

후두 편평상피세포암에서의 다수약물내성 유전자 단백질의 발현

이화여자대학교 의과대학 이비인후과학교실
정 성 민

= Abstract =

Expression of Multidrug Resistance Gene Product in Laryngeal Squamous Cell Carcinoma

Sung Min Chung

Department of Otolaryngology, College of Medicine, Ewha Womans University

Objectives : Various mechanisms are involved in drug resistance of tumor cells. Among them one such mechanism is the overexpression of the multidrug resistance (mdr1) gene product P-glycoprotein(Pgp) that functions as an energy - dependent drug efflux pump.

Method : The expression of P-glycoprotein by immunohistochemistry was examined in 20 cases of laryngeal squamous cell carcinoma and vocal nodules as a control pump using a newly developed monoclonal antibody (MDR/JSB-1) which is specific to human mdr1 gene product and recognizes an external epitope of the protein. Mdr1 gene product expression was compared with clinical response to chemotherapy in six patients who received mdr1 dependent drugs.

Result : The results are summerized as follows.

1) Among 20 laryngeal cancer tissues, P-glycoprotein was detected in 8 patients. and none of 20 vocal nodules showed expression of P-glycoprotein.

2) There is a correlation in between positive P-glycoprotein staining and tumor differentiation.

3) No correlation in between positive P-glycoprotein staining and tumor stage or tumor site is observed.

4) 2 patients with negative clinical response to chemotherapy among 6 patients who received inductive chemotherapy with cisplatin, vincristine and p popleomycin revealed positive P-glycoprotein staining.

Conclusion : Therefore, analyzing the expression of P-glycoprotein may play a role when planning chemotherapeutic regimens for patients with head and neck cancer and may be an additional prognostic and diagnostic tools in these patients.

KEY WORDS : Multidrug resistance gene · Laryngeal squamous cell carcinoma.

서 론

Biedler와 Riehm¹⁾에 의해 처음 보고된 다수약물내성(multidrug resistance, 이하 *mdr1*) 표현형은 170kd의 transmembrane glycoprotein을 암호화 하는 *mdr1* 유전자의 증가된 표현양상과 관계되는 것으로 알려져 있다²⁾³⁾⁴⁾.

이러한 P-glycoprotein의 기능은 membrane efflux pump로 작용하여 세포내의 약물농도를 낮은 수준으로 유지하는 것으로 생각되어지고 있다⁵⁾.

mdr1 표현형은 여러종류의 동물 및 인간의 종양세포주⁶⁾⁷⁾와 다양한 종양⁸⁾⁹⁾에서 보고되고 있는데 최근 Chan 등⁸⁾은 *mdr1* 표현양상과 항암화학요법에 대한 반응의 결핍사이에 상관관계가 있음을 소아의 연부조직 육종에서 보고한 바 있다.

일반적으로 후두를 포함한 두경부의 편평상피세포암은 수술적치료 및 방사선요법으로 치료하고 있으며 항암화학요법의 단독치료에 대한 결과는 좋지 않은 것으로 알려져 있다¹⁰⁾. 따라서 두경부의 편평상피세포암은 항암약물에 대해 내성이 있는 표현형을 가지고 있는 것으로 추측해 볼수 있겠다.

이에 저자는 후두의 편평상피세포암에서 *mdr1* 유전자의 표현양상을 검사하고, 그 결과를 임상병리학적 소견과 또한 항암화학요법에 대한 반응과 비교하여 보기위하여 본 연구를 시행하였다.

재료 및 방법

1. 재 료

1991년부터 1995년까지 이화여자대학교 부속 동대문병원에서 후두의 편평상피세포암으로 수술및 방사선 치료를 받았던 환자로써 이들의 생검 및 수술시 적출한 조직의 보관 및 처치가 양호하였던 20예와 대조군으로 성대결절 20예를 대상으로 하였다.

