

论著·基础研究

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2023.22.005

网络首发 [https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20230901.1741.009\(2023-09-04\)](https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20230901.1741.009(2023-09-04))PON1 基因低表达对肝癌细胞增殖和细胞克隆能力的影响^{*}杨 刚^{1,2}, 李永继^{1,2}, 熊永福¹, 唐 涛¹, 李伟男¹, 李敬东^{1△}

(1. 川北医学院附属医院肝胆外科/川北医学院肝胆胰肠研究所, 四川南充 637000;

2. 川北医学院附属成都新华医院肝胆外科, 成都 610000)

[摘要] **目的** 探讨对氧磷酶 1(PON1)低表达对肝癌细胞增殖和细胞克隆能力的影响。**方法** 提取肝癌组织及癌旁正常组织标本 RNA 测定 PON1 mRNA 的相对表达水平, ELISA 法检测肝癌患者和健康人血清 PON1 蛋白水平。培养人肝癌细胞系 PLC 和 Huh7, 对 PLC 和 Huh7 细胞系进行转染, 分为对照组和转染组(转染 siPON1 小干扰 RNA 进行基因沉默实验), 使用实时荧光定量 PCR 及 ELISA 法验证转染效率, CCK-8 实验检测转染后肝癌细胞增殖能力的变化, 克隆形成实验检测细胞形成克隆的能力, 流式细胞术检测细胞周期, Western blot 实验检测 AMP 活化蛋白激酶(AMPK)信号通路相关蛋白变化。**结果** 肝癌组织中 PON1 mRNA 相对表达水平低于癌旁正常组织($P < 0.05$), 肝癌患者血清 PON1 蛋白水平低于健康人($P < 0.05$)。与对照组比较, 转染组 PON1 mRNA 相对表达水平和 PON1 蛋白水平降低($P < 0.05$), 细胞增殖能力明显增强($P < 0.05$), 细胞克隆形成率明显增多($P < 0.05$), S 期细胞比例明显增多($P < 0.05$), p-AMPK 表达水平明显降低, p-mTOR 表达水平明显升高。**结论** PON1 表达调控了 AMPK 信号通路活化并抑制了肝癌细胞增殖。

[关键词] 肝细胞癌; 对氧磷酶 1; 细胞增殖; AMPK 信号通路; 生物标志物**[中图法分类号]** R735.7**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2023)22-3391-06Effects of PON1 gene low expression on proliferation and cell cloning capacity of hepatocellular carcinoma cells^{*}YANG Gang^{1,2}, LI Yongji^{1,2}, XIONG Yongfu¹, TANG Tao¹, LI Weinan¹, LI Jingdong^{1△}

(1. Department of Hepatobiliary Surgery, Affiliated Hospital of North Sichuan Medical College/

Institute of Hepatobiliary Pancreas Intestines, Nanchong, Sichuan 637000, China;

2. Department of Hepatobiliary Surgery, Affiliated Chengdu Xinhua Hospital,

North Sichuan Medical College, Chengdu, Sichuan 610000, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the effect of PON1 low expression on the proliferation and cell cloning capacity of hepatocellular carcinoma cells. **Methods** RNA of hepatocellular carcinoma tissues and paracancerous normal tissues samples was extracted to detect the PON1 mRNA relative expression level. The serum PON1 protein level in the patients with hepatocellular carcinoma and healthy person was detected by ELISA. The human hepatocellular cancer cell line PLC and Huh7 were cultured. PLC and Huh7 cells conducted the transfection, then the cells were divided into the control group and transfection group (transfecting si-PON1 small interfering RNA to conduct the gene silencing experiment). The transfection efficiency was verified by real time fluorescence quantification PCR and ELISA. The CCK-8 assay was used to detect the change of liver cancer cells proliferation ability after transfection, and the clone formation assay was used to detect the ability of cells forming clone. The cell cycle was detected by flow cytometry. The AMPK signaling pathway related protein change was detected by Western blot. **Results** The PON1 mRNA relative expression level in hepatocellular carcinoma tissues was lower than that in paracancerous tissues. The serum PON1 protein level in the patients with hepatocellular carcinoma was lower than that in healthy people ($P < 0.05$). Compared with the control group, the PON1 relative expression level and PON1 protein level in the transfection group were decreased ($P < 0.05$), the cellular proliferation ability was significantly enhanced ($P < 0.05$), the cell clone forming rate was significantly increased ($P < 0.05$), the proportion of S stage cells was significantly in-

