

塞来昔布对乳腺癌 MCF-7 细胞的增殖抑制作用及对 BCRA1、Caspase-3、p53 表达的影响

王恬, 杨瑞, 张福林

延安市人民医院肿瘤血液科, 陕西 延安 716000

摘要: **目的** 探讨塞来昔布对乳腺癌 MCF-7 细胞的增殖抑制作用及对 BCRA1、Caspase-3、p53 表达的影响。**方法** 乳腺癌 MCF-7 细胞培养后, 取对数生长期细胞用于实验。根据加入塞来昔布终浓度的不同分为实验四组: 实验 A 组(20 $\mu\text{mol/L}$)、实验 B 组(40 $\mu\text{mol/L}$)、实验 C 组(80 $\mu\text{mol/L}$) 和实验 D 组(160 $\mu\text{mol/L}$); 以加入 0.1% DMSO 为正常对照组。采用 MTT 法检测塞来昔布对 MCF-7 细胞的体外抑制作用; 采用 DAPI 染色法测定细胞凋亡形态; 采用流式细胞仪检测塞来昔布对 MCF-7 细胞凋亡率的影响; 采用 Western blot(WB) 法检测 BCRA1、Caspase-3、p53 的表达。**结果** MTT 法检测结果: 实验 A、B、C、D 组抑制率明显高于正常对照组, 且随塞来昔布浓度增加抑制率递升 ($P < 0.01$); 半数抑制浓度 (IC_{50}) = 91.3628 $\mu\text{mol/L}$ 。DAPI 染色法测定结果: 正常对照组细胞完整, 未发现细胞凋亡; 实验 B、C、D 组经处理后出现细胞生长抑制及细胞体积缩小现象, DAPI 染色后见明显的细胞核固缩和断裂, 且细胞凋亡现象随塞来昔布浓度增加而明显。流式细胞仪检测结果: 实验 B、C、D 组凋亡率明显高于对照组, 且随塞来昔布浓度增加而递增 ($P < 0.01$); WB 法检测结果: 实验 B、C、D 组 BCRA1、Caspase-3、p53 蛋白的相对表达量明显高于正常对照组, 且随塞来昔布浓度的增加 BCRA1、Caspase-3、p53 蛋白的相对表达量依次上调 ($P < 0.01$)。**结论** 塞来昔布可明显抑制乳腺癌 MCF-7 细胞的增殖, 其作用机制可能与上调 BCRA1、Caspase-3、p53 的表达相关。

关键词: 塞来昔布; 乳腺癌 MCF-7 细胞; 增殖抑制; BCRA1 基因; Caspase-3; p53

中图分类号: R 737.9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-8182(2016)08-1022-05

Inhibitory effect of celecoxib on proliferation of breast cancer MCF-7 cells and its influence on BCRA1, Caspase-3, p53 expressions in vitro

WANG Tian, YANG Rui, ZHANG Fu-lin

Department of Oncology and Hematology, Yan'an People's Hospital, Yan'an, Shanxi 716000, China

Abstract: **Objective** To investigate the inhibitory effect of celecoxib on proliferation of breast cancer cells (MCF-7 cell) and its influence on BCRA1, Caspase-3, p53 expressions. **Methods** After being cultured, MCF-7 cells in logarithmic growth phase were used for experiment. The MCF-7 cells were divided into four experiment groups according to the different final concentration of celecoxib (which being added): experiment group A (20 $\mu\text{mol/L}$), experiment group B (40 $\mu\text{mol/L}$), experiment group C (80 $\mu\text{mol/L}$), experiment group D (160 $\mu\text{mol/L}$), and the MCF-7 cells added 0.1% DMSO were served as control group. MTT method was used to detect the inhibitory effect of celecoxib on proliferation of MCF-7 cells in vitro. DAPI staining method was used to observe the morphology of cell apoptosis. Flow cytometry was used to detect the influence of celecoxib on MCF-7 cells apoptosis rate. Western blot method was used to detect BCRA1, Caspase-3 and p53 proteins expressions. **Results** The result of MTT method detection showed that the inhibition rates in experiment groups A, B, C and D were all significantly higher than that in control group, and progressively increased with the increase of celecoxib concentrations ($P < 0.01$), and the 50% inhibitory concentration (IC_{50}) was 91.3628 $\mu\text{mol/L}$. The result of DAPI staining showed that (1) in control group, the cells were complete, and cell apoptosis was not found. (2) in experiment groups B, C and D, the phenomena of cell growth inhibition and cell volume reduction appeared after treatment; obvious nuclear condensation and fracture can be seen after DAPI staining; the cell apoptosis phenomenon increased obviously with the increase of celecoxib concentrations. The result of flow cytometry detection showed that the cell apoptosis rates in experi-

