

阳和汤含药血清通过 p38/STAT3 信号通路对乳腺癌 MCF-7 细胞凋亡的影响

杨硕¹, 李康乐², 朱中博¹, 黄芊³, 姚佳³, 职媛³, 窦建卫^{2*}

(1. 甘肃中医药大学 基础医学院, 兰州 730000;

2. 西安交通大学 药学院, 西安 710061; 3. 西安市中医医院, 西安 710021)

[摘要] **目的:** 以有丝分裂原激活蛋白激酶(p38)/信号传导与转录激活因子3(STAT3)信号通路为基础,探究阳和汤含药血清对乳腺癌 MCF-7 细胞凋亡的影响。**方法:** 制备含生药 1 g·mL⁻¹的阳和汤药液,将 SD 大鼠随机分为空白组(蒸馏水),阳和汤高、中、低剂量组(24,12,6 g·kg⁻¹),灌胃后制备阳和汤含药血清,用 10% 含药血清干预 MCF-7 细胞,通过细胞增殖及细胞毒性实验(CCK-8)检测阳和汤含药血清对 MCF-7 细胞增殖的影响;通过流式细胞术检测 MCF-7 细胞的凋亡情况;通过蛋白免疫印迹法(Western blot)检测 p38 和 STAT3 蛋白的表达情况;通过实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)检测 B 细胞淋巴瘤/白血病-x1(Bcl-x1)及生存素(Survivin) mRNA 表达的情况。**结果:** CCK-8 实验显示,与空白组比较,阳和汤含药血清抑制 MCF-7 细胞增殖,且呈时间与剂量依赖性。其中高剂量组抑制作用最为明显,不同时间抑制率分别达到 38%,45%,54% ($P < 0.01$);流式细胞术实验表明,与空白组比较,阳和汤含药血清中、高剂量组细胞凋亡率明显增加,且呈剂量依赖性,凋亡率分别达 11.6%,16.5% ($P < 0.05$, $P < 0.01$);Western blot 表明,与空白组比较,阳和汤中、高剂量含药血清组 p38,STAT3 蛋白表达减少($P < 0.01$),且呈剂量依赖性;Real-time PCR 实验表明,与空白组比较,阳和汤中、高剂量含药血清组 Bcl-x1, Survivin mRNA 表达减少($P < 0.05$, $P < 0.01$),且呈剂量依赖性。**结论:** 阳和汤含药血清可以促进乳腺癌 MCF-7 细胞的凋亡,可能与 p38/STAT3 信号通路有关。

[关键词] 阳和汤; 含药血清; 乳腺癌 MCF-7 细胞; 有丝分裂原激活蛋白激酶(p38)/信号传导与转录激活因子3(STAT3)

[中图分类号] R22;R242;R2-031;R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2020)05-0006-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20192222

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20190802.1238.007.html>

[网络出版时间] 2019-08-02 13:37

Effect of Serum Containing Yanghetang on Apoptosis of MCF-7 Cells in Breast Cancer Through p38/STAT3 Signaling Pathway

YANG Shuo¹, LI Kang-le², ZHU Zhong-bo¹, HUANG Qian³, YAO Jia³, ZHI Yuan³, DOU Jian-wei^{2*}

(1. School of Basic Medicine, Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China;

2. School of Pharmacy, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710061, China;

3. Xi'an Hospital of Traditional Chinese Medicine, Xi'an 710021, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of serum containing Yanghetang (YHT) on the apoptosis of MCF-7 cells in breast cancer based on the mitogen-activated protein kinase (p38)/signal transduction and transcriptional activator 3 (STAT3) signal pathway. **Method:** YHT liquid with crude drug 1 g·mL⁻¹ was prepared. Female SD rats were randomly divided into control group (distilled water), and high, medium and low-

[收稿日期] 20190516(028)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81873311,81573983);西安市卫生健康委员会课题项目(SZJ201907)

