

甲氨蝶呤对大鼠急性脊髓损伤后的神经保护作用及对 PTEN/AKT/mTOR 信号通路的影响

周 坤¹, 宋雪锋², 高雯雯²

(1. 天津医科大学中新生态城医院药剂科 300467; 2. 中国医学科学院血液病医院/中国医学科学院血液学研究所药剂科, 天津 300020)

[摘要] **目的** 探讨甲氨蝶呤通过调控 PTEN/AKT/mTOR 信号通路对大鼠急性脊髓损伤(ASCI)后的神经保护作用。**方法** 将 30 只大鼠随机分为假手术组、模型组和甲氨蝶呤组, 制备大鼠脊髓损伤模型, 假手术组只移除椎板, 甲氨蝶呤组在 ASCI 后立即腹腔注射 0.5 mg/kg 甲氨蝶呤, 假手术组和模型组注射等量的生理盐水, 持续治疗 2 周, 采用脊髓运动功能(BBB)评分评定大鼠脊髓损伤情况, 测定脊髓中白细胞介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)和丙二醛(MDA)水平, 检测脊髓中张力蛋白同源物(PETN)、丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶(AKT)、磷酸化丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶(p-AKT)、雷帕霉素靶蛋白(mTOR)、雷帕霉素靶蛋白(p-mTOR)、BCL2 关联 X 蛋白(Bax)、B 淋巴细胞瘤-2(Bcl-2)和半胱氨酸蛋白酶-3(Caspase-3)水平的变化及脊髓细胞凋亡情况。**结果** 与假手术组相比, 模型组和甲氨蝶呤组 BBB 评分降低, 细胞凋亡率增加($P < 0.05$); 与模型组相比, 甲氨蝶呤组 BBB 评分增加, 细胞凋亡率降低($P < 0.05$); 与假手术组相比, 模型组和甲氨蝶呤组脊髓组织中 IL-6、TNF- α 和 MDA 水平增加, PETN、Bax 和 Caspase-3 水平增加, Bcl-2、p-AKT 和 p-mTOR 水平降低($P < 0.05$); 与模型组相比, 甲氨蝶呤组脊髓组织中 IL-6、TNF- α 和 MDA 水平降低, PETN、Bax 和 Caspase-3 水平降低, Bcl-2、p-AKT 和 p-mTOR 水平增加($P < 0.05$)。各组大鼠脊髓组织中 AKT 和 mTOR 水平变化不显著($P > 0.05$)。**结论** 甲氨蝶呤通过调控 PTEN/AKT/mTOR 信号通路对 ASCI 大鼠神经发挥保护作用。

[关键词] 甲氨蝶呤; 急性脊髓损伤; 神经保护; PTEN/AKT/mTOR 信号通路

[中图分类号] R651.2

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2020)08-1228-05

Neuroprotective effect of methotrexate on acute spinal cord injury in rats and its effect on PTEN/AKT/mTOR signaling pathway

ZHOU Kun¹, SONG Xuefeng², GAO Wenwen²

(1. Department of Pharmacy, Sino-Singapore Eco-Town Hospital, Tianjin Medical University, Tianjin 300467, China; 2. Hematosis Hospital of Chinese Academy of Medical Sciences/Hematology Institute of Chinese Academy of Medical Sciences, Tianjin 300020, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the methotrexate to play the neuroprotective effect on acute spinal cord injury in rats by regulating PTEN/AKT/mTOR signaling pathway. **Methods** Thirty rats were randomly divided into the sham operation group, model group and methotrexate group. The rat spinal cord injury model was prepared. The vertebral plate was removed only in the sham operation group. The methotrexate group was injected intraperitoneally with 0.5 mg/kg methotrexate immediately after acute spinal cord injury(ASCI). The sham operation group and model group were injected with the same amount of normal saline for 2-week persistent treatment. The spinal cord injury situation was assessed by adopting the BBB score. The levels of IL-6, TNF- α and MDA in spinal cord were measured. The changes of PETN, AKT, p-AKT, mTOR, p-mTOR, Bax, Bcl-2 and Caspase-3 protein levels and apoptosis of spinal cord cells were detected. **Results** Compared with the sham operation group, the BBB score in the model group and methotrexate group was decreased and cellular apoptotic rate was increased ($P < 0.05$). Compared with the model group, the BBB score in the methotrexate group was increased and the cellular apoptotic rate was decreased ($P < 0.05$). Compared with the sham operation group, the levels of IL-6, TNF- α and MDA in spinal cord tissue of the model group and methotrexate group were significantly increased, the levels of PETN, Bax and Caspase-3 were increased, while

