

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2021.01.005

· 基础研究 ·

细胞角蛋白13通过PTEN抑制PI3K/AKT/mTOR通路增强鼻咽癌HNE1细胞放疗敏感性

王欢, 万佳, 施明, 王锦, 余宏(昆明医科大学第四附属医院耳鼻咽喉头颈外科, 云南 昆明 650021)

[摘要] **目的:**探讨细胞角蛋白13(cytokeratin 13, CK13)对鼻咽癌HNE1细胞放疗敏感性的影响及其作用机制。**方法:**将HNE1细胞分为对照组、anti-CK13#a组及anti-CK13#b组(敲减CK13)、对照组+西罗莫司处理组(100 nmol/L的西罗莫司处理1 h)、anti-CK13#a+西罗莫司处理组(100 nmol/L的西罗莫司处理1 h),经放疗处理(200 cGy/min剂量照射5 min)后,用CCK-8法检测各组细胞的增殖能力,用流式细胞术检测各组细胞的凋亡率,qPCR法检测PI3K/AKT/mTOR信号通路相关基因PTEN的表达,WB法检测PI3K/AKT/mTOR信号通路相关蛋白的表达。**结果:**经放疗处理后,与对照组相比,敲减CK13后HNE1细胞增殖能力明显增强($P<0.01$),细胞凋亡率明显降低($P<0.01$);细胞中c-caspase-3和 γ H2AX的表达明显降低(均 $P<0.01$)、p-AKT和p-S6K表达明显升高($P<0.01$)、PTEN蛋白表达明显降低($P<0.01$)。敲减CK13+西罗莫司(PI3K/AKT/mTOR信号通路抑制剂)处理可以回复敲减CK13导致的细胞增殖能力增强($P<0.05$)和细胞凋亡率降低($P<0.01$)。**结论:**敲减CK13通过下调PTEN蛋白水平进而增强PI3K/AKT/mTOR信号通路活性,最终降低HNE1细胞的放疗敏感性。

[关键词] 鼻咽癌; HNE1细胞; 放疗; 细胞角蛋白13; PTEN; PI3K/AKT/mTOR信号通路

[中图分类号] R739.63; R730.55 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2021)01-0031-06

Cytokeratin 13 promotes the radio-sensitivity of nasopharyngeal carcinoma HNE1 cells by inhibiting the PI3K/AKT/mTOR pathway via PTEN

WANG Huan, WAN Jia, SHI Ming, WANG Jin, YU Hong (Department of Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery, the Fourth Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650021, Yunnan, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of cytokeratin 13 (CK13) on radio-sensitivity of human nasopharyngeal carcinoma HNE1 cell line and its mechanism. **Methods:** HNE1 cells were divided into control group, anti-CK13#a group (CK13 knockdown), anti-CK13#b group (CK13 knockdown), control+sirolimus group (100 nmol/L sirolimus treatment for 1 h), and anti-CK13#a + sirolimus group (100 nmol/L sirolimus treatment for 1 h). After irradiation treatment (200 cGy/min irradiation for 5 min), cell proliferation in each group was measured by CCK-8 assay. Cell apoptosis rate in each group was determined by Flow cytometry. Expression of PI3K/AKT/mTOR signaling pathway related PTEN gene was detected by qPCR, and WB was used to detect the expressions of PI3K/AKT/mTOR signaling pathway related proteins. **Results:** In the case of radiotherapy, as compared with the control group, the proliferation of HNE1 cells after CK13 knockdown was significantly enhanced ($P<0.01$) while the apoptosis rate was significantly reduced ($P<0.01$), the contents of caspase-3 and γ H2AX as well as the protein level of PTEN in cells were significantly decreased, while the expressions of p-AKT and p-S6K were significantly increased (all $P<0.01$). Interestingly, additional treatment with sirolimus (PI3K/AKT/mTOR signaling pathway inhibitor) could rescue the accelerated cell proliferation and decreased cell apoptosis caused by CK13 knockdown (all $P<0.05$). **Conclusion:** CK13 knockdown can enhance the activity of PI3K/AKT/mTOR signaling pathway by down-regulating PTEN, and ultimately reduce the radio-sensitivity of nasopharyngeal carcinoma HNE1 cells.

