

# 氯化两面针碱体外逆转 KB/ADM 细胞多药耐药性的研究

张华君, 刘华钢\*, 梁燕, 冯燕英, 李俊威  
(广西医科大学药学院, 南宁 530021)

**[摘要]** **目的:**探讨氯化两面针碱(nitidine chloride, NC)对人口腔鳞癌耐阿霉素(ADM)细胞株 KB/ADM 多药耐药性(MDR)的逆转作用,开发低毒高效的抗肿瘤药物多药耐药逆转剂。**方法:**人口腔鳞癌多药耐药细胞 KB/ADM 常规培养至细胞数为  $1 \times 10^6$ , 随机分为多药耐药细胞组(KB/ADM 细胞组), 阳性药物维拉帕米组(VRP,  $5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ), NC 低剂量组( $0.375 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ), NC 中剂量组( $0.75 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ), NC 高剂量组( $1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 5 组, 每组 3 个平行样本。分别加入同体积的培养基,  $5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  VRP,  $0.375, 0.75, 1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  NC 处理 48 h, MTT 法分别检测各组细胞对化疗药物 ADM, 长春新碱(VCR), 依托泊苷(VP-16), 羟基喜树碱(HCPT)敏感性; 流式细胞仪检测 P 糖蛋白的表达; RT-PCR 法检测多药耐药基因-1(MDR1)的表达。**结果:**与多药耐药细胞组比较, 阳性药物 VRP 组, NC 低、中、高剂量组 KB/ADM 细胞对 ADM, VCR, VP-16, HCPT 的  $\text{IC}_{50}$  值明显下降( $P < 0.01, P < 0.05$ ); 阳性药物 VRP 组, NC 低、中、高剂量组 KB/ADM 细胞 P 糖蛋白的表达分别为( $10.60 \pm 1.11$ )%, ( $68.57 \pm 2.56$ )%, ( $28.29 \pm 1.98$ )%, ( $8.03 \pm 1.46$ )%, 与多药耐药细胞组( $97.33 \pm 1.61$ )% 比较明显下降( $P < 0.01$ ); 阳性药物 VRP 组、NC 低、中、高剂量组分别使 KB/ADM 的多药耐药性基因(MDR1)相对表达下降 39%, 22%, 46%, 69% ( $P < 0.01$ )。**结论:**氯化两面针碱能有效逆转 KB/ADM 多药耐药性, 具有良好的抗肿瘤药物多药耐药逆转作用。

**[关键词]** 氯化两面针碱; KB/ADM 细胞; 多药耐药性

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)07-0087-04

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2015070087

**Reversion of Multi Drug Resistance by Nitidine Chloride on KB/ADM Cell** ZHANG Hua-jun, LIU Hua-gang\*, LIANG Yan, FENG Yan-ying, LI Jun-wei (School of Pharmacy, Guangxi Medical University, Nanning 530021, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the reversal effect of nitidine chloride (NC) on human oral squamous cell carcinoma KB/adriamycin (ADM). **Method:** The KB/ADM cells were cultured conventionally to  $1 \times 10^6$ , randomly divided into five groups: KB/ADM cells group, positive control verapamil group (VRP,  $5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ), low dose group of NC ( $0.375 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ), middle dose group of NC ( $0.75 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ), high dose group of NC ( $1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ), 3 parallel samples each. These groups were respectively added to the same volume of culture medium,  $5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  VRP,  $0.375, 0.75, 1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  NC for 48 h. The cell sensitivity to chemotherapeutic drugs was demonstrated by MTT. The effect of NC on p-glyco protein (P-gp) expression was analyzed by flow cytometry. Multidrug resistance gene-1 (MDR-1) expression was detected by RT-PCR. **Result:** Compared with KB/ADM cells group, the  $\text{IC}_{50}$  value of positive control VRP group, low dose, middle dose and high dose group of NC to ADM, vincristine (VCR), estoposide (VP-16), hydroxycamptothecin (HCPT) were decreased significantly ( $P < 0.01, P < 0.05$ ). The P-gp expressions in VRP group, low, middle and high dose group with NC were respectively ( $10.60 \pm 1.11$ )%, ( $68.57 \pm 2.56$ )%, ( $28.29 \pm 1.98$ )%, ( $8.03 \pm 1.46$ )%, compared with KB/ADM cells group ( $97.33 \pm 1.61$ )%, all of them were decreased significantly ( $P < 0.01$ ). The MDR1-mRNA expressions of positive VRP group, low dose, middle dose and high dose group with NC decreased by 39%, 22%, 46%, 69% ( $P < 0.01$ ) compared with KB/ADM cells group. **Conclusion:** NC can reverse the multidrug resistance of KB/ADM.

