本文引用:王东军,董虹廷. 人脑神经胶质瘤组织中细胞外信号调节激酶和磷脂酰肌醇 3 激酶的表达及其临床意义[J]. 新乡医学院学报,2014,31(12):978-982.

【基础研究】

人脑神经胶质瘤组织中细胞外信号调节激酶和磷脂酰肌醇 3 激酶的表达及其临床意义

王东军[1], 董虹廷[1,2]

(1. 广东医学院第二临床学院,广东 东莞 523808;2. 南阳市中心医院神经外科,河南 南阳 473000)

摘要: **目的** 探讨细胞外信号调节激酶 2(ERK2)和磷脂酰肌醇 3 激酶(PI3K)在人脑神经胶质瘤组织中的表达及其临床意义。**方法** 选取 42 例人脑神经胶质瘤组织标本和 6 例正常脑组织标本,采用免疫蛋白印迹技术(Western blot)和免疫组织化学方法联合检测 ERK2 和 PI3K 蛋白在神经胶质瘤组织及正常脑组织中的表达,并分析二者的相关性。**结果** 免疫组织化学结果显示 ERK2 和 PI3K 蛋白主要分布于细胞质。ERK2 和 PI3K 在正常脑组织中的阳性表达率低于神经胶质瘤组织($\chi^2=32.576$, $P<0.05$; $\chi^2=43.688$, $P<0.05$)。ERK2 和 PI3K 在Ⅰ~Ⅳ级神经胶质瘤组织中的阳性表达率均高于正常脑组织($P<0.05$)。Spearman 等级相关分析显示 ERK2 和 PI3K 的表达与神经胶质瘤的恶性程度呈正相关($r=0.711$, $P<0.05$; $r=0.825$, $P<0.05$)。Western blot 结果显示,ERK2 和 PI3K 在神经胶质瘤组织中均有过度表达,与正常脑组织比较差异有统计学意义($P<0.05$);PI3K 与 ERK2 蛋白的表达呈正相关($r=0.867$, $P<0.01$)。**结论** ERK2、PI3K 蛋白在人脑神经胶质瘤组织中的过表达可能与神经胶质瘤细胞的恶性增殖及发生、发展关系密切。联合检测 ERK2 和 PI3K 可较准确地评价人脑神经胶质瘤的病理特征,对判断人脑神经胶质瘤的恶性程度有重要的临床价值。

关键词: 人脑神经胶质瘤;细胞外信号调节激酶;磷脂酰肌醇 3 激酶;免疫蛋白印迹法;免疫组织化学

中图分类号: R739.41 **文献标志码**: A **文章编号**: 1004-7239(2014)12-0978-05

Expression and its clinical significance of extracellular signal regulating kinase and phosphatidylinositol-3-kinase in human brain glioma

WANG Dong-jun[1], DONG Hong-ting[1,2]

(1. *The Second Clinical College of Guangdong Medical College, Dongguan* 523808, *Guangdong Province, China*; 2. *Department of Neurosurgery, Nanyang Central Hospital, Nanyang* 473000, *Henan Province, China*)

Abstract: **Objective** To investigate the expression and its clinical significance of extracellular signal regulating kinase 2 (ERK2) and phosphatidylinositol-3-kinase (PI3K) in human brain glioma. **Methods** Forty-two brain glioma tissue samples and six normal brain tissue samples were selected. The expressions of ERK2 and PI3K were detected by the immune protein imprinting technology (Western blot) and immunohistochemical method, and the correlation between them was analyzed. **Results** The immunohistochemical results showed that ERK2 and PI3K protein were mainly distributed in the cytoplasm. The expressions of ERK2 and PI3K in normal brain tissue were lower than those in human brain glioma ($\chi^2=32.576$, $P<0.05$; $\chi^2=43.688$, $P<0.05$). The expressions of ERK2 and PI3K in grade Ⅰ - Ⅳ of human brain glioma were higher than those in normal brain tissue ($P<0.05$). Spearman correlation analysis showed that ERK2 and PI3K expressions were positively correlated with the malignant degree of glioma ($r=0.711$, $P<0.05$; $r=0.825$, $P<0.05$). The Western blot results showed that ERK2 and PI3K had excessive expression in human brain glioma, compared to normal brain tissue, the differences were significant ($P<0.05$). The expression of PI3K had a positive correlation with ERK2 ($r=0.867$, $P<0.01$). **Conclusions** The excessive expression of ERK2 and PI3K protein in human brain glioma probably has the relationship with the malignant proliferation, occurrence and development of glioma. ERK2 and PI3K joint detection has important clinical value in accurately evaluating the pathological characteristic of human brain glioma and judging the malignant degree of brain glioma

