论著

文章编号:1000-5404(2013)05-0442-05

# 卡铂联合 PF-04691502 抗三阴性乳腺癌细胞的体外研究

唐小飞[1],董 志[1],傅洁民[2],曾凡新[2],姜立花[2] (400016 重庆,重庆医科大学基础医学院生物化学与分子药理学重点实验室[1];400061 重庆,重庆复创医药研究有限公司药理与毒理实验室[2])

[摘要] **目的** 研究卡铂与磷脂酰肌醇3-激酶(phosphoinositide 3-kinase, PI3K)抑制剂 PF-04691502(PF)联合抗人三阴性乳腺癌(triple-negative breast cancer, TNBC)细胞的作用。**方法** 通过细胞增殖实验、克隆形成实验、细胞划痕愈合实验以及流式细胞技术来分析卡铂和 PF 对 TNBC 细胞(HCC1937 和 MDA-MB 231)的抑制作用,并通过 ELISA 实验来检测 PF 对肿瘤发生过程中的关键蛋白 Akt 磷酸化的抑制作用。**结果** 细胞增殖实验发现卡铂与 PF 对 TNBC 细胞均有协同抑制作用($CI<1$);还能有效地抑制 TNBC 细胞克隆的形成和迁移($P<0.01$)。ELISA 实验发现 PF 对 TNBC 细胞 Akt 的磷酸化也具有一定的抑制作用,并且具有浓度依赖性。流式细胞结果显示 PF 对 TNBC 细胞 $G_1$ 期有阻滞作用,而卡铂为周期非特异性药物。**结论** 卡铂联合 PF 具有协同抗 TNBC 细胞的作用;并提示化疗药物联合 PI3K 抑制剂也许能够提高 TNBC 的治疗效果,并减少化疗药物的给药剂量、降低毒副作用。

[关键词] 三阴性乳腺癌;卡铂;化疗;靶向治疗;联合治疗
[中图法分类号] R737.9; R965; R979.1 [文献标志码] A

# Effect of carboplatin combined with PF-04691502 on triple-negative breast cancer cell lines

Tang Xiaofei[1], Dong Zhi[1], Fu Jiemin[2], Zeng Fanxin[2], Jiang Lihua[2] ([1]Key Laboratory of Biochemistry and Molecular Pharmacology, College of Basic Medical Sciences, Chongqing Medical University, Chongqing, 400016; [2]Center of Pharmacology and Toxicology, Chongqing Fochon Pharmaceutical Co., Ltd., Chongqing, 400061, China)

[**Abstract**] **Objective** To study the synergistic effect of carboplatin combined with a PI3K inhibitor PF-04691502 (PF) on triple-negative breast cancer (TNBC) cell lines. **Methods** The effect of carboplatin and PF on TNBC cell lines (HCC1937 and MDA-MB 231) was measured by proliferation assay, colony formation assay, wound-healing assay and flow cytometry, respectively. The phosphorylation of Akt, which was a key protein in the progress of tumors, was detected by ELISA. **Results** Carboplatin and PF inhibited the proliferation, colony formation and migration of TNBC cell lines ($P<0.01$), and the phosphorylation of Akt in TNBC cells was also inhibited in a dose-dependent manner. Carboplatin combined with PF showed significantly synergistic effect in above assays ($CI<1$). Flow cytometry results showed that PF could arrest the TNBC cells in $G_1$ phase, but carboplatin was non-specific for cell cycle. **Conclusion** Carboplatin combined with PF has synergistic anti-tumor effect on TNBC cell lines, suggesting that chemotherapy combined with PI3K inhibitor may effectively improve the therapeutic effect, reduce the dosage of chemotherapeutics and decrease side effects.

[**Key words**] triple-negative breast cancer; carboplatin; chemotherapy; target therapy; drug combination

Corresponding author: Dong Zhi, Tel: 86-23-68486678, E-mail: zhidong073@hotmail.com

三阴性乳腺癌(triple-negative breast cancer, TNBC)是指雌激素受体(estrogen receptor, ER)、孕激素受体(progesterone receptor, PR)和人表皮生长因子受体-2(human epidermal growth factor receptor 2, HER-2)均为阴性表达的乳腺癌,占乳腺癌的 10% ~20%[1-2]。TNBC 的临床表现为肿块直径较大,复发率较高,预后较差,容易发生脑、内脏等远处转移,是否转移与肿瘤的体积无关[3];由于其特有的分子表达特征使得多个分子靶向的药物对其疗效果不佳,唯有对铂类化疗药物还有一定的敏感性[4-5],但仍不能完全满足 TNBC 患者的治疗需求。研究表明,TNBC 的发生、发展以及

