

# 岩大戟内酯 B 对人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞增殖的影响

林宇\*, 岳丽玲, 蒋丽艳

(齐齐哈尔医学院, 黑龙江 齐齐哈尔 161006)

**[摘要]** **目的:**探讨岩大戟内酯 B(jolkinolide B, JB)对人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞增殖及生长周期的影响。**方法:**取对数生长期的 MDA-MB-231 细胞,加入 JB,使终质量浓度分别为 0, 2.5, 5, 10, 20, 40, 80  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,采用四甲基偶氮唑蓝(MTT)检测岩大戟内酯 B 对 MDA-MB-231 细胞的生长抑制率。另设 10, 20, 40, 80  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  组的 JB,采用流式检测技术分析岩大戟内酯 B 对 MDA-MB-231 细胞的细胞周期,RT-PCR 及 Western blot 检测真核细胞翻译起始因子(eIF4E),细胞周期蛋白 D<sub>1</sub>(CyclinD<sub>1</sub>) 基因 mRNA 表达及蛋白水平。**结果:**随着岩大戟内酯 B 浓度增加可显著抑制 MDA-MB-231 细胞的增殖,G<sub>1</sub> 期细胞阻滞。与空白组比较,20, 40  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  的岩大戟内酯 B 可抑制 CyclinD<sub>1</sub> 和 eIF4E 的 mRNA 表达,转染 eIF4E-siRNA 组 CyclinD<sub>1</sub> 的 mRNA 表达及蛋白水平也被抑制,同时细胞周期阻滞在 G<sub>1</sub> 期( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。**结论:**岩大戟内酯 B 可通过下调 eIF4E 及 CyclinD<sub>1</sub> 的表达而阻滞细胞周期于 G<sub>1</sub> 期。

**[关键词]** 岩大戟内酯 B; 真核细胞翻译起始因子; 细胞周期

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)03-0132-05

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2016030132

## Effects of Jolkinolide B on Proliferation of MDA-MB-231 Cells in Human Breast Cancer

LIN Yu\*, YUE Li-ling, JIANG Li-yan

(Qiqihar Medical University, Qiqihar 161006, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the effects of jolkinolide B on proliferation of MDA-MB-231 cells and cell cycles in human breast cancer. **Method:** MDA-MB-231 cells in logarithmic phase were selected and added with jolkinolide B, to achieve the final concentrations of 0, 2.5, 5, 10, 20, 40, 80  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ . MTT method was used to measure the growth inhibitory rate of jolkinolide B on MDA-MB-231 cells. For 10, 20, 40, 80  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  groups, the effect of jolkinolide B on cell cycle of MDA-MB-231 cells was assayed by flow cytometer. The mRNA and protein expression levels of eukaryotic translation initiation factor 4E (eIF4E) or CyclinD<sub>1</sub> were detected by RT-PCR and Western blot assay. **Result:** With the increase of concentrations of jolkinolide B, it could significantly inhibit the proliferation of MDA-MB-231 cells and block the cells at G<sub>1</sub> phase. Compared with the blank group, 20, 40  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  jolkinolide B could inhibit mRNA expressions of CyclinD<sub>1</sub> and eIF4E, and inhibit the mRNA and protein expressions of CyclinD<sub>1</sub> in transfected eIF4E-siRNA group, and meanwhile, the cell cycle was blocked in G<sub>1</sub> phase. **Conclusion:** The jolkinolide B could block the cell cycle in G<sub>1</sub> phase by down-regulating the expression of eIF4E and CyclinD<sub>1</sub>.

**[Key words]** jolkinolide B; eukaryotic translation initiation factor 4E; cell cycle

岩大戟内酯 B(jolkinolide B, JB)是狼毒大戟 *Euphorbia fischeriana* 主要化学成分之一。狼毒大戟始载于《神农本草经》,根入药,有毒,民间有用于治疗皮肤、结核、肿瘤等病。近年来关于狼毒大戟的

