

· 论著 ·

比卡鲁胺联合紫杉醇对雄激素受体阳性三阴性乳腺癌 MDA-MB-231 细胞的增殖抑制作用

丁 钊 许焱 丁 丽 朱小泉 张永强

【摘要】 目的 探讨比卡鲁胺(BIC)联合化疗药物紫杉醇(PTX)对雄激素受体(AR)阳性的三阴性乳腺癌 MDA-MB-231 细胞的增殖抑制作用及可能的作用机制。**方法** 采用 CCK-8 试剂盒观察不同浓度的 BIC (0.1、1.0、10.0 $\mu\text{mol/L}$) 和 PTX(0.1、1.0、10.0、100.0、1 000.0、10 000.0 nmol/L) 以单药及不同联合给药方式处理后,对 MDA-MB-231 细胞增殖的抑制作用。细胞增殖抑制率比较采用单因素方差分析。组间两两比较采用 LSD 法。选取 10 nmol/L PTX 及 10 nmol/L DMSO 分别处理 MDA-MB-231 细胞样品(各 3 个)72 h,采用生物信息学方法分析样品的相关基因表达芯片数据,采用校正 t 检验筛选出差异基因。**结果** 使用不同浓度的 BIC 分别处理 MDA-MB-231 细胞 24、48、72 h 后,各组 MDA-MB-231 细胞增殖抑制率在不同时间点差异均有统计学意义($F=4.124, 8.189, 4.139, P=0.037, 0.004, 0.032$)。BIC 10.0 $\mu\text{mol/L}$ 组 MDA-MB-231 细胞增殖抑制率在 48 h 最高,为 $(12.9 \pm 5.5)\%$ 。不同浓度的 PTX 分别处理 MDA-MB-231 细胞 24、48、72 h 后,不同浓度组 MDA-MB-231 细胞增殖抑制率在不同时间点差异均有统计学意义($F=8.407, 47.432, 14.907, P$ 均 <0.001)。PTX 在 48 h 时对 MDA-MB-231 细胞的半数抑制浓度(IC_{50})为 5 380.0 nmol/L。5 000.0 nmol/L PTX 单药或联合不同浓度(0.1、1.0、10.0 $\mu\text{mol/L}$) 的 BIC 同时处理 MDA-MB-231 细胞 48 h 后,5 000.0 nmol/L PTX 单药处理组与 3 个实验组中细胞增殖抑制率分别为 $(53.2 \pm 2.7)\%$ 、 $(53.2 \pm 3.1)\%$ 、 $(51.7 \pm 3.4)\%$ 、 $(51.0 \pm 2.3)\%$,组间差异无统计学意义($F=0.831, P=0.492$)。采用 5 000.0 nmol/L PTX 和 10.0 $\mu\text{mol/L}$ BIC 以不同的序贯方式联合给药处理 MDA-MB-231 细胞(PTX 24 h + BIC 24 h 组、BIC 24 h + PTX 24 h 组、PTX 48 h + BIC 24 h 组、BIC 48 h + PTX 24 h 组),并用 5 000.0 nmol/L PTX(PTX 48 h 组)和 10.0 $\mu\text{mol/L}$ BIC(BIC 48 h 组)单药处理及同时联合给药(PTX 48 h + BIC 48 h 组)分别处理 MDA-MB-231 细胞后,各组间细胞增殖抑制率差异有统计学意义($F=241.466, P<0.001$)。其中,两两比较结果显示,PTX 24 h + BIC 24 h 组细胞增殖抑制率为 $(72.9 \pm 1.9)\%$,高于 BIC 24 h + PTX 24 h 组的 $(42.9 \pm 1.7)\%$ ($P<0.001$),PTX 48 h 组的 $(60.9 \pm 3.7)\%$ ($P<0.001$) 和 PTX 48 h + BIC 48 h 组的 $(60.3 \pm 4.1)\%$ ($P<0.001$)。PTX 处理组中有 EGR1、FST、FOS、IL8、IL6、RPL27A 及 CA2 7 个基因的表达量与 DMSO 处理组比较,差异均有统计学意义($t=18.647, 10.336, 10.098, 9.683, 9.408, 9.050, 8.001, P$ 均 <0.050)。**结论** 通过先 PTX 再 BIC 的序贯联合给药方式较单药及其他联合给药方式能够更有效抑制 AR 阳性三阴性乳腺癌细胞 MDA-MB-231 的增殖,两者间可能存在协同作用。

【关键词】 乳腺肿瘤; 雄激素受体拮抗剂; 化学疗法; 联合药物疗法; 早期生长反应蛋白质 1

【中图分类号】 R737.9 **【文献标志码】** A

Inhibitory effect of bicalutamide and paclitaxel on proliferation of androgen receptor-positive triple negative breast cancer MDA-MB-231 cells Ding Yue, Xu Yan, Ding Li, Zhu Xiaoquan, Zhang Yongqiang.

