doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2022.24.001

·基础研究·

GPER 介导的丹参酮ⅡA 抗三阴性乳腺癌细胞 MDA-MB-231 迁移作用机制研究 *

何悦双 刘 姣 石丹宁 杨佳迪 尤凤鸣 赵丕文△

（北京中医药大学生命科学学院 北京 100029）

摘要 目的：基于体外细胞实验，探索丹参酮ⅡA 对三阴性乳腺癌细胞 MDA-MB-231 迁移的抑制作用及其分子机制。**方法：**选取三阴性乳腺癌细胞 MDA-MB-231，利用细胞增殖实验检测丹参酮ⅡA 对 MDA-MB-231 细胞增殖的作用，并筛选适宜的药物浓度；应用划痕实验检测丹参酮ⅡA 对 MDA-MB-231 细胞迁移率的影响；Western Blot 法检测丹参酮ⅡA 对 G 蛋白偶联雌激素受体（G protein-coupled estrogen receptor，GPER）及基质金属蛋白酶 9（Matrix metalloprotein-9，MMP-9）表达的影响。**结果：**细胞增殖实验结果显示，丹参酮ⅡA 可以抑制 MDA-MB-231 细胞增殖，且呈剂量依赖性（$P<0.05$）；划痕实验结果显示，丹参酮ⅡA 可以抑制 MDA-MB-231 细胞迁移，且呈剂量依赖性（$P<0.01$），加入 GPER 特异性抑制剂 G15 后迁移率有所上升（$P<0.01$）。Western Blot 结果显示，丹参酮ⅡA 可以显著下调 GPER 和 MMP-9 蛋白的表达水平并呈剂量依赖性（$P<0.05$），加入 GPER 特异性抑制剂 G15 后，MMP-9 表达有所上升（$P<0.01$）。**结论：**丹参酮ⅡA 可以抑制三阴性乳腺癌细胞 MDA-MB-231 迁移，其机制可能与抑制 GPER 介导的 MMP-9 表达相关。

关键词：三阴性乳腺癌；丹参酮ⅡA；G 蛋白偶联雌激素受体；细胞迁移；基质金属蛋白酶 9

中图分类号：R-33；R737.9 **文献标识码：**A **文章编号：**1673-6273（2022）24-4601-05

Investigation of Anti-migration Effect of Tanshinone ⅡA Mediated by GPER on Triple-negative Breast Cancer Cells MDA-MB-231*

HE Yue-shuang, LIU Jiao, SHI Dan-ning, YANG Jia-di, YOU Feng-ming, ZHAO Pi-wen△

（School of Life Science, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing, 100029, China）

ABSTRACT Objective: To explore the anti-migration effect of Tanshinone ⅡA on triple negative breast cancer cells MDA-MB-231 and its molecular mechanism based on in vitro assays. **Methods:** Triple negative breast cancer cells MDA-MB-231 were selected, and the effect of Tanshinone ⅡA on the proliferation of MDA-MB-231 cells was detected by cell proliferation assay. In addition, the optimal drug concentration was screened. The effect of Tanshinone ⅡA on the migration rate was detected by Wound-Healing assay. Western blot was performed to detect the expression of G protein-coupled estrogen receptor (GPER) and Matrix metalloprotein-9 (MMP-9). **Results:** The results of cell proliferation assay showed that Tanshinone ⅡA could inhibit the proliferation of MDA-MB-231 cells in a dose-dependent manner ($P<0.05$). Wound-Healing assay showed that the Tanshinone ⅡA could inhibit the migration rate in a dose-dependent manner ($P<0.01$). Besides, the migration rate increased after administration of GPER-specific inhibitor, G15 ($P<0.01$). Western Blot showed that Tanshinone ⅡA significantly downregulated expressions of GPER and MMP-9 proteins in a dose-dependent manner ($P<0.05$). The expression of MMP-9 increased after administration of GPER-specific inhibitor G15 ($P<0.01$). **Conclusion:** Tanshinone ⅡA could inhibit the migration of triple-negative breast cancer cell MDA-MB-231, and the mechanism may be related to the inhibition of GPER-mediated MMP-9 expression.

