

YM-155 协同顺铂杀伤非小细胞肺癌细胞的机制研究

叶海南, 车佳(浙江省立同德医院检验科, 杭州 310012)

摘要: 目的 探讨 survivin 小分子抑制剂 YM-155 对非小细胞肺癌顺铂化疗的协同治疗作用并研究其机制。方法 MTT 法检测 YM-155 和顺铂对非小细胞肺癌细胞系 A549 的杀伤活性。Western blot 试验检测 A549 细胞中 survivin、细胞色素 C、凋亡诱导因子、caspase-9 和 caspase-3 的表达水平。流式细胞术检测 A549 细胞的线粒体膜电位和凋亡率。结果 YM-155 能增强顺铂的抗肺癌活性, 显著降低顺铂对 A549 细胞的半抑制浓度(IC_{50})。YM-155 处理能显著抑制 A549 细胞中 survivin 的表达。顺铂+YM-155 组 A549 细胞的线粒体膜电位明显低于顺铂单治疗组。顺铂+YM-155 组 A549 细胞的凋亡率, 细胞色素 C、凋亡诱导因子释放水平以及 caspase-9、caspase-3 活化水平均明显高于顺铂单治疗组。顺铂+YM-155+survivin 质粒组 A549 细胞的相对细胞活力和线粒体膜电位明显高于顺铂+YM-155 组。顺铂+YM-155+survivin 质粒组 A549 细胞的凋亡率、细胞色素 C、凋亡诱导因子释放水平以及 caspase-9、caspase-3 活化水平均明显低于顺铂+YM-155 组。结论 YM-155 通过抑制 survivin 的表达能够增强顺铂对非小细胞肺癌细胞线粒体途径凋亡的诱导活性。

关键词: YM-155; survivin; 顺铂; 非小细胞肺癌; 凋亡

中图分类号: R965.2 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2019)17-2160-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2019.17.009

引用本文: 叶海南, 车佳. YM-155 协同顺铂杀伤非小细胞肺癌细胞的机制研究[J]. 中国现代应用药学, 2019, 36(17): 2160-2165.

Mechanism of Synergistic Effect of YM-155 on Cisplatin-Induced Cytotoxicity Against NSCLC

YE Hainan, CHE Jia(Department of Clinical Laboratory, Tongde Hospital of Zhejiang Province, Hangzhou 310012, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To explore the adjuvant effect of YM-155 on cisplatin-based chemotherapy in non-small cell lung cancer(NSCLC). **METHODS** MTT assay was performed to evaluate the cytotoxicity of YM-155 and cisplatin to A549 cells. Western blot analysis was conducted to detect the expression of survivin, cytochrome C, apoptosis inducing factor, caspase-9 and caspase-3 in A549 cells. Flow cytometry analysis was performed to detect the mitochondrial membrane potential and apoptosis of A549. **RESULTS** YM-155 could enhance the anti-lung cancer activity of cisplatin, and decreased the IC_{50} of cisplatin to A549. YM-155 inhibited the expression of survivin in A549. Mitochondrial membrane potential of A549 in cisplatin+YM-155 group was significantly lower than that in the cisplatin single treatment group. Apoptotic rate, release of cytochrome C and apoptosis inducing factor, activation of caspase-9 and caspase-3 in the cisplatin+YM-155 group was obviously higher than these in the cisplatin single treatment group. On the other hand, relative cell viability and mitochondrial membrane potential of A549 in cisplatin+YM-155+survivin plasmid group was significantly higher than those in the cisplatin+YM-155 group. However, apoptotic rate, release of cytochrome C and apoptosis inducing factor, activation of caspase-9 and caspase-3 in the cisplatin+YM-155+survivin plasmid group was obviously lower than those in the cisplatin+YM-155 group. **CONCLUSION** YM-155 enhances the cisplatin-induced mitochondrial apoptosis in NSCLC cells through inhibition of survivin.

