

# 苯丙素甙逆转大肠癌耐药与凋亡的关系

马强, 张方信, 吕志诚, 陈嘉屿, 康生朝

马强, 张方信, 吕志诚, 陈嘉屿, 康生朝, 中国人民解放军兰州军区总医院消化科 甘肃省兰州市 730030

马强, 博士后, 主治医师, 主要从事大肠癌临床及基础研究.

作者贡献分布: 此课题由马强设计; 研究过程由吕志诚与张方信完成; 研究所用新试剂及分析工具由康生朝提供; 数据分析由马强与陈嘉屿完成; 本论文写作由马强完成.

通讯作者: 马强, 博士后, 主治医师, 730030, 甘肃省兰州市, 中国人民解放军兰州军区总医院消化科. maqiang.45@163.com 电话: 0931-8994274

收稿日期: 2009-05-23 修回日期: 2009-07-15

接受日期: 2009-07-27 在线出版日期: 2009-08-18

## Phenylpropanoid glycoside reverse multidrug resistance of colon carcinoma LoVo/Adr cells through induction of apoptosis

Qiang Ma, Fang-Xin Zhang, Zhi-Cheng Lv, Jia-Yu Chen, Sheng-Zhao Kang

Qiang Ma, Fang-Xin Zhang, Zhi-Cheng Lv, Jia-Yu Chen, Sheng-Zhao Kang, Department of Gastroenterology, General Hospital of Lanzhou Military Area Command of Chinese PLA, Lanzhou 730030, Gansu Province, China

Correspondence to: Doctor Qiang Ma, Department of Gastroenterology, General Hospital of Lanzhou Military Area Command of Chinese PLA, Lanzhou 730030, Gansu Province, China. maqiang.45@163.com

Received: 2009-05-23 Revised: 2009-07-15

Accepted: 2009-07-27 Published online: 2009-08-18

### Abstract

**AIM:** To investigate the relationship between the reversing effect of phenylpropanoid glycoside (PPG) on multidrug resistance of colon carcinoma LoVo/Adr cells and apoptosis.

**METHODS:** LoVo/Adr cells were divided into three groups: non-treatment (negative control) group, PPG treatment group (treated with 40 mg/L PPG) and verapamil treatment (positive control) group (treated with 5 mg/L VP). The effects of PPG on multidrug resistance of LoVo/Adr cells were examined by MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide) assay. The effects of PPG on cell apoptosis were detected by flow cytometry. The effects of PPG on the activity of Caspase-3 were evaluated by determining pNA release rate.

**RESULTS:** PPG could decrease the half maximal inhibitory concentration ( $IC_{50}$ ) of adriamycin in LoVo cells and reverse their resistance to adriamycin. The reversal index was 9.93. PPG could significantly induce the apoptosis of LoVo cells when compared with the non-treatment group ( $P < 0.01$ ). The rate of pNA release in the PPG treatment group was significantly higher than that in the non-treatment group ( $31.75 \pm 4.34$  pmol/min vs  $18.45 \pm 2.39$  pmol/min,  $P < 0.01$ ). Caspase-3 inhibitor Z-VAD-FMK could significantly inhibit PPG-induced pNA release ( $17.69 \pm 2.68$  pmol/min vs  $31.75 \pm 4.34$  pmol/min,  $P < 0.01$ ).

**CONCLUSION:** PPG reverse multidrug resistance of LoVo/Adr cells perhaps through induction of Caspase 3-dependent apoptosis.

**Key Words:** Phenylpropanoid glycoside; Multidrug resistance; Reverse; Apoptosis

Ma Q, Zhang FX, Lv ZC, Chen JY, Kang SZ. Phenylpropanoid glycoside reverse multidrug resistance of colon carcinoma LoVo/Adr cells through induction of apoptosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2009; 17(23): 2357-2361

### 摘要

**目的:** 探讨苯丙素甙化合物逆转大肠癌耐药与凋亡的关系.

**方法:** 实验分3组: LoVo/Adr细胞组(空白对照组); LoVo/Adr细胞+PPG 40 mg/L组(实验组); LoVo/Adr细胞+VP 5 mg/L(阳性对照组). 采用MTT法检测苯丙素甙对LoVo/Adr细胞的耐药性; 流式细胞仪分析苯丙素甙对大肠癌耐药LoVo细胞的凋亡的作用; 通过检测pNA量观察苯丙素甙对LoVo/Adr细胞Caspase-3的活性.

