

• 实验研究 •

比卡鲁胺对乳腺癌细胞周期、巨噬细胞极化及 p38/p-STAT1 水平的影响

吕景娣, 王永辉*, 冷茹冰, 王沛, 曾琛, 孔永红

驻马店市中心医院, 河南 驻马店 463000

摘要: **目的** 探究比卡鲁胺对乳腺癌细胞凋亡周期、巨噬细胞极化及 p38/p-STAT1 水平的影响。**方法** CCK-8 检测不同浓度 (25、50、100 $\mu\text{mol/L}$) 比卡鲁胺对乳腺癌细胞和巨噬细胞增殖能力的影响。将细胞随机分为 RAW264.7 细胞组、RAW264.7 细胞 + 比卡鲁胺 100 $\mu\text{mol/L}$ 组、MCF-7 细胞组、RAW264.7 细胞 + MCF-1 细胞组、RAW264.7 细胞 + MCF-1 细胞 + 比卡鲁胺 100 $\mu\text{mol/L}$ 组。流式细胞仪检测极化指标 CD86 和 CD206 表达; ELISA 法检测细胞因子肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-6 (IL-6)、白细胞介素-10 (IL-10) 水平; Transwell 检测细胞侵袭能力; 流式细胞仪检测细胞周期; 蛋白质印迹检测细胞中 p-p38、p21、p-STAT 蛋白表达。**结果** 卡鲁胺可抑制乳腺癌 MCF-7 细胞和巨噬细胞 RAW264.7 细胞增殖能力, 且呈剂量相关性 ($P < 0.05$)。与 RAW264.7 细胞组相比, RAW264.7 细胞 + 比卡鲁胺 100 $\mu\text{mol/L}$ 组 CD86 阳性表达、IL-6 和 TNF- α 水平显著升高, CD206 阳性表达和 IL-10 水平显著降低 ($P < 0.05$)。与 MCF-7 细胞组相比, MCF-7 细胞 + RAW264.7 组细胞侵袭能力、S 期细胞所占比例及细胞中 CDK4 蛋白表达明显升高, G₀/G₁ 期细胞所占比例及细胞中 p-p38、p-STAT1、p21 蛋白表达降低 ($P < 0.05$)。与 MCF-7 细胞 + RAW264.7 细胞组相比, MCF-7 细胞 + RAW264.7 细胞 + 比卡鲁胺 100 $\mu\text{mol/L}$ 组细胞侵袭能力、S 期细胞所占比例及细胞中 CDK4 蛋白表达明显降低, G₀/G₁ 期细胞所占比例及细胞中 p-p38、p-STAT1、p21 蛋白表达升高 ($P < 0.05$)。**结论** 比卡鲁胺可通过调控乳腺癌巨噬细胞极化抑制乳腺癌细胞增殖和侵袭, 阻滞细胞周期进程, 其机制可能和激活 p38/p-STAT1 信号通路有关。

关键词: 比卡鲁胺; 乳腺癌; 周期巨噬细胞极化; 细胞增殖; p38/p-STAT1 信号

中图分类号: R966; R979.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2023)07-1553-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2023.07.001

Effects of bicalutamide on breast cancer cell cycle, macrophage polarization and p38/p-STAT1 levels

Lǚ Jing-di, WANG Yong-hui, LENG Ru-bing, WANG Pei, ZENG Chen, KONG Yong-hong

Zhumadian Central Hospital, Zhumadian 463000, China

Abstract: **Objective** To investigate the effects of bicalutamide on the apoptotic cycle, macrophage polarization and p38/p-STAT1 levels in breast cancer cells. **Methods** The effects of different concentrations (25, 50, 100 $\mu\text{mol/L}$) of bicalutamide on the proliferation of breast cancer cells and macrophages were detected by CCK-8. The cells were randomly divided into RAW264.7 cell group, RAW264.7 cell + bicalutamide 100 $\mu\text{mol/L}$ group, MCF-7 cell group, RAW264.7 cell + MCF-1 cell group, RAW264.7 cell + MCF-1 cell + bicalutamide 100 $\mu\text{mol/L}$ group. Expressions of CD86 and CD206 were detected by flow cytometry. The levels of tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-6 (IL-6) and interleukin-10 (IL-10) were detected by ELISA. Transwell was used to detect cell invasion ability. The cell cycle was measured by flow cytometry. The expression of p-p38, p21 and p-STAT proteins was detected by Western blotting. **Results** Bicalutamide inhibited the proliferation of breast cancer MCF-7 cells and macrophage RAW264.7 cells, and there was a correlation ($P < 0.05$). Compared with RAW264.7 cell group, CD86 positive expression, IL-6 and TNF- α levels were significantly increased in RAW264.7 cell + bicalutamide 100 $\mu\text{mol/L}$ group, while CD206 positive expression and IL-10 levels were significantly

收稿日期: 2023-04-22

基金项目: 吴阶平医学基金会临床科研专项资助基金项目 (320.6750.2021-10-54)

