

消岩汤逆转肺癌顺铂耐药的机制研究

刘宏根, 杨佩颖, 赵林林, 李小江, 贾英杰

天津中医药大学第一附属医院 肿瘤科, 天津 300193

摘要: **目的** 探讨消岩汤逆转肺癌顺铂(DDP)耐药的可能机制。**方法** MTT 检测细胞增殖情况, 划痕实验检测细胞侵袭能力; siRNA 转染细胞获取稳定低表达基因的细胞株; 实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 和 Western blotting 检测 mRNA 和蛋白表达水平的变化。**结果** MTT 检测 A549/DDP, 在 72、96 h, 消岩汤能够明显抑制细胞增殖, 而在 48、72、96 h, DDP 联合消岩汤能够明显抑制细胞增殖。划痕实验显示与 A549/DDP/siRNA-NC 比较, A549/DDP/siRNA-Beclin1 细胞株迁移距离明显缩短。MTT 显示与 A549/DDP/siRNA-NC 比较, A549/DDP/siRNA-Beclin1 细胞株增殖能力减低, Western blotting 显示与 A549/DDP/siRNA-NC 比较, A549/DDP/siRNA-Beclin1 细胞 P-糖蛋白(P-gp)和肺耐药相关蛋白(LRP)蛋白表达降低, MTT 检测 A549/DDP/siRNA-Beclin1 细胞, 在 72、96 h, DDP 和消岩汤能明显抑制细胞增殖; 而在 24、48、72、96 h, DDP 联合消岩汤明显抑制细胞增殖。结果显示 DDP 联合消岩汤使 A549/DDP/siRNA-Beclin1 细胞株中 YES 关联蛋白 1(YAP1)、P-gp 和 LRP 蛋白表达明显降低。**结论** 消岩汤可能通过影响 Beclin 1-YAP1 分子通路进而改变肺癌细胞对 DDP 的敏感性。

关键词: 消岩汤; Beclin 1; 顺铂; 耐药; YES 关联蛋白 1

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2020)09-2486-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.09.025

Mechanism of reversing cisplatin resistance by Xiaoyan Decoction in lung cancer

LIU Hong-gen, YANG Pei-ying, ZHAO Lin-lin, LI Xiao-jiang, JIA Ying-jie

Department of Oncology, First Teaching Hospital of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

Abstract: **Objective** To investigate the possible mechanism of reversal of cisplatin resistance in lung cancer by Xiaoyan Decoction. **Methods** The migration ability of cancer cells was observed by the scratch test, and the MTT was used to test the mobility of cancer cells. The siRNA transfection was applied to demonstrate the possible molecular mechanisms. The mRNA and protein expression levels were detected by real-time quantitative reverse transcription PCR and Western Blot. **Results** MTT showed that A549/DDP could significantly inhibit cell proliferation at later points of time. Similarly, cisplatin combined with Xiaoyan Decoction could significantly inhibit cell proliferation at 48, 72 and 96 h. Scratch test showed that the migration distance was shorter in A549/DDP/siRNA-Beclin1 cell line than NC. MTT showed the proliferation of A549/DDP/siRNA-Beclin1 cell line was decreased when compared with NC. Western blot also showed that the protein expression of P-gp and LRP was decreased. MTT also detected that cisplatin and Xiaoyan Decoction significantly inhibited cell proliferation of A549/DDP/siRNA-Beclin1 cell at later points of time. Cisplatin combined with Xiaoyan Decoction significantly inhibited cell proliferation in the whole course. The results showed that protein expression level of YAP1, P-gp and LRP in A549/DDP/siRNA-Beclin1 cell line was significantly lower than those in NC. **Conclusion** Xiaoyan Decoction may improve the sensitivity to cisplatin may via Beclin 1-YAP1 pathway.

Key words: Xiaoyan Decoction; Beclin 1; cisplatin; drug resistance; YAP1

肺癌是我国发病率和死亡率较高的恶性肿瘤。顺铂(cisplatin, DDP)是肺癌患者常用的化疗药物, 顺铂通过和 DNA 上的嘌呤碱基相互作用形成复合物, 阻碍 DNA 修复损伤机制, 进而发挥抗肿瘤作用^[1]。然而 DDP 耐药的出现, 意味着肿瘤细胞对 DDP 药物敏感性下降, 导致了肿瘤的进展。常见逆