[Key words] nasopharyngeal carcinoma; HNE1 cell; radiotherapy; cytokeratin 13 (CK13); PTEN; PI3K/AKT/mTOR signaling pathway
[Chin J Cancer Biother, 2021, 28(1): 31-36. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2021.01.005]

[基金项目] 云南省科技厅-昆明医科大学应用基础研究联合专项[No. 2018FE001(-173)]。Project supported by Joint Program of Applied Basic Research of Yunnan Provincial Department of Science and Technology-Kunming Medical University (No. 2018FE001[-173])

[作者简介] 王欢(1980-),女,硕士,主治医师,主要从事鼻咽癌的临床治疗研究,E-mail: doctor_wanghuan@126.com

[通信作者] 余宏(YU Hong, corresponding author),博士,主任医师,硕士生导师,主要从事鼻咽癌的临床治疗研究,E-mail: yh2002523@163.com

鼻咽癌(nasopharyngeal carcinoma, NPC)主要来源于鼻咽黏膜上皮细胞的恶性转变,其作为一种头颈部恶性肿瘤高发于中国南方和东南亚等一些地区^[1]。近年来虽然NPC的诊治水平有了极大的提高,但临床上NPC患者的5年生存率仍只有70%左右^[2]。放射治疗为目前治疗NPC的主要手段,但对中晚期患者而言,放疗后的局部复发及远处转移率仍较高^[3-4]。因此,探讨改善NPC放疗敏感性对提高NPC治愈率具有重要的临床意义。有研究^[5-8]表明,细胞角蛋白13(cytokeratin 13, CK13)的表达具有明显的组织特异性,在特定肿瘤中表达,且与肿瘤细胞的放疗敏感性有关,但具体的分子机制尚未阐明。本研究利用反义技术敲减NPC细胞株HNE1中CK13基因,探讨其对NPC细胞放疗敏感性的影响及其作用机制。

1 材料与方法

1.1 细胞株及主要试剂

人NPC细胞株HNE1购自美国模式培养物集存库。

RPMI 1640培养基、胎牛血清、逆转录试剂盒购自赛默飞世尔科技公司,反义CK13慢病毒购自云舟生物科技(广州)有限公司,引物序列由生工生物工程(上海)股份有限公司合成, γ H2AX/S139兔单克隆抗体、p-AKT(Ser473)、总AKT、p-S6K(Ser240/244)、总S6K、cyclin D1和PTEN等兔单克隆抗体均购自Cell Signaling Technology公司,CK13和GAPDH兔多克隆抗体购自Proteintech公司,辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)标记的山羊抗兔二抗、cleaved caspase-3(C-caspase-3)兔多克隆抗体购自Abcam公司,Annexin V/PI试剂盒购自Invitrogen公司,西罗莫司(Sirolimus)购自美国Sigma公司。

1.2 细胞培养、慢病毒感染及放射处理

将HNE1细胞在25 ml培养瓶贴壁培养于RPMI 1640培养基中,在37℃、5%CO₂、饱和湿度的培养箱中连续培养。1~2 d换1次液,用0.25%胰蛋白酶常规消化传代。感染反义CK13慢病毒的HNE1-anti-CK13a细胞(anti-CK13#a组)和HNE1-anti-CK13b细胞(anti-CK13#b组)、感染空载体的HNE1细胞(Ctrl组),前期实验已建立并保存^[7]。取对数生长期的感染细胞,用100 nmol/L的西罗莫司处理1 h,记为anti-CK13#a+Sirolimus组,取对数生长期的感染空载体的HNE1细胞,用100 nmol/L的西罗莫司处理1 h,记为Ctrl+Sirolimus组,用于实验。

