doi:10.11659/jjssx.09E022120

·基础研究·

下调MAC30对乳腺癌细胞焦亡、血管生成及ATP1A2蛋白的作用机制

潘蕾蕾[1],马 俊[1],叶亭亭[1],陈剑平[2]（1.宣城中心医院心胸乳腺外科,安徽 宣城 242000;2.皖南医学院弋矶山医院甲乳外科,安徽 芜湖 241000）

［摘 要］ **目的** 探讨下调MAC30对乳腺癌细胞焦亡、血管生成及ATP1A2蛋白水平的影响。**方法** MCF-7细胞制成单个细胞悬液,分为乳腺癌组(MCF-7细胞)、NC组(MCF-7细胞转染MAC30-NC-shRNA)、MAC30 shRNA组(MCF-7细胞转染MAC30-shRNA)、ATP1A2组(MCF-7细胞转染ATP1A2-shRNA)及MAC30 shRNA+ATP1A2组(MCF-7细胞转染MAC30-shRNA、ATP1A2-shRNA)。qRT-PCR检测各组MCF-7细胞中MAC30 mRNA表达以证实转染效率,采用CCK-8法检测细胞增殖活性;流式细胞仪检测细胞焦亡率;体外血管形成实验检测血管形成数目;Western blot检测ATP1A2、SCr、AKT及PI3K水平。**结果** 乳腺癌组与NC组MCF-7细胞中MAC30 mRNA表达水平、MCF-7细胞焦亡率及MCF-7细胞血管形成数目比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。与乳腺癌组和NC组比较,MAC30 shRNA组、ATP1A2组及MAC30 shRNA+ATP1A2组MCF-7细胞中MAC30 mRNA表达水平及血管形成数目降低,MCF-7细胞焦亡率升高,差异有统计学意义($P<0.05$),其中MAC30 shRNA+ATP1A2组降低/升高最明显($P<0.05$)。与NC组相比,MAC30 shRNA组、ATP1A2组及MAC30 shRNA+ATP1A2组细胞增殖活性均降低($P<0.05$)。与NC组相比,MAC30 shRNA组ATP1A2、SCr、AKT及PI3K表达水平降低($P<0.05$)。**结论** 下调MAC30可以抑制乳腺癌细胞增殖及血管生成,加快焦亡,其机制与抑制ATP1A2蛋白表达相关。

［关键词］乳腺癌;脑膜瘤相关蛋白;焦亡;血管生成;Na^+-K^+-ATP酶α2亚基基因

［中图分类号］R737.9 ［文献标识码］A ［收稿日期］2022-09-22

Mechanism of down-regulation of MAC30 on pyrophosis,angiogenesis and ATP1A2 protein in breast cancer cells

PAN Lei-lei[1], MA Jun[1], YE Ting-ting[1], CHEN Jian-ping[2]（1.Department of Cardiothoracic and Breast Surgery, Xuancheng Central Hospital, Xuancheng Anhui 242000, China; 2.Department of Thyroid and Breast Surgery, Yijishan Hospital of Wannan Medical College, Wuhu Anhui 241000, China）

Abstract: Objective To explore the effect of down-regulation of MAC30 on pyrophosis, angiogenesis and ATP1A2 protein level in breast cancer cells. **Methods** MCF-7 cells were made into single cell suspension and divided into the breast cancer group (MCF-7 cells), the NC group (MCF-7 cells transfected with MAC30-NC-shRNA), the MAC30 shRNA group (MCF-7 cells transfected with MAC30-shRNA), the ATP1A2 group (MCF-7 cells transfected with ATP1A2-shRNA) and the MAC30 shRNA +ATP1A2 group (MCF-7 cells transfected with MAC30-shRNA and ATP1A2-shRNA). qRT-PCR was used to detect the MAC30 mRNA expression in MCF-7 cells of each group to verify the transfection efficiency. CCK-8 assay was used to detect the cell proliferation activity. Flow cytometry was used to detect the pyrophosis rate. In vitro angiogenesis experiment was used to detect the number of angiogenesis. Western blot was used to detect the levels of ATP1A2, SCr, AKT and PI3K. **Results** There was no statistically significant difference in the MAC30 mRNA expression level in MCF-7 cells, the pyrophosis rate of MCF-7 cells or the number of angiogenesis in MCF-7 cells between the breast cancer group and the NC group ($P>0.05$). Compared with the breast cancer group and the NC group, the MAC30 mRNA expression levels and the number of angiogenesis in MCF-7 cells of the MAC30 shRNA group, the ATP1A2 group, and the MAC30 shRNA+ATP1A2 group were decreased, and the pyrophosis rate in MCF-7 cells was increased, with statistical significance ($P<0.05$), of which the MAC30 shRNA+ATP1A2 group decreased/increased most significantly ($P<0.05$). Compared with the NC group, the cell proliferative activities of the MAC30 shRNA group, the ATP1A2 group, and the MAC30 shRNA+ATP1A2 group were decreased ($P<0.05$). Compared with the NC group, the expression levels of ATP1A2, SCr, AKT, and PI3K of the MAC30 shRNA group were decreased ($P<0.05$). **Conclusion** Down-regulation of MAC30 can inhibit the proliferation and angiogenesis of breast cancer cells and accelerate pyroptosis, which may be related to the inhibition of ATP1A2 protein expression.