the levels of Bcl-2, p-AKT and p-mTOR were decreased ($P < 0.05$). Compared with the model group, the levels of IL-6, TNF- α and MDA in spinal cord tissue of the methotrexate group were decreased, the levels of PETN, Bax and Caspase-3 were decreased, while the levels of Bcl-2, p-AKT and p-mTOR were increased ($P < 0.05$). The levels of AKT and mTOR in rat spinal cord tissue of each group had no significant change ($P > 0.05$). **Conclusion** Methotrexate plays the neuroprotective effect to ASCI rats by regulating PTEN/AKT/mTOR signaling pathway.

[Key words] methotrexate; acute spinal cord injury; neuroprotection; PTEN/AKT/mTOR signaling pathway

急性脊髓损伤(ASCI)是一种由外力引起的脊髓运动、感觉和括约肌功能完全或不完全功能障碍,是一种常见的破坏性疾病^[1]。目前,ASCI的损伤机制尚不清楚,导致ASCI治疗仍然不令人满意。研究表明,继发性脊髓损伤在ASCI的发生、发展和预后中起着至关重要的作用,抑制神经凋亡介导的脊髓损伤,可显著减少继发性脊髓损伤^[2-3]。脊髓损伤后,大鼠血清中肿瘤坏死因子- α (TNF- α)和白细胞介素-6(IL-6)水平显著升高,导致细胞凋亡增加^[4]。因此,抑制细胞凋亡和减少炎症细胞因子对于ASCI治疗是有意义的。甲氨蝶呤具有抗炎效应,是类风湿性关节炎治疗的一线处方药。大鼠ASCI后,使用甲氨蝶呤治疗可减轻炎症反应,但甲氨蝶呤对ASCI后炎症反应的作用机制不清楚^[5]。PTEN/AKT/mTOR信号通路对细胞增殖、迁移和凋亡具有重要作用。急性至亚急性期脊髓损伤时星形胶质细胞PTEN/Akt/mTOR信号通路的激活可能参与胶质瘢痕的形成^[6]。此外,脊髓中PTEN的低表达可减少胶质瘢痕的形成,从而改善脊髓损伤后的运动功能^[7]。因此,本研究探讨甲氨蝶呤通过对PTEN/AKT/mTOR信号通路的调控发挥大鼠ASCI后的神经保护作用,为其应用于临床ASCI的治疗提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

清洁级SD大鼠30只,雌雄各半,体质量180~220g,购自中国食品药品检定研究所,合格证号SCXK(京)2014-0013。实验前将大鼠置于无特定病原体(SPF)级环境中适应性喂养1周后进行实验,动物相关处置均符合《中华人民共和国实验动物管理条例》要求。

1.1.2 试剂与仪器

注射用甲氨蝶呤(广东岭南制药有限公司,批号271021-2);10%水合氯醛(上海上药新亚药业有限公司);IL-6和TNF- α 酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒(上海酶联生物科技有限公司);丙二醛(MDA)试剂盒(南京建城生物工程有限公司);蛋白抽提试剂盒(武汉博士德生物工程有限公司);鼠抗PETN、AKT、p-AKT、mTOR、p-mTOR、Bax、Bcl-2和Caspase-3单克隆抗体(美国Cell Signaling Technology公司);鼠

