

# 追毒方逆转三阴性乳腺癌 MDA-MB-231 细胞耐药的作用机制

刘敏<sup>1</sup>, 刘春亮<sup>2</sup>, 梁国强<sup>1</sup>, 姚霏<sup>1</sup>, 张晓迪<sup>1</sup>, 陈婷<sup>1</sup>, 袁雅琴<sup>2</sup>, 吴士良<sup>2</sup>

(1.南京中医药大学附属苏州市中医医院, 江苏 苏州 215009; 2.苏州大学生物化学和分子生物基础医学院, 江苏 苏州 215123)

**摘要:**目的 基于糖基转移酶  $\beta$ 3GnT8 探讨追毒方逆转三阴性乳腺癌 MDA-MB-231 细胞耐药的作用机制。方法 通过 MTT 法观察追毒方对 MDA-MB-231 耐药细胞增殖的抑制作用, 通过转染  $\beta$ 3GnT8 得到高表达  $\beta$ 3GnT8 的 MDA-MB-231/TAX 细胞株, 采用 Western blot 观察糖基转移酶  $\beta$ 3GnT8 和耐药蛋白 BCRP、P-gp 的表达, 通过凝集素流式细胞术观察转染  $\beta$ 3GnT8 MDA-MB-231/TAX 细胞膜表面  $\beta$ 3GnT8 的荧光强度。结果 追毒方有效成分能明显抑制三阴性乳腺癌 MDA-MB-231 耐药细胞的增殖, 作用 72 h 抑制率达到 50.16%, 能有效下调  $\beta$ 3GnT8 和耐药蛋白 BCRP、P-gp 的表达, 并且  $\beta$ 3GnT8 的表达与 BCRP、P-gp 呈正相关。结论 追毒方可通过下调糖基转移酶  $\beta$ 3GnT8, 从而降低耐药蛋白 BCRP、P-gp 的表达, 逆转三阴性乳腺癌 MDA-MB-231 细胞耐药性。

**关键词:**追毒方; 三阴性乳腺癌 MDA-MB-231 耐药细胞;  $\beta$ 3GnT8; 逆转耐药

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1672-0482(2019)01-0063-05

DOI: 10.14148/j.issn.1672-0482.2019.0063

**引文格式:**刘敏, 刘春亮, 梁国强, 等. 追毒方逆转三阴性乳腺癌 MDA-MB-231 细胞耐药的作用机制[J]. 南京中医药大学学报, 2019, 35(1): 63-67.

## Reverse Effect and Mechanism of Effective Components of Zhuidu Fang on Triple Negative Breast Cancer MDA-MB-231 Drug-Resistant Cells

LIU Min<sup>1</sup>, LIU Chun-liang<sup>2</sup>, LIANG Guo-qiang<sup>1</sup>, YAO Fei<sup>1</sup>, ZHANG Xiao-die<sup>1</sup>, CHEN Ting<sup>1</sup>, YUAN Ya-qin<sup>2</sup>, WU Shi-liang<sup>2</sup>

(1. Affiliated Suzhou Hospital of TCM to Nanjing University of Chinese Medicine, Suzhou, 215009, China; 2. School of Biology and Basic Medical Sciences, Soochow University, Suzhou, 215123, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** Based on glycosyltransferase  $\beta$ 3GnT8, to investigate the mechanism of reverse effect on triple negative breast cancer MDA-MB-231 drug-resistance cells by Zhuidu Fang. **METHODS** The inhibition of MDA-MB-31 drug-resistance cells proliferation by Zhuidu Fang was detected by MTT assay. By interference and transfection of  $\beta$ 3GnT8, high and low expressed  $\beta$ 3GnT8 MDA-MB-231/TAX cell lines were obtained. Western blot was used to detect the protein expression of  $\beta$ 3GnT8, and drug resistance protein BCRP and P-gp. Lectin flow cytometry was used to detect  $\beta$ 3GnT8 fluorescence intensity on  $\beta$ 3GnT8 transfected MDA-MB-231/TAX cells. **RESULTS** Zhuidu Fang effectively inhibited the proliferation of MDA-MB-231/TAX cells, and the inhibitory rate was 50.16% after 72 h. Zhuidu Fang significantly downregulated the protein expression of  $\beta$ 3GnT8, BCRP and P-gp. The protein expression of  $\beta$ 3GnT8 showed a positive correlation with BCRP and P-gp. **CONCLUSION** Zhuidu Fang can reverse the drug-resistance of MDA-MB-231 cell lines, which is associated with the downregulation of the expression of  $\beta$ 3GnT8, BCRP and P-gp.

