

# 慢病毒介导的RNA干扰下调TSC2表达 对白血病U937细胞系的影响及作用机制

徐智芳 刘海霞 覃艳红 陈秀花 任方刚  
张耀方 常建梅 张娜 胡晋军 王宏伟

**【摘要】** 目的 研究下调TSC2基因表达对白血病U937细胞系的生物学作用及其对mTOR通路活性的影响。方法 选择TSC2高表达的U937细胞系,通过慢病毒介导的RNA干扰技术下调TSC2基因表达;采用CCK-8比色法、细胞集落形成实验和流式细胞术检测其对细胞增殖、分化和凋亡的影响;采用Western blot法和实时荧光定量PCR(RQ-PCR)法检测TSC2表达下调对mTOR通路蛋白表达及活性的影响。结果 TSC2基因表达降低能够促进U937细胞的增殖和集落形成( $P<0.05$ );能够使U937细胞G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>期[(52.53±3.75)%对(75.10±4.33)% ,  $t=6.829$ ,  $P=0.002$ ]比例明显降低,G<sub>2</sub>/M期[(22.43±1.00)%对(15.47±1.20)% ,  $t=-5.581$ ,  $P=0.019$ ]、S期[(25.03±4.34)%对(14.33±0.91)% ,  $t=-5.413$ ,  $P=0.013$ ]比例升高;对细胞分化和细胞凋亡没有明显影响( $P>0.05$ )。TSC2基因表达下调后,mTOR活性升高,磷酸化的4EBP1和S6K1蛋白活性升高,而AKT蛋白活性没有明显变化;与细胞增殖相关的基因cyclin D1、c-myc表达升高,PTEN基因表达升高,P27KIP基因和凋亡相关基因BCL-XL的表达没有明显的改变。结论 TSC2基因表达下调可以通过调节mTOR通路活性促进白血病细胞的增殖。

**【关键词】** 基因,TSC2; mTOR; 白血病; 信号通路

基金项目:国家自然科学基金(81200390);中国博士后科学基金(20100471583)

**Effect of TSC2 gene expression downregulation by lentivirus induced RNA interference on U937 cell line and its mechanism** Xu Zhifang, Liu Haixia, Tan Yanhong, Chen Xiuhua, Ren Fanggang, Zhang Yaofang, Chang Jianmei, Zhang Na, Hu Jinjun, Wang Hongwei. Department of Hematology, the Second Hospital of Shanxi Medical University, Shanxi Key Laboratory of Molecular Diagnosis and Treatment of Blood Diseases, Taiyuan 030001, China

Corresponding author: Wang Hongwei, Email: wanghw68@hotmail.com

**【Abstract】 Objective** To investigate the effect of biology and mTOR pathway activity of down-regulated TSC2 gene expression on U937 leukemia cells. **Methods** Gene expression was down-regulated by lentivirus induced RNA interference on TSC2 high expressed U937 cell line; the proliferation, apoptosis and differentiation were detected by CCK-8 assay, colony formation assay and flow cytometry; the gene expression level and protein kinase activity were detected by qRT-PCR and Western blot. **Results** Down-regulated expression of TSC2 gene promoted U937 cell proliferation and colony formation ability ( $P<0.05$ ). The proportion in G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> phase of TSC2 down-regulated U937 cell was much lower than that of the control cells [(52.53±3.75)% vs (75.10±4.33)% ,  $t=6.829$ ,  $P=0.002$ ], the S phase [(22.43±1.00)% vs (15.47±1.20)% ,  $t=-5.581$ ,  $P=0.019$ ] and G<sub>2</sub>/M phase [(25.03±4.34)% vs (14.33±0.91)% ,  $t=-5.413$ ,  $P=0.013$ ] was remarkably higher than that of the control cells ( $P<0.05$ ). There were no statistically significant differences in cell apoptosis and differentiation ( $P>0.05$ ). Down-regulation of TSC2 led to the increased activity of mTOR, 4EBP1 and S6K1, but did not influence the activity of AKT. The expressions of proliferation related cyclinD1, c-myc and PTEN were also up-regulated after TSC2 silenced, but the expressions of P27KIP and BCL-XL were not changed. **Conclusion** Downregulation of TSC2 could promote the proliferation of U937 cells through up-regulation of mTOR activity.