采用VARIAN2300C/D型双光子直线加速器(美国VARIAN公司)对对数生长期HNE1感染细胞进行放

照射5 min。放射剂量为200 cGy/min, SSD=30 cm,视野为15 cm×15 cm,将培养瓶置于照射野中心照射后,进行常规细胞培养。

1.3 WB法检测HNE1细胞中CK13、PTEN、cyclin D1等的表达

PBS清洗后收集各组细胞,加入RIPA裂解液进行裂解,提取总蛋白并用Bradford assay测定。取50 μ g总蛋白进行10%SDS-PAGE、转膜,用5%脱脂牛奶封闭1 h后,加入5 ml配制好的 γ H2AX/S139一抗(1:2 500)、p-AKT(Ser473)一抗(1:500)、总AKT一抗(1:500)、p-S6K(Ser240/244)一抗(1:500)、C-caspase-3一抗(1:5 000)、总S6K一抗(1:1 000)、cyclin D1一抗(1:200)、PTEN一抗(1:1 000)和GAPDH一抗(1:50 000),4℃孵育过夜。加入5 ml HRP标记的山羊抗兔二抗(1:5 000),室温孵育1 h, ECL发光液曝光、显影。以GAPDH作为内参,用ImageLab 4.0软件分析蛋白条带的灰度值。

1.4 qPCR法检测HNE1细胞中PTEN mRNA的表达

用TRIzol裂解法提取总RNA后,用逆转录试剂盒逆转录为cDNA。用2×SYBR Mix以及ABI QS6实时定量PCR仪进行检测。PCR反应条件:94℃预变性3 min;94℃变性15 s,60℃退火20 s,72℃延伸20 s,共循环40次,2℃延伸5 min。引物序列:PTEN F为5'-TTTGAAGACCATAACCCACCAC-3',R为5'-ATTACACCAGTTCGTCCTTTC-3';GAPDH F为5'-GGAGCGAGATCCCTCCAAAAT-3',R为5'-GGCTGTTGTCATACTTCTCATGG-3'。结果以2^{- $\Delta\Delta$ CT}法确定PTEN mRNA的相对表达量。

1.5 CCK-8法检测HNE1细胞的增殖能力

取对数期生长的各组HNE1细胞,用胰酶消化后接种到96孔板(2.5×10³细胞/孔)中,每组设置5个复孔,继续培养。在24、48和72 h后,每孔加入10 μ l CCK-8溶液,继续培养2 h,酶标仪检测波长在450 nm处的光密度(D)值,计算细胞的增殖水平。

1.6 流式细胞术检测HNE1细胞的凋亡率

取对数期生长的各组HNE1细胞,胰酶消化后用PBS洗1次,用细胞计数仪进行计数,调整细胞密度。根据Annexin V/PI试剂盒说明书的方法,取1×10⁵个细胞进行室温(避光)染色30 min后,置于冰上,上流式细胞仪进行定量分析。细胞凋亡率=(凋亡早期细胞数+凋亡晚期细胞数)/总细胞数×100%。

1.7 统计学处理

WB法、qPCR法、CCK-8法、流式细胞术等实验均重复3次。采用Graphpad Prism 6软件对实验数据进行统计分析。正态分布的计量数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,两组间比较采用Dunnnett-t检验,多组间比较采用单因

素方差分析。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 敲减CK13促进HNE1细胞增殖并降低其放疗敏感性

WB实验结果(图1A)显示,放射处理后与对照

组相比,敲减CK13组HNE1-anti-CK13a细胞和HNE1-anti-CK13b细胞中CK13表达水平显著降低(均 $P < 0.01$), cyclin D1的表达水平显著升高(均 $P < 0.01$)。CCK-8法检测结果(图1B)显示,敲减CK13组HNE1细胞的增殖能力显著强于对照组($P < 0.01$)。实验结果表明,敲减CK13可增强HNE1细胞的增殖能力、降低细胞放疗敏感性。

