

## 혈청 농도가 다제내성 억제제 BIBW22의 nucleoside 수송에 미치는 영향

이동권\* · Hong-Xing Chen<sup>1</sup> · Uwe Bamberger<sup>2</sup> · Yung-Chi Cheng<sup>1</sup>

성균관대학교 약학대학, <sup>1</sup>예일대학교 의과대학, <sup>2</sup>Thomae GmbH

## Effect of Serum Concentration on Inhibition of Nucleoside Transport by Multidrug Resistance Inhibitor BIBW22

Dong-Kwon RHEE, Hong-Xing CHEN<sup>1</sup>, Uwe Bamberger<sup>2</sup> and Yung-Chi CHENG<sup>1</sup>

College of Pharmacy, SungKyunKwan University, Su-Won 440-746, Korea

<sup>1</sup>Department of Pharmacology, Yale University School of Medicine, New Haven,  
Connecticut 06510, USA\* and <sup>2</sup>Dr. Karl Thomae GmbH, D-7950, Biberach/Riss, Germany

(Received March 16, 1995; accepted April 3, 1995)

**Abstract**—Some multidrug resistance inhibitors have been known to be influenced by the serum concentration. In this study, effect of serum concentration on inhibition of nucleoside transport by BIBW22, a new multidrug resistance inhibitor derived from dipyridamole (DPM), was studied. When 5% or 100% (v/v) of fetal bovine serum (FBS) was contained in the culture, DPM dose for which nucleoside transport was inhibited by 50% (ID<sub>50</sub>) was 0.42 μM or 1.17 μM, respectively. BIBW22 also showed the same trend as DPM did in response to increase of FBS concentration. However, ID<sub>50</sub> value for DPM in the absence or presence of human plasma was 0.007 μM or 1.02 μM respectively showing 145 times increase of ID<sub>50</sub> value. ID<sub>50</sub> value for BIBW22 in the presence of human plasma was 0.028 μM showing only 5 times increase in ID<sub>50</sub> value. This result suggests that potency of BIBW22 was much less affected by the plasma concentration and BIBW22 could be a good candidate for a clinical use in multidrug resistance treatment.

**Keywords** □ BIBW22, Multidrug resistance inhibitor, Nucleoside transport.

여러가지 암 치료에 있어서 항암제를 사용한 치료방법은 매우 중요한 역할을 해왔으나(Teeter, 1989) 항암제에 대한 광범위한 저항성 즉 다제내성(multidrug resistance, MDR) 때문에 성공적인 암치료가 크게 제한되고 있다. 다제내성의 특징은 한 가지 종류의 항암제에 내성이 생기면 화학구조가 전혀 다르며 항암작용을 나타내는 기전도 다른 여러가지 항암제에 대해서 동시에 내성을 나타내는 것이다. 즉 다제내성을 갖고 있는 환자는 vinblastine(Vinka alkaloid), VP-16, Taxol, Actinomycin D, Adriamycin(Anthracycline) 등에 대해서도 약제내성을 나타낸다(Young, 1989). 따라서 다제내성으로 인한 사망율은 암으로 인한 사망율의 약 60%에 이르고 있으며

다제 내성을 억제하는 약물의 개발도 활발히 진행되고 있다. 현재까지 다제내성억제 작용을 갖고 있는 것으로 밝혀진 물질들이 많이 밝혀졌으나 다제내성 억제제로서 작용하기에는 너무 높은 농도가 필요하거나 부작용이 큰것이 문제가 되고 있다 (Leyland-Jones 등, 1993; Ford와 Hait, 1990).

다제내성을 나타내는 직접적인 이유는 *mdr1* 유전자로부터 발현된 170 Kd의 phosphoglycoprotein (Pgp170)이 비특이적으로 약물을 세포밖으로 유출시킴으로써 세포 내의 약물농도가 낮아져서 항암제로서의 작용이 없어지게 되기 때문이다. 인간에서는 *mdr1* 유전자만이 다제내성에 관여하고 있고 *mdr2*의 기능은 알려지지 않고 있다 (Gottesman과 Pastan, 1993). Pgp170은 세포막에 존재하며 12개의 transmembrane domain과 2개의 ATP 결합

\* To whom correspondence should be addressed.

