



doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2020.11.008
http://dx.doi.org/10.7659/j.issn.1005-6947.2020.11.008
Chinese Journal of General Surgery, 2020, 29(11):1346-1356.

· 基础研究 ·

柚皮素对人与小鼠乳腺癌细胞的增殖、迁移、侵袭及凋亡的影响

李林芳¹, 杨倩², 张源源², 杨怀霞², 马婷婷³

(西南医科大学附属医院 1. 日间手术管理中心 2. 手术室 3. 临床医学研究中心, 四川 泸州 646000)

摘要

背景与目的: 柚皮素 (NAR) 是天然黄酮类单体, 已被发现对卵巢癌、直肠癌、肺癌具有抗癌效果, 但对乳腺癌的作用尚不清楚, 故本实验探讨 NAR 对不同种属乳腺癌细胞的增殖、迁移、侵袭及凋亡的影响, 并初步分析机制, 为乳腺癌的药物研发提供理论和实验依据。

方法: 选用体外培养人乳腺癌 MCF7 细胞和小鼠乳腺癌 4T1 细胞为研究对象, 分别将两种细胞分为 2 个浓度的 NAR (100、200 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 处理组和对照组, 对照组用溶剂 DMSO 处理。用 CCK-8 法检测以上处理不同时间后 (24、48、72 h) 细胞活力的变化; 用细胞克隆实验、细胞划痕实验、Transwell 小室实验和 Hoechst 凋亡染色实验检测以上处理 24 h 后细胞的克隆形成、迁移、侵袭能力与凋亡情况, 用 Western blot 检测 Akt、凋亡和周期相关蛋白以及上皮间质转化 (EMT) 相关分子的表达。

结果: 与各自对照组比较, NAR 处理后的两种乳腺癌细胞的细胞活力明显降低, 且呈一定的时间与浓度依赖趋势 (均 $P < 0.01$)。与各自对照组比较, NAR 处理后的两种乳腺癌细胞的克隆形成率、划痕愈合率、侵袭细胞数均明显降低, 而细胞凋亡率均明显增加 (均 $P < 0.01$); NAR 处理后的两种乳腺癌细胞中 Akt、Bcl-2、CDK4、cyclin D1、MMP-9 蛋白表达量明显降低, 而 Bax 蛋白表达量显著升高 (均 $P < 0.01$)。

结论: NAR 可以有效抑制人乳腺癌细胞和小鼠乳腺癌细胞的增殖、迁移和侵袭, 并促进凋亡。其作用机制可能与抑制 Akt 通路、细胞周期和 EMT 过程相关。

关键词

乳腺肿瘤; 柚皮素; 细胞增殖; 肿瘤浸润; 细胞凋亡

中图分类号: R737.9

Effects of naringenin on proliferation, invasion, migration and apoptosis in human and mouse breast cancer cells

LI Linfang¹, YANG Qian², ZHANG Yuanyuan², YANG Huaixia², MA Tingting³

(1. Day Surgery Management Center 2. Operating Room 3. Clinical Research Institute, the Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Luzhou, Sichuan 646000, China)

Abstract

Background and Aims: Naringenin (NAR) is a natural flavonoid monomer, which has been proven to have anti-cancer effects against ovarian cancer, rectal cancer, and lung cancer. However, its effect on breast cancer is unclear.

基金项目: 西南医科大学校级科研基金资助项目 (2017-ZRQN-063, 2019ZQN079)。

收稿日期: 2020-07-22; **修订日期:** 2020-10-17。

作者简介: 李林芳, 西南医科大学附属医院住院医师, 主要从事乳腺癌的基础与临床方面的研究。

通信作者: 马婷婷, Email: matingting@swmu.edu.cn

Therefore, this study was conducted to observe the effect of NAR on the proliferation, migration, invasion and apoptosis in breast cancer cells from different species, and preliminarily analyze the mechanism, so as to provide theoretical and experimental basis for the development of relevant drugs for breast cancer.

Methods: The in vitro cultured human breast cancer MCF-7 cells and mouse breast cancer 4T1 cells were used as study objects. The two types of cells were divided into two concentrations (100–200 $\mu\text{g}/\text{mL}$) of NAR treatment groups and control group, respectively, and the cells in control group were treated with DMSO. The changes in cell viabilities after above treatment for different times (24, 48 and 72 h) were measured by CCK-8 assay. The colony formation, migration and invasion abilities and apoptosis after above treatment for 24 h were detected by colony-forming assay, cell scratch assay, Transwell invasion assay and Hoechst apoptosis staining assay, respectively, and the expressions of Akt, the apoptosis- and cell cycle-related proteins and the endothelial-mesenchymal transition (EMT)-related molecules were determined by Western blot analysis.

Results: Compared with corresponding control group, the cell viabilities in the two types of breast cancer cells were significantly decreased after NAR treatment, with a certain time and concentration dependence (all $P < 0.01$). Compared with corresponding control group, the relative colony formation rates, wound healing rates and the number of invading cells were significantly reduced, while the apoptotic rates were significantly increased in the two types of breast cancer cells after NAR treatment (all $P < 0.01$); the protein expressions of Akt, Bcl-2, CDK4, cyclin D1, and MMP-9 were significantly down-regulated, while the Bax expressions were significantly up-regulated (all $P < 0.01$).

Conclusion: NAR can effectively inhibit the proliferation, migration and invasion while promote apoptosis in both human breast cancer cells and mouse breast cancer cells. The mechanism may be related to its inhibiting the Akt pathway and regulating the cell cycle and the EMT process.

Key words

Breast Neoplasms; Naringenin; Cell Proliferation; Neoplasm Invasiveness; Apoptosis

CLC number: R737.9

乳腺癌是全球范围内女性最为常见的一种恶性肿瘤,也是年轻女性最常见的恶性肿瘤之一^[1-2],其发病率和病死率居恶性肿瘤首位,且有不断上升的趋势,严重威胁着女性的健康^[3-4]。乳腺癌早期多为乳房进行性长大的无痛性肿块,初期不能引起患者重视,近年随着影像技术的发展和微创穿刺活检技术的应用^[5-6],部分乳腺癌患者得以较早诊治,但仍有部分患者发现即为中晚期。乳腺癌现有的主要治疗方式为手术切除联合化疗、放疗、内分泌治疗、靶向治疗及中医中药辅助治疗,尽管乳腺癌有多条途径综合治疗,一旦患者出现复发和远处转移^[7],其生存时间和生活质量严重下降,且综合治疗所引起骨髓抑制、免疫力降低、放射性皮炎、卵巢功能损害以及心脏神经认知系统的毒副作用,使患者生活质量严重下降,近年研究^[8]发现联合中药可以降低肿瘤的耐药性和放化疗的不良反应,中药将在肿瘤治疗中发挥越来越重要的作用。

柚皮素(naringenin, NAR)是柚皮苷的苷元

单体,属于天然的黄酮类化合物,溶于乙醇,不溶于水,生物利用度差,故限制了其在临床中的应用^[9]。随着药物包封材料的发展和制备技术的不断提高,NAR被逐渐发现具有多种生物活性^[10],如抗炎、抗氧化、抗肿瘤、抗病毒、免疫调节、保护肝功能等^[11-12]。有研究报道NAR可以通过调节多条信号通路、作用于多个靶点发挥其抗肿瘤作用,在直肠癌^[13]、宫颈癌^[14]、胃癌^[15]、肺癌^[16]、舌癌^[17]的研究中均发现不同的调节通路。但NAR对乳腺癌的研究较少,在不同种属乳腺癌细胞的调节机制尚不清楚。本实验探讨NAR对人和鼠的乳腺癌细胞生物学行为的影响,寻找可能存在的调节通路,为乳腺癌的临床治疗提供理论和实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