[第一作者] 杨硕,在读硕士,从事方剂配伍研究,E-mail:734916256@qq.com

[通信作者] *窦建卫,博士,副教授,副主任医师,从事中药复方抗癌药效物质基础研究,E-mail:djw@mail.xjtu.edu.cn

dose YHT groups (24, 12, 6 g·kg⁻¹). YHT-medicated serum was prepared, and 10% medicated serum was used to intervene MCF-7 cells. Cell proliferation and cytotoxicity assay (CCK-8) was used to detect the effect of serum containing YHT on MCF-7 cell proliferation, apoptosis of MCF-7 cells was detected by flow cytometry protein expressions of p38 and STAT3 were detected by Western blot, Quantitative Real-time PCR (Real-time PCR) was used to detect the expressions of B-cell lymphoma/leukemia-x1 (Bcl-x1) and Survivin mRNA. **Result:** CCK-8 assay showed that YHT serum inhibited the proliferation of MCF-7 cells in a time and dose-dependent manner compared with the blank group. The inhibitory effect was most obvious in the high-dose group, with the inhibition rates of 38%, 45% and 54% at different time points ($P < 0.01$). Flow cytometry showed that, compared with the blank group, the apoptosis rate in the medium and high-dose groups increased significantly in a dose-dependent manner, with the apoptosis rates at 11.6% and 16.5% respectively ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Western blot analysis showed that, compared with the blank group, the expressions of p38 and STAT3 protein was decreased in high, medium-dose YHT groups ($P < 0.01$) in a dose-dependent manner. Compared with the blank group, the expressions of Bcl-x1 and Survivin mRNA were decreased in high, medium-dose YHT groups ($P < 0.05$, $P < 0.01$) in a dose-dependent manner. **Conclusion:** YHT serum can promote the apoptosis of MCF-7 cells in breast cancer, which may be related to the p38/STAT3 signaling pathway.

[**Key words**] Yanghetang; drug containing serum; MCF-7 cells in breast cancer; mitogen-activated protein kinase (p38) /signal transduction and transcriptional activator 3 (STAT3)

在世界范围内,乳腺癌已成为威胁女性健康的最常见恶性肿瘤之一^[1]。根据最新统计,2018 年全世界新诊断的女性乳腺癌患者达 210 万,占女性癌症患者总数的近 1/4^[2]。近几十年来,乳腺癌的发病率在我国呈不断升高趋势,且呈年轻化发展,已成为我国女性发病率第一位的恶性肿瘤^[3-4]。乳腺癌病机复杂,其发病原因至今尚无统一定论,甚至约 50% 病因无从查证^[5]。目前乳腺癌的治疗主要以手术为主,并配合或单独使用放疗、化疗、免疫及内分泌治疗等。祖国医学在乳腺癌的治疗中积累了丰富的临床经验,其中以清·王维德所著的《外科证治全生集》最为突出。该书系统阐述了乳腺癌(乳岩)的病因病机及转归,并创造了阳和汤。乳腺癌阳气化生不利,气机失调,瘀阻内生,阳和汤以温润之力助其运化,消散痰瘀^[6]。近年来相关实验研究发现,阳和汤可以有效抑制乳腺癌细胞的生长^[7]。

有丝分裂原激活蛋白激酶(p38)/信号传导与转录激活因子 3(STAT3) 信号传导通路是细胞内重要的信号通路。该通路的激活可以上调凋亡抑制基因 B 细胞淋巴瘤/白血病-x1 (Bcl-x1) 及生存素(Survivin),促进细胞增殖,阻碍细胞凋亡,表现出致癌作用^[8]。本实验拟通过 p38/STAT3 信号通路,研究阳和汤含药血清对乳腺癌 MCF-7 细胞凋亡的影响,探讨阳和汤抗乳腺癌的作用机制,为临床用药提供实验依据。

1 材料

1.1 细胞株及动物 乳腺癌 MCF-7 细胞购于上海和元生物技术有限公司(批号 HYC3204),传至 4 ~ 5 代;SPF 级雌性 SD 大鼠 20 只,体质量 180 ~ 220 g,购于西安交通大学实验动物中心,合格证号 SCXK(陕)2017-0003,饲养于西安交通大学实验动物中心 SPF 级动物实验室。符合西安交通大学医学部生物医学伦理委员会指导原则与要求(批号 2018-191)。

1.2 药品及试剂 阳和汤方药组成:熟地黄 30 g,肉桂 3 g,麻黄 2 g,鹿角胶 9 g,白芥子 6 g,姜炭 2 g,甘草片 3 g,土贝母 15 g(原书记载治疗乳岩加土贝母五钱)。上述中药购买于北京同仁堂,由西安交通大学药学院窦建卫副教授按照 2015 年版《中国药典》一部进行鉴定,鉴定所购买中药无误。

