

人参皂苷 Rh₂ 对胃癌细胞 SGC7901/ADR 耐药敏感性的影响

胡双双¹, 闫克敏¹, 王娇娇¹, 郭 萌², 帖 君², 聂勇战², 肖海娟^{2,3*}

1. 陕西中医药大学, 陕西 咸阳 712046

2. 第四军医大学西京消化病医院, 陕西 西安 710032

3. 陕西中医药大学附属医院 肿瘤科, 陕西 咸阳 712000

摘要:目的 观察人参皂苷 Rh₂(G-Rh₂)对人胃癌 SGC7901/ADR 耐药细胞增殖、细胞周期及化疗敏感性的影响。方法 MTT 法检测 G-Rh₂ 与阿霉素(ADR)联用对 SGC7901/ADR 细胞增殖的影响,并计算逆转倍数(RF);流式细胞术检测 G-Rh₂ 对 SGC7901/ADR 细胞周期的影响;蛋白印迹法检测 G-Rh₂ 对 SGC7901/ADR 细胞 P-糖蛋白(P-gp)、Bcl-2 蛋白表达水平的影响。结果 与 ADR 单药处理后细胞的半数抑制浓度(IC₅₀)值(54.52 μmol/L)比较, G-Rh₂ 与 ADR 联用时 SGC7901/ADR 细胞 IC₅₀ 值(30.14 μmol/L)明显下降, RF 为 1.81; G-Rh₂ 与 ADR 联用能够将 SGC7901/ADR 细胞周期阻滞在 G₂/M 期,与 ADR 单药处理比较,联用组细胞 P-gp、Bcl-2 的蛋白表达水平显著降低($P < 0.05$)。结论 G-Rh₂ 联合 ADR 能够提高 SGC7901/ADR 细胞的化疗敏感性,可能通过阻滞细胞周期、增加细胞凋亡进而抑制细胞增殖。

关键词: 人参皂苷 Rh₂; SGC7901/ADR 细胞;阿霉素;耐药;化疗敏感性

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2018)17-4113-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.17.022

Effect of ginsenoside Rh₂ on drug resistance sensitivity of human gastric cancer SGC7901/ADR cells

HU Shuang-shuang¹, YAN Ke-min¹, WANG Jiao-jiao¹, GUO Meng², TIE Jun², NIE Yong-zhan²,
XIAO Hai-juan^{2,3}

1. Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712046, China

2. Xijing Hospital of Digestive Disease, The Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China

3. Department of Oncology, Hospital Affiliated to Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712000, China

Abstract: Objective To observe the effect of ginsenoside Rh₂ (G-Rh₂) on the proliferation, cell cycle and chemotherapy sensitivity of human gastric cancer cell line SGC7901/ADR. **Methods** MTT assay was used to detect the effects of G-Rh₂ and adriamycin (ADR) on the proliferation of drug-resistant SGC7901/ADR cells and to calculate the reversal fold (RF). Flow cytometry was selected to detect the effects of G-Rh₂ on cell cycle. the effects of G-Rh₂ on the expression of P-gp and Bcl-2 proteins in drug-resistant SGC7901/ADR cells was detected by Western blotting. **Results** Compared with the IC₅₀ value (54.52 μmol/L) after the ADR single drug treatment, the IC₅₀ value (30.14 μmol/L) of the cells treated with G-Rh₂ and ADR decreased significantly, and RF was 1.81. G-Rh₂ combined with ADR arrested the cell cycle in G₂/M phase and significantly decreased the protein expression of P-gp and Bcl-2 ($P < 0.05$). **Conclusion** G-Rh₂ combined with ADR could increase the chemosensitivity of SGC7901/ADR cells, which may inhibit the proliferation of gastric cancer cells by blocking cell cycle and increasing apoptosis.