Key words: human brain glioma; extracellular signal regulating kinase; phosphatidylinositol 3-kinase; Western blot; immunohistochemistry

DOI:10.7683/xxyxyxb.2014.12.004

收稿日期:2014-09-01

作者简介:王东军(1966-),男,河南安阳人,博士,教授,主任医师,硕士研究生导师,主要从事神经系统肿瘤的基础与临床研究工作。

通信作者:董虹廷(1988-),男,河南南阳人,硕士,住院医师,主要从事神经系统肿瘤的基础与临床研究工作。

细胞生长受到多种信号通路调控,信号转导系统的缺陷或异常活化可引起细胞周期的改变和细胞去分化甚至恶变,细胞外信号调节激酶 2(extracellu-

lar signal-regulated kinase 2,ERK2)和磷脂酰肌醇 3 激酶(phosphatidylinositol 3-kinase,PI3K)是细胞内重要信号传导途径[1],且存在交叉关系[2]。ERK2 及 PI3K 分别是 2 条通路中重要的信号分子,ERK2 和 PI3K 的表达与肿瘤的增殖、癌性转化、肿瘤细胞耐药等方面有密切关系。本研究通过检测人脑神经胶质瘤组织及正常脑组织中 ERK2 和 PI3K 蛋白的表达情况,探讨它们在人脑神经胶质瘤发生、发展中的意义。

1　材料与方法

1.1　研究对象　收集广东三九脑科医院神经外科 2012 年 12 月至 2013 年 5 月行手术治疗并经病理组织学检查确诊的原发性人脑神经胶质瘤患者标本 42 例,每例标本均液氮速冻,-80 ℃贮存。其中男 24 例,女 18 例,年龄 8 ~ 74 岁,平均(42.0 ± 0.1)岁;病程 14 d 至 3.5 a,平均(6.0 ± 0.1)个月。组织学分型及病理分级按世界卫生组织(2000 年)神经系统肿瘤分类标准[3]:低度恶性(Ⅰ ~ Ⅱ级)22 例,高度恶性(Ⅲ ~ Ⅳ级)20 例。Ⅰ级 9 例,其中毛细胞型星形细胞瘤 4 例,节细胞胶质瘤 3 例,室管膜下室管膜瘤 2 例;Ⅱ级 13 例,其中纤维型星形细胞瘤 5 例,肥胖细胞型星形细胞瘤 3 例,弥漫性星形细胞瘤 2 例,少突胶质细胞瘤 3 例;Ⅲ级 9 例,其中间变性星形细胞瘤 4 例,间变性少突胶质细胞瘤 5 例;Ⅳ级 11 例,其中胶质母细胞瘤 7 例,髓母细胞瘤 4 例。对照组 6 例正常脑组织取自脑外伤患者 6 h 内行挫裂脑组织切除颅内减压术的非肿瘤患者,标本经甲醛固定,石蜡包埋,制备成石蜡标本。

1.2　主要仪器与试剂　恒温烤箱(长沙医疗器械厂),光学显微镜(日本 Olympus CH-20 型),显微照相系统(日本 Nikon),电热恒温水浴箱(BHW2-I 型,北京医疗设备厂),PowerPac 电泳仪、MiniTrans-Blot 电转槽、Mini-PROTEAN 3 型垂直板电泳槽均为美国 Bio-Rad 公司产品。兔抗人 ERK2 单克隆抗体、兔抗人 PI3K(IA 型)多克隆抗体购自北京博奥森生物技术有限公司,工作浓度分别为 1∶50 和 1∶200;通用型免疫组织化学染色试剂盒、二氨基联苯胺(3,3′-diaminobenzidine,DAB)显色试剂盒购自北京中杉金桥生物技术有限公司;多聚赖氨酸玻片黏附剂购自美国 Sigma 公司。

