

doi: 10.3872/j.issn.1007-385X.2013.01.012

· 基础研究 ·

腺病毒介导 *PTEN* 过表达抑制人脑胶质瘤 U251 细胞裸鼠移植瘤的生长

郑克彬, 刘海鹏, 单小松, 李志红, 李春晖, 方川(河北大学附属医院 神经外科, 河北保定 071000)

[摘要] **目的:** 研究含第 10 号染色体同源丢失性磷酸酶-张力蛋白(phosphatase and tensin homologue deleted on chromosome 10, *PTEN*) 基因的重组腺病毒(Ad-*PTEN*-GFP)对人胶质瘤 U251 细胞裸鼠移植瘤生长的抑制作用。**方法:** 于裸鼠背部注射人脑胶质瘤 U251 细胞, 建立胶质瘤裸鼠移植瘤模型。荷瘤裸鼠随机分为 3 组进行治疗: Ad-*PTEN*-GFP 组, Ad-GFP 组(空载体组)及 PBS 组(空白组), 观察 3 组裸鼠移植瘤的生长, 测量肿瘤体积, 绘制肿瘤生长曲线, 并观察荷瘤裸鼠的生存时间。采用 TUNEL 法检测移植瘤组织中细胞凋亡的情况, 采用免疫组化法检测移植瘤组织中 *PTEN* 及 P65 蛋白的表达。**结果:** 与 Ad-GFP 组相比, Ad-*PTEN*-GFP 组移植瘤的生长受到抑制, 肿瘤体积抑制率显著升高[$(82.5 \pm 12.7)\%$ vs $(7.2 \pm 1.3)\%$, $P < 0.05$], 荷瘤裸鼠生存时间延长[(103 ± 10) vs (58 ± 8) d, $P < 0.01$]; TUNEL 结果表明, Ad-*PTEN*-GFP 组与 Ad-GFP 组相比, 移植瘤细胞凋亡率明显增加[$(46.4 \pm 8.3)\%$ vs $(4.6 \pm 1.0)\%$, $P < 0.01$]; 免疫组化结果显示, Ad-*PTEN*-GFP 组与 Ad-GFP 组相比, 移植瘤组织中 *PTEN* 蛋白的阳性表达率增高(83.3% vs 0, $P < 0.01$), P65 蛋白阳性表达率下降(16.7% vs 66.7%, $P < 0.01$)。**结论:** 感染 Ad-*PTEN*-GFP 后人脑胶质瘤 U251 细胞裸鼠移植瘤的生长受到抑制, 其机制可能与 P65 蛋白表达的下调有关。

[关键词] 胶质瘤; U251 细胞; 10 号染色体同源丢失性磷酸酶-张力蛋白(*PTEN*); P65; 凋亡; 重组腺病毒载体

[中图分类号] R739.41; R730.5

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2013)01-0070-05

Adenovirus-mediated over-expression of *PTEN* inhibits the growth of human glioma U251 cell xenografts in nude mice

Zheng Kebin, Liu Haipeng, Shan Xiaosong, Li Zhihong, Li Chunhui, Fang Chuan (Department of Neurosurgery, Affiliated Hospital of Hebei University, Baoding 071000, Hebei, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the inhibitory effect of recombinant adenovirus (Ad-*PTEN*-GFP) containing phosphatase and tensin homologue deleted on chromosome 10 (*PTEN*) gene on the growth of human glioma U251 cell xenografts in nude mice. **Methods:** Human glioma U251 cells were injected under the skin of the dorsum to establish a nude mouse glioma model. The tumor-bearing nude mice were randomly divided into three groups: Ad-*PTEN*-GFP group, Ad-GFP group (empty vector group) and PBS group (blank group). The growth of tumor xenografts in nude mice of the three groups was observed. The tumor volumes were measured, the tumor growth curves were drawn and the survival time of the nude mice bearing tumors was observed. The cell apoptosis of tumor cells was detected by TUNEL assay, and the expressions of *PTEN* and P65 proteins in tumor tissues were detected by immunohistochemical assay. **Results:** Compared with the Ad-GFP group, the growth of glioma cell xenografts in the Ad-*PTEN*-GFP group was inhibited with tumor volume inhibition rate increasing significantly ($[82.5 \pm 12.7]\%$ vs $[7.2 \pm 1.3]\%$, $P < 0.05$), and the survival time of tumor-bearing nude mice was prolonged ($[103 \pm 10]$ vs $[58 \pm 8]$ d, $P < 0.01$). TUNEL assay results showed that the apoptotic rate of glioma cells was significantly increased ($[46.4 \pm 8.3]\%$ vs $[4.6 \pm 1.0]\%$, $P < 0.01$). Immunohistochemical assay results showed that the positive expression rate of *PTEN* protein was increased in the Ad-*PTEN*-GFP group compared with the Ad-GFP group