^{*} 基金项目: 四川省医学会医学科科研青年创新课题(Q21027)。 作者简介: 杨刚(1984—), 主治医师, 博士, 主要从事肝胆胰临床和基础研究。 [△] 通信作者, E-mail: lijingdong358@126.com。

creased ($P<0.05$), the p-AMPK expression level was significantly decreased, and the p-mTOR expression level was significantly increased. **Conclusion** The PON1 expression regulates the activization of AMPK signaling pathway and inhibits the proliferation of hepatocellular carcinoma cells.

[Key words] hepatocellular carcinoma; PON1; cell proliferation; AMPK signaling pathway; biomarker

肝细胞癌是癌症相关发病率和病死率升高的主要原因之一^[1]。高发地区包括撒哈拉以南非洲、东亚和东南亚,而近一半患者在中国^[2]。虽然早期诊断和手术治疗明显提高了总体生存率,但由于复发率和转移率高,即使是根治性切除和肝移植,长期生存率仍然很低^[3]。

人血清对氧磷酶(PON)1 是一种水解芳香族羧酸酯、有机磷和碳酸盐的酯酶,主要由肝细胞合成并分泌到循环系统。作为一种重要的抗动脉粥样硬化因子,PON1 具有防止低密度脂蛋白氧化、维持内皮细胞的正常功能、抑制白细胞(特别是单核细胞和巨噬细胞)的黏附、减轻血管壁慢性炎症的作用^[4]。有研究证实多种癌症患者和体外培养的癌细胞存在 PON 状态的改变,包括基因、蛋白活性^[4-5]。血清中 PON1 活性低会使受试者暴露在更高的氧化应激下。脂质过氧化产生的不同分子,如 4-羟基壬烯醛、氧化低密度脂蛋白,可能参与氧化应激相关癌症的发生。在肝细胞癌中,PON1 与临床参数的相关性也已被证实,PON1 的表达与肝细胞癌细胞中血管浸润的程度及免疫细胞浸润等均相关^[6-7]。

AMP 活化蛋白激酶(AMPK)是一种高度保守的丝氨酸/苏氨酸激酶,是一个关键的能量状态传感器和能量稳态调节器^[8]。最近的研究表明,PON1 表达与 AMPK 活化具有一定相关性,在链脲佐菌素/高脂肪饮食诱导的心肌病小鼠中,出现了心脏 AMPK 活性和 PON1 表达水平明显降低,但用石榴花多酚可改善高脂肪饮食诱导的小鼠非酒精性脂肪性肝病,同时伴随着几种脂质代谢相关基因表达的改变,包括 ACC、AMPK、CPT-1 α 、瘦素、PON1^[9-10]。本研究旨在探讨人肝癌细胞中 PON1 蛋白的表达变化情况及其与 AMPK 信号通路在肝癌发生、发展中的作用机制,为肝细胞癌的诊治提供更多潜在的靶点,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

人肝癌细胞系 PLC 和 Huh7 购自中国科学院上海细胞库;PON1 小干扰 RNA(siPON1)的设计和合成、PON1 基因及 GAPDH 基因的 PCR 引物均由上海生工生物工程有限公司完成。实验所需抗体及 PON1 的 ELISA 试剂盒均购自美国 Abcam 公司。

1.2 方法

1.2.1 标本采集

肝癌组织、癌旁正常组织及肿瘤患者的血液标本来自川北医学院附属医院诊疗的 30 例肝细胞癌患者,其中男 18 例,女 12 例,平均年龄(65 $\pm$ 20)岁;乙型肝炎 26 例,丙型肝炎 4 例;Child Pugh A 级 20 例,

B 级 5 例,C 级 5 例;肿瘤最大直径 ≤ 5 cm 17 例, >5 cm 13 例;治疗前甲胎蛋白 ≤ 200 μ g/L 13 例, >200 μ g/L 17 例;肿瘤单病灶 21 例,多病灶 9 例;肿瘤分期 I~II 期 10 例,III~IV 期 20 例。正常对照的血液标本来自 30 例健康捐赠者。本研究经过医院伦理委员会审批,受试者签署知情同意,同意在匿名状态下使用标本及相关资料。

