

论 著

PI3K/AKT/mTOR信号传导通路在姜黄素抑制人肝癌细胞Cox-2表达中的作用

李帅帅, 孙军

[摘要] 目的 探讨MAPK和PI3K信号传导通路在姜黄素调节的环氧合酶2(Cox-2)表达中的作用。方法 分别加入25、50 $\mu\text{mol/L}$ LY294002, 10、20 $\mu\text{mol/L}$ U0126, 5、10ng/ml西罗莫司(雷帕霉素, rapamycin)处理人肝癌细胞BEL-7402, 30min后加入10 $\mu\text{mol/L}$ 姜黄素, 对照组单独加入0、10 $\mu\text{mol/L}$ 姜黄素, 培养6h后, 采用RT-PCR和Western blotting方法检测BEL-7402细胞中Cox-2 mRNA和蛋白的表达。以不同浓度(0、2.5、5、10、15、20 $\mu\text{mol/L}$)姜黄素或25 $\mu\text{mol/L}$ LY294002处理BEL-7402细胞, 培养6h后, 采用Western blotting检测总AKT蛋白和磷酸化AKT蛋白的表达; 以不同浓度(0、2.5、5、10、15、20 $\mu\text{mol/L}$)姜黄素或10 $\mu\text{mol/L}$ U0126处理BEL-7402细胞, 培养6h后, 采用Western blotting检测总ERK蛋白和磷酸化ERK蛋白的表达。结果 与仅加入10 $\mu\text{mol/L}$ 姜黄素的BEL-7402细胞比较, 分别加入25、50 $\mu\text{mol/L}$ LY294002, 5、10ng/ml西罗莫司后, BEL-7402细胞中的Cox-2 mRNA和蛋白表达均明显降低, 差异有统计学意义($P<0.01$), 而加入10、20 $\mu\text{mol/L}$ U0126后表达无明显变化($P>0.05$)。采用不同浓度姜黄素或25 $\mu\text{mol/L}$ LY294002处理后, BEL-7402细胞磷酸化AKT蛋白表达逐渐降低, 与对照组相比差异有统计学意义($P<0.01$), 但总AKT蛋白表达与对照组相比无明显变化($P>0.05$)。不同浓度姜黄素或10 $\mu\text{mol/L}$ U0126处理后, BEL-7402细胞磷酸化ERK蛋白和总ERK蛋白表达与对照组相比均无明显变化($P>0.05$)。结论 姜黄素可能通过PI3K/AKT/mTOR信号传导通路抑制人肝癌细胞BEL-7402中Cox-2的表达。

[关键词] 姜黄素; 肝肿瘤; 环氧合酶2**[中图分类号]** R735.7**[文献标志码]** A**[文章编号]** 0577-7402(2014)01-0030-05**[DOI]** 10.11855/j.issn.0577-7402.2014.01.07

Role of PI3K/AKT/mTOR pathway in the expression of Cox-2 in inhibition of human hepatocellular carcinoma cells by curcumin

LI Shuai-shuai¹, SUN Jun²¹Liaoning Medical University, Jingzhou, Liaoning 121001, China²Department of Gastroenterology, Jingzhou Central Hospital, Jingzhou, Liaoning 121004, China