**结果:** 苯丙素甙可降低阿霉素对LoVo/Adr细胞的 $IC_{50}$ 值, 具有逆转作用, 其逆转倍数为9.93; 他还可引起LoVo/Adr细胞凋亡, 与对照组相比, 具有显著性差异( $P < 0.01$ ). 经苯丙素甙作用后, LoVo/Adr细胞pNA释放量明显增加( $31.75 \pm 4.34$  pmol/min vs  $18.45 \pm 2.39$  pmol/min,  $P < 0.01$ ), 而同时加入Caspase-3抑制剂Z-VAD-FMK, pNA释放量明显低于实验组( $17.69$

### ■背景资料

苯丙素甙是从我国西北植物马先蒿中提取的化合物, 苯丙素甙类化合物在肿瘤中可抑制端粒酶活性, 诱导细胞凋亡. 鉴于凋亡与耐药关系密切, 强烈暗示苯丙素甙可能具有逆转多药耐药(MDR)的作用.

### ■同行评议者

蔡开琳, 副教授, 华中科技大学同济医学院附属协和医院普通外科; 钱睿哲, 教授, 复旦大学上海医学院生理与病理生理学系血管分子生物学实验室; 王小众, 教授, 福建医科大学附属协和医院消化内科

## ■研发前沿

化疗是大肠癌治疗的主要手段之一,而MDR产生则是化疗中最大的难点,天然药物具有低毒、资源丰富、作用靶点多等特点,提示开发中药耐药逆转剂有较好的前景。

$\pm 2.68 \text{ pmol/min}$  vs  $31.75 \pm 4.34 \text{ pmol/min}$ ,  $P < 0.01$ ).

**结论:** 苯丙素甙对耐药LoVo/Adr细胞具有逆转耐药作用,通过Caspase-3途径诱导凋亡可能为其逆转耐药的机制之一。

**关键词:** 苯丙素甙; 多药耐药; 逆转; 凋亡

马强, 张方信, 吕志诚, 陈嘉屿, 康生朝. 苯丙素甙逆转大肠癌耐药与凋亡的关系. 世界华人消化杂志 2009; 17(23): 2357-2361 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/2357.asp>

## 0 引言

凋亡(apoptosis)是在基因控制和酶促反应下按一定程序进行的细胞自主死亡,是机体维持自身稳定的一种基本生理机制<sup>[1-3]</sup>. 近年国外有学者认为,凋亡通路受阻,也是导致肿瘤细胞产生多药耐药(multidrug resistance, MDR)的一个原因<sup>[4-10]</sup>. 诱导肿瘤细胞凋亡,尤其是诱导耐药细胞株的凋亡有望成为逆转MDR的有效途径. 苯丙素甙(phenylpropanoid glycoside, PPG)是从我国西北植物马先蒿中提取的化合物,体外的抗癌活性已得到证实<sup>[11-13]</sup>. 文献[7]报道PPG类化合物在肿瘤中可抑制端粒酶活性,诱导细胞凋亡. 鉴于凋亡与耐药关系密切,强烈暗示PPG可能具有逆转MDR的作用,以本课题组诱导的耐药株LoVo/Adr细胞株具有P-糖蛋白(P-glycoprotein, P-gp)高表达,谷胱甘肽-S-转移酶(glutathione-S-transferase, GST)活性高等生物学特性,能在阿霉素1.0 mg/L培养基中生长,不仅对阿霉素耐药,而且对环磷酰胺、丝裂霉素和长春新碱有不同程度的交叉耐药,对5-FU无耐药性<sup>[14-16]</sup>,以此细胞株为研究基础,就PPG引起的凋亡与耐药的各方面进行探讨。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 耐药株LoVo/Adr细胞由本实验室传代保存; LoVo/Adr细胞株由本研究组采用阿霉素浓度递增法,诱导大肠癌LoVo细胞株(引自美国ATCC),历经8 mo、传代55次连续培养,成功构建. 马先蒿甙A(Pedicularioside A)由红纹马先蒿(pedicularis striata Pall)提取所得,由兰州大学有机化学实验室贾忠建教授分离鉴定并惠赠. 分子式为:  $\text{C}_{36}\text{H}_{48}\text{O}_{19}$ . RPMI 1640为Gibco公司产品; 小牛血清为杭州四季青生物制品研究所产品; Z-VAD-FMK、Caspase-3活性检测试剂盒: 碧云天生物技术有限公司; Cell Lysis Buffer: Biovision; 维拉帕

