

• 基础研究 •

飞燕草素抑制大鼠乳腺癌发生的机制探索*

白金玉, 宋慧敏, 徐苗, 徐嘉琪, 韩彬, 彭晓莉[△]

610500 成都, 成都医学院 公共卫生学院

[摘要] 目的: 本课题组前期研究发现飞燕草素能显著抑制甲基亚硝基脲(1-methyl-1-nitrosourea, MNU) 诱导的大鼠乳腺癌发生, 本研究初步探讨飞燕草素抑制乳腺癌发生的机制。方法: 免疫组化染色检测致癌物诱导大鼠乳腺组织的雌激素受体- α (estrogen receptor- α , ER- α) 水平; Western blot 检测飞燕草素对乳腺癌 MCF-7 细胞的 ER- α 、G 蛋白偶联雌激素受体(G protein coupled estrogen receptor, GPER)、Notch-1 和 10 号染色体缺失的磷酸酶(phosphatase and tensin homologue deleted on chromosome, PTEN) 表达情况的影响。结果: 飞燕草素干预能明显降低 MNU 诱导大鼠乳腺组织 ER- α 的表达, 体外实验发现飞燕草素能够抑制 MCF-7 细胞 ER- α 、GPER 蛋白及 Notch-1 蛋白表达水平, 同时还能够提高 PTEN 蛋白表达水平。结论: 飞燕草素能够通过抑制 ER- α 、GPER 蛋白表达及调节 Notch-1/PTEN 信号通路发挥抑制乳腺癌的作用。

[关键词] 飞燕草素; 乳腺癌; 雌激素受体- α ; G 蛋白偶联雌激素受体; Notch-1/PTEN 信号通路

[中图分类号] R737.9; R966 [文献标志码] A doi:10.3969/j.issn.1674-0904.2020.10.003

引文格式: Bai JY, Song HM, Xu M, et al. Mechanism of delphinidin suppressing breast carcinogenesis in rats[J]. J Cancer Control Treat, 2020, 33(10): 830-835. [白金玉, 宋慧敏, 徐苗, 等. 飞燕草素抑制大鼠乳腺癌发生的机制探索[J]. 肿瘤预防与治疗, 2020, 33(10): 830-835.]

Mechanism of Delphinidin Suppressing Breast Carcinogenesis in Rats

Bai Jinyu, Song Huimin, Xu Miao, Xu Jiaqi, Han Bin, Peng Xiaoli

School of Public Health, Chengdu Medical College, Chengdu 610500, Sichuan, China

Corresponding author: Peng Xiaoli, E-mail: xiaopeng721@sohu.com

This study was supported by National Natural and Science Foundation of China (NO. 81402675), and by grants from Education Department of Sichuan Province (NO. 17ZA0114) and Chengdu Medical College (NO. 201713705074, NO. CYTD17-04).

[Abstract] **Objective:** Our previous study observed that delphinidin can effectively suppress 1-methyl-1-nitrosourea (MNU)-induced breast carcinogenesis. The present study aims to elucidate the antineoplastic effect of delphinidin on breast cancer and its underlying mechanisms. **Methods:** Immunohistochemistry was performed to detect estrogen receptor- α (ER- α) expression in breast tissues of rats at the end of the experiments. Western blot was conducted to analyze the effect of delphinidin on the expression of ER- α , G protein-coupled estrogen receptor (GPER), Notch-1 and phosphatase and tensin homologue deleted on chromosome (PTEN) in breast cancer MCF-7 cells. **Results:** Delphinidin decreased the expression of ER- α in breast tissues of MNU-treated rats, also decreased the expression of ER- α , GPER and Notch-1 in MCF-7 cells, and increased the expression of PTEN in MCF-7 cells. **Conclusion:** Delphinidin can suppress breast carcinogenesis through inhibiting ER- α and GPER expression and Notch-1/PTEN signalling pathway.

