

# 基于生物信息学分析丝甘蛋白聚糖对卵巢癌耐药性的影响及作用机制<sup>△</sup>

许丁文<sup>1\*</sup>, 熊彦<sup>1</sup>, 严慧深<sup>1</sup>, 雒森<sup>1</sup>, 姚伟娟<sup>2#</sup> (1.扬州市职业大学医学院, 江苏扬州 225100; 2.北京大学基础医学院, 北京 100191)

中图分类号 R737.31 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)01-0040-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.01.09

**摘要** 目的:研究丝甘蛋白聚糖(SRGN)对卵巢癌耐药性的影响及作用机制。方法:采用基因表达谱交互分析工具(GEPIA)提取卵巢癌相关数据集并分析SRGN mRNA在人类正常卵巢组织与卵巢癌组织的表达差异;基于基因表达数据库(GEO)获取SRGN mRNA在顺铂敏感性与顺铂耐药性卵巢癌细胞株(A2780)中的表达差异;采用STRING在线数据库筛选SRGN的互作蛋白(置信度为0.900,联结数为10),然后通过生物学信息注释数据库(DAVID)进行京都基因和基因组百科全书(KEGG)代谢通路分析,预测SRGN调节卵巢癌耐药性的潜在通路;采用医学本体信息检索平台COREMINE挖掘SRGN、卵巢癌、耐药性三者显著关联的生物过程。结果:SRGN mRNA在卵巢癌组织中的表达显著高于正常卵巢组织( $P<0.05$ ),在顺铂耐药性卵巢癌细胞株中表达显著高于顺铂敏感性卵巢癌细胞株( $P<0.001$ )。筛选出10个与SRGN互作的蛋白,包括白蛋白、转化生长因子 $\beta 1$ 、血小板因子4、血纤维蛋白溶酶原、血管内皮生长因子A等;SRGN参与调节卵巢癌耐药性的KEGG代谢通路有缺氧诱导因子1 $\alpha$ 信号通路、细胞因子-细胞因子受体通路、凝血与补体级联反应信号通路等,生物过程有基因表达、细胞生长、凋亡过程、细胞死亡。结论:SRGN介导卵巢癌耐药可能与缺氧诱导因子1 $\alpha$ 信号通路、细胞因子-细胞因子受体通路等有关。

**关键词** 丝甘蛋白聚糖;卵巢癌;耐药性;KEGG代谢通路;生物信息学

## Effects of Serglycan on Drug Resistance of Ovarian Cancer and Its Mechanism Based on Bioinformatics

XU Dingwen<sup>1</sup>, XIONG Yan<sup>1</sup>, YAN Huishen<sup>1</sup>, LUO Sen<sup>1</sup>, YAO Weijuan<sup>2</sup> (1.School of Medical Science, Yangzhou Polytechnic College, Jiangsu Yangzhou 225009, China, 2.School of Basic Medical Science, Peking University, Beijing 100191, China)

**ABSTRACT** **OBJECTIVE:** To study the effects of serglycan (SRGN) on drug resistance of ovarian cancer and its mechanism. **METHODS:** Gene expression profile interactive analysis tool (GEPIA) was used to extract related data set of ovarian cancer and analyze the difference of mRNA expression of SRGN between normal ovary tissue and ovarian cancer tissue. Gene expression database (GEO) was adopted to obtain the difference of the mRNA expression of SRGN in cisplatin sensitive and cisplatin resistant cell lines (A2780). STRING online database was used to screen proteins interacting with SRGN (confidence degree: 0.900, interactors: 10). Adopted biological information annotation database (DAVID) to analysis Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) metabolism pathway to predict the potential pathways of SRGN regulating drug resistance of ovarian cancer. Medical ontology information retrieval platform COREMINE was used to mine the biological processes of significant relationship of SRGN and ovarian cancer with drug resistance. **RESULTS:** mRNA expression of SRGN in ovarian cancer tissue was significantly higher than normal ovarian tissue ( $P<0.05$ ). mRNA expression of SRGN in cisplatin resistant ovarian cancer was significantly higher than cisplatin sensitive ovarian cancer ( $P<0.001$ ). 10 proteins interacting with SRGN were screened, including albumin, transforming growth factor  $\beta 1$ , platelet factor 4, fibrinolysin and vascular endothelial growth factor A. SRGN participated in KEGG metabolism pathway of regulating drug resistance of ovarian cancer, including HIF1  $\alpha$  pathway, cytokine-cytokine receptor pathway, coagulation and complement cascades pathway, etc. Biological processes included gene expression, cell growth, apoptosis and cell death. **CONCLUSION:** SRGN mediates drug resistance of ovarian cancer, which is associated with HIF1  $\alpha$  signaling pathway and cytokine-cytokine receptor pathway.

