

expression of annexin A5 in preeclamptic placentas [J].
Placenta, 2010, 32(3): 264-268.

A5 and annexin A2 levels as biomarkers for pre-eclampsia: a
pilot study[J]. *Pregnancy Hypertens*, 2017, 8: 65-69.

[26] Abd E M, Azzam H, Othman M, *et al*. Assessment of annexin

葛根汤通过下调 THRB 表达逆转 COC1/DDP 细胞顺铂耐药

赵丽杰, 杨传军, 陈蓓蓓, 马庆良*
(上海中医药大学附属曙光医院妇产科, 上海 201210)

摘要: **目的** 研究葛根汤对 THRB 表达的影响,探究该方逆转人卵巢癌细胞株 COC1/DDP 顺铂耐药的机制。**方法** 采用血清药理学方法制备含药血清, MTT 比色法筛选剂量。不同浓度顺铂联合含药血清处理 COC1、COC1/DDP 细胞后, 计算 IC₅₀、耐药指数, 将 COC1/DDP 细胞随机分为对照组、DDP 组及葛根汤低、中、高剂量组, 对应药物干预 48 h 后, 实时荧光定量聚合酶链反应 (RT-qPCR) 检测 *THRB* mRNA 转录水平, Western blot 检测 THRB、MRD-1、P-gp 蛋白表达。**结果** 适宜剂量为 10% 低剂量含药血清作用 48 h。低剂量葛根汤含药血清联合作用能逆转 COC1/DDP 细胞肿瘤耐药, 降低 COC1/DDP 细胞对顺铂的耐药指数。在 COC1 细胞株中, *THRB* mRNA 为低水平转录表达; 在耐药 COC1/DDP 细胞中, *THRB* mRNA 均为高水平转录。葛根汤干预后, COC1/DDP 细胞内高水平转录的 *THRB* mRNA 转录下调, THRB 蛋白表达降低, 葛根汤低、中、高剂量组 THRB mRNA 及蛋白表达与 DDP 组比较均降低 ($P<0.05$)。葛根汤作用于卵巢癌 COC1/DDP 细胞 48 h 后, MRD-1、P-gp 耐药相关蛋白表达降低, 并呈一定的剂量依赖性, 葛根汤剂量越高, 肿瘤细胞的耐药相关蛋白表达降低程度越明显 ($P<0.05$)。**结论** 葛根汤能有效增加人卵巢癌细胞株 COC1/DDP 对顺铂的敏感性, 其机制可能与降低 THRB 基因转录和蛋白表达有关。

关键词: 葛根汤; 人卵巢癌细胞株 COC1/DDP; THRB; 顺铂; 耐药

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2021)11-3186-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2021.11.049

卵巢癌是妇科常见肿瘤, 死亡率为妇科恶性肿瘤第一位^[1]。目前, 以铂类为基础的联合化疗是卵巢癌治疗的主要手段, 但较多卵巢癌患者会出现顺铂 (DDP) 耐药, 导致患者 5 年生存率低、预后不良^[2]。因此, 寻找新型抗肿瘤药物以提高治疗卵巢癌的疗效至关重要。葛根汤出自《伤寒论》, 由葛根、麻黄、桂枝、生姜、甘草、芍药、大枣组成, 具有发汗解毒、升津舒筋的功效, 可以减轻化疗毒副作用、调节机体免疫。方中葛根有效成分葛根素是一种生物类黄酮化合物, 已有研究证实葛根素能够促进癌细胞凋亡、抑制癌细胞增殖和周期进展、发挥较好的抗肿瘤作用, 其在胃癌细胞中改善 DDP 耐药的作用已经得到证实^[3]。卵巢癌 DDP 耐药的机制十分复杂, 随着分子生物学研究的不断深入, 越来越多的研究者开始从基因水平去探讨疾病的发生进展以及潜在的诊疗措施^[4]。激素是机体组织生物功能重要的调节物质, 随着研究的深入, 研究者发现激素在肿瘤细胞的分裂、凋亡和迁移中扮演重要角色, 在多种恶性肿瘤细胞中激素及激素受体基因往往呈异常表达状态^[5]。甲状腺激素 (TH) 及其受体 (TR) 可以影响

