

人参皂苷 Rh₂ 逆转 HepG2 细胞对 5-氟尿嘧啶耐药性作用研究

许洪亮¹, 苗红¹, 李军¹, 刘艳萍¹, 孙漫原^{2*}

1. 济南市人民医院 药剂科, 山东 济南 271199

2. 富平县第二人民医院 中医内科, 陕西 渭南 711799

摘要: 目的 研究人参皂苷 Rh₂ 逆转 HepG2 细胞对 5-氟尿嘧啶 (5-Flu) 耐药性的作用。方法 构建对 5-Flu 耐药的 HepG2 细胞系 (HepG2-5-Flu), MTT 法分别测定人参皂苷 Rh₂ 和 5-Flu (二者质量浓度均为 15.63、31.25、62.50、125.00、250.00、500.00、1 000.00、2 000.00 μg/mL)、人参皂苷 Rh₂ 和 5-Flu 不同比例 (5:1、3:1、1:1、1:3、1:5) 的混合药物 (总浓度同单给药) 对 HepG2-5-Flu 细胞存活率的影响, 利用协同作用系数 (CI) 获得人参皂苷 Rh₂ 和 5-Flu 的最佳协同作用浓度; 通过 Annexin V/PI 双染色流式细胞术检测 5-Flu (375 μg/mL)、人参皂苷 Rh₂ + 5-Flu (人参皂苷 Rh₂: 5-Flu = 1:3, 浓度为 125、375 μg/mL) 对细胞凋亡影响; 实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 法检测细胞 P-糖蛋白 (P-gp) 和多药耐药相关蛋白 (MRP) 的 mRNA 表达水平。**结果** 人参皂苷 Rh₂ 对 HepG2-5-Flu 细胞的半数抑制浓度 (IC₅₀) 为 223.3 μg/mL, 而 5-Flu 的 IC₅₀ 为 8.34 μg/mL。人参皂苷 Rh₂ 与 5-Flu 浓度比为 5:1、3:1、1:1、1:3、1:5 时, 混合药物对细胞的 IC₅₀ 分别为 324.7、224.0、219.0、135.6、105.9 μg/mL。人参皂苷 Rh₂ 和 5-Flu 比例为 5:1 时, 二者没有协同作用 (CI > 1); 当人参皂苷 Rh₂ 和 5-Flu 比例为 3:1 和 1:1 时, 药物浓度大于 62.5 μg/mL 时才有较小的协同作用 (0.6 < CI < 1); 当人参皂苷 Rh₂ 和 5-Flu 比例为 1:3 和 1:5 时, 大多数药物浓度下都有较好的协同作用 (0 < CI < 0.5)。与 5-Flu 组比较, 人参皂苷 Rh₂ + 5-Flu 组细胞坏死、早期凋亡、晚期凋亡的比例均显著升高, 活细胞比例显著下降 (P < 0.05、0.01、0.001), MDR1 和 P-gp 2 个耐药相关蛋白的 mRNA 表达显著下调 (P < 0.01)。**结论** 人参皂苷 Rh₂ 能够逆转 HepG2 细胞对 5-Flu 的耐药性, 机制可能与下调 MDR1 和 P-gp 表达相关。

关键词: 人参皂苷; 5-氟尿嘧啶; 肝癌; 药物协同; 逆转耐药性

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376 (2021) 09-1876-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2021.09.009

