

雷公藤甲素对鼻咽癌细胞 P-gp 表达与功能的影响

王 秀¹, 朱 娜¹, 李见春¹, 吴传斌^{1,2}, 王清清^{1*}

(1. 蚌埠医学院药学院, 安徽 蚌埠 233030; 2. 中山大学药学院, 广东 广州 510006)

摘要: 探讨雷公藤甲素对鼻咽癌 HNE1 细胞 P-gp 蛋白表达与功能的影响。MTT 法测定 HNE1 细胞的存活率; 流式细胞仪测定多柔比星在细胞内的蓄积水平及 P-gp 对其底物分子罗丹明 123 (Rhodamine123, Rh) 的外排作用; Western blot 测定 HNE1 细胞 P-gp 表达水平; ATP 试剂盒测定细胞内 ATP 水平; JC-1 染色法测定细胞线粒体膜电位的变化。结果显示, 雷公藤甲素、多柔比星均可抑制鼻咽癌细胞 HNE1 的增殖, 二者合用能显著增加抑制率; 雷公藤甲素显著增加 HNE1 细胞内多柔比星的浓度, 抑制对 Rh 外排作用 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 下调细胞 P-gp 表达; 雷公藤甲素可显著降低细胞内 ATP 的水平 ($P < 0.05$); JC-1 染色显示雷公藤甲素可降低细胞线粒体膜电位。提示雷公藤甲素能抑制 P-gp 表达及功能, 增加肿瘤细胞内药物浓度, 增强化疗药物的细胞毒性作用。

关键词: 雷公藤甲素; 鼻咽癌; P-糖蛋白; 耐药性

中图分类号: R966

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2018) 07-1107-06

Effect of triptolide on the expression and function of P-gp in nasopharyngeal cancer cells

WANG Xiu¹, ZHU Na¹, LI Jian-chun¹, WU Chuan-bin^{1,2}, WANG Qing-qing^{1*}

(1. School of Pharmacy, Bengbu Medical College, Bengbu 233030, China;

2. School of Pharmaceutical Sciences, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510006, China)

Abstract: This study is designed to investigate the effect of triptolide on the function and expression of P-glycoprotein (P-gp) in HNE1 nasopharyngeal cancer cells. MTT assay was used to test cell viability. Intracellular doxorubicin content was evaluated with flow cytometry. Rhodamine 123 (Rh) was used to detect the excretion function of P-gp. The expression of P-gp was analyzed by Western blot. ATP levels were evaluated. JC-1 staining was used to determining mitochondrial membrane potential (MMP). Triptolide, doxorubicin and the combination treatment all had the inhibitory effect to HNE1 cells, and the combination treatment had the best effect. Triptolide increased intracellular concentration of doxorubicin and Rh ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), inhibited the excretion function of P-gp. The expression of P-gp was reduced greatly in the middle and high dose group of triptolide. The ATP levels were decreased significantly ($P < 0.05$). JC-1 staining showed that triptolide mediated the down-regulation of MMP in HNE1 cells. Triptolide could increase intracellular drug content and enhance cytotoxicity of chemotherapeutics by inhibition of the expression and the excretion function of P-gp.

Key words: triptolide; nasopharyngeal cancer; P-glycoprotein; drug resistance

收稿日期: 2018-01-16; 修回日期: 2018-02-05.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81502994); 蚌埠医学院科研项目 (BYKY1765).

*通讯作者 Tel: 86-552-3175233, E-mail: 16388047@qq.com

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2018-0064

虽然随着医疗水平的不断提高, 癌症治疗领域取得了许多重大进展, 但化疗耐药一直是临床肿瘤治疗的难题, 一些资料显示, 90% 以上癌症相关的死亡与肿瘤多药耐药 (MDR) 有关^[1,2]。造成肿瘤 MDR 的机制比较复杂。P 糖蛋白 (P-glycoprotein, P-gp) 的

