

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2019.03.006

· 基础研究 ·

EYA1 通过调控 PTEN/PI3K/AKT 信号通路抑制胃癌 SGC-7901 细胞的恶性生物学行为

朱红亚¹, 罗子俨^{2Δ}, 李平昂², 刘佳佳²(1. 德阳市第二人民医院 普外科, 四川 德阳 618000; 2. 陆军军医大学附属西南医院 全军普通外科中心, 重庆 400038)

[摘要] **目的:**探讨 EYA1(eyes absent 1)通过调控 PTEN/PI3K/AKT 信号通路抑制胃癌 SGC-7901 细胞的恶性进展及其相关机制。**方法:**收集 2016 年 6 月至 2018 年 6 月陆军军医大学附属西南医院全军普通外科中心 29 例胃癌组织及其癌旁组织标本,采用 Wb 和 qPCR 实验检测胃癌组织和癌旁组织中 EYA1 mRNA 和蛋白的表达水平。人胃癌细胞株 SGC-7901 培养完成后,采用过表达 EYA1 质粒或 siRNA 干扰质粒转染胃癌 SGC-7901 细胞;分别采用 MTT、流式细胞术、划痕愈合和 Transwell 实验检测胃癌 SGC-7901 细胞的增殖、凋亡、迁移和侵袭能力。**结果:**胃癌组织中 EYA1 mRNA 和蛋白表达水平较癌旁组织均明显降低($P<0.01$);过表达 EYA1 可明显提高 SGC-7901 细胞的增殖、迁移和侵袭能力(均 $P<0.05$)、抑制细胞凋亡($P<0.05$)。过表达 EYA1 可明显促进 PTEN 的表达、抑制 PI3K/AKT 通路的激活(均 $P<0.05$ 或 $P<0.01$);但在 PTEN 干扰后以上作用均受到了明显抑制(均 $P<0.05$ 或 $P<0.01$)。**结论:**EYA1 可通过促进 PTEN 的表达抑制 PI3K/AKT 信号通路,从而抑制胃癌 SGC-7901 细胞的恶性生物学行为。

[关键词] EYA1; PTEN/PI3K/AKT 信号通路;胃癌;SGC-7901 细胞;增殖;凋亡;迁移;侵袭
[中图分类号] R735.2; R392.11 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2019)03-0287-06

EYA1 inhibits malignant biological behavior of gastric cancer SGC-7901 cells by regulating PTEN/PI3K/AKT signaling pathway

ZHU Hongya¹, LUO Ziyang^{2Δ}, LI Ping'ang², LIU Jijia²(1. Department of General Surgery, the Second People's Hospital of Deyang City, Deyang 618000, Sichuan, China; 2. General Surgery Center, Southwest Hospital Affiliated to Military Medical University, Chongqing 400038, China)

[Abstract] **Objective:**To explore the mechanism of EYA1 (eyes absent 1) inhibiting the malignant progression of gastric cancer SGC-7901 cells through regulating PTEN/PI3K/AKT signaling pathway. **Methods:** Twenty-nine pairs of gastric cancer tissues and para-cancerous tissues collected at the General Surgery center, Southwest Hospital Affiliated to Military Medical University during June 2016 and June 2018 were used in this study. Wb and RT-PCR assays were used to test the mRNA and protein expressions of EYA1 in gastric cancer tissues and the paired para-cancerous tissues; Transfection with plasmid or siRNAs were used to up-regulate or down-regulate EYA1 or PTEN expression in gastric cancer SGC-7901 cells; MTT, Flow Cytometry, Wound Healing and Transwell assays were carried out to detect cell proliferation, apoptosis, metastasis and invasion abilities, respectively. **Results:** EYA1 expression was decreased in gastric cancer tissues as compared with the para-cancerous tissues at both mRNA and protein levels ($P<0.01$); EYA1 over-expression significantly enhanced the proliferation, metastasis and invasion of SGC-7901 cells (all $P<0.05$), and inhibited cell apoptosis ($P<0.05$); moreover, its over-expressionsignificantly increased the expression of PTEN, and inhibited the activation of PI3K/AKT pathway (all $P<0.05$ or $P<0.01$). However, the above effects mediated by EYA1 up-regulation were significantly impaired after the knockout of PTEN (all $P<0.05$ or $P<0.01$). **Conclusion:** EYA1 can inhibit the malignant progression of gastric cancer SGC-7901 cells through promoting the expression of PTEN and activating PI3K/AKT pathway.

