

下调TRPC5的表达对卵巢癌细胞耐药性影响的研究

傅倩云¹ 朱瑞宇² 方罗¹ 吴妙莲¹ 蔡志波¹ 金坚^{2*}

(¹浙江大学医学院附属儿童医院, 杭州 310003; ²江南大学药学院, 无锡 214122)

摘要 为探究瞬时受体通道5(transient receptor potential canonical 5, TRPC5)是否参与影响卵巢癌细胞对紫杉醇(paclitaxel, PTX)的耐药性, 转染TPRC5-siRNA至A2780/PTX细胞。MTT检测A2780/WT、A2780/PTX和A2780/PTX细胞+siTRPC5对紫杉醇的敏感性; RT-PCR和Western blot检测TRPC5、P-糖蛋白(P-glycoprotein, P-gp)的mRNA和蛋白表达水平; 细胞免疫荧光检测 β -catenin、c-myc和Cyclin D1蛋白的表达水平。MTT、RT-PCR和Western blot结果显示, A2780/PTX细胞对PTX的敏感性($IC_{50}=84.4 \mu\text{mol/L}$)低于A2780/WT细胞($IC_{50}=1.98 \mu\text{mol/L}$), A2780/PTX细胞的TRPC5和P-gp的mRNA和蛋白表达水平显著高于A2780/WT细胞; 用siTRPC5敲低A2780/PTX细胞TRPC5的表达水平, 可显著减少其P-gp的表达量, 降低A2780/PTX细胞对PTX的敏感性。细胞免疫荧光实验结果显示, 降低A2780/PTX细胞TRPC5的表达水平, 细胞核中 β -catenin的表达量减少, 且Cyclin D1和c-myc的表达量也明显降低。TRPC5参与影响卵巢癌细胞对紫杉醇的耐药性, 并且通过Wnt/ β -catenin信号通路影响耐药蛋白P-gp的表达进而影响其耐药性。

关键词 瞬时受体通道5; P-糖蛋白; 卵巢癌; 紫杉醇; 耐药性; Wnt/ β -catenin通路

Knockdown of TRPC5 in Regulating Ovarian Cancer Cells Resistance

Fu Qianyun¹, Zhu Ruiyu², Fang Luo¹, Wu Miaolian¹, Cai Zhibo¹, Jin Jian^{2*}

(¹Children's Hospital, Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou 310003, China;

²School of Pharmaceutical Sciences, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract To investigate whether transient receptor potential 5 (TRPC5) is involved in affecting ovarian cancer cell resistance to paclitaxel (PTX), TPRC5-siRNA was transfected into A2780/PTX cells. MTT assay was used to detect the sensitivity of A2780/WT, A2780/PTX and A2780/PTX+siTRPC5 cells to paclitaxel. Real-time PCR (RT-PCR) and Western blot were used to detect the mRNA and protein expression levels of TRPC5 and P-glycoprotein (P-gp); cellular immunofluorescence to detect the expression levels of β -catenin, c-myc and Cyclin D1 proteins. The results of MTT, RT-PCR and Western blot showed that A2780/PTX cells ($IC_{50}=84.4 \mu\text{mol/L}$) were less sensitive to PTX than A2780/WT cells ($IC_{50}=1.98 \mu\text{mol/L}$). Moreover, the mRNA and protein expression levels of TRPC5 and P-gp in A2780/PTX cells were significantly higher than those in wild cells. Furthermore, decreasing TRPC5 expression by using siTRPC5 in A2780/PTX cells significantly reduced P-gp expression and decreased sensitivity to PTX. In addition, immunofluorescence showed that TRPC5 knockdown in A2780/PTX cells reduced the nuclear translocation of β -catenin, and the expression of Cyclin D1 and c-myc was also significantly decreased. TRPC5 can enhance P-gp expression and drug resistance through Wnt/ β -catenin signaling pathway, which suggest

收稿日期: 2018-09-20 接受日期: 2018-12-07

国家自然科学基金(批准号: 81101667)和江苏省自然科学基金(批准号: BK2009071)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0510-85918219, E-mail: jinjian31@163.com

Received: September 20, 2018 Accepted: December 7, 2018

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81101667) and the Natural Science Foundation of Jiangsu Province (Grant No.BK2009071)

*Corresponding author. Tel: +86-510-85918219, E-mail: jinjian31@163.com

网络出版时间: 2019-05-10 14:01:26 URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20190510.1045.006.html>

TRPC5 is involved in affecting the paclitaxel resistance in ovarian cancer cells.

