

# 折伦诺对人乳腺癌细胞增殖作用及其类雌激素活性评价

钟赛意<sup>1</sup>, 刘寿春<sup>2</sup>, 秦小明<sup>1</sup>, 王维民<sup>1</sup>, 林华娟<sup>1</sup>, 谌素华<sup>1</sup>

(1. 广东海洋大学食品科技学院, 广东 湛江 524005; 2. 北京市农林科学院 北京农业信息技术研究中心, 北京 100097)

**摘要:** 目的: 研究折伦诺(Zeranol)对人乳腺癌细胞增殖的影响及评价其类雌激素活性。方法: 采用体外细胞培养模型, 以MTS/PMS比色法检测Zeranol对雌激素受体阳性乳腺癌细胞系MCF-7和雌激素受体阴性乳腺癌细胞系MDA-MB-231的增殖作用, 采用台盼蓝染色和血球计数板计数测定Zeranol作用下MCF-7增殖的细胞生长曲线, 并以雌激素受体完全拮抗剂ICI182,780作为工具药物, 以此评价Zeranol发挥类雌激素效应与雌激素受体的关系。结果: 与对照组相比较, Zeranol(2~50nmol/L)能明显促进MCF-7细胞的增殖, 而对MDA-MB-231没有显著影响, 同时还发现Zeranol对MCF-7细胞增殖效应能够被雌激素受体拮抗剂ICI182,780完全阻断。结论: 低剂量Zeranol能够促进人乳腺癌细胞的增殖, 具有类雌激素活性, 此作用可能是通过雌激素受体(ER)所介导。

**关键词:** 折伦诺; 人乳腺癌细胞; 增殖; 类雌激素; 雌激素受体

Effect of Zeranol on Proliferation of Human Breast Cancer Cells and Evaluation of Estrogenic Activity

ZHONG Sai-yi<sup>1</sup>, LIU Shou-chun<sup>2</sup>, QIN Xiao-ming<sup>1</sup>, WANG Wei-min<sup>1</sup>, LIN Hua-juan<sup>1</sup>, CHEN Su-hua<sup>1</sup>

(1. College of Food Science and Technology, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524005, China; 2. Beijing Research Center for Information Technology in Agriculture, Beijing Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Beijing 100097, China)

**Abstract:** Objective: To explore the effect of zeranol on the proliferation of human breast cancer cells and its estrogenic activity. Methods: *in vitro* cell culture model was employed and estrogen receptor-positive and estrogen receptor-negative human breast cancer cells were exposed to different doses of Zeranol. The cell proliferation was tested by MTS/PMS assay and the cell growth curve of MCF-7 was measured by trypan blue staining and hemocytometer counting. Moreover, the estrogenic effect of zeranol and its correlation with estrogen receptors were evaluated using estrogen receptor antagonist ICI 182,780 as a tool. Results: Zeranol (2—50 nmol/L) effectively induced the proliferation of MCF-7 cells, but showed no effect on ER-negative MDA-MB-231 cells. Moreover, its effect on MCF-7 cell proliferation was completely blocked by ICI 182,780. Conclusion: Low dose of Zeranol can stimulate the growth of estrogen receptor-positive breast cancer cell and has relatively potent estrogenic activity presumably via estrogen receptor  $\alpha$ -mediated pathway.

**Key words:** Zeranol; human breast cancer cells; proliferation; estrogenic activity; estrogen receptor

中图分类号: TS201.6

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2013)11-0232-05

doi:10.7506/spkx1002-6630-201311050

乳腺癌是严重威胁人们生命健康的恶性肿瘤之一, 是女性最常见的恶性肿瘤, 位居女性恶性肿瘤发病率和死亡率的首位<sup>[1]</sup>。雌激素对乳腺癌的发生发展都起着非常重要的作用。前人研究已表明, 过量的雌激素暴露是乳腺癌发生的因素之一<sup>[1-2]</sup>。雌激素通过与雌激素受体的结合, 以及改变相关的癌基因和抑癌基因的表达, 从而诱导乳腺上皮细胞的过度增殖<sup>[3]</sup>。妇女暴露雌激素的时间越长, 发生乳腺癌的风险越大, 其中的雌激素除了内源雌激素, 还包括外源雌激素, 例如食品或环境中存在

