

冬凌草甲素通过 miR-217/ABCC1 通路对索拉非尼耐药的肝癌细胞 Huh-7/Sor 增殖、凋亡的影响

安丽丽, 周 静*

驻马店市中心医院 药学部, 河南 驻马店 463000

摘要: 目的 探讨冬凌草甲素对人肝癌细胞 Huh-7 索拉非尼 (Sor) 耐药细胞株 Huh-7/Sor 的影响及其作用机制。方法 体外培养 Huh-7/Sor 细胞株, qRT-PCR 检测 miR-217 和 ABCC1 mRNA 的表达水平, Western blotting 检测 ABCC1 蛋白的表达水平; 用冬凌草甲素处理 Huh-7/Sor 细胞后, CCK-8 法检测细胞活力, Annexin V/PI 染色检测细胞凋亡, Western blotting 检测凋亡蛋白和 ABCC1 的表达水平; 数据库预测 miR-217 与 ABCC1 的结合位点, 转染 miR-217 mimic 或 inhibitor 后检测 ABCC1 的蛋白水平, 荧光素酶报告基因检测 ABCC1 3'UTR 区域活性。结果 与 Huh-7 细胞相比, Huh-7/Sor 细胞中 miR-217 的表达水平显著下调, ABCC1 的表达水平显著上调 ($P < 0.05$); 冬凌草甲素能抑制 Huh-7/Sor 细胞的增殖, 促进细胞凋亡, 上调 miR-217 的表达水平, 抑制 ABCC1 的表达 ($P < 0.05$); miR-217 能与 ABCC1 3'UTR 区域结合, 抑制 ABCC1 的蛋白表达水平 ($P < 0.05$)。结论 冬凌草甲素能通过上调 miR-217 而抑制 ABCC1 的表达, 进而抑制 Huh-7/Sor 细胞增殖, 诱导凋亡。

关键词: 冬凌草甲素; 肝细胞肝癌; 索拉非尼; 耐药性; miR-217; ABCC1

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2021)03-0441-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2021.03.004

Effect of oridonin on proliferation and apoptosis of sorafenib resistant hepatoma cell line Huh-7/Sor through miR-217/ABCC1 pathway

AN Li-li, ZHOU Jing

Department of Pharmacy, Zhumadian Central Hospital, Zhumadian 463000, China

Abstract: Objective To investigate the effect of oridonin on sorafenib resistant human hepatoma cell line Huh-7/Sor and its mechanism. **Methods** Huh-7/Sor cells were cultured *in vitro*. The mRNA expression levels of miR-217 and ABCC1 in Huh-7/Sor cells were detected by qRT-PCR and ABCC1 protein was detected by Western blotting. After treated with oridonin, the cell viability was detected by CCK-8 method, apoptosis was detected by Annexin V/PI staining, and the protein expression of apoptotic proteins and ABCC1 were detected by Western blotting. The binding sites of miR-217 and ABCC1 were predicted by database. The protein level of ABCC1 was detected by Western blotting after transfection with miR-217 mimic or inhibitor. The activity of ABCC1 3' UTR region was detected by luciferase reporter gene. **Results** Compared with Huh-7 cells, the expression level of miR-217 in Huh-7/Sor was down-regulated, and the expression level of ABCC1 was significantly up-regulated ($P < 0.05$). Oridonin inhibited the proliferation of Huh-7/Sor cells and promoted apoptosis. The expression of miR-217 was up-regulated and the expression of ABCC1 was down-regulated in Huh-7/Sor cells treated by Oridonin. miR-217 could bind with ABCC1 3' UTR region and inhibit the protein expression of ABCC1 ($P < 0.05$). **Conclusion** Oridonin could inhibit the proliferation of Huh-7/Sor cells and induce apoptosis by up regulating the expression of ABCC1 and miR-217.

