

· 实验研究 ·

扶正固本法抑制乳腺癌骨破坏的作用及机制研究※

● 周瑞娟* 张秋萍 卢晓惠 文 娱 陈雪梅 陈隽鹏 徐乐勤▲

摘 要 目的:探讨扶正固本法对乳腺癌骨转移后骨破坏的抑制作用及可能的分子机制。方法:通过胫骨内注射乳腺癌细胞建立乳腺癌骨转移动物模型,给予扶正固本方药干预,给药后采用 IVIS 检测乳腺癌在骨环境中的生长情况,X-ray 和 TRAP 染色分析骨破坏及破骨细胞活性情况,并采用 ELISA 检测小鼠血清中的 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-17、PTHrP、RANKL、OPG、TGF- β 、IGF、PDGF 细胞因子的表达改变。结果:IVIS 结果显示扶正固本方药可减缓乳腺癌在骨环境中的生长,X-ray 和 TRAP 染色表明扶正固本方药可以减少乳腺癌骨转移引起的骨破坏及破骨细胞活性,ELISA 结果显示扶正固本方药可以降低血清中 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-17、PTHrP、RANKL、TGF- β 、IGF、PDGF 的表达水平,提高血清中 OPG 的表达水平。结论:扶正固本方药可通过调节多种细胞因子的表达,从而减缓乳腺癌细胞在骨环境中的生长,以及减轻乳腺癌细胞所引起的骨破坏。

关键词 扶正固本法;乳腺癌;骨破坏;TRAP;细胞因子

乳腺癌是女性最常见的恶性肿瘤之一,其发病率约占所有肿瘤的 10.4%,且发病率呈逐年上升趋势^[1]。在我国,每年新发乳腺癌病例约 26.9 万,已跃居女性恶性肿瘤发病率第一位^[2]。尤其是近年来我国乳腺癌发病率快速上升,它已成为我国女性六大癌症死亡原因之一^[3]。据文献报道,近 50% 的晚期乳腺癌患者有骨转移,约 70% 乳腺癌死于骨转移^[4]。乳腺癌骨转移可导致患者遭受骨痛、高血钙、骨折、截瘫以及恶病质

等痛苦,严重影响其生存期及生活质量^[5]。因此,探索具有防治或延缓乳腺癌骨转移、骨破坏的药物具有极为重要的临床意义。

在乳腺癌患者长期的综合治疗中,中医药的作用已经得到广泛肯定^[6]。陆德铭教授^[7]认为,乳腺癌病性本虚而标实,治疗强调“养正积自除”,主张“扶正为主,祛邪为辅”,扶正固本为防止复发转移的主要方法。扶正时尤重脾肾,若脾肾不足,则先后天平衡失调,致使正气内虚。临床常选用黄芪、党参、白术、茯苓、陈皮等益气养血健脾和胃,扶助气血、顾护后天,使气血生化有源;选用淫羊藿、补骨脂、巴戟天、鹿角片等补益肾气,调摄冲任,固摄先天,使先后天平衡,正气得固,则邪气易被杀灭或祛除,防止或延缓了骨转移的发生^[8,9]。唐汉钧^[10]认为,本病系毒邪内攻入骨,肝肾亏损所致。也有学者^[11]分析了近几年中国学术期刊全文数据库(CNKI)中治疗骨转移癌的内服方剂,发现组方规律是以扶正补虚为基本治则,补骨脂、骨碎补、淫羊藿 3 味药出现频次最高。

※基金项目 1. 国家自然科学基金青年科学基金项目(No.81704094);2. 全国中医药创新骨干人才培养项目(No. 国中医药人教函[2019]128 号);3. 厦门市科技计划项目(No.3502Z20194047)

* 作者简介 周瑞娟,女,医学博士,副主任医师。研究方向:中医药防治乳腺癌复发转移。

▲通讯作者 徐乐勤,男,副主任医师,医学博士。研究方向:原发性、继发性骨肿瘤的作用机制。E-mail:xuleqin@163.com

• 作者单位 福建中医药大学附属厦门中医院(福建 厦门 361009)

因此,依据扶正固本的根本治则,本实验选取具健脾补肾功效的中药,拟定基本方(由黄芪、党参、茯苓、淫羊藿、补骨脂等药物组成),通过动物实验探讨扶正固本方药减轻骨破坏的作用及其可能的分子机制,为中医药防治乳腺癌骨转移、骨破坏提供实验依据。

