

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2018.30.005

文章编号: 1005-8982(2018)30-0020-06

苦参碱调控结肠癌奥沙利铂耐药性及机制研究

王伟, 郑兵, 任锐, 朱涛

(四川省宜宾市第一人民医院, 普外科, 四川 宜宾 644000)

摘要:目的 探讨苦参碱(Ma)对人结肠癌耐奥沙利铂(Oxa)细胞株(SW480/Oxa)的逆转耐药作用及其机制是否与抑制c-Jun氨基末端激酶(JNK/SAPK)信号通路有关。**方法** 采用MTT法检测Ma对SW480/Oxa细胞增殖的影响,采用流式细胞术检测Ma对SW480/Oxa细胞凋亡的影响,qRT-PCR检测Ma对SW480/Oxa细胞P-糖蛋白(P-gp)、MDR1 mRNA表达的变化,Western blot检测Ma对SW480/Oxa细胞P-gp、磷酸化c-Jun氨基末端激酶(p-JNK)蛋白表达的变化。**结果** 不同组细胞增殖活性的比较,Oxa组细胞增殖活性低于NC组, Ma+Oxa组细胞增殖活性低于Oxa组($P < 0.05$)。Oxa组细胞总凋亡率高于NC组($P < 0.05$), Ma+Oxa组细胞总凋亡率高于Oxa组($P < 0.05$)。与PPAR γ +Oxa组比较, PPAR γ +Ma+Oxa组中P-gp、MDR1 mRNA水平均下调,差异有统计学意义($P < 0.05$)。与SP600125+Oxa组比较, SP600125+Ma+Oxa组中P-gp、MDR1 mRNA水平均下调,差异有统计学意义($P < 0.05$)。与PPAR γ +Oxa组比较, PPAR γ +Ma+Oxa组中P-gp、p-JNK蛋白水平均下调,差异有统计学意义($P < 0.05$)。与SP600125+Oxa组比较, SP600125+Ma+Oxa组中P-gp、p-JNK蛋白水平均下调,差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** Ma具有调控人结肠癌耐药细胞株耐药性的作用,可能与抑制JNK/SAPK信号通路,降低P-gp表达有关。

关键词: 结直肠癌; 耐药; 苦参碱; JNK/SAPK信号通路

中图分类号: R735.3

文献标识码: A

Effect of Matrine on drug resistance of human colon cells to Oxaliplatin

Wei Wang, Bing Zheng, Rui Ren, Tao Zhu

(Department of General Surgery, the First People's Hospital of Yibin, Yibin, Sichuan 644000, China)

Abstract: Objective To investigate the effects of Matrine (Ma) on drug resistance of human colon cells to Oxaliplatin (Oxa) and potential mechanisms. **Methods** Cellular proliferation of SW480/Oxa cell line was analyzed by MTT. Cell apoptosis rate was analyzed by Flow Cytometer. Expression of glycoprotein (P-gp), MDR1, P-gp, JNK and phosphorylated c-Jun N-terminal kinases (p-JNK) was measured by qRT-PCR and Western blot. **Results** MTT results showed that cell proliferation in Oxa group was lower than that in NC group ($t = 4.032, P = 0.049$), while that was higher when compared with Ma+Oxa group ($t = 4.132, P = 0.045$). Flow cytometer suggested that apoptosis rate in Oxa group was increased compared with NC group ($t = 4.342, P = 0.043$), while that was decreased when compared with Ma+Oxa group ($t = 4.342, P = 0.043$). Expressions of P-gp and MDR1 in PPAR γ +Ma+Oxa group was downregulated when compared with PPAR γ +Oxa group ($P < 0.05$), but was upregulated compared with Oxa group ($P < 0.05$). QRT-PCR also suggested manifested similar alteration of expression of P-gp and MDR1 in SP600125+Ma+Oxa group comparing with those in SP600125+Oxa group ($P < 0.05$). Western blot showed that expressions of P-gp and p-JNK proteins in PPAR γ +Ma+Oxa group were lower than PPAR γ +Oxa group ($P < 0.05$).

收稿日期: 2018-04-21

Conclusions Ma can reverse drug resistance of colorectal cancer to Oxa potentially via the JNK/SAPK signaling pathway.

