

幽门螺杆菌 Tipα 对胃癌细胞顺铂敏感性的影响*

唐军梅,张启芳,何思明,陈勇昌,蔡 莉

(广西壮族自治区南溪山医院消化内科,广西桂林 541002)

[摘要] **目的** 基于磷酸肌醇-3 激酶(PI3K)/蛋白激酶 B (Akt)信号通路研究幽门螺杆菌肿瘤坏死因子-α 诱导蛋白(Tipα)对胃癌细胞顺铂敏感性的作用机制。**方法** 使用 Tipα 刺激胃癌 SGC-7901 细胞,采用 CCK8 检测细胞活性,流式细胞术检测细胞凋亡,Western blot 检测 PI3K/Akt 信号通路相关蛋白——PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt 表达水平,运用 PI3K/Akt 抑制剂——LY294002 预处理细胞阻断 PI3K/Akt 信号通路,探讨 PI3K/Akt 信号通路活性与 Tipα 对胃癌细胞顺铂敏感性作用的关系。**结果** 与顺铂组比较,Tipα 联合顺铂组细胞活性、侵袭力、p-PI3K/PI3K 比值、p-Ak/Akt 比值均明显增加,细胞凋亡率明显降低,差异均有统计学意义($P<0.05$);LY294002 预处理可逆转 Tipα 对胃癌细胞顺铂敏感性的抑制作用。**结论** Tipα 可通过激活 PI3K/Akt 信号通路抑制胃癌细胞的顺铂敏感性。

[关键词] 幽门螺杆菌 Tipα;胃肿瘤;顺铂;磷酸肌醇-3 激酶/蛋白激酶 B 信号通路

[中图法分类号] R735.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2022)01-0029-05

Effect of Helicobacter pylori Tipα protein on sensitivity of gastric cancer cells to cisplatin*

TANG Junmei,ZHANG Qifang,HE Siming,CHEN Yongchang,CAI Li

(Department of Gastroenterology, Nanxishan Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region,Guilin,Guangxi 541002,China)

[Abstract] **Objective** To study the role mechanism of Helicobacter pylori Tipα protein on the sensitivity of gastric cancer cells to cisplatin based on the PI3K/Akt signaling pathway. **Methods** The gastric cancer SGC-7901 cells were stimulated by using Tipα, the cell viability was detected by using CCK8;the cell apoptosis was detected by using flow cytometry;the expression levels of PI3K/Akt signaling pathway related proteins PI3K, p-PI3K, Akt, and p-Akt were detected by using the Western blot; the PI3K/Akt inhibitor LY294002 was used to pretreat the cells to block the PI3K/Akt signaling pathway,and then the relationship between the activity of PI3K/Akt signaling pathway and the effect of Tip protein on the sensitivity of gastric cancer cells to cisplatin was investigated. **Results** Compared with the cisplatin group,the cell viability,invasion ability,p-PI3K/PI3K ratio value and p-Ak/Akt ration value of the Tipα combined with cisplatin group were significantly increased,the apoptosis rate was significantly reduced,and the differences were statistically significant ($P<0.05$);the LY294002 pretreatment could reverse the inhibitory effect of Tipα on the sensitivity of gastric cancer cells to cisplatin. **Conclusion** Tipα could inhibit the cisplatin sensitivity of gastric cancer cells by activating the PI3K/Akt signaling pathway.

[Key words] Tipα;gastric cancer;cisplatin;PI3K/Akt signaling pathway

幽门螺杆菌是一种革兰阴性螺旋形细菌,定植于人胃中,被认为是慢性胃炎、溃疡和胃癌的病原体,全世界有一半以上的人感染幽门螺杆菌^[1-2]。肿瘤坏死因子-α 诱导蛋白(tumor necrosis factor-α-inducing protein,Tipα)是幽门螺杆菌的一种致病蛋白,已发现

该蛋白是促炎性细胞因子和趋化因子基因表达的有效诱导剂,与胃癌发生、发展相关^[3]。胃癌是全球最常见的癌症之一,发生率在东亚,东欧和南美最高^[4]。胃癌的主要治疗方式为手术,但在晚期转移胃癌或因瘤径过大而不可切除阶段以顺铂为主的化疗是转移

