生物资源　2026,48(5):538～546
Biotic Resources

研究报告

DOI:10.14188/j.ajsh.20260030

枸杞多糖逆转乳腺癌多药耐药活性研究

阿依提拉·麦麦提江[1,2†],孔雨欣[1,2†],马兰菲[1],蓝元鸿[1],热依兰·买托合提[3],汤梓越[1],陈一杌[1]

(1. 新疆大学 药学院(药物研究所),新疆 乌鲁 木齐 830017;
2. 新疆大学 智慧农业学院(研究院),新疆 乌鲁木齐 830017;
3. 新疆和田学院 基础医学院/新疆和田特色中医药研究重点实验室,新疆 和田 848000)

摘要:探究枸杞多糖(*Lycium barbarum* polysaccharide,LBP)联合紫杉醇靶向调控P-糖蛋白(P-gp)逆转乳腺癌紫杉醇耐药的分子机制。以乳腺癌紫杉醇耐药细胞株MCF-7/PTX为研究模型,采用MTT法验证细胞耐药表型,并检测不同浓度LBP的细胞毒性及耐药逆转活性;通过流式细胞术与激光共聚焦实验检测细胞内P-gp底物药物蓄积水平;利用qRT-PCR技术检测耐药关键基因*ABCB1*的mRNA表达水平。结果显示,MCF-7/PTX细胞相较于亲本细胞具有显著的紫杉醇耐药特性;50～200 mg/mL LBP对耐药细胞无明显毒性,为安全作用浓度,且可呈浓度依赖性降低紫杉醇IC_{50}值,有效逆转肿瘤耐药。同时,LBP可显著提升MCF-7/PTX细胞内化疗药物蓄积量,抑制P-gp外排功能。本研究发现,LBP可通过抑制P-gp外排功能,增加细胞内药物蓄积量逆转乳腺癌紫杉醇耐药性,明确了其对MCF-7/PTX耐药细胞的逆转效应及初步分子机制,可为天然产物逆转肿瘤多药耐药机制研究及新型耐药逆转辅助药物的开发提供理论与实验依据。

关键词:枸杞多糖;多药耐药;紫杉醇;耐药逆转
中图分类号:R285.5　　文献标志码:A　　文章编号:2096-3491(2026)05-0538-09

Reversal activity of *Lycium barbarum* polysaccharide against multidrug resistance in breast cancer

Maimaitijiang Ayitila[1,2†], KONG Yuxin[1,2†], MA Lanfei[1], LAN Yuanhong[1], Maituoheti Reyilan[3], TANG Ziyue[1], CHEN Yifan[1]

(1. School of Pharmacy(Institute of Materia Medica), Xinjiang University, Urumqi 830017, Xinjiang, China;
2. School of Smart Agriculture(Institute), Xinjiang University, Urumqi 830017, Xinjiang, China;
3. School of Basic Medical Sciences, Xinjiang Hotan College, Xinjiang Hotan Key Laboratory of Characteristic Traditional Chinese Medicine Research, Hotan 848000, Xinjiang, China)

Abstract: This study explored the molecular mechanism of *Lycium barbarum* polysaccharides(LBP)combined with paclitaxel (PTX)targeting regulation of P-glycoprotein(P-gp) to reverse PTX resistance in breast cancer. The PTX resistant cell line MCF-7/PTX of breast cancer was used as a research model. MTT assay was employed to validate the cell resistance phenotype, and assess the cytotoxicity and resistance-reversing activity of LBP at different concentrations. Flow cytometry and laser confocal microscopy were used to measure the accumulation levels of P-gp substrate drugs within the cells, and qRT-PCR was utilised to determine the mRNA expression levels of the key resistance gene *ABCB1*.

收稿日期:2026-06-08　修回日期:2026-07-20　接受日期:2026-10-19
作者简介:阿依提拉·麦麦提江(1991-),女,博士,副教授,主要研究方向为天然植物活性成分抗肿瘤机制,E-mail:ayitila@xju.edu.cn;孔雨欣(2004-),女,研究方向为天然植物活性成分抗肿瘤机制,E-mail:kongyuxin@stu.xju.edu.cn;† 为共同第一作者,对本文有相同的贡献
基金项目:新疆维吾尔自治区2025年天池英才-青年博士引进计划(5105250184p)

引用格式:阿依提拉·麦麦提江,孔雨欣,马兰菲,等. 枸杞多糖逆转乳腺癌多药耐药活性研究[J]. 生物资源, 2026, 48(5): 538-546.
Maimaitijiang Ayitila, Kong Y X, Ma L F, et al. Reversal activity of *Lycium barbarum* polysaccharide against multidrug resistance in breast cancer[J]. Biotic Resources, 2026, 48(5): 538-546.

The results indicated that MCF-7/PTX cells exhibited significant PTX resistance compared with the parental cells. LBP at concentrations of 50—200 mg/mL exhibited no apparent toxicity to the resistant cells, representing a safe concentration, and was found to reduce the PTX IC_{50} value in a concentration-dependent manner, effectively reversing tumour resistance. Furthermore, LBP significantly increased the accumulation of the chemotherapeutic agent within MCF-7/PTX cells and inhibited P-gp efflux. This study found that LBP can reverse PTX resistance in breast cancer by inhibiting P-gp efflux, thereby increasing intracellular drug accumulation. It has clarified its reversal effect on MCF-7/PTX-resistant cells and identified the preliminary molecular mechanism underlying this effect. These findings provide both theoretical and experimental support for research into the mechanisms by which natural products reverse tumour multidrug resistance and for the development of novel adjuvant drugs to reverse drug resistance.

