

• 论 著 • doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2015.11.003

PI3K/AKT 及 MEK/ERK 信号通路在肿瘤血管内皮细胞迁移中的作用*

肖高春, 童仕伦[△], 郑勇斌, 郝志楠, 李盛波

(武汉大学人民医院胃肠外科, 湖北武汉 430060)

[摘 要] **目的** 研究磷脂酰肌醇 3 激酶(PI3K)/丝氨酸苏氨酸蛋白激酶(AKT)及丝裂原细胞外信号调节激酶(MEK)/细胞外信号调节激酶(ERK)信号通路在肿瘤血管内皮细胞迁移中的作用及机制。**方法** 用不同浓度的 PI3K/AKT 信号通路抑制剂 LY294002(2.50、7.50、15.00 $\mu\text{mol/L}$);MEK/ERK 信号通路抑制剂 PD98059(2.50、7.50、15.00 $\mu\text{mol/L}$)分别处理肿瘤血管内皮细胞,以 DMEM-F12 培养基,加入 0.10% 二甲基亚砜(DMSO)的培养基分别作为对照,通过细胞划痕试验,定向迁移试验和 Transwell 试验来检测不同的信号通路抑制剂对肿瘤血管内皮细胞的水平、垂直和定向迁移能力的影响。**结果** 0.1% DMSO 对血管内皮细胞的迁移无明显影响,其作用后血管内皮细胞的迁移能力与 DMEM-F12 单独作用无明显区别,说明小剂量 DMSO 作为 LY294002、PD98059 的溶剂不影响肿瘤血管内皮细胞的迁移功能;应用信号通路抑制剂 LY294002、PD98059 处理后,血管内皮细胞迁移能力受抑制,且随着抑制剂浓度增高而增大;LY294002 与 PD98059 组比较,前者迁移距离更小,细胞迁移数较后者少,二者比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 抑制 PI3K/AKT 和 MEK/ERK 信号通路均能抑制肿瘤血管内皮细胞的水平、垂直和定向迁移,且与抑制剂浓度呈正相关;PI3K/AKT 信号通路对血管内皮细胞迁移的影响比 MEK/ERK 信号通路明显。

[关键词] 1-磷脂酰肌醇 3-激酶;肿瘤;血管;内皮细胞;细胞运动;信号通路

[中图分类号] R656.9

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2015)11-1452-05

Role of PI3K/AKT and MEK/ERK signaling pathway in tumor vascular endothelial cell migration*

Xiao Gaochun, Tong Shilun[△], Zheng Yongbin, Hao Zhinan, Li Shengbo

(Department of Gastrointestinal Surgery, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan, Hubei 430060, China)

[Abstract] **Objective** To research the effect and mechanism of phosphatidylinositol 3-kinase(PI3K)/serine threonine protein kinase(AKT) and mitogen extracellular signal-regulated kinase(MEK)/extracellular signal-regulated kinase(ERK) signaling pathway in tumor vascular endothelial cell migration. **Methods** The different concentrations of PI3K/AKT signaling pathway inhibitor LY294002 (2.50, 7.50, 15.00 $\mu\text{mol/L}$) and the MEK/ERK signaling pathway inhibitor PD98059 (2.50, 7.50, 15.00 $\mu\text{mol/L}$) were used to treat the tumor-derived endothelial cells respectively. The DMEM-F12 culture medium was added into 0.10% DMSO culture medium as the control. The cell scratch test, cell directional migration test and Transwell test were adopted to detect the effects of different signaling pathway inhibitors on the tumor vascular endothelial cells level, horizontal, vertical and directional migration. **Results** 0.10% DMSO had no significant effect on endothelial cell migration and the role of endothelial cells' migration ability after its action had no obvious difference compared with the single DMEM-F12 medium action, indicating that small doses of DMSO as the solvent of LY294002, PD98059 did not affect the tumor vascular endothelial cell migration function; after treatment by signaling pathway inhibitor LY294002 and PD98059, the endothelial cell migration ability was suppressed and increased with the inhibitor concentration increase; compared with the PD98059 group, the migration distance in the LY294002 group was smaller and the number of migrating cells was less, the differences had statistical significance ($P < 0.05$). **Conclusion** The inhibition of PI3K/AKT and MEK/ERK signaling pathway can inhibit the level of tumor vascular endothelial cells, vertical and directional migration, and which is positively correlated with the concentration of inhibitor; the effect of PI3K/AKT signal pathway on the migration of endothelial cells is more significant than that of the MEK/ERK signal pathway.

