

基于网络药理学和生物信息学方法的白藜芦醇治疗三阴性乳腺癌的机制研究

蒋梦捷, 胡玉洁, 林钢, 陈超, 李华峰(浙江省中医院放射治疗科, 杭州 310006)

摘要: 目的 探索白藜芦醇抗三阴性乳腺癌(triple negative breast cancer, TNBC)的潜在作用机制。方法 利用 PharmMapper、SwissTargetPrediction、SuperPred、DrugBank 数据库, 筛选整合白藜芦醇可能作用的靶点。与 CTD、DisGeNET、MalaCards 数据库中筛选得到的 TNBC 靶点相映射后得到白藜芦醇抗 TNBC 可能作用的靶点。利用 DAVID 数据库对得到的靶点进行基因功能(Gene ontology, GO)和京都基因与基因组数据库(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)通路注释分析, 利用 STRING 数据库和 Cytoscape 软件构建靶点间的蛋白互作网络, 筛选出核心靶点及核心模块。**结果** 共筛选得到 422 个白藜芦醇可能作用的靶点, 1 799 个 TNBC 相关靶点, 映射后共得到白藜芦醇治疗 TNBC 的潜在作用靶点 130 个, 并从中进一步筛选出了 10 个核心基因(MAPK1、MAPK3、TP53、SRC、PIK3CA、AKT1、PIK3R1、MAPK8、PTPN11、JAK2), KEGG 通路富集提示核心基因主要涉及 PI3K-Akt 等信号通路。**结论** 白藜芦醇可能是通过靶向作用于多个靶点及通路, 形成相互协调的作用网络从而发挥抗 TNBC 作用, 其中 PI3K/Akt 通路可能发挥重要作用, 为白藜芦醇在 TNBC 治疗方面的进一步研究提供参考。

关键词: 白藜芦醇; 三阴性乳腺癌; 网络药理学; 靶点; 富集分析

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2020)20-2459-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2020.20.005

引用本文: 蒋梦捷, 胡玉洁, 林钢, 等. 基于网络药理学和生物信息学方法的白藜芦醇治疗三阴性乳腺癌的机制研究[J]. 中国现代应用药学, 2020, 37(20): 2459-2464.

Network Pharmacology and Bioinformatics-based Study on Mechanism of Resveratrol Against Triple Negative Breast Cancer

JIANG Mengjie, HU Yujie, LIN Gang, CHEN Chao, LI Huafeng(Department of Radiotherapy, Zhejiang Provincial Hospital of TCM, Hangzhou 310006, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To explore the potential mechanism of resveratrol against triple negative breast cancer(TNBC). **METHODS** Databases of PharmMapper, SwissTargetPrediction, SuperPred and DrugBank were used to screen and integrate the potential targets of resveratrol. Then built the TNBC related targets selected by CTD, DisGeNET, and MalaCards databases. Based on the matching results between them, the potential targets for resveratrol against TNBC were obtained. DAVID database was utilized for the enrichment analysis on Gene ontology(GO) and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes(KEGG). Then utilized STRING database and Cytoscape software to build a protein interaction network between targets, and selected the hub genes and core modules by topology. **RESULTS** A total of 422 potential targets of resveratrol and 1 799 TNBC-related targets were screened, and a total of 130 potential targets of resveratrol against TNBC were obtained after matching, from which 10 hub genes(MAPK1, MAPK3, TP53, SRC, PIK3CA, AKT1, PIK3R1, MAPK8, PTPN11, JAK2) were further confirmed. The KEGG pathway enrichment analysis showed that targets of resveratrol against TNBC were correlated with PI3K-Akt signaling pathway. **CONCLUSION** Resveratrol may serves as a multi-target, multi-pathway treatment for TNBC, among which the PI3K/Akt pathway may play an important role. The results provide reference for further research on mechanism of resveratrol in the treatment of TNBC.