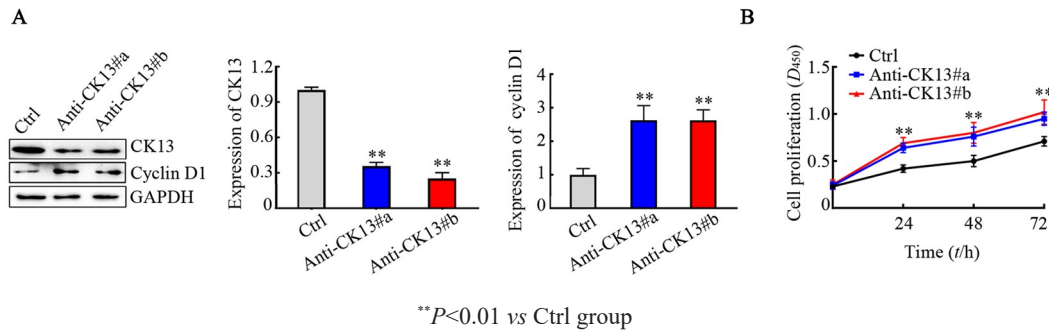


图1 敲减CK13对放射处理的HNE1细胞中CK13、cyclin D1表达(A)和细胞增殖(B)的影响

Fig.1 Effects of CK13 knockdown on CK13, cyclin D1 expression (A) and proliferation (B) in radiation-treated HNE1 cells

2.2 敲减CK13降低HNE1细胞的凋亡率并下调C-caspase-3和γH2AX的表达

流式细胞术检测结果(图2A)表明,与对照组相比,敲减CK13能有效降低HNE1细胞放射条件下的凋亡率(均 $P < 0.01$)。WB实验结果(图2B)显示,与

对照组相比,敲减CK13能显著降低HNE1细胞放射条件下凋亡相关蛋白C-caspase-3和DNA损伤标志物蛋白γH2AX的表达水平(均 $P < 0.01$)。实验结果表明,敲减CK13能有效降低放疗对HNE1细胞凋亡率和DNA损伤程度。

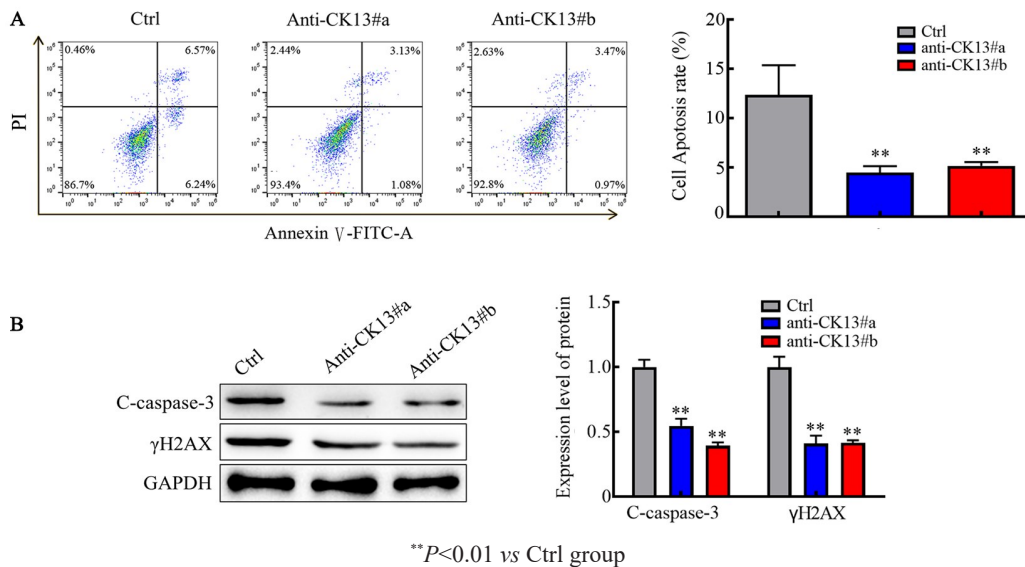


图2 敲减CK13对放射处理的HNE1细胞凋亡(A)及C-caspase-3和γH2AX表达(B)的影响

Fig.2 Effects of CK13 knockdown on apoptosis (A) and C-caspase-3 and γH2AX expression (B) of radiation-treated HNE1 cells