抗 β -actin单克隆抗体和辣根过氧化物酶HRP标记山羊抗鼠IgG二抗(北京中杉金桥生物技术有限公司);TUNEL细胞凋亡检测试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司);HBS-1096B酶标仪(南京德铁实验设备有限公司);BD垂直电泳仪(美国BD公司);凝胶成像仪(美国UVP公司);组织脱水机、包埋机、全自动轮转切片机等病理配套设备(德国Leica公司)。荧光显微镜(日本Nikon公司)。

1.2 方法

1.2.1 动物分组及模型制备

根据随机数字表法将大鼠均分为3组:假手术组、模型组和甲氨蝶呤组。大鼠禁食12h后用10%水合氯醛(35mg/kg)腹腔麻醉后,将大鼠俯卧于手术台上,剃去大鼠的毛发,以第十三肋骨和第八胸椎作为标记,通过背部的中线切口移除椎板以暴露脊髓的胸部7-11,保持完整的硬脑膜。模型组和甲氨蝶呤组大鼠用质量为10g的砝码从高度为5cm处自由落下撞击脊髓,制备ASCI模型,以尾部摇摆的出现、下肢和身体的收缩及下肢的瘫痪为模型制备成功的标准,假手术组仅进行椎板切除术不进行脊髓撞击。清洗伤口,缝合皮肤。甲氨蝶呤组在ASCI后立即腹腔注射0.5mg/kg甲氨蝶呤,假手术组和模型组注射等量的生理盐水,每天1次,持续2周。

1.2.2 神经功能检测

采用脊髓运动功能(BBB)评分评定大鼠ASCI情况,采用双盲法。在造模后第1、3、7、14天根据BBB评分(得分0~21分)进行评定。在末次BBB评分后处死大鼠,分离损伤段脊髓组织,-80℃保存备用。

1.2.3 脊髓中IL-6、TNF- α 和MDA水平的测定

取大鼠脊髓组织0.5g磨碎,加入5mL生理盐水获得10%匀浆,低温离心取上清液。采用ELISA测定IL-6和TNF- α 水平,用硫代巴比妥酸法测定MDA水平,操作按试剂盒说明书进行。

1.2.4 脊髓中相关蛋白水平的测定

取大鼠脊髓组织1g磨碎,用RIPA裂解液进行蛋白质进行提取,进行电泳,每孔上样量为30 μ g,将蛋白电转至聚偏氟乙烯(PVDF)膜上,然后用5%脱脂牛奶在室温下封膜1h,加入鼠抗PETN(1:1000)、AKT(1:1000)、p-AKT(1:1000)、mTOR(1:1000)、p-mTOR(1:1000)、Bax(1:1000)、

表 1 各组大鼠 BBB 评分的比较($\bar{x} \pm s$, 分)

组别	<i>n</i>	第 1 天	第 3 天	第 7 天	第 14 天
假手术组	10	19.42±3.18	19.47±4.03	20.01±4.29	19.87±4.27
模型组	10	0.82±0.35 ^a	2.16±0.41 ^a	6.24±1.35 ^a	9.83±1.62 ^a
甲氨蝶呤组	10	2.58±0.63 ^{ab}	5.19±1.20 ^{ab}	13.92±3.63 ^{ab}	19.36±4.47 ^b

^a: $P < 0.05$, 与假手术组比较; ^b: $P < 0.05$, 与模型组比较。

Bcl-2(1 : 1 000)、Caspase-3(1 : 1 000)和 β -actin 抗体(1 : 10 000), 4 °C 过夜, 冲洗后, 将膜与辣根过氧化物酶 HRP 标记山羊抗鼠 IgG 二抗(1 : 10 000)在室温下孵育 30 min。用增强化学发光法(ECL)进行显色, 采集图像, 用图像分析软件(AlphaEaseFC 软件)进行分析。

