

# 参芪扶正注射液对人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞增殖和凋亡的影响

安松林<sup>1</sup>, 丁治国<sup>2\*</sup>, 解云婧<sup>3</sup>, 丁磊<sup>1</sup>, 周柯鑫<sup>2</sup>, 滕占庆<sup>2</sup>, 史晓光<sup>2</sup>, 李乃卿<sup>2</sup>

(1. 首都医科大学 附属北京世纪坛医院, 北京 100038;

2. 北京中医药大学 东直门医院, 北京 100700; 3. 北京市门头沟区中医医院, 北京 102300)

**[摘要]** **目的:**研究参芪扶正注射液对基底细胞样(basal-like 型)乳腺癌 MDA-MB-231 细胞增殖和凋亡的影响,探讨参芪扶正注射液对三阴性乳腺癌的治疗作用机制。**方法:**体外培养人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞,将其分为参芪扶正注射液组和空白组。采用噻唑蓝(MTT)比色法分别于 24,48,72 h 检测参芪扶正注射液对人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞增殖的影响。采用流式细胞术(FCM)测定细胞周期分布和凋亡情况。实时荧光定量 PCR(Real-time PCR)和免疫印迹(Western blot)检测参芪扶正注射液对 MDA-MB-231 细胞 p53 正向细胞凋亡调控因子(PUMA)表达的影响。**结果:**参芪扶正注射液可抑制 MDA-MB-231 细胞增殖,高浓度者抑制作用强,即呈现浓度依赖性,体外培养 48 h 时抑制作用最显著。参芪扶正注射液将 MDA-MB-231 细胞阻滞于细胞周期的 S 期,进而诱导 MDA-MB-231 细胞凋亡。Real-time PCR 和 Western blot 发现参芪扶正注射液可上调 MDA-MB-231 细胞 PUMA 蛋白和基因表达。**结论:**参芪扶正注射液可显著抑制人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞增殖,导致细胞周期阻滞,诱导细胞凋亡,其机制可能与上调 PUMA 基因有关。

**[关键词]** 参芪扶正注射液; basal-like 型乳腺癌; MDA-MB-231 细胞; p53 正向细胞凋亡调控因子

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)12-0139-05

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2016120139

## Effects of Shenqi Fuzheng Injection on Proliferation and Apoptosis of Human Breast Cancer MDA-MB-231 Cells

AN Song-lin<sup>1</sup>, DING Zhi-guo<sup>2\*</sup>, XIE Yun-jing<sup>3</sup>, DING Lei<sup>1</sup>, ZHOU Ke-xin<sup>2</sup>,

TENG Zhan-qing<sup>2</sup>, SHI Xiao-guang<sup>2</sup>, LI Nai-qing<sup>2</sup>

(1. Beijing Shijitan Hospital, CMU, Beijing 100038, China;

2. Beijing Dongzhimen Hospital Affiliated to Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100700, China;

3. Beijing Mentougou Hospital of Traditional Chinese Medicine, Beijing 102300, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study the effects of Shenqi Fuzheng injection on proliferation and apoptosis of basal-like type human breast cancer MDA-MB-231 cells, and investigate the treatment mechanism of Shenqi Fuzheng injection for triple negative breast cancer. **Method:** The human breast cancer MDA-MB-231 cells cultured *in vitro* were divided into Fuzheng injection groups (six groups with different concentrations of Shenqi Fuzheng injection) and blank group. Methyl thiazolyl tetrazolium (MTT) assay was used to detect the effect of Shenqi Fuzheng injection on proliferation of MDA-MB-231 cells at 24, 48 and 74 h. Flow cytometry (FCM) was used to detect the cell cycle distribution and apoptosis of MDA-MB-231 cells. Real-time PCR and Western blot assay were used to detect the effect of Shenqi Fuzheng injection on p53 up-regulated modulators of apoptosis (PUMA) in MDA-MB-231 cells. **Result:** Shenqi Fuzheng injection could inhibit the proliferation of MDA-MB-

