

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2019.05.010

大豆苷元增强多西紫杉醇体外杀伤三阴性乳腺癌作用研究 *

金 时¹ 耿健雄¹ 曹守波¹ 曹鸿艳² 胡 靖¹

(1 哈尔滨医科大学附属肿瘤医院肿瘤内科 黑龙江 哈尔滨 150041; 2 齐齐哈尔市第一医院肿瘤科 黑龙江 齐齐哈尔 140001)

摘要 目的: 研究大豆苷元通过调节 BRCA1 表达逆转多西紫杉醇耐药的具体机制。**方法:** 应用三阴性人乳腺癌细胞系 MDA-MB-231、SUM-1315 作为研究对象,通过 MTT 法评估分析不同治疗组的抑瘤率,应用流式细胞仪检测各治疗组细胞的凋亡情况;应用 western-blot 分析各治疗组 BRCA1 及凋亡相关蛋白的表达情况。**结果:** 研究发现大豆苷元、多西紫杉醇及联合组对乳腺癌 MDA-MB-231、SUM1315 细胞的抑制呈浓度依赖的原则。并且 BRCA1 表达的细胞系 MDA-MB-231 比 BRCA1 突变的细胞系 SUM1315 抑瘤率更高,两个细胞系不同治疗组分别与对照组相比较,凋亡率明显升高,均具有统计学意义;且随着大豆苷元的加入,可使多西紫杉醇的凋亡率显著增加,并且可减少多西紫杉醇的用量。在 SUM-1315 细胞系,大豆苷元逆转多西紫杉醇耐药,增加凋亡比率更为显著。大豆苷元可使 BRCA1 突变型的三阴性乳腺癌细胞系 SUM-1315 表达 BRCA1,并具有浓度依赖性。对各组细胞的凋亡蛋白的变化进行免疫印迹分析表明大豆苷元联合多西紫杉醇可通过调节 caspase 依赖的凋亡通路活性来增强多西紫杉醇的凋亡作用,从而增强乳腺癌细胞杀伤。**结论:** 大豆苷元可通过调节 BRCA1 表达量,协同增强多西紫杉醇类药物杀伤三阴性乳腺癌细胞,促进凋亡进而逆转化疗耐药。

关键词: 三阴性乳腺癌;大豆苷元;BRCA1;凋亡

中图分类号: R-33; R737.9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2019)05-842-04

Effects of Daidzein Reverse Docetaxel Resistance by Regulating the Expression of BRCA1*

JIN Shi¹, GENG Jian-xiong¹, CAO Shou-bo¹, CAO Hong-yan², HU Jing¹

(1 Harbin Medical University Tumor Hospital, Harbin, Heilongjiang, 150041, China;

2 The first affiliated Hospital of Qiqihar, Qiqihar, Heilongjiang, 140001, China)

ABSTRACT Objective: To study the specific mechanism of daidzein to reverse docetaxel resistance by regulating the expression of BRCA1. **Methods:** The tri-negative human breast cancer cell line MDA-MB-231 and SUM-1315 were used as the study, and the MTT method was used to evaluate the rate of tumor grow inhibition during different treatment groups, and the cell apoptosis was detected by flow cytometry. Apoptosis related proteins expressions were analyzed by western-blot. **Results:** We found that the inhibition rate of the daidzein, docetaxel and combined groups were concentration-dependent in the MDA-MB-231 and SUM1315 cells. And the inhibitory rate in MDA-MB-231 is higher than SUM1315. Different treatment groups compared with control group in both two cell lines, apoptosis rate increased significantly. And all groups have statistically significant. With the addition of daidzein, the apoptosis rate of docetaxel groups can be significantly increased, at the same time, the dosage of docetaxel can be reduced. In the SUM-1315 cell line, daidzein can reverse docetaxel resistance and increase apoptosis ratios. Daidzein can change the expression of BRCA1 according to the concentration dependence in the tri-negative breast cancer cell line. The change of apoptosis protein immunoblot analysis in each cell line showed that daidzein and docetaxel by adjusting apoptotic pathways of caspase dependent activity to enhance the apoptosis effect of docetaxel, thus improve cytotoxicity. **Conclusions:** This paper illustrates the daidzein enhance docetaxel killing activity and reverse the drug resistance mechanism by regulating the expression of BRCA1 in tri-negative breast cancer cells.

