

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2023.03.005

· 基础研究 ·

冬凌草甲素逆转黑色素瘤细胞顺铂耐药的作用及机制

秦艳强¹, 晋佳路², 李娜¹, 谷世立³, 田国良⁴, 杨建锋¹ (1. 鹤壁职业技术学院 医学院实验室, 河南 鹤壁 458030; 2. 河南医学高等专科学校 基础医学部, 河南 郑州 451191; 3. 新乡医学院第一附属医院 放射科, 河南 新乡 453000; 4. 鹤壁市人民医院 放疗科, 河南 鹤壁 458030)

[摘要] **目的:**探讨冬凌草甲素(Ori)逆转人黑色素瘤细胞顺铂(DDP)耐药的作用及其机制。**方法:**分别将黑色素瘤 DDP 耐药细胞 A375/DDP 和 M14/DDP 分为对照组、2 $\mu\text{mol/L}$ Ori 组、4 mg/L DDP 组和 2 $\mu\text{mol/L}$ Ori+4 mg/L DDP 组。CCK-8 法、Transwell 实验、Annexin V-FITC/PI 染色流式细胞术分别检测各组细胞的增殖活力、侵袭和迁移能力及凋亡水平,透射电子显微镜观察自噬小体,免疫荧光染色法观察微管相关蛋白轻链 3(LC3)点状结构, WB 法检测 A375/DDP 细胞自噬相关蛋白 Beclin-1、p62、LC3 II 和 LC3 I 的表达。**结果:**与 4 mg/L DDP 组相比,2 $\mu\text{mol/L}$ Ori+4 mg/L DDP 组细胞增殖活力、迁移和侵袭能力均显著下降(均 $P<0.01$),凋亡水平显著升高($P<0.01$)。4 mg/L DDP 组细胞中可见大量自噬小体以及 LC3 点状染色,但 2 $\mu\text{mol/L}$ Ori+4 mg/L DDP 组仅可见少量。与对照组相比,4 mg/L DDP 组细胞中 Beclin-1 和 LC3 II/LC3 I 的蛋白表达水平均显著升高(均 $P<0.01$),p62 的蛋白表达水平显著降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$);与 4 mg/L DDP 组相比,2 $\mu\text{mol/L}$ Ori+4 mg/L DDP 组细胞中 Beclin-1 和 LC3 II/LC3 I 的表达水平均显著降低(均 $P<0.01$),p62 的表达水平显著升高($P<0.05$)。**结论:** Ori 可增加耐药黑色素瘤细胞对 DDP 的敏感性,此作用可能与其抑制 DDP 引起的细胞自噬有关。

[关键词] 冬凌草甲素;黑色素瘤;A375 细胞;M14 细胞;顺铂;耐药;自噬

[中图分类号] R739.5; R285 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2023)03-0217-06

Effect of oridonin in reversing cisplatin resistance in melanoma cells and its mechanism

QIN Yanqiang¹, JIN Jialu², LI Na¹, GU Shili³, TIAN Guoliang⁴, YANG Jianfeng¹ (1. Laboratory of Medical School, Hebi Vocational and Technical College, Hebi 458030, Henan, China; 2. Department of Basic Medicine, Henan Medical College, Zhengzhou 451191, Henan, China; 3. Department of Radiology, First Affiliated Hospital of Xinxiang Medical College, Xinxiang 453000, Henan, China; 4. Department of Radiotherapy, the People's Hospital of Hebi, Hebi 458030, Henan, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of oridonin (Ori) in reversing cisplatin (DDP) resistance in human melanoma cells and its related mechanism. **Methods:** Melanoma cisplatin-resistant cell lines A375/DDP and M14/DDP were divided into control group, 2 $\mu\text{mol/L}$ Ori group, 4 mg/L DDP group and 2 $\mu\text{mol/L}$ Ori+4 mg/L DDP group. Cell viability, invasion and migration, and apoptosis were detected by CCK-8, Annexin V-FITC/PI staining flow cytometry and Transwell assay, respectively. The autophagosomes were observed by transmission electron microscopy, microtubule associated protein1 light chain 3 (LC3)-point structure was observed by immunofluorescence staining, and the expressions of autophagy related proteins Beclin-1, p62, LC3 II and LC3 I of A375/DDP cells were detected by WB. **Results:** Compared with 4 mg/L DDP group, cell proliferation viability, migration and invasion ability of 2 $\mu\text{mol/L}$ Ori+4 mg/L DDP group were significantly decreased (all $P<0.01$), and apoptosis level was significantly increased ($P<0.01$). A large number of autophagosomes and LC3-point structures were observed in 4 mg/L DDP group; however, only a few were observed in 2 $\mu\text{mol/L}$ Ori+4 mg/L DDP group. Compared with control group, the protein expression levels of Beclin-1 and LC3 II/LC3 I in 4 mg/L DDP group were significantly increased (all $P<0.01$), but the protein expression level of p62 was significantly decreased ($P<0.05$ or $P<0.01$); compared with 4 mg/L DDP group, the protein expression levels of Beclin-1 and LC3 II/LC3 I in 2 $\mu\text{mol/L}$ Ori+4 mg/L DDP group were significantly decreased (all $P<0.01$), but the protein expression level of p62 was significantly increased ($P<0.05$). **Conclusion:** Ori can increase the sensitivity of drug-resistant melanoma cells to DDP, which may be related to the inhibition of DDP-induced autophagy.