[Key words] 1-phosphatidylinositol 3-kinase; neoplasms; blood vessels; endothelial cells; cell movement; signaling pathway

肿瘤的发生、发展过程中存在多个信号通路的异常活化,并参与肿瘤的进展。其中研究较为广泛的磷脂酰肌醇 3 激酶(phosphoinositide 3-kinase, PI3K)/丝氨酸苏氨酸蛋白激酶(serine threonine kinase, AKT)与丝裂原细胞外信号调节激酶(mitogen extracellular signal regulated kinases, MEK)/细胞外信号调节激酶(extracellular signal regulated kinase, ERK)信号通路也发现在多种肿瘤中异常活化,且其异常活化可抑制肿瘤

细胞凋亡,促进细胞周期的进展,进而促进肿瘤细胞的增殖与生存,在肿瘤中起重要作用,并参与肿瘤的侵袭与转移^[1]。近来有研究显示,该信号通路不仅参与肿瘤的进展,同时也影响肿瘤的血管生成。PI3K 是一种具有催化活性的细胞内信号蛋白,其可以调控下游的 AKT 磷酸化水平,二者共同构成 PI3K/AKT 信号通路^[2],此信号通路可在多种类型细胞迁移过程中发挥调控作用^[3-4]。Lelievre 等^[5]研究表明,PI3K 信号通路中

* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(81372553)。 作者简介:肖高春(1981—)主治医师,在读硕士研究生,主要从事胃肠道肿瘤防治研究。 [△] 通讯作者: Tel:15071011217; E-mail: tongshilun@163.com。

的 p110 亚单位不仅能够调节内皮细胞的迁移和屏障功能,同时对血管形成也有重要作用。且血管内皮细胞中的 ras 基因持续活化能直接调节 PI3K 信号通路,诱导肿瘤血管畸变。

MEK/ERK 信号通路是将细胞表面受体信号转导至细胞核的关键,控制着细胞多种生理过程,参入细胞的增殖、迁移与分化。内皮细胞在新生血管形成过程中需要 MEK/ERK 信号通路的激活^[6]。有研究发现,ERK 和 MEK 分子期中的一个,都具备有抗新生血管生成的作用,表明 MEK/ERK 通路中的信号分子能为治疗新生血管相关疾病提供合理的靶向分子^[7]。任莹等^[8]研究表明,ERK 信号分子可能通过抑制内皮细胞的增殖和迁移而影响新生血管的生成。目前以上两信号通路为靶点的治疗备受关注。但对这两条信号在结肠癌血管内皮细胞迁移中的作用研究尚少见报道,本实验通过 PI3K/AKT 信号通路抑制剂 LY294002,MEK/ERK 信号通路抑制剂 PD98059,来研究两信号通路在结肠癌血管内皮细胞迁移种的作用及机制,为抗肿瘤新生血管形成治疗提供实验依据,寻找新的治疗靶点。

1 材料与方法

1.1 材料 人脐静脉内皮细胞(HUVEC)来自武汉大学消化实验室保存,人结肠癌细胞株 LOVO(武汉大学保藏中心),PD98059,LY294002 购自碧云天公司,胎牛血清购自 Gibco 公司,DMEM-F12 培养基购自 Hyclone 公司,细胞培养瓶、培养板、Transwell 小室购自 Corning 公司,鼠尾胶购自 Sigma 公司,倒置相差显微镜日本 Olympus。

1.2 方法

1.2.1 实验分组 实验分为 8 组,其中 PI3K/AKT 信号通路干预 3 组,使用 2.50、7.50、15.00 $\mu\text{mol/L}$ 的 LY294002 干预内皮细胞的 PI3K/AKT 信号通路;MEK/ERK 信号通路干预 3 组,使用 2.50、7.50、15.00 $\mu\text{mol/L}$ 的 PD98059 干预内皮细胞的 MEK/ERK 信号通路(抑制剂使用浓度依据预实验中确定的两抑制剂的 IC_{50} 来确定);含 0.10% 二甲基亚砜(DMSO)的培养基组(DMSO 组用来检测溶解 LY294002 和 PD98059 的溶剂 DMSO 对内皮细胞的功能的影响);使用 DMEM-F12 培养基组(DMEM-F12 组)作为对照组,每组设一复孔,重复 3 次。

