

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2020.08.009

· 基础研究 ·

紫草素对人食管癌 TE-1 细胞增殖、凋亡和细胞周期的影响及其可能的机制

赵莉, 黄景荣, 龚承先, 汪毅, 屈银宗, 计春燕, 杨建美(湖北省中西医结合医院 消化内科, 湖北 武汉 430015)

[摘要] **目的:** 观察紫草素对人食管癌 TE-1 细胞增殖、凋亡和细胞周期的影响, 并探究其作用机制。**方法:** 采用不同浓度的紫草素(0、1、5、10 $\mu\text{mol/L}$)处理 TE-1 细胞, MTT 法检测 24、48、72 h 后各组细胞增殖水平; 紫草素处理各组 TE-1 细胞 48 h 后, 采用 Hoechst 33258 荧光染色观察细胞凋亡状况, 流式细胞术检测细胞的凋亡水平及周期变化, Western blotting 检测 TRAP1/Akt/mTOR 信号通路相关蛋白表达变化。**结果:** 紫草素呈时间和浓度依赖性抑制 TE-1 细胞增殖($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 与对照组相比, 紫草素能显著促进 TE-1 细胞凋亡($P < 0.01$), 使 TE-1 细胞周期发生 G0/G1 期阻滞($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 同时降低 TRAP1、p-Akt 以及 p-mTOR 表达水平($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 以上作用具有剂量依赖性。**结论:** 紫草素能显著抑制 TE-1 细胞的增殖, 诱导细胞发生 G0/G1 期阻滞并促进其凋亡, 这可能与抑制 TRAP1/Akt/mTOR 信号通路有关。

[关键词] 紫草素; 食管癌; TE-1 细胞; 增殖; 凋亡; 细胞周期; TRAP1/Akt/mTOR 信号通路

[中图分类号] R735.1; R730.54; R730.52 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2020)08-0889-06

Effects of shikonin on proliferation, apoptosis and cell cycle of human esophageal carcinoma TE-1 cells and its possible mechanism

ZHAO Li, HUANG Jingrong, GONG Chengxian, WANG Yi, QU Yinzong, JI Chunyan, YANG Jianmei (Department of Gastroenterology, Hubei Provincial Hospital of Integrated Chinese & Western Medicine, Wuhan 430015, Hubei, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the effects of shikonin on the proliferation, apoptosis and cell cycle of human esophageal carcinoma TE-1 cells, and to explore its mechanism. **Methods:** TE-1 cells were treated with different concentrations of shikonin (0, 1, 5, 10 $\mu\text{mol/L}$). MTT assay was used to detect cell proliferation at different time points (24, 48 and 72 h). After treatment with shikonin for 48 h, cell apoptosis in TE-1 cells of each group was observed with Hoechst 33258 fluorescence staining. Flow cytometry was used to detect apoptosis and cell cycle. The changes in expression of TRAP1/Akt/mTOR signaling pathway related proteins were detected by Western blotting. **Results:** Shikonin inhibited the proliferation of TE-1 cells in a time-dose-dependent manner ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Compared with the control group, shikonin significantly promoted the apoptosis of TE-1 cells ($P < 0.01$), induced the G0/G1 phase block of TE-1 cells ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), and reduced the expression levels of TRAP1, p-Akt and p-MTOR ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). The above effects were all dose-dependent. **Conclusion:** Shikonin can significantly inhibit the proliferation of TE-1 cells *in vitro*, induce G0/G1 phase arrest and promote apoptosis, which may be closely related to the inhibition of TRAP1/Akt/mTOR signaling pathway.

[Key words] shikonin; esophageal cancer; TE-1 cell; proliferation; apoptosis; cell cycle; TRAP1/Akt/mTOR signaling pathway

[Chin J Cancer Biother, 2020, 27(8): 889-894. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2020.08.009]

食管癌(esophageal cancer, EC)是世界范围内第六大致死癌症^[1]。虽然近三十年来在 EC 上的治疗已经取得了重大突破, 但其由于预后不良与低于 10% 的 5 年总生存率, 迫使研究者们不断寻找新的治疗方法^[2]。紫草素是从中草药紫草根中提取的天然物质, 具有抗菌、抗炎、抗肿瘤等活性, 但其对食管癌影响的研究较少见^[3]。肿瘤坏死因子受体相关蛋白 1 (tumor necrosis factor receptor-associated protein 1, TRAP1) 是热休克蛋白 90 家族的主要成员之一, 在