Key words: *Lycium barbarum* polysaccharide; multidrug resistance; paclitaxel; resistance reversal

0 引 言

枸杞(*Lycium barbarum* L.)是一种茄科落叶灌木[1],广泛分布于中国的宁夏、青海、新疆等地。枸杞营养成分丰富,含有枸杞多糖,类胡萝卜素,黄酮类,生物碱[2]等生物活性成分,因此被广泛应用于中医药领域,是一种药食同源植物。枸杞药材目前已被报道可用于止咳、润肺、清热、滋阴,也是许多氧化应激相关疾病的低成本补充剂[3]。此外,还发现其成分具有降血糖,调节肠道菌群、增强免疫,保肝护肾,改善老年性黄斑变性,抗氧化、抗菌,促进骨骼肌功能、抗肿瘤等多种药理作用[4]。根据2024年全球癌症统计报告,女性乳腺癌是2022年除肺癌以外第二大癌症,也是威胁女性健康的恶性肿瘤之一[5]。目前乳腺癌主要的治疗手段包括化学药物,放射治疗,靶向治疗等。据统计,约30.00%的乳腺癌患者在接受初次化疗后会出现耐药现象。而在多次化疗后,耐药率高达50.00%以上[6]。耐药性的发展往往导致癌症复发和癌细胞转移,严重影响后续的治疗效果。因此,亟需寻找克服乳腺癌细胞耐药性的新策略和新治疗方法。

多药耐药性是指肿瘤细胞对一种抗肿瘤药物产生耐药性的同时,会对其他结构不同、作用机制相异的多种抗肿瘤药物也产生交叉耐药的现象[7]。由Biedler和Riehm在1970年提出,是多因素介导的复杂现象,以结构不同,靶点各异的化疗药物对肿瘤细胞产生不同程度的治疗耐药性为特征[8-9],其中由*ABCB1*基因编码的P-糖蛋白(P-gp)的过表达,被认为是最为关键的因素之一。ABCB1或P-gp是MDR1基因编码的膜蛋白[10]。P-gp是一种具有重要生理功能的ABC转运蛋白,其核苷酸结构域利用ATP水解的能量在跨膜结构域中产生构象变化[11],有效地将抗癌药物泵出细胞外[12],最终导致化疗失败,见图1。因此,寻找能够安全有效地抑制P-gp功能或下调其表达的天然小分子化合物,成为改善耐药性乳腺癌治疗效果的重要策略之一。

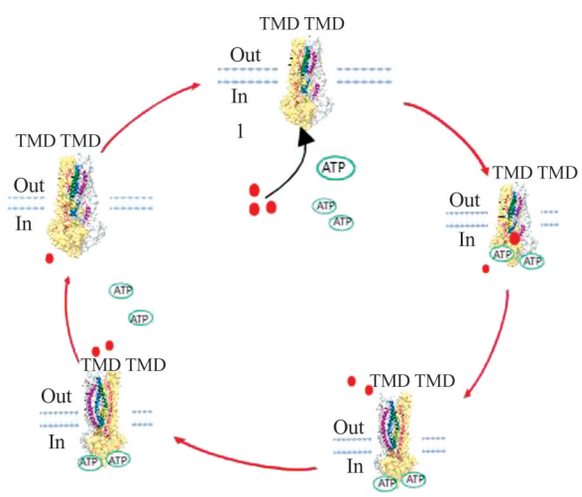


图1 P-gp蛋白的ATP转换机制

Figure 1 ATP switching mechanism of P-gp protein

恶性肿瘤中多药耐药的存在是癌症化疗失败的主要原因之一[13]。一旦抗癌药物出现耐药性,癌症会迅速转移,不仅导致治疗失败,还影响患者预后[14],是癌症化疗中最大的挑战。因此,克服多种肿瘤多药耐药性,恢复机体对化疗药物、靶向药物和免疫治疗的敏感性,对治疗癌症至关重要[12,15]。

枸杞作为药食同源的植物,其重要活性成分枸杞多糖(*Lycium barbarum* polysaccharide,LBP)已被证实具有抗肿瘤潜力[16],对乳腺癌、肺癌、肝癌、肾癌等多种肿瘤细胞均有抑制增殖作用,可以诱导细胞凋亡[17-20]。同时,少量研究发现将枸杞多糖与其他化疗药物联用可以增强化疗药物疗效和逆转肿瘤多药耐药性[21-23];其中,LBP在恶性脑胶质瘤中可通过激活Keap1/Nrf2通路和增强免疫发挥化疗增敏作用,在结肠癌中可通过抑制PMI/PI3K/AKT通路下调ABCG2逆转奥沙利铂耐药,在乳腺癌中则主要作为纳米载体递送紫杉醇(paclitaxel,PTX)并诱导铁死亡。然而,目前尚无研究探讨LBP是否通过多

药耐药外排泵P-gp(由*ABCB1*编码)逆转乳腺癌紫杉醇特异性耐药。区别于已有的抗氧化、免疫调节或纳米载体策略,本文以乳腺癌亲本细胞MCF-7及紫杉醇耐药细胞MCF-7/PTX为模型,在细胞水平上系统考察LBP对耐药细胞的逆转活性,并通过P-gp底物在胞内蓄积实验、荧光定量PCR、qRT-PCR技术等手段,探索其对*ABCB1*基因和功能的影响,以期为枸杞多糖在肿瘤耐药干预中的应用提供新的实验依据与理论基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 仪器

实验仪器主要包括超声波清洗机(昆山市超声仪器有限公司)、LA120S电子天平(METTER仪器有限公司)、微量移液器(德国Eppendorf公司)、Milli-Q超纯水仪(美国Milli-pore公司)、K15高速冷冻离心机(美国Beckman公司)、SpectraMax多功能酶标仪(美国Molecular Devices公司)、CO_2培养箱(德国Binder公司)、倒置相差显微镜(德国Leica公司)、细胞计数仪(美国Invitrogen公司)、立式压力蒸汽灭菌器(上海申安医疗器械厂)、微量振荡器(江苏省荣华仪器厂)、制冰机(日本Sanyo公司)、超净工作台(美国Thermo Fisher公司)、细胞培养皿(美国Corning公司)、培养瓶(美国Corning公司)、96孔板(美国Corning公司)、超低温冰箱(日本三洋公司)、混振荡器(美国Thermo Fisher公司)。