1.2.5 TUNEL 法检测细胞凋亡的测定

取脊髓组织 2 g 进行 10% 甲醛溶液固定, 进行常规病理切片的制作, 经二甲苯脱蜡(2 次)、无水乙醇脱水(2 次)、95% 和 75% 乙醇各洗 1 次, 按 TUNEL 法检测细胞凋亡说明书进行细胞凋亡检测。使用荧光显微镜检测凋亡细胞(绿色荧光染色), 计数阳性细胞率。

1.3 统计学处理

采用 SPSS19.0 统计软件进行统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用单因素方差分析进行比较, 组间两两比较用 SNK-*q* 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组大鼠 BBB 评分的比较

与假手术组相比, 模型组和甲氨蝶呤组 BBB 评分降低($P < 0.05$); 与模型组相比, 甲氨蝶呤组 BBB 评分增加, 随着甲氨蝶呤治疗时间的延长, BBB 评分增加幅度越高($P < 0.05$)。见表 1。

2.2 各组大鼠脊髓组织中 IL-6、TNF- α 和 MDA 水平的比较

与假手术组相比, 模型组和甲氨蝶呤组脊髓组织

中 IL-6、TNF- α 和 MDA 水平增加($P < 0.05$); 与模型组相比, 甲氨蝶呤组脊髓组织中 IL-6、TNF- α 和 MDA 水平降低($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 各组大鼠脊髓组织中 IL-6、TNF- α 和 MDA 水平的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	IL-6 (ng/mL)	TNF- α (ng/mL)	MDA (mmol/g)
假手术组	10	30.15±6.82	2.75±0.62	1.17±0.42
模型组	10	74.63±10.09 ^a	8.15±1.24 ^a	2.10±0.63 ^a
甲氨蝶呤组	10	56.27±8.48 ^{ab}	6.20±1.17 ^{ab}	1.62±0.50 ^{ab}

^a: $P < 0.05$, 与假手术组比较; ^b: $P < 0.05$, 与模型组比较。

2.3 各组大鼠脊髓组织中 PETN、Bax、Bcl-2 和 Caspase-3 水平的比较

与假手术组相比, 模型组和甲氨蝶呤组大鼠脊髓组织中 PETN、Bax 和 Caspase-3 水平增加, Bcl-2 水平降低($P < 0.05$); 与模型组相比, 甲氨蝶呤组大鼠脊髓组织中 PETN、Bax 和 Caspase-3 水平降低, Bcl-2 水平增加($P < 0.05$)。见表 3、图 1。

2.4 各组大鼠脊髓组织中 AKT、p-AKT、mTOR 和 p-mTOR 水平的比较

各组大鼠脊髓组织中 AKT 和 mTOR 水平变化不显著, 差异无统计学意义($P > 0.05$); 与假手术组相比, 模型组和甲氨蝶呤组大鼠脊髓组织中 p-AKT 和 p-mTOR 水平降低($P < 0.05$); 与模型组相比, 甲氨蝶呤组大鼠脊髓组织中 p-AKT 和 p-mTOR 水平增加($P < 0.05$)。见表 4、图 2。

表 3 各组大鼠脊髓组织中 PETN、Bax、Bcl-2 和 Caspase-3 水平的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	PETN	Bax	Bcl-2	Caspase-3
假手术组	10	0.22±0.06	0.31±0.05	0.52±0.10	0.15±0.04
模型组	10	1.28±0.13 ^a	0.94±0.21 ^a	0.18±0.03 ^a	0.78±0.16 ^a
甲氨蝶呤	10	0.35±0.08 ^{ab}	0.46±0.08 ^{ab}	0.43±0.10 ^{ab}	0.32±0.07 ^{ab}

