

冬凌草甲素逆转乳腺癌MCF-7细胞对氟维司群耐药的机制研究[△]

胡高波^{1*}, 朱 瑞², 金 湛¹, 魏自太^{1#} (1. 衢州职业技术学院医学院, 浙江 衢州 324000; 2. 浙江中医药大学药学院, 杭州 310053)

中图分类号 R965;R737.9 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2022)17-2119-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2022.17.14



摘 要 目的 探究冬凌草甲素(Ori)逆转乳腺癌MCF-7细胞对氟维司群(Ful)耐药的机制。方法 在体外诱导构建乳腺癌获得性Ful耐药细胞株MCF-7/Ful;采用MTT法检测MCF-7细胞和MCF-7/Ful细胞的相对细胞活力, Ori对MCF-7/Ful细胞的抑制率;采用CompuSyn软件分析Ori和Ful的协同效应;将MCF-7/Ful细胞随机分为空白对照组、Ful组(5 $\mu\text{mol/L}$)、Ori组(8 $\mu\text{mol/L}$)、Ful(5 $\mu\text{mol/L}$)+Ori(8 $\mu\text{mol/L}$)组,采用Western blot法检测各组细胞中磷脂酰肌醇-3-激酶(PI3K)/蛋白激酶B(Akt)信号通路相关蛋白的磷酸化情况。采用MCF-7/Ful细胞制备裸鼠移植瘤耐药模型,随机分为空白对照组、Ful组(80 $\mu\text{mol/g}$)、Ori组(50 $\mu\text{mol/g}$)、Ful(80 $\mu\text{mol/g}$)+Ori(50 $\mu\text{mol/g}$)组,计算肿瘤质量和抑瘤率,验证Ori在体内的耐药逆转作用。结果 MTT法检测结果显示,当Ful ≥ 10 $\mu\text{mol/L}$ 时, MCF-7/Ful细胞的相对细胞活力显著高于MCF-7细胞($P < 0.05$),耐药性显著增强;Ori对MCF-7/Ful细胞具有明显的抑制作用,与Ful联合使用对MCF-7/Ful细胞的抑制率显著升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),逆转耐药效果显著增加。Western blot法检测结果显示,与Ful组比较, Ful+Ori组细胞中PI3K、Akt磷酸化水平均显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。体内实验结果显示, Ful+Ori组裸鼠的肿瘤体积和质量显著下降,抑瘤率为(63.90 $\pm$ 4.11)%,较Ful组显著升高($P < 0.01$)。结论 Ori可以逆转乳腺癌MCF-7细胞对Ful的耐药性,此作用可能是通过调控PI3K/Akt信号通路实现的。

关键词 冬凌草甲素;氟维司群;磷脂酰肌醇-3-激酶/蛋白激酶B信号通路;乳腺癌;耐药逆转

Study on the mechanism of oridonin to reverse drug resistance of breast cancer cell MCF-7 to fulvestrant

HU Gaobo¹, ZHU Rui², JIN Zhan¹, WEI Zitai¹ (1. Medical School, Quzhou College of Technology, Zhejiang Quzhou 324000, China; 2. College of Pharmacy, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE** To explore the mechanism of oridonin (Ori) reversing the drug resistance of breast cancer cell MCF-7 to fulvestrant (Ful). **METHODS** Ful-resistant breast cancer cell strains MCF-7/Ful were induced and constructed *in vitro*. The relative cell viability of MCF-7 cells and MCF-7/Ful cells was detected by MTT assay, inhibitory rate of Ori to MCF-7/Ful cells was also detected. CompuSyn software was used to analyze the synergistic effect of Ori and Ful. MCF-7/Ful cells were randomly divided into blank control group, Ful group (5 $\mu\text{mol/L}$), Ori group (8 $\mu\text{mol/L}$), Ful (5 $\mu\text{mol/L}$)+Ori (8 $\mu\text{mol/L}$) group. The phosphorylation of phosphatidylinositol 3 kinase (PI3K)/protein kinase B (Akt) signaling pathway related protein in each group was detected by Western blot. MCF-7/Ful cells were used to prepare drug resistance model of transplanted tumor in nude mice, and they were randomly divided into blank control group, Ful group (80 $\mu\text{mol/g}$), Ori group (50 $\mu\text{mol/g}$), Ful (80 $\mu\text{mol/g}$)+Ori (50 $\mu\text{mol/g}$) group. The tumor weight and tumor inhibition rate were calculated, to verify the reversal effect of Ori and Ful *in vivo*. **RESULTS** MTT assay showed that when Ful ≥ 10 $\mu\text{mol/L}$, the relative cell viability of MCF-7/Ful cells was significantly higher than that of MCF-7 cells ($P < 0.05$), and the drug resistance was significantly enhanced; Ori had a significant inhibitory effect on MCF-7/Ful cells, the inhibition rate of Ori combined with Ful to MCF-7/Ful cells was significantly increased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), and the effect of reversing drug resistance was significantly increased. The results of Western blot showed that compared with Ful group, the phosphorylation levels of PI3K and Akt protein in Ful+Ori group were significantly decreased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). *In vivo* results showed that the tumor volume and mass of Ful+Ori group were significantly decreased, and the tumor inhibition rate was (63.90 $\pm$ 4.11)%, which was significantly higher than that of Ful group ($P < 0.01$). **CONCLUSIONS** Ori can

