DOI:10.16016/j.2097-0927.202109216

粉防己碱增敏长春新碱通过 MAPK 信号通路诱导 SGC-7901/VCR 细胞凋亡的分子机制研究

雷 令,姜秀星,王 雁,丁 鑫,李志强,高 宁 400038 重庆,陆军军医大学(第三军医大学)药学与检验医学系生药学与中药学教研室

[**摘要**] **目的** 阐明粉防己碱(tetrandrine)增敏长春新碱(vincristine)诱导胃癌 SGC-7901/VCR 细胞凋亡的分子机制。**方法** 用不同浓度(0、2、4、6、8 μmol/L)粉防己碱及不同浓度(0、50、100、150、200 nmol/L)长春新碱单用或联用处理 SGC-7901/VCR 细胞 48 h,MTT 实验检测细胞存活率,流式细胞术检测细胞凋亡。Western blot 检测细胞凋亡相关蛋白 PARP-1、cleaved-Caspase 9、cleaved-Caspase 3、Bcl-2 及 MAPK 信号通路相关蛋白 P38、p-P38、JNK、p-JNK、ERK、p-ERK 的表达。应用 p38-MAPK 抑制剂 SB203580、JNK-MAPK 抑制剂 SP600125 或 ERK-MAPK 抑制剂 PD98059 预处理 SGC-7901/VCR 细胞 2 h,再以粉防己碱联用长春新碱处理 48 h,测定细胞凋亡及相关蛋白表达。粉防己碱及长春新碱单用或联用处理 SGC-7901/VCR 细胞 24 h,流式细胞术检测细胞周期,Western blot 检测细胞周期相关蛋白 CDC2、p-CDC2 的表达。**结果** 粉防己碱联用长春新碱导致 SGC-7901/VCR 细胞增殖活力以剂量依赖的方式下降,联合作用效果为协同。联合用药导致细胞凋亡显著增加($P<0.05$),与 PARP 剪切激活及 Caspase 9、Caspase 3 裂解激活有关。联合用药增强细胞 MAPK 信号通路 p-P38 和 p-JNK 表达,减弱 p-ERK 表达,应用 p38-MAPK 或 JNK-MAPK 通路抑制剂预处理 SGC-7901/VCR 细胞后减弱联合用药诱导凋亡的作用($P<0.05$),而应用 ERK-MAPK 通路抑制剂预处理后增强联合用药诱导凋亡的作用($P<0.05$)。联合用药导致 SGC-7901/VCR 细胞 S/G_2 周期阻滞($P<0.05$)。**结论** 粉防己碱增敏长春新碱抑制细胞增殖并诱导 SGC-7901/VCR 细胞凋亡,MAPK 信号通路可能在诱导细胞凋亡中起关键作用。

[**关键词**] 粉防己碱;长春新碱;SGC-7901/VCR 细胞;细胞凋亡;MAPK
[**中图法分类号**] R735.2; R966; R979.12 [**文献标志码**] A

Tetrandrine sensitizes vincristine to induce apoptosis in SGC-7901/VCR cells through MAPK signaling pathway

LEI Ling, JIANG Xiuxing, WANG Yan, DING Xin, LI Zhiqiang, GAO Ning Department of Pharmacognosy and Traditional Chinese Medicine, Faculty of Pharmacy and Medical Laboratory, Army Medical University (Third Military Medical University), Chongqing, 400038, China

[**Abstract**] **Objective** To explore the molecular mechanism of tetrandrine sensitizing vincristine to induce apoptosis of gastric cancer SGC-7901/VCR cells. **Methods** SGC-7901/VCR cells were treated with tetrandrine (0, 2, 4, 6 and 8 μmol/L) and vincristine (0, 50, 100, 150 and 200 nmol/L) alone or in combination for 48 h. MTT assay was used to detect cell viability, and flow cytometry was adopted to observe apoptosis. The expression of apoptosis-related proteins PARP-1, cleaved-Casepase 9, cleaved-Casepase 3, Bcl2, and MAPK signal transduction pathway related proteins P38, p-P38, JNK, p-JNK, ERK and p-ERK were detected by Western blotting. After SGC-7901/VCR cells were pretreated with p38-MAPK inhibitor SB203580, JNK-MAPK inhibitor SP600125, or ERK-MAPK inhibitor PD98059 for 2 h and followed by the treatment of tetrandrine combined with vincristine for 48 h, the apoptosis and the expression levels of related

[**基金项目**] 国家自然科学基金面上项目(31571425)
[**通信作者**] 高 宁,E-mail:gaoning59@163.com

2097-0927/Copyright © 2022, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循 CC BY 许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

proteins were observed once again. SGC-7901/VCR cells were treated with tetrandrine and vincristine alone or combined for 24 h, cell cycle was detected by flow cytometry, and the expression of CDC2 and p-CDC2 were detected by Western blotting. **Results** Co-administration of tetrandrine and vincristine resulted in decreases in cell viability in a dose-dependent manner in SGC-7901/VCR cells, with a synergistic effect, and led to increases in cell apoptosis ($P<0.05$), which were associated with degradation of PARP, cleavage/activation of Caspase 3 and Caspase 9. Furthermore, combination of tetrandrine and vincristine markedly increased the levels of phospho-p38 and phospho-JNK and decreased the level of phospho-ERK. Pretreatment of p38 inhibitor SB203580 or JNK inhibitor SP600125 attenuated the combination-induced apoptosis ($P<0.05$). In contrast, pretreatment of ERK inhibitor PD98059 potentiated the combination-induced apoptosis ($P<0.05$). Combination treatment caused S/G_2 cycle block of SGC-7901/VCR cells ($P<0.05$). **Conclusion** Tetrandrine sensitizes vincristine to inhibit cell proliferation and induces apoptosis in SGC-7901/VCR cells. MAPK signaling pathway may play a critical role in the combination-induced apoptosis in the cells.

[**Key words**] tetrandrine; vincristine; SGC-7901/VCR cells; apoptosis; MAPK

Supported by the General Program of National Natural Science Foundation of China (31571425). Corresponding author: GAO Ning, E-mail: gaoning59@163.com

胃癌是常见的恶性肿瘤,近年来,它一直处于世界各地癌症发病率及病死率的前列,我国每年新增胃癌患者超过60万,每年有超过40万人死于胃癌[1]。早期胃癌可通过手术达到根治效果,中晚期胃癌多采用手术联合化疗的治疗方式[2]。耐药是胃癌化疗的重要阻碍,是导致临床化疗失败的主要原因,目前针对耐药细胞株,多采用更换药物来达到化疗效果,但这种方法缺点在于耐药细胞会对新的化疗药物产生耐药,导致化疗失败,且可加重患者的医疗及心理负担[3]。长春新碱疗效明确且价格较低,常用于胃癌的化疗,但肿瘤细胞易对其产生耐药性是制约其应用的一大难题[4]。SGC-7901/VCR细胞是人胃癌细胞SGC-7901对临床用药长春新碱耐药的细胞。寻找一种本身无显著毒副作用,与长春新碱联合用药后能抑制耐药细胞增殖的药物是应对耐药的新思路。