2. 방 법

1) 면역 조직화학적 염색

mdr1 유전자 단백(P-glycoprotein, JSB-1)의 발현양상을 보기 위한 면역조직화학적 염색을 Hsu¹¹⁾가 기술한 방법에 약간의 수정을 가하여 시행하였다.

즉, 파라핀에 포매된 조직을 5 μ m의 절편으로 깎아 alcohol과 xylene을 이용하여 탈파라핀과 hydration을 시켰다. xylene에는 5분간 3회씩 담겼으며 alcohol은 100%, 90%, 80%, 70%순으로 각 2번씩 2분간 처치하였다. 비특이적인 단백질의 결합을 막기위해 10% goat serum으로 20분간 반응시키고 조직내 peroxidase activity를 block하기위해 3% hydrogen oxide 에 15분간 반응 시켰다. 그 후 증류수로 2번 수세하고 PBS(phosphate buffered saline)에 5분간 담근 후 희석시킨 P-glycoprotein을 실온에서 2시간 반응시켰다.

그 후 PBS로 5분간 3회씩 DAKO사의 LSAB(labeled streptavidin biotin) kit를 사용하여 면역조직화학염색을 시행하였다.

즉 link antibody를 20분간 반응시키고 그 후 streptavidin 20분 반응후 PBS로 수세후 AEC(3-Amino-9-ethyl carbazole)로 발색하고 Meyer's hematoxyline으로 대조 염색한 후 mount 하고 현미경으로 검색하였다.

양성 대조군으로는 가장 양성 반응이 잘 나오는 슬라이드를 골라 매번 염색시 1장씩 같이 염색하여 비슷한 염색상을 보이는지 비교하였다.

결과는 광학 현미경으로 관찰하여 음성 대조군과 비슷하게 보이는 경우를(-)로 하고 염색이 종양세포 또는 간질세포에서 발현되는 경우 모두를 양성으로 분류하였다.

2) 병리조직학적 분화도의 구분

Hematoxylin-eosin 염색표본은 병리조직학적 분화도를 1992년 미국 암 협회의 분류¹²⁾에 따라 grade 1은 분화도가 아주 좋은 예, grade 2는 분화도가 중등도인 예, grade 3는 분화도가 좋지 않은 예, grade 4는 미분화인 예로 재판정하였다.

결 과

1. 후두의 편평상피세포암과 성대결절에서의 P-glycoprotein(Pgp) 표현양상

후두의 편평상피 세포암 20 예중 Pgp 표현양상은 8예에서 고등색으로 염색되어 40%의 양성율을 보였다. 성대결절 조직에서는 20예 모두 염색되지 않아 양성율은 0%였다(Table 1). 양성을 보이는 편평상피 세포암에서는 종양세포와 간질세포 모두에서 양성발현이 관찰되었고, 특히 혈관주위에서 양성정도가 강하게 나타났다

Table 1. Comparison of P-glycoprotein(Pgp) staining between laryngeal squamous cell carcinomas and vocal nodules

	NO. of cases(%)	Pgp + (%)	Pgp - (%)
Laryngeal squamous carcinoma	20(100)	8(40)	12(60)
Vocal nodules	20(100)	0(0)	20(100)

Table 2. Correlation of P-glycoprotein(Pgp) staining with clinical stages

Clinical stages	NO. of cases(%)	Pgp + (%)	Pgp - (%)
I	6(100)	1(16.7)	5(83.3)
II	3(100)	1(33.3)	2(66.7)
III	6(100)	5(83.3)	1(16.7)
IV	5(100)	1(20)	4(80)

Table 3. Correlation of P-glycoprotein(Pgp) staining with histologic grades

Histologic grade	No. of cases	Pgp + (%)	Pgp - (%)
1	15(100)	3(20)	12(80)
2	3(100)	3(100)	0(0)
3	2(100)	2(100)	0(0)
4	0	0	0
Total	20	8	12