**KEYWORDS** Serglycan; Ovarian cancer; Drug resistance; KEGG metabolism pathway; Bioinformatics

<sup>△</sup> 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.31570938);江苏省现代教育技术研究2018年度课题(No.2018-R-59868)

\* 助教,硕士。研究方向:肿瘤病理生理。电话:0514-87436003。E-mail:dingwenxu@bjmu.edu.cn

# 通信作者:副教授,博士。研究方向:心血管病理生理。电话:010-82802419。E-mail:weijuan Yao@bjmu.edu.cn

卵巢癌(Ovarian cancer, OV)在妇科疾病中致死率最高,临床上一一般采用化疗结合肿瘤细胞减灭术的手段治疗卵巢癌<sup>[1]</sup>。铂类与紫杉醇类药物的联合化疗是治疗卵巢癌的标准方案,可以使大部分卵巢癌患者得到完全

缓解,但75%的卵巢癌患者在治疗后期会出现化疗耐药,使得化疗效果差、患者长期存活率降低<sup>[2]</sup>。相关研究表明,耐药相关基因的异常表达是造成耐药一个重要而普遍的原因<sup>[3]</sup>。因此,卵巢癌耐药基因的挖掘对于提高卵巢癌化疗效果具有重要意义。

丝甘蛋白聚糖(SRGN)是一种小分子蛋白聚糖,在正常的造血细胞、胚胎干细胞、内皮细胞和部分肿瘤细胞中均有表达。SRGN不仅参与了炎症、伤口愈合、细胞凋亡等病理生理过程<sup>[4]</sup>,而且参与了急性髓性白血病的形成、多发性骨髓瘤细胞骨矿物化、鼻咽癌的转移、乳腺癌的转移、非小细胞性肺癌的浸润等肿瘤病理过程<sup>[5]</sup>。此外,SRGN还与多发性骨髓瘤的耐药性以及多株造血肿瘤细胞的耐药性有关<sup>[6]</sup>。基于SRGN在多种肿瘤组织中广泛表达且与其耐药性有关,本文综合运用基因组表达数据库、基因互作检索工具、京都基因和基因组百科全书(KEGG)代谢通路富集分析等生物信息学手段,研究SRGN在卵巢癌耐药性形成过程中的作用,首次证明了SRGN在卵巢癌耐药性中的作用,为以SRGN为靶点逆转卵巢癌耐药性提供理论基础。

## 1 资料与方法

### 1.1 数据库与软件

基因表达谱交互分析工具[GEPIA, <http://gepia.cancer-pku.cn>,其数据来源于癌症基因组图谱(TCGA, <https://cancergenome.nih.gov/>)和基因组表达数据库(<http://commonfund.nih.gov/GTEX/>);基因表达数据库(GEO, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/profile/>);基因互作检索平台(String, <https://string-db.org/>);生物学信息注释数据库(DAVID, <https://david.ncifcrf.gov/>);医学本体信息检索平台COREMINE[<http://www.coremine.com/medical/#search>,该平台文献检索数据来源于MEDLINE数据库(<https://www.nlm.nih.gov/bsd/pmresources.html#>);GraphPad Prism5医学作图软件(<https://www.graphpad.com/scientific-software/prism/>)。]

### 1.2 卵巢癌组织和耐药性卵巢癌细胞株中SRGN mRNA的表达分析

为了证明SRGN在卵巢癌组织和耐药性卵巢癌细胞系中异常表达,笔者在GEPIA检索栏输入SRGN,表达分析类型选择Boxplot,数据集选择卵巢癌/OV(OV数据集由426例卵巢癌组织和88例正常卵巢组织组成),点击plot即可直接得到SRGN mRNA在卵巢癌组织以及正常卵巢组织中的表达数据的统计图。在GEO数据库检索栏输入“SRGN”“卵巢癌细胞株A2780”(卵巢癌耐药实验中通常用A2780细胞株)进行检索,根据检索出来的结果即可获得SRGN mRNA在顺铂敏感性与顺铂耐药性卵巢癌细胞株A2780的表达数据(共10例,每个组别5例),然后通过GraphPad Prism 5医学作图软件

对这些数据进行统计学分析,得到SRGN在顺铂敏感性和顺铂耐药性卵巢癌细胞株中的统计图。以上数据的分析皆采用非配对 $t$ 检验,以 $P<0.05$ 表示两组数据差异具有统计学意义。

