

· 基础研究 ·

温郁金醇提物对多药耐药人胃癌裸鼠异位移植瘤的抑制及葡萄糖神经酰胺合成酶的影响

宋淑萍 蔡利军 孟立娜

摘要 **目的** 探讨温郁金醇提物对多药耐药人胃癌裸鼠异位移植瘤的抑制及葡萄糖神经酰胺合成酶 (glucosylceramide synthase, GCS) 的影响。**方法** 将人耐长春新碱 (vincristine, VCR) 胃腺癌细胞 SGC7901 (vincristine-resistant gastric cancer SGC7901 cells, SGC7901/VCR) 接种于 50 只 BALB/c 裸鼠右侧背部皮下, 建立荷瘤裸鼠模型, 2~3 周后选取瘤体大小相近的裸鼠 36 只, 按随机数字表法分为 6 组: 模型组, VCR 组, 温郁金醇提物低剂量 (温低) 组, 温郁金醇提物高剂量 (温高) 组, 温郁金醇提物低剂量联合 VCR (温低 + VCR) 组, 温郁金醇提物高剂量联合 VCR (温高 + VCR) 组。各组动物按各自药物和剂量给药, 连续 14 天, 末次给药后处死动物, 剖取瘤体组织, 计算抑瘤率以及应用 RT-PCR 检测移植瘤中 GCS-mRNA 的表达, Western blot 检测 GCS 蛋白表达水平。**结果** 与模型组比较, 温高 + VCR 组瘤重明显减轻, VCR 组 GCS mRNA 及蛋白表达量明显增高, 温高组、温低 + VCR 组以及温高 + VCR 组中 GCS mRNA 及蛋白表达量明显降低, 温低 + VCR 组以及温高 + VCR 组中 GCS mRNA 及蛋白表达量均明显低于温高组 ($P < 0.05$)。**结论** 温郁金醇提物联合 VCR 可抑制人胃癌 SGC7901/VCR 裸鼠异位移植瘤生长; 抑制作用可能与温郁金逆转人胃癌 SGC7901/VCR 裸鼠异位移植瘤对 VCR 的耐药有关。逆转作用可能是通过 GCS 途径, 提高了肿瘤细胞对 VCR 的敏感性。

关键词 多药耐药; 葡萄糖神经酰胺合成酶; 温郁金; 胃癌

Inhibitory Effect of Curcuma wenyujin Alcohol Extract on Ectopic Transplantation Tumor of Multi-drug Resistant Nude Mice and Glucosylceramide Synthase SONG Shu-ping, CAI Li-jun, and MENG Li-na Department of Digestion, First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou (310006)

ABSTRACT **Objective** To observe the inhibitory effect of Curcuma wenyujin Alcohol Extract (CWAE) on ectopic transplantation tumor of multidrug resistant (MDR) nude mice and glucosylceramide synthase (GCS). **Methods** Human vincristine-resistant (VCR) gastric cancer SGC7901/VCR cells in 50 nude mice were inoculated subcutaneously from right back to establish tumor bearing nude mice model. Totally 36 nude mice with similar tumor volume were selected 2 or 3 weeks later. Then they were divided into 6 groups according to random number table, i.e., the model group, the VCR group, the low dose CWAE group (CWAEL), the high dose CWAE group (CWAEH group), the CWAEL + VCR group, the CWAEH + VCR group. Mice in each group were administrated with corresponding medications for 14 successive days. They were sacrificed after the last medication. The tumor tissue was anatomized. The tumor inhibition rate was calculated. mRNA and protein expressions of GCS were detected by RT-PCR and Western Blot respectively. **Results** Compared with the model group, the tumor weight was obviously reduced in the CWAEH + VCR group; GCS expression was significantly increased in the VCR group; GCS expression was significantly decreased in the CWAEL group, the CWAEL + VCR group, and the CWAEH + VCR group. GCS expression was significantly lower in the CWAEL + VCR group and the CWAEH

基金项目: 浙江省教育厅科研项目 (No. Y201119889); 浙江省自然科学基金资助项目 (No. LY16H290001)

作者单位: 浙江中医药大学附属第一医院消化科 (杭州 310006)

通讯作者: 孟立娜, Tel: 13858126713, E-mail: mln6713@163.com

DOI: 10.7661/j.cjim.20170426.115

+ VCR group than in the CWAEH group. **Conclusions** CWAE combined VCR could inhibit the growth of ectopic transplantation tumor in nude mice. Curcuma wenyujin might reverse resistance effect of VCR for ectopic transplantation tumor in nude mice. The reverse effect might be achieved by improving the sensitivity of tumor cells to VCR through GCS.