**[收稿日期]** 20160107(019)

**[基金项目]** 北京中医药大学中青年教师资助项目(2011JYB22JS-008)

**[第一作者]** 安松林, 博士, 主治医师, 从事肿瘤外科临床与基础研究, Tel:010-63926296, E-mail: ansonglind@126.com

**[通讯作者]** \* 丁治国, 博士, 副主任医师, 从事中西医结合外科临床与基础研究, Tel:010-84013135, E-mail: dingzhiguo\_1@163.com

231 cells in a concentration-dependent manner, and the inhibitory effect was most obvious at 48 h *in vitro* culture. Shenqi Fuzheng injection blocked cell cycle at S phase of the MDA-MB-231 cells, and thus induced apoptosis of MDA-MB-231 cells. Real-time PCR and Western blot assay showed that Shenqi Fuzheng injection could up-regulate PUMA expression of MDA-MB-231 cells. **Conclusion:** Shenqi Fuzheng injection can significantly inhibit proliferation and block cell cycle at S phase of the MDA-MB-231 cells, thus induce apoptosis of the cells, and the mechanism may be associated with up-regulating PUMA mRNA expression.

**[Key words]** Shenqi Fuzheng injection; basal-like type breast cancer; MDA-MB-231 cells; p53 up-regulated modulators of apoptosis

三阴性乳腺癌(TNBC)是乳腺癌的一种特殊类型,雌激素受体(ER),孕激素受体(PR)和人表皮生长因子受体-2(HER-2)均为阴性的乳腺恶性肿瘤<sup>[1]</sup>。基底细胞样(basal-like)乳腺癌的ER,PR,HER2也均为阴性,因此,TNBC的基因表达特征与basal-like乳腺癌相似,研究者多将TNBC和basal-like型乳腺癌合并在一起研究<sup>[1-2]</sup>。basal-like型乳腺癌恶性程度高、侵袭性强、易复发转移、预后较差,对内分泌治疗和曲妥珠单抗克隆抗体(赫赛汀,Herceptin)治疗无效,已经成为乳腺癌临床和基础研究的热点<sup>[3]</sup>。研究发现黄芪注射液可以抑制人乳腺癌MDA-MB-231细胞(ER,PR,HER2均为阴性,代表basal-like乳腺癌)增殖,并诱导其凋亡<sup>[4]</sup>。另有研究发现中药提取物黄葵素、川楝素可抑制人MDA-MB-231细胞生长、促进凋亡<sup>[5-6]</sup>。参芪扶正注射液联合化疗治疗晚期三阴性乳腺癌具有提高短期疗效的趋势<sup>[7]</sup>。但参芪扶正注射液对乳腺癌细胞是否有抑制作用,尚未见文献报道。p53正向细胞凋亡调控因子(PUMA)是p53依赖和非依赖凋亡的关键调节因子,在乳腺癌细胞凋亡过程中发挥重要作用<sup>[8]</sup>。因此,本研究探讨参芪扶正注射液对MDA-MB-231细胞增殖和凋亡的作用,并探讨其是否通过影响PUMA的表达而实现抑制肿瘤的作用,为三阴性(basal-like型)乳腺癌的中医药治疗提供线索和分子生物学依据。

## 1 材料

**1.1 细胞** MDA-MB-231人乳腺癌细胞由中国中医科学院基础医学院提供。

**1.2 主要药物和试剂** 参芪扶正注射液(丽珠集团利民制药厂,批号1405309)。Annexin V-FITC, SuperScript II RNase HReverse Transcriptase, Trizol Reagent(美国Invitrogen公司,批号分别为131210, 18064022, 15596026), 碘化丙啶(PI, 美国Sigma公司,批号25535-16-4)。SYBRR@Premix Ex Taq(日本Takara公司,批号RR540A)。引物序列由生工生

