

论著·基础研究

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2022.22.003

mTOR 激酶抑制剂依赖 Bim 诱导 MDA-MB-453 乳腺癌细胞死亡^{*}

罗哲婵, 邹胜泽[△]

(浙江省温州市中医院药剂科 325000)

[摘要] **目的** 研究哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)激酶抑制剂 MTI-31 诱导乳腺癌细胞凋亡的作用与机制。**方法** 分别构建 MDA-MB-453 和 HCC1806 异种移植瘤模型,通过灌胃和尾静脉注射分别给予 MTI-31 和多西他赛,监测肿瘤体积与小鼠体重;利用蛋白免疫印迹(Western blot)检测给药后凋亡相关生物标志蛋白 Cleaved PARP 和 Bim 的水平;利用 shRNA 特异性敲减 Bim,随后应用细胞计数法研究药物对细胞生存的影响;采用免疫组织化学观察皮下瘤中 Bim 的表达情况。**结果** MTI-31 可使 MDA-MB-453 异种移植瘤消退,但仅抑制 HCC1806 异种移植瘤的生长,其疗效与多西他赛相近。在体外,敲减 MDA-MB-453 中的 Bim 后,MTI-31、拉帕替尼和多西他赛的药效明显降低,雷帕霉素只是抑制了肿瘤生长;敲减 Bim 后的 MDA-MB-453 中,MTI-31 处理的 shBim 2 组 Cleaved PARP 和 Bim 的表达水平较 shNT 组明显减少($P<0.01$)。在 MDA-MB-453 皮下瘤中,MTI-31 处理组的 Bim 表达较溶剂处理组显著增加。**结论** mTOR 激酶抑制剂 MTI-31 可诱导 MDA-MB-453 乳腺癌细胞凋亡性死亡且依赖于 Bim。

[关键词] mTOR 激酶抑制剂;多西他赛;Bim;乳腺癌;细胞凋亡

[中图分类号] R737.9

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2022)22-3792-05

mTOR kinase inhibitor inducing MDA-MB-453 breast cancer cell death by depending on Bim^{*}

LUO Zhechan, ZOU Shengze[△]

(Department of Pharmacy, Wenzhou Municipal Hospital of Traditional Chinese Medicine, Wenzhou, Zhejiang 325000, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the effect and mechanism of cell apoptosis of breast cancer induced by mTOR kinase inhibitor MTI-31. **Methods** The xenograft models of MDA-MB-453 and HCC1806 were constructed respectively. MTI-31 and docetaxel were administrated via gavage and tail vein accordingly. Meanwhile, the tumor volume and body weight of mice were monitored. Western blot assay was employed to examine the apoptosis related biomarkers Cleaved PARP and Bim levels. Then, Bim was knocked down by using shRNA. Then, the cell counting method was used to study the effect of drugs on cell survival. The expression level of Bim was determined by using the immunohistochemistry assay. **Results** MTI-31 could cause the MDA-MB-453 heterograft regression, but only inhibited the growth of HCC1806 xenograft, its effect was similar to docetaxel. In vitro, when knocking down the expression of Bim in MDA-MB-453, the pharmaceutical effects of MTI-31, lapatinib and docetaxel were significantly decreased. In the MDA-MB-453 cells after knocking down Bim, the expression levels of Cleaved PARP and Bim in the shBim 2 group treated with MTI-31 was remarkably reduced when compared with the shNT group which also treated with MTI-31 ($P<0.01$). In MDA-MB-453 subcutaneous tumors, the Bim expression in the MTI-31 treatment group was significantly increased when compared with the solvent treatment group. **Conclusion** The mTOR kinase inhibitor MTI-31 could induce the Bim-dependent apoptotic death in breast cancer cell of MDA-MB-453.