Key words: ginsenoside Rh₂; SGC7901/ADR cells; adriamycin; drug resistance; chemosensitivity

据 2016 年发表的中国癌症数据统计,胃癌在所有恶性肿瘤中发病率居第 2 位,死亡率居第 3 位^[1]。化疗是目前中晚期胃癌的主要治疗手段,但由于原发性或继发性耐药常导致化疗的失败^[2]。胃癌耐药

收稿日期: 2018-02-04

基金项目: 国家自然科学基金重点资助项目(8143000538); 国家自然科学基金面上项目(8177110272); 中国博士后科学基金面上项目(2017M613351)

作者简介: 胡双双(1991—),女,陕西人,硕士研究生,从事消化道肿瘤耐药方面研究。Tel: 15706026271 E-mail: 15706026271@163.com

*通信作者 肖海娟,女,副主任医师,硕士研究生导师,主要从事中西医结合防治消化道肿瘤方面的研究。

Tel: 15686115339 E-mail: daisytem@hotmail.com

机制复杂,目前研究发现的主要有增加药物外排^[3]、增加 DNA 损伤修复^[4-5]、抑制细胞凋亡^[6]、激活异常信号通路^[7]、缺氧诱导因子-1 α 异常表达^[8]等。因此,如何解决多药耐药问题已成为胃癌治疗的关键。

人参皂苷 Rh₂ (ginsenoside Rh₂, G-Rh₂) 是人参有效成分之一,研究发现其具有抗过敏、调节免疫、改善心肌缺血、抗抑郁、抗肿瘤等众多作用^[9]。作为人参皂苷中抗肿瘤功效最好的单体成分^[10], G-Rh₂ 抗肿瘤作用已成为研究热点,但多集中于敏感细胞系,近年来有研究发现 G-Rh₂ 可以逆转肿瘤细胞的耐药性,增加耐药细胞对化疗药物的敏感性^[11-13]。本实验以胃癌耐药细胞为研究对象,探讨 G-Rh₂ 对胃癌耐药细胞的逆转作用,为胃癌的临床治疗提供理论依据。

1 材料

1.1 药品及试剂

G-Rh₂ (批号 111748,规格 20 mg,质量分数>98%)购自中国食品药品检定研究院。阿霉素(ADR,批号 D1515,规格 10 mg,质量分数 $\geq$ 98%)购自美国 Sigma 公司。二甲基亚砜(DMSO)、四甲基偶氮唑盐(MTT)、 β -actin 抗体均购自美国 Sigma 公司;P-糖蛋白(P-gp)抗体购自美国 CST 公司;Bcl-2 抗体购自美国 Abcam 公司;辣根酶标记的二抗均购自北京中杉金桥生物技术有限公司;RPMI 1640 培养基、0.25%胰蛋白酶均购自美国 Gibco 公司;PBS 购自美国 Corning 公司;胎牛血清购自以色列 BI 公司。

1.2 细胞株

人胃癌 SGC7901 细胞及耐药细胞 SGC7901/ADR 均来源于第四军医大学西京消化病医院肿瘤生物学国家重点实验室。

2 方法

2.1 G-Rh₂ 和 ADR 药液的制备

取 200 μ L DMSO 将 20 mg G-Rh₂ 充分溶解^[14],配制成 160 μ mol/L 储存液,于-20 $^{\circ}$ C 避光保存,使用时用 PBS 稀释(DMSO 体积分数 $\leq$ 0.1%)。

取 PBS 缓冲液将 ADR 充分溶解,制成 1 720 μ mol/L 储存液,于-20 $^{\circ}$ C 避光保存,使用时用 RPMI 1640 培养液稀释到相应浓度。

2.2 细胞培养

SGC7901 细胞与 SGC7901/ADR 细胞用含 10% 胎牛血清及 1%双抗(青、链霉素)的 RPMI 1640 培养液培养,3~4 d 传 1 代。SGC7901/ADR 细胞用 0.86 μ mol/L ADR 维持其耐药性,实验前 1 周撤药。

2.3 MTT 法检测 G-Rh₂ 联合 ADR 对 SGC7901/ADR 细胞耐药的逆转作用

取对数生长期的 SGC7901/ADR 细胞,用 0.25% 胰蛋白酶消化,重悬细胞沉淀,取 10 μ L 至细胞计数板读取细胞浓度,取 3 次平均值。将细胞密度调整为 5×10^3 个/mL,接种于 96 孔板培养。分为空白组(只加培养基)、对照组(加入等量细胞及培养基)、实验组(设 8、16、32、64、96 μ mol/L 5 个浓度梯度的 G-Rh₂ 及 6.5、12.9、25.9、51.7、103.5 μ mol/L 5 个浓度梯度的 ADR),G-Rh₂ 组每组设 3 个复孔,ADR 组每组设 5 个复孔。待细胞贴壁后,按上述分组加药,放入 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 细胞培养箱培养 48 h。每孔加入 5 mg/mL 的 MTT 溶液 20 μ L,继续培养 4 h,终止培养,弃培养液,每孔加入 150 μ L DMSO,震荡 10 min,于酶标仪 490 nm 波长下检测吸光度(A)值,计算 G-Rh₂ 非毒性剂量^[15](对细胞抑制率 $\leq$ 20%的药物浓度),以及 ADR 的半数抑制浓度(IC₅₀),绘制细胞生长曲线,实验重复 3 次。

$$\text{细胞存活率} = (A_{\text{实验}} - A_{\text{空白}}) / (A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}})$$

