临床研究 DOI：10.13406/j.cnki.cyxb.003935

SESN3 通过 mTOR 信号轴抑制 HR+乳腺癌增殖和促进内分泌治疗敏感性增加的机制研究

汤昊铮，舒　丹，刘胜春
（重庆医科大学附属第一医院乳腺甲状腺外科，重庆　400016）

【摘　要】目的：研究应激诱导蛋白 Sestrin3（stress-induced protein sestrin3，SESN3）在激素受体阳性（hormone receptor+，HR+）乳腺癌（breast cancer，BC）中对于肿瘤的增殖能力以及内分泌治疗敏感性的影响及机制。**方法：**通过癌症基因组图谱（the cancer genome Atlas，TCGA）数据库，分析 BC 组织和癌旁组织 SESN3 的表达情况；并收集 BC 组织和癌旁组织临床样本通过免疫组化（immunohistochemistry，IHC）芯片，验证 SESN3 的表达情况；同时蛋白质印迹法（Western blot）检测 SESN3 在不同病理亚型的 BC 细胞株中的蛋白表达情况。利用 HR+BC 细胞系构建过表达 SESN3 和敲减 SESN3 的模型，利用细胞计数试剂盒（cell counting kit-8，CCK-8）和集落形成实验检测细胞增殖能力，利用 Western blot 检测细胞周期变化，利用皮下荷瘤小鼠模型验证 SESN3 对体内增殖的影响。通过生物信息学分析和 Western blot 验证 SESN3 调控增殖的下游机制。**结果：**TCGA 数据库分析和临床样本均显示，SESN3 基因在 BC 组织表达较癌旁组织更低，且 SESN3 高表达的患者无进展生存期更长，与其他亚型 BC 细胞系相比，HR+BC 细胞系 MCF-7 和 T-47D 中 SESN3 表达较高。利用 MCF-7 和 T-47D 构建敲减（MCF-7^{KD} 和 T-47D^{KD}）和过表达（MCF-7^{OE} 和 T-47D^{OE}）的细胞模型，相较于对照组，MCF-7^{KD} 和 T-47D^{KD} 细胞的增殖能力增加，在 G2 和 M 期的细胞分布更多。在体内成瘤实验中，MCF-7^{KD} 组小鼠肿瘤生长明显增加。通过生信分析挖掘到哺乳动物雷帕霉素靶蛋白（mammalian Target of Rapamycin，mTOR）信号通路与 SESN3 呈负相关，经 Western blot 验证，MCF-7^{KD} 和 T-47D^{KD} 的 mTOR 表达明显增加，且自噬相关基因的蛋白水平减少。接着，进一步验证了 MCF-7^{KD} 和 T-47D^{KD} 细胞对内分泌治疗敏感性降低。利用 mTOR 抑制剂依维莫司（everolimus，EVE）处理 MCF-7、T-47D 和 MCF-7^{KD}、T-47D^{KD}，MCF-7^{KD} 和 T-47D^{KD} 组增殖能力明显降低，由于 mTOR 通路调控细胞自噬减少导致内分泌治疗敏感性降低，在 EVE 处理之后 MCF-7^{KD}、T-47D^{KD} 细胞对内分泌治疗他莫昔芬（tamoxifen，TAM）的敏感性明显增加。**结论：**通过整合数据库分析、临床样本验证及体内外模型实验验证，发现 SESN3 通过 mTOR 通路抑制 HR+BC 细胞的增殖，并增强内分泌治疗敏感性。

【关键词】乳腺癌；应激诱导蛋白 Sestrin3；他莫昔芬；激素受体阳性
【中图分类号】R737.9　　**【文献标志码】**A

Mechanism of sestrin 3 inhibiting the proliferation of hormone receptor-positive breast cancer and enhancing the sensitivity to endocrine therapy via the mammalian target of rapamycin signaling axis

Tang Haozheng，*Shu Dan*，*Liu Shengchun*
（*Department of Breast and Thyroid Surgery*，*The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University*）

【Abstract】*Objective*：To investigate the effect of the stress-induced protein sestrin 3（SESN3）on tumor proliferation and the sensitivity to endocrine therapy in hormone receptor-positive（HR+）breast cancer（BC）and its mechanism. ***Methods*：**The cancer genome atlas（TCGA）database was used to analyze the expression level of SESN3 in breast cancer tissue and paracancerous tissue. The clinical samples of breast cancer tissue and paracancerous tissue were collected，and immunohistochemistry（IHC）microarray was used to validate the expression of SESN3. Western blot was used to measure the protein expression level of SESN3 in BC cell lines with different pathological subtypes. HR+BC cell lines were used to establish the models of SESN3 overexpression and knockdown，and cell counting kit-8（CCK-8）assay and colony formation assay were used to assess the proliferative capacity of cells；Western blot was used to analyze cell cycle alterations；a subcutaneous xenograft mouse model was used to validate the effect of SESN3 on proliferation *in vivo*. The bioinformatics analysis and Western blot were used to investigate the downstream mechanisms of SESN3 in regulating proliferation. ***Results*：**The analysis of TCGA database and clinical samples showed that the expression of the SESN3 gene in BC tissue was significantly lower than that in paracancerous tissue，and the patients with high SESN3 expression had a longer progression-free survival time. Compared with the other subtypes of BC cell lines，the HR+ BC cells lines MCF-7 and T-47D had a relatively high expression level of SESN3. MCF-7 and T-47D cell lines were used to establish the cell models of knockdown（MCF-7^{KD} and T-47D^{KD}）and overexpression（MCF-7^{OE} and T-47D^{OE}），and compared with the control

作者介绍：汤昊铮，Email：1183404642@qq.com，研究方向：乳腺癌。
通信作者：刘胜春，Email：liushengchun1968@163.com。
基金项目：重庆市医学科研资助项目（编号：2025DBXM005）。
优先出版：https://link.cnki.net/urlid/50.1046.R.20250911.1014.002（2025-09-12）

group, MCF-7^{KD} and T-47D^{KD} cells showed increases in proliferative capacity and the proportion of cells arrested in the G2 and M phases. *In vivo* tumorigenesis experiments showed a significant increase in tumor growth in mice in the MCF-7^{KD} group. The bioinformatics analyses showed a significant negative correlation between the mammalian Target of Rapamycin (mTOR) signaling pathway and SESN3 expression, and Western blot validation showed a significant increase in the expression of mTOR in MCF-7^{KD} and T-47D^{KD} cells, as well as reductions in the protein expression levels of autophagy-related genes. Subsequently, we further confirmed that the knockdown of MCF-7 and T-47D cells led to a decreased sensitivity to endocrine therapy. In addition, MCF-7、T-47D、MCF-7^{KD}、and T-47D^{KD} cell lines were treated with the mTOR inhibitor everolimus (EVE), and there was a significant reduction in proliferative capacity in the MCF-7^{KD} group and the T-47D^{KD} group; since the mTOR pathway reduced the sensitivity to endocrine therapy by reducing cell apopto-sis, there was a significant increase in the sensitivity to endocrine therapy with tamoxifen (TAM). ***Conclusion***: The integrated database analysis, clinical sample validation, and *in vivo*/*in vitro* experimental models show that SESN3 inhibits the proliferation of HR+ BC cells via the mTOR pathway and enhances the sensitivity to endocrine therapy.

【Key words】breast cancer; stress-induced protein sestrin 3; tamoxifen; hormone receptor-positive

根据2022年全球癌症统计数据（global cancer, GLOBOCAN）的统计数据，乳腺癌（breast cancer, BC）患病率和病死率占女性肿瘤的23.8%和15.4%[1]，严重危害女性健康。其中雌激素受体阳性（estrogen receptor-positive, ER+）和（或）孕激素受体阳性（progesterone receptor-positive, PR+）的癌症被归类为腔面型癌[2]。在所有类型BC中，大约75%的BC是激素受体阳性（hormone receptor-positive, HR+）BC[3]。HR+BC发病机制复杂，激素信号通路在其发生发展中居核心地位。内分泌治疗是治疗HR+BC的主要策略[2]，其中最常见的3种内分泌治疗药物是：选择性雌激素受体调节剂（selective estrogen receptormodulator, SERM）、选择性雌激素降解剂（selective estrogen receptor degrader, SERD）、芳香化酶抑制剂（aromatase inhibitor, AI）[4]。他莫昔芬（tamoxifen, TAM）作为的SERM药物，是HR+BC患者的首选治疗药物[5-6]。但是，长期使用TAM导致耐药。其耐药机制：受到自噬影响[7]，并且ER的突变、过表达或缺失等均可能引发耐药[8-9]。同时磷脂酰肌醇3-激酶（phosphoinositide 3-Kinase, PI3K）通路与细胞髓细胞瘤病致癌基因（cellular myelocytomatosis oncogene, c-MYC）以及周期素依赖性激酶调节蛋白（E1cyclin-dependent kinase regulator E1, cyclin E1）及D等细胞周期调节因子的异常激活促进内分泌耐药性的发展[10-11]。

