

猪苓酮 A 通过调节 Bcl-2/Bax 信号通路诱导雌激素受体阴性的乳腺癌细胞凋亡研究

叶 敏¹, 刘志强¹, 王李俊¹, 章黎明²

1. 江西中医药高等专科学校, 江西 抚州 344000

2. 江西省抚州市临川区中医院, 江西 抚州 344000

摘要: **目的** 研究猪苓酮 A 对雌激素受体 (ER) 阳性或阴性人乳腺癌细胞的凋亡作用及其可能的作用机制。 **方法** 选择 2 株 ER 阳性人乳腺癌细胞 (MCF-7 细胞、BT474 细胞) 和 1 株 ER 阴性人乳腺癌细胞 (MDA-MB-453 细胞), 用不同浓度的猪苓酮 A 分别处理 24 h, 或以 50 $\mu\text{mol/L}$ 的猪苓酮 A 分别处理 6、12、24、48 h 后, 分别采用噻唑蓝 (MTT) 法测定 3 株乳腺癌细胞的增殖情况; 采用流式细胞仪检测细胞凋亡和细胞周期; 采用 Western blotting 法检测与细胞凋亡密切相关的 Bcl-2 家族蛋白表达情况。 **结果** 猪苓酮 A 可以时间和剂量依赖性地抑制 ER 阴性 MDA-MB-453 细胞的增殖; 而对于 ER 阳性 MCF-7、BT474 细胞增殖均无明显影响; 细胞周期检测显示猪苓酮 A 可以使 MDA-MB-453 细胞的生长阻滞在 G₁ 或 G₂/M 期; 50 $\mu\text{mol/L}$ 猪苓酮 A 作用于 MDA-MB-453 细胞 24 h 后, 细胞出现明显凋亡, 而 MCF-7、BT474 细胞则没有出现明显凋亡; Western blotting 检测发现 50 $\mu\text{mol/L}$ 猪苓酮 A 处理组 ER 阴性 MDA-MB-453 细胞中促凋亡蛋白 Bax、Bad 表达量升高, 而抗凋亡蛋白 Bcl-2、Bcl-w 表达量降低。 **结论** 猪苓酮 A 能抑制 ER 阴性乳腺癌细胞的增殖并诱导其凋亡, 其作用机制与调控 Bcl-2 家族蛋白的表达量有关。

关键词: 猪苓酮 A; 乳腺癌; 雌激素受体; Bcl-2 家族蛋白; MCF-7; BT474; MDA-MB-453

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2018)22-5334-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.22.017

Apoptotic effects of polyporusterone A on estrogen receptor negative breast cancer cells via regulating Bcl-2/Bax pathway

YE Min¹, LIU Zhi-qiang¹, WANG Li-jun¹, ZHANG Li-ming²

1. Jiangxi College of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 344000, China

2. Jiagxi Province Fuzhou City Linchuan District Hospital of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 344000, China

Abstract: Objective To explore the apoptotic effect of polyporusterone A on estrogen receptor (ER)-positive and ER-negative human breast cancer cells and the possible mechanism. **Methods** Three human breast cancer cell lines (MDA-MB-453, MCF-7, and BT474) were chosen in this study. MTT assay was performed to measure the relative cell viabilities. Flow cytometry was used to analyze the apoptosis and cell cycle. Western blot analysis was used to determine the expression levels of Bcl-2 family proteins. **Results** Cell proliferation of ER-negative human breast cancer cells was significantly inhibited by polyporusterone A in a dose- and time-dependent manner, while no significant effect was observed on the proliferation of estrogen receptor (ER)-positive human breast cancer MCF-7 and BT474 cells. Moreover, polyporusterone A could reversibly arrest the MDA-MB-253 cells in G₁ or G₂/M phase. Flow cytometry results showed that 50 $\mu\text{mol/L}$ polyporusterone A induced MDA-MB-253 cells apoptosis after treatment for 24 h, while no apoptosis occurred in MCF-7 and BT474 cell lines. Western blot results showed that 50 $\mu\text{mol/L}$ polyporusterone A up-regulated the protein expression of Bad and Bax, but down-regulated the expression of Bcl-2 and Bcl-w protein. **Conclusion** Polyporusterone A can inhibit the proliferation of ER-negative breast cancer cells and promote apoptosis, which may be associated with the regulation of the expression of Bcl-2 family proteins.

