

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2019.07.012

· 临床研究 ·

胰腺癌组织和细胞的耐药性与 ABC 转运蛋白基因 1 的关系

陈敏泳, 张辉, 张明基, 陈昭硕, 张帆, 许少华, 周东 (福建省肿瘤医院暨福建医科大学附属肿瘤医院 肝胆胰外科, 福建 福州 350014)

[摘要] **目的:** 探讨胰腺癌耐药性与 ABC 转运蛋白基因 1 (ABCB1) 的表达及其启动子甲基化的关系。**方法:** 选用 2015 年 8 月至 2018 年 8 月福建省肿瘤医院病理确诊的 15 例胰腺癌及癌旁组织、3 例正常胰腺组织标本以及胰腺癌细胞株 SW1990, 用间歇浓度梯度倍增法将 SW1990 细胞株诱导分化为吉西他滨 (GEM) 耐药胰腺癌细胞株 SW1990/GZ。用 qPCR 分别检测胰腺癌及癌旁组织和 SW1990、SW1990/GZ 细胞中 ABCB1 表达水平, 用 MSP-PCR 法检测胰腺癌组织和 SW1990、SW1990/GZ 细胞中 ABCB1 启动子区域甲基化程度。**结果:** 与 SW1990 相比, SW1990/GZ 细胞空泡增多、核分裂像增加、呈现团块生长, 并呈现更强的耐药性 ($P < 0.05$)。胰腺癌组织中 ABCB1 表达水平明显高于癌旁组织 ($P < 0.01$)。SW1990 和 SW1990/GZ 细胞中 ABCB1 表达水平显著高于正常胰腺组织 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 其中 SW1990/GZ 细胞中 ABCB1 表达水平高于 SW1990 细胞 ($P < 0.05$)。SW1990 和 SW1990/GZ 细胞及正常胰腺组织中的 ABCB1 启动子均呈低甲基化状态。胰腺癌和正常胰腺组织中甲基化率分别为 6.7% (1/15) 及 0.00% (0/3), 差异无统计学意义 (均 $P > 0.05$)。**结论:** 胰腺癌组织和细胞中 ABCB1 表达增高与耐药性有关, 但其基因表达不依赖于启动子的甲基化调控。

[关键词] 胰腺癌; SW1990 细胞; SW1990/GZ 细胞; ABC 转运蛋白基因 1; DNA 甲基化; 耐药性

[中图分类号] R735.9; R730.53 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2019)07-0793-05

Relationship between drug resistance and ABCB1 gene in pancreatic cancer

CHEN Minyong, ZHANG Hui, ZHANG Mingji, CHEN Zhaoshuo, ZHANG Fan, XU Shaohua, ZHOU Dong (Department of Hepatobiliary and Pancreatic Surgery, Fujian Cancer Hospital & Cancer Hospital Affiliated to Fujian Medical University, Fuzhou 350014, Fujian, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the relationship between drug resistance and expression of ABC-binding cassette subfamily B member 1 (ABCB1) as well as its promoter methylation in pancreatic cancer. **Methods:** Fifteen pairs of pancreatic cancerous tissues and corresponding para-cancerous tissues, which were pathologically verified in Fujian Cancer Hospital from August 2015 to August 2018, were collected for this study; in addition, 3 cases of normal pancreatic tissues and pancreatic cancer cell line SW1990 were also collected. Gemcitabine (GEM)-resistant human pancreatic cancer cell line SW1990/GZ was induced by intermittent concentration gradient multiplication method. The expression level of ABCB1 in SW1990 cells, SW1990/GZ cells, pancreatic cancer tissues and para-cancerous tissues was detected by qPCR. Methylation of ABCB1 promoter region in SW1990 cells, SW1990/GZ cells and pancreatic cancerous tissues was determined by MSP-PCR. **Results:** Compared with SW1990 cells, the morphology of SW1990/GZ cells showed more vacuoles, more mitotic images, clumpy growth and increased drug resistance ($P < 0.05$). ABCB1 expression in pancreatic cancer tissues was significantly higher than that in para-cancerous tissues ($P < 0.01$). The expression of ABCB1 in SW1990 and SW1990/GZ cells was significantly higher than that in normal pancreatic tissues ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), and the expression of ABCB1 in SW1990/GZ cells was higher than that in SW1990 cells ($P < 0.05$). ABCB1 promoters in SW1990, SW1990/GZ cells and normal pancreatic tissues were hypomethylated. Rate of methylation in pancreatic cancerous tissues and normal pancreatic tissues was 6.7% (1/15) and 0.00% (0/3) respectively, and the difference was statistically insignificant (all $P > 0.05$). **Conclusion:** Increased ABCB1 expression in pancreatic cancer tissues and cells is associated with drug resistance, but its gene expression does not depend on promoter methylation regulation.

