

## 丝氨酸/苏氨酸激酶 31 对骨肉瘤恶性生物学行为的影响\*

莫 坚,朱江龙<sup>△</sup>,丰 哲,李书振,韩 杰,苏 波,冯思坛

(广西中医药大学附属瑞康医院骨关节科,南宁 530011)

**[摘要]** **目的** 观察丝氨酸/苏氨酸激酶 31(STK31)在骨肉瘤中的表达及其对骨肉瘤恶性生物学行为的影响。**方法** 收取 15 例骨肉瘤组织标本及瘤旁正常组织标本,利用免疫组织化学技术、实时定量 PCR 技术和 Western blot 技术检测肿瘤组织及瘤旁正常组织中 STK31 的表达;构建 STK31 敲除质粒 pGenesil-STK31-shRNA,以骨肉瘤细胞系 MG63 细胞为靶细胞转染 pGenesil-STK31-shRNA 或对照质粒 pGenesil-1,通过 CCK8 细胞活性实验,检测 STK31 对 MG63 细胞增殖能力的影响;Transwell 实验观察 STK31 对骨肉瘤细胞迁移能力的影响。**结果** 免疫组织化学显示肿瘤组织中 STK31 表达明显高于瘤旁正常组织;实时定量 PCR 检测骨肉瘤 STK31 mRNA 的表达量显著高于瘤旁正常组织 $[(3.65 \pm 0.83) vs. (1.05 \pm 0.14), P < 0.05]$ ;Western blot 显示肿瘤组织中 STK31 蛋白表达显著高于瘤旁正常组织 $(P < 0.05)$ ;CCK8 细胞活性实验显示敲除 STK31 后 MG63 细胞增殖能力明显降低,36 h 后与对照组相比 $[(1.71 \pm 0.17) vs. (1.39 \pm 0.11), P < 0.05]$ ,72 h 后与对照组相比 $[(2.15 \pm 0.21) vs. (1.54 \pm 0.14), P < 0.05]$ ,差异均有统计学意义;Transwell 实验显示转染 pGenesil-STK31-shRNA 后,MG63 细胞迁移能力明显受到抑制 $[(13 \pm 4) vs. (55 \pm 8) 个, P < 0.05]$ 。**结论** STK31 在骨肉瘤组织中的表达升高,具有增加骨肉瘤细胞生物学活性的作用。

**[关键词]** 丝氨酸/苏氨酸激酶 31;骨肉瘤;MG63;基因表达**[中图分类号]** R684.2**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2017)23-3195-03**The influence of STK31 on osteosarcoma's malignant biological behavior**Mo Jian, Zhu Jianglong<sup>△</sup>, Feng Zhe, Li Shuzhen, Han Jie, Su Bo, Feng Sitan

(Department of Bone and Joint Surgery, Ruikang Hospital Affiliated to Guangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanning, Guangxi 530011, China)

**[Abstract]** **Objective** To observe the expression of serine/threonine kinase 31 (STK31) in osteosarcoma and its effect on the malignant biological behavior of osteosarcoma. **Methods** Fifteen cases of osteosarcoma specimens and adjacent normal tissue were collected. The expression of STK31 in tumor tissues and normal tissue were detected by immunohistochemistry, real-time quantitative PCR and Western blot. The STK31 knockout plasmids pGenesil-STK31-shRNA or control plasmid pGenesil-1 were transfected into osteosarcoma cell line MG63 cells. The effect of STK31 on the proliferation of MG63 cells was detected by CCK8 cell activity assay. Transwell experiment was used to observe the effect of STK31 on the migration ability of osteosarcoma cells. **Results** Immunohistochemical showed that STK31 expressed in the tumor tissue, and it was significantly higher than the adjacent normal tissues; Real time quantitative PCR $[(3.65 \pm 0.83) vs. (1.05 \pm 0.14), P < 0.05]$  and Western blot also revealed that STK31 expression in tumor tissue were significantly higher than adjacent normal tissues $(P < 0.05)$ ; CCK8 experiments showed that knockdown STK31 inhibited proliferation of MG63 cell when compared with the control group after 36 h $[(1.71 \pm 0.17) vs. (1.39 \pm 0.11), P < 0.05]$ , 72 h $[(2.15 \pm 0.21) vs. (1.54 \pm 0.14), P < 0.05]$ ; Transwell experiments showed that transfection of pGenesil-STK31-shRNA could suppress MG63 cell's migration $[(13 \pm 4) vs. (55 \pm 8), P < 0.05]$ . **Conclusion** STK31 is overexpression in osteosarcoma with increased biological activity of osteosarcoma cells.