* 基金项目:广西壮族自治区卫生和计划生育委员会科研项目(Z2016760)。 作者简介:唐军梅(1969—),副主任医师,本科,主要从事幽门螺杆菌与胃癌研究。

性癌症患者最有效的治疗方法^[5]。然而,化疗抵抗仍是部分胃癌患者治疗的重要问题,相关机制尚未完全阐明。磷酸肌醇-3 激酶(phosphoinositide 3-kinase, PI3K)是一种脂质激酶,可传递细胞内信号级联并调节多种细胞过程,蛋白激酶 B(protein kinase B, Akt)是 PI3K 信号的重要下游效应物,可调节多种途径,包括抑制细胞凋亡、刺激细胞生长和调节细胞代谢等^[6]。PI3K/Akt 途径是人类癌症中异常激活频率最高的信号通路^[7]。此外,该通路还与癌症耐药性相关,已被证明在顺铂耐药性胃癌细胞中发挥着积极作用,是治疗胃癌顺铂耐药性的关键靶点^[8]。本研究通过原核表达及纯化获得重组 Tipα,观察 Tipα 对胃癌细胞顺铂耐药性的影响,并基于 PI3K/Akt 信号通路探究其作用机制,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

根据美国国家生物信息中心幽门螺杆菌 Tipα 编码序列(登录号:NZ_LMXS01000175.1)由成都擎科梓熙生物科技有限公司合成片段并构成重组质粒 pET-30a(+)-Tipα, BL21(DE3)pLysS 大肠杆菌感受态细胞(货号:CB106)购自北京天根生化科技有限公司;胃癌 SGC-7901 细胞系(货号:CL-0206)购自武汉普诺赛生命科技有限公司;杜氏改良 Eagle 培养基(Dulbecco's modified Eagle medium, DMEM)高糖培养基(货号:SH30022)、胎牛血清(货号:SH30084.03)均购自美国 Hyclone 公司;青链霉素双抗(货号:15240062)购自美国 Gibco 公司;LY294002 购自美国 Medchemexpress 公司, CCK8 检测试剂盒(货号:CK04)购自日本东仁公司, Annexin V-APC/PI 凋亡检测试剂盒(货号:70-AP107-60)购自杭州联科生物科技股份有限公司;Transwell 小室购自美国 Corning Costar 公司, 异丙基-β-D-硫代半乳糖苷(货号:I8070)、RIPA 裂解液(货号:R0010)、化学发光显影试剂盒(货号:PE0010)、蛋白定量试剂盒(货号:PC0020)均购自北京索莱宝科技有限公司;NI-NTA Superflow(货号:30410)购自德国 QIAGEN 公司,内毒素高效去除纯化树脂(货号:20518ES10)购自上海翊圣生物科技有限公司;抗 PI3K(货号:ab191606)一抗、p-PI3K(货号:ab182651)一抗、Akt(货号:ab8805)一抗、p-Akt(货号:81283)一抗、β-actin(货号:ab8227)一抗、6×His Tag 单克隆抗体(ab18184)、辣根过氧化物酶标记的二抗(ab205718)均购自英国 Abcam 公司。

1.2 方法

1.2.1 Tipα 表达与纯化

取 100 μL BL21 (DE3)pLysS 感受态细胞与 1 ng pET-30a(+)-Tipα 重组质粒混合,在冰上静置 30 min,42 ℃热激 60 s,插入冰上静置 2 min,加入不含

卡那霉素 LB 液体培养基 900 μL,37 ℃、150 r/min 摇菌 60 min,随后将菌液均匀涂布至含有卡那霉素 LB 固体培养基上,倒置放入 37 ℃恒温培养箱培养 12 h。随后挑取阳性菌落接种于 2 mL 含卡那霉素 LB 液体培养基内,37 ℃、150 r/min 摇菌 12 h,随后加入 1 mmol/L 异丙基-β-D-硫代半乳糖苷,30 ℃培养 4 h 诱导蛋白表达,然后 4 ℃、8 000 r/min 离心 5 min 收集沉淀,用磷酸盐缓冲液(phosphate buffer solution, PBS)洗涤后通过超声破碎菌体获得蛋白。4 ℃、12 000 r/min 离心 10 min,取上清液,过 NI-NTA 柱纯化蛋白并去除内毒素,采用十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺(twelve alkyl sodium sulfate-polyacrylamide, SDS-PAGE)法鉴定重组 Tipα 蛋白。

