

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2020.06.003

· 基础研究 ·

新型 LL-37 杂合肽对乳腺癌 MCF-7 细胞的抗肿瘤活性的研究

陈香君¹, 李黎², 何树梅¹, 张敏¹ (1. 西藏民族大学 基础医学院, 陕西 咸阳 712082; 2. 延安大学 咸阳医院, 陕西 咸阳 712000)

[摘要] **目的:** 探究新型 LL-37 杂合肽对乳腺癌 MCF-7 细胞的抗肿瘤活性及其作用机制。**方法:** 利用抗菌肽数据库 (<http://aps.unmc.edu/AP/main.php>) 筛选出人源的抗肿瘤抗菌肽, 即 LL-37 和中性粒细胞防御素-1 (human neutrophil peptide 1, HNP-1), 经生物信息学软件分析提取有效肽片段, 改造整合成新型 LL-37 杂合肽; 采用 CCK-8 法检测 0~70 $\mu\text{mol/L}$ 的新型 LL-37 杂合肽对 MCF-7 细胞和人正常乳腺细胞 MCF10A 增殖的影响, 激光扫描共聚焦显微镜观察分析新型 LL-37 杂合肽与肿瘤细胞的亲和能力, 流式细胞仪检测新型 LL-37 杂合肽和 caspase 抑制剂对 MCF-7 细胞凋亡和周期的影响。**结果:** 经软件分析得出新型 LL-37 杂合肽为水脂两亲性的阳离子多肽, 可靶向性地抑制乳腺癌 MCF-7 细胞的增殖 ($P<0.05$), 其 IC_{50} 值为 58.34 $\mu\text{mol/L}$, 而对正常乳腺 MCF10A 细胞无明显抑制作用; 新型 LL-37 杂合肽与 MCF-7 细胞具有较高的亲和力, 可引起细胞周期阻滞于 S 期及显著增加细胞早期凋亡率 ($P<0.01$); 但在加入 caspase 抑制剂后, 细胞周期阻滞及凋亡情况明显缓解 ($P<0.01$)。**结论:** 新型 LL-37 杂合肽对乳腺癌 MCF-7 细胞具有抗肿瘤活性, 可能通过 caspase 依赖的信号通路阻滞细胞周期和诱导细胞凋亡。

[关键词] 新型 LL-37 杂合肽; 乳腺癌; MCF-7 细胞; 抗肿瘤活性; 细胞周期; 凋亡

[中图分类号] R730.54; R737.9 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2020)06-0609-06

Anti-tumor effect of new LL-37 hybrid antimicrobial peptide on breast cancer MCF-7 cells

CHEN Xiangjun¹, LI Li², HE Shumei¹, ZHANG Min¹ (1. School of Basic Medicine, Xizang Minzu University, Xianyang 712082, Shaanxi, China; 2. Xianyang Hospital, Yanan University, Xianyang 712000, Shaanxi, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the anti-tumor effect and mechanism of new LL-37 hybrid peptide on breast cancer MCF-7 cells. **Methods:** Human antimicrobial peptide LL-37 and human neutrophil peptide 1 (HNP-1) were screened by using of Antimicrobial Peptides Database (<http://aps.unmc.edu/AP/main.php>). The new LL-37 hybrid peptide was synthesized by integrating the active fragments, which were selected by bioinformatics analysis. The breast cancer MCF-7 cells and human normal breast MCF10A cells were treated with the new LL-37 hybrid peptides (0~70 $\mu\text{mol/L}$). Cell viability was monitored by CCK-8 assay and the affinity of the new LL-37 hybrid peptide with MCF-7 cells was observed using confocal laser scanning microscope (CLSM). The effects of LL-37 and caspase inhibitor on apoptosis and cell cycle of MCF-7 cells were measured by FCM (flow cytometry). **Results:** The new LL-37 hybrid peptide, as an amphiphilic cationic polypeptide, could selectively inhibit the proliferation of breast cancer MCF-7 cells ($P<0.05$) with an IC_{50} of 58.34 $\mu\text{mol/L}$, but exerted no significant effect on normal breast MCF10A cells. LL-37 peptide had high affinity with MCF-7 cells, which could cause S-stage stagnation and significantly increased early apoptosis ($P<0.01$); however, the cell cycle block and apoptosis were significantly attenuated after the treatment of caspase inhibitor ($P<0.01$). **Conclusion:** The new LL-37 hybrid peptide has anti-tumor activity on breast cancer MCF-7 cells, and could induce MCF-7 cells apoptosis possibly by arresting cell cycle via the caspase-dependent signaling pathway.

