

瑞香素对三阴性乳腺癌细胞株 MDA-MB-231 的抑制作用及其机制研究

陈宇¹, 李林芳^{2*} [1.德阳市人民医院乳腺外科, 四川 德阳 618000; 2.西南医科大学附属医院普通外科(乳腺), 四川 泸州 646000]

摘要: 目的 探讨瑞香素对三阴性乳腺癌细胞株 MDA-MB-231 的增殖、迁移及侵袭的抑制作用及其潜在机制。方法 体外培养 MDA-MB-231 细胞, 随机分为对照组和瑞香素 10, 20, 40 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 组。以 MTT 法检测细胞的增殖情况; 通过克隆形成试验检测各组 MDA-MB-231 细胞克隆形成情况; 划痕试验及 Transwell 观测细胞迁移和侵袭情况; Western blotting 检测 Vimentin、MMP9、Cyclin D1、CDK4 蛋白表达量。结果 与对照组相比, 瑞香素组(10, 20, 40 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)显著抑制细胞增殖($P<0.05$ 或 $P<0.01$); 瑞香素组(10, 20, 40 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)可以抑制人乳腺癌细胞株 MDA-MB-231 的克隆形成($P<0.01$); 瑞香素组(20, 40 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)细胞的迁移能力和侵袭能力显著下降($P<0.01$); 瑞香素组(20, 40 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)细胞 Vimentin、MMP9、Cyclin D1、CDK4 蛋白表达量显著降低($P<0.01$)。结论 瑞香素可以抑制三阴性乳腺癌细胞株 MDA-MB-231 的增殖、迁移及侵袭能力, 其作用机制可能与下调 Vimentin、MMP9、Cyclin D1、CDK4 的表达有关。

关键词: 瑞香素; 乳腺癌细胞; 增殖; 迁移; 侵袭

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2022)11-1438-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2022.11.007

引用本文: 陈宇, 李林芳. 瑞香素对三阴性乳腺癌细胞株 MDA-MB-231 的抑制作用及其机制研究[J]. 中国现代应用药学, 2022, 39(11): 1438-1443.

Study on Inhibition Effect and Mechanism of Daphnetin on Human Triple Negative Breast Cancer Cells MDA-MB-231

CHEN Yu¹, LI Linfang^{2*} [1.Department of Breast Surgery, Deyang People's Hospital, Deyang 618000, China; 2.Department of General Surgery(Breast Surgery), The Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Luzhou 646000, China]

ABSTRACT: OBJECTIVE To explore the inhibitory effect of daphnetin on proliferation, migration and invasion of human triple negative breast cancer cell MDA-MB-231 and its potential mechanism. **METHODS** MDA-MB-231 cells were cultured *in vitro* and randomly divided into control group and daphnetin 10, 20, 40 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ groups. MTT assay was used to detect the MDA-MB-231 cells proliferation. The clone formation of MDA-MB-231 cells in each group was detected by clone formation experiment. Scratch and Transwell assays were used to observe the migration and invasion of cells. Western blotting was used to detect expression of Vimentin, MMP9, Cyclin D1, and CDK4 proteins. **RESULTS** Compared with the control group, daphnetin groups(10, 20, 40 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) significantly inhibited the proliferation of MDA-MB-231 cells($P<0.05$ or $P<0.01$), daphnetin groups(10, 20, 40 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) could inhibit the colony formation of human breast cancer cells MDA-MB-231($P<0.01$), the migration and invasion ability of the cells in the daphnetin group(20, 40 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) decreased remarkably compared with the control group($P<0.01$), the protein expression levels of Vimentin, MMP9, Cyclin D1 and CDK4 in the daphnetin group(20, 40 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) were significantly reduced($P<0.01$). **CONCLUSION** Daphnetin can inhibit the proliferation, migration and invasion of human breast cancer cell MDA-MB-231, and its mechanism may be related to the down-regulation of the expression of Vimentin, MMP9, Cyclin D1 and CDK4.