Sestrin家族是由3个成员组成的蛋白质家族，Sestrins参与抗氧化、代谢调控和抗衰老等多种生理过程[12-13]。应激诱导蛋白Sestrin3（stress-induced protein sestrin3, SESN3）的表达受到各种因素的调节，包括缺氧、氧化应激、代谢应激或DNA损伤[14]。SESN3影响多种信号通路，进而影响细胞的生存和死亡[15-17]。而当细胞能量不足时，通过激活SESN3，从而促进细胞存活[18]。在不同类型的肿瘤中，Sestrin家族的不同成员表现出不同的作用。在肺癌中，应激诱导蛋白Sestrin2（stress-induced protein sestrin2, SESN2）表达上调，通过调节腺苷酸活化蛋白激酶（AMP-activated protein kinase, AMPK）/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白（mammalian target of rapamycin, mTOR）信号通路发挥肿瘤抑制作用[19-20]。在肝癌中，SESN3通过抑制Hedgehog信号通路发挥肿瘤抑制作用[21]。在白血病中作为肿瘤抑制因子被报道，这是通过抑制哺乳动物雷帕霉素靶蛋白复合物（mammalian targ-et of rapamycin complex, mTOR）实现的[22]。但是SESN3的表达变化在BC中生物学功能尚不清楚。本研究通过整合数据库分析、临床样本验证及体内外模型实验验证了SESN3通过mTOR通路抑制HR+BC细胞的增殖，并增强内分泌治疗敏感性。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 主要试剂 DMEM培养基、胎牛血清、100 IU/mL抗青霉素、100 mg/mL抗链霉素购自美国Thermo Fisher Scientific公司；c-MYC、甘油醛-3-磷酸脱氢酶（glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH）、G1/S-特异性周期蛋白D1（G1/S-specific cyclin-D1, Cyclin-D1）、sequestosome-1（SQSTM1/p62）、mTOR、细胞周期依赖性激酶抑制蛋白1A（cyclin-dependent kinase inhibitor 1, P21）、β-微管蛋白（beta-tubulin, β-Tublin）、磷酸化雌激素受体（phosphorylated estrogen receptor, p-ER）、细胞周期蛋白依赖性激酶4（CyclinDependent Kinase 4, CDK4）单克隆抗体购自武汉Proteintech公司：微管相关蛋白1A/1B轻链3A/B（microtubule-associated protein 1A/1B-light chain 3A/B, LC3A/B）、磷酸化哺乳动物雷帕霉素靶蛋白（Ser2248）（phosphorylated mammalian target of rapamycin, p-mTOR）购自美国Cell Signaling Technology公司：SESN3多克隆抗体购自上海Abmart公司；辣根过氧化物酶标记的山羊抗鼠及抗兔IgG以及蛋白提取试剂购自上海碧云天：RNA提取试剂和逆转录试剂盒，细胞计数试剂盒（cell counting kit-8, CCK-8）、依维莫司（evermolis, EVE）、4-羟基他莫昔芬（4-hydroxytamoxifen, 4-OHT）购于美国MedChemExpress公司；PVDF膜购自美国Bio-rad公司：质粒提取试剂购于北京TIANGEN公司。

1.1.2 细胞 密歇根癌症基金会-10A细胞（michigan cancer

foundation-10A，MCF10A）、密歇根癌症基金会-7（michigan cancer foundation-7）、T-47D 乳腺癌细胞系（T-47D breast cancer cell line，T-47D）、MD 安德森癌症中心-转移性乳腺-231（MD anderson - metastatic breast-231，MDA-MB-231）、斯隆-凯特琳乳腺癌细胞-3（sloan-kettering breast cancer 3，SKBR-3）、均购于中国生命科学院上海细胞库。

1.1.3 标本收集 收集重庆医科大学附属第一医院乳腺外科手术切除乳腺癌患者肿瘤组织及癌旁组织，同时收集患者诊疗及随访信息，样本采集征得患者同意，并签署知情同意书，本研究获得重庆医科大学附属第一医院伦理委员会批准（伦理批号：K2023-465）。本研究共纳入 59 对乳腺癌患者肿瘤组织及癌旁组织，其中包括 6 例三阴性 BC，53 例 HR+BC，59 例纳入患者中术前新辅助化疗患者共有 4 例。

1.2 方法

1.2.1 质粒设计与构建 SESN3 敲减质粒设计：shRNA SESN3-1（LV-ECMV-shSESN3-1-BSD），序列：5'-GCGTTTGTGATCTTGCTAATG-3'；shRNA SESN3-2（LV-ECMV-shSESN3-2-BSD），序列：5'-ATCTGATGTCTCTCGATATAT-3'；shRNA SESN3-3（LV-ECMV-shSESN3-3-BSD），序列：5'-GGAGAAGAGCATTTGCCAACA-3'。质粒提取：具体步骤见 TIANGEN 无内毒素小提试剂盒。

1.2.2 慢病毒感染 HEK 293T 细胞培养条件为 37 ℃，5%CO_2，计数后 HEK293T 铺 6 孔板，每孔（5~10）×10^5。铺板后待细胞贴壁约 24 h，在 100 μL 减血清培养基（optimal minimal essential medium，Opti-MEM）中混合 Lip3000 2.5 μL、P3000 2.5 μL、pMD 2.G 0.5 μg、PSPAX2 1 μg、质粒 1.5 μg，将混合物逐滴加入 HEK293T 细胞，放回孵箱培养 16~24 h 后更换 2 mL 新鲜培养基，72 h 收集病毒上清干扰 MCF-7、T-47D 细胞，感染后 48 h 给予 5 μg/mL 灭瘟素进行稳定株筛选，每隔 2~3 d 传代重新给予灭瘟素筛选，重复 2~3 次。后经过蛋白质印迹法（Western blot）和逆转录聚合酶链式反应（reverse transcription polymerase chain reaction，RT-PCR）进行 SESN3 表达量鉴定。

1.2.3 细胞培养 MCF10A、MCF-7、T-47D、SKBR-3 在含有 10% 的胎牛血清、1% 的链霉素和青霉素的 DMEM 培养基中，于 37 ℃的 5% 的 CO_2 培养箱中培养；BT-474、HCC1937、MDA-MB-231、MDA-MB-468 在含有 10% 的胎牛血清、1% 的链霉素和青霉素的 1640 培养基中培养。

1.2.4 实时荧光定量聚合酶链式反应（real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction，qPCR） 根据 MCE RNA 提取试剂提取细胞组总 RNA，逆转录得到 cDNA，后进行 RT-PCR。PCR 反应条件：95 ℃ 30 s，94 ℃ 30 s，Tm 30 s，72 ℃ 20 s 40 个循环，每个样品 3 个重复孔，RT-qPCR 反应体系。RT-qPCR 引物：GAPDH-上游引物：5'-GGAGCGAGATCCCTCCAAAAT-3'，GAPDH-下游引物：5'-GGCTGTTGTCATACTTCTCAGG-3'；SESN3-上游引物：5'-AAAGTTTCGGATGGTC-3'，SESN3-下游引物：5'-TCTCAGGATAGCAGGTC-3'。各试剂用量，SYBR green 5 μL、Forward primer 2.5 μL、Reverse primer 2.5 μL、cDNA 1 μL、ddH_2O 添加至 10 μL。

1.2.5 Western blot 检测 总蛋白提取：用 RIPA 蛋白裂解液提取各组细胞总蛋白，BCA 法测定蛋白浓度，酶标仪测量，562 nm 处读取吸光度（absorbance，A）值，根据标准曲线和使用的样品体积计算出样品的蛋白浓度：配备 10% 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳（sodium dodey sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis，SDS-PAGE）胶，配制新鲜的电泳液、转膜液、TBST 缓冲液、蛋白封闭液、抗体稀释液。凝胶电泳：正常安装电泳槽，确保内侧不漏液，往电泳槽内加入足量电泳缓冲液，蛋白 marker（5 μL 双侧）和蛋白样品（50 μg）以 150 v 恒压电泳 60 min。转膜：根据胶的大小剪合适大小的 PVDF 膜，200~220 mA 恒流转膜，根据蛋白分子量的大小确定转膜时间，1 kd/1 min。确认转膜完成后将 PVDF 膜完全浸没于 5% 脱脂牛奶中封闭，放入摇床室温 2 h。封闭完成后，按照抗体说明书推荐比例使用 1×TBST 稀释一抗，将 PVDF 膜蛋白面完全浸没于一抗稀释液中，放于 4 ℃冰箱内摇床上过夜孵育，二抗 37 ℃孵育 2 h 后。配置发光液，将膜置于仪器内，参考仪器说明书进行检测。

1.2.6 细胞计数试剂盒（cell counting kit-8，CCK-8）检测细胞增殖和细胞活力 将待检测的细胞消化计数后，每孔以 3 000 个/孔密度接种于 96 孔板中，每孔加入 100 μL 的细胞悬液，设 3 个复孔。在细胞孵箱内预培养细胞，待细胞贴壁后加入不同浓度的 4-OHT。待细胞经过处理不同时间后，每孔加入 100 μL CCK-8 工作液（针对细胞增殖实验，每天检测细胞活力，放入细胞孵箱内培养 2 h），将 96 孔板置于酶标仪检测 450 nm 处的 A 值。

