

PTEN-PI3K/AKT 信号传导途径对胃癌细胞株 MKN28 凋亡的影响

许小涛 陶泽璋 宋启斌 姚颐 阮鹏

【摘要】 目的 探讨 PTEN-PI3K/AKT 信号传导途径对胃癌细胞株 MKN28 凋亡的调控作用及其机制。**方法** 构建 PTEN 真核表达载体,转染至胃癌细胞株 MKN28 中(转染组);同样方法转染空载体和等量的 PBS 分别作为阴性对照组和空白对照组,检测对胃癌细胞株 MKN28 凋亡的影响及对 PI3K、AKT、Caspase-3、Caspase-9 的影响。MTT 检测细胞生长曲线,TUNEL 染色法检测细胞凋亡,Western blot 检测蛋白的表达。PI3K 抑制剂 LY294002 处理未转染 PTEN 的胃癌细胞株 MKN28(处理组);对照组加入等量的 PBS,抑制 PI3K 活性后检测细胞凋亡蛋白及凋亡相关蛋白的表达。组间比较采用 *t* 检验,时间依赖性检验采用相关分析方法。**结果** 成功构建 PTEN 真核表达质粒并转染至胃癌细胞株 MKN28 中,获得稳定过表达 PTEN 的细胞模型。MTT 检测发现转染组胃癌细胞株 MKN28 生长明显受到抑制,且呈时间依赖性($r=0.938, P<0.05$)。转染组平均凋亡率达到了 $27.86\% \pm 4.78\%$,明显高于阴性对照组的 $0.01\% \pm 0.01\%$ ($t=9.527, P<0.05$)。转染 PTEN 后,转染组 PI3K 蛋白表达量为 0.25 ± 0.03 ,明显低于空白对照组的 0.93 ± 0.16 及阴性对照组的 0.96 ± 0.15 ($t=7.235, 8.883, P<0.05$)。转染组活化的 AKT(P-AKT)蛋白表达量为 0.21 ± 0.03 ,明显低于空白对照组的 0.93 ± 0.13 及阴性对照组的 0.91 ± 0.12 ($t=9.347, 9.802, P<0.05$)。而转染组凋亡相关蛋白 Caspase-3 及 Caspase-9 表达量分别为 0.86 ± 0.11 和 0.87 ± 0.12 ,明显高于阴性对照组的 0.16 ± 0.03 和 0.18 ± 0.04 及空白对照组的 0.15 ± 0.02 和 0.16 ± 0.03 ($t=10.634, 10.999, 9.448, 9.942, P<0.05$)。抑制 PI3K 活性后,处理组细胞凋亡率为 $28.60\% \pm 4.50\%$,明显高于对照组的 $0.12\% \pm 0.06\%$ ($t=10.961, P<0.05$)。Western blot 检测发现处理组 PI3K 和 P-AKT 的蛋白表达量分别为 0.18 ± 0.02 和 0.11 ± 0.01 ,明显低于对照组的 0.93 ± 0.14 和 0.90 ± 0.12 ($t=9.186, 11.363, P<0.05$);同时处理组 PTEN 的蛋白相对表达量为 1.15 ± 0.15 ,明显高于对照组的 0.21 ± 0.08 ($t=9.577, P<0.05$)。处理组的凋亡相关蛋白 Caspase-3 及 Caspase-9 相对表达量分别为 0.86 ± 0.12 和 0.88 ± 0.11 ,明显高于对照组的 0.25 ± 0.02 和 0.21 ± 0.03 ($t=8.685, 10.178, P<0.05$)。**结论** 高表达 PTEN 可以抑制 PI3K/AKT 途径,促进胃癌细胞凋亡;抑制 PI3K 途径可以促进 PTEN 的表达,两者之间相互作用,共同调控着胃癌细胞的凋亡。

【关键词】 胃肿瘤; PTEN; PI3K; AKT; 凋亡

Effects of PTEN-PI3K/AKT pathway on the apoptosis of gastric cancer MKN28 cells XU Xiao-tao, TAO Ze-zhang, SONG Qi-bin, YAO Yi, RUAN Peng. Department of Oncology, People's Hospital, Wuhan University, Wuhan 430060, China