[Key words] pancreatic cancer; SW1990 cells; SW1990/GZ cells; ABC-binding cassette subfamily B member 1 (ABCB1); DNA methylation; drug resistance

[Chin J Cancer Biother, 2019, 26(7): 793-797. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2019.07.012]

胰腺癌发病率逐年增加, 据中国国家癌症中心最新数据统计, 该病位列癌症致死原因第 5 位, 5 年生存率 5%~10%, 大多数病例诊断时已进入晚期^[1]。化

[作者简介] 陈敏泳 (1986-), 男, 硕士, 主治医师, 主要从事消化系统肿瘤的临床治疗研究, E-mail: fjszlyycmy@sina.com

疗仍是晚期胰腺癌的标准疗法,以吉西他滨(gisitabine, GEM)为基础的联合化疗(如GEM+白蛋白结合型紫杉醇)是目前最有效的方法^[2-4]。但胰腺癌对化疗不敏感,中位OS为5~6个月^[2],因此,阐明胰腺癌化疗耐药分子机制极为重要。肿瘤的耐药机制很多,其中三磷酸腺苷结合盒(ATP binding cassette, ABC)转运蛋白通过从细胞内泵出药物及其代谢物而导致肿瘤耐药是目前研究最多、较清楚的机制之一,如P-糖蛋白(P-glycoprotein, P-gp)^[5]。P-gp是由ABC转运蛋白基因1(ATP-binding cassette subfamily B member 1, ABCB1)编码的相对分子质量为170 000的磷酸糖蛋白,由2个ATP结合盒和2个穿膜区域组成,与肿瘤的化疗耐药相关^[6-7]。DNA甲基化是最重要的表观遗传学机制之一^[8],人类基因组中CpG二核苷酸非随机分布,在5'端启动子区CpG位点高度聚集,称为CpG岛,超过40%的编码蛋白基因启动子区具有CpG岛^[9]。CpG岛甲基化会抑制基因的转录水平,与肿瘤发生、发展和化疗敏感性有关^[10-11]。本研究应用qPCR法和甲基化特异性PCR(MSP-PCR)技术对胰腺癌组织和细胞中ABCB1表达及其启动子区甲基化状态进行研究,分析其可能的耐药机制。

1 资料与方法

1.1 组织标本、细胞系及主要试剂

收集2015年8月至2018年8月福建省肿瘤医院病理确诊的15例胰腺癌患者癌组织及距离癌组织边缘3~5 cm的癌旁组织、3例正常胰腺组织。所有标本获取前均告知患者并签署知情同意书,均经液氮速冻、-80℃冰箱中保存。

人胰腺癌细胞株SW1990来源于中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库。

10%胎牛血清的DMEM购自美国Invitrogen公司,Qiagen RNeasy Mini Kit试剂盒、EpiTect Bisufite Kit试剂盒购自上海Qiagen公司,PrimeScript RT reagent Kit试剂盒购自大连TaKaRa公司,pEASY-T1 simple vector试剂盒购自北京TransGen Biotech公司等。PCR引物由上海Invitrogen公司合成、纯化。

1.2 建立GEM耐药的人胰腺癌细胞株SW1990/GZ

SW1990细胞在3 μmol/L的GEM的DMEM培养液培养48 h,吸去含药培养液,更换为不含GEM的DMEM培养液,待细胞至对数期后,传代2次,重复在3 μmol/L GEM的DMEM培养液培养,至细胞能在含该剂量GEM的培养液中稳定生长后,成倍增加GEM含量(即6 μmol/L)。重复前述实验步骤,依次成倍递增药物浓度(至768 μmol/L),共培养24周,建成SW1990/GZ细胞株。