**[收稿日期]** 20150204(008)

**[基金项目]** 黑龙江省普通高等学校青年学术骨干支持计划项目(1252G004)

**[通讯作者]** \* 林宇,博士,副教授,从事肿瘤药理学研究工作, Tel:0452-2663159, E-mail:linyuy7373@163.com

活性成分及作用机制研究越来越受到研究学者的重视。文献报道,狼毒大戟根部分离的双萜类化合物 17-羟基岩大戟内酯 B 体外明显抑制 K562 细胞生长并诱导其凋亡<sup>[1]</sup>,并且发现其具有显著的抗炎作用<sup>[2-3]</sup>。12-去氧佛波醇-13-棕榈酸酯可通过抑制 VEGFR-2 信号途径抑制 VEGF 诱导的血管生成<sup>[4]</sup>。虽然对狼毒大戟活性成分的研究在逐渐深入,但是对于其作用机制或临床上应用的研究鲜有报道。本实验室先后从狼毒大戟根部分离提取了 7 种化学成分,并利用 MTT 方法初步检测了此 7 种化合物对 8 种不同组织来源的肿瘤细胞株的细胞增殖作用,结果显示岩大戟内酯 B 的抑制肿瘤细胞生长增殖作用最强。前期工作发现岩大戟内酯 B 可通过抑制 PI3K/Akt 信号通路诱导乳腺癌细胞凋亡<sup>[5-6]</sup>,提示岩大戟内酯 B 可用于恶性肿瘤的治疗。本研究拟进一步探讨岩大戟内酯 B 对人乳腺癌细胞增殖的抑制作用及其可能机制,为临床治疗提供实验依据。

## 1 材料

**1.1 细胞株** 人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞株购自上海中科院细胞库,ATCC 细胞。

**1.2 药物及试剂** 岩大戟内酯 B 由齐齐哈尔大学化工学院张树军教授提供,相对分子质量 330.42,白色粉末,纯度 > 99%,体外实验用 DMSO (美国 Sigma 公司,批号 20100103665) 助溶,DMSO 终质量分数 < 0.1%。Leibovitz's L-15 培养基 (美国 Gibco 公司,批号 916899),胎牛血清 (美国 Hyclone 公司,批号 NWK0489),细胞周期检测试剂盒 (南京凯基生物公司,批号 20140627),SYBR Premix Ex Taq<sup>TM</sup> (日本 TaKaRa 公司,批号 AK2603),脂质体 2000 (美国 Invitrogen 公司,批号 1091978),真核细胞翻译起始因子 (eIF4E)-siRNA 由上海吉凯公司设计合成。

**1.3 仪器** FACSCalibur 型流式细胞仪 (美国 BD 公司),ABI 7300 型荧光定量 PCR 仪 (美国 ABI 公司),Saifire II -Basic-酶标仪 (瑞士 Tecan 公司)。

## 2 方法

**2.1 细胞培养** 人乳腺癌细胞 MDA-MB-231 用含 10% 胎牛血清的 Leibovitz's L-15 培养基,37 °C,5% CO<sub>2</sub> 培养箱中常规培养,0.25% 胰酶/EDTA 消化传代。所用细胞均为对数生长期细胞。

**2.2 MTT 比色法检测细胞活性** 取对数生长期的细胞,用完全培养基调整细胞密度为 5 × 10<sup>6</sup> 个/L 接种于 96 孔培养板中,常规培养 24 h 后,加入岩大戟内酯 B,使终质量浓度分别为 0,2.5 × 10<sup>-3</sup>,5 ×

10<sup>-3</sup>,10 × 10<sup>-3</sup>,20 × 10<sup>-3</sup>,40 × 10<sup>-3</sup>,80 × 10<sup>-3</sup> g · L<sup>-1</sup>,每组设 4 个复孔,分别培养 12,24,48 h 后加入 MTT 溶液 (5 g · L<sup>-1</sup>) 20 μL,37 °C 继续孵育 4 h,吸去培养上清液,每孔加入 DMSO 150 μL,避光振荡 10 min 后,酶标仪 490 nm 处检测吸光度 A。按如下公式计算。实验重复 3 次。

$$\text{细胞增殖抑制率} = [(A_{\text{空白组}} - A_{\text{实验组}}) / A_{\text{空白组}}] \times 100\%$$

**2.3 流式细胞术 (FCMs) 检测细胞周期** 收集不同剂量岩大戟内酯 B 处理 24 h 的细胞,预冷 PBS 洗涤细胞 1 次 (2 000 r · min<sup>-1</sup> 离心 5 min),调整细胞密度为 1 × 10<sup>9</sup> 个/L,重悬于预冷的 70% 乙醇固定,4 °C 过夜,PBS 洗去固定液,加入 0.05 g · L<sup>-1</sup> PI 500 μL 混匀,4 °C 避光染色 30 min,流式细胞仪检测,记录激发波长 488 nm 处的红色荧光。

