

研究论文

地高辛逆转乳腺癌MCF-7/阿霉素细胞的耐药性及其机制

李伯和, 袁磊, 时冉冉, 王建国*

漯河医学高等专科学校分子医学实验室, 漯河 462002

摘要: 本研究旨在探究地高辛对乳腺癌MCF-7/阿霉素(ADR)细胞耐药性的影响, 并探讨其分子机制。将正常培养的MCF-7和MCF-7/ADR细胞分别设为对照组和ADR组; 经地高辛(100 nmol/L)处理48 h后的MCF-7/ADR细胞为ADR + digoxin组; 用shRNA技术沉默HIF-1 α 基因的MCF-7/ADR细胞为shHIF-1 α 组, 并设置对照组为shcontrol组。采用CCK-8法检测ADR的细胞毒作用, 以测定IC₅₀与耐药指数; 用RT-PCR法检测缺氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)和多药耐药基因1 (multidrug resistance-1, MDR1)的mRNA水平; 用Western blot方法检测HIF-1 α 和MDR1蛋白的表达水平; 用流式细胞术检测细胞凋亡。结果显示, ADR组细胞对ADR的耐药指数高达115.6, 地高辛使其耐药指数下降至47.2 ($P < 0.05$); ADR组细胞中HIF-1 α 与MDR1的mRNA和蛋白水平均高于对照组细胞(均 $P < 0.05$), 而地高辛可显著降低ADR组细胞HIF-1 α 与MDR1的蛋白水平, 以及MDR1的mRNA水平($P < 0.05$), 但对HIF-1 α 的mRNA水平无明显影响; 经shRNA干扰HIF-1 α 基因表达后, HIF-1 α 和MDR1的蛋白水平均显著降低($P < 0.05$); 沉默HIF-1 α 基因能显著增强ADR对ADR组细胞的促凋亡作用($P < 0.05$)。地高辛可有效地诱导shcontrol组和shHIF-1 α 组细胞凋亡($P < 0.05$), 但二组之间无显著差异。以上结果提示, 地高辛可通过下调HIF-1 α 蛋白表达从而在转录水平抑制MDR1的表达, 也可通过不依赖HIF-1 α 的通路诱导MCF-7/ADR细胞凋亡, 进而在一定程度上逆转MCF-7/ADR细胞的耐药性。

关键词: 地高辛; MCF-7/ADR细胞; 缺氧诱导因子-1 α ; 多药耐药基因1; 细胞凋亡

中图分类号: R737.9

Reversal of adriamycin resistance by digoxin in human breast cancer cell line MCF-7/adriamycin and its mechanism

LI Bai-He, YUAN Lei, SHI Ran-Ran, WANG Jian-Guo*

Laboratory of Molecular Biology, Luohe Medical College, Luohe 462002, China

Abstract: The aim of this study was to investigate the effects of digoxin on the chemoresistance of human breast cancer cell line MCF-7/adriamycin (ADR) and its underlying mechanism. MCF-7 and MCF-7/ADR cells were designated as control and ADR groups, respectively. MCF-7/ADR cells in ADR + digoxin group received 48 h of digoxin (10 nmol/L) treatment; MCF-7/ADR cells transfected with pLKO.1-shHIF-1 α and pLKO.1-shcontrol plasmids were named shHIF-1 α and shcontrol groups, respectively. CCK-8 assay was employed to detect the cytotoxic effect of ADR on MCF-7/ADR cells, and IC₅₀ value and resistance index were calculated according to CCK-8. RT-PCR was used to measure the mRNA levels of hypoxia inducible factor-1 α (HIF-1 α) and multidrug resistance-1 (MDR1). Western blot was used to analyze the protein levels of HIF-1 α and MDR1. Flow cytometry was used to determine the apoptosis. The result showed that the resistance index of MCF-7/ADR cells was 115.6, and it was reduced to 47.2 under the action of digoxin ($P < 0.05$). In comparison with control group, ADR groups showed increased protein and mRNA levels of HIF-1 α and MDR1 ($P < 0.05$). Digoxin reduced the protein levels of HIF-1 α and MDR1, as well as the mRNA level of MDR1, but did not affect the mRNA level of HIF-1 α . After HIF-1 α gene was silenced, the protein levels of HIF-1 α and MDR1 were down-regulated ($P < 0.05$), and the pro-apoptotic effect of ADR on MCF-7/ADR cells was enhanced. Although it was also observed that digoxin promoted cell

Received 2015-05-25 Accepted 2015-07-30

This work was supported by Science and Technology Development Project of Henan Province, China (No. 142102310466) and the Natural Science Research Project of Luohe Medical College, China (No. 2014-S-LMC09).