**KEY WORDS:** Zhuidu Fang; triple negative breast cancer MDA-MB-231 drug-resistance cells;  $\beta$ 3GnT8; reverse the drug-resistance

收稿日期: 2018-09-16

基金项目: 江苏省苏州市科技局项目(SYS201572)

第一作者: 刘敏, 女, 主任中医师, E-mail: liumin6958@163.com

通信作者: 吴士良, 男, 教授, 主要从事糖分子生物化学研究, E-mail: wushiliang@suda.edu.cn

三阴性乳腺癌(TNBC)是指雌激素受体(ER)、孕激素受体(PR)和人表皮生长因子受体 2(HER-2)均为阴性的乳腺癌,全球每年新增 17 万三阴性乳腺癌病例,由于组织分化较差,侵袭性强,易局部复发和远处转移,仅有化疗能使部分患者受益,但化疗药物极易产生耐药,目前 3 年无远处复发生存仍低<sup>[1-2]</sup>,大多数患者在 5 年内死亡。因此,寻找逆转 TNBC 耐药的靶点已迫在眉睫。我们课题组结合长期的临床实践和前期的实验研究,从《疮疡大全》的追毒丸中筛选出雷公藤和干蟾皮,加上红豆杉组成方,雷公藤为君,干蟾皮为臣,红豆杉为佐,活血化瘀,通络散结,解毒抗癌治疗 TNBC,临床疗效显著增强<sup>[3]</sup>,由此我们把三药的有效成分雷公藤甲素、华蟾素毒基和紫杉醇,组成追毒方进行实验研究。我们发现,糖基转移酶  $\beta 3\text{GnT8}$  ( $\beta 1,3\text{-N-乙酰氨基半乳糖基转移酶-8}$ )与肿瘤的发生发展相关,与 TNBC 的转移密切相关<sup>[4-5]</sup>,追毒方可以通过这个糖基转移酶  $\beta 3\text{GnT8}$  改善 TNBC 的发展或转移,同时,对 TNBC 耐药株细胞有抑制作用,显示其可逆转耐药的效应。为了寻求逆转 TNBC 细胞耐药机制,本文通过追毒方作用于耐药细胞株 MDA-MB-231,检测  $\beta 3\text{GnT8}$  表达,并通过瞬时转染与干扰  $\beta 3\text{GnT8}$  后,检测耐药细胞株中  $\beta 3\text{GnT8}$  和耐药蛋白的表达情况,初步探讨追毒方逆转 TNBC 耐药机制与糖基转移酶  $\beta 3\text{GnT8}$  的表达相关。

## 1 材料

追毒方中的华蟾素毒基、雷公藤甲素和紫杉醇由南京中医药大学第一临床学院提供,购于南京精瑞久安生物技术有限公司,MDA-MB-231 耐药细胞由苏州大学生物化学和分子生物基础医学院制备,qPCR 引物设计软件 Primer5,南京金斯瑞科技有限公司引物合成,Penicillin/streptomycin solution(南京凯基生物科技发展有限公司,KG Y002),0.25% Trypsin-EDTA(南京凯基生物科技发展有限公司,KG Y001),PBS(南京凯基生物科技发展有限公司,KG B500),cDNA 第一链合成试剂盒(Fermentas, Lithuania, K1622),全蛋白抽提试剂盒和 BCA 蛋白含量检测试剂盒均购于南京凯基生物科技发展有限公司,转染试剂(Invitrogen 公司,货号:11668-019,PCR 循环仪(美国 Labnet 公司,MultiGene Gradient),流式细胞仪(美国 Becton-Dickinson FACS Calibur),电泳仪(Bio-Rad, America, 164-5051),荧光定量 PCR 循环仪(中国中山达安, DA7600)。引