Key words: Triple negative breast cancer; Daidzein; BRCA1; Apoptosis

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R737.9 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2019)05-842-04

前言

全世界每年有一百万新发乳腺癌患者^[1,2],其中 10%-17%为受体三阴性乳腺癌(Triple negative breast cancer, TNBC)。TNBC 患者发病年龄早,组织学分级及预后均较差,淋巴结的阳性率

高,易出现局部复发和远处转移,复发转移后生存期短(70%的 TNBC 患者在确诊后 5 年内死亡)^[3,4]。BRCA1 在 TNBC 发病中发挥重要作用,Lafarge 等发现 BRCA1 突变表达的乳腺癌细胞系的信号监督作用异常,导致抗微管类化疗药 VCR 和 Taxol 疗效降低^[5]。Jennifer E. Quinn 等体外利用 si-RNA 抑制内源性

* 基金项目:黑龙江省教育厅科研基金项目(12521284)

作者简介:金时(1979-),博士,主要研究方向:乳腺癌的内分泌治疗;肺癌免疫治疗,E-mail:catherine-jinshi@163.com,电话:0451-86298726

(收稿日期:2018-05-23 接受日期:2018-06-18)

BRCA1 表达后使 BRCA1 缺陷细胞系重新表达野生型 BRCA1, 其对紫杉类化疗敏感性增加大于 1000 倍^[6]。另外, Bernard-Gallon DJ 等人用染料木素 (5 $\mu\text{g/mL}$) 和大豆苷元 (20 $\mu\text{g/mL}$) 处理乳腺癌细胞系后发现大豆苷元明显增加了三阴性乳腺癌细胞系中野生型 BRCA1 蛋白表达水平, 与对照组相比有明显统计学意义^[7]。Anna Cabanes 等学者在乳腺癌大鼠体内也证实大豆异黄酮类可持续上调乳腺组织 BRCA1 mRNA 表达水平, 进而降低乳腺癌风险^[8]。故本文拟研究大豆苷元通过调节 BRCA1 的表达水平, 改变 TNBC 患者对多西紫杉类化疗药物敏感性的具体机制。

1 材料与方法

1.1 主要试剂

凋亡和坏死检测试剂盒购自 Beyotime Institute of Biotechnology, Annexin V-FITC 凋亡试剂盒购自美国 BD 公司, BRCA-1、bcl-2、bax、anti-cleaved caspase-9 和 β -actin 抗体购自 Santa Cruz Biotechnology, USA。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养 MDA-MB-231 (BRCA1 野生型三阴性乳腺癌细胞系) 应用 1640 培养基, SUM1315 (BRCA1 突变型三阴性乳腺癌细胞系) 细胞应用 Ham's F12 medium 培养基, 均在 37 $^{\circ}\text{C}$ 及 5% CO_2 条件下培养。

1.2.2 MTT 法筛选最佳浓度及最佳作用时间 两个细胞系实验均分为九组, 包括对照组、大豆苷元组、多西紫杉醇组及大豆苷元 + 多西紫杉醇组, 参照既往实验和文献结果^[9], 设立不同大豆苷元 (15 or 30 $\mu\text{mol/L}$) 及多西紫杉醇 (1 nmol/L 、2 nmol/L) 浓度其中加入化疗药物前细胞与大豆苷元孵育 24 小时, 加入化疗药物后继续孵育 24 小时, 用 MTT 方法加入 MTT (5 mg/mL) 20 μL , 孵育 4 h 后弃上清液, 每孔加入 150 μL DMSO, 振荡 10 min, 溶解结晶物。用波长为 490 nm 的酶标仪测定各组肿瘤细胞 OD 值, 分别测定不同浓度的大豆苷元与多西紫杉联合后对 MDA-MB-231、SUM1315 细胞生长抑制率的影响, 并与单用大豆苷元或多西紫杉醇进行比较分析, 同时计算出二种药物不同浓度间相互作用的 combination index (CI)。

1.2.3 细胞周期及凋亡的检测 应用 (FITC)- 标记的锚定蛋白 v (Annexin V) 及碘化丙啶 (PI), 将细胞悬液与凋亡试剂盒中的 binding buffer 缓冲液混匀, 将离心后的细胞团计数, 并调整细胞密度为 1×10^5 cells/mL。按 490 μL 细胞悬液内加 5 μL Annexin V 及 5 μL PI 的比例染色, 避光条件下孵育 15 分钟后, 通过流式细胞仪来检测上述条件下不同组别中细胞周期的变化及凋亡率, 将上述结果进行比较、分析。

