

· 基础研究 ·

华蟾素对乳腺癌 MDA-MB-231 细胞
增殖迁移凋亡的影响[△]

郑迪, 代国, 张政佩, 陶春杰, 余铃, 郭卫春*

(武汉大学 人民医院 骨科, 湖北 武汉 430060)

[摘要] 目的: 研究华蟾素对 MDA-MB-231 细胞增殖、迁移和凋亡的影响, 并探讨其可能的作用机制。方法: 体外培养三阴性乳腺癌细胞 MDA-MB-231, 用倒置显微镜观察不同浓度华蟾素对 MDA-MB-231 细胞形态的影响; CCK-8 实验检测华蟾素对 MDA-MB-231 细胞增殖的抑制作用; 划痕实验检测华蟾素对 MDA-MB-231 细胞迁移能力的抑制作用; FITC/PI 双染流式细胞术检测不同浓度华蟾素对 MDA-MB-231 细胞凋亡率的影响; Western Blot 检测凋亡相关蛋白 Bax、Bcl-2、Cleaved caspase-3、Cleaved caspase-9 和 PTHrP 的表达。结果: CCK-8 结果显示华蟾素可以时间、浓度依赖性地抑制 MDA-MB-231 细胞增殖; 划痕实验结果表明华蟾素可抑制 MDA-MB-231 细胞迁移; 流式细胞术结果表明华蟾素可浓度依赖性地诱导 MDA-MB-231 细胞凋亡; Western Blot 结果表明, 华蟾素可上调 MDA-MB-231 细胞中促凋亡蛋白 Bax、Cleaved caspase-3、Cleaved caspase-9, 下调抑凋亡蛋白 Bcl-2。此外, 华蟾素还可抑制 MDA-MB-231 细胞中 PTHrP 的表达。结论: 华蟾素通过线粒体途径诱导 MDA-MB-231 细胞凋亡可能是其抗三阴性乳腺癌的机制; 华蟾素通过下调乳腺癌 MDA-MB-231 细胞中 PTHrP 进而抑制溶骨性骨转移的发生, 有待于后续的动物实验来进行验证。

[关键词] 华蟾素; MDA-MB-231 细胞; 凋亡; PTHrP

Effect of Cinobufacini on MDA-MB-231 Cells Proliferation, Migration and Apoptosis

ZHENG Di, DAI Guo, ZHANG Zheng-pei, TAO Chun-jie, YU Ling, GUO Wei-chun*

(Department of Orthopedics, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of cinobufacini on MDA-MB-231 cells proliferation, migration and apoptosis, and detect the underlying mechanism. **Methods:** MDA-MB-231 cells were treated with different concentrations of cinobufacini, the morphological changes of MDA-MB-231 cells were observed under inverted microscope. CCK-8 assay was used to detect the effect of cinobufacini on MDA-MB-231 cell proliferation. Scratches test was employed to investigate cell migration in MDA-MB-231 cells and cell apoptosis was analyzed by flow cytometry with the staining of Annexin V-FITC/PI. Western Blot was employed to detect the expression level of Bax, Bcl-2, Cleaved caspase-3, Cleaved caspase-9 and PTHrP. **Results:** CCK-8 results showed that cinobufacini could inhibit the proliferation of MDA-MB-231 cells in a concentration and time-dependent manner. Scratches test confirmed that cinobufacini treatment reduced the migration ability of MDA-MB-231 cells. The results of flow cytometry suggested that cinobufacini could induce apoptosis in MDA-MB-231 cells in a concentration dependent manner. The expression levels of Bax, Cleaved caspase-3, Cleaved caspase-9 were increased, whereas the expression levels of Bcl-2 and PTHrP were decreased with the treatment of cinobufacini. **Conclusion:** Cinobufacini could induce apoptosis through the mitochondrial apoptotic pathway to exert anti-tumor effect on MDA-MB-231 cells. The effect of cinobufacini on breast cancer osteolytic bone metastasis needs to be further studied *in vivo*.

