

Notch3信号通路对三阴性乳腺癌细胞株BT20活性的影响及分子机制

金海丽 陈嬉 罗华荣 徐铖 孙亚萌 林天真 甘梅富

[摘要] 目的 探讨 Notch3 信号通路对三阴性乳腺癌细胞株 BT20 活性的影响及分子机制。方法 采用小干扰 RNA (siRNA) 转染技术, 下调 BT20 细胞中 Notch3 mRNA 表达, MTT 法检测转染后 5 d 的细胞增殖情况, 并进行 Transwell 细胞迁移和侵袭实验; RT-PCR 检测 BT20 细胞中 CyclinD1、BCL-2、BCL-xl mRNA 表达水平; Western blot 检测 BT20 细胞核内 NF- κ B 蛋白表达水平。结果 培养第 2 天、第 3 天、第 4 天、第 5 天时, Notch3 siRNA 组细胞增殖水平明显低于空白对照组与阴性对照组, 差异均有统计学意义 (t 分别=3.15、4.03、2.94、3.26、4.01、3.50、2.97、3.11, P 均 <0.05); 随着培养时间的延伸, 三组细胞增殖水平均逐渐增加, 差异均有统计学意义 (F 分别=5.94、7.65、9.76, P 均 <0.05)。Notch3 siRNA 组迁移细胞数、侵袭细胞数均明显低于空白对照组和阴性对照组, 差异均有统计学意义 (t 分别=5.32、6.02、4.97、5.07, P 均 <0.05); 空白对照组与阴性对照组迁移细胞数、侵袭细胞数比较, 差异均无统计学意义 (t 分别=0.39、0.57, P 均 >0.05)。Notch3 siRNA 组细胞核内 NF- κ B 蛋白相对表达量明显低于空白对照组和阴性对照组, 差异均有统计学意义 (t 分别=19.69、18.07, P 均 <0.05)。Notch3 siRNA 组下游基因 CyclinD1、BCL-2、BCL-xl mRNA 的相对表达量均明显低于空白对照组和阴性对照组, 差异均有统计学意义 (t 分别=4.15、3.02、3.12、2.98、3.56、3.16, P 均 <0.05)。结论 Notch3 siRNA 下调 Notch3 表达能够有效抑制 BT20 细胞增殖、迁移和侵袭, 其机制可能与 Notch3 表达下调降低了 NF- κ B 蛋白及 CyclinD1、BCL-2、BCL-xl 基因表达有关。

[关键词] 三阴性乳腺癌; Notch3; RNA 干扰; NF- κ B

Effect of Notch3 signaling pathway on BT20 activity of triple-negative breast cancer cell line and its molecular mechanism JIN Haili, CHEN Xi, LUO Huarong, et al. Department of Pathology, Taizhou Hospital of Zhejiang Province [Taizhou Enze Medical Center (Group) Enze hospital], Taizhou 318050, China.

[Abstract] **Objective** To investigate the effect of Notch3 signaling pathway on the activity of triple negative breast cancer cell line BT20 and its molecular mechanism. **Methods** Small interfering RNA (siRNA) transfection technique was used to down regulate the expression of Notch3 mRNA in BT20 cells. MTT assay was used to detect cell proliferation 5 days after transfection, and Transwell cell migration and invasion experiments were performed. The expression levels of CyclinD1, BCL-2 and BCL-xl mRNA in BT20 cells were detected by RT-PCR. Detection of NF- κ B protein expression level in BT20 nuclei by Western blot. **Results** On the second, third, fourth and fifth days after culture, the cell proliferation level of Notch3 siRNA group was significantly lower than that of blank control group and negative control group ($t = 3.15, 4.03, 2.94, 3.26, 4.01, 3.50, 2.97, 3.11, P < 0.05$). With the extension of culture time, the cell proliferation level of the three groups increased gradually, and the difference was statistically significant ($F = 5.94, 7.65, 9.76, P < 0.05$). The number of migrating cells and invasive cells in the Notch3 siRNA group were significantly lower than those in the blank control group and the negative control group ($t = 5.32, 6.02, 4.97, 5.07, P < 0.05$). There was no significant difference in the

number of migrating cells and invasive cells between the blank control group and the negative control group ($t = 0.39, 0.57, P > 0.05$). The relative expression of NF- κ B protein in the nucleus of Notch3 siRNA group was significantly lower than that of blank control group and negative control

DOI: 10.13558/j.cnki.issn1672-3686.2022.007.004

基金项目: 台州市科学技术局(1701KY56)