维持线粒体完整性及细胞内稳态方面也发挥着重要作用^[4]。TRAP1 的异常表达已被证明与多种肿瘤的发生、发展密切相关, 干预其功能可导致肿瘤细胞的死亡, 但对正常细胞没有影响^[5]。Akt/mTOR 信号传

[作者简介] 赵莉(1984-), 女, 硕士, 主治医师, 主要从事胃肠道肿瘤和肝病研究, E-mail: 972152611@qq.com

[通信作者] 黄景荣(HUANG Jingrong, corresponding author), 男, 硕士, 副主任医师, 主要从事消化道肿瘤及内镜下治疗研究, E-mail: hjr18971178537@sina.com

导通路被证明通过参与自噬及凋亡等相关途径诱导肿瘤发生^[6]。MASUDA等^[7]证明,紫草素衍生物 β -HIVS能通过降低TRAP1的表达水平从而抑制ROS诱导的人肺癌细胞DMS114凋亡,可见紫草素能够通过TRAP1参与癌细胞生物学行为的调控,但TRAP1与Akt/mTOR信号通路在肿瘤发生调控上是否有相关性,且紫草素如何参与这一过程尚不清楚。本研究通过观察不同浓度紫草素对人EC细胞TE-1细胞增殖、凋亡和周期的影响,探究其与TRAP1/Akt/mTOR信号通路的相关性,旨在为临床治疗EC提供新靶标和理论基础。

1 材料和方法

1.1 主要试剂与仪器

人EC细胞株TE-1购自中科院细胞库,用RPMI-1640培养基常规培养,正式实验开始之前,需对细胞进行同步化培养处理后再进行分组及药物处理。紫草素(HPLC \geq 98%)购自美国Sigma公司,MTT细胞增殖及细胞毒性检测试剂盒购自北京索莱宝科技有限公司,Hoechst 33258染色试剂盒、超敏ECL化学发光试剂盒均购自上海碧云天生物技术有限公司,PI单染、Annexin V-FITC/PI双染细胞凋亡检测试剂盒均购自江苏凯基生物技术股份有限公司,兔抗TRAP1、GAPDH及AKT一抗和山羊抗兔IgG二抗均购自武汉三鹰生物技术有限公司,兔抗p-AKT、mTOR、p-mTOR一抗购自Abcam公司,倒置显微镜购自日本尼康公司,凝胶处理分析系统购自美国ABI公司,FC500型流式细胞仪购自美国Beckman公司。

1.2 MTT法检测紫草素对TE-1细胞的增殖抑制作用

取生长处于对数期的TE-1细胞,按照 1.0×10^5 /ml的密度接种于96孔培养板中。将细胞分为4组,分别为空白对照组(0 μ mol/L紫草素)、1 μ mol/L紫草素组、5 μ mol/L紫草素组、10 μ mol/L紫草素组,每组设置3个复孔。37 $^{\circ}$ C,5% CO₂和饱和湿度的培养箱中培养72 h,分别在24、48和72 h取样,按MTT法操作处理后测量各孔细胞在490 nm处的光密度(D)值,以D值代表细胞增殖水平,记录D值并绘制细胞生长曲线;同时计算各组细胞在不同时间点的增殖抑制率,抑制率=(1-药物组D值/对照组D值) \times 100%。以时间为横坐标,以抑制率为纵坐标,绘制各组细胞的增殖抑制率变化统计图。

1.3 Hoechst 33258荧光染色法观察紫草素对TE-1细胞凋亡的影响

取上述4组细胞,紫草素与细胞共孵育48 h后,收集细胞,按Hoechst 33258染色试剂盒操作,依次经

过固定、洗涤、制片、染色、去染及淬灭后于荧光显微镜下观察细胞核形态并拍照。

1.4 Annexin V-FITC/PI双染法检测紫草素对TE-1细胞凋亡的影响

上述4组细胞培养48 h后根据Annexin V-FITC/PI双染试剂盒操作说明检测各组细胞凋亡率。收集细胞,1 000 \times g离心5 min,弃上清,加入1 ml预冷的PBS,轻轻震荡使细胞悬浮,1 000 \times g、4 $^{\circ}$ C离心5 min,弃上清,重复2次;将细胞重悬于200 μ l的Binding buffer;加入10 μ l Annexin V-FITC和10 μ l PI,轻轻混匀,4 $^{\circ}$ C避光孵育30 min;加入300 μ l Binding Buffer,随即进行流式细胞仪检测;使用CXP分析软件进行分析并记录结果。总凋亡率=(第二象限B2细胞所占百分比+第四象限B4细胞所占百分比)。