1.2.2 细胞培养

将胃癌 SGC-7901 细胞培养于含 10%胎牛血清、1%青链霉素双抗 DMEM 高糖培养基中,并放置于 37 ℃、5%二氧化碳、95%空气的细胞培养箱中,2~3 d 换液,细胞长至 90%融合时进行传代。空白对照组为正常培养细胞,顺铂组在培养基中添加 0.8 ng/L 顺铂,Tipα 联合顺铂组在培养基中加入 0.8 ng/L 顺铂和 100 ng/L Tipα, LY294002 联合 Tipα 和顺铂组则先用 30 μmol/L LY294002 预处理 2 h 再加入 0.8 ng/L 顺铂和 100 ng/L Tipα。各组均培养 48 h 后收集细胞待测。

1.2.3 CCK8 试验

将细胞以 5×10^3 个/孔接种于 96 孔板中,按上述分组策略分别培养 48 h 后每个孔中分别加入 10 μL CCK-8 溶液,轻轻混匀,再在 37 ℃、5%二氧化碳、95%空气的细胞培养箱中培养 3 h。采用 MK3 酶标仪(美国 Fisher Thermo 公司)检测 450 nm 处的光密度(A)值。

1.2.4 流式细胞术

胰酶消化各组细胞得到细胞悬浮液,调整为 1×10^5 /mL,用 PBS 洗涤后添加 500 μL 膜联蛋白结合缓冲液重悬细胞,再分别加入 5 μL Annexin V-APC 和 5 μL PI 染液,4 ℃、避光孵育 20 min。采用 FACS-Calibur 流式细胞仪(美国 Becton 公司)检测细胞凋亡率。

1.2.5 Transwell 试验

用 Matrigel 基质胶包被 Transwell 小室,置于 37 ℃孵育 4 h,放入 24 孔板中。胰酶消化各组细胞得到细胞悬浮液,调整为 1×10^6 /mL,在 Transwell 小室中在按 200 μL/孔接种细胞,在 24 孔板中加入 500 μL 含 10%胎牛血清的 DMEM 培养基,然后 37 ℃、5%二氧化碳培养 15 h。培养完成后用棉签轻轻将小室底部膜表面的细胞和基底膜擦除,取出 Transwell 小室,用 PBS 洗涤细胞,甲醇固定 30 min,采用 0.1%结晶紫 800 μL 染色 20 min,用 PBS 洗涤,晾干后于显

显微镜下进行观察并拍照统计。

1.2.6 Western blot

采用 RIPA 裂解液提取细胞总蛋白并进行蛋白定量检测。采用 10% SDS-PAGE 分离蛋白,转移至聚偏二氟乙烯膜上。聚偏二氟乙烯膜用 5% 脱脂牛奶封闭 1 h,然后与抗 PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt、 β -actin 一抗在 4℃ 下孵育过夜,再同二抗于室温下孵育 1 h。采用化学发光试剂盒时条带显影并在 5200 化学发光凝胶成像仪(上海天能科技有限公司)观察条带,利用 ImageJ 软件(美国 NIH 公司)统计条带灰度,根据 β -actin 灰度作均一化处理。

1.3 统计学处理

采用 SPSS20.0 统计软件进行数据分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用单因素方差分析、LSD-*t* 检验等。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