1.1.2 细胞株

人乳腺癌细胞株MCF-7购自ATCC公司、乳腺癌-紫杉醇耐药细胞株MCF-7/PTX由实验室耐药诱导得到。

1.1.3 试剂与耗材

实验所用试剂包括(其他试剂均为分析纯):噻唑蓝(MTT)、二甲基亚砜、DMEM培养基、维拉帕米(Verapamil,VRP)(美国Sigma公司);胰酶、胎牛血清、青霉素-链霉素溶液、台盼蓝(美国Hyclone公司);细胞计数板(美国Thermo公司)、紫杉醇(Paclitaxel,PTX)(上海生工)、FristKing cDNA第一链合成试剂盒(天根生化科技有限公司)、TRNzol Universal总RNA提取试剂(天根生化科技有限公司)、胰酶(无EDTA)(北京索莱宝公司)、吐温20(天津百世化工)、Quanti Nova SYBR Green PCR kit(德国凯杰公司)、Triton X-100(天津百世化工)、4%多聚甲醛(Bio sharp)、过硫酸铵(AP)(Generay Biotech)。

1.2 实验方法

1.2.1 溶液的配制

1)DMEM完全培养基:DMEM不完全培养基中分别加入胎牛血清和双抗,血清终浓度为10%,双抗1%。摇匀,封口,放置于4 ℃冰箱备用。

2)1×PBS缓冲液:将PBS粉末加纯水,充分搅拌至完全溶解,终浓度为0.1 mol/L,高压灭菌(121 ℃,20 min),冷却后4 ℃备用。

3)MTT溶液:取MTT粉末1 g溶于200 mL的PBS溶液,超声10 min或水浴60 ℃至完全溶解无结晶,用0.22 μm的滤膜过滤除菌,分装,−20 ℃避光保存;使用前与不完全培养基按1∶9稀释。

4)VRP和PTX药物配制:根据药物分子量计算,用DMSO配置成50 mmol/L母液,混匀至完全溶解,分装,−20 ℃保存,备用。实验前需稀释至所需浓度。

5)0.1 mol/L PMSF:精密称取174.19 mg PMSF加入5 mL异丙酮,超声至溶解完全,分装,−20 ℃储存备用;使用前按1∶100加入RIPA裂解液中,现配现用。

1.2.2 细胞复苏及培养

MCF-7为乳腺癌亲本敏感细胞株,MCF-7/PTX细胞是本课题组前期构建的阿霉素耐药MCF-7细胞株,将两种细胞从液氮罐取出,立即放入37 ℃水浴锅中轻轻摇晃1~2 min至细胞完全融化,后加到盛有10 mL完全培养基(DMEM,10% FBS,1%双抗)的培养皿中,放置于37 ℃,5%CO_2的培养箱中培养过夜,待细胞生长至70%~80%融合度时,PBS洗两遍,消化,并补充培养液,继续培养。MCF-7/PTX细胞传代至7~9代时,加入500 nmol/L的PTX培养基维持耐药性1~2周,实验前撤药培养1~2周。细胞冻存:消化收集对数生长期的细胞,计数,按2×10^6个/mL加入冻存液(胎牛血清∶DMSO=9∶1,V∶V),分装到冻存管里,依次放置于4 ℃,−20 ℃,−80 ℃孵育,再放入液氮罐长期保存。

1.2.3 细胞株耐药性考察

取对数生长期的MCF-7、MCF-7/PTX细胞消化后计数,以每孔4 000个细胞接种于96孔板,在37 ℃、5%CO_2培养箱孵育过夜,待细胞贴壁生长至70%~80%融合度时,加入紫杉醇(PTX)使每孔终浓度为0.1、0.5、1、5、10、20、50、100、200、500和1 000 μmol/L,每孔20 μL,每个浓度重复6个复孔,无细胞本底组加入DMSO,对照组加入等体积的培养基,继续培养48 h,弃上清液,每孔加入100 μL

MTT溶液，继续培养4 h，弃上清液，每孔加入150 μL DMSO，振荡8 min至结晶完全溶解，用酶标仪检测各孔在570 nm处的吸光度值，计算出每个浓度下药物的抑制率，后续GraphPad Prism 8.0软件计算得半数抑制率IC_{50}值，每组实验独立重复3次，结果以平均值±标准误（mean±SD）表示。

1.2.4 MTT法检测LBP对MCF-7/PTX细胞活力的影响

取对数生长期的MCF-7/PTX细胞，消化计数后以每孔4×10^3个细胞接种于96孔板，在37 ℃、5%CO_2培养箱中孵育过夜。待细胞贴壁生长至70%～80%融合度时，弃去原培养基，分别加入不同浓度的LBP，使终浓度依次为50、100、200、400、800、1 600 mg/mL，每个浓度设6个复孔。同时设置空白对照组（仅含培养基，无细胞）和阴性对照组（细胞加入等体积培养基，不加LBP）；继续培养48 h后，每孔加入20 μL MTT溶液（5 mg/mL），继续孵育4 h。吸去上清，每孔加入150 μL DMSO，振荡10 min至紫色结晶完全溶解，用酶标仪检测各孔在570 nm波长处的吸光度（OD）值。

细胞活力按以下公式计算：细胞活力（%）=（给药组OD值－本底组OD值）/（对照组OD值－本底组OD值）×100%。每组实验独立重复3次，结果以平均值±标准误表示。

1.2.5 LBP对MCF-7/PTX细胞中Rho123蓄积量的影响

取处于对数生长期的MCF-7、MCF-7/PTX细胞，消化计数后以每孔6×10^5个细胞接种于6孔板，在37 ℃、5%CO_2孵育过夜，待第二天细胞正常生长并贴壁后，加入LBP，使终浓度分别为200、100、50 mg/mL，VRP作为阳性对照，浓度为10 μmol/L；每组设3个复孔，无细胞本底组加入DMSO，对照组MCF-7和MCF-7/PTX加入等体积的培养基，继续培养3 h，每孔加入Rho123至终浓度为5 μmol/L，继续培养150 min，弃培养基，每孔用1 mL PBS洗两遍，用荧光显微镜观察并拍照，Rho123激发光488 nm，发射光535～590 nm。