Corresponding author: TAO Ze-zhang, Email: wxw2036@126.com

【Abstract】 Objective To investigate the regulatory effects of PTEN-PI3K/AKT pathway on the apoptosis of gastric cancer MKN28 cells and the possible mechanisms. **Methods** The specific sequence of PTEN was transfected to MKN28 cells by eukaryotic expression vector (transfection group), and then vacant vector (negative control group) and PBS (blank control group) were transfected to the MKN28 cells, respectively. The effects of PTEN-PI3K/AKT pathway on the apoptosis of MKN28 cells and the expressions of PI3K, AKT, Caspase-3 and Caspase-9 were investigated. The growth curve and apoptosis of the MKN28 cells were detected by MTT assay and TUNEL staining, respectively, and the protein expression was detected by the Western blot. MKN28 cells which did not transfected by the PTEN were processed by inhibitor of PI3K (LY294002) (treated group), and MKN28 cells in the control group were processed by PBS. The expressions of apoptosis protein and apoptosis-related protein were detected after inhibition of PI3K. All data were analyzed using the *t* test. **Results** The model of

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-9752.2012.04.022

基金项目: 国家重点基础研究发展计划(973 计划)项目(2006CB705706)

作者单位: 430060 武汉大学人民医院肿瘤科

通信作者: 陶泽璋, Email: wxw2036@126.com

over-expression of PTEN was obtained and transfected into MKN28 cells. The survival of MKN28 cells in the transfection group was significantly inhibited in a time-dependant manner ($r = 0.938$, $P < 0.05$). The mean apoptotic rate of the transfection rate was $27.86\% \pm 4.78\%$, which was significantly higher than $0.01\% \pm 0.01\%$ of the negative control group ($t = 9.527$, $P < 0.05$). The protein expression of PI3K in the transfection group was 0.25 ± 0.03 , which was significantly lower than 0.93 ± 0.16 of the blank control group and 0.96 ± 0.15 of the negative control group ($t = 7.235$, 8.883 , $P < 0.05$). The protein expression of P-AKT in the transfection group was 0.21 ± 0.03 , which was significantly lower than 0.93 ± 0.13 of the blank control group and 0.91 ± 0.12 of the negative control group ($t = 9.347$, 9.802 , $P < 0.05$). The expressions of Caspase-3 and Caspase-9 of the transfection group were 0.86 ± 0.11 and 0.87 ± 0.12 , which were significantly higher than 0.16 ± 0.03 and 0.18 ± 0.04 of the negative control group, and 0.15 ± 0.02 and 0.16 ± 0.03 of the blank control group ($t = 10.634$, 10.999 , 9.448 , 9.942 , $P < 0.05$). The apoptotic rate of the MKN28 cells of the treated group was $28.60\% \pm 4.50\%$, which was significantly higher than $0.12\% \pm 0.06\%$ of the control group ($t = 10.961$, $P < 0.05$). The protein expression of PI3K and P-AKT of the treated group were 0.18 ± 0.02 and 0.11 ± 0.01 , which were significantly lower than 0.93 ± 0.14 and 0.90 ± 0.12 of the control group ($t = 9.186$, 11.363 , $P < 0.05$). The protein expression of PTEN of the treated group was 1.15 ± 0.15 , which was significantly higher than 0.21 ± 0.08 of the control group ($t = 9.577$, $P < 0.05$). The relative expressions of Caspase-3 and Caspase-9 of the treated group were 0.86 ± 0.12 and 0.88 ± 0.11 , which were significantly higher than 0.25 ± 0.02 and 0.21 ± 0.03 of the control group ($t = 8.685$, 10.178 , $P < 0.05$). **Conclusions** Over-expression of PTEN may enhance the apoptosis of gastric cancer cells through inhibition of PI3K/AKT pathway. Inhibition of PI3K can enhance the expression of PTEN. PI3K and PTEN regulate the apoptosis of gastric cancer cells.