1.3　免疫组织化学法检测 ERK2 和 PI3K 的表达　石蜡标本常规 3 ~ 4 μm 连续切片,贴附于经赖氨酸处理过的防脱玻片上,60 ℃恒温烤箱烤片 1 h,4 ℃保存备用。石蜡切片经烤片、二甲苯脱蜡、梯度乙醇脱水后高压抗原修复,加体积分数 3% H_2O_2 4 ℃ DAB 显色、苏木精复染、体积分数 1% 盐酸乙醇分化、氨水返蓝、梯度乙醇脱水最后中性树胶封片。排除非特异性染色前提下,淡黄色、棕黄色、棕褐色为阳性表达。ERK2、PI3K 阳性呈淡黄色、棕黄色或棕褐色颗粒,主要定位于细胞质。在切片染色均匀的肿瘤区随机取 5 个高倍视野(×200),共计 500 个细胞,按染色强度(staining intensity,SI)和阳性细胞百分率(percentage of positive cells,PP)的乘积计算免疫反应评分(immunoreactive score,IR-S),IR-S = SI × PP。SI 计分:无着色为 0 分;浅黄色为 1 分;棕黄色为 2 分;棕褐色为 3 分。PP 计分:无阳性细胞为 0 分;阳性细胞率≤10% 为 1 分;11% ~ 50% 为 2 分;51% ~ 75% 为 3 分;>75% 为 4 分。IRS 表达强度判断:0 分为阴性(-),1 ~ 4 分为弱阳性(+),5 ~ 8 分为中等阳性(++),9 ~ 12 分为强阳性(+++)。

1.4　蛋白免疫印迹法(Western blot)检测 ERK2 和 PI3K 的表达　标本加适量样品悬浮缓冲液匀浆,4 ℃ 13 500 r · min^{-1} 离心 30 min,取上清,按 Lowery 法测定蛋白浓度。质量分数 10% 聚丙烯酰胺凝胶电泳(sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis,SDS-PAGE)分离蛋白质;电泳后将 PAGE 凝胶中的蛋白通过电转移槽转移至硝酸纤维素膜(4 ℃)。取出膜用丽春红染色,封闭后加入一抗,4 ℃过夜,加入二抗,室温孵育 2 h,用磷酸盐吐温缓冲液冲洗 3 次,每次 8 min。经化学发光、显影、定影后,清水冲净晾干,标定 Marker,进行拍照。经 X 胶片曝光显影,图片扫描保存为电脑文件,并用 ImageJ 分析软件将图片上每个特异条带灰度值数字化。目的蛋白的灰度值除以内参 GAPDF 的灰度值以校正误差,所得结果代表该样品的目的蛋白相对含量。

1.5　统计学处理　应用 SAS 9.1 软件进行统计分析。数据以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,计量资料比较采用 t 检验,计数资料比较采用 χ^2 检验;相关性分析采用 Spearman 等级相关分析;检验水准 $\alpha = 0.05$。