KEYWORDS multi-drug resistant; glucosylceramide synthase; Curcuma wenyujin; gastric carcinoma

胃癌是消化道最常见的恶性肿瘤,我国早期胃癌检测率低下,因而化疗成为综合治疗胃癌尤其是晚期胃癌的重要手段之一,但肿瘤多药耐药(multi-drug resistance, MDR)却限制了化疗药物的进一步应用,是胃癌化疗失败的一个主要原因。神经酰胺介导的凋亡与肿瘤 MDR 密切相关,在葡萄糖神经酰胺合成酶(glucosylceramide synthase, GCS)作用下形成的糖基化神经酰胺已经成为 MDR 表型的标志^[1]。前期研究发现,温郁金醇提物体外能明显抑制人胃腺癌细胞 SGC7901 增殖,具有良好的凋亡诱导效应^[2]。本实验旨在探讨温郁金醇提物对人耐长春新碱(vincristine, VCR)胃腺癌细胞 SGC7901 裸鼠异位移植瘤是否具有抑制作用?其作用是否与 GCS 有关?现报告如下。

材料与方法

1 材料

1.1 动物 SPF 级 BALB/c 裸小鼠,鼠龄 4 ~ 6 周,雌雄各半,体重(20 ± 2)g,购自浙江中医药大学动物中心,动物合格证号:SCXK(沪)2012-0002。

1.2 细胞株 VCR 胃腺癌细胞 SGC7901 (SGC7901/VCR)购自上海天呈科技有限公司(货号 TC-2195,批号:2011122113408),由浙江中医药大学第一临床医学院中心实验室保存、传代培养。

1.3 药物 温郁金醇提物:浙江中医药大学制剂中心制备;注射用硫酸长春新碱:购自浙江海正药业股份有限公司(批号:120902)。

1.4 试剂和仪器 RPMI-1640 细胞培养基(500 mL/瓶,杭州科易生物技术有限公司,生产批号为 20130312);RNAiso Plus、转录试剂盒、SYBR Premix Ex Taq 及 PCR 扩增试剂(Takara 宝生物工程),BCA 蛋白定量试剂盒、RIPA 裂解缓冲液(北京普利莱基因技术有限公司),PVDF 膜(杭州达文生物有限公司),鼠抗人 Beta-actin 多克隆抗体(Cell Signaling, 美国),GCS 多克隆抗体(Proteintech Group, 美国)。凝胶成像系统 Chemi Doc XRS (Bio-Rad, 美国),多功能全波长酶标仪系统(Bio-Tech, 美国),PCR 扩增仪 7900(Bio-Rad, 美国)。

2 方法

2.1 温郁金醇提取物的制备 将温郁金 500 g 洗净晾干,机械粉碎后,加 95%乙醇 10 倍量,充分均匀搅拌,浸泡 30 min 后,回流提取 2 次,第 1 次 1.5 h,第 2 次 1 h,提取上层乙醇浸提液,合并浸提液放置于旋转蒸发仪中加热真空抽吸(水浴设温度为 60 ℃,旋转蒸发仪速度为 50 r/min),直到无乙醇蒸发出为止,将所有获得的醇提取物置于烘箱中 8 h,蒸发其中的水分及乙醇,流浸膏加纯化水配置成 500 mL,生药含量 1 g/mL。

2.2 细胞培养 SGC7901/VCR 细胞生长在含 10%胎牛血清的 RPMI-1640 培养液中,于 5%CO₂ 培养箱,37 ℃条件下培养;SGC7901/VCR 细胞的培养液中含有 0.1 μg/mL 的 VCR 以稳定其耐药表型。

