

• 论 著 •

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2020.14.003

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20200305.0925.002.html\(2020-03-05\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20200305.0925.002.html(2020-03-05))

佛手柑内酯抑制 EBI3/STAT3 信号增强结肠癌细胞对 5-Fu 化疗敏感性的研究^{*}

梁艳芳¹,叶子瑜²,马 燕²,陈 灿¹,林碧华²,曾今诚^{2,3△}

(1. 东莞市滨海湾中心医院/暨南大学附属东莞医院病理科,广东东莞 523905;

2. 广东医科大学东莞市医学活性分子开发与转化重点实验室,广东东莞 523808;

3. 广东医科大学广东省医学分子诊断重点实验室,广东东莞 523808)

[摘要] **目的** 探究佛手柑内酯(Bg)对结肠癌细胞 5-氟尿嘧啶(5-Fu)耐药性的影响及其机制。**方法** 采用 Bg 作用人结肠癌 SW1116/5-Fu 和 LoVo/5-Fu 耐药细胞系;CCK-8 法检测细胞增殖能力;Western blot 检测 Bcl-2、Bax、EB 病毒诱导基因 3(EBI3)、STAT3、磷酸化 STAT3(p-STAT3)、CYP1B1 和 MEKK2 蛋白质表达。

结果 Bg 作用 SW1116、SW1116/5-Fu、LoVo 和 LoVo/5-Fu 细胞后,5-Fu 作用细胞的半抑制浓度(IC₅₀)值明显降低($P<0.05$),尤其是 Bg 联合 EBI3 阻断剂作用细胞后,IC₅₀ 值明显下降($P<0.05$)。Western blot 检测结果显示,Bg 作用下 SW1116/5-Fu 和 LoVo/5-Fu 细胞 Bcl-2、EBI3、STAT3、p-STAT3、CYP1B1 和 MEKK2 蛋白质表达水平均明显降低,Bax 蛋白质表达水平明显升高。**结论** Bg 可能通过诱导细胞凋亡、抑制 EBI3/STAT3 信号通路及抑制耐药相关蛋白质 CYP1B1 和 MEKK2 表达增强结肠癌细胞对 5-Fu 的化疗敏感性。

[关键词] 结肠肿瘤;佛手柑内酯;氟尿嘧啶;抗药性;肿瘤;EB 病毒诱导基因 3

[中图法分类号] R735.3+5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2020)14-2255-04

Study on bergamot enhances the sensitivity of colorectal cancer cells to 5-Fluorouracil via inhibiting EBI3/STAT3 signaling pathway^{*}

LIANG Yanfang¹,YE Ziyu²,MA Yan²,CHEN Can¹,LIN Bihua²,ZENG Jincheng^{2,3△}

(1. Department of Pathology, Dongguan Hospital Affiliated to Jinan University/Marina Bay Central Hospital of Dongguan, Dongguan, Guangdong 523905, China; 2. Dongguan Key Laboratory of Medical Bioactive Molecular Developmental and Translational Research, Guangdong Medical University, Dongguan, Guangdong 523808, China; 3. Guangdong Provincial Key Laboratory of Medical Molecular Diagnostics, Guangdong Medical University, Dongguan, Guangdong 523808, China)

[Abstract] **Objective** To explore the effect of bergapten (Bg) on resistance to 5-Fluorouracil (5-Fu) in colorectal cancer cell lines, and analyse its mechanism. **Methods** The human colorectal cancer cell lines SW1116/5-Fu and LoVo/5-Fu resistant cell lines were treated with Bg. Cell proliferation ability was detected by using CCK-8. Western blot was used to detect Bcl-2, Bax, EBI3, STAT3, phosphorylated-STAT3 (p-STAT3), CYP1B1 and MEKK2 protein expression. **Results** The half-inhibitory concentration (IC₅₀) value of 5-Fu in SW1116, SW1116/5-Fu, LoVo and LoVo/5-Fu cells were significantly decreased after treated with Bg, especially after Bg combined with EBI3 acted on cells, the IC₅₀ value decreased significantly ($P<0.05$). The results of Western blot showed that the expression levels of Bcl-2, EBI3, STAT3, p-STAT3, CYP1B1 and MEKK2 were significantly decreased, while the expression levels of Bax were significantly increased in SW1116/5-Fu and LoVo/5-Fu cells, after treated with Bg. **Conclusion** Bg may enhance the chemotherapy sensitivity of colorectal cancer cells to 5-Fu via inducing apoptosis, inhibiting the EBI3/STAT3 signaling pathway, and inhibiting the expression of drug resistance-related proteins CYP1B1 and MEKK2.