ment groups B, C and D were significantly higher than that in control group, and progressively increased with the increase of celecoxib concentrations ($P < 0.01$). The result of Western blot method detection showed that in experiment groups B, C and D, the relative expression quantities of BCRA1, Caspase-3 and p53 proteins were significantly higher than those in control group, and were up-regulated in turn with the increase of celecoxib concentrations ($P < 0.01$). **Conclusion** Celecoxib can obviously inhibit the proliferation of MCF-7 cells, and the mechanism may be related to the up-regulation of BCRA1, Caspase-3 and p53 expressions.

Key words: Celecoxib; Breast cancer MCF-7 cells; Inhibition of proliferation; BCRA1 gene; Caspase-3; p53

乳腺癌是临床常见恶性肿瘤,流行病学调查发现近年来乳腺癌发病率呈上升趋势^[1]。塞来昔布是一种非甾体类抗炎药物,在对乳腺癌细胞增殖抑制方面取得了良好的效果^[2]。多项研究显示 BCRA1、Caspase-3、p53 在乳腺癌的发生、发展中具有重要作用^[3-5]。因此,笔者通过实验研究探讨塞来昔布对乳腺癌 MCF-7 细胞的增殖抑制作用及对 BCRA1、Caspase-3、p53 表达的影响,并报道如下。

1 材料与方法

1.1 实验细胞和药品 乳腺癌 MCF-7 细胞(购于四川大学华西药学院国家重点实验室);塞来昔布(生产厂家: Pfizer Manufacturing Deutschland GmbH, 注册证号 H20120355, 规格: 0.1 g)。

1.2 主要试剂和仪器

1.2.1 主要试剂 DMEM 培养基(购于美国 Gibco 公司),胎牛血清和胰酶(购于美国 HyClone 公司),DAPI 染色液(购于武汉博士德生物工程有限公司),RIPA 裂解液(购于北京康为世纪生物科技有限公司),PVDF 膜(购于北京中杉金桥生物技术有限公司),Annexin V-FITC 细胞凋亡检测试剂盒(南京凯基生物生产),小鼠单克隆抗体 BCRA1 购于上海瑞齐生物科技有限公司、小鼠单克隆抗体 Caspase-3 和小鼠单克隆抗体 p53 均购于武汉博士德生物工程有限公司。

1.2.2 主要仪器 6 孔板、96 孔板(美国 Coster 公司),25 ml、50 ml 培养瓶(美国 Coster 公司),倒置相差显微镜(日本索尼公司),离心机(长沙湘仪离心机有限公司),CO₂ 恒温箱(美国 Thermo 公司),流式细胞仪(美国 BD 公司),酶标仪(美国 Thermo 公司)。

1.3 方法

1.3.1 实验分组 分为正常对照组、实验组,以加入 0.1% DMSO 作为正常对照组,实验组根据加入塞来昔布终浓度的不同分为四组,分别为实验 A 组(20 μmol/L)、实验 B 组(40 μmol/L)、实验 C 组(80 μmol/L)和实验 D 组(160 μmol/L)。

1.3.2 乳腺癌 MCF-7 细胞培养 人乳腺癌 MCF-7

细胞采用含体积分数为 10% 胎牛血清 DMEM 培养基,将其放置于 37 °C、5% CO₂ 孵育箱中培养。贴壁约 80% ~ 90% 进行常规传代、培养,取对数生长期细胞用于实验。