2.3 动物模型的建立 调整 SGC7901/VCR 细胞浓度为 1 × 10⁷/mL,取 4 ~ 6 周龄 BALB/c 裸鼠 6 只,体重(20 ± 2)g,雌雄各半。常规消毒后于裸鼠右前肢近背部皮下注入 0.2 mL 制备好的单细胞悬液,细胞数为 2 × 10⁶个。细胞接种后于独立送风隔离笼(IVC)内 SPF 条件下,恒温恒湿饲养,经过 18 ~ 20 天的潜伏期后,可见接种部位逐渐长大。待裸鼠皮下肿瘤生长至 0.8 ~ 1.2 cm 时,选择肿瘤生长旺盛且无溃破的荷瘤裸鼠,脱颈椎处死,剥离移植瘤,取新鲜实质的瘤体组织,剪成约 1 mm × 1 mm × 1 mm 大小的组织块,接种于第 2 代裸鼠右前肢近背部皮下。

2.4 实验分组与给药方法 第 2 代裸鼠共 50 只,接种后约 3 周,选择瘤体直径 0.5 cm、肿瘤生长良好、无自发性出血坏死、瘤周无感染病灶的荷瘤裸鼠共 36 只为实验模型。将荷瘤鼠按体重从轻到重编号,体重相近的 6 只裸鼠配成一个区组,共 6 个区组。在随机数字表中,任选一行一列开始的 3 位数作为 1 个随机数,在每个区组内将随机数字按大小排序,序号为 1 为模型组,腹腔注射生理盐水 10 mL/(kg · 2 d),序号 2 为 VCR 组,腹腔注射 VCR 0.28 mg/(kg · 2 d),序号 3 为温郁金醇提物低剂量(温低)组,给予温郁金醇提物灌胃 1.4 g/(kg · d),序号 4 为温郁金醇提物高剂量(温高)组,给予温郁金醇提物灌胃 2.8 g/(kg · d),序

号 5 为温低 + VCR 组, 给予温郁金醇提物灌胃 1.4 g/(kg · d) + 腹腔注射 VCR 0.28 mg/(kg · 2 d), 序号 6 为温高 + VCR 组, 给予温郁金醇提物灌胃 2.8 g/(kg · d) + 腹腔注射 VCR 0.28 mg/(kg · 2 d)。以上给药方式参照《药理实验方法学》^[3]“人和动物按体表面积折算的等效剂量比率表”计算给药量。本次实验共 14 天。

2.5 抑瘤率 末次给药后次日, 脱颈椎处死动物, 剖取瘤体组织, 电子天平称重瘤块, 计算抑瘤率。抑瘤率(%) = (1 - 实验组平均重量/对照组平均重量) × 100%。

2.6 GCS mRNA 表达水平 采用 RT-PCR 检测。取 50 ~ 100 mg 移植瘤组织, 加入 1 mL RNAiso Plus, 用匀浆机将组织研磨成粉末, 室温静置 5 min, 12 000 × g, 4 ℃ 离心 5 min; 将上清液转移至新的 1.5 mL 的离心管中, 加入 0.2 mL 氯仿, 剧烈振荡 15 s, 室温静置 5 min, 12 000 × g, 4 ℃ 离心 15 min; 将上清液转移至新的 1.5 mL 的离心管中, 加入与上清液等体积的异丙醇, 混匀, 室温静置 10 min, 12 000 × g, 4 ℃ 离心 10 min; 弃上清, 加 75% 的乙醇 1 mL, 12 000 × g, 4 ℃ 离心 5 min 后弃乙醇, 室温干燥沉淀约 15 min, 加入 20 μL 的 RNase-free 水溶解沉淀。用紫外分光光度计 RNA 浓度及质量, 使 RNA 样本的纯度值(A₂₆₀/A₂₈₀) 在 1.8 ~ 2.2 之间。配制 RT 反应液进行反转录。GCS 基因引物根据 Primer Premier 5.0 分析软件自行设计, 上游引物: 5'-AGAAAAAGTAGGCTTGTTTCACG-3'; 下游引物: 5'-TTCGGCAATGTACTGAGCAAA-3', 扩增片段长度为 302 bp。GAPDH 为内参: 上游引物: 5'-GGAGCGAGATCCCTCCAAAAT-3', 下游引物: 5'-GGCTGTTGTCATACTTCTCATGG-3', 扩增片段长度为 501 bp。配制 PCR 反应液 10 μL: Taq 5 μL, dH₂O 3.4 μL, ROX ReferenceDye 0.2 μL, 反转录的 DNA 模板 1 μL, GCS 及 GAPDH 上下游引物各 0.2 μL。设置两步法进行 PCR 扩增。在 ABI 7900 荧光定量 PCR 检测系统 RQ Manager 1.2.1 程序中, 对 GAPDH 基因作为对照, 对 GCS 的表达进行分析。