米(verapamil, VP)、阿霉素(Adriamycin, ADR)、噻唑蓝(methyl tetrazolium, MTT): Sigma公司产品; AnnexinV/FIFC Kit: 美国BD Biosciences; P1和RNase: 美国BD Biosciences; 二氧化碳电热温孵箱: 日本太阳株式会社; 低温离心机: Dupont公司; 超净工作台: 上海阳光实验仪器有限公司; FACS-420型流式细胞仪: 美国Coulter公司。

## 1.2 方法

**1.2.1 LoVo/Adr细胞的培养:** LoVo/Adr细胞接种于含100 g/L小牛血清的RPMI 1640培养液,在培养体系中加入终浓度为1.0 mg/L的ADR以维持耐药. LoVo/Adr细胞在不含ADR的RPMI 1640培养基中培养2 wk后备用。

**1.2.2 PPG对LoVo/Adr细胞耐药性的影响:** 空白对照组: LoVo/Adr细胞; 实验组: LoVo/Adr细胞+PPG 40 mg/L组; 阳性对照组: LoVo/Adr细胞+VP 5 mg/L. 采用MTT法检测PPG对LoVo/Adr细胞耐药性的影响. 取对数生长期的LoVo/Adr细胞,用RPMI 1640培养基制备成单细胞悬液,分别接种到96孔板(每孔200  $\mu\text{L}$ , 约 $1 \times 10^5$ ),  $37^\circ\text{C}$ , 50 mL/L  $\text{CO}_2$ 培养箱中培养24 h后,各组再加入ADR终浓度为0.02-5.12 mg/L的9个浓度梯度,同时加入相应浓度的PPG、VP, 每孔10  $\mu\text{L}$ , 加入各组药物(设3个复孔),再培养24 h后,每孔加入2 mg/L MTT 20  $\mu\text{L}$ 继续培养4 h,弃上清液,加入二甲基亚砷每孔150  $\mu\text{L}$ ,将平板置于微孔板振荡器上充分振荡5 min,使结晶物溶解. 酶标仪测每孔的吸光度(A)值. 计算存活率(存活率 = 实验孔A值/对照孔A值 $\times 100\%$ ). 以药物浓度为横轴,存活率为纵轴绘制浓度效应曲线,确定半数抑制浓度( $\text{IC}_{50}$ ),逆转倍数(fold reversal, FR) = 逆转前 $\text{IC}_{50}$ 值/逆转后 $\text{IC}_{50}$ 值。

**1.2.3 PPG诱导LoVo/Adr细胞凋亡实验:** 细胞分组同前. 将LoVo/Adr细胞消化、吹匀后分别种入6孔板中,加入含100 mL/L FBS的RPMI 1640培养液1 mL,  $37^\circ\text{C}$ , 50 mL/L  $\text{CO}_2$ 孵箱中孵育24 h,按预设终浓度加入PPG及VP,  $37^\circ\text{C}$ , 50 mL/L  $\text{CO}_2$ 孵箱中孵育24 h,加入2.5 g/L胰酶消化,重悬细胞.  $4^\circ\text{C}$ 离心, 800 r/min, 5 min, 弃上清.  $4^\circ\text{C}$ 预冷的PBS洗细胞2次,冰浴上用预先稀释的结合缓冲液(1份结合缓冲液+4份去离子水)重新悬浮细胞,调节其浓度为 $5 \times 10^9$  /L. 冰浴上取100  $\mu\text{L}$ 的细胞悬液于5 mL流式管中,加入5  $\mu\text{L}$  AnnexinV/FIFC和10  $\mu\text{L}$ 碘化丙锭溶液(20 mg/L). 混匀后于室温避光孵育15 min. 在反应管中加入400  $\mu\text{L}$  BPS,上流式细胞仪分析. 流式细胞仪激