人乳腺癌MCF7细胞和小鼠乳腺癌4T1细胞购

于深圳艾普诺生物医疗科技有限公司,胎牛血清和DMEM购于上海中乔新舟生物科技有限公司,NAR购于美国Sigma-Aldrich公司,CCK-8试剂盒、BCA蛋白浓度测定试剂盒、Hoechst染色试剂盒、一抗Akt、Bcl-2、Bax、CDK4、cyclinD1、MMP-9及GAPDH均购自上海碧云天生物科技有限公司。结晶紫购自上海麦克林生化科技有限公司。

1.2 主要方法

1.2.1 细胞培养及细胞分组 取对数生长期的MCF7细胞和4T1细胞培养在含10%胎牛血清、1%青链霉素的DMEM中,于37℃、5%CO₂培养箱中培养,每2天换液,每周传代2~3次。分别将两种细胞分为对照组与两个浓度NAR(100、200 μg/mL)处理组,对照组给予等容积的溶媒DMSO。

1.2.2 细胞增殖测定 使用CCK-8试剂盒检测NAR对MCF7细胞和4T1细胞增殖的抑制情况。分别取分组后的细胞制成适当密度的细胞悬液,每孔100 μL约2×10³个细胞接种于96孔板,培养箱中分别培养24、48、72 h,每组设置5个复孔。实验结束前2 h每孔加入10 μL的CCK-8溶液,用酶标仪测定在450 nm波长处各孔的吸光度值,计算MCF7细胞和4T1细胞的活力。

1.2.3 克隆形成分析 取对数生长期的细胞接种于6孔板,每孔约1 000个细胞,均匀分布,在37℃、5%CO₂培养箱中培养24 h,按以上方法分组处理,作用24 h后更换为普通培养基,培养箱继续培养,每72 h更换培养液。1周后,4%多聚甲醛固定细胞30 min,PBS漂洗2次,结晶紫染色30 min,ddH₂O漂洗2次,空气中干燥。在显微镜下计数细胞的克隆数及计算克隆形成率。

1.2.4 划痕实验 取对数长期细胞按一定浓度接种于6孔板,37℃、5%CO₂培养箱中培养24 h,每个孔划3道竖线,PBS漂洗2次后立即光镜下观察拍照作为0时状态,并标记每个观察点。按以上方法分组处理,培养箱培养24 h,记录同一个观察点划痕宽度的变化,分析MCF7细胞和4T1细胞的迁移能力。

1.2.5 Transwell小室检测细胞侵袭能力 使用带膜的检测肿瘤细胞侵袭的Transwell小室,Transwell下室每孔加入400 μL含10%胎牛血清的DMEM完全培养基,上室加入不含血清的细胞悬液,每孔100 μL,分别含MCF7细胞、4T1细胞约2×10⁵个,分组处理同1.2.1。在37℃、5%CO₂

培养箱培养24 h,结束后取出Transwell小室并用棉签擦去上室中的细胞,PBS冲洗2次,4%多聚甲醛固定30 min,PBS冲洗2次,结晶紫染色30 min,ddH₂O冲洗2次,在倒置显微镜下观察拍照计数穿过小室的细胞。

1.2.6 Hoechst凋亡染色 取对数生长期的MCF7和4T1细胞接种在24孔板,分组处理作用24 h后,4%多聚甲醛室温固定10 min,PBS轻摇洗3次,每次3 min,加入0.5 mL的Hoechst 33342染色液,轻摇染色5 min,PBS轻摇洗3次,每次3 min,荧光显微镜350 nm波长下观察拍照,并计算各组细胞的凋亡率。

1.2.7 Western blot检测 检测Akt、Bcl-2、Bax、CDK4、cyclin D1、MMP-9及GADPH蛋白的表达水平,取对数生长期的细胞接种于6孔板,分组处理同前。37℃、5%CO₂培养箱中培养24 h,收集细胞并裂解、离心,提取待测蛋白,用BCA法测量蛋白浓度并定量。提前24 h制胶,每组以等量总蛋白上样,SDS-PAGE凝胶电泳后转PVDF膜2 h。5%脱脂牛奶室温封闭1.5 h,一抗孵育过夜,PBST洗3次,室温二抗孵育1.5 h,PBST洗3次,使用BeyoECL Star显色试剂盒显色曝光。

1.3 统计学处理

实验数据采用SPSS 25.0软件统计分析。实验数据均以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

2.1 NAR对MCF7细胞与小4T1细胞活力的影响

预实验中12.5~200 μg/mL的NAR作用MCF7细胞和4T1细胞24 h后测细胞活力,经分析软件算得NAR对MCF7的IC₅₀值为139.1 μg/mL,4T1的IC₅₀值为99.53 μg/mL。故选择100、200 μg/mL 2个浓度的NAR用于后续细胞实验。CCK-8实验结果显示,与各自对照组比较,两种细胞在2个浓度的NAR处理后增殖活力均明显降低(均 $P < 0.01$),且呈一定的浓度与时间依赖趋势(图1)。

2.2 NAR对MCF7细胞与4T1细胞克隆形成能力的影响

平板克隆形成实验结果显示,与各自对照组比较,两种细胞在2个浓度的NAR处理后细胞克隆形成数目明显减少,且NAR浓度越大,形成数目越少(均 $P < 0.01$)(图2)。