KEYWORDS: YM-155; survivin; cisplatin; NSCLC; apoptosis

非小细胞肺癌是我国发病率和死亡率最高的恶性肿瘤^[1], 严重威胁人类健康。手术治疗是目前治疗早期非小细胞肺癌最有效的手段, 但由于肺癌的早期症状不明显, 很大一部分患者在确诊非小细胞肺癌时已发生转移。对于这些患者而言, 系统性化疗是不可或缺的治疗方案^[2-3]。

顺铂是一种广谱抗肿瘤药物, 能与肿瘤细胞中的 DNA 发生交叉联结, 从而破坏 DNA 的功能^[4], 因此顺铂能激活肿瘤细胞的凋亡途径, 对多种肿瘤细胞均有很好的杀伤活性。在顺铂的临床应用

中, 非小细胞肺癌细胞对顺铂最为敏感, 因此顺铂现已作为一线药物广泛应用于非小细胞肺癌的化疗^[5]。然而顺铂的长期大剂量使用会造成患者较大的不良反应, 尤其是容易引起严重的耳毒性和肾毒性。另外, 肺癌细胞对顺铂的敏感性会随着顺铂的持续使用而明显下降^[6-7]。因此探寻合适的协同治疗药物以降低顺铂的使用剂量并提高肺癌细胞对顺铂的敏感性具有十分重要的意义。

YM-155 是一种 survivin 小分子抑制剂, 能够有效减弱 survivin 启动子的转录活性, 抑制抗凋亡

作者简介: 叶海南, 男, 硕士, 主管技师 Tel: 13758286933

E-mail: tongdeyehainan@sina.com

蛋白 survivin 的表达水平^[8]。然而 YM-155 对其他凋亡相关蛋白如 c-IAP2、XIAP、Bcl-2、Bcl-xL、Bad 等无生物学活性,因此 YM-155 是 survivin 的特异性抑制剂。YM-155 被报道对多种肿瘤有一定的抗肿瘤活性,并能增强其他一些化疗药物的治疗效果,目前在临床上已进行包括非小细胞肺癌在内的多种癌症的协同治疗试验^[9-10]。然而, YM-155 如何增强化疗药物的疗效,其下游机制如何,目前仍不清楚。本研究的目的在于探讨 YM-155 对非小细胞肺癌顺铂化疗的协同治疗作用并研究其机制。

1 材料

1.1 细胞培养

人非小细胞肺癌细胞系 A549 购于美国模式培养物保存中心(ATCC),培养在含 10%胎牛血清的 DMEM 培养基中,在 37℃恒温培养箱中培养并通入 5% CO₂。细胞每 2~3 d 传代 1 次,传代时,用胰酶消化液使细胞进入悬浮状态,并用 DMEM 培养基洗涤 2 次,将细胞悬液按 1:3 稀释后传代。

1.2 试剂

顺铂、卡铂、奥沙利铂、噻唑蓝(MTT)和凋亡检测试剂盒购于德国 Sigma-Aldrich(批号分别为 C221000, 1096407, O9512, M2128, APOAF); YM-155(美国 Med Chem Express 公司,批号: HY-10194); DMEM 培养基(美国 Gibco,批号: 10569044); 蛋白提取液、survivin、细胞色素 C、凋亡诱导因子、caspase-9、caspase-3 和 GAPDH 抗体购于美国 Cell Signaling(货号分别为#9806, #2808, #4280, #5318, #9502, #9665, #5174); 线粒体分离试剂盒和 JC-1 购于碧云天生物技术有限公司(批号: C3601, C2005); ECL 显色试剂盒(美国 Pierce,批号: 32106); Lipofectamine 2000(美国 Invitrogen,批号: 11668019)。survivin 小干扰 RNA(美国 Santa Cruze 公司,批号: SC-29499)。

2 方法

2.1 survivin 强制过表达与基因沉默

将 survivin 基因的开放阅读框架序列经 PCR 扩增后,以分子克隆的方法与 pcDNA3.1 连接后构建成 survivin 重组质粒,用于在 A549 细胞进行 survivin 的强制过表达。survivin siRNA 则用于 survivin 的基因沉默。A549 细胞接种在 6 孔板中孵育过夜使之贴壁。将 survivin 重组质粒(终浓度

为 2 μg·mL⁻¹)或 survivin siRNA(终浓度为 50 pmol·mL⁻¹)用 Lipofectamine 2000 进行包裹后,将其加入到无血清培养基进行混合。将贴壁的 A549 细胞置于该无血清培养基孵育 6 h,之后弃去无血清培养基加入新鲜的含 10%胎牛血清的 DMEM 培养基中培养 24 h。收集细胞用于后续实验。对照细胞为 Lipofectamine 2000(含空质粒,终浓度为 2 μg·mL⁻¹),孵育 6 h。