KEYWORDS: daphnetin; breast cancer cell; proliferation; migration; invasion

2018 年全球癌症统计数据发现乳腺癌是全世界妇女发病率最高的恶性肿瘤^[1], 中国乳腺癌的发病率不断上升且具有年轻化趋势, 严重威胁着女性的生命安全^[2]。乳腺癌早期多表现为乳房的无痛性肿块, 由于症状不明显, 非常容易被忽视, 部分患者发现即为晚期, 且多数伴有远处转移^[3]。乳腺癌目前的治疗方式仍然是手术切除为主, 同时联合放

疗、化疗、内分泌治疗、靶向治疗等, 虽然乳腺癌的治疗方式较多, 但肿瘤一旦复发、产生耐药以及发生远处转移, 其生存率大大降低。三阴性乳腺癌(triple negative breast cancer, TNBC)因缺乏雌孕激素受体及人类表皮生长因子受体 2(human epidermal growth factor receptor-2, HER2)的表达, 具有侵袭性高、对治疗反应性低、治疗难度大的

基金项目: 西南医科大学校级科研项目(2017-ZRQN-063)

作者简介: 陈宇, 女, 硕士, 主治医师 E-mail: 282921236@qq.com *通信作者: 李林芳, 女, 硕士, 住院医师 E-mail: lilinfang1030@swmu.edu.cn

特点^[4]。因缺乏有效治疗靶点,目前主要术后治疗手段仍是化疗,部分患者难以耐受化疗,一旦发生远处转移,生存时间和生活质量严重下降。因此探索治疗 TNBC 的新药刻不容缓,也是近年研究的难点和热点。

中草药在中国具有几千年的治病历史,中药应用于临床已被证明具有明显药理活性且毒性较小,尤其是在抗肿瘤方面突显出显著的治疗效果^[5-7]。同时也为开发利用新药提供了丰富的物质资源。瑞香素是金边瑞香的主要成分之一,已被充分证实具有抗炎、抗氧化活性^[8],作为传统药物用于类风湿关节炎、耐药金葡菌引起的肺炎、抗幽门螺旋杆菌、糖皮质激素导致骨质疏松^[9]的治疗。近年来的一些研究发现瑞香素在炎症性肠道疾病、心肌缺血再灌注损伤^[10]中有重要药理活性。但瑞香素在抗肿瘤方面还存在争议,部分研究显示其在抗肿瘤方面可以作为化疗的佐剂^[8]。瑞香素对人乳腺癌的相关研究报道罕见,因此本研究重点探讨瑞香素对 TNBC 细胞株 MDA-MB-231 的增殖、迁移、侵袭影响及其机制,为探索治疗乳腺癌新药提供实验依据。

1 材料和方法

1.1 细胞

三阴性乳腺癌细胞株 MDA-MB-231 购于中国科学院上海细胞库。

1.2 试剂与仪器

瑞香素(上海麦克林生化科技有限公司, CAS 号: 486-35-1; 批号: C10061613; 纯度 $\geq 98\%$); DMEM 高糖培养基(批号: SH30022.01)、胎牛血清(批号: SH30406.05)均由 HYclone 公司生产; 波形蛋白(Vimentin)多克隆抗体(批号: 00064367)、基质金属蛋白酶 9(matrix metalloproteinase 9, MMP9)多克隆抗体(批号: 00066523)、G1/S-特异性周期蛋白-D1(cyclin D1)多克隆抗体(批号: 10008351)、细胞周期蛋白依赖性激酶 4(cyclin-dependent kinase 4, CDK4)多克隆抗体(批号: 00076193)、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)单克隆抗体(批号: 10021642)及辣根过氧化物酶(horseradish Peroxidase, HRP)标记的二抗(批号: SA00001-1, SA00001-2)均购自 Proteintech 公司; MTT 细胞增殖及细胞毒性测试试剂盒(南京建成生物工程研究所有限公司,批号: 20191112)。

FLUOstar Omega 全自动多功能酶标仪(德国 BMG LABTECH 公司); TS100 倒置显微镜(日本 Nikon 公司); Bio-Rad 小型垂直电泳转印系统(电泳槽、转印芯、基础电源)(美国伯乐公司)。