作者简介: 吕景娣, 女, 硕士, 研究方向为药理学。E-mail: afuuewuz2@163.com

*通信作者: 王永辉, 男, 硕士, 研究方向为临床药理学。

decreased ($P < 0.05$). Compared with MCF-7 cell group, invasion ability, S phase cells, and CDK4 protein expression were significantly increased in MCF-7 cell + RAW264.7 group, while the proportion of G₀/G₁ phase cells and p-p38, p-STAT1 and p21 protein expression were decreased ($P < 0.05$). Compared with MCF-7 cells + RAW264.7 cells group, the invasion ability, the proportion of S phase cells and the expression of CDK4 protein in MCF-7 cells + RAW264.7 + bicalutamide 100 $\mu\text{mol/L}$ group were significantly decreased. The proportion of G₀/G₁ phase cells and the protein expression of p-p38, p-STAT1 and p21 in cells were increased ($P < 0.05$). **Conclusion** Bicalutamide can inhibit breast cancer cell proliferation and invasion by regulating breast cancer macrophage polarization and blocking cell cycle progression by a mechanism that may be related to activation of p38/p-STAT1 signaling pathway.

Key words: bicalutamide; breast cancer; cyclic macrophage polarization; cells multiplication; p38/p-STAT1 signaling

乳腺癌是女性发病率最高的恶性肿瘤, 据统计显示, 全球 2018 年乳腺癌新发患者约为 210 万, 死亡患者约为 62.7 万^[1]。近年来我国乳腺癌的发病率也呈逐年上升趋势, 对女性的身心健康造成严重的威胁^[2]。雄激素受体 (AR) 是一种配体激活的转录因子, 是核受体家族一员, 主要参与肿瘤细胞的增殖、侵袭和细胞周期的改变等生物学过程^[3]。目前研究发现, AR 在多数肿瘤中均有表达, 包括乳腺癌、卵巢癌、子宫内膜癌等^[4], 其中约 77% 乳腺癌中发现 AR 高表达。目前以 AR 为靶标的抗 AR 治疗在前列腺的治疗中已取得显著成效, 并且 AR 拮抗剂比卡鲁胺已被美国食品药品监督管理局批准用于前列腺癌的临床治疗^[5]。但目前 AR 拮抗剂对乳腺癌的治疗效果鲜有报道。

肿瘤微环境对肿瘤快速生长有重要作用, 且肿瘤恶性生长可影响肿瘤微环境, 两者相互影响, 其中巨噬细胞在肿瘤微环境中研究较广泛^[6]。巨噬细胞在不同的环境刺激下可分为 M1 和 M2 2 种表型, M1 型可促进炎症反应, 对肿瘤细胞有杀伤作用; M2 型可抑制炎症反应并促进肿瘤的进程^[7]。研究表明, 巨噬细胞的表型可以影响逆转乳腺癌 AR 的表达^[8-9]。通过巨噬细胞的表型转化, 有望成为抑制肿瘤发展的新靶点。P38 丝裂原活化蛋白激酶 (p38 MAPK) /信号转导与转录激活子 1 (STAT1) 信号在免疫调节和炎症反应中扮演重要角色。p38 MAPK 参与了多种生物学过程, 包括细胞增殖、分化和炎症反应; STAT1 蛋白的磷酸化位点是酪氨酸 701 (Tyr701), 其可介导干扰素信号的重要成员, 参与调节细胞免疫应答。目前已有研究发现, p38 MAPK/p-STAT 信号通路在肿瘤环境中对 AR 表达水平具有调控作用^[10], 但目前关于其在乳腺癌中的表达报道较少。因此本研究旨在探究比卡鲁胺对乳腺癌细胞周期、巨噬细胞极化及 p38/STAT1 信号表达的影响。

1 材料与方法

1.1 试剂和仪器

人乳腺癌细胞株 MCF-7 购自日本保健学资源库 (HSRRB); 巨噬细胞株 RAW264.7 (中科院上海生命科学研究院细胞库); 比卡鲁胺购自浙江质量分数 97%, 海正药业股份有限公司; p-p38 兔抗人抗体、p21 兔抗人抗体、p-STAT 兔抗人抗体、CDK4 抗体、CD86 抗体、CD206 抗体 (货号分别为 abx133058、p4749Rb-h、sc-135649、FNab01557、ybs-1035R、MA5-34981) 均购自美国 Abcam 公司; CCK-8 试剂 (货号 abs500003) 购自日本同仁化学研究所; RNA 提取试剂盒 (货号 T16674) 购自日本 Takara 公司; Thermo FC 型酶标仪购自美国 Thermo 公司。

1.2 细胞培养

取人乳腺癌细胞株 MCF-7 和巨噬细胞株 RAW264.7 培养于含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基中, 加青霉素 (100 U/mL) - 链霉素 (100 $\mu\text{g/mL}$) 双抗, 后将细胞培养于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 的培养箱中。当细胞密度为 80%~90% 时, 用 0.25% 胰蛋白酶消化 MCF-7 细胞传代, 用 PBS 收集 RAW264.7 细胞传代, 每 2~3 d 传代 1 次, 取对数生长的细胞。

