

文章编号: 1004-0374(2004)04-0200-06

多药耐药基因的转录调控与治疗学机会

缪泽鸿, 丁 健*

(中国科学院上海生命科学研究院药物研究所新药研究国家重点实验室肿瘤药理组, 上海 201203)

摘要: 人肿瘤多药耐药 *mdr-1* 基因的转录调控机制复杂。多个正调控和负调控元件与转录因子的相互作用、表遗传学因素的参与等共同决定着人 *mdr-1* 基因表达的组织、细胞和刺激的特异性和依赖性。同时, 也为特异或相对特异性地防止/抑制肿瘤细胞的 *mdr-1* 基因表达、克服肿瘤多药耐药性提供了基础。新抗肿瘤药物沙尔威辛和 ET-743 有力地诠释了控制 *mdr-1* 基因转录所蕴藏的治疗学机会。

关键词: 肿瘤多药耐药; *mdr-1* 基因; 转录调控; 沙尔威辛; ET-743

中图分类号: R979.1 **文献标识码:** A

Therapeutic opportunity in the transcriptional regulation of human *mdr-1* gene

MIAO Ze-Hong, DING Jian*

(Division of Anti-Tumor Pharmacology, State Key Laboratory of Drug Research, Institute of Materia Medica, Shanghai Institutes for Biological Sciences, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201203, China)

Abstract: Transcription of human *mdr-1* gene is complex and highly regulated. It involves the complicated interaction of numerous positive and negative elements with transcriptional factors and the epigenetic control as well. It is such complexity that determines the specific expression of *mdr-1* expression in tissues and cells and its dependence on exogenous stimulators. This complexity is also the basis of selectively preventing or inhibiting *mdr-1* expression in tumor tissues and thus circumventing tumor multidrug resistance. Salvicine and ET-743, two novel anticancer drugs, uncovered the therapeutic opportunity hidden in the transcriptional regulation of human *mdr-1* gene.

Key words: tumor multidrug resistance; *mdr-1* gene; transcriptional regulation; Salvicine; ET-743

肿瘤多药耐药(multidrug resistance, MDR)是导致肿瘤化疗失败的主要原因之一, 通常由 *mdr-1* 基因过度表达引起。人 *mdr-1* 基因的转录调控机制复杂。人 *mdr-1* 基因启动子中含有多个正调控和负调控元件, 包括 AP1 结合位点、CCAAT 盒、GC 丰富区、p53 结合位点以及 NF-R1 结合域等^[1-2]。相应地, 多种转录因子和阻遏蛋白参与了 *mdr-1* 基因的表达调控, 它们常存在着细胞类型特异性和刺激依赖性。此外, 启动子区甲基化与组蛋白乙酰化程

度在一定条件下也可影响其表达。性质不同和作用机制各异的外源刺激可以促进 *mdr-1* 基因表达, 如抗癌药物急性诱导培养的肿瘤细胞株和患者体内肿瘤表达 *mdr-1* 基因, 而且这种诱导表达在一定条件下可转化为组成性表达, 赋予肿瘤稳定的 MDR。相反, 某些转录因子、细胞因子、MDR 逆转剂以及抗癌化合物可以抑制 *mdr-1* 基因的诱导或组成性表达, 从而提高化疗反应性并改善患者的预后^[3]。近年来, 作为一种治疗策略, 通过下调 *mdr-1* 基因

收稿日期: 2004-04-19

作者简介: 缪泽鸿(1966—), 男, 副研究员; 丁 健(1953—), 男, 研究员, 博导, * 通讯作者。

表达预防和克服MDR的有效性已被美国国立癌症研究所(National Cancer Institute, NCI)开发的Ecteinascidin-743(ET-743; Yondelis, trabectedin)和中国科学院上海药物研究所研制的沙尔威辛(Salvicine)证明。因此,深入研究 *mdr-1* 基因转录调控的分子机制将不断为最终克服 MDR 创造新的机会。