Keywords: breast cancer; meningioma-associated protein; pyroptosis; angiogenesis; Na^+-K^+-ATPase α2 subunit gene

［基金项目］西藏自治区卫生健康委员会“组援医学项目”专项基金(20202531)

［通信作者］陈剑平,E-mail:chenjianping003@163.com

乳腺癌是女性最常见的恶性肿瘤之一，2020年乳腺癌新增人数约226万，已经超过肺癌成为全球发病率最高的恶性肿瘤[1]。手术及放化疗是临床治疗乳腺癌的主要方法，但放疗抵抗或化疗耐药会影响患者疗效及预后[2]。细胞焦亡又称细胞炎性坏死，主要依赖Gasdermin(GSDM)蛋白调节细胞生物活性。有研究表示，caspase-3可通过切割GSDM蛋白N端结构增加细胞焦亡，从而降低癌细胞化疗耐药性[3]。乳腺癌细胞在缺血环境下无法进行增殖及转移，肿瘤血管生成可为癌细胞活化提供血供，从而促进乳腺癌疾病进展。因此，众多学者认为可将抑制肿瘤血管生成作为抗乳腺癌的靶点[4-5]。现阶段，在血管新生的病理生理过程中，细胞自噬作用持续存在，在血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor,VEGF)诱导的血管生成中，自噬相关信号可通过调控血管内皮细胞表面内皮生长因子受体2(vascular endothelial growth factor receptor 2,VEGFR2)表达而促进血管生成。有研究发现，Na^+-K^+-ATP酶的α亚单位在肿瘤中存在异常表达，对癌细胞增殖及迁移等具有调控作用[6]。Na^+-K^+-ATP酶α2亚基(ATP1A2)基因在乳腺癌中高表达，其功能缺失会使细胞内Ca^{2+}增多，从而参与癌症的发生发展。但ATP1A2基因与肿瘤血管生成及细胞自噬的关系目前尚不清楚。

脑膜瘤相关蛋白(meningioma-associated protein,MAC30)是胰岛素生长因子结合蛋白家族成员之一，主要存在于细胞核的内质网中，并在机体组织中广泛表达[7]。在乳腺癌组织中MAC30表达升高，通过下调MAC30能够抑制肿瘤细胞侵袭及迁移，但是关于下调MAC30对乳腺癌细胞焦亡、血管生成及ATP1A2蛋白水平的影响目前尚未可知。因此，本研究通过体外培养乳腺癌细胞，观察下调MAC30对乳腺癌的改善作用，以期为其治疗提供参考。

1 材料与方法

1.1 细胞来源及细胞培养

乳腺上皮细胞HMEC和乳腺癌细胞MDA-MB231、MCF-7、SKBR3均购自中国科学院典型培养物保藏中心，于37 ℃、5%CO_2饱和湿度下培养，24 h后弃去培养基，置于含1%双抗的10%胎牛血清中培养，培养条件同上，细胞生长至80%~90%时进行传代，生长至90%时终止消化反应，培养基中2~3 d传代。

1.2 试剂与仪器来源

MAC30 Lenti-shRNA和阴性对照Lenti-shRNA(NC-shRNA)由上海吉凯基因公司合成；RPMI 1640培养基购自武汉益普生物科技有限公司；ATP1A2多克隆抗体购自武汉艾美捷科技有限公司；鼠抗人GAPDH单克隆抗体购自上海圻明生物科技有限公司；山羊抗小鼠IgG购自武汉纯度生物科技有限公司；CCK-8法试剂盒购自上海Beyotime公司；AnnexinV-FITC/PI凋亡检测试剂盒购自上海康朗生物科技有限公司；ECL显色试剂盒购自北京索宝莱科技有限公司；BCA蛋白定量试剂盒购自上海雅酶生物医药科技有限公司；酶标仪(型号：HBS-1096A)购自上海研卉生物科技有限公司；TDZ4-WS低速台式离心机购自湖南湘瑞生物有限公司；凝胶成像系统及Western blot电泳系统均购自北京赛百奥科技有限公司；荧光定量PCR仪购自中山大学达安基因股份有限公司。