2.7 GCS 蛋白表达水平 采用 Western blot 法检测。各组取米粒大小组织, 分别加入 200 μL 按 100:1 配制的 RIPA 裂解缓冲液和蛋白酶抑制剂的混合液, 匀浆机匀浆, 震荡 40 ~ 60 s, 冰上静置 10 min, 4 ℃ 12 000 × g, 离心 20 min, 取上清。按标准品浓度建立标准曲线, 并计算含 40 μg 蛋白的溶液体积为上样量。取蛋白样品加入等体积的 2 × SDS 上样缓冲

液, 煮沸变性 5 min。根据各组上样量, 加入 10% 的分离胶和 5% 的浓缩胶中进行 SDS-PAGE 电泳, 恒压 60 V 过浓缩胶, 待各条带分离后 100 V 进行分离胶电泳, 电泳完毕后, 剥离胶并将 PVDF 膜盖于胶上, 于 4 ℃ 层析柜中 250 mA 转膜 2 h, 转膜后将 GCS 一抗用封闭液以 1:1 000 稀释, 将 PVDF 膜与一抗充分接触, 4 ℃ 层析柜中封闭过夜; 一抗孵育完毕后, 用 TBS-T 缓冲液洗脱 3 次 × 10 min; 将 GCS 二抗用封闭液以 1:3 000 稀释, 室温孵育 1 ~ 2 h; 用 TBS-T 缓冲液洗脱 3 次 × 10 min; 加入 ECL 显色剂避光显色后入暗室曝光, 将胶片进行拍照, 用凝胶成像系统 (Chemi Doc XRS system) 分析目的条带的面积、宽度、灰度值。

2.8 统计学方法 应用 SPSS 17.0 统计软件对数据进行分析, 结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间均数比较采用 *t* 检验, 多组间均数比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用 LSD 法。P < 0.05 为差异有统计学意义。

结 果

1 各组移植瘤重量比较(表 1) 温高 + VCR 组瘤重明显小于模型组及 VCR 组(P < 0.05), 其抑瘤率为 51.56%。

表 1 各组裸鼠移植瘤重及抑瘤率比较			
组别	n	瘤重(g, $\bar{x} \pm s$)	抑瘤率(%)
模型	6	0.64 ± 0.25	-
VCR	6	0.59 ± 0.31	7.81
温低	6	0.52 ± 0.31	18.75
温高	6	0.48 ± 0.12	25.00
温低 + VCR	6	0.44 ± 0.24	31.25
温高 + VCR	6	0.31 ± 0.09 ^{*Δ}	51.56

注: 与模型组比较, * P < 0.05; 与 VCR 组比较, ΔP < 0.05

2 各组移植瘤中 GCS mRNA 表达水平比较(表 2) 与模型组比较, VCR 组 GCS mRNA 表达量明显增加(P < 0.05), 温高组、温低 + VCR 组、温高 + VCR 组 GCS mRNA 表达量减少(P < 0.05)。与温高组比较, 温低 + VCR、温高 + VCR 组 GCS mRNA 表