物工程(上海)股份有限公司合成,PUMA(186 bp): 上游5'-CGACCTCAACGCACAGTACGA-3', 下游5'-AGGCACCTAATTGGGCTCCAT-3'; 内参18S核糖体RNA(192 bp): 上游5'-GAAACGGCTACCACATCC-3', 下游3'-ACCAGACTTGCCCTCCA-5'。PUMA抗体(上海博研生物科技有限公司,批号BYk-1573R),  $\beta$ -actin抗体, BCA蛋白定量试剂盒, Super ECL Plus超敏发光液(北京普利莱基因技术有限公司,批号分别为C1845, P1511, P1010)。

**1.3 主要仪器** FACSCalibur型流式细胞仪, PAC200型电泳仪(美国Bio-Rad公司); Mx3005P™型Real-time PCR System(美国Invitrogen公司); ImageQuant LAS 4000 mini型成像系统(美国GE公司)。

## 2 方法

**2.1 参芪扶正注射液配制** 1 g·mL<sup>-1</sup>参芪扶正注射液1 mL加入RPMI-1640培养液(24 mL), 配制成质量浓度为40 g·L<sup>-1</sup>的储备液, 加入培养液将储备液稀释至终质量浓度分别为1.25, 2.5, 5, 10, 20, 40 g·L<sup>-1</sup>。

**2.2 细胞培养及分组** 本研究采用开放式单层贴壁法培养细胞, 培养液为RPMI-1640(加入100 mg·L<sup>-1</sup>链霉素, 100 U·mL<sup>-1</sup>青霉素和10%胎牛血清), 培养条件为37℃ 5% CO<sub>2</sub>, 相对饱和湿度。隔日更换培养液, 细胞呈贴壁生长, 待细胞覆盖率达80%~90%时传代。细胞分为空白(不加参芪扶正注射液)组和参芪扶正注射液(1.25, 2.5, 5, 10, 20, 40 g·L<sup>-1</sup>)组。

**2.3 细胞抑制率检测** 采用噻唑蓝(MTT)法检测人乳腺癌MDA-MB-231细胞抑制率, 按公式: 细胞抑制率 =  $(A_{\text{空白组}} - A_{\text{观察组}}) / A_{\text{空白组}} \times 100\%$ 。抑制率正值表示观察组抑制MDA-MB-231细胞增殖, 负值表示参芪扶正注射液组促进MDA-MB-231细胞增殖。以参芪扶正注射液浓度为横坐标, 细胞抑制率为纵坐标, 分别绘制24, 48, 72 h的细胞生长曲线。

**2.4 细胞形态观察** 取对数生长期的 MDA-MB-231 细胞制成单细胞悬液,调整细胞密度为  $1 \times 10^6$  个/mL,并接种于培养板中,37 °C 5% CO<sub>2</sub> 相对饱和湿度孵育 24 h,参芪扶正注射液组加入参芪扶正注射液(1.25,2.5,5,10,20,40 g·L<sup>-1</sup>),培养 48 h 后观察肿瘤细胞形态变化。

**2.5 PI 染色检测细胞周期** 参芪扶正注射液组和空白组分别收集  $1 \times 10^6$  个/mL 细胞,洗涤,70% 乙醇固定,4 °C 过夜,洗涤,加入 50 mg·L<sup>-1</sup> PI 500 μL 染色,4 °C 避光孵育 30 min。使用 FACSCalibur 流式细胞仪检测细胞周期变化。

**2.6 Annexin V-FITC/PI 双染检测细胞凋亡率** 选取对数生长期的 MDA-MB-231 细胞  $1 \times 10^6$  个/mL 接种于 25 cm<sup>2</sup> 培养瓶中,37 °C 5% CO<sub>2</sub> 相对饱和湿度中 RPMI-1640 孵育 24 h,更换培养液,参芪扶正注射液组加入参芪扶正注射液(1.25,2.5,5,10,20,40 g·L<sup>-1</sup>)。培养 48 h 后消化收集细胞,离心,先后加入 PI 10 μL, Annexin V-FITC 10 μL 混匀,避光孵育 30 min,采用 FACSCalibur 流式细胞仪检测,按 Q2 象限细胞(晚期凋亡)和 Q4 象限细胞(早期凋亡)所占百分比之和计算凋亡率。