[通信作者] 董 志,电话:(023)68486678,E-mail:zhidong073@hotmail.com
[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20121219.1739.007.html(2012-12-19)

对其他药物的耐药性可能与 PI3K/Akt/mTOR 信号通路的异常活化有关[6]。因此,我们选择了一个 PI3K 抑制剂 PF-04691502(PF)[7]来进行初步研究,了解其是否能够与卡铂产生协同抗 TNBC 的作用,减少卡铂的给药剂量以及降低卡铂的毒副作用等;从而为 TNBC 患者的治疗寻找更加有效的治疗手段。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

胎牛血清(FBS, Lot# 1069982, Gibco),胰蛋白酶(Lot# 081M1274V, Sigma),RPMI1640(Lot# 1002646, Gibco),DMEM(Lot#900149,Gibco),人 p-Akt S473 ELISA kit(Lot#05/2012, 南通飞宇生物技术有限公司),MTS (Cell Titer 96® $AQ_{ueous}$ One Solution Cell Proliferation Assay, Lot# 0000009269, Promega)。

卡铂(用 P 表示,Lot#1040042ES, 齐鲁制药有限公司)的浓度为 26.94 mmol/L,PF-04691502 (用 PF 表示, CAS: 1013101-36-4,结构如图 1 所示,纯度为 99%,重庆复制医药研究有限公司)为 20 mmol/L 的 DMSO 溶液。

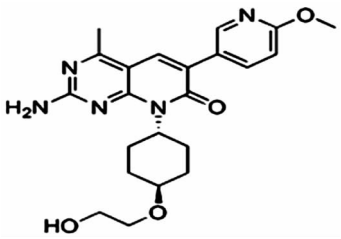


**图 1 PF-04691502 结构式**

### 1.2 细胞培养

人乳腺癌细胞株 HCC1937、MDA-MB 231、BT474 以及 MCF-7 均购自中国科学院细胞库;其中除 HCC1937 细胞用 RPMI1640 培养基外,其余均用 DMED 培养基;培养时加 10% FBS,在 37 ℃、5% $CO_2$ 培养箱中进行培养。倒置显微镜下观察细胞生长状态,细胞生长到 70% ~80% 时,以 0.25% 胰蛋白酶消化传代,隔天换液,3 ~4 d 传代 1 次。

### 1.3 MTS 法检测细胞增殖

取对数生长期的细胞,以 $3\times10^4$/mL(HCC1937)、$1\times10^4$/mL (MDA-MB 231)、$10\times10^4$/mL (BT474)和 $5\times10^4$/mL (MCF-7)接种于 96 孔板中,每孔 100 μL。在 $CO_2$ 培养箱中孵育 24 h 后,将培养基换为含有 2 倍梯度稀释的卡铂、PF 或者卡铂 + PF 的培养基 100 μL/孔,每组实验设 9 个浓度,3 个复孔。在 $CO_2$ 培养箱中孵育 5 d 后,弃去培养基加入无 FBS 的培养基 100 μL/孔;再加入 10 μL/孔的 MTS,在 $CO_2$ 培养箱中继续孵育 2 h 后在多功能酶标仪上测定 490 nm 的光密度值,实验重复 3 次,按下式计算百分抑制率。肿瘤细胞生长抑制率 = [1 -(给药组光密度值 - 空白对照组光密度值)/(实验对照组光密度值 - 空白对照组光密度值)] ×100%。

### 1.4 细胞克隆形成实验

参照文献[8],取对数生长期的 TNBC 细胞常规消化制成单细胞悬液,以 300/孔接种于 6 孔板中。在 $CO_2$ 培养箱中孵育 24 h 后,加入含有不同浓度药物的培养基。在 $CO_2$ 培养箱中孵育 24 h 后,弃去含药物的条件培养基,PBS 洗 2 次,加入完全培养基孵育 7 d,至每个克隆含有大于 50 个细胞数时在倒置显微镜下进行克隆计数;按下式计算克隆形成百分率,每组设 3 个复孔。将对照组的克隆百分率定义为 100%,即克隆百分率 = 给药克隆数/对照克隆数 ×100%。

