

doi:10.3969/j.issn.1005-3697.2026.04.008

✦基础医学研究✦

扶正消癥汤含药血清对不同亚型乳腺癌细胞超微结构和端粒酶逆转录酶表达的影响

钱之远¹, 江洁敏¹, 林永忠¹, 吴杨辉², 林增焯²

(福州市中医院, 1. 甲乳血管外科 2. 微创外科, 福建 福州 350001)

【摘要】目的: 探讨扶正消癥汤对不同亚型乳腺癌细胞超微结构及端粒酶逆转录酶(TERT)表达的影响。**方法:** 将12只SPF级雌性BALB/c小鼠(4周龄, 16~22 g)适应性喂养1周后, 随机分为高、中、低剂量扶正消癥汤组(分别以60、40、20 g/kg灌胃)和生理盐水组(给予等体积生理盐水灌胃)。后批40只同等条件小鼠随机分为扶正消癥汤单药组、紫杉醇组、扶正消癥汤+紫杉醇联合组及空白对照组, 每组各10只。扶正消癥汤组以优选浓度(60 g/kg)灌胃, 2次/d; 紫杉醇组小鼠给予10 mg/kg腹腔注射, 2次/周; 联合组同步给予上述两种方案; 空白组灌胃等体积生理盐水; 各组均连续干预7 d。末次给药1 h后, 无菌条件下经腹主动脉采血, 分离血清, 灭活补体, 0.22 μm滤膜除菌。用含药血清处理不同亚型乳腺癌细胞(购于福州载基生物有限公司)以观察扶正消癥汤对不同亚型乳腺癌细胞功能、超微结构及TERT表达的影响; CCK-8检测含药血清处理后的乳腺癌细胞增殖, 透射电镜检测含药血清处理后的乳腺癌细胞超微结构; 实时荧光定量逆转录聚合酶链式反应(RT-qPCR)检测含药血清处理后的乳腺癌细胞TERT mRNA相对表达量; 蛋白质免疫印迹法(Western blot, WB)检测含药血清处理后的乳腺癌细胞TERT蛋白含量; RT-qPCR(T/S比)测量含药血清处理后乳腺癌细胞的端粒长度。**结果:** 高剂量扶正消癥汤组含药血清处理乳腺癌细胞48 h后, 细胞增殖率<50%。透射电镜结果显示, 扶正消癥汤组、紫杉醇组及扶正消癥汤联合紫杉醇组处理后线粒体结构松弛, 线粒体外膜破裂, 线粒体嵴混乱消失, 空泡出现, 细胞膜破裂。RT-qPCR和WB实验结果显示, 扶正消癥汤组+紫杉醇组联合组的TERT mRNA相对表达量及蛋白相对含量均低于单药组($P<0.05$); 端粒长度缩短($P<0.05$)。**结论:** 扶正消癥汤可通过调控TERT抑制乳腺癌的发生发展。

【关键词】 扶正消癥汤; 端粒酶逆转录酶; 端粒酶; 乳腺癌细胞; 细胞超微结构

【中图分类号】 R273 **【文献标志码】** A

Effects of Fuzheng Xiaozheng Decoction on ultrastructure and TERT expression in different subtypes of breast cancer cells

QIAN Zhi-yuan¹, JIANG Jie-min¹, LIN Yong-zhong¹, WU Yang-hui², LIN Zeng-xuan²

(1. Department of Breast, Thyroid and Vascular Surgery; 2. Department of Minimally Invasive Surgery, Fuzhou Traditional Chinese Medicine Hospital, Fuzhou 350001, Fujian, China)

【Abstract】 Objective: To investigate the effects of Fuzheng Xiaozheng Decoction (FZXD) on the ultrastructure and telomerase reverse transcriptase (TERT) expression in different subtypes of breast cancer cells. **Methods:** 12 SPF-grade female BALB/c mice (4 weeks old, 16~22 g) were acclimated for 1 week and then randomized into high-, medium-, and low-dose FZXD groups and a saline group, receiving 60, 40, or 20 g/kg FZXD and an equal volume of saline by gavage to determine the optimal dose. A second cohort of 40 mice under identical conditions was randomized into FZXD alone, paclitaxel (PTX) alone, FZXD+PTX combination, and blank control groups ($n=10$ each). FZXD was given at 60 g/kg twice daily, PTX was injected intraperitoneally at 10 mg/kg twice weekly, the combination group received both regimens, controls received saline. All interventions lasted 7 days. 1 hour after the last dose, blood was collected aseptically from the abdominal aorta, serum was separated, heat-inactivated, and sterilized through 0.22 μm filters. The drug-containing serum of mice was used to treat different subtypes of breast cancer cells (purchased from Fuzhou Zaiji Biotechnology Co., Ltd.) to observe the effects of Fuzheng Xiaozheng Decoction on the function, ultrastructure and TERT expression of different subtypes of breast cancer cells. CCK8 was used to detect the proliferation of breast cancer cells after treatment with drug-containing serum, transmission electron microscopy was used to detect the ultrastructure of breast cancer cells after treatment with drug-containing serum. Real-time

基金项目: 福建省自然科学基金资助项目(2022J011334)