1.3 CCK-8 检测细胞增殖能力

胰酶消化对数生长的 MCF-7、RAW264.7 细胞, 将细胞以 1.5×10^4 个/mL 密度接种于 96 孔板内, 于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱中培养 12 h, 吸弃培养基并用 PBS 清洗 1 次, 加入培养基及含有不同浓度 (0、25、50、100 $\mu\text{mol/L}$) 的比卡鲁胺培养基, 培养箱中继续培养 48 h。更换无血清培养基, 每孔中加入 100 μL 的 CCK-8 溶液, 于以上相同的培养箱培养 1.5 h, 于 450 nm 波长处在酶标仪上测定各组细胞的吸光度 (A) 值。

1.4 MCF-7 细胞和 RAW264.7 细胞共培养

将在 20 μL 基质胶铺于 Transwell 小室的底部, 于培养箱中静置小室, 1 h 左右基质胶完全凝固。将

Transwell 细胞共培养的小室置于 12 孔板中, 将上室和下室用 $0.41\ \mu\text{m}$ PVDF 膜分开; 分别将 5×10^4 个巨噬细胞和 2×10^4 MCF-7 细胞加入到下室和上室, 建立非接触共培养体系。

1.5 分组

设置 RAW264.7 细胞组 (DNEM 培养基培养 RAW264.7 细胞 24 h), RAW264.7 细胞+比卡鲁胺组 ($100\ \mu\text{mol/L}$ 比卡鲁胺培养基培养 RAW264.7 细胞 24 h), MCF-7 细胞组 (DMEM 培养基培养 MCF-7 细胞 24 h), RAW264.7 细胞+MCF-1 细胞组 (DMEM 培养基培养 MCF-7 和 RAW264.7 细胞 24 h), RAW264.7+MCF-1+比卡鲁胺组 ($100\ \mu\text{mol/L}$ 比卡鲁胺培养基培养 MCF-7 和 RAW264.7 细胞 24 h)。

1.6 流式细胞仪检测极化指标

用胰蛋白酶消化 RAW264.7 细胞和 RAW264.7 细胞+比卡鲁胺组细胞, 用 PBS 洗涤细胞并吹打细胞至细胞悬液, 离心机离心细胞悬液, $9\ 000\ \text{r/min}$ 离心细胞悬液 5 min, 弃掉上清液, 洗涤细胞后用 PBS 溶液重悬细胞, 加入 CD86 抗体 $5\ \mu\text{L}$, 混匀后将同等计量的 CD206 抗体加入, 于 $4\ ^\circ\text{C}$ 环境下避光染色 30 min, 弃掉上清液对其表型表达进行检测。

1.7 ELISA 检测细胞因子水平

用胰蛋白酶消化 RAW264.7 和 RAW264.7+ $100\ \mu\text{mol/L}$ 组细胞, 以 $2\times 10^5/\text{mL}$ 密度接种细胞悬液于 6 孔板中, 于 $37\ ^\circ\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱中培养 48 h, 收集培养上清液, ELISA 检测培养上清液中 TNF- α 、IL-6、IL-10 水平。

1.8 Transwell 检测细胞侵袭能力

取 MCF-7 组、RAW264.7+MCF-1 组、RAW264.7+MCF-1+ $100\ \mu\text{mol/L}$ 组细胞, 调整细胞密度为 1.5×10^4 个/mL。在 Transwell 上室中平铺 Matrigel 胶, 紫外线灯照射 6 h 消毒, 后将 $200\ \mu\text{L}$ 的细胞悬液加入到上室中; 将含 10% FBS 的 DMEM 培养基加入到 Transwell 的下室中, 用 $37\ ^\circ\text{C}$ 、5% CO_2 的孵箱中孵育 Transwell 小室 24 h。后将上室中残留的细胞和 Matrigel 胶用棉签轻轻擦掉, 置于甲醛溶液中固定, 10 min 后将 0.1% 的结晶紫加入到上室中孵育, 10 min 后清洗小室, 后将小室的底部朝上放置, 显微镜下观察小室, 随机取 5~10 个清晰的视野分析细胞侵袭能力。

1.9 流式细胞仪检测细胞周期

取 MCF-7 组、RAW264.7+MCF-1 组、RAW264.7+MCF-1+ $100\ \mu\text{mol/L}$ 组细胞, 以 5×10^5

个/孔的密度接种于 6 孔板中, 培养 24 h。收集细胞, PBS 清洗细胞 2 次, $1\ 500\ \text{r/min}$ 离心 5 min, 弃上清液。加入预冷的 75%乙醇, 于 $4\ ^\circ\text{C}$ 固定过夜。 $1\ 500\ \text{r/min}$ 离心 5 min, 弃掉上清液。PBS 清洗细胞。加入 $400\ \mu\text{L}$ PI 和 $10\ \mu\text{L}$ RNase, 于 $4\ ^\circ\text{C}$ 环境避光孵育 30 min, 流式细胞仪检测细胞周期。