表 2 各组移植瘤 GCS mRNA 表达水平比较($\bar{x} \pm s$)		
组别	n	GCS mRNA
模型	6	1.44 ± 0.28
VCR	6	2.39 ± 0.39 [*]
温低	6	1.29 ± 0.23
温高	6	1.11 ± 0.13 [*]
温低 + VCR	6	0.81 ± 0.22 ^{*Δ}
温高 + VCR	6	0.72 ± 0.21 ^{*Δ}

注: 与模型组比较, * P < 0.05; 与温高组比较, ΔP < 0.05

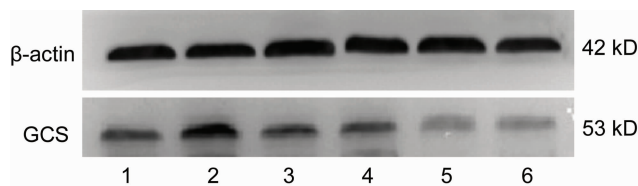
达量减少更明显($P < 0.05$)。

3 各组移植瘤中 GCS 蛋白表达比较(表 3, 图 1) GCS 蛋白表达在相对分子量 50 ~ 55 kD 处呈现印迹。GCS 相对表达量(GCS/GAPDH, 以 3 次重复实验的 $\bar{x} \pm s$ 表示)以 VCR 组最高, 明显高于模型组($P < 0.05$); 温低组低于模型组, 但差异无统计学意义($P > 0.05$); 温高、温低 + VCR 组、温高 + VCR 组 GCS 蛋白表达亦明显低于模型组($P < 0.05$)。与温高组比较, 温低 + VCR 组、温高 + VCR 组 GCS 蛋白表达明显降低($P < 0.05$)。

表 3 各组移植瘤 GCS 蛋白表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	相对表达量
模型	6	1.24 ± 0.06
VCR	6	1.84 ± 0.18 *
温低	6	1.01 ± 0.18
温高	6	0.88 ± 0.17 *
温低 + VCR	6	0.54 ± 0.04 * [△]
温高 + VCR	6	0.50 ± 0.06 * [△]

注: 与模型组比较, * $P < 0.05$; 与温高组比较, [△] $P < 0.05$



注: 1 为模型组; 2 为 VCR 组; 3 为温低组; 4 为温高组; 5 为温低 + VCR 组; 6 为温高 + VCR 组

图 1 各组移植瘤 GCS 蛋白表达电泳图

讨 论

肿瘤细胞 MDR 的机制非常复杂, 目前研究主要集中于 P-gp 介导的经典耐药途径, 而对于 MRP、GST、凋亡通路异常等非经典机制的探讨相对较少。其中, 参与神经酰胺凋亡行为的 GCS 则主要着眼于白血病、乳腺癌, 其在胃癌 MDR 中的作用知之甚少。

神经酰胺作为神经鞘磷脂循环途径中的第二信使, 参与凋亡、调节细胞分化、生长抑制等多种生物学效应。研究表明, 许多临床常用的药物(阿霉素、紫杉醇、长春碱等)、放线菌素 D、肿瘤坏死因子、CD45/Fas、热休克和辐射等诱导的肿瘤细胞的凋亡, 都是通过神经酰胺介导的^[4]。其糖基化代谢产物 GlcCer, 是由 GCS 催化尿苷二磷酸葡萄糖(uridine diphosphate glucose, UDP-glucose)上的糖基以 β 型糖苷键与神经酰胺相结合而生成的^[5]。GlcCer 是细胞表

面分布最广泛的一种鞘糖脂, 是 300 多种多糖基鞘糖脂的前体物质, 作为细胞生长的促进因子之一, GlcCer 可对抗凋亡, 调节细胞增殖^[6]。

GCS 使神经酰胺糖基化为 GlcCer, 在降低神经酰胺含量, 减弱其细胞毒性效应, 降低促凋亡作用的同时促进了细胞的分裂和增殖, 从而使细胞对化疗药物的敏感性下降, 促进了肿瘤细胞多药耐药的发生^[7]。Gouaze V^[8] 和 Zhao H^[9] 等研究证实多药耐药细胞中 GCS 水平增高后, 具有细胞毒性的神经酰胺转化为无细胞毒性的 GlcCer, 促进了 MDR 的发生。Liu YY 等^[1] 把 GCS 基因导入对阿霉素敏感的 MCF-7 细胞(MCF-7/GCS), 使其 GCS 的表达量为原来的 11 倍, 结果 MCF-7/GCS 对阿霉素和神经酰胺的耐受性较原来明显提高, 其耐受程度同 GCS 活性成正相关, 由此推测 GCS 活性增高是导致细胞对阿霉素、VCR 等化疗药物耐药的原因之一。