MAPK、PI3K 等通路起到抑制肿瘤细胞生长和转移的作用, 而甲状腺激素受体基因 (thyroid hormone receptor, *THRB*) 是一种激素受体相关基因, 与细胞的生长密切相关, 在细胞的增殖、分化、DNA 修复和周期转换中发挥重要的参与作用^[6]。近年来研究报道显示, THRB 在卵巢癌耐药细胞中的呈异常高表达, 提示 THRB 的异常与卵巢癌的耐药密切相关^[7]。目前关于葛根汤在卵巢癌中是否存在类似的生物作用及具体机制仍未明确。本研究以人上皮性卵巢癌耐药 COC1/DDP 细胞为模型探讨葛根汤对其增殖、凋亡的影响是否调控 *THRB* 基因的表达, 初步探讨 THRB 在其抗卵巢癌作用的可能机制。

1 材料与方法

1.1 细胞 卵巢癌细胞株 COC1、顺铂耐药卵巢癌细胞株 COC1/DDP, 购自中国典型培养物保藏中心。

1.2 试剂、仪器与药物 葛根汤组方药材葛根 21 g、桂枝 9 g、芍药 9 g、生姜 9 g、甘草 6 g、大枣 12 枚、麻黄 9 g, 由上海曙光医院药剂科制剂中心 (中药制剂研究室) 一次性加工完成, 制成生药量 0.66 g/mL 的浓缩液, 在 4 ℃ 下

收稿日期: 2020-04-06

基金项目: 上海市嘉定区卫生和计划生育委员会科研课题计划 (2016-KY-11)

作者简介: 赵丽杰 (1974—), 女, 硕士, 副主任医师, 从事妇产科研究。Tel: 13818784470, E-mail: erong86440@sina.com

* 通信作者: 马庆良 (1959—), 男, 硕士, 教授, 主任医师, 从事妇产科研究。E-mail: 2906536100@qq.com

保存备用。注射用顺铂（CisPlatinDDP，山东齐鲁制药有限公司）；DMEM 培养基、胎牛血清（上海明丰生物科技有限公司）；二甲基亚砜（dimethyl sulfoxide, DMSO）、胰蛋白酶消化液、细胞裂解液（美国 R&D Systems 公司）；THRB 质粒中量抽提试剂盒及 P-gp、MRD-1 抗体（福州迈新生物技术开发有限公司）；一抗（抗 THRB 单克隆抗体）、anti-β-actin 多克隆抗体（美国 Santa Cruz 公司）；PVDF 膜（美国 Corning 公司）；四甲基偶氮唑蓝（methyl thiazolyl tetrazolium, MTT）试剂盒（北京鼎国昌盛生物技术有限公司）；Trizol 试剂盒、TaqMan miRNA 反转录试剂盒、SYBR Prellix Ex Taq™ 实时 PCR 试剂盒（日本 Takara 公司）；ECL 试剂（上海碧云天生物技术有限公司）。Model 680 型酶标仪（美国 Bio-Rad 公司）；Lipofectamine™ 2000（美国 Invitrogen 公司）。引物合成由北京华大基因研究中心有限公司完成。

1.3 含药血清制备 参照《药理实验方法学》^[8]中的动物与人体的每千克体质量剂量折算系数表，按成人推荐日用量的 0.5、1、2 倍设立葛根汤低、中、高剂量组，经煎煮、过滤、水浴蒸发至生药量分别为 0.657、1.313、2.626 g/mL，冷却后在 4℃ 下保存。SD 级雌性大鼠 40 只，购自中国科学院上海实验动物中心，饲养于清洁级动物房，体质量（200±10）g，随机分为对照组及葛根汤低、中、高剂量组，分别灌胃给予生理盐水及 3.29、6.57、13.13 g/kg 葛根汤，每天 1 次，连续 3 d，最后 1 次给药 1 h 后，采集腹主动脉血，2 000 r/min 离心 5 min，取血清，56℃ 水浴灭活 30 min，经 0.22 μm 微孔滤膜过滤，取上清液，-80℃ 保存待用。

