

马钱苷元对人胰腺癌细胞 BXPC3 的抗肿瘤作用及机制研究

葛飞敏^{1,2}, 杨柳², 陈枢青^{1*} (1. 浙江大学药学院, 杭州 310058; 2. 浙江省人民医院, 杭州医学院附属人民医院, 杭州 310014)

摘要: 目的 研究山茱萸提取物马钱苷元对人胰腺癌细胞株 BXPC3 的体外抗肿瘤作用, 并探讨其可能的抗肿瘤机制。方法 共设置 2 组实验, 即对照组和马钱苷元组。采用 CCK-8 试验检测细胞存活率的改变, 流式细胞仪检测马钱苷元对细胞周期的影响。同时利用划痕试验及基质胶 Transwell 小室试验分别检测马钱苷元对人胰腺癌细胞株 BXPC3 迁移和侵袭的影响。最后通过 Western blotting 检测 AKT-mTOR 信号通路相关蛋白 AKT、mTOR 和 S6 磷酸化水平的改变。结果 与对照组相比, 马钱苷元对人胰腺癌细胞株 BXPC3 的增殖具有抑制作用, 且呈明显的时间和浓度依赖性, 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 马钱苷元作用于 BXPC3 细胞 24 h, 48 h 的抑制率分别为 (21.49 $\pm$ 0.01)%, (29.25 $\pm$ 0.03)%; 马钱苷元能够使细胞周期阻滞于 S 期并抑制细胞株 BXPC3 的迁移 ($P<0.01$) 和侵袭 ($P<0.01$), 下调 AKT、mTOR 和 S6 的磷酸化水平。结论 马钱苷元可能通过抑制 AKT-mTOR 信号通路发挥其抗肿瘤活性。

关键词: 山茱萸; 马钱苷元; 胰腺癌; 侵袭和迁移; AKT-mTOR 信号通路

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2020)19-2323-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2020.19.004

引用本文: 葛飞敏, 杨柳, 陈枢青. 马钱苷元对人胰腺癌细胞 BXPC3 的抗肿瘤作用及机制研究[J]. 中国现代应用药学, 2020, 37(19): 2323-2327.

Study on Anti-tumor Effect of Loganetin on Pancreatic Cancer Cell BXPC3 and Its Mechanism

GE Feimin^{1,2}, YANG Liu², CHEN Shuqing^{1*} (1. College of Pharmaceutical Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China; 2. Zhejiang Provincial People's Hospital, People's Hospital of Hangzhou Medical College, Hangzhou 310014, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the anti-tumor effect of loganetin which is extract from Corni Fructus on pancreatic cancer cell BXPC3 *in vitro*, and its potential anti-tumor mechanism. **METHODS** Two groups of experiments were set up, namely the control group and the loganetin group. CCK-8 assay was performed to evaluate change of cell survival and flow cytometry was employed to analyze the effect of loganetin on cell cycle distribution. The migration of human pancreatic cancer cell line BXPC3 was examined by wound healing assay and the invasion was determined using Matrigel-transwell chamber test. Finally, the phosphorylation level of AKT, mTOR and S6 proteins in the AKT-mTOR signaling pathway were detected by Western blotting. **RESULTS** Compared with the control group, loganetin inhibited the proliferation of human pancreatic cancer cell line BXPC3 in a time and concentration-dependent manner, the inhibition rate of BXPC3 by 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ loganetin for 24 h and 48 h were (21.49 $\pm$ 0.01)% and (29.25 $\pm$ 0.03)%. Loganetin could block cell cycle in S phase, inhibit migration ($P<0.01$) and invasion ($P<0.01$) of cell line BXPC3, and down-regulate the phosphorylation level of AKT, mTOR and S6. **CONCLUSION** Loganetin may exert its anticancer activity via inhibiting the AKT-mTOR signaling pathway.

