

## 不同序贯的西妥昔单抗与化疗药物联合对 HepG2 和 Bel-7402 细胞的增殖抑制作用

韦 玮, 郭荣平, 李锦清, 徐 立, 张亚奇

(华南肿瘤学国家重点实验室//中山大学附属肿瘤医院肝胆科, 广东 广州 510060)

**摘 要:**【目的】观察不同序贯的西妥昔单抗(cetuximab)与化疗药物联合对人肝癌细胞系 HepG2 和 Bel-7402 的增殖抑制作用,并分析其意义。【方法】浓度递增的 cetuximab 和表柔比星、奥沙利铂、泰素、伊立替康四种化疗药物分别按照不同给药序贯联合作用于 HepG2 和 Bel-7402 细胞,使用细胞计数试剂盒 CCK-8 检测不同给药序贯的药物对 HepG2 和 Bel-7402 细胞的增殖抑制作用,利用生物学软件 CalcuSyn 计算不同给药序贯时 cetuximab 和化疗药物的半数抑制浓度(IC<sub>50</sub>)的变化,计算其作用的协同系数(CI)。【结果】Cetuximab 和化疗药物联用对 HepG2 和 Bel-7402 细胞的增殖抑制作用受给药序贯影响:cetuximab 先于化疗药物给药,两者的 IC<sub>50</sub> 较单用时降低,但是 CI 值均大于 1,两者之间为拮抗效应;cetuximab 后于化疗药物给药,两者的 IC<sub>50</sub> 较单用时降低更为明显,且 CI 值均小于 1,两者之间具有较明显的协同效应。【结论】Cetuximab 与化疗药物联用对肝癌细胞的增殖具有协同抑制作用,较佳的给药序贯是化疗药物先于 cetuximab 给药,能获得明显的协同效应,这有助于临床用药时降低药物剂量,减少毒副作用。

**关键词:** 肝肿瘤;西妥昔单抗;联合化疗;表皮生长因子受体

中图分类号:R735.7 文献标识码:A 文章编号:1672-3554(2008)05-0556-06

## Sequence-dependent Antiproliferative Effects of Cetuximab and Cytotoxic Drugs to HepG2 and Bel-7402 Cells

WEI Wei, GUO Rong-ping, LI Jin-qing, XU Li, ZHANG Ya-qi

(State Key Laboratory of Oncology in South China//Department of Hepatobiliary Oncology, Cancer Center, SUN Yat-sen University, Guangzhou 510060, China)

**Abstract:**【Objective】To evaluate the inhibition effects of cetuximab on proliferation of HepG2 and Bel-7402 cells in different sequences of combination with either epirubicin, oxaliplatin, paclitaxel or irinotecan, explore the optimal treatment schedule of combination of cetuximab and cytotoxic drugs.【Methods】Increasing concentrations of cetuximab (5~500 mg/mL) combined respectively with epirubicin (0.025~2.5 μmol/L), oxaliplatin (0.5~50 μmol/L), paclitaxel (0.001~0.1 μmol/L) or irinotecan (0.05~5 μmol/L) were administrated to HCC cell lines HepG2 and Bel-7402 with different sequences, the proliferation inhibition effects on HepG2 and Bel-7402 cells were detected with CCK-8 assay, the IC<sub>50</sub> and CI of cetuximab and either of cytotoxic drug were calculated.【Results】The combination of a cytotoxic drug with cetuximab caused different antiproliferative effects on HepG2 and Bel-7402 cells depending on different treatment sequences. The respective IC<sub>50</sub> of cetuximab and cytotoxic drugs decreased when cetuximab followed by chemotherapy, while the CI values were all >1, which indicated an antagonistic interaction. In contrast, when chemotherapy was followed by cetuximab, the respective IC<sub>50</sub> of drugs decreased more remarkably and the CI values were all <1, which indicated a significant synergistic antiproliferative activity.【Conclusions】The combination of cetuximab and cytotoxic drugs can increase the antiproliferative effects on HepG2 and Bel-7402 cells. The optimal treatment sequence is chemotherapy followed by cetuximab, it can obtain obvious synergistic activity and conduce to less doses and milder side effects in clinical application.

