

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2018.35.006
文章编号: 1005-8982 (2018) 35-0027-06

临床研究 · 论著

LKB1 在鼻咽癌中的表达及与化疗敏感性的关系*

张旭戈¹, 周珊¹, 傅少志², 苗洪宾¹, 刘彦婷¹, 覃纲¹

(西南医科大学附属医院 1. 耳鼻咽喉头颈外科, 2. 肿瘤科, 四川 泸州 646000)

摘要:目的 研究鼻咽癌(NPC)组织中LKB1的表达,分析其与临床病理因素、化疗敏感性及预后的关系。**方法** 采用免疫组织化学EnVision 二步法检测74例NPC组织标本中LKB1的表达,根据其表达水平将标本分为LKB1低表达组和LKB1高表达组。采用ATP生物荧光肿瘤体外药敏检测技术体外检测NPC患者肿瘤细胞对8种常见化疗药物的敏感性。结合患者随访资料,分析LKB1表达与临床病理因素、化疗敏感性及预后的关系。**结果** 在NPC组织中,LKB1蛋白在细胞核和细胞质均有表达,呈棕黄色;LKB1高、低表达组间患者年龄、病理组织学类型、TNM分期及临床分期比较,差异无统计学意义($P>0.05$),仅性别比较差异有统计学意义($P<0.05$)。NPC细胞对8种化疗药物敏感性不同($P<0.05$)。在8种化疗药物中,仅LKB1低表达组的环磷酰胺耐药率高于LKB1高表达组($P<0.05$),其余差异无统计学意义($P>0.05$)。LKB1低表达组患者的死亡率高于高表达组($P<0.05$)。两组患者转移和复发率比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。LKB1低表达组患者的总生存率低于高表达组($P<0.05$)。两组间无进展生存率比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** LKB1表达水平与NPC患者的生存率有关,并且可能与环磷酰胺的耐药有关。

关键词: 鼻咽肿瘤; 肝激酶B1/酶类; 药物治疗; 敏感性

中图分类号: R739.62

文献标识码: A

Expression of LKB1 in nasopharyngeal carcinoma and its relationship with chemosensitivity*

Xu-ge Zhang¹, Shan Zhou¹, Shao-zhi Fu², Hong-bin Miao¹, Yan-ting Liu¹, Gang Qin¹

(1. Department of Otolaryngology, Head and Neck Surgery, 2. Department of Oncology, Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Luzhou, Sichuan 646000, China)

Abstract: Objective To research the expression of liver kinase B1 (LKB1) in nasopharyngeal carcinoma (NPC) tissues and analyze its relationships with clinicopathological parameters, chemosensitivity and prognosis. **Methods** The expression of LKB1 in 74 NPC tissue samples was detected by EnVision two-step immunohistochemical assay, and then the NPC tissue samples were divided into the LKB1 low-expression group and the LKB1 high-expression group. The *in vitro* chemosensitivity of NPC cells to 8 common chemotherapeutic drugs was detected by ATP-fluorescence *in vitro* susceptibility assay. Combined with follow-up data of the patients, the relationships of the expression of LKB1 with clinicopathological parameters, chemosensitivity and prognosis were analyzed. **Results** LKB1 was expressed in both nuclei and cytoplasm in the NPC cells, showing a brownish yellow color. There was no significant difference in the age, histopathological type, TNM stage or clinical stage between the two groups ($P > 0.05$); but there was statistical difference in gender between the two groups ($P < 0.05$). The chemosensitivity of NPC cells to the 8 chemotherapeutic agents was different ($P < 0.05$). The rate of resistance to cyclophosphamide in the LKB1 low-expression group was higher than that in the LKB1 high-expression group

收稿日期: 2018-06-27

* 基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (No: 81773529); 四川省应用基础研究项目 (No: 2017JY0109)

[通信作者] 覃纲, E-mail: qin-lzm@163.com; Tel: 0830-3165640

($P < 0.05$), and the rates of resistance to the remaining drugs were not statistically different between the two groups ($P > 0.05$). The mortality of the LKB1 low-expression group was higher than that of the LKB1 high-expression group ($P < 0.05$). There was no significant difference in metastasis or recurrence rate between the two groups ($P > 0.05$). The overall survival rate of the patients in the LKB1 low-expression group was lower than that in the high-expression group ($P < 0.05$), but there was no significant difference in the progression-free survival rate between the two groups ($P > 0.05$). **Conclusions** Low expression of LKB1 is related to the survival rate of NPC patients and may be related to the resistance to cyclophosphamide.

