

[文章编号] 1000-4718(2019)12-2208-07

丹参酮 IIA 抑制胃癌细胞的阿霉素耐药*

刘源^{1△}, 倪渐凤², 刘丽娜¹, 李芳芳³, 尹先哲¹

(南阳市第二人民医院¹肿瘤科,²血液科,河南 南阳 473012;³南阳市第一人民医院肿瘤科,河南 南阳 473000)

[摘要] **目的:** 探讨丹参酮 IIA 对阿霉素(又称多柔比星,DOX)耐药胃癌细胞的抑制作用及具体机制。**方法:** 采用 MTT 法检测胃癌细胞对 DOX 的敏感性;逐步筛选得到耐 DOX 细胞株,流式细胞术及 Western blot 检测细胞周期、凋亡及自噬相关的标志物;RT-qPCR 及 Western blot 检测渗透性糖蛋白(P-gp)、乳腺癌耐药蛋白(BCRP)及多重耐药相关蛋白 1(MRP-1)的表达。**结果:** 根据 DOX 对不同细胞的 IC₅₀, 鉴定出 DOX 敏感细胞株 SNU-719 和 SNU-601 及 DOX 耐药细胞株 SNU-638、SNU-668、SNU-216 和 SNU-620。同时筛选得到两个耐药株 SNU-719R 和 SNU-601R。丹参酮 IIA 抑制耐 DOX 细胞的 MRP-1 表达。与单用 DOX 处理组相比,丹参酮 IIA 与 DOX 联用能减少 SNU-719R 及 SNU-620 细胞的 G₂/M 期细胞,增加 p21 表达水平,降低 cyclin B1 及 CDK1 的表达水平。另外,与单用 DOX 处理组相比,丹参酮 IIA 与 DOX 联用能增加 p53、Bax 和 LC3B-II 的表达水平,降低 Bcl-2 和 p62 的水平(*P* < 0.05)。**结论:** 丹参酮 IIA 可抑制胃癌细胞的阿霉素耐药。

[关键词] 胃癌;丹参酮 IIA;自噬;细胞凋亡;多柔比星

[中图分类号] R363.2; R735.2 **[文献标志码]** A doi:10.3969/j.issn.1000-4718.2019.12.015

Tanshinone IIA inhibits doxorubicin resistance in gastric cancer cells

LIU Yuan¹, NI Jian-feng², LIU Li-na¹, LI Fang-fang³, YIN Xian-zhe¹

(¹Department of Oncology, ²Department of Hematology, Nanyang Second General Hospital, Nanyang 473012, China; ³Department of Oncology, Nanyang First General Hospital, Nanyang 473000, China. E-mail: liuxianmed@163.com)

[ABSTRACT] **AIM:** To investigate the inhibitory effect and the specific mechanism of tanshinone IIA on doxorubicin (DOX)-resistant gastric cancer cells. **METHODS:** The sensitivity of gastric cancer cells lines to DOX was determined by MTT assay. DOX-resistant gastric cancer cell lines were established by step selection with increasing concentrations of DOX. The cell cycle arrest, apoptosis and autophagy related-markers were analyzed by flow cytometry and Western blot. The expression of P-glycoprotein (P-gp), breast cancer resistance protein (BCRP) and multi-drug resistance-associated protein 1 (MRP-1) was determined by RT-qPCR and Western blot. **RESULTS:** DOX-sensitive cell lines SNU-719 and SNU-601 as well as the cell lines relatively resistant to DOX including SNU-638, SNU-668, SNU-216 and SNU-620 were identified according to the IC₅₀ values of DOX for different cell lines. Two DOX-resistant cell lines SNU-719R and SNU-601R were also established. Tanshinone IIA inhibited the expression of MRP-1 in DOX-resistant cell lines. Compared with DOX treatment alone group, combined treatment of DOX and tanshinone IIA in cancer cells decreased the G₂/M phase cell number, increased the protein expression of p21, decreased the protein expressions of cyclin B1 and cyclin-dependent kinase 1 (CDK1) in the SNU-719 R cells and SNU-620 cells. In addition, compared with DOX treatment alone group, combined treatment of DOX and tanshinone IIA in the cancer cells increased the protein expressions of p53, Bax and LC3B-II, decreased the protein expression of Bcl-2 and p62 (*P* < 0.05). **CONCLUSION:** Tanshinone IIA is an effective drug in the inhibition of DOX resistance in gastric cancer.

[KEY WORDS] Gastric cancer; Tanshinone IIA; Autophagy; Apoptosis; Doxorubicin

胃癌是常见的恶性肿瘤,在我国,胃癌发病率和死亡率分别占据所有肿瘤的第3位和第5位^[1]。化疗是胃癌的主要治疗途径之一,但胃癌患者获得性

耐药一直制约着化疗效果。阿霉素(又称多柔比星,doxorubicin,DOX)是常见的胃癌化疗药物,而当肿瘤细胞产生耐药性时,化疗效果则会降低^[2]。DOX是

[收稿日期] 2018-12-27 [修回日期] 2019-06-18

* [基金项目] 河南省医学科技攻关计划项目 (No. 201602378)