KEYWORDS: Corni Fructus; loganetin; pancreatic cancer; migration and invasion; AKT-mTOR signaling pathway

胰腺癌是人类常见的恶性肿瘤之一, 新的癌症统计数据显示, 其在 2019 年美国的十大主要癌症类型中, 死亡人数占比居于第 4 位^[1]。由于胰腺癌发病隐匿, 当前没有足够敏感和特异性的标志物进行前期诊断^[2], 多数患者被确诊时已经处于晚期并且伴随着远处转移, 仅 15%~20% 的患者有手术的机会^[3], 因此对大部分患者来说, 化疗是延长生存期和提高生活质量的一个主要治疗手段。尽管近些年来胰腺癌的治疗取得了一定的进展,

起初显示 5-氟尿嘧啶、亚叶酸钙、伊立替康和奥沙利铂(FOLFIRINOX)的联用方案有积极的治疗效果, 随后又批准了紫杉醇联合吉西他滨, 但总体预后仍较差^[4], 胰腺癌的 5 年生存率依旧徘徊在 3%~9%^[1], 因此急需探索新的药物来治疗胰腺癌。

我国中草药资源丰富, 为发现新药提供了重要的来源。天然药物的抗肿瘤成分被逐渐提取, 相关机制也在不断研究中。马钱苷是山茱萸中一种重要的环烯醚萜苷。前期研究表明马钱苷具有

作者简介: 葛飞敏, 女, 主管药师 Tel: 13738066093
(0571)88208411 E-mail: chenshuqing@zju.edu.cn

E-mail: 13738066093@163.com *通信作者: 陈枢青, 男, 博士, 教授 Tel:

抗炎^[5]、降糖^[6]、保护神经^[7]等作用。马钱苷元是马钱苷脱去一分子葡萄糖后的产物^[8], 其为棕黄色黏性物, 易溶于水。本研究探索单体化合物马钱苷元对人胰腺癌细胞 BXP3 的抗肿瘤潜力及其作用机制, 为寻找治疗胰腺癌的新药提供实验依据。

1 材料

1.1 仪器

Tecan Infinite® 200 Pro 多功能酶标仪(奥地利 Tecan); Nikon ECLIPSE 倒置显微镜(日本 Nikon); ChemiDoc MP 凝胶成像分析系统(美国 Bio-Rad)。

1.2 试剂

马钱苷元(山东鲁南制药公司, 批号: 180501; 纯度: 93.6%); 人胰腺癌细胞株 BXP3 购自 ATCC 细胞库; 1640 细胞培养液(Hyclone 公司, 货号: SH30809.01); 血清(BI, 货号: 04-001-1ACS); 胰蛋白酶(货号: T1300)、青链霉素(货号: P1400)均购自索莱宝; CCK-8 试剂盒(BAMBANKER®, 货号: 306-14684); 细胞周期与凋亡检测试剂盒(碧云天, 货号: C1052); transwell 小室(Corning 公司, 货号: 3422); 结晶紫(碧云天, 货号: C0121); 多聚甲醛(生工生物, 货号: 30525-89-4); P-AKT(Thr 308, 货号: #13038)、AKT(货号: #4691)、P-mTOR(货号: #2971)、mTOR(货号: #2972)、P-S6(货号: #2211)、S6 抗体(货号: #2217)均购自 Cell Signaling Technology 公司; 显影液(Bio-Rad 公司, 货号: 1705062S)。

2 方法

2.1 细胞培养及药物配置

人胰腺癌细胞株 BXP3 采用含有 10% 胎牛血清及 1% 青链霉素的 RPMI1640 混合培养液培养。马钱苷元用灭菌的双蒸水溶解配置, 储存终浓度为 200 mmol·L⁻¹, 并分装在灭菌的 1.5 mL EP 管中, 存于 -20℃。

2.2 分组及给药

将 BXP3 细胞分孔培养, 并随机分为对照组和马钱苷元组。马钱苷元组加入一定浓度的马钱苷元处理细胞, 对照组加入相应量的无菌双蒸水。所有细胞需培养完全贴壁后再进行干预处理。

2.3 细胞增殖试验

CCK-8 试验用来评估细胞的活力。每孔 4 000 个的细胞量接种于 96 孔平底培养板, 36 h 细胞贴壁后, 分别用不同浓度的马钱苷元(0, 50, 100, 150, 200, 250 μmol·L⁻¹)处理细胞, 经 24, 48 h

终止培养, 按试剂盒说明书操作加入 CCK-8 试剂, 酶标仪在 450 nm 检测吸光度(A), 细胞抑制率=100%-(A_{马钱苷元组}-A_{空白组})/(A_{对照组}-A_{空白组})×100%。空白组: 孔里不接种细胞, 只测加 CCK-8 试剂后的吸光度。