Keywords: colorectal cancer; drug resistance; Matrine; JNK/SAPK signaling pathway

结肠癌是临床上常见的消化道疾病之一, 临床上主要采用手术与化疗联合治疗, 但患者的长期生存率较低, 且有时不能完全治愈, 甚至化疗药物的耐药性问题也随着出现, 这是临床上结肠癌治疗失败的主要原因之一^[1-2], 故研究结肠癌化疗耐药性尤为重要。研究显示^[3-6], 肿瘤对化疗药物多药耐药是影响结肠癌化疗疗效的主要因素, 耐药基因 MDR1 编码调控 P-糖蛋白 (glycoprotein, P-gp), 结肠癌细胞高表达 P-gp 是影响治疗效果的主要障碍之一。众多研究表明^[7-9], JNK/SAPK 信号通路与肿瘤细胞的化疗耐药性密切相关, 本研究将探讨苦参碱 (matrine, Ma) 对人结肠癌耐奥沙利铂细胞株 (SW480/Oxa) 耐药性的影响及是否与 JNK/SAPK 信号通路有关。

1 材料与方法

1.1 材料

结肠癌 SW480 细胞购自中科院上海细胞库, 环王巴明、二甲基亚砜 (dimethylsulfoxide, DMSO)、四甲基偶氮唑蓝 (methyl thiazolyl tetrazolium, MTT) 均购自 Sigma 公司, RPMI 1640 培养基、胎牛血清、胰蛋白酶均购自 Gibco 公司, Annexin-V-FITC/PI 凋亡试剂盒购自南京生物建成研究所, P-gp、c-Jun 氨基端激酶 (c-Jun N-terminal kinase, JNK)、磷酸化 c-Jun 氨基端激酶 (phosphorylated c-Jun N-terminal kinase, p-JNK)、c-Jun、磷酸化 c-Jun (phosphorylated c-Jun, p-c-Jun) 抗体购自 Abcam 公司, 过氧化物酶增殖物激活受体 γ (peroxisome proliferator activated receptor gamma, PPAR γ) 和 JNK 阻断剂 SP600125 均购自美国 R & D Systems 公司, Trizol 试剂盒、逆转录试剂盒、PCR 扩增试剂盒均购自日本 TaKaRa 公司, TGL-16G-A 型高速冷冻离心机 (上海安亭科学仪器厂), 7300 型实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 仪 (美国 Applied Biosystems 公司), 基础电泳仪 (美国 Bio-Rad 公司), 酶标仪 (Thermo 公司), EL204- 电子天平 (上海特勒-托多利多仪器有限公司), 凝胶成像仪 (美国 Bio-Rad 公司), 电泳仪 (北京六一仪器厂)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 结肠癌 SW480 细胞, 采用 RPMI

1640 培养液 [添加 10%FBS, 1% 双抗 (链霉素 100 u/ml, 青霉素 100 u/ml)], 置于 5% 二氧化碳 CO₂, 37℃ 的培养箱条件下进行培养。

1.2.2 获得性 Oxa 耐药结肠癌 SW480 细胞的建立 按照文献 [10], 首先, 采用 0.1 $\mu\text{mol/L}$ 的奥沙利铂 (oxaliplatin, Oxa) 处理 SW480 细胞, Oxa 处理后大部分细胞死亡, 少量细胞存活, 待存活细胞继续生长到融合度达 90% 时, 进行传代 3 代, 之后提高浓度至 0.5 $\mu\text{mol/L}$ 的 Oxa 处理 SW480 细胞, 以此方法再提高到 1.0 $\mu\text{mol/L}$ 的 Oxa 处理 SW480 细胞, 最终获得临床血药浓度 2.0 $\mu\text{mol/L}$, 传代 5 代, 稳定的耐药细胞 SW480/Oxa 细胞。

1.2.3 MTT 法检测 Ma 给药浓度 为选择合适的 Ma 浓度进行后续实验, 首先采用 MTT 法检测 Ma 对 SW480/Oxa 耐药细胞的 IC₅₀ 值。取对数生长期的细胞, 以 2×10^4 个 / 孔接种于 96 孔培养板中, 37℃、5% CO₂ 培养箱中培养 24 h 贴壁后, 分组进行实验。加入终浓度分别为 0、1、5、10、20 及 30 $\mu\text{mol/L}$ 的 Ma (含 DMSO 的终浓度为 0.1%); 溶剂对照组调整 DMSO 的终浓度为 0.1%; 空白对照组不做任何处理。继续培养 24 h。每孔加 20 μl MTT, 37℃ 孵育 4 h, 弃上清, 再加入 100 μl DMSO 溶液, 在酶标仪上测定 570 nm 波长各孔吸光度 A 值 (A₅₇₀)。细胞抑制率 (IR): $\text{IR}(\%) = (1 - \text{处理组平均 A 值} / \text{对照组平均 A 值}) \times 100\%$ 。

