

茛菪酰胺调控 STAT3/HIF-1 α 通路 抑制三阴性乳腺癌细胞增殖

白芙婷^{1,2}, 姜 怡^{1,2}, 郭宇航^{1,2}, 张藏烨^{1,2}, 王博韬^{1,2}, 剡雨彤^{1,2}, 周怡菲^{1,2}, 孙 卓¹, 陈 镒¹

摘要 目的 探究茛菪酰胺(PL)在体外和体内对三阴性乳腺癌 MDA-MB-231 细胞增殖和凋亡的影响及可能的分子机制。方法 采用不同浓度 PL 干预 MDA-MB-231 细胞,MTT 法检测细胞增殖水平;流式细胞术检测细胞凋亡水平;Western blot 检测细胞中增殖细胞核抗原(PCNA)、B 淋巴细胞瘤-2(Bcl-2)、细胞周期依赖性蛋白激酶抑制因子 1A(CDKN1A/p21)、磷酸化信号转导与转录激活因子 3(p-STAT3)、信号转导与转录激活因子 3(STAT3)、缺氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)、存活素(Survivin)蛋白表达水平;以 MDA-MB-231 细胞构建裸鼠荷瘤模型并给予 PL 干预,Western blot 检测肿瘤组织中 PCNA、p-STAT3、STAT3、HIF-1 α 、Survivin 蛋白表达水平。结果 体外实验结果显示,PL 呈浓度依赖性抑制 MDA-MB-231 细胞增殖并诱导其凋亡;PL 下调 MDA-MB-231 细胞中 PCNA、Bcl-2、p-STAT3、HIF-1 α 及 Survivin 蛋白表达水平,上调 p21 蛋白表达水平。体内实验结果显示,PL 可抑制裸鼠肿瘤增殖,下调肿瘤组织中 PCNA、p-STAT3、HIF-1 α 、Survivin 蛋白表达水平。结论 PL 能够在体外和体内抑制 MDA-MB-231 细胞增殖,其机制可能与负向调控 STAT3/HIF-1 α 通路有关。

关键词 茛菪酰胺;STAT3;HIF-1 α ;三阴性乳腺癌;增殖;凋亡

中图分类号 R 737.9

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2023)07-1140-06
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2023.07.013

三阴性乳腺癌(triple-negative breast cancer, TNBC)因高转移、高侵袭、高复发等特点导致预后较差^[1]。TNBC 因缺乏有效靶点而主要依赖化疗,然

而化疗药物毒副作用大且易产生耐药,导致患者预后不佳^[2]。信号转导与转录激活因子 3(signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)/缺氧诱导因子-1 α (hypoxia inducible factor-1 α , HIF-1 α)通路是调控肿瘤细胞的关键通路。STAT3 在恶性肿瘤中异常激活,是肿瘤治疗的重要分子靶点。HIF-1 α 是 STAT3 的靶分子,可促进肿瘤增殖、血管生成和耐药等。研究^[3]显示,白细胞介素-6 通过激活 STAT3 诱导 HIF-1 α 上调,抑制化疗药物产生的细胞毒和促凋亡作用,导致耐药发生。上述研究提示,抑制 STAT3/HIF-1 α 通路的活性将有望改善 TNBC 化疗现状。茛菪酰胺(piperlongumine, PL)可抑制不同类型癌细胞增殖并诱导凋亡。研究^[4]显示,PL 通过降低 STAT3 磷酸化抑制 TNBC 增殖,而对 HIF-1 α 的调控尚不明确。探究 PL 对 STAT3/HIF-1 α 通路的调控机制,将为 PL 应用于 TNBC 的临床治疗提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞株 三阴性乳腺癌 MDA-MB-231 细胞来源于西安交通大学第一附属医院。

1.1.2 实验动物 12 只 5 周龄 SPF 级雌性裸鼠购于北京华阜康生物科技股份有限公司,体质量(18.4 $\pm$ 0.54)g。生产许可证号:SCXK(京)2019-0008。使用许可证号:SYXK(陕)2022-004。

1.1.3 主要药物与试剂 PL 购于美国 APEX BIO 公司;DMEM 高糖培养基、胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)、青链霉素、Accutase 购于美国 GIBCO 公司;胰蛋白酶购于美国 MP 公司;MTT 试剂盒、二甲亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO)购于美国 Sigma 公司;Annexin V-FITC/PI 双染试剂盒购于美国 BD 公司;BCA 蛋白定量试剂盒、特超敏 ECL 化学发光试剂盒购于上海碧云天生物技术有限公司;一抗:增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA)抗体、B 淋巴细胞瘤-2(B-cell lymphoma-2, Bcl-2)抗体、细胞周期依赖性蛋白激酶抑制因子 1A(cy-