△通讯作者 Tel: 0377-61609102; E-mail: liuxianmed@163.com

渗透性糖蛋白(permeability glycoprotein, P-gp)、乳腺癌耐药蛋白(breast cancer resistance protein, BCRP)及多重耐药相关蛋白1(multi-drug resistance-associated protein-1, MRP-1)的反应底物^[3]。在肿瘤细胞中,过表达 P-gp、BCRP 及 MRP-1 这些药物转运体可使 DOX 外排,降低肿瘤细胞内的 DOX 浓度,从而降低化疗效果^[4]。已有研究发现丹参可以抑制 DOX 等化疗药物转运体 P-gp 的表达,从而诱导结肠癌的细胞凋亡^[5]。丹参的主要有效化合物为丹参酮 IIA (tanshinone IIA, TAN IIA),也是丹参中含量最多的成分。本研究主要关注于 Tan IIA 对耐 DOX 胃癌细胞的 DOX 化疗敏感性的改变和机制,为治疗耐 DOX 胃癌的化疗提供新的方法。

材 料 和 方 法

1 实验材料

人胃癌细胞系 SNU-216、SNU-601、SNU-620、SNU-638、SNU-668 和 SNU-719 购自于中国细胞资源库保藏中心。丹参酮 IIA 及阿霉素(Sigma-Aldrich);胎牛血清(fetal bovine serum, FBS; Gibco); RPMI-1640 培养基(Invitrogen);胰蛋白酶(Thermo Fisher Scientific);CCK-8 染色液和细胞色素 C(cytochrome C, Cyt C)抗体(上海生工);Annexin V/PI 染色试剂盒(Biotool);周期蛋白依赖性激酶 1(cyclin-dependent kinase 1, CDK1)抗体(Santa Cruz);抗 MRP-1 抗体(Abcam);抗 p21 和 p53 抗体(Cell Signaling Technology);抗 cyclin B1 及 LC3-II 抗体(Biosis);抗 Bax 及 Bcl-2 抗体(Thermo Fisher);PVDF 膜(Bio-Rad)。

2 方法

2.1 细胞培养 SNU-216、SNU-601、SNU-620、SNU-638、SNU-668 和 SNU-719 细胞生长于含有 10% FBS 的高糖 RPMI-1640 培养基中,加入 100 mg/L 链霉素及 1×10^5 U/L 青霉素。逐级加大 DOX 浓度(1 μ g/L 直至 1 mg/L)从亲本细胞系中多次筛选获得耐 DOX 细胞系 SNU-719R 及 SNU-601R。通过 DOX 逐级筛选,最终获得的耐 DOX 细胞系 SNU-601R 及 SNU-719R 的 IC_{50} 分别为 0.271 mg/L 和 0.286 mg/L,较其亲本细胞系 SNU-601 及 SNU-719 分别提高了 6.2 倍和 7.9 倍,进一步证明了其耐 DOX 性。

2.2 MTT 方法检测细胞活力 细胞接种于 96 孔板中,每孔加入 200 μ L 密度为 2.5×10^7 /L 的细胞。DOX 处理 24 h、48 h 及 72 h 后,每孔加入浓度为 5 g/L 的 MTT 20 μ L,37 $^{\circ}$ C、4 h。加入 150 μ L DMSO,

振荡 10 min,利用全自动定量绘图酶标仪(Bio-Rad, Hercules)在 490 nm 处测量各孔吸光度(A)值。

2.3 流式细胞仪检测细胞周期 加入 1 mL 浓度为 1.0×10^8 /L 的胃癌细胞至 24 孔板中,在检测细胞周期前用 DOX 或(和)Tan IIA 处理 24 h,收集细胞,预冷 PBS 洗涤,加入 70% 乙醇 - 20 $^{\circ}$ C 固定过夜,1 600 \times g 离心 5 min,用含碘化丙啶和核酸酶的染色液重悬 15 min 后,BDLSR Fortesse 细胞分析仪(BD Biosciences)于 488 nm 激光发射器处激发,同时检测 575 nm 处的荧光强度。

2.4 RT-qPCR 测定药物转运体在胃癌细胞中的表达 首先,按照指定方案实验处理细胞,然后收集已处理的细胞于 EP 管中,按照 RNAisoPlus 说明书步骤,依次采用 RNAisoPlus 变性缓冲液、20% 体积氯仿、异丙醇、75% 乙醇萃取细胞总 RNA。其次,取 1 μ g 总 RNA 通过逆转录试剂盒方法逆转录合成 cDNA。再次取 cDNA 模板和目的基因引物,按照按照 SuperReal PreMix 试剂盒说明书利用 ABI 7500 荧光定量 PCR 仪(Applied Biosystems)进行 PCR。反应条件为:95 $^{\circ}$ C 30 s;95 $^{\circ}$ C 2 s、60 $^{\circ}$ C 30 s、66 $^{\circ}$ C 1 min,共 40 循环。选用 GAPDH 作为目的基因的内参照,目的基因的相对表达结果以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 表示。P-gp 的正向引物序列为 5'-TGTAGTTTTTCGGAGTTAGT-GTCGCGC-3',反向引物序列为 5'-CCTAC-GATCGAAAACGACGCGAACG-3';BCRP 的正向引物序列为 5'-GGGCTGGCAAGCCACGTTTGGTG-3',反向引物序列为 5'-CCGGGAGCTGCATGTGTGTCAGAGG-3';MRP1 的正向引物序列为 5'-GGCGTAT-CACGAGGCCCTTTTCG-3',反向引物序列为 5'-CAT-TACTGGATCTATCAACAGG-3';GAPDH 的正向引物序列为 5'-TGCCGCCTGGAGAAACC-3',反向引物序列为 5'-TGAAGTCGCAGGAGACAACC-3'。