1.2.2 细胞培养 HUVEC 于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 培养,每 2~3 天换液 1 次,当细胞 80.00% 左右融合时传代培养。

1.2.3 LOVO 培养上清液收集 参照文献^[9]方法将 LOVO 细胞用含 10% 胎牛血清的 DMEM-F12 培养,当细胞 80% 左右融合的时,吸出培养基,PBS 清洗 2 次后,加入 5 mL 无血清的 DMEM-F12 继续培养,48 h 后收集上清液,用 0.22 μm 的滤膜过滤, -80 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

1.2.4 肿瘤血管内皮细胞制备 取对数期生长的 HUVEC,用含体积分数为 50% LOVO 细胞上清液的 DMEM-F12 培养,当细胞 80% 左右融合时收集细胞,即为肿瘤源性血管内皮细胞(Td-EC)^[9],具有肿瘤血管的特性,并可以传代培养。

1.2.5 细胞划痕修复实验 参照文献^[10]方法取对数期生长的肿瘤血管内皮细胞悬液 3.50×10^5 个/孔,接种于预先做好刻度的 6 孔板(在 6 孔板背面每隔 0.50 cm 做一刻度线,共 5 条刻度线),轻轻震荡细胞培养板,使细胞分散均匀,待细胞 80% 左右融合时换成无血清培养基继续培养 24 h,同步化处

理。在各孔内用 200 μL 枪头做一垂直于刻度线的划痕,划去细胞并用 PBS 洗除漂浮细胞后。各组按前述分组处理,再继续培养细胞 30 h 后分别测量 5 条标记线处的最大迁移距离,取 5 个位点的平均值作为一次测量值。细胞迁移距离=测量距离(0 h)-测量距离(30 h),以 μm 作为计量单位。

1.2.6 定向迁移实验 取 12 孔板每孔放两个 8 mm \times 8 mm 的克隆环,紧密排列,固定于板底,两孔内分别加入 2.5×10^4 个 Lovo 细胞和对数期生长的肿瘤血管内皮细胞,待肿瘤血管内皮细胞 80% 左右融合时,用无血清培养基同步化处理 24 h 后,吸出培养基,PBS 清洗后,各组内皮细胞环内按前述分组处理。LOVO 细胞继续用含 10% 的胎牛血清培养基。12 h 后吸出两克隆环内的液体,并取出克隆环,PBS 清洗,各孔内加入 2.5 mL DMEM-F12 完全培养基。以此时为 0 h,利用两细胞团边缘细胞迁移距离为测量方法,再培养 30 h 后测量两细胞团边缘间最近细胞间距离,细胞定向迁移距离=测量距离(0 h)-测量距离(30 h),以 μm 作为计量单位。

1.2.7 Transwell 迁移实验 实验中采用 6.50 mm 直径,10 μm 厚度,8 μm 孔径的聚碳酸酯多孔滤膜。将 Transwell 小室用 1 mg/mL 的鼠尾胶包被。取 200 μL Sigma 鼠尾胶原蛋白(5 mg/mL)加入置入冰浴的离心管中,加入 690 μL H_2O 。然后加入到 12 μL 0.10 mol/L NaOH 中立即混匀,再加入 100 μL 10 \times PBS 培养液,混匀后立即以每孔 50 μL 加入 Transwell 小室,轻轻震荡,使其均匀平铺在小室膜上,将小室室温(25 $^{\circ}\text{C}$ 左右)下放置 20 min 待胶凝固后,转移到培养箱内。使用前加入 200 μL DMEM-F12 培养液预平衡。取各组处理后的对数期生长的肿瘤血管内皮细胞 2×10^5 个与无血清培养基 200 μL 加入上室,下室内加入 600 μL 含 10% 的胎牛血清的培养基。培养 24 h 后吸出培养基,用 4% 的多聚甲醛固定 20 min,自然晾干后用 0.20% 结晶紫染色 15 min,用脱脂棉擦除小室上表面的细胞,PBS 清洗后,取小室放于载玻片上,在倒置相差显微镜($\times 100$ 倍)上取上、下、左、右、中五个视野拍片计数,计算 5 个视野的平均值为穿膜细胞数。

1.3 统计学处理 所有数据采用 SPSS19.0 软件进行统计分析。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较用 t 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

