论著

文章编号:1000-5404(2014)22-2254-05

苦参碱逆转乳腺癌耐药株 MCF-7/ADR 多药耐药与 PI3K/AKT 通道的关系

魏昌晟[1,2,3],沈义军[4],张 智[1,2],王 健[2],周炳刚[2] (750004 银川,宁夏医科大学:研究生院[1],宁夏颅脑疾病重点实验室[3];750002 银川,宁夏回族自治区人民医院乳腺微创外科[2];750021 银川,银川市第二人民医院普外科[4])

[摘要] **目的** 探索苦参碱对乳腺癌耐药株 MCF-7/ADR 多药耐药的逆转作用及其机制。**方法** 采用 MTT 法检测不同浓度苦参碱和 MK2206 作用 MCF-7/ADR 细胞 24 h 后的生长抑制率,以抑制率为 10% 的药物浓度为检测标准;用荧光 RT-PCR、Western blot 法检测不同浓度苦参碱作用 MCF-7/ADR 细胞 24 h 后 MDR1、MRP1、PTEN、AKT 基因 mRNA 和蛋白的表达。**结果** 荧光定量 RT-PCR 结果显示 0.6、1.2 g/L 的苦参碱干预组与空白对照组相比,随着苦参碱浓度的提高,耐药基因 MDR1、MRP1 的表达量逐渐降低(0.6 g/L 苦参碱组 MDR1 基因的相对表达量为 0.659 ± 0.074,MRP1 基因的相对表达量为 0.503 ± 0.058,与空白对照组相比 $P < 0.01$);PI3K/AKT 信号通路中的 PTEN 基因表达量逐渐增高而 AKT 基因的表达量逐渐降低;相同抑制率的苦参碱组(0.6 g/L)和 MK2206 组(0.05 μmol/L)相比,两组降低 MDR1、MRP1、AKT 基因表达量的差异不明显($P > 0.05$),MK2206 组更能增高 PTEN 基因的表达量。Western blot 检测结果显示 0.3、0.6、1.2 g/L 不同浓度苦参碱干预组与空白对照组相比,随着苦参碱浓度的提高耐药蛋白 p-gp、MRP1 表达量逐渐降低(0.6 g/L 苦参碱组 p-gp 蛋白的相对表达量为 0.316 ± 0.033,MRP1 蛋白的相对表达量为 0.134 ± 0.014,与空白对照组相比 $P < 0.01$),PI3K/AKT 信号通路中的 p-AKT 蛋白表达量逐渐降低,PTEN 蛋白表达量逐渐增高,总 AKT 基因表达量变化不明显;相同抑制率的苦参碱组(0.6 g/L)和 MK2206 组(0.05 μmol/L)相比,苦参碱组更能降低 p-gp、MRP1 的蛋白表达量且更能增高 PTEN 的蛋白表达量,但 MK2206 组更能降低 p-AKT 的蛋白表达量,对总 AKT 蛋白表达量两组差异不明显($P > 0.05$)。**结论** 苦参碱具有逆转乳腺癌多药耐药的作用,其机制可能是通过抑制 PI3K/AKT 通道发挥作用。

[关键词] 苦参碱;乳腺癌耐药株 MCF-7/ADR;多药耐药;PI3K/AKT 信号通路

[中图法分类号] R285.5;R73-362;R737.9 [文献标志码] A

Matrine reverses multidrug resistance in breast cancer drug-resistant cell line MCF-7/ADR through inhibiting PI3K/AKT signal pathway

Wei Changsheng[1,2,3], Shen Yijun[4], Zhang Zhi[1,2], Wang Jian[2], Zhou Binggang[2] ([1]School of Postgraduate, [3]Ningxia Key Laboratory for Cerebrocranial Diseases, Ningxia Medical University, Yinchuan, Ningxia Hui Autonomous Region, 750004; [2]Department of Breast Minimally Invasive Surgery, People's Hospital of Ningxia Hui Autonomous Region, Yinchuan, Ningxia Hui Autonomous Region, 750002; [4]Department of General Surgery, the Second People's Hospital of Yinchuan, Yinchuan, Ningxia Hui Autonomous Region, 750021, China)