[Key words] Delphinidin; Breast cancer; ER- α ; GPER; Notch-1/PTEN signalling pathway

[收稿日期] 2019-12-30 [修回日期] 2020-07-01

[基金项目] * 国家自然科学基金(编号:81402675); 四川省教育厅课题(编号:17ZA0114); 成都医学院大学生创新项目(编号:201713705074); 成都医学院校基金团队项目(编号:CYTD17-04)

[通讯作者] [△] 彭晓莉, E-mail: xiaopeng721@sohu.com

近二十年来,全球乳腺癌的发病率不断上升,成为很多地区女性最常见的恶性肿瘤,威胁女性的身心健康^[1]。植物化学物抗癌研究成为乳腺癌防治研究的方向之一^[2]。花青素属黄酮类化合物,在植物中花青素以花色苷的形式存在,具有抗炎、抗氧化等多种生物学活性,对多种疾病具有防治作用,如肿

瘤、心血管疾病等^[3]。飞燕草素是花青素中常见的一种单体,生物学活性较强,研究发现飞燕草素能抑制肿瘤细胞增殖、血管生成和侵袭转移,诱导肿瘤细胞凋亡,具有抗乳腺癌的作用^[4-6]。乳腺癌是激素依赖性肿瘤,雌激素受体表达是乳腺癌内分泌治疗的一项重要指标。雌激素通过与雌激素受体结合发挥生理效应。雌激素受体包括核受体和膜受体。雌激素受体- α (estrogen receptor- α , ER- α) 属核受体,位于细胞核中,与其配体结合后通过调节下游靶基因转录发挥作用。乳腺癌内分泌治疗的雌激素替代疗法就是以 ER- α 作为治疗指标^[7]。G 蛋白偶联雌激素受体 (G protein coupled estrogen receptor, GPER) 属膜受体,与配体结合后能快速调节细胞内信号级联反应,在乳腺癌的发生中也发挥着重要作用^[8]。

本课题组前期通过建立甲基亚硝基脲 (1-methyl-1-nitrosourea, MNU) 诱导的大鼠乳腺癌发生模型,发现飞燕草素能显著抑制大鼠乳腺癌发生^[9]。为进一步探讨飞燕草素抑制乳腺癌发生的分子机制,本实验取飞燕草素膳食干预致癌物诱导乳腺癌发生的大鼠模型乳腺组织,检测大鼠乳腺组织中 ER- α 的表达水平,并通过乳腺癌 MCF-7 细胞实验,探索飞燕草素是否通过调节 ER- α 和 GPER 的表达而抑制乳腺癌的发生。另外,ER- α 对 Notch 信号通路有调节作用^[10],而 Notch 信号通路在细胞增殖、凋亡中发挥重要作用,并且通过诱导乳腺癌细胞上皮间充质转变,促进乳腺癌细胞迁移和侵袭,是促进乳腺癌发生发展的重要通路之一^[11]。因此,本研究亦尝试探讨飞燕草素对乳腺癌 MCF-7 细胞 Notch 信号通路的影响,为飞燕草素抗乳腺癌的机制探索提供研究基础。

1 材料与方法

1.1 试剂

飞燕草素(纯度 25%)购于中国大兴安岭林格贝寒带生物科技股份有限公司。ER- α 和 GPER 抗体购自美国 Abcam 公司。MNU 和雌二醇购于美国 Sigma 公司。

1.2 仪器

主要使用仪器包括日本 Olympus 公司的 IX71 型倒置荧光相差显微镜;美国 Thermo 公司的 Biofuge stratos 台式高速冷冻离心机和 ND-2000 微量紫外可见分光光度计;Bio-Rad 伯乐公司 PCR 仪,石蜡切片仪。

1.3 实验动物

清洁级 Sprague-Dawley (SD) 大鼠:40 ~ 50 d,体重 140 ~ 160 g,大鼠饲养于 SPF 级动物实验室,常规饮食,环境湿度保持 40% ~ 50%,环境温度保持(22 ± 2)℃。

1.4 飞燕草素干预大鼠乳腺癌发生模型的建立

动物分组及处理方式:雌性 SD 大鼠随机分为 3 组:正常对照组 12 只;对照组 16 只;飞燕草素干预组 16 只。大鼠分组后,适应饲养 7 d,对照组和飞燕草素干预组给予 MNU 注射,正常对照组给予等体积生理盐水注射。MNU 临用前,使用含 0.05% 冰醋酸的无菌生理盐水配制成 10 mg/mL 的溶液,以 50 mg/kg 体重的剂量,对大鼠进行单次腹腔注射。实验过程中,飞燕草素干预组以灌胃方式给予飞燕草素,灌胃剂量为 100mg/kg/d;对照组和正常对照组给予等体积生理盐水灌胃。大鼠每周称重 1 次,自由饮食和饮水。实验结束后,取大鼠乳腺组织石蜡切片。

