



槐耳颗粒通过抑制 Bmi-1 与 CD133 表达 减少三阴性乳腺癌全身转移的研究

李竞岳¹, 姜大庆²

(1. 辽宁中医药大学, 辽宁 沈阳 110847; 2. 辽宁省肿瘤医院, 辽宁 沈阳 110801)

摘要:目的 研究在不同给药方式下槐耳颗粒对三阴性乳腺癌细胞的作用效果, 及槐耳颗粒是否可以影响 Bmi-1 进而调节肿瘤细胞 CD133 表达以发挥抑制肿瘤细胞转移的作用。方法 选择 40 只 3~4 周龄雌性裸鼠随机分成四组, 预防组、预防及治疗组、治疗组分别于建模前 3 周、建模前及建模后 3 周、建模后 3 周口服给予槐耳清膏溶液, 对照组不给予药物治疗; 建模方式采用左心室注射的方法建立三阴性乳腺癌全身转移模型, 建模后六周观察期后统一处死裸鼠并取标本; 通过 Kaplan-Meier 法分析裸鼠生存时间, 免疫组化法检测裸鼠转移灶内 CD133 及 Bmi-1 的表达, 组间比较采用方差分析。结果 预防及治疗组裸鼠的生存时间最长 (MST=42 d), 其次为治疗组 (MST=39 d), 再次为预防组 (MST=38 d), 对照组裸鼠的生存时间最短 (MST=32 d); 预防及治疗组的 Bmi-1 平均表达最低, 对照组的 Bmi-1 平均表达最高, 不同给药方式与 Bmi-1 的表达之间存在显著性差异 ($P<0.05$); 预防及治疗组的 CD133 平均表达最低, 对照组的 CD133 平均表达最高, 不同给药方式与 CD133 的表达之间存在显著性差异 ($P<0.05$)。结论 槐耳颗粒对三阴性乳腺癌全身转移具有预防及治疗作用; 槐耳颗粒可能通过激活 Bmi-1 凋亡基因从而减少了三阴性乳腺癌干细胞 CD133 的比例, 进而发挥了预防及治疗三阴性乳腺癌全身转移的作用。

关键词:三阴性乳腺癌; 槐耳颗粒; CD133; Bmi-1; 乳腺癌全身转移

中图分类号: R273

文献标志码: A

文章编号: 1671-7813(2024)03-0096-04

Huaier Granules(槐耳颗粒) May Reduce Systemic Metastases in Triple-Negative Breast Cancer by Inhibiting Expressions of Bmi-1 and CD133

LI Jingyue¹, JIANG Daqing²

(1. Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110847, Liaoning, China;

2. Liaoning Cancer Hospital & Institute, Shenyang 110801, Liaoning, China)

Abstract: Objective To study the effect of Huaier Granules(槐耳颗粒) on triple-negative breast cancer cells under different modes of administration and whether Huaier Granules can affect Bmi-1 and regulate the expression of CD133 in tumor cells to achieve the purpose of inhibiting tumor cell metastasis. Methods Forty 3-4 week-old female nude mice were randomly

基金项目: 辽宁省自然科学基金项目(2019-ZD-0597)