1.2.7 细胞周期分析和流式细胞术分析 吸去培养上清液，用不含钙或镁离子的预冷磷酸盐缓冲液（phosphate-buffered saline，PBS）洗涤 1 次。用胰蛋白酶消化并收集单细胞悬液，4 ℃下以 1 000 r/min 离心 5 min，弃去上清后用预冷的 PBS 洗涤并离心 2 次，调整细胞浓度至 1×10^6 个/mL，用 70% 乙醇重悬，置 4 ℃冰箱过夜。1 000 r/min 离心 5 min 弃去上清；加入 1 mL 遇冷的 PBS 清洗 2 次细胞沉淀；碘化丙啶染色（propidium Iodide staining，PI）：加入 500 μL PI 溶液，重悬细胞进行染色，室温避光孵育 1 h 后在流式细胞仪上进行检测 1 000 r/min 离心 5 min，吸走上清并加入试剂染色。1 h 将样品转移至流式细胞仪进行检测。

1.2.8 平板克隆形成实验 细胞传代时计数，MCF-7 铺板 1 000 个/孔密度，T-47D 铺板 2 000 个/孔密度待细胞生长密度至 70% 左右时吸去上清，PBS 清洗后加入 4% 多聚甲醛固定 15 min 后，使用结晶紫染色 30 min，后在明亮处拍照。

1.2.9 小鼠负瘤实验 购买的雌性小鼠周龄为 4~6 周，共 15 只，分为对照组、KD-2、KD-3，每组各 5 只小鼠。将稳转 MCF-7 乳腺癌细胞进行消化，离心后用 PBS 清洗。再次离心后弃上清，用 1 mL PBS 重悬并计数，根据计数，用 PBS 基质胶按照 1∶1 的比例配置细胞悬液，使得每 100 μL 悬液中含有 10^7 个细胞。用无菌注射器分别将 100 μL 实验组细胞悬液和 100 μL 对照组细胞悬液注射到小鼠左右腋皮下乳腺脂肪垫。并定期观察小鼠状态，每隔 1 周测量小鼠瘤体长径和短径。实验结束后取出小鼠皮下肿瘤，测量瘤体的长径短径和重量，并计算瘤体体积，体积计算公式为：0.5×长径×宽径^2。

1.3 统计学方法

所有统计学分析均使用 GraphPadPrism 9.1.2。计量资料以均数 ± 标准差（$\bar{x} \pm s$）表示，2 组比较采用 t 检验，多组间比较采用双因素方差分析。检验水准 α=0.05。

2 结 果

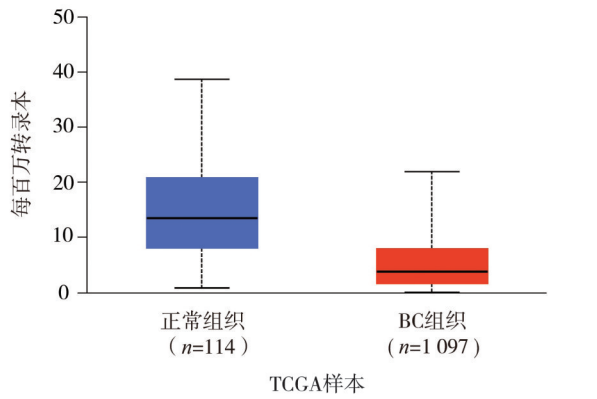
2.1 在乳腺癌中 SESN3 表达下降

本研究下载了来自癌症基因组图谱（the cancer genome

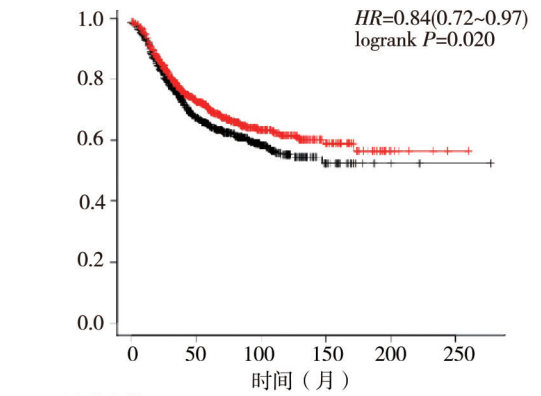
atlas，TCGA）-阿拉巴马大学伯明翰分校癌症数据分析工具（university of alabama at birmingham cancer data analysis tool，UALCAN）在线 BC 数据集进行分析 SESN3 在 BC 中的表达情况，发现 SESN3 在 BC 组织（n=1 097）中的表达低于正常组织（n=114）（P<0.001，图 1A）；进一步分析了 SESN3 对患者生存率的影响，SESN3 高表达的 BC 患者相较于低表达患者具有更长的无进展生存期（高表达组 n=1 012，低表达组 n=1 020，P=0.020，图 1B）。本研究收集了临床配对标本 BC 组织（n=59）和癌旁组织（n=59）进行免疫组织化学（immunohistochemistry，IHC）芯片分析，进一步证实 SESN3 在 BC 组织中低表达（t=2.859，P=0.005，图 1C）。进一步研究 SESE3 在乳腺癌亚型中的表达，本研究利用 TCGA 数据库对不同的 BC 亚型进行分析结果显示发现 SESN3 在 HR+BC 中表达较高；另外，本研究利用不同的 BC 亚型的人 BC 细胞系进行 Western blot 分析，发现 SESN3 在 MCF-7、T-47D 和 SKB-3 3 种 HR+BC 细胞系中表达较高（图 1D~1F）。

2.2 SESN3 抑制促进 HR+BC 细胞的增殖

为了探索 SESN3 对 BC 生物学特性的影响，本研究利用 shSESN3#1/2/3 质粒和 SESN3 过表达质粒包被慢病毒，对 MCF-7 和 T-47D 细胞进行了慢病毒感染，构建低表达 SESN3 的 MCF-7^{KD} 和 T-47D^{KD} 细胞，以及过表达 SESN3 的 MCF-7^{OE} 和 T-47D^{OE} 细胞。通过 RT-qPCR 和 Western blot 检测到 MCF-7^{KD} 和 T-47D^{KD} 中 SESN3 稳定低表达（与对照组相比，t=11.670，P<0.001，图 2A、B）。



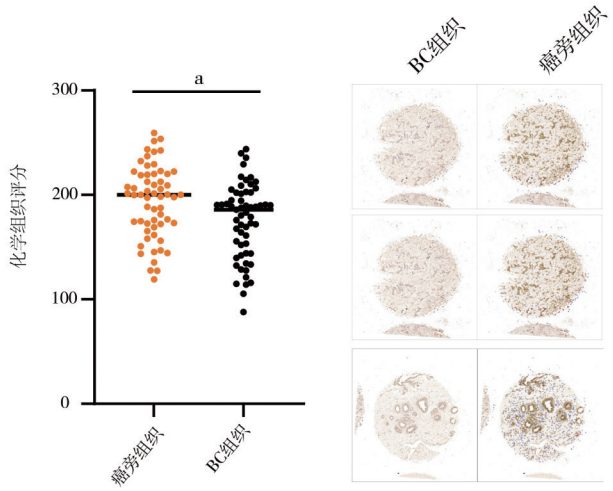
A. TCGA数据库分析SESN3在BC中的表达



风险人数					
低表达	1 020	537	162	24	3
高表达	1 012	555	184	44	7

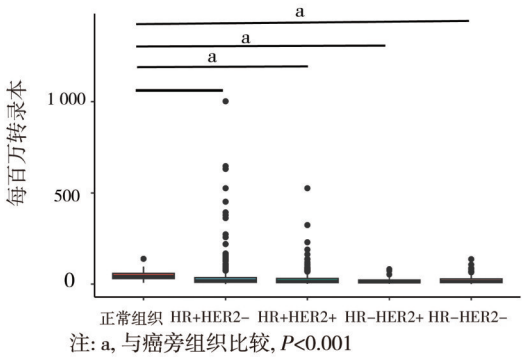
注：高表达组n=1 012，低表达组n=1 020；高表达组与低表达组相比，P<0.05

