

乳岩宁方联合依西美坦对乳腺癌荷瘤裸鼠 JNK/MAPK 信号通路的影响*

邢向荣¹, 高 宏², 殷东风^{2△}

(1. 辽宁中医药大学, 辽宁 沈阳 110032; 2. 辽宁中医药大学附属医院肿瘤科, 辽宁 沈阳 110032)

摘要: **目的** 观察乳岩宁方联合依西美坦对 MDA-MB-435 乳腺癌细胞荷瘤裸鼠 JNK/MAPK 信号通路相关蛋白表达的影响,探讨乳岩宁方联合依西美坦治疗绝经后难治性(HER-2/neu 高表达)乳腺癌的作用机制。**方法** 造 MDA-MB-435 乳腺癌细胞荷瘤去势裸鼠移植模型,分为 4 组:空白对照组、乳岩宁方组、依西美坦组、联合组(乳岩宁方+依西美坦),分别每日 1 次灌胃给药,21 d 后处死裸鼠,取材瘤体。采用 Western blot 及 RT-PCR 法检测瘤组织中 JNK/MAPK 信号通路 JNK 蛋白及其下游相关蛋白 STAT3、Bcl-2、p53、caspase8 的表达。**结果** 乳岩宁方组、依西美坦组、联合组的抑瘤率分别为 37.53%、60.83%、66.09%。与空白对照组相比,乳岩宁方组、依西美坦组和联合组的 JNK、STAT3、Bcl-2 的蛋白表达均明显下降,有统计学意义($P<0.05$)。其中 JNK 蛋白的表达,联合组较乳岩宁方组、依西美坦组明显下降,有统计学意义($P<0.05$);STAT3 蛋白的表达,乳岩宁方组较依西美坦组和联合组明显下降,有统计学意义($P<0.05$);Bcl-2 蛋白的表达乳岩宁方组、依西美坦组、联合组之间无统计学意义($P>0.05$)。与空白对照组相比,乳岩宁方组、依西美坦组和联合组 p53、Caspase8 的基因表达均明显升高,有统计学意义($P<0.05$)。联合组 p53、Caspase8 的基因表达较乳岩宁方组、依西美坦组明显升高,有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 乳岩宁方联合依西美坦可能对 JNK/MAPK 信号通路有双向调节作用,一方面下调 JNK 蛋白表达及其下游蛋白 STAT3、Bcl-2 表达起到抑制乳腺癌细胞增殖的作用;另一面能上调 p53、Caspase8 基因表达,起到促进乳腺癌细胞凋亡的作用,最终起到抗肿瘤的作用。中药复方联合内分泌治疗将成为激素受体阳性乳腺癌在后芳香化酶抑制剂时代(AI+)治疗的新模式。

关键词: 乳岩宁方; 依西美坦; JNK/MAPK 信号通路

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1000-2723(2018)04-0007-06

DOI: 10.19288/j.cnki.issn.1000-2723.2018.04.002

Effect of Ruyanning Decotion Combined with Exemestane on JNK/MAPK Signaling Pathway in Breast Cancer Bearing Nude Mice

XING Xiangrong¹, GAO Hong², YIN Dongfeng²

(1. Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110032, China;

2. Affiliated Hospital of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110032, China)

ABSTRACT: Objective To observe the effect of Ruyanning Decotion combined with exemestane on the expression of JNK/MAPK signaling pathway related protein in MDA-MB-435 breast cancer cells bearing nude mice. To explore the mechanism of Ruyanning Decotion combined with exemestane in the treatment of postmenopausal refractory(HER-2/neu high expression) breast cancer. **Methods** Created MDA-MB-435 breast cancer cells in tumor bearing nude mouse transplantation model, divided into 4 groups: control group, Ruyanning Decotion group, exemestane group and combination group (Ruyanning Decotion+exemestane), respectively, once a day by gavage, 21 days after the mice were killed, tumors were. Western blot and RT-PCR were used to detect the expression of JNK/MAPK signaling pathway JNK protein and its

收稿日期: 2018-08-18

* 基金项目: 辽宁省科学技术计划项目(2013226012)