1 人 *mdr-1* 基因转录正调控

1.1 组成性转录 人 *mdr-1* 基因编码1280个氨基酸的蛋白质P-糖蛋白(P-glycoprotein, P-gp),其5'端调控区至少有2个不同的启动了。近端启动了是正常组织和大多数MDR肿瘤细胞 *mdr-1* 基因基础转录利用的启动了;远端启动了较少利用,特点未明^[1]。人 *mdr-1* 基因与小鼠的同源基因之间的主要差别在于其近端启动了缺乏TATA盒,其基础转录由跨越转录起始点(+1)的启动了(initiator, INR)主导。INR是位于-6~+11之间的碱基序列,很可能与RNA聚合酶II前起始复合物结合,决定 *mdr-1* 基因转录的正确启动^[4-5]。与其他绝大多数缺乏TATA盒的基因相似,人 *mdr-1* 基因也具有一个反向的CCAAT元件(-79~-75, Y-盒)和一个GC盒(-56~-45)。转录因子NF-Y与Y-盒结合^[6],而SP1则与GC盒结合激活转录^[7]。Y-盒与GC盒彼此相邻,且转录因子NF-Y和SP1之间可产生直接的相互作用^[8],使两者间的作用紧密相关。这两个元件既为 *mdr-1* 基因的基础转录所必需,也参与其诱导表达^[9-10]。

在-110~-103存在另一个GC盒,它不与SP1转录因子结合,而与一个特征未明的蛋白复合物相互作用^[7]。紧邻其上游与之部分重叠的元件iMED-1(inverted multiple start site element downstream 1, -105~-100)特异性地与一个150~160 kD的核蛋白结合,为 *mdr-1* 基因组成性转录所必需^[11-12]。在高度耐药的CEM/VLB5细胞,iMED-1缺失将导致 *mdr-1* 基因转录活性下降60%。此外,位于-147~-139区的C/EBP元件与转录因子C/EBP β (也称NF-IL-6)结合,似乎参与决定人 *mdr-1* 基因的基础转录和组织特异性表达^[13]。C/EBP β 通常低水平地表达于多种组织中,但也可被脂多糖、维甲酸、佛波酯、炎性细胞因子(IL-1、IL-6、TNF)快速诱导^[14]。

一个值得关注的元件是TCF/LEF元件。该元件由分布在-1813~-261区间的6个转录复合物TCF/LEF结合位点组成。TCF/LEF的结合激活 *mdr-1* 基因的转录^[15],这一过程需要辅激活物 β -catenin的参与。绝大多数遗传性和散发性结肠癌患者发病的早

期,均涉及APC(adenomatous polyposis coli, APC)肿瘤抑制基因的突变,导致 β -catenin蓄积。积聚的 β -catenin作为TCF/LEF的辅激活物促进 *mdr-1* 基因表达。最近来自小鼠的证据提示,这一过程与结肠癌的发生直接相关^[16]。这一发现是 *mdr-1* 基因过度表达参与肿瘤发病过程的例证,为通过干扰该基因表达预防肿瘤的策略提供了有益线索,尽管还需要进一步反复确证。

在用药物选择产生的MDR肿瘤细胞中,多数均涉及 *mdr-1*/P-gp的过度表达。除常与 *mdr-1* 基因扩增有关外,转录增加也是这种过度表达的重要原因。*mdr-1* 启动了增强因子(*mdr-1* promoter-enhancing factor 1, MEF1)与位于 *mdr-1* 启动了-118~-111区间的相应元件结合,介导了 *mdr-1* 基因的转录上调^[17]。MEF1表达于MDR HL60细胞,而在亲本HL60细胞中未检测出,提示其对 *mdr-1* 基因的直接激活作用。令人困惑的是,在缺乏 *mdr-1*/P-gp表达的亲本MCF-7细胞内,同一启动了元件却可与NF- κ B和c-fos形成的复合物结合,而在相应的MDR MCF-7/ADR细胞中则未检出这一形式的结合^[18]。这提示 *mdr-1* 基因启动了中,同一转录元件与不同转录因子或转录复合物结合,可能产生不同的功能后果。

1.2 诱导性转录 人 *mdr-1* 基因除在MDR表型获得过程中可被激活外,还不同程度地表达于正常组织中,这种表达与组织分化程度和受外界应急作用程度密切相关。*mdr-1* 基因表达最高的正常组织依次是肾上腺、肾、直肠、结肠、血脑屏障与血睾屏障的内皮细胞。除细胞和组织特异性的表达外,多种因素,如热休克、细胞因子、分化诱导剂、化疗药物、紫外和X线辐射、癌基因、抑癌基因都可影响不同系统中P-gp的表达水平。化疗药物不仅可以一过性地诱导体外培养人肿瘤细胞和体内肿瘤组织 *mdr-1* 基因的表达,还可将这种一过性的表达转化为组成性的超表达^[3,19]。阿霉素治疗导致肺转移性肉瘤组织的P-gp水平快速升高,但并不诱导邻近正常肺组织P-gp的表达。由于P-gp除药物外排功能外,还发挥更广泛意义上的抗凋亡作用^[20],因此,防止或阻断 *mdr-1* 基因的诱导表达将使MDR的预防和克服成为可能。