[Key words] oridonin (Ori); melanoma; A375 cell; M14 cell; cisplatin (DDP); drug resistance; autophagy

[Chin J Cancer Biother, 2023, 30(3): 217-222. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2023.03.005]

[基金项目] 河南省科学技术厅基金(No. 212102310684)

[作者简介] 秦艳强(1983—),男,学士,实验师,主要从事肿瘤相关基础研究,E-mail: qinyanqiang6255@tom.com

[通信作者] 晋佳路,E-mail: 759300027@qq.com

黑色素瘤是一种起源于高度恶变黑色素细胞的肿瘤,多发生于皮肤,也可见于黏膜和内脏,其病因尚未完全清楚^[1]。目前,黑色素瘤主要是以外科手术联合化疗方式进行治疗^[2]。顺铂(cisplatin, DDP)是治疗黑色素瘤常用的化疗药物,但耐药的产生是导致其治疗效果不佳的主要原因^[2-3]。因此,解决黑色素瘤DDP耐药的问题具有十分重要的临床意义。冬凌草甲素(oridonin, Ori)是从中草药冬凌草中提取的一种四环二萜类化合物。药理学实验结果已证明, Ori能抑制骨肉瘤、食管癌、胃癌和结直肠癌等多种肿瘤细胞的增殖、侵袭与迁移并能诱导其凋亡^[4-7];在食管鳞状细胞癌、宫颈癌和肺癌等肿瘤的治疗中与DDP具有协同效应^[8-10],而其在黑色素瘤细胞中对DDP敏感性的影响及其机制尚未明了。因此,本研究通过体外培养DDP耐药的黑色素瘤A375/DDP和M14/DDP细胞,观察Ori对其DDP敏感性的影响并分析其机制,旨在为临床治疗黑色素瘤化疗耐药提供参考资料。

1 材料与方法

1.1 细胞与主要试剂

黑色素瘤细胞A375购自中科院上海细胞库, M14细胞购自上海传秋生物科技有限公司。胎牛血清与DMEM培养基购自美国Gibco公司, DDP购自齐鲁制药有限公司, CCK-8试剂盒、Annexin V-FITC凋亡检测试剂盒、DAPI试剂和HRP标记的羊抗兔IgG二抗均购自上海碧云天生物科技有限公司, 微管相关蛋白1轻链3(microtubule associated protein1 light chain 3, LC3)抗体购自英国Abcam公司, Alexa Fluor-488标记的羊抗兔IgG荧光二抗购自美国Invitrogen公司, Beclin-1抗体和p62抗体购自美国CST公司, β -actin抗体、Triton X-100试剂和WB用电化学发光试剂购自武汉博士德生物工程有限公司。

1.2 黑色素瘤DDP耐药细胞的制备、培养及分组

按文献[11]方法, 分别将A375和M14细胞用大剂量DDP冲击与递增剂量相结合的方法诱导两种细胞产生DDP抗性, 即将此两种细胞分别置于含1 mg/L DDP的培养基中24 h, 此后更换为正常培养基使细胞重新恢复生长, 再次更换为含1 mg/L DDP的培养基, 反复刺激, 使细胞在1 mg/L DDP下正常生长。然后递增DDP剂量(按照1、2、3、4 mg/L递增), 如此反复诱导, 最终使其能在含4 mg/L DDP的培养基中稳定生长, 分别命名为A375/DDP细胞和M14/DDP细胞。

进行后续实验前, 将A375/DDP和M14/DDP细胞置于无DDP的培养基中分别培养1周, 实验分为4组: 对照组(未经Ori或4 mg/L DDP处理)、2 μ mol/L Ori