G1 : well differentiated G2 : moderate differentiated G3 : poorly differentiated G4 : undifferentiated

Table 4. Correlation of P-glycoprotein(Pgp) staining with

Sites	No. of cases	Pgp + (%)	Pgp - (%)
Supraglottic	5(100)	3(60)	2(40)
Glottic	12(100)	4(33.3)	8(67.7)
Subglottic	1(100)	1(100)	0(0)
Transglottic	2(100)	0(0)	2(100)
Total	20	8	12

2. 후두의 편평상피세포암의 임상적 병기에 따른 P-glycoprotein(Pgp) 표현양상

후두암 병기는 1기가 6예, 2기가 3예, 3기가 6예, 4기가 5예 였는데 1기 6예중 Pgp 양성인 1예(16.7%) 음성인 5예(83.3%)였으며, 2기 3예는 양성인 1예(33.3%), 음성인 2예(66.7%)였다. 3기는 6예였는데 양성인 5예(83.3%) 음성인 1예(16.7%)였고, 4기는 5예였으며 이중 양성인 1예(20%) 음성인 4예(80%)였다(Table 2).

3. 병리학적 분화도와 P-glycoprotein(Pgp)의 표현양상과의 관계

병리학적 분화도가 grade 1인 경우가 15예였으며 이중 Pgp양성이 3예(20%) 음성인 12예(80%)였다. Grade 2인 3예에서는 3예(100%)모두가 양성을 나타냈으며 grade 3인 2예에서는 2예(100%) 모두 양성을 보였다(Table 3).

Table 5. Correlation of P-glycoprotein(Pgp) expression

Patient NO.	Response*	Pgp**
1	C	-
2	C	-
3	P	-
4	P	-
5	N	+
6	N	+

* N : indicates no response

C : Complete response

P : Partial response

**Positive sign indicates positive staining for Pgp

4. 후두의 편평상피세포암 발생부위와 P-glycoprotein 표현양상과의 관계

성문 상부암 5예중 양성인 3예(60%) 음성인 2예(40%)였고, 성문암 12예중 양성인 4예(33.3%) 음성인 8예(67.7%)였으며, 성문하부암 1예는(100%) 양성으로 나타났다(Table 4).

5. 항암 화학요법에 대한 반응과 P-glycoprotein 표현양상과의 관계

수술이나 방사선 치료전에 유도화학요법을 받았던 6례중 2예에서 P-glycoprotein 양성으로 나타났으며, 양성을 보인 2예중 항암화학요법에 대한 반응은 2예 모

두 무반응을 보였다.

고 안

두경부에 발생한 편평상피세포암은 국소적으로 진행된 상태에서 진단되는 경우 예후가 매우 좋지않아 수술적요법과 방사선치료등의 병합치료에도 불구하고 3기(stage III)와 4기(stage IV)의 병변인 경우 재발은 흔하며 3년 생존율은 3~34% 정도이다¹³⁾.

이러한 두경부종양에서 항암화학요법의 역할은 대부분의 항암제들이 단일 약제 치료로서 30%미만의 반응을 보이고 또한 부분적이고 단기간의 반응을 나타내기때문에 일차적인 종양의 제거보다는 환자 증상의 경감(palliation)이나 생명의 연장(prolongation of life)으로 사용되어왔다¹⁴⁾. 그러나 최근에는 수술이나 방사선치료전에 종양 크기를 줄이고, 미세전이 병변을 줄이고, 또한 장기를 보존하며 치료하기위한 한 방법으로써 Neoadjuvant chemotherapy를 시행하기도 한다¹⁴⁾.

