

B7H3 与纤维连接蛋白相互作用对人慢性髓性白血病细胞凋亡影响的初步探讨

孙美云^{1,2} 谢金晶^{1,2} 张东泽^{2,3} 张光波^{2,3}

¹苏州大学医学部 216007; ²江苏省临床免疫学重点实验室, 苏州 216007; ³苏州大学附属第一医院 216007

通信作者: 张光波, Email: zhangguangbo@suda.edu.cn

【摘要】 目的 探讨 B7H3 和纤维连接蛋白(FN) 相互作用对人慢性髓性白血病细胞系 K562 细胞凋亡的影响。方法 采用流式细胞术检测 K562 细胞中 B7H3 分子的表达, 构建 B7H3 过表达细胞。采用免疫共沉淀技术检测 B7H3 与 FN 的相互作用。添加外源 FN 后, 通过细胞实验检测细胞黏附和细胞凋亡的变化。Western blot 法检测凋亡相关蛋白及 PI3K/AKT 信号通路的变化。结果 ① K562 细胞低表达 B7H3 分子, 慢病毒转染后得到稳定表达 B7H3 的细胞系 K562 OE-B7H3 及其对照细胞系 K562 NC-B7H3 细胞。② B7H3 与 FN 之间存在相互作用($P = 0.036$)。③ B7H3 与 FN 的相互作用促进细胞黏附($P < 0.05$), 抑制细胞凋亡($P < 0.05$)。④ B7H3 与 FN 相互作用激活 PI3K/AKT 信号通路($P < 0.05$)。结论 B7H3 与 FN 相互作用促进了细胞黏附, 可能通过激活 PI3K/AKT 信号通路抑制 K562 细胞的凋亡。

【关键词】 K562 细胞; 细胞黏附; 细胞凋亡; B7H3; 纤维连接蛋白

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(81872328)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2021.11.009

Preliminary study on the effect of B7H3 interaction with fibronectin on apoptosis of human chronic myeloid leukemia cells

Sun Meiyun^{1,2}, Xie Jinjing^{1,2}, Zhang Dongze^{2,3}, Zhang Guangbo^{2,3}

¹Department of Medicine, Soochow University, Suzhou 216007, China; ²Jiangsu Key Laboratory of Clinical Immunology, Suzhou 216007, China; ³The First Affiliated Hospital of Soochow University, Suzhou 216007, China

Corresponding author: Zhang Guangbo, Email: zhangguangbo@suda.edu.cn

【Abstract】 Objective To explore the effect of the interaction between B7H3 and fibronectin (FN) on the apoptosis of human chronic myeloid leukemia K562 cells. **Methods** The expression of B7H3 molecules in K562 cells was detected using flow cytometry and B7H3 overexpressing cells were constructed. The interaction between B7H3 and FN was detected using the co-immunoprecipitation technology. After adding exogenous FN, cell experiments were performed to detect changes in adhesion and cell apoptosis. The changes in apoptosis-related proteins and PI3K/AKT signaling pathway were detected using Western blot. **Results** The expression of B7H3 was low in K562, and the cell line K562 OE (overexpression)-B7H3 and the control cell line K562 NC (negative control)-B7H3 were obtained after lentivirus transfection. There is an interaction between B7H3 and FN ($P = 0.036$), and this interaction promoted cell adhesion ($P < 0.05$), inhibited cell apoptosis ($P < 0.05$), and activated the PI3K/AKT signaling pathway ($P < 0.05$). **Conclusion** B7H3 interacts with FN to promote cell adhesion and may inhibit K562 cell apoptosis by activating the PI3K/AKT signaling pathway.

【Key words】 K562 cells; Cell adhesion; Cell apoptosis; B7H3; Fibronectin

Fund program: General Project of National Natural Science Foundation of China (81872328)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2021.11.009

慢性髓性白血病(CML)属于骨髓增生性疾病,约占成人白血病的15%^[1]。2000年伊马替尼问

世,CML的年病死率降至1%~2%^[2]。B7H3在发现时被认为是T细胞的刺激蛋白,但是目前的诸多

研究显示B7H3作为T细胞的抑制剂促进肿瘤的侵袭和增殖^[3]。研究表明,双特异性的B7H3抗体处理K562细胞18 h后,对细胞表现出强的杀伤能力,而用抗B7H3单抗阻断后,杀伤能力减弱,进一步提示B7H3可以作为血液病免疫疗法的新靶点^[4]。已有研究表明B7H3与细胞之间及细胞与细胞外基质之间的黏附相关^[5],而纤维连接蛋白(Fibronectin, FN)的基本作用就是促进细胞黏附^[6]。有学者采用FN多克隆抗体检测到FN和B7H3的表达,于是我们猜测FN与B7H3分子可能通过形成天然复合物发挥作用。本研究中我们对B7H3与FN相互作用对CML细胞凋亡的影响及其作用机制进行初步研究。