[Key words] colonic neoplasms; bergapten; fluorouracil; drug resistance; neoplasm; epstein-barr virus-inducible gene 3

^{*} 基金项目:广东省基础与应用基础研究基金联合基金(粤莞)项目(2019A1515110042);广东省医学科研基金项目(A2018123);东莞市社会科技发展(一般)项目(2018507150251294)。

作者简介:梁艳芳(1984—),副主任医师,硕士,主要从事肿瘤病理学研究。△ 通信作者, E-mail: zengjc@gdmu.edu.cn。

近年来结直肠癌(CRC)发病率和病死率均呈上升趋势,近 25% 的患者在初诊时已发生转移,其中一半的患者最终发展为不能切除的转移癌^[1]。对于这部分患者,基于 5-氟尿嘧啶(5-Fu)、奥沙利铂(L-OHP)和伊立替康(Irinotecan)的化疗是其主要的治疗方式。目前,5-Fu 的单药有效率仅为 12%,L-OHP 的单药有效率为 12%,Irinotecan 的单药有效率为 18%,表明 CRC 患者存在对化疗药物的耐药性。长期以来本研究团队一直从事 CRC 的耐药及免疫病理机制研究,前期研究发现 EB 病毒诱导基因 3(EBI3)介导的 STAT3 信号通路参与了 CRC 细胞对卡铂和 5-Fu 的耐药过程^[2-3],提示 EBI3 可作为 CRC 细胞 5-Fu 化疗增敏的一个有效靶点。中药是一个巨大的药物分子宝库,寻找、筛选安全有效的靶向调节 EBI3 的药物是本课题组的研究重点。佛手柑内酯(bergapten, Bg),是一种呋喃香豆素类天然产物,又称 5-甲氧基补骨脂素,具有催眠、抗炎、镇静、增强免疫力和抑制肿瘤的作用,但其对 CRC 患者 5-Fu 耐药过程中 EBI3/STAT3 信号通路的作用研究报道较少。本实验通过在人结直肠癌细胞株 SW1116、LoVo、SW1116/5-Fu 和 LoVo/5-Fu 中给予不同浓度的 Bg 进行干预,观察 Bg 对人结直肠癌细胞 5-Fu 耐药性和对 EBI3/STAT3 信号通路的影响,为 Bg 作为抗肿瘤药物用于肝癌的治疗提供实验依据,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

人结直肠癌 SW1116、LoVo、SW1116/5-Fu 和 LoVo/5-Fu 细胞株、EBI3 阻断肽(sc-26797 P,美国 Santa Cruz 公司)由广东医科大学东莞市医学活性分子开发与转化重点实验室惠赠。其中,SW1116/5-Fu 和 LoVo/5-Fu 细胞株是实验室建立的能在 6.0 mg/L 的 5-Fu 中稳定生长的细胞系。RIPA 裂解液(强)、青霉素-链霉素溶液(100×)、二喹啉甲酸(BCA)蛋白浓度检测试剂盒(增强型)和 CCK-8 试剂盒购自碧云天生物公司;DMEM 完全培养基、胎牛血清(FBS)和胰蛋白酶(0.25%)购自美国 Gibco 公司;5-Fu 购自美国 Sigma 公司;Bcl-2、Bax、EBI3、STAT3、磷酸化 STAT3(p-STAT3)、细胞色素 P450 家族成员 1B1(CYP1B1)和有丝分裂原活化蛋白激酶激酶 2(MEKK2)抗体购自美国 Santa Cruz 公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞耐药性检测

分别将 1×10^3 个 SW1116、LoVo、SW1116/5-Fu 和 LoVo/5-Fu 细胞接种于 96 孔板,37 °C 5% CO₂ 饱和湿度的培养箱中培养 24、48、72 和 96 h 后,分别将 1、10 和 100 μmol/L Bg 和 EBI3 阻断肽(1 μg/mL)作

用于以上细胞 48~72 h 后,SW1116 和 LoVo 细胞在 0.5 mg/L 5-Fu 的 DMEM 完全培养液持续培养 24~48 h,SW1116/5-Fu 和 LoVo/5-Fu 细胞在 6.0 mg/L 5-Fu 的 DMEM 完全培养液持续培养 24~48 h。然后采用 CCK-8 试剂盒和酶标仪检测 450 nm 处的最佳吸光度(A_{450})值,并计算半抑制浓度(IC₅₀)值评价细胞耐药性。