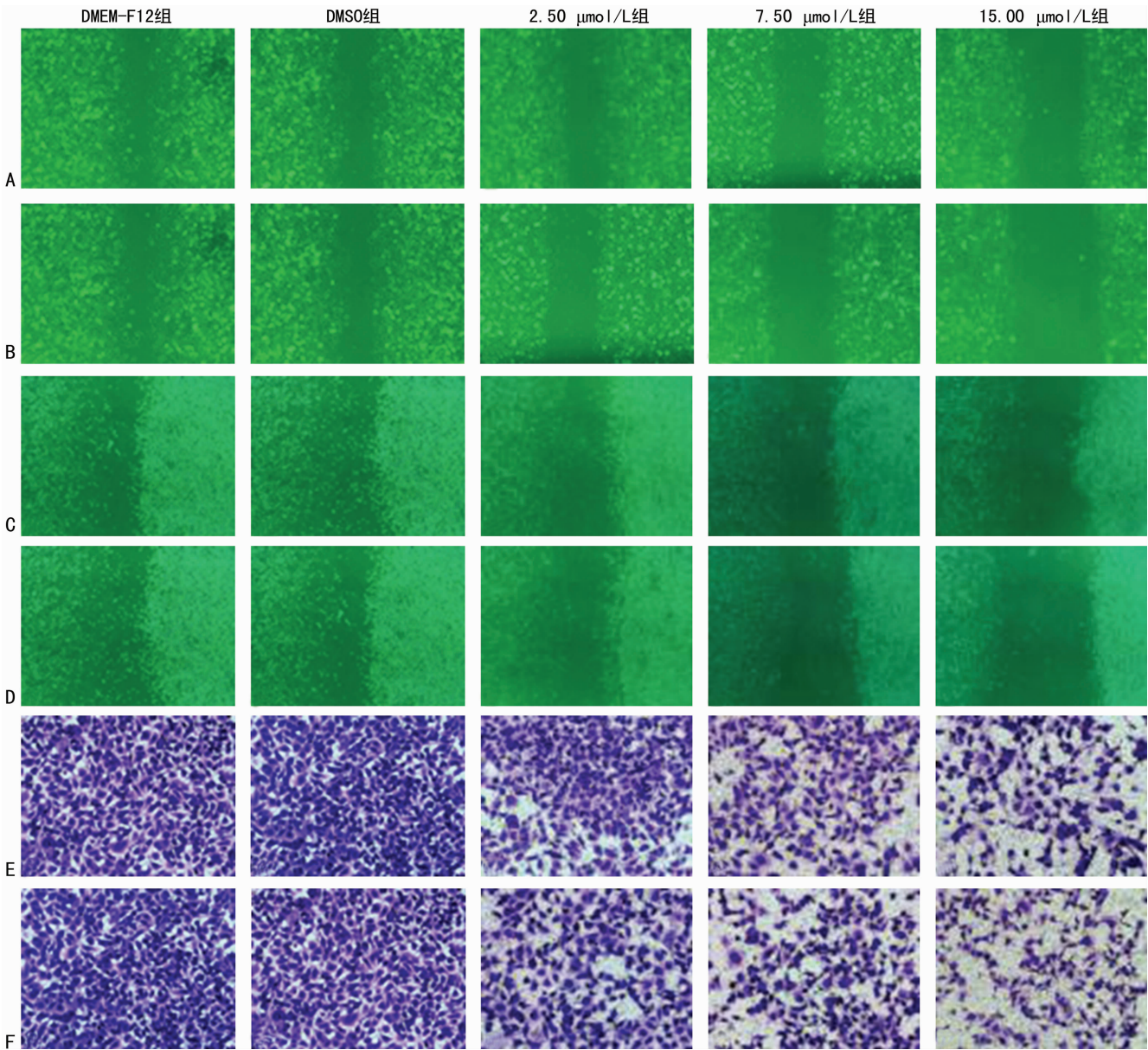
2 结果

2.1 组间细胞划痕修复实验检测比较 细胞划痕修复实验检测 PI3K/AKT 及 MEK/ERK 信号通路在肿瘤血管内皮细胞迁移中的作用,结果显示,DMSO 组与 DMEM-F12 组比较,迁移距离差异无统计学意义($P > 0.05$),小剂量 DMSO 对肿瘤血管内皮细胞的水平迁移功能无影响;PD98059、LY294002 处理组细胞迁移受抑制,迁移距离明显小于 DMEM-F12 组($P < 0.05$),且随着抑制剂浓度的增大,抑制越明显,两抑制剂对肿瘤血管内皮细胞迁移的影响有浓度相关性;两抑制剂之间比较,同等浓度的 LY294002 对细胞水平迁移的影响比 PD98059 明显,二者比较差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 1。LY294002 对肿瘤血管内皮细胞迁移能力的影响较 PD98059 强,且随着抑制剂浓度增大,细胞迁移距离越短,同浓度的抑制剂 LY294002 组较 PD98059 组间距更大,见图 1A、B。

2.2 组间细胞定向迁移实验检测比较 定向迁移实验检测 PI3K/AKT 及 MEK/ERK 信号通路在肿瘤血管内皮细胞迁移

中的作用,结果显示,DMSO 组与 DMEM-F12 组迁移距离比较,差异无统计学意义($P>0.05$),小剂量 DMSO 对肿瘤血管内皮细胞的定向迁移功能无影响;PD98059、LY294002 处理组肿瘤血管内皮细胞迁移受抑制,与 DMEM-F12 组比较,差异有统计学意义($P<0.05$),且随着抑制剂浓度的增大,抑制越明显,各亚组间比较,差异有统计学意义($P<0.05$),两抑制剂对

肿瘤血管内皮细胞迁移的影响均与浓度呈正相关;两抑制剂间比较,同等浓度的 LY294002 对肿瘤血管内皮细胞定向迁移的抑制作用较 PD98059 强,二者间比较差异有统计学意义($P<0.05$),见表 1。且随抑制剂浓度的增大,两细胞团间的距离也越大,同等浓度的抑制剂,LY294002 组较 PD98059 组间距大,见图 1C、D。



A:PD98059 处理后细胞划痕迁移能力;B:LY294002 处理后细胞划痕迁移能力;C:PD98059 处理后细胞划痕定向迁移能力(左侧:TD-EC,右侧:LOVO);D:LY294002 处理后细胞划痕定向迁移能力(左侧:TD-EC,右侧:LOVO);E:PD98059 处理后细胞迁移染色(×100);F:LY294002 处理后细胞迁移染色(×100)。

图 1 PD98059 与 LY294002 处理后 30 h 细胞刊痕、定向迁移及细胞迁移图像