KEYWORDS: resveratrol; triple negative breast cancer; network pharmacology; targets; enrichment analysis

乳腺癌是女性最常见的恶性肿瘤之一, 其中三阴性乳腺癌(triple negative breast cancer, TNBC)占 15%~20%, 其特点为发病年龄小, 组织分化差, 侵袭性强, 易早期复发转移, 预后较差^[1-2]。相较于其他亚型的乳腺癌, TNBC 的治疗手段相对单一, 疗效有限, 不良反应较大^[1]。传统中药具有耐

受性好、经济负担小的优势, 因此迫切需要在中药中寻找高效低毒的抗 TNBC 生物活性物质。

白藜芦醇(反式-3,4',5-三羟基二苯乙烯, C₁₄H₁₂O₃)是从中药虎杖的根茎中提取的一种二苯乙烯类多酚化合物, 具有广泛的抗菌、抗病毒、抗肿瘤作用, 并能参与调控应激反应、多种代谢

作者简介: 蒋梦捷, 女, 硕士, 住院医师 Tel: (0571)87071083

E-mail: zju_jmj@qq.com

类疾病、神经退行性疾病、心血管疾病等^[3-5]。近年来,白藜芦醇的抗肿瘤活性受到广泛关注,多项研究表明白藜芦醇可以抑制 TNBC 细胞的增殖,降低细胞活力,促进细胞凋亡,抑制细胞迁移和侵袭,减少肿瘤血管形成^[6-8],但其确切作用靶点及作用机制尚未完全阐明。

中药具有鲜明的“多成分-多靶点-多通路”特点,生物学作用复杂,因此单一通路研究往往难以阐明其作用机制,限制了中药的进一步发展。随着系统生物学和计算机技术的快速发展,Hopkins^[9]首先提出了“网络药理学”的概念,网络药理学是一种基于“疾病-基因-目标药物”的网络分析方法,可以系统地阐明中药与疾病之间以及中药各组分之间的相互作用关系,为评估药物作用及寻找生物学靶点和分子机制提供了一种新型手段^[10-12]。本研究利用网络药理学和生物信息学方法,筛选出白藜芦醇抗 TNBC 的潜在靶点,进而对治疗的分子机制进行初步探讨,为白藜芦醇在 TNBC 治疗方面的进一步研究及临床试验提供参考。

1 材料和方法

1.1 白藜芦醇作用靶点的预测

利用 PubChem 数据库(<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)得到白藜芦醇的 3D 结构图, SMILES 结构式,并利用中药系统药理数据库及分析平台(Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform, TCMSP, <http://tcmspw.com/tcmsp.php>)进一步验证其分子结构。

利用 PharmMapper 平台(<http://www.lilab-ecust.cn/pharmmapper/>),基于反向药效团匹配法,根据药效特征元素预测白藜芦醇的潜在作用靶点^[13],目标靶点设置为“Human Protein Targets Only”,匹配靶点阈值设定为 300。同时,结合 SwissTargetPrediction 数据库(<http://www.swisstargetprediction.ch/>)、SuperPred 数据库(<http://prediction.charite.de/>)、DrugBank 数据库(<https://www.drugbank.ca/>)及文献查找,筛选整合白藜芦醇的可能作用靶点。最后,通过 UniProt 数据库(www.uniprot.org/)删除非人类的靶点基因,并将所有靶点名称转化为人的标准基因名称。

1.2 TNBC 相关靶点的筛选

分别在毒性与基因比较数据库(The Comparative Toxicogenomics Database, CTD, <http://ctd.mdibl.org/>)、DisGeNET 数据库(<http://www.disgenet.org/>)、

MalaCards 数据库(<https://www.malacards.org/>)检索关键词“Triple Negative Breast Neoplasms”或者“triple-receptor negative breast cancer”,得到 TNBC 相关靶点,然后进行筛选并整合。

1.3 白藜芦醇抗 TNBC 的潜在作用靶点

利用 Venny 2.1.0 将上述得到的白藜芦醇预测靶点与 TNBC 相关疾病靶点取交集,得到白藜芦醇抗 TNBC 的潜在作用靶点。

1.4 白藜芦醇抗 TNBC 的靶点蛋白互作网络构建

将交集集中的靶蛋白上传 STRING 11.0 平台(<https://string-db.org/>)构建白藜芦醇抗 TNBC 相关靶点的蛋白相互作用(protein protein interaction, PPI)网络。蛋白种类设置为“Homo sapiens”,最低相互作用阈值设为“highest confidence(0.9)”。将靶点之间的相互作用信息导入 Cytoscape3.7.1 软件构建白藜芦醇抗 TNBC 的成分-靶点 PPI 网络图。

1.5 网络拓扑结构分析

利用 Cytoscape 软件中的 Network Analyzer 插件计算 PPI 网络的拓扑参数,通过节点度数(degree)和接近中心性(closeness centrality) 2 个主要的拓扑参数,评价节点在全网络中的重要性和影响力,筛选关键核心靶点。利用 MCODE(Molecular Complex Detection)插件,筛选出核心模块,阈值设定为 Degree Cutoff=2, Node Score Cutoff=0.2, K-Core=2, Max. Depth=100。