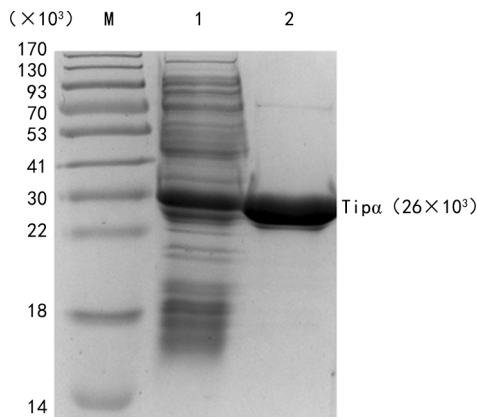
2 结果

2.1 Tip α 的纯化鉴定

在相对分子质量 26×10^3 (标签蛋白部分为 3×10^3 , Tip α 为 23×10^3) 处有一明显蛋白条带。见图 1。

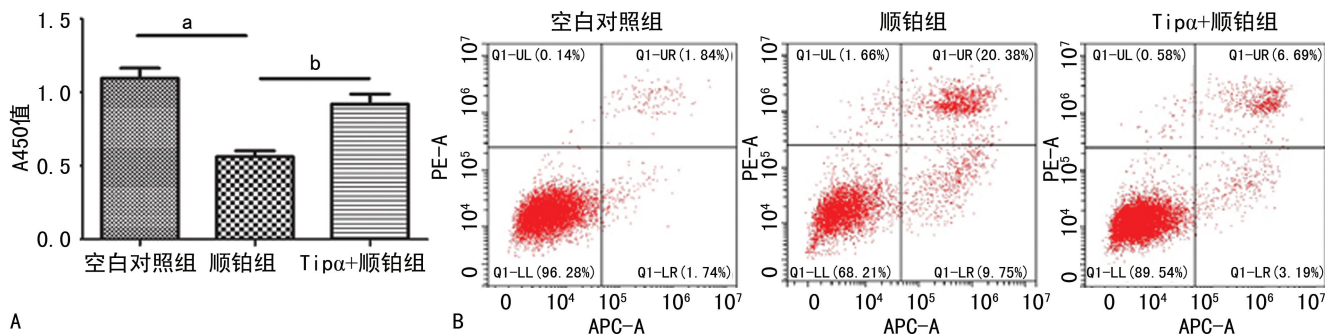
2.2 Tip α 抑制顺铂对胃癌细胞的细胞毒性

与空白对照组比较,顺铂组胃癌细胞活性明显降低,细胞凋亡率明显升高,Tip α 干预逆转顺铂对胃癌细胞活性的抑制作用,明显降低了顺铂诱导的细胞凋亡,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见图 2。



M: 蛋白 Marker; 1: BL21/pET30a-Tip α 总蛋白; 2: 纯化后的重组 Tip α 。

图 1 重组 Tip α 蛋白的纯化电泳图

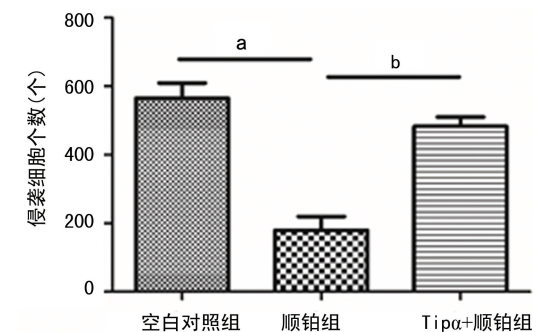


A: Tip α 对顺铂处理的胃癌细胞活性的影响; B: Tip α 对顺铂处理的胃癌细胞凋亡的影响; ^a: $P < 0.05$; ^b: $P < 0.05$ 。

图 2 Tip α 抑制顺铂对胃癌细胞的细胞毒性

2.3 Tip α 逆转顺铂对胃癌细胞侵袭的抑制作用

与空白对照组比较,顺铂组侵袭细胞个数明显降低,Tip α 干预明显降低了顺铂对胃癌细胞侵袭能力的抑制作用,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见图 3。