[Keywords] Cinobufacini; MDA-MB-231 cell; apoptosis; PTHrP

doi:10.13313/j.issn.1673-4890.20170907004

乳腺癌是女性最常见的恶性肿瘤, 全球范围内平均每年新增乳腺癌患者约 170 万例, 并且其

发病率还在不断提升^[1]。远处转移是乳腺癌致死的主要原因, 而骨组织则是乳腺癌常见的转移位

[△] [基金项目] 国家自然科学基金项目(81341078)

* [通信作者] 郭卫春, 博士, 教授, 研究方向: 骨肉瘤及乳腺癌骨转移的基础与临床研究; E-mail: guoweichun@aliyun.com

点^[2-3]。乳腺癌骨转移造成溶骨性破坏,进而导致高钙血症、病理性骨折、疼痛、神经功能损害等一系列骨相关事件^[4-5],对患者的生活造成严重影响。研究表明,转移到骨组织的肿瘤细胞能分泌甲状旁腺激素相关蛋白(PTHrP),通过促进核因子 $\kappa\beta$ 受体活化因子配体(RANKL)分泌并减少骨保护素(OPG)合成,造成RANKL/OPG的比例失调,进而促进破骨细胞分化和成熟,造成骨质破坏,骨基质中储存的TGF- β 大量释放又反过来促进乳腺癌细胞分泌PTHrP,由此完成乳腺癌骨转移中的“恶性循环”^[6]。因此,通过抑制肿瘤细胞分泌PTHrP有望成为抑制乳腺癌溶骨性骨转移进程的有效手段。

华蟾素(Cinobufacini)是蟾蜍科动物中华大蟾蜍或黑眶蟾蜍的全皮经提取加工制成的水溶性制剂,具有消肿止痛、活血化瘀和清热解毒等功效,目前临床上主要用于肝癌、肺癌、食管癌等肿瘤的综合治疗^[7-8]。本研究基于华蟾素的抗肿瘤特性,研究其对MDA-MB-231细胞增殖、迁移及凋亡的影响,探索其抗乳腺癌的相关分子机制,并初步探索华蟾素对MDA-MB-231细胞PTHrP表达的影响,为后续进一步研究提供基础。

1 材料与仪器

1.1 材料

人TNBC细胞株MDA-MB-231购自中国科学院细胞库上海保藏中心;华蟾素(安徽金蟾生化股份有限公司,每支10 mL,批号:160904);DMEM高糖培养基(美国Hyclone公司);新生胎牛血清[Gibco公司(澳洲)];1%双抗[青霉素 $100\text{ U}\cdot\text{mL}^{-1}$,链霉素 $100\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,吉诺公司(杭州)];胰酶(武汉谷歌生物科技有限公司);Annexin V-FITC/PI细胞凋亡检测试剂盒(南京凯基科技发展有限公司);CCK-8试剂盒(南京碧云天公司);兔抗人Bax、Bcl-2、PTHrP、cleaved caspase-9、cleaved caspase-3、 β -actin抗体(美国CST公司);HRP标记抗兔IgG二抗(武汉博士德生物工程有限公司)。

1.2 仪器

倒置显微镜(Olympus, Japan);自动酶标仪(Tecan Sunrise, Austria);流式细胞仪FACSCalibur(Becton-Dickinson, San Jose, CA, USA)。

2 方法

2.1 细胞培养

MDA-MB-231乳腺癌细胞培养在含有10%新生胎牛血清、1%双抗(青霉素 $100\text{ U}\cdot\text{mL}^{-1}$,链霉素 $100\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)的DMEM高糖培养基中,于 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、5%二氧化碳细胞培养箱中培养,取对数生长期细胞进行后续实验。

2.2 形态学观察

将MDA-MB-231细胞以每孔 2×10^5 个接种于6孔板中,24 h后分别加入0、10、20、40、60、80 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 华蟾素,置于 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、5%二氧化碳培养箱中培养48 h后,在倒置显微镜下观察各组细胞的形态变化并拍照。