2.5 Western blot 法检测蛋白表达水平 按照实验目的,利用 RIPA 裂解液萃取细胞全蛋白。利用 BCA 法将各组蛋白样品定量至相同浓度后,取 40 μ g 蛋白进行 SDS-PAGE。电泳结束后,湿转法将蛋白质转移至甲醇预活化的 PVDF 膜,转膜条件为恒压 100 V,时间为 2 h。之后利用 5% 脱脂牛奶室温下封闭 1 h 并以 1:1 000 的稀释比例孵育 I 抗(抗 MRP-1、CDK1、p21、p53、cyclin B1、LC3-II、Bax 及 Bcl-2 抗体),4 $^{\circ}$ C 过夜。次日,以 TBST 洗涤后于室温下孵育相应的 HRP 标记的 II 抗 1 h,最终以 TBST 洗涤后利用化学发光成像仪显影。

3 统计学处理

利用 SPSS 17.0 软件进行统计学分析。实验数据以均数 ± 标准差 (mean ± SD) 表示,对于多组定量资料的两两比较,数据在方差齐的条件下,采用单因素方差分析及 Bonferroni 法进行比较。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 6 种人胃癌细胞对 DOX 的敏感性

首先,本研究检测了 6 种人胃癌细胞在 DOX 中暴露 24 h、48 h 及 72 h 时细胞活力的变化。结果显示经过 24 h 的处理,IC₅₀ 值最高的为 SNU-620 细胞 (0.537 mg/L),其次分别为 SNU-216 细胞 (0.289

mg/L)、SNU-668 细胞 (0.225 mg/L)、SNU-638 细胞 (0.143 mg/L)、SNU-601 细胞 (0.044 mg/L) 和 SNU-719 细胞 (0.036 mg/L)。SNU-620 细胞表现出最大的耐药性而 SNU-719 细胞最敏感,见图 1。由于 SNU-620 与 SNU-719 在 24 h 时的 IC₅₀ 差异大于 2 者在 48 h 及 72 h 时的差异,因此,本研究选取 24 h 时点作为后续细胞处理时间。另外,由于 SNU-601 细胞与 SNU-719 细胞对 DOX 最为敏感,因此,本研究通过逐步加大 DOX 浓度 (1 μg/L ~ 1 mg/L) 筛选获得了 2 种耐 DOX 细胞系 SNU-601R 及 SNU-719R。每种细胞分为 3 组,对照组用 PBS 处理;DOX 组给予 DOX 0.5 mg/L 处理;DOX + Tan IIA 组用 0.5 mg/L DOX + 5 μmol/L Tan IIA 处理。

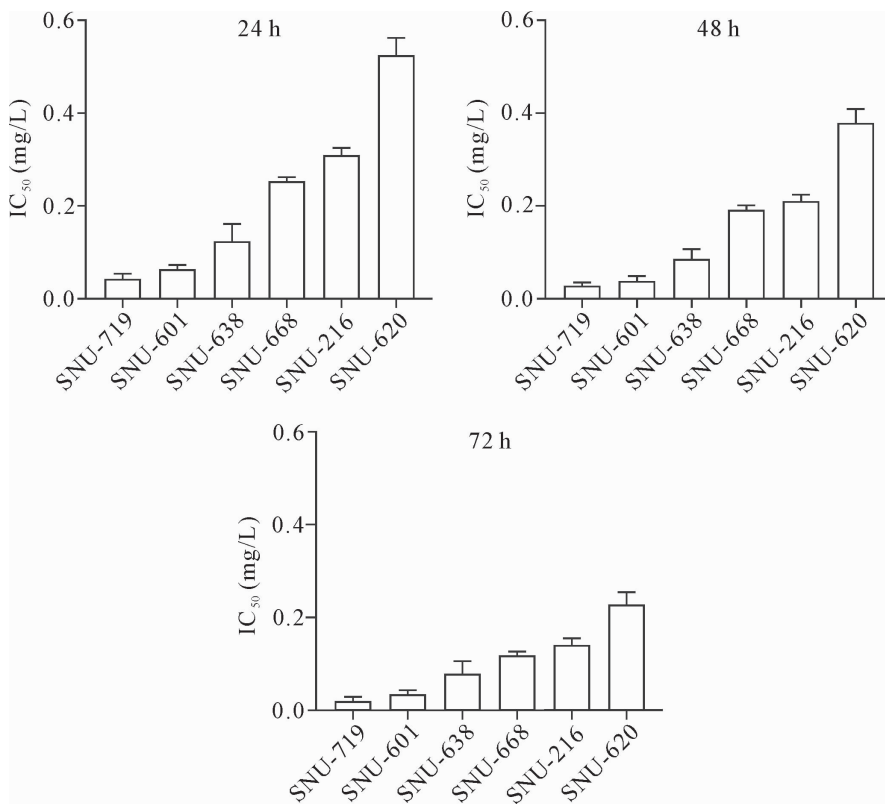


Figure 1. The cytotoxicity of doxorubicin (DOX) on gastric cancer cells. The IC₅₀ values of DOX for a panel of gastric cancer cells were showed. The cells were treated with DOX at a series of concentrations for 24 h, 48 h and 72 h. Mean ± SD. $n = 3$.