## ■相关报道

国内学者证实川芎嗪、大黄素、槐香烯乳剂、浙贝母碱均可在体内、外不同程度逆转肿瘤MDR。

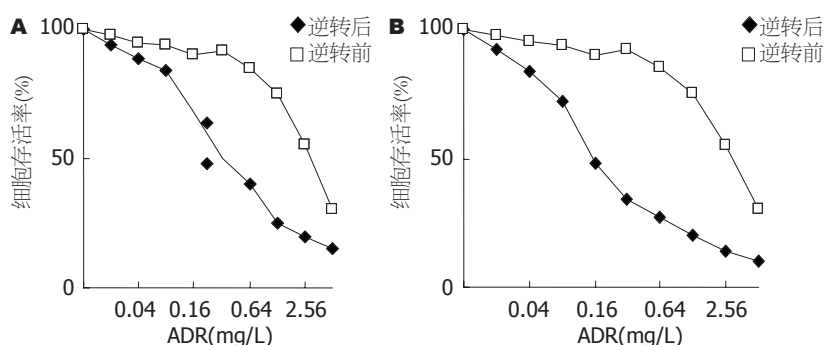


图 1 不同药物作用下LoVo/Adr细胞生长抑制曲线. A: 实验组; B: 阳性对照组.

#### ■创新盘点

本研究表明: PPG对耐药LoVo/Adr细胞具有逆转耐药作用, 通过Caspase-3途径诱导凋亡可能为其逆转耐药的机制之一.

表 1 各组药物的逆转倍数 ( $n = 3$ )

药物(mg/L)	IC <sub>50</sub> (mg/L)	逆转倍数
空白对照组	3.08	
实验组	0.31	9.93
阳性对照组	0.18	17.11

发光波长488 nm, 用波长为515 nm的通带滤器检测FITC荧光, 另一波长大于560 nm的滤器检测PI. 实验重复3次. 结果判断: 凋亡细胞对所有用于细胞活性鉴定的染料(如PI)有抗染性, 坏死细胞则不能. 细胞膜有损伤的细胞的DNA可被PI着染产生红色荧光, 而细胞膜保持完好的细胞则不会有红色荧光产生. 因此, 在细胞凋亡的早期PI不会着染而没有红色荧光信号, 正常活细胞与此相似. 在双变量流式细胞仪的散点图上, 左下象限显示活细胞, 为(FITC-/PI-); 右上象限是非活细胞, 即坏死细胞, 为(FITC/PI); 而右下象限为凋亡细胞, 显现(FITC/PI-).

1.2.4 PPG对LoVo/Adr细胞Caspase-3活性的影响: 分组: 空白对照组: LoVo/Adr细胞; 实验组1: LoVo/Adr细胞+PPG 40 mg/L组; 实验组2: LoVo/Adr细胞+PPG 40 mg/L+Z-VAD-FMK 50 mg/L. 将LoVo/Adr细胞消化、吹匀后分别转入75 cm<sup>2</sup>培养皿中, 每瓶细胞数应相等, 约 $1 \times 10^7$ , 培养液量为5 mL. 按预设终浓度分别加入PPG、Z-VAD-FMK, 37℃、50 mL/LCO<sub>2</sub>孵箱中孵育24 h. 2.5 g/L胰酶消化细胞, 收集入15 mL离心管中, 4℃离心. 细胞置于冰浴中, 冷PBS液洗2遍, 离心, 弃上清. 每管加入Cell Lysis Buffer, 调整细胞浓度为 $1 \times 10^{11}$ /L. 反复冻融以裂解细胞(置于液氮中迅速冷冻, 室温下溶化), 于冰中孵育15 min. 4℃离心, 1500 r/min, 20 min, 收集上清液于Ep管中. 立即测定Caspase-3的酶活性. Caspase-3的酶活性测定严格按照说明书进行. Caspase-3酶活力单位的定义: 一个酶活力单位定义为当底物饱和时, 在37℃, 每分钟剪切1 pmol Ac-DEVD-p-硝基苯胺(pNA)产生1 pmol pNA的

Caspase-3的酶量.

统计学处理 结果以mean±SD表示, 所测数据用SPSS统计软件进行方差分析和 $t$ 检验, 以 $P < 0.05$ 为有统计学意义.