1.3.3 MTT 法测定细胞增殖抑制作用 取上述对数生长期人乳腺癌 MCF-7 细胞以 2×10^3 个/孔接种于 96 孔板中,放置孵育箱中培养 24 h 后,将上述实验 A、B、C、D 各组加入对样培养液,每组设 4 个复孔。然后再培养 48 h 后,于每孔加入浓度为 5 mg/ml 的 MTT 溶液 20 μl,以 37 °C、5% CO₂ 的培养箱中培养 4 h 后,弃去上清液,再加入 150 μl 的 DMSO 溶液于每孔中,溶解紫色结晶沉淀,振荡 10 min,整个实验平行操作 3 次。采用酶标仪在 570 nm 处测定其光密度(OD 值),计算细胞存活率;以药物对数浓度为横坐标,以抑制率为纵坐标作图,得出半数抑制浓度(IC₅₀)。细胞存活率(%) = $(A_{\text{样品}} - A_{\text{空白}}) / (A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}}) \times 100\%$ 。A_{样品} 为加入不同浓度塞来昔布细胞的光密度,A_{对照} 为阴性对照孔细胞的光密度,A_{空白} 为空白对照组的光密度。以空板为空白对照组,以加入 0.1% DMSO 作为阴性对照组。

1.3.4 4',6-二脒基-2-苯基吡啶(DAPI)染色法测定细胞凋亡形态 制备人乳腺癌 MCF-7 细胞悬液,放置于 6 孔板中,再放入已灭菌的盖玻片,孵育过夜,加入实验 B 组、实验 C 组、实验 D 组不同浓度塞来昔布,终体积为 2 ml/孔,每组设 4 个复孔,培养 48 h 取出 6 孔培养板,弃去废液,4 °C 预冷,PBS 清洗 3 次,再次应用 4% 多聚甲醛固定细胞爬片 30 min,加入 2 ml 的 1 μg/ml DAPI 染色液染色 15 min,取出爬片,自然风干,封片液封片,荧光显微镜观察,激发波长 350 nm,发射波长 460 nm。

1.3.5 膜联蛋白(Annexin)V 与碘化丙啶(PI)双染法流式细胞仪测定细胞凋亡 将人乳腺癌 MCF-7 细胞以 5×10^5 接种于 6 孔板中,培养 24 h 后,加入实验 B 组、实验 C 组、实验 D 组不同浓度药物培养液,于 37 °C、5% CO₂ 的培养箱中孵育 48 h 后,弃去上清培养基,用胰酶消化且收集细胞;用冷 PBS 洗细胞 3 次,以转速为 1 200 r/min 离心 5 min,重悬细胞,计

数,使每管达到 $1 \times 10^6 \sim 5 \times 10^6$ 个/ml 细胞;离心收集细胞沉淀,再用结合缓冲液 200 μ l 重悬细胞,加入 Annexin V-FITC 5 μ l,再加入 PI 5 μ l,室温避光反应 10 min,再用结合缓冲液 300 μ l 混匀,用流式细胞仪检测。

1.3.6 Western blot 法测定 BCRA1、Caspase-3、p53 蛋白表达 取上述培养的人乳腺癌 MCF-7 细胞,分别收获经实验 B 组、实验 C 组、实验 D 组不同浓度塞来昔布作用 48 h 的人乳腺癌 MCF-7 细胞,胰酶消化,离心,以 PIRA 裂解液提取总蛋白,再以 BCA 法测定蛋白浓度,SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳后,再将其半干转印至 PVDF 膜,以及 5% 脱脂奶粉中封闭 1.5 h,加 Caspases-3、BCRA1、p53 一抗在 4 $^{\circ}$ C 下过夜;洗膜后加入二抗稀释液 (1:500),在室温条件下孵育 1 h。以 ECL 显色曝光,且以凝胶成像系统扫描测定各条带灰度值,同时对 β -actin 蛋白表达进行检测,作为内参照物,以与 β -actin 的比值计算相对表达量。

1.4 统计学处理 以 SPSS 19.0 统计学软件处理数据。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 LSD-*t* 检验。 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 MTT 法测定细胞增殖抑制作用 实验 A、B、C、D 组对细胞增殖的抑制率明显高于正常对照组,且随塞来昔布浓度增加,抑制率明显增加,呈药物剂量依赖性 ($P < 0.01$)。见表 1。半数抑制浓度 (IC_{50}) = 91.3628 μ mol/L。

2.2 DAPI 染色法测定细胞凋亡形态 正常对照组细胞完整,且未发现细胞凋亡;实验 B、C、D 组经处理后,出现细胞生长抑制及细胞体积缩小现象;DAPI 染色后,发现明显的细胞核固缩和断裂,且见细胞凋亡现象随着药物浓度增加而明显。见图 1。