1.2.6 流式细胞仪检测LBP对P-gp底物外排抑制作用

细胞接种及药物处理同§1.2.5。每孔加入Rho123，终浓度为5 μmol/L，继续培养2 h，弃培养基，每孔用1 mL PBS洗两遍，用胰酶消化收集细胞，在1 500 rpm，8 min，4 ℃重复洗涤2次，最后加入500 μL PBS溶液重悬细胞，置于冰上，避光，上流式细胞仪检测荧光强度，Rho123用488激发，FL1（fluorescein 1）通道检测，实验独立重复3次。

1.2.7 LBP对MCF-7/PTX细胞中*ABCB1*基因表达水平的影响

取对数生长期的MCF-7、MCF-7/PTX细胞，消化计数，以每孔4×10^5个细胞接种于6孔板，培养过夜，加入LBP，使终浓度分别为200、100、50 mg/mL，VRP作为阳性对照，浓度为10 μmol/L；无细胞本底组加入DMSO，对照组MCF-7和MCF-7/PTX加入等体积的培养基，继续培养48 h，弃上清，用预冷PBS洗细胞表面并置于冰上，使用Trizol试剂提取总RNA，cDNA反转录和荧光定量试剂盒，按试剂盒步骤操作，反应所用引物序列如表1所示。

表1 反应所用引物序列

Table 1 Primer sequences used in the reaction

引物名称		核苷酸序列（5′－3′）
ABCB1	F	GCAGCTGGAAGACAAATACACAAA
	R	CCCCAACATCGTGCACATC
GAPDH	F	TCTGCAGGAGACAAGACCTG
	R	GACTTCAGGAGCTGGAGAGG

1.2.8 统计学处理

所有实验至少进行3次（$n=3$），通过GraphPad Prism 8.0软件进行单因素方差分析，t检验等对各组之间的差异进行统计学分析，所有数据用mean±SD表示。*$P<0.05$，**$P<0.01$，***$P<0.001$，****$P<0.000\,1$。

2 结果与分析

2.1 MCF-7/PTX细胞耐药性考察

通常耐药细胞中P-gp/ABCB1高表达，本实验所用的细胞株MCF-7/PTX本身对DOX有耐药性，为了验证细胞株对抗肿瘤药物紫杉醇的耐药性，采用MTT法检测耐药细胞株以及亲本细胞株对化疗药物PTX的耐药性，按下列公式计算得出耐药倍数：

$$\text{耐药倍数（RI）}=\frac{IC_{50}\text{—MCF-7/PTX}}{IC_{50}\text{—MCF-7}} \quad (1)$$

与敏感的MCF-7细胞系相比，耐药细胞株对这些药物的耐药倍数为70.60，如图2所示。可见MCF-7/PTX细胞对化疗药物PTX有一定的耐药性，该细胞株能够成为体外逆转活性及作用机制的研究模型。

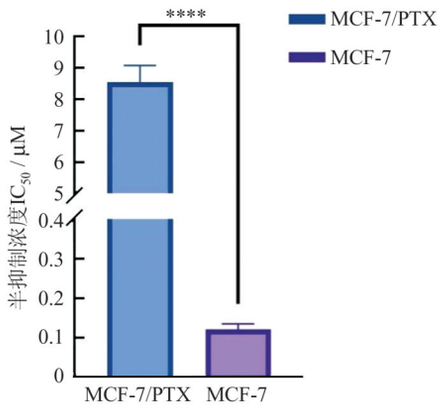


图2 MCF-7和MCF-7/PTX细胞对紫杉醇(PTX)的半抑制浓度的比较

Figure 2 Comparison of PTX half maximal inhibitory concentration between MCF-7 and MCF-7/PTX cells

注:两组数据间采用独立样本t检验分析。****代表组间差异极显著($P<0.000\ 1$)。

Note: Statistical analysis was performed using an independent samples t-test for the two groups. **** denotes an extremely significant difference between groups ($P<0.000\ 1$).

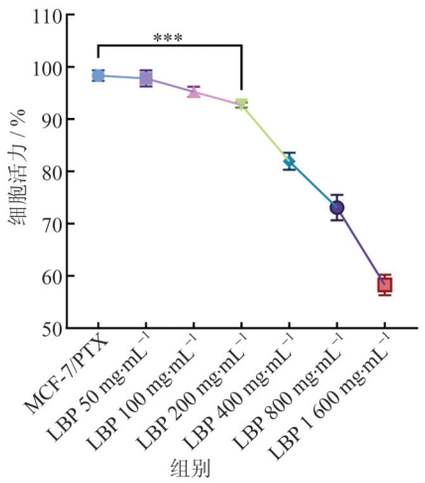


图3 不同浓度枸杞多糖(LBP)对MCF-7/PTX细胞活力的影响

Figure 3 Effect of different concentrations of LBP on the viability of MCF-7/PTX cells

注:两组数据间采用独立样本t检验分析。***代表组间差异极显著($P<0.001$)。

Note: Statistical analysis was performed using an independent samples t-test for the two groups. **** denotes an extremely significant difference between groups($P<0.001$).

2.2 LBP对MCF-7/PTX细胞活力的影响

为了评估LBP对MCF-7/PTX细胞是否存在直接细胞毒性,以确定后续逆转实验的安全浓度范围,采用MTT法检测不同浓度LBP处理48 h后的细胞活力,结果如图3所示。在50~200 mg/mL浓度范围内,LBP对MCF-7/PTX细胞的活力无明显抑制作用,细胞活力均保持在90%以上,与对照组相比差异无统计学意义($P>0.05$),提示该浓度范围内LBP无明显细胞毒性,可用于后续耐药逆转实验。当LBP浓度升高至400 mg/mL时,细胞活力下降至(82.6±5.3)%($P<0.05$);800 mg/mL时细胞活力为(65.4±6.1)%($P<0.01$);1 600 mg/mL时细胞活力显著降低至(41.2±7.8)%($P<0.001$),呈现明显的浓度依赖性细胞毒性。以上结果表明,LBP在50~200 mg/mL浓度范围内对MCF-7/PTX细胞无明显毒性,是研究其逆转耐药作用的安全有效浓度区间;而较高浓度(≥400 mg/mL)则一定程度上直接抑制细胞活力。