【Key words】 Gastric neoplasms; PTEN; PI3K; AKT; Apoptosis

PTEN 是一种具有磷酸酶活性的抑癌基因,能够抑制多种细胞的增殖和分化。PTEN 脂质磷酸酶作为 PI3K/AKT 信号通路的一部分,在细胞存活、生长、增殖、分化和迁移中发挥重要作用,有望成为肿瘤分子治疗的新靶点^[1-3]。PTEN/PI3K/AKT 途径对胃癌细胞的凋亡、增殖、分化起着重要的调控作用^[4-5]。本研究通过构建 PTEN 的真核表达载体,转染至胃癌细胞株 MKN28 中,以及通过 PI3K 抑制剂 LY294002 作用于胃癌细胞,观察 PI3K/AKT 活性的改变,探讨 PTEN-PI3K/AKT 信号传导途径对胃癌细胞株 MKN28 凋亡的调控作用及其机制。

1 材料与方法

1.1 材料

人源性胃癌细胞株 MKN28 由本室保存。辣根过氧化物酶包被的兔抗羊二抗购自中国博士德生物公司。含 10% 标准胎牛血清的 DMEM 培养基购自美国 Gibco 公司。羊抗人 PTEN、PI3K、活化的 AKT (P-AKT)、Caspase-9、Caspase-3 购自美国 Santa Cruz 公司。真核表达载体 pRNAT-U6.1/neo 购自美国 Genscript 公司。LY294002 购自美国 Selleck 公司。

1.2 PTEN 真核表达载体的构建

从 GeneBank 中查找人 PTEN cDNA 序列,在两端各设计一条对应引物,其中上游引物 5'-ATGACAGCCATCATCAAAGAG-3';下游引物 5'-GGAATAAAACGGGAAAGTGCC-3',并在上游引物中引入

HindⅢ 酶切位点,在下游引物中引入 BamH I 酶切位点。从正常人胎盘组织中提取 mRNA 作为模板合成第一链,扩增目的基因序列片段,经双酶切后定向克隆至真核表达载体 pRNAT-U6.1/neo 中。

1.3 细胞转染和分组

将真核表达载体转染至感受态大肠杆菌 DH5 α ,接种至含 30% 卡那霉素的 LB 培养皿中,挑取单个菌落进行扩大培养,提取质粒并经酶切及测序鉴定获得含 PTEN 基因的质粒,命名为 pRNAT-U6.1/neo-PTEN。筛选阳性重组质粒,分别经双酶切、测序法对重组质粒进行鉴定。双酶切和特异 PCR 结果表明克隆的基因片段约 1.5 kb;测序法进一步证实该基因为 PTEN 编码基因,经 BLAST 分析与 Gene Bank 中基因序列完全相同。将重组质粒利用脂质体 2000 转染至胃癌细胞株 MKN28 中作为转染组。同样方法转染空载体和等量的 PBS 分别作为阴性对照组和空白对照组。转染细胞经 G418 筛选 3 周获得稳定过表达 PTEN 的胃癌细胞株 MKN28。

1.4 绘制细胞生长曲线

MTT 试剂购自宝生物工程(大连)有限公司,按照试剂盒说明书进行,主要步骤如下:取各组对数生长期细胞,分别接种于 96 孔板,接种密度为 1×10^3 个/孔,培养 1 d 后每孔加入 MTT 液(5 g/L)20 μ l,37 $^{\circ}$ C 孵育 4 h,弃上清液,加入 150 μ l DMSO,充分振荡 10 min 后于酶联免疫检测仪上 490 nm 比色测吸光度(A)

值。连续测定 7 d, 各组细胞均重复测定 3 次, 取平均值, 以时间为横轴, A 值为纵轴绘制细胞生长曲线。

1.5 PI3K 抑制剂处理胃癌细胞株 MKN28

处理组为未转染 PTEN 的胃癌细胞株 MKN28 接种于含 20 mmol/L LY294002 的 DMEM 培养基中, 对照组在培养基中加入等量的 PBS, 37 °C 培养 24 h 后进行细胞凋亡和 Western blot 检测。

1.6 细胞凋亡的检测

TUNEL 法检测胃癌细胞凋亡。按照试剂盒操作说明进行。取各组细胞接种于 DMEM 培养基中, 37 °C 培养 24 h 后, 培养细胞以 5×10^6 个/ml 浓度于 4% 中性甲醛中室温固定 10 min, 在载玻片滴加 100 μ l 细胞悬液使之干燥, 置于色缸中加入含 2% H_2O_2 的 PBS, 于室温反应 5 min, 滤纸吸去玻片上多余液体, 滴加 TdT 酶缓冲液 2 滴, 室温放置 5 min, 滴加 54 μ l TdT 酶反应液, 于湿盒中 37 °C 反应 1 h; 加入预热到 37 °C 的终止反应缓冲液, 37 °C 保温 30 min, PBS 洗涤后加入 2 滴过氧化物酶标记的地高辛抗体, 室温反应 30 min, PBS 清洗后滴加 0.05% DAB 显色液显色 5 min; 于室温用甲基绿进行复染 10 min, 二甲苯脱水, 封片, 光学显微镜下观察结果。计数 1000 个细胞中凋亡细胞数, 细胞凋亡率为每 100 个细胞中凋亡细胞所占比例。各组均重复检测 3 次, 取平均值。