**[Key words]** serine/threonine kinase 31; osteosarcoma; MG63 cells; gene expression

丝氨酸/苏氨酸激酶 (serine/threonine kinase, STKs) 是细胞中经典的蛋白激酶组,近年来大量研究报道 STKs 在肿瘤细胞中表达异常,对肿瘤的发生、发展起着重要作用。STK31 是 STK 家族中高度保守的成员之一,最初在小鼠的精原细胞中被发现,与小鼠生殖相关。随后研究人员发现,人源的 STK31 仅在睾丸组织中表达,在其他分化成熟的正常组中沉默表达。近年,研究报道发现 STK31 在胃肠道恶性肿瘤组织中重新激活,并对肿瘤的发生、发展起着关键作用<sup>[1]</sup>。目前,尚未见研究报道 STK31 在骨肉瘤中的生物学角色,本研究拟通过临床样本检测骨肉瘤中 STK31 的表达情况,并进一步通过 RNA 干扰技术探索 STK31 对骨肉瘤恶性生物学行为的影响。

**1 材料与方法****1.1 材料与试剂** 本研究中所有骨肉瘤标本皆来自 2012 年

1 月至 2015 年 12 月在本院接受了肿瘤切除手术的 15 例患者,术后病理确诊为骨肉瘤。所入选的病例均被告知研究内容,并取得患者本人或委托人的知情同意。收取的典型骨肉瘤组织及瘤旁正常组织立即放入液氮冻存。本研究中所使用的 MG63 细胞购自美国 ATCC 公司,配制含 10% 胎牛血清 (FBS)、90% DMEM 高糖培养基、1% 双抗 (链霉素、青霉素) 的培养基培养细胞。

**1.2 免疫组织化学检测 STK31** 10% 甲醛固定标本;梯度乙醇脱水,石蜡包埋组织;切片机切片,厚 4  $\mu$ m,制片备用;石蜡切片 60 $^{\circ}$  烘烤 20 min,二甲苯浸泡 10 min,重复 1 次,无水乙醇浸泡 5 min,梯度乙醇脱水,蒸馏水洗涤;使用抗原修复液修复抗原,3% 过氧化氢阻断过氧化物;STK31 抗体 (1:3 000 稀

释;美国 Santa 公司)室温孵育 1 h, PBS 洗涤 5 min, 共 3 次;孵育二抗, 过程同前;使用 DAB 溶液显色 7 min, 适当流水冲洗;苏木素复染, 松节油封片, 晾干;显微镜下观察、拍照。

**1.3 RNA 提取、逆转录及实时定量 PCR** 液氮下研磨组织至粉碎, 加入适量 Trizol 裂解细胞, 依照常规步骤提取总 RNA, 储存于  $-80^{\circ}\text{C}$  备用。使用日本 Takara 公司逆转录试剂盒逆转录。实时荧光定量 PCR 试剂盒购自美国 ABI 公司, 依说明书配制反应体系。设置反应程序为: 初始  $95^{\circ}\text{C}$  10 min;  $95^{\circ}\text{C}$  30 s 解链,  $58^{\circ}\text{C}$  30 s 退火,  $70^{\circ}\text{C}$  10 s 延伸, 共 40 个循环;  $70^{\circ}\text{C}$  10 min。以 GAPDH 为内参, 设 3 个复孔, 取平均值。STK31 引物为, 正向:  $5'$ -GGA TGA AGA TAC ACA TTA CG- $3'$ ; 反向:  $5'$ -AGA AAA CTG CAG CTC CAA AG- $3'$ ; GAPDH 引物为, 正向:  $5'$ -AAC GGA TTT GGT CGT ATT G- $3'$ ; 反向:  $5'$ -GGA AGA TGG TGA TGG GAT T- $3'$ 。