Key words: oridonin; hepatocellular carcinoma; sorafenib; resistance; miR-217; ABCC1

肝细胞肝癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 是全球第三大癌症相关死亡原因。近年来, 尽管射频消融、动脉化疗栓塞 (transcatheter arterial

chemoembolization, TACE)、靶向治疗药物和肝移植等多种治疗手段的应用极大地改善了 HCC 患者的预后, 但 HCC 术后复发率高, 治疗效果差^[1]。索

收稿日期: 2020-12-15

作者简介: 安丽丽 (1986—), 女, 本科, 主管药师, 研究方向为药学。E-mail: all1986@163.com

*通信作者: 周 静 (1978—), 女, 硕士研究生, 副主任药师, 研究方向为临床药理学。E-mail: zhoujingty@163.com

拉非尼是治疗晚期 HCC 的第一个靶向治疗药物, 可通过抑制肿瘤细胞增殖、影响血管生成和诱导细胞凋亡发挥抗肿瘤作用^[2]。然而因其耐药性的产生, 严重影响治疗效果。因此, 寻找能够改善 HCC 细胞索拉非尼耐药性的药物具有十分重要的临床意义。

冬凌草甲素是冬凌草的主要生物活性成分, 已知其对卵巢癌、结肠癌、胃癌、非小细胞肺癌、肝细胞癌等多种肿瘤均有良好的治疗作用^[3-4]。有研究表明, 冬凌草甲素具有协同抗癌作用, 如冬凌草甲素可增强肺癌放疗诱导的细胞凋亡^[5]。而且能改善多种肿瘤耐药, 如通过抑制顺铂介导的自噬提高卵巢癌细胞对顺铂的敏感性^[6], 通过调节 GST-pi 和 LRP1/ERK/JNK 信号通路而诱导胰腺癌吉西他滨耐药细胞株凋亡^[7], 通过下调多药耐药相关蛋白 (multi-drug resistance, MDR) 及其下游通路而诱导人胃癌顺铂耐药细胞凋亡^[8]。但是其在肝癌耐药细胞株中的作用尚未见相关报道。因此, 本研究旨在探讨冬凌草甲素对 HCC 索拉非尼耐药细胞株的影响, 并揭示其分子机制, 为临床 HCC 的治疗药物的开发提供参考。

1 材料

冬凌草甲素 (货号 O815244, 质量分数 $\geq 99\%$) 购自上海麦克林生化科技有限公司。人肝细胞肝癌 Huh-7 细胞和索拉非尼耐药细胞株 Huh-7/Sor 购自上海美轩生物科技有限公司。Caspase-3 (货号 9662)、cleaved Caspase-3 (货号 9664)、bcl-2 (货号 4223)、人多药耐药相关蛋白 1 (ABCC1) 抗体 (货号 14685)、 β -actin (货号 3700) 抗体、羊抗鼠及羊抗兔二抗均购自美国 Cell Signaling Technology 公司, 引物由上海生工生物公司合成。PCR 相关试剂购自日本 Toyobo 公司。索拉非尼 (Sorafenib, 货号 S7379) 购自 Selleck 公司。双荧光素酶报告基因检测系统购自美国 Promega 公司。miR-217 NC、mimic 和 inhibitor 购自上海汉恒生物技术有限公司; pMir-ABCC1-Wt 和 pMir-ABCC1-Mut 报告基因载体购自苏州金唯智生物科技有限公司。

2 方法

2.1 Huh-7/Sor 细胞对索拉非尼的耐药性

Huh-7 和 Huh-7/Sor 细胞均培养于含 10% FBS、100 U/mL 青霉素和 100 mg/mL 链霉素的 DMEM 培养基中, 在 37 °C 下含 5% CO₂ 的培养箱中。取对数生长期的细胞, 稀释成 5×10^4 个/mL, 每孔 100 μ L

接种于 96 孔板中, 用不同浓度 (0、2.5、5.0、7.5、10.0、12.5 μ mol/L) 的索拉非尼分别处理细胞 48 h, 培养结束时, 每孔加入 10 μ L CCK-8 溶液, 继续培养 2 h, 在 450 nm 处测定吸光度 (A) 值。

细胞存活率=给药组 A 值/对照组 A 值

2.2 Huh-7 和 Huh-7/Sor 细胞中 miRNA-217 和 ABCC1 mRNA 和 ABCC1 蛋白表达的差异分析

用 Trizol 法提取细胞总 RNA, 逆转录合成 cDNA, 最后进行 qRT-PCR 检测 miR-217 和 ABCC1 mRNA 的表达水平。各检测基因的实时定量 PCR 引物见表 1, 以 hsa-U6 和 GAPDH 为内参计算 mRNA 相对表达量, qRT-PCR 采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算相对表达量。PCR 反应体系为 20 μ L。反应条件: 95 °C 变性 60 s, 60 °C 退火 50 s, 72 °C 延伸 60 s, 扩增 40 个循环, 最后 72 °C 延伸 10 min。