选择 G-Rh₂ 最大非毒性剂量(20%细胞抑制浓度,即 80%细胞存活的药物浓度 13.6 μ mol/L)联合不同浓度 ADR(浓度同上)作用于 SGC7901/ADR 细胞。酶标仪 490 nm 波长下检测 A 值,绘制细胞生长曲线。计算 G-Rh₂ 与 ADR 联用时对细胞的 IC₅₀ 值,确定细胞逆转倍数(RF)。

RF = 不加 G-Rh₂ 时对细胞的 IC₅₀ 值 / 加入 G-Rh₂ 时对细胞的 IC₅₀ 值

2.4 流式细胞术检测细胞周期

取处于对数生长期的 SGC7901/ADR 细胞,将细胞浓度调整为 4×10^5 个/mL,铺 6 孔板。将细胞分为对照组(加等量细胞及培养基)、G-Rh₂ 组(13.6 μ mol/L)、ADR 组(27.3 μ mol/L)、联用组(13.6 μ mol/L G-Rh₂ + 27.3 μ mol/L ADR)。细胞贴壁后,按上述分组加药作用 72 h。终止培养,消化细胞,800 r/min 离心 5 min,取得细胞沉淀。加 2 mL PBS 重悬细胞沉淀,1 000 r/min 离心 5 min,重复 2 次。弃上清,加入 1 mL PBS 和 2 mL 无水乙醇固定 4 h。流式细胞仪检测,实验重复 3 次。

2.5 Western blotting 实验检测 G-Rh₂ 联合 ADR 对 SGC7901/ADR 细胞 P-gp、Bcl-2 蛋白表达的影响

取对数生长期 SGC7901、SGC7901/ADR 细胞,用 0.25%胰蛋白酶消化,分别铺皿培养。分为对照组和加药组,对照组为 SGC7901 细胞及 SGC7901/

ADR 细胞。加药组均为 SGC7901/ADR 细胞, 分为 G-Rh₂ 组 (13.6 μmol/L)、ADR 组 (27.3 μmol/L)、联用组 (13.6 μmol/L G-Rh₂ + 27.3 μmol/L ADR)。加药作用 72 h 后, 提取蛋白。用 BCA 蛋白定量试剂盒进行定量。配制 10% SDS-PAGE 凝胶, 各取 20 μg 蛋白进行凝胶电泳 (30 mA 恒流), 采用湿转法 (300 mA, 180 min) 将蛋白转移至 NC 膜, 5% 脱脂牛奶常温封闭 1 h, 孵育一抗 (P-gp 1:1 000, Bcl-2 1:500), 置于 4 °C 摇床过夜。TBST 缓冲液漂洗条带, 二抗 (1:5 000 稀释) 常温孵育 1 h, TBST 缓冲液漂洗后进行显影。采用 Image Lab 软件分析图像。实验重复 3 次。

2.6 统计学分析

采用 SPSS 19.0 统计软件以及 Graphpad 6.01 作图软件进行数据处理, 数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用 *t* 检验。

3 结果

3.1 G-Rh₂ 与 ADR 联用浓度的确定

如图 1 所示, 用不同浓度 G-Rh₂ 作用 SGC7901/ADR 耐药细胞, G-Rh₂ 浓度为 8 μmol/L 时, 细胞存活率在 80% 以上, G-Rh₂ 浓度为 16 μmol/L 时, 细胞存活率低于 80%。选择药物对细胞的最大非毒性浓度, 即 80% 细胞存活时的药物浓度作为与化疗药 ADR 联用浓度, 计算 G-Rh₂ 对耐药细胞的最大非毒性浓度, 最终确定该浓度为 13.6 μmol/L。