转耐药药物往往对人体产生很强的心血管、肝、肾毒性或免疫抑制等^[2]。研究耐药发生机制及寻找新的逆转耐药药物是目前研究的热点之一。中医药安全范围大, 能够从多途径和多机制发挥逆转耐药作用, 是目前理想的逆转耐药药物来源之一^[3]。消岩汤作为天津中医药大学第一附属医院制剂已经应用

收稿日期: 2019-11-18

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81904151); 天津市教委科研计划项目(2018KJ015)

作者简介: 刘宏根, 在职博士, 主治医师, 研究方向为中医抗肿瘤研究。Tel: (022)27986556 E-mail: honggenliu3@163.com

*通信作者 贾英杰 Tel: (022)27986556 E-mail: jiayingjie1616@sina.com

于临床治疗 10 余年,消岩汤配合放化疗或单独应用在稳定患者肿瘤病灶、抗远端转移等方面均有良好疗效,同时在改善证候、提高生存质量、提高免疫功能和改善化疗的毒副作用等方面也有良好作用^[4-6]。前期研究发现消岩汤能够逆转肺癌 DPP 耐药,其机制与降低 A549/DDP 细胞株多重耐药蛋白 1 (MDR1) 及肺耐药相关蛋白 (LRP) 基因的表达有关^[7]。然而消岩汤逆转 DPP 耐药的确切机制目前尚不明确。本研究结合自噬耐药相关理论,继续探讨消岩汤逆转 DPP 耐药的可能机制,为其临床应用及深入开发提供参考和依据。

1 材料与方法

1.1 细胞与培养

A549/DDP 耐药细胞购于上海博谷生物技术有限公司。将其培养在 RPMI 1640 培养基 (Gibco BRL 公司) 中,添加 10% 胎牛血清 (FBS, Gibco 公司) 和 1% 青霉素-链霉素 (Gibco-BRL 公司), 37 °C 孵育在 5% CO₂ 培养箱中。

1.2 药物与制备

消岩汤由天津中医药大学第一附属医院药房提供,中药的浓缩液为棕黄色液体,剂量以原方为准,全方共 105 g,包括生黄芪 30 g、太子参 15 g、郁金 10 g、姜黄 15 g、夏枯草 10 g、生牡蛎 15 g、白花蛇草 10 g,消岩汤水煎液由天津中医药大学中药提取室严格按回流提取法 (热回流提取浓缩机组,北京国卫和教医药设备有限公司) 进行提取,其终质量浓度为生药 30 mg/mL。DDP 粉剂购于齐鲁制药有限公司 (规格 20 mg,批号 20023461)。

1.3 MTT 法检测 A549/DDP 细胞增殖

选对数生长期的 A549/DDP 细胞,消化计数后以 3 000 个/孔接种于 96 孔板。24 h 待细胞贴壁后,分别加入 20 μmol/mL DDP、40 μmol/mL DDP、80 μmol/mL DDP、30 mg/mL 消岩汤^[4]、80 μmol/mL DDP+30 mg/mL 消岩汤,对照组未进行任何处理,培养 24、48、72、96 h 弃药物培养基,加入 200 μL 普通培养基,同时每孔加入 MTT 溶液 (5 g/L) 20 μL,温箱内培养 4 h,弃培养液,加入二甲基亚砷 150 μL/孔,摇床震荡 10 min,至紫色结晶充分溶解后,酶标仪上选择 492 nm 波长测吸光度 (A) 值。计算细胞增殖率。

$$\text{细胞增殖率} = A_{\text{药物}} / A_{\text{对照}}$$

1.4 siRNA 转染 A549/DDP

自噬蛋白 Belcin1 的 siRNA 序列 (siRNA-Belcin1) 及对照组 (siRNA-NC) 序列由天津时域科技有

限公司设计。siRNA-Belcin1 序列为 5'-CAGTTTG-GCACAATCAATA-3', siRNA-NC 为序列为 5'-CTCTAGTAGAAGATACTCA-3'。按照说明书稀释退火形成双链 dsRNA,将对数生长期的 A549/DDP 细胞接种于 6 孔板中,待细胞贴壁生长至 80% 融合时,磷酸盐缓冲溶液清洗 1 次,更换无血清培养基,按照 Lipofectamine 2000 说明书转染 48 h。实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 和 Western blotting 检测转染后细胞 Belcin1 mRNA 和蛋白的表达。实验组为低表达 Belcin1 的细胞株为 A549/DDP/siRNA-Belcin1 细胞株,对照组为 A549/DDP/siRNA-NC 细胞株。

