

消岩汤干预 Beclin1-YAP1 环路逆转肺癌顺铂耐药研究

杨佩颖, 刘宏根, 贾英杰

天津中医药大学第一附属医院, 国家中医针灸临床医学研究中心, 天津 300381

摘要: **目的** 探讨消岩汤逆转肺癌顺铂耐药的具体分子机制。**方法** 高表达 Beclin1 肺腺癌耐药 (lung adenocarcinoma drug-resistant, A549/DDP)、低表达 Beclin1 A549/DDP、高表达 Yes 关联蛋白 1 (Yes-associated protein 1, YAP1) A549/DDP 和低表达 YAP1 A549/DDP 细胞分别给予消岩汤和顺铂干预, 采用 Transwell 和克隆形成实验检测细胞侵袭和增殖; 采用 Western blotting 检测 Beclin1、YAP1、P 糖蛋白 (P-glycoprotein, P-gp)、肺耐药相关蛋白 (lung resistance-related protein, LRP)、转录调节因子 (transcriptional coactivator with PDZ-binding motif, TAZ)、磷酸化信号转导与转录激活因子 3 (phosphorylated signal transducers and activators of transcription 3, p-STAT3)、哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin, mTOR) 表达。BALB/c 小鼠 sc 高表达 Beclin1 A549/DDP、低表达 Beclin1 A549/DDP、高表达 YAP1 A549/DDP 和低表达 YAP1 A549/DDP 细胞建立移植瘤模型, ig 消岩汤和瘤内注射顺铂治疗 14 d, 采用免疫组化检测肿瘤 Beclin1、YAP1、P-gp 和 LRP 蛋白表达。**结果** 消岩汤联合顺铂作用于高表达 Beclin1 和高表达 YAP1 肺癌细胞株, 细胞侵袭和增殖能力增强 ($P < 0.05$), 而低表达 Beclin1 和低表达 YAP1 肺癌细胞株, 肺癌耐药细胞株侵袭和增殖能力减弱 ($P < 0.05$); 低表达 Beclin1 肺癌细胞株 Beclin1、YAP1、P-gp 和 LRP 蛋白表达水平均明显降低 ($P < 0.05$); 高表达 Beclin1 肺癌细胞株 Beclin1、YAP1、P-gp 和 LRP 蛋白表达水平均明显升高 ($P < 0.05$); 低表达 YAP1 肺癌细胞株 p-STAT3、TAZ、Beclin1、YAP1、P-gp 和 LRP 蛋白表达水平均明显降低 ($P < 0.05$); 高表达 YAP1 肺癌细胞株 TAZ、Beclin1、YAP1 和 P-gp 蛋白表达水平均明显升高 ($P < 0.05$)。小鼠移植瘤模型中, 高表达 Beclin1 组和高表达 YAP1 组瘤体大于对照组, 而低表达 Beclin1 组和低表达 YAP1 组瘤体小于对照组。**结论** 消岩汤通过 Beclin1 直接影响 YAP1 表达, 消岩汤又可通过 YAP1-TAZ 通路影响 Beclin1 表达, 消岩汤可能通过干预 Beclin1-YAP1 环路逆转肺癌顺铂耐药。

关键词: 消岩汤; 肺癌; 顺铂; 耐药; Beclin1; YAP1

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2023)04-1184-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.04.018

Xiaoyan Decoction reverses cisplatin resistance in lung cancer by intervening Beclin1-YAP1 loop

YANG Pei-ying, LIU Hong-gen, JIA Ying-jie

National Clinical Research Center for Chinese Medicine Acupuncture and Moxibustion, Department of Oncology, First Teaching Hospital of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300381, China

