

## • 实验研究 Experimental research •

## 磷脂酰肌醇 3 激酶调节亚基 1 过表达对肝细胞癌进展的影响

向 雷, 黄 智, 张 帅, 蒋天鹏, 周 石

**【摘要】 目的** 研究磷脂酰肌醇 3 激酶调节亚基 1 (PIK3R1) 表达对肝细胞癌 (HCC) 进展的影响。**方法** 免疫组化和逆转录-定量聚合酶链反应 (RT-qPCR) 检测 HCC 组织中 PIK3R1 表达。RT-qPCR 和免疫印迹检测不同 HCC 细胞系中 PIK3R1 mRNA 和蛋白表达, 选择 MHCC97H、HCCLM3 细胞作为模型研究 PIK3R1 对 HCC 进展的影响。溴化噻唑蓝四氮唑 (MTT) 实验、克隆形成实验、划痕愈合实验和流式细胞术评价 PIK3R1 下调对 HCC 细胞增殖、迁移和凋亡的影响。蛋白印迹分析评估 PI3K/蛋白激酶 B (Akt)/mTOR 信号传导通路的表达变化。**结果** HCC 组织中 PIK3R1 表达与相邻正常组织相比, 显著上调。下调 PIK3R1 表达抑制 HCC 细胞系增殖、迁移并促进其凋亡。PIK3R1 下调还抑制 MHCC97H、HCCLM3 细胞中 p-PI3K、p-Akt 和 p-mTOR 表达。**结论** HCC 中 PIK3R1 表达显著上调, 沉默 PIK3R1 可抑制 HCC 细胞系增殖、迁移并加速凋亡, 其可能是未来 HCC 治疗的潜在靶点。

**【关键词】** 肝细胞癌; 磷脂酰肌醇 3 激酶调节亚基 1; 细胞凋亡; 靶向治疗

中图分类号: R735.7 文献标志码: A 文章编号: 1008-794X(2019)-011-0962-07

**The effect of overexpression of PIK3R1 on the progression of hepatocellular carcinoma** XIANG Lei, HUANG Zhi, ZHANG Shuai, JIANG Tianpeng, ZHOU Shi. School of Medical Imaging, Guizhou Medical University, Guiyang, Guizhou Province 550004, China

Corresponding author: ZHOU Shi, E-mail: 156722229@qq.com

**【Abstract】 Objective** To investigate the effect of phosphoinositide 3-kinase regulatory subunit 1 (PIK3R1) expression on the progression of hepatocellular carcinoma (HCC). **Methods** The expression of PIK3R1 was tested by immunohistochemistry and RT-qPCR in a series of HCC tissues. The mRNA and protein expression of PIK3R1 in a series of human HCC cell lines were checked by RT-qPCR and western blot assays. MHCC97H and HCCLM3 cells were used as a model to study the effect of PIK3R1 on the progression of HCC. MTT assay, clonogenic assays, wound healing assay and flow cytometry were adopted to evaluate the effect of down-regulation of PIK3R1 on the proliferation, migration and apoptosis of HCC cells in vitro. The expression changes of PI3K/Akt/mTOR signaling pathway were assessed with Western blot assay. **Results** Compared with adjacent normal tissues, the expression of PIK3R1 in HCC tissues was significantly up-regulated. Down-regulated expression of PIK3R1 could inhibit the proliferation, migration and apoptosis of HCC cell line. The down-regulation of PIK3R1 expression could also inhibit the expression of p-PI3K, p-Akt and p-mTOR expressions in MHCC97H and HCCLM3 cells. **Conclusion** The expression of PIK3R1 in HCC is significantly up-regulated. Silencing PIK3R1 can inhibit the proliferation, migration and accelerating apoptosis of HCC cell lines, which may become a potential target for in future HCC treatment. (J Intervent Radiol, 2019, 28: 962-968)

**【Key words】** hepatocellular carcinoma; phosphoinositide 3-kinase regulatory subunit 1; apoptosis; targeted therapy

DOI: 10.3969/j.issn.1008-794X.2019.010.012

基金项目: 国家自然科学基金 (81560297)、贵州医科大学医学影像工程研究中心建设项目 (2016001)