## 2 结果

2.1 PPG对LoVo/Adr细胞耐药性的影响 当耐药细胞株分别加入PPG和VP后, 均不同程度降低了ADR对LoVo/Adr细胞的IC<sub>50</sub>值, 说明PPG具有逆转MDR的特性, PPG、VP的逆转倍数分别为9.93、17.11. 与VP相比, PPG逆转倍数明显弱于VP(图1, 表1).

2.2 PPG诱导LoVo/Adr细胞凋亡 培养体系中加入PPG、VP后继续培养24 h, PPG对LoVo/Adr细胞的影响, 更多是引起凋亡, 而坏死作用较弱, VP无此作用(图2, 表2).

2.3 PPG对LoVo/Adr细胞Caspase-3活性的影响 与LoVo/Adr细胞对照组相比, 经PPG 40 mg/L作用后, 该组pNA释放量由 $18.45 \pm 2.39$  pmol/min明显增加至 $31.75 \pm 4.34$  pmol/min( $P < 0.01$ ), 而同时加入Caspase-3抑制剂Z-VAD-FMK, pNA释放量为 $17.69 \pm 2.68$  pmol/min, 明显低于PPG 40 mg/L组( $P < 0.01$ ), 与对照组比较无差别, 从而说明PPG通过Caspase-3途径促进了LoVo/Adr细胞凋亡.

## 3 讨论

从某种意义上讲, 90%以上死于肿瘤的患者, 都与肿瘤原发或获得性抗药性有关. 据体内、外研究, 产生肿瘤抗药性可能是多种机制共同作用的结果. 其中凋亡相关基因发生突变, 他既可以加速肿瘤的进展, 又能使治疗反应减弱, 降低疗效, 这种耐药机制不同于传统的MDR机制<sup>[17-19]</sup>. 参与凋亡过程调控的基因表达失控, 例如激活细胞凋亡基因的丢失或抑制细胞凋亡基因的过度表达, 都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. 有趣的是, 众多报道<sup>[20-25]</sup>都显示MDR的存在几乎都伴有抗凋亡的现象.

#### ■应用要点

本研究为苯丙素甙改善肿瘤化疗, 提供了实验支持和理论依据, 为进一步深入研究奠定基础.



# ■名词解释

多药耐药(MDR):指肿瘤细胞接触一种药物后,不但对该药产生抗药性,而且对其他结构和作用机制不同的药物也产生抗药性。

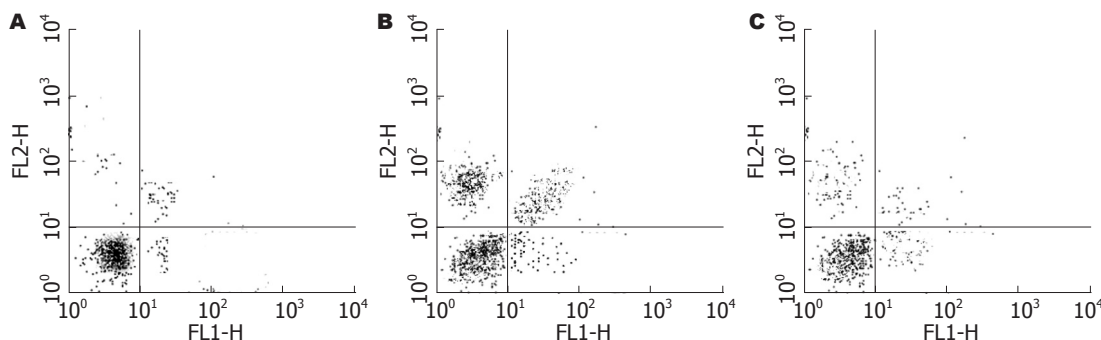


图2 LoVo/Adr细胞流式散点图. A: 空白对照组; B: 实验组; C: 阳性对照组.

表2 PPG致LoVo/Adr细胞凋亡及坏死的比较 ( $n = 3$ , mean  $\pm$  SD, %)

	凋亡	坏死
空白对照组	1.67 $\pm$ 0.21	1.58 $\pm$ 0.23
实验组	16.34 $\pm$ 0.58 <sup>b</sup>	7.45 $\pm$ 0.45 <sup>b</sup>
阳性对照组	1.78 $\pm$ 0.25	1.84 $\pm$ 0.27

<sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 对照组.