作者简介: 钱之远(1978-), 男, 副主任医师。E-mail: qqianzhiyuan@163.com

fluorescence quantitative reverse transcription polymerase chain reaction (RT-qPCR) was used to detect the relative expression of TERT mRNA in breast cancer cells after treatment with drug-containing serum, Western blotting (WB) was used to detect the content of TERT protein in breast cancer cells after treatment with drug-containing serum, and RT-qPCR (T/S ratio) was used to measure the telomere length of breast cancer cells after treatment with drug-containing serum. **Results:** After 48 h exposure to high-dose FZXD-medicated serum, breast-cancer-cell viability fell below 50 %. TEM revealed swollen mitochondria with ruptured outer membranes, disordered/effaced cristae, cytoplasmic vacuoles, and disrupted plasma membranes in FZXD, PTX, and combination groups. RT-qPCR and Western blot showed reduced in TERT mRNA and protein levels, and telomeres were shortened in all treatment groups versus control. **Conclusion:** Fuzheng Xiaozheng Decoction suppresses breast-cancer progression by down-regulating TERT expression.

【Key words】 Fuzheng Xiaozheng Decoction; Telomerase reverse transcriptase; Telomerase; Breast cancer cell; Cellular ultrastructure

乳腺癌是女性最常见的恶性肿瘤之一。根据统计^[1], 美国乳腺癌发病率每年增长约 1% (2012 ~ 2021 年), 其中激素受体阳性 (HR+) 和局部早期病例占比明显增加; 亚洲女性 (尤其是年轻群体) 的发病率增速最快 (每年约上涨 2.7%), 而黑人女性食管发病率略低, 但死亡率比白人女性高约 38%, 部分归因于三阴性乳腺癌比例较高和社会经济因素导致的诊疗差异^[2]; 中国上海的数据^[3]显示, 乳腺癌已跃居女性恶性肿瘤首位。随着治疗药物的进步和辅助检测方法的发展, 乳腺癌患者 5 年生存率不断提高^[4]。然而, 乳腺癌的耐药性会降低患者的生存率, 乳腺癌仍然是全球女性癌症死亡的主要原因^[5]。因此, 开发新的治疗策略对治疗乳腺癌至关重要。

中医作为补充和替代医学, 近年来因治疗许多复杂的慢性疾病而受到越来越多的关注^[6]。研究^[7]证实, 中医在控制癌症发展、预防肿瘤复发转移、提高生活质量方面具有明显优势, 且单独或与其他疗法联合用于不同阶段的肿瘤防治。中药用植物在维持人体健康特别是在治疗癌症方面具有巨大潜力。如从短叶红豆杉树皮中分离获得的紫杉醇, 目前研究^[8]表明, 在多种肿瘤治疗中通过结合微管蛋白 β 亚基, 稳定微管结构, 阻断有丝分裂而发挥抗癌作用。紫杉醇与抗肿瘤药物的组合具有降低肿瘤药物的毒性和提高疗效的双重作用^[9]。扶正消癥汤是一种中国传统汤剂, 由仙鹤草、炙黄芪、生晒参等十多种中草药按比例熬煮而成, 全方以大剂量仙鹤草、黄芪为要药, 以仙鹤草补虚解毒, 黄芪益气健脾。中药成分复杂, 许多源自中药的化合物已被证实对不同类型的肿瘤具有显著的抑制作用。研究^[10-11]证明, 仙鹤草将前列腺癌和肺癌细胞阻滞在 G0 期 (休眠期), 从而抑制癌细胞增殖和复发; 黄芪中的黄酮类成分能抑制氧化应激诱导的血管内皮细胞损伤, 减少肿瘤相关炎症。目前, 该方于福州市中医院门诊使用以来, 经长期临床观察, 乳腺癌患者术前口服扶正消癥汤两周, 癌肿范围缩小、手术风险降低。但其具体作用机制仍不明确。

端粒酶逆转录酶 (hTERT) 是端粒酶的催化亚基, 作为 RNA 依赖性 DNA 聚合酶负责端粒 DNA 的延长^[12]。hTERT 与端粒酶 RNA 组分 (hTR) 共同构成端粒酶全酶, 在维持基因组稳定性和细胞增殖能力中起关键作用^[13]。在 85% ~ 90% 的恶性肿瘤中, 端粒酶活性上调^[14], 由于这一特性, 使 hTERT 成为极具吸引力的标志物^[15], 它可评估肿瘤侵袭性、预测患者生存期及进行风险分级。如在白血病中, hTERT 表达水平与疾病预后相关, 高表达患者往往预后较差^[16]。研究 hTERT 基因 mRNA 表达水平有助于研究药物对端粒酶活性的影响, 从而评估癌症的风险等级及患者预后效果。目前, 尚未有研究阐明扶正消癥汤与乳腺癌 hTERT 的相关性。本研究旨在通过扶正消癥汤含药血清干预不同亚型的乳腺癌细胞, 探讨扶正消癥汤治疗乳腺癌的可能机制。

