

罗格列酮对耐药乳腺癌细胞影响的研究

陈皖京 汤 铜 钱 波 李 佳 田 多 郑 璐

摘要 目的 探讨罗格列酮(ROS)对耐他莫西芬(TAM)的乳腺癌细胞 MCF-7/TAM 体外生长的影响,及其耐药性的逆转效果和作用机制。方法 采用四甲基偶氮唑蓝(MTT)比色分析法测定 ROS 作用于 MCF-7/TAM 细胞后的抑制率及逆转耐药的效果;采用流式细胞术检测 ROS 作用 MCF-7/TAM 细胞后的凋亡率;采用实时定量荧光 PCR 技术检测 ROS 作用 MCF-7/TAM 细胞后对 FOXA1、ER α 、ErbB-2 和 P53 基因表达的影响。结果 ROS 干预 MCF-7/TAM 细胞后,呈量-效和时-效关系抑制其增殖。半数抑制浓度(136 μ mol/L)的 ROS 对 MCF-7/TAM 细胞具有明显的逆转耐药效果,逆转耐药倍数为 2.05 倍。高浓度可诱导 MCF-7/TAM 细胞凋亡。半数抑制浓度(136 μ mol/L)的 ROS 作用 MCF-7/TAM 细胞后,能够上调 FOXA1、ER α 和 P53 基因表达水平($P < 0.05$),下调 ErbB-2 基因表达水平($P < 0.05$)。结论 ROS 可抑制 MCF-7/TAM 细胞增殖,高浓度 ROS 可诱导其凋亡,其机制可能与上调 P53 基因表达有关。ROS 可逆转 MCF-7/TAM 细胞的耐药性,逆转机制可能与上调 FOXA1 和 ER α 基因表达,下调 ErbB-2 基因表达有关。

关键词 罗格列酮;他莫西芬;乳腺癌细胞;FOXA1;ER α ;ErbB-2;P53

中图分类号 R 737.9

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2015)03-0285-05

2014-11-12 接收

基金项目:安徽省自然科学基金项目(编号:1308085QH152)

作者单位:安徽医科大学第二附属医院普通外科,合肥 230601

作者简介:陈皖京,男,硕士研究生;

汤 铜,男,教授,主任医师,硕士生导师,责任作者,E-mail: tt20164@126.com

他莫西芬(tamoxifen, TAM)是作为雌激素受体(estrogen receptor, ER)阳性乳腺癌患者内分泌治疗的主要药物,可有效降低患者的死亡率和复发率,但长期使用会产生耐药继而限制其疗效。罗格列酮(rosiglitazone, ROS)作为胰岛素增敏剂广泛应用于糖尿病的临床治疗,最近研究^[1]显示 ROS 可抑制乳腺癌细胞增殖,但其对 TAM 耐药的乳腺癌细胞 MCF-7/TAM 的增殖和耐药性的影响尚无报道。本研究观测了 ROS 在体外对 MCF-7/TAM 细胞的增殖、凋亡和耐药性的影响,以探索 ROS 在抑制耐药细胞增殖和恢复耐药细胞对 TAM 敏感性中的作用,为临床应用提供实验基础。

1 材料与方法

1.1 细胞系 人乳腺癌细胞系(MCF-7)和耐 TAM 乳腺癌细胞系(MCF-7/TAM)由安徽医科大学第一附属医院中心实验室馈赠, MCF-7/TAM 细胞株已用浓度为 10^{-6} mol/L 的 TAM 维持 1 年,实验前撤药 1 周;上述两种细胞分别培养于含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基中和含 10% 胎牛血清的改良型 RPMI-1640 培养基中。

1.2 主要试剂及器材 胎牛血清(杭州四季青公司),改良型 RPMI-1640 培养基和 DMEM 培养基(美国 Gibco 公司);TAM(天津希恩思公司),批号: T-00470, 1 g 装;四甲基偶氮唑蓝(methyl thiazolyl tetrazolium, MTT)、二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO)及 ROS(美国 Sigma 公司),DMSO 批号: D5879,

recombinant LukS-PV(rLukS-PV)。After 24, 48 h, the morphology of induced cells was observed with Wright-Giemsa staining under optical microscope. The expression of differentiation markers CD14 and CD11b was determined by flow cytometry. The cell phagocytosis of fluorescent particles was examined by fluorescence microscope. **Results**