[△] 基金项目 衢州市科技计划项目(No.2019K41);衢州市重点创新团队资助项目(No.衢委人才[2017]6号)

* 第一作者 讲师,硕士。研究方向:抗肿瘤药物活性。电话:0570-8068091。E-mail:740328775@qq.com

通信作者 教授,博士。研究方向:中医药抗肿瘤。电话:0570-8068091。E-mail:wzytgyang@163.com

reverse drug resistance of breast cancer cell MCF-7 to Ful, and this effect may be through regulating PI3K/Akt signaling pathway.

KEYWORDS oridonin; fulvestrant; phosphatidylinositol 3 kinase/protein kinase B signaling pathway; breast cancer; reversal of drug resistance

乳腺癌是女性最常见的恶性肿瘤之一,发病率和病死率高^[1]。据WHO国际癌症研究机构数据显示,2020年乳腺癌全球新发226万例,占新发癌症病例的11.7%,成为全球第一大癌症。中国是乳腺癌大国,2020年新发乳腺癌约42万例,并导致近12万人死亡^[2]。化疗仍是目前治疗乳腺癌的主要方式,其在缩小病灶、减少手术造成的伤残、提高乳腺癌患者生存率等方面具有较大优势^[3],但耐药性是无法避免的现实问题^[4]。氟维司群(fulvestrant, Ful)作为治疗乳腺癌的一种新型抗雌激素药物^[5],其耐药性问题仍是急需突破的瓶颈^[6-8]。

冬凌草甲素(oridonin, Ori)是从冬凌草植物中提取的二萜类化合物,具有良好的抗肿瘤活性,对白血病细胞、胃癌细胞的耐药性具有较好的逆转作用^[9-11]。相关研究表明,通过调控磷脂酰肌醇-3-激酶(phosphatidylinositol 3 kinase, PI3K)/蛋白激酶B(protein kinase B, Akt)信号通路,可以达到逆转肿瘤耐药性的效果^[12]。本团队前期通过研究证明Ori可能通过诱导乳腺癌MCF-7/Ful细胞产生DNA损伤,引起细胞凋亡、细胞周期阻滞及细胞自噬,从而逆转乳腺癌MCF-7细胞对Ful的耐药^[13]。因此,本研究拟通过检测PI3K/Akt信号通路相关蛋白的表达,以及裸鼠肿瘤质量和体积的变化,进一步探讨Ori逆转乳腺癌MCF-7细胞对Ful耐药的机制。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器包括BB150型CO₂培养箱(美国Thermo Fisher Scientific公司)、TDL-4型低速离心机(浙江纳德科学仪器有限公司)、Mini-PROTEAN型电泳仪(美国Bio-Rad公司)、ChemiScope 6200 Touch型化学发光成像系统(上海勤翔科学仪器有限公司)、FA1004N型电子天平(上海仪天科学仪器有限公司)等。

1.2 主要药品与试剂

本研究所用主要药品与试剂包括Ori对照品(上海源叶生物科技有限公司,纯度≥98%),Ful对照品(美国Sigma公司,纯度≥98%),DMEM培养液、胎牛血清(美国Hyclone公司),MTT(北京索莱宝科技有限公司,批号1021C018),BCA蛋白浓度测定试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司,批号P0032),兔源PI3K、磷酸化PI3K(p-PI3K)、Akt、磷酸化Akt(p-Akt)、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)抗体和辣根过氧化物酶标记的羊抗兔IgG二抗(美国CST公司),青霉素、链霉素(杭州吉诺生物医药技术有限公司)等。