2023-06-06 接收

基金项目:西安医学院博士科研启动基金项目(编号:2021DOC05);西安医学院科技能力提升专项计划(编号:2022NLTS025);西安医学院大学生创新创业训练计划项目(编号:202111840010);西安医学院大学生开放实验科研基金项目(编号:2021DXS05);陕西省教育厅专项科研计划项目(编号:21JK0896)

作者单位:¹西安医学院基础医学研究所,西安 710021

²西安医学院临床医学院,西安 710021

作者简介:白芙婷,女,本科生;

陈 镒,男,博士,讲师,责任作者,E-mail: chendi@xiyi.edu.cn

clin dependent kinase inhibitor 1A, CDKN1A/p21) 抗体、STAT3 抗体、磷酸化信号转导与转录激活因子 3 (phosphorylated signal transducer and activator of transcription 3, p-STAT3) 抗体、HIF-1 α 抗体、存活素 (Survivin) 抗体购于美国 CST 公司; 小鼠抗 β -actin 一抗、辣根过氧化物酶 (horseradish peroxidase, HRP) 标记的山羊抗鼠/兔二抗购于上海碧云天生物技术有限公司。

1.1.4 主要仪器 Epoch 酶标仪 (美国 BioTek 公司); Accuri C6 流式细胞仪 (美国 BD 公司); Mini Pro TEAN Tera cell 电泳仪、Chemi Doc 凝胶成像系统 (美国 BIO-RAD 公司)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 MDA-MB-231 细胞用 DMEM 高糖培养液 (含 10% 胎牛血清和 1% 青链霉素) 培养, 置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 饱和湿度的培养箱。细胞密度达 70% 以上时, 用胰蛋白酶消化传代。

1.2.2 细胞增殖实验 取对数期的 MDA-MB-231 细胞消化接种于 96 孔板, 100 μl /孔过夜培养。药物分别作用 24、48、72 h 后再吸出。加 MTT 工作液 100 μl /孔培养 4 h 后吸出。加 DMSO 100 μl /孔振荡 10 min。酶标仪测定各孔 490 nm 波长处吸光度值 (absorbance, A), 计算细胞存活率及半抑制浓度 (half maximal inhibitory concentration, IC_{50})。细胞存活率 (%) = $A(\text{PL 组} - \text{空白组}) / A(\text{PL } 0 \mu\text{mol/L 组} - \text{空白组}) \times 100\%$ 。

1.2.3 细胞凋亡实验 取对数期的 MDA-MB-231 细胞消化接种于 12 孔板, 2 ml/孔过夜培养。药物作用 48 h 后, 用 Accutase 消化并收集各孔细胞于 100 μl 缓冲液中。每管分别加 5 μl AnnexinV-FITC 和 5 μl PI, 混匀后室温避光孵育 15 min。加 400 μl binding buffer, 以流式细胞仪检测细胞凋亡率。

1.2.4 Western blot RIPA 裂解液冰上裂解细胞 30 min, 4 $^{\circ}\text{C}$ 、12 000 r/min 离心 20 min 收集上清液。用 BCA 蛋白定量试剂盒测定浓度, 以等体积 loading buffer 和不同体积 PBS 混合至浓度相同。采用 SDS-PAGE 电泳, 湿转蛋白至 PVDF 膜。5% 脱脂牛奶室温封闭 1 h, 加入 PCNA、Bcl-2、p21、STAT3、p-STAT3、HIF-1 α 、Survivin、 β -actin 抗体 (1 : 1 000) 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜, PBST 漂洗 5 次。二抗 (1 : 1 000) 室温孵育 1 h, 重复漂洗步骤。加 ECL 发光液显色, 凝胶成像仪检测灰度值。

