·实验研究·

PI3K/Akt/mTOR 和 MAPK/ERK 信号通路在胃癌细胞生长中协同作用及机制*

赵颖，陈晓伟，徐余超，孙海翔，刘梦琪，张文文，沈孝兵

【摘　要】**目的**　初步探讨 PI3K/Akt/mTOR 和 MAPK/ERK 信号通路在胃癌细胞生长中的协同作用。**方法**　采用不同浓度的 PI3K/Akt/mTOR 和 MAPK/ERK 信号通路抑制剂 rapamycin 与 PD98059 分别单独及联合作用于胃癌细胞 SGC-7901。采用 CCK8 法检测 SGC-7901 细胞增殖情况；实时荧光定量 PCR 检测关键基因 mRNA 的表达；蛋白印迹法（WB）检测相关蛋白的表达；流式细胞术检测细胞周期和凋亡的变化。**结果**　Rapamycin（12.5、25、50、100、150、200 nmol/L）与 PD98059（25、50、100、200、300、400 μmol/L）单独作用可抑制 SGC-7901 细胞增殖活性，联合作用也可抑制其活性，且联合组的抑制作用强于单独作用（$P<0.05$）。与 rapamycin、PD98059 单独作用相比，联合组对 AKT、mTOR、MEK、ERK 基因 mRNA 表达和 p-AKT、p-mTOR、p-MEK1/2、p-ERK1/2 蛋白表达的抑制作用明显增强（$P<0.05$）。联合组阻滞于 G0/G1 期的细胞比例显著增多，且具有更强的促凋亡作用。**结论**　PI3K/Akt/mTOR 和 MAPK/ERK 信号通路在胃癌细胞生长中具有一定的协同调控作用。

【关键词】胃癌；PI3K/Akt/mTOR 信号通路；MAPK/ERK 信号通路；细胞周期
中图分类号:R 393　**文献标志码**:A　**文章编号**:1001-0580(2018)05-0079-06　**DOI**:10.11847/zgggws1117071

Synergistic effects and mechanism of PI3K/Akt/mTOR and MAPK/ERK signaling pathway on growth of gastric cancer cells

ZHAO Ying, CHEN Xiao-wei, XU Yu-chao, et al (*Key Laboratory of Environmental Medicine and Engineering of Ministry of Education, School of Public Health, Southeast University, Nanjing, Jiangsu Province* 210009, China)

【**Abstract**】**Objective**　To investigate the synergistic effect of phosphalyl inositol 3-kinase protein kinase B/mammalian target of rapamycin (PI3K/Akt/mTOR) and mitogen activated protein kinase/extracellular signal-regulated kinase (MAPK/ERK) signaling pathways on gastric cancer cell growth. **Methods**　Different concentrations of PI3K/Akt/mTOR and MAPK/ERK signaling pathways inhibitor rapamycin and PD98059 were used alone and in combination to SGC-7901 cells, respectively. The proliferation of SGC-7901 cells was detected with cholecystokinin-8 (CCK8). The mRNA expressions of key genes were detected with real time quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR). The expressions of related proteins were detected with Western blot. Cell cycles and apoptosis were detected with flow cytometry. **Results**　Both the single administration of rapamycin (at dosages of 12.5, 25, 50, 100, 150, and 200 nmol/L) and PD98059 (at dosages of 25, 50, 100, 150, 200, 300, and 400 μmol/L) could inhibit the growth of SGC-7901 cells; so did the combined administration of the two agents and the inhibitory effect of the combined administration was stronger than that of the single agent ($P<0.05$). The combined administration of rapamycin and PD98059 exerted a much stronger inhibitive effect on the mRNA expressions of AKT, mTOR, mitogen activated protein kinase kinase (MEK), ERK and the protein expressions of p-AKT, p-mTOR, p-MEK1/2 and p-ERK1/2 than the single administration of one of the two agents ($P<0.05$ for all); higher proportions of cells arrested at G0/G1 phase and apoptosis cells were also observed for the SGC-7901 cells with combined administration than those for the SGC-7901 cells with the single administration. **Conclusion**　PI3K/Akt/mTOR and MAPK/ERK signaling pathways have a synergistic effect on the growth of gastric cancer cells.

