

十全大补汤含药血清对 A549/DDP 细胞株中 Wnt/ β -catenin 信号通路蛋白的干预作用

高原^{1*}, 于宁², 陈奇³, 敬一夫², 张洪源², 李春晖², 张城城², 田子鹤², 关蕊²

(1. 辽宁中医药大学基础医学院, 沈阳 110847; 2. 辽宁中医药大学第一临床学院, 沈阳 110847;
3. 辽宁省体育科学研究所, 沈阳 110179)

[摘要] **目的:**探讨十全大补汤对肺腺癌顺铂耐药细胞株(A549/DDP)中 Wnt/ β -catenin 信号通路蛋白的干预作用。**方法:**以 SD 大鼠制备高、中、低剂量(65, 32.5, 16.25 g·kg⁻¹, 10 mL·kg⁻¹)的十全大补汤含药血清和空白对照血清(生理盐水 10 mL·kg⁻¹)。培养细胞分为十全大补汤含药血清高、中、低剂量组和空白血清组,采用 MTT 法检测各组 50% 抑制浓度(IC₅₀),采用蛋白质印迹法检测各组糖原合成酶激酶-3 β (GSK-3 β), p-GSK-3 β ^{ser9}, β -连环蛋白(β -catenin)及 survivin 蛋白表达。**结果:**随着十全大补汤含药血清浓度的升高,顺铂(DDP)对 A549/DDP 细胞的 IC₅₀ 逐渐降低,以中、高剂量组最显著($P < 0.01$);十全大补汤含药血清对 A549/DDP 细胞浆 GSK-3 β 蛋白的表达无影响,但可显著下调胞浆 p-GSK-3 β ^{ser9} 蛋白的表达及细胞总 β -catenin 和 survivin 蛋白的表达,以中、高剂量组最明显($P < 0.01$)。**结论:**十全大补汤可通过降低 A549/DDP 细胞浆 p-GSK-3 β ^{ser9} 蛋白及细胞总 β -catenin, survivin 蛋白的表达而影响 Wnt/ β -catenin 信号转导通路,进而发挥对顺铂耐药的增敏作用。

[关键词] 十全大补汤; 肺腺癌顺铂耐药细胞株; Wnt/ β -连环蛋白信号通路; 化疗耐药

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)01-0129-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2016010129

Intervention Effect of Shiquan Dabu Tang-medicated Serum on Wnt/ β -catenin Signal Transduction Pathway Proteins in A549/DDP Cell Lines

GAO Yuan^{1*}, YU Ning², CHEN Qi³, JING Yi-fu², ZHANG Hong-yuan²,
LI Chun-hui², ZHANG Cheng-cheng², TIAN Zi-he², GUAN Rui²

(1. Basic Medical College, Liaoning University of Chinese Traditional Medicine (TCM),
Shenyang 110847, China;
2. First Clinical College, Liaoning University of CTM, Shenyang 110847, China;
3. Liaoning Sports Science Research Institute, Shenyang 110179, China)

[Abstract] **Objective:** To explore intervention effect of Shiquan Dabu Tang-medicated serum on proteins of Wnt/ β -catenin signal transduction pathway in lung adenocarcinoma cisplatin-resistant cell lines of A549/DDP. **Method:** SD rats were randomly divided into 4 groups: high dose (65 g·kg⁻¹, 10 mL·kg⁻¹) group, medium dose (32.5 g·kg⁻¹, 10 mL·kg⁻¹) group, low dose (16.25 g·kg⁻¹, 10 mL·kg⁻¹) group and blank control group (normal saline, 10 mL·kg⁻¹). A549/DDP cells were divided into blank serum group, high, medium and low dose groups of drug-medicated serum. MTT assay was used to determine 50% inhibition concentration (IC₅₀) values of cisplatin. Western blotting was adopted to detect the protein expression of glycogen synthase kinase 3 β (GSK-3 β), p-GSK-3 β ^{ser9}, β -catenin and survivin. **Result:** With the increase in the concentration of medicated serum, IC₅₀ values of cisplatin (DDP) in A549/DDP cells decreased, especially in mediummedium and high groups ($P < 0.01$). Shiquan Dabu Tang-medicated serum had no effect on GSK-3 β protein expression in A549/