1.3 方法

1.3.1 MDA-MB-231 细胞培养、分组与给药 将冻存的人 TNBC 细胞株 MDA-MB-231 以含 10%胎牛血清、1%青链霉素的 DMEM 培养基复苏,置于 37 °C、5% CO₂ 细胞培养箱中,传代至细胞生长及形态稳定后开展试验。将处于对数生长期的 MDA-MB-231 细胞分为对照组和低、中、高剂量瑞香素组。低、中、高剂量瑞香素组分别给予 10, 20, 40 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 溶解在二甲基亚砷(dimethyl sulfoxide, DMSO)中的瑞香素处理,对照组给予等量 DMSO 处理。

1.3.2 MTT 法检测各组 MDA-MB-231 细胞增殖抑制情况 细胞分组及给药同“1.3.1”项下,处理 24, 48, 72 h 后,按照试剂盒说明书方法检测各组细胞增殖抑制率。不同浓度的瑞香素(0, 2.5, 5, 10, 20, 40, 80 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)处理 MDA-MB-231 细胞 48 h 测定量效曲线。

1.3.3 平板克隆形成检测各组 MDA-MB-231 细胞克隆形成能力 将 MDA-MB-231 细胞接种于 6 孔板中,每孔 1 000~1 500 个细胞,培养 24 h 后,更换培养基为含有不同浓度瑞香素(10, 20, 40 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)的完全培养基,培养 7 d 后,弃去培养基 PBS 润洗 1 次,4%多聚甲醛固定 20 min,结晶紫染色 15 min,活水冲洗,计数集落。

1.3.4 划痕试验检测 MDA-MB-231 细胞迁移能力 将生长良好的 MDA-MB-231 细胞接种于 6 孔板中,待细胞长满后,用枪头垂直于每组细胞培养孔划痕, PBS 洗 1~2 次,加入含有不同浓度瑞香素(10, 20, 40 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)的完全培养基,光镜下拍照作为 0 时状态,培养 24 h 后,光镜下拍照作为 24 时状态,计算细胞迁移率。

1.3.5 Transwell 检测 MDA-MB-231 细胞侵袭能力 将 Matrigel 与基础培养液按照 1:6 稀释,混匀后在 Transwell 小室上层加入 100 μL ,在 Transwell 小室的上室每孔内加 5×10^4 个细胞,基础培养液终体积为 200 μL ,分为瑞香素低、中、高剂量组及对照组,分组后加入不同浓度的瑞香素(10, 20, 40 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)及 DMSO 对上室细胞进行干预。下室内加入 600 μL 含有 10%胎牛血清的完

全培养液, 48 h 后多聚甲醛固定 20 min, 结晶紫染色 15 min, 漂洗 3 次, 观察拍照计数。

1.3.6 Western blotting 检测相关蛋白表达水平 将生长良好的人 MDA-MB-231 细胞接种于 6 孔板中, 待长至 80%, 加入不同浓度瑞香素(10, 20, 40 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), 培养 24 h 后, 收集细胞并提取总蛋白, SDS-PAGE 凝胶电泳分离蛋白, 湿转至 PVDF 膜。5%脱脂牛奶室温封闭 1 h, 一抗 Vimentin(1 : 2 000)、MMP9(1 : 2 000)、cyclin D1(1 : 5 000)、CDK4(1 : 3 000)、GAPDH(1 : 20 000)于 4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜孵育, TBST 漂洗 3 次, 每次 5 min, 二抗(1 : 5 000)于室温孵育 1 h, TBST 漂洗 3 次, 每次 5 min, ECL 发光显影。

1.3.7 统计学方法 数据采用 SPSS 21.0 软件进行统计分析。计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示, 2 组间比较采用 *t* 检验, 多组间比较采用单因素方差分析。

2 结果

2.1 瑞香素对 MDA-MB-231 细胞增殖的影响

不同浓度瑞香素处理 24, 48, 72 h, 随着作用浓度的增大及作用时间的延长, 与对照组(0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 瑞香素)相比, 其对 MDA-MB-231 细胞的抑制率均呈逐渐升高趋势($P<0.05$ 或 $P<0.01$), 见图 1A。不同浓度的瑞香素(0, 2.5, 5, 10, 20, 40, 80 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)处理 MDA-MB-231 细胞, 分析计算得 48 h 瑞香素的 IC_{50} 为 25.76 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 结果见图 1B。