Department of Medical Oncology, Beijing Hospital/National Center of Gerontology, Beijing 100730, China

Corresponding author: Zhang Yongqiang, Email: zhyq95@163.com

【Abstract】 Objective To investigate the inhibitory effect of bicalutamide (BIC) combined with

paclitaxel (PTX) on the proliferation of androgen receptor (AR)-positive triple negative breast cancer MDA-MB-231 cells and its possible mechanism. **Methods** The CCK-8 kit was used to determine the effect of BIC (0.1, 1.0, 10.0 $\mu\text{mol/L}$) and PTX at different concentrations (0.1, 1.0, 10.0, 100.0, 1000.0, 10 000.0 nmol/L) in monotherapy or in sequential combination of both on the proliferation of MDA-MB-231 cells. Inhibition rate was compared using one-way analysis of variance. The pairwise comparison was performed using the LSD method. MDA-MB-231 cells were treated with 10 nmol/L PTX and 10 nmol/L DMSO respectively for 72 h. Three cell samples were taken in each group to analyze the relevant gene expression profiling in array using a bioinformatic method. The adjusted *t* test was used to screen out differential genes.

Results After MDA-MB-231 cells were treated with different concentrations of BIC for 24, 48 and 72 h, respectively, the inhibition rates of MDA-MB-231 cells were statistically different at different time points ($F=4.124, 8.189, 4.139, P=0.037, 0.004, 0.032$). The inhibition rate of MDA-MB-231 cells reached the highest $[(12.9 \pm 5.5)\%]$ at 48 h after the treatment of 10.0 $\mu\text{mol/L}$ BIC. The inhibition rates of MDA-MB-231 cells were significantly different at different time points ($F=8.407, 47.432, 14.907, P<0.001$) after the treatment of PTX at different concentrations. The half inhibitory concentration (IC_{50}) of PTX in MDA-MB-231 cells at 48 h was 5 380.0 nmol/L. After 48 h treatment of 5 000.0 nmol/L PTX alone or combined with 0.1, 1.0, 10.0 $\mu\text{mol/L}$ BIC, the inhibition rate of MDA-MB-231 cells was $(53.2 \pm 2.7)\%, (53.2 \pm 3.1)\%, (51.7 \pm 3.4)\%, (51.0 \pm 2.3)\%$ in PTX monotherapy group and three experimental groups, respectively, indicating no significant difference ($F=0.831, P=0.492$). MDA-MB-231 cells were treated with sequential combination of 5 000.0 nmol/L PTX and 10.0 $\mu\text{mol/L}$ BIC (PTX 24 h+BIC 24 h group, BIC 24 h+PTX 24 h group, PTX 48 h+BIC 24 h group, BIC 48 h+PTX 24 h group), the monotherapy with 5 000.0 nmol/L PTX (PTX 48 h group) or 10.0 $\mu\text{mol/L}$ BIC (BIC 48 h group) and the synchronous combined therapy of PTX and BIC (PTX 48 h+BIC 48 h group), respectively. The result showed that there was a statistically significant difference in inhibition rate ($F=241.466, P<0.001$). The result of pairwise comparison showed that the inhibition rate in PTX 24 h + BIC 24 h group was $(72.9 \pm 1.9)\%$, significantly higher than $(42.9 \pm 1.7)\%$ in BIC 24 h + PTX 24 h group ($P<0.001$), $(60.9 \pm 3.7)\%$ in PTX 48 h group ($P<0.001$) and $(60.3 \pm 4.1)\%$ in PTX 48 h + BIC 48 h group ($P<0.001$). There was a significant difference in the expression of seven genes (EGR1, FST, FOS, IL8, IL6, RPL27A and CA2) between PTX-treated group and DMSO-treated group ($t=18.647, 10.336, 10.098, 9.683, 9.408, 9.050, 8.001$, all $P<0.050$).