2.3 细胞增殖能力检测

将MDA-MB-231细胞以每孔 5×10^3 个接种于96孔板中,每孔100 μL ,每组设3个复孔,孵育24 h待细胞贴壁后加入不同质量浓度的华蟾素(0、10、20、40、60、80、100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$),分别培养24、48 h,然后每孔加入10 μL CCK-8试剂和90 μL 培养基,继续孵育1.5 h,用自动酶标仪(Tecan Sunrise, Austria)测量每孔细胞在450 nm波长下的吸光度(A),所有实验均进行3次,按公式(1)计算细胞活力。

$$\text{细胞活力} = \frac{A_{\text{空白组}} - A_{\text{处理组}}}{A_{\text{空白组}}} \times 100\% \quad (1)$$

2.4 划痕实验

取对数生长期的MDA-MB-231细胞,以每孔 5×10^4 个接种于12孔板中,待细胞长到完全融合后,用无菌100 μL 枪头在每个孔底划出一条直线,PBS洗2次,用倒置显微镜拍照后,分别加入无血清DMEM高糖培养基,并调整华蟾素质量浓度为0、20、40、80 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,继续培养48 h后用倒置显微镜观察划痕愈合度,拍照记录,每组实验重复3次,按公式(2)计算细胞迁移率。

$$\text{细胞迁移率}(100\%) = \frac{1 - \text{药物组细胞迁移面积}}{\text{对照组细胞迁移面积}} \times 100\% \quad (2)$$

2.5 细胞凋亡分析

取对数生长期的MDA-MB-231细胞接种于6孔板中,每孔 5×10^5 个,培养24 h待细胞贴壁后,加入

不同质量浓度的华蟾素(0、20、40、80 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)处理 24 h, 用 0.25% 胰酶消化, 收集细胞, 离心弃上清液后用冷 PBS 洗涤 2 次, 加入 500 μL binding buffer 重悬细胞, 再加入 5 μL Annexin V-FITC 和 5 μL PI, 室温避光孵育 15 min 后, 用流式细胞仪进行细胞凋亡率的检测。

2.6 Western Blot

用华蟾素(40 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)处理 MDA-MB-231 细胞 24 h 后, 去除培养基, 冷 PBS 洗涤 2 次, 加入裂解液提取胞质蛋白, 行聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE), 转膜后用 5% 封闭液于 4 $^{\circ}\text{C}$ 封闭 1.5 h, 加入相应一抗孵育过夜, 滤膜经 TBS 缓冲液漂洗 3 次后, 加入相应二抗室温孵育 2 h, 增强化学发光显色系统显色, 使用 ImageJ 软件进行灰度分析, β -actin 蛋白条带作为内参照。

2.7 统计学分析

应用 SPSS13.0 统计软件对实验数据进行分析, 实验结果以($\bar{x} \pm s$)表示, 均数间多重比较使用单因素方差分析, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 华蟾素对 MDA-MB-231 细胞形态的影响

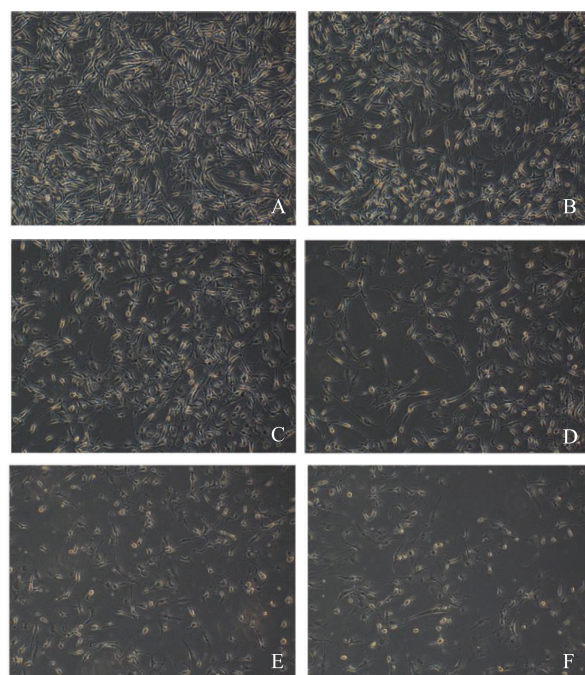
用不同质量浓度(0、10、20、40、60、80 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)的华蟾素处理 MDA-MB-231 细胞 48 h 后, 用倒置显微镜观察细胞形态的变化。发现经过 48 h 处理后, 对照组细胞生长贴壁良好, 细胞间间隙小, 细胞密集、密度大(见图 1A); 而华蟾素处理组中, 细胞皱缩变圆, 贴壁能力降低, 并且随着华蟾素质量浓度的增加, 细胞数量及密度明显减少(见图 1B~F)。