^a: $P < 0.05$, 与假手术组比较; ^b: $P < 0.05$, 与模型组比较。

表 4 各组大鼠脊髓组织中 AKT、p-AKT、mTOR 和 p-mTOR 水平的比较($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	AKT	p-AKT	mTOR	p-mTOR
假手术组	0.55±0.08	0.83±0.21	0.82±0.19	0.76±0.09
模型组	0.52±0.06	0.39±0.13 ^a	0.87±0.24	0.20±0.06 ^a
甲氨蝶呤组	0.60±0.12	0.60±0.11 ^{ab}	0.84±0.17	0.53±0.08 ^{ab}

^a: $P < 0.05$, 与假手术组比较; ^b: $P < 0.05$, 与模型组比较。

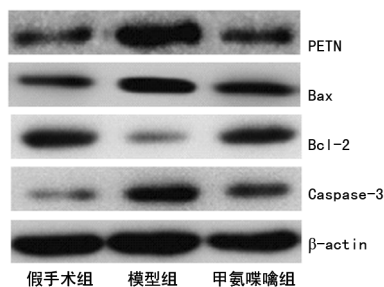


图 1 各组大鼠脊髓组织中 PETN、Bax、Bcl-2 和 Caspase-3 水平

2.5 各组大鼠脊髓组织中细胞凋亡率的比较

与假手术组 $[(0.33 \pm 0.08)\%]$ 相比,模型组 $[(2.51 \pm 0.41)\%]$ 和甲氨蝶呤组 $[(1.47 \pm 0.10)\%]$

细胞凋亡率增加 ($P < 0.05$); 与模型组 $[(2.51 \pm 0.41)\%]$ 相比,甲氨蝶呤组 $[(1.47 \pm 0.10)\%]$ 细胞凋亡率降低 ($P < 0.05$)。见图 3。

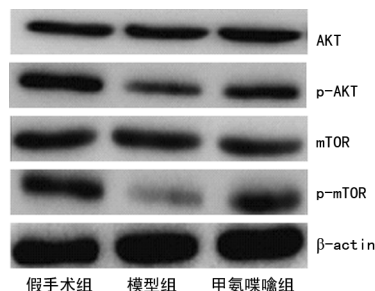


图 2 各组大鼠脊髓组织中 AKT、p-AKT、mTOR 和 p-mTOR 水平

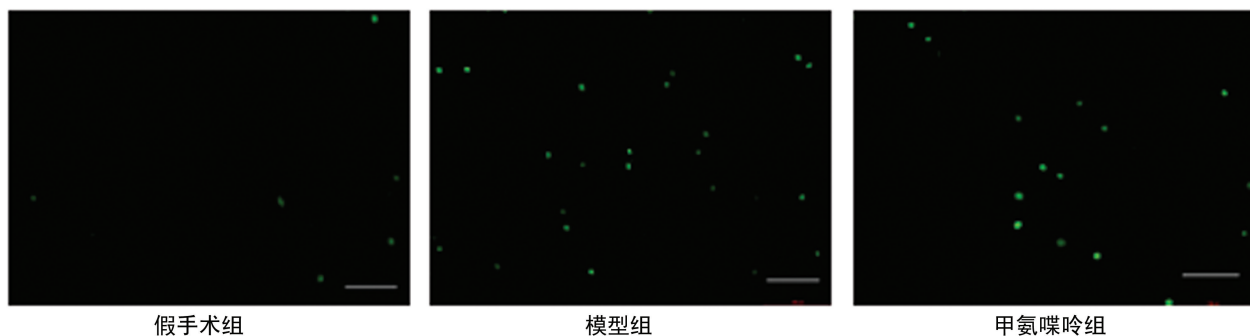


图 3 TUNEL 染色结果 ($\times 200$)