物和片段序列见表 1~2。

表 1 qPCR 引物序列

基因名称	序列
GAPDH	F:5-TGGTATCGTGGAAAGGACTCA-3
primer(132bp)	R:5-CCAGTAGAGGCAGGGATGAT-3
P-gp	F:5-TCCTTCACCCAGGCAATGAT-3
primer(133bp)	R:5-CCATGGCACCAAGACAACA-3
$\beta 3\text{GnT8}$	F:5-TTCCTCGACGTCCCATTTCAA-3
primer(121bp)	R:5-GGGTGTGTACAAAGGCATCG-3
BCRP	F:5-CACATGCTTGGTGGTCTTGT-3
primer(136bp)	R:5-CTCAGGATCTCAGGATGCGT-3

表 2 siRNA 片段序列

基因名称	序列
$\beta 3\text{GnT8}$ -siRNA	F:5-CAUUCGGCUCUGGAAACAATT-3'
	R:5-UUGUUCCAGAGCCGAAUGCT-3'

## 2 方法

### 2.1 耐药 MDA-MB-231 细胞株培养

MDA-MB-231 细胞株复苏培养,根据 MTT 测得紫杉醇对 MDA-MB-231 细胞的半数致死率  $\text{IC}_{50} = [1 - (\text{OD}_{\text{实验组}} - \text{OD}_{\text{空白组}}) / (\text{OD}_{\text{对照组}} - \text{OD}_{\text{空白组}})] \times 100\%$ ,以  $\text{IC}_{50}$  对应的药物浓度的 10% 为起始加药浓度,逐步递增间歇加药的方法筛选耐药细胞株。将对数生长期的 MDA-MB-231 细胞培养基中加入紫杉醇,48 h 后弃含药培养基,加新鲜培养基。随时观察细胞生长状况,待细胞生长至传代时,逐步提高药物浓度,经过 6 月的筛选后,MDA-MB-231 细胞最后能在含  $20 \mu\text{mol/L}$  紫杉醇的条件培养基中生长良好,耐药株筛选完成。

### 2.2 MTT 法检测耐药细胞增殖的影响

根据前期研究和预实验,追毒方分为 3 个浓度组,同时设立空白组、阳性对照组(多西他赛)共 5 组,通过 MTT 法检测各组对耐药 MDA-MB-231/TAX 细胞增殖的抑制率。将耐药 MDA-MB-231/TAX 细胞消化、计数、配制成浓度为  $3 \times 10^4 \sim 5 \times 10^4 \text{ mL}^{-1}$  的细胞悬液,96 孔细胞培养板中每孔加入  $100 \mu\text{L}$  细胞悬液(每孔  $3 \times 10^3 \sim 5 \times 10^3$  个细胞),置于  $37 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $5\% \text{CO}_2$  培养箱中培养 24 h,用完全培养基稀释药物至所需浓度,每孔加入  $100 \mu\text{L}$  相应的含药培养基,再培养 72 h,进行 MTT 染色,  $\lambda = 490 \text{ nm}$ ,测定 OD 值,计算抑制率,抑制率 = (阴性对照组 OD 值 - 实验组 OD 值) / 阴性对照组 OD 值  $\times 100\%$ 。