^a: $P < 0.05$; ^b: $P < 0.05$ 。

图 3 Tip α 逆转顺铂对胃癌细胞侵袭的抑制作用

2.4 Tip α 处理激活胃癌细胞 PI3K/Akt 通路

顺铂组胃癌细胞 PI3K、Akt 总蛋白表达水平与

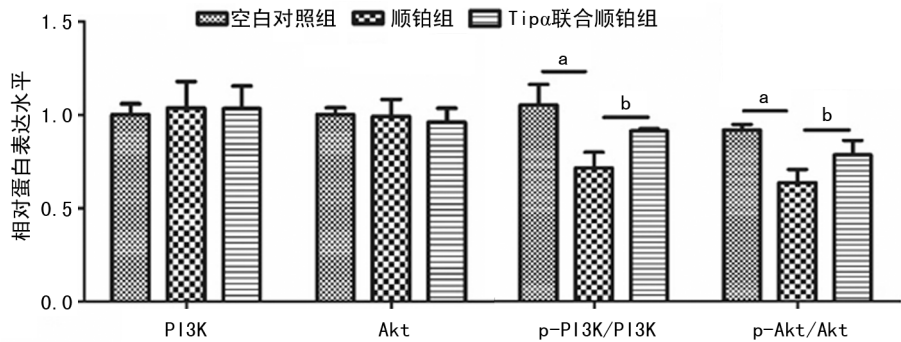
空白对照组比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$); p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt 比值均明显低于空白对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。Tip α 联合顺铂组胃癌细胞 PI3K、Akt 总蛋白表达水平与顺铂组比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$); p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt 比值明显高于顺铂组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见图 4。

2.5 LY294002 部分抵消 Tip α 对胃癌细胞顺铂毒性的抑制作用

与 Tip α 和顺铂组比较,LY294002 联合 Tip α 和顺铂组胃癌细胞活性明显降低,细胞凋亡率明显升高,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见图 5。

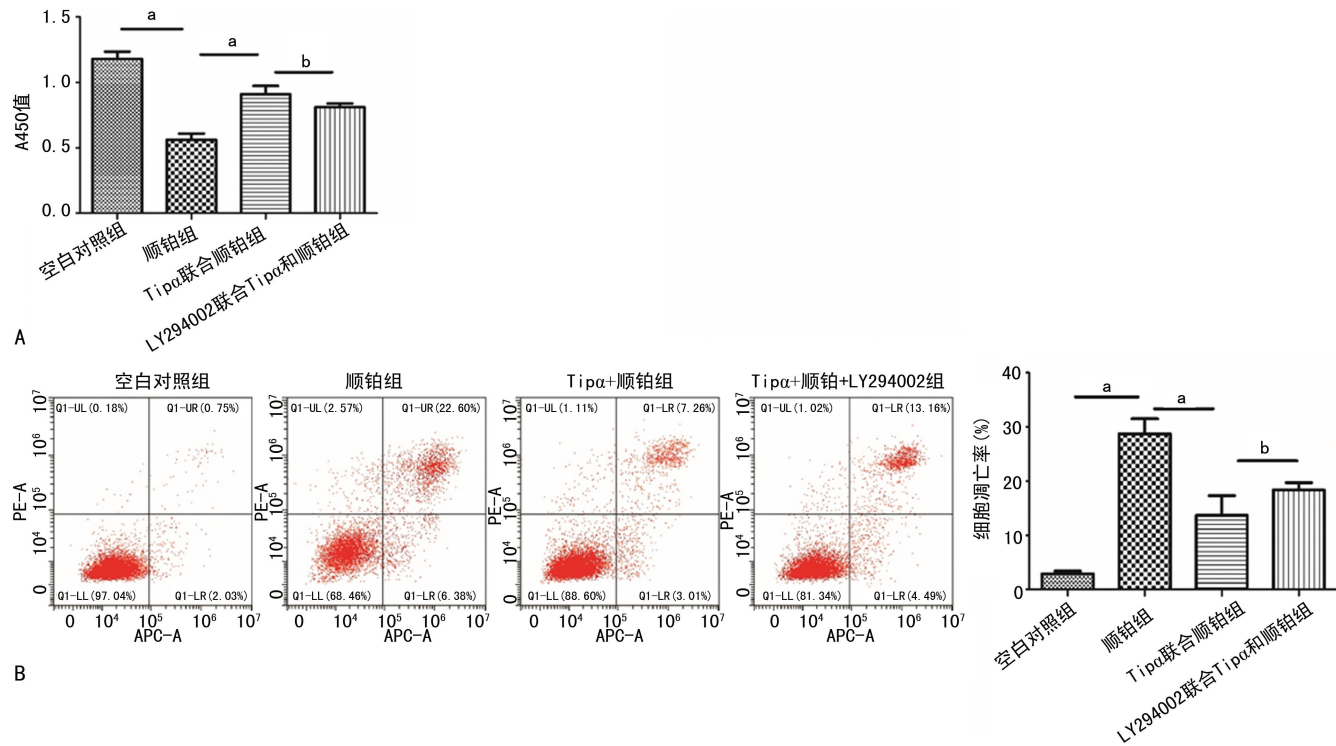
2.6 LY294002 部分抵消了 Tip α 促进顺铂诱导的胃癌细胞侵袭作用