[Key words] eyes absent 1 (EYA1); PTEN/PI3K/AKT signaling pathway; gastric cancer; SGC-7901 cell; proliferation; apoptosis; migration; invasion

[Chin J Cancer Biother, 2019, 26(3): 287-292. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2019.03.006]

[基金项目] 西部战区军事医学科技创新计划资助项目(No.SWH2016JCYB-48)。Project supported by the Military Medical Science and Technology Innovation Program in Western War Zone(No.SWH2016JCYB-48)

[作者简介] 朱红亚(1975-),男,学士,副主任医师,主要从事消化道肿瘤治疗的研究,E-mail:270415061@qq.com;罗子俨(1982-),博士,主治医师,主要从事消化道肿瘤治疗的研究,E-mail:2482522345。Δ共同第一作者

[通信作者] 刘佳佳(LIU Jijia, corresponding author),博士,主治医师,主要从事胃肠肿瘤外科治疗的研究,E-mail:15213352744@qq.com

胃癌是世界范围内的一种常见的恶性肿瘤,是造成癌症死亡的第二大常见原因。根据国际癌症研究机构的统计数据^[1],2012年全球胃癌新发病例数约为95.1万例,在恶性肿瘤中发病率排第5位;病死病例数约为72.3万例,排第3位。约50%的病例发生在亚洲东部,而中国是胃癌的主要发病地^[2]。未出现转移的患者经手术治疗后5年生存率可达90%,但晚期胃癌患者的5年生存率仅为20%^[3-4]。因此,探究胃癌发生发展的相关分子机制,找到胃癌早期诊断的标记分子对于改善患者的预后和治疗十分重要。有研究^[5-6]显示,转录因子EYA1(eyes absent 1)因同时具有转录活性和磷酸酶活性而在多种生物进程中发挥重要作用,如个体发育、DNA修复、细胞生长及肿瘤转移等。EMMANUEL等^[7]研究发现,EYA1在胃癌组织中低表达,且其表达水平同肿瘤大小、淋巴结和远处转移发生率显著负相关,表明EYA1的低表达与肿瘤恶性进展相关,但EYA1在胃癌进展中的作用及相关机制鲜有报道。本研究主要探讨EYA1对胃癌细胞生长、凋亡、迁移和侵袭的影响及其作用机制,为临床治疗提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 主要试剂

人胃癌细胞系SGC-7901购自美国模式培养细胞库(American Type Culture Collection, ATCC)。细胞培养基及胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)购自美国Gibco公司,Lipofectamine™ 2000转染试剂及青霉素/链霉素购自美国Invitrogen公司,EYA1过表达质粒(pCMV6-EYA1, No. SC336314)及其对照载体(pCMV6-NC)购自美国OriGene公司,EYA1基因的小干扰RNA(small interfering RNAs, siRNA-EYA1, 简称为si-EYA1)及si-NC购自美国OriGene公司,si-PTEN及其对照由上海吉马生物科技有限公司设计并合成,MTT试剂购自北京索莱宝生物公司,Annexin V-FITC/PI试剂盒购自美国BD Bioscience公司,Transwell(8 mm)购自美国康宁公司,RNA提取试剂盒、逆转录试剂盒及qPCR试剂盒购自北京全式金生物有限公司,qPCR引物由北京华大生物公司合成,相关一抗及二抗购自美国Cell Signaling Technology公司。

1.2 临床资料

收集2016年6月至2018年6月陆军军医大学附属西南医院全军普通外科中心29例胃癌组织及其癌旁组织标本。患者TNM分期按照美国癌症联合委员会(AJCC)第7版的胃癌指南进行分期:II期10例、III期15例,IV期4例。所有患者术后病理均证实为胃