*Corresponding author. Tel: +86-395-2112681; E-mail: wr0395@sina.com

apoptosis in both shcontrol and shHIF-1 α groups, the difference between the two groups was not significant. In conclusion, the results suggest that digoxin may partially reverse the ADR resistance in human breast cancer cell line MCF-7/ADR by means of down-regulating the expression levels of HIF-1 α and MDR1 and promoting apoptosis via HIF-1 α -independent pathway.

Key words: digoxin; MCF-7/ADR; hypoxia inducible factor-1 α ; multidrug resistance gene 1; apoptosis

乳腺癌是全球女性最常见的癌症之一, 2012 年全球新增乳腺癌病例约 170 万例, 约占全球新增癌症病例的 12%, 占全球女性新增癌症病例的 25% 以上^[1]。根据目前乳腺癌的发病趋势, 预计到 2030 年, 全球乳腺癌的发病人数和死亡人数将分别达到 264 万和 170 万^[2]。尽管近年来针对乳腺癌开展的综合疗法大大提高了治疗效果, 但多药耐药仍是导致乳腺癌复发的重要原因^[3]。

地高辛是一种从毛花洋地黄中提纯制得的强心苷, 可选择性与心肌细胞膜 Na⁺/K⁺-ATP 酶结合而抑制其活性, 用于治疗充血性心力衰竭和某些室上性心律失常。Semenza 等在细胞水平对 3 120 种药物筛选后发现, 地高辛等强心苷可显著抑制人肝癌 Hep3B 细胞缺氧诱导因子 -1 α (hypoxia inducible factor-1 α , HIF-1 α) 蛋白表达, 同时还发现地高辛可使裸鼠皮下移植瘤生长停滞^[4]。其实早在 Semenza 等之前, 就已有研究者开始关注强心苷的抗肿瘤作用^[5]。相关的研究显示, 地高辛可改善乳腺癌患者的预后^[6], 抑制裸鼠乳腺癌原位移植瘤向肺的转移^[7], 抑制紫杉醇诱导的乳腺癌干细胞富集^[8]。

目前, 地高辛是一种潜在的 HIF-1 α 抑制剂的观点已被多数学者所接受。在氧含量正常的条件下, 化疗药物可诱导乳腺癌细胞 HIF-1 α 表达, 进而使多药耐药基因 1 (multidrug resistance-1, MDR1) 表达水平升高^[9,10], 这表明 HIF-1 α 与乳腺癌多药耐药性的产生密切相关。然而地高辛能否抑制乳腺癌耐药细胞中 HIF-1 α 的表达, 并进一步影响其耐药性, 这些目前尚未见报道。本研究以乳腺癌耐药株 MCF-7/ADR 为研究对象, 观察地高辛对其耐药性和凋亡的影响, 并检测 HIF-1 α 和 MDR1 的 mRNA 和蛋白表达水平以探讨其可能的分子机制。

1 材料与方法

1.1 材料 人乳腺癌 MCF-7 细胞和 MCF-7/ADR 细胞均由本实验室提供; 胎牛血清 (FBS) 和 RPMI1640 培养基购自 Hyclone; pLKO.1 质粒载体购自 Addgene; 地高辛、阿霉素 (adriamycin, ADR) 和 Annexin V-FITC 凋亡检测试剂盒购自 Sigma; Cell Counting Kit-8

(CCK-8 试剂盒) 购自碧云天; Trizol 试剂和脂质体 Lipofectamine 2000 购自 Invitrogen; 第一链 cDNA 合成试剂盒 (PrimeScript 1st Strand cDNA Synthesis Kit)、Taq DNA 聚合酶 (TaqTM)、T4 DNA 连接酶、PCR 引物和人 HIF-1 α 特异性 shRNA 干扰序列均购自大连宝生物公司; 鼠抗人 HIF-1 α 、MDR1、 β -actin 抗体和 HRP 标记山羊抗鼠 IgG 购自 Santa Cruz。

1.2 细胞培养 人乳腺癌 MCF-7 细胞在含 10% FBS 的 RPMI1640 培养基中, 于 37 °C、5% CO₂ 细胞培养箱内长期传代培养。MCF-7/ADR 细胞连续培养在含 1 μ mol/L ADR 的上述培养液中以维持细胞的耐药性, 培养条件相同。实验分成三组: (1) 对照组 (Control 组): 正常培养的 MCF-7 细胞; (2) 耐药组 (ADR 组): 正常培养的 MCF-7/ADR 细胞; (3) 地高辛处理组 (ADR + 地高辛组): 经地高辛 (100 nmol/L) 作用 48 h 的 MCF-7/ADR 细胞。