2.3 Annexin V 与 PI 双染法流式细胞仪测定细胞凋亡 实验 B、C、D 组凋亡率明显高于对照组,且随塞来昔布浓度增加凋亡率递升,呈药物剂量依赖性

($P < 0.01$)。见表 2 和图 2。

2.4 Western Blot 法测定 BCRA1、Caspase-3、p53 蛋白表达 实验 B、C、D 组 BCRA1、Caspase-3、p53 蛋白相对表达量明显高于正常对照组 (P 均 < 0.01) (LSD- t_{BCRA1} 值依次为 4.770、8.222、6.929, P 值依次为 0.000、0.000、0.000; LSD- $t_{Caspase-3}$ 值依次为 7.379、7.005、7.787, P 值依次为 0.000、0.000、0.000; LSD- t_{p53} 值依次为 3.601、5.514、5.903, P 值依次为 0.018、0.000、0.000), 且随着塞来昔布浓度的增加,BCRA1、Caspase-3、p53 表达量依次递升。见表 3 和图 3。

表 1 MTT 法测定细胞增殖抑制作用

组别	孔数	药物浓度	抑制率 (% , $\bar{x} \pm s$)
正常对照组	4	0.1 % DMSO	0
实验 A 组	4	塞来昔布 20 μ mol/L	18.49 \pm 4.23 *
实验 B 组	4	塞来昔布 40 μ mol/L	39.36 \pm 6.57 *
实验 C 组	4	塞来昔布 80 μ mol/L	57.45 \pm 8.04 *
实验 D 组	4	塞来昔布 160 μ mol/L	75.39 \pm 9.76 *
<i>P</i> 值			<0.01

注:与正常对照组比较, * $P < 0.01$ (LSD- t 值依次为 8.742、11.982、14.291、15.449, P 值依次为 0.000、0.000、0.000、0.000)。

表 2 Annexin V 与 PI 双染法流式细胞仪测定细胞凋亡

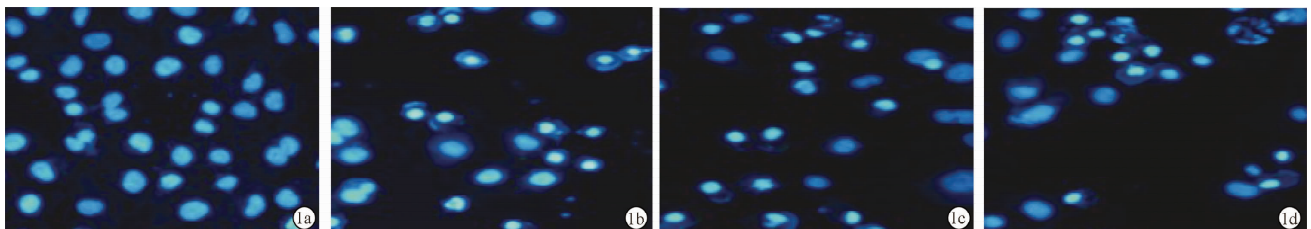
组别	孔数	药物浓度	凋亡率 (% , $\bar{x} \pm s$)
正常对照组	4	0.1 % DMSO	6.92 \pm 1.32
实验 B 组	4	塞来昔布 40 μ mol/L	34.10 \pm 5.78 *
实验 C 组	4	塞来昔布 80 μ mol/L	61.24 \pm 6.56 *
实验 D 组	4	塞来昔布 160 μ mol/L	71.43 \pm 9.01 *
<i>P</i> 值			<0.01

注:与正常对照组比较, * $P < 0.01$ (LSD- t 值依次为 9.169、16.236、14.168, P 值依次为 0.000、0.000、0.000)。

表 3 Western blot 法测定 BCRA1、Caspase-3、p53 的相对表达量 ($\bar{x} \pm s$)