作者单位: 550004 贵阳 贵州医科大学医学影像学院

通信作者: 周 石 E-mail: 156722229@qq.com

肝细胞癌(HCC)是恶性肿瘤死亡的主要原因之一<sup>[1]</sup>,尽管在诊断和治疗方面取得了进展,但预后并未显著改善,5 年生生存率仍很低<sup>[2]</sup>,远处转移率较高<sup>[3]</sup>,因此迫切需要开发新治疗策略。磷脂酰肌醇 3 激酶(phosphoinositide 3-kinase, PI3K)由含 SH2 的调节亚基(p85 $\alpha$ )和催化亚基(p110)组成,调节亚基由 3 种不同基因 PI3K 调节亚基(PIK3R)1、PIK3R2 和 PIK3R3 编码,有 8 种亚型。大多数真核细胞中 PIK3R1 基因产物构成 p85 $\alpha$  形式细胞内调节亚基库的 65%~75%<sup>[4]</sup>。肝脏中 PIK3R1 缺失可导致胰岛素刺激的 PI3K 活性显著降低,影响葡萄糖、脂质体内平衡以及肝脏大小和功能<sup>[5]</sup>。越来越多证据表明 PIK3R1 在许多人类癌症中差异表达并涉及肿瘤进展和转移<sup>[6]</sup>。PIK3R1 在子宫内膜癌、乳腺癌、结肠癌和胶质母细胞瘤中表达异常,因其可抑制哺乳动物雷帕素靶蛋白(mTOR)信号转导通路,故可作为重要治疗靶点<sup>[7]</sup>。然而,PIK3R1 在 HCC 中的作用仍然未知。本研究检测分析 PIK3R1 在人 HCC 中表达,探讨其在 HCC 进展中的潜在作用。

## 1 材料与方法

### 1.1 肝癌组织样本和 HCC 细胞株

收集 2005 年 1 月至 2014 年 12 月在贵州医科大学附属医院接受外科手术的 92 例 HCC 患者液氮保存或制备成石蜡切片的肿瘤标本及相邻正常组织(癌周边缘>5 cm 处,由病理医师评估未见明显肿瘤细胞)。患者手术前未接受全身或局部治疗,肿瘤和非肿瘤组织均通过病理组织学证实,所有组织样本均在患者知情同意下获得。本研究经医院伦理委员会批准。

HCC 细胞株 MHCC97L、Huh7、HepG2、HCCLM3、SMMC-7721、MHCC97H 及正常肝细胞株 HL-7702 购自中国科学院肿瘤细胞库,在含 10%胎牛血清、100 g/mL 链霉素和 100 U/mL 青霉素(pH 7.2~7.4)的 Dulbecco 极限必需培养基(DMEM)培养基中培养,置于 37℃、含 5%CO<sub>2</sub> 潮湿培养箱中生长。

### 1.2 免疫组化检测

将每一肿瘤组织和相邻正常组织样本分别制成 3 个 5  $\mu$ m 石蜡切片,免疫组化染色;切片用二甲苯脱蜡,用加入乙二胺四乙酸(EDTA)的乙醇溶液水合修复抗原,普通山羊血清封闭切片 30 min 消除非特异性结合;切片与针对 PIK3R1 的一抗(英国 Abcam 公司)一起温育;切片与生物素标记的二抗室温下培育 30 min,二氨基联苯胺(DAB)染色。

### 1.3 逆转录-定量聚合酶链反应检测

TRIzol 试剂(美国 Invitrogen 公司)分离组织或培养细胞总 RNA,通过第一链 cDNA 合成系统(美国 Invitrogen 公司)将总 RNA(1  $\mu$ g)转录成 cDNA;采用 7 500 型实时聚合酶链反应(PCR)系统 PowerSYBR<sup>TM</sup> GreenPCR Master Mix(美国 ABI 公司),以 1  $\mu$ L DNA 模板进行扩增(20  $\mu$ L 反应体系),3-磷酸甘油醛脱氢酶(GAPDH)用作每个特定基因内参照。每个实验进行 3 次,每个样本测试 3 次。人 PIK3R1 引物序列:5'-TAGCTCGCGCGATCT-AGGGGC-3'(正向),5'-CGCGATCAATAAAGCTAG-3'(反向);人 GAPDH 引物:5'-GCACCGTCAAGGCT-GAGAAC-3'(正向),5'-TGGTGAAGACGCCAGTGA-3'(反向)。

### 1.4 免疫印迹分析

全部细胞在冰上用含蛋白酶抑制剂混合物(瑞士 Roche 公司)的放射免疫沉淀测定(RIPA)裂解缓冲液(上海碧云天生物技术有限公司)裂解,4℃环境下 12 000 rpm 离心 30 min,二辛可酸(BCA)蛋白测定试剂盒(美国 Thermo 科技公司)检测样品中上清液蛋白浓度;10%~12% NuPAGE Bis-Tris 凝胶(美国 Invitrogen 公司)电泳(恒定电压 120 mV)分离等量蛋白(30  $\mu$ g)并转移至 0.45  $\mu$ m 聚偏二氟乙烯(PVDF)膜上(恒定电流 350 mA,70 min/120 min);含 5%脱脂奶粉的 Tris 缓冲 0.9%NaCl 溶液(TBST)和含 Tween<sup>®</sup> 20 磷酸盐缓冲液(PBST)封闭 2 h 后,将 PVDF 膜与一抗在冰上培育过夜;TBST 中搅拌洗涤 PVDF 膜数次后,采用合适的辣根过氧化物酶(HRP)偶联的小鼠/兔二抗进行检测,增强型化学发光(ECL)试剂盒(以色列生物工业 Beit Haemek 公司)使印迹上免疫反应条带可视化。