腺癌,未合并其他部位肿瘤及术前未接受针对肿瘤的放化疗。本研究本人或家属均已签署知情同意书,并经过医院伦理委员会的批准。

1.3 过表达和干扰EYA1质粒对SGC-7901细胞转染

SGC-7901细胞培养于由89%的RPMI 1640培养基、10%FBS及1%双抗组成的培养基中。待细胞汇合度达到90%左右时胰酶消化细胞进行传代。SGC-7901接种于6孔板中,待细胞汇合度达到50%~60%时采用Lipofectamine™ 2000将si-EYA1、si-NC、pCMV6-EYA1或pCMV6-NC转染入细胞中,6h后更换培养基。SGC-7901细胞转染si-EYA1、si-NC、pCMV6-EYA1或pCMV6-NC 48h后,收集各组细胞待测。

1.4 qPCR检测SGC-7901细胞中EYA1 mRNA的表达水平

按照RNA提取试剂盒说明书提取组织或细胞中总RNA,使用NanoDrop 2000对RNA进行定量,取1mg RNA按照相关说明将其逆转成cDNA,采用CFX96 Touch Real-Time PCR Detection System进行qPCR实验分析。EYA1-正向引物:5'-GGCGCAAAGCTGTTACCAA-3';EYA1-反向引物:5'-TCTGCTGCATCCACCAGTTT-3'。GAPDH-正向引物:5'-TGATGACAAGCTTCCCGTTCT-3';GAPDH-反向引物:5'-GTGAAGACGGGCGGAGAGAAA-3'。利用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 公式计算mRNA的相对表达量,GAPDH作为内参。实验重复3次。

1.5 Wb实验检测SGC-7901细胞中EYA1蛋白的表达水平

SGC-7901细胞转染si-EYA1、si-NC、pCMV6-EYA1、pCMV6-NC 48h后,收集细胞,Wb实验检测各组细胞中PTEN、PI3K、p-PI3K、AKT、p-AKT的蛋白表达水平,细胞中的蛋白采用RIPA裂解液于冰上进行提取,采用BCA试剂盒测定蛋白浓度后,按照30mg的剂量将蛋白样品加到10%聚丙烯酰胺凝胶中进行电泳,电泳后转膜,将膜用5%的脱脂牛奶进行封闭室温孵育1h,加一抗(1:500)4℃孵育过夜,洗膜后加相应的二抗(1:1000),然后用化学发光试剂盒检测杂交信号。采用ImageJ软件对蛋白进行定量分析。实验重复3次。

1.6 MTT法检测SGC-7901细胞增殖能力

分别于转染后1、2、3、4、5d的细胞中加入20ml MTT(5mg/ml)溶液,将其置于37℃培养箱中继续培养4h,然后小心吸取培养基并向每孔加入200ml DMSO溶液,37℃孵育10min后于酶标仪上检测570nm处的光密度(D)值。实验重复3次。

1.7 流式细胞术检测 SGC-7901 细胞凋亡情况

转染 48 h 后, 0.25% 胰酶消化细胞, 收集细胞, PBS 重悬后按照 Annexin V-FITC/PI 试剂盒相关说明进行 Annexin V 和 PI 染色, 然后上机检测, 随后应用 FlowJo7.6 进行数据分析, 结果判定, (AnnexinV-FITC)/PI⁻ 区域的细胞为坏死细胞, (AnnexinV + FITC)⁺/PI⁻ 区域的细胞为晚期凋亡细胞, (AnnexinV-FITC)⁺/PI⁺ 区域的细胞为早期凋亡细胞, (AnnexinV-FITC)/PI⁻ 区域的细胞为活细胞。实验重复 3 次。

1.8 划痕愈合实验检测 SGC-7901 细胞迁移能力

细胞转染 24 h 后, 胰酶消化细胞, 调整细胞密度为 5×10^5 /ml, 取 2 ml 细胞悬浮液加入 6 孔板中。待细胞融合度达到 100% 时, 用 20 ml 的 Tip 头垂直在细胞上划线; 将漂浮的细胞用 PBS 除去, 加入不含 FBS 的培养基, 拍照; 后将细胞放置于 37 °C 培养箱中继续培养 24 h, 于显微镜下观察细胞划痕愈合情况并拍照。实验重复 3 次。