1.2.2 组织 RNA 提取及 PON1 mRNA 相对表达水平检测

提取肝癌组织、癌旁正常组织总 RNA,使用 Takara 试剂盒按照说明书配制反应体系进行逆转录后,进行实时荧光定量 PCR 分析。引物序列如下,PON1:正向 3'-GAT ACT GCC TAA TGG ACT GGC-5',反向 3'-GTG ATC CCC AAT TCC AAC ACT-5'; β -actin:正向 3'-CGC GAG AAG ATG ACC CAG AT-5',反向 3'-GGG CAT ACC CCT CGT AGA TG-5'^[11]。

1.2.3 血清提取及 ELISA 检测 PON1 蛋白水平

抽取受试者外周血 5 mL,并离心取上清液,按照 ELISA 试剂盒说明书进行操作检测血清 PON1 蛋白水平。

1.2.4 细胞培养

用含 10% 胎牛血清(FBS)和 1% 青链霉素混合物的 RPMI-1640 培养基培养人肝癌细胞株 PLC 和 Huh7,于 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 的细胞培养箱中培养。

1.2.5 细胞分组与转染

将细胞分为对照组和转染组(进行基因沉默实验),根据供应商提供的说明书转染 PLC 和 Huh7 细胞系。对照组序列为 3'-GCA TGC TAA TTG GAC TTT A-5',转染组序列为 3'-GTC GTA TGT TGT CTA CTA T-5'。

1.2.6 Western blot 检测

收集细胞蛋白标本进行蛋白电泳及转膜,室温封闭后先后孵育一抗及二抗,洗膜后曝光显色^[12]。

1.2.7 CCK-8 细胞活性检测及克隆形成实验

细胞消化并接种于 96 孔板,在培养不同时间点进行 CCK-8 检测,酶标仪 450 nm 检测吸光度(A)值;将细胞消化后,将 300 个细胞分散至 24 孔板的每个孔中并继续培养。10 d 后弃去细胞培养液以结晶紫染色,并观察结果。

1.2.8 流式细胞术检测细胞周期

各组细胞固定过夜后,根据国外文献报道^[13]方式建立检测体系,4 $^{\circ}$ C 避光孵育 0.5 h 后上流式细胞仪进行检测。

1.3 统计学处理

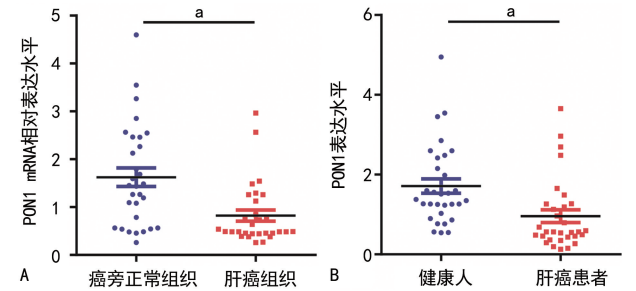
采用 SPSS23.0 软件进行数据分析,计量资料以

$\bar{x} \pm s$ 表示,比较采用 t 检验;计数资料以例数或百分比表示,比较采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 正常组织与肝癌组织中 PON1 的表达差异

肝癌组织中 PON1 mRNA 相对表达水平低于癌旁正常组织($P < 0.05$)。肝癌患者血清 PON1 蛋白水平低于健康人($P < 0.05$),见图 1。



A:实时荧光定量 PCR 检测肝癌组织和癌旁正常组织 PON1 mRNA 相对表达水平;B:ELISA 检测肝癌患者和健康人血清中 PON1 蛋白水平;^a: $P < 0.05$ 。