1.5 PI单染检测紫草素对TE-1细胞周期的影响

收集紫草素处理48 h后的各组细胞,分别用胰蛋白酶进行消化处理,1 \times PBS溶液洗2次,移至1.5 ml离心管中;加入冰冷70%乙醇3 ml固定细胞,4 $^{\circ}$ C放置24 h;用冷PBS清洗细胞2次,1 000 \times g离心5 min,弃上清;加入1 ml PI染液(含RNase),轻轻震荡混匀,室温下避光放置30 min;用流式细胞仪进行上机检测,使用CXP分析软件进行分析并记录结果。

1.6 WB检测紫草素对TE-1细胞中TRAP1/Akt/mTOR信号通路相关蛋白表达的影响

收集培养48 h后的各组细胞,采用全蛋白提取试剂盒进行蛋白提取,BCA法检测蛋白浓度,取20 μ g蛋白和4 μ l 2 \times SDS上样缓冲液混合均匀,100 $^{\circ}$ C变性10 min;上样,SDS-PAGE分离蛋白后转至PVDF膜上,用5%脱脂牛奶封闭1 h, PBS洗膜后加入一抗TRAP1(1:1 000)、p-AKT(1:800)、AKT(1:1 000)、p-mTOR(1:500)、mTOR(1:1 000)和GAPDH(1:1 000)单抗,4 $^{\circ}$ C孵育过夜,PBS洗膜后加入HRP标记的羊抗兔IgG(1:5 000)室温孵育0.5 h, PBS洗膜后用ECL化学发光进行显色。以GAPDH为内参蛋白,采用Quantity One图像分析软件进行灰度比分析,计算蛋白相对表达量。

1.7 统计学处理

所有数据均采用统计软件SPSS 19.0进行分析处理,呈正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较选择单因素方差分析,进一步组间两两比较采用Tukey检验,以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异具有统计学意义。

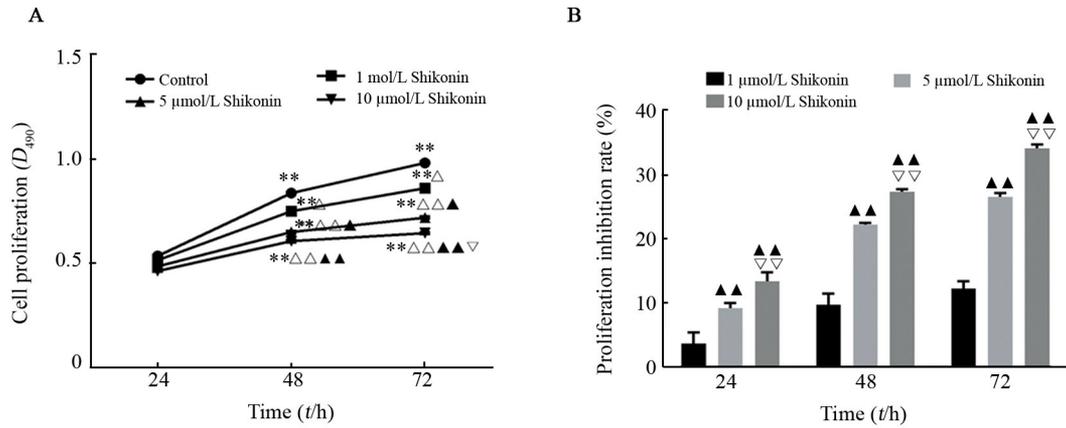
2 结果

2.1 紫草素抑制TE-1细胞的增殖

MTT检测结果(图1A)显示,48和72 h时1、5、

10 μmol/L 紫草素组 D 值均较对照组显著降低(均 $P < 0.01$), 且在相同时间点(48 h 及 72 h)时, D 值随紫草素浓度升高而降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。分析各组细胞增殖抑制率, 结果(图 1B)显示, 随紫草素浓度升