Reversal of 5-fluorouracil resistance in HepG2 cells by ginsenoside Rh₂

XU Hongliang¹, MIAO Hong¹, LI Jun¹, LIU Yanping¹, SUN Manyuan²

1. Department of pharmacy, Jinan City People's Hospital, Jinan 271199, China

2. Department of traditional Chinese medicine, Fuping Second People's Hospital, Weinan 711799, China

Abstract: **Objective** To study anti-liver cancer efficacy and overcome the drug resistance of 5-fluorouracil (5-Flu) that synergistically enhanced by ginsenoside Rh₂. **Methods** HepG2 cell line (HepG2-5-Flu) resistant to 5-Flu was constructed, Ginsenoside Rh₂ and 5-Flu (15.63, 31.25, 62.50, 125.00, 250.00, 500.00, 1 000.00, 2 000.00 μg/mL) were determined by MTT method, different proportions (5:1, 3:1, 1:1, 1:3, 1:5) of ginsenoside Rh₂ and 5-Flu (the total concentration was the same as single administration) on the survival rate of HepG2-5-Flu cells, and the optimal synergistic concentration of Ginsenoside Rh₂ and 5-Flu was obtained by using the synergistic coefficient. The effects of 5-Flu (375 μg/mL) and ginsenoside Rh₂ + 5-Flu (Ginsenoside Rh₂: 5-Flu = 1:3, 125, 375 μg/mL) on apoptosis were detected by Annexin V/PI double staining flow cytometry. The mRNA expression levels of P-gp and MRP were detected by real-time quantitative PCR (qRT-PCR). **Results** The 50% inhibitory concentration (IC₅₀) of Ginsenoside Rh₂ against HepG2-5-Flu cells was 223.3 μg/mL, and that of 5-Flu was 8.34 μg/mL. The IC₅₀ of ginsenoside Rh₂ and 5-Flu were 324.7, 224.0, 219.0, 135.6 and 105.9 μg/mL when the concentration ratio of ginsenoside Rh₂ and 5-Flu was 5:1, 3:1, 1:1, 1:3 and 1:5, respectively. When the ratio of ginsenosides Rh₂ and 5-Flu was 5:1, there was no synergistic effect (CI > 1). When the ratio of ginsenoside Rh₂ and 5-Flu was 3:1 and 1:1, the concentration of ginsenoside Rh₂ and 5-Flu was greater than 62.5 μg/mL (0.6 < CI < 1). When the ratio of ginsenoside Rh₂ and 5-Flu was 1:3 and 1:5, most drugs had a good synergistic effect (0 <

收稿日期: 2021-01-15

基金项目: 陕西省中医药管理局中医药科研课题 (LCMS016)

第一作者: 许洪亮 (1970—), 汉族, 山东济南人, 主管药师, 研究方向为药理学。E-mail: 1583372875@qq.com Tel: 13863427777

*通信作者: 孙漫原 E-mail: 471840556@qq.com

CI < 0.5)。Compared with the 5-Flu group, the percentages of cell necrosis, early apoptosis and late apoptosis in ginsenoside Rh₂ + 5-Flu group were significantly increased, and the percentages of living cells were significantly decreased ($P < 0.05, 0.01, 0.001$), and the mRNA expressions of MDR1 and P-GP were significantly down-regulated ($P < 0.01$). **Conclusion** Ginsenoside Rh₂ can reverse the resistance of HepG2 cells to 5-Flu, and the mechanism may be related to the down-regulation of MDR1 and P-GP expression.

Key words: Ginsenoside Rh₂; 5-fluorouracil; liver cancer; synergistical effect; drug resistance

随着人们生活水平的日益提高,肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)发病率和死亡率也逐年上升,其中,饮酒、病毒性肝炎、食物及饮水、遗传等是肝癌的主要发病因素。肝癌致死率在癌症相关死亡病例中居第2位,严重危害了人民的生命健康^[1-3]。虽然临床上对于肝癌的诊断水平有了很大提高,但是HCC患者手术率、5年生存率仍有待提高。目前临床应用的抗肝癌的小分子化疗药物作用效果有限、毒性大且易产生抗药性,患者预后情况仍有很大的改善空间^[4]。药物联用对增强既有药物的作用效果、降低耐药性、提高其安全性具有重要的临床意义。

人参皂苷是从人参属药材中提取的一种固醇类化合物,是人参中的重要活性成分^[5-6]。人参皂苷Rh₂是天然人参皂苷在肠道细菌作用下的主要降解产物之一,人参皂苷Rh₂在体内的吸收利用是人参皂苷发挥药理作用的重要形式,临床研究表明其具有抗炎、护肝、缓解骨髓抑制、增强机体免疫等重要作用^[7]。人参皂苷可以通过下调p53和降低Bcl-2/Bax比例而诱导肝癌细胞凋亡^[8],人参皂苷Rh₂在抗肝癌药物早期开发中具有一定研究价值。

5-氟尿嘧啶(5-Flu)是人工合成的抗代谢药并在临床上对消化道癌等实体肿瘤具有良好的作用效果,5-Flu在体内转变成5-氟尿嘧啶脱氧核苷酸,进而抑制脱氧胸苷酸合成酶的活性、抑制DNA的合成^[9-10]。随着科学家对癌症发病机制的深入了解和多种抗癌药物的开发上市、多种抗癌手段的临床应用(靶向治疗、免疫治疗等),癌症的临床治疗取得了重大进展,但是靶向治疗或者免疫疗法的患者响应性低、从中受益的患者数量有限,传统化疗仍然具有极其重要的临床使用价值。5-Flu仍是治疗多种恶性肿瘤如肝癌、结直肠癌、乳腺癌等的一线治疗药物之一^[11]。但是5-Flu的作用效果有限、毒副作用(呕吐、胃炎等)大以及其耐药性是其单独用药的重要制约因素,临床上多采用联合用药的方式来降低其用药剂量,从而降低其毒副作用并克服耐药性^[12-14]。