[Key words] mTOR kinase inhibitor; docetaxel; Bim; breast cancer; apoptosis

据世界卫生组织国际癌症研究机构(IARC)发布的数据显示,2020 年乳腺癌新发病例高达 226 万例,已超越肺癌成为全球最高发病率的癌种。在我国,乳

腺癌发病率和病死率仅次于肺癌、结直肠癌和胃癌,是威胁女性生命健康的重大疾病^[1]。因此,临床迫切需要更高效的治疗方案以提高乳腺癌患者的生存率

^{*} 基金项目:浙江省温州市科技局基础科研项目(Y20180738)。 作者简介:罗哲婵(1977—),主管药师,学士,主要从事肿瘤药学相关研究。[△] 通信作者,E-mail:13857731223@139.com。

与生存质量。随着精准医疗的发展,乳腺癌药物治疗的响应率显著提升,其中特别典型的就是以抗人表皮生长因子受体 2(HER2)为代表的靶向治疗^[2]。HERA 和 NOAH 临床试验提示,曲妥珠单抗治疗后乳腺癌患者的中位生存期可长达 40.8 个月^[3-4]。CLEOPATRA 研究结果进一步表明,在曲妥珠单抗联合多西他赛的基础上,帕妥珠单抗能够将中位总生存期增加 16 个月^[5]。尽管如此,我国的靶向药物研发和管线药物仍较匮乏。

乳腺癌的分子分型在很大程度上帮助临床医生确立了规范化的治疗方案,为精准治疗提供了依据。目前乳腺癌根据基因背景可分为 4 种亚型:腺腔 A 型、腺腔 B 型、HER2 过表达型和基底样型^[6-7]。其中,HER2 过表达型乳腺癌占近 20%,其恶性程度高,易复发与转移且预后较差^[8]。尽管基于 HER2 的靶向治疗响应率高、疗效确切,然而出现耐药的情况也多见^[9]。其中,哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)信号通路的活化是关键的耐药机制^[10]。BOLERO-3 研究结果提示,mTOR 变构抑制剂依维莫司可逆转曲妥珠单抗的耐药性^[11]。其实不仅仅局限在耐药状态下,mTOR 通路的异常活化在乳腺癌中也高频率发生,是研究的热门靶点。

mTOR 在生物体内以 2 种复合物的形式存在:mTORC1 和 mTORC2,它们分别介导不同的生物学功能^[12-13]。依维莫司是 mTOR 变构抑制剂,主要抑制 mTORC1 的功能,无法全盘抑制 mTOR 信号通路,并且应用后可通过 p70S6 激酶 1-胰岛素受体底物 1(S6K1-IRS1)进行负反馈而活化细胞内磷脂酰肌醇酶/蛋白激酶 B(PI3K/Akt)通路,治疗窗有限^[14]。基于此研发的 mTOR 激酶抑制剂可全盘抑制 mTOR 通路,临床前研究结果提示抗肿瘤活性优于依维莫司或雷帕霉素^[15]。我国经济目前也跻身于国际先进行列,新型 mTOR 激酶抑制剂 MTI-31 已进入临床研究阶段^[16]。本研究拟明确 MTI-31 对 HER2 过表达和基底样乳腺癌细胞的作用并初步探究其药理机制。

1 材料与方法

1.1 实验试剂

MTI-31(货号:BCP36715)、雷帕霉素(货号:BCP01404)和拉帕替尼(货号:BCP01815)购自瀚翔生物科技有限公司。多西他赛(货号:MB1081)购自大连美伦生物技术有限公司。吐温-80(Tween-80,货号:P1754),丽春红(货号:P3504),羧甲基纤维素钠(CMC-Na,货号:21904)和二甲基亚砜(DMSO,货号:D8418)均购自美国 Sigma-Aldrich 公司。精密称定 MTI-31、雷帕霉素、拉帕替尼和多西他赛适量,加入一定体积的 DMSO 溶液配置成 20 mmol/L 的储备液,涡旋混合均匀后分装并保存于一 80℃ 备用。BD Matrigel 基质胶(货号:356234)购自美国 BD 公司。sh-Bim1 和 shBim2 的序列分别为:5'-TAC ACA AAA TCC TGC TCC A-3'、5'-ATC TCT GGG CGC ATA TCT G-3'。

1.2 细胞培养

胎牛血清(货号:AQ-mv-09900)购自美国 Analysis Quiz 公司。青霉素-链霉素(货号:15140163)和丙酮酸钠(货号:11360070)购自美国 ThermoFisher 公司。乳腺癌细胞 MDA-MB-453 购自中国科学院细胞库;HCC1806 购自美国典型培养物保藏中心。MDA-MB-453 培养于 MEM 培养基(含 10% 的胎牛血清、100 U/mL 青霉素和 100 μg/mL 链霉素和丙酮酸钠);HCC1806 则培养于 RPMI-1640 完全培养基(含 10% 的胎牛血清、100 U/mL 青霉素和 100 μg/mL 链霉素)中。细胞放置于 Eppendorf CellXpertC170i CO₂ 培养箱,在 37℃,5% CO₂ 条件下培养,根据需求调整传代倍数。