B. K-M Plotter中的生存分析



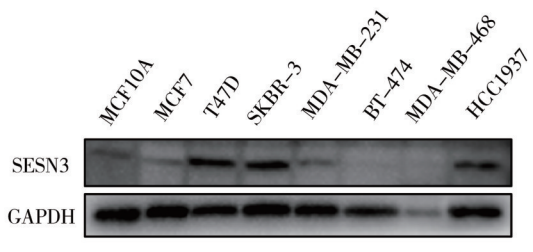
注：a，与癌旁组织比较，P<0.01

C. 免疫组织化学芯片分析SESN3在肿瘤和癌旁的表达及H-SCORE评分（n=59）

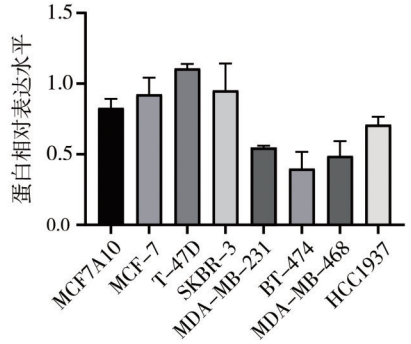


注：a，与癌旁组织比较，P<0.001

D. TCGA数据库中BC亚型中SESN3表达水平



E. Western blot检测SESN3蛋白在BC不同亚型细胞系的表达

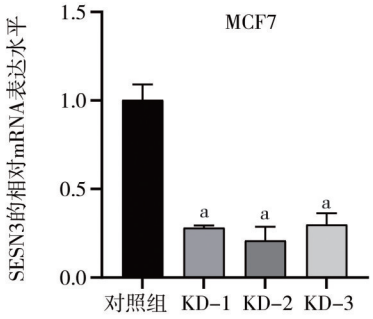


F.不同BC细胞系中SESN3的表达

图 1　SESN3 的表达与 BC 组织的发生相关

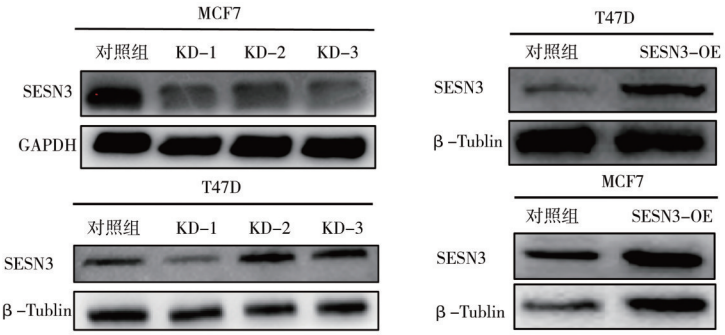
进一步利用CCK-8检测上述细胞模型的增殖情况，在MCF-7中与对照组相比，KD-2（t=9.189，P<0.001）和KD-3（t=7.012，P<0.001）A值明显增加；在T-47D中与对照组相比，KD-2（t=9.072，P<0.001）与KD-3（t=7.207，P<0.001）A值明显增加，而MCF-7^{OE}（t=10.360，P<0.001）和T-47D^{OE}（t=6.591，P<0.001）细胞A值明显降低（图2C）。同时利用平板克隆形成实验检测细胞活力，MCF-7^{KD}细胞（与对照组相比，KD-2，t=30.02，P<0.001；KD-3，t=7.545，P<0.01）和T-47D^{KD}细胞（与对照组相比，KD-2，t=8.958，P<0.001；KD-3，t=5.203，P<0.01）的集落形成数量明显增高（图2D）。

进一步通过流式细胞术检测了T-47D^{KD}细胞的细胞周期分布，结果显示，与对照组相比，T-47D^{KD}细胞的G_2+M期

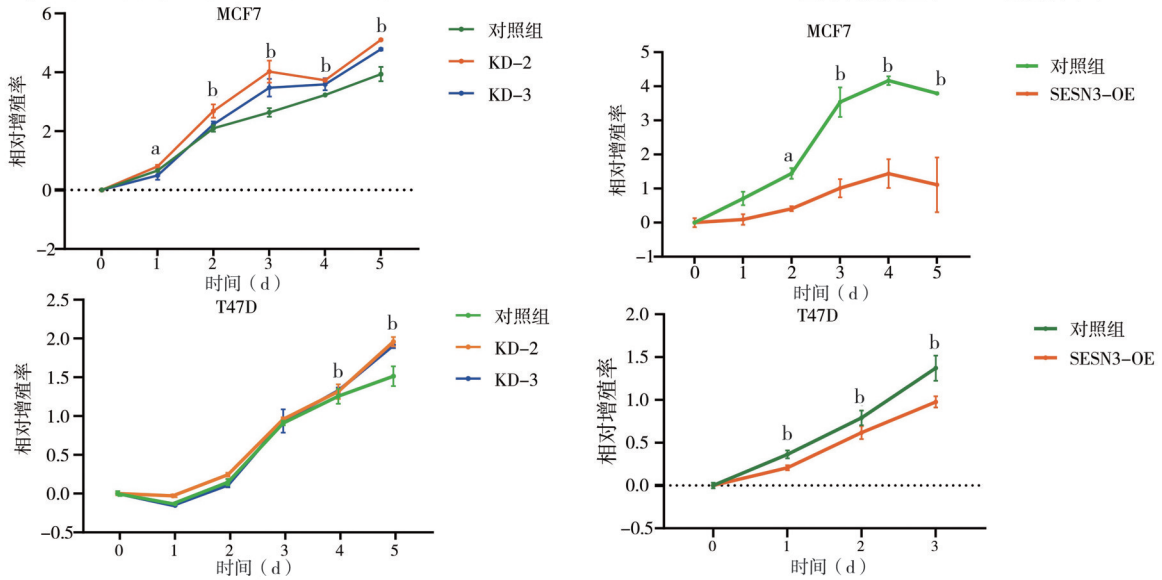


注：n=3，a，与对照组比较，P<0.001

A. RT-qPCR检测细胞模型中SESN3的mRNA的表达

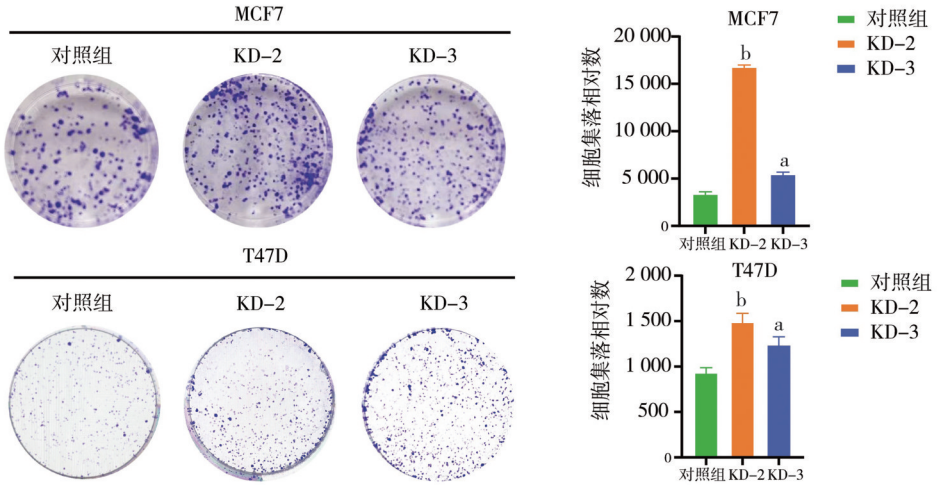


B. Western blot检测细胞模型中SESN3的蛋白水平



注：n=3；a，与对照组比较，P<0.01；b，与对照组比较，P<0.001

C. CCK-8检测增殖MCF-7、T-47D，MCF-7^{KD}、T-47D^{KD}和MCF-7^{OE}和T-47D^{OE}细胞的生长曲线



注：n=3；a，与对照组比较，P<0.01；b，与对照组比较，P<0.001

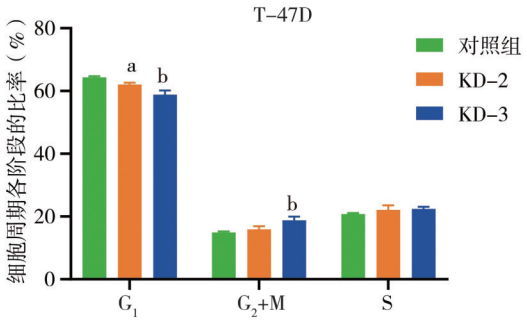
D. 集落形成检测MCF-7、T-47D，MCF-7^{KD}、T-47D^{KD}细胞活力

图2　SESN3抑制促进HR+BC细胞的增殖

细胞的数量增多（KD-3，t=5.846，P<0.01）（图 3A）。此外，Western bloting 显示，与对照组相比 MCF-7^{KD} 和 T-47D^{KD} 细胞中 c-MYC 和 Cyclin-D1、CDK4 等细胞周期相关标志性蛋白的表达增高而细胞周期蛋白依赖性激酶抑制因子 1A（cyclindependent kinase inhibitor 1A，P21）减少，并且 SESN3 敲减之后导致 ER 蛋白表达升高（图 3B）。

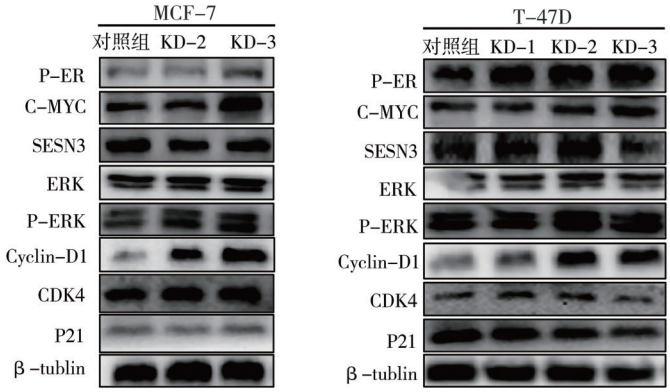
2.3 SESN3 抑制乳腺癌在体内增殖能力

本研究利用 MCF-7^{KD} 以及 MCF-7 细胞对裸鼠乳腺脂肪垫原位荷瘤，记录小鼠肿瘤体积变化，MCF-7^{KD} 组小鼠体积持续增加（与对照组相比，KD-2，t=1.022，P<0.001；与 KD-3，t=7.859，P<0.001）（图 4A）。5 周后的实验终点取出肿瘤组织进行比较，MCF-7^{KD} 组小鼠肿瘤体积较大（图 4B），与对照组小鼠相比，MCF-7^{KD} 组小鼠肿瘤体质量明显增加（与对照组相比，KD-2，t=3.103，P<0.05；KD-3，t=4.837，P<0.01）（图 4C）。接着，对小鼠肿瘤进行 IHC 检查，与对照组相比 MCF-7^{KD} 组的小鼠肿瘤中 SESN3 蛋白减少，从而导致 MCF-7^{KD} 组的小鼠肿瘤中 p-mTOR 的蛋白水平增加，且视网膜母细胞瘤蛋白（retinoblastoma protein，RB）表达减少，肿瘤增殖抗原（antigen KI-67，Ki-67）的增加（图 4D）。