【**Key words**】gastric cancer; PI3K/Akt/mTOR signaling pathway; MAPK/ERK signaling pathway; cell cycle

胃癌死亡率在所有恶性肿瘤中高居第二位[1]。对于少数可以接受手术治疗的患者，大部分也会发展为晚期胃癌。磷酯酰肌醇 3–激酶（phosphalyl inositol 3-kinase, PI3K）/蛋白激酶 B（protein kinase B, AKT）/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白（mammalian target of rapamycin, mTOR）和丝裂原活化蛋白激酶（mitogen activated protein kinase, MAPK）/细胞外信号调节激酶（extracellular signal-regulated kinase, ERK）信号通路在肿瘤发生发

* **基金项目**：国家自然科学基金（81172619；81472940）
作者单位：东南大学公共卫生学院环境医学工程教育部重点实验室，江苏 南京 210009
作者简介：赵颖（1991 – ），女，江苏东台人，硕士在读，研究方向：分子环境医学。
通信作者：沈孝兵，E-mail：xb.shen@seu.edu.cn
数字出版日期：2018 - 05 - 02 21:03
数字出版地址：http://kns.cnki.net/kcms/detail/21.1234.R.20180502.2103.004.html

展中起重要作用，其异常激活通常是肿瘤发生、发展、侵袭、转移及耐药的主要原因[2]。PI3K/Akt/mTOR 和 MAPK/ERK 信号通路之间的相互关系十分复杂，目前仍有部分机制尚不能明确阐明[3－4]。在生理和病理条件下，这 2 条通路的激酶之间存在明显的“串话”现象[5]，即：2 条信号通路之间既可能相互激活，也可以相互抑制。一个级联的抑制激活另一种，反之亦然，从而确保细胞存活的信号以高保真度向下游传播[6－8]。PI3K/Akt/mTOR 和 MAPK/ERK 信号通路间存在多个作用[9－11]。前期实验结果表明：PI3K/Akt/mTOR 信号通路抑制剂雷帕霉素（rapamycin）与 MAPK/ERK 信号通路抑制剂 PD98059 均能对肿瘤细胞产生不同程度的抑制作用[12]。但目前国内外关于联合使用 rapamycin 和 PD98059 阻断 PI3K/AKT/mTOR 和 MAPK/ERK 信号转导通路对胃癌细胞生长影响的报道较少。本实验基于前期课题研究结果，设计单独作用及联合作用分组，分别对不同药物影响下胃癌 SGC-7901 细胞的转录水平、翻译水平、周期分布、凋亡变化等进行检测分析。

1　材料与方法

1.1　主要试剂与仪器　人低分化胃癌细胞株 SGC-7901（南京凯基生物公司），rapamycin、PD98059（美国 Selleck 公司），1640 培养基、胎牛血清、胰蛋白酶（美国 HyClone 公司），Trizol（日本 Takara 公司），CCK8（cholecystokinin-8）试剂盒（上海翊圣生物公司），细胞凋亡（annexin V-fluorescein isothiocyanate/propidium iodide FITC/PI）检测试剂盒、细胞周期检测试剂盒（美国 BD 公司），AKT、p-AKT、mTOR、p-mTOR、p44/42MAPK（ERK1/2）、p-p44/42MAPK（ERK1/2）、甲基乙基酮（methyl ethyl ketone, MEK1/2）、磷酸化甲基乙基酮（phospho-methyl ethyl ketone, p-MEK1/2）、肌动蛋白（actin）、辣根过氧化物酶（horseradish peroxidase, HRP）标记山羊抗兔二抗、HRP 标记山羊抗鼠二抗（美国 CST 公司），QuantStudio7 实时荧光定量 PCR 仪器（美国 ABI 公司），sodium dodecyl sulphate-polyacrylamide gel electrophoresis（SDS-PAGE）电泳仪器及湿转仪器（美国 Bio-Rad 公司）等。

1.2　方法

1.2.1　培养 SGC-7901 细胞　用含 10 % 胎牛血清的 1640 培养基进行培养，将细胞培养于 37 ℃，5 % CO_2 条件的培养箱中，待生长融合度达 80 % 后，按 1∶2 进行传代。取对数生长期的细胞进行后续实验。