Abstract: **Objective** To explore the mechanism of Xiaoyan Decoction (消岩汤) on reversing cisplatin resistance in lung cancer. **Methods** Lung adenocarcinoma cells with high expression of Beclin1 drug-resistance (A549/DDP), low expression of Beclin1 A549/DDP, high expression of Yes-associated protein 1 (YAP1) A549/DDP and low expression of YAP1 A549/DDP were intervened by Xiaoyan Decoction and cisplatin respectively, Transwell and clone formation experiments were adopted; Western blotting was used to detect Beclin1, YAP1, P-glycoprotein (P-gp), lung resistance-related protein (LRP), transcriptional co activator with PDZ-binding motif (TAZ), phosphorylated signal transducers and activators of transcription 3 (p-STAT3) and mammalian target of rapamycin (mTOR) expressions. BALB/c mice were sc cells with high expression of Beclin1 A549/DDP, low expression of Beclin1 A549/DDP, high expression of YAP1 A549/DDP and low expression of YAP1 A549/DDP to establish transplanted tumor models. Mice were ig Xiaoyan Decoction and intratumoral injection of cisplatin for 14 d, Beclin1, YAP1, P-gp and LRP proteins expressions in tumor were detected by immunohistochemistry. **Results** Xiaoyan Decoction combined with cisplatin enhanced the invasion and proliferation of

收稿日期: 2022-09-30

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81904151)

作者简介: 杨佩颖, 博士, 副主任医师, 从事中西医结合肿瘤研究。Tel: 18602286127 E-mail: yangpeiying27@126.com

lung cancer cell lines with high expression of Beclin1 and high expression of YAP1 ($P < 0.05$), while the invasion and proliferation of lung cancer cell lines with low expression of Beclin1 and low expression of YAP1 were weakened ($P < 0.05$). The protein expression levels of Beclin1, YAP1, P-gp and LRP in lung cancer cell lines with low expression of Beclin1 were significantly decreased ($P < 0.05$). The protein expression levels of Beclin1, YAP1, P-gp and LRP in lung cancer cell lines with high expression of Beclin1 were significantly increased ($P < 0.05$). The expression levels of p-STAT3, TAZ, Beclin1, YAP1, P-gp and LRP in lung cancer cell lines with low expression of YAP1 were significantly decreased ($P < 0.05$). The expression levels of TAZ, Beclin1, YAP1 and P-gp protein in lung cancer cell lines with high expression of YAP1 were significantly increased ($P < 0.05$). In the transplanted tumor model of mice, tumor of high-expression Beclin1 group and high-expression YAP1 group were larger than control group, while tumor of low-expression Beclin1 group and low-expression YAP1 group were smaller than control group. **Conclusion** Xiaoyan Decoction directly affects the expression of YAP1 through Beclin1, and Xiaoyan Decoction can affect the expression of Beclin1 through YAP1-TAZ pathway. Xiaoyan Decoction may reverse the cisplatin resistance of lung cancer by intervening Beclin1-YAP1 loop.

Key words: Xiaoyan Decoction; lung cancer; cisplatin; drug resistance; Beclin1; YAP1

肺癌是我国发病率和死亡率较高的恶性肿瘤之一，化疗是晚期肺癌患者有效的治疗方法之一^[1]。然而在肺癌的化疗过程中，容易出现耐药，这将意味着肿瘤细胞对化疗药物敏感性下降，化疗药物作用减弱，影响患者治疗效果^[2]。因此亟需探究化疗耐药机制。自噬对于组织细胞发育、细胞的代谢需求及细胞器的更新有着重要意义，自噬与化疗耐药密切相关^[3]。Beclin1 作为自噬启动过程的标志，与顺铂耐药密切相关^[4]，研究认为 Beclin1 可作为逆转肺癌顺铂耐药的靶点^[5]。天津中医药大学第一附属医院院内制剂消岩汤临床应用多年，配合放化疗在稳定患者肿瘤病灶等方面均有良好疗效，同时在改善证候和改善化疗的不良反应等方面也有较好的作用^[6]。前期课题组发现消岩汤能够增加肺癌细胞对顺铂的敏感性，逆转肺癌顺铂耐药，其机制可能与 Beclin1 和 Yes 关联蛋白 1 (Yes-associated protein 1, YAP1) 相关^[7]，然而其具体分子靶点尚不清晰。因此在前期研究基础上，本研究进一步探讨消岩汤改善肺癌耐药细胞株对顺铂敏感性、逆转肺癌顺铂耐药的分子机制。

1 材料

1.1 动物

SPF 级雄性 BALB/c 小鼠 25 只，6~8 周龄，体质量 18~20 g，购自北京华阜康生物科技股份有限公司，合格证号 110322220102626561，动物生产许可证号 SCXK (京) 2019-0008。动物于相对湿度 50%~60%、室温 (25±2) °C 的 SPF 级动物屏障房内饲养，每笼 5 只，自由进食饮水，适应性饲养 1 周后。动物实验经中国医学科学院放射医学研究所实验动物管理与伦理委员会决议批准(批准号 IRM-DWLL-2022185)。