过量表达或功能改变等是肿瘤多药耐药的重要机制之一^[3,4]。P-gp 是一种相对分子质量为 170 kD 的跨膜糖蛋白,是依赖 ATP 供能的“药泵”,可将细胞内药物泵出细胞外,减少细胞内累积的化疗药物,降低药物对肿瘤细胞毒性作用,而呈现典型 MDR 表型^[5-8]。抑制 P-gp 蛋白表达及功能是克服肿瘤 MDR 的一个理想治疗策略。

雷公藤甲素 (TPL) 是从卫矛科雷公藤属植物中分离的一种环氧二萜类单体内酯化合物,具有强效的抗肿瘤作用^[9,10]。研究发现,雷公藤甲素可抑制多种肿瘤的增殖,并可增强肿瘤细胞对化疗药的敏感性^[11,12]。但其对多药耐药蛋白 P-gp 的作用及机制报道较少。本课题拟以鼻咽癌 HNE1 细胞株为载体,考察雷公藤甲素对 P-gp 功能及表达的影响,初步探讨雷公藤甲素增加肿瘤对化疗药物敏感性的作用机制。

材料与方法

试剂 雷公藤甲素 (天津美伦医药集团); 二甲亚砷配成 $5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 贮液, -20°C 保存。HNE1 细胞株,蚌埠医学院药学院生化药理实验中心提供。多柔比星 (浙江海正药业股份有限公司); 罗丹明 (rhodamine123, Rh; 北京泛博生物化学有限公司); RPMI 1640 培养基 (Gibco 公司)。JC-1 染色试剂盒、鼠抗人 β -actin 抗体 (Santa Cruz 公司); 兔抗人 P-gp 抗体 (Abcam 公司)。

细胞培养 HNE1 细胞接种于新鲜 RPMI 1640 培养液中,内含青霉素 ($1 \times 10^5 \text{ u} \cdot \text{L}^{-1}$)、链霉素 ($100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)、10% 新生小牛血清和 NaHCO_3 ($33.7 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$),于饱和湿度、体积分数 5% CO_2 、 37°C 培养箱中培养,2~3 天传代 1 次。

MTT 法测定细胞活性 将对数生长的 HNE1 细胞悬液以 6.5×10^3 个/孔接种于 96 孔细胞培养板。贴壁生长过夜,以不同浓度的药液:雷公藤甲素 (0、12.5、25、50 和 $100 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$),多柔比星 (0、0.1、0.2、0.4 和 $0.8 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$),雷公藤甲素 $12.5 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 联合各浓度多柔比星 (0、0.1、0.2、0.4 和 $0.8 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 处理 24、48 h,加入 MTT 液 $20 \mu\text{L}$ (PBS 配成 $5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$), CO_2 培养箱内孵育 4 h,弃上清,每孔加 DMSO $150 \mu\text{L}$, 37°C 处理 0.5 h,酶标仪上检测波长 570 nm 处测定吸光度 (A) 值,计算细胞存活率:细胞存活率/% = $(A_{\text{实验组}} - A_{\text{调零组}}) / (A_{\text{对照组}} - A_{\text{调零组}}) \times 100\%$ 。实验重复 3 次。

流式细胞仪测定细胞内多柔比星的浓度 将贴壁生长的 HNE1 细胞用胰酶消化、悬浮,以 1.5×10^5 个/孔接种于 6 孔培养板,贴壁生长 24 h,弃培养液,给予雷公藤甲素 (12.5 、 25 和 $50 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 4 h 后,弃药液,每孔加入雷公藤甲素和多柔比星药液,使其终浓度分别为 12.5 、 25 、 $50 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 雷公藤甲素和 $0.2 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 多柔比星,继续培养 6 h。弃药液,冰冷 PBS 洗 3 遍,胰酶消化, $800 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min,收集细胞,用 1 mL 冰冷 PBS 重悬细胞,流式细胞仪测定。