材料与amp;方法

一、材料

人慢性髓性白血病细胞系K562细胞购自中国科学院细胞库;RPMI 1640培养基、胎牛血清为美国BI公司产品;PBS为美国Hyclone公司产品;FN、puromycin为北京索莱宝科技有限公司产品;IP裂解液、RIPA Lysis缓冲液、SDS-PAGE蛋白质上样缓冲液、100×青霉素和链霉菌混合液、PMSF、 β -Actin、IgG、Protein A+G Agarose购自上海碧云天生物技术有限公司;Annexin V-PE/7-AAD凋亡检测试剂盒为美国BD公司产品;转录试剂盒为诺唯赞公司产品;Caspase-3、Caspase-9、Bax、AKT、p-AKT、B7H3、p53、FN抗体为美国Proteintech公司产品;Caspase-8、PI3K、p-PI3K抗体为美国Abcam公司产品;Bcl-2抗体为美国CST公司产品;病毒为上海吉玛基因公司产品;GAPDH、B7H3引物购自金唯智生物科技有限公司。

二、方法

1. 细胞培养:K562细胞用含10%热灭活胎牛血清的RPMI 1640培养基,37℃、5% CO₂的潮湿培养箱中培养。

2. 流式细胞术检测K562细胞中B7H3的表达:离心收集细胞,每管加入10⁵个细胞后,加入1 μ l PE标记的鼠抗人B7H3抗体,避光4℃孵育30 min,洗涤,上机检测。

3. 慢病毒转染K562细胞:将K562细胞以2 \times 10⁵细胞/ml接种于6孔板中,按照慢病毒转染说明书进行操作。转染72 h后加入含2 μ g/ml puromycin的RPMI 1640培养基,经筛选分别得到稳定表达B7H3的K562-OE细胞株以及对照K562-NC细胞株,并对

两组细胞进行检测和鉴定。

4. 实时定量PCR检测B7H3 mRNA的表达:将已筛选两周的K562-OE和K562-NC细胞用RNA提取试剂盒提取总RNA。使用日本TaKaRa公司试剂盒、10 μ l体系进行逆转录,实时定量PCR测定B7H3在基因水平上的表达,B7H3相对表达量采用2^{- $\Delta\Delta$ Ct}法进行计算。

5. 免疫共沉淀:收集K562细胞,取细胞沉淀加入1 ml IP裂解液,冰上裂解5 min,4℃12 000 \times g离心,收集上清。按IgG和Protein A+G Agarose说明书操作。经洗涤后向上清液中加入1 \times 蛋白上样缓冲液,金属浴100℃煮5 min,取全部样品用于Western blot检测。

6. 细胞黏附实验:20 μ g/ml FN包被于96孔板中,并以PBS作为阴性对照,2% BSA封闭1 h。封闭结束后,用无血清培养基洗涤96孔板。收集对数生长期的ctrl-NC、FN-NC、ctrl-OE、FN-OE K562细胞,将细胞重悬于含1% FBS的培养基中,制成5 \times 10²细胞/ μ l悬液,每孔添加100 μ l,每组设5个复孔,在细胞培养箱中培养1 h。PBS洗涤,经多聚甲醛固定和结晶紫染色后,冲洗并干燥,在显微镜下观察黏附细胞的数量并拍照,选取其中3张照片用Image J软件计数统计。

7. 流式细胞术检测细胞凋亡:将K562细胞接种于6孔板,当细胞处于对数生长期时,对细胞进行如下分组:饥饿+ctrl-NC(无血清RPMI 1640培养NC细胞),饥饿+FN-NC(无血清RPMI 1640和外源FN培养NC细胞),饥饿+ctrl-OE(无血清RPMI 1640培养OE细胞),饥饿+FN-OE(无血清RPMI 1640和外源FN培养OE细胞),培养24 h。收集细胞培养上清和细胞,预冷的PBS洗涤两次后,用100 μ l 1 \times Binding缓冲液重悬细胞,分别加入5 μ l Annexin V-PE抗体和7-AAD抗体,室温避光孵育15 min,加入300 μ l 1 \times Binding缓冲液,于1 h内上机检测。

