doi:10.11659/jjssx.10E016046

白术内酯 I 抑制卵巢癌 SK-OV-3 与 OVCAR-3 细胞增殖的作用机制

龙方懿,贾 萍*,王华飞,卿 轶,何梦婕,王晓丽 (四川省妇幼保健院药学部,四川 成都 610041)

[摘 要] **目的** 探讨白术内酯 I 抑制卵巢癌 SK-OV-3 与 OVCAR-3 细胞增殖的作用及其分子机制。**方法** MTT 实验检测不同浓度白术内酯 I 作用人卵巢癌 SK-OV-3 与 OVCAR-3 细胞 24 h、48 h、72 h 后,白术内酯 I 对卵巢癌细胞增殖的影响;流式细胞技术与 PI 染色检测白术内酯 I 对卵巢癌 SK-OV-3 与 OVCAR-3 细胞周期的影响,ELISA 实验检测白术内酯 I 对卵巢癌 SK-OV-3 与 OVCAR-3 细胞 cyclin D1 与 CDK1 表达的影响;Western blot 测定白术内酯 I 对卵巢癌 SK-OV-3 与 OVCAR-3 细胞 PI3K/AKT 信号通路的影响。**结果** 白术内酯 I 可显著抑制 SK-OV-3 与 OVCAR-3 细胞增殖,且白术内酯 I 对 SK-OV-3 与 OVCAR-3 细胞的增殖抑制作用具有浓度和时间依赖性;此外,白术内酯 I 还可显著降低 SK-OV-3 与 OVCAR-3 细胞的 S 期细胞比例,增加 G2/M 期细胞比例,且白术内酯 I 对 SK-OV-3 与 OVCAR-3 细胞周期的调控与其抑制 CDK1 的表达有关;Western blot 实验进一步探讨了白术内酯 I 抑制细胞增殖和调控细胞周期与 PI3K/AKT 信号通路有关。**结论** 白术内酯 I 可通过 PI3K/AKT 途径下调卵巢癌 SK-OV-3 与 OVCAR-3 细胞 CDK1 的表达,从而使细胞阻滞于 G2/M 期,进而发挥肿瘤细胞增殖抑制作用。

[关键词] 白术内酯 I;细胞增殖;细胞周期;PI3K/AKT;卵巢癌

[中图分类号] R34;R91 [文献标识码] A [收稿日期] 2016-10-20

Mechanisms and proliferation inhibitory effects of atractylenolide I on SK-OV-3 and OVCAR-3 ovarian cancer cell

LONG Fang-yi, JIA Ping, WANG Hua-fei, QING Yi, HE Meng-jie, WANG Xiao-li (Department of Pharmacy, Maternal and Child Health Hospital of Sichuan Province, Chengdu Sichuan 610041, China)

Abstract: Objective To investigate the mechanisms and proliferation inhibitory effects of atractylenolide I on SK-OV-3 and OVCAR-3 ovarian cancer cell. **Methods** SK-OV-3 and OVCAR-3 cells were treated with atractylenolide I with various concentrations (0, 5, 10, 20, 40, 80 and 160 μM) at 24 hours, 48 hours and 72 hours, and the changes in proliferation were detected by MTT assay. The cell cycles were measured by PI staining and flow cytometry, and the expressions of cyclin D1 and CDK1 were detected by ELISA assay. Western blot was then applied to investigate the effects of atractylenolide I on PI3K/AKT signaling pathway in SK-OV-3 and OVCAR-3 cells. **Results** Atractylenolide I could significantly inhibit the proliferation of SK-OV-3 and OVCAR-3 cells, and its inhibitory effects were concentration and time dependent. In addition, atractylenolide I could also significantly reduce the proportion of cells in S phase and increase the proportion of cells in G2/M phase, and these effects were associated with the down-regulation of CDK1. The results of Western blot indicated that PI3K/AKT signaling pathway was involved in the inhibitory effects of atractylenolide I on proliferation and cell cycle. **Conclusion** Atractylenolide I can down-regulate the expression of CDK1 in ovarian cancer SK-OV-3 and OVCAR-3 cells through PI3K/AKT pathway, which led to cell cycle arrest in G2/M phase, and played an important role in proliferation inhibition of tumor cells.