1.2.2　CCK8 检测细胞增殖情况　取对数生长期胃癌细胞接种于 96 孔板，设置 rapamycin 组（12.5、25、50、100、150、200 nmol/L）、PD98056 组（25、50、100、200、300、400 μmol/L）和联合组（取 rapamycin、PD98056 各组浓度分别对应混合，保证各浓度梯度体积相等）3 组，同时设对照组（只加细胞和培养基，不加药物）和空白组（只加培养基不加细胞），每组设置 6 个复孔，分别加药。37 ℃、5 % CO_2 培养 24 h 后终止培养，各孔加入 10 μL CCK8，37 ℃、5 % CO_2 培养 2 h，酶标仪（波长 490 nm）测定每孔 *A* 值，计算细胞增殖率。细胞增殖率（%）=[实验组 *A* 值 – 空白组 *A* 值]/[对照组 *A* 值 – 空白组 *A* 值] × 100 %。

1.2.3　分组处理　根据 CCK8 结果确定单用及联合用药的浓度，分为对照组、rapamycin 组（25 nmol/L）、PD98059 组（50 μmol/L）及联合组（25 nmol/L rapamycin + 50 μmol/L PD98059）。饥饿处理后加药。

1.2.4　实时荧光定量 PCR　实验组和对照组加药处理 24h 后提取细胞总 RNA，按照 Takara 试剂盒将提取的 mRNA 逆转录为 cDNA，再以 cDNA 为模板进行实时荧光定量 PCR。根据 NCBI 提供的人类基因 mRNA 序列，在 IDT 引物设计网站进行引物设计，包括人类 PI3K、AKT、mTOR、P70S6K、4EBP、PTEN 基因引物各两对。PI3K 的上游引物：AAACAGAGCCAAAGGGAAGG，下游引物：ATACCAGCCACAAAGGCTTC；AKT 的上游引物：ATCGCTTCTTTGCCGGTAT，下游引物：TCTTGGTCAGGTGGTGTGAT；m-TOR 的上游引物：GCGACACCGAATCAATCAT，下游引物：TTTCTTCATGGGTCCTGTTT；MEK 的上游引物：ACCAGGCAGAAATCAACGAC，下游引物：GATGAACGTCCCAAAGCACT；ERK 的上游引物：TTACTGCGCTTCAGACATGAGA，下游引物：ATCTGTTTCCATGAGGTCCTGT；β-ACTIN 的上游引物：TCACCCACACTGTGCCCATCTACGA，下游引物：CAGCGGAACCGCTCATTGCCAATGG。建立 20.0 μL 反应体系：2 × RealStar green fast mixture with ROX 10 μL、cDNA 0.4 μL、基因正反引物各 0.4 μL、RNase-free H_2O 8.8 μL。95 ℃，20s 预变性，40 个循环（95 ℃ 3s，60 ℃ 30s），4 ℃ 扩增。根据 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法分析各基因的相对表达量，即 $\Delta Ct = Ct_{目的基因} - Ct_{Actin}$；$\Delta\Delta Ct = \Delta Ct_{实验组} - \Delta Ct_{对照组}$。

1.2.5　蛋白印迹法（Western blot, WB）检测相关分子的表达情况　实验组和对照组加药处理后 24 h 收集细胞，提取总蛋白。配制 10 % SDS-PAGE 胶，蛋白样品变性，电泳、转膜，5 % 牛奶封闭 2 h，一抗孵育过夜。室温复温，TBST（Tris-buffered saline containing 0.1 % Tween-20）洗涤 3 遍，二抗室温孵育 1 h。TBST 洗涤 3 遍，ECL（electroluminescence）显色，全自动图像分析仪捕捉并保存。

1.2.6 流式细胞术检测 SGC-7901 细胞周期　取对数生长期细胞按 1×10^5 个/孔接种于 6 孔板。根据细胞周期检测试剂盒进行检测：实验组和对照组细胞加药培养 24 h 后离心收集细胞。2 000 r/min 离心 5 min，弃上清，加入 70 % 冷乙醇 500 μL 固定，4 ℃过夜。离心弃上清，PBS 洗去固定液后，加入 100 μL RNAse 溶液吹打混匀，37 ℃ 水浴 30 min，加入 400 μL PI 染色，混匀，避光反应 30 min，200 目筛网过滤，流式细胞仪检测。