1.5 A549/DDP/siRNA-Belcin1 细胞增殖能力检测

选对数生长期的 A549/DDP/siRNA-Belcin1 细胞和 A549/DDP/siRNA-NC 细胞,分别加入 80 μmol/mL DDP、30 mg/mL 消岩汤、80 μmol/mL DDP+30 mg/mL 消岩汤,MTT 法检测药物作用 24、48、72、96 h 细胞的 A 值。

1.6 划痕实验检测 A549/DDP/siRNA-Belcin1 细胞迁移能力

A549/DDP/siRNA-Belcin1 细胞和 A549/DDP/siRNA-NC 细胞用含 10% 血清、1% 双抗的 DMEM 培养液,置 37 °C、5% CO₂ 的细胞培养箱中培养。培养板接种细胞之前先用 marker 笔在 12 孔板背面画横线标记。细胞消化后接入 6 孔板,数量以贴壁后铺满板底为宜。细胞铺满板底后,用 200 μL 枪头垂直于孔板制造细胞划痕,尽量保证各个划痕宽度一致,用 PBS 洗细胞 3 次,分别于不同时间点取样,拍照。

1.7 qRT-PCR 检测 A549/DDP/siRNA-Belcin1 细胞相关基因表达

80 μmol/mL DDP+30 mg/mL 消岩汤处理 A549/DDP/siRNA-Belcin1 和 A549/DDP/siRNA-NC 细胞 96 h 后, RNA 完整性采用琼脂糖凝胶电泳检测,其透过率与纯度采用紫外分光光度计检测。以 Oligo-dT15 为引物,参照 20 μL 反应体系合成 cDNA 第一链。引物序列如下: P-gp (5'-AAACACCACG-GGAGCA/AGTGTAGTTGCCAGCCAT-3'); LRP (5'-TTCTGGATTGTTGGTGGACGC-3'/ACTTCTCTC-CCTTGACCAC-3'); YES 关联蛋白 1 (YAP1) (5'-CAACTCCAACCAGCAGCAACA/GCAGCCTCTCCTTCTCCATCTG-3'); Beclin1 (5'-AGGAACTCACAGCTCCATTAC/AATGGCTCCTCTCCTGAGTT-3'); GAPDH: (5'-CTACCTTCAACTCCA

TCATGAAGTGTGCGCTCAGGA GGAGC-3')。反应条件为 95 ℃ 预变性 10 s; 95 ℃、5 s, 64 ℃、34 s, 40 个循环。每对引物设 3 个复孔。结果用 ABI PRISM 7500 分析, 熔解曲线特异。最后计算 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 值。

1.8 Western blotting 检测 A549/DDP/siRNA-Beclin1 细胞相关蛋白表达

80 $\mu\text{mol/mL}$ DDP + 30 mg/mL 消岩汤处理 A549/DDP/siRNA-Beclin1 和 A549/DDP/siRNA-NC 细胞 96 h 后, 将细胞在 RIPA 裂解缓冲液中均匀化 30 min, 在 4 ℃ 下离心 (12 000 r/min), 将裂解液清除 15 min, 用 10% 十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳分离总蛋白提取物, 电转移至 PVDF。用 5% 脱脂牛奶阻断非特异性结合位点 60 min 后, 在 4 ℃ 下与抗 Beclin1 (ab210498, 1:1 000, abcam)、YAP1 (ab76252, 1:1 000, abcam)、P-gp (ab103477, 1:1 000, abcam) 和 LRP (ab92544, 1:1 000, abcam) 多克隆抗体孵育隔夜。用 PBS-T 洗涤膜 3 min, 用辣根过氧化物酶 (HRP) 偶联抗兔免疫球蛋白抗体 (SP-9001, 1:2 000; 中山生物技术有限公司) 在室温下检测 60 min。然后用 PBS-T 对膜进行 3 次洗涤 10 min, 用增强化学发光系统观察免疫复合物。