2.3 qPCR 检测各组药物作用下  $\beta 3\text{GnT8}$  和耐药蛋白 P-gp、BCRP 的表达

耐药 MDA-MB-231/TAX 细胞培养至对数生长期,加入追毒方、空白对照和阳性对照各组药物作用 48 h,收集细胞,按照试剂盒提取细胞总 RNA,待完全溶解后于  $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$  保存。合成 cDNA 第一链(20  $\mu\text{L}$  体系),使用前每个组分轻轻混匀,2 000 r/min 离心 20 s;取灭过菌且无核酸酶的 0.2 mL PCR 管,依次加入如下组分:RNA(2  $\mu\text{g}$ )、Oligo dT(18)(50  $\mu\text{mol/L}$ ) 2  $\mu\text{L}$ 、无核酸酶的双蒸水至总体积 12.5  $\mu\text{L}$ , $65\text{ }^{\circ}\text{C}$  保温 5 min,然后冰浴 5 min;在提取的 RNA 中的 0.2 mL PCR 管依次加入如下组分:RNase 抑制剂(40 U/ $\mu\text{L}$ ) 0.5  $\mu\text{L}$ , $5\times$  Reaction Buffer 4.0  $\mu\text{L}$ ,dNTPs(10 mmol/L) 2.0  $\mu\text{L}$ ,M-MuLV 1.0  $\mu\text{L}$ ,轻轻混匀后,然后 2 000 r/min 离心 20 s;先在  $42\text{ }^{\circ}\text{C}$  保温 1 h,然后  $70\text{ }^{\circ}\text{C}$  保温 10 min,然后置于冰上 5 min。每个 cDNA 样本都稀释 10 倍(5  $\mu\text{L}$  cDNA+45  $\mu\text{L}$   $\text{H}_2\text{O}$ )引物 MIX(引物的 F 和 R 在同一管中),浓度各为 10  $\mu\text{mol/L}$ ,上样,反应体系: $2\times$  Realltime PCR Master Mix(SYBR Green) 10  $\mu\text{L}$ ,模板(cDNA 稀释 10 倍)1  $\mu\text{L}$ ,引物 MIX(F/R 各为 10  $\mu\text{mol/L}$ ) 2  $\mu\text{L}$ ,DEPC 水 7  $\mu\text{L}$ ,Total 20  $\mu\text{L}$ 。

2.4 Western bot 检测通过瞬时转染高表达  $\beta 3\text{GnT}8$  的 MDA-MB-231/TAX 细胞  $\beta 3\text{GnT}8$  和耐药蛋白的表达

2.4.1 转染  $\beta 3\text{GnT}8$  lipo2000 介导的  $\beta 3\text{GnT}8$  质粒构建由 Invitrogen 公司完成,把耐药 MDA-MB-23/TAX 细胞分成 6 组:MDA-MB-231/TAX 对照组、转染质粒组、MDA-MB-231/TAX 加药组、转染质粒加药组、高表达  $\beta 3\text{GnT}8$  细胞组,高表达  $\beta 3\text{GnT}8$  加药组。转染前 1 d,接种适当数量的 MDA-MB-231/TAX 细胞至细胞培养板中,每孔中加入不含抗生素的培养液,使转染时的细胞密度能够达到  $30\%\sim 50\%$ 。设置 A 管:将 0.8  $\mu\text{g}$  DNA 溶于 50  $\mu\text{L}$  Opti-mem 无血清培养基中,设置 B 管:将 2  $\mu\text{L}$  lipo2000 溶于 50  $\mu\text{L}$  Opti-mem 无血清培养基中,混匀室温放置 5 min,将 A、B 两管混合成 C 管,放置 20 min。转染期间,将 24 孔板培养基换成无血清培养基,每孔 400  $\mu\text{L}$ 。将 C 管加入 24 孔板对应孔中,4~6 h 候换成有血清培养基。

2.4.2 Western blot 检测  $\beta 3\text{GnT}8$  和耐药蛋白的表达 将孔中含 siRNA-lipo2000 混合液的培养基移去,更换新鲜培养基,将培养板置于  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  的  $\text{CO}_2$  培养箱中培养 48 h。用胰酶消化收取细胞于 EP 管中,加入适量的 RAPI buffer(50 mmol/L Tris PH8.