流式细胞仪测定细胞内罗丹明的浓度 贴壁生长的 HNE1 细胞消化、悬浮,以 1.5×10^5 个/孔接种于 6 孔培养板,贴壁生长过夜,给予雷公藤甲素 (12.5 、 25 和 $50 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 处理 4 h,弃药液,每孔加入雷公藤甲素和罗丹明溶液,使其终浓度分为雷公藤甲素 (12.5 、 25 和 $50 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$),罗丹明 $0.5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$,继续培养 4 h。弃药液,冰冷 PBS 洗 2 遍,加入新鲜培养液继续培养 2 h,胰酶消化, $800 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min,收集细胞,用 RPMI 1640 培养液 1 mL 重悬细胞,流式细胞仪测定。

蛋白免疫印迹实验测定 P-gp 的表达 将指数生长的 HNE1 细胞消化、悬浮,按 6.1×10^5 个/孔,接种于 6 孔板,贴壁过夜,弃培养液,加药处理 24 h,冰上用细胞全蛋白抽提试剂盒提取蛋白,BCA 蛋白定量试剂盒测定蛋白质浓度。SDS-PAGE 电泳,转膜至 PVDF 膜;以 5% 脱脂牛奶封闭 24 h,一抗 4°C 孵育过夜,二抗室温孵育 2 h,用 Bio-Rad 凝胶成像系统获取图像。

ATP 水平测定 将细胞以 7×10^3 个/孔接种于 96 孔培养板,贴壁过夜,给药处理 24 h。用发光细胞活力检测试剂盒 (Promega 公司) 测定细胞内 ATP 水平,检测方法按照说明书进行。采用酶标仪测定光密度值。

JC-1 染色法测定细胞线粒体膜电位的变化 指数生长的细胞消化、悬浮、计数,以 1×10^5 个/孔接种于 12 孔培养板,贴壁过夜,弃培养液,加入新鲜的含药培养液,培养 24 h,按 JC-1 说明书加入 JC-1 染色液, 37°C 避光孵育 0.5 h,冷染色缓冲液洗涤 2 次,加入新鲜的 RPMI 1640 培养液 1 mL ,于荧光显微镜下观察拍照。

统计学方法 数据采用 SPSS 17.0 统计学软件进行统计分析,采用方差分析进行组间检验,数据以均数 \pm 标准差表示。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结果

1 雷公藤甲素及多柔比星对鼻咽癌 HNE1 细胞的抑制作用

雷公藤甲素具有抑制鼻咽癌 HNE1 细胞增殖的作用, 且呈浓度依赖性。实验中选用较低浓度的多柔比星与雷公藤甲素合用。当低浓度的雷公藤甲素 ($12.5 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 与实验中各浓度的多柔比星合用时细胞毒作用明显增强, 并呈现时间依赖性 (图 1)。

2 雷公藤甲素介导的多柔比星细胞内富集作用

各种原因引起的肿瘤细胞内药物浓度的减少是化疗药毒性降低、治疗失败的主要因素, 也是肿瘤耐药的原因之一。增加肿瘤细胞内药物浓度, 是提高化疗药毒性、增加化疗有效性的最根本途径。实验显示雷公藤甲素可增加 HNE1 细胞内多柔比星浓度, 实现化疗药物在细胞内的富集, 且该作用与雷公藤甲素剂量成正相关 (图 2A)。

3 雷公藤甲素对 P-gp 细胞外泌药功能的抑制作用

P-gp 作为药物外排“泵”, 可减少细胞内药物浓度, 降低药物对肿瘤细胞的毒性作用。抑制 P-gp 向细胞外泌药, 可增加细胞内药物浓度, 增强药物对细胞的毒性作用。实验以 P-gp 的底物分子荧光剂 Rh 测定 P-gp 的外排功能。结果显示, 雷公藤甲素处理后的 HNE1 细胞内 Rh 荧光强度较对照组有显著增加 (图 2B), 且该作用呈剂量依赖性。表明雷公藤甲素抑制了 P-gp 向细胞外分泌 Rh 的作用。