Keywords: nasopharyngeal neoplasms; liver kinase B1/enzymes; drug therapy; chemosensitivity

多重耐药严重影响鼻咽癌 (nasopharyngeal carcinoma, NPC) 患者的预后, 寻找提高 NPC 化疗敏感性的靶点可能是提高其疗效的突破点。近年来, 有文献报道肝激酶 B1 (liver kinase B1, LKB1) 在肺癌等多种恶性肿瘤中突变或缺失, 参与肿瘤的发生、发展及侵袭转移^[1], 且其下游靶点腺苷酸活化蛋白激酶 (AMP-activated protein kinase, AMPK) 的激活可增加化疗药物的敏感性^[2], 而 LKB1 在 NPC 组织中的表达及与化疗的研究则鲜有报道。本课题通过检测 NPC 组织中 LKB1 的表达水平, 分析其与患者临床病理因素、预后及化疗敏感性的关系。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取 2014 年 3 月—2016 年 8 月在西南医科大学附属医院首次经组织活检确诊并治疗的 NPC 患者 74 例, 收集各例患者的新鲜活检肿瘤组织和肿瘤组织石蜡块。其中, 男性 52 例, 女性 22 例; 年龄 21 ~ 77 岁, 中位年龄 49 岁。病理组织学分型: 角化性鳞状细胞癌 5 例, 非角化分化型癌 31 例, 非角化未分化型癌 38 例。按照国际抗癌联盟 (UICC) 和美国癌症分期联合委员会 (AJCC) 第 7 版 (2010) 方案进行 NPC 的 TNM 分期, 临床分期: I 期 3 例, II 期 9 例, III 期 48 例, IV 期 14 例。

1.1.1 纳入标准 ①所有患者术前未行放化疗, 首次经本院病理科确诊为 NPC 并治疗; ②未合并其他恶性肿瘤, 具备完整的临床及病理资料; ③石蜡切片质量佳, 随访资料完整。本课题经本院医学伦理委员会批准, 所有患者在术前签署知情同意书。

1.2 主要试剂与仪器

兔抗人 LKB1 多克隆抗体 (abs124916a, 上海 Absin 生物科技有限公司), Envision 免疫组织化学法检测试剂 (K5007, 丹麦 Dako 公司), 氟尿嘧啶、奥沙利铂及环磷酰胺购自连云港市恒瑞医药公司, 顺铂

和卡铂购自济南市齐鲁制药有限公司, 紫杉醇 (北京协和药厂), 多西他赛和吉西他滨购自连云港市豪森药业股份有限公司, ATP 生物荧光肿瘤体外药敏检测技术 (ATP-TCA) 试剂盒 (北京金紫晶生物医药技术有限公司), 倒置显微镜 (日本 Olympus 公司); 微孔板发光仪 (北京滨松光子技术有限公司)。

1.3 免疫组织化学 Envision 二步法

取组织石蜡块, 3 μm 厚切片, 常规脱蜡, 依次在 EDTA 修复液 (pH=9.0)、柠檬酸盐修复液 (pH=6.0) 中高压抗原修复, 3% 甲醇 H_2O_2 去除内源性过氧化物酶活性, 磷酸盐缓冲溶液 (phosphate buffer saline, PBS) 冲洗。依次滴加用 PBS 稀释为 1 : 200 的兔抗人 LKB1 多克隆抗体, 37 $^\circ\text{C}$ 孵育 1 h; PBS 冲洗, 滴加二抗, 37 $^\circ\text{C}$ 孵育 30 min; PBS 冲洗, DAB 显色, 自来水冲洗终止显色; 流水冲洗, 苏木精复染。严格按照试剂盒说明书进行操作。