一些研究表明患者对化疗药物的反应与 GCS 表达水平明显相关, 抑制 GCS 延缓神经酰胺糖基化, 一方面可恢复神经酰胺介导的凋亡级联通路, 另一方面提高了多药耐药细胞对化疗药物的敏感性, 增强化疗药物的细胞毒性作用, 从而逆转 MDR^[10]。许多化疗药物可以抑制 GCS 活性并增加细胞内神经酰胺的合成, 如目前应用最多的 GCS 抑制剂 PDMP 和 PPMP, 均可通过抑制 GCS 活性, 提高细胞内神经酰胺的含量^[11]。而神经酰胺糖基化抑制剂三苯氧胺, 也可有效逆转卵巢癌耐药细胞亚株 SKOV3/Adr 的 MDR^[12]。有文献报道, 环孢霉素 A 衍生物 PSC833 与 VCR 分别作用时, 细胞生存率约为 20%, 联合作用时, 细胞生存率降为零, VCR 的细胞毒作用显著加强^[13], 但是上述药物不良反应严重, 达到逆转 MDR 的有效血浆浓度需较大剂量, 并且肿瘤细胞也可以对这些药物产生耐药, 限制了其临床应用。反义 GCS 寡脱氧(核糖)核苷酸(asGCS ODN-7)^[14] 能够阻滞细胞内 GCS 表达并选择性增强抗癌药的细胞毒性, 但也存在效率不高、临床应用困难等缺点。

前期研究发现, 温郁金醇提物体外能明显抑制人胃癌 SGC7901 细胞增殖, 具有良好的凋亡诱导效应^[2], 并且可以抑制人胃癌皮下移植瘤及原位移植瘤的生长及转移^[15], 对胃癌具有一定的化学预防作用^[16]。本实验成功建立人胃癌 SGC7901/VCR 裸鼠异位移植瘤模型, 实验动物经 2 周给药后, 移植瘤瘤重都有不同程度的增加, 其中, 模型组和 VCR 组增加明显, 温高 + VCR 组相对缓慢, 提示常规剂量温郁金醇提物对人胃癌 SGC7901/VCR 移植瘤无明显抑制作

用,而联合 VCR 可明显抑制移植瘤生长,其中,温高 + VCR 组有统计学意义,表明温郁金醇提物可能恢复甚至增加了肿瘤细胞对 VCR 的敏感性,从而逆转 SGC7901/VCR 对 VCR 的耐药作用,抑制肿瘤生长。

实验结果显示:VCR 组 GCS mRNA 及蛋白表达量明显高于模型组,提示人胃癌 SGC7901/VCR 裸鼠异位移植瘤 MDR 形成后,如再予 VCR 治疗,可能使 GCS 过表达,从而抑制了神经酰胺介导的细胞凋亡作用,进一步促进肿瘤耐药。而温高 + VCR 组 GCS mRNA 及蛋白表达量明显低于模型组,其机制可能是温郁金醇提物通过抑制 GCS 活性,提高细胞内神经酰胺含量,使肿瘤细胞凋亡增加,从而抑制肿瘤生长。

温高组、温低 + VCR 组与模型组、VCR 组比较,在 GCS 的表达水平上有明显差异,但对肿瘤生长无明显抑制,提示温郁金需联合 VCR 且增加剂量才能逆转 SGC7901/VCR 对 VCR 的耐药。