1.9 统计学分析

两样本均数的比较选择 t 检验, 多组样本均数的比较应用单因素方差分析。所有数据均用 SPSS 20.0 进行统计学分析与处理。

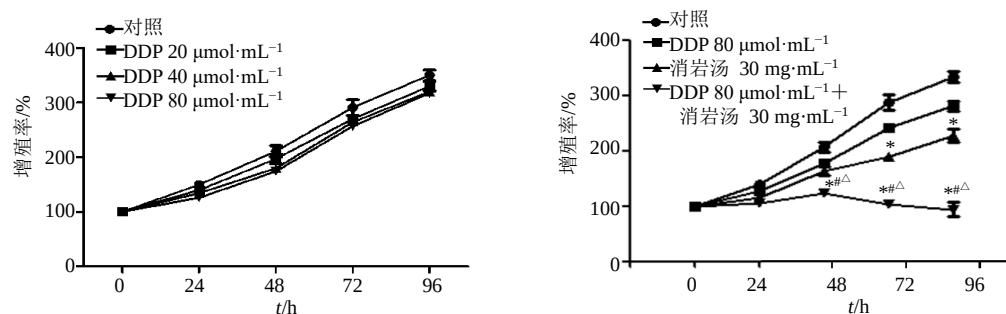
2 结果

2.1 不同药物对 A549/DDP 细胞增殖能力的影响

MTT 法检测 A549/DDP 细胞株中分别加入 20、40、80 $\mu\text{mol/mL}$ 的 DDP 作用不同时间的细胞增殖能力的差异, 结果显示在各时间点不同浓度 DDP 对 A549/DDP 细胞增殖无明显差异 ($P > 0.05$)。与对照组比较, 30 mg/mL 消岩汤作用于 A549/DDP 细胞 72、96 h, 细胞增殖能力受到抑制 ($P < 0.05$)。与对照组比较, 80 $\mu\text{mol/mL}$ DDP + 30 mg/mL 消岩汤作用 A549/DDP 细胞 48、72、96 h, 细胞增殖能力受到明显抑制 ($P < 0.05$), 结果见图 1。

2.2 A549/DDP/siRNA-Beclin1 细胞株 Beclin1 mRNA 和蛋白的表达

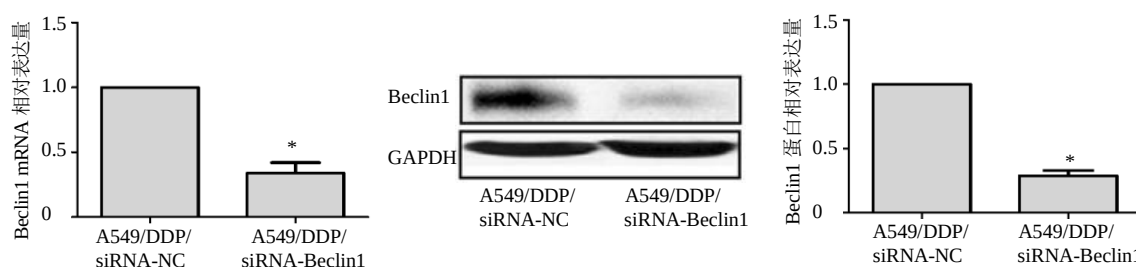
使用 siRNA-Beclin1 转染沉默 A549/DDP 细胞中 Beclin1 的表达, 结果显示 siRNA-Beclin1 转染后细胞 Beclin1 mRNA 和蛋白的表达水平明显低于 A549/DDP/siRNA-NC 细胞株, 结果见图 2。



与对照组比较: * $P < 0.05$; 与 DDP 单用组比较: # $P < 0.05$; 与消岩汤单用组比较: $\Delta P < 0.05$
* $P < 0.05$ vs control group; # $P < 0.05$ vs DDP group; $\Delta P < 0.05$ vs Xiaoyan Decoction group

图 1 顺铂、消岩汤及二者联用对 A549/DDP 细胞增殖的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 1 Effects of cisplatin, Xiaoyan Decoction and cisplatin combined with Xiaoyan Decoction on proliferation of A549/DDP ($\bar{x} \pm s, n = 3$)



与 A549/DDP/siRNA-NC 细胞组比较: * $P < 0.05$, 图 3、5 同
* $P < 0.05$ vs A549/DDP/siRNA-NC cells group, same as figures 3 and 5

图 2 A549/DDP/siRNA-Beclin1 细胞株中 Beclin1 mRNA 和蛋白的表达情况 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 2 mRNA and protein expression of Beclin1 in A549/DDP/siRNA-Beclin1 cell line ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