1.3 CCK-8 法检测细胞耐药性 取对数生长期细胞, 制成密度为 5 \times 10⁴ /mL 的细胞悬液, 每孔 200 μ L 接种于 96 孔板, 于 37 °C、5% CO₂ 细胞培养箱中培养 24 h。加入工作浓度分别为 0.01、0.1、1、10 和 100 μ mol/L 的 ADR, 每组设 5 个复孔, 同时设调零孔 (内含培养基、MTT 和二甲基亚砷) 和对照孔 (内含细胞、培养基、MTT 和二甲基亚砷), 于 37 °C、5% CO₂ 细胞培养箱中培养 48 h。每孔加入 20 μ L CCK-8 溶液, 37 °C 培养 1 h, 用酶标仪检测各孔 450 nm 波长吸光度 *A* 值。细胞生长抑制率 = (1 - 加药孔 *A* 值 / 对照孔 *A* 值) \times 100%。采用 SPSS 16.0 软件 Probit 回归模型计算 ADR 对细胞的半数抑制浓度 (half maximal inhibitory concentration, IC₅₀), 以确定耐药指数 (resistance index, RI), RI = 耐药细胞的 IC₅₀ / 敏感细胞的 IC₅₀。以上实验重复 3 次。

1.4 构建 pLKO.1-shRNA 表达质粒 HIF-1 α 的靶序列为 5'-GCTGGAGACACAATCATATCT-3' (1511-1531)^[7]。将 pLKO.1 质粒载体用 AgeI 和 EcoRI 酶切后, 与合成的 shRNA 寡核苷酸双链 (见表 1) 于 16 °C 连接 1 h。将构建好的重组质粒送大连宝生物公司测序。测序结果正确的质粒分别命名为 pLKO.1-shHIF-1 α 和 pLKO.1-shcontrol。

表1. shRNA干扰序列

Table 1. The sequence for shRNAs oligonucleotide

Name	Sequence
shHIF-1 α	Forward: 5'-CCGGGCTGGAGACACAATCATATCTCTCGAGAGATATGATTGTGTCTCCAGCTTTTG-3' Reverse: 5'-AATTCAAAAAGCTGGAGACACAATCATATCTCTCGAGAGATATGATTGTGTCTCCAGC-3'
shcontrol	Forward: 5'-CCGGGGAATCTCATTTCGATGCATACCTCGAGGTATGCATCGAATGAGATTCC-3' Reverse: 5'-AATTCAAAAAGGAATCTCATTTCGATGCATACCTCGAGGTATGCATCGAATGAGATTCC-3'

1.5 重组质粒转染 MCF-7/ADR 细胞 将构建好的重组质粒 pLKO.1-shHIF-1 α 和 pLKO.1-shcontrol 分别转染 MCF-7/ADR 细胞, 转染方法参照 Lipofectamine 2000 操作说明书进行, 置于 37 °C、5% CO₂ 培养箱中培养 48 h。得到两组细胞: (1) shcontrol 组: 转染重组质粒 pLKO.1-shcontrol 的 MCF-7/ADR 细胞; (2) shHIF-1 α 组: 转染重组质粒 pLKO.1-shHIF-1 α 的 MCF-7/ADR 细胞。

1.6 RT-PCR 检测 mRNA 水平 参照 Trizol LS 说明书抽提各组细胞总 RNA, 取 2 μ g 总 RNA 进行反转录, 反转录条件: 42 °C 60 min, 70 °C 15 min, 所得反转录反应液于 -20 °C 冻存备用。取 2 μ L 上述反转录反应液进行 PCR, PCR 反应条件: 94 °C 1 min, 94 °C 30 s, 60 °C 30 s, 72 °C 1 min, 第 2 步至第 4 步进行 35 个循环。引物采用 Primer premier 5.0 软件设计, 经 PubMed Blast 验证。HIF-1 α 上游引物: 5'-ACAAGTCACCACAGGACAG-3', 下游引物: 5'-TTTGTGAAGGGAGAAAAT-3', 产物长度为 176 bp; MDR1 上游引物: 5'-ATATCAGCAGCCCACATCAT-3', 下游引物: 5'-GAAGCACTGGGATGTCCGGT-3', 产物长度为 154 bp; GAPDH 上游引物: 5'-GCCAAAAGGGTCATCATCTC-3', 下游引物: 5'-GTAGAGGCAGGGATGATGTTC-3', 产物长度为 287 bp。PCR 结果采用琼脂糖凝胶电泳成像, 使用 ImageJ 软件进行条带灰度值分析。

1.7 Western blot 检测蛋白水平 裂解各组细胞提取总蛋白, 取 25 μ g 蛋白样品, 经 10% SDS-PAGE 电泳分离后转移至 PVDF 膜, 用封闭液 (5% BSA/TBST) 封闭 1 h, 加入 HIF-1 α 、MDR1 和 β -actin 一抗 (1:500 稀释), 4 °C 孵育过夜, TBST 洗膜 3 次, 加入二抗 (1:200 稀释) 室温下孵育 1 h, TBST 洗膜 3 次, 加入 ECL 进行发光反应, 暗室 X 胶片显影, 胶片用凝胶成像系统 (Infinity 3000, 购自法国 Vilber 公司) 携带的白色光源拍照, 使用 ImageJ 软件进行灰度分析, β -actin 蛋白条带为内参照。