### 1.5 细胞划痕愈合实验检测细胞迁移能力

参照文献[9 - 10],取对数生长期的 TNBC 细胞,以 $5\times10^5$/mL (HCC1937)、$1.5\times10^5$/mL (MDA-MB 231)接种于 6 孔板中(预先在 6 孔板背面用注射器针尖划 3 条平行线),每孔 2 mL。在 $CO_2$ 培养箱中孵育 24 h 后,用 10 μL 枪头在细胞平面上垂直于背侧线划 3 条平行线;弃去培养基,用 PBS 冲洗 2 次,再加入含有不同浓度药物的培养基,0.2% 的 FBS。在 $CO_2$ 培养箱中孵育,并于 0 和 24 h 时间点在划痕的十字交叉处进行拍照(即每个孔取 9 个点),测算出在这段时间里每个点处细胞迁移的距离,求均值,进行统计学比较。

### 1.6 p-Akt 水平的检测(ELISA 法)

1.6.1 样本的制备 取对数生长期的 TNBC 细胞,以 $2\times10^5$/mL (HCC1937)、$1\times10^5$/mL (MDA-MB 231)接种于 6 孔板中,每孔 2 mL。在 $CO_2$ 培养箱中孵育 24 h 后,加入培养基梯度稀释的药物,继续培养 1 h。胰酶消化后用 PBS 洗涤细胞 3 次,再裂解细胞,5 000 r/min 离心 15 min,取上清液,通过 p-Akt 试剂盒进行检测。

1.6.2 人 p-Akt 标准曲线的绘制及样本的检测 按照试剂盒说明书操作步骤,对标准品和处理好的样品依次加样处理后在 450 nm 波长处测定各样品的光密度值,绘制出 p-Akt 与光密度值之间的标准曲线,并根据标准曲线计算样本的 p-Akt 浓度。

### 1.7 细胞周期的检测(FCM 法)

取对数生长期的 TNBC 细胞,常规消化制成单细胞悬液,调整细胞密度至 $2.5\times10^5$/mL (HCC1937)、$1.5\times10^5$/mL (MDA-MB 231),以 2 mL/孔接种于 6 孔板中,培养 24 h 后,加入含有不同浓度药物的培养基。继续培养 48 h 后,收集所有细胞,将约 $1\times10^6$ 细胞移入离心管中,离心半径 10 cm,1 000 r/min,离心 5 min,弃去上清后,用 PBS 溶液清洗 2 次,再加入 0.3 mL PBS 重悬细胞后,加入预冷的 0.7 mL 乙醇中;混匀固定,4 ℃放置 48 h 以上。检测时,离心去乙醇,PBS 清洗 1 次,在离心管中留 1 mL PBS,打散细胞团,加入 RNase 5 μL(10 mg/mL),37 ℃放置 1 h,加入 PI(100 μg/mL)染液,室温避光染色 30 min,流式细胞仪检测细胞周期。

### 1.8 统计学分析

通过 GraphPad Prism 5 软件计算细胞增殖实验中各药物半数抑制浓度($IC_{50}$);通过 Chou-Talalay 联合指数法[11]对药物联合作用效果进行评价,其基本计算原理为:通过两个药物的 $IC_{50}$ 之比来确定药物联合给药的浓度比例,再通过中效方程 $fa/fu = (D/D_m)_m$ 取对数转化为线性方程 $lg(fa/fu) = mlg(D) - mlg(D_m)$(其中 fa 为百分抑制率,fu = 1 - fa,D 为药物的浓度,$D_m$ 为中效浓度,m 为方程斜率),并计算出达到 50%、75% 和 90% 抑制的有效浓度 $EC_{50}$、$EC_{75}$ 和 $EC_{90}$。药物联合作用指数(*CI* 值)的计算公式为:

$$CI = \frac{(D)_1}{(D_x)_1} + \frac{(D)_2}{(D_x)_2} = \frac{(D)_1}{(D_m)_1[fa/(1-fa)]^{1/m1}} + \frac{(D)_2}{(D_m)_2[fa/(1-fa)]^{1/m2}}$$