LKB1 染色为黄色或者棕黄色, 所有切片在同一显微镜 200 倍视野下调整相同曝光强度、关闭自动白平衡功能, 只调整焦距和视野, 随机选取 5 个视野拍照; 将 Image Pro Plus version 6.0 (IPP) 专业图像分析软件的灰度单位转换成光密度单位, 测量切片的面积 (area)、累积光密度 (integrated optical density, IOD), 计算平均光密度值 (mean optical density, MOD), 进行半定量统计分析。MOD= 总 IOD/ 总 area。

NPC 中 LKB1 高、低表达分组: 以所测 NPC 的 MOD 中位数为界限, 小于中位数为低表达, 大于或等于中位数为高表达。

1.4 化疗药物敏感实验

严格按照 ATP-TCA 试剂盒说明书进行操作。取部分新鲜活检标本消化重悬成单细胞悬液, 调整密度为 $2 \times 10^5 \sim 4 \times 10^5/\text{ml}$, 取 100 μl 接种于 96 孔培养板, 加入抗肿瘤药物 (实验组), 每种药物设置 5 个测试浓度: 200.0%、100.0%、50.0%、25.0% 和 12.5% PPC。PPC 为根据待测药物的临床使用剂量所对应的

血浆峰值浓度 (peak plasma concentration, PPC)。2 个对照组: 不加任何抗肿瘤药物的对照组 (M_0)、加入最大 ATP 抑制剂的对照组 (M_1), 将各组培养板置于 37℃、5% 二氧化碳 CO_2 饱和湿度的细胞培养箱中培养 4 ~ 6 d, 加入 50 μ l 孔 ATP 提取液, 吹打混匀, 再取 50 μ l 混合上清液置于对应的微孔板内, 最后加入 50 μ l 孔发光工作液, 震荡检测。

1.4.1 评价标准 强敏感 (SS): $IC_{50} \leq 25\%$ PPC 和 $IC_{90} \leq 100\%$ PPC; 中度敏感 (IS): $IC_{50} \leq 25\%$ PPC 和 $IC_{90} > 100\%$ PPC; 轻度敏感 (MS): $IC_{50} > 25\%$ PPC 和 $IC_{90} \leq 100\%$ PPC; 耐药 R: $IC_{50} > 25\%$ PPC 和 $IC_{90} > 100\%$ PPC。 IC_{50} 、 IC_{90} 分别为抑制 50% 肿瘤细胞生长时的血浆峰值浓度和抑制 90% 肿瘤细胞生长时的血浆峰值浓度^[3]。

1.5 随访

所有患者以门诊复查或回访电话的方式进行随访, 随访截止时间 2017 年 11 月 30 日。无进展生存期为患者从确诊 NPC 后首次住院至确诊肿瘤进展、患者死亡或未次随访时的总时间。总生存期为患者从首次住院确诊为 NPC 至任何原因引起的死亡或未次随访的总时间。

1.6 统计学方法

数据分析采用 SPSS 20.0 统计软件, 计数资料以构成比 (%) 表示, 比较用 χ^2 检验; 计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 比较用 t 检验; 采用 Kaplan-Meier 法绘制生存曲线, 比较用 Log-rank χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 NPC 组织中 LKB1 的表达

免疫组织化学法结果显示, 在 LKB1 高表达的 NPC 组织中, LKB1 蛋白在细胞核和细胞质中均有表达, 呈棕黄色 (见图 1)。半定量统计分析结果表明, 74 例 NPC 患者中, LKB1 蛋白的 MOD 中位数为 0.146, LKB1 低表达组与 LKB1 高表达组 MOD 比较, 经独立样本 t 检验, 差异有统计学意义 ($t = 10.180$, $P = 0.000$), LKB1 低表达组 MOD (0.122 ± 0.019) 低于 LKB1 高表达组的 MOD (0.165 ± 0.017)。见图 2。