2　结果

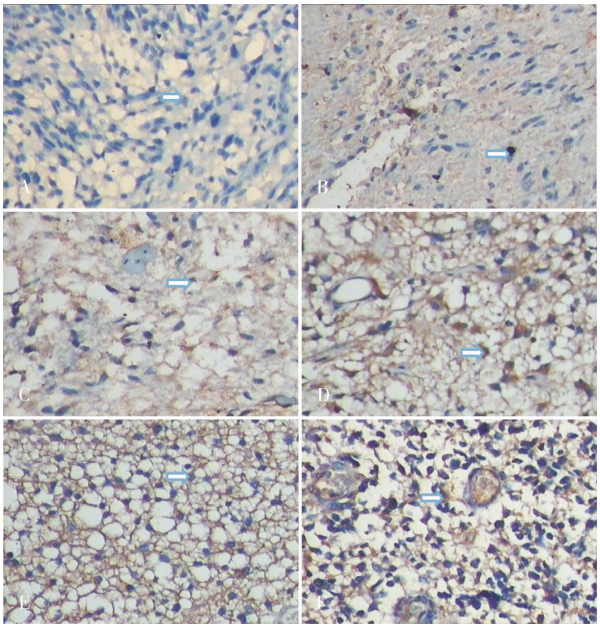
2.1　ERK2 在神经胶质瘤组织及正常脑组织中的表达　结果见表 1 和图 1。ERK2 阳性表达主要位于神经胶质瘤细胞的细胞质,呈淡黄色、棕黄色或黄褐色。ERK2 在正常脑组织中的阳性表达率低于神经胶质瘤组织,差异有统计学意义($\chi^2 = 32.576$,$P < 0.05$)。ERK2 在Ⅰ ~ Ⅳ级神经胶质瘤组织中的阳性表达率分别为 33.3%、46.2%、88.9% 和 90.9%,均高于正常脑组织($P < 0.05$)。Spearman 等级相关分析显示 ERK2 表达与神经胶质瘤的恶性程度呈正相关($r = 0.711$,$P < 0.05$)。

表 1 ERK2 在正常脑组织和神经胶质瘤组织中的表达

Tab. 1 Expression of ERK2 in normal brain tissue and neuroglioma tissue

组织类型	n	ERK2				阳性率/%
		−/例	+/例	+ +/例	+ + +/例	
正常脑组织	6	5	1	0	0	16.7
神经胶质瘤组织	42	15	5	9	13	64.3[a]
Ⅰ级	9	6	2	1	0	33.3[a]
Ⅱ级	13	7	2	4	0	46.2[a]
Ⅲ级	9	1	1	2	5	88.9[a]
Ⅳ级	11	1	0	2	8	90.9[a]

注：与正常脑组织比较[a]$P<0.05$。

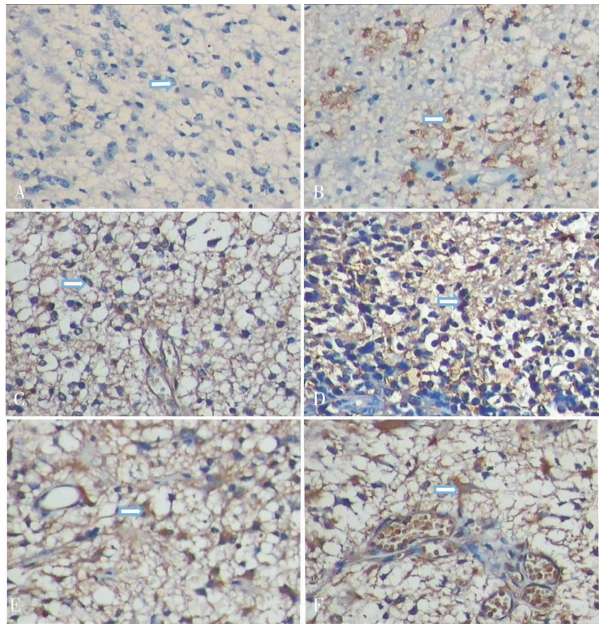


A：正常脑组织；B：ERK2 在Ⅰ级神经胶质瘤（室管膜下室管膜瘤）中的弱阳性表达；C：ERK2 在Ⅱ级神经胶质瘤（少突胶质细胞瘤）中的阳性表达；D：ERK2 在Ⅲ级神经胶质瘤（间变性星形细胞瘤）中的强阳性表达；E：ERK2 在Ⅲ级神经胶质瘤（间变性少突胶质细胞瘤）中的阳性表达；F：ERK2 在Ⅳ级神经胶质瘤（胶质母细胞瘤）中的强阳性表达。

图 1 ERK2 在正常脑组织和不同级别神经胶质瘤中的表达（免疫组织化学法，×200）

Fig. 1 Expression of ERK2 in normal brain tissue and different degree neuroglioma (immunohistochemical method, ×200)