$(Dx)1$ 和 $(Dx)_2$ 为两药单用时产生 $X$ 效应的各自所需浓度，两药合用时产生 $X$ 效应所需浓度 Dx(1,2)均由中效方程 $fa/fu = (D/D_m)_m$ 求得；$(D)_1$ 和 $(D)_2$ 为合用时产生 X 效应时两药各自所需浓度，可由公式 $(D)1 + (D)2 = Dx(1,2)$ 求出；此外剂量减少指数 $DRI_n = (Dx)_n/(D)_n$。两药联合作用中，当 $CI<1$ 时，则表现为协同作用，且 $CI$ 值越小协同作用越强；当 $CI=1$ 时，则表现为相加作用；当 $CI>1$ 时，则表现为拮抗作用，且 $CI$ 值越大拮抗作用越强。

实验结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示，并通过 SPSS 17.0 统计软件进行单因素方差分析。

## 2 结果

### 2.1 卡铂联合 PF 对 TNBC 细胞增殖的抑制作用

结果显示，卡铂对 TNBC 细胞株的抑制活性显著强于非 TNBC 细胞，但 PF 对 TNBC 细胞株和非 TNBC 细胞株均有较好的抑制活性（表 1）。结果表明：由于卡铂在非 TNBC 细胞 BT474 和 MCF-7 上的抑制活性较低，因此其联合用药并未表现出协同作用（$CI>1$）；然而在 TNBC 细胞 HCC1937 和 MDA-MB 231（表 2，图 2）上的联合用药都起到了协同作用（$CI<1$）；此外，从 DRI 值可以看出联合用药达到相同的效应时其给药剂量显著降低，如达到相同的 $EC_{50}$ 时，卡铂单一给药组是联合给药组的 4.61 和 4.20 倍，这样有效地减少了卡铂的给药剂量，降低了毒副作用。

**表 1 卡铂和 PF 对乳腺癌细胞的抑制作用（μmol/L，$IC_{50}$）**

| 样品 | HCC1937 | MDA-MB 231 | BT474 | MCF-7 |
|---|---|---|---|---|
| P | 15.40 | 10.00 | 73.30 | 119.13 |
| PF | 0.11 | 0.40 | 0.06 | 0.06 |

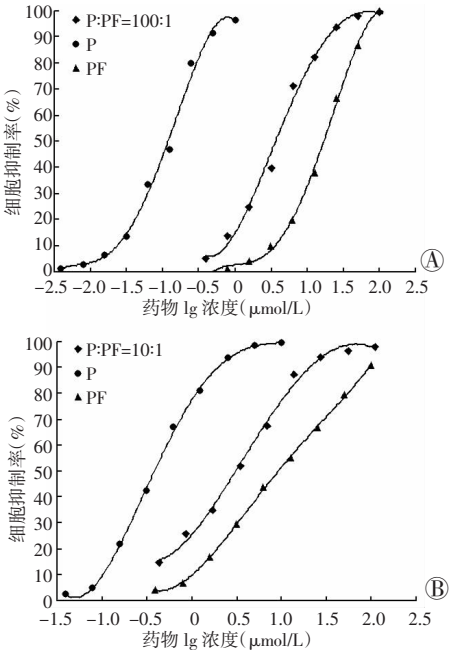
**表 2 卡铂联合 PF 抗 TNBC 细胞的作用**

| 细胞株 | 样品 | $EC_{50}$（μmol/L） | $m$ | $r$ | $CI$ 值 | | | DRI 值（$EC_{50}$） | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | $EC_{50}$ | $EC_{75}$ | $EC_{90}$ | $DRI_{(P)}$ | $DRI_{(PF)}$ |
| HCC1937 | P | 15.40 | 1.46 | 0.998 | | | | | |
| | PF | 0.11 | 1.35 | 0.996 | | | | | |
| | P:PF(100:1) | 3.37 | 1.44 | 0.994 | 0.532 | 0.518 | 0.505 | 4.61 | 3.17 |
| MDA-MB 231 | P | 10.00 | 0.95 | 0.995 | | | | | |
| | PF | 0.40 | 1.63 | 0.992 | | | | | |
| | P:PF(10:1) | 2.62 | 1.07 | 0.991 | 0.831 | 0.493 | 0.326 | 4.20 | 1.69 |