粉防己碱又名汉防己甲素,是从传统中药汉防己的根中提取的生物碱,临床主要用于治疗早期轻度高血压,亦可用于重症高血压及高血压危象,未见其明显的毒副作用[5]。有研究表明粉防己碱作为自噬抑制剂,对多种肿瘤细胞具有抗耐药作用,与化疗药物联合作用,可导致耐药细胞死亡,具有良好的应用前景[6-8]。但粉防己碱联合长春新碱对SGC-7901/VCR细胞的作用研究较少。本研究旨在探究粉防己碱增敏长春新碱诱导SGC-7901/VCR细胞凋亡的分子机制,为将粉防己碱联用长春新碱开发为治疗耐药胃癌的药物组合提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

胃癌SGC-7901/VCR细胞购自ATCC;DMEM培养基、0.25%胰蛋白酶购自Gibco公司;胎牛血清购自天津康源公司;粉防己碱、硫酸长春新碱购自罗恩试剂;DMSO、MTT、PI购自Sigma公司;AnnexinV FITC、Bcl2购自BD公司;GAPDH、cleaved-Caspase 9、cleaved-Caspase 3、PARP-1、P38、p-P38、ERK抗体购自CST公司;p-ERK、CDC2、p-CDC2抗体购自SCBT公司;P0013蛋白提取试剂盒、BCA蛋白浓度测定试剂购自碧云天公司;SB203580、SP6000125购自Selleck公司;PD98059购自MCE公司。

1.2 细胞培养

SGC-7901/VCR细胞用DMEM完全培养基(10%胎牛血清)37 ℃、饱和湿度及5%CO_2的恒温培养箱中培养,每2天传代。

1.3 Western blot检测

SGC-7901/VCR细胞经处理后,提取全细胞蛋白并测定蛋白浓度,蛋白液加入Loading buffer,96 ℃,金属浴10 min,保存于-80 ℃。经聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE),电转3~4 h至PVDF膜,5%脱脂奶粉封闭30 min,于4 ℃摇床上孵育抗体过夜,1×TBST洗涤10 min/次×3次,加入二抗于室温下孵育2 h,1×TBST洗涤后暗室显影。

1.4 MTT比色法检测细胞活度

处于对数生长期的SGC-7901/VCR细胞,按3 000/孔铺96孔板,每孔90 μL培养基,37 ℃培养过夜后给予不同药物处理。2种药物单用组药物浓度:粉防己碱(2、4、6、8 μmol/L),长春新碱(50、100、150、200 nmol/L)。联用组药物浓度为粉防己碱单用药物浓度处理下联合长春新碱100 nmol/L共同处理,长春新碱单用浓度处理下联合粉防己碱4 μmol/L共同处理。给药处理后继续培养48 h,每孔加入20 μL 0.5% MTT,

37 ℃继续培养 4 h,吸尽孔内液体,每孔加入 150 μL DMSO,室温避光振摇约 10 min,溶解甲臜。酶标仪于波长 490 nm 处检测光密度值 $D(490)$。设既无细胞也不给药的孔为调零孔,设有细胞但不给药的孔为对照孔(其细胞活性为 100%)。所有组平行 3 个复孔。细胞存活率=[处理组 $D(490)$-调零孔 $D(490)$]/[对照组 $D(490)$-调零孔 $D(490)$]×100%。

1.5 细胞凋亡检测

SGC-7901/VCR 细胞计数后分盘于 6 孔板中(150 000/孔),37 ℃培养 24 h 后加药处理,单用组药物浓度:粉防己碱 4 μmol/L,长春新碱 100 nmol/L;联用组药物浓度:粉防己碱 4 μmol/L,长春新碱 100 nmol/L。继续培养 48 h,去除培养基,0.25%胰蛋白酶消化细胞,培养基终止消化,细胞收集于 15 mL 离心管中,1 000 r/min 4 ℃ 离心 5 min。2 μL Annexin V-FITC 和 5 μL PI(50 μg/mL)共同混于 100 μL 1× binding buffer,每个离心管加入 100 μL 混匀的 binding buffer,涡旋离心管,转移细胞悬液之 1.5 mL EP 管中,避光染色 15 min,流式细胞仪检测细胞凋亡。

1.6 细胞周期检测

取 SGC-7901/VCR 细胞悬液接种于 60 mm 培养皿中,每皿 3×10^5 个细胞。培养体系为 4 mL,置于 37 ℃的恒温培养箱中培养 24 h 后加药处理,继续培养 24 h 后用胰酶消化,收集于 15 mL 离心管中,1 000 r/min 离心 5 min,弃上清,每管加入 300 μL 细胞周期染色液,避光冰浴 2 h,涡旋后转入 1.5 mL EP 管中进行流式检测。

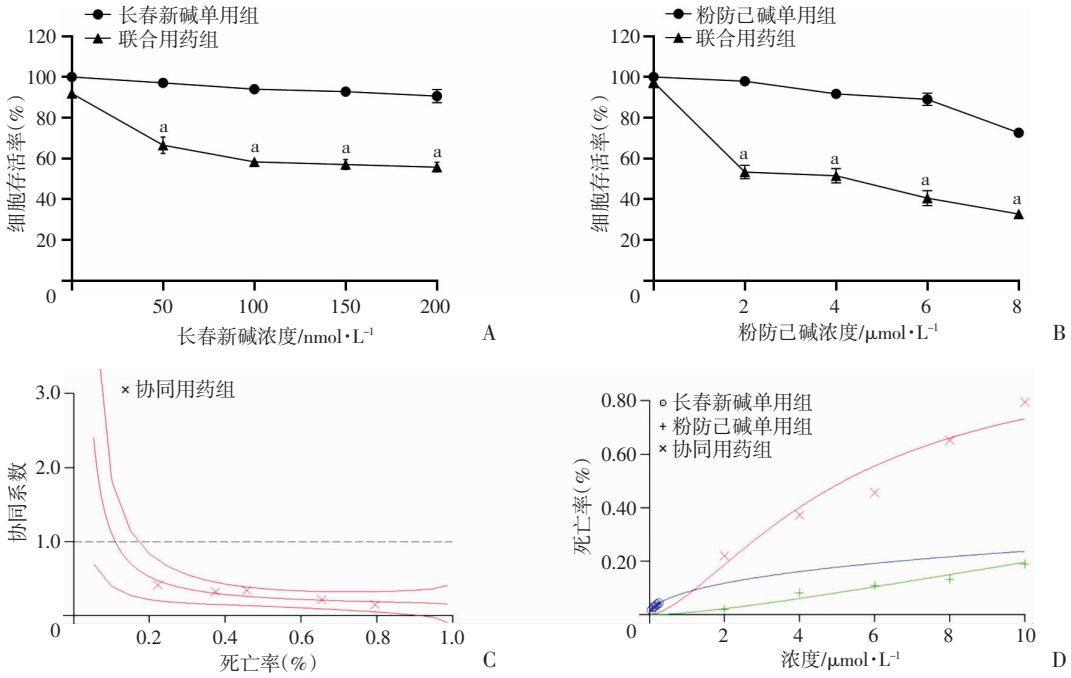
1.7 统计学分析

量效关系、协同系数数据采用 Calcusyn 软件分析,Western blot 检测结果采用 photoshop 软件处理,流式检测数据采用 FLowJo V7.6 软件分析。采用 GraphPad Prism 7.0 和 SPSS 22.0 统计软件,两样本的组间比较采用独立样本 t 检验。检验水准:$\alpha=0.05$。