[Abstract] **Objective** To investigate the roles of MAPK and PI3K signal transduction pathway in the expression of Cox-2 regulated by curcumin in human hepatocellular carcinoma BEL-7402 cells. **Methods** BEL-7402 cells were pretreated with 20 or 50 $\mu\text{mol/L}$ of LY294002, 10 or 20 $\mu\text{mol/L}$ of U0126, and 5 or 10ng/ml of rapamycin for 30 minutes, followed by treatment with 10 $\mu\text{mol/L}$ of curcumin. The BEL-7402 cells in control group were treated with 0 or 10 $\mu\text{mol/L}$ of curcumin alone. After being cultured for 6 hours, the expression of Cox-2 mRNA and protein were determined by RT-PCR and Western blotting. BEL-7402 cells were treated with different concentrations of curcumin (0, 2.5, 5, 10, 15, 20 $\mu\text{mol/L}$) or 25 $\mu\text{mol/L}$ of LY294002 for 6 hours, and phosphorylated AKT and total AKT were detected by Western blotting. BEL-7402 cells were treated with different concentrations of curcumin (0, 2.5, 5, 10, 15, 20 $\mu\text{mol/L}$) or 10 $\mu\text{mol/L}$ of U0126 for 6 hours, then the phosphorylated ERK and total ERK were also assessed by Western blotting. **Results** Compared with the BEL-7402 cells treated with 10 $\mu\text{mol/L}$ curcumin alone, the expression of Cox-2 mRNA and protein decreased significantly in the BEL-7402 cells treated with 25, 50 $\mu\text{mol/L}$ of LY294002, and 5, 10ng/ml of rapamycin respectively ($P<0.01$), but no difference was found when 10 or 20 $\mu\text{mol/L}$ of U0126 was added ($P>0.05$). Compared with control group, the expression of phosphorylated AKT protein decreased gradually in BEL-7402 cells treated with different concentrations of curcumin or 25 $\mu\text{mol/L}$ of LY294002 ($P<0.01$), but there was no significant difference in the expression of total AKT protein ($P>0.05$). There was no significant difference in the expression of phosphorylated ERK protein and total ERK protein in BEL-7402 cells treated with different concentrations of curcumin or 10 $\mu\text{mol/L}$ of U0126 ($P>0.05$). **Conclusion** Curcumin may inhibit the expression of Cox-2 in human hepatocellular carcinoma BEL-7402 cells through PI3K/AKT/mTOR signal transduction pathway.

[Key words] curcumin; liver neoplasms; cyclooxygenase 2**[作者简介]** 李帅帅, 硕士研究生。主要从事中药抗肿瘤机制的研究**[作者单位]** 121001 辽宁锦州 辽宁医学院研(李帅帅); 121004 辽宁锦州 锦州市中心医院消化内科(孙军)

姜黄素是从姜科植物姜黄中提取的一种色素,具有抑制炎症反应、抗氧化、抗类风湿等作用。近年研究表明,姜黄素具有明确的抗肿瘤作用,能够通过多种途径抑制肿瘤血管的新生^[1-3]。PI3K/AKT/mTOR信号传导通路是人类癌症中一条重要的信号传导通路,在大多数癌症中都处于激活状态,在癌组织的血管生成中发挥着重要作用^[4-5],针对PI3K/AKT/mTOR信号通路的治疗是抗癌治疗的关键之一。人肝癌组织中也存在PI3K/AKT/mTOR信号的激活,且与肿瘤血管的新生密切相关。我们前期的研究发现,姜黄素能够抑制人肝癌细胞BEL-7402中环氧化酶2(Cox-2)的表达,从而抑制肿瘤血管新生,但这种抑制作用是否是通过PI3K/AKT/mTOR途径目前尚不清楚,本研究即探讨PI3K/AKT/mTOR信号传导通路在姜黄素抑制人肝癌细胞Cox-2表达中的作用。

1 材料与方法

1.1 细胞及主要试剂 人肝癌细胞BEL-7402由江阴康众康民生物医药技术有限公司提供。姜黄素(Sigma公司产品,溶于少量DMSO中,加双蒸水配制成500 $\mu\text{mol/L}$ 水溶液,用培养液稀释成所需浓度,DMSO终浓度小于0.1%)。兔抗人Cox-2、AKT、磷酸化AKT(p-AKT)、ERK、磷酸化ERK(p-ERK)单克隆抗体,GAPDH单抗(Enogene公司)。MEK/ERK抑制剂U0126、mTOR/FRAP抑制剂西罗莫司(雷帕霉素,rapamycin,上海伟晶生物科技有限公司);PI3K/AKT抑制剂LY294002(北京启维益成科技有限公司);RT-PCR试剂盒(碧波公司)。引物由大连宝生物工程有限公司合成。

1.2 细胞活力测定 将不同浓度(2.5、5、10、15、20 $\mu\text{mol/L}$)姜黄素作用于人肝癌细胞BEL-7402,用0.4%台盼蓝染色5min,在显微镜下观察染成蓝色的死亡细胞,计数染色细胞和总细胞数目。细胞活性为未染色细胞占总细胞的百分率。

1.3 WST-8法检测细胞增殖情况 将人肝癌细胞BEL-7402按 $1 \times 10^4/\text{ml}$ 密度接种于96孔板,每孔100 μl ,37 $^{\circ}\text{C}$ 、5%CO₂孵育24h;分别加入0、2.5、5、10、15、20 $\mu\text{mol/L}$ 的姜黄素,培养6h;每孔加入10 μl CCK-8溶液,孵育2h。以不加姜黄素的孔作为对照。用酶标仪检测各孔在450nm处的吸光度(A)值。