1.2.4 BRCA1 表达变化的检测 提取 BRCA1 的蛋白提取物, 应用 Western blotting, 检测各组中 BRCA1 的蛋白表达的变化, 并将结果进行比较、分析。具体实验步骤如下: 1) 提取 BRCA1 总蛋白质: 用蛋白提取试剂盒。2) 目的蛋白 BRCA1 及内参 β -actin 的浓度测定: 应用 BCA 试剂盒进行检测。3) 电泳、转膜、封闭: 常规进行 SDS-PAGE 电泳、转膜, 将标记好的 PVDF 膜在封闭液中, 室温振荡封闭 2 h。4) 孵育一抗、二抗: 加入 β -actin 和鼠抗人一抗 (1:500) 进行杂交, 4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜, TBST 漂洗 10 min $\times$

3 次, 加入 HRP 标记羊抗鼠二抗 (1:2000), 室温 1 h 并摇匀, TBST 漂洗 8 min $\times$ 2 次、5 min $\times$ 3 次。5) 显像、分析: 洗涤后的 PVDF 膜用化学发光成像仪显影, 最后条带灰度值使用 Quantityone 分析, 得出结论。通常应用目的条带与内参条带的比值来代表目的蛋白的表达水平。

1.2.5 凋亡相关蛋白的检测 用 Western blotting 方法分别加入 Bcl-2、Bax、caspase9 抗体测定 Bcl-2、Bax、caspase9 蛋白的表达差异。分析大豆苷元联合多西紫杉醇通过调节 BRCA1 对凋亡蛋白表达的影响, 对 caspases 依赖通路信号的影响 (具体实验步骤同 1.2.4)。

1.2.6 统计学分析 实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用方差分析检验方法、非参数检验, 使用 SPSS13.0 软件系统进行统计分析, $P < 0.05$ 有统计学意义。

2 结果

2.1 肿瘤生长抑制及细胞凋亡的检测

应用 MTT 方法检测各组 (对照组、大豆苷元 -15 μM 组、30 μM 组、多西紫杉醇 1 μM 组、2 μM 组、大豆苷元 15 μM + 多西紫杉醇 1 μM 组、大豆苷元 15 μM + 多西紫杉醇 2 μM 组、大豆苷元 30 μM + 多西紫杉醇 1 μM 组、大豆苷元 30 μM + 多西紫杉醇 2 μM 组) 24 h 的抑瘤率。随着加入药物浓度的增加, 各组的抑瘤率均呈现逐渐增高的趋势, 与对照组相比, 统计学上均有明显差异 ($P < 0.05$)。大豆苷元、多西紫杉醇及联合组对乳腺癌 MDA-MB-231、SUM1315 细胞的抑制均呈浓度依赖的原则。并且 BRCA1 表达的细胞系 MDA-MB-231 比 BRCA1 突变的细胞系 SUM1315 各组的抑瘤率均高, 具体见图 1。

Annexin V-FITC/PI (Annexin V-Fluoresceine Isothiocyanate/Propidium Iodide) 染色, 流式细胞仪检测结果表明: 根据 MTT 实验结果, 检测大豆苷元 30 μM 组; 多西紫杉醇 1 μM 组; 2 μM 组及大豆苷元 30 μM + 多西紫杉醇 1 μM 组的凋亡率, 两个细胞系不同治疗组分别与对照组相比较, 凋亡率明显升高, 均具有统计学意义 ($P < 0.05$); 且随着大豆苷元的加入, 可使多西紫杉醇的凋亡率进一步增加, 并且在减少多西紫杉醇的用量至 1 μM 的情况下, 凋亡率与 2 μM 时的凋亡率相当。在 SUM-1315 细胞系, 大豆苷元逆转紫杉醇耐药, 增加凋亡比率较 MDA-MB-231 细胞系更为显著, 具体数值及统计情况见图 2。

2.2 BRCA1 表达的检测

大豆苷元可使 BRCA1 突变型的三阴性乳腺癌细胞系 SUM-1315 表达 BRCA1, 并具有浓度依赖性, 同时, 随着大豆苷元浓度增高, 也可使野生型 BRCA1 表达的细胞系 MDA-MB-231 的 BRCA1 表达量轻度增高, 见图 3。