0、150 mmol/L NaCl、1% Triton X-100、0.5% Sodium deoxycholate、0.1% SDS、2 mmol/L EDTA、5% Glycerol、 $1\times$  protease inhibitors cocktail、1  $\mu\text{mol/L}$  DTT 和 PMSF),冰上 30 min,裂解提取全细胞总蛋白,12 000 r/min 离心 15 min,收取上清,用 Bradford 法检测总蛋白浓度,取 50  $\mu\text{g}$  蛋白的细胞裂解液与  $5\times$  蛋白上样缓冲液 4:1 混合,煮沸使蛋白变性,配制 SDS-聚丙烯酰胺凝胶,放入电泳槽中,加满 SDS 电泳缓冲液,在上样孔中加入蛋白样品,电泳至跑出凝胶,转膜,封闭,浸在一抗中过夜,漂洗 3 次后浸于二抗中室温孵育 1~2 h,再漂洗 3 次,点加显色液,封膜固定于暗盒中,曝光,洗片定影。

2.5 凝集素流式细胞术检测相关糖链的活性强度

番茄凝集素能够特异性识别多聚乳糖胺链  $\beta 3\text{GnT}8$ <sup>[6]</sup>,为了进一步证实追毒方逆转耐药 MDA-MB-231/TAX 细胞耐药与糖基转移酶  $\beta 3\text{GnT}8$  有关,采用凝集素流式检测法检测细胞表面  $\beta 3\text{GnT}8$  的表达变化,将耐药 MDA-MB-231/TAX 分 4 组:耐药 MDA-MB-231/TAX 细胞组、转染 siRNA 对照组、转染  $\beta 3\text{GnT}8$  组、转染  $\beta 3\text{GnT}8$  加追毒方组。将对数生长期的细胞用 0.25% 胰酶(不含 EDTA)消化收集;用 PBS 洗涤细胞 2 次(离心 2 000 r/min,5 min)收集  $5\times 10^5$  细胞,分别加入荧光标记流式凝集素抗体,室温避光孵育 15 min,离心(1 500 r/min) 5 min,弃去上清液,加入 PBS 液 1 mL,混匀,重复洗涤 2 次,重悬;加入 0.5 mL PBS,混匀,制成单细胞悬液,用流式细胞仪检测( $E_x = 488\text{ nm}$ , $E_m = 530\text{ nm}$ )细胞表面抗原表达。

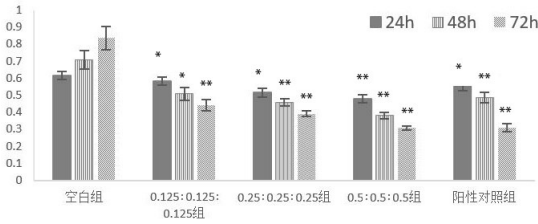
2.6 统计学处理

采用 SPSS17.0 统计软件进行统计分析,计量资料用  $\bar{x}\pm s$  表示,组间比较采用单因素方差分析,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

### 3 结果

3.1 MTT 法检测追毒方对耐药 MDA-MB-231/TAX 细胞增殖抑制作用的影响

实验表明追毒方作用于耐药 MDA-MB-231/TAX 细胞,有显著抑制作用,并与时间呈正相关,OD 值与空白对照组比  $P < 0.05$ ,有统计学意义。追毒方三成分浓度为 0.5:0.5:0.5  $\mu\text{g/mL}$  时,抑制率更好,72 h 到达 50.16%,下面实验均以此浓度进行考察。MTT 结果提示追毒方能逆转耐药 MDA-MB-231/TAX 细胞耐药。见图 1。