**[Key words]** nitidine chloride; KB/ADM cell; multidrug resistance

**[收稿日期]** 20140717(009)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81260657)

**[第一作者]** 张华君, 硕士, 从事中药药理机制研究, Tel:15977781262, E-mail:476988013@qq.com

**[通讯作者]** \* 刘华钢, 博士生导师, 教授, 从事中药新剂型, 新制剂及中药药理机制研究, Tel:0771-53000208, E-mail:hgliu@263.net

恶性肿瘤是危害人类健康疾病之一,化疗是治疗肿瘤的重要手段。肿瘤化疗过程中会出现耐药性,而且往往是多药耐药,这是肿瘤治疗失败最常见又难以解决的问题之一,因此,寻找高效、低毒的逆转剂在抗肿瘤药物开发中有重要意义。两面针 *Zanthoxylum nitidum* 是广西特有的中药材,氯化两面针碱(nitidine chloride, NC)是从两面针植物的根中分离到的具有抗肿瘤活性的生物碱,是两面针的主要成分。据文献报道<sup>[1]</sup>,氯化两面针碱在体外对口腔鳞癌多药耐药细胞具有抑制生长、促进凋亡和阻滞细胞周期的作用,因此认为氯化两面针碱逆转肿瘤多药耐药是可行的,本实验旨在研究低毒剂量的氯化两面针碱对人口腔鳞癌耐药细胞株 KB/ADM 多药耐药性的逆转作用,观察在低毒剂量的氯化两面针碱作用下,人口腔鳞癌耐药细胞株 KB/ADM 对各抗肿瘤药物的敏感性是否提高,P 糖蛋白和多药耐药基因(MDR1)的表达是否下降,为开发新的高效、低毒的抗肿瘤药物逆转剂提供实验基础。

## 1 材料

**1.1 细胞** 人口腔鳞癌细胞株 KB,人口腔鳞癌耐药细胞株 KB/ADM,由上海通派生物科技有限公司惠赠。

**1.2 药物** 氯化两面针碱(中国食品药品检定研究院,批号 110848-20001,纯度大于 98%),盐酸维拉帕米(VRP,上海禾丰制药有限公司,批号 121101),注射用盐酸阿霉素(ADM,深圳万乐药业有限公司,批号 1206E5),注射用硫酸长春新碱(VCR,浙江海正药业股份有限公司,批号 110501),依托泊苷(VP-161,齐鲁制药有限公司,批号 WBK1211014),注射用羟基喜树碱(HCPT,黄石李时珍药业集团武汉李时珍药业有限公司,批号 20120608)。

**1.3 仪器** 2323-2 型水套式二氧化碳培养箱(美国 Shellab 公司),Spectra Max Plus384 型连续光谱扫描酶标仪(美国 Molecular Devices 公司),EPICS X2 型流式细胞仪(美国 Beckman Coulter 公司),ABI7300 型实时荧光定量 PCR 仪(美国 ABI 公司)。

## 2 方法

**2.1 细胞培养** 人口腔鳞癌耐药细胞 KB/ADM 及其敏感细胞 KB 于含 10% 小牛血清的 RPMI 1640 培养液,37 °C,饱和湿度,5% CO<sub>2</sub> 的培养箱中培养,定期观察,每周换液 3 次,传代 2 次,用 0.25% 胰蛋白酶消化传代。KB/ADM 细胞培养液中含有 200 nmol·L<sup>-1</sup> 阿霉素以维持耐药性,检测前 2 周撤药。