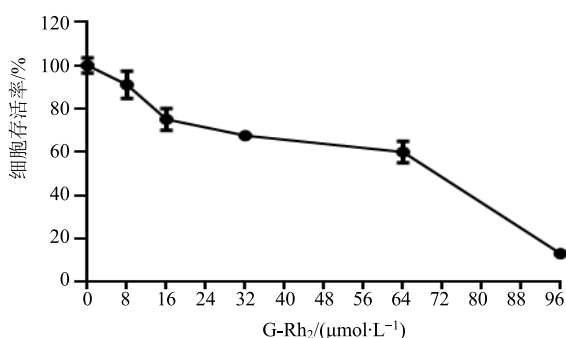


图 1 不同浓度 G-Rh₂ 对 SGC7901/ADR 细胞存活率的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 1 Effect of G-Rh₂ on survival rate of SGC7901/ADR cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

3.2 G-Rh₂ 联合 ADR 对 SGC7901/ADR 细胞耐药的逆转作用

通过对比不同浓度 ADR 单用及与 13.6 μmol/L G-Rh₂ 联用处理细胞 48 h 后对细胞生长的影响, 分别计算药物对细胞的 IC₅₀ 值。如图 2 所示, ADR 联

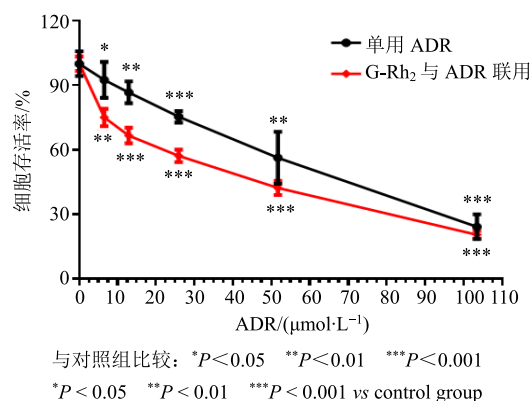


图 2 G-Rh₂ 联合不同浓度 ADR 对 SGC7901/ADR 细胞存活率的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Fig. 2 Effect of G-Rh₂ combined with ADR on survival rate of SGC7901/ADR cells ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

用 G-Rh₂ 后, 细胞存活曲线明显左移, 细胞存活率下降。单用 ADR 处理细胞计算得到其 IC₅₀ 值为 54.52 μmol/L, 而 ADR 与 G-Rh₂ 联用时对细胞的 IC₅₀ 值为 30.14 μmol/L, 二者相比较具有统计学意义 ($P < 0.001$)。并计算 G-Rh₂ 联合 ADR 对 SGC7901/ADR 细胞的 RF 值为 1.81。选择 27.3 μmol/L (单用时 1/2 IC₅₀ 值) 作为后续实验中 ADR 浓度。

3.3 G-Rh₂ 联合 ADR 对 SGC7901/ADR 细胞周期的影响

通过流式细胞术检测 G-Rh₂ 处理对细胞周期的影响。结果显示 (图 3 和表 1), 经 G-Rh₂、ADR 单用及联用处理 SGC7901/ADR 细胞 72 h 后, 细胞周期分布发生明显的变化。对照组中 G₀/G₁ 期、G₂/M 期、S 期细胞比例分别为 70.01%、10.78%、18.34%; G-Rh₂ 处理组中各时期细胞比例分别为 67.64%、13.88%、19.40%; ADR 处理组中各时期细胞比例分别为 46.39%、31.81%、21.80%; 联用组中各时期细胞比例分别为 38.27%、37.43%、25.31%。与对照组比较, G-Rh₂ 处理组细胞各时期分布无明显差异, 而 ADR 处理组、联用组 G₀/G₁ 期细胞比例明显减少, G₂/M 期和 S 期细胞比例显著升高 ($P < 0.05$)。与 ADR 组比较, 联用组 G₂/M 期细胞比例显著升高 ($P < 0.05$)。

3.4 G-Rh₂ 联合 ADR 对 SGC7901/ADR 细胞 P-gp、Bcl-2 蛋白表达的影响

Western blotting 检测 P-gp、Bcl-2 蛋白在不同处理组中的表达变化。如图 4 所示, 结果显示, 与 SGC7901 细胞比较, SGC7901/ADR 细胞中, P-gp