图 1 DOX 对胃癌细胞的毒性

2 Tan IIA 抑制 MRP-1 介导的胃癌细胞的 DOX 外排

RT-qPCR 结果显示,各组细胞中 P-gp 及 BCRP 的 mRNA 表达并无明显差异,但 SNU-638、SNU-216 及 SNU-620 细胞的 MRP-1 mRNA 明显升高 ($P < 0.05$)。DOX 是 MRP-1 的底物之一,过表达 MRP-1 可减少肿瘤细胞内的 DOX 积聚,导致肿瘤细胞的耐药。经过药物筛选得到的耐 DOX 细胞株 SNU-601R

与 SNU-719R 的 MRP-1 mRNA 表达水平也均较相应的正常细胞株升高 ($P < 0.01$),见图 2B、C。因此,DOX 可导致胃癌细胞的 MRP-1 表达上调。

经过 Tan IIA (5 μmol/L) 处理后,SNU-719R 细胞及 SNU-620 细胞的 MRP-1 在 mRNA 及蛋白水平的表达均较 control 组降低 ($P < 0.01$),见图 2D、E。

3 Tan IIA 诱导耐 DOX 胃癌细胞周期停滞

DOX 可诱导细胞周期停滞,因此,本研究检测了

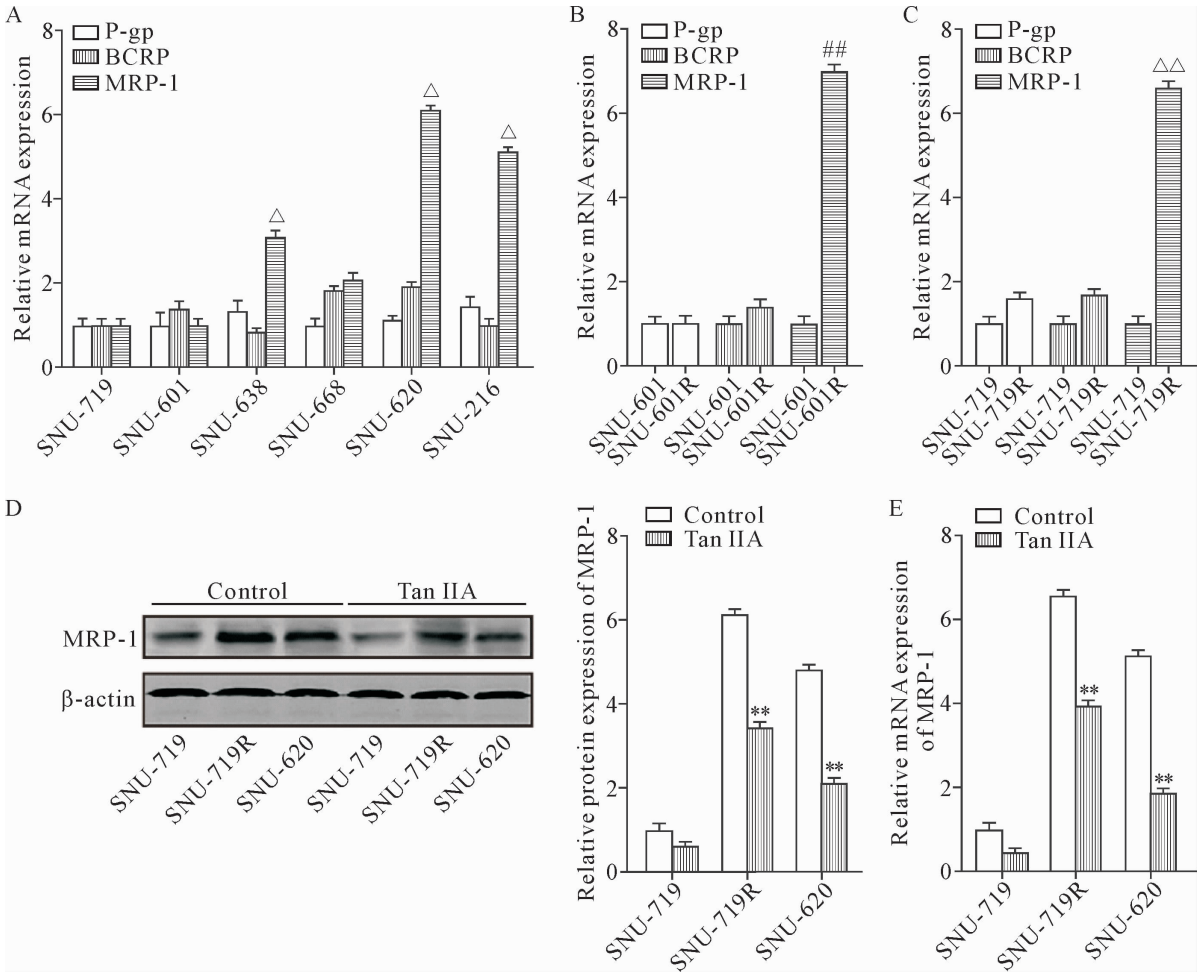


Figure 2. Inhibition of MRP-1-mediated efflux of doxorubicin (DOX) by tanshinone IIA. A: the relative mRNA expression of drug efflux transporters P-gp, BCRP and MRP-1 in a panel of gastric cancer cells; B: the relative mRNA expressions of drug efflux transporters P-gp, BCRP and MRP-1 in DOX-selected gastric cancer cells SNU-601R; C: the relative mRNA expressions of drug efflux transporters P-gp, BCRP and MRP-1 in DOX-selected gastric cancer cells SNU-719R; D: the relative protein expression of MRP-1 in gastric cancer cells after treatment with tanshinone IIA at 5 $\mu\text{mol/L}$ for 24 h; E: the mRNA expression of MRP-1 in gastric cancer cells after treatment with tanshinone IIA at 5 $\mu\text{mol/L}$ for 24 h. Mean \pm SD. $n = 3$. $\Delta P < 0.05$ vs SNU-719 group; $\#\# P < 0.01$ vs SNU-601 group; $\#\#\# P < 0.01$ vs control group.