1.3 MTT法检测SW1990和SW1990/GZ的增殖

将对数生长期的SW1990及SW1990/GZ细胞分别消化重悬,种植于96孔板,每孔细胞 1×10^4 个,培养24 h后加入梯度浓度的GEM,SW1990组浓度梯度为(1、5、10、50、100 μmol/L),SW1990/GZ组浓度梯度为(50、100、250、500、1 000 μmol/L),每个浓度组设置5个复孔,另设对照组(不加药)。细胞培养箱中培养72 h后,每孔加入20 μl (5 g/L)MTT液,继续培养4 h,每孔加150 μl DMSO,避光震荡10 min,在全自动酶标仪上测定波长在490 nm的光密度(D)值。细胞增殖抑制率=(对照组D值-实验组D值)/对照组D值 $\times 100\%$ 。根据细胞株在各个浓度梯度的细胞增殖抑制率,绘制其药物剂量-抑制率曲线,计算IC₅₀。耐药指数(resistance index, RI)=IC₅₀(耐药细胞株)/IC₅₀(亲代细胞)。

1.4 qPCR检测胰腺癌组织及细胞中ABCB1基因的表达

使用Qiagen RNeasy Mini Kit试剂盒提取胰腺癌组织和SW1990、SW1990/GZ细胞总RNA。取约500 ng的总RNA,PrimeScript RT reagent Kit试剂盒使RNA逆转录形成cDNA,反应条件:42℃ 15 min,85℃ 5 s。以上述的cDNA为模板进行荧光定量PCR,并以GAPDH为内参进行扩增。qPCR引物:ABCB1 F为5'-CGAAGCAGTGGTTCAGGTG-3',R为5'-TGTGATCCACGGACACTCC-3';GAPDH F为5'-GAAGAGTGGCTTTCTACCTT-3',R为5'-GTC CCAGGATGGCGTTGA-3'。反应条件:预变性95℃ 30 s,95℃ 5 s、60℃ 20 s,共40个循环,最后72℃延伸5 min。

1.5 MSP-PCR检测胰腺癌组织和SW1990、SW1990/GZ细胞中DNA甲基化状态

提取胰腺癌组织及SW1990、SW1990/GZ细胞中DNA,DNA的亚硫酸氢盐转化,用MSP法进行扩增。经过亚硫酸氢盐处理的ABCB1启动子序列引物:F为5'-GTAGTGGTATTGGATTATGTTG-3',R为5'-TTAATACCCCAACTACTCTAAC-3'。反应条件:94℃ 5 min、94℃ 30 s、60℃ 30 s、72℃ 30 s,共30循环,72℃ 10 min。1.5%琼脂糖凝胶电泳检验扩增结果,相应位置上可见清晰目的基因条带,纯化提取目的基因。T-A克隆:将目的基因与pEASY-T1克隆载体在DNA连接酶作用下连接,反应条件:25℃ 30 min。转染:T-A克隆目的片段与感受态细胞(LB细菌)混合,严格冰浴30 min,42℃水浴锅90 s,冰浴2 min,加入800 μl的不含抗生素的LB细菌培养液,放置于37℃、200×g的摇床上孵育60 min。涂板:取出上述LB细菌培养液,离心3 000×g离心5 min后吸去

上清,管内约留 150 μl 。于超净工作台上,用消毒的玻璃棒将 LB 细菌液轻轻的均匀地涂于含有抗生素的 LB 细菌培养平板。放入 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱中 12~16 h。挑单克隆并测序:于超净工作台下,挑选单一、均匀明显的菌落,放入含有 1 ml LB 细菌培养液的 EP 管,置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 的 200 \times g 的摇床上 4~6 h,菌液较混时为止。吸取 1 μl 的菌液进行 PCR 扩增,凝胶电泳,确定是否是所要的单克隆目的片段。将所挑选的单克隆抗体的菌液送上海 Invitrogen 公司测序。

1.6 统计学处理

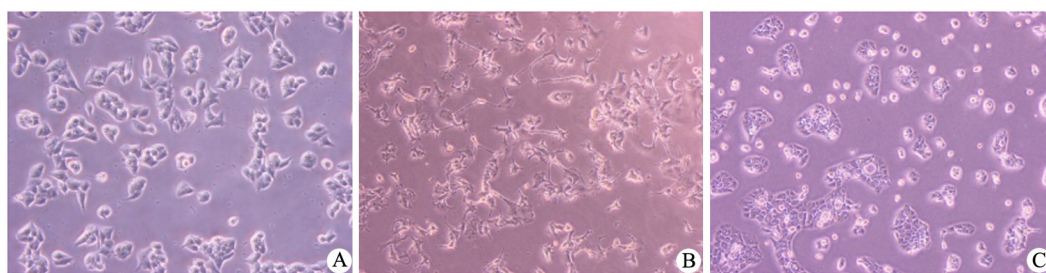
1.3~1.5 中各实验均重复 3 次。用 SPSS 13.0 软件进行数据处理,计量数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,两组间比较采