1.6 功能富集分析

将 130 个白藜芦醇抗 TNBC 的潜在作用靶点蛋白信息上传至 DAVID 6.8 平台(<https://david.ncifcrf.gov/>)进行基因功能(Gene ontology, GO)富集分析[生物过程(biological process, BP)、细胞成分(cellular component, CC)、分子功能 molecular function, MF)]和京都基因与基因组数据库(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)通路富集分析。设定阈值 $P < 0.01$ 。

1.7 差异靶点分析

利用 bc-GenExMiner V4.4 平台(Breast Cancer Gene-Expression Miner)深入分析 1.5 中得出的 10 个核心靶点在乳腺癌 TNBC、人类表皮生长因子受体-2(human epidermal growth factor receptor-2, HER-2)扩增型、Luminal A 和 Luminal B 4 种亚型中的表达情况及预后意义,提示 10 个核心靶点中是否存在 TNBC 和非 TNBC 的差异靶点。

2 结果

2.1 白藜芦醇作用靶点的预测

利用 PharmMapper 平台预测得到 215 个可能

的白藜芦醇潜在作用靶点; SwissTargetPrediction 数据库预测得到 94 个靶点; SuperPred 数据库预测得到 191 个靶点(171 个验证靶点+20 个预测靶点); DrugBank 数据库预测得到 25 个靶点。整合后共得到白藜芦醇的可能作用靶点 422 个。

2.2 TNBC 相关靶点的筛选

利用 CTD 数据库检索, 设定 Inference Score>10 分, 得到 1 356 个 TNBC 相关靶点; DisGeNET 数据库得到 631 个靶点; MalaCards 数据库得到 21 个靶点。整合后共得到 TNBC 相关靶点 1 799 个。

2.3 白藜芦醇抗 TNBC 的潜在作用靶点

将“2.1”项下得到的白藜芦醇作用靶点与“2.2”项下得到的 TNBC 相关靶点进行交集比对, 得到白藜芦醇治疗 TNBC 的潜在作用靶点 130 个。结果见图 1。

2.4 白藜芦醇抗 TNBC 靶点 PPI 网络构建与分析

利用 STRING 数据库构建白藜芦醇抗 TNBC 靶点及功能相关蛋白相互作用网络, 其中包含 130 个节点, 472 条边, 平均节点度 7.26。结果见图 2。将 PPI 网络导入 Cytoscape 后, 利用 Network Analyzer 插件对网络的拓扑参数计算, 筛选出白藜芦醇抗 TNBC 靶点 PPI 网络中的 10 个核心靶点基因: *MAPK1*(degree=34, closeness centrality=0.528), *MAPK3*(degree=33, closeness centrality=0.512), *TP53*(degree=31, closeness centrality=0.498), *SRC*(degree=31, closeness centrality=0.498), *PIK3CA*(degree=31, closeness centrality=0.472), *AKT1*(degree=30, closeness centrality=0.498), *PIK3RI*(degree=29, closeness centrality=0.448),

MAPK8(degree=24, closeness centrality=0.466), *PTPN11*(degree=20, closeness centrality=0.431), *JAK2*(degree=20, closeness centrality=0.429)。结果见图 3A。

利用 MCODE 插件, 在 PPI 网络中筛选出了 7 个核心模块。模块 1 含有 16 个靶蛋白和 45 条蛋白互作边, MCODE 得分为 6.00; 模块 2 含有 5 个靶蛋白和 10 条互作边, MCODE 得分为 5.00。模块 3 含有 12 个靶蛋白和 24 条互作边, MCODE 得分为 4.36。结果见图 3B~3D。

2.5 功能富集分析

利用 DAVID 数据库, 对这 130 个白藜芦醇抗 TNBC 靶点基因进行 GO 和 KEGG 功能富集分析。结果显示, 富集在 GO 的条目共 1 430 个, 其中富集在 BP 的条目有 1 312 个, 涉及氧化应激的反应, 细胞对药物的反应, 对活性氧的反应等; 富集在 CC 的条目有 27 个, 富集部位涉及细胞周期蛋白依赖性蛋白激酶全酶复合物, 转移酶复合物, 丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶复合物等; 富集在 MF 的条目有 91 个, 涉及丝氨酸/苏氨酸激酶活性, 核受体活性, 转录因子活性等。结果见图 4A。KEGG 通路富集分析表明, 富集的 KEGG 通路共 140 条, 这些靶点主要与 PI3K-Akt 信号通路密切相关, 提示白藜芦醇可能是通过靶向作用于 PI3K-Akt 信号通路发挥作用。结果见图 4B。