[收稿日期] 20150313(016)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81403303); 辽宁省教育厅科学研究项目(L2012333); 中国博士后科学基金项目(2014M551122)

[通讯作者] *高原, 博士, 副教授, 从事中药调节肿瘤耐药作用及其机制的研究, Tel: 86-24-31207092, E-mail: gaoyuan.laury@163.com

DDP cytoplasm, but can significantly down-regulate p-GSK-3 β ^{ser9} protein expression and total β -catenin and survivin protein expression in cytoplasm, particularly in medium and high groups ($P < 0.01$). **Conclusion:** Shiquan Dabu Tang can lower the expression levels of cytoplasmic p-GSK-3 β ^{ser9}, total β -catenin and surviving proteins, so as to influence Wnt/ β -catenin signal transduction pathway and sensitize cisplatin resistance.

[**Key words**] Shiquan Dabu Tang; lung adenocarcinoma cisplatin-resistant cell line A549/DDP cell; Wnt/ β -catenin signaling pathway; chemotherapy resistance

世界范围内肺癌的发病率和死亡率均居恶性肿瘤之首。但肺癌诊断时多处于中晚期,丧失了手术治疗的最佳时机,因此化疗是其常用的治疗手段。顺铂(cisplatin, DDP)是肺癌的一线化疗药物,其抗肿瘤的毒性和有效性在临床上得到了充分的肯定。但顺铂副作用大且极易形成耐药,这严重影响其临床疗效,限制其临床应用^[1-2]。中医认为肺癌的病机为正气虚损,邪毒内侵,是一种全身属虚,邪实在肺,本虚标实之病。十全大补汤是益气补血,扶正固本的经典方,其在抑制肿瘤侵袭转移,增强机体免疫力,降低化疗毒副作用等方面均有良好的疗效。以往的研究只限于患者临床症状的改善上,尚未涉及蛋白及基因水平的研究。本研究从 Wnt/ β -连环蛋白(Wnt/ β -catenin)信号转导通路入手,探讨十全大补汤与肺癌顺铂耐药相关蛋白质表达的相关性,明确十全大补汤干预肺癌顺铂耐药的分子作用机制,为临床寻求中医药改善肺癌顺铂耐药的有效靶点提供可参考的实验依据。

1 材料

1.1 动物和细胞 SD 大鼠, SPF 级, 雌雄各半, 体重 190 ~ 230 g, 由辽宁中医药大学实验动物中心提供, 合格证号 SCXK(辽)2013-0010。A549 细胞株由中国医科大学病理教研室提供, A549/DDP 细胞株购自中国医学科学院肿瘤研究所。

1.2 中药制备 十全大补汤根据《方剂学》中规定用药及临床常用剂量(人参 6 g, 肉桂 3 g, 川芎 6 g, 熟地黄 12 g, 茯苓 9 g, 白术 9 g, 甘草 3 g, 黄芪 12 g, 当归 9 g, 白芍 9 g), 全部药材购于辽宁中医药大学附属医院, 并通过辽宁中医药大学药理实验室的鉴定, 加水浸泡 30 min 后, 按汤剂常规方法煎熬, 过滤并浓缩成生药量含量为 10 g·mL⁻¹ 的药液, 冷却后装入灭菌药瓶, 4 °C 保存。按照“动物与人的每千克体重剂量折算系数表”计算大鼠的等效剂量, 按成人推荐日用量的 1, 2, 4 倍设低、中、高剂量, 常规过滤, 水浴蒸发至含生药 6.5, 3.25, 1.625 g·mL⁻¹, 冷却后 4 °C 保存。