1 实验材料

1.1 试剂与药品 TRAP 染色试剂盒(购自 Sigma 公司),细胞培养基 DMEM、胰酶、胎牛血清、双抗(购自 Gibco 公司),TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-17、RANKL、OPG、TGF- β 、IGF ELISA 试剂盒(购自 ThermoFisher 公司),PTHrP ELISA 试剂盒(购自默沙克公司),PDGF ELISA 试剂盒(购自 R&D SYSTEMS 公司),唑来膦酸注射液(购自江苏正大天晴药业股份有限公司)。扶正固本方(黄芪 30g、党参 15g、茯苓 9g、淫羊藿 30g、补骨脂 30g)由厦门市中医院中药房提供。

1.2 实验动物 裸鼠(6~8 周龄)购买于上海斯莱克实验动物有限责任公司,生产许可证号为 SCXK(沪)2017-0005,饲养于厦门大学 SPF 级动物中心。

1.3 细胞株 人乳腺癌细胞 MDA-MB-231-luc 购买于中国科学院上海细胞研究所。

2 方法

2.1 细胞培养 人乳腺癌细胞 MDA-MB-231-luc 以 10% 胎牛血清的细胞培养液 DMEM,置于 5% CO₂、37℃ 培养箱培养,每 2~3 天换液一次,待细胞生长至 80%~90%,采用 0.25% 胰酶消化,传代培养。造模当天,采用 0.25% 胰酶消化培养皿中的 MDA-MB-231-luc 细胞,收集细胞悬液,经 800 rpm 离心 5 min 后,将沉淀细胞用磷酸缓冲盐溶液(phosphate buffer saline, PBS)洗 2 遍,血细胞计数器计数,采用 PBS 重悬,使细胞终浓度为 5×10^4 个/ μ l 细胞悬液,置于冰上备用。

2.2 动物分组 选取 6~8 周龄雌性裸鼠 40 只,每笼 5 只,饲养于 SPF 级动物中心,每三天清理鼠笼一次,直至实验结束。购买到的裸鼠在动物中心适应性饲养 3 天,确认其无烈性传染病,并基本适应新的饲养环境后,开始下一步实验。根据体重排序,采用随机数字表法将裸鼠分为 4 组,分别为空白对照组、模型组、唑来膦酸组和扶正固本组,每组 10 只。

2.3 胫骨内注射乳腺癌细胞建立乳腺癌骨破坏动物模型 所有裸鼠均被置于超净工作台中,采用 2.5% 的阿弗丁(0.3~0.4)ml/20g 麻醉。待裸鼠麻醉后,沿

髌骨前方作约 1cm~2cm 纵形皮肤切口,沿髌韧带边缘作 1cm 切口,暴露胫骨上缘。模型组、唑来膦酸组和扶正固本组这三组裸鼠均采用显微注射器(规格:26G)向胫骨内注射 4×10^4 个萤光素酶标记的 MDA-MB-231-luc 人乳腺癌细胞(总体积 20 μ l);空白对照组则采用显微注射器向胫骨内注射 20 μ l PBS。缝合切口,将裸鼠置于 37℃ 恒温板上,待裸鼠苏醒后放回饲养笼中。

2.4 给药方法 扶正固本组每天灌胃以体表面积换算所得剂量组药汤剂,为 14.82g/kg 体重[计算方法:小鼠的给药量(g/kg)=成人剂量(g/kg) $\times$ (人的转换因子/小鼠的转换因子)];唑来膦酸组皮下注射唑来膦酸,0.2mg/kg 体重;空白对照组和模型组每天只灌胃相应剂量的生理盐水。各组均每周给药 3 次,连续给药 28 天。观察裸鼠外观及行为,拍照并记录其体重变化。

2.5 小鼠活体成像 根据裸鼠的体重,侧腹腔注射相应剂量的 Luciferase-D 荧光底物,5min 后将裸鼠置于麻醉箱气体麻醉。将麻醉好的裸鼠置于 IVIS[®]-200 动物活体荧光成像系统中荧光成像,观察肿瘤的大小。

2.6 小鼠 X 线检查 为观察乳腺癌引起的骨质破坏程度,采用阿弗丁麻醉裸鼠后,将裸鼠置于柯达 X 线成像系统中,拍照观察乳腺癌骨转移或骨内注射后引起的骨质破坏面积百分比(骨质破坏面积百分比=骨质破坏面积 $\div$ 胫骨骨质总面积 $\times 100\%$)。