2.2 PI3K 在神经胶质瘤组织及正常脑组织中的表达 结果见图 2 和表 2。PI3K 在正常脑组织中主要表达于细胞质，在神经胶质瘤组织中其主要定位于肿瘤细胞的细胞质，呈淡黄色、棕黄色或黄褐色。PI3K 在神经胶质瘤组织中的阳性表达率高于正常脑组织（$\chi^2=43.688$，$P<0.05$）。PI3K 在Ⅰ～Ⅳ级神经胶质瘤中阳性表达率分别为 22.2%、53.8%、88.9% 和 100.0%，均高于正常脑组织（$P<0.05$）。Spearman 等级相关分析显示 PI3K 表达与神经胶质瘤恶性程度呈正相关（$r=0.825$，$P<0.05$）。



A：正常脑组织；B：PI3K 在Ⅰ级神经胶质瘤（毛细胞型星形细胞瘤）中的弱阳性表达；C：PI3K 在Ⅱ级神经胶质瘤（纤维型星形细胞瘤）中的阳性表达；D：PI3K 在Ⅲ级神经胶质瘤（间变性少突胶质细胞瘤）中的阳性表达；E：PI3K 在Ⅲ级神经胶质瘤（间变性星形细胞瘤）中的阳性表达；F：PI3K 在Ⅳ级神经胶质瘤（髓母细胞瘤）中的强阳性表达。

图 2 PI3K 在正常脑组织和神经胶质瘤组织中的表达（免疫组织化学法，×200）

Fig. 2 Expression of PI3K in normal brain tissue and neuroglioma tissue (immunohistochemical method, ×200)

表 2 PI3K 在正常脑组织和神经胶质瘤组织中的表达

Tab. 2 Expression of PI3K in normal brain tissue and neuroglioma tissue

组织类型	n	PI3K				阳性率/%
		−/例	+/例	+ +/例	+ + +/例	
正常脑组织	6	6	0	0	0	0.0
神经胶质瘤组织	42	14	7	7	14	66.7[a]
Ⅰ级	9	7	2	0	0	22.2[a]
Ⅱ级	13	6	4	3	0	53.8[a]
Ⅲ级	9	1	1	2	5	88.9[a]
Ⅳ级	11	0	0	2	9	100.0[a]

注：与正常脑组织比较[a]$P<0.05$。

2.3 神经胶质瘤组织中 PI3K 与 ERK2 表达的相关性 结果见表 3。经 Spearman 等级相关分析显示，PI3K 与 ERK2 在人脑神经胶质瘤组织中的表达呈显著正相关（$r=0.902$，$P<0.05$）。

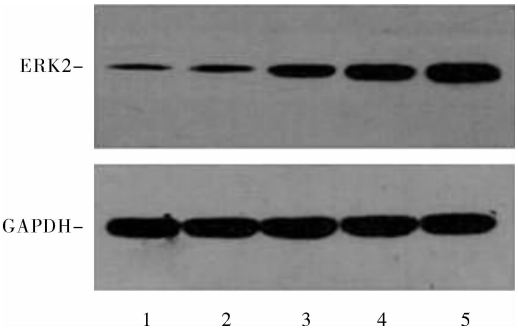
表 3 PI3K 与 ERK2 在神经胶质瘤组织中表达的相关性

Tab. 3 Relationship between the expression of PI3K and ERK2 in human neuroglioma tissue

PI3K	ERK2			
	−/例	+/例	+ +/例	+ + +/例
−/例	13	0	0	1
+/例	2	5	0	0
+ +/例	0	0	7	0
+ + +/例	0	0	2	12

注：$r=0.902$，$P<0.05$。

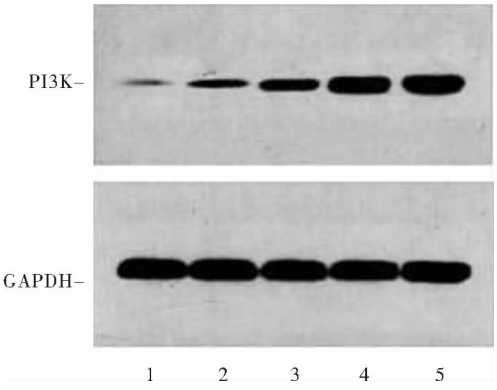
2.4　Western blot 检测结果　神经胶质瘤组织中 ERK2、PI3K 条带均较正常脑组织深(图 3 ~ 4)。ERK2、PI3K 在人脑神经胶质瘤组织中有过度表达,与正常脑组织比较,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 4。PI3K 与 ERK2 蛋白表达呈正相关($r=0.867$,$P<0.01$)。



