

本文引用:肖玉洁,黄立中,龚辉,戴新军,朱旭,冯磊,王婷. 黄芩苷对缺氧三阴性乳腺癌干细胞增殖及 HIF-1 α 、IGF- II、L-selectin 的影响[J]. 湖南中医药大学学报, 2022, 42(11): 1870-1875.

黄芩苷对缺氧三阴性乳腺癌干细胞增殖及 HIF-1 α 、IGF- II、L-selectin 的影响

肖玉洁¹,黄立中¹,龚辉²,戴新军¹,朱旭¹,冯磊²,王婷^{3*}

(1.湖南中医药大学,湖南长沙 410208;2.湖南省中医药研究院附属医院,湖南长沙 410006;
3.株洲市中心医院,湖南株洲 412007)

[摘要] **目的** 研究黄芩苷对缺氧乳腺癌干细胞 MDA-MB-231 增殖及低氧诱导因子-1 α (hypoxia inducible factor-1, HIF-1 α)、胰岛素样生长因子-II (insulin-like growth factor, IGF- II)、L-选择素(L-selectin)的影响。**方法** 四甲基偶氮唑蓝法检测不同浓度(12.5、25.0、50.0、100.0、200.0 mg/L)黄芩苷对缺氧乳腺癌干细胞 MDA-MB-231 的细胞生长抑制率的影响,筛选出合适的黄芩苷浓度。将缺氧乳腺癌干细胞 MDA-MB-231 随机分为 10 组:对照组、BL 组(黄芩苷低浓度 50.0 mg/L)、BM 组(黄芩苷中浓度 100.0 mg/L)、BH 组(黄芩苷高浓度 200.0 mg/L)、DDP 组(顺铂)、M 组(2-甲氧雌二醇)、BL+M 组、BM+M 组、BH+M 组、DDP+M 组。RT-PCR 法检测 HIF-1 α 、IGF- II、L-selectin mRNA 的表达,Western blot 检测 HIF-1 α 、IGF- II、L-selectin 蛋白的表达。**结果** 与对照组比较,DDP 组细胞生长抑制率明显升高($P<0.05$),不同浓度黄芩苷的细胞生长抑制率均明显升高($P<0.05$)。与黄芩苷 2000 mg/L 比较,其他浓度黄芩苷的细胞生长抑制率均明显降低($P<0.05$),DDP 组细胞生长抑制率明显升高($P<0.05$)。与对照组比较,其余 9 组 HIF-1 α 、IGF- II、L-selectin 蛋白和 mRNA 表达均明显降低 ($P<0.05$)。与 BL 组比较,BM 组、BH 组、BL+M 组 HIF-1 α 、IGF- II、L-selectin 蛋白和 mRNA 表达均明显降低($P<0.05$)。与 BM 组比较,BM+M 组 HIF-1 α 、IGF- II、L-selectin 蛋白和 mRNA 表达均明显降低($P<0.05$)。与 BH 组比较,BH+M 组 HIF-1 α 、IGF- II、L-selectin 蛋白和 mRNA 表达均明显降低($P<0.05$)。**结论** 黄芩苷能抑制缺氧乳腺癌干细胞的增殖,可能通过调节 HIF-1 α /IGF- II 信号通路及 L-selectin 的表达抑制乳腺癌干细胞的增殖。

[关键词] 黄芩苷;缺氧;乳腺癌干细胞;低氧诱导因子-1 α ;胰岛素样生长因子-II;L-选择素

[中图分类号]R273

[文献标志码]A

[文章编号]doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2022.11.016

Effects of baicalin on proliferation of hypoxic triple-negative breast cancer stem cells and on HIF-1 α , IGF- II, and L-selectin

XIAO Yujie¹, HUANG Lizhong¹, GONG Hui², DAI Xinjun¹, ZHU Xu¹, FENG Lei², WANG Ting^{3*}

(1. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China; 2. The Hospital of Hunan Institute of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410006, China; 3. Central Hospital of Zhuzhou, Zhuzhou, Hunan 412007, China)