THP-1 cells treated with rLukS were changed from dispersal and suspended into adhesive and fusiform. Cell volume and cytoplasm content increased, nucleocytoplasmic ratio decreased. The shape of cell nucleus was reniform, triangle and irregular. The cell nucleus was located at the side of cells. The expression of CD11b and CD14 was significantly increased, especially CD14. The cell phagocytosis of fluorescent particles was also obviously enhanced. The above effects were both in a dose- and time-dependent manner. **Conclusion** rLukS-PV has the differentiation effect of inducing THP-1 cell lines into monocyte-macrophages system. These findings suggest the rLukS-PV maybe as a novel approach for treatment of myeloid leukemia.

Key words rLukS-PV; THP-1 cell; induce differentiation

100 ml 装; ROS 批号: R2408, 10 mg 装; RNeasy Mini Kit 和 SYBR Green Mix(德国 Qiagen 公司); 反转录试剂盒(美国 Promega 公司); 青链霉素和含 0.02% EDTA 的 0.25% 胰蛋白酶(杭州吉诺公司); FOXA1、ER α 、ErbB-2、P53 及甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)引物由上海捷瑞生物工程有限公司合成; Annexin V-FITC/PI 双染细胞凋亡检测试剂盒(上海贝博公司); 酶标仪(美国莱姆德公司)型号为 PRA ELX800; 梯度 PCR 仪(德国 Biometra 公司)型号为 T-Gradient; 荧光定量 PCR 仪(德国 Qiagen 公司)型号为 Rotor-Gene 3000。

1.3 药物制备 MTT 用 PBS 配制成浓度为 5 mg/ml 过滤除菌于 4 °C 保存。TAM 用无水乙醇配制成浓度为 10^{-3} mol/L 的储存液, 过滤除菌, -20 °C 分装避光保存。ROS 用 DMSO 配制成浓度为 10^{-3} mol/L 的储存液, 过滤除菌, -20 °C 分装避光保存。实验时按所需浓度用不含血清的改良型 RPMI-1640 培养液稀释。

1.4 MTT 实验 取生长对数期的 MCF-7/TAM 细胞(5×10^4 个/ml)接种于 96 孔板内, 每孔加细胞悬液 100 μ l, 置于 37 °C、5% CO₂ 培养箱内孵育 24 h 后更换培养液, 实验组以等差稀释的方法由低到高分别加入 0、50、100、150、200、250 μ mol/L 6 个浓度, 每个浓度设 6 个复孔; 对照组加同体积的培养液。继续孵育 24、48、72 h 后, 采用常规 MTT 方法检测。吸出培养基, 每孔加 MTT (5 mg/ml) 20 μ l, 4 h 后吸出培养基, 每孔加 150 μ l DMSO, 震荡 10 min, 使结晶物充分溶解, 用酶标仪(490 nm)测定各孔光密度(optical density, OD)值, 计算细胞抑制率。细胞抑制率(%) = (1 - 实验组 OD 值/对照组 OD 值) \times 100%。

1.5 流式细胞术检测细胞凋亡 取对数生长期的 MCF-7/TAM 细胞(25×10^4 个/ml)接种于 6 孔板内, 每孔加细胞悬液 2 ml, 置于 37 °C、5% CO₂ 培养箱内孵育 24 h 后更换含不同浓度 ROS(150、200、250 μ mol/L)的培养液, 继续孵育 48 h 后消化收集细胞, 冰浴 PBS 洗 2 遍, 用 400 μ l Annexin V 结合缓冲液重悬细胞, 加 5 μ l Annexin V-FITC 染色液避光于冰上孵育 15 min 后, 加 10 μ l Propidium Iodide 染色液避光于冰上孵育 5 min, 细胞样品逐一上机检测, 同一浓度设 3 个复孔, 试验同时设置不加药物的空白对照组。

1.6 耐药倍数与逆转耐药倍数测定 实验共分为 3 组: ① 浓度梯度的 TAM 作用于 MCF-7 组; ② 浓度梯度的 TAM 作用于 MCF-7/TAM 组; ③ ROS(136 μ mol/L)预处理 MCF-7/TAM 48 h 后, 浓度梯度的 TAM 作用于 MCF-7/TAM 组。48 h 后用 MTT 法测定各组细胞抑制率, 用 SPSS 13.0 统计软件计算出各组 TAM 的 IC₅₀ 值。根据公式计算耐药倍数和逆转耐药倍数。耐药倍数 = 耐药细胞 IC₅₀/敏感细胞 IC₅₀; 逆转耐药倍数 = 耐药细胞逆转前 IC₅₀/耐药细胞逆转后 IC₅₀。