### 1.3 基于基因互作分析SRGN介导卵巢癌耐药性的作用

基因互作分析可以从基因功能的角度证明SRGN不仅在卵巢癌组织和耐药性细胞系异常表达,而且在卵巢癌耐药性中也发挥作用。笔者采用STRING在线分析工具,该工具是根据实验验证数据、精选数据库、基因相邻、基因融合、基因共定位、文本挖掘、共表达等证据进行联结分数(互作蛋白关联程度的量化指标)评分,再由评分结果进行基因互作分析。首先,在STRING在线分析工具中输入蛋白名称“SRGN”“organism”(物种),选择“Homo sapiens”(智人)“minimum required interaction score”(最小需要联结分数)“highest confidence 0.900”(最高置信度0.900)“max number of interactors to show”(最大联结展示数目)“no more than 10 interactors”(不超过10个联结数),即可筛选10个与SRGN具有高度联结性的互作蛋白,并结合文献对与SRGN互作蛋白的进行分析,推测SRGN在卵巢癌耐药性中发挥的作用。

### 1.4 推测SRGN介导卵巢癌耐药性的通路

在DAVID主页中的选择工具“functional annotation”,在upload栏目输入“1.3”项筛选出的10个蛋白的基因以及SRGN,在Select identifier下拉框中选择ENTREZ-GENE-ID,在list type中选择Gene list,然后选择submit list即可直接得到这11个基因KEGG代谢通路富集分析结果。本研究参考文献<sup>[7]</sup>以 $P<0.05$ 筛选具有统计学意义的通路,并结合相关文献分析通路作用。

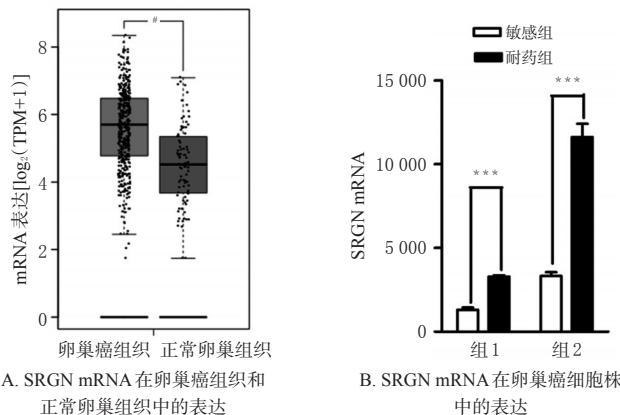
### 1.5 挖掘SRGN介导卵巢癌耐药性的生物过程

基因通路通过生物过程调节生命活动<sup>[8]</sup>。在COREMINE检索栏输入“SRGN”“肿瘤耐药(drug resistance)”“卵巢癌(ovarian cancer, alias ovarian neoplasms)”,然后点击检索(Explore),在“输出图的网络工具”中的“连接关联性筛选”(filter by connection relevance)选择0.05,以连接关联性 $P<0.05$ 筛选具有统计学意义的生物过程<sup>[9]</sup>,即可以检索出与“SRGN”“肿瘤耐药”“卵巢癌”三者同时存在显著关联性的生物过程。在输出图中,有统计学意义的关联采用直线连接起来,无统计学意义的关联无直线连接,直线的粗细代表关联性的强弱。

## 2 结果

### 2.1 卵巢癌组织和耐药性卵巢癌细胞株中SRGN mRNA的表达结果

卵巢癌组织和耐药性卵巢癌细胞株中SRGN mRNA的表达结果见图1。GEPIA在线分析工具发现,卵巢癌组织中的SRGN mRNA表达水平要显著高于正常卵巢组织( $P<0.05$ ),见图1A。



A. SRGN mRNA 在卵巢癌组织和正常卵巢组织中的表达

B. SRGN mRNA 在卵巢癌细胞株中的表达

注:与正常卵巢组织比较,\* $P<0.05$ ;与顺铂敏感性卵巢癌细胞株比较,\*\* $P<0.001$

Note: vs. normal ovarian tissue, \* $P<0.05$ ; vs. cisplatin sensitive ovarian cancer lines, \*\* $P<0.001$

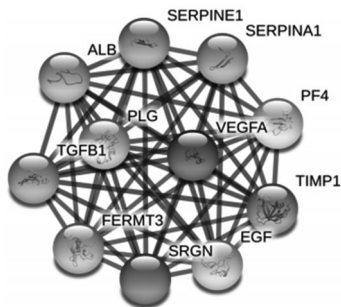
图1 SRGN mRNA 在卵巢癌组织和卵巢癌细胞株中的表达

Fig 1 mRNA expression of SRGN in ovarian cancer tissues and ovarian cancer cells

通过分析GEO数据库所获取的2组顺铂敏感和顺铂耐药的卵巢癌细胞株A2780,发现在顺铂耐药性卵巢癌细胞株中SRGN mRNA表达水平显著高于顺铂敏感性卵巢癌细胞株( $P<0.001$ ),见图1B。由此表明SRGN可能对卵巢癌的发生发展和耐药性起了重要作用。