2.7 血清 ELISA 检测 于末次给药后 2 h,用剪镊快速摘除眼球取血,收集各组裸鼠的血液放入促凝管中,4℃ 下静置 1 h,室温 3000 rpm 离心 5 min,分离血清,采用 ELISA 阵列试剂盒检测裸鼠血液中 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-17、PTHrP、RANKL、OPG、TGF- β 、IGF、PDGF 细胞因子的表达水平,以空白对照组为基础值计算给药后裸鼠血液中以上细胞因子的表达改变。具体操作根据 ELISA 试剂盒说明书进行。

2.8 胫骨 TRAP 染色 麻醉处死裸鼠,取出胫骨经 4% 多聚甲醛固定 24h 后,经 0.5M 的 EDTA 脱钙 10 天,再经梯度乙醇、二甲苯、石蜡浸泡(即脱水至蜡处理),石蜡包埋,切成 4 μ m 厚度切片,挑选包含骨髓腔的胫骨切片,按常规脱蜡至水后,采用 TRAP 染色试剂盒进行组织染色。

2.9 统计方法 采用 SPSS19.0 For Windows 软件进行统计。计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。先对各组数值变量进行正态性检验,不服从正态分布的

数据采用非参数检验;服从正态分布的数据,进一步检验方差齐性。方差齐时多组数据间的比较采用单因素方差分析和 *LSD-t* 法检验;方差不齐时,多组数据间的比较采用 *Welch* 检验和 *Dunnnett's T3* 法检验。