Keywords: atractylenolide I; proliferation; cell cycle; PI3K/AKT; ovarian cancer

卵巢癌是女性生殖系统三大恶性肿瘤之一,其病死率位居妇科恶性肿瘤首位。近年来,卵巢癌的发病率逐年增加,卵巢癌早期症状隐匿,常在症状出现之前已经出现远处转移,且 60% ~70% 的患者就诊时已处于晚期[1],尽管手术与化疗可使病情有所缓解,但不能完全消除病灶,多数晚期患者仍会在 2 ~3 年内复发,并最终因化疗耐药而死亡[2]。因此,发现新的卵巢癌治疗药物具有重要的临床意义与社会价值。白术为菊

[通信作者] 贾 萍, E-mail:jp178@tom.com

64 -66. doi:10.3969/j.issn.0529 -6005.2012.09.027.

[13] Savvas I, Plevraki K, Raptopoulos D, et al. Blood gas and acid-base status during tiletamine/zolazepam anaesthesia in dogs[J]. Vet Anaesth Analg, 2005, 32(2):94 -100.

[14] Van Deuren B, Van Ammel K, Somers Y, et al. The fentanyl/etomidate-anaesthetised beagle(FEAB) dog:a versatile in vivo model in cardiovascular safety research[J]. J Pharmacol Toxicol Methods, 2009, 60(1):11 -23.

(编辑:周小林)

科植物白术(atractylodes macrocephala koidz)的干燥根茎,《中国药典》2015 版(一部)中收载的白术有健脾益气、燥湿利水、止汗、安胎之功效,被历代医家奉为“安脾胃之神品”。清代医家张锡纯所言:白术“与寒凉药同用,又善补肺;与升散药同用,又善调肝;与镇安药同用,又善养心;与滋阴药同用,又善补肾”。白术内酯 I(atractylenolide I,AT-I)属于倍半萜内酯类化合物,是白术的主要活性成分之一(白术内酯 I 结构式见图 1)。研究发现,白术内酯 I 对白血病[3]、膀胱癌[4]和黑色素瘤[5]等具有较强的抗肿瘤作用,但有关白术内酯 I 对卵巢癌的抗肿瘤作用研究甚少,且其抗肿瘤分子机制研究尚不清楚。因此,本研究将白术内酯 I 作用于人卵巢癌 SK-OV-3 与 OVCAR-3 细胞,通过检测细胞活力、细胞周期相关蛋白与细胞周期相关信号通路的变化情况,阐明白术内酯 I 抑制卵巢癌细胞增殖的作用机制,为白术内酯 I 的临床应用提供依据,也为其他卵巢癌治疗药物的研发提供新的思路。

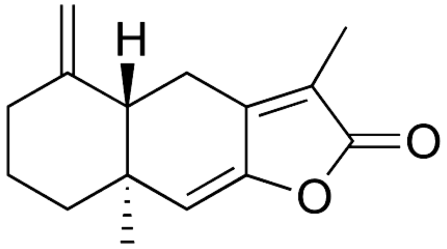


图 1 白术内酯 I 结构式

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

人卵巢癌细胞系 SK-OV-3 与 OVCAR-3(美国 American Type Culture Collection 公司),RPMI 1640 培养液、胎牛血清、青链霉素与胰酶(美国 Gibco 公司),McCoy's 5a 培养基(美国 Thermo Fisher Scientific 公司),DMSO(北京索莱宝科技有限公司),RIPA 裂解液、SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液与 SDS-PAGE 凝胶配制试剂盒(碧云天生物技术研究所),蛋白酶抑制剂(美国 Sigma 公司),白术内酯 I(上海丰寿生物科技有限公司,货号 R-0046,规格 20 mg/支),CDK1 ELISA 试剂盒与 cyclin D1 ELISA 试剂盒(武汉华美生物工程有限公司),p-PI3K、PI3K、p-AKT 与 AKT 一抗(美国 Cell Signaling Technology 公司),辣根过氧化物酶标记二抗与 ECL 显影液(武汉博士德生物工程有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 SK-OV-3 与 OVCAR-3 细胞采用常规培养,在含 10%(v/v)灭活胎牛血清、青霉素 100 u/mL和链霉素 100 u/mL 的 RPMI 1640 和 McCoy's 5a 培养液中,37 ℃、5% CO_2 的细胞培养箱中培养,每 2~3 d 换液传代 1 次,取对数生长期细胞进行相关实验。

