

## 苦参素逆转结肠癌细胞多药耐药作用及机制研究<sup>①</sup>

钟自强<sup>1</sup>, 黄桂柳<sup>1</sup>, 黄赞松<sup>2</sup>, 苏建伟<sup>2</sup>, 周喜汉<sup>2②</sup>

(1. 右江民族医学院研究生学院, 广西 百色 533000 E-mail: 28472586@qq.com;

2. 右江民族医学院附属医院消化内科, 广西 百色 533000)

**摘要:** **目的** 探讨苦参素对人结肠癌耐长春新碱细胞(HCT-8/VCR)对多种化疗药敏感性的影响及其可能的作用机制。**方法** 使用 MTT 法检测苦参素对结肠癌细胞增殖抑制作用, 鉴定 HCT-8/VCR 细胞的多药耐药性及苦参素作用前后细胞耐药性的变化, 倒置显微镜下观察苦参素作用前后细胞的形态改变, real-time PCR 法检测 ABCB1 mRNA 的表达变化, Western blot 法检测苦参素作用前后 P-糖蛋白(P-gp)蛋白表达变化, 流式细胞术检测细胞内罗丹明 123 (Rho123) 的荧光强度。**结果** HCT-8/VCR 细胞对长春新碱、顺铂及 5-氟尿嘧啶(5-Fluorouracil, 5-Fu)均呈现出不同程度的耐药, 耐药倍数分别为 12.52、3.73、6.34, 即为多药耐药细胞。苦参素可抑制 HCT-8/VCR 及其亲本细胞 HCT-8 的增殖, 呈浓度依赖性。经 1 mg/ml 苦参素作用于 HCT-8/VCR 细胞后, 各化疗药 IC<sub>50</sub> 均降低, 逆转倍数分别为 3.44、2.15、2.04, ABCB1 mRNA 及 P-gp 蛋白表达均较用药前降低 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.001$ ), 细胞内 Rho123 外排减少, 荧光强度增加 ( $P < 0.05$ )。**结论** 苦参素可逆转结肠癌细胞的多药耐药性, 其机制可能与抑制 P-gp 的表达, 提高细胞内药物浓度有关。

**关键词:** 苦参素; 结肠癌; 抗药性; P-糖蛋白; 药物治疗

**中图分类号:** R285.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-5817(2017)01-0017-05

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2017.01.005

## Oxymatrine reverses multidrug resistance of human colon cancer cell lines and its mechanism

Zhong Ziqiang<sup>1</sup>, Huang Guiliu<sup>1</sup>, Huang Zansong<sup>2</sup>, Su Jianwei<sup>2</sup>, Zhou xihan<sup>2</sup>

(1. Graduate School of Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000 Guangxi, China

E-mail: 28472586@qq.com; 2. Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Youjiang Medical College for Nationalities, Baise 533000, Guangxi, China)

**Abstract:** **Objective** To study the effects of oxymatrine on the sensitivity of vincristine (VCR)-resistant human colon cancer cell (HCT-8/VCR) lines to the chemotherapeutic drugs and to study the potential mechanisms involved. **Methods** MTT assay was used to detect the proliferation of HCT-8/VCR cells inhibited by oxymatrine, and to identify the multi-drug resistance of HCT-8/VCR cells and the drug-resistance changes of HCT-8/VCR cells after administration of oxymatrine. The morphological changes of human colon cancer cells were observed with an inverted microscope before and after administration of oxymatrine. The expression changes of ABCB1 mRNA were determined by real-time PCR, and Western blot assay was used to detect the expression changes of P-glycoprotein (P-gp) before and after administration of oxymatrine. Flow cytometry was used to detect intracellular fluorescence intensity of Rhodamine 123 (Rho123). **Results** HCT-8/VCR cells presented different degrees of drug-resistance to VCR, cisplatin and 5-fluorouracil (5-Fu), and the drug-resistant multiple was 12.52, 3.73 and 6.34, i. e., multi-drug resistance. Oxymatrine significantly inhibited the growth of parental HCT-8 cells and HCT-8/VCR cells with the concentration-dependence. After HCT-8/VCR cells received treatment with 1 mg/ml of Oxymatrine, IC<sub>50</sub> values of every chemotherapeutic drugs were decreased, the reversing drug-resistant multiple was 3.44, 2.15 and 2.04, and the expressions of P-gp and ABCB1 mRNA were lower than those of pre-treatment ( $P < 0.05$  or  $P < 0.001$ ), and the discharge of intracellu-