Conclusions Sequential administration of PTX and BIC can inhibit the proliferation of AR-positive triple negative breast cancer MDA-MB-231 cells more effectively compared with the monotherapy and other combination methods. The two drugs may have the synergistic effect.

【Key words】 Breast neoplasms; Androgen receptor antagonists; Chemotherapy; Combination modality therapy; Early growth response protein 1

乳腺癌是女性常见恶性肿瘤之一,近年发病率持续上升。其中,三阴性乳腺癌(triple negative breast cancer, TNBC)是一种特殊的乳腺癌分子亚型,占15%~20%,ER、PR及HER-2表达均为阴性,不适合内分泌治疗和抗HER-2靶向治疗,因此,化疗是主要的系统治疗手段。雄激素是人类性激素的一种,在乳腺癌的发生、发展中起着重要作用^[1]。临床研究显示:雄激素受体(androgen receptor, AR)阳性的TNBC患者可通过影响AR信号通路而从抗雄激素治疗中获益,即AR很可能是AR阳性TNBC患者新的治疗靶点^[2-3]。但是,目前鲜见关于抗雄激素治疗与化疗联合应用的相关报道。在本研究中,笔者选择已被证实为AR阳性的TNBC细胞系MDA-

MB-231为实验对象^[4-6],观察抗雄激素药物比卡鲁胺(bicalutamide, BIC)联合化疗药物紫杉醇(paclitaxel, PTX)对MDA-MB-231细胞增殖作用的影响,并采用生物信息学分析探讨PTX在TNBC治疗中可能的作用机制。

材料与方法

一、实验试剂与仪器

PTX注射液购自华北制药股份有限公司(生产批号:FPW1607001);BIC购自北京百灵威科技有限公司(生产批号:LB40Q78);DMEM、胰蛋白酶、胎牛血清为美国Gibco公司产品;CCK-8试剂

盒为日本同仁化学研究所产品;酶标仪购自瑞士 Tecan 公司。

二、细胞培养

MDA-MB-231 细胞由北京协和医院细胞库提供,用 CCK-8 试剂盒检测 MDA-MB-231 细胞的增殖情况,取对数生长期的 MDA-MB-231 细胞,用含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养液调节细胞数为 $3.5 \times 10^4/\text{ml}$,每孔 100 μl ,接种到 96 孔板。将 96 孔板置于 37 $^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 培养箱中过夜,待细胞贴壁稳定后,进行药物实验。

三、实验方法

1. 单药处理细胞

使用不同浓度的 BIC (0.1、1.0、10.0 $\mu\text{mol/L}$) 和不同浓度的 PTX (0.1、1.0、10.0、100.0、1 000.0、10 000.0 nmol/L) 分别干预 MDA-MB-231 细胞 24、48 和 72 h;空白对照组加入等量的 DMEM 培养基。

2. 同时联合给药处理细胞

使用 5 000.0 nmol/L PTX 分别联合 0.1、1.0、10.0 $\mu\text{mol/L}$ BIC 同时处理 MDA-MB-231 细胞作为联合给药组,以 5 000.0 nmol/L PTX 单药处理作为对照组。根据以上实验结果确定后续实验中 BIC 与 PTX 的最佳药物作用浓度及作用时间。

3. BIC 与 PTX 以不同联合给药方式处理细胞

联合给药组(实验组)分别采用同时给药(PTX 48 h + BIC 48 h 组, PTX 与 BIC 同时作用于细胞 48 h)、序贯吸弃给药(PTX 24 h + BIC 24 h 组,即先给予 PTX 作用 24 h 后,吸弃,再给予 BIC 24 h; BIC 24 h + PTX 24 h 组,即先给予 BIC 作用 24 h 后,吸弃,再给予 PTX 24 h)和序贯非吸弃给药(PTX 48 h + BIC 24 h 组,即先给予 PTX 作用 24 h 后,不吸弃,再给予 BIC 24 h; BIC 48 h + PTX 24 h 组,即先给予 BIC 作用 24 h 后,不吸弃,再给予 PTX 24 h)方式;对照组采用 PTX(PTX 48 h 组)和 BIC(BIC 48 h 组)单独给药方式处理细胞。