1.4 不同通路抑制剂对姜黄素诱导的Cox-2表达抑制的影响 BEL-7402细胞按常规胰蛋白酶消化法传代,取对数生长期细胞,按 $2 \times 10^5/\text{ml}$ 密度接种于6孔板,培养24h细胞贴壁后,将细胞分为8组,分别加入25、50 $\mu\text{mol/L}$ 的PI3K抑制剂LY294002,

10、20 $\mu\text{mol/L}$ 的MEK抑制剂U0126,5、10 ng/ml 的mTOR/FRAP抑制剂西罗莫司,30min后加入10 $\mu\text{mol/L}$ 姜黄素。空白对照和阴性对照细胞单独加入0、10 $\mu\text{mol/L}$ 姜黄素。将上述各组细胞置于37 $^{\circ}\text{C}$ 、5%CO₂、饱和湿度培养箱中培养6h,收集细胞,待测Cox-2 mRNA及蛋白表达变化。

1.5 不同浓度姜黄素及LY294002对p-AKT及总AKT蛋白表达的影响 取对数生长期细胞,按 $2 \times 10^5/\text{ml}$ 密度接种于6孔板,培养24h细胞贴壁后,分别加入0(对照组)、2.5、5.0、10、15、20 $\mu\text{mol/L}$ 的姜黄素或25 $\mu\text{mol/L}$ 的LY294002,置37 $^{\circ}\text{C}$ 、5%CO₂、饱和湿度培养箱中培养6h,收集细胞,待测p-AKT及总AKT蛋白表达水平。

1.6 不同浓度姜黄素及U0126对p-ERK和总ERK蛋白表达的影响 取对数生长期细胞,按 $2 \times 10^5/\text{ml}$ 密度接种于6孔板,培养24h细胞贴壁后,分别加入0(对照组)、2.5、5.0、10、15、20 $\mu\text{mol/L}$ 的姜黄素或10 $\mu\text{mol/L}$ U0126,置37 $^{\circ}\text{C}$ 、5%CO₂、饱和湿度培养箱中培养6h,收集细胞,待测p-ERK及总ERK蛋白表达水平。

1.7 RT-PCR检测Cox-2 mRNA表达情况 采用Trizol法提取上述各组细胞总RNA,取5 μg 总RNA进行反转录反应合成cDNA。Cox-2上游引物5'-TCAATGAGATTGTGGGAAAATTG-3',下游引物5'-TCTAGTAGAGACGGACTCATAGAA-3',扩增产物长度310bp^[2]; β -actin上游引物5'-CAGAGCAAGAGAGGCATCCT-3',下游引物5'-GCATAGCACAGCCTGGATAG-3',扩增产物长度250bp。PCR反应条件如下。Cox-2:94 $^{\circ}\text{C}$ 3min;94 $^{\circ}\text{C}$ 30s,54 $^{\circ}\text{C}$ 30s,72 $^{\circ}\text{C}$ 1min,30个循环;72 $^{\circ}\text{C}$ 10min。 β -actin:94 $^{\circ}\text{C}$ 3min;94 $^{\circ}\text{C}$ 30s,52 $^{\circ}\text{C}$ 30s,72 $^{\circ}\text{C}$ 1min,30个循环;72 $^{\circ}\text{C}$ 10min。1.5%琼脂糖凝胶电泳观察,应用Fluorchem 2.01软件进行分析,以Cox-2条带与内参 β -actin条带的吸光度(A)值比值作为Cox-2基因的相对表达量。实验重复3次。

1.8 Western blotting检测蛋白表达情况 提取蛋白,行10% SDS-PAGE电泳,转至PVDF膜;加入含5%脱脂奶粉的TBS缓冲液封闭;加入兔抗人Cox-2单克隆抗体、兔抗人AKT单克隆抗体、兔抗人ERK单克隆抗体,4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜;洗膜30min,加入辣根过氧化物酶标记的羊抗兔二抗孵育;在新鲜配制的NBT/BCIP底物溶液中显色20min,流水冲洗,终止显色,照相。内参采用GAPDH。采用Fluorchem 2.01软件分析蛋白条带积分A值。以目的条带与内参条带的比值代表目的蛋白的表达水平。实验重复3次。