作者简介: 李竞岳(1996-), 男, 山东即墨人, 硕士在读, 研究方向: 中西医结合外科。

通讯作者: 姜大庆(1964-), 男, 山东青岛人, 主任医师, 博士, 研究方向: 肿瘤学。E-mail: drli11@163.com。

- [13] TIAN Y Q, CONG G, YUAN C, et al. Combination therapy of scalp electro-acupuncture and medication for the treatment of Parkinson's disease: A systematic review and meta-analysis [J]. Journal of Traditional Chinese Medical Sciences, 2019, 6(1): 26-34.
- [14] HAN L, SU X Z, ZHANG Z Y, et al. Effect of panlong needling at Jiaji (EX-B2) on motor dysfunction in patients with Parkinson's disease of liver and kidney deficiency: a randomized controlled trial [J]. Zhongguo Zhenjiu, 2022, 42(5): 493-497.
- [15] 陈叶萍, 孙秀萍. 温针灸法配合功能训练改善老年帕金森病患者吞咽功能障碍分析[J]. 辽宁中医药大学学报, 2019, 21(1): 200-202.
- [16] 陈鹏, 刘慧林, 王少松, 等. 火针颅底穴配合体针治疗原发性帕金森病 27 例[J]. 中国针灸, 2021, 41(1): 71-72.
- [17] 于迎春, 赵阳, 梁素萍, 等. 山茱萸-肉苁蓉药对治疗帕金森的网络药理学研究[J]. 中成药, 2020, 42(11): 3034-3040.
- [18] 林瑶, 杨莎莎, 刘婷, 等. 补肾复方对帕金森病模型大鼠不同脑区神经营养因子的影响[J]. 中医杂志, 2019, 60(20): 1760-1765.
- [19] 吴宿慧, 史亚瑾, 安迎风, 等. 肉桂醛对 MPTP 诱导的急性性帕金森模型小鼠的神经保护机制研究[J]. 中国中药杂志, 2022, 47(23): 6485-6493.
- [20] RATHORE A S, SINGH S S, BIRLA H, et al. Curcumin Modulates p62-Keap1-Nrf2-Mediated Autophagy in Rotenone-Induced Parkinson's Disease Mouse Models [J]. ACS chemical neuroscience, 2023, 14(8): 1412-1423.
- [21] ELSHAMARKA M E, ABDELSALAM O M, SHAFEE N, et al. Curcumin modulation of L-dopa and rasagiline-induced neuroprotection in rotenone model of Parkinson's disease [J]. Iranian journal of basic medical sciences, 2023, 26(2): 1-5.



divided into four groups, and the prevention group, prevention and treatment group and treatment group were given Huaierqing Cream(槐耳清膏) solution three weeks before modeling, three weeks before and three weeks after modeling, and three weeks after modeling, respectively, and no drug treatment was given to the control group. The modeling method used the left ventricular injection method to establish a model of triple - negative breast cancer systemic metastasis, and the nude mice were uniformly sacrificed and the specimens were taken out after the observation period of six weeks after modeling. The survival of nude mice was analyzed by Kaplan - Meier method, and the expressions of CD133 and Bmi - 1 in metastases in nude mice were detected by immunohistochemistry, and ANOVA was used for comparison between the two groups. **Results** The nude mice in the prevention and treatment group had the longest survival time(MST = 42 d), followed by that in the treatment group(MST = 39 d) and the prevention group(MST = 38d) and the control group had the shortest survival time(MST = 32 d). The average expression of Bmi - 1 in the prevention and treatment group was the lowest, the average expression of Bmi - 1 in the control group was the highest, and there was a significant difference among different administration methods($P < 0.05$), the average expression of CD133 in the prevention and treatment group was the lowest, and the average expression of CD133 in the control group was the highest, and there was a significant difference among different administration methods($P < 0.05$). **Conclusion** Huaier Granules has preventive and therapeutic effects on systemic metastasis of triple - negative breast cancer. It may reduce the proportion of CD133 in triple - negative breast cancer stem cells by activating the Bmi - 1 apoptosis gene, thereby preventing and treating systemic metastasis of triple - negative breast cancer.