1.3 qRT-PCR检测HMEC、MDA-MB231、MCF-7和SKBR3细胞MAC30 mRNA表达

使用TRIzol法提取HMEC、MDA-MB231、MCF-7和SKBR3细胞中总RNA，无核酸酶溶解后转录为cDNA，获得反应体系，条件为：42 ℃ 60 min，72 ℃ 5 min，4 ℃终点。采用qRT-PCR检测，每个细胞设置6个复孔，上下游引物均为0.5 μL，反应条件：95 ℃预热3 min，95 ℃ 5 s，58 ℃退火，40个循环。引物序列：MAC30上游为5′-CTCAGCCACATCCCC-3′，下游为5′-CACAAGCTCGCAAAAC-3′；β-actin上游为5′-GGAAATCGTGCGTGACATTA-3′，下游为5′-GGAGCAATGATCTTGATCTTC-3′。根据$2^{-\triangle\triangle Ct}$法计算各组细胞中MAC30相对表达量。

1.4 MCF-7细胞分组

取MCF-7细胞，待生长至50%~60%后采用培养基制成单个细胞悬液，分为乳腺癌组(MCF-7细胞)、NC组(MCF-7细胞转染MAC30-NC-shRNA)、MAC30 shRNA组(MCF-7细胞转染MAC30-shRNA)、ATP1A2组(MCF-7细胞转染ATP1A2-shRNA)及MAC30 shRNA+ATP1A2组(MCF-7细胞转染MAC30-shRNA、ATP1A2-shRNA)。

1.5 MAC30 shRNA慢病毒转染

将生长状态良好的MCF-7细胞制备成5×10^7/mL的细胞悬液，接种至6孔板中，37 ℃孵育24 h，待细胞达到30%时更换培养基，加入感染增强液，根据最佳感染复数及病毒滴度，加入MAC30 Lenti-shRNA和阴性对照NC-shRNA培养液，次日换掉病毒培养液，加入1 mg新鲜培养基，96 h后采用qRT-PCR验证转染效率。

1.6 ATP1A2质粒转染

构建TP1A2质粒[7],将MCF-7细胞接种于6孔板中,待细胞生长覆盖孔板80%~90%时开始转染,配制转染混合液,将4 μg质粒加入500 μL无血清培养基中,将5 μL ip 2000加入500 μL无血清培养液混匀,室温下静置20 min。PBS冲洗3次,加入1 mL Lipofectamine 2000转染混合液及无血清培养基1.5 mL,培养6 h后,换成常规培养基继续培养48 h。

1.7 MCF-7细胞增殖实验

采用CCK-8法检测各组MCF-7细胞增殖情况。将5×10³个对数生长的MCF-7细胞接种至96孔板中,贴壁培养24 h后,加入CCK-8试剂(5 g/L),每孔20 μL,再加入200 μL二甲基亚砜溶液,充分溶解15 min,分别于培养24 h、48 h、72 h、96 h时取出培养板,在酶标仪450 nm波长处检测吸光度OD值,实验3次,复孔2次。

1.8 MCF-7细胞焦亡实验

100 μL的Binding buffer重悬细胞后加入5 μL AnnexinV-FITC和5 μL PI混合液,室温避光孵育15 min,再加入400 μL含Binding buffer的细胞悬液,30 min后使用流式细胞仪进行检测。以AnnexinV-FITC+/PI+双阳性细胞百分率作为焦亡率。实验重复3次,取平均值。

1.9 体外血管形成实验

取48孔板,于冰上每孔加入60 μL基质胶溶液,然后在37 ℃、5%CO_2的培养箱静置30 min使其凝固,取各组细胞进行消化、离心,弃掉上清液后重悬细胞,调整密度为2×10⁵/mL接种于24孔板,在37 ℃、5%CO_2的培养箱中进行培养,48 h后置于倒置显微镜下观察。计算5个视野的血管管腔数目,实验重复3次,取平均值。

1.10 Westerm blot检测各组细胞ATP1A2、SCr、AKT及PI3K水平

10%SDS-聚丙烯酰胺凝胶分离蛋白(40 μg),转移至PVDF膜上后再用5%脱脂奶粉封闭2~3 h,加入一抗ATP1A2(1∶100)、SCr(1∶200)、AKT(1∶150)、PI3K(1∶200),内参为GAPDH(1∶2 000),4 ℃摇床孵育过夜。TBST冲洗3次,室温下与辣根过氧化物酶标记山羊抗小鼠IgG(1∶5 000)结合孵育2 h,杂交冲洗。然后将膜浸入ECL工作液,计算目标蛋白与GAPHD之间的OD值,检测相对表达。实验重复3次,取平均值。

