

## 【实验研究】

## 去甲斑蝥素通过下调c-met基因逆转肺癌A549/DDP细胞顺铂耐药的研究

路京<sup>1</sup>, 王小宁<sup>2</sup>, 郑敏<sup>1</sup>, 吴琮<sup>1</sup>, 杜思迪<sup>1</sup>, 徐乔<sup>3</sup>, 冉文文<sup>3</sup>, 熊山<sup>3\*</sup>

1. 渭南市食品药品检验所, 陕西渭南 714000

2. 渭南市药品不良反应监测中心, 陕西渭南 714000

3. 山东省医学科学院药物研究所, 山东第一医科大学, 山东济南 250062

**摘要:**目的 本研究通过去甲斑蝥素(NCTD)作用于肺癌顺铂(DDP)耐药细胞A549/DDP, 探讨其对DDP耐药的逆转作用及其相关机制。方法 应用CCK-8法检测NCTD对A549和A549/DDP细胞活力的影响、DDP对A549细胞和A549/DDP的半数抑制浓度(IC<sub>50</sub>)、NCTD联合不同浓度DDP对A549/DDP细胞DDP耐药性的影响; 细胞克隆形成实验检测NCTD、DDP单给药及NCTD与DDP联合用药对A549/DDP细胞克隆形成率的影响; Western blotting法检测A549/DDP和A549细胞中c-met表达, 以及NCTD、DDP单给药及NCTD与DDP联合用药对A549/DDP细胞内c-met蛋白表达的影响。结果 NCTD剂量相关性地抑制A549和A549/DDP细胞的活力, 选择抑制率小于10%的最大NCTD浓度即10 μmol/L作为逆转浓度; DDP作用于A549/DDP和A549细胞的IC<sub>50</sub>分别为15.11和5.04 μmol/L, 差异有统计学意义(P<0.01); A549/DDP细胞中c-met表达明显高于A549细胞; 用NCTD(10 μmol/L)处理后, DDP对A549/DDP细胞的IC<sub>50</sub>从15.11 μmol/L减少到8.06 μmol/L, 差异显著(P<0.01); 与DDP单给药组比较, NCTD联合DDP作用明显降低A549/DDP细胞克隆形成率(P<0.01); Western blotting结果显示, NCTD联合DDP作用明显抑制顺铂耐药细胞A549/DDP细胞中c-met蛋白的表达, 单用DDP或NCTD与对照组比较差异不明显。结论 NCTD与DDP联用可逆转A549/DDP细胞对DDP耐药, 其机制可能与抑制c-met蛋白表达有关。

**关键词:** 去甲斑蝥素; 肺癌; A549/DDP; c-met; 顺铂; 耐药

中图分类号: R965

文献标志码: A

文章编号: 1674-6376(2020)03-0412-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2020.03.008

## Norcantharidin reverse cisplatin resistance in A549/DDP cells by c-met

LU Jing<sup>1</sup>, WANG Xiaoning<sup>2</sup>, ZHENG Min<sup>1</sup>, WU Qiong<sup>1</sup>, DU Sidi<sup>1</sup>, XU Qiao<sup>3</sup>, RAN Wenwen<sup>3</sup>, XIONG Shan<sup>3</sup>

1. Weinan Institute for Food and Drug Control, Weinan 714000, China

2. Center for ADR monitoring of Weinan, Weinan 714000, China

3. Institute of Materia Medica, Shandong First Medical University &amp; Shandong Academy of Medical Sciences, Jinan 250062, China

**Abstract: Objective** To investigate the anti-resistance effects of norcantharidin (NCTD) on cisplatin (DDP) resistance A549/DDP cells and its reversal mechanism. **Methods** A549 and A549/DDP cells were used as a model for investigating the function of NCTD and DDP in this study. CCK-8 method was used to detect the effect of NCTD on the activity of A549 and A549/DDP cells, IC<sub>50</sub> of DDP on A549 and A549/DDP cells, and the effect of NCTD combined with DDP of different concentrations on DDP resistance of A549/DDP cells. Cell clonogenesis assay was used to detect the clonogenesis rate of A549/DDP cells treated with NCTD, DDP alone and the combination of NCTD and DDP; Western blotting was used to detect the expression of c-Met in A549/DDP and A549 cells, and the effect of NCTD, DDP alone and the combination of NCTD and DDP on the expression of c-met protein in A549/DDP cells. **Results** The cell activity of the A549 and A549/DDP cells were significantly inhibited by NCTD in a dose dependent manner. The concentration of 10 μmol/L was selected to be the reversal concentration, because its maximum rate was less than 10%. The IC<sub>50</sub> of DDP on A549/DDP and A549 cells was 15.11 and 5.04 μmol/L respectively, the difference was statistically significant (P < 0.01);