1.8 流式细胞术检测细胞凋亡 制备各实验组细胞悬液, 用 PBS 洗涤细胞两次, 加入结合缓冲液悬浮细胞, 加入 Annexin V-FITC 轻轻混匀后于 4 °C 避光孵育 10 min。800 r/min 离心 5 min, 弃上清, 重悬细胞于结合缓冲液中, 加入 PI 染色液轻轻混匀后于 4 °C 避光孵育 5 min, 送流式细胞仪 (BriCyte E6, 购自中国迈瑞公司) 检测。

1.9 统计分析方法 实验数据用 mean \pm SD 表示, 采用 SPSS 16.0 分析数据, 多组间比较采用单因素方差分析 (one-way ANOVA), 组间两两比较采用最小显著性差异法 (LSD 法), 图片均由 GraphPad Prism 5.0 软件绘制, $P < 0.05$ 时认为差别具有统计学意义。

2 结果

2.1 地高辛对 MCF-7/ADR 细胞耐药性的影响

CCK-8 法检测结果显示, ADR 组对 ADR 的 IC₅₀ 和 IR 分别为 (12.72 \pm 1.05) μ mol/L 和 115.6, 显著高于对照组 ($P < 0.05$)。和 ADR 组相比, ADR + 地高辛组细胞经地高辛 (100 nmol/L) 作用 48 h 后, IC₅₀ 和 IR 分别下降至 (5.19 \pm 0.58) μ mol/L 和 47.2, 差异具有显著性 ($P < 0.05$) (见表 2)。

2.2 地高辛对 MCF-7 细胞 HIF-1 α 和 MDR1 蛋白水平的影响

ADR 组细胞中 HIF-1 α 和 MDR1 蛋白表达水平分别为 1.030 5 \pm 0.127 4 和 1.126 1 \pm 0.115 6, 均显著高于对照组 (均 $P < 0.05$); 经地高辛 (100 nmol/L) 处理 48 h 后, ADR + 地高辛组细胞中 HIF-1 α 和 MDR1 蛋白表达水平分别降至 0.363 0 \pm 0.053 8 和

表2. 地高辛逆转 MCF-7/ADR 细胞耐药性

Group	IC ₅₀ (μ mol/L)	Resistance index (RI)
Control	0.11 \pm 0.02	1
ADR	12.72 \pm 1.05*	115.6
ADR + digoxin	5.19 \pm 0.58*#	47.2

Mean \pm SD, $n = 3$. * $P < 0.05$ vs control, # $P < 0.05$ vs ADR group.

0.714 9 ± 0.087 2, 和 ADR 组差异显著 (均 $P < 0.05$) (见图 1)。

2.3 地高辛对MCF-7/ADR细胞HIF-1α和MDR1 mRNA水平的影响

ADR 组细胞中 HIF-1α 和 MDR1 的 mRNA 表达水平分别是 1.041 1 ± 0.089 5 和 1.070 7 ± 0.119 5, 显著高于对照组 ($P < 0.05$); 经地高辛 (100 nmol/L) 作用 48 h 后, ADR + 地高辛组细胞中 MDR1 的 mRNA 表达水平降至 0.700 2 ± 0.084 7, 和 ADR 组差异显著 ($P < 0.05$), 而 HIF-1α mRNA 表达水平无明显变化 (见图 2)。

2.4 沉默 HIF-1α 基因对 MCF-7/ADR 细胞 HIF-1α 和 MDR1 蛋白表达水平的影响

shcontrol 组细胞 HIF-1α 和 MDR1 的蛋白表达水平分别为 0.934 5 ± 0.123 2 和 1.071 4 ± 0.125 9, 与 ADR 组相比无显著差异; shHIF-1α 组细胞中 HIF-1α 和 MDR1 的蛋白表达水平分别为 0.088 2 ± 0.021 6 和 0.355 1 ± 0.048 7, 均显著低于 shcontrol 组细胞 (均 $P < 0.05$) (见图 3)。