**【Key words】** Gene, TSC2; mTOR; Leukemia; Signaling pathway

**Fund program:** National Natural Science Foundation of China (81200390); China Postdoctoral Science Foundation(20100471583)

信号转导通路的组成性激活能够增强急性白血病(AL)细胞的存活和增殖能力。TSC2-mTOR信号通路在控制细胞生长、增殖、存活和分化中有着重要的功能,其活化过程通过不同的上游信号机制调节,但最终聚焦于TSC1/TSC2复合体,通过发挥TSC2的GTP酶活化蛋白(GTPase-activating protein, GAP)活性抑制小G蛋白Rheb(Ras homologue enriched in brain)进而抑制哺乳动物雷帕霉素靶分子(mammalian target of rapamycin, mTOR)的活性<sup>[1]</sup>。有研究表明在AL细胞中mTOR常常被过度激活<sup>[2-3]</sup>,而我们在前期研究中发现,TSC2基因在部分AL患者中表达降低<sup>[4]</sup>。由此提出假设:在AL细胞中,TSC2低表达与mTOR的异常激活及白血病的发生有关。本研究中我们通过构建慢病毒质粒,研究TSC2表达下调对白血病U937细胞的生物学作用及可能机制。

### 材料与amp;方法

1. 材料和试剂:U937细胞株由中国医学科学院血液学研究所馈赠,RPMI 1640培养基和胎牛血清购自美国Gibco公司,pLVX干扰慢病毒由杭州百恩维公司构建包装。RNA提取试剂盒购自美国Invitrogen公司。PrimeScript RT Master Mix逆转录试剂盒、SYBR Green Mix购自大连TaKaRa公司;PCR引物由上海生工生物工程技术有限公司合成;CCK-8试剂盒购自日本同仁化工公司;碘化丙锭(PI)购自上海碧云天生物技术有限公司;甲基纤维素为Stem Cell公司产品;Annexin V-PE/7-AAD双染凋亡试剂盒购自美国BD公司;CD11b、CD15、CD13、CD33、CD14和CD64抗体购自美国Beckman公司;抗mTOR、4EBP1、70S6K1、AKT、磷酸化(p)-mTOR、p-70S6K、p-P70S6K、p-AKT一抗购自美国Cell Signaling公司,抗TSC2、 $\beta$ -actin一抗、二抗及Western blot化学发光工作液均购自美国Santa Cruz公司;嘌呤霉素(Puromycin, Puro)购自美国Sigma公司。

2. 细胞培养:人白血病细胞系U937细胞培养于含10%胎牛血清的RPMI 1640培养基中,在37℃、5%CO<sub>2</sub>、饱和湿度的培养箱中培养。

3. pLVX-ShRNA慢病毒的包装及U937细胞的

感染:根据TSC2 cDNA序列设计4条ShRNA引物,由美国Invitrogen公司合成,构建质粒载体pLVX-ShRNA-Puro,将4条质粒通过Polyfectin转染试剂盒瞬时转染TSC2高表达的MCF7细胞,荧光定量PCR测定4条ShRNA的干扰效率,选择干扰效率最好的重组质粒pLVX-ShRNA2-Puro-hTSC2-4(干扰效率为80%)序列为:上游引物:5'-GATCCGCCACACACCACTTCAACATTCAAGAGATGTTGAA GTGGTGTGTGGCTTTTTTCTCGAGG-3';下游引物:5'-AATTCCTCGAGAAAAAGCCACACACCACTTCAACATCTCTTGAATGTTGAAGTG GTGTGTGTGGCG-3'。转染293T细胞进行慢病毒包装。慢病毒感染HEK293测得ShRNA2-Puro-hTSC2-4滴度为 $2 \times 10^8$  TU/ml;对照质粒ShRNA2-Puro-hScramble滴度为 $2 \times 10^8$  TU/ml。将-80℃冻存的病毒液冰上融化,感染U937细胞,48 h后,流式细胞术测定绿色荧光蛋白(GFP)荧光表达,嘌呤霉素1  $\mu$ g/ml筛选阳性细胞。

4. 实时荧光定量PCR检测mRNA表达:TRIzol提取细胞总RNA,取1  $\mu$ g RNA逆转录为cDNA,按照SYBR Green PCR试剂盒说明进行PCR扩增,条件:90℃预变性10 s,随后90℃变性5 s,60℃延伸40 s,共40个循环。ABI 7300检测荧光信号。利用公式 $RQ=2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算相对表达量。每组均设3个重复孔,实验重复3次。每次PCR后均进行熔解曲线分析以确认扩增产物的特异性(引物序列见表1)。