本研究将通过优化人参皂苷Rh₂和5-Flu比例,确定最佳协同药物联用方案,并初步研究了人参皂

苷Rh₂逆转HepG2细胞对5-Flu耐药的原因,为体内联合用药的抗肿瘤作用效果提供重要参考。

1 材料

1.1 细胞

HepG2细胞,购自中国科学院昆明动物研究所细胞库。

1.2 药物及主要试剂

人参皂苷Rh₂(货号G12911,质量分数98%)、5-Flu(货号F93580,质量分数98%),均购自上海吉至生化科技有限公司;RPMI 1640培养基(美国Gibco公司);胎牛血清、青霉素-链霉素-胰酶购自杭州四季青生物科技有限公司;MTT(碧云天生物技术有限公司);Annexin V-FITC/PI凋亡检测试剂盒(CA1020-20T, Solarbio);P-糖蛋白(P-gp)和多药耐药相关蛋白(MRP)、 β -actin引物(Invitrogen公司);Trizol、RT-PCR试剂盒(TaKaRa公司)。

1.3 主要仪器

EnVision多功能酶标仪,英国Perkin公司;实时荧光定量PCR(qRT-PCR)仪,美国ABI公司,型号ABI 7300;流式细胞分析仪,多维高清流式细胞分析仪LSRFortessa SORP,美国BD公司。

2 方法

2.1 细胞培养及耐药细胞系的建立

HepG2细胞培养在含10% FBS和1%青霉素-链霉素的RPMI 1640培养基中,于37℃、5% CO₂、100%湿度的培养箱环境中单层贴壁生长,传代培养。

待生长稳定后,取对数生长期HepG2细胞,加入含6 μ g/mL 5-Flu的RPMI 1640培养液,37℃、5% CO₂培养24 h,用不含Ca²⁺、P³的磷酸盐缓冲液D-Hanks洗1次,将细胞培养于无药RPMI 1640完全培养液中,待细胞恢复生长后,反复用5-Flu冲击处理,同时逐渐增加药物浓度,经过8次冲击至5-Flu药物浓度达40 μ g/mL,建立耐药细胞株HepG2-5-Flu。待细胞恢复生长后将其维持培养于含5-Flu 10 μ g/mL的RPMI 1640完全培养液中,每2~3天传代1次。撤药2周后进行细胞实验。

2.2 细胞毒作用分析(MTT法)

取对数生长期的HepG2-5-Flu细胞,胰酶消化、

离心、培养基重悬后制备成浓度为 $4 \times 10^4/\text{mL}$ 的细胞悬液,接种于96孔板中,每孔100 μL 。细胞培养24 h后,加入不同浓度的药物处理48 h(单药和混合用药浓度见表1),对照组不加药。之后每孔加入20 μL 的MTT,培养箱内继续培养4 h后弃上清液,每孔加入DMSO 150 μL 溶解产生的结晶紫晶体(此过程可在培养箱内放置10 min加快溶解),然后用酶标仪于450 nm波长处测定各孔吸光度(A)值,每个药物浓度重复6次,计算细胞相对存活率。

$$\text{细胞相对存活率} = A_{\text{给药}}/A_{\text{对照}}$$

2.3 人参皂苷Rh₂促进5-Flu耐药细胞凋亡

取对数生长期的HepG2-5-Flu细胞,胰酶消化、离心、培养基重悬后制备成浓度为 $1 \times 10^5/\text{mL}$ 的细胞悬液,接种于6孔板中,每孔2 mL。细胞培养24 h后,加入5-Flu(375 $\mu\text{g}/\text{mL}$)、人参皂苷Rh₂+5-Flu(人参皂苷Rh₂:5-Flu=1:3,质量浓度为125、375 $\mu\text{g}/\text{mL}$),对照组不加药,处理48 h,每个样品设置3个复孔,之后按照Annexin V-FITC/PI凋亡试剂盒分析细胞凋亡情况。