1 材料与方 法

1.1 材 料

52 只 4 周龄、体质量 16 ~ 22 g 的 SPF 级雌性小鼠购于斯贝福 (北京) 生物技术有限公司。12 h 昼夜交替, 温度 23 ~ 25 °C, 适应性饲养后进入实验。扶正消癥汤由本院配制, 优质胎牛血清 FBS 购于 PAN biotech, MEM (含 NEAA) 培养基、RPMI-1640 培养基、Leibovitz's L-15 培养基购于武汉普诺赛生命科技有限公司, 青链霉素混合液 (100×) 细胞培养专用购于北京索莱宝科技有限公司, SweScript RT I First Strand cDNA Synthesis Kit、NucleoZol、UltraSYBR Mixture 购于江苏康为世纪神武科技股份有限公司, EasyPure[®] Genomic DNA Kit (不含 RNase A) 购于北京全式金生物。仪器有冷冻高速离心机 (湖南湘仪实验室仪器开发有限公司)、水浴锅 (上海精宏实验设备有限公司)、qPCR 仪 (Roche)、Nano 微量分光光度计 (ALLSHENG)、酶标仪 (北京普朗新技术有限公司)、细胞培养箱 (三洋电机株式会社)、细胞培养板 (Corning)、电泳系统及

电泳槽(北京六一生物科技有限公司)、化学发光仪(上海培清科技有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 动物含药血清制备 52只小鼠适应性喂养1周后,取12只进行浓度摸索,将12只随机分为高剂量组、中剂量组、低剂量组、生理盐水组,按体表面积折算动物等效药量,分别予以扶正消癥汤灌胃(药物浓度1 g/mL):高剂量60 g/kg、中剂量40 g/kg、低剂量20 g/kg,生理盐水组灌服等体积生理盐水,2次/d,连续7 d。其余40只,随机分为扶正消癥汤组、紫杉醇组、扶正消癥汤联合紫杉醇组、空白对照组,每组各10只。扶正消癥汤组给予扶正消癥汤药液灌胃,2次/d,连续7 d。紫杉醇组给予紫杉醇腹腔注射,10 mg/kg,2次/周,给药7 d;空白组予等体积生理盐水灌胃,2次/d,连续7 d。于末次给药后1 h严格无菌操作,经腹主动脉采血10 mL,血样置于4℃静置2 h,待血块收缩良好后,3 000 r/min离心15 min分离血清,血清以55℃水浴处理30 min,用0.22 μm微孔滤膜过滤除菌,置于-20℃保存备用。

1.2.2 细胞培养及干预 (1)细胞培养:细胞于37℃、5%CO₂培养箱中培养。MCF-7细胞培养配方为MEM+10 μg/mL Insulin+10% FBS+1% P/S;MDA-MB453细胞培养配方为Leibovitz's L-15+10% FBS+1% P/S;MDA-MB231细胞培养配方为Leibovitz's L-15+10% FBS+1% P/S;AU565细胞培养配方为RPMI1640+10% FBS+1% P/S。(2)细胞干预:取对数生长期的人乳腺癌MCF-7、MDA-MB231、AU565细胞接种于6孔板中,3×10⁵ cell/孔,2 mL培养基/孔,孵育24 h后吸去培养孔中的培养液,分别加入含10%的扶正消癥汤含药血清、紫杉醇含药血清、联合治疗组含药血清、空白组血清的培养基,继续培养48 h。

1.2.3 CCK-8检测 取对数生长期细胞,消化重悬,调整细胞浓度为4×10⁴/mL,每孔100 μL接种于96孔板中,每组3个复孔。细胞贴壁后更换为各组含药培养基100 μL,于37℃、5%CO₂培养箱中培养0、24、48、72、96 h后,分别加入10%的CCK-8溶液,继续培养1 h,于450 nm处测OD值。

1.2.4 透射电镜观察细胞形态 细胞经PBS漂洗后,依次用2.5%戊二醛(4℃,2 h),1%锇酸(4℃避光,2 h)双重固定;梯度丙酮脱水(30%~100%);环氧树脂逐级渗透并60℃聚合48 h;超薄切片(60~80 nm)经醋酸铀酰-柠檬酸铅双重染色,80 kV透射电镜下2 000~50 000×成像。

1.2.5 RT-qPCR检测 hTRET mRNA 相对表达

量 RNA提取:样本经NucleoZol裂解、氯仿抽提后,取上清异丙醇沉淀;75%乙醇两次洗涤,RNase-free水重悬,-80℃保存。根据逆转录试剂盒说明书,将RNA逆转录成cDNA。见表1。根据SYBR Green Master Mix说明书稀释样本并上样,GAPDH(human)作为内参基因,检测基因的相对表达量。根据2^{-ΔΔCt}法对数据进行相对定量分析,计算公式为(x表示任意一个样本)ΔΔCt = (C_{t,Target} - C_{t,内参})X - (C_{t,Target} - C_{t,内参})_{Control}。

表1 引物序列

基因	序列
GAPDH-F	GAGAAATCTGGCACCACACC
GAPDH-R	GGATAGCACAGCCTGGATAGCAA
TERT-F	CTGGACGATATCCACAGGGC
TERT-R	AAGTTCACCACGCAGCCATA
Single copy gene-F	CAGCAAGTGGGAAGGTGTAATCC
Single copy gene-R	CCCATTCTATCATCAACGGGTACAA
Telomeres-F	CGGTTTGTGGGTTTGGGTTTGGGTTTGGGTTTGGGTT
Telomeres-R	GGCTTGCCTTACCCTTACCCTTACCCTTACCCTTACCCT