收稿日期: 2013-02-14

基金项目: 国家自然科学基金项目(31201424); 广东省自然科学基金项目(S2012040006790)

作者简介: 钟赛意(1979—), 男, 讲师, 博士, 研究方向为农产品加工及质量安全控制。E-mail: zsyjxc@126.com

的具有雌激素样的化合物, 它们能够模拟或干扰机体内天然雌激素的合成、分泌、转运、结合、排泄、生理作用等, 从而影响生殖系统发育, 破坏内分泌系统平衡, 甚至导致肿瘤<sup>[4]</sup>。折伦诺(Zeranol)是一种人工合成的非固醇类二羟基苯甲酸甲酯化合物, 属同化性激素<sup>[5-6]</sup>, 作为肉牛生长促进剂广泛应用于美国肉牛产业, 使用后牛肉中可能会残存痕量的Zeranol, 消费者如果长期过多食用这些牛肉而增加暴露于具有激素样的环境中, 可能会引起潜在危害。美国食品药品监督管理局(FDA)规定在生

肉牛可食性组织中的最大剂量为：肌肉150 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、肝脏300 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、肾脏450 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和脂肪600 $\mu\text{g}/\text{kg}$ <sup>[7]</sup>。然而，越来越多的研究提示，低剂量仍可能存在潜在的致癌作用，目前国际上对其作为肉牛生长促进剂的安全性仍存在较大的争议，还有待进一步探讨<sup>[8-9]</sup>，已有研究表明<sup>[10-12]</sup>低浓度Zeranol能促进正常人乳腺细胞、乳腺癌细胞及前脂肪细胞的分裂生长；本实验的前期研究采用12mg Zeranol片剂体内植入ACI大鼠，也发现110d后在部分大鼠的乳腺部位出现了肿瘤，并发现大鼠含药血清在体外能诱导原代培养人乳腺癌细胞的增殖<sup>[13-14]</sup>，但Zeranol对不同雌激素受体乳腺细胞增殖的影响，以及其诱导乳腺癌细胞增殖是否通过雌激素效应发挥作用仍有待研究。本研究采用体外培养的雌激素受体阳性及阴性人乳腺癌细胞系，探讨低剂量Zeranol对不同乳腺癌癌细胞的增殖影响及其类雌激素活性，为进一步评价肉中残留Zeranol的膳食暴露风险评估提供一定的参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

雌激素受体阳性(ER<sup>+</sup>)人乳腺癌细胞MCF-7和雌激素受体阴性(ER<sup>-</sup>)人乳腺癌细胞MDA-MB-231，购自美国模式培养物集存库(ATCC)，液氮保存。

Zeranol、雌二醇(E2)、雌激素受体拮抗剂ICI182,780、霍乱毒素、二甲基亚砜、台盼蓝 美国Sigma公司；牛血清白蛋白(BSA)、胰岛素 美国Invitrogen公司；Chelex-100螯合树脂 美国Bio-Rad公司；DMEM/F12粉剂、胎牛血清、抗生素-抗真菌溶液、Tyspin、EDTA 美国Gibco公司；MTS、PMS 美国Promega公司；葡聚糖被覆活性炭(DCC) 美国Pharmacia公司。

### 1.2 仪器与设备

T25及T75细胞培养瓶、无菌15mL Falcon试管 瑞士TPP公司；二氧化碳培养箱、医用净化工作台、电热恒温干燥箱、低温冰箱(-80℃) 美国Thermo Forma公司；微量移液枪(1000、200、50、20 $\mu\text{L}$ ) 法国Gilson公司；全波长酶标仪 美国Molecular Devices公司；DU-70分光光度计 美国Beckman公司；Milli-Q超纯水装置 美国Millipore公司；pH计、微量电子天平(万分之一) 瑞士Mettler-Toledo公司；微量加样器 德国Eppendorf公司；高速低温离心机 德国Hettich公司；倒置相差显微镜 日本Nikon公司；细胞培养板(96孔、24孔)、磁力搅拌器 美国Corning公司；细胞计数板 美国Hauser公司。