Keywords: triple - negative breast cancer; Huaier Granules (槐耳颗粒); CD133; Bmi - 1; systemic metastases of breast cancer

乳腺癌是乳腺上皮细胞发生增殖失控、恶性变而导致的一种疾病,世界卫生组织国际癌症研究机构(IARC)于2020年发布的数据显示,乳腺癌已经超越肺癌成为全球新发病率最高的癌症^[1]。随着影像学技术的不断进步和综合治疗水平的不断提高,其病死率逐渐降低^[2]。乳腺癌分为Luminal A型、Luminal B型、人表皮生长因子受体2(HER-2)过表达型、三阴性型^[3]。三阴性乳腺癌患者发生肿瘤侵袭、转移的风险明显高于其他分型乳腺癌患者,经过临床治疗后预后仍然较差^[4]。免疫治疗方兴未艾,只有部分三阴性乳腺癌患者可以从PD-1或PD-L1中获益^[5]。因此临床上急需对三阴性乳腺癌进行其他药物的研发与尝试。

槐耳最早出自于《唐本草》,其记载:“主五痔,心痛,女人阴中疮痛”。李时珍《本草纲目》也记载了槐樗。《中药大辞典》记载其“治痔疮,便血,脱肛,崩漏”^[6]。现代研究显示,槐耳具有多种抗肿瘤作用,其中包括对肿瘤细胞的直接抑制,诱导肿瘤细胞死亡,抑制肿瘤转移,抗肿瘤血管生成以及抗肿瘤免疫调节等^[7]。任建庄等^[8]于2009年首次将槐耳提取物作用于人肝癌细胞中,实验结果表明,槐耳不仅能抑制肝癌细胞的生长,还能抑制肿瘤血管生成,并能诱导肝癌细胞凋亡。齐文文等^[9]于2016年将槐耳应用于乳腺癌研究中,结果表明槐耳提取物与他莫昔芬协同作用,可以通过抑制AKT/mTOR途径诱导ER阳性乳腺癌细胞的自噬和凋亡。2021年由邵志敏牵头的槐耳颗粒用于高危早期三阴性浸润性导管癌术后辅助治疗的前瞻性、多中心、随机、对照、开放研究也正如如火如荼地进行中,研究表明从槐耳中分离得到的多种多糖类成分具有较好的抗肿瘤活性^[10]。因为中药的复杂成分及其多靶点性,我们有必要对槐耳颗粒治疗三阴性乳腺癌的机理进行进一步的研究及探讨。研究认为,癌症干细胞是肿瘤发生的驱动因素,而三阴性乳腺癌的特点正是乳腺癌干细胞高表达^[11]。CD133已被证实可作为乳腺癌干细胞的标志物之一^[12]。实验提示,BMI1是一个重要的干细胞的控制开关,在多种肿瘤,包括头颈鳞癌、大肠癌等中都有着重要干细胞调节功能,且既往研究显示Bmi-1促进了乳腺癌的淋巴转移^[13-14]。因此本实验旨在通过研究槐耳颗粒对三阴性乳腺癌荷瘤裸鼠生存期的影响以及槐耳颗粒对三阴性乳腺癌细胞中Bmi-1及CD133表达的影响进而探究槐耳颗粒对三阴性乳腺癌是否具有预防及抑制转移的作用。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物及分组 实验动物取40只无特定病原体(SPF)级BALB/c雌性裸鼠(SN0001651),购于辽宁长生生物技术股份有限公司,体质量18~23g,周龄3~4周,饲养于SPF环境内。40只裸鼠按随机数字表法分为四组,组别名称预防组(建模前给药)、预防及治疗组(建模前及建模后均给药)、治疗组(建模后给药)、对照组,每组10只。

1.1.2 实验试剂 槐耳清膏为槐耳颗粒的提取物,由江苏省启东盖天力药业有限公司提供(220303);人乳腺癌MDA-MB-231购自美国组织细胞库(American Type Culture Collection, ATCC, CRM-HTB-26);兔抗鼠Bmi-1单克隆抗体(ab126783)及兔抗鼠CD133单克隆抗体(ab271092)购自英国Abcam公司;RPMI-1640培养基购于美国Gibco公司(11835030);胎牛血清购于美国Gibco公司(10091148);异氟烷购于上海雅培制药有限公司(86900811000032);通用SP检测试剂盒购于北京索莱宝科技有限公司(SP0041)。