组、4 mg/L DDP组、2 μ mol/L Ori+4 mg/L DDP组, 即在A375/DDP及M14/DDP细胞中加入Ori(2 μ mol/L)和/或DDP(4 mg/L), 共同培养48 h。

1.3 CCK-8法检测DDP耐药细胞的增殖活力

A375/DDP及M14/DDP细胞按照 5×10^3 个/孔接种于96孔板, 分别给予不同浓度Ori(0~8 μ mol/L)和/或DDP(4 mg/L)共同培养48 h。每孔中加入10 μ L CCK-8溶液混合均匀, 37 $^{\circ}$ C培养箱中继续培养1 h, 在酶联免疫吸附仪上测量波长450 nm处的光密度(D)值。细胞增殖活力=实验组D值/对照组D值 $\times 100\%$ 。

1.4 Transwell实验检测DDP耐药细胞的侵袭和迁移能力

细胞迁移检测: 将各组细胞用无血清培养基制备成 1.0×10^5 个/mL的单细胞悬液, Transwell上室中接种100 μ L细胞悬液, 下室中加入500 μ L含10%胎牛血清的DMEM培养基, 于37 $^{\circ}$ C、5% CO₂培养箱内培养24 h后取出上室, 用棉签轻轻拭去上室滤膜内面的细胞, 对迁移至滤膜外面的细胞用甲醇在室温条件下固定20 min, 结晶紫染色后, 记录并计算细胞迁移情况。细胞侵袭检测步骤与细胞迁移相同, 唯一区别为Transwell上室滤膜上预铺有人工基膜(metrigel)。

1.5 流式细胞术检测DDP耐药细胞的凋亡水平

用0.2%胰酶消化各组细胞, 并以1 200 $\times$ g离心5 min并收集细胞。用PBS重悬细胞2次后, 将400 μ L结合缓冲液加入细胞并混匀。避光条件下分别加入10 μ L Annexin V-FITC和5 μ L PI试剂, 室温下处理10 min, 流式细胞仪检测细胞的凋亡水平。

1.6 透射电子显微镜观察DDP耐药细胞中自噬小体数

4组细胞均在4 $^{\circ}$ C下用2.5%戊二醛固定4 h, 用PBS冲洗后, 再用2%锇酸固定2 h, 室温下用梯度乙醇脱水, 将细胞包埋在Epon树脂中。超薄切片机(徕卡公司EM UC7)连续切为厚度50 nm的切片, 在45 $^{\circ}$ C下用含有乙酸双氧铀的甲醇饱和溶液中染色12 min, 柠檬酸铅溶液染色10 min。在透射电子显微镜(日立HT7700)下观察各组细胞中自噬小体。

1.7 免疫荧光染色法检测DDP耐药细胞中LC3染色数

将各组细胞接种至载玻片上, 用4%多聚甲醛固定20 min, 用PBS洗涤, 并用0.3% Triton X-100透化2 min。室温下用10%驴血清封闭1 h后, 将细胞用抗LC3一抗(1:1 000)在4 $^{\circ}$ C下处理过夜。洗涤细胞, 在室温下用Alexa Fluor-488标记荧光二抗(1:1 000)处理1 h。用DAPI染核后, 在激光扫描共聚焦显微镜下($\times 400$)观察LC3点状染色的细胞并扫描图像。

1.8 WB法检测各组A375/DDP细胞中自噬相关蛋白的表达水平

用RIPA缓冲液提取各组细胞的总蛋白, 用BCA

蛋白质测定试剂盒测定蛋白质浓度后,取10 μg 蛋白质进行SDS-PAGE、转移到PVDF膜上,在5%脱脂奶粉中封闭2 h。加入抗Beclin-1抗体(1:2 000)、抗p62抗体(1:2 000)、抗LC3抗体(1:1 000)和 β -actin抗体(1:5 000),室温下处理1.5 h,洗涤后在HRP标记的山羊抗兔二抗(1:1 000)中处理1 h,通过电化学试剂显色。用Image J软件分析各蛋白条带的灰度值,以 β -actin为内参,计算各目的蛋白的相对表达量。