1.5 免疫组化染色

乳腺组织石蜡包埋,切片后进行免疫组化染色,辣根过氧化物酶显色试剂盒进行显色处理,用 PBS 缓冲液作为阴性对照,雌激素受体抗体免疫组化染色后以细胞核呈中等强度棕黄色判定为阳性细胞,在低倍镜下($\times 10$)浏览整张切片选择热点区域,用高倍($\times 40$)对阳性细胞进行计数,结果表示为阳性细胞在整张切片中同类型细胞中的百分比。

1.6 细胞培养

人乳腺癌 MCF-7 细胞培养在 37℃、5% CO₂ 培养箱中,使用 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基,常规方法进行传代。实验开始前 4 d 将细胞用 PBS 洗涤后,改用无酚红 DMEM 培养液中培养。选择对数生长期的细胞进行实验。

MCF-7 细胞消化后计数,以 5×10^4 个/mL 细胞的密度接种至细胞培养瓶中。待细胞贴壁生长至 80% 左右,以 0、10、20、40 μM 飞燕草素作用细胞 24 h 后收集细胞,加入细胞裂解液,120 000 $\times g$ 离心,取上清液,测定蛋白含量后用于分析。探讨雌二醇存在时,飞燕草素对乳腺癌 MCF-7 细胞 ER- α 和 GPER 蛋白表达的影响,加入 1×10^{-8} mol/L 雌二醇 12 h 以后,再加入 40 μM 飞燕草素作用 MCF-7 细胞 24 h 后提取蛋白。

1.7 细胞划痕试验

对数期的 MCF-7 细胞以 1×10^5 /mL 密度接种于 12 孔培养板。细胞生长至 75% 密度,分别以 0、

20、40 μM 飞燕草素作用细胞,24 h 后用 20 μL 枪头沿线垂直划痕,PBS 冲洗除去悬浮细胞,加入无血清培养基,在划痕 0、24 h 和 48 h 拍照,每个实验组随机取 5 个视野。计算迁移率,计算公式为:迁移率(%) = 划痕后某时间点测得的无细胞区域面积/划痕后测得的划痕面积 × 100%。

1.8 Western blot 检测乳腺癌 MCF-7 细胞 ER-α、GPER、Notch-1 和 PTEN 蛋白表达

调节蛋白样品浓度,保证每个样品上样量为 35 μg。采用聚丙烯酰胺凝胶电泳进行蛋白分离,半干电转膜仪转膜,BSA 封闭非特异结合位点,ER-α 和 GPER 抗体 4℃ 孵育过夜;二抗孵育后,化学试剂显色发光,采用多功能成像系统进行曝光。

1.9 荧光实时定量 PCR (Quantitative Real-Time PCR, qRT-PCR) 检测 ER-α 和 GPER mRNA 水平

飞燕草素作用乳腺癌 MCF-7 细胞 48 h 后,收集细胞,Trizol 法提取总 RNA,反转录为 cDNA。RT-qPCR 方法检测 ER-α 和 GPER mRNA 水平。采用^{ΔΔ}Ct 法进行相对定量。调节样品 cDNA 浓度后,加入 4 μg cDNA、12.5 μL SYBR 混合物和 1 μL 引物组成 25 μL 反应体系。首先在 95℃ 下变性 10 min,并进行 30 个循环的扩增(95℃ 15 s,60℃ 1 min)。按体系进行反应,各基因分别设 3 孔平行。采用结果进行分析统计,将 GAPDH 作为内参照的基因。所

用的引物见表 1。

表 1 qPCR 引物序列

Table 1. Sequence of qPCR Primer

Target	Sequence (5'-3')
ER-α	Sense: CGCTACTGTGCACTGTGCAAT
	Antisense: CCTCACAGGACCAGACTCCATAA
GPER	Sense: TCACGGGCCACATTGTCAACCTC
	Antisense: GCTGAACCTCACATCTGACTGCTC

1.10 数据统计学处理方法

数据用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用 SPSS 21.0 软件进行单因素方差分析,率的比较采用 χ^2 检验,组间比较采用 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 飞燕草素对乳腺癌组织雌激素受体表达的影响