人 *mdr-1* 基因诱导转录的机制复杂,与组织及刺激密切相关。热休克刺激至少可能影响分别位于-99~-66(HSE)和-315~-285(HSF1)区域的两个热休克

元件增加 *mdr-1* 基因转录^[21-22]。但 HSE 并未显示与热休克蛋白的直接相互作用。而 HSF1 元件则直接受 HSF1 因子的调控, HSF1 的显性负性突变体能够完全取消热诱导的 *mdr-1* 基因转录升高。佛波酯(TPA)可以增强转录因子 AP1 和 EGR-1 的活性, 促进 *mdr-1* 基因表达。人 *mdr-1* 基因启动子的 -121~-115^[23] 和 -3516~-3510^[5] 处各含一个 AP1 结合元件, 且在 -4.7 kb 的上游区域, 尚有 6 个含单碱基突变的 AP1 样元件^[5]。这些元件可能参与了 TPA 诱导 *mdr-1* 基因表达的作用。此外, 位于 -69~+20 区间的 EGR/WT1 序列, 负责 TPA 经 EGR-1 对 *mdr-1* 的转录上调^[24]。值得注意的是, TPA 同时也促进另一转录因子 WT1 的活性; WT1 与 EGR-1 竞争 *mdr-1* 基因启动子的同一结合序列, 抑制 EGR-1 介导的 *mdr-1* 转录促进作用^[25]。在 -7852~-7837 的类固醇异生物受体(steroid xenobiotic receptor, SXR)元件对多种刺激包括尼弗地平、RU486、地塞米松及利福平产生应答, 通过与孕烷异生物受体(pregnanane xenobiotic receptor, PXR)/视黄酸异生物受体 α (retinoid xenobiotic receptor α , RXR α)异二聚体特异结合, 促进 *mdr-1* 基因转录^[26]。在表达 SXR 的肿瘤细胞, SXR 可能参与 MDR 的调控^[27]。

2 人 *mdr-1* 基因转录负调控

迄今为止, 对人 *mdr-1* 基因转录调控研究的焦点主要集中在正调控, 因而使多种正调控元件和相关的蛋白因子得以阐明。与此形成对比的是, *mdr-1* 基因转录负调控的报道较少。其中, *p53* 基因的作用最受关注。野生型 *p53* 抑制 *mdr-1* 基因表达, 其突变型则显示出功能获得性的激活作用^[28]。人 *mdr-1* 基因启动子中的 *p53* 应答元件由位于 -72~-40 区间、由头尾相对的 5'GGGCAGAACA-GGGCTGAGCA 3' 两个半位点组成^[29]。野生型 *p53* 蛋白四聚体与之直

接结合, 抑制人 *mdr-1* 启动子; 还可与多种转录因子, 如 Sp1、NF-Y、C/EBP β 及 AP1 等结合, 间接地作用于 *mdr-1* 启动子。突变型 *p53* 的激活机制不明, 但可与作用于 ETS 元件(-69~-63)的 ETS-1 因子相互作用, 促进 *mdr-1* 基因的转录^[30]。此外, 位于 -123~-115 的同一序列, 可与两个性质不同的蛋白因子 NF-R1 和 NF-R2 结合, 并产生转录抑制作用^[31-32]。与 Y 盒(CCAAT, -79~-75)不同, 位于 -116~-113 的 CAAT 元件与 NF- κ B/p65 和 c-fos 蛋白复合物结合, 发挥负调控作用^[18]。

图1总结了目前已知的人 *mdr-1* 基因转录调控的主要元件。多个调控元件相互重叠; 转录因子可通过相互竞争或协同直接或间接作用于一个或一组元件; 相同的刺激作用于不同的组织细胞可能引起不同转录因子的改变; 此外, 一些因素还可引起 *mdr-1* 基因启动子的甲基化、组蛋白的乙酰化水平的改变。这些特点决定着人 *mdr-1* 基因转录调控的复杂性和组织、细胞和刺激的特异性与依赖性, 同时, 也为在抑制或防止肿瘤细胞表达 *mdr-1* 基因而不影响具有保护功能的 P-gp 在正常组织中的表达, 提供了治疗学机会。