1.2.5 裸鼠荷瘤实验 12 只雌性裸鼠饲养于西安医学院 SPF 级动物饲养单元。将 100 μl MDA-MB-

231 细胞悬液 (5×10^6 个) 注射于每只裸鼠的乳腺处。待裸鼠肿瘤体积达到约 50 mm^3 时, 将 12 只裸鼠随机均分为 PBS 组和 PL 组, PBS 组 6 只裸鼠编号为 PBS-1 至 PBS-6, PL 组 6 只裸鼠编号为 PL-1 至 PL-6。隔天经腹腔注射给药, PBS 组注射 100 μl PBS, PL 组注射 100 μl PL 溶液 (4 mg/kg, 溶于 PBS)。隔天记录裸鼠体质量, 并以游标卡尺测量肿瘤的长径和短径, 计算肿瘤体积。肿瘤体积 = (长径 $\times$ 短径²)/2。给药结束后处死所有裸鼠, 取出肿瘤称重, 提取肿瘤总蛋白。

1.3 统计学处理 采用 GraphPad Prism 软件处理数据, 实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 通过 ANOVA 对多组间差异进行统计学分析, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PL 对 MDA-MB-231 细胞增殖的影响 MTT 结果显示, 不同浓度 PL 处理后, MDA-MB-231 细胞存活率逐渐降低。PL 作用 24、48、72 h 的 IC_{50} 值分别为 (17.73 ± 0.41)、(9.81 ± 1.21)、(6.77 ± 1.24) $\mu\text{mol/L}$, 呈现量效和时效关系, 见图 1。

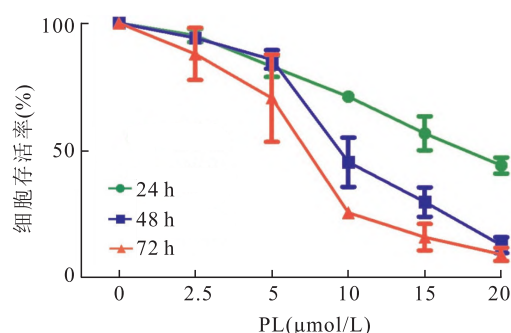


图1 PL 对 MDA-MB-231 细胞增殖的影响 ($n = 3$)

2.2 PL 对 MDA-MB-231 细胞凋亡的影响 流式细胞术检测结果显示, 不同浓度 PL 处理后, MDA-MB-231 细胞凋亡率逐渐升高 ($F = 47.20$, $P < 0.01$), 且呈量效关系, 见图 2。

2.3 PL 对 MDA-MB-231 细胞增殖与凋亡信号通路的影响 Western blot 结果显示, 在 MDA-MB-231 细胞中, PL 处理后, PCNA 和 Bcl-2 蛋白表达水平降低 ($F = 24.87$, $P < 0.01$; $F = 17.54$, $P < 0.05$), p21 蛋白表达水平升高 ($F = 27.74$, $P < 0.01$), 见图 3。

2.4 PL 对 MDA-MB-231 细胞 STAT3/HIF-1 α 信号通路的影响 Western blot 结果显示, 在 MDA-MB-231 细胞中, PL 处理后, p-STAT3、HIF-1 α 、Survivin 蛋白表达水平降低 ($F = 26.65$, $P < 0.01$;

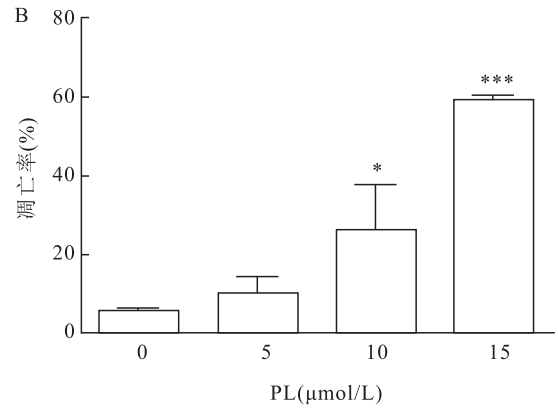
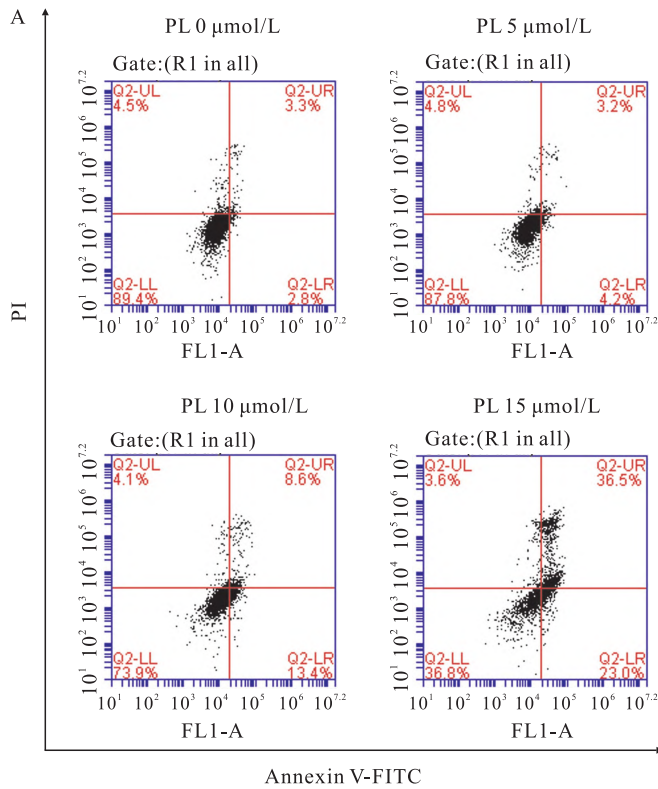