1.2.2 MTT 实验 在 96 孔板中每孔种入约 1×10^4 个细胞,待细胞贴壁 24 h 后,将培养液换为无血清培养液,向每孔加入一定量的药物并在细胞孵箱中继续培养,实验分组分为白术内酯 I 加药组(5、10、20、40、80、160 μM)与白术内酯 I 未加药组(0 μM),然后以每孔 10 μL 加入 5 mg/mL MTT,37 ℃孵育 4 h。弃上清,每孔中加入 150 μL DMSO,溶解 MTT 和活细胞线粒体反应形成的蓝紫色结晶甲瓒。使用酶标仪 490 nm 波长检测 OD490 nm 值。按以下公式计算细胞存活率。细胞存活率 = 白术内酯 I 加药组(OD 490 nm)/白术内酯 I 未加药组(OD 490 nm)×100%

1.2.3 细胞总蛋白提取 将 1 mL 含有 PMSF 的 RIPA 裂解液加入到长有细胞的 6 孔板中,水平放置并于冰上裂解 30 min,裂解过程中应经常来回晃动 6 孔板;裂解完成后于 4 ℃,12 000 rpm 离心 5 min,然后取上清即可进行后续实验,如 ELISA 实验,或者加入 SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液,蛋白变性煮沸 5 min 后即可进行 Western blot 等实验。

1.2.4 流式细胞技术检测细胞周期 分别接种 1×10^6 个细胞于 6 孔板中,培养 24 h 后加药,药物作用 24 h 后,收集细胞,PBS 洗 2 次,然后 75% 冷乙醇固定,上机检测前弃乙醇,PBS 洗 1 次,加入 25 mg/L RNase,最后加入 50 mg/L 碘化乙啶(PI)染色剂,避光染色 20 min 后流式细胞仪检测细胞周期分布,FCS ExpressV 3.0 软件分析数据。

1.2.5 ELISA 实验 以每孔 100 μL 加入稀释后的 Cytokine standard 至标准品孔,以每孔 100 μL 加入样品至样品孔,设置空白孔,用 Dilution buffer R (1×)代替样本和标准品;以每孔 50 μL 加入稀释后的 Biotinylated antibody,混匀后,盖上封板膜,37 ℃温育 90 min;扣去孔内液体,每孔 300 μL 加入 1×washing buffer,停留 1 min 后弃去孔内液体,该步骤重复 4 次,每次在滤纸上扣干;以每孔 100 μL 加入稀释后的 Streptavidin-HRP,盖上封板膜,37 ℃温育 30 min;洗板后进行显色:每孔 100 μL 加入 TMB,37 ℃避光温育 5~30 min,根据孔内颜色的深浅(深蓝色)来判定终止反应,以每孔 100 μL 迅速加入 Stop solution 终止反应;终止后 10 min内,在酶标仪上以检测波长 450 nm 读值。

1.2.6 Western blot 实验 对各组细胞分别取 40 μg总蛋白进行 SDS-PAGE 聚丙烯酰胺凝胶电泳,80 V恒压湿转至 PVDF 膜,用含 5% 脱脂奶粉的 TBST 室温封闭 1 h,分别用 p-PI3K 抗体(1∶500 稀释)、PI3K