1.2 细胞

A549/DDP 细胞购自上海博谷生物科技有限公司；高表达 Beclin1 A549/DDP (简称 Ad-Beclin1)、低表达 Beclin1 A549/DDP (简称 Si-Beclin1)、高表达 YAP1 A549/DDP (简称 Ad-YAP1) 和低表达 YAP1 A549/DDP (简称 Si-YAP1) 细胞由天津时域科技有限公司设计并获得稳定表达。

1.3 药材

消岩汤由黄芪 30 g、太子参 15 g、郁金 10 g、姜黄 10 g、夏枯草 15 g、白花蛇舌草 15 g、生牡蛎 30 g、蜂房 15 g 组成。实验所用中药药材均购自北京盛世龙中药饮片有限公司，经天津中医药大学贾英杰教授鉴定，黄芪为豆科植物蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao 的干燥根、太子参为石竹科植物孩儿参 *Pseudostellaria heterophylla* (Miq.) Pax ex Pax et Hoffm. 的干燥块根、郁金为姜科植物温郁金 *Curcuma wenyujin* Y. H. Chen et C. Ling 的干燥块根、姜黄为姜科植物姜黄 *Curcuma longa* L. 的干燥根茎、夏枯草为唇形科植物夏枯草 *Prunella vulgaris* L. 的干燥果穗、白花蛇舌草为茜草科植物白花蛇舌草 *Oldenlandia diffusa* (Willd.) Roxb. 的全草、生牡蛎为牡蛎科动物长牡蛎 *Ostrea gigas* Thunberg 的贝壳、蜂房为胡蜂科昆虫果马蜂 *Polistes olivaceous* (DeGeer) 的干燥巢。

1.4 药品与试剂

顺铂 (国药准字 H37021358) 购自齐鲁制药有限公司；10%胎牛血清 (批号 10270106)、RPMI 1640 培养基 (批号 C11875500BT) 购自美国 Gibco 公司；1%青霉素-链霉素 (批号 P1400) 购自北京索莱宝科技有限公司；Beclin1 抗体 (批号 ab210498)、YAP1

抗体(批号 ab76252)、P 糖蛋白(P-glycoprotein, P-gp)抗体(批号 ab103477)、肺耐药相关蛋白(lung resistance-related protein, LRP)抗体(批号 ab92544)、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)抗体(批号 ab8245)、转录调节因子(transcriptional coactivator with PDZ-binding motif, TAZ)抗体(批号 ab242313)、磷酸化信号转导与转录激活因子 3(phosphorylated signal transducers and activators of transcription 3, p-STAT3)抗体(批号 ab68153)、哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)抗体(批号 ab134903)购自英国 Abcam 公司。

1.5 仪器

IX53 型荧光显微镜(日本 Olympus 公司); HSY-28 型恒温水浴锅(上海跃进医疗器械厂); 680 型全自动多功能酶标仪、Powerpac Basic 电泳仪、小型垂直电泳槽、ChemiDoc XRS 凝胶成像系统(美国 Bio-Rad 公司); Alpha Imager EC 凝胶成像系统(美国 Alpha Innotech 公司); New Brunswick Innova 2100 型恒温摇床(德国 Eppendorf 公司); HB2448K 型无菌操作台(丹麦 Holten laminair 公司); TD5Z 型低速水平离心机(湖南凯达科学仪器有限公司)。

2 方法

2.1 消岩汤的制备

消岩汤于天津中医药大学炮制实验室制备, 取消岩汤全方 140 g, 其中黄芪 30 g、太子参 15 g、郁金 10 g、姜黄 10 g、夏枯草 15 g、白花蛇舌草 15 g、生牡蛎 30 g、蜂房 15 g, 混匀, 加入 10 倍量蒸馏水, 浸泡 45 min, 煮沸 45 min, 滤过; 滤渣加入 8 倍量蒸馏水, 煮沸 30 min, 滤过, 合并 2 次滤液, 蒸馏浓缩, 置 70~80 °C 水浴中浓缩至 300 mL, 浓缩液为棕黄色液体, 生药量为 2.9 g/mL, 冷却装入灭菌药瓶, 于 4 °C 冰箱保存备用。