3 靶向人 *mdr-1* 基因转录的治疗学机会

人 *mdr-1* 基因的表达产物 P-gp 作为药物外排泵, 能量依赖性地将化疗药物转运出肿瘤细胞, 减少药物在细胞内的蓄积, 导致 MDR。因此, 以前克服 MDR 研究的焦点集中于采用逆转剂抑制 P-gp 的药物外排功能, 恢复药物蓄积的策略。历经 20 余年, 由于难以避免的毒性和 / 或逆转疗效较差, 该策略仍未在临床取得成功。另一方面, P-gp 还抑制 Caspases 活性, 引起广泛的抗凋亡作用。因此, 通过防止或下调 P-gp 的过度表达, 从根本上消除介导 MDR 因素的策略, 近年受到了高度关注。

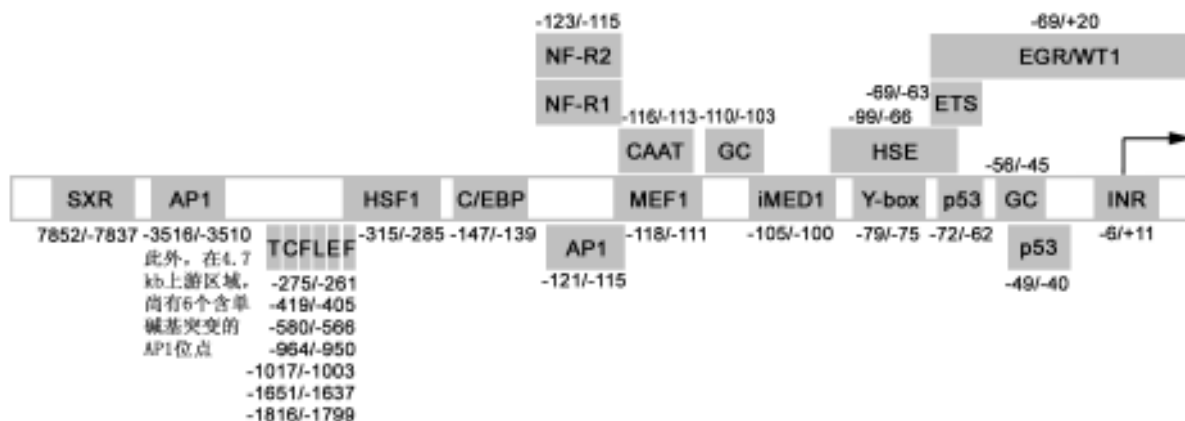


图1 人 *mdr-1* 基因启动子 5' 端非翻译区的调控序列

来源于海洋的加勒比被囊生物 *Ecteinascidia turbinata* 的四氢异喹啉生物碱 ET-743(图2)已在美国和欧洲进行的临床试验中对实体瘤显示出较好的疗效^[33-35]。ET-743 结合于 DNA 小沟, 烷化鸟苷酸 2 位氮原子, 导致 DNA 向大沟弯曲并引起单链断裂^[36-37], 其体外抗增殖作用还依赖于转录偶联性修复通路的完整性^[38]。ET-743 能够干扰多种基因的诱导性转录, 而对组成性转录无影响, 可能与形成共价加成物妨碍转录因子进入或转录复合物的装配有关^[39-41]。特别值得注意的是 ET-743 可以抑制 *mdr-1* 基因激活, 阻断该基因的诱导性转录。多种刺激如抗肿瘤药和紫外辐射可以快速激活 *mdr-1* 基因并诱导其表达, ET-743 可以阻断这一过程^[39, 41]。早期的研究显示 ET-743 对 MDR 细胞组成性表达的 *mdr-1* 基因没有抑制作用^[41], 但最近的报道表明该化合物对 MDR 细胞具有直接的细胞毒性作用, 并能下调其超表达的 P-gp, 增加抗癌药物在 MDR 细胞中的蓄积, 增强其他抗癌药物的细胞毒性作用^[42]。这种差异可能与研究用细胞株不同有关。这显示, ET-743 在发挥其抗肿瘤作用的同时, 兼具预防和治疗 MDR 作用。