**Key words:** Liver neoplasm; cetuximab; combination chemotherapy; epidermal growth factor receptor

[J SUN Yat-sen Univ (Med Sci), 2008, 29(5):556-561]

收稿日期:2007-12-25

基金项目:“十一五”国家科技支撑计划重大项目(2006BAI02A04)

作者简介:韦 玮(1977-),男,回族,广西桂林人,博士生,主治医师;李锦清,通讯作者,教授,博士生导师,E-mail:lijinq@mail.sysu.edu.cn

原发性肝癌起病隐匿,出现症状后进展迅速,患者就诊时多已届晚期失去手术根治机会,其总体5年生存率不足30%。对于局部进展(肝内播散或门静脉癌栓)或合并远处转移的晚期肝癌尚缺乏有效的治疗手段<sup>[1]</sup>。传统的全身化疗效果不理想,虽然所有上市的化疗药物都曾经试用于肝癌的治疗,但是客观缓解率最多不超过20%。加之传统的化疗药物往往具有选择性差,毒性大等缺点,更限制了在肝癌患者中的应用<sup>[2]</sup>。随着对各种细胞表面分子与恶性肿瘤发生发展关系的研究不断深入,研究者发现表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)在许多肿瘤细胞中,如肺癌、结肠癌、头颈部鳞癌等的细胞表面能检测到异常的高表达,并常与恶性肿瘤的预后不良、早期复发转移、化疗抗拒等直接相关<sup>[3-5]</sup>。西妥昔单抗(cetuximab)是新近开发的靶向EGFR的单克隆抗体,在多种恶性肿瘤如头颈部鳞癌、结直肠癌等的治疗中,cetuximab单用或与传统化疗方案联合,取得了令人鼓舞的效果<sup>[5-7]</sup>。已有研究提示肝癌组织和癌旁肝组织中存在EGFR的高表达<sup>[8,9]</sup>,提示EGFR及其信号通路在肝癌的发生发展中可能具有重要的作用。目前国内外对于靶向EGFR药物与化疗药物联合用于治疗肝癌的报道极少,本研究通过观察cetuximab与化疗药物的不同给药序贯对人肝癌细胞系HepG2和Bel-7402的增殖抑制作用,探讨其对肝癌细胞的化疗增敏效果与给药序贯的关系,为寻找优化的治疗序贯并进一步运用于肝癌患者的临床治疗提供实验依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 药品与试剂

西妥昔单抗(Cetuximab)购自德国默克公司,表柔比星(Epirubicin)购自美国辉瑞公司,奥沙利铂(Oxaliplatin)购自法国赛诺菲安万特公司,泰素(Paclitaxel)购自美国施贵宝公司,伊立替康(Irinotecan)购自英国安万特公司,CCK-8细胞计数试剂盒(Cell Counting Kit-8)购自日本同仁化学研究所,RPMI Medium 1640培养液、100 mL/L新生小牛血清、含100 U/mL青霉素和100 mg/L链霉素的双抗、2.5 g/L胰酶溶液购自美国Gibco公司。Cetuximab为2 mg/mL的溶液,泰素为6 mg/

mL的溶液,表柔比星、奥沙利铂、伊立替康为粉剂,以上药物均使用pH为7.2的PBS溶液稀释至目标浓度。

### 1.2 细胞株及培养方法

人肝癌细胞株HepG2, Bel-7402由中山大学肿瘤防治中心实验研究部提供。细胞培养于含100 mL/L新生小牛血清、100 U/mL青霉素和100 mg/L链霉素的RPMI-1640培养液中,置于37℃、CO<sub>2</sub>分压为5%(体积百分数)、湿度85%的恒温培养箱中培养,每3~4 d传代1次,取对数生长期细胞进行实验。