第一作者简介: 邢向荣(1979-),女,副主任医师,在读博士研究生,研究方向:肿瘤的中西医结合治疗。

△通信作者: 殷东风, E-mail: lnzy_oncology@aliyun.com

downstream related proteins STAT3, Bcl-2, P53 and caspase8 in tumor tissues. **Results** The inhibition rate of Ruyanning Decoction group, exemestane group and combination group were 37.53%, 60.83%, and 66.09%, respectively. Compared with the control group, Ruyanning Decoction group, exemestane group and combined group of JNK, STAT3 and Bcl-2 protein expression were significantly decreased, with statistical significance ($P<0.05$). The expression of JNK protein in the combined group was significantly lower than that in Ruyanning Decoction group and exemestane group ($P<0.05$), and the expression of STAT3 protein in Ruyanning Decoction group was significantly lower than that of the exemestane group and the combined group ($P<0.05$), and the expression of Bcl-2 protein in the Ruyanning Decoction group, the exemestane group and the combined group, there was no statistical significance between the three groups ($P>0.05$). Compared with the control group, Ruyanning Decoction group, exemestane group and combination group of p53 and Caspase8 gene expression were significantly increased, with statistical significance ($P<0.05$). The gene expression of p53 and Caspase8 in combined group was significantly higher than that in Ruyanning Decoction group and exemestane group, with statistical significance ($P<0.05$). **Conclusion** Ruyanning Decoction combined with exemestane may have a bidirectional regulation effect on JNK/MAPK signaling pathway. On the one hand, the expression of JNK protein and its downstream protein STAT3 and Bcl-2 can inhibit the proliferation of breast cancer cells. The other side can up regulate the expression of p53 and Caspase8 genes, and play a role in promoting apoptosis of breast cancer cells, and finally play an anti-tumor effect. Combination of Chinese herbal medicine and endocrine therapy will become a new mode of treatment for hormone receptor positive breast cancer in the era of AI+.

KEY WORDS: Ruyanning Decoction; exemestane; JNK/MAPK signaling pathway

内分泌治疗是乳腺癌综合治疗中不可缺少的手段之一,是激素受体(HR)阳性患者得以长期生存的主要因素。目前以依西美坦为代表的第三代芳香化酶抑制剂(AIs)已成为激素受体(HR)阳性患者辅助及解救内分泌治疗的标准方案,但临床上其类更年期样反应和部分患者出现的耐药现象,使得内分泌治疗来到了后芳香化酶抑制剂时代(AI+时代)^[1]。临床研究显示,调畅气机中药乳岩宁方可以减轻晚期乳腺癌患者内分泌药物副作用,改善其依从性,从而延长患者生存期^[2]。可见在乳腺癌综合治疗中应该有中药的一席之地,为了揭示其作用机制而进行本实验研究。

1 实验材料

1.1 实验动物 BALB/C 雌性裸鼠,SPF 级,共 40 只,体质量(20 ± 2)g,4~6 周龄,购于北京华阜康生物科技股份有限公司(合格证号:SCXK(京)2009-0015),于辽宁中医药大学实验动物中心 SPF 级动物室内饲养(许可证号:SYXK(辽)2013-0009)。

1.2 细胞株 人乳腺癌 MDA-MB-435 细胞株(HER-2/neu 高表达,ER 阳性),购于上海拜力生物科技有限公司。

1.3 药物及制备 乳岩宁方由柴胡、太子参、法半夏、黄芩、炙甘草、生龙骨、生牡蛎、白花蛇舌草、半枝莲、夏枯草、莪术、浙贝母等中药组成。一次性购于辽宁中医药大学附属医院,按照中药常规煎法进行煎煮。药物浓度调至为 3.3 g/mL,4℃冰箱保存备用。依西美坦片(阿诺新)(国药准字 20100069,辉瑞制药有