高, 各组细胞的增殖抑制率亦显著增加(均 $P < 0.01$)。提示紫草素以一定的时间-剂量依赖方式抑制 TE-1 细胞的增殖能力。



** $P < 0.01$ vs the same group for 24 h; $\Delta\Delta P < 0.01$ vs control group at the same time; $\blacktriangle P < 0.05$, $\blacktriangle\blacktriangle P < 0.01$ vs 1 μmol/L Shikonin group at the same time; $\nabla P < 0.05$, $\nabla\nabla P < 0.01$ vs 5 μmol/L Shikonin group at the same time

A: Cell growth curve; B: Statistical diagram of proliferation inhibition rate (%) of TE-1 cells

图 1 紫草素以时间-剂量依赖方式抑制 TE-1 细胞的增殖

Fig.1 Shikonin inhibited the proliferation of TE-1 cells in a time-dose-dependent manner

2.2 紫草素促进 TE-1 细胞的凋亡

Hoechst 33258 荧光染色结果(图 2)显示, 对照组细胞核轮廓清晰可见, 小核及染色质浓缩现象不明显, 而紫草素处理组细胞核染色呈明显的亮白色, 蓝色荧光强度显著降低, 染色质浓缩现象加重, 其中尤以 10 μmol/L 紫草素组最为明显。

Annexin V-FITC/PI 双染流式检测结果(图 3)显示, 与对照组比较, 各浓度紫草素处理组细胞总凋亡率均显著上升(均 $P < 0.01$), 与 1 μmol/L 紫草素组比较, 5、10 μmol/L 紫草素组细胞总凋亡率均显著上升($P < 0.01$), 与 5 μmol/L 紫草素组比较, 10 μmol/L 紫草素组细胞总凋亡率显著上升($P < 0.01$), 提示紫草素呈剂量依赖性促进 TE-1 细胞凋亡。

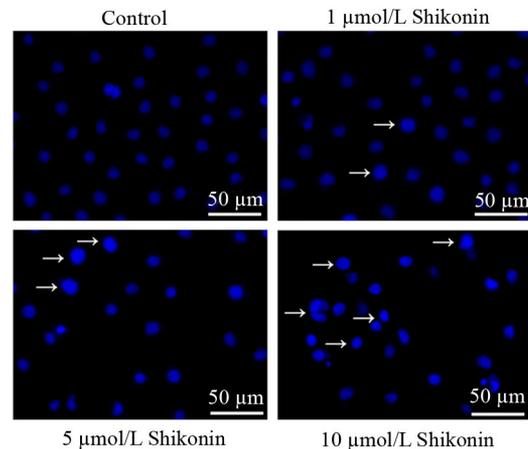
2.3 紫草素处理使 TE-1 细胞周期阻滞于 G₀/G₁ 期

PI 单染流式检测结果(图 4)显示, 与对照组比较, 各浓度紫草素处理组处于 G₀/G₁ 期的细胞比例均显著上升(均 $P < 0.01$); 与 1 μmol/L 紫草素组比较, 5、10 μmol/L 紫草素组 G₀/G₁ 期的细胞比例均显著上升(均 $P < 0.01$); 与 5 μmol/L 紫草素组比较, 10 μmol/L 紫草素组 G₀/G₁ 期的细胞比例显著上升($P < 0.05$), 提示紫草素呈剂量依赖性诱导 TE-1 细胞发生 G₀/G₁ 期细胞阻滞。