2 结果

2.1 粉防己碱联用长春新碱对 SGC-7901/VCR 细胞增殖有明显抑制作用

采用 MTT 实验检测粉防己碱联用长春新碱对 SGC-7901/VCR 细胞增殖的影响,结果显示:单用粉防己碱(0~8 μmol/L)或者长春新碱(0~200 nmol/L)48 h 对 SGC-7901/VCR 细胞增殖均无明显抑制作用,但联合应用后,可以明显抑制肿瘤细胞增殖,差异具有统计学意义($P<0.05$,图 1A、B)。利用 CalcuSyn 软件求得协同系数和量效关系,结果显示:在一定剂量范围内,药物效应与浓度呈正相关(图 1C、D)。协同系数小于 1,表明粉防己碱与长春新碱联合作用效果为协同。



a:$P<0.05$,与单用组比较

A:不同浓度长春新碱单用及与粉防己碱(4 μmol/L)联用 48 h 对 SGC-7901/VCR 细胞增殖的影响;B:不同浓度粉防己碱单用及与长春新碱(100 nmol/L)联用 48 h 对 SGC-7901/VCR 细胞增殖的影响;C:粉防己碱联用长春新碱的协同系数;D:药物浓度与细胞死亡率之间的量效关系

图 1 粉防己碱增敏长春新碱对 SGC-7901/VCR 细胞增殖活性的影响

2.2 粉防己碱联用长春新碱诱导 SGC-7901/VCR 细胞凋亡及凋亡相关蛋白的表达

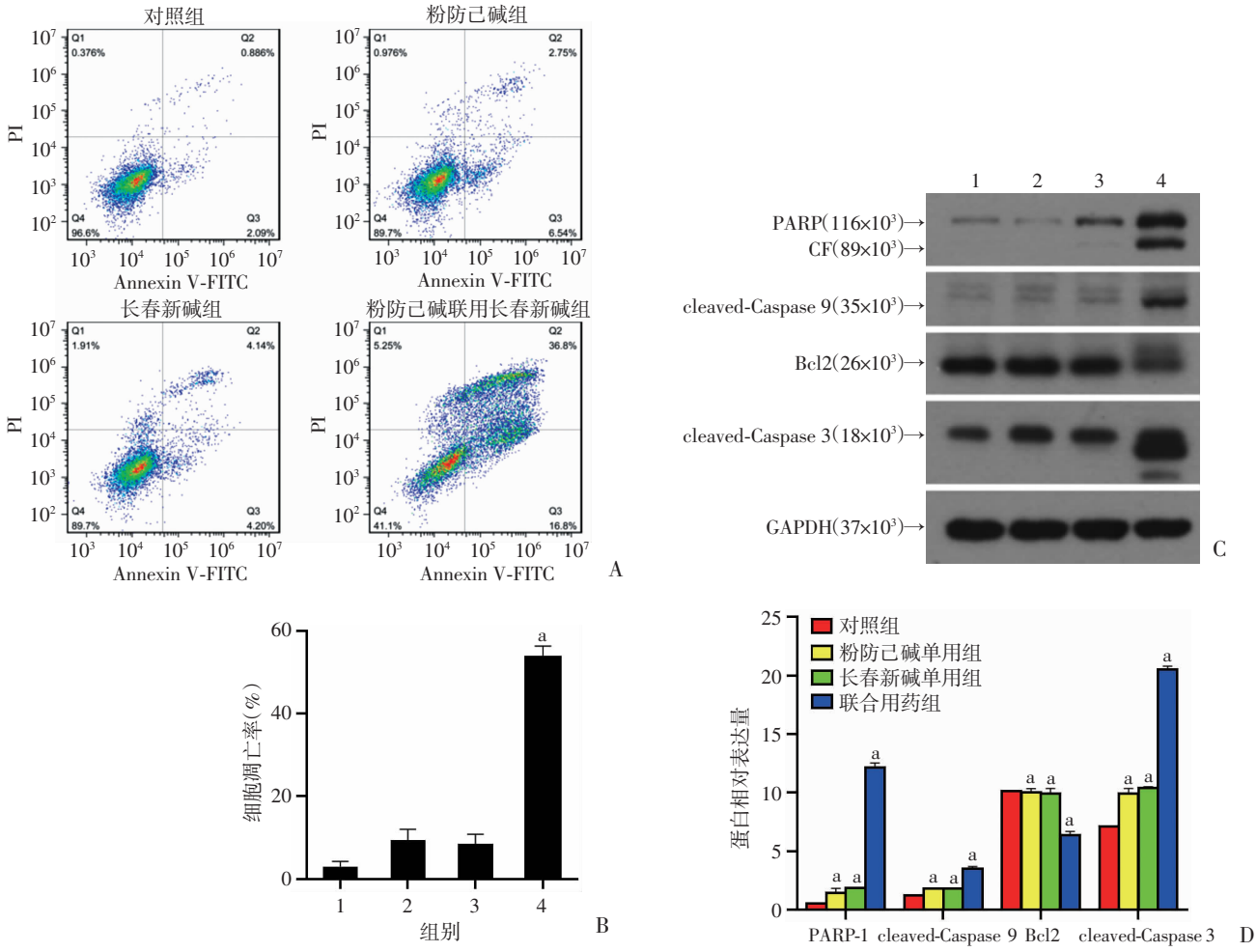
通过 Annexin V-FITC 和 PI 双染色法检测联合用药对 SGC-7901/VCR 细胞细胞凋亡的影响,结果显示:单用粉防己碱(4 μmol/L)或长春新碱(100 nmol/L)48 h 均不能明显促进 SGC-7901/VCR 细胞凋亡,但两种药物联合应用 48 h 细胞凋亡明显增加,差异有统计学意义($P<0.05$,图 2A、B)。提取细胞全蛋白,Western blot 检测结果显示:联合用药可使 PARP 剪切激活,cleaved-Caspase 9、cleaved-Caspase 3 表达增加,抗凋亡蛋白 Bcl2 表达减少($P<0.05$,图 2C、D)。结果表明粉防己碱联用长春新碱促进 SGC-7901/VCR 细胞凋亡。