1.3 细胞与动物

人乳腺癌MCF-7细胞株购自中国科学院上海细胞库。SPF级BALB/c裸鼠,4周龄,雄性,体质量20~25 g,购自上海斯莱克实验动物有限责任公司,动物生产合格证号为SCXK(沪)2017-0009,饲养于浙江中医药大学实验动物中心。本研究经衢州职业技术学院医学院动物

伦理中心审批通过,伦理号:20191209-09。

2 方法

2.1 Ori体外逆转乳腺癌MCF-7细胞对Ful耐药机制的验证

2.1.1 耐药细胞诱导及培养 将不耐药的正常乳腺癌MCF-7细胞培养于含10%胎牛血清、200 U/mL青霉素、200 U/mL链霉素的DMEM培养液中,并于培养液中加入Ful,压力(Ful浓度为1 μmol/L)筛选12个月,诱导细胞耐药。然后调整Ful剂量为0.5 μmol/L,置于37℃、5%CO₂培养箱中继续培养至对数生长期,即得对Ful耐药的乳腺癌MCF-7/Ful细胞,用于后续实验。药物剂量参考文献[13]和前期预实验结果设置。

2.1.2 MCF-7和MCF-7/Ful细胞相对细胞活力检测 采用MTT法进行检测。取对数生长期的正常MCF-7细胞及“2.1.1”项下MCF-7/Ful细胞,接种至96孔板中,每孔3 000个细胞。将细胞置于37℃、5%CO₂培养箱中培养过夜,待细胞完全贴壁后,根据预实验结果,每孔加入不同浓度[0(对照)、0.1、1、10、20、50 μmol/L]的Ful,每个浓度设置4个复孔;另设空白培养基组,药物剂量参考文献[13]和前期预实验结果设置。药物作用48 h后,每孔加入5 mg/mL MTT溶液20 μL,继续培养4 h后,每孔再加入三联裂解液(盐酸+十二烷基硫酸钠+异丙醇)200 μL,于37℃恒温培养箱中放置18 h后,使用酶标仪在570 nm波长处测定各孔的光密度(OD),并计算相对细胞活力。相对细胞活力(%)=(实验组OD₅₇₀-空白培养基组OD₅₇₀)/(对照组OD₅₇₀-空白培养基组OD₅₇₀)×100%。实验重复3次。

2.1.3 MCF-7/Ful细胞抑制率及联合指数检测 采用MTT法进行检测。取“2.1.1”项下MCF-7/Ful细胞,接种至96孔板中,每孔3 000个细胞。待细胞贴壁后,用不同浓度的Ori[0(对照)、5、10 μmol/L]和Ful[0(对照)、4、8、12、16、20 μmol/L]单独及联合使用处理细胞48 h,每个浓度设置4个复孔。药物剂量依据前期预实验结果设置。每孔加入MTT溶液20 μL,培养4 h后,再加入三联裂解液(盐酸+十二烷基硫酸钠+异丙醇)200 μL,继续放置18 h后,使用酶标仪在570 nm波长处测定OD,并计算细胞抑制率。细胞抑制率(%)=(对照组OD₅₇₀-实验组OD₅₇₀)/对照组OD₅₇₀×100%,实验重复3次。采用CompuSyn软件绘制不同联合效应下的抑制率-联合指数关系图,计算不同剂量组合下的联合指数。

2.1.4 MCF-7/Ful细胞中PI3K/Akt信号通路相关蛋白的检测 采用Western blot法进行检测。取“2.1.1”项下MCF-7/Ful细胞接种至6孔板中,每孔6×10⁵个细胞。将细胞随机分为空白对照组、Ful组(5 μmol/L)、Ori组(8 μmol/L)、Ful(5 μmol/L)+Ori(8 μmol/L)组,每组设置4个复孔。待细胞贴壁后,按上述分组加入相应的药物或磷酸盐缓冲液。药物剂量依据前期预实验结果设置。