2.4 紫草素抑制 TE-1 细胞 TRAP1/Akt/mTOR 信号通路相关蛋白的表达

WB 检测结果显示(图 5), 与对照组比较, 各浓度

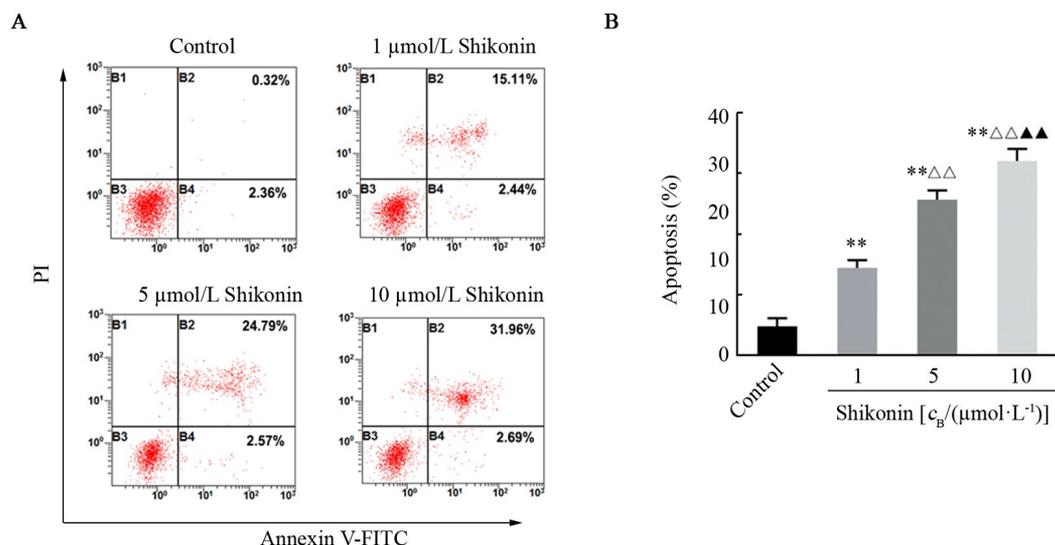
紫草素处理组细胞 TRAP1、p-AKT 及 p-mTOR 表达水平均显著降低(均 $P < 0.01$); 与 1 μmol/L 紫草素组比较, 5、10 μmol/L 紫草素组细胞 TRAP1、p-AKT 及 p-mTOR 表达水平显著降低(均 $P < 0.01$); 与 5 μmol/L 紫草素组比较, 10 μmol/L 紫草素组细胞 TRAP1、p-AKT 及 p-mTOR 表达水平显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 提示紫草素呈剂量依赖性抑制 TRAP1/Akt/mTOR 信号通路的活化。



The arrow points to apoptotic cells

图 2 紫草素促进 TE-1 细胞的凋亡 (Hoechst 33258 荧光染色, $\times 400$)

Fig.2 Shikonin promoted apoptosis of TE-1 cells (Hoechst 33258 fluorescent staining, $\times 400$)

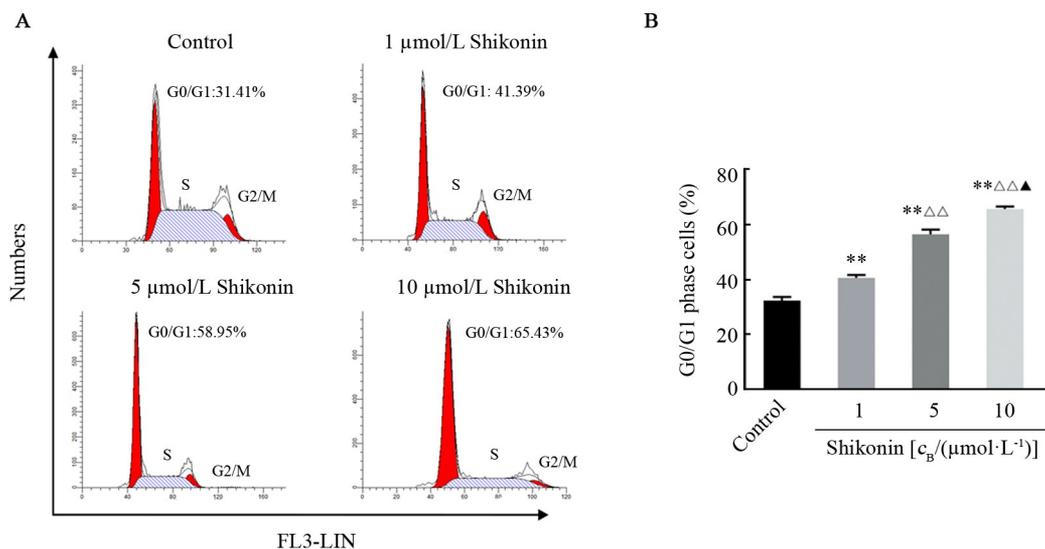


**P<0.01 vs Control group; $\Delta\Delta$ P<0.01 vs 1 μmol/L Shikonin group; \blacktriangle P<0.01 vs 5 μmol/L Shikonin group