부위를 갖고 있는 integral protein으로서 ATP를 소모 하면서 직접적으로 약물들을 세포밖으로 pumping out 하는 drug transporter로 작용한다 (Endicott와 Ling, 1989; Young, 1989; Shen 등, 1985; Chen 등, 1987). 그러나 *mdr1* 유전자에 대한 많은 연구결과 (Herzog 등, 1993; Currier 등, 1992; Sorrentino 등, 1992; Sarkadi 등, 1992; Valverde 등, 1992; Chen 등, 1990; Chin 등, 1990)에도 불구하고 정상세포와 다제내성을 나타내는 세포에서 Pgp170이 어떻게 작용하는지와 그 활성자리가 어느 부위인지 등은 아직도 규명되지 않았다.

DPM은 관상혈관 확장제와 혈소판응집 억제제로서 사용되고 있으며 (Fitzgerald 등, 1987) 주된 생화학적 기전은 세포막에서의 nucleoside 수송억제 및 cyclic AMP phosphodiesterase를 억제하기 때문인 것으로 알려져 있다 (Fitzgerald 등, 1987; Paterson 등, 1980). 또한 DPM은 5-fluorouracil(5-FU), methotrexate(MTX), cis-platin과 같은 항암제의 작용을 증가시키며 (Grem과 Fisher, 1985; Goel 등, 1989; Jekunen 등, 1992) 다제내성을 억제한다 (Asoh 등, 1989; Shalinsky 등, 1990). 따라서 5-FU와 DPM을 함께 사용하여 다제내성 뿐만 아니라 nucleoside 수송도 억제해 줌으로써 5-FU와 MTX와 같은 대사길항제(antimetabolite)로 인한 세포독성을 감소시키는 것으로 알려져 있다 (Ferguson과 Cheng, 1990; Parker와 Cheng, 1990). 그러나 5-FU와 DPM을 실제로 암치료에 사용할 때에는 치료효과가 없었으며 그 이유는 DPM을 다제내성 억제제로서 치료효과를 얻기위한 목적으로 사용할 때는 혈중농도가 너무 높아져야 하기 때문이다(Grem, 1992).

최근에 개발된 BIBW22 (Fig. 1)는 Dipyridamole (DPM) 유도체로서 다제내성을 나타내는 세포 KB V20C에 대해 DPM보다 10~100배 강한 다제내성 억제작용을 나타내었다 (Chen 등, 1993). 즉 BIBW22는 다제내성 세포 KB V20C에서 DPM보다 vincristine에 대한 감수성을 약 10배 정도 증가시키고 Pgp170의 기질인 rhodamine123의 축적을 약 100배 정도 증가시켰으며 KB 세포에서 5-FU의 세포독성을 약 20배 정도 강화시켰다. 또한 BIBW22는 DPM보다 nucleoside 수송을 약 7배 이상 강력히 억제하여 Pgp170의 drug efflux 기능도 억제함으로써 다제내성 억제제로 작용한다 (Chen 등, 1993). 그러나 BIBW22를 임상실험하기에 앞서 필요한 것 중의 하나는 혈청농도에 의한 다제내성 억제효과가 얼마나 변하는지 측정하는 것이다. 왜냐하면 다제내성 억제제로 가장 많이 연구되어 있는 calcium-channel blocker (diltiazem, verapamil, nifedipine, bepridil) 들은 혈장내의 단백질과 결합되는 비율이 아주 높아 (diltiazem 78%, verapamil 90%, nifedipine 98%, bepridil 99%) 다제내성을 억제하는 효과에 큰 영향을 주기 때문이다 (Formelli 등, 1988). 따라서 저자들은 Pgp170에 대한 다제내성 억제작용에서 BIBW22가 DPM보다 인간혈장

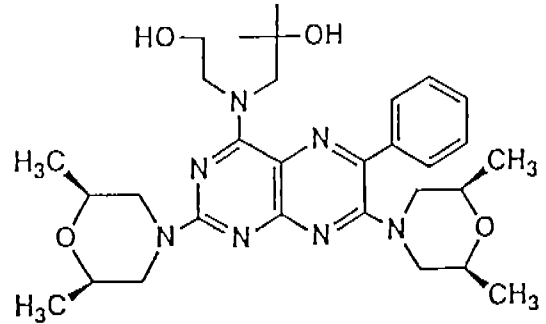


Fig. 1. Chemical structure of BIBW22.

농도에 큰 영향을 받지 않음을 확인하였으며(manuscript in preparation) 본 연구에서는 BIBW22의 다제내성 억제효과가 혈청농도에 의해서 얼마나 변화되는지를 nucleoside 수송억제를 측정함으로써 규명하였다.