作用 24 h 后加入 RIPA 裂解液,于冰上裂解 30 min 后离心(3 000 r/min, 5 min),取上清液,凝胶电泳分离总蛋白。电压开始设置为 80 V,当蛋白样品进入分离胶后,电压提高到 120 V,参照预染 Marker 的位置,待目的条带进入凝胶最佳分离区时,停止电泳。在凝胶上面铺上经甲醇和转膜液浸湿的 PVDF 膜,在 PVDF 膜上再放 3 层浸过转膜液的滤纸,放上第 2 块海绵垫,放入转移槽中,槽中灌满转膜液,打开电源,稳流 200 mA(120 min)。转膜结束后,取出 PVDF 膜并做好标记,用 TBST 洗膜 10 min×3 次。将 PVDF 膜放入孵育盒中,加入含 5% 脱脂奶粉的封闭液,摇床振荡 1.5~2.0 h;封闭结束后,用 TBST 洗膜 10 min×3 次。加入 p-PI3K、PI3K、p-Akt、Akt、GAPDH 一抗(稀释度均为 1:1 000),4 ℃ 孵育过夜;洗膜后,加入辣根过氧化物酶标记的羊抗兔 IgG 二抗(稀释度为 1:2 000),室温孵育 2 h,显影。采用 Image J 软件对蛋白条带进行灰度值分析,以 PI3K、Akt 蛋白与内参蛋白(GAPDH)条带灰度值的比值表示目标蛋白的表达水平,以 p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt 比值分别表示 PI3K、Akt 的磷酸化水平。

2.2 Ori 体内逆转乳腺癌 MCF-7 细胞对 Ful 耐药机制的验证

采用裸鼠移植瘤模型进行体内实验验证。将裸鼠随机分为空白对照组、Ful 组(80 μmol/g)、Ori 组(50 μmol/g)、Ful(80 μmol/g)+Ori(50 μmol/g)组,每组 8 只,分笼饲养。药物剂量由前期预实验结果确定。取“2.1.1”项下 MCF-7/Ful 细胞,胰酶消化后,用生理盐水调整细胞密度为 1×10⁷ 个/mL,以每只裸鼠 0.2 mL 接种于裸鼠背部皮下,观察移植瘤的生长情况。待肿瘤生长至 100 mm³ 左右时,按分组腹腔注射相应的药物或磷酸盐缓冲液,每 4 天 1 次,每次注射前用游标卡尺测量肿瘤的长径和短径,持续 28 d。肿瘤体积=1/2 长径×2 倍短径。给药结束后采用 CO₂ 处死裸鼠,解剖裸鼠取出肿瘤,称量肿瘤质量,计算抑瘤率。抑瘤率(%)=[(空白对照组肿瘤质量-给药组肿瘤质量)/空白对照组肿瘤质量]×100%。

2.3 统计学方法

采用 SPSS 22.0 统计软件进行数据分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD-*t* 检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

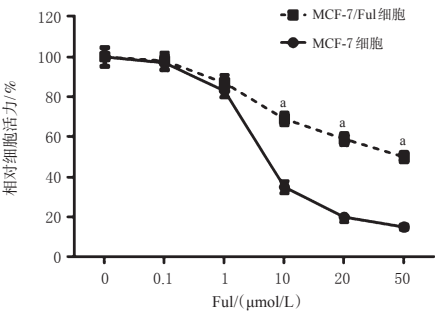
3 结果

3.1 MCF-7 和 MCF-7/Ful 细胞相对细胞活力的检测结果

MTT 法检测结果显示,Ful 能够不同程度地抑制 MCF-7 和 MCF-7/Ful 细胞增殖,且具有剂量依赖趋势。当 Ful≥10 μmol/L 时,MCF-7/Ful 细胞的相对细胞活力显著高于 MCF-7 细胞($P<0.05$),结果见图 1。在 Ful 作用下,MCF-7/Ful 细胞活力越大,代表其耐药性越强。

3.2 Ori 对 MCF-7/Ful 细胞抑制率的影响及联合指数结果

MTT 法检测结果显示,Ori 能够对 MCF-7/Ful 细胞



a: 与 MCF-7 细胞比较, $P<0.05$

图 1 Ful 作用下 MCF-7 和 MCF-7/Ful 细胞的相对细胞活力折线图

产生抑制,且具有剂量依赖趋势。当 Ori 和 Ful 联合使用时,与两者相应剂量单独使用时对比,MCF-7/Ful 细胞的抑制率均显著升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$),结果见表 1。结果表明,Ori 能够逆转乳腺癌 MCF-7 细胞对 Ful 的耐药,且与 Ful 联合使用后,逆转耐药效果更强。通过 CompuSyn 软件绘制得到抑制率-联合指数关系图(图 2)。如图 2 所示,各剂量组联合指数均在横线下,即联合指数均小于 1,具有协同作用^[14]。当 Ori 剂量为 5 μmol/L、Ful 剂量为 8 μmol/L 时,联合指数最小。