### 1.5 小干扰 RNA 转染人 HCC 细胞系 siRNA

人 PIK3R1 小干扰 RNA(siRNA)(5'-CCTAGCG CATATCGCC-3')和对照 siRNA 由上海吉玛制药技术有限公司合成。根据 Lipofectamine<sup>TM</sup> 2 000 试剂(美国 Invitrogen 公司)说明书,将短发夹(sh)PIK3R1 或对照-shRNA 转染至细胞中。

### 1.6 溴化噻唑蓝四氮唑实验

溴化噻唑蓝四氮唑(MTT)法测定评估细胞增殖——将细胞以 3 $\times$ 10<sup>3</sup> 个细胞/孔接种在 96 孔板,并使其生长不同时间;计数(3 次/d)确定细胞生长速率;细胞与 0.2%MTT 50  $\mu$ L 在 37℃、5%CO<sub>2</sub> 培养箱中培育 4 h,加入 150  $\mu$ L 100%二甲基亚砷(DMSO)溶解晶体;BP800 型 96 板读数器(美国 Dynex 技术

公司)每天读取 490 nm 处吸光度,计数活细胞。

### 1.7 克隆形成和划痕愈合实验

克隆形成实验观察 PIK3R1-siRNA 对 HCC 细胞株中细胞生长的影响——将  $4 \times 10^5$  个细胞接种在 6 孔板,转染 24 h 后用胰蛋白酶消化细胞,并将 1 000 个活细胞接种在 3 个 6 孔板,细胞在 37 ℃、5%CO<sub>2</sub> 条件下培养 14 d;将菌落用 0.1%结晶紫染色,用水洗涤,手动计数 10 个随机区域,对含有至少 100 个细胞的菌落进行评分;克隆形成效率方面,根据未处理对照细胞将 PIK3R1-siRNA 转染细胞中存活部分标准化。

划痕实验检测 HCC 细胞迁移能力——6 孔板中通过特异性 siRNA 和对照 siRNA 转染人 PIK3R1 24 h 后消化细胞,将  $2 \times 10^5$  个细胞接种于 24 孔板,此时细胞融合率达到约 100%,弃去培养基并用 10 μL 无菌移液管尖端沿培养孔纵向刮擦单层细胞,使其产生划痕,磷酸缓冲液(PBS)洗涤细胞 3 次,37 ℃条件下无血清培养基培养;倒置显微镜在 0 h、48 h 拍摄细胞迁移至划痕图像。迁移指数=[(0 h 划痕宽度-48 h 划痕宽度)/0 h 划痕宽度]×100%<sup>[8]</sup>。

### 1.8 凋亡和迁移实验

膜联蛋白 V-异硫氰酸荧光素(FITC)/碘化丙啶(PI)凋亡检测试剂盒(上海贝博生物公司)检测细胞凋亡能力——冰冷 PBS 洗涤的特异性 siRNA 和对照 siRNA 转染人 PIK3R1 后消化细胞,根据制造商说明书将处理的细胞( $1 \times 10^6$  个细胞/mL)悬浮于 100 μL 缓冲液及膜联蛋白 V-FITC/PI 双染中 15 min;FACS Calibur 流式细胞仪(美国 Becton Dickinson 公司)检测荧光信号强度。将细胞凋亡图像设计分为 4 个象限:所有活细胞(双阴性)、早期凋亡细胞(膜联蛋白 V 阳性,PI 阴性)、坏死细胞(膜联蛋白 V 阳性,PI 阳性)和晚期凋亡细胞(双阳性)。

Transwell 实验检测确定细胞迁移能力——将 TeCT 处理的 MHCC97H、HCCLM3 细胞( $1.0 \times 10^5$  /mL)接种于 Transwell 上室(美国 BD 医疗公司),无血清培养基倒置上室,下室用 10%胎牛血清补充(允许上室细胞迁移至下室);孵育 48 h 后,0.1%结晶紫溶液染色侵入膜的细胞,光镜下观察 Te 切片(×100)。

### 1.9 统计学分析

采用 GraphPad Prism 5.0 软件进行统计学分析。连续变量数据以均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,Student *t* 检验评估肿瘤组织中 PIK3R1 mRNA 和蛋白表达与相邻正常组织中 PIK3R1 mRNA 和蛋白表达之间差异。均为双侧检验,如  $P < 0.05$  则差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 PIK3R1 在人 HCC 组织和 HCC 细胞株中表达

逆转录-定量 PCR(RT-qPCR)检测显示,92 对人 HCC 组织 PIK3R1 mRNA 表达与相邻正常组织相比,显著增高(图 1①);统计显示,PIK3R1 表达与淋巴结转移、远端转移和原发灶-淋巴结-远处转移(TNM)分期密切相关,与年龄、性别和肿瘤大小无关(表 1)。免疫组化染色结果显示,HCC 标本中 PIK3R1 表达与相邻正常组织相比,显著上调(图 1②)。RT-qPCR 和免疫印迹检测 HCC 细胞株中 PIK3R1 mRNA 和蛋白(MHCC97H、Huh7、HepG2、HCCLM3、SMMC-7721、MHCC97H)表达,结果显示高转移潜能细胞系 HCCLM3、MHCC97H 表现出更高 PIK3R1 表达(图 1③④),后续选择 MHCC97H、HCCLM3 细胞作为模型研究 PIK3R1 对 HCC 进展的影响。