1.3 药物和试剂 DDP(德国 Calbiochem 公司, 货

号 D00117683); DMEM 高糖培养基(批号 SH30022.01B), RPMI-1640 培养基(批号 SH30809.01B), 胎牛血清(批号 16010-159), 均购自美国 HyClone 公司; 胰蛋白酶(批号 B0013K030100), 二甲基亚砷(DMSO, 批号 D5879)均购自韩国 Biosharp 公司; 强效 RIPA 裂解液(北京普利莱公司, 批号 P0013C); 苯甲基磺酰氟(PMSF, 批号 ST506), 考马斯亮蓝 G250(批号 6104-58-1), 聚丙烯酰胺凝胶电泳制胶试剂盒(批号 P0012A028), 噻唑蓝(MTT)检测试剂盒(批号 C0009), 均购自上海碧云天公司; 膜联蛋白 V/碘化丙啶(Annexin V-FITC/PI)检测试剂盒(北京四正柏公司, 批号 FXP018-50), NE-PER 核浆分离试剂盒(美国 Thermo 公司, 批号 08724), 兔抗 GSK-3 β 多克隆抗体(批号 870862), 兔抗 p-GSK-3 β ^{ser9} 多克隆抗体(批号 786357), 均购自英国 Abcam 公司, 鼠抗 β -catenin 多克隆抗体(美国 BD 公司, 批号 610153), 兔抗 survivin 多克隆抗体(美国 R&D 公司, 批号 19119-1-AP), 辣根过氧化物酶标记山羊抗兔二抗(批号 E030120), 辣根过氧化物酶标记山羊抗鼠二抗(批号 E030121), 兔抗 β -actin 多克隆抗体(批号 E030158), 均购自美国 Santa Cruz 公司。

1.4 仪器 BSC-1600IIA2 型超净工作台(中国苏净集团安泰公司), Incucell 型 CO₂ 培养箱(德国 MMM 公司), CX41 型荧光倒置显微镜(日本 Olympus 公司), 聚丙烯酰胺凝胶电泳制胶装置(美国 Bio-Rad 公司), SDS-PAGE 型电泳装置(美国 Bio-Rad 公司), 蛋白转印装置(美国 Bio-Rad 公司), Bio-Rad 凝胶成像系统 Gel Doc XR(美国 Hercules 公司), Elx800 型酶标自动分析仪(美国 Bio-Tek 公司), 3K15 型微量低温高速离心机(美国 Sigma 公司), 2K 型低速离心机(美国 Sigma 公司), 振荡恒温水浴箱(美国 Gflthermolab 公司), Vortex-Genie2 型涡旋震荡器(美国 Scientific Industries 公司)。

2 方法

2.1 细胞培养 取处于对数生长期细胞, 弃去培养液, 加入 0.25% 胰酶 1 mL, 消化约 2 ~ 5 min(肉眼观

察瓶壁半透明的细胞层出现细针孔空隙,或倒置显微镜下细胞变钝圆,细胞间隙增大),即可终止消化。加入含 10% 胎牛血清 RPMI-1640 培养液 5 mL, 无菌吸管轻轻吹打,使之均匀悬浮。分装入 2 个培养瓶,传代继续培养。

2.2 含药血清的制备 清洁级 SD 大鼠 24 只按随机数字表法随机分为 4 组:十全大补汤含药血清低、中、高剂量(16.25,32.5,65 g·kg⁻¹,10 mL·kg⁻¹)和空白血清组(等体积生理盐水)。每组每天 ig 给药 1 次,连续给药 7 d,末次给药 1 h 后,腹主动脉采血置于无菌管中,37 °C 水浴静置 30 min,3 000 r·min⁻¹ 离心 10 min 后取上清,再重复离心 2 次,56 °C 水浴灭活 30 min,0.22 μm 滤器滤过除菌,-20 °C 冻存备用。