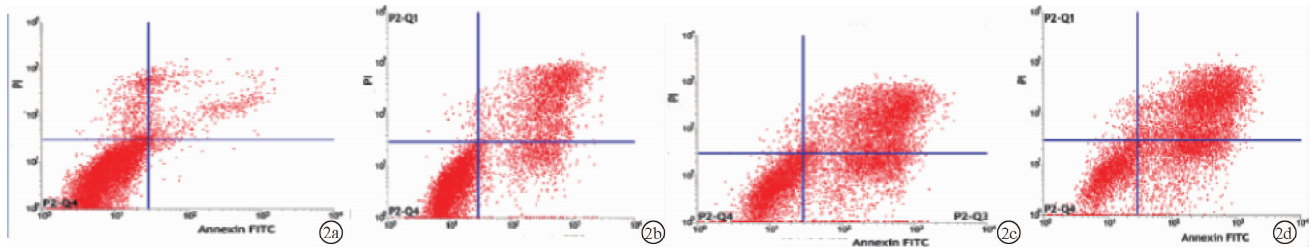
组别	BCRA1	Caspase-3	p53
正常对照组	0.018 \pm 0.003	0.021 \pm 0.004	0.027 \pm 0.006
实验 B 组	0.034 \pm 0.006 *	0.054 \pm 0.008 *	0.048 \pm 0.010 *
实验 C 组	0.057 \pm 0.009 *	0.072 \pm 0.014 *	0.069 \pm 0.014 *
实验 D 组	0.071 \pm 0.015 *	0.089 \pm 0.017 *	0.083 \pm 0.018 *
<i>P</i> 值	<0.01	<0.01	<0.01

注:与正常对照组比较, * $P < 0.01$ 。



注:1a:正常对照组;1b:实验 B 组;1c:实验 C 组;1d:实验 D 组。

图 1 DAPI 染色法测定细胞凋亡形态



注:2a:正常对照组;2b:实验 B 组;2c:实验 C 组;2d:实验 D 组;各图第一象限(右上角)为机械损伤细胞,第二象限(左上角)为死亡细胞,第三象限(左下角)为正常细胞,第四象限为凋亡细胞。

图 2 Annexin V 与 PI 双染法流式细胞仪测定细胞凋亡

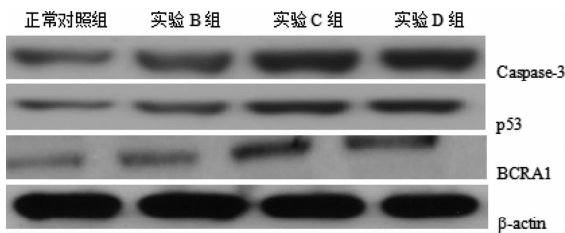


图 3 Western blot 法测定 BCRA1、Caspase-3、p53 蛋白的表达

3 讨论

目前,对于乳腺癌无论是手术、化疗还是内分泌治疗,均具有较高的病死率^[6]。此外,手术治疗会给患者精神上带来一定痛苦;化学治疗副反应也会使患者生活质量受到严重影响。故而临床上还需大量研究寻找预防和治疗乳腺癌更好的方法^[7-9]。近年来,临床研究表明环氧酶-2 在(包括乳腺癌)很多恶性肿瘤中呈过度表达,并且在实体肿瘤的发生、发展中具有重要作用。且随着临床逐渐深入研究环氧酶-2 与乳腺癌间的相关性,新一代非甾体类抗炎药可能成为治疗乳腺癌的药物。塞来昔布是一种新的非甾体类抗炎药,能够特异性抑制环氧酶-2 的合成^[10]。有研究报道,塞来昔布能够增加早期非小细胞肺癌术前应用紫杉醇与卡铂联合化疗的效果^[11]。近年来,临床观察到塞来昔布能够抑制肿瘤细胞的生长和转移,因此本研究应用塞来昔布处理人乳腺癌 MCF-7 细胞,观察其对细胞凋亡的影响。

BRCA1 是乳腺癌家族中首先被发现的具有遗传倾向的乳腺癌易感基因。BRCA1 在细胞的增殖分化过程中通过对 DNA 的修复、中心体的复制、转录因子的调节以及细胞周期的调节等过程,发挥对细胞增殖分化的负性调节作用。近年来研究显示 BRCA1 的突变与家族性乳腺癌发病具有重要相关性。Caspase 家族是一大类凋亡调节基因,Caspase-3 作为凋亡的效应分子,是存在于凋亡途径下游的底物酶解的关键蛋白酶之一,被称为凋亡的“执行者”^[12]。Caspases-3 激活表达能够促进破坏细胞骨架、破坏某些蛋白酶,最终导致特征性 DNA 断裂,促进细胞凋亡^[13]。p53 是