1.7 Real time PCR 技术检测 FOXA1、ER α 、ErbB-2 和 P53 基因表达 实验共分为 3 组: ① MCF-7 组; ② MCF-7/TAM 组; ③ ROS(136 μ mol/L)预处理 48 h 后的 MCF-7/TAM 组。3 组细胞分别培养 48 h, 用 Qiagen 公司的 RNeasy Mini Kit 提取 RNA, 测 A₂₆₀ 和 A₂₈₀ 的吸光度, 计算出 RNA 浓度, 采用 Promega 公司的逆转录酶按 20 μ l 体系将 5 μ l RNA 逆转录成 cDNA。反应体系为: 10 \times Buffer 2 μ l、dNTPs 2 μ l、Olifol(dT) 1 μ l、MgCl₂ 4 μ l、RNA inhibitor 0.5 μ l、RT 酶 0.7 μ l、RNA 模板 5 μ l、H₂O 5 μ l, 逆转录反应条件: 42 °C 30 min, 95 °C 5 min, 90 °C 5 min。FOXA1 的上游引物序列: 5'-CGCTTCGCA-CAGGGCTGGAT-3', 下游序列为: 5'-TGCTGACCGG-GACGGAGGAG-3', 扩增长度为 144 bp。ER α 的上游引物序列为: 5'-CCACCAACCAGTGCACCATT-3', 下游序列为: 5'-GGTCTTTTCGTATCCCACCTTTC-3', 扩增长度为 108 bp。ErbB-2 的上游引物序列为: 5'-AAACCTGGAACCTCACCTA-3', 下游序列为: 5'-AT-AGTTGTCCTCAAAGAGC-3', 扩增长度为 163 bp。P53 的上游引物序列为: 5'-GGCCCACTTCACCGTAA-3', 下游序列为: 5'-GTGGTTTCAAGG CCAGAT-GT-3', 扩增长度为 156 bp。GAPDH 的上游引物序列为 5'-TCAACGGATTTGGTCTGATTGGGC-3', 下游序列为: 5'-TCCTGGAAGATGGTGATGGGATTT-3', 扩增长度为 209 bp。实时定量荧光 PCR 反应体系为: 2 \times QuantiFast SYBR Green PCR Master Mix 5 μ l, RNase-free water 3.5 μ l, FOXA1、ER α 、ErbB-2、P53 及 GAPDH(10 μ mol/L)上下游引物各 0.25 μ l, cDNA 1 μ l。在荧光定量 PCR 仪上进行扩增, 反应条件为: 95 °C 5min, 95 °C 30 s, 60 °C 15 s, 共 40 个循环, 溶解曲线按照 Rotor-gene 3000 机器 SYBR Green 染料方案设置。将目的基因在敏感细胞和药物处理

过后的耐药细胞内,相对于耐药细胞的表达差异倍数用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法计算来表示^[2]。 $\Delta Ct = Ct(\text{目的基因}) - Ct(\text{GAPDH 基因})$, $-\Delta\Delta Ct = -(\Delta Ct \text{ 敏感细胞} / \text{ROS 处理的耐药细胞} - \Delta Ct \text{ 耐药细胞})$ 。当 $2^{-\Delta\Delta Ct} > 1$,目的基因表达上调,反之下调。

1.8 统计学处理 采用 SPSS 13.0 统计软件,两组数据比较时采用 *t* 检验,多组间比较时用方差分析。

2 结果

2.1 ROS 抑制 MCF-7/TAM 细胞增殖的作用

将 ROS 从 250 $\mu\text{mol/L}$ 等差稀释至 0 $\mu\text{mol/L}$,由低浓度到高浓度分别作用于 MCF-7/TAM 细胞 24、48 和 72 h,作用 24 h 后其增殖抑制率从 14.2% 升为 62.1%,作用 48 h 后其抑制率从 21.7% 升为 64.4%,作用 72 h 后其抑制率从 33.7% 升为 74.4%,ROS 对 MCF-7/TAM 细胞的抑制作用与浓度和时间呈正相关。依据酶标仪的数据结果,采用 SPSS 13.0 软件计算出 ROS 作用 MCF-7/TAM 细胞 48 h 后的 50% 抑制率 (IC_{50}) 浓度为 136 $\mu\text{mol/L}$ 。见图 1。