① **基金项目:** 广西壮族自治区卫生厅重点科研课题(桂卫重 200988); 广西高校桂西地区高发病防治研究重点实验室开放课题(gxzdsysy2015203)

② **通信作者:** E-mail: ZHXXH1966@sohu.com

lar Rho123 decreased and intracellular fluorescence intensity was strengthened ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Oxymatrine can reverse multidrug resistance of human colon cancer cell line HCT-8/VCR, which may be related to down regulate the expression of P-gp gene and protein and to enhance the intracellular concentration of drugs.

**Key words:** oxymatrine; colon cancer; drug resistance; P-glycoprotein; drug therapy

近年来,结直肠癌发病率逐年上升,美国癌症数据显示其发病率居全球第三,结肠癌相关死亡率位居全球第二,而我国结肠癌的发病率升至第三位,5年生存率为47.2%<sup>[1-2]</sup>。化疗是晚期结肠癌患者主要治疗方式,但多药耐药性的存在严重影响化疗效果甚至导致化疗失败,因此,如何逆转化疗耐药、延长患者生存率是近年研究热点。多项研究表明<sup>[3-4]</sup>,P-糖蛋白(P-glycoprotein,P-gp)的高表达与化疗耐药呈正相关,抑制其表达可提高肿瘤细胞对化疗药的敏感性。本课题组前期实验表明苦参素(oxymatrine,OM)可通过抑制P-gp表达而逆转肝癌细胞的多药耐药性<sup>[5]</sup>,故本文在此基础上探讨苦参素对结肠癌耐药细胞的增殖抑制作用及逆转化疗耐药性作用,研究苦参素对结肠癌耐药细胞P-gp表达的影响,为临床应用苦参素增强化疗效果提供依据。

## 1 材料与方法

1.1 主要材料与试剂 人结肠癌耐药细胞株 HCT-8/VCR 及亲本株 HCT-8 购自中南大学湘雅医学院中心实验室,苦参素购自江苏正大天晴公司药业股份有限公司(批号:国药准字 H20057480,规格 7 支/盒),注射用顺铂(cisplatin,CDDP)为齐鲁制药有限公司产品(规格:10 mg/瓶),注射用硫酸长春新碱(vincristine,VCR)为广东岭南制药有限公司产品(规格:1 mg/瓶),5-氟尿嘧啶(5-Fluorouracil,5-Fu)为上海旭东海普公司产品(规格:0.25 g/10 ml),MTT 粉末、罗丹明 123(Rho123)购自 Sigma 公司,P-gp 引物、内参 GAPDH 引物由 TaKaRa 公司设计并合成,MiniBEST Universal RNA Extraction Kit、PrimeScript™ RT reagent Kit with gDNA Eraser 购自 TaKaRa 公司,SuperReal 荧光定量预混试剂购自天根生化有限公司,兔抗 P-gp 购自 Abcam 公司(货号 ab170904),鼠抗  $\beta$ -actin、辣根过氧化物酶标记羊抗鼠 IgG 及羊抗兔 IgG 购自北京中杉金桥公司,胎牛血清购自 Gibco 公司。

1.2 检测人结肠癌耐药细胞 HCT-8/VCR 对 VCR、CDDP、5-FU 的耐药倍数 收集对数生长期的 HCT-8/VCR 及其亲本细胞,实验前一天分别接种至 96 孔板,两种细胞均加入不同浓度的 VCR、CDDP、5-FU (药物浓度参照临床用量的血峰浓度),并设阴性对照组及空白对照组,阴性对照组不加药物,只加等量完全培养基,空白对照组不加细胞,只加等量完全培养基,