2.2 细胞活力、半抑制浓度(IC₅₀)与两药联合指数(combination index, CI)检测

将 A549 细胞按每孔 5×10³ 接种在 96 孔板上,孵育过夜,使之贴壁。在培养基中加入顺铂(0~30 μmol·L⁻¹)和 YM-155(0~80 nmol·L⁻¹)处理 A549 细胞 48 h。之后在每个培养孔中加入 0.1 mg MTT,并将细胞继续置于 37℃恒温培养箱中培养 4 h。小心吸走孔内培养基,加入 100 μL 二甲亚砜,充分震荡混匀后在 570 nm 波长下测定吸光度(A)值。细胞活力结果用药物处理组与对照组的 A 值比值表示。绘制细胞活力-顺铂浓度曲线,根据曲线计算顺铂对 A549 细胞的 IC₅₀。CI 用以下公式判断: CI=E(A+B)/(EA+EB-EA×EB),其中 E(A+B)为合并用药抑制率,EA 和 EB 分别为顺铂和 YM-155 的抑制率。CI 在 0.85~1.15 内为两药作用单纯相加,CI>1.15 为协同作用,CI<0.85 为拮抗作用。药物抑制率=(A_{对照组}-A_{药物处理组})/A_{对照组}×100%。

2.3 线粒体膜电位测定

在 A549 细胞培养体系中加入终浓度为 2 μmol·L⁻¹的顺铂和 10 nmol·L⁻¹的 YM-155 孵育 48 h。之后收集细胞,用生理盐水洗涤 2 次,加入终浓度为 2 μg·mL⁻¹的 JC-1 染料孵育 A549 细胞。20 min 后,再用生理盐水将 A549 细胞洗涤 3 次,之后采用流式细胞术检测 JC-1 发出的红色荧光,红色荧光强度越强,则表示线粒体膜电位越高^[11]。

2.4 线粒体分离

在 A549 细胞培养体系中加入终浓度为 2 μmol·L⁻¹的顺铂和 10 nmol·L⁻¹的 YM-155 孵育 48 h。之后收集细胞,用生理盐水洗涤 2 次,再使用线粒体分离试剂盒,按说明所示步骤分离移除 A549 细胞中的线粒体,收集无线粒体的细胞质,用以检测其中的细胞色素 C 和凋亡诱导因子。无线粒体的细胞质中的细胞色素 C 和凋亡诱导因子蛋白水平越高,则说明线粒体的细胞色素 C 和凋亡诱导因子的释放水平越高。

2.5 Western blot 试验

在 A549 细胞培养体系中加入终浓度为 $2\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的顺铂和 $10\text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 YM-155 孵育 48 h。之后收集细胞,用生理盐水洗涤 2 次,用蛋白提取液提取 A549 细胞中的总蛋白质。将等量的总蛋白质或“2.4”项下所得样品用 12% SDS-PAGE 进行电泳分离。分离完毕后,通过电转方法将蛋白质从分离胶上转到 PVDF 膜上。用 5% 脱脂奶粉对 PVDF 进行封闭孵育 2 h,之后再将 PVDF 膜用 survivin、细胞色素 C、凋亡诱导因子、caspase-9、caspase-3 和 GAPDH 抗体进行孵育过夜。一抗孵育完毕后的 PVDF 膜再用带辣根过氧化物酶的二抗孵育 2 h,蛋白条带用 ECL 试剂盒显色发光。目标蛋白的半定量用灰度值表示,蛋白灰度值分析用 Image J 软件进行处理。

2.6 细胞凋亡试验

在 A549 细胞培养体系中加入终浓度为 $2\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的顺铂和 $10\text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 YM-155 孵育 48 h。收集细胞,用生理盐水洗涤 2 次,按照凋亡检测试剂盒说明书步骤用 Annexin-V 和碘化丙啶 (PI) 对细胞进行染色孵育 20 min。之后采用流式细胞术检测 A549 细胞的凋亡,凋亡率用 Annexin-V 阳性细胞数占总细胞数的百分比表示。

2.7 统计学处理

所有实验重复 3 次,实验数据用 $\bar{x}\pm s$ 表示。2 组间均数采用非配对双边 t 检验进行分析,多组间均数的比较采用单因素方差分析 (one-way ANOVA),统计检验方法行 Bonferroni 校正进行多组间均数的两两比较,统计分析软件为 SPSS 15.0,

$P<0.05$ 认为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 YM-155 增强顺铂的抗非小细胞肺癌活性