以上实验每组均设置 6 个复孔。药物处理后,吸弃上清液,每孔加入 100 μl CCK-8 试剂(按照 CCK-8 体积/培养基体积 = 1/10 比例稀释),震荡混匀后放入培养箱中继续培养 2 h,用酶标仪检测吸光度(D 值),波长为 450 nm。重复 3 次试验后,通过同一时间实验组与空白对照组所测得的吸光度值计算各实验组的细胞增殖抑制率:细胞增殖抑制

率(%) = $(D_{\text{空白对照组}} - D_{\text{实验组}}) / D_{\text{空白对照组}} \times 100\%$ 。

四、差异基因筛选

本研究所用到的芯片数据平台为 Affymetrix 公司的 GPL15207,基因表达谱芯片数据来自由 Lasham 等^[7]提交的芯片 GSE60964 系列。选取 10 nmol/L PTX 处理 72 h 的 MDA-MB-231 细胞 3 个样品(编号为 GSM1494631、GSM1494632、GSM1494633)为实验组,溶剂(DMSO)处理 72 h 的 MDA-MB-231 细胞 3 个样品(编号为 GSM1494628、GSM1494629、GSM1494630)作为对照组,通过对此 6 个样品的基因表达谱芯片数据进行分析处理。采用 Bioconductor 的 Impute 包(version 1.48.0)处理下载的基因芯片, K 近邻分类算法补充芯片原始数据的缺省值,多个探针对应相同基因进行归一化处理,采用 Bioconductor 的 Limma 包(v 3.30.13)提取差异基因, R studio 1.0.136 软件采用校正的 t 检验进行显著性分析。差异基因的筛选条件为 $P < 0.050$ 。

五、统计学分析

采用 SPSS 20.0 统计软件对实验结果数据进行分析处理,结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示,细胞增殖抑制率比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD 法。 $P < 0.050$ 为差异具有统计学意义。

结 果

一、BIC 和 PTX 单药对 MDA-MB-231 细胞增殖的影响

使用 0.1、1.0、10.0 $\mu\text{mol/L}$ BIC 分别处理 MDA-MB-231 细胞 24、48、72 h 后,结果显示,不同浓度组 MDA-MB-231 细胞增殖抑制率在不同时间点差异有统计学意义,具体统计数据见表 1。10.0 $\mu\text{mol/L}$ 组在 24、48、72 h 时细胞增殖抑制率均大于 0.1 $\mu\text{mol/L}$ 组(P 均 < 0.050)。10.0 $\mu\text{mol/L}$ 组在 48 h 的细胞增殖抑制率达到最大值,为 $(12.9 \pm 5.5)\%$ 。因此,在后续联合给药实验中选择 BIC 浓度为 10.0 $\mu\text{mol/L}$,药物作用时间为 48 h。

使用不同浓度的 PTX 分别处理 MDA-MB-231 细胞 24、48、72 h 后,各浓度组 MDA-MB-231 细胞增殖抑制率在不同时间点差异均有统计学意义,具体统计数据见表 2。根据 48 h 时不同浓度的 PTX 处理后细胞增殖抑制率结果,PTX 在 48 h 时对 MDA-MB-231 细胞的半数抑制浓度(50% inhibitory

concentration, IC_{50}) 为 5 380.0 nmol/L。为方便稀释药物浓度,本实验在随后的联合用药中采用 PTX 浓度为 5 000.0 nmol/L。

表 1 不同浓度比卡鲁胺作用不同时间后各组 MDA-MB-231 细胞增殖抑制率比较(%, $\bar{x} \pm s$)

组别	实验次数	作用时间		
		24 h	48 h	72 h
0.1 μ mol/L 组	3	3.9 \pm 4.1	2.4 \pm 3.1	-0.9 \pm 4.8
1.0 μ mol/L 组	3	3.9 \pm 1.8	8.0 \pm 4.5 ^a	1.8 \pm 5.5
10.0 μ mol/L 组	3	8.1 \pm 2.3 ^{ab}	12.9 \pm 5.5 ^a	7.5 \pm 5.4 ^a
F 值		4.124	8.189	4.391
P 值		0.037	0.004	0.032