**2.4 RT-PCR 检测 eIF4E, 细胞周期蛋白 D<sub>1</sub> (CyclinD<sub>1</sub>) mRNA 表达** 根据基因的 cDNA 序列设计上下游引物,引物序列如下:eIF4E 上游引物 5'-ACGGAATCTAATCAGGAGGT-3',下游引物 5'-TTCCCACATAGGCTCAATA-3'; CyclinD<sub>1</sub> 上游引物 5'-GCGAGGAACAGAAGTGCG-3',下游引物 5'-TGGAGTTGTCGGTGTAGATGC-3'。根据 RT-PCR 试剂盒产品操作方法,依次在冰上加入试剂。反应条件 95 °C 30 s,95 °C 5 s,57 °C 30 s,40 个循环。

**数据分析与处理:** 使用 Sequence Detection Software Version 1.2.3 软件 (Applied Biosystems 公司) 分析 PCR 过程所检测样本的 C<sub>t</sub> 值,C<sub>t</sub> 值随模板浓度增大而减少。目的基因 mRNA 的相对含量 = 2<sup>-ΔΔC<sub>t</sub></sup>,其中 C<sub>t</sub> 值反应模板扩增达到特定阈值时所需的循环数。

$$\Delta\Delta C_t = [C_{t(\text{样本目的基因})} - C_{t(\text{样本 GAPDH})}] - [C_{t(\text{空白组目的基因})} - C_{t(\text{空白组 GAPDH})}]$$

**2.5 siRNA 转染及筛选** 取对数生长期细胞接种于 6 孔板,细胞融合达 50% 时进行转染。实验分为未转染组,阴性空白组,eIF4E-siRNA 组。转染步骤按照脂质体试剂说明书进行,转染 48 h 后,收获细胞。

**2.6 Western 印迹法检测蛋白表达** 收集细胞于冰上加入细胞裂解液 100 μL,孵育 20 min 后 4 °C,12 000 r · min<sup>-1</sup> 离心 20 min,收集上清即为细胞总蛋白,蛋白变性后经 12% SDS-PAGE 电泳分离,转移到硝酸纤维素膜上,5% 脱脂奶粉室温封闭 1 h,加入一抗 4 °C 孵育过夜,TBST 洗膜后加入二抗室温孵育 2 h,TBST 洗膜后,ECL 发光试剂显色,X 射线胶片曝光成像。

**2.7 统计学分析** 采用 SPSS 13.0 软件进行统计学处理, 计量资料均以  $\bar{x} \pm s$  表示, 以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 岩大戟内酯 B 对 MDA-MB-231 细胞生长的抑制作用** 随着岩大戟内酯 B 浓度增大和作用时间的延长, 对细胞的生长抑制作用增强, 岩大戟内酯 B 作用 MDA-MB-231 细胞 12, 24, 48 h 的半数抑制浓度 ( $IC_{50}$ ) 分别为  $(23.82 \pm 4.39)$ ,  $(15.29 \pm 2.67)$ ,  $(4.68 \pm 1.85) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。说明岩大戟内酯 B 可抑制乳腺癌 MDA-MB-231 细胞生长, 呈剂量和时间依赖性。见表 1。

表 1 岩大戟内酯 B 对 MDA-MB-231 细胞生长的抑制作用 ( $n=5$ )

Table 1 Inhibiting effect of jolkinolide B on MDA-MB-231 cells growth ( $n=5$ )

组别	剂量 $/\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	12 h		24 h		48 h	
		$A(\bar{x} \pm s)$	抑制率/%	$A(\bar{x} \pm s)$	抑制率/%	$A(\bar{x} \pm s)$	抑制率/%
空白	-	$1.169 \pm 0.059$	-	$0.973 \pm 0.063$	-	$1.342 \pm 0.116$	-
岩大戟内酯 B	1.25	$1.133 \pm 0.061$	3.12	$0.913 \pm 0.019$	6.17	$1.044 \pm 0.074$	22.19
	2.5	$1.083 \pm 0.049$	7.34	$0.834 \pm 0.049$	14.27	$0.779 \pm 0.124^{1)}$	41.91
	5	$1.057 \pm 0.032$	9.06	$0.809 \pm 0.057$	16.76	$0.431 \pm 0.104^{2)}$	67.09
	10	$0.903 \pm 0.021^{1)}$	22.73	$0.513 \pm 0.028^{2)}$	47.28	$0.279 \pm 0.072^{2)}$	79.21
	20	$0.593 \pm 0.029^{2)}$	49.27	$0.454 \pm 0.039^{2)}$	53.29	$0.175 \pm 0.069^{2)}$	87.02
	40	$0.237 \pm 0.052^{2)}$	79.69	$0.182 \pm 0.025^{2)}$	81.27	$0.063 \pm 0.052^{2)}$	95.29
	80	$0.117 \pm 0.027^{2)}$	89.96	$0.061 \pm 0.019^{2)}$	93.72	$0.023 \pm 0.083^{2)}$	98.25