1.2 实验方法

1.2.1 建模前裸鼠饲养 建模前裸鼠饲养于SPF级洁净动物房内。槐耳清膏于动物实验中的使用计量标准为2.5g/kg。将槐耳清膏溶于同等质量的蒸馏水中制成槐耳清膏溶液。预防组和预防及治疗组每日以口服方式给予槐耳清膏溶液,每次取用0.1mL,1次/d,连续3周。

1.2.2 荷瘤裸鼠建模 将MDA-MB-231细胞放入细胞培养液(10%胎牛血清和90%RPMI-1640)中培养并传代,取对数生长期的MDA-MB-231细胞,经胰蛋白酶消化后,磷酸盐缓冲液冲洗制成细胞悬液,将人乳腺癌MDA-MB-231细胞系与聚集诱导发光纳米点(AIE-dots)孵育4h,以追踪活细胞,在SPF环境下将MDA-MB-231细胞悬液(7.5×10^5 个悬浮于150μL磷酸盐缓冲液)于左心室注射至裸鼠体内。注射后3min将裸鼠使用2%异氟烷吸入诱导麻醉,使用小动物成像(SAI)(FXPro, kodak, USA)为每只裸鼠拍照,检测体内荧光色素的分布,以证明手术成功。

1.2.3 建模后裸鼠饲养 建模后裸鼠饲养于SPF级洁净环境内。预防及治疗组和治疗组以同样方式每日口服给予槐耳清膏溶液,1次/d,连续3周。建模后6周观察期内,每周以同法麻醉裸鼠后使用小动物成像仪进行拍照并记录荷瘤裸鼠的乳腺癌转移情况。死亡裸鼠及时切取转移灶标本并制成标本蜡块。6周后统一所有裸鼠麻醉吸入过量,检查其转移情况,同

法切取标本制成标本蜡块。每只裸鼠转移灶的石蜡标本切取 10 张切片。

1.2.4 石蜡切片的处理及测定表达 石蜡切片脱蜡后用 3% H_2O_2 室温处理 10 min, 蒸馏水清洗 3 次。滴加封闭液(山羊血清)室温处理 20 min。分别加入一抗 Bmi-1 抗体和一抗 CD133 抗体, 体积稀释比例 1:1000, 置于 4℃ 条件下培育过夜, 使用 PBS 冲洗 3 次。再滴加 Bio 工作液, 于 37℃ 摇床孵育 30 min, PBS 冲洗 3 次。滴加链霉亲和素-POD 工作液, 置于 37℃ 条件下培育 30 min, 使用 PBS 冲洗 3 次。加入 DAB 显色液, 室温显色反应 15 min 后蒸馏水洗涤, 使用苏木素复染, 脱水, 透明, 封片。

1.2.5 结果的判断 随机选择 5 个视野, 该区域进行拍照后使用 ImageJ7.0 图像分析软件对该视野中阳性表达部分的积分吸光度(IOD)值进行测量, 取平均值作为该标本的染色强度。通过 ImageJ7.0 图像分析软件对每组间每只裸鼠转移瘤的 Bmi-1 和 CD133 表达进行分析, 得到每只裸鼠转移瘤的 Bmi-1 和 CD133 表达的平均 IOD 值。

1.2.6 数据分析 采用 Kaplan-Meier 法分析裸鼠生存时间, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。SPSS 20.0 数据分析软件对 40 只裸鼠转移瘤标本的 Bmi-1 和 CD133 蛋白表达的 IOD 值进行分析, 组间比较采用方差分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