2.3 检测 DDP 半数抑制浓度(IC₅₀) 取对数生长期的 A549/DDP 细胞制成单细胞悬液 5 × 10³ 个/mL,接种于 96 孔板中,每孔 100 μL,待细胞贴壁后分组:10% 含药血清低剂量组,10% 含药血清中剂量组,10% 含药血清高剂量组,10% 空白血清组,加入含不同血清的培养基 100 μL,每组设立 6 个平行对照,并设空白对照(不加细胞只加培养液,用于比色调零),置正常培养条件下培养。24 h 后用 4,8,16,32,64,128 μmol·L⁻¹ 顺铂处理细胞,37 °C 5% CO₂ 继续培养 48 h,实验终止前,每孔加入 MTT 溶液(5 g·L⁻¹)20 μL/孔,孵育 4 h,弃去培养基,加入 150 μL DMSO,振荡 10 min 后,置于酶标自动分析仪,在 570 nm 波长测定吸光度 A。用 SPSS 13.0 软件分析计算出 IC₅₀。

2.4 细胞总蛋白及胞浆蛋白的提取及浓度测定 收集对数生长期的细胞,加入细胞裂解液[RIPA-PMSF(100:1)]在冰上裂解 30 min。4 °C,1 万 r·min⁻¹ 离心 15 min 后取上清液即为细胞总蛋白质。收集对数生长期的细胞,根据细胞的量加入适当的胞质提取液(CER)I [CER I -PMSF(100:1)],最高震数用力震荡 15 s,使沉淀充分悬浮,冰上孵育 10 min。将预冷的 CER II 加入 1.5 mL 离心管中,最高震数用力震荡 5 s,冰上孵育 1 min。最高震数用力震荡 5 s,4 °C 16 000 r·min⁻¹ 离心 5 min,快速将上清液(即胞浆蛋白提取物)移至另一个干净预冷的离心管,置冰上待测浓度。采用考马斯亮蓝法定量蛋白浓度。

2.5 蛋白质印迹 等量的细胞蛋白提取物通过 SDS-PAGE 电泳分离,并转移到 PVDF 膜上。室温下,PVDF 膜在封闭缓冲液中封闭 2 h,孵育一抗缓

冲液(GSK-3β,1:1 000;p-GSK-3β^{ser9},1:1 000;β-catenin,1:600;survivin,1:1 000),4 °C 过夜。次日室温下孵育 HRP-标记的二抗缓冲液(1:3 000)2 h。在 PVDF 膜上滴加 ECL 发光液,使用 BIO-RAD 分子成像仪激发和采集目的条带,借助 Image J 分析软件定量目的条带的强度。目的蛋白的表达值用目的条带与 β-actin 的强度比值来表示。

2.6 统计学分析 使用 SPSS 13.0 软件对数据进行处理,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,各组数据符合正态分布,采用单因素方差分析,方差齐时,两两比较采用 SNK 法;不符合参数检验者,采用多组剂量资料秩和检验。 $P < 0.05$ 有统计学意义。

3 结果

3.1 各组 A549/DDP 细胞对 DDP 的敏感性 十全大补汤含药血清的低、中、高剂量与 DDP 存在协同增效作用,随着含药血清浓度的升高 IC₅₀ 逐渐降低,与空白血清组相比,十全大补汤低、中、高剂量组的 IC₅₀ 均下降,而中剂量组 IC₅₀ 与高剂量组无显著差别,但低剂量组显著降低($P < 0.01$),因此下降程度不存在着明显剂量依赖性。见表 1。

表 1 十全大补汤 10% 含药血清对 A549/DDP 细胞 IC₅₀ 及耐药指数的影响($\bar{x} \pm s, n = 3$)

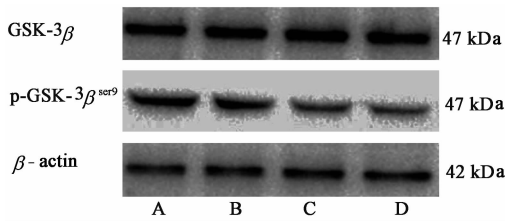
Table 1 Effect of 10% Shiquan Dabu Tang-mediated serum on IC50 and drug resistance index in A549/DDP cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	A549/DDP IC ₅₀ /μmol·L ⁻¹	耐药指数
空白血清	-	28.98 ± 1.40 ²⁾	-
十全大补汤含药血清	16.25	26.39 ± 0.44 ^{1,2)}	1.10
	32.5	23.69 ± 0.34 ¹⁾	1.22
	65	22.59 ± 0.62 ¹⁾	1.28