3.2 华蟾素对 MDA-MB-231 细胞增殖的抑制作用

为了研究华蟾素对 MDA-MB-231 细胞增殖的影响, 我们用不同质量浓度(0、10、20、40、60、80、100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)的华蟾素处理 MDA-MB-231 细胞 24 h 和 48 h。图 2 CCK-8 结果显示, 华蟾素可以抑制 MDA-MB-231 细胞增殖, 降低其活力, 并且随着华蟾素质量浓度的增加和作用时间的延长, 其细胞活力不断下降, 说明华蟾素可以时间、浓度依赖性地抑制 MDA-MB-231 细胞的增殖, 体现出对 MDA-MB-231 细胞的毒性作用。

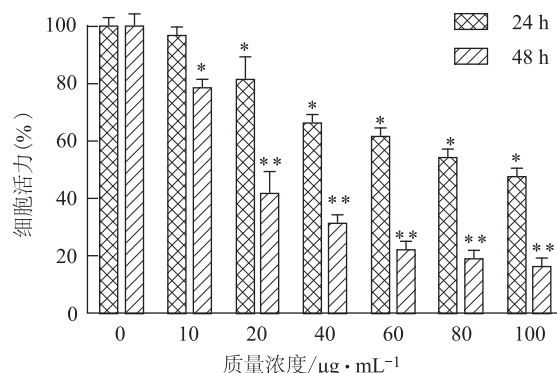
3.3 华蟾素对 MDA-MB-231 细胞迁移的影响

华蟾素对 MDA-MB-231 细胞迁移能力的影响如



注: A. 对照组; B~F. 分别为 10、20、40、60、80 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 华蟾素处理组。

图 1 华蟾素对 MDA-MB-231 细胞形态的影响($\times 100$)



注: 与对照组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 下同。

图 2 华蟾素体外细胞抑制作用

图 3 所示。对照组细胞经过 48 h 处理后, 与 0 h 相比生长明显, 划痕愈合明显(见图 3A~B), 而华蟾素处理组随着华蟾素浓度(20、40、80 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)的增加, 经过 48 h 处理后, 划痕愈合趋势不明显; 当用 80 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 华蟾素处理 MDA-MB-231 细胞 48 h 后, 细胞生长稀疏, 未见划痕愈合趋势(见图 3E)。图 4 表明, 华蟾素可以抑制 MDA-MB-231 细胞的迁移; 并且随着华蟾素浓度的增加, MDA-MB-231 细胞迁移率逐渐降低。

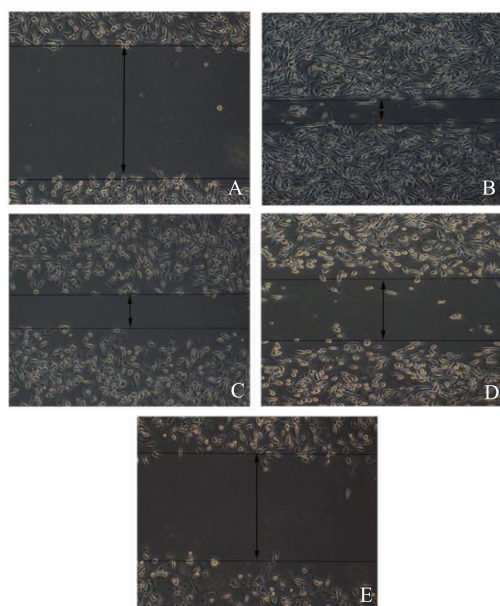
3.4 华蟾素对 MDA-MB-231 细胞凋亡的影响

使用不同质量浓度(20、40、80 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) 华

蟾素处理 MDA-MB-231 细胞 24 h 后, 采用 FITC/PI 双染流式细胞术检测 MDA-MB-231 细胞凋亡率(细胞凋亡率 = 早期细胞凋亡率 + 晚期细胞凋亡率)。图 5 结果表明, 细胞凋亡率随着华蟾素浓度的增加而显著提高, 与空白对照组相比, 差别具有统计学意义。