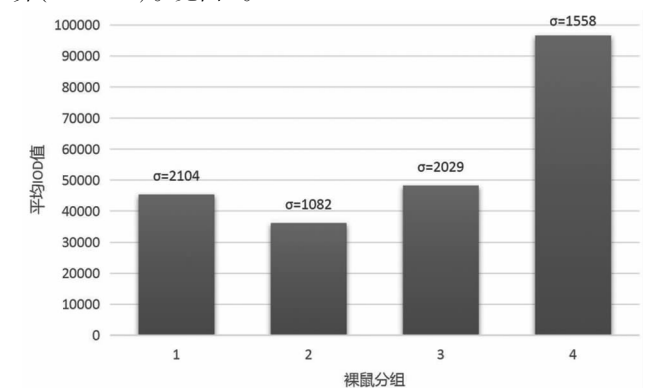
2 结果

2.1 裸鼠生存与不同给药方式之间的关系

采用 Kaplan-Meier 法分析裸鼠生存, 结果预防及治疗组裸鼠的生存时间最长(MST=42 d), 其次为治疗组(MST=39 d), 再次为预防组(MST=38 d), 对照组裸鼠的生存时间最短(MST=32 d), $P=0.003$ 。

2.2 Bmi-1 和 CD133 的表达与不同给药方式之间的关系

经小动物成像仪拍照发现 90% 的转移发生在胸腔以内, 包括肺转移及胸膜转移, 因此本研究以肺转移为主。在对 Bmi-1 表达的统计中预防及治疗组的 Bmi-1 平均表达最低, 对照组的 Bmi-1 平均表达最高, 不同给药方式与 Bmi-1 的表达之间存在显著性差异($P<0.05$); 在对 CD133 表达的统计中预防及治疗组的 CD133 平均表达最低, 对照组的 CD133 平均表达最高, 不同给药方式与 CD133 的表达之间存在显著性差异($P<0.05$)。见图 1。



裸鼠分组	平均 IOD 值
1	2104
2	1082
3	2029
4	1558

图1 各组 Bmi-1 表达平均 IOD 值

3 讨论

本实验中采用 Kaplan-Meier 法分析裸鼠生存, 提示不同给药方式均可以延长裸鼠的生存时间。这与既往研究中单一的给药方式有所不同, 2006 年李立新等在对槐耳浸膏干预荷瘤裸鼠肝癌转移的实验研究中, 其实验组的给药方式为建立肝癌模型后消化道给药; 之后 2015 年张袁骥等在对槐耳浸膏干

预小鼠胃癌模型的实验研究中, 其实验组的给药方式同样为建立胃癌模型后经消化道给药^[15-16]。以上实验得出的结果仅提示了槐耳清膏对肝癌及胃癌的治疗作用, 而本实验采用建立模型前、后以及建模前后联合的给药方式, 提示槐耳颗粒对三阴性乳腺癌的全身转移存在预防作用, 而这种预防作用如果连同建模后的治疗可以显著加强。在临床方面, 2016 年雷姗姗等通过实验提示槐耳颗粒可以激活三阴性乳腺癌患者术后的免疫功能以达到预防三阴性乳腺癌转移的作用; 李志华等在对激素受体阴性乳腺癌患者术后随访中得出, 槐耳颗粒可有效地减少乳腺癌的短期复发转移, 延长患者的无复发生存时间^[17-18]。最近郝莎等提出槐耳颗粒联合盐酸吡柔比星对 MDA-MB-231 乳腺癌细胞荷瘤裸鼠的肿瘤具有明显抑制作用, 而王小龙等曾提出槐耳提取物可以减少 MCF-7 乳腺癌细胞系中的干细胞表达^[19-20]。因此槐耳颗粒是否可以三阴性乳腺癌细胞系中的干细胞产生抑制作用值得我们进一步研究。