1.10 蛋白质印迹检测细胞中 p-p38、p21、p-STAT 蛋白表达

取 MCF-7 组、RAW264.7+MCF-1 组、RAW264.7+MCF-1+ $100\ \mu\text{mol/L}$ 组细胞, 胰酶消化细胞, 离心细胞并收集上清液, DAB 法检测细胞中蛋白浓度。配制等浓度蛋白溶液为 $2\ \mu\text{g/mL}$, 按照 6:1 的比例加入相应的体积, 煮沸溶液 10 min 后保存蛋白溶液于 $-20\ ^\circ\text{C}$ 的冰箱。取蛋白样品 $30\ \mu\text{g}$, 电泳蛋白样品后转移到 PVDF 膜上, 加入 5% 的脱脂奶粉到 PVDF 膜上, 封闭 PVDF 膜 1 h, 分别加入一抗 p-p38、p21 (1:1 000)、p-STAT (1:2 000), 在 $4\ ^\circ\text{C}$ 环境中孵育一抗过夜, 后清洗 PVDF 膜, 加入相应的二抗 (1:1 000), 室温孵育二抗 2 h。将 ECL 发光剂加入到细胞中曝光, 用显影液显影, 用 Image Lab 软件分析各条带灰度值。

1.11 统计学分析

实验数据采用 Graphpad priam 8.0 软件进行统计学分析。计量资料均用 $\bar{x} \pm s$ 表示。不同组间数据采用单因素方差 (one-way ANOVA) 分析, 各组间两两比较采用 LSD- t 检验。

2 结果

2.1 比卡鲁胺对细胞增殖能力影响

用不同浓度的比卡鲁胺干预乳腺癌 MCF-7 细胞和巨噬细胞 RAW264.7 细胞后可抑制细胞的增殖能力, 且呈剂量相关性 ($P<0.05$), 见图 1。

2.2 比卡鲁胺对 RAW264.7 细胞极化的影响

与 RAW264.7 细胞组相比, RAW264.7 细胞+比卡鲁胺组 M1 型巨噬细胞表面标志物 CD86 阳性表达升高, M2 型巨噬细胞表面标志物 CD206 阳性表达降低 ($P<0.05$), 见图 2A~C。RAW264.7 细胞+比卡鲁胺组 M1 型巨噬细胞相关因子 IL-6、TNF- α 水平均显著高于 RAW264.7 细胞组, M2 型巨噬细胞相关因子 IL-10 的水平显著低于 RAW264.7 细胞组 ($P<0.05$), 见图 2D~F。

2.3 比卡鲁胺调控巨噬细胞 RAW264.7 对 MCF-7 细胞侵袭的影响

与 MCF-7 细胞组相比, MCF-7 细胞+RAW264.7

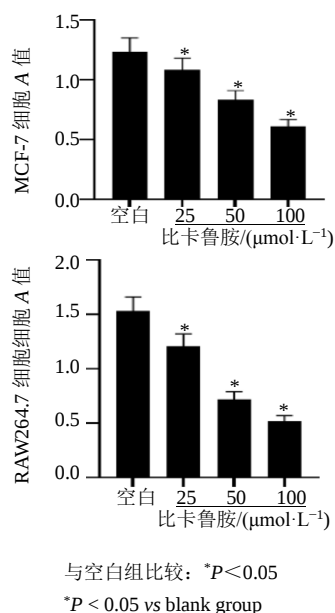
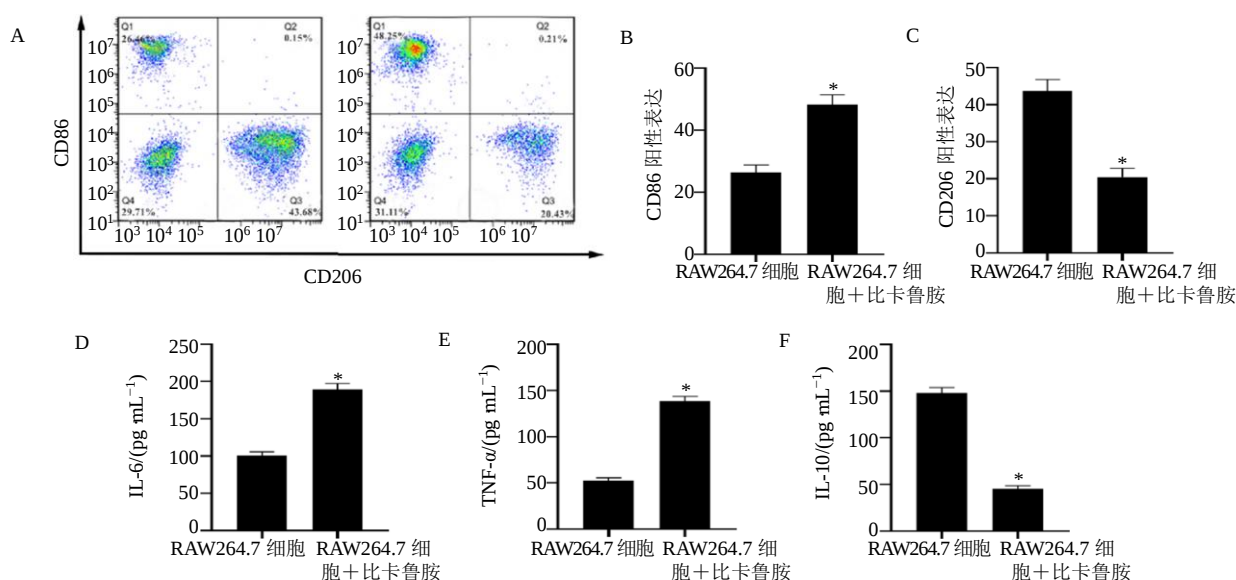