2.4 qRT-PCR分析细胞MDR1和P-gp的mRNA表达情况

取对数生长期的HepG2-5-Flu细胞,胰酶消化、离心、培养基重悬后制备成浓度为 $1 \times 10^5/\text{mL}$ 的细胞悬液,接种于6孔板中,每孔2 mL。细胞培养24 h

后,加入加入5-Flu(375 $\mu\text{g}/\text{mL}$)、人参皂苷Rh₂+5-Flu(人参皂苷Rh₂:5-Flu=1:3,质量浓度为125、375 $\mu\text{g}/\text{mL}$),对照组不加药,处理48 h,每个样品设置3个复孔,按照qRT-PCR说明书分析MDR1和P-gp mRNA表达情况。引物序列见表2。

2.5 统计分析

数据采用Graphpad 6.0软件分析,结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组数据间差异用 t 检验分析。

3 结果

3.1 MTT法分析人参皂苷Rh₂和5-Flu单药及混合给药的细胞毒作用效果

不同浓度的人参皂苷Rh₂、5-Flu以及二者不同比例的混合物处理48 h后的细胞相对存活率见图1。人参皂苷Rh₂对HepG2-5-Flu细胞的半数抑制浓度(IC₅₀)为223.3 $\mu\text{g}/\text{mL}$,而5-Flu的IC₅₀为834.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。人参皂苷Rh₂与5-Flu浓度比为5:1、3:1、1:1、1:3、1:5时,混合药物对细胞的IC₅₀分别为324.7、224.0、219.0、135.6、105.9 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。结果表明,人参皂苷Rh₂明显增强5-Flu对HepG2的细胞毒作用。

为了进一步分析二者的协同作用效果,利用CompuSyn软件计算2种药物的协同作用系数(CI)。结果如图2所示,人参皂苷Rh₂和5-Flu比例为5:1时,二者没有协同作用(CI>1);当人参皂苷Rh₂和5-Flu比例为3:1和1:1时,药物质量浓度大于

表1 细胞毒实验中药物浓度设计

Table 1 Drug concentration design in cytotoxic experiments

药物	质量浓度/($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)							
人参皂苷Rh ₂	15.63	31.25	62.5	125	250	500	1 000	2 000
5-Flu	15.63	31.25	62.5	125	250	500	1 000	2 000
人参皂苷Rh ₂ /5-Flu(5:1)	13.02/2.61	26.04/5.21	52/10.5	104/21	208/42	417/83	833/167	1 666/334
人参皂苷Rh ₂ /5-Flu(3:1)	11.7/3.9	23.4/7.8	46.9/15.6	93.7/31.3	187.5/62.5	375/125	750/250	1 500/500
人参皂苷Rh ₂ /5-Flu(1:1)	7.8/7.8	15.6/15.6	31.3/31.3	62.5/62.5	125/125	250/250	500/500	1 000/1 000
人参皂苷Rh ₂ /5-Flu(1:3)	3.9/11.7	7.8/23.4	15.6/46.9	31.3/93.7	62.5/187.5	125/375	250/750	500/1 500
人参皂苷Rh ₂ /5-Flu(1:5)	2.61/13.02	5.21/26.04	10.5/52	21/104	42/208	83/417	167/833	334/1 666

表2 引物序列

Table 2 Primer sequence

基因	引物序列(5'-3')
MDR1	Forward: CCACTCCTCCACCTTTGAC Reverse: ACCCTGTTGCTGTAGCCA
P-GP	Forward: CCCATCATTGCAATAGCAGG Reverse: GTTCAAACCTTCTGCTCCTGA
GAPDH	Forward: CCTCCGTGTCCCCACT Reverse: GCCTGCTTACCACCTTC

62.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时才有较小的协同作用($0.6 < \text{CI} < 1$);当人参皂苷Rh₂和5-Flu比例为1:3和1:5时,大多数药物浓度下都有较好的协同作用($0 < \text{CI} < 0.5$)。考虑到5-Flu较大的毒副作用,在满足协同作用效果的前提下,人参皂苷Rh₂和5-Flu比例为1:3时是较为理想的比例,在后续及将来的体内协同作用效果验证实验中可采用此联合用药比例。