表 1 用于 qRT-PCR 检测的基因引物序列

Table 1 Sequence of gene primers for real-time quantitative PCR assay

基因	引物序列(5'→3')
hsa-miR-217	正向引物 CAGCATACATGATTCTTGTA
	反向引物 CTTTGGTGTGTTGAGATGTTGG
ABCC1	正向引物 CTCTATCTCTCCCGACATGACC
	反向引物 AGCAGACGATCCACAGCAAAA
hsa-U6	正向引物 CTCGCTTCGGCAGCACA
	反向引物 AACGCTTCACGAATTTGCGT
GAPDH	正向引物 TGTGGGCATCAATGGATTGG
	反向引物 ACACCATGTATTCCGGGTCAAT

用 RIPA 裂解细胞后, 离心获得总蛋白, 取 30 μ g 蛋白进行 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳, 蛋白转移至 PVDF 膜上, 脱脂奶粉室温封闭, TBST 洗 3 次后加入 ABCC1 和 β -actin 一抗孵育过夜, 再加入羊抗鼠或羊抗兔二抗, 用 BIO-RAD 凝胶成像仪显影后, Quantity one 软件扫描分析 2 种细胞中 ABCC1 蛋白的表达水平。

2.3 冬凌草甲素对 Huh-7/Sor 细胞增殖的影响

Huh-7/Sor 细胞接种于 96 孔板, 培养方法同“2.1”项, 培养 24 h 后分别加入 2.5、5.0、10.0 μ mol/L 冬凌草甲素, 对照组加入等体积 DMSO 培养 24、48、72 h。每组设置 6 个复孔, 每孔加入 CCK-8 溶液 10 μ L, 继续培养 2 h 后, 在 450 nm 处测定 A 值。并计算细胞增殖抑制率。

细胞增殖抑制率=1-A_{药物}/A_{对照}

2.4 冬凌草甲素对 Huh-7/Sor 细胞凋亡的影响

Huh-7/Sor 细胞接种于 6 孔板中, 分组方法和处理方法同 2.3。加入不含 EDTA 的 0.25% 胰蛋白酶进行消化, 收集细胞并经预冷 PBS 洗涤后, 用结合缓冲液调整细胞密度为 1×10^6 个/mL, 接着加入 10 μ L Annexin V-FITC、5 μ L PI 混匀, 4 $^{\circ}$ C 避光孵育 20 min, 在流式细胞仪中观察各组细胞的凋亡情况。

2.5 冬凌草甲素对 Huh-7/Sor 细胞中 ABCC1 和凋亡相关蛋白表达水平的影响

Huh-7/Sor 细胞接种于 6 孔板中, 分组方法和处理方法同“2.3”项。Western blotting 检测各组细胞中 ABCC1 和凋亡相关蛋白的表达水平, 方法同“2.2”项。

2.6 冬凌草甲素对 Huh-7/Sor 细胞中 miR-217 和 ABCC1 mRNA 表达水平的影响

Huh-7/Sor 细胞接种于 6 孔板中, 分组方法和处理方法同“2.3”项。qRT-PCR 检测各组细胞中 miR-217 和 ABCC1 的 mRNA 表达水平, 方法同“2.2”项。

2.7 miR-217 对 ABCC1 表达的影响

Huh-7 细胞接种于 6 孔板, 参照 Lipo 2000 说明书, 分别转染 miRNA-217 mimic 或 inhibitor 及其对照 miR-217 NC, 48 h 后收集细胞总蛋白, Western blotting 检测 ABCC1 的蛋白表达水平。

2.8 miR-217 对 ABCC1 启动子活性的影响

Huh-7 细胞接种于 24 孔板。参照 Lipo 2000 说明书, 分别共转染 200 ng pMir-ABCC1-Wt 和 pMir-ABCC1-Mut 荧光素酶报告基因载体、50 ng Renilla、200 ng miRNA-217 mimic 或 miR-217 inhibitor。转染 48 h 后收集细胞, 用双荧光素酶检测试剂盒检测荧光素酶活性。