이와같이 두경부 편평상피세포암에서 항암화학요법의 역할이 증가되고 있으나 항암제에 대한 반응이 안 좋은 것은 두경부암이 항암제에 대해 내성을 지니고 있는 것으로 추측해 볼 수 있겠다. 실제적으로 암의 항암치료가 가장 중요한 문제점은 일부 일차암과 대다수의 재발된 암이 다수의 항암치료약제에 교차내성(cross-resistance)을 가지고 있다는 것이다. 이러한 다수 약물에 내성이 있는(multidrug-resistance) 종양세포는 항암치료 약물에 대해 매우 높은 적극적 유출 기전(active efflux mechanism)을 가지고 있어서 세포질내에 이들 약물이 축적되는 것을 방해하는 것으로 생각하고있다¹⁵⁾¹⁶⁾.

최근 들어 다수약물내성(multidrug-resistance)은 다수 약물 내성의 표현형(phenotype)을 나타내는 유전자 즉 다수약물내성 유전자(multidrug resistance gene, *mdr1*)를 가지고 있기 때문인 것으로 생각하고 있다¹⁷⁻²¹⁾. 사람의 *mdr1* 유전자 배열순서(sequence)가 결정되었는데 이들은 다수의 막에 걸쳐있는 소수성의 영역(multiple membrane sparing hydrophobic domains)과 2개의 뉴클레오티드(nucleotid) 결합부위를 가지고 있는 폴리펩티드(polypeptid)를 부호화(encode)한 것으로 밝혀졌다²²⁾.

이러한 막의 glycoprotein의 성숙형은 170KDa이고 P170 또는 P-glycoprotein(Pgp)라고 명칭한다⁴⁾²²⁾²³⁾.

또한 사람의 다수약물에 내성이 있는 세포의 바깥 표면에 존재하는 P-glycoprotein의 단일세포군의 항체(monoclonal)도 분리되었다²¹⁾²⁴⁾.

이러한 P-glycoprotein의 위치와 구조는 이것이 energy-dependent drug efflux pump 역할을 하기엔 적합한 것으로 판명되었다²²⁾²⁵⁾.

따라서 약물의 내성이 생기는 여러 세포내 기전중에서 *mdr1*이 일부 암에서 항암 화학요법에 대한 반응을 결정하는데 중요한자로 작용한다는 것은 이미 많은 연구에서 보고된 바이다.이 중에서도 Fojo²⁶⁾와 Goldstein²⁷⁾ 등이 이전에 항암화학요법에 노출되지않았던 사람의 종양에서 높은 양의 *mdr1* messenger RNA를 발견하였는데 여기에 속하는 종양으로는 대장암, 신세포암, 간암, 부신 피질암, 크롬친화세포종, 조세포암종, 만성 백혈병, 수막종등이 있다고 보고한 바 있다.이들은 내인성으로 *mdr1* 유전자를 가지고 있는 것으로 생각되고있다. 진단시 *mdr1*유전자를 표현하지않는 종양에는 급성 백혈병, 림프종, 신경모세포종, 난소암, 유방암, 폐의 소세포암등이 있으며 이들은 항암화학요법에 일반적으로 예민한 것으로 나타나 있다¹²⁾¹⁶⁾²⁵⁾²⁶⁾.

항암화학요법 후 재발된 후에 *mdr1* 유전자표현양상이 증가되는 후천적 내성이 발생하는 경우가 있는데 급성 골수성 백혈병에서 진단시는 P-glycoprotein 양성종양이 30~40%이나 재발시에는 50~80%로 증가된다는 보고도 있다²⁷⁾³⁰⁾.