1.2.6 Western blot检测 hTRET蛋白相对含量 样本经含PMSF裂解液冰上裂解、离心后取上清,BCA法定量并统一浓度,加loading buffer 98℃变性5 min。10% SDS-PAGE分离后湿转PVDF膜(4℃,100 V,90 min),5% BSA室温封闭2 h;4℃一抗(β-actin 1:4 000,TERT 1:1 000)孵育过夜,TBST洗3×10 min,HRP标记二抗(1:5 000)室温2 h,ECL发光成像,Image J定量。

1.2.7 端粒长度测定 提取基因组DNA,使用实时荧光定量PCR测定法从总基因组DNA中测量平均端粒长度。在实时荧光定量PCR检测系统上进行PCR反应,使用端粒引物(Telomeres)、参考对照基因(小鼠36B4单拷贝基因Single copy gene)引物和PCR设置(表1)。对于每个PCR反应,通过连续稀释已知量的DNA来制作标准曲线。将端粒信号归一化为来自单拷贝基因的信号,以产生指示相对端粒长度的T/S比。每个反应使用等量的DNA。

1.3 统计学分析

采用SPSS20.0软件对数据进行处理与分析。计量资料符合正态分布且方差齐性,以($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较行单因素方差分析,进一步两两比较行SNK-q检验,两组间比较行独立样本t检验;不符合正态性分布的资料采用Kruskal-Wallis H秩和检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同剂量扶正消癥汤含药血清对人乳腺癌细胞株增殖的影响

MCF-7、AU565、MDA-MB231 乳腺癌细胞的

存活率随扶正消癥汤浓度的增加而下降,且当高剂量浓度处理 48 h 后,三株乳腺癌的细胞存活率均 < 50%,因此后续实验选择 48 h 高浓度的含药血清进行验证。见图 1。