与 Tip α 联合顺铂组比较,LY294002 联合 Tip α 和顺铂组胃癌细胞侵袭能力明显降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见图 6。



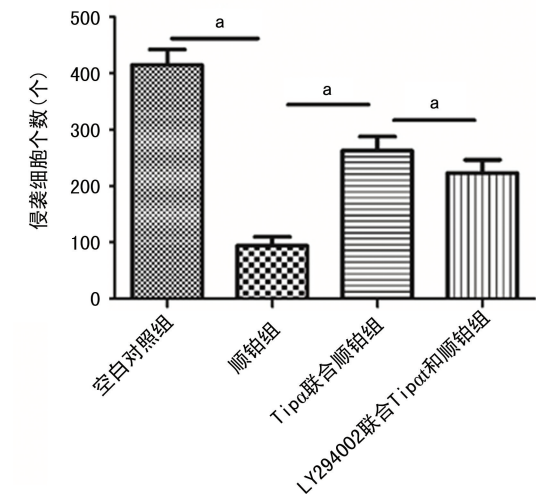
^a: $P < 0.05$, ^b: $P < 0.05$.

图 4 Tipα 处理激活胃癌细胞 PI3K/Akt 通路



A: LY294002 干预对 Tipα 促进顺铂处理的胃癌细胞存活的影响; B: LY294002 干预对 Tipα 抑制顺铂处理胃癌细胞凋亡的影响。^a: $P < 0.05$, ^b: $P < 0.05$.

图 5 LY294002 部分抵消 Tipα 对胃癌细胞顺铂毒性的抑制作用



^a: $P < 0.05$.

图 6 LY294002 部分抵消 Tipα 促进顺铂诱导的胃癌细胞侵袭作用

3 讨论

以顺铂为基础的化疗是晚期转移性癌症患者辅助治疗及手术切除后抑制复发最有效的方法之一,然而,耐药性是阻碍化疗疗效的主要因素,严重威胁癌症患者的预后。目前,顺铂耐药的机制尚未完全阐明,本研究探讨了幽门螺杆菌 Tipα 对胃癌细胞顺铂敏感性的影响,结果显示,Tipα 处理后胃癌细胞对顺铂的敏感性降低,PI3K/Akt 信号通路被活化。

Tipα 是一种幽门螺杆菌毒力蛋白,多以二聚体形式发挥功能,通过与细胞表面核仁蛋白直接结合而进入细胞中,诱导肿瘤坏死因子-α 和趋化因子基因的表达,并激活核因子 κB 介导的炎症信号通路,发挥促炎作用^[9-10]。肖玲巧等^[11]通过体外表达 Tipα 并处理巨噬细胞发现,Tipα 通过激活人 NOD 样受体家族蛋白

3(NLPR3) 炎性小体促进巨噬细胞凋亡。CHEN 等^[12]发现, Tip α 通过激活白细胞介素-6/转录激活子 3 信号通路促进胃癌细胞上皮-间质转化。DEVANAND 等^[1]发现, B 淋巴细胞易位基因 2 能抑制胃癌细胞膜表面核仁蛋白表达, 从而抑制 Tip α 对肿瘤坏死因子- α 等的诱导作用而发挥抑癌作用。本研究结果显示, Tip α 能逆转顺铂对胃癌细胞活性和侵袭能力的抑制作用, 以及对胃癌细胞凋亡的促进作用。提示 Tip α 不仅能促进胃癌细胞上皮-间质转化, 还能降低胃癌细胞对顺铂的敏感性, 对胃癌患者的治疗产生不利影响。