Key words: Triple-negative breast cancer; Tanshinone ⅡA; GPER; Cell migration; MMP-9

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

Article ID: 1673-6273(2022)24-4601-05

前言

乳腺癌多发于 40~55 岁女性，严重威胁着女性健康。乳腺癌可分为雌激素受体阳性（ER+）、雌激素受体阴性（ER- 性）和三阴性三类。其中，由于三阴性乳腺癌具有靶向性差、难治度高、预后不良等特点，成为临床治疗的一大难题。G 蛋白偶联雌

* 基金项目：国家自然科学基金项目（81673764）

作者简介：何悦双（1997-），女，硕士研究生，主要研究方向：中药的植物雌激素样效应的研究，E-mail: heyueshuang@163.com

△ 通讯作者：赵丕文（1967-），女，博士生导师，教授，主要研究方向：妇科常用中药的配伍规律及其分子药理机制的研究，E-mail: pwzhao@263.net

（收稿日期：2022-03-28 接受日期：2022-04-24）

激素受体(G protein-coupled estrogen receptor,GPER)作为雌激素受体的一种,与乳腺肿瘤之间的密切关系已在多项研究中被证实[1-4]。GPER 在特异性乳腺癌细胞中的表达水平多有差异并可受到特异性干预因素的调节，进而影响其介导效应[5]。MMP-9 是基质金属蛋白酶 (MMP)家族的主要成员之一[6]。目前已在多种人类恶性肿瘤的转移中证实存在 MMP-9 表达的增加,如口腔癌、胃癌、肺癌、乳腺癌和宫颈癌等[6-10]。因此,MMP-9 被认为是各种癌症的预后生物标志物之一。丹参为妇科要药,主要成分之一为丹参酮,包括丹参酮 I、丹参酮ⅡA、丹参酮ⅡB、隐丹参酮、异隐丹参酮等 10 余个丹参酮单体[11]。丹参酮ⅡA 对抑制乳腺癌细胞效果显著，已被报道可以通过 PTEN/AKT 通路抑制 MCF-7 细胞活性[12],也可以由 Erb-b2 受体介导影响 MDA-MB-231 细胞的增殖[13],能作为一种潜在的雌激素受体调节剂抑制乳腺癌的发生[14]。但其是否可以由 GPER 介导抑制乳腺癌增殖、迁移尚不明确。本文拟通过体外细胞实验,为分析丹参酮ⅡA 抗三阴性乳腺癌转移的 GPER 机制提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 细胞

人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞，购于中国医学科学院基础医学研究所细胞资源中心。

1.2 药物及试剂

L15 培养基（Hyclone）；胎牛血清、0.05 %胰酶(Gibco)；CCK8、甲醇(Sigma)；GPER、MMP-9 抗体(Abcam),GAPDH 抗体(Proteintech);GPER 特异性拮抗剂 G15(Michigan, USA),甘氨酸、Tween-20（Amresco);BCA 蛋白定量试剂盒、RIPA 裂解液、磷酸酶抑制剂、30 %丙烯酰胺、浓缩胶缓冲液、分离胶缓冲液、蛋白分子量 Marker、三羟甲基氨基甲烷、十二烷基磺酸钠、脱脂奶粉、TEMED、SDS-PAGE 上样缓冲液、ECL 超敏发光液(北京索莱宝科技有限公司)；二抗山羊抗兔 IgG 和山羊抗鼠 IgG(北京中杉金桥生物技术有限公司)。

1.3 主要仪器

VS-1300L-U 超净工作台（日本 AIR TECH 公司)；MCO-20AIC CO_2培养箱（日本 SANYO 公司);3K15 低温离心机（德国 Sigma 公司);TS100 型普通倒置显微镜（日本 Nikon 公司),SAFIREⅡBASIC 多功能荧光酶标仪（瑞士 Tecan 公司),DYY-6C 电泳仪、WD-9405B 水平摇床（北京六一仪器厂);Mini-PROTEAN Tetra Cell 垂直电泳槽、Mini-PROTEAN 转印槽、ChemiDoc 多功能成像系统(美国 Bio-Rad 公司)。