1.9 统计学处理 采用SPSS 17.0软件进行统计学

分析, 计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示, 多组间的比较采用单因素方差分析, 进一步两两比较采用Dunnett-t检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 细胞活力测定 不同剂量(2.5、5、10、15、20 $\mu\text{mol/L}$)姜黄素处理的人肝癌细胞BEL-7402的细胞活性均 $>95\%$, 与对照组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。

2.2 细胞增殖情况分析 2.5、5、10、15、20 $\mu\text{mol/L}$ 姜黄素处理的BEL-7402细胞增殖率分别为 $96.23\% \pm 0.74\%$ 、 $92.81\% \pm 0.36\%$ 、 $89.38\% \pm 0.36\%$ 、 $85.13\% \pm 0.51\%$ 、 $79.32\% \pm 0.49\%$, 与对照组($98.94\% \pm 0.57\%$)比较明显降低($P<0.01$)。

2.3 不同信号通路抑制剂对姜黄素抑制Cox-2表达作用的影响

2.3.1 PT-PCR检测Cox-2 mRNA表达情况 加入25、50 $\mu\text{mol/L}$ LY294002后, Cox-2 mRNA表达量分别为 0.23 ± 0.01 、 0.21 ± 0.04 , 明显低于阴性对照组(0.79 ± 0.02), 差异有统计学意义($P<0.01$)。加入5、10ng/ml西罗莫司后, Cox-2 mRNA表达量分别为 0.22 ± 0.02 、 0.19 ± 0.01 , 亦明显低于阴性对照组, 差异有统计学意义($P<0.01$)。加入10、20 $\mu\text{mol/L}$ U0126后, Cox-2 mRNA表达量分别为 0.81 ± 0.004 、 0.80 ± 0.01 , 与阴性对照组比较差异无统计学意义($P>0.05$, 图1)。

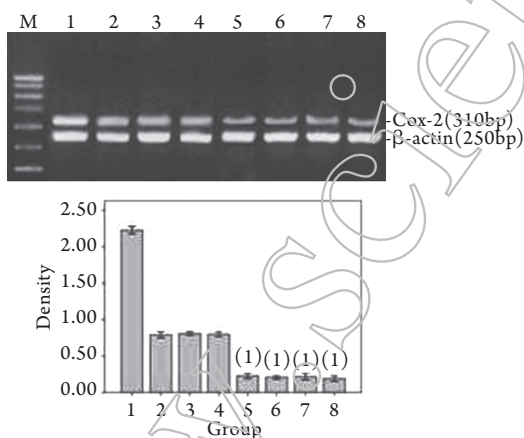


图1 RT-PCR检测Cox-2 mRNA表达情况($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

Fig.1 Expression of Cox-2 mRNA detected by RT-PCR ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

1. Blank control; 2. Negative control; 3, 4. U0126 10, 20 $\mu\text{mol/L}$; 5, 6. LY294002 25, 50 $\mu\text{mol/L}$; 7, 8. Rapamycin 5, 10ng/ml. (1) $P<0.01$ compared with negative control group

2.3.2 Western blotting检测Cox-2蛋白表达情况

加入25、50 $\mu\text{mol/L}$ LY294002后, Cox-2蛋白表达量分别为 0.31 ± 0.01 、 0.30 ± 0.01 , 明显低于阴性对照组(1.20 ± 0.04), 差异有统计学意义($P<0.01$)。加入

5、10ng/ml西罗莫司后, Cox-2蛋白表达量分别为 0.33 ± 0.01 、 0.28 ± 0.02 , 亦明显低于阴性对照组, 差异有统计学意义($P<0.01$)。加入10、20 $\mu\text{mol/L}$ U0126后, Cox-2蛋白表达量分别为 1.08 ± 0.09 、 1.12 ± 0.04 , 与阴性对照组比较差异无统计学意义($P>0.05$, 图2)。

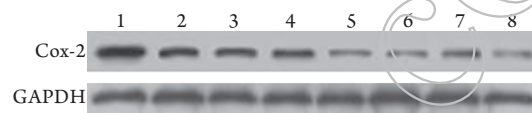


图2 Western blotting检测Cox-2蛋白表达($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

Fig.2 Expression of Cox-2 protein detected by Western blotting ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