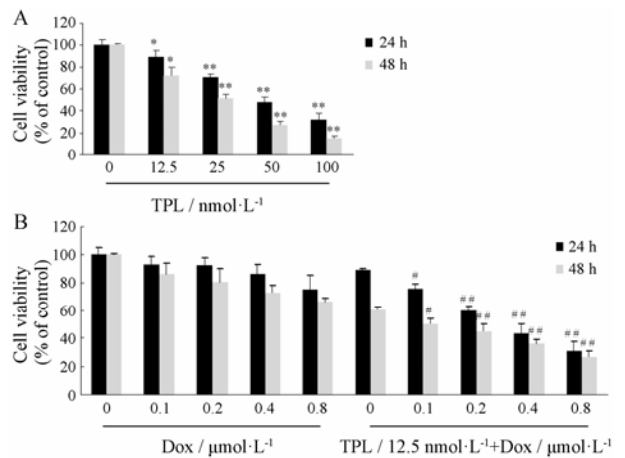


Figure 1 The effects on viability of HNE1 cells by drugs. A: The inhibition effect on HNE1 cells by triptolide. HNE1 cells were exposed to varying concentrations of TPL ($0-100 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$) for 24–48 h. B: Cells were exposed to different concentrations of Dox ($0.1-0.8 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) or/and combination with TPL ($12.5 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$) for 24, 48 h. Cell viability was assessed by MTT assay. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs control; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ vs Dox at the indicated time and concentration. Dox: Doxorubicin; TPL: Triptolide

4 雷公藤甲素对 HNE1 细胞内 P-gp 表达的抑制作用

P-gp 在多种肿瘤内高表达, 是肿瘤多药耐药的主要原因之一。抑制 P-gp 的表达, 在一定程度上可降低肿瘤的耐药性, 增加肿瘤细胞对化疗药物的敏感性。蛋白免疫印迹实验表明雷公藤甲素具有抑制 HNE1 细胞表达 P-gp 的作用 (图 3A)。

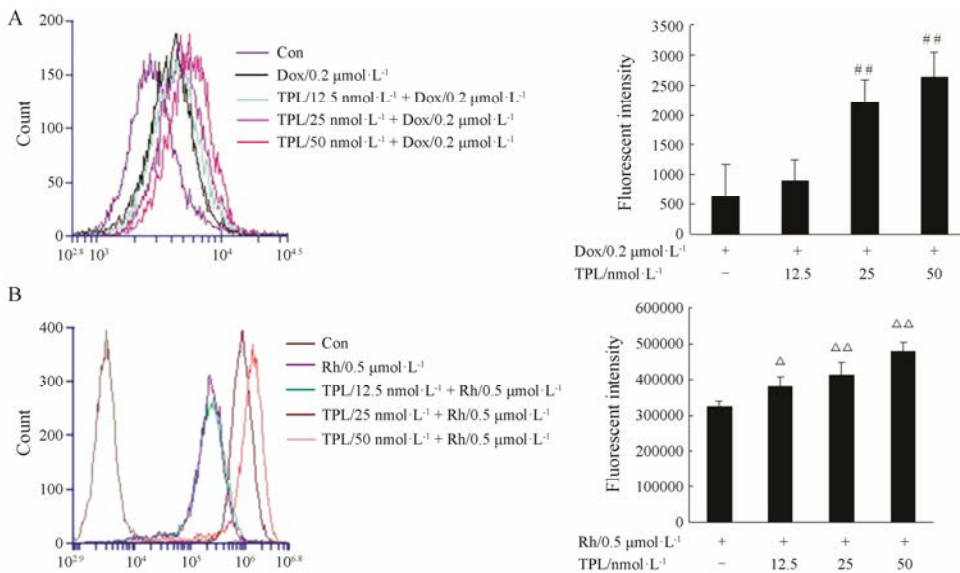


Figure 2 Accumulation effects of Dox and rhodamine 123 (Rh) in HNE1 cells induced by triptolide. A: HNE1 cells were pre-treated for 4 h with varying doses of TPL ($0-50 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$), then co-treated with Dox ($0.2 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) for 6 h, finally intra-cellular accumulation of Dox detected by flow cytometer. B: HNE1 cells were pre-treated for 4 h with varying doses of TPL ($0-50 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$), then co-treated with Rh ($0.5 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) for 4 h, finally intra-cellular accumulation of Rh detected by flow cytometer. ## $P < 0.01$ vs Dox; $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$ vs Rh