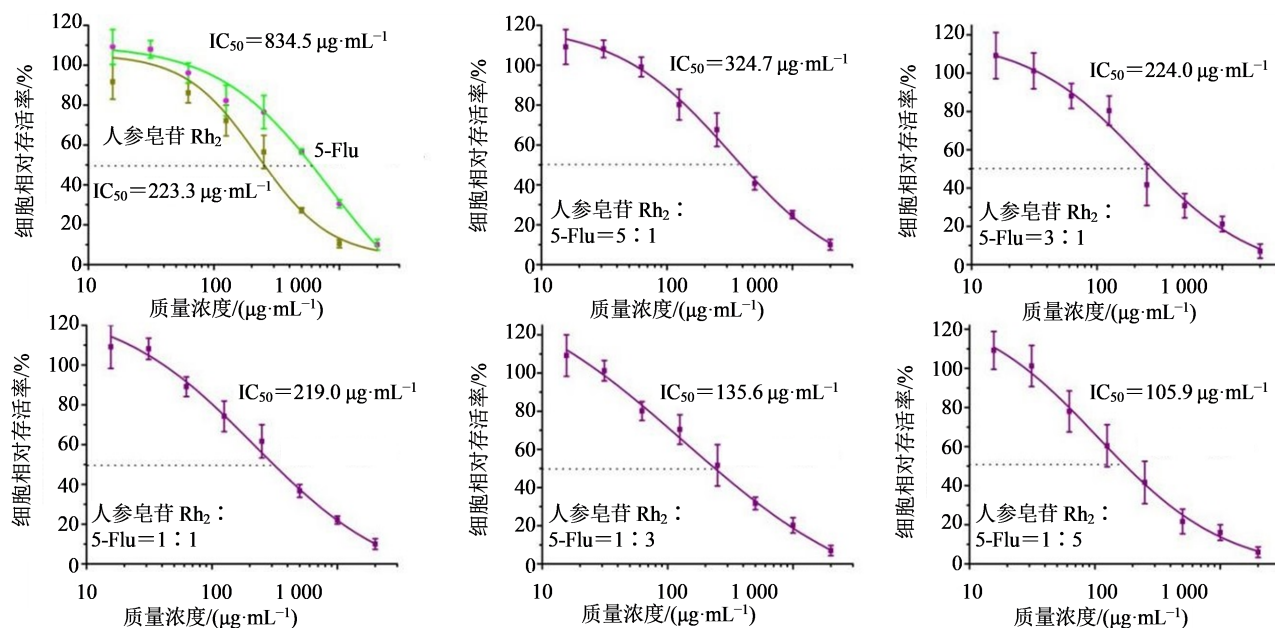
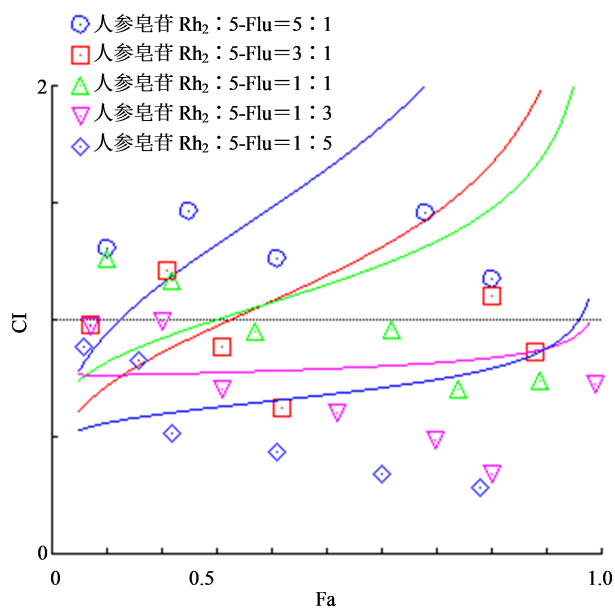
图1 人参皂苷 Rh₂ 和 5-Flu 单药及混合给药的细胞毒作用效果 ($\bar{x} \pm s, n=3$)Fig. 1 Cytotoxicity of Ginsenoside Rh₂ and 5-Flu on HepG2 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

图2 CI-Fa 曲线

Fig. 2 CI - Fa curve

3.2 Annexin V/PI 双染色法检测细胞凋亡情况

细胞凋亡实验结果(图3)表明,与对照组比较,5-Flu、人参皂苷 Rh₂ + 5-Flu 组细胞坏死、早期凋亡、晚期凋亡的比例均显著升高,人参皂苷 Rh₂ + 5-Flu 组活细胞比例显著下降 ($P < 0.05, 0.01, 0.001$);与 5-Flu 组比较,人参皂苷 Rh₂ + 5-Flu 组细胞坏死、早期凋亡、晚期凋亡的比例均显著升高,活细胞比例显著下降 ($P < 0.05, 0.01, 0.001$)。结果表明,人参皂苷 Rh₂ 促进 5-Flu 耐药细胞的凋亡的主要方式包