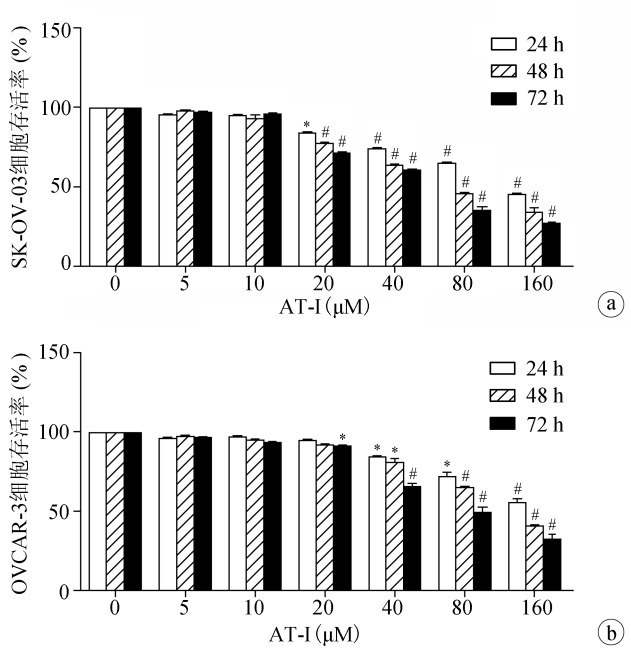
抗体(1∶1 000 稀释)、p-AKT(1∶500 稀释)和 AKT(1∶1 000 稀释)4 ℃孵育过夜;然后,采用辣根过氧化物酶标记二抗(1∶5 000 稀释),37 ℃孵育 1 h,ECL 显影液处理后曝光;最后,利用 Image-Pro Plus 6.0 系统采集与分析图像。

1.2.7 数据分析 实验数据均以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,实验结果采用 SPSS 16.0 软件进行统计分析,组间比较采用独立样本 t 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 AT-I 对卵巢癌 SK-OV-3 与 OVCAR-3 细胞的增殖抑制作用

将不同浓度 AT-I(0、5、10、20、40、80、160 μM)作用于人卵巢癌 SK-OV-3 与 OVCAR-3 细胞 24 h、48 h 与 72 h 后,MTT 法检测细胞活力(图 2),结果显示 20 μM AT-I 即可显著抑制 SK-OV-3 细胞活性,且随着 AT-I 浓度与作用时间增加,增殖抑制作用增强。同样的,20 μM AT-I 作用72 h后,OVCAR-3 细胞活性受到显著抑制,且随着 AT-I 浓度与作用时间增加,抑制作用显著增强。这些结果表明 AT-I 对 SK-OV-3 与 OVCAR-3 细胞的增殖抑制作用具有浓度和时间依赖性。



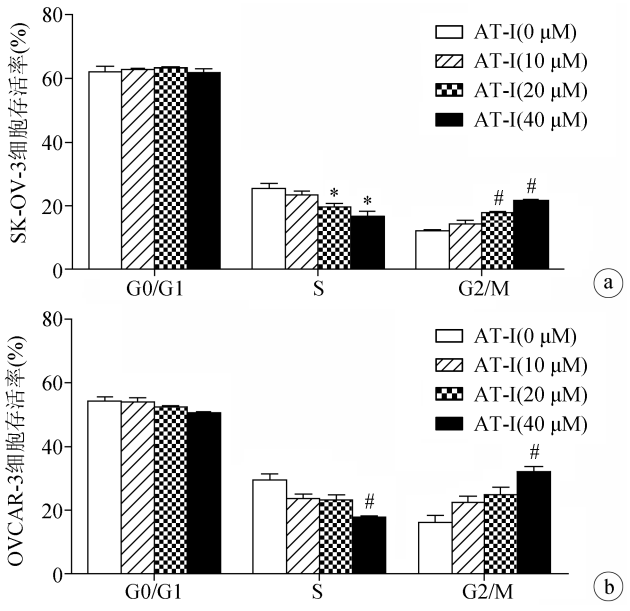
a:AT-I 对 SK-OV-3 细胞的增殖抑制作用;b:AT-I 对 OVCAR-3 细胞的增殖抑制作用 *:与 AT-I 0 μM 组比较,$P<0.05$;#:与 AT-I 0 μM 组比较,$P<0.01$

图 2 AT-I 对卵巢癌 SK-OV-3 与 OVCAR-3 细胞的增殖抑制作用($n=4, \bar{x} \pm s$)