## 2.2 基于基因互作分析SRGN介导卵巢癌耐药性作用的结果

某个基因的功能可以通过与其互作蛋白的功能进行推测<sup>[10]</sup>,因此,笔者通过分析SRGN互作的蛋白对卵巢癌耐药性的影响,可推测SRGN对卵巢癌耐药性的影响。通过STRING分析工具筛选出10个与SRGN具有高度互作的蛋白,如白蛋白(ALB)、转化生长因子 $\beta$ 1(TGFB1)。与SRGN互作的蛋白关联性分析见图2。



注:英文缩写代表蛋白,如ALB;直线代表两节点蛋白相互作用

Note: English acronyms represent protein, such as ALB; line represents the interaction of two node proteins

图2 与SRGN互作的蛋白关联性分析

Fig 2 Protein interaction analysis of SRGN

查询图2中与SRGN互作的蛋白与卵巢癌耐药性之间的关系。相关文献表明,ALB纳米粒包裹的紫杉醇可

以有效提高顺铂耐药性卵巢癌患者的总生存期(OS)和无进展生存期(PFS)<sup>[11]</sup>;转化生长因子 $\beta$ 1(TGFB1)能够作为一个衡量卵巢癌侵袭性和紫杉醇、卡铂敏感性的一个指标,可以用来确定卵巢癌的侵袭性和恶性程度,并且可以作为判断卵巢癌患者预后的一个指标<sup>[12]</sup>;化疗前给予表皮生长因子(EGF)和表皮生长因子受体(EGFR)的抑制物可以显著提高卵巢癌细胞对化疗药物的敏感性,因而改善卵巢癌患者的化疗结果<sup>[13]</sup>;对顺铂耐药的卵巢癌患者血浆中的丝氨酸蛋白酶抑制剂A1(SERPINA1)显著升高,因而SERPINA1与卵巢癌耐药性有关并且可作为逆转卵巢癌耐药性的潜在治疗靶点<sup>[14]</sup>。丝氨酸蛋白酶抑制剂E1(SERPINE1)启动子低甲基化引起的SERPINE1表达升高可以使A2780的上皮细胞-间充质转化增加,从而促进卵巢癌细胞的耐药的产生<sup>[15]</sup>。血管内皮生长因子A(VEGFA)的表达量与顺铂耐药的卵巢癌患者的PFS正相关<sup>[16]</sup>。而血纤维蛋白溶酶原(PLG)则被认为与卵巢癌的多药耐药性有关,PLG激活因子的过表达与卵巢癌转移过程中所产生的耐药性正相关,因此可作为逆转卵巢癌耐药性的潜在治疗靶点<sup>[17]</sup>。基质金属蛋白酶组织抑制因子1(TIMP1),Fermitin家族成员3(FERMT3),血小板因子4(PF4)虽然没有直接报道与卵巢癌耐药性有关,但这3个基因都被证明同时与其他肿瘤的耐药性有关,TIMP1可以增加乳腺癌细胞耐药性相关基因的表达和磷酸化<sup>[18]</sup>;FERMT3被报道与恶性胶质瘤的替莫唑胺耐药性有关<sup>[19]</sup>,PF4与急性髓性白血病患者耐药性有关<sup>[20]</sup>。因此,10个与SRGN高度互作的基因都与肿瘤耐药性有关,而且其中7个与卵巢癌耐药性有关,进一步证明了SRGN对卵巢癌耐药性有着重要作用。

## 2.3 SRGN介导卵巢癌耐药性的KEGG代谢通路

基因互作形成基因通路参与生命活动的调节<sup>[21]</sup>。对“2.2”项筛选的基因进行KEGG代谢通路富集分析显示,SRGN介导卵巢癌耐药性的KEGG代谢通路有缺氧诱导因子 $1\alpha$ 信号通路、细胞因子-细胞因子受体通路、凝血与补体级联反应信号通路等,SRGN介导卵巢癌耐药性的KEGG代谢通路见表1。

表1 SRGN介导卵巢癌耐药性的KEGG代谢通路  
Tab 1 KEGG metabolism pathway of SRGN mediating drug resistance of ovarian cancer