1.2.2 Western blot 检测

1×10^5 个 SW1116/5-Fu 和 LoVo/5-Fu 细胞接种于 6 孔板,37 °C 5% CO₂ 饱和湿度的培养箱中培养 24 h 后,将不同浓度 Bg(1、10 和 100 μmol/L)作用于以上细胞 48~72 h 后,经磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤,加入适量裂解液,置于冰上裂解后提取总蛋白质,并采用 BCA 蛋白浓度检测试剂盒测定蛋白质浓度。采用 10% 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶(SDS-PAGE)电泳(120 V, 1 h)分离蛋白质,聚偏氟乙烯(PVDF)膜转膜(90 V, 2 h)后,10% 脱脂牛奶封闭 1 h。然后,分别采用 Bcl-2(1:200)、EBI3(1:200)、STAT3(1:100)、p-STAT3(1:100)、CYP1B1(1:200)和 MEKK2(1:200)摇床孵育过夜,以 β-actin 作为内参。TBST 洗涤后辣根过氧化物酶标记二抗(1:1000)室温孵育 2 h, TBST 洗膜 3 次,最后采用电化学发光(ECL)显色液显色,化学发光成像系统(ChemiDoc XRS)拍照。

1.3 统计学处理

采用 Graphpad Prism 5.0 软件进行数据分析,采用正态概率转化法计算 IC₅₀ 值, Image J 软件进行图片条带灰度值分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,比较采用 *t* 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Bg 对 CRC 细胞耐药性的影响

随着 Bg 作用浓度的增加,5-Fu 在非耐药的 SW1116 细胞的 IC₅₀ 值由原来的(1.55±0.21)mg/L 下降至(0.75±0.14)mg/L,在 LoVo 细胞的 IC₅₀ 值由原来的(1.78±0.26)mg/L 下降至(0.66±0.16)mg/L,差异有统计学意义($t = 3.170, P < 0.05; t = 3.669, P < 0.05$)。同样,随着 Bg 作用浓度的增加,5-Fu 在耐药的 SW1116/5-Fu 细胞的 IC₅₀ 值由原来的(22.40±3.17)mg/L 下降至(5.17±1.33)mg/L,在 LoVo/5-Fu 细胞的 IC₅₀ 值由原来的(36.20±5.12)mg/L 下降至(8.30±3.45)mg/L,差异均有统计学意义($t = 5.012, P < 0.01; t = 4.519, P < 0.05$),见图 1。

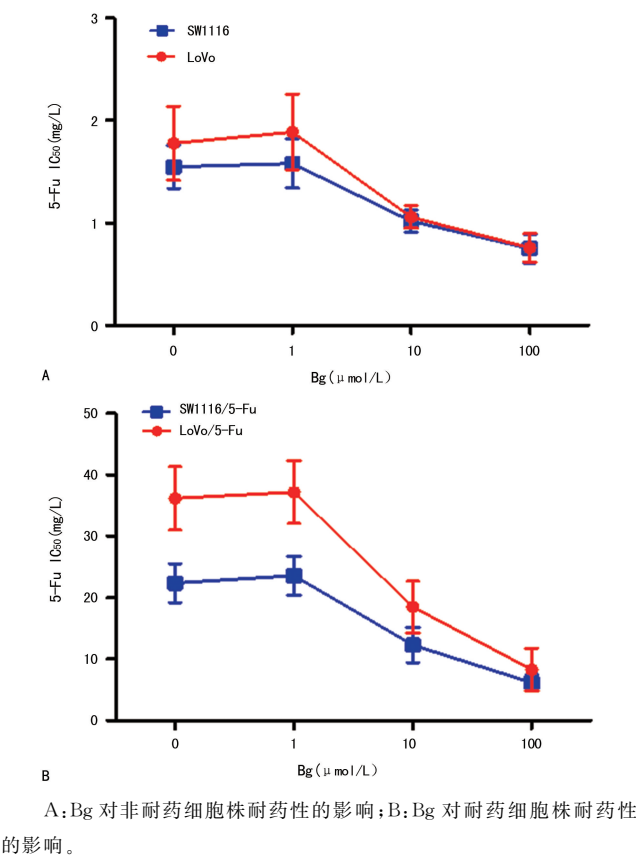


图 1 Bg 对 CRC 细胞耐药性的影响

2.2 Bg 对 CRC 细胞 Bcl-2 和 Bax 表达的影响

Western blot 检测细胞凋亡相关蛋白质的表达, 结果显示, 随着 Bg 作用浓度的增加, SW1116/5-Fu 和 LoVo/5-Fu 细胞 Bcl-2 相对表达水平明显降低, Bax 相对表达水平明显增加, 见图 2。