图2 PL对MDA-MB-231细胞凋亡的影响($n=3$)

A:流式细胞术检测PL对MDA-MB-231细胞凋亡的影响;B:不同浓度PL诱导MDA-MB-231细胞的总凋亡率;与PL 0 $\mu\text{mol/L}$ 组比较; * $P<0.05$, *** $P<0.001$

$F=50.54, P<0.01$; $F=41.08, P<0.01$), STAT3 蛋白表达水平无显著变化 ($F=1.26, P>0.05$), 见图4。

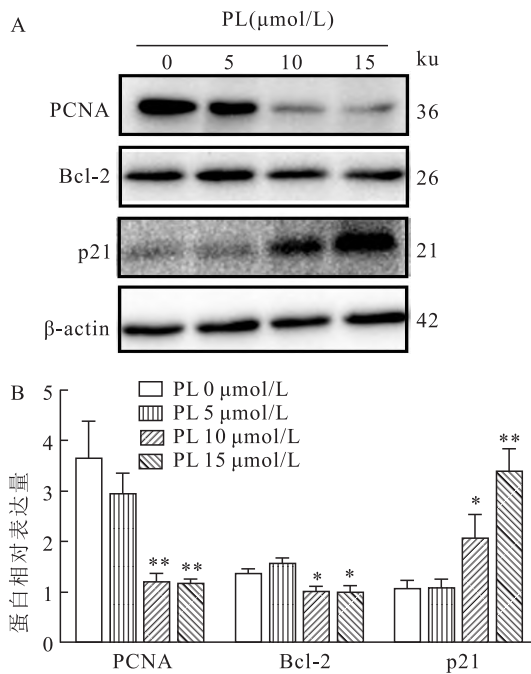


图3 PL对MDA-MB-231细胞增殖

与凋亡信号通路相关蛋白表达水平的影响($n=3$)

A:Western blot法检测PL作用下MDA-MB-231细胞中增殖与凋亡信号通路相关蛋白表达水平;B:PCNA、Bcl-2、p21蛋白的相对表达量;与PL 0 $\mu\text{mol/L}$ 组比较; * $P<0.05$, ** $P<0.01$