A: Flow cytometry detection; B: Comparison of total apoptosis rate

图3 Annexin V-FITC/PI双染检测不同浓度紫草素对TE-1细胞凋亡的影响

Fig.3 Annexin V-FITC/PI double staining was used to detect the effect of different concentrations of Shikonin on the apoptosis of TE-1 cells



**P<0.01 vs Control group; $\Delta\Delta$ P<0.01 vs 1 μmol/L Shikonin group; \blacktriangle P<0.05 vs 5 μmol/L Shikonin group

A: Flow cytometry detection; B: Comparison of G0/G1 phase cells proportion

图4 紫草素处理使TE-1细胞周期阻滞于G0/G1期

Fig.4 Shikonin treatment blocked TE-1 cell cycle at G0/G1 phase

3 讨论

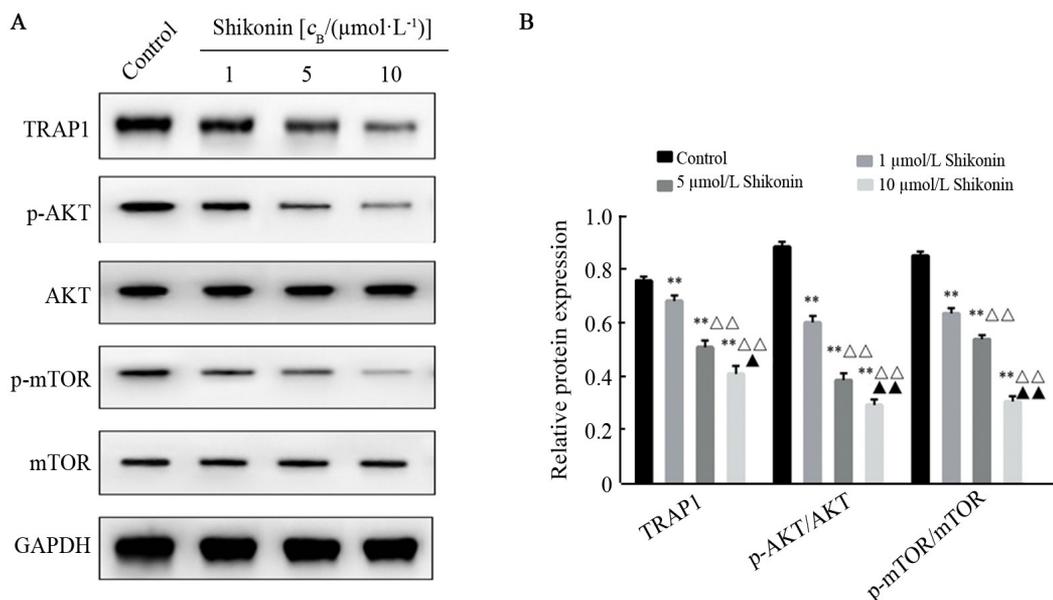
紫草素及其衍生物是从我国传统中草药紫草根中提取的萘醌类化合物,具有抗菌、抗炎的活性,近年来有研究发现其具有抗肿瘤特性,例如,王汝兴等^[8]证明紫草素呈时间和剂量依赖性抑制人卵巢癌细胞SKOV-3的体外增殖并诱导其凋亡,其机制可能为上调BAX表达和下调Bcl-2表达有关;紫草素可以通过调节凋亡信号通路PI3K/PKB,抑制离子子宫内膜癌细

胞株的增殖,促进其凋亡^[9];紫草素能够诱导非小细胞肺癌细胞产生ROS,导致DNA损伤,使细胞生长周期阻滞于G0/G1期,通过p53/p21waf信号通路促进细胞衰老,还能够抑制A549细胞裸鼠移植瘤的生长^[10]。本研究结果显示,紫草素呈时间和剂量依赖性抑制人EC细胞TE-1细胞增殖,促进其凋亡,并促使细胞阻滞于G0/G1期。