2.2 NPC 患者 LKB1 表达水平与临床病理因素的关系

74 例 NPC 组织中, LKB1 高、低表达组患者性别、

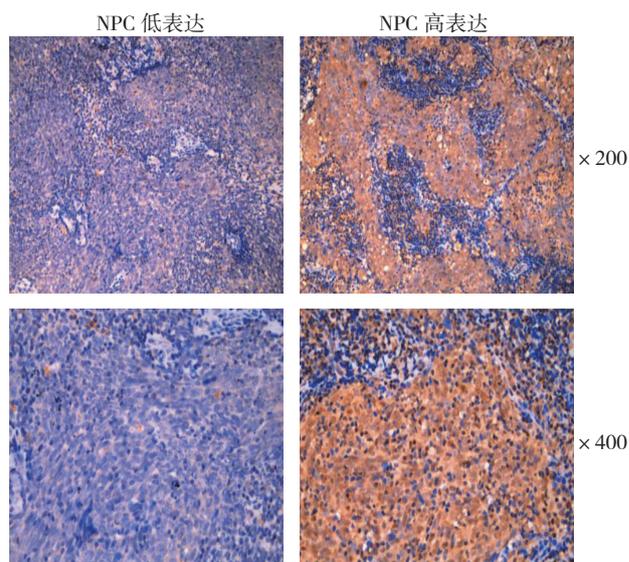


图 1 LKB1 在 NPC 组织中的表达 (Envision 二步法)

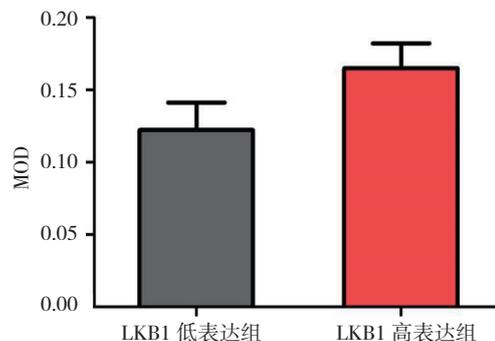


图 2 NPC 组织中不同 LKB1 表达组的 MOD 比较 ($\bar{x} \pm s$)

年龄、病理类型、T 分期、N 分期、M 分期和临床分期比较, 经 χ^2 检验, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。两组患者性别比较, 经 χ^2 检验, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见附表。

2.3 NPC 组织对化疗药物的敏感性

74 例 NPC 组织对氟尿嘧啶、奥沙利铂、卡铂、紫杉醇、环磷酰胺、吉西他滨、顺铂和多西他赛 8 种化疗药物的敏感性比较, 经 χ^2 检验, 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 47.226$, $P = 0.000$), NPC 组织对卡铂的敏感性最高。见图 3。

2.4 NPC 组织 LKB1 表达水平与化疗药物耐药率的关系

LKB1 低表达组与 LKB1 高表达组的环磷酰胺耐药率比较, 经 χ^2 检验, 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 6.186$, $P = 0.013$), LKB1 低表达组高于 LKB1 高表达组。其余 7 种化疗药物的耐药率比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见图 4。

附表 NPC 患者 LKB1 表达水平与临床病理因素的关系 [n=37, 例 (%)]

组别	性别		年龄		病理类型		
	男	女	<49 岁	≥ 49 岁	角化性鳞癌	非角化分化型癌	非角化未分化型癌
LKB1 低表达组	31 (83.78)	6 (16.22)	17 (45.95)	20 (54.05)	1 (2.70)	14 (37.84)	22 (59.46)
LKB1 高表达组	21 (56.76)	16 (43.24)	18 (48.65)	19 (51.35)	4 (10.81)	17 (45.95)	16 (43.24)
χ^2 值	6.469		0.054		2.882		
P 值	0.011		0.816		0.216		