2.6 差异靶点分析

将 10 个核心靶点基因分别导入 bc-GenExMiner 平台, 分析各基因在乳腺癌 TNBC、HER-2 扩增型、Luminal A 和 Luminal B 4 种亚型中的表达情

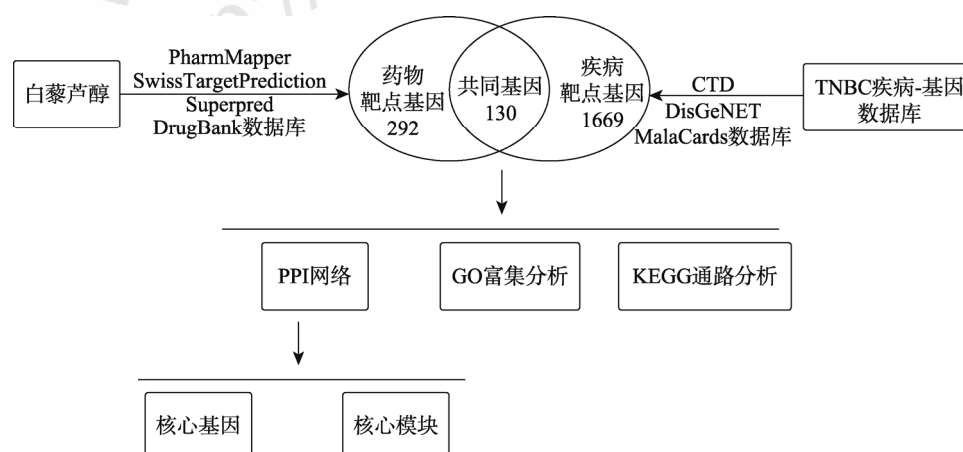


图 1 白藜芦醇抗三阴性乳腺癌潜在作用靶点的筛选

Fig. 1 Screening of potential targets of resveratrol against TNBC

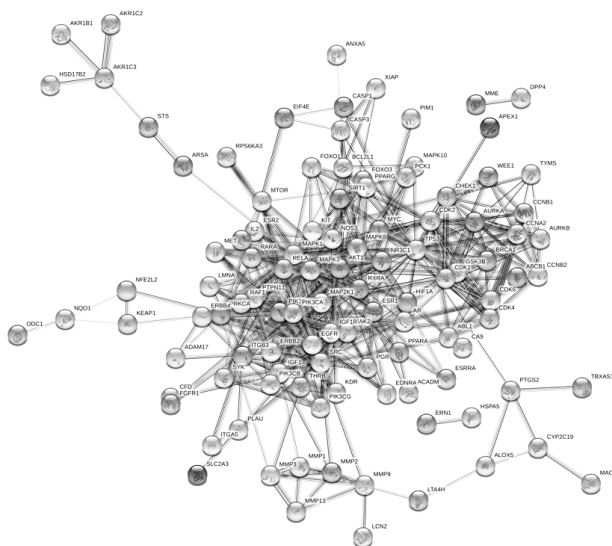


图2 白藜芦醇抗三阴性乳腺癌相关靶点蛋白互作网络图
Fig. 2 PPI network of targets of resveratrol against TNBC

况,发现 AKT1 在 TNBC 中的表达量最低($P<0.0001$),结果见图 5A。对 AKT1 进行进一步预后分析发现,TNBC 中 AKT1 高表达者预后较差($P=0.0427$),而在 HER-2 扩增型($P=0.6832$)、Luminal A 型($P=0.5739$)和 Luminal B 型($P=0.8236$)中 AKT1 高表达与低表达之间无预后差异,结果见图 5B。以上结果提示 AKT1 可能为 TNBC 和非 TNBC 的差异靶点,同时结合 PI3K-Akt 信号通路