3.5 华蟾素对凋亡相关蛋白及 PTHrP 表达的影响

为了进一步探究华蟾素抑制 MDA-MB-231 细胞增殖, 诱导其凋亡的分子机制, 我们检测了 Bax、Bcl-2、Cleaved capsase-3 和 Cleaved capsase-9 等凋亡相关蛋白的表达。Western Blot 结果表明(见图 6), 与对照组相比, 华蟾素处理组中, Bax、Cleaved capsase-3 和 Cleaved capsase-9 表达水平均明显上调, 而 Bcl-2 的表达则明显减少。此外, 我们还研究了华蟾素对 PTHrP 表达的影响, 结果表明华蟾素可以抑制 MDA-MB-231 细胞中 PTHrP 的表达。



注: A ~ B. 分别为对照组 0 h 和 48 h; C ~ E. 分别为 20、40 和 80 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 华蟾素处理组 48 h

图 3 华蟾素对 MDA-MB-231 细胞划痕修复实验结果 ($\times 100$)

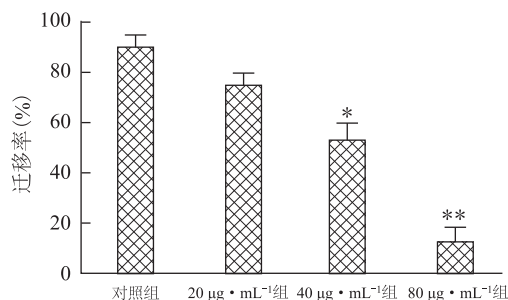
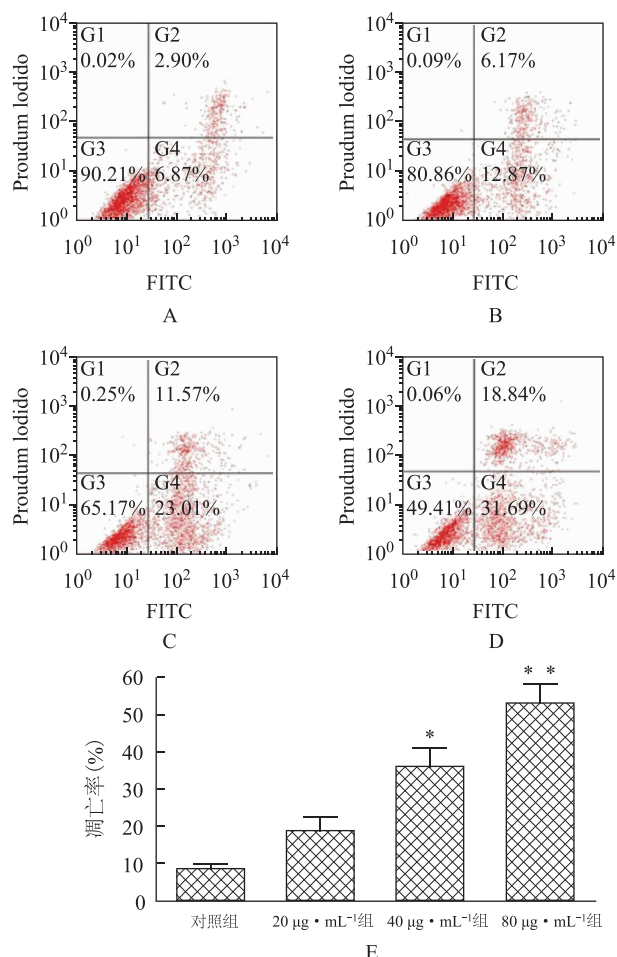