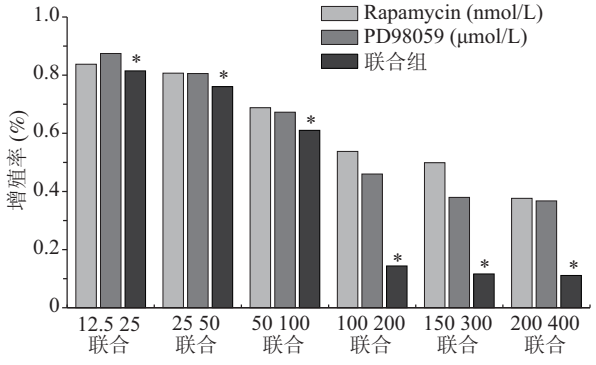
1.2.7 流式细胞术检测 SGC-7901 细胞凋亡　取对数生长期胃癌细胞接种于 6 孔板，实验组和对照组细胞加药 24h 后终止培养，收集细胞，按 FITC 细胞凋亡检测试剂盒说明，用 FITC 和 PI（propidium iodide）染色，分别加入标记物，利用流式细胞仪检测细胞凋亡情况。

1.3 统计分析　所有数据均采用 SPSS 17.0 和 Excel 2007 进行数据统计分析，检验水准为 $\alpha = 0.05$。

2 结　果

2.1 Rapamycin、PD98056 单独及联合作用对 SGC-7901 细胞增殖活性的影响（图 1）　CCK8 法检测各组细胞增殖情况，结果显示，不同浓度 rapamycin 组、PD98056 组及联合作用组对 SGC-7901 细胞均有抑制作用，且随着各组浓度的增加，SGC-7901 细胞增殖能力逐渐下降，且联合组对 SGC-7901 细胞增殖的抑制作用明显比单独作用组强（$P < 0.05$）。

2.2 信号通路关键基因的 mRNA 表达情况（表 1、图 2）　实时荧光定量 PCR 检测单独及联合作用 SGC-7901 细胞 24 h 后通路关键基因 mRNA 的表达水平。结果显示，rapamycin 组和 PD98059 组的 AKT、mTOR、MEK、ERK 基因的 mRNA 表达量均低于对照组，差异具统计学意义（$P < 0.05$），联合组的 AKT、mTOR、MEK、ERK 基因的 mRNA 表达量均低于各单独用药组，差异具统计学意义（$P < 0.05$）。



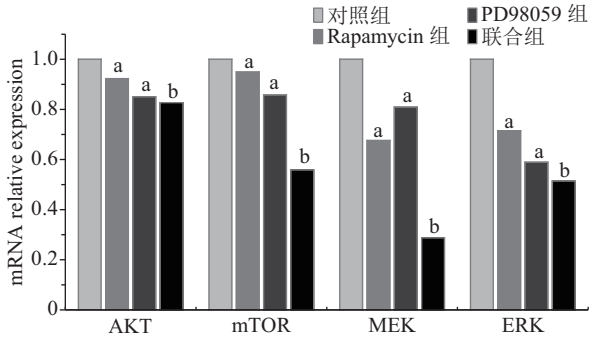
注：与单独作用组相比，a $P < 0.05$。

图 1　单独及联合作用对 SGC-7901 细胞增殖活性的影响

2.3 信号通路关键基因的蛋白表达情况（图 3）　WB 检测单独及联合作用 SGC-7901 细胞 24 h 后通路关键基因蛋白的表达水平。结果显示，各组总 AKT、mTOR、MEK1/2、ERK1/2 蛋白表达量与对照组相比无明显差异（$P > 0.05$）。Rapamycin 组和 PD98059 组磷酸化蛋白 p-AKT、p-mTOR、p-MEK1/2、p-ERK1/2 表达量均低于对照组，差异具统计学意义（$P < 0.05$）。联合组磷酸化蛋白 p-AKT、p-mTOR、p-MEK1/2、p-ERK1/2 表达量均低于 rapamycin 组和 PD98059 组，差异具统计学意义（$P < 0.05$）。