### 실험방법

#### 실험재료

[<sup>14</sup>C] thymidine(56 mCi/mmol) 또는 [<sup>14</sup>C] uridine (432 mCi/mmol)은 ICN Radiochemicals (Irvine,CA)로부터 구입하여 사용하였으며 언급하지 않은 기타 시약은 Sigma Chemicals (St Louis, MO)로부터 구입하여 사용하였다. Phosphate-buffered saline (PBS)는 NaCl 8 g, KCl 0.2 g, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1.44 g, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.24 g을 탈이온수 800 ml에 넣고 완전히 녹인 다음 1 M HCl로 pH를 7.4로 맞추고 최종 부피가 1 L가 되도록 탈이온수를 가한 다음 0.22 μm filter로 여과 멸균하여 사용하였다. DPM과 BIBW22는 Dr.Karl Thomae GmbH, Biberach/Riss, Germany에서 합성된 것을 사용하였다. BIBW 22는 사용농도의 100배 농도인 100 μM, 30 μM, 10 μM이 되도록 dimethylsulfoxide로 희석하여 -20℃에 사용할 때까지 보관하였다. 인간혈장은 Yale대학 임상검사실에서 채혈된 것을 사용하였다.

#### 배지

RPMI 1640 basic media에 소태자 혈청 (fetal bovine serum: Gibco BRL, USA)을 5% 되게 가하고 50 mg/ml의 kanamycin sulfate (Sigma, USA)을 최종 100 μg/ml 농도가 되게 가하였다.

#### 암세포주

인간 상피암세포 KB cell line은 American Type Culture Collection (Rockville, MD)에서 구입하여 사용하였다. KB V20C cell line은 KB cell에 vincristine의 농도를 단계적으로 증가시켜 주면서 vincristine에 저항성인 것을 선별하여 최종적으로 20 nM의 vincristine에 저항성을 나타낸 것을 사용하였다. KB V20C cell은 다제내성을 나타내며 Pgp170을 overexpress하고 있음이 Western blot으로 확인되었다 (Chen 등, 1993). KB3-1(Akiyama 등, 1985)은 KB cell의 subclone이지만 소태자혈청

을 10% 첨가하여 배양하였다. KB MDR cell(Ueda 등, 1987)은 KB3-1에 *mdr1* 유전자를 transfection시켜서 만든 다제내성 세포이며 adriamycin을 20  $\mu\text{g/ml}$ 이 되게 첨가하여 배양하였다.

#### 세포 배양 조건

KB cell line은 5% fetal bovine serum과 100  $\mu\text{g/ml}$  kanamycin sulfate를 함유하는 RPMI 1640 배지로 5% CO<sub>2</sub>를 함유하는 습윤한 공기 조성 하에서 37°C에서 배양하였다. KB V20C cell line은 5% fetal bovine serum과 100  $\mu\text{g/ml}$  kanamycin sulfate를 함유하는 RPMI1640 media에 20  $\mu\text{M}$ 의 vincristine을 가하여 5% CO<sub>2</sub>를 함유하는 습윤한 공기 조성하에서 37°C에서 배양하였다.

#### Nucleoside 수송

[<sup>14</sup>C] thymidine (56 mCi/mmol) 또는 [<sup>14</sup>C] uridine (432 mCi/mmol)을 4×10<sup>5</sup>개의 KB cell을 35 mm plastic dish (Becton Dickinson, Lincoln Park, NJ)에 접종하고 37°C에서 40~48시간 동안 배양한 다음 drug을 가하기 1.5시간전에 배지를 새로운 배지로 치환하였다. 적당한 농도의 DPM 또는 BIBW22를 첨가하고 15분 동안 preincubation 한후 1  $\mu\text{M}$ 의 [<sup>14</sup>C] thymidine (56 mCi/mmol) 또는 [<sup>14</sup>C] uridine (432 mCi/mmol)을 넣고 30초간 실온에서 배양하였다. 30초간 배양한 후 얼음위에 dish를 올려놓고 배지를 흡입제거하고 20  $\mu\text{M}$ 의 DPM을 함유하는 2 ml의 ice-cold PBS로 cell을 5번 세척하였다. Dish에 1% Sarkosyl 용액 1 ml를 첨가하여 cell을 수확한 후 8 ml의 scintillation fluid (National Diagnostics, Manville, NJ)와 잘 섞어서 방사능을 측정하였다. 혈장을 전혀 함유하지 않은 대조군의 실험은 다음과 같이 실시하였다. 소태자혈청을 5% 함유한 RPMI 배지에서 배양한 KB cell을 혈청을 전혀 첨가하지 않은 RPMI 배지로 치환한후에 DPM 또는 BIBW22를 첨가하고 15분간 37°C에서 배양하였으며 그 이후의 조작은 위의 방법과 동일하게 실시하였다.