Key words: polyporusterone A; breast cancer; estrogen receptor; Bcl-2 family proteins; MCF-7; BT474; MDA-MB-453

乳腺癌是在全球女性中发病率最高的恶性肿瘤之一^[1]。乳腺癌发病的年龄分布在东西方国家有所不同, 一般从 20 岁左右开始出现, 在绝经期即 45~

50 岁保持快速上升势头, 大约年龄每增长 10~20 岁发病率上升 1 倍, 绝经期后上升相对缓慢^[2]。乳腺癌的临床和生物学表现各异, 按照基因芯片的结

收稿日期: 2018-07-27

作者简介: 叶 敏, 女, 硕士, 讲师, 主管技师, 主要从事免疫与病原微生物的研究。E-mail: luxes98@126.com

果,乳腺癌并不是单一的疾病,按照固有的基因类型,至少可以分为 4 个亚型:(1) Luminal A 型,雌激素受体(ER)和/或孕激素受体(PR)阳性,且人表皮生长因子受体-2(HER2)阴性,这种类型对内分泌治疗敏感,对化疗不敏感,不需要进行靶向治疗;(2) Luminal B 型,ER 和/或 PR 阳性,且 HER2 阳性,这种类型对内分泌治疗的敏感度较 Luminal A 型差,但对化疗的反应性较 Luminal A 型好,其中 HER2 阳性的患者还应该考虑抗 HER2 的靶向治疗;(3) H 型,ER 和 PR 均为阴性,同时 HER2 表达为阳性,这类患者需要考虑化疗和靶向治疗;(4) 三阴性,即 ER、PR 及 HER2 表达均为阴性,此类患者只有化疗是有效的治疗手段^[3]。

由于分型较多,临床上一些乳腺癌患者能被治愈,而另一些则可能在几个月后迅速死亡。系统疗法对某些患者来说令人满意并有可能达到治愈的效果,但对另一些患者来说只能带来痛苦和经济负担。鉴于这种巨大的差异性,乳腺癌女性患者能否得到最好的治疗,应强调该病在个体不同表现的共性或差异性究竟如何,在决定治疗方案时 ER 的状态是考虑的重要因素之一^[4-5]。ER 是一种蛋白质分子,较多地存在于女性卵巢、乳腺、子宫等器官的细胞内,可与雌激素发生特异性结合而形成激素-受体复合物,使雌激素发挥其生物学效应。ER 对女性乳腺的发育和泌乳有重要的作用,但对其在各组织、器官中的表达与生理功能仍缺乏全面的了解^[6-7]。

化疗药物在一定程度上能抑制乳腺癌细胞增殖和转移,但毒性大且容易产生肿瘤耐药性,临床疗效并不理想,且部分患者难以耐受。因此从天然产物中寻找低毒、高效的抗乳腺癌活性成分是近年来研究的热点^[8-10]。猪苓酮 A 是传统中药猪苓中存在的主要活性成分之一,但目前对其药理活性的研究较少^[11],其抗肿瘤活性及作用机制尚未见文献报道。但是曾有学者发现并报道了猪苓提取物对白血病 1210 细胞的增殖具有抑制作用,这提示猪苓酮 A 可能具有潜在的抗肿瘤活性^[12]。本研究主要考察猪苓酮 A 对 ER 阳性及阴性的 3 株乳腺癌细胞增殖、凋亡及 Bcl-2 家族蛋白表达的影响,以期为探讨猪苓酮 A 的抗肿瘤活性和作用机制以及临床应用前景提供理论依据。