## 2.2 细胞毒性实验

**2.2.1 检测 NC 对 KB/ADM 增殖的影响** 取指数生长期耐药细胞 KB/ADM,常规消化,离心,重悬细胞并调整至 1 × 10<sup>4</sup>,种至 96 孔板,细胞贴壁后吸去培养液,加入含不同浓度 NC 的培养液,每个浓度设 3 个复孔,以细胞培养基为空白对照孔,48 h 后,每孔加入 10 μL 的 MTT 溶液(5 g·L<sup>-1</sup>),放入 CO<sub>2</sub> 培养箱中,继续孵育 4 h 后,终止培养,弃掉孔内的培养液,向每孔加入 DMSO 溶液 150 μL,在连续光谱扫描酶标仪上选定 490 nm 波长处测定吸光度(A),计算 NC 对 KB/ADM 增殖的抑制率,确定 3 个 NC 作用的低毒剂量(抑制率 ≤ 10% 的药物浓度),实验重复 3 次。

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

**2.2.2 检测 NC 逆转多药耐药细胞对化疗药的敏感性** 确定 3 个 NC 的低毒浓度后,阳性药 VRP,低、中、高剂量 NC 分别联合含不同浓度的化疗药物(ADM, VCR, VP-16, HCPT)的培养液作用于 KB/ADM 细胞株,每个浓度平行 3 孔,分别设 5 个浓度级。对照组为加入等体积的培养液组和空白对照组,方法同 2.2.1,计算 IC<sub>50</sub>,耐药倍数及逆转倍数,实验重复 3 次。

$$\text{耐药倍数} = \text{某种药物针对耐药细胞 IC}_{50} / \text{某种药物针对敏感细胞 IC}_{50}$$

$$\text{逆转倍数} = \text{某种药物针对加逆转剂前耐药细胞 IC}_{50} / \text{某种药物针对加逆转剂后耐药细胞 IC}_{50}$$

**2.3 检测 P-gp 蛋白表达变化及 MDR1 基因的表达水平**

**2.3.1 检测 P-gp 蛋白表达变化** 实验分组如下:多药耐药细胞组 KB/ADM 细胞,阳性药物组 KB/ADM 细胞 + 5 μmol·L<sup>-1</sup> VRP, NC 低剂量组 KB/ADM 细胞 + 0.375 mg·L<sup>-1</sup> NC, NC 中剂量组 KB/ADM 细胞 + 0.75 mg·L<sup>-1</sup> NC, NC 高剂量组 KB/ADM 细胞 + 1.5 mg·L<sup>-1</sup> NC,取指数生长期细胞,经消化、离心,去除完全培养基。用 0.01 mol·L<sup>-1</sup> PBS(pH 7.4)液(简称 PBS)10 mL 重新悬浮细胞块,再次离心去上清,重复 1 次。随后用 PBS 调整细胞密度到 5 × 10<sup>6</sup>/mL,分成 2 管,每管样品需 0.2 mL,1 管为同型对照管,标记小鼠 IgG 2aK-PE(藻红蛋白),另 1 管为测量管,标记抗 P-gp-PE。取制成的细胞悬液上流式细胞仪检测 P-gp 蛋白表达,激发波长 488 nm,发射波长 530 nm,实验重复 3 次。

**2.3.2 检测 MDR1 基因的表达水平**

**2.3.2.1 样品的制备与引物合成** 实验分组同

**2.3.1,** 48 h 后收集细胞,用 Trizol 提取总 RNA,按 RT-PCR 试剂盒说明建立 20  $\mu$ L 反应体系逆转录成 cDNA。从 Gene Bank 查找 MDR1 及内参 GAPDH 基因的全长序列,设计引物,并由宝生物工程(大连)有限公司合成。见表 1。

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequences

基因	序列
GAPDH	FP:5'-GCACCGTCAAGGCTGAGAAC-3'
	RP:5'-TGGTGAAGACGCCAGTGA-3'
MDR1	FP:5'-TGACTCAGGAGCAGAAGTTTGAACA-3'
	RP:5'-AAATACATCATTGCCTGGGTGAAG-3'