2.4 周期试验

取对数生长期 BXP3 细胞每孔 5×10⁵ 个接种于 6 孔板, 待细胞贴壁后给药处理 24 h, 胰酶消化收集细胞, 用冰的 1×PBS 重悬洗涤 2 次, 接着立即加入 1 mL 70% 的冰乙醇, 保存于 4℃ 固定过夜。次日将固定好的细胞离心除去上清液, 加入冰的 PBS 重悬洗涤。除去上清液后加入 0.5 mL 含有 25 μL PI (20×) 和 10 μL RNase (50×) 的染液, 37℃ 避光染色 30 min, 流式细胞仪检测每组细胞中的荧光强度。

2.5 划痕试验

划痕试验用来检测马钱苷元对细胞迁移能力的影响。取对数生长期 BXP3 细胞每孔 8×10⁵ 个接种于 6 孔板中, 待细胞贴壁密度达到 90%, 用 10 μL 枪头在每个孔中均匀的划 3 条划痕, PBS 轻洗细胞 2 次, 马钱苷元组用 100 μmol·L⁻¹ 马钱苷元处理细胞, 对照组加入相应体积的无菌双蒸水。放入 37℃ 培养箱, 2 组实验均用无血清培养基培养 24 h。划痕愈合相对距离(%)=(1-24 h 距离/0 h 距离)×100%。

2.6 Western blotting 检测

取对数生长期 BXP3 细胞以每孔 5×10⁵ 个的密度接种于 6 孔板, 细胞贴壁后给药处理 24 h, 用含 PMSF 及 cocktail 的 RIPA 裂解液裂解细胞提取总蛋白, BCA 法测蛋白浓度, 加入 5×loading 调整蛋白浓度后 100℃ 金属浴 6 min 使蛋白变性。30 μg 蛋白量上样进行聚丙烯酰胺凝胶电泳, PVDF 膜进行湿转, 转膜条件为 100 V、100 min, 接着用 5% 脱脂牛奶封闭 1 h, 含 P-AKT、AKT、P-mTOR、mTOR、P-S6 和 S6 的一抗 4℃ 孵育过夜, 隔天洗膜, 二抗孵育 1 h, 最后使用增强化学发光(enhanced chemi luminescence, ECL)显影。

2.7 统计学处理

用 Graphpad Prism7 软件作图, Image J 测量划痕距离, Graphpad Prism7 进行统计学处理。实验数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 数据先进行正态性分析和方差齐性分析, 组间比较采用非配对 *t* 检验, *P*<0.05 视为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 马钱苷元抑制胰腺癌细胞的生长

马钱苷元去掉一个糖基后的马钱苷元单体的分子量为 228, 结构见图 1。采用 CCK-8 试验来评估马钱苷元对胰腺癌细胞株 BXP3 生长的影响。不同浓度的马钱苷元(50, 100, 150, 200, 250 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)处理贴壁的 BXP3 细胞, 24 h 抑制率分别为(9.31 $\pm$ 0.03)%, (21.49 $\pm$ 0.01)%, (25.83 $\pm$ 0.03)%, (31.87 $\pm$ 0.01)%, (40.90 $\pm$ 0.01)%, 48 h 抑制率分别为(16.42 $\pm$ 0.02)%, (29.25 $\pm$ 0.03)%, (32.82 $\pm$ 0.01)%, (44.63 $\pm$ 0.01)%, (54.31 $\pm$ 0.02)%。随着浓度的增加, 马钱苷元以剂量依赖的方式抑制胰腺癌细胞的活力, 并且在 24 h 和 48 h 的时间点以时间依赖的方式, 抑制率逐渐增加。不同浓度的马钱苷元(0, 50, 100, 200, 400, 800 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)处理贴壁的 BXP3 细胞, 经 SPSS 22.0 统计软件分析计算得 48 h 马钱苷元的 IC_{50} 为 152.58 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 即 34.79 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 结果见图 2。