收稿日期: 2019-09-17

基金项目: 山东省医学科学院院级科技计划(2016-41)

第一作者: 路京, 女, 主管中药师, 硕士, 主要从事中药学研究。E-mail: lujing0310@163.com

\*通信作者: 熊山, 男, 助理研究员, 博士, 主要从事中药药代动力学及中药药理研究。E-mail: shanxiong83@sohu.com

The expression of c-Met in A549 / DDP cells was significantly higher than that in A549 cells; After treatment with NCTD (10  $\mu\text{mol/L}$ ), the  $\text{IC}_{50}$  of DDP on A549/DDP cells decreased from 15.11 to 8.06  $\mu\text{mol/L}$ , the difference was significant ( $P < 0.01$ ); Compared with DDP alone group, the effect of NCTD combined with DDP significantly reduced the formation of A549/DDP cell clone ( $P < 0.01$ ). Western blotting results showed that the combination of NCTD and DDP significantly inhibited the expression of c-met protein in cisplatin resistant A549/DDP cells. **Conclusion** NCTD compared with DDP can reverse the DDP resistance of A549/DDP cells, and its potential mechanism may be related to the down-regulation of c-met expression.

**Key words:** Norcantharidin; Lung cancer; A549/DDP; c-met; cisplatin; resistance

肺癌是当今世界范围内最常见的肿瘤,其总体发病率和死亡率呈上升趋势,已成为各种肿瘤死亡的首要原因,严重威胁人类健康。顺铂(cisplatin, DDP)是治疗肺癌的一种常用化疗药物,DDP的临床疗效往往受到长期治疗后耐药性发展的限制<sup>[1]</sup>。因此,如何克服DDP耐药,增强细胞对DDP的敏感性,以及研发新的治疗策略是目前临床急需解决的问题。斑蝥素是昆虫斑蝥的有效药用成分,一种半萜烯毒素物质<sup>[2]</sup>。去甲斑蝥素(Norcantharidin, NCTD)是斑蝥素的去甲基衍生物,与斑蝥素相比,毒性更小<sup>[3]</sup>。大量的实验研究表明,NCTD对肝癌、乳腺癌、骨肉瘤、肺癌、胃癌和结肠癌等多种肿瘤的生长具有显著的抑制作用,在临床上具有广泛的应用<sup>[4-6]</sup>。然而,NCTD是否能逆转DDP耐药,以及其逆转耐药的分子机制目前尚未十分明确。因此,本实验重点研究NCTD逆转肺癌A549/DDP耐药细胞株的DDP耐药,并探讨其可能的分子机制,最终为肺癌临床治疗中联合应用低浓度的NCTD和DDP提供新的治疗思路并奠定理论基础。

## 1 材料

### 1.1 细胞

人肺癌细胞系 A549 及 DDP 耐药细胞 A549/DDP,购自中国科学院上海细胞所。

### 1.2 主要试剂

DDP (20 mg, 批次 FA4A8084A), 购自齐鲁制药; NCTD (批号 MUST-19102003, HPLC 检测质量分数  $\geq 98\%$ ), 购自成都曼思特生物科技有限公司; RPMI-1640 培养液, 购自吉诺生物医药技术有限公司; 胎牛血清, 购自 Gibco 公司; BCA 蛋白定量试剂盒 (批号 20190711), 购自凯基生物; CCK-8 试剂盒, 购自碧云天生物公司; ECL 超敏发光液, 购自美国 Millipore 公司; c-met 和 GAPDH 抗体购自 Cell Signaling Technology (CST) 公司。