1.9 Transwell 实验检测 SGC-7901 细胞侵袭能力

细胞转染 24 h 后, 胰酶消化细胞, 用不含 FBS 的培养基重悬细胞, 调整细胞密度为 2×10^5 /ml; 向 mate-

riel 基质胶包被的 Transwell 小室的上室加入 200 ml 细胞悬浮液, 同时向下室加入 600 ml 含 15% FBS 的细胞培养基, 避免下层培养液和小室间产生气泡; 随后将细胞置于 37 °C 培养箱中培养。48 h 后将 Transwell 膜弃去上清, 后用冷的无水甲醇室温固定 10 min, 空气干燥, 结晶紫染色 10 min, 后用棉签将上层细胞擦去, PBS 冲洗后于显微镜下观察并拍照, 计算侵袭细胞数。实验重复 3 次。

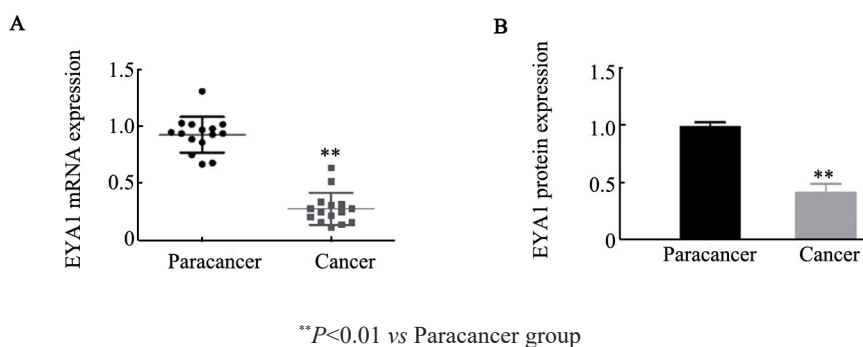
1.10 统计学处理

采用 SPSS 22.0 统计学软件和 Graphpad prism7.0 作图软件, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间比较采用 Student's-*t* 检验, 多组间比较采用单因素方差分析, 以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 胃癌组织中 EYA1 mRNA 和蛋白呈低水平表达

qPCR 检测结果显示, 25 例胃癌组织中样本中 EYA1 mRNA 表达水平较癌旁组织明显降低 ($P < 0.01$, 图 1A); Wb 检测结果显示, EYA1 蛋白表达水平在癌组织中明显降低 ($P < 0.01$, 图 1B)。



A: Detection of EYA1 mRNA expression in tissues by qPCR; B: Detection of EYA1 protein expression in tissues by Wb assay

图 1 EYA1 mRNA 和蛋白在胃癌组织中呈低水平表达

Fig. 1 Low expression of EYA1 mRNA and protein in gastric cancer tissues

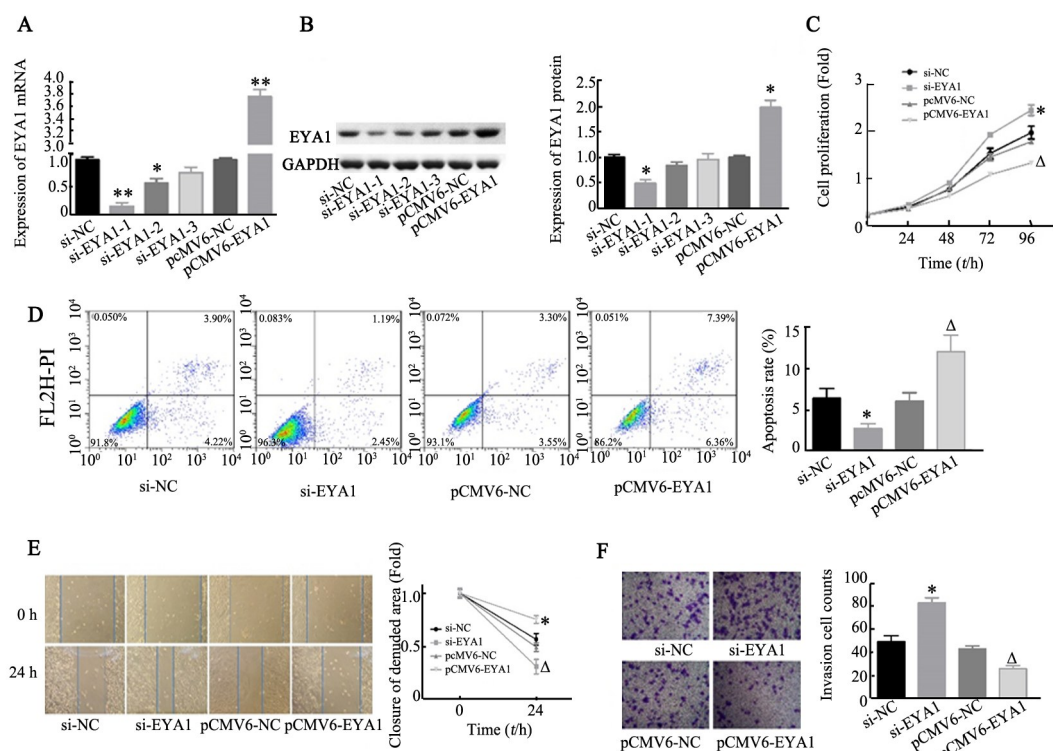
2.2 EYA1 过表达影响胃癌 SGC-7901 细胞增殖、凋亡、迁移和侵袭能力