2.3 Bg 对 CRC 细胞 CYP1B1 和 MEKK2 表达的影响

Western blot 检测 5-Fu 耐药相关蛋白质的表达, 结果显示, 随着 Bg 作用浓度的增加, SW1116/5-Fu 和 LoVo/5-Fu 细胞 CYP1B1 和 MEKK2 相对表达水平明显降低, 见图 3。

2.4 Bg 对 CRC 细胞 EBI3、STAT3 和 p-STAT3 表达的影响

Western blot 检测 CRC 细胞 EBI3、STAT3 和 p-STAT3 的表达, 结果显示, 随着 Bg 作用浓度的增加, SW1116/5-Fu 和 LoVo/5-Fu 细胞 EBI3、STAT3 和 p-STAT3 相对表达水平明显降低, 见图 4。

2.5 Bg 联合 EBI3 阻断肽对 CRC 细胞耐药性的影响

Bg 作用组 SW1116、SW1116/5-Fu、LoVo 和 LoVo/5-Fu 细胞 5-Fu 的 IC_{50} 值低于 PBS 对照组 ($P < 0.05$); Bg 联合 EBI3 Bp 组 5-Fu 的 IC_{50} 值分别低于 PBS 对照组、EBI3 Bp 组和 Bg 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 1。

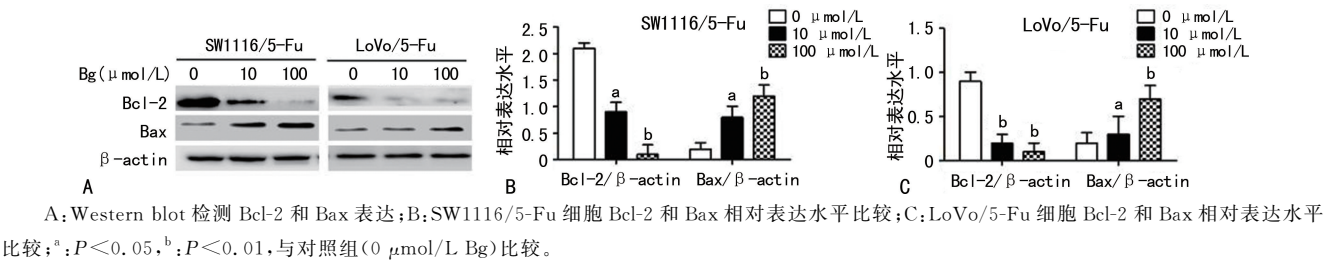


图 2 Bg 对 CRC 细胞 Bcl-2 和 Bax 表达的影响

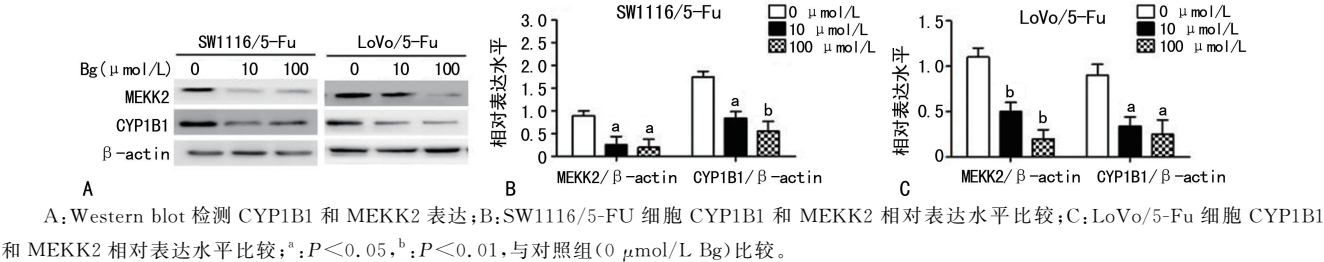


图 3 Bg 对 CRC 细胞 CYP1B1 和 MEKK2 表达的影响

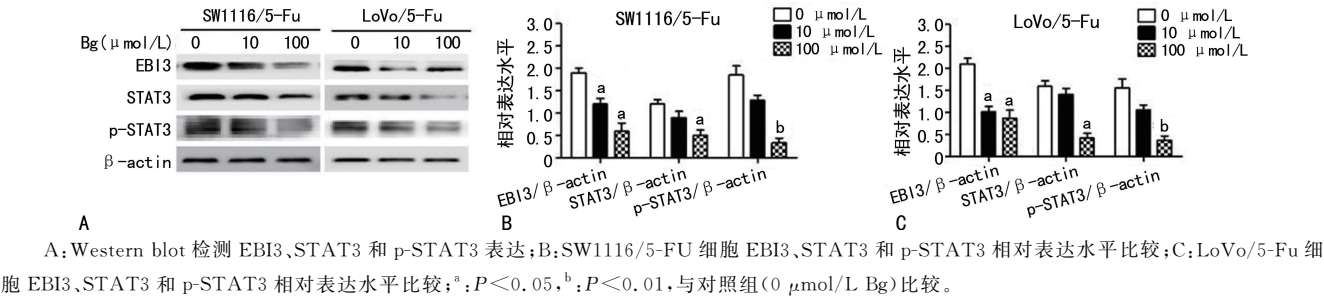


图 4 Bg 对 CRC 细胞 EBI3、STAT3 和 p-STAT3 表达的影响

表 1 Bg 联合 EBI3 Bp 对 CRC 细胞耐药性的影响[$\bar{x}\pm s$, IC₅₀ (mg/L)]

细胞	PBS 对照组	EBI3 Bp 组	Bg 组	Bg 联合 EBI3 Bp 组
SW1116	2.11±0.14	2.08±0.17	1.34±0.11 ^a	0.97±0.13 ^{abc}