소아의 육종이나,신경모세포종, 성인의 유방암에서는 P-glycoprotein 표현증가가 항암화학요법에 대한 반응, 재발, 생존율등과 상관관계가 있는 것으로 밝혀져 있으나⁸⁾³¹⁾ 두경부 편평상피세포암에서는 Pavelic 등³²⁾이 23예의 두경부 편평상피세포암에서 60%의 P-glycoprotein양성율을 보고하였고, Kelly 등³³⁾이 53명의 두경부 편평상피세포암 환자중 69%에서 P-glycoprotein 양성율을 보고한 바 있으나 후두의 편평상피세포암만을 대상으로 한 연구는 없는 상태이고 아직까지 우리나라의 두경부 편평상피세포암에서 *mdr1* 유전자의 양성율에 대한 보고는 없는 상태이다. 저자의 경우 후두의 편평상피세포암만을 대상으로 하여 20예중 40%에서 양성율을 보여 다른 보고자들의 보고에 비해 약간 낮은 양성율을 나타내었는데 이는 저자의 연구에서는 후두의 편평상피세포암만을 대상으로 하였기 때문인 것으로 생각되고 또한 두경부의 다른 종양에 비해 후두의 편평상피세포암에서 항암화학

요법에 대한 반응이 다른 부위의 두경부 암보다 좀 더 좋은 한 가지 이유가 되리라고 본다. 다수 약물에 내성을 지닌 항암치료약물은 모두 소수성이고 크며 대부분이 자연산물이다. 이들은 수용기질로서 P-glycoprotein을 경쟁적으로 방해한다고 생각되어진다. 여기에 속하는 항암약물로는 Daunorubicin, Doxorubicin, Vinblastin, Etoposide, Taxol, Dactinomycin, Mitoxantrone, Mitomycin, Trimetrexate 등이 있다^{19,20,31)}.

최근에는 다수약물 내성에 대한 다양한 조절제들이 연구되어 보고되고 있으나 아직까지 충분한 작용을 가지면서 비독성인 약물이 개발되지는 않아서 통상적인 종양치료의 한 방법으로 다수약물내성조절제에 의한 치료방법을 사용되고 있지 않다³⁵⁾.

Pavelic³²⁾과 Cordon-Cardo³⁶⁾와 Vander Valk³⁷⁾ 등이 정상조직과 종양조직에서 P-glycoprotein의 표현양상을 광범위하게 분석하였는데 보고자에 따라 약간의 차이가 있기는 하지만 신장, 간, 장, 췌장, 부신에서 발견되며 또한 분비 및 배출기능을 가진 다양한 기관의 상피세포에서 발견되고 있다. 이러한 결과는 P-glycoprotein의 생리적 역할이 인체로부터 독성물질을 제거하는 것이라는 것을 뒷받침해주고 있다. 반면 뇌세포, 고환, 유두상진피의 모세혈관에서는, P-glycoprotein의 표현이 관찰되지 않는데 이것은 이들 기관에 왜 약물이 침투하기 힘든가를 설명해주고 있다. 두경부의 정상조직에서 P-glycoprotein의 표현양상을 보면 Pavelic³²⁾은 입술, 혀, 구강점막에서 발견되지 않는다고 보고하였고, Thiebart 등³⁸⁾은 기관지세포에서 음성으로 나타난다고 하였으며 Cardon-Cardo³⁷⁾과 Vander Valt 등³⁷⁾도 구강에서는 표현되지 않는다고 보고하였으나 아직까지 후두세포에서는 보고된 것이 없다.

저자의 경우 후두의 정상조직 대신 성대결절을 이용하였는데 20예 전 예에서 음성으로 나타나 다른 보고자들의 보고와 일치하고 있다.

후두편평 상피세포암의 임상적 병기에 대한 P-glycoprotein의 표현 양상의 차이는 발견되지 않았으나 종양의 병리학적 분화 정도에 따라서는 분화가 좋지 않을수록 P-glycoprotein의 양성율의 정도가 증가되게 나타났는데 이러한 결과는 Kelley³⁹⁾ 등의 보고와 일치하고 있었다.

후두암의 병기가 3기이상인 6예에서 수술이나 방사선 치료전에 유도화학요법을 시행하였는데 이 중 무반응을

보인 2예에서 Pgp 양성으로 나타났고 완전반응을 보인 2예와 부분반응을 보인 2예에서는 음성으로 나타나 Pgp 양성과 항암화학요법에 대한 반응이 관계가 있는 듯이 보였으나 연구대상이 적어 통계적 검증은 시행하지 못하였다.