DMEM 培养基,0.25% 胰酶(美国 Hyclone 公司,批号分别为 J180009,AD21573271);胎牛血清(美国 Gibco 公司,批号 42G1189K);细胞增殖检测(CCK-8)试剂盒(上海七海复泰生物科技有限公司,批号 20160406);Annexin V-FITC/碘化丙啶(PI)(江苏凯基生物技术股份有限公司,批号 20190114);BCA 蛋白定量试剂盒,RIPA 裂解液,SDS-PAGE 凝胶配制试剂盒,5 × 蛋白上样缓冲液(西安赫特科技有限公司,货号分别为 WB003, WB009, WB005, R0993);p38,STAT3 单克隆抗体(美国 Santa 公司,批号分别为 SC-271120, SC-8019);RNAiso Plus(日本 TaKaRa 公司,批号 9108);逆转录试剂盒(北京

康润诚业生物科技有限公司,批号 8BC01); β -肌动蛋白(β -actin,上海碧云天生物技术有限公司,批号 AF0003)。

1.3 仪器 FacsCalibur™ 型流式细胞仪(美国 Becton, Dickinson 公司);PowerPac™ 型电泳仪电源,Trans-blot 型转印槽,CFX Connect™ 型实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)仪(美国 Bio-Rad 公司);Centrifuge 5424R 型冷冻离心机(德国 Eppendorf 公司);1510 型全波长酶标仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司);DS-11 型微量分光光度计(中国倍辉科技有限公司);ECLIPSE Ts2 型倒置显微镜(日本尼康公司);Genegnome XRQ 型专业化学发光成像系统(中国基因有限公司)。

2 方法

2.1 阳和汤药液的制备 将熟地黄、肉桂、白芥子、姜炭、甘草片、土贝母先用冷水浸泡 30 min,再加入蒸馏水 1 000 mL 中煎煮,大火烧开后用小火煮 30 min,加入麻黄煮 10 min。往药渣中再加入蒸馏水 600 mL 煎煮 30 min,2 次药液混合后加入鹿角胶烊化,小火浓缩至 70 mL,制备成含生药 $1 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的阳和汤药液,4 ℃ 保存备用^[9]。

2.2 阳和汤含药血清制备及分组 将 20 只雌性 SD 大鼠随机分为阳和汤高、中、低剂量组和空白组。通过体表面积换算得出(成人 60 kg,大鼠体质量 200 g),大鼠每天相应服用剂量为 $5.98 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ^[10]。设置阳和汤高、中、低剂量分别为 24, 12, 6 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$,空白组给予蒸馏水。大鼠每天灌 2 次胃,第 3 天最后 1 次灌胃结束 1 h,戊巴比妥钠腹腔注射麻醉,腹主动脉取血,离心后取血清,滤膜过滤,-20 ℃ 保存备用。

2.3 CCK-8 法检测细胞增殖 将对数期生长的细胞接种到 96 孔板中,每孔约 4 000 个细胞。阳和汤高、中、低剂量组分别在完全培养基中加入相应 10% 含药血清,分别培养 24, 48, 72 h 后更换完全培养基 100 μL ,每孔加入 CCK-8 10 μL ,CO₂ 培养箱中继续培养 4 h,全波长酶标仪 450 nm 处测吸光度 A,计算平均值,绘制生长曲线。

2.4 流式细胞术检测细胞凋亡 将细胞接种到 6 孔板中,每孔约 5×10^5 个细胞。细胞分组及培养同 2.3 项,培养 48 h,收集细胞,PBS 洗涤 2 次,Binding buffer 500 μL 重悬,加入 Annexin V/EGFP 5 μL 混匀,再加入 PI 5 μL ,室温,避光反应 10 min,1 h 内在流式细胞仪上检测细胞凋亡。

2.5 蛋白免疫印迹法检测相关蛋白表达 将细胞

接种到 6 孔板中,每孔约 5×10^5 个细胞。细胞分组及培养同 2.3 项,干预细胞 48 h,弃培养基,PBS 洗 2 次,RIPA 裂解工作液 200 μL 提蛋白,BCA 蛋白定量,5 \times 蛋白上样缓冲液灭活,SDS-PAGE 电泳,转膜,封闭 2 h,一抗(1:1 000)4 ℃ 过夜,TBST 洗涤,二抗(1:1 万)慢摇 2 h,TBST 洗涤,显影。测条带灰度值,完成蛋白表达量的定量分析。