每组设 5 个复孔,分别作用 48 h 后加入 5 mg/ml 的 MTT 溶液 15  $\mu$ l,继续孵育 4~5 h,加入 DMSO 溶解甲瓚结晶,37  $^{\circ}$ C 恒温摇床振荡 10 min,酶标仪测定 492 nm 处吸光度值(A 值)。实验于不同日重复 3 次。分别计算不同浓度 VCR、CDDP、5-FU 对两种细胞的抑制率,抑制率=[1-(实验组 A 值-空白对照组 A 值)/(阴性对照组 A 值-空白对照组 A 值)] $\times$ 100%,利用 SPSS 17.0 软件计算各化疗药对两种细胞的 IC<sub>50</sub> (抑制 50% 细胞增殖的药物浓度),进一步计算 HCT-8/VCR 分别对 VCR、CDDP、5-FU 的耐药倍数(耐药细胞 IC<sub>50</sub>/亲本细胞 IC<sub>50</sub>)。

1.3 检测苦参素对 HCT-8/VCR 及其亲本细胞 HCT-8 的增殖抑制作用 细胞处理同 1.2,实验组加入含苦参素浓度为 1 mg/ml、2 mg/ml、4 mg/ml、8 mg/ml、16 mg/ml 的完全培养基,200  $\mu$ l/孔,分别作用 24 h、48 h、72 h 检测各组 MTT 处理后的 OD<sub>492</sub>,计算抑制率,选择对耐药细胞株抑制率 < 10% 的苦参素浓度作为后续实验。

1.4 检测苦参素干预前后 HCT-8/VCR 细胞对化疗药 VCR、CDDP、5-FU 的敏感性 根据以上结果,选择浓度为 1 mg/ml 苦参素作用 48 h 作为后续干预条件。HCT-8/VCR 细胞分别加入含不同浓度 VCR、CDDP、5-FU 及 1 mg/ml 苦参素的完全培养基,其余步骤同 1.2。计算苦参素对 HCT-8/VCR 细胞多药耐药的逆转倍数=耐药细胞 IC<sub>50</sub>/苦参素作用后耐药细胞 IC<sub>50</sub>。

1.5 倒置显微镜下观察苦参素干预后细胞形态变化 实验分为亲本细胞空白对照组、耐药细胞空白对照组及耐药细胞苦参素组(1 mg/ml)。经苦参素作用 48 h 后,弃旧培养基,PBS 漂洗 2 次,于倒置显微镜下观察细胞形态改变。

1.6 流式细胞术检测 P-gp 活性 实验分组同 1.5,细胞接种于 6 孔板中,苦参素作用 48 h 后,胰酶消化成单细胞悬液,离心,加入 5 mg/ml Rho123 溶液 500  $\mu$ l,置于 37  $^{\circ}$ C、5% CO<sub>2</sub> 培养箱中孵育 30 min,PBS 洗 2 次,上流式细胞仪检测,激发波长为 488 nm。

1.7 Real-time PCR 检测 ABCB1 基因表达 经苦参素作用 48 h 后,PBS 漂洗 2 次,按 TaKaRa MiniBEST Universal RNA Extraction Kit 说明书提取总 RNA,测定总 RNA 浓度,OD<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub> 在 1.8~2.0 之间表示提取的 RNA 样品合格,可以用于后续实验。反转

录及 real-time PCR 步骤均按试剂盒说明书进行。ABCB1 基因上游引物为 5'-GGAGCCTACTTGGT-GGCACATAA-3', 下游引物为 5'-TGGCATAGT-CAGGAGCAAATGAAC-3', 扩增产物长度为 121 bp。内参 GAPDH 上游引物 5'-GCACCGTCAAG-GTGAGAAC-3', 下游引物 5'-TGGTGAAGACGC-CAGTGGA-3', 扩增产物为 138 bp。引物稀释浓度为 10  $\mu\text{mol/L}$ , 按 20  $\mu\text{l}$  的体系扩增, 反应条件为 95  $^{\circ}\text{C}$  预变性 15 min, 95  $^{\circ}\text{C}$  变性 10 s, 60  $^{\circ}\text{C}$  退火/延伸 32 s, 40 个循环, 使用  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  法分析结果。