[Abstract] **Objective** To study the effects of baicalin on proliferation of hypoxic breast cancer cells MDA-MB-231, and on hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α), insulin-like growth factor-II (IGF- II) and L-selectin expression. **Methods** MTT assay was employed to detect inhibiting effect of different concentrations of baicalin (12.5, 25.0, 50.0, 100.0, 200.0 mg/L) on growth

[收稿日期]2021-12-07

[基金项目]湖南省自然科学基金项目(2018JJ4096,2021JJ30418);湖南省教育厅一般项目(21C0248);湖南中医药大学科研基金项目(2019XJJ007)。

[第一作者]肖玉洁,女,博士,讲师,研究方向:中西医结合肿瘤。

[通信作者]*王婷,女,博士,副主任医师,E-mail:3386114@qq.com。

of hypoxic breast cancer stem cells MDA-MB-231, therefore identifying the appropriate baicalin concentration. The hypoxic breast cancer stem cells MDA-MB-231 were randomly divided into 10 groups: control group, BL group (baicalin low concentration 50.0 mg/L), BM group (baicalin medium concentration 100.0 mg/L), BH group (baicalin high concentration 200.0 mg/L), DDP group (cisplatin), M group (2-methoxyestradiol), BL+M group, BM+M group, BH+M group and DDP+M group. RT-PCR was employed to detect the expression of mRNA in HIF-1 α , IGF- II and L-selectin. Western blot was applied to detect the protein expression of HIF-1 α , IGF- II and L-selectin. **Results** Compared with the control group, the cell growth inhibition rate of DDP group and the cell growth inhibition rates at different concentrations of baicalin significantly increased ($P<0.05$). Compared with 200.0 mg/L baicalin, the cell growth inhibition rates of other concentrations of baicalin significantly decreased ($P<0.05$), while the cell growth inhibition rate of DDP group significantly increased ($P<0.05$). Compared with the control group, the protein and mRNA expression of HIF-1 α , IGF- II and L-selectin in the other 9 groups significantly decreased ($P<0.05$). Compared with the BL group, the protein and mRNA expression levels of HIF-1 α , IGF- II and L-selectin in the BM, BH and BL+M groups significantly decreased ($P<0.05$). Compared with the BM group, the protein and mRNA expression levels of HIF-1 α , IGF- II and L-selectin in the BM+M groups significantly decreased ($P<0.05$). Compared with the BH group, the protein and mRNA expression levels of HIF-1 α , IGF- II and L-selectin in the BH+M group significantly decreased ($P<0.05$). **Conclusion** Baicalin can inhibit the proliferation of hypoxic breast cancer stem cells. It may inhibit proliferation of breast cancer stem cells by regulating HIF-1 α /IGF- II signaling and L-selectin expression.

[**Keywords**] baicalin; hypoxia; breast cancer stem cells; hypoxia-inducible factor-1 α ; insulin-like growth factor- II; L-selectin

三阴性乳腺癌(triple negative breast cancer, TNBC)是乳腺癌中最具侵袭性的亚型,缺乏内分泌治疗及靶向治疗药物,预后差^[1]。乳腺癌干细胞的自我更新分化是乳腺癌发生和复发的重要机制,参与调控乳腺癌的侵袭转移、对放化疗的治疗抵抗^[2]。乳腺癌干细胞常位于肿瘤的缺氧区域,低氧诱导因子-1 α (hypoxia inducible factor-1, HIF-1 α)是调节氧稳态的核转录因子,缺氧环境下 TNBC 细胞中乳腺癌干细胞比例的增加归因于 HIF-1 α 的激活,且 HIF-1 α 的激活与 TNBC 的转移率和死亡率增加有关^[3]。HIF-1 α 调节 70 多个基因,如血管内皮生长因子、基质金属蛋白酶、白血病-2 基因等,调控恶性肿瘤的细胞增殖、血管生成、侵袭和转移^[4]。本课题组前期实验结果显示,缺氧乳腺癌干细胞 MDA-MB-231 的 HIF-1 α 、胰岛素样生长因子- II (insulin-like growth factor, IGF- II)、L-选择素(L-selectin)表达上调^[5]。