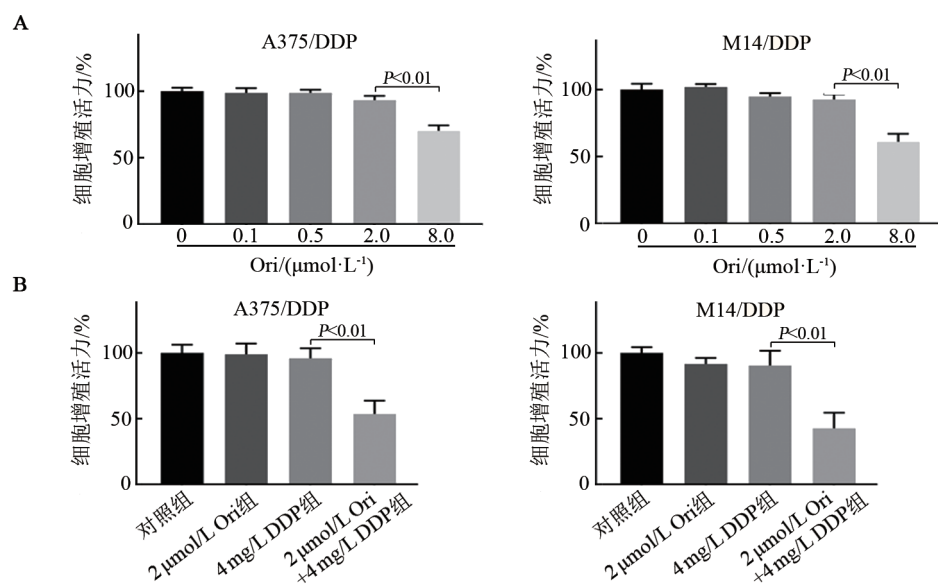
1.9 统计学处理

以上主要实验均独立重复4次。采用SPSS 20.0软件对实验数据进行统计学分析。呈正态分布的计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,多组之间数据比较均采用单因素方差分析(One-Way ANOVA),多组间样本均数两两比较采用Bonferroni法,以 $P<0.05$ 或 $P<0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 低剂量Ori显著增强耐药黑色素瘤细胞的DDP敏感性

向A375/DDP及M14/DDP细胞中分别加入梯度浓度(0、0.1、0.5、2.0、8.0 $\mu\text{mol/L}$)的Ori后,CCK-8法检测结果(图1)显示,在Ori浓度 $\leq 2 \mu\text{mol/L}$ 时,A375/DDP及M14/DDP细胞的增殖活力无明显改变(均 $P>0.05$),而Ori浓度为8 $\mu\text{mol/L}$ 时,A375/DDP及M14/DDP细胞的增殖活力均显著降低(均 $P<0.01$,图1A),故选则2 $\mu\text{mol/L}$ 的Ori进行后续实验。对4组细胞的增殖活力进行比较,与对照组相比,2 $\mu\text{mol/L}$ Ori组及4 mg/L DDP组的细胞增殖活力差异均无统计学意义(均 $P>0.05$);与4 mg/L DDP组相比,2 $\mu\text{mol/L}$ Ori+4 mg/L DDP组细胞的增殖活力显著下降($P<0.01$,图1B)。实验结果表明,低剂量(2 $\mu\text{mol/L}$)的Ori可增加DDP耐药黑色素瘤细胞对DDP的敏感性。