Keywords transient receptor channel 5 (TRPC5); P-glycoprotein (P-gp); ovarian cancer; paclitaxel; drug resistance; Wnt/ β -catenin pathway

卵巢癌是世界上最致命的妇科癌症之一,且绝大多数患者被诊断出卵巢癌时已处于晚期。目前临床上治疗卵巢癌最有效的方法是化疗,紫杉醇和卡铂的联合用药是治疗卵巢癌的一线化疗手段^[1],但化疗后的远期生存率仍不理想,化疗耐药性是造成其高致病率和死亡率的主要原因。尽管化疗耐药性已经历了漫长的研究阶段,但其复杂机制仍不明确。

钙离子作为机体的第二信使,参与多种生命活动过程^[2]。然而,钙离子失调会引发多种疾病。研究表明^[3],细胞内的钙离子参与癌症的发生发展,以及耐药等一系列过程。瞬时受体(transient receptor potential, TRP)通道作为一类经典的钙离子通道,在维持机体的钙稳态中起到重要作用^[4]。研究发现,TRP通道的异常表达可引起多种疾病的发生,包括癌症。在TRP家族中,TRPV6的异常表达与前列腺癌的进展有关;TRPC5、TRPM8、TRPV6参与乳腺癌的发生发展^[5-7],值得关注的是,TRPC5的异常高表达与乳腺癌的化疗耐药相关^[8]。因此,以钙离子及钙通道为靶点的研究,可能是研究化疗药物耐药的新方向。

然而,在卵巢癌的耐药过程中,TRPC5是否参与这一过程尚未可知。因此,在本研究中,我们以人卵巢癌细胞株A2780/WT和耐紫杉醇人卵巢癌细胞株A2780/PTX为研究对象,探究TRPC5是否参与影响其耐药的过程。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞株 人卵巢癌野生型细胞株A2780/WT、耐紫杉醇人卵巢癌细胞株A2780/PTX购自南京凯基生物科技发展有限公司。细胞培养于10%胎牛血清的RPMI 1640培养基中。

1.1.2 试剂 胎牛血清、RPMI 1640培养基购自Gibco公司;紫杉醇粉末购自山东齐鲁制药有限公司;XAV939购自Sigma公司;TRPC5多克隆抗体购自Alomone Labs公司;P-gp、 β -catenin、c-myc、Cyclin D1多克隆抗体购自Abcam公司;Lipofectamine™ 2000转染试剂、驴抗小鼠、驴抗兔荧光二抗均购自Invitrogen公司;BCA蛋白浓度测定试剂盒、MTT细

胞增殖及细胞毒性检测试剂盒、山羊抗小鼠、山羊抗兔辣根过氧化物酶标记二抗均购自碧云天生物技术有限公司;引物在金斯瑞生物科技有限公司合成。

1.1.3 仪器 实验仪器包括:激光共聚焦显微镜(德国Leica公司)、CFX Connect™荧光定量PCR检测系统(美国Bio-Rad公司)、ChemiDoc™成像系统(美国Bio-Rad公司)、NanoDrop 2000分光光度计(美国Thermo Fisher Scientific公司)。

1.2 方法

1.2.1 蛋白质免疫印迹(Western blot) 参考陈淑娴等的研究方法^[9],提取细胞蛋白,而后用BCA蛋白浓度测定试剂盒检测蛋白浓度。将蛋白样品加入SDS-PAGE蛋白上样缓冲液,沸水浴5 min,进行SDS-PAGE凝胶电泳。而后将蛋白转移至PVDF膜上,5%脱脂奶粉室温封闭3 h,加入一抗4 °C孵育过夜, TBST洗3次,二抗室温孵育2 h, TBST洗3次, ECL方法显色,核酸蛋白成像仪进行检测, Image J软件进行分析处理。

1.2.2 RT-PCR 将细胞接种到6孔板中,每孔加入500 μ L Trizol溶液裂解细胞,将裂解液转移至1.5 mL EP管中,加入100 μ L氯仿,静置5 min,吸取上层水相,加入250 μ L异丙醇,沉淀10 min,离心,弃液体,每管加入500 μ L乙醇,离心,弃液体,加入10 μ L DEPC水溶解,混匀,测RNA浓度,而后将RNA反转成cDNA。用IQ™ SYBR Green Supermix试剂盒进行RT-PCR实验。PCR条件为95 °C 15 s, 60 °C, 40 s,进行40个循环。引物序列为 β -actin: 3'-TGG AGT CCA CTG GCG TCT TC-5', 5'-GCT TGA CAA AGT GGT CGT TGA G-3'; TRPC5: 3'-CCA CCA GCT ATC AGA TAA GG-5', 5'-CGA AAC AAG CCA CTT ATA CCC-3'。