#### ID<sub>50</sub>값의 측정

ID<sub>50</sub>값을 측정하기 앞서 최소한 2번 이상의 예비실험을 실시하여 ID<sub>50</sub>값의 대략적인 범위를 결정하였다. ID<sub>50</sub>값은 DPM 또는 BIBW22를 첨가하였을때의 nucleoside 수송으로 얻어진 실험치를 약물처리를 하지 않은 대조군의 실험치로 나누어 graph를 그려서 대조군의 nucleoside 수송을 50% 억제하는 약물의 농도를 ID<sub>50</sub>값(50% inhibitory dose)으로 하였다.

#### 통계적 유의성 검정

통계적 유의성을 확보하기 위해 모든 실험은 2개를 한 조로하여 2번씩 실험하였다. 유의성 점정에는 Student t test를 이용하였다.

## 결 과

### 종양세포와 다제내성세포에서의 Thymidine 수송

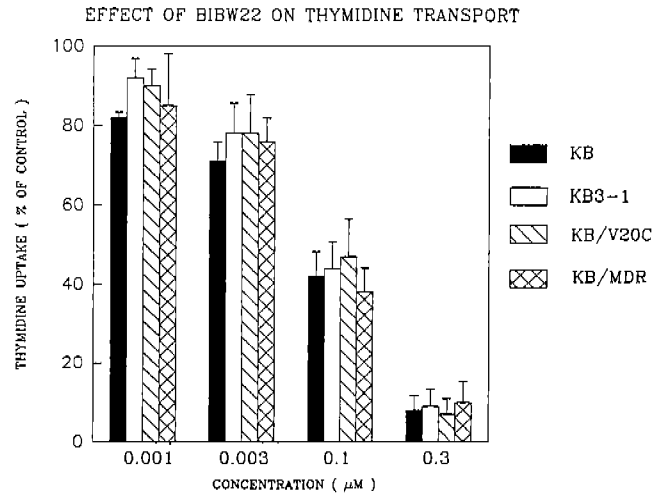


Fig. 2. Effect of BIBW22 on thymidine transport. KB, human tumor cell line; KB3-1, a subclone of KB but requires higher fetal bovine serum concentration for growth; KB V20C, a multidrug resistant subclone derived from KB by stepwise selection for resistance with increasing concentration of vincristine; KB MDR, a multidrug resistant subclone derived from KB3-1 by transfection with human *mdr1* gene.

DPM은 암세포 및 다제내성 세포에서 nucleoside 수송을 억제하는것으로 알려져 있으므로(Phillis 등, 1989; Chen 등, 1993) 본 실험에서는 BIBW22가 암세포와 다제내성세포에서 어떤 차이가 있는지 규명하고자 여러 농도의 BIBW22를 첨가한 상태에서 KB, KB3-1과 그로부터 유래된 다제내성 세포간의 nucleoside 수송의 억제 정도를 측정하였다. Fig. 2는 KB 또는 와 KB3-1으로부터 유래된 다제내성세포 KB V20C 및 KB MDR간에 nucleoside인 thymidine의 수송이 BIBW22에 의해 억제되는 정도에 유의성 있는 큰 변화가 없음을 나타내고 있다. 즉 다제내성 세포와 종양세포 간에는 BIBW22에 의한 nucleoside 수송억제에 큰 차이가 없음을 보여주고 있다.

#### 소태자혈청 농도에 따른 Thymidine 수송의 영향

DPM 존재시 KB 세포를 이용하여 소태자 혈청 농도가 nucleoside 수송억제에 어떤 영향을 미치는지 결정하기 위해 소태자 혈청을 5% 첨가하였을때 thymidine 수송 억제에 필요한 ID<sub>50</sub>는 0.42  $\mu\text{M}$ 이었으나 100% FBS를 첨가했을 때의 ID<sub>50</sub>는 1.17  $\mu\text{M}$ 로 약 2.8배 농도가 증가하였다 (Fig. 3). 그러나 BIBW22의 경우에는 소태자혈청 농도를 5% 첨가하였을때는 ID<sub>50</sub>가 0.42  $\mu\text{M}$ 이었으나 소태자 혈청농도를 100%로 높였을때도 ID<sub>50</sub>가 1.17  $\mu\text{M}$ 로 DPM의 경우와 같은 2.8배 증가하였다. 즉 BIBW22는 혈청농도가 5%에서 100%로 증가함에 따라 DPM과 같은 thymidine 수송억제 정도를 나타내었다. 혈청농도 증가로 인한 thymidine의 수송억제력의 저하현상은 uridine을 사용하였을 때도 거의 같은 양상을 나타내었다(Data not shown). 또한 소태자 혈청을 PBS에 2일간 투석한 소태자