1.8 Western blot 检测 P-gp 表达 收集 3 组细胞, 加入 RIPA 细胞裂解液提取各组总蛋白, BCA 蛋白浓度试剂盒检测蛋白浓度。每孔上样量为 25  $\mu\text{g}$ , 行 SDS-PAGE 电泳后转膜, 室温封闭 1 h 后加入一抗 (P-gp 一抗稀释比为 1:1000, 内参稀释比为 1:300) 4  $^{\circ}\text{C}$  过夜, TBST 洗膜 3 次, 随后加入 HRP 标记的与一抗相对应的二抗, 室温孵育 1 h, TBST 洗膜 3 次后移至暗室曝光, 蛋白表达量结果以灰度值比值 (目的蛋白/内参) 表示。

1.9 统计学方法 采用 SPSS 17.0 软件进行数据分析。计量资料以 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 两组间均数比较采用  $t$  检验, 多组间均数比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用 SNK-q 检验, 以双侧  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 苦参素对 HCT-8 细胞及 HCT-8/VCR 细胞的抑制作用 结果显示, 苦参素对人结肠癌 HCT-8 细胞与耐药细胞 HCT-8/VCR 均有抑制作用, 苦参素作用 24 h、48 h、72 h 后, HCT-8 细胞的  $\text{IC}_{50}$  分别为 (3.61  $\pm$  0.35) mg/ml、(3.46  $\pm$  0.53) mg/ml、(2.72  $\pm$  0.61) mg/ml, HCT-8/VCR 细胞为 (6.08  $\pm$  0.35) mg/ml、(4.11  $\pm$  0.07) mg/ml、(2.95  $\pm$  0.6) mg/ml, 两组  $\text{IC}_{50}$  均随着时间的延长而降低, 提示作用时间越长, 药物的抑制作用越明显, 见图 1、图 2。选择苦参素对耐药细胞抑制率低于 10% 的浓度 (即 1 mg/ml) 作用 48 h 作为后续实验条件。

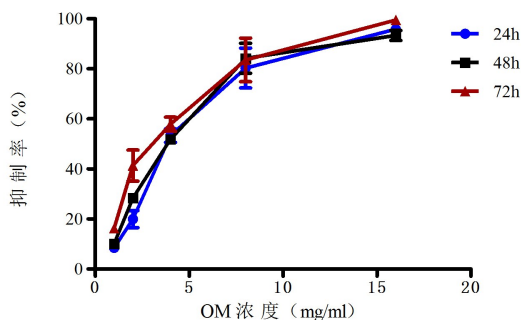


图 1 苦参素对 HCT-8 细胞的抑制作用 ( $n=5$ )

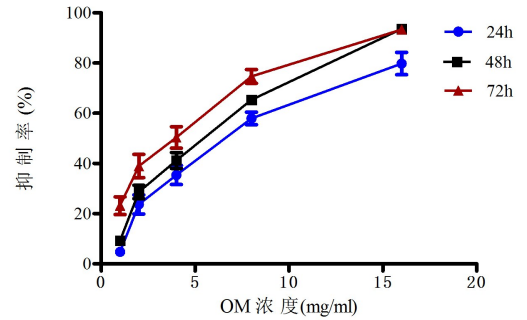


图 2 苦参素对 HCT-8/VCR 细胞的抑制作用 ( $n=5$ )