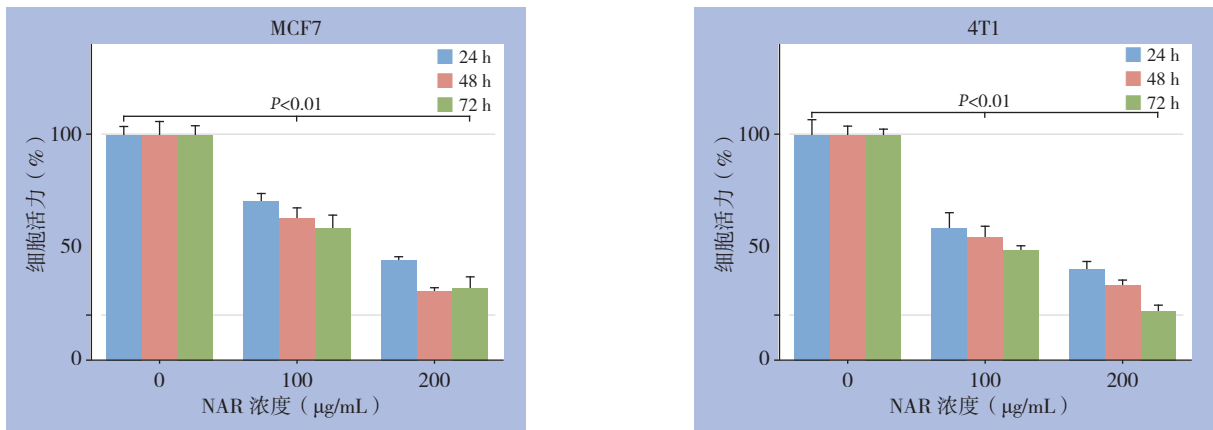


图 1 NAR 对 MCF7 细胞和 4T1 细胞活力对影响

Figure 1 The effects of NAR on the cell viability of MCF7 cells and 4T1 cells

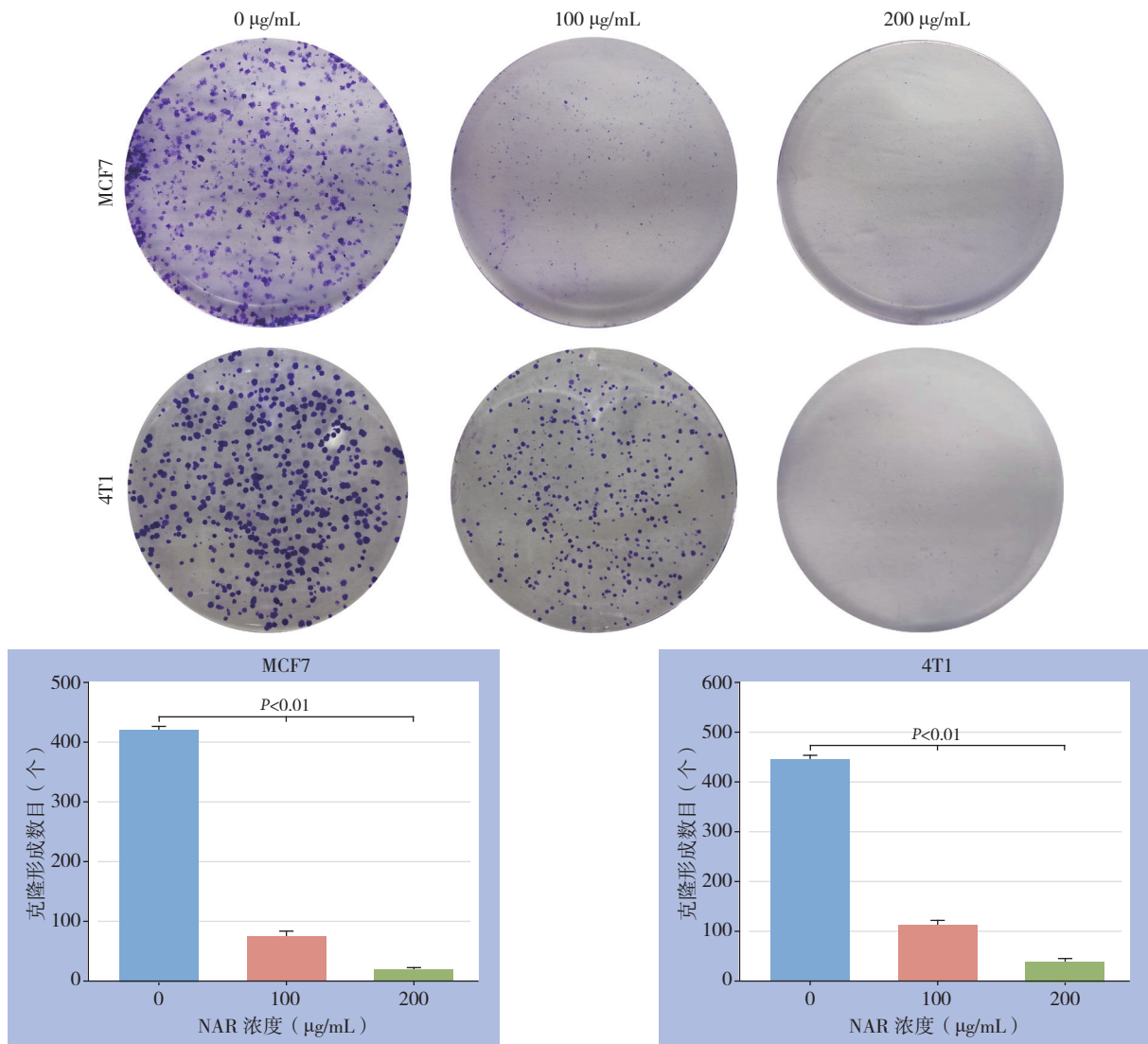


图 2 NAR 对 MCF7 细胞和 4T1 细胞的克隆形成能力分析

Figure 2 Analysis of the inhibitory effect of NAR on the clone formation of MCF7 cells and 4T1 cells

2.3 NAR 对 MCF7 细胞与 4T1 细胞迁移能力的影响

划痕实验结果显示, NAR 处理 24 h 后, MCF7

细胞和 4T1 细胞的对照组以及低、高浓度 NAR 组细胞的相对迁移率分别为: (100.00 ± 4.76) %、(43.84 ± 2.33) %、(29.98 ± 1.20) %;

(100.00 ± 2.44)%、(60.68 ± 3.37)%、(51.31 ± 1.47)%。与各自的对照组比较，两种细胞在2个浓度的NAR处理后的细胞相对迁移率