1.2.4 MTT 法检测细胞增殖 取对数生长期的 SW480/Oxa 细胞, 以 2×10^4 个 / 孔接种于 96 孔培养板中, 37℃、5% CO₂ 培养箱中培养 24 h 贴壁后, 分组与给药: ① NC 组: 空白对照组 (细胞不做任何处理); ② Oxa 组: Oxa (2 $\mu\text{mol/L}$); ③ Ma+Oxa 组: Ma (10 $\mu\text{mol/L}$) + Oxa (2 $\mu\text{mol/L}$)。继续培养 24 h。每孔加 20 μl MTT, 37℃ 孵育 4 h, 弃上清, 再加入 100 μl DMSO 溶液, 在酶标仪上测定 570 nm 波长各孔吸光度 A 值 (A₅₇₀)。每组设置 3 个复孔。细胞抑制率 (IR): $\text{IR}(\%) = (1 - \text{处理组平均 A 值} / \text{对照组平均 A 值}) \times 100\%$ 。

1.2.5 流式细胞仪检测细胞凋亡情况 取对数生长期的细胞, 以 5×10^3 个 / ml 接种于 6 孔板, 每组设置 3 个复孔。用含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养基培养在 37℃、5% CO₂ 培养箱中培养 24 h 至贴壁, 实验分

组与给药同 1.2.4 项下, 根据 Annexin-V-FITC/PI 凋亡试剂盒说明书操作, 流式细胞仪检测细胞凋亡情况。

1.2.6 qRT-PCR 检测 P-gp、MDR1 mRNA 表达水平 参照文献 [11], 检测 P-gp、MDR1 mRNA。取对数生长期的细胞, 以 5×10^3 个/ml 浓度接种于 6 孔板, 每组设置 3 个复孔。用含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养基培养在 37°C 、5% CO_2 培养箱中培养 24 h 至贴壁, 实验分组与给药: ① NC 组: 空白对照组 (细胞不做任何处理); ② Oxa 组: Oxa ($2 \mu\text{mol/L}$); ③ Ma+Oxa 组: Ma ($10 \mu\text{mol/L}$) + Oxa ($2 \mu\text{mol/L}$); ④ PPAR γ + Oxa 组: PPAR γ ($0.1 \mu\text{g/L}$) + Oxa ($2 \mu\text{mol/L}$); ⑤ SP600125+Oxa 组: SP600125 ($100 \mu\text{g/L}$) + Oxa ($2 \mu\text{mol/L}$); ⑥ PPAR γ + Ma+Oxa 组: PPAR γ ($0.1 \mu\text{g/L}$) + Ma ($10 \mu\text{mol/L}$) + Oxa ($2 \mu\text{mol/L}$); ⑦ SP600125+Ma+Oxa 组: SP600125 ($100 \mu\text{g/L}$) + Ma ($10 \mu\text{mol/L}$) + Oxa ($2 \mu\text{mol/L}$)。根据 Trizol 试剂盒提取组织总 RNA, 采用核酸测定仪测定 RNA 纯度和浓度, 取 $1 \mu\text{g}$ 进行逆转录, 生成 cDNA。采用 SYBR green 染料法进行定量检测, P-gp 扩增引物序列为: P-gp, 正向 5'-TACTCACGCCTCGAAACCT-3', 反向 5'-GTCTGCTTTCTCCCTGATG-3'; MDR1, 正向 5'-CCC ATCATTGCAATAGCAGG-3', 反向 5'-GTTCAAACCTTC TGCTCCTGA。以 GAPDH 基因为内参, 其引物序列如下: GAPDH, 正向 5'-CCTAGTTCGTCATGGGTG TGAACCA-3', 反向 5'-GCCAGTAGAGGCAGGGATGA TGTTTC-3', 扩增条件及计算方法参考文献 [12]。