1.2.3 细胞免疫荧光 将细胞接种至共聚焦小皿中,待细胞贴壁生长到60%左右时, PBS洗3次,而后用4%多聚甲醛溶液固定0.5 h, PBS洗3次, 0.2% Triton X-100溶液通透10 min, PBS洗3次,封闭液室温封闭2 h,加入配置好的一抗于4 °C孵育过夜, PBS洗3次, 荧光二抗室温避光孵育2 h, PBS洗3次, DAPI室温孵育10 min, PBS洗3次,共聚焦显微镜镜检并分析。

1.2.4 药物半抑制浓度 IC_{50} 检测 将A2780/WT、A2780/PTX细胞按每孔5 000个接种于96孔板中, Wnt通路抑制剂组中每孔含有终浓度10 $\mu\text{mol/L}$ 的XAV939, 12 h后加入梯度浓度的PTX, 浓度范围为1.5~1 500 $\mu\text{mol/L}$, 继续培养48 h, 而后每孔加入10 μL CellTiter-Blue Cell viability Trypan Blue, 避光孵育4 h, 酶标仪检测555~590 nm处吸光度值。

1.2.5 细胞转染 TRPC5 siRNA购自上海吉玛制药技术有限公司, 其中TRPC5-siRNA序列为正义链: 5'-CCA AUG GAC UGA ACC AGC UUU ACU U-3', 反义链: 5'-AAG UAA AGC UGG UUC AGU CCA UUG G-3', 而乱序siRNA(Scramble siRNA)作为对照组。将5 μg siRNA与250 μL Opti-MEM培养基混合, 并将8 μL Lipofectamine™ 2000与250 μL Opti-MEM培养基混合, 上述两种混合液分别室温孵育5 min后, 将两种混合液混匀, 室温孵育20 min, 配制成转染液。用PBS洗细胞3次, 每个6孔板细胞加入1.5 mL基础培养基和0.5 mL转染液, 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养4 h后换成完全培养基培养48 h, 而后进行后续实验。

1.2.6 统计学分析 用Graph Pad 5.0软件进行分析, 数据结果以 $\bar{x}\pm s$ 表示, 组间比较采用Student's *t*检验, 当 $P<0.05$ 时, 代表差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 人卵巢癌A2780野生株及A2780紫杉醇耐药细胞株 IC_{50} 差异分析

为研究人卵巢癌对化疗药物紫杉醇的耐药性, 首先测定人卵巢癌野生细胞株A2780(A2780/WT)及A2780耐紫杉醇细胞株(A2780/PTX)的药物

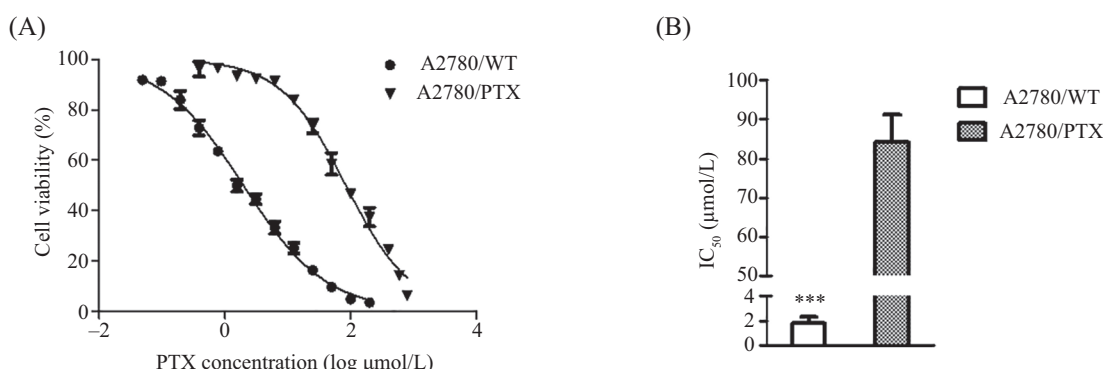
半抑制浓度 IC_{50} 。结果如图1A所示, 相比于A2780/PTX细胞株($IC_{50}=84.4 \mu\text{mol/L}$), A2780/WT细胞株的 IC_{50} ($IC_{50}=1.98 \mu\text{mol/L}$)明显较低, 说明A2780/PTX细胞株对紫杉醇的敏感性明显低于A2780/WT细胞株($P=0.000 3$, 图1B)

2.2 人卵巢癌A2780野生株及A2780紫杉醇耐药细胞株TRPC5及P-gp的表达情况分析

有研究报道, TRPC5在乳腺癌耐药过程中起到重要作用, 为判断TRPC5是否在卵巢癌耐药过程中起作用, 通过RT-PCR方法分析A2780/WT细胞株及A2780/PTX细胞株中TRPC5及P-gp的表达情况。结果显示, A2780/PTX细胞株中TRPC5和P-gp的mRNA表达水平较A2780/WT细胞株显著增高(图2A)。为了进一步确认TRPC5及P-gp的表达情况, 采用Western blot法检测两种蛋白的表达水平, 结果显示: TRPC5以及P-gp在A2780/PTX细胞株中高度表达, 而在A2780/WT细胞株中两种蛋白表达量均较低(图2B)。以上结果说明, TRPC5以及P-gp参与A2780卵巢癌细胞株耐药的过程。