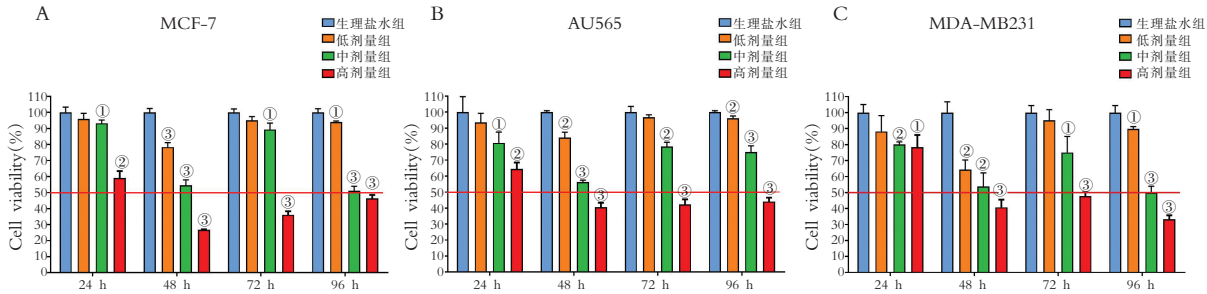


图 1 CCK-8 检测不同剂量的扶正消癥汤含药血清对细胞增殖的影响

A. MCF-7 乳腺癌细胞株; B. AU565 乳腺癌细胞株; C. MDA-MB231 乳腺癌细胞株。所有的差异分析均与生理盐水组进行比较。

① $P < 0.05$; ② $P < 0.01$; ③ $P < 0.001$ 。

2.2 扶正消癥汤处理后细胞超微结构的变化

透射电镜下显示,空白对照组乳腺癌细胞形态正常;扶正消癥汤组处理后部分线粒体结构松弛,线粒体外膜破裂,体嵴混乱消失,紫杉醇组处理后多数

线粒体结构松弛,线粒体外膜破裂,体嵴混乱消失,空泡出现,扶正消癥汤联合紫杉醇组多数未见线粒体结构,空泡次数增加,细胞膜破裂。见图 2。

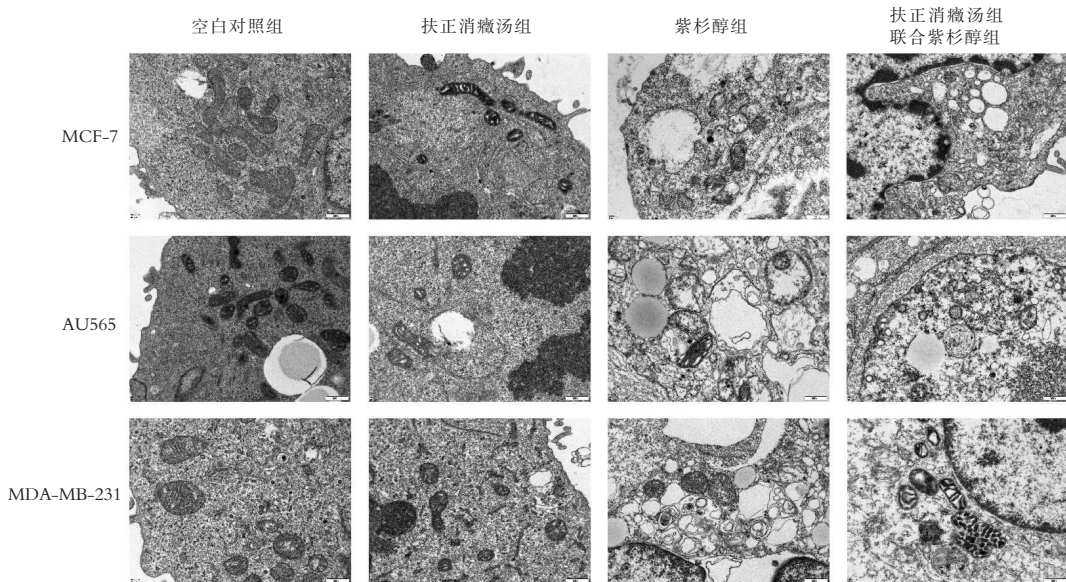


图 2 扶正消癥汤处理后细胞超微结构的变化

2.3 扶正消癥汤处理后细胞内 hTRET 的变化

RT-qPCR 检测结果显示,在三种细胞中空白组的 hTRET mRNA 相对表达量均高于扶正消癥汤组、紫杉醇组和扶正消癥汤联合紫杉醇组 ($P < 0.05$);在 AU565 细胞和 MDA-MB231 细胞中,扶正消癥汤组的 hTRET mRNA 相对表达量均高于紫杉醇组和扶正消癥汤联合紫杉醇组 ($P < 0.05$);在 MDA-MB231 细胞中,扶正消癥汤联合紫杉醇的

hTRET mRNA 相对表达量组低于紫杉醇组 ($P < 0.05$)。Western blot 实验结果显示,空白组的 hTRET 蛋白相对含量均高于扶正消癥汤组、紫杉醇组和扶正消癥汤联合紫杉醇组 ($P < 0.05$);而扶正消癥汤组、紫杉醇组的 hTRET 蛋白相对含量均高于扶正消癥汤联合紫杉醇组 ($P < 0.05$)。见图 3。

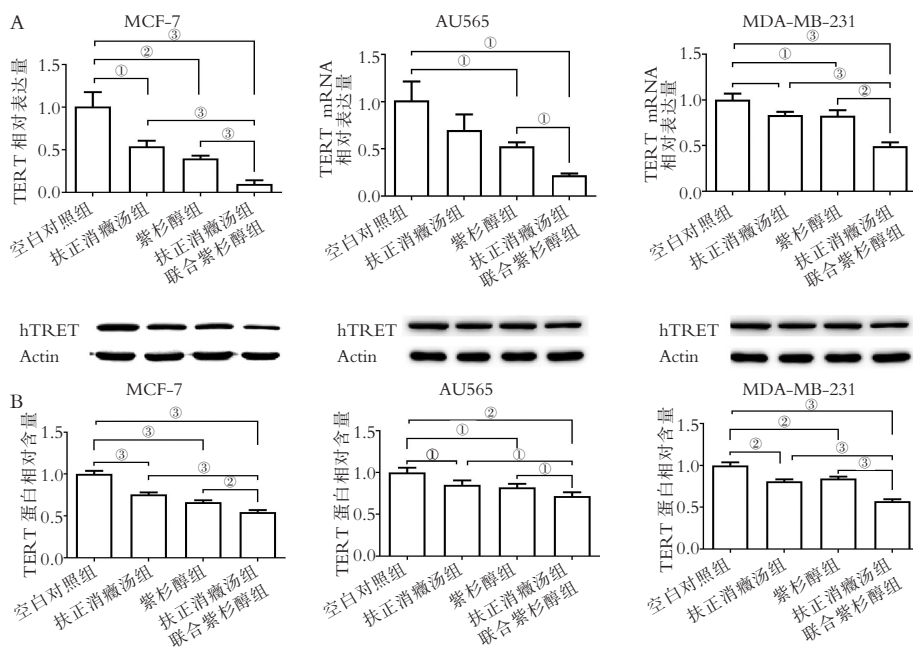


图3 扶正消癥汤处理后细胞内 hTRET 的变化

A. RT-qPCR 检测扶正消癥汤处理后细胞内 hTRET mRNA 相对表达量; B. WB 检测扶正消癥汤处理后细胞内 hTRET 蛋白相对含量。① $P<0.05$; ② $P<0.01$; ③ $P<0.001$ 。

2.4 端粒长度测量结果 qPCR 测量结果显示,空白紫杉醇组的端粒长度均高于扶正消癥汤联合紫杉醇组的端粒长度均高于扶正消癥汤组、紫杉醇组和扶正消癥汤联合紫杉醇组 ($P<0.05$)。见图 4。