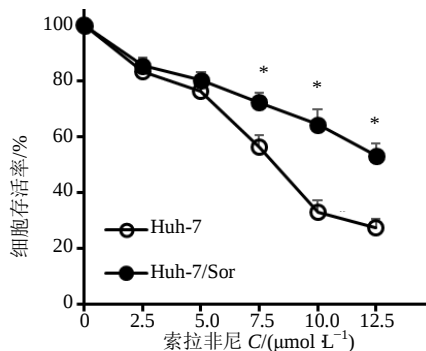
2.9 统计学方法

数据测定结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间比较采用 t 检验; 多组间比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用 LSD- t 检验。采用 SPSS 21.0 软件进行数据处理, $P < 0.05$ 被定为具有统计学意义。

3 结果

3.1 Huh-7/Sor 细胞对索拉菲尼的耐药性

用不同浓度的索拉菲尼分别处理 Huh-7 和 Huh-7/Sor 细胞 48 h, CCK-8 法检测细胞活力, 结果发现, 在 7.5、10.0、12.5 μ mol/L 索拉菲尼处理 48 h 后 Huh7/Sor 细胞活力与 Huh-7 亲本细胞相比显著增加, 均有统计学意义 ($P < 0.05$, 图 1)。这表明 Huh7/Sor 细胞已对索拉菲尼表现出明显的耐药性。



与 Huh-7 细胞比较: * $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs Huh-7 cells

图 1 不同浓度索拉菲尼对 Huh-7 和 Huh-7/Sor 细胞活力的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

Fig. 1 Effect of different concentrations of Sorafenib on the viability of Huh-7 and Huh-7/Sor cells ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

3.2 Huh-7 和 Huh-7/Sor 细胞中 miRNA-217 和 ABCC1 表达的差异分析

研究结果表明, 与亲本 Huh-7 细胞相比, Huh-7/Sor 细胞中 miRNA-217 的表达水平显著下调, ABCC1 mRNA 的表达水平显著上调 ($P < 0.05$, 表 2); 同时 Huh-7/Sor 细胞中 ABCC1 蛋白的表达水平显著上调 ($P < 0.05$, 图 2)。

3.3 冬凌草甲素对 Huh-7/Sor 细胞增殖的影响

用冬凌草甲素处理 Huh-7/Sor 细胞后, CCK-8 法检测 Huh-7/Sor 细胞的增殖活性。结果发现, 随

表 2 Huh-7 和 Huh-7/Sor 细胞中 miRNA-217 和 ABCC1 mRNA 表达水平 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

Table 2 Expression of miRNA-217 and ABCC1 mRNA in Huh-7 and Huh-7/Sor cells ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

细胞	miRNA-217	ABCC1
Huh-7	1.00 $\pm$ 0.06	1.00 $\pm$ 0.05
Huh-7/Sor	0.56 $\pm$ 0.08***	4.17 $\pm$ 0.23***

与 Huh-7 细胞比较: *** $P < 0.001$

*** $P < 0.001$ vs Huh-7 cells

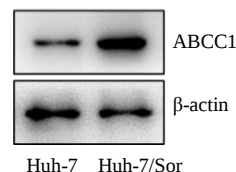


图 2 Huh-7 和 Huh-7/Sor 细胞中 ABCC1 蛋白表达

Fig. 2 ABCC1 protein expression in Huh-7 and Huh-7/Sor cells

着药物处理时间延长,冬凌草甲素不同浓度对 Huh-7/Sor 细胞增殖抑制率逐渐升高 ($P<0.05$)。在同一时间点,与对照组相比,冬凌草甲素 2.5、5.0、10.0 $\mu\text{mol/L}$ 组 Huh-7/Sor 细胞增殖抑制率明显升高,且随着浓度增加,细胞增殖抑制率逐渐增大,呈剂量相关性 ($P<0.05$)。见表 3。

3.4 冬凌草甲素对 Huh-7/Sor 细胞凋亡率的影响

与对照组相比,冬凌草甲素 2.5、5.0、10.0 $\mu\text{mol/L}$ 组 Huh-7/Sor 细胞凋亡率明显升高,差异有统计学意义 ($P<0.05$),并随处理浓度增加,细胞凋亡率逐渐增大,呈剂量相关性 ($P<0.05$)。见表 4、图 3。