1.4 细胞培养 COC1/DDP、COC1 细胞株常规培养于含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基中，在 37℃、5% CO₂ 条件下培养，取对数生长期的细胞，每 2 d 换液 1 次，0.25% 胰酶消化，每 4~6 d 传代 1 次。实验时取对数生长中期细胞，制成单细胞悬液，计数待用。

1.5 生长曲线绘制 10% 胎牛血清 DMEM 培养基 200 μL 培养 COC1、COC1/DDP 细胞，贴壁后于 12、24、48、72 h 采用 MTT 法检测细胞生长状况，绘制生长曲线。

1.6 含药血清筛选 取对数生长期 COC1、COC1/DDP 细胞，调整细胞密度至 1×10⁵/mL，随机分为空白对照组及含药血清低、中、高剂量组，空白对照组采用 200 μL 含 10% 大鼠血清的 DMEM 培养，含药血清低、中、高剂量组分别加含 200 μL 10% 低、中、高剂量大鼠含药血清的 DMEM 培养液，每组设 5 个复孔，空白孔中加入蒸馏水调零。培养 12、24、48、72 h 后，加入 20 μL MTT（5 g/L），在 37℃ 下培养 4 h 后吸弃上清液，每孔加入 150 μL DMSO 振荡 10 min，在 570 nm 波长处用酶标仪检测吸光度，重复 3 次，取平均值。细胞生长抑制率= [1-（给药组吸光度/空白组吸光度）] ×100%。

1.7 含药血清对 COC1、COC1/DDP 细胞耐药逆转作用研究 取对数生长期的 COC1、COC1/DDP 细胞，调整密度至

1×10⁵/mL，随机分为顺铂+葛根汤最佳含药血清组、顺铂+对照血清组，每组顺铂浓度设为 6、12、25、50、100、200、400 μmol/L。待细胞贴壁后，顺铂+最佳含药血清组加入含 10 μL 不同浓度的顺铂、含 10% 葛根汤最佳含药血清的 DMEM 培养液；顺铂+对照血清组加入含 10 μL 顺铂、200 μL 含 10% 大鼠对照血清的 DMEM 培养液，每组设 5 个复孔，使每组加入血清总量相同，同时设立空白孔（只含培养基）进行校正，在 37℃、5% CO₂ 条件下培养 48 h，每孔加入 20 μL MTT（5 g/L）溶液，继续培养 4 h，吸弃上清，每孔加入 150 μL DMSO，摇床振荡 10 min，在 570 nm 波长处检测各孔吸光度，重复 3 次，取平均值，计算细胞生长抑制率。采用 GraphPad Prism 5.0 软件计算顺铂对 COC1/DDP、COC1 细胞的半数抑制浓度（half maximal inhibitory concentration, IC₅₀），耐药指数（resistance index, RI）= 耐药细胞株 IC₅₀/敏感细胞株 IC₅₀。

1.8 RT-qPCR 检测 THRB mRNA 表达 对照组只加含 200 μL 含 10% 大鼠对照血清的 DMEM 培养液 COC1 细胞，DDP 组加入含 10 μL 顺铂、200 μL 含 10% 大鼠对照血清的 DMEM 培养液处理的 COC1/DDP 细胞，给药组加入“1.3”项下低、中、高剂量葛根汤含药血清的 DMEM 培养液处理的 COC1/DDP 细胞。RT-qPCR 检测 COC1 细胞的 THRB mRNA 的表达，Trizol 法提取总 RNA，逆转录试剂盒对 RNA 样品进行逆转录以合成 cDNA，逆转录反应条件为 42℃ 30 min，逆转录酶失活条件为 85℃ 15 s。SYBR Green PCR Master Mix 和 PCR 检测系统进行 RT-qPCR 实验，条件为 95℃ 10 min；95℃ 20 s，60℃ 30 s，40 个循环；最终延伸 75℃ 10 min，保持在 4℃。比较循环阈值 ΔΔC_t 用于分析 RNA 的表达，GAPDH、U6 表达用于标准化。