1.4 CCK8 细胞增殖实验

正常培养的 MDA-MB-231 细胞,经 L15 培养基(含 10 % FBS)培养 3 d 后,选取对数生长期细胞,用 0.05 %胰蛋白酶消化 2 min,PBS 洗涤 2 次,加入无血清 L15 培养基,以 1×10^4 个 / 孔的细胞密度接种于 96 孔板内，每孔培养液总体积为 200 μL。培养 24 h 待细胞贴壁后,换为含 0、2.1×10^{-7}、4.2×10^{-7}、8.5×10^{-7}、1.7×10^{-6}、3.4×10^{-6}、6.8×10^{-6} mol/L 丹参酮ⅡA 的 L15 培养液中继续培养;每种受试物均设 6 个复孔。48 h 后弃去培养基,加入 CCK8 试剂(与无血清 L15 培养基 1:10 配制,100 μL/孔),继续孵育 2 h 后,用酶联免疫检测仪在 450 nm 下测定各孔 OD 值,计算抑制率。

1.5 Western Blot 实验

常规培养 MDA-MB-231，使用 0. 05 %胰蛋白酶工作液消化细胞,制备细胞悬液,于 6 孔细胞培养板中每孔接种 2 mL 细胞悬液,每孔约含 5×10^5 个细胞,培养 24 h。除空白组外,低、高、G15+ 高剂量组分别加入丹参酮ⅡA 至终浓度为4.2×10^{-7} mol/L、1.7×10^{-6} mol/L 以及 1×10^{-6} mol/L G15+1.7×10^{-6} mol/L；于培养 48 h 后裂解细胞，提取总蛋白，定量后进行 SDS-PAGE 电泳,使用 PVDF 膜转移后进行电转,封闭后,加入稀释后的 GPER、MMP-9 和 GAPDH 抗体孵育过夜;次日洗膜 10 min/ 次,三次后加入对应二抗孵育 1 h,曝光显影。

1.6 划痕实验

将 MDA-MB-231 接种至 6 孔板中,接种密度为 3×10^5 个 / 孔,待 24 h 后细胞贴壁弃掉培养基。用 200 μL 枪头于细胞表面中划出一道均匀的直行划痕,用 PBS 冲洗划下的细胞,重复两次。更换为含 3% FBS 的培养基,除空白组外,低、高、G15+ 高剂量组分别加入丹参酮ⅡA 至终浓度为 4.2×10^{-7} mol/L、1.7×10^{-6} mol/L 以及 1×10^{-6} mol/L G15+1.7×10^{-6} mol/L;分别在加药后 0 h 和 48 h 于倒置显微镜(4×, 40×)下拍照,并利用 Image J 软件测细胞迁移前后的面积。划痕愈合率 =[(0 h 划痕面积 -48 h 划痕面积)/0 h 划痕面积]×100%。

1.7 统计学分析

实验结果均用 SPSS 26. 0 软件进行数据处理,用 t 检验、单因素方差分析进行统计学分析，以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 丹参酮ⅡA 抑制 MDA-MB-231 细胞的增殖

细胞增殖实验结果显示，丹参酮ⅡA 作用于 MDA-MB-231 细胞 48 小时后,对细胞增殖有明显抑制作用,且抑制率与丹参酮ⅡA 的浓度正相关(图 1)。IC_{50} 值为 2.17×10^{-6} mol/L,综合考虑药效及细胞存活状态，选取浓度为 4.2×10^{-7} mol/L 和 1.7×10^{-6} mol/L 分别作为低、高剂量组用于后续实验。

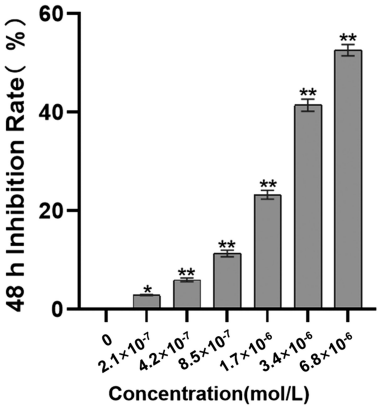

图 1 丹参酮ⅡA 对 MDA-MB-231 细胞抑制率的影响

Fig.1 Effect of TanⅡA on the inhibition rate of MDA-MB-231 cells

Note: The inhibition rate of MDA-MB-231 cells treated with Tan IIA for 48 hours, compared with the control group *$P<0.05$,**$P<0.01$.