3 结果

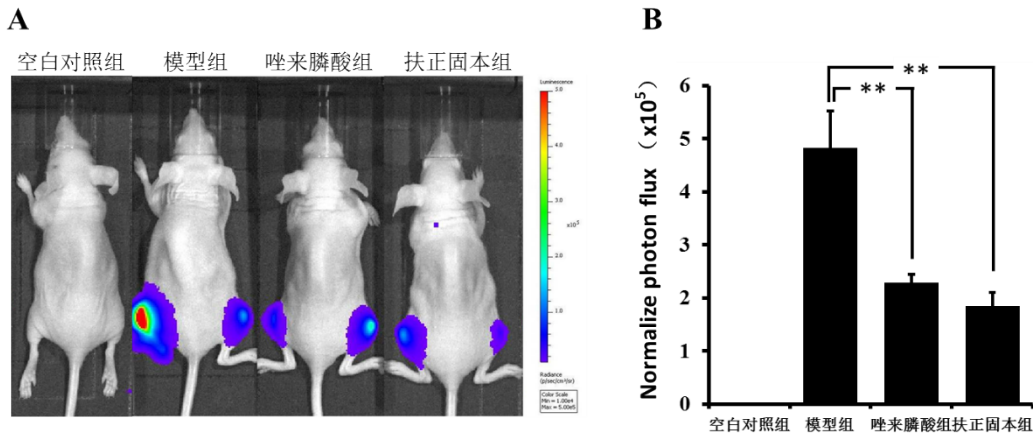
3.1 扶正固本方对乳腺癌在骨环境中生长的影响

根据各组裸鼠胫骨内乳腺癌细胞的荧光值情况(见图

1A),绘制乳腺癌细胞的生长柱状图(见图1B)。与模型组比,扶正固本组和唑来磷酸组对乳腺癌细胞在骨环境中的生长均产生不同程度的抑制作用。

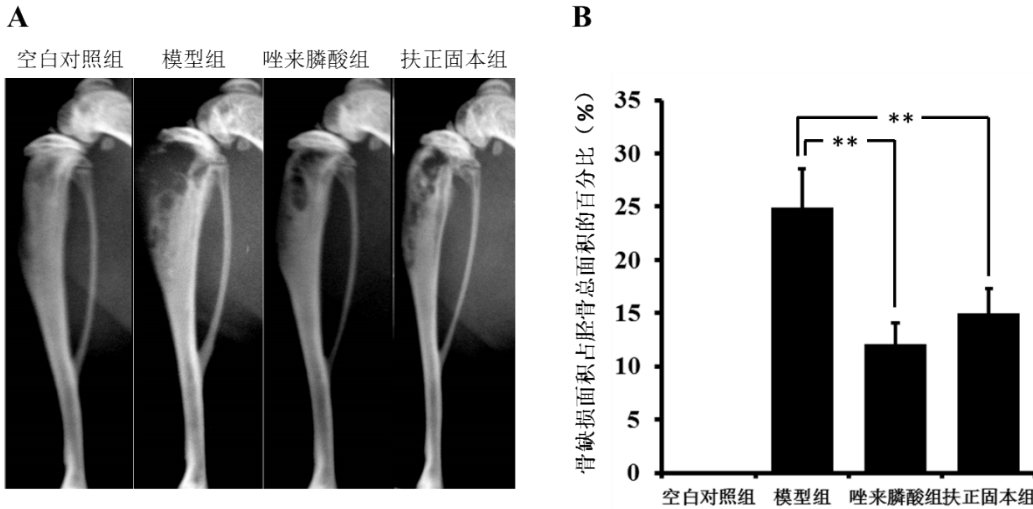
3.2 扶正固本方对乳腺癌诱导骨破坏的影响

根据各组裸鼠胫骨 X-ray 检测结果(见图2A),绘制骨破坏程度的柱状图(见图2B)。与模型组比,扶正固本组和唑来磷酸组可减轻乳腺癌细胞引起的骨破坏。



注:A为各组小鼠胫骨内IVIS荧光图像,B为各组小鼠胫骨内乳腺癌IVIS荧光值的柱状图,由图可见唑来磷酸组和扶正固本组的IVIS值均小于模型组,差异具有统计学意义(与模型组比较,** $P<0.01$)。

图1 各组裸鼠IVIS检测结果



注:A为各组小鼠胫骨X-ray图片,B为各组小鼠胫骨骨破坏面积与胫骨总面积的比值统计图,由图可见胫骨内注射乳腺癌细胞可引起明显的溶骨性破坏,唑来磷酸和扶正固本方干预后,骨破坏的面积减小,与模型组比较具有统计学意义(与模型组比较,** $P<0.01$)。

图2 各组裸鼠胫骨内X-ray检测及骨破坏面积

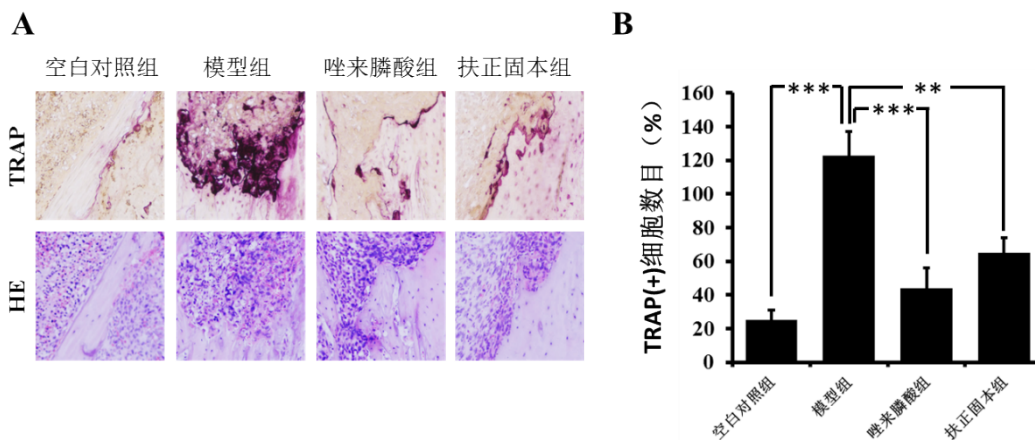
3.3 扶正固本方对胫骨破骨细胞活性的表达的影响

根据各组裸鼠胫骨切片的TRAP染色检测结果(见图3A),绘制TRAP阳性细胞数目的柱状图(见图3B)。与模型组比,扶正固本组和唑来磷酸组对乳腺

癌细胞引起的破骨细胞活化均有不同程度的抑制作用。

3.4 扶正固本方对小鼠血清中细胞因子的表达的影响

表1结果显示,扶正固本组和唑来磷酸组炎症细



注:A为各组小鼠胫骨切片的TRAP染色图片,B为各组小鼠胫骨TRAP阳性细胞数目的统计图,由图可见胫骨内注射乳腺癌细胞可引起明显的破骨细胞活化(TRAP阳性细胞数量明显增多),唑来膦酸和扶正固本方药干预后,TRAP阳性细胞数量有所减少,与模型组比较,差异具有统计学意义(与模型组比较,** $P<0.01$,*** $P<0.001$)。