既往研究表明, 肿瘤干细胞具有强大的体内成瘤能力以及较强的转移能力^[21-22]。乳腺癌被认为是一种与肿瘤干细胞密切相关的疾病, 肿瘤干细胞在乳腺癌的发生和转移中均发挥着关键的作用, 而三阴性乳腺癌富含肿瘤干细胞, 并具有独特的维持肿瘤干细胞表型的分子机制和肿瘤微环境^[23-24]。CD133 作为肿瘤干细胞的特异性标志物之一, 存在于包括了乳腺癌在内的许多其他实体瘤的癌症干细胞中^[25-26]。本实验中对对照组的 CD133 平均表达显著高于实验组, 其中预防及治疗组的 CD133 平均表达最低($P<0.01$), 给予槐耳颗粒后实验组的 CD133 表达明显降低, 因此我们推测槐耳颗粒可以通过减少肿瘤干细胞比例从而降低三阴性乳腺癌细胞转移进而延长裸鼠生存。CD133 的表达与乳腺肿瘤大小、临床分期及预后相关, 而通过增加三阴性乳腺癌中 CD133 细胞的比例可实现血管生成拟态, 进而加速三阴性乳腺癌的转移并提示预后不良^[27-30]; 同时还有研究表明通过降低 CD133 的表达可以抑制三阴性乳腺癌细胞的转移及侵袭, 而直接靶向 CD133 细胞显示癌细胞迁移减少和下游肿瘤抑制因子表达上调^[12,31]。我们在本实验中得到的结果与既往研究相一致。近年来的实验提示 Bmi-1 可以调控 CD133 的表达从而影响肿瘤细胞干性。本实验中对对照组的 Bmi-1 平均表达明显高于实验组, 预防及治疗组的 Bmi-1 平均表达最低($P<0.01$), 因此我们推测槐耳颗粒有可能通过抑制 Bmi-1 表达进而影响 MDA-MB-231 乳腺癌细胞转移的作用。Bmi-1 基因是一种癌基因, 其参与肿瘤的发生, 在多种癌组织例如乳腺癌中 Bmi-1 的 mRNA 及蛋白表达水平均较高, 且 Bmi-1 过表达与乳腺恶性肿瘤的疾病进展和不良临床结局有关^[32-33]。GRIFFITH J 等认为, 沉默人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞中 Bmi-1 基因表达导致 Bmi-1 在 mRNA 和蛋白质水平上显著降低, 通过与对照细胞相比, MDA-MB-231 细胞迁移显著减少^[34]。既往研究提示在其他癌种中, Bmi-1 可以影响 CD133 的表达, 例如在喉癌中 Bmi-1 基因表达是 CD133 细胞致瘤性的核心, 在肝癌中 Bmi-1 是通过诱导上皮间质转化促进 CD133 细胞的侵袭和迁移, 同样也有实验提示, 在结肠癌中 Bmi-1 通过下调钙黏蛋白 E 促进 CD133 的入侵和迁移^[35-37]。

本实验中 CD133 的降低伴随了 Bmi-1 的低表达, 因此我们推测槐耳颗粒可能通过激活 Bmi1 凋亡基因从而减少了三阴性乳腺癌干细胞 CD133 的比例, 进而发挥了预防及治疗三阴性乳腺癌全身转移的作用, 但具体机制有待进一步的实验进行探讨。但无论如何, 不同给药方式都显著延长了裸鼠的生存时间, 特别是在建模前后联合用药组的生存期最长, 提示槐耳颗粒可以有效地预防三阴性乳腺癌全身转移的发生, 而这种机制