2.5 沉默 HIF-1α 基因对 MCF-7/ADR 细胞凋亡的影响

shHIF-1α 组细胞凋亡率为 (1.17 ± 0.53)%, 与

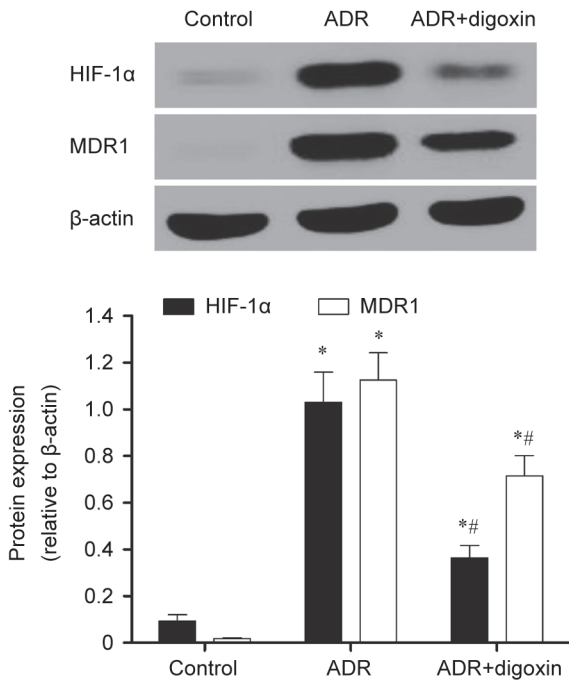


图 1. 各组HIF-1α和MDR1蛋白表达
Fig. 1. Protein levels of HIF-1α and MDR1 in different groups detected by Western blot. Mean ± SD, $n = 3$. * $P < 0.05$ vs control group, # $P < 0.05$ vs ADR group.

shcontrol 组相比无显著差异, 这表明沉默 *HIF-1α* 基因并不影响 MCF-7/ADR 细胞凋亡; 然而经 10 μmol/L ADR 作用 24 h 后, shcontrol 组和 shHIF-1α

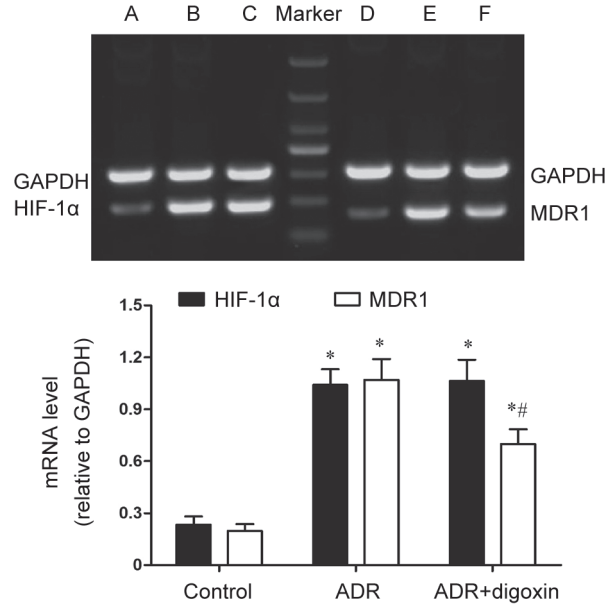


图 2. 各组HIF-1α和MDR1 mRNA水平
Fig. 2. mRNA levels of HIF-1α and MDR1 in different groups detected by RT-PCR. Mean ± SD, $n = 3$. * $P < 0.05$ vs control group, # $P < 0.05$ vs ADR group. A and D: control group; B and E: ADR group; C and F: ADR + digoxin. Marker: 1 000, 700, 500, 400, 300, 200, and 100 bp.

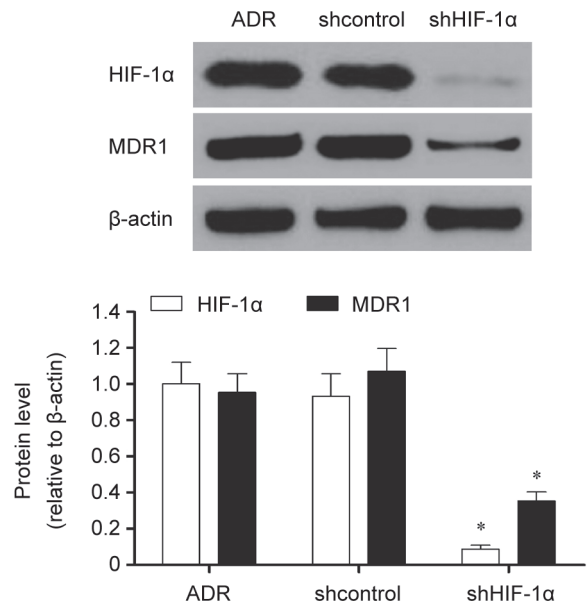


图 3. 沉默HIF-1α基因对HIF-1α和MDR1蛋白水平的影响
Fig. 3. Effect of *HIF-1α* silencing on protein expressions of HIF-1α and MDR1. Mean ± SD, $n = 3$. * $P < 0.05$ vs shcontrol group.