图2 Tan IIA 对耐 DOX 胃癌细胞的耐药蛋白的作用

胃癌细胞系 SNU-719, SNU-719R 及 SNU-620 的细胞周期分布。结果显示与对照组相比, 单用 DOX 处理能降低 SNU-719 细胞在 G_2/M 期细胞的数量, 而 SNU-719R 及 SNU-620 细胞的 G_2/M 期细胞分布无差异; 与单用 DOX 处理组相比, 5 $\mu\text{mol/L}$ Tan IIA 与 DOX 联用能减少 SNU-719R 及 SNU-620 细胞的 G_2/M 期细胞的数量 ($P < 0.05$), 而 SNU-719 细胞中两组的差异无统计学显著性, 见图 3A。同时, 本研究也检测了细胞周期相关蛋白 p21、cyclin B1 及 CDK1 的表达。经 DOX 处理后, SNU-719R 细胞的 p21、cyclin B1 及 CDK1 表达水平与 control 组相比差异无统计学显著性, 而经 5 $\mu\text{mol/L}$ Tan IIA 与 DOX 联用处理后, p21 的表达水平升高, 而 cyclin B1 及 CDK1 的表达水平较 DOX 组均降低 ($P < 0.05$), 见图 3B。同样的,

SNU-620 细胞 DOX 组的 p21、cyclin B1 及 CDK1 较 control 组相比差异无统计学显著性, 而经 5 $\mu\text{mol/L}$ Tan IIA 处理后, p21 的表达水平升高, 而 cyclin B1 及 CDK1 较 DOX 组均降低 ($P < 0.05$), 见图 3C。

4 Tan IIA 诱导耐 DOX 胃癌细胞凋亡与自噬

Western blot 检测结果显示, DOX 对 SNU-719R 及 SNU-620 细胞的 p53、Bax 及 Bcl-2 表达均无影响, 但 DOX 与 Tan IIA 合用却可升高这两种细胞的 p53 及 Bax, 降低 Bcl-2, 与 DOX 组相比差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见图 4A、B。DOX 处理后, SNU-719R 细胞及 SNU-620 细胞的 LC3B-II 及 p62 与对照组比较差异无统计学显著性, 但 DOX 与 Tan IIA 合用时, LC3B-II 较 DOX 组升高, 而 p62 较 DOX 组下降。提示 DOX 与 Tan IIA 合用时可诱导耐 DOX 细胞自噬