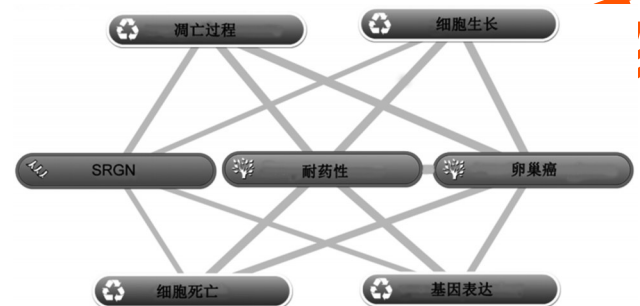
KEGG通路	P值
缺氧诱导因子 $1\alpha$ 信号通路	0.000 12
细胞因子-细胞因子受体通路	0.001 52
胰腺癌	0.001 96
凝血与补体级联反应信号通路	0.002 53
膀胱癌	0.041 45
癌症相关通路	0.062 92
肾细胞癌	0.067 58
类风湿性关节炎	0.095 98

查阅相关文献发现缺氧诱导因子 $1\alpha$ 信号通路、细胞

因子-细胞因子受体通路、凝血与补体级联反应信号通路已经被证实与卵巢癌耐药性密切相关。比如,抑制缺氧诱导因子1 $\alpha$ 的表达可以逆转卵巢癌干细胞的顺铂耐药性<sup>[22]</sup>;缺氧诱导因子1 $\alpha$ 和核因子 $\kappa$ B可以通过增加血小板活化因子受体的表达,从而参与卵巢癌顺铂耐药性的调节<sup>[23]</sup>;细胞因子白介素8(IL-8)与IL-8受体通路可促进高度恶性卵巢癌的铂类化疗药耐药性<sup>[24]</sup>;高表达膜结合补体调节蛋白(mCRP)可以增加卵巢癌细胞多药耐药性<sup>[25]</sup>。因此,SRGN介导的KEGG通路皆与卵巢癌耐药性有关,进一步证明了SRGN与卵巢癌耐药性有关。此外,SRGN与胰腺癌、膀胱癌等通路也有显著性关联( $P < 0.05$ ),提示SRGN与全身各个系统的肿瘤发生发展具有密切相关性。

#### 2.4 SRGN介导卵巢癌耐药性的生物过程

信号通路通过生物过程调节生命活动<sup>[6]</sup>。通过CORMINE平台检索与SRGN、耐药性、卵巢癌三者有关的生物过程,结果显示,SRGN介导卵巢癌耐药性的生物过程有细胞生长、基因表达、凋亡过程、细胞死亡,这4个生物过程都与细胞的存活与死亡有关<sup>[26]</sup>,意味着SRGN可通过这4个生物过程来影响卵巢癌细胞的存活与死亡,进而调节卵巢癌耐药的过程。SRGN介导卵巢癌耐药性的生物过程见图3。



注:直线的粗细代表关联性的强弱

Note: the thickness of a straight line represents the strength of relevance

图3 SRGN介导卵巢癌耐药性的生物过程

Fig 3 Biological processes of SRGN mediating drug resistance of ovarian cancer

### 3 讨论

基因功能的研究是在生物医学研究的基础上进行的,对新药发现乃至疾病的诊断治疗都具有非常重要的意义<sup>[27]</sup>。近几年来,生物信息学技术广泛用于基因功能的研究中,与传统生物医学试验相比,生物信息学技术具有快速、廉价的特点。通过生物信息学方法,相关研究者发现C-C趋化因子配体21、分泌型糖蛋白类似物1、转录因子EB1(TFEB1)等基因与卵巢癌耐药性有关<sup>[28-30]</sup>。因此,运用生物信息学手段筛选卵巢癌耐药性相关基因是一种非常具有潜力的手段。

GEPIA是北京大学张泽民教授实验室基于TCGA、

GTEX、正常样本的RNA数据而开发的在线应用工具,可以快速地分析某个基因在正常组织以及肿瘤组织中的差异表达<sup>[31]</sup>;而GEO由美国国家生物信息中心开发,是当今最大最全面的公共基因表达数据库。因此,本研究基因表达数据来源可靠。通过GEPIA以及GEO的数据分析,笔者发现SRGN mRNA在卵巢癌组织、顺铂耐药性卵巢癌细胞株中的表达量均显著升高,由此表明SRGN可能是卵巢癌耐药性的潜在调节因子。