5. Western blot法检测蛋白表达水平:分别取 $1 \times 10^6$ 细胞,PBS洗涤2次,加入含蛋白酶抑制剂的细胞裂解缓冲液,枪尖反复吹吸充分裂解细胞,冰上放置30 min;12 000 r/min离心5 min,吸取上清;BCA法进行蛋白定量;聚丙烯酰胺凝胶电泳及PVDF膜半干转,1:2 000稀释兔抗人TSC2单克隆抗体溶液中,室温孵育2 h;洗涤后1:2 000稀释的HRP标记羊抗兔IgG溶液中室温孵育1 h;洗涤后化学发光显色。TSC2蛋白以 $\beta$ -actin为内参照。同时检测mTOR、P70S6K、4EBP1、AKT的磷酸化状态反映mTOR通路活性状态,以非磷酸化抗体检测总蛋白的表达作为对照。

6. CCK-8法检测细胞增殖活性:将感染后的U937细胞按 $3 \times 10^4$ /孔接种于96孔板,参照CCK-8

试剂盒说明进行操作。细胞培养24 h后,每孔加入10 μl的CCK-8继续孵育3 h,用酶标仪在波长450 nm、参比波长620 nm的条件下测定各孔的吸光度(A)值,实验重复3次。

表1 实时荧光定量PCR的引物序列

基因	引物序列(5'→3')
TSC2	F:GGCAAGAGAGTAGAGAGGGACG R:AAGAAGGGGGAATGGTAGAGC
PTEN	F:ATACCAGGACCAGAGGAAACC R:TTGTCATTATCCGCACGCTC
cyclin D1	F:GATCAAGTGACCCGGACTG R:CAAGCCAGGTCCACCTCCTC
P27kip1	F:CTGCAACCGACGATTCTTCTACT R:GGGCGTCTGCTCCACAGA
c-myc	F:GCGACTCTGAGGAGGAACA R:TGAGGACCAGTGGGCTGT
BCL-XL	R:CATGGCAGCAGTAAAGCAAG R:GCATTGTTCCCATAGAGTTCC
GAPDH	R:GAAGGTGAAGGTCCGAGTC R:GAAGATGGTGATGGGATTTC

注:F:正向引物;R:反向引物

7. 集落形成能力分析:接种感染后的U937细胞于24孔板(500细胞/孔),加入含0.9%甲基纤维素的完全培养基2 ml,于37 ℃、5% CO<sub>2</sub>、饱和湿度条件下常规培养,第14天记录细胞集落形成数,大于50个细胞者为1个集落。每组设3个复孔,实验重复3次。

8. 流式细胞术检测细胞周期及凋亡:采用PI标记,检测G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>、S、G<sub>2</sub>/M各期细胞比例;采用抗髓系分化抗原抗体包括CD13、CD33、CD11b、CD15、CD14和CD64标记,流式细胞术检测细胞分化;采用Annexin V-PE/7-AAD双染色流式细胞术检测细胞凋亡。实验重复3次。

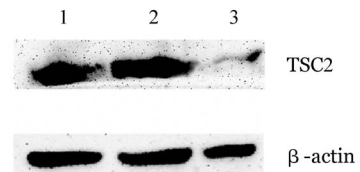
9. 统计学处理:采用SPSS 17.0统计软件进行统计分析。计量资料以均数±标准差表示,对计量资料先进行正态性检验,呈正态分布的计量资料采用t检验;不符合正态分布的计量资料,通过自然对数法进行转换,使其符合正态分布后,再采用t检验。以P<0.05为差异有统计学意义。

## 结 果

一、慢病毒感染U937细胞后TSC2基因mRNA和蛋白的表达

慢病毒感染U937细胞48 h后,流式细胞术检

测GFP表达,空载体对照组和干扰组GFP阳性率分别为25.0%和17.0%,经嘌呤霉素(1 μg/ml)筛选7 d后,流式细胞术检测GFP表达,空载体对照组和干扰组GFP阳性率分别达85.3%和70.2%。采用实时定量PCR方法检测TSC2 mRNA的表达,干扰效率为71.7%。Western blot法检测蛋白表达,可见表达量明显下调(图1)。