1.7 Western blot 检测

细胞培养至长满培养皿后提取细胞总蛋白, 每孔加入 0.1 ml RIPA 蛋白裂解液冰上裂解 5 min, 4 °C 下 10 000 r/min (离心半径 4 cm) 离心 5 min, 取上清液, BCA 法测蛋白浓度。每个加样孔取 50 μ g 蛋白加入 2 $\times$ 上样缓冲液于 100 °C 变性 5 min, 经 SDS-PAGE 电泳分离, 转移至硝酸纤维素膜上, 结合特异性抗体及相应二抗, 经增强化学发光剂显色, 经 X 线片曝光、显影、定影, 图片经 BandScan 软件进行灰度分析。

1.8 统计学分析

应用 SPSS 16.0 统计软件进行分析, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用 *t* 检验, 时间依赖性检验采用相关分析方法。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PTEN 干扰质粒的测序及转染

扩增的目的基因片段经上海生工生物工程技术服务有限公司测序, 结果与设计的目的序列完全符

合。提取质粒转染至胃癌细胞株 MKN28 中, G418 筛选 3 周后转染组有多个单细胞克隆存活, 而对照组细胞几乎完全死亡。挑取单细胞克隆进行扩大培养。Western blot 检测转染组、阴性对照组、空白对照组细胞 PTEN 蛋白的表达。结果发现转染组 PTEN 蛋白表达量为 1.17 ± 0.18 , 明显高于阴性对照组的 0.18 ± 0.02 及空白对照组的 0.16 ± 0.01 ($t = 9.468$, 9.704 , $P < 0.05$)。见图 1。

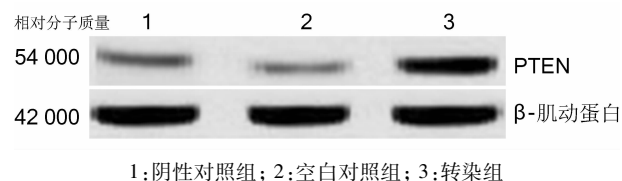


图 1 Western blot 检测各组胃癌细胞株 MKN28 PTEN 蛋白的表达

2.2 细胞生长曲线

MTT 检测结果显示, 转染组胃癌细胞株 MKN28 生长明显受到抑制, 且呈时间依赖性 ($r = 0.938$, $P < 0.05$)。第 3 至 7 天, 转染组细胞吸光度 (A) 值均显著低于空白对照组及阴性对照组 ($P < 0.05$)。而第 1 至 7 天, 阴性对照组与空白对照组细胞吸光度 (A) 值比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见图 2。

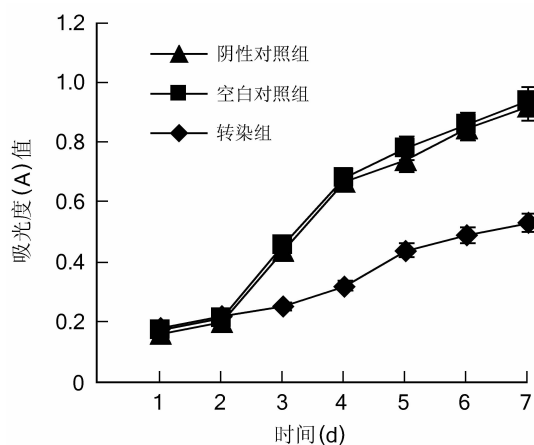


图 2 各组胃癌细胞株 MKN28 生长曲线

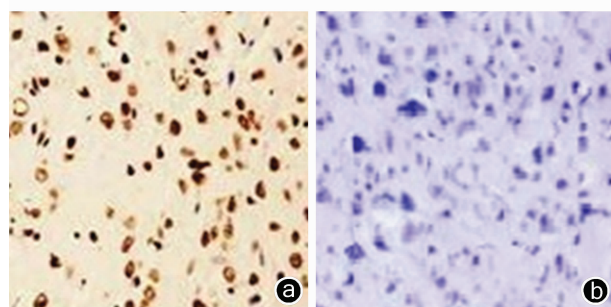
2.3 转染 PTEN 对胃癌细胞株 MKN28 凋亡的影响

细胞凋亡分析发现转染组胃癌细胞株 MKN28 平均凋亡率达到 $27.86\% \pm 4.78\%$, 明显高于阴性对照组的 $0.01\% \pm 0.01\%$ ($t = 9.527$, $P < 0.05$)。见图 3。