限公司),溶解于蒸馏水中,调至 3 mg/mL 浓度备用。

1.4 主要试剂及仪器 DYY-6C 电泳仪(北京六一仪器厂),高速冷冻离心机(美国 SIGMA,31k5C 型),WD-9405B 水平摇床(北京六一仪器厂),小型台式离心机(美国 SIGMA,1-13),DYCZ-40B 型转印电泳槽(北京六一仪器厂),PCR 扩增仪(德国 Biometra),紫外分光光度计(英国 UV-visible Spectrometer,UV300),兔抗人 JNK 单克隆抗体、兔抗人 STAT3 多克隆抗体、兔抗人 Bcl-2 多克隆抗体、兔抗 GAPDH 抗体(武汉三鹰生物技术有限公司),碱性磷酸酶标记羊抗兔 IgG(武汉博士德生物工程有限公司),TrioZol Reagent(美国 Invitrogen Life technologies 公司),引物合成(北京华大基因公司),荧光定量 PCR 试剂盒(上海普洛麦格(promega)生物技术有限公司)。

2 实验方法

2.1 造模 将呈对数生长期的 MDA-MB-435 乳腺癌细胞配置成细胞悬液,调整浓度为 1×10^7 个/mL,在每只切除卵巢裸鼠的右腋窝脂肪垫下接种 0.1 mL,注射完毕后夹闭针孔片刻,接种后饲养于 SPF 级动物实验室,每日观察裸鼠一般状态及腋下肿瘤形成情况,10 d 后 100%造模成功。

2.2 分组及给药 40 只模型裸鼠随机分为 4 组,空白对照组、乳岩宁方组、依西美坦组、联合组(依西美坦+乳岩宁方),每组均 10 只。计算人与小鼠等效剂量,依西美坦组给 4 mg/kg(相当于临床人用量的 10 倍);乳岩宁方组给 33.3 g/kg(相当于临床人用量的

12 倍);联合组给依西美坦+乳岩宁方;空白对照组给蒸馏水,4 组每只均给 0.2 mL,每日 1 次灌胃,共连续给药 21 d。

2.3 标本取材 实验结束各组裸鼠脱颈处死,取瘤块称重、备用。

2.4 观察指标

2.4.1 观察裸鼠一般状态变化及计算抑瘤率 用药 21 d 实验结束后各组裸鼠脱颈处死,完整剥离瘤块称重,计算抑瘤率。

抑瘤率(%)=(1-治疗组平均瘤重/对照组平均瘤重)×100%

2.4.2 免疫印迹 Western blotting 法测定蛋白表达 将瘤块按比例加入裂解缓冲液中,匀浆、离心,取上清液,采用酚试剂法进行蛋白定量,调整成相同浓度。配分离胶和浓缩胶,采用 SDS-PAGE 法电泳,转膜,封闭,孵育,碱性磷酸酶法显色。GAPDH 为内参蛋白,化学发光法检测。曝光显影,采用 Image PRO Plus 软件对蛋白电泳带灰度值检测,并采用 Graphpad Prism6 绘制柱状图。

2.4.3 荧光定量 RT-PCR 法检测 p53 和 Caspase8 基因表达 采用 TRIzol 法抽提总 RNA,采用紫外分光光度计检测 RNA 纯度,根据 qPCR 说明书反转录合成 cDNA,再以 cDNA 为模板,扩增合成目的 DNA 片段,进行定量测定。

表 1 PCR 引物基因序列

Genes	Sequence(5'→3')	Leghth/bp
P53	F:5' ACCCAGGTCCAGATGAAG 3'	174
	R:5' GCAAGAAGCCCAGACG 3'	
Caspase8	F:5' GTGGCATTGAGACAGAC 3'	155
	R:5' GGCACAAAGCGACTG 3'	
参照	F:5' AATAGCCTTTGCCATCAC 3'	123
	R:5' CGTTCACCTCATCCTC 3'	

2.5 统计学方法 采用 SPSS 20.0 软件,采用单因素方差分析,数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义; $P > 0.05$ 为差异无统计学意义。

3 结果

3.1 裸鼠一般状态及抑瘤率 在本实验过程中,观察裸鼠的体重、精神状态、活动情况、进食饮水量及皮毛色泽。各组裸鼠一般状态表现,依西美坦组<联合组<乳岩宁方组≈空白对照组。直到实验结束无一只