1:未感染组;2:空载体对照组;3:TSC2 干扰组

图1 Western blot检测慢病毒感染后U937细胞TSC2蛋白表达水平

二、下调TSC2基因表达对U937细胞的生物学作用

1. 细胞增殖:CCK-8细胞增殖实验结果表明,培养24 h,TSC2基因表达下调后,细胞增殖活性增强。与未感染组细胞相比,干扰组细胞增殖活性增强了(5.15±0.72)倍,空载体对照组细胞增殖活性增强了(1.92±0.63)倍,干扰组与空载体对照组之间差异具有统计学意义( $t=-16.644, P<0.001$ )。

2. 集落形成:集落形成能力实验表明,培养14 d后,与空载体对照组(91±4)相比,干扰组的细胞集落形成能力明显增强(158±12),二组之间差异具有统计学意义( $t=-8.510, P=0.001$ )(图2)。

3. 细胞周期:培养24 h后,与空载体对照组

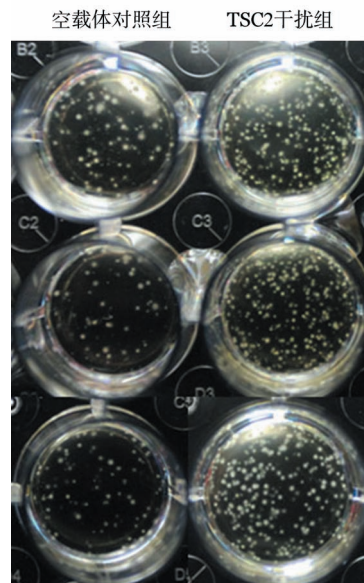


图2 细胞集落形成实验

相比,干扰组细胞G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>期细胞比例明显降低( $t=6.829, P=0.002$ ),S期细胞比例增高( $t=-5.581, P=0.019$ ),G<sub>2</sub>/M期细胞比例增高( $t=-5.413, P=0.013$ )(表2)。

4. 细胞分化:经流式细胞术检测,细胞培养24 h后,与空载体对照组相比,干扰组细胞CD13、CD33、CD11b、CD15、CD14、CD64表达差异均无统计学意义( $P$ 值均 $>0.05$ )(表3)。

5. 细胞凋亡:经流式细胞术检测,细胞培养24 h后,TSC2干扰组和空载体对照组U937细胞的凋亡率分别为(24.37±3.07)%和(30.43±6.11)%,二者之间的差异无统计学意义( $t=3.640, P=0.053$ )。

三、TSC2基因表达下调对mTOR通路蛋白的影响

Western blot方法检测结果显示,TSC2表达下调后,mTOR总蛋白未见明显变化,而p-mTOR(Ser2448)表达升高;底物激酶P70S6K和4EBP1总蛋白未见明显变化,但是活性形式p-P70S6K(Thr389)和p-4EBP1(Thr37/46)的表达明显升高;AKT总蛋白及磷酸化蛋白p-AKT(Ser473)的表达均没有明显变化(图3)。实时荧光定量PCR结果表明,TSC2表达下调后,PTEN、cyclin D1、c-myc表达量明显升高;P27kip1、BCL-XL表达量没有明显变化(图4)。

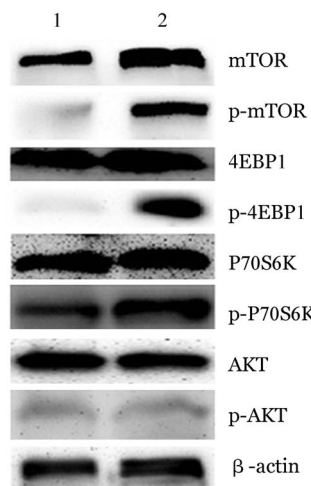
### 讨 论

TSC基因因在结节性硬化综合征(tuberous sclerosis complex, TSC)中发现突变而备受关注,包括TSC1和TSC2,在细胞内形成异二聚体(TSC1/TSC2复合物)后,通过发挥TSC2的GAP活性抑制小G蛋白Rheb进而抑制mTOR的活性。因此,正常情况下,TSC2通过作用于Rheb负性调控mTOR的蛋白激酶活性。激活的mTOR可导致蛋白翻译的关键调节因子S6K1和4EBP1的磷酸化,磷酸化的S6K1和4EBP1能够促进细胞生长的关键蛋白的翻