1.3 异种移植瘤模型的建立与给药方案

订购 5~6 周龄 BALB/c 雌性裸鼠,并在无特殊病原体(SPF)级环境中适应性饲养 1 周。复苏并培养 MDA-MB-453 和 HCC1806,用无血清培养基配置一定浓度的细胞悬液(MDA-MB-453 需要 1:1 添加基质胶),并皮下注射 200 μL 制备好的细胞悬液(MDA-MB-453,7×10⁶ 个细胞/瘤块;HCC1806,5×10⁶ 个细胞/瘤块)。根据公式:计算获得瘤体积并分组(每组小鼠数量≥5 只)。

利用 0.5% 的 CMC-Na 溶剂配置 MTI-31 溶液,按照 40 mg/kg 的剂量每天灌胃 1 次。分别取等体积的无水乙醇和 Tween-80 混合后涡旋振荡,配制成含 50% 无水乙醇及 50% Tween-80(v/v)的溶液;保存于 4℃ 冰箱备用。每次给药前,称取适量的多西他赛加入适量体积的上述溶剂涡旋振荡,使药物完全溶解,再加入适量体积生理盐水,涡旋振荡,使液体混合均匀,乙醇和 Tween-80 终浓度均为 12.5%,现配现用。按照 15 mg/kg 的剂量尾静脉注射给药,每周 1 次。给药前量取瘤块体积,并对小鼠进行称重。

1.4 蛋白免疫印迹(Western blot)法

利用 NuPAGE LDS(货号:NP0007)制备蛋白样品,然后经 10% 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)分离总蛋白,随后采用电转硝酸纤维素膜转膜。转膜后利用丽春红染色,观察蛋白上样量,之后用 TBST 溶液漂洗。配置 5% 脱脂奶粉,于室温条件下封闭 1~2 h。根据抗体说明书,按照比例稀释抗体[抗体 Cleaved PARP(货号:5652)和 Bim(货号:2933S)购自美国 Cell Signaling Technology 公司,GAPDH(货号:AP0063)购自美国 Bioworld 公司]并于 4℃ 条件下孵育过夜。经 TBST 溶液漂洗 3 次后,用辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔二抗(货号:BS13278,购自美国 Bioworld 公司)在室温孵育 2 h。TBST 漂洗之后,利用化学发光试剂盒,在 Bio-Rad 成像仪中曝光,获取条带数据。

1.5 免疫组织化学

取新鲜瘤组织浸没在 4% 的中性多聚甲醛中,经脱水、包埋和切片后,获取厚度为 4 μm 的切片。随后进行抗原修复,配置 5% 的 BSA 溶液室温封闭 1~2 h。之后一抗 4℃ 孵育过夜。复温后,孵育二抗,之后利用 DAB 反应液进行显色,并用苏木素进行复染。

最后利用莱卡显微镜进行拍摄。

1.6 统计学处理

获得的实验数据由 Microsoft Office Excel 软件进行处理,利用 Graphpad Prism5 软件进行作图。计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,利用成组 t 检验或单因素方差分析对数据进行统计学分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