裸鼠死亡。比较各组裸鼠瘤重情况,见表 2。

表 2 各组裸鼠瘤重比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	瘤重/g	抑瘤率/%
空白对照组	10	1.103±0.918	—
乳岩宁方组	10	0.689±0.257*	37.53
依西美坦组	10	0.432±0.292**	60.83
联合组	10	0.374±0.063**☆	66.09

注:各给药组与空白对照组相比,* $P < 0.05$;联合组和依西美坦组与乳岩宁方组相比,** $P < 0.05$;依西美坦组与联合组相比,* $P > 0.05$

如表 2 所示:与空白对照组相比,乳岩宁方组、依西美坦组和联合组的瘤重均明显下降,有统计学意义($P < 0.05$),其中联合组和依西美坦组较乳岩宁方组下降显著,有统计学意义($P < 0.05$),但联合组与依西美坦组相比无统计学意义($P > 0.05$)。乳岩宁方组、依西美坦组及联合组的抑瘤率分别为 37.53%、60.83%、66.09%。联合组的抑瘤率高于依西美坦组,说明乳岩宁方和依西美坦联合应用抑瘤作用强,乳岩宁方有一定的增效作用。

3.2 Western blot 法检测 JNK、STAT3、Bcl-2 蛋白表达 如表 3 及图 1、2 所示:与空白对照组相比,乳岩宁方组、依西美坦组和联合组的 JNK、STAT3、Bcl-2 的蛋白表达均明显下降,有统计学意义($PP < 0.05$)。其中 JNK 蛋白的表达联合组较乳岩宁方组、依西美坦组明显下降,有统计学意义($P < 0.05$);STAT3 蛋白的表达乳岩宁方组较依西美坦组和联合组明显下降,有统计学意义($P < 0.05$);Bcl-2 蛋白的表达乳岩宁方组、依西美坦组、联合组之间无统计学意义($P > 0.05$)。说明乳岩宁方和依西美坦均能下调 JNK、STAT3、Bcl-2 蛋白的表达,对于 JNK 蛋白联合应用效果更加明显,而 STAT3 蛋白乳岩宁方效果更加明显。

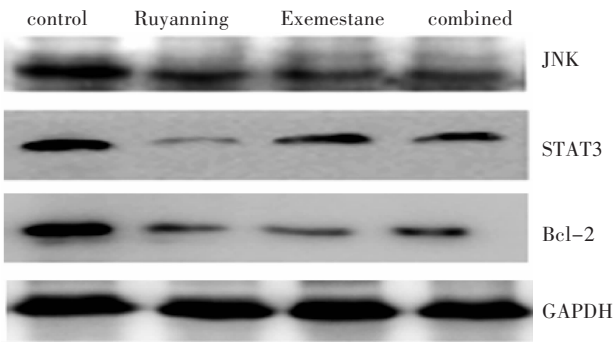
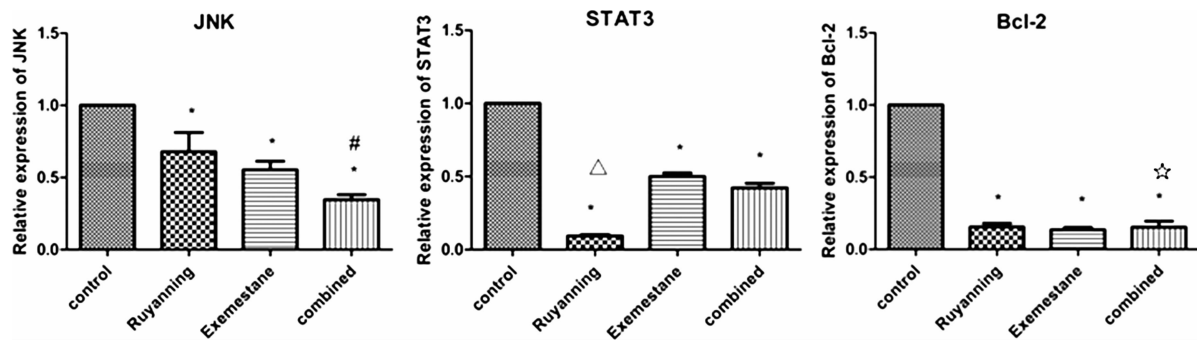