图 1 比卡鲁胺对 MCF-7 和 RAW264.7 细胞增殖能力影响
Fig. 1 Effects of bicalutamide on the proliferation capacity of MCF-7 and RAW264.7 cells



A-流式细胞仪检测细胞表面 CD86 和 CD206 表达 B-巨噬细胞表面 CD86 表达 C-巨噬细胞表面 CD206 表达 D-巨噬细胞 IL-6 水平 E-巨噬细胞 TNF-α 水平 F-巨噬细胞 IL-10 水平 与 RAW264.7 细胞组比较: * $P < 0.05$

A-Expression of CD86 and CD206 on the cell surface by flow cytometry B-Expression of CD86 on macrophage surface C-Expression of CD206 on macrophage surface D-IL-6 level of macrophages E-TNF-α level of macrophages F-IL-10 level of macrophages * $P < 0.05$ vs RAW264.7 cell group

图 2 比卡鲁胺对 RAW264.7 细胞极化的影响

Fig. 2 Effects of bicalutamide on polarization of RAW264.7 cells

0.05); 与 MCF-7 细胞+RAW264.7 细胞组相比, MCF-7 细胞+RAW264.7 细胞+比卡鲁胺组细胞中 p-p38、p-STAT1、p21 蛋白表达均明显增加, CDK4 蛋白表达降低 ($P < 0.05$), 见图 5。

细胞组细胞侵袭能力明显增加 ($P < 0.05$); 与 MCF-7 细胞+RAW264.7 细胞组相比, MCF-7 细胞+RAW264.7 细胞+比卡鲁胺组细胞侵袭能力明显降低 ($P < 0.05$), 见图 3。

2.4 比卡鲁胺调控巨噬细胞 RAW264.7 对 MCF-7 细胞周期影响

与 MCF-7 细胞组相比, MCF-7 细胞+RAW264.7 细胞组 G₀/G₁ 期细胞所占比例降低, S 期细胞所占比例升高 ($P < 0.05$); 与 MCF-7 细胞+RAW264.7 细胞组相比, MCF-7 细胞+RAW264.7 细胞+比卡鲁胺组 G₀/G₁ 期细胞所占比例升高, S 期细胞所占比例降低 ($P < 0.05$), 见图 4。

2.5 比卡鲁胺调控巨噬细胞 RAW264.7 对 MCF-7 细胞中 p-p38、p-STAT1、p21、CDK4 蛋白表达的影响

与 MCF-7 细胞组相比, MCF-7 细胞+RAW264.7 细胞组细胞中 p-p38、p-STAT1、p21 蛋白表达均明显降低, CDK4 蛋白表达增加 ($P < 0.05$), 见图 5。

3 讨论

近年来, 乳腺癌发病率呈年轻化趋势, 严重危害女性的生命健康。有研究发现, AR 与乳腺癌的发生、发展、复发和转移及预后密切相关, 提示 AR

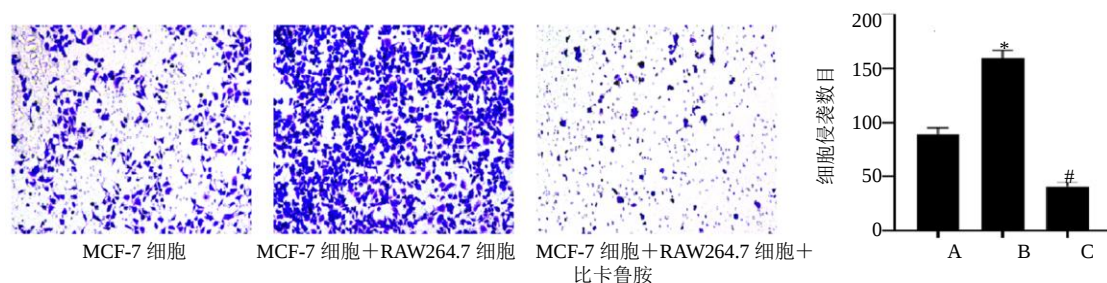


图 3 比卡鲁胺调控巨噬细胞 RAW264.7 对 MCF-7 细胞侵袭的影响
Fig. 3 Effect of bicalutamide on MCF-7 cell invasion by macrophage RAW264.7 cell