2.2 丹参酮ⅡA 通过 GPER 介导抑制 MDA-MB-231 细胞迁移

划痕实验结果显示,对照组迁移率为(45.80±0.90)%相比,给药低剂量组迁移率为(31.19±0.85)%,给药高剂量组迁移率

为（23.82±0.91）%，迁移率随着药物剂量的增加而减少（$P<0.01$）；与给药高剂量组相比，加入 G15 之后迁移率升高到（36.74±0.92）%（$P<0.01$）（图 2A-B）。这些结果证实丹参酮ⅡA 可以通过 GPER 介导，抑制 MDA-MB-231 细胞的迁移。

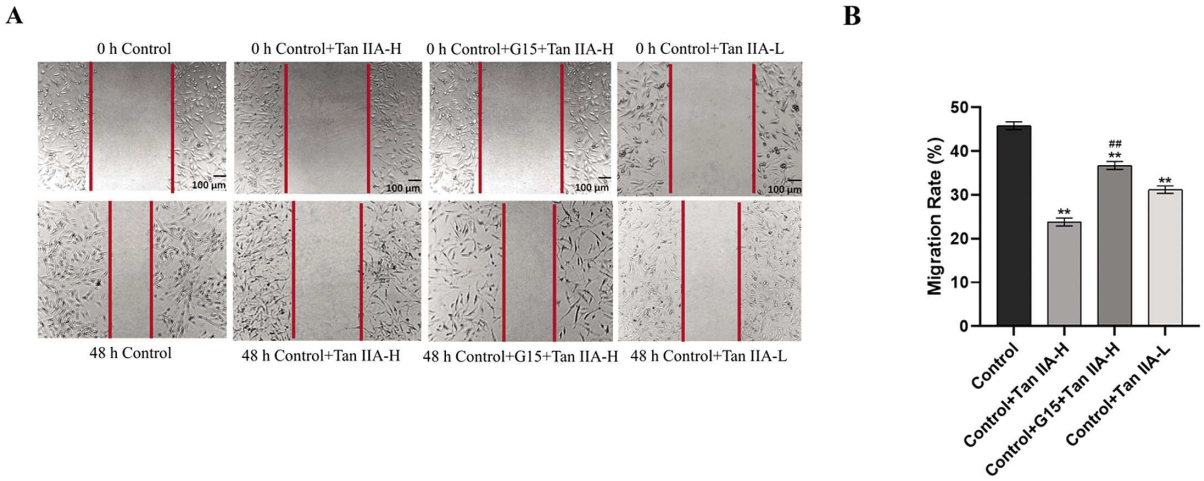

图 2 丹参酮ⅡA 对 MDA-MB-231 细胞迁移的影响

Fig.2 Effect of TanⅡA on the migration of MDA-MB-231 cells

Note: The effect of Tan IIA on the migration of MDA-MB-231 cells was detected by Wound-Healing assay compared with the control group, $^{**}P<0.01$, and $^{\#\#}P<0.01$ compared with the control+TanⅡA -H group.

(A) Results of Wound-Healing assay during 0-48 h. (B) Migration rate of each group.

2.3 丹参酮ⅡA 抑制 MDA-MB-231 细胞 MMP-9 蛋白的表达

Western Blot 结果显示，GPER 的表达量可随丹参酮ⅡA 浓度的增加而减少（$P<0.01$）（图 3A-B）。在加入了 1×10^{-6}mol/L 的 GPER 特异性抑制剂 G15 后，与对照组相比，给药组 GPER 下游蛋白 MMP-9 的表达随着药物浓度的增加而减少（$P<0.05$）（图 3C-D）。而与给药高剂量组相比，加入 G15 后 MMP-9 的表达有所上调（$P<0.01$）（图 3C-D）。这些结果证实丹参酮ⅡA 可以通过 GPER 介导抑制 MMP-9 的表达。