注:与空白血清组比较¹⁾ $P < 0.01$;与 10% 含药血清中剂量组比较²⁾ $P < 0.01$ (表 2~3 同)。

3.2 各组 A549/DDP 细胞浆中 GSK-3β 和 p-GSK-3β^{ser9} 蛋白的表达 胞浆蛋白的蛋白质印迹法结果显示,各组 A549/DDP 细胞浆中 GSK-3β 蛋白表达无统计学差异;与空白血清组相比,低、中、高剂量组 p-GSK-3β^{ser9} 蛋白表达均显著下调($P < 0.01$),但中、高剂量组之间无统计学差异,中剂量组较低剂量组显著下调($P < 0.01$)。见图 1,表 2。

3.3 各组 A549/DDP 细胞中 β-catenin 和 survivin 蛋白的表达 总蛋白的蛋白质印迹法结果显示,各组 A549/DDP 细胞中 β-catenin 和 survivin 蛋白的表达变化趋势一致。与空白血清组相比,低、中、高剂量组 2 种蛋白表达均下调($P < 0.01$),但中、高剂量



A. 空白血清组; B ~ D. 十全大补汤 16.25, 32.5, 65 g·kg⁻¹ 含药血清组(图 2 同)

图 1 十全大补汤 10% 含药血清对 A549/DDP 细胞浆中 GSK-3β 和 p-GSK-3β^{ser9} 蛋白表达的影响

Fig. 1 Effect of 10% Shiquan Dabu Tang-mediated serum on expressions of GSK-3β and GSK-3β^{ser9} protein in cytoplasm of A549/DDP cells

表 2 十全大补汤 10% 含药血清对 A549/DDP 细胞浆中 GSK-3β 和 p-GSK-3β^{ser9} 蛋白相对表达的影响($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 2 Effect of 10% Shiquan Dabu Tang-mediated serum on expressions of relative GSK-3β and GSK-3β^{ser9} protein in cytoplasm of A549/DDP cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	GSK-3β /β-actin	p-GSK-3β ^{ser9} /β-actin
空白血清	-	1.07 ± 0.04	1.26 ± 0.01 ⁽²⁾
十全大补汤含药血清	16.25	1.09 ± 0.01	1.04 ± 0.05 ^(1,2)
	32.5	1.07 ± 0.05	0.40 ± 0.02 ⁽¹⁾
	65	1.06 ± 0.04	0.44 ± 0.01 ⁽¹⁾

组之间无统计学差异,中剂量组较低剂量组明显下调($P < 0.01$)。见图 2,表 3。

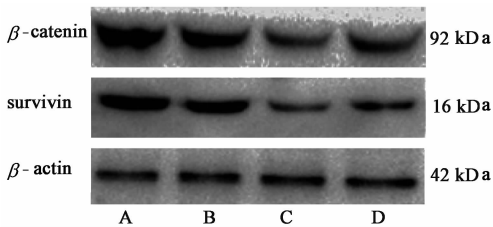


图 2 十全大补汤 10% 含药血清对 A549/DDP 细胞中 β-catenin 和 survivin 蛋白表达的影响

Fig. 2 Effect of 10% Shiquan Dabu Tang-mediated serum on expressions of β-catenin and survivin protein in cytoplasm of A549/DDP cells

4 讨论

肺腺癌(lung adenocarcinoma)属于非小细胞肺癌(NSCLC)的一种亚型,占肺原发肿瘤的 40%,该种类型血道转移出现早且恶性程度高。DDP 是目前治疗肺腺癌的一线化疗药物,但由于肿瘤细胞易对其产生耐药及其本身较强的毒副作用,限制了其临床疗效。因此,本实验选择 A549/DDP,前期研究