*m* 为方程斜率；*r* 为相关系数

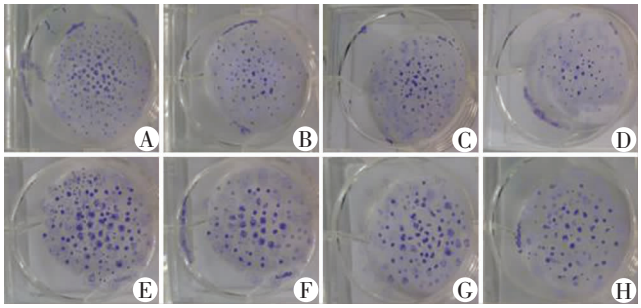
### 2.2 卡铂联合 PF 对 TNBC 细胞克隆形成的影响

细胞克隆形成实验结果显示（图 3、4），卡铂和 PF 对TNBC 细胞（HCC1937 和 MDA-MB 231）的克隆形成均有一定的抑制作用，其中对 HCC1937 的抑制作用更强。当卡铂与 PF 联合作用时，5 μmol/L 的卡铂与小剂量的 PF（0.05 μmol/L 和0.25 μmol/L）联合给药就能显著抑制 HCC1937 和 MDA-MB 231 细胞克隆的形成，与单一给药组比较有显著差异（$P<0.05$）。



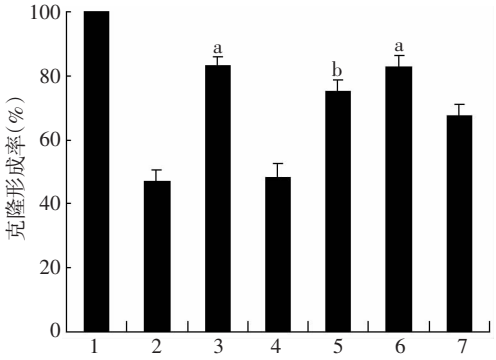

A：HCC1937 细胞；B：MDA-MB 231 细胞

**图 2 MTS 方法检测卡铂与 PF 单药或联合抗 TNBC 细胞增殖的作用**



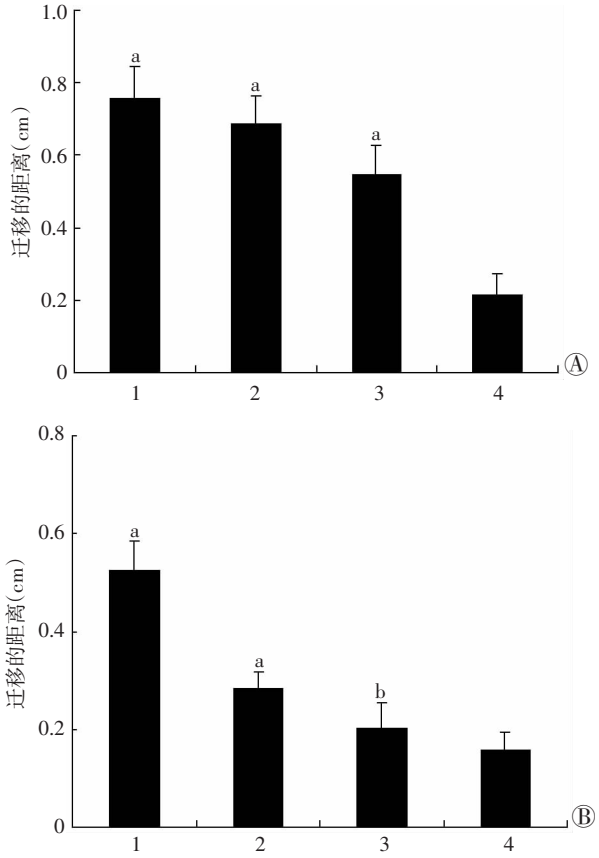

A～D：HCC1937 细胞；E～H：MDA-MB 231 细胞；A、E：DMSO（10 μmol/L）；B、F：P（10 μmol/L）；C：PF（0.1 μmol/L）；D：P + PF（5 + 0.05 μmol/L）；G：PF（0.5 μmol/L）；H：P + PF（5 + 0.25 μmol/L）

**图 3 卡铂联合 PF 对 TNBC 细胞克隆形成的影响**




1：DMSO（10 μmol/L）；2－4：HCC1937 细胞；5－7：MDA-MB 231 细胞；2、5：P（10 μmol/L）；3：PF（0.1 μmol/L）；4：P + PF（5 + 0.05 μmol/L）；6：PF（0.5 μmol/L）；7：P + PF（5 + 0.25 μmol/L）；a：$P<0.01$，b：$P<0.05$，与 P + PF 组比较