2.2 体外实验

2.2.1 细胞培养 所有细胞用含 10%胎牛血清和 1%青霉素-链霉素的 RPMI 1640 培养基, 于 37 °C、5% CO₂ 培养箱中培养。

2.2.2 Transwell 实验 设置对照组、Ad-Beclin1 组、Si-Beclin1、Ad-YAP1 和 Si-YAP15 组, Ad5/dE1A 感染细胞 24 h 后, 收集各组细胞, 用无血清 RPMI 1640 培养基制成单细胞悬液, 接种至 Transwell 小室内(5×10³ 个/孔), Transwell 下室加入含 20%胎牛血清的 RPMI 1640 培养基, 每组设 3 个复孔, 每组加

入消岩汤 30 mg/mL 和顺铂(80 μmol/mL)^[7], 于 37 °C、5% CO₂ 培养箱中培养 96 h。取出 Transwell 小室, 用棉签拭去膜上层未迁移的细胞, 70%甲醇固定 30 min, 结晶紫染色 10 min。于显微镜下拍照并统计膜背面上的细胞数。

2.2.3 克隆形成实验 设置对照组、Ad-Beclin1 组、Si-Beclin1、Ad-YAP1 和 Si-YAP15 组, Ad5/dE1A 感染细胞 24 h 后, 收集各组细胞, 以 400 个/孔接种于 6 孔板中, 培养 10~14 d, 直到大多数单个细胞集落含有 50 个细胞以上时停止培养。以 4%多聚甲醛固定细胞后, 加入 0.1%结晶紫溶液染色, 拍照并计数。

2.2.4 Western blotting 实验 设置对照组、Ad-Beclin1 组、Si-Beclin1、Ad-YAP1 和 Si-YAP15 组, Ad5/dE1A 感染细胞 24 h 后, 收集各组细胞, 以 1×10⁶ 个/孔接种于 6 孔板中, 培养 48 h, 收集细胞, 加入 RIPA 裂解液裂解 30 min, 4 °C、12 000 r/min 离心 15 min, 提取蛋白。蛋白样品经 10%十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳, 转至 PVDF 膜, 于 5%脱脂牛奶中封闭 60 min, 分别加入 Beclin1、YAP1、P-gp、LRP、TAZ、p-STAT3、mTOR 和 GAPDH 抗体, 4 °C 孵育过夜; TBST 洗涤 3 次, 每次 10 min, 加入二抗, 室温孵育 60 min; TBST 洗涤 3 次, 每次 10 min, 加入 ECL 发光试剂显影。

2.3 体内实验

将 25 只 BALB/c 小鼠按照随机数字法随机分为对照组、Ad-Beclin1 组、Si-Beclin1、Ad-YAP1 和 Si-YAP15 组, 每组 5 只。分别取对数生长期的 Ad-Beclin1、Si-Beclin1、Ad-YAP1 和 Si-YAP15 细胞及对照组细胞, PBS 洗涤 2 次, 1000 r/min 离心 5 min, 弃上清, 用生理盐水调整细胞密度为 5×10⁶ 个/mL, 5 组小鼠右前腋下接种 0.2 mL 相应细胞, 待小鼠皮下肿瘤的平均直径达到 5 mm 时开始给药, 小鼠 ig 0.2 mL 2.9 g/mL 消岩汤(28.7 mg/g), 2 次/d, 并瘤内注射顺铂(2 mg/kg), 1 次/d, 连续给 14 d^[8]。