1 材料

猪苓酮 A、青霉素、链霉素、二甲基亚砜(DMSO)均购于美国 Sigma 公司(质量分数≥

95%);人乳腺癌细胞系 MCF-7 细胞(ER 阳性)、BT474 细胞(ER 阳性)和 MDA-MB-253 细胞(ER 阴性)购自中国科学院上海细胞库;胎牛血清购于美国 HyClone 公司;RPMI 1640 培养液购于美国 Gibco-BRL 公司;噻唑蓝(MTT)试剂盒购于北京索莱宝生物科技有限公司;AnnexinV/PI 细胞凋亡检测试剂盒、细胞浆蛋白抽提试剂盒购于上海碧云天生物技术有限公司;抗体包括 Bcl-2(货号 2872)、Bad(货号 9292)、Bax(货号 2772)、Bcl-w(货号 2724)均购于美国 Cell Signaling Technology 公司;其他试剂(分析纯)购于北京试剂厂。

2 方法

2.1 细胞培养及增殖抑制实验

将 MCF-7 细胞、BT474 细胞和 MDA-MB-253 细胞分别培养于补充了 10%胎牛血清的 RPMI 1640 培养基(含 100 U/mL 青霉素、100 μg/mL 链霉素)中,所有细胞培养在含有 5% CO₂, 37 °C 的潮湿环境中。分别取 1×10⁵ 个/mL 对数生长期的细胞,接种于 96 孔板(200 μL/孔),细胞贴壁后每孔加入终浓度为 0、25、50、100 μmol/L 的猪苓酮 A(溶解于 DMSO 中),每个浓度均设 6 个复孔,分别培养 24 h;此外还选择了 50 μmol/L 的猪苓酮 A 分别处理细胞 6、12、24、48 h,分别考察了浓度依赖性和时间依赖性,每次实验均以同体积 RPMI 1640 培养液为对照。于实验结束前 4 h 每孔加入 MTT 试剂 20 μL,继续孵育 4 h,吸掉上清,加入 DMSO 每孔 150 μL,摇床上振荡 15 min,待结晶完全溶解后酶标仪上检测 570 nm 处的吸光度(A)值,计算细胞增殖率。

细胞增殖率=实验组平均 A 值/对照组平均 A 值

2.2 细胞凋亡及细胞周期检测

将对数生长期细胞以 1×10⁶ 个/mL 浓度接种于 6 孔培养板内,待细胞贴壁后分别加入含猪苓酮 A 终浓度分别为 0、25、50、100 μmol/L 的培养液,培养 24 h 后,收集细胞,离心固定后加入 Annexin V-FITC 和 PI,室温避光染色。筛网滤过后送流式细胞仪进行细胞凋亡及细胞周期的检测。

2.3 Western blotting 检测相关蛋白的表达量

细胞接种及处理方法同“2.2”项,猪苓酮 A 处理 24 h 后收集细胞,总细胞裂解物制备裂解缓冲液(50 mmol/L Tris 缓冲液、150 mmol/L 氯化钠、5 mmol/L EDTA、1%Triton X-100、1%脱氧胆酸钠、30 mmol/L 磷酸氢二钠、50 mmol/L 氟化钠和 1

mmol/L 钒酸钠) 含有新加入的蛋白酶抑制剂混合物 (美国 GenDEPOT 公司), 煮沸 5 min, 8% SDS-PAGE 分离, 并转移至硝酸纤维素膜 (Millipore) 上。室温下封闭 1 h, 分别加入 1:1 000 稀释的兔抗人 Bcl-2、Bax、Bad、Bcl-w 蛋白, 4 °C 过夜。