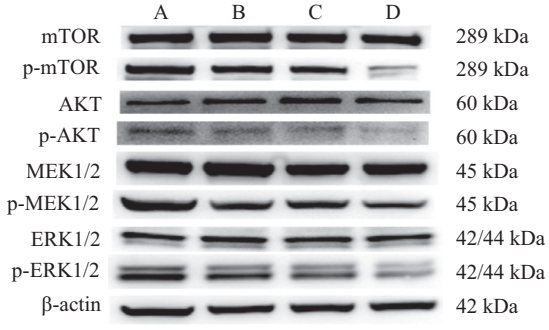
表 1　单独及联合作用对胃癌 SGC-7901 细胞的 mRNA 表达影响

基因	组别	$\Delta C_T(\bar{x} \pm s)$	$\Delta\Delta C_T$	$2^{-\Delta\Delta CT}$	F 值	P 值
AKT	对照	6.829 ± 0.106	0.000	1.000	5.791	< 0.05
	rapamycin	6.945 ± 0.072	0.116	0.923		
	PD98059	7.064 ± 0.091	0.235	0.850		
	联合	7.103 ± 0.039	0.274	0.827		
mTOR	对照	5.396 ± 0.070	0.000	1.000	13.536	< 0.01
	rapamycin	5.471 ± 0.082	0.075	0.949		
	PD98059	5.619 ± 0.193	0.223	0.857		
	联合	6.238 ± 0.068	0.842	0.558		
MEK	对照	9.700 ± 0.072	0.000	1.000	43.856	< 0.01
	rapamycin	10.265 ± 0.194	0.565	0.676		
	PD98059	10.001 ± 0.092	0.306	0.809		
	联合	11.500 ± 0.152	1.800	0.287		
ERK	对照	8.032 ± 0.097	0.000	1.000	53.023	< 0.01
	rapamycin	8.517 ± 0.039	0.485	0.715		
	PD98059	8.797 ± 0.158	0.764	0.589		
	联合	8.992 ± 0.041	0.959	0.514		



注：与对照组相比，a $P<0.05$；与单独作用组相比，b $P<0.01$。

图 2　单独及联合作用对胃癌 SGC-7901 细胞的 mRNA 表达影响



注：A：对照组；B：Rapamycin 组；C：PD98059 组；D：联合组。

图 3　单独及联合作用对胃癌 SGC-7901 细胞的蛋白表达影响

2.4　Rapamycin、PD98056 单独及联合作用对 SGC-7901 细胞周期分布的影响（表 2、图 4）　流式细胞术检测各组细胞周期分布结果显示，rapamycin 组、PD98059 组 G0/G1 期分别占 78.77 %、78.40 %，高于对照组 72.22 %，差异具统计学意义（$P<0.01$）；联合组 G0/G1 期细胞比例为 82.86 %，高于 rapamycin 组和 PD98059 组（$P<0.01$）。Rapamycin 组和 PD98059 组 S 期细胞比例分别为 13.78 %、13.12 %，均低于对照组 18.99 %（$P<0.01$）；联合组 S 期细胞比例为 8.87 %，低于 rapamycin 组和 PD98059 组（$P<0.01$）。Rapamycin 组 G2/M 期占 7.44 %，低于对照组 8.79 %（$P<0.01$），而 PD98059 组 G2/M 期细胞比例与对照组相比无显著差异（$P>0.05$），联合组 G2/M 期占 8.26 %，低于对照组的 8.79 %（$P<0.05$）。表明联合组比单独作用组对 SGC-7901 细胞周期分布的影响更明显。

表 2　单独及联合作用对 SGC-7901 细胞周期分布的影响（%）

分组（nmol/L）	G0/G1	S	G2/M
对照	72.22 ± 0.23	18.99 ± 0.12	8.79 ± 0.12
Rapamycin	78.77 ± 0.15	13.78 ± 0.16	7.44 ± 0.15
PD98059	78.40 ± 0.74	13.12 ± 0.33	8.48 ± 0.43
联合	82.86 ± 0.16	8.87 ± 0.25	8.26 ± 0.18
F 值	356.448	979.541	15.329
P 值	<0.01	<0.01	<0.01