2.2 瑞香素对 MDA-MB-231 细胞克隆形成能力的影响

平板克隆形成试验结果表明, 与对照组

(0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 瑞香素)相比, 瑞香素(10, 20, 40 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)显著抑制 MDA-MB-231 细胞克隆形成, 以对照组(0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 瑞香素)做归一化处理, 对照组和低、中、高剂量瑞香素组的细胞克隆形成能力分别为 1.00 ± 0.06 , 0.33 ± 0.04 , 0.00 ± 0.00 , 0.00 ± 0.00 ($P<0.01$)。结果见图 2。

2.3 瑞香素对 MDA-MB-231 细胞迁移能力的影响

瑞香素干预 24 h 时, 以对照组(0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 瑞香素)做归一化处理, 对照组和低、中、高剂量瑞香素组的细胞迁移率分别为 $(100.00\pm 2.25)\%$, $(91.41\pm 3.55)\%$, $(48.98\pm 4.67)\%$, $(16.82\pm 1.42)\%$; 与对照组相比, 低剂量的瑞香素不能显著抑制 MDA-MB-231 细胞迁移能力, 而中、高剂量的瑞香素均可以显著抑制 MDA-MB-231 细胞迁移能力($P<0.01$), 见图 3。

2.4 瑞香素对 MDA-MB-231 细胞侵袭能力的影响

给药 48 h 后, 以对照组(0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 瑞香素)做归一化处理, 对照组和低、中、高剂量瑞香素组的细胞侵袭率分别为 $(100.00\pm 5.07)\%$, $(83.56\pm 2.87)\%$, $(47.51\pm 5.54)\%$, $(30.47\pm 3.31)\%$; 与对照相比, 低、中、高剂量的瑞香素均可以显著抑制 MDA-MB-231 细胞侵袭能力($P<0.05$ 或 $P<0.01$), 见图 4。

2.5 瑞香素对 MDA-MB-231 细胞 Vimentin、MMP9、Cyclin D1、CDK4 蛋白的影响

Western blotting 检测结果显示, 与对照组比较, 中、高剂量瑞香素组蛋白 Vimentin、MMP9、Cyclin D1、CDK4 相对表达量显著降低($P<0.01$), 且与瑞香素作用浓度相关, 见图 5。

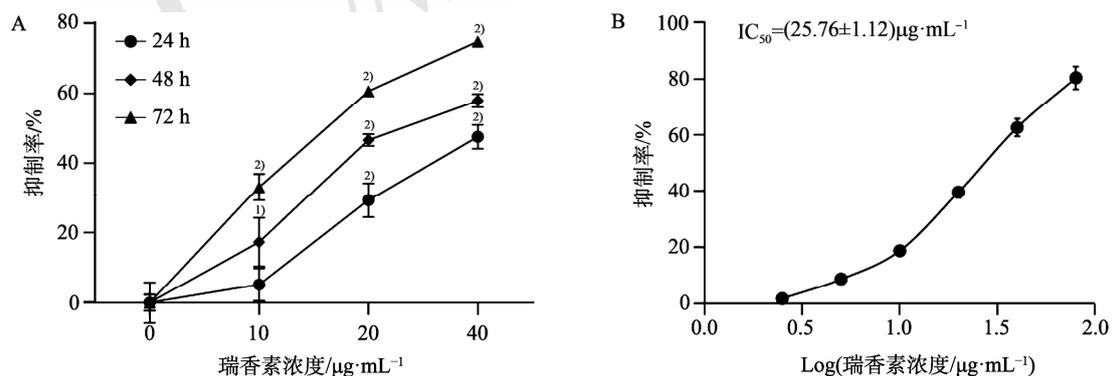


图 1 瑞香素对 MDA-MB-231 细胞增殖抑制作用

A-24, 48, 72 h 瑞香素抑制 MDA-MB-231 细胞增殖($\bar{x}\pm s$, $n=4$); B-瑞香素处理 MDA-MB-231 细胞 48 h 的 IC_{50} ($\bar{x}\pm s$, $n=3$); 与对照组(0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 瑞香素)相比, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$ 。

Fig. 1 Effect of daphnetin on the inhibition rate of MDA-MB-231 cells

A-daphnetin inhibited proliferation of MDA-MB-231 cells at 24, 48, 72 h($\bar{x}\pm s$, $n=4$); B- IC_{50} of daphnetin on MDA-MB-231 cells at 48 h($\bar{x}\pm s$, $n=3$); compared with control group(0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ daphnetin), ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$.