用 t 检验;计数资料采用 χ^2 检验。以 $P<0.05$ 或 $P<0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 SW1990/GZ 细胞的形态

光镜下见,亲代人 SW1990 细胞具有多边形和不规则的形态(图 1A)。GEM 耐药性诱导过程中,细胞的形态呈扁平状,足突增多,细胞出现空泡,细胞膜破裂,边界模糊(图 1B)。建立稳定的 SW1990/GZ 细胞的形态呈空泡状,细胞排列紧密,呈团块生长,核分裂象明显(图 1C)。



A: Parental SW1990 cells; B: GEM-induced SW1990 cells; C: GEM-resistant SW1990/GZ cells

图 1 胰腺癌 SW1990 和 SW1990/GZ 细胞的形态变化($\times 40$)

Fig.1 The morphological changes of pancreatic cancer SW1990 and SW1990/GZ cells ($\times 40$)

2.2 SW1990/GZ 细胞比 SW1990 细胞对 GEM 有更强的耐药性

MTT 法检测结果(表 1)显示,在 GEM 的作用下,SW1990/GZ 细胞的增殖能力显著强于 SW1990 细胞($t=3.02, P<0.05$)。GEM 对 SW1990/GZ 细胞的 IC_{50} 为 235 $\mu\text{mol/L}$,对 SW1990 细胞的 IC_{50} 为 4.8 $\mu\text{mol/L}$,SW1990/GZ 细胞的耐药指数(RI)为 48.9。

2.3 SW1990、SW1990/GZ 细胞及胰腺癌组织中 ABCB1 高表达

qPCR 检测结果(图 2)显示,(1)SW1990 和 SW1990/GZ 细胞中 ABCB1 表达水平显著高于正常胰腺组织($t=3.5, 8.8, P<0.05$ 或 $P<0.01$;图 2A);(2)SW1990/GZ 细胞中 ABCB1 表达显著高于 SW1990 细胞($t=3.3, P<0.05$;图 2A);(3)胰腺癌组织中 ABCB1 表达明显高于癌旁组织($t=4.87, P<0.01$;图 2B)。结果说明,ABCB1 表达与胰腺癌的发生及耐药有密切的关系。

2.4 ABCB1 基因启动子呈现低甲基化

MSP-PCR 检测结果(图 3,图 4)显示,经亚硫酸氢盐处理的 SW1990 和 SW1990/GZ 细胞及正常胰腺组织中,ABCB1 启动子区域都呈低甲基化状态。在胰腺癌和正常胰腺组织中 ABCB1 启动子区域甲基化率分别为 6.7%(1/15)及 0.00%(0/3),两者差异无统计

学意义($\chi^2=0.84, P>0.05$)。结果表明,胰腺癌 ABCB1 过表达与其基因启动子的甲基化程度无明显相关性。

表 1 GEM 对 SW1990 和 SW1990/GZ 细胞增殖的影响(D_{490})
Tab.1 Effects of GEM on the proliferation of SW1990 and SW1990/GZ cells (D_{490})

SW1990 cells		SW1990/GZ cells	
GEM [$c_B/(\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$]	Inhibition rate*	GEM [$c_B/(\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$]	Inhibition rate*
1	0.321 \pm 0.008	50	0.334 \pm 0.010
5	0.552 \pm 0.006	100	0.420 \pm 0.007
10	0.660 \pm 0.012	250	0.560 \pm 0.007
50	0.801 \pm 0.004	500	0.674 \pm 0.004
100	0.910 \pm 0.012	1 000	0.859 \pm 0.003