组别	T 分期				N 分期			
	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	N ₀	N ₁	N ₂	N ₃
LKB1 低表达组	7 (18.92)	9 (24.32)	15 (40.54)	6 (16.22)	8 (21.62)	5 (13.51)	20 (54.05)	4 (10.81)
LKB1 高表达组	5 (13.51)	14 (37.84)	15 (40.54)	3 (8.11)	6 (16.22)	10 (27.03)	20 (54.05)	1 (2.70)
χ^2 值	2.396				3.580			
P 值	0.505				0.309			

组别	M 分期			临床分期			
	M ₀	M ₁	I	II	III	IV	
LKB1 低表达组	34 (91.89)	3 (8.11)	3 (8.11)	2 (5.41)	23 (62.16)	9 (24.32)	
LKB1 高表达组	34 (91.89)	3 (8.11)	0 (0.00)	7 (18.92)	25 (67.57)	5 (13.51)	
χ^2 值	0.000			6.468			
P 值	1.000			0.078			

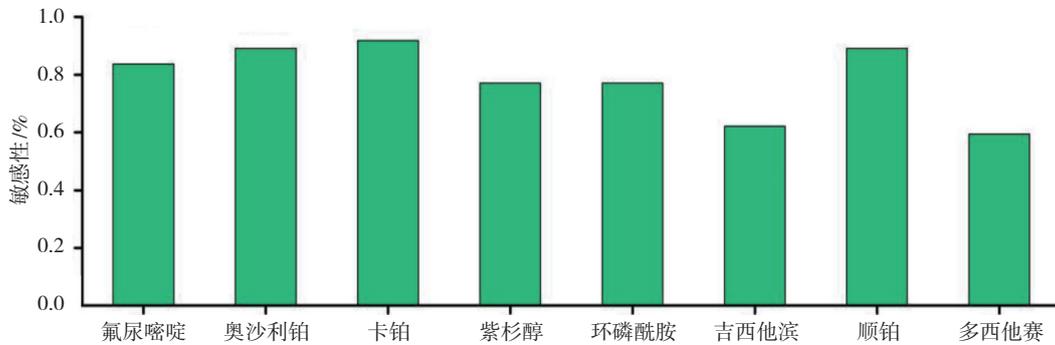
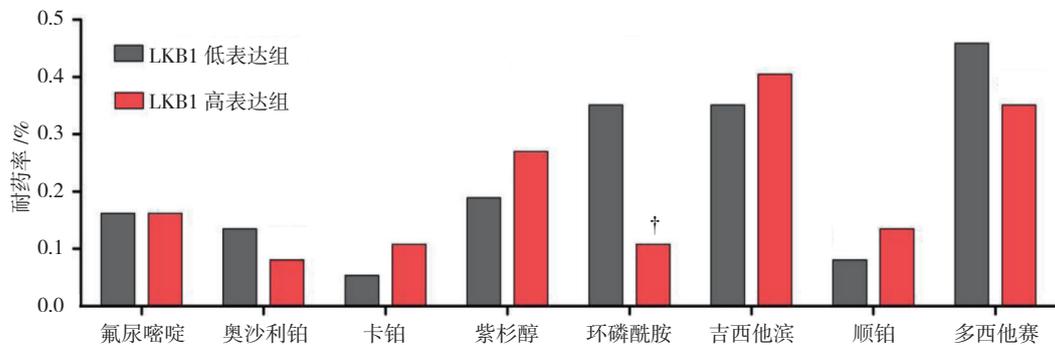


图 3 NPC 组织对化疗药物的敏感性比较



† 与 LKB1 低表达组比较, P < 0.05

图 4 NPC 组织 LKB1 表达水平与化疗药物耐受率的关系

2.5 NPC 组织 LKB1 表达水平与预后的关系

LKB1 低表达组患者的转移和复发率 (45.95%) 与高表达组 (40.54%) 比较, 经 χ^2 检验, 差异无统计学意义 ($\chi^2=0.220, P=0.639$) (见图 5)。LKB1 低表达组的死亡率为 40.54%, LKB1 高表达组为 18.92%, 经 χ^2 检验, 差异有统计学意义 ($\chi^2=4.140, P=0.042$), LKB1 低表达组高于高表达组 (见图 6)。