TNBC 归属于中医学“乳岩”范畴,肝郁气滞,瘀毒互结是主要病因病机,癌毒乃痰浊、瘀血等病理产物阻于乳络,蕴结不解,日久而生,癌毒是乳腺癌发生发展的关键,抗癌解毒是重要治则^[6]。清热解毒中药黄芩为治疗乳腺癌的常用药,黄芩苷是黄芩的主要活性成分,黄芩苷能抑制乳腺癌细胞 MDA-MB-231

的增殖和侵袭转移^[7]。本研究从 HIF-1 α 信号通路研究黄芩苷对缺氧乳腺癌干细胞增殖的抑制效应及作用机制。

1 材料与方法

1.1 细胞系

人乳腺癌细胞株 MDA-MB-231(青旗生物技术有限公司,批号:BFN608008564),悬浮培养分离出乳腺癌干细胞微球体 MDA-MB-231^[5]。

1.2 主要试剂

黄芩苷(北京索莱宝科技有限公司,批号:SB8020); HIF-1 α 抑制剂 2-ME(美国 MCE 公司,批号:JH1838); 顺铂(cisplatin, DDP)注射液(云南生物谷灯盏花药业有限公司,批号:20160326);胎牛血清(美国 Gibco 公司,批号:10091-148);B27 培养基(美国 Thermo Fisher Scientific 公司,批号:17504044);BCA 蛋白定量试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司,批号:P0009);四甲基偶氮唑蓝(methyl thiazoly tetrazolium, MTT,批号:BTN111105)、Trizol(批号:12183-555)均购自美国 Sigma 公司;培养细胞总 RNA 提取试剂盒(北京天根生化科技有限公司,批号:DP42050);RT-PCR 试剂(日本 Takara 公司,批号:RR037B);鼠抗

人 HIF-1 α 单克隆抗体(批号:ab129733)、鼠抗人 IGF-II 单克隆抗体(批号:ab213903)、鼠抗人 L-selectin 单克隆抗体(批号:ab199085)、 β -action 单克隆抗体(批号:ab120629)均购自英国 Abcam 公司;山羊抗小鼠二抗(北京中杉金桥生物技术有限公司,批号:BL021A)。

1.3 主要仪器

倒置显微镜(重庆光电仪器总公司,型号:XDS-1B);凝胶成像分体系统(英国 Syngene 公司,型号:GBOX-HR);水平电泳仪(型号:1658001)、RT-PCR 仪(型号:CFX96TOUCH)均购自美国 Bio-Rad 公司。

1.4 药物的制备

1.4.1 黄芩苷的制备 将黄芩苷均匀溶解于二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO)中,配制成浓度为 200.0 mg/L 的储存液^[8],4 °C 冰箱内避光保存,使用时用细胞培养基稀释成所需的浓度, DMSO 的终浓度 $\leq 0.2\%$ 。

1.4.2 HIF-1 α 抑制剂 2-ME 的制备 将 2-ME 用 DMSO 溶解,使用时用培养基稀释为 0.5 $\mu\text{mol/L}$ ^[9], DMSO 的终浓度 $\leq 0.2\%$ 。

1.4.3 DDP 溶液的制备 将 DDP 注射液用 PBS 溶解为 1 mg/mL 的药液,使用时用培养基稀释为 5 $\mu\text{g/mL}$ ^[10]。

1.5 细胞培养

将人乳腺癌干细胞 MDA-MB-231 按 1×10^5 个/mL 接种于含有 10 ng/mL 碱性成纤维细胞生长因子、20 ng/mL 表皮生长因子、0.4% B27、1% 青链霉素的 DMEM-F12 培养液中,置于 37 °C、5% CO₂、1% O₂ 的三气培养箱中,隔两天换 1 次培养基,待细胞密度接近 80% 时传代。

1.6 MTT 法检测细胞增殖

根据本课题前期研究^[11],将缺氧乳腺癌干细胞 MDA-MB-231 随机采用不同浓度(12.5、25.0、50.0、100.0、200.0 mg/L)的黄芩苷进行干预。取对数生长