[基金项目] 河北省自然科学基金资助项目(No. 2012201136); 河北大学医学学科专项资金资助项目(No. 2012B2004)。Project supported by the Natural Science Foundation of Hebei Province (No. 2012201136), and the Medical Science Special Foundation of Hebei University (No. 2012B2004)

[作者简介] 郑克彬(1982-), 男, 河北省保定市人, 博士, 主要从事脑胶质瘤分子病理及基因方面的研究。E-mail: zhengkebin@yahoo.com

[通信作者] 郑克彬(Zheng Kebin, corresponding author), E-mail: zhengkebinzkb@163.com

(83.3% vs 0, $P < 0.01$), and the positive expression rate of P65 protein was decreased (16.7% vs 66.7%, $P < 0.01$). **Conclusion:** The growth of human glioma U251 cell xenografts in nude mice is suppressed after Ad-*PTEN*-GFP infection, which may be related with the down-regulation of P65 protein expression.

[**Key words**] glioma; U251cell; *PTEN*; P65; apoptosis; recombinant adenovirus vector

[Chin J Cancer Biother, 2013, 20(1): 70-74]

脑胶质瘤作为人类最常见的原发性颅内肿瘤,约占成人颅内原发肿瘤的30%~50%,有很高的发病率和病死率,近年来发病率还有不断增加的趋势。基因治疗作为治疗肿瘤的一种新手段,正愈来愈受到人们的重视和关注。第10号染色体同源丢失性磷酸酶-张力蛋白(phosphatase and tensin homologue deleted on chromosome 10, *PTEN*)基因是新近发现的一个具有双特异性的抑癌基因,在胶质瘤细胞中表达缺失。*PTEN*信号转导途径通过调控许多下游凋亡相关基因(如 *NF- κ B* 等)的表达促进细胞凋亡。为了进一步探讨胶质瘤的临床基因治疗,本研究采用携带 *PTEN* 的腺病毒载体导入人胶质瘤裸鼠移植瘤中,观察 *PTEN* 基因对人胶质瘤裸鼠移植瘤生长的影响,以期对胶质瘤的基因治疗寻找新的靶点。

1 材料与方法

1.1 细胞株及主要试剂

人脑胶质瘤细胞株 U251 购自中国科学院上海细胞生物研究所,用含10%小牛血清、100 U/ml 青霉素和0.1 mg/ml 链霉素的 DMEM 培养液,在37 °C、5% CO₂ 条件下培养。取对数生长期的单层培养细胞,用胰蛋白酶对细胞进行消化,分离成单细胞悬液,进行常规传代。Ad-*PTEN*-GFP 为本实验室构建^[1]。DMEM 培养液购自美国 Gibco 公司,胰蛋白酶购自美国 Sigma 公司, TUNEL 细胞凋亡原位检测试剂盒购自南京凯基生物科技发展公司,鼠抗人 *PTEN* 及鼠抗人 P65 抗体购自美国 Santa Cruz 公司。BALB/c-nu 雌性裸鼠,体重(16 ± 2)g,4 周龄,购于中国医学科学院实验动物中心[动物合格证号为:SYXK(沪)2009-0007],饲养于无特定病原体(specific pathogen free, SPF)级环境。

1.2 U251 细胞荷瘤裸鼠皮下移植瘤模型的建立

将30只 BALB/c-nu 裸鼠随机分为3组,每组10只,收集对数增长期的 U251 细胞用无血清的 DMEM 洗涤,调整细胞密度至 7×10^6 /ml,严格无菌操作,在超净工作台内以裸鼠背部为注射部位,每只