细胞凋亡<sup>[4-5]</sup>即程序化细胞死亡(programmed cell death),作为细胞死亡的方式之一,是通过系列死亡信号分子活化而导致的主动性死亡过程.其发生机制与细胞内信号转导系统所引起的基因调控有关,肿瘤细胞由于癌基因的激活和抑癌基因的失活,使分化受阻,细胞进入增殖周期,而不出现正常情况下的程序化死亡.马先蒿在我国西北称“土人参”,用于治疗虚弱、衰竭、盗汗、遗精、衰老等症,具有活血、健脾胃、安神益气等功效. PPG为从中分离的天然产物,近年来的研究发现<sup>[25-29]</sup>,这类化合物有抗病毒、抗血小板凝聚、抗氧化作用,抑制肿瘤生长的特性,PPG类化合物在肿瘤中可抑制端粒酶活性,诱导细胞凋亡.我们的实验不仅证实PPG对LoVo/Adr细胞具有致凋亡作用,而且证实了PPG可降低ADR对LoVo/Adr细胞的IC<sub>50</sub>值,具有逆转耐药的特性,其逆转倍数为9.93,提示PPG可能是通过促凋亡途径逆转耐药性的. PPG是通过什么途径诱导凋亡的呢?

目前认为化疗药物可以通过以下5种途径介导细胞凋亡<sup>[1,30-31]</sup>: (1)依赖p53介导; (2)Bcl-2介导; (3)依赖Fas/FasL途径; (4)经神经酰胺介导; (5)经Caspase-3蛋白介导. 在本实验中,我们通过测定Caspase-3作用于其底物后的产物pNA的含量来分析Caspase-3活性的变化.结果显示,LoVo/Adr细胞经PPG作用后, Cspase-3活性显著增加,而同时加入Caspase-3活性抑制剂后, Cspase-3活性又明显下降,表明PPG通过Caspase途径促进了LoVo/

Adr细胞的凋亡. 国外学者<sup>[32-35]</sup>通过对P-gp与细胞凋亡的关系进行深入研究,提出P-gp除传统的药泵功能外,他还对Caspase依赖的途径具有保护作用.可能的机制为: (1)ATP是激活Caspase-3的重要成分, P-gp通过改变细胞内ATP水平影响细胞凋亡; (2)能使细胞内碱化,能够诱导一种新的Na<sup>+</sup>和Cl<sup>-</sup>依赖跨膜H<sup>+</sup>转运,导致细胞内pH增加,这样使得Caspase处于失活状态,从而起到保护作用. 本实验LoVo/Adr细胞中存在P-gp耐药途径<sup>[8]</sup>,我们推测PPG可能抑制了P-gp磷酸化程度,减弱了对Caspase依赖的途径具的保护作用,激活了Caspase-3活性,从而促进LoVo/Adr细胞的凋亡,逆转了耐药. 以上推测需今后研究进一步证实.

总之, 研究表明: PPG对耐药LoVo/Adr细胞具有逆转耐药作用,通过Caspase-3途径诱导凋亡可能为其逆转耐药的机制之一.

## 4 参考文献

- Shannan B, Seifert M, Leskov K, Willis J, Boothman D, Tilgen W, Reichrath J. Challenge and promise: roles for clusterin in pathogenesis, progression and therapy of cancer. *Cell Death Differ* 2006; 13: 12-19
- Mandal D, Mazumder A, Das P, Kundu M, Basu J. Fas-, caspase 8-, and caspase 3-dependent signaling regulates the activity of the aminophospholipid translocase and phosphatidylserine externalization in human erythrocytes. *J Biol Chem* 2005; 280: 39460-39467
- Wang W, Ho WC, Dicker DT, MacKinnon C, Winkler JD, Marmorstein R, El-Deiry WS. Acridine derivatives activate p53 and induce tumor cell death through Bax. *Cancer Biol Ther* 2005; 4: 893-898
- Silva KL, Vasconcellos DV, Castro ED, Vasconcelos Fda C, Bigni R, Maia RC. Bisphosphonates induce apoptosis in CLL cells independently of MDR phenotype. *Cancer Chemother Pharmacol* 2008; 62: 165-171
- Sun W, Wang W, Kim J, Keng P, Yang S, Zhang H, Liu C, Okunieff P, Zhang L. Anti-cancer effect of resveratrol is associated with induction of apoptosis via a mitochondrial pathway alignment. *Adv Exp Med Biol* 2008; 614: 179-186
- Yajima T, Ochiai H, Uchiyama T, Takano N, Shibahara T, Azuma T. Resistance to cytotoxic