括促进细胞坏死,增加早期凋亡和晚期凋亡的细胞比例。

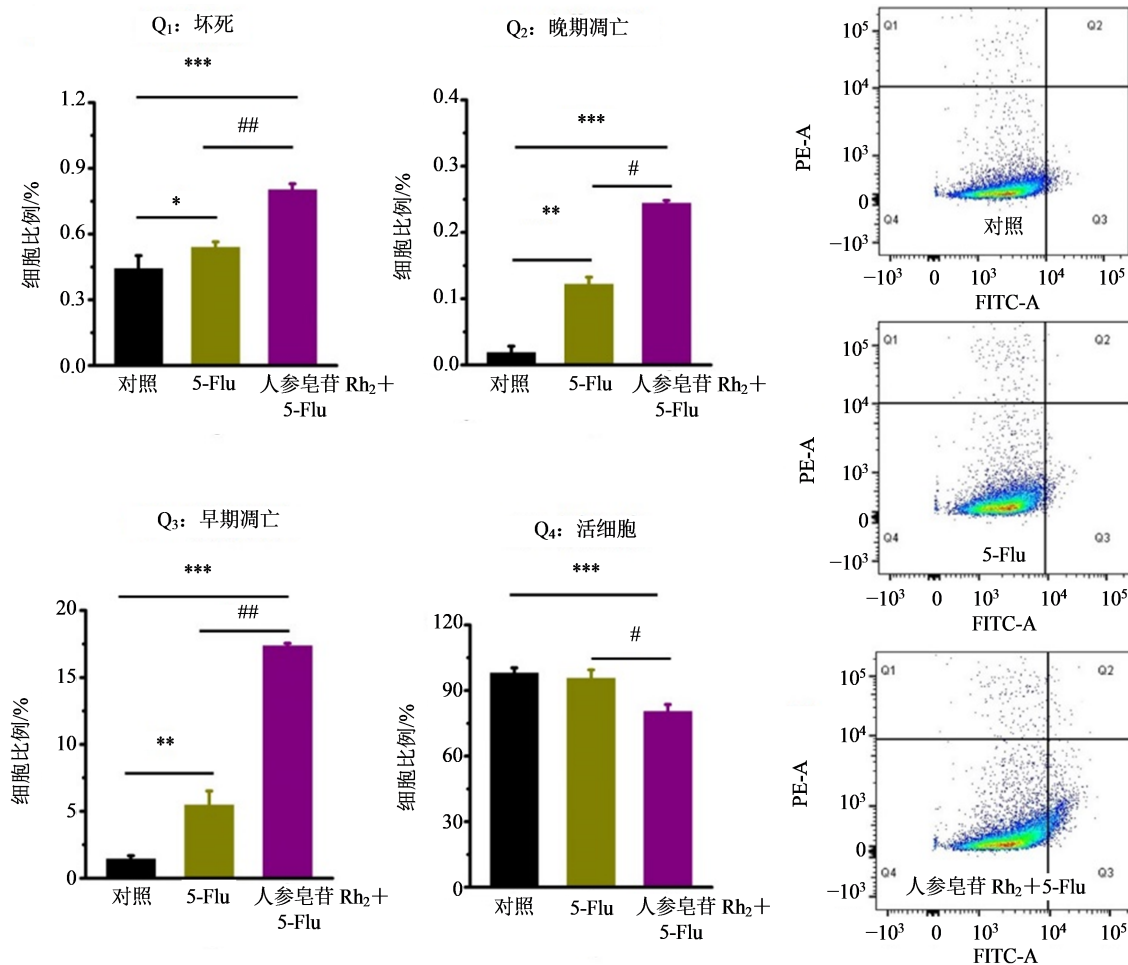
3.3 人参皂苷 Rh₂ 给药后细胞耐药基因表达情况

结果如图4所示,与对照组及 5-Flu 组比较,人参皂苷 Rh₂ + 5-Flu 给药后 MDR1 和 P-gp 2 个耐药相关基因的 mRNA 表达显著下调 ($P < 0.01$)。