3 讨论

2021 年 2 月 2 日，据世界卫生组织公布，2020 年全球确诊癌症的患者数达 1930 万人，大约 1000 万人死于癌症，其中乳

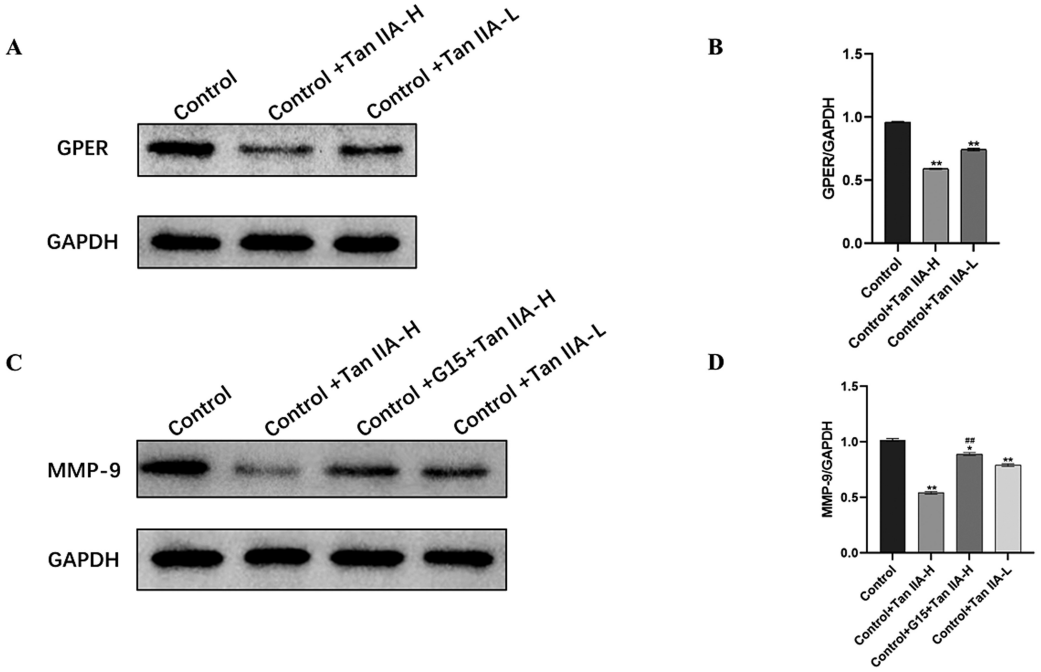

图 3 丹参酮ⅡA 对 MDA-MB-231 细胞中 GPER 及 MMP-9 表达的影响

Fig.3 Effect of Tan IIA on the expression of GPER and MMP-9 in MDA-MB-231 cells

Note: Western Blot detected the expression of GPER and MMP-9 in cells, compared with Control group, $^{*}P<0.05$, $^{**}P<0.01$, compared with Control+TanⅡA-H group, $^{\#\#}P<0.01$

(A-B) Expression of GPER protein. (C-D) Expression of MMP-9 protein.

腺癌已成为全球最常见的癌症，在新增癌症病例中约占 11.7 %。许多中药含有抗癌物质且具有抗炎活性，可在肿瘤微环境和肿瘤免疫中发挥直接的细胞毒作用和间接的调节作用，并能改善化疗效果，所以在临床上被广泛应用于肿瘤的防治[15-18]。

丹参作为活血化瘀、通经活络的要药具有良好的抗乳腺癌细胞增殖效应，其药理作用主要来自于其活性成分丹参酮 I、丹参酮ⅡA 、隐丹参酮等表现出的抗雌激素样作用[19]。其中，丹参酮 I 具有最强的抗生长、抗侵袭和抗血管生成的活性，而隐丹参酮的活性最低[20,21]。但丹参酮 I 比隐丹参酮的细胞毒性更大，丹参酮ⅡA 细胞毒性最小，且在抑制 MCF-7、MDA-MB-231、SKBR-3 和 MDA-MB-453 细胞株方面丹参酮 I 与丹参酮ⅡA 活性相似[22]，所以相比之下丹参酮ⅡA 具有细胞毒性弱、抗肿瘤细胞增殖活性强的特点，且在抑制乳腺肿瘤细胞增殖、迁移方面特异性较强。

