

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2016.16.006

文章编号: 1005-8982(2016)16-0029-06

论著

下调肌动蛋白丝相关蛋白 1 相似蛋白 2 表达 对人肝癌 Hep3B 细胞增殖及凋亡的影响

陆林, 白光, 李东生

(锦州医科大学附属第一医院 普外科, 辽宁 锦州 121000)

摘要: **目的** 观察肌动蛋白丝相关蛋白 1 相似蛋白 2 在人肝细胞癌细胞中的表达及下调后对增殖生存的影响并探讨其机制。**方法** 以蛋白免疫印迹法(Western blot)及实时定量逆转录聚合酶链反应法(qRT-PCR)检测肝细胞癌细胞株中肌动蛋白丝相关蛋白 1 相似蛋白 2 表达,并采用小干扰 RNA 转染 Hep3B 细胞株对肌动蛋白丝相关蛋白 1 相似蛋白 2 表达进行下调,Western blot 和 qRT-PCR 检测转染效率、增殖凋亡相关基因表达;甲基噻唑基四唑检测细胞增殖,流式细胞术检测细胞周期及凋亡。**结果** 肌动蛋白丝相关蛋白 1 相似蛋白 2 蛋白及 mRNA 在肝癌细胞株 Hep3B、Huh7、HepG2、MHCC97H 中均有表达,在 Hep3B 细胞株中表达量最高($F=5.742, P<0.01$; $F=3.452, P<0.05$);与空白对照(siNC)组比较,si 肌动蛋白丝相关蛋白 1 相似蛋白 2 组中 P-P21 及磷酸化的蛋白激酶 B 蛋白表达下调($t=8.462, P<0.01$; $t=9.742, P<0.01$),P21、蛋白激酶 B 及 Cleaved Capase-9 蛋白表达上调($t=12.247, P<0.001$; $t=6.452, P<0.01$; $t=11.634, P<0.001$; $t=12.273, P<0.001$);与 siNC 组比较,在 72 h 和 96 h, si 肌动蛋白丝相关蛋白 1 相似蛋白 2 表达下调后 Hep3B 细胞增殖能力下降($t=8.176, P<0.01$; $t=2.246, P<0.05$), Hep3B 停留在 G₁ 期比例增高, G₂ 及 S 期比例减少($t=4.23, P<0.05$; $t=2.13, P<0.05$; $t=5.72, P<0.05$), 凋亡率升高($t=8.633, P<0.01$)。**结论** 下调肌动蛋白丝相关蛋白 1 相似蛋白 2 表达通过 P21 磷酸化及磷脂酰肌醇 3 激酶/蛋白激酶 B 信号通路抑制肝细胞癌细胞增殖及生存,可作为肝细胞癌治疗的靶向候选基因。

关键词: 肝细胞癌;肌动蛋白丝相关蛋白 1 相似蛋白 2;增殖;凋亡

中图分类号: R657.3

文献标识码: A

Actin filament-associated protein 1-like 2 influence proliferation and apoptosis of human hepatocellular cancer cell Hep3B

Lin Lu, Guang Bai, Dong-sheng Li

(Department of General Surgery, the First Affiliated Hospital of Jinzhou Medical University,
Jinzhou, Liaoning 121000, China)

Abstract: **Objective** To observe the expression of XB130 in human hepatocellular cells and the effect of XB130 down-regulating on proliferation and survival. **Methods** Expression of