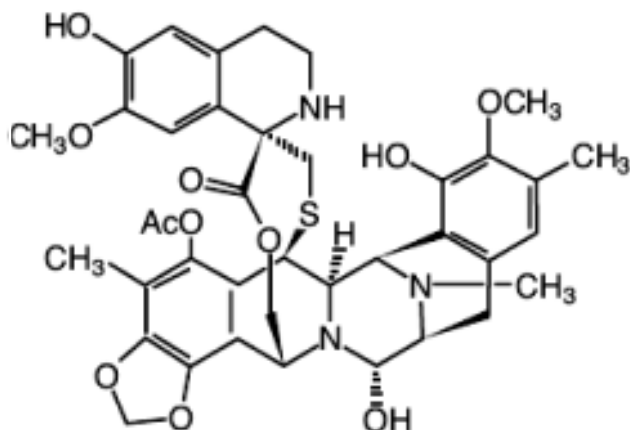


图2 ET-743的化学结构

ET-743抑制多种DNA损伤药物对*mdr-1*基因的诱导表达; 消除转录因子NF- κ B通过CCAAT盒激活*mdr-1*基因启动子, 但并不影响转录因子NF- κ B与组蛋白乙酰基转移酶PCAF复合物与DNA的结合^[41]。在热休克HSP70基因启动子上也观察到相似的作用^[40]。但ET-743抑制*mdr-1*基因诱导性和组成性转录的确切分子机制尚待进一步阐明。

沙尔威辛(Salvicine)是由中国科学院上海药物研

究所对来源于药用植物红根草的先导结构进行修饰获得的新型抗癌药, 为二萜醌类化合物(图3), 目前正在中国进行I期临床试验。沙尔威辛对多种肿瘤尤其是实体瘤具有良好的抗肿瘤活性, 抗肿瘤机制主要为抑制拓扑异构酶II^[43-44]。该化合物对多株不同来源、不同药物诱建、涉及多种耐药机制的MDR肿瘤细胞具有抗MDR作用, 并能明显降低K562/A02细胞的*mdr-1*基因及P-gp的表达^[45]。沙尔威辛能够上调MDR K562/A02细胞内转录因子c-Jun的mRNA和蛋白表达, 并下调*mdr-1*/P-gp的表达, 前者的变化明显先于后者, 而且c-Jun反义寡核苷酸能够消除沙尔威辛升高c-Jun蛋白和抑制*mdr-1*/P-gp表达的作用; 该化合物也增强转录因子AP1与*mdr-1*启动子的AP1共有序列的结合能力; 不仅如此, c-Jun反义寡核苷酸还可降低沙尔威辛对MDR K562/A02细胞的凋亡诱导和细胞毒性作用。这些结果表明转录因子c-Jun在沙尔威辛下调*mdr-1*基因表达和诱导凋亡过程中起着关键作用(图4)^[46]。我们的结果及其他一些间接的证据^[47-50]与通常认为的转录因子c-Jun/AP1对*mdr-1*启动子的正调控明显不符, 这一方面进一步表明*mdr-1*基因转录调控的复杂性, 另一方面也提示还有多种调控因素, 特别是

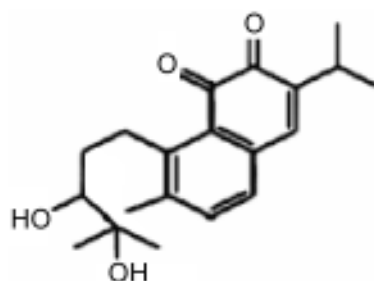


图3 沙尔威辛的化学结构

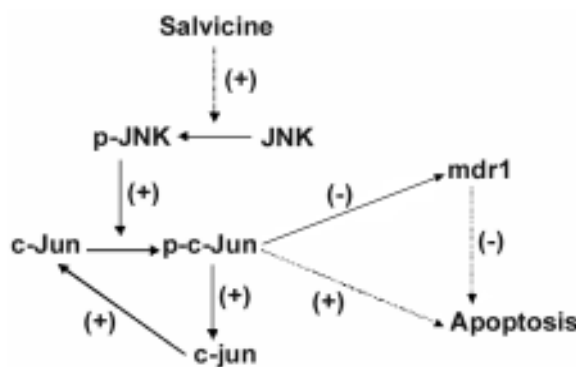


图4 沙尔威辛在MDR K562/A02细胞激活c-Jun及下调*mdr-1*表达过程

转录因子控制转录的相互协调性还需要进行深入研究。虽然还有待在动物体内和临床上进行验证,但沙尔威辛和 ET-743 下调 *mdr-1* 表达、抗 MDR 作用为通过转录控制、克服 MDR 策略的可行性提供了有力的证据。