1.9 Western blot 检测 MRD-1、P-gp 蛋白 将 COC1/DDP、COC1 细胞清洗后裂解、离心，收集总蛋白，检测蛋白浓度，10% SDS-PAGE 凝胶电泳，PVDF 膜转膜，在室温下用 5% 无脂牛奶封闭 2 h，加入相应一抗（稀释 1：1 000），在室温下振荡 2 h，4℃ 下孵育过夜，加入二抗（稀释 1：5 000）孵育 3 h。通过 Quantity One 软件分析条带灰度值，计算目标蛋白表达量。

1.10 统计学分析 通过 SPSS 20.0 软件进行单因素方差分析（ANOVA），数据均以（ $\bar{x} \pm s$ ）表示，同一指标不同时间点比较采用重复测量方差分析，在具有统计学差异的基础上组间两两比较采用 LSD-*t* 检验。*P*<0.05 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 COC1、COC1/DDP 细胞生长曲线 COC1、COC1/DDP 细胞在 12、24、48 h 吸光度不断增加，48 h 达到高峰，但在 72 h 时吸光度明显下降，细胞死亡增多，见图 1。

2.2 剂量、作用时间筛选 不同剂量葛根汤含药血清对 COC1、COC1/DDP 细胞生长抑制率随着时间延长不断增加，48 h 达到高峰，呈时间-剂量依赖效应，但在 72 h 有所下降，可能与其增殖能力下降、死亡细胞较多有关；低

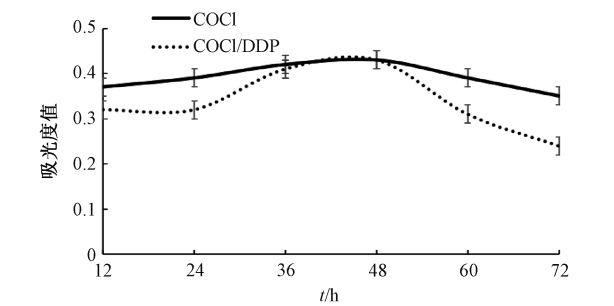


图 1 COC1、COC1/DDP 细胞生长曲线

表 1 葛根汤对 COC1、COC1/DDP 细胞生长抑制率的影响（%， $\bar{x}\pm s$ ， $n=6$ ）

组别	COC1 细胞				COC1/DDP 细胞			
	12 h	24 h	48 h	72 h	12 h	24 h	48 h	72 h
葛根汤低剂量组	3.42±0.08	6.82±0.12	9.41±0.06	6.49±0.07	2.55±0.03	3.12±0.02	4.59±0.04	5.14±0.02
葛根汤中剂量组	4.90±0.05**	7.31±0.18**	10.88±0.05**	7.35±0.09**	4.50±0.02**	6.57±0.03**	9.15±0.03**	6.75±0.02**
葛根汤高剂量组	5.69±0.07**	8.34±0.08**	12.41±0.07**	7.55±0.08**	6.42±0.04**	7.55±0.05**	11.29±0.03**	8.37±0.04**

注：与葛根汤低剂量组比较，** $P<0.01$ 。

细胞为（22.84±0.42） $\mu\text{mol/L}$ ，COC1/DDP 细胞对葛根汤含药血清联合顺铂的耐药指数为 3.69，提示联合葛根汤和顺铂治疗卵巢癌具有明显协同作用，能抑制 COC1/DDP 细胞生长，提高 COC1/DDP 细胞对顺铂的的敏感性，具有逆转 COC1/DDP 细胞肿瘤耐药的作用。

2.4 葛根汤对 COC1/DDP 细胞中 THRB mRNA 及蛋白表达的影响 在卵巢癌 COC1 细胞中，THRB 为低水平转录表达；在耐药 COC1/DDP 细胞中，THRB 均为高水平转录表达。葛根汤干预后，COC1/DDP 细胞内高水平转录的 THRB mRNA 转录下调，THRB 蛋白表达降低，各剂量组的 THRB