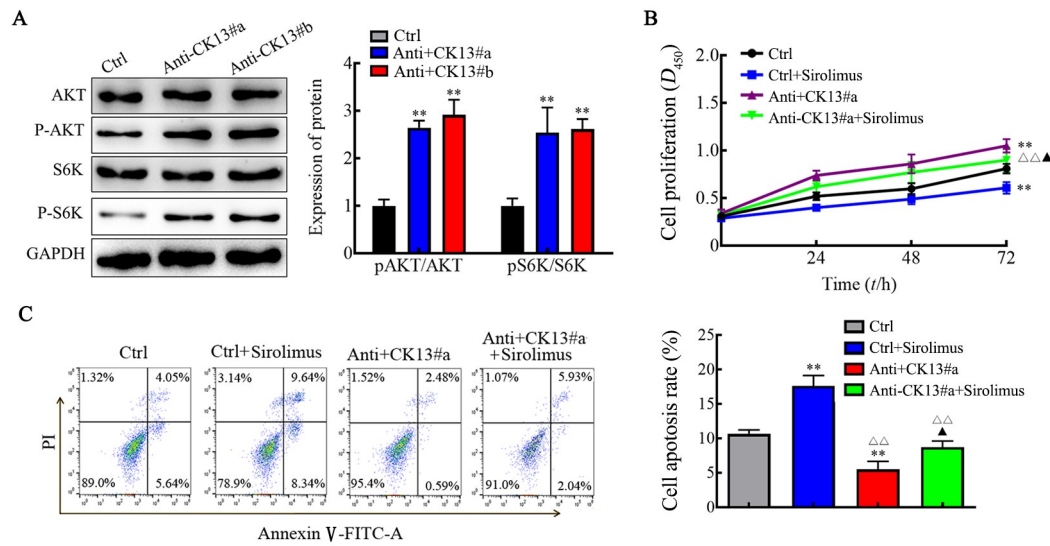
2.3 敲减CK13通过PI3K/AKT/mTOR信号通路增强HNE1细胞放疗抵抗性

WB检测结果(图3A)显示,与对照组相比,敲减CK13显著上调HNE1细胞放射条件下p-AKT/AKT的

表达水平(均 $P < 0.01$),同时显著上调p-S6K/S6K的表达水平(均 $P < 0.01$)。进一步实验发现,加入PI3K/AKT/mTOR信号通路抑制剂西罗莫司后,可以逆转敲减CK13所致的细胞增殖增强现象($P < 0.05$,图3B)。

同时,西罗莫司也可逆转因敲减CK13引起的凋亡降低($P<0.05$,图3C)。实验结果表明,敲减CK13可能

通过激活PI3K/AKT/mTOR信号通路提高NPC细胞的放疗抵抗性。



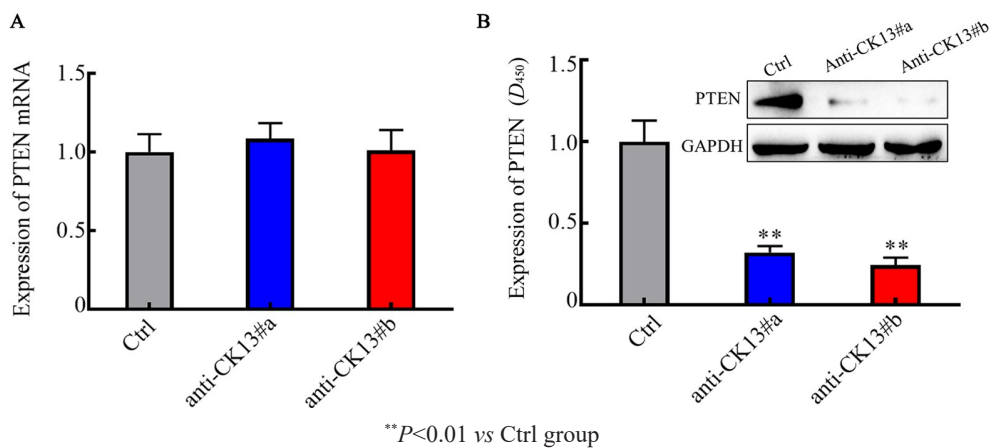
** $P<0.01$ vs Ctrl group; $\Delta\Delta P<0.01$ vs Ctrl+Sirolimus group; $\Delta P<0.05$ vs anti-CK13#a group

图3 敲减CK13对放射处理的HNE1细胞中pAKT/AKT和pS6K/S6K蛋白(A)表达、细胞增殖(B)和凋亡(C)的影响
Fig.3 Effects of CK13 knockdown on pAKT/AKT and pS6K/S6K protein (A) expression, cell proliferation (B) and apoptosis (C) in radiation-treated HNE1 cells