表2 流式细胞术检测TSC2基因表达下调对U937细胞周期的影响(% , $\bar{x}\pm s$ )

组别	G <sub>0</sub> /G <sub>1</sub> 期	S期	G <sub>2</sub> /M期
空载体对照组	75.10±4.33	15.47±1.20	14.33±0.91
TSC2干扰组	52.53±3.75	22.43±1.00	25.03±4.34
$t$ 值	6.829	-5.581	-5.413
$P$ 值	0.002	0.019	0.013

注:实验重复3次



1:空载体对照组;2:TSC2干扰组

图3 Western bolt检测慢病毒感染对U937细胞信号通路的影响

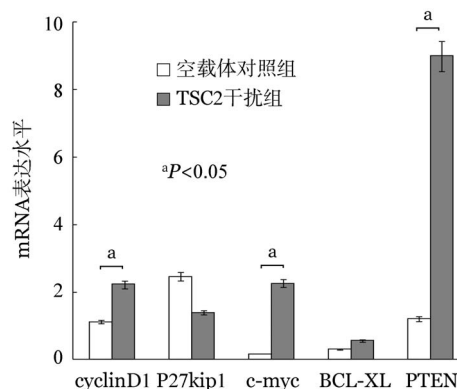


图4 实时荧光定量PCR检测慢病毒感染对U937细胞信号通路的影响(设3个重复孔,实验重复3次)

译,如cyclinD1、c-Myc、BCL-XL、P27KIP、Rb蛋白、

表3 流式细胞术检测TSC2基因表达下调对U937细胞分化的影响(% , $\bar{x}\pm s$ )

组别	CD13	CD33	CD11b	CD15	CD14	CD64
空载体对照组	97.90±2.54	95.90±1.65	5.40±1.31	72.50±4.50	2.87±0.21	33.76±5.71
TSC2干扰组	98.40±1.16	95.40±1.12	7.40±0.85	66.00±3.36	2.40±1.05	25.17±5.84
$t$ 值	-0.290	0.376	-2.213	4.955	0.753	-9.705
$P$ 值	0.786	0.726	0.091	0.088	0.494	0.071

注:实验重复3次

血管内皮细胞生长因子(VEGF)、NF- $\kappa$ B、STAT3、CLIP-170等<sup>[5-8]</sup>。因此,异常激活的mTOR可以引起肿瘤细胞的快速增殖、加快细胞周期、促进细胞侵袭和转移,在恶性肿瘤的发生、发展中发挥重要作用。

研究发现,在AL细胞中,mTOR激酶被异常激活,通过mTOR抑制剂雷帕霉素抑制mTOR活性,可以使细胞周期阻滞在G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>期,抑制AL中大多数幼稚细胞的生长,而对正常造血祖细胞无明显影响。mTOR的两个下游靶基因S6K1和4EBP1在AL细胞中也以雷帕霉素敏感的方式被组成性磷酸化<sup>[2,9]</sup>。TSC2基因的表达异常在人类多种肿瘤中存在,Jiang等<sup>[10]</sup>发现TSC2基因在人类乳腺癌表达降低,并且与肿瘤细胞的扩散和临床预后有关。Kataoka等<sup>[11]</sup>发现TSC2基因表达下调与前列腺癌的发生有关。Sales等<sup>[12]</sup>发现TSC2在子宫内膜癌组织中较正常子宫内膜组织表达下调。Cao等<sup>[13]</sup>在黑色素瘤细胞系中,证明下调TSC2的表达能够异常活化mTOR,进而激活下游通路蛋白。Cho等<sup>[14]</sup>分析了肝细胞癌中TSC2基因的表达情况,结果表明33.3%(12/36)的患者显示TSC2低表达或缺失表达,且TSC2低表达的患者或者肝癌细胞系对于mTOR抑制剂everolimuss具有更好反应性或敏感性。我们前期研究发现TSC2基因在部分AL患者中表达下调,结合AL细胞中mTOR常常被过度激活,推断TSC2低表达可能与mTOR的异常激活及白血病的发生有关<sup>[4]</sup>。本研究我们通过慢病毒介导的TSC2表达下调,研究了TSC2-mTOR信号通路在U937细胞中的作用及可能机制。