剂量含药血清对 COC1、COC1/DDP 细胞的抑制率均 $<10\%$ ，与中、高剂量含药血清作用 24、48 h 抑制率比较，差异有统计学意义（ $P<0.01$ ），见表 1。前期报道表明，抑制率小于 10% 时对敏感株和耐药株细胞均无明显细胞毒作用^[9]，故本实验选择含药血清 10% 作为剂量，48 h 作为作用时间。

2.3 含药血清对 COC1/DDP 细胞耐药逆转的影响 顺铂对 COC1/DDP 细胞的 IC_{50} 为（209.46±1.11） $\mu\text{mol/L}$ ，对 COC1 细胞为（27.51±0.12） $\mu\text{mol/L}$ ，COC1/DDP 细胞对顺铂的耐药指数为 7.61；葛根汤含药血清联合顺铂对 COC1/DDP 细胞的 IC_{50} 为（84.41±0.18） $\mu\text{mol/L}$ ，对 COC1

mRNA 及蛋白表达与 DDP 组比较均降低（ $P<0.05$ ， $P<0.01$ ），见表 2、图 2。

表 2 各组 THRB mRNA 相对表达比较（ $\bar{x}\pm s$ ， $n=6$ ）

组别	THRB mRNA
对照组	0.20±0.05
DDP 组	1.74±0.21**
葛根汤低剂量组	1.50±0.14**#
葛根汤中剂量组	1.28±0.17***
葛根汤高剂量组	1.15±0.12***

注：与对照组比较，** $P<0.01$ ；与 DDP 组比较，# $P<0.05$ ，*** $P<0.01$ 。

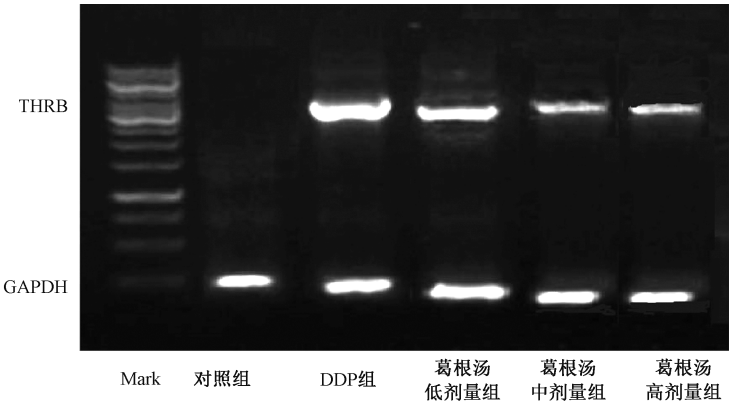


图 2 各组 THRB 蛋白表达

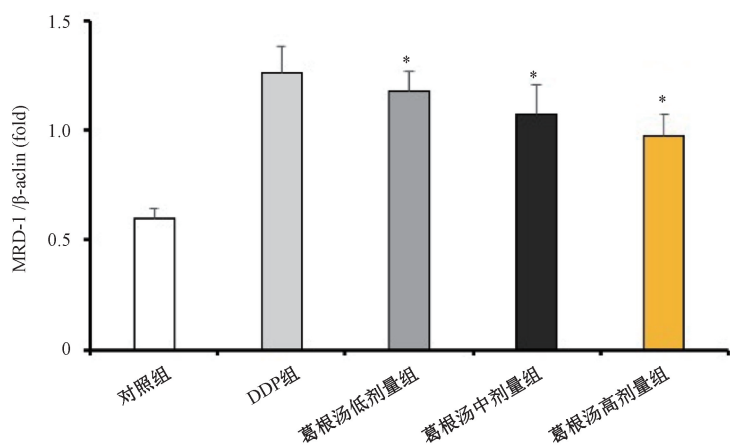
2.5 葛根汤对 COC1/DDP 细胞中 MRD-1、P-gp 表达的影响 葛根汤作用于卵巢癌 COC1/DDP 细胞 48 h 后 MRD-1、P-gp 耐药相关蛋白表达减少，并呈一定的剂量依赖性（ $P<0.05$ ），见图 3~4。