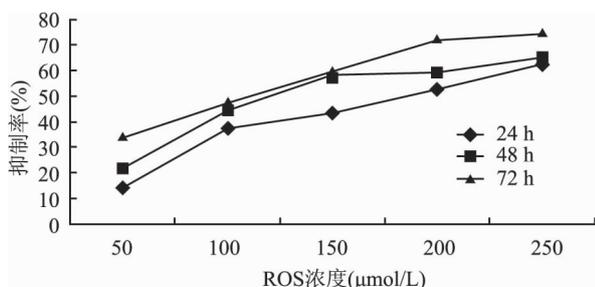


图1 ROS 作用 MCF-7/TAM 细胞 24、48、72 h 后的抑制率曲线

2.2 MCF-7/TAM 细胞的耐药倍数及 ROS 逆转耐药倍数

浓度梯度 TAM 单独作用于 MCF-7 细胞 48 h 的 IC_{50} 值为 $(6.81 \pm 0.02) \mu\text{mol/L}$; 浓度梯度 TAM 单独作用于 MCF-7/TAM 细胞 48 h 的 IC_{50} 值为 $(17.92 \pm 0.03) \mu\text{mol/L}$,耐药倍数为 2.63 ($t = 51.20, P < 0.05$)。半数抑制浓度的 ROS (136 $\mu\text{mol/L}$) 预处理 MCF-7/TAM 细胞 48 h 后,浓度梯度 TAM 单独作用于 MCF-7/TAM 细胞 48 h 的 IC_{50} 值为 $(8.76 \pm 0.01) \mu\text{mol/L}$,逆转耐药倍数为 2.05 ($t = 65.32, P < 0.05$)。表明半数抑制浓度的 ROS 可以部分恢复 MCF-7/TAM 细胞对 TAM 的敏感性。见图 2。

2.3 ROS 诱导 MCF-7/TAM 细胞凋亡

以浓度为 150、200、250 $\mu\text{mol/L}$ 分别作用 MCF-7/TAM 细胞 48 h 后,细胞凋亡率分别为 $(16.20 \pm 0.30)\%$ 、 $(22.53 \pm 0.15)\%$ 和 $(27.53 \pm 0.35)\%$,与对照组的 $(3.23 \pm 0.04)\%$ 相比,凋亡率增加 ($F = 5559, P < 0.05$)。见图 3。

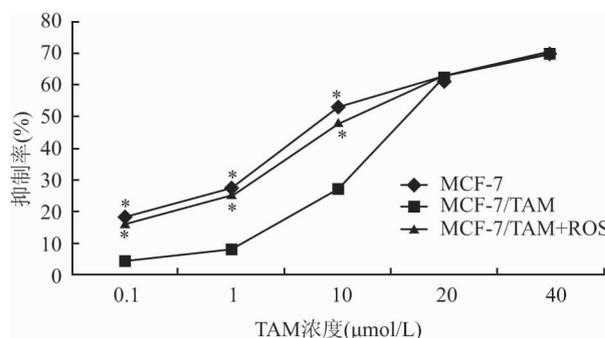


图2 TAM 对 MCF-7、MCF-7/TAM 和 MCF-7/TAM + ROS 3 组细胞作用 48 h 的抑制率曲线
与 MCF-7/TAM 组比较: * $P < 0.05$