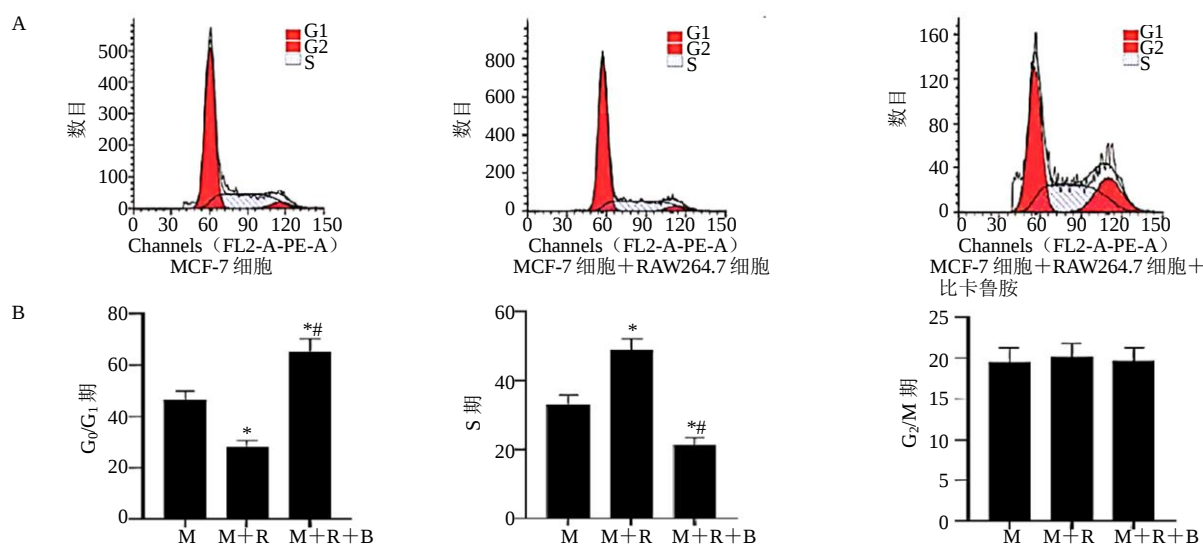


图 4 比卡鲁胺调控巨噬细胞 RAW264.7 对 MCF-7 细胞周期的影响
Fig. 4 Effect of bicalutamide regulates macrophage RAW264.7 on MCF-7 cell cycle

信号通路在乳腺癌的发生发展中具有重要作用^[11]。目前有大量的学者研究发现,雄激素及其受体信号通路是乳腺癌患者的治疗靶点,并通过抑制 AR 通路可能对乳腺癌有治疗作用^[12]。目前雄激素及其受体信号通路在前列腺癌的发生发展中承担重要作用,比卡鲁胺通过抑制 AR 的途径被应用于前列腺癌的临床疗效也取得了满意的疗效。近年来临床实验发现,乳腺癌应用 AR 抑制剂比卡鲁胺等治疗也可以获得良好的临床效益^[13]。因此,本研究采用比卡鲁胺作为干预药物,结果显示不同浓度的比卡

鲁胺均可抑制乳腺癌 MCF-7 细胞的增殖能力,且呈剂量相关性。任秋宇等^[14]研究证实,比卡鲁胺可抑制 AR 高表达 TNBC 型 BT549 细胞的增殖、侵袭和迁移能力,并诱导其凋亡。

巨噬细胞起源于骨髓单核细胞,以未成熟的状态进入血液,之后从血液迁移到特定部位进一步发育成熟^[15]。巨噬细胞具有生物学功能,包括防御生物毒性,吞噬和分泌生长因子、细胞因子、蛋白水解酶等。目前根据外界激活信号的反应,巨噬细胞可以极化成 2 个主要表型。M1 型巨噬细胞能释放