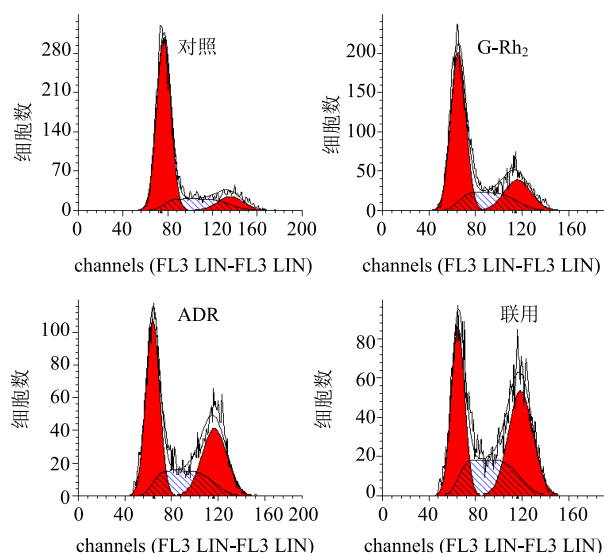


图 3 G-Rh₂ 联合 ADR 对 SGC7901/ADR 细胞周期的影响
Fig. 3 Effects of G-Rh₂ combined with ADR on SGC7901/ADR cell cycle

表 1 G-Rh₂ 联合 ADR 对 SGC7901/ADR 细胞周期的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 1 Effect of G-Rh₂ combined with ADR on SGC7901/ADR cell cycle ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	细胞周期/%		
	G ₀ /G ₁	G ₂ /M	S
对照	70.01 ± 6.28	10.78 ± 3.48	18.34 ± 4.27
G-Rh ₂	67.64 ± 7.90	13.88 ± 5.45	19.40 ± 3.72
ADR	46.39 ± 5.86**	31.81 ± 6.57**	21.80 ± 1.73
联用	38.27 ± 3.77**#	37.43 ± 4.64**#	25.31 ± 4.09*

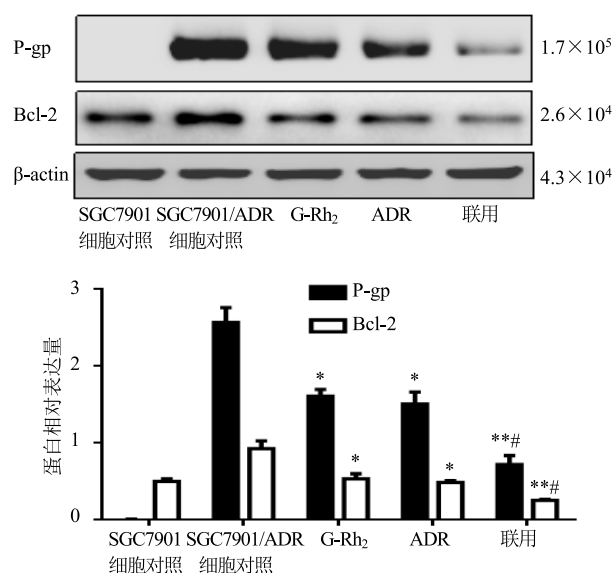
与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与 ADR 组比较: # $P < 0.05$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group; # $P < 0.05$ vs ADR group

及 Bcl-2 蛋白表达水平均明显升高。与 SGC7901/ADR 细胞对照组比较, 加入 G-Rh₂、ADR 及两药联用后, 细胞中 P-gp、Bcl-2 蛋白表达水平显著下降 ($P < 0.05$)。与 ADR 组比较, 联用组细胞 P-gp、Bcl-2 表达水平显著下调 ($P < 0.05$)。

4 讨论

G-Rh₂ 作为人参的主要成分, 其抗肿瘤效果已得到广泛认可。有报道指出^[16]G-Rh₂ 在抗肿瘤过程中具有抑制细胞增殖、促进细胞凋亡、促进细胞自噬、抑制侵袭和转移、抑制新生血管形成、阻滞细胞周期、逆转多药耐药 (MDR) 等作用。多项研究表明, G-Rh₂ 在白血病^[11]、乳腺癌^[12]、肝癌^[13]等耐药细胞中都有逆转细胞耐药性的作用, 但在胃癌耐药细胞中的作用尚未见明确报道。本研究选择 SGC7901/ADR 细胞为细胞模型, 通过 MTT 法检测