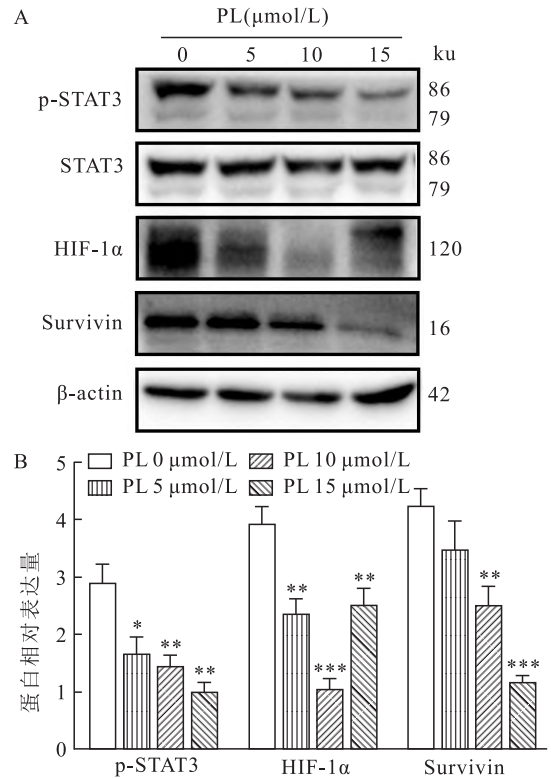
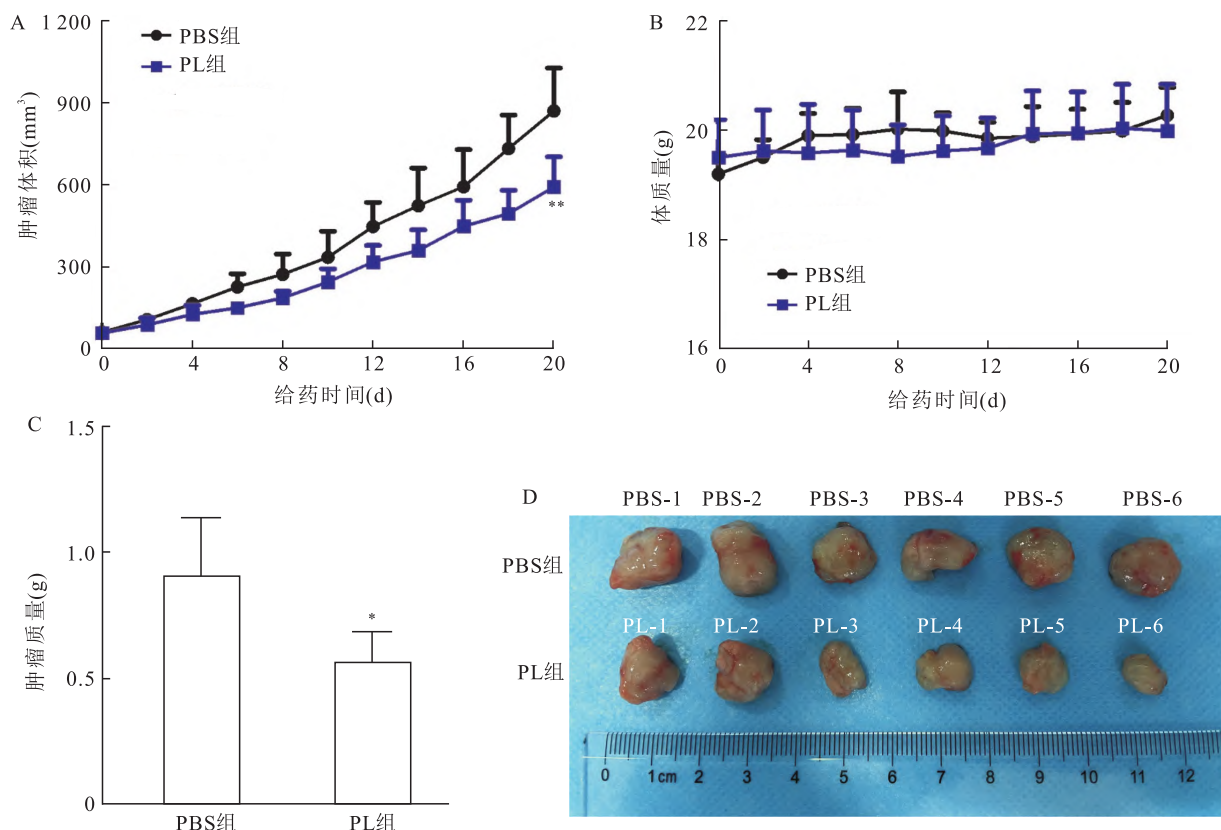


图4 PL对MDA-MB-231细胞STAT3/HIF-1 α 信号通路相关蛋白表达水平的影响($n=3$)

A:Western blot法检测PL作用下MDA-MB-231细胞中STAT3/HIF-1 α 信号通路相关蛋白表达水平;B:p-STAT3、HIF-1 α 、Survivin蛋白的相对表达量;与PL 0 $\mu\text{mol/L}$ 组比较; * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$