裸鼠注射0.1 ml 细胞悬液,构建荷瘤裸鼠皮下移植瘤模型。一周后开始治疗,将30只裸鼠随机分为3组,每组10只:(1)PBS组(空白对照组),瘤体内注射 PBS;(2)Ad-GFP 组(空载体组),瘤体内注射 Ad-GFP;(3)Ad-*PTEN*-GFP 组(转染 *PTEN* 基因组),瘤体内注射 Ad-*PTEN*-GFP。3组均每次注射0.5 ml,腺病毒滴度为 1×10^{11} pfu/ml。裸鼠背部移植瘤体内注射 Ad-*PTEN*-GFP 悬液5次,每次间隔5 d。每5 d 用游标卡尺测量肿瘤的最长径(a)和短径(b),计算肿瘤体积: $V = ab^2 \times 0.5$,根据肿瘤体积和生长时间绘制肿瘤生长曲线。每组剩余4只裸鼠进行常规饲养,每天观察肿瘤生长情况和裸鼠的一般状况,直至裸鼠发生恶病质死亡,计算每组荷瘤裸鼠的平均生存时间。

1.3 TUNEL 法检测肿瘤组织中细胞凋亡

将取出的肿瘤组织固定,石蜡包埋及按4 μm 切片,其余步骤按 TUNEL 检测试剂盒说明书操作。将石蜡切片脱蜡至水,3% 甲醇-过氧化氢10 min 去除内源性过氧化物酶,切片经二甲苯脱蜡,梯度乙醇水化;加入 H₂O₂ 封闭30 min;20 mg/L 蛋白酶 K 消化液作用20 min;TUNEL 反应液,37 °C 孵育60 min;过氧化物酶连接的抗荧光精抗体,37 °C 孵育30 min;DAB 显色,苏木素复染,脱水透明,封片。检测肿瘤组织的细胞凋亡情况,每张切片随机选取5个高倍视野(×400),计数每500个细胞中 TUNEL 阳性细胞数。凋亡指数(apoptotic index, AI)(%) = 阳性细胞数(n)/观察总细胞数(n) × 100%。

1.4 免疫组化法检测 *PTEN* 及 P65 蛋白的表达

将石蜡切片脱蜡至水,3% 甲醇-过氧化氢作用10 min 去除内源性过氧化物酶,pH6.0 的柠檬酸修复液抗原修复10 min,室温血清封闭20 min,*PTEN* 及 P65 抗体(稀释比1:200)湿盒中4 °C 冰箱过夜(以 PBS 替代一抗作为阴性对照),滴加生物素标记的二抗-链霉菌抗生物素-过氧化物酶溶液,室温湿盒内孵育各1 h,DAB 显色,苏木精复染,常规脱水,封片。

结果判定:胞核和(或)胞质棕黄色者为阳性细胞。显微镜下细胞计数,每张切片上随机选5个视野,每个标本计数3张切片,按 Di Cristofano 等提供

的方法,从以下两个方面进行评分判断:(1)阳性着色:无色 0 分,淡黄色 1 分,棕黄色 2 分,黄褐色 3 分;(2)阳性细胞数:5 个高倍视野在每张切片上计算 1 000 个以上瘤细胞,阳性细胞数 10% ~ 25% 为 1 分、26% ~ 50% 为 2 分、51% ~ 100% 为 3 分。两种评分数相乘,得分 3 分以下为阴性(-),3 分为弱阳性(+),4 分以上为强阳性(++)。

1.5 统计学处理

采用 SPSS13.0 软件包,数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用方差分析,如方差不齐则采用秩和检验;生存期比较采用生存分析。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 Ad-PTEN-GFP 腺病毒高效感染 U251 细胞

Ad-PTEN-GFP 腺病毒感染胶质瘤 U251 细胞后,U251 细胞在第 3 天达到最高感染率。当感染复数(multiplicity of infection, MOI)为 100 时,荧光显微镜镜下显示,U251 细胞 24 h 荧光表达率为(84 ± 11)%、48 h 荧光表达率为(94 ± 13)%、72 h 荧光表达率为(98 ± 12)%、3 组荧光表达率均高于 80% (图 1)。结果提示,Ad-PTEN 腺病毒对 U251 细胞具有较高的感染效率,符合基因治疗对载体的要求。