表 3 冬凌草甲素对 Huh-7/Sor 细胞增殖的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)
Table 3 Effect of oridonin on proliferation of Huh-7/Sor cells ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	C/ ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	细胞增殖抑制率/%		
		24 h	48 h	72 h
对照	—	0	0	0
冬凌草 甲素	2.5	$6.78 \pm 0.87^*$	$10.28 \pm 1.45^*$	$13.98 \pm 1.98^*$
	5.0	$13.29 \pm 1.36^{**}$	$17.34 \pm 2.34^{**}$	$21.66 \pm 2.74^{**}$
	10.0	$19.37 \pm 1.73^{***}$	$25.23 \pm 3.29^{***}$	$31.24 \pm 4.50^{***}$

与对照组比较: $^*P<0.05$ $^{**}P<0.01$ $^{***}P<0.001$

$^*P<0.05$ $^{**}P<0.01$ $^{***}P<0.001$ vs control group

表 4 冬凌草甲素对 Huh-7/Sor 细胞凋亡的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 4 Effect of oridonin on apoptosis rate of Huh-7/Sor cells ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	C/($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	凋亡率/%
对照	—	5.94 ± 1.03
冬凌草甲素	2.5	$13.64 \pm 1.45^*$
	5.0	$22.62 \pm 3.74^{***}$
	10.0	$38.15 \pm 3.29^{***}$

与对照组比较: $^*P<0.05$ $^{***}P<0.001$

$^*P<0.05$ $^{***}P<0.001$ vs control group

3.5 冬凌草甲素对 Huh-7/Sor 细胞 Bcl-2、cleaved Caspase-3 蛋白表达的影响

与对照组相比,冬凌草甲素 2.5、5.0、10.0 $\mu\text{mol/L}$ 组 Huh-7/Sor 细胞 Caspase-3 蛋白表达水平显著下调,cleaved Caspase-3 蛋白表达水平明显升高,Bcl-2 蛋白表达水平明显降低,均呈剂量相关性,差异有统计学意义 ($P<0.05$)。见图 4。

3.6 冬凌草甲素对 Huh-7/Sor 细胞 miR-217 和 ABCC1 表达水平的影响

qRT-PCR 和 Western blotting 结果发现,与对照组相比,10 $\mu\text{mol/L}$ 冬凌草甲素处理后的 miR-217

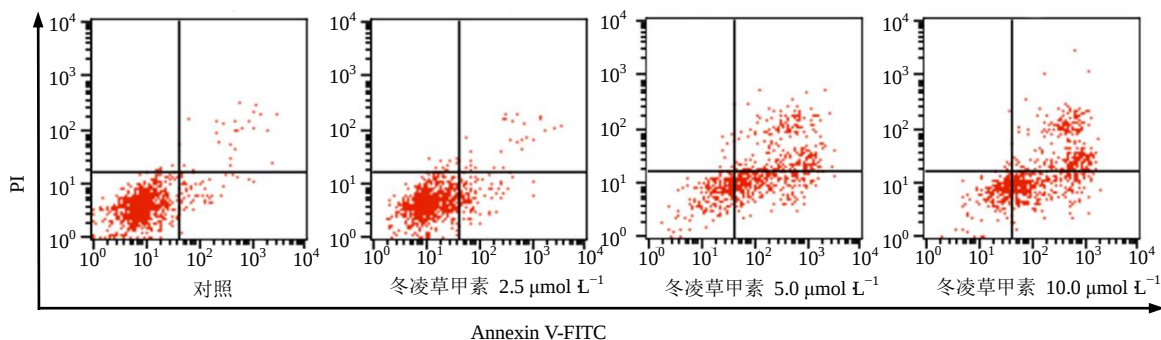


图 3 冬凌草甲素对 Huh-7/Sor 细胞凋亡的影响

Fig. 3 Effect of oridonin on apoptosis of Huh-7/Sor cells

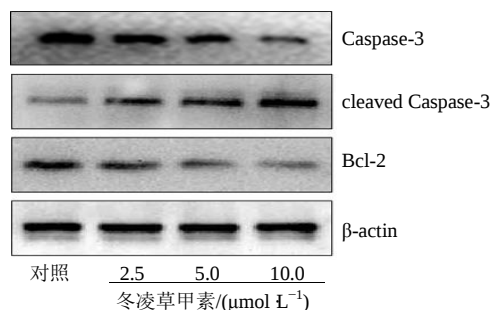


图 4 冬凌草甲素对 Huh-7/Sor 细胞 Caspase-3、cleaved Caspase-3、Bcl-2 蛋白表达的影响

Fig. 4 Effect of oridonin on Caspase-3、cleaved Caspase-3 and Bcl-2 protein in Huh-7/Sor cells