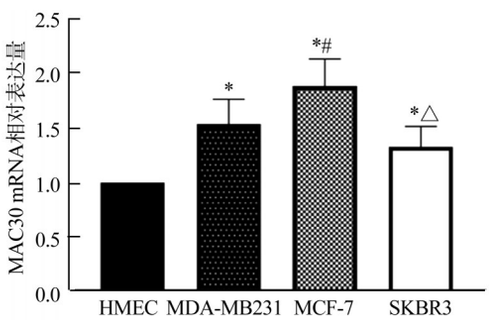
1.11 统计学分析

采用GraphPad Prism 8软件分析数据,各组数据服从正态分布,计量资料以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,多组间比较采用方差分析,事后检验采用*Bonferroni*法进行组间两两比较,$P<0.05$表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HMEC、MDA-MB231、MCF-7和SKBR3细胞MAC30 mRNA表达

与HMEC细胞相比,MDA-MB231、MCF-7和SKBR3细胞MAC30 mRNA表达水平均升高($P<0.05$),其中MCF-7细胞MAC30 mRNA表达水平最高,见图1。故本研究选择MCF-7细胞进行后续实验。



*:与HMEC细胞相比,$P<0.05$;#:与MDA-MB231细胞相比,$P<0.05$;△:与MCF-7细胞相比,$P<0.05$

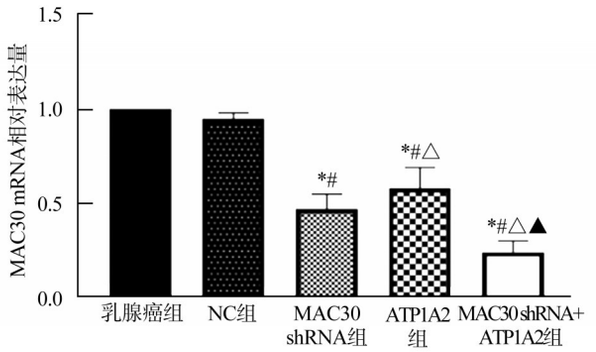
图1 HMEC、MDA-MB231、MCF-7和SKBR3细胞MAC30 mRNA表达

2.2 各组MCF-7细胞中MAC30 mRNA表达

乳腺癌组与NC组MAC30 mRNA表达水平比较,差异无统计学意义($P>0.05$);与乳腺癌组和NC组相比,MAC30 shRNA组MAC30 mRNA表达水平降低($P<0.05$);与MAC30 shRNA组相比,ATP1A2组MAC30 mRNA表达水平升高($P<0.05$);与ATP1A2组相比,MAC30 shRNA+ATP1A2组MAC30 mRNA表达水平降低($P<0.05$),见图2。

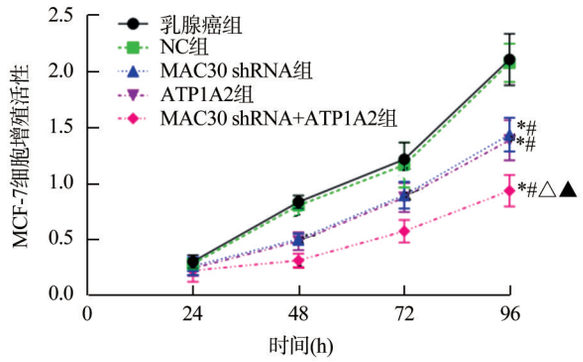
2.3 各组MCF-7细胞增殖活性比较

24 h、48 h、72 h及96 h时,乳腺癌组与NC组MCF-7细胞增殖活性比较差异均无统计学意义($P>0.05$);与乳腺癌组和NC组相比,MAC30 shRNA组、ATP1A2组及MAC30 shRNA+ATP1A2组细胞增殖活性均降低($P<0.05$);MAC30 shRNA组与ATP1A2组细胞增殖活性比较差异无统计学意义($P>0.05$);与MAC30 shRNA组和ATP1A2组相比,MAC30 shRNA+ATP1A2组细胞增殖活性降低($P<0.05$),见图3。



*:与乳腺癌组相比,$P<0.05$;#:与NC组相比,$P<0.05$;△:与MAC30 shRNA组相比,$P<0.05$;▲:与ATP1A2组相比,$P<0.05$

