

• 论 著 •

BMP9 对共培养体系中人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞迁移和侵袭的影响及其机制探讨*

王 林¹, 段雯婷², 王 维^{3△}

1. 陕西省西安市第一医院检验科, 陕西西安 710002; 2. 陕西省西安市第一医院心血管内科, 陕西西安 710002; 3. 陕西省西安市儿童医院检验科, 陕西西安 710003

摘 要:目的 采用体外细胞共培养技术模拟骨微环境, 探讨骨形态发生蛋白 9(BMP9) 对人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞迁移和侵袭的影响, 并探讨其机制。方法 骨髓基质细胞 HS-5 与 MDA-MB-231 细胞在 Transwell 共培养体系中分别加入磷酸盐缓冲液(对照组)和重组 BMP9 蛋白(100 ng/mL)(实验组), 培养 2 d 后, 细胞划痕实验检测 MDA-MB-231 细胞迁移能力的改变; Transwell 细胞侵袭实验检测 MDA-MB-231 细胞侵袭能力的改变; 采用 Western blot 及明胶酶谱法分别检测 MDA-MB-231 细胞基质金属蛋白酶(MMP)9、MMP2 蛋白表达及相对活性的改变; 采用 Western blot 检测 HS-5 和 MDA-MB-231 两种细胞中基质细胞衍生因子-1(SDF-1)及 MDA-MB-231 细胞中趋化因子受体 4(CXCR4)和细胞信号通路 P-Akt 表达的变化。结果 在共培养体系中加入 BMP9 后, 划痕实验结果显示, 对照组和实验组 MDA-MB-231 细胞平均愈合率分别为(84.28±2.54)%、(44.49±4.86)%; Transwell 细胞侵袭实验结果显示, 对照组和实验组 MDA-MB-231 细胞穿膜细胞数分别为 481±22、121±11, BMP9 对共培养体系中 MDA-MB-231 细胞的迁移和侵袭有明显抑制作用($P<0.05$)。实验组 MDA-MB-231 细胞 MMP9、MMP2 的蛋白表达分别为 0.10±0.01、0.11±0.03, 较对照组的 0.79±0.03、0.82±0.05 明显下调, 差异均有统计学意义($P<0.05$), 实验组 MMP9、MMP2 相对活性分别为 0.14±0.03、0.12±0.02, 较对照组的 0.90±0.07、1.04±0.14 均明显下调, 差异均有统计学意义($P<0.05$); 实验组 MDA-MB-231 细胞中 CXCR4 受体蛋白及其配体 SDF-1 的蛋白表达分别为 0.08±0.01、0.06±0.02, 与对照组的 0.07±0.01、0.05±0.01 比较, 差异均无统计学意义($P>0.05$); 实验组 P-Akt 蛋白表达(0.09±0.01)较对照组(0.48±0.07)明显降低, 差异有统计学意义($P<0.05$); 实验组 HS-5 细胞中 SDF-1 蛋白表达(0.14±0.01)较对照组(0.42±0.06)明显降低, 差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 在模拟骨微环境的共培养体系中, BMP9 可能通过 SDF-1/CXCR4-PI3K 信号通路抑制人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞的迁移和侵袭。

关键词: 骨形态发生蛋白 9; 乳腺癌; 骨微环境; 迁移; 侵袭

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2021.23.011

中图法分类号: R737.9; R446.1

文章编号: 1673-4130(2021)23-2871-05

文献标志码: A

Effect of BMP9 on migration and invasion of human breast cancer MDA-MB-231 cells in co-culture system and its mechanism*

WANG Lin¹, DUAN Wenting², WANG Wei^{3△}

1. Department of Clinical Laboratory, Xi'an NO. 1 Hospital, Xi'an, Shaanxi 710002, China;
2. Department of Cardiology, Xi'an NO. 1 Hospital, Xi'an, Shaanxi 710002, China;
3. Department of Clinical Laboratory, Xi'an Children Hospital, Xi'an, Shaanxi 710003, China