2.4 转染 PTEN 对 PI3K 蛋白和 P-AKT 蛋白及凋亡相关蛋白的影响

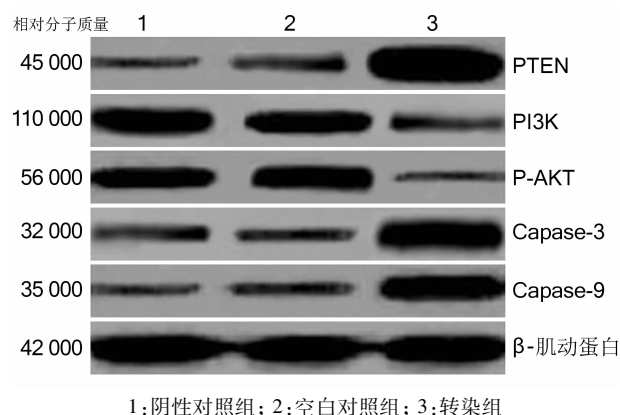
转染组 PI3K 蛋白表达量为 0.25 ± 0.03 , 明显低于空白对照组的 0.93 ± 0.16 及阴性对照组的

0.96 ± 0.15 ($t = 7.235, 8.883, P < 0.05$)。转染组 P-AKT 蛋白表达量为 0.21 ± 0.03 , 明显低于空白对照组的 0.93 ± 0.13 及阴性对照组的 0.91 ± 0.12 ($t = 9.347, 9.802, P < 0.05$)。转染组凋亡相关蛋白 Caspase-3 及 Caspase-9 表达量分别为 0.86 ± 0.11 和 0.87 ± 0.12 , 明显高于阴性对照组的 0.16 ± 0.03 和 0.18 ± 0.04 及空白对照组的 0.15 ± 0.02 和 0.16 ± 0.03 ($t = 10.634, 10.999, 9.448, 9.942, P < 0.05$)。见图 4。



a: 转染组; b: 阴性对照组

图 3 转染组和阴性对照组胃癌细胞株 MKN28 凋亡情况 TUNEL $\times 100$



1: 阴性对照组; 2: 空白对照组; 3: 转染组

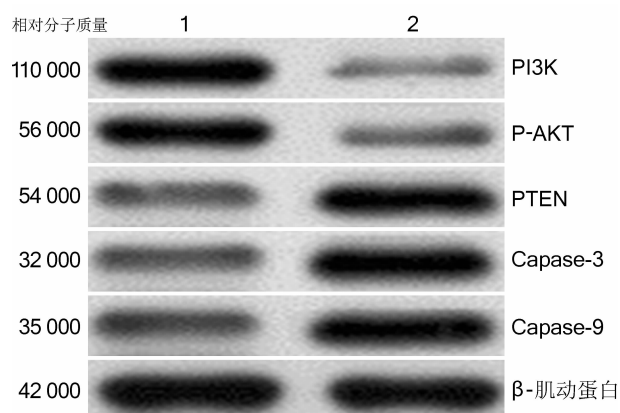
图 4 高表达 PTEN 抑制 PI3K 和 P-AKT 蛋白表达, 促进凋亡相关蛋白的表达情况

2.5 阻断 PI3K 途径对胃癌细胞株 MKN28 凋亡及凋亡相关蛋白的影响

采用 LY294002 处理后, 处理组细胞凋亡率为 $28.60\% \pm 4.50\%$, 显著高于对照组的 $0.12\% \pm 0.06\%$ ($t = 10.961, P < 0.05$)。Western blot 检测发现处理组 PI3K 和 P-AKT 的蛋白表达量分别为 0.18 ± 0.02 和 0.11 ± 0.01 , 明显低于对照组的 0.93 ± 0.14 和 0.90 ± 0.12 ($t = 9.186, 11.363, P < 0.05$); 同时处理组 PTEN 的蛋白相对表达量为 1.15 ± 0.15 , 明显高于对照组的 0.21 ± 0.08 ($t = 9.577, P < 0.05$)。