3 讨 论

ASCI 是一种常见的临床疾病,具有高发病率和病死率。研究表明,在 ASCI 后, TNF- α 、IL-6 和其他炎性细胞因子显著增加,增强中性粒细胞和单核细胞的黏附,导致脊髓损伤进一步恶化^[8]。TNF- α 和其他细胞因子,包括 IL-1、IL-2、IL-6 和血小板活化因子,形成一个信号网络,几乎影响所有免疫和内皮细胞,导致炎症和组织损伤^[9]。IL-6 介导的炎症反应在脊髓损伤中起重要作用,一些学者认为 IL-6 是在组织损伤后立即产生的,随伤害程度而变化^[10]。甲氨蝶呤治疗可降低 TNF- α 和 IL-6 的过度表达。同时,在 ASCI 后,氧自由基和脂质过氧化诱导氧化应激,促成继发性脊髓损伤。脊髓组织水肿可在 ASCI 后引起严重的病理损伤,并且与自由基氧化损伤密切相关。MDA 是由氧自由基诱导的生物膜不饱和脂肪酸过氧化的最终代谢产物,可以反映脂质过氧化水平和自由基暴露后的损伤程度^[11]。本研究表明,MDA 水平在模型组明显高于假手术组,但通过甲氨蝶呤治疗后 MDA 水平显著降低,表明甲氨蝶呤通过抗炎和抗氧化作用发挥神经保护作用。

神经细胞凋亡是 ASCI 之后的继发性损伤,在损伤的最后阶段,由于机械压迫,局部血流减少,各种细胞炎性物质及氧自由基的产生增加而引发细胞凋亡。本研究结果表明脊髓损伤过程中的细胞凋亡明显增加^[12]。此外,甲氨蝶呤治疗可以增加抗凋亡因子 Bcl-

2 蛋白的表达,降低促凋亡因子 Bax 的表达,最终抑制凋亡执行蛋白 Caspase-3 表达降低,抑制了细胞凋亡。因此,本研究证实了甲氨蝶呤的抗细胞凋亡作用。

PTEN/AKT/mTOR 信号通路对细胞增殖、迁移和凋亡具有重要作用。研究显示,PTEN 的缺失可以增强成脊髓神经元的再生,PTEN 从神经元细胞转移到星形胶质细胞中可以进一步防止神经胶质瘢痕的形成^[13]。同时,PTEN 缺失可导致 ASCI 后轴突的生长和功能恢复^[14]。上述研究发现表明,PTEN 在 ASCI 后的损伤中起关键作用。PTEN 失活可以激活下游的 AKT/mTOR 信号通路,参与细胞的抗凋亡和促进细胞存活过程^[15]。通过对受损神经元及其轴突内部变化的研究已经确定,AKT/mTOR 信号通路是受损中枢神经系统中生长、再生和突触可塑性的关键调节因子^[16]。PTEN 是 AKT/mTOR 信号通路的上游抑制介质,其活性的降低可以导致受损视神经中 AKT 和 mTOR 磷酸化(p-AKT、p-mTOR)增加和轴突伸长和再生^[17]。既往研究表明,PTEN/AKT/mTOR 信号通路的激活已被确定在多种实体肿瘤中生长和存活中起主要决定因素^[18]。本研究结果显示,在甲氨蝶呤治疗后 ASCI 大鼠脊髓中 PTEN 表达降低,增加受损脊髓中磷酸化 AKT 和 mTOR 的水平。表明甲氨蝶呤通过抑制 ASCI 大鼠中的 PTEN 激活 AKT/mTOR 信号通路。

