

4T1 小鼠乳腺癌细胞在化疗药、中药单体及生物治疗研究中的应用^Δ

田名博^{1,2*}, 曾佳², 朱芷涵², 刘丹萍², 薛嫚², 俸灵林^{2#}, 李津明^{1,3#} (1. 哈尔滨商业大学药学院, 哈尔滨 150076; 2. 上海市计划生育科学研究所/国家人口和计划生育委员会计划生育药具重点实验室/上海生殖健康药具工程技术研究中心, 上海 200032; 3. 厦门医学高等专科学校, 福建 厦门 361008)

中图分类号 R73-36 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)07-0969-04
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.07.32

摘要 目的: 为研究者更加深入优化 4T1 小鼠乳腺癌细胞模型并服务于肿瘤新药及基础机制研究提供参考。方法: 以“4T1 细胞模型”“乳腺癌”“4T1 cell line”“Mammary cancer”为关键词, 组合检索 2003 年 1 月—2015 年 6 月在 PubMed、Springer Link、中国知网等数据库中的相关文献, 就该细胞模型在化疗药、中药单体和生物治疗方面的应用研究作一综述。结果: 共查阅到相关文献 99 篇, 其中有效文献 28 篇。4T1 细胞恶性程度高、转移性高且免疫原性低, 生长与转移特性与人类晚期乳腺癌十分相近。以 4T1 作为细胞模型已广泛应用于化疗药、中药单体和生物治疗等的研究中。结论: 4T1 细胞是人类 IV 期乳腺癌的理想细胞模型, 可用于对乳腺癌的发生机制、治疗药物的作用机制及毒性等相关内容进行研究。
关键词 4T1 细胞; 乳腺癌; 转移; 化疗药; 中药单体; 生物治疗

乳腺癌是女性最常见的恶性肿瘤之一, 在中国, 其发病率居女性恶性肿瘤第一位^[1]。乳腺癌发生和发展过程与众多肿瘤相关因子表达异常和功能改变相关^[2]。大多肿瘤治疗研究需首先采用体外细胞试验或在动物模型体内完成。因此, 选

择一个理想的乳腺癌细胞株开展相关体内外研究具有十分重要的意义^[3]。

4T1 小鼠乳腺癌细胞模型衍生于未经转染的 410.4 乳腺癌细胞的 4 大亚系之一, 从小鼠 C3H 亲代细胞培育的小鼠乳腺肿

[21] 林昌松, 梁江, 刘清平, 等. 断藤益母汤含药血清对人类风湿关节炎滑膜成纤维细胞增殖及 TLR4 表达的影响[J]. 中药新药与临床药理, 2012, 23(2): 147.

[22] Xiao Y, Liang L, Pan Y, et al. Inhibitory effects of simvastatin on migration and invasion of rheumatoid fibroblast-like synoviocytes by preventing geranylgeranylation of RhoA[J]. *Rheumatol Int*, 2013, 33(2): 389.

[23] Tan Y, Lu K, Deng Y, et al. The effects of levofloxacin on rabbit fibroblast-like synoviocytes in vitro[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2012, 265(2): 175.

[24] Hsu J, Gu Y, Tan SL, et al. Bruton's tyrosine kinase mediates platelet receptor-induced generation of microparticles: a potential mechanism for amplification of inflammatory responses in rheumatoid arthritis synovial joints[J]. *Immunol Lett*, 2013, 150(1/2): 97.

[25] Fan W, Zhou ZY, Huang XF, et al. Deoxycytidine kinase promotes the migration and invasion of fibroblast-like synoviocytes from rheumatoid arthritis patients[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2013, 6(12): 2 733.

[26] Fu D, Yang Y, Xiao Y, et al. Role of p21-activated kinase 1 in regulating the migration and invasion of fibroblast-like synoviocytes from rheumatoid arthritis patients[J]. *Rheumatology: Oxford*, 2012, 51(7): 1 170.

[27] Wythe SE, DiCara D, Taher TE, et al. Targeted delivery of cytokine therapy to rheumatoid tissue by a synovial targeting peptide[J]. *Ann Rheum Dis*, 2013, 72(1): 1 291.