表 1 乳腺癌 MCF-7/Ful 细胞抑制率($\bar{x} \pm s, n=4$)

Ori/(μmol/L)	Ful 0 μmol/L	Ful 4 μmol/L	Ful 8 μmol/L	Ful 16 μmol/L	Ful 20 μmol/L
0	0	14.23±1.32	28.31±2.36	35.1±4.23	42.12±5.69
5	17.32±3.23	32.36±2.36 ^{ab}	55.32±5.63 ^{ac}	59.21±5.12 ^{ac}	60.63±5.41 ^{ac}
10	31.64±4.23	39.69±5.12 ^{ab}	59.69±5.98 ^{ab}	69.32±6.12 ^{ab}	71.69±6.56 ^{ac}

a: 与相应剂量 Ful 单独使用比较, $P<0.05$; b: 与相应剂量 Ori 单独使用比较, $P<0.05$; c: 与相应剂量 Ori 单独使用比较, $P<0.01$

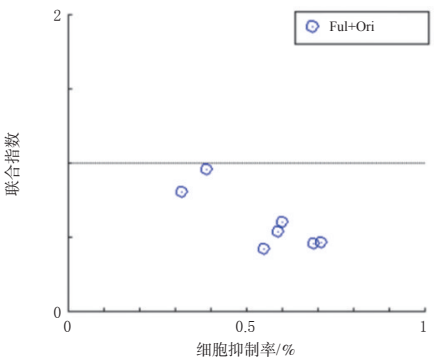


图 2 Ful 和 Ori 联合使用的抑制率-联合指数关系图

3.3 Ori 对乳腺癌 MCF-7/Ful 细胞中 PI3K/Akt 信号通路的影响

与空白对照组比较,Ori 组和 Ful+Ori 组细胞中 p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt 比值及 Ful 组细胞中 p-PI3K/PI3K 比值均显著降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$);与 Ful 组比较,Ful+Ori 组细胞中 p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt 比值均显著降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。结果见图 3。

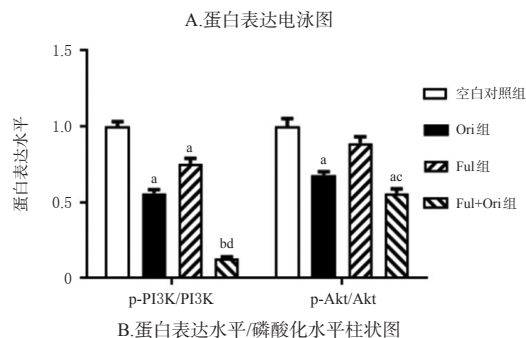
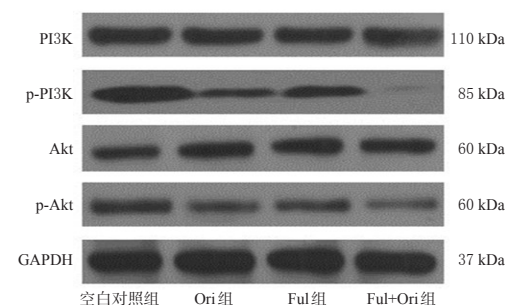


图3 乳腺癌MCF-7/Ful细胞中PI3K/Akt信号通路相关蛋白表达的检测结果

3.4 Ori和Ful的体内抑瘤效应验证结果

与空白对照组和Ful组比较,Ful+Ori组裸鼠的肿瘤生长速度明显降低,肿瘤体积从12 d开始具有显著差异($P<0.05$ 或 $P<0.01$),各组裸鼠的肿瘤体积变化曲线见图4。给药结束后,与空白对照组和Ful组比较,Ful+Ori组裸鼠肿瘤质量著减小($P<0.01$);Ful+Ori组的抑瘤率为 $(63.90 \pm 4.11)\%$,较Ful组显著增加($P<0.01$),各组裸鼠肿瘤质量与抑瘤率见表2。