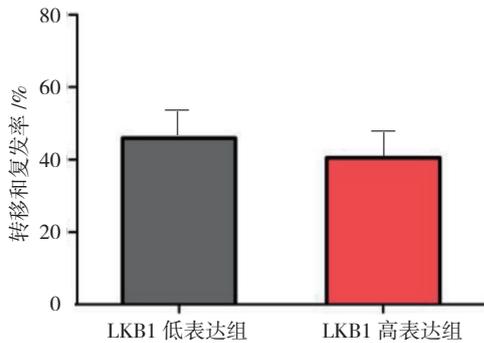


图 5 两组患者的转移和复发率比较 ($\bar{x} \pm s$)

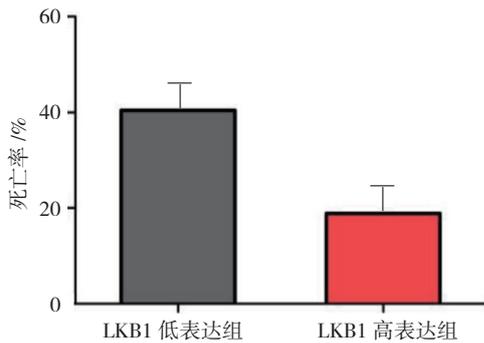


图 6 两组患者的死亡率比较 ($\bar{x} \pm s$)

LKB1 低表达组患者的无进展生存率与高表达组比较, 经 Log-rank χ^2 检验, 差异无统计学意义 ($\chi^2=1.644, P=0.200$) (见图 7)。两组患者的总生存率比较, 经 Log-rank χ^2 检验, 差异有统计学意义 ($\chi^2=5.385, P=0.020$), LKB1 低表达组低于高表达组 (见图 8)。

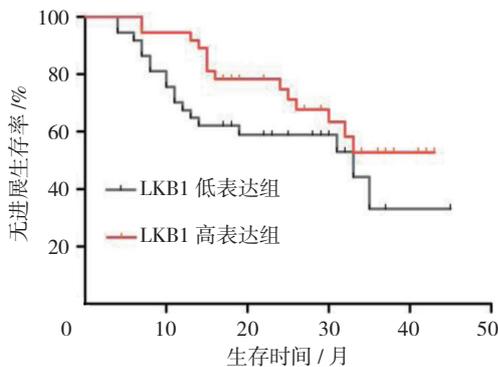


图 7 两组患者的无进展生存率比较 ($\bar{x} \pm s$)

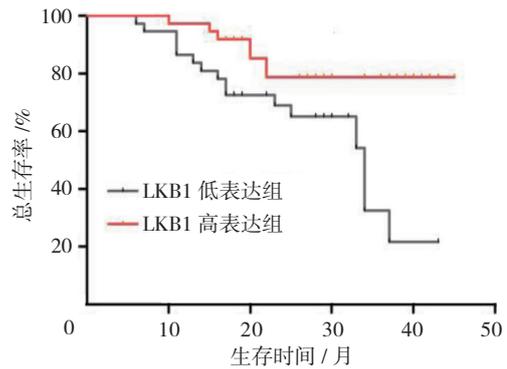


图 8 两组患者的总生存率比较 ($\bar{x} \pm s$)

3 讨论

NPC 是我国常见的头颈部恶性肿瘤之一, 恶性程度高, 早期易发生淋巴结转移。目前采用以放疗为主的综合治疗, 放化疗与单纯放疗后的 5 年生存率分别为 95% 和 86%^[4-6], 故放化疗在多数治疗中可取得较好的疗效, 并逐渐成为主要治疗方案^[5]。但仍然存在治疗失败, 其中对化疗药物的耐药是治疗失败的重要原因之一。因此, 寻找增加化疗敏感性的标志物, 对提高 NPC 的预后具有重要的意义。