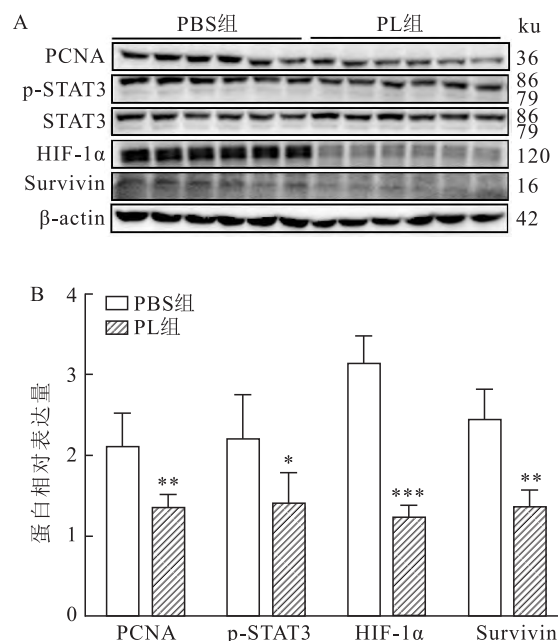
图5 PL对裸鼠肿瘤增殖的影响($n=1$)A: 裸鼠肿瘤体积; B: 裸鼠体质量; C: 裸鼠肿瘤质量; D: 裸鼠肿瘤实体图; 与 PBS 组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

2.5 PL 对裸鼠肿瘤增殖的影响 终止给药后, PBS 组和 PL 组肿瘤体积分别为 $(867.68 \pm 156.27) \text{ mm}^3$ 和 $(590.70 \pm 109.76) \text{ mm}^3$, 肿瘤质量分别为 $(0.895 \pm 0.236) \text{ g}$ 和 $(0.560 \pm 0.124) \text{ g}$ 。相较于 PBS 组, PL 组肿瘤体积减小 ($F = 12.62, P < 0.01$), 肿瘤质量减轻 ($F = 9.50, P < 0.05$)。两组裸鼠体质量间差异无统计学意义 ($F = 0.49, P > 0.05$), 见图 5。

2.6 PL 对裸鼠肿瘤中 STAT3/HIF-1 α 信号通路的影响 终止给药后, 以液氮研磨提取裸鼠肿瘤组织总蛋白, Western blot 法检测 PBS 组和 PL 组肿瘤组织中 PCNA、p-STAT3、STAT3、HIF-1 α 、Survivin 蛋白的相对表达量。两组的 STAT3 蛋白表达水平无显著变化 ($F = 1.35, P > 0.05$)。相较于 PBS 组, PL 组的 PCNA、p-STAT3、HIF-1 α 、Survivin 蛋白表达水平均降低 ($F = 21.82, P < 0.01$; $F = 6.44, P < 0.05$; $F = 149.88, P < 0.001$; $F = 36.57, P < 0.01$), 见图 6。

3 讨论

TNBC 在乳腺癌各种类型中恶性程度最高, 且

图6 PL对裸鼠肿瘤中 STAT3/HIF-1 α 信号通路的影响($n=1$)

A: Western blot 法检测裸鼠肿瘤组织中增殖和 STAT3/HIF-1 α 信号通路相关蛋白表达水平; B: PCNA、p-STAT3、HIF-1 α 、Survivin 蛋白的相对表达量; 与 PBS 组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

化疗预后不佳,患者的5年内生存率仅为60%^[5]。STAT3是肿瘤早期诊断标志物,与乳腺癌恶变密切相关,其异常活化后调控HIF-1 α 等信号分子使癌细胞增殖活跃,并导致多脏器转移和多药耐药。PL被报道具有广泛的抗癌活性,能够抑制包括TNBC在内的多种肿瘤细胞增殖,而对正常细胞毒性较小。PL的抗癌机制涉及不同信号通路,其是否通过调控STAT3/HIF-1 α 通路介导对TNBC的抑制增殖和促凋亡作用目前尚不明确。

PL通过调控凋亡相关分子介导肿瘤细胞的凋亡和增殖。Kim et al^[6]研究发现,p21通过直接靶向Bcl-2调节癌细胞的侵袭和凋亡。Bcl-2则通过线粒体凋亡途径控制细胞凋亡,当其表达水平升高时可促进乳腺癌细胞增殖。Chen et al^[4]发现,PL通过下调Bcl-2的表达诱导MDA-MB-231细胞凋亡。此外,PCNA与Bcl-2的表达具有相关性,Bcl-2被抑制可导致PCNA表达下调^[7]。本研究显示,PL对MDA-MB-231细胞的抑制增殖和诱导凋亡作用具有浓度依赖性。Western blot结果显示,PL上调了p21蛋白表达水平,下调了Bcl-2和PCNA蛋白表达水平,提示PL可能通过阻滞细胞周期诱导癌细胞凋亡。此外,裸鼠荷瘤实验结果表明,PL可在动物体内抑制MDA-MB-231细胞增殖,且未造成动物体质量异常变化。