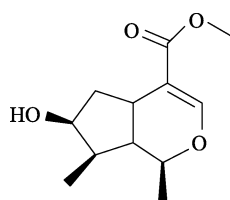


图 1 马钱苷元结构式

Fig. 1 Structures of loganetin

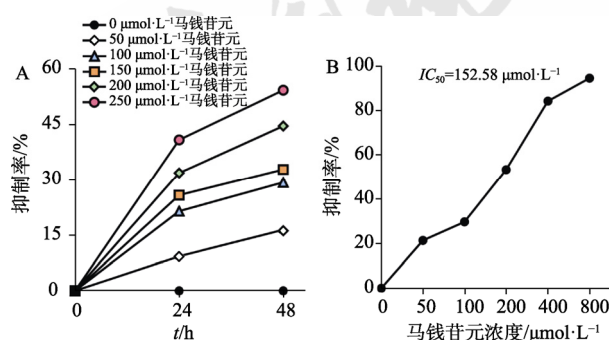


图 2 胰腺癌细胞 BXP3 存活率试验

A-24, 48 h, 马钱苷元抑制 BXP3 细胞增殖; B-马钱苷元作用于 BXP3 细胞 48 h 的 IC_{50} 为 152.58 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

Fig. 2 Cell viability assay of pancreatic cancer cell BXP3
A-the inhibitory effect of loganetin on the proliferation of BXP3 cells at 24 and 48 h; B-the IC_{50} of loganetin on BXP3 at 48 h was 152.58 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$.

3.2 马钱苷元对细胞周期的影响

流式细胞仪检测结果显示, 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的马钱苷元处理 BXP3 细胞 24 h, S 期细胞数量较对照组升高($P<0.05$), 说明马钱苷元能够将 BXP3 细胞阻滞于 S 期。结果见图 3。

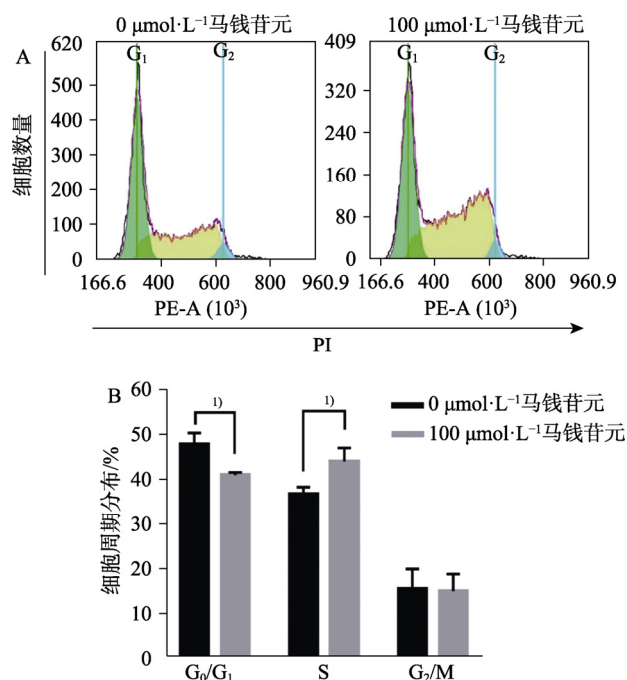


图 3 马钱苷元对胰腺癌细胞 BXP3 周期分布的影响

A-流式细胞仪检测显示马钱苷元使 BXP3 细胞阻滞于 S 期; B-计算各周期相数细胞的比例; 与对照组(0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 马钱苷元)相比, $^{1)}P<0.05$ 。

Fig. 3 Effect of loganetin on cell cycle distribution of pancreatic cells BXP3

A-flow cytometry revealed that loganetin induced S phase arrest of BXP3 cells; B-the proportion of each phase cell population was calculated; compared with control group(0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ loganetin), $^{1)}P<0.05$.

3.3 马钱苷元对细胞迁移能力的影响

划痕试验用来评估马钱苷元对细胞迁移能力的影响。与对照组(0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 马钱苷元)的划痕愈合率(71.3 $\pm$ 1.27)%相比, 24 h 后观察发现, 马钱苷元处理组划痕愈合率显著降为(42.1 $\pm$ 3.85)%, 差异具有统计学意义($P<0.01$), 结果见图 4。