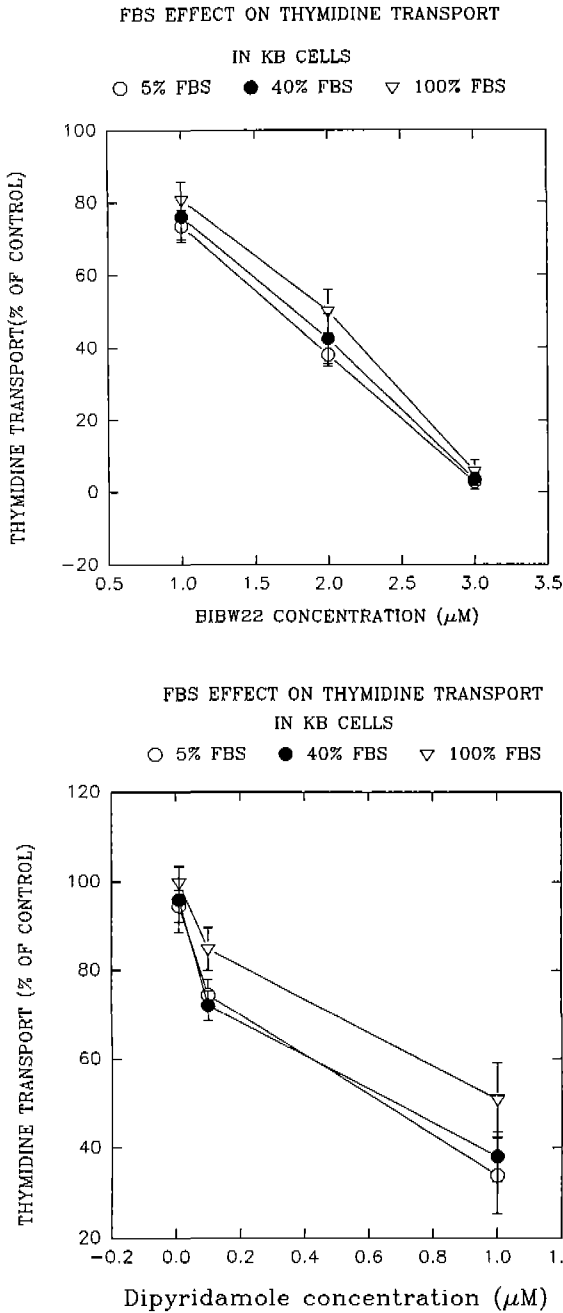


Fig. 3. Effect of fetal bovine serum (FBS) on thymidine transport in KB cells.

혈청을 사용시에도 같은 양상을 나타내었다(Data not shown).

**인간혈장의 농도변화에 따른 nucleoside 수송의 영향**

인간혈장의 농도변화가 nucleoside 수송억제에 어떤 영향을 미치는지 결정하기 위해 인간의 혈장을 이용하여 nucleoside 수송이 억제되는 정도를 결정하였다. 소태자 혈청농도 실험에서 처럼 RPMI 배지에 인간혈장을 5%, 10%, 40% 첨가했을 때는 RPMI 배지가 gel로 응고되어 nucleoside 수송 실험이 불가능하였다. 따라서 인간혈장

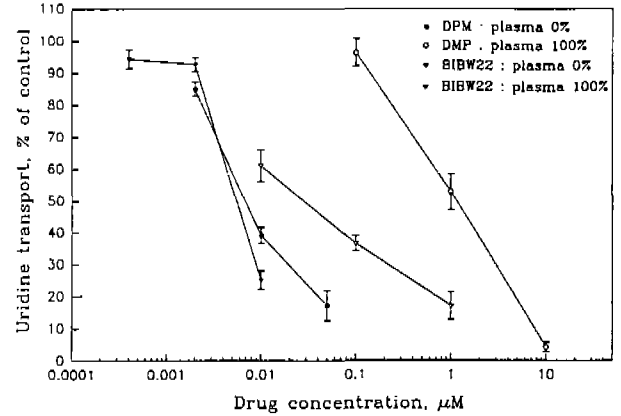


Fig. 4. Effect of human plasma on uridine transport in KB cells.