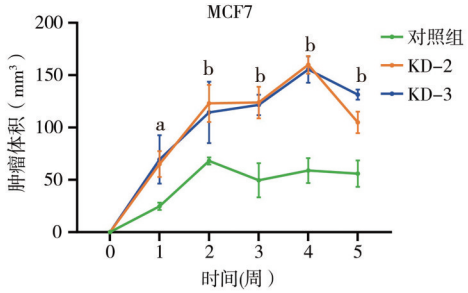
注：n=3；a，与对照组比较，P<0.05；b，与对照组比较，P<0.001

A. 采用流式细胞术分析细胞周期分布



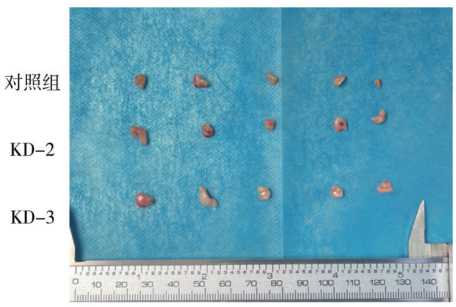
B. Western bloting检测，MCF-7^{KD}和T-47D^{KD}c-MYC、Cyclin-D1、CDK4、P-ER蛋白分别在 MCF-7，T-47D 对照组细胞、SESN3敲低细胞中的表达

图 3　SESN3 表达改变 HR+BC 细胞的细胞周期分布

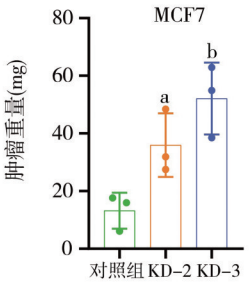


注：a，与对照组比较，P<0.01；b，与对照组比较，P<0.001

A. 小鼠肿瘤体积动态监测

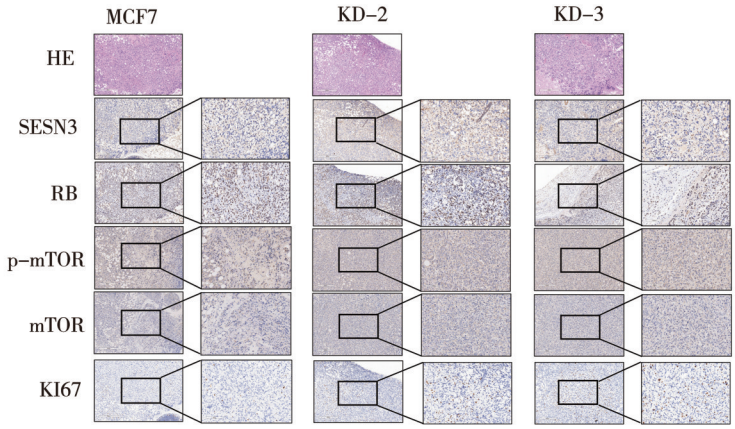


B. 5周后实验终点的小鼠肿瘤组织



注：n=3；a，与对照组比较，P<0.05；b，与对照组比较，P<0.01

C. 5周后实验终点的小鼠肿瘤重量统计



D. IHC染色检测小鼠肿瘤中SESN3、RB、KI67在SESN3敲减和对照的MCF-7小鼠肿瘤中表达的情况

图 4　体内模型表型验证

2.4　mTOR 信号通路在 SESN3 中负向调控

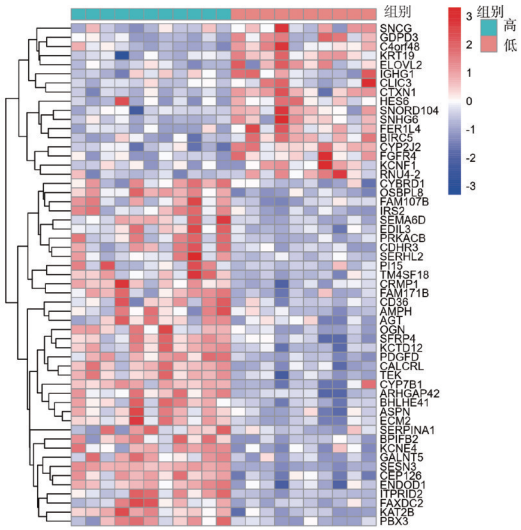
本研究利对 TCGA 数据库中 BC 的数据集分为 SESN3 高表达组和低表达组，并进行了差异分析和功能富集等分析。结果显示，低表达组中 γ-突触核蛋白（synuclein gamma，SNCG）、含甘油磷酸二酯磷酸二酯酶结构域蛋白 3（glycerophosphodiester phosphodiesterase domain containing3，GDPD3）和 4 号染色体开放阅读框 48（chromosome4 open reading frame 48，C4orf48）等基因明显升高，细胞色素 b 还原酶 1（cytochromeb reductase 1，CYBRD1）、氧固醇结合蛋白样蛋白（oxysterol-binding protein-like，OSBPL）和序列相似性家族 107 成员 B（family with sequence similarity 107 member B，FAM107B）等基因明显降低（图 5A）。进一步通过基因集富集分析（gene set enrichment analysis，GSEA）分析，发现 mTOR 信号通路在低表达组中富集（图 5B）。

进一步，本研究利用构建的细胞模型检测 mTOR 通路变化。Western blot 结果显示 MCF-7^{KD} 和 T-47D^{KD} 细胞相较于对照组 mTOR 的表达明显提高。相关研究表明，mTOR 通路调控细胞自噬[15]，最后检测了细胞模型自噬相关的蛋白表达，与对照组细胞相比 MCF-7^{KD} 和 T-47D^{KD} 组细胞中自噬相关蛋白 LC3A/B 蛋白的表达水平升高，而 P62 底物蛋白的表达水平降低（图 5C）。

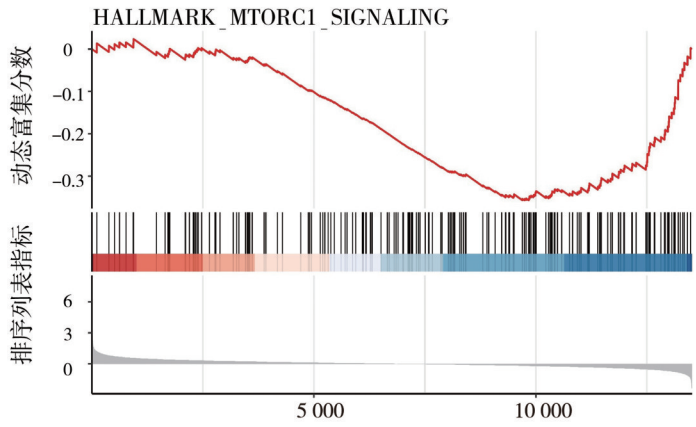
2.5　抑制 SESN3 表达降低 HR+BC 细胞对他莫昔芬敏感性

相关研究报道，PI3K/蛋白激酶 B（protein kinase B，AKT）/mTOR 通路激活可以促进 BC 细胞的增殖能力[23]，同时诱导 BC 细胞对抗雌激素治疗的耐药性[24-25]。那么，在低表达 SESN3 的 BC 患者是否对内分治疗产生药物抵抗。

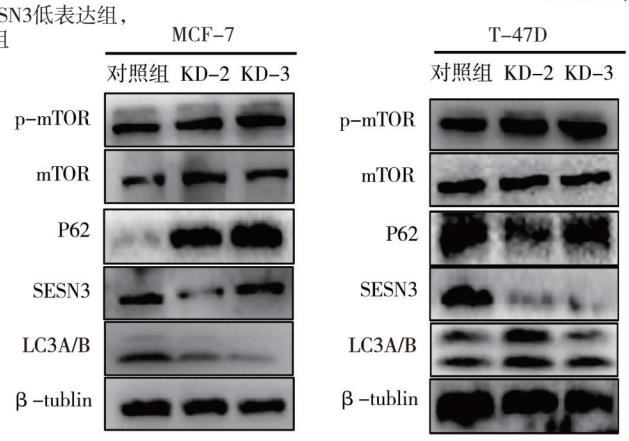
本研究选择 HR+BC 的治疗药物 4-OHT[5-6]，使用不同剂量 0、1、2、4、8、16 μmol/L 药物浓度处理对照组细胞和 MCF-7^{KD} 和 T-47D^{KD} 细胞，72 h 后使用 CCK-8 检测细胞活力以验证细胞对 4-OHT 的敏感性。在 MCF-7 中，与对照组相比，KD-2（t=10.760，P<0.01）和 KD-3（t=13.790，P<0.001）A 值较高；在 T-47D 中，与对照组相比，KD-2（t=6.212，P<0.01）和 KD-3（t=3.663，P<0.001）A 值较高；在 T-47D 中，与对照组相比，KD-2 组（t=6.212，P<0.01）和 KD-3 组（t=3.663，P<0.001）A 值较高，而在 T-47D^{OE} 细胞（t=7.890，P<0.001）中 A 值显著降低（图 6A）。通过以上的实验看到在 4-OHT 药物浓度在 4 μmol/L 时 MCF-7^{KD} 和 T-47D^{KD} 组细胞与对照组相比开始出现差异，本研究进一步选择 4 μmol/L 对时间梯度进一步验证，24 h 开始 MCF-7^{KD} 细胞相较于对照组对 4-OHT 的敏感性明显降低（t=18.950，P<0.001，图 6B）。另外，本研究利用课题前期构建耐药株 TAMR，通过 Western blot 检测 SESN3 表达情况，耐药细胞中 SESN3 表达下调（图 6C）。