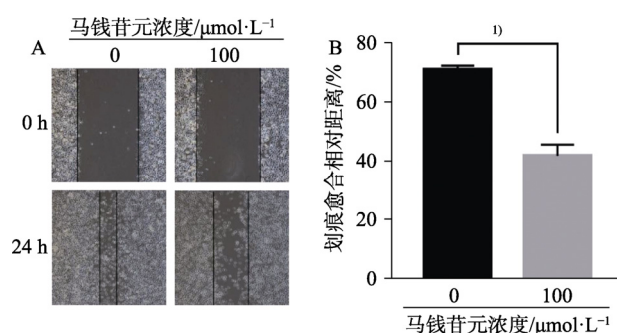


图 4 马钱苷元抑制胰腺癌细胞 BXP3 迁移

A-划痕试验检测细胞迁移能力; B-Image J 测量划痕面积并计算迁移百分比; 与对照组(0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 马钱苷元)相比, $^{1)}P<0.01$ 。

Fig. 4 Loganetin inhibits the migration of pancreatic cells BXP3

A-wound healing assays were performed to detect the migration ability; B-the scratch area was measured by Image J and the migration percentage was calculated; compared with control group(0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ loganetin), $^{1)}P<0.01$.

3.4 马钱苷元对细胞侵袭能力的影响

基质胶 transwell 小室试验用来评估马钱苷元对细胞侵袭能力的影响。马钱苷元处理 24 h 以后, 基质胶 transwell 小室膜上观察到穿过膜的细胞数(51.7 ± 6.51)与对照组($0 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 马钱苷元)的细胞数(314 ± 27.1)相比, 显著减少($P < 0.01$)。提示马钱苷元可显著抑制胰腺癌细胞株 BXPc3 的侵袭能力。结果见图 5。

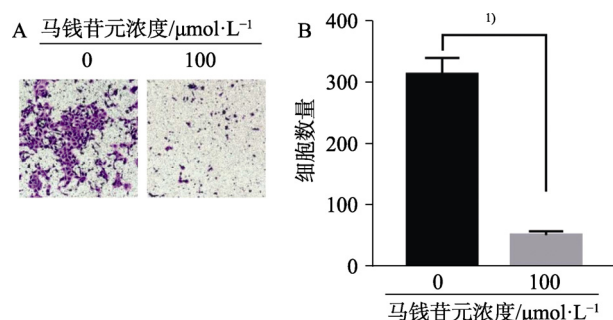


图 5 马钱苷元抑制胰腺癌细胞 BXPc3 侵袭
A-基质胶 transwell 检测细胞侵袭能力; B-PS 软件用来计数穿过 transwell 小室的细胞, 并计算成百分比; 与对照组($0 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 马钱苷元)相比, $^{1)}P < 0.01$ 。

Fig. 5 Loganetin inhibits the invasion of pancreatic cells BXPc3

A-matrigel-transwell chamber tests were determined to detect the invasion ability; B-PS software was used to count the number of cells passing through the transwell chamber and calculate its percentages; compared with control group($0 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ loganetin), $^{1)}P < 0.01$.

3.5 马钱苷元对 AKT-mTOR 信号通路的调节作用

与对照组相比, 马钱苷元组中 AKT、mTOR 和 S6 的磷酸化水平表达下降, 总蛋白 AKT、mTOR 和 S6 在实验组和马钱苷元组中表达量没有变化。说明马钱苷元能够抑制 AKT-mTOR 信号通路中磷酸化蛋白的表达, 结果见图 6。

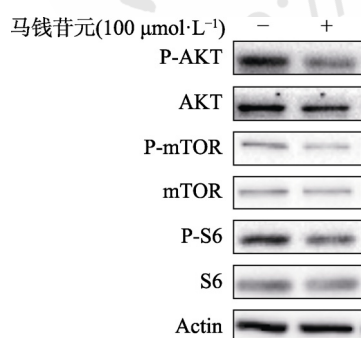


图 6 马钱苷元介导 AKT-mTOR 信号通路

Fig. 6 Loganetin modulate the AKT-mTOR signaling pathway

4 讨论

目前, 化疗依旧是除手术之外最有效的胰腺癌辅助治疗手段, 但临床上可选择使用的一线和

二线化疗方案并不多, 并且这些化疗方案的疗效有限, 因此不断探索新的药物对胰腺癌的治疗至关重要。随着更多新药的发现, 中药在抗肿瘤领域中占据一定的使用与研究价值。Li 等^[9]表明在一线表皮生长因子受体酪氨酸激酶抑制剂治疗晚期胰腺癌患者的研究中, 中药辅助治疗可以显著降低 68% 死亡风险和 59% 的疾病进展风险。当前也已经有一些中药应用于临床, 如消癌平^[10]、榄香烯^[11]、康莱特^[12]等。因此, 本研究初步探索马钱苷元对胰腺癌的治疗潜力。