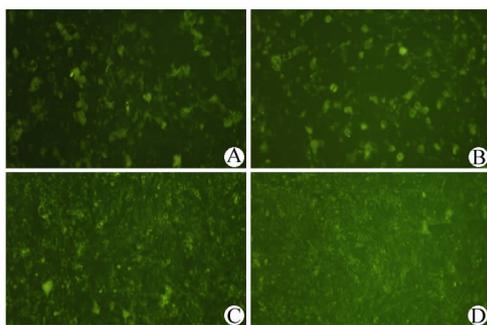


图 1 Ad-PTEN-GFP 感染 U251 细胞后绿色荧光蛋白的表达(×100)

Fig. 1 Expression of green fluorescent protein in U251 cells after Ad-PTEN-GFP infection (×100)

A: Control; B: 24 h; C: 48 h; D: 72 h

2.2 Ad-PTEN-GFP 抑制裸鼠 U251 细胞移植瘤的生长,延长荷瘤裸鼠的生存期

Ad-PTEN-GFP 治疗期间各组裸鼠的移植瘤体积不断增加,Ad-PTEN-GFP 组肿瘤生长明显变慢,体积较 Ad-GFP 组减小,Ad-PTEN-GFP 治疗 6 周后肿瘤体积抑制率与 Ad-GFP 组相比显著升高

[(82.5 ± 12.7)% vs (7.2 ± 1.3)%, $P < 0.05$; 图 2]。PBS 组及 Ad-GFP 治疗组裸鼠肿瘤生长迅速,生存状态较差,均在接种 U251 细胞后 30 ~ 74 d 内相继死亡,PBS 组和 Ad-GFP 治疗组裸鼠的平均生存时间分别为(54 ± 7)d 和(58 ± 8)d,差异无统计学意义($P < 0.05$)。Ad-PTEN-GFP 治疗组荷瘤裸鼠的生存状态好于 PBS 组和 Ad-GFP 组,Ad-PTEN-GFP 治疗组肿瘤生长缓慢,直至接种 U251 细胞后 120 d,仍有 2 只裸鼠存活,平均生存时间(103 ± 10)d,其生存时间比 Ad-GFP 组显著延长[(103 ± 10) vs (58 ± 8)d, $P < 0.01$; 图 3]。结果显示,Ad-PTEN-GFP 能够抑制裸鼠移植瘤的生长,延长移植瘤裸鼠的生存期。

2.3 Ad-PTEN-GFP 促进荷瘤裸鼠移植瘤组织细胞的凋亡

细胞凋亡的组织切片中 TUNEL 阳性染色主要集中于细胞核。结果(图 4)显示,PBS 治疗组凋亡率为(2.7 ± 0.5)%, Ad-GFP 治疗组凋亡率为(4.6 ± 1.0)%,两组之间表达无统计学差异($P > 0.05$),而 Ad-PTEN-GFP 治疗组凋亡率为(46.4 ± 8.3)%,显著高于 Ad-GFP 治疗组移植瘤细胞凋亡率[(46.4 ± 8.3)% vs (4.6 ± 1.0)%, $P < 0.01$]。结果说明,Ad-PTEN-GFP 可显著促进裸鼠移植瘤细胞的凋亡。