[Key words] new LL-37 hybrid peptide; breast cancer; MCF-7 cell; anti-tumor activity; cell cycle; apoptosis

[Chin J Cancer Biother, 2020, 27(6): 609-614. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2020.06.003]

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目 (No.81560668; 81860719); 西藏民族大学校内科研基金资助项目 (No.19MDQ02)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No.81560668; 81860719), and the Campus Scientific Research Project of Xizang Minzu University (No.19MDQ02)

[作者简介] 陈香君 (1989-), 女, 硕士, 助教, 主要从事微生物抗肿瘤的基础研究, E-mail: 517042808@qq.com

[通信作者] 张敏 (Zhang Min, corresponding author), 博士, 教授, 硕士生导师, 主要从事肿瘤免疫学的基础研究, E-mail: Zhangmin-wen@163.com

抗菌肽(antimicrobial peptides, AMPs)又称为抗菌微生物肽,是广泛存在于生物体内,由基因组编码产生的具有广谱抗菌活性和抗肿瘤作用的一类生物小分子多肽,是生物天然免疫系统的重要组成部分^[1]。LL-37和HNP-1抗菌肽分别来源于人体 cathelicidin 家族^[2]和防御素(defense)家族^[3],它们作为天然抗肿瘤物质,均为阳离子多肽,易穿透肿瘤细胞,抑制肿瘤生长及转移^[4-6]。但因本身分子量过大、肽链过长和不易提取等因素而不被广泛应用。

杂合肽是由两种或多种抗菌肽的部分氨基酸肽链组成,具有高效抗肿瘤、低毒副作用、氨基酸肽链长度短等优点^[7-8]。本研究为了能有效降低 LL-37 的分子量、缩短肽链、降低合成成本和提高靶向性,经信息学相关软件分析,截选 LL-37 和 HNP-1 的活性作用片段,并进行特定氨基酸序列的剪切和拼接,设计合成新型 LL-37 杂合肽,先观察其对乳腺癌 MCF-7 细胞的活性、毒力和亲和力的影响,随后通过流式细胞术检测新型 LL-37 杂合肽对 MCF-7 细胞周期、凋亡的影响,初探其作用机制,为研发疗效更高、毒性更小的抗肿瘤新药提供指导。

1 材料与方法

1.1 新型 LL-37 杂合肽、细胞系和主要试剂

新型 LL-37 杂合肽和荧光标记(-FITC)的新型 LL-37 杂合肽采用固相化学合成法,由合肥国肽生物公司合成提供(纯度 $\geq 99\%$, $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存备用。ddH₂O 作为抗菌肽溶剂)。人乳腺癌细胞系 MCF-7、人正常乳腺细胞 MCF10A 均购自西安润德生物技术有限公司。紫杉醇购自南京凯基生物科技发展有限公司,PRMI 1640、胰蛋白酶磷酸盐(0.25%)缓冲盐水 PBS 和二甲基亚砜 DMSO 均购自美国 Hyclone 公司,胎牛血清由北京四季青生物有限公司提供,CCK-8 和 caspase 酶抑制剂(Z-VAD-FMK)选自南京凯基生物科技发展有限公司,Annexin V-FITC/PI 双染细胞凋亡检测试剂盒选自上海 Best Bio 生物有限公司。

1.2 新型 LL-37 杂合肽的设计与合成

通过抗菌肽数据库 APD(<http://aps.unmc.edu/AP/main.php>)查询抗菌肽 LL-37、HNP-1 的氨基酸序列,通过 DNASTAR 软件分析抗菌肽的亲水性和脂溶性等电子点等基本物理性质,随后以人体内的 LL-37 为蓝本,设计截取 LL-37 和 HNP-1 的活性作用片段 KEKIGKEF 和 RIPACIA,经“-甘氨酸(Gly,G)甘氨酸(Gly,G)-”两两拼接,设计合成新型 LL-37 杂合肽。并通过 ProtParam、DNASTAR 和 Antheprot 软件分析新型 LL-37 杂合肽的理论等电点、平均疏水值和不稳定性等基本参数和二级结构。

1.3 细胞培养

将人乳腺癌细胞系 MCF-7、人正常乳腺细胞 MCF10A 置于含 10% 胎牛血清的 PRMI 1640 培养液中,于 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、5% CO₂ 饱和湿度的培养箱中培养,细胞生长汇合度达 80%~90% 时,收集细胞进行后续实验处理。