## 2 方法

### 2.1 CCK-8 法检测 NCTD 对 A549 及 A549/DDP 细胞活力的影响

取对数生长期 A549 及 A549/DDP 细胞, 以  $5 \times$

$10^3$ /孔接种于 96 孔细胞培养板中, 然后置  $37^\circ\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  饱和湿度培养箱中培养, 过夜待细胞贴壁后, 加入不同浓度 NCTD (10、20、40、80、160  $\mu\text{mol/L}$ ) 处理, 以二甲基亚砜 (DMSO) 溶剂组为对照组, 每个浓度设平行重复 6 孔。将细胞继续置于培养箱中培养 48 h。每孔加入 CCK-8 溶液 10  $\mu\text{L}$ , 轻轻振荡混合均匀, 在  $37^\circ\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  培养箱中继续培养 1 h 后, 终止培养。酶标仪 490 nm 波长处测定吸光度 ( $A$ ) 值, 实验重复 3 次。

### 2.2 CCK8 法检测 DDP 对 A549 细胞和 A549/DDP 的半数抑制浓度 ( $\text{IC}_{50}$ )

取对数生长期 DDP 敏感细胞 A549 及 DDP 耐药细胞 A549/DDP 用 0.25% 胰酶消化, 行细胞计数, 制成  $5 \times 10^4/\text{mL}$  单细胞悬液, 取 100  $\mu\text{L}$ , 按每孔  $5 \times 10^3$  个细胞接种于 96 孔板中, 然后置  $37^\circ\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  饱和湿度培养箱中孵育过夜, 待细胞贴壁且恢复生长活性后, 弃去培养基, 加入含 DDP 终浓度 0、2、4、8、16、32、64  $\mu\text{mol/L}$  的 RPMI-1640 培养基, 每孔 100  $\mu\text{L}$ , 每个浓度设平行重复 6 孔。将细胞继续置于培养箱中培养 48 h 后, 每孔加入 CCK-8 溶液 10  $\mu\text{L}$ , 轻轻振荡混合均匀, 在  $37^\circ\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  培养箱中继续培养 1 h 后, 终止培养。酶标仪 490 nm 波长处测定各孔的  $A$  值, 取 6 个孔的平均  $A$  值, 重复 3 次独立实验后取平均值。绘制细胞活力-DDP 浓度曲线, 根据曲线计算 DDP 对 A549 和 A549/DDP 细胞的  $\text{IC}_{50}$ 。

### 2.3 耐药逆转实验

方法同“2.2”项, 选对数生长期的 A549/DDP 细胞, 消化计数后以  $5 \times 10^3$  个/孔接种于 96 孔板。实验组分别加入药物终浓度为 0、2、4、8、16 和 32  $\mu\text{mol/L}$  的 DDP 及 10  $\mu\text{mol/L}$  的 NCTD 的含血清培养基; 对照组无 NCTD, 分别加入药物终浓度为 0、2、4、8、16 和 32  $\mu\text{mol/L}$  的 DDP 及 0.05% DMSO 的含血清培养基。分别计算出 A549/DDP 在不同 DDP 浓度下的抑制率以及各自的  $\text{IC}_{50}$ , 最终算出 NCTD 对 DDP 耐药细胞株 A549/DDP 的逆转倍数  $\text{RI} = \text{IC}_{50}(\text{对照组}) / \text{IC}_{50}(\text{实验组})$ 。

## 2.4 细胞克隆实验检测 A549/DDP 细胞克隆形成率

将对数生长期的 A549/DDP 细胞以  $2 \times 10^3$ /孔接种于 6 孔培养板中,然后置  $37^\circ\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  饱和湿度培养箱中孵育过夜,各孔中加入药物作用,分为对照组(等量溶剂)、NCTD ( $10 \mu\text{mol/L}$ ) 组、DDP ( $2 \mu\text{mol/L}$ ) 组和 NCTD 联合 DDP ( $10 \mu\text{mol/L} + 2 \mu\text{mol/L}$ ) 组,各组设 3 个复孔。将 6 孔板继续放入培养箱培养 7~10 d,待出现肉眼可见细胞群落时终止培养。弃上清,取适量 4% 多聚甲醛固定液固定 30 min,然后用 0.5% 结晶紫染色 30 min, PBS 冲洗 3 次,自然风干,拍照。计数每个培养孔内形成的克隆,并比较各组克隆形成的差异,计算克隆形成率。实验重复 3 次。