### 1.3 Zeranol溶液的配制

将Zeranol溶于DMSO中，配制10mg/mL的Zeranol储备液。溶解后于无菌室中用小型滤器0.22 $\mu\text{m}$ 膜过滤，并

放置在4℃冰箱中备用，实验时再按照所需浓度用培养液进行相应的稀释。

### 1.4 方法

#### 1.4.1 细胞培养

将MCF-7和MDA-MB-231细胞复苏后采用75cm<sup>2</sup>培养瓶开放式单层贴壁培养，培养液为无酚红高钙DMEM-F12(体积比1:1)(1.05mmol/L CaCl<sub>2</sub>)，内含10%胎牛血清FBS和体积分数1%双抗(青霉素100U/mL和链霉素100U/mL)，培养条件为37℃、5%CO<sub>2</sub>。加受试物前先用PBS洗涤细胞，然后换为无酚红高钙DMEM-F12(含5% CDT-FBS)，继续培养2d，以耗尽细胞内储存的雌激素。

#### 1.4.2 MTS法检测细胞增殖

当培养细胞生长至80%~90%融合时，用0.25%胰酶+0.02% EDTA消化细胞，制成细胞悬液，以每孔100 $\mu\text{L}$ 接种于96孔培养板，细胞数为每孔5000个，置于培养箱内(5% CO<sub>2</sub>, 95%空气, 37℃)，贴壁后，吸去培养液，换成相应的新鲜的无血清基础培养液，再孵育24h，然后加入含Zeranol浓度为2~50nmol/L的培养液。用新鲜培养液稀释Zeranol储液，调成相应的浓度。同一浓度组均设4个复孔，溶剂对照组为含0.1% DMSO的培养液。置于培养箱内培养24h后，每孔加总体积为20 $\mu\text{L}$ 的MTS和PMS混合液，混匀后继续培养1~3h，待颜色变化稳定后，在酶标仪上读取波长490nm的吸光度。

$$\text{细胞增殖率} / \% = \frac{A_{\text{处理组}}}{A_{\text{对照组}}} \times 100$$

#### 1.4.3 Zeranol对MCF-7细胞生长曲线的影响

细胞培养同MCF-7细胞增殖实验，将总数为5×10<sup>5</sup>个处于细胞对数生长期的MCF-7细胞接种于T25培养瓶中。0.1nmol/L E2为阳性对照，Zeranol剂量为2nmol/L，溶剂对照为1% DMSO。每2天换1次培养液，培养4d，采用血球计数板计数，每8h记1次，并绘出各组MCF-7细胞生长曲线。

#### 1.4.4 雌激素受体完全拮抗实验

取经无酚红DMEM-F12(含5% CDT-FBS)培养4d后的MCF-7细胞，以每孔2×10<sup>3</sup>个接种于96孔板。培养24h待细胞贴壁后，换为含阳性药物(E2, 0.1nmol/L)及不同浓度Zeranol(2、10、30、50nmol/L)的无酚红DMEM/F12培养液，各孔同时分别加入终浓度为1 $\mu\text{mol}/\text{mL}$ 的雌激素受体完全拮抗剂ICI182,780，每种受试物设4个复孔。于24h加入MTS和PMS混合液，孵育1~3h，待颜色变化稳定后，在波长490nm处测定各孔光吸收度，计算平均吸光度和乳腺癌细胞的增殖率，同1.4.2节。

### 1.5 统计方法

使用Minitab 15 (Minitab Inc. PA)统计软件，各组间数据比较采用单因素方差分析，P<0.05认为差异显著，P<0.01认为差异极显著，有统计学意义。