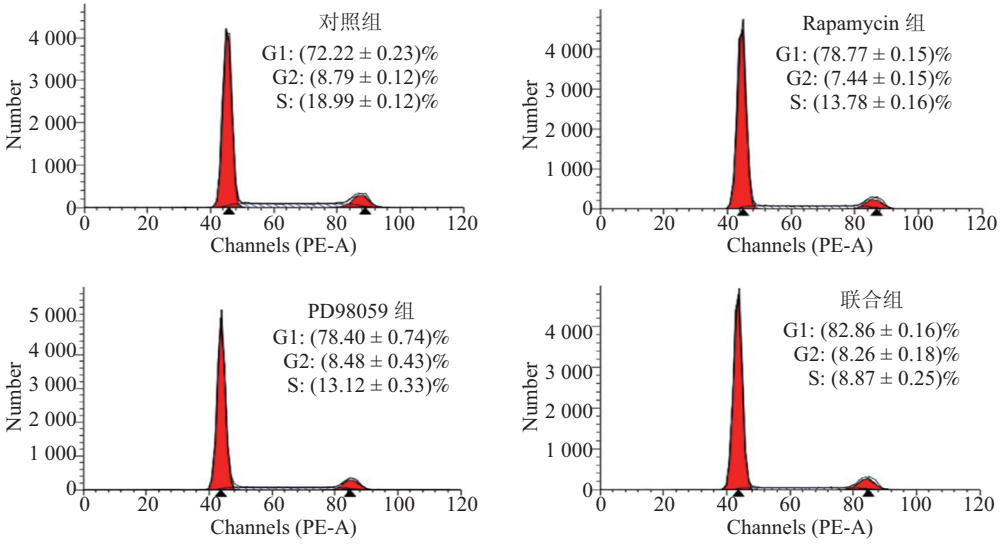


图 4　单独及联合作用对 SGC-7901 细胞周期分布的影响

2.5　Rapamycin、PD98056 单独及联合作用后 SGC-7901 细胞凋亡率的变化（表 3、图 5）　流式细胞术检测各组细胞凋亡率变化，rapamycin 组和 PD98059 组凋亡率分别为（19.23 ± 1.85）%、（23.07 ± 2.57）%，均高于对照组（7.77 ± 2.02）%，差异具统计学意义（$P<0.01$）。联合组凋亡率为（29.77 ± 7.39）%，高于 rapamycin 组和 PD98059 组（$P<0.01$）。表明联合作用比单独作用更能诱导细胞凋亡。

表 3　单独及联合作用后 SGC-7901 细胞凋亡率的变化

分组（nmol/L）	凋亡率（Q2+Q4）（%）	F 值	P 值
对照	7.77 ± 2.02	14.828	<0.01
Rapamycin	19.23 ± 1.85		
PD98059	23.07 ± 2.57		
联合	29.77 ± 7.39		