2.3 组间细胞 Transwell 迁移实验检测比较 Transwell 迁移实验检测 PI3K/AKT 及 MEK/ERK 信号通路在肿瘤血管内皮细胞迁移作用,结果显示,DMSO 组与 DMEM-F12 组比较,差异无统计学意义($P>0.05$),小剂量 DMSO 对肿瘤血管内皮细胞垂直迁移无影响;PD98059、LY294002 处理组细胞迁移数量明显小于 DMEM-F12 组,差异有统计学意义($P<0.05$),两抑制剂能抑制肿瘤血管内皮细胞垂直迁移;随着抑制

剂浓度的增大,迁移到膜下的细胞数逐渐减少,各组间比较差异有统计学意义($P<0.05$),抑制剂对细胞迁移能力的影响与浓度呈正相关;两抑制剂间比较,同等浓度的 LY294002 处理组穿膜细胞数较 PD98059 处理组少,二者比较差异有统计学意义($P<0.05$),LY294002 对细胞垂直迁移的抑制作用较 PD98059 强(表 1)。随着抑制剂浓度增大,穿膜细胞数逐渐减少,同等浓度的抑制剂 LY294002 组较 PD98059 组穿膜细胞

少,见图 1E、F。

表 1 组间细胞划痕修复及定向迁移距离等比较($\bar{x}\pm s$)

组别	划痕迁移距离	定向迁移距离	迁移细胞数
DMEM-F12 组	366.24±13.22	630.60±19.55	472.33±11.83
DMSO 组	359.96±14.26	638.76±23.88	475.67±17.75
LY294002 组			
2.50 $\mu\text{mol/L}$	262.14±23.63 ^{ab}	474.30±14.88 ^{ab}	331.50±17.52 ^{ab}
7.50 $\mu\text{mol/L}$	208.41±23.08 ^{abc}	385.11±16.80 ^{abc}	277.17±13.96 ^{abc}
15.00 $\mu\text{mol/L}$	124.12±27.44 ^{abd}	311.62±20.69 ^{abd}	219.50±20.82 ^{abd}
PD98059 组			
2.50 $\mu\text{mol/L}$	295.44±14.10 ^a	515.41±20.81 ^a	372.00±15.71 ^a
7.50 $\mu\text{mol/L}$	256.00±15.16 ^{ac}	440.89±18.62 ^{ac}	313.00±24.29 ^{ac}
15.00 $\mu\text{mol/L}$	204.19±15.01 ^{ad}	386.18±16.72 ^{ad}	271.12±16.10 ^{ad}