更需要进一步的实验验证。

参考文献

- [1] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL RL, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries[J]. CA: A Cancer Journal for Clinicians, 2021, 71(3): 209–249.
- [2] SIEGEL RL, MILLER KD, JEMAL A. Cancer statistics, 2020[J]. CA: a cancer journal for clinicians, 2020, 70(1): 7–30.
- [3] SCHNITT, STUART J. Classification and prognosis of invasive breast cancer: from morphology to molecular taxonomy[J]. Modern Pathology, 2010, 23(S2): 60–64.
- [4] MARRA A, VIALE G, CURIGLIANO G. Recent advances in triple negative breast cancer: the immunotherapy era[J]. BMC Medicine, 2019, 17(1): 90.
- [5] F SCHÜTZ, S STEFANOVIC, L MAYER, et al. PD–1/PD–L1 Pathway in Breast Cancer[J]. Oncology Research & Treatment, 2017, 40(5): 294.
- [6] 江苏新医学院. 中药大辞典[M]. 上海: 上海人民出版社, 1977.
- [7] JUN, PAN, CHENGHUI, et al. Trametes robiniophila Murr: a traditional Chinese medicine with potent anti–tumor effects[J]. Cancer Management & Research, 2019(2019): 11–15.
- [8] REN J, ZHENG C, FENG G, et al. Inhibitory effect of extract of fungi of Huaier on hepatocellular carcinoma cells[J]. Journal of Huazhong University of Science & Technology Medical Sciences, 2009, 38(6): 18–22.
- [9] QI W, SUN M, KONG X, et al. Huaier extract synergizes with tamoxifen to induce autophagy and apoptosis in ER–positive breast cancer cells[J]. Oncotarget, 2016, 7(18): 10–13.
- [10] ZHENG J, LI C, WU X, et al. Huaier polysaccharides suppresses hepatocarcinoma MHCC97–H cell metastasis via inactivation of EMT and AEG–1 pathway[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2014(64): 106–110.
- [11] HE L, WICK N, GERMANS SK, et al. The Role of Breast Cancer Stem Cells in Chemoresistance and Metastasis in Triple–Negative Breast Cancer[J]. Cancers (Basel), 2021, 13(24): 6209.
- [12] YIN H, XIONG G, GUO S, et al. Delivery of Anti–miRNA for Triple–Negative Breast Cancer Therapy Using RNA Nanoparticles Targeting Stem Cell Marker CD133[J]. Molecular Therapy, 2019, 27(7): 1252–1261.
- [13] GUO B H, FENG Y, ZHANG R, et al. Bmi–1 promotes invasion and metastasis, and its elevated expression is correlated with an advanced stage of breast cancer[J]. Molecular Cancer, 2011, 10(1): 10.
- [14] CHEN D, WU M, LI Y, et al. Targeting BMI1 + Cancer Stem Cells Overcomes Chemoresistance and Inhibits Metastases in Squamous Cell Carcinoma[J]. Cell Stem Cell, 2017(2017): 621–634.
- [15] 李立新, 叶胜龙, 王艳红, 等. 槐耳浸膏干预荷瘤裸鼠肝癌转移的实验研究[J]. 肝脏, 2006, 11(6): 404–404.
- [16] 张袁骥, 程向东, 徐志远, 等. 槐耳清膏抑制小鼠模型人胃癌 MKN–45 细胞生长和转移的实验研究[J]. 浙江中西医结合杂志, 2016, 26(3): 219–222, 304.
- [17] 雷姗姗, 王映, 顾晓文, 等. 槐耳颗粒在三阴性乳腺癌术后辅助治疗的临床研究[J]. 中国普通外科杂志, 2016, 25(5): 717–723.
- [18] 李志华, 胡大水, 胡永春, 等. 槐耳颗粒预防激素受体阴性乳腺癌患者复发转移的效果及随访情况[J]. 广东医学, 2016, 37(9): 1388–1391.
- [19] 郝莎, 孙浩, 李宏峰, 等. 槐耳联合化疗对荷乳腺癌裸鼠疗效观察[J]. 中国慢性病预防与控制, 2021, 29(12): 946–949, 967.
- [20] WANG X, ZHANG N, HUO Q, et al. Anti–angiogenic and antitumor activities of Huaier aqueous extract[J]. Oncology reports, 2012, 28(4): 1167–1175.
- [21] CLARKE M F. Self–renewal and solid tumor stem cells[J]. Biol Blood Marrow Transplant, 2005, 11(S2): 14–16.
- [22] PEITZSCH C, TYUTYUNNYKOVA A, PANTEL K, et al. Cancer stem cells: The root of tumor recurrence and metastases[J]. Seminars in Cancer Biology, 2017(44): 10–24.