**1.4 Western blot 法检测 STK31 表达** 裂解组织细胞收集蛋白; 常规电泳、转膜; 10% 脱脂牛奶封闭, 室温、摇床约 2 h; TBST 漂洗 5 min; 将聚偏氟乙烯 (PVDF) 膜放入抗体孵育盒中, 加入一抗稀释液 (抗 STK31、抗  $\beta$ -actin, 购自美国 Santa 公司), 摇床  $4^{\circ}\text{C}$  过夜; 摇床上用 TBST 缓冲液漂洗 3 次, 每次 10 min; 加入辣根过氧化物酶标记的二抗 (美国 Santa 公司), 摇床室温孵育 1 h; TBST 漂洗 3 次, 将电化学发光 (ECL) 法发光底物 A、B 按比例混合, 适量覆盖 PVDF 膜, 显影。

**1.5 构建 STK31 敲除质粒 pGenesil-STK31-shRNA** 设计针对 STK31 信使 RNA 的短发夹序列, 正向:  $5'$ -CCG GGA TGT TTG GCT ATG CGC TTA ACT CGA GTT AAG CGC ATA GCC AAA CAT CTT TTT- $3'$ ; 反向:  $5'$ -AAA AAG ATG TTT GGC TAT GCG CTT AAC TCG AGT TAA GCG CAT AGC CAA ACA TCC CGG- $3'$ 。以 pGenesil-1 为骨架质粒, 将该序列插入 *Bam*H I 和 *Hind* III 酶切位点之间, 送苏州金维智公司测序验证。

**1.6 CCK8 细胞活性及 Transwell 实验** 转染试剂购自 Biotool 公司, 将 MG63 细胞均匀接种于 96 孔板中, 按说明书转染 pGenesil-STK31-shRNA (STK31 敲除组) 或 pGenesil-1 (对照组), 检测前 2 h 加入 CCK8 试剂 (Biotool 公司), 分别于 12、24、36、72 h 检测吸光度 (A) 值; 按说明书对 MG63 细胞转染 pGenesil-STK31-shRNA 或 pGenesil-1, 1% 胎牛血清培养基重悬转染后的细胞, 以相同细胞数接种于 Transwell 上室 (武汉博士德生物技术有限公司), 下室加入含 10% FBS 的培养基。培养 24 h 后结晶紫染色, 拍照记录结果。

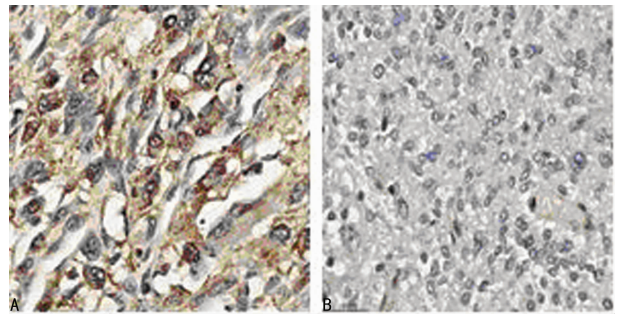
**1.7 统计学处理** 采用 SPSS20.0 统计软件分析数据, 计量资料采用  $\bar{x} \pm s$  表示, 组间比较采用 *t* 检验, 以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 骨肉瘤中 STK31 表达升高** 通过免疫组织化学技术, 对 15 例患者骨肉瘤组织及瘤旁正常组织标本的 STK31 进行检测。如图 1 所示肿瘤组织中 STK31 表达量明显高于瘤旁正常组织。实时荧光定量 PCR 检测骨肉瘤组织及瘤旁正常组织中 STK31 mRNA 的表达量, 肿瘤组织中 STK31 mRNA 的表达量明显高于瘤旁正常组织 [ $(3.65 \pm 0.83)$  vs.  $(1.05 \pm 0.14)$ ,  $P < 0.05$ ], 差异有统计学意义; Western blot 法进一步证实骨肉瘤中 STK31 蛋白表达 [ $(2.38 \pm 0.22)$  vs.  $(0.62 \pm 0.13)$ ,  $P < 0.05$ ] 升高, 见图 2。

**2.2 敲除 STK31 可抑制骨肉瘤细胞迁移能力** MG63 细胞转染 pGenesil-STK31-shRNA 或 pGenesil-1 后均匀接种于 Transwell 小室, 培养 24 h 后结晶紫染色, 拍照记录。敲除 STK31 后 MG63 细胞迁移能力明显被抑制, STK31 敲除组穿至上层小室的细胞明显减少 [ $(13 \pm 4)$  个 vs.  $(55 \pm 8)$  个,  $P < 0.05$ ], 见图 3。