2.3 外源性敲低TRPC5对P-gp表达水平的影响

为探究TRPC5是否影响P-gp的表达水平, 利用RNA干扰技术抑制A2780紫杉醇耐药株TRPC5的表达, 观察P-gp的表达情况是否发生变化。我们构建了TRPC5-siRNA, 通过脂质体转染手段, 将TRPC5-siRNA转染入A2780紫杉醇耐药细胞株中, 观察TRPC5以及P-gp的表达情况。RT-PCR结果显示: 在A2780/PTX细胞株中给予TRPC5-siRNA干预后, TRPC5以及P-gp的mRNA表达水平显著降低(图3A)。Western blot结果显示: 在A2780/PTX细胞

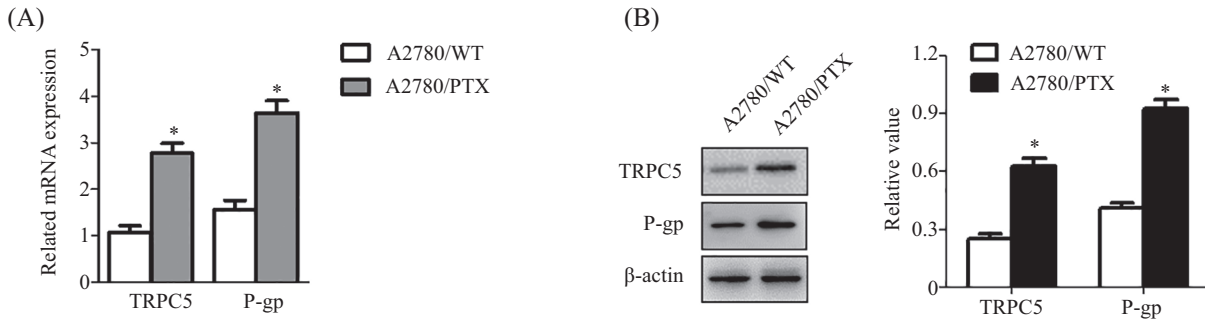


A: MTT检测A2780/WT和A2780/PTX细胞对PTX的敏感性; B: A2780/WT和A2780/PTX细胞 IC_{50} 差异分析; *** $P=0.000 3$, 与A2780/PTX相比。

A: MTT assay showed the sensitivity of A2780/WT and A2780/PTX cells to PTX; B: the IC_{50} of A2780/WT and A2780/PTX cells; *** $P=0.000 3$ vs the A2780/PTX group.

图1 人卵巢癌A2780野生株及A2780紫杉醇耐药细胞株 IC_{50} 差异分析

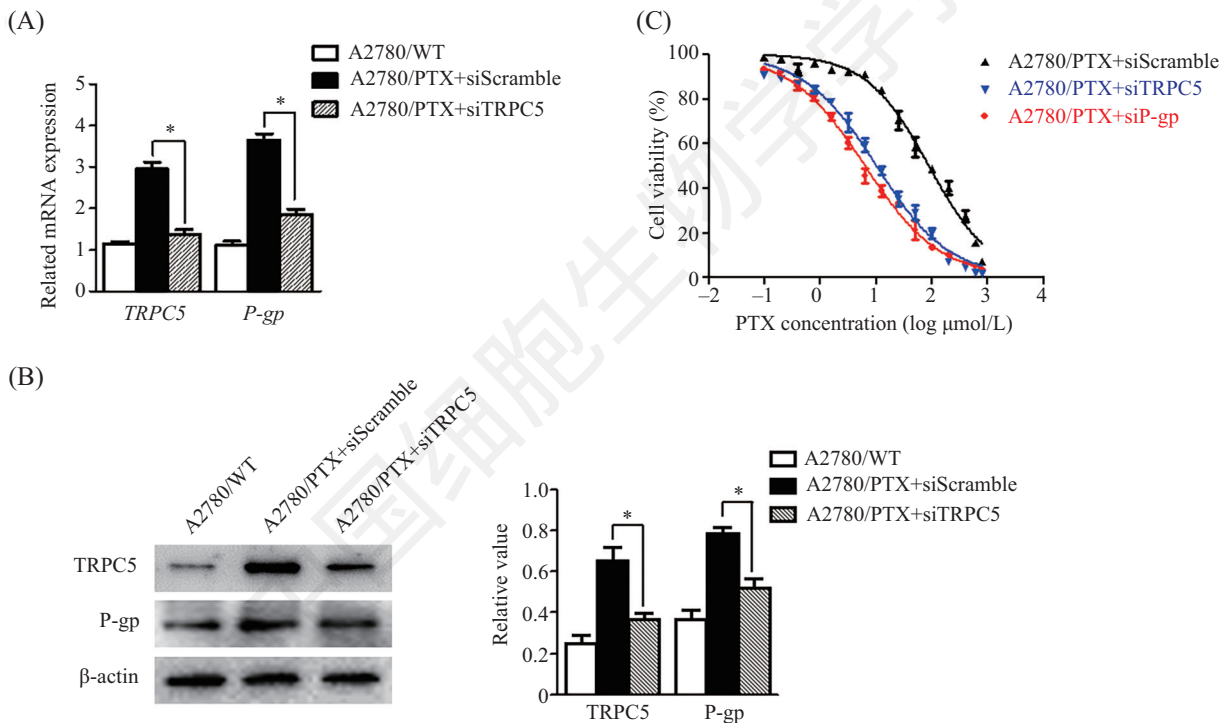
Fig.1 Analysis of IC_{50} in human ovarian cancer cell line A2780 and ovarian cancer cell resistance to paclitaxel A2780/PTX