## 2 结果与分析

### 2.1 人乳腺癌细胞MCF-7和MDA-MB-231的形态观察

在倒置显微镜下观察乳腺癌细胞MCF-7和MDA-MB-231的生长情况,两株细胞均呈贴壁依赖性生长,细胞接种于培养瓶之后,12h即可基本完全贴壁,MCF-7分化较好,细胞体积增大,胞浆伸出突起,细胞形态为多角形,细胞之间黏附性高,成膜状生长(图1A),传代时胰酶不易消化;MDA-MB-231分化较差,生长倍增速度慢,细胞形态为圆形或长梭形(图1B),体积较小,细胞之间黏附性差,传代时胰酶易消化。

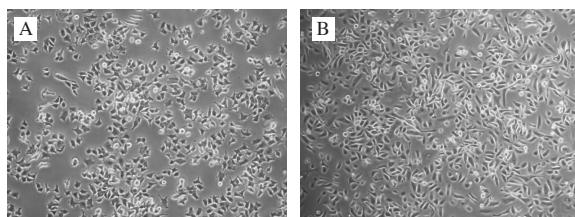
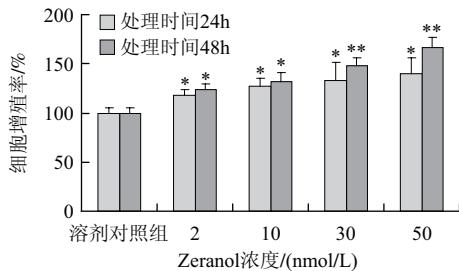


图1 人乳腺癌细胞系MCF-7(A)和MDA-MB-231(B)的形态观察( $\times 100$ )

Fig.1 Morphology of human breast cancer cell lines MCF-7 (A) and MDA-MB-231 (B) ( $\times 100$ )

### 2.2 Zeranol对MCF-7及MDA-MB-231细胞增殖的影响



\*. 处理时间相同,与溶剂对照组相比差异显著( $P<0.05$ );

\*\*. 处理时间相同,与溶剂对照组相比差异极显著( $P<0.01$ )。

图2 Zeranol处理对雌激素受体阳性人乳腺癌细胞MCF-7增殖的影响

Fig.2 Effect of Zeranol on the proliferation of ER positive human breast cancer cell line MCF-7

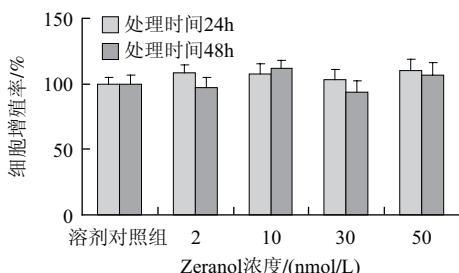


图3 Zeranol处理对雌激素受体阴性人乳腺癌细胞MDA-MB-231增殖的影响

Fig.3 Effect of Zeranol on the proliferation of ER negative human breast cancer cell line MDA-MB-231

雌激素依赖性人类乳腺癌细胞系MCF-7细胞增殖实验(MCF-7 cell proliferation assay *in vitro*)又称为E-Screen测定法。是一种比较经典的体外评价化合物雌激素样活性的实验方法。其原理在于雌激素活性物质可以与雌激素受体(ER)结合并刺激ER阳性细胞增殖,此方法已经广泛应用于快速筛选和评价类雌激素和植物雌激素<sup>[15-17]</sup>。本实验采用人乳腺癌雌激素受体阳性细胞系MCF-7和雌激素受体阴性细胞系MDA-MB231进行细胞增殖实验研究,MTS/PMS比色法测定结果表明(图2),与溶剂对照组相比较,2~50nmol/L Zeranol处理24h和48h都能显著促进MCF-7细胞的增殖( $P<0.05$ ),其中30~50nmol/L Zeranol处理48h达到极显著水平( $P<0.01$ )。雌激素受体阴性MDA-MB-231细胞经不同浓度的Zeranol处理后,与溶剂对照组相比,其增殖率并没有发生显著变化(图3)。与雌二醇(E2)类似,Zeranol在一定剂量范围内能促进雌激素受体阳性细胞系MCF-7增殖,且呈现出一定的剂量-效应关系,但对雌激素受体阴性细胞系MDA-MB-231无增殖作用,表明Zeranol具有雌激素样活性。