**2.3 敲除 STK31 可抑制骨肉瘤细胞增殖活性** MG63 细胞转染 pGenesil-STK31-shRNA 或 pGenesil-1 后, 分别于 12、24、36、72 h 检测细胞增殖活性, 结果如图 4 所示, STK31 敲除组 36 h [ $(1.71 \pm 0.17)$  vs.  $(1.39 \pm 0.11)$ ,  $P < 0.05$ ], 72 h [ $(2.15 \pm 0.21)$  vs.  $(1.54 \pm 0.14)$ ,  $P < 0.05$ ] 后与对照组比较, MG63 细胞增殖活性明显受抑制。



A: 肿瘤组织; B: 瘤旁正常组织

图 1 免疫组织化学检测 STK31 的表达 ( $\times 400$ )

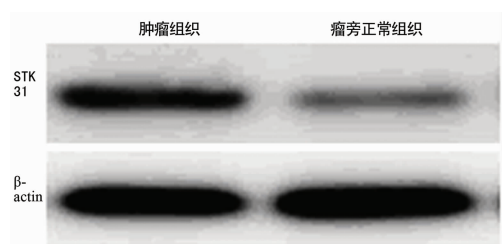
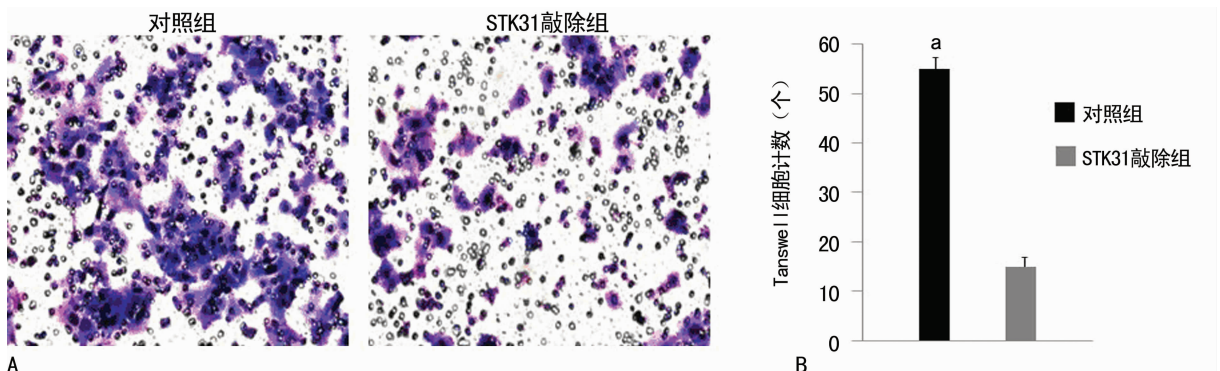
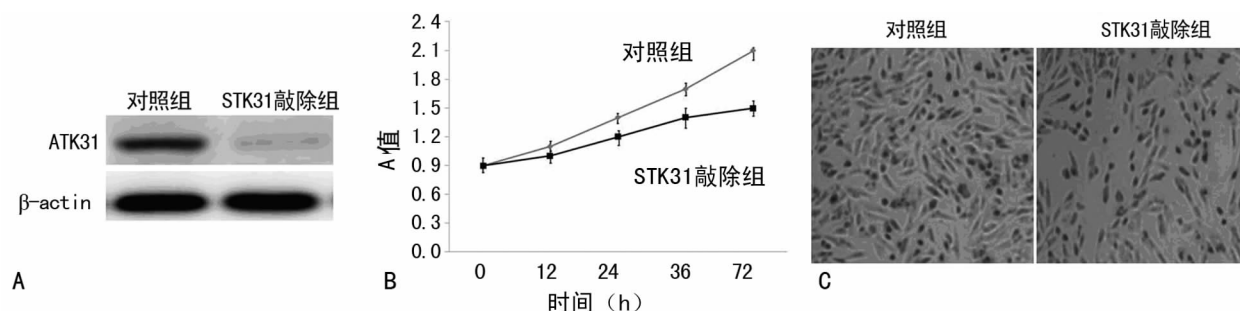