表 1 PIK3R1 表达与 HCC 临床病理特征相关性 *n*(%)

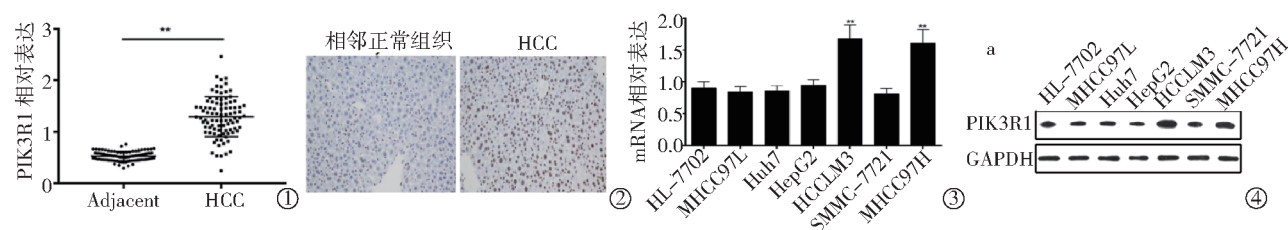
临床病理特征	例数	PIK3R1		<i>P</i> 值
		高表达	低表达	
年龄				0.548
> 60 岁	63	34(54.0)	29(46.0)	
≤ 60 岁	29	16(55.2)	13(44.3)	
性别				0.484
男性	57	26(45.6)	31(54.4)	
女性	35	15(42.9)	20(57.1)	
肿瘤大小				0.503
< 3 cm	38	21(55.3)	17(44.7)	
≥ 3 cm	54	31(57.4)	23(42.6)	
淋巴结转移				0.029
无	59	24(40.7)	35(59.3)	
N1-N4	33	21(63.6)	12(36.4)	
远处转移				0.004
无	79	21(26.6)	58(73.4)	
有	13	9(69.2)	4(30.3)	
TNM 分期				0.002
O& I & II	64	19(29.7)	45(70.3)	
III& IV	28	18(64.3)	10(35.7)	

### 2.2 PIK3R1 对 HCC 细胞株增殖能力影响

应用 siRNA 降低 PIK3R1 表达结果显示, MHCC97H、HCCLM3 中 PIK3R1 表达在 mRNA 和蛋白水平与 siRNA 阴性对照(NC)组相比,显著降低(图 2);表明 PIK3R1 特异性 siRNA 有效地抑制了 HCC 细胞株中 PIK3R1 表达。

MTT 和克隆形成实验检测显示,PIK3R1 降低与 HCCLM3、MHCC97H 细胞系细胞活力降低相关(图 3①),HCCLM3、MHCC97H 细胞中 PIK3R1 降低的同时其集落形成能力也降低(图 3②③),表明 PIK3R1 可促进 HCC 细胞增殖。划痕实验结果显示,

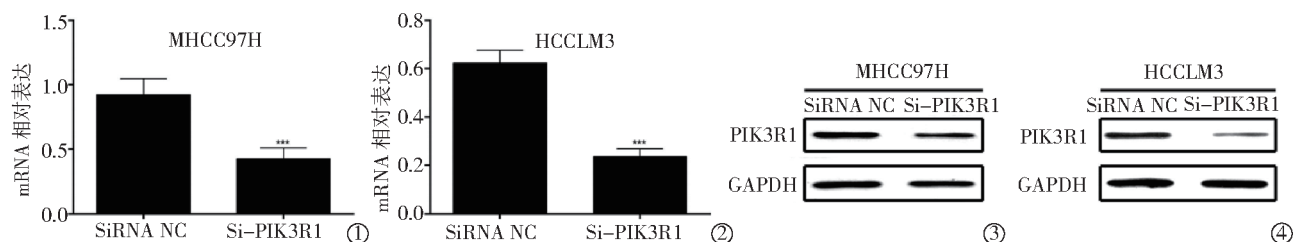




\*\* $P < 0.01$

① 92 对 HCC 组织和相邻正常组织中 PIK3R1 mRNA 表达;② PIK3R1 在 HCC 组织中免疫组化染色( $\times 200$ );③ 相对于 HL-7702 细胞, PIK3R1 mRNA 在各 HCC 细胞株中表达;④ PIK3R1 蛋白在各 HCC 细胞株中表达