图3 裸鼠胫骨TRAP染色及TRAP(+)细胞数目

胞因子TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-17的表达水平明显低于模型组,比较差异具有统计学意义($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。表2结果显示,扶正固本组和唑来磷酸组的PTHrP、RANKL(促破骨细胞形成因子)的表达水平低于模型组($P<0.05$);而OPG(抑制破骨细胞形成因子)的表达上升,与模型组比较,差异具有统计学意义($P<0.01$ 或 $P<0.001$)。表3结果显示扶正固本组和唑来磷酸组血清中细胞生长因子TGF β 、IGF、PDGF的表达低于模型组,比较差异具有统计学意义($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。

表1 各组小鼠TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-17表达情况($\bar{x} \pm s$)

组别	TNF- α (pg/ml)	IL-1 β (pg/ml)	IL-6(pg/ml)	IL-17(pg/ml)
空白对照组	20.81 $\pm$ 7.63**	15.74 $\pm$ 2.13**	8.92 $\pm$ 1.58***	15.96 $\pm$ 3.33*
模型组	80.63 $\pm$ 11.39	49.52 $\pm$ 6.89	42.11 $\pm$ 6.93	39.23 $\pm$ 4.09
唑来膦酸组	49.66 $\pm$ 10.50**	27.21 $\pm$ 4.53*	30.73 $\pm$ 5.69*	21.58 $\pm$ 6.41*
扶正固本组	56.72 $\pm$ 8.95*	19.35 $\pm$ 6.66**	28.57 $\pm$ 9.33*	22.04 $\pm$ 7.88*

注:与模型组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$,*** $P<0.001$

表2 各组小鼠PTHrP、RANKL、OPG表达情况($\bar{x} \pm s$)

组别	PTHrP(ng/ml)	RANKL(pg/ml)	OPG(pg/ml)
空白对照组	44.95 $\pm$ 6.66**	108.57 $\pm$ 22.18***	278.43 $\pm$ 27.57***
模型组	86.81 $\pm$ 14.55	305.66 $\pm$ 41.39	89.66 $\pm$ 14.33
唑来膦酸组	64.59 $\pm$ 10.41*	226.29 $\pm$ 21.37*	220.04 $\pm$ 22.69***
扶正固本组	70.51 $\pm$ 6.77*	247.44 $\pm$ 18.60*	133.47 $\pm$ 16.44**

注:与模型组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$,*** $P<0.001$

表3 各组小鼠TGF- β 、IGF、PDGF表达情况($\bar{x} \pm s$)

组别	TGF- β (ng/ml)	IGF(ng/ml)	PDGF(ng/ml)
空白对照组	12.61 $\pm$ 3.05*	61.59 $\pm$ 10.23***	24.75 $\pm$ 3.33**
模型组	35.22 $\pm$ 6.03	182.27 $\pm$ 22.54	76.48 $\pm$ 10.21
唑来膦酸组	23.08 $\pm$ 4.66*	131.66 $\pm$ 8.43**	39.56 $\pm$ 7.28*
扶正固本组	20.85 $\pm$ 3.79*	150.44 $\pm$ 15.79*	40.27 $\pm$ 9.69*

注:与模型组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$,*** $P<0.001$

4 讨论

乳腺癌骨转移属中医学“骨蚀”“骨瘤”“骨痹”“骨疽”等范畴。骨转移癌可表现出局部肿块坚硬不移、疼痛、入夜尤甚、皮色不变、面色晦暗等临床特征;其发生、发展与中医的肾和脾关系密切^[12]。《医经精义》曰:“肾藏精,精生髓,髓生骨,故骨者肾之所合也。”脾肾为互济之脏,肾虚久不复,火不生土,必伤脾阳。《素问·五脏生成》云“肾之合骨也,其荣在发,其主脾也”,说明脾肾对骨的充养具有重要作用。扶正固本方由黄芪、党参、茯苓、淫羊藿、补骨脂组成,具有益气健脾、补肾壮骨的作用。

正常的骨代谢是通过成骨细胞的成骨作用与破骨细胞的骨吸收作用进行调节,从而保持一种动态平衡^[13]。当乳腺癌骨转移后,乳腺癌细胞、成骨细胞、破骨细胞和骨基质细胞共同参与骨微环境的改造。19世纪英国Paget提出的“土壤和种子”学说已得到广泛认可,认为靶器官内适宜血液中播散的肿瘤细胞生存微环境是肿瘤发生的必要条件^[14]。目前许多研究证据表明,肿瘤转移取决于骨微环境提供的生长支持和癌细胞对这一环境的适应能力^[15]。骨微环境包括细