单个基因与其互作的基因构成信号通路,并通过一定的生物过程影响生命活动<sup>[8,21]</sup>。因此,本文从基因互作分析、KEGG信号通路、生物过程三个维度来进一步证明SRGN具有介导卵巢癌耐药性作用,并探讨其内在机制。首先通过基因互作分析表明与SRGN具有高度互作的10个蛋白皆与肿瘤耐药性有关,而且大部分与卵巢癌的耐药性有关,从功能上说明了SRGN具有介导卵巢癌耐药性的作用。对10个与SRGN互作的蛋白进行KEGG代谢通路分析发现,缺氧诱导因子1 $\alpha$ 信号通路、细胞因子与细胞因子受体通路、凝血与补体级联反应信号通路与卵巢癌具有密切关系,且这3个通路是可以相互影响的,比如缺氧诱导因子1 $\alpha$ 既可以通过下调分化抗原55来激活补体<sup>[32]</sup>,又可以调节细胞因子和细胞因子的表达量<sup>[33]</sup>。但是,SRGN是同时通过这3个通路还是其中1个或者2个通路介导了卵巢癌耐药性,还需要进一步的试验进行研究。

本研究综合运用基因组表达数据库、基因互作检索工具、KEGG通路富集分析等生物信息学手段,首次阐述了SRGN在卵巢癌组织以及耐药性卵巢癌细胞株中的异常表达,并对其SRGN调控卵巢癌耐药性的潜在机制做了初步探讨,为以SRGN为靶点逆转卵巢癌耐药性的研究提供了理论基础。

#### 参考文献

- [1] DAVIDSON B, TROPE CG. Ovarian cancer: diagnostic, biological and prognostic aspects[J]. *Womens Health (Lond)*, 2014, 10(5): 519-533.
- [2] THIBAUT B, CASTELLS M, DELORD JP, et al. Ovarian cancer microenvironment: implications for cancer dissemination and chemoresistance acquisition[J]. *Cancer Metastasis Rev*, 2014, 33(1): 17-39.
- [3] YIN F, LIU X, LI D, et al. Tumor suppressor genes associated with drug resistance in ovarian cancer[J]. *Oncol Rep*, 2013, 30(11): 3-10.
- [4] SCULLY OJ, CHUA PJ, HARVE KS, et al. Serglycin in health and diseases[J]. *Anat Rec*, 2012, 295(9): 1415-1420.
- [5] LI XJ, QIAN CN. Serglycin in human cancers[J]. *Chin J Cancer*, 2011, 30(9): 585-589.
- [6] BEYER-SEHLMAYER G, HIDDEMANN W, WÖRMANN B, et al. Suppressive subtractive hybridisation reveals differential expression of serglycin, sorcin, bone marrow