1:正常脑组织;2:Ⅰ级神经胶质瘤组织;3:Ⅱ级神经胶质瘤组织;4:Ⅲ级神经胶质瘤组织;5:Ⅳ级神经胶质瘤组织。

图 3　ERK2 在正常脑组织和不同级别神经胶质瘤组织中的表达(Western blot)

Fig. 3　Expression of ERK2 in normal brain tissue and different degree human neuroglioma tissue(Western blot)



1:正常脑组织;2:Ⅰ级神经胶质瘤组织;3:Ⅱ级神经胶质瘤组织;4:Ⅲ级神经胶质瘤组织;5:Ⅳ级神经胶质瘤组织。

图 4　PI3K 在正常脑组织和不同级别神经胶质瘤组织中的表达(Western blot)

Fig. 4　Expression of PI3K in normal brain tissue and different degree human neuroglioma tissue(Western blot)

表 4　ERK2 和 PI3K 在正常脑组织与神经胶质瘤组织中的表达

Tab. 4　Expression of ERK2 and PI3K in normal brain tissue and neuroglioma tissue　($\bar{x}\pm s$)

组织类型	n	ERK2	PI3K
正常脑组织	6	26.98 ± 1.83	58.79 ± 14.90
神经胶质瘤组织	42	17.06 ± 1.66[a]	55.15 ± 19.66[a]

注:与正常脑组织比较[a]$P<0.05$。

3　讨论

ERK 激酶家族属于酪氨酸蛋白激酶,此类激酶在磷酸化后才能发挥其活性。ERK2 为脯氨酸导向的丝氨酸/苏氨酸激酶,可以使脯氨酸相邻的丝氨酸/苏氨酸磷酸化,ERK2 正常定位于细胞质,当激活后进入细胞核,作用于多种转录因子及核蛋白,参与细胞增殖、分化、迁移、侵袭和凋亡等多种生物学效应[4]。ERK2 信号传导途径主要是通过影响细胞周期机制来调节细胞增殖[5]。Khan 等[6]在研究二十二碳六烯酸在 FM3A 老鼠乳腺癌细胞中调节细胞生长增殖过程中的作用时发现 ERK2 活性受抑制和 $P27^{Kip1}$ 水平上调,它们通过作用于参与细胞周期 G_1 向 S 转化调节的 CDK2/cy-clin E,抑制细胞周期末期 G_1 向 S 期转化,阻止细胞生长增殖。ERK 的功能是控制细胞分化[7],何艳等[8]应用 Western blot 技术检测到经蛇毒神经生长因子(nerve growth factor,NGF)处理的 PC12 细胞,在 10 min 后 ERK2 明显磷酸化而活化;且培养液中加入 NGF 作用 96 h,可见 PC12 细胞明显分化,出现多个突起;而在 NGF 作用前 30 min,使用 20 μmol · L^{-1} PD98059 预处理 PC12 细胞后,观察到细胞以圆形或椭圆形居多,无明显分化。在侵袭方面,Piette 等[9]在研究巨噬细胞移动抑制因子(migratory inhibitory factor,MIF)在肿瘤细胞生长、侵袭过程中的作用时观察到,MIF 通过活化 ERK2 信号传导途径,来增强神经胶质瘤 U373 巨噬细胞的迁移和侵袭能力;而地塞米松阻止神经胶质瘤 U373 巨噬细胞迁移、侵袭过程,是通过糖皮质激素受体介导抑制 ERK2 途径完成的。