8. Western blot法检测凋亡相关蛋白与PI3K/AKT信号通路相关分子的表达:收集经饥饿处理的四组K562细胞,提取蛋白并用Western blot法检测B7H3、Caspase-9、Caspase-8、Apaf-1、Cleaved PARP、Cytochrome C、Caspase-3、Bax、Bcl-2、p53、p-PI3K、PI3K、p-AKT、AKT蛋白水平的表达变化。

三、统计学处理

实验数据用GraphPad Prism 7.0、Image J以及FlowJo 7.6分析且所有实验均重复3次,两组之间的比较应用t检验,P<0.05为差异有统计学意义。

结 果

1. B7H3 OE-K562 细胞株的构建:应用流式细胞术检测 B7H3 的表达,NC 组 B7H3 的表达率为 15.7%,OE 组 B7H3 的表达率为 69.6% (图 1A),表明 B7H3 的转染效率较高。Western blot 法检测两组细胞 B7H3 在蛋白水平上的表达,OE 组 B7H3 的表达水平明显高于 NC 组,差异有统计学意义 ($P = 0.003$) (图 1B)。实时定量 PCR 检测 B7H3 在 mRNA 水平上的表达,NC 组 B7H3 的表达水平明显低于 OE 组,且差异有统计学意义 ($P = 0.009$) (图 1C)。

2. B7H3 与 FN 的相互作用:如图 2A 所示,我们从 TCGA 数据库中查询到,B7H3 与 FN 在白血病细胞中存在一定的相关性 ($P = 0.036$)。随后,我们通过免疫共沉淀实验验证 B7H3 与 FN 在 K562 细胞中是否具有相互作用。结果如图 2B 所示,FN 在 K562 细胞中被 B7H3 所沉淀。以上结果表明 B7H3 与 FN 存在相互作用。

3. B7H3 与 FN 的相互作用对细胞黏附的影响:如图 3 所示,与 ctrl-NC 组细胞相比,ctrl-OE 组细胞的黏附率显著上升 ($P = 0.022$);ctrl-NC 组与 ctrl-OE 组细胞在分别用外源 FN 刺激后,细胞黏附率均显著上升 ($P = 0.016$ 和 $P = 0.022$),且 ctrl-NC 组细胞在外源 FN 刺激后黏附率上升幅度明显低于 ctrl-OE 组细胞在外源 FN 刺激后黏附率上升幅度。表明 B7H3 与 FN 的相互作用可以进一步促进细胞黏附。

4. B7H3 与 FN 相互作用对 K562 细胞凋亡的影响:如图 4 所示,与 ctrl-NC 组相比,FN-NC 组细胞的早期或晚期细胞凋亡均无显著变化 ($P > 0.05$);而 FN-OE 组与 ctrl-OE 组相比,细胞的早期凋亡率下降 ($P = 0.018$),晚期细胞凋亡率差异无统计学意义 ($P = 0.176$)。随后,我们又检测了凋亡分子在蛋白和 mRNA 水平的表达变化。如图 5A 和 5B 所示,ctrl-NC 组细胞在添加 FN 后,Cleaved PARP、Cytochrome C、Apaf-1、Caspase-8 和 Caspase-9 的表达差异均无统计学意义 (P 值均 > 0.05);但 ctrl-OE 组细胞加入 FN 后,Cleaved-PARP、Cytochrome C、Apaf-1、Caspase-8 和 Caspase-9 的表达均降低 (P 值均 < 0.05)。表明 B7H3 与 FN 的相互作用抑制 K562 细胞凋亡。

5. B7H3 与 FN 的相互作用激活 PI3K/AKT 信号通路:为了进一步探讨 B7H3 与 FN 相互作用抑制 K562 细胞凋亡的机制,我们检测了 PI3K/AKT 信号通路相关分子在蛋白和 mRNA 水平的表达。如图 6

所示,ctrl-OE 组在添加 FN 后,p-PI3K、p-AKT 和 Bcl-2 的表达均上调 (P 值均 < 0.05),并且 p53、Bax 和 Caspase-3 表达均下调 (P 值均 < 0.05),但总的 PI3K 和 AKT 表达保持不变 ($P > 0.05$)。表明 B7H3