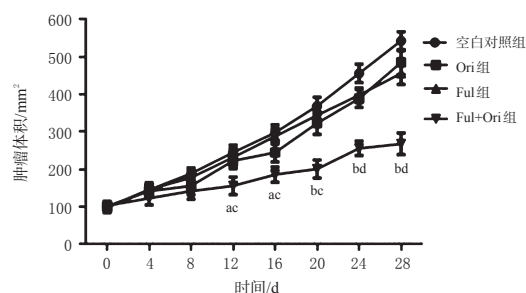


图4 各组裸鼠的肿瘤体积变化曲线

表2 各组裸鼠肿瘤质量及抑瘤率结果比较($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	肿瘤质量/g	抑瘤率/%
空白对照组	3.30 ± 0.65	—
Ori组	2.84 ± 0.36	13.40 ± 3.32
Ful组	2.74 ± 0.25	17.00 ± 2.36
Ful+Ori组	1.19 ± 0.12^{ab}	63.90 ± 4.11^b

a:与空白对照组比较, $P<0.01$;b:与Ful组比较, $P<0.01$;—:无数据

4 讨论

现阶段乳腺癌的治疗以化疗为主,但长期化疗会造成人体损伤,引发毒副作用和耐药。耐药性的产生是乳腺癌患者临床治疗失败的主要原因。Ful是近年来开发的一种抗雌激素药物,因其可靠的临床效果及独特的作用机制,受到临床好评,但Ful的耐药性仍是急需解决的问题^[15-17]。

Ori对肿瘤具有一定的预防和治疗作用,能够抑制肝癌、卵巢癌及胃癌等多种肿瘤细胞的增殖,在逆转肿瘤耐药方面有一定效果^[18-20]。本研究通过Ful诱导乳腺癌MCF-7细胞获得耐药性MCF-7/Ful细胞,同时不同浓度的Ori可以对乳腺癌MCF-7/Ful细胞产生明显的抑制作用,表明Ori能够逆转乳腺癌MCF-7细胞对Ful的耐药。通过CompuSyn软件分析发现,5 $\mu\text{mol/L}$ 的Ori和8 $\mu\text{mol/L}$ 的Ful联合作用时,相关联合指数最小,表明二者联用对乳腺癌MCF-7/Ful细胞抑制效果最好,逆转耐药效果也最佳。

PI3K/Akt信号通路的异常活化在大多数肿瘤中都有发生。研究表明,PI3K/Akt信号通路在介导肿瘤多药耐药导致化疗和放疗抵抗方面发挥着重要作用^[21]。本研究结果显示,与Ful组比较,Ful+Ori组细胞中p-PI3K/PI3K比值、p-Akt/Akt比值显著降低,表明Ful和Ori联合使用后能够有效抑制PI3K和Akt的磷酸化,发挥逆转耐药的作用。

裸鼠因胸腺缺失,缺乏成熟的T淋巴细胞,能够使移植后的肿瘤细胞生长良好,并能保持肿瘤细胞原有的形态和病理特性,成为肿瘤研究中较为理想的动物实验工具^[22]。为进一步验证Ori逆转耐药的体内效应,本研究采用乳腺癌MCF-7/Ful耐药细胞构建了裸鼠移植瘤模型。实验结果表明,Ori联合Ful能够明显减缓肿瘤生长速度,降低肿瘤质量,提高抑瘤率。

综上所述,Ori能够逆转乳腺癌MCF-7细胞对Ful的耐药,此作用可能是通过调控PI3K/Akt信号通路实现的,逆转耐药效果在裸鼠体内也得到验证,本研究可为乳腺癌的临床治疗提供实验依据。

参考文献

- [1] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2015[J]. CA A Cancer J Clin, 2015, 65(1): 5-29.
- [2] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(3): 209-249.
- [3] 中国抗癌协会乳腺癌专业委员会.中国抗癌协会乳腺癌诊治指南与规范:2008版[J].中国癌症杂志, 2009, 19(6): 448-474.