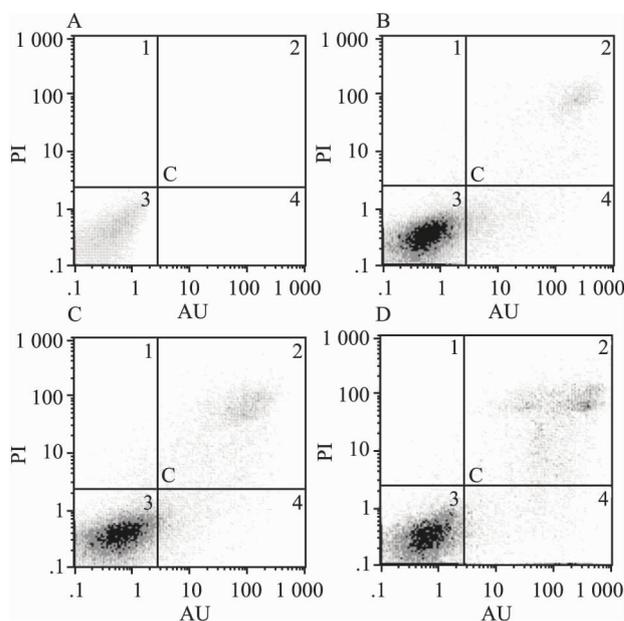


图3 不同浓度 ROS 作用 MCF-7/TAM 后的凋亡率

A: 对照组 MCF-7/TAM 凋亡率; B: 150 $\mu\text{mol/L}$ ROS 作用 MCF-7/TAM 48 h 后的凋亡率; C: 200 $\mu\text{mol/L}$ ROS 作用 MCF-7/TAM 48 h 后的凋亡率; D: 250 $\mu\text{mol/L}$ ROS 作用 MCF-7/TAM 48 h 后的凋亡率

2.4 ROS 对基因表达的影响

从扩增曲线和溶解曲线可见待测基因均已进入扩增的平台期,产物特异性较好,说明反应条件设定准确。统计分析结果显示:① FOXA1 基因在敏感细胞 MCF-7 中的表达是耐药细胞 MCF-7/TAM 的 (2.66 ± 0.84) 倍 ($t = 5.52, P < 0.05$)。FOXA1 基因在 ROS 处理后的耐药细胞中的表达是未做处理的耐药细胞的 $(3.16 \pm$

0.14) 倍 ($t = 37.79, P < 0.05$)。② 雌激素受体 ER α 基因在敏感细胞 MCF-7 中的表达是耐药细胞 MCF-7/TAM 的 (8.68 ± 0.54) 倍 ($t = 27.75, P < 0.05$) , ER α 基因在 ROS 处理后的耐药细胞中的表达是未做处理的耐药细胞的 (5.01 ± 0.90) 倍 ($t = 9.63, P < 0.05$)。③ 表皮生长因子受体 ErbB-2 基因在敏感细胞 MCF-7 中的表达是耐药细胞 MCF-7/TAM 的 (0.06 ± 0.01) 倍 ($t = 9.50, P < 0.05$) , ErbB-2 基因在 ROS 处理后的耐药细胞中的表达是未做处理的耐药细胞的 (0.52 ± 0.07) 倍 ($t = 11.87, P < 0.05$)。④ P53 基因在细胞 MCF-7 中的表达是耐药细胞 MCF-7/TAM 的 (4.42 ± 1.76) 倍 ($t = 5.85, P < 0.05$) , P53 基因在 ROS 处理后的耐药细胞中的表达是未做处理的耐药细胞的 (1.76 ± 0.51) 倍 ($t = 5.91, P < 0.05$)。见图 4。

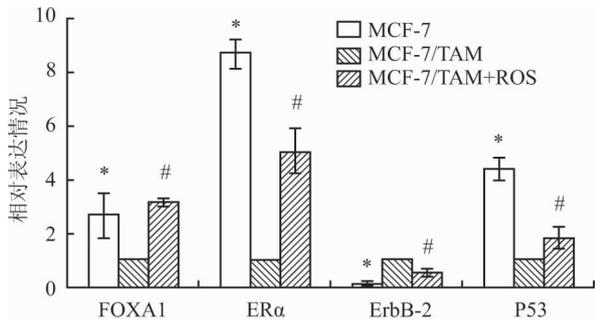


图 4 各基因在 3 组细胞中的相对表达情况 (定 MCF-7/TAM 组的基因表达水平为 1)

与 MCF-7/TAM 组比较: * $P < 0.05$; 与 MCF-7/TAM 组比较: # $P < 0.05$

3 讨论

乳腺癌是女性最常见的恶性肿瘤之一,发病率占全身各种恶性肿瘤的 7% ~ 10%,严重影响女性身心健康。有研究^[2-3]显示单独服用 TAM 5 年可使 ER 阳性的早期乳腺癌患者年死亡率降低 31%,复发率降低 47%。但是,近年来临床上 TAM 耐药的出现严重限制了其疗效。目前耐药机制的研究^[4-5]以 ER α 缺失和表皮生长因子通路上调为主,现发现先锋因子 FOXA1 也参与耐药机制的发生^[6]。然而针对 TAM 耐药的问题,目前临床的处理主要为不同抗雌激素药物的交替使用、异常信号通路的靶向阻断、新靶点及多药联合治疗,但疗效有限,且有一定的副作用^[7]。