期细胞接种于 96 孔板,每孔 1.0×10^4 个细胞;24 h 后每孔加入不同药物的培养基 100.0 μL ;缺氧条件下培养 72 h 后,将 10 μL MTT 加入每孔,继续培养 4 h 后,每孔加入 10% 十二烷基磺酸钠(100.0 μL /孔),在 37 °C 条件下培养 24 h,每组设 5 个复孔。用酶标仪分别于 490 nm 及 630 nm 波长处测定光密度(optical density, OD)值。细胞生长抑制率=(1-某浓度黄芩苷时的 OD 值/未给黄芩苷时的 OD 值) $\times 100\%$ ^[8]。

1.7 实验分组

将缺氧乳腺癌干细胞 MDA-MB-231 随机分为 10 组:对照组、BL 组(黄芩苷低浓度 50.0 mg/L)、BM 组(黄芩苷中浓度 100.0 mg/L)、BH 组(黄芩苷高浓度 200.0 mg/L)、DDP 组、M 组(2-ME)、BL+M 组、BM+M 组、BH+M 组、DDP+M 组。

1.8 RT-PCR 检测 HIF-1 α 、IGF-II、L-selectin mRNA 的表达

按照培养细胞总 RNA 提取试剂盒的操作说明提取各组细胞的总 RNA。按后续的反转录反应取出相应所需量的总 RNA,立即进行反转录反应,反应条件为:37 °C 15 min 反转录反应 3 次,85 °C 5 s 反转录酶的失活反应 1 次。设计和合成 PCR 的引物。采用两步法 RT-PCR 反应:93 °C 2 min 预变性,然后按 93 °C 1 min,60 °C 1 min,共 40 个循环。反应结束后确认 RT-PCR 的扩增曲线和溶解曲线,进行 PCR 实时定量制作标准曲线。用 ABI 7500 软件进行分析。引物序列见表 1。

1.9 Western blot 检测 HIF-1 α 、IGF-II、L-selectin 蛋白的表达

收集细胞提蛋白,取蛋白质样品进行 SDS-PAGE 电泳,转至硝酸纤维膜上,将含有目的蛋白条带的硝酸纤维素膜与相应一抗反应后,4 °C 过夜,PBS 洗膜,与相应稀释后的二抗反应,室温孵育 2 h,避光显色。扫描条带。用 Image J 分析软件将每个特异条带的灰度值进行量化。

表 1 各基因的引物序列

目的基因	正向引物	反向引物	长度/bp
GAPDH	AATGGACAACCTGCTCGTGAC	CCCTCCAGGGGATCTGTTG	76
HIF-1 α	TTCCCGACTAGGCCCATTC	CAGGTATTCAAGGTCCCATTTCA	135
L-selectin	CCGACTGCTGGACTTACCA	CCCACCCACGTCCATATTC	189
IGF-II	TTGACAGCAGACTTGCAGAATTA	GCATAAAGCTAAGGAGGGGCTAAA	121

