

# 健脾解毒方对人结肠癌多药耐药细胞的逆转作用

隋华, 靳宝辉, 殷佩浩, 范忠泽, 李琦\*

(上海中医药大学附属普陀医院, 上海中医药大学中西医结合肿瘤介入研究所, 上海 200062)

**[摘要]** 目的:探讨健脾解毒方对人结肠癌多药耐药细胞 HCT8/V 的逆转作用及其可能机制。方法:人结肠癌 HCT8/V 多药耐药细胞常规培养,5% 健脾解毒方药物血清作用 48 h 后,MTT 法检测 HCT8/V 细胞对化疗药敏感性的影响,高效液相色谱法(HPLC)检测耐药细胞内长春新碱(VCR)药物浓度,流式细胞仪分析健脾解毒方对 5-氟尿嘧啶(5-Fu)诱导的 HCT8/V 细胞凋亡和细胞周期的影响。结果:健脾解毒方能增加 HCT8/V 细胞对 VCR、顺铂(DDP)、5-Fu、吡柔比星(THP) 4 种化疗药物的敏感性,4 种化疗药的 IC<sub>50</sub> 分别从(191.08 ± 18.18) mg·L<sup>-1</sup> 下降到(90.13 ± 6.33) mg·L<sup>-1</sup>; (290.79 ± 28.38) mg·L<sup>-1</sup> 下降到(22.16 ± 1.82) mg·L<sup>-1</sup>; (23.12 ± 1.99) mg·L<sup>-1</sup> 下降到(9.88 ± 0.86) mg·L<sup>-1</sup>; (26.40 ± 2.92) mg·L<sup>-1</sup> 下降到(19.41 ± 1.48) mg·L<sup>-1</sup>;健脾解毒方药物血清作用 HCT8/V 细胞 48 h 后细胞内 VCR 浓度明显增高(P < 0.01),且呈剂量依赖性。健脾解毒方能提高 5-Fu 诱导的 HCT8/V 细胞的凋亡率,使细胞阻滞于 G<sub>1</sub> 期。结论:健脾解毒方通过增加结肠癌多药耐药细胞内化疗药物浓度,抑制细胞增殖,诱导其凋亡,逆转 HCT8/V 细胞株的多药耐药性。

**[关键词]** 结肠癌;多药耐药;凋亡;健脾解毒方

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)09-0196-05

## Reversal Effect of Jianpi Jiedu Formula on Multidrug Resistance in Human Colon Carcinoma Cells

SUI Hua, JIN Bao-hui, YIN Pei-hao, FAN Zhong-ze, LI Qi\*

(Putuo Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine (TCM); Interventional Cancer Institute of Chinese Integrative Medicine, Shanghai University of TCM, Shanghai 200062, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the mechanisms and reversal effects of Jianpi Jiedu formula on human colon carcinoma multidrug resistance (MDR) in HCT8/V cells. **Method:** Human colon carcinoma MDR cells were cultured conventionally. The concentration of Jianpi Jiedu formula (5%) combined with chemotherapy drugs and the reversal effect of multidrug resistance (MDR) in HCT8/V cells was evaluated by the MTT assay. The variation of intracellular concentration of vincristine (VCR) in HCT8/V cells was evaluated by the HPLC, and the effects of Jianpi Jiedu formula on 5-Fu induced apoptosis and cell cycle were evaluated by flow cytometry (FCM). **Result:** Jianpi Jiedu formula could increase the sensitivity of HCT8/V cells to VCR, DDP, 5-Fu, THP. The IC<sub>50</sub> value of VCR decreased from (191.08 ± 18.18) mg·L<sup>-1</sup> to (90.13 ± 6.33) mg·L<sup>-1</sup>, DDP was from (290.79 ± 28.38) mg·L<sup>-1</sup> to (22.16 ± 1.82) mg·L<sup>-1</sup>, 5-Fu was from (23.12 ± 1.99) mg·L<sup>-1</sup> to (9.88 ± 0.86) mg·L<sup>-1</sup>, and THP was from (26.40 ± 2.92) mg·L<sup>-1</sup> to (19.41 ± 1.48) mg·L<sup>-1</sup>. HPLC results showed that Jianpi Jiedu formula increased the concentration of drugs in HCT8/V cells in a dose-dependent manner after treatment for 48 h. Flow cytometry assay result verified that the inhibited effects of Jianpi Jiedu formula combined with 5-Fu on the proliferation of HCT8/V cells was closely related to the arrest in G<sub>1</sub> phase and