[28] Laragione T, Brenner M, Mello A, et al. The arthritis severity locus *cia 5d* is a novel genetic regulator of the invasive properties of synovial fibroblasts[J]. *Arthritis Rheum*, 2008, 58(8): 2 296.

[29] Yoo SA, Yoon HJ, Kim HS, et al. Role of placenta growth factor and its receptor flt-1 in rheumatoid inflammation[J]. *Arthritis Rheum*, 2009, 60(2): 345.

[30] Gui H, Liu X, Wang ZW, et al. Expression of cannabinoid receptor 2 and its inhibitory effects on synovial fibroblasts in rheumatoid arthritis[J]. *Rheumatology: Oxford*, 2014, 53(5): 802.

[31] Sonomoto K, Yamaoka K, Tanaka Y. An approach to bone and cartilage repair of rheumatoid arthritis by mesenchymal stem cells[J]. *J Uoeh*, 2014, 36(2): 141.

[32] Du F, Lü LJ, Teng JL, et al. T-614 alters the production of matrix metalloproteinases (MMP-1 and MMP-3) and inhibits the migratory expansion of rheumatoid synovial fibroblasts, in vitro[J]. *Int Immunopharmacol*, 2012, 13(1): 54.

Δ 基金项目: 上海市科学技术委员会科研计划项目 (No. 14JC149-2300); 上海市卫生和计划生育委员会科研课题 (No. 20144Y0049)
* 硕士研究生。研究方向: 新型药物传输系统。电话: 021-64438536。E-mail: 250310565@qq.com
#a 通信作者: 副研究员, 博士。研究方向: 新型给药系统和生殖相关疾病治疗学。电话: 021-64438536。E-mail: Fenglinglinxin@163.com
#b 通信作者: 教授, 博士。研究方向: 新型药物传输系统。电话: 0592-2110643。E-mail: lijnming1962@163.com

(收稿日期: 2015-09-21 修回日期: 2015-11-09)
(编辑: 余庆华)

瘤病毒(MMTV)BALB/c自发性乳腺肿瘤中分离而来。近年来,以4T1细胞作为细胞模型已广泛用于化疗药、中药单体和生物治疗对乳腺肿瘤生长和转移的影响。笔者以“4T1细胞模型”“乳腺癌”“4T1 cell line”“Mammary cancer”为关键词,组合检索2003年1月—2015年6月在PubMed、Springer Link、中国知网等数据库中有关4T1细胞的研究文献。结果,共查阅到相关文献99篇,其中有效文献28篇。现对4T1细胞在化疗药、中药单体和生物治疗方面的应用研究作一综述,以期对研究者更加深入优化4T1小鼠乳腺癌细胞模型并服务于肿瘤新药及基础机制研究提供参考。

1 在化疗药研究中的应用

在转移型乳腺癌的治疗手段中,化疗一直占据着重要的地位。蒽环类药物是目前治疗乳腺癌疗效最好的药物之一,主要包括多柔比星(DOX)、表柔比星(EPI)、吡柔比星(PIR)和米托蒽醌(MIT)几种。其中,DOX作为乳腺癌一线治疗的单药有效率较高。近年来,包载DOX和顺铂(CDDP)等化疗药的新型给药系统的研究取得了一定进展。Alibolandi M等^[4]采用pH梯度法制备DOX-聚乙二醇-聚乳酸-羟基乙酸(DOX-mPEG-PLGA)纳米粒,研究其对乳腺癌的疗效。体外4T1细胞毒性试验显示,与游离DOX比较,DOX-mPEG-PLGA纳米粒表现出较高的细胞毒性;在已建立的BALB/c小鼠乳腺癌模型上进行体内药效试验,结果表明DOX-mPEG-PLGA纳米粒对4T1小鼠乳腺癌细胞高度有效,并通过增强渗透和保留机制成功地积累在肿瘤部位。此外,该纳米粒在血液循环中较稳定,可作为乳腺癌的有效治疗方法。Gao ZG等^[5]研究了叶酸介导的DOX-pH敏感混合聚合物胶束的抗转移活性。该实验采用4T1细胞构建转移小鼠模型,通过肿瘤体积、小鼠体质量、生存率和组织学观察等指标评价其疗效。结果显示,该制剂可延缓肿瘤生长,且不减轻小鼠体质量,4~5周内无小鼠死亡;组织切片显示,给药28 d内肿瘤无明显转移。Li MQ等^[6]制备包载CDDP的促黄体激素释放素修饰葡聚糖(Dex-SA-CDDP-LHRH)纳米粒,研究其对肿瘤生长和器官特异性转移的抑制作用。该实验采用4T1原位乳腺癌转移模型,结果显示,与非靶向Dex-SA-CDDP纳米粒比较,Dex-SA-CDDP-LHRH纳米粒能提高肿瘤细胞摄取并促进细胞毒性作用表达;非靶向和靶向纳米粒均可显著降低CDDP的全身毒性并增加其最大耐受剂量,且Dex-SA-CDDP-LHRH纳米粒可显著增强原发瘤注射部位及转移器官的药物累积,同时显著降其肾毒性。剂量依赖性效果进一步显示,相对于非靶向纳米粒,Dex-SA-CDDP-LHRH纳米粒显著增强了抗肿瘤及抗转移作用。