本研究结果显示,ERK2 在人脑神经胶质瘤组织中高表达,其阳性表达率与正常脑组织比较差异有统计学意义,且 ERK2 随着肿瘤恶性程度的增高其表达强度增加,这一结果与上述研究结果一致,提示 ERK2 的高表达在人脑神经胶质瘤细胞异常分化、恶性增殖、侵袭转移等活动中起促进作用。

PI3K 是一类特异的催化磷脂酰肌醇脂物质的激酶,是磷脂激酶家族中的重要成员,具有脂类激酶活性和蛋白激酶活性[10-11],根据催化亚单位和作用底物将 PI3K 家族分为 3 型。在 PI3K 信号通路中发挥重要调节功能的是能被细胞表面受体激活的Ⅰ型 PI3K,其在癌症发展过程中起着非常重要的作用。PI3K 通过 2 种方式激活:(1)与具有磷酸化酪氨酸残基的生长因子受体或连接蛋白相互作用,引起二聚体构象改变而被激活[12];(2)通过 Ras 和 p110 直接结合导致 PI3K 的活化。PI3K 在功能上是承上启下的"桥梁"[13],负责将生长因子等刺激性信号由细胞膜转导至细胞质。PI3K 信号通路广泛存在于真核细胞中,参与细胞的生长、分化和增殖等许多生理及病理过程,对细胞生存和分化至关重要[14]。PI3K

信号通路的激活在肿瘤的发生、发展过程中起重要的纽带作用,体内许多肿瘤的发生均与该通路异常激活密切相关[15]。本实验研究中测得在人脑神经胶质瘤组织中 PI3K 呈现高表达,其阳性表达率与正常脑组织比较差异有统计学意义,且 PI3K 随着肿瘤恶性程度的增高其表达强度增加。提示 PI3K 与人脑神经胶质瘤的发生发展有关,这与相关文献报道结果一致[16],其机制可能通过抑制神经胶质瘤细胞凋亡,促进神经胶质瘤细胞周期进程、细胞增殖,使癌组织细胞无限制生长扩散,从而促进神经胶质瘤的发生发展。

细胞生长受到多种信号通路调控,信号转导系统的缺陷或异常活化可引起细胞周期的改变和细胞去分化甚至恶变。Failly 等[17]在培养神经胶质瘤细胞株中应用酶联免疫吸附法和流式细胞仪分别观察细胞增殖、凋亡情况时发现,ERK2 和 PI3K 在体外神经胶质瘤细胞存活、抗凋亡过程中起着重要作用;ERK1/2 和 PI3K 抑制剂单一或(和)联合处理 LN215 和 LN229 细胞,引起大量(85% ~95%)细胞凋亡;实验中应用 Western blot 技术还观察到,经过 U0126 处理的 U373 和 LN229 细胞中腺苷酸激酶(adenylate kinase, AKT)磷酸化水平下降,表明了 RAS/MEK/ERK 和 PI3K/AKT 信号途径间存在某种相互联系,与本研究研究结果相一致。

本实验结果表明,联合检测 ERK2 和 PI3K 可较客观地评价人脑神经胶质瘤的恶性生物学行为和病理特征,对判断人脑神经胶质瘤的恶性程度有重要的临床价值,有望成为人脑神经胶质瘤很有价值的临床诊断标志物。此外,进一步对 ERK2 和 PI3K 在细胞周期调控中作用机制的深入研究不仅有助于提高神经胶质瘤的临床诊断水平,而且有利于进一步设计各自以 ERK2 信号通路和 PI3K 信号通路为靶点的小分子药物,联合用药使分化异常和增殖失控的神经胶质瘤细胞停滞在细胞周期的某一阶段,甚至退出细胞周期,为人脑神经胶质瘤的生物治疗提供新的思路。

参考文献:

[1] Sewell J M, Smyth J F, Langdon S P, *et al*. Role of TGF alpha stimulation of the ERK, PI3 kinase and PLC gamma pathways in ovarian cancer growth andmigration[J]. *Exp Cell Res*, 2005, 304(1): 305-316.

