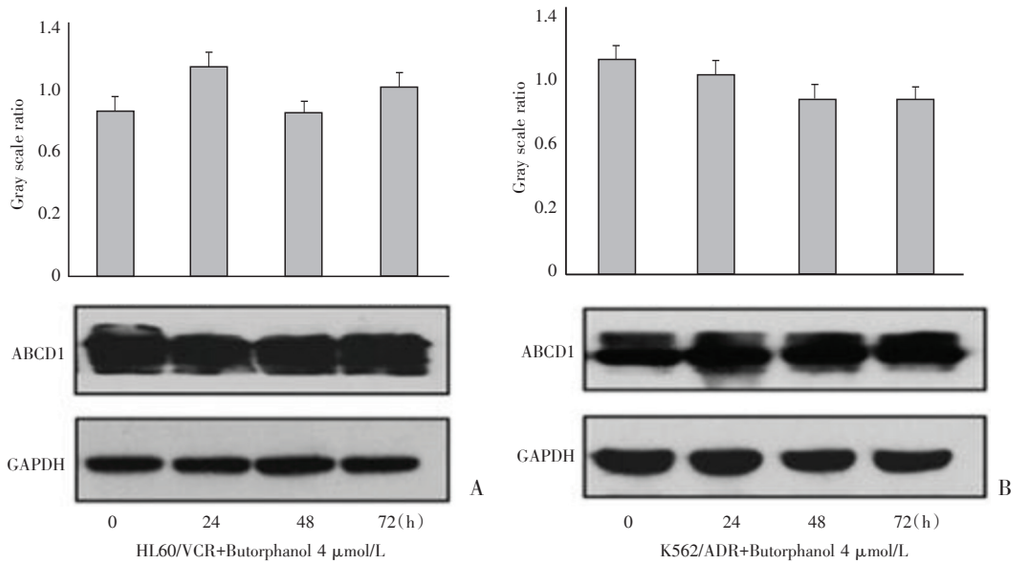
A：HL60；B：HL60/VCR；C：Comparison of accumulation of HL60 and HL60/VCR. 1) $P < 0.01$ *vs* control.

图2　布托啡诺对阿霉素（DOX）积累的影响

Fig.2　Effect of Butorphanol on the accumulation of doxorubicin (DOX)

镇痛药，但因为其副作用多和长期服用易成瘾[7]，限制了其在临床中的使用。舒芬太尼虽然镇痛效果强大，但是呼吸抑制作用明显。

最新研究表明吗啡可以改变抗肿瘤药物阿霉素治疗神经胶质瘤的效果[8]，在神经胶质瘤的裸鼠模型中，联合使用吗啡后，透过血脑屏障进入中枢神经系统的阿霉素浓度明显提高，阿霉素抑制肿瘤生长的浓度由最初的5 mg/kg下降到2.5 mg/kg。



Gray scale ratio and western blotting of ABCB1 for HL 60/VCR(A) or K562/ADR(B)+Butorphanol

图3 ABCB1过表达细胞中ABCB1的水平与定位

Fig.3 Expression levels and localizations of ABCB1 in ABCB1 overexpresion cells

研究发现,通过抑制血脑屏障的ABCB1的外排功能,吗啡提高了阿霉素对肿瘤的杀伤作用,类似于阿霉素的兴奋剂[8]。作为吗啡的同源类似物,布托啡诺是临床上广泛使用的阿片受体激动拮抗型镇痛药,布托啡诺的镇痛效果是吗啡的5~8倍,呼吸抑制发生率仅为吗啡的1/5,长期使用成瘾性和依赖性发生率也低于吗啡,恶心呕吐和皮肤瘙痒的不良反应发生率更低[9]。

本研究中选取4 μmol/L作为实验的药物浓度,4 μmol/L是布托啡诺在临床使用的常用剂量。使用MTT法检测布托啡诺的细胞毒性。在ABCB1过表达的白血病耐药细胞中,4 μmol/L的布托啡诺能够明显降低化疗药物的IC50(表1、2)。与对照组相比,布托啡诺将K562/ADR对DOX的抵抗倍数由48.1倍下降到9.6倍,对VCR由最初的108.4倍下降到20.7倍;将HL60/VCR对DOX的抵抗倍数由37.8倍下降到7.6倍,对VCR由23.4倍下降到4.8倍,提示布托啡诺大大提高了耐药细胞对DOX和VCR的敏感性。布托啡诺的逆转效果与维拉帕米相似,但是布托啡诺对顺铂却没有作用,这说明布托啡诺可以逆转的化疗药物须是ABCB1的底物。本实验流式细胞仪检测了DOX在HL60/VCR的累积效果(图2),在HL60/VCR细胞内,布托啡诺将DOX的累积程度提高了5.9倍,这说明布托啡诺呈浓度依赖性地增加DOX在细胞内的积累。也就是说临床剂量的布托啡诺不仅可以明显缓解白血病人的疼痛,提高其生活质量,同时还可以提高化疗药物敏感性,提高肿瘤杀伤效果,为布托啡诺老药新用提供了新思路。这也是我们研究与其他研究明显不同的地方。

最近有研究表明酪氨酸激酶抑制剂afatinib可通过抑制ABCG2的蛋白表达和mRNA转录水平而抑制药物的外排作用,这说明ABC转运蛋白调节剂还可通过直接改变ABC转运蛋白的膜蛋白表达和定位而抑制转运蛋白的转运功能[10-11]。通过Western Blot,我们发现加入4 μmol/L布托啡诺的HL60/VCR和K562/ADR细胞株的ABCB1蛋白表达没有明显变化,这说明布托啡诺并没有抑制ABCB1的蛋白表达。我们的免疫荧光实验发现布托啡诺也没有改变ABCB1在细胞膜表面的定位和形态,进而表明布托啡诺也没有干扰ABCB1的功能。