图 4 华蟾素对 MDA-MB-231 细胞迁移率结果

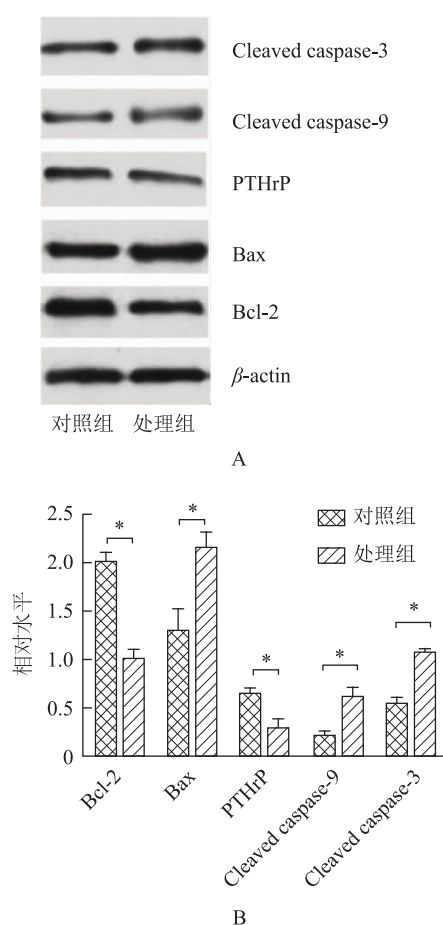
4 讨论

乳腺癌是恶性肿瘤中导致女性死亡的首要因素^[9], 据统计占女性新增癌症病例的四分之一以上^[10]。目前, 对于乳腺癌患者的治疗, 主要包括外科手术、放疗和化疗。尽管目前治疗取得了明显进步, 但仍无法令人满意。三阴性乳腺癌(TNBC)是乳腺癌中的一种亚型, 其雌激素受体、孕激素受体和人表皮生长因子受体 2 均为阴性, 具有恶性程度高、侵袭能力强、容易转移和复发等特点, 对内分泌治疗及抗 HER2 靶向治疗不敏感^[11-12], 目前对于此类患者, 仍缺乏有效治疗手段。晚期乳腺癌患者中有 70% 左右出现骨转移^[13], 远远高于其他器官, 而 TNBC 相对于其他亚型更容易出现骨转移, 因此, 寻找新的药物以改善乳腺癌, 特别是 TNBC 患者的预后, 是目前临床上亟待解决的难题。



注: A. 对照组; B ~ D. 分别为 20、40 和 80 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 华蟾素处理组; G1 ~ G4. 分别为坏死细胞、晚期凋亡细胞、正常细胞、早期凋亡细胞所占百分比; E. 各组凋亡率比较。

图 5 华蟾素对 MDA-MB-231 细胞凋亡率的影响



注: A. 蛋白表达条带; B. 表达水平比较。

图6 华蟾素对 Bax、Bcl-2、PTHrP、Cleaved caspase-3 和 Cleaved caspase-9 表达的影响

研究证明,华蟾素对多种肿瘤如肝癌、胃癌、骨肉瘤、乳腺癌等有抑制作用。孙宇等^[14]研究证明,华蟾素能显著抑制人肝癌细胞 HepG-2 增殖,诱导其凋亡,可能与华蟾素下调肿瘤细胞 Topo I、Topo II 表达有关。殷文谨等^[15]研究表明,华蟾素能抑制乳腺癌细胞增殖,降低其侵袭能力,并通过下调 Cyclin A1、D1 等细胞周期中的正向调节因子及促进 P21 等负向调节因子的表达进而抑制细胞周期进程。本研究基于华蟾素的抗肿瘤作用,研究其对三阴性乳腺癌 MDA-MB-231 细胞增殖、迁移、凋亡的影响及其机制,并初步探讨华蟾素对 PTHrP 表达的影响,为后续进一步研究提供基础。

本研究应用不同质量浓度的华蟾素(0、10、20、40、60、80 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)处理 MDA-MB-231 细胞 48 h,用倒置显微镜观察细胞形态及密度变化,结果表明华蟾素处理组中,细胞皱缩变圆,贴壁能力降低,并且随着华蟾素质量浓度的增加,细胞数量及密度