### 2.3 Zeranol对MCF-7细胞生长曲线的影响

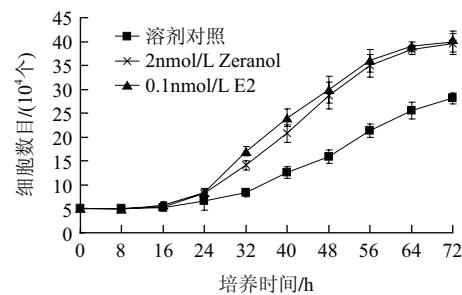


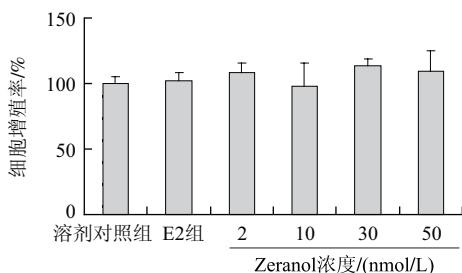
图4 Zeranol处理对MCF-7细胞生长曲线的影响

Fig.4 Effect of Zeranol on the growth curve of MCF-7 cells

2nmol/L Zeranol刺激MCF-7细胞增殖的生长曲线与0.1nmol/L E2相似,从24h开始曲线明显上移。培养24~72h细胞处于对数生长期(图4)。细胞培养32~72h,2nmol/L Zeranol处理组的细胞数目与0.1nmol/L E2处理组差异不显著,但均显著高于溶剂对照组,其中48h后均达到了差异极显著的水平( $P<0.01$ )。

### 2.4 雌激素受体完全拮抗剂ICI182,780对MCF-7细胞增殖的影响

为进一步验证MCF-7细胞的增殖是否通过雌激素受体发生作用,雌二醇组和各浓度药物组同时加入终浓度为1μmol/L ICI182,780。ICI182,780为实验用雌激素受体完全拮抗剂,能完全阻断E2等雌激素样物质由雌激素受体介导的一系列生物效应,包括促增殖作用<sup>[18]</sup>。0.1nmol/L E2及2、10、30、50nmol/L Zeranol诱导的MCF-7细胞增殖作用被1μmol/L ICI182,780完全拮抗,与溶剂对照组的细胞增殖情况差异无显著性(图5)。



**图5 雌激素受体拮抗剂ICI182,780与Zeranol结合处理对MCF-7增殖的影响**

Fig.5 Effect of Zeranol combined with 1  $\mu\text{mol/L}$  ICI182,780 on the proliferation of MCF-7 cells

### 3 讨论

乳腺癌是乳腺上皮细胞在各种内外致癌因子的作用下,发生基因突变,细胞失去正常特性而异常增生,以致超过自我修复的限度而发生癌变的疾病<sup>[19-20]</sup>。乳腺癌分为雌激素依赖(雌激素受体阳性)和非依赖(雌激素受体阴性)两种类型<sup>[21]</sup>。研究已表明,雌激素过度暴露是乳腺癌发生的风险之一。一些类雌激素能够模拟或干扰机体内天然雌激素的合成、分泌、转运、结合等生理作用。类雌激素化合物对生物体的作用已逐渐引起人们的关注,越来越多的研究<sup>[22-23]</sup>显示,食品或环境中存在的类雌激素在动物生殖和发育、神经、免疫和致癌等方面存在潜在的危害效应。

Wilson等<sup>[24]</sup>用初生幼鹿作为实验对象,经口给药,发现Zeranol处理组的幼鹿性发育出现异常,阴囊周长变小,睾丸体积变小,首次射精延迟,精液浓度降低。Coe等<sup>[25]</sup>研究发现,Zeranol给药后,能够引起亚美尼亚仓鼠的急性肝损害,最后导致肝癌的发生,这些症状可以通过服用他莫昔芬(一种雌激素受体调节药物,是雌二醇竞争性拮抗剂,能与乳腺细胞的雌激素受体结合)而得到消除或缓解。但Zeranol对激素敏感性不同的人体细胞的影响仍有待研究。本研究通过Zeranol对人乳腺癌细胞增殖作用及类雌激素活性的研究来探讨其在低剂量条件下对人体存在的潜在危害。