1.4 CCK-8 法检测不同浓度新型 LL-37 杂合肽处理对乳腺癌 MCF-7 细胞增殖能力的影响

收集对数生长期的乳腺癌细胞系 MCF-7 和正常乳腺细胞 MCF10A,以每孔 5×10^3 个细胞密度接种于 96 孔板中, $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养过夜,选择浓度为 0、10、20、30、40、50、60、70 $\mu\text{mol/L}$ 的新型 LL-37 杂合肽处理 24 h (处理组),以不加肽组为阴性对照,10 $\mu\text{mol/L}$ 紫杉醇作为阳性对照,每组设 5 个复孔。处理后弃去上清,每孔中加入 10 μl CCK-8 溶液于 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 避光培养 4 h。通过酶标仪检测 540 nm 波长处光密度(D)值,计算细胞存活率及半数有效抑制细胞浓度 IC₅₀。细胞增殖率=[(处理组 D 值 - 空白组 D 值)/(对照组 D 值 - 空白组 D 值)] $\times 100\%$ 。

1.5 激光扫描共聚焦显微镜观察新型 LL-37 杂合肽与 MCF-7 细胞的亲和能力

将乳腺癌 MCF-7 细胞以每孔 1×10^6 个细胞密度接种于有盖玻片的 6 孔板中,于 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、5% CO₂ 恒温培养箱中过夜,加入一定浓度 FITC 荧光标记的新型 LL-37 杂合肽避光处理 24 h。弃培养液,无菌 PBS 洗涤 3 遍,晾干,4% 多聚甲醛室温固定 20 min,滴加 5 μl 抗荧光淬灭剂封片,置于激光扫描共聚焦显微镜下($\times 200$)进行观察、拍照并分析。

1.6 流式细胞术检测细胞凋亡和周期

收集对数生长期的 MCF-7 细胞,以 1×10^8 个/L 细胞密度接种于 6 孔板内培养过夜,加入一定浓度的新型 LL-37 杂合肽(加肽组)和 caspase 酶抑制剂(酶抑制组)处理 24 h,不加药组细胞为对照组。弃上清,PBS 洗涤 2 次,按 Annexin V-FITC/PI 凋亡检测试剂盒操作说明处理样品,使用流式细胞仪检测细胞凋亡。同时,采用预冷的 70% 浓度乙醇固定 2 h,重悬细胞离心弃去上清,PBS 洗涤 2 次,随后根据细胞周期检测试剂盒标记染色,使用流式细胞仪检测细胞周期。

1.7 统计学处理

采用 SPSS 17.0 软件及 GraphPad Prism 5.0(美国 GraphPad 科技公司)对数据进行统计分析,所有实验检测均重复 3 次。呈正态分布的计量资料数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,两组间比较采用双侧 *t* 检验,多组均数间比较先行方差齐性检验后再行方差分析,以 $P<0.05$ 或 $P<0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结 果