**2.7 实时定量聚合酶链反应(Real-time PCR)检测相关基因表达** Trizol 和三氯甲烷提取总 RNA, RNeasy kit (Qiagen) 纯化。SuperScript II RNase

Reverse Transcriptase 进行逆转录,获得 cDNA。参照 Takara Real-time PCR 试剂盒的说明操作。以 18S 核糖体 RNA 为内参基因,每个 PCR 反应重复 3 次。

**2.8 免疫印迹法(Western blot)检测相关蛋白表达** 细胞裂解,4 °C,13 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 10 min,取上清,测定蛋白浓度,变性,电泳,转膜,封闭,一抗(1:100),β-actin(1:1 000)室温孵育 1 h 后,4 °C 孵育过夜;二抗(1:200)孵育 1 h,利用 Super ECL Plus 超敏发光液化学发光法检测目的蛋白,ImageQuant LAS 4000 mini 成像。Image J 软件分析灰度值,以目的条带/内参条带表示蛋白相对表达。

**2.9 统计学方法** 采用 SPSS 18.0 统计软件包,计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,计量资料采用单因素方差分析比较,计数资料采用卡方检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 参芪扶正注射液对细胞增殖的影响** 24,72 h 时,与空白组比较,参芪扶正注射液(1.25,2.5 g·L<sup>-1</sup>)促进 MDA-MB-231 细胞增殖( $P < 0.05$ );参芪扶正注射液(20,40 g·L<sup>-1</sup>)抑制 MDA-MB-231 细胞增殖( $P < 0.05$ )。48 h 时,与空白组比较,参芪扶正注射液(1.25,2.5,5,10,20,40 g·L<sup>-1</sup>)均抑制 MDA-MB-231 细胞增殖( $P < 0.05$ )。见表 1。

表 1 参芪扶正注射液对 MDA-MB-231 细胞增殖的影响( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

Table 1 Effects of different concentrations of Shenqi Fuzheng injection on proliferation of MDA-MB-231 cells( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

组别	质量浓度/g·L <sup>-1</sup>	24 h		48 h		72 h	
		A	抑制率/%	A	抑制率/%	A	抑制率/%
空白	0	1.28 ± 0.14	-	1.85 ± 0.15	-	0.65 ± 0.05	-
参芪扶正注射液	1.25	1.62 ± 0.12 <sup>1)</sup>	-26.7	1.59 ± 0.13 <sup>1)</sup>	13.8	0.96 ± 0.10 <sup>1)</sup>	-48.2
	2.50	1.46 ± 0.13 <sup>1)</sup>	-14.8	1.47 ± 0.13 <sup>1)</sup>	20.1	0.86 ± 0.04 <sup>1)</sup>	-32.8
	5.00	1.37 ± 0.14	-7.4	0.95 ± 0.10 <sup>1)</sup>	48.5	0.70 ± 0.05	-8.5
	10.00	1.21 ± 0.15	5.4	0.64 ± 0.05 <sup>1)</sup>	65.2	0.62 ± 0.04	4.3
	20.00	1.08 ± 0.12 <sup>1)</sup>	15.7	0.52 ± 0.04 <sup>1)</sup>	72.1	0.47 ± 0.02 <sup>1)</sup>	27.3
	40.00	0.72 ± 0.09 <sup>1)</sup>	43.6	0.30 ± 0.02 <sup>1)</sup>	83.9	0.35 ± 0.03 <sup>1)</sup>	46.2