[**Abstract**] **Objective** To explore the bioactivities of matrine and PI3K/AKT signal pathway in the reversal of multidrug resistance in breast cancer cells. **Methods** MTT assay was used to measure the inhibitory rate of matrine of different concentrations on breast cancer drug-resistant cell line MCF-7/ADR after 24 h. In addition, real-time RT-PCR and Western blotting were used to evaluate the mRNA and protein expression levels of MDR1, MRP1, PTEN, AKT, and p-AKT in MCF-7/ADR cells. **Results** Real-time RT-PCR results showed when compared with the control group, the relative expression levels of MDR1 and MRP1 in the 0.6 and 1.2 g/L matrine groups were reduced gradually (MDR1 0.659 ± 0.074 and MRP1 0.503 ± 0.058 in the 0.6 g/L matrine group *vs* MDR1 0.438 ± 0.034 and MRP1 0.399 ± 0.025 in the 1.2 g/L matrine group, $P < 0.01$). The relative gene expression level of AKT was also reduced gradually, but that of PTEN was increased

[基金项目] 国家自然科学基金(81260388)

[通信作者] 周炳刚,E-mail:bg_zhou@sina.com

[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20140930.1154.003.html(2014-09-30)

gradually. The expression levels of MDR1, MRP1, and AKT in the cells intervened separately by 0.6 g/L matrine and 0.05 μmol/L, MK2206 didn't have significant difference at the same inhibition rate. Western blotting results showed when compared with the control group, the expression levels of p-gp and MRP1 of the 0.3, 0.6 and 1.2 g/L matrine groups were reduced gradually (p-gp 0.316 ± 0.033 and MRP1 0.134 ± 0.014 in the 0.6 g/L matrine group, $P < 0.01$). The protein expression of p-AKT was also reduced gradually, but that of PTEN was increased gradually. The total AKT protein expression didn't change obviously ($P > 0.05$). At the same inhibitory rate of matrine (0.6 g/L) and MK2206 (0.05 μmol/L), the matrine group was more effective than MK2206 group in reducing the protein expression of p-gp, MRP1 and p-AKT and increasing the protein expression of PTEN. However, the total AKT protein expression of the 2 groups didn't have significant difference ($P > 0.05$). **Conclusion** The effect of matrine mediating the reversal of drug resistance of breast cancer cells probably involves PI3K/AKT signal pathway.

[**Key words**] matrine; MCF-7/ADR; multidrug resistance; PI3K/AKT signal pathway

Supported by the National Natural Science Foundation of China(81260388). Corresponding author: Zhou Binggang, E-mail:bg_zhou@sina.com

乳腺癌是危及女性健康的常见恶性肿瘤之一,是女性死于癌症的主要原因。2008年Ferlay等[1]调查显示癌症死亡原因中乳腺癌排名第5位。化疗是乳腺癌及乳腺癌术后的重要治疗手段,然而化疗的毒副作用及肿瘤细胞对化疗药物的多药耐药是临床治疗乳腺癌失败的主要原因之一,因此寻找一种既对机体低毒性又能逆转肿瘤细胞多药耐药的化疗药物是目前临床化疗的首要任务。