2.3 LBP对抗肿瘤药物逆转作用的研究

在先前研究的基础上,进一步研究了LBP在安全浓度范围(50、100、200 mg/mL)时在ABCB1过表达的MCF-7/PTX细胞(课题组之前的研究已证实)中对化疗药物的逆转能力。当LBP与化疗药物共同干预时,以剂量依赖的方式增加了紫杉醇的敏感性。各组细胞对应的紫杉醇剂量-反应拟合曲线如图4所示。LBP的IC_{50}值如图5所示。结果表明:与仅用紫杉醇(PTX)处理的MCF-7/PTX细胞相比,联用不同浓度LBP后,细胞对紫杉醇的IC_{50}值呈剂量依赖性显著降低($P<0.000\ 1$):对照组(MCF-7/PTX)的IC_{50}值为(8.543 4±0.535 9)μmol/L;联用50 mg/mL LBP后,IC_{50}降至(4.263 8±0.338 0)μmol/L;联用100 mg/mL LBP后,IC_{50}进一步降至(2.576 3±0.457 9)μmol/L;联用200 mg/mL LBP后,IC_{50}降至(0.793 6±0.068 1)μmol/L。该结果表明,LBP可剂量依赖性地逆转MCF-7/PTX细胞对紫杉醇的耐药性,显著增强耐药细胞对化疗药物的敏感性。

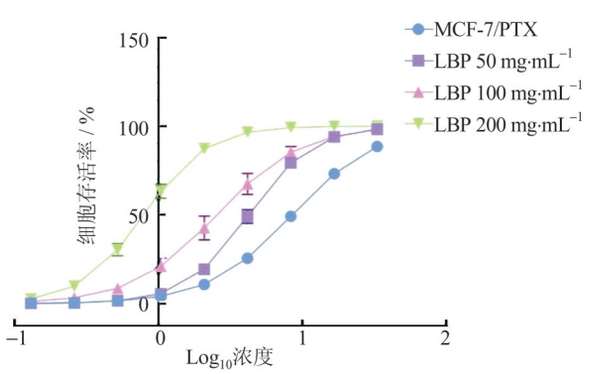


图4 不同浓度LBP联合紫杉醇作用于MCF-7/PTX细胞的剂量-反应曲线

Figure 4 Dose-response curves of MCF-7/PTX cells treated with PTX combined with different concentrations of LBP

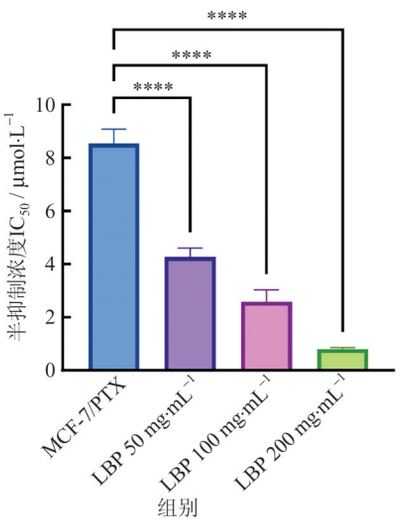


图5　联用不同浓度LBP后MCF-7/PTX细胞对紫杉醇的敏感性变化

Figure 5　Changes in PTX sensitivity of MCF-7/PTX cells after combined treatment with different concentrations of LBP

注：两组间数据比较采用独立样本*t*检验进行统计学分析。****代表组间差异极显著（$P<0.000\ 1$）。

Note: Statistical comparisons between two groups were conducted via independent samples *t*-test. **** indicates an extremely significant difference ($P<0.000\ 1$).

2.4　LBP对MCF-7/PTX细胞内Rho123蓄积量的影响

罗丹明123（Rho123）是P-gp/ABCB1的特异性底物，细胞内荧光强度可以反映LBP对P-gp/ABCB1外排泵的抑制作用。为了检测LBP是否抑制P-gp药物泵的功能，通过荧光显微镜检测了P-gp特异性底物在MCF-7、MCF-7/PTX细胞中的积累。与亲本细胞株MCF-7相比，细胞内罗丹明荧光信号明显减少，VRP 10 μmol/L作为阳性对照。分别以50、100和200 mg/mL的浓度处理LBP以浓度依赖性的方式增强了MCF-7/PTX细胞中Rho123的细胞内积累。LBP能显著增强P-gp底物在MCF-7/PTX细胞的蓄积量，如图6所示。

2.5　LBP对MCF-7/PTX细胞内Rho123外排抑制作用

流式细胞术具有高灵敏度，高精确性等优点，为了进一步更直观更准确地判断LBP对MCF-7/PTX细胞中罗丹明外排的抑制作用，通过流式细胞术进行罗丹明细胞内积聚测定。罗丹明是最典型的P-gp底物，其胞内蓄积量可反映P-gp外排功能。如图7所示，与亲代MCF-7细胞相比，MCF-7/PTX细胞的荧光强度显著降低（$P<0.000\ 1$），VRP 10 μmol/L作为阳性对照。随着LBP浓度升高至50、100和200 mg/mL，以浓度依赖性的方式增强了MCF-7/PTX细胞中Rho123的细胞内积累。值得注意的是，当LBP浓度为100 mg/mL时，LBP对胞内Rho123的外排抑制作用强于阳性药VRP。

2.6　LBP对*ABCB1*基因表达水平的影响

为了测定LBP对*ABCB1* mRNA表达水平的影响，采用qRT-PCR实验检测了不同给药浓度下，细胞中*ABCB1* mRNA表达水平，如图8所示。用50、100、200 mg/mL LBP处理MCF-7/PTX细胞48 h，MCF-7/PTX细胞中P-gp/*ABCB1*基因水平显著高于亲本细胞组MCF-7。然而，所有给药组的P-gp/*ABCB1*基因水平并没有显著变化，阳性药物VRP处理组对P-gp基因水平也没有影响，这些结果表明LBP的MDR逆转能力与其直接下调*ABCB1* mRNA表达水平无关。