A. 差异基因聚类分析图，红色为SESN3低表达组，蓝色为SESN3高表达组

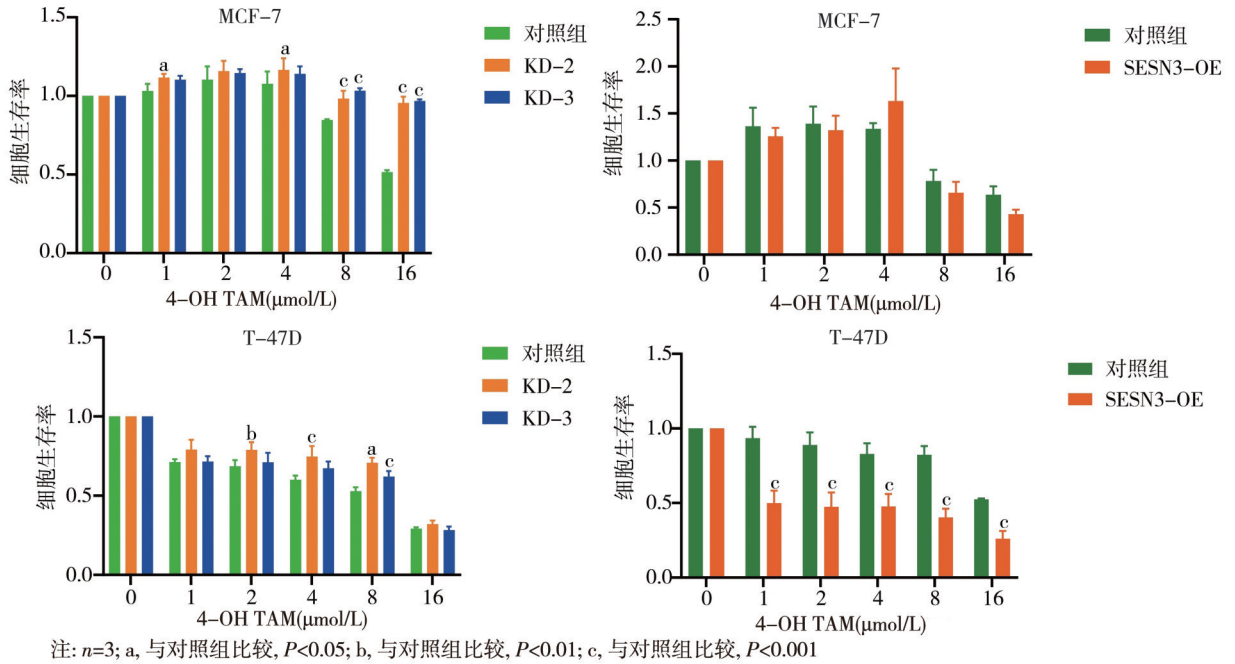


B. GSEA富集分析图



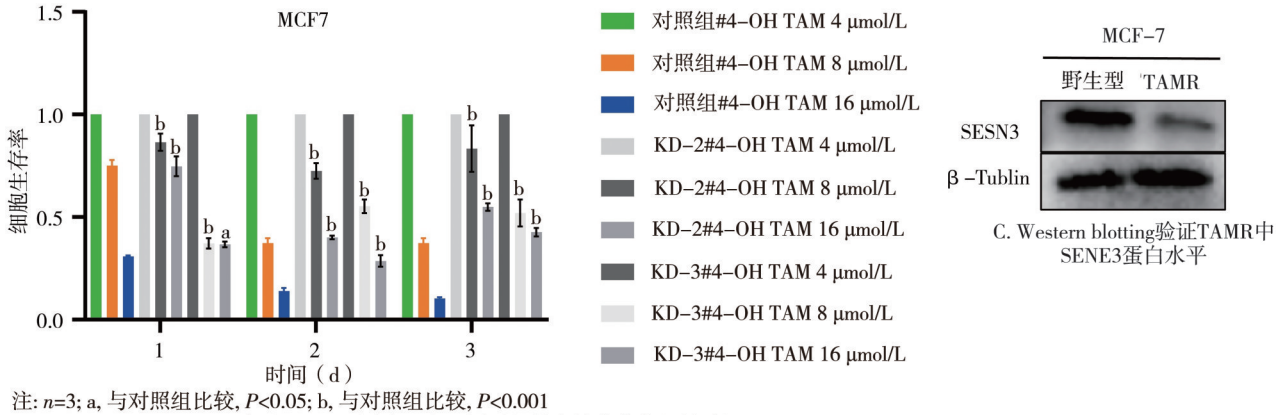
C. MCF-7^{KD}和T-47D^{KD}细胞mTOR和自噬相关标志物 P62、LC3A/B蛋白表达

图5　mTOR信号通路在SESN3中负向调控



注：n=3；a，与对照组比较，P<0.05；b，与对照组比较，P<0.01；c，与对照组比较，P<0.001

A. CCK-8检测SESN3不同表达对他莫昔芬的敏感性



注：n=3；a，与对照组比较，P<0.05；b，与对照组比较，P<0.001

B. CCK-8检测SESN3不同表达在不同时间梯度他莫昔芬的敏感性

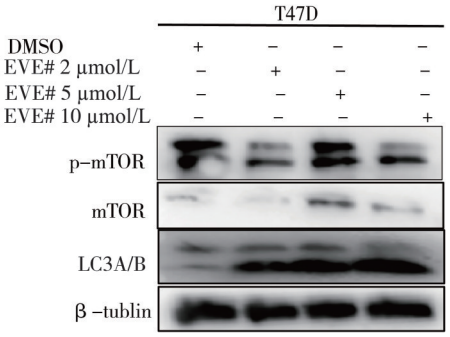
C. Western blotting验证TAMR中SENE3蛋白水平

图6　SESN3低表达降低了HR+BC细胞对他莫昔芬的敏感性

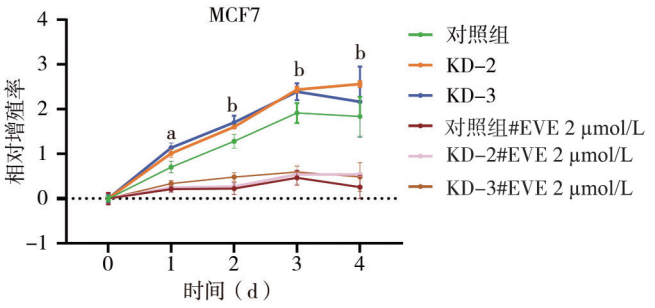
2.6　依维莫司逆转SESN3低表达导致的HR+BC内分泌治疗耐药以及增殖能力

为了进一步证实SESN3是否通过mTOR通路介导HR+BC细胞对TAM的耐药性，本研究利用mTOR抑制剂依维莫司（everolimus，EVE）处理细胞模型，并确定了2 μmol/L能效抑制HR+BC细胞中mTOR蛋白及下游自噬相关蛋白的表达（图7A）。进一步，本研究利用2 μmol/L EVE干预对照组以及MCF-7^{KD}细胞，在不同时间段（0、1、2、3、4、5 d）通过CCK-8检测细胞活力，发现阻断低表达SESN3的下游mTOR通路后MCF-7^{KD}细胞活力明显降低（与对照组相比，KD-2#EVE 2 μmol/L，t=9.109，P<0.001；KD-3#EVE 2 μmol/L，t=8.034，P<0.001，图7B）。在平板克隆形成实验中也观察到阻断低表达SESN3的下游mTOR通路后MCF-7^{KD}细胞活力明显降低（与对照组相比，KD-2#EVE 2 μmol/L，t=22.200，P<0.001；KD-3#EVE 2 μmol/L，t=17.330，P<0.001，图7C）。