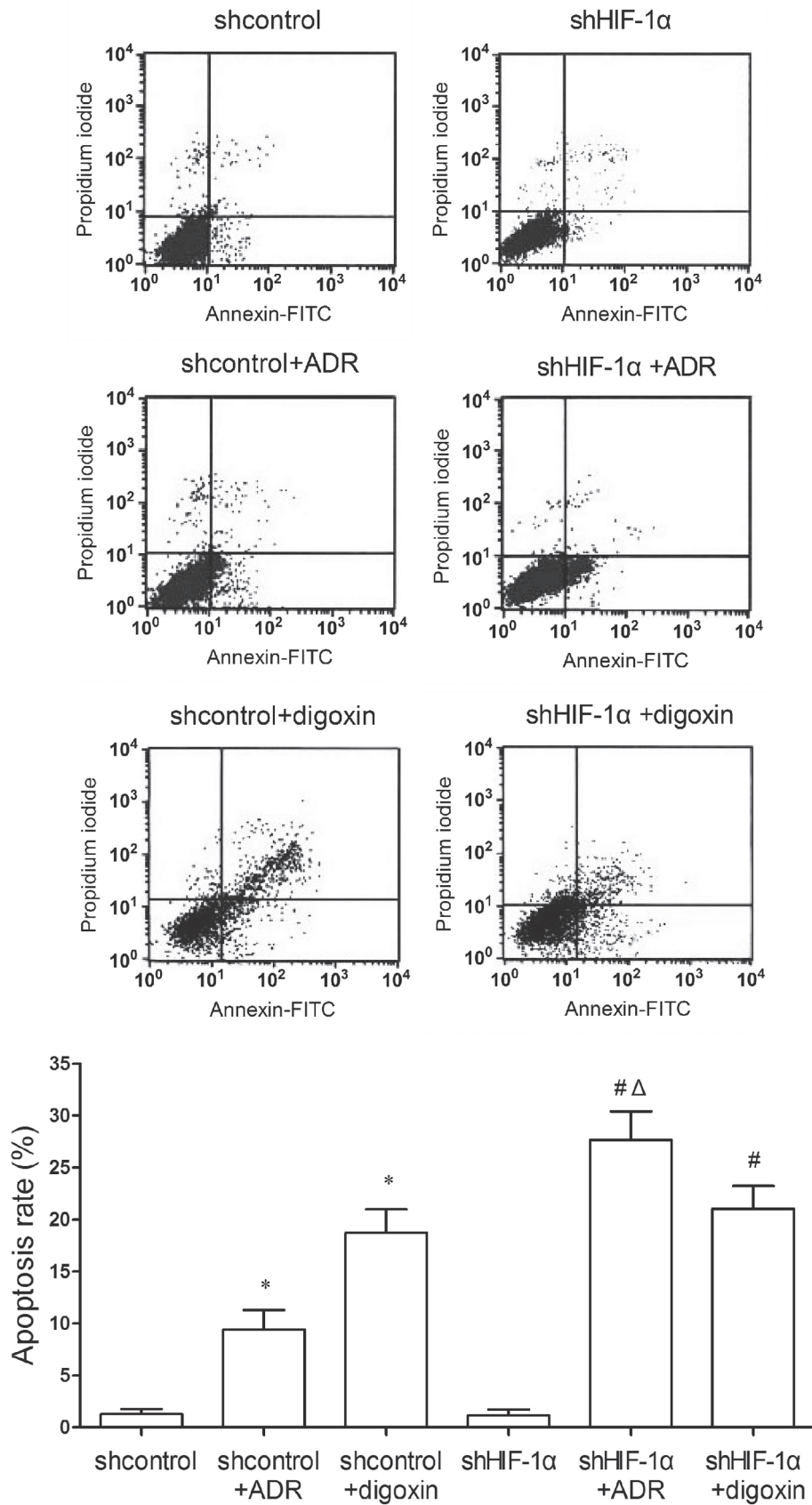


图 4. 沉默*HIF-1α*基因和/或地高辛对各组细胞凋亡的影响

Fig. 4. Effects of *HIF-1α* silencing and/or digoxin on apoptosis in different groups detected by flow cytometry. Mean \pm SD, $n = 3$. * $P < 0.05$ vs shcontrol group; # $P < 0.05$ vs shHIF-1 α group; $\Delta P < 0.05$ vs shcontrol + ADR group.

组细胞凋亡率分别升高至 $(9.43 \pm 1.87)\%$ 和 $(27.68 \pm 2.73)\%$, 后者显著高于前者 ($P < 0.05$), 这表明沉默 *HIF-1 α* 基因可显著增强 ADR 对 MCF-7/ADR 细胞的促凋亡作用。100 nmol/L 地高辛作用 24 h 可有效诱导 shcontrol 组和 shHIF-1 α 组细胞凋亡, 但二组间无显著差异 (见图 4)。