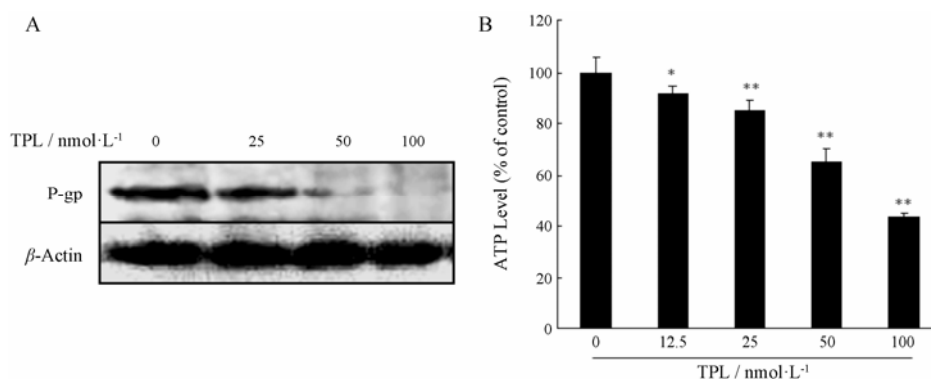


Figure 3 TPL inhibited the expression of P-gp and the level of ATP in HNE1 cells. A: The effects of TPL on the expression of P-gp evaluated by Western blot. HNE1 cells were cultured with TPL (25–100 nmol·L⁻¹) for 24 h, then analysed by Western blot. B: TPL reduced ATP generation in HNE1 cells. Cells were cultured with TPL (12.5–100 nmol·L⁻¹) for 24 h, then assessed by a luminescent cell viability assay kit. **P* < 0.05, ***P* < 0.01 vs control

5 雷公藤甲素对 HNE1 细胞内 ATP 水平的抑制作用

P-gp 是存在于细胞膜、依赖 ATP 供能的药物外排泵。因此, P-gp 发挥将抗癌药物由细胞内排至细胞外的功能离不开 ATP 提供能量。若下调细胞内 ATP 水平, P-gp 的功能势必受到干扰。实验结果显示, 雷公藤甲素具有下调 HNE1 细胞内 ATP 水平的作用(图 3B)。

6 雷公藤甲素降低 HNE1 细胞线粒体膜电位的作用

据 JC-1 染色试剂盒说明书, JC-1 可由完整的线粒体膜进入线粒体内部形成多聚体, 发出红色荧光, 当线粒体膜电位降低时 JC-1 难进入线粒体内, 而以 JC-1 单体的形式停留在细胞质内发出绿色荧光, 因此, 当

线粒体膜电位降低时红色荧光减弱, 绿色荧光增强。JC-1 结果显示, 随着雷公藤甲素浓度升高红色荧光减弱, 绿色荧光增强(图 4), 说明雷公藤甲素具有降低 HNE1 细胞线粒体膜电位, 诱导细胞凋亡的作用。

讨论

雷公藤甲素是雷公藤的主要有效成分之一, 除具有高效广谱的抗肿瘤作用外, 还具有强大的抗炎、抗免疫、抗老年性痴呆症及抗生殖等多种药理作用。是目前研究的热点物质之一。其对 P-gp 的作用及机制对其后续的开发与应用具有重要意义。本课题拟通过检测 HNE1 细胞内化疗药 Dox、P-gp 底物 Rh