Abstract: Objective Using in vitro cell co-culture technology to simulate the bone microenvironment, to explore the effect of bone morphogenetic protein 9 (BMP9) on the migration and invasion of human breast cancer MDA-MB-231 cells, and to explore its mechanism. **Methods** Bone marrow stromal cells HS-5 and MDA-MB-231 cells were added phosphate buffer (control group) and recombinant BMP9 protein (100 ng/mL) (experimental group) in the Transwell co-culture system, respectively. After 2 days of culture, the cell scratch test detected the change of MDA-MB-231 cell migration ability; Transwell cell invasion test detected

* 基金项目: 陕西省重点研发计划(2017SF-119)。

作者简介: 王林, 男, 主管技师, 主要从事肿瘤分子诊断方面的研究。△ 通信作者, E-mail: doctordian.dian@163.com。

本文引用格式: 王林, 段雯婷, 王维. BMP9 对共培养体系中人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞迁移和侵袭的影响及其机制探讨[J]. 国际检验医学杂志, 2021, 42(23): 2871-2875.

ted the change of MDA-MB-231 cell invasion ability; Western blot and gelatin zymography method were used to detect the expression and relative activity of matrix metalloproteinase (MMP) 9 and MMP2 protein in MDA-MB-231 cells respectively; Western blot was used to detect the expression change of stromal cell-derived factor-1 (SDF-1) in HS-5 and MDA-MB-231 cells and the chemokine receptor 4 (CXCR4) and cell signaling pathway P-Akt in MDA-MB-231 cells. **Results** After adding BMP9 to the co-culture system, the scratch test results showed that the average healing rate of MDA-MB-231 cells in control group and experimental group were $(84.28 \pm 2.54)\%$ and $(44.49 \pm 4.86)\%$, respectively. The results of Transwell cell invasion test showed that the number of transmembrane cells of MDA-MB-231 cells in control group and experimental group were 481 ± 22 and 121 ± 11 respectively. BMP9 significantly inhibited the migration and invasion of MDA-MB-231 cells in the co-culture system ($P < 0.05$). The expressions of MMP9 and MMP2 protein in MDA-MB-231 cells in experimental group were 0.10 ± 0.01 and 0.11 ± 0.03 , respectively, which were significantly down-regulated compared with 0.79 ± 0.03 and 0.82 ± 0.05 in control group, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). The relative activities of MMP9 and MMP2 in the experimental group were 0.14 ± 0.03 and 0.12 ± 0.02 , respectively, which were significantly down-regulated compared with 0.90 ± 0.07 and 1.04 ± 0.14 in the control group, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). The protein expressions of CXCR4 receptor and its ligand SDF-1 in MDA-MB-231 cells in experimental group were 0.08 ± 0.01 and 0.06 ± 0.02 , respectively, compared with 0.07 ± 0.01 and 0.05 ± 0.01 in control group, there was no statistical difference significance ($P > 0.05$). The expression of P-Akt protein in experimental group (0.09 ± 0.01) was significantly lower than that in control group (0.48 ± 0.07), and the difference was statistically significant ($P < 0.05$); the protein expression of SDF-1 in HS-5 cells in experimental group (0.14 ± 0.01) was significantly lower than that in control group (0.42 ± 0.06), and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** In a co-culture system that mimics the bone microenvironment, BMP9 might inhibit the migration and invasion of human breast cancer MDA-MB-231 cells through the SDF-1/CXCR4-PI3K signaling pathway.

Key words: bone morphogenetic protein 9; breast cancer; bone microenvironment; migration; invasion

骨是包括乳腺癌在内的多种癌症远处转移的常见部位,几乎所有晚期乳腺癌患者均会发生骨转移^[1-3]。骨转移常表现为溶骨性病变,导致病理性骨折、顽固性骨痛、神经压迫和高钙血症^[4]。发生骨转移的乳腺癌组织中来源于骨髓的间充质干细胞(BMSCs),为乳腺癌细胞的生长提供了良好的微环境。有研究发现,BMSCs与乳腺癌细胞(BCCs)的相互作用是乳腺癌骨转移和骨溶解的重要环节^[5],深入了解这种相互作用及潜在的机制有助于探究乳腺癌的治疗新策略。骨中存在多种生长因子,包括骨形态发生蛋白(BMP)、转化生长因子- β (TGF- β)、成纤维细胞生长因子(FGFs)、血小板源性生长因子和胰岛素样生长因子^[6],这些因子也被称为骨储存生长因子或骨衍生长因子,其中TGF- β 的促乳腺癌骨转移作用已经明确。TGF- β 通过Smad信号通路促进乳腺癌细胞中甲状旁腺激素相关蛋白(PTHrP)的分泌。PTHrP通过上调破骨细胞激活因子促进破骨细胞的形成和骨质破坏^[7]。但是,对于其他骨生长因子的功能和分子机制有待进一步研究。BMP9是一种骨储存生长因子,被证实为骨形成过程中最有效的BMP^[8-9]。前期