2.4 CK13调控PTEN的表达

qPCR检测结果(图4A)显示,与对照组相比,敲减CK13组细胞中PTEN mRNA水平差异无统计学意义(均 $P>0.05$)。WB实验结果(图4B)显示,与对照组相比,敲减CK13后HNE1细胞中PTEN蛋白的

表达水平明显下降(均 $P<0.01$)。实验结果表明,CK13可能通过调控PTEN水平影响PI3K/AKT/mTOR信号通路,进而参与影响HNE1细胞的放疗抵抗性。



** $P<0.01$ vs Ctrl group

图4 敲减CK13对HNE1细胞中PTEN mRNA(A)和蛋白(B)表达的影响
Fig.4 Effects of CK13 knockdown on the mRNA (A) and protein (B) expressions of PTEN in HNE1 cells

3 讨论

分次放疗是大多数NPC的常规治疗手段,但存在增加残存肿瘤细胞放疗抵抗性的可能性^[9]。本研究发现,敲减CK13可以通过下调HNE1细胞PTEN蛋白的表达,增强PI3K/AKT/mTOR信号通路的活

性,从而增加NPC细胞的放疗抵抗性。

CK13基因表达具有明显的组织特异性,主要在鳞状上皮细胞中表达^[5]。研究^[6,10-11]发现,CK13的异常表达与多种鳞状细胞癌包括宫颈癌、皮肤癌、口腔鳞状细胞癌以及NPC的发生发展密切相关,肿瘤组织中CK13表达高低也与肿瘤分化程度正相关。王

亚利等^[12]通过建立放射抗拒性细胞CNE-2R,采用基因芯片检测CNE-2和CNE-2R细胞差异基因表达,结果发现CK13基因表达下调,从而推测CK13的表达可能与放射敏感性有密切关系。因此本研究利用反义CK13慢病毒,发现敲减CK13后,NPC细胞的放疗敏感性明显增强(表现为细胞增殖增加和细胞凋亡减少),这与之前的研究结果相一致^[6]。陈丹月等^[8]发现,过表达CK13对HNE1细胞的放疗起协同作用,为HNE1细胞的放疗增敏剂。同时发现,细胞增殖相关标志物cyclin D1的表达明显上调,而细胞凋亡标志物C-caspase 3和DNA损伤标志物 γ H2AX表达明显下调。有研究^[13]发现,PI3K/AKT/mTOR信号通路在头颈部肿瘤放疗抵抗性中发挥着重要作用,放射线能通过活化PI3K/AKT/mTOR信号通路(表现为p-AKT和p-S6K表达增加)促进损伤DNA的修复和诱导放疗抵抗,相反抑制AKT的活性则能够增强各种肿瘤的放疗敏感性。有研究者^[14-15]也报道,加入该通路的抑制剂西罗莫司,能够增强NPC细胞CNE-2的放疗敏感性。因此,本研究对CK13与PI3K/AKT/mTOR信号通路的关系进行了探究。结果显示,敲减CK13显著提高HNE1细胞中p-AKT和p-S6K的表达水平,表明PI3K/AKT/mTOR信号通路的活性在敲减CK13后显著升高。那么CK13是否通过该通路介导放疗抵抗性?进一步实验发现,加入西罗莫司可以逆转敲减CK13导致的放疗抵抗性增强的现象。以上结果充分表明,敲减CK13通过增强PI3K/AKT/mTOR信号通路的活性来提高NPC细胞的放疗抵抗性。