A: 不同浓度Ori对A375/DDP及M14/DDP细胞活力的影响; B: 4组细胞增殖活力比较

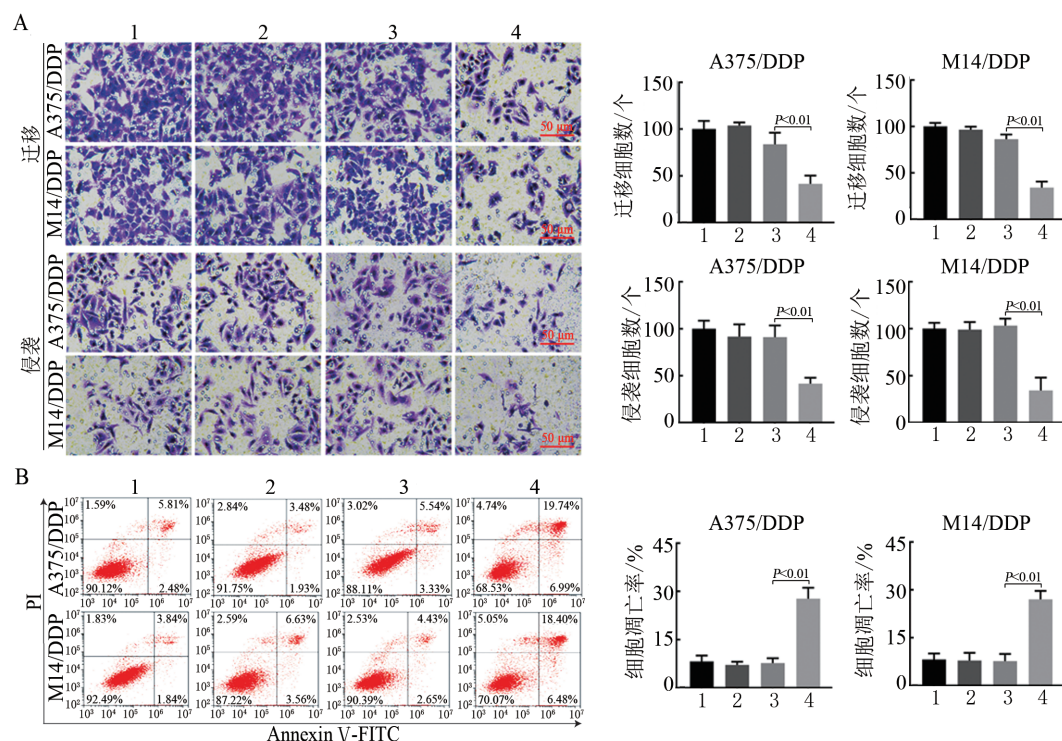
图1 Ori提高黑色素瘤细胞对DDP的敏感性

2.2 Ori显著降低耐药黑色素瘤细胞迁移和侵袭能力并促进其凋亡

Transwell实验和流式细胞术检测结果(图2)显示,与对照组相比,2 $\mu\text{mol/L}$ Ori组及4 mg/L DDP组A375/DDP及M14/DDP细胞的迁移、侵袭能力及凋亡水平均无明显变化(均 $P>0.05$);与4 mg/L DDP组相比,2 $\mu\text{mol/L}$ Ori+4 mg/L DDP组细胞的迁移、侵袭能力均显著下降(均 $P<0.01$,图2A),细胞的凋亡水平均显著升高(均 $P<0.01$,图2B)。实验结果表明,低剂量的Ori可显著降低耐药黑色素瘤细胞的迁移及侵袭能力并促进其凋亡。