应用 MTT、流式细胞术、划痕和 Transwell 侵袭实验检测 EYA1 过表达或敲除对胃癌 SGC-7901 细胞增殖、凋亡、转移和侵袭的影响。由图 2A、B 所知, 与 si-NC 组相比, si-EYA1-1 能明显降低 EYA1 mRNA 和蛋白表达水平 (均 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 而 pCMV6-EYA1 转染后 SGC-7901 细胞中 EYA1 mRNA 和蛋白表达水平明显升高 (均 $P < 0.05$)。与 si-NC 组相比, si-EYA1 组细胞的增殖能力明显升高 ($P < 0.05$, 图 2C)、凋亡降低 ($P < 0.05$, 图 2D), 迁移和侵袭能力增强 ($P < 0.05$, 图 2E、F); 而 EYA1 过表达后, SGC-7901 细胞的增殖能力明显降低 ($P < 0.05$, 图 2C), 凋亡率明显升高 ($P <$

0.05, 图 2D), 迁移和侵袭能力降低 ($P < 0.05$, 图 2E、F)。以上结果表明, EYA1 在胃癌的发生发展中起到抑制作用。

2.3 EYA1 过表达通过促进 PTEN 的表达抑制 PI3K/AKT 信号通路的激活

Wb 检测结果 (图 3) 显示, 与 si-NC 组相比, si-EYA1 组细胞中 PTEN 的表达降低, 而 Cyclin D、p-PI3K 和 p-AKT 的表达水平明显升高 (均 $P < 0.05$); 而 EYA1 过表达后 PTEN 的表达升高, Cyclin D、p-PI3K 和 p-AKT 的表达明显下降 (均 $P < 0.01$), 表明 PTEN/PI3K/AKT 信号通路可能抑制了 EYA1 过表达介导的胃癌进展过程。

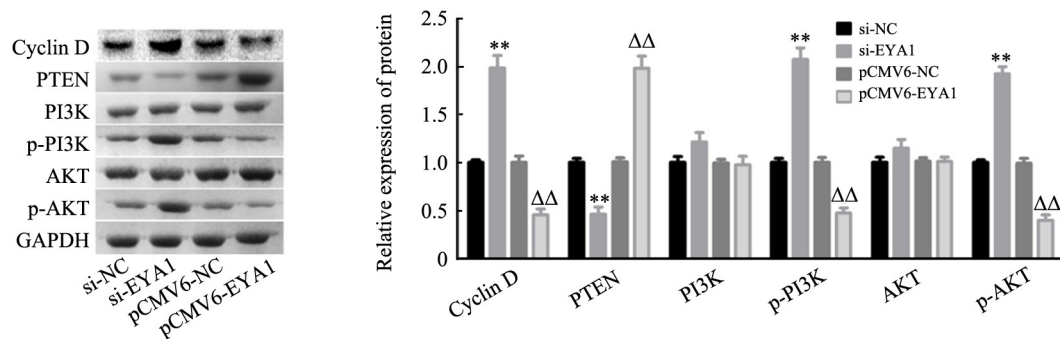


* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs si-NC group; $\Delta P < 0.05$ vs pCMV6-NC group