A: RT-PCR分析A2780/WT和A2780/PTX细胞中TRPC5与P-gp的mRNA表达水平; B: Western blot分析A2780/WT和A2780/PTX细胞中TRPC5与P-gp的蛋白表达水平。* $P < 0.05$, 与A2780/WT相比。

A: RT-PCR was used to detect the TRPC5 and P-gp mRNA level of RT-PCR in A2780/WT and A2780/PTX cells; B: Western blot showed the expression of TRPC5 and P-gp in A2780/WT and A2780/PTX cells. * $P < 0.05$ vs A2780/WT group.

图2 人卵巢癌A2780野生株及A2780紫杉醇耐药细胞株TRPC5及P-gp的表达情况分析
Fig.2 Analysis of the expression of TRPC5 and P-gp in human ovarian cancer cell line A2780 and ovarian cancer cell resistance to paclitaxel A2780/PTX



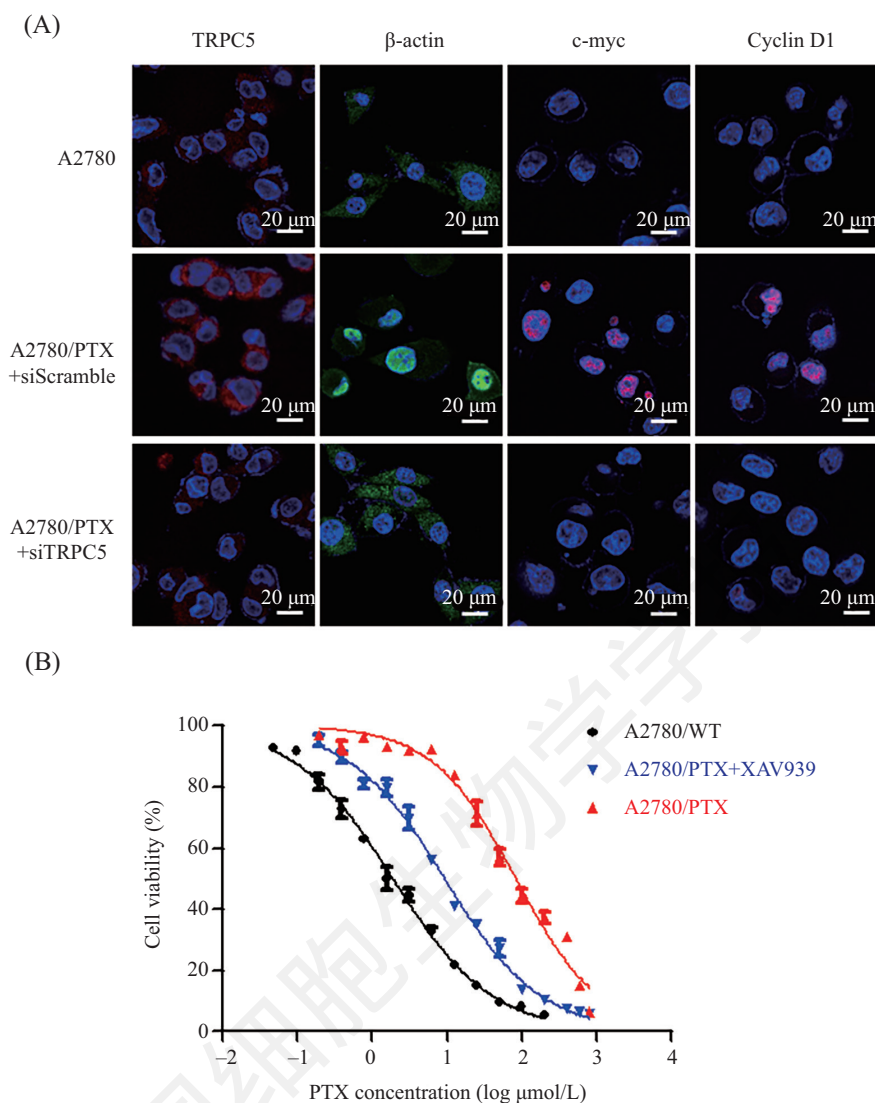
A: RT-PCR分析在A2780/PTX细胞中降低TRPC5表达水平后, TRPC5与P-gp的mRNA表达水平; B: Western blot分析在A2780/PTX细胞中降低TRPC5表达水平后, TRPC5与P-gp的蛋白表达水平; C: MTT检测转染P-gp-siRNA以及TRPC5-siRNA后, A2780/PTX细胞对PTX的敏感性。* $P < 0.05$ 。