### 1.3 体外CCK-8细胞增殖抑制实验

1.3.1 细胞接种 取对数生长期的HepG2和Bel-7402细胞,经2.5 g/L胰酶溶液充分消化后分别使用含100 mL/L新生小牛血清、100 U/mL青霉素和100 mg/L链霉素的RPMI-1640培养液稀释成单细胞悬液,HepG2细胞密度为 $3 \times 10^4$ 个/mL, Bel-7402细胞密度为 $5 \times 10^4$ 个/mL,接种于96孔培养板,接种过程细胞悬液保持吹打和晃动使细胞分布尽量均匀。每孔加入细胞悬液100 μL,使每孔中HepG2细胞为3 000个, Bel-7402细胞为5 000个,空白对照孔加入100 μL不含小牛血清的培养液,置于37℃、体积分数5%的CO<sub>2</sub>、85%湿度的恒温培养箱中培养24 h,使细胞贴壁生长后,更换新培养基。

1.3.2 药物分组及加药方法 实验设空白对照组、细胞对照组、单药处理组(cetuximab、表柔比星、奥沙利铂、泰素、伊立替康);序贯处理组按照不同加药序贯,又分为序贯处理组1(cetuximab+化疗药物组)和序贯处理组2(化疗药物+cetuximab组),每组中每一药物浓度各设3个复孔。

空白对照组在铺孔时用100 μL培养液代替细胞悬液,细胞对照组和药物处理组铺孔时加入100 μL的细胞悬液,经24 h细胞贴壁后,更换新培养液。加药时空白对照组加入200 μL培养液;细胞对照组加入100 μL培养液+100 μL的PBS溶液(pH 7.2),单药处理组加入100 μL培养液、100 μL药物溶液,使每孔中液体终体积为200 μL;序贯处理组1先加入100 μL培养液和100 μL的cetuximab溶液,培养48 h后,小心倒出培养板内液体,每孔内加入200 μL的PBS溶液轻微振荡洗去残留于孔壁的药物,重复3次,加入

100  $\mu\text{L}$  培养液和 100  $\mu\text{L}$  的化疗药物, 继续培养 24 h; 序贯处理组 2 先加入 100  $\mu\text{L}$  培养液和 100  $\mu\text{L}$  的化疗药物培养 24 h, 照前法洗涤培养板去除残留药物后, 加入 100  $\mu\text{L}$  培养液和 100  $\mu\text{L}$  的 cetuximab, 继续培养 48 h。

实验药物单用时选取 7 个依次递增的浓度处理细胞, 浓度分别为 cetuximab (5 ~ 500 mg/mL), 表柔比星 (0.025 ~ 2.5  $\mu\text{mol/L}$ )、奥沙利铂 (0.5~50  $\mu\text{mol/L}$ )、泰素 (0.001 ~ 0.1  $\mu\text{mol/L}$ )、伊立替康 (0.05 ~ 5  $\mu\text{mol/L}$ ); 序贯处理时, 加入孔内的两药浓度亦同时递增, 其浓度比例保持恒定。

1.3.3 实验方法 单药处理组经 cetuximab 48 h、化疗药物 24 h 作用后, 序贯处理组按照不同序贯的 cetuximab 48 h 和化疗药物 24 h 作用后, 于培养板每孔内加入 10  $\mu\text{L}$  的 CCK-8 溶液, 37  $^{\circ}\text{C}$  下孵育 0.5 h, 全自动酶标仪以 490 nm 和 540 nm 双波长测定各孔吸光度 ( $A$  值), 实验重复进行 3 次, 取 3 次计算所得抑制率的均数输入 CalcuSyn 软件计算结果。

1.3.4 计算方法 ①各组细胞存活率 (%) = (该药物处理组  $A$  值 - 空白对照组  $A$  值) / (细胞对照组  $A$  值 - 空白对照组  $A$  值)  $\times 100\%$ ; ②细胞增殖抑制率 (%) =  $100\%$  - 该组细胞存活率; 统计学处理根据 Chou 等<sup>[10]</sup>药物协同作用中效原理, 使用生物软件 CalcuSyn 计算 cetuximab 作用 48 h 和化疗药物作用 24 h 对 HepG2 和 Bel-7402 细胞的  $\text{IC}_{50}$  (50% inhibition concentration, 半数抑制浓度) 及 95% 可信区间、不同序贯联用时 cetuximab 和化疗药物的  $\text{IC}_{50}$  的变化、不同序贯联用时实验浓度的 cetuximab 和化疗药物的 CI (combination index, 协