3 讨论

在本研究中, 我们发现地高辛能够提高乳腺癌 MCF-7/ADR 细胞对 ADR 的敏感性并促进 MCF-7/ADR 细胞凋亡。Western blot 结果显示, 地高辛可显著降低乳腺癌 MCF-7/ADR 细胞中 HIF-1 α 和 MDR1 的蛋白表达水平。RT-PCR 结果显示, 地高辛可下调乳腺癌 MCF-7/ADR 细胞中 MDR1 的 mRNA 水平, 但不影响 HIF-1 α 的 mRNA 水平。在采用 shRNA 技术沉默 *HIF-1 α* 基因表达后, 我们发现沉默 *HIF-1 α* 基因表达可显著降低 MDR1 蛋白水平, 并促进 ADR 诱导的 MCF-7/ADR 细胞凋亡, 但未能影响地高辛对 MCF-7/ADR 细胞的促凋亡作用。

化疗是肿瘤治疗的基石, 然而多药耐药是化疗失败的常见原因。*MDR1* 基因的过表达是肿瘤产生多药耐药的主要机制之一。*MDR1* 是一种分子量为 170 kDa 的跨膜糖蛋白, 故又被成为 P-糖蛋白 (P-gp) 或 P170。*MDR1* 通过水解 ATP 获取能量, 将多种化疗药物泵出肿瘤细胞, 以减少肿瘤细胞内的药物浓度, 导致多药耐药^[11]。许多研究证实, 通过 RNA 干扰技术沉默 *MDR1* 基因表达, 可提高多种肿瘤细胞对化疗药物的敏感性, 如肺癌^[12]、乳腺癌^[13]、肝癌^[14]、胃癌^[15] 等。Chen 等^[16] 研究证实, 在结肠癌中 HIF-1 α 可与 *MDR1* 基因的启动子结合, 沉默 *HIF-1 α* 基因可下调 MDR1 的 mRNA 和蛋白水平, 从而逆转缺氧诱导的多药耐药性。本研究结果也表明, 在乳腺癌 MCF-7/ADR 细胞中 *MDR1* 是 HIF-1 α 的靶基因。

Semenza 等研究发现 HIF-1 α 在紫杉醇诱导的乳腺癌肿瘤干细胞 (breast cancer stem cells, BCSCs) 富集过程中发挥着重要作用, 这可能与 HIF-1 α 上调 IL-6、IL-8 和 MDR1 的表达有关, 地高辛能有效阻断该富集作用; 同时 Semenza 等也指出紫杉醇可能是通过提高活性氧簇 (reactive oxygen species, ROS) 水平诱导 HIF-1 α 表达的^[8]。Cao 等的研究表明, 在小鼠乳腺癌 4T1 细胞中, ADR 通过激活 STAT1-iNOS-NO 信号通路促进 HIF-1 α 表达^[9]。Zhu 等^[10]

研究发现, MCF-7/ADR 细胞核中 HIF-1 α 的表达水平显著高于 MCF-7 细胞, 当采用 siRNA 技术抑制瞬时受体电位通道 1 (transient receptor potential channel 1, TrpC1) 表达后, MCF-7/ADR 细胞核中 HIF-1 α 的表达水平显著下降; 同时 Zhu 等还发现, 在接受 ADR 或紫杉醇治疗的乳腺癌患者活检样本中 TrpC1 与 HIF-1 α 的表达水平均显著高于未接受化疗的乳腺癌患者, 且 TrpC1 与 HIF-1 α 的表达水平呈显著正相关^[10]。由此可见, 化疗药物诱导 HIF-1 α 表达的分子机制还有待进一步阐明。

地高辛可在多种肿瘤细胞中抑制 HIF-1 α 的表达, 但其机制却不尽相同。在前列腺癌 C4-2 细胞、三阴乳腺癌细胞 MDA-MB-231、黑色素瘤细胞 MDA-MB-435 和肺腺癌 A549 细胞中, 地高辛可同时下调 HIF-1 α 的 mRNA 和蛋白水平^[7,17,18]; 而在肝癌 Hep3B 细胞中, 地高辛可显著抑制 HIF-1 α 蛋白表达, 但对其 mRNA 水平无影响^[4]。本研究证实, 在乳腺癌 MCF-7/ADR 细胞中地高辛是在转录后水平抑制 HIF-1 α 的表达, 由此我们推测地高辛可能对 HIF-1 α mRNA 翻译、HIF-1 蛋白的二聚化及其降解等环节产生影响。

综上所述, 本研究结果表明, 地高辛一方面通过抑制 HIF-1 α 下调 MDR1 表达, 另一方面通过不依赖 HIF-1 α 的途径诱导细胞凋亡, 从而在一定程度上逆转 MCF-7/ADR 细胞的耐药性。而地高辛如何抑制 HIF-1 α 表达和促进 MCF-7/ADR 细胞凋亡将是本研究团队下一步拟探究的问题。