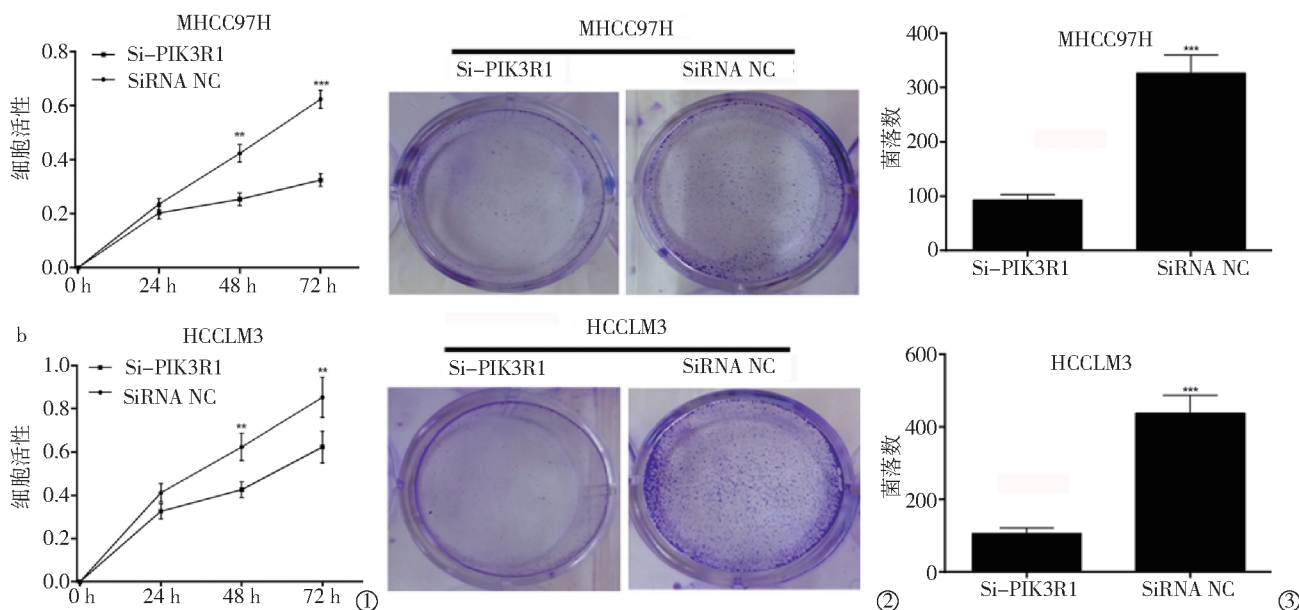
图 1 PIK3R1 在人 HCC 组织和高转移潜能 HCC 细胞株中表达



\*\*\* 与 siRNA NC 组相比,  $P < 0.001$

①② RT-qPCR 检测 PIK3R1 mRNA 表达;③④ 蛋白印迹检测 PIK3R1 siRNA/siRNA NC 转染 MHCC97H、HCCLM3 细胞中 PIK3R1 蛋白表达

图 2 siRNA 降低 HCC 细胞株中 PIK3R1 表达结果



\*\* 与 siRNA NC 组相比,  $P < 0.01$ ; \*\*\* 与 siRNA NC 组相比,  $P < 0.001$

① MTT 法检测评估细胞增殖;②③ 菌落形成实验和菌落数量定量分析评估菌落形成情况

图 3 PIK3R1 下调抑制 MHCC97H、HCCLM3 细胞增殖

PIK3R1 降低能显著抑制 HCCLM3、MHCC97H 细胞划痕愈合能力, 也降低其侵袭穿过基质胶的能力(图 4), 表明 PIK3R1 在体外能促进 HCC 细胞迁移。