2.3 粉防己碱联用长春新碱影响细胞内 MAPK 信号通路

粉防己碱(4 μmol/L)联用长春新碱(100 nmol/L)处理 SGC-7901/VCR 细胞 48 h,Western blot 检测结果显示:细胞内 MAPK 信号通路相关蛋白 P38、JNK、ERK 表达无变化,p-P38、p-JNK 表达增加,p-ERK 表达减少($P<0.05$,图 3)。结果表明联合用药激活 MAPK 信号通路的 p38 和 JNK 通路,抑制 ERK 通路。

2.4 MAPK 信号通路抑制剂对联合用药促进胃癌 SGC-7901/VCR 细胞凋亡的影响

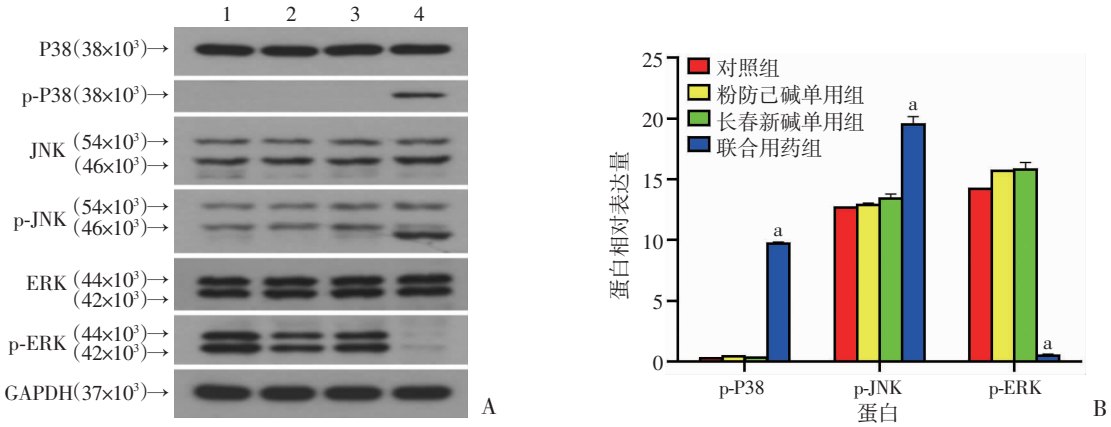
2.4.1 抑制 p38 或 JNK 通路减弱细胞凋亡 流式细胞术检测发现:经 SB203580 或 SP600125 预处理后,联合用药组细胞凋亡少于联用组,差异有统计学意义($P<0.05$,图 4)。Western blot 检测结果显示:相比于联合用药组,经 SB203580 或 SP600125 预处理后,联合用药组 PARP 剪切减弱,Bcl2 表达增加,cleaved-Caspase 9、cleaved-Caspase 3 表达减少($P<0.05$,图 5)。结果表明联合用药诱导 SGC-7901/VCR 细胞凋亡与 p38 和 JNK 通路激活密切相关。



1:对照组;2:粉防己碱单用组;3:长春新碱单用组;4:联合用药组;a:$P<0.05$,与对照组比较

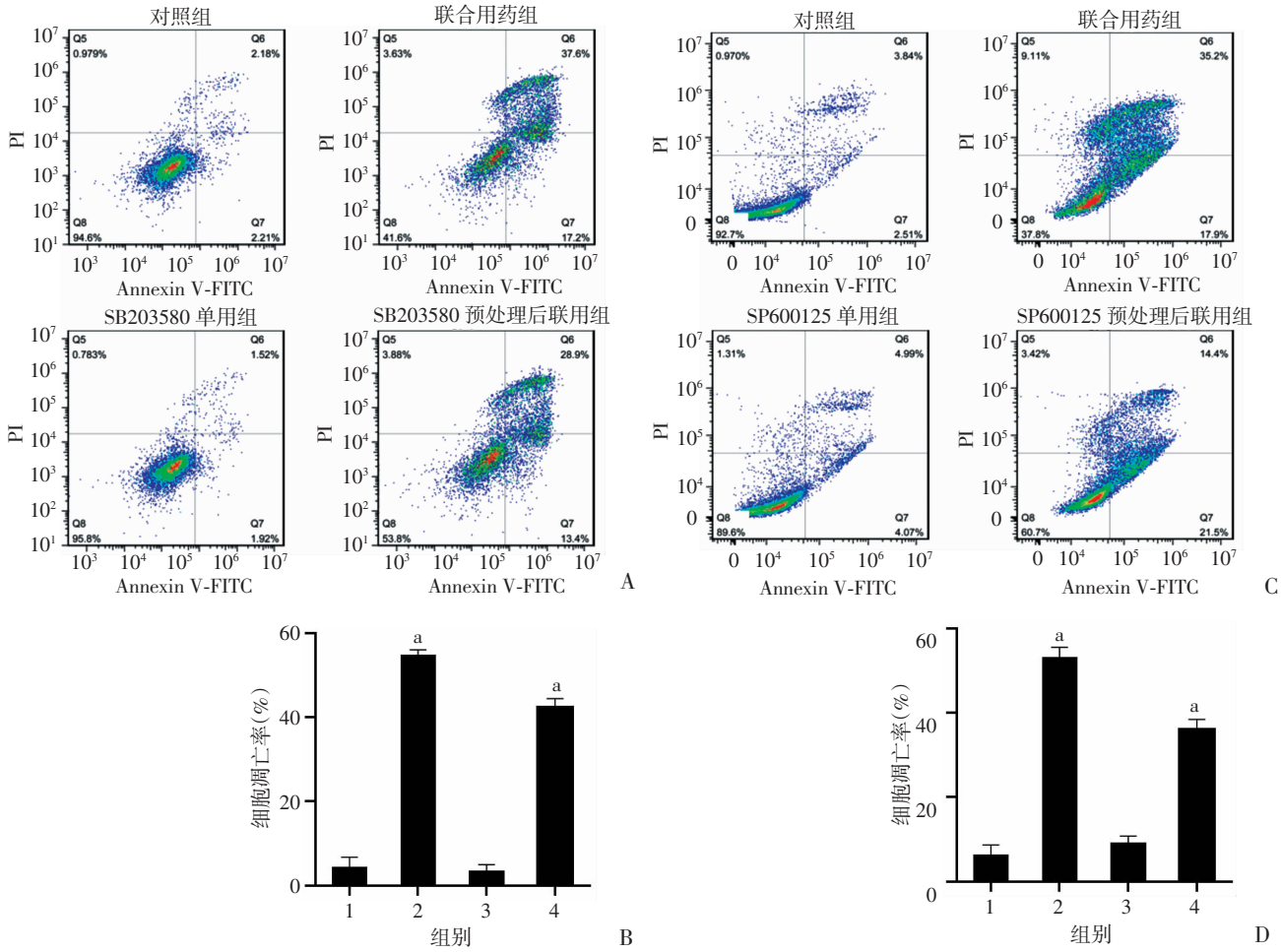
A:流式细胞术检测单用及联合用药对 SGC-7901/VCR 细胞凋亡的影响;B:各组细胞凋亡率;C:Western blot 检测凋亡相关蛋白的表达;D:各组细胞凋亡相关蛋白表达的半定量分析