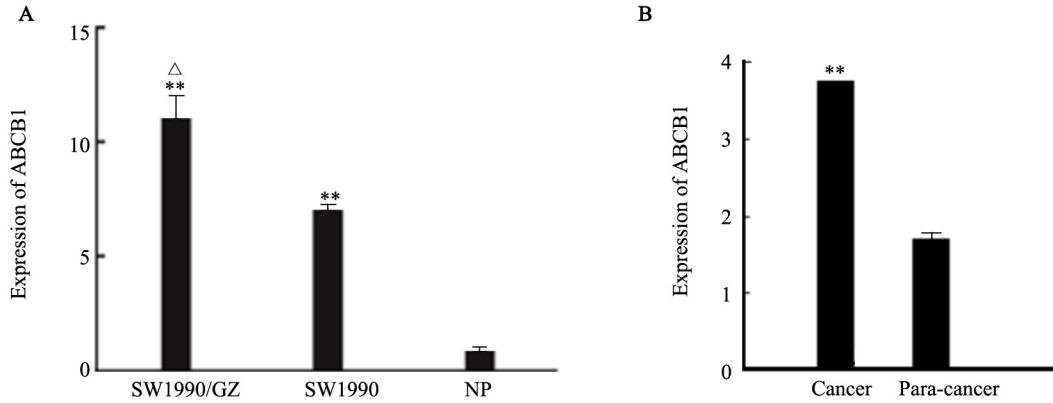
*Cell proliferation inhibition rate

3 讨论

近年来在肿瘤学新理念的推动下,胰腺癌的诊治水平取得明显进步,但诊治现状不容乐观,很大程度上是因为它的化疗高耐药性。ABCB1 与细胞的癌变和耐药密切相关^[5,7]。因此,在本研究中讨论了胰腺癌组织中 ABCB1 的表达及其可能调节机制。本研

究发现,在胰腺癌组织中 ABCB1 的表达水平明显高于癌旁组织。同样, ABCB1 在 SW1990 细胞中表达水平也高于正常胰腺组织。结果提示, ABCB1 在胰

腺癌的发生发展起着重要作用。此外, SW1990/GZ 细胞中 ABCB1 表达水平较 SW1990 明显增加, 提示 ABCB1 与肿瘤的耐药有关。



** $P < 0.01$ vs or NP tissues or Para-cancer tissues; $\Delta P < 0.05$ vs SW1990 cells

NP: Normal pancreatic tissues

图2 SW1990、SW1990/GZ 细胞(A)及胰腺癌组织(B)中 ABCB1 高表达

Fig.2 ABCB1 was highly expressed in SW1990, SW1990/GZ cells (A) and pancreatic cancer tissues (B)

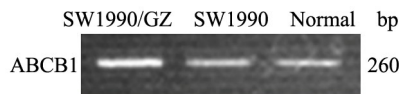
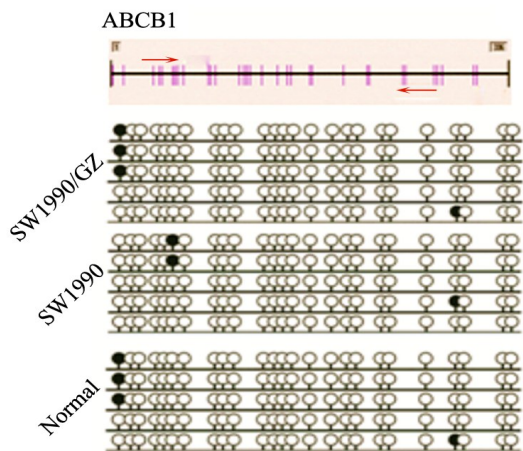


图3 经亚硫酸氢盐处理的 SW1990/GZ、SW1990 细胞和正常胰腺组织中 ABCB1 启动子扩增产物

Fig.3 Products of ABCB1 promoter amplification in the genome of SW1990/GZ, SW1990 cells and normal pancreatic tissues treated with bisulfite



→: Gene promoter region; ○: Unmethylated CpG island; ●: Methylated CpG island

图4 SW1990、SW1990/GZ 细胞及正常胰腺组织中 ABCB1 启动子甲基化分析

Fig.4 Methylation of ABCB1 promoter in SW1990, SW1990/GZ cells and normal pancreatic tissues

多项研究^[12-13]表明,高表达 ABCB1 的胰腺癌边缘细胞(side population cell, SP)有着干细胞特性,后者在维持肿瘤生长、复发、转移、耐药等方面发挥重要的作用。ABCB1 高表达的胰腺癌细胞中肿瘤干细胞($Oct4^+$ 、 $CD24^+$ 、 $CD133^+$)比例增加,并出现 EMT 形态及分子表现(波形蛋白上调,上皮钙黏蛋白下调)和多重耐药的现象^[12]。有研究^[14-15]表明,胰腺癌细胞株 PANC-1 筛的 SP 细胞高表达 ABCB1,并具有成瘤能力及耐药性,ABCB1 在胰腺癌的发生及耐药方面起重要的作用,此结果与本研究的结果一致。