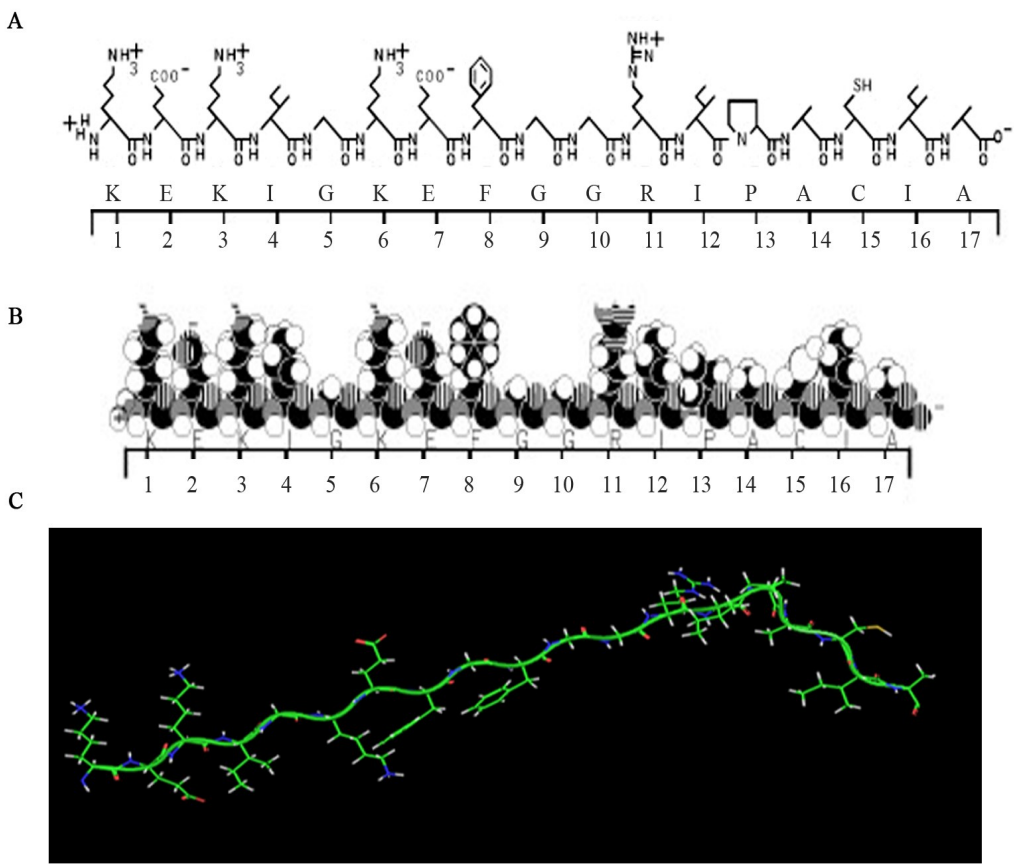
2.1 成功合成新型LL-37杂合肽

经生物信息学软件分析结果(表1)显示,新型LL-37杂合肽是由17个氨基酸组成的短肽,分子量为1817.18,等电点为9.20。与抗菌肽LL-37和HNP-1相比,具有较小的分子量和较强的阳离子性(等电点范围为8.9~10.3);不稳定指数(instability index)小于40,GRAVY小于0,脂溶指数升高至80.59,均表明新

型LL-37杂合肽热稳定性良好且具有水脂两亲性。通过对抗菌肽的结构观察(图1)显示,新型LL-37杂合肽的亲水端正电荷量为+3,疏水和亲水残基交替出现(图1A);级结构主要以 α 螺旋型^[9]为主(图1B),具有抗肿瘤肽良好的物理活性;通过三级空间结构图预测氨基酸序列的空间分布位置显示(图1C),成功合成的新型LL-37杂合肽具有高效稳定的物理特性。

表1 抗菌肽的基本物理性质
Tab.1 Basic physical properties of antimicrobial peptides

Antimicrobial peptide	LL-37	HNP-1	New LL-37 hybrid peptide
Sequence of amino acids	N'-LGDFFRKSKEKIGKEFKRIVQRIKDFLRNLPRTES-C'	N'-ACYCRIPACIAGERRYGTCTYQGRLWAFCC-C'	N'-KEKIGKEFGGRIPACIA-C'
Quantity of amino acids	37	30	17
Molecular mass	4 493.32	3 448.09	1 817.18
Theoretical isoelectric point	10.61	8.68	9.20
GRAVY	-0.724	0.300	-0.212
Instability index	23.34	55.71	39.26
Lipid solubility	89.46	65.33	80.59



A: The chemical formula of the new LL-37 hybrid peptide; B: The linear space fill of the new LL-37 hybrid peptide; C: Three-dimensional spatial simulation of the new LL-37 hybrid peptide

图1 新型LL-37杂合肽的二级结构预测图

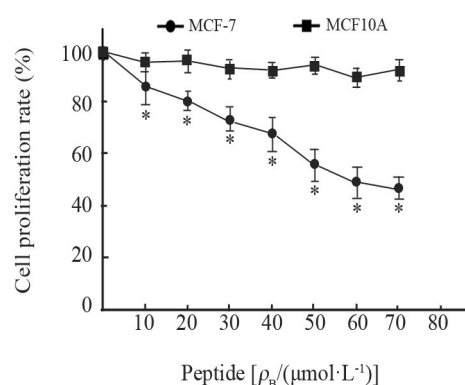
Fig.1 The predicted chart of secondary structure of the new LL-37 hybrid peptide

2.2 新型LL-37杂合肽显著抑制乳腺癌MCF-7细胞的增殖

CCK-8法检测结果(图2)显示,MCF-7细胞经0、10、20、30、40、50、60、70 $\mu\text{mol/L}$ 新型LL-37杂合肽处理24 h后,细胞增殖率分别为 $(98.1 \pm 0.6)\%$ 、 $(84.9 \pm 3.5)\%$ 、 $(79.1 \pm 1.2)\%$ 、 $(71.1 \pm 1.4)\%$ 、 $(66.0 \pm 3.4)\%$ 、 $(53.7 \pm 2.8)\%$ 、 $(46.9 \pm 2.7)\%$ 、 $(44.7 \pm 1.9)\%$,与不加肽组相比,新型LL-37杂合肽从10 $\mu\text{mol/L}$ 的作用浓度开始即可明显抑制MCF-7细胞的增殖($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),其 IC_{50} 为58.34 $\mu\text{mol/L}$,而对正常乳腺MCF10A细胞无抑制作用。经10、30、50、70 $\mu\text{mol/L}$ 的新型LL-37杂合肽和10 $\mu\text{mol/L}$ 的紫杉醇分别处理MCF-7细胞24 h后,50、70 $\mu\text{mol/L}$ 的新型LL-37杂合肽对MCF-7细胞的增殖抑制作用超过10 $\mu\text{mol/L}$ 紫杉醇 $[(46.3 \pm 2.8)\%、(55.4 \pm 3.0)\% \text{ vs } (31.58 \pm 3.1)\%]$,均 $P < 0.01$,图3]。以上结果表明,新型LL-37杂合肽在体外能够显著抑制MCF-7细胞的增殖,而对正常乳腺MCF10A细胞无抑制作用,新型LL-37杂合肽对肿瘤细胞的抑制作用具有一定的靶向性。