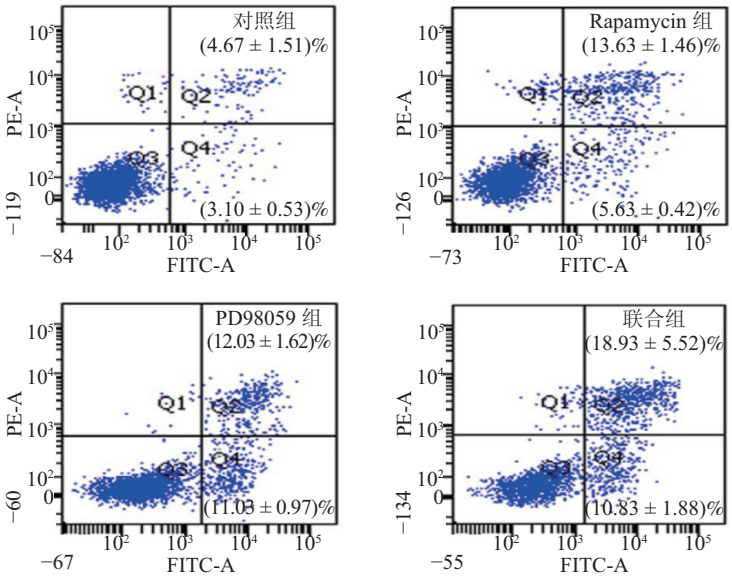


图 5　单独及联合作用后 SGC-7901 细胞凋亡率的变化

3 讨　论

PI3K/AKT/mTOR 和 MAPK/ERK 信号通路的调控机制非常复杂。mTOR 以 mTORC1 复合物和 mTORC2 复合物两种形式存在。研究发现 mTORC1 通过控制 mRNA 翻译，调节核糖体、自噬和脂质生物合成，从而调节细胞生长[13]。当 mTOR 活性受到抑制后，能通过 S6K-PI3K-Ras 反馈调节，激活 MAPK 信号通路[14]。应用抑制剂使 MAPK 通路中的 MEK 活性下降后，不仅降低了其下游 ERK 的磷酸化水平，同时也反馈调节 AKT 的磷酸化水平，使其显著升高[5, 15]。前期关于 rapamycin 抑制 PI3K/AKT/mTOR 信号通路对胃癌 SGC-7901 细胞影响的研究发现：mTOR 抑制剂 rapamycin 对 SGC-7901 胃癌细胞可产生不同程度的抑制作用[16]。过去的研究中也有关于 MEK 抑制剂 PD98059 抑制肿瘤细胞的生长的情况[12]，它们均有良好的临床预期。但实际上这两种药物与许多其它靶向肿瘤治疗药物具有共性，即一段时间的治疗后患者会发生明显的耐药现象，这对患者后期生存质量有很大影响。Zhang 等[17]研究 rapamycin 和 PD98059 对结直肠癌细胞系的联合效应。他们发现 PD98059 和 Rapamycin 联合可抑制结直肠癌细胞的增殖，诱导凋亡并阻止细胞周期缩短，且这两种药物联合使用对抑制 mTOR 和 MEK 信号通路的磷酸化比单独使用这两种药物治疗效果更明显。此外，几种肿瘤类型的前期临床试验研究表明，PI3K 和 MEK/ERK 通路与许多不同的小分子激酶抑制剂的双重抑制比单一途径具有更强的抑制作用[18–19]。

Rapamycin 与 PD98059 联合作用后发现不同浓度 rapamycin、PD98056 及联合作用对 SGC-7901 细胞均有抑制作用，且随着各组浓度的增加，SGC-7901 细胞增殖能力逐渐下降。SGC-7901 细胞的 AKT、mTOR、MEK、ERK 基因的 mRNA 表达量均低于各单独作用组，联合作用相比单独作用对通路中关键基因转录水平表达的抑制作用更加明显。联合组磷酸化蛋白 p-AKT、p-mTOR、p-MEK1/2、p-ERK1/2 表达量均低于 rapamycin 组和 PD98059 组，联合组对各关键蛋白磷酸化的抑制作用强于单独作用。联合组通过抑制 AKT、mTOR、MEK1/2、ERK1/2 的磷酸化，从而抑制了 PI3K/AKT/mTOR 和 MAPK/ERK 信号通路的活化。转录水平与翻译水平实验结果一致，这从分子水平上证明了 rapamycin 和 PD98059 联合作用存在协同作用。联合组对 SGC-7901 细胞增殖的抑制作用明显比单独作用组强。联合作用结果发现阻滞于 G0/G1 期的细胞比例显著增多，处于 S 期（DNA 合成期）及 G2/M 期（DNA 合成后期）的细胞比例减少。同样采用流式细胞术检测各组细胞凋亡率变化，联合作用在促细胞凋亡方面存在协同作用，与相关研究报道一致[17]。说明 rapamycin 和 PD98059 联合使用能更好诱导细胞凋亡，为 rapamycin 和 PD98059 的临床联合作用提供了分子学基础。

综上，本研究通过联合应用 rapamycin 和 PD98059 作用于胃癌 SGC-7901 细胞，观察对其分子生物学指标的影响，结果提示联合运用 mTOR 抑制剂 rapamycin 和 MEK 抑制剂 PD98059 能显著抑制细胞关键基因的转录和翻译过程，并促进细胞凋亡及细胞周期阻滞，从而抑制细胞增殖。联合运用多靶点抑制剂可能成为耐药胃癌患者治疗的新方向，本实验也为临床研究新的靶向治疗药物及寻求新的联合治疗方案提供实验依据。

参考文献

[1] Herrero R, Jin YP, Forman D. The fight against gastric cancer–the IARC Working Group report[J]. Best Practice and Research Clinical Gastroenterology, 2014, 28(6): 1107 – 1114.

[2] Mccubrey JA, Steelman LS, Chappell WH, et al. Ras/Raf/MEK/ERK and PI3K/PTEN/Akt/mTOR cascade inhibitors: how mutations can result in therapy resistance and how to overcome resistance[J]. Oncotarget, 2012, 3(10): 1068 – 1111.