图 2 粉防己碱联用长春新碱诱导 SGC-7901/VCR 细胞凋亡及相关蛋白的表达



A:Western blot 检测单用及联合用药对 MAPK 信号通路相关蛋白的影响　1:对照组;2:粉防己碱单用组;3:长春新碱单用组;4:联合用药组;B:MAPK 信号通路相关蛋白表达的半定量分析　a:$P<0.05$,与对照组比较

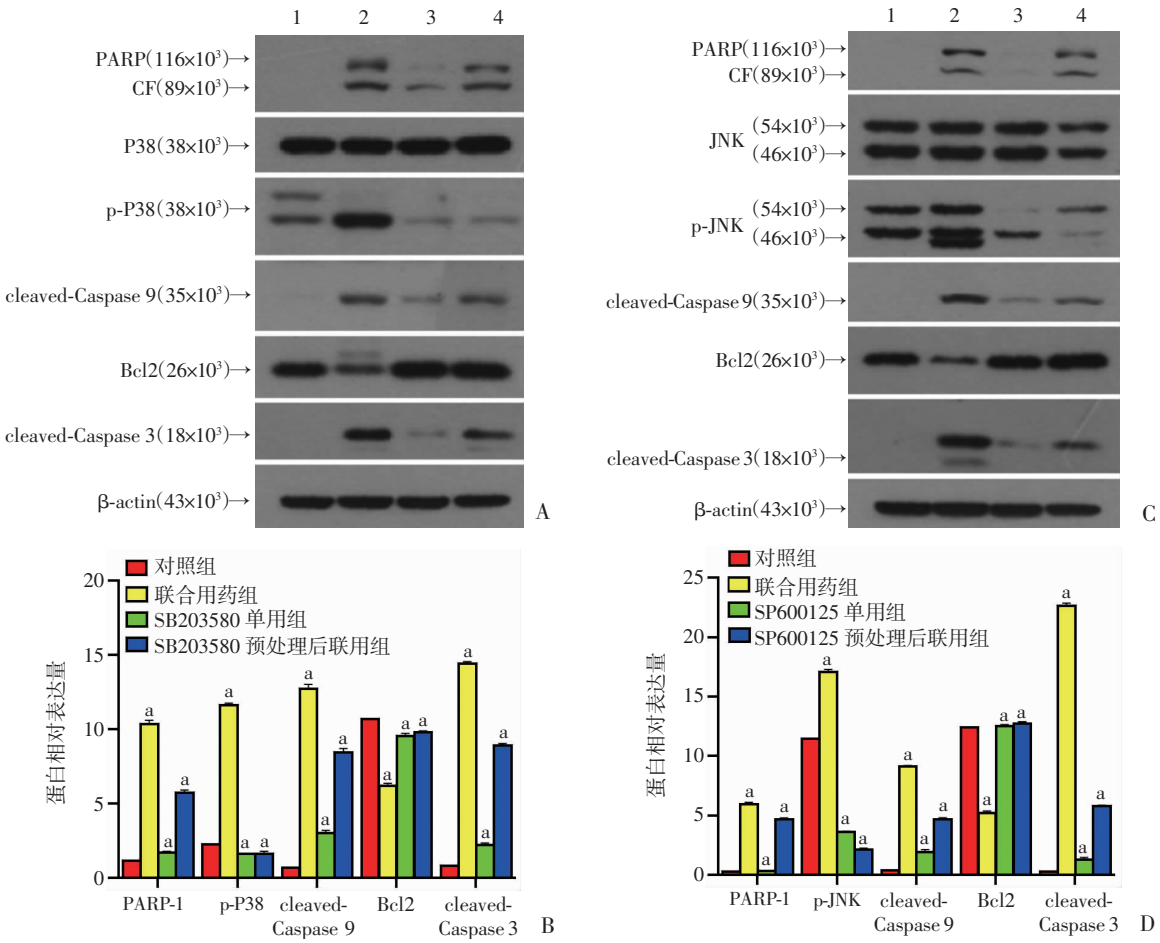
图 3　粉防己碱联用长春新碱对 MAPK 信号通路相关蛋白表达的影响



a:$P<0.05$,与对照组比较

A:流式细胞术检测经 SB203580 预处理后联用药对 SGC-7901/VCR 细胞细胞凋亡的影响;B:各组细胞凋亡率　1:对照组;2:联合用药组;3:SB203580 单用组;4:经 SB203580 预处理后联合用药组;C:流式细胞术检测经 SP600125 预处理后联用药对 SGC-7901/VCR 细胞细胞凋亡的影响;D:各组细胞凋亡率　1:对照组;2:联合用药组;3:SP600125 单用组;4:经 SP600125 预处理后联合用药组

图 4　流式细胞术检测经 SB203580 或 SP600125 预处理后联合用药对细胞凋亡的影响



a:$P<0.05$,与对照组比较

A:Western blot 检测经 SB203580 预处理后联用药对 SGC-7901/VCR 细胞凋亡相关蛋白表达的影响 1:对照组;2:联合用药组;3:SB203580 单用组;4:经 SB203580 预处理后联合用药组;B:经 SB203580 预处理后联用药细胞凋亡相关蛋白表达半定量分析;C:Western blot 检测经 SP600125 预处理后联用药对 SGC-7901/VCR 细胞凋亡相关蛋白表达的影响 1:对照组;2:联合用药组;3:SP600125 单用组;4:经 SP600125 预处理后联合用药组;D:经 SP600125 预处理后联用药细胞凋亡相关蛋白表达的半定量分析