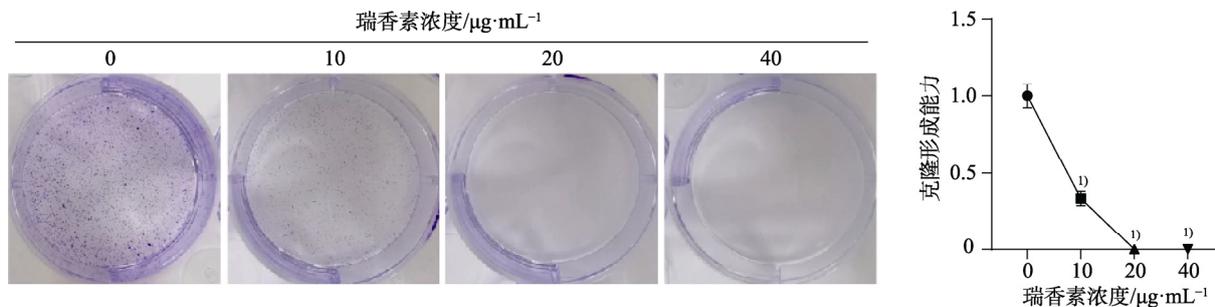


图2 瑞香素对MDA-MB-231细胞克隆形成能力的影响($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

与对照组($0 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 瑞香素)相比, $^1P<0.01$ 。

Fig. 2 Effects of daphnetin on the colony forming of MDA-MB-231 cells($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Compared with control group($0 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ daphnetin), $^1P<0.01$.

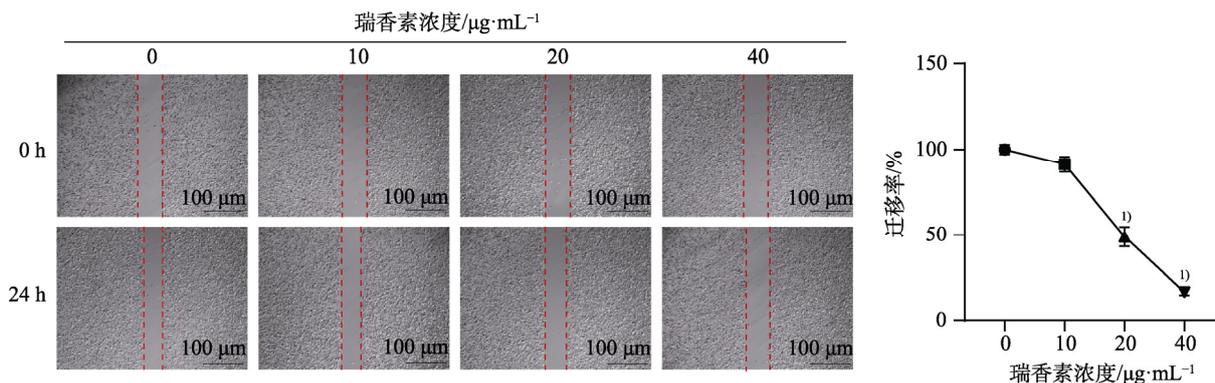


图3 瑞香素对MDA-MB-231细胞迁移的影响($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

与对照组($0 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 瑞香素)相比, $^1P<0.01$ 。

Fig. 3 Effects of daphnetin on the migration of MDA-MB-231 cells($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Compared with control group($0 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ daphnetin), $^1P<0.01$.