PI3K/Akt 信号通路是重要的信号传导途径, 具有多种生物学功能, 包括调控细胞生长、存活、分化及葡萄糖转运和代谢^[13]。近年来, PI3K/Akt 信号通路对促进肿瘤发生、发展及化疗抗性的作用被广泛报道^[14-15]。DU 等^[16]发现, 芒果苷能通过阻断 PI3K/Akt 信号通路的活化抑制胃癌细胞活性并促进细胞凋亡。LU 等^[17]通过抑制 PI3K/Akt 信号通路纠正了胃癌细胞的顺铂耐药性。本研究发现, Tip α 促进了 PI3K/Akt 信号通路的激活, 而利用 PI3K/Akt 信号通路抑制剂——LY294002 处理后能部分消除 Tip α 对胃癌细胞顺铂敏感性的抑制作用, 说明 PI3K/Akt 信号通路的活化参与了 Tip α 对胃癌细胞顺铂敏感性的抑制过程, 阻断 PI3K/Akt 信号通路的活化可能是治疗 Tip α 相关胃癌耐药的潜在手段。

综上所述, 本研究通过原核表达方式在体外表达重组 Tip α 发现, 其能通过增加顺铂处理的胃癌细胞活性, 抑制顺铂处理的胃癌细胞凋亡, 并促进顺铂处理的胃癌细胞侵袭, 其机制可能与 PI3K/Akt 信号通路活化有关。

参考文献

- [1] DEVANAND P, OYA Y, SUNDARAMOORTHY S, et al. Inhibition of TNF α -interacting protein α (Tip α)-associated gastric carcinogenesis by BTG2/TIS21 via downregulating cytoplasmic nucleolin expression [J]. *Exp Mol Med*, 2018, 50(2):e449.
- [2] Berlamont H, De Witte C, Bauwens E, et al. Distinct transcriptome signatures of *Helicobacter suis* and *Helicobacter heilmannii* strains upon adherence to human gastric epithelial cells[J]. *Vet Res*, 2020, 51(1):62.
- [3] GAO M, LI D, HU Y, et al. Crystal structure of TNF- α -inducing protein from *Helicobacter pylori* in active form reveals the intrinsic molecular flexibility for unique DNA-binding [J]. *PLoS one*, 2012, 7(7):e41871.
- [4] TORRE L A, BRAY F, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics, 2012 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2015, 65(2):87-108.
- [5] WANG S F, CHEN M S, CHOU Y C, et al. Mitochondrial dysfunction enhances cisplatin resistance in human gastric cancer cells via the ROS-activated GCN2-eIF2 α -ATF4-xCT pathway[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(45):74132-74151.
- [6] LIU R, CHEN Y, LIU G, et al. PI3K/AKT pathway as a key link modulates the multidrug resistance of cancers[J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(9):797.
- [7] FISCHER B, FREI C, MOURA U, et al. Inhibition of phosphoinositide-3 kinase pathway down regulates ABCG2 function and sensitizes malignant pleural mesothelioma to chemotherapy [J]. *Lung cancer*, 2012, 78(1):23-29.
- [8] FU X, FENG J, ZENG D, et al. PAK4 confers cisplatin resistance in gastric cancer cells via PI3K/Akt- and MEK/ERK-dependent pathways[J]. *Biosci Rep*, 2014, 34(2):e00094.
- [9] WATANABE T, TAKAHASHI A, SUZUKI K, et al. Epithelial-mesenchymal transition in human gastric cancer cell lines induced by TNF- α -inducing protein of *Helicobacter pylori* [J]. *Int J Cancer*, 2014, 134(10):2373-2382.
- [10] TANG C L, HAO B, ZHANG G X, et al. *Helicobacter pylori* tumor necrosis factor- α inducing protein promotes cytokine expression via nuclear factor- κ B [J]. *World J Gastroenterol*, 2013, 19(3):399-403.
- [11] 肖玲巧, 王超, 谢成元, 等. 幽门螺杆菌 Tip α 蛋白激活 NLRP3 炎性小体诱导 THP-1 细胞分泌 IL-1 β 和 IL-18 [J]. *中国人兽共患病学报*, 2017, 33(12):1071-1076.
- [12] CHEN G, TANG N, WANG C, et al. TNF- α -inducing protein of *Helicobacter pylori* induces epithelial-mesenchymal transition (EMT) in gastric cancer cells through activation of IL-6/STAT 3 signaling pathway[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 484(2):311-317.