1.2.7 Western blot 检测 P-gp、p-JNK 蛋白的表达水平 参照文献 [13]。取对数生长期的细胞, 以 5×10^3 个/ml 浓度接种于 6 孔板, 每组设置 3 个复孔。用含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养基培养在 37°C 、5% CO_2 培养箱中培养 24 h 至贴壁, 实验分组与给药同 1.2.6 项下。常规方法提取组织总蛋白, 二喹啉甲酸 (bicinchoninic acid, BCA) 方法测定蛋白质含量后, 进行凝胶电泳, 每孔上样 $20 \mu\text{g}$, 电转至聚偏氟乙烯薄膜 (polyvinylidene fluoride, PVDF) 上后, 3% 的脱脂奶粉封闭 2 h, 分别孵育 P-gp、p-JNK (目的蛋白) 和 β -actin (内参蛋白) 一抗, 4°C 孵育过夜, TBST 洗膜, 孵育二抗后显影。采用 Quantityone 软件对条带亮度进行分析。

1.3 统计学方法

数据分析采用 SPSS 17.0 统计软件, 计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 比较采用方差分析, 两

两比较用 LSD-*t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Ma 的给药浓度

Ma 对 SW480/Oxa 细胞的 IC_{50} 浓度为 $30 \mu\text{mol/L}$ 。考虑到 Ma 与 Oxa 对癌细胞可能存在协同杀伤作用, 并且为尽量减轻高浓度药物引发的毒副作用, 选择 IC_{50} 前一浓度作为 Ma 浓度进行后续实验, 即选择 $20 \mu\text{mol/L}$ 作为后续实验 Ma 的给药浓度。见图 1。

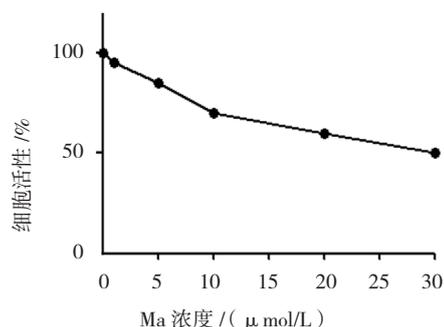


图 1 MTT 法检测 Ma 给药浓度

2.2 细胞增殖活性情况

NC 组、Oxa 组和 Ma+Oxa 组细胞增殖活性分别为 (99.67 ± 2.12)、(72.12 ± 1.12) 和 (61.34 ± 1.15), 差异有统计学意义 ($F=12.218$, $P=0.000$)。进一步分析显示, Oxa 组细胞增殖活性低于 NC 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。而 Ma+Oxa 组细胞增殖活性低于 Oxa 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

2.3 细胞凋亡情况

Oxa 组与 NC 组细胞总凋亡率比较, 采用 *t* 检验, 差异有统计学意义 ($t=4.012$, $P=0.049$), Oxa 组细胞总凋亡率高于 NC 组。Ma+Oxa 组与 Oxa 组细胞总凋亡率比较, 采用 *t* 检验, 差异有统计学意义 ($t=4.342$, $P=0.043$), Ma+Oxa 组细胞总凋亡率高于 Oxa 组。见图 2。

2.4 Ma 对 SW480/Oxa 细胞 P-gp、MDR1 mRNA 表达的影响

研究发现, 在 Ma+Oxa 组、PPAR γ + Oxa 组及 PPAR γ + Ma+Oxa 组 3 组间的 P-gp mRNA ($F=14.315$, $P=0.000$) 以及 MDR1 mRNA ($F=16.267$, $P=0.000$) 的相对表达水平差异有统计学意义。见表 1。在 Ma+Oxa 组、SP600125+Oxa 组以及 SP600125+Ma+Oxa 组 3 组间的 P-gp mRNA ($F=13.213$, $P=0.000$) 以及 MDR1 mRNA ($F=15.221$, $P=0.000$) 的相对表达水平差异有统计学