苦参碱(matrine)是豆科植物苦参苦豆子、广豆根中草药的活性成分,现已证明苦参碱与许多生物活性有关,如抗炎、抗病毒、抗纤维化、心律失常和免疫抑制,已广泛应用于病毒性肝炎、肝纤维化、心律失常和皮肤疾病的治疗[2-4]。大量报道显示苦参碱具有抗肿瘤作用,它能强有力地抑制肿瘤细胞的增殖及诱导其凋亡,对于胃癌、肺癌、肝癌、乳腺癌、恶性黑色素瘤、白血病、多发性骨髓瘤均有疗效[5-10]。新进研究发现苦参碱可能具有逆转肿瘤细胞多药耐药的作用[11-13],但相关机制尚不明确。MK2206是一种高度选择性的AKT通道抑制剂,其主要作用是抑制AKT的磷酸化,目前已经通过实体瘤患者Ⅰ期的临床试验[14]。本实验应用MK2206作为阳性对照组,通过对比相同抑制率的苦参碱和MK2206作用乳腺癌耐药株MCF-7/ADR 24 h后耐药基因MDR1(mutidrug resistance1)、MRP1(mutidrug resustance-associated protein1)及PI3K/AKT通道上游作用靶点PTEN(phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten gene)、AKT(protein kinaseB)、p-AKT(phosphorylate protein kinaseB)的表达情况,探索苦参碱逆转乳腺癌细胞多药耐药的作用及其作用是否与PI3K/AKT通道有关。

1 材料与方法

1.1 实验材料

人乳腺癌耐药株MCF-7/ADR购自北京肿瘤细胞库,苦参碱由宁夏医科大学药学院提供(纯度>99.8%),MK2206为美国MCE公司产品,RPMI1640培养基、胎牛血清及胰酶均为Hyclone公司产品,MTT试剂盒为南京凯基产品,Trizol液为美国Gibco公司产品,逆转录试剂盒及荧光试剂为Thermo公司产品,全蛋白提取试剂盒、BCA蛋白含量检测试剂盒为南京凯基产品,兔抗人p-糖蛋白(p-glycoprotein)单克隆抗体和小鼠抗人MRP1单克隆抗体均购自Abcam公司,小鼠抗人PTEN单克隆抗体、兔抗人AKT多克隆抗体、小鼠抗人p-AKT多克隆抗体均购于武汉三鹰生物技术有限公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 人乳腺癌细胞MCF-7/ADR置于10%胎牛血清、青霉素100 U/mL、链霉素100 U/mL的RPMI1640培养基,静置于37 ℃、5% CO_2、100%湿度的培养箱内培养,隔天换液,观察待细胞贴壁达90%左右胰酶消化传代。

1.2.2 MTT法 取对数期生长的MCF-7/ADR细胞,在96孔板中加入细胞100 μL/孔(约4×10^3个细胞),于37 ℃、5% CO_2、100%湿度的培养箱内培养24 h后,加入不同浓度的苦参碱(终浓度为0.05、0.15、0.3、0.6、1.2 g/L)处理细胞,空白对照组加入等体积的PBS,每组设置5个复孔,继续培养24 h后加入50 μL 1×MTT,在37 ℃孵育4 h后吸出上清液,每孔加入150 μL DMSO,用平板摇床摇匀,待结晶溶解后用酶标仪在570 nm波长处检测每孔的光密度值[D(570)]。同样方法检测不同浓度MK2206作用于人乳腺癌细胞MCF-7/ADR 24 h每孔的D(570)值。按下列公式计算不同浓度苦参碱及MK2206对MCF-7/ADR细胞的增殖抑制率:IR=[1-处理组D(570)值/空白对照组D(570)值]×100%。

1.2.3 分组及药物干预浓度 本实验分空白对照组、

MK2206阳性对照组及不同浓度苦参碱组。MK2206阳性对照组药物干预浓度为抑制率为10%左右的MK2206药物浓度。荧光定量RT-PCR选择苦参碱药物干预浓度为0.6、1.2 g/L，Western blot选择苦参碱药物干预浓度为0.3、0.6、1.2 g/L；MK2206选择药物干预浓度为0.05 μmol/L。空白对照组加入等体积的PBS。

1.2.4 实时荧光定量RT-PCR 将500 μL的Trizol试剂分别加入干预MCF-7/ADR细胞24 h的空白对照组，不同浓度苦参碱组（终浓度为0.6、1.2 g/L）和MK2206阳性对照组（终浓度为0.05 μmol/L），提取总RNA，在Nanodrop分光光度仪上检测RNA纯度，当$D(260)/D(280)$在1.8～2.0时用于试验。按照Thermo逆转录和荧光Mix说明书逆转录和PCR扩增反应。PCR反应所用引物序列见表1，以GAPDH作为内参照。