还有一点值得关注的是,沙尔威辛和 ET-743 均不引起 MDR,在经过反复诱导建立的相应耐药细胞中,均不引起 *mdr-1* 基因的过度表达^[51-52],这强烈提示沙尔威辛和 ET-743 在临床试验中可以用于治疗 MDR 肿瘤;另一方面,临床常用的 MDR 相关药物也可考虑用于对沙尔威辛和 ET-743 产生获得性耐药肿瘤的治疗。

4 结束语

与其他基因转录一样,人 *mdr-1* 基因的转录也需要多种通用的蛋白因子,如 RNA 聚合酶、C/EBP、SP1 等的参与,这似乎使得对其进行选择性的调控难以实现。但基因调控远比当初人们预想的要复杂得多。特定生理条件下某一细胞中的特定基因是否表达,决定于该基因启动了中应答元件的组成及复杂度,是否能够与足量有效的相应蛋白因子相互作用,以及各因素之间的协调性。表遗传学因素,如染色质结构、甲基化、乙酰化等也参与其中。因此,对特定的启动了,在特定时间多种因素的这种相互作用通常是特异性的。这正是人 *mdr-1* 基因表达的组织、细胞和刺激的特异性和依赖性的原因所在;同时也为特异或相对特异性地防止或/和抑制肿瘤细胞的 *mdr-1* 基因表达、克服 MDR 提供了基础。虽然确切的分子机制还有待进一步阐明,但沙尔威辛和 ET-743 未来在临床上对 MDR 肿瘤患者的治疗实践将会为控制 *mdr-1* 基因转录、克服 MDR 的策略开辟广阔的空间。

[参 考 文 献]

- [1] Chin K-V, Pastan I, Gottesman M M. Function and regulation of the human multidrug resistance gene. *Adv Cancer Res*, 1993, **60**: 157~180
- [2] Gottesman M M, Fojo T, Bates S E. Multidrug resistance in cancer: role of ATP-dependent transporters. *Nature Rev Cancer*, 2002, **2**: 48~58
- [3] Bates S E. Drug resistance: still on the learning curve. *Clin Cancer Res*, 1999, **5**: 3346~3348
- [4] van Groenigen M, Valentijn L J, Baas F. Identification of a functional initiator sequence in the human *MDR1* promoter. *Biochim Biophys Acta*, 1993, **1172**: 138~146
- [5] Madden M J, Morrow C S, Nakagawa M, *et al.* Identification of 5' and 3' sequences involved in the regulation of transcription of the human *mdr1* gene *in vivo*. *J Biol Chem*, 1993, **268**: 8290~8297
- [6] Ohga T, Koike K, Ono M, *et al.* Role of the human Y box-binding protein YB-1 in cellular sensitivity to the DNA-damaging agents cisplatin, mitomycin C, and ultraviolet light. *Cancer Res*, 1996, **56**: 4224~4228
- [7] Cornwell M M, Smith D E. SP1 activates the *MDR1* promoter through one of two distinct G-rich regions that modulate promoter activity. *J Biol Chem*, 1993, **268**: 19505~19511
- [8] Roder K, Wolf S S, Larkin K J, *et al.* Interaction between the two ubiquitously expressed transcription factors NF-Y and Sp1. *Gene*, 1999, **234**: 61~69
- [9] Sundseth R, MacDonald G, Ting J, *et al.* DNA elements recognizing NF-Y and Sp1 regulate the human multidrug-resistance gene promoter. *Mol Pharmacol*, 1997, **519**: 963~971
- [10] Hu Z, Jin S, Scotto K W. Transcriptional activation of the *MDR1* gene by UV irradiation. Role of NF-Y and Sp1. *J Biol Chem*, 2000, **275**: 2979~2985
- [11] Marthinet E, Divita G, Bernaud J, *et al.* Modulation of the typical multidrug resistance phenotype by targeting the MED-1 region of human *MDR1* promoter. *Gene Ther*, 2000, **7**: 122412~122433
- [12] Labialle S, Gayet L, Marthinet E, *et al.* Transcriptional regulation of the human *MDR1* gene at the level of the inverted MED-1 promoter region. *Ann N Y Acad Sci*, 2002, **973**: 468~471
- [13] Combates N J, Rzepka R W, Chen Y N, *et al.* NF-IL6, a member of the C/EBP family of transcription factors, binds and *trans*-activates the human *MDR1* gene promoter. *J Biol Chem*, 1994, **269**: 29715~29719
- [14] Combates N J, Kwon P O, Rzepka R W, *et al.* Involvement of the transcription factor NF-IL6 in phorbol ester induction of P-glycoprotein in U937 cells. *Cell Growth Differ*, 1997, **8**: 213~219
- [15] Yamada T, Takaoka A S, Naishiro Y, *et al.* Transactivation of the multidrug resistance 1 gene by T-cell factor 4/beta-catenin complex in early colorectal carcinogenesis. *Cancer Res*, 2000, **60**: 4761~4766
- [16] Yamada T, Mori Y, Hayashi R, *et al.* Suppression of intestinal polyposis in *Mdr1*-deficient *ApcMin/+* mice. *Cancer Res*, 2003, **63**: 895~901
- [17] Ogretmen B, Safa A R. Identification and characterization of the *MDR1* promoter-enhancing factor 1 (MEF1) in the multidrug resistant HL60/VCR human acute myeloid leukemia cell line. *Biochemistry*, 2000, **39**: 194~204
- [18] Ogretmen B, Safa A R. Negative regulation of *MDR1* promoter activity in MCF-7, but not in multidrug resistant MCF-7/Adr, cells by cross-coupled NF-kappa B/p65 and c-Fos transcription factors and their interaction with the CAAT region. *Biochemistry*, 1999, **38**: 2189~2199
- [19] Abolhoda A, Wilson A E, Ross H, *et al.* Rapid activation of *MDR1* gene expression in human metastatic sarcoma after *in vivo* exposure to doxorubicin. *Clin Cancer Res*, 1999, **5**: 3352~3356
- [20] Johnstone R W, Ruefli A A, Smyth M J. Multiple physiological functions for multidrug transporter P-glycoprotein? *Trends Biochem Sci*, 2000, **25**: 1~6
- [21] Miyazaki M, Kohno K, Uchiumi T, *et al.* Activation of