2.3 新型LL-37杂合肽与MCF-7细胞具有较强的亲和能力

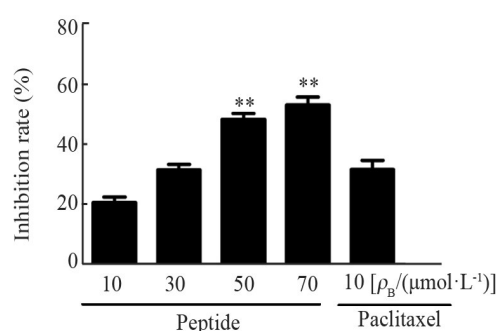
激光共聚焦显微镜观察(图4)可见,一定浓度FITC荧光标记的新型LL-37杂合肽处理MCF-7细胞24 h后,细胞表达绿色荧光(图4B),且成功进入MCF-7细胞的细胞质和细胞核中(图4C),而不加肽的阴性对照组MCF-7细胞DNA结合4,6-二脒基-2-苯基吡啶(DAPI)表达蓝色荧光(图4A)。实验结果表明,新型LL-37杂合肽与乳腺癌MCF-7细胞具有较强的亲和力。



* $P < 0.05$ vs control group (0 $\mu\text{mol/L}$ peptide)

图2 新型LL-37杂合肽对MCF-7和MCF10A细胞增殖的影响

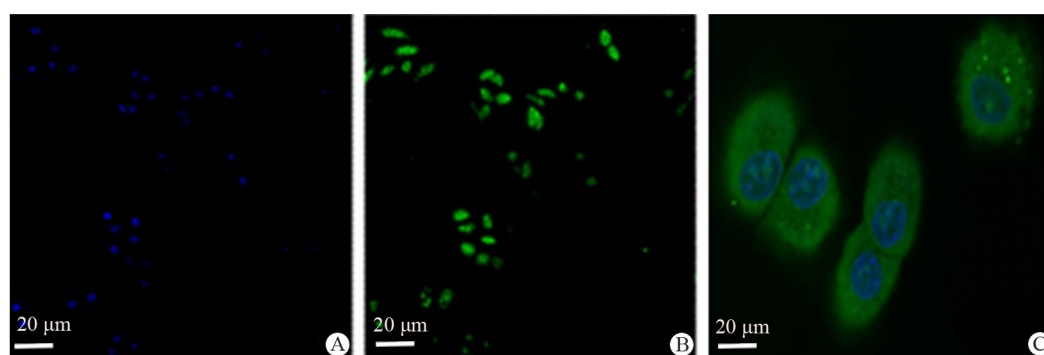
Fig.2 Effect of the new LL-37 hybrid peptide on the proliferation of MCF-7 and MCF10A cells



** $P < 0.01$ vs paclitaxel group

图3 新型LL-37杂合肽和紫杉醇抑制MCF-7细胞增殖

Fig.3 The new LL-37 hybrid peptide and paclitaxel inhibited proliferation of MCF-7 cells



A: Control group; B: Expressing of the new LL-37 hybrid peptide(-FITC) in MCF-7 cells;

C: Co-localization of FITC (green) and DAPI (blue) in MCF-7 cells

图4 激光共聚焦显微镜观察新型LL-37杂合肽与MCF-7细胞的亲和能力($\times 200$)

Fig.4 The affinity between the new LL-37 hybrid peptide and MCF-7 cells was observed by laser confocal microscopy($\times 200$)

2.4 新型LL-37杂合肽使人乳腺癌MCF-7细胞的凋亡率显著增高

流式细胞术检测结果(图5)显示,新型LL-37杂合肽处理组MCF-7细胞的早期凋亡率明显高于阴性对照组 $[(9.30 \pm 2.07)\% \text{ vs } (0.50 \pm 0.29)\%, P < 0.01]$;而加