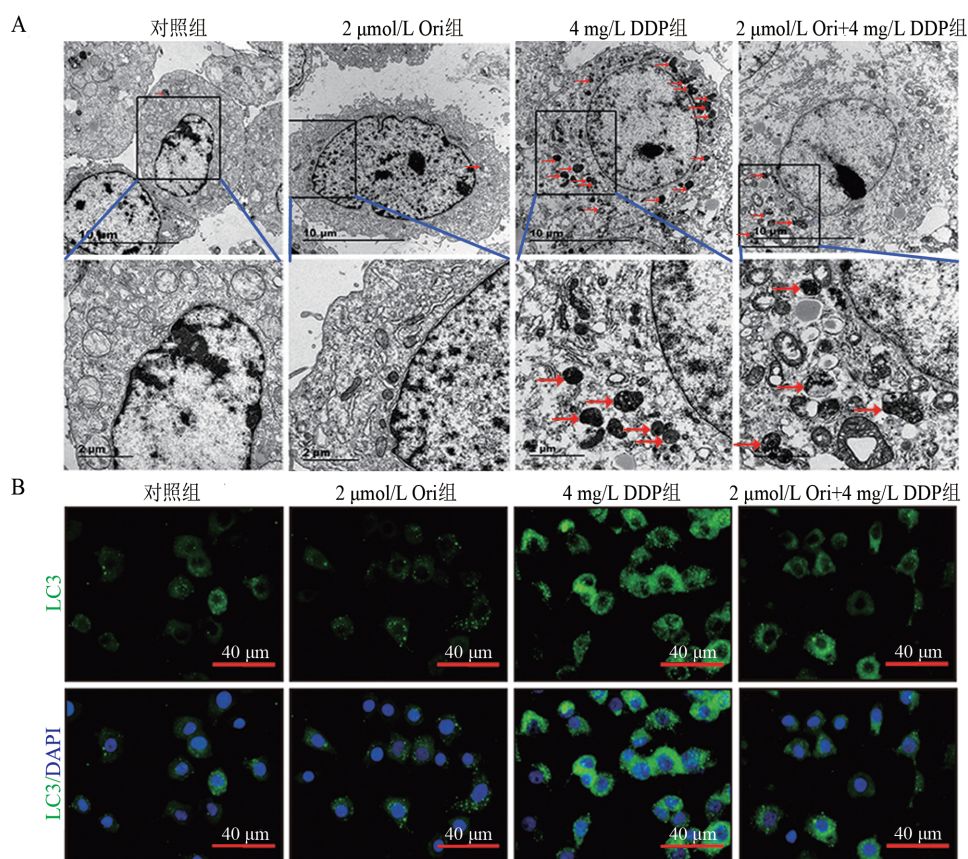
2.3 Ori对耐药黑色素瘤细胞自噬小体的影响

对4组A375/DDP细胞自噬小体数量进行观察,透射电子显微镜下图像显示,对照组与2 $\mu\text{mol/L}$ Ori组细胞的自噬小体均很少且两组之间无明显差异(图3A),而4 mg/L DDP组细胞中可见大量自噬小体存在(图3A),2 $\mu\text{mol/L}$ Ori+4 mg/L DDP组细胞中自噬小体数量相较4 mg/L DDP组中明显减少(图3A)。免疫荧光染色结果(图3B)显示,2 $\mu\text{mol/L}$ Ori+4 mg/L DDP组A375/DDP细胞中LC3点状染色明显少于4 mg/L DDP组。实验结果表明,Ori可降低由DDP诱导的耐药黑色素瘤细胞自噬水平。



1: 对照组; 2: 2 $\mu\text{mol/L}$ Ori 组; 3: 4 mg/L DDP 组; 4: 2 $\mu\text{mol/L}$ Ori + 4 mg/L DDP 组

图2 Ori对耐药黑色素瘤细胞迁移、侵袭(A, $\times 200$)及凋亡(B)的影响



A: 透射电子显微镜观察各组细胞中的自噬小体($\times 8\,000$), 红色箭头表示自噬小体;

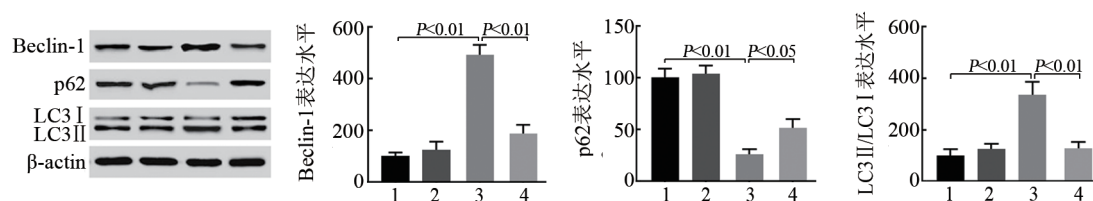
B: 免疫荧光染色观察各组细胞LC3点状染色数量($\times 400$)

图3 Ori对耐药黑色素瘤 A375/DDP 细胞自噬小体的影响

2.4 Ori对耐药黑色素瘤细胞中自噬相关蛋白表达的影响

WB法检测A375/DDP细胞中自噬相关蛋白表达的结果(图4)显示,与对照组相比,2 $\mu\text{mol/L}$ Ori组细胞中Beclin-1、p62、LC3 II/LC3 I表达水平差异均无统计学意义(均 $P>0.05$),4 mg/L DDP组细胞中Beclin-1和LC3 II/LC3 I表达水平均显著升高(均

$P<0.01$)、p62表达水平显著降低($P<0.01$);与4 mg/L DDP组相比,2 $\mu\text{mol/L}$ Ori+4 mg/L DDP组细胞中Beclin-1和LC3 II/LC3 I表达水平显著降低(均 $P<0.01$)、p62表达水平显著升高($P<0.05$)。结果表明,2 $\mu\text{mol/L}$ Ori可抑制由DDP诱导的耐药黑色素瘤细胞中自噬相关蛋白Beclin-1和LC3 II/LC3 I水平的升高和p62水平的降低。



1:对照组;2:2 $\mu\text{mol/L}$ Ori组;3:4 mg/L DDP组;4:2 $\mu\text{mol/L}$ Ori+4 mg/L DDP组

图4 Ori对A375/DDP细胞中自噬相关蛋白表达的影响

3 讨论

黑色素瘤DDP耐药一直是临床广泛关注的问题,耐药的产生也是导致该病治疗失败的主要原因之一^[2-3]。研究结果表明,Ori在体外可发挥抗肿瘤效用^[4-7],且在多种肿瘤细胞中具有与DDP的协同抗肿瘤作用^[8-10],而目前Ori对黑色素瘤细胞DDP耐药的作用机制并不清楚。本研究通过体外黑色素瘤DDP耐药细胞模型发现,Ori可增加黑色素瘤耐药细胞对DDP的敏感性。