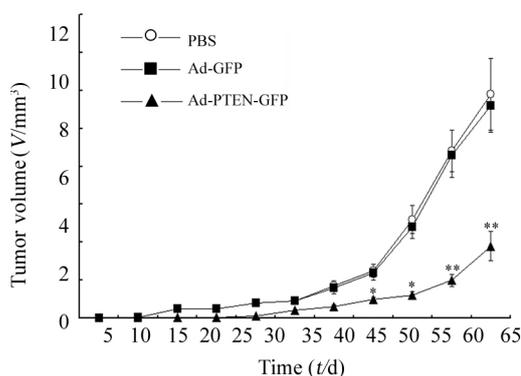


图 2 Ad-PTEN-GFP 抑制 U251 裸鼠移植瘤的生长

Fig. 2 Ad-PTEN-GFP inhibited the growth of U251-implanted tumors in nude mice

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs PBS or Ad-GFP group

2.4 Ad-PTEN-GFP 感染抑制 U251 裸鼠移植瘤细胞中 PTEN 及 P65 蛋白的表达

免疫组化结果显示,PTEN 及 P65 蛋白主要表达于细胞核,偶有胞质表达,着色后成棕黄色、棕褐

色颗粒。Ad-PTEN-GFP 治疗组中 *PTEN* 的表达较 Ad-GFP 组明显增高 (83.3% vs 0, $P < 0.01$; 图 5、表 1), *P65* 的表达明显降低 (16.7% vs 66.7%, $P < 0.05$; 图 5、表 1)。结果提示, Ad-PTEN-GFP 感染后移植瘤中 *PTEN* 蛋白水平显著提高, 同时, *P65* 蛋白的表达水平受到显著抑制。

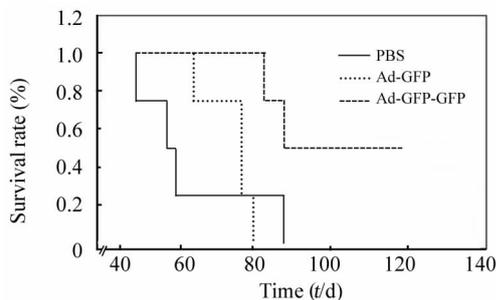


图 3 Ad-PTEN-GFP 延长 U251 移植瘤裸鼠的生存期

Fig. 3 Ad-PTEN-GFP prolonged the survival time of the nude mice with U251-implanted tumors

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs PBS or Ad-GFP group

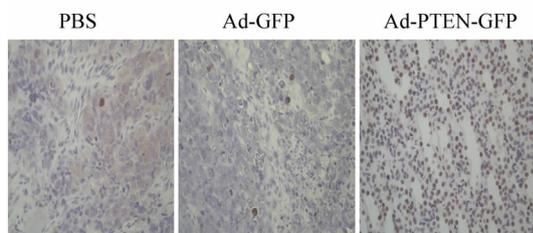


图 4 Ad-PTEN-GFP 促进裸鼠 U251 移植瘤细胞的凋亡 (×400)

Fig. 4 Ad-PTEN-GFP promoted apoptosis of U251-implanted tumor cells in nude mice (×400)

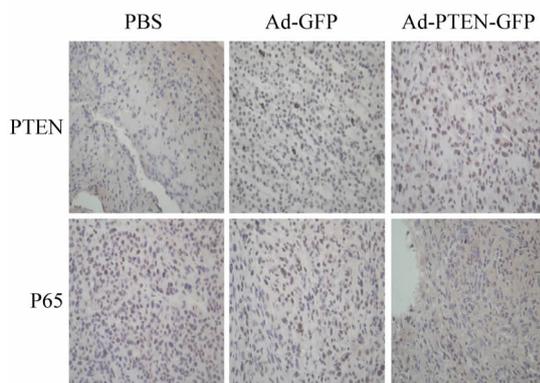


图 5 Western blotting 检测 U251 移植瘤组织中 *PTEN* 及 *P65* 蛋白的表达 (×400)

Fig. 5 Expressions of *PTEN* and *P65* proteins in U251-implanted tumors detected by Western blotting (×400)

表 1 Ad-PTEN-GFP 对裸鼠 U251 移植瘤中 *PTEN* 及 *P65* 蛋白表达的影响

Tab. 1 Effect of Ad-PTEN-GFP on expressions of *PTEN* and *P65* proteins in U251-implanted tumors in nude mice

Groups	n	<i>PTEN</i>			<i>P65</i>		
		-	+	++	-	+	++
PBS	6	0	6	0	0	2	4
Ad-GFP	6	0	5	1	0	3	3
Ad-PTEN-GFP	6	0	1	5**	1	4	1*