同系数) 及 95% 可信区间以及 cetuximab 和化疗药物在各自  $\text{IC}_{50}$  时的 CI 值。

## 2 结 果

### 2.1 单药 cetuximab 和化疗药物对 HepG2 和 Bel-7402 细胞的作用

单独应用 cetuximab 48 h 和化疗药物 24 h 作用于 HepG2 和 Bel-7402 细胞, 计算得到各自的  $\text{IC}_{50}$  及其 95% 可信区间见表 1。

表 1 单用 cetuximab 和化疗药物对 HepG2 和 Bel-7402 细胞的  $\text{IC}_{50}$  及其 95% 可信区间

Table 1 The respective  $\text{IC}_{50}$  and 95% Confidence Intervals of single agent of cetuximab and cytotoxic drugs on HepG2 and Bel-7402 cells

Drugs	HepG2 cell	Bel-7402 cell
Cetuximab 48 h (mg/mL)	1 566(1 132~2 166)	8 939(4 645~17 200)
Epirubicin 24 h ( $\mu\text{mol/L}$ )	7(4~13)	54(21~139)
Pxaliplatin 24 h ( $\mu\text{mol/L}$ )	819(129~5195)	636(171~2357)
Paclitaxel 24 h ( $\mu\text{mol/L}$ )	0.18(0.06~0.53)	1.08(0.71~1.64)
Irinotecan 24 h ( $\mu\text{mol/L}$ )	38(7~210)	30(9~104)

### 2.2 不同序贯的 cetuximab 和化疗药物联用对 HepG2 和 Bel-7402 细胞的 $\text{IC}_{50}$

HepG2 和 Bel-7402 细胞经同样的 cetuximab 48 h 和化疗药物 24 h 作用, 不同的给药序贯, 药物的  $\text{IC}_{50}$  呈现不同的变化: 序贯处理组 1 内各组药物的  $\text{IC}_{50}$  较单用时有所降低 (除 irinotecan 联用 cetuximab 后对 Bel-7402 的  $\text{IC}_{50}$  稍增大外); 序贯处理组 2 内各组药物的  $\text{IC}_{50}$  均较单用时和序贯处理组 1 明显降低 (表 2)。

表 2 不同序贯的 cetuximab 和化疗药物对 HepG2 和 Bel-7402 细胞的  $\text{IC}_{50}$  及其 95% 可信区间

Table 2 The  $\text{IC}_{50}$  and 95% Confidence Intervals at different sequences of cetuximab combined cytotoxic drugs on HepG2 and Bel-7402 cells

Drugs	Cetuximab followed by chemotherapy		Chemotherapy followed by cetuximab	
	HepG2	Bel-7402	HepG2	Bel-7402
Cetuximab (mg/mL)	1 004(921 ~ 1 093)	4 580(3 588 ~ 5 847)	103(75 ~ 139)	603(458 ~ 794)
Epirubicin ( $\mu\text{mol/L}$ )	5.0(4.6 ~ 5.5)	22.9(17.9 ~ 29.2)	0.5(0.4 ~ 0.7)	3.0(2.3 ~ 4.0)
Cetuximab (mg/mL)	1 310(1 121 ~ 1 531)	3 984(2 997 ~ 5 294)	399(315 ~ 507)	657(542 ~ 795)
Oxaliplatin ( $\mu\text{mol/L}$ )	131(112 ~ 153)	398(300 ~ 529)	40(31 ~ 51)	66(54 ~ 80)
Cetuximab (mg/mL)	862(700 ~ 1 060)	3 678(3 345 ~ 4 043)	71(40 ~ 137)	189(100 ~ 356)
Paclitaxel ( $\mu\text{mol/L}$ )	0.17(0.14 ~ 0.21)	0.74(0.67 ~ 0.81)	0.01(0.01 ~ 0.03)	0.04(0.02 ~ 0.07)
Cetuximab (mg/mL)	1 520(1 342 ~ 1 721)	3 053(2 509 ~ 3 715)	557(474 ~ 655)	299(238 ~ 374)
Irinotecan ( $\mu\text{mol/L}$ )	15(13 ~ 17)	31(25 ~ 37)	6(5 ~ 7)	3(2~4)