表1 实时荧光定量PCR引物序列

基因	上游引物(5′→3′)	下游引物(5′→3′)	片段长度(bp)
MDR1	GCAACGGAAGCCAGAACAT	TCAGCCTCACCACAGATGAC	110
MRP1	GCTGTGAAGACCCAGGAGAG	AAGCACCAGGAAACCACTTG	123
PTEN	AGACCATAACCCACCACAGC	CACCAGTTCGTCCCTTTCC	125
AKT	GCCCAACACCTTCATCATC	TCCTCCTCCTGCTTCTTGAG	141
GAPDH	AGAAGGCTGGGGCTCATTTG	AGGGGCCATCCACAGTCTTC	258

1.2.5 Western blot检测 提取干预MCF-7/ADR细胞24 h的空白对照组，MK2206阳性对照组（终浓度为0.05 μmol/L）及不同浓度苦参碱组（终浓度为0.3、0.6、1.2 g/L）的总蛋白，根据BCA蛋白含量检测试剂盒说明书测量各组蛋白浓度。取各组蛋白30 μg共20 μL上样电泳、转膜，MDR1和MRP1因子300 mA恒流转膜110 min，其他3个因子300 mA恒流转膜50 min。用5%的脱脂奶粉将膜封闭1 h后，再孵育MDR1、MRP1、PTEN、AKT、p-AKT抗体（MDR1抗体浓度为1∶800，其他因子抗体浓度为1∶2 000，内参照GAPDH浓度为1∶800）4 ℃孵育过夜，用PBST（p-AKT用TBST冲洗）洗膜5次共25 min，山羊抗兔及山羊抗小鼠IGg抗体以1∶6 000浓度室温孵育60 min后再次洗膜并曝光胶片。

1.3 统计学分析

实验重复3次，数据以$\bar{x} \pm s$表示，应用SPSS 17.0统计软件，多因素比较采用单因素方差分析，两组间比较采用独立样本t检验。

2 结果

2.1 MTT检测不同浓度苦参碱和MK2206作用MCF-7/ADR细胞24 h后的抑制率

苦参碱干预组与空白对照组相比均有统计学意义（$P<0.05$，表2）。MK2206干预组与空白对照组相比均有统计学意义（$P<0.05$，表3）。0.6 g/L苦参碱组和0.05 μmol/L MK2206组的MCF-7/ADR细胞抑制率无明显差异，两组相比没有统计学意义（$P>0.05$）。

表2 不同浓度苦参碱作用24 h后细胞抑制率的变化（$n=9, \bar{x} \pm s$）

组别	抑制率(%)
空白对照组	0.00±0.36
苦参碱0.05 g/L组	5.08±0.81[a]
0.15 g/L组	7.10±1.00[a]
0.3 g/L组	8.63±0.68[a]
0.6 g/L组	11.82±0.66[a]
1.2 g/L组	22.35±0.84[a]

a：$P<0.05$，与空白对照组比较

表3 不同浓度MK2206作用24 h后细胞抑制率的变化（$n=9, \bar{x} \pm s$）

组别	抑制率(%)
空白对照组	0.00±0.40
MK2206 0.05 μmol/L组	11.46±0.82[a]
0.1 μmol/L组	18.56±0.97[a]
0.2 μmol/L组	18.61±1.08[a]
0.5 μmol/L组	26.18±0.91[a]
1.0 μmol/L组	33.33±1.20[a]

a：$P<0.05$，与空白对照组比较

2.2 RT-PCR检测MDR1、MRP1、PTEN、AKT基因的表达

0.6、1.2 g/L的苦参碱干预组与空白对照组相比，随着苦参碱浓度的提高，耐药基因MDR1、MRP1的表达量逐渐降低，PI3K/AKT信号通路中的PTEN基因表达量逐渐增高，而AKT基因的表达量逐渐降低；相同抑制率的苦参碱组（0.6 g/L）和MK2206组（0.05 μmol/L）相比，两组降低MDR1、MRP1、AKT基因表达量的差异不明显（$P>0.05$），MK2206组更能增加PTEN基因的表达量（$P<0.05$，表4）。