최근 들어 두경부영역의 악성종양의 치료시 생활의 질을 중요시하는 의미에서 장기보존의 방법이 활발하게 시도되고 있는 과정에서 유도화학요법이 그 적용범위를 넓혀가고 있으며, 또한 전신 전이를 가진 경우 환자의 증상 경감이나 생명연장을 위해서는 항암화학요법이 필수적이기 때문에 항암치료 시작전에 P-glycoprotein의 양성 상태를 추정해보므로써 종양의 항암화학요법에 대한 반응을 예측하고 나아가서는 예후 측정내지 진단적 목적으로 사용될 수 있으리라 생각된다.

요 약

목 적 :

다양한 암이 항암화학요법에 의해 치유되어왔다. 그러나 두경부암에서는 항암화학요법에 대한 반응이 부분적이고 단기적이어서, 이들 질환의 치료에서 항암제의 역할은 종양의 완전제거보다는 증상의 경감이나 생명연장으로서의 의미를 가지고 있다. 따라서 본 연구는 두경부암에서 다수 약물 내성의 표현양상을 검사하고 그 결과를 임상병리학적 소견, 항암 화학요법에 대한 반응과 비교해봄으로써 후두 편평상피세포암의 항암화학요법에 도움이 되고자 본 연구를 시행하였다.

방 법 :

1991년부터 1995년까지 이화여자대학교 부속 동대문병원에서 후두의 편평상피세포암으로 수술 및 방사선 치료를 받았던 환자의 조직 20예와 대조군으로 성대결절 20예를 대상으로 하여, 다수 약물 내성 유전자 단백질(P-glycoprotein)의 발현양상을 검사하기 위해 면역 조직화학 염색을 시행하였다.

결 과 :

- 1) 후두편평상피세포암 20예중 8예(40%)에서 Pgp양성이었고, 대조군인 성대결절 20예는 모두 음성이었다.
- 2) 병리학적분화도가 높을 수록 Pgp양성이 증가하였다.
- 3) 후두편평상피세포암의 임상적 병기나 발생부위와 Pgp양성율과의 상관관계는 없었다.

4) 유도 화학요법에 반응이 안 좋았던 경우 Pgp 양성으로 나타났으나 증례수가 적어 통계적 검증은 시행하지 못하였다.

결 론 :

최근 들어 두경부영역의 악성종양치료시 생활의 질을 중요시 하는 의미에서 장기보존의 방법이 활발하게 시도되고 있는 과정에서 유도화학요법이 그 적용범위를 넓혀가고 있으므로 항암화학요법 시작전에 P-glycoprotein의 양성상태를 추정해 보므로써 항암제의 선택과 항암화학요법에 대한 반응정도를 예측하는데 많은 도움을 주리라 사료된다.