本研究显示,在 SW1990 与 SW1990/GZ 细胞中, ABCB1 的启动子区域甲基化谱无明显差别,说明化疗药物(GEM)不能诱导 ABCB1 启动子的甲基化。并且,在 SW1990、SW1990/GZ 细胞和胰腺癌组织及正常胰腺组织中, ABCB1 启动子区基因均呈现低甲基化。因此推测,胰腺癌中 ABCB1 高表达并不是通过其启动子的甲基化来调控,而是通过其他机制来调控。通过查阅文献及本实验结果,推测胰腺癌中 ABCB1 高表达可能通过组蛋白修饰及 miRNA 介导来调控。

组蛋白是一个八聚体,由 H2A、H2B、H3、H4 各 2 个分子组成,并由 DNA 缠绕形成核小体。组蛋白的修饰包括:乙酰化与去乙酰化、磷酸化与去磷酸化、甲基化与去甲基化、泛素化与去泛素化等。其中,乙酰化是最主要组蛋白修饰方式,组蛋白的乙酰化有助于基因的表达^[16]。研究^[17]表明,组蛋白乙酰化不仅可以抑制基因的甲基化,同时与 DNA 甲基化相比在

基因的表达调控中起更主要作用。所以,在胰腺癌中 ABCB1 高表达的调控机制中,其启动子基因组蛋白乙酰化可能比启动子甲基化发挥更重要的作用。

miRNA 是一长度约 20~24 个核苷酸的小分子非编码 RNA,通过与靶基因 mRNA 特异性相结合而导致靶基因表达沉默,与肿瘤耐药密切相关^[18-19]。胰腺癌中高表达 miR-21、anti-miR-21 可以增加胰腺癌对 GEM 化疗的敏感性^[20-21]。在膀胱癌中,miR-218-5p 可抑制 ABCB1 的表达从而提高肿瘤细胞对 GEM 的敏感性^[22]。因此,miRNA 在调控胰腺癌中 ABCB1 高表达可能发挥着更为重要的作用。

综上,胰腺癌的生物特性与 ABCB1 的表达密切相关,ABCB1 的高表达提示胰腺癌患者预后不良。RNA 干扰、组蛋白修饰可能在调控胰腺癌中 ABCB1 表达发挥着更重要的作用,这有待于进一步深入研究。

[参 考 文 献]