表 3 十全大补汤 10% 含药血清对 A549/DDP 细胞中 β-catenin 和 survivin 蛋白表达的影响($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 3 Effect of 10% Shiquan Dabu Tang-mediated serum on expressions of β-catenin and survivin protein in A549/DDP cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	β-catenin /β-actin	Survivin /β-actin
空白血清	-	1.40 ± 0.03	1.25 ± 0.05
十全大补汤含药血清	16.25	0.99 ± 0.06 ^(1,2)	1.02 ± 0.11 ^(1,2)
	32.5	0.36 ± 0.01 ⁽¹⁾	0.50 ± 0.01 ⁽¹⁾
	65	0.42 ± 0.04 ⁽¹⁾	0.570 ± 0.06 ⁽¹⁾

显示^[3]该细胞株耐药性较强,培养液中无需加入 DDP 仍能保持稳定的耐药性,可重复性高。

铂类药物的细胞毒作用主要是铂类与核蛋白连接,形成铂类药物与 DNA 链间或链内交联,以及 DNA-蛋白质交联损伤^[4,5],DNA 损伤可介导凋亡信号的激活,最终引起细胞凋亡或细胞周期抑制。本研究推测顺铂的这种 DNA 交联作用也有可能发生在与耐药相关的信号通路中,如 PI3K/Akt, MAPK, p53, Wnt/β-catenin 信号转导通路等,DNA 损伤所致的信号转导分子蛋白的异常表达将导致信号转导通路的活化。前期研究已经证实^[3,6],Wnt/β-catenin 信号转导通路的激活是导致 DDP 耐药的机制之一。

近年来发现,Wnt/β-catenin 信号转导通路不仅跟肿瘤的发生,发展,转移等有关,而且与肿瘤对化疗药物的敏感性密切相关^[7,8]。GSK-3β 是公认的 Wnt/β-catenin 信号通路中的重要信号分子,可以直接通过磷酸化作用调节 β-catenin 的稳定性^[9]。在 Wnt 信号不存在时,细胞浆中的 β-catenin 被 GSK-3β 领衔的蛋白复合体降解。而 Wnt 信号的活化抑制了蛋白复合体的形成,使得 GSK-3β 对 β-catenin 的磷酸化作用减弱,结果胞浆中大量稳定的低磷酸化的 β-catenin 堆积,并转移到细胞核中与 TCF/LEF 家族的转录因子结合启动靶基因如 survivin 等的转录。Survivin 是至今发现作用最强的凋亡抑制蛋白之一^[10],因其具有强大的抗凋亡作用而在化疗耐药方面发挥重要作用。

在中医学中,肺癌属“肺”,“肺壅”,“息贲”,“息积”等范畴,正气不足或相对不足是发病的内在根据,邪气是发病的重要条件。明·李中梓《医宗必读》亦云:“积之成也,正气不足,而后邪气踞之。”肺癌乃本虚标实之证,正虚是此病之本。十全大补汤原方出自《太平惠民和剂局方》,是益气补血、扶正固本的经典方,具有补气养血,滋阴温阳的作用,通

常用于治疗诸虚不足,如久病体虚,气血不足,虚劳咳嗽,崩漏不止,疮疡不敛等。现代医学研究显示^[11-13],十全大补汤在抗肿瘤方面有显著的功效,可以通过增强机体免疫力,抑制恶性肿瘤的增殖,促进肿瘤细胞凋亡,预防肿瘤侵袭转移,减轻放,化疗不良反应等方面发挥作用。