参考文献

- 1 Burney IA, Furrakh M, Al-Moundhri MS. What are our options in the fight against breast cancer? *Sultan Qaboos Univ Med J* 2014; 14(2): e149–e151.
- 2 Akarolo-Anthony SN, Ogundiran TO, Adebamowo CA. Emerging breast cancer epidemic: evidence from Africa. *Breast Cancer Res* 2010; 12(S4): 8.
- 3 Frieboes HB, Edgerton ME, Fruehauf JP, Rose FR, Worrall LK, Gatenby RA, Ferrari M, Cristini V. Prediction of drug response in breast cancer using integrative experimental/computational modeling. *Cancer Res* 2009; 69(10): 4484–4492.
- 4 Zhang H, Qian DZ, Tan YS, Lee K, Gao P, Ren YR, Rey S, Hammers H, Chang D, Pili R, Dang CV, Liu JO, Semenza GL. Digoxin and other cardiac glycosides inhibit HIF-1 α synthesis and block tumor growth. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105(50): 19579–19586.

- 5 Newman RA, Yang P, Pawlus AD, Block KI. Cardiac glycosides as novel cancer therapeutic agents. *Mol Interv* 2008; 8(1): 36–49.
- 6 Biggar RJ, Andersen EW, Kroman N, Wohlfahrt J, Melbye M. Breast cancer in women using digoxin: tumor characteristics and relapse risk. *Breast Cancer Res* 2013; 15(1): R13.
- 7 Wong CC, Zhang H, Gilkes DM, Chen J, Wei H, Chaturvedi P, Hubbi ME, Semenza GL. Inhibitors of hypoxia-inducible factor 1 block breast cancer metastatic niche formation and lung metastasis. *J Mol Med* 2012; 90(7): 803–815.
- 8 Samanta D, Gilkes DM, Chaturvedi P, Xiang L, Semenza GL. Hypoxia-inducible factors are required for chemotherapy resistance of breast cancer stem cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2014; 111(50): E5429–E5438.
- 9 Cao Y, Eble JM, Moon E, Yuan H, Weitzel DH, Landon CD, Nien CY, Hanna G, Rich JN, Provenzale JM, Dewhirst MW. Tumor cells upregulate normoxic HIF-1 α in response to doxorubicin. *Cancer Res* 2013; 73(20): 6230–6242.
- 10 Zhu Y, Pan Q, Meng H, Jiang Y, Mao A, Wang T, Hua D, Yao X, Jin J, Ma X. Enhancement of vascular endothelial growth factor release in long-term drug-treated breast cancer via transient receptor potential channel 5-Ca²⁺-hypoxia-inducible factor 1 α pathway. *Pharmacol Res* 2015; 93: 36–42.
- 11 Chufan EE, Sim HM, Ambudkar SV. Molecular basis of the polyspecificity of P-glycoprotein (ABCB1): recent biochemical and structural studies. *Adv Cancer Res* 2015; 125: 71–96.
- 12 Kim HJ, Lee KY, Kim YW, Choi YJ, Lee JE, Choi CM, Baik IJ, Rho JK, Lee JC. P-glycoprotein confers acquired resistance to 17-DMAG in lung cancers with an ALK rearrangement. *BMC Cancer* 2015; 15(1): 553.
- 13 Gu J, Fang X, Hao J, Sha X. Reversal of P-glycoprotein-mediated multidrug resistance by CD44 antibody-targeted nanocomplexes for short hairpin RNA-encoding plasmid DNA delivery. *Biomaterials* 2015; 45: 99–114.
- 14 Sheng L, Xiong M, Li C, Meng X. Reversing multidrug-resistant by RNA interference through silencing MDR1 gene in human hepatocellular carcinoma cells subline Bel-7402/ADM. *Pathol Oncol Res* 2014; 20(3): 541–548.
- 15 Zhu CY, Lv YP, Yan DF, Gao FL. Knockdown of MDR1 increases the sensitivity to adriamycin in drug resistant gastric cancer cells. *Asian Pac J Cancer Prev* 2013; 14(11): 6757–6760.
- 16 Chen J, Ding Z, Peng Y, Pan F, Li J, Zou L, Zhang Y, Liang H. HIF-1 α inhibition reverses multidrug resistance in colon cancer cells via downregulation of MDR1/P-glycoprotein. *PLoS One* 2014; 9(6): e98882.
- 17 Gayed BA, O'Malley KJ, Pilch J, Wang Z. Digoxin inhibits blood vessel density and HIF-1 α expression in castration-resistant C4-2 xenograft prostate tumors. *Clin Transl Sci* 2012; 5(1): 39–42.
- 18 Wei D, Peng JJ, Gao H, Li H, Li D, Tan Y, Zhang T. Digoxin downregulates NDRG1 and VEGF through the inhibition of HIF-1 α under hypoxic conditions in human lung adenocarcinoma A549 cells. *Int J Mol Sci* 2013; 14(4): 7273–7285.