4 讨论

随着生活节奏的加快,原发性肝癌的发病率和致死率居高不下。遗传、饮酒、肝炎等是诱导肝癌发生的重要因素,全球肝癌病人每年增加超过 60 万人,在中国是仅次于肺癌的高发肿瘤^[15]。由于临床诊断晚、进展快、无有效治疗手段,中晚期肝癌患者以放化疗为主要治疗手段。但肝癌对传统化疗药物的耐药性越来越显著,而且伴随着肝功能的损害,小分子药物的利用率太低,亦不能满足临床需要^[4]。开发新的药物联用方案,降低单独化疗用药的毒副作用具有重要的临床价值。

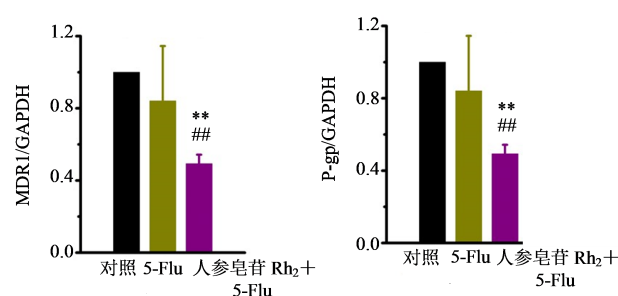
人参皂苷 Rh₂ 和 5-Flu 在肝癌治疗的研究和临床应用方面受到了广泛的关注,通过对人参皂苷 Rh₂ 的调研,本课题组推断二者具有协同的抗肿瘤效果,为了验证假设,首先,通过检测体外肝癌细胞增殖的抑制效果,结合 CompuSyn 软件分析了二者的 CI 和最佳协同作用比例,结果表明,5-Flu 和人参皂苷 Rh₂ 在浓度比为 3:1 时具有最佳的协同作用和潜在的体内抗肿瘤效果和安全性。Annexin V-FITC/PI 凋亡试剂盒的流式分析结果表明,与 5-Flu



与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$; 与5-Flu组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$
* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs control group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs 5-Flu group

图3 Annexin V/PI双染色法检测细胞凋亡情况($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 3 Cell apoptosis analyzed by Annexin V/PI test after treatment ($\bar{x} \pm s, n=3$)



与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与5-Flu组比较: ## $P < 0.01$
** $P < 0.01$ vs control group; ## $P < 0.01$ vs 5-Flu group

图4 qRT-PCR法检测细胞耐药相关基因表达水平($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 4 Comparison of expression levels of resistance-related genes detected by qRT-PCR ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组比较, 人参皂苷 Rh₂+5-Flu 组细胞坏死、早期凋亡、晚期凋亡的比例均显著升高, 活细胞比例显著下降, 说明人参皂苷 Rh₂ 促进 5-Flu 耐药细胞的凋亡的主要方式包括促进细胞坏死, 增加早期凋亡和晚

期凋亡的细胞的比例, 这与人参皂苷 Rh₂ 促进 5-Flu 的抗肿瘤效果直接相关。最后, 通过 qRT-PCR 实验分析了人参皂苷 Rh₂ 给药后细胞耐药蛋白 MDR1 和 P-gp 的相关基因表达情况, 结果表明, 人参皂苷 Rh₂ 可能通过抑制 MDR1 和 P-gp 的表达逆转了肝癌细胞对 5-Flu 的耐药性, 从而提高了肝癌细胞对 5-Flu 的敏感性。本研究为进一步的体内探索 5-Flu 和人参皂苷 Rh₂ 的联合抗肿瘤效果及逆转肝癌耐药性提供了重要的参考。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 魏矿荣, 彭侠彪, 梁智恒, 等. 全球肝癌流行概况 [J]. 中国肿瘤, 2015, 24(8): 621-630.
Wei K R, Peng X B, Liang Z H, et al. Liver cancer epidemiology worldwide [J]. China Can, 2015, 24(8): 621-630.