图 1 正常组织与肝癌组织中 PON1 的表达差异

2.2 小干扰 RNA 转染敲低 PON1 的效率检测

与对照组比较,转染组 PON1 mRNA 相对表达水平和 PON1 蛋白水平降低($P < 0.05$),见图 2。

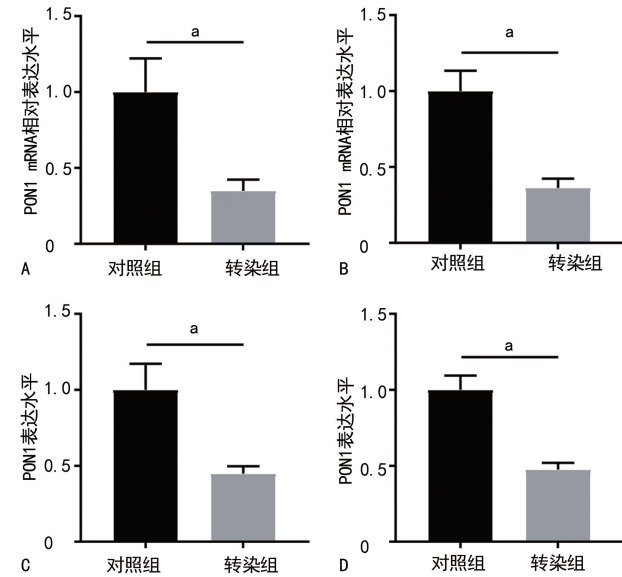
2.3 PON1 基因敲低对 PLC 和 Huh7 细胞增殖的影响

与对照组比较,转染组细胞增殖能力明显增强($P < 0.05$),见图 3。

2.4 PON1 基因沉默对 PLC 和 Huh7 细胞克隆形成的影响

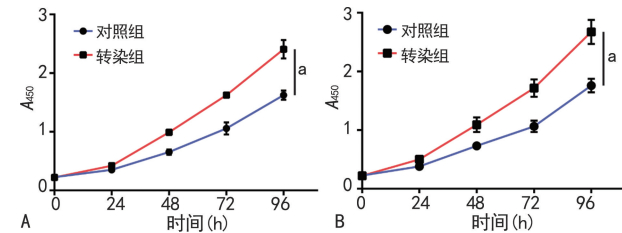
与对照组比较,转染组细胞克隆形成率明显增多

($P < 0.05$),见图 4。



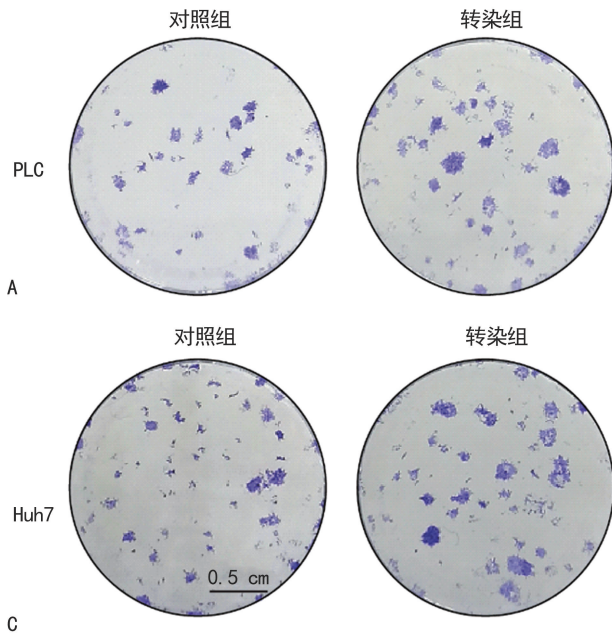
A:实时荧光定量 PCR 检测 PLC 细胞系转染小干扰 RNA 后 PON1 mRNA 相对表达水平;B:实时荧光定量 PCR 检测 Huh7 细胞系转染小干扰 RNA 后 PON1 mRNA 相对表达水平;C:ELISA 检测 PLC 细胞系转染小干扰 RNA 后 PON1 蛋白水平;D:ELISA 检测 Huh7 细胞系转染小干扰 RNA 后 PON1 蛋白水平;^a: $P < 0.05$ 。

图 2 小干扰 RNA 转染敲低 PON1 的效率检测



A:PLC 细胞系增殖情况;B:Huh7 细胞系增殖情况;^a: $P < 0.05$ 。

图 3 敲低 PON1 基因对 PLC 和 Huh7 细胞系增殖的影响



A:结晶紫染色观察两组 PLC 细胞克隆情况;B:两组 PLC 细胞克隆形成数比较;C:结晶紫染色观察两组 Huh7 细胞克隆情况;D:两组 Huh7 细胞克隆形成数比较;^a: $P < 0.05$ 。