- human multidrug resistance-1 gene promoter in response to heat shock stress. *Biochem Biophys Res Commun*, 1992, **187**: 677~684
- [22] Vilaboa N E, Galan A, Troyano A, *et al.* Regulation of multidrug resistance 1 (*MDR1*)/P-glycoprotein gene expression and activity by heat-shock transcription factor 1 (HSF1). *J Biol Chem*, 2000, **275**: 24970~24976
- [23] Daschner P J, Ciolino H P, Plouzek C A, *et al.* Increased AP-1 activity in drug resistant human breast cancer MCF-7 cells. *Breast Cancer Res Treat*, 1999, **53**: 229~240
- [24] McCoy C, Smith D E, Cornwell M M. 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate activation of the *MDR1* promoter is mediated by EGR1. *Mol Cell Biol*, 1995, **15**: 6100~6108
- [25] McCoy C, McGee S B, Cornwell M M. The Wilms' tumor suppressor, WT1, inhibits 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate activation of the multidrug resistance-1 promoter. *Cell Growth Differ*, 1999, **10**: 377~386
- [26] Geick A, Eichelbaum M, Burk O. Nuclear receptor response elements mediate induction of intestinal *MDR1* by rifampin. *J Biol Chem*, 2001, **276**: 14581~14587
- [27] Synold T W, Dussault I, Forman B M. The orphan nuclear receptor SXR coordinately regulates drug metabolism and efflux. *Nat Med*, 2001, **7**: 584~590
- [28] Zastawny R L, Salvino R, Chen J, *et al.* The core promoter region of the P-glycoprotein gene is sufficient to confer differential responsiveness to wild-type and mutant p53. *Oncogene*, 1993, **8**: 1529~1535
- [29] Johnson R A, Ince T A, Scotto K W. Transcriptional repression by p53 through direct binding to a novel DNA element. *J Biol Chem*, 2001, **276**: 27716~27720
- [30] Sampath J, Sun D, Kidd V J, *et al.* Mutant p53 cooperates with ETS and selectively up-regulates human *MDR1* not *MRP1*. *J Biol Chem*, 2001, **276**: 39359~39367
- [31] Ogura M, Takatori T, Tsuruo T. Purification and characterization of NF-R1 that regulates the expression of the human multidrug resistance (*MDR1*) gene. *Nucleic Acids Res*, 1992, **20**: 5811~5817
- [32] Takatori T, Ogura M, Tsuruo T. Purification and characterization of NF-R2 that regulates the expression of the human multidrug resistance (*MDR1*) gene. *Jpn J Cancer Res*, 1993, **84**: 298~303
- [33] Yovine A, Riofrio M, Blay J Y, *et al.* Phase II study of ecteinascidin-743 in advanced pretreated soft tissue sarcoma patients. *J Clin Oncol*, 2004, **22**: 890~899
- [34] Laverdiere C, Kolb E A, Supko J G, *et al.* Phase II study of ecteinascidin 743 in heavily pretreated patients with recurrent osteosarcoma. *Cancer*, 2003, **98**: 832~840
- [35] Demetri G D. ET-743: the US experience in sarcomas of soft tissues. *Anticancer Drugs*, 2002, **13**: S7~S9
- [36] Aune G J, Furuta T, Pommier Y. Ecteinascidin 743: a novel anticancer drug with a unique mechanism of action. *Anticancer Drugs*, 2002, **13**: 545~555
- [37] Takebayashi Y, Goldwasser F, Urasaki Y, *et al.* Ecteinascidin 743 induces protein-linked DNA breaks in human colon carcinoma HCT116 cells and is cytotoxic independently of topoisomerase I expression. *Clin Cancer Res*, 2001, **7**: 185~191