2.6 Real-time PCR 检测相关 mRNA 表达 将细胞接种到 6 孔板中,每孔约 5×10^5 个细胞。细胞分组及培养同 2.3 项,干预细胞 48 h,RNAiso Plus 提取总 RNA,取 RNA 5 μg 反转录为 cDNA。进行 PCR 反应,反应条件:95 ℃ 10 min,95 ℃ 10 s,60 ℃ 1 min,共循环 40 次。运用相对表达量 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法进行数据分析。引物由宝生物工程大连有限公司合成,见表 1。

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequences

引物	序列(5'-3')	长度/bp
GAPDH	上游 AAGCTGAGTCATGGGTAGTT	167
	下游 AATCCTCCCGGTGACATTTA	
Bel-x1	上游 TGTGGATGACTGACTACCTG	209
	下游 GGCATGTTGACTTCACTTCT	
Survivin	上游 GGTGGACCGCTAAGAG	371
	下游 CCGCAGTTTCTCAAATTCT	

2.7 统计学方法 采用 SPSS 18.0 统计软件进行统计分析,计量资料运用 $\bar{x} \pm s$ 表示,若数据符合正态分布,采用单因素方差分析。若数据不符合正态分布,采用非参数检验中多个独立样本 Kruskal-Wallis H 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 阳和汤含药血清对 MCF-7 细胞增殖的影响 阳和汤含药血清分别干预 MCF-7 细胞 24, 48, 72 h,与空白组比较,阳和汤含药血清中、高剂量组的细胞生长明显受到抑制($P < 0.05$, $P < 0.01$),干预 72 h 后各组细胞生长均受到显著抑制($P < 0.01$)。结果表明,阳和汤含药血清能抑制 MCF-7 细胞的增殖,呈时间与剂量的依赖性。其中高剂量组抑制作用最为明显,24, 48, 72 h 抑制率分别达到 38%, 45%, 54%。见表 2。

3.2 阳和汤含药血清对 MCF-7 细胞凋亡的影响 阳和汤含药血清分别干预 MCF-7 细胞 48 h,与空白组比较,阳和汤中、高剂量组细胞凋亡率明显增加($P < 0.05$, $P < 0.01$),呈剂量依赖性。结果表明

表 2 阳和汤含药血清对 MCF-7 细胞增殖的影响

Table 2 Effect of serum containing Yanghetang on MCF-7 cell proliferation

组别	剂量/ g·kg ⁻¹	A($\bar{x} \pm s, n=3$)			抑制率/%		
		24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
空白	-	1.505 ± 0.073	1.522 ± 0.016	1.446 ± 0.025	-	-	-
阳和汤	6	1.362 ± 0.076	1.162 ± 0.035	1.024 ± 0.021	9	24 ²⁾	29 ²⁾
	12	1.111 ± 0.100	0.984 ± 0.015	0.871 ± 0.020	26 ¹⁾	35 ²⁾	40 ²⁾
	24	0.924 ± 0.021	0.838 ± 0.040	0.658 ± 0.025	38 ²⁾	45 ²⁾	54 ²⁾

注:与空白组比较¹⁾P < 0.05, ²⁾P < 0.01(表 3~5 同)。

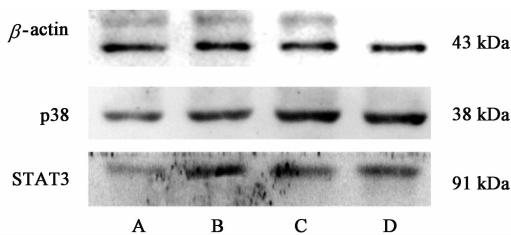
阳和汤含药血清可通过凋亡抑制 MCF-7 细胞增殖。见表 3。

表 3 阳和汤含药血清对细胞凋亡的影响($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 3 Effect of serum containing Yanghetang on apoptosis of cells($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	凋亡率/%
空白	-	6.170 ± 1.542
阳和汤	6	8.121 ± 1.129
	12	11.616 ± 1.359 ¹⁾
	24	16.541 ± 1.921 ²⁾