2.4 统计学处理

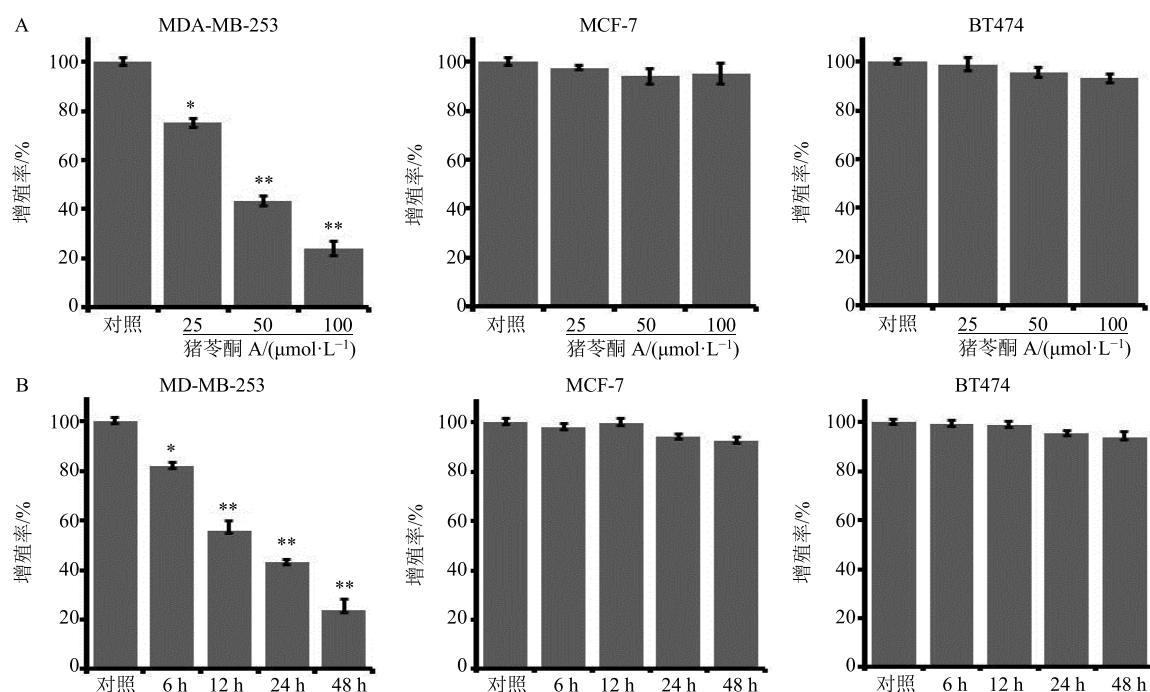
采用 SPSS 19.0 统计学软件进行数据分析, 计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间比较采用 *t* 检验; 多组间比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用

LSD-*t* 检验。

3 结果

3.1 对 3 种乳腺癌细胞增殖的影响

结果显示, 25、50、100 $\mu\text{mol/L}$ 猪苓酮 A 处理 6、12、24、48 h, 均可显著抑制 ER 阴性乳腺癌细胞株 MDA-MB-253 细胞的增殖, 且随着猪苓酮 A 浓度的升高和处理时间的延长, 抑制细胞增殖的作用也逐渐增强, 呈浓度和时间依赖效应。25、50、100 $\mu\text{mol/L}$ 猪苓酮 A 处理 6、12、24、48 h 对 2 株 ER 阳性乳腺癌细胞的增殖没有显著影响。结果见图 1。



A-25、50、100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 猪苓酮 A 作用 24 h; B-50 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 猪苓酮 A 作用 6、12、24、48 h; 与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$, 下同
A-25、50、100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ polyporus A treated for 24 h; B-50 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ polyporus A treated for 6, 12, 24, 48 h; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$
vs control group; same as below

图 1 猪苓酮 A 对 3 株乳腺癌细胞增殖的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 1 Effects of polyporus A on proliferation of MDA-MB-253, MCF-7, and BT474 cells ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

3.2 对 3 种乳腺癌细胞凋亡的影响

流式细胞仪检测结果显示, 猪苓酮 A 能诱导 ER 阴性的乳腺癌细胞 MDA-MB-253 凋亡, 而对 ER 阳性的乳腺癌细胞 MCF-7 和 BT474 凋亡几乎没有影响。结果如表 1 所示, 50 $\mu\text{mol/L}$ 猪苓酮 A 分别处理 MDA-MB-253、MCF-7 和 BT474 细胞 24 h 后, 细胞凋亡率分别为 47.3%、3.7%、3.7%; 100 $\mu\text{mol/L}$ 猪苓酮 A 分别处理 MDA-MB-253、MCF-7 和 BT474 细胞 24 h 后, 细胞凋亡率分别为 66.2%、3.1%、4.5%。