此外,DOX与其他药物进行联合的递药系统也得到广泛研究。与非交联的纳米粒或游离DOX比较,DOX交联CDDP多糖基(Dex-SA-DOX-CDDP)纳米粒可增强抗肿瘤疗效,并通过优化分布而减少全身毒性,控制药物释放,延长药物血循环和提高药物耐受性。Li MQ等^[7]在建立好的4T1细胞模型中注射Dex-SA-DOX-CDDP纳米粒,发现在多肽的协同作用下,Dex-SA-DOX-CDDP纳米粒可有效地抑制原发肿瘤生长并阻止其转移。P糖蛋白(P-gp)介导的药物外排是一个限制肿瘤化疗的主要障碍因素。为克服该问题,Wang J等^[8]设计、制备、表征了同时包载DOX和姜黄素(Cur,P-gp抑制剂和细胞凋亡

抑制剂)的聚乙二醇聚合物胶束[(DOX+Cur)-PMs]。药效学试验表明,与DOX和Cur联合给药方案及DOX-PMs比较,(DOX+Cur)-PMs能有效抑制4T1荷瘤小鼠肿瘤的增长。

2 在中药单体研究中的应用

中药来自植物、动物、矿物和微生物,其中植物是抗肿瘤中药来源的重要资源。中药单体成分的抗肿瘤作用越来越得到国际社会的认可,近期研究进展很大。其中,抑制肿瘤细胞增殖并诱导其凋亡是近年来国内外研究热点之一。自1960年以来,通过美国FDA的抗肿瘤药中50%来自中药单体^[9],疗效确切的有紫杉醇、长春新碱、喜树碱和鬼臼毒素等。目前正在研究的还有汉防己碱、藜头皂苷、雷公藤甲素、桔梗皂苷和卡瓦胡椒等。