2.3 不同序贯的 cetuximab 和化疗药物对 HepG2 和 Bel-7402 细胞的协同系数

CI 值是评价两种药物之间相互作用的指标,特别是两药各自在 IC<sub>50</sub> 时的 CI 值,是衡量其相互作用的性质和强度的客观指标。结果表明:按照不同的给药序贯联合 cetuximab 和化疗药物作用于 HepG2 和 Bel-7402 细胞,无论是实验选用的实际药物浓度之间(图 1-4),还是在各自的理论 IC<sub>50</sub> 之间(表 3),序贯处理组 1 中 cetuximab 和化疗药物的 CI 值均大于 1,序贯处理组 2 中 cetuximab 和化疗药物的 CI 值均小于 1,说明 cetuximab 先于化疗药物作用,虽然各自的 IC<sub>50</sub> 均较单用时降低,但是 CI 值提示此时药物之间是拮抗效应;而化疗药物先于 cetuximab 作用,则表现出明显的协同效应。

3 讨论

EGFR 是生长因子受体家族的重要成员之一<sup>[3]</sup>,为原癌基因 *cerbB-1*(HER-1)编码的、含 53 个氨基酸残基、相对分子质量  $170 \times 10^3$  ku 的跨膜受体蛋白。由膜外配体结合区域、跨膜转换区域和具酪氨酸激酶活性的胞内效应区域三部分组成,广泛分布于多种人体正常细胞表面。EGFR 在与其配体结合后可以参与细胞生长、增殖和凋亡等多种重要功能,在正常的细胞生理过程中发挥十分重要的调控作用。在包括肝癌在内的多种恶性肿瘤细胞表面可以检测到 EGFR 的异常高表达<sup>[11]</sup>,并与肿瘤的多种恶性生物学特性:如预后不良、短期复发,特别是放化疗抗拒等直接相关<sup>[3-5]</sup>。

表 3 Cetuximab 和化疗药物在 IC<sub>50</sub> 时的 CI 值

Table 3 The CI values of different sequences of cetuximab and cytotoxic drugs at their respective IC<sub>50</sub>

Sequence drugs	Cetuximab followed by chemotherapy		Chemotherapy followed by cetuximab	
	HepG2	Bel-7402	HepG2	Bel-7402
Epirubicin	1.79	1.16	0.14	0.13
Oxaliplatin	1.13	1.35	0.32	0.18
Paclitaxel	2.03	1.38	0.13	0.06
Irinotecan	1.75	1.72	0.55	0.14

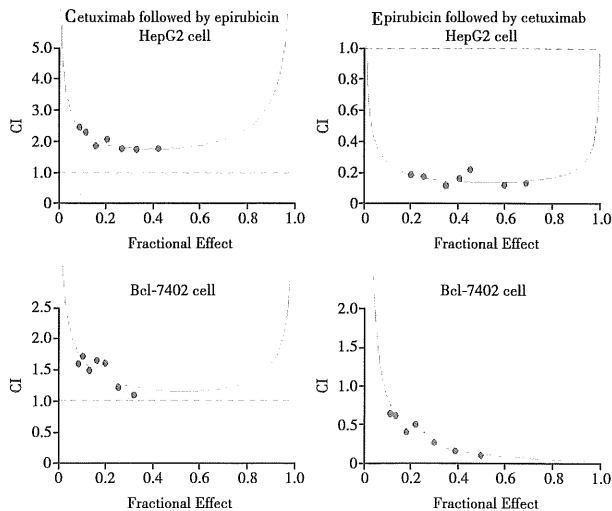


图 1 实验选用浓度的 cetuximab 和表柔比星对 HepG2 和 Bel-7402 细胞的不同序贯 CI 值曲线  
Fig.1 The curve of CI values of different sequences at experimental concentrations of cetuximab and epirubicin on HepG2 and Bel-7402 cells