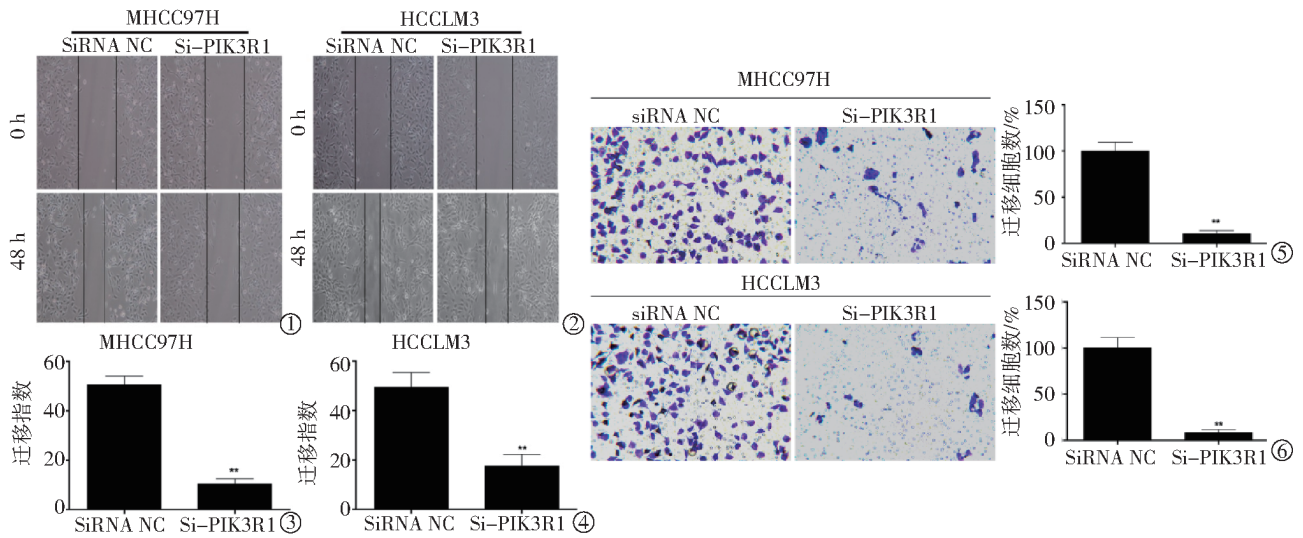
### 2.3 PIK3R1 表达对细胞凋亡影响

流式细胞术评估显示, MHCC97H-siPIK3R1、

HCCLM3-siPIK3R1 组与对照组相比, 细胞凋亡率显著增加(图 5); 表明转染特异性 siRNA 下调 PIK3R1 表达, 能够促进 HCCLM3、MHCC97H 细胞凋亡。

### 2.4 PIK3R1 下调对细胞株中 p-PI3K 等表达影响

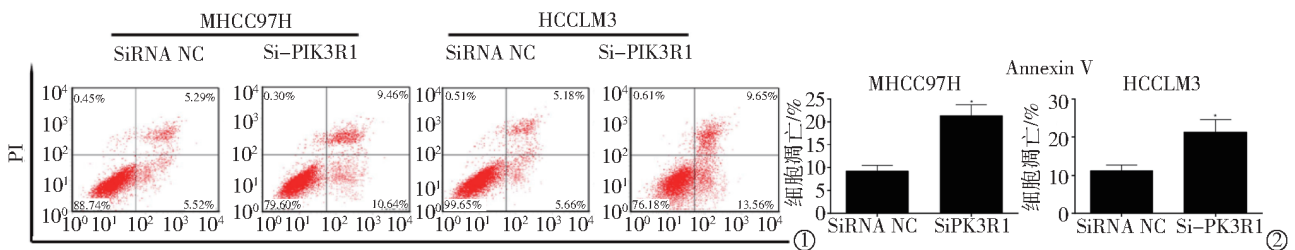
PIK3R1 敲低后, PIK3R1 siRNA 分别转染



\*\* 与 siRNA NC 组相比,  $P < 0.01$

①②划痕愈合试验评估细胞迁移能力;③④量化迁移指数;⑤⑥Transwell 实验测量 PIK3R1 下调后 MHCC97H、HCCLM3 细胞迁移能力,统计迁移细胞数量

图 4 PIK3R1 下调抑制 MHCC97H、HCCLM3 细胞迁移和侵袭



\* 与 siRNA NC 组相比,  $P < 0.05$

①流式细胞仪检测细胞凋亡;②细胞凋亡量化

图 5 特异性 siRNA 下调 PIK3R1 表达增加 MHCC97H、HCCLM3 细胞系细胞凋亡

MHCC97H、HCCLM3 细胞,蛋白印迹检测结果显示 si-PIK3R1 组中 p-PI3K、p-蛋白激酶 B(Akt)、p-mTOR 的蛋白表达水平与 siRNA NC 组相比下调;表明 siRNA 可能是通过抑制 MHCC97H、HCCLM3 细胞中 p-PI3K、p-Akt、p-mTOR 表达抑制 PIK3R1(图 6)。

### 3 讨论

研究发现 PIK3R1 在各种肿瘤中异常表达,且与细胞增殖、侵袭能力增加和细胞凋亡减少有关<sup>[9]</sup>。虽然有研究证明 PIK3R1 在许多恶性肿瘤中作为致癌基因发挥作用,但其与 HCC 关系尚未完全阐明。本研究采用免疫组学、RT-qPCR 和蛋白印迹法准确检测 HCC 组织中 PIK3R1 表达水平,通过 2 个具有高转移潜能 HCC 细胞株探索 PIK3R1 在 HCC 疾病进程中可能的调节机制,发现 PIK3R1 蛋白和 mRNA 水平在多数人 HCC 组织中高表达,在相邻正常肝脏组织中则低表达,表明 PIK3R1 在人 HCC 发

生中有重要作用。

肿瘤生物学特征包括异常细胞分化和增殖,不受控制地生长、渗透和转移。癌症发生是一复杂过程,可分为肿瘤形成、生长和进展等 3 个过程<sup>[10]</sup>。此外,细胞凋亡作为生物过程关键部分,是一基因控制的细胞非依赖性死亡过程,是维持内部环境稳定的重要机制<sup>[11]</sup>。本研究发现 PIK3R1 在 6 个 HCC 细胞株中均有显著增加,尤其是 HCCLM3、MHCC97H 细胞株中表现出更高转移能力,因此 PIK3R1 可能促进肿瘤转移;进一步研究发现,与对照-siRNA 细胞相比,下调 PIK3R1 表达可抑制 HCCLM3、MHCC97H 细胞增殖和集落形成能力,也可抑制 HCC 细胞迁移并促进其凋亡,从而证实 PIK3R1 在 HCC 中具致癌作用。PIK3R1 下调导致 HCC 细胞生长受到抑制,可能与细胞周期 G2/M 期细胞停滞和细胞凋亡增强有关<sup>[12-13]</sup>。PI3K 是一种二聚体酶,由催化亚基(p110)和调节亚基(p85α)组成。编码 PIK3R1 的