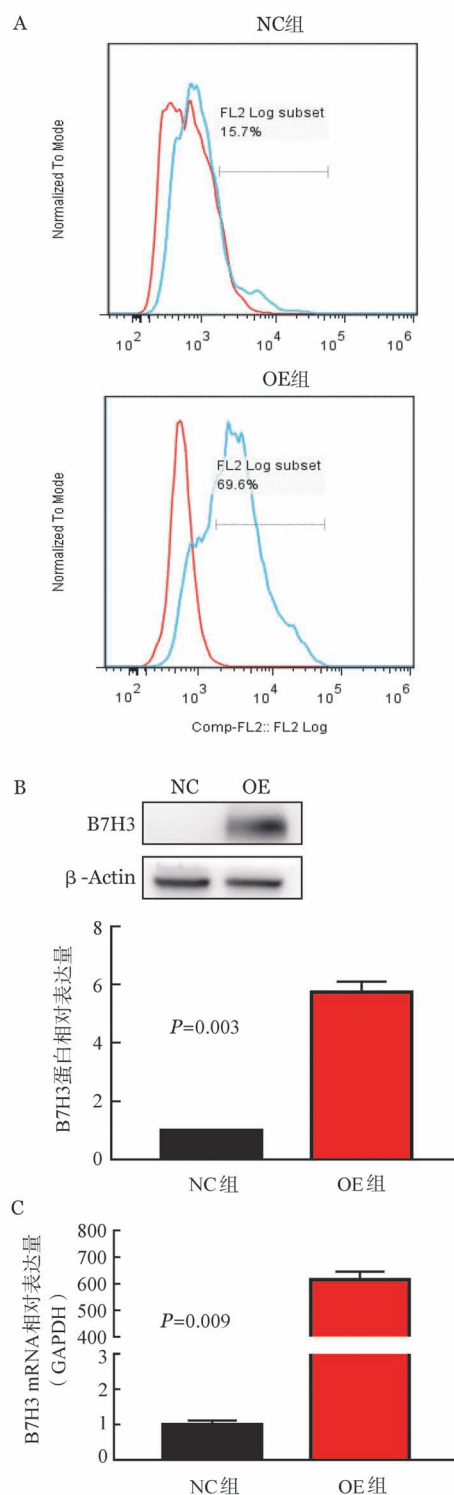
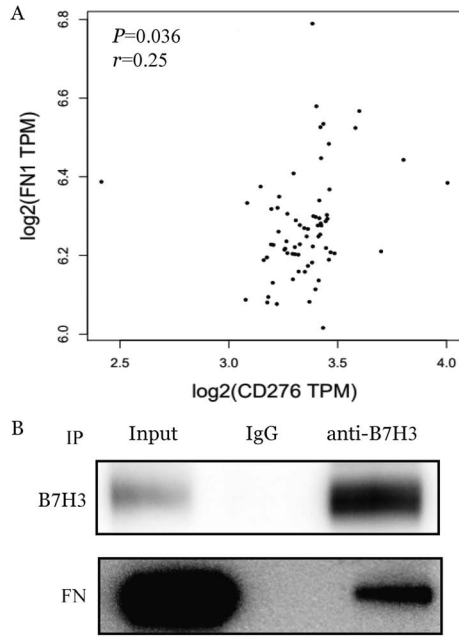
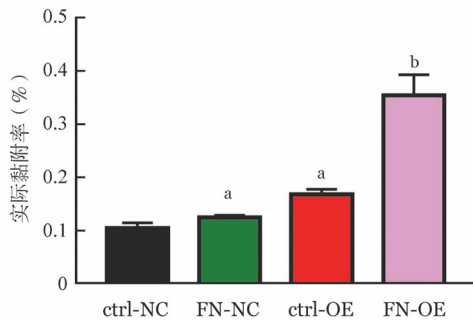


图 1 过表达 B7H3 K562 细胞株的构建与鉴定(实验重复 3 次)



A:慢性髓性白血病患者中B7H3与FN表达的相关性分析(数据源自TCGA数据库);B:免疫共沉淀法检测B7H3与FN之间的相互作用
图2 B7H3与纤维连接蛋白(FN)相互作用及其调节关系的检测