实验采用免疫组化方法检测大鼠乳腺组织 ER-α 表达。结果发现正常对照组、对照组和飞燕草素干预组大鼠乳腺组织 ER-α 均有阳性表达。与正常对照组比较,MNU 致癌组大鼠乳腺组织 ER-α 表达显著增高($P < 0.01$),飞燕草素干预大鼠能明显降低大鼠乳腺组织 ER-α 的表达($P < 0.01$)。

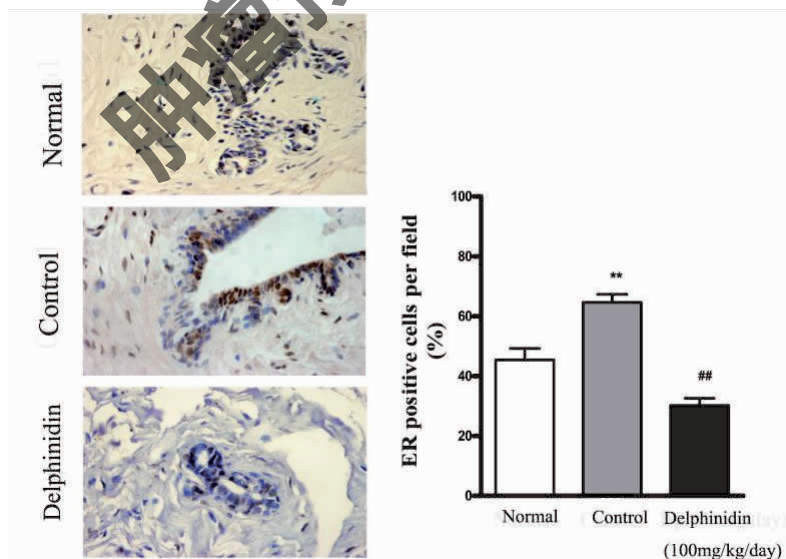


图 1 飞燕草素对致癌物诱导大鼠乳腺组织 ER-α 表达的影响 (×400)

Figure 1. Effect of Delphinidin on ER-α Expression in Breast Tissues of MNU-Induced Rats (×40)

Compare with the normal group, ** $P < 0.01$; Compare with the control group, ## $P < 0.01$.

2.2 飞燕草素对乳腺癌细胞 MCF-7 迁移能力的影响

划痕试验结果显示,24 h 时,40 μM 飞燕草素作

用后细胞划痕面积明显高于 0 μM 和 20 μM 飞燕草素作用后的细胞 ($P < 0.01, P < 0.05$);48 h 时,40 μM 飞燕草素作用后细胞划痕面积明显高于 0 μM

和 20 μM 飞燕草素作用后的细胞 ($P < 0.01$)。结果表明 40 μM 飞燕草素作用细胞后,能显著抑制

MCF-7 细胞的迁移能力(图 2),提示飞燕草素对 MCF-7 细胞的迁移能力具有抑制作用。

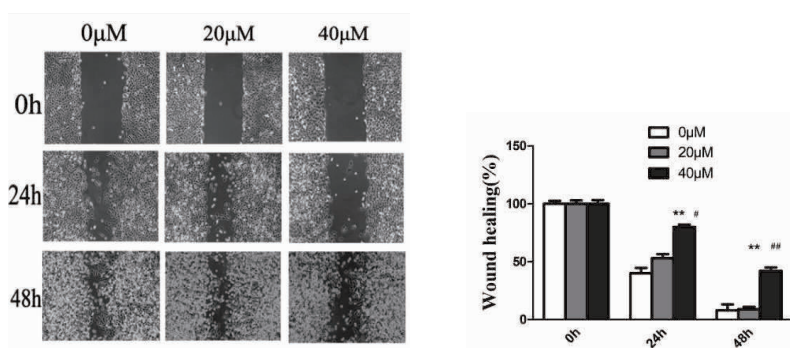


图 2 飞燕草素对 MCF-7 细胞迁移的影响

Figure 2. Effect of Delphinidin on Migration of Breast Cancer Cell MCF-7

** $P < 0.01$, compared with the 0 μM group; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, compared with the 20 μM group.