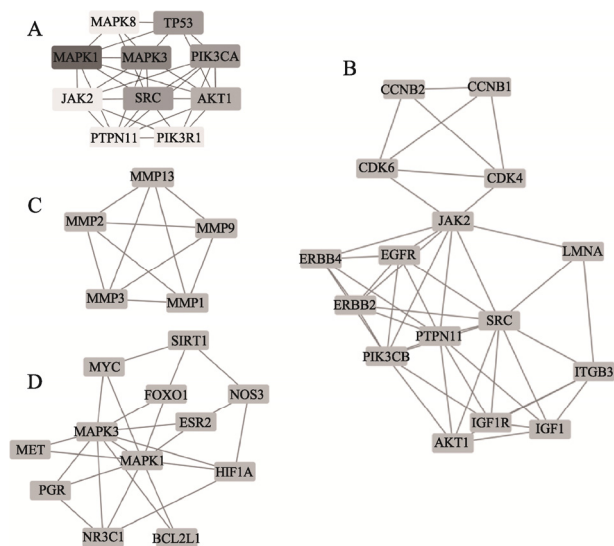


图3 白藜芦醇抗三阴性乳腺癌相关靶点蛋白互作网络拓扑分析

A-前 10 位核心基因,颜色越深代表分值越高;B-核心模块 1;C-核心模块 2;D-核心模块 3。

Fig. 3 Network topology analysis of PPI of resveratrol against TNBC

A-top 10 hub core genes, the darker color, the higher score; B-core module 1; C-core module 2; D-core module 3.

为白藜芦醇主要作用通路,AKT1 为白藜芦醇核心靶点之一,进一步论证白藜芦醇可能通过作用于 PI3K-Akt 信号通路起到抗 TNBC 作用。

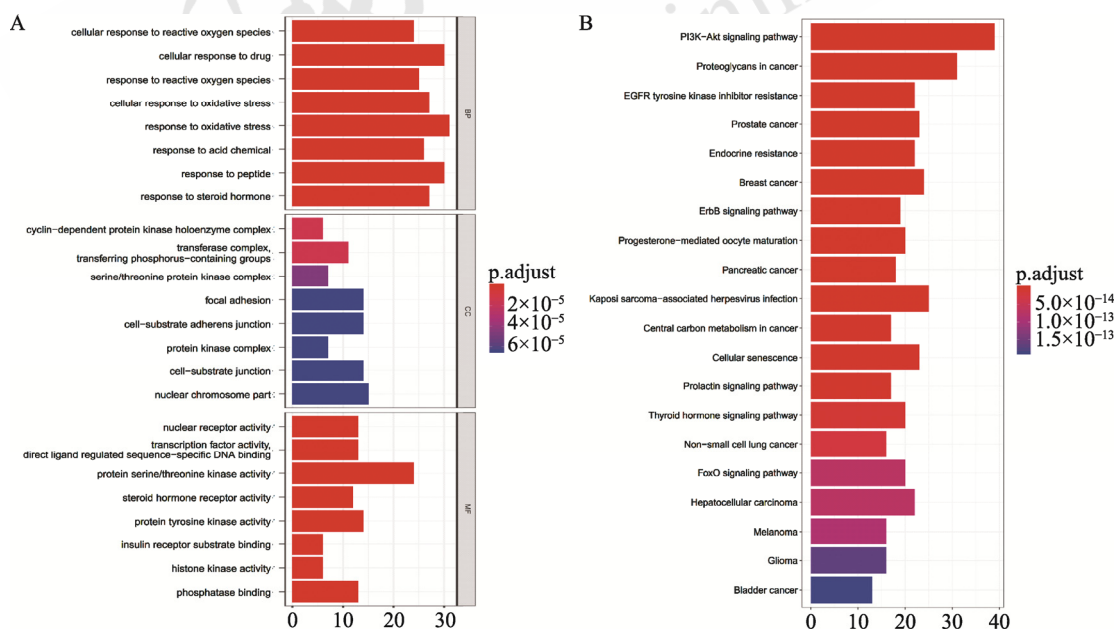


图4 白藜芦醇抗三阴性乳腺癌相关靶点功能及通路注释分析

A-基因本体论分析;B-KEGG 通路富集分析。

Fig. 4 Functional and pathway enrichment analysis of targets of resveratrol against TNBC

A-gene ontology analysis; B-KEGG pathway enrichment analysis.