2.4 统计学分析

所有数据采用 SPSS 22.0 软件进行统计学分析与处理, 两样本均数的比较选择 *t* 检验, 多组样本均数的比较应用方差分析。

3 结果

3.1 消岩汤联合顺铂对不同蛋白表达的 A549/DDP 细胞侵袭和增殖的影响

如图 1-A、B 所示, 与对照组比较, Ad-Beclin1 组和 Ad-YAP1 组细胞侵袭数均明显增多($P <$

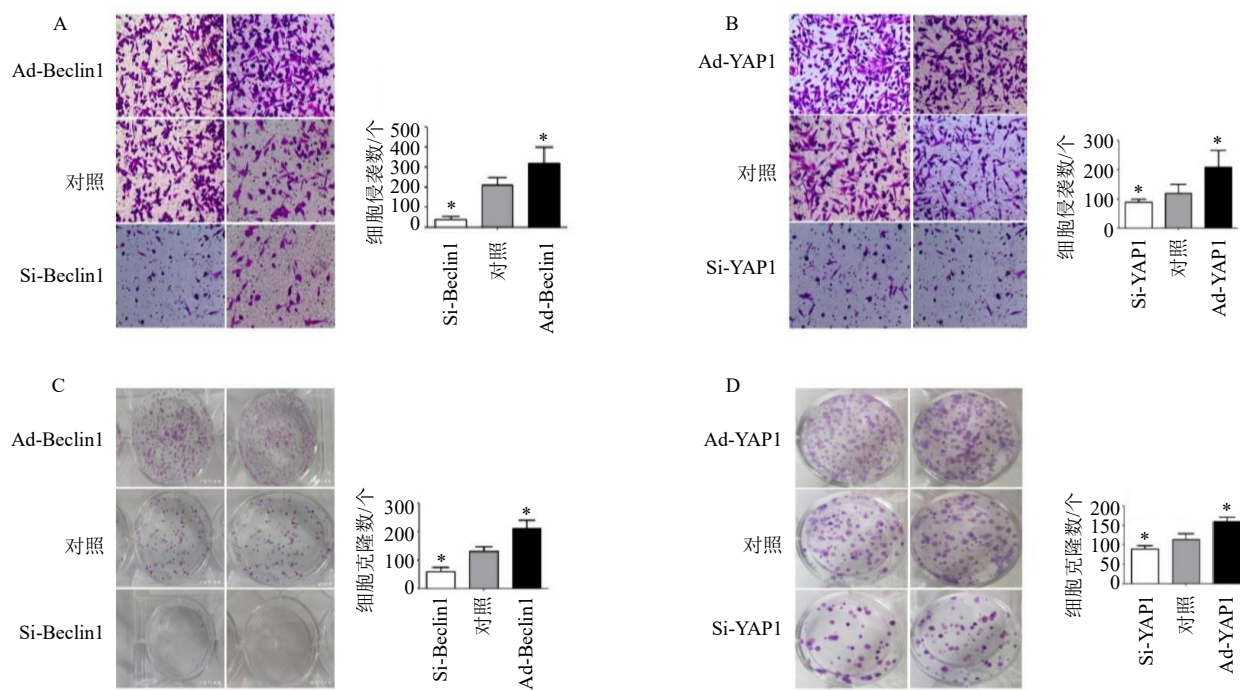
0.05), Si-Beclin1 组和 Si-YAP1 组细胞侵袭数均明显减少 ($P < 0.05$)。

如图 1-C、D 所示, 与对照组比较, Ad-Beclin1 组和 Ad-YAP1 组细胞克隆数均明显增多 ($P < 0.05$), Si-Beclin1 组和 Si-YAP1 组细胞克隆数均明

显减少 ($P < 0.05$)。

3.2 消岩汤联合顺铂对不同蛋白表达的 A549/DDP 细胞相关蛋白表达的影响

如图 2 所示, 与对照组比较, Si-Beclin1 组 Beclin1、YAP1、P-gp 和 LRP 蛋白表达水平均明显



与对照组比较: * $P < 0.05$, 下同

* $P < 0.05$ vs control group, same as below figures

图 1 消岩汤联合顺铂对不同蛋白表达的 A549/DDP 细胞侵袭 (A、B) 和增殖 (C、D) 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 1 Effect of Xiaoyan Decoction combined with cisplatin on invasion (A, B) and proliferation (C, D) of A549/DDP cells with different protein expressions ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