注:^a 与 0.1 μ mol/L 组比较, $P < 0.050$; ^b 与 1.0 μ mol/L 组比较, $P < 0.050$

表 2 不同浓度紫杉醇作用不同时间后各组 MDA-MB-231 细胞增殖抑制率比较(%, $\bar{x} \pm s$)

组别	实验次数	作用时间		
		24 h	48 h	72 h
0.1 nmol/L 组	3	10.0 \pm 6.2	29.0 \pm 2.1	59.5 \pm 5.5
1.0 nmol/L 组	3	17.5 \pm 6.9	23.7 \pm 5.7	54.5 \pm 4.4
10.0 nmol/L 组	3	22.9 \pm 7.9	29.2 \pm 4.1	58.5 \pm 4.4
100.0 nmol/L 组	3	28.0 \pm 6.9	40.0 \pm 2.8	64.4 \pm 4.2
1 000.0 nmol/L 组	3	30.5 \pm 4.3	42.4 \pm 1.6	66.0 \pm 3.6
10 000.0 nmol/L 组	3	28.6 \pm 7.2	48.0 \pm 2.0	72.9 \pm 1.8
F 值		8.407	47.432	14.907
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

二、5 000.0 nmol/L PTX 与不同浓度 BIC 联合给药对 MDA-MB-231 细胞增殖的影响

作用 48 h 后,对照组(PTX 单药组)与 3 个联合给药组(5 000.0 nmol/L PTX 与 0.1、1.0、10.0 μ mol/L BIC 联合给药)的细胞增殖抑制率分别为(53.2 \pm 2.7)%、(53.2 \pm 3.1)%、(51.7 \pm 3.4)%和(51.0 \pm 2.3)%,组间差异无统计学意义($F = 0.831$, $P = 0.492$)。与单药 PTX 相比,PTX 与 BIC 同时联合给药,不论 BIC 浓度高低,并不增强其对 MDA-MB-231 细胞的增殖抑制作用。

三、5 000.0 nmol/L PTX 与 10.0 μ mol/L BIC 以不同序贯方式联合给药对 MDA-MB-231 细胞增殖的影响

各组细胞增殖抑制率比较,差异有统计学意义($F = 241.466$, $P < 0.001$, 表 3)。其中,两两比较结果显示,PTX 24 h + BIC 24 h 组细胞增殖抑制率为(72.9 \pm 1.9)%,高于 BIC 24 h + PTX 24 h 组的

(42.9 \pm 1.7)% ($P < 0.001$), PTX 48 h 组的(60.9 \pm 3.7)% ($P < 0.001$) 和 PTX 48 h + BIC 48 h 组的(60.3 \pm 4.1)% ($P < 0.001$)。对比 2 种序贯联合给药方式,在相同的用药顺序下,细胞增殖抑制率差异均无统计学意义[PTX 24 h + BIC 24 h 组与 PTX 48 h + BIC 24 h 组:(72.9 \pm 1.9)% 比 (75.8 \pm 1.8)%, $P = 0.521$; BIC 24 h + PTX 24 h 组与 BIC 48 h + PTX 24 h 组:(42.9 \pm 1.7)% 比 (47.0 \pm 3.1)%, $P = 0.290$]。

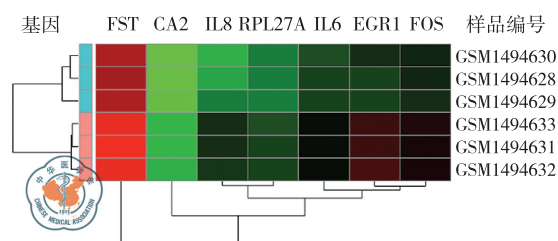
表 3 比卡鲁胺与紫杉醇不同给药方式处理后 MDA-MB-231 细胞增殖抑制率比较(%, $\bar{x} \pm s$)

组别	实验次数	增殖抑制率
PTX 48 h 组	3	60.9 \pm 3.7
PTX 48 h + BIC 48 h 组	3	60.3 \pm 4.1
PTX 24 h + BIC 24 h 组	3	72.9 \pm 1.9
PTX 48 h + BIC 24 h 组	3	75.8 \pm 1.8
BIC 24 h + PTX 24 h 组	3	42.9 \pm 1.7
BIC 48 h + PTX 24 h 组	3	47.0 \pm 3.1
BIC 48 h 组	3	25.0 \pm 0.8
F 值		241.466
P 值		<0.001