图2　各组MCF-7细胞中MAC30 mRNA表达

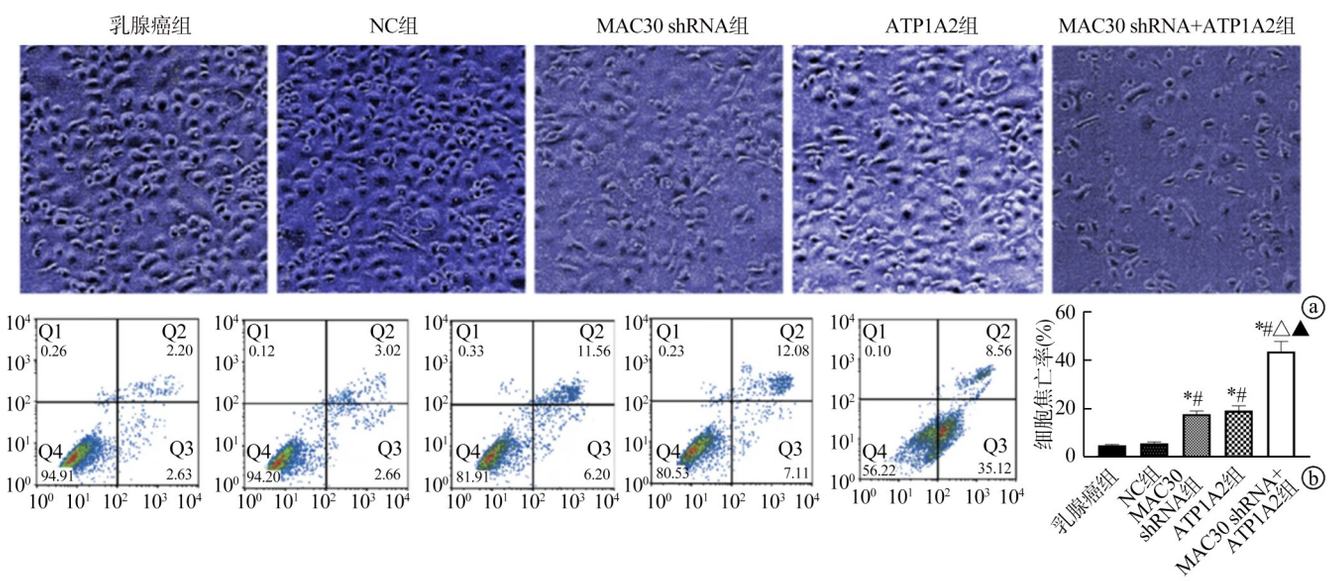


*:与乳腺癌组相比,$P<0.05$;#:与NC组相比,$P<0.05$;△:与MAC30 shRNA组相比,$P<0.05$;▲:与ATP1A2组相比,$P<0.05$

图3　各组MCF-7细胞增殖活性

2.4　各组MCF-7细胞焦亡率比较

MAC30 shRNA及ATP1A2质粒均可以诱发MCF-7细胞形态改变,主要体现在细胞体积缩小、细胞颗粒增多及大量焦亡。细胞之间连接较少,以MAC30 shRNA+ATP1A2组最佳,培养液出现大量细胞悬浮,见图4a。乳腺癌组与NC组MCF-7细胞焦亡率比较,差异无统计学意义($P>0.05$);与乳腺癌组和NC组比较,MAC30 shRNA组、ATP1A2组及MAC30 shRNA+ATP1A2组MCF-7细胞焦亡率均升高,其中MAC30 shRNA+ATP1A2组最高,而MAC30 shRNA组与ATP1A2组比较,差异无统计学意义($P>0.05$),见图4b。



a:各组细胞形态比较(×200);b:各组细胞焦亡率比较　*:与乳腺癌组相比,$P<0.05$;#:与NC组相比,$P<0.05$;△:与MAC30 shRNA组相比,$P<0.05$;▲:与ATP1A2组相比,$P<0.05$

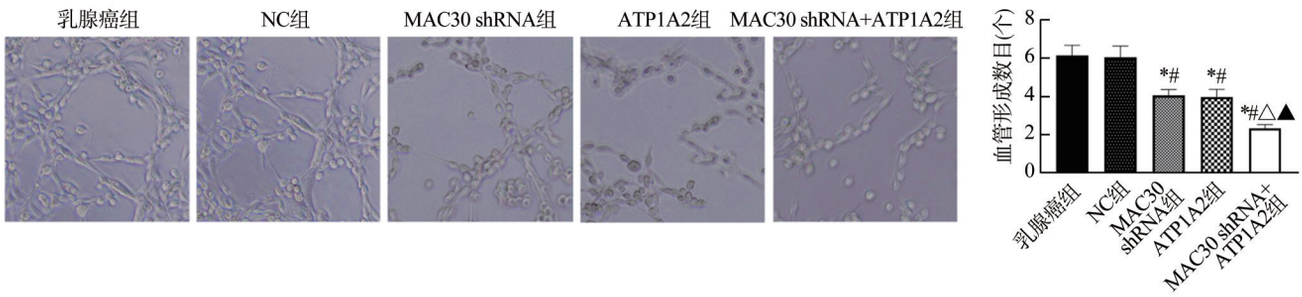
图4　各组MCF-7细胞形态及细胞焦亡率比较

2.5　各组MCF-7细胞血管形成数目比较

乳腺癌组与NC组细胞血管形成数目比较差异无统计学意义($P>0.05$);与乳腺癌组和NC组相比,MAC30 shRNA组、ATP1A2组及MAC30 shRNA+ATP1A2组细胞血管形成数目减少($P<0.05$),MAC30 shRNA组与ATP1A2组细胞血管形成数目比较差异无统计学意义($P>0.05$);与MAC30 shRNA组和ATP1A2组相比,MAC30 shRNA+ATP1A2组细胞血管形成数目减少($P<0.05$),见图5。