- [23] BACCELLI I, SCHNEEWEISS A, RIETHDORF S, et al. Identification of a population of blood circulating tumor cells from breast cancer patients that initiates metastasis in a xenograft assay[J]. Nature Biotechnology, 2013, 31(6): 539–544.
- [24] KANG YE, LI JIANYI, YANG XIANGHONG. Research progress of cancer stem cells in triple negative breast cancer[J]. Journal of International Oncology, 2019, 46(6): 362–365.
- [25] AGHAJANI M, MANSOORI B, MOHAMMADI A, et al. New emerging roles of CD133 in cancer stem cell: Signaling pathway and miRNA regulation[J]. Journal of Cellular Physiology, 2019, 234(1): 1–5.
- [26] TAY S, AMANO T, EDWARDS L A, et al. CD133 mRNA–transfected dendritic cells induce coordinated cytotoxic and helper T cell responses against breast cancer stem cells[J]. BMC Medicine, 2021(2021): 40–42.
- [27] ZHAO P, LU Y, JIANG X, et al. Clinicopathological significance and prognostic value of CD133 expression in triple–negative breast carcinoma[J]. Cancer Science, 2011, 102(5): 58–61.
- [28] LUAN Y Y, LIU Z M, ZHONG J Y, et al. Effect of Grape Seed Proanthocyanidins on Tumor Vasculogenic Mimicry in Human Triple–negative Breast Cancer Cells[J]. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention Apjcp, 2015, 16(2): 531–535.
- [29] PLANTAMURA I, CASALINI P, DUGNANI E, et al. PDGFR β and FGFR2 mediate endothelial cell differentiation capability of triple negative breast carcinoma cells[J]. Molecular Oncology, 2014, 8(5): 968–981.
- [30] ZHANG D, SUN B, ZHAO X, et al. Twist1 expression induced by sunitinib accelerates tumor cell vasculogenic mimicry by increasing the population of CD133+ cells in triple–negative breast cancer[J]. Molecular Cancer, 2014, 13(1): 207.
- [31] BRUGNOLI F, GRASSILLI S, LANUTI P, et al. Up–modulation of PLC– β 2 reduces the number and malignancy of triple–negative breast tumor cells with a CD133+/EpCAM+ phenotype: a promising target for preventing progression of TNBC[J]. BMC Cancer, 2017, 17(1): 617.
- [32] KIM J H, YOON S Y, JEONG S H, et al. Overexpression of Bmi–1 oncoprotein correlates with axillary lymph node metastases in invasive ductal breast cancer[J]. Breast, 2004, 13(5): 383–388.
- [33] SILVA J, VANESA GARCÍA, JOSÉ M GARCÍA, et al. Circulating Bmi–1 mRNA as a possible prognostic factor for advanced breast cancer patients[J]. Breast Cancer Research, 2007, 9(4): 55.
- [34] GRIFFITH J, ANDRADE D, MEHTA M, et al. Silencing BMI1 radiosensitizes human breast cancer cells by inducing DNA damage and autophagy[J]. Oncology reports, 2017, 37(4): 2382–2390.
- [35] WEI X, HE J, WANG J, et al. Bmi–1 is essential for the oncogenic potential in CD133(+) human laryngeal cancer cells[J]. Tumour Biol, 2015, 36(11): 8931–8942.
- [36] ZHANG Z, WANG Q, BU X, et al. Overexpression of Bmi1 promotes epithelialmesenchymal transition in CD133+ Hep G2 cells[J]. Molecular Medicine Reports, 2017, 16(5): 6156.
- [37] ZHANG Z, BU X, CHEN H, et al. Bmi–1 promotes the invasion and migration of colon cancer stem cells through the downregulation of E–cadherin[J]. International journal of molecular medicine, 2016, 38(4): 1199–1207.