综上所述,甲氨蝶呤通过调控 PTEN/AKT/

mTOR 信号通路,减轻脊髓的炎性反应,抑制脊髓细胞凋亡,对 ASCI 大鼠神经具有保护作用,为 ASCI 的临床治疗提供一定的理论基础。

参考文献

- [1] 孙祥耀,海涌. 脊髓损伤非手术治疗的研究进展[J]. 中国骨与关节杂志,2016,5(6):437-443.
- [2] KONG X,GAO J. Macrophage polarization: a key event in the secondary phase of acute spinal cord injury[J]. J Cell Mol Med,2017,21(5):941-954.
- [3] ZHAO H,CHEN S,GAO K,et al. Resveratrol protects against spinal cord injury by activating autophagy and inhibiting apoptosis mediated by the SIRT1/AMPK signaling pathway[J]. Neuroscience,2017,348(2):241-251.
- [4] 李敏,杨孝,孙年怡,等. 脊髓损伤中 TNF- α 诱导细胞凋亡和坏死性凋亡的研究进展[J]. 广东医学,2018,39(18):147-150.
- [5] 李咪咪,刘芳,许昌声,等. 甲氨蝶呤对急性脊髓损伤大鼠核因子 κ B 及炎性因子的影响[J]. 中国临床药理学杂志,2016,32(17):1587-1590.
- [6] WANG Z Y,ZHOU L Q,ZHENG X T,et al. Autophagy protects against PI3K/Akt/mTOR-mediated apoptosis of spinal cord neurons after mechanical injury[J]. Neurosci Lett,2017,656(2):158-164.
- [7] DANILOV C A,STEWARD O. Conditional genetic deletion of PTEN after a spinal cord injury enhances regenerative growth of CST axons and motor function recovery in mice[J]. Exp Neurol,2015,266(1):147-160.
- [8] 王良勇,李建刚,张春,等. HMGB1 与炎性因子在脊髓损伤患者血清中的表达及临床意义[J]. 重庆医学,2017,46(31):4339-4341.
- [9] ZHAO Y,WANG W,WU X,et al. Mangiferin antagonizes TNF- α -mediated inflammatory reaction and protects against dermatitis in a mice model[J]. Int Immunopharmacol,2017,45(2):174-179.
- [10] KOJIMA D,SASAKI Y,NAKAMURA T,et al. Plasma IL-6 elevation with thoracolumbar spinal cord injury during a wheelchair half-marathon race [J]. Physiotherapy,2015,101(S1):e779.
- [11] YAO N,LU Y,SHI L,et al. Neuroprotective effect of combining tanshinone II A with low-dose methylprednisolone following acute spinal cord injury in rats[J]. Exp Therapeut Med,2017,13(5):2193-2202.
- [12] 郑启新,田青,郭晓东,等. 脊髓损伤中坏死性凋亡的发生与调控机制研究现状及展望[J]. 中华实验外科杂志,2016,33(7):1691-1696.
- [13] LUAN Y,CHEN M,ZHOU L. MiR-17 targets PTEN and facilitates glial scar formation after spinal cord injuries via the PI3K/Akt/mTOR pathway[J]. Brain Res Bull,2017,128(1):68-75.
- [14] OHTAKE Y,PARK D,ABDUL-MUNEER P M,et al. The effect of systemic PTEN antagonist peptides on axon growth and functional recovery after spinal cord injury[J]. Biomaterials,2014,35(16):4610-4626.
- [15] ZHU H,XIE R,LIU X,et al. MicroRNA-494 improves functional recovery and inhibits apoptosis by modulating PTEN/AKT/mTOR pathway in rats after spinal cord injury[J]. Biomed Pharmacoth,2017,92(8):879-887.
- [16] LE RHUN E,BERTRAND N,DUMONT A,et al. Identification of single nucleotide polymorphisms of the PI3K-AKT-mTOR pathway as a risk factor of central nervous system metastasis in metastatic breast cancer[J]. Eur J Cancer,2017,87(2):189-198.
- [17] ZHANG Z,CHEN Q,ZHANG J,et al. Associations of genetic polymorphisms in pTEN/AKT/mTOR signaling pathway genes with cancer risk;a Meta-analysis in Asian population [J]. Sci Rep,2017,7(1):17844.
- [18] CHENG H,LIU P,ZHANG F,et al. A genetic mouse model of invasive endometrial cancer driven by concurrent loss of pten and Lkb1 is highly responsive to mTOR inhibition [J]. Cancer Res,2014,74(1):15-23.

(收稿日期:2019-09-25 修回日期:2020-01-09)