2.3 凋亡相关蛋白的检测

对各组细胞的凋亡蛋白的变化进行免疫印迹分析, 大豆苷元联合多西紫杉醇组 Bcl-2 (28 kDa) 蛋白表达量较单独用药组减低, Bax (26 kDa)、具有活性的裂解 Caspase-9 (17 kDa) 片段蛋白表达量与之相反, 表明大豆苷元联合多西紫杉醇可通过调节 caspase 依赖的凋亡通路活性来增强多西紫杉醇的凋亡作用, 增强细胞杀伤, 具体如图 4 所示。

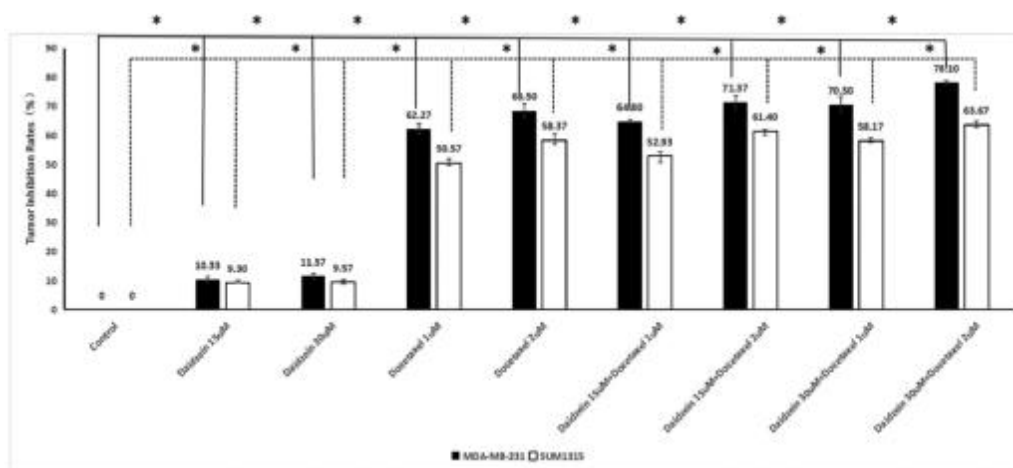


图 1 两个乳腺癌细胞系不同治疗组的抑瘤率

Fig.1 Comparison of the grown inhibition of breast cancer cells among different groups

Note: Data are expressed as $\bar{x} \pm SD$, n=3. *P<0.05.