A: RT-PCR showed the expression of TRPC5 and P-gp while decreasing TRPC5 expression in A2780/PTX cells; B: Western blot showed the expression of TRPC5 and P-gp while decreasing TRPC5 expression in A2780/PTX cells; C: after A2780/PTX cells transfected with P-gp-siRNA and TRPC5-siRNA, MTT showed the sensitivity of A2780/PTX cells to PTX. * $P < 0.05$.

图3 外源性敲低TRPC5对P-gp表达水平的影响
Fig.3 Effect of knockdown TRPC5 on P-gp expression

株中给予TRPC5-siRNA干预后, TRPC5以及P-gp的蛋白表达量显著减少(图3B)。为了进一步探究TRPC5是通过影响P-gp表达进而影响耐药, 分别将P-gp-siRNA以及TRPC5-siRNA转染入A2780/PTX

细胞株中, 观察细胞对紫杉醇的耐受性。结果如图3C所示: 相比对照组($IC_{50} = 88.4 \mu\text{mol/L}$), A2780/PTX细胞株转染P-gp-siRNA后, 细胞对紫杉醇的耐受性显著减低($IC_{50} = 8.9 \mu\text{mol/L}$); 此外, 转染



A: 免疫荧光结果分析Wnt/β-catenin信号通路中β-catenin、c-myc和Cyclin D1在A2780/WT、A2780/PTX和A2780/PTX+siTRPC5的表达; B: MTT检测10 μmol/L XAV939处理A2780/PTX细胞对PTX的敏感性。

A: immunofluorescence was used to analysis the expression of β-catenin, c-myc and Cyclin D1 expression in A2780/WT, A2780/PTX and A2780/PTX+siTRPC5 cells; B: after A2780/PTX cells treated with 10 μmol/L XAV939, MTT showed the sensitivity of A2780/PTX cells to PTX.

图4 TRPC5调节P-gp表达的通路分析

Fig.4 Pathway analysis of TRPC5 in regulating P-gp expression

TRPC5-siRNA后, 细胞也呈现出对药物耐受性减弱的现象($IC_{50}=10.2 \mu\text{mol/L}$)。这一结果说明, 在卵巢癌A2780细胞耐药过程中, TRPC5通过影响P-gp的表达, 进而影响其对紫杉醇的耐受性。

2.4 TRPC5调节耐药蛋白表达的通路分析

TRPC5的功能为调控钙离子内流, 并激活钙离子相关的信号通路。有研究报道, TRPC5通道控制钙离子内流时, Wnt/β-catenin信号通路会被激活。为了探究在卵巢癌耐药过程中, TRPC5是否通过Wnt/β-catenin途径影响P-gp表达水平进而影响耐药程度, 首先通过细胞免疫荧光实验观察A2780/WT

细胞株及A2780/PTX细胞株中β-catenin及其下游因子Cyclin D1以及c-myc的表达。结果显示: A2780/WT细胞株中, β-catenin主要分布在细胞质中, 并且Cyclin D1以及c-myc表达较少; 而在A2780/PTX细胞株中, β-catenin主要分布在细胞核中, 发生了由胞质到胞核的转移, 并且Cyclin D1以及c-myc表达明显增高(图4A)。

此外, 在A2780/PTX细胞株中, 用TRPC5-siRNA干扰其表达, 观察β-catenin及其下游因子Cyclin D1以及c-myc的表达。图4A显示, 在TRPC5-siRNA的干扰下, A2780/PTX细胞中的β-catenin的分布又从