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

**3.2 参芪扶正注射液对细胞生长曲线的影响** 随着参芪扶正注射液浓度的增加,细胞抑制率呈上升趋势,48 h 时抑制作用最显著。24,72 h 时,参芪扶正注射液低浓度组可促进细胞增殖(抑制率为负值),但高浓度组显著抑制细胞增殖。见图 1。

**3.3 参芪扶正注射液对细胞形态的影响** 细胞培养 48 h 后,空白组细胞形态正常,胞浆丰富,细胞贴

壁紧密,黏附良好,未见核固缩。参芪扶正注射液组细胞可见部分细胞体积变小,边界模糊不清,细胞浆内可见粗大颗粒,部分细胞脱落、崩解;参芪扶正注射液(20,40 g·L<sup>-1</sup>)组大部分细胞崩解、死亡,可见游离的细胞核、破碎的细胞器等碎片。

**3.4 参芪扶正注射液对细胞周期及凋亡的影响** 体外培养 48 h 后,参芪扶正注射液(1.25,2.5,5,10,20,40 g·L<sup>-1</sup>)组细胞凋亡率呈增高趋势,与空白

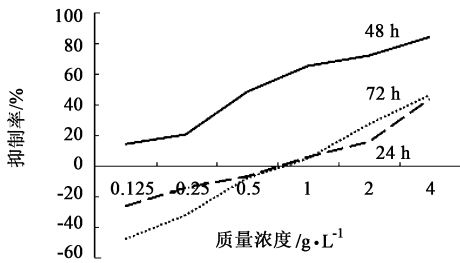


图 1 参芪扶正注射液作用对 MDA-MB-231 细胞增殖的影响  
Fig. 1 Effects of Shenqi Fuzheng injection on proliferation of MDA-MB-231 cells

组比较,参芪扶正注射液(10,20,40 g·L<sup>-1</sup>)组细胞凋亡率明显升高( $P < 0.05$ )。见表 2。

表 2 48 h 后不同质量浓度参芪扶正注射液对 MDA-MB-231 细胞周期的影响( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

Table 2 Effects of different concentrations of Shenqi Fuzheng injection on cell cycle of MDA-MB-231 cells after 48 h ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

组别	质量浓度 /g·L <sup>-1</sup>	G <sub>0</sub> /G <sub>1</sub> 期	S 期	凋亡率 /%
空白	0	65.3	34.7	4.2
参芪扶正注射液	1.25	63.2	36.8	4.9
	2.50	59.8	40.2	6.3
	5.00	54.4	45.6	8.4
	10.00	46.9	53.1	10.3 <sup>1)</sup>
	20.00	41.7	58.3	12.8 <sup>1)</sup>
	40.00	36.5	63.5	17.0 <sup>1)</sup>

注:G<sub>2</sub>/M 期为 0。

3.5 参芪扶正注射液对 PUMA mRNA 和蛋白表达的影响 体外培养 48 h 后,与空白组比较,参芪扶正注射液(2.5,10,40 g·L<sup>-1</sup>)组细胞 PUMA mRNA 和蛋白相对表达上调( $P < 0.05$ ),并呈现浓度依赖性。见图 2,3。

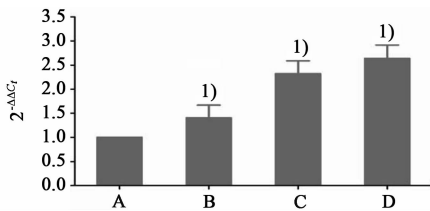


图 2 参芪扶正注射液对 MDA-MB-231 细胞 PUMA 基因表达影响( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

Fig. 2 Effects of Shenqi Fuzheng injection on PUMA mRNA expression of MDA-MB-231 cells ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