注: 与空白组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>2)</sup>  $P < 0.01$  (表 2~4 同)。

表 2 岩大戟内酯 B 对 MDA-MB-231 细胞周期的作用 ( $\bar{x} \pm s, n=5$ )

Table 2 Effect of jolkinolide B on MDA-MB-231 cell cycle ( $\bar{x} \pm s, n=5$ )

组别	剂量 $/\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	细胞周期/%			细胞凋亡率/%
		$G_0/G_1$	S	$G_2/M$	
空白	-	$29.96 \pm 1.32$	$64.66 \pm 2.46$	$11.39 \pm 1.27$	-
岩大戟内酯 B	10	$38.89 \pm 2.25$	$51.26 \pm 3.51$	$9.85 \pm 1.56^{1)}$	$13.69 \pm 2.12$
	20	$41.63 \pm 1.69^{1)}$	$44.99 \pm 1.68$	$13.37 \pm 1.47^{1)}$	$15.73 \pm 1.67$
	40	$51.21 \pm 2.09^{1)}$	$37.28 \pm 3.12$	$11.51 \pm 1.12^{1)}$	$19.29 \pm 1.79$

表 3 岩大戟内酯 B 对细胞 CyclinD<sub>1</sub> 和 eIF4E 的 mRNA 水平的影响 ( $n=5$ )

Table 3 Effect of jolkinolide B on CyclinD<sub>1</sub> and eIF4E mRNA in MDA-MB-231 cells ( $n=5$ )

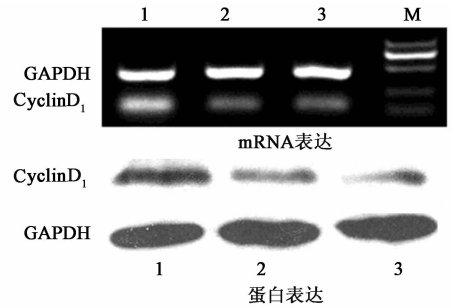
组别	剂量 $/\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	CyclinD <sub>1</sub>			eIF4E		
		$\Delta C_t$	$\Delta\Delta C_t$	$2^{-\Delta\Delta C_t}(\bar{x} \pm s)$	$\Delta C_t$	$\Delta\Delta C_t$	$2^{-\Delta\Delta C_t}(\bar{x} \pm s)$
空白	-	12.73	0.00	$1.00 \pm 0.00$	11.22	0.00	$1.00 \pm 0.00$
岩大戟内酯 B	10	12.88	0.15	$0.90 \pm 0.07$	11.36	0.13	$0.91 \pm 0.38$
	20	13.14	0.40	$0.76 \pm 0.12^{1)}$	11.75	0.52	$0.69 \pm 0.26^{1)}$
	40	13.33	0.59	$0.66 \pm 0.11^{1)}$	12.01	0.79	$0.58 \pm 0.26^{1)}$

**3.4 eIF4E 对 MDA-MB-231 细胞中 CyclinD<sub>1</sub> 基因 mRNA 与蛋白表达的影响** 为了进一步研究 eIF4E

在岩大戟内酯 B 诱导 MDA-MB-231 细胞 G<sub>1</sub> 期阻滞中的作用,采用化学合成的 siRNA 转染 MDA-MB-231 细胞,干扰细胞内 eIF4E 的表达,RT-PCR 与 Western blotting 方法检测了 40 μmol·L<sup>-1</sup>岩大戟内酯 B 与 si-eIF4E 片段对细胞内与 G<sub>1</sub> 期阻滞密切相关的 CyclinD<sub>1</sub> 基因表达的影响。结果表明,80 nmol·L<sup>-1</sup> si-eIF4E 沉默了 eIF4E 基因后,CyclinD<sub>1</sub> mRNA 与蛋白表达水平受到明显抑制,与 40 μmol·L<sup>-1</sup> 岩大戟内酯 B 产生的作用相似。见图 1。