2.2 HCT-8/VCR 细胞对 VCR、CDDP、5-FU 的耐药倍数及苦参素干预前后细胞对化疗药敏感性 与亲本细胞 HCT-8 相比, HCT-8/VCR 细胞对 VCR 显示出明显耐药性, 耐药倍数为 12.52, 同时对 CDDP 及 5-Fu 也显示出一定程度的耐药, 耐药倍数分别为 3.73、6.34 (见表 1)。HCT-8/VCR 经苦参素作用 48 h 后, 各化疗药  $\text{IC}_{50}$  均降低, 逆转倍数分别为 3.44、2.15、2.04 (见表 1)。提示苦参素可以增强人结肠癌 HCT-8/VCR 细胞对多种化疗药的敏感性。

表 1 HCT-8、HCT-8/VCR、HCT-8/VCR+OM 细胞对不同化疗药的敏感性 ( $n=5$ )

化疗药	$\text{IC}_{50}$ ( $\bar{x} \pm s$ , mg/ml)			耐药倍数	逆转倍数
	HCT-8	HCT-8/VCR	HCT-8/VCR+OM		
VCR	25.63 $\pm$ 3.13	320.95 $\pm$ 6.44	93.25 $\pm$ 9.8	12.52	3.44
CDDP	12.33 $\pm$ 2.01	45.95 $\pm$ 4.76	21.34 $\pm$ 2.95	3.73	2.15
5-Fu	2.89 $\pm$ 0.62	18.32 $\pm$ 3.91	8.96 $\pm$ 1.61	6.34	2.04

2.3 苦参素干预后细胞形态变化 光学显微镜下 HCT-8 细胞呈上皮样单层排列贴壁生长, 为不规则多边形, 大小较一致, 边界清楚, 颜色均匀 (见图 3A); HCT-8/VCR 细胞同样呈上皮样单层排列贴壁生长, 细胞大小不一, 但细胞体积稍变小, 变圆, 边界尚清楚, 颜色不均匀 (见图 3B)。苦参素作用后, 细胞生长速度变慢, 细胞漂浮死亡增加, 细胞大小更加不均匀, 可见空泡, 贴壁性差 (见图 3C)。

2.4 流式细胞术检测 P-gp 活性 结果显示, HCT-8 组平均荧光强度为 (55.5  $\pm$  0.99)%, HCT-8/VCR 组为 (8.3  $\pm$  2.12)%, 两组差异有统计学意义 ( $P < 0.001$ ) (见图 4A 和图 4B), 苦参素作用后, 实验组平均荧光强度为 (23.45  $\pm$  0.64)%, 与 HCT-8/VCR 组相比, 两组差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ) (见图 4C)。提示经苦参素作用后耐药细胞内平均荧光强度提高, 说明苦参素可抑制 P-gp 功能, 增加耐药细胞内药物的蓄积, 进而提高细胞对化疗药的敏感性, 逆转肿瘤细胞耐药。

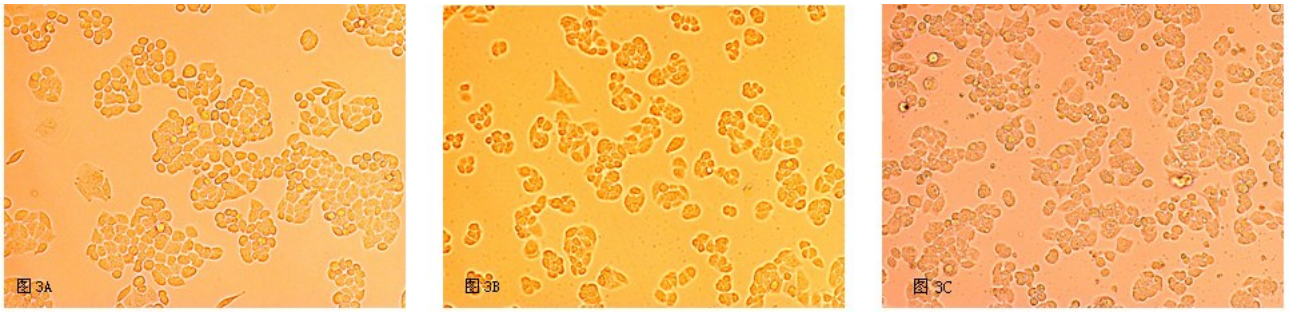


图 3 倒置显微镜下观察各组细胞形态学变化 (n=5)