处理组的凋亡相关蛋白 Caspase-3 及 Caspase-9 相对表达量分别为 0.86 ± 0.12 和 0.88 ± 0.11 , 明

显高于较对照组的 0.25 ± 0.02 和 0.21 ± 0.03 ($t = 8.685, 10.178, P < 0.05$)。见图 5。



1: 对照组, 加入 20 mmol/L PBS; 2: 处理组, 加入 20 mmol/L LY294002

图 5 对照组和处理组胃癌细胞株 MKN28 凋亡及凋亡相关蛋白表达情况

3 讨论

作为一种抑癌基因, PTEN 在肿瘤细胞发育的关键进程中起着重要的调控作用, 包括细胞周期、细胞增生、趋化、凋亡、老化、DNA 损伤、血管生成及细胞极性, PTEN 在肿瘤的发生、发展过程中发生突变或缺失, 针对 PTEN 的研究对于了解肿瘤的发生、发展及治疗有重要意义^[6-7]。目前, PTEN 在肿瘤细胞凋亡中的作用日益受到重视。付雪琼等^[8]的研究结果表明: 化疗药物多柔比星可以通过上调 PTEN 在胃癌细胞 BGC823 中的表达而促进细胞凋亡, 干扰 PTEN 后细胞凋亡率显著下降。本研究通过基因转染的方法使胃癌细胞株 MKN28 过表达 PTEN, 研究结果提示, PTEN 可以抑制细胞的增殖, 促进细胞的凋亡。

本研究中, 我们将重点放在 PI3K 信号传导途径的调控上。PI3K 信号传导通路是许多受体家族与细胞功能之间的联系纽带, 在肿瘤的发生、发展过程中起着重要的调控作用^[9]。PTEN 与 PI3K 之间可以相互影响, 相互反馈, 构成一种密切的信号网络, 在调控细胞许多生物学行为包括凋亡、增生、代谢等过程中起着重要作用^[10]。本研究结果表明: 高表达 PTEN 可以直接抑制 PI3K 蛋白的表达, 从而使 P-AKT 表达降低, 并且能够增强凋亡相关蛋白 Caspase-3、Caspase-9 的表达。PTEN 是一种二元蛋白磷酸酶, 其主要底物为 PI3K 的主要产物之一 PI3P, PI3P 使 AKT 聚集在细胞膜上, 被相关激酶活化^[11]。AKT 是 PI3K 途径中与恶性肿瘤密切相关的下游激酶, 只

有被磷酸化以后才能发挥活性。Caspase 家族是 PI3K/AKT 途径的下游调控因子,其中 Caspase-9 是经典线粒体凋亡途径中的启动者, Caspase-3 是关键效应分子,激活的 Caspase-3 能使许多细胞结构、细胞周期及 DNA 修复等相关蛋白或酶失活,从而使细胞凋亡。

我们进一步采用 PI3K 抑制剂 LY294002 处理胃癌细胞株 MKN28。研究结果提示:LY294002 能有效抑制 PI3K 的活性,从而抑制 AKT 的磷酸化,是 PI3K/AKT 途径的有效阻断剂。阻断 PI3K 后 PTEN 的表达增高,并且细胞凋亡增加,凋亡相关蛋白 Caspase-3、Caspase-9 活性增强。这提示 LY294002 抑制 PI3K 可反馈性促进 PTEN 的表达,促进细胞凋亡。因此,PTEN 与 PI3K/AKT 之间形成相互作用的交叉网络联系。PTEN 对 PI3K 途径的负性调控作用不仅在肿瘤的形成过程中起着重要作用,还可以增强肿瘤对化疗药物的敏感性。针对这一途径的新药开发对肿瘤的治疗是一种革新^[12-13]。LY294002 是传统的 PI3K 抑制剂之一,可以增强脱氧胆酸诱导的胃癌细胞 AGS 的凋亡,可以增强胃癌细胞对奥沙利铂的敏感性^[14-15]。新近的研究结果表明:PTEN 的表达状态不仅与胃癌的发生、发展相关,还与胃癌细胞对化疗药物的敏感性有关^[16-17]。PTEN 可看作是 PI3K 途径新的抑制剂^[18]。