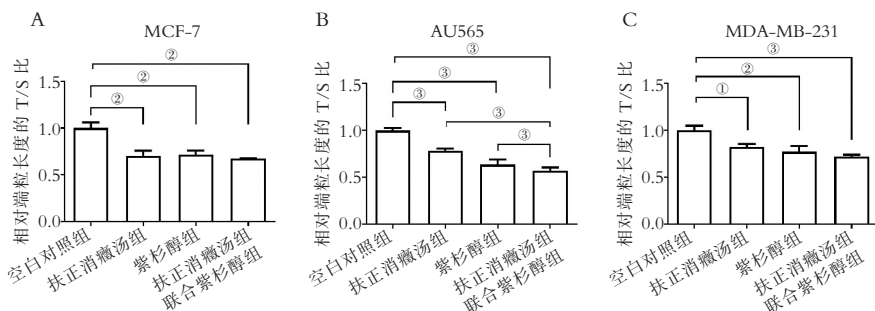


图4 端粒长度测量结果

A. MCF-7 乳腺癌细胞株; B. AU565 乳腺癌细胞株; C. MDA-MB231 乳腺癌细胞株。

① $P<0.05$; ② $P<0.01$; ③ $P<0.001$ 。

3 讨论

乳腺癌是一种异质性疾病,具有不同的亚型,特征是独特的流行病学模式^[17]。在全球范围内,乳腺癌约占所有女性恶性肿瘤的三分之一,其死亡率约占诊断病例总数的 15%^[18]。乳腺癌主要的亚型有雌激素受体(HR)阳性、HER2 过表达乳腺癌、三阴乳腺癌(TNBC)等。目前,HR 阳性/HER2 阳性乳腺癌占有乳腺癌的 5%~10%,其分子特征表现为较低的 HER2 mRNA 表达水平(相比 ER-PR-HER2+ 亚型)、更高的 Luminal A 型比例(>40%),且 TP53 突变率更低(30% vs. 69%),临床预后优于单纯 HER2+ 或 TNBC,可能与内分泌治

疗的敏感性相关^[19],但由于与 HER2/HR 信号交叉激活相关,使 PI3K/AKT/mTOR 通路过度活化或 ER 信号补偿性上调导致易出现耐药性^[20]。此外,MAP3K1 突变可抑制 MHC-I 抗原呈递,导致免疫逃逸^[21];IGBP1 过表达促进细胞周期进展和他莫昔芬耐药^[22]。TNBC 因缺乏 ER、PR 和 HER2 表达,基因组不稳定性高,常伴随同源重组修复缺陷(HRD)特征^[23],其侵袭性强,早期复发风险高,5 年生存率低于 HR+/HER2+ 亚型^[24]。因此,对于不同亚型的乳腺癌治疗方案可能略有不同,本研究通过使用三种亚型的乳腺癌细胞(MCF7 细胞为 HR+ 型, AU565 细胞为 HER2 过表达型, MDA-MB231 为 TNBC 型)研究扶正消癥汤对其作用,更

加全面的研究扶正消癥汤对乳腺癌的影响。

中医药因多种草药入药,使其产生多靶点,在治疗肿瘤疾病中具有积极作用。朱良春认为肿瘤的发生,主要是人体正气虚弱,脏腑功能失调,邪毒侵袭所致,或内生邪毒、湿浊、痰凝、气滞、瘀血,诸邪互结产生肿瘤。因此,不论肿瘤处于何种阶段治疗均可以扶正消癥为主。在本院乳腺外科长期采用加味扶正消癥汤治疗乳腺癌及预防肿瘤复发,临床观察具有良好疗效。本研究中,使用高剂量的扶正消癥汤含药血清处理乳腺癌细胞 48 h 时后,乳腺癌细胞的增殖率降低 >50%;在细胞结构上,能量转换细胞器线粒体结构变化,细胞膜缺失,表明在扶正消癥汤治疗后,对癌细胞有一定的杀伤性,这与临床观察到结果相一致。

端粒酶逆转录酶(TERT)是端粒酶的核心催化亚基。在正常细胞中,TERT 沉默导致端粒逐渐缩短,最终触发细胞衰老或凋亡,从而抑制肿瘤发生^[25],其异常激活在 85~90% 的癌症中被观察到,通过维持端粒长度使癌细胞逃避衰老^[26],在膀胱癌、甲状腺癌、头颈癌等多种癌症中高频出现启动子位点突变(如 C228T/C250T),导致 TERT 异常表达^[27-29]。另外,TERT 还参与癌细胞增殖、凋亡、EMT(上皮-间质转化)和侵袭等过程,独立于端粒维持功能。研究^[30-32]表明,靶向 hTERT 的反义 RNA 可抑制舌鳞癌裸鼠移植瘤生长;亚砷酸钠通过下调 hTERT mRNA 抑制肺癌细胞端粒酶活性从而抑制胃癌进展;在慢性髓系白血病(CML)中,TERT 缺失可增强伊马替尼对白血病干细胞的清除效果。在本研究中,通过扶正消癥汤和紫杉醇治疗后三种乳腺癌细胞均有表现出低 TERT mRNA 相对表达量和低 TERT 蛋白含量,同时端粒长度缩短,这有助于抑制乳腺癌细胞增殖,延缓乳腺癌发展。

综上,本研究通过扶正消癥汤含药血清处理不同亚型的乳腺癌细胞,发现在高剂量处理 48 h 对乳腺癌细胞均有抑制增殖的作用,通过透射电镜观察到乳腺癌在扶正消癥汤作用下出现线粒体形态异常,细胞膜破裂等现象,TERT 基因及蛋白相对含量均降低,端粒酶长度缩短,提示扶正消癥汤可通过调控 TERT 来抑制乳腺癌的发生发展。

参考文献

[1] Giaquinto AN, Sung H, Newman LA, *et al.* Breast cancer statistics 2024[J]. CA: A Cancer Journal for Clinicians, 2024, 74(6): 477-495.