- chemotherapy-induced apoptosis in side population cells of human oral squamous cell carcinoma cell line Ho-1-N-1. *Int J Oncol* 2009; 35: 273-280
- 7 Jiang Z, Chen BA, Xia GH, Wu Q, Zhang Y, Hong TY, Zhang W, Cheng J, Gao F, Liu LJ, Li XM, Wang XM. The reversal effect of magnetic Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles loaded with cisplatin on SKOV3/DDP ovarian carcinoma cells. *Int J Nanomedicine* 2009; 4: 107-114
  - 8 Nardinocchi L, Puca R, Sacchi A, D'Orazi G. Inhibition of HIF-1 $\alpha$  activity by homeodomain-interacting protein kinase-2 correlates with sensitization of chemoresistant cells to undergo apoptosis. *Mol Cancer* 2009; 8: 1
  - 9 Wrzal PK, Bettaieb A, Averill-Bates DA. Molecular mechanisms of apoptosis activation by heat shock in multidrug-resistant Chinese hamster cells. *Radiat Res* 2008; 170: 498-511
  - 10 Mashima T, Seimiya H, Chen Z, Kataoka S, Tsuruo T. Apoptosis resistance in tumor cells. *Cytotechnology* 1998; 27: 293-308
  - 11 Kuo YH, Hsu YW, Liaw CC, Lee JK, Huang HC, Kuo LM. Cytotoxic phenylpropanoid glycosides from the stems of Smilax china. *J Nat Prod* 2005; 68: 1475-1478
  - 12 Morikawa T, Sun B, Matsuda H, Wu LJ, Harima S, Yoshikawa M. Bioactive constituents from Chinese natural medicines. XIV. New glycosides of beta-carboline-type alkaloid, neolignan, and phenylpropanoid from *Stellaria dichotoma* L. var. *lanceolata* and their antiallergic activities. *Chem Pharm Bull (Tokyo)* 2004; 52: 1194-1199
  - 13 Díaz AM, Abad MJ, Fernández L, Silván AM, De Santos J, Bermejo P. Phenylpropanoid glycosides from *Scrophularia scorodonia*: in vitro anti-inflammatory activity. *Life Sci* 2004; 74: 2515-2526
  - 14 马强, 张振书, 王群英, 钟世顺, 李恕军, 赖卓胜. 结肠癌细胞多药耐药模型LoVo/Adr的建立及其耐药相关基因的表达. *中华消化杂志* 2002; 22: 412-415
  - 15 马强, 张振书, 张亚历, 赖卓胜. 人结肠癌LoVo/Adr细胞耐药性与细胞内Ca<sup>2+</sup>浓度的关系. *癌症* 2002; 21: 846-849
  - 16 马强, 张振书, 孙爱民, 王群英. 大肠癌耐药LoVo/Adr细胞PKC $\alpha$ 型与MDR的关系. *第四军医大学学报* 2004; 25: 240-242
  - 17 Lage H. An overview of cancer multidrug resistance: a still unsolved problem. *Cell Mol Life Sci* 2008; 65: 3145-3167
  - 18 Li X, Hong L, Zhao Y, Jin H, Fan R, Du R, Xia L, Luo G, Fan D. A new apoptosis inhibitor, CIAPIN1 (cytokine-induced apoptosis inhibitor 1), mediates multidrug resistance in leukemia cells by regulating MDR-1, Bcl-2, and Bax. *Biochem Cell Biol* 2007; 85: 741-750
  - 19 Duarte N, Varga A, Cherepnev G, Radics R, Molnár J, Ferreira MJ. Apoptosis induction and modulation of P-glycoprotein mediated multidrug resistance by new macrocyclic lathyrane-type diterpenoids. *Bioorg Med Chem* 2007; 15: 546-554
  - 20 de Groot DJ, van der Deen M, Le TK, Regeling A, de Jong S, de Vries EG. Indomethacin induces apoptosis via a MRP1-dependent mechanism in doxorubicin-resistant small-cell lung cancer cells overexpressing MRP1. *Br J Cancer* 2007; 97: 1077-1083
  - 21 Hammond CL, Marchan R, Krance SM, Ballatori N. Glutathione export during apoptosis requires functional multidrug resistance-associated proteins. *J Biol Chem* 2007; 282: 14337-14347