3.3 对 MDA-MB-253 细胞周期的影响

25、50、100 $\mu\text{mol/L}$ 猪苓酮 A 处理 MDA-MB-253

细胞 24 h 后, G_0/G_1 期细胞比例增加, 同时 G_2/M 期与 S 期细胞比例减少。100 $\mu\text{mol/L}$ 猪苓酮 A 处理后, MDA-MB-253 细胞 G_0/G_1 期细胞比例为 76.89%, 而 G_2/M 期与 S 期细胞比例分别为 3.05%、20.06%。提示猪苓酮 A 能使 ER 阴性的乳腺癌细胞周期阻滞在 G_0/G_1 期, 从而抑制细胞增殖。猪苓酮 A 处理后 MDA-MB-253 细胞周期分布结果见表 2。

3.4 对 3 种乳腺癌细胞中 Bcl-2 家族蛋白表达的影响

猪苓酮 A 处理乳腺癌细胞 24 h 后, Western blotting 结果显示 50 $\mu\text{mol/L}$ 猪苓酮 A 处理 24 h 后, MDA-MB-253 细胞中促凋亡蛋白 Bax、Bad 的表达

表 1 猪苓酮 A 对 3 种乳腺癌细胞凋亡的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 1 Effect of polyporusterone A on apoptosis of breast cancer cells ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	C/ ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	细胞凋亡率/%		
		MDA-MB-253	MCF-7	BT474
对照	—	1.60 $\pm$ 0.03	1.50 $\pm$ 0.05	1.60 $\pm$ 0.04
猪苓酮 A	25	22.80 $\pm$ 1.94	3.40 $\pm$ 0.11	2.90 $\pm$ 0.20
	50	47.30 $\pm$ 2.90	3.70 $\pm$ 0.35	3.70 $\pm$ 0.51
	100	66.20 $\pm$ 3.51	3.10 $\pm$ 0.44	4.50 $\pm$ 0.78

表 2 猪苓酮 A 对 ER 阴性的乳腺癌 MDA-MB-253 细胞周期的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 2 Effect of polyporusterone A on cell cycle of ER negative breast cancer cells MDA-MB-253 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	C/ ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	细胞周期分布/%		
		G ₀ /G ₁	S	G ₂ /M
对照	—	42.32 $\pm$ 0.89	40.12 $\pm$ 0.95	17.56 $\pm$ 0.54
猪苓酮 A	25	56.46 $\pm$ 1.87	33.24 $\pm$ 0.83	10.30 $\pm$ 0.55*
	50	69.36 $\pm$ 3.36*	27.31 $\pm$ 0.44*	4.33 $\pm$ 0.75**
	100	76.89 $\pm$ 2.23**	20.06 $\pm$ 0.26**	3.05 $\pm$ 0.43**

量显著升高,而抗凋亡蛋白 Bcl-2、Bcl-w 的表达量显著降低,如图 2 所示。相比之下,50 $\mu\text{mol/L}$ 猪苓酮 A 对 MCF-7 和 BT474 细胞中 Bcl-2 家族蛋白的表达量没有显著影响。

4 讨论

乳腺癌有多种分类系统和标准,2011 年 3 月召开的第 12 届瑞士 St. Gallen 国际乳腺癌大会上,专家组对乳腺癌诊疗领域的热点问题进行了深入探讨,并随后公布了最新版的《St. Gallen 共识》,用免疫组化检测的 ER、PR、HER2 和 Ki67 的结果将乳腺癌划分为 4 个类型,作为基因分型的近似替

代,方便临床应用^[13]。乳腺的生长、发育和细胞增殖受性激素的调控,ER 是正常乳腺上皮细胞存在的性激素受体,因此 ER 对乳腺癌的发生、发展至关重要,是乳腺癌重要的生物标志物,也是指导治疗和判定预后的重要指标^[14]。

女性乳腺癌具有很高的发病率和死亡率,目前临床的治疗手段包括手术治疗、放射治疗、化学治疗、内分泌治疗和分子靶向治疗等。乳腺癌的化疗药物从 20 世纪 70 年代的环磷酰胺、甲氨蝶呤、氟尿嘧啶,到 80 年代的蒽环类药物阿霉素、表阿霉素,再到 90 年代的紫杉类药物紫杉醇、多西紫杉醇的问世,已经成为乳腺癌治疗中重要的治疗方式,无论在乳腺癌的术前、术后的辅助治疗还是复发转移患者的解救治疗中都占有非常重要的位置。此外,长春瑞滨、吉西他滨、卡培他滨、铂类、烷化剂、氨甲喋呤等也常用于乳腺癌的化疗^[15]。尽管如此,目前乳腺癌仍缺乏有效治疗药物。因此关于乳腺癌的诊断及治疗的研究是当今世界非常重要的课题。