图 2 Western blot 检测 STK31 蛋白的表达



A: Transwell 实验; B: Transwell 实验分析图; <sup>a</sup>:  $P < 0.01$ , 与对照组比较

图 3 STK31 对肉瘤细胞迁移能力的影响



A: Western blot; B: CCK8 细胞活性实验; C: 镜下观察 MG63 增殖情况

图 4 STK31 对肉瘤细胞增殖活性的影响

### 3 讨 论

骨肉瘤是青少年最常见的恶性骨肿瘤,好发于 10~25 岁青少年,在原发性骨肿瘤中,骨肉瘤的发病率仅次于浆细胞骨髓瘤,居第 2 位<sup>[2-3]</sup>。骨肉瘤的恶性程度极高,在临床上作出诊断时有近 80% 的患者发生了肺部或其他部位的转移。既往骨肉瘤患者的预后极差,5 年生存率仅有 20% 左右,尽管近年来外科手术和新辅助化疗取得了长足的进展,骨肉瘤患者的 5 年生存率仍在 65% 左右<sup>[4-7]</sup>。随着分子生物学的不断发展,基因治疗、免疫治疗、生物治疗、分子靶向治疗等治疗方式不断涌现,其中分子靶向治疗被认为是目前最有前景的治疗方式之一<sup>[8-9]</sup>。由于骨肉瘤恶性生物学行为演变过程的分子机制十分复杂,目前对这一分子机制的了解还非常有限,这已成为骨肉瘤基础研究及临床治疗的瓶颈。

STK 作为一种化学酶广泛存在于细胞中,主要是通过特异地催化蛋白质的丝氨酸、苏氨酸残基磷酸化来参与细胞的增殖、分化、凋亡等生命活动。STK31 基因是一种癌-睾丸基因,存在于多种人类肿瘤组织,而在正常情况下,仅存在于精细胞及睾丸<sup>[10-11]</sup>。Kuo 等<sup>[12]</sup>研究发现,STK31 可能与细胞周期调控有关,且 STK31 表达可增加细胞迁移能力与侵袭能力。有研究证实,STK31 基因的表达受到其启动子区甲基化状态的调控,通过抑制细胞的凋亡,保持细胞的未分化状态等机制在肿瘤的发生、发展中起重要作用<sup>[12-13]</sup>。Fok 等<sup>[1]</sup>通过对比 110 份结肠癌组织标本与 10 份正常组织标本发现 STK31 在肿瘤中表达升高,促使结肠癌细胞处于未分化状态。然而,STK31 在骨肉瘤中的研究尚未见报道,本研究通过免疫组织化学技术、实时荧光定量 PCR 技术及 Western blot 法检测了 15 例患者骨肉瘤组织及相应瘤旁正常组织标本中 STK31 mRNA 及蛋白的表达量,发现肿瘤组织中 STK31 的表达量明显高于瘤旁正常组织。为了进一步探讨 STK31 对骨肉瘤生物学功能的影响,笔者以 MG63 细胞为靶细胞,敲除 STK31 表达,通过 CCK8 实验和 Tanswell 实验发现敲除 STK31 后 MG63 的增殖能力和迁移能力明显受到抑制。

磷脂酰肌醇-3 激酶/蛋白激酶 B(phosphate phosphoinositide 3-kinase/protein kinase B, PI3K/AKT) 信号通路在多种恶性肿瘤中异常激活,促进肿瘤细胞的增殖和侵袭<sup>[14]</sup>。AKT 是 PI3K 信号通路上的关键蛋白,当 PH 结构域的苏氨酸蛋白、丝氨酸蛋白被磷酸化后 AKT 才被激活<sup>[15-16]</sup>。STK 家族是细胞内重要的丝氨酸、苏氨酸磷酸化激酶,STK31 可能通过磷酸化 AKT 关键结构域的苏氨酸、丝氨酸参与 PI3K/AKT 信号通路的活化,从而促进肿瘤细胞的增殖和侵袭。