2.2 AT-I 对卵巢癌 SK-OV-3 与 OVCAR-3 细胞周期的影响

将不同浓度 AT-I(0、10、20、40 μM)处理卵巢癌 SK-OV-3 与 OVCAR-3 细胞,流式细胞技术分析结果(图 3)显示:20 与 40 μM AT-I 可显著降低 SK-OV-3 细胞的 S 期细胞比例,增加 G2/M 期细胞比例;另外,40 μM AT-I 可显著降低 OVCAR-3 细胞的 S 期细胞比例,增加 G2/M 期细胞比例。

利用 ELISA 实验进一步探讨 AT-I 对 SK-OV-3 与 OVCAR-3 细胞周期相关蛋白表达的影响,结果(图 4)显示:AT-I 对 SK-OV-3 细胞 cyclin D1 的表达无影响,但 20、40 μM AT-I 可显著降低 SK-OV-3 细胞 CDK1 的表达;另外,AT-I 对 OVCAR-3 细胞 cyclin D1 的表达也无影响,但 40 μM AT-I 可显著降低 OVCAR-3 细胞 CDK1 的表达。

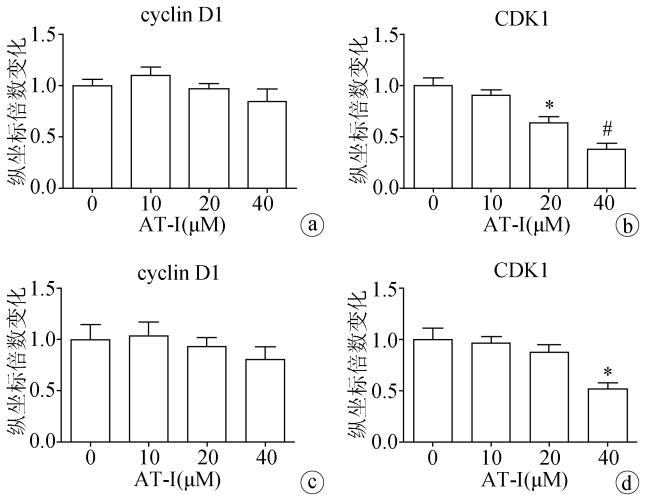


a:AT-I 对卵巢癌 SK-OV-3 细胞周期的影响;b:AT-I 对卵巢癌 OVCAR-3 细胞周期的影响 *:与 AT-I 0 μM 组比较,$P<0.05$;#:与 AT-I 0 μM 组比较,$P<0.01$

图 3 AT-I 对卵巢癌 SK-OV-3 与 OVCAR-3 细胞周期的影响($n=4, \bar{x} \pm s$)

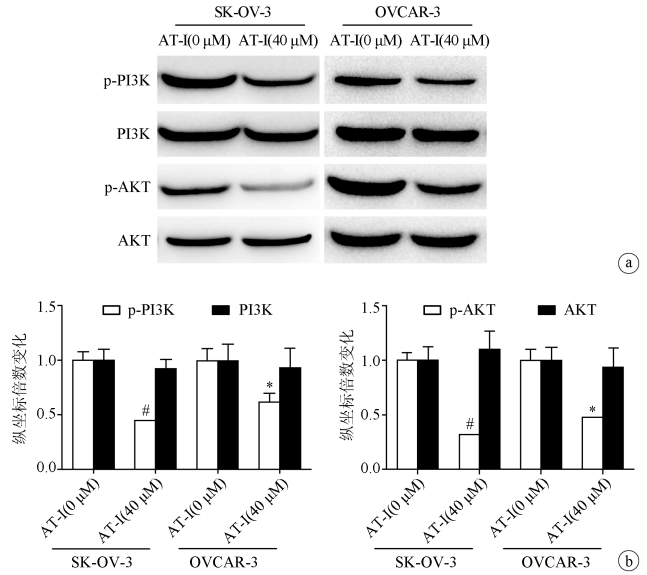
2.3 AT-I 对卵巢癌 SK-OV-3 与 OVCAR-3 细胞 PI3K/AKT 信号通路的影响