[2] Allen R T, Krueger K D, Dhume A, *et al*. Sustained Akt/PKB activation and transie-nt attenuation of c-jun N-terminal kinase in the inhibition of apoptosis by IGF-1 in vascular smooth muscle cells [J]. *Apoptosis*, 2005, 10(3): 525-535.

[3] Louis D N, Ohgaki H, Wiestler O D, *et al*. The 2007 WHO classification of tumors of the central nervous system[J]. *Acta Neuropathol*, 2007, 114(2): 97-109.

[4] 王静,李熙鸿,屈艺,等. 细胞外信号调节激酶抑制剂 PD98059 对脓毒症新生大鼠脑组织肿瘤坏死因子-α 表达的影响[J]. 实用儿科临床杂志,2012,27(24):1888-1890.

[5] Lavoie J N, Allemain G L, Brunet A, *et al*. Cyclin D1 expression is regulated positively by the p42/p44MAPK and negatively by the p38/HOGMAPK pathway[J]. *J Biol Chem*, 1996, 271(34): 20608-20616.

[6] Khan N A, Nishimura K, Aires V, *et al*. Docosahexaenoic acid inhibits cancer cell growth via $p27^{Kip1}$, CDK2, ERK1/ERK2, and retinoblastoma phosphorylation[J]. *J Lipid Res*, 2006, 47(10): 2306-2313.

[7] Johnson G L, Lapadat R. Mitogen-activated protein kinase path-ways mediated by ERK, JNK, and p38 protein kinases[J]. *Science*, 2002, 298(5600): 1911-1912.

[8] 何艳,汪效英,陈崇宏. MAPK, PI3K 途径在蛇毒神经生长因子诱导 PC12 细胞分化的作用[J]. 福建医科大学学报,2007,41(1):5-8.

[9] Piette C, Deprez M, Roger T, *et al*. The dexamethasone-induced inhibition of prol-iferation, migration, and invasion in glioma cell lines is antagonized by macrophage migration inhibitory factor (MIF) and can be enhanced by specific MIF inhibitors[J]. *J Biol Chem*, 2009, 284(47): 32483-32492.

[10] 陈珊珊,金红芳,杜军保,等. 磷脂酰肌醇 3 激酶/丝氨酸苏氨酸蛋白激酶信号通路对异丙肾上腺素所致大鼠心肌损伤的作用[J]. 实用儿科临床杂志,2012,27(7):534-536.

[11] 范志宇,李春雨,秦超毅,等. 磷脂酰肌醇 3 激酶通路对大鼠肺动脉平滑肌细胞分化状态和增殖活性的调控作用[J]. 中华实用儿科临床杂志,2013,28(18):1417-1421.

[12] Osaki M, Oshimura M, Ito H, *et al*. PI3K-Akt pathway: its functions and alternations in human cancer[J]. *Apoptosis*, 2004, 9(6): 667-676.

[13] Paz-Ares L, Blanco-Aparicio C, García-Carbonero R, *et al*. Inhibiting PI3K as a therapeutic strategy againstcancer[J]. *Clin Transl Oncol*, 2009, 11(9): 572-579.

[14] 温捷,于力,于生友,等. 嘌呤霉素诱导足细胞凋亡与 CD2 相关蛋白和磷脂酰肌醇 3-激酶 p85 异常表达的意义[J]. 中华实用儿科临床杂志,2014,29(5):333-337.

[15] Sarbassov D D, Guertin D A, Ali S M. Phosphorylation and regulation of Akt/PKB by the rictor-mTOR complex[J]. *Science*, 2005, 307(5712): 1098-1101.

[16] Cordo Russo R I, Garcia M G, Alaniz L, *et al*. Hyaluronan oligosaccharides sensitize lymphoma resistant cell lines to vincristine by modulating P-glycoprotein activity and PI3K/Akt pathway [J]. *Cancer*, 2008, 12(2): 1012-1018.

[17] Failly M, Korur S, Egler V, *et al*. Combination of sublethal concentrations of epidermal growth factor receptor inhibitor and microtubule stabilizer induces apoptosis of glioblastoma cells[J]. *Mol Cancer Ther*, 2007, 6(2): 773-781.

(本文编辑:杨 博 英文编辑:杨 博)