LKB1 基因为一种抑癌基因, 通过原位杂交技术检测发现几乎在人体的所有组织中有 LKB1 mRNA 的表达^[6]。近年研究表明, LKB1 在多种恶性肿瘤中存在缺失或突变, 参与多种肿瘤的发生、发展及转归。LKB1/AMPK 信号通路能调控肿瘤细胞的 G1 期, 阻滞细胞周期, 影响肿瘤细胞的生长^[7]。有学者证实, 激活 AMPK 的表达能够提高膀胱癌对化疗药物的敏感性^[8]。在非小细胞肺癌中, LKB1 通过下调 mTOR 等的表达, 增加对化疗药物顺铂的敏感性^[9]。与此类似, LKB1 可促进卵巢癌细胞 SIK1 表达, 明显抑制其细胞的生长、侵袭, 促进细胞的凋亡。进一步研究发现, 采用 siRNA 干扰技术敲除卵巢癌细胞中 LKB1 表达, 能提高转化生长因子- β 和 EMT 的表达, 进一步降低卵巢癌细胞对化疗的敏感性; 同样, 构建重组质粒使 LKB1 过表达, 能增加化疗敏感性, 显著地抑制细胞的侵袭和转移^[10]。然而, LKB1 在 NPC 组织中的表达及与化疗敏感性关系的研究则鲜有报道。

本实验通过免疫组织化学法对 74 例 NPC 组织中 LKB1 的表达进行检测, 发现 LKB1 蛋白在细胞核和细胞质中均有表达, LKB1 高、低表达组间性别比较有差异, 而两组其他临床因素比较无差异; LKB1 低表达组的死亡率高于高表达组, LKB1 低表达组的总

生存率低于高表达组,但两组患者肿瘤复发和转移率、无进展生存率无差异。该结果与唐亮等^[11]的研究不完全一致,可能是因为选择 NPC 标本的差异及随访时间不同等。本实验主要研究 LKB1 在 NPC 组织中高、低两组表达的情况,以及与临床因素、化疗药物敏感性 & 预后的关系。程忠强等^[12]的研究证明,鼻咽黏膜慢性炎症组织中 LKB1 的表达水平高于 NPC 组织,所以本实验未选取鼻咽黏膜慢性炎症组织作为对照组。

本实验发现,74 例 NPC 组织细胞对临床上常用的 8 种化疗药物(氟尿嘧啶、奥沙利铂、卡铂、紫杉醇、环磷酰胺、吉西他滨、顺铂和多西他赛)均敏感,其中对铂类化疗药物最敏感,与 2017 年 NCCN 指南中放疗方案中常用铂类药物对应^[13]。进一步将研究的 NPC 组织分成 LKB1 高、低表达组,比较两组间 8 种化疗药物敏感性的差异,发现 LKB1 表达差异只与环磷酰胺敏感性有关,与余下 7 种化疗药物无关,并且与 LKB1 高表达 NPC 患者比较,LKB1 低表达 NPC 患者死亡率增加,总生存率降低,可能与 LKB1 调控及抑制化疗药物的敏感性有关。环磷酰胺是烷化剂类中的一种细胞周期非特异性抗肿瘤药物,不仅能作用于肿瘤细胞周期,调控细胞的凋亡,而且还能通过下调 VEGF,参与抗血管生成的作用^[14-15]。LKB1 可通过激活 AMPK,下调 mTOR 表达,抑制肿瘤细胞的增殖和生长^[16]。而 CEJKA 等^[17]研究发现,采用 mTOR 抑制剂依维莫司,可以增加化疗药物烷化剂环磷酰胺的敏感性。因此,推测低表达 LKB1 可能通过抑制 AMPK/mTOR 信号通路导致 NPC 对环磷酰胺耐药。LKB1 能否作为临床上 NPC 患者提高环磷酰胺治疗敏感性的分子靶点及其具体机制,尚待进一步研究。

本实验通过检测 LKB1 蛋白在 NPC 中的表达,分析 LKB1 表达与 NPC 患者临床病理因素、化疗敏感性 & 预后的关系,初步证实 LKB1 在 NPC 中的低表达降低了患者总生存率,并导致对环磷酰胺耐药,但具体调节的机制有待进一步研究。