肿瘤化疗耐药是由于肿瘤细胞对化疗药物的敏感度降低,其机制复杂多样目前并不完全清楚^[12-13]。其中,自噬在黑色素瘤化疗敏感性中发挥着关键作用。有研究结果^[14-15]发现,5-氟尿嘧啶(5-FU)或DDP可诱导肿瘤细胞自噬,而自噬能帮助肿瘤细胞抵抗化疗药物诱导的氧化应激以及DNA损伤,最终导致肿瘤细胞化疗耐药。另外,自噬还能帮助细胞清除损伤的细胞器和未折叠的蛋白等有害物质,并为修复受损的DNA赢取时间,进而提高肿瘤细胞生存能力,最终使细胞呈现出更强的耐药性^[12-13]。且已有比较直接的证据表明,低浓度DDP处理后的黑色素瘤细胞呈现出自噬继而发生耐药;而给予氯喹(自噬抑制剂)后,DDP诱导的细胞凋亡增加^[16]。因此,抑制肿瘤细胞自噬有望成为提高化疗敏感性和逆转耐药的治疗靶点。本研究中,首先对各组细胞自噬小体和LC3点状结构进行观察,结果显示,相对于未处理的A375/DDP细胞,4 mg/L DDP处理的A375/DDP细胞中自噬小体和LC3点状结构数增加,说明自噬增加;而4 mg/L DDP和2 $\mu\text{mol/L}$ Ori联合处理后的375/DDP

细胞中自噬小体LC3点状结构数较单用4 mg/L DDP处理的细胞明显减少。以上结果初步说明,Ori可能通过降低黑色素瘤细胞自噬水平达到逆转黑色素瘤细胞DDP耐药的效果。LC3、Beclin-1和p62是自噬的关键调控基因。在自噬形成时,胞质型LC3(即LC3 I)会酶解掉一小段多肽,转变为膜结合型LC3(即LC3 II),LC3 II/LC3 I比值的大小可评价自噬水平的高低^[17]。Beclin-1为自噬关键调控蛋白复合物,诱导细胞自噬的发生^[14, 18]。p62作为重要的自噬受体,能识别泛素化的降解底物,并与之一起被自噬体结合并降解,其水平越低说明自噬水平越高^[19-20]。本研究结果显示,在单用DDP的A375/DDP细胞中,Beclin-1和LC3 II/LC3 I水平升高、p62水平降低,说明自噬水平升高;而DDP和Ori联合处理后,上述结果得到逆转,这进一步说明Ori可通过降低黑色素瘤细胞自噬水平达到逆转黑色素瘤DDP耐药的效果。

综上所述,本研究发现Ori可对DDP耐药的黑色素瘤细胞起到DDP增敏作用,且此作用与其降低自噬有关。本研究尚存在不足之处,如虽然发现了低剂量Ori能增强耐药黑色素瘤细胞对DDP的敏感性,但尚不清楚低剂量Ori对黑色素瘤细胞(敏感株、亲本细胞)是否也具有DDP增敏作用;也不清楚高剂量Ori与DDP在杀伤耐药黑色素瘤是否具有协同作用。因此,本研究将对上述Ori在黑色素瘤DDP增敏方面的问题进行更深入的研究。

[参考文献]

- [1] LUGOVIĆ-MIHIĆ L, ČESIĆ D, VUKOVIĆ P, *et al.* Melanoma development: current knowledge on melanoma pathogenesis[J].