注:A 为 HCT-8 细胞;B 为 HCT-8/VCR 细胞;C 为 OM 作用后的 HCT-8/VCR 细胞

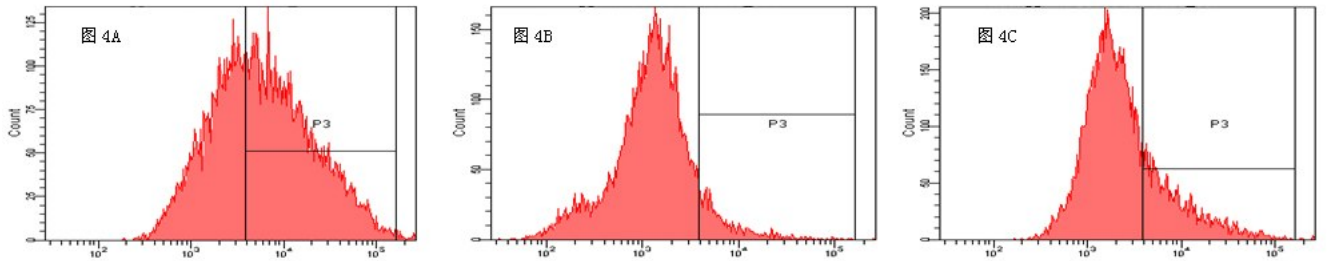


图 4 流式细胞术检测 Rho123 细胞内荧光强度 (n=3)

注:A 为 HCT-8 细胞;B 为 HCT-8/VCR 细胞;C 为 HCT-8/VCR+OM 细胞

2.5 Real-time PCR 检测 ABCB1 基因表达 HCT-8 细胞 ABCB1 mRNA 表达显著低于 HCT-8/VCR 细胞,相对表达量为(0.14±0.02),两组相比差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。苦参素作用 HCT-8/VCR 细胞后,与 HCT-8/VCR 空白对照组相比,ABCB1 mRNA 表达显著下降,相对表达量为(0.21±0.1),差异具有统计学意义( $P < 0.001$ ),仍略高于 HCT-8 组( $P = 0.671$ )(见图 5)。

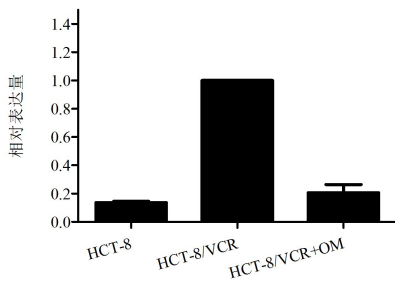
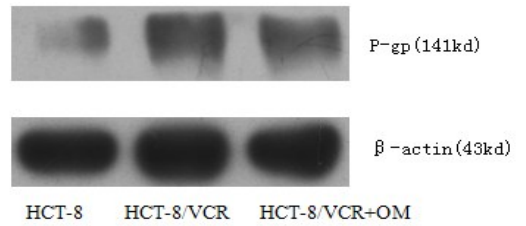


图 5 不同细胞 ABCB1 mRNA 相对表达量 (n=3)

2.6 Western blot 检测 P-gp 表达 与 HCT-8 空白对照组相比, HCT-8/VCR 空白组 P-gp 蛋白表达明显升高,差异有统计学意义( $P < 0.001$ )。苦参素作用 HCT-8/VCR 细胞后,与 HCT-8/VCR 空白组相比, P-gp 表达明显下降,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),但仍高于 HCT-8 空白对照组( $P < 0.001$ )。见图 6、图 7。



HCT-8 HCT-8/VCR HCT-8/VCR+OM

图 6 不同细胞 P-gp 蛋白表达 (n=3)