本研究表明,STK31 作为一个促癌基因在骨肉瘤的增殖

和迁移过程中起重要作用,为骨肉瘤的进一步研究和治疗提供了新的理论参考。同时,关于 STK31 促进骨肉瘤进展的具体分子机制及其所参与的信号通路有待进一步研究。

### 参考文献

- [1] Fok KL, Chung CM, Yi SQ, et al. STK31 maintains the undifferentiated state of colon cancer cells [J]. *Carcinogenesis*, 2012, 33(11): 2044-2053.
- [2] Ferrari S, Palmerini E. Adjuvant and neoadjuvant combination chemotherapy for osteogenic sarcoma [J]. *Curr Opin Oncol*, 2007, 19(4): 341-346.
- [3] O'Brien CA, Pollett A, Gallinger S, et al. A human colon cancer cell capable of initiating tumour growth in immunodeficient mice [J]. *Nature*, 2007, 445(7123): 106-110.
- [4] Rasalkar DD, Chu WC, Lee V, et al. Pulmonary metastases in children with osteosarcoma: characteristics and impact on patient survival [J]. *Pediatr Radiol*, 2011, 41(2): 227-236.
- [5] Meyers PA, Schwartz CL, Krailo MD, et al. Osteosarcoma: the addition of muramyl tripeptide to chemotherapy improves overall survival—a report from the Children's Oncology Group [J]. *J Clin Oncol*, 2008, 26(4): 633-638.
- [6] Basaranasaran M, Bavbek ES, Saglam S, et al. A phase II study of cisplatin, ifosfamide and epirubicin combination chemotherapy in adults with non-metastatic and extremity osteosarcomas [J]. *Oncology*, 2007, 72(3/4): 255-260.
- [7] Arpacı F, Ataergin S, Ozet A, et al. The feasibility of neoadjuvant high-dose chemotherapy and autologous peripheral blood stem cell transplantation in patients with non-metastatic high grade localized osteosarcoma - Results of a phase II study [J]. *Cancer*, 2005, 104(5): 1058-1065.
- [8] Xie XK, Yang DS, Ye ZM, et al. Enhancement effect of Adenovirus-Mediated antisense c-myc and caffeine on the cytotoxicity of cisplatin in osteosarcoma cell lines [J]. *Chemotherapy*, 2009, 55(6): 433-440.
- [9] Rainusso N, Brawley VS, Ghazi A, et al. Immunotherapy targeting HER2 with genetically modified T cells eliminates tumor-initiating cells in osteosarcoma [J]. *Cancer Gene Ther*, 2012, 19(3): 212-217.
- [10] Scanlan MJ, Simpson AJ, Old LJ. The cancer/testis genes; review, standardization, and commentary [J]. *Cancer Immun*, 2004, 4: 1.

(下转第 3200 页)

细胞活化<sup>[8]</sup>。此外,还有研究报道 HDL 与免疫调节机制有关,能够减弱黏附分子的表达,激活内皮氮氧合成酶及抗氧化等<sup>[9]</sup>。然而,阎丽等<sup>[4]</sup>的研究却并未发现截肢组与非截肢组患者的 HDL 水平比较差异有统计学意义。目前国内外关于 HDL 与 DFU 截肢相关性研究的结论还存在争议<sup>[10-11]</sup>,且国内对 HDL 与 DFU 截肢相关性研究的重视程度也不够,目前还没有针对二者关系的高质量临床研究。尽管本研究是样本量最大的研究,其结论相比之前的研究更加稳定可靠,但考虑到病例对照研究本身的局限性,还需要更多高质量研究来证实二者之间的关系。

本研究单因素分析还发现,截肢患者的 hs-CRP、FIB 等炎症性指标水平明显高于非截肢患者,提示足部溃疡感染越重,截肢风险越高,尽管本研究在回归分析中并未肯定这些炎症指标是 DFU 患者截肢的独立危险因素,但这至少提示应重视这些因素,且已有相关研究也报道了感染与 DFU 截肢的关系<sup>[4]</sup>。此外,本研究单因素分析还发现截肢组患者 Hb 和 ALB 水平明显低于非截肢组,表明营养状态也可能与截肢相关。闫丽等<sup>[4]</sup>、费扬帆等<sup>[12]</sup>通过单因素分析也发现营养状态越差,Hb 和 ALB 水平越低,糖尿病足患者截肢风险就越高。但这些研究在 Logistic 回归分析中均未明确 Hb、ALB 与 DFU 患者截肢的相关性。因此,需要更多高质量的研究来证实其关系,为降低糖尿病患者截肢率提供理论依据和临床指导。