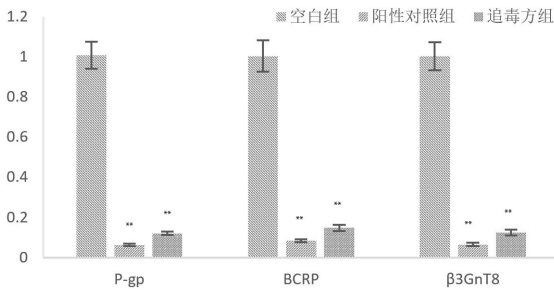


注:与空白对照组比较,\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$ 。 $\bar{x} \pm s$ 。

图 1 各组对耐药 MDA-MB-231/TAX 细胞增殖抑制作用的影响

### 3.2 qPCR 检测追毒方作用 MDA-MB-231/TAX 下 $\beta 3GnT8$ 和耐药蛋白 P-gp、BCRP 表达

qPCR 法检测结果显示,追毒方能明显下调耐药细胞 MDA-MB-231/TAX 的  $\beta 3GnT8$  和耐药蛋白 P-gp、BCRP 的表达,与空白组对比有统计学差异, $P < 0.01$ ,提示追毒方逆转耐药 MDA-MB-231 细胞耐药与下调  $\beta 3GnT8$  和耐药蛋白 P-gp、BCRP 相关,见图 2。

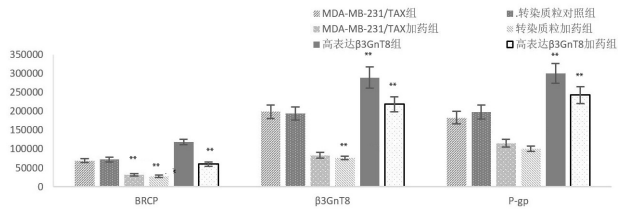
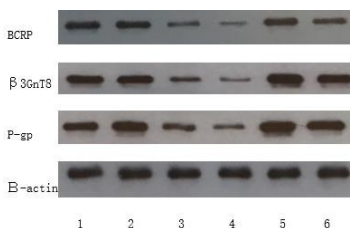


注:与空白对照组比较,\* $P < 0.01$ 。 $\bar{x} \pm s$ 。

图 2 各组药物作用 MDA-MB-231/TAX 细胞  $\beta 3GnT8$  和耐药蛋白的表达

### 3.3 Western blot 法检测高表达 $\beta 3GnT8$ 的 MDA-MB-231/TAX 细胞 $\beta 3GnT8$ 和耐药蛋白 BCRP 和 P-gp 的表达

Western blot 法检测结果显示,追毒方作用于通过瞬时转染高表达  $\beta 3GnT8$  的耐药 MDA-MB-231/TAX 细胞,可以下调  $\beta 3GnT8$ 、BCRP 和 P-gp 的表达,但是下调作用弱于正常表达组;并且  $\beta 3GnT8$  的表达与耐药蛋白 BCRP、P-gp 呈正相关,反证了追毒方逆转耐药 MDA-MB-231 细胞的耐药与下调  $\beta 3GnT8$  相关,见图 3。

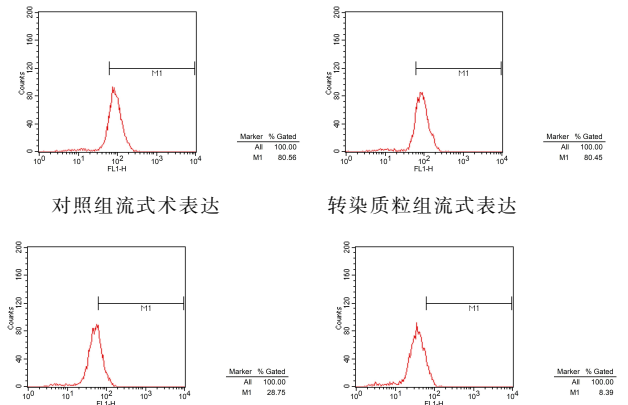


注:1.MDA-MB-231/TAX 细胞对照组;2.转染质粒对照组;3.MDA-MB-231/TAX 细胞加药组;4.转染质粒加药对照组;5.高表达  $\beta 3GnT8$  组;6.高表达  $\beta 3GnT8$  加药组。与空白对照组比较,\*\* $P < 0.01$ 。 $\bar{x} \pm s$ 。