图 5 Western blot 检测经 SB203580 或 SP600125 预处理后联合用药对细胞凋亡相关蛋白表达的影响

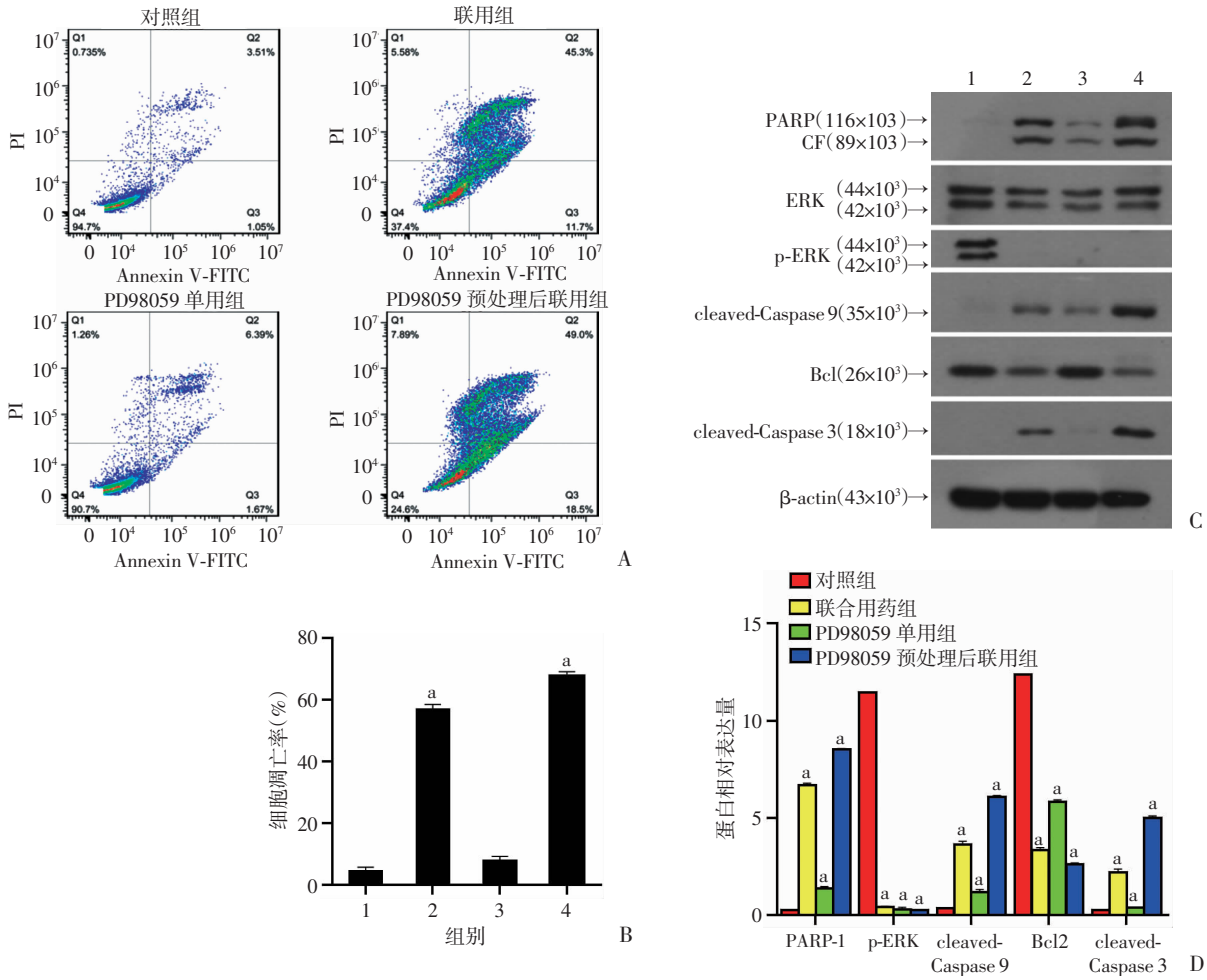
2.4.2 抑制 ERK 通路增强细胞凋亡 流式细胞术检测发现:经 PD98059 预处理后联用组细胞凋亡多于联用组($P<0.05$,图 6A、B)。Western blot 检测结果显示:相比于联合用药组,经 PD98059 预处理联合用药组 PARP 剪切增强,Bcl2 表达减少,cleaved-Caspase 9、cleaved-Caspase 3 表达增加($P<0.05$,图 6C、D)。以上结果说明联合用药诱导 SGC-7901/VCR 细胞凋亡与 ERK 通路抑制密切相关。

2.5 联合用药对 SGC-7901/VCR 细胞周期的影响

单用粉防己碱(4 μmol/L)或长春新碱(100 nmol/L)均不能明显阻滞 SGC-7901/VCR 细胞周期,但两种药物联用处理后发生 S/G_2 期细胞周期阻滞($P<0.05$,图 7A、B)。Western blot 检测结果显示:联合用药导致 p-CDC2 表达减少($P<0.05$,图 7C、D)。

3 讨论

胃癌作为常见恶性肿瘤,因其发病隐匿,患者初次就诊时多数已进展为中晚期胃癌,难以通过胃癌根治手术彻底治愈,需要应用药物予以化疗[2,9]。胃癌的化疗,特别是耐药胃癌化疗是医学界的难题之一,目前行之有效的化疗方法很少,针对耐药主要的措施有运用增敏剂、逆转剂、分子靶向药物等,但这些方法往往也会产生新的耐药[3]。越来越多研究表明采用自噬抑制剂与化疗药物联合用药的方法可以达到很好的化疗效果,杀死耐药细胞[10-11]。我国作为传统中草药大国,从传统中草药中找到高效低毒的增敏剂,增敏长春新碱促进耐药细胞死亡具有重要意义。



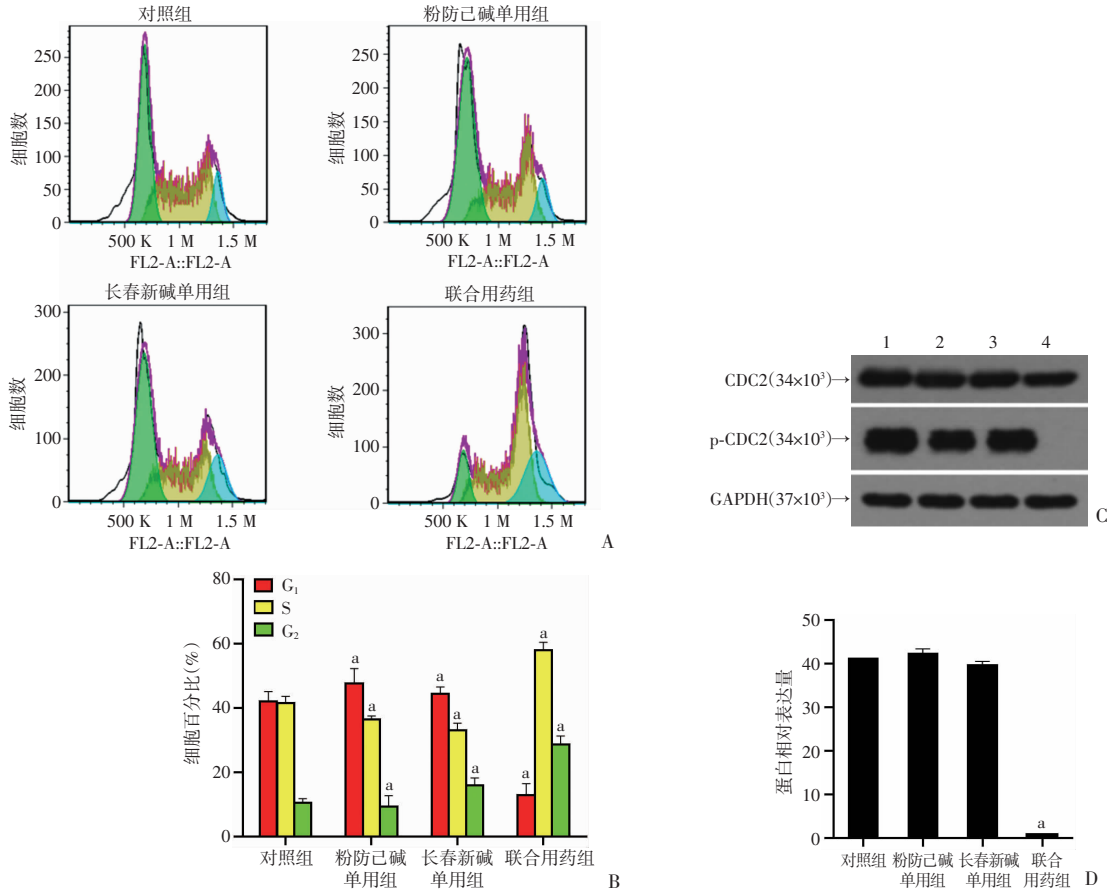
1:对照组;2:联合用药组;3:PD98059 单用组;4:PD98059 预处理后联合用药组;a:$P<0.05$,与对照组比较