**[收稿日期]** 20111024(009)

**[基金项目]** 上海市自然科学基金项目(10ZR1427400;10140902600);上海市卫生系统优秀学科带头人项目(XBR2011061);上海市教育委员会创新项目(09YZ132);上海市重点学科项目(S30302)

**[第一作者]** 隋华,医学硕士,医师,从事中医药抗肿瘤机制研究,Tel:021-62572723-4310,E-mail: sh.sky2007@yahoo.com.cn

**[通讯作者]** \*李琦,医学博士,主任医师,从事中医药抗肿瘤的临床及实验研究,Tel:021-52669731,E-mail: lzwf@hotmail.com

increasing of apoptosis. **Conclusion:** Jianpi Jiedu formula can reverse MDR in HCT8/V cell, which possibly through inhibiting cell proliferation, inducing cell-apoptosis, ultimately affect the concentration of drugs inside the cells.

[ **Key words** ] colon carcinoma; multidrug-resistance; apoptosis; Jianpi Jiedu formula

肿瘤细胞的多药耐药性(multidrugresistance, MDR)是肿瘤化疗失败的最常见而又最难解决的问题之一,但因其机制复杂,目前尚没有得到有效解决。肿瘤产生耐药性与多种因素有关,其中最主要的原因是通过降低细胞内药物浓度,细胞毒作用减弱甚至消失,致使化疗药物无法发挥作用<sup>[1-2]</sup>。同时,参与凋亡过程调控的基因表达失控,激活细胞凋亡也可导致肿瘤细胞对广谱抗肿瘤药物的细胞毒性作用产生耐药性<sup>[3]</sup>。目前国外大量报道都显示多药耐药(MDR)的存在往往都伴有抗凋亡的现象<sup>[4-5]</sup>。前期研究表明健脾解毒方具有对胃肠癌化疗增效作用<sup>[6]</sup>,因此本研究旨在探讨健脾解毒方对人结肠癌耐长春新碱细胞株 HCT8/V 多药耐药性的逆转作用及其作用机制。

## 1 材料

**1.1 细胞系** 人结肠癌细胞株 HCT8 及人结肠癌多药耐药细胞株 HCT8/V 购于上海博古生物公司,由上海中医药大学附属普陀医院实验中心保存。

**1.2 动物** 清洁级新西兰白兔,体重 2 000 ~ 2 500 g,雌雄各半,上海斯莱特生物有限公司提供,许可证号 SCXK(沪)2007-001。

**1.3 药物** 健脾解毒方由生黄芪,党参,生白术,八月札,薏苡仁,野葡萄藤,红藤,猪苓组成,药物比例 10:5:5:8:10:10:10:8,水煎浓缩成每毫升含生药 1.33 g,由上海中医药大学附属普陀医院药剂科负责制剂和质量控制。

**1.4 试剂** 四甲基偶氮唑盐(MTT)购自 Sigma 公司,AnnexinV/FIFC Kit 购自美国 BD Biosciences 公司,PI 和 RNase 购自美国 BD Biosciences 公司。

**1.5 仪器** CKX41/U-RFLT50 荧光倒置显微镜(日本 Olympus),5804R 高速冷冻离心机(德国 Eppendorf 公司);Biophotometer 生物分光光度计(Bio-Rad 公司),Agilent-1200 型高效液相色谱仪(安捷伦科技公司)。

## 2 方法

**2.1 细胞培养** HCT8/V 及其敏感细胞 HCT8 于含 10% 小牛血清的 RPMI 1640 培养液(含青霉素、链霉素各 100 U·mL<sup>-1</sup>中,37 °C 5% CO<sub>2</sub>、饱和湿度培养箱中常规培养。HCT8/V 细胞的长春新碱维持