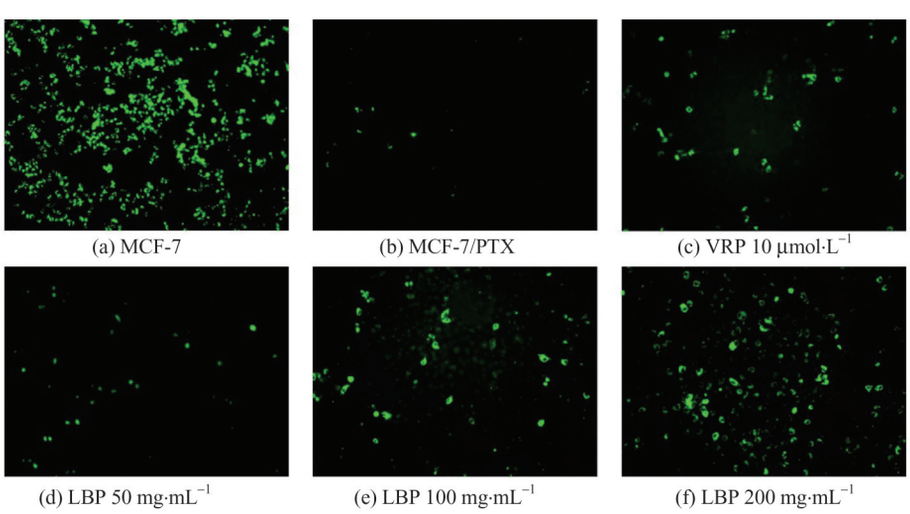


图6　LBP对MCF-7/PTX细胞内罗丹明123（Rho123）蓄积的影响

Figure 6　Effects of LBP on intracellular accumulation of rhodamine 123 (Rho123) in MCF-7/PTX cells

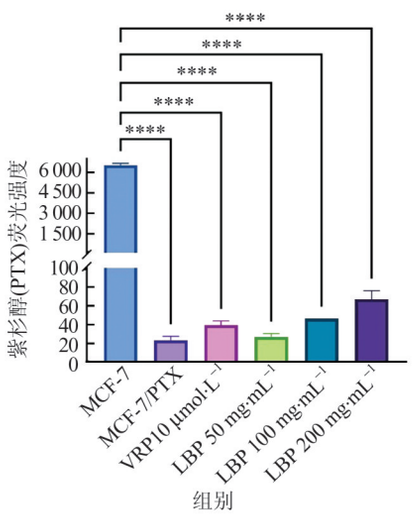


图7 LBP对MCF-7/PTX细胞内Rho123外排的抑制作用

Figure 7 Inhibitory effect of LBP on Rho123 efflux in MCF-7/PTX cells

注:两组间数据比较采用独立样本t检验进行统计学分析。****代表组间差异极显著($P<0.000\ 1$)。

Note: Statistical comparisons between two groups were conducted via independent samples t-test. **** indicates an extremely significant difference($P<0.000\ 1$).

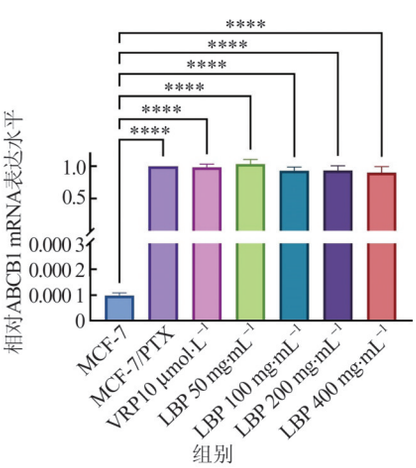


图8 枸杞多糖(LBP)对MCF-7/PTX细胞*ABCB1* mRNA表达水平的影响

Figure 8 Effect of LBP on the expression level of *ABCB1* mRNA in MCF-7/PTX cells

注:两组间数据比较采用独立样本t检验进行统计学分析。****代表组间差异极显著($P<0.000\ 1$)。

Note: Statistical comparisons between two groups were conducted via independent samples t-test. **** indicates an extremely significant difference($P<0.000\ 1$).

3 讨论与结论

传统的抗肿瘤治疗手段包括手术、化疗和放疗等,但存在靶向性差、毒副作用大、易产生耐药等问题,导致治疗效果不太理想[24-25],此外还给患者带来不同程度的痛苦和不适[26]。与此同时,天然产物因其独特的结构多样性、良好的生物相容性及潜在的低毒性特征,在调控外排转运蛋白功能方面展现出独特优势[27],因此,寻找低毒、高效的天然耐药逆转剂,已成为当前肿瘤治疗研究中的重要方向。根据现有文献资料综述可知,天然产物多糖不仅可显著增强机体免疫力且具有很强的抗肿瘤活性[28-29]。肿瘤多药耐药(MDR)是导致乳腺癌化疗失败的重要原因,其形成机制和应对策略成了当前癌症研究的热点[30],其中P-糖蛋白(P-gp/*ABCB1*)的过表达被认为是诱导耐药产生的核心机制之一。因此,本研究以乳腺癌紫杉醇耐药细胞株MCF-7/PTX为模型,系统考察了LBP对肿瘤耐药的逆转效应及其可能的作用机制。

耐药性验证结果显示,MCF-7/PTX细胞对紫杉醇的耐药倍数高达70.60倍,具有典型的耐药细胞表型。细胞毒性实验表明,LBP在50~200 mg/mL浓度范围内对MCF-7/PTX细胞无明显增殖抑制,提示该浓度区间是安全有效的。在此浓度范围下,LBP呈剂量依赖性地降低紫杉醇的IC_{50}值,其中200 mg/mL LBP处理组IC_{50}由8.54 μmol/L显著降至0.79 μmol/L,提示LBP能有效恢复耐药细胞对化疗药物的敏感性。Rho123蓄积与流式细胞术实验共同显示,LBP可浓度依赖性地增强MCF-7/PTX细胞内P-gp特异性底物的积累量,显著抑制P-gp的外排功能;值得关注的是,100 mg/mL LBP处理组的抑制作用甚至明显优于阳性对照VRP(10 μmol/L)。然而,进一步的qRT-PCR检测表明,无论是LBP还是VRP干预耐药细胞,均未显著改变MCF-7/PTX细胞中*ABCB1*基因的mRNA转录水平。这表明LBP的耐药逆转能力并非通过下调*ABCB1*基因的转录来实现。