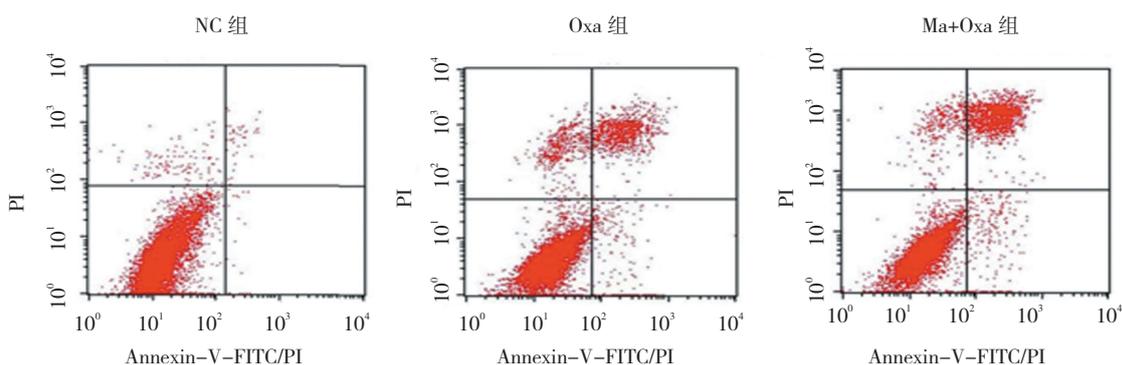


图 2 流式细胞仪检测细胞凋亡情况

表 1 Ma 对 SW480/Oxa 细胞 P-gp、MDR1 mRNA 表达的影响 (n=3, $\bar{x} \pm s$)

组别	P-gp	F 值	P 值	MDR1	F 值	P 值
Ma+Oxa 组	146.32 ± 4.6			149.31 ± 4.3		
PPAR γ +Oxa 组	203.19 ± 6.1 ¹⁾²⁾	14.315	0.000	210.45 ± 5.8 ¹⁾²⁾	16.267	13.213
PPAR γ +Ma+Oxa 组	176.21 ± 5.3 ¹⁾			172.54 ± 4.9 ¹⁾		
Ma+Oxa 组	146.32 ± 4.6			149.31 ± 4.3		
SP600125+Oxa 组	134.21 ± 3.4 ¹⁾³⁾	13.213	0.000	140.15 ± 3.8 ¹⁾³⁾	15.221	13.213
SP600125+Ma+Oxa 组	123.16 ± 2.3 ¹⁾			131.15 ± 3.1 ¹⁾		

注: 1) 与 Ma+Oxa 组比较, $P < 0.05$; 2) 与 PPAR γ +Ma+Oxa 组比较, $P < 0.05$; 3) 与 SP600125+Ma+Oxa 组比较, $P < 0.05$

意义。

2.5 P-gp、p-JNK 蛋白的表达水平

研究发现, 在 Ma+Oxa 组、PPAR γ +Oxa 组以及 PPAR γ +Ma+Oxa 组 3 组间的 P-gp 蛋白 ($F = 12.315, P = 0.000$) 以及 p-JNK 蛋白 ($F = 15.267, P = 0.000$) 的

相对表达水平差异有统计学意义。见图 3 和表 2。在 Ma+Oxa 组、SP600125+Oxa 组以及 SP600125+Ma+Oxa 组 3 组间的 P-gp 蛋白 ($F = 13.213, P = 0.000$) 以及 p-JNK 蛋白 ($F = 15.221, P = 0.000$) 的相对表达水平差异有统计学意义。见图 3 和表 2。

表 2 Western blot 检测 P-gp, p-JNK 蛋白的相对表达水平 (n=3, $\bar{x} \pm s$)

组别	P-gp	F 值	P 值	p-JNK	F 值	P 值
Ma+Oxa 组	0.489 ± 0.052			0.221 ± 0.031		
PPAR γ +Oxa 组	0.867 ± 0.077 ¹⁾²⁾	12.315	0.000	0.434 ± 0.042 ¹⁾²⁾	15.267	0.000
PPAR γ +Ma+Oxa 组	0.576 ± 0.056 ¹⁾			0.284 ± 0.033 ¹⁾		
Ma+Oxa 组	0.489 ± 0.052			0.221 ± 0.031		
SP600125+Oxa 组	0.369 ± 0.027 ¹⁾²⁾	13.213	0.000	0.246 ± 0.019 ¹⁾²⁾	15.221	0.000
SP600125+Ma+Oxa 组	0.298 ± 0.024 ¹⁾			0.135 ± 0.013 ¹⁾		