胞外基质和细胞,如成骨细胞、破骨细胞、基质细胞、内皮细胞、造血细胞等,这些细胞可以产生多种因子,促进肿瘤细胞生长和骨转移进程,而乳腺癌细胞也释放多种因子并与微环境内细胞相互作用,进而造成对骨结构的破坏^[16]。

首先,乳腺癌细胞可分泌 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-17 等炎症因子,一方面刺激成骨细胞分泌 RANKL,另一方面刺激单核细胞融合成破骨细胞。其中 IL-6 在诱导肿瘤细胞增殖、抑制凋亡和刺激破骨细胞生成、抑制成骨细胞分化中具有重要作用^[17];IL-1 β 能够直接刺激破骨细胞的增殖,增强其活性,促进乳腺癌骨转移骨质吸收^[18]。TNF- α 可以刺激 IL-1 β 、IL-6 的产生,从而促进恶性肿瘤细胞增殖,并抑制其凋亡^[19],还可以抑制间充质干细胞增殖,促进成熟的成骨细胞凋亡,加速骨转移灶骨质破坏^[20]。因此抑制骨转移灶中 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 等炎症因子的表达,可减轻骨损伤、保护骨组织。本实验中,扶正固本组骨组织中 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 含量均明显低于模型组,提示扶正固本方药可减少骨转移癌组织中 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-17 的分泌,从而减轻促炎因子介导的骨损伤以及肿瘤细胞的增殖。

其次,乳腺癌细胞产生的 PTHrP 是主要的破骨细胞激活因子^[21]。在肿瘤骨转移的过程中,起到促进骨转移的作用^[22]。PTHrP 刺激成骨细胞或基质细胞产生 RANKL, RANKL 通过未成熟破骨细胞表面的 RANK 信号系统,刺激转录因子起始转录,导致未成熟的破骨细胞分化为成熟的破骨细胞;并且同时抑制 OPG 的合成^[22, 23]。OPG 是 RANKL 的无功能受体,它能与破骨细胞表面的 RANK 竞争性结合 RANKL,在体内、体外情况下均能抑制破骨细胞的成熟和活化。目前认为 RANKL/OPG 的比例是破骨细胞活性的决定因素之一^[24, 25]。成骨细胞和破骨细胞之间失去平衡,促进骨吸收作用。在骨转移过程中,OPG 的表达量会很低,PTHrP 和 RANKL 的表达量增加,这样就促使骨转移后骨破坏的发生。而当促进或抑制相关调节因子的产生时,就能够在一定程度上抑制骨的转移。药理研究显示,补肾壮骨中药具有以下的作用:①激活肾脏中 1- α 羟化酶,提高骨钙调节激素 1,25-(OH) $_2$ D $_3$ 水平;②调节垂体-性腺轴或通过植物雌激素成分直接作用于受体而发挥雌激素样作用;③减少破骨细胞的生成,抑制破骨作用;④上调 OPG 的表达,下调 RANKL 的表达,促进破骨细胞凋亡,同时促进成骨细胞增殖和分化,起到调节骨吸收的作用^[26, 27]。本实验

通过 ELISA 法检测,发现扶正固本方药对破骨细胞形成的相关调节因子产生了调控作用,可促进 OPG 的表达,抑制 PTHrP、RANKL 的表达,从而抑制破骨细胞的形成。

再者,TGF- β 、IGF、PDGF 等细胞生长因子是调控乳腺癌骨转移发生、发展的重要因素^[28-30]。TGF- β 是骨代谢中关键的信号因子,在肿瘤转移过程中能帮助肿瘤细胞逃避免疫监控^[31],有利于乳腺癌骨转移的发生,并可促进破骨细胞的增殖和分化^[32];骨是 TGF- β 的主要存储场所,骨转移溶骨破坏可释放大量 TGF- β ,且乳腺癌细胞直接分泌 TGF- β ,TGF- β 通过调控 TGF- β /Smads 信号通路,调控破骨细胞活性的主要介导因子 PTHrP 等的表达,加速骨质流失^[33];抑制 TGF- β 及 PTHrP 的表达,可截断骨损伤恶性循环,减少骨损伤^[34]。在破骨细胞的骨吸收中,骨中 IGF-1 的释放能刺激乳腺癌细胞增殖与趋化,并抑制其凋亡。MDA-MB-231 细胞中的 IGF-1 受体的过表达显著增加骨转移率,而乳腺癌骨转移细胞的有丝分裂增加,凋亡减少。低表达 IGF-1 受体则相反。破骨细胞的骨吸收导致骨中 IGF-1 的释放,在刺激细胞增殖和趋化作用以及抑制转移乳腺癌细胞的凋亡中发挥重要作用,导致骨转移的发生^[35]。ELISA 结果显示,扶正固本方药可减少小鼠血清中细胞生长因子 TGF- β 、IGF、PDGF 的表达水平。