刘朝俊等^[8]报道称 2 型糖尿病与乳腺癌密切相关。一项乳腺癌内分泌治疗的回顾性分析提示,

接受内分泌治疗的患者较未接受者其糖尿病发生率明显升高^[9]。

ROS 属于噻唑烷二酮类降糖药物,主要通过结合并激动过氧化物酶体增殖活化受体 γ (peroxisome proliferator activated receptor- γ , PPAR γ) 发挥作用。研究^[10]显示 PPAR γ 在乳腺癌、卵巢癌、胃癌等多种肿瘤细胞中均有表达。有报道^[11]称 ROS 可抑制乳腺癌 MCF-7 细胞的增殖。P53 基因是重要的抑癌基因之一,与乳腺癌的生长、凋亡密切相关, Moon et al^[11]发现 ROS 可促进 P53 基因表达。Talbert et al^[12]却发现小剂量 (10 $\mu\text{mol/L}$) ROS 可促进 MCF-7 细胞增殖,与小剂量 ROS 通过 ER α 途径和 ERK-MAPK 途径激活雌激素受体反应元件 (estrogen receptor response element, ERE),从而上调 ER α 表达有关。Elstner et al^[13]发现 PPAR γ 配体激动剂曲格列酮可显著抑制表皮生长因子受体 ErbB-2 蛋白表达。Varley et al^[14]发现 FOXA1 的表达调控受 PPAR γ 的调节。

以上研究结果为 ROS 抑制耐 TAM 乳腺癌细胞 MCF-7/TAM 的增殖,恢复其对 TAM 的敏感性提供了可能。本研究结果显示 ROS 可抑制 MCF-7/TAM 细胞增殖,且高浓度可诱导其凋亡。经 ROS 处理后, P53 基因表达上调,与抑制耐药细胞的增殖相关。对比 MCF-7/TAM 细胞和 MCF-7 细胞的基因表达情况,发现 MCF-7/TAM 的耐药机制与 ER α 和 FOXA1 基因表达下调、ErbB-2 基因表达上调相关。MCF-7/TAM 细胞经 ROS 处理后,对比处理前其 ER α 、FOXA1 基因表达上调, ErbB-2 基因表达下调,逆转耐药倍数为 2.05 倍,提示 ROS 可通过改变耐药相关基因的表达来恢复乳腺癌耐药细胞对 TAM 的敏感性。

综上所述,ROS 以其抑制耐药乳腺癌细胞 MCF-7/TAM 增殖,恢复耐药细胞对 TAM 的敏感性,避免乳腺癌向 ER 功能缺失的不良表型发展,降低乳腺癌合并糖尿病患者的血糖,降低内分泌治疗所引起血糖升高的风险,临床副作用小等优势,为临床治疗耐 TAM 乳腺癌提供了实验基础和新的思路。至于 ROS 逆转耐药的其他途径及其诱导耐药细胞凋亡的具体机制有待进一步研究。

参考文献

[1] 钟红,许永华,马斌林,等.雷帕霉素和罗格列酮对人乳腺癌细胞生长的影响[J].中国肿瘤临床,2010,37(11):611-4.