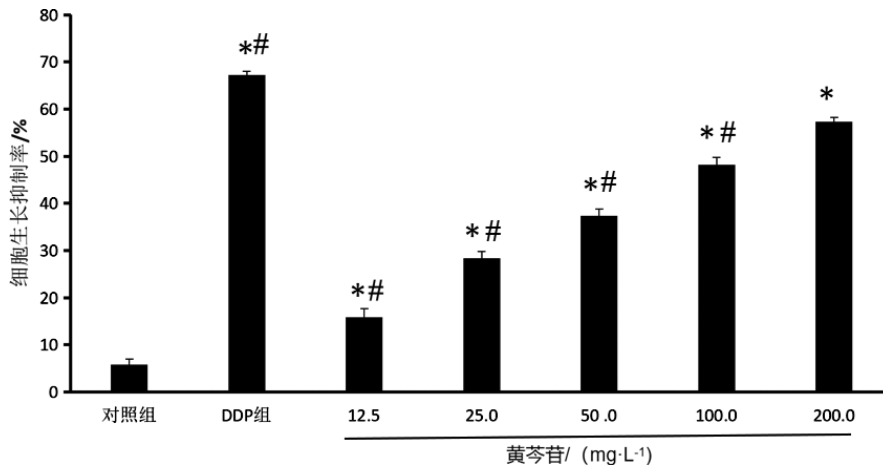


图1 DDP及不同浓度黄芩苷对细胞生长抑制率的影响

注:与对照组比较,* $P<0.05$;与黄芩苷 200.0 mg/L 比较,# $P<0.05$ 。

1.10 统计学分析

数据均用 SPSS 25.0 统计软件分析。计量资料以“ $\bar{x}\pm s$ ”表示,先进行正态性检验和方差齐性检验。数据符合正态分布及方差齐性时,两两比较采用 t 检验,多组比较采用单因素方差分析 ($One-way ANOVA$)。不满足正态分布及方差齐性时采用秩和检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同浓度黄芩苷对细胞生长抑制率的影响

与对照组比较,DDP 组及不同浓度黄芩苷的细胞生长抑制率均明显升高($P<0.05$)。与黄芩苷 200.0 mg/L 比较,其他浓度黄芩苷的细胞生长抑制率均明显降低($P<0.05$),DDP 组细胞生长抑制率明显升高($P<0.05$)。详见图 1。

2.2 各组细胞 HIF-1 α 、L-selectin、IGF- II mRNA 表达情况

与对照组比较,其余 9 组 HIF-1 α 、IGF- II、L-selectin mRNA 表达均明显降低($P<0.05$)。与 BL 组比较,BM 组、BH 组、BL+M 组 HIF-1 α 、IGF- II、L-selectin mRNA 表达均明显降低($P<0.05$)。与 BM 组比较,BM+M 组 HIF-1 α 、IGF- II、L-selectin mRNA 表达均明显降低($P<0.05$)。与 BH 组比较,BH+M 组 HIF-1 α 、IGF- II、L-selectin mRNA 表达均明显降低($P<0.05$)。详见表 2。

2.3 各组细胞 HIF-1 α 、L-selectin、IGF- II 蛋白表达情况

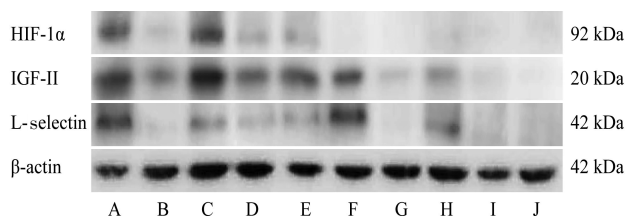
与对照组比较,其余 9 组 HIF-1 α 、IGF- II、L-selectin

表 2 缺氧乳腺癌干细胞 HIF-1 α 、IGF- II、L-selectin mRNA 表达比较($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	HIF-1 α	IGF- II	L-selectin
对照组	1.00 \pm 0.16	1.00 \pm 0.12	1.00 \pm 0.07
BL 组	0.49 \pm 0.04*	0.52 \pm 0.04*	0.43 \pm 0.02*
BM 组	0.28 \pm 0.06*#	0.41 \pm 0.02*#	0.36 \pm 0.01*#
BH 组	0.21 \pm 0.05*#	0.32 \pm 0.02*#	0.29 \pm 0.02*#
DDP 组	0.12 \pm 0.05*	0.21 \pm 0.09*	0.25 \pm 0.02*
M 组	0.33 \pm 0.09*	0.33 \pm 0.12*	0.68 \pm 0.08*
BL+M 组	0.15 \pm 0.03*#	0.18 \pm 0.05*#	0.35 \pm 0.01*#
BM+M 组	0.12 \pm 0.03* Δ	0.09 \pm 0.03* Δ	0.22 \pm 0.06* Δ
BH+M 组	0.09 \pm 0.01* \blacklozenge	0.03 \pm 0.02* \blacklozenge	0.15 \pm 0.01* \blacklozenge
DDP+M 组	0.06 \pm 0.01*	0.12 \pm 0.01*	0.11 \pm 0.02*

注:与对照组比较,* $P<0.05$;与 BL 组比较,# $P<0.05$;与 BM 组比较, $\Delta P<0.05$;与 BH 组比较, $\blacklozenge P<0.05$ 。