综上所述,扶正固本方药可通过降低炎症因子(TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-17)、细胞生长因子(TGF- β 、IGF、PDGF)以及促破骨细胞因子(PTHrP、RANKL)的表达,增加 OPG 的表达,从而减缓乳腺癌骨细胞在骨环境中的生长,以及减轻乳腺癌细胞所引起的骨破坏。

参考文献

- [1] IACOVIELLO L, BONACCIO M, DE GAETANO G, et al. Epidemiology of breast cancer, a paradigm of the "common soil" hypothesis [J]. *Semin Cancer Biol*, 2020, S1044-579X(20):30043-30052.
- [2] 周星彤, 沈松杰, 孙强. 中国乳腺癌筛查现状及进展 [J]. *中国医学前沿杂志(电子版)*, 2020, 12(3):6-11.
- [3] 杜建妹. 中国乳腺癌现状 [J]. *世界最新医学信息文摘*, 2019, 19(46):371-372.
- [4] YANG M, LIU C, YU X. Skeletal-related adverse events during bone metastasis of breast cancer: current status [J]. *Discov Med*, 2019, 27(149):211-220.
- [5] HARRIS S R. Differentiating the Causes of Spontaneous Rib Fracture After Breast Cancer [J]. *Clinical breast cancer*, 2016, 16(6):431-436.
- [6] 刘鑫佳, 田华琴, 王斌. 中医药在乳腺癌综合治疗中的作用概况