**2.3.2.2 Real-time PCR 检测** 按 RT-PCR 试剂盒说明,取 60 ng cDNA 作为扩增模版,建立如下 20  $\mu$ L 反应体系:Premix Ex Taq II (2  $\times$ ) 10  $\mu$ L,MDR1 上下游引物及内参上、下游引物各 0.8  $\mu$ L,ROX Reference Dye(50  $\times$ ) 0.4  $\mu$ L,dH<sub>2</sub>O 8  $\mu$ L,经 95  $^{\circ}$ C 变性 30 s 后,经 95  $^{\circ}$ C 预变性 10 min 后,95  $^{\circ}$ C 变性 20 s,60  $^{\circ}$ C 退火 30 s,72  $^{\circ}$ C 延伸 30 s(收集荧光),共 30 个循环。反应结束后,由电脑自动生成荧光扩增曲线,溶解曲线,MDR1 基因相对表达量。

**2.4 统计学处理** 采用统计软件 SPSS 13.0,运用 *t* 检验进行统计分析,实验数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 不同浓度 NC 对 KB/ADM 细胞增殖的影响** 6 个不同浓度的 NC 处理 KB/ADM 48 h 后,细

胞生长受到不同程度的抑制,当 NC 的质量浓度  $\geq 3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时,对细胞的抑制率均  $> 10\%$ ,当 NC 的浓度  $\leq 1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时,对细胞的抑制率均  $< 10\%$ ,因此, $\leq 1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  质量浓度的 NC 为低毒使用范围,确定选用 0.375,0.75,1.5  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  NC 进行多药耐药逆转实验。见表 2。

表 2 不同浓度的氯化两面针碱对 KB/ADM 细胞的抑制率 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Table 2 Cell-inhibition rate of KB/ADM treated with different concentration of NC ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

NC 质量浓度 / $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	细胞抑制率 /%	NC 质量浓度 / $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	细胞抑制率 /%
0.375	1.05 $\pm$ 0.36	3	10.28 $\pm$ 1.81
0.75	4.34 $\pm$ 1.46	6	26.23 $\pm$ 0.20
1.5	7.55 $\pm$ 0.42	9	48.63 $\pm$ 0.83

**3.2 NC 干预后 KB/ADM 对化疗药敏感性的影响**

表 3,4 显示,耐药细胞 KB/ADM 对 4 种化疗药物的敏感性均明显低于敏感细胞 KB ( $P < 0.01$ ),其中 KB/ADM 对 ADM,VCR,VP-16,HCPT 的耐药倍数分别为 3.54,2.42,1.89,2.81,表明实验用的 KB/ADM 是多药耐药细胞株,可作为多药耐药逆转的研究模型。当用 5  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  肿瘤药物耐药逆转剂 VRP 和对 KB/ADM 抑制率  $< 10\%$  的 3 个 NC 质量浓度(0.375,0.75,1.5  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )作用于 KB/ADM 细胞时,KB/ADM 对 ADM,VCR,VP-16,HCPT 4 种药物的敏感性都提高了 ( $P < 0.05, P < 0.01$ ),结果证实 NC 具有多药耐药逆转作用。

表 3 3 个低毒剂量 NC 处理后 KB/ADM 对各化疗药敏感性的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Table 3 IC<sub>50</sub> of different antitumor drug of KB/ADM treated with three low toxicity concentration of NC ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