本研究结果显示十全大补汤含药血清与 DDP 存在协同增效作用,随着含药血清浓度的升高,DDP 对 A549/DDP 细胞的 IC₅₀ 逐渐降低,以中、高剂量组最显著。十全大补汤含药血清可以下调 A549/DDP 细胞 Survivin 蛋白的表达,以中、高剂量组最明显,β-catenin 蛋白的表达变化趋势与 Survivin 蛋白一致。GSK-3β 的活性是由特定位点的磷酸化调节的^[14],其氮末端 Ser9 磷酸化后活性大幅度下降。本研究发现,十全大补汤含药血清对 A549/DDP 细胞浆 GSK-3β 蛋白的表达无影响,但可以下调胞浆 p-GSK-3β^{ser9} 蛋白的表达,以中、高剂量组最显著,故可推测十全大补汤含药血清可以增强 A549/DDP 细胞浆中 GSK-3β 的活性。

综上所述,十全大补汤含药血清可以下调 A549/DDP 细胞浆 p-GSK-3β^{ser9} 蛋白及细胞总 β-catenin, survivin 蛋白的表达,其干预 DDP 耐药的可能机制可能是十全大补汤含药血清增强 A549/DDP 细胞浆中 GSK-3β 的活性,从而使 β-catenin 磷酸化降解增加,最终导致 Wnt/β-catenin 信号通路靶基因 survivin 表达受抑。

[参考文献]

[1] 郭其森. 非小细胞肺癌内科治疗的现状[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2009, 16(10): 721-725.
[2] Chang A. Chemotherapy, chemoresistance and the changing treatment landscape for NSCLC [J]. Lung Cancer, 2011, 71 (1): 3-10.
[3] Gao Y, Liu Z, Zhang X, et al. Inhibition of cytoplasmic GSK-3β increases cisplatin resistance through activation of Wnt/β-catenin signaling in A549/DDP cells [J].

Cancer Lett, 2013, 336(11): 231-239.
[4] Brabec V, Kasparkova J. Molecular aspects of resistance to antitumor platinum drugs [J]. Drug Resist Updat, 2002, 5 (3/4): 147-161.
[5] 张笑辰, 张丽锦, 邹蕴, 等. 顺铂及顺铂载体的研究进展[J]. 中国当代医药, 2011, 18(22): 25-27.
[6] 高原, 刘赞, 张秀伟, 等. Wnt/β-catenin 信号转导通路 与肺腺癌顺铂耐药作用机制研究[J]. 中华肿瘤防治 杂志, 2014, 21(11): 805-810.
[7] Schaefer K L, Eisenacher M, Braun Y, et al. Microarray analysis of Ewing's sarcoma family of tumours reveals characteristic gene expression signatures associated with metastasis and resistance to chemotherapy [J]. Eur J Cancer, 2008, 44 (5): 699-709.
[8] Guo L, Liu Y, Bai Y, et al. Gene expression profiling of drug-resistant small cell lung cancer cells by combining microRNA and cDNA expression analysis [J]. Eur J Cancer, 2010, 46 (9): 1692-1702.
[9] Sun H B, Zheng H Y, Yan X. Survivin silencing enhances radiosensitivity in oral squamous cell carcinoma cell [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2014, 18 (18): 2678-2686.
[10] Kriehoff E, Behrens J, Mayr B. Nucleo-cytoplasmic distribution of beta-catenin is regulated by retention [J]. J Cell Sci, 2006, 119 (Pt 7): 14531-1463.
[11] 张永军, 包素珍, 张爱琴, 等. 十全大补汤对 Survivin 蛋白表达的影响 [J]. 中华中医药学刊, 2008, 26 (11): 2504-2506.
[12] 郭刚, 许建华, 韩建宏, 等. 十全大补汤抑制 Lewis 肺癌原发瘤切除后转移瘤的研究 [J]. 中国实验方剂学 杂志, 2012, 18(10): 279-284.
[13] 曹志然, 韩艳梅, 戎瑞雪, 等. 十全大补汤对移植乳腺 癌小鼠免疫抑瘤作用的实验研究 [J]. 时珍国医国 药, 2007, 16(4): 1025-1026.
[14] Manoukian A S, Woodgett J R. Role of glycogen synthase kinase-3 in cancer: regulation by Wnts and other signaling pathways [J]. Adv Cancer Res, 2002, 84: 203-229.

[责任编辑 聂淑琴]