2.3 敲除 Beclin1 基因对 A549/DDP 细胞增殖、侵袭及耐药的影响

MTT 检测 A549/DDP/siRNA-Beclin1 细胞株增殖能力,结果显示与 A549/DDP/siRNA-NC 细胞相比,在 72、96 h, A549/DDP/siRNA-Beclin1 细胞增殖能力明显减弱 ($P<0.05$)。划痕实验显示,与 A549/DDP/siRNA-NC 细胞相比, A549/DDP/siRNA-Beclin1 细胞株在 24、48、72 h 的迁移距离明显缩短 ($P<0.05$)。耐药方面通过 Western blotting 检测 P-gp 和 LRP 蛋白表达,发现与 A549/DDP/siRNA-NC 细胞相比, A549/DDP/siRNA-Beclin1 细

胞株中 P-gp 和 LRP 蛋白表达明显降低 ($P<0.05$),结果见图 3。

2.4 药物对 A549/DDP/siRNA-Beclin1 细胞增殖能力的影响

MTT 检测 DDP、消岩汤和 DDP 联合消岩汤作用于 A549/DDP/siRNA-Beclin1 细胞不同时间对细胞增殖的影响,结果显示 DDP 和消岩汤作用 72、96 h,细胞增殖率出现明显差异 ($P<0.05$)。而 DDP 联合消岩汤作用 24、48、72、96 h,细胞增殖率显著降低 ($P<0.05$)。结果显示 DDP 联合消岩汤抑制细胞增殖能力最强,结果见图 4。

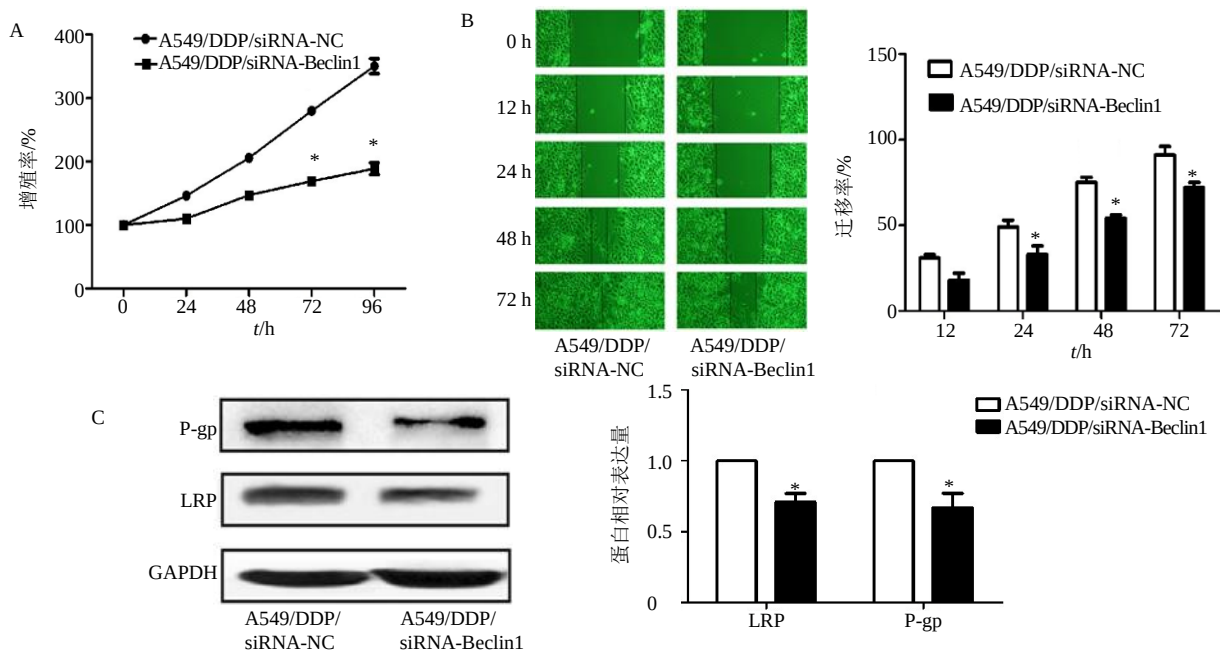


图 3 A549/DDP/siRNA-Beclin1 细胞增殖 (A)、侵袭能力 (B) 及 LRP 和 P-gp 蛋白的表达 (C) 情况 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 3 Proliferation (A), invasive ability (B) of A549/DDP/siRNA-Beclin1 cells and expression of LRP and P-gp in A549/DDP/siRNA-Beclin1 cell line (C) ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