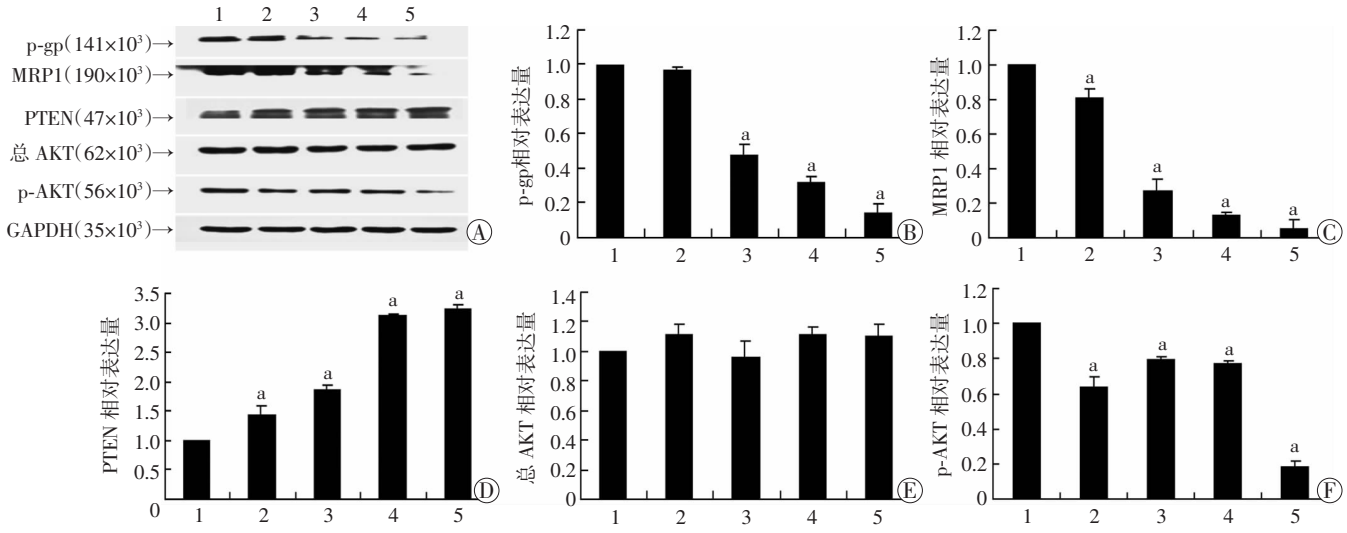
表4 不同浓度苦参碱和0.05 μmol/L MK2206干预MCF-7/ADR细胞株24 h后各基因的相对表达量（$n=9, \bar{x} \pm s$）

组别	MDR1	MRP1	PTEN	AKT
空白对照组	1.000±0.000	1.000±0.000	1.000±0.000	1.000±0.000
MK2206阳性对照组	0.598±0.035[a]	0.491±0.026[a]	2.695±0.090[a]	0.603±0.102[a]
0.6 g/L苦参碱组	0.659±0.074[a]	0.503±0.058[a]	1.205±0.048[a]	0.607±0.068[a]
1.2 g/L苦参碱组	0.438±0.034[a]	0.399±0.025[a]	1.557±0.096[a]	0.482±0.033[a]

a：$P<0.01$，与空白对照组比较

2.3 Western blot检测MDR1、MRP1、PTEN、AKT、p-AKT蛋白的表达

与空白对照组相比，随着苦参碱浓度的提高耐药蛋白p-gp、MRP1蛋白表达量逐渐降低，PI3K/AKT信号通路中的p-AKT蛋白表达量逐渐降低，PTEN蛋白表达量逐渐增高，总AKT基因表达量变化不明显；相同抑制率的苦参碱组（0.6 g/L）和MK2206组（0.05 μmol/L）相比，苦参碱组降低p-gp、MRP1蛋白表达量的效果更明显且增高PTEN蛋白表达量的效果更明显（$P<0.01$），MK2206组降低p-AKT蛋白表达量的效果更明显，但对总AKT蛋白表达量两组差异不明显（$P>0.05$，图1）。