均明显降低，且NAR浓度越大，细胞迁移率越低（均 $P < 0.01$ ）（图3）。

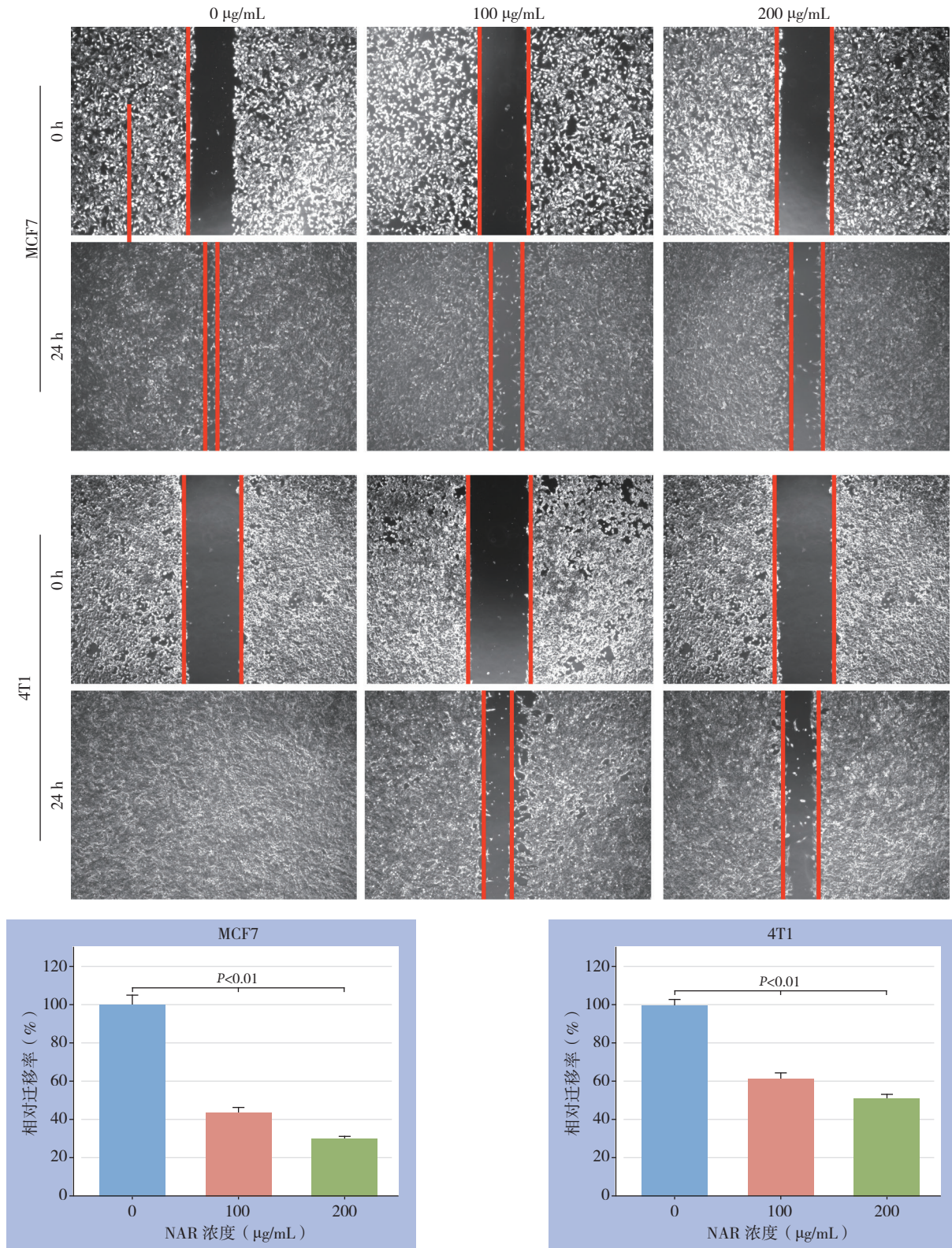


图 3 NAR 对 MCF7 细胞和 4T1 细胞迁移能力对影响
Figure 3 The effects of NAR on migration of MCF7 cells and 4T1 cells

2.4 NAR 对 MCF7 细胞与 4T1 细胞侵袭能力的影响

Transwell小室实验结果显示, MCF7 细胞和 4T1 细胞对照组以及低、高浓度 NAR 组穿过 Transwell 小室的细胞数目分别为: (1 908.67 ± 69.51) 个、(526.00 ± 40.58) 个、

(77.33 ± 4.93) 个; (1 830.67 ± 92.66) 个、(354.00 ± 43.10) 个、(24.67 ± 3.51) 个。与各自的对照组比较, 两种细胞在 2 个浓度的 NAR 处理后穿过 Transwell 小室的细胞数目均明显减少, 且 NAR 浓度越大细胞数目越少 (均 $P < 0.01$) (图 4)。

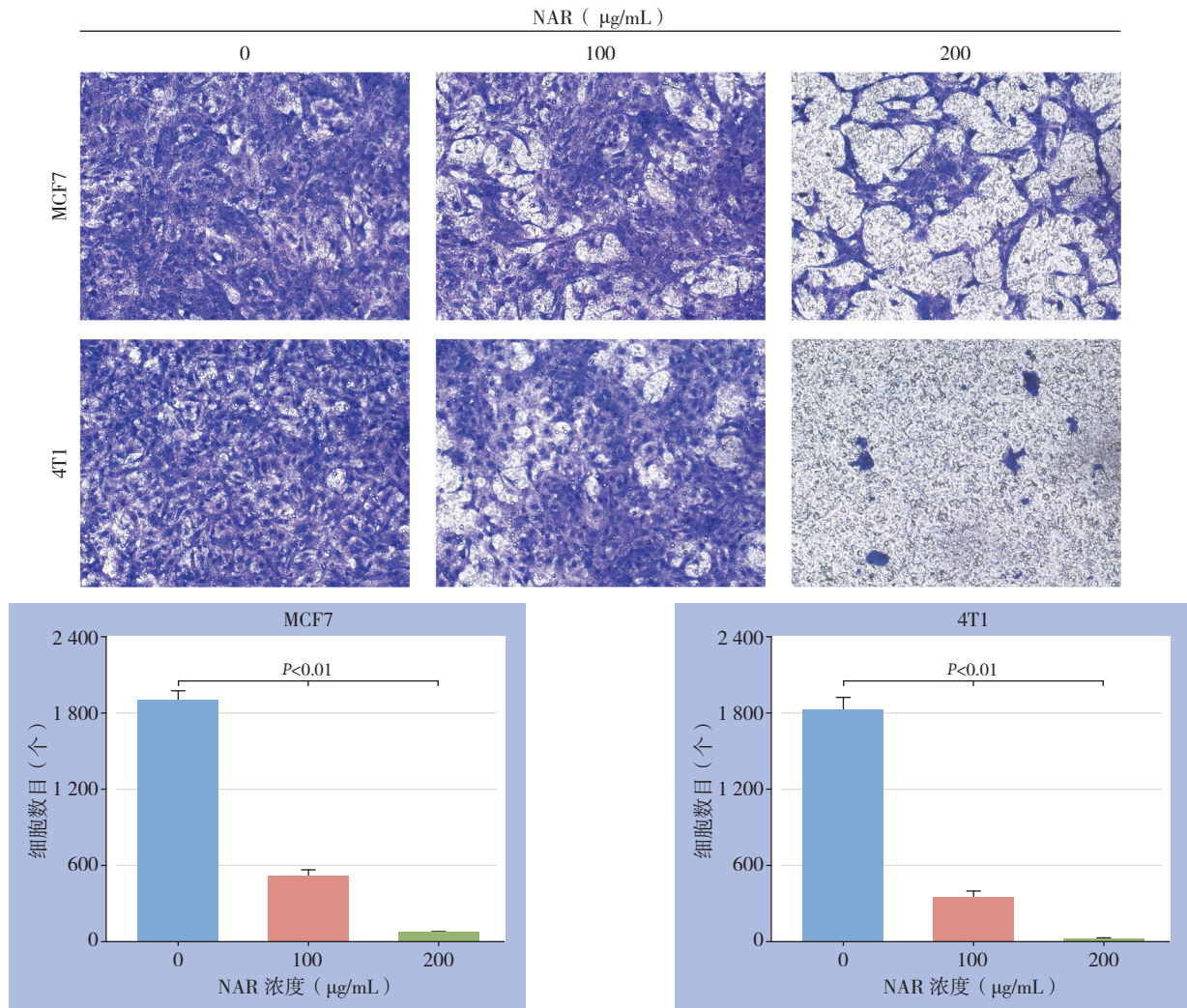


图 4 NAR 对 MCF7 细胞和 4T1 细胞侵袭能力的影响

Figure 4 The effects of NAR on invasion ability of MCF7 cells and 4T1 cells

2.5 NAR 对 MCF7 细胞与 4T1 细胞凋亡的影响

Hoechst 33342 染色结果显示, 正常细胞的细胞核呈蓝色, 凋亡细胞的细胞核呈致密浓染, 或碎块致密浓染, 颜色发亮发白。MCF7 细胞和 4T1 细胞的对照组以及低、高浓度 NAR 组的细胞凋亡率分别为: (5.47 ± 4.98) %、(42.57 ± 2.72) %、(83.33 ± 4.76) %; (3.18 ± 2.84) %、(29.21 ± 3.73) %、(75.31 ± 7.34) %。与各自对照组比较, 两种细胞在 2 个浓度的 NAR 处理后凋亡率明显增高, 且

NAR 浓度越大凋亡率也高 (均 $P < 0.01$) (图 5)。

2.6 NAR 对 MCF7 细胞与 4T1 细胞 Akt 通路及其他凋亡相关蛋白表达的影响

Western blot 法测定 NAR 对 MCF7 细胞和 4T1 细胞中 Akt、凋亡与细胞周期相关蛋白以及上皮间质转化 (EMT) 相关分子表达的影响。结果显示, 与各自对照组比较, NAR 处理后的两种乳腺癌细胞中的 Akt、Bcl-2、CDK4、cyclin D1、MMP-9 的表达量明显下降, Bax 表达量明显升高, 且 NAR 浓度越大变化程度越大 (均 $P < 0.05$) (图 6)。