的表达水平显著上调 ($P<0.05$, 图 5), ABCC1 的 mRNA 和蛋白的表达水平显著下调 ($P<0.05$, 图 5)。

3.7 miR-217 对 ABCC1 表达的影响

为了分析 miR-217 通过调节 ABCC1 的表达参与 HCC 耐药性的分子机制,使用数据库 TargetScan (<http://www.targetscan.org>) 预测了 miR-217 与 ABCC1 的潜在结合靶点(图 6-A)。由于 Huh-7/Sor 细胞中 miR-217 的表达水平显著降低,不适合进行 miR-217 敲低实验,因此在亲本 Huh-7 细胞中转染

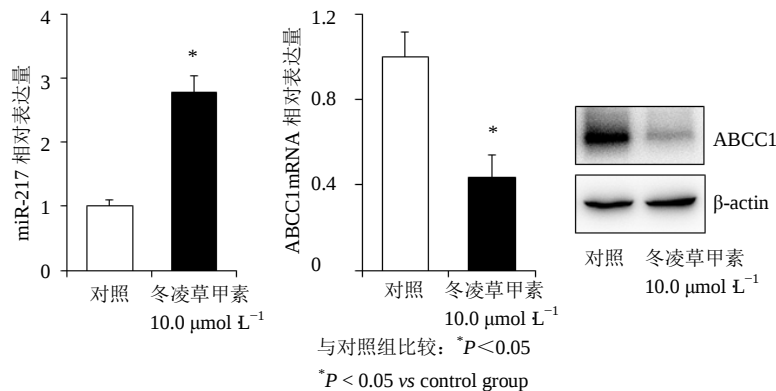


图5 冬凌草甲素对 Huh-7/Sor 细胞 miR-217 和 ABCC1 表达水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 5 Effect of oridonin on miR-217 and ABCC1 levels of Huh-7/Sor cells ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

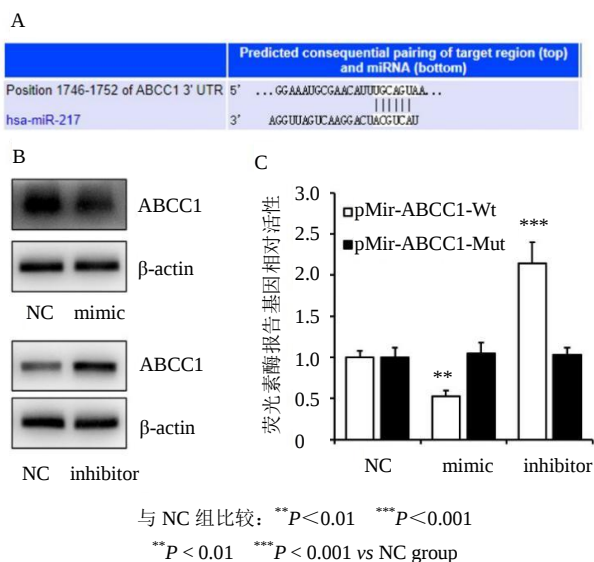


图6 miR-217 抑制 ABCC1 的蛋白表达

Fig. 6 miR-217 repressed ABCC1 expression on protein level

miRNA-217 mimic 或 inhibitor, Western blotting 检测 ABCC1 的蛋白表达水平, 结果发现 miRNA-217 mimic 能够显著下调 ABCC1 的蛋白水平, miR-217 inhibitor 能显著上调 ABCC1 的蛋白水平 (图 6-B)。为了检测 ABCC1 是否是 miR-217 的直接靶点, 构建了荧光素酶报告载体 (pMir-ABCC1-Wt) 和突变体的荧光素酶报告载体 (pMir-ABCC1-Mut), miR-217 mimic 降低了携带野生型 ABCC1 3' UTR 的载体的荧光素酶活性, inhibitor 能上调荧光素酶活性 ($P < 0.05$), 但对突变体的荧光素酶活性无影响 (图 6-C)。这些结果证明 miR-217 能靶向调节 ABCC1 蛋白的表达。