3.3 阳和汤含药血清对 MCF-7 细胞中 p38 和 STAT3 蛋白表达的影响 阳和汤含药血清干预 MCF-7 细胞 48 h,与空白组比较,阳和汤中、高剂量组 p38 蛋白表达量显著降低(P < 0.01),阳和汤低、中、高剂量组 STAT3 蛋白表达量显著降低(P < 0.01)。呈剂量依赖性。见图 1,表 4。



A~C. 阳和汤高、中、低剂量组;D. 空白组

图 1 MCF-7 细胞中 p38 和 STAT3 蛋白表达电泳

Fig.1 Electrophoresis of p38 and STAT3 protein expressions in MCF-7 cells

3.4 阳和汤含药血清对 MCF-7 细胞中 Bcl-x1, Survivin mRNA 表达的影响 阳和汤含药血清干预 MCF-7 细胞 48 h,与空白组相比,阳和汤中、高剂量组 Bcl-x1, Survivin mRNA 表达均明显减少(P < 0.05, P < 0.01)。均呈剂量依赖性。见表 5。

表 4 阳和汤含药血清对细胞中 p38, STAT3 蛋白表达的影响($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 4 Effect of serum containing Yanghetang on expressions of p38 and STAT3 in cells($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	p38/ β -actin	STAT3/ β -actin
空白	-	1.086 ± 0.015	0.448 ± 0.026
阳和汤	6	1.032 ± 0.038	0.231 ± 0.017 ²⁾
	12	0.658 ± 0.011 ²⁾	0.135 ± 0.012 ²⁾
	24	0.327 ± 0.019 ²⁾	0.027 ± 0.051 ²⁾

表 5 阳和汤含药血清对细胞中 Bcl-x1, Survivin mRNA 表达的影响($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 5 Effect of Yanghetang on Bcl-x1 and Survivin mRNA expressions in cells($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	Bcl-x1	Survivin
空白	-	1.001 ± 0.141	1.032 ± 0.320
阳和汤	6	0.841 ± 0.049 ¹⁾	0.896 ± 0.007
	12	0.521 ± 0.022 ²⁾	0.651 ± 0.016 ¹⁾
	24	0.311 ± 0.012 ²⁾	0.430 ± 0.015 ²⁾

4 讨论

乳腺癌位居中国恶性肿瘤发病率前列,其死亡率位居女性恶性肿瘤死亡率的第 4 位^[11]。目前,乳腺癌的治疗仍以手术为主,放、化疗等为辅,虽然能在一定程度上控制病情的发展,但疾病的高复发率及转移率大大影响着患者的生存质量与生存周期。中医药是祖国的瑰宝,近年来研究发现,中药能抑制肿瘤细胞的增殖,配合西医治疗能改善患者的生存质量,延长生存周期。清·王维德在《外科证治全生集》中详细阐述乳腺癌的发病及转归,并创立阳和汤。

《黄帝内经·素问·阴阳应象大论》言:“阳化气,阴成形。”乳腺癌病机总属本虚标实,阳气化生不足,痰凝、血瘀闭阻不通。阳和汤具有温阳散寒、化阴通滞的功效。近年来研究发现,阳和汤能提高

乳腺癌患者正气,改善术后转移症状,提高患者生存质量,延长患者生存周期^[12-14]。本课题组前期发现,阳和汤能抑制乳腺癌在裸鼠体能的生长、增殖与转移^[15]。

增殖、浸润和转移是恶性肿瘤致病的主要手段。p38 具有促进肿瘤细胞浸润转移的作用;STAT3 激活后诱导多种与细胞增殖、分化、生存、凋亡密切相关的关键基因的异常高表达,促进细胞增殖、恶性转化、阻碍细胞凋亡,表现出致癌作用^[16-17]。p38 能直接磷酸化 STAT3-C 末端的保守的丝氨酸残基 ser-727,激活 STAT3 并使之与 Ras 途径相联系,调控 STAT3 与靶基因的结合^[18]。STAT3 可以上调凋亡抑制基因 Bcl-xl, Survivin^[8]。本实验通过观察 p38/STAT3 信号通路上相关蛋白、基因的表达,来探讨阳和汤治疗乳腺癌的分子机制。