作者单位: 318050 浙江台州, 台州医院[台州恩泽医疗中心(集团)恩泽医院]病理科

通讯作者: 甘梅富, Email: daocaoren236@163.com

group ($t=19.69, 18.07, P<0.05$). The relative expressions of CyclinD1, BCL-2, BCL-xl mRNA in the Notch3 siRNA group were significantly lower than that in the blank control group and the negative control group ($t=4.15, 3.02, 3.12, 2.98, 3.56, 3.16, P<0.05$). **Conclusion** Downregulation of Notch3 expression by Notch3 siRNA can effectively inhibit the proliferation, migration and invasion of BT20 cells. The mechanism may be related to the downregulation of Notch3 expression which reduces NF- κ B protein and CyclinD1, BCL-2, BCL-xl gene expression.

[Key words] triple negative breast cancer; Notch3; RNA interference; NF- κ B

目前研究发现, Notch 信号通路在胰腺癌、非小细胞肺癌、卵巢癌等多种恶性肿瘤中被激活, 与癌细胞的增殖、分化、迁移、侵袭、抗凋亡有关, 促进肿瘤的发展^[1-3]。Notch 信号通路由 Notch 受体、配体等组成, 目前已知包括 Notch1~4 在内的 4 个 Notch 同源体^[4]; 相关研究显示, Notch1、Notch3 高表达与恶性肿瘤患者预后明显相关^[5,6]。目前关于 Notch3 对三阴性乳腺癌作用的研究仍较为少见, 为此本次研究在体外培养三阴性乳腺癌细胞株 BT20, 探讨 Notch3 调节 BT20 细胞增殖的机制, 旨在为三阴性乳腺癌的分子靶向治疗提供新方向。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂 乳腺癌细胞株 BT20 由上海研域生物科技有限公司生产; 胎牛血清、DMEM 培养基由上海广锐生物科技有限公司生产; 脂质体 2 000 转染试剂由北京蓝博斯特生物技术有限公司生产; Trizol 试剂、RIPA 裂解液由上海素尔生物科技有限公司生产; 鼠抗人 NF- κ B 单克隆抗体, 鼠抗人 GAPDH 多克隆抗体, HRP 标记的山羊抗鼠由北京华达杰瑞生物技术有限公司生产。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养、转染与分组 本次实验时间为 2021 年 1 月, 将 BT20 细胞置于含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基中, 37 °C、5%CO₂ 细胞培养箱中常规培养, 收集对数期细胞, 胰蛋白酶消化并计数, 按 1×10^5 个/孔接种于 6 孔板中, 继续培养 24 h, 观察细胞融合度超过 50% 时使用脂质体 2 000 进行转染。本实验分为空白对照组、阴性对照组、Notch3 siRNA 组。为防止脂质体 2 000 对 BT20 细胞的毒性作用, 转染 6 h 后更换为 DMEM 完全培养基。小干扰 RNA (small interfering RNA, siRNA) 由上海基屹生物科技有限公司设计合成, Notch3 siRNA 组正义序列: 5'-TTAACGUCAACA AAGGACCUG-3', 反义序列: 5'-TTCAGGUCCUUUGU UGACGUU-3'; 阴性对照组正义序列: 上游 5'-TTUGCACUGUG-

CAAGCCUCUU-3', 反义序列: 5'-TTAAGA GGGCUUGCACAGUCA-3'; 空白对照组常规培养不做任何处理。

1.2.2 细胞增殖 采用四唑盐比色法 (methylthiazolyl method, MTT) 法检测 BT20 细胞增殖情况, 取各组对数生长期细胞, 按 1×10^4 个/孔的密度接种于 96 孔板中, 观察细胞融合度超过 50% 时进行转染。分别于转染后 1 d、2 d、3 d、4 d、5 d 检测细胞增殖情况。加入 MTT 20 μ l/孔, 继续培养 4 h, 弃去孔内细胞培养液, 加入二甲基亚砷 150 μ l/孔, 匀速振荡 10 min, 上酶标仪读取 490 nm 处吸光度值, 每组各 5 个复孔。

1.2.3 Transwell 细胞迁移和侵袭实验 将饥饿处理后的各组细胞消化、重悬计数后, 向上室加入 500 μ l 无血清的 DMEM 培养基, 调整细胞浓度为 4×10^5 个/ml, 下室中加入 500 μ l 含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基, 37 °C、5%CO₂ 细胞培养箱中培养 24 h, 4% 多聚甲醛固定 30 min, 洗涤后使用 0.1% 结晶紫染色, 光学显微镜下采集图像, 随机选取 5 个视野下观察迁移细胞数。经基底胶与不含胎牛血清的 DMEM 培养基混合后, 向上室加入 100 μ l, 调整细胞浓度为 4×10^5 个/ml, 其余步骤同迁移实验, 观察侵袭细胞数。