将 40 μM 的 AT-I 处理 SK-OV-3 与 OVCAR-3 细胞 24 h 后进行蛋白提取与 Western blot 实验,结果(图 5)所示:与 AT-I 未加药组比较,40 μM AT-I 可降低 SK-OV-3 细胞 PI3K 与 AKT 磷酸化水平约 55.32% 与 68.75%,可降低 OVCAR-3 细胞 PI3K 与 AKT 磷酸化水平约 38.19% 与 52.25%,这些结果表明 AT-I 可抑制卵巢癌 SK-OV-3 与 OVCAR-3 细胞 PI3K/AKT 信号通路。



a:AT-I 对卵巢癌 SK-OV-3 细胞 cyclin D1 表达的影响;b:白术内酯 I 对卵巢癌 SK-OV-3 细胞 CDK1 表达的影响;c:AT-I 对卵巢癌 OVCAR-3 细胞 cyclin D1 表达的影响;d:AT-I 对卵巢癌 OVCAR-3 细胞 CDK1 表达的影响 *:与 AT-I 0 μM 组比较,$P<0.05$;#:与 AT-I 0 μM 组比较,$P<0.01$

图 4 AT-I 对卵巢癌 SK-OV-3 与 OVCAR-3 细胞 cyclin D1 与 CDK1 表达的影响($n=4,\bar{x}\pm s$)



a:Western blot 分析 AT-I 对卵巢癌 SK-OV-3 与 OVCAR-3 细胞 PI3K/AKT 信号通路的影响;b:Western blot 实验结果的柱状图 *:与 AT-I 0 μM 组比较,$P<0.05$;#:与 AT-I 0 μM 组比较,$P<0.01$

图 5 AT-I 对卵巢癌 SK-OV-3 与 OVCAR-3 细胞 PI3K/AKT 信号通路的影响($n=4,\bar{x}\pm s$)

3 讨论

细胞周期(cell cycle)是指细胞从一次分裂结束到下一次分裂结束所经历的全过程。在细胞周期过程中,细胞内存在一系列的调控机制以确保各时相依次有序进行,有利于细胞的增殖与分化。不同于正常细胞,恶性肿瘤最基本的生物学特征是肿瘤细胞失控性增殖,而细胞失控性增殖的生物学基础是细胞周期调控紊乱。因此,阻断肿瘤细胞周期的进行,抑制肿瘤细胞的增殖对于肿瘤的治疗具有重要的意义。

AT-I 是从菊科植物白术的根茎中提取的一种倍半萜内酯化合物,具有抗炎、抗肿瘤等药理活性[3-7],对白血病[3]、膀胱癌[4]与黑色素瘤[5]具有显著抑制作用。最近有研究表明,AT-I 可通过阻断 TLR4/MyD88 依赖的信号通路进而增强卵巢癌对紫杉醇的敏感性[8],但有关 AT-I 对卵巢癌的抗肿瘤作用研究甚少,其分子作用机制尚不清楚。因此,本研究以人卵巢癌细胞 SK-OV-3 与 OVCAR-3 为研究对象,探讨 AT-I 抑制卵巢癌细胞增殖的分子作用机制。