- Acta Dermatovenerol Croat, 2019, 27(3): 163-168.
- [2] DAVIS L E, SHALIN S C, TACKETT A J. Current state of melanoma diagnosis and treatment[J]. Cancer Biol Ther, 2019, 20(11): 1366-1379. DOI: 10.1080/15384047.2019.1640032.
- [3] CHEON S H, SEO B Y, LEE Y J, *et al.* Targeting of cisplatin-resistant melanoma using a multivalent ligand presenting an elastin-like polypeptide[J]. ACS Biomater Sci Eng, 2020, 6(9): 5024-5031. DOI: 10.1021/acsbmaterials.0c00599.
- [4] DU Y Q, ZHANG J, YAN S Y, *et al.* Oridonin inhibits the proliferation, migration and invasion of human osteosarcoma cells *via* suppression of matrix metalloproteinase expression and STAT3 signalling pathway[J]. J BUON, 2019, 24(3): 1175-1180.
- [5] JIANG J H, PI J, JIN H, *et al.* Oridonin-induced mitochondria-dependent apoptosis in esophageal cancer cells by inhibiting PI3K/AKT/mTOR and Ras/Raf pathways[J]. J Cell Biochem, 2019, 120(3): 3736-3746. DOI: 10.1002/jcb.27654.
- [6] YANG Q, MA W D, YU K, *et al.* Oridonin suppresses human gastric cancer growth *in vitro* and *in vivo* *via* inhibition of VEGF, integrin β 3, and PCNA[J]. Biol Pharm Bull, 2020, 43(7): 1035-1045. DOI: 10.1248/bpb.b19-00839.
- [7] LIU R X, MA Y, HU X L, *et al.* Anticancer effects of oridonin on colon cancer are mediated *via* BMP7/p38 MAPK/p53 signaling[J]. Int J Oncol, 2018, 53(5): 2091-2101. DOI: 10.3892/ijo.2018.4527.
- [8] YANG H Y, WANG J, KHAN S, *et al.* Selective synergistic anticancer effects of cisplatin and oridonin against human p53-mutant esophageal squamous carcinoma cells[J/OL]. Anticancer Drugs, 2022, 33(1): e444-e452[2022-11-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8670348/>. DOI: 10.1097/CAD.0000000000001237.
- [9] 王彦秋. 冬凌草甲素联合顺铂对宫颈癌 SiHa 细胞凋亡及 FOXL2、Ki67 表达的影响[J]. 实用药物与临床, 2018, 21(5): 502-507. DOI: 10.14053/j.cnki.ppcr.201805005.
- [10] YANG H H, GAO Y, FAN X Y, *et al.* Oridonin sensitizes cisplatin-induced apoptosis *via* AMPK/Akt/mTOR-dependent autophagosome accumulation in A549 cells[J/OL]. Front Oncol, 2019, 9: 769[2022-11-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6702493/>. DOI: 10.3389/fonc.2019.00769.
- [11] 陆海涛, 郭健, 何磊, 等. 稳定表达 T-钙黏蛋白的黑色素瘤顺铂耐药细胞株的建立及其生物学特性[J]. 中南大学学报(医学版), 2019, 44(11): 1214-1221. DOI: 10.11817/j.issn.1672-7347.2019.180649.
- [12] VASAN N, BASELGA J, HYMAN D M. A view on drug resistance in cancer[J/OL]. Nature, 2019, 575(7782): 299-309[2022-11-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8008476/>. DOI: 10.1038/s41586-019-1730-1.
- [13] USMAN R M, RAZZAQ F, AKBAR A, *et al.* Role and mechanism of autophagy-regulating factors in tumorigenesis and drug resistance[J]. Asia Pac J Clin Oncol, 2021, 17(3): 193-208. DOI: 10.1111/ajco.13449.
- [14] 郭云鸿, 田晓予, 邓巧子, 等. 下调 Beclin1 抑制卵巢癌 A2780/DDP 细胞对顺铂的耐药性[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2020, 27(6): 615-621. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2020.06.004.
- [15] LI H, ROY M, LIANG L, *et al.* Deubiquitylase USP12 induces pro-survival autophagy and bortezomib resistance in multiple myeloma by stabilizing HMGB1[J/OL]. Oncogene, 2022, 41(9): 1298-1308[2022-11-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/4891390/>. DOI: 10.1038/s41388-021-02167-9.
- [16] CERVIA D, ASSI E, DE PALMA C, *et al.* Essential role for acid sphingomyelinase-inhibited autophagy in melanoma response to cisplatin[J/OL]. Oncotarget, 2016, 7(18): 24995-25009[2022-11-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5041885/>. DOI: 10.18632/oncotarget.8735.
- [17] MENG Y C, LOU X L, YANG L Y, *et al.* Role of the autophagy-related marker LC3 expression in hepatocellular carcinoma: a meta-analysis[J/OL]. J Cancer Res Clin Oncol, 2020, 146(5): 1103-1113[2022-11-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7142043/>. DOI: 10.1007/s00432-020-03174-1.
- [18] HU F, SONG D, YAN Y, *et al.* IL-6 regulates autophagy and chemotherapy resistance by promoting BECN1 phosphorylation[J/OL]. Nat Commun, 2021, 12(1): 3651. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8206314/>. DOI: 10.1038/s41467-021-23923-1.
- [19] ZHANG C, ZHANG H L, LIU S L, *et al.* P62/SQSTM1 mediates the autophagy-lysosome degradation of CDK2 protein undergoing PI3K α /AKT^{T308} inhibition[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2022, 627: 5-11. DOI: 10.1016/j.bbrc.2022.08.034.
- [20] CORYELL P R, GORAYA S K, GRIFFIN K A, *et al.* Autophagy regulates the localization and degradation of p16^{INK4a}[J/OL]. Aging Cell, 2020, 19(7): e13171[2022-11-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7370706/>. DOI: 10.1111/ajcl.13171.

[收稿日期] 2022-11-08

[修回日期] 2023-02-18

[本文编辑] 党瑞山