目前评价某一化学物质是否具有雌激素活性,还不能从分子结构上加以推测。主要通过测定该化学物质诱导雌激素生理效应的能力来进行。本实验采用的MCF-7细胞来源于人乳腺癌细胞,是一种雌激素受体表达阳性、对雌激素敏感细胞,广泛应用于评价雌激素活性以及雌激素对乳腺癌发生及发展机制的研究;MDA-MB-231细胞也是目前乳腺癌研究中最常用的细胞株之一,与MCF-7不同在于,这类细胞株表达波形蛋白(vimentin),不表达雌激素受体(ER)<sup>[26]</sup>。本研究采用MTS

法检测细胞增殖,结果表明,Zeranol能显著增加雌激素依赖性乳腺癌细胞系MCF-7的增殖,而对雌激素非依赖性乳腺癌细胞系MDA-MB-231无显著影响。生长曲线分析也显示Zeranol生长曲线明显上移,与阳性对照雌激素E2具有类似效应。根据雌激素作用原理,雌激素要产生生物学效应,必须先与雌激素受体结合,进而调节相应的基因转录,从而产生相应的生物学效应。ICI182,780是一种拮抗雌激素效应的常用药物,它能完全阻断E2等雌激素样物质由雌激素受体介导的一系列生物效应,包括促增殖作用。本实验结果显示,ICI182,780能拮抗Zeranol、E2的刺激MCF-7细胞生长的类雌激素活性,说明Zeranol刺激MCF-7细胞生长的类雌激素活性与E2的作用机制类似,是经与雌激素受体结合而产生的生物学效应。这些结果提示,Zeranol在低浓度条件下仍具有雌激素样活性,而且其诱导乳腺癌细胞增殖的作用,可能是通过雌激素受体ER信号通路所介导的。本研究可为Zeranol的膳食暴露风险评估提供参考。

### 参考文献:

- [1] YAGER J D, DAVIDSON N E. Estrogen carcinogenesis in breast cancer[J]. New England Journal of Medicine, 2006, 354(3): 270-282.
- [2] IBARLUZEA J M, FERNÁNDEZ M F, SANTA-MARINA L, et al. Breast cancer risk and the combined effect of environmental estrogens[J]. Cancer Causes Control, 2004, 15(6): 591-600.
- [3] CLEMONS M, GOSS P. Estrogen and the risk of breast cancer[J]. New England Journal of Medicine, 2001, 344(4): 276-285.
- [4] FERNANDEZ S V, RUSSO J. Estrogen and xenoestrogens in breast cancer[J]. Toxicologic Pathology, 2010, 38(1): 110-122.
- [5] SUNDLOF S F, STRICKLAND C. Zearalenone and zeranol: potential residue problems in livestock[J]. Veterinary and Human Toxicology, 1986, 28(3): 242.
- [6] MOR F, ŞAHİNDOKUYUCU F, KAV K, et al. Determination of zeranol and trenbolone residues in tissue samples of cattle[J]. Eurasian Journal of Veterinary Sciences, 2011, 27(4): 235-240.
- [7] KLEINOVA M, ZÖLLNER P, KAHLBACHER H, et al. Metabolic profiles of the mycotoxin zearalenone and of the growth promoter zeranol in urine, liver, and muscle of heifers[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002, 50(17): 4769-4776.
- [8] STRETCHER K N. An evaluation and proposal of growth hormones in beef[J]. URJ-UCCS: Undergraduate Research Journal at UCCS, 2011, 4(1): 6-11.
- [9] DANAHER M, PRENDERGAST D M. A European food safety perspective on residues of veterinary drugs and growth-promoting agents[M/OL]// JUNEJA V K, SOFOS J N. Pathogens and toxins in food: challenges and interventions, 2010: 326. <http://www.cabdirect.org/abstracts/20093341970.html>.
- [10] XU Pingping, YE Weiping, LI Hong, et al. Zeranol enhances leptin-induced proliferation in primary cultured human breast cancer epithelial cells[J]. Molecular Medicine Reports, 2010, 3(5): 795-800.
- [11] XU Pingping, YE Weiping, ZHONG Saiyi, et al. Zeranol may increase the risk of leptin-induced neoplasia in human breast[J]. Oncology Letters, 2011, 2(1): 101-108.
- [12] YE Weiping, XU Pingping, THRELFALL W R, et al. Zeranol enhances the proliferation of pre-adipocytes in beef heifers[J].