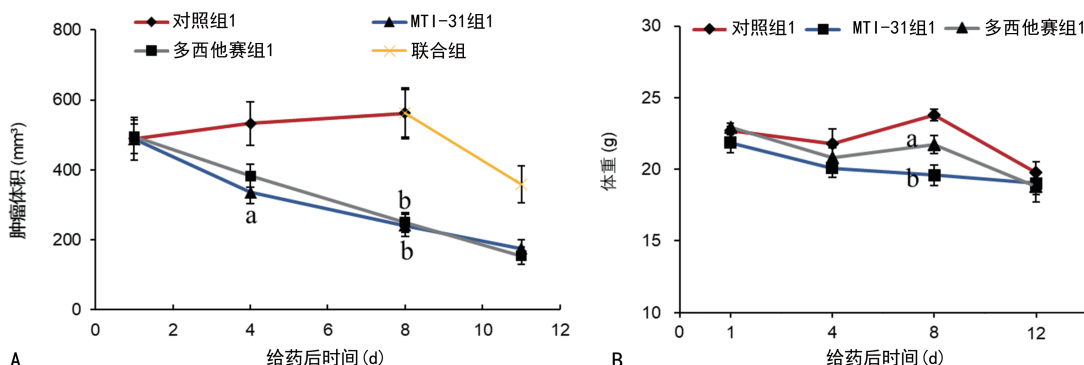
2.1 MTI-31 对 MDA-MB-453 异种移植瘤的影响

在 MDA-MB-453 异种移植瘤模型中,当平均瘤体积达到 $(488.34 \pm 41.90) \text{ mm}^3$ 时开始给药,并分为 3 组,MTI-31 组 1、多西他赛组 1、对照组 1(灌胃无水乙醇和 Tween-80 溶剂)。在初次给药后的第 4、8 天,MTI-31 组 1 与对照组 1 瘤体积比较差异有统计学意义($P < 0.05$);到第 11 天 MTI-31 组 1 瘤体积降至 $(175.13 \pm 16.01) \text{ mm}^3$ 。多西他赛组 1 与 MTI-31 组 1 的疗效相近,尽管在给药后的第 4 天多西他赛组 1 瘤体积与对照组 1 比较差异无统计学意义($P > 0.05$),但是到第 8 天时多西他赛组 1 瘤体积与对照组 1 比较差异有统计学意义($P < 0.01$);第 11 天时多西他赛组 1 进一步缩减至 $(154.21 \pm 14.16) \text{ mm}^3$ 。为

了明确多西他赛与 MTI-31 的联合效应,当对照组 1 瘤体积长到 $(561.92 \pm 72.79) \text{ mm}^3$ 时联合给予 2 种药物(联合组)。给药后第 3 天联合组瘤体积迅速缩减至 $(358.31 \pm 53.01) \text{ mm}^3$ 。在给药期间各组小鼠的体重差异无统计学意义($P > 0.05$)。见图 1。

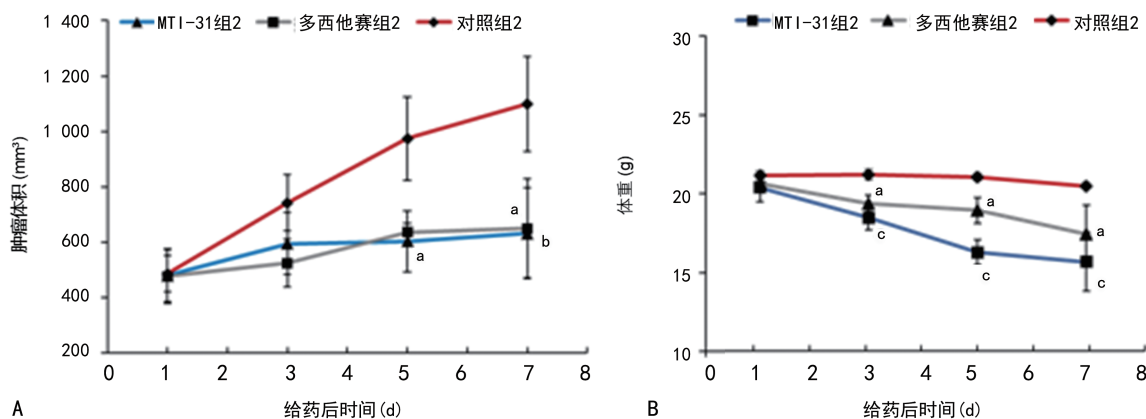
2.2 MTI-31 对 HCC1806 异种移植瘤的影响

MTI-31 和多西他赛在 HCC1806 异种移植瘤中的作用与 MDA-MB-453 相比呈现明显区别。当小鼠瘤体积达到 $(486.37 \pm 66.71) \text{ mm}^3$ 时开始给药,将细胞分为 3 组,MTI-31 组 2、西他赛组 2、对照组 2(灌胃无水乙醇和 Tween-80 溶剂);MTI-31 组 2 瘤体积的生长在第 3、5 天明显放缓,但到第 7 天时较给予前增长了 31.74%($P < 0.01$)。多西他赛组 2 的整体趋势与 MTI-31 组 2 相近,在第 7 天时 MTI-31 组 2、西他赛组 2 分别与对照组 2 比较,差异均有统计学($P < 0.05$ 或 0.01)。给药期间,对照组 2 小鼠的体重相对稳定,末次给药时 MTI-31 组 2 的小鼠体重较给药前降低明显(23%, $P < 0.01$);多西他赛组 2 则降低了 16%($P < 0.05$)。见图 2。因此后续实验选取 MDA-MB-453 为实验细胞。