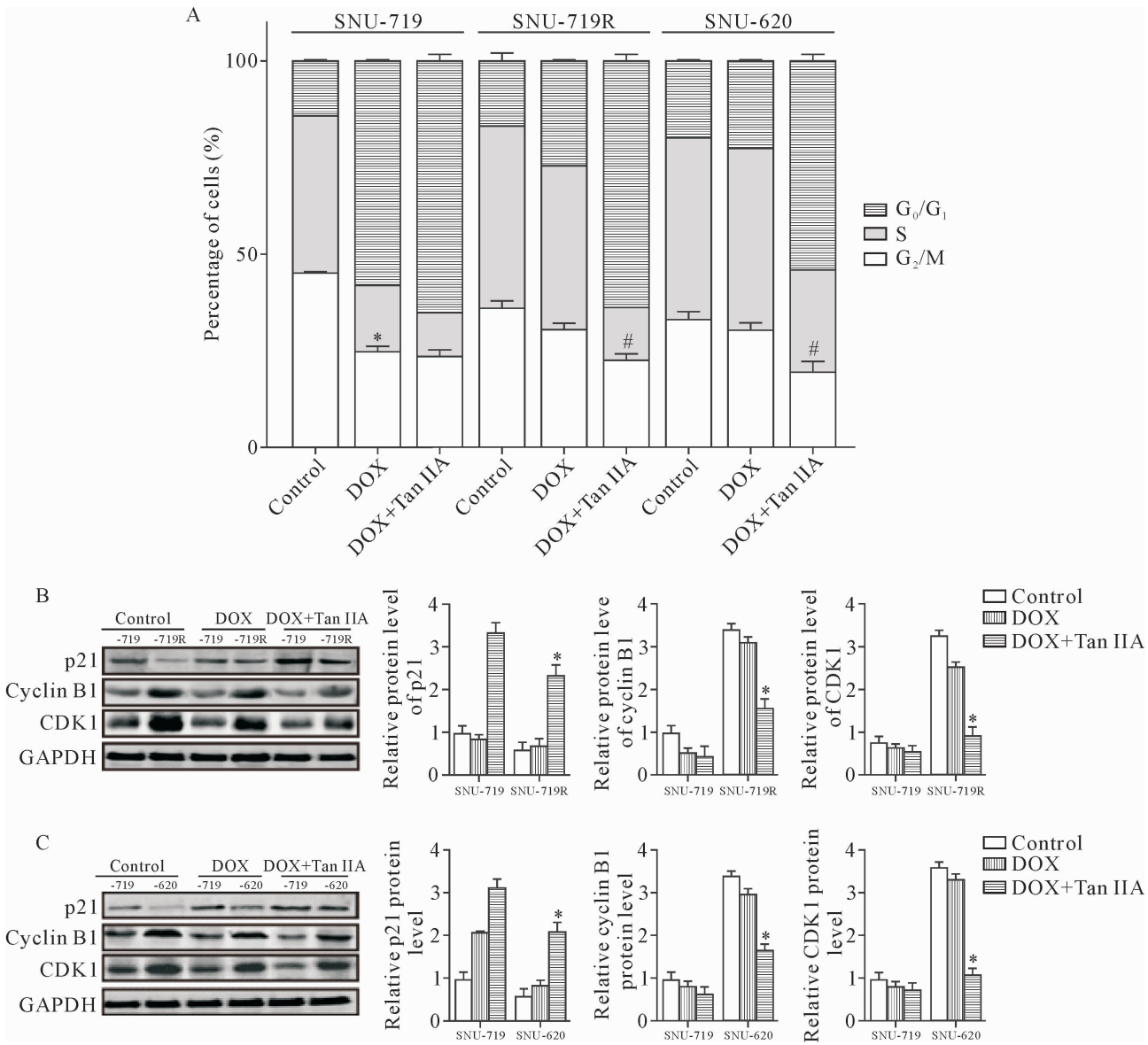


Figure 3. Tanshinone IIA enhanced doxorubicin-induced cell cycle arrest in drug-resistant gastric cancer cells. **A**: the cell cycle distribution in the gastric cancer cells after treated with DOX at 0.5 mg/L with or without tanshinone IIA (5 μ mol/L) for 24 h; **B**: the protein expression of p21, cyclin B1 and CDK1 in the gastric cancer SNU-719 cells and DOX resistant SNU-719R cells after treated with DOX at 0.5 mg/L with or without tanshinone IIA at 5 μ mol/L for 24 h; **C**: the protein expression of p21, cyclin B1 and CDK1 in the gastric cancer SNU-719 cells and DOX resistant SNU-620 cells after treated with DOX at 0.5 mg/L with or without tanshinone IIA at 5 μ mol/L for 24 h. Mean \pm SD. $n=3$. * $P < 0.05$ vs DOX group.

图3 Tan IIA 诱导耐 DOX 胃癌细胞周期停滞

增强($P < 0.05$),见图 4C、D。

讨 论

胃癌耐药性的产生与许多因素相关,包括药物排出、药物失活、前药活性降低、药物靶点改变、细胞死亡、调节失调、缺氧、细胞外基质改变、细胞因子、以及微小 RNA 的参与^[6]。丹参酮是从丹参中分离的亲脂性成分,丹参是一种在亚洲国家广泛用于治疗心血管和肝病的传统中药^[7],且丹参滴丸目前正在评估其对糖尿病视网膜病变患者疗效和安全性

的 III 期临床试验中^[8]。丹参酮 IIA 是丹参中含量最丰富的丹参酮,为了评价丹参的抗肿瘤活性,研究丹参酮 IIA 的抗肿瘤活性尤为重要^[9]。有研究发现丹参酮 IIA 可抑制胃癌细胞 SGC-7901 的生长并逆转其恶性表型,然而,关于丹参酮 IIA 抑制胃癌耐药性的研究很少^[10]。尽管丹参酮 IIA 对本研究中使用的胃癌细胞几乎无细胞毒性,但我们的发现表明它具有增强阿霉素对耐药胃癌细胞的细胞毒性的能力。在耐阿霉素的胃癌细胞 SNU-216、SNU-620、SNU-719R 和 SNU-610R 中, P-gp 和 MRP-1 在介导一些胃癌细