图 1 各组 JNK、STAT3、Bcl-2 蛋白的表达



注:各给药组与空白对照组相比,* $P<0.05$;联合组与乳岩宁方组和依西美坦组相比,* $P<0.05$;乳岩宁方组与依西美坦组和联合组相比, $\Delta P<0.05$;乳岩宁方组、依西美坦组、联合组相比,* $P>0.05$

图 2 各组 JNK、STAT3、Bcl-2 蛋白的相对表达量

表 3 各组 JNK、STAT3、Bcl-2 蛋白的相对表达量($\bar{x} \pm s$)

组别	JNK	STAT3	Bcl-2
空白对照组	1	1	1
乳岩宁方组	0.6776 $\pm$ 0.0772*	0.0933 $\pm$ 0.0048* Δ	0.1549 $\pm$ 0.0143*
依西美坦组	0.5536 $\pm$ 0.0335*	0.5011 $\pm$ 0.0133*	0.1354 $\pm$ 0.0094*
联合组	0.3452 $\pm$ 0.0207**	0.4220 $\pm$ 0.0189*	0.1536 $\pm$ 0.0237**

注:各给药组与空白对照组相比,* $P<0.05$;联合组与乳岩宁方组和依西美坦组相比,* $P<0.05$;乳岩宁方组与依西美坦组和联合组相比, $\Delta P<0.05$;乳岩宁方组、依西美坦组、联合组相比,* $P>0.05$

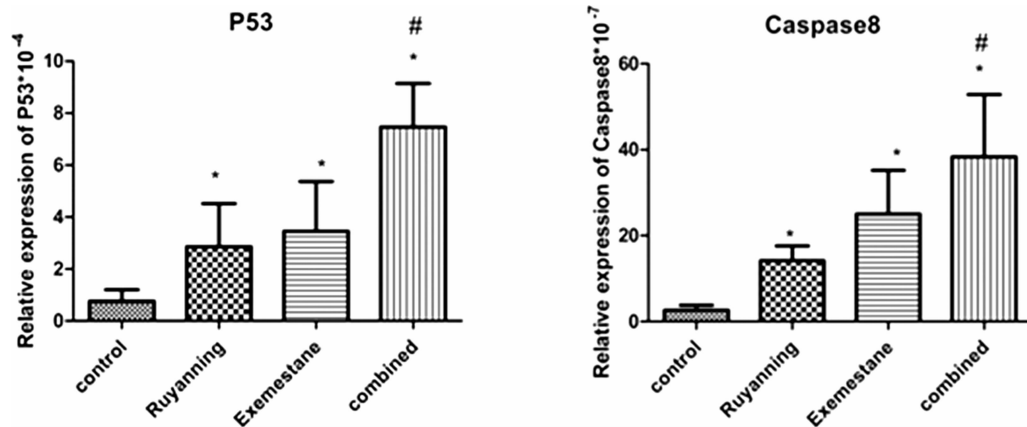
3.3 RT-PCR 法检测 p53 和 Caspase8 基因表达 如表 4、图 3 所示:与空白对照组相比,乳岩宁方组、依西美坦组和联合组 p53、Caspase8 的基因表达均明显

升高,有统计学意义($P<0.05$)。联合组 p53、Caspase8 的基因表达较乳岩宁方组、依西美坦组明显升高,有统计学意义($P<0.05$)。说明乳岩宁方和依西美坦均可上调 p53、Caspase8 基因表达,并且联合应用效果更加明显。

表 4 各组 P53 和 Caspase8 基因的相对表达量($\bar{x} \pm s$)

组别	p53	Caspase8
空白对照组	0.7515 $\pm$ 0.1442	2.6330 $\pm$ 0.3793
乳岩宁方组	2.851 $\pm$ 0.5277*	14.16 $\pm$ 1.0890*
依西美坦组	3.457 $\pm$ 0.6044*	25.03 $\pm$ 3.205*
联合组	7.470 $\pm$ 0.5300**	38.36 $\pm$ 4.573**