A: 瘤体的体积; B: 小鼠的体重; ^a: $P < 0.05$; ^b: $P < 0.01$, 与对照组 1 比较。

图 1 MTI-31 与多西他赛对 MDA-MB-453 移植瘤的作用



A: 瘤体的体积; B: 小鼠的体重; ^a: $P < 0.05$; ^b: $P < 0.01$; ^c: $P < 0.001$, 与对照组 2 比较。

图 2 MTI-31 和多西他赛对 H1806 移植瘤的作用

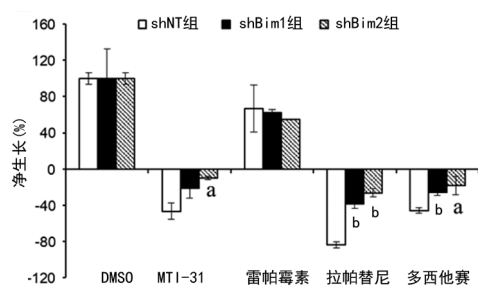
2.3 Bim 介导 MDA-MB-453 的凋亡性死亡

2.3.1 MTI-31 诱导 MDA-MB-453 死亡依赖于 Bim

为了进一步研究 MTI-31 诱导 MDA-MB-453 异种移植瘤消退的分子机制,笔者在体外利用细胞进行

研究。利用 shBim1 和 shBim2 构建 Bim 敲减的 MDA-MB-453,细胞分为 shNT 组(无意义序列)、sh-Bim1 组、shBim2 组,随后进一步分别给予溶剂(DMSO)、MTI-31($5 \mu\text{mol/L}$)、雷帕霉素($1 \mu\text{mol/L}$)、拉

帕替尼($5\ \mu\text{mol/L}$)和多西他赛($1\ \mu\text{mol/L}$)。shNT 组与各药物共孵育 72 h 后,MTI-31、拉帕替尼和多西他赛诱导 MDA-MB-453,细胞分别死亡了($47.0\pm 9.2\%$)、($83.0\pm 3.3\%$)和($46.0\pm 3.3\%$),然而雷帕霉素仅抑制细胞的增殖($67.0\pm 25.7\%$)。其中,MTI-31 处理的 shBim2 组细胞死亡较 MTI-31 处理的 shNT 组减少,差异有统计学意义($P<0.05$);而 MTI-31 处理的 shBim1 组细胞死亡较 MTI-31 处理的 shNT 组减少,但差异无统计学意义($P>0.05$)。见图 3。因此,后续实验选 shBim2 作为 MDA-MB-453 的干扰序列。

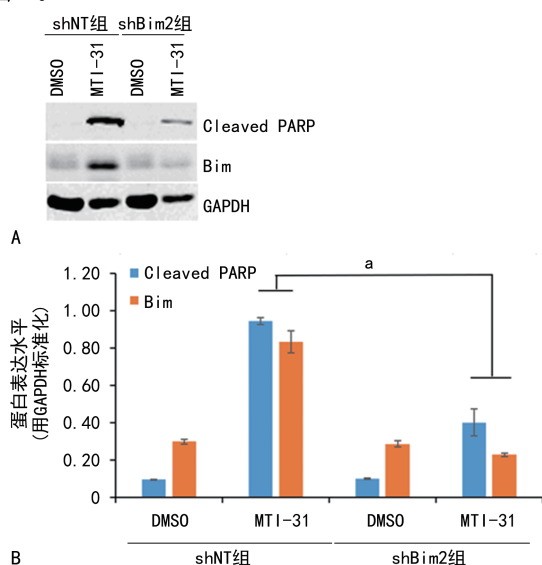


^a: $P<0.05$; ^b: $P<0.001$,与各系药物的 shNT 组比较。

图 3 敲减 Bim 后可逆转 MTI-31 诱导的 MDA-MB-453 细胞死亡

2.3.2 敲减 Bim 后 MTI-31 诱导的凋亡生物标志物 Cleaved-PARP 明显减少

将 MDA-MB-453 分为 2 组: shNT 组和 shBim2 组,然后分别用溶剂和 MTI-31($5\ \mu\text{mol/L}$)处理。给予 DMSO 处理的 shNT、shBim2 组 Bim、Cleaved-PARP 蛋白表达水平无变化($P>0.05$);给予 MTI-31 处理的 shBim2 组 Cleaved-PARP 和 Bim 表达水平均较 shNT 组明显降低($P<0.05$),结果提示敲减 Bim 后可逆转 MTI-31 引起的 MDA-MB-453 细胞凋亡。见图 4。