- [2] Cardoso F, Parke S, Brennan DJ, *et al.* Elinzanentant for vasomotor symptoms from endocrine therapy for breast cancer[J]. The New England Journal of Medicine, 2025, 393(8): 753-763.
- [3] 孙强. 乳腺癌的早期诊断[J]. 实用医学杂志, 2007, 23(1): 1-3.
- [4] Hu GN, Wang Y, Tang CH, *et al.* The impact of Angiopoietin-2 genetic polymorphisms on susceptibility for malignant breast neoplasms[J]. Scientific Reports, 2022, 12: 14522.
- [5] Mou J, Li C, Zheng Q, *et al.* Research progress in tumor angiogenesis and drug resistance in breast cancer[J]. Cancer Biology & Medicine, 2024, 21(7): 571-585.
- [6] Wang K, Chen Q, Shao Y, *et al.* Anticancer activities of TCM and their active components against tumor metastasis[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2021, 133: 111044.
- [7] Liao X, Bu Y, Jia Q. Traditional Chinese medicine as supportive care for the management of liver cancer: Past, present, and future[J]. Genes & Diseases, 2020, 7(3): 370-379.
- [8] Smith ER, Xu XX. Breaking malignant nuclei as a non-mitotic mechanism of taxol/paclitaxel[J]. Journal of Cancer Biology, 2021, 2(4): 86-93.
- [9] Shitara K, Van Cutsem E, Gümüş M, *et al.* Trastuzumab deruxtecan or ramucirumab plus paclitaxel in gastric cancer[J]. The New England Journal of Medicine, 2025, 393(4): 336-348.
- [10] Hnit SST, Ding R, Bi L, *et al.* Agrimol B present in Agrimonia pilosa Ledeb impedes cell cycle progression of cancer cells through G(0) state arrest[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2021, 141: 111795.
- [11] Xie X, Zhang HD, Chen YZ, *et al.* Chemical constituents and activities of total flavonoids from Yushen Tang[J]. Zhongguo Zhongyao Zazhi, 2012, 37(23): 3585-3590.
- [12] Im E, Yoon JB, Lee HW, *et al.* Human telomerase reverse transcriptase (hTERT) positively regulates 26S proteasome activity[J]. Journal of Cellular Physiology, 2017, 232(8): 2083-2093.
- [13] 胡骏, 刘保安, 曾庆富. 恶性肿瘤端粒酶逆转录酶基因的表达及调控研究进展[J]. 国外医学(生理、病理科学与临床分册), 2002, 22(6): 565-567.
- [14] Gu W, Lin Z, Zhao S, *et al.* Research progress on G-quadruplexes in human telomeres and human telomerase reverse transcriptase (hTERT) promoter[J]. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2022, 2022(1): 2905663.
- [15] 陈晨, 王燕, 陈始明, 等. 以人端粒酶逆转录酶为靶点的肿瘤治疗[J]. 国际肿瘤学杂志, 2008, 35(8): 570-572.
- [16] Yik MY, Azlan A, Rajasegaran Y, *et al.* Mechanism of human telomerase reverse transcriptase (hTERT) regulation and clinical impacts in leukemia[J]. Genes, 2021, 12(8): 1188.
- [17] Jiong W, Fan D, Shao Z, *et al.* CACA guidelines for holistic integrative management of breast cancer[J]. Holistic Integrative Oncology, 2022, 1(1): 7.

(下转第 468 页)