克隆形成率 = 形成克隆数/接种细胞数

## 2.5 Western blotting 法检测 c-met 蛋白的表达

收集常规培养的 A549 和 A549/DDP 细胞,用 RIPA 细胞裂解液裂解提取总蛋白样品。将 A549/DDP 细胞接种于 6 孔板中,实验分组同“2.4”项,各实验组处理 48 h 后,用 RIPA 裂解液裂解提取各组细胞的总蛋白样品。BCA 蛋白定量法测定各蛋白样品浓度定量,将定量好的蛋白样品等量上样,用 SDS-PAGE 凝胶电泳分离蛋白并电转于 PVDF 膜,然后现配 5% 脱脂牛奶(含有 0.1% 聚山梨酯 20)温室封闭 1 h,将膜用 TBST 清洗后,分别加入 c-met ( $1:1\ 000$ ) 和 GAPDH ( $1:3\ 000$ ) 一抗,  $4^\circ\text{C}$  孵育过夜。次日用 TBST 洗膜 3 次, 5 min/次,除去未结合的一抗。二抗室温孵育 1 h, TBST 洗膜 3 次, 5 min/次, ECL 发光试剂盒显色并分析条带。

## 2.6 统计学处理

使用 SPSS 17.0 统计软件进行统计分析,实验数据均采用  $\bar{x} \pm s$  表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较应用 SNK-q 检验。

## 3 结果

### 3.1 NCTD 对 A549 和 A549/DDP 细胞活力的影响

为避免 NCTD 本身对 A549/DDP 细胞增殖的影响,首先采用 CCK-8 法检测了 NCTD 对 A549 和 A549/DDP 细胞的毒性作用。如表 1 所示,低于  $10 \mu\text{mol/L}$  的 NCTD 对 A549/DDP 细胞活力影响较小,因此后续实验采用  $10 \mu\text{mol/L}$  浓度的 NCTD。

### 3.2 A549 和 A549/DDP 细胞对 DDP 的耐药性差异

如表 2 所示,DDP 耐药细胞 A549/DDP 对 DDP 耐药性显著高于其亲本细胞 A549, A549/DDP 和

A549 细胞的  $\text{IC}_{50}$  分别为  $15.11 \mu\text{mol/L}$  和  $5.04 \mu\text{mol/L}$ , 两者具有显著差异 ( $P < 0.01$ )。结果提示, A549/DDP 细胞对 DDP 的耐药性是 A549 细胞的 3 倍。

表 1 不同浓度的 NCTD 对 A549 和 A549/DDP 细胞活力的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Table 1 Effects of NCTD on viability of A549 and A549/DDP cells ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

| 组别   | 浓度/<br>( $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) | A549 细胞存活<br>率/%   | A549/DDP 细胞存<br>活率/% |
|------|------------------------------------------------|--------------------|----------------------|
| 对照   | —                                              | 100.00 $\pm$ 1.97  | 100.00 $\pm$ 3.26    |
| NCTD | 10                                             | 84.51 $\pm$ 2.48** | 94.45 $\pm$ 3.15     |
|      | 20                                             | 65.23 $\pm$ 2.42** | 91.40 $\pm$ 2.37     |
|      | 40                                             | 53.82 $\pm$ 1.89** | 88.07 $\pm$ 1.77**   |
|      | 80                                             | 30.18 $\pm$ 1.43** | 51.32 $\pm$ 3.47**   |
|      | 160                                            | 15.94 $\pm$ 1.96** | 25.15 $\pm$ 2.60**   |

与对照组比较:\*\* $P < 0.01$

\*\* $P < 0.01$  vs control group

表 2 A549 和 A549/DDP 细胞对 DDP 的  $\text{IC}_{50}$  值

Table 2  $\text{IC}_{50}$  value of A549 and A549/DDP cells

| 组别       | DDP 的 $\text{IC}_{50}$ / ( $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) |
|----------|------------------------------------------------------------------|
| A549     | 5.04                                                             |
| A549/DDP | 15.11**                                                          |