2.3 飞燕草素对乳腺癌 MCF-7 细胞 ER- α 和 GPER 蛋白表达的影响

根据 CCK-8 预实验,实验采用 0、10、20、40 μM 飞燕草素作用乳腺癌 MCF-7 细胞,通过 Western blot 检测飞燕草素对乳腺癌 MCF-7 细胞 ER- α 和 GPER 蛋白表达的影响。由图 3 可见,飞燕草素能明显降低 MCF-7 细胞 ER- α 和 GPER 蛋白表达水平。qRT-PCR 结果也显示,飞燕草素能显著降低 MCF-7 细胞中 ER- α 和 GPER mRNA 水平 ($P < 0.01$) (图 4、图 5)。

仍能降低 ER- α 和 EPER 蛋白表达水平,提示飞燕草素在雌二醇环境下仍能抑制 ER- α 和 EPER 蛋白表达。

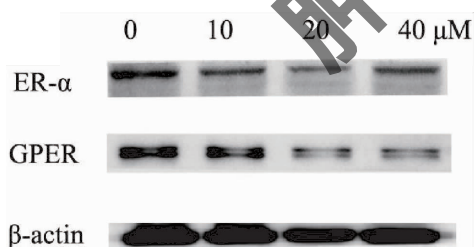


图 3 飞燕草素对乳腺癌 MCF-7 细胞 ER- α 和 GPER 蛋白表达的影响

Figure 3. Effect of Delphinidin on ER- α and GPER Expression in Breast Cancer MCF-7 Cells

2.4 雌二醇存在条件下飞燕草素对乳腺癌 MCF-7 细胞 ER- α 和 GPER 蛋白表达的影响

为了进一步探讨飞燕草素对 ER- α 和 EPER 蛋白表达是否与雌激素有关。实验在飞燕草素作用 MCF-7 细胞以前,在培养液中加入 1×10^{-8} mol/L 雌二醇,再检测 ER- α 和 EPER 蛋白表达。由图 6 可见,雌二醇作用后的 MCF-7 细胞,40 μM 飞燕草素

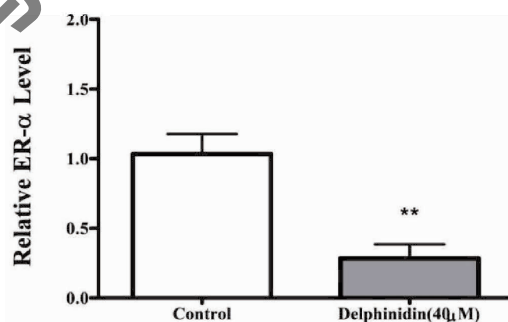


图 4 飞燕草素对乳腺癌 MCF-7 细胞 ER- α mRNA 水平的影响

Figure 4. Effect of Delphinidin on the mRNA Level of ER- α in Breast Cancer MCF-7 Cells

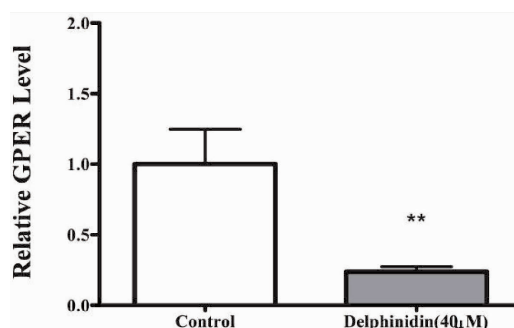


图 5 飞燕草素对乳腺癌 MCF-7 细胞 GPER mRNA 水平的影响

Figure 5. Effect of Delphinidin on the mRNA Level of GPER in Breast Cancer MCF-7 Cells

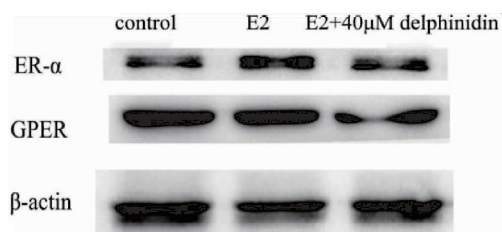


图6 雌二醇环境下飞燕草素对乳腺癌 MCF-7 细胞 ER- α 和 EPER 蛋白表达的影响

Figure 6. Effect of Delphinidin on ER- α and EPER Expression in Breast Cancer Cells MCF-7 after Estradiol Treatment