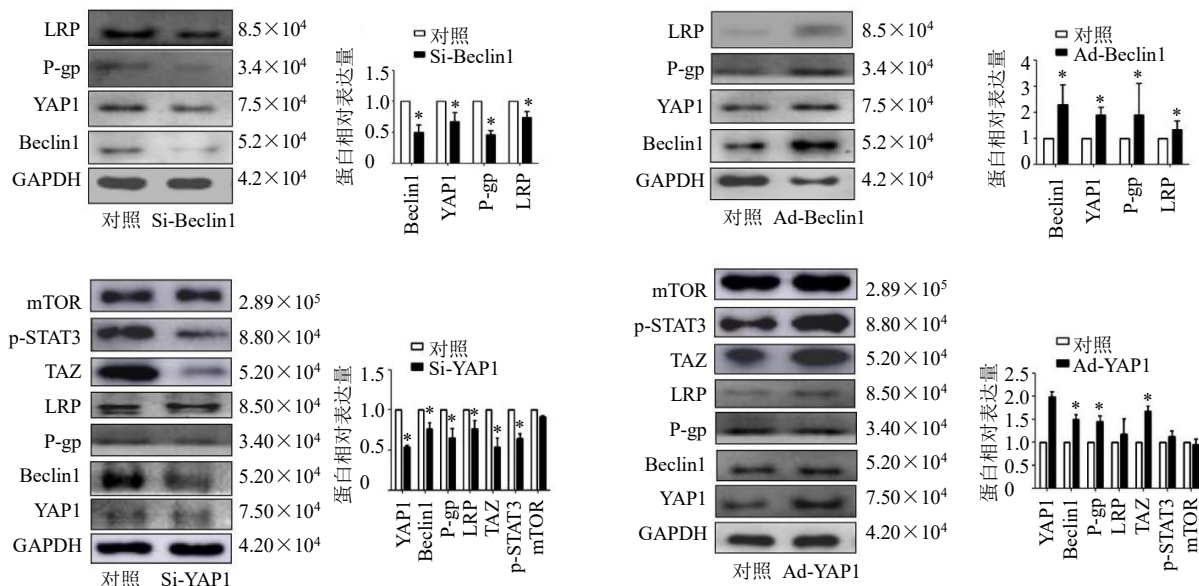


图 2 消岩汤联合顺铂对不同蛋白表达的 A549/DDP 细胞相关蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 2 Effect of Xiaoyan Decoction combined with cisplatin on related protein expressions in A549/DDP cells with different protein expressions ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

降低 ($P < 0.05$); Ad-Beclin1 组 Beclin1、YAP1、P-gp 和 LRP 蛋白表达水平均明显升高 ($P < 0.05$); Si-YAP1 组 p-STAT3、TAZ、Beclin1、YAP1、P-gp 和 LRP 蛋白表达水平均明显降低 ($P < 0.05$); Ad-YAP1 组 TAZ、Beclin1、YAP1 和 P-gp 蛋白表达水平均明

显升高 ($P < 0.05$)。

3.3 消岩汤联合顺铂对移植瘤小鼠的影响

如图 3 所示, Ad-Beclin1 组和 Ad-YAP1 组肿瘤体积明显大于对照组 ($P < 0.05$), Si-Beclin1 组和 Si-YAP1 组肿瘤体积明显小于对照组 ($P < 0.05$)。

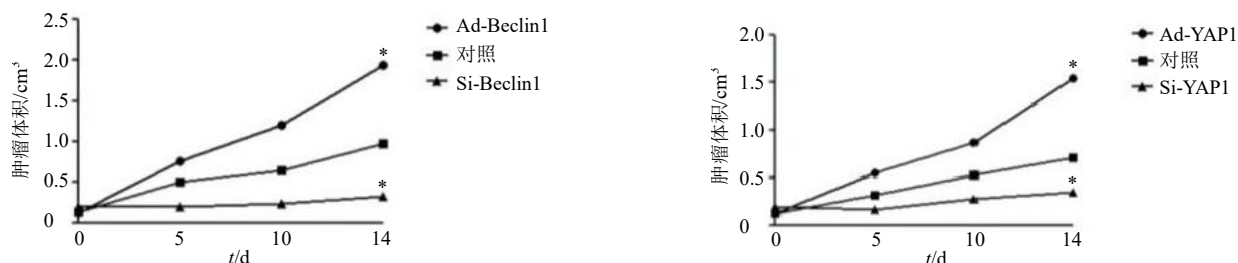


图 3 消岩汤联合顺铂对移植瘤小鼠肿瘤体积的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Fig. 3 Effects of Xiaoyan Decoction combined with cisplatin on tumor volume in transplanted tumor mice ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