实验结果显示,BMP9能抑制乳腺癌细胞的增殖和转移^[10],然而BMP9对骨微环境中的乳腺癌细胞的作用尚不明确。本研究体外模拟肿瘤微环境,在人乳腺癌MDA-MB-231细胞和人骨髓基质HS-5细胞共培养体系中加入BMP9,研究BMP9如何调节BMSCs和BCCs的相互作用,以探索乳腺癌骨转移的治疗新靶点。

1 资料与方法

1.1 一般资料 人乳腺癌细胞MDA-MB-231购于中国科学院上海生命科学研究院生物化学细胞生物研究所,人骨髓基质细胞HS-5购于美国菌种保藏中心,均由西安市第一医院检验科保存。

1.2 仪器与试剂 重组BMP9购于Abcam生物试剂有限公司;DMEM高糖培养基购于Gibco公司;胎牛血清购于杭州四季青生物工程材料有限公司;十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)蛋白缓冲液和封闭蛋白购于武汉博士德生物工程有限公司;蛋白marker购于北京赛百盛基因技术有限公司;细胞裂解液购于碧云天生物技术研究;Transwell小室和辣根过氧化物酶(HRP)发光试剂购于Milli-

pore 公司; Matrigel 胶购于 Sigma 公司; 兔抗人趋化因子受体 4 (CXCR4) 抗体购于 Abcam 公司; 兔抗人基质细胞衍生因子-1 (SDF-1) 抗体购于 Santa Cruz 公司; 兔抗人 P-Akt、Akt 抗体购于 Cell Signaling Technology 公司; 兔抗人基质金属蛋白酶 (MMP) 9、MMP2 抗体购于 Immunoway 公司; 山羊抗兔 IgG 二抗购于北京中杉金桥生物技术有限公司。

1.3 方法

1.3.1 细胞培养 MDA-MB-231 细胞和 HS-5 细胞用含 10 % 胎牛血清的 DMEM 高糖培养基在 37 °C, 50 mL/L CO₂ 的条件下进行培养。

1.3.2 共培养及实验分组 取常规培养对数生长期的 MDA-MB-231 细胞和 HS-5 细胞, 分别以 1.5×10^5 /孔和 1×10^5 /孔细胞数量接种于 6 孔板中和 Transwell 小室中在 37 °C, 50 mL/L CO₂ 中进行单独培养 16 h 后, 两种细胞更换为 DMEM 无血清培养基, 并将小室置于 6 孔板内进行共培养, 对照组在共培养体系中加入磷酸盐缓冲液 (PBS), 实验组给予 100 ng/mL BMP9 蛋白处理。

1.3.3 细胞划痕实验检测细胞迁移能力 接种 MDA-MB-231 细胞于 6 孔板中, 待细胞共培养前, 用 100 μ L 移液器枪头垂直划痕, 并记录 0 h 划痕宽度, 然后将 MDA-MB-231 细胞与 HS-5 细胞叠放进行共培养, 显微镜观察 36 h 同一视野划痕愈合情况, 计算平均划痕愈合率。划痕愈合率 = (0 h 划痕宽度 - 36 h 划痕宽度) / 0 h 划痕宽度 $\times 100\%$, 以此反映细胞迁移能力的变化, 实验重复 3 次。