A:Western blot 检测　1:空白对照组;2:MK2206 阳性对照组;3:0.3 g/L 苦参碱组;4:0.6 g/L 苦参碱组;5:1.2 g/L 苦参碱组;B ~ F:p-gp、MRP1、PTEN、AKT、p-AKT 蛋白表达　a:$P<0.01$,与空白对照组比较

图 1　各干预组中耐药蛋白 p-gp、MRP1 及 PI3K/AKT 通道中蛋白 PTEN、AKT、p-AKT 的表达

3　讨论

多药耐药是临床肿瘤化疗失败最常见和最难以克服的问题,细胞内有效药物浓度的降低、DNA 损伤的修复障碍、基因的突变及异常表达、信号转导通路的异常等均参与了肿瘤细胞的多药耐药,而肿瘤细胞的多药耐药机制是个多环节、多步骤基因信号传导途径参与的复杂过程。肿瘤细胞的耐药方式较多,如 MDR1、MRP1 等分子的高表达致细胞内药物蓄积减少,细胞质中 GSH/GSTs 解毒功能增强,细胞核内 Topo-Ⅱ含量和活性降低,PKC(蛋白激酶 C)活性增强,其中以 MDR1 介导的多药耐药较常见。多药耐药发生机制主要与 MDR1 在细胞膜上过度表达其产物即 p-gp 糖蛋白有关,p-gp 是一种能量依赖性药泵,能将多种药物排出细胞,使细胞内抗癌药物浓度下降,从而产生耐药性[15],MRP1 的耐药作用与 p-gp 无关,但耐药谱与其相似。Western blot 检测显示随着苦参碱浓度的提高 p-gp、MRP1 耐药蛋白的表达量逐渐降低,说明苦参碱能抑制细胞 p-gp、MRP1 等功能而减少药物的外排,有逆转多药耐药的作用。

近年来,PI3K/AKT 信号转导通路更加引起国内外科研人员的重视,其传导途径为:PI3K 激活后在细胞膜上产生第二信使 PIP3, PIP3 与细胞内含有 PH 结构域的 AKT 和 PDK1 结合,促使 PDK1 磷酸化 AKT 蛋白的 Ser308 导致 AKT 活化,活化的 AKT 通过磷酸化多种酶、激酶和转录因子等下游因子,进而调节细胞的功能。PTEN 是 PIP3-磷酸酶,与 PI3K 的功能相反,它可以通过去磷酸化将 PIP3 转变为 PI-4、5-P2,减少 AKT 的活化而阻止 AKT 调控的下游信号传导,是 PI3K/AKT 信号通路中的关键因子。2005 年 Kim 等[16]发现 PI3K/AKT 信号转导通路的激活是肿瘤细胞抗凋亡的主要机制之一,细胞在一系列内外因素的作用下,通过启动 PI3K/AKT 信号转导通路,诱导细胞的增殖、分化,避免细胞发生凋亡,在维持细胞恶性生物学特性中起重要作用[17-21]。

PI3K/AKT 通道的激活是肿瘤细胞对顺铂、紫杉醇、吡柔比星等化疗药物产生耐药的关键因素,乳腺癌多药耐药与 PI3K/AKT 信号通路密切相关[22-26]。乳腺癌的多种生长因子主要通过 PI3K/AKT 信号转导通路而发挥作用,肿瘤细胞经化疗药物作用后增加了 AKT 磷酸化水平,并激活 PI3K/AKT 信号通路,活化的 AKT 进一步激活其下游因子使癌细胞对化疗药物产生耐药性。