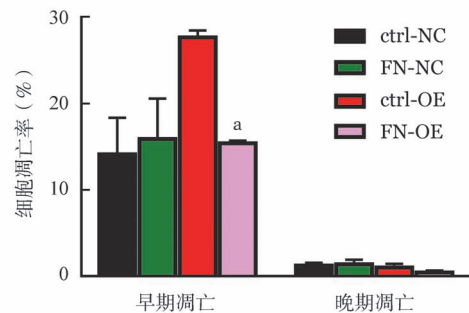
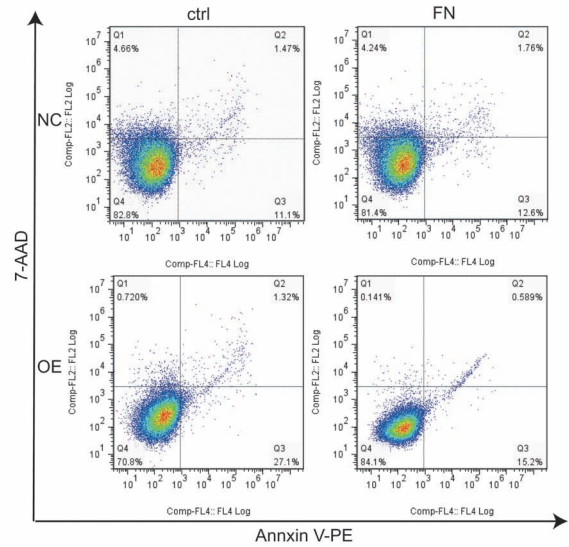
ctrl-NC组:对照细胞;FN-NC:外源FN培养对照细胞;ctrl-OE组:B7H3过表达细胞;FN-OE:外源FN培养B7H3过表达细胞。^a与ctrl-NC组比较,^a $P < 0.05$;与ctrl-OE组比较,^b $P < 0.05$

图3 B7H3与纤维连接蛋白(FN)相互作用对细胞黏附的影响(实验重复3次)

与FN的相互作用是通过激活PI3K/AKT信号通路来抑制K562细胞的凋亡。

讨 论

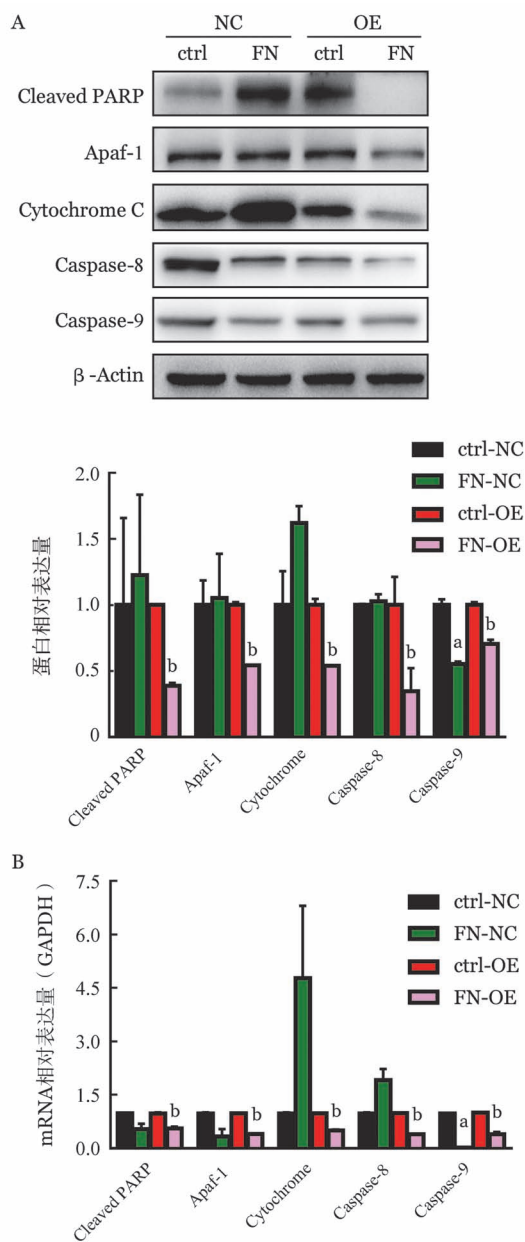
染色体易位产生的BCR-ABL融合蛋白因其具有酪氨酸激酶活性,可调控细胞内的多条信号通路,致使骨髓细胞恶性增殖,最终引发CML^[7]。它的特点是不成熟的白细胞在骨髓内大量聚集,抑制了骨髓的正常造血功能,这些不成熟的白细胞通过血液循环扩散到全身,致使患者出现贫血、脾大、易出血等症状^[8]。已有文献报道,降低B7H3的表达后,细胞的黏附能力也随之下落,表明B7H3分子可



ctrl:无血清RPMI 1640培养;FN:无血清RPMI 1640和外源FN培养;NC:对照细胞;OE:B7H3过表达细胞。与ctrl-NC组比较, P 值均 > 0.05 ;与ctrl-OE组比较,^a $P < 0.05$

图4 流式细胞术检测B7H3与纤维连接蛋白(FN)相互作用对细胞凋亡的影响(实验重复3次)