总之,通过高表达 PTEN 可以抑制 PI3K/AKT 途径,促进胃癌细胞凋亡;抑制 PI3K 途径可以促进 PTEN 的表达,两者之间相互作用,共同调控着胃癌细胞的凋亡。基于 PTEN/PI3K/AKT 途径在胃癌细胞凋亡中的调控作用,有望成为胃癌防治的研究靶点。

参考文献

- [1] Leslie NR, Yang X, Downes PC, et al. PtdIns(3,4,5)P(3)-dependent and -independent roles for PTEN in the control of cell migration. *Curr Biol*, 2007, 17(2):115-125.
- [2] Jiang BH, Liu LZ. PI3K/PTEN signaling in angiogenesis and tumorigenesis. *Adv Cancer Res*, 2009, 102:19-65.
- [3] Chalhoub N, Baker SJ. PTEN and the PI3-kinase pathway in cancer. *Annu Rev Pathol*, 2009, 4:127-150.
- [4] Zheng T, Meng X, Wang J, et al. PTEN- and p53-mediated apoptosis and cell cycle arrest by FTY720 in gastric cancer cells and nude mice. *J Cell Biochem*, 2010, 111(1):218-228.
- [5] Bai Z, Zhang Z, Ye Y, et al. Sodium butyrate induces differentiation of gastric cancer cells to intestinal cells via the PTEN/phosphoinositide 3-kinase pathway. *Cell Biol Int*, 2010, 34(12):1141-1145.
- [6] Keniry M, Parsons R. The role of PTEN signaling perturbations in cancer and in targeted therapy. *Oncogene*, 2008, 27(41):5477-5485.
- [7] Carracedo A, Alimonti A, Pandolfi PP. PTEN level in tumor suppression; how much is too little? *Cancer Res*, 2011, 71(3):629-633.
- [8] 付雪琼, 于皆平, 罗和生, 等. PTEN 的表达及其在阿霉素诱导胃癌细胞凋亡中的意义. *中华内科杂志*, 2010, 49(5):422-425.
- [9] Liu P, Cheng H, Roberts TM, et al. Targeting the phosphoinositide 3-kinase pathway in cancer. *Nat Rev Drug Discov*, 2009, 8(8):627-644.
- [10] Carracedo A, Pandolfi PP. The PTEN-PI3K pathway: of feedback and cross-talks. *Oncogene*, 2008, 27(41):5527-5541.
- [11] Carnero A, Blanco-Aparicio C, Renner O, et al. The PTEN/PI3K/AKT signalling pathway in cancer, therapeutic implications. *Curr Cancer Drug Targets*, 2008, 8(3):187-198.
- [12] Markman B, Atzori F, Pérez-García J, et al. Status of PI3K inhibition and biomarker development in cancer therapeutics. *Ann Oncol*, 2010, 21(4):683-691.
- [13] Courtney KD, Corcoran RB, Engelman JA. The PI3K pathway as drug target in human cancer. *J Clin Oncol*, 2010, 28(6):1075-1083.
- [14] Redlak MJ, Miller TA. Targeting PI3K/Akt/HSP90 signaling sensitizes gastric cancer cells to deoxycholate-induced apoptosis. *Dig Dis Sci*, 2010, 56(2):323-329.
- [15] Liu J, Fu XQ, Zhou W, et al. LY294002 potentiates the anti-cancer effect of oxaliplatin for gastric cancer via death receptor pathway. *World J Gastroenterol*, 2011, 17(2):181-190.
- [16] Lo Nigro C, Monteverde M, Riba M, et al. Expression profiling and long lasting responses to chemotherapy in metastatic gastric cancer. *Int J Oncol*, 2010, 37(5):1219-1228.
- [17] O'Toole D, Couvelard A, Rebours V, et al. Molecular markers associated with response to chemotherapy in gastro-entero-pancreatic neuroendocrine tumors. *Endocr Relat Cancer*, 2010, 17(4):847-856.
- [18] Bowles DW, Jimeno A. New phosphatidylinositol 3-kinase inhibitors for cancer. *Expert Opin Investig Drugs*, 2011, 20(4):507-518.

(收稿日期: 2012-02-06)

(本文编辑: 张玉琳)