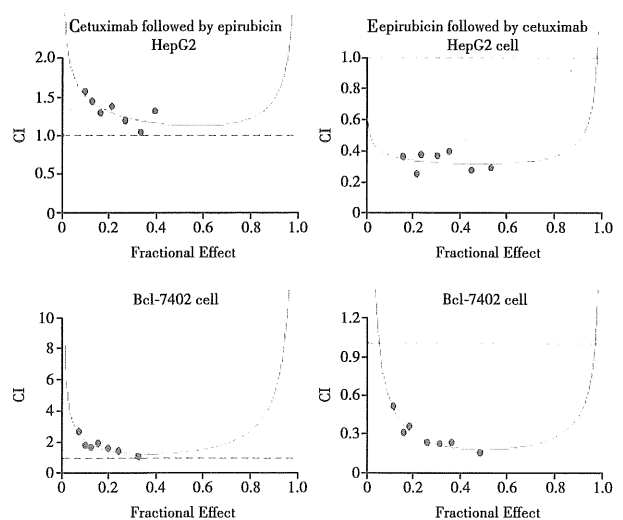


图 2 实验选用浓度的 cetuximab 和奥沙利铂对 HepG2 和 Bel-7402 细胞的不同序贯 CI 值曲线  
Fig.2 The curve of CI values of different sequences at experimental concentrations of cetuximab and oxaliplatin on HepG2 and Bel-7402 cells

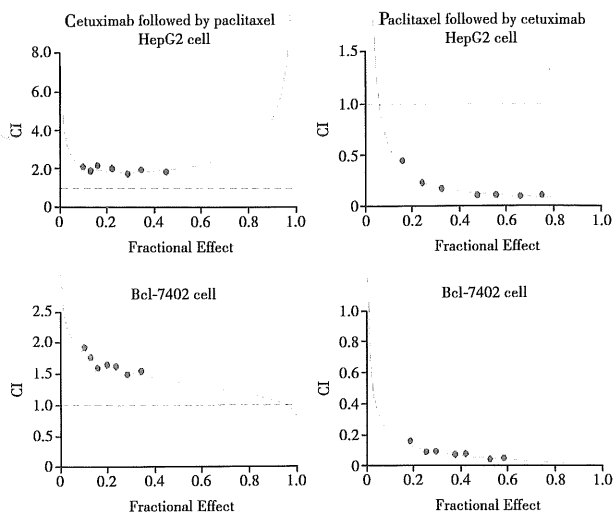


图3 实验选用浓度的 cetuximab 和泰素对 HepG2 和 Bel-7402 细胞的不同序贯 CI 值曲线

Fig.3 The curve of CI values of different sequences at experimental concentrations of cetuximab and paclitaxel on HepG2 and Bel-7402 cells

Cetuximab 是人鼠嵌合型的 EGFR 单克隆抗体<sup>[12]</sup>, 其主要的作用机制为: 与配体竞争 EGFR 分子胞外部分的特殊结合位点, 阻断 EGFR 的激活, 从而阻断其下游一系列与细胞生长、增殖、抗凋亡相关的酶促级联信号转导途径。Cetuximab 单用或与化疗药物组成联合方案已在多种肿瘤如头颈癌、肺癌、结肠癌的临床治疗中显示了较好的疗效<sup>[6,7]</sup>, 并成为第一个经美国 FDA 批准用于已发生转移的晚期直肠癌患者治疗的单克隆抗体药物。