一种常见的抑癌基因,包括野生型和突变型,采用免疫组化法能够检测的 p53 蛋白是突变型 p53 蛋白^[14]。p53 基因出现失活或突变后,会失去对细胞周期的负调控作用,进一步导致恶性肿瘤发生,突变型 p53 蛋白除失去抑癌功能外,同时还能促进正常细胞恶性转化的活性^[15]。本研究结果显示,实验 B、C、D 组 BCRA1、Caspase-3、p53 表达明显高于正常对照组,且随着药物浓度的增加 BCRA1、Caspase-3、p53 表达量递升,说明塞来昔布可明显上调 BCRA1、Caspase-3、p53 的表达。

综上所述,塞来昔布可明显抑制乳腺癌 MCF-7 细胞增殖,其作用机制可能与上调 BCRA1、Caspase-3、p53 表达相关。在后续研究中,尚需进一步多通道观察塞来昔布对人乳腺癌 MCF-7 细胞的抑制作用,为临床乳腺癌治疗用药提供可靠的参考。

参考文献

- [1] Qiu Q, Su Y, Zheng Y, et al. Increased pSmad2 expression and cytoplasmic predominant presence of TGF- β II RII in breast cancer tissue are associated with poor prognosis; results from the Shanghai Breast Cancer Study[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2015, 149(2): 467-477.
- [2] 易芳,许新华. 塞来昔布在肿瘤防治中的研究进展[J]. *临床肿瘤学杂志*, 2007, 12(4): 316-318.
- [3] 赵晶丽,史琳. 银杏叶提取物对乳腺癌 MCF-7 细胞增殖、凋亡及 Caspase-3 表达的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2013, 19(17): 262-265.
- [4] 庞雪利,李矿发,魏兰,等. IL-8 通过上调 Bcl-2 的表达和下调 caspase-3 的表达抑制 MCF-7 乳腺癌细胞凋亡[J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2015, 15(3): 307-311.
- [5] 孔德光,吴高松. p53 与乳腺癌转移的关系及其机制[J]. *华中科技大学学报(医学版)*, 2014, 17(6): 720-722.
- [6] Houssami N, Macaskill P, Marinovich ML, et al. The association of surgical margins and local recurrence in women with early-stage invasive breast cancer treated with breast-conserving therapy: a meta-analysis[J]. *Ann Surg Oncol*, 2014, 46(18): 717-730.
- [7] 杨翠,王猛,武超,等. 保护性自噬对顺铂诱导人乳腺癌 MCF-7 细胞凋亡的抑制作用探讨[J]. *安徽医药*, 2015, 19(1): 152-155.