注: 1) 与 Ma+Oxa 组比较, $P < 0.05$; 2) 与 PPAR γ +Ma+Oxa 组比较, $P < 0.05$; 3) 与 SP600125+Ma+Oxa 组比较, $P < 0.05$

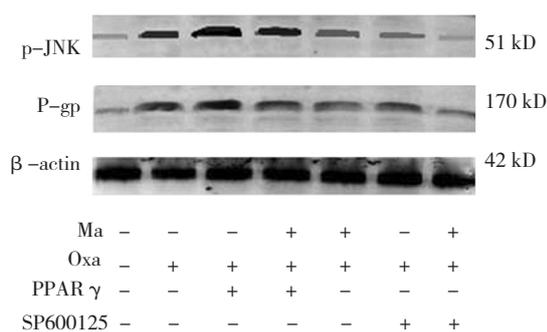


图 3 Western blot 检测 P-gp, p-JNK 蛋白的相对表达

3 讨论

中药苦参为豆科多年生落叶灌木植物苦参的干燥根。苦参性苦、寒,具清热燥湿、杀虫、利尿等功效,用于热痢、便血、黄疸尿闭、赤白带下、湿疹等。苦参碱是苦参中的抗癌有效成分,对肝癌、胃癌、肺癌、乳腺癌和直肠癌等细胞均具有生长抑制作用。奥沙利铂能够通过作用于 DNA 形成链内和链间交联来抑制 DNA 的合成,产生抗肿瘤活性以及细胞毒作用^[14]。由于因个体基因遗传差异,结肠癌患者对于奥沙利铂化疗敏感性存在较大的差异,其中产生奥沙利铂的耐药性是导致患者化疗失败的主要原因。肿瘤细胞多药耐药(multi drug resistance, MDR)机制复杂,如 MDR 基因过多表达、DNA 拓扑异构酶 II 活性降低或含量减少、谷胱甘肽解毒酶系统活性增高、MDR 相关蛋白基因表达增高等。其中 P-gp 和 LRP 介导的 MDR 研究较多,是机制最为明确的 MDR 产生途径。P-gp 和 LRP 在细胞的表达水平与细胞耐药程度呈正相关。最近已经有多项研究表明苦参碱能够抑制结肠癌细胞的生长。FOFARIA^[15] 研究发现,2.0 mg/ml 苦参碱能够抑制结肠癌细胞 HT-29 的生长并且能够抑制 COX-2 的表达;NIU 等^[16] 也观察苦参碱能够抑制结肠癌细胞 SW116 的增殖,并且抑制细胞端粒酶的活性;CHANG 等^[17] 进一步深入研究发现苦参碱通过上调 Bax 的表达以及下调 Bcl-2 的表达来诱导 HT-29 细胞的调亡,从而起到抑制结肠癌细胞 HT-29 增殖的作用。众多研究表明^[18-20], JNK/SAPK 信号通路与肿瘤细胞的化疗耐药性密切相关,本研究为了尽量减轻高浓度药物引发的毒副作用,笔者选择 IC₅₀ 前一浓度作为 Ma 浓度进行后续实验,即选择 10 μ mol/L 作为后续实验 Ma 的给药浓度。结果发现, Ma 可抑制其增值,促进其调亡, Ma 可降低 P-gp, MDR1 mRNA 表达,还可降低 P-gp、p-JNK 蛋白的表达,提示 Ma 具有调控人结肠癌耐药

细胞株耐药性的作用,可能与抑制 JNK/SAPK 信号通路,降低 P-gp 表达有关。本研究结果提示, Ma 对调控结肠癌化疗耐药性有一定效果,研究结果为应用苦参碱干预结肠癌机制提供实验依据, Ma 有望成为改善结肠癌化疗耐药性的新药物,但还需大量的基础实验和临床实验深入研究。

综上所述, Ma 具有调控人结肠癌耐药细胞株耐药性的作用,可能与抑制 JNK/SAPK 信号通路,降低 P-gp 表达有关。

参 考 文 献:

- [1] 张玥,石菊芳,黄慧瑶,等. 中国人群结直肠癌疾病负担分析[J]. 中华流行病学杂志, 2015, 36(7): 709-714.
- [2] 李道娟,李倩,贺宇彤,等. 结直肠癌流行病学趋势[J]. 肿瘤防治研究, 2015, 42(3): 305-310.
- [3] 袁斐,白钢钢,苗筠杰,等. 中药逆转肿瘤细胞多药耐药的研究进展[J]. 中草药, 2014, 45(6): 857-863.
- [4] 左陵君,张耘新,段建敏,等. 苦参碱对人膀胱癌 BIU-87/ADM 细胞多药耐药的影响[J]. 中国中医药信息杂志, 2016, 23(2): 73-75.
- [5] 刘劲松,李丽萍,刘俊,等. 复方苦参注射液联合化疗治疗对结肠癌患者血清血管内皮生长因子的影响[J]. 中国老年学杂志, 2014, 34(2): 333-334.
- [6] LI Y J, HUANG G L, SUN X L, et al. The combination therapy of high-intensity focused ultrasound with radiotherapy in locally advanced pancreatic carcinoma[J]. World J Surg Oncol, 2016, 14(1): 1-5.
- [7] KHOKHLOVA T D, HWANG J H. HIFU for palliative treatment of pancreatic cancer[J]. Adv Exp Med Biol, 2016, 880(3): 83-95.
- [8] ROMBOUTS SJE, VOGEL J A, SANTVOORT H C, et al. Systematic review of innovative ablative therapies for the treatment of locally advanced pancreatic cancer[J]. Br J Surg, 2015, 102(3): 182-193.
- [9] HIJNEN N, LANGEREIS S, GRÜLL H, et al. Magnetic resonance guided high-intensity focused ultrasound for image-guided temperature-induced drug delivery[J]. Adv Drug Deliv Rev, 2014, 72(6): 65-81.
- [10] LAM M K, HUISMAN M, NIJENHUIS R J, et al. Quality of MR thermometry during palliative MR-guided high-intensity focused ultrasound (MR-HIFU) treatment of bone metastases[J]. J Ther Ultrasound, 2015, 3(1): 1-15.
- [11] WOLFRAM F, REICHENBACH J R, LESSER T G, et al. An ex vivo, human lung model for ultrasound-guided high-intensity focused ultrasound therapy using lung flooding[J]. Ultrasound Med Biol, 2014, 40(3): 496-503.
- [12] PATEL K, KOLLORY A, TAKASHIMA A, et al. MicroRNA let-7 downregulates STAT3 phosphorylation in pancreatic cancer cells by increasing SOCS3 expression[J]. Cancer Lett, 2014, 347(1): 54-64.

- [13] COWAN R W, MAITRA A, RHIM A D, et al. A new scalpel for the treatment of pancreatic cancer: Targeting stromal-derived STAT3 signaling[J]. *Gastroenterology*, 2015, 149(7): 1685-1688.
- [14] SOFUNI A, ITOI T, SANO T, et al. Sa1466 usefulness of high-intensity focused ultrasound (HIFU) Ttherapy for unresectable pancreatic cancer[J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(28): 9570-9577.
- [15] FOFARIA N M, SRIVASTAVA S K. STAT3 induces anoikis resistance, promotes cell invasion and metastatic potential in pancreatic cancer cells[J]. *Carcinogenesis*, 2015, 36(1): 142-150.
- [16] NIU F, LI Y, LAI F F, et al. LB-1 exerts antitumor activity in pancreatic cancer by inhibiting HIF-1 α and Stat3 signaling[J]. *J Cell Physiol*, 2015, 230(9): 2212-2223.
- [17] CHANG C, LIU S P, FANG C H, et al. Effects of matrine on the proliferation of HT29 human colon cancer cells and its antitumor mechanism[J]. *Oncol Lett*, 2013, 6(3): 699-704.
- [18] SCHEFFER G L, SCHROEIJERS A B, IZQUIERDO M A, et al. Lung resistance-related protein/major vault protein and vaults in multidrugresistant cancer[J]. *Curr Opin Oncol*, 2012, 12(6): 550-556.
- [19] ZHANG S, CHENG B, LI H, et al. Matrine inhibits proliferation and induces apoptosis of human colon cancer LoVo cells by inactivating Akt pathway[J]. *Mol Biol Rep*, 2014, 41(4): 2101-2108.
- [20] PEIXOTO R D, KUMAR A, LIM H J, et al. Palliative oxaliplatin -based chemotherapy after exposure to oxaliplatin in the adjuvant setting for colon cancer[J]. *J Gastrointest Oncol*, 2015, 6(5): 487-491.

(王荣兵 编辑)