肝细胞肝癌对传统的化疗药物不敏感<sup>[1,2]</sup>, 这使得晚期肝癌的治疗成为临床上的棘手问题。本研究中, 我们选用作用机制不同的化疗药物(表柔比星、奥沙利铂、泰素、伊立替康), 按照不同的给药序贯分别联合 cetuximab 作用于人肝癌细胞系 HepG2 和 Bel-7402。结果表明, 序贯处理组 1 中 cetuximab 和化疗药物的  $IC_{50}$  值都较单用时降低, 但是两药在各自  $IC_{50}$  时的 CI 值均大于 1; 序贯处理组 2 中的两药  $IC_{50}$  值较单用和序贯处理组 1 更低, 且两药在各自  $IC_{50}$  时的两药 CI 值均小于 1。根据 Chou 等<sup>[10]</sup> 药物量效原理(两药联用时  $CI > 1$  为拮抗,  $CI=1$  为相加,  $CI < 1$  为协同, CI 值越小, 协同效应越强), 说明当 cetuximab 先于化疗药物给药时, 两者之间为拮抗效应, 而同样的两药联合, 给药序贯变为化疗药物先于 cetuximab 给药

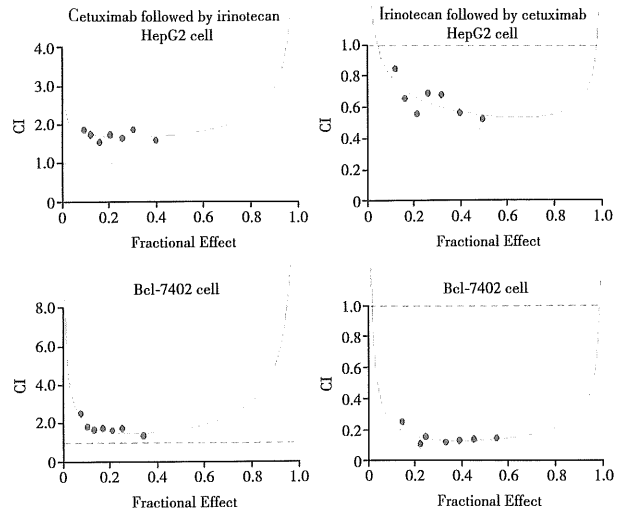


图4 实验选用浓度的 cetuximab 和伊立替康对 HepG2 和 Bel-7402 细胞的不同序贯 CI 值曲线

Fig.4 The curve of CI values of different sequences at experimental concentrations of cetuximab and irinotecan on HepG2 and Bel-7402 cells

时, 两者产生了明显的协同效应。由于本实验选用的四种化疗药物作用机制不同且相互间无交叉, 说明这一现象并非 cetuximab 与特定种类的化疗药物联用时出现, 而是具有较为普遍的意义。

国外学者的实验也有类似的结果, 如 Morelli 等<sup>[13]</sup> 将 cetuximab 和泰素、顺铂、卡铂联合作用于人食管鳞癌细胞 KYSE30; Xu 等<sup>[14,15]</sup> 将 Iressa 和奥沙利铂、伊立替康联合作用于人结肠癌细胞 HT-29 和 LoVo 等。这些研究表明, EGFR 靶向药物与传统化疗药物联合时, 必须按照一定的序贯(即化疗药物先于靶向药物给药), 才能取得较为明显的协同效应。分析这一现象的原因, 可能是经过靶向药物作用后的肿瘤细胞, 其增殖速度变慢, 细胞周期停滞, 从而对化疗药物的敏感性下降; 而先经过化疗药物作用后的肿瘤细胞, 其 DNA 受到不同程度的损伤, 对随后的靶向药物阻断 EGFR 信号转导途径产生的细胞功能损害耐受力下降, 细胞坏死或凋亡进一步增加。

以上结果证实: cetuximab 与化疗药物联用对肝癌细胞的增殖具有协同抑制作用, 最佳的给药序贯是化疗药物先于 cetuximab 给药, 能获得明显的协同效应, 有助于临床用药时降低药物剂量, 减少毒副作用, 这也为进一步的肝癌动物模型和人体临床实验提供了新的思路和理论参考。