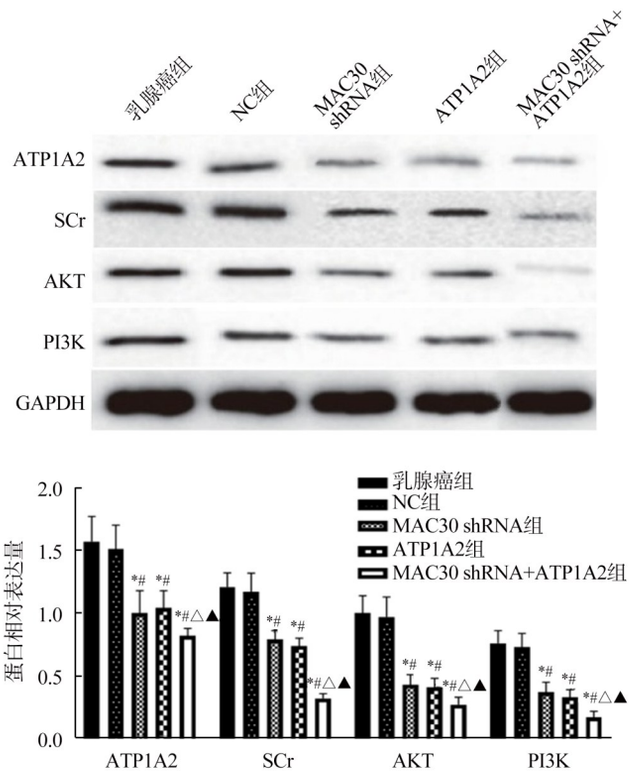
2.6　各组MCF-7细胞ATP1A2、SCr、AKT及PI3K水平比较

乳腺癌组与NC组细胞ATP1A2、SCr、AKT及PI3K表达水平比较差异无统计学意义($P>0.05$);与乳腺癌组和NC组相比,MAC30 shRNA组、ATP1A2组及MAC30 shRNA+ATP1A2组ATP1A2、SCr、AKT及PI3K表达水平降低($P<0.05$);MAC30 shRNA组与ATP1A2组ATP1A2、SCr、AKT及PI3K表达水平比较差异无统计学意义($P>0.05$);与MAC30 shRNA组和ATP1A2组相比,MAC30 shRNA+ATP1A2组ATP1A2、SCr、AKT及PI3K表达水平降低($P<0.05$),见图6。



*:与乳腺癌组相比,$P<0.05$;#:与NC组相比,$P<0.05$;△:与MAC30 shRNA组相比,$P<0.05$;▲:与ATP1A2组相比,$P<0.05$

图5 各组MCF-7细胞血管形成比较(×200)



*:与乳腺癌组相比,$P<0.05$;#:与NC组相比,$P<0.05$;△:与MAC30 shRNA组相比,$P<0.05$;▲:与ATP1A2组相比,$P<0.05$

图6 各组MCF-7细胞ATP1A2、SCr、AKT及PI3K水平比较

3 讨论

乳腺癌是我国发病率居首位的恶性肿瘤[8]。研究其治疗机制对于提高临床治疗效果、延长患者预后具有重要作用。本研究通过观察下调MAC30对乳腺癌细胞焦亡、血管生成及ATP1A2蛋白水平的影响,为乳腺癌的治疗提供参考。

MAC30是胰岛素样生长因子结合蛋白家族成员之一,位于染色体17q11.2,具有调节胰岛素样生长因子(insulin-like growth factor,IGF)活性的作用[9]。MAC30在人体内(包括肝细胞、支气管上皮细胞、巨噬细胞和树突状细胞等)广泛分布,在某些癌细胞和癌组织中也有表达[10]。MAC30在不同恶性肿瘤中的表达存在差异,如在胰腺癌[11]中呈低表达,而在胃癌[11]、结肠癌[11]及卵巢癌[12]中呈高表达。MAC30可能参与乳腺癌的生长和转移。乳腺癌组织中MAC30的表达高于正常组织。此外,肿瘤细胞表面的MAC30与癌细胞的浸润能力和转移能力有关。因此,MAC30也被认为是开发抗肿瘤药物的一个潜在靶点。在乳腺癌中MAC30过表达可被乳腺癌易感基因1(breast cancer1,BRCA1)诱导后突变,进而加快疾病进展。MAC30作为细胞内孤儿受体,可与sigma2受体结合进而促进癌细胞生长及分化[13]。本研究结果表明,在乳腺癌细胞中下调MAC30可抑制癌细胞增殖,加快焦亡。有研究证实,在胃癌细胞中抑制MAC30可降低蛋白激酶B(protein kinase B,PKB)/AKT磷酸化及细胞周期蛋白B1(cyclin B1)活化,进而降低胃癌细胞活性,推测MAC30表达与肿瘤细胞活性相关[14]。细胞焦亡作为细胞程序性死亡的方式之一,当细胞焦亡发生时GSDMD活性升高,可通过促进细胞膜裂解而加快肿瘤细胞死亡[15]。下调MAC30可加快癌细胞焦亡,推测机制为抑制MAC30后磷脂酰肌醇3激酶(phosphatidylinositol 3-kinase,PI3K)/AKT受到抑制,可促进乳腺癌细胞焦亡,发挥抗肿瘤作用。