细胞核转移至细胞质中, 并且下游因子Cyclin D1以及c-myc的表达量显著降低。

为了进一步阐明TRPC5能否通过Wnt/ β -catenin通路影响耐药, 我们将Wnt/ β -catenin通路抑制剂XAV939作用于A2780紫杉醇耐药细胞株中, 随后检测细胞的药物半抑制浓度 IC_{50} 。结果所示, XAV939作用A2780/PTX细胞株后, IC_{50} 明显降低(图4B)。以上结果说明在卵巢癌中, TRPC5可通过Wnt/ β -catenin通路影响耐药, 抑制Wnt/ β -catenin通路可以逆转细胞对紫杉醇的耐受性。

3 讨论

众所周知, 化疗耐药是导致肿瘤治疗失败最主要的原因之一。紫杉醇是治疗卵巢癌的主要化疗药物之一, 然而, 导致卵巢癌患者对紫杉醇耐药的具体分子机制尚不明晰。大量研究表明, 钙离子的紊乱与化疗耐药息息相关, 而TRP通道作为经典的钙离子通道, 在机体中起到了重要的作用^[4]。本研究选用人卵巢癌野生细胞株A2780/WT和耐紫杉醇人卵巢癌细胞株A2780/PTX, 首先观察两株细胞株对PTX的敏感性, 进而探究不同耐药程度细胞株中钙通道蛋白TRPC5与耐药蛋白P-gp的表达水平差异。结果显示, A2780细胞对PTX耐受性越高, 耐药蛋白P-gp的表达越高, 钙通道蛋白TRPC5的表达也越高。更重要的是, 外源性敲低TRPC5表达后, 耐药蛋白P-gp表达量减少。其次, 进一步探究TRPC5影响P-gp表达的分子信号通路。细胞免疫荧光实验显示, TRPC5可能通过Wnt/ β -catenin通路影响P-gp的表达水平, 其小分子抑制剂XAV939通过抑制该通路, 进而影响细胞对PTX的敏感性。

细胞内的钙离子对维持机体的正常生理活动(如基因表达, 细胞周期调控, 细胞增殖、自噬和细胞凋亡等过程)起重要作用^[10]。因此, 探究钙离子信号传导在耐药过程中的作用可能是肿瘤治疗的新方向。瞬时受体电位通道(TRP), 作为一类经典的钙离子通道, 能被多种内、外源性物质刺激, 从而调控钙离子的内流。异常的TRP通道表达与肿瘤的发生发展密切相关。例如, 前列腺癌的发生与TRPV6的表达水平有关, TRPC6的表达异常与食管癌的进展有关^[11]。而在本研究中, 我们发现TRPC5在人耐紫杉醇细胞株A2780/PTX中高表达, 并且细胞对PTX敏感性越低, TRPC5表达水平越高。

P-糖蛋白作为最经典的耐药转运蛋白, 在多种肿瘤耐药中异常表达, 并且大量研究报道, 肿瘤治疗的有效性与P-gp的表达水平有关^[12]。本研究发现, P-gp在A2780/PTX中的表达水平远远高于A2780/WT细胞株, 并且其表达水平与TRPC5的表达呈正相关。进一步通过特异性敲低TRPC5表达后发现, P-gp的表达也显著的降低, 结果提示, TRPC5可通过影响P-gp的表达水平进而影响细胞对PTX的耐受性。

目前与肿瘤相关的钙离子通路主要有Wnt信号通路、Notch信号通路、PI3K-AKT信号通路以及Hedgehog信号通路^[13]。多种研究结果发现, Wnt/ β -catenin信号通路参与多种癌症的发生发展。当Wnt通路被激活后, 能促进肿瘤的发生、增殖和转移。这条通路的改变与乳腺癌、结直肠癌、黑色素瘤、前列腺癌、肺癌等多种癌症的发生发展息息相关。更重要的是, 大量研究表明, 这一通路在维持细胞高致瘤性中起到关键作用。在Wnt通路中, APC基因的缺失突变与遗传病和继发性结直肠癌均具有相关性。由 β -catenin和TCF介导的转录激活的下调对APC的抑制作用至关重要, 且可以通过突变APC或 β -catenin阻断该调节过程。Tortelote等^[14]发现, Wnt/ Ca^{2+} 这一途径可以有效地激活Wnt/ β -catenin信号通路。除此之外, Ma等^[15]发现, 当TRPC5通道控制钙离子内流时, Wnt/ β -catenin信号通路会被激活。本研究发现, 在A2780/WT细胞株中, β -catenin主要分布在细胞质中, 下游调控因子Cyclin D1以及c-myc的表达量较少; 而在A2780/PTX细胞株中, β -catenin主要分布在细胞核中, 即发生了由胞质到胞核的转移, 其下游调控因子Cyclin D1以及c-myc在细胞核中的表达量明显增多, 并且Wnt通路小分子抑制剂XAV939作用于A2780/PTX细胞后, 能显著增加细胞对PTX的敏感性。