  - 22 Ceruti S, Mazzola A, Abbracchio MP. Resistance of human astrocytoma cells to apoptosis induced by mitochondria-damaging agents: possible implications for anticancer therapy. *J Pharmacol Exp Ther* 2005; 314: 825-837
  - 23 Sagol O, Yavuzsen T, Oztup I, Ulukus C, Ylmaz U, Alakavuklar M, Karademir S, Obuz F, Astarcoğlu H, Astarcoğlu I. The effect of apoptotic activity, survivin, Ki-67, and P-glycoprotein expression on prognosis in pancreatic carcinoma. *Pancreas* 2005; 30: 343-348
  - 24 Suárez L, Vidriales MB, Moreno MJ, López A, García-Laraña J, Pérez-López C, Tormo M, Lavilla E, López-Berges MC, de Santiago M, San Miguel JF, Orfao A; PETHEMA Cooperative Group. Differences in anti-apoptotic and multidrug resistance phenotypes in elderly and young acute myeloid leukemia patients are related to the maturation of blast cells. *Haematologica* 2005; 90: 54-59
  - 25 Allen JW, Eldadah BA, Huang X, Knobloch SM, Faden AI. Multiple caspases are involved in beta-amyloid-induced neuronal apoptosis. *J Neurosci Res* 2001; 65: 45-53
  - 26 Yu S, Liu M, Gu X, Ding F. Neuroprotective effects of salidroside in the PC12 cell model exposed to hypoglycemia and serum limitation. *Cell Mol Neurobiol* 2008; 28: 1067-1078
  - 27 Kostyuk V, Potapovich A, Suhan T, De Luca C, Pressi G, Dal Toso R, Korkina L. Plant polyphenols against UV-C-induced cellular death. *Planta Med* 2008; 74: 509-514
  - 28 Shi Y, Wang W, Huang C, Jia Z, Yao S, Zheng R. Fast repair of oxidative DNA damage by phenylpropanoid glycosides and their analogues. *Mutagenesis* 2008; 23: 19-26
  - 29 Thuan ND, Ha do T, Thuong PT, Na MK, Lee JP, Lee JH, Seo HW, Min BS, Kim JC, Bae K. A phenylpropanoid glycoside with antioxidant activity from *Picria tel-ferae*. *Arch Pharm Res* 2007; 30: 1062-1066
  - 30 刁波, 唐瑛, 文晔, 王晓昆. 丁酸钠诱导COLO205结肠癌细胞凋亡及其对caspase-3的调控. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 1558-1560
  - 31 倪志, 鲍缦夕, 刘南植, 赵秋, 覃华, 杨彦, 邱艺坚, 王婷婷. 结肠癌Lovo细胞RUNX3基因的表达与其增殖及凋亡的关系. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 711-715
  - 32 Angelini A, Iezzi M, Di Febbo C, Di Ilio C, Cuccurullo F, Porreca E. Reversal of P-glycoprotein-mediated multidrug resistance in human sarcoma MES-SA/Dx-5 cells by nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Oncol Rep* 2008; 20: 731-735
  - 33 Xue C, Haber M, Flemming C, Marshall GM, Lock RB, MacKenzie KL, Gurova KV, Norris MD, Gudkov AV. p53 determines multidrug sensitivity of childhood neuroblastoma. *Cancer Res* 2007; 67: 10351-10360
  - 34 Engi H, Vasas A, Rédei D, Molnár J, Hohmann J. New MDR modulators and apoptosis inducers from *Euphorbia* species. *Anticancer Res* 2007; 27: 3451-3458
  - 35 Inoue M, Sakuma Z, Ogihara Y, Saracoglu I. Induction of apoptotic cell death in HL-60 cells by acteoside, a phenylpropanoid glycoside. *Biol Pharm Bull* 1998; 21: 81-83

#### ■同行评价

本研究设计合理, 结果分析可靠, 具有一定的学术价值。

编辑 李军亮 电编 吴鹏联