将非小细胞肺癌细胞系 A549 用 YM-155 ($0\sim 80\text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 进行单独处理,MTT 试验结果显示, $10\text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ YM-155 单独处理仅能轻微抑制 A549 细胞的细胞活力。因此将 A549 细胞用 $10\text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 YM-155 与不同浓度顺铂进行联合处理,研究 YM-155 是否能增强顺铂的抗肺癌活性。实验结果显示, YM-155 $10\text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 联合处理能显著提高不同浓度顺铂 ($1\sim 30\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 对非小细胞肺癌细胞系 A549 的杀伤活性。根据细胞活力-顺铂浓度曲线计算顺铂对 A549 的 IC_{50} , 结果发现 YM-155 ($10\text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 协同处理能明显降低顺铂对 A549 细胞的 IC_{50} , 结果见图 1。另外,将 A549 用顺铂 ($1\sim 20\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 和 YM-155 ($5\sim 100\text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$) (顺铂:YM-155=200:1) 进行联合处理,计算 CI 值,结果显示顺铂和 YM-155 存在协同抗非小细胞肺癌活性,见表 1。

表 1 顺铂与 YM-155 联合治疗指数

Tab. 1 Combination therapy index of cisplatin and YM-155

顺铂单用		YM-155 单用		两药合用 抑制率/%	联合指数
浓度/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	抑制率/ %	浓度/ $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$	抑制率/ %		
1	12	5	5	31	1.89
2	21	10	8	59	2.16
5	34	25	14	69	1.60
10	41	50	20	79	1.50
20	58	100	28	84	1.20

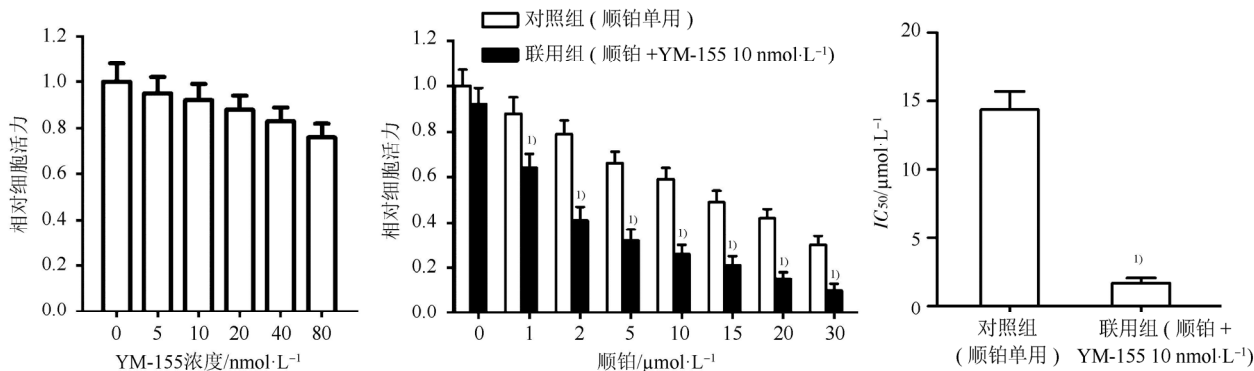


图 1 YM-155 增强顺铂对 A549 细胞的杀伤活性 ($\bar{x}\pm s, n=3$)
与对照组相比, ¹⁾ $P<0.05$ 。

Fig. 1 YM-155 enhanced the cytotoxicity of cisplatin against A549 cells ($\bar{x}\pm s, n=3$)
Compared with control group, ¹⁾ $P<0.05$.

3.2 YM-155 通过 survivin 的抑制增强顺铂的抗肺癌活性

Western blot 试验结果显示, YM-155 能明显抑制 A549 细胞中 survivin 的表达水平, 表明 survivin 是 YM-155 的作用靶点。另外, 为了研究 survivin 对顺铂杀伤非小细胞肺癌活性的影响, 将 survivin 表达质粒或 survivin siRNA 转染入 A549 细胞中, 观察其效果, survivin 质粒和 survivin siRNA 的转染效率见图 2。MTT 试验结果显示, YM-155 能显著提高顺铂对 A549 细胞的杀伤活性, 然而转染 survivin 表达质粒后, YM-155 对顺铂抗肺癌活性的增强作用受到明显抑制。另一方面, 转染 survivin siRNA 直接抑制 survivin 的表达水平同样能增强顺铂对 A549 细胞的毒性。同时, 在 YM-155 处理的 A549 细胞中转染 survivin siRNA 能进一步增强顺铂对 A549 细胞的毒性。这些结果表明 survivin 对顺铂的抗肺癌活性起重要作用, YM-155 是通过抑制 A549 细胞中 survivin 的表达提高其对顺铂的敏感性。