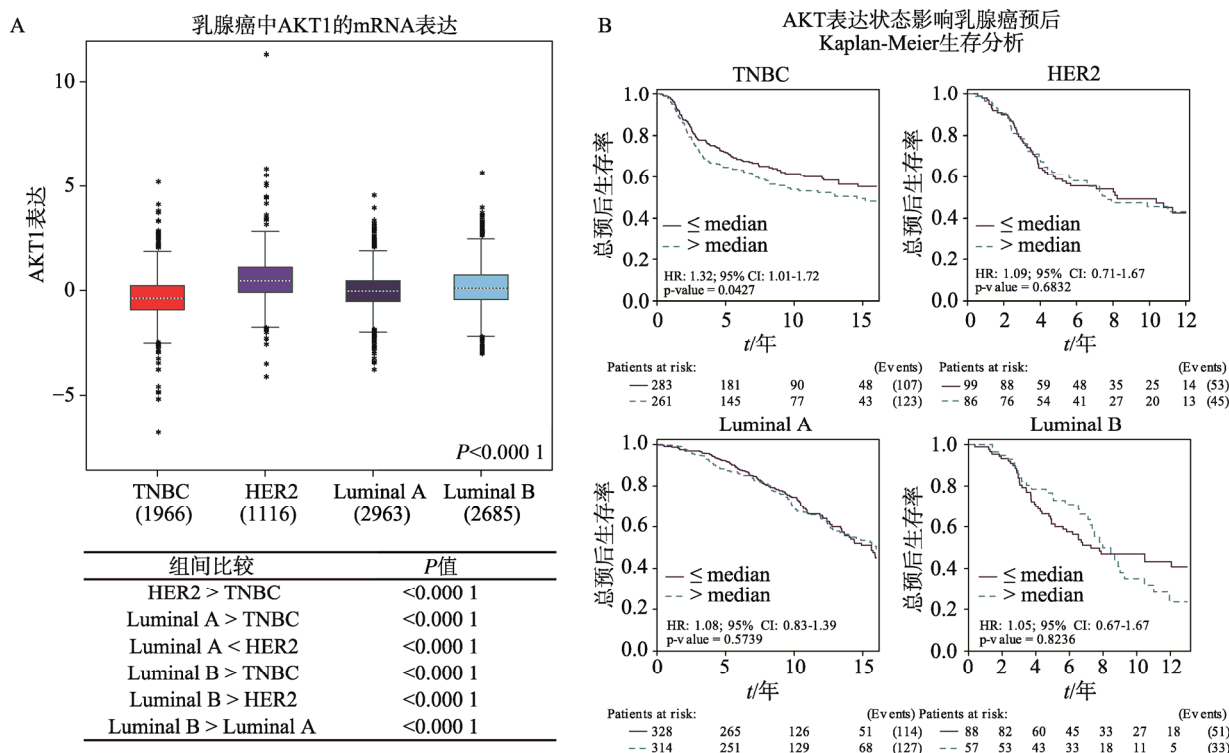


图5 AKT1在乳腺癌中的表达及预后分析

A-AKT1在TNBC、HER-2扩增型、Luminal A和Luminal B 4种亚型中的表达情况；B-AKT1表达与TNBC、HER-2扩增型、Luminal A和Luminal B 4种亚型乳腺癌的预后相关性。

Fig. 5 Expression and prognosis of AKT1 in breast cancer

A-expression of AKT1 in TNBC, HER-2 enriched, Luminal A and Luminal B subtypes breast cancer; B-correlation of AKT1 expression with the prognosis of TNBC, HER-2 enriched, Luminal A and Luminal B subtypes breast cancer.

3 讨论

本研究利用网络药理学和生物信息学手段，初步探索了白藜芦醇抗TNBC的作用靶点及作用机制，筛选出了130个可能作用靶点，并从中进一步筛选出了10个最有可能的核心基因(*MAPK1*、*MAPK3*、*TP53*、*SRC*、*PIK3CA*、*AKT1*、*PIK3R1*、*MAPK8*、*PTPN11*、*JAK2*)。KEGG通路富集分析表明靶点主要富集在PI3K-Akt信号通路，肿瘤蛋白聚糖，EGFR酪氨酸激酶抑制剂耐药，内分泌抵抗，ErbB信号通路等TNBC相关通路，提示白藜芦醇可能是通过靶向作用于多个靶点及通路，形成相互协调的作用网络从而发挥抗TNBC作用。同时，靶点还富集于前列腺癌、胰腺癌、非小细胞肺癌、肝癌、黑色素瘤、胶质瘤、膀胱癌等多种癌症的相关信号通路，提示白藜芦醇可能发挥更加广谱的抗肿瘤作用，有待进一步研究。