1.3.4 Transwell 细胞侵袭实验检测细胞侵袭能力 预先在每孔 Transwell 细胞上室加入 50 μ L Matrigel 胶 (DMEM 无血清培养基 1 : 8 稀释), 37 °C 30 min 待凝固。对照组和实验组共培养 48 h 后的 MDA-MB-231 细胞经胰酶消化离心后, 分别用各自共培养体系中培养液重悬, 以 5×10^4 /孔的浓度取 400 μ L 加入上室, 下室分别加入 600 μ L 各自共培养体液的培养液, 继续培养 24 h, 取出小室用 PBS 清洗 2 遍, 自然晾干后经结晶紫染色 5 min, 于显微镜下观察计数穿膜细胞数, 以反映细胞侵袭能力的变化, 实验重复 3 次。

1.3.5 Western blot 检测 BMP9 对共培养体系中 MDA-MB-231 细胞 MMP2、MMP9、CXCR4、SDF-1、P-Akt 及 HS-5 细胞 SDF-1 表达的影响 按试剂盒要求分别提取对照组和实验组共培养 48 h 后的 MDA-MB-231 细胞和 HS-5 细胞总蛋白, 取 120 μ g 总蛋白行 10% SDS-PAGE 进行分离后干转至聚偏氟乙烯膜, 经三羟甲基氨基甲烷盐酸盐吐温缓冲液 (TBST) (含 50 g/L 脱脂奶粉) 4 °C 封闭 4 h 后, 分别加入经 1 : 1 000 稀释的兔抗人 MMP9、MMP2、CXCR4、

SDF-1、P-Akt 抗体 (MDA-MB-231 细胞), 兔抗人 SDF-1 抗体 (HS-5 细胞), 于 4 °C 孵育过夜, 经 TBST 洗涤 2 次和三羟甲基氨基甲烷盐酸盐缓冲液洗涤 1 次; 加入经 1 : 1 000 稀释的羊抗兔 IgG 二抗, 室温孵育 1 h, 重复洗涤; 暗室滴加 HRP 发光试剂 2 min 后经 Bio-Rad 凝胶成像系统采集图像, 用 Quantity One 4.6.6 软件进行各条带灰度值分析, 并用内参作比值, 以检测各蛋白表达水平, 实验重复 3 次。

1.3.6 明胶酶谱法检测 BMP9 对共培养体系中 MDA-MB-231 细胞 MMP2、MMP9 相对活性的影响

收集对照组和实验组共培养 48 h 后的 MDA-MB-231 细胞上清液, 经 2 000 r/min 离心 10 min 备用, 配置分离胶和浓缩胶, 根据蛋白水平调整上样量, 与 5 $\times$ 缓冲液混合上样, 于 4 °C 行 SDS-PAGE, 将凝胶置于洗脱液中振荡洗脱 2 次, 每次 40 min, 漂洗液漂洗 2 次, 每次 40 min, 然后将凝胶置于孵育液于 37 °C 孵育 42 h, 孵育结束后经染色液染色 3 h, 以及脱色液 A、B、C 分别脱色 0.5、1.0、2.0 h, 用 Quantity One 4.6.6 软件分析蓝色背景 MMP2 (相对分子质量 72×10^3)、MMP9 (相对分子质量 92×10^3) 透亮带宽度和灰度值, 做统计分析, 实验重复 3 次。

1.4 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件对数据进行分析处理。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用 *t* 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 BMP9 可抑制共培养体系中 MDA-MB-231 细胞的迁移 划痕实验结果显示, 对照组和实验组共培养体系中 MDA-MB-231 细胞平均愈合率分别为 $(84.28 \pm 2.54)\%$ 、 $(44.49 \pm 4.86)\%$, 差异有统计学意义 ($t = 12.58, P < 0.05$)。见图 1。

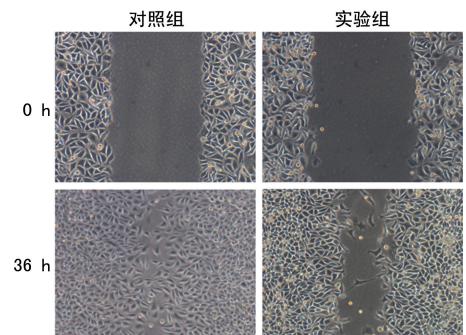


图 1 划痕实验检测 BMP9 对共培养体系中 MDA-MB-231 细胞迁移的影响 ($\times 100$)