3.3 YM-155 促进顺铂诱导的线粒体途径凋亡

流式细胞试验结果显示, YM-155 联合处理能明显促进顺铂诱导的 A549 细胞线粒体的失能, 明显降低其线粒体膜电位。Western blot 试验结果显示, YM-155 联合处理能明显促进顺铂诱导的 A549 细胞的细胞色素 C 和凋亡诱导因子从线粒体中释放到细胞质中, 进而显著诱导 A549 细胞发生 caspase-9、caspase-3 的活化, 并最终导致其发生显著的凋亡。然而, 当在 A549 细胞中转染 survivin 质粒使其强制表达后, YM-155 对顺铂诱导的线粒

体途径凋亡的促进作用明显减弱, 结果见图 3。这些结果表明, 在非小细胞肺癌细胞中, YM-155 协同治疗能通过抑制 survivin 的表达促进顺铂诱导的线粒体途径凋亡。

3.4 YM-155 提高非小细胞肺癌细胞对其他铂类化疗药物的敏感性

为了研究 YM-155 对铂类化疗药物抗肺癌活性的增强作用是否有广泛性, 笔者将 A549 细胞用 YM-155 和其他铂类化疗药物(卡铂和奥沙利铂)进行联合治疗。MTT 试验结果显示, YM-155 协同治疗同样能明显增强卡铂和奥沙利铂对 A549 的细胞毒性。然而, 当在 A549 细胞中转染 survivin 质粒使其强制表达后, YM-155 对卡铂和奥沙利铂的抗肺癌活性的增强作用受到明显抑制, 结果见图 4。这些结果表明在非小细胞肺癌细胞中, YM-155 协同治疗能通过抑制 survivin 的表达增强铂类化疗药物对非小细胞肺癌细胞的杀伤活性。

4 讨论

YM-155 是一种 survivin 特异性抑制剂, 临床试验和基础实验表明 YM-155 是一种潜在的抗肿瘤协同治疗药物, 对多西他奇、美罗华、雷帕霉素等抗肿瘤药物的疗效都有增效作用^[12-14]。然而, YM-155 如何增强化疗药物的疗效, 其下游机制如何, 目前仍不清楚。另外, 尽管顺铂是治疗非小细胞肺癌的一线药物, 然而顺铂对患者的不良反应也较大, 因此采取协同治疗手段降低顺铂的使用剂量并提高其疗效是目前肺癌化疗的重要策略。

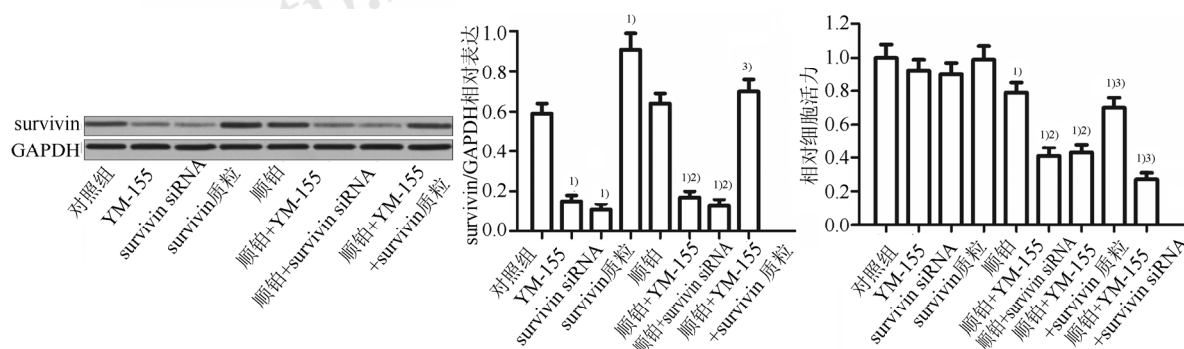


图 2 YM-155 通过 survivin 途径提高顺铂对 A549 细胞的杀伤活性($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

与对照组相比, ¹⁾ $P<0.05$; 与顺铂组相比, ²⁾ $P<0.05$; 与顺铂+YM-155 组相比, ³⁾ $P<0.05$ 。

Fig. 2 YM-155 enhanced the cytotoxicity of cisplatin to through the survivin pathway($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Compared with control group, ¹⁾ $P<0.05$; compared with cisplatin group, ²⁾ $P<0.05$; compared with cisplatin+YM-155 group, ³⁾ $P<0.05$ 。