浓度为 2 mg·L<sup>-1</sup>,实验在停用长春新碱培养 2 周后取处于对数生长期的细胞进行。

**2.2 健脾解毒方含药血清的制备** 新西兰白兔,雌雄各半,随机分为 2 组,每组 2 只。A 组:健脾解毒方药物血清组,将健脾解毒方按成人重用剂量将生药换算为按含生药 19.5 g·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup> 剂量 ig; B 组:空白对照组,ig 等体积的生理盐水。1 次/日,连续给药 5 d,末次给药后禁食(12 h)不禁水 2 h 后,3% 戊巴比妥钠(1.5 mL·kg<sup>-1</sup>)腹腔麻醉,常规消毒后打开腹腔,在无菌条件下行腹主动脉采血,离心,分离血清,56 °C 水浴 30 min 灭活,使用 0.22 μm 微孔滤膜过滤除菌分装,-80 °C 冰箱保存备用。

**2.3 MTT 法检测健脾解毒方对 HCT8/V 细胞的逆转作用** 取对数生长期人结肠癌敏感细胞株 HCT8 和耐长春新碱细胞株 HCT8/V,分别调整细胞密度至 1 × 10<sup>4</sup>/mL,以每孔 100 μL 接种于 96 孔细胞培养板中,在 5% CO<sub>2</sub>、饱和湿度、37 °C 孵箱中常规培养,待细胞贴壁后 3 ~ 5 h 后,吸去培养液,把不同浓度健脾解毒方药物血清的培养液分别加入 96 孔板,每种浓度设 5 个复孔。培养 48 h 后每孔加入 MTT (5 g·L<sup>-1</sup>)20 μL,37 °C 孵育 4 h 后弃上清,加入 150 μL DMSO,震荡混匀使 MTT 还原产物充分溶解后,于酶标仪检测 570 nm 波长处吸光度(A)。计算细胞的存活率。

$$\text{细胞生长增殖率} = \text{实验组 } A / \text{空白对照组 } A \times 100\%$$

确定药物血清的联用浓度后,分别联合含不同浓度化疗药物(VCR, 5-FU, DDP, THP)的培养液作用于 HCT8/V 细胞株,每个浓度平行 4 孔,分别设 5 个浓度级,对照组加入等量体积的培养液组和空白对照组。按 MTT 法实验(方法同上),计算细胞的生长抑制率、耐药指数(resistance factor, RF)和逆转指数(resistance index, RI)。以上实验重复 3 次。

$$\text{生长抑制率} = (1 - \text{实验组 } A / \text{对照组 } A) \times 100\%$$

$$\text{RF} = \text{某种药物对抗药性细胞的 IC}_{50} / \text{某种药物针对敏感性细胞的 IC}_{50}$$

$$\text{RI} = \text{不加逆转剂时某种药物对抗药性细胞的 IC}_{50} / \text{加入逆转剂后某种药物对抗药性细胞的 IC}_{50}$$

**2.4 HPLC 检测健脾解毒方对 HCT8/V 细胞内 VCR 的药物浓度的影响**

**2.4.1 色谱条件** Discover™ C218 色谱柱 (250 mm × 416 mm, 5 μm), 甲醇; 0.06 mol·L<sup>-1</sup>, 甲醇-水 (55:45), 磷酸二氢钾 (用盐酸调 pH 3) 为流动相, 流速 0.7 mL·min<sup>-1</sup>, 检测波长 297 nm, 柱温 20 °C, 进样量 20 μL。载气流速 3.0 SLPM。实验数据进行 HPLC 分析处理, 以峰面积定量。

**2.4.2 标准曲线的测定** 将 VCR 配成 100 μg·L<sup>-1</sup> 的甲醇溶液储备液, 测试前用蒸馏水稀释成一定浓度的工作液: 设为 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125, 1.56 μg·L<sup>-1</sup> 7 个质量浓度, 进样 20 μL, 并根据第 1 个浓度质量确定 VCR 出峰时间, 然后将每个浓度平行 6 次, 按上述色谱条件测定标准品的峰面积, 以所得峰面积对质量浓度进行回归分析, 得回归方程。

**2.4.3 供试品溶液的制备** 将细胞接种于 25 cm<sup>2</sup> 培养瓶中, 按不同分组加入药物, 37 °C 5% CO<sub>2</sub> 饱和湿度孵箱中培养 48 h 后, 消化收集各组细胞并计数, 取 5 × 10<sup>5</sup> 个细胞, 并经 PBS 冲洗 3 次后, 加入 500 μL 双蒸水后再经液氮反复冻融并超声破碎后, 置显微镜下观察无完整细胞, 14 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 10 min, 上清液真空干燥 24 h 后加入 PBS 溶液 70 μL 稀释并混匀后, 使用 HPLC 仪检测 VCR 的浓度。