2.2 BMP9 可抑制共培养体系中 MDA-MB-231 细胞的侵袭 Transwell 细胞侵袭实验结果显示, 对照组和实验组共培养体系中 MDA-MB-231 细胞穿膜细胞数分别为 481 ± 22 、 121 ± 11 , 差异有统计学意义 ($t = 24.96, P < 0.05$)。见图 2。

2.3 BMP9 对共培养体系中 MDA-MB-231 细胞 MMP9、MMP2 表达及相对活性的影响 Western blot 检测结果显示,实验组 MMP9 的蛋白表达(0.10 ± 0.01)较对照组(0.79 ± 0.03)明显下调, MMP2 的蛋白表达(0.11 ± 0.03)较对照组(0.82 ± 0.05)也明显下调,差异均有统计学意义($t = 34.99$ 、 19.04 , $P < 0.05$),见图 3;明胶酶谱检测结果显示,实验组 MMP9 相对活性(0.14 ± 0.03)较对照组(0.90 ± 0.07)明显下调, MMP2 相对活性(0.12 ± 0.02)较对照组(1.04 ± 0.14)也明显下调,差异均有统计学意义($t = 17.24$ 、 11.15 , $P < 0.05$),见图 4。

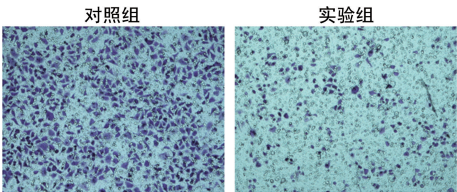


图 2 Transwell 细胞侵袭实验检测 BMP9 对共培养体系中 MDA-MB-231 细胞侵袭的影响($\times 200$)

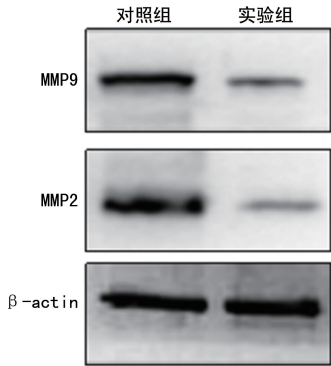


图 3 Western blot 检测 BMP9 对共培养体系中 MDA-MB-231 细胞 MMP9、MMP2 蛋白表达的影响

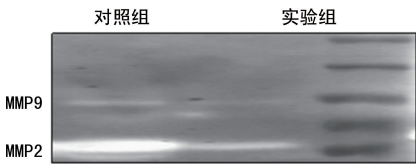


图 4 明胶酶谱法检测 BMP9 对共培养体系中 MDA-MB-231 细胞 MMP9、MMP2 相对活性的影响

2.4 BMP9 对共培养体系中 MDA-MB-231 细胞及 HS-5 细胞 SDF-1/CXCR4-PI3K 信号通路关键分子表达的影响 Western blot 检测结果显示,实验组 MDA-MB-231 细胞中 CXCR4 受体蛋白表达(0.08 ± 0.01)与对照组(0.07 ± 0.01)比较,其配体 SDF-1 的蛋白表达(0.06 ± 0.02)与对照组(0.05 ± 0.01)比较,差异均无统计学意义($t = 2.00$ 、 0.80 , $P > 0.05$);实验组 P-Akt 蛋白表达(0.09 ± 0.01)较对照组(0.48 ± 0.07)明显降低,差异有统计学意义($t = 9.68$, $P <$

0.05);而实验组 Akt 蛋白表达(0.40 ± 0.05)与对照组(0.46 ± 0.03)比较,差异无统计学意义($t = 1.70$, $P > 0.05$)。实验组 HS-5 细胞中 SDF-1 蛋白表达(0.14 ± 0.01)较对照组(0.42 ± 0.06)明显降低,差异有统计学意义($t = 7.93$, $P < 0.05$)。见图 5。