- [4] NIERO E L, ROCHA-SALES B, LAUAND C, et al. The multiple facets of drug resistance: one history, different approaches[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2014, 33:37.
- [5] BAI J C, ZHOU G L, QIU Y F, et al. HSP90 inhibitor AUY922 can reverse fulvestrant induced feedback reaction in human breast cancer cells[J]. *Cancer Sci*, 2017, 108(6):1177-1184.
- [6] BLACKBURN S A, PARKS R M, CHEUNG K L. Fulvestrant for the treatment of advanced breast cancer[J]. *Expert Rev Anticancer Ther*, 2018, 18(7):619-628.
- [7] LIU L M, SHEN W F, ZHU Z H, et al. Combined inhibition of EGFR and c-ABL suppresses the growth of fulvestrant-resistant breast cancer cells through miR-375-autophagy axis[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 498(3):559-565.
- [8] MISHRA A K, ABRAHAMSSON A, DABROSIN C. Fulvestrant inhibits growth of triple negative breast cancer and synergizes with tamoxifen in ER α positive breast cancer by up-regulation of ER β [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(35):56876-56888.
- [9] ZHANG P, ZHAO S R, LIU F, et al. Oridonin induces apoptosis in human nasopharyngeal carcinoma cells involving ROS generation[J]. *Folia Biol (Praha)*, 2017, 63(4):155-163.
- [10] 许文婷, 高巧慧, 伏艳艳, 等. 冬凌草甲素逆转 SGC7901/ADR 细胞的多药耐药性及其机制[J]. *华西药理学杂志*, 2016, 31(3):262-264.
- [11] 何中维, 肖香玲, 蔡芬, 等. 冬凌草甲素逆转人胃癌细胞 SGC 7901/DDP 顺铂耐药的作用及机制研究[J]. *湖北医药学院学报*, 2016, 35(3):261-265.
- [12] 贺修宝, 胡小梅, 郭雅婧. 低频超声联合微泡对比剂通过 PI3K/Akt 通路对乳腺癌耐药株 MCF-7/ADR 多药耐药的逆转机制研究[J]. *天津医药*, 2021, 49(8):802-807.
- [13] 胡高波, 邱惠萍, 金湛, 等. 冬凌草甲素对乳腺癌 MCF-7 细胞氟维司群耐药的逆转作用及机制[J]. *中国药理学与毒理学杂志*, 2021, 35(11):809-815.
- [14] 朱激扬, 陈华, 徐燕芳, 等. 小檗胺联合拉帕替尼对三阴性乳腺癌细胞增殖和凋亡的影响[J]. *中国医药导报*, 2020, 17(20):123-126.
- [15] 于付, 郑荣生. 乳腺癌内分泌治疗耐药的研究进展[J]. *中国肿瘤*, 2017, 26(5):388-394.
- [16] LEE C I, GOODWIN A, WILCKEN N. Fulvestrant for hormone-sensitive metastatic breast cancer[J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2017, 1(1):CD011093.
- [17] 徐丹妮, 张巍, 牛昀. 选择性雌激素受体下调剂氟维司群耐药机制的研究进展[J]. *中国肿瘤临床*, 2020, 47(11):586-589.
- [18] 郭文治, 王冬雨, 李功权, 等. 冬凌草甲素诱导肝癌细胞凋亡作用及其机制[J]. *中华实验外科杂志*, 2015, 32(9):2157-2159.
- [19] MA S H, TAN W H, DU B T, et al. Oridonin effectively reverses cisplatin drug resistance in human ovarian cancer cells via induction of cell apoptosis and inhibition of matrix metalloproteinase expression[J]. *Mol Med Rep*, 2016, 13(4):3342-3348.
- [20] HE Z W, XIAO X L, LI S, et al. Oridonin induces apoptosis and reverses drug resistance in cisplatin resistant human gastric cancer cells[J]. *Oncol Lett*, 2017, 14(2):2499-2504.
- [21] 汤庆丰, 孙健, 于卉, 等. 基于 PI3K/Akt 信号通路的中药抗肿瘤多药耐药作用研究进展[J]. *上海中医药大学学报*, 2016, 30(6):78-82.
- [22] LEWIS K M, HARFORD-WRIGHT E, VINK R, et al. NK1 receptor antagonists and dexamethasone as anticancer agents *in vitro* and in a model of brain tumours secondary to breast cancer[J]. *Anticancer Drugs*, 2013, 24(4):344-354.

(收稿日期:2021-12-21 修回日期:2022-04-27)

(编辑:舒安琴)

《中国药房》杂志——中文核心期刊, 欢迎投稿、订阅