을 전혀 함유하지 않거나 RPMI 배지대신 인간혈장으로 완전히 치환한 경우만 실험하였다. 또한 uridine 수송은 thymidine 수송보다 DPM 또는 BIBW22에 매우 민감하므로 (unpublished results) thymidine 수송 보다는 uridine 수송을 억제하는데 필요한 ID<sub>50</sub>값을 측정하였다. 인간혈장을 함유하지 않은 배지에서의 DPM 및 BIBW22에 의한 uridine 수송억제의 ID<sub>50</sub>값은 0.007 μM과 0.0055 μM로서 큰 차이가 없었으나 RPMI 배지를 완전히 인간혈장으로 치환했을 경우에는 DPM 및 BIBW22에 의한 uridine 수송억제의 ID<sub>50</sub>값이 각각 1.02 μM과 0.028 μM로 증가되었다(Fig. 4). 즉 DPM은 인간혈장이 존재시에 ID<sub>50</sub>값이 145배 증가하였으나 BIBW22는 5배만 증가함을 나타내어 BIBW22가 nucleoside 수송을 억제하는데 있어서 큰 영향을 받지않음을 나타내고 있다.

**고 찰**

Nucleoside 수송계(Nucleoside transporter: NT)에는 크게 두가지 형태가 존재한다고 알려져 있다(Plagemann 등, 1988; Wu 등, 1992). 즉 equilibrative, facilitated diffusion NT는 모든 세포에서 발견되며 이런 NT는 다시 micromole 농도의 nitrobenzyl thioinosine(NBMPR)에 민감한 *es*(equilibrative sensitive) NT와 NBMPR에 민감하지 않은 *ei*(equilibrative insensitive) NT로 구분된다. 그러나 *es* 및 *ei* NT 모두 DPM에 민감하다. 또 다른 NT는 Na<sup>+</sup> dependent, concentrative NT로서 NBMPR과 DPM에 모두 저항성을 나타내며 NT 의실험적 기질이 formycin B인 경우에는 cif NT라고하고 실험적기질이 thymidine이면 cit NT라고 한다. 이런 Na<sup>+</sup> dependent, concentrative NT는 nucleoside salvage와 신장과 장에서의 영양흡수에서 중요한 역할을 한다고 알려져 있다.

자연적으로 존재하는 여러가지 nucleoside 들은 대사 길항제의 암세포에 대한 세포독성을 경감시킨다. 즉 자연적으로 존재하는 여러가지 nucleoside 들이 혈청에

존재하거나 또는 주위의 죽은 세포로부터 방출됨으로써 5-FU와 같은 대사길항제에 저항성을 갖도록 한다 (Ferguson과 Cheng, 1990; Parker와 Cheng, 1990). 따라서 다제내성을 억제하고 nucleoside 수송도 억제하는 기능을 갖고 있는 약물들은 여러가지 항암제를 동시에 투여하는 화학요법에서 독특한 항암효과를 나타낸다. 이런 약물들은 Pgp170의 기능을 억제하여 다제내성을 억제할 수 있으며 (Ford와 Hait, 1990; Fojo 등, 1985) 또한 주변의 죽은 세포로부터 thymidine uptake를 억제할 뿐만 아니라 5-fluorodeoxyuridine monophosphate의 세포내 농도를 선택적으로 증가시킴으로써 (Grem과 Fisher, 1986) 5-FU의 세포독성을 강화한다. 본 실험에서 사용한 DPM의 유도체인 BIBW22는 DPM이 갖고 있는 특성 즉 다제내성 억제기능과 nucleoside 수송억제 기능이 훨씬 강화된 특징을 갖고 있다 (Chen 등, 1993). BIBW22는 Pgp170의 기능을 억제할뿐만 아니라(data not shown: manuscript in preparation) 비특이적으로 nucleoside 수송을 억제하여 항암작용을 나타내는 것으로 사료된다. 또한 DPM이 다제내성 억제목적으로 임상적으로 사용되기에는 너무 높은 용량을 투여해야 하기 때문에 사용이 불가능하였으나 BIBW22는 1  $\mu$ M 이하에서도 충분히 다제내성을 억제할 수 있을 뿐만 아니라 혈청농도에도 큰 영향을 받지 않으므로 새로운 다제내성 억제제로서 사용될 수 있을 것으로 기대된다.

본 실험에서 BIBW22는 소태자 혈청이 존재할때와 인간혈장이 존재할때에 nucleoside 수송억제 효과면에서 큰 차이가 없었으나 DPM은 큰 차이가 있음이 관찰되었다. 이런 약물효과의 차이는 인간 암세포가 필요로 하는 여러가지 인자가 인간혈장에는 거의 완전히 함유되어 있으나 소태자혈청에는 혈액응고인자를 비롯한 여러가지 인자들이 결여되어 있기 때문으로 추측된다. 그러나 어떤 인자가 DPM의 약리작용에 더 큰 영향을 미치는지는 추후 밝혀야할 과제이다.