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs Ad-GFP group

3 讨论

PTEN 蛋白是一种新型肿瘤抑制基因的编码蛋白, 可通过阻止细胞的癌变, 发挥其抑癌作用^[2]。如果 *PTEN* 基因发生突变或丧失了抑癌活性, 则细胞会进行无限分裂, 最终形成肿瘤^[3]。研究^[4-5]表明, *PTEN* 基因变异和胶质瘤的发生以及恶性转化密切相关。人脑恶性胶质瘤有高比例的 *PTEN* 基因杂合性缺失和基因内点突变^[6]。该结果符合 *PTEN* 作为肿瘤细胞浸润和转移的重要负性调节因子的作用。

目前研究^[7]已证实, 野生型 *PTEN* 基因在体外可诱导胶质瘤细胞系的凋亡, 而体内动物实验可以使肿瘤生长环境更接近于临床实际。当今基因治疗载体运用最多最广泛的就是腺病毒 (adenovirus, Ad) 载体, 它是一种比较安全, 高效的载体^[8]。本课题首先证实了携带 *PTEN* 基因的腺病毒 Ad-PTEN-GFP 体外可有效感染胶质瘤细胞。随之建立了胶质瘤 U251 细胞裸鼠移植瘤模型, 通过将 Ad-PTEN-GFP 直接注射入裸鼠荷瘤模型, 使其感染肿瘤细胞。结果发现, Ad-PTEN-GFP 能明显抑制胶质瘤细胞裸鼠移植瘤的生长, TUNEL 法亦证实, Ad-PTEN-GFP 可诱导裸鼠移植瘤细胞发生凋亡, 但目前凋亡的具体机制仍不明确^[9]。*PTEN* 高表达能够降低裸鼠致瘤性的原因可能与很多因素相关^[10]。研究^[11-13]表明, *PTEN* 基因可抑制 PI3K/Akt/NF- κ B 信号转导通路, 并以此通路为核心, 与多种信号转导通路相互联系、相互作用, 通过对下游多种信号分子的调控, 在细胞增殖、凋亡中发挥重要的生物学功能^[14-18]。转录因子 NF- κ B 作为 PI3K/Akt 下游信号转导分子, 可以被 p-Akt 激活, 与肿瘤细胞的增殖、凋亡密切相关^[19]。在实体肿瘤中, *PTEN* 可以直接阻断细胞因子诱发的 NF- κ B 激活, 还可以通过减少 I- κ B 的降解, 使 NF- κ B 牢固结合于 NF- κ B/I- κ B 复合体, 从而

抑制 NF- κ B 通路活化引起的促肿瘤细胞增殖和抑制肿瘤细胞凋亡的作用^[20-21]。本实验证实, 将 Ad-PTEN-GFP 直接注射入荷瘤小鼠肿瘤组织中后, 肿瘤细胞内 PTEN 蛋白水平明显增高, 并抑制了 NF- κ B/P65 的核转位, 从而促进肿瘤细胞凋亡, 能减慢肿瘤细胞的增殖, 延长荷瘤裸鼠的生存期。

总之, Ad-PTEN-GFP 治疗胶质瘤裸鼠模型实验取得初步成效, 为以后临床 Ad-PTEN-GFP 治疗脑胶质瘤提供一定实验依据。随着对 PTEN 作用机制以及脑胶质瘤分子遗传学研究的深入, PTEN 有可能成为胶质瘤基因治疗的新靶点。

[参 考 文 献]