入caspase酶抑制剂后,与肽处理组相比,酶抑制组MCF-7细胞早期凋亡率明显降低 $[(1.00 \pm 0.43)\% \text{ vs } (9.30 \pm 2.07)\%, P < 0.01]$ 。实验结果表明,新型LL-37杂合肽有可能影响乳腺癌MCF-7细胞caspase依赖的凋亡信号通路,使细胞的早期凋亡率增加。

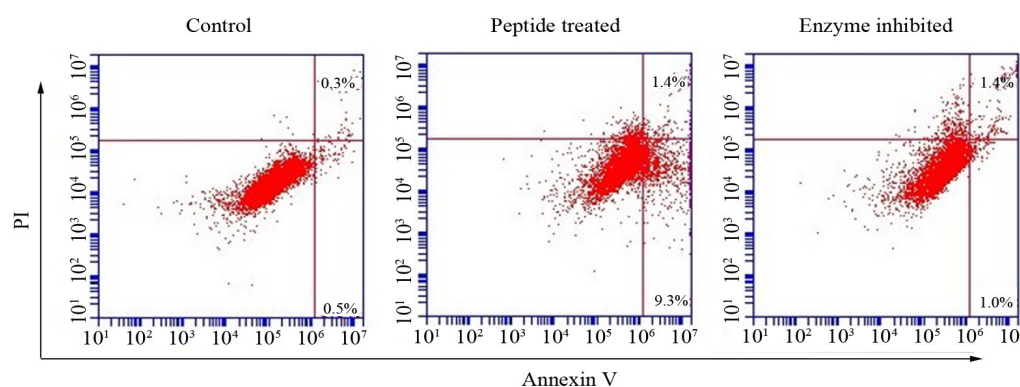


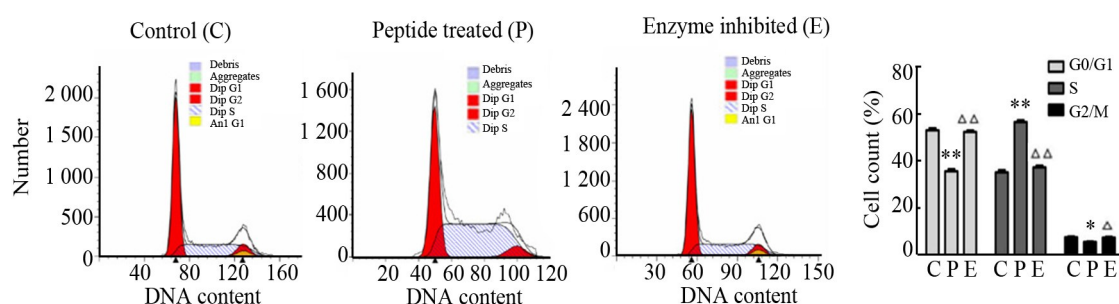
图5 流式细胞术观察各组乳腺癌MCF-7细胞的凋亡情况

Fig.5 Apoptosis of MCF-7 cells in each group was observed by Flow cytometry

2.5 新型LL-37杂合肽处理能使乳腺癌MCF-7细胞阻滞于S期

流式细胞仪检测结果(图6)显示,肽处理组(peptide treated/P)G0/G1期和G2/M期细胞显著低于对照组($P<0.01$ 或 $P<0.05$),S期细胞显著高于对照组($P<0.01$);而加入caspase酶抑制剂(E)后,与肽处

理组(P)相比,G0/G1期和G2/M期细胞明显升高($P<0.01$ 或 $P<0.05$),S期细胞明显减少($P<0.01$)。以上结果表明,新型LL-37杂合肽有可能影响乳腺癌MCF-7细胞caspase依赖的相关信号通路,使乳腺癌MCF-7细胞周期阻滞于S期。



* $P<0.05$, ** $P<0.01$, vs Control group; $\Delta P<0.05$, $\Delta\Delta P<0.01$, vs Peptide treated group

图6 流式细胞术检测新型LL-37杂合肽对乳腺癌MCF-7细胞周期的影响

Fig.6 Effect of new LL-37 hybrid peptide on cell cycle of MCF-7 cells was detected by Flow cytometry

3 讨论

在我国,乳腺癌位居女性恶性肿瘤之首,新发病例的增长速率全球第一,已成为危害女性身心健康的重大公共卫生问题^[10]。目前以细胞毒性为基础的化学疗法,其毒副作用大且易产生耐药,往往治疗效果不佳,临床应用范围并不广泛^[11]。因此,研究开发疗效高、副作用小的抗肿瘤药物已经成为当前肿瘤治疗研究的热点。抗菌肽是生物天然免疫防御的重要组分,无毒副作用,部分抗菌肽具有抑制肿瘤细胞增殖的良好作用^[12]。故抗菌肽有望成为一种新型的抗肿瘤药物。