**2.5 流式细胞术 (FCM) 检测健脾解毒方对 HCT8/V 细胞周期和凋亡的影响** 取对数生长期的 HCT8/V 细胞, 弃培养液。实验分组为, 对照组: HCT8/V 细胞; 5-Fu 组: HCT8/V 细胞 + 5-Fu (剂量为 1/2 IC<sub>50</sub> 值); 空白血清联合 5-Fu 组: HCT8/V 细胞 + 空白血清组 + 5-Fu; 健脾解毒方药物血清 (5%) 联合 5-Fu 组: HCT8/V 细胞 + 健脾解毒方药物血清 (5%) + 5-Fu。37 °C 5% CO<sub>2</sub> 饱和湿度孵箱中培养 48 h 后收集细胞, 用 75% 乙醇 4 °C 固定过夜, PBS 清洗 1 次, 加入 RnaseA (50 mg·L<sup>-1</sup>) 37 °C 温育 30 min 后, 离心弃上清, 加 10 μL PI (50 mg·L<sup>-1</sup>) 置 4 °C 暗处作用 20 min。流式细胞仪检测细胞凋亡率和周期分布。

**2.6 统计方法** 采用 SPSS 13.0 统计软件包处理数据。各组数据采用  $\bar{x} \pm s$  表示, 两独立样本均数比较, 采用 Independent-Samples T Test, 多样本均数比较采用单因素方差分析, 均数间两两比较采用 SNK-*q* 检验 (Student-Newman-Keuls 法), 求出组间差异。P < 0.05 为有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 健脾解毒方药物血清对细胞增殖的影响** 选择药物血清作用 48 h 后最大无毒剂量 (细胞存活率 90% 的药物剂量) 作为药物联用浓度, 实验结果

显示 0% ~ 7.5% 的药物血清为无毒使用范围, 5% 药物血清浓度时, HCT8 及 HCT8/V 的细胞存活率分别为 91.27%, 96.83% (图 1), 因此确定实验用 5% 的药物血清浓度。

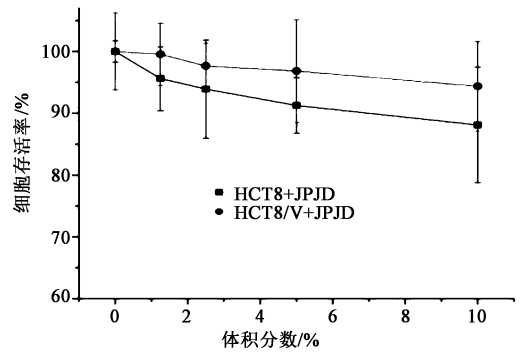


图 1 健脾解毒方药物血清对人结肠癌细胞存活率的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

**3.2 健脾解毒方对 HCT8/V 细胞内 VCR 药物浓度的影响**

**3.2.1 标准曲线的制备** 在本实验设定的色谱条件下, VCR 的出峰保留时间为 3.8 min, 无杂质峰干扰 (图 2)。按此方法测得的 VCR 在标准曲线浓度范围内有良好的线性关系, 以峰面积比质量浓度进行回归, 结果呈现良好的浓度-峰面积线性关系, 得到直线回归方程:  $Y = 17.851X + 10.045$  ( $r^2 = 0.9999$ )

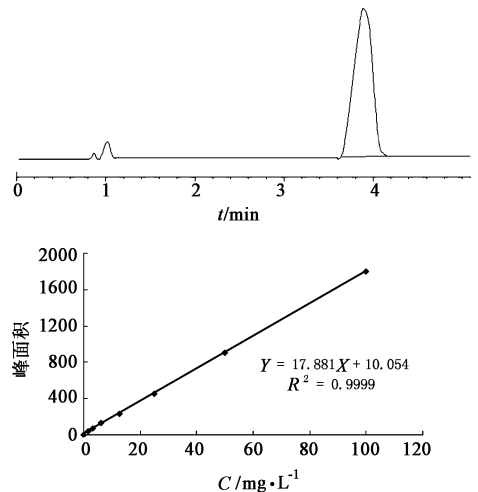
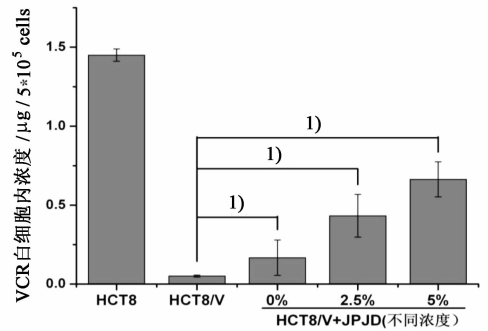