本实验结果显示相同抑制率的苦参碱干预组和 MK2206 阳性对照组相比,苦参碱干预组明显降低耐药基因 MDR1 产物 p-糖蛋白(p-gp)及 MRP1 蛋白的表达,并且随着苦参碱浓度的提高两者的表达量降低,呈现明显的剂量依赖性,具有较强的逆转耐药的作用;对 PI3K/AKT 通道中的抑癌基因 PTEN 的作用也强于 MK2206 阳性对照组。Western blot 结果显示随着苦参碱浓度的提高,PTEN 蛋白表达量呈现递增趋势,PTEN 蛋白表达的增高进一步抑制 AKT 的活化,与 p-AKT 蛋白表达量随苦参碱浓度的提高而逐渐减低相符合。

综上所述,本研究证明了苦参碱能够抑制 p-gp

(MDR1 基因产物)、MRP1 等耐药蛋白的表达,降低 AKT 的磷酸化水平,增加抑癌基因 PTEN 的表达,发挥逆转肿瘤细胞多药耐药的作用,并通过苦参碱与 AKT 通道抑制剂 MK2206 的对比,从分子水平和蛋白水平证实苦参碱逆转乳腺癌耐药株 MCF-7/ADR 的作用机制与 PI3K/AKT 信号转导通路可能密切相关,可能是一种 AKT 基因靶点的天然活性抑制剂,为新药的研发和临床联合用药提供理论依据。我们下一步将对 AKT 通道的下游靶点进行检测,进一步证明苦参碱与 PI3K/AKT 通道的关系。

参考文献:

[1] Ferlay J, Shin H R, Bray F, *et al*. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008[J]. Int J Cancer, 2010, 127(12): 2893-2917.

[2] Li T, Wong V K, Yi X Q, *et al*. Matrine induces cell anergy in human Jurkat T cells through modulation of mitogen-activated protein kinases and nuclear factor of activated T-cells signaling with concomitant up-regulation of anergy-associated genes expression[J]. Biol Pharm Bull, 2010, 33(1): 40-46.

[3] Cheng H, Xia B, Zhang L, *et al*. Matrine improves 2, 4, 6-trinitrobenzene sulfonic acid-induced colitis in mice[J]. Pharmacol Res, 2006, 53(3): 202-208.

[4] Li X, Chu W, Liu J, *et al*. Antiarrhythmic properties of long-term treatment with matrine in arrhythmic rat induced by coronary ligation[J]. Biol Pharm Bull, 2009, 32(9): 1521-1526.

[5] Dai Z J, Gao J, Ji Z Z, *et al*. Matrine induces apoptosis in gastric carcinoma cells *via* alteration of Fas/FasL and activation of caspase-3[J]. J Ethnopharmacol, 2009, 123(1): 91-96.

[6] Zhang J, Li Y, Chen X, *et al*. Autophagy is involved in anticancer effects of matrine on SGC-7901 human gastric cancer cells[J]. Oncol Rep, 2011, 26(1): 115-124.

[7] Zhang Y, Zhang H, Yu P, *et al*. Effects of matrine against the growth of human lung cancer and hepatoma cells as well as lung cancer cell migration[J]. Cytotechnology, 2009, 59(3): 191-200.

[8] Zhang J Q, Li Y M, Liu T, *et al*. Antitumor effect of matrine in human hepatoma G2 cells by inducing apoptosis and autophagy[J]. World J Gastroenterol, 2010, 16(34): 4281-4290.

[9] Yu P, Liu Q, Liu K, *et al*. Matrine suppresses breast cancer cell proliferation and invasion *via* VEGF-Akt-NF-kappaB signaling[J]. Cytotechnology, 2009, 59(3): 219-229.

[10] Han Y, Zhang S, Wu J, *et al*. Matrine induces apoptosis of human multiple myeloma cells *via* activation of the mitochondrial pathway[J]. Leuk Lymphoma, 2010, 51(7): 1337-1346.