Li Y等^[10]采用切除与未切除的小鼠乳腺癌4T1细胞模型,使用活体成像技术、组织病理学、肺结节检测等手段,研究多烯紫杉醇-纳米聚合物胶束(SPM-DTX)的抗肿瘤作用。结果显示,与游离DTX比较,SPM-DTX有抗乳腺癌转移的作用。Lu X等^[11]采用4T1细胞模型研究长春新碱聚乙二醇-磷脂酰乙醇胺胶束(M-Vino)的抗肿瘤作用。结果显示,与游离长春新碱比较,M-Vino能更有效地抑制肿瘤细胞生长,诱导G₂/M期细胞凋亡,能更快进入4T1细胞并能累积较高浓度,且细胞毒性较低。Song L等^[12]研究发现,汉防己碱呈剂量依赖性地抑制4T1乳腺癌细胞的侵袭和转移;转染小干扰RNA片段(miR-324-5p)的模拟物及抑制物显示,其作用机制为调节白细胞介素(IL)-4/miR-324-5p/抗体(CUEDC2)。Ding QX等^[13]制备聚乳酸包载的多烯紫杉醇纳米纤维(DTX/PDLLA),采用MTT法在4T1细胞中进行细胞毒性评价,流式细胞仪检测表明,DTX/PDLLA可使4T1细胞凋亡。Yu Z等^[14]研究了藜头皂苷在4T1乳腺癌细胞株中的抗肿瘤活性,结果表明,藜头皂苷呈剂量依赖性地诱导4T1细胞凋亡,同时也呈浓度依赖性地抑制细胞转移和集落形成。潘国凤等^[15]研究雷公藤甲素对4T1细胞的作用,结果显示,雷公藤甲素体外浓度分别为100、10、1、0.1 μmol/L时可显著抑制4T1细胞的增殖,并诱导细胞凋亡;剂量为200 μg/kg时能抑制4T1细胞的增殖,其抗乳腺癌增殖作用与降低雌激素受体(ERα、ERβ)的磷酸化密切相关,但与蛋白激酶(MAPK)通路的活化无明显相关性。韩向晖等^[16]研究桔梗皂苷D分别配伍不同中药有效成分麦冬总皂苷、莪术醇、蛇床子素对乳腺癌细胞增殖及侵袭的影响。结果显示,桔梗皂苷D+莪术醇、桔梗皂苷D+蛇床子素配伍对4T1细胞增殖的抑制效果明显优于桔梗皂苷D+麦冬总皂苷及各成分单用($P<0.05$ 或 $P<0.01$);桔梗皂苷D+麦冬总皂苷和桔梗皂苷D+蛇床子素优化配伍对细胞侵袭能力的抑制作用优于桔梗皂苷D+莪术醇及各成分单用($P<0.05$ 或 $P<0.01$),表明桔梗皂苷D与不同中药有效成分优化配伍对乳腺癌细胞增殖和侵袭的抑制效果明确。

此外,还有一些研究采用4T1乳腺癌移植模型用于抗肿瘤中药活性成分作用机制的探索,如免疫系统状态、炎症过程及基因表达等。卡瓦胡椒是胡椒科多年生直立灌木类药用植物,具有抗肿瘤、抗炎和镇痛活性。Abu N等^[17]以4T1乳腺癌小鼠为模型,研究其活性成分卡瓦胡椒素A(Flavokawain A)在调节和增强4T1小鼠免疫系统及阻碍炎症过程中的基本机

制。研究表明,Flavokawain A除了自然杀伤细胞外,还可以增加T细胞群,即辅助性T细胞(Th)中的Th1和细胞毒性T细胞(CTL)的数量;同时,可升高4T1小鼠血清干扰素(IFN)- γ 和IL-2的水平。此外,Flavokawain A能降低肿瘤的质量和体积,并诱导肿瘤细胞凋亡。在炎症方面,其可降低4T1小鼠主要促炎症介质一氧化氮(NO)、诱导型一氧化氮合酶(iNOS)、核转录因子(NF)- κ B、黏附分子(ICAM)和环氧酶(COX)-2的水平。蛹虫草是一种菌类实体中药,具有抗肿瘤和免疫调节作用,其抗肿瘤活性成分虫草免疫调节蛋白(CMIP)对4T1细胞无明显细胞毒性,但在4T1乳腺癌肺转移小鼠模型中具有抗转移活性,可降低荷瘤小鼠肺肿瘤结节的数目并延长其存活时间;此外,在巨噬细胞-CMIP培养条件下可抑制4T1细胞的增殖,并可显著增加腹腔肿瘤坏死因子(TNF)- α 、IL-1和IL-6的mRNA水平^[18]。周防震等^[19]在BALB/c雌性小鼠皮下建立了4T1乳腺癌移植模型,研究二氢杨梅素的抗转移作用。结果显示,二氢杨梅素可不依赖细胞毒作用而减少细胞培养液中基质金属蛋白酶(MMP)-2和MMP-9水平,抑制4T1细胞的侵袭,且能抑制4T1小鼠乳腺癌远端肺转移,该机制可能与其下调荷瘤小鼠血清中MMP-9和MMP-2水平相关。