References

- 1) Biedler JL, Riehm M : *Cellular resistance to actinomycin D in chinese hamster cells in vitro : cross-resistance, radioautographic and cytogenetic studies. Cancer Resec* 1970 ; 30 : 1174-1184
- 2) Chen CJ, Chin JE, Ueda K, Gottesman MM, Clark CP, Pastan I : *Internal duplication and homology with bacterial transport proteins in the mdr1(p-glycoprotein) gene from multidrug resistant human cells. Cell* 1986 ; 47 : 381-389
- 3) Juliano RL, Ling V : *A surface glycoprotein modulating drug permeability in chinese hamster ovary cell mutants. Biochem Biophys Acta* 1976 ; 455 : 152-162
- 4) Riordan JR, Ling V : *Purification of p-glycoprotein from plasma membrane vesicles of Chinese hamster ovary cell mutants with reduced colchicine permeability. J Biol Chem* 1979 ; 254 : 12701-12705
- 5) Kartner N, Shales M, Riordan JR : *Daunorubicin-resistant chinese hamster ovary cells expressing multidrug resistance and a cell surface p-glycoprotein. Cancer Res* 1983 ; 43 : 4413-4419
- 6) Kartner N, Evernden PD, Bradley G, Ling V : *Detection of p-glycoprotein in multidrug-resistant cell lines by monoclonal antibodies. Nature* 1985 ; 316 : 820-823
- 7) Ma DDF, Favey RA, Harman GI : *Detection of a multidrug-resistant phenotype in acute non-lymphoblastic leukemia. Lancet* 1987 ; 1 : 135-137
- 8) Chan HSL, Thorner PS, Haddad G : *Immunohistochemical detection of p-glycoprotein : prognostic correlation in soft tissue sarcoma of childhood. J Clin Oncol* 1990 ; 8 : 689 - 704
- 9) Noonan KE, Bech C, Holzmayer TA : *Qualitative analysis of MDR1(multidrug resistant) gene expression in human tumors by polymerase chain reaction. Proc Natl Acad Sci USA* 1990 ; 87 : 7160-7164
- 10) Vogl SE, Kaplan BH : *Chemotherapy of advanced head and neck cancer with methotrexate, pleomycin, and cis-diamminedichloroplatinum II in an effective out-patient schedule. Cancer* 1979 ; 44 : 26-31
- 11) Hsu SM, Raine I : *The use of the avidin-biotin-peroxidase complex(ABC) in diagnostic and research pathology. In Advances in immunohistochemistry. 2nd ed. new York, Masson, 1984 : p31*
- 12) Beahrs OH, Henson DE, Hutter R VP, Kennedy BJ : *Manual of staging of cancer. 4th ed.. Philadelphia, J.B. Lippincott, 1992 : p 39-44*
- 13) Deconti RC, Schoenfeld D : *A randomized prospective comparison of intermittent methotrexate, methotrexate with leucovorin, and a methotrexate combination in head and neck cancer. Cancer* 1981 ; 48 : 1061-1072
- 14) Vokes EE : *Principles of chemotherapy in treating head and neck cancer. In head and neck surgery-otolaryngology(ed. Bailey BJP, Philadelphia, Lippincott 1993 : p1029-1039*
- 15) Fojo A, Akiyama SI, Gottesman MM, Pastan I : *Reduced drug accumulation in multidrug-resistant human KB carcinoma cell lines. Cancer Res* 1985 ; 45 : 3002-3007
- 16) Willingham MC, Cornwell MM, Cardarelli CO : *Single cell analysis of daunomycin uptake and efflux in multidrug-resistant and sensitive KB cells : effects of varapamil and other drugs. Cancer Res* 1986 ; 46 : 5941-5946
- 17) Scotto KW, Biedler JL, Melera PW : *Amplification and expression of genes associated with multidrug resistance in mammalian cells. Science* 1986 ; 232 : 751-755
- 18) Shen DW, Fojo A, Chin JE : *Human multidrug-resistant cell lines : increased mdr1 expression can precede gene amplification. Science* 1986 ; 232 : 643-645
- 19) Ueda K, Cardarelli C, Gottesman MM : *Expression of a full-length cDNA for the human "MDR 1" gene confers resistance to colchicine, doxorubicin,*