1. Blank control; 2. Negative control; 3, 4. U0126 10, 20 $\mu\text{mol/L}$; 5, 6. LY294002 25, 50 $\mu\text{mol/L}$; 7, 8. Rapamycin 5, 10ng/ml

2.4 不同剂量姜黄素及LY294002对p-AKT及总AKT蛋白表达的影响 2.5、5、10、15、20 $\mu\text{mol/L}$ 姜黄素或25 $\mu\text{mol/L}$ LY294002处理的人肝癌细胞BEL-7402中, p-AKT蛋白表达分别为 1.88 ± 0.02 、 1.57 ± 0.02 、 1.03 ± 0.01 、 0.64 ± 0.02 、 0.47 ± 0.02 、 0.13 ± 0.02 , 与对照组(2.81 ± 0.03)相比差异有统计学意义($P<0.01$), 而总AKT蛋白表达分别为 1.69 ± 0.04 、 1.70 ± 0.02 、 1.71 ± 0.01 、 1.70 ± 0.02 、 1.74 ± 0.06 、 1.68 ± 0.04 , 与对照组(1.73 ± 0.06)相比差异无统计学意义($P>0.05$, 图3)。

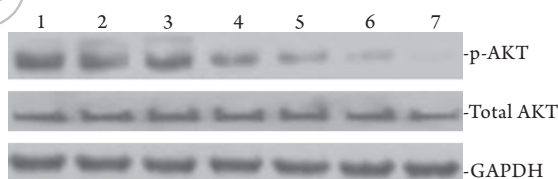


图3 Western blotting检测p-AKT和总AKT蛋白表达情况

Fig.3 Expression of phosphorylated AKT and total AKT protein detected by Western blotting

1—6. 0, 2.5, 5, 10, 15, 20 $\mu\text{mol/L}$ curcumin; 7. 25 $\mu\text{mol/L}$ LY294002

2.5 不同剂量姜黄素及U0126对p-ERK和总ERK蛋白表达的影响 2.5、5、10、15、20 $\mu\text{mol/L}$ 姜黄素处理的人肝癌细胞BEL-7402中, p-ERK蛋白表达分别为 1.00 ± 0.02 、 1.01 ± 0.02 、 1.00 ± 0.02 、 0.99 ± 0.01 、 1.00 ± 0.02 , 与对照组(1.01 ± 0.02)相比差异无统计学意义($P>0.05$), 而10 $\mu\text{mol/L}$ U0126处理的人肝癌细胞BEL-7402中p-ERK蛋白表达为 0.84 ± 0.01 , 与对照组相比显著降低($P<0.01$)。2.5、5、10、15、20 $\mu\text{mol/L}$ 姜黄素或10 $\mu\text{mol/L}$ U0126处理的人肝癌细胞BEL-7402中, 总ERK蛋白表达分别为 1.12 ± 0.02 、 1.11 ± 0.02 、 1.10 ± 0.03 、 1.11 ± 0.01 、 1.10 ± 0.01 , 与对照组(1.11 ± 0.02)相比差异均无统计学意义($P>0.05$, 图4)。

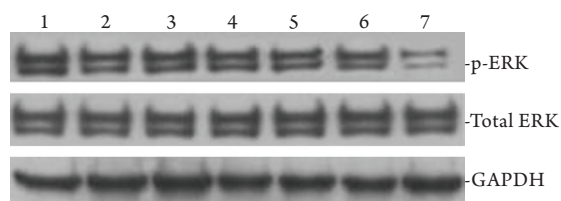


图4 Western blotting检测p-ERK和总ERK蛋白表达情况
Fig.4 Expression of phosphorylated ERK and total ERK protein detected by Western blotting

1—6. 0, 2.5, 5, 10, 15, 20 μmol/L curcumin; 7. 10 μmol/L U0126

3 讨论

近年来,随着对肿瘤研究的不断深入,关于肿瘤细胞促血管生成能量代谢途径的研究逐渐增多,特异性阻断肿瘤的促血管生成能量代谢途径已成为肿瘤治疗研究的新热点。PI3K/AKT/mTOR信号传导通路与癌症的血管新生密切相关,在肿瘤的发生发展中具有重要地位^[6]。肝细胞癌是我国最常见的恶性肿瘤之一,其对血管的依赖性强,而PI3K/AKT/mTOR途径参与了肝癌的血管新生、迁移、黏附等^[7-8]。