SW1116/5-Fu	20.91±3.76	19.34±3.66	12.11±3.76 ^a	7.33±3.58 ^{abc}
LoVo	2.57±0.18	2.21±0.56	1.52±0.24 ^a	1.01±0.12 ^{abc}
LoVo/5-Fu	33.70±4.87	30.40±5.01	15.17±5.66 ^a	10.19±4.26 ^{abc}

^a: $P<0.05$, 与 PBS 对照组比较; ^b: $P<0.05$, 与 EBI3 Bp 组比较; ^c: $P<0.05$, 与 Bg 组比较。

3 讨 论

了解肿瘤化疗耐药机制在新型药物开发及耐药逆转研究中至关重要。大量研究已发现肿瘤化疗药物耐药机制多样,主要包括三磷酸腺苷(ATP)结合性盒型转运蛋白超家族、DNA 甲基化、细胞凋亡、拓扑异构酶Ⅱ、谷胱甘肽和相关酶类对化疗药物的解毒作用,还包括逆转肿瘤多药耐药的信号通路活化等。5-Fu 是一种氟嘧啶类似物,其抗癌活性的主要机制是通过直接将其代谢物结合到癌细胞的 DNA 和 RNA 中,从而抑制胸苷酸合成酶(TS)活性和 DNA 合成与修复。目前,5-Fu 单独或联合其他抗癌药物广泛用于治疗结肠癌、乳腺癌、肝癌、胰腺癌、食管癌和胃癌等。但是,由于患者的剂量限制性毒性和癌细胞的多药耐药性(MDR)问题,基于 5-Fu 化疗的应用和效果受到严重限制。近年来,研究人员发现 p38α 丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)通路^[4]、Hedgehog 信号通路^[5]、核因子 κB(NF-κB)信号通路^[6]、STAT3 信号通路^[7-8]、ATM-CHEK2-P53 信号通路^[9]等均参与了 5-Fu 对 CRC 的耐药过程。值得注意的是,SHINTO 等^[10]和 TENG 等^[11]研究均发现抑制抗肿瘤免疫可赋予残留 CRC 细胞对 5-Fu 化疗后再生长的优势。尽管近年来 CRC 细胞对 5-Fu 化疗耐药的机制研究已有一定报道,但依旧无法攻克肿瘤细胞对化疗耐药的问题,且其应用也依旧处于瓶颈。深入揭示 CRC 细胞对 5-Fu 化疗耐药的机制仍旧是当前亟待解决的问题。