A: Western blot; B: 光密度定量分析; ^a: $P<0.01$ 。

图 4 敲减 Bim 可逆转 MTI-31 诱导的 MDA-MB-453 细胞凋亡

2.3.3 MTI-31 可诱导 MDA-MB-453 异种移植瘤表

达 Bim

MDA-MB-453 异种移植瘤模型 MTI-31 给药 11 d 后,取瘤块并利用免疫组织化学检测 Bim 的表达情况。结果显示,MTI-31 处理组的瘤组织中 Bim 表达较 DMSO 处理组明显增加,见图 5。

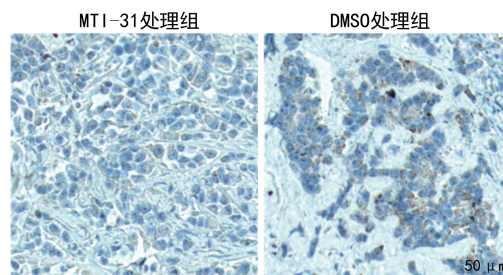


图 5 MTI-31 可诱导 MDA-MB-453 皮下瘤表达 Bim

3 讨论

MDA-MB-453 的基因背景为 PIK3CA 突变,同时是 HER2 高表达乳腺癌细胞^[17]。HCC1806 的 PI3K 属野生型且不表达 HER2^[18]。这两类细胞分别代表了临床分子分型为 HER2 高表达和基底样的乳腺癌。本研究结果显示,应用 mTOR 激酶抑制剂 MTI-31 后,MDA-MB-453 异种移植瘤出现消退,这种作用与当前的一线化疗药物多西他赛相近。HER2 高表达情况下,其下游的 PI3K/Akt/mTOR 通路被激活。同时,PIK3CA 突变状态下 mTOR 信号通路也异常活化。因此 MDA-MB-453 乳腺癌对 mTOR 激酶抑制剂的响应较好,很大程度上取决于它对 mTOR 信号的依赖性。对 HCC1806 来说,其生存与生长不依赖于 mTOR 信号通路。因此,MTI-31 作用于 HCC1806 移植瘤仅体现出生长抑制作用。PIK3CA 和 HER2 过表达与 mTOR 激酶抑制剂的疗效密切相关。

在 MDA-MB-453 中,雷帕霉素仅抑制其生长。雷帕霉素是经典的 mTOR 变构抑制剂,可显著阻断 mTORC1 的功能,通过抑制基因的转录最终实现阻碍细胞增殖的作用。而 MTI-31 全盘抑制 mTOR 通路包括 mTORC1 和 mTORC2,既具有抑制 mTORC1 而产生的生长抑制作用,又具有阻断 mTORC2 的特有生物学效应。特别是 mTORC2,由于在细胞代谢、生存中起重要作用,已成为一个研究热点^[19-20]。Bim 是细胞凋亡相关性蛋白,有文献已明确其在拉帕替尼和多西他赛诱导乳腺癌细胞死亡中的关键作用^[21-22]。通过特异性敲减 Bim 可显著减弱 MTI-31 及对照药物的疗效。结果提示 mTORC2/Bim 轴与 MDA-MB-453 的生存有关。有文献提示在乳腺癌中 mTORC2 可活化 Akt 进而调控 FOXO3a Thr32 位点的磷酸化^[23]。同时,也有研究指出 FOXO3a 调控 Bim 介导细胞的凋亡^[24]。因此, mTOR 激酶抑制剂诱导 MDA-MB-453 乳腺癌凋亡的机制很可能是通过 mTORC2/FOXO3a/Bim 实现的,但是有待进一步研究确证。

mTOR 激酶抑制剂可诱导 MDA-MB-453 异种移植瘤的消退,但仅抑制 HCC1806 异种移植瘤的生长。其疗效与多西他赛相当。在体内和体外,MTI-31、拉帕替尼和多西他赛均能诱导 MDA-MB-453 乳腺癌细胞凋亡性死亡,且其作用与诱导 Bim 表达有关。