4 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, 目前对于肺癌顺铂耐药机制尚无统一认识^[9]。研究发现自噬在肿瘤化疗过程中起重要作用, 化疗药物处理的肿瘤细胞可发生死亡性自噬和保护性自噬。当机体处于病理状态时, 自噬可以作为一种能量的来源为机体提供能量, 因此自噬对癌细胞的化疗耐药起到保护的作用, 通过干预细胞自噬可作为逆转细胞耐药的一种新的治疗方法^[10]。Beclin1 是自噬启动过程的标志, 多项研究发现 Beclin1 与化疗药物耐药密切相关^[11]。在卵巢癌中, 改变 Beclin1 的表达可以增强凋亡相关蛋白进而提高耐药细胞对顺铂的敏感性^[11]。Beclin1 可激活 YAP1 蛋白, 共同促进耐药的发生^[13]。YAP1 在调节组织稳态、器官体积、再生及肿瘤形成中发挥重要作用, YAP 可通过激活生长因子信号、抑制凋亡、调节 DNA 损伤反应、促进细胞周期、诱导干细胞样特性、诱导间充质转化, 引起抗肿瘤治疗过程中的耐药作用^[14]。目前常见逆转耐药的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不良反应, 从中药中寻找理想的耐药逆转剂有着广阔的前景。贾英杰教授根据多年肿瘤临床经验并结合中医现代医学理论, 认为肺癌发病病机为正气内虚, 邪留毒聚, 瘀毒并存; 在此基础上根据中药功效及现代药理研究拟定消岩汤^[15]。前期实验发现消岩汤能够抑制肺癌耐药细胞株增殖及侵袭, 提示消岩汤能够改善肺癌顺铂耐药细胞株对顺铂的敏感性, 进而逆转耐药; 此外, 顺铂联合消岩汤可能调控自噬

相关蛋白表达进而逆转顺铂耐药, 其靶点可能与 Beclin1 和 YAP1 相关^[7]。然而消岩汤作用靶点目前尚未清晰, 因此本研究通过细胞和动物实验探讨消岩汤逆转化疗耐药的分子机制。

首先, 通过 Transwell 和克隆形成实验观察消岩汤联合顺铂干预不同蛋白表达下 A549/DDP 细胞增殖和侵袭情况, 结果显示, 消岩汤联合顺铂作用于高表达 Beclin1 和高表达 YAP1 肺癌细胞株, 细胞侵袭和增殖能力增强; 而作用于低表达 Beclin1 和低表达 YAP1 肺癌细胞株, 肺癌耐药细胞株侵袭和增殖能力减弱。初步证实消岩汤联合顺铂逆转肺癌耐药分子通路可能与 Beclin1 和 YAP1 相关, 与前期研究结果一致^[7]。进一步通过检测相关蛋白表达发现, 消岩汤联合顺铂干预高表达 Beclin1 耐药细胞株和低表达 Beclin1 耐药细胞株, YAP1、P-gp 和 LRP 和 Beclin1 的变化趋势一致, 结合文献报道发现, YAP1 蛋白存在 Beclin1 结合位点, YAP1 蛋白结构中 WW 区域是 Beclin1 与 YAP1 结合的关键位点^[13], 推测消岩汤联合顺铂可以干预 Beclin1, 进而直接调控 YAP1 表达进而影响下游基因, 从而改变肺癌耐药细胞对顺铂的敏感性。为进一步探讨机制, 通过检测消岩汤联合顺铂干预高表达 YAP1 耐药细胞株和低表达 YAP1 耐药细胞株中 Beclin1、P-gp 和 LRP 蛋白的表达, 发现 Beclin1 表达与 YAP1 一致, 而 P-gp 和 LRP 部分受 YAP1 表达影响, 推测 YAP1 是否通过某些通路反向影响 Beclin1。因此查询相关文献寻找 YAP1 与化疗耐药相关蛋白如 p-STAT3^[16]、mTOR^[17]和 TAZ^[18]有关, 并且通过消岩

汤联合顺铂干预不同表达 YAP1 肺癌耐药细胞株观察相关蛋白的变化,发现 TAZ 蛋白表达与 YAP1 表达一致,结合 Maroni 等^[19]研究发现 TAZ 与肿瘤自噬密切相关,推测消岩汤联合顺铂可能通过抑制 YAP1,激活下游 TAZ 分子,反向抑制 Beclin1 的表达。因此,消岩汤联合顺铂干预肺癌顺铂耐药可能主要与 Beclin1-YAP1 环路相关。进一步通过动物实验进行验证,构建了不同基因表达 BALB/c 小鼠移植瘤模型,通过消岩汤联合顺铂观察各组小鼠移植瘤体积变化情况,结果与细胞实验相似,发现 Ad-Beclin1 组和 Ad-YAP1 组肿瘤体积明显大于对照组, Si-Beclin1 组和 Si-YAP1 组肿瘤体积明显小于对照组。说明消岩汤逆转肺癌顺铂耐药与 Beclin1 和 YAP1 可能具有相关性。