图 2 对照品色谱图和其对应的标准曲线

**3.2.2 健脾解毒方对 HCT8/V 细胞内 VCR 的药物浓度的影响** 将从样品中测得的 VCR 峰面积代入直线回归方程, 计算出样品中 VCR 浓度。用 0% (空白血清组), 2.5%, 5% 3 个体积分数的健脾解毒方药物血清作用 HCT8/V 细胞 48 h 发现, 随着健脾解毒方药物血清浓度的升高, 耐药细胞内 VCR 的

浓度也逐步提高,在5%的健脾解毒方药物血清(最大无毒剂量)时,是HCT8/V细胞的12.96倍, $P < 0.01$ 。结果见图3。

**3.3 健脾解毒方对细胞株多药耐药的逆转作用**  
使用5%的健脾解毒方药物血清分别与VCR, 5-FU, DDP, THP联合应用,结果显示:健脾解毒方联合化疗药物后,能增强VCR对耐药细胞的抑制杀伤作用,逆转指数为13.12倍,降低程度明显( $P < 0.01$ ),同时对于其他不同结构的化疗药物也有一定的逆转作用( $P < 0.01$ ),见表1。



与HCT8/V组比较<sup>1)</sup> $P < 0.01$

图3 健脾解毒方对HCT8/V细胞内VCR浓度的影响( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

表1 健脾解毒方对HCT8和HCT8/V化疗药物敏感性的影响( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

化疗药物	IC <sub>50</sub> /mg·L <sup>-1</sup>			耐药指数	逆转指数
	HCT8	HCT8/V	HCT8/V + JPJD (5%)		
VCR	18.22 ± 7.12	191.08 ± 18.18 <sup>1)</sup>	90.13 ± 6.33 <sup>2)</sup>	10.49	2.12
DDP	10.25 ± 0.85	290.79 ± 28.38 <sup>1)</sup>	22.16 ± 1.82 <sup>2)</sup>	28.37	13.12
5-Fu	7.48 ± 0.80	23.12 ± 1.99 <sup>1)</sup>	9.88 ± 0.86 <sup>2)</sup>	3.09	2.34
THP	7.60 ± 0.88	26.40 ± 2.92 <sup>1)</sup>	19.41 ± 1.48 <sup>2)</sup>	3.47	1.36

注:与HCT8组比较<sup>1)</sup> $P < 0.01$ ;与HCT8/V组相比<sup>2)</sup> $P < 0.01$ 。

**3.4 健脾解毒方对人结肠癌HCT8/V细胞周期分布和凋亡的影响**  
FCM结果发现,对于HCT8/V细胞G<sub>1</sub>期的细胞比例,5-Fu组、空白血清联合5-Fu组与对照组无明显差异,但健脾解毒方药物血清与5-Fu合用后,G<sub>1</sub>期的细胞比例高于对照组、5-Fu组、空白血清联合5-Fu组。对于HCT8/V细胞S期的细胞比例,5-Fu组明显高于对照组( $P < 0.01$ );当中药与5-Fu联合应用后,与空白血清组相比,健脾解

毒方药物血清组S期细胞比例显著减少( $P < 0.01$ ),凋亡率由(25.22 ± 3.36)%增加为(41.82 ± 13.05)%, $P < 0.05$ 。提示健脾解毒方能提高HCT8/V细胞G<sub>1</sub>期细胞比例,降低S期细胞比例,抑制多药耐药细胞的增殖周期,并且与5-Fu联用后对5-Fu在G<sub>1</sub>期协同增加细胞阻滞,减少细胞在S期的合成,诱导凋亡的发生,更好地协同5-Fu达到杀伤HCT8/V细胞的作用。结果见表2。

表2 健脾解毒方与5-FU联用对HCT8/V细胞周期分布和凋亡率的影响( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