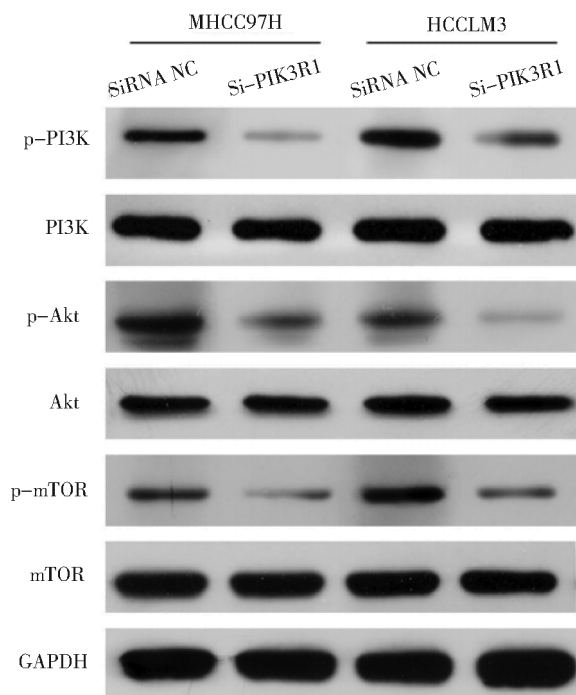


图 6 MHCC97H、HCCLM3 细胞中 PIK3R1 敲除下调 p-PI3K、p-Akt、p-mTOR 表达

p53 $\alpha$ , 是卵巢癌、结肠直肠癌和前列腺癌的致癌基因, 探索其在 HCC 中的作用可能为 PI3K/Akt 信号通路激活提供新证据<sup>[14-15]</sup>。以往研究表明 PIK3R1 沉默可抑制 Huh7 细胞增殖, 这与其它研究结果一致, 如 PIK3R 缺失或减少会损害 B 细胞发育和增殖, 延缓胚胎发育并抑制细胞黏附<sup>[16-17]</sup>。此外, 研究表明 PIK3R1 参与肾癌细胞上皮-间质转化<sup>[6]</sup>, 在肾癌中发挥着重要作用<sup>[18]</sup>。PIK3R1 通过 PI3K/Akt 信号转导通路参与乳腺癌迁移和侵袭<sup>[19]</sup>。因此, PIK3R1 可能是癌症治疗中一潜在靶标。

信号转导通路与包括 HCC 在内各种人类肿瘤发生和发展密切相关<sup>[20-21]</sup>。Akt 是 PI3K 下游主要效应物<sup>[22]</sup>。多种恶性肿瘤细胞如 HCC 中可检测到 Akt 异常表达<sup>[23-25]</sup>。mTOR 是非典型丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶, 是 Akt 下游效应蛋白 (effector), 其调节转录和蛋白合成, 并对肿瘤细胞生长和增殖具有重要影响<sup>[26-27]</sup>。然而, PIK3R1 是否可调节 HCC 细胞中 PI3K-Akt-mTOR 信号转导通路尚未见报道。本研究进一步显示 PIK3R1 降低明显下调 HCC 细胞中 p-PI3K、p-Akt、p-mTOR 表达, 表明 PIK3R1 敲低可抑制 HCC 中 PI3K/Akt/mTOR 信号通路。

本研究结论认为, PIK3R1 在多数 HCC 临床组织标本中表达显著上调, 沉默 PIK3R1 可抑制 HCC 细胞系增殖、迁移并加速凋亡, 可抑制 HCC 中