EBI3 是一种相对分子质量为 34×10^3 的可溶分泌性糖蛋白,主要表达于淋巴器官、胎盘和多种肿瘤。EBI3 与白细胞介素(IL)-12p35、IL-12p40、IL-23p19 及 IL-27p28 同属于 IL-12 家族亚基成员。EBI3 分别与 IL-27p28、IL-12p35 异源结合形成细胞因子 IL-27 (EBI3/IL-27p28) 和 IL-35 (EBI3/IL-12p35)。最近 WANG 等^[12]在狼疮样小鼠发现 EBI3 还可与 IL-23p19 异源结合形成细胞因子 IL-39。2013 年本研究团队证实 EBI3 在 CRC 组织高表达,且与 IL-12p35 共同介导了 CRC 的发生、发展与预后^[13]。最近,本研究团队采用 EBI3 信号阻断肽发现,EBI3 可双向调节 STAT3 信号通路抑制肿瘤微环境细胞毒性 T 淋巴细胞免疫应答和促进肿瘤发生、发展,协助 CRC 细胞逃逸免疫监视^[14]。本研究亦发现,EBI3 信号阻断肽联合 Bg 能明显增加 SW1116、LoVo、SW1116/5-Fu 和

LoVo/5-Fu 细胞对 5-Fu 的化疗敏感性。随着 Bg 作用浓度的增加,SW1116/5-Fu 和 LoVo/5-Fu 细胞 STAT 3 磷酸化被明显抑制,这与本团队在鼻咽癌细胞(CNE-2 和 HONE-1)中观察到的结果较为一致^[15]。以上研究提示 Bg 可能通过 STAT 3 信号通路抑制 CRC 细胞对 5-Fu 的化疗耐药。

最近,MIRZAEI 等^[16]发现 Bg 介导的三磷酸腺苷结合盒(ABC)转运体阻断是多药耐药性癌细胞(卵巢癌 A2780RCIS 细胞、胃癌 EPG85.257RDB 细胞及乳腺癌 MCF7MX 细胞)化学增敏(顺铂、柔红霉素或米托蒽醌)的主要途径。细胞色素 CYP1B1 是细胞色素 P450(CYP)氧化酶超家族的成员,能催化许多内源性(如雌激素)和外源性化合物包括 5-Fu 的代谢。有丝分裂原激酶 MEKK2 与 MAPK 信号传导途径调节有关,MAPK 可促进 CRC 细胞 5-Fu 耐药^[4]。本研究亦发现,Bg 作用下 SW1116/5-Fu 和 LoVo/5-Fu 细胞耐药相关基因 CYP1B1 和 MEKK2 表达水平均明显降低。然而,Bg 是否也通过抑制 ABC 转运体增加 CRC 对 5-Fu 的化疗敏感性依旧未知。前期研究中,本研究团队发现 Bg 干预可诱导 CNE-2 和 HONE-1 凋亡^[15]。Bcl-2 和 Bax 是细胞凋亡研究中最受重视的凋亡基因,Bcl-2 具有抑制凋亡的作用,而 Bax 是人体最主要的凋亡基因之一。因此,Bax/Bcl-2 两蛋白之间的比例关系是决定对细胞凋亡抑制作用强弱的关键因素。本研究亦发现,Bg 可抑制 CRC 细胞 Bcl-2 表达,诱导 Bax 蛋白质表达,提示 Bg 可能明显诱导 CRC 细胞凋亡。目前,亦有研究证实,Bg 通过调节 p38α MAPK 和 NF-κB 信号通路诱导乳腺癌细胞凋亡^[17]。调控细胞凋亡和 DNA 修复能力已被证实在化疗多药耐药中至关重要。

综上所述,Bg 可能通过诱导细胞凋亡、抑制 EBI3/STAT3 信号通路及抑制耐药相关蛋白质 CYP1B1 和 MEKK2 表达增强结肠癌细胞对 5-Fu 的化疗敏感性。然而,本研究亦有不足之处,尚未明确 Bg 是如何调节 EBI3 表达,Bg 又是如何抑制耐药相关蛋白质 CYP1B1 和 MEKK2 表达,EBI3 与 CYP1B1 和 MEKK2 之间有何种关系。此外,Bg 联合 EBI3 阻断肽治疗 CRC 的体内治疗效果及动力学变化等内容,均是本研究团队需深入探讨的问题。