组别	G <sub>1</sub> 期/%	S期/%	G <sub>2</sub> 期/%	凋亡率/%
对照	68.9 ± 0.40	7.80 ± 0.26	23.20 ± 0.53	2.17 ± 0.47
5-Fu (1/2 IC <sub>50</sub> )	66.85 ± 4.38	21.39 ± 2.54 <sup>2)</sup>	7.77 ± 6.59 <sup>2)</sup>	25.22 ± 3.36 <sup>1)</sup>
空白血清 + 5-Fu (1/2 IC <sub>50</sub> )	63.85 ± 3.64	22.34 ± 5.89 <sup>2)</sup>	9.57 ± 3.64 <sup>2)</sup>	22.38 ± 5.22 <sup>2)</sup>
健脾解毒方药物血清(5%) + 5-Fu (1/2 IC <sub>50</sub> )	78.03 ± 3.37 <sup>2,4)</sup>	12.77 ± 3.21 <sup>1)</sup>	9.20 ± 3.28 <sup>2)</sup>	41.82 ± 13.05 <sup>2,3)</sup>

注:与对照组比较<sup>1)</sup> $P < 0.05$ <sup>2)</sup> $P < 0.01$ ;与5-Fu组相比<sup>3)</sup> $P < 0.05$ <sup>4)</sup> $P < 0.01$ 。

#### 4 讨论

大肠癌的多药耐药是临床上最为常见的化疗失败和复发的原因之一。因此,探索多药耐药机制是解决耐药问题、改善化疗效果的关键<sup>[7]</sup>。近年来,人们为逆转肿瘤细胞的多药耐药进行了大量尝试,目前能在临床证实跟一些肿瘤耐药相关的基因只有MDR1/P-gp<sup>[8]</sup>。P-gp的过表达一方面通过从细胞内逆浓度梯度排出抗肿瘤药物,降低细胞内药物浓度,使药物无法有效杀死肿瘤细胞而引起耐药<sup>[9]</sup>;另一方面,通过调节由多种因素诱发的细胞凋亡,使耐药细胞产生凋亡耐受性<sup>[10-11]</sup>。

诸多研究显示其增效作用与良好的抗多药耐药作用有关<sup>[12-13]</sup>。因此我们很据中医中药的关于肿瘤生成及发展的相关理论,以临床疗效为基础,选择我院经验方(健脾解毒方为研究对象,探讨其耐药机制。健脾解毒方由生黄芪,党参,生白术等组成,具有益气健脾、理气解毒之功效。前期结果显示发现,对于大肠癌患者,以健脾利湿解毒为治法的中药,可明显增强化疗药物的抑瘤效果,特别是对病理确诊的术后复发或者未能手术的晚期胃癌、结直肠癌患者,健脾解毒方(肠胃清)联合化疗组与单纯化疗组相比,可以明显提高患者生存质量,有效延长中位生存期<sup>[14]</sup>。

中医药在临床上体现出较好的化疗增效作用,

为了进一步探讨健脾解毒方对人结肠癌 HCT8/V 细胞逆转耐药的作用机制,我们首先确立了健脾解毒方药物血清的联用浓度,发现 0% ~ 7.5% 的药物血清为无毒使用范围,并且 5% 的健脾解毒方药物血清是属于最大无毒计量中最有效的浓度。在此基础上,我们发现用药物血清处理 48 h 后的耐药细胞组,与未经处理的耐药细胞组相比较,细胞内 VCR 浓度明显增高,并且呈浓度依赖性 ( $P < 0.01$ ),其机制与增加细胞内 VCR 的累积有关。这与廖斌等研究复方君子汤在体外对白血病耐药细胞株 K562/VCR 细胞的耐药性有明显逆转作用,增加阿霉素 (ADM) 在 K562/VCR 细胞内的浓度,因此具有一定的逆转 MDR 作用的实验结果相符<sup>[15]</sup>。同时细胞增殖实验结果证实,健脾解毒方能降低细胞的耐药性而增加 VCR 的细胞杀伤作用,使 HCT8/V 细胞凋亡增加,IC<sub>50</sub> 由  $(191.08 \pm 18.18) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  降低到  $(90.13 \pm 6.33) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,并且对其他化疗药的 IC<sub>50</sub> 值也有不同程度的降低。本实验进一步研究发现,健脾解毒方能使耐药细胞 HCT8/V 对 5-Fu 的凋亡率增加了近两倍,差异呈显著性 ( $P < 0.05$ ),提示健脾解毒方能通过抑制 P-gp 对化疗药物的泵出功能,提高细胞内化疗药物聚集,增加细胞凋亡率而达到逆转多药耐药。结果与邓国英<sup>[16]</sup>报道的参杞合剂将人鼻咽癌细胞 CNE 阻滞在 S 期,导致无法进入 G<sub>2</sub>/M 期, G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期细胞比率下降, S 期比率升高的结果相一致。