图 4 沉默 PON1 基因对 PLC 和 Huh7 细胞克隆形成的影响

2.5 PON1 基因沉默对 PLC 和 Huh7 细胞周期的影响

与对照组比较,转染组 S 期细胞比例明显增多 ($P<0.05$),见图 5。

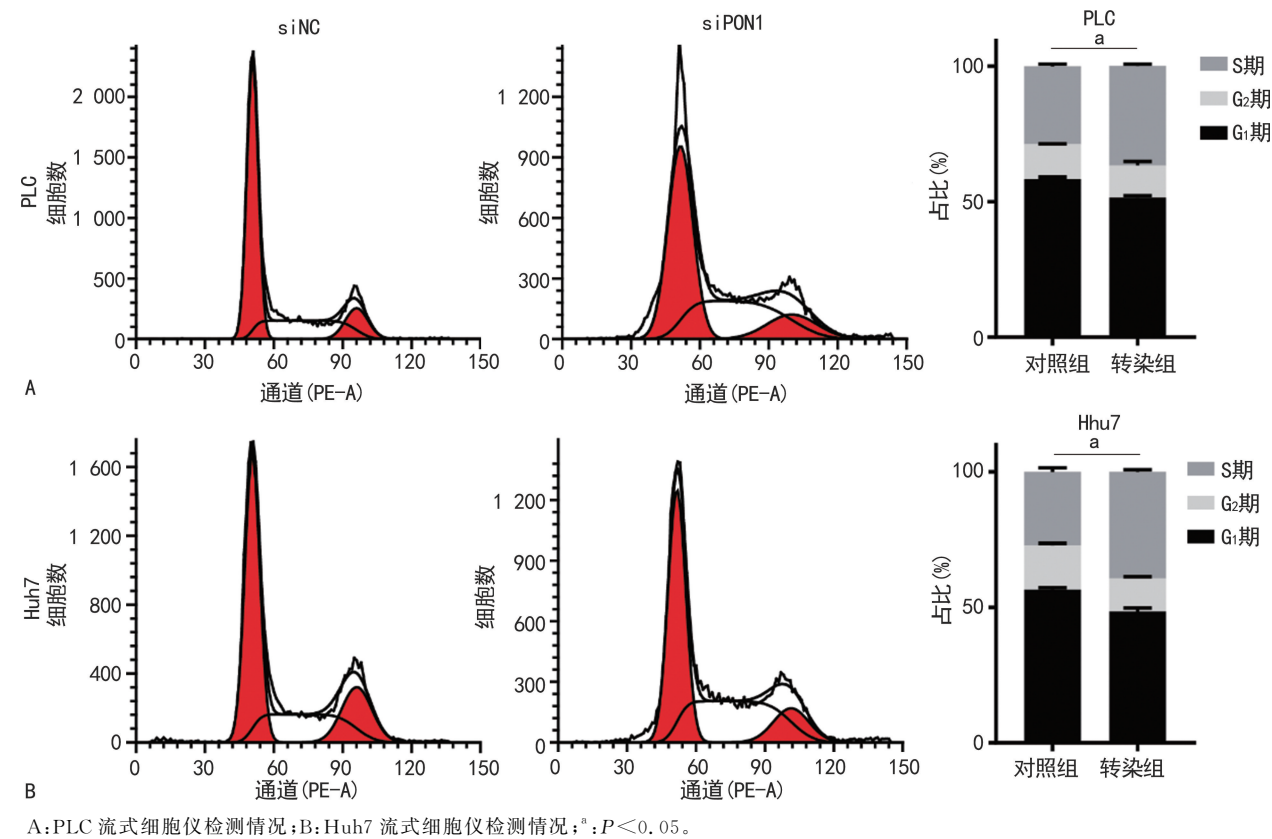


图 5 沉默 PON1 基因对 PLC 和 Huh7 细胞周期的影响

2.6 沉默 PON1 基因对 PLC 和 Huh7 细胞系 AMPK 信号通路的影响

与对照组比较,转染组 p-AMPK 表达水平明显降低,p-mTOR 表达水平明显升高,见图 6。

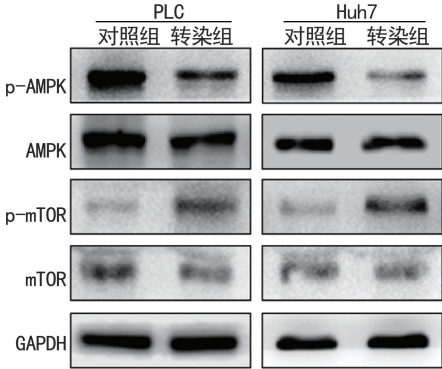


图 6 沉默 PON1 基因对 PLC 和 Huh7 细胞系 AMPK 信号通路的影响

3 讨 论

PON1 的主要功能是脂质过氧化物水解,保护低密度脂蛋白免受氧化^[14]。越来越多的证据表明,与健康人相比,慢性肝炎、脂肪性肝炎和肝硬化患者的 PON1 活性受到抑制。PON1 在慢性肝病的氧化应激、纤维化和肝细胞凋亡的调节中起着积极的作用^[15-16]。有研究发现,与健康人相比,肝硬化和早期

肝细胞癌患者中 PON1 的蛋白表达水平都下降至 50%。本研究的结果也显示,与正常癌旁组织相比,肝癌细胞的 PON1 表达水平明显降低。许多研究表明,炎症对 PON1 有调节作用。在急性炎症状态下,随着 C-反应蛋白、血清淀粉样蛋白、单核细胞趋化蛋白-1、白细胞介素-1 β 、白细胞介素-6 和肿瘤坏死因子- α 等促炎标志物和细胞因子水平的升高,PON1 活性降低^[17]。由于急性时相蛋白(如血清淀粉样蛋白 A)水平的增加和/或氧化磷脂抑制了 PON1 的活性,高密度脂蛋白取代了 PON1,这或许可以解释 PON1 活性降低的原因。最近,有研究者认为这种酶可以从循环中的高密度脂蛋白重新分布到细胞中。与这一假设一致的是,有研究者发现这种机制可以使癌细胞摄取 PON1 的抗氧化活性,从而防止氧化应激^[18]。