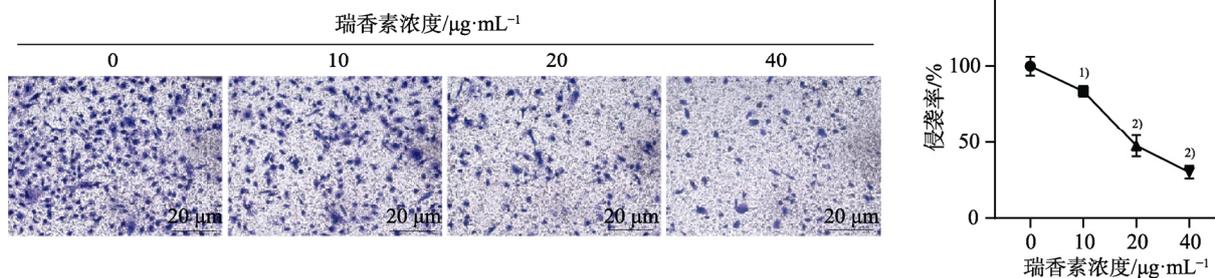


图4 瑞香素对MDA-MB-231细胞侵袭能力的影响($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

与对照组($0 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 瑞香素)相比, $^1P<0.05$, $^2P<0.01$ 。

Fig. 4 Effects of daphnetin on invasion ability of the MDA-MB-231 cells($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Compared with control group($0 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ daphnetin), $^1P<0.05$, $^2P<0.01$.

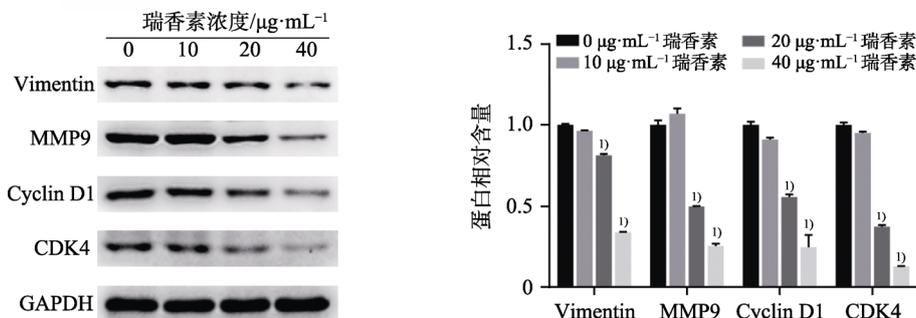


图5 瑞香素对MDA-MB-231细胞中Vimentin、MMP9、Cyclin D1、CDK4蛋白表达的影响($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

与对照组($0 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 瑞香素)相比, $^1P<0.01$ 。

Fig. 5 Effect of daphnetin on protein expression of Vimentin, MMP9, Cyclin D1 and CDK4 in the MDA-MB-231 cells($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Compared with control group($0 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ daphnetin), $^1P<0.01$.

3 讨论

癌症是全球人类死亡的主要原因之一，乳腺癌是女性发病率及死亡率最高的恶性肿瘤^[1]。在乳腺癌的治疗过程中，放化疗、内分泌治疗及靶向治疗是除手术之外最有效的辅助治疗。而对 TNBC 的研究发现其不太可能由激素或者 HER2 途径驱动，相比其他类型的乳腺癌，TNBC 侵袭力更高、转移力更强，其更易早期复发和远处转移^[12]。临床上供 TNBC 治疗的化疗药物选择并不多，且效果往往有限，因此不断探索新药对 TNBC 的治疗至关重要。瑞香素又名 7,8-二羟香豆素，由于其多种药理活性和低毒性，已被充分证实并应用于抗炎、抗氧化治疗。但瑞香素在肿瘤中的药理活性还存在争议，其相关机制也处在研究中发现。有报道瑞香素通过降低 RhoA 和 Cdc42 的表达，抑制小鼠骨肉瘤细胞 LM8 的侵袭和迁移^[13]。有研究者通过体外试验发现瑞香素对 B16 黑色素瘤细胞、MXT 乳腺癌细胞、C26 结肠癌细胞具有抗增殖能力作用^[8]。Kumar 等^[14]对大鼠体内试验表明，瑞香素通过调控 Nrf-2-Keap1 和 NF- κ B 通路对 7,12-二甲苯基萘诱导的大鼠乳腺癌有明显的改善作用，但对人乳腺癌细胞的研究仍未见报道，因此，本研究初步探究了瑞香素对 TNBC MDA-MB-231 细胞的影响及机制。