PI3K/AKT/mTOR通过级联反应,共同调节肿瘤的血管新生。大量研究发现,姜黄素作为一种非常有应用前景的天然化合物,在多种肿瘤中对PI3K/AKT/mTOR信号传导通路均有抑制作用^[9-11]。Cox-2是花生四烯酸代谢途径中的关键酶,可促进细胞增殖、抑制细胞凋亡、促进肿瘤血管生成等,在肿瘤的发生、发展中扮演着重要角色。近年来有研究发现,特异性地沉默人肝癌细胞中的Cox-2基因具有抑制细胞增殖、促进细胞凋亡和细胞周期阻滞、降低胞内抗凋亡蛋白Bcl-2水平的作用^[12]。我们的前期研究发现,姜黄素能够抑制人肝癌细胞中Cox-2的表达,起到抗肿瘤血管生成的作用。Xu等^[13]研究发现,PI3K/AKT信号传导途径参与了Cox-2的表达调节,但同时也有研究证实MEK/ERK信号途径参与了Cox-2的表达调节^[14-15]。

为了探讨人肝癌细胞BEL-7402中姜黄素通过抑制Cox-2而实现抗血管生成作用的机制,本实验应用PI3K/AKT抑制剂LY294002、mTOR/FRAP抑制剂西罗莫司及MEK/ERK抑制剂U0126作用于姜黄素处理的人肝癌细胞BEL-7402,结果发现,PI3K抑制剂LY294002和mTOR/FRAP抑制剂西罗莫司能够抑制姜黄素作用的人肝癌细胞BEL-7402中Cox-2 mRNA和蛋白的表达,而MEK/ERK抑制剂U0126不能抑制其表达,提示在人肝癌细胞BEL-7402中,姜黄素抑制Cox-2的表达是通过PI3K/AKT/mTOR信号传导通路实现的,而不通过MEK/ERK信号途径。

同时,我们还通过使用不同剂量的姜黄素或PI3K/AKT抑制剂、MEK/ERK抑制剂处理人肝癌细胞BEL-7402,然后检测磷酸化AKT、总AKT、磷酸化ERK、总ERK的表达,结果发现,姜黄素可抑制人肝癌细胞BEL-7402中的磷酸化AKT,而对总AKT、磷酸化ERK以及总ERK均无明显影响,进一步说明姜黄素在PI3K/AKT/mTOR通路中通过磷酸化途径激活AKT,与MEK/ERK途径无关。

综上所述,PI3K/AKT/mTOR信号传导通路参与调控人肝癌细胞BEL-7402中Cox-2的表达,姜黄素可以通过PI3K/AKT/mTOR信号传导通路抑制Cox-2的表达,从而抑制肿瘤血管的生成。当前癌症的发病率逐年增加,通过抑制肿瘤血管新生达到抑癌目的已经成为肿瘤治疗的新靶点,姜黄素作为第三代癌化学预防药,能够抑制肿瘤的生长和血管生成,同时具有原材料充足、靶向作用强、对正常组织不良反应小等特点,具有良好的临床应用前景,值得更进一步研究。

【参考文献】

- [1] Zhang B, Ye LH. The research progress of curcumin in anti-cancer mechanisms[J]. Acta Chin Med Pharm, 2013, 41(1): 121-123. [张博,叶丽红.姜黄素抗癌机制研究进展[J]. 中医药学报, 2013, 41(1): 121-123.]
- [2] Wu DY, Guo WY, Zhang HJ, et al. Curcumin attenuates renal ischemia reperfusion injury in mice by inhibiting the activation of toll-like receptor 4 signaling[J]. Med J Chin PLA, 2012, 37(7): 671-675. [吴迪英,郭闻渊,张豪杰,等.姜黄素对小鼠肾脏再灌注损伤的保护作用及其机制研究[J]. 解放军医学杂志, 2012, 37(7): 671-675.]
- [3] Liu L, Tan BT, Li Y, et al. Protective effect and its mechanism of curcumin on ischemia-reperfusion injury of cerebral cortex in rats[J]. Med J Chin PLA, 2013, 38(3): 190-194. [刘莉,谭波涛,李昱,等.姜黄素对大鼠大脑皮质缺血再灌注损伤的保护作用及其机制研究[J]. 解放军医学杂志, 2013, 38(3): 190-194.]
- [4] Karar J, Maity A. PI3K/AKT/mTOR pathway in angiogenesis[J]. Front Mol Neurosci, 2011, 4(51): 1-8.
- [5] Long S, Shen Y, Xie YS, et al. Effects of exosomes derived from MDA-MB-231 on proliferation of endothelial cells and the role of MAPK/ERK and PI3K/Akt pathways[J]. Med J Chin PLA, 2012, 37(11): 1054-1058. [隆霜,沈宜,谢莹珊,等.乳腺癌MDA-MB-231细胞源Exosomes对内皮细胞增殖的影响及MAPK/ERK和PI3K/Akt信号通路的作用[J]. 解放军医学杂志, 2012, 37(11): 1054-1058.]
- [6] Liu F, Tan BZ. Effect of PI3K/AKT/GSK3 β pathway on the proliferation and drug-resistant of epithelial ovarian carcinoma cells[J]. Tianjin Med J, 2013, 41(6): 614-616. [刘斐,谭布珍. PI3K/AKT/GSK3 β 信号通路在上皮性卵巢癌细胞增殖与耐药中的作用[J]. 天津医药, 2013, 41(6): 614-616.]
- [7] Kruse JP, Gu W. Modes of p53 regulation[J]. Cell, 2009, 137(4): 609-622.
- [8] Sun LJ, Fu Q, Li HY, et al. Relationship of EGFR, KRAS, BRAF,