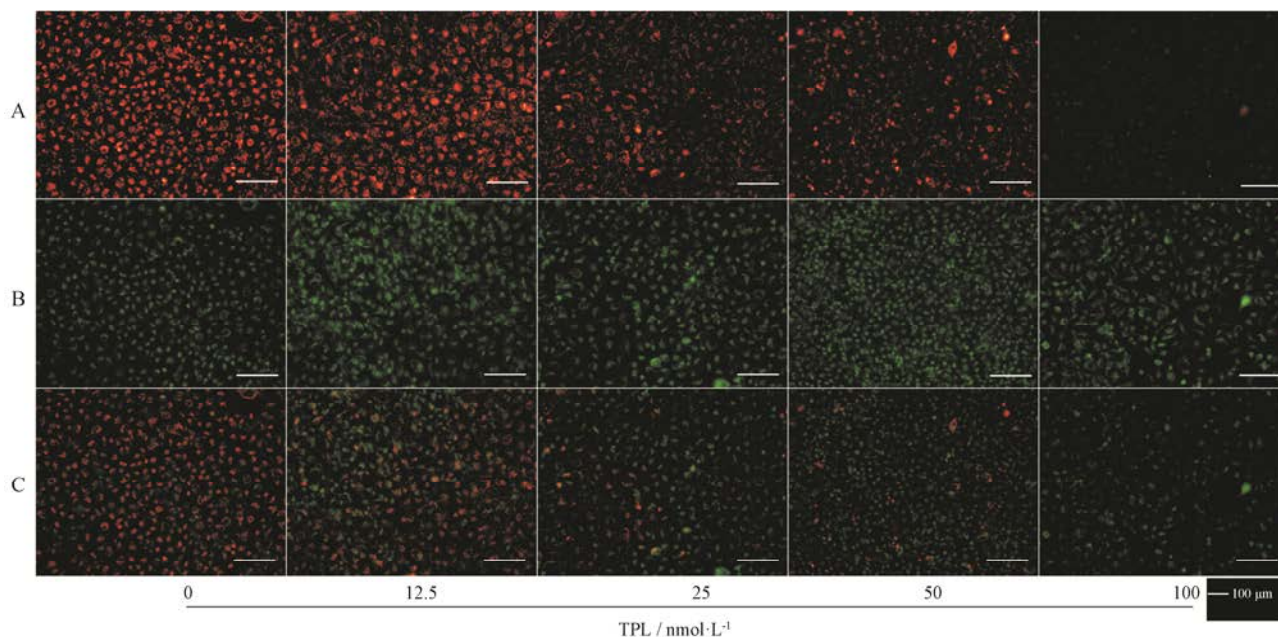


Figure 4 TPL mediated the decreasing of mitochondrial membrane potential in HNE1 cells. Cells were treated by TPL for 24 h, then stained by JC-1 cationic dye and observed under a fluorescent microscope. A: Red fluorescence; B: Green fluorescence; C: Merged of A and B

浓度, ATP 水平、P-gp 表达及线粒体膜电位变化, 阐明雷公藤甲素增加肿瘤细胞对化疗药敏感性作用的机制。通过流式细胞仪测定 HNE1 细胞内 Dox 浓度, 发现雷公藤甲素可使 Dox 蓄积于 HNE1 细胞。雷公藤甲素使药物在细胞内的蓄积作用是否通过抑制 P-gp 细胞外“泵”药功能实现呢? 实验进一步检测了 P-gp 底物 Rh 在细胞内的变化。研究发现各浓度组雷公藤甲素细胞内 Rh 荧光强度较对照组均显著提高 ($P < 0.05$), 表明雷公藤甲素可抑制 P-gp 的细胞外泌药功能。P-gp 是依赖 ATP 功能的 ABC 转运蛋白, 其向细胞外泌药功能依赖 ATP 提供能量^[13, 14]。对细胞内 ATP 水平进行了考察, 发现雷公藤甲素可显著降低 ATP 水平。而 ATP 主要来源于线粒体。线粒体是细胞的能量工厂, 为细胞生命活动提供 95% ATP。线粒体在氧化呼吸过程中, 将所产生的能量以电化学势能储存于线粒体内膜, 在内膜两侧造成质子及其他离子浓度的不对称分布而形成线粒体膜电位 (MMP)^[15]。正常的 MMP 是维持线粒体进行氧化磷酸化、产生三磷酸腺苷的先决条件, MMP 的稳定有利于维持细胞的正常生理功能^[16, 17]。实验结果显示, 雷公藤甲素能诱导 HNE1 细胞 MMP 下降。细胞内 ATP 水平的降低可能由 MMP 改变所致。雷公藤甲素抑制 P-gp 功能及蛋白表达, 可能与其诱导 MMP 降低, 进而阻碍了 ATP 的合成有关。