肿瘤细胞是一种变异的细胞，具有无限增殖能力，还会侵袭周围正常组织并可随体内循环或者淋巴系统转移到机体其他地方。因此，抑制肿瘤细胞的增殖、侵袭和迁移能力是治疗肿瘤的关键。本实验利用 MTT 法发现不同浓度的瑞香素对 MDA-MB-231 细胞增殖均有抑制作用($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。克隆试验也支持瑞香素可以抑制 MDA-MB-231 细胞的克隆形成能力。TNBC 有别于其他类型的乳腺癌，其具有更高的侵袭性及较快的远处转移性，因此 TNBC 更易复发和转移，加上对化疗药物反应性低，临床上的 TNBC 术后生存期远不如其他类型乳腺癌。本实验中，不同浓度的瑞香素处理后，与对照组的划痕间距相比，中、高剂量瑞香素能够抑制 MDA-MB-231 细胞的迁移能力($P < 0.01$)。在肿瘤小室侵袭试验中，不同浓度的瑞香素作用后，穿过基质胶的 MDA-MB-231 细胞数目明显减少($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)，说明瑞香素可以抑制 MDA-MB-231 细胞的侵袭能力。

Vimentin 是中间丝蛋白家族的重要成员，MPP9

是 MPP 家族的重要分子之一，两者被认为是上皮-间充质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)的重要标志物，EMT 是肿瘤恶性化必不可少的过程。已报道 Vimentin 可以促进肿瘤细胞的早期转移^[15]。Mohebi 等^[16]通过对 78 对乳腺癌和癌旁正常组织进行检测发现，Vimentin 可以作为乳腺癌的生物标志物。Pang^[17]、Liu^[18]团队研究发现可以通过负性调节 Vimentin 来抑制 TNBC 细胞的形成和转移，Vimentin 高表达的乳腺癌患者总体生存率较低。MPP9 还可以通过激活 TGF- β /SMAD 信号通路来增强乳腺癌细胞的恶性程度^[19]。本实验中，20, 40 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的瑞香素作用后，Vimentin 和 MPP9 的表达均下降，与瑞香素的浓度呈相关性($P < 0.01$)，提示瑞香素可能通过 EMT 过程来抑制 MDA-MB-231 细胞的侵袭和转移。但上游的信号通路和下游的具体靶分子仍然不清楚。Cyclin D1 和 CDK4 是调节细胞周期的关键因子，Cyclin D1 可以促进 CDK4 的功能激活，其正向调控可以达到促癌作用。研究发现 CDK4 阻断剂在乳腺癌的治疗中显示出潜力^[20]。本实验发现，瑞香素可以通过细胞周期系统来下调 Cyclin D1 和 CDK4 的表达，从而抑制 MDA-MB-231 细胞的增殖。因此，由本实验可以推测瑞香素可能通过抑制 EMT 过程和细胞周期调控系统来抑制 MDA-MB-231 细胞的增殖、迁移和侵袭。

综上所述，本实验证明了瑞香素对人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞的增殖、迁移和侵袭的抑制作用呈浓度依赖性。此外，瑞香素可下调 Vimentin、MMP9、Cyclin D1、CDK4 的表达水平，这可能是瑞香素抑制乳腺癌细胞增殖、侵袭和转移能力的机制之一，但瑞香素对乳腺癌细胞抑制作用更深入的机制仍有待进一步的研究。

REFERENCES

- [1] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2018[J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(1): 7-30.
- [2] BRAY F, FERLAY J, SOERJOMATARAM I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA: A Cancer J Clin, 2018, 68(6): 394-424.
- [3] MEIRSON T, GIL-HENN H. Targeting invadopodia for blocking breast cancer metastasis[J]. Drug Resist Updat, 2018(39): 1-17.
- [4] MEDINA M A, OZA G, SHARMA A, et al. Triple-negative breast cancer: A review of conventional and advanced therapeutic strategies[J]. Int J Environ Res Public Health, 2020,