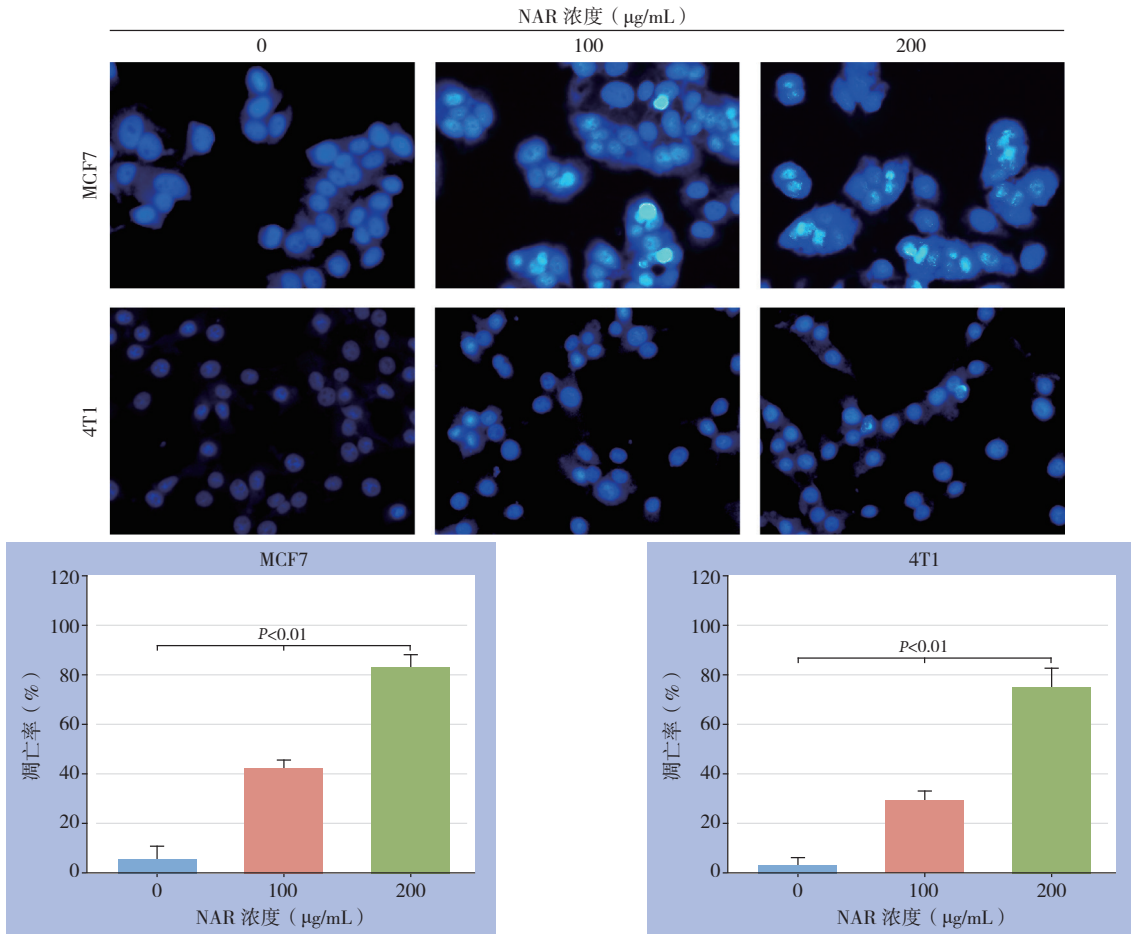


图 5 NAR 对 MCF7 和 4T1 细胞凋亡的影响

Figure 5 The effect of NAR on apoptosis of MCF7 and 4T1 cells

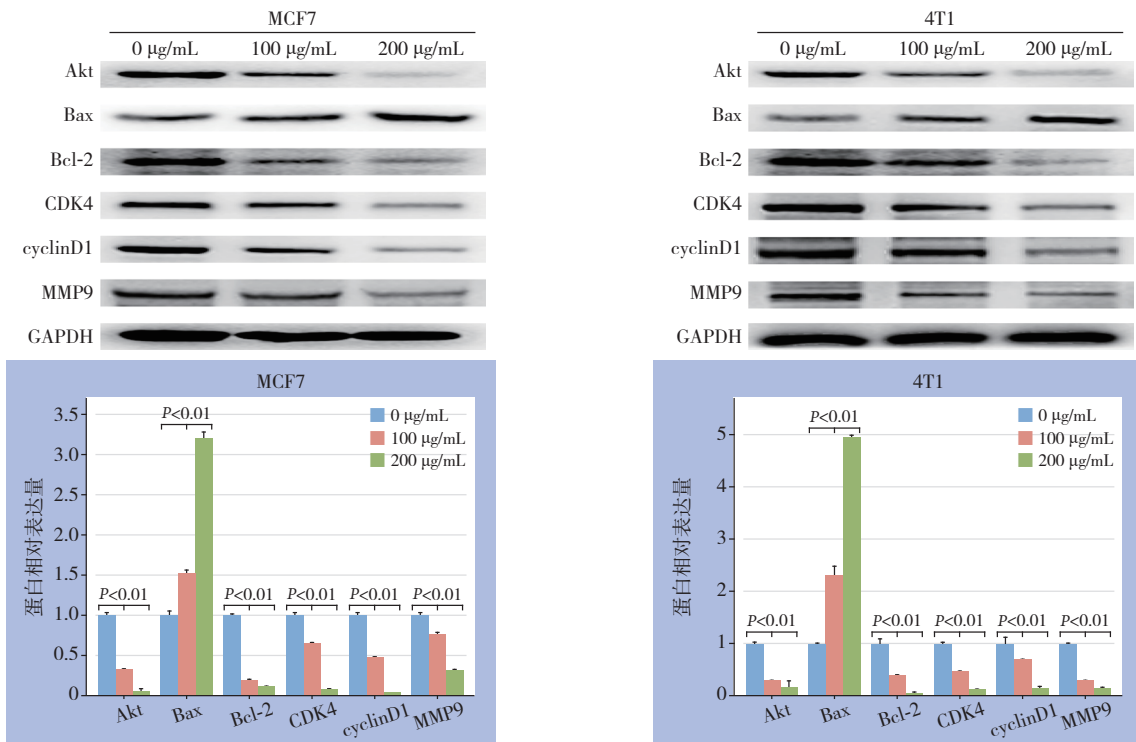


图 6 NAR 对 MCF7 细胞和 4T1 细胞 Akt、凋亡与细胞周期相关蛋白以及 EMT 相关分子表达的影响

Figure 6 The effects of NAR on the expression of Akt, the apoptosis- and cell cycle-related proteins and the EMT-related molecules in the MCF7 cells and 4T1 cells

3 讨论

依据美国肿瘤学会2019年发表的肿瘤统计数据^[18]显示,乳腺癌是全球女性发病率最高的肿瘤,发展中国家的乳腺癌发病率明显低于发达国家^[18]。我国的癌症谱正由发展中国家向发达国家转变,乳腺癌在我国的发病率和病死率正逐渐上升^[19]。缺乏早期诊断、早期治疗以及复发和转移的治疗困难是乳腺癌病死率高的主要原因^[20]。据研究报道在我国每年新发的病例中,大约有4%~10%的乳腺癌发现时即为晚期,较多的病例伴有远处转移,以肝、肺、脑以及骨转移多见^[21],远处转移和侵袭是恶性肿瘤的显著特点,也是恶性肿瘤致死的首要原因^[3]。手术切除联合放化疗、靶向、内分泌治疗等是乳腺癌目前主要的治疗方式。随着新辅助化疗的推广,部分保乳患者得到更高的安全性及有效性^[22],部分晚期患者也能获得手术指征。一旦出现复发和远处转移,加上药物的耐药和毒副作用,在临床上乳腺癌患者的治疗效果及远期生存生活质量仍是乳腺外科医师和肿瘤医师需要攻克^[23]的困难。