注:PTX 指紫杉醇;BIC 指比卡鲁胺;PTX 48 h 组与 PTX 48 h + BIC 48 h 组、PTX 24 h + BIC 24 h 组与 PTX 48 h + BIC 24 h 组、BIC 24 h + PTX 24 h 组与 BIC 48 h + PTX 24 h 组比较, $P > 0.050$, 其余两两比较, P 均 < 0.001

四、差异基因筛选结果

实验组(PTX 处理组)中有 7 个基因 EGR1、FST、FOS、IL8、IL6、RPL27A 及 CA2 的表达量与对照组(DMSO 处理组)相比,差异均有统计学意义,具体统计数据见表 4。图 1 为相关基因的表达量热图。



注:蓝色代表 DMSO 处理组,红色代表紫杉醇处理组;表达量高的基因趋近红色,表达量低的基因趋近于绿色;DMSO 指二甲亚砜

图 1 7 个差异基因在紫杉醇和 DMSO 处理后的 MDA-MB-231 细胞中的表达量热图

讨 论

乳腺癌作为女性最常见的恶性肿瘤,严重威胁着女性的身体健康。与非 TNBC 相比, TNBC 因其临床过程更具侵袭性、更早发生远处转移、生存期更短

表 4 紫杉醇和 DMSO 处理后 MDA-MB-231 细胞中差异基因表达比较($\bar{x} \pm s$)

组别	样本数	差异基因						
		EGR1	FST	FOS	IL8	IL6	RPL27A	CA2
DMSO 处理组	3	5.798±0.103	8.267±0.088	5.984±0.073	4.703±0.276	5.653±0.031	5.060±0.045	3.772±0.095
紫杉醇处理组	3	7.160±0.031	9.027±0.065	6.681±0.050	5.910±0.059	6.261±0.053	5.687±0.078	4.428±0.109
t 值		18.647	10.336	10.098	9.683	9.408	9.050	8.001
P 值		<0.001	0.023	0.023	0.024	0.024	0.028	0.048

注: DMSO 为二甲亚砜

且治疗手段少而成为乳腺癌治疗的难点与热点^[8-11]。化疗是 TNBC 目前主要的系统治疗手段,但到目前为止最佳化疗药物和方案尚未确定,有证据支持采用含蒽环类和紫杉类方案^[12]。PTX 是 TNBC 化疗的首选药物,通过抑制有丝分裂达到杀伤肿瘤细胞的作用^[12]。研究显示,AR 在不同的乳腺癌亚型中表达比例不同,在 luminal A 型、luminal B 型和 HER-2 过表达型乳腺癌中阳性率相对较高,而在基底细胞样乳腺癌中的表达率则相对较低,表明 AR 在乳腺癌中的表达与 ER、PR 及 HER-2 的表达有关,提示 AR 可作为乳腺癌潜在的治疗靶点^[13-14]。一项临床 2 期研究表明,在 ER 阴性、PR 阴性、AR 阳性且经多线治疗后的转移性乳腺癌患者中使用 BIC,6 个月的临床获益率为 19%,中位无进展生存期为 12 周^[15]。另一项临床 2 期研究采用新一代 AR 拮抗剂恩杂鲁胺分别作用于雄激素驱动基因阳性和雄激素驱动基因阴性的 AR 阳性 TNBC 患者,结果显示雄激素驱动基因阳性组的中位 OS 达到 20 个月,显著高于雄激素驱动基因阴性组(8 个月)^[16]。因此,AR 拮抗剂有可能作为 AR 阳性 TNBC 患者的一种新治疗手段,但是,目前就 AR 拮抗剂与现有化疗手段如何结合尚无相关研究。因此,进一步研究抗雄激素治疗对 AR 阳性 TNBC 的有效性,并探讨抗雄激素药物与化疗药物如何更好地联合使用及其可能机制有着重要的现实意义。