- SMYD3/TWIST1 axis [J]. *Cell Death Dis*, 2021,12(2):144.
- [12] DE BRITO B B, DA SILVA F A F, SOARES A S, et al. Pathogenesis and clinical management of *Helicobacter pylori* gastric infection [J]. *World J Gastroenterol*, 2019, 25 (37): 5578-5589.
- [13] HWANG Y J, KIM N, LEE H S, et al. Reversibility of atrophic gastritis and intestinal metaplasia after *Helicobacter pylori* eradication-a prospective study for up to 10 years [J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2018, 47(3):380-390.
- [14] SHEN J, ZHAI J, YOU Q, et al. Cancer-associated fibroblasts-derived VCAM1 induced by *H. pylori* infection facilitates tumor invasion in gastric cancer [J]. *Oncogene*, 2020, 39 (14): 2961-2974.
- [15] DEL MORAL-HERNÁNDEZ O, CASTAÑÓN-SÁNCHEZ C A, REYES-NANARRETE S, et al. Multiple infections by EBV, HCMV and *Helicobacter pylori* are highly frequent in patients with chronic gastritis and gastric cancer from southwest Mexico: An observational study [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2019, 98(3):e14124.
- [16] HUANG H, TIAN J, XU X, et al. A study on the roles of *Helicobacter pylori* in bile reflux gastritis and gastric cancer [J]. *J BUON*, 2018, 23(3):659-664.
- [17] HOLLECZEK B, SCHÖTTKER B, BRENNER H. *Helicobacter pylori* infection, chronic atrophic gastritis and risk of stomach and esophagus cancer; results from the prospective population-based ESTHER cohort study [J]. *Int J Cancer*, 2020, 146(10):2773-2783.
- [18] YU X, FENG D, WANG G, et al. Correlation analysis of *helicobacter pylori* infection and digestive tract symptoms in children and related factors of infection [J]. *Iran J Public Health*, 2020, 49(10):1912-1920.
- [19] VINAGRE R M D F, VINAGRE I D F, VILAR-E-SILVA A, et al. *Helicobacter pylori* infection and immune profile of patients with different gastroduodenal diseases [J]. *Arq Gastroenterol*, 2018, 55 (2):122-127.
- [20] WANG S S, YAN C S, LUO J M. NLRC4 gene silencing-dependent blockade of NOD-like receptor pathway inhibits inflammation, reduces proliferation and increases apoptosis of dendritic cells in mice with septic shock [J]. *Aging (Albany NY)*, 2021, 13(1):1440-1457.
- [21] GONZALEZ-HORMAZABAL P, PELAEZ D, MUSLEH M, et al. NOD1 rs2075820 (p. E266K) polymorphism is associated with gastric cancer among individuals infected with cagPAI-positive *H. pylori* [J]. *Biol Res*, 2021, 54 (1):13.
- [22] ROY A C, CHANG G, ROY S, et al. γ -d-Glutamyl-meso-diaminopimelic acid induces autophagy in bovine hepatocytes during nucleotide-binding oligomerization domain 1-mediated inflammation [J]. *J Cell Physiol*, 2021, 236 (7): 5212-5234.

(收稿日期:2021-04-25 修回日期:2021-09-17)

(上接第 33 页)

- [13] XU F, NA L, LI Y, et al. Roles of the PI3K/AKT/mTOR signalling pathways in neurodegenerative diseases and tumours [J]. *Cell Biosci*, 2020, 10(1):54.
- [14] JIANG N, DAI Q, SU X, et al. Role of PI3K/AKT pathway in cancer; the framework of malignant behavior [J]. *Mol Biol Rep*, 2020, 47 (6):4587-629.
- [15] LIU R, CHEN Y, LIU G, et al. PI3K/AKT pathway as a key link modulates the multidrug resistance of cancers [J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(9):797.
- [16] DU M, WEN G, JIN J, et al. Mangiferin prevents the growth of gastric carcinoma by blocking the PI3K-Akt signalling pathway [J]. *Anticancer Drugs*, 2018, 29(2):167-175.
- [17] LU R, ZHAO G, YANG Y, et al. Inhibition of CD133 overcomes cisplatin resistance through inhibiting PI3K/AKT/mTOR signaling pathway and autophagy in CD133-Positive gastric cancer cells [J]. *Technol Cancer Res Treat*, 2019, 8:1533033819864311.

(收稿日期:2021-04-27 修回日期:2021-09-17)