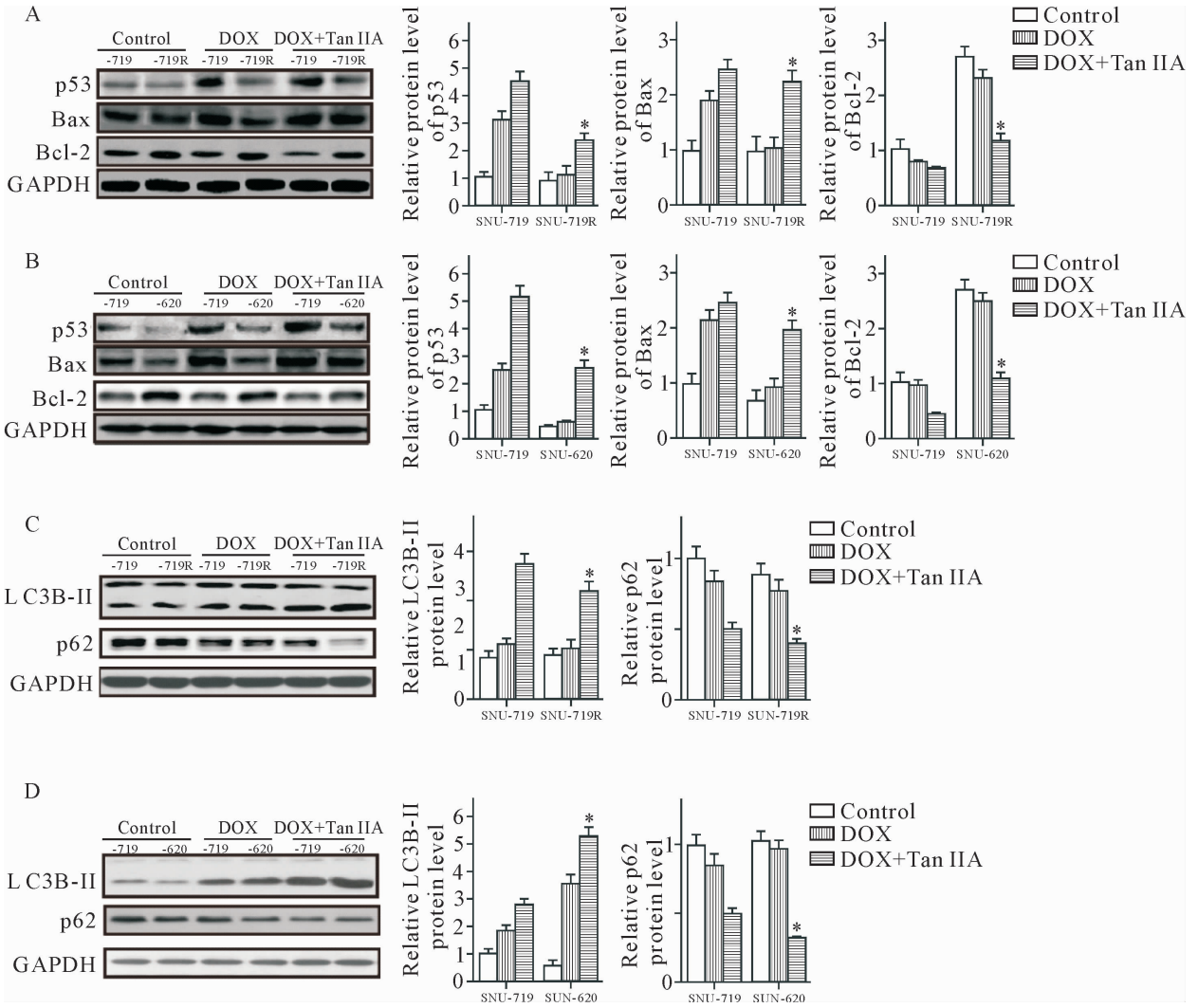


Figure 4. Tanshinone IIA increased DOX-induced apoptosis and autophagy in drug-resistant gastric cancer cells. A: the protein expression of p53, Bax and Bcl-2 in the gastric cancer SNU-719 cells and DOX resistant SNU-719R cells after treatment with DOX at 0.5 mg/L with or without tanshinone IIA at 5 μmol/L for 24 h; B: the protein expression of p53, Bax and Bcl-2 in the gastric cancer SNU-719 cells and DOX resistant SNU-620 cells after treated with DOX 0.5 mg/L with or without tanshinone IIA at 5 μmol/L for 24 h; C: the protein expression of LC3B-II and p62 in the gastric cancer SNU-719 cells and DOX resistant SNU-719R cells after treated with DOX at 0.5 mg/L with or without tanshinone IIA at 5 μmol/L for 24 h; D: the protein expression of LC3B-II and p62 in the gastric cancer SNU-719 cells and DOX resistant SNU-620 cells after treated with DOX at 0.5 mg/L with or without tanshinone IIA at 5 μmol/L for 24 h. Mean ± SD. n = 3. * P < 0.05 vs DOX group.