与 SGC7901/ADR 组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与 ADR 组比较: # $P < 0.05$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs SGC7901/ADR group; # $P < 0.05$ vs ADR group

图 4 G-Rh₂ 联合 ADR 对 SGC7901/ADR 细胞 P-gp 和 Bcl-2 蛋白表达水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 4 Effect of G-Rh₂ combined with ADR on expression of P-gp and Bcl-2 proteins in SGC7901/ADR cells ($\bar{x} \pm s, n=3$)

G-Rh₂ 对其增殖的影响。查阅文献中药单体对细胞存活率在 80% 以上的浓度为非细胞毒性浓度^[15], 因此测定 G-Rh₂ 最大非毒性浓度, 将此浓度作为与化疗药联用浓度进行后续实验。实验结果表明, G-Rh₂ 联合 ADR 能够明显降低 SGC7901/ADR 细胞的 IC₅₀ 值, RF 为 1.81, 说明 G-Rh₂ 联合 ADR 能够抑制 SGC7901/ADR 细胞增殖, 提高耐药细胞对 ADR 的敏感性。其次, 应用流式细胞技术检测细胞周期, 结果显示 G-Rh₂ 联合 ADR 能明显减少 SGC7901/ADR 细胞在 G₀/G₁ 期和 G₂/M 期细胞比例, 增加 S 期细胞比例, 提示 G-Rh₂ 联合 ADR 能够阻滞 SGC7901/ADR 细胞周期于 G₂/M 期, 阻止细胞进行有丝分裂, 从而抑制细胞增殖。

MDR 是限制临床治疗效果的一大因素, 目前亟待解决。MDR 是指肿瘤细胞对某种化疗药物产生耐受, 同时也对其他多种结构不同、作用机制各异的抗肿瘤药物产生交叉性耐受^[17]。前期研究认为^[18]膜转运蛋白 P-gp 过度表达是人多药耐药细胞内药物积累减少的主要机制。P-gp 能够主动将进入细胞内的化疗药物泵出细胞外, 使药物在细胞膜表面高表达, 降低细胞内药物的浓度, 导致细胞内的化疗药物达不到有效浓度而不能杀灭肿瘤细胞, 造成化疗的失

败^[19]。Bcl-2 是众所周知的抑制细胞凋亡的基因,其高表达能够抑制众多原因引起的细胞凋亡,出现化疗药物的耐受,Bcl-2 参与介导癌细胞耐药,被认为是多药耐药产生的原因之一^[20-21]。因此调节 P-gp、Bcl-2 表达水平,可能对提高耐药细胞的化疗敏感性具有重要的意义。本研究通过 Western blotting 法检测了 P-gp、Bcl-2 在不同处理组中的表达变化,其结果提示 G-Rh₂ 联合 ADR 能降低 SGC7901/ADR 细胞 P-gp、Bcl-2 表达水平,这一作用强于 G-Rh₂、ADR 单独使用。以上结果提示,G-Rh₂ 可能通过促进耐药细胞凋亡以及抑制化疗药物输出来提高化疗药物敏感性,逆转多药耐药。

综上所述,本研究通过检测 G-Rh₂ 联合 ADR 对 SGC7901/ADR 细胞增殖能力、细胞周期以及蛋白表达水平的影响,发现 G-Rh₂ 联合 ADR 能够逆转 SGC7901/ADR 细胞的耐药性,提高化疗药物 ADR 对耐药细胞的敏感性,提示这一作用可能与阻滞细胞周期于 G₂/M 期,并且降低 P-gp、Bcl-2 蛋白表达水平有关。但本研究存在不足之处,只进行了体外实验,且机制研究表浅,尚未进行深入的相关信号通路的研究,下一步计划进行体内研究并进一步研究相关信号通路,进行更深层次的探索。