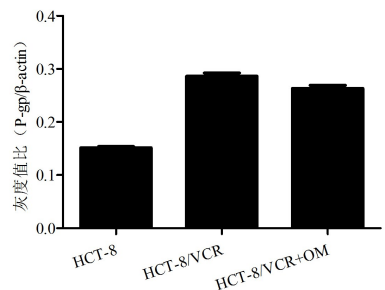


图 7 三组 P-gp 蛋白条带灰度值比较 (n=3)

### 3 讨论

本研究结果显示,苦参素可抑制人结肠癌细胞 HCT-8 及其耐药细胞 HCT-8/VCR 的增殖,并可逆转耐药细胞 HCT-8/VCR 对化疗药的多药耐药性,进一步研究发现,其机制可能与抑制 P-gp 表达,提高细胞内药物浓度有关。

通过药物逆转肿瘤多药耐药是提高化疗效果的重要手段,到目前为止还没有正式批准应用于临床的肿瘤多药耐药逆转剂,因此寻找低毒、高效、高选择性的

肿瘤多药耐药逆转剂是当前的研究热点。中药及其提取物是我国丰富的资源,从中寻找逆转化疗耐药的小分子逆转剂是一个比较有前景的研究方向。有研究显示,苦参素可提高结肠癌患者化疗效果、改善生活质量,降低化疗药引起的不良反应<sup>[6-7]</sup>。近年有研究显示苦参素能够在体外逆转 HepG2/ADM 细胞株的多药耐药<sup>[5]</sup>。然而,苦参素能否逆转结肠癌细胞耐药性及其机制如何尚不清楚,故本实验首先确定苦参素是否具有逆转结肠癌化疗耐药作用。

为了选择合适浓度进行实验,首先采用 MTT 法检测苦参素对结肠癌细胞的增殖抑制作用,结果提示,苦参素对结肠癌 HCT-8 细胞与耐药细胞 HCT-8/VCR 均有抑制作用,且具有浓度依赖性。药物对细胞的抑制作用低于 10% 时认为该浓度对细胞无毒性作用,故选择 1 mg/ml 浓度作用 48 h 作为后续实验条件。进一步行 MTT 实验检测耐药细胞在苦参素作用前后的 IC<sub>50</sub> 值,结果显示,与亲本细胞 HCT-8 相比,HCT-8/VCR 细胞对多种化疗药(VCR、CDDP 及 5-Fu)显示明显耐药性,耐药倍数分别为 12.52、3.73、6.34,HCT-8/VCR 经苦参素作用 48 h 后,各化疗药 IC<sub>50</sub> 均降低,逆转倍数分别为 3.44、2.15、2.04。提示苦参素可以逆转人结肠耐药细胞 HCT-8/VCR 对化疗药的多药耐药性。

本实验结果显示,HCT-8 细胞中 ABCB1 mRNA 与 P-gp 蛋白表达均低于 HCT-8/VCR 细胞,说明 P-gp 在 HCT-8 与 HCT-8/VCR 中存在表达差异,可能与结肠癌的耐药有关。目前已确定参与肿瘤耐药最主要机制是 ATP 结合膜转运蛋白家族,而 P-gp 是该家族的主要成员,其由 ABCB1 基因编码,功能主要是将肿瘤细胞内的药物主动泵出细胞外,降低细胞内化疗药物的有效浓度,避免了化疗药对肿瘤细胞的杀伤作用,从而导致耐药性的产生<sup>[8-9]</sup>。近年研究显示 P-gp 在大肠癌细胞中的过度表达可导致原发性耐药,其表达水平与细胞的耐药程度有明显的相关性,是造成化疗失败的重要因素<sup>[10-11]</sup>。我们进一步研究发现苦参素逆转耐药可能与降低 P-gp 的表达,提高细胞内药物浓度有关。经苦参素作用于 HCT-8/VCR 细胞后,ABCB1 mRNA 及 P-gp 蛋白表达均下降,提示苦参素提高结肠癌化疗药物敏感性可能与抑制 P-gp 表达有关。