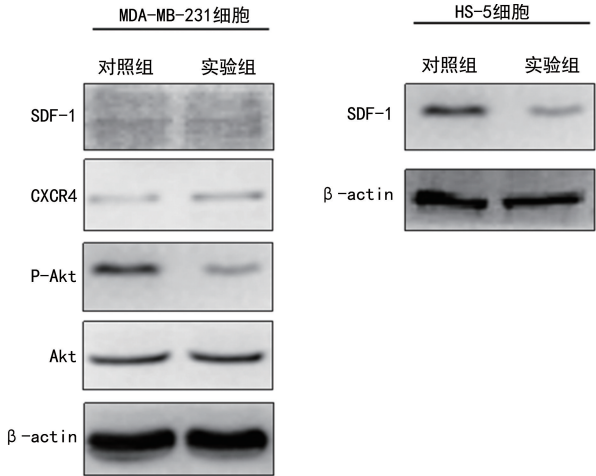


图 5 Western blot 检测 BMP9 对共培养体系中 MDA-MB-231 细胞及 HS-5 细胞 SDF-1/CXCR4-PI3K 信号通路关键分子表达的影响

3 讨 论

肿瘤包括乳腺癌在内,不是以自我维持的实体方式存在,而是不断地与其微环境相互作用^[11-12]。BMSCs 作为肿瘤微环境的重要组成部分,不管是在原发性癌还是骨转移性癌中均可与 BCCs 发生相互作用。BCCs 可在乳腺癌早期招募 BMSCs 至其原发部位^[5]。越来越多的证据表明,BMSCs 与 BCCs 的相互作用在乳腺癌转移过程中扮演着关键角色^[13-14],另外二者的交互对乳腺癌晚期所致的骨骼损伤过程有促进作用^[15]。因此,肿瘤微环境中细胞的相互作用可能是治疗乳腺癌的潜在靶点。

BMP9 也被称之为生长分化因子 2,与包括乳腺癌在内的多种肿瘤的生长、黏附、侵袭和迁移有关。BMP9 可通过 BMP/SMAD 途径促进卵巢癌细胞的生长^[16],也可通过非经典 BMP/SMAD 途径抑制前列腺癌 PC-3 细胞的生长及促进其凋亡^[17]。有研究表明,BMP9 可抑制乳腺癌 MDA-MB-231 细胞的侵袭^[9]。BMP9 是最有效的成骨因子,可能比目前临床上使用的其他 BMP 有更好的促进骨再生的作用^[8-9]。另外,作为一种分泌性蛋白,BMP9 是骨髓中重要的骨相关分子,然而,其在乳腺癌骨转移中的作用尚不明确。有研究结果显示,BMP9 通过阻断 Akt 信号通路降低 HS-5 细胞的细胞核因子 κ B 受体活化因子配基的分泌,进而抑制 MDA-MB-231 细胞的侵袭^[9]。

本研究建立 HS-5 细胞和 MDA-MB-231 细胞共培养模型,体外模拟肿瘤微环境,研究 BMP9 如何调节 BMSCs 与 BCCs 的相互作用。BMP9 对 MDA-

MB-231 细胞的迁移和侵袭有明显抑制作用。转移相关蛋白 SDF-1 和 MMPs 表达明显减少,然而,BMP9 调控这些转移相关因子的机制还有待进一步研究。不同癌症对 BMP9 的反应不同,有文献报道 BMP9 在卵巢癌中与本研究相反的作用^[16]。BMP9 的致瘤或抑瘤特性反映了其在该肿瘤发育过程中与 BCCs 复杂的相互作用过程,BCCs 对 BMP9 的生物学反应亦取决于其剂量、细胞类型和肿瘤微环境,以及其他尚未确定的因素。SDF-1 又称为 CXCL12,在 HS-5 细胞中呈高度表达,而其受体 CXCR4 在 MDA-MB-231 细胞中呈高度表达。本课题进一步研究 BMP9 对共培养体系 SDF-1/CXCR4 轴的影响,结果表明,BMP9 降低了 HS-5 细胞中 SDF-1 的分泌,而对 MDA-MB-231 细胞中 CXCR4 的表达无影响,同时 MDA-MB-231 细胞下游信号分子 P-Akt 表达降低。