3 在生物治疗研究中的应用

生物治疗是利用生物制剂来调节宿主肿瘤防御机制,从而达到抑制肿瘤生长的方法^[20]。在肿瘤综合治疗中,生物治疗越来越受到重视,并已逐渐发展成为肿瘤治疗的第四模式。

基因突变是诱发肿瘤的直接原因^[21]。因此,可以通过基因治疗的方法来进行直接治疗。基因治疗是将外源功能基因片段导入到患者的细胞内,从而纠正患者先天代谢异常、补偿基因缺失或提供新的功能,达到治疗疾病的目的。人类IV期乳腺癌会转移至脑,形成具有炎症的微环境。Woditschka S等^[22]研究DNA基因修复乳腺癌脑转移基因结果表明,在小鼠4T1乳腺癌转移至脑后,BARD1和RAD51基因通常过度表达。利用这一特点来研究基因毒性应激脑转移,从而恢复乳腺癌脑转移基因。肿瘤靶向特异性也是基因治疗的研究热门。

免疫治疗也是肿瘤生物治疗的常用疗法。免疫治疗是应用免疫学原理和方法,提高肿瘤细胞的免疫原性和对效应细胞杀伤的敏感性,激发和增强机体抗肿瘤免疫应答。因此,可利用免疫细胞和效应分子进入宿主体内,达到协同机体免疫系统杀伤肿瘤、抑制肿瘤生长的目的。肿瘤疫苗、淋巴细胞与巨噬细胞、抗体、肿瘤干细胞等常应用于免疫治疗。4T1细胞常作为细胞模型来研究肿瘤疫苗、干细胞、巨噬细胞等的治疗。

肿瘤干细胞(TSC)理论在2006年被提出,通过靶向性杀死TSC从而达到治疗肿瘤的目的。Luznik L等^[23]利用4T1细胞模型采用肿瘤疫苗进行主动特异性免疫的治疗方法来研制一种新型非同种异体非骨髓性干细胞移植(NST)。动物的NST、淋巴细胞注射、辐照自体肿瘤细胞与粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)相组合,产生有效与特定的抗肿瘤免疫作用的疫苗。在手术切除原发肿瘤后使用这种免疫治疗疫苗,可以治愈早期转移型乳腺癌。古晓东等^[24]用小鼠乳腺癌4T1细胞研究巨噬细胞集落刺激因子(M-CSF)和GM-CSF对肿瘤细胞迁移及血管内皮生长因子(VEGF)-A表达的影响,结

果显示,M-CSF和GM-CSF可促进小鼠乳腺癌4T1细胞迁移及VEGF-A的表达。

除M-CSF和GM-CSF外,还有一些细胞因子如IL-2、IL-10、IL-12、IFN、TNF- α 等在乳腺癌中也发挥着重要作用^[25-26]。

4 结语

单个乳腺癌治疗药物的开发成本约为6亿美元,需要平均37个月的动物实验,以筛选其安全性和有效性^[27]。基于安全性与成本的考虑,通常采用转移性乳腺癌小鼠模型来筛选疗效。但仍有大量药物在动物实验筛选中有效,而在人体试验中以失败告终的例子。尽管小鼠模型在乳腺癌治疗的前期研究中占据重要位置,但目前尚无已建立的标准小鼠乳腺癌转移模型作为药物研发的优化系统。此外,在基因靶向治疗的时代,研究者越来越关注肿瘤基因的特征,而对不同模型产生的肿瘤遗传特征的差异却了解甚少。