- [2] Chung E Y ,Liu J ,Homma Y ,et al. Interleukin-10 expression in macrophages during phagocytosis of apoptotic cells is mediated by homeodomain proteins Pbx1 and Prep-1 [J]. *Immunity* 2007 27 (6) :952 - 64.
- [3] Chung E Y ,Liu J ,Zhang Y ,et al. Differential expression in lupus-associated IL-10 promoter single-nucleotide polymorphisms is mediated by poly(ADP-ribose) polymerase-1 [J]. *Genes Immun* , 2007 8(7) :577 - 89.
- [4] Li G ,Zhang J ,Jin K , et al. Estrogen receptor- α 36 is involved in development of acquired tamoxifen resistance *via* regulating the growth status switch in breast cancer cells[J]. *Mol Oncol* 2013 7 (3) :611 - 24.
- [5] Morrison G ,Fu X ,Shea M ,et al. Therapeutic potential of the dual EGFR/HER2 inhibitor AZD8931 in circumventing endocrine resistance[J]. *Breast Cancer Res Treat* 2014 144(2) :263 - 72.
- [6] Ross-Innes C S ,Stark R ,Teschendorff A E ,et al. Differential oestrogen receptor binding is associated with clinical outcome in breast cancer[J]. *Nature* 2012 481(7381) :389 - 93.
- [7] 何倩,潘跃银. 乳腺癌内分泌治疗的耐药机制及对策[J]. *临床肿瘤学杂志* 2011 16(5) :463 - 7.
- [8] 刘朝俊,李军涛,刘慧. 2型糖尿病与乳腺癌关系的研究进展[J]. *中华肿瘤防治杂志* 2013 20(12) :958 - 62.
- [9] Lipcombe L L ,Fischer H D ,Yun L ,et al. Association between tamoxifen treatment and diabetes: a population-based study [J]. *Cancer* 2012 118(10) :2615 - 22.
- [10] Michalik L ,Desvergne B ,Wahli W. Peroxisome proliferation activated receptors and cancers complex stories [J]. *Nat Rev Cancer* 2004 4(1) :61 - 70.
- [11] Moon H S ,Guo D D ,Lee H G , et al. Alpha-eleostearic acid suppresses proliferation of MCF-7 breast cancer cells *via* activation of PPAR γ and inhibition of ERK 1 - 2 [J]. *Cancer Sci* 2010 , 101(2) :396 - 402.
- [12] Talbert D R ,Allred C D ,Zaytseva Y Y ,et al. Transactivation of ER α by rosiglitazone induces proliferation in breast cancer cells [J]. *Breast Cancer Res Treat* 2008 108(1) :23 - 33.
- [13] Elstner E ,Williamson E A ,Zang C ,et al. Novel therapeutic approach: ligands for PPAR- γ and retinoid receptors induce apoptosis in bcl-2-positive human breast cancer cells [J]. *Breast Cancer Res Treat* 2002 74(2) :155 - 65.
- [14] Varley C L ,Bacon E J ,Holder J C ,et al. FOXA1 and IRF-1 intermediary transcriptional regulators of PPAR γ -induced urothelial cytodifferentiation [J]. *Cell Death and Differ* 2009 16(1) :103 - 14.

Effects of rosiglitazone on the drug-resistant breast cancer

Chen Wanjing ,Tang Tong ,Qian Bo ,et al

(*Dept of General Surgery ,The Second Affiliated Hospital of Anhui Medical University ,Hefei 230601*)

Abstract Objective To investigate the proliferation inhibition and the reverse effects as well as the mechanisms of rosiglitazone(ROS) on human breast cancer cells resistant to tamoxifen(MCF-7/TAM) *in vitro*. **Methods** The inhibitive rate and reverse effects of ROS on MCF-7/TAM cells were detected by MTT assay. The apoptotic rate of ROS on MCF-7/TAM cells were detected by flow cytometry. The expression changes of FOXA1 ,ER α ,ErbB-2 and P53 of MCF-7/TAM cells which dealt with ROS were detected by real-time quantitative PCR. **Results** ROS could inhibit the proliferations of MCF-7/TAM cells through dose-effect and time-effect relationships. ROS had a significant reversal of drug resistance of MCF-7/TAM cells. The dose of 50% inhibitory concentration(136 μ mol/L) reversed the resistance by 2.05 folds. High concentration of ROS could induce the MCF-7/TAM cells apoptosis. The expressions of FOXA1 ,ER α and P53 were increased after ROS effected on MCF-7/TAM cells at the dose of 50% inhibitory concentration(136 μ mol/L) ($P < 0.05$). While ,the expressions of ErbB-2 were induced by ROS with the same concentration($P < 0.05$). **Conclusion** The effects of proliferation inhibition and apoptosis of ROS on MCF-7/TAM cells may be related to down-regulating P53 expression. ROS can reverse the drug resistance of MCF-7/TAM cells ,and the reverse mechanisms maybe relate to up-regulating FOXA1 and ER α expression as well as down-regulating ErbB-2.

Key words rosiglitazone; tamoxifen; human breast cancer cells; FOXA1; ER α ; ErbB-2; P53