肿瘤细胞最基本的特点是它持久且长期的增殖能力, 这种能力使肿瘤细胞慢慢形成仪器可识别或者肉眼可见的肿瘤, 因此抑制增殖是一个重要的抗肿瘤防御方向。本实验表明不同剂量的马钱苷元具有抑制胰腺癌细胞株 BXPc3 增殖的效果, 在同一浓度下, 48 h 的抑制率比 24 h 的抑制率要强, 表明马钱苷元的作用具有时间依赖性。而在 24 h, 高浓度马钱苷元 $250 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 和低浓度马钱苷元 $50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 抑制率分别为 $(40.90 \pm 0.01)\%$ 和 $(9.13 \pm 0.03)\%$, 表明高浓度马钱苷元对细胞的抑制能力更强即具有浓度依赖性。导致这种高浓度依赖性的原因可能跟马钱苷元在细胞上的转运方式为被动转运有关^[13]。大多数胰腺癌患者首诊时疾病已发生进展并且伴随着远处转移, 胰腺癌细胞的另一显著特点是肿瘤的侵袭转移特性, 是胰腺癌具有高死亡率的重要原因之一。胰腺癌可以通过淋巴、血液和直接侵犯进行转移, 尤其是血液学的转移。胰腺癌细胞一旦侵入毛细血管, 就会进入门静脉进行远端转移, 常见转移部位为肝和肺^[14]。本实验中, 对照组划痕间距为 $(71.3 \pm 1.27)\%$, 大于马钱苷元组 $(42.1 \pm 3.85)\%$, 差异有统计学意义($P < 0.01$)。说明对照组的细胞迁移得更快, 而马钱苷元能够使胰腺癌细胞迁移能力减弱。基质胶侵袭试验证实马钱苷元能够抑制胰腺癌的侵袭能力, 使穿过基质胶的细胞数目显著减少($P < 0.01$), 表明马钱苷元具有抑制胰腺癌细胞侵袭和迁移的能力。

AKT/mTOR 信号通路与细胞生长、增殖、分化、凋亡等多种细胞过程密切相关, 参与多种肿瘤的病理过程^[15]。Gao 等^[16]发现 microRNA-1 可以通过靶向 c-Met/Akt/mTOR 信号通路抑制胰腺癌细胞的存活和增殖。Li^[17]等发现 TRIM59 过表达能促进体外胰腺癌细胞的增殖和迁移以及动物体

内肿瘤的生长和肝转移,而沉默 TRIM59 可抑制 PI3K/AKT/mTOR 信号通路从而减弱糖酵解所导致的胰腺癌转移。Liu^[18]等发现抑制 Akt/mTOR 信号通路能够降低其下游靶蛋白 PGAM1 的表达,从而降低胰腺癌的侵袭和转移。本研究结果显示,马钱苷元可以通过下调 AKT/mTOR 相关蛋白(包括 AKT、mTOR、S6)的磷酸化水平来抑制 AKT/mTOR 信号通路,提示抑制 AKT/mTOR 信号通路可能是马钱苷元抑制胰腺癌增殖、迁移和侵袭的机制之一。

综上,本实验发现山茱萸中提取的单体化合物马钱苷元具有抑制细胞增殖及侵袭转移的能力,其机制可能是通过抑制 AKT/mTOR 信号通路发挥其抗肿瘤活性。本研究为治疗胰腺癌新药开发提供了一个基础研究思路,其更详细的分子机制尚需进一步探索。