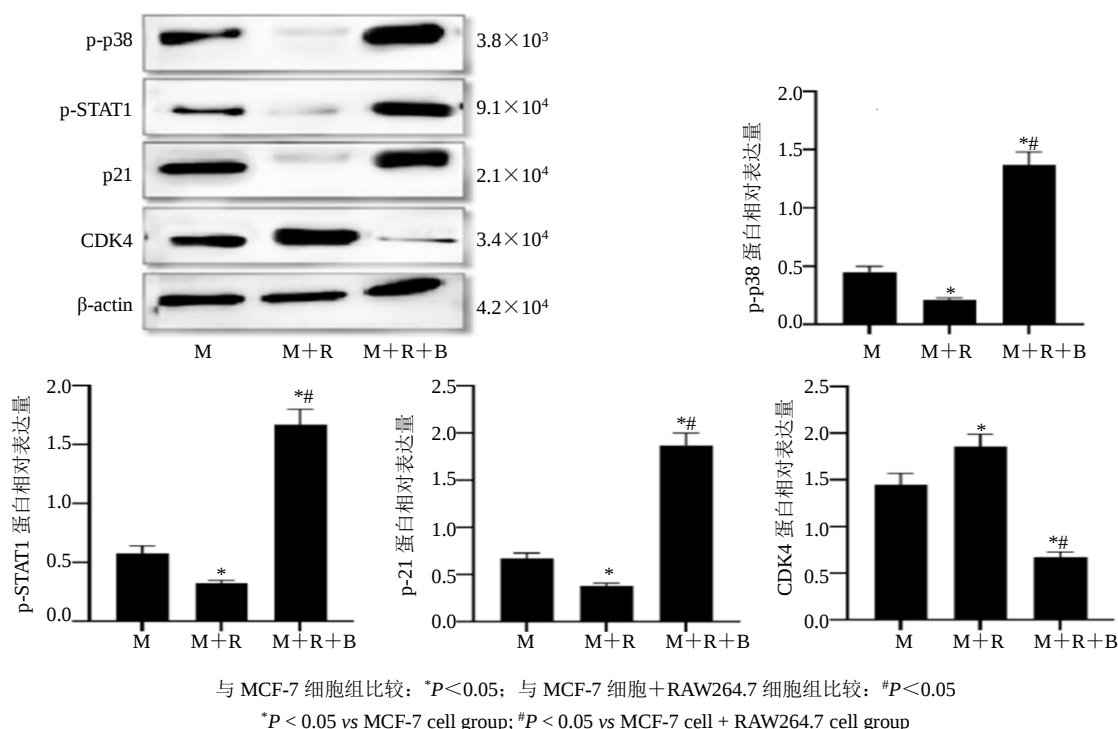


图 5 比卡鲁胺调控巨噬细胞对 MCF-7 细胞中 p-p38、p-STAT1、p21、CDK4 蛋白表达的影响
 Fig. 5 Effects of bicalutamide on the expression of p-p38, p-STAT1, p21, and CDK4 proteins in macrophage-mediated MCF-7 cells

TNF、IL-12 等促炎因子,具有较强的抗原提呈能力,因此其可提高免疫应答抑制肿瘤生长;M2 型巨噬细胞则可分泌抗炎因子 IL-10 和胶原蛋白等来抑制免疫反应,从而促进肿瘤的发生发展^[16]。本研究用不同浓度的比卡鲁胺干预培养后的巨噬细胞,发现比卡鲁胺可抑制巨噬细胞的增殖,呈明显的剂量相关性。为进一步探究比卡鲁胺对巨噬细胞极化的影响,本研究通过 ELISA 和流式细胞仪检测细胞表面表型,结果显示 Raw 组中 M1 型巨噬细胞表面标志物 CD206 及细胞相关因子 IL-10 水平明显升高,M2 型巨噬细胞表面标志物 CD86 及细胞相关因子 IL-6 和 TNF- α 水平明显降低;比卡鲁胺可降低 CD206、IL-10 水平,升高 CD806、IL-6 和 TNF- α 水平,提示比卡鲁胺可促进 M1 型巨噬细胞向 M2 型转化。本研究共培养巨噬细胞和乳腺癌细胞,细胞侵袭和周期结果显示,比卡鲁胺可通过调节巨噬细胞极化抑制乳腺癌细胞侵袭,阻滞细胞周期进程。

近年来学者们对细胞周期和细胞凋亡机制的研究逐渐深入,因此调控细胞周期和凋亡的蛋白也越来越受到关注^[17]。研究发现,磷酸化的 STAT1 能对细胞的凋亡发挥促进作用^[18]。学者发现,丝氨酸激酶 p38 蛋白在周期停滞和 STAT1 丝氨酸磷酸化

中起重要的调控作用。此外, p38 的激活和 STAT1 的转录功能密切相关,其可介导 STAT1 的磷酸化。任翠翠等^[19]研究发现,可通过抑制乳腺癌细胞中 p38/p-STAT1 信号通路的激活,而抑制细胞增殖和迁移。本研究结果显示,卡鲁胺可通过调节巨噬细胞极化促进乳腺癌细胞中 p38/p-STAT1 信号通路的激活,和上述研究结果一致。p21 蛋白是周期抑制蛋白之一,具有广泛的激活抑制活性,可通过多种途径参与细胞的发生发展。肿瘤以细胞周期进展失控为主要特征,而细胞周期蛋白依赖激酶(CDK)是细胞周期机制的重要组成部分。p21 可通过抑制 CDK 家族成员(CDK2、CDK4、CDK6)活性介导 G1-S 周期转化,是构成细胞周期 S1 期的检查点。矫璐宇等^[20]研究证实,慢性毒介导的 CDCA2 基因沉默可抑制乳腺癌细胞增殖、诱导细胞凋亡,促进细胞中 p21 表达抑制 CDK4 蛋白表达。本研究结果显示,卡鲁胺可通过调节巨噬细胞极化促进 p21 蛋白的表达,抑制 CDK4 蛋白表达,进而调节细胞周期,抑制细胞增殖。