2.5 飞燕草素对乳腺癌 MCF-7 细胞 Notch-1/PTEN 信号通路的影响

飞燕草素作用乳腺癌 MCF-7 细胞 24 h 后检测飞燕草素对 Notch 通路的 Notch-1 和 PTEN 蛋白表达的影响。由 WB 实验结果(图 7)可见,20 μM 和 40 μM 飞燕草素作用乳腺癌 MCF-7 细胞能显著降低细胞 Notch-1 蛋白表达,提高 PTEN 蛋白表达水平。

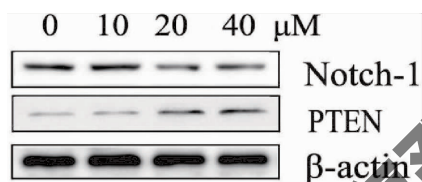


图7 飞燕草素对乳腺癌 MCF-7 细胞 Notch 通路的影响
Figure 7. Effect of Delphinidin on Notch Pathway of Breast Cancer Cell MCF-7

3 讨论

雌激素在体内与雌激素受体结合,发生雌激素受体二聚化后,与靶基因的雌激素反应元件结合,继而激活 Notch、MAPK、PI3K 和 JNK 等信号转导通路,促进细胞生长和增殖,抑制细胞凋亡,促进乳腺癌的发生^[12]。人工合成的纯雌激素拮抗剂氟维司群就是利用其可与 ER- α 结合的能力,阻断雌激素受体的信号途径,而成为抗乳腺癌的药物^[13]。GPER 是一种新型雌激素受体,能够在多种乳腺癌细胞中介导雌激素效应,促进乳腺癌细胞增殖,研究 GPER 与乳腺癌内分泌治疗有关^[14]。有研究报道海南蒲桃(*Syzygium cumini* L,即印度称为 jamun 的浆果)富含花色苷,能抑制雌激素诱导的大鼠乳腺癌发生,并能降低 ER- α 蛋白表达水平^[15]。本课题组前期研究发现飞燕草素能显著抑制致癌物诱导的大鼠乳腺癌发生^[9]。在本研究中,我们发现飞燕草

素能抑制大鼠乳腺组织内 ER- α 水平的升高,细胞实验也证实飞燕草素能明显降低乳腺癌 MCF-7 细胞 ER- α 和 GPER 的蛋白表达水平,提示飞燕草素作用于雌激素受体通路可能是其发挥抑制乳腺癌作用的机制之一。

研究发现,Notch 信号通路异常在肿瘤的发生发展中发挥重要作用,而雌激素可通过 Notch 信号通路调节乳腺癌血管的生成,促进乳腺癌生长,阻断 Notch 信号通路的表达或可成为肿瘤治疗的新方向^[16]。研究证实抑制乳腺癌细胞中的 Notch-1 通路,能降低其下游蛋白的表达,从而有效地抑制细胞增殖并促进细胞凋亡^[17]。抑癌基因 PTEN 可通过促进乳腺癌细胞的凋亡、抑制肿瘤细胞迁移、抑制肿瘤血管生成等途径,阻遏抑制乳腺癌发生发展^[18]。研究发现激活 Notch 信号通路引起 PTEN 蛋白表达下调是乳腺癌干细胞发生耐药的重要分子机制,抑制 Notch-1,促进 PTEN 的表达,可以提高乳腺癌干细胞对药物敏感性^[19]。我们实验发现飞燕草素能明显降低乳腺癌 MCF-7 细胞 Notch1 蛋白表达,提高 PTEN 蛋白表达水平。结果提示飞燕草素可能通过雌激素受体,调节 Notch-1/PTEN 信号通路,从而发挥抑制乳腺癌的作用。

综上所述,本研究初步发现飞燕草素能抑制致癌物诱导大鼠乳腺癌组织 ER- α 的表达增高,对乳腺癌 MCF-7 细胞 ER- α 和 GPER 的蛋白表达具有抑制作用,进一步发现飞燕草素能调节乳腺癌 MCF-7 细胞 Notch-1/PTEN 信号通路。飞燕草素是否通过 ER- α 调节 Notch-1/PTEN 信号通路,还需要进一步实验证实。