**3.5 eIF4E 在岩大戟内酯 B 诱导 MDA-MB-231 细胞 G<sub>1</sub> 期阻滞中的作用** 流式细胞术检测了 40 μmol·L<sup>-1</sup> 岩大戟内酯 B 作用 24 h 和转染 80 nmol·L<sup>-1</sup> si-eIF4E 48 h 的 MDA-MB-231 细胞的细胞周期情况。结果分析发现,与空白组比较,转染 siRNA 与岩大戟内

酯 B 作用细胞后,细胞 S 期比例减少,G<sub>1</sub> 期比例增加(P < 0.01)。但是作用弱于 siRNA 转染与岩大戟内酯 B 合用组。见表 4。



1. 空白组;2. 40 μmol·L<sup>-1</sup> JB 组;3. 80 nmol·L<sup>-1</sup> si-eIF4E 组  
图 1 eIF4E 对 CyclinD<sub>1</sub> mRNA 与蛋白表达的影响

Fig.1 Effects of eIF4E on CyclinD<sub>1</sub> and eIF4E mRNA in MDA-MB-231 cells

表 4 si-eIF4E 与岩大戟内酯 B 对 MDA-MB-231 细胞周期的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

Table 4 Effect of si-eIF4E and jolkinolide B on MDA-MB-231 cell cycle ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

组别	剂量 /μmol·L <sup>-1</sup>	细胞周期/%			细胞凋亡率/%
		G <sub>0</sub> /G <sub>1</sub>	S	G <sub>2</sub> /M	
空白	-	32.81 ± 2.23	53.84 ± 1.85	13.35 ± 1.98	0.79 ± 1.03
大戟内酯 B	40	40.00 ± 1.03 <sup>1)</sup>	48.00 ± 1.58 <sup>1)</sup>	11.95 ± 1.37	29.41 ± 2.59
eIF4E	0.08	44.44 ± 2.63 <sup>1)</sup>	37.17 ± 2.26 <sup>1)</sup>	18.40 ± 1.57	25.59 ± 1.69
eIF4E + JB	40 + 0.08	57.01 ± 2.58 <sup>1)</sup>	27.47 ± 2.09 <sup>1)</sup>	15.52 ± 1.46	23.51 ± 2.73

#### 4 讨论

岩大戟内酯 B 在狼毒大戟中含量较高,本实验发现,岩大戟内酯 B 可剂量依赖性抑制 MDA-MB-231 细胞增殖,诱导细胞周期阻滞于 G<sub>1</sub> 期(DNA 合成前期),荧光定量 PCR 检测发现,岩大戟内酯 B 可下调细胞周期蛋白 CyclinD<sub>1</sub> 和真核细胞翻译起始因子 eIF4E 的 mRNA 表达。eIF4E 能特异的与真核细胞 mRNA 的 5' 末端的帽子结构结合,参与基因 mRNA 的翻译,在翻译起始阶段限制调控与肿瘤恶性相关的基因表达量,参与恶性肿瘤的发生发展<sup>[7-8]</sup>。人类多种恶性肿瘤组织中有 eIF4E 的过度表达,朱慧能<sup>[9]</sup>观察了 30 例结肠直肠癌及 80 例原发性结肠直肠癌中 eIF4E 的蛋白表达,结果发现,腺癌与腺瘤组织中 eIF4E 的蛋白表达水平均较高,而正常结肠黏膜中 eIF4E 的表达低。Berkel 等<sup>[10]</sup>与 Yang 等<sup>[11]</sup>也通过免疫组化的方法检测发现结肠癌组织、乳腺癌组织中 eIF4E 的表达水平明显高于正常组织,并发现与肿瘤分期相关,而且 CyclinD<sub>1</sub> 表达也增高。

因,其过度表达促使细胞 G<sub>1</sub> 期缩短,提前进入 S 期(DNA 合成期),导致细胞生长失去控制,诱发肿瘤形成<sup>[12]</sup>。但是 eIF4E 的表达与 CyclinD<sub>1</sub> 的关系如何,抑制 eIF4E 的表达能否改变 CyclinD<sub>1</sub> 的水平还需进一步研究。