- 17(6): E2078.
- [5] GE F M, YANG L, CHEN S Q. Study on anti-tumor effect of loganetin on pancreatic cancer cell BXP3 and its mechanism[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2020, 37(19): 2323-2327.
- [6] YE L L, YU D X. Study on effect of delphinidin on proliferation and apoptosis of human bladder cancer T24 cells and its mechanism[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2021, 38(4): 409-414.
- [7] WU R R, LIU H F, WANG C, et al. Effect of micheliolide on proliferation and apoptosis of colon cancer cells[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2021, 38(13): 1559-1565.
- [8] JIMÉNEZ-OROZCO F A, RANĐELOVIĆ I, HEGEDŰS Z, et al. *In vitro* anti-proliferative effect and *in vivo* antitumor action of daphnetin in different tumor cells[J]. Cir Cir, 2020, 88(6): 765-771.
- [9] WANG Y, CHEN J, CHEN J, et al. Daphnetin ameliorates glucocorticoid-induced osteoporosis via activation of Wnt/GSK-3 β / β -catenin signaling[J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2020, 409: 115333.
- [10] LI J, WANG D L, YI L, et al. Daphnetin alleviates myocardial ischemia injury in rats through mediating oxidative stress and inhibiting JNK/NF- κ B pathway[J]. Chin J Cell Mol Immunol, 2020, 36(6): 513-519.
- [11] FENG R M, ZONG Y N, CAO S M, et al. Current cancer situation in China: good or bad news from the 2018 Global Cancer Statistics?[J]. Cancer Commun (Lond), 2019, 39(1): 22.
- [12] DA SILVA J L, CARDOSO NUNES N C, IZETTI P, et al. Triple negative breast cancer: A thorough review of biomarkers[J]. Crit Rev Oncol Hematol, 2020(145): 102855.
- [13] FUKUDA H, NAKAMURA S, CHISAKI Y, et al. Daphnetin inhibits invasion and migration of LM8 murine osteosarcoma cells by decreasing RhoA and Cdc42 expression[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2016, 471(1): 63-67.
- [14] KUMAR A, JHA S, PATTANAYAK S P. Daphnetin ameliorates 7, 12-dimethylbenz[a]anthracene-induced mammary carcinogenesis through Nrf-2-Keap1 and NF- κ B pathways[J]. Biomed Pharmacother, 2016(82): 439-448.
- [15] FRANCA M E, VANWYNSBERGHE A M, LAMBERT J, et al. Vimentin prevents a miR-dependent negative regulation of tissue factor mRNA during epithelial-mesenchymal transitions and facilitates early metastasis[J]. Oncogene, 2020, 39(18): 3680-3692.
- [16] MOHEBI M, GHAFOURI-FARD S, MODARRESSI M H, et al. Expression analysis of vimentin and the related lncRNA network in breast cancer[J]. Exp Mol Pathol, 2020(115): 104439.
- [17] PANG K, PARK J, AHN S G, et al. RNF208, an estrogen-inducible E3 ligase, targets soluble Vimentin to suppress metastasis in triple-negative breast cancers[J]. Nat Commun, 2019, 10(1): 5805.
- [18] LIU S, HUANG J, ZHANG Y W, et al. MAP2K4 interacts with Vimentin to activate the PI3K/AKT pathway and promotes breast cancer pathogenesis[J]. Aging(Albany NY), 2019, 11(22): 10697-10710.
- [19] DONG H D, DIAO H X, ZHAO Y, et al. Overexpression of matrix metalloproteinase-9 in breast cancer cell lines remarkably increases the cell malignancy largely via activation of transforming growth factor beta/SMAD signalling[J]. Cell Prolif, 2019, 52(5): e12633. Doi: 10.1111/cpr.12633.
- [20] SCOTT S C, LEE S S, ABRAHAM J. Mechanisms of therapeutic CDK4/6 inhibition in breast cancer[J]. Semin Oncol, 2017, 44(6): 385-394.

收稿日期: 2021-05-28
(本文责编: 曹粤锋)