中医药,包括民族医药是祖国医学用来防治疾病的有力武器,与化学药相比,中药除了有着取材方便、价格低廉和毒副作用低等优点外,更重要的是,在减轻临床症状,提高生存质量,防止复发转移,延长生存期,提高免疫力,预防肿瘤,增强放、化疗敏感性,减轻放、化疗不良反应等很多方面都具有优势。近年来中药及其有效部位或成分抗癌研究工作取得了一系列的成果,已成为肿瘤医学的研究热点之一^[16]。猪苓酮 A 是传统中药猪苓中含有一个甾体类化合物,在本研究中,发现猪苓酮 A 可以显著降低 ER 阴性乳腺癌细胞的活力,而对 ER 阳性的乳腺癌细胞活力没有明显影响。这说明猪苓酮 A 可能特异性作用于 ER 阴性的乳腺癌细胞。在今后的研究中,可以考虑选择阳性对照药与猪苓酮 A 对比研究,比较猪苓酮 A 与现有药物活性的差异。

细胞凋亡是多细胞机体维持内环境稳定的重要自我调节机制,诱导细胞凋亡已成为肿瘤治疗的热点,亦成为评估抗癌药物作用能力的重要指标^[17]。本研究发现猪苓酮 A 在 25、50、100 $\mu\text{mol/L}$ 浓度下均能抑制 ER 阴性的人乳腺癌细胞的增殖,且呈现明显的剂量依赖及时间依赖效应:猪苓酮 A 处理 ER 阴性的乳腺癌细胞 24 h 后可诱导其凋亡,且随着药物浓度的升高细胞凋亡率增加。

此外,本研究发现经过猪苓酮 A 处理后,

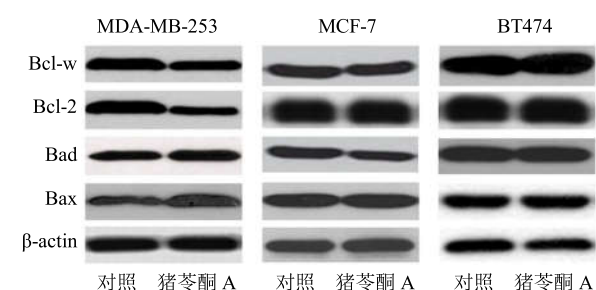


图 2 猪苓酮 A 对 3 种乳腺癌细胞中 Bcl-2 家族蛋白表达量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 2 Effects of polyporusterone A on intracellular expression levels of Bcl-2 family proteins in breast cancer cells ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

MDA-MB-253 细胞中抗凋亡蛋白 Bcl-2、Bcl-w 表达下调, 而促凋亡蛋白 Bax、Bad 表达上调。Bcl-2 蛋白家族是一个特别的家族, 成员中有些促进凋亡, 如 Bad、Bid、Bax, 有些成员阻止细胞凋亡, 如 Bcl-2、Bcl-w。细胞 Bcl-2 和 Bax 比例改变可调节细胞凋亡, 当 Bcl-2 占优势时, 细胞具有抗凋亡作用; 相反, 当 Bax 过表达时, 细胞易发生凋亡^[18]。由于猪苓酮 A 对肿瘤细胞的作用尚无文献报道, 因此对猪苓酮 A 诱导乳腺癌细胞凋亡机制的进一步研究以及阻滞细胞传导通路、信使的相关研究, 将对其临床应用具有良好的指导意义。

综上所述, 猪苓酮 A 可抑制 ER 阴性乳腺癌细胞增殖并诱导细胞凋亡, 其诱导细胞凋亡机制可能与上调 Bad、Bax 蛋白表达并下调 Bcl-2、Bcl-w 蛋白表达有关。本研究为 ER 阴性乳腺癌治疗所需的新药或其类似物的发现提供了实验依据。