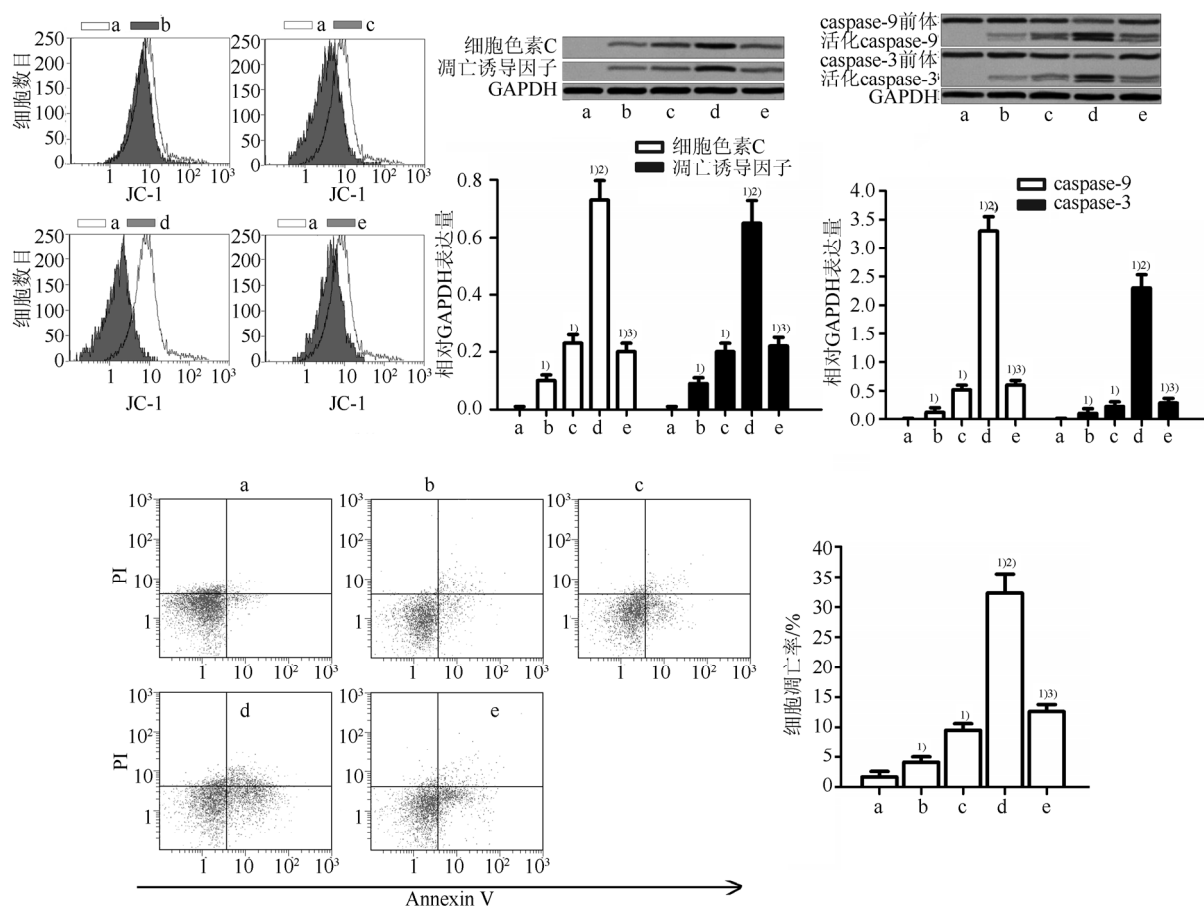


图3 YM-155促进顺铂诱导的线粒体途径凋亡($\bar{x} \pm s, n=3$)

a-对照组; b-YM-155组; c-顺铂组; d-顺铂+YM-155; e-顺铂+YM-155+survivin质粒; 与对照组相比, ¹⁾ $P<0.05$; 与顺铂组相比, ²⁾ $P<0.05$; 与顺铂+YM-155组相比, ³⁾ $P<0.05$ 。

Fig. 3 YM-155 promoted the cisplatin-induced mitochondrial apoptosis in A549 cells($\bar{x} \pm s, n=3$)

a-control group; b-YM-155 group; c-cisplatin group; d-cisplatin+YM-155; e-cisplatin+YM-155+survivin; compared with control group, ¹⁾ $P<0.05$; compared with cisplatin group, ²⁾ $P<0.05$; compared with cisplatin+YM-155 group, ³⁾ $P<0.05$ 。