本研究在肝癌细胞中敲低 PON1 表达后,发现细胞的增殖能力明显增加。与此一致的是,DEVARAJAN 等^[19]发现 PON 过表达通过改变小凹蛋白-1/IGF-1R 在小鼠卵巢癌细胞中的相互作用,通过 IGF-1 信号通路抑制细胞增殖。许多研究表明,PON1 基因多态性与包括卵巢癌在内的多种癌症相关^[20-21]。还有研究发现,PON1 活性降低可提示胃食道癌患者有淋巴结转移^[22]。既往研究也表明,PON1 在肿瘤组织

中的表达与血管浸润状态呈负相关,因此可作为一种新的诊断肝癌微血管侵犯的生物标志物^[23]。因为 PON1 具有阻止低密度脂蛋白氧化、维持内皮细胞的正常功能、抑制白细胞(特别是单核细胞和巨噬细胞)的黏附、减轻血管壁的慢性炎症的能力,而慢性炎症和白细胞黏附是肿瘤血管形成的标志,所以 PON1 的抗炎和血管正常化作用可能是血清 PON1 水平与肝癌血管侵袭负相关的基础。

AMPK 在自噬过程中起着重要作用,可影响肝癌的恶性程度^[24]。通常,自噬是通过线粒体去极化、营养饥饿、有毒蛋白聚集和感染来激活的,导致生物大分子放松对能量供应的调控。自噬在肝癌中被结构性激活,并通过 AMPK 依赖或独立的途径参与肝癌的发生、转移、糖酵解、靶向治疗和耐药^[25]。AMPK 被激活后,mTOR 被抑制,进而导致自噬过程的抑制。另一方面,自噬还可通过多种 AMPK 非依赖性途径激活,如 PI3K/AKT/mTOR 通路、MAPK/ERK 信号通路、c-Myc 和 p53 等转录因子^[26-27]。本研究发现,敲低 PON1 后,AMPK 通路被抑制,mTOR 活性增加。本实验已证实,与正常肝组织比较,肝癌细胞 PON1 表达水平明显降低;通过体外实验进一步发现,敲低 PON1 后,肝癌细胞增殖能力及克隆形成能力明显升高;处于细胞周期 S 期的肝癌细胞增多;据此进一步推测 PON1 可能通过激活 AMPK 通路抑制肝癌细胞增殖,而这些推测还需要验证。