1.2.4 RT-PCR 检测 Trizol 法提取细胞总 RNA, 逆转录得到 cDNA。Notch3、CyclinD1、BCL-2、BCL-xl、GAPDH 引物由上海索宝生物科技有限公司设计合成, 引物序列见表 1。反应条件: 95 °C 1 min, 95 °C 30 s, 72 °C 30 s, 共 40 个循环, 延伸 72 °C 5 min。扩增产物行 2% 琼脂糖凝胶电泳, 计算 Notch3、CyclinD1、BCL-2、BCL-xl mRNA 的相对表达量。

1.2.5 Western blot 检测 RIPA 裂解液提取细胞总蛋白, BCA 蛋白定量, 取 40 μ g 蛋白行 10% 聚丙烯酰胺凝胶电泳, 湿法转至聚偏氟乙烯膜, 室温下 5% 脱脂奶粉封闭 1 h, 加入鼠抗人 NF- κ B 单克隆抗体 (1:200 稀释), 鼠抗人 GAPDH 多克隆抗体 (1:1000

稀释),4℃孵育过夜,洗膜后滴加HRP标记的山羊抗鼠IgG(1:2000稀释),室温静置2h,ECL显色,凝

胶成像系统拍照,以GAPDH为内参对照计算各条带灰度值。

表1 Notch3、CyclinD1、BCL-2、BCL-xl、GAPDH引物序列

引物	上游	下游
Notch3	5'-GGTAAGTTTGACCACCTCCG-3'	5'-TCTTGGACGTCGGTCGTTG -3'
CyclinD1	5'-CTACCAAAGGTGAAGCGTCG-3'	5'-AAG TTTACACACGTCTTCCTCC-3'
BCL-2	5'-GAGTCAGTAGGT GTCCCGCT-3'	5'-AGGACCGACAGAGAGACTTCGTAGAC-3'
BCL-xl	5'-GCACCTTTCGCATCTGTTCT-3'	5'-TTCCCGAGGTT ACGGC TGG-3'
GAPDH	5'-AGTTTGTACTAGACCCAGTAG-3'	5'-CCTGGACTGACTGATGGAGTA-3'

1.3 统计学方法 采用SPSS 19.0统计学软件。计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,比较采用方差分析和LSD-t检验。设P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Notch3 siRNA 转染效果 Notch3 siRNA 转染

48h后,Notch3 siRNA组BT20细胞中Notch3 mRNA相对表达量为0.24±0.08,明显低于阴性对照组的表达量(1.37±0.24),两组比较,差异有统计学意义($t=18.37, P<0.05$)。

2.2 三组细胞增殖水平比较见表2

表2 三组细胞培养不同时间点增殖水平比较

组别	第1天	第2天	第3天	第4天	第5天
Notch3 siRNA组	0.25 ± 0.08	0.34 ± 0.07*#	0.46 ± 0.09*#	0.64 ± 0.10*#	0.79 ± 0.13*#
阴性对照组	0.24 ± 0.06	0.48 ± 0.10	0.71 ± 0.13	1.09 ± 0.17	1.86 ± 0.15
空白对照组	0.24 ± 0.05	0.50 ± 0.09	0.70 ± 0.15	1.10 ± 0.13	1.84 ± 0.12

注: #:与空白对照组比较, P<0.05; *:与阴性对照组比较, P<0.05。

由表2可见,培养第1天时,三组细胞增殖水平比较,差异无统计学意义($F=0.31, P>0.05$);培养第2天、第3天、第4天、第5天时,三组细胞增殖水平比较,差异均有统计学意义(F 分别=6.87、11.04、15.98、26.39, P 均<0.05)。培养第2天、第3天、第4天、第5天时,Notch3 siRNA组细胞增殖水平明显低于空白对照组与阴性对照组,差异均有统计学意义(t 分别=3.15、4.03、2.94、3.26、4.01、3.50、2.97、3.11, P 均<0.05);空白对照组与阴性对照组细胞增殖水平比较,差异均无统计学意义(t 分别=0.18、0.37、0.41、0.62, P 均>0.05)。组内比较,随着培养时间的延伸,三组细胞增殖水平均逐渐增加,差异均有统计学意义(F 分别=5.94、7.65、9.76, P 均<0.05)。