化疗药物	IC <sub>50</sub> / $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$					
	KB	KB/ADM	KB/ADM + VRP 5 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	KB/ADM + NC 0.375 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	KB/ADM + NC 0.75 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	KB/ADM + NC 1.5 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$
ADM	44.72 $\pm$ 3.08	158.20 $\pm$ 1.21 <sup>2)</sup>	30.27 $\pm$ 1.89 <sup>4)</sup>	95.85 $\pm$ 2.75 <sup>4)</sup>	62.27 $\pm$ 4.73 <sup>4)</sup>	29.51 $\pm$ 0.89 <sup>4)</sup>
VCR	36.53 $\pm$ 0.73	84.48 $\pm$ 2.48 <sup>2)</sup>	29.90 $\pm$ 1.52 <sup>4)</sup>	70.51 $\pm$ 0.67 <sup>3)</sup>	41.32 $\pm$ 3.24 <sup>4)</sup>	31.62 $\pm$ 3.11 <sup>4)</sup>
VP-16	38.78 $\pm$ 3.56	73.21 $\pm$ 4.83 <sup>2)</sup>	31.51 $\pm$ 1.03 <sup>4)</sup>	55.89 $\pm$ 1.12 <sup>4)</sup>	33.37 $\pm$ 2.57 <sup>4)</sup>	27.05 $\pm$ 1.18 <sup>4)</sup>
HCPT	47.78 $\pm$ 4.12	134.15 $\pm$ 5.67 <sup>2)</sup>	36.86 $\pm$ 3.24 <sup>3)</sup>	109.40 $\pm$ 1.76 <sup>3)</sup>	72.64 $\pm$ 0.93 <sup>3)</sup>	30.57 $\pm$ 1.34 <sup>4)</sup>

注:与 KB 组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ ,<sup>2)</sup>  $P < 0.01$ ;与 KB/ADM 组比较<sup>3)</sup>  $P < 0.05$ ,<sup>4)</sup>  $P < 0.01$ 。

**3.3 NC 干预后 KB/ADM P-gp 蛋白及 MDR1 基因表达变化** 多药耐药细胞 KB/ADM P-gp 蛋白的表达为(97.33  $\pm$  1.61)%,经 5  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  VRP,0.375,0.75,1.5  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  NC 处理后,多药耐药细胞 KB/ADM P-gp 蛋白的表达分别下降到(10.60  $\pm$  1.11)%,

(68.57  $\pm$  2.56)%,(28.29  $\pm$  1.98)%,(8.03  $\pm$  1.46)%,结果表明,肿瘤药物耐药逆转剂 VRP 能降低多药耐药细胞 KB/ADM P-gp 蛋白的表达,与 VRP 相比,0.375,0.75,1.5  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  NC 均能降低多药耐药细胞 KB/ADM P-gp 蛋白的表达,且 1.5  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$

表 4 KB/ADM 的耐药倍数及在不同处理后的逆转倍数

Table 4 Resistance fold and reversal fold of KB/ADM in different treating group

化疗药物	耐药数 /倍	逆转数/倍			
		VRP 5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	NC/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$		
			0.375	0.75	1.5
ADM	3.54	5.22	1.65	2.54	5.36
VCR	2.42	2.83	1.20	2.04	2.67
VP-16	1.89	2.32	1.31	2.19	2.71
HCPT	2.81	3.65	1.04	1.85	4.40

NC 与 5  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  VRP 效果最相近。在基因水平上,多药耐药细胞 KB/ADM 经过 5  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  VRP 和 0.375,0.75,1.5  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  NC 处理后,MDR1 基因相对表达分别下降 39%,12%,46%,69% ( $P < 0.01$ )。见表 5。

表 5 不同处理组的 KB/ADM 细胞的 P-gp 蛋白的表达及 MDR1 基因的相对表达 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Table 5 P-gp and MDR1 expression of KB/ADM cell in different treating group ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

组别	P-gp 蛋白 表达量/%	MDR1 基因的 相对表达
KB/ADM	97.33 $\pm$ 1.61	1.01 $\pm$ 0.03
KB/ADM + 5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ VRP	10.60 $\pm$ 1.11 <sup>4)</sup>	0.61 $\pm$ 0.09 <sup>4)</sup>
KB/ADM + 0.375 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NC	68.57 $\pm$ 2.56 <sup>4)</sup>	0.88 $\pm$ 0.12 <sup>4)</sup>
KB/ADM + 0.75 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NC	28.29 $\pm$ 1.98 <sup>4)</sup>	0.54 $\pm$ 0.04 <sup>4)</sup>
KB/ADM + 1.5 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NC	8.03 $\pm$ 1.46 <sup>4)</sup>	0.31 $\pm$ 0.02 <sup>4)</sup>