综上所述,PON1 在肝癌细胞中低表达,敲低 PON1 基因表达可有效促进肝癌细胞增殖,并抑制 APKM 信号通路活化,这为肝癌提供了新的早期诊断标志物,并揭示了肝癌细胞增殖的部分机制,为开发治疗肝癌的新的靶向药物提供了理论基础。

参考文献

- [1] SIEGEL R L, MILLER K D, WAGLE N S, et al. Cancer statistics, 2023[J]. CA Cancer J Clin, 2023, 73(1): 17-48.
- [2] 曹毛毛,李贺,孙殿钦,等. 全球肝癌 2020 年流行病学现状[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2022, 29(5): 322-328.
- [3] VOGEL A, MEYER T, SAPISOCHIN G, et al. Hepatocellular carcinoma [J]. Lancet, 2022, 1345-1362.
- [4] AHMED A M, KHABOUR O F, YOUSUF A, et al. The relationships between 7-kchol, 7 β -ohchol, chol-triol, Lp (A) and PON1 with coronary heart disease in patients with diabetes mellitus T1DM and T2DM[J]. Pak J Pharm Sci, 2022, 35(3): 761-768.
- [5] OLSZEWSKA-SŁONINA D, JASIŃSKI M. Serum paraoxonase-1 activity in prostate cancer patients treated with brachytherapy as a measure of irradiation efficacy[J]. Antioxidants (Basel), 2023, 12(2): 212.
- [6] WANG T, DAI L, SHEN S, et al. Comprehensive molecular analyses of a macrophage-related gene signature with regard to prognosis, immune features, and biomarkers for immunotherapy in hepatocellular carcinoma based on WGCNA and the LASSO algorithm[J]. Front Immunol, 2022, 13: 843408.
- [7] CAO J, TU D Y, ZHOU J, et al. Comprehensive analysis of the clinical significance, immune infiltration, and biological role of MARCH ligases in HCC[J]. Front Immunol, 2022, 13: 997265.
- [8] GE Y, ZHOU M, CHEN C, et al. Role of AMPK mediated pathways in autophagy and aging[J]. Biochimie, 2022, 195: 100-113.
- [9] JANG S, LEE M S, KANG S A, et al. Portulaca oleracea L. Extract regulates hepatic cholesterol metabolism via the AMPK/microRNA-33/34a pathway in rats fed a high-cholesterol diet[J]. Nutrients, 2022, 14(16): 3330.
- [10] YAN D, WEI Y Y, LI X M, et al. PFP alleviates nonalcoholic steatohepatitis fatty liver in both Apo E^{-/-} mice and Changliver cell[J]. Am J Transl Res, 2017, 9(6): 3073.
- [11] BLIŹNIEWSKA-KOWALSKA K, GAŁECKI P, SU K P, et al. Expression of PON1, PON2, PON3 and MPO genes in patients with depressive disorders[J]. J Clin Med, 2022, 11(12): 3321.
- [12] CHEN Q, ZHENG W, GUAN J, et al. SOCS2-enhanced ubiquitination of SLC7A11 promotes ferroptosis and radiosensitization in hepatocellular carcinoma[J]. Cell Death Differ, 2023, 30(1): 137-151.
- [13] ZHI J, YI J, HOU X, et al. Targeting SHP2 sensitizes differentiated thyroid carcinoma to the MEK inhibitor[J]. Am J Cancer Res, 2022, 12(1): 247-264.
- [14] ZHANG Q, JIANG Z, XU Y. HDL and oxidation [J]. Adv Exp Med Biol, 2022, 1377: 63-77.
- [15] ARAB Z N, KHAYATAN D, RAZAVI S M, et al. Phytochemicals as modulators of paraoxonase-1 in health and diseases[J]. Antioxidants (Basel),

2022,11(7):1273.