综上所述,无细胞毒作用的健脾解毒方具有逆转人结肠癌 HCT8/V 细胞多药耐药的作用,其逆转机制可能是通过增加细胞内化疗药物的续集和诱导 HCT8/V 细胞凋亡而发挥作用,详细机制有待于进一步研究。

### [参考文献]

[1] Wang X K, Fu L W. Interaction of tyrosine kinase inhibitors with the MDR-related ABC transporter proteins[J]. *Curr Drug Metab*, 2010, 11(7):618.

[2] Sui H, Zhou S, Wang Y, et al. COX-2 contributes to P-glycoprotein-mediated multidrug resistance via phosphorylation of c-Jun at Ser63/73 in colorectal cancer[J]. *Carcinogenesis*, 2011, 32(5):667.

[3] Engi H, Vasas A, R6dei D, et al. New MDR modulators and apoptosis inducers from *Euphorbia species*

[J]. *Anticancer Res*, 2007, 27(5A):3451.

[4] Duarte N, Ramalhe C, Varga A, et al. Multidrug resistance modulation and apoptosis induction of cancer cells by terpenic compounds isolated from *Euphorbia species*[J]. *Anticancer Res*, 2009, 29(11):4467.

[5] Ryu K, Susa M, Choy E, et al. Oleanane triterpenoid CDDO-Me induces apoptosis in multidrug resistant osteosarcoma cells through inhibition of Stat3 pathway [J]. *BMC Cancer*, 2010, 10:187.

[6] 吴琼,王炎,周利红,等. 健脾解毒方治疗裸鼠胃癌及其诱导胃癌细胞凋亡的研究[J]. *山西中医学院学报*, 2010, 11(3):16.

[7] 隋华,周利红,殷佩浩,等. JNK 信号通路介导 MDR1/P-gp 调控人结肠癌多药耐药[J]. *世界华人消化杂志*, 2011, 19(9):892.

[8] Linn S C, Giaccone G. MDR1/P-glycoprotein expression in colorectal cancer [J]. *Eur J Cancer*, 1995, 31A(7/8):1291.

[9] 隋华,李琦. JNK/SAPK 信号转导通路与多药耐药机制的研究[J]. *肿瘤防治研究*, 2010, 37:844.

[10] Li Y C, Fung K P, Kwok T T, et al. Mitochondria-targeting drug oligomycin blocked P-glycoprotein activity and triggered apoptosis in doxorubicin-resistant HepG2 cells[J]. *Chemotherapy*, 2004, 50(2):55.

[11] Batrakova E V, Li S, Brynskikh A M, et al. Effects of pluronic and doxorubicin on drug uptake, cellular metabolism, apoptosis and tumor inhibition in animal models of MDR cancers[J]. *J Control Release*, 2010, 143(3):290.

[12] 甘雨良,焦丹,刘文峰. 四君子汤加减联合化疗治疗胃肠道恶性肿瘤多药耐药基因阳性病例[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2010, 16(6):253.

[13] 季旭明,欧阳兵,吴智春,等. 温下方含药血清诱导 A549/DDP 细胞凋亡及对 Bcl-2, Bax, p53 蛋白表达的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2011, 17(12):123.

[14] 许建华,范忠泽,孙珏,等. 肠胃清治疗晚期胃肠癌及对外周血 MDR1 mRNA 的影响[J]. *上海中医药杂志*, 2007, 41(5):40.

[15] 廖斌,葛仁英,陈霞,等. 中药复方君子汤联合环孢霉素 A 逆转白血病细胞株 K562/VCR 耐药性的实验研究[J]. *中国实验血液学杂志*, 2007, 15(4):752.

[16] 邓国英,范晓磊,杨如虹,等. 参杞合剂对人鼻咽癌细胞 CNE 细胞周期及凋亡的影响[J]. *中国微生态学杂志*, 2007, 19(3):246.

[责任编辑 聂淑琴]