- A-B: qPCR and Wb were used to detect the expression of EYA1 mRNA and protein in SGC-7901 cells;
- C: MTT assay was used to detect the effects of EYA1 over-expression/knockout on the proliferation of SGC-7901 cells;
- D: Effects of EYA1 over-expression/knockout on apoptosis of SGC-7901 cells detected by flow cytometry;
- E: Effects of EYA1 over-expression/knockout on metastasis of SGC-7901 cells detected by scratch healing test;
- F: Transwell assay to detect the effects of EYA1 over-expression/knockout on invasive ability of SGC-7901 cells ($\times 100$)

图2 过表达EYA1对胃癌SGC-7901细胞增殖、凋亡、迁移和侵袭的影响

Fig. 2 Over-expression of EYA1 affects proliferation, apoptosis, migration and invasion of SGC-7901 cells in gastric cancer



** $P < 0.01$ vs si-NC group; $\Delta\Delta P < 0.05$ vs pCMV6-NC group

图3 EYA1过表达对PI3K/AKT信号通路激活的影响

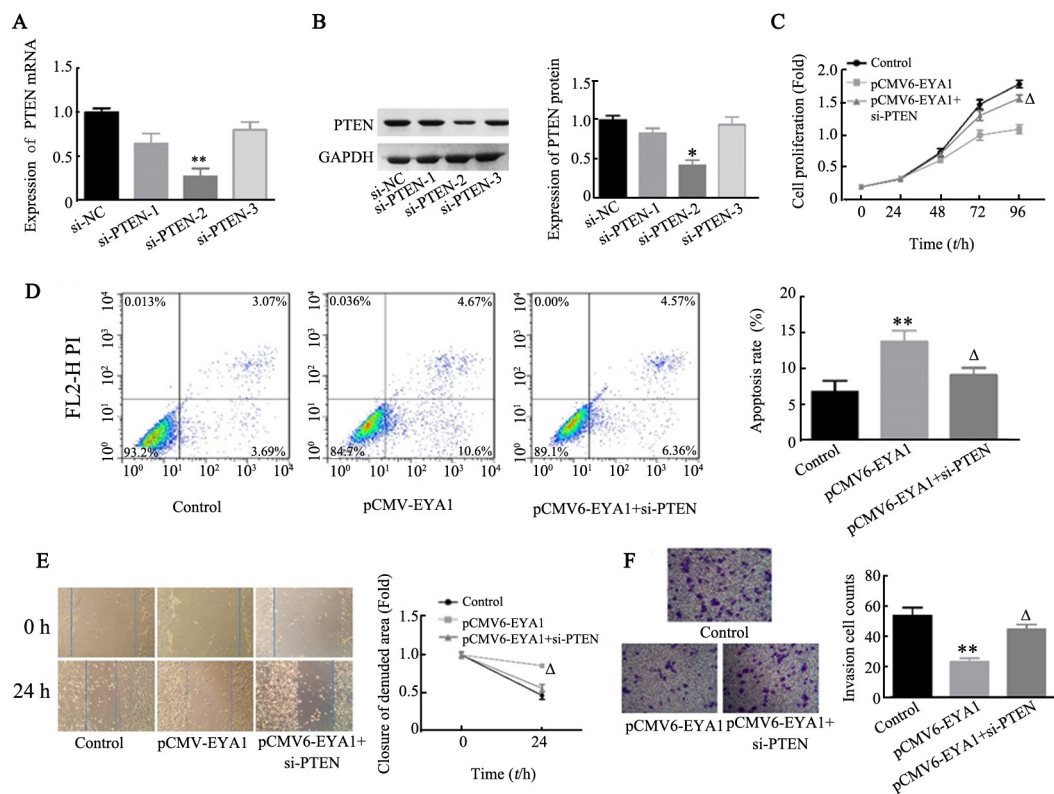
Fig. 3 Effects of EYA1 over-expression on activation of PI3K/AKT signaling pathway

2.4 EYA1过表达通过上调PTEN的表达抑制胃癌SGC-7901细胞的恶性生物学行为

为了探究PTEN/PI3K/AKT信号通路是否参与了EYA1介导的胃癌进展抑制,在EYA1过表达的基础上采用siRNAs对PTEN进行了敲除。qPCR和Wb检测结果显示,si-PTEN-2转染后SGC-7901细胞中