本研究还存在一些不足之处,首先,本研究类型为病例对照研究,可能存在较多偏倚,如难以避免选择性偏倚。其次,本研究未细分截肢类型,如大截肢和小截肢,使本研究难以更深入分析 DFU 截肢相关因素。最后,本研究是在一个城市,一所医院内进行,研究结论可能无法代表所有中国糖尿病患者,还需要开展更高质量的临床研究如队列研究来探讨 DFU 截肢相关因素,以及细化截肢类型,分析不同类型截肢患者相关因素的差异。

## 参考文献

[1] Aguirre F, Brown A, Cho NH, et al. IDF diabetes atlas: sixth edition[J]. Int Diabetes Federat, 2013.

[2] Mathers CD, Loncar D. Projections of global mortality and

burden of disease from 2002 to 2030 [J]. PLoS Med, 2006, 3(11):2012-2030.

[3] Institute of Medicine. Committee on standards for developing trustworthy clinical practice guidelines. Clinical practice guidelines we can trust[M]. Washington. The National Academies Press, 2011.

[4] 阎丽, 马翠红, 张建秀, 等. 糖尿病足感染患者截肢危险因素 Logistic 回归分析与干预措施研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2016, 26(4):824-826.

[5] 杨群英, 薛耀明, 曹瑛, 等. 糖尿病足溃疡的临床特点及危险因素分析[J]. 中国糖尿病杂志, 2012, 20(3):189-191.

[6] Ikura K, Hanai K, Shinjo T, et al. HDL cholesterol as a predictor for the incidence of lower extremity amputation and wound-related death in patients with diabetic foot ulcers[J]. Atherosclerosis, 2015, 239 (2):465-469.

[7] 张静, 何红, 张晓义, 等. 糖尿病足患者发生截肢的危险因素[J]. 中国老年学杂志, 2014, 34(10):2829-2831.

[8] Vishnyakova TG, Bocharov AV, Baranova IN, et al. Binding and internalization of lipopolysaccharide by Cla-1, a human orthologue of rodent scavenger receptor B1[J]. J Biol Chem, 2003, 278 (25):22771-22780.

[9] Murch O, Collin M, Hinds CJ, et al. Lipoproteins in inflammation and sepsis. I. Basic science[J]. Intensive Care Med, 2007, 33 (1):13-24.

[10] 钟玫, 莫建明, 颜晓东, 等. 影响糖尿病足截肢的相关因素分析[J]. 齐齐哈尔学报院学报, 2013, 34 (10):1405-1407.

[11] 何利平, 王椿, 刘关键, 等. 糖尿病足危险因素分析[J]. 中华糖尿病杂志, 2012, 4 (3):155-158.

[12] 费扬帆, 王椿, 陈大伟, 等. 住院糖尿病足患者截肢率与截肢危险因素分析[J]. 中华医学杂志, 2012, 92 (24):1686-1689.

(收稿日期:2017-03-22 修回日期:2017-04-20)

(上接第 3197 页)

[11] Hofmann O, Caballero OL, Stevenson BJ, et al. Genome-wide analysis of cancer/testis gene expression[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2008, 105(51):20422-20427.

[12] Kuo PL, Huang YL, Hsieh CC, et al. STK31 is a Cell-Cycle regulated protein that contributes to the tumorigenicity of epithelial cancer cells[J]. PLoS One, 2014, 9 (3):e93303.

[13] Yokoe T, Tanaka F, Mimori K, et al. Efficient identification of a novel cancer/testis antigen for immunotherapy using three-step microarray analysis [J]. Cancer Res, 2008, 68(4):1074-1082.

[14] Polivka J Jr, Janku F. Molecular targets for cancer therapy in the PI3K/AKT/mTOR pathway. Pharmacol Ther. 2014;142(2):164-175.

[15] Guo Y, Du J, Kwiatkowski DJ. Molecular dissection of AKT activation in lung cancer cell lines. Mol Cancer Res. 2013;11(3):282-293.

[16] Salvesen HB, Werner HM, Krakstad C. PI3K pathway in gynecologic malignancies [J]. Am Soc Clin Oncol Educ Book, 2013, 33:e218-221.

(收稿日期:2017-03-21 修回日期:2017-04-29)