4 讨论

索拉非尼可通过抑制酪氨酸激酶和下游的丝氨酸/苏氨酸激酶活性, 从而发挥抑制肿瘤血管生成和促进肿瘤细胞凋亡等作用, 是晚期不可进行肝切

除或具有转移性 HCC 患者的标准一线治疗方案^[9]。然而索拉非尼易产生耐药, 影响其疗效, 但耐药机制不明。因此, 寻找能够诱导索拉非尼耐药细胞株凋亡的药物具有十分重要的临床意义。

miRNAs 是一种长度为 19~25 nt 的非编码 RNA, 可调控多种靶基因。miRNAs 参与了细胞周期、分化、增殖、凋亡、能量代谢和免疫应答等多种生物学过程的调控。近年来研究在癌细胞中发现多种发挥调控作用的 miRNA, 这些 miRNAs 能影响细胞对化疗药物反应的基因, 从而与肿瘤细胞对化疗药物的敏感性密切相关^[10]。如 miR-223、miR-133a 能分别通过下调三磷酸腺苷结合转运蛋白亚家族成员 B1 (ABCB1) 和多药耐药相关蛋白 1 (multidrug resistance-related protein 1, MRP1, 也称 ABCC1) 的表达而增加肝癌细胞对阿霉素的敏感性^[11-12]; miR-193a-3p 通过抑制 SRSF2 的表达降低了肝癌细胞对 5-FU 的敏感性^[13]; miRNA-195 和 miR-125b 能分别通过下调抗凋亡蛋白 Bcl-w 和 Hexokinase II 的表达而增加肝癌细胞对 5-FU 的敏感性^[14-15]。有报道称, miR-217 能够通过下调 E2F3 的表达水平而抑制肝癌细胞的侵袭^[16], 但其在肝癌细胞耐药性中的作用尚未见相关报道。本研究结果证实, 与亲本 Huh-7 细胞相比, Huh-7/Sor 细胞中 miR-217 的表达水平显著下调, 且冬凌草甲素能够通过上调 miR-217 的表达水平而改善 Huh-7/Sor 细胞对索拉非尼的敏感性, 表明 miR-217 与 Huh-7 细胞对索拉非尼耐药有关。

药物转运是药物在体内发挥效应的重要环节, 也是导致多药耐药的关键因素。多药耐药的产生与多药耐药基因和蛋白表达增多密切相关, 这些多药耐药因子多为膜转运体 ABC 超家族成员。ABC 转

运蛋白家族包含多种跨膜蛋白,可利用 ATP 水解产生的能量将与其结合的底物(药物和化学物质等)主动泵出细胞外^[17]。其中研究最多的 ABC 蛋白为 ABCB1 和 ABCC1。ABCC1 在多种肿瘤组织中高表达,参与肿瘤的多药耐药的形成,如与常规化疗药物阿霉素、长春新碱、柔红霉素等耐药有关^[18-20]。本研究结果发现, Huh-7/Sor 细胞中 ABCC1 的 mRNA 和蛋白表达水平显著上调。过表达 miR-217 mimic 能显著下调 ABCC1 的蛋白表达水平,增加 Huh-7 细胞对索拉非尼的敏感性,而 miR-217 inhibitor 能显著上调 ABCC1 的表达水平,降低 Huh-7 细胞的药物敏感性。