与 A549 细胞比较:\*\* $P < 0.01$

\*\* $P < 0.01$  vs A549 group

### 3.3 A549 和 A549/DDP 细胞中 c-met 蛋白的表达

如图 1 所示, DDP 耐药细胞株 A549/DDP 中 c-met 的表达明显上调,提示 c-met 可能在 DDP 耐药过程中发挥重要作用。

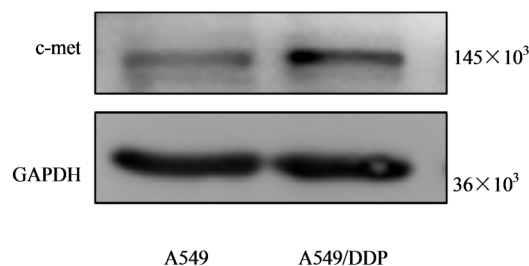


图 1 肺癌 DDP 耐药细胞中 c-met 蛋白高表达

Fig. 1 Up-regulation of c-met expression in A549/DDP cells

### 3.4 NCTD 对 A549/DDP 细胞 DDP 耐药的逆转作用

为确定 NCTD 能否逆转肺癌 A549/DDP 细胞对 DDP 的耐药,选择  $10 \mu\text{mol/L}$  NCTD 作为逆转浓度,采用 DDP 单独用药和 NCTD 联合 DDP 用药作用

A549/DDP 细胞 48 h。CCK-8 检测结果显示,经 10  $\mu\text{mol/L}$  NCTD 处理的 A549/DDP 细胞对 DDP 的  $\text{IC}_{50}$  是 8.06  $\mu\text{mol/L}$ 。用 NCTD (10  $\mu\text{mol/L}$ ) 处理后, DDP 对 A549/DDP 细胞的  $\text{IC}_{50}$  从 15.11  $\mu\text{mol/L}$  减少到 8.06  $\mu\text{mol/L}$ , 比原来降低了 53.3%, RI 为 1.87。说明 NCTD 能够显著逆转 A549/DDP 细胞对 DDP 的耐药性。结果见表 3。

表 3 NCTD 对 A549/DDP 细胞 DDP 耐药的逆转作用  
Table 3 Effects of NCTD on  $\text{IC}_{50}$  value of cisplatin in lung cells

| 组别       | DDP 的 $\text{IC}_{50}/(\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$ |
|----------|----------------------------------------------------------|
| DDP      | 15.11                                                    |
| NCTD+DDP | 8.06**                                                   |

与 DDP 组比较: \*\* $P < 0.01$

\*\* $P < 0.01$  vs DDP group

### 3.5 NCTD 联合 DDP 对 A549/DDP 细胞克隆形成的影响

用 NCTD 和 DDP 单独或联合作用于 A549/DDP 细胞, 克隆形成实验检测 NCTD 和 DDP 对 DDP 耐药细胞克隆形成的影响, 实验结果显示, 对照组 A549/DDP 细胞能在培养平面形成许多大而紧密肉眼可见的细胞克隆团, NCTD 组和 DDP 组 A549/DDP 细胞形成的克隆团数目与对照组比较有所减少, NCTD 和 DDP 联合处理组 A549/DDP 细胞形成的克隆团数目远少于对照组细胞和另外 2 个单独处理组, 如表 4 所示。通过显微镜观察计数并计算克隆形成率, 与对照组 (40.33% $\pm$ 1.04%) 比较, NCTD 和 DDP 单独作用组细胞克隆形成率分别为 (36.50% $\pm$ 0.50%) 和 (35.33% $\pm$ 0.76%), 略有下降; NCTD 和 DDP 联合处理组细胞克隆形成率为 (20.67% $\pm$ 0.76%), 与 DDP 单独给药组比较显著降低 ( $P < 0.01$ )。结果表明, NCTD 和 DDP 联合作用抑制 A549/DDP 细胞的克隆形成明显强于 NCTD 或 DDP 单独应用。

### 3.6 NCTD 联合 DDP 对 A549/DDP 细胞中 c-met 蛋白表达的影响

如图 2 所示, NCTD 联合 DDP 作用组与单用 NCTD 或 DDP 作用组比较, c-met 蛋白的表达明显减少, 而单用 DDP 或 NCTD 与对照组比较相差不大。结果提示, NCTD 可能通过下调 c-met 蛋白的表达逆转肺癌 A549/DDP 细胞的 DDP 耐药。