近年来,随着国家对中医中药的重视,中药在肿瘤方面的治疗运用逐渐成为研究热点。NAR是从芸香科植物柚中提取的一种天然雌激素类化合物,广泛存在日常饮食中,已有研究发现NAR具有较强的清除自由基、抗炎、抗氧化作用。唐镜等^[12]研究表明,NAR对肿瘤细胞的增殖、凋亡和侵袭有抑制作用。在宫颈癌中发现,NAR可以通过促进细胞活性氧(ROS)生成、促进细胞凋亡和抑制细胞迁移^[14]。在卵巢癌研究中发现NAR通过抑制P13K/Akt信号通路上调凋亡蛋白,下调与迁移相关的蛋白,来达到促进细胞凋亡、抑制细胞迁移^[23]。在胃癌、舌癌、直肠癌和肺癌的研究中发现NAR可以通过P13K/Akt信号通路、Notch1/Hes1通路、p53/p21通路、Bax/Bcl-2通路以及调节细胞中MMP-2、MMP-9的表达来抑制肿瘤生长^[13, 15-17]。此外,研究发现NAR还是一种新的免疫调节剂,通过TGF- β 通路参与免疫系统的调节,它还具有类雌激素作用和降低慢性代谢性疾病的作用。在炎症损伤、抗氧化、应激反应时,NAR可以激活Nrf2/ARE信号通路、AMPK信号通路来保护细胞免受损伤^[24-25]。NAR已经被发现在多条通路、多个靶

点、多个组织器官细胞中具有显著的药用效果。

在有关三阴性乳腺癌的研究报道显示,中药在细胞周期信号通路、凋亡相关通路、p53信号通路、PI3K/Akt信号通路、Wnt信号通路、AMPK信号通路中具有多靶点调控的优势^[26]。祝志川等^[27]对乳腺浸润型导管癌病例的回顾性分析发现,AMPK信号通路能够激活乳腺癌细胞转录活性。Akt是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,是PI3K/Akt通路中的关键因子,当磷酸化的Akt蛋白被激活后到胞质中或胞核内,促进细胞的增殖。已有研究^[28-29]报道PI3K/Akt通路在乳腺癌的瘤体生长、转移及血管生成方面发挥重要作用。同时AKT信号通路可以调节下游线粒体途径中Bcl-2和Bax的表达。Bcl-2家族蛋白是调控细胞凋亡的蛋白,其中Bcl-2蛋白可以抑制细胞的凋亡,Bax蛋白可以促进细胞的凋亡。Bcl-2和Bax在细胞死亡过程中起主要作用。本实验发现MCF7和4T1细胞在NAR作用后,Akt的表达明显下降,并出现Bcl-2下调和Bax上调的现象。提示NAR可能是调节Akt总蛋白的表达,来抑制PI3K/Akt通路,并调节下游凋亡因子Bax和Bcl-2的表达,最终促进癌细胞凋亡,这与NAR在宫颈癌、胃癌、和卵巢癌中的研究结果一致^[14-15, 23]。笔者后续的实验会对PI3K/Akt通路上下游的调节分子进行检测,为NAR在乳腺癌细胞Akt通路的调节提供更多的实验依据。cyclin D1和CDK4是细胞周期调控系统的关键因子。cyclin D1的过表达可激活CDK4,两者正向调控具有促癌作用^[30]。已有报道激素受体阳性的乳腺癌患者能从CDK4抑制剂中获益^[31]。本实验中,NAR作用后两种细胞的cyclin D1和CDK4表达均降低,提示NAR可能通过细胞周期调控系统来抑制cyclin D1和CDK4的表达,从而阻滞MCF7和4T1细胞的生长。EMT是调节肿瘤细胞侵袭和迁移的关键机制。MMP-9是MMP蛋白家族的成员,是EMT机制中研究最多的分子之一。MMP-9可以降解细胞外基质,促进血管生成,加快肿瘤细胞侵袭和转移。MMP-9可以作为乳腺癌转移的早期预警和术后监测^[32]。本实验发现NAR作用下MCF7和4T1细胞的MMP-9表达均下降,与NAR在直肠癌^[13]的研究一致。提示NAR可能通过抑制EMT过程来下调MMP-9的表达,实现对MCF7和4T1细胞的侵袭和转移达到抑制作用。后续研究将检测NAR在乳腺癌EMT过程中其他相

关蛋白的表达情况，来探索NAR对乳腺癌EMT的调节机制。

综上所述，本研究通过体外细胞实验，发现NAR可能通过抑制Akt通路、调节细胞周期和EMT过程来抑制MCF7细胞和4T1细胞的增殖、侵袭和凋亡，但具体的确切分子机制还需继续研究。接下来在后续的实验设计中运用小鼠肿瘤模型及基因测序等手段来进一步探索NAR对乳腺癌形成和发展的机制。