## 参考文献:

- [1] 汤钊猷. 肝癌诊治现状与前景 [J]. 中国普外基础与临床杂志, 2003, 10(3):191.
- [2] Thomas MB, O'Beirne JP, Furuse J, et al. Systemic therapy for hepatocellular carcinoma: cytotoxic chemotherapy, targeted therapy and immunotherapy [J]. *Ann Surg Oncol*, 2008, 15(4):1008-1014.
- [3] Laskin JJ, Sandler AB. Epidermal growth factor receptor: a promising target in solid tumors [J]. *Cancer Treat Rev*, 2004, 30(1):1-17.
- [4] Mendelsohn J, Baselga J. Status of epidermal growth factor receptor antagonists in the biology and treatment of cancer [J]. *J Clin Oncol*, 2003, 21(14):2787-2799.
- [5] Mendelsohn J, Fan Z. Epidermal growth factor receptor family and chemosensitization [J]. *J Natl Cancer Inst*, 1997, 89(5):341-343.
- [6] Gebbia V, Giuliani F, Valori VM, et al. Cetuximab in squamous cell head and neck carcinomas [J]. *Ann Oncol*, 2007, 18(Suppl 6):vi5-7.
- [7] Blick SK, Scott LJ. Cetuximab: a review of its use in squamous cell carcinoma of the head and neck and metastatic colorectal cancer [J]. *Drugs*, 2007, 67(17):2585-2607.
- [8] Ito Y, Takeda T, Sakon M, et al. Expression and clinical significance of erb-B receptor family in hepatocellular carcinoma [J]. *Br J Cancer*, 2001, 84(10):13771-13783.
- [9] 徐立,张昌卿,冯凯涛,等.肝细胞癌及癌旁肝组织 EGFR和 EGFRⅧ的表达及其临床意义 [J]. *中山大学学报:医学科学版*, 2006, 27(4):467-471.
- [10] Chou TC, Talalay P. Quantitative analysis of dose-effect relationships: the combined effects of multiple drugs or enzymeinhibitors [J]. *Adv Enzyme Regul*, 1984, 22:27-55.
- [11] 董伦,浦佩玉,王虎,等.胶质瘤中 EGFR 扩增、过表达及其与肿瘤增殖关系的研究 [J]. *中华神经医学杂志*, 2005, 4(12):1204-1207, 1212.
- [12] Harding J, Burtneess B. Cetuximab: an epidermal growth factor receptor chemic human-murine monoclonal antibody [J]. *Drugs Today (Barc)*, 2005, 41(2):107-227.
- [13] Morelli MP, Cascone T, Troiani T, et al. Sequence-dependent antiproliferative effects of cytotoxic drugs and epidermal growth factor receptor inhibitors [J]. *Ann Oncol*, 2005, 16(Suppl 4):iv61-68.
- [14] Xu JM, Azzariti A, Colucci G, et al. The effect of gefitinib (Iressa, ZD1839) in combination with oxaliplatin is schedule-dependent in colon cancer cell lines [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2003, 52(6):442-448.
- [15] Azzariti A, Xu JM, Porcelli L, et al. Schedule-dependent enhanced cytotoxic activity of 7-ethyl-10-hydroxy-camptothecin (SN-38) in combination with gefitinib (Iressa, ZD1839) [J]. *Biochem Pharmacol*, 2004, 68(1):135-144.

(编辑 张恩健)

(上接第 549 页 from page 549)

- entubulation in a cat model [J]. *Ann Otol Rhinol Laryngol*, 2006, 115(8):631-642.
- [12] Phillips JB, Bunting SC, Hall SM, et al. Neural tissue engineering: a self-organizing collagen guidance conduit [J]. *Tissue Eng*, 2005, 11(9-10):1611-1617.
- [13] Lietz M, Ullrich A, Schulte-Eversum C, et al. Physical and biological performance of a novel block copolymer nerve guide [J]. *Biotechnol Bioeng*, 2006, 93(1):99-109.
- [14] Lietz M, Dreesmann L, Hoss M, et al. Neurotissue engineering of glial nerve guides and the impact of different cell types [J]. *Biomaterials*, 2006, 27(8):1425-1436.
- [15] Eren F, Yuksel F, Ulkur E, et al. Nerve regeneration through a healthy nerve trunk: a new and hopeful conduit for bridging nerve defects [J]. *Plast Reconstr Surg*, 2005, 116(6):1697-1705.

(编辑 刘清海)