^a: $P<0.05$,与 DMEM-F12、DMSO 组比较;^b: $P<0.05$,与 PD98059 组相同剂量比较;^c: $P<0.05$,与同组 2.50 $\mu\text{mol/L}$ 比较;^d: $P<0.05$,与同组 7.50 $\mu\text{mol/L}$ 比较。

3 讨 论

结肠癌是消化道常见恶性肿瘤,在中国消化道肿瘤中排第 3 位,且其发病率近年有明显增高趋势。结肠癌的治疗,目前以手术治疗作为首选,辅以化疗、内分泌治疗、免疫治疗、靶向治疗、中药治疗等。虽然结肠癌的治疗方法很多,但结肠癌的总治愈率近年来并没有显著的提高,而随着对结肠癌的发生、浸润、转移的深入研究,发现无论是在转移的起始还是终末阶段,血管生成均发挥着重要作用。因肿瘤的生长分为无血管期和血管期,当肿瘤体积超过 1 mm³ 时肿瘤即进入血管期,其生长必需依靠新生血管维持营养供给和排泄代谢产物。如果没有新生血管生成,肿瘤就会保持休眠状态甚至发生退化。然而肿瘤血管的生成是一持续、无控性过程,这种持续无规则的血管形成可以促进肿瘤的生长、浸润和转移^[11]。多条信号通路涉及到该过程,有研究发现,Notch 信号途径在血管发育的过程中起着重要作用,可直接影响血管重构、血管平滑肌细胞的分化、血管稳定性等,血管生成素及其受体、血管内皮生长因子(VEGF)/VEEFR、成纤维细胞生长因子及其受体、血小板源生长因子及其受体等信号通路在肿瘤的血管形成也起重要作用^[12-13]。

本实验发现,PI3K/AKT 和 MEK/ERK 信号通路参与结肠癌血管内皮细胞迁移过程。抑制两信号通路后,内皮细胞的水平、垂直和定向迁移均受抑制,且与浓度呈正相关。细胞迁移是一涉及多步骤复杂过程,包括细胞极化,伪足生成,伪足与细胞外基质黏附,细胞体收缩,细胞尾端和周期基质解离,最终向前运动。VEGF 是影响内皮细胞迁移的重要因子,Luangdilok 等^[14]通过对头颈部鳞状细胞癌研究发现,抑制两信号通路能抑制肿瘤细胞 VEGF 的表达,从而抑制内皮细胞的迁移。Karar 等^[15]发现,突变的 ras 可以通过激活肿瘤细胞中的 PI3K/AKT 增加 VEGF 的分泌,来诱导内皮细胞向肿瘤细胞定向迁移。Chung 等^[16]发现,抑制两信号通路都可以抑制由芝麻素诱导的 ERK、AKT、eNOS 和 p38MAPK 磷酸化,从而抑制内皮细胞的迁移。以上资料均证明,PI3K/AKT 和 MEK/ERK 信号通路参与了细胞迁移过程,并与本研究的结