本研究采用 CCK-8 试剂盒检测了 BIC 与 PTX 在不同给药剂量及不同给药方式下对 MDA-MB-231 细胞增殖的抑制作用。研究结果发现,BIC 单药和 PTX 单药对 MDA-MB-231 细胞均有明显的抑制作用,且随着药物浓度的增加对细胞的增殖抑制作用增强,提示 2 种药物对 AR 阳性 TNBC 抗雄激素治疗的有效性和可行性。其中,PTX 对细胞的增殖抑制作用强且持久,而 BIC 对细胞的抑制作用相对偏弱且时间较短,提示抗雄激素治疗需连续给药。BIC 和 PTX 联合给药时,不同给药方式对 MDA-MB-231 细胞的增殖抑制效果不同。当 PTX 和 BIC 同时联

合给药时,BIC 并不能提高 PTX 对 MDA-MB-231 细胞的抗肿瘤效果,这与临床上 ER 阳性乳腺癌抗雌激素治疗与化疗同时联合使用并不能提高疗效的结果一致。另外,先给 PTX 后给 BIC 的序贯给药方式明显优于同时给药方式,也明显优于 BIC+PTX 的序贯给药方式。在给药顺序相同时,联合序贯吸弃与不吸弃 2 种给药方式对细胞的增殖抑制作用差异无统计意义,但相较于先 PTX 后 BIC 的序贯不吸弃给药方式,序贯吸弃给药方式缩短了化疗药物的作用时间,减轻了化疗药物的不良反应。2017 年 ASCO 会议报道,对 ER 阳性或 PR 阳性、HER-2 阴性转移性乳腺癌一线化疗后疾病得到控制的患者,接受 ER 下调剂氟维司群维持治疗可使患者的无进展生存期达到 19.5 个月^[17]。这种在 ER 阳性或 PR 阳性的患者中使用先化疗后用内分泌治疗的用药方式,与本实验在 AR 阳性的 TNBC 细胞中先用 PTX 化疗杀伤增殖活跃的肿瘤细胞,后用 BIC 内分泌治疗取得明显疗效的联合给药方式具有一定相似性。因此,先给予 PTX 化疗,在疾病控制情况下选择 AR 拮抗剂维持治疗可作为 AR 阳性 TNBC 的治疗策略之一。

笔者比较了 PTX 与 DMSO 处理后 MDA-MB-231 细胞的基因表达谱芯片数据,发现了 7 个差异基因。其中,EGR1 是属于多基因家族的锌指转录因子,能与下游多种基因的启动子区域相结合,调节相应基因的转录,从而参与细胞的生长、增殖、分化及凋亡等生物学活动^[18-19]。研究发现,在前列腺癌细胞中,EGR1 过表达能够引起 AR 受体相关通路的激活,增强 AR 从细胞质向细胞核中的转运^[20];同时,在 PTX 耐药的乳腺癌 MCF-7 细胞中,EGR1 能够通过增加 MDR1 基因的转录而导致药物抵抗^[21]。由此可知,EGR1 的表达与 PTX 的治疗、耐药及 AR 的表达和通路激活关系密切。笔者推测,PTX 序贯 BIC 联合用药时的强协同效应可能与 EGR1 表达上调有关。在以 AR 为靶点的 TNBC 抗雄激素治疗以及联合用药中,EGR1 可能发挥着重要的桥梁作用,