Hamabe等[12-13]最近发现,吗啡、芬太尼和美沙酮可以提高ATP酶的活性,Gonzalez等[14]也证明对吗啡敏感的细胞较耐受吗啡的细胞表现出更高的ATP酶活性。作为吗啡的同源类似物,布

托啡诺的结构和功能都与吗啡相似，它可能也有与吗啡相似的效果，即在较低浓度时，布托啡诺可以与ABCB1的底物竞争性结合，阻止ABCB1的底物——也就是抗肿瘤药物与ATP的结合，抑制药物的外排作用，而当浓度超过了一定阈值，布托啡诺可以直接抑制ATP酶活性。因此，本研究推测布托啡诺很可能是通过这种机制逆转ABCB1诱导的HL60/VCR和K562/ADR的多重耐药性。我们发现，布托啡诺并没有抑制ABCB1的蛋白表达（$P>0.05$），推测布托啡诺的效果很可能是通过抑制ABCB1的功能，降低化疗药物的外排作用，提高化疗药物的细胞内浓度，从而提高杀伤肿瘤效果。

综上，布托啡诺显著降低阿霉素和长春新碱在ABCB1过表达的白血病耐药细胞株中的IC50，它可能是一个潜在的ABCB1抑制剂，抑制化疗药物的外排，有效增加阿霉素在HL60/VCR细胞内的积累水平，故研究它与其他抗肿瘤药物联合使用治疗白血病患者的多重耐药性具有临床参考价值。

参考文献：

[1] da Ros M, Iorio AL, Consolante D, et al. Morphine modulates doxorubicin uptake and improves efficacy of chemotherapy in an intracranial xenograft model of human glioblastoma [J]. Am J Cancer Res, 2016, 6(3): 639-648.

[2] Shah B, Raichandani Y, Misra A. Development and evaluation of oral osmotic pump of butorphanol tartrate [J]. Pharm Dev Technol, 2014, 19(7): 868-80.

[3] Fu LW, Zhang YM, Liang YJ, et al. The multidrug resistance of tumour cells was reversed by tetrandrine in vitro and in xenografts derived from human breast adenocarcinoma mcf-7/adr cells [J]. Eur J Cancer, 2002, 38(3): 418-426.

[4] 陈新峰，杨菁. 用MTT法进行白血病体外药物敏感性检测的临床意义 [J]. 福建医科大学学报，2009，43(2)：169-171，177.
Chen XF, Yang J. Application of MTT assay in the in vitro tumor chemosensitivity test amongpatients with leukemia and its clinical significance [J]. J Fujian Med Univ, 2009, 43(2): 169-171, 177.

[5] 陈喜存，王海龙，郭建海. 20例白血病住院病人疼痛的诊疗 [J]. 中国疼痛医学杂志，2006，12(1)：55-57.
Chen XC, Wang HL, Guo JH. Diagnosis and treatment of 20 cases of leukemia in hospital [J]. Chin J Pain Med, 2006, 12(1): 55-57.

[6] 李节. 骨关节疼痛为早期表现的小儿白血病15例分析 [J]. 检验医学与临床，2010，7(24)：2768-2768.
Li J. Analysis of 15 cases of early manifestation of bone and joint pain in children with leukemia [J]. Lab Med Clin, 2010, 7(24): 2768-2768.

[7] 郁秋华，傅帅湘. 癌性疼痛患者应用吗啡的影响因素及分析 [J]. 上海护理，2011，11(3)：11-13.
Yu QH, Fu SX. The influence factors and analysis of morphine in patients with cancer pain [J]. Shanghai Nurs J, 2011, 11(3): 11-13.

[8] Da RM, Iorio AL, Consolante D, et al. Morphine modulates doxorubicin uptake and improves efficacy of chemotherapy in an intracranial xenograft model of human glioblastoma [J]. Am J Cancer Res, 2016, 6(3): 639-648.

[9] 钱卫，刘燕，杜学柯，等. 布托啡诺用于术后病人自控静脉镇痛(PCIA)的meta分析 [J]. 中国疼痛医学杂志，2011，17(2)：97-101.
Qian W, Liu Y, Du XK, et al. Meta analysis of patient-controlled intravenous analgesia (PCIA) for postoperative patients with Bhutto enphine [J]. Chin J Pain Med, 2011, 17(2): 97-101.

[10] Wang XK, To KK, Huang LY, et al. Afatinib circumvents multidrug resistance via dually inhibiting atp binding cassette subfamily g member 2 in vitro and in vivo [J]. Oncotarget, 2014, 5(23): 11971-11985.

[11] Wang F, Wang XK, Shi CJ, et al. Nilotinib enhances the efficacy of conventional chemotherapeutic drugs in cd34 (+) cd38 (-) stem cells and abc transporter overexpressing leukemia cells [J]. Molecules, 2014, 19(3): 3356-3375.

[12] Hamabe W, Maeda T, Fukazawa Y, et al. P-glycoprotein atpase activating effect of opioid analgesics and their p-glycoprotein-dependent antinociception in mice [J]. Pharmacol Biochem Behav, 2006, 85(3): 629-636.

[13] Ottawa (ON): Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health. Long-acting opioids for chronic non-cancer pain: A review of the clinical efficacy and safety [R/OL]. (2015-08-27). https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK349988/

[14] González LG, Portillo E, Del Pozo E, et al. Changes in [(3)h] glibenclamide binding to mouse forebrain membranes during morphine tolerance [J]. Eur J Pharmacol, 2001, 418(1/2): 29-37.

（编辑　刘清海）