明显减少,说明华蟾素能抑制 MDA-MB-231 细胞的增殖。为进一步验证华蟾素对 MDA-MB-231 细胞的毒性作用,我们进行了 CCK-8 实验,结果表明华蟾素可以时间、浓度依赖性抑制 MDA-MB-231 细胞的增殖。随后,我们研究了华蟾素对 MDA-MB-231 细胞迁移能力的影响,划痕结果表明,对照组中细胞生长明显,划痕接近愈合,而华蟾素处理组中随着华蟾素浓度的增加,划痕愈合趋势越来越不明显,说明华蟾素对乳腺癌 MDA-MB-231 细胞迁移能力有较为明显的抑制作用。

由于细胞增殖受限与细胞凋亡密切相关,我们随后检测了华蟾素对 MDA-MB-231 细胞凋亡率的影响。FITC/PI 双染流式细胞术结果表明 MDA-MB-231 细胞凋亡率随着华蟾素质量浓度的增加而显著提高,说明华蟾素能显著诱导 MDA-MB-231 细胞凋亡。细胞凋亡又称为细胞程序性死亡,经典的细胞凋亡途径主要包括:线粒体凋亡途径和死亡受体凋亡途径^[16],均依赖于 Caspase 级联反应来诱导。在线粒体凋亡途径中,当细胞受到凋亡信号刺激后,线粒体外膜通透性增加,线粒体内的凋亡因子,如细胞色素 C (Cytochrome, CytC) 等释放到细胞质,与凋亡蛋白酶活化因子 Apaf-1 (Apoptotic protease activating factor-1) 结合,进而活化 Caspase9,进一步激活 Caspase3,从而导致 Caspase 级联反应的发生以诱导细胞凋亡,而定位于线粒体膜上的 Bcl-2 家族蛋白如促凋亡蛋白 Bax 和抑凋亡蛋白 Bcl-2 可通过调控 CytC 的释放从而调控细胞凋亡^[17]。为了探究华蟾素诱导 MDA-MB-231 细胞凋亡的分子机制,我们检测了华蟾素对凋亡相关蛋白表达的影响。结果表明,华蟾素处理组中促凋亡蛋白 Bax 表达水平上调,而抑凋亡蛋白 Bcl-2 表达水平则显著下降。Bax 与 Bcl-2 蛋白表达水平失衡,引起线粒体膜通透性改变,从而引起线粒体凋亡通路级联反应的发生。华蟾素处理组中 Cleaved caspase-3 和 Cleaved caspase-9 的高表达也验证了这一通路的激活。表明华蟾素通过线粒体凋亡途径诱导 MDA-MB-231 细胞凋亡。

此外,Western Blot 结果表明华蟾素可以抑制 MDA-MB-231 细胞中 PTHrP 的表达。正常生理情况下,RANK/RANKL-OPG 系统能调节成骨细胞和破骨细胞的活性平衡,使成骨细胞介导的骨形成和破骨细胞介导的骨吸收处于平衡状态,而在乳腺癌骨转移发生发展过程中,肿瘤细胞通过分泌 PTHrP、IL-1 等活性因子导致溶骨性骨转移的发生^[18-20]。本

研究证实,华蟾素可以抑制MDA-MB-231细胞中PTHrP的表达,由此,我们假设华蟾素可通过下调乳腺癌MDA-MB-231细胞中PTHrP进而抑制溶骨性骨转移的发生,这有待于后续的动物实验来进行验证。

综上所述,华蟾素能抑制MDA-MB-231细胞增殖,降低其迁移能力,并通过线粒体凋亡途径诱导MDA-MB-231细胞凋亡。总之,我们的研究表明,华蟾素能在一定程度上对三阴性乳腺癌产生抑制作用,至于能否抑制乳腺癌溶骨性骨转移的发生,有待后续进一步验证。