3 讨论

铂类药物是恶性肿瘤临床应用广泛的一线化疗方案，但铂类药物的耐药性是造成患者化疗失败、肿瘤复发的重要原因^[10]。自 20 世纪 90 年代研究者便发现钙通道拮抗剂能够逆转肿瘤细胞的耐药性，但是这些逆转剂大多靶点单

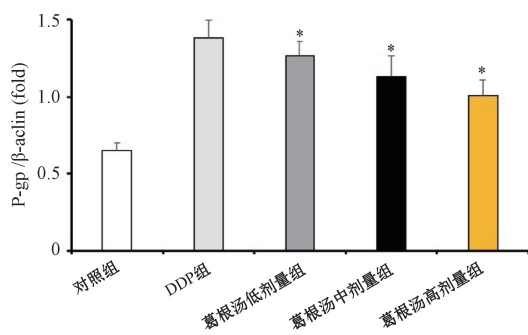
一、抗肿瘤耐药性效果不理想，且中毒剂量与逆转耐药性剂量太过接近^[11]。

葛根汤出自《伤寒论》，由葛根、麻黄、桂枝、生姜、甘草、芍药、大枣组成^[12-13]。葛根活性成分葛根素是生物类黄酮化合物，现代药理研究证实其葛根素具有减少肿瘤细胞的 MDR、P-gp、MRP 的表达的多重作用进而逆转裸鼠原位移植瘤的多药耐药性^[14]。葛根素对癌细胞具有高度选择性，能够高选择性地诱导癌细胞凋亡，而不损伤正常细胞，据 Gan^[15]和刘银莉等^[16]介绍葛根素能通过 PI3K/Akt/



注：与 DDP 组比较，* $P<0.05$ 。

图 3 葛根汤对 COC1/DDP 细胞中 MRD-1 表达的影响



注：与 DDP 组比较，* $P<0.05$ 。

图 4 葛根汤对 COC1/DDP 细胞中 P-gp 表达的影响

NF-κB 信号通路途径抑制 CyclinD1 表达，促进细胞凋亡发挥抗肿瘤作用，但葛根汤在卵巢癌治疗中是否具有同样的逆转肿瘤细胞的耐药性功效及其具体机制仍无确切定论，因此本文以 COC1/DDP 细胞为体外研究模型探讨葛根汤对于卵巢肿瘤细胞耐药的药效及其可能的作用机制。

本文通过 MTT 法筛选得出 10% 低剂量含药血清作用 48 h 为含药血清考察剂量及考察作用时间。为排除葛根汤的细胞毒作用的影响，在所述的实验基础上本研究选用在低剂量的葛根汤含药血清处理下培养 48 h，DDP 对于 COC1/DDP 细胞 IC₅₀ 降低，且与单纯的 DDP 作用组比较其耐药指数由 7.61 下降至 3.69，提示葛根汤可以逆转 COC1/DDP 细胞对铂类药物的耐药性，增加肿瘤细胞对含铂类药物化疗敏感性。

近年来，越来越多的研究证实卵巢癌属于激素依赖性肿瘤，机体内分泌紊乱，激素失调会导致对正常细胞的调节作用失控，进而导致细胞的自主凋亡及增殖减少，使得卵巢癌细胞产生耐药^[17]。甲状腺激素水平异常增高能够促进乳腺癌细胞生长，而甲状腺激素水平降低时虽然会使得乳腺癌细胞生长减缓，但是会增加乳腺癌细胞上皮-间质转化能力，甲状腺激素及其受体可能通过细胞核、细胞膜、肿瘤微环境及细胞凋亡等各个层面对乳腺癌的发生发展起促进或抑制作用^[18]。研究证明卵巢癌上皮组织中的甲状腺