我们选择TSC2高表达的U937细胞,体外研究降低TSC2基因表达对U937细胞增殖、分化及凋亡的影响,以及对mTOR通路蛋白激酶活性的影响。结果表明TSC2表达降低能够促进U937细胞的增殖和集落形成能力;能够使U937细胞G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>期比例明显降低,G<sub>2</sub>/M期、S期比例升高,但是对细胞分化和细胞凋亡没有明显的影响。通路蛋白活性实验表明,TSC2基因表达下调后,mTOR活性升高,磷酸化的4EBP1和S6K1活性升高,与细胞增殖相关的基因cyclinD1、P27KIP和c-myc表达升高,PTEN基因表达升高,而AKT蛋白活性和凋亡相关基因BCL-XL的表达没有明显的改变。

目前认为,mTOR信号通路的激活是通过PI3K/Akt途径来实现的。应用PI3K抑制剂沃曼青霉素和mTOR抑制剂雷帕霉素建立了一种信号转导模

型,根据这一模型,生长因子通过与其受体结合激活细胞内PI3K,进而激活AKT,活化的AKT磷酸化TSC2,导致TSC1/TSC2复合体解体,使mTOR不再受其抑制而活化<sup>[15]</sup>。然而,在一些AL细胞中,mTOR的活化并不依赖于PI3K/AKT的激活<sup>[16]</sup>,我们的研究表明在白血病细胞中,TSC2低表达能够加快细胞周期,促进细胞增殖,且这种作用与mTOR活性升高,进而活化其下游信号分子4EBP1和S6K1及其相关靶基因有关。本研究还表明,TSC2表达降低后PTEN基因表达升高,而AKT的活性没有明显改变。以往研究显示,在TSC2表达缺失的小鼠胚胎成纤维细胞中,通过HIF-1 $\alpha$ 活性升高促进PTEN基因的表达,同时伴随AKT活性降低<sup>[17]</sup>。本实验结果说明在TSC2低表达的白血病细胞中mTOR的活性并不依赖于AKT的作用,但是可能与PTEN基因介导的其他通路蛋白的活性有关,具体机制尚需进一步研究。

本实验在前期研究的基础上通过慢病毒介导的基因沉默的方法,探讨了在AL细胞系中TSC2表达下调对白血病细胞系的影响及相关机制,结果表明TSC2表达下调可以通过激活mTOR通路蛋白促进细胞增殖,可能与白血病的发生有关,为AL的靶向治疗提供了新的思路。

#### 参考文献

- [1] Li Y, Inoki K, Guan KL. Biochemical and functional characterizations of small GTPase Rheb and TSC2 GAP activity[J]. Mol Cell Biol, 2004, 24(18):7965-7975. DOI: 10.1128/MCB. 24.18.7965-7975.2004.
- [2] Récher C, Beyne-Rauzy O, Demur C, et al. Antileukemic activity of rapamycin in acute myeloid leukemia[J]. Blood, 2005, 105(6):2527-2534. DOI: 10.1182/blood-2004-06-2494.
- [3] Cardoso BA, Martins LR, Santos CI, et al. Interleukin-4 stimulates proliferation and growth of T-cell acute lymphoblastic leukemia cells by activating mTOR signaling[J]. Leukemia, 2009, 23(1):206-208. DOI: 10.1038/leu.2008.178.
- [4] Xu Z, Wang M, Wang L, et al. Aberrant expression of TSC2 gene in the newly diagnosed acute leukemia[J]. Leuk Res, 2009, 33(7):891-897. DOI: 10.1016/j.leukres.2009.01.041.
- [5] Zacharek SJ, Xiong Y, Shumway SD. Negative regulation of TSC1-TSC2 by mammalian D-type cyclins[J]. Cancer Res, 2005, 65(24):11354-11360. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-05-2236.
- [6] Ghosh S, Tergaonkar V, Rothlin CV, et al. Essential role of tuberous sclerosis genes TSC1 and TSC2 in NF-kappaB activation and cell survival[J]. Cancer Cell, 2006, 10(3):215-226. DOI: 10.1016/j.ccr.2006.08.007.
- [7] Ravitz MJ, Chen L, Lynch M, et al. c-myc Repression of TSC2