本研究结果显示, YM-155能明显增强各种浓度顺铂的抗非小细胞肺癌活性, 明显降低顺铂对非小细胞肺癌细胞的 IC_{50} , 表明YM-155可以作为协同治疗药物降低顺铂的使用剂量, 提高肺癌细胞对顺铂的敏感性。

Survivin是细胞内重要的抗凋亡蛋白, 属于凋亡抑制蛋白(inhibitor of apoptosis protein, IAP)家族成员。有研究报道^[15-17], survivin在诸如乳腺癌、宫颈癌、膀胱癌等多种肿瘤细胞中高表达, 并且survivin表达水平越高, 肿瘤患者的预后越差, 病程进展越快。在肿瘤细胞的凋亡途径中, 抗凋亡蛋白survivin的高表达能抑制线粒体内凋亡活性物质的释放和凋亡执行蛋白caspase-9、caspase-3的活化^[18-19]。因此, 肿瘤细胞中survivin的过表达将降低其对化疗的敏感性。本研究的机制性实验结果表明, YM-155能明显抑制非小细胞肺癌细胞

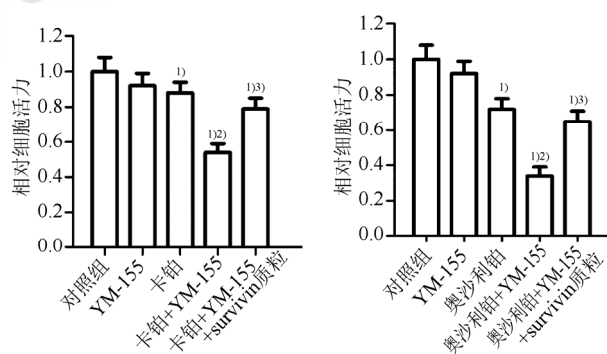


图4 YM-155增强卡铂和奥沙利铂的抗非小细胞肺癌活性($\bar{x} \pm s, n=3$)

与对照组相比, ¹⁾ $P<0.05$; 与卡铂/奥沙利铂组相比, ²⁾ $P<0.05$; 与卡铂/奥沙利铂+YM-155组相比, ³⁾ $P<0.05$ 。

Fig. 4 Adjuvant effect of YM-155 on carboplatin and oxaliplatin-induced cytotoxicity against A549 cells($\bar{x} \pm s, n=3$)

Compared with control group, ¹⁾ $P<0.05$; compared with carboplatin/oxaliplatin group, ²⁾ $P<0.05$; compared with carboplatin/oxaliplatin+YM-155 group, ³⁾ $P<0.05$ 。

中 survivin 蛋白的表达水平,从而减弱了非小细胞肺癌细胞对凋亡信号的抵抗性。在顺铂治疗下,肺癌细胞的 DNA 发生损伤继而激活细胞的凋亡通路。在 YM-155 的作用下,肺癌细胞中抗凋亡蛋白 survivin 表达减少,使顺铂依赖的凋亡信号更易使非小细胞肺癌细胞进入线粒体途径的凋亡,表现为肿瘤细胞线粒体膜电位的显著下降,线粒体失能,从而使细胞色素 C 和凋亡诱导因子等凋亡活性分子从线粒体中释放到细胞质中^[20-21],活化下游的凋亡执行蛋白 caspase-9 和 caspase-3,最终使非小细胞肺癌细胞发生凋亡性死亡。

除此之外,本研究还发现了 YM-155 对铂类化疗药物抗肺癌活性的增强作用具有广泛性,对多种铂类化疗药物的抗非小细胞肺癌活性均有很好的增效作用。这些研究为临床上降低化疗药物的使用剂量,提高肺癌的化疗敏感性提供了新的策略和思路。