- proteoglycan and prostate-tumour-inducing gene I (PTI-1) in drug-resistant and sensitive tumour cell lines of haematopoietic origin[J]. *Eur J Cancer*, 1999, 35 (12) : 1735-1742.
- [ 7 ] HUANG DA W, SHERMAN BT, LEMPICKI RA. Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID bioinformatics resources[J]. *Nat Protoc*, 2009, 4 (1):44-57.
- [ 8 ] CHUNG C. Restoring the switch for cancer cell death: targeting the apoptosis signaling pathway[J]. *Am J Health Syst Pharm*, 2018, 75(13) :945-952.
- [ 9 ] LEEUW N, DIJKHUIZEN T, HEHIR-KWA JY, et al. Diagnostic interpretation of array data using public databases and internet sources[J]. *Hum Mutat*, 2012, 33(6) :930-940.
- [10] COSTELLO JC, DALKILIC MM, BEASON SM, et al. Gene networks in *Drosophila melanogaster*: integrating experimental data to predict gene function[J]. *Genome Biol*, 2009. DOI:10.1186/gb-2009-10-9-r97.
- [11] COLEMAN RL, BRADY WE, MCMEEKIN DS, et al. A phase II evaluation of nanoparticle, albumin-bound (nab) paclitaxel in the treatment of recurrent or persistent platinum resistant ovarian, fallopian tube, or primary peritoneal cancer: a Gynecologic Oncology Group study[J]. *Gynecol Oncol*, 2011, 122(1):111-115.
- [12] KOMIYAMA S, KURAHASHI T, ISHIKAWA M, et al. Expression of TGFβ1 and its receptors is associated with biological features of ovarian cancer and sensitivity to paclitaxel/carboplatin[J]. *Oncol Rep*, 2011, 25 (4) : 1131-1138.
- [13] CAO C, LU S, SOWA A, et al. Priming with EGFR tyrosine kinase inhibitor and EGF sensitizes ovarian cancer cells to respond to chemotherapeutic drugs[J]. *Cancer Lett*, 2008, 266(2):249-262.
- [14] WU W, WANG Q, YIN F, et al. Identification of proteomic and metabolic signatures associated with chemoresistance of human epithelial ovarian cancer[J]. *Int J Oncol*, 2016, 49(4):1651-1665.
- [15] PAN JX, QU F, WANG FF, et al. Aberrant SERPINE1 DNA methylation is involved in carboplatin induced epithelial-mesenchymal transition in epithelial ovarian cancer [J]. *Arch Gynecol Obstet*, 2017, 296(6) :1145-1152.
- [16] DIAZ-PADILLA I, WILSON MK, CLARKE BA, et al. A phase II study of single-agent RO4929097, a gamma-secretase inhibitor of Notch signaling, in patients with recurrent platinum-resistant epithelial ovarian cancer: a study of the Princess Margaret, Chicago and California phase II consortia[J]. *Gynecol Oncol*, 2015, 137 (2) : 216-222.
- [17] CHEN H, HAO J, WANG L, et al. Coexpression of invasive markers (uPA, CD44) and multiple drug-resistance proteins (MDR1, MRP2) is correlated with epithelial ovarian cancer progression[J]. *Br J Cancer*, 2009, 101 (3):432-440.
- [18] HEKMAT O, MUNK S, FOGH L, et al. TIMP-1 increases expression and phosphorylation of proteins associated with drug resistance in breast cancer cells[J]. *J Proteome Res*, 2013, 12(9) :4136-4151.
- [19] LU C, CUI C, LIU B, et al. FERMT3 contributes to glioblastoma cell proliferation and chemoresistance to temozolomide through integrin mediated Wnt signaling[J]. *Neurosci Lett*, 2017, 657(17) :77-83.
- [20] KIM JY, SONG HJ, LIM HJ, et al. Platelet factor-4 is an indicator of blood count recovery in acute myeloid leukemia patients in complete remission[J]. *Mol Cell Proteomics*, 2008, 7(2) :431-441.
- [21] LI X, WANG W, CHEN J, et al. From pathways to networks: connecting dots by establishing protein-protein interaction networks in signaling pathways using affinity purification and mass spectrometry[J]. *Proteomics*, 2015, 15 (2/3) :188-202.
- [22] WANG WJ, SUI H, QI C, et al. Ursolic acid inhibits proliferation and reverses drug resistance of ovarian cancer stem cells by downregulating ABCG2 through suppressing the expression of hypoxia-inducible factor-1α in vitro [J]. *Oncol Rep*, 2016, 36(1) :428-440.
- [23] YU Y, ZHANG X, HONG S, et al. The expression of platelet-activating factor receptor modulates the cisplatin sensitivity of ovarian cancer cells: a novel target for combination therapy[J]. *Br J Cancer*, 2014, 111(3) :515-524.
- [24] STRONACH EA, CUNNEA P, TURNER C, et al. The role of interleukin-8 (IL-8) and IL-8 receptors in platinum response in high grade serous ovarian carcinoma[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(31) :31593-31603.
- [25] ODENING KE, LI W, RUTZ R, et al. Enhanced complement resistance in drug-selected pglycoprotein expressing multi-drug-resistant ovarian carcinoma cells[J]. *Clin Exp Immunol*, 2009, 155(2) :239-248.
- [26] ZAKERI Z, PENALOZA CG, SMITH K, et al. What cell death does in development[J]. *Int J Dev Biol*, 2015, 59(1/3) :11-22.
- [27] 蒋先仲. 药物发现及其新策略[J]. *中国药房*, 2016, 27 (23) :3169-3171.
- [28] YIN F, LIU X, LI D, et al. Bioinformatic analysis of chemokine (C-C motif) ligand 21 and SPARC-like protein 1 revealing their associations with drug resistance in ovarian cancer[J]. *Int J Oncol*, 2013, 42(4) :1305-1316.
- [29] LIU X, GAO Y, LU Y, et al. Upregulation of NEK2 is associated with drug resistance in ovarian cancer[J]. *Oncol Rep*, 2014, 31(2) :745-754.
- [30] LIU X, GAO Y, LU Y, et al. Downregulation of NEK11 is associated with drug resistance in ovarian cancer[J]. *Int J*

# 胶束毛细管电泳法同时测定小青龙颗粒中的盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱、盐酸甲基麻黄碱与芍药苷含量<sup>Δ</sup>

王博<sup>1\*</sup>, 孟乡<sup>2</sup>, 孟啸龙<sup>1</sup>, 徐宁<sup>1</sup>, 李云峰<sup>1</sup>, 孟繁蕴<sup>1#</sup> (1. 北京师范大学地理科学学部中药资源保护与利用北京市重点实验室, 北京 100875; 2. 中国中医科学院中医临床基础医学研究所, 北京 100700)

中图分类号 R927.2; R974; R932 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)01-0045-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.01.10