在本研究中,我们发现 AT-I 可抑制卵巢癌 SK-OV-3 与 OVCAR-3 细胞增殖,且 AT-I 对这两种细胞的增殖抑制作用具有浓度与时间依赖性,随着 AT-I 作用浓度与作用时间的增加,其增殖抑制作用越明显。为进一步阐明 AT-I 对 SK-OV-3 与 OVCAR-3 细胞周期的影响,通过流式细胞技术与 PI 染色,发现 AT-I 可显著降低 S 期的细胞比例,并增加 G2/M 期细胞比例,表明 AT-I 可将 SK-OV-3 与 OVCAR-3 细胞周期阻滞于 G2/M 期,进而抑制其细胞增殖。细胞周期的有序运转依赖于一系列细胞周期相关分子的调控[9-11],如细胞周期蛋白(cyclin)与细胞周期蛋白依赖性激酶(cyclin dependent kinase,CDK),cyclin/CDK 的作用具有时相特异性,在细胞周期的不同阶段,起作用的 cyclin/CDK 分子亦不同:cyclin D1 是主要表达于 G1 期的细胞周期蛋白,控制细胞由 G1 期向 S 期过渡[12-13];CDK1 为 Ser/Thr 蛋白激酶家族的重要成员之一,是细胞分裂周期基因 2(cell division cycle 2,CDC2)编码的相对分子质量为 3.4×10^4 的蛋白质,促使细胞从 G2 期进入 M 期[14-15]。在本研究中,通过 ELISA 实验发现:AT-I 对 SK-OV-3 与 OVCAR-3 细胞 cyclin D1 表达无影响,但可显著降低 CDK1 的表达,进而阻断肿瘤细胞于G2/M 期,这与本研究的流式细胞技术结果一致,表明 AT-I 通过降低 CDK1 的表达从而阻断 SK-OV-3 与 OVCAR-3 细胞于 G2/M 期,进而发挥增殖抑制作用。

为进一步阐明 AT-I 对卵巢癌细胞增殖抑制作用的分子机制,我们研究 AT-I 对卵巢癌细胞 PI3K/AKT 信号通路的影响。PI3K/AKT 是体内重要的信号通路,在细胞增殖过程中发挥着重要的作用,其中,PI3K 下游靶蛋白 AKT 是信号转导通路中重要的中心环节,其持续活化与肿瘤的发生发展密切相关[16-19]。有研究表明,CDK1 表达下调进而导致细胞周期 G2/M 期

阻滞与抑制 PI3K/AKT 信号通路有关[20]。本研究中结果显示,AT-I 可抑制 SK-OV-3 与 OVCAR-3 细胞 PI3K 与 AKT 的磷酸化,表明 AT-I 可抑制 SK-OV-3 与 OVCAR-3 细胞 PI3K/AKT 信号通路。

综上,本研究阐明了 AT-I 可通过 PI3K/AKT 途径下调卵巢癌 SK-OV-3 与 OVCAR-3 细胞 CDK1 的表达,从而使卵巢癌细胞阻滞于 G2/M 期,进而发挥肿瘤细胞增殖抑制作用。通过研究 AT-I 对卵巢癌 SK-OV-3 与 OVCAR-3 细胞周期阻滞的分子机制,为 AT-I 的临床应用提供依据,也为其他抗卵巢癌药物的研发提供新的思路。

[参考文献]

[1] Jemal A,Siegel R,Ward E,et al. Cancer statistics 2009[J]. CA Cancer J Clin,2009,5(59):225 - 249. doi:10.3322/caac.20006.

[2] Bhoola S,Hoskins WJ. Diagnosis and management of epithelial ovarian cancer[J]. Obstet Gynecol,2006,107(6):1399 - 1410. doi:10.1097/01.AOG.0000220516.34053.48.

[3] Huang HL,Lin TW,Huang YL,et al. Induction of apoptosis and differentiation by atractylenolide-1 isolated from Atractylodes macrocephala in human leukemia cells[J]. Bioorg Med Chem Lett,2016,26(8):1905 - 1909. doi:10.1016/j.bmcl.2016.03.021.

[4] Yu R,Yu BX,Chen JF,et al. Anti-tumor effects of Atractylenolide I on bladder cancer cells[J]. J Exp Clin Cancer Res,2016,35:40. doi:10.1186/s13046 - 016 - 0312 - 4.

[5] Ye Y,Chao XJ,Wu JF,et al. ERK/GSK3β signaling is involved in atractylenolide I-induced apoptosis and cell cycle arrest in melanoma cells[J]. Oncol Rep,2015,34(3):1543 - 1548. doi:10.3892/or.2015.4111.

[6] Li C,He LC,Jin J. Atractylenolide I and atractylenolide III inhibit Lipopolysaccharide- induced TNFα and NO production in macrophages[J]. Phytother Res,2007,21(4):347 - 353. doi:10.1002/ptr.2040.