参考文献

- [1] CAO W, CHEN H D, YU Y W, et al. Changing profiles of cancer burden worldwide and in China: a secondary analysis of the global cancer statistics 2020 [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2021, 134(7):783-791.
- [2] ANDRIKOPOULOU A, ZOGRAFOS E, LIONTOS M, et al. Trastuzumab deruxtecan (DS-8201a): the latest research and advances in breast cancer [J]. *Clin Breast Cancer*, 2021, 1(3):e212-219.
- [3] CAMERON D, PICCART-GEBHART M J, GELLBERG R D, et al. 11 years' follow-up of trastuzumab after adjuvant chemotherapy in HER2-positive early breast cancer: final analysis of the HERceptin Adjuvant (HERA) trial [J]. *Lancet*, 2017, 389(10075):1195-1205.
- [4] GIANNI L, EIERMANN W, SEMIGLAZOV V, et al. Neoadjuvant chemotherapy with trastuzumab followed by adjuvant trastuzumab versus neoadjuvant chemotherapy alone, in patients with HER2-positive locally advanced breast cancer (the NOAH trial): a randomised controlled superiority trial with a parallel HER2-negative cohort [J]. *Lancet*, 2010, 375(9712):377-384.
- [5] AVAN A, AVAN A, MAFTOUH M, et al. Biomarker analysis in CLEOPATRA: searching for a sensitive prognostic factor in breast cancer [J]. *J Clin Oncol*, 2015, 33(15):1711-1722.
- [6] SZYMICZEK A, LONE A, AKBARI M R. Molecular intrinsic versus clinical subtyping in breast cancer: a comprehensive review [J]. *Clin Genet*, 2021, 99(5):613-637.
- [7] NWOSU I O, PICCOLO S R. A systematic review of datasets that can help elucidate relationships among gene expression, race, and immunohistochemistry-defined subtypes in breast cancer [J]. *Cancer Biol Ther*, 2021, 22(7/9):417-429.
- [8] 刘月平, 步宏, 杨文涛. 2019 版中国乳腺癌 HER2 检测指南更新解读 [J]. *中华病理学杂志*, 2019, 48(3):182-185.
- [9] ZHANG Y. The root cause of drug resistance in HER2-positive breast cancer and the therapeutic approaches to overcoming the resistance [J]. *Pharmacol Ther*, 2021, 218:107677.
- [10] DONG C, WU J, CHEN Y, et al. Activation of PI3K/Akt/mTOR pathway causes drug resistance in breast cancer [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12:628690.
- [11] ANDRÉ F, O'REGAN R, OZGÜROGLU M, et al. Everolimus for women with trastuzumab-resistant, HER2-positive, advanced breast cancer (BOLERO-3): a randomised, double-blind, placebo-controlled phase 3 trial [J]. *Lancet Oncol*, 2014, 15(6):580-591.
- [12] SUN S Y. mTOR-targeted cancer therapy: great target but disappointing clinical outcomes, why? [J]. *Front Med*, 2021, 15(2):221-231.
- [13] POPOVA N V, JÜCKER M. The role of mTOR signaling as a therapeutic target in cancer [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(4):1743.
- [14] YANG W, SCHWARTZ G N, MAROTTI J D, et al. Estrogen receptor alpha drives mTORC1 inhibitor-induced feedback activation of PI3K/Akt in ER⁺ breast cancer [J]. *Oncotarget*, 2018, 9(10):8810-8822.
- [15] QIU H Y, WANG P F, ZHANG M. A patent review of mTOR inhibitors for cancer therapy (2011-2020) [J]. *Expert Opin Ther Pat*, 2021, 31(11):965-975.
- [16] ZHANG Q, ZHANG Y, CHEN Y, et al. A Novel mTORC1/2 inhibitor (MTI-31) inhibits tumor growth, epithelial-mesenchymal transition, metastases, and improves antitumor immunity in preclinical models of lung cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2019, 25(12):3630-3642.
- [17] DU J, OU Y, PENG X, et al. Delphinidin induces cell cycle arrest and apoptosis in HER-2 positive breast cancer cell lines by regulating the NF- κ B and MAPK signaling pathways [J]. *Oncol Lett*, 2021, 22(6):832.
- [18] 史莹, 王丹, 姜朋丽, 等. 葫芦素 B 对三阴乳腺癌 HCC1806 细胞增殖凋亡及 Wnt 信号通路的影响 [J]. *中国实验诊断学*, 2020, 24(11):1833-1835.
- [19] CONG Y, LI Q, ZHANG X, et al. mTOR promotes tissue factor expression and activity in EGFR-mutant cancer [J]. *Front Oncol*, 2020, 10:1615.