A:流式细胞仪检测经 PD98059 预处理后联用药对 SGC-7901/VCR 细胞细胞凋亡的影响;B:各组细胞凋亡率;C:Western blot 检测凋亡相关蛋白表达;D:经 PD98059 预处理后联用药细胞凋亡相关蛋白表达的半定量分析

图 6 经 PD98059 预处理后联合用药对细胞凋亡的影响

肿瘤细胞内信号通路的改变与细胞增殖及凋亡密切相关,针对这一环节进行干预是肿瘤治疗的重要化疗策略[12-14]。MAPK 信号通路在真核生物细胞内发挥重要生理作用[15-16],主要包括 p38、JNK 和 ERK 通路,均可被激活或抑制而参与细胞的增殖、分化、凋亡等过程[17-18]。其中,p38 通路可通过激活 c-Jun、增加 TNF-α 的表达等途径促进细胞凋亡发生[19]。同时,研究表明 p38 通路的激活可导致细胞周期阻滞及细胞凋亡[20]。激活 JNK 可上调促凋亡蛋白的表达并激活 Caspase 3[21-22],而抑制 ERK 可促进细胞的凋亡,抑制肿瘤细胞的增殖[23-25]。

从天然药物中分离提取有效成分,单用或者联合用药增加特定药物敏感性以达到更好治疗效果,一直是肿瘤药物研发的热点和难点,随着全球肿瘤发病率不断增高,这一问题显得尤为突出。有研究报道,姜黄素可通过下调 P-gp 表达并使其活性下降,增敏长春新碱,激活 Caspase 3 级联反应,诱导 SGC-7901/VCR 细胞发生凋亡,但该联合用药作用剂量较大,20 μmol/L 姜黄素联合 1 μmol/L 长春新碱作用于 SGC-7901/VCR 细胞时,细胞凋亡率仅能达到 43.7%[26],而在本研究中,4 μmol/L 粉防己碱联合 100 nmol/L 长春新碱即可使 SGC-7901/VCR 细胞凋亡率达到 53.6%,提示本联合用药组合具有明显优势和应用前景。另有研究证实,RPN2 通过活化 ERK 信号通路,增加 P-gp 和 ABCG2 介导的胃癌细胞多药耐药发生,而抑制 ERK 信号通路可以显著降低 SGC-7901/DDP 和 SGC-7901/VCR 细胞的耐药性[27]。本研究发现并证实,粉防己碱联用长春新碱可激活 SGC-7901/VCR 细胞 MAPK 信号通路中 p38 和 JNK 通路,抑制 ERK 通路,进而激活下游的 Caspase 级联反应,同时导致 SGC-7901/VCR 细胞 S/G_2 周期阻滞,最终使 SGC-7901/VCR 细胞发生凋亡。



a:$P<0.05$,与对照组比较

A:流式细胞仪检测单用及联用药物对 SGC-7901/VCR 细胞细胞周期的影响;B:各组细胞周期统计分析;C:Western blot 检测细胞周期相关蛋白的表达 1:对照组;2:粉防己碱单用组;3:长春新碱单用组;4:联合用药组;D:细胞周期相关蛋白 p-CDC2 表达的半定量分析

图 7 粉防己碱联用长春新碱对 SGC-7901/VCR 细胞周期及周期相关蛋白表达的影响

综上所述,粉防己碱增敏长春新碱诱导胃癌 SGC-7901/VCR 细胞凋亡,其机制可能为联合用药激活肿瘤细胞 MAPK 信号通路 p38 和 JNK 通路,抑制 ERK 通路,从而激活下游 Caspase 家族,同时导致 SGC-7901/VCR 细胞 S/G_2 周期阻滞,最终诱导胃癌 SGC-7901/VCR 细胞凋亡发生。

参考文献:

[1] 曹毛毛, 李贺, 孙殿钦, 等. 2000-2019 年中国胃癌流行病学趋势分析[J]. 中华消化外科杂志, 2021(1): 102-109. DOI:10.3760/cma.j.cn115610-20201130-00746.
CAO M M, LI H, SUN D Q, *et al*. Epidemiological trend analysis of gastric cancer in China from 2000 to 2019[J]. Chin J Digest Surg, 2021(1): 102-109. DOI:10.3760/cma.j.cn115610-20201130-00746.

[2] SEXTON R E, AL HALLAK M N, DIAB M, *et al*. Gastric cancer: a comprehensive review of current and future treatment strategies[J]. Cancer Metast Rev, 2020, 39(4): 1179-1203. DOI:10.1007/s10555-020-09925-3.

[3] JIANG L X, GONG X M, LIAO W D, *et al*. Molecular targeted treatment and drug delivery system for gastric cancer[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2021, 147(4): 973-986. DOI:10.1007/s00432-021-03520-x.

[4] WEI W Y, CAO W L, ZHAN Z X, *et al*. MiR-1284 suppresses gastric cancer progression by targeting EIF4A1[J]. Onco Targets Ther, 2019, 12: 3965-3976. DOI:10.2147/OTT.S191015.

[5] LIU T, LIU X, LI W. Tetrandrine, a Chinese plant-derived alkaloid, is a potential candidate for cancer chemotherapy[J]. Oncotarget, 2016, 7(26): 40800-40815. DOI:10.18632/oncotarget.8315.

[6] LI Y J, LEI Y H, YAO N, *et al*. Autophagy and multidrug resistance in cancer[J]. Chin J Cancer, 2017, 36(1): 52. DOI:10.1186/s40880-017-0219-2.

[7] 邓琴, 傅若秋, 高宁. 千金藤素对乳腺癌细胞 MDA-MB-231 自噬降解的影响[J]. 第三军医大学学报, 2017, 39(24): 2352-2358. DOI:10.16016/j.1000-5404.201709083.
DENG Q, FU R Q, GAO N. Cepharanthine inhibits autophagic degradation in breast cancer MDA-MB-231 cells

[J]. J Third Mil Med Univ, 2017, 39(24): 2352-2358. DOI:10.16016/j.1000-5404.201709083.