2.3 三组细胞迁移和侵袭能力比较见表3

表3 三组细胞迁移和侵袭能力比较/个

组别	n	迁移细胞数	侵袭细胞数
Notch3 siRNA组	5	15.08 ± 2.15*#	13.25 ± 1.93*#
阴性对照组	5	22.61 ± 2.83	21.59 ± 2.41
空白对照组	5	22.95 ± 2.97	21.41 ± 2.61

注: #:与空白对照组比较, P<0.05; *:与阴性对照组比较, P<0.05。

由表3可见,三组迁移细胞数、侵袭细胞数比

较,差异均有统计学意义(F 分别=12.79、14.07, P 均<0.05)。两两比较,Notch3 siRNA组迁移细胞数、侵袭细胞数均明显低于空白对照组和阴性对照组,差异均有统计学意义(t 分别=5.32、6.02、4.97、5.07, P 均<0.05);空白对照组与阴性对照组迁移细胞数、侵袭细胞数比较,差异均无统计学意义(t 分别=0.39、0.57, P 均>0.05)。

2.4 三组细胞核内NF-κB蛋白表达水平比较 Notch3 siRNA组细胞核内NF-κB蛋白相对表达量为1.83±0.27,明显低于空白对照组(4.71±0.63)和阴性对照组(4.65±0.58),差异均有统计学意义(t 分别=19.69、18.07, P 均<0.05);空白对照组与阴性对照组NF-κB蛋白相对表达量比较,差异无统计学意义($t=0.29, P>0.05$)。

2.5 Notch3对下游基因表达的影响见表4

表4 三组CyclinD1、BCL-2、BCL-xl mRNA相对表达量比较

组别	CyclinD1	BCL-2	BCL-xl
Notch3 siRNA组	0.81 ± 0.20*#	0.45 ± 0.08*#	0.68 ± 0.10*#
阴性对照组	1.72 ± 0.14	1.29 ± 0.11	1.55 ± 0.16
空白对照组	1.74 ± 0.17	1.31 ± 0.14	1.53 ± 0.19

注: #:与空白对照组比较, P<0.05; *:与阴性对照组比较, P<0.05。

由表4可见,三组下游基因 CyclinD1、BCL-2、BCL-xl mRNA 的相对表达量比较,差异均有统计学意义(F 分别=11.26、16.94、18.17, P 均 <0.05)。两两比较,Notch3 siRNA 组下游基因 CyclinD1、BCL-2、BCL-xl mRNA 的相对表达量均明显低于空白对照组和阴性对照组,差异均有统计学意义(t 分别=4.15、3.02、3.12、2.98、3.56、3.16, P 均 <0.05);空白对照组下游基因 CyclinD1、BCL-2、BCL-xl mRNA 相对表达量与阴性对照组比较,差异均无统计学意义(t 分别=0.13、0.19、0.33, P 均 >0.05)。

3 讨论

乳腺癌是女性中最常见的恶性肿瘤之一,发病率占全部恶性肿瘤的8%~12%^[7]。我国虽然是乳腺癌发病率较低的国家,但近年来其发病率呈快速增加,有年轻化趋势^[8]。乳腺癌是一类特异质明显的恶性肿瘤,在免疫表型、形态、治疗反应等方面均存在较大差异^[9]。三阴性乳腺癌组织分化程度多较差,复发、远处转移的风险较高^[10];由于雌激素受体、孕激素、原癌基因人类表皮生长因子受体2均为阴性,不适用于内分泌药物、注射用曲妥单抗等治疗^[11],化疗仍是三阴性乳腺癌的主要辅助治疗手段,但患者对化疗药物的敏感性存在较大的个体差异^[12],分子靶向治疗是改善三阴性乳腺癌患者预后的研究新方向,但目前相关研究报道较为少见。

本次研究使用脂质体2000向BT20细胞内转染Notch3 siRNA后,Notch3 mRNA表达水平明显降低,且培养第2~5天时,Notch3 siRNA组细胞增殖水平明显低于空白对照组与阴性对照组(P 均 <0.05),提示siRNA介导的Notch3能够明显下调BT20细胞中Notch3表达水平,进一步抑制细胞的增殖。癌细胞的迁移和侵袭是患者不良预后的主要原因^[13]。相关研究显示,Notch3在卵巢上皮性癌变、大肠癌、胰腺癌、非小细胞肺癌等多种肿瘤组织中均存在高表达,调控肿瘤的发生、发展,与癌细胞增殖、分化、迁移、侵袭等过程明显相关^[14];但关于Notch3对三阴性乳腺癌的影响仍鲜有研究报道。本次研究显示,Notch3 siRNA组迁移细胞数、侵袭细胞数均明显低于空白对照组和阴性对照组(P 均 <0.05),提示下调Notch3表达可有效降低BT20细胞的迁移和侵袭能力。