- [1] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2018[J]. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68(1): 7-30. DOI:10.3322/caac.21442.
- [2] MELO S A, LUECKE L B, KAHLERT C, et al. Glypican-1 identifies cancer exosomes and detects early pancreatic cancer[J/OL]. *Nature*, 2015, 523(7559): 177-182[2019-01-28]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4825698/>. DOI:10.1038/nature14581.
- [3] WANG-GILLAM A, LI C P, BODOKY G, et al. Nanoliposomal irinotecan with fluorouracil and folinic acid in metastatic pancreatic cancer after previous gemcitabine-based therapy (NAPOLI-1): a global, randomised, open-label, phase 3 trial[J]. *Lancet*, 2016, 387(10018): 545-557. DOI:10.1016/S0140-6736(15)00986-1.
- [4] 中国抗癌协会胰腺癌专业委员会. 胰腺癌综合诊治指南(2018版)[J]. *中华外科杂志*, 2018, 56(7): 481-494. DOI:10.3760/cma.j.issn.0529-5815.2018.07.001.
- [5] GOTTESMAN M M, FOJO T, BATES S E. Multidrug resistance in cancer: role of ATP-dependent transporters[J]. *Nat Rev Cancer*, 2002, 2(1): 48-58. DOI:10.1038/nrc706.
- [6] ARRIGONI E, GALIMBERTI S, PETRINI M, et al. ATP-binding cassette transmembrane transporters and their epigenetic control in cancer: an overview[J]. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, 2016, 12(12): 1419-1432. DOI:10.1080/17425255.2016.1215423.
- [7] BAKER E K, JOHNSTONE R W, ZALCBERG J R, et al. Epigenetic changes to the MDR1 locus in response to chemotherapeutic drugs[J]. *Oncogene*, 2005, 24(54): 8061-8075. DOI: 10.1038/sj.onc.1208955.
- [8] KLUTSTEIN M, NEJMAN D, GREENFIELD R, et al. DNA methylation in cancer and aging[J]. *Cancer Res*, 2016, 76(12): 3446-3450. DOI:10.1158/0008-5472.can-15-3278.
- [9] EGGER G, LIANG G N, APARICIO A, et al. Epigenetics in human disease and prospects for epigenetic therapy[J]. *Nature*, 2004, 429(6990): 457-463. DOI:10.1038/nature02625.
- [10] SPITZWIESER M, PIRKER C, KOBLMÜLLER B, et al. Promoter methylation patterns of ABCB1, ABCC1 and ABCG2 in human cancer cell lines, multidrug-resistant cell models and tumor, tumor-adjacent and tumor-distant tissues from breast cancer patients[J/OL]. *Oncotarget*, 2016, 7(45): 73347-73369[2019-01-28]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5341984/>. DOI:10.18632/oncotarget.12332.
- [11] TAHARA T, ARISAWA T, SHIBATA T, et al. Effect of promoter methylation of multidrug resistance 1 (MDR1) gene in gastric carcinogenesis[J]. *Anticancer Res*, 2009, 29(1): 337-341.
- [12] DU Z Y, QIN R Y, WEI C F, et al. Pancreatic cancer cells resistant to chemoradiotherapy rich in "stem-cell-like" tumor cells[J]. *Dig Dis Sci*, 2011, 56(3): 741-750. DOI:10.1007/s10620-010-1340-0.
- [13] VAN DEN BROECK A, VANKELECOM H, VAN DELM W, et al. Human pancreatic cancer contains a side population expressing cancer stem cell-associated and prognostic genes[J/OL]. *PLoS One*, 2013, 8(9): e73968[2019-01-28]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3775803/>. DOI:10.1371/journal.pone.0073968.
- [14] WANG Y H, LI F, LUO B, et al. A side population of cells from a human pancreatic carcinoma cell line harbors cancer stem cell characteristics[J]. *Neoplasma*, 2009, 56(5): 371-378.
- [15] ZHOU J, WANG C Y, LIU T, et al. Persistence of side population cells with high drug efflux capacity in pancreatic cancer[J/OL]. *World J Gastroenterol*, 2008, 14(6): 925-930[2019-01-28]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2687061/>.
- [16] MALESZEWSKA M, WOJTAS B, KAMIŃSKA B. Deregulation of epigenetic mechanisms in cancer[J]. *Postepy Biochem*, 2018, 64(2): 148-156. DOI:10.18388/pb.2018_125.
- [17] FUKS F. DNA methylation and histone modifications: teaming up to silence genes[J]. *Curr Opin Genet Dev*, 2005, 15(5): 490-495. DOI:10.1016/j.gde.2005.08.002.
- [18] GISEL A, VALVANO M, EL IDRISSE I G, et al. MiRNAs for the detection of multidrug resistance: overview and perspectives[J/OL]. *Molecules*, 2014, 19(5): 5611-5623[2019-01-28]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6270919/>. DOI: 10.3390/molecules19055611.
- [19] PAN Y Z, ZHOU A, HU Z H, et al. Small nucleolar RNA-derived microRNA hsa-miR-1291 modulates cellular drug disposition through direct targeting of ABC transporter ABCC1[J/OL]. *Drug Metab Dispos*, 2013, 41(10): 1744-1751[2019-01-28]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3781368/>. DOI: 10.1124/dmd.113.052092.
- [20] GURAYA S. Prognostic significance of circulating microRNA-21 expression in esophageal, pancreatic and colorectal cancers; a systematic review and meta-analysis[J]. *Int J Surg*, 2018, 60: 41-47. DOI:10.1016/j.ijsu.2018.10.030.
- [21] MORINAGA S, NAKAMURA Y, ATSUMI Y, et al. Locked nucleic acid in situ hybridization analysis of microRNA-21 predicts clinical outcome in patients after resection for pancreatic cancer treated with adjuvant gemcitabine monotherapy[J]. *Anticancer Res*, 2016, 36(3): 1083-1088.
- [22] WANG H, ZHAN M, XU S W, et al. MiR-218-5p restores sensitivity to gemcitabine through PRKCE/MDR1 axis in gallbladder cancer[J/OL]. *Cell Death Dis*, 2017, 8(5): e2770[2019-01-28]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5520703/>. DOI: 10.1038/cddis.2017.178.

[收稿日期] 2019-01-28

[修回日期] 2019-05-04

[本文编辑] 党瑞山