- contributes to control of translation initiation and Myc-induced transformation [J]. *Cancer Res*, 2007, 67 (23):11209- 11217. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-06-4351.
- [8] Brugarolas JB, Vazquez F, Reddy A, et al. TSC2 regulates VEGF through mTOR- dependent and - independent pathways [J]. *Cancer Cell*, 2003, 4(2):147-158.
- [9] Cardoso BA, Martins LR, Santos CI, et al. Interleukin-4 stimulates proliferation and growth of T-cell acute lymphoblastic leukemia cells by activating mTOR signaling [J]. *Leukemia*, 2009, 23(1):206-208. DOI: 10.1038/leu.2008.178.
- [10] Jiang WG, Sampson J, Martin TA, et al. Tuberlin and hamartin are aberrantly expressed and linked to clinical outcome in human breast cancer: the role of promoter methylation of TSC genes [J]. *Eur J Cancer*, 2005, 41 (11):1628- 1636. DOI: 10.1016/j.ejca.2005.03.023.
- [11] Kataoka K, Fujimoto K, Ito D, et al. Expression and prognostic value of tuberous sclerosis complex 2 gene product tuberlin in human pancreatic cancer [J]. *Surgery*, 2005, 138 (3):450- 455. DOI: 10.1016/j.surg.2005.06.028.
- [12] Sales KJ, Battersby S, Williams AR, et al. Prostaglandin E2 mediates phosphorylation and down-regulation of the tuberous sclerosis- 2 tumor suppressor (tuberlin) in human endometrial adenocarcinoma cells via the Akt signaling pathway [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2004, 89 (12):6112- 6118. DOI: 10.1210/jc.2004-0892.
- [13] Cao J, Tyburczy ME, Moss J, et al. Tuberous sclerosis complex inactivation disrupts melanogenesis via mTORC1 activation [J]. *J Clin Invest*, 2017,127(1):349-364. DOI: 10.1172/JCI84262.
- [14] Cho J, Lee J, Kim J, et al. Loss of Tuberous Sclerosis Complex 2 (TSC2) as a Predictive Biomarker of Response to mTOR Inhibitor Treatment in Patients with Hepatocellular Carcinoma [J]. *Transl Oncol*, 2016, 9 (5):466- 471. DOI: 10.1016/j.tranon.2016.08.009.
- [15] Martelli AM, Evangelisti C, Chiarini F, et al. The phosphatidylinositol 3-kinase/Akt/mTOR signaling network as a therapeutic target in acute myelogenous leukemia patients [J]. *Oncotarget*, 2010, 1(2):89-103. DOI: 10.18632/oncotarget.114.
- [16] Park S, Chapuis N, Tamburini J, et al. Role of the PI3K/AKT and mTOR signaling pathways in acute myeloid leukemia [J]. *Haematologica*, 2010, 95 (5):819- 828. DOI: 10.3324/haematol.2009.013797.
- [17] Mahimainathan I, Ghosh- Choudhury N, Venkatesan B, et al. TSC2 deficiency increases PTEN via HIF1alpha [J]. *J Biol Chem*, 2009, 284 (41):27790- 27798. DOI: 10.1074/jbc.M109.028860.

(收稿日期:2017-01-11)

(本文编辑:王叶青)

## · 消息 ·

### 第三届协和国际淋巴瘤高峰论坛 暨第十届全国淋巴瘤诊治进展研讨会通知

由中国医学科学院血液病医院(血液学研究所)、哈佛大学 Dana-Farber 癌症中心、中国抗癌协会血液肿瘤专业委员会联合主办的“第三届协和国际淋巴瘤高峰论坛暨第十届全国淋巴瘤诊治进展研讨会”定于2017年9月21日至24日在美丽的滨海之城——天津举办。

本届会议将聚焦多发性骨髓瘤和淋巴瘤的基础研究和临床诊治的进展、热点问题和发展趋势。会议已邀请到来自美国、法国、意大利、瑞士等国家的17位相关领域的著名专家学者出席会议并做专题报告(会议将进行双语幻灯放映和同声传译)。同时也将邀请国内淋巴瘤领域的一线权威专家就我国这一领域的现状和挑战进行专题研讨。

参会人员将可获得国家 I 类医学继续教育(CME)学分10分。

中国医学科学院血液病医院(血液学研究所)  
哈佛大学 Dana-Farber 癌症中心  
中国抗癌协会血液肿瘤专业委员会