TNBC基因组的高度不稳定性和异质性限制了TNBC精准治疗的发展，为改变TNBC的难治局面，需要不断探索新的治疗靶点和相关通路。其中，PI3K-Akt信号通路涉及细胞增殖、分化、凋亡等多种功能的调节，过度激活的PI3K-Akt信

号通路在TNBC的发生发展中发挥重要作用，为治疗的新兴靶点。TNBC中PI3KCA的突变率波动在7%~10%^[14-16]，已有多个针对TNBC的PI3K-Akt通路抑制剂(ipatasertib、BKM120、BYL-719、AZD8186、taselisib、capivasertib、MK-2206等)相关I/II期临床试验正在开展^[2,17-19]，初步研究显示可以获得不同程度的生存获益。

从中草药中寻找具有抗肿瘤作用的化合物并了解其抗肿瘤作用机制的研究工作具有十分重要的理论和现实意义。目前研究发现许多中药(莪术、蛇六谷、黄芪等)及中药成分(丹参酮、土贝母皂苷、黄芪甲苷等)也可以抑制TNBC细胞系的PI3K/Akt通路，促进细胞凋亡，抑制肿瘤增殖^[20-23]。另外，通过检测分析TNBC新辅助化疗后的残留肿瘤标本，发现*JAK2*、*AKT1*、*PI3KCA*、*PIK3R1*等基因仍存在扩增，提示PI3K/Akt通路为潜在治疗靶标^[24-25]。已经有许多研究证明了白藜芦醇及其衍生物对于TNBC细胞的强大药理作用，但是其具体的分子机制尚未得到充分阐明。本研究显示，白藜芦醇抗TNBC作用可能通过作用于PI3K催化

亚基(PIK3CA)、PI3K 调节亚基(PIK3R1)、PI3K 效应子(AKT1),从而调控过度活化的 PI3K-Akt 信号通路,是一种有前景的治疗 TNBC 药物。PI3K-Akt 抑制剂相关临床研究中严重不良事件发生率在 30%左右^[18],主要表现在胃肠道不良反应、白细胞减少、口腔炎、皮疹、高血糖等,而在既往的白藜芦醇相关临床研究中,白藜芦醇的口服耐受性良好,不良反应多表现为轻度的胃肠道反应及转氨酶升高^[5]。

本研究初步探索了白藜芦醇抗 TNBC 的可能作用靶点及相关通路,提示白藜芦醇可能作为一种潜在的 PI3K/Akt 抑制剂发挥抗 TNBC 作用,且具有较高可耐受性。本研究为后续药理和临床研究提供了思路,为 TNBC 治疗提供了新的药物和靶点。