本研究结果表明,冬凌草甲素通过上调 Huh-7 索拉非尼耐药细胞株中 miR-217 的表达水平,进而抑制 ABCC1 的表达,从而抑制 Huh-7/Sor 细胞增殖、诱导其凋亡。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Chen Z, Xie H, Hu M, *et al.* Recent progress in treatment of hepatocellular carcinoma [J]. *Am J Cancer Res*, 2020, 10(9): 2993-3036.
- [2] Tang W, Chen Z, Zhang W, *et al.* The mechanisms of sorafenib resistance in hepatocellular carcinoma: theoretical basis and therapeutic aspects [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2020, 5(1): 87.
- [3] Ding Y, Ding C, Ye N, *et al.* Discovery and development of natural product oridonin-inspired anticancer agents [J]. *Eur J Med Chem*, 2016, 122: 102-117.
- [4] 李春雨, 王琪, 申坤, 等. 冬凌草甲素对人黑色素瘤 A375 细胞侵袭和转移的影响及机制研究 [J]. *中草药*, 2018, 49(3): 658-662.
- [5] Park H, Jeong Y J, Han N K, *et al.* Oridonin enhances radiation-induced cell death by promoting DNA damage in non-small cell lung cancer cells [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(8): 2378.
- [6] Zhao Y, Xia H. Oridonin elevates sensitivity of ovarian carcinoma cells to cisplatin via suppressing cisplatin-mediated autophagy [J]. *Life Sci*, 2019, 233: 116709.
- [7] Wang B, Shen C, Li Y, *et al.* Oridonin overcomes the gemcitabine resistant PANC-1/Gem cells by regulating GST pi and LRP/1 ERK/JNK signalling [J]. *Onco Targets Ther*, 2019, 12(7): 5751-5765.
- [8] He Z, Xiao X, Li S, *et al.* Oridonin induces apoptosis and reverses drug resistance in cisplatin resistant human gastric cancer cells [J]. *Oncol Lett*, 2017, 14(2): 2499-2504.
- [9] Sanoff H K, Chang Y, Lund J L, *et al.* Sorafenib effectiveness in advanced hepatocellular carcinoma [J]. *Oncologist*, 2016, 21(9): 1113-1120.
- [10] Si W, Shen J, Zheng H, *et al.* The role and mechanisms of action of microRNAs in cancer drug resistance [J]. *Clin Epigenetics*, 2019, 11(1): 25.
- [11] Yang T, Zheng Z M, Li X N, *et al.* MiR-223 modulates multidrug resistance via downregulation of ABCB1 in hepatocellular carcinoma cells [J]. *Exp Bio Med*, 2013, 238(9): 1024-1032.
- [12] Ma J, Wang T, Guo R, *et al.* Involvement of miR-133a and miR-326 in ADM resistance of HepG2 through modulating expression of ABCC1 [J]. *J Drug Target*, 2015, 23(6): 519-524.
- [13] Ma K, He Y, Zhang H, *et al.* DNA methylation-regulated miR-193a-3p dictates resistance of hepatocellular carcinoma to 5-fluorouracil via repression of SRSF2 expression [J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(8): 5639-5649.
- [14] Yang X, Yin J, Yu J, *et al.* miRNA-195 sensitizes human hepatocellular carcinoma cells to 5-FU by targeting BCL-w [J]. *Oncol Rep*, 2012, 27(1): 250-257.
- [15] Jiang J X, Gao S, Pan Y Z, *et al.* Overexpression of microRNA-125b sensitizes human hepatocellular carcinoma cells to 5-fluorouracil through inhibition of glycolysis by targeting hexokinase II [J]. *Mol Med Rep*, 2014, 10(2): 995-1002.
- [16] Su J, Wang Q, Liu Y, *et al.* miR-217 inhibits invasion of hepatocellular carcinoma cells through direct suppression of E2F3 [J]. *Mol Cell Biochem*, 2014, 392(1/2): 289-296.
- [17] Rees D C, Johnson E, Lewinson O. ABC transporters: the power to change [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2009, 10(3): 218-227.
- [18] Sampson A, Peterson B G, Tan K W, *et al.* Doxorubicin as a fluorescent reporter identifies novel MRP1 (ABCC1) inhibitors missed by calcein-based high content screening of anticancer agents [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 118: 109289.
- [19] Wong L K, Zhu X, Chan K F, *et al.* Discovery of novel flavonoid dimers to reverse multidrug resistance protein 1 (MRP1, ABCC1) mediated drug resistance in cancers using a high throughput platform with "Click Chemistry" [J]. *J Med Chem*, 2018, 61(22): 9931-9951.
- [20] Chen M, Li D, Gong N, *et al.* miR-133b down-regulates ABCC1 and enhances the sensitivity of CRC to anti-tumor drugs [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(32): 52983-52994.

[责任编辑 刘东博]