STAT3/HIF-1 α 通路异常激活对于肿瘤的发展至关重要。STAT3持续激活促进肿瘤细胞快速增殖,导致缺氧微环境的形成,而HIF-1 α 是响应缺氧诱导的关键转录因子,两者共同介导肿瘤细胞的生物活性调控。STAT3是HIF-1 α 的原始调控分子,在缺氧条件下发生自身磷酸化^[8]。p-STAT3通过激活HIF-1 α 的启动子,提高HIF-1 α 的转录和翻译活性。STAT3/HIF-1 α 通路异常激活可导致乳腺癌细胞的增殖、迁移、侵袭以及抗凋亡能力增强^[9]。STAT3/HIF-1 α 通路还参与肿瘤细胞化疗耐药的形成。Wang et al^[10]研究发现,miR-183通过抑制STAT3/HIF-1 α 通路增强了多药耐药肝癌细胞对5-氟尿嘧啶等化疗药物的敏感性。值得关注的是,HIF-1 α 或许发挥了更为关键的作用。Shi et al^[11]在对多种乳腺癌细胞株的研究中发现,HIF-1 α 在MDA-MB-231细胞中表达最高,且该细胞在同等培养条件下增殖最快。Xiong et al^[12]发现,HIF-1 α 激活将导致TN-

BC耐药以及化疗失败。此外,研究^[13]显示HIF-1 α 通过调控下游凋亡抑制蛋白Survivin来增强胃癌细胞的抗凋亡能力。在胰腺癌中,联合阻抑HIF-1 α 和Survivin产生了比阻抑其一更强的抑制增殖作用^[14]。这些研究提示,HIF-1 α 可能是改善TNBC化疗的关键因素。此前,PL对癌细胞HIF-1 α 的影响无明确报道,本研究显示PL可降低MDA-MB-231细胞HIF-1 α 的表达水平。随着PL浓度升高,体外和体内均检测到p-STAT3蛋白和Survivin蛋白表达水平降低。提示PL很可能通过抑制STAT3和HIF-1 α 的活性而降低Survivin蛋白表达水平,导致MDA-MB-231细胞增殖能力降低、凋亡率升高。

综上所述,本研究表明PL在体外和体内抑制MDA-MB-231细胞增殖,其分子机制可能与负调控STAT3/HIF-1 α 信号通路有关。PL抑制TNBC中HIF-1 α 表达的调控作用,但仍需在其他类型癌细胞中进行验证,裸鼠荷瘤实验还需要在更多剂量下检测PL的有效性和安全性。在未来的研究中,将选用耐药TNBC细胞探究PL抗耐药的机制,为PL应用于TNBC的临床治疗提供更为充分的理论依据。

参考文献

- [1] 李玉龙,王志军,彭德峰,等. 三阴性乳腺癌的预后及影响因素[J]. 包头医学院学报, 2018, 34(5): 40-2.
- [2] Xu X, Zhang L, He X, et al. TGF- β plays a vital role in triple-negative breast cancer (TNBC) drug-resistance through regulating stemness, EMT and apoptosis [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2018, 502(1): 160-5.
- [3] Wang K, Zhu X, Zhang K, et al. Interleukin-6 contributes to chemoresistance in MDA-MB-231 cells via targeting HIF-1 α [J]. J Biochem Mol Toxicol, 2018, 32(3): e22039.
- [4] Chen D, Ma Y, Li P, et al. Piperlongumine induces apoptosis and synergizes with doxorubicin by inhibiting the JAK2-STAT3 pathway in triple-negative breast cancer [J]. Molecules, 2019, 24(12): 2338.
- [5] Yin L, Duan J J, Bian X W, et al. Triple-negative breast cancer molecular subtyping and treatment progress [J]. Breast Cancer Res, 2020, 22(1): 61.
- [6] Kim E M, Jung C H, Kim J, et al. The p53/p21 complex regulates cancer cell invasion and apoptosis by targeting Bcl-2 family proteins [J]. Cancer Res, 2017, 77(11): 3092-100.
- [7] 梁至洁,周晓,黄东琳,等. POLD1增强三阴性乳腺癌细胞MDA-MB-231对紫杉醇耐药性的作用研究[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2022, 29(19): 1383-90.
- [8] Gai X, Zhou P, Xu M, et al. Hyperactivation of IL-6/STAT3 pathway led to the poor prognosis of post-TACE HCCs by HIF-