参考文献

- [1] Cronin KA, Ries LA, Edwards BK. The Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) Program of the National Cancer Institute[J]. *Cancer*, 2014, 120(Suppl 23):3755–3757. doi:10.1002/cncr.29049
- [2] Michailidou K, Lindström S, Dennis J, et al. Association analysis identifies 65 new breast cancer risk loci[J]. *Nature*, 2017, 551(7678):92–94. doi:10.1038/nature24284.
- [3] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2020[J]. *CA Cancer J Clin*, 2020, 70(1):7–30. doi: 10.3322/caac.21590.
- [4] 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 Cancer J Clin*, 2018, 68(6):394–424. doi: 10.3322/caac.21492.
- [5] 吴文瑛, 王晓岩, 赵丽, 等. 超声弹性成像、X线钼靶与超声引导下穿刺活检在BI-RADS4类乳腺肿块鉴别诊断中的价值评估[J]. *中国普通外科杂志*, 2019, 28(3):377–382. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2019.03.020.
Wu WY, Wang XY, Zhao L, et al. Assessment and evaluation of ultrasound elastography imaging, mammography and ultrasound-guided needle-aspiration biopsy in differential diagnosis of BI-RADS4 type of breast cancer[J]. *Chinese Journal of General Surgery*, 2019, 28(3):377–382. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2019.03.020.
- [6] 张岳宇, 孔繁云, 陈成辉. 超声征象对超声引导下穿刺活检在早期乳腺癌中诊断价值的影响[J]. *中国普通外科杂志*, 2019, 28(9):1165–1170. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2019.09.021.
Zhang YY, Kong FY, Chen CH. Influence of ultrasound manifestations on diagnostic value of ultrasound-guided puncture biopsy in early-stage breast cancer[J]. *Chinese Journal of General Surgery*, 2019, 28(9):1165–1170. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2019.09.021.
- [7] 杨柳, 王殊. 晚期三阴性乳腺癌的治疗进展[J]. *中国普通外科杂志*, 2019, 28(11):1342–1346. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2019.11.004.
Yang L, Wang S. Progress in treatment for advanced triple-negative breast cancer[J]. *Chinese Journal of General Surgery*, 2019, 28(11):1342–1346. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2019.11.004.
- [8] 全昌银, 邱小萍, 张志强, 等. 斑蝥酸钠维生素B6治疗晚期乳腺癌的疗效及对生存质量、安全性的影响[J]. *中国普通外科杂志*, 2019, 28(5):636–640. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2019.05.018.
Quan CY, Qiu XP, Zhang ZQ, et al. Therapeutic effect of disodium cantharidinate combined with vitamin B6 for advanced stage breast cancer and its influence on quality of life and safety[J]. *Chinese Journal of General Surgery*, 2019, 28(5):636–640. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2019.05.018.
- [9] Kanaze FI, Bounartzi MI, Georgarakis M, et al. Pharmacokinetics of the citrus flavanone aglycones hesperetin and naringenin after single oral administration in human subjects [J]. *Eur J Clin Nutr*, 2007, 61(4):472–477. doi: 10.1038/sj.ejcn.1602543.
- [10] 王锐, 王明月, 王向涛, 等. 柚皮素纳米制剂的药理作用研究进展[J]. *现代药物与临床*, 2020, 35(9):1923–1929. doi: 10.7501/j.issn.1674-5515.2020.09.041.
Wang R, Wang MY, Wang XT, et al. Research progress on pharmacological effects of naringenin nanoparticles[J]. *Drugs & Clinic*, 2020, 35(9):1923–1929. doi: 10.7501/j.issn.1674-5515.2020.09.041.
- [11] Mir IA, Tiku AB. Chemopreventive and therapeutic potential of "naringenin", a flavanone present in citrus fruits[J]. *Nutr Cancer*, 2015, 67(1):27–42. doi: 10.1080/01635581.2015.976320.
- [12] 唐镜, 谭若兰, 吕中建, 等. 柚皮素的提取及其抗癌作用研究进展[J]. *绿色科技*, 2019, (8):240–244. doi:10.16663/j.cnki.lskj.2019.08.086.
Tang J, Tan RL, Lu ZJ, et al. Research Progress on Extraction of Naringenin and Its Anti-cancer Activity[J]. *Journal of Green Science and Technology*, 2019, (8):240–244. doi:10.16663/j.cnki.lskj.2019.08.086.
- [13] 黄敏, 吴传中, 郝传铮, 等. 柚皮素对结直肠癌细胞侵袭能力及细胞中MMP-2、MMP-9表达的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2017, 37(19):4750–4752. doi:10.3969/j.issn.1005-9202.2017.19.025.
Hang M, Wu CZ, Hao CZ, et al. The effect of naringenin on the invasion ability of colorectal cancer cells and the expression of MMP-2 and MMP-9 in the cells[J]. *Chinese Journal of Gerontology*, 2017, 37(19):4750–4752. doi:10.3969/j.issn.1005-9202.2017.19.025.
- [14] 赖银璇, 王明蕊, 杨海丽, 等. 柚皮素通过ROS/JNK/Bcl2通路抑制宫颈瘤Hela细胞增殖和迁移 [J]. *中药药理与临床*, 2018, 34(1):40–43. doi: 10.13412/j.cnki.zyyl.2018.01.010.
Lai YX, Wang MR, Yang HL, et al. Naringenin inhibits cervical

- cancer Hela cell proliferation and migration via the ROS/JNK/Bcl2 signaling pathway[J]. *Pharmacology and Clinics of Chinese Materia Medica*, 2018, 34(1):40–43. doi: 10.13412/j.cnki.zyyj.2018.01.010.
- [15] 叶群立, 张洋洋, 罗金健. 柚皮素联合 Bcl-2 抑制剂 ABT-263 调控信号通路 AKT 对胃癌细胞增殖凋亡的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2019, 39(8):1948–1951. doi: 10.3969/j.issn.1005-9202.2019.08.050.
- Ye QL, Zhang YY, Luo JJ. Effects of Naringenin combined with the Bcl-2 inhibitor ABT-263 on the proliferation and apoptosis of gastric cancer cells by controlling the signaling pathways AKT[J]. *Chinese Journal of Gerontology*, 2019, 39(8):1948–1951. doi: 10.3969/j.issn.1005-9202.2019.08.050.
- [16] 孙振峰, 刘公哲, 朱应超, 等. 柚皮素通过 Notch1/Hes1 通路抑制肺癌干细胞增殖、迁移和分化[J]. *基因组学与应用生物学*, 2019, 38(3):1448–1453. doi: 10.13417/j.gab.038.001448.
- Sun ZF, Liu GZ, Zhu YC, et al. Naringenin might Inhibit Proliferation, Migration and Differentiation of Lung Cancer Stem Cells via the Notch1/Hes1 Pathway[J]. *Genomics and Applied Biology*, 2019, 38(3):1448–1453. doi: 10.13417/j.gab.038.001448.
- [17] 李硕, 张斌, 尚宏丽, 等. 柚皮素对舌鳞癌 Tca8113 细胞增殖与凋亡的影响[J]. *中国临床药理学杂志*, 2020, 36(18):2872–2874. doi:10.13699/j.cnki.1001-6821.2020.18.037.
- Li S, Zhang B, Shang HL, et al. Effect of naringin on proliferation and apoptosis of Tca8113 cell line[J]. *The Chinese Journal of Clinical Pharmacology*, 2020, 36(18):2872–2874. doi:10.13699/j.cnki.1001-6821.2020.18.037.
- [18] 马丹丹, 刘坤, 齐晓伟. 2018 年全球癌症统计: 乳腺癌发病和死亡人数统计[J]. *中华乳腺病杂志: 电子版*, 2018, 12(6):375. doi: 10.3877/cma.j.issn.1674-0807.2018.06.015.
- Ma DD, Liu K, Qi XW. 2018 Global Cancer Statistics: Statistics on the incidence and death of breast cancer[J]. *Chinese Journal of Breast Disease: Electronic Edition*, 2018, 12(6):375. doi: 10.3877/cma.j.issn.1674-0807.2018.06.015.
- [19] Feng RM, Zong YN, Cao SM, 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. doi: 10.1186/s40880-019-0368-6.
- [20] 曹希, 徐雅莉, 孙强. 年龄与三阴性乳腺癌患者预后的关系[J]. *中国普通外科杂志*, 2020, 29(5):515–524. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2020.05.001.
- Cao X, Xu YL, Sun Q. Relationship between age and prognosis in patients with triple-negative breast cancer[J]. *Chinese Journal of General Surgery*, 2020, 29(5):515–524. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2020.05.001.
- [21] Meirson T, Gil-Henn H. Targeting invadopodia for blocking breast cancer metastasis[J]. *Drug Resist Updat*, 2018, 39:1–17. doi: 10.1016/j.drug.2018.05.002.
- [22] 朱月梅, 王国如, 张沂, 等. 表柔比星联合紫杉醇新辅助化疗治疗乳腺癌保乳术患者的疗效及安全性[J]. *中国普通外科杂志*, 2019, 28(11):1406–1413. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2019.11.014.
- Zhu YM, Wang GR, Zhang Y, et al. Efficacy and safety of neoadjuvant chemotherapy with epirubicin plus paclitaxel in treatment of patients undergoing breast-preserving surgery for breast cancer[J]. *Chinese Journal of General Surgery*, 2019, 28(11):1406–1413. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2019.11.014.
- [23] 齐冰丽, 黄平, 颜瑞雪, 等. 柚皮素通过 PI3K/AKT/NF-κB 通路抑制卵巢癌细胞增殖和侵袭、诱导凋亡作用的研究[J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2019, 24(11):1234–1241. doi: 10.12092/j.issn.1009-2501.2019.11.004.
- Qi BL, Huang P, Yan RX, et al. Study on effects of naringenin on inhibiting proliferation and invasion of ovarian cancer cells and inducing apoptosis by PI3K/AKT/NF-κB pathway[J]. *Chinese Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 2019, 24(11):1234–1241. doi: 10.12092/j.issn.1009-2501.2019.11.004.
- [24] 徐辉勇, 陈金鹏, 章剑. 柚皮素对糖尿病视网膜病变大鼠氧化损伤、细胞凋亡及 Nrf2-ARE 的影响[J]. *临床和实验医学杂志*, 2020, 19(2):128–132. doi: 10.3969/j.issn.1671-4695.2020.02.005.
- Xu HY, Chen JP, Zhang J. The effects of Naringenin on oxidative damage, apoptosis and Nrf2 - ARE in rats with diabetic retinopathy[J]. *Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 2020, 19(2):128–132. doi: 10.3969/j.issn. 1671-4695.2020.02.005.
- [25] 李燕, 冯健, 谢发江, 等. 柚皮素通过调控 AMPK/Nrf2/HO-1 信号通路减轻糖尿病小鼠心肌损伤[J]. *中国病理生理杂志*, 2020, 36(1):38–46. doi: 10.3969/j.issn.1000-4718.2020.01.006.
- Li Y, Feng J, Xie FJ, et al. Naringenin attenuates myocardial injury by regulating AMPK/Nrf2/HO-1 signaling pathways in diabetic mice[J]. *Chinese Journal of Pathophysiology*, 2020, 36(1):38–46. doi: 10.3969/j.issn.1000-4718.2020.01.006.
- [26] Yang Z, Zhang Q, Yu L, et al. The signaling pathways and targets of traditional Chinese medicine and natural medicine in triple-negative breast cancer[J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 264:113249. doi: 10.1016/j.jep.2020.113249.
- [27] 祝志川, 张喜平. P53 及 bcl-2 及 c-erbB-2 蛋白在乳腺浸润性导管癌组织的表达及意义[J]. *中国普通外科杂志*, 2018, 27(12):1619–1623. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2018.12.020.
- Zhu ZC, Zhang XP. Expression and significance of P53, bcl-2 and c-erbB-2 protein in invasive ductal breast carcinoma tissue[J]. *Chinese Journal of General Surgery*, 2018, 27(12):1619–1623. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2018.12.020.
- [28] Hinzn N, Jücker M. Distinct functions of AKT isoforms in breast