果一致,抑制两信号通路能够抑制内皮细胞的迁移。

PI3K/AKT 和 MEK/ERK 两信号通路对细胞迁移的作用也不完全相同,同等浓度 LY294002 较 PD98059 对内皮细胞迁移的影响更明显。有研究发现,抑制两信号通路均能抑制 VEGFA 的表达,但抑制 MEK/ERK 通路能抑制 VEGFC 的表达,抑制 PI3K/AKT 通路,VEGFC 的表达没有发生改变^[15]。Yoshizuka 等^[17]发现,抑制 p38 可以可以减弱 VEGF 诱导的内皮细胞迁移,PD98059 可以抑制 VEGF 诱导的 p38 和 ERK1/2 的活性,但不影响 PRAK。而 p38 可以激活 PRAK 诱导内细胞迁移。以上研究显示,两信号通路对 VEGF 的表达和内皮细胞迁移的影响不一样。缺氧可以刺激肿瘤细胞增加 VEGF 分泌,从而激活 Ras-PI3K/AKT 通路,研究表明活化的 PI3K 可以通过与膜上的磷脂和相邻的 Ras 结合发生变构效应,使细胞发生极化,确定肿瘤血管内皮细胞迁移的方向,PI3K/AKT 活化后可以进而激活 Rac、Rho,调节细胞伪足生成、细胞收缩等,RhoA 和 Rac 通过 Rho-激酶和 PAK 调节细胞尾部解聚,使细胞迁移^[18]。VEGF 也可以激活 Ras-Raf-MEK/ERK 信号通路,激活的 ERK 通过肌球蛋白轻链激酶调节细胞突触和促进细胞局部黏附,另一方面其也可以通过钙蛋白酶促进黏附解聚^[19]。说明两信号通路均参与细胞定向迁移,但在迁移过程的作用不同。细胞迁移的速率决定于伪足突出和黏附释放的速度。快速移动的细胞移动的速率决定于伪足突出的速率,而缓慢移动的细胞移动速度决定于黏附释放的速度。伪足突出的速率是决定着细胞移动速度的关键,而 PI3K 参与细胞极化和伪足生成。细胞的化学趋向性决定着细胞迁移的方向,本实验中抑制 PI3K/AKT 信号通路对肿瘤血管内皮细胞定向迁移及垂直迁移的影响比 MEK/ERK 信号通路明显,说明在结肠癌血管内皮细胞定向迁移和垂直迁移过程中 PI3K/AKT 决定着细胞迁移的速率,这与两信号通路的在细胞迁移中的作用机制相符。ERK 主要通过参与细胞黏附和解聚,调节细胞迁移速率。在细胞划痕修复试验中,也表现为 PI3K/AKT 信号通路对肿瘤血管内皮细胞迁移影响比 MEK/ERK 信号通路明显,说明两信号通路对细胞黏附和解聚的调节也有差异。由此本研究推测联合应用两抑制剂可能协同增强抑制效应,这种抑制效应在细胞定向迁移和趋化迁移中可能表现更明显。

综上所述,肿瘤血管的生成是一涉及到多条信号通路,多步骤复杂的过程。本研究发现,抑制 PI3K/AKT 和 MEK/ERK 信号通路均能抑制结肠癌血管内皮细胞的水平、垂直和定向迁移,且与抑制剂浓度呈正相关;抑制 PI3K/AKT 信号通路对内皮细胞迁移的影响比 MEK/ERK 信号通路明显,联合应用两抑制剂可能协同增强抑制作用。对 PI3K/AKT 和 MEK/ERK 的表达及其在内皮细胞不定向迁移、增殖、管道形成中的作用有待进一步的研究。

参考文献

[1] 李月飞. PI3K/Akt/mTOR 信号传导通路在恶性肿瘤中的研究进展[J]. 中国医药指南,2013,11(36):358.
[2] Williams R, Berndt A, Miller S, et al. Form and exibility in phos-phoinositide 3-kinases[J]. Biochem Soc Tran,2009, 37(4):615-626.
[3] Xiong W, Cheng BH, Jia SB, et al. Involvement of the

PI3K/Akt signaling pathway in platelet-derived growth factor-induced migration of human lens epithelial cells [J]. *Curr Eye Res*, 2010, 35(5):389-401.

[4] Dasari VR, Kaur K, Velpula KK, et al. Upregulation of PTEN in glioma cells by cord blood mesenchymal stem cells inhibits migration via downregulation of the PI3K/Akt pathway [J]. *PLoS One*, 2010, 5(4):e10350.

[5] Lelievre E, Bourbon PM, Duan LJ, et al. Deficiency in the p110alpha subunit of PI3K results in diminished Tie2 expression and Tie2(-/-)-like vascular defects in mice [J]. *Blood*, 2005, 105(10):3935-3938.

[6] Lee SJ, Namkoong S, Kim YM, et al. Fractalkine stimulates angiogenesis by activating the Raf-1/MEK/ERK- and PI3K/Akt/eNOS-dependent signal pathways [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2006, 291(6):2836-2846.

[7] Bullard LE, Qi X, Penn JS. Role for extracellular signal-responsive kinase-1 and -2 in retinal angiogenesis [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2003, 44(4):1722-1731.