[3] Chang F, Lee JT, Navolanic PM, et al. Involvement of PI3K/Akt pathway in cell cycle progression, apoptosis, and neoplastic transformation: a target for cancer chemotherapy[J]. Leukemia, 2003, 17(3): 590 – 603.

[4] Carracedo A, Pandolfi PP. The PTEN-PI3K pathway: of feedbacks and cross-talks[J]. Oncogene, 2008, 27(41): 5527 – 5541.

[5] Aksamitiene E, Kiyatkin A, Kholodenko BN. Cross-talk between mitogenic Ras/MAPK and survival PI3K/Akt pathways: a fine balance[J]. Biochemical Society Transactions, 2012, 40(1): 139 – 46.

[6] Kathryn B, Simon DC, Gillings AS, et al. Intrinsic resistance to the MEK1/2 inhibitor AZD6244 (ARRY-142886) is associated with weak ERK1/2 signalling and/or strong PI3K signalling in colorectal cancer cell lines[J]. International Journal of Cancer Journal International Du Cancer, 2009, 125(10): 2332 – 2341.

[7] Meng J, Peng H, Dai B, et al. High level of AKT activity is associated with resistance to MEK inhibitor AZD6244 (ARRY-142886)[J]. Cancer Biology and Therapy, 2009, 8(21): 2073.

[8] Hausenloy DJ, Mocanu MM, Yellon DM. Cross-talk between the survival kinases during early reperfusion: its contribution to ischemic preconditioning[J]. Cardiovascular Research, 2004, 63(2): 305 – 312.

[9] Grant S. Cotargeting survival signaling pathways in cancer[J]. Journal of Clinical Investigation, 2008, 118(9): 3003 – 3006.

[10] She QB, Solit DB, Ye Q, et al. The BAD protein integrates survival signaling by EGFR/MAPK and PI3K/Akt kinase pathways in PTEN-deficient tumor cells[J]. Cancer Cell, 2005, 8(4): 287 – 297.

[11] Wang J, Yuan Y, Zhou Y, et al. Protein interaction data set highlighted with human Ras-MAPK/PI3K signaling pathways[J]. Journal of Proteome Research, 2008, 7(9): 3879.

[12] Guo RX, Zhang RF, Wang XY, et al. Effects of PD98059 and LY294002 on subcutaneous xenograft of human endometrial carcinoma in nude mice[J]. Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi, 2011, 46(6): 446 – 452.

[13] Ma XM, Blenis J. Molecular mechanisms of mTOR-mediated translational control[J]. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 2009, 10(5): 307 – 318.

[14] Carracedo A, Ma L, Teruyafeldstein J, et al. Inhibition of mTORC1 leads to MAPK pathway activation through a PI3K-dependent feedback loop in human cancer[J]. Journal of Clinical Investigation, 2008, 118(9): 3065.

[15] Hoeflich KP, O'Brien C, Boyd Z, et al. In vivo antitumor activity of MEK and phosphatidylinositol 3-kinase inhibitors in basal-like breast cancer models[J]. Clinical Cancer Research An Official Journal of the American Association for Cancer Research, 2009, 15(14): 4649.

[16] 陈晓伟，徐余超，孙海翔，等. Rapamycin 抑制 PI3K/AKT/mTOR 信号通路对胃癌 MGC-803 细胞影响[J]. 中国公共卫生, 2017, 33(4): 602 – 606.

[17] Zhang YJ, Tian XQ, Sun DF, et al. Combined inhibition of MEK and mTOR signaling inhibits initiation and progression of colorectal cancer[J]. Cancer Investigation, 2009, 27(3): 273 – 285.

[18] Patrick J, Roberts JE, Usary D. Combined PI3K/mTOR and MEK inhibition provides broad antitumor activity in faithful murine cancer models[J]. Clinical Cancer Research An Official Journal of the American Association for Cancer Research, 2012, 18(19): 5290 – 5303.

[19] Zhong H, Sanchez C, Spitrzer D, et al. Synergistic effects of concurrent blockade of PI3K and MEK pathways in pancreatic cancer preclinical models[J]. PLoS One, 2013, 8(10): e77243.

收稿日期: 2017 - 10 - 30 （吴少慧编校）