REFERENCES

- [1] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2019 [J]. CA A Cancer J Clin, 2019, 69(1): 7-34.
- [2] KLEEFF J, KORC M, APTE M, et al. Pancreatic cancer [J]. Nat Rev Dis Primers, 2016(2): 16022.
- [3] MOUTINHO-RIBEIRO P, MACEDO G, MELO S A. Pancreatic cancer diagnosis and management: Has the time come to prick the bubble? [J]. Front Endocrinol(Lausanne), 2018(9): 779.
- [4] DUCREUX M, SEUFFERLEIN T, VAN LAETHEM J L, et al. Systemic treatment of pancreatic cancer revisited [J]. Semin Oncol, 2019, 46(1): 28-38.
- [5] TSAI W H, WU C H, CHENG C H, et al. Ba-Wei-Di-Huang-Wan through its active ingredient loganin counteracts substance P-enhanced NF- κ B/ICAM-1 signaling in rats with bladder hyperactivity [J]. Neurourol Urodyn, 2016, 35(7): 771-779.
- [6] LIU K, XU H, LV G, et al. Loganin attenuates diabetic nephropathy in C57BL/6J mice with diabetes induced by streptozotocin and fed with diets containing high level of advanced glycation end products [J]. Life Sci, 2015(123): 78-85.
- [7] TSENG Y T, LIN W J, CHANG W H, et al. The novel protective effects of loganin against 1-methyl-4-phenylpyridinium-induced neurotoxicity: Enhancement of neurotrophic signaling, activation of IGF-1R/GLP-1R, and inhibition of RhoA/ROCK pathway [J]. Phytother Res, 2019, 33(3): 690-701.
- [8] TAO J H, ZHAO M, JIANG S, et al. Comparative metabolism of two major compounds in Fructus Corni extracts by gut microflora from normal and chronic nephropathy rats *in vitro* by UPLC-Q-TOF/MS [J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2018(1073): 170-176.
- [9] LI C L, HSIA T C, LI C H, et al. Adjunctive traditional Chinese medicine improves survival in patients with advanced lung adenocarcinoma treated with first-line epidermal growth factor receptor(EGFR) tyrosine kinase inhibitors(TKIs): A nationwide, population-based cohort study [J]. Integr Cancer Ther, 2019, 18. Doi: 10.1177/ 1534735419827079.
- [10] 程蒙蒙, 余明金, 荣辉, 等. 消癌平注射液联合同步放疗治疗食管癌的临床观察[J]. 中国临床医生杂志, 2018, 46(10): 1207-1211.
- [11] ZHANG L, ZHANG J, WANG Y, et al. Efficacy of elemene injection assisted cisplatin in patients with non-small cell lung cancer and influence on the expression of mismatched repair proteins [J]. Hebei Med(河北医学), 2019, 25(1): 70-75.
- [12] 周世繁, 孙宏新. 康莱特联合索拉非尼对晚期肝癌患者 T 细胞亚群及生存质量的影响[J]. 中国现代医学杂志, 2018, 28(25): 125-128.
- [13] ZUO F, WEI Z C, HUANG W G, et al. Study on the transportation properties of loganetin based on molecular docking and caco-2 cell model [J]. J Chin Med Mater(中药材), 2017, 40(10): 2413-2418.
- [14] REN B, CUI M, YANG G, et al. Tumor microenvironment participates in metastasis of pancreatic cancer [J]. Mol Cancer, 2018, 17(1): 108. Doi: 10.1186/s12943-018-0858-1.
- [15] YU J S, CUI W. Proliferation, survival and metabolism: The role of PI₃K/AKT/mTOR signalling in pluripotency and cell fate determination [J]. Development, 2016, 143(17): 3050-3060.
- [16] GAO S, ZHAO Z, WU R, et al. MiR-1 inhibits prostate cancer PC₃ cells proliferation through the Akt/mTOR signaling pathway by binding to c-Met [J]. Biomed Pharmacother, 2019(109): 1406-1410.
- [17] LI R K, WENG L, LIU B Y, et al. TRIM59 predicts poor prognosis and promotes pancreatic cancer progression via the PI₃K/AKT/mTOR-glycolysis signaling axis [J]. J Cell Biochem, 2020, 121(2): 1986-1997.
- [18] LIU X, TAN X, LIU P, et al. Phosphoglycerate mutase 1 (PGAM1) promotes pancreatic ductal adenocarcinoma(PDAC) metastasis by acting as a novel downstream target of the PI3K/Akt/mTOR pathway [J]. Oncol Res, 2018(26): 1123-1131.

收稿日期: 2019-07-10
(本文责编: 李艳芳)