一个理想的肿瘤细胞模型应与其模拟的人类肿瘤在分子、组织学及生物学特征方面有许多共同性,对于深入研究肿瘤发生、发展、预防和治疗有十分重要的意义。目前,用于乳腺癌研究的细胞株主要有入乳腺癌细胞系(如MCF-7、MCF-10、T47D、MDA-MB-231)和小鼠乳腺癌细胞系(如C127和4T1)等。其中,4T1细胞是目前乳腺癌研究中应用最广泛的可移植细胞之一,其细胞恶性程度高、转移性高且免疫原性低,其生长与转移特性与人类晚期乳腺癌十分相近,因此成为人类IV期乳腺癌的理想动物模型^[28]。不同于其他乳腺癌细胞,4T1细胞具有以下特征:(1)抗6-硫鸟嘌呤。6-硫鸟嘌呤为嘌呤类抑制剂,可用于急性非淋巴细胞性白血病的诱导治疗,增强疗效。利用该特性,可将4T1细胞用于精确定量和追踪转移性细胞。(2)易移植性。4T1细胞易于移植至乳腺,原发肿瘤可在解剖学的正确位置生长。利用该特性,可将4T1细胞用于动物身上进行原发肿瘤及其转移的研究。(3)高致瘤性和转移性。4T1可从原发肿瘤自发转移至肺、肝、淋巴结、血液、大脑和骨等多个远端部位,并逐步扩散转移到引流淋巴结和其他器官。该模式与人类乳腺癌十分相似。(4)细胞培养和动物体内接种肿瘤后,均生长极为迅速,为科研提供了高效评价模型。此外,4T1小鼠乳腺癌细胞作为同系小鼠模型,还可用荧光素酶标记植入免疫小鼠体内,利用生物发光技术可用于筛选药物的体内疗效。这种同源模型考虑了抗肿瘤免疫反应、肿瘤间质的相互作用及乳腺微环境,相比异种移植而言,可更有效地促使肿瘤演进和转移。

笔者综述了4T1小鼠乳腺癌细胞模型在肿瘤治疗研究中的大量应用,希望研究者能更加深入地优化该细胞模型,将其建立成为标准小鼠乳腺癌转移模型,从而更好地服务于肿瘤新药研究及基础机制研究。

参考文献

- [1] 郑莹,吴春晓,张敏璐,等.乳腺癌在中国的流行状况和疾病特征[J].中国癌症杂志,2013,23(8):561.
- [2] 唐静,祖旭宇.乳腺癌靶向治疗药物的研究进展[J].中国药房,2011,22(41):3 909.
- [3] 晁振华,赵素容,蒋琛琛,等.C3H小鼠乳腺癌实验性肺转移模型的建立及评价[J].中国药理学通报,2014,30