- PI3K gene mutation and nonsmall-cell lung cancer treated by targeted drug[J]. *Chin J Pract Intern Med*, 2013, 48(1): 147-148. [孙丽娟, 付群, 李宏云, 等. EGFR、KRAS、BRAF、PI3K基因突变与非小细胞肺癌靶向药物治疗的关系[J]. 中国实用内科杂志, 2013, 48(1): 147-148.]
- [9] Mao S, He MS, Liu GY, *et al*. The role of curcumin for the medulloblastoma PI3K/AKT signaling pathway[J]. *J Third Mil Med Univ*, 2013, 35(6): 518-522. [毛蜀, 何密斯, 刘桂元, 等. 姜黄素对髓母细胞瘤PI3K/AKT信号通路的作用[J]. 第三军医大学学报, 2013, 35(6): 518-522.]
- [10] Wang JY, Wang ZP, Zhao JL, *et al*. Curcumin induces apoptosis via PTEN/PI3K/AKT pathway in human bladder carcinoma EJ cells[J]. *Pharm Clin Chin Mater Med*, 2011, 27(1): 26-28. [王晶宇, 王志平, 赵俊丽, 等. 姜黄素作用PTEN/PI3K/AKT通路诱导膀胱癌EJ细胞凋亡[J]. 中药药理与临床, 2011, 27(1): 26-28.]
- [11] Min M, Gao QP. The effect of curcumin on HL60 cells PI3K/AKT signaling pathways[J]. *Hainan Med J*, 2012, 23(6): 3-5. [闵旻, 高清平. 姜黄素对HL60细胞PI3K/AKT信号传导通路的影响[J]. 海南医学, 2012, 23(6): 3-5.]
- [12] Guo D, Chen NN, Wu SG, *et al*. Cyclooxygenase-2 gene silence induces apoptosis of human hepatocellular carcinoma cells[J]. *Med J Chin PLA*, 2012, 37(7): 715-719. [郭丹, 陈娜娜, 吴曙光, 等. 环氧合酶2基因沉默诱导人肝癌细胞凋亡的作用观察[J]. 解放军医学杂志, 2012, 37(7): 715-719.]
- [13] Xu W, Chen GS, Shao Y, *et al*. Gastrin acting on the cholecystokinin2 receptor induces cyclooxygenase-2 expression through JAK2/STAT3/PI3K/AKT pathway in human gastric cancer cells[J]. *Cancer Lett*, 2013, 332(1): 11-18.
- [14] Wang ZL, Fan ZQ, Jiang HD, *et al*. Selective Cox-2 inhibitor celecoxib induces epithelial-mesenchymal transition in human lung cancer cells via activating MEK-ERK signaling[J]. *Carcinogenesis*, 2013, 34(3): 638-646.
- [15] Parente R, Trifiro E, Cuozzo F, *et al*. Cyclooxygenase-2 is induced by P38 MAPK and promotes cell survival[J]. *Oncol Rep*, 2013, 29(5): 1999-2004.

(收稿日期: 2013-07-25; 修回日期: 2013-09-28)

(责任编辑: 熊晓然)