- mellitus: a systematic review and meta-analysis of randomized placebo-controlled trials[J]. *Clinical Research in Cardiology*, 2024, 113(6): 910–923.
- [10] Paik JM, Tesfaye H, Curhan GC, *et al.* Sodium-glucose cotransporter 2 inhibitors and nephrolithiasis risk in patients with type 2 diabetes[J]. *JAMA Internal Medicine*, 2024, 184(3): 265–274.
- [11] 朱晓晓. 利拉鲁肽、利司那肽分别联合恩格列净对 T2DM 的血糖、血脂代谢及不良反应的影响[J]. *川北医学院学报*, 2024, 39(1): 108–111.
- [12] Yang M, Yue H, Xu Q, *et al.* Pioglitazone reduces serum ketone bodies in sodium-glucose cotransporter-2 inhibitor-treated non-obese type 2 diabetes: a single-centre, randomized, cross-over trial[J]. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 2024, 26(8): 3137–3146.
- [13] 姜建珍, 徐晓薇. SGLT2 抑制剂与二甲双胍治疗初诊 2 型糖尿病合并非酒精性脂肪肝的临床效果比较[J]. *临床合理用药杂志*, 2024, 17(23): 90–93.
- [14] Ouyang X, Peng L, Huang Z, *et al.* Effects of adipose tissues on the relationship between type 2 diabetes mellitus and reduced heart rate variability: mediation analysis[J]. *Cardiovascular Diabetology*, 2024, 23(1): 353.
- [15] 张伟杰. 达格列净对不同体重指数老年 2 型糖尿病合并高血压患者心脏保护作用的效果[J]. *糖尿病新世界*, 2025, 28(13): 98–101.
- [16] 周维晶, 王建平. SGLT-2 抑制剂改善 2 型糖尿病脂代谢的研究进展[J]. *中南医学科学杂志*, 2023, 51(1): 154–156.
- [17] Yamauchi Y, Tanaka H, Yokota S, *et al.* Effect of heart rate on left ventricular longitudinal myocardial function in type 2 diabetes mellitus[J]. *Cardiovascular Diabetology*, 2021, 20(1): 87.
- [18] 吕文旭, 陈瞳, 丁巍, 等. 达格列净对不同体质量指数老年 2 型糖尿病合并高血压患者的心脏保护作用[J]. *中华老年心脑血管病杂志*, 2024, 26(4): 389–394.
- [19] 马辰星, 张雅中, 刘业强, 等. 达格列净联合沙库巴曲缬沙坦钠对 HFpEF 合并糖尿病患者心脏保护作用及对 MACE 的影响[J]. *中国医药导刊*, 2025, 27(2): 171–176.
- [20] Fitchett D, Zinman B, Inzucchi SE, *et al.* Effect of empagliflozin on total myocardial infarction events by type and additional coronary outcomes: insights from the randomized EMPA-REG OUTCOME trial [J]. *Cardiovascular Diabetology*, 2024, 23(1): 248.
- (收稿日期: 2025-10-02 修回日期: 2025-11-26)

(上接第 448 页)

- [18] Xu Y, Gong M, Wang Y, *et al.* Global trends and forecasts of breast cancer incidence and deaths[J]. *Scientific Data*, 2023, 10: 334.
- [19] Zhao S, Liu XY, Jin X, *et al.* Molecular portraits and trastuzumab responsiveness of estrogen receptor-positive, progesterone receptor-positive, and HER2-positive breast cancer [J]. *Theranostics*, 2019, 9(17): 4935–4945.
- [20] Veerarahavan J, De Angelis C, Gutierrez C, *et al.* HER2-positive breast cancer treatment and resistance [J]. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 2025, 1464: 495–525.
- [21] Cai YW, Liu CC, Zhang YW, *et al.* MAP3K1 mutations confer tumor immune heterogeneity in hormone receptor-positive HER2-negative breast cancer[J]. *The Journal of Clinical Investigation*, 2024, 135(2): e183656.
- [22] 谭文浩, 刘胜春. IGBP1 对 ER 阳性乳腺癌增殖和他莫昔芬耐药的影响[J]. *重庆医科大学学报*, 2024, 49(11): 1465–1473.
- [23] Houlahan KE, Mangiante L, Sotomayor-Vivas C, *et al.* Complex rearrangements fuel ER+ and HER2+ breast tumours [J]. *Nature*, 2025, 638(8050): 510–518.
- [24] 张振, 冯云, 曹效忠, 等. 不同分子分型乳腺癌行保乳根治术的预后分析[J]. *中外医疗*, 2015, 34(6): 19–21.
- [25] Trybek T, Kowalik A, Góźdz S, *et al.* Telomeres and telomerase in oncogenesis [J]. *Oncology Letters*, 2020, 20(2): 1015–1027.
- [26] Liu M, Zhang Y, Jian Y, *et al.* The regulations of telomerase reverse transcriptase (TERT) in cancer[J]. *Cell Death & Disease*, 2024, 15: 90.
- [27] Yeh TJ, Luo CW, Du JS, *et al.* Deciphering the functions of telomerase reverse transcriptase in head and neck cancer[J]. *Bio-medicines*, 2023, 11(3): 691.
- [28] Wan S, Liu X, Hua W, *et al.* The role of telomerase reverse transcriptase (TERT) promoter mutations in prognosis in bladder cancer[J]. *Bioengineered*, 2021, 12(1): 1495–1504.
- [29] Cheng L, Lopez-Beltran A, Wang M, *et al.* Telomerase reverse transcriptase (TERT) promoter mutations in primary adenocarcinoma of bladder and urothelial carcinoma with glandular differentiation: pathogenesis and diagnostic implications [J]. *Modern Pathology*, 2021, 34(7): 1384–1391.
- [30] 姚晨, 姚华, 吴求亮, 等. 反义 hTERT 对人舌鳞癌细胞裸鼠移植成瘤的抑制作用[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2006, 13(5): 342.
- [31] 施睿, 梁标. 亚硫酸钠对人肺癌 Spc-A1 细胞端粒酶活性的影响[J]. *现代肿瘤医学*, 2012, 20(9): 1779–1783.
- [32] Grandjettette C, Schnekenburger M, Gaigneaux A, *et al.* Human telomerase reverse transcriptase depletion potentiates the growth-inhibitory activity of imatinib in chronic myeloid leukemia stem cells[J]. *Cancer Letters*, 2020, 469: 468–480.
- (收稿日期: 2025-10-29 修回日期: 2025-12-09)