p-PI3K、p-Akt、p-mTOR 表达。PIK3R1 可能是未来 HCC 治疗的潜在靶点。

#### [参考文献]

- [1] 阙雪锋, 郑传胜, 熊 斌, 等. 单纯经典肝动脉化疗栓塞术治疗巴塞罗那 C 期肝癌的临床分析[J]. 介入放射学杂志, 2018, 27: 1182-1185.
- [2] 许 敏, 蒋天鹏, 宋 杰, 等. 明胶海绵颗粒在原发性肝癌灌注化疗栓塞中疗效观察[J]. 介入放射学杂志, 2018, 27: 1155-1159.
- [3] 任志忠, 刘 影, 岳元勋, 等. 明胶海绵微粒-TACE 治疗 15 例大肝癌术后外周血 Treg 细胞的变化及意义[J]. 介入放射学杂志, 2018, 27: 1151-1154.
- [4] Taniguchi CM, Emanuelli B, Kahn CR. Critical nodes in signalling pathways: insights into insulin action[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2006, 7: 85-96.
- [5] Fruman DA, Mauvais-Jarvis F, Pollard DA, et al. Hypoglycaemia, liver necrosis and perinatal death in mice lacking all isoforms of phosphoinositide 3-kinase p85  $\alpha$ [J]. Nat Genet, 2000, 26: 379-382.
- [6] Lin Y, Yang Z, Xu A, et al. PIK3R1 negatively regulates the epithelial-mesenchymal transition and stem-like phenotype of renal cancer cells through the AKT/GSK3  $\beta$ /CTNNB1 signaling pathway[J]. Sci Rep, 2015, 5: 8997.
- [7] Samuels Y, Wang Z, Bardelli A, et al. High frequency of mutations of the PIK3CA gene in human cancers[J]. Science, 2004, 304: 554.
- [8] Chikara S, Lindsey K, Borowicz P, et al. Enterolactone alters FAK-Src signaling and suppresses migration and invasion of lung cancer cell lines[J]. BMC Complement Altern Med, 2017, 17: 30.
- [9] Andrade VP, Morrogh M, Qin LX, et al. Gene expression profiling of lobular carcinoma in situ reveals candidate precursor genes for invasion[J]. Mol Oncol, 2015, 9: 772-782.
- [10] Jin H, Wu Y, Tan X. The role of pancreatic cancer-derived exosomes in cancer progress and their potential application as biomarkers[J]. Clin Transl Oncol, 2017, 19: 921-930.
- [11] Hassan M, Watari H, Abualmaaty A, et al. Apoptosis and molecular targeting therapy in cancer[J]. Biomed Res Int, 2014, 2014: 150845.
- [12] Zhuo ZJ, Xiao MJ, Lin HR, et al. Novel betulin derivative induces anti-proliferative activity by G (2)/M phase cell cycle arrest and apoptosis in Huh7 cells[J]. Oncol Lett, 2018, 15: 2097-2104.
- [13] Chen SL, Li F, Chai H, et al. miR-502 inhibits cell proliferation and tumor growth in hepatocellular carcinoma through suppressing phosphoinositide 3-kinase catalytic subunit gamma[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2015, 464: 500-505.
- [14] Philp AJ, Campbell IG, Leet C, et al. The phosphatidylinositol 3'-kinase p85 $\alpha$  gene is an oncogene in human ovarian and colon tumors[J]. Can Res, 2001, 61: 7426-7429.

- [15] Zhu Q, Youn H, Tang J, et al. Phosphoinositide 3-OH kinase p85 alpha and p110 beta are essential for androgen receptor transactivation and tumor progression in prostate cancers [J]. *Oncogene*, 2008, 27: 4569-4579.
- [16] Zheng Y, Yin L, Chen H, et al. miR-376a suppresses proliferation and induces apoptosis in hepatocellular carcinoma[J]. *FEBS Lett*, 2012, 586: 2396-2403.
- [17] Li T, Wan B, Huang J, et al. Comparison of gene expression in hepatocellular carcinoma, liver development, and liver regeneration[J]. *Mol Genet Genomics*, 2010, 283: 485-492.
- [18] Wang YD, Sun ZL. Effects of miR - 455 on PIK3R1 gene expression regulation and kidney cancer cell functions [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2017, 21: 3370-3376.
- [19] Yan LX, Liu YH, Xiang JW, et al. PIK3R1 targeting by miR-21 suppresses tumor cell migration and invasion by reducing PI3K/AKT signaling and reversing EMT, and predicts clinical outcome of breast cancer[J]. *Int J Oncol*, 2016, 48: 471-484.
- [20] Fruman DA, Chiu H, Hopkins BD, et al. The PI3K pathway in human disease[J]. *Cell*, 2017, 170: 605-635.
- [21] Fruman DA, Rommel C. PI3K and cancer: lessons, challenges and opportunities[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2014, 13: 140-156.
- [22] Lien EC, Dibble CC, Toker A. PI3K signaling in cancer: beyond AKT[J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2017, 45: 62-71.
- [23] Clark AR, Toker A. Signalling specificity in the Akt pathway in breast cancer[J]. *Biochem Soc Trans*, 2014, 42: 1349-1355.
- [24] Gdowski A, Panchoo M, Treuren TV, et al. Emerging therapeutics for targeting Akt in cancer[J]. *Front Biosci (Landmark Ed)*, 2016, 21: 757-768.
- [25] Mundi PS, Sachdev J, Mccourt C, et al. AKT in cancer: new molecular insights and advances in drug development[J]. *Br J Clin Pharmacol*, 2016, 82: 943-956.
- [26] Guerrero-Zotano A, Mayer IA, Arteaga CL. PI3K/AKT/mTOR: role in breast cancer progression, drug resistance, and treatment [J]. *Cancer Metastasis Rev*, 2016, 35: 515-524.
- [27] Lien EC, Lyssiotis CA, Cantley LC. Metabolic reprogramming by the PI3K - Akt - mTOR pathway in cancer [J]. *Recent Results Cancer Res*, 2016, 207: 39-72.

(收稿日期:2019-01-30)

(本文编辑:边 皓)

欢迎投稿 欢迎订阅 欢迎刊登广告

《Journal of Interventional Medicine》

网址: [www.keaipublishing.com/JIM](http://www.keaipublishing.com/JIM)

邮箱: [j\\_intervent\\_med.@163.com](mailto:j_intervent_med.@163.com)