TRAP1是热休克蛋白90家族的主要成员之一,主要在线粒体尤其是线粒体膜上表达,能够抵御氧化应

激所诱导的凋亡,同时在维持线粒体完整性及细胞内稳态方面也发挥着重要作用,其异常表达在多种肿瘤的发生、发展中扮演重要角色,抑制其表达可抑制肿瘤细胞的生长并促进其凋亡。例如,TRAP-1 在乳腺癌组织中呈高表达并可促进乳腺癌细胞线粒体融合、改变线粒体形态,增强线粒体能量代谢及在极端环境下的抗逆能力,显著提高乳腺癌细胞的抗氧化损伤能力,在抗凋亡方面发挥重要作用^[11]。另外,RNA 干扰

靶向抑制人喉癌干细胞中高表达的 TRAP1 能显著促进细胞凋亡并抑制其增殖,这一过程可能与 caspase-3、caspase-8 和 caspase-9 的激活有关^[12]。稳定低表达 TRAP1 的 EC 细胞 KYSE150 中 TRAP1 的表达水平下调,细胞转移能力下降,而细胞增殖和凋亡无显著变化^[13]。本研究结果显示,紫草素能显著下调 TE-1 细胞中 TRAP1 的表达,提示紫草素可能参与 TRAP1 介导的肿瘤细胞恶性生物学特性。



** $P < 0.01$ vs Control group; $\Delta\Delta P < 0.01$ vs 1 $\mu\text{mol/L}$ Shikonin group; $\blacktriangle P < 0.05$, $\blacktriangle\blacktriangle P < 0.01$ vs 5 $\mu\text{mol/L}$ Shikonin group

A: SDS-PAGE; B: Statistics of relative expression of protein

图5 紫草素抑制 TE-1 细胞 TRAP1/Akt/mTOR 信号通路相关蛋白的表达

Fig.5 Shikonin inhibited the expressions of TRAP1/Akt/mTOR signaling pathway-related proteins in TE-1 cells

mTOR 通路是肿瘤信号转导研究领域最受关注的信号通路之一,致癌信号通路通过 PI3K/AKT、AMPK 等多条途径实现对 mTOR 的调控^[14]。例如,临床脑胶质瘤中 p-AKT、p-mTOR 的表达随病理级别的升高而增高,证实 mTOR 信号通路蛋白在胶质瘤的发生、发展中起着重要的作用^[15]。在淋巴瘤中亦发现 PI3K/AKT/mTOR 途径的异常激活,且 PI3K、AKT 及 mTOR 抑制剂的抗肿瘤效果已被临床验证^[16-17]。此外,PI3K/AKT/mTOR 途径具有作为多种中药药物,如姜黄素^[18]、虎杖苷^[19]、白藜芦醇^[20]等治疗肿瘤的靶点的潜力。而本研究显示,紫草素能显著抑制 TE-1 细胞中 AKT/mTOR 的磷酸化水平,提示紫草素可能通过抑制 AKT/mTOR 信号途径进而介导 EC 细胞的增殖、凋亡及细胞周期。

综上所述,紫草素能显著抑制 TE-1 细胞的增殖能力,诱导细胞发生 G0/G1 期阻滞进而促进其凋亡水平,这可能与抑制 TRAP1/Akt/mTOR 信号通路进而触发一系列的凋亡信号级联反应密切相关。

[参考文献]

- [1] YANO T. Paradox of age-specific incidence rates of second primary cancer in individuals with esophageal cancer[J]. J Gastroenterol, 2020, 55(6): 664-665. DOI:10.1007/s00535-020-01687-7.
- [2] KELLY R J. Emerging multimodality approaches to treat localized esophageal cancer[J]. J Natl Compr Canc Netw, 2019, 17(8): 1009-1014. DOI:10.6004/jnccn.2019.7337.
- [3] 陈阳, 陈忠坚, 高贇, 等. 紫草素及其衍生物抗肿瘤作用研究进展[J]. 中草药, 2019, 50(14): 3493-3502. DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.14.033.
- [4] XIANG F, MA S Y, LV Y L, et al. Tumor necrosis factor receptor-associated protein 1 regulates hypoxia-induced apoptosis through a mitochondria-dependent pathway mediated by cytochrome C oxidase subunit II[J/OL]. Burns Trauma, 2019, 7: 16[2019-10-12]. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6532166/. DOI: 10.1186/s41038-019-0154-3.
- [5] KANG B H. TRAP1 regulation of mitochondrial life or death decision in cancer cells and mitochondria-targeted TRAP1 inhibitors[J]. BMB Rep, 2012, 45(1): 1-6. DOI:10.5483/bmbrep.2012.45.1.1.
- [6] PORTA C, PAGLINO C, MOSCA A. Targeting PI3K/akt/mTOR sig-