注:与 KB/ADM 组比较<sup>3)</sup>  $P < 0.05$ ,<sup>4)</sup>  $P < 0.01$ 。

#### 4 讨论

P 糖蛋白的过度表达是化疗失败的主要原因,它可以将抗癌药物从肿瘤细胞内逆浓度梯度泵到肿瘤细胞外,从而降低肿瘤细胞抗癌药物浓度,产生多药耐药性<sup>[2]</sup>,近年来,很多肿瘤细胞多药耐药逆转剂的实验研究集中在一些天然产物上<sup>[3-6]</sup>,如粉防己碱,蛇床子素,姜黄素等。氯化两面针碱是从广西特有植物两面针中提取出来的一种生物碱,根据文献<sup>[7]</sup>,氯化两面针碱具有比较强大的抗肿瘤作用,为了进一步探讨氯化两面针碱对口腔鳞癌多药耐药细胞 KB/ADM 逆转耐药的作用,笔者首先确立氯化两面针碱的低毒使用范围,发现氯化两面针碱  $\leq 1.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  时,对 KB/ADM 细胞的抑制率均  $\leq 10\%$ ,为其低毒使用范围,因此我们选用 0.375,0.75,1.5  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  氯化两面针碱进行实验,在此基础

上,笔者发现阳性药物 VRP 以及 0.375,0.75,1.5  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  的氯化两面针碱处理 48 h 后的耐药细胞组与未经处理耐药细胞组比较,KB/ADM 细胞对四种化疗药物(ADM,VCR,VP-16,HCPT)的敏感性均提高( $P < 0.05$ , $P < 0.01$ ),且阳性药物对照组、NC 低毒低、中、高剂量组 KB/ADM 细胞 P 糖蛋白的表达分别为(10.60  $\pm$  1.11)%,(68.57  $\pm$  2.56)%,(28.29  $\pm$  1.98)%,(8.03  $\pm$  1.46)%,与多药耐药细胞组(97.33  $\pm$  1.61)% 比较明显下降( $P < 0.01$ ),同时,RT-PCR 实验结果证实,氯化两面针碱可以降低 KB/ADM MDR1 基因的表达,提示氯化两面针碱具有逆转多药耐药的作用。

综上所述,低毒剂量的氯化两面针碱具有逆转口腔鳞癌多药耐药的作用,由于本实验为体外实验,具有一定的局限性,还需进一步做体内实验。有文献报道<sup>[8]</sup>,氯化两面针碱可抑制 DNA 拓扑异构酶的活性,因此,氯化两面针碱的逆转机制可能与 DNA 拓扑异构酶有关,其作用机制也尚待进一步研究。

#### [参考文献]

- [1] 王博龙,刘华钢,杨斌,等. 氯化两面针碱体外对口腔鳞癌多药耐药细胞 KBV200 的抗癌活性[J]. 中国药理学与毒理学杂志,2007,2(6):512-515.
- [2] 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(7):844-847.
- [3] 刘锦裕,李永生,谢恩杰,等. 粉防己碱逆转膀胱癌耐药株 BIU-87/ADM 凋亡抗性的作用[J]. 时珍国医国药,2011,22(8):1932-1934.
- [4] 王晓华,张绍谨,郭祥,等. 蛇床子素逆转人膀胱肿瘤 T24/ADM 细胞耐药作用及其机制[J]. 中国当代医药,2012,19(7):7-9.
- [5] 曹仕琼,尹太勇,杨盛力. 姜黄素对 Bel7402/5-Fu 细胞系多药耐药逆转作用的实验研究[J]. 中国中西医结合杂志,2012,32(2):244-247.
- [6] 王娅杰,李琦,李玉洁,等. 中药在逆转肿瘤多药耐药中的作用及研究现状[J]. 中国中药杂志,2014,39(24):4693-4698.
- [7] 刘丽敏,刘华钢,罗丹. 氯化两面针碱体外和体内的抗肿瘤作用[J]. 中国药理学与毒理学杂志,2009,23(3):214-218.
- [8] 刘丽敏,刘华钢. 氯化两面针碱的抗肝癌活性及对 DNA 拓扑异构酶的影响[J]. 中国药理学通报,2010,26(4):497-500.

[责任编辑 聂淑琴]