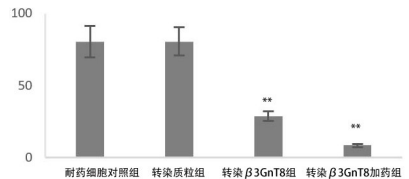
图 3 追毒方作用于高表达  $\beta 3GnT8$  耐药 MDA-MB-231/TAX 细胞的  $\beta 3GnT8$  和相关耐药蛋白表达值

### 3.4 凝集素流式细胞术检测转染 $\beta 3GnT8$ 耐药 MDA-MB-231/TAX 细胞的 $\beta 3GnT8$ 表达

凝集素流式细胞术检测结果显示,追毒方能使转染  $\beta 3GnT8$  耐药 MDA-MB-231/TAX 细胞的  $\beta 3GnT8$  表达显著降低,与质粒组、对照组有统计学差异, $P < 0.01$ 。进一步说明,追毒方能够逆转耐药 MDA-MB-231/TAX 细胞耐药与降低  $\beta 3GnT8$  表达相关。见图 4。



转染  $\beta 3GnT8$  组流式术表达 转染  $\beta 3GnT8$  加追毒方组流式术表达



注:与空白对照组比较,\* $P < 0.01$ 。 $\bar{x} \pm s$ 。

图 4 各组流式细胞术的表达

## 4 讨论

蛋白质糖基化修饰是指在糖基转移酶的催化作用下,寡糖供体与蛋白质氨基酸残基以糖苷键共价相连形成糖复合物,即糖蛋白。真核生物中,寡糖与蛋白质之间可以通过两种类型的糖苷键连接,第一类是 N-乙酰氨基葡萄糖基连接到天冬酰胺的酰胺侧链(N-连接),第二类涉及 N-乙酰半乳糖基的 C-1



结合到丝氨酸或苏氨酸的羟基上(O-连接)<sup>[7]</sup>。细胞表面的糖链因其结构的多样性和复杂性常被用作信号分子、识别分子和粘附分子等<sup>[8]</sup>。 $\beta$ 1,3-N-乙酰氨基葡萄糖基转移酶家族( $\beta$ 3GnTs)催化 N-聚糖中  $\beta$ 1,6 分支多聚乳糖胺链结构的起始和延长<sup>[9]</sup>。 $\beta$ 3GnT8 是  $\beta$ 3GnTs 家族(T1、T2、T3、T4、T5、T6、T7、T8 和 T9)的成员之一,参与催化多聚乳糖胺链的起始和延伸,能合成多聚乳糖胺 N-聚糖。许多研究结果显示,恶性肿瘤细胞如结肠癌、胃癌、肝癌、肺癌细胞中  $\beta$ 3GnT8 的表达水平比正常细胞明显升高。舌、乳腺、子宫、睾丸组织中表达较低<sup>[10]</sup>。我们前期已经通过课题研究证实结肠癌细胞浸润和转移的分子机理为,c-JUN 直接作用于 SW480 和 Lo-vo 细胞的  $\beta$ 3GnT8 启动区,导致控制肿瘤浸润和转移因子表达的  $\beta$ 3GnT8 转录激活<sup>[11]</sup>。