本研究发现消岩汤可能通过 Beclin1-YAP1 环路逆转肺癌顺铂耐药,为中医药逆转化疗耐药提供了新的思路,也为中医药治疗肿瘤提供新的证据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] El-Hussein A, Manoto S L, Ombinda-Lemboumba S, *et al.* A review of chemotherapy and photodynamic therapy for lung cancer treatment [J]. *Anticancer Agents Med Chem*, 2021, 21(2): 149-161.
- [2] MacDonagh L, Gray S G, Breen E, *et al.* Lung cancer stem cells: The root of resistance [J]. *Cancer Lett*, 2016, 372(2): 147-156.
- [3] Usman R M, Razzaq F, Akbar A, *et al.* Role and mechanism of autophagy-regulating factors in tumorigenesis and drug resistance [J]. *Asia Pac J Clin Oncol*, 2021, 17(3): 193-208.
- [4] Xia J L, He Y J, Meng B, *et al.* NEK2 induces autophagy-mediated bortezomib resistance by stabilizing Beclin-1 in multiple myeloma [J]. *Mol Oncol*, 2020, 14(4): 763-778.
- [5] Chen J H, Zhang L M, Zhou H, *et al.* Inhibition of autophagy promotes cisplatin-induced apoptotic cell death through Atg5 and Beclin1 in A549 human lung cancer cells [J]. *Mol Med Rep*, 2018, 17(5): 6859-6865.
- [6] 赵林林, 王艳亭, 王晓群, 等. 消岩汤治疗非小细胞肺癌临床及基础研究进展 [J]. *中草药*, 2022, 53(2): 627-634.
- [7] 刘宏根, 杨佩颖, 赵林林, 等. 消岩汤逆转肺癌顺铂耐药的机制研究 [J]. *中草药*, 2020, 51(9): 2486-2491.
- [8] 张莹, 贾英杰, 李小江, 等. 消岩汤对耐顺铂人肺腺癌 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.
- [9] Qin X, Yu S, Xu X, *et al.* Comparative analysis of microRNA expression profiles between A549, A549/DDP and their respective exosomes [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(26): 42125-42135.
- [10] Li Y J, Lei Y H, Yao N, *et al.* Autophagy and multidrug resistance in cancer [J]. *Chin J Cancer*, 2017, 36(1): 52.
- [11] Ying H, Qu D, Liu C, *et al.* Chemoresistance is associated with Beclin-1 and PTEN expression in epithelial ovarian cancers [J]. *Oncol Lett*, 2015, 9(4): 1759-1763.
- [12] Yang J, Yao S K. 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.
- [13] 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*, 2019, 689: 210-219.
- [14] Hsu P C, You B, Yang Y L, *et al.* YAP promotes erlotinib resistance in human non-small cell lung cancer cells [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(32): 51922-51933.
- [15] 刘筱迪, 李小江, 牟睿宇, 等. 浅析贾英杰教授运用“升降学说”治疗肺癌经验 [J]. *天津中医药*, 2021, 38(9): 1122-1125.
- [16] He L Z, Pratt H, Gao M S, *et al.* YAP and TAZ are transcriptional co-activators of AP-1 proteins and STAT3 during breast cellular transformation [J]. *Elife*, 2021, 10: e67312.
- [17] Xu M X, Gu M, Zhou J, *et al.* Interaction of YAP1 and mTOR promotes bladder cancer progression [J]. *Int J Oncol*, 2020, 56(1): 232-242.
- [18] Totaro A, Panciera T, Piccolo S. YAP/TAZ upstream signals and downstream responses [J]. *Nat Cell Biol*, 2018, 20(8): 888-899.
- [19] Maroni P, Matteucci E, Bendinelli P, *et al.* Functions and epigenetic regulation of Wwox in bone metastasis from breast carcinoma: Comparison with primary tumors [J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(1): 75.

[责任编辑 李亚楠]