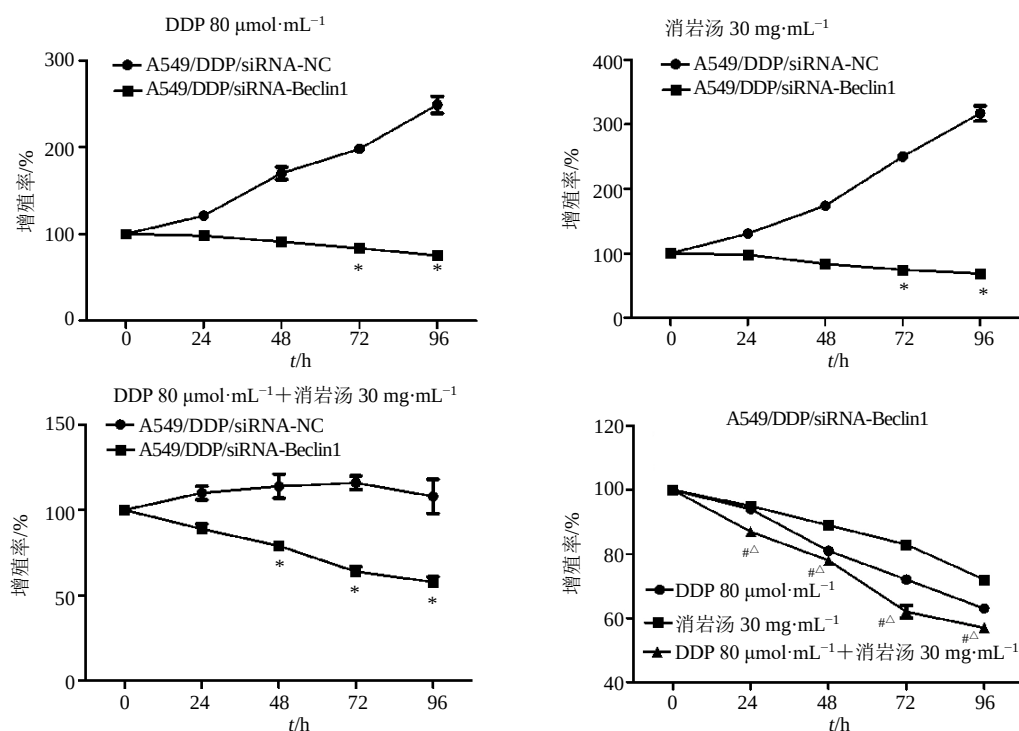
2.5 DDP 联合消岩汤对 A549/DDP/siRNA-Beclin1 细胞耐药相关基因 mRNA 和蛋白表达的影响

DDP 联合消岩汤处理 A549/DDP/siRNA-Beclin1 细胞 96 h 后,检测 YAP1、P-gp 和 LRP mRNA 和蛋白变化的情况,结果显示与 A549/DDP/siRNA-NC 细胞相比, A549/DDP/siRNA-Beclin1 细胞株中 YAP1、P-gp 和 LRP mRNA 和蛋白表达明显降低 ($P<0.01$),结果见图 5。

3 讨论

肿瘤细胞对化疗药物的耐药是一个多因素、多步骤的过程。LRP 参与胞核与胞质之间的物质交换与囊泡运输的调控,通过降低核内药物浓度,介导

对铂类、烷化剂等的耐药;化疗同时导致 P-gp 增多, P-gp 使药物在细胞内流减少,外排增多,导致细胞对化疗药物敏感性降低^[8]。P-gp 和 LRP 可作为直接反映耐药敏感性变化的指标。近些年研究发现自噬与肿瘤的耐药密切相关。自噬在肿瘤发生发展中起双刃剑的作用,当机体处于病理状态时,自噬对癌细胞的化疗耐药起到保护作用^[9]。Beclin1 是自噬启动过程的标志,很多研究表明 Beclin1 与耐药密切相关。在对耐药细胞株 A2780/DDP 的研究中发现下调自噬基因 Beclin 1 的表达对 DDP 诱导的自噬激活具有抑制作用,提高了耐 DDP 细胞的敏感性^[12]。而在卵巢癌中,改变 Beclin 1 的表达可增强凋亡相



与 A549/DDP/siRNA-NC 细胞比较: * $P < 0.05$; 与 DDP 单用组比较: # $P < 0.05$; 与消岩汤单用组比较: $\Delta P < 0.05$
* $P < 0.05$ vs A549/DDP/siRNA-NC cells; # $P < 0.05$ vs DDP group; $\Delta P < 0.05$ vs Xiaoyan Decoction group