[8] YU M, LIU T, CHEN Y C, *et al*. Combination therapy with protein kinase inhibitor H89 and Tetrandrine elicits enhanced synergistic antitumor efficacy[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2018, 37(1): 114. DOI:10.1186/s13046-018-0779-2.

[9] AKSHATHA C R, BHAT S, SINDHU R, *et al*. Current therapeutic options for gastric adenocarcinoma[J]. Saudi J Biol Sci, 2021, 28(9): 5371-5378. DOI:10.1016/j.sjbs.2021.05.060.

[10] GASIORKIEWICZ B M, KOCZURKIEWICZ-ADAMCZYK P, PISKA K, *et al*. Autophagy modulating agents as chemosensitizers for cisplatin therapy in cancer[J]. Invest New Drugs, 2021, 39(2): 538-563. DOI:10.1007/s10637-020-01032-y.

[11] ZHOU J, LI G B, ZHENG Y, *et al*. A novel autophagy/mitophagy inhibitor liensinine sensitizes breast cancer cells to chemotherapy through DNM1L-mediated mitochondrial fission[J]. Autophagy, 2015, 11(8): 1259-1279. DOI:10.1080/15548627.2015.1056970.

[12] 黎婕, 胡金娇, 姜秀星, 等. 双硫仑/铜复合物通过 Drp1 去磷酸化和线粒体转位抑制肝癌细胞增殖并诱导细胞凋亡[J]. 第三军医大学学报, 2020, 42(23): 2302-2310. DOI:10.16016/j.1000-5404.202007186.
LI J, HU J J, JIANG X X, *et al*. Disulfiram/copper complex inhibits proliferation and induces apoptosis in hepatocellular carcinoma cells through dephosphorylation and mitochondrial translocation of Drp1[J]. J Third Mil Med Univ, 2020, 42(23): 2302-2310. DOI:10.16016/j.1000-5404.202007186.

[13] SONG J L, XU J B, GUO J H, *et al*. The enhancement of Tetrandrine to gemcitabine-resistant PANC-1 cytochemical sensitivity involves the promotion of PI3K/Akt/mTOR-mediated apoptosis and AMPK-regulated autophagy[J]. Acta Histochem, 2021, 123(6): 151769. DOI:10.1016/j.acthis.2021.151769.

[14] SHAN C Y, HUI W Q, LI H W, *et al*. Discovery of novel autophagy inhibitors and their sensitization abilities for vincristine-resistant esophageal cancer cell line Eca109/VCR[J]. ChemMedChem, 2020, 15(11): 970-981. DOI:10.1002/cmdc.202000004.

[15] BAI X Y, LIU Y G, SONG W, *et al*. Anticancer activity of tetrandrine by inducing pro-death apoptosis and autophagy in human gastric cancer cells[J]. J Pharm Pharmacol, 2018, 70(8): 1048-1058. DOI:10.1111/jphp.12935.

[16] ZHANG J, SUN H, JIANG K, *et al*. Cudraxanthone L inhibits gastric cancer by regulating the MAPK signalling and promoting FAS-mediated pathway[J]. Biomed Pharmacother, 2021, 141: 111876. DOI:10.1016/j.biopha.2021.111876.

[17] XU W C, WANG X Q, TU Y C, *et al*. Tetrandrine and cepharanthine induce apoptosis through caspase cascade regulation, cell cycle arrest, MAPK activation and PI3K/Akt/mTOR signal modification in glucocorticoid resistant human leukemia Jurkat T cells[J]. Chem Biol Interact, 2019, 310: 108726. DOI:10.1016/j.cbi.2019.108726.

[18] HE Y, CAO X, KONG Y, *et al*. Apoptosis-promoting and migration-suppressing effect of alantolactone on gastric cancer cell lines BGC-823 and SGC-7901 *via* regulating p38MAPK and NF-κB pathways[J]. Hum Exp Toxicol, 2019, 38(10): 1132-1144. DOI: 10.1177/0960327119855128.

[19] LI Y, LI S Q, HAN Y H, *et al*. Calebin-A induces apoptosis and modulates MAPK family activity in drug resistant human gastric cancer cells[J]. Eur J Pharmacol, 2008, 591(1/2/3): 252-258. DOI: 10.1016/j.ejphar.2008.06.065.

[20] HAN Z, ZHAO X M, ZHANG E, *et al*. Resistomycin induced apoptosis and cycle arrest in human hepatocellular carcinoma cells by activating p38 MAPK pathway *in vitro* and *in vivo*[J]. Pharmaceuticals (Basel), 2021, 14(10): 958. DOI:10.3390/ph14100958.

[21] ZHU Q Y, GUO Y H, CHEN S W, *et al*. Irinotecan induces autophagy-dependent apoptosis and positively regulates ROS-related JNK- and P38-MAPK pathways in gastric cancer cells[J]. Oncotargets Ther, 2020, 13: 2807-2817. DOI:10.2147/OTT.S240803.

[22] MA K, ZHANG C, HUANG M Y, *et al*. Cinobufagin induces autophagy-mediated cell death in human osteosarcoma U_2OS cells through the ROS/JNK/p38 signaling pathway[J]. Oncol Rep, 2016, 36(1): 90-98. DOI:10.3892/or.2016.4782.

[23] YUAN L, WEI S P, WANG J, *et al*. Isoorientin induces apoptosis and autophagy simultaneously by reactive oxygen species (ROS)-related p53, PI3K/Akt, JNK, and p38 signaling pathways in HepG2 cancer cells[J]. J Agric Food Chem, 2014, 62(23): 5390-5400. DOI:10.1021/jf500903g.

[24] YUAN L, WANG J, XIAO H F, *et al*. MAPK signaling pathways regulate mitochondrial-mediated apoptosis induced by isoorientin in human hepatoblastoma cancer cells[J]. Food Chem Toxicol, 2013, 53: 62-68. DOI:10.1016/j.fct.2012.11.048.

[25] LI B, ZHOU M, WANG J, *et al*. Suppressing ERK pathway impairs glycochenodeoxycholate-mediated survival and drug-resistance in hepatocellular carcinoma cells[J]. Front Oncol, 2021, 11: 663944. DOI:10.3389/fonc.2021.663944.

[26] TANG X Q, BI H, FENG J Q, *et al*. Effect of curcumin on multidrug resistance in resistant human gastric carcinoma cell line SGC7901/VCR[J]. Acta Pharmacol Sin, 2005(8): 1009-1016.

[27] ZHANG H, JIANG H, ZHANG H, *et al*. Ribophorin II potentiates P-glycoprotein- and ABCG2-mediated multidrug resistance *via* activating ERK pathway in gastric cancer[J]. Int J Biol Macromol, 2019, 128: 574-582. DOI:0.1016/j.ijbiomac.2019.01.195.

(收稿:2021-09-29;修回:2021-12-11)

(编辑 张 维)