REFERENCES

- [1] WAKS A G, WINER E P. Breast cancer treatment [J]. JAMA, 2019, 321(3): 288-300.
- [2] LEE K L, KUO Y C, HO Y S, et al. Triple-negative breast cancer: Current understanding and future therapeutic breakthrough targeting cancer stemness [J]. Cancers, 2019, 11(9): 1334.
- [3] ZHU J H, FAN H Q. Resveratrol ameliorates the inhibitory effect of A β on the proliferation of C17.2 cells by up-regulating the expression of Hsp75 protein [J]. Pharm Today(今日药学), 2017, 27(7): 475-478, 482.
- [4] HE Y F, LI L, CAI Z L, et al. Protective effects of resveratrol on hypoxia myocardial cells and the mechanism research [J]. Chin J New Drugs(中国新药杂志), 2017, 26(10): 1163-1168.
- [5] SINGH A P, SINGH R, VERMA S S, et al. Health benefits of resveratrol: Evidence from clinical studies [J]. Med Res Rev, 2019, 39(5): 1851-1891.
- [6] HORGAN X J, TATUM H, BRANNAN E, et al. Resveratrol analogues surprisingly effective against triple-negative breast cancer, independent of ER α [J]. Oncol Rep, 2019, 41(6): 3517-3526.
- [7] RAI G, SUMAN S, MISHRA S, et al. Evaluation of growth inhibitory response of Resveratrol and Salinomycin combinations against triple negative breast cancer cells [J]. Biomed Pharmacother, 2017(89): 1142-1151.
- [8] SINHA D, SARKAR N, BISWAS J, et al. Resveratrol for breast cancer prevention and therapy: Preclinical evidence and molecular mechanisms [J]. Semin Cancer Biol, 2016(40/41): 209-232.
- [9] HOPKINS A L. Network pharmacology: The next paradigm in drug discovery [J]. Nat Chem Biol, 2008, 4(11): 682-690.
- [10] ZHANG A, SUN H, YANG B, et al. Predicting new molecular targets for Rhein using network pharmacology [J]. BMC Syst Biol, 2012(6): 20. Doi:10.1186/1752-0509-6-20.
- [11] WANG B L. Network pharmacology study of anticancer mechanism of three main components in Kanglaite injection [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2019, 36(1): 58-63.
- [12] YU P, ZHENG J H, LOU T T, et al. Network pharmacology-based study on material basis and mechanism of Liujunzi decoction for gastric cancer treatment [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2019, 36(12): 1508-1515.
- [13] WANG X, SHEN Y, WANG S, et al. PharmMapper 2017 update: A web server for potential drug target identification with a comprehensive target pharmacophore database [J]. Nucleic Acids Res, 2017, 45(w1): W356-W360. Doi: 10.1093/nar/gkx374
- [14] WEISMAN P S, NG C K, BROGI E, et al. Genetic alterations of triple negative breast cancer by targeted next-generation sequencing and correlation with tumor morphology [J]. Mod Pathol, 2016, 29(5): 476-488.
- [15] MOSELE F, STEFANOVSKA B, LUSQUE A, et al. Outcome and molecular landscape of patients with PIK3CA-mutated metastatic breast cancer [J]. Ann Oncol, 2020, 31(3): 377-386.
- [16] THE CANCER GENOME ATLAS NETWORK. Comprehensive molecular portraits of human breast tumours [J]. Nature, 2012, 490(7418): 61-70.
- [17] SHI Y, JIN J, JI W, et al. Therapeutic landscape in mutational triple negative breast cancer [J]. Mol Cancer, 2018, 17(1): 99. Doi: 10.1186/S12943-018-0850-9
- [18] KIM S B, DENT R, IM S A, et al. Ipatasertib plus paclitaxel versus placebo plus paclitaxel as first-line therapy for metastatic triple-negative breast cancer(LOTUS): A multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2 trial [J]. Lancet Oncol, 2017, 18(10): 1360-1372.
- [19] CHAN J J, TAN T J Y, DENT R A. Novel therapeutic avenues in triple-negative breast cancer: PI $_3$ K/AKT inhibition, androgen receptor blockade, and beyond [J]. Ther Adv Med Oncol, 2019, 11. Doi: 10.1177/1758835919880429.
- [20] WANG L, WU J, LU J, et al. Regulation of the cell cycle and PI $_3$ K/Akt/mTOR signaling pathway by tanshinone I in human breast cancer cell lines [J]. Mol Med Rep, 2015, 11(2): 931-939.
- [21] DOU J W, SHANG R G, LEI X Q, et al. Total saponins of *Bolbostemma paniculatum* (Maxim.) Franquet exert antitumor activity against MDA-MB-231 human breast cancer cells via inhibiting PI $_3$ K/Akt/mTOR pathway [J]. BMC Complement Altern Med, 2019, 19(1): 304-312.
- [22] WU C Y, QIU S L, LIU P, et al. Rhizoma Amorphophalli inhibits TNBC cell proliferation, migration, invasion and metastasis through the PI $_3$ K/Akt/mTOR pathway [J]. J Ethnopharmacol, 2018(211): 89-100.
- [23] ZHOU R J, CHEN H J, CHEN J P, et al. Extract from *Astragalus membranaceus* inhibit breast cancer cells proliferation via PI $_3$ K/AKT/mTOR signaling pathway [J]. BMC Complement Altern Med, 2018, 18(1): 83-90.
- [24] BALKO J M, GILTNER J M, WANG K, et al. Molecular profiling of the residual disease of triple-negative breast cancers after neoadjuvant chemotherapy identifies actionable therapeutic targets [J]. Cancer Discov, 2014, 4(2): 232-245.
- [25] COSIMO S D, APPIERTO V, SILVESTRI M, et al. Targeted-gene sequencing to catch triple negative breast cancer heterogeneity before and after neoadjuvant chemotherapy [J]. Cancers(Basel), 2019, 11(11): 1753-1766.

收稿日期: 2019-12-13

(本文责编: 沈倩)