当肿瘤体积较小时,由于肿瘤细胞对营养物质和氧气等的需求量相对较低,可以通过弥散方式从周围组织中摄取所需的营养物质。但当肿瘤体积增大到一定程度时,弥散方式无法满足肿瘤细胞的需求,肿瘤细胞就会陷入缺氧状态。为了维持生长,肿瘤细胞开始释放一系列生长因子(如VEGF等)来刺激周围血管的生长和形成[16]。乳腺癌细胞中缺氧诱导因子-1(hypoxia inducible factor-1,HIF-1)激活可加快VEGF表达,进而加快细胞侵袭,诱导肿瘤血管形成[17-18]。本研究结果表明,下调MAC30可抑制乳腺癌细胞血管生成,从而抑制肿瘤生长,阻止疾病发展。MAC30虽然为IGF家族成员之一,但与IGF-1并不完全相同。MAC30在乳腺癌细胞中与IGF-1的表达水平一致。有研究发现,在乳腺癌细胞中,IGF-1的表达水平升高,并通过激活下游PI3K/AKT等,促进肿瘤细胞增殖、侵袭和转移等恶性生物学行为[19-20]。在乳腺癌细胞中IGF-1表达升高并参与肿瘤血管生成,因此推测下调

MAC30可以抑制IGF-1活性,降低肿瘤组织中VEGF表达,减少血管形成数目,从而改善病情。本研究结果表明,下调MAC30后对ATP1A2活性具有调节作用,可以抑制乳腺癌的发生发展。

ATP1A2是一个编码钠钾泵α2亚基的基因,在细胞膜上扮演着重要的离子输送功能。现阶段,随着对ATP1A2基因研究的深入,其被认为与乳腺癌的发生发展存在一定关系。有研究表明,ATP1A2在乳腺癌组织中的表达水平显著高于正常组织,且ATP1A2高表达乳腺癌患者预后往往不佳[21]。ATP1A2对肿瘤细胞生物活性具有调控作用。有研究表明,上调ATP1A2可促进乳腺癌细胞的迁移和侵袭,而对其抑制后则能够减少乳腺癌细胞的迁移和侵袭[22]。本研究推测在乳腺癌中,MAC30的过表达可以调节SCr/PI3K/AKT通路的活性,从而促进肿瘤的增殖和侵袭,相反的抑制MAC30可能降低SCr/PI3K/AKT信号通路表达,从而发挥抗肿瘤血管生成的作用。本研究表明下调MAC30可以抑制ATP1A2、SCr、PI3K、AKT表达,进而抑制癌细胞生长,减少血管生成,加快焦亡。

综上所述,下调MAC30可抑制乳腺癌细胞增殖及血管生成,加快焦亡,其机制与抑制ATP1A2表达相关。但本研究未进行动物相关实验,关于MAC30调节ATP1A2的相关机制还需要进一步探讨。

[参考文献]

[1] Neemat K, Hebatallah K, Loay K, et al. Detection of activating mutations in liquid biopsy of Egyptian breast cancer patients using targeted next-generation sequencing: a pilot study[J]. J Egypt Natl Canc Inst, 2021,33(1):10. doi:10.1186/s43046-021-00067-3.

[2] Zhou J, Zhu X, Wu S, et al. Epithelial-mesenchymal transition status of circulating tumor cells in breast cancer and its clinical relevance[J]. Cancer Biol Med, 2020,17(1):169-180. doi:10.20892/j.issn.2095-3941.2019.0118.

[3] Lee D, Lee YH, Lee KH, et al. Aviculin isolated from lespedeza cuneata induce apoptosis in breast cancer cells through mitochondria-mediated caspase activation pathway[J]. Molecules, 2020, 25(7): 1708. doi:10.3390/molecules25071708.

[4] Zou G, Zhang X, Wang L, et al. Herb-sourced emodin inhibits angiogenesis of breast cancer by targeting VEGFA ranscription[J]. Theranostics,2020,10(15):6839-6853. doi:10.7150/thno.43622.

[5] Razak NA, Abu N, Ho WY, et al. Cytotoxicity of eupatorin in MCF-7 and MDA-MB-231 human breast cancer cells via cell cycle arrest, anti-angiogenesis and induction of apoptosis[J]. Sci Rep, 2019, 9(1): 1514. doi:10.1038/s41598-018-37796-w.