- [38] Takebayashi Y, Pourquier P, Zimonjic D B, *et al.* Antiproliferative activity of ecteinascidin 743 is dependent upon transcription-coupled nucleotide-excision repair. *Nat Med*, 2001, **7**: 961~966
- [39] Friedman D, Hu Z, Kolb E A, *et al.* Ecteinascidin-743 inhibits activated but not constitutive transcription. *Cancer Res*, 2002, **62**: 3377~3381
- [40] Minuzzo M, Marchini S, Broggin M, *et al.* Interference of transcriptional activation by the antineoplastic drug ecteinascidin-743. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, **97**: 6780~6784
- [41] Jin S, Gorfajn B, Faircloth G, *et al.* Ecteinascidin 743, a transcription-targeted chemotherapeutic that inhibits *MDR1* activation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, **97**: 6775~6779
- [42] Kanzaki A, Takebayashi Y, Ren X Q, *et al.* Overcoming multidrug drug resistance in P-glycoprotein/*MDR1*-overexpressing cell lines by ecteinascidin 743. *Mol Cancer Ther*, 2002, **1**: 1327~1334
- [43] Meng L H, He X H, Zhang J S, *et al.* DNA topoisomerase II as primary cellular target for salvicine in *Saccharomyces cerevisiae*. *Acta Pharmacol Sin*, 2001, **21**: 741~746
- [44] Meng L H, Zhang J S, Ding J. Salvicine, a novel DNA topoisomerase II inhibitor, exerting its effect by trapping the enzyme-DNA cleavage complex. *Biochem Pharmacol*, 2001, **62**: 733~741
- [45] Miao Z H, Tang T, Zhang Y X, *et al.* Cytotoxicity, apoptosis induction and downregulation of *mdr-1* expression by the anti-topoisomerase II agent, salvicine, in multidrug-resistant cells. *Int J Cancer*, 2003, **106**: 108~115
- [46] Miao Z H, Ding J. Transcription factor c-Jun activation represses *mdr-1* gene expression. *Cancer Res*, 2003, **63**: 4527~4532
- [47] Kang C D, Ahn B K, Jeong C S, *et al.* Downregulation of JNK/SAPK activity is associated with the cross-resistance to P-glycoprotein-unrelated drugs in multidrug-resistant FM3A/M cells overexpressing P-glycoprotein. *Exp Cell Res*, 2000, **256**: 300~307
- [48] Wartenberg M, Ling F C, Schallenberg M, *et al.* Downregulation of intrinsic P-glycoprotein expression in multicellular prostate tumor spheroids by reactive oxygen species. *J Biol Chem*, 2001, **276**: 17420~17428
- [49] Stein U, Walther W, Shoemaker R H. Modulation of *mdr-1* expression by cytokines in human colon carcinoma cells: an approach for reversal of multidrug resistance. *Br J Cancer*, 1996, **74**: 1384~1391
- [50] Stein U, Walther W, Shoemaker R H. Reversal of multidrug resistance by transduction of cytokines genes into human colon carcinoma cells. *J Natl Cancer Inst*, 1996, **88**: 1383~1392
- [51] Miao Z H, Tong L J, Zhang J S, *et al.* Characterization of salvicine-resistant lung adenocarcinoma A549/SAL cell line. *Int J Cancer*, 2004, **110**: 627~632
- [52] Shao L, Kasanov J, Hornicek F J, *et al.* Ecteinascidin-743 drug resistance in sarcoma cells: transcriptional and cellular alterations. *Biochem Pharmacol*, 2003, **66**: 2381~2395