激素受体蛋白（TRβ）的转录和表达均表现出明显异常，TRβ 可以通过与甲状腺激素反应元件特异性结合，调节相关靶基因的转录进而调控相关细胞生成分化^[19]。另外，细胞内甲状腺激素受体缺失促进乳腺癌发生进展。THRB 是甲状腺激素受体基因，国外学者通过敲除小鼠 THRB 基因证实 THRB 能够与 P85（PI3K 小亚基）结合，促进 PI3K 活化，激活 Akt/mTOR 磷酸化通路^[20]。米雪等^[21]指出 PI3K/Akt/mTOR 信号通路在卵巢癌耐药中扮演重要角色。多药耐药相关蛋白（MRP）是一种跨膜糖蛋白，在真核及原核生物的跨膜分子转运中扮演重要角色。P-gp 是转运蛋白的超家族，研究已经证实 MRP1、P-gp 异常高表达是造成肿瘤化疗耐药的重要原因之一^[22]。

李君等^[7]采用体外研究发现甲状腺激素能促进人卵巢癌细胞和人卵巢癌耐顺铂细胞的增殖，THRB 在卵巢癌耐药细胞中的表达远高于一般卵巢癌细胞，THRB 对卵巢癌耐药起着非常重要的作用，可能是耐药相关基因。本实验结果显示，COC1/DDP 细胞中 THRB mRNA 的表达高于 COC1 细胞，提示 THRB 可能参与卵巢癌的化疗耐药，其表达与患者的预后密切相关。葛根汤含药血清处理后，COC1/DDP 细胞中 THRB mRNA 表达较单纯 DDP 组下调，提示葛根汤可调节 THRB 基因的转录表达。不同剂量的葛根汤分别作用于卵巢癌 COC1/DDP 细胞 48 h 后 MRD-1、P-

gp 耐药相关蛋白表达减少,且呈一定的剂量依赖性,葛根汤剂量越高肿瘤细胞的耐药相关蛋白表达降低越明显提示 THRB 的抑制剂在抑制肿瘤细胞的 DNA 修复中效果较好,能够逆转卵巢癌 COC1/DDP 细胞的耐药性,增加其对 DDP 的敏感性,从而诱导肿瘤细胞凋亡及抑制其增殖而延缓肿瘤细胞的生长,可作为新型的抗肿瘤药物。提示葛根汤能够通过下调 *THRB* 基因表达,逆转卵巢癌肿瘤细胞顺铂耐药。方中葛根升津液,濡筋脉为君,能够增加机体免疫;陈小红等^[23]通过实验研究证实葛根素能够通过抑制 *MDR1* 和 *MRP* 基因转录和 P-gp 蛋白介导的药物外转运功能进而逆转 K562/ADR 细胞肿瘤多药耐药性。桂枝能上调 *PTEN* mRNA 和下调 *MTDH* mRNA 表达,促进 SKOV3/DDP 卵巢癌耐药细胞凋亡、抑制癌细胞的增殖,逆转细胞耐药^[24]。诸药合用,存在协同作用。

综上所述,葛根汤能够有效降低人卵巢癌顺铂多药耐药 COC1/DDP 细胞耐药性,提高其对化疗药物的敏感性,其机制可能与降低 *THRB* 基因表达有关。

参考文献:

[1] Piso P, Dahlke M H, Loss M, *et al.* Cytorreductive surgery and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy in peritoneal carcinomatosis from ovarian cancer[J]. *World J Surg Oncol*, 2004, 2(1): 21.

[2] Wilbur D W, Rentschler R E, Wagner R J, *et al.* Randomized trial of the addition of cis-platin (DDP) and/or BCG to cyclophosphamide (CTX) chemotherapy for ovarian carcinoma[J]. *J Surg Oncol*, 1987, 34(3): 165-169.

[3] Guo X F, Yang Z R, Wang J, *et al.* Synergistic antitumor effect of puerarin combined with 5-fluorouracil on gastric carcinoma[J]. *Mol Med Rep*, 2015, 11(4): 2562-2568.

[4] Zidi S, Stayoussef M, Alsaleh B L, *et al.* Effect of follicle stimulating hormone receptor gene polymorphisms in cervical cancer risk[J]. *Pathol Oncol Res*, 2017, 23(3): 565-572.