图 4 DDP、消岩汤及二者联用对 A549/DDP/siRNA-Beclin1 细胞增殖的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 4 Effects of cisplatin, Xiaoyan Decoction and cisplatin combined with Xiaoyan Decoction on proliferation of A549/DDP/siRNA-Beclin1 cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

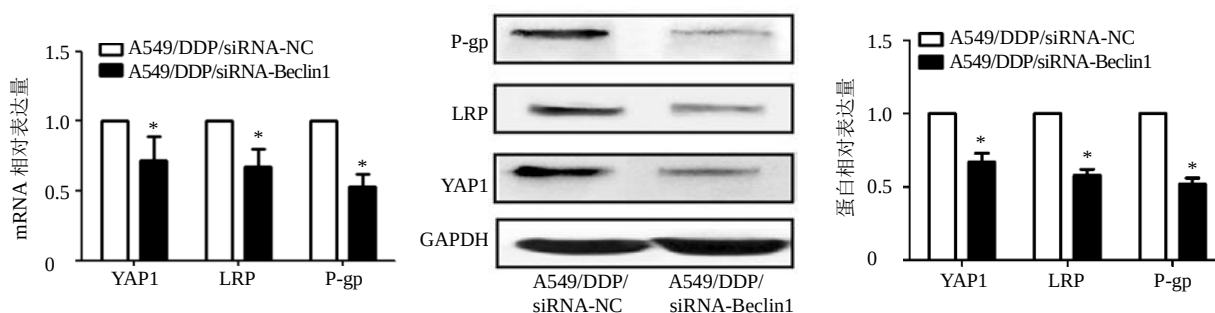


图 5 DDP 联合消岩汤对 A549/DDP/siRNA-Beclin1 细胞中 YAP1、LRP 和 P-gp mRNA 和蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 5 Effects of cisplatin combined with Xiaoyan Decoction on mRNA and protein expression of YAP1, LRP and P-gp in A549/DDP/siRNA-Beclin1 cell line ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

关蛋白, 进而提高耐药细胞对 DDP 的敏感性^[13]。前期研究发现肺癌耐药细胞株 A549/DDP 中 Beclin1 表达明显高于 A549 细胞株, 提示 Beclin 1 可能参与肺癌耐药。因此在本研究中通过 siRNA 敲除高表达 Beclin 1, 建立了稳定低表达 Beclin 1 的 A549/DDP/siRNA-Beclin1 细胞株。划痕实验和 MTT 显示 A549/DDP/siRNA-Beclin1 细胞增殖, 侵袭能力较对照细胞明显降低。进一步发现耐药敏感性指标 P-gp

和 LRP 蛋白表达明显降低。同时还发现 DDP 作用于 A549/DDP/siRNA-Beclin1 细胞株 72、96 h 细胞增殖明显降低。本实验结果提示 Beclin1 与耐药密切相关, 降低 Beclin1 可直接减少肺癌细胞耐药, 增加化疗药物敏感性, 间接减少肺癌细胞增殖侵袭能力。

传统中医药对肺癌耐药的逆转具有多靶位、多机制、多方向的特点, 中药来源丰富, 有着很大的

开发潜力,从中药中寻找理想的耐药逆转剂有着光明的前景^[12]。课题组根据多年肿瘤临床经验提出“扶正解毒祛瘀”的肺癌中医治则,并在此基础上根据中药功效及现代药理研究拟定出消岩汤。消岩汤由黄芪、太子参、夏枯草、生牡蛎、白花蛇舌草、蜂房、姜黄、郁金组成,方中黄芪、太子参为君以滋阴益气,扶正抗癌;夏枯草、生牡蛎、白花蛇舌草清热解毒、软坚散结;姜黄、郁金行气散结、活血祛瘀之功;蜂房祛风、攻毒、止痛,以搜剔脉络中之瘀毒。全方配合使用,祛邪而不伤正,全面调节机体内环境的平衡。先前研究显示消岩汤能够抑制细胞的耐药,增加对化疗药物的敏感性^[13]。本研究也发现消岩汤能够抑制 A549/DDP 细胞增殖,与 DDP 合用时较单独使用抑制效果更佳明显。结果提示消岩汤不仅能够抑制耐药细胞的增殖,并且能够逆转顺铂耐药,增强 DDP 敏感性。