## 결론

새로운 다제내성 억제제인 DPM 유도체 BIBW22가 인간 혈장에 의해서 다제내성 억제효과가 얼마나 감소되는지 nucleoside 수송억제 정도를 측정된 결과 소태자 혈청농도를 5%에서 100%로 증가했을때에는 DPM의 ID<sub>50</sub> 값이 증가하는 것과 같은 정도인 2.8배 증가하였다. 그러나 인간 혈장농도를 0%에서 100%로 증가했을때에는 DPM에서는 ID<sub>50</sub>값이 145배 증가함으로써 0%에서의 nucleoside 수송억제력과 같은 약효를 나타내기 위해서 DPM의 약물농도가 145배 증가되어야 하나 BIBW22에서는 ID<sub>50</sub>값이 단지 5배 정도만 증가함으로써 혈장농도의 변화에 민감하지 않음을 나타내었다.

## 참고문헌

- Akiyama, S. I., Fojo, A., Hanover, J., Pastan, I. and Gottesman, M. M. (1985). Isolation and genetic characterization of human KB cell lines resistant to multiple drugs. *Somatic Cell Mol. Genet.* **11**, 117-126.
- Asoh, K., Saburi, Y., Sato, S., Nogae, I., Kohno, K. and Kuwano, M. (1989). Potentiation of some anticancer agents by dipyrindamole against drug-sensitive and drug-resistant cancer cell lines. *Jpn. J. Cancer Res.* **80**, 475-481.
- Chen, C.-J., Chin, J.E., Ueda, K., Clark, D.P. and Pastan, I. (1987). Internal duplication and homology with bacterial transport proteins in the *mdr1*(P-glycoprotein) gene from multidrug-resistant human cells. *Cell* **47**, 387-389.
- Chen, C., Clark, D., Ueda, K., Pastan, I., Gottesman, M. and Roninson, I. B. (1990). Genomic organization of the human multidrug resistance (MDR1) gene and origin of P-glycoproteins. *J. Biol. Chem.* **265**, 506-514.
- Chen, H.-X., Bamberger, U., Heckel, A., Guo, X. and Cheng, Y.-C. (1993). BIBW22, a dipyrindamole analog, acts as a bifunctional modulator on tumor cells by influencing both p-glycoprotein. *Cancer Res.* **53**, 1974-1977.
- Chin, K.-V., Tanaka, S., Darlington, G., Pastan, I. and Gottesman, M. (1990). Heat shock and arsenite increase expression of the multidrug resistance(MDR1) gene in human carcinoma cells. *J. Biol. Chem.* **265**, 221-226.
- Currier, S. J., Kane, S. E., Willingham, M. C., Cardarelli, C. O., Patan, I. and Gottesman, M. M. (1992). Identification of residues in the first cytoplasmic loop of glycoprotein involved in the function of chimeric human MDR1-MKR2 transporter. *J. Biol. Chem.* **267**, 25153-25159.
- Ferguson, P. and Cheng, Y. C. (1990). Clinical issues relating to clinical drug resistance. *Cancer Bull.* **41**, 7-13.
- Fitzgerald, G. A. (1987). Drug therapy dipyrindamole. *N. Engl. J. Med.* **316**, 1247-1256.
- Fojo, J. M., Akiyama, S., Gottesman, M. M. and Pastan, I. (1985). Reduced drug accumulation in multiple-drug-resistance human KB carcinoma cell lines. *Cancer Res.* **45**, 3002-3007.
- Ford, J. M. and Hait, W. N. (1990). Pharmacology of drugs that alter multidrug resistance in cancer. *Pharmacol. Rev.* **42**, 155-199.
- Formelli, F., Cleris, L. and Carssana, R. (1988). Effect of verapamil on doxorubicin activity and pharmacokinetics in mice bearing resistant and solid tumors. *Cancer Chemther. Pharmacol.* **21**, 329-336.
- Gottesman, M. M., Pastan, I. (1993). Biochemistry of multidrug resistance mediated by the multidrug transporter. *Ann. Rev. Biochem.* **62**, 385-427.
- Goel, R., Cleary, S. M., Horton, C., Balis, F. M., Zimm, S., Kirmani, S. and Howell, S. B. (1989). Selective intraperitoneal biochemical modulation of methotrexate by dipyrindamole. *J. Clin. Oncol.* **7**, 262-269.
- Grem, J. L. (1992). Biochemical modulation fluorouracil by dipyrindamole: preclinical and clinical experience. *Semin. Oncol.* **19**, 56-65.
- Grem, J. L. and Fischer, P. H. (1985). Augmentation of 5-fluo-