参考文献

- [1] Massa I, Balzi W, Burattini C, *et al.* The challenge of sustainability in healthcare systems: Frequency and cost of inappropriate patterns of breast cancer care [J]. *Breast*, 2017, 34(1): 103-107.
- [2] Bergqvist J, Strang P. The will to live-breast cancer patients perceptions' of palliative chemotherapy [J]. *Acta Oncol*, 2017, 19(1): 1-7.
- [3] Iancu G, Vasile D, Iancu R C, *et al.* "Triple positive" breast cancer-a novel category [J]. *Rom J Morphol Embryol*, 2017, 58(1): 21-26.
- [4] Sauer S J, Tarpley M, Shah I, *et al.* Bisphenol A activates EGFR and ERK promoting proliferation, tumor spheroid formation and resistance to EGFR pathway inhibition in estrogen receptor-negative inflammatory breast cancer cells [J]. *Carcinogenesis*, 2017, 38(3): 252-260.
- [5] Fu P, Du F, Liu Y, *et al.* WP1130 increases cisplatin sensitivity through inhibition of usp9x in estrogen receptor-negative breast cancer cells [J]. *Am J Transl Res*, 2017, 9(4): 1783-1791.
- [6] Ma R, Karthik G M, Lövrot J, *et al.* Estrogen receptor β as a therapeutic target in breast cancer stem cells [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2017, 109(3): 1-14.
- [7] Jameera Begam A, Jubie S, *et al.* Estrogen receptor agonists/antagonists in breast cancer therapy: A critical review [J]. *Bioorg Chem*, 2017, 71(1): 257-274.
- [8] Tian T, Chen C, Yang F, *et al.* Establishment of apoptotic regulatory network for genetic markers of colorectal cancer and optimal selection of traditional Chinese medicine target [J]. *Saud J Biol Sci*, 2017, 24(3): 634-643.
- [9] Li W, Li C, Zheng H, *et al.* Therapeutic targets of traditional Chinese medicine for colorectal cancer [J]. *J Tradit Chin Med*, 2016, 36(2): 243-249.
- [10] Mu J, Liu T, Jiang L, *et al.* The traditional Chinese medicine baicalein potently inhibits gastric cancer cells [J]. *J Cancer*, 2016, 7(4): 453-461.
- [11] Zhao Y Y, Chao X, Zhang Y, *et al.* Cytotoxic steroids from *Polyporus umbellatus* [J]. *Planta Med*, 201, 76(15): 1755-1758.
- [12] Ohsawa T, Yukawa M, Takao C, *et al.* Studies on constituents of fruit body of *Polyporus umbellatus* and their cytotoxic activity [J]. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, 1992, 40(1): 143-147.
- [13] Kim E S, Scott L J. Palbociclib: A review in HR-positive, HER2-negative, advanced or metastatic breast cancer [J]. *Target Oncol*, 2017, 12(3): 373-383.
- [14] Cheng R, Liu Y J, Cui J W, *et al.* Aspirin regulation of c-myc and cyclinD1 proteins to overcome tamoxifen resistance in estrogen receptor-positive breast cancer cells [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(18): 30252-30264.
- [15] Maiyo F, Singh M. Selenium nanoparticles: Potential in cancer gene and drug delivery [J]. *Nanomedicine*, 2017, 12(9): 1075-1089.
- [16] He Y. Progress in using combination of Chinese drug with chemotherapy to treat cancer [J]. *J Tradit Chin Med*, 2004, 24(2): 153-157.
- [17] Fan H, Liang Y, Jiang B, *et al.* Curcumin inhibits intracellular fatty acid synthase and induces apoptosis in human breast cancer MDA-MB-231 cells [J]. *Oncol Rep*, 2016, 35(5): 2651-2656.
- [18] Čečka F, Hornychová H, Melichar B, *et al.* Expression of Bcl-2 in breast cancer: Correlation with clinicopathological characteristics and survival [J]. *Acta Med*, 2008, 51(2): 107-112.