雷公藤味苦、辛、凉、有大毒,能活血通络,止痛杀虫,干蟾皮辛凉微毒,能解毒、止痛、消腹中结块,红豆杉性平味淡,功效利尿通经抗肿瘤,即利湿通络,破瘀解毒。我们前期的实验已经证实追毒方能够明显抑制 MDA-MB-231 细胞增殖,其机理是通过上调磷酸化 c-JUN 和 P-38 蛋白的表达,以及下调磷酸化 ERK 蛋白表达,阻断 Ras/Raf/MAPK/ERK 信号通路,从而诱导乳腺癌细胞凋亡<sup>[12]</sup>。本实验在探讨追毒方逆转 TNBC 耐药细胞 MDA-MB-231/TAX 耐药的机制时发现,其能下调糖基转移酶  $\beta$ 3GnT8, $\beta$ 3GnT8 的下调导致耐药蛋白 BCRP、P-gp 表达也下降,从而逆转细胞耐药。因此我们认为,追毒方逆转耐药的机制是通过 c-JUN 作用于  $\beta$ 3GnT8 启动区导致  $\beta$ 3GnT8 表达下调所致。

$\beta$ 3GnT8 作为肿瘤治疗靶点已经成为一个新的研究方向和研究热点,但是  $\beta$ 3GnT8 具体参与了哪些细胞信号通路,又是受到了哪些因子的调控仍待进一步研究,这也值得我们在研究中药复方抗肿瘤机制时借鉴。

#### 参考文献:

[1] OSSOVSKAYA V, WANG Y, BUDOFF A, et al. Exploring

molecular pathways of triple-negative breast cancer[J]. *Genes Cancer*, 2011, 2(9):870-879.

- [2] 王晓稼.2015 年美国 ASCO 年会三阴性乳腺癌研究进展[J]. *中国肿瘤外科杂志*, 2015, 7(3):141-145.
- [3] 刘敏,王明武.解毒破瘀法抑制三阴性乳腺癌复发与转移的临床研究[J]. *南京中医药大学学报*, 2016, 32(2):111-113.
- [4] LIU CL, QIU H, LIN DD, et al. c-Jun-dependent  $\beta$ 3GnT8 promotes tumorigenesis and metastasis of hepatocellular carcinoma by inducing CD147 glycosylation and altering N-glycan patterns [J]. *Oncotarget*, 2018(1):1-13.
- [5] QIU H, XU X, LIU M, et al. RNA interference mediated silencing of ppGalNAc T1 and ppGalNAc T2 inhibits invasion and increases chemosensitivity potentially by reducing terminal  $\alpha$ 2,3 sialylation and MMP14 expression in triple negative breast cancer cells[J]. *Mol Med Rep*, 2017(15):3724-3734.
- [6] WANG Y, LU JJ, HE L, et al. Triptolide (TPL) inhibits global transcription by inducing proteasome-dependent degradation of RNA polymerase II (Pol II) [J]. *PLoS ONE*, 2011, 6: e23993.
- [7] PAN L, CHAI H, KINGHORN AD. The continuing search for antitumor agents from higher plants[J]. *Phytochem Lett*, 2010, 3(1):1-8.
- [8] CAREY N, LA THANGUE NB. Histone deacetylase inhibitors: gathering pace[J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2006, 6(4): 369-375.
- [9] GUO JM, CHEN HL, Wang GM, et al. Expression of UDP-GalNAc: polypeptide N-acetylgalactosaminyltransferase-12 in gastric and colonic cancer cell lines and in human colorectal cancer[J]. *Oncology*, 2004, 67:271-276.
- [10] HUANG C, ZHOU J, WU S, et al. Cloning and tissue distribution of the human B3GALT7 gene, a member of the beta1,3-Glycosyltransferase family[J]. *Glycoconj J*, 2004, 21:267-273.
- [11] LIU CL, QIU H, YU MY, et al. c-Jun-mediated  $\beta$ -1,3-N-acetylglucosaminyltransferase 8 expression: A novel mechanism regulating the invasion and metastasis of colorectal carcinoma cells[J]. *Oncol Lett*, 2017, 14: 3722-3728.
- [12] 刘敏.中药解毒成分复方对乳腺癌作用和机理的实验研究[D]. 南京:南京中医药大学,2014.

(编辑:董宇)