[8] 任萱, 林莉萍, 丁健. 微管抑制剂 C9 抑制新生血管生成的作用机制 [J]. *中国新药杂志*, 2011, 20(17):1703-1710.

[9] 向邦德, 吕明德, 黄洁夫, 等. 诱导正常血管内皮细胞具备肿瘤血管特性的研究 [J]. *中山大学学报: 医学科学版*, 2005, 26(3):354-357.

[10] 唐小飞. PI3K 抑制剂对三阴性乳腺癌细胞增殖及迁移的影响 [D]. 重庆: 重庆医科大学, 2013.

[11] Paku S, Kopper L, Nagy P. Development of the vasculature in "pushing-type" liver metastases of an experimental colorectal cancer [J]. *Int J Cancer*, 2005, 115(6):893-902.

[12] 王莉, 刘向东, 赵星成, 等. Notch 信号途径在血管形成和内皮细胞中的作用 [J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2012, 28(8):39-41.

[13] 胡明明, 胡瑛, 李宝兰. 肿瘤中血管生成信号通路相关药物临床转化研究现状 [J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2014, 21(1):86-94.

[14] Luangdilok S, Box C, Harrington K, et al. MAPK and PI3K signalling differentially regulate angiogenic and lymphangiogenic cytokine secretion in squamous cell carcinoma of the head and neck [J]. *Eur J Cancer*, 2011, 47(4):520-529.

[15] Karar J, Maity A. PI3K/AKT/mTOR pathway in angiogenesis [J]. *Front Mol Neurosci*, 2011, 4(51):1-8.

[16] Chung BH, Lee JJ, Kim JD, et al. Angiogenic activity of sesamin through the activation of multiple signal pathways [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 391(1):254-260.

[17] Yoshizuka N, Chen RM, Xu Z, et al. A novel function of p38-regulated/activated kinase in endothelial cell migration and tumor angiogenesis [J]. *Mol Cell Biol*, 2012, 32(3):606-618.

[18] 毛斌, 刘肖珩, 赖怡, 等. PI3K 对 IL-8/Rac1 信号通路介导的内皮细胞迁移的影响 [J]. *国际生物医学工程杂志*, 2010, 33(3):134-137, 151.

[19] 王彦敏. 血管生成因子 VEGF 研究进展 [J]. *河北医药*, 2010, 32(11):1456-1458.

(收稿日期: 2014-10-15 修回日期: 2015-01-28)

(上接第 1451 页)

with resected esophageal cancer [J]. *Folia Histochem Cytobiol*, 2011, 49(1):90-97.

[11] Giroux Leprieur E, Antoine M, Vieira T, et al. Clinical and molecular features in patients with advanced non-small-cell lung carcinoma refractory to first-line platinum-based chemotherapy [J]. *Lung Cancer*, 2013, 79(2):167-172.

[12] 魏东, 匡怡, 刘孟刚, 等. Tim-3 在人肝癌细胞中的表达及其对细胞增殖与迁移能力的影响 [J]. *重庆医学*, 2014, 43(16):1975-1978, 1982.

[13] Saigusa S, Tanaka K, Mohri Y, et al. Clinical significance

of RacGAP1 expression at the invasive front of gastric cancer [J]. *Gastric Cancer*, 2015, 18(1):84-92.

[14] Kato T, Daigo Y, Aragaki M, et al. Overexpression of KIAA0101 predicts poor prognosis in primary lung cancer patients [J]. *Lung Cancer*, 2012, 75(1):110-118.

[15] Peng Y, Su Y, Wang T, et al. Human transcriptional positive coactivator 4 participates in the proliferation and senescence of bone marrow-derived multipotent mesenchymal stromal cells [J]. *Exp Hematol*, 2010, 38 Suppl 1: S55-58.

(收稿日期: 2014-10-28 修回日期: 2015-01-10)

2015 年本刊投稿须知

尊敬的广大读者, 本刊一律接受网上投稿, 不再接受纸质和电子邮箱投稿! 请您直接登陆网站 <http://cqyx.journalserv.com/> 进行注册投稿以及稿件查询。咨询电话: 023-63604477。

来稿须将审稿费 100 元通过邮局或支付宝汇至本刊编辑部, 编辑部若未收到审稿费, 稿件将不予处理。

感谢您对本刊工作的支持!