[6] 覃 绎,袁洪范,曾蓓蕾,等. ATP1A2通过Src/PI3K/Akt信号通路抑制人乳腺癌细胞的侵袭和迁移[J]. 第三军医大学学报,2019,41(22):2166-2173. doi:10.16016/j.1000-5404.201906041.

[7] Wu X, Zhang Y, Guo J, et al. MAC30 knockdown inhibits proliferation and enhance apoptosis of gastric cancer by suppressing wnt/β-catenin-signaling pathway[J]. Gastroenterol Res Pract, 2020, 20(17): 1-11. doi:10.1155/2020/6358685.

[8] Foukakis T, Von Minckwitz G, Bengtsson NO, et al. Cyclin E1 (CCNE1) and E2 (CCNE2) as prognostic and predictive markers for endocrine therapy (ET) in early breast cancer[J]. JAMA, 2020, 316(18):1888.

[9] Zhang Y, Li H, Wang J, et al. Meningioma-associated protein 30 accelerates the proliferation and invasion of hepatocellular carcinoma by modulating Wnt/GSK-3β/β-catenin signaling[J]. J Bioenerg Biomembr, 2021, 53(1): 73-83. doi:10.1007/s10863-020-09864-2.

[10] Song GQ, Yi Z. MAC30 knockdown involved in the activation of the Hippo signaling pathway in breast cancer cells[J]. Biol Chem, 2018, 399(11): 1305-1311. doi:10.1515/hsz-2018-0250.

[11] Kayed H, Kleeff J, Ding J, et al. Expression analysis of MAC30 in human pancreatic cancer and tumors of the gastrointestinal tract[J]. Histol Histopathol, 2004, 19(4): 1021-1031. doi: 10.14670/HH-19.1021.

[12] Yang S, Li H, Liu Y, et al. Elevated expression of MAC30 predicts lymph node metastasis and unfavorable prognosis in patients with epithelial ovarian cancer[J]. Med Oncol, 2013, 30(1): 324. doi: 10.1007/s12032-012-0324-7.

[13] 陈毅翀,赵 毅. 敲减MAC30通过PI3K/AKT抑制人乳腺癌细胞增殖并诱导其凋亡[J]. 现代肿瘤医学,2019,27(18):3167-3171. doi:10.3969/j.issn.1672-4992.2019.18.001.

[14] Xu XY, Zhang LJ, et al. Down-regulated MAC30 expression inhibits proliferation and mobility of human gastric cancer cells[J]. Cell Physiol Biochem, 2014, 33(5): 1359-1368. doi:10.1159/000358703.

[15] 乔恩奇,陈道宝,杨红健. miR-150基于PI3K/Akt信号通路调控乳腺癌细胞生物学特性的研究[J]. 中国妇幼保健,2019,34(16):3805-3809. doi:10.7620/zgfybj.j.issn.1001-4411.2019.16.56.

[16] 张慧敏,刘晓旭,谢佩玲,等. 盐酸青藤碱通过抑制bFGF介导的乳腺癌血管新生发挥抑瘤作用[J]. 西安交通大学学报(医学版),2021,42(6):947-952. doi:10.7652/jdyxb202106026.

[17] Zhao S, Geng Y, Cao L, et al. Deciphering the performance of polo-like kinase 1 in triple-negative breast cancer progression according to the centromere protein U-phosphorylation pathway[J]. Am J Cancer Res, 2021, 11(5): 2142-2158.

[18] Asemani S, Montazeri V, Foroutan-Ghaznavi M, et al. Dietary patterns and relative expression levels of PPAR-γ, VEGF-A and HIF-1α genes in benign breast diseases: case-control and consecutive case-series designs[J]. Br J Nutr, 2020, 124(8): 832-843. doi: 10.1017/S0007114520001737.

[19] 陈毅翀. MAC30通过PI3K/AKT促进人乳腺癌细胞的增殖并抑制凋亡[D]. 沈阳:中国医科大学. 2019. doi: 10.27652/d.cnki.gzyku.2019.000326.

[20] 徐其锋,温晓琼. 竹叶提取物通过调控Akt/HIF-1α通路抑制低氧条件下人乳腺癌MCF-7细胞的恶性生长[J]. 西安交通大学学报(医学版),2018,39(1):121-126. doi:10.7652/jdyxb201801026.

[21] Bogdanov A, Moiseenko F, Dubina M. Abnormal expression of ATP1A1 and ATP1A2 in breast cancer[J]. F1000Res, 2017, 6: 10. doi:10.12688/f1000research.10481.1.

[22] Chen F, Li Y, Qin N, et al. RNA-seq analysis identified hormone-related genes associated with prognosis of triple negative breast cancer[J]. J Biomed Res. 2020 Jan 29; 34(2): 129-138. doi: 10.7555/JBR.34.20190111.

(编辑:贺绍梅)