- rouracil cytotoxicity in human colon cancer cells by dipyridamole. *Cancer Res.* **45**, 2967-2972.
- Grem, J. L. and Fisher, P. H. (1986). Alteration of fluorouracil metabolism in human colon cancer cells by dipyridamole with a selective increase in fluorodeoxyuridine monophosphate levels. *Cancer Res.* **46**, 6191-6199.
- Gros, P., Ben Neriah, Y., Croop, J. M., Housman, D. E. (1986). Isolation and expression of a complementary DNA that confers multidrug resistance. *Nature* **323**, 728-31.
- Herzog, C. E., Tsokos, M., Bates, S. E. and Fojo, A. T. (1993). Increased mdr1/p-glycoprotein expression after treatment of human colon carcinoma cells with p-glycoprotein antagonists. *J. Biol. Chem.* **268**, 2946-2952.
- Jekunen, A., Vick, J., Sanga, R., Chan, T. C. K. and Howell, S. B. (1992). Synergism between dipyridamole and cisplatin in human ovarian carcinoma cells *in vitro*. *Cancer Res.* **52**, 3566-3571.
- Leyland-Jones, B., Dalton, W., Fisher G. A., Sikik, B. I. (1993). Reversal of multidrug resistance to cancer chemotherapy. *Cancer suppl.* **7**, 3484-3488.
- Parker, W. B., and Cheng, Y. C. (1990). Metabolism and mechanism of action of 5-fluorouracil. *Pharmacol. Ther.* **48**, 381-395.
- Paterson, A. R. P., Lau, E. Y., Dahlig, E. and Call, C. E. (1980). A common basis for inhibition of nucleoside transport by dipyridamole and nitrobenzylthionosine. *Mol. Pharmacol.* **18**, 40-44.
- Phillis, J. W., O'Regan, M. H. and Walter, G. A. (1989). Effects of two nucleoside transport inhibitors, dipyridamole and solufazine, on purine release from the rat cerebral cortex. *Brain Res.* **481**, 309-316.
- Plagemann, P. G., Wohlhueter, R. M. and Woffendin, C. (1988). Nucleoside and nucleobase transport in animal cells. *Biochem. Biophys. Act.* **947**, 405-443.
- Sarkadi, B., Price, E. M., Boucher, R. C., Germann, U. A. and Sarborough, G. A. (1992). Expression of the human multidrug resistance cDNA in insect cells generates a high activity drug-stimulated membrane ATPase. *J. Biol. Chem.* **267**, 4854-4858.
- Shalinsky, D. R., Andreeff, M. and Howell, S. B. (1990). Modulation of drug sensitivity by dipyridamole in multidrug resistant tumor cells *in vitro*. *Cancer Res.* **50**, 7573-7543.
- Shen D-W, Cornwell M., Pastan I., Gottesman M. M. (1985). Isolation and genetic characterization of human KB cell lines resistant to multiple drugs. *Somatic Cell Mol. Genet.* **11**, 117-126.
- Sorrentino, B. P., Brandt, S. J., Bodine, D., Gottesman, M. M., pastan, I., Cline, A. and Nienhuis, A. W. (1992). Selection of drug-resistant bone marrow cells *in vivo* after retroviral transfer of human mdr1. *Science* **257**, 99-103.
- Teeter, L. D. (1989). Drug resistance and chemotherapy: a perspective. *Cancer Bulletin* **41**, 14-20.
- Ueda, K., Cardarelli, C., Gottesman, M. M. and Pastan, I. (1987). Expression of a full-length cDNA for the human mdr1 gene confers resistance to colchicine, doxorubicin, and vinblastine. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **84**, 3004-3008.
- Valverde, M. A., Diaz, M., Sepulveda, F. V., Gill, D. R., Hyde, S. C. and Higgins, C. F. (1992). Volume-regulated chloride channels associated with the human multidrug-resistance P-glycoprotein. *Nature* **355**, 830-833.
- Wu, X., Yuan, G., Brett, C. M., Hui, A. C. and Giacomini, K. M. (1992). Sodium-dependent nucleoside transport in choroid plexus from rabbit: Evidence for a single transporter for purine and pyrimidine nucleosides. *J. Biol. Chem.* **267**, 8813-8818.
- Young, R. C. (1989). Drug resistance: The clinical problem. *Drug resistance in cancer chemotherapy*. Kluwer Academic Publishers. 1-11.