综上所述,温郁金醇提物联合 VCR 可有效抑制 GCS mRNA 及蛋白表达,增加了细胞内神经酰胺的含量,诱导胃癌耐药细胞发生凋亡,从而抑制人胃癌 SGC7901/VCR 裸鼠异位移植瘤的生长。

参 考 文 献

- [1] Liu YY, Han TY, Giuliano AE, et al. Expression of glucosylceramide synthase, confers adriamycin resistance in human breast cancer cells[J]. *Biol Chem*, 1999, 274(12): 1140 - 1146.
- [2] 徐毅, 吕宾, 丁志山, 等. 不同温郁金提取物抑制胃癌细胞 SGC7901 增殖和诱导凋亡的实验研究[J]. *浙江医学*, 2004, 26(7): 503 - 505.
- [3] 魏伟, 吴希美, 李元建主编. 药理实验方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2010: 1698.
- [4] Modrak DE, Gold DV, Goldenberg DM, et al. Sphingolipid targets in cancer therapy[J]. *Mol Cancer Ther*, 2006, 5(2): 200 - 208.
- [5] Bleicher RJ, Cabot MC. Glucosylceramide synthase and apoptosis[J]. *Biochim Bio Phys Acta*, 2002, 1585(2-3): 172 - 178.
- [6] Dyatlovitskaya EV, Kandyba AG. Role of biologically active sphingolipids in tumor growth[J]. *Biochemistry*, 2006, 71(1): 10 - 17.
- [7] Sun YL, Zhou GY, Li KN, et al. Construction of glucosylceramide synthase-specific siRNA ex-

pression vector and its efficiency in reversal of drug resistance in breast carcinoma cells[J]. *National Med J China*, 2005, 85(8): 518 - 521.

- [8] Gouaze V, Yu JY, Bleicher RJ, et al. Overexpression of glucosylceramide synthase and P-glycoprotein in cancer cells selected for resistance to natural product chemotherapy[J]. *Mol Cancer Ther*, 2004, 3(5): 633 - 639.
- [9] Zhao H, Miller M, Pfeiffer K, et al. Anoxia and reoxygenation of human endothelial cells decrease ceramide glucosyltransferase expression and activates caspases[J]. *FASEB J*, 2003, 17(6): 723 - 724.
- [10] Kok JW, Veldman RJ, Klappe K, et al. Differential expression of sphingolipids in MRP1 overexpressing HT29 cells[J]. *Int J Cancer*, 2000, 7(2): 172 - 178.
- [11] Sietsma H, Veldman RJ, Kolk D, et al. 1-phenyl-2-decanoylamino-3-morpholino-1-propanol chemosensitizes neuroblastoma cells for taxol and vincristine[J]. *Clin Cancer Res*, 2000, 6(3): 942 - 948.
- [12] 李胜平, 王丽莉, 张积仁, 等. 中性鞘糖脂表达在卵巢癌细胞株 SKOV3/Adr 多药耐药中的作用[J]. *四川医学*, 2003, 24(10): 1059 - 1061.
- [13] Cabot MC, Giuliano AE, Han TY, et al. SDZ PSC833, the cyclosporine A analogue and multidrug resistance modulator, activates ceramides synthesis and increases vinblastine sensitivity in drug-sensitive and drug-resistant cancer cells[J]. *Cancer Res*, 1999, 59(4): 880 - 885.
- [14] Liu YY, Han TY, Yu JY, et al. Oligonucleotides blocking glucosylceramide synthase expression selectively reverse drug resistance in cancer cells[J]. *Lipid Res*, 2004, 45(5): 933 - 940.
- [15] 蔡利军, 吕宾, 倪桂宝, 等. 温郁金对人胃癌裸鼠原位移植瘤生长转移的抑制作用及对 COX-2、VEGF 表达的影响[J]. *中医药学刊*, 2006, 24(10): 1843 - 1845.
- [16] Lu B, Xu L, Yu L, et al. Extract of Radix Curcumane prevents gastric cancer in rats[J]. *Digestion*, 2008, 77(1): 87 - 91.

(收稿: 2015 - 10 - 25 修回: 2016 - 04 - 24)

责任编辑: 段碧芳

英文责编: 张晶晶