LL-37是由人体内产生的先天性宿主防御效应因子。WU等^[13]学者研究显示,LL-37第8~19或第10~25位氨基酸是发挥活性的最佳区域。HNP-1是人中性粒细胞防御素,具有广谱抗微生物及抗肿瘤的作用^[14]。本研究新型LL-37杂合肽以LL-37中第10~

17位氨基酸作为母版,与HNP-1的有效活性片段结合而成,与LL-37相比较具有较短的肽链和较强的阳离子性,物理活性较高。近年来,对抗菌肽的改造用以增强抗肿瘤的作用已被广泛研究。有研究^[15-16]报道,LL-37衍生肽17BIPHE2能够抑制耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MASR)的同时,还能高效抑制人肺腺癌细胞A549的增殖。本课题组前期研究^[17]表明,多种新型抗肿瘤杂合肽能够良好地抑制结肠癌、肺癌、嗜铬神经瘤细胞的增殖。然而,新型LL-37杂合肽对乳腺癌细胞的作用及机制少有报道。

本研究发现,新型LL-37杂合肽能够显著抑制乳腺癌MCF-7细胞的增殖,同时对正常乳腺MCF10A细胞的增殖几乎无影响。据此推测,新型LL-37杂合肽对乳腺癌抑制作用具有一定的靶向性,可作为一种潜在的化疗辅助药物。同时,有研究^[18]发现,肿瘤细胞膜由于一些特异性表达的阴离子成分而使细胞

膜带负电荷,多种阳离子抗菌肽以类似毡毯的结构与肿瘤细胞特异性结合,或是构成穿膜的通道或孔洞,促使细胞破裂,致肿瘤细胞溶解而发挥抗肿瘤作用^[19-20]。本实验结果表明,新型LL-37杂合肽可通过穿透细胞膜,主要在细胞质和细胞核发挥抗肿瘤作用。有研究^[21]表明,LL-37能够上调促凋亡因子Bax、下调Bcl-2的表达促进肿瘤细胞凋亡,从而抑制细胞增殖。本研究结果显示,新型LL-37杂合肽可通过激活caspase依赖的凋亡信号途径促使MCF-7细胞凋亡;还可通过影响caspase依赖的细胞周期相关信号通路抑制细胞DNA合成,阻止细胞进入有丝分裂期,与潘广瑞等^[22]研究表明抗菌肽LL-37阻滞膀胱癌T24、EJ细胞周期止于S期而发挥抗肿瘤作用的结果一致。然而,有研究^[23]报道,抗菌肽诱导肿瘤细胞的周期阻滞发生在G0/G1期,虽然新型LL-37杂合肽阻滞MCF-7细胞周期于不同时期,但新型LL-37杂合肽依然显示了高效的抑制肿瘤细胞增殖的作用。

综上所述,本研究揭示了新型LL-37杂合肽可以显著抑制MCF-7细胞的增殖、周期进展并促使其凋亡。此外,新型LL-37杂合肽可能是激活caspase依赖的细胞周期和凋亡相关信号通路,进而阻滞乳腺癌MCF-7细胞周期进展和促使细胞凋亡。下一步,课题组将对新型LL-37杂合肽对乳腺癌细胞作用的分子机制进行深入的探讨和研究。