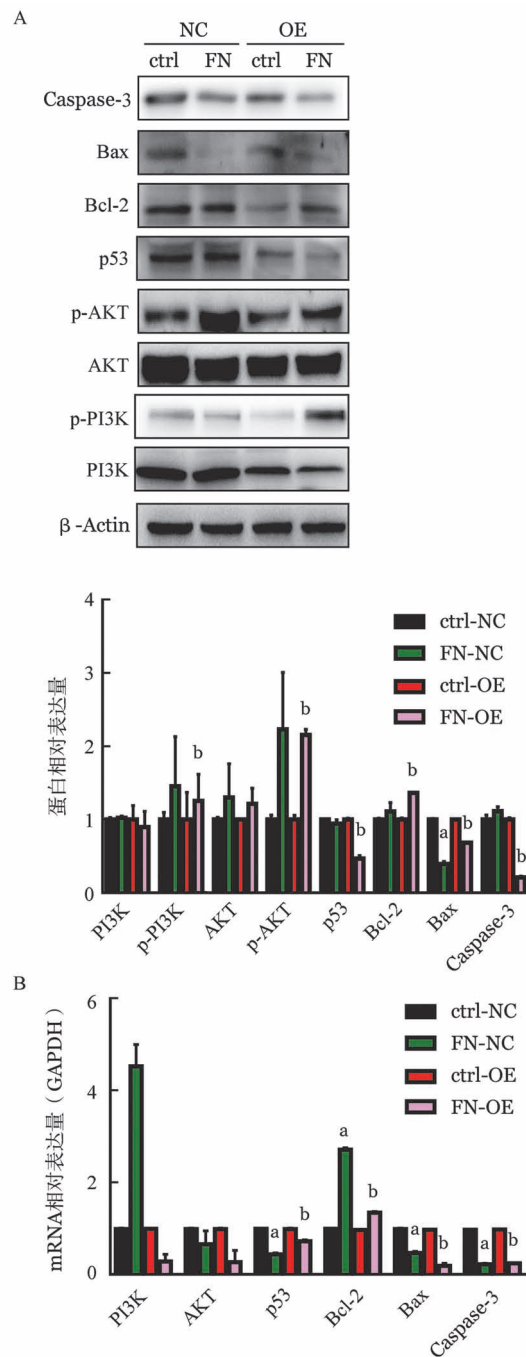
能通过阻止肿瘤细胞黏附分子与其配体之间的结合来预防癌症转移^[9-11]。在本实验中,我们用慢病毒升高K562细胞中B7H3的表达,并通过免疫共沉淀技术证实B7H3与FN之间确实存在相互结合并且两者结合之后可以促进细胞黏附。而且,B7H3与FN相互作用后显著抑制细胞凋亡,经实验验证,加入外源FN后,促凋亡蛋白Caspase-8、Caspase-9、Apaf-1、Cleaved PARP和Cytochrome C的表达下降。细胞黏附是肿瘤进展的关键介质,细胞黏附受体与信号通路相连接,进而调控包括增殖、存活、迁移和分化等在内细胞表型^[12]。Caspase-8是黏附细胞死亡的关键介质^[13]。在凋亡信号的刺激下,线粒体通透性开放,跨膜电位分解,呼吸链解偶联,增加线粒体基质的渗透压,细胞色素C释放到细胞基质中。当存在ATP时,细胞色素C会与细胞凋亡蛋白激活因子Apaf-1结合形成复合物,该复合物激活Caspase-9,从而激活Caspase-3并切割底物诱导细



ctrl: 无血清 RPMI 1640 培养; FN: 无血清 RPMI 1640 和外源 FN 培养; NC: 对照细胞; OE: B7H3 过表达细胞。与 ctrl-NC 组比较, * $P < 0.05$; 与 ctrl-OE 组比较, ^b $P < 0.05$

图 5 Western blot 法(A)和实时定量 PCR 法(B)检测 B7H3 与纤维连接蛋白(FN)相互作用对细胞凋亡相关分子表达的影响(实验重复 3 次)

胞凋亡^[14]。Bcl-2 通过阻止促凋亡分子从线粒体进入细胞质来阻止细胞凋亡, 而 Bax 通过诱导线粒体外膜的通透性来促进细胞凋亡^[15-17]。Bax/Bcl-2 的比值决定了细胞对死亡刺激的敏感性^[18]。Apaf-1 在线粒体凋亡途径中起着重要作用, 因为它促进了包括形成具有 Cytochrome C 和 dATP 的凋亡小体在内的多种加工过程, 凋亡小体又可以激活 Caspase-3 并诱导细胞凋亡^[19]。越来越多的证据表明, 细胞外基



ctrl: 无血清 RPMI 1640 培养; FN: 无血清 RPMI 1640 和外源 FN 培养; NC: 对照细胞; OE: B7H3 过表达细胞。与 ctrl-NC 组比较, * $P < 0.05$; 与 ctrl-OE 组比较, ^b $P < 0.05$