为了检测EVE是否具有辅助内分泌治疗潜力，本研究尝试使用不同浓度梯度的4-OHT联合2 μmol/L EVE干预对照细胞以及T-47D^{KD}通过CCK-8检测细胞活力，联合用药后细胞的活力比对照组更低，且在使用4 μmol/L的4-OHT的效果最佳（与KD-2相比，KD-2#EVE 2 μmol/L，t=9.217，P<0.001；与KD-3相比，KD-3#EVE 2 μmol/L，t=3.585，P<0.01，图7D）。随后为进一步检测联合用药是否具有协同效应，本研究使用2 μmol/L EVE和4 μmol/L 4-OHT联合干预细胞模型，CCK8检测增殖情况，发现联合用药后T-47D^{KD}细胞增殖能力显著降低（与对照组相比，KD-3#OH TAM 4 μmol/L-EVE 2 μmol/L，t=30.030，P<0.001，图7E）；平板克隆形成实验结果提示，联合用药导致MCF-7^{KD}集落形成数量也明显降低（与对照组相比，KD-2#OH TAM 4 μmol/L-EVE 2 μmol/L，t=33.910，P<0.001；KD-3#OH TAM 4 μmol/L-EVE 2 μmol/L，t=23.990，P<0.001，图7F）。以上实验提示在HR+BC细胞中EVE可以逆转由于SESN3缺失带来的对内分泌治疗抵抗。

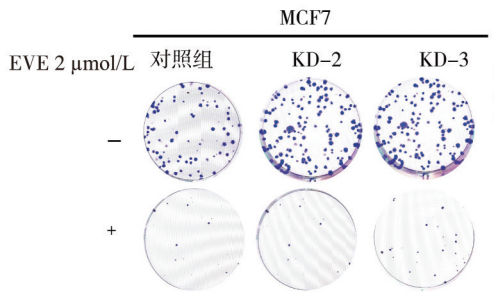


A. Western bolt检测EVE处理T47-D细胞后mTOR蛋白的表达



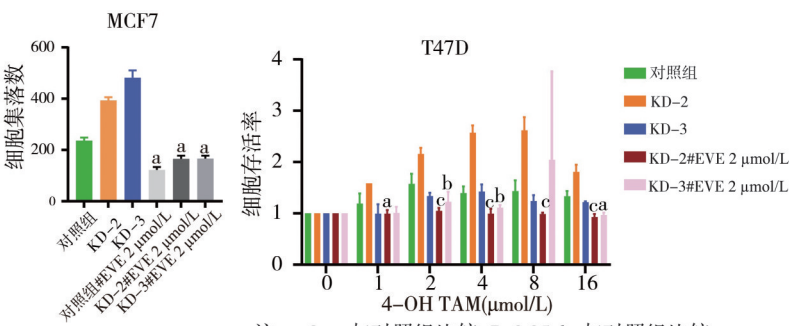
注: n=3; a, 与对照组比较, P<0.05; b, 与对照组比较, P<0.001

B. CCK8检测EVE处理后MCF-7细胞的生长曲线



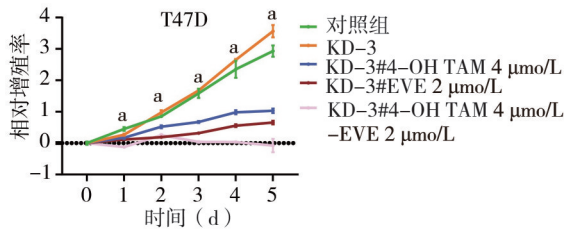
注: n=3; a, 与对照组比较, P<0.001

C. 集落形成实验验证EVE处理后MCF-7细胞集落形成能力



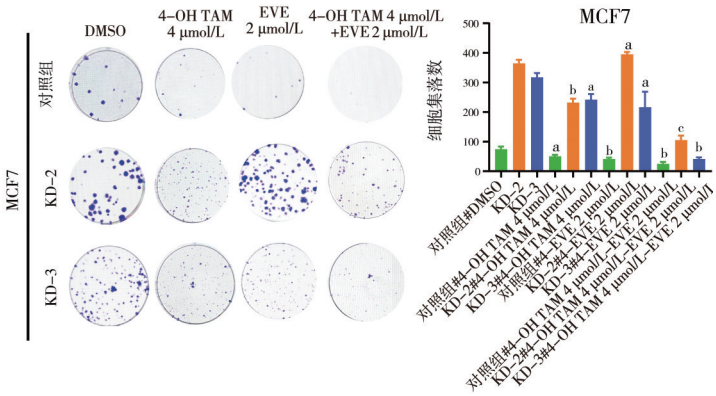
注: n=3; a, 与对照组比较, P<0.05; b, 与对照组比较, P<0.01; b, 与对照组比较, P<0.001

D. CCK8检测EVE 2 μmol/L联合4-OH TAM处理后T47D细胞活力



注: n=3; a, 与对照组比较, P<0.001

E. CCK8检测4-OH TAM（4 μmol/L）和EVE（2 μmol/L）联合处理后T-47D细胞的增殖生长曲线



注: n=3; a, 与对照组比较, P<0.05; b, 与对照组比较, P<0.01; c, 与对照组比较, P<0.001

F. 4-OH TAM（4 μmol/L）和EVE（2 μmol/L）联合处理后MCF-7的集落形成能力

图 7　联合用药明显提高SESN3低表达的内分泌治疗敏感性

3　讨　论

HR+BC约占所有BC的75%[3]严重危害女性健康，并对内分泌治疗有更好的反应和生存率[23-25]。本研究发现在HR+BC中SESN3表达更低。抑制SESN3的表达后，在体内外HR+BC模型中的增殖明显增加。进一步利用生信分析和实验验证，发现SESN3负调控mTOR通路，且证实了SESN3表达抑制导致HR+BC内分泌治疗敏感性降低与mTOR相关。同时使用mTOR抑制剂可以逆转SESN3在HR+BC缺失使导致肿瘤恶性生物学行为，联合mTOR抑制剂和内分泌治疗TAM更好地抑制了HR+BC。

TAM是HR+BC首选药物，但是由于TAM耐药而导致的癌症进展甚至死亡已成为主要问题。在当前的研究中，看到了一系列针对HR+BC耐药机制的探索与发现。例如，肿瘤细胞内的雌激素受体（estrogen receptor，ER）信号通路异常激活被认为是

耐药的关键因素之一。此外，PI3K/AKT/mTOR通路的异常也被证明与耐药密切相关，这提供了新的靶点，帮助开发更为精准的治疗策略。

SESN3属于Sestrins这个高度保守的蛋白质家族，在各种应激条件下诱导并且通过抑制活性氧（seactive oxygen species，ROS）或哺乳动物雷帕霉素靶蛋白复合物（mammalian target of rapamycin complex1，mTORC1）信号调控细胞稳态[26]。随着对肿瘤生物学理解的深入，Sestrin家族在肿瘤发生和发展中的作用逐渐受到关注。研究发现，Sestrin蛋白通过调控多条信号通路，包括AKT信号通路和肿瘤蛋白p53（tumor protein p53，P53）信号通路，参与肿瘤细胞的生长、存活和代谢调节。mTOR在细胞生长、增殖和代谢中起着关键作用。在多种癌症中，mTOR通路的异常激活与肿瘤的发生和进展密切相关，而SESN3作为mTOR通路的负调控因子，可能在抗肿瘤过程中发挥重要作用。

在本研究中，首先对TCGA-BC和来自临床标本BC组织和正常癌旁IHC芯片分析发现，SESN3在癌与癌旁组织中存在差异表达，与癌旁组织相比，BC中SESN3表达下降。随后，本研究对SESN3对HR+BC的生物学功能进行了探索。于是本研究构建了过表达（MCF-7^{OE}和T-47D^{OE}）和敲减SESN3（MCF-7^{KD}和T-47D^{KD}）的稳定细胞株，通过体外功能实验证明，敲减SESN3可以抑制HR+BC细胞的增殖和克隆形成能力，促进BC细胞周期进程。而在MCF-7^{OE}和T-47D^{OE}细胞中过表达SESN3后可以逆转这一现象。根据以上结果可以确定SESN3作为抑癌基因影响HR+BC细胞的增殖能力。接着为确认SESN3在BC中功能，进一步研究SESN3对体内肿瘤生长的影响，在小鼠肿瘤异种移植模型中发现，在干预SESN3表达后，小鼠肿瘤体积以及重量明显增加。

为深入探索SESN3调控HR+BC生物学功能的潜在机制，本课题组分析了TCGA数据库，发现mTOR以及细胞周期等相关因子与SESN3明显负相关。Western blot结果提示与对照组相比，抑制SESN3蛋白表达后，mTOR的蛋白也被抑制。同时，在敲减SESN3后可以使PI3K/AKT/mTOR通路和自噬及细胞周期激活。SESN3还通过激活AMPK来间接影响mTOR通路。AMPK作为能量感应器，能够在细胞能量不足时抑制mTORC1活性，从而促进自噬和细胞存活[27]。这种调控机制使得在针对mTOR相关的肿瘤中调节细胞的生长和自噬过程，从而影响肿瘤的发生与发展[28]。TAM耐药常伴随PI3K/AKT/mTOR通路的异常激活，mTORC1抑制自噬可能降低对他莫昔芬的敏感性[29]。同时mTOR通过mTORC1和哺乳动物雷帕霉素靶蛋白复合物（mammalian target of rapamycin complex2，mTORC2）这2个复合物调控细胞周期进程，促进细胞生长和增殖[30]。所以，为了了解HR+BC中SENE3的表达与HR+BC特异性治疗之间的关系，本研究了SENE3表达状况对TAM敏感性的作用。结果显示，SESN3的缺失使得HR+BC细胞对TAM治疗的敏感性降低，而过表达之后得到了相反的结果，并且Western blot提示当SESN3被抑制时BC细胞的自噬水平降低，导致内分泌治疗敏感性降低。