- and vinblastine. *Proc Natl Acad Sci USA* 84 : 3004-3008
- 20) Van der Blick AM, Van der Velde-Koerts T, Ling V : *Overexpression and amplification of five genes in a multidrug - resistant Chinese hamster ovary cell line. Mol Cell Biol* 1986 ; 6 : 1671-1678
 - 21) Gerlach JH, Endicott JA, Juranka PF : *Homology between p-glycoprotein and a bacterial haemolysin transport protein suggests a model for multidrug resistance. Nature* 1986 ; 324 : 485-489
 - 22) Gottesman MM, Pastan I : *The multidrug transport protein a double-edged sword. J Biol Chem* 1988 ; 263 : 12163-12167
 - 23) Pastan I, Gottesman MM, Ueda KI : *A retrovirus carrying an MDR1 cDNA confers multidrug resistance and polarized expression of p-glycoprotein in MDCK cells. Proc Natl Acad Sci* 1988 ; 85 : 4486-4492
 - 24) Hamada H, Tsuruo T : *Functional role for the 170- to 180- KDa glycoprotein specific to drug-resistant tumor cells as revealed by monoclonal antibodies. Proc Natl Acad Sci USA* 1986 ; 83 : 7785-7789
 - 25) Willingham MC, Richert ND, Cornwell MM : *Immunocytochemical localization of p170 at the plasma membrane of multidrug-resistant human cells. J Histochem cytochem* 1987 ; 35 : 1451-1456
 - 26) Fojo A, Ueda K, Slamon DJ, Poplack DG, Gottesman MM, Pastan I : *Expression of a multidrug-resistant gene in human tinnitus and tissues. Proc Natl Acad Sci USA* 1987 ; 84 : 265-269
 - 27) Goldstein LJ, Galski H, Fojo A, Willingham M, Lai SL, Gazdar A, et al : *Expression of a multidrug resistance gene in human cancer. J Natl Cancer Inst* 1981 ; 81 : 116-131
 - 28) Dalmark M, Storm HM : *A Fickian diffusion transport process with features of transport catalysis : doxorubicin transport in human red blood cells. J Gen Physiol* 1981 ; 78 : 349-364
 - 29) McGrath JP, Nvarshavky A : *The yeast STEB gene codes a homologue of the mammalian multidrug resistance p-glycoprotein. Nature* 1989 ; 340 : 400-404
 - 30) Lum BL, Gosland MP, Kaubiscen S, Sikic BI : *Molecular targets in oncology : implications of the multidrug resistance gene. Pharmacotherapy* 1993 ; 13 : 88-109
 - 31) Chan HSL, Haddad G, Thorner PS, De Boer G, Lin YP, Ondrusek N : *P-glycoprotein expression as a predictor of the outcome of therapy for neuroblastoma. N Engl J Med* 1991 ; 25 : 1608 -1604
 - 32) Pavelic IP, Reising J, Pavelic L, Kelly DJ, Stambrook PJ, Genckman JL : *Detection of p-glycoprotein with four monoclonal antibodies in normal and tumor tissues. Arch Otolaryngol Head and Neck Surg* 1993 ; 119 : 753-757
 - 33) Kelley DJ, Pavelic ZP, Gapany M, Stambrook P, Pavelic L, Gapany S, et al : *Detection of p-glycoprotein in squamous cell carcinomas of the head and neck. Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1993 ; 119 : 411-414
 - 34) Endicott JA, Ling V : *The biochemistry of p-glycoprotein-mediated multidrug resistance. Ann Rev Biochem* 1989 ; 58 : 137-171
 - 35) Jones BL, Dalton W, Fischer GA : *Reversal of multidrug resistance to cancer chemotherapy. Cancer* 1993 ; 72 : 3484-3488
 - 36) Cordon-Cardo C, O` Brien JP, Casals D, Bertino JR, Melamed MR : *Expression of the multidrug resistance gene product(p-glycoprotein) in human normal and tumor tissues. J Histochem Cytochem* 1990 ; 38 : 1277-1287
 - 37) Van der Valk P, Van Kalken CK, Ketelaars H : *Distribution of multi-drug resistance associated p-glycoprotein in normal and neoplastic human tissues. Ann Oncol* 1990 ; 1 : 56-64
 - 38) Thiebant F, Tsuruo T, Harnada H : *Cellular localization of the multidrug - resistance gene product p-glycoprotein in normal human tissues. Natl Acad Sci USA* 1987 ; 84 : 7735-7738