但具体的作用机制尚需进一步研究。

参 考 文 献

- [1] Cochrane DR, Bernales S, Jacobsen BM, et al. Role of the androgen receptor in breast cancer and preclinical analysis of enzalutamide[J]. *Breast Cancer Res*, 2014, 16(1): R7.
- [2] Gucalp A, Tolane S, Isakoff SJ, et al. Phase II trial of bicalutamide in patients with androgen receptor-positive, estrogen receptor-negative metastatic breast cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2013, 19(19):5505-5512.
- [3] Traina TA, Miller K, Yardley DA, et al. Enzalutamide for the treatment of androgen receptor-expressing triple-negative breast cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2018, 36(9): 884-889.
- [4] Lehmann BD, Bauer JA, Chen X, et al. Identification of human triple-negative breast cancer subtypes and preclinical models for selection of targeted therapies[J]. *J Clin Invest*, 2011, 121(7): 2750-2767.
- [5] Neve RM, Chin K, Fridlyand J, et al. A collection of breast cancer cell lines for the study of functionally distinct cancer subtypes[J]. *Cancer Cell*, 2006, 10(6): 515-527.
- [6] 赵晶, 付丽. 乳腺癌的分子分型[J/CD]. *中华乳腺病杂志(电子版)*, 2009, 3(2):35-40
- [7] Lasham A, Mehta SY, Fitzgerald SJ, et al. YB-1 affects response to paclitaxel in TNBCs by modulation of EGR1[EB/OL]. [2017-09-02]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/query/acc.cgi?acc=GSE60964>.
- [8] Celis J, Gromova I, Gromov P, et al. Molecular pathology of breast apocrine carcinomas: A protein expression signature specific for benign apocrine metaplasia[J]. *FEBS Lett*, 2006, 580(12):2935-2944.
- [9] Nguyen PL, Taghian AG, Katz MS, et al. Breast cancer subtype approximated by estrogen receptor, progesterone receptor, and HER-2 is associated with local and distant recurrence after breast-conserving therapy[J]. *J Clin Oncol*, 2008, 26(14):2373-2378.
- [10] Haffty BG, Yang Q, Reiss M, et al. Locoregional relapse and distant metastasis in conservatively managed triple negative early-stage breast cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2006, 24(36):5652-5657.
- [11] Dent R, Trudeau M, Pritchard KI, et al. Triple-negative breast cancer: clinical features and patterns of recurrence[J]. *Clin Cancer Res*, 2007, 13(15):4429-4434.
- [12] Liedtke C, Mazouni C, Hess KR, et al. Response to neoadjuvant therapy and long-term survival in patients with triple-negative breast cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2008, 26(8): 1275-1281.
- [13] Choi JE, Kang SH, Lee SJ, et al. Androgen receptor expression predicts decreased survival in early stage triple-negative breast cancer[J]. *Ann Surg Oncol*, 2015, 22(1):82-89.
- [14] Isola JJ. Immunohistochemical demonstration of androgen receptor in breast cancer and its relationship to other prognostic factors [J]. *J Pathol*, 1993, 170(1):31-35.
- [15] Seitz S, Buchholz S, Schally AV, et al. Triple negative breast cancers express receptors for LHRH and are potential therapeutic targets for cytotoxic LHRH-analogs, AEZS 108 and AEZS 125[J]. *BMC Cancer*, 2014, 14(1):847.
- [16] Traina TA, Yardley DA, Schwartzberg LS, et al. Overall survival (OS) in patients (Pts) with diagnostic positive (Dx+) breast cancer: Subgroup analysis from a phase 2 study of enzalutamide (ENZA), an androgen receptor (AR) inhibitor, in AR + triple-negative breast cancer (TNBC) treated with 0-1 prior lines of therapy [EB/OL]. [2017-10-20]. http://ascopubs.org/doi/abs/10.1200/JCO.2017.35.15_suppl.1089.
- [17] Wang S, Xu F, Ouyang Q, et al. Fulvestrant as maintenance therapy after first-line chemotherapy in postmenopausal hormone receptor-positive, HER2-negative advanced breast cancer patients (FANCY): A prospective, multicenter, single arm phase II study [EB/OL]. [2017-10-20]. http://ascopubs.org/doi/abs/10.1200/JCO.2016.34.15_suppl.e12012.
- [18] Lee KH, Kim JR. Hepatocyte growth factor induced up-regulations of VEGF through Egr-1 in hepatocellular carcinoma cells[J]. *Clin Exp Metastasis*, 2009, 26(7):685-692.
- [19] Abdulkadir SA, Qu Z, Garabedian E, et al. Impaired prostate tumorigenesis in Egr1-deficient mice [J]. *Nat Med*, 2001, 7(1): 101-107.
- [20] Yang SZ, Abdulkadir SA. Early growth response gene 1 modulates androgen receptor signaling in prostate carcinoma cells [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(41):39 906-39 911.
- [21] Tao W, Shi JF, Zhang Q, et al. Egr-1 enhances drug resistance of breast cancer by modulating MDR1 expression in a GGPPS-independent manner[J]. *Biomed Pharmacother*, 2013, 67(3):197-202.

(收稿日期:2017-10-31)

(本文编辑:刘军兰)

丁钥, 许焱, 丁丽, 朱小泉, 等. 比卡鲁胺联合紫杉醇对雄激素受体阳性三阴性乳腺癌 MDA-MB-231 细胞的增殖抑制作用[J/CD]. *中华乳腺病杂志(电子版)*, 2018, 12(3):135-140.