接着，为了探讨SESN3表达抑制后BC细胞对TAM敏感性的降低和细胞增殖能力的促进是否是由mTOR激活而导致的，本研究选择了一种有效的mTOR抑制剂EVE，在BC中它主要用于HR+BC，通过抑制mTORC1导致蛋白质合成减少、细胞周期停滞和细胞生长抑制以及抑制mTOR，间接抑制AKT的活性，从而抑制BC细胞的增殖和存活并且可以恢复对肿瘤细胞对TAM的敏感性[31-32]。在本研究中，因为SESN3缺失导致PI3K/AKT/mTOR通路异常激活而使得HR+BC细胞的增殖能力增加以及对4-OHT治疗敏感性降低，而在这种情况下使用EVE处理后，这些因SESN3缺失引起的细胞恶性表型得以逆转。同时单独使用2 μmol/L EVE、4 μmol/L 4-OHT或2 μmol/L EVE及4 μmol/L 4-OHT联合处理细胞，每天测量细胞活力变化。结果显示SESN3敲减后，BC细胞的增殖能力明显增加，但是使用2 μmol/L EVE、4 μmol/L 4-OHT都可以降低SESN3减少后带来的后果，并且在2种药物联合处理组差异最为明显，在平板克隆形成实验中也观察到相似的结果。

综合本研究的结果发现：SESN3在HR+BC起到重要作用，影响其生物学行为功能。SESN3在HR+BC中低表达，当SESN3表达抑制会引起mTOR信号通路的异常激活。从而促进BC细胞增殖和他莫昔芬治疗敏感性降低。在HR+BC中，EVE可逆转SESN3缺失导致的恶性表型，提示SESN3可作为HR+BC的新型生物标志物，而联合mTOR抑制剂或为克服内分泌治疗耐药的有效策略。但本研究为未对SENE3的上游机制未及探讨，在后续的研究中

会继续挖掘SENE3对HR+BC的影响，以期得到新的联合治疗靶点或内分泌治疗耐药靶点。

参 考 文 献

[1] Bray F, Laversanne M, Sung H, et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2024, 74(3): 229-263.

[2] Szostakowska M, Trębińska-Stryjewska A, Grzybowska EA, et al. Resistance to endocrine therapy in breast cancer: molecular mechanisms and future goals[J]. Breast Cancer Res Treat, 2019, 173(3): 489-497.

[3] Rozeboom B, Dey N, De P. ER+ metastatic breast cancer: past, present, and a prescription for an apoptosis-targeted future[J]. Am J Cancer Res, 2019, 9(12): 2821-2831.

[4] Rani A, Stebbing J, Giamas G, et al. Endocrine resistance in hormone receptor positive breast cancer-from mechanism to therapy[J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2019, 10: 245.

[5] Craig Jordan V. Tamoxifen: a most unlikely pioneering medicine [J]. Nat Rev Drug Discov, 2003, 2(3): 205-213.

[6] Baum M, Budzar AU, Cuzick J, et al. Anastrozole alone or in combination with tamoxifen versus tamoxifen alone for adjuvant treatment of postmenopausal women with early breast cancer: first results of the ATAC randomised trial[J]. Lancet, 2002, 359(9324): 2131-2139.

[7] Actis C, Muzio G, Autelli R. Autophagy triggers tamoxifen resistance in human breast cancer cells by preventing drug-induced lysosomal damage[J]. Cancers (Basel), 2021, 13(6): 1252.

[8] He LF, She CH, Jiang S, et al. Mammalian enabled protein enhances tamoxifen sensitivity of the hormone receptor-positive breast cancer patients by suppressing the AKT signaling pathway[J]. Biol Direct, 2024, 19(1): 21.

[9] DuPré NC, Hart JE, Holmes MD, et al. Particulate matter and traffic-related exposures in relation to breast cancer survival[J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2019, 28(4): 751-759.

[10] O'Sullivan CC. Overcoming endocrine resistance in hormone-receptor positive advanced breast cancer-the emerging role of CDK4/6 inhibitors[J]. Int J Cancer Clin Res, 2015, 2(4): 029.

[11] Zhang MY, Zhang XD, Ma T, et al. Precise subtyping reveals immune heterogeneity for hormone receptor-positive breast cancer[J]. Comput Biol Med, 2023, 163: 107222.

[12] Sousa JN, Queiroz LDRP, de Paula AMB, et al. Gallic acid as a Sestrin (SESN2) activator and potential obesity therapeutic agent: a molecular docking study[J]. Gene, 2023, 883: 147683.

[13] Qu JS, Luo MY, Zhang JW, et al. A paradoxical role for sestrin 2 protein in tumor suppression and tumorigenesis[J]. Cancer Cell Int, 2021, 21(1): 606.

[14] Lee JH, Budanov AV, Karin M. Sestrins orchestrate cellular metabolism to attenuate aging[J]. Cell Metab, 2013, 18(6): 792-801.

[15] Kozak J, Jonak K. Association between the antioxidant properties of SESN proteins and anti-cancer therapies[J]. Amino Acids, 2023, 55 (7): 835-851.

[16] Ding BX, Haidurov A, Chawla A, et al. p53-inducible SESTRINs might play opposite roles in the regulation of early and late stages of lung carcinogenesis[J]. Oncotarget, 2019, 10(65): 6997-7009.

[17] Li MY, Thorne RF, Wang RJ, et al. Sestrin2-mediated disassembly of stress granules dampens aerobic glycolysis to overcome glucose starvation[J]. Cell Death Discov, 2023, 9: 127.

[18] Fang H, Shi XM, Wan JY, et al. Role of sestrins in metabolic and aging-related diseases[J]. Biogerontology, 2024, 25(1): 9-22.

[19] Chae HS, Gil M, Saha SK, et al. Sestrin2 expression has regulatory properties and prognostic value in lung cancer[J]. J Pers Med, 2020, 10(3): 109.

[20] Khan N, Jajeh F, Khan MI, et al. Sestrin-3 modulation is essential for therapeutic efficacy of cucurbitacin B in lung cancer cells[J]. Carcinogenesis, 2017, 38(2): 184-195.

[21] Liu YJ, Kim HG, Dong E, et al. Sesn3 deficiency promotes carcinogen-induced hepatocellular carcinoma *via* regulation of the hedgehog pathway[J]. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis, 2019, 1865 (10): 2685-2693.

[22] Vakana E, Arslan AD, Szilard A, et al. Regulatory effects of sestrin 3 (SESN3) in BCR-ABL expressing cells[J]. PLoS One, 2013, 8 (11): e78780.

[23] Engelman JA. Targeting PI3K signalling in cancer: opportunities, challenges and limitations[J]. Nat Rev Cancer, 2009, 9(8): 550-562.

[24] Miller TW, Balko JM, Fox EM, et al. ERα-dependent E2F transcription can mediate resistance to estrogen deprivation in human breast cancer[J]. Cancer Discov, 2011, 1(4): 338-351.

[25] Johnston SRD. New strategies in estrogen receptor-positive breast cancer[J]. Clin Cancer Res, 2010, 16(7): 1979-1987.

[26] Ho A, Cho CS, Namkoong S, et al. Biochemical basis of sestrin physiological activities[J]. Trends Biochem Sci, 2016, 41(7): 621-632.

[27] Gülow K, Tümen D, Kunst C. The important role of protein kinases in the p53 sestrin signaling pathway[J]. Cancers (Basel), 2023, 15 (22): 5390.

[28] Haidurov A, Budanov AV. Sestrin family - the stem controlling healthy ageing[J]. Mech Ageing Dev, 2020, 192: 111379.

[29] Miller TW, Hennessy BT, González-Angulo AM, et al. Hyperactivation of phosphatidylinositol-3 kinase promotes escape from hormone dependence in estrogen receptor-positive human breast cancer[J]. J Clin Invest, 2010, 120(7): 2406-2413.

[30] Laplante M, Sabatini DM. mTOR signaling in growth control and disease[J]. Cell, 2012, 149(2): 274-293.

[31] Baselga J, Campone M, Piccart M, et al. Everolimus in postmenopausal hormone-receptor-positive advanced breast cancer[J]. N Engl J Med, 2012, 366(6): 520-529.

[32] DeGraffenried LA, Friedrichs WE, Russell DH, et al. Inhibition of mTOR activity restores tamoxifen response in breast cancer cells with aberrant Akt Activity[J]. Clin Cancer Res, 2004, 10(23): 8059-8067.

（收稿：2025-04-07；修回：2025-06-17；录用：2025-06-23）

（责任编辑：曾 玲）

本文引用格式：

汤昊铮，舒 丹，刘胜春. SESN3通过mTOR信号轴抑制HR+乳腺癌增殖和促进内分泌治疗敏感性增加的机制研究[J]. 重庆医科大学学报，2025，50(11)：1558-1568.