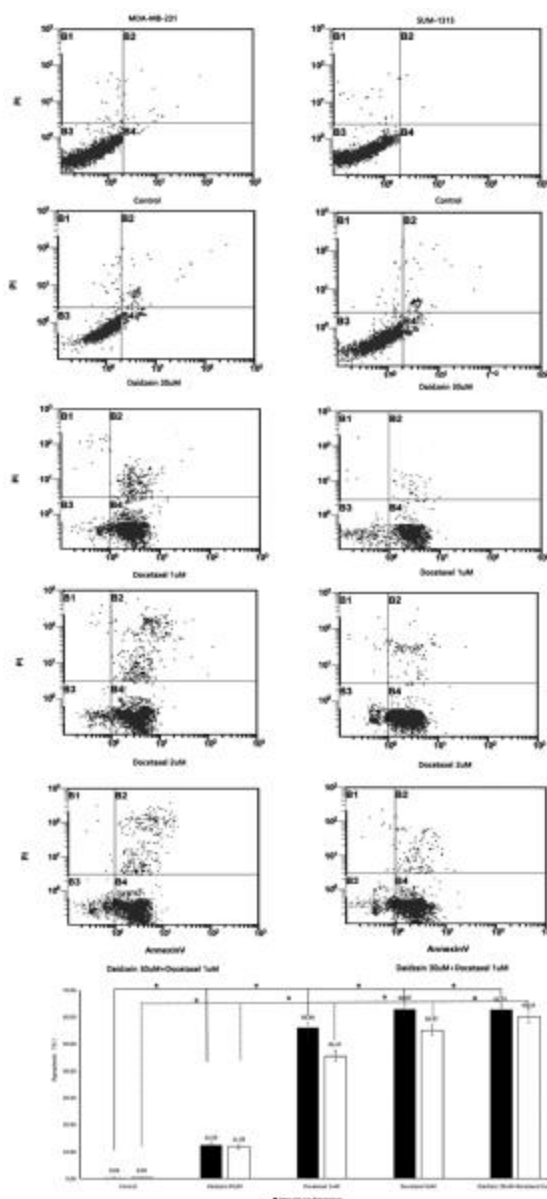


图 2 两个乳腺癌细胞系不同治疗组凋亡率的比较

Fig.2 Comparison of the apoptosis of breast cancer cells among different groups

Note: Data are expressed as $\bar{x} \pm SD$, n=3. *P<0.05.

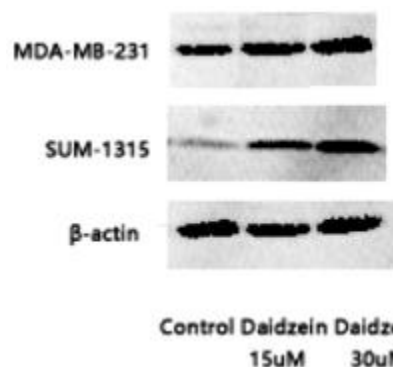


图 3 BRCA1 蛋白表达变化

Fig.3 The BRCA1 protein expression of different breast cancer cells

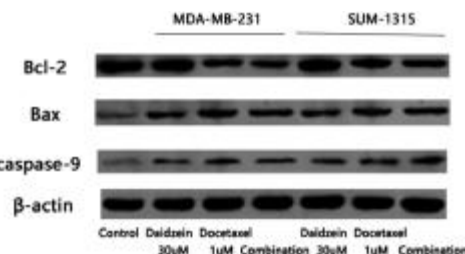


图 4 不同治疗组凋亡相关蛋白的表达情况

Fig.4 The apoptosis proteins expression of breast cancer cells among different groups

3 讨论

近年来国内外对于 TNBC 的治疗始终效果不佳, 尽管分子靶向治疗^[10]、生物治疗已广泛应用, 但化疗仍然是 TNBC 最主要的治疗方法^[11,12]。尽管铂类化疗药物广泛应用^[13], 但治疗效果已经达到了一个平台期, 并且化疗药物的巨大细胞毒作用始终限制了其有效剂量的提高, 加之耐药的频繁出现, 严重影响了肿瘤的治疗效果, 因此寻找具有减毒增效作用的物质与其联合成为肿瘤治疗的一个突破点。在本研究中我们提出利用纯天然、无任何毒副作用的植物雌激素逆转化疗药物耐药, 并从 TNBC 乳腺癌细胞 BRCA1 突变的特点入手, 研究植物雌激素逆转 BRCA1 突变, 进一步分析其影响各种凋亡相关蛋白及凋亡通路的具体生物学机制, 较为系统的阐述联合应用增加疗效

的机理,为临床应用提供理论依据。

BRCA1 基因可以调控多种细胞通路,研究表明它是一种具有肿瘤抑制作用的多功能蛋白^[14,15]。由于遗传等因素可以造成 BRCA1 表达突变甚至缺失,这可直接影响基因组的稳定,以及 DNA 损伤后的修复异常,并且影响到中心粒扩增、与细胞周期相关的细胞重要检测点功能异常。通常来说,在中心粒复制过程中 BRCA1 可发挥负性调节,其突变后中心粒扩增异常。 γ -微球蛋白负责有丝分裂过程中纺锤体形成,它是中心体中的重要部分,BRCA1 可与之作用。有研究证实 25% 的鼠胚胎成纤维细胞 9(FEMs)细胞有多个中心粒,具体分析是由于 BRCA1 表达缺失,导致细胞在有丝分裂期形成多级纺锤体,染色体运动方向紊乱,微核形成,导致中心粒无法正常复制^[16]。此外,BRCA1 还参与转录调控,既可以与 RNA helicase A、DNA 聚合酶 II 等相互作用,调节 p53、P300、STAT1、c-myc、和 CtIP·CtBP 等下游基因的转录活性^[17]。