**图 4 卡铂联合 PF 抑制 TNBC 细胞克隆的形成**




A：HCC1937 细胞　1：DMSO（10 μmol/L）；2：P（10 μmol/L）；3：PF（0.1 μmol/L）；4：P＋PF（5＋0.05 μmol/L）；B：MDA-MB 231 细胞　1：DMSO（10 μmol/L）；2：P（10 μmol/L）；3：PF（0.5 μmol/L）；4：P＋PF（5＋0.25 μmol/L）；a：$P<0.01$，b：$P<0.05$，与 P＋PF 组比较

**图 5　卡铂联合 PF 对 TNBC 细胞迁移能力的影响**

## 2.3　卡铂联合 PF 对 TNBC 细胞迁移能力的影响

细胞划痕愈合实验结果显示（图 5），卡铂和 PF 对 TNBC 细胞（HCC1937 和 MDA-MB 231）的迁移均有一定的抑制作用，其中对 MDA-MB 231 细胞的抑制作用更强。当卡铂与 PF 联合作用时，5 μmol/L 的卡铂与小剂量的 PF（0.05 μmol/L 和 0.25 μmol/L）联合给药就能显著抑制 HCC1937 和 MDA-MB 231 细胞的迁移能力；与各自单一 P 或 PF 组相比均具有显著性差异（$P<0.05$，$P<0.01$）。

## 2.4　PF 对 TNBC 细胞 Akt 磷酸化的影响

根据实验结果绘制 p-Akt 的标准曲线，并得到 p-Akt 与光密度值之间的线性关系为：$y=0.0015x+0.0127$，$R^2=0.9975$。再计算出各样本的 p-Akt 浓度。结果显示 PF（1.0、0.5、0.1 μmol/L）对 HCC1937 和 MDA-MB 231 细胞中 Akt 的磷酸化均有抑制作用，与 DMSO 组相比具有显著性差异（$P<0.01$），见表 3。

**表 3　PF 对 TNBC 细胞中 Akt 磷酸化的影响**（$n=3$，$\bar{x}\pm s$）

| 样品（浓度） | HCC1937 | MDA-MB 231 |
|---|---|---|
| PF 1.0 μmol/L | 375.8±40.4[a] | 121.5±64.5[a] |
| PF 0.5 μmol/L | 622.7±5.9[a] | 256.2±38.5[a] |
| PF 0.1 μmol/L | 938.3±155.9[a] | 511.7±35.0[a] |
| DMSO 1.0 μmol/L | 1887.0 ± 43.2 | 1226.5±43.1 |