【参 考 文 献】

- TAITT C R, NORTH S H, KULAGIONA N V. Antimicrobial peptide arrays for detection of inactivated biothreat agents[J]. *Methods Mol Biol*, 2009, 570: 233-255. DOI:10.1007/978-1-60327-394-7_11.
- BANDURSKA K, BERDOWSKA A, BARCZYŃSKA-FELUSIAK R, et al. Unique features of human cathelicidin LL-37[J]. *Biofactors*, 2015, 41(5): 289-300. DOI:10.1002/biof.1225.
- CYTRYŃSKA M, ZDYBICKA-Barabas A. Defense peptides: recent developments[J]. *Biomol Concepts*, 2015, 6(4): 237-251. DOI: 10.1515/bmc-2015-0014.
- MADER J S, HOSKIN D W. Cationic antimicrobial peptides as novel cytotoxic agents for cancer treatment[J]. *Expert Opin Investig Drugs*, 2006, 15(8): 933-946. DOI:10.1517/13543784.15.8.933.
- HUANG W, SEO J, WILLINGHAM S B, et al. Learning from host-defense peptides: cationic, amphipathic peptides with potent anticancer activity[J/OL]. *PLoS One*, 2014, 9(2): e90397[2020-01-25]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3938723/>. DOI: 10.1371/journal.pone.0090397.
- 胡云龙, 郭玉梅. 抗菌肽抑制肿瘤细胞的实验研究[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 1997, 4(4): 320-322. DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.1997.4.019.
- 刘明辉, 张尚志, 马艳, 等. 抗菌肽及其分子改造研究进展[J]. *安徽农业科学*, 2016, 44(16): 147-150. DOI: 10.13989/j.cnki.0517-6611.2016.16.049.
- WANG C, YANG C, CHEN Y C, et al. Rational design of hybrid peptides: a novel drug design approach[J]. *Curr Med Sci*, 2019, 39(3): 349-355. DOI:10.1007/s11596-019-2042-2.
- 李趣欢, 张文军. 两亲 α -螺旋抗菌肽的分子设计研究现状与进展[J]. *中国新药杂志*, 2005, 14(9): 1126-1132. DOI: 10.3321/j.issn:1003-3734.2005.09.009.
- LIU L Y, WANG Y J, WANG F, et al. Factors associated with insufficient awareness of breast cancer among women in Northern and Eastern China: a case-control study [J/OL]. *BMJ Open*, 2018, 8(2): e018523[2020-01-25]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5855304/>. DOI:10.1136/bmjopen-2017-018523.
- 朱珊珊, 陈鑫, 颜巧妍, 等. 抗肿瘤药物的临床应用进展[J]. *中国现代医生*, 2019, 57(9): 164-168. DOI: CNKI:SUN:ZDYS.0.2019-09-047.
- LIU X, LI Y, LI Z, et al. Mechanism of anticancer effects of antimicrobial peptides[J]. *J Fiber Bioeng Inf*, 2015, 8(1): 25-36. DOI: 10.3993/jfbi03201503.
- WU W K, WANG G S, COFFELT S B, et al. Emerging roles of the host defense peptide LL-37 in human cancer and its potential therapeutic applications[J/OL]. *Int J Cancer*, 2010, 127(8): 1741-1747[2020-01-25]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2930073/>. DOI: 10.1002/ijc.25489.
- SELSTED M E, HARWIG S S, GANZ T, et al. Primary structures of three human neutrophil defensins[J/OL]. *J Clin Invest*, 1985, 76(4): 1436-1439[2020-01-25]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC424095/>. DOI:10.1172/JCI112121.
- WANG G S, HANKE M L, MISHRA B, et al. Transformation of human cathelicidin LL-37 into selective, stable, and potent antimicrobial compounds[J]. *ACS Chemical Biology*, 2014, 9(9): 1997-2002. DOI:10.1021/cb500475y.
- 李军, 回丽媛, 仕胜, 等. 抗菌肽17BIPHE2对人肺癌细胞A549的抑制作用[J]. *肿瘤防治研究*, 2017, 44(10): 659-664. DOI: 10.3971/j.issn.1000-8578.2017.17.0287.
- 陈香君, 刘二强, 回丽媛, 等. 新型抗肿瘤杂合抗菌肽的设计、合成及抗肿瘤活性研究[J]. *宁夏医科大学学报*, 2016, 38(6): 615-619+730. DOI:10.16050/j.cnki.issn.1674-6309.2016.06.003.
- WU D, GAO Y, QI Y, et al. Peptide-based cancer therapy: opportunity and challenge[J]. *Cancer Lett*, 2014, 351(1): 13-22. DOI:10.1016/j.canlet.2014.05.002.
- DESLOUCHES B, DI Y P. Antimicrobial peptides with selective antitumor mechanisms: prospect for anticancer applications[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(28): 46635-46651. DOI:10.18632/oncotarget.16743.
- KOBAYASHI H, MISAWA T, OBA M, et al. Structural development of cell penetrating peptides containing cationic proline derivatives[J]. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, 2018, 66(5): 575-580. DOI: 10.1248/cpb.c18-00079.
- 卢茜, 权文强, 吴军录, 等. 抗菌肽hCAP18/LL-37在卵巢癌微环境中的作用及表达调控机制[J]. *中华肿瘤杂志*, 2015, 37(10): 725-730. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-3766.2015.10.002.
- 潘广瑞, 赵晖. 抗菌肽在肿瘤方面的研究进展[J]. *医学综述*, 2015, 21(18): 3318-3320. DOI:10.3969/j.issn.1006-2084.2015.18.020.
- SU L, XU G, SHEN J, et al. Anticancer bioactive peptide suppresses human gastric cancer growth through modulation of apoptosis and the cell cycle[J]. *Oncol Rep*, 2010, 23(1): 3-9. DOI: 10.3892/or.00000599.

[收稿日期] 2020-02-10

[修回日期] 2020-05-26

[本文编辑] 阮芳铭