图 6 Western blot 法(A)和实时定量 PCR 法(B)检测 B7H3 与 FN 相互作用对 PI3K/AKT 信号通路相关分子表达的影响(实验重复 3 次)

质黏附激活了 PI3K/AKT 信号通路, 从而抑制了多种形式的肿瘤细胞死亡^[20-21]。PI3K 是黏附形成的关键调节剂, 它可以直接与 E-Cadherin 结合, 从而调节黏附介导的细胞周期进展^[22-23]。也有研究表明, AKT 蛋白的表达下调能够显著诱导细胞凋亡和

抑制细胞增殖^[24]。目前已经确定AKT信号通路的下游靶蛋白是与细胞凋亡相关的蛋白分子如Bax、Bcl-2和Caspase-3等^[25]。活化的AKT可能会通过p53途径和Bcl-2蛋白家族影响细胞周期进程和肿瘤生长^[26]。在本实验中,B7H3与FN相互作用之后,p-PI3K、p-AKT和Bcl-2表达上调,p53、Bax和Caspase-3表达下调,但是总的PI3K和AKT的表达没有变化即B7H3与FN相互作用可能通过激活PI3K/AKT信号通路进而抑制K562细胞凋亡。

综上所述,B7H3与FN相互作用促进细胞黏附,抑制K562细胞凋亡,并且可能在将来成为治疗CML的潜在靶标,但是其更加深入的调节机制有待我们进一步验证。本实验的局限性主要为缺少动物实验和临床数据的验证,我们会以此为基础,进行下一步研究。