REFERENCES

- [1] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2016 [J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(1): 7-30.
- [2] LI J. Effect and mechanism of MiR-382 on cytotoxicity of γ DT cells to lung cancer [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2018, 35(1): 24-28.
- [3] LI J, CHEN R, JI M, et al. Cisplatin-based chronotherapy for advanced non-small cell lung cancer patients: a randomized controlled study and its pharmacokinetics analysis [J]. Cancer Chemother Pharmacol, 2015, 76(3): 651-655.
- [4] XU Y, YU F, CUI J H, et al. MCL-1 siRNA reverses the chemoresistance of cisplatin-resistant SW480 cells via the pathway of mitochondrial apoptosis [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2016, 33(7): 883-888.
- [5] PEI K, ZHU J J, GUO J Y, et al. MicroRNA-185-5p modulates chemosensitivity of human non-small cell lung cancer to cisplatin via targeting ABCC1 [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2016, 20(22): 4697-4704.
- [6] XIE S, TU Z, ZHANG Q, et al. CXCR4 promotes cisplatin-resistance of non-small cell lung cancer in a CYP1B1-dependent manner [J]. Oncol Rep, 2017, 37(2): 921-928.
- [7] HU Y, HONG Y, XU Y, et al. Inhibition of the JAK/STAT pathway with ruxolitinib overcomes cisplatin resistance in non-small-cell lung cancer NSCLC [J]. Apoptosis, 2014, 19(11): 1627-1636.
- [8] RAUCH A, HENNIG D, SCHÄFER C, et al. Survivin and YM155: how faithful is the liaison [J]. Biochim Biophys Acta, 2014, 1845(2): 202-220.
- [9] KELLY R J, THOMAS A, RAJAN A, et al. A phase I / II study of sepantronium bromide (YM155, survivin suppressor) with paclitaxel and carboplatin in patients with advanced non-small-cell lung cancer [J]. Ann Oncol, 2013, 24(10): 2601-2606.
- [10] AOYAMA Y, KAIBARA A, TAKADA A, et al. Population pharmacokinetic modeling of sepantronium bromide (YM155), a small molecule survivin suppressant, in patients with non-small cell lung cancer, hormone refractory prostate cancer, or unresectable stage III or IV melanoma [J]. Invest New Drugs, 2013(31): 443-451.
- [11] PRATHAPAN A, VINEETHA V P, RAGHU K G. Protective effect of *Boerhaavia diffusa* L. against mitochondrial dysfunction in angiotensin II induced hypertrophy in H9c2 cardiomyoblast cells [J]. PLoS One, 2014, 9(4): e96220.
- [12] CLEMENS M R, GLADKOV O A, GARTNER E, et al. Phase II, multicenter, open-label, randomized study of YM155 plus docetaxel as first-line treatment in patients with HER2-negative metastatic breast cancer [J]. Breast Cancer Res Treat, 2015, 149(1): 171-179.
- [13] PAPADOPOULOS K P, LOPEZ-JIMENEZ J, SMITH S E, et al. A multicenter phase II study of sepantronium bromide (YM155) plus rituximab in patients with relapsed aggressive B-cell Non-Hodgkin lymphoma [J]. Leuk Lymphoma, 2016, 57(8): 1848-1855.
- [14] KOIKE H, NITTA T, SEKINE Y, et al. YM155 reverses rapamycin resistance in renal cancer by decreasing survivin [J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2014, 140(10): 1705-1713.
- [15] LI Y, MA X, WU X, et al. Prognostic significance of survivin in breast cancer: meta-analysis [J]. Breast J, 2014, 20(5): 514-524.
- [16] CAO X Q, LU H S, ZHANG L, et al. MEKK3 and survivin expression in cervical cancer: association with clinicopathological factors and prognosis [J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2014, 15(13): 5271-5276.
- [17] ABD EL-HAKIM T F, EL-SHAFFIE M K, ABDOL A G, et al. Value of urinary survivin as a diagnostic marker in bladder cancer [J]. Anal Quant Cytopathol Histopathol, 2014, 36(3): 121-127.
- [18] MINODA M, KAWAMOTO T, UEHA T, et al. Antitumor effect of YM155, a novel small-molecule survivin suppressant, via mitochondrial apoptosis in human MFH/UPS [J]. Int J Oncol, 2015, 47(3): 891-899.
- [19] JANE E P, PREMKUMAR D R, DIDOMENICO J D, et al. YM-155 potentiates the effect of ABT-737 in malignant human glioma cells via survivin and Mcl-1 downregulation in an EGFR-dependent context [J]. Mol Cancer Ther, 2013, 12(3): 326-338.
- [20] JIANG L, LI L, HE X, et al. Overcoming drug-resistant lung cancer by paclitaxel loaded dual-functional liposomes with mitochondria targeting and pH-response [J]. Biomaterials, 2015(52): 126-139.
- [21] MOREIRA A C, BRANCO A F, SAMPAIO S F, et al. Mitochondrial apoptosis-inducing factor is involved in doxorubicin-induced toxicity on H9c2 cardiomyoblasts [J]. Biochim Biophys Acta, 2014, 1842(12 Pt A): 2468-2478.

收稿日期: 2018-10-27

(本文责编: 曹粤锋)