[16] CAMPS J, CASTAÑÉ H, RODRÍGUEZ-TO MÀS E, et al. On the role of paraoxonase-1 and chemokine ligand 2 (C-C motif) in metabolic alterations linked to inflammation and disease. A 2021 update [J]. *Biomolecules*, 2021,11(7):971.

[17] VAKILI L, NAVAB K D, SHABIHKHANI M, et al. Systemic inflammation, intestine, and paraoxonase-1 [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2014, 824:83-88.

[18] ALDONZA M B D, SON Y S, SUNG H J, et al. Paraoxonase-1 (PON1) induces metastatic potential and apoptosis escape via its antioxidative function in lung cancer cells [J]. *Oncotarget*, 2017,8(26):42817-42835.

[19] DEVARAJAN A, SU F, GRIJALVA V, et al. Paraoxonase 2 overexpression inhibits tumor development in a mouse model of ovarian cancer [J]. *Cell Death Dis*, 2018,9(3):392.

[20] SANTANA I T S, DOS SANTOS J N A, DE ALMEIDA V L, et al. Association of PON1, TNF- α and TGF- β gene polymorphisms with prognosis in oral and oropharyngeal squamous cell carcinoma [J]. *Acta Odontol Scand*, 2021, 79(5):327-334.

[21] HAN C, CHEN J, HUANG J, et al. Single-cell transcriptome analysis reveals the metabolic changes and the prognostic value of malignant hepatocyte subpopulations and predict new

therapeutic agents for hepatocellular carcinoma [J]. *Front Oncol*, 2023,13:1104262.

[22] WANG X, XU G, ZHANG J, et al. The clinical and prognostic significance of paraoxonase-2 in gastric cancer patients; immunohistochemical analysis [J]. *Human cell*, 2019,32(4):487-494.

[23] DING G Y, ZHU X D, JI Y, et al. Serum PON1 as a biomarker for the estimation of microvascular invasion in hepatocellular carcinoma [J]. *Ann Transl Med*, 2020,8(5):204.

[24] YAO J, TANG S, SHI C, et al. Isoginkgetin, a potential CDK6 inhibitor, suppresses SLC2A1/GLUT1 enhancer activity to induce AMPK-ULK1-mediated cytotoxic autophagy in hepatocellular carcinoma [J]. *Autophagy*, 2023, 19(4):1221-1238.

[25] BAO X, LIU Y, HUANG J, et al. Stachydrine hydrochloride inhibits hepatocellular carcinoma progression via LIF/AMPK axis [J]. *Phyto-medicine*, 2022,100:154066.

[26] DEBNATH J, GAMMOH N, RYAN K M. Autophagy and autophagy-related pathways in cancer [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2023,2:1-16.

[27] AHMADI-DEHLAGHI F, MOHAMMADI P, VALIPOUR E, et al. Autophagy: a challengeable paradox in cancer treatment [J]. *Cancer Med*, 2023,12(10):11542-11569.

(收稿日期:2023-02-18 修回日期:2023-07-22)
(编辑:袁皓伟)

(上接第 3390 页)

[23] MARQUARD F E, JUCKER M. PI3K/AKT/mTOR signaling as a molecular target in head and neck cancer [J]. *Biochem Pharmacol*, 2020, 172:113729.

[24] JIN J, YAN X, ZHAO Y, et al. Targeting transient receptor potential canonical 1 reduces non-small cell lung cancer chemoresistance and stemness via inhibition of PI3K/Akt signaling [J]. *Oncol Lett*, 2023,25(6):224.

[25] SHARIATI M, MERIC-BERNSTAM F. Tar-

geting Akt for cancer therapy [J]. *Expert Opin Investig Drugs*, 2019,28(11):977-988.

[26] HUANG J, LIU C, DUAN S, et al. Gigantol inhibits proliferation and enhances DDP-induced apoptosis in breast-cancer cells by downregulating the PI3K/Akt/mTOR signaling pathway [J]. *Life Sci*, 2021,274:119354.

(收稿日期:2023-01-30 修回日期:2023-07-12)
(编辑:姚 雪)