Filardo 等人[23]在 2000 年发现，GPER 的表达与乳腺肿瘤细胞的增殖有关，雌激素对 ERK1/2 的激活需要 GPER 的介导；在 MCF-7 乳腺肿瘤细胞中，雌激素与 GPER 的结合可以激活 EGFR/MAPK/ERK 信号通路，进而促进肿瘤细胞生长、侵袭和迁移。研究发现，在三阴性乳腺癌细胞 MDA-MB-231 中，随着 GPER 蛋白表达水平的降低，肿瘤细胞的增殖、迁移和扩散程度也降低[24]。GPER 特异性拮抗剂 G15 曾被报道可通过抑制 GPER 对下游 MAPK 信号通路的介导，进而抑制体外细胞增殖和迁移功能[25]。也可以通过抑制 PI3K/AKT 信号通路发挥抗肿瘤作用[26]。

在课题组以往的研究中，已证实隐丹参酮可通过与 GPER 结合下调 PI3K/AKT 信号转导通路关键蛋白的表达，以时间和剂量依赖性方式抑制 ER 阳性细胞 MCF-7 和 ER 阴性细胞 SKBR-3 的增殖[26,27]，但丹参酮ⅡA 对于三阴性乳腺癌迁移的抑制作用是否通过 GPER 介导尚不清楚。

MMP-9 是基质金属酶（MMP）家族的主要成员之一[6]。MMP-9 蛋白主要由肿瘤细胞和基质细胞分泌，通常以酶原的形式存在[28]。通过水解过程，活化的 MMP-9 能够降解基底膜 IV 型胶原蛋白，从而影响肿瘤细胞运动的能力[29]，增强肿瘤细胞的侵袭和转移[30]。而 GPER 可以通过 PI3K/AKT/MMP-9 信号促进肾细胞癌的迁移，也可以通过 ERK(1/2)/MMP-9 途径抑制三阴性乳腺癌细胞 MDA-MB-231 的迁移和侵袭[31]。划痕实验结果与已有研究相一致，丹参酮ⅡA 可以依赖于 GPER 介导抑制 MDA-MB-231 细胞的迁移。结合 Western Blot 结果可以证实，丹参酮ⅡA 可以通过 GPER 介导抑制 MMP-9 的表达，进而抑制 MDA-MB-231 细胞的迁移。

三阴性乳腺癌的药物治疗一直是临床上一个有待攻克的难题，由于三阴性乳腺癌的特殊性，导致许多药物的疗效欠佳。雌激素可经 GPER 介导触发一系列信号转导途径，包括 EGFR 的反式激活、cAMP 的增加、钙动员、有丝分裂原激活因子的激活、蛋白激酶（MAPK）和磷脂酰肌醇 3- 激酶 / 蛋白激酶 B（PI3K/Akt）的级联活化等，并将进一步影响癌细胞的增殖和迁移[32]。而中药单体可被视作天然的雌激素样物质，其涉及雌激素 /GPER 作用途径的探索对于肿瘤的防治或有重要意义。在本文基础上，关于丹参酮ⅡA 通过 GPER 介导信号通路的探究，或成为下一项具有重要研究意义的方向，其结果对临床妇科肿瘤，特别是三阴性乳腺癌的诊断和治疗将具有重要的参考价值。

参 考 文 献（References）

[1] Liang S, Chen Z, Jiang G, et al. Activation of GPER suppresses migration and angiogenesis of triple negative breast cancer via inhibition of NF-κB/IL-6 signals[J]. Cancer Lett, 2017, 386(5): 12-23

[2] Zhou X, Wang S, Wang Z, et al. Collagen type 1 promotes survival of human breast cancer cells by overexpressing Kv10.1 potassium and Orai1 calcium channels through DDR1-dependent pathway [J]. Oncotarget, 2018, 9 (37): 24653-24671

[3] Hsu LH, Chu NM, Lin YF, et al. G-Protein coupled estrogen receptor in breast cancer[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(2): 306

[4] Treeck O, Schü ler-Toprak S, Ortmann O. Estrogen actions in triple-negative breast cancer[J]. Cells, 2020, 9(11): 2358

[5] Rigiracciolo DC, Santolla MF, Lappano R, et al. Focal adhesion kinase (FAK) activation by estrogens involves GPER in triple-negative breast cancer cells[J]. BioMed Central, 2019, 38(1): 58