- [1] Eitel JA, Bijangi-Vishehsaraei K, Saadatzadeh MR, et al. PTEN and p53 are required for hypoxia induced expression of maspin in glioblastoma cells [J]. *Cell Cycle*, 2009, 8(6): 896-901.
- [2] Li HF, Keeton A, Vitolo M. A High-throughput screen with isogenic PTEN^{+/+} and PTEN^{-/-} cells identifies CID1340132 as a novel compound that induces apoptosis in PTEN and PIK3CA mutant human cancer cells [J]. *J Biomol Screen*, 2011, 16(4): 383-393.
- [3] Myers MP, Stolarov JP, Eng C, et al. PTEN, the tumor suppressor from human chromosome 10q23, is a dual-specificity phosphatase [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1997, 94(17): 9052-9057.
- [4] Korshunov A, Sycheva R, Golanov A. The prognostic relevance of molecular in glioblastomas for patients age < 50 years [J]. *Cancer*, 2005, 104(4): 825-832.
- [5] Furukawa K, Kumon Y, Harada H, et al. PTEN gene transfer suppresses the invasive potential of human malignant gliomas by regulating cell invasion-related molecules [J]. *Int J Oncol*, 2006, 29(1): 73-81.
- [6] Terakawa Y, Agnihotri S, Golbourn B, et al. The role of drebrin in glioma migration and invasion [J]. *Exp Cell Res*, 2012, 14(12): 454-455.
- [7] Yamada KM, Araki M. Tumor suppressor PTEN: Modulator of cell signaling, growth, migration and apoptosis [J]. *Cell Sci*, 2001, 114(23): 2375-2382.
- [8] Ko MS, Jung JY, Shin IS, et al. Effects of expanded human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells on the viability of cry preserved fat grafts in the nude mouse [J]. *Med Sci*, 2011, 8(3): 231-238.
- [9] Cheung CH, Cheng L, Chang KY, et al. Investigations of survivin: The past, present and future [J]. *Front Biosci*, 2011, 16: 952-961.
- [10] Abounader R. Interactions between PTEN and receptor tyrosine kinase pathways and their implications for glioma therapy [J]. *Expert Rev Anticancer Ther*, 2009, 9(2): 235-245.
- [11] Gozzelino R, Sole C, Llecha N, et al. BCL-XL regulates TNF-alpha-mediated cell death independently of NF-kappaB, FLIP and IAPs [J]. *Cell Res*, 2008, 18(10): 1020-1036.
- [12] Rodak R, Kubota H, Ishihara H, et al. Induction of reactive oxygen intermediates-dependent programmed cell death in human malignant *ex vivo* glioma cells and inhibition of the vascular endothelial growth factor production by taurolidine [J]. *J Neurosurg*, 2005, 102(6): 1055-1068.
- [13] Saito Y, Swanson X, Mhashilkar AM, et al. Adenovirus-mediated transfer of the PTEN gene inhibits human colorectal cancer growth *in vitro* and *in vivo* [J]. *Gene Ther*, 2003, 10(23): 1961-1969.
- [14] LoPiccolo J, Granville CA, Gills JJ, et al. Targeting Akt in cancer therapy [J]. *Anticancer Drugs*, 2007, 18(8): 861-874.
- [15] Shaffrey ME, Farace E, Schiff D, et al. The Ki-67 labeling index as a prognostic factor in Grade II oligoastrocytomas [J]. *J Neurosurg*, 2005 102(6): 1033-1039.
- [16] Cheung HC, Corley LJ, Fuller GN, et al. Polypyrimidine tract binding protein and Notch1 are independently re-expressed in glioma [J]. *Mod Pathol*, 2006 19(8): 1034-1041.
- [17] Dong H, Luo L, Hong S, et al. Integrated analysis of mutations, miRNA and mRNA expression in glioblastoma [J]. *BMC Syst Biol*, 2010, 29(4): 163-182.
- [18] Lopiccolo J, Ballas MS, Dennis PA. PTEN hamartomatous tumor syndromes (PHTS): Rare syndromes with great relevance to common cancers and targeted drug development [J]. *Rev Oncol Hematol*, 2007, 63(3): 203-214.
- [19] Lima FR, Kahn SA, Soletti RC, et al. Glioblastoma: Therapeutic challenges, what lies ahead [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2012, 1826(12): 338-349.
- [20] Zhao X, Laver T, Hong SW, et al. An NF-kappa B P65-cIAP2 link is necessary for mediating resistance to TNF-alpha induced cell death in gliomas [J]. *J Neurooncol*, 2011, 10(1): 198-208.
- [21] Chen JH, Huang SM, Chen CC, et al. Ghrelin induces cell migration through GHS-R, CaMKII, AMPK, and NF-kB signaling pathway in glioma cells [J]. *J Cell Biochem*, 2011, 112(10): 2931-2941.

[收稿日期] 2012-09-27

[修回日期] 2012-11-24

[本文编辑] 周玲琳

《中国肿瘤生物治疗杂志》欢迎投稿、欢迎订阅