- [2] 中华人民共和国卫生和计划生育委员会医政医管局. 原发性肝癌诊疗规范(2017年版) [J]. 中华消化外科杂志, 2017, 16(7): 705-720.
Medical administration and hospital administration of the health and Family Planning Commission of the people's Republic of China. Specifications for the diagnosis and treatment of primary liver cancer (2017 Edition) [J]. Chin J Digest Surg, 2017, 16(7): 705-720
- [3] Wáng Y X, De Baere T, Idée J M, et al. Transcatheter embolization therapy in liver cancer: an update of clinical evidences [J]. Chin J Cancer Res, 2015, 27(2): 96-121.
- [4] 王芹芹, 胡文华. 肝癌化疗方向的研究进展 [J]. 医学综述, 2018, 24(17): 71-75.
Wang Q Q, Hu W H. Research progress in chemotherapeutic direction of liver cancer [J]. Med Recap, 2018, 24(17): 71-75.
- [5] 何道同, 王 兵, 陈珺明. 人参皂苷药理作用研究进展 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2012, 14(7): 118-121.
He D T, Wang B, Chen J M. Research progress on pharmacological effects of Ginsenoside [J]. J Liaoning Univ TCM, 2012, 14(7): 118-121.
- [6] 李晓青, 田雅娟, 杜 娟, 等. 一测多评法测定人参花中7种人参皂苷含量 [J]. 中草药, 2019, 50(24): 6120-6124.
Li X Q, Tian Y J, Du J. Determination of seven saponins in flower buds of *Panax ginseng* by quantitative analysis of multi-components by single marker [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2019, 50(24): 6120-6124.
- [7] 王卫霞, 王 谦. 人参皂苷的免疫调节作用及其应用 [J]. 中华中医药杂志, 2005, 20(4): 234-236.
Wang W X, Wang Q. Immune regulatory action of Ginsenoside and it's application [J]. China J Tradit Chin Med Pharm, 2005, 20(4): 234-236.
- [8] 曾小莉, 涂植光. 人参皂甙 Rh2 对人肝癌细胞 SMMC-7721 的诱导分化作用 [J]. 癌症, 2004, 23(8): 879-884.
Zeng X L, Tu Z g. Induction of differentiation by Ginsenoside Rh2 in hepatocarcinoma cell SMMC-7721 [J]. Chin J Can, 2004, 23(8): 879-884.
- [9] 岳 瑶. 5-氟尿嘧啶的耐药与逆转研究进展 [J]. 临床肿瘤学杂志, 2003, 8(5): 387-389.
Yue Y. Research progress of drug resistance and reverse of 5-Flu [J]. Chin Clin Oncol, 2003, 8(5): 387-389.
- [10] 姜军梅, 刘吉勇, 朱菊人. 5-氟尿嘧啶诱导人肝癌细胞凋亡的机理研究 [J]. 中华医学杂志: 英文版, 2002, 115(7): 968-971.
Jiang J M, Liu J Y, Zhu J R. Mechanism of apoptotic effects induced by 5-fluorouracil on human liver carcinoma Bel7402 cell line [J]. Chin Med J, 2002, 115(7): 968-971.
- [11] 晁艳红, 杨广建, 齐丽娟, 等. 5-氟尿嘧啶及其衍生物抗肿瘤作用的研究进展 [J]. 癌症进展, 2019, 17(1): 15-18.
Cao Y H, Yang G J, Qi L J, et al. Research progress of anti-cancer effect of 5-Flu oncology progress [J]. Oncol Progr, 2019, 17(1): 15-18.
- [12] 盛雅萍. 5-氟尿嘧啶耐药机制及其治疗 [J]. 国际肿瘤学杂志, 2006, 33(7): 502-505.
Sheng Y P. Mechanisms of resistance to 5-Flu and how to overcome them [J]. J Int Oncol, 2006, 33(7): 502-505.
- [13] 程康文, 李 琪, 詹勇强, 等. 5-氟尿嘧啶对肝癌细胞株 PLC/RAF/5 生物学特性及耐药机制的影响 [J]. 临床肝胆病杂志, 2015, 31(9): 1458-1463.
Cheng K W, Li Q, Zhan Y Q, et al. Effects of 5-fluorouracil on biological characteristics and drug resistance mechanisms of liver cancer cell line PLC/RAF/5 [J]. J Clin Hepatol, 2015, 31(9): 1458-1463.
- [14] 王 敏, 宋永茂, 邓甬川. 两种 5-Flu 持续输注方案的毒副作用观察 [J]. 实用肿瘤杂志, 2003, 18(4): 325-326.
Wang M, Song Y M, Deng Y C. Comparison of toxicity of two schemes of continuous infusion with 5-fluorouracil [J]. J Pract Oncol, 2003, 18(4): 325-326.
- [15] 文天夫. 原发性肝癌诊疗规范(2017年版)解读 [J]. 中国普外基础与临床杂志, 2018, 25(1): 32-34.
Wen T F. Interpretation of the standard of diagnosis and treatment of primary liver cancer (2017 Edition) [J]. Chin J Bases Clin Gen Surg, 2018, 25(1): 32-34.

【责任编辑 兰新新】