蛋白表达均明显降低($P<0.05$)。与 BL 组比较,BM 组、BH 组、BL+M 组 HIF-1 α 、IGF- II、L-selectin 蛋白表达均明显降低($P<0.05$)。与 BM 组比较,BM+M 组 HIF-1 α 、IGF- II、L-selectin 蛋白表达均明显降低($P<0.05$)。与 BH 组比较,BH+M 组 HIF-1 α 、IGF- II、L-selectin 蛋白表达均明显降低($P<0.05$)。详见图 2、表 3。

图 2 各组细胞 HIF-1 α 、L-selectin、IGF- II 蛋白表达电泳图

注:A. 对照组;B. DDP 组;C. BL 组;D. BM 组;E. BH 组;F. M 组;G. DDP+M 组;H. BL+M 组;I. BM+M 组;J. BH+M 组。

表3 各组细胞 HIF-1 α 、IGF- II、L-selectin 蛋白表达比较($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	HIF-1 α	IGF- II	L-selectin
对照组	2.13 \pm 0.08	1.35 \pm 0.07	1.62 \pm 0.06
BL组	0.86 \pm 0.08*	0.57 \pm 0.06*	0.45 \pm 0.04*
BM组	0.71 \pm 0.02**	0.29 \pm 0.01**	0.36 \pm 0.03**
BH组	0.68 \pm 0.09**	0.28 \pm 0.05**	0.30 \pm 0.02**
DDP组	0.62 \pm 0.02*	0.21 \pm 0.01*	0.26 \pm 0.02*
M组	0.16 \pm 0.01*	0.72 \pm 0.02*	0.87 \pm 0.09*
BL+M组	0.15 \pm 0.03**	0.45 \pm 0.04**	0.38 \pm 0.04**
BM+M组	0.13 \pm 0.01* Δ	0.22 \pm 0.03* Δ	0.27 \pm 0.01* Δ
BH+M组	0.11 \pm 0.02* \blacklozenge	0.18 \pm 0.01* \blacklozenge	0.19 \pm 0.02* \blacklozenge
DDP+M组	0.09 \pm 0.01*	0.17 \pm 0.02*	0.15 \pm 0.02*

注:与对照组比较,* $P<0.05$;与BL组比较,** $P<0.05$;与BM组比较, $\Delta P<0.05$;与BH组比较, $\blacklozenge P<0.05$ 。

3 讨论

乳腺癌是女性最常见的恶性肿瘤,且近年来发病率逐渐上升,严重威胁女性的健康^[12]。TNBC 约占全部乳腺癌的 15%,侵袭性强,缺乏内分泌治疗,预后差,靶向治疗是发展的方向^[13]。癌转移的关键,一是肿瘤干细胞,二是肿瘤微环境。与其他分子分型的乳腺癌比较,TNBC 肿瘤干细胞表达的比例是最高的。将乳腺癌干细胞作为治疗靶点,针对其相关信号通路、细胞稳态以及微环境研发有效的治疗药物是 TNBC 治疗的潜在策略^[14]。缺氧微环境促进了肿瘤干细胞的富集和耐药性,靶向缺氧微环境可以抑制 TNBC 干细胞的增殖,增强 TNBC 对 DDP 的敏感性^[15]。HIF-1 α 信号通路是缺氧微环境的关键通路,调控 HIF-1 α 信号通路可以下调 TNBC 干细胞干性^[16]。

胰岛素样生长因子(insulin-like growth factor, IGF)系统,包括 IGF- I 与 IGF- II、IGF 结合蛋白及 IGF 受体等,是乳腺癌最有力的生长因子^[17]。IGF 信号途径能够通过增强细胞外基质的侵袭作用,上调基质金属蛋白酶及其他迁移所需的黏附分子等机制调节迁移,并影响细胞在循环中的存活。靶向 IGF 系统很有可能成为治疗乳腺癌的策略之一^[18]。IGF- II 是 HIF-1 α 的下游基因^[19]。乳腺癌优先转移到肺、淋巴结、肝、骨和脑,与 L-selectin 的表达增高有关,L-selectin 可以通过调节循环癌细胞对血管壁的黏附性促进癌细胞的转移^[20]。