研究表明,80%~90%的 BRCA1 相关性乳腺癌为三阴性乳腺癌,而且 BRCA1 基因与化疗敏感性相关。直接作用于 DNA 的细胞毒性药物使 DNA 产生损伤后,激活磷脂酰肌醇 3 激酶相关底物 ATM 和 ATR 以及蛋白激酶 CHK2。ATM 可以使 BRCA1 的丝氨酸 Ser1387、Ser1423、Ser1457 和 Ser1524 磷酸化,ATR 使 Ser1423 等 6 个丝氨酸或苏氨酸残基磷酸化。蛋白激酶(CHK2)使 BRCA1 在 Ser988 位点磷酸化。从而激活 BRCA1 介导的细胞周期(S→G2 期)检查点效应^[18],使肿瘤细胞进入 DNA 修复途径,导致化疗药物抵抗。Lafarge 等通过体外抑制 BRCA1 的表达,可以使细胞系对 DDP、VP-16 等化疗药物的敏感性有所增加,但由于 BRCA1 突变后影响了中心粒的扩增、纺锤体的形成,使得抗微管药物 VCR 和 Taxol 的疗效降低^[9]。从而出现了在 BRCA1 突变的 TNBC 患者,紫杉类化疗药物的疗效不佳,出现耐药的情况。

流行病学观察发现消费大量植物雌激素的亚洲女性乳腺癌的发病率远低于西方女性^[19],由此植物雌激素与乳腺癌之间的关系引起了人们的广泛关注。植物雌激素是一类从植物中提取的具有生物活性的多酚成份,其结构与哺乳动物的雌激素 17 β -雌二醇类似。其中异黄酮是植物雌激素最常见也是研究的最广泛、最深入的成份。研究已证实,植物雌激素具有抑制肿瘤、调节细胞周期、促进凋亡^[20]、抗炎、抗氧化、抑制血管生成、抑制转移、逆转耐药等多方面的作用。

由于植物雌激素具有类雌激素样作用,其应用于乳腺癌的安全性一直为人们所担心,植物雌激素在体外低浓度条件下会促进 ER、PR 阳性的乳腺癌细胞生长,但证据表明其对 ER、PR 阴性的细胞却表现出不同的作用。在 ER、PR 阴性的乳腺癌细胞系 MDA-MB-468,白藜芦醇甚至在低于 10 nm 的所有浓度均抑制细胞增殖^[21],同样,在由高到低所有浓度的染料木素、槲皮素均可以减少或不影响 ER、PR 阴性的 MDA-MB-231、HCC-38 细胞的生长^[22]。这些文献排除了我们对安全性的顾虑。

综上所述,本文结合 BRCA1 与肿瘤细胞凋亡的部分关系,进一步明确大豆苷元协同增强紫杉类药物杀伤三阴性乳腺癌细胞,逆转耐药的机制,为大豆苷元结合紫杉类药物的临床应用研究提供了实验基础。

参考文献(References)