#### 4 讨论

参芪扶正注射液是具有益气扶正之功效的中药

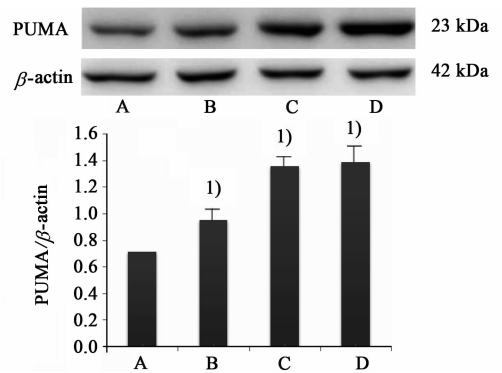


图 3 参芪扶正注射液对 MDA-MB-231 细胞 PUMA 蛋白表达的影响( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

Fig. 3 Effects of Shenqi Fuzheng injection on PUMA protein expression of MDA-MB-231 cells ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

静脉制剂,以补中益气药物党参、黄芪为主要原料制成。研究发现参芪扶正注射液联合放疗,可显著提高非小细胞肺癌患者治疗有效率,减少放疗引起的严重不良反应,改善临床症状,提高生活质量<sup>[9]</sup>。参芪扶正注射液不仅可联合化疗治疗恶性肿瘤,而且可联合干扰素-α 在治疗中晚期原发性肝癌时起到增效作用,显著延长肝癌患者生存期<sup>[10]</sup>。

参芪扶正注射液无论对于乳腺癌术前新辅助化疗,术后辅助化疗,还是晚期乳腺癌化疗均具有减毒、增效、扶正作用<sup>[11-13]</sup>。同时参芪扶正注射液联合放疗治疗乳腺癌可增强患者免疫力,减轻放射性损伤<sup>[14]</sup>。在三阴性乳腺癌的化疗中,参芪扶正注射液同样具有减毒增效作用<sup>[8,15]</sup>。本研究发现参芪扶正注射液可抑制 basal-like 型乳腺癌细胞 MDA-MB-231 细胞增殖并诱导其发生凋亡,其作用强度与药物浓度相关,具有时间依赖性。

研究发现三阴性乳腺癌 p53 表达明显高于非三阴性乳腺癌,提示三阴性乳腺癌的恶性表型可能与 p53 基因高表达具有一定相关性<sup>[16]</sup>。本课题组既往研究发现参芪扶正注射液单作用于小鼠肝转移瘤模型后,显著上调基因共 123 个,其中较为重要的是该药物上调凋亡相关基因 PUMA 基因<sup>[17]</sup>;另外体内实验发现荷 S180 小鼠注射参芪扶正注射液后,PUMA 基因的表达明显上调,提示参芪扶正注射液诱发肿瘤细胞凋亡而发挥其抗肿瘤作用的分子机制可能是通过上调 PUMA 基因的表达<sup>[18]</sup>。作为 p53 的下游靶基因,PUMA 基因在 p53 依赖途径和非依赖途径的凋亡过程中都发挥着重要作用<sup>[19]</sup>。研究发现 PUMA 提高表阿霉素导致乳腺癌细胞凋亡的敏感性<sup>[20]</sup>。本研究发现参芪扶正注射液上调 MDA-MB-231 细胞 PUMA 基因的表达。本研究结果显

示,参芪扶正注射液可上调 MDA-MB-231 细胞的 PUMA 基因和蛋白表达。因此推测参芪扶正注射液促进 MDA-MB-231 凋亡的分子机制可能为上调 PUMA 通路,发挥抗肿瘤作用。为参芪扶正注射液对三阴性乳腺癌的临床治疗提供一定实验基础。

[参考文献]

[ 1 ] Ross J S. Multigene classifiers, prognostic factors, and predictors of breast cancer clinical outcome [J]. *Adv Anat Pathol*, 2009, 16(4):204-215.

[ 2 ] Perou C M, Sorlie T, Eisen M B, et al. Molecular portraits of human breast tumours [J]. *Nature*, 2000, 406(6797):747-752.

[ 3 ] Yadav B S, Chanana P, Jhamb S. Biomarkers in triple negative breast cancer: A review [J]. *World J Clin Oncol*, 2015, 6(6):252-263.