作者声明:本文全部作者对于研究和撰写的论文出现的不端行为承担相应责任;并承诺论文中涉及的原始图片、数据资料等已按照有关规定保存,可接受核查。

学术不端:本文在初审、返修及出版前均通过中国知网(CNKI)科技期刊学术不端文献检测系统的学术不端检测。

同行评议:经同行专家双盲外审,达到刊发要求。

利益冲突:所有作者均声明不存在利益冲突。

文章版权:本文出版前已与全体作者签署了论文授权书等协议。

[参考文献]

[1] Parvizpour S, Razmara J, Omidi Y. Breast cancer vaccination

- comes to age: Impacts of bioinformatics [J]. *Bioimpacts*, 2018, 8(3) :223-235.
- [2] Mbaveng AT, Fotso GW, Ngnintedo D, *et al.* Cytotoxicity of epunatanone and four other phytochemicals isolated from the medicinal plants *Garcinia epunctata* and *Ptychlobium contortum* towards multi-factorial drug resistant cancer cells[J]. *Phytomedicine*, 2018,48 :112-119.
- [3] Li X, Xu J, Tang X, *et al.* Anthocyanins inhibit trastuzumab-resistant breast cancer in vitro and in vivo [J]. *Mol Med Rep*, 2016,13(5) :4007-4013.
- [4] Chen J, Zhu Y, Zhang W, *et al.* Delphinidin induced protective autophagy via mTOR pathway suppression and AMPK pathway activation in HER-2 positive breast cancer cells [J]. *BMC Cancer*, 2018,18(1) :342-355.
- [5] Yang XH, Luo E, Liu X, *et al.* Delphinidin-3-glucoside suppresses breast carcinogenesis by inactivating the Akt/HOTAIR signaling pathway [J]. *BMC Cancer*, 2016,16 :423-427.
- [6] Patidar K, Deshmukh A, Bandaru S, *et al.* Virtual screening approaches in identification of bioactive compounds akin to delphinidin as potential HER2 inhibitors for the treatment of breast cancer [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2016, 17(4) :2291-2295.
- [7] Hua H, Zhang H, Kong Q, *et al.* Mechanisms for estrogen receptor expression in human cancer [J]. *Exp Hematol Oncol*, 2018, 7 :24.
- [8] Girgert R, Emons G, Gründker C. Estrogen signaling in ER α -negative breast cancer: ER β and GPER [J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2019, 9 :781.
- [9] Han B, Peng XL, Cheng DM, *et al.* Delphinidin suppresses breast carcinogenesis through the HOTAIR/microRNA-34a axis [J]. *Cancer Sci*, 2019,110(10) :3089-3097.
- [10] Zhu M, Iwano T, Takeda S. Estrogen and EGFR pathways regulate Notch signaling in opposing directions for multi-ciliogenesis in the fallopian tube [J]. *Cells*. 2019, 8(8) :933.
- [11] Giuli MV, Giuliani E, Screpanti I, *et al.* Notch signaling activation as a hallmark for triple-negative breast cancer subtype [J]. *J Oncol*, 2019, 2019 :8707053.
- [12] Giovannelli P, Di Donato M, Galasso G, *et al.* The androgen receptor in breast cancer [J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2018, 9 :492.
- [13] Rocca A, Maltoni R, Bravaccini S, *et al.* Clinical utility of fulvestrant in the treatment of breast cancer: A report on the emerging clinical evidence [J]. *Cancer Manag Res*, 2018,10 :3083-3099.
- [14] 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.
- [15] Aqil F, Jeyabalan J, Munagala R, *et al.* Prevention of hormonal breast cancer by dietary jamun [J]. *Mol Nutr Food Res*, 2016, 60(6) :1470-1481.
- [16] De Francesco EM, Maggiolini M, Musti AM. Crosstalk between Notch, HIF-1 α and GPER in breast cancer EMT [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(7) :2011.
- [17] Kontomanolis EN, Kalagasidou S, Pouliliou S, *et al.* The notch pathway in breast cancer progression [J]. *Sci World J*, 2018, 2018 :2415489.
- [18] Li K, Li GD, Sun LY, *et al.* PTEN and SHIP: Impact on lymphatic metastasis in breast cancer [J]. *J Cancer Res Ther*, 2018, 14(S) :S937-S941.
- [19] Baker A, Wyatt D, Bocchetta M, *et al.* Notch-1-PTEN-ERK1/2 signaling axis promotes HER2⁺ breast cancer cell proliferation and stem cell survival [J]. *Oncogene*, 2018, 37(33) :4489-4504.