[7] Wang C,Duan H,He L. Inhibitory effect of atractylenolide I on angiogenesis in chronic inflammation in vivo and in vitro[J]. Eur J Pharmacol,2009,612(1):143 - 152. doi:10.1016/j.ejphar.2009.04.001.

[8] Huang JM,Zhang GN,Shi Y,et al. Atractylenolide-I sensitizes human ovarian cancer cells to paclitaxel by blocking activation of TLR4/MyD88-dependent pathway[J]. Sci Rep,2014,4:3840. doi:10.1038/srep03840.

[9] Palmisano A,Zámborszky J,Oguz C,et al. Molecular network dynamics of cell cycle control:periodicity of start and finish[J]. Methods Mol Biol,2017,1524:331 - 349. doi:10.1007/978 - 1 - 4939 - 6603 - 5_21.

[10] Visconti R,Della Monica R,Grieco D. Cell cycle checkpoint in cancer:a therapeutically targetable double-edged sword[J]. J Exp Clin Cancer Res,2016,35(1):153. doi:10.1186/s13046 - 016 - 0433 - 9.

[11] Lim KH,Song MH,Baek KH,et al. Decision for cell fate:deubiquitinating enzymes in cell cycle checkpoint[J]. Cell Mol Life Sci,2016,73(7):1439 - 1455. doi:10.1007/s00018 - 015 - 2129 - 2.

[12] Zhong Z,Yeow WS,Zou C,et al. Cyclin D1/cyclin-dependent kinase 4 interacts with filamin A and affects the migration and invasionpotential of breast cancer cells[J]. Cancer Res,2010,70(5):2105 - 2114. doi:10.1158/0008 - 5472.CAN - 08 - 1108.

[13] Liu L,Zhang H,Shi L,et al. Inhibition of Rac1 activity induces G1/S phase arrest through the GSK3/cyclin D1 pathway in human cancer cells[J]. Oncol Rep,2014,32(4):1395 - 1400. doi:10.3892/or.2014.3388.

[14] Huang WW,Tsai SC,Peng SF,et al. Kaempferol induces autophagy through AMPK and AKT signaling molecules and causes G2/M arrest via downregulation of CDK1/cyclin B in SK-HEP-1 human hepatic cancer cells[J]. Int J Oncol,2013,42(6):2069 - 2077. doi:10.3892/ijo.2013.1909.

[15] Jang SH,Kim AR,Park NH,et al. DRG2 regulates G2/M progression via the cyclin B1-Cdk1 complex[J]. Mol Cells,2016,39(9):699 - 704. doi:10.14348/molcells.2016.0149.

[16] Prasad R,Vaid M,Katiyar SK. Grape proanthocyanidin inhibit pancreatic cancer cell growth in vitro and in vivo through induction of apoptosis and by targeting the PI3K/Akt pathway[J]. PLoS One,2012,7(8):e43064. doi:10.1371/journal.pone.0043064.

[17] Zhang W,Zheng X,Meng T,et al. SET protein overexpression contributes to paclitaxel resistance in MCF-7/S cells through PI3K/Akt pathway[J]. J Drug Target,2016,10:1 - 30. doi:10.1080/1061186X.2016.1245307.

[18] Jiang J,Feng X,Zhou W,et al. MiR-128 reverses the gefitinib resistance of the lung cancer stem cells by inhibiting the c-met/PI3K/AKT pathway[J]. Oncotarget,2016. doi:10.18632/oncotarget.12283.

[19] Liu LZ,He YZ,Dong PP,et al. Protein tyrosine phosphatase PTP4A1 promotes proliferation and epithelial-mesenchymal transition in intrahepatic cholangio carcinoma via the PI3K/AKT pathway[J]. Oncotarget,2016. doi:10.18632/oncotarget.12116.

[20] Wang TE,Wang YK,Jin J,et al. A novel derivative of quinazoline,WYK431 induces G2/M phase arrest and apoptosis in human gastric cancer BGC823 cells through the PI3K/Akt pathway[J]. Int J Oncol,2014,45(2):771 - 781. doi:10.3892/ijo.2014.2458.

(编辑:刘 艺)