[ 4 ] 刘鹏熙,周瑞芳,谭敏. 黄芪注射液对 basal-like 型乳腺癌 MDA-MB-231 细胞株增殖和凋亡的影响 [J]. *中华乳腺病杂志:电子版*, 2009, 3(2):181-186.

[ 5 ] 林菁,唐建武,祁蕙. 黄葵素对三阴性乳腺癌 MDA-MB-231 细胞的体内外抑制作用 [J]. *中国药理学通报*, 2014, 30(2):253-256.

[ 6 ] 邵喜英,蔡锦威,金洪传,等. 川楝素对乳腺癌 MDA-MB-231 细胞增殖的抑制作用 [J]. *江苏医药*, 2015, 41(11):1255-1257.

[ 7 ] 张强,蔡军波,陈鑫,等. 参芪扶正注射液联合化疗治疗晚期三阴性乳腺癌 32 例 [J]. *中国药师*, 2013, 16(12):1866-1867.

[ 8 ] Hikiş P, Kiliańska Z M. PUMA, a critical mediator of cell death-one decade on from its discovery [J]. *Cell Mol Biol Lett*, 2012, 17(4):646-669.

[ 9 ] 唐杰,何海浪,许荣龙,等. 参芪扶正注射液联合放疗治疗非小细胞肺癌的 Meta 分析 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2015, 21(1):203-208.

[ 10 ] 汪唐顺,陈晓珩,丁治国,等. 参芪扶正注射液联合干

扰素- $\alpha$  治疗中晚期原发性肝癌 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2014, 20(14):174-177.

[ 11 ] 陈俊民,谢贤和,刘华,等. 参芪扶正注射液用于晚期乳腺癌化疗患者的临床观察 [J]. *现代中西医结合杂志*, 2010, 19(21):2651-2652.

[ 12 ] 王伟. 参芪扶正注射液联合新辅助化疗治疗乳腺癌临床研究 [J]. *中医学报*, 2015, 30(4):466-467.

[ 13 ] 李小雷,王晓琦,屈海鸥. 参芪扶正注射液联合化疗方案对乳腺癌患者的临床疗效 [J]. *中国临床药理学杂志*, 2015, 31(4):267-269.

[ 14 ] 任渐平,李先明,吴超权,等. 参芪扶正注射液对乳腺癌术后放疗保护作用的临床观察 [J]. *中医药学报*, 2005, 33(3):32-33.

[ 15 ] 洪锐东. 参芪扶正注射液联合化疗治疗晚期三阴性乳腺癌的效果 [J]. *北方药学*, 2015, 12(6):25-26.

[ 16 ] Silwal P L, Vollan H K, Chin S F, et al. TP53 mutation spectrum in breast cancer is subtype specific and has distinct prognostic relevance [J]. *Clin Cancer Res*, 2014, 20(13):3569-3580.

[ 17 ] 丁治国,李乃卿,陶德胜,等. 参芪扶正注射液对小鼠肝转移癌组织基因表达谱的影响 [J]. *中国中西医结合杂志*, 2008, 28(2):135-138.

[ 18 ] 丁治国,史晓光,李兰芳,等. 参芪扶正注射液对荷 S180 小鼠肿瘤细胞凋亡的影响 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2008, 14(10):37-38.

[ 19 ] Xu T, Fan B, Lv C, et al. Slug mediates nasopharyngeal carcinoma radioresistance via downregulation of PUMA in a p53-dependent and-independent manner [J]. *Oncol Rep*, 2015, 33(5):2631-2638.

[ 20 ] Sun C G, Zhuang J, Teng W J, et al. PUMA gene transfection can enhance the sensitivity of epirubicin-induced apoptosis of MCF-7 breast cancer cells [J]. *Genet Mol Res*, 2015, 14(2):5742-5749.

[责任编辑 张丰丰]