本研究结果提示, TRPC5可以通过影响P-gp的表达水平进而影响细胞对紫杉醇的耐受性, 该发现可以为临床治疗卵巢癌耐药提供一定的理论依据。然而, 在治疗癌症过程中, 有效地抑制或者逆转耐药仍非常困难。此外, 有报道发现, 以TRPC5作为靶点很可能为攻克肿瘤化疗耐药提供新思路。通过运用TRPC5特异性阻断抗体T5E3, 以及TRPC5药理抑制剂2-APB(2-aminoethoxydiphenyl borate)均能在体内和体外实验中减弱乳腺癌的耐药性。基于上述发现合并本研究实验结果, 以TRPC5-Wnt/ β -catenin为靶

点的研究方向, 其中包括TRPC5抑制剂、Wnt通路小分子抑制剂XAV939等都将可能成为攻克卵巢癌细胞耐药难题的潜在药物。

综上所述, TRPC5参与影响卵巢癌细胞对紫杉醇的耐药性, 并且通过Wnt/ β -catenin信号通路影响耐药蛋白P-gp的表达水平进而影响其耐药性。

参考文献 (References)

- 1 Eisenhauer EA. Real-world evidence in the treatment of ovarian cancer. *Ann Oncol* 2017; 28(8): 61-5.
- 2 Tankeu AT, Ndip Agbor V, Noubiap JJ. Calcium supplementation and cardiovascular risk: A rising concern. *J Clin Hypertens* 2017; 19(6): 640-6.
- 3 Tennakoon S, Aggarwal A, Kállay E. TRP channel pores and local calcium signals. *Biochim Biophys Acta* 2016; 1863(6): 1398-407.
- 4 Mulier M, Vriens J, Voets T. Transient receptor potential channels as therapeutic targets. *Cell Calcium* 2017; 9(66): 19-24.
- 5 Kaneko Y, Szallasi A. Transient receptor potential (TRP) channels: a clinical perspective. *Br J Pharmacol* 2014; 171(10): 2474-507.
- 6 Nieto-Posadas A, Picazo-Juárez G, Llorente I, Jara-Oseguera A, Morales-Lázaro S, Escalante-Alcalde D, *et al.* Lysophosphatidic acid directly activates TRPV1 through a C-terminal binding site. *Nat Chem Biol* 2011; 8(1): 78-85.
- 7 Pozsgai G, Bártai IZ, Pintér E. Effects of sulfide and polysulfides transmitted by direct or signal transduction-mediated activation of TRPA1 receptors. *Br J Pharmacol* 2018; 10(1): 55-68.
- 8 Ma X, Cai Y, He D, Zou C, Zhang P, Lo CY, *et al.* Transient receptor potential channel TRPC5 is essential for P-glycoprotein induction in drug-resistant cancer cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2012; 109(40): 16282-7.
- 9 陈淑娴, 叶向晖, 王叙, 金坚. CMPK1蛋白与阿霉素引起的多药耐药的相关性研究. *中国药理学通报*(Chen Shuxian, Ye Xianghui, Wang Xu, Jin Jian. Relationship between CMPK1 protein and ADM caused multidrug resistance. *Chin Pharmacol Bull*) 2017; 33(6): 788-92.
- 10 Stewart TA, Yapa KT, Monteith GR. Altered calcium signaling in cancer cells. *Biochim Biophys Acta* 2015; 1848(10 Pt B): 2502-11.
- 11 Shi Y, Ding X, He ZH, Zhou KC, Wang Q, Wang YZ. Critical role of TRPC6 channels in G2 phase transition and the development of human oesophageal cancer. *Gut* 2009; 58(11): 1443-50.
- 12 Saneja A, Dubey RD, Alam N, Khare V, Gupta PN. Co-formulation of P-glycoprotein substrate and inhibitor in nanocarriers: an emerging strategy for cancer chemotherapy. *Curr Cancer Drug Targets* 2014; 14(5): 419-33.
- 13 De A. Wnt/ Ca^{2+} signaling pathway: a brief overview. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)* 2011; 43(10): 745-56.
- 14 Tortelote GG, Reis RR, de Almeida Mendes F, Abreu JG. Complexity of the Wnt/ β catenin pathway: Searching for an activation model. *Cell Signal* 2017; 40: 30-43.
- 15 Wang T, Chen Z, Zhu Y, Pan QX, Liu YJ, Qi XW, *et al.* Inhibition of transient receptor potential channel 5 reverses 5-fluorouracil resistance in human colorectal cancer cells. *J Biol Chem* 2015; 290(1): 448-56.