- naling in cancer[J/OL]. *Front Oncol*, 2014, 4: 64[2019-10-12]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3995050/>. DOI:10.3389/fonc.2014.00064.
- [7] MASUDA Y, SHIMA G, AIUCHI T, et al. Involvement of tumor necrosis factor receptor-associated protein 1 (TRAP1) in apoptosis induced by beta-hydroxyisovalerylshikonin[J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(41): 42503-42515. DOI:10.1074/jbc.M404256200.
- [8] 王汝兴, 鲁艳杰, 周健, 等. 紫草素对人卵巢癌细胞SKOV3细胞增殖和凋亡的影响[J]. *中药药理与临床*, 2016, 32(2): 76-79. DOI: 10.13412/j.cnki.zyy1.2016.02.022.
- [9] 谢伟, 薛晓鸥. 紫草素对离体子宫内膜癌细胞株增殖及凋亡信号通路PI3K/PKB的影响[J]. *中医学报*, 2017, 32(12): 2280-2283. DOI: 10.16368/j.issn.1674-8999.2017.12.594.
- [10] 郑宏明. 紫草素诱导非小细胞肺癌衰老及分子机制[D]. 广州: 广州中医药大学, 2017.
- [11] 王靖. TRAP-1在乳腺癌中的表达及其调控乳腺癌细胞线粒体功能的机制研究[D]. 北京: 北京协和医学院, 2013.
- [12] 薛海涛, 苏静, 陈帅, 等. RNA干扰TRAP1表达抑制CD133⁺CD44⁺喉癌干细胞生长并促进凋亡[J]. *中国组织工程研究*, 2017, 21(17): 2672-2677. DOI: 10.3969/j.issn.2095-4344.2017.17.008.
- [13] 于芳, 赵培. TRAP1在食管癌发展中的作用及机制研究[J]. *实用肿瘤学杂志*, 2018, 32(6): 39-43. DOI: 10.11904/j.issn.1002-3070.2018.06.007.
- [14] 朱志伦, 刘子博, 孙伟伟. mTOR通路在肿瘤骨转移中的作用[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2018, 25(8): 830-833. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2018.08.013.
- [15] 李学元, 贾爱华, 任玉波, 等. mTOR信号通路蛋白在人脑胶质瘤中的表达及其临床意义[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2011, 18(1): 75-79. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2011.1.016.
- [16] 刘慧, 李鑫, 胡腾鹏, 等. PI3K/AKT/mTOR信号通路抑制剂在淋巴瘤中的研究进展[J]. *中国肿瘤临床*, 2016, 43(5): 211-215. DOI: 10.3969/j.issn.1000-8179.2016.05.388.
- [17] O'DONNELL J S, MASSI D, TENG M W L, et al. PI3K-AKT-mTOR inhibition in cancer immunotherapy, redux[J]. *Semin Cancer Biol*, 2018, 48: 91-103. DOI:10.1016/j.semcancer.2017.04.015.
- [18] 涂启敏, 黄宏灵. PI3K/AKT/mTOR在姜黄素抑制食管癌细胞增殖中的作用[J]. *解剖学研究*, 2018, 3(40):174-177.
- [19] 潘纪红, 王海滨, 杜晓飞, 等. 虎杖苷通过PI3K/AKT/mTOR信号通路诱导人宫颈癌细胞凋亡的初步研究[J]. *中国中药杂志*, 2017, 42(12): 2345-2349. DOI: 10.19540/j.cnki.cjcm.2017.0111.
- [20] 孙龙和, 夏建国, 钱春华, 等. 白藜芦醇通过Pi3K/AKT通路抑制胃癌SGC-7901细胞增殖和迁移[J]. *现代生物医学进展*, 2016, 16(17): 3237-3240. DOI: 10.13241/j.cnki.pmb.2016.17.008.

[收稿日期] 2020-02-17

[修回日期] 2020-06-22

[本文编辑] 黄静怡