本研究仍存在一定的研究局限性。本实验仅选用单一乳腺癌紫杉醇耐药细胞株MCF-7/PTX开展相关验证与机制探究,未引入其他乳腺癌耐药细胞系进行验证。单一细胞系的实验模型存在一定的片面性,无法完全排除细胞株特异性对实验结果的影响,难以充分证实LBP逆转乳腺癌紫杉醇耐药效应的普适性,一定程度上限制了本研究结论的推广性与通用性。后续研究中可进一步补充多种乳腺癌耐药细胞系,多角度验证LBP的耐药逆转作用,深入挖掘其上下游调控通路,完善其抗耐药的分子机制体系,为LBP的临床转化应用提供更全面、充分的实验支撑。

本研究发现,LBP可能影响P-gp外排功能而不

是mRNA水平，增加药物在细胞内的蓄积量，逆转乳腺癌紫杉醇耐药性，明确了LBP对乳腺癌MCF-7/PTX紫杉醇耐药细胞的耐药逆转效应及初步分子调控机制，这为枸杞多糖作为肿瘤化疗辅助制剂或候选耐药逆转分子提供了科学的实验依据。

参考文献

[1] 李战虎，李双. 枸杞多糖对神经母细胞瘤细胞铁死亡及Nrf2/HO-1信号通路的影响[J]. 中医药导报，2026，32(2)：19-23.
Li Z H，Li S. Effect of *Lycium barbarum* polysaccharide on ferroptosis and the Nrf2/HO-1 signaling pathway in neuroblastoma cells[J]. Guiding Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacology，2026，32(2)：19-23.

[2] 苏天佑，孙东琪，赵玉新，等. 枸杞多糖在脑缺血性疾病中的作用[J]. 西部中医药，2026，39(4)：74-80.
Su T Y，Sun D Q，Zhao Y X，et al. The role of *Lycium barbarum* polysaccharide in cerebral ischemic disease[J]. Western Journal of Traditional Chinese Medicine，2026，39(4)：74-80.

[3] 李晓静. 发酵枸杞汁对环磷酰胺免疫抑制小鼠免疫功能及肠道菌群的影响[D]. 银川：宁夏大学，2023.
Li X J. Effects of fermented *Lycium barbarum* juice on immune function and intestinal flora in cyclophosphamide immunosuppressed mice[D]. Yinchuan：Ningxia University，2023.

[4] 闫亚美，米佳，张锋锋，等. 宁夏枸杞的表型特征与主要功效成分含量的相关性[J]. 食品科学技术学报，2025，43(4)：160-172.
Yan Y M，Mi J，Zhang F F，et al. Correlation between phenotype characteristics and main functional components of *Lycium barbarum* L[J]. Journal of Food Science and Technology，2025，43(4)：160-172.

[5] 赵艳，牛小玉，韩增风，等. 抗体偶联药物在HER2阳性乳腺癌中的应用进展及展望[J]. 现代肿瘤医学，2025，33(5)：876-882.
Zhao Y，Niu X Y，Han Z F，et al. Application progress and prospect of antibody conjugated drugs in HER2 positive breast cancer[J]. Journal of Modern Oncology，2025，33(5)：876-882.

[6] 马剑，董奕萱，王启龙，等. 红景天苷调节MEK/ERK信号通路对乳腺癌细胞紫杉醇耐药性的影响[J]. 中华肿瘤防治杂志，2025，32(4)：193-203，214.
Ma J，Dong Y X，Wang Q L，et al. Effect of salidroside on paclitaxel resistance in breast cancer cells by regulating MEK/ERK signaling pathway[J]. Chinese Journal of Cancer Prevention and Treatment，2025，32(4)：193-203，214.

[7] 黄婧漪，刘玥彤，李贺，等. 中医药改善肿瘤化疗耐药研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志，2025，31(10)：105-116.
Huang J Y，Liu Y T，Li H，et al. Traditional Chinese medicine ameliorates tumor chemotherapy resistance：a review[J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae，2025，31(10)：105-116.

[8] Riganti C，Contino M. New strategies to overcome resistance to chemotherapy and immune system in cancer[J]. International Journal of Molecular Sciences，2019，20(19)：4783.

[9] He J，Fortunati E，Liu D X，et al. Pleiotropic roles of ABC transporters in breast cancer[J]. International Journal of Molecular Sciences，2021，22(6)：3199.

[10] Juliano R L，Ling V. A surface glycoprotein modulating drug permeability in Chinese *Hamster* ovary cell mutants[J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes，1976，455(1)：152-162.

[11] Alam A，Kowal J，Broude E，et al. Structural insight into substrate and inhibitor discrimination by human P-glycoprotein[J]. Science，2019，363(6428)：753-756.

[12] Kathawala R J，Gupta P，Ashby C R Jr，et al. The modulation of ABC transporter-mediated multidrug resistance in cancer：a review of the past decade[J]. Drug Resistance Updates，2015，18：1-17.

[13] 郭晓娟，卢晨阳，杜瑞娟，等. 芍药内酯苷调控WWP1逆转卵巢癌荷瘤小鼠顺铂耐药[J]. 中国药理学通报，2026，42(2)：312-321.
Guo X J，Lu C Y，Du R J，et al. Study on albiflorin targeting WWP1 to reverse cisplatin resistance in ovarian cancer-bearing mice[J]. Chinese Pharmacological Bulletin，2026，42(2)：312-321.