参考文献

- [1] ZHANG S, ZHANG D, YANG Z, et al. Tumor budding, micropapillary pattern, and polyploidy giant cancer cells in colorectal cancer: current status and future prospects[J]. *Stem Cells Int*, 2016(2016):4810734.
- [2] WANG Z Y, ZHANG J A, WU X J, et al. IL-6 inhibition reduces STAT3 activation and enhances the antitumor effect of carboplatin[J]. *Mediators Inflamm*, 2016(2016):8026494.
- [3] REN D, LIN B, ZHANG X, et al. Maintenance of cancer stemness by miR-196b-5p contributes to chemoresistance of colorectal cancer cells via activating STAT3 signaling pathway[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(30):49807-49823.
- [4] YANG C, CUI X, DAI X, et al. Downregulation of Foxc2 enhances apoptosis induced by 5-fluorouracil through activation of MAPK and AKT pathways in colorectal cancer[J]. *Oncol Lett*, 2016, 11(2):1549-1554.
- [5] LIU Y, DU F, ZHAO Q, et al. Acquisition of 5-fluorouracil resistance induces epithelial-mesenchymal transitions through the Hedgehog signaling pathway in HCT-8 colon cancer cells[J]. *Oncol Lett*, 2015, 9(6):2675-2679.
- [6] OLIVER M M, FUCHS D, TAGSCHERER K E, et al. Inhibition of caspases primes colon cancer cells for 5-fluorouracil-induced TNF- α -dependent necroptosis driven by RIP1 kinase and NF- κ B[J]. *Oncogene*, 2016, 35(26):3399-3409.
- [7] SPITZNER M, ROESLER B, BIELFELD C, et al. STAT3 inhibition sensitizes colorectal cancer to chemoradiotherapy in vitro and in vivo[J]. *Int J Cancer*, 2014, 134(4):997-1007.
- [8] QIN A, YU Q, GAO Y, et al. Inhibition of STAT 3/cyclinD1 pathway promotes chemotherapeutic sensitivity of colorectal cancer[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 457(4):681-687.
- [9] YAO J, HUANG A, ZHENG X, et al. 53BP1 loss induces chemoresistance of colorectal cancer cells to 5-fluorouracil by inhibiting the ATM-CHK2-P53 pathway[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2017, 143(3):419-431.
- [10] SHINTO E, HASE K, HASHIGUCHI Y, et al. CD8⁺ and FOXP3⁺ tumor-infiltrating T cells before and after chemoradiotherapy for rectal cancer[J]. *Ann Surg Oncol*, 2014, 21(Suppl 3):S414-421.
- [11] TENG F, MENG X, KONG L, et al. Tumor-infiltrating lymphocytes, forkhead box P3, programmed death ligand-1, and cytotoxic T lymphocyte-associated antigen-4 expressions before and after neoadjuvant chemoradiation in rectal cancer[J]. *Transl Res*, 2015, 166(6):721-732.
- [12] WANG X, WEI Y, XIAO H, et al. A novel IL-23p19/Ebi3 (IL-39) cytokine mediates inflammation in Lupus-like mice[J]. *Eur J Immunol*, 2016, 46(6):1343-1350.
- [13] ZENG J C, ZHANG Z, LI T Y, et al. Assessing the role of IL-35 in colorectal cancer progression and prognosis[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2013, 6(9):1806-1816.
- [14] LIANG Y, CHEN Q, DU W, et al. Epstein-barr virus-induced gene 3 (EBI3) blocking leads to induce antitumor cytotoxic t lymphocyte response and suppress tumor growth in colorectal cancer by bidirectional reciprocal-regulation STAT3 signaling pathway[J]. *Mediators Inflamm*, 2016, 2016:3214105.
- [15] 林碧华, 马晓娟, 万树伟, 等. 佛手柑内酯对鼻咽癌细胞凋亡的影响[J]. *肿瘤防治研究*, 2014, 41(11):1163-1170.
- [16] MIRZAEI S A, GHOLAMIAN D N, GHAMGHA MI M, et al. ABC-transporter blockage mediated by xanthotoxin and bergapten is the major pathway for chemosensitization of multidrug-resistant cancer cells[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2017, 337:22-29.
- [17] PANNO M L, GIORDANO F, PALMA M G, et al. Evidence that bergapten, independently of its photoactivation, enhances p53 gene expression and induces apoptosis in human breast cancer cells[J]. *Curr Cancer Drug Targets*, 2009, 9(4):469-481.