- [1] Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics [J]. CA Cancer J Clin, 2013, 63: 11-30
- [2] Leclère B, Molinié F, Trétarre B, et al. Trends in incidence of breast cancer among women under 40 in seven European countries: A GRELL cooperative study[J]. Cancer Epidemiol, 2013, 37: 544-549
- [3] Yeh J, Chun J, Schwartz S, et al. Clinical Characteristics in Patients with Triple Negative Breast Cancer [J]. Int J Breast Cancer, 2017: 1796145
- [4] Ademuyiwa FO, Gao F, Hao L, et al. US breast cancer mortality trends in young women according to race[J]. Cancer, 2015, 121: 1469-1476
- [5] Lafarge S, Sylvain V, Ferrara M, et al. Inhibition of BRCA1 leads to increased chemoresistance to microtubule-interfering agents, an effect that involves the JNK pathway[J]. Oncogene, 2001, 20(45): 6597-6606
- [6] Quinn JE, Kennedy RD, Mullan PB, et al. BRCA1 functions as a differential modulator of chemotherapy-induced apoptosis [J]. Cancer Res, 2003, 63(19): 6221-6228
- [7] Bernard-Gallon DJ, Maurizis JC, Rio PG, et al. Influence of genistein and daidzein on Brca1 protein levels in human breast cell lines [J]. J Natl Cancer Inst, 1998, 90(11): 862-863
- [8] Anna Cabanes, Mingyue Wang, Susan Olivo, et al. Prepubertal estradiol and genistein exposures up-regulate BRCA1 mRNA and reduce mammary tumorigenesis[J]. Carcinogenesis, 2004, 25(5): 741-748
- [9] P Tassone, P Tagliaferri, A Perricelli, et al. BRCA1 expression modulates chemosensitivity of BRCA1-defective HCC1937 human breast cancer cells[J]. British Journal of Cancer, 2003, 88: 1285-1291
- [10] Sikov WM, Berry DA, Perou CM, et al. Impact of the addition of carboplatin and/or bevacizumab to neoadjuvant once-per-week paclitaxel followed by dose-dense doxorubicin and cyclophosphamide on pathologic complete response rates in stage II to III triple-negative breast cancer: CALGB 40603 (Alliance)[J]. J Clin Oncol, 2015, 33: 13-21
- [11] Lee A, Djamgoz MBA. Triple negative breast cancer: Emerging therapeutic modalities and novel combination therapies [J]. Cancer Treat Rev, 2017, (62): 110-122
- [12] Telli ML, Jensen KC, Vinayak S, et al. Phase II Study of Gemcitabine, Carboplatin, and Iniparib As Neoadjuvant Therapy for Triple-Negative and BRCA1/2 Mutation-Associated Breast Cancer With Assessment of a Tumor-Based Measure of Genomic Instability: PRCOG0105 [J]. J Clin Oncol, 2015, 33: 1895-1901
- [13] Petrelli F, Coinu A, Borgonovo K, et al. The value of platinum agents as neoadjuvant chemotherapy in triple-negative breast cancers: a systematic review and meta-analysis [J]. Breast Cancer Res Treat, 2014, 144: 223-232
- [14] Pfeiffer CM, Ho BN, Singh ATK. The Evolution, Functions and Applications of the Breast Cancer Genes BRCA1 and BRCA2[J]. Cancer Genomics Proteomics, 2017, 14(5): 293-298
- [15] Stoppa-Lyonnet D. The biological effects and clinical implications of BRCA mutations: where do we go from here?[J]. Eur J Hum Genet, 2016, 24(Suppl 1): S3-9
- [16] Kais Z, Chiba N, Ishioka C, et al. Functional differences among BRCA1 missense mutations in the control of centrosome duplication[J]. Oncogene, 2012, 31(6): 799-804

(下转第 867 页)

的供血供氧,使原来病变处于低血流灌注、低饱和度状态下并且还未死亡的脑细胞或软化灶周边的残存脑细胞的功能慢慢开始恢复,从而使已失去功能联系的神经网络得以重新建立^[20]。目前,体外反搏治疗在儿童脑外伤中的研究相对较少,但是随着早期康复治疗的脑保护作用不断被证实和应用。近年来,一些国外学者开始逐渐将这种干预手段引入到颅脑外伤的研究中^[21],为儿童脑外伤恢复期患者功能障碍的康复提供新的思路及方法,值得我们进一步深入探讨。

参考文献(References)