[14] 黄桂柳，覃月秋，黄赞松. miR-181a在肝癌细胞化疗耐药中的作用及其相关靶基因预测[J]. 山东医药，2026，66(3)：25-30，36.
Huang G L，Qin Y Q，Huang Z S. Role of miR-181a in chemotherapy resistance of HCC cells and prediction of the related target genes[J]. Shandong Medical Journal，2026，66(3)：25-30，36.

[15] Bar-Zeev M，Livney Y D，Assaraf Y G. Targeted nanomedicine for cancer therapeutics：towards precision medicine overcoming drug resistance[J]. Drug Resistance Updates，2017，31：15-30.

[16] 陈姣蓉，王嘉琪，黄征. 枸杞多糖通过下调miR-365抑制皮肤鳞癌A431细胞增殖的机制研究[J]. 解放军医药杂志，2020，32(9)：1-4，17.
Chen J R，Wang J Q，Huang Z. Mechanisms of *Lycium barbarum* polysaccharide inhibiting the proliferation of skin squamous cell carcinoma A431 by downregu-

lating miR-365[J]. Medical & Pharmaceutical Journal of Chinese PLA, 2020, 32(9): 1-4, 17.

[17] 张睛睛. 枸杞多糖诱导乳腺癌细胞铁死亡的作用机制研究[D]. 银川:宁夏医科大学, 2022.
Zhang J J. Study on the mechanism of ferroptosis induced by *Lycium barbarum* polysaccharides in breast cancer cells[D]. Yinchuan: Ningxia Medical University, 2022.

[18] 曾梅华. 枸杞多糖调控自噬抑制皮肤鳞状细胞癌细胞体内体外生长及其相关机制研究[D]. 广州:南方医科大学, 2020.
Zeng M H. Effect and mechanism study of *Lycium barbarum* polysaccharide on the growth of human skin squamous cell carcinoma cells in vitro and *in vivo* via the regulation of autophagy [D]. Guangzhou: Southern Medical University, 2020.

[19] 杨毅, 蒋兰. 枸杞多糖抗肿瘤作用及机制研究进展[J]. 亚太传统医药, 2017, 13(22): 79-82.
Yang Y, Jiang L. Research progress on the anti-tumor effects of *Lycium barbarum* polysaccharides and its mechanisms [J]. Asia-Pacific Traditional Medicine, 2017, 13(22): 79-82.

[20] 刘思, 宋娟, 洋雯茜, 等. 枸杞多糖结构特征、生物活性及其降解研究进展[J]. 中草药, 2025, 56(4): 1440-1455.
Liu S, Song J, Yang W Q, et al. Research progress on structural characteristics, biological activities and degradation of *Lycium barbarum* polysaccharides [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2025, 56(4): 1440-1455.

[21] 艾芳芳, 肖红燕, 汪芳, 等. 枸杞多糖联合奥沙利铂可逆转结肠癌干细胞的耐药[J]. 中国组织工程研究, 2024, 28(1): 74-79.
Ai F F, Xiao H Y, Wang F, et al. Reversal effect of *Lycium barbarum* polysaccharide in combination with oxaliplatin on drug resistance of colon cancer stem cells [J]. Chinese Journal of Tissue Engineering Research, 2024, 28(1): 74-79.

[22] 李晓鲲, 荆丽丽, 姜人豪, 等. 枸杞多糖对恶性脑胶质瘤化疗效果影响的研究[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2020, 27(18): 1503-1507.
Li X K, Jing L L, Jiang R H, et al. Effect of *Lycium barbarum* polysaccharides on the chemotherapy of malignant glioma of the brain[J]. Chinese Journal of Cancer Prevention and Treatment, 2020, 27(18): 1503-1507.

[23] 夏宇, 王小欢, 韩美华, 等. 以枸杞多糖为载体的紫杉醇纳米粒的制备及治疗乳腺癌的研究[J]. 中草药, 2024, 55(17): 5812-5821.
Xia Y, Wang X H, Han M H, et al. Preparation of paclitaxel nanoparticles used *Lycium barbarum* polysaccharide as carrier and study on the treatment of breast cancer [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2024, 55(17): 5812-5821.

[24] de Visser K E, Joyce J A. The evolving tumor microenvironment: from cancer initiation to metastatic outgrowth[J]. Cancer Cell, 2023, 41(3): 374-403.

[25] Kaur R, Bhardwaj A, Gupta S. Cancer treatment therapies: traditional to modern approaches to combat cancers [J]. Molecular Biology Reports, 2023, 50(11): 9663-9676.

[26] 成日华. 枸杞多糖对P-糖蛋白影响的研究[D]. 长沙: 中南大学, 2012.
Cheng R H. Effects of *Lycium barbarum* polysaccharide on P-glycoprotein [D]. Changsha: Central South University, 2012.

[27] 孟路华, 潘鸿, 刘书环, 等. 细胞膜仿生纳米粒递送抗肿瘤天然产物的研究进展[J]. 中国药房, 2026, 37(4): 547-552.
Meng L H, Pan H, Liu S H, et al. Research progress on cell membrane biomimetic nanoparticles for delivery of antitumor natural products [J]. China Pharmacy, 2026, 37(4): 547-552.

[28] 左佳倩, 束昕妍, 黄玉洁, 等. 基于自噬探讨中药活性成分调节肿瘤微环境发挥抗肿瘤作用的研究进展[J]. 陕西中医, 2026, 47(4): 563-567.
Zuo J Q, Shu X Y, Huang Y J, et al. Research progress on the role of active ingredients in traditional Chinese medicine in regulating the tumor microenvironment and exerting anti-tumor effects based on autophagy[J]. Shaanxi Journal of Traditional Chinese Medicine, 2026, 47(4): 563-567.

[29] Lai J, Tang Y, Yang F, et al. Targeting autophagy in ethnomedicine against human diseases [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2022, 282: 114516.

[30] 邹乾麟, 孙立. 糖酵解与谷氨酰胺代谢在肿瘤耐药中的研究进展[J]. 中国医药科学, 2025, 15(21): 41-48.
Zou Q L, Sun L. Research advancesin glycolysis and glutamine metabolismin tumor drug resistance [J]. China Medicine and Pharmacy, 2025, 15(21): 41-48.