[11] 孙付军, 王宁, 李贵海, 等. 苦参碱对获得性多药耐药小鼠 S_{180} 肿瘤细胞基因表达产物 P_{170}、LRP 及 TOPOⅡ表达的影响[J]. 中药材, 2004, 27(11): 838-840.

[12] 李贵海, 王玫, 孙付军, 等. 苦参碱逆转小鼠 S_{180} 肿瘤细胞获得性多药耐药基因相关表达产物过度表达的研究[J]. 中药材, 2006, 29(1): 40-42.

[13] Luo S X, Deng W Y, Wang X F, *et al*. Molecular mechanism of indirubin-3′-monoxime and Matrine in the reversal of paclitaxel resistance in NCI-H520/TAX25 cell line[J]. Chin Med J (Engl), 2013, 126(5): 925-929.

[14] Lindsley C W. The Akt/PKB family of protein kinases: a review of small molecule inhibitors and progress towards target validation: a 2009 update[J]. Curr Top Med Chem, 2010, 10(4): 458-477.

[15] He S, Liu F, Xie Z, *et al*. P-Glycoprotein/MDR1 regulates pokemon gene transcription through p53 expression in human breast cancer cells[J]. Int J Mol Sci, 2010, 11(9): 3039-3051.

[16] Kim D, Cheng G Z, Lindsley C W, *et al*. Targeting the phosphatidylinositol-3 kinase/Akt pathway for the treatment of cancer[J]. Curr Opin Investig Drugs, 2005, 6(12): 1250-1258.

[17] Tian T, Nan K J, Guo H, *et al*. PTEN inhibits the migration and invasion of HepG2 cells by coordinately decreasing MMP expression *via* the PI3K/Akt pathway[J]. Oncol Rep, 2010, 23(6): 1593-1600.

[18] Lee C S, Kim Y J, Jang E R, *et al*. Akt inhibitor enhances apoptotic effect of carboplatin on human epithelial ovarian carcinoma cell lines[J]. Eur J Pharmacol, 2010, 632(1/3): 7-13.

[19] Burris H A 3rd. Overcoming acquired resistance to anticancer therapy: focus on the PI3K/AKT/mTOR pathway[J]. Cancer Chemother Pharmacol, 2013, 71(4): 829-842.

[20] Calderaro J, Rebouissou S, de-Koning L, *et al*. PI3K/AKT pathway activation in bladder carcinogenesis[J]. Int J Cancer, 2014, 134(8): 1776-1784.

[21] Tapia O, Riquelme I, Leal P, *et al*. The PI3K/AKT/mTOR pathway is activated in gastric cancer with potential prognostic and predictive significance[J]. Virchows Arch, 2014, 465(1): 25-33.

[22] 郭崇勇, 柯卫锋, 宋科瑛, 等. PI3K/AKT 通路参与调控乳腺癌多药耐药和侵袭转移的研究[J]. 现代生物医学进展, 2012, 12(25): 4809-4812.

[23] Liu F, Liu S, He S, *et al*. Survivin transcription is associated with P-glycoprotein/MDR1 overexpression in the multidrug resistance of MCF-7 breast cancer cells[J]. Oncol Rep, 2010, 23(5): 1469-1475.

[24] Ren D, Jia L, Li Y, *et al*. ST6GalNAcII mediates the invasive properties of breast carcinoma through PI3K/Akt/NF-κB signaling pathway[J]. IUBMB Life, 2014, 66(4): 300-308.

[25] Jeong Y J, Choi Y, Shin J M, *et al*. Melittin suppresses EGF-induced cell motility and invasion by inhibiting PI3K/Akt/mTOR signaling pathway in breast cancer cells[J]. Food Chem Toxicol, 2014, 68: 218-225.

[26] Huemer F, Bartsch R, Gnant M. The PI3K/AKT/MTOR Signaling Pathway: The Role of PI3K and AKT Inhibitors in Breast Cancer[J]. Curr Breast Cancer Rep, 2014, 6(2): 59-70.

(**收稿**:2014-06-30;**修回**:2014-09-15)

(编辑 汪勤俭)