- Anticancer Research, 2009, 29(12): 5045-5052.
- [13] ZHONG Saiyi, YE Weiping, LIN Shuhong, et al. Zeranol induces cell proliferation and protein disulfide isomerase expression in mammary gland of ACI rat[J]. Anticancer Research, 2011, 31(5): 1659-1665.
- [14] ZHONG Saiyi, YE Weiping, FENG E, et al. Serum derived from zeranol-implanted ACI rats promotes the growth of human breast cancer cells *in vitro*[J]. Anticancer Research, 2011, 31(2): 481-486.
- [15] BLOM A, EKMAN E, NORRGREN L, et al. Effects of xenoestrogenic environmental pollutants on the proliferation of human breast cancer cell line (MCF-7)[J]. Archives of Environment Contamination and Toxicology, 1998, 34(3): 306-310.
- [16] GUTENDORF B, WESTENDORF J. Comparison of an array of *in vitro* assays for the assessment of estrogenic potential of natural and synthetic estrogens, phytoestrogens and xenoestrogens[J]. Toxicology, 2001, 166(1): 79-89.
- [17] KLOOSTERBOER H J, SCHOONEN W G E J, VERHEUL H A M. Proliferation of breast cells by steroid hormones and their metabolites[M/OL]//PASQUALINI J R. Breast cancer: prognosis, treatment, and prevention, 2007: 343-366. <http://www.crcnetbase.com/doi/abs/10.3109/9781420058734-19>.
- [18] WAKELING A E, BOWLER J. ICI 182,780, a new antioestrogen with clinical potential[J]. The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology, 1992, 43(1): 173-177.
- [19] LIN S X, CHEN J, MAZUMDAR M, et al. Molecular therapy of breast cancer: progress and future directions[J]. Nature Reviews Endocrinology, 2010, 6(9): 485-493.
- [20] PUTTI T C, EL-REHIM D M A, RAKHA E A, et al. Estrogen receptor-negative breast carcinomas: a review of morphology and immunophenotypical analysis[J]. Modern Pathology, 2004, 18(1): 26-35.
- [21] 邱增华. 雌激素受体与乳腺癌的关系[J]. 山东医药, 2009, 49(4): 113-114.
- [22] RUSSO J, RUSSO I H. The role of estrogen in the initiation of breast cancer[J]. The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology, 2006, 102(1): 89-96.
- [23] ROGAN E. Xenoestrogens, biotransformation, and differential risks for breast cancer[C]//The Proceedings From the 13th International Symposium of The Institute for Functional Medicine, Tampa, Florida, USA: Institute for Functional-Medicine, 2007.
- [24] WILSON T W, NEUENDORF D A, LEWIS A W, et al. Effect of zeranol or melengestrol acetate (MGA) on testicular and antler development and aggression in farmed fallow bucks[J]. J Animal Science, 2002, 80(6): 1433-1441.
- [25] COE J E, ISHAK K G, WARD J M. Tamoxifen prevents induction of hepatic neoplasia by zeranol, an oestrogenic food contaminant[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1992, 89(3): 1085-1089.
- [26] HARDWICK M, RONE J, HAN Z, et al. Peripheral-type benzodiazepine receptor levels correlate with the ability of human breast cancer MDA-MB-231 cell line to grow in scid mice[J]. International Journal of Cancer, 2001, 94(3): 322-327.