为了进一步探索 eIF4E 的表达与 CyclinD<sub>1</sub> 的关系,笔者采用 RNA 干扰的方法沉默 eIF4E 的表达,采用化学合成的 siRNA 转染 MDA-MB-231 细胞,细胞内 eIF4E 的 mRNA 及蛋白表达均被抑制,同时转染后细胞的 CyclinD<sub>1</sub> 的 mRNA 表达也被抑制,细胞周期阻滞在 G<sub>1</sub> 期,说明 eIF4E 表达下调能抑制 CyclinD<sub>1</sub> 的表达,诱导细胞周期 G<sub>1</sub> 期阻滞。此外笔者采用流式细胞术检测了 40 μmol·L<sup>-1</sup> 岩大戟内酯 B 作用 24 h 和转染 80 nmol·L<sup>-1</sup> eIF4E 48 h 的 MDA-MB-231 细胞的细胞周期情况。结果分析发现,与空白组相比,转染 siRNA 与岩大戟内酯 B 作用细胞后,细胞 S 期比例减少,G<sub>1</sub> 期比例增加,出现阻滞。但是作用弱于 siRNA 转染与岩大戟内酯 B 合用组。

综上所述,岩大戟内酯 B 可抑制人乳腺癌细胞

CyclinD<sub>1</sub> 是调控细胞周期 G<sub>1</sub> 期与 S 期的癌基

的增殖,使细胞周期停滞在  $G_1$  期,可能由于其抑制 eIF4E 的表达进而使 CyclinD<sub>1</sub> 的表达下调引起。随着岩大戟内酯 B 抗肿瘤机制的不断研究,为其以后临床应用提供更多实验依据。

[参考文献]

[1] 王晓丽,周丽,刘吉成. 17-羟-岩大戟内酯 B 对 K562 细胞增殖及凋亡的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013,19(9):197-180.

[2] Pan L C, Xu X H, Zhang N N, et al. HJB-1, a 17-hydroxy-jolkinolide B derivative, inhibits LPS-induced inflammation in mouse peritoneal macrophages[J]. Int Immunopharmacol, 2014, 21(2):474-480.

[3] Uto T, Qin G W, Morinaga O, et al. 17-Hydroxy-jolkinolide B, a diterpenoid from Euphorbia fischeriana, inhibits inflammatory mediators but activates heme oxygenase-1 expression in lipopolysaccharide-stimulated murine macrophages[J]. Int Immunopharmacol, 2012, 12(1):101-109.

[4] Xu H Y, Pan Y M, Chen Z W, et al. 12-Deoxyphorbol 13-palmitate inhibit VEGF-induced angiogenesis via suppression of VEGFR-2-signaling pathway[J]. J Ethnopharmacol, 2013, 146(3):724-733.

[5] Xu H Y, Chen Z W, Hou J C, et al. Jolkinolide B induces apoptosis in MCF-7 cells through inhibition of the PI3K/Akt/mTOR signaling pathway[J]. Oncol Rep, 2013, 29(1):212-218.

[6] Lin Y, Cui H X, Xu H Y, et al. Jolkinolide B induces apoptosis in MDA-MB-231 cells through inhibition of the PI3K/Akt signaling pathway[J]. Oncol Rep, 2012, 27(6):1976-1980.

[7] Li Y K, Yue P, Deng X M, et al. Protein phosphatase 2A negatively regulates eukaryotic initiation factor 4E phosphorylation and eIF4E assembly through direct dephosphorylation of Mnk and eIF4E[J]. Neoplasia, 2010, 12(10):848-855.

[8] Mamane Y, Petroulakis E, Rong L W, et al. eIF4E-from translation to transformation[J]. Oncogene, 2004, 23(18):3172-3180.

[9] 朱慧能. eIF4E 和 CyclinD<sub>1</sub> 在结直肠癌中的表达和临床意义[D]. 杭州:浙江大学, 2010:17.

[10] Berkel H J, Turbat-Herrera E A, Shi R, et al. Expression of the translation initiation factor eIF4E in the polyp-cancer sequence in the colon[J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2001, 10(6):663-666.

[11] Yang S X, Hewitt S M, Steinberg S M, et al. Expression levels of eIF4E, VEGF, and CyclinD<sub>1</sub>, and correlation of eIF4E with VEGF and Cyclin D<sub>1</sub> in multi-tumor tissue microarray[J]. Oncol Rep, 2007, 17(2):281-287.

[12] Taneja P, Maglic D, Kai F, et al. Classical and novel prognostic markers for breast cancer and their clinical significance[J]. Clin Med Insights Oncol, 2010, 4:15-34.

[责任编辑 周冰冰]