通过实验结果分析发现,阳和汤含药血清可以明显抑制 MCF-7 细胞的增殖,促进 MCF-7 细胞的凋亡,进而影响 MCF-7 细胞的生长。阳和汤含药血清干预下,与空白比较,p38 蛋白表达量明显降低,STAT3 磷酸化过程从而降低,STAT3 蛋白表达量随之降低。随着 STAT3 的减少,降低了与 Ras 途径的联系,阻断凋亡抑制 Bcl-xl, Survivin mRNA 表达,因此 Bcl-xl, Survivin mRNA 表达量降低。实验结果表明,阳和汤含药血清对 MCF-7 细胞凋亡的影响,可能与 p38/STAT3 信号通路有关。

本实验从 p38/STAT3 信号通路阐述阳和汤治疗乳腺癌的分子机制,为临床应用提供了一定的实验支持。但是,乳腺癌发病机制复杂,涉及多条通路、多靶点的共同作用,在进一步的实验中,探索新方法,进一步完善其机制。

[参考文献]

[1] GINSBURG O, BRAY F, COLEMAN M P, et al. The global burden of women's cancers: a grand challenge in global health [J]. Lancet, 2017, 389 (10071): 847-860.

[2] BRAY F, FERLAY J, SOERJOMATARAM I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68 (6): 394-424.

[3] JIANG X, TANG H, CHEN T. Epidemiology of gynecologic cancers in China [J]. J Gynecol Oncol, 2018, 29(1): e7.

[4] WEN D, WEN X, YANG Y, et al. Urban rural disparity in female breast cancer incidence rate in China and the increasing trend in parallel with socioeconomic development and urbanization in a rural setting [J]. Thoracic Cancer, 2017, 9(2): 262-272.

[5] LAWSON J S, GUNZBURG W H, WHITAKER N J. Viruses and human breast cancer [J]. Future Microbiol, 2007, 1(1): 33-51.

[6] 张欣萌, 郝云, 吴红彦, 等. “化气成形”理论对乳腺癌辨证论治的指导意义 [J]. 国医论坛, 2016, 31 (5): 14-15.

[7] 窦建卫, 任翠翠, 郝云, 等. 阳和汤对裸鼠荷人乳腺癌组织中 CD90 表达的影响及其抑瘤作用 [J]. 世界中医药, 2015, 10(3): 391-393, 398.

[8] IWANMARU A, SZYMANSKI S, IWADO E, et al. A novel inhibitor of the STAT3 pathway induces apoptosis in malignant glioma cells both *in vitro* and *in vivo* [J]. Oncogene, 2006, 26(17): 2435-2444.

[9] 康红钰, 王雁梅, 杜钢军, 等. 阳和汤血清增强阿霉素对 MCF-7 肿瘤细胞抑制作用机制的研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(18): 196-199.

[10] 王力倩, 李仪奎, 符胜光, 等. 血清药理学方法研究探索 [J]. 中药药理与临床, 1997(3): 30-32.

[11] 郑荣寿, 孙可欣, 张思维, 等. 2015 年中国恶性肿瘤流行情况分析 [J]. 中华肿瘤杂志, 2019, 41(1): 19-28.

[12] 吴峰. 阳和汤治疗乳岩之初探 [J]. 四川中医, 2008, 26(12): 30-32.

[13] 孟祥悦. 加味阳和汤治疗乳腺癌骨转移的临床疗效 [J]. 中外医疗, 2017, 36(26): 159-161.

[14] 陈英, 张松卿, 吴仲玖, 等. 阳和汤加味治疗乳房疾病验案 2 则 [J]. 浙江中医杂志, 2005, 40 (2): 82-82.

[15] 窦建卫, 黄芊, 赵天一, 等. 阳和汤对三阴性乳腺癌裸鼠移植瘤生长及 IL-6、MMP-9 表达的影响 [J]. 中国现代医药杂志, 2016, 18(12): 1-4.

[16] WAGNER E F, NEBREDA A R. Signal integration by JNK and p38 MAPK pathways in cancer development [J]. Nat Rev Cancer, 2009, 9(8): 537-549.

[17] 郑炜望. STAT3 与肿瘤关系的研究综述 [J]. 现代中西医结合杂志, 2015, 24(27): 3074-3078.

[18] RAVICHANDRAN K, TYAGI A, DEEP G, et al. Interleukin-1 beta-induced iNOS expression in human lung carcinoma A549 cells: involvement of STAT and MAPK pathways [J]. Indian J Exp Biol, 2011, 49 (11): 840-847.

[责任编辑 张丰丰]