- [J]. 中医肿瘤学杂志, 2019, 1(2): 85-88.
- [7] 胡升芳, 谷焕鹏, 陈红风, 等. 陆德铭教授扶正祛邪法治疗乳腺癌经验[J]. 中华中医药学刊, 2013, 31(12): 2732-2734.
- [8] 李雯静. 中医治疗乳腺癌用药规律的研究[D]. 长春: 长春中医药大学, 2018.
- [9] 许凯丽, 杜晓红, 李静蔚. 基于数据挖掘的乳腺癌内分泌治疗期不良反应的中医用药规律研究[J]. 中医临床研究, 2018, 10(35): 13-16.
- [10] 张玉柱, 陈红风. 顾氏外科第四代传人治疗乳腺癌术后经验浅析[J]. 中华中医药杂志, 2015, 30(11): 3968-3970.
- [11] 林荔钦, 朱世杰. 基于中医传承辅助系统治疗骨转移方剂组方规律分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(17): 219-222.
- [12] 姚勇伟, 刘云霞, 匡唐洪, 等. 乳腺癌骨转移的中西医机制研究进展[J]. 浙江中西医结合杂志, 2015, 25(2): 207-210.
- [13] ROSSI F, TORTORA C, PUNZO F, et al. The Endocannabinoid/Endovanilloid System in Bone: From Osteoporosis to Osteosarcoma[J]. International journal of molecular sciences, 2019, 20(8): 1919.
- [14] PAGET S. The distribution of secondary growths in cancer of the breast. 1889 [J]. Cancer metastasis reviews, 1989, 8(2): 98-101.
- [15] WU X, LI F, DANG L, et al. RANKL/RANK System-Based Mechanism for Breast Cancer Bone Metastasis and Related Therapeutic Strategies[J]. Front Cell Dev Biol, 2020, 8: 76.
- [16] CHEN Y C, SOSNOSKI D M, MASTRO A M. Breast cancer metastasis to the bone: mechanisms of bone loss [J]. Breast cancer research: BCR, 2010, 12(6): 215.
- [17] WU C, CHEN M, SUN Z, et al. Wenshen Zhuanggu formula mitigates breast cancer bone metastasis through the signaling crosstalk among the Jagged1/Notch, TGF-beta and IL-6 signaling pathways[J]. J Ethnopharmacol, 2019, 232: 145-154.
- [18] HOLEN I, LEFLEY D V, FRANCIS S E, et al. IL-1 drives breast cancer growth and bone metastasis in vivo[J]. Oncotarget, 2016, 7(46): 75571-75584.
- [19] WANG S W, SUN Y M. The IL-6/JAK/STAT3 pathway: potential therapeutic strategies in treating colorectal cancer (Review)[J]. Int J Oncol, 2014, 44(4): 1032-1040.
- [20] SEVERE N, DIEUDONNE F X, MARIE P J. E3 ubiquitin ligase-mediated regulation of bone formation and tumorigenesis[J]. Cell Death Dis, 2013, 4(1): e463.
- [21] MARTIN T J, JOHNSON R W. Multiple actions of parathyroid hormone-related protein in breast cancer bone metastasis[J]. Br J Pharmacol, 2019, bph.14709.
- [22] WU M Y, LI C J, YANG G T, et al. Molecular Regulation of Bone Metastasis Pathogenesis[J]. Cellular physiology and biochemistry: international journal of experimental cellular physiology, biochemistry, and pharmacology, 2018, 46(4): 1423-1438.
- [23] LE PAPE F, VARGAS G, CLEZARDIN P. The role of osteoclasts in breast cancer bone metastasis[J]. J Bone Oncol, 2016, 5(3): 93-95.
- [24] ONO T, HAYASHI M, SASAKI F, et al. RANKL biology: bone metabolism, the immune system, and beyond[J]. Inflamm Regen, 2020, 40: 2.
- [25] AMIN N, BOCCARDI V, TAGHIZADEH M, et al. Probiotics and bone disorders: the role of RANKL/RANK/OPG pathway[J]. Aging Clin Exp Res, 2020, 32(3): 363-371.
- [26] 夏天爽, 薛黎明, 张巧艳, 等. 补肾阳与补肾阴中药抗骨质疏松作用的研究进展[J]. 药学实践杂志, 2019, 37(2): 109-114, 155.
- [27] 张威, 郑洪新. 补肾健骨中药防治骨质疏松机制研究概况[J]. 实用中医内科杂志, 2018, 32(11): 74-77.
- [28] DRABSCH Y, DIJKE PTEN. TGF-beta signaling in breast cancer cell invasion and bone metastasis[J]. J Mammary Gland Biol Neoplasia, 2011, 16(2): 97-108.
- [29] HIRAGA T, MYOUI A, HASHIMOTO N, et al. Bone-derived IGF mediates crosstalk between bone and breast cancer cells in bony metastases [J]. Cancer research, 2012, 72(16): 4238-4249.
- [30] SHAN H, TAKAHASHI T, BANDO Y, et al. Inhibitory effect of soluble platelet-derived growth factor receptor beta on intraosseous growth of breast cancer cells in nude mice[J]. Cancer Sci, 2011, 102(10): 1904-1910.
- [31] JAVELAUD D, ALEXAKI V I, DENNLER S, et al. TGF-beta/SMAD/GLI2 signaling axis in cancer progression and metastasis[J]. Cancer research, 2011, 71(17): 5606-5610.
- [32] BENDINELLI P, MARONI P, DALL'OLIO V, et al. Bone Metastasis Phenotype and Growth Undergo Regulation by Micro-Environment Stimuli: Efficacy of Early Therapy with HGF or TGFbeta1-Type I Receptor Blockade[J]. International journal of molecular sciences, 2019, 20(10): 2520.
- [33] WU C, SUN Z, GUO B, et al. Osteonin inhibits bone metastasis of breast cancer[J]. Oncotarget, 2017, 8(35): 58480-58493.
- [34] JOHNSON R W, MERKEL A R, PAGE J M, et al. Wnt signaling induces gene expression of factors associated with bone destruction in lung and breast cancer[J]. Clin Exp Metastasis, 2014, 31(8): 945-959.
- [35] RIEUNIER G, WU X, MACAULAY V M, et al. Bad to the Bone: The Role of the Insulin-Like Growth Factor Axis in Osseous Metastasis [J]. Clinical cancer research: an official journal of the American Association for Cancer Research, 2019, 25(12): 3479-3485.

(收稿日期: 2020-06-24)

(本文编辑: 金冠羽)

悦读《中医药通报》

感受中医药文化

欢迎订阅(邮发代号: 34-95)