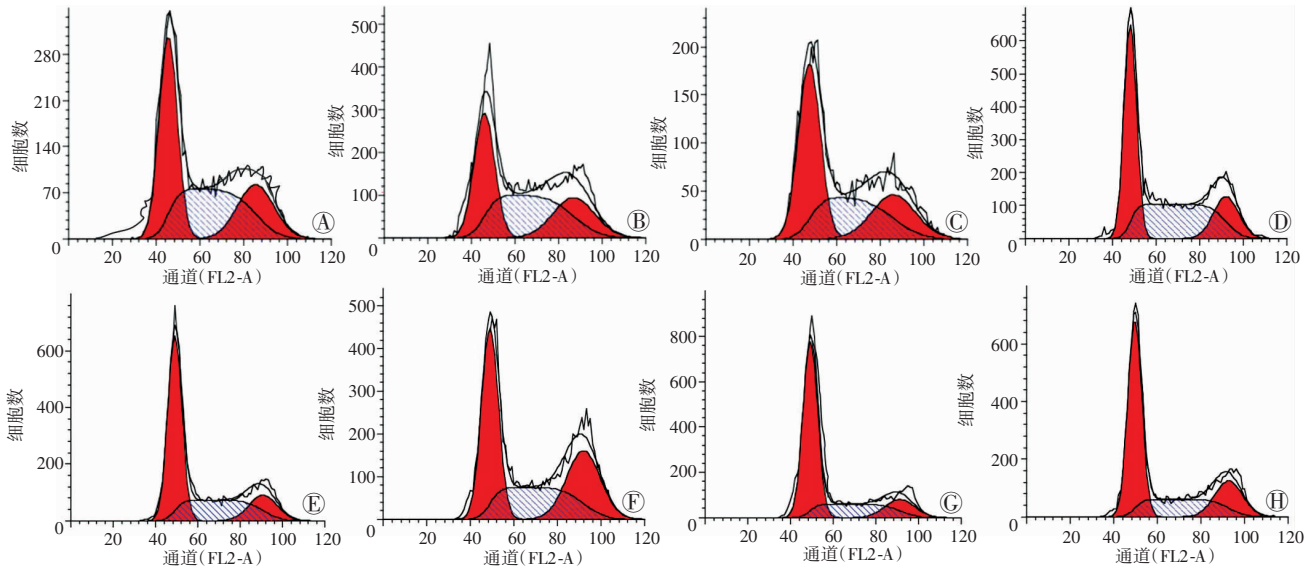
a：$P<0.01$，与 DMSO 组比较

## 2.5　卡铂联合 PF 对 TNBC 细胞的细胞周期的影响

流式细胞周期结果表明（图 6），卡铂对 HCC1937 细胞表现出 S 期阻滞作用，而对 MDA-MB 231 细胞则表现出 $G_2$/M 期阻滞作用；PF（0.1 μmol/L）的 PF 对 HCC1937 和 0.5 μmol/L 的 PF 对 MDA-MB 231 细胞均表现出 $G_1$ 期阻滞作用[分别为（45.0±3.1）%和（60.2±1.6）%]。卡铂与 PF 联合给药时，对 HCC1937 的 S 期有阻滞作用；而对 MDA-MB 231 则产生 $G_1$ 期和 $G_2$/M 期的阻滞作用。

# 3　讨论

研究[5, 12]表明，HER-2、ER 和 PR 均为阴性表达的




A～D：HCC1937 细胞；E～H：MDA-MB 231 细胞；A、E：DMSO（10 μmol/L）；B、F：P（10 μmol/L）；C：PF（0.1 μmol/L）；D：P＋PF（5＋0.05 μmol/L）；G：PF（0.5 μmol/L）；H：P＋PF（5＋0.25 μmol/L）

**图 6　流式细胞术检测卡铂联合 PF-04691502 对 TNBC 细胞周期的影响**

TNBC,与其他亚型的乳腺癌相比,其更易发生治疗后复发或转移而死亡。人TNBC细胞分为基底样细胞亚型、间叶细胞样亚型等多种亚型[6],它们除具有乳腺癌基本的分子表达特征以外,也具有一些特殊的特征,如EGFR等的表达异常升高,PTEN基因的缺失,或者PIK3CA基因的突变等。但实验研究发现不仅针对HER-2、ER和PR的靶向药物对TNBC治疗无效,而且EGFR抑制剂(如吉非替尼、西妥昔单抗等)治疗TNBC的效果也不理想。因此目前尚无针对TNBC有效的靶向药物[13],而使得化疗仍然是TNBC患者治疗的主要手段。

TNBC细胞实验结果表明,卡铂对TNBC细胞(HCC1937和MDA-MB 231)的抑制活性约为非TNBC细胞(BT474和MCF-7)的10倍;还能够使HCC1937和MDA-MB 231细胞的周期分别阻滞于S期和$G_2$/M期,进而产生抑制TNBC细胞克隆的形成和迁移等作用。研究[5]发现,TNBC对卡铂的高敏感性可能与BRCA1基因的突变有关;BRCA1基因的突变使得其通过同源重组参与基因修复来维持基因组的稳定和调节细胞周期等功能的缺失,进而增加了破坏细胞DNA的化疗药物对TNBC细胞的抑制活性(如卡铂、顺铂等)。

研究[14]发现,TNBC等肿瘤的发生、发展通常与PIK3CA的基因突变以及负性调节基因PTEN的缺失等引起的PI3K/Akt/mTOR信号通路的活化有关,因此推测PI3K抑制剂PF对TNBC存在抑制活性。PF是一个PI3K/mTOR双重抑制剂,现在正处于临床研究阶段;早期的研究表明,PF通过作用于PI3K和mTOR两个靶点使Akt等信号分子的磷酸化水平降低,产生对该信号通路的阻断作用,进而对多种恶性肿瘤表现出较好的抑制活性。实验结果表明,PF对TNBC细胞的增殖、克隆的形成以及迁移均有较好的抑制作用,其作用机制可能与其具有细胞$G_1$期阻滞作用以及能够抑制肿瘤细胞生长迁移中的关键蛋白Akt的磷酸化等作用有关。