- 1 α /SNAIL axis-induced epithelial to mesenchymal transition[J]. *J Cancer*, 2020, 11(3): 570–82.
- [9] Du P, Luo K, Li G, et al. Long non-coding RNA VCAN-AS1 promotes the malignant behaviors of breast cancer by regulating the miR-106a-5p-mediated STAT3/HIF-1 α pathway [J]. *Bioengineered*, 2021, 12(1): 5028–44.
- [10] Wang X J, Zhang D L, Fu C, et al. MiR-183 modulates multidrug resistance in hepatocellular cancer (HCC) cells *via* miR-183-IDH2/SOCS6-HIF-1 α feedback loop[J]. *Eur Rev Med PharmacolSci*, 2016, 20(10): 2020–7.
- [11] Shi Y, Chang M, Wang F, et al. Role and mechanism of hypoxia-inducible factor-1 in cell growth and apoptosis of breast cancer cell line MDA-MB-231[J]. *Oncol Lett*, 2010, 1(4): 657–62.
- [12] Xiong G, Stewart R L, Chen J, et al. Collagen prolyl 4-hydroxylase 1 is essential for HIF-1 α stabilization and TNBC chemoresistance[J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 4456.
- [13] 王 森, 母润红, 李明成, 等. RNAi 沉默 survivin 和 HIF-1 α 基因对胃癌 BGC-823 细胞体外增殖和凋亡的影响[J]. *吉林大学学报(医学版)*, 2018, 44(4): 753–8, 893.
- [14] 徐孙兵, 朱一平, 牟一平, 等. 抗 HIF-1 α 和 survivin 基因双靶位 miR-RNAi 载体的构建及其对胰腺癌细胞的作用[J]. *浙江大学学报(医学版)*, 2012, 41(1): 81–8.

Piperlongumine inhibits the proliferation of triple-negative breast cancer cells by regulating STAT3/HIF-1 α pathway

Bai Futing^{1,2}, Jiang Yi^{1,2}, Guo Yuhang^{1,2}, Zhang Zangye^{1,2},

Wang Botao^{1,2}, Yan Yutong^{1,2}, Zhou Yifei^{1,2}, Sun Zhuo¹, Chen Di¹

(¹*Institute of Basic Medical Sciences, Xi'an Medical University, Xi'an 710021;*

²*College of Clinical Medicine, Xi'an Medical University, Xi'an 710021*)

Abstract Objective To explore the effects of piperlongumine (PL) on the proliferation and apoptosis of triple-negative breast cancer MDA-MB-231 cells *in vitro* and *in vivo* as well as its possible molecular mechanism. **Methods**

MDA-MB-231 cells were treated with different concentrations of PL. MTT assay was performed to detect the level of cell proliferation. The apoptotic level was detected by flow cytometry. Western blot was performed to detect protein expression levels of proliferating cell nuclear antigen (PCNA), B-cell lymphoma-2 (Bcl-2), cyclin-dependent kinase inhibitor 1A (CDKN1A/p21), phosphorylated signal transducer and activator of transcription 3 (p-STAT3), signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3), hypoxia inducible factor-1 α (HIF-1 α) and Survivin. MDA-MB-231 cells were used to model tumor bearing nude mice and then PL was injected by intraperitoneal (i.p.). The tumor protein expression levels of PCNA, p-STAT3, STAT3, HIF-1 α and Survivin were detected by Western blot. **Results** PL inhibited cell proliferation and induced apoptosis in a dose-dependent manner. PL down-regulated the protein expression levels of PCNA, Bcl-2, p-STAT3, HIF-1 α and Survivin, and up-regulated the protein expression level of p21. Furthermore, PL inhibited tumor growth and down-regulated the protein expression levels of PCNA, p-STAT3, HIF-1 α and Survivin in nude mice. **Conclusion** PL inhibits the proliferation of MDA-MB-231 cells *in vitro* and *in vivo*, and the underlying mechanism can be related to the negative regulation of STAT3/HIF-1 α pathway.

Key words piperlongumine; STAT3; HIF-1 α ; triple-negative breast cancer; proliferation; apoptosis