## 4 讨论

肺癌是目前全球发病率和死亡率极高的恶性

表 4 NCTD 联合 DDP 对 A549/DDP 细胞克隆形成的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Table 4 Effects of NCTD on clone cell number of A549/DDP cells ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

| 组别         | 剂量/ $(\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$ | 细胞克隆率/%            |
|------------|-----------------------------------------|--------------------|
| 对照         | —                                       | 40.33 $\pm$ 1.04   |
| NCTD       | 10                                      | 36.5 $\pm$ 0.50    |
| DDP        | 2                                       | 35.33 $\pm$ 0.76   |
| NCTD + DDP | 10 $\pm$ 2                              | 20.67 $\pm$ 0.76** |

与 DDP 组比较: \*\* $P < 0.01$

\*\* $P < 0.01$  vs DDP group

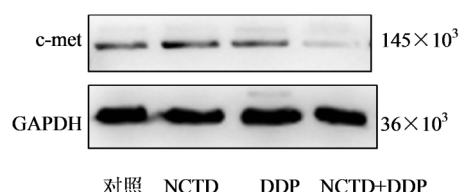


图 2 NCTD 联合 DDP 对 A549/DDP 细胞中 c-met 蛋白的影响  
Fig. 2 Protein level of c-met in A549/DDP cells treated with combination of NCTD and DDP

肿瘤之一且年轻化趋势越来越明显。由于肺癌早期不宜发现, 大多数肺癌患者在诊断时已处晚期, 失去了很多治疗机会, 因而成为我国最难治愈的肿瘤疾病<sup>[7]</sup>。化疗是重要的临床治疗手段, DDP 作为肺癌化疗中常用的一线药物在临床上得到了广泛运用, 但使用高浓度的 DDP 引起的化疗耐受增加了肺癌病人的死亡率, 是目前导致肺癌化疗失败的重要原因<sup>[8-9]</sup>。因此, 如何降低 DDP 耐药, 缓解使用 DDP 对机体产生的危害是 DDP 在临床上应用急需解决的问题。

在现代医疗中, 面对有限的细胞毒性药物的临床应用, 由于药物高毒性和耐药性的增加, 联合治疗或预防越来越受重视, 联合用药在增加疗效的基础上可最大限度的减少化疗药物的全身毒性<sup>[10]</sup>。NCTD 是一种半帖烯毒素, 是斑蝥素 1, 2 位去甲基而得的衍生物, 具有较强的抗肿瘤活性<sup>[11]</sup>, 主要用于治疗肝癌、胃癌、食管癌、肺癌、乳腺癌及结肠癌等<sup>[12]</sup>。目前研究发现 NCTD 抗肿瘤机制主要与抑制细胞增殖、诱导细胞凋亡、阻滞细胞周期、抑制细胞侵袭迁移及抑制血管新生有关<sup>[13-14]</sup>, 但是 NCTD 联合化疗药物是否能增加治疗药物的敏感性鲜有报道。

高浓度的 DDP 能够抑制肺癌细胞的增殖, 但是其加剧了细胞的耐药性和对机体产生伤害。本研究将不产生细胞毒性作用的 10  $\mu\text{mol/L}$  的 NCTD 作

用于肺癌 A549/DDP 细胞, 结果发现, 单独使用 DDP 其  $IC_{50}$  为  $15.11 \mu\text{mol/L}$ , 而 NCTD 联合 DDP 作用其  $IC_{50}$  为  $8.06 \mu\text{mol/L}$ , 逆转倍数为 1.87。本文实验结果说明逆转剂量的 NCTD 对肺癌 A549/DDP 细胞无明显抑制作用, 但与 DDP 联用后能显著增加耐药细胞对 DDP 的敏感性, 可部分逆转细胞的耐药性。同时, 与单独用药组相比, 联合用药能显著抑制克隆形成。本研究发现, DDP 耐药细胞 A549/DDP 中 c-met 蛋白的表达水平显著高于其亲本细胞 A549, c-met 在肺癌 DDP 耐药细胞中高表达, 说明 c-met 在肺癌 DDP 耐药的发生过程中可能起着非常重要的作用。联合应用低浓度的 NCTD 和 DDP 处理细胞能显著降低 A549/DDP 细胞中 c-met 蛋白的表达水平, 说明其逆转作用可能与下调 A549/DDP 细胞中 c-met 蛋白表达有关。由此推测, c-met 对非小细胞肺癌(NSCLC)DDP 的耐药性有重要的调控作用, 可作为增加 NSCLC DDP 敏感性的重要靶点。