PTEN的蛋白和mRNA水平明显降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$,图4A、B)。此外,与EYA1过表达组(pCMV6-EYA1)相比,pCMV6-EYA1+si-PTEN组SGC-7901细胞的增殖能力明显提高($P < 0.05$,图4C),凋亡水平明显降低($P < 0.05$,图4D),迁移和侵袭能力明显升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$,图4E、F)。以上结果表明,EYA1可通

过上调 PTEN 的表达抑制 SGC-7901 细胞的恶性表型 转换。



* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs si-NC or Control group; $\Delta P < 0.05$ vs pCMV6-EYA1 group

A-B: qPCR and Wb were used to detect the effect of PTEN knockout on mRNA and protein expressions of EYA1; C: MTT assay to detect the effect of EYA1/PTEN on the proliferation of SGC-7901 cells; D: Effect of EYA1/PTEN on apoptosis of SGC-7901 cells examined by flow cytometry; E: Effect of EYA1/PTEN on migration of SGC-7901 cells examined by scratch healing test;

F: Transwell assay to detect the effect of EYA1/PTEN on the invasive ability of SGC-7901 cells

图4 EYA1通过上调PTEN的表达影响SGC-7901细胞的增殖、凋亡、迁移和侵袭能力

Fig. 4 EYA1 affects the proliferation, apoptosis and invasion of SGC-7901 cells by up-regulating the expression of PTEN

3 讨论

EYA1即“eyes absent”基因,最初是在果蝇中发现的一种发育必需基因,下调其表达会导致果蝇眼睛缺失或畸形,因此得名“eyes absent”^[8]。在人类中,EYA1基因突变或丧失将导致鳃-耳-肾综合征,其特征是耳朵和肾脏发育缺陷^[9]。EYA1基因编码的磷酸酶可通过脱磷酸作用恢复组蛋白功能进而促进DNA修复和细胞增殖^[10]。近年来,大量研究表明,EYA1在肿瘤组织和细胞中异常表达并广泛参与肿瘤的恶性进展。李兆明等^[12]通过对EYA1在乳腺癌中的作用及相关机制进行探究,发现EYA1在乳腺癌中的表达升高,且上调EYA1的表达可通过促进CyclinD的表达促进乳腺癌细胞增殖。ZHOU等^[11]研究发现,EYA1在黑色素瘤中的表达升高,且下调EYA1的表达可抑制黑色素瘤细胞的增殖和克隆形成能力,并提高细胞对维莫非尼的敏感性。以上研究表明,

EYA1在肿瘤进展中发挥促癌作用。但是,EYA1在不同肿瘤中的表达存在差异性。有研究^[6]显示,EYA1蛋白的甲基化水平在胃癌组织中升高。PARVANEH等^[5]研究发现,EYA1在胃癌组织中的表达水平降低,且EYA1的表达水平同肿瘤大小、淋巴结转移和远处转移呈显著负相关。同样,在本研究中发现,EYA1在胃癌组织中的表达水平降低。并且通过MTT、流式细胞术、划痕和Transwell实验检测发现,过表达EYA1可明显降低胃癌SGC-7901细胞的增殖、转移和侵袭能力,并促进细胞凋亡,表明EYA1在胃癌进展中扮演抑癌基因角色。

此外,本研究还探究了EYA1抑制胃癌发生发展的机制,结果表明,EYA1过表达可促进PTEN的表达、降低p-PI3K和p-AKT的表达。PTEN是一种双特异性蛋白质脂质磷酸酶,其主要的细胞底物是第二信使-磷脂酰肌醇(3,4,5)-三磷酸[phosphatidylinositol(3,4,5)-triphosphate,PIP3],PTEN可使PIP3脱磷

酸化并将其水解成磷脂酰肌醇(4,5)-二磷酸[phosphatidylinositol (4,5)-diphosphate, PIP₂], 而PIP₃是磷脂酰肌醇-3激酶(Phosphoinositide-3 kinase)的产物并介导AKT的活化。因此, PTEN是PI3K/AKT信号通路的负调控者^[13-14]。过度激活的PI3K/AKT通路显著促进了胃癌的恶性进展^[15-16]。同样, 本研究发现, 敲除PTEN可明显削弱EYA1对胃癌进展的抑制作用, 表明PTEN/PI3K/AKT通路在EYA1介导的胃癌进展抑制过程中起到关键性作用。