本研究发现消岩汤逆转耐药可能与 Beclin 1-YAP1 (yes-associated protein 1) 通路密切相关。研究发现 YAP1 与细胞对化疗药物敏感性相关。通过高通量 RNAi 筛查发现, YAP1 与肺癌细胞顺铂耐药及放疗耐受有关,去除 YAP1 可显著提高肿瘤对顺铂及放射线的敏感性。YAP1 信号通路的抑制剂 verteporfin,可通过增强顺铂相关的 DNA 双链断裂,与顺铂发挥协同作用。YAP1 可能作为抑制顺铂耐药的新靶点^[14]。最新研究表明 Beclin1 可直接调控 YAP1 的表达,进而导致一系列下游基因的改变^[15]。本研究结果表明较 A549/DDP 细胞株,DDP 联合消岩汤能更强抑制 A549/DDP/siRNA-Beclin1 细胞增殖,表明 Beclin1 在消岩汤发挥逆转 DDP 耐药过程中发挥作用。进一步发现 DDP 联合消岩汤能够降低 YAP1、P-gp 和 LRP 蛋白的表达。结果表明消岩汤逆转 DDP 耐药可能与 Beclin1 和 YAP1 相关通路密切相关。消岩汤可能通过影响 Beclin1-YAP1 分子信号通路进而改变肺癌细胞对 DDP 的敏感性。

参考文献

- [1] Wang W, Dong M L, Zhang W, *et al.* Long noncoding LUCAT1 promotes cisplatin resistance of non-small cell lung cancer by promoting IGF-2 [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23(12): 5229-5234.
- [2] Xia Z, Zhu Z, Zhang L, *et al.* Specific reversal of MDR1/P-gp-dependent multidrug resistance by RNA interference in colon cancer cells [J]. *Oncol Rep*, 2008, 20(6): 1433-1439.
- [3] Li Y J, Lei Y H, Yao N, *et al.* Autophagy and multidrug resistance in cancer [J]. *Chin J Cancer*, 2017, doi: 10.1186/s40880-017-0219-2.
- [4] 张莹,贾英杰,李小江,等. 消岩汤对耐顺铂人肺癌 A549/DDP 细胞多药耐药相关蛋白的调控作用 [J]. *中草药*, 2017, 48(13): 2717-2721.
- [5] 李小江,郭明歆,孔凡铭,等. 消岩汤联合对症维持治疗晚期非小细胞肺癌的回顾性研究 [J]. *中草药*, 2020, 51(3): 697-701.
- [6] 李小江,张莹,杨佩颖,等. 消岩汤对肺癌 A549 细胞及肺癌干细胞迁移及侵袭的影响 [J]. *中草药*, 2018, 49(4): 870-873.
- [7] 张莹,贾英杰,杨洁. 消岩汤药物血清对 A549/DDP 多药耐药逆转作用的研究 [J]. *天津中医药*, 2010, 27(4): 334-336.
- [8] Lin H, Yang G, Yu J, *et al.* KDM5c inhibits multidrug resistance of colon cancer cell line by down-regulating ABCC1 [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 107: 1205-1209.
- [9] Zhou Y, Peng Y, Tang H, *et al.* Autophagy induction contributes to GDC-0349 resistance in head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC) cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, 477(2): 174-180.
- [10] Yang X, Yin H, Zhang Y, *et al.* Hypoxia-induced autophagy promotes gemcitabine resistance in human bladder cancer cells through hypoxia-inducible factor 1 α activation [J]. *Int J Oncol*, 2018, 53(1): 215-224.
- [11] Yang J, Yao S. JNK-Bcl-2/Bcl-xL-Bax/Bak pathway mediates the crosstalk between matrine-induced autophagy and apoptosis via interplay with Beclin 1 [J]. *Int J Mol Sci*, 2015, 16(10): 25744-25758.
- [12] 汤涛,董伟,张婧,等. 中药单体成分逆转肿瘤多药耐药的研究进展 [J]. *中草药*, 2017, 48(4): 792-797.
- [13] 杨佩颖,许文婷,刘宏根,等. 消岩汤对 A549/DDP 细胞自噬及耐药蛋白的影响研究 [J]. *天津中医药*, 2016, 33(6): 358-362.
- [14] Li K, Guo J, Wu Y, *et al.* Suppression of YAP by DDP disrupts colon tumor progression [J]. *Oncol Rep*, 2018, 39(5): 2114-2126.
- [15] Zhang Q, Fang X, Zhao W, *et al.* The transcriptional coactivator YAP1 is overexpressed in osteoarthritis and promotes its progression by interacting with Beclin-1 [J]. *Gene*, 2018, 689: 210-219.