- (2):291.
- [4] Alibolandi M, Sadeghi F, Abnous K, *et al.* The chemotherapeutic potential of doxorubicin-loaded PEG-b-PLGA nanopolymerosomes in mouse breast cancer model[J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2015, 94(5):521.
 - [5] Gao ZG, Tian L, Hu J, *et al.* Prevention of metastasis in a 4T1 murine breast cancer model by doxorubicin carried by folate conjugated pH sensitive polymeric micelles[J]. *J Control Release*, 2011, 152(1):84.
 - [6] Li MQ, Tang ZH, Zhang Y, *et al.* Targeted delivery of cisplatin by LHRH-peptide conjugated dextran nanoparticles suppresses breast cancer growth and metastasis[J]. *Acta Biomater*, 2015, doi: 10.1016/j.actbio.2015.02.022.
 - [7] Li MQ, Tang ZH, Zhang DW, *et al.* Doxorubicin-loaded polysaccharide nanoparticles suppress the growth of murine colorectal carcinoma and inhibit the metastasis of murine mammary carcinoma in rodent models[J]. *Biomaterials*, 2015, doi: 10.1016/j.biomaterials.2015.02.002.
 - [8] Wang J, Ma W, Tu P, *et al.* Synergistically improved anti-tumor efficacy by co-delivery doxorubicin and curcumin polymeric micelles[J]. *Macromol Biosci*, 2015, 15(9): 1 252.
 - [9] Kim J, Park EJ. Cytotoxic anticancer candidates from natural resources[J]. *Curr Med Chem Anti-cancer Agents*, 2002, 2(4):485.
 - [10] Li Y, Jin M, Shao S, *et al.* Small-sized polymeric micelles incorporating docetaxel suppress distant metastases in the clinically-relevant 4T1 mouse breast cancer model [J]. *BMC Cancer*, 2014, doi: 10.1186/1471-2407-14-329.
 - [11] Lu X, Zhang F, Qin L, *et al.* Polymeric micelles as a drug delivery system enhance cytotoxicity of vinorelbine through more intercellular accumulation[J]. *Drug Deliv*, 2010, 17(4):255.
 - [12] Song L, Liu D, Zhao Y, *et al.* Sinomenine inhibits breast cancer cell invasion and migration by suppressing NF- κ B activation mediated by IL-4/miR-324-5p/CUEDC2 axis [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 464(3):705.
 - [13] Ding QX, Li Z, Yang Y, *et al.* Preparation and therapeutic application of docetaxel-loaded poly (D, L-lactide) nanofibers in preventing breast cancer recurrence[J]. *Drug Deliv*, 2015, 7(23):1.
 - [14] Yu Z, Zhang T, Zhou F, *et al.* Anticancer activity of saponins from allium chinense against the B16 melanoma and 4T1 breast carcinoma cell[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2015, 11(3):1 155.
 - [15] 潘国凤, 高建莉, 张奇, 等. 雷公藤甲素通过抗ER磷酸化抑制小鼠4T1乳腺癌增殖作用研究[J]. *中国中药杂志*, 2013, 38(23):4 129.
 - [16] 韩向晖, 叶依依, 郭保凤, 等. 桔梗皂苷D配伍不同中药有效成分对乳腺癌4T1和MDA-MB-231细胞增殖及侵袭的影响[J]. *中西医结合学报*, 2012, 10(1):67.
 - [17] Abu N, Mohamed NE, Yeap SK, *et al.* In vivo anti-tumor effects of flavokawain A in 4T1 breast cancer cell-challenged mice[J]. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 2015, 15(7):1 401.
 - [18] Yang Q, Yin Y, Yu G, *et al.* A novel protein with anti-metastasis activity on 4T1 carcinoma from medicinal fungus *Cordyceps militaris*[J]. *Int J Biol Macromol*, 2015, 80(30):385.
 - [19] 周防震, 张新芳. 二氢杨梅素对4T1小鼠乳腺癌肺转移的抑制作用[J]. *中华临床医师杂志: 电子版*, 2014, 8(9): 1 674.
 - [20] 赵利美, 张晓卿, 孙燕, 等. 乳腺癌生物治疗策略及主要相关靶点[J]. *中华临床医师杂志: 电子版*, 2014, 8(2):313.
 - [21] 孙强, 李涛, 孙卫民. 乳腺癌生物治疗的研究进展[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2012, 19(4):461.
 - [22] Woditschka S, Evans L, Duchnowska R, *et al.* DNA double-strand break repair genes and oxidative damage in brain metastasis of breast cancer[J]. *J Natl Cancer Inst*, 2014, 106(7):1.
 - [23] Luznik L, Slansky JE, Jalla S, *et al.* Successful therapy of metastatic cancer using tumor vaccines in mixed allogeneic bone marrow chimeras[J]. *Blood*, 2003, 101(4):1 645.
 - [24] 古晓东, 李飞栋, 王玉. 巨噬细胞集落刺激因子和粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子对小鼠乳腺癌4T1细胞迁移及血管内皮生长因子A表达的影响[J]. *肿瘤研究与临床*, 2014, 26(8):510.
 - [25] Kano A. Tumor cell secretion of soluble factor(s) for specific immunosuppression[J]. *Sci Rep*, 2015, 5(9):8 913.
 - [26] Madera L, Greenshields A, Coombs MRP, *et al.* 4T1 murine mammary carcinoma cells enhance macrophage-mediated innate inflammatory responses[J]. *PLoS ONE*, 2015, 10(7):1 037.
 - [27] Rashid OM, Nagahashi M, Ramachandran S, *et al.* An improved syngeneic orthotopic murine model of human breast cancer progression[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2014, 147(3):501.
 - [28] Pulaski BA, Ostrand-Rosenberg S. Mouse 4T1 breast tumor model[J]. *Curr Protoc Immunol*, 2001, doi: 10.1002/0471142735.im2002s39.

(收稿日期:2015-08-01 修回日期:2015-10-13)

(编辑:余庆华)