参考文献

- [1] Chen W, Zheng R, Baade P D, *et al.* Cancer statistics in China, 2015 [J]. *Ca Cancer J Clin*, 2016, 66(2): 115-132.
- [2] Abraham J, Salama N N, Azab A K. The role of P-glycoprotein in drug resistance in multiple myeloma [J]. *Leuk Lymphoma*, 2015, 56(1): 26-33.
- [3] Rocha G G, Simões M, Oliveira R R, *et al.* Effects of 3β-acetyl tormentic acid (3ATA) on ABCC proteins activity [J]. *Int J Mol Sci*, 2012, 13(6): 6757-6771.
- [4] Steffensen K D, Smoter M, Waldstrom M, *et al.* Resistance to first line platinum paclitaxel chemotherapy in serious epithelial ovarian cancer: The prediction value of ERCC1 and Tau expression [J]. *Int J Oncol*, 2014, 44(5): 1736-1744.
- [5] Liu Y P, Ling Y, Qi Q F, *et al.* The effects of ERCC1 expression levels on the chemosensitivity of gastric cancer cells to platinum agents and survival in gastric cancer patients treated with oxaliplatin-based adjuvant chemotherapy [J]. *Oncol Lett*, 2013, 5(3): 935-942.
- [6] Candelaria M, de la Cruz-Hernandez E, Taja-Chayeb L, *et al.* DNA Methylation-independent reversion of gemcitabine resistance by hydralazine in cervical cancer cells [J]. *PLoS One*, 2012, 7(3): e29181.
- [7] Wang C, Hong Z, Chen Y. Involvement of p38 MAPK in the drug resistance of refractory epilepsy through the regulation multidrug resistance-associated protein 1 [J]. *Neurochem Res*, 2015, 40(7): 1546-1553.
- [8] Zhao Q, Li Y, Tan B B, *et al.* HIF-1 alpha induces multidrug resistance in gastric cancer cells by inducing Mia-27a [J]. *PLoS One*, 2015, 10(8): e0132746.
- [9] 徐文, 曹辉, 杨远荣. 人参皂苷 Rh₂ 的药理活性研究进展 [J]. 中国医药导报, 2017, 14(28): 42-45.
- [10] Kim J H, Choi J S. Effect of ginsenoside Rh-2 via activation of caspase-3 and Bcl-2-insensitive pathway in ovarian cancer cells [J]. *Physiol Res*, 2016, 65(6): 1031-1037.
- [11] 徐晓军, 石淑文, 汤永民, 等. 人参皂苷 Rh₂ 抗白血病多药耐药细胞 K562/VCR 作用研究 [J]. 中草药, 2010, 41(7): 1131-1135.
- [12] Zhang H, Gong J, Zhang H, *et al.* Induction of apoptosis and reversal of permeability glycoprotein-mediated multidrug resistance of MCF-7/ADM by ginsenoside Rh₂ [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(5): 4444-4456.
- [13] 吴艳林, 刘润田. 人参皂苷 Rh₂ 对人肝癌细胞 Hep-G2/ADM 耐药逆转作用及其机制研究 [J]. 医学研究生学报, 2017, 30(5): 476-480.
- [14] 刘小霞, 陈益, 熊伟, 等. 人参皂苷 Rh₂ 通过自噬途径对 KG1α 细胞增殖和凋亡的影响 [J]. 中草药, 2017, 48(2): 305-311.
- [15] 高巧慧. 桑黄发酵液总黄酮逆转 SGC7901/ADR 细胞多药耐药性研究 [D]. 西安: 陕西师范大学, 2015.
- [16] 权恺, 刘群, 李萍, 等. 人参皂苷抗癌活性的最新研究进展 [J]. 医学研究生学报, 2015, 28(4): 427-431.
- [17] Alakhova D Y, Kabanov A V. Pluronic and MDR reversal: An update [J]. *Mol Pharm*, 2014, 11(8): 2566-2578.
- [18] Sui H, Fan Z Z, Li Q. Signal transduction pathways and transcriptional mechanisms of ABCB1/Pgp-mediated multiple drug resistance in human cancer cells [J]. *J Int Med Res*, 2012, 40(2): 426-435.
- [19] Binkhathlan Z, Lavasanifar A. P-glycoprotein inhibition as a therapeutic approach for overcoming multidrug resistance in cancer: Current status and future perspectives [J]. *Curr Cancer Drug Targets*, 2013, 13(3): 326-346.
- [20] Viedma-Rodríguez R, Baiza-Gutman L, Salamanca-Gómez F, *et al.* Mechanisms associated with resistance to tamoxifen in estrogen receptor-positive breast cancer (review) [J]. *Oncol Rep*, 2014, 32(1): 3-15.
- [21] 周露婷, 王翠翠, 景洪标, 等. Survivin 和 Bcl-2 蛋白在胃癌细胞中的表达及其与化疗药物耐药性关系的研究 [J]. 现代肿瘤医学, 2014, 22(7): 1627-1629.