研究发现, 雷公藤甲素可增强化疗药顺铂、5-氟尿嘧啶等药物的细胞毒性^[18, 19], 甚至逆转一些肿瘤的耐药性^[20, 21]。雷公藤甲素是细胞凋亡的强效诱导剂^[22], 可通过诱导氧化应激, 激活线粒体凋亡通路等诱导肿瘤细胞的凋亡^[23, 24]。课题组前期的研究发现, 雷公藤甲素可通过诱导氧化应激, 增加 ROS 水平, 改变肿瘤细胞内凋亡调控蛋白 Bcl-2、Bax 和 Mcl-1 表达, 激活 caspase 线粒体凋亡通路, 诱发 MMP 降低等, 诱导鼻咽癌 CNE-2Z 及 HNE1/DDP 细胞的凋亡, 增加耐顺铂细胞株 HNE1/DDP 对顺铂的敏感性^[25, 26]。因此, 雷公藤甲素抑制 P-gp 功能及蛋白表达, 可能通过诱导氧化应激, 改变凋亡调控蛋白 Bcl-2、Bax 和 Mcl-1 水平, 降低 MMP, 进而阻断了能量代谢。

总之, 雷公藤甲素不仅可抑制鼻咽癌细胞株 HNE1 的增殖, 还可抑制 P-gp 功能及蛋白表达水平, 作用机制可能通过诱导氧化应激, 激活线粒体凋亡通路, 诱导 MMP 降低, 进而阻碍了 ATP 的合成。本研究初步阐明了雷公藤甲素增加化疗药物毒性、增强肿瘤细胞对化疗药敏感性的作用机制, 更深入的作用机制有待进一步研究。

References

- [1] Liu T, Li Z, Zhang Q, et al. Targeting ABCB1 (MDR1) in multi-drug resistant osteosarcoma cells using the CRISPR-Cas9 system to reverse drug resistance [J]. *Oncotarget*, 2016, 7: 83502–83513.
- [2] Kimura Y, Morita SY, Matsuo M, et al. Mechanism of multidrug recognition by MDR1/ABCB1 [J]. *Cancer Sci*, 2007, 98: 1303–1310.
- [3] Esser L, Zhou F, Pluchino KM, et al. Structures of the multidrug transporter P-glycoprotein reveal asymmetric ATP binding and the mechanism of polyspecificity [J]. *J Biol Chem*, 2016, 292: 446–461.
- [4] Dizdarevic S, Peters AM. Imaging of multidrug resistance in cancer [J]. *Cancer Imag*, 2011, 11: 1–8.
- [5] Subramanian N, Condic-Jurkic K, O'Mara ML. Structural and dynamic perspectives on the promiscuous transport activity of P-glycoprotein [J]. *Neurochem Int*, 2016, 98: 146–152.
- [6] Ieiri I. Functional significance of genetic polymorphisms in P-glycoprotein (MDR1, ABCB1) and breast cancer resistance protein (BCRP, ABCG2) [J]. *Drug Metab Pharmacokinet*, 2012, 27: 85–105.
- [7] Shaffer BC, Gillet JP, Patel C, et al. Drug resistance: still a daunting challenge to the successful treatment of AML [J]. *Drug Resist Updat*, 2012, 15: 62–69.
- [8] Sarkadi B, Homolya L, Szakács G, et al. Human multidrug resistance ABCB and ABCG transporters: participation in a chemoimmunity defense system [J]. *Physiol Rev*, 2006, 86: 1179–1236.
- [9] Ziaei S, Halaby R. Immunosuppressive, anti-inflammatory and anti-cancer properties of triptolide: a mini review [J]. *Avicenna J Phytomed*, 2016, 6: 149–164.
- [10] Hu H, Luo L, Liu F, et al. Anti-cancer and sensibilisation effect of triptolide on human epithelial ovarian cancer [J]. *J Cancer*, 2016, 7: 2093–2099.
- [11] Meng CC, Zhu HC, Song HM, et al. Targets and molecular mechanisms of triptolide in cancer therapy [J]. *Chin J Cancer Res*, 2014, 26: 622–626.
- [12] Xie CQ, Zhou P, Zuo J, et al. Triptolide exerts pro-apoptotic and cell cycle arrest activity on drug-resistant human lung cancer A549/Taxol cells via modulation of MAPK and PI3K/Akt signaling pathways [J]. *Oncol Lett*, 2016, 12: 3586–3590.
- [13] Hu T, Li Z, Gao CY, et al. Mechanisms of drug resistance in colon cancer and its therapeutic strategies [J]. *World J Gastroenterol*, 2016, 22: 6876–6889.
- [14] Yamaguchi T. Structural and pharmacological studies of an ABC multidrug transporter [J]. *Yakugaku Zasshi*, 2016, 136:

- 197–202.
- [15] Marreiros BC, Calisto F, Castro PJ, et al. Exploring membrane respiratory chains [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2016, 1857: 1039–1067.
- [16] Poole OV, Hanna MG, Pitceathly RD, et al. Mitochondrial disorders: disease mechanisms and therapeutic approaches [J]. *Discov Med*, 2015, 20: 325–331.
- [17] Liu AY, Hou XS, Ding Y. Advances of antineoplastic agents based on mitochondrial targeting mechanism [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)* 2017, 52: 879–887.
- [18] Qiao Z, He M, He MU, et al. Synergistic antitumor activity of gemcitabine combined with triptolide in pancreatic cancer cells [J]. *Oncol Lett*, 2016, 11: 3527–3533.
- [19] Xiong J, Su T, Qu Z, et al. Triptolide has anticancer and chemosensitization effects by down-regulating Akt activation through the MDM2/REST pathway in human breast cancer [J]. *Oncotarget*, 2016, 7: 23933–23946.
- [20] Wang C, Liu B, Xu X, et al. Toward targeted therapy in chemotherapy-resistant pancreatic cancer with a smart triptolide nanomedicine [J]. *Oncotarget*, 2016, 7: 8360–8372.
- [21] Jiang N, Dong XP, Zhang SL, et al. Triptolide reverses the taxol resistance of lung adenocarcinoma by inhibiting the NF- κ B signaling pathway and the expression of NF- κ B-regulated drug-resistant genes [J]. *Mol Med Rep*, 2016, 13: 153–159.
- [22] Hua HY, Gao HQ, Sun AN, et al. Arsenic trioxide and triptolide synergistically induce apoptosis in the SKM-1 human myelodysplastic syndrome cell line [J]. *Mol Med Rep*, 2016, 14: 4180–4186.
- [23] Ding X, Zhou X, Jiang B, et al. Triptolide suppresses proliferation, hypoxia-inducible factor-1 α and c-Myc expression in pancreatic cancer cells [J]. *Mol Med Rep*, 2015, 12: 4508–4513.
- [24] Wen L, Chen Y, Zeng LL, et al. Triptolide induces cell apoptosis by targeting H3K4me3 and downstream effector proteins in KM3 multiple myeloma cells [J]. *Curr Pharm Biotechnol*, 2015, 17: 147–160.
- [25] Wang X, Zhang JJ, Zhang P, et al. Effect of triptolide on apoptosis of nasopharynx cancer [J]. *Chin Pharm Bull (中国药理学通报)*, 2014, 30: 1147–1150.
- [26] Wang X, Zhang JJ, Sun YM, et al. Triptolide induces apoptosis and synergizes with cisplatin in cisplatin-resistant HNE1/DDP nasopharyngeal cancer cells [J]. *Folia Biologica (Praha)*, 2015, 61: 195–202.