注:各给药组与空白对照组相比,* $P<0.05$;联合组与乳岩宁方组和依西美坦组相比,* $P<0.05$



注:各给药组与空白对照组相比,* $P<0.05$;联合组与乳岩宁方组和依西美坦组相比,* $P<0.05$

图 3 各组 P53 和 Caspase8 基因的相对表达量

4 讨论

在本实验之前我们治疗团队进行了一系列实验研究^[3-7],结果显示,乳岩宁方具有抑制乳腺癌细胞生长的作用,并且与内分泌药联合有协同增效作用。这

与本实验结果相一致。同时实验也证明了乳岩宁方通过抑制 PI3K-AKT 信号通路的活性来诱导乳腺癌细胞凋亡。本实验试图通过研究 JNK/MAPK 信号通路进一步提示乳岩宁方治疗乳腺癌的作用机制。

氨基末端激酶(Jun N-terminal kinase,JNK)是丝裂原活化蛋白激酶(Mitogen-Activated protein kinase,MAPK)信号通路中最为重要的一条信号通路^[8],它对细胞内外不同的应激反应均具有调控作用,因此又被称为“应激激活蛋白激酶(Stress-Activated protein kinase,SAPK)”。JNK 包括 3 种蛋白 JNK1、JNK2 和 JNK3,这 3 种亚型在人体内组织器官中的分布和其生理功能上有明显差异,而且在不同肿瘤细胞中作用也各不相同。研究发现^[9-12],乳腺癌组织中 JNK 活性增高的,而减少 JNK1 及 JNK2 在乳腺癌细胞中的表达,可以降低细胞的生长速率,抑制细胞集落的形成。实验证明^[13],JNK1/2 参与了乳腺癌细胞上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition,EMT)的发生,应用 JNK 阻断剂后可以逆转 EMT,阻止细胞的侵袭和转移。因此,JNK 的激活可以促进乳腺癌细胞增殖。本实验中乳岩宁方组、依西美坦组和联合组的 JNK 蛋白表达(如表 3 及图 1、2 所示)均较空白对照组明显下降,有统计学意义($P<0.05$)。而联合组较乳岩宁方组、依西美坦组明显下降,有统计学意义($P<0.05$)。说明乳岩宁方及依西美坦均能下调 JNK 蛋白表达,并且联合作用效果更加明显。乳岩宁方和依西美坦有抑制乳腺癌细胞增殖的作用,两药联合作用更强,抑瘤率可达 66.09%。

STAT3、Bcl-2、p53 和 Caspase8 均为 JNK/MAPK 通路的下游的重要蛋白。STAT3 和 Bcl-2 为癌基因,而 p53 和 Caspase8 为抑癌基因,在 JNK/MAPK 信号通路中其表达有所不同。JNK/MAPK 信号通路对于乳腺癌细胞的增殖与凋亡存在着双重效应,作用十分复杂、多样化。一方面,JNK 诱导 c-JUN 磷酸化,促进 IL-6 分泌,上调癌基因 STAT3 表达,起到促进乳腺癌细胞增殖的作用;另一方面,JNKs 通过特定转录因子的反式激活上调促凋亡基因 p53 激活凋亡信号,或通过非转录方式调节 Bcl-2 蛋白家族的磷酸化改变线粒体膜电位,诱导细胞色素 C 的释放,激活 caspase-8 等一连串 caspase 家族蛋白活化来促进细胞的凋亡,达到抑制肿瘤细胞发生的目的^[14-15]。本实验中乳岩宁方组、依西美坦组和联合组的 STAT3、Bcl-2 的蛋白表达(如表 3 及图 1、2 所示)均较空白对照组明显下降,有统计学意义($P<0.05$)。STAT3 蛋白的表达乳岩宁方组较依西美坦组和联合组明显下降,有统计学意