TNBC 的治疗是乳腺癌领域中的难点。TNBC 的

病机多为本虚标实之证,因虚致实,虚实相兼,虚者脾肾不足多见,实者气滞、痰毒、血瘀为主,初起多为标实之象,病久多见本虚之证^[21]。“癌毒”是 TNBC 发生发展的关键病机,火毒是 TNBC 转移的重要病性,清热解毒是重要治法^[22]。气滞、痰凝、血瘀、热毒日久可形成郁火,影响肿瘤微环境,导致肿瘤的增殖及侵袭,中医学的“火郁发之”治法可以宣发郁火,改善肿瘤微环境从而抑制肿瘤的侵袭转移^[23]。中医药治疗 TNBC 可以改善症状,提高生活质量,降低转移率,提高生存率及无病生存期^[24-25]。黄芩苷具有诱导多种肿瘤细胞凋亡、影响细胞周期、抑制肿瘤侵袭转移的多靶点作用特点^[26-27],但对乳腺癌干细胞缺氧微环境的研究较少。

本研究结果显示黄芩苷能抑制缺氧乳腺癌干细胞 MDA-MB-231 生长,而且呈浓度依赖性,浓度越高,抑制效果越明显($P<0.05$)。黄芩苷可以抑制缺氧乳腺癌干细胞 HIF-1 α 、IGF- II、L-selectin 蛋白表达,联合 HIF-1 α 抑制剂 2-ME 效果更好($P<0.05$)。

随着对 TNBC 研究的不断深入,中药抗 TNBC 的作用机制不断被发现,主要包括阻滞细胞周期、诱导细胞凋亡、调节肿瘤微环境等^[28-30]。本研究表明中药黄芩的有效成分黄芩苷可以抑制缺氧乳腺癌干细胞 MDA-MB-231 的增殖,可能通过调节 HIF-1 α /IGF- II 信号通路和 L-selectin 的表达抑制其增殖及侵袭转移,为黄芩苷治疗乳腺癌提供实验依据,为中医药防治乳腺癌提供新靶点、新思路。

参考文献

- [1] 张佳慧,于明薇,马云飞,等.中医药治疗三阴性乳腺癌研究进展[J].北京中医药,2020,39(2):182-185.
- [2] 王璐,赵琳,张丽芬,等.VEGF 通过激活 ERK/MAPK 通路促进三阴性乳腺癌肿瘤干细胞的形成[J].南方医科大学学报,2021,41(10):1484-1491.
- [3] 周静,杨岩,王静莹.肿瘤干细胞在三阴性乳腺癌治疗耐药中的作用及机制研究进展[J].现代肿瘤医学,2021,29(22):4063-4067.
- [4] LEE S H, GOLINSKA M, GRIFFITHS J R. HIF-1-independent mechanisms regulating metabolic adaptation in hypoxic cancer cells[J]. Cells, 2021, 10(9): 2371.
- [5] 肖玉洁,王婷,龚辉,等.缺氧对乳腺癌干细胞微球体培养及基因表达的影响[J].癌症,2018,37(10):467-472.
- [6] 倪明欣,程海波.癌毒病机理论辨治乳腺癌探讨[J].中华中医药杂