[6] Zhou R, Xu L, Ye M, et al. Formononetin inhibits migration and invasion of MDA-MB-231 and 4T1 breast cancer cells by suppressing MMP-2 and MMP-9 through PI3K/AKT signaling pathways[J]. Horm Metab Res, 2014, 46(11): 753-760

[7] Venugopal A, Uma Maheswari TN. Expression of matrix metalloproteinase-9 in oral potentially malignant disorders: A systematic review[J]. J Oral Maxillofac Pathol, 2016, 20(3): 474-479

[8] Gong L, Wu D, Zou J, et al. Prognostic impact of serum and tissue MMP-9 in non-small cell lung cancer: a systematic review and meta-analysis[J]. Oncotarget, 2016, 7(14): 18458-18468

[9] Verma S, Kesh K, Gupta A, et al. An Overview of matrix metalloproteinase 9 polymorphism and gastric cancer tisk [J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2015, 16(17): 7393-7400

[10] Dasari S, Wudayagiri R, Valluru L. Cervical cancer: Biomarkers for diagnosis and treatment[J]. Clin Chim Acta, 2015, 445: 7-11

[11] MEIm XD, Cao YF, Che YY, et al. Danshen: a phytochemical and pharmacological overview[J]. Chin J Nat Med, 2019, 17(1): 59-80

[12] Li K, Liu W, Zhao Q, et al. Combination of tanshinone ⅡA and doxorubicin possesses synergism and attenuation effects on doxorubicin in the treatment of breast cancer[J]. Phytother Res, 2019, 33(6): 1658-1669

[13] Su CC, Chien SY, Kuo SJ, et al. Tanshinone ⅡA inhibits human breast cancer MDA-MB-231 cells by decreasing LC3-II, Erb-B2 and NF-κBp65[J]. Mol Med Rep, 2012, 5(4): 1019-1022

[14] Fan GW, Gao XM, Wang H, et al. The anti-inflammatory activities of Tanshinone ⅡA, an active component of TCM, are mediated by estrogen receptor activation and inhibition of iNOS [J]. J Steroid Biochem Mol Biol, 2009, 113(3-5): 275-280

[15] Wang S, Wu X, Tan M, et al. Fighting fire with fire: poisonous Chinese herbal medicine for cancer therapy [J]. J Ethnopharmacol, 2012, 140(1): 33-45

[16] Zhong Z, Yu H, Wang S, et al. Anti-cancer effects of Rhizoma Curcumae against doxorubicin-resistant breast cancer cells [J]. Chin Med, 2018, 13(1): 44

[17] Sang W, Zhong Z, Linghu K, et al. Siegesbeckia pubescens Makino

inhibits Pam3CSK4-induced inflammation in RAW 264.7 macrophages through suppressing TLR1/TLR2-mediated NF-kappaB activation[J]. Chin Med, 2018, 13(1): 37

[18] Zhong Z, Zhang Q, Tao H, et al. Anti-inflammatory activities of Sigesbeckia glabrescens Makino: combined in vitro and in silico investigations[J]. Chin Med, 2019, 14(4): 35

[19] Jin Z, Chenghao Y, Cheng P. Anticancer effect of Tanshinones on female breast cancer and gynecological cancer [J]. Front Pharmacol, 2022, 12: 824531

[20] Nizamutdinova IT, Lee GW, Son KH, et al. Tanshinone I effectively induces apoptosis in estrogen receptor positive (MCF-7) and estrogen receptor-negative (MDA-MB-231) breast cancer cells [J]. Int J Oncol, 2008, 33(1): 485-491

[21] Li YL, Gong Y, Li LL, et al. Bioactive Tanshinone I inhibits the growth of lung cancer in part via downregulation of Aurora A function[J]. Mol. Carcinog, 2012, 52(4): 535-543

[22] Gong Y, Li Y, Abdolmaleky HM, et al. Tanshinones inhibit the growth of breast cancer cells through epigenetic modification of Aurora A expression and function[J]. PLoS One, 2012, 7(4): e33656