卡铂与PI3K抑制剂PF联合作用的实验发现,卡铂与小剂量的PF就其能够对HCC1937细胞产生S期阻滞作用,对MDA-MB 231细胞产生$G_1$期和$G_2$/M期的阻滞作用;以及PF对PI3K/Akt/mTOR信号通路的抑制作用等。因此卡铂联合PF表现出了协同抗TNBC细胞增殖的作用,以及对TNBC细胞克隆的形成和迁移能力较对照组和单一给药组均有显著的抑制作用。而且在细胞增殖实验中发现,当达到相同抑制效应时(如$EC_{50}$),联合给药组的剂量较卡铂和PF单一给药组均显著降低,其中卡铂的最高降幅达到了4.20倍。因此联合给药可以显著减少化疗药物的给药剂量,进而降低其因为高剂量化疗而产生的毒副作用。

本实验的研究结果表明,化疗药物卡铂联合PI3K抑制剂PF,具有显著的体外协同抗TNBC细胞的活性;提示PI3K抑制剂与常规化疗药物卡铂合用,可能对TNBC产生更显著的疗效,并可能降低卡铂的用药剂量,从而减少化疗药物的毒副作用。后续研究中,我们将进一步研究PI3K抑制剂PF联合化疗药物卡铂在体内动物模型中是否具有协同抗TNBC效应,从而为TNBC的临床治疗提供实验依据,最终使TNBC患者受益。

## 参考文献:


[1] Rakha E A, El-Sayed M E, Green A R, *et al*. Prognostic markers in triple- negative breast cancer[J]. Cancer, 2007, 109(1): 25-32.

[2] Morris G J, Naidu S, Topham A K, *et al*. Differences in breast carcinoma characteristics in newly diagnosed African-American and Caucasian patients: a single-institution compilation compared with the national cancer institute's surveillance, epidemiology, and end results database[J]. Cancer, 2007, 110(4): 876-884.

[3] Thike A A, Cheok P Y, Jara-Lazaro A R, *et al*. Triple-negative breast cancer: clinicopathological characteristics and relationship with basal-like breast cancer[J]. Mod Pathol, 2010, 23(1): 123-133.

[4] Kwon Y E, Park J Y, Kim W K. *In vitro* histoculture drug response assay and *in vivo* blood chemistry of a novel Pt(IV) compound, K104[J]. Anticancer Res, 2007, 27(1A): 321-326.

[5] Corkery B, Crown J, Clynes M, *et al*. Epidermal growth factor receptor as a potential therapeutic target in triple-negative breast cancer[J]. Ann Oncol, 2009, 20(5): 862-867.

[6] Lehmann B D, Bauer J A, Chen X, *et al*. Identification of human triple-negative breast cancer subtypes and preclinical models for selection of targeted therapies[J]. J Clin Invest, 2011, 121(7): 2750-2767.

[7] Yuan J, Mehta P P, Yin M J, *et al*. PF-04691502, a potent and selective oral inhibitor of PI3K and mTOR kinases with antitumor activity[J]. Mol Cancer Ther, 2011, 10(11): 2189-2199.

[8] Weigel M T, Dahmke L, Schem C, *et al*. *In vitro* effects of imatinib mesylate on radiosensitivity and chemosensitivity of breast cancer cells[J]. BMC Cancer, 2010(10): 412.

[9] Thompson C C, Ashcroft F J, Patel S, *et al*. Pancreatic cancer cells overexpress gelsolin family-capping proteins, which contribute to their cell motility[J]. Gut, 2007, 56(1): 95-106.

[10] 王晓飞, 郭变琴, 张曦文, 等. 联氨基姜黄素抑制STAT3信号通路对乳腺癌MDA-MB-231细胞侵袭迁移性的影响[J]. 第三军医大学学报, 2011, 33(2): 111-115.

[11] Chou T C. Theoretical basis, experimental design, and computerized simulation of synergism and antagonism in drug combination studies[J]. Pharmacol Rev, 2006, 58(3): 621-681.

[12] Silver D P, Richardson A L, Eklund A C, *et al*. Efficacy of neoadjuvant Cisplatin in triple-negative breast cancer[J]. J Clin Oncol, 2010, 28(7): 1145-1153.

[13] 陈正堂, 孙建国. 肿瘤分子靶向治疗临床应用值得注意的几个问题[J]. 第三军医大学学报, 2011, 33(1): 1-3.

[14] Marty B, Maire V, Gravier E, *et al*. Frequent PTEN genomic alterations and activated phosphatidylinositol 3-kinase pathway in basal-like breast cancer cells[J]. Breast Cancer Res, 2008, 10(6): R101.


(**收稿**:2012-10-16;**修回**:2012-11-06)

(编辑 张 维)