综上所述,BMP9 可抑制体外模拟肿瘤微环境的共培养体系中乳腺癌 MDA-MB-231 细胞的迁移和侵袭,其作用可能是通过调节共培养体系中 SDF-1/CXCR4-PI3K 信号通路实现的,为乳腺癌的生物治疗提供了新的靶点及实验依据,下一步课题组将进行相关体内研究来进一步证实其推断。

参考文献

- [1] HIRAGA T. Bone metastasis: interaction between cancer cells and bone microenvironment[J]. J Oral Biosci, 2019, 61(2):95-98.
- [2] TULOTTA C, OTTEWELL P. The role of IL-1B in breast cancer bone metastasis[J]. Endocr Relat Cancer, 2018, 25(7):421-434.
- [3] YANG M, LIU C, YU X. Skeletal-related adverse events during bone metastasis of breast cancer: current status[J]. Discov Med, 2019, 27(149):211-220.
- [4] CAI W L, HUANG W D, LI B, et al. MicroRNA-124 inhibits bone metastasis of breast cancer by repressing interleukin-11[J]. Mol Cancer, 2018, 17(1):9-16.
- [5] CHOI J, GYAMFI J, JANG H, et al. The role of tumor-associated macrophage in breast cancer biology[J]. Histol Histopathol, 2018, 33(2):133-145.
- [6] MENDES L F, KATAGIRI H, TAM W L, et al. Advancing osteochondral tissue engineering: bone morphogenetic protein, transforming growth factor, and fibroblast growth factor signaling drive ordered differentiation of periosteal cells resulting in stable cartilage and bone formation in vivo[J]. Stem Cell Res Ther, 2018, 9(1):42-

- 49.
- [7] ZAGZAG J, HU M I, FISHER S B, et al. Hypercalcemia and cancer: Differential diagnosis and treatment[J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(5):377-386.
- [8] WANG X, HUANG J, HUANG F, et al. Bone morphogenetic protein 9 stimulates callus formation in osteoporotic rats during fracture healing[J]. Mol Med Rep, 2017, 15(5):2537-2545.
- [9] SHUI W, ZHANG W, YIN L, et al. Characterization of scaffold carriers for BMP9-transduced osteoblastic progenitor cells in bone regeneration[J]. J Biomed Mater Res A, 2014, 102(10):3429-3438.
- [10] WANG K, FENG H, REN W, et al. BMP9 inhibits the proliferation and invasiveness of breast cancer cells MDA-MB-231[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2011, 137(11):1687-1696.
- [11] MITTAL S, BROWN N J, HOLEN I. The breast tumor microenvironment: role in cancer development, progression and response to therapy[J]. Expert Rev Mol Diagn, 2018, 18(3):227-243.
- [12] HINSHAW D C, SHEVDE L A. The tumor microenvironment innately modulates cancer progression[J]. Cancer Res, 2019, 79(18):4557-4566.
- [13] WANG Y, SHAO S, LUO M, et al. Effects of rat bone marrow-derived mesenchymal stem cells on breast cancer cells with differing hormone receptor status[J]. Oncol Lett, 2017, 14(6):7269-7275.
- [14] LI J J, CHEN W L, WANG J Y, et al. Wenshen zhuanggu formula effectively suppresses breast cancer bone metastases in a mouse xenograft model[J]. Acta Pharmacol Sin, 2017, 38(10):1369-1380.
- [15] LIU Z, WANG H, HE J, et al. Rictor ablation in BMSCs inhibits bone metastasis of TM40D cells by attenuating osteolytic destruction and CAF formation[J]. Int J Biol Sci, 2019, 15(11):2448-2460.
- [16] PENG J, YOSHIOKA Y, MANDAI M, et al. The BMP signaling pathway leads to enhanced proliferation in serous ovarian cancer-A potential therapeutic target[J]. Mol Carcinog, 2016, 55(4):335-345.
- [17] YE L, KYNASTON H, JIANG W G. Bone morphogenetic protein-9 induces apoptosis in prostate cancer cells, the role of prostate apoptosis response-4[J]. Mol Cancer Res, 2008, 6(10):1594-1606.

(收稿日期:2021-04-25 修回日期:2021-09-10)