参 考 文 献:

- [1] TRONCONE M, CARGNELLI S M, VILLANI L A, et al. Targeting metabolism and AMP-activated kinase with metformin to sensitize non-small cell lung cancer (NSCLC) to cytotoxic therapy: translational biology and rationale for current clinical trials[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(34): 57733-57754.
- [2] BONANNO L, de PAOLI A, ZULATO E, et al. LKB1 expression correlates with increased survival in patients with advanced non-small cell lung cancer treated with chemotherapy and bevacizumab[J]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23(13): 3316-3324.
- [3] KURBACHER C M, CREE I A, BRUCKNER H W, et al. Use of an ex vivo ATP luminescence assay to direct chemotherapy for recurrent ovarian cancer[J]. *Anticancer Drugs*, 1998, 9(1): 51-57.
- [4] LEE A W, MA B B, NG W T, et al. Management of nasopharyngeal carcinoma: current practice and future perspective[J]. *J Clin Oncol*, 2015, 33(29): 3356-3364.
- [5] PAN D, ZHU S Y, XU Y B, et al. Sonographic findings of nasopharyngeal carcinoma and its involvement in the parapharyngeal space[J]. *J Ultrasound Med*, 2013, 32(6): 1041-1047.
- [6] ROWAN A, BATAILLE V, MACKIE R, et al. Somatic mutations in the Peutz-Jeghers (LKB1/STK2) gene in sporadic malignant melanomas[J]. *J Invest Dermatol*, 1999, 112(4): 509-511.
- [7] LIANG X, WANG P, GAO Q, et al. Exogenous activation of LKB1/AMPK signaling induces G₁ arrest in cells with endogenous LKB1 expression[J]. *Mol Med Rep*, 2014, 9(3): 1019-1024.
- [8] SU Q, TAO T, TANG L, et al. Down-regulation of PKM2 enhances anticancer efficiency of THP on bladder cancer[J]. *J Cell Mol Med*, 2018, 22(5): 2774-2790.
- [9] OU W, YE S, YANG W, et al. Enhanced antitumor effect of cisplatin in human NSCLC cells by tumor suppressor LKB1[J]. *Cancer Gene Ther*, 2012, 19(7): 489-498.
- [10] LI J, LIU J, LI P, et al. Loss of LKB1 disrupts breast epithelial cell polarity and promotes breast cancer metastasis and invasion[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2014, 33(1): 70.
- [11] 唐亮, 苏赓. 鼻咽未分化癌患者 LKB1 表达及其在放疗中应用价值[J]. *中华实用诊断与治疗杂志*, 2015, 29(8): 782-783.
- [12] 程忠强, 王伟, 强化龙, 等. LKB1 及 VEGF-C 在鼻咽癌中的表达及意义[J]. *浙江医学*, 2014, 36(15): 1314-1316.
- [13] ADELSTEIN D, GILLISON M L, PFISTER D G, et al. NCCN guidelines insights: head and neck cancers, version 2 2017[J]. *J Natl Compr Canc Netw*, 2017, 15(6): 761-770.
- [14] 王玮瑶, 沈楠, 张以忠, 等. 环磷酰胺对胶质瘤体内生长的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2015, 35(24): 7011-7012.
- [15] ZHANG W, DING Y, ZHANG C, et al. Deletion of endothelial cell-specific liver kinase B1 increases angiogenesis and tumor growth via vascular endothelial growth factor[J]. *Oncogene*, 2017, 36(30): 4277-4287.
- [16] YAN Y, DU C, LI G, et al. CO suppresses prostate cancer cell growth by directly targeting LKB1/AMPK/mTOR pathway in vitro and in vivo[J]. *Urol Oncol*, 2018, 36(6): 312.e1-312.e8.
- [17] CEJKA D, PREUSSER M, FUEREDER T, et al. mTOR inhibition sensitizes gastric cancer to alkylating chemotherapy in vivo[J]. *Anticancer Res*, 2008, 28(6A): 3801-3808.

(董颖丹 编辑)