- 志,2022,37(3):1448-1451.
- [7] 肖玉洁,王 婷,黄立中,等.黄芩苷通过上调 miR-126 诱导乳腺癌细胞凋亡的机制研究[J].湖南中医药大学学报,2017,37(5):481-484.
- [8] 王 婷,黄立中,肖玉洁,等.黄芩苷联合黄芩素诱导乳腺癌细胞凋亡的机制研究[J].湖南中医药大学学报,2014,34(5):23-27.
- [9] VISAGIE M, THERON A, MQOCO T, et al. Sulphamoylated 2-methoxyestradiol analogues induce apoptosis in adenocarcinoma cell lines[J]. PLoS One, 2013, 8(9): e71935.
- [10] 刘杏娥,孙晓东,王晓稼.尼妥珠单抗联合顺铂对三阴性乳腺癌 MDA-MB-231 细胞的增殖抑制作用及其机制研究[J].肿瘤学杂志,2011,17(9):678-681.
- [11] 肖玉洁,王 婷,毛 丹,等.黄芩苷通过影响 miRNA 的表达抑制乳腺癌细胞的侵袭转移[J].中药药理与临床,2017,33(2):41-44.
- [12] 谢 婷,李 杰,胡金辉,等.基于数据挖掘和网络药理学探讨中医药治疗乳腺癌的用药规律及作用机制[J].湖南中医药大学学报,2022,42(1):144-152.
- [13] 史润泽,李志高.三阴性乳腺癌各亚型精准医疗策略研究进展[J].实用肿瘤学杂志,2021,35(6):529-533.
- [14] 杨俊锋,郝艳方,王福科,等.防己黄芪汤对三阴性乳腺癌细胞 MB-MDA-231 抑制作用研究[J].陕西中医,2021,42(2):152-155,171.
- [15] SULAIMAN A, MCGARRY S, CHAMBERS J, et al. Targeting hypoxia sensitizes TNBC to cisplatin and promotes inhibition of both bulk and cancer stem cells[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21(16): 5788.
- [16] 乐 韵,张夏炎,李 凯.秦皮乙素通过 HIF-1 α 调控乏氧微环境中三阴性乳腺癌细胞干性[J].中国新药与临床杂志,2020,39(9):558-563.
- [17] WU X Y, ZHANG X F, HAO Y, et al. Obesity-related protein biomarkers for predicting breast cancer risk: An overview of systemic reviews[J]. Breast Cancer, 2021, 28(1): 25-39.
- [18] 张君莹,张 圆,马 蓉,等.胰岛素样生长因子与乳腺癌的相关性研究[J].中国肿瘤外科杂志,2021,13(3):255-257.
- [19] SEMENZA G L. Hypoxia-inducible factors: Coupling glucose metabolism and redox regulation with induction of the breast cancer stem cell phenotype[J]. The EMBO Journal, 2017, 36(3): 252-259.
- [20] KHAN S U, XIA Y, GOODALE D, et al. Lung-derived selectins enhance metastatic behavior of triple negative breast cancer cells[J]. Biomedicine, 2021, 9(11): 1580.
- [21] 张 青,胡凤山.郁仁存治疗三阴性乳腺癌经验[J].中医杂志,2013,54(9):737-739.
- [22] 姚 颖,吴承玉.中医藏象辨证法辨治三阴性乳腺癌[J].南京中医药大学学报,2020,36(2):277-280.
- [23] 黎斌怡,魏丹丹,翟怡然,等.《黄帝内经》“火郁发之”辨治癌病探微[J].中医学报,2021,36(12):2511-2515.
- [24] 张宗城,张艳玲,叶 桦,等.槐耳水提取物对三阴性乳腺癌干细胞特性的影响[J].中医药导报,2020,26(9):12-14,18.
- [25] 马孝秋,殷东风,高 宏,等.高暴露中药治疗对三阴性乳腺癌术后生存的影响[J].中国实验方剂学杂志,2021,27(14):99-105.
- [26] 罗 勇,吴双华,康永清,等.黄芩苷抑制乳腺癌细胞侵袭、迁移与凋亡的机制研究[J].湖南中医药大学学报,2022,42(1):25-30.
- [27] 刘 洁,史红健,熊 雨,等.黄芩苷通过 TGF- β 1/ERK1/2 信号通路抑制鼻咽癌细胞增殖[J].湖南中医药大学学报,2021,41(8):1154-1159.
- [28] 吴沁航,朱丽文,李铭轩,等.中药抗三阴性乳腺癌及其分子作用机制研究进展[J].南京中医药大学学报,2021,37(4):602-608.
- [29] 万宇翔,刘泽宇,叶晓嫫,等.运用数据挖掘联合网络药理学探索中医治疗三阴性乳腺癌用药规律及机制[J].辽宁中医杂志,2021,48(11):155-159,226.
- [30] YANG Z M, ZHANG Q H, YU L H, et al. The signaling pathways and targets of traditional Chinese medicine and natural medicine in triple-negative breast cancer[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2021, 264: 113249.

(本文编辑 黎志清)