图 4 Tan IIA 诱导 DOX 耐药胃癌细胞凋亡与自噬

胞系的耐药性方面都起着重要作用,本实验中,我们发现药物转运体 MRP-1 过表达。P-gp、BCRP 和 MRP-1 是 3 种常见的药物外排转运体,它们被发现耐药性肿瘤细胞中过表达,并通过减少其底物抗肿瘤药物的细胞内积累而赋予肿瘤细胞的耐药性^[11-12]。我们的研究结果显示 MRP-1 过表达在胃癌细胞对阿霉素的内源性和获得性耐药性发展中均起到关键作用。

在本研究中,我们报道了丹参酮 IIA 对胃癌细胞 MRP-1 排出功能的抑制作用。丹参酮 IIA 与阿霉素联用可抑制 DOX 的转运蛋白 MRP-1 将 DOX 泵出细

胞外,提高细胞内 DOX 浓度,且可降低 cyclin B1 水平,通过 Bax-caspase-3 通路促进凋亡。丹参酮 IIA 对胃癌细胞的 MRP-1 的抑制作用与另一研究中丹参酮 IIA 对乳腺癌细胞 MRP-1 表达的下调机制是一致的^[13]。除了 MRP-1 的过度表达外,我们还发现阿霉素耐药的胃癌细胞存在抑制性凋亡信号传导通路,即促凋亡蛋白 p53 和 Bax 的表达下调以及抗凋亡蛋白 Bcl-2 上调。抗凋亡有助于肿瘤细胞产生耐药性,因许多抗肿瘤药物通过诱导凋亡破坏肿瘤细胞并抑制肿瘤生长。凋亡和自噬分别是 I 型和 II 型程序性细胞死亡,诱导自噬被认为是一种潜在的治疗抗调

亡肿瘤细胞的方法^[14-15]。在本研究中阿霉素和丹参酮 IIA 共同作用后,耐 DOX 胃癌细胞自噬被激活,其中机制尚不清楚。另外,cyclin B1 具有调控真核生物有丝分裂的作用,本实验中给予丹参酮 IIA 及 DOX 后,cyclin B1 水平较单纯 DOX 组明显降低,表明丹参酮可明显抑制由 cyclin B1 介导的肿瘤细胞增殖与分裂,将细胞周期阻滞在 G₂/M 期之前,降低 G₂/M 期数量,抑制细胞增殖。

综上所述,本研究显示丹参酮 IIA 可通过抑制 MRP-1 功能、增强细胞周期阻滞、增加细胞凋亡和诱导自噬来增强耐 DOX 胃癌细胞对 DOX 的敏感性。

[参 考 文 献]

- [1] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68(6):394-424.
- [2] Aung LHH, Li R, Prabhakar BS, et al. Mitochondrial protein 18 (MTP18) plays a pro-apoptotic role in chemotherapy-induced gastric cancer cell apoptosis[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(34):56582-56597.
- [3] 杨福兰. P-gp、MRP1 和 BCRP 表达与乳腺癌行 TEC 新辅助化疗疗效及分子分型关系的研究[D]. 南昌:南昌大学,2016.
- [4] 李亚静,刘洪涛,张明,等. 晚期胃癌小分子靶向治疗的研究进展[J]. *中国临床药理学杂志*, 2018, 34(22):2646-2649.
- [5] 程汝滨,楼招欢,葛宇清,等. 二氢丹参酮调控胃癌细胞增殖、迁移和凋亡的作用和机制探讨[J]. *中华中医药杂志*, 2017, 32(7):2936-2941.
- [6] Battaglin F, Naseem M, Puccini A, et al. Molecular biomarkers in gastro-esophageal cancer: recent developments, current trends and future directions[J]. *Cancer Cell Int*, 2018, 18:99.
- [7] 刘磊,张光霁,楼招欢,等. 丹参有效成分防治恶性肿瘤作用机制的研究进展[J]. *中华中医药杂志*, 2018, 33(6):2472-2475.
- [8] 苏志彩,邵蔚,张芳玲. 丹参酮 II A 对 N-甲基-D-天冬氨酸诱导的视网膜神经节细胞损伤的保护作用[J]. *实用老年医学*, 2018, 32(11):1009-1012.
- [9] 陈雷霆,张静宇,赵娅敏. 丹参有效成分的研究进展[J]. *山东化工*, 2018, 47(20):38-41.
- [10] Cheng R, Chen J, Wang Y, et al. Dihydrotanshinone induces apoptosis of SGC7901 and MGC803 cells via activation of JNK and p38 signalling pathways[J]. *Pharm Biol*, 2016, 54(12):3019-3025.
- [11] Zhao YY, Yu L, Liu BL, et al. Downregulation of P-gp, Ras and p-ERK1/2 contributes to the arsenic trioxide-induced reduction in drug resistance towards doxorubicin in gastric cancer cell lines[J]. *Mol Med Rep*, 2015, 12(5):7335.
- [12] Lu C, Shan Z, Li C, et al. MiR-129 regulates cisplatin-resistance in human gastric cancer cells by targeting P-gp[J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 86:450-456.
- [13] Li G, Shan C, Liu L, et al. Tanshinone IIA inhibits HIF-1 α and VEGF expression in breast cancer cells via mTOR/p70S6K/RPS6/4E-BP1 signaling pathway[J]. *PLoS One*, 2015, 10(2):e0117440.
- [14] Valenzuela CA, Vargas L, Martinez V, et al. Palbociclib-induced autophagy and senescence in gastric cancer cells[J]. *Exp Cell Res*, 2017, 360(2):390-396.
- [15] Li R, Yuan D, Yan R, et al. Stigmasterol exhibits potent antitumor effects in human gastric cancer cells mediated via inhibition of cell migration, cell cycle arrest, mitochondrial mediated apoptosis and inhibition of JAK/STAT signalling pathway[J]. *J BUON*, 2018, 23(5):1420-1425.

(责任编辑:宋廷君,余小慧)