综上所述, 本研究表明EYA1能够通过促进PTEN的表达进而抑制PI3K/AKT通路的激活, 从而抑制胃癌的恶性进展。本研究不仅为胃癌的发生机制丰富了新的内容, 同时也为胃癌治疗提供了新的潜在靶点。

[参考文献]

- [1] TORRE L A, BRAY F, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics, 2015[J]. *Cancer Res*, 2015, 65(2): 87-108. DOI:10.1158/0008-5472.CAN-12-4078.
- [2] 左婷婷, 郑荣寿, 曾红梅, 等. 中国胃癌流行病学现状[J]. *中国肿瘤临床*, 2017, 44(1): 52-58. DOI: 10.3969/j.issn.1000-8179.2017.01.881.
- [3] QUIROS R M, BUI C L. Multidisciplinary approach to esophageal and gastric cancer[J]. *Surg Clin North Am*, 2017, 89(1): 79-96. DOI: 10.1016/j.suc.2008.09.019.
- [4] 王俊, 王宝成. 晚期胃癌免疫检查点抑制剂治疗的临床研究进展[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2018, 25(11): 1089-1093. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2018.11.001.
- [5] RAYAPUREDDI J P, KATTAMURI C, STEINMETZ B D, et al. Eyes absent represents a class of protein tyrosine phosphatases [J]. *Nature*, 2003, 426(6964): 295-301. DOI: 10.1038/nature02093
- [6] COOK P J, JU B G, TELESE F, et al. Tyrosine dephosphorylation of H2AX modulates apoptosis and survival decisions[J]. *Nature*, 2017, 458(7238): 591-596. DOI: 10.1038/nature07849.
- [7] EMMANUEL T, HEGDE R S. The eyes absent proteins in development and disease[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2013, 70(11): 1897-1913. DOI: 10.1007/s00018-012-1144-9.
- [8] PARVANEH N, MODJTABA E B, ELAHEH E A, et al. EYA1, expression in gastric carcinoma and its association with clinicopathological characteristics: a pilot study[J]. *Med Oncol*, 2014, 31(5): 955-960. DOI: 10.1007/s12032-014-0955-y.
- [9] BONINI N M, BUI Q T, GRAYBOARD G L, et al. The drosophila eyes absent gene directs ectopic eye formation in a pathway conserved between flies and vertebrates[J]. *Development*, 1997, 124(23): 4819-4826. DOI:10.1007/s004290050115.
- [10] AARON B, KRUEGER S, SEAMEEN J, et al. Identification of a selective small-molecule inhibitor series targeting the eyes absent 2 (Eya2) phosphatase activity[J]. *J Biom Screen*, 2013, 18(1): 85-96. DOI: 10.1177/1087057112453936.
- [11] 李兆明. Eya1 调节 CyclinD1 促进乳腺癌细胞增殖的机制研究[D]. 华中科技大学, 2011:126-132.
- [12] ZHOU J J, HUANG Y, ZHANG X, et al. Eyes absent gene (EYA1) is a pathogenic driver and a therapeutic target for melanoma[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(62): 105081-105092. DOI: 10.18632/oncotarget.21352.
- [13] 原伟伟, 黄晋熙, 王程虎. miR-138-5p 通过靶向 TCF3 实现对胃癌细胞 SGC-7901 侵袭和迁移的调控[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2018, 25(11): 1105-1118. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2018.11.005.
- [14] 陈培, 张钦宪. PTEN-PI3K/AKT 细胞信号转导通路与肿瘤[J]. *癌变·畸变·突变*, 2010, 22(6): 484-487.
- [15] 石燕燕, 李树才, 孙军. 人参皂苷 Rg3 通过 PI3K/AKT 信号系统调控 CaM 基因表达促进胃癌 BGC-823 细胞的凋亡[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2018, 25(6): 590-594. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2018.06.007.
- [16] 陈坚, 裴峰, 徐周敏. 高强度聚焦超声波通过调控 miR-1297/PTEN 分子轴抑制胰腺癌细胞的增殖与迁移[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2018, 25(10): 1034-1041. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2018.10.010.

[收稿日期] 2018-12-27

[修回日期] 2019-02-12

[本文编辑] 王映红