低浓度的 NCTD 联合 DDP 作用在体外能显著增强肺癌 A549/DDP 细胞对 DDP 的敏感性。两药联合不仅提高了药物治疗效果, 还可减少单一药物的使用剂量, 进而减轻药物的不良反应。本实验初步研究表明, NCTD 能逆转肺癌 A549/DDP 细胞 DDP 耐药, 其分子机制可能与通过抑制 c-met 蛋白表达有关, 具体的机制有待于进一步的探索研究。本研究为肺癌的临床治疗中联合应用 DDP 和 NCTD 提供了新的治疗思路及理论基础。

#### 参考文献

- [1] 李 维, 刘 旭, 张国倩, 等. SOX4 对非小细胞肺癌细胞 A549 的顺铂耐药作用的影响 [J]. 中国肺癌杂志, 2017, 20(5): 298-302.
- [2] Wu H, Fan F, Liu Z, et al. Norcantharidin combined with EGFR-TKIs overcomes HGF-induced resistance to EGFR-TKIs in EGFR mutant lung cancer cells via inhibition of Met/PI3k/Akt pathway [J]. Cancer Chemother Pharmacol, 2015, 76(2): 307-315.
- [3] Zheng J, Du W, Song L J, et al. Norcantharidin induces growth inhibition and apoptosis of glioma cells by blocking the Raf/MEK/ERK pathway [J]. World J Surg Oncol, 2014, 12: 207.
- [4] 郭纪伟, 武 艳, 金 丹, 等. 去甲斑蝥素调控 YAP 增强 A549 细胞对顺铂的敏感性 [J]. 中国药理学通报, 2018, 34(5): 517-523.
- [5] Qiu P, Wang S, Liu M, et al. Norcantharidin Inhibits cell growth by suppressing the expression and phosphorylation of both EGFR and c-Met in human colon cancer cells [J]. BMC cancer, 2017, 17(1): 55.
- [6] Chen F, Wang S, Wei Y, et al. Norcantharidin modulates the miR-30a/Metadherin/ AKT signaling axis to suppress proliferation and metastasis of stromal tumor cells in giant cell tumor of bone [J]. Biomed Pharmacother, 2018, 103: 1092-1100.
- [7] 武 毅, 郭丽丽, 刘京豪, 等. MiR-503 逆转肺癌耐药细胞株 A549/DDP 的耐药性及其机制研究 [J]. 中国肺癌杂志, 2014, 17(1): 1-7.
- [8] 王广洲, 秦闫燕, 卢 洁, 等. miR-1271 对卵巢癌 SKOV3/DDP 细胞顺铂耐药的影响及其机制 [J]. 江苏大学学报, 2017, 27(2): 118-122.
- [9] 齐春胜, 高 森, 李会强, 等. 异长春花碱逆转肺癌顺铂耐药 A549/DDP 细胞耐药性的作用和机制 [J]. 中国肺癌杂志, 2014, 17(2): 148-154.
- [10] 徐国才, 王东雁, 卢淮武, 等. 雷帕霉素逆转卵巢癌细胞系 SKOV3/DDP 顺铂耐药及其机制探讨 [J]. 中山大学学报, 2018, 39(1): 68-72.
- [11] Lee Y C, Lee L M, Yang C H, et al. Norcantharidin suppresses cell growth and migration with enhanced anticancer activity of gefitinib and cisplatin in human non-small cell lung cancer cells [J]. Oncol Rep, 2013, 29 (1): 237-243.
- [12] 张 晔, 田 昕, 刘云鹏, 等. 蟾蜍灵对顺铂耐药胃癌 SGC7901 细胞增殖与凋亡的影响及其作用机制 [J]. 西安交通大学学报, 2012, 33(4): 498-514.
- [13] 谭 影, 冯 晴, 孙 信, 等. 甲基硒酸对人卵巢癌顺铂耐药细胞株 SKOV3/DDP 耐药的逆转作用及机制 [J]. 中南大学学报, 2016, 41(12): 1305-1311.
- [14] Zhang L, Ji Q, Liu X, et al. Norcantharidin inhibits tumor angiogenesis via blocking VEGFR2/MEK/ERK signaling pathways [J]. Cancer Sci, 2013, 104(5): 604-610.