义($P<0.05$);Bcl-2 蛋白的表达乳岩宁方组、依西美坦组、联合组之间无统计学意义($P>0.05$)。说明乳岩宁方和依西美坦均能下调 STAT3、Bcl-2 蛋白的表达起到抑制乳腺癌细胞增殖的作用,乳岩宁方作用更加明显。信号传导子与激活子 3(signal transducer and activator of transcription-3,STAT3)是 STAT 家族的重要成员之一,是一类由细胞因子、生长因子等多肽类配体激活的重要的核转录因子^[16]。激活 STAT3 并使其磷酸化作用增强,从而使癌细胞生长失控且凋亡受到抑制,导致肿瘤细胞异常增殖,因此下调 STAT3 表达对肿瘤细胞能起到抑制作用^[17]。目前中药通过抑制 STAT3 信号发挥抗肿瘤研究最多的是活血化瘀类和清热解毒类。这可能与乳岩宁方为复方制剂,其多种有效成分均能影响 STAT3 蛋白水平有关。乳岩宁方中莪术、夏枯草、白花蛇舌草、半枝莲、柴胡、黄芩等均可通过直接下调 STAT3 蛋白水平起到抑制肿瘤细胞、促进肿瘤细胞凋亡的作用^[18]。目前尚缺乏依西美坦对 STAT3 蛋白影响的研究,可能依西美坦作为单一成分对 STAT3 蛋白水平下调程度不如乳岩宁方复方制剂好。而乳岩宁方组、依西美坦组和联合组 p53、Caspase8 的基因表达(如表 4 及图 3 所示)均较空白对照组明显升高,有统计学意义($P<0.05$)。联合组明显升高,有统计学意义($P<0.05$)。说明乳岩宁方和依西美坦均可上调 p53、Caspase8 基因表达,起到促进乳腺癌细胞凋亡的作用,并且联合应用效果更加明显。

《格致余论·乳硬论》认为乳腺癌由“忧怒郁闷,朝夕积累,脾气消阻,肝气横逆”而成,“若于始生之际,便能消释病根,使心清神安,然后施之以法,亦有可安之理”。中医经络学说认为,乳头属足厥阴肝经,乳房属足阳明胃经,外属足少阳胆经。乳腺癌病位在乳房,病根在肝肾,病机与肝、胆、脾胃、肾关系密切。乳岩宁方在扶正祛邪理论基础上将调畅气机理论应用于乳腺癌治疗,并合理运用中药的升降浮沉趋势,以柴胡龙骨牡蛎汤为主方,结合软坚散结、清热解毒中药化裁而成。临床上可以改善内分泌药物使用的依从性,从而延长激素受体阳性晚期乳腺癌的生存期^[19]。大量的动物实验和临床研究证实,JNK 信号通路介导的细胞凋亡参与了人类多种疾病的发生发展过程,因此,JNK 信号通路是正常与疾病状态时细胞的一个重要

调节靶点,从而 JNK 信号通路已成为治疗细胞凋亡引起疾病的重要分子靶标^[20]。本实验显示,在 JNK/MAPK 信号通路中,乳岩宁方及依西美坦均能下调 JNK 蛋白表达,起到抑制乳腺癌细胞增殖的作用,两药联合作用更强。其作用机制可能是,一方面能下调其下游蛋白 STAT3、Bcl-2 表达起到抑制乳腺癌细胞增殖的作用;另一面能上调 p53、Caspase8 基因表达,起到促进乳腺癌细胞凋亡的作用,最终起到抗肿瘤的作用。

5 结论

综上所述,乳岩宁方联合依西美坦可能对 JNK/MAPK 信号通路有双向调节作用,一方面下调 JNK 蛋白表达及其下游蛋白 STAT3、Bcl-2 表达起到抑制乳腺癌细胞增殖的作用;另一面能上调 p53、Caspase8 基因表达,起到促进乳腺癌细胞凋亡的作用,最终起到抗肿瘤的作用。中药复方联合内分泌治疗将成为激素受体阳性乳腺癌在 AI+时代治疗的新模式。同时也看到乳岩宁方对 STAT3 蛋白作用更强,这将是下一步研究的重点,STAT3 蛋白可能成为中药治疗乳腺癌的新靶点,为临床提供实验数据。

参考文献:

- [1] 肖妤,高杨杨,胡纲. 中药注射液治疗我国晚期乳腺癌随机对照临床试验的质量评价 [J]. 中国医学创新,2014 (30):104-107.
- [2] 殷东风,高宏,周文波,等. 中药治疗对晚期乳腺癌患者内分泌治疗依从性及生存期影响的临床研究 [J]. 现代肿瘤医学,2013,21(5):1050-1053.
- [3] 卢雯平. 晚期乳腺癌的综合治疗 [J]. 中国肿瘤,1999 (10):1.
- [4] 关玉娟. 乳岩宁与三苯氧胺联合抗乳腺癌作用及其机制的研究[D]. 沈阳:辽宁中医药大学,2011.
- [5] 徐川,全欣,于小伟,等. 乳岩宁方治疗三阴性乳腺癌临床研究[J]. 甘肃医药,2015,34(11):821-822
- [6] 李皓,殷东风,高宏. 乳岩宁方配合依西美坦对乳腺癌荷瘤裸鼠瘤重及 GLUT1 和 PKM2 表达的影响 [J]. 山西中医,2016,11(32):48-50.
- [7] 程思谟,高宏,殷东风. 乳岩宁联合依西美坦对荷瘤裸鼠抑瘤机制的研究 [J]. 沈阳药科大学学报,2018 (5):409-413.
- [8] GAO S C, YIN H B, LIU H X, et al. Research progress on MAPK signal pathway in the pathogenesis of osteoarthritis[J]. China Journal of Orthopaedics and Traumatology,2014,27(5):441-444.
- [9] YEH Y T, HOU M F, CHUNG Y F, et al. Decreased expression of phosphorylated JNK in breast infiltrating ductal carcinoma is associated with a better overall survival [J]. Int J Cancer,2006,118(11):2678-2684.
- [10] PARRA E, FERREIRA J. Knockdown of the c-Jun-N-terminal kinase expression by siRNA inhibits MCF-7 breast carcinoma cell line growth[J]. Oncol Rep,2010,24 (5):1339-1345.
- [11] AMIN S, KUMAR A, NILCHI L, et al, Breast cancer cells proliferation is regulated by tyrosine phosphatase SHP1 through c-jun N-terminal kinase and cooperative induction of RFX-1 and AP-4 transcription factors[J]. Molecular Cancer Research,2011,9(8):1112-1125.
- [12] BROSSEAU C M, PIRIANOV G, COLSTON K W. Involvement of stress activated protein kinases (JNK and p38)in 1,25 dihydmyxvitamin D3 -induced breast cell death[J]. Steroids,2010,75(13-14):1082-1088.
- [13] 阮镜良,吴欢,许晓琳,等. 血卟啉单甲醚和声诺维在超声辐照下诱导三阴乳腺癌细胞凋亡的协同效应[J]. 中国超声医学杂志,2015,31(9):827-830.
- [14] 郅琦,李福香,杨雅轩,等. 植物花青素通过 JNK 信号通路抗肿瘤机制研究进展 [J]. 食品与机械,2017,33(7):215-220.
- [15] 邓文兵,廖爱军. JNK 信号通路在肿瘤侵袭转移中的研究进展[J]. 现代医药卫生,2015,31(7):804-806.
- [16] 谷满仓,刘俊莹,钱亚芳,等. 抗肿瘤天然药物抑制 STAT3 信号通路的分子机制研究进展 [J]. 药学进展,2014,38(8):585-590.
- [17] 李豫园,许军,刘燕华,等. 基于 JAK2/STAT 信号通道为靶点的中药抗肿瘤作用研究进展[J]. 云南化工,2014,44 (7):7-10.
- [18] 侯雪华,冯正权. 中医药抑制 STAT3 抗肿瘤的研究进展 [J]. 江西中医药大学学报,2015,27(5):116-119.
- [19] 刘志勇,易坚,刘凤恩. 干扰素诱导蛋白 AIM2 诱发乳腺癌细胞凋亡的分子机制 [J]. 医学研究生学报,2015(7):696-700.
- [20] 魏娜,贺海波,张长城,等. JNK 信号通路细胞凋亡关系的研究进展 [J]. 中国临床药理学与治疗学,2013,18 (7):807-812.