- [1] 吴明灿,许先平,陈世洁,等.儿童重型颅脑损伤的原因分析及干预策略[J].实用预防医学,2007,14(3): 859-860
- [2] 黎开谷,梁平,李映良,等.儿童创伤性大面积脑梗死的临床特征[J].中国康复理论与实践,2013,19(1): 74-76
- [3] 唐亮. 以体外反搏为主的综合疗法治疗小儿脑性瘫痪的疗效观察[J].中国康复医学杂志,2008,23(11): 1014-1016
- [4] 王忠诚.神经外科学[M].武汉:湖北科学技术,1998: 279-285
- [5] Won SY, Dubinski D, Herrmann E, et al. Epileptic seizures in patients following surgical treatment of acute subdural hematoma—incidence, risk factors, patient outcome, and development of new scoring system for prophylactic antiepileptic treatment (GATE-24 score)[J]. World Neurosurg, 2017, 101: 416-424
- [6] Semple BD, O'Brien WJ, Gimlin K, et al. Interleukin-1 receptor in seizure susceptibility after traumatic injury to the pediatric brain[J]. J Neurosci, 2017, 37(33): 7864-7877
- [7] 许尚虞,林中啸,蔡铭,等.儿童脑外伤后大面积脑梗死的临床分析[J].中国医师进修杂志,2016,39(4): 66-68
- [8] 梁莹,吴少钊.颅脑外伤所致智力缺损的研究[J].中外医学研究,2012,14(4): 118
- [9] Ji EK, Lee SH. Effects of virtual reality training with modified constraint-induced movement therapy on upper extremity function in acute stage stroke: a preliminary study [J]. J Phys Ther Sci, 2016, 28(11): 3168-3172
- [10] Hang Y, Yang X, Bian F, et al. TNF- α promotes early atherosclerosis by increasing transcytosis of LDL across endothelial cells: cm-stalk between NF- κ B and PPAR- γ [J]. J Mol Cell Cardiol, 2014, 72: 85-94
- [11] 陶惠芳. 颅脑损伤患者开颅手术的围手术期护理效果 [J]. 医药前沿, 2017
- [12] 伍贵富, 虹, 王奎健, 等. 体外反搏作用的新机制及其装置的新发展 [J]. 中山大学学报: 医学科学版, 2006, 27(6): 606-609
- [13] Lin W, Xiong L, Han J, et al. Hemodynamic effect of external counterpulsation is a different measure of impaired cerebral autoregulation from vasoreactivity to breath-holding [J]. Eur J Neurol, 2014, 21: 326-331
- [14] Lin S, Liu M, Wu B, et al. External counterpulsation for acute ischaemic stroke[J]. Cochrane Database Syst Rev, 2012, 1: CD009264
- [15] Lin W, Han J, Chen X, et al. Predictors of good functional outcome in counterpulsation-treated recent ischaemic stroke patients [J]. BMJ Open, 2013, 3: e002932
- [16] Lin W, Xiong L, Han J, et al. Increasing pressure of external counterpulsation augments blood pressure but not cerebral blood flow velocity in ischemic stroke[J]. J Clin Neurosci, 2014, 21: 1148-1152
- [17] Tecson KM, Silver MA, Brune SD, et al. Impact of enhanced external counterpulsation on heart failure rehospitalization in patients with ischemic cardiomyopathy[J]. Am J Cardiol, 2016, 117(6): 901-905
- [18] Liu Y, Xiong Y, Liu D, et al. The effect of enhanced external counterpulsation on C-reactive protein and flow-mediated dilation in porcine model of hypercholesterolaemia[J]. Clin Physiol Funct Imaging, 2012, 32(4): 262-267
- [19] Kessing D, Denollet J, Widdershoven J, et al. Self-care and all-cause mortality in patients with chronic heart failure [J]. JACC Heart Fail, 2016, 4(3): 176-183
- [20] 陈素芹, 李立鹏, 蔡柳燕. 体外反搏在慢性心衰治疗中的疗效观察 [J]. 中国实用医药, 2015, 10(26): 82-84
- [21] Zinkstok SM, Vergouwen MD, Engelter ST, et al. Safety and functional outcome of thrombolysis in dissection-related ischemic stroke: a meta-analysis of individual patient data [J]. Stroke, 2011, 42(9): 2515-2520

(上接第 845 页)

- [17] Mazar J, Rosado A, Shelley J, et al. The long non-coding RNA GAS5 differentially regulates cell cycle arrest and apoptosis through activation of BRCA1 and p53 in human neuroblastoma [J]. Oncotarget, 2017, 8(4): 6589-6607
- [18] Masuda T, Xu X, Dimitriadis EK, et al. "DNA Binding Region" of BRCA1 Affects Genetic Stability through modulating the Intra-S-Phase Checkpoint[J]. Int J Biol Sci, 2016, 12(2): 133-143
- [19] Alipour S, Jafari-Adli S, Eskandari A. Benefits and harms of phytoestrogen consumption in breast cancer survivors[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2015, 16(8): 3091-3396
- [20] Li L, Chen X, Liu CC, et al. Phytoestrogen Bakuchiol Exhibits In Vitro and In Vivo Anti-breast Cancer Effects by Inducing S Phase Arrest and Apoptosis[J]. Front Pharmacol, 2016, 7: 128
- [21] De Giorgi U, Rosti G, Frassinetti L, et al. High-dose chemotherapy for triple negative breast cancer[J]. Ann Oncol, 2007, 18(1): 202
- [22] Van der Woude H, Ter Veld MG, Jacobs N, et al. The stimulation of cell proliferation by quercetin is mediated by the estrogen receptor[J]. Mol Nutr Food Res, 2005, 49(8): 763-771