参考文献

- [1] Jabbour E, Kantarjian H. Chronic myeloid leukemia: 2018 update on diagnosis, therapy and monitoring[J]. *Am J Hematol*, 2018, 93(3):442-459. DOI: 10.1002/ajh.25011.
- [2] Huang X, Cortes J, Kantarjian H. Estimations of the increasing prevalence and plateau prevalence of chronic myeloid leukemia in the era of tyrosine kinase inhibitor therapy[J]. *Cancer*, 2012, 118(12):3123-3127. DOI: 10.1002/cncr.26679.
- [3] Picarda E, Ohaegbulam KC, Zang X. Molecular Pathways: Targeting B7-H3 (CD276) for Human Cancer Immunotherapy[J]. *Clin Cancer Res*, 2016, 22(14):3425-3431. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-15-2428.
- [4] Sun X, Yu Y, Ma L, et al. T cell cytotoxicity toward hematologic malignancy via B7-H3 targeting[J]. *Invest New Drugs*, 2020, 38(3):722-732. DOI: 10.1007/s10637-019-00819-y.
- [5] Tran CN, Thacker SG, Louie DM, et al. Interactions of T cells with fibroblast-like synoviocytes: role of the B7 family costimulatory ligand B7-H3[J]. *J Immunol*, 2008, 180(5):2989-2998. DOI: 10.4049/jimmunol.180.5.2989.
- [6] Kumra H, Reinhardt DP. Fibronectin-targeted drug delivery in cancer[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2016, 97:101-110. DOI: 10.1016/j.addr.2015.11.014.
- [7] 马铁轩, 王璐, 米瑞华, 等. 慢性髓性白血病患者CD34+细胞BCR-ABL融合基因的检测意义[J]. *中华血液学杂志*, 2017, 38(2): 164-166. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2017.02.016.
- [8] 曹真睿, 陈晓鹏, 胡晶. 经典Wnt途径在慢性髓系白血病中的研究进展[J]. *中国实验血液学杂志*, 2020, 28(1):350-353. DOI: 10.19746/j.cnki.issn1009-2137.2020.01.059.
- [9] Syrigos KN, Karayiannakis AJ. Adhesion molecules as targets for the treatment of neoplastic diseases[J]. *Curr Pharm Des*, 2006, 12(22):2849-2861. DOI: 10.2174/138161206777947759.
- [10] Yuan H, Wei X, Zhang G, et al. B7-H3 over expression in prostate cancer promotes tumor cell progression[J]. *J Urol*, 2011, 186(3):1093-1099. DOI: 10.1016/j.juro.2011.04.103.
- [11] Chen YW, Tekle C, Fodstad O. The immunoregulatory protein human B7H3 is a tumor-associated antigen that regulates tumor cell migration and invasion[J]. *Curr Cancer Drug Targets*, 2008, 8(5):404-413. DOI: 10.2174/156800908785133141.
- [12] Läubli H, Borsig L. Altered Cell Adhesion and Glycosylation Promote Cancer Immune Suppression and Metastasis[J]. *Front Immunol*, 2019, 10:2120. DOI: 10.3389/fimmu.2019.02120.
- [13] Stupack DG, Puente XS, Boutsaboualoy S, et al. Apoptosis of adherent cells by recruitment of caspase-8 to unligated integrins[J]. *J Cell Biol*, 2001, 155(3): 459-470. DOI: 10.1083/jcb.200106070.
- [14] Zhu B, Wei Y. Antitumor activity of celastrol by inhibition of proliferation, invasion, and migration in cholangiocarcinoma via PTEN/PI3K/Akt pathway[J]. *Cancer Med*, 2020, 9(2):783-796. DOI: 10.1002/cam4.2719.
- [15] Karlsson H, Karlsson SC, Lindqvist AC, et al. Combining CAR T cells and the Bcl-2 family apoptosis inhibitor ABT-737 for treating B-cell malignancy[J]. *Cancer Gene Ther*, 2013, 20(7): 386-393. DOI: 10.1038/cgt.2013.35.
- [16] Wang X. The expanding role of mitochondria in apoptosis[J]. *Genes Dev*, 2001, 15(22):2922-2933.
- [17] Tait SW, Green DR. Mitochondria and cell death: outer membrane permeabilization and beyond[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2010, 11(9):621-632. DOI: 10.1038/nrm2952.
- [18] Zhang S, Zhou C, Zhang D, et al. The anti-apoptotic effect on cancer-associated fibroblasts of B7-H3 molecule enhancing the cell invasion and metastasis in renal cancer[J]. *Onco Targets Ther*, 2019, 12:4119-4127. DOI: 10.2147/OTT.S201121.
- [19] Yun T, Yu K, Yang S, et al. Acetylation of p53 Protein at Lysine 120 Up-regulates Apaf-1 Protein and Sensitizes the Mitochondrial Apoptotic Pathway[J]. *J Biol Chem*, 2016, 291(14):7386-7395. DOI: 10.1074/jbc.M115.706341.
- [20] Hodkinson PS, Elliott T, Wong WS, et al. ECM overrides DNA damage-induced cell cycle arrest and apoptosis in small-cell lung cancer cells through beta1 integrin-dependent activation of PI3-kinase[J]. *Cell Death Differ*, 2006, 13(10):1776-1788. DOI: 10.1038/sj.cdd.4401849.
- [21] Aoudjit F, Vuori K. Integrin signaling inhibits paclitaxel-induced apoptosis in breast cancer cells[J]. *Oncogene*, 2001, 20(36):4995-5004. DOI: 10.1038/sj.onc.1204554.
- [22] De Santis G, Miotti S, Mazzi M, et al. E-cadherin directly contributes to PI3K/AKT activation by engaging the PI3K-p85 regulatory subunit to adherens junctions of ovarian carcinoma cells[J]. *Oncogene*, 2009, 28(9):1206-1217. DOI: 10.1038/onc.2008.470.
- [23] Rivard N. Phosphatidylinositol 3-kinase: a key regulator in adherens junction formation and function[J]. *Front Biosci (Landmark Ed)*, 2009, 14:510-522. DOI: 10.2741/3259.
- [24] Yuan Y, Du W, Wang Y, et al. Suppression of AKT expression by miR-153 produced anti-tumor activity in lung cancer[J]. *Int J Cancer*, 2015, 136(6):1333-1340. DOI: 10.1002/ijc.29103.
- [25] Shi M, Zhang H, Li M, et al. Normal endometrial stromal cells regulate survival and apoptosis signaling through PI3K/Akt/Survivin pathway in endometrial adenocarcinoma cells in vitro[J]. *Gynecol Oncol*, 2011, 123(2):387-392. DOI: 10.1016/j.ygyno.2011.07.004.
- [26] Lin W, Xie J, Xu N, et al. Glucocalyxin A induces G2/M cell cycle arrest and apoptosis through the PI3K/Akt pathway in human bladder cancer cells[J]. *Int J Biol Sci*, 2018, 14(4):418-426. DOI: 10.7150/ijbs.23602.

(收稿日期:2021-03-09)

(本文编辑:王叶青)