[5] Chen J, Wu X, Christos P J, *et al.* Practice patterns and outcomes for patients with node-negative hormone receptor-positive breast cancer and intermediate 21-gene recurrence scores[J]. *Breast Cancer Res*, 2018, 20(1): 26.

[6] 桑 伟,赵 瑾. 甲状腺激素受体 (TR) 基因突变及其下游通路与肿瘤相关研究进展[J]. 中国癌症杂志, 2009, 19 (10): 802-806.

[7] 李 君,刘恩令. 甲状腺激素受体基因与卵巢癌顺铂耐药关系的研究[J]. 中国现代医学杂志, 2017, 27 (7): 36-40.

[8] 季宇彬. 中药复方化学与药理[M]. 北京: 人民卫生出版

社, 2003: 315-322.

[9] 王 玲,刘世坤,周于禄,等. 华蟾素对人乳腺癌细胞阿霉素多药耐药性的逆转作用[J]. 中国药理学通报, 2007, 23(5): 677-680.

[10] 赵 丹,杨 浩,赵金支,等. 肿瘤耐药进程中调控 DNA 损伤修复机制的研究进展[J]. 医学分子生物学杂志, 2018, 15(2): 100-104.

[11] 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.

[12] 廖芳菊,周静冬. 桂枝加葛根汤治疗儿科疾病举隅[J]. 山东中医杂志, 2017, 36(4): 337-339.

[13] 阴继爱,戴 岳,安树庞. 葛根汤的药理和临床研究概况[J]. 中华中医药学刊, 2007, 25(6): 1275-1278.

[14] 王 利,魏品康,秦志丰,等. 葛根素注射液逆转人胃癌裸鼠原位移植瘤多药耐药性的实验研究[J]. 成都中医药大学学报, 2005, 28(1): 42-44; 46.

[15] Gan M Z, Yin X D. Puerarin induced in mantle cell lymphoma apoptosis and its possible mechanisms involving multi-signaling pathway[J]. *Cell Biochem Biophys*, 2015, 71(1): 367-373.

[16] 刘银莉,王 营. 葛根素抗肿瘤作用机制的研究进展[J]. 中国综合临床, 2017, 33(1): 87-89.

[17] 连 艳,杨 鹰. 雌激素 β 受体及其与卵巢癌的关系研究进展[J]. 重庆医学, 2008, 37(16): 1846-1848.

[18] 王 亘,陈小松,毛 艳,等. 甲状腺激素及其受体与乳腺癌关系研究进展[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2013, 20 (24): 1938-1941.

[19] Scarfone G, Bergamini A, Noli S, *et al.* Characteristics of clear cell ovarian cancer arising from endometriosis: a two center cohort study[J]. *Gynecol Oncol*, 2014, 133(3): 480-484.

[20] Furuya F, Hanover J A, Cheng S Y. Activation of phosphatidylinositol 3-kinase signaling by a mutant thyroid hormone beta receptor[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006, 103(6): 1780-1785.

[21] 米 雪,路 攀,苗劲蔚,等. 上皮性卵巢癌耐药 PI3K/Akt/mTOR 信号通路相关 miRNA 的研究进展[J]. 北京医学, 2016, 38(11): 1210-1213.

[22] 崔美英,贺小柳,李 盼,等. 柚皮苷对人肺癌顺铂耐药株 A549/DDP 细胞的逆转作用[J]. 中国病理生理杂志, 2019, 35(3): 466-472.

[23] 陈小红,高瑞兰,林圣云,等. 葛根素注射液对 K562/Adr 细胞化疗药物敏感性机理研究[J]. 中华中医药学刊, 2007, 25(9): 1926-1928.

[24] 张卫平,吕 芹,郭晓娟,等. 桂枝茯苓丸调控异黏蛋白和磷酸酯酶与张力蛋白同源物逆转卵巢癌多药耐药的机制[J]. 科学技术与工程, 2018, 18(20): 59-63.