ATP 结合膜转运蛋白家族可将进入肿瘤细胞的化疗药物泵出细胞,使化疗药物无法达到有效浓度,从而使肿瘤细胞对化疗药产生耐药<sup>[12]</sup>。Rho123 是 P-gp 作用底物,检测 Rho123 在细胞内的蓄积可反映 P-gp 的转运功能。本实验使用流式细胞术检测细胞内 Rho123 蓄积,结果显示,HCT-8/VCR 细胞中 Rho123

的平均荧光强度低于 HCT-8 细胞,表明高表达 P-gp 的 HCT-8/VCR 细胞药物外排功能较强,经苦参素作用后,实验组平均荧光强度高于 HCT-8/VCR 组,提示经苦参素作用后耐药细胞内平均荧光强度提高,即细胞内药物蓄积增加,说明苦参素可抑制 P-gp 的外排功能,增加耐药细胞内药物的蓄积,进而提高细胞对化疗药的敏感性,逆转肿瘤耐药。

综上所述,我们的研究显示,苦参素可抑制结肠癌细胞的增殖,提高人结肠癌耐药细胞 HCT-8/VCR 对化疗药的敏感性,其作用机制可能与抑制 P-gp 表达,提高细胞内化疗药物浓度有关。

#### 参考文献:

- [1] Zhang Y, Talmon G, Wang J. MicroRNA-587 antagonizes 5-Fu-induced apoptosis and confers drug resistance by regulating PPP2R1B expression in colorectal cancer[J]. *Cell Death Dis*, 2015, 6: e1845.
- [2] 中华人民共和国卫生和计划生育委员会医政医管局, 中华医学会肿瘤学分会. 中国结直肠癌诊疗规范(2015 版)[J]. *中华消化外科杂志*, 2015, 14(10): 783-99.
- [3] 刘文波, 马建秀, 姚南. 复方苦参注射液联合化疗治疗晚期结直肠癌近期疗效及安全性的 Meta 分析[J]. *浙江中西医结合杂志*, 2016, 26(8): 759-763.
- [4] 马金丽, 艾兰·塔拉干, 等. 复方苦参注射液联合化疗治疗晚期结直肠癌效果的系统评价[J]. *广州中医药大学学报*, 2016, 33(3): 425-431.
- [5] 王炜, 黄赞松, 周喜汉, 等. 苦参素逆转人肝癌细胞株 HepG2/ADM 多药耐药的作用[J]. *世界华人消化杂志*, 2014, 22(10): 1409-1416.
- [6] 刘文波, 马建秀, 姚南. 复方苦参注射液联合化疗治疗晚期结直肠癌近期疗效及安全性的 Meta 分析[J]. *浙江中西医结合杂志*, 2016, 26(8): 759-763.
- [7] 马金丽, 艾兰·塔拉干, 吴涛, 等. 复方苦参注射液联合化疗治疗晚期结直肠癌效果的系统评价[J]. *广州中医药大学学报*, 2016, 33(3): 425-431.
- [8] Ward AB, Szewczyk P, Grimard V, et al. Structures of P-glycoprotein reveal its conformational flexibility and an epitope on the nucleotide-binding domain[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110(33): 13386-13391.
- [9] Calatozzolo C, Gelati M, Ciusani E, et al. Expression of drug resistance proteins P-gp, MRP1, MRP3, MRP5 and GST-pi in human glioma[J]. *J Neurooncol*, 2005, 74(2): 113-121.
- [10] Jaeger W. Classical resistance mechanisms[J]. *Int J Clin Pharmacol Ther*, 2009, 47(1): 46-48.
- [11] Sharom FJ. Shedding light on drug transport: structure and function of the P-glycoprotein multidrug transporter (ABCB1)[J]. *Biochem Cell Biol*, 2006, 84(6): 979-992.
- [12] Pramanik D, Campbell NR, Das S, et al. A composite polymer nanoparticle overcomes multidrug resistance and ameliorates doxorubicin-associated cardiomyopathy[J]. *Oncotarget*, 2012, 3(6): 640-650.

收稿日期: 2016-12-08; 修回日期: 2017-02-13