(下转第 3802 页)

- naling pathway[J]. *Int J Mol Med*, 2018, 42(2):769-778.
- [6] BAI Y, WANG W, SUN G, et al. Curcumin inhibits angiogenesis by up-regulation of microRNA-1275 and microRNA-1246: a promising therapy for treatment of corneal neovascularization [J]. *Cell Prolif*, 2016, 49(6):751-762.
- [7] BAI Y, WANG W, SUN G, et al. Curcumin inhibits angiogenesis by up-regulation of microRNA-1275 and microRNA-1246: a promising therapy for treatment of corneal neovascularization[J]. *Cell Prolif*, 2016, 49(6):751-762.
- [8] LATTA L, LUDWING N, KRAMMES L, et al. Abnormal neovascular and proliferative conjunctival phenotype in limbal stem cell deficiency is associated with altered microRNA and gene expression modulated by PAX6 mutational status in congenital aniridia[J]. *Ocul Surf*, 2020, 19:115-127.
- [9] 徐萌, 李平. 马钱子碱诱导人脐静脉内皮细胞凋亡过程中血管内皮生长因子和上皮细胞激酶 A2 的表达变化[J]. *安徽医科大学学报*, 2020, 55(2):195-199.
- [10] BAI Y, WANG W, ZHANG Y, et al. lncRNA MIAT suppression alleviates corneal angiogenesis through regulating miR-1246/ACE [J]. *Cell Cycle*, 2019, 18(6-7):661-669.
- [11] WANG X X, ZHANG H. Preliminary study on the role of miR-148a and DNMT1 in the pathogenesis of acute myeloid leukemia[J]. *Mol Med Rep*, 2019, 19(4):2943-2952.
- [12] 王晓雪, 王玥, 王萍萍, 等. MicroRNA-148/152 家族在血液恶性肿瘤中的表达[J]. *中国实验血液学杂志*, 2015, 23(4):1173-1178.
- [13] SAMAKOVA A, GAZOVA A, SABOVA N, et al. The PI3k/Akt pathway is associated with angiogenesis, oxidative stress and survival of mesenchymal stem cells in pathophysiologic condition in ischemia [J]. *Physiol Res*, 2019, 68(Suppl 2):S131-138.
- [14] LU J, ZHANG Z Z, MA X, et al. Repression of microRNA-21 inhibits retinal vascular endothelial cell growth and angiogenesis via PTEN dependent-PI3K/Akt/VEGF signaling pathway in diabetic retinopathy[J]. *Exp Eye Res*, 2020, 190:10.
- [15] VASURI F, CIAVARELLA C, FITTIPALDI S, et al. Different histological types of active intra-plaque calcification underlie alternative miRNA-mRNA axes in carotid atherosclerotic disease[J]. *Appl Biochem Biotechnol*, 2019, 476(2):307-316.
- (收稿日期:2022-05-18 修回日期:2022-08-08)
-
- (上接第 3796 页)
- [20] QIAN J, CHEN Y, MENG T, et al. Molecular regulation of apoptotic machinery and lipid metabolism by mTORC1/mTORC2 dual inhibitors in preclinical models of HER2⁺/PIK3CA mut breast cancer[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(41):67071-67086.
- [21] WU F, LIN Y, CUI P, et al. Cdc20/p53 mediates the resistance to docetaxel in castration-resistant prostate cancer in a Bim-dependent manner [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2018, 81(6):999-1006.
- [22] AKA Y, KARAKAS B, ACIKBAS U, et al. Kinome-wide RNAi screening for mediators of ABT-199 resistance in breast cancer cells identifies weel as a novel therapeutic target[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2021, 137:106028.
- [23] CHEN S, HAN Q, WANG X, et al. IBP-mediated suppression of autophagy promotes growth and metastasis of breast cancer cells via activating mTORC2/Akt/FOXO3a signaling pathway[J]. *Cell Death Dis*, 2013, 4(10):e842.
- [24] XUE M, JOO Y A, LI S, NIU C, et al. Metallothionein protects the heart against myocardial infarction via the mTORC2/FoxO3a/bim pathway[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2019, 31(5):403-419.
- (收稿日期:2022-06-11 修回日期:2022-08-12)