**摘要** 目的: 建立同时测定小青龙颗粒中盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱、盐酸甲基麻黄碱、芍药苷含量的方法。方法: 采用胶束毛细管电泳法。分离通道为熔融石英毛细管柱, 缓冲溶液为 10 mmol/L 硼砂-10 mmol/L 十二烷基硫酸钠的混合溶液 (95:5, pH 为 10.5), 检测波长为 195 nm, 分离电压为 20 kV, 毛细管柱温为 15 °C, 压力进样 0.5 psi×5 s。取 2 个厂家各 2 批小青龙颗粒测定其中盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱、盐酸甲基麻黄碱、芍药苷的含量, 并将测定结果与采用 2015 年版《中国药典》规定的高效液相色谱法的测定结果进行比较。结果: 盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱、盐酸甲基麻黄碱、芍药苷检测质量浓度线性范围分别为 10~160、10~160、1~100、10~500 μg/mL ( $r$  为 0.997 9~0.999 8); 精密度、重复性和稳定性试验中的 RSD 均 ≤ 2.74% ( $n=5\sim6$ ), 平均回收率分别为 101.55%、101.62%、100.15%、101.85%, RSD 均 ≤ 3.94% ( $n=6$ ); 4 种成分采用胶束毛细管电泳法与高效液相色谱法测定结果基本一致。结论: 建立的胶束毛细管电泳法简便、快速、灵敏, 可同时测定小青龙颗粒中上述 4 种成分的含量。

**关键词** 小青龙颗粒; 胶束毛细管电泳法; 盐酸麻黄碱; 盐酸伪麻黄碱; 盐酸甲基麻黄碱; 芍药苷; 含量测定

## Simultaneous Determination of Ephedrine Hydrochloride, Pseudoephedrine Hydrochloride, Methamphetamine Hydrochloride and Paeoniflorin in Xiaoqinglong Granule by Micellar Capillary Electrophoresis Method

WANG Bo<sup>1</sup>, MENG Xiang<sup>2</sup>, MENG Xiaolong<sup>1</sup>, XU Ning<sup>1</sup>, LI Yunfeng<sup>1</sup>, MENG Fanyun<sup>1</sup> (1. Beijing Key Lab of TCM Protection and Utilization, Faculty of Geographical Science, Beijing Normal University, Beijing 100875, China; 2. Institute of Clinical Basic Medicine for Chinese Medicine, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

**ABSTRACT** **OBJECTIVE:** To establish the method for simultaneous determination of ephedrine hydrochloride, pseudoephedrine hydrochloride, methamphetamine hydrochloride and paeoniflorin in Xiaoqinglong granule. **METHODS:** Micellar capillary electrophoresis (MCE) method was adopted. The optimum conditions for the separation were as follows as a fused silica capillary column as the separation channel, the buffer solution composed of 10 mmol/L borax-10 mmol/L SDS (95:5, pH 10.5), detection wavelength of 195 nm, separation voltage of 20 kV, capillary column temperature of 15 °C, the sampling at a pressure for 0.5 psi×5 s. Two batches of Xiaoqinglong granules were collected from 2 manufacturers to determine the contents of ephedrine hydrochloride, pseudoephedrine hydrochloride, methamphetamine hydrochloride and paeoniflorin. The results of content determination were compared with the results determined by HPLC method stated in *Chinese Pharmacopoeia* of 2015 edition. **RESULTS:** The linear range of ephedrine hydrochloride, pseudoephedrine hydrochloride, methamphetamine hydrochloride and paeoniflorin were 10-160, 10-160, 1-100, 10-500 μg/mL ( $r=0.997\ 9-0.999\ 8$ ), respectively. RSDs of precision, reproducibility

*Oncol*, 2014, 45(3):1266-1274.

[31] TANG Z, LI C, KANG B, et al. GEPIA: a web server for cancer and normal gene expression profiling and interactive analyses[J]. *Nucleic Acids Res*, 2017, 45(W1): W98-

Δ 基金项目: 科技部科技基础性工作专项(No.2015FY111500-100); 国家中医药管理局国家中药标准化项目(No.ZYBZH-Y-HEN-18)

\* 硕士研究生。研究方向: 中药资源。电话: 010-62208739。E-mail: wb0817@bnu.edu.cn

# 通信作者: 教授。研究方向: 中药资源。电话: 010-62208739。E-mail: mfy@bnu.edu.cn

W102.

[32] PANDYA PH, FISHER AJ, MICKLER EA, et al. Hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  regulates CD55 in airway epithelium[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2016, 55(6): 889-898.

[33] PLOTKIN BJ, SIGAR IM, SWARTZENDRUBER JA, et al. Differential expression of cytokines and receptor expression during anoxic growth[J]. *BMC Res Notes*, 2018, 11(1): 406.

(收稿日期: 2018-08-10 修回日期: 2018-11-05)

(编辑: 唐晓莲)