Notch3信号通路与NF- κ B均能够介导细胞的增殖、迁移、侵袭等过程^[15]。有研究显示,在转染Notch3反义寡核苷酸的大鼠体内,NF- κ B表达水平明

显下降;重新导入活化的Notch3基因片段后,NF- κ B表达水平也逐渐恢复正常^[16]。本次研究结果显示,Notch3 siRNA组细胞核内NF- κ B蛋白相对表达量明显低于空白对照组、阴性对照组(P 均 <0.05);提示Notch3表达下调可有效降低BT20细胞的NF- κ B的转录活性,NF- κ B可能作为Notch3的下游靶基因参与Notch3介导的生物学功能。同时,NF- κ B活化后在细胞核中与相应的靶基因特异性结合,发挥转录因子活性,调节CyclinD1、BCL-2、BCL-xl等下游靶基因的转录。其中CyclinD1为细胞周期调节蛋白,与雌激素受体阴性的乳腺癌患者预后有关^[17];BCL-2、BCL-xl属于BCL家族成员,BCL-2具有促进细胞增殖、分化,抑制凋亡的活性,BCL-xl在癌细胞化疗耐药性发生、发展中具有重要作用^[18]。本次研究显示,Notch3 siRNA组下游基因CyclinD1、BCL-2、BCL-xl mRNA表达水平明显低于空白对照组和阴性对照组(P 均 <0.05),提示Notch3表达下调可能通过降低CyclinD1、BCL-2、BCL-xl表达来抑制BT20细胞的增殖、迁移和侵袭。

综上所述,Notch3 siRNA下调Notch3表达能够有效抑制BT20细胞增殖、迁移和侵袭,其机制可能与Notch3表达下调降低了NF- κ B蛋白及CyclinD1、BCL-2、BCL-xl基因表达有关。

参考文献

- 1 罗干,易超,依马木买买提江·阿布拉,等. Notch信号通路在胰腺癌中的表达及其作用研究[J]. 实用肿瘤学杂志, 2019, 33(1): 1-7.
- 2 魏煜,赵蕴伟,李树民,等. Notch3受体在非小细胞肺癌中的表达[J]. 湖北民族学院学报(医学版), 2019, 36(1): 31-34.
- 3 卢丹华,洪莉. Notch/Jagged1通路在卵巢癌中的研究进展[J]. 医学综述, 2018, 24(5): 901-905.
- 4 周灵通,黄凯,宋敏,等. Notch信号通路在骨重建过程中的双向调节作用[J]. 中国骨质疏松杂志, 2019, 25(7): 1015-1020.
- 5 李跃军,刘灵芝,李红玉,等. Notch受体在胃癌中的表达及其临床意义[J]. 肿瘤研究与临床, 2019, 31(6): 381-385.
- 6 张淑艳,张方,姬颖华. 鼠李素下调Notch-1的表达对乳腺癌MCF-7细胞增殖、侵袭和迁移的调节作用[J]. 中国临床解剖学杂志, 2018, 36(6): 632-636.
- 7 Sahadevan S, Namboodiri V. Depression in caregivers of patients with breast cancer: A cross-sectional study from a cancer research center in South India[J]. Indian J Psychiatry, 2019, 61(3): 277-282.

(下转第606页)