参考文献

- [1] Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. [J]. Int J Cancer, 2015, 136 (5): E359.
- [2] Fontanella C, Fanotto V, Rihawi K, et al. Skeletal metastases from breast cancer: pathogenesis of bone tropism and treatment strategy. [J]. Clin Exp Metastasis, 2015, 32 (8): 819-833.
- [3] Lim B, Hortobagyi G N. Current challenges of metastatic breast cancer [J]. Cancer Metastasis Rev, 2016, 35 (4): 495.
- [4] Sathiakumar N, Delzell E, Morrissey M A, et al. Mortality following bone metastasis and skeletal-related events among women with breast cancer: a population-based analysis of US Medicare beneficiaries, 1999-2006 [J]. Breast Cancer Res Tr, 2012, 131 (1): 231-238.
- [5] Yardley D A. Pharmacologic management of bone-related complications and bone metastases in postmenopausal women with hormone receptor-positive breast cancer [J]. Breast Cancer, 2016, 8: 73-82.
- [6] 杨勇, 姜玉秋, 王永高, 等. 乳腺癌骨转移的研究进展[J]. 中国普外基础与临床杂志, 2016(2): 253-256.
- [7] 许雷来, 郎雅丽, 谢璐帆, 等. 华蟾素注射液对乳腺癌MDA-MB-231细胞E-cad、N-cad表达的影响[J]. 浙江中西医结合杂志, 2017, 27(2): 107-109.
- [8] 徐晓武, 杨小敏, 金洲祥, 等. 华蟾素诱导人乳腺癌细胞株MCF-7细胞凋亡与Bax/Bcl-2的关系[J]. 中国中西医结合外科杂志, 2012, 18(6): 580-583.
- [9] Torre L A, Bray F, Siegel R L, et al. Global cancer statistics, 2012 [J]. CA Cancer J Clin, 2015, 65(2): 87-108.
- [10] 李伯和, 袁磊. 辣椒碱对乳腺癌MDA-MB-231细胞迁移和侵袭的抑制作用及其机制[J]. 生理学报, 2017, 69(2): 183-188.
- [11] Stagg J, Allard B. Immunotherapeutic approaches in triple-negative breast cancer: latest research and clinical prospects [J]. Ther Adv Med Oncol, 2013, 5(3): 169-81.
- [12] Oualla K, El-Zawahry H M, Arun B, et al. Novel therapeutic strategies in the treatment of triple-negative breast cancer [J]. Ther Adv Med Oncol, 2017, 9(7): 493-511.
- [13] Kang Y. Dissecting Tumor-Stromal Interactions in Breast Cancer Bone Metastasis [J]. Endocrinol Metab, 2016, 31(2): 206-212.
- [14] 孙宇, 单路娟, 刘越坚, 等. 华蟾素注射液对人肝癌HepG-2细胞增殖及凋亡的影响[J]. 中国肿瘤, 2010, 19(6): 410-413.
- [15] 殷文瑾, 柳光宇, 狄根红, 等. 华蟾素对人乳腺癌细胞株MDA-MB-231生物学特性的影响[J]. 肿瘤, 2009, 29(7): 641-644.
- [16] Zou W W, Xiao H P, Gu M N, et al. Propofol induces rat embryonic neural stem cell apoptosis by activating both extrinsic and intrinsic pathways [J]. Mol Med Rep, 2013, 7(4): 1123-1128.
- [17] Ma Y, Zhu B, Yong L, et al. Regulation of Intrinsic and Extrinsic Apoptotic Pathways in Osteosarcoma Cells Following Oleandrin Treatment: [J]. Int J Mol Sci, 2016, 17(11): 1950.
- [18] 鲁光平, 殷咏梅, 周雪峰, 等. 乳腺癌骨转移机制与靶向治疗进展[J]. 现代肿瘤医学, 2017, 25(2): 314-318.
- [19] Yan X, Ke X X, Zhao H, et al. Triptolide inhibits cell proliferation and tumorigenicity of human neuroblastoma cells [J]. Mol Med Rep, 2015, 11(2): 791-796.
- [20] 陈明霞, 李蕾. PTHrP在乳腺癌及其骨转移中的表达及意义[J]. 现代肿瘤医学, 2013, 21(2): 285-287.

(收稿日期 2017-09-07)