- g4-drug maytansinoid conjugation (Anti-RON ADC) as a novel therapeutics for targeted colorectal cancer therapy[J]. *Clin Cancer Res*, 2014, 20(23):6045-6058.
- [2] Zeng H, Zheng R, Guo Y, et al. Cancer survival in China, 2003-2005: a population-based study[J]. *Int J Cancer*, 2015, 136(8):1921-1930.
- [3] Hofman J, Kučera R, Neumanova Z, et al. Placental passage of olomoucine II, but not purvalanol A, is affected by p-glycoprotein (ABCB1), breast cancer resistance protein (ABCG2) and multi-drug resistance-associated proteins (ABCCs)[J]. *Xenobiotica*, 2016, 46(5):416-423.
- [4] Wang S, Li F, Quan E, et al. Efflux transport characterization of resveratrol glucuronides in UDP-glucuronosyltransferase 1A1 transfected heLa cells; application of a cellular pharmacokinetic model to decipher the contribution of multidrug resistance-associated protein 4[J]. *Drug Metab Dispos*, 2016, 44(4):485-488.
- [5] Sun Y, Gu M, Zhu L, et al. Gemcitabine upregulates ABCG2/BCRP and modulates the intracellular pharmacokinetic profiles of bioluminescence in pancreatic cancer cells[J]. *Anticancer Drugs*, 2016, 27(3):183-191.
- [6] Yang WJ, Song MJ, Park EY, et al. Transcription factors Sp1 and Sp3 regulate expression of human ABCG2 gene and chemoresistance phenotype[J]. *Mol Cells*, 2013, 36(4):368-375.
- [7] Zhang X, Xu J, Liu H, et al. Predictive biomarkers for the efficacy of the cetuximab combined with cisplatin and capecitabine in advanced gastric or esophagogastric junction adenocarcinoma: a prospective multicenter phase 2 trial[J]. *Med Oncol*, 2014, 31(10):226.
- [8] Han K, Jin J, Maia M, et al. Lower exposure and faster clearance of bevacizumab in gastric cancer and the impact of patient variables: analysis of individual data from AVAGAST phase III trial[J]. *AAPS J*, 2014, 16(5):1056-1063.
- [9] Poulsen Lø, Qvortrup C, Pfeiffer P, et al. Review on adjuvant chemotherapy for rectal cancer-why do treatment guidelines differ so much?[J]. *Acta Oncol*, 2015, 54(4):437-446.
- [10] 程浩, 贾喜花, 张晓伟, 等. 胃癌组织 ABCG2 和 P-gp 蛋白表达及其临床意义分析[J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2013, 20(4):273-277.
- [11] Wu CP, Hsieh YJ, Hsiao SH, et al. Human ATP-Binding Cassette Transporter ABCG2 Confers Resistance to CUDC-907, a Dual Inhibitor of Histone Deacetylase and Phosphatidylinositol 3-Kinase[J]. *Mol Pharm*, 2016, 13(3):784-794.
- [12] To KK, Leung WW, Ng SS. Exploiting a novel miR-519c-HuR-ABCG2 regulatory pathway to overcome chemoresistance in colorectal cancer[J]. *Exp Cell Res*, 2015, 338(2):222-231.
- [13] Custodio A, Moreno-Rubio J, Aparicio J, et al. Pharmacogenetic predictors of severe peripheral neuropathy in colon cancer patients treated with oxaliplatin-based adjuvant chemotherapy: a GEMCAD group study[J]. *Ann Oncol*, 2014, 25(2):398-403.
- [14] Geist E, Kirschning A, Schmidt T. sp3-sp3 Coupling reactions in the synthesis of natural products and biologically active molecules[J]. *Nat Prod Rep*, 2014, 31(4):441-448.
- [15] Nair V, Pathi S, Jutooru I, et al. Metformin inhibits pancreatic cancer cell and tumor growth and downregulates Sp transcription factors[J]. *Carcinogenesis*, 2013, 34(12):2870-2879.
- [16] D'Alfonso TM, Liu YF, Chen Z, et al. SP3, a reliable alternative to Hercep Test in determining HER-2/neu status in breast cancer patients[J]. *J Clin Pathol*, 2013, 66(5):409-414.
- [17] 李佳, 陆会平, 莫伟嘉, 等. RNAi 沉默 Sp3 基因对裸鼠人肝癌种植瘤细胞侵袭能力的影响[J]. *世界华人消化杂志*, 2014, 22(6):813-818.

收稿日期:2016-02-21 修回日期:2016-03-20 编辑:王国品

(上接第 1025 页)

- [8] 肖钟林. 保乳手术与改良根治手术治疗早期乳腺癌的临床对比研究[J]. *中国医药导刊*, 2013, 19(4):1848-1850.
- [9] 陈绍发. 手术治疗乳腺癌疗效分析[J]. *中西医结合心血管病杂志*, 2014, 2(10):81.
- [10] 梁彩霞, 江丹贤, 庞雅君, 等. 塞来昔布对女性常见恶性肿瘤细胞株的放疗增敏作用[J]. *实用临床医药杂志*, 2014, 18(3):72-75.
- [11] 高克非, 曾根. 三氧化二砷联合塞来昔布对上皮性卵巢癌细胞的抗肿瘤效应及相关机制研究[J]. *现代肿瘤医学*, 2015, 8(13):1805-1809.
- [12] 鞠培新, 石文君. 三氧化二砷在诱导非小细胞肺癌 NCI-H157 细胞凋亡过程中对 Survivin 基因表达 Caspase-3 的影响[J]. *中国肿瘤临床*, 2007, 34(19):1097-1100.
- [13] 王峰, 尤江立, 李一鹏, 等. 人乳腺癌细胞中 survivin 与 caspase-3 的表达及意义[J]. *河北医药*, 2014, 14(9):1302-1304.
- [14] 李锁严, 李占勇, 李蕾, 等. PARP-1 和 p53 在三阴性乳腺癌中表达的相关性及临床意义[J]. *现代肿瘤医学*, 2014, 22(1):70-74.
- [15] 耿彪, 叶晓兵, 陈冬云, 等. Ki-67、HER-2 和 P53 与乳腺癌临床病理特征的相关性分析[J]. *成都医学院学报*, 2014, 19(2):166-169.

收稿日期:2016-02-19 修回日期:2016-03-10 编辑:王国品