PTEN是一个具有磷酸酶活性的抑癌基因,具有广泛的生物学功能,可通过PI3K/AKT和MAPK信号通路调控细胞的增殖、凋亡、迁移和恶性转化^[16]。通常PTEN缺失预示着肿瘤细胞可以抵抗放疗,导致肿瘤复发^[17]。有研究^[18-19]表明,PTEN表达水平的高低与头颈部鳞癌放疗预后相关,其低表达预示肿瘤放疗后易复发、预后差。在NPC中研究^[20]发现,患者组织中PTEN表达与 β -catenin及Nanog表达呈负相关,作者推测PTEN基因抑制引起的PTEN- β -catenin/Nanog信号通路激活可能是NPC细胞恶性增殖的机制之一。但是PTEN在NPC放疗敏感性中的作用并不是很明确。本研究利用qPCR和WB技术分别对敲减CK13组与对照组HNE1细胞中PTEN mRNA和蛋白表达水平进行了检测,发现敲减CK13后,PTEN mRNA表达水平差异无统计学意义,而PTEN蛋白的表达水平明显降低,提示敲减CK13并不影响PTEN的转录。WANG等^[21]研究发现,SYNJ2BP异常表达能够影响细胞角蛋白水平,而

SYNJ2BP被发现能够通过溶酶体途径促进PTEN的降解。因此,本研究推测CK13可能通过影响溶酶体途径从而调控PTEN蛋白的降解。已有研究证明,PTEN蛋白的降解调控在发育、疾病尤其肿瘤的发生过程中起重要作用^[16],去泛素化酶OTUD3通过稳定PTEN抑制肿瘤的发生发展^[22]。因此,进一步确定CK13可能通过影响PTEN蛋白的降解调控PI3K/AKT/mTOR通路,进而调控NPC的放疗敏感性,具体作用机制仍有待深入探索。然而,CK13如何调控PTEN的蛋白降解目前尚未被阐明,后续仍需进一步研究。

综上所述,敲减CK13可以通过下调PTEN蛋白水平进而增强PI3K/AKT/mTOR信号通路活性,最终降低NPC细胞株HNE1的放疗敏感性。CK13可能成为增强NPC放疗敏感性的新靶点,未来也许可通过对CK13的干预,以达到抑制NPC放疗复发的目的。

[参考文献]

- [1] LATO K, BEKES I, WIDSCHWENDTER P, et al. Hypotension due to spinal anesthesia influences fetal circulation in primary Caesarean sections[J]. Arch Gynecol Obstet, 2018, 297(3): 667-674. DOI:10.1007/s00404-017-4641-0.
- [2] CHEN Y P, CHAN A T C, LE Q T, et al. Nasopharyngeal carcinoma [J]. Lancet, 2019, 394(10192): 64-80. DOI:10.1016/s0140-6736(19)30956-0.
- [3] 张荣芳,王春玲,李申,等.甘草素通过影响鼻咽癌CNE-2细胞的自噬增强其放疗敏感性[J].中国肿瘤生物治疗杂志,2018,25(6):601-606. DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2018.06.009.
- [4] MCDOWELL L J, ROCK K, XU W, et al. Long-term late toxicity, quality of life, and emotional distress in patients with nasopharyngeal carcinoma treated with intensity modulated radiation therapy[J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2018, 102(2): 340-352. DOI:10.1016/j.ijrobp.2018.05.060.
- [5] FARRUKH S, SYED S, PERVEZ S. Differential expression of cytokeratin 13 in non-neoplastic, dysplastic and neoplastic oral mucosa in a high risk Pakistani population[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2015, 16(13): 5489-5492. DOI:10.7314/apjcp.2015.16.13.5489.
- [6] 和晓坡,尚德志,魏玉云.细胞角蛋白CK13和CK19在口腔鳞癌中的表达及意义[J].社区医学杂志,2006,4(7):4-7. DOI:10.3969/j.issn.1672-4208.2006.07.003.
- [7] 苗春雨,余宏.反义细胞角蛋白13基因对人鼻咽癌HNE1细胞移植瘤放疗敏感性的影响[J].中国耳鼻咽喉头颈外科,2016,23(5):253-258. DOI:10.16066/j.1672-7002.2016.05.003.
- [8] 陈丹月,余宏,吴永寿,等.细胞角蛋白13基因联合放疗对人鼻咽癌细胞株的作用[J].云南医药,2012,33(5):422-424.
- [9] FAROQUE A, MATHUR R, VERMA A, et al. Low-dose radiation therapy of cancer: role of immune enhancement[J]. Expert Rev Anticancer Ther, 2011, 11(5): 791-802. DOI:10.1586/era.10.217.
- [10] RASPOLLINI M R, FAMBRINI M, MARCHIONNI M, et al. In situ adenocarcinoma and squamous carcinoma of uterine cervix[J].

- Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2007, 134(2): 249-253. DOI: 10.1016/j.ejogrb.2006.07.047.
- [11] ROBLES A I, GIMENEZ-CONTI I B, ROOP D, et al. Low frequency of codon 61 Ha-ras mutations and lack of keratin 13 expression in 7, 12-dimethylbenz[a]-anthracene-induced hamster skin tumors[J]. Mol Carcinog, 1993, 7(2): 94-98. DOI: 10.1002/mc.2940070207.
- [12] 王亚利, 王西京, 王中卫, 等. 放射抗拒性鼻咽癌细胞系的建立及差异表达基因[J]. 西安交通大学学报(医学版), 2009, 30(6): 741-745, 758. DOI: CNKI:SUN:XAYX.0.2009-06-026.
- [13] GODA J S, PACHPOR T, BASU T, et al. Targeting the AKT pathway: Repositioning HIV protease inhibitors as radiosensitizers [J/OL]. Indian J Med Res, 2016, 143(2): 145-159[2020-07-04]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4859124/>. DOI: 10.4103/0971-5916.180201.
- [14] 邓立勇, 汪砥, 胡锦涛, 等. 雷帕霉素增强鼻咽癌放疗敏感性的分子机制研究[J]. 中国医师杂志, 2016, 18(11): 1642-1645, 1649. DOI:10.3760/cma.j.issn.1008-1372.2016.11.012.
- [15] ZHOU Z R, ZHU X D, ZHAO W, et al. Poly(ADP-ribose) polymerase-1 regulates the mechanism of irradiation-induced CNE-2 human nasopharyngeal carcinoma cell autophagy and inhibition of autophagy contributes to the radiation sensitization of CNE-2 cells[J]. Oncol Rep, 2013, 29(6): 2498-2506. DOI:10.3892/or.2013.2382.
- [16] 朱红亚, 罗子俨, 李平昂, 等. 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[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2019, 26(3): 287-292. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2019.03.006.
- [17] RIMAWI M F, DE ANGELIS C, CONTRERAS A, et al. Low PTEN levels and PIK3CA mutations predict resistance to neoadjuvant lapatinib and trastuzumab without chemotherapy in patients with HER2 over-expressing breast cancer[J]. Breast Cancer Res Treat, 2018, 167(3): 731-740. DOI:10.1007/s10549-017-4533-9.
- [18] SIZEMORE G M, BALAKRISHNAN S, THIES K A, et al. Stromal PTEN determines mammary epithelial response to radiotherapy [J/OL]. Nat Commun, 2018, 9(1): 2783[2020-07-04]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6050339/>. DOI:10.1038/s41467-018-05266-6.
- [19] ZHOU X M, SUN R, LUO D H, et al. Upregulated TRIM29 promotes proliferation and metastasis of nasopharyngeal carcinoma via PTEN/AKT/mTOR signal pathway[J/OL]. Oncotarget, 2016, 7(12): 13634-13650[2020-07-04]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4924667/>. DOI:10.18632/oncotarget.7215.
- [20] 朱文婷, 张弓, 李肖楠, 等. PTEN/ β -catenin/Nanog 在鼻咽癌组织干细胞中表达相关性的研究[J]. 肿瘤药学, 2019, 9(2): 204-207, 218. DOI:10.3969/j.issn.2095-1264.2019.02.06.
- [21] WANG M, WU H J, LI S J, et al. SYNJ2BP promotes the degradation of PTEN through the lysosome-pathway and enhances breast tumor metastasis via PI3K/AKT/SNAI1 signaling[J/OL]. Oncotarget, 2017, 8(52): 89692-89706[2020-07-04]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5685702/>. DOI: 10.18632/oncotarget.21058.
- [22] 李洪昌, 张鹏飞, 袁林, 等. 去泛素化酶 OTUD3 通过稳定 PTEN 抑制癌症发生发展[J]. 中国细胞生物学学报, 2016, 38(6): 657-661. DOI:10.11844/cjcb.2016.06.9001.

[收稿日期] 2020-07-04

[修回日期] 2020-11-19

[本文编辑] 党瑞山