- drome[J].Dev Med Child Neurol,2017,59(9):952-958.
- 3 Lefevre JA, Guy JR, Luciano NJ, et al. The spectrum of spinal cord lesions in a primate model of multiple sclerosis[J].Mult Scler,2020,26(3):284-293.
 - 4 Wang J, Zhang J, Shen Y, et al. The safety of antithrombotic therapy in patients with cerebral microbleeds and cardiogenic cerebral embolism due to nonvalvular atrial fibrillation[J].BMC Cardiovasc Disord,2019,19(1):77.
 - 5 王林魁,温琬玲,杨凡慧.SWI对急性缺血性脑卒中出血性转化的检测及其对预后的影响[J].川北医学院学报,2021,185(8):968-970,998.
 - 6 Wang C, Qiu T, Song R, et al. A Comparison study of single-echo susceptibility weighted imaging and combined multi-echo susceptibility weighted imaging in visualizing asymmetric medullary veins in stroke patients[J].PLoS One,2016,11(8):e0159251.
 - 7 Idiculla PS, Gurala D, Philipose J, et al. Cerebral cavernous malformations, developmental venous anomaly, and its coexistence: A review[J].Eur Neurol,2020,83(4):360-368.
 - 8 李岚,郭海志,李跃,等.脑血管畸形病变患者CT及MRI影像学特点分析[J].中国CT和MRI杂志,2019,17(10):23-25,78.
 - 9 赵辉,丁长青,孙素平.DWI及SWI序列在脑内经典型海绵状血管瘤MRI诊断中的价值[J].现代仪器与医疗,2018,24(2):8-10.
 - 10 Zhu M, Chen F, Liu J, et al. Ex vivo classification of spinal cord tumors using autofluorescence spectroscopy and immunohistochemical indexes[J].Biomed Opt Express,2018,9(9):4401-4412.
 - 11 Abdelhak A, Foschi M, Abu-Rumeileh S, et al. Blood GFAP as an emerging biomarker in brain and spinal cord disorders[J].Nat Rev Neurol,2022,18(3):158-172.
 - 12 石海平,罗可,黄伟.微创血肿清除术治疗HICH患者的效果观察[J].中南医学科学杂志,2020,48(3):275-278.
 - 13 Virmani G, D'almeida P, Nandi A, et al. Subfield-specific effects of chronic mild unpredictable stress on hippocampal astrocytes[J].Eur J Neuro Sci,2021,54(5):5730-5746.
 - 14 吴文天,肖国民.创伤性脑损伤生物学标志物研究进展[J].健康研究,2018,183(6):657-660.
 - 15 Snoer AH, Vollesen ALH, Beske RP, et al. S100 β and NSE in cluster headache - evidence for glial cell activation?[J].Headache,2020,60(8):1569-1580.

(收稿日期 2022-04-20)

(本文编辑 高金莲)

(上接第591页)

- 8 吴潇然.乳腺癌基质成纤维细胞分离培养的优化及对乳腺癌细胞作用的初步研究[J].天津医科大学学报,2017,23(6):489-492,501.
- 9 黄霜,胡劲松,黄渊秀,等.2014-2016年长沙市居民恶性肿瘤死亡流行特征分析[J].公共卫生与预防医学,2019,30(3):125-128.
- 10 Eun-Ok Im, Xiaopeng Ji, Sangmi Kim, et al. Challenges in a technology-based cancer pain management program among Asian American breast cancer survivors[J].CIN,2019,37(5):243-249.
- 11 Iser IC, Pilger DA, Buffon A, et al. A three-dimensional microenvironment alters CD73 expression in cervical cancer[J].Cell Biochem Funct,2021,39(6):780-790.
- 12 Bardia A, Hurvitz SA, Tolaney SM, et al. ASCENT clinical trial investigators sacituzumab govitecan in metastatic triple-negative breast cancer[J].N Engl J Med,2021,384(16):1529-1541.
- 13 Ficarazzi F, Vecchi M, Ferrari M, et al. Towards population-based genetic screenings for breast and ovarian cancer: A comprehensive review from economic evaluations to patient perspectives[J].Breast,2021,58:121-129.
- 14 刘蕾,张瑾.三阴性乳腺癌靶向治疗研究进展[J].天津医药,2018,46(12):1363-1368.
- 15 范志刚,段小艺,李万军,等.汉中地区2013年女性乳腺癌发病及诊治现状调查[J].中国慢性病预防与控制,2017,25(5):346-348.
- 16 Schmitt A, Xu W, Bucher P, et al. Dimethyl fumarate induces ferroptosis and impairs NF- κ B/STAT3 signaling in DLBCL[J].Blood,2021,138(10):871-884.
- 17 Luo K, Qin Y, Ouyang T, et al. Let-7c-5p regulates cyclinD1 in fluoride-mediated osteoblast proliferation and activation[J].Toxicol Sci,2021,182(2):275-287.
- 18 Chung SY, Oh J, Chang JS, et al. Risk of cardiac disease in patients with breast cancer: Impact of patient-specific factors and individual heart dose from three-dimensional radiation therapy planning[J].Int J Radiat Oncol Biol Phys,2021,110(2):473-481.

(收稿日期 2022-03-09)

(本文编辑 葛芳君)