- cancer: a comprehensive review[J]. Cell Commun Signal, 2019, 17(1):154. doi: 10.1186/s12964-019-0450-3.
- [29] Verret B, Cortes J, Bachelot T, et al. Efficacy of PI3K inhibitors in advanced breast cancer[J]. Ann Oncol, 2019, 30(Suppl_10):x12-x20. doi: 10.1093/annonc/mdz381.
- [30] Li W, Kotoshiba S, Berthet C, et al. Rb/Cdk2/Cdk4 triple mutant mice elicit an alternative mechanism for regulation of the G1/S transition[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2009, 106(2):486-491. doi: 10.1073/pnas.0804177106.
- [31] 桂欣钰, 李惠平. CDK4/6抑制剂在激素受体阳性进展期乳腺癌治疗中的研究进展[J]. 中国肿瘤临床, 2020, 47(6):314-317. doi: 10.3969/j.issn.1000-8179.2020.06.350.
- Gui XY, Li HP. The progress of therapy with CDK4/6 inhibitors in patients with hormone-receptor positive metastatic breast cancer[J]. Chinese Journal of Clinical Oncology, 2020, 47(6):314-317. doi: 10.3969/j.issn.1000-8179.2020.06.350.
- [32] Owyong M, Chou J, van den Bijgaart R, et al. MMP-9 modulates the metastatic cascade and immune landscape for breast cancer anti-metastatic therapy[J]. Life Sci Alliance, 2019, 2(6):e201800226. doi: 10.26508/lsa.201800226.
- (本文编辑 姜晖)
- 本文引用格式:** 李林芳, 杨倩, 张源源, 等. 柚皮素对人与小鼠乳腺癌细胞的增殖、迁移、侵袭及凋亡的影响[J]. 中国普通外科杂志, 2020, 29(11):1346-1356. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2020.11.008
- Cite this article as:** Li LF, Yang Q, Zhang YY, et al. Effects of naringenin on proliferation, invasion, migration and apoptosis in human and mouse breast cancer cells[J]. Chin J Gen Surg, 2020, 29(11):1346-1356. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2020.11.008

欢迎订阅《中国普通外科杂志》

《中国普通外科杂志》是国内外公开发行的国家级期刊 [ISSN 1005-6947 (Print) / ISSN 2096-9252 (Online) / CN 43-1213/R], 面向广大从事临床、教学、科研的普外及相关领域工作者, 以实用性为主, 及时报道普通外科领域的新进展、新观点、新技术、新成果、实用性临床研究及临床经验, 是国内普外学科的权威刊物之一。办刊宗旨是: 传递学术信息, 加强相互交流; 提高学术水平, 促进学科发展; 注重临床研究, 服务临床实践。

本刊由国家教育部主管, 中南大学主办, 中南大学湘雅医院承办。主编中南大学湘雅医院王志明教授, 顾问由中国科学院及工程院院士汤钊猷、吴孟超、吴咸中、汪忠镐、郑树森、黄洁夫、黎介寿、赵玉沛、夏家辉、夏穗生等多位国内外著名普通外科专家担任, 编辑委员会由百余名国内外普通外科资深专家学者和三百余名中青年编委组成。开设栏目有述评、专题研究、基础研究、临床研究、简要论著、临床报道、文献综述、误诊误治与分析、手术经验与技巧、国内外学术动态、病案报告。本刊已被多个国内外重要检索系统和大型数据库收录, 如: 美国化学文摘 (CA), 俄罗斯文摘 (AJ), 日本科学技术振兴集团 (中国) 数据库 (JSTChina), 中国科学引文数据库 (CSCD), 中文核心期刊 (中文核心期刊要目总览), 中国科技论文与引文数据库 (中国科技论文统计源期刊), 中国核心学术期刊 (RCCSE), 中国学术期刊综合评价数据库, 中国期刊网全文数据库 (CNKI), 中文科技期刊数据库, 中文生物医学期刊文献数据库 (CMCC), 万方数据-数字化期刊群, 中国生物医学期刊光盘版等, 期刊总被引频次、影响因子及综合评分已稳居同类期刊前列。在科技期刊评优评奖活动中多次获奖; 特别是 2017 年 10 月获“第 4 届中国精品科技期刊”, 其标志着《中国普通外科杂志》学术水平和杂志影响力均处于我国科技期刊的第一方阵。

本刊已全面采用远程投稿、审稿、采编系统, 出版周期短, 时效性强。欢迎订阅、赐稿。

《中国普通外科杂志》为月刊, 国际标准开本 (A4 幅面), 每期 120 页, 每月 25 日出版。内芯采用彩色印刷, 封面美观大方。定价 30.0 元 / 册, 全年 360 元。国内邮发代号: 42-121; 国际代码: M-6436。编辑部可办理邮购。

本刊编辑部全体人员, 向长期以来关心、支持、订阅本刊的广大作者、读者致以诚挚的谢意!

编辑部地址: 湖南省长沙市湘雅路 87 号 (湘雅医院内) 邮政编码: 410008

电话 (传真): 0731-84327400 网址: <http://www.zpwz.net>

Email: pw84327400@vip.126.com

中国普通外科杂志编辑部