[23] Filardo EJ, Quinn JA, Blank KI, et al. Estrogen-induced activation of Erk-1 and Erk-2 requires the G Protein-coupled receptor homolog, GPR30, and occurs via trans-activation of the epidermal growth factor receptor through release of HB-EGF[J]. Narnia, 2000, 14(10): 1649-1660

[24] Castillo Sanchez R, Gomez R, Perez Salazar E. Bisphenol A induces migration through a GPER-, FAK-, Src-, and ERK2-dependent pathway in MDA-MB-231 breast cancer cells [J]. Chem Res Toxicol, 2016, 29(3): 285-295

[25] Dennis MK, Burai R, Ramesh C, et al. In vivo effects of a GPR30 antagonist[J]. Nat Chem Biol, 2009, 5(6): 421-427

[26] Shi D, Li H, Zhang Z, et al. Cryptotanshinone inhibits proliferation and induces apoptosis of breast cancer MCF-7 cells via GPER mediated PI3K/AKT signaling pathway [J]. PLoS One, 2022, 17(1): e0262389

[27] Shi D, Zhao P, Cui L, et al. Inhibition of PI3K/AKT molecular pathway mediated by membrane estrogen receptor GPER accounts for cryptotanshinone induced antiproliferative effect on breast cancer SKBR-3 cells[J]. BMC Pharmacol Toxicol, 2020, 21(5): 32

[28] Im NK, Jang WJ, Jeong CH, et al. Delphinidin suppresses PMA-induced MMP-9 expression by blocking the NF-κB activation through MAPK signaling pathways in MCF-7 human breast carcinoma cells[J]. J Med Food, 2014, 17(8): 855-861

[29] Pittayapruek P, Meephansan J, Prapapan O, et al. Role of matrix metalloproteinases in photoaging and photocarcinogenesis [J]. Int J Mol Sci, 2016, 17(6): 868

[30] Dofara SG, Chang SL, Diorio C. Gene polymorphisms and circulating levels of MMP-2 and MMP-9: A review of their role in breast cancer Risk[J]. Anticancer Res, 2020, 40(7): 3619-3631[

[31] Zhang XL, Liu N, Weng SF, et al. Bisphenol A increases the migration and invasion of triple-negative breast cancer cells via oestrogen-related receptor gamma [J]. Basic Clin Pharmacol Toxicol, 2016, 119(4): 389-395

[32] Filardo EJ. Epidermal growth factor receptor (EGFR) transactivation by estrogen via the G-protein-coupled receptor, GPR30: a novel signaling pathway with potential significance for breast cancer [J]. J Steroid Biochem Mol Biol, 2002, 80(2): 231-238

（上接第 4617 页）

[29] Liang L, Gu X, Shen HJ, et al. Chronic Intermittent Hypoxia Reduces the Effects of Glucosteroid in Asthma via Activating the p38 MAPK Signaling Pathway[J]. Front Physiol, 2021, 12(1): 703281-703289

[30] Viegi G, Maio S, Fasola S, et al. Global Burden of Chronic Respiratory Diseases [J]. J Aerosol Med Pulm Drug Deliv, 2020, 33 (4): 171-177

[31] Akamine T, Takaku S, Suzuki M, et al. Glycolaldehyde induces sensory neuron death through activation of the c-Jun N-terminal kinase and p-38 MAP kinase pathways[J]. Histochem Cell Biol, 2020, 153(2): 111-119

[32] Urzua CA, Chen P, Chaigne-Delalande B, et al. Glucocorticoid Receptor-alpha and MKP-1 as Candidate Biomarkers for Treatment Response and Disease Activity in Vogt-Koyanagi-Harada Disease[J]. Am J Ophthalmol, 2019, 207(1): 319-325

[33] Hoving AL, Schmitz J, Schmidt KE, et al. Human Blood Serum Induces p38-MAPK- and Hsp27-Dependent Migration Dynamics of Adult Human Cardiac Stem Cells: Single-Cell Analysis via a Microfluidic-Based Cultivation Platform [J]. Biology (Basel), 2021, 10(8): 708-723

[34] Glady A, Vandebroek A, Yasui M. Human keratinocyte-derived extracellular vesicles activate the MAPKinase pathway and promote cell migration and proliferation in vitro [J]. Inflamm Regen, 2021, 41 (1): 4-12