综上所述,比卡鲁胺可通过调控乳腺癌巨噬细胞极化抑制乳腺癌细胞增殖和侵袭,阻滞细胞周期进程,其机制可能和激活 p38/p-STAT1 信号有关。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Zeng X, Liu C, Yao J, *et al.* Breast cancer stem cells, heterogeneity, targeting therapies and therapeutic implications [J]. *Pharmacol Res*, 2021, 163: 105320.
- [2] Taurin S, Alkhalifa H. Breast cancers, mammary stem cells, and cancer stem cells, characteristics, and hypotheses [J]. *Neoplasia*, 2020, 22(12): 663-678.
- [3] Hickey T E, Selth L A, Chia K M, *et al.* The androgen receptor is a tumor suppressor in estrogen receptor-positive breast cancer [J]. *Nat Med*, 2021, 27(2): 310-320.
- [4] Wu H T, Lin J, Liu Y E, *et al.* Luteolin suppresses androgen receptor-positive triple-negative breast cancer cell proliferation and metastasis by epigenetic regulation of MMP9 expression via the AKT/mTOR signaling pathway [J]. *Phytomedicine*, 2021, 81: 153437.
- [5] Aurilio G, Cimadamore A, Mazzucchelli R, *et al.* Androgen receptor signaling pathway in prostate cancer: From genetics to clinical applications [J]. *Cells*, 2020, 9(12): 2653.
- [6] Boutilier A J, ElSawa S F. Macrophage polarization states in the tumor microenvironment [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(13): 6995.
- [7] Jiao Y, Zhang T, Zhang C, *et al.* Exosomal miR-30d-5p of neutrophils induces M1 macrophage polarization and primes macrophage pyroptosis in sepsis-related acute lung injury [J]. *Crit Care*, 2021, 25(1): 356.
- [8] Zhao S, Mi Y, Guan B, *et al.* Tumor-derived exosomal miR-934 induces macrophage M2 polarization to promote liver metastasis of colorectal cancer [J]. *J Hematol Oncol*, 2020, 13(1): 156.
- [9] Liu L, Guo H, Song A, *et al.* Progranulin inhibits LPS-induced macrophage M1 polarization via NF- κ B and MAPK pathways [J]. *BMC Immunol*, 2020, 21(1): 32.
- [10] Kongdang P, Jaitham R, Thonghoi S, *et al.* Ethanolic extract of *kaempferia parviflora* interrupts the mechanisms-associated rheumatoid arthritis in SW982 culture model via p38/STAT1 and STAT3 pathways [J]. *Phytomedicine*, 2019, 59: 152755.
- [11] Huang G, Cao H, Liu G, *et al.* Role of androgen receptor signaling pathway-related lncRNAs in the prognosis and immune infiltration of breast cancer [J]. *Sci Rep*, 2022, 12(1): 20631.
- [12] Lu Q, Xia W, Lee K, *et al.* Bicalutamide plus aromatase inhibitor in patients with estrogen receptor-positive/androgen receptor-positive advanced breast cancer. *Oncologist*, 2020, 25(1): 21-e15.
- [13] Boers J, Venema C M, de Vries E F J, *et al.* Serial [18 F]-FDHT-PET to predict bicalutamide efficacy in patients with androgen receptor positive metastatic breast cancer [J]. *Eur J Cancer*, 2021, 144: 151-161.
- [14] 任秋宇, 黄钱, 马露, 等. 比卡鲁胺通过下调 PKC 的表达水平抑制三阴性乳腺癌 BT549 细胞的增殖和侵袭 [J]. *肿瘤*, 2020, 40(9): 614-624.
- [15] Wang H, Yung M M H, Ngan H Y S, *et al.* The impact of the tumor microenvironment on macrophage polarization in cancer metastatic progression [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(12): 6560.
- [16] Li B, Qi Z P, He D L, *et al.* NLRP7 deubiquitination by USP10 promotes tumor progression and tumor-associated macrophage polarization in colorectal cancer [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2021, 40(1): 126.
- [17] Liu J, Peng Y, Wei W. Cell cycle on the crossroad of tumorigenesis and cancer therapy [J]. *Trends Cell Biol*, 2022, 32(1): 30-44.
- [18] Martí-Rodrigo A, Alegre F, Moragrega Á B, *et al.* Rilpivirine attenuates liver fibrosis through selective STAT1-mediated apoptosis in hepatic stellate cells [J]. *Gut*, 2020, 69(5): 920-932.
- [19] 任翠翠, 叶凯, 余晓, 等. 基于 p38/p-STAT1(s727)信号通路探讨阳和汤对人乳腺癌细胞的影响 [J]. *中华中医药学刊*, 2022, 40(9): 112-115.
- [20] 矫璐宇, 秦春新, 杨小青, 等. 慢病毒介导的细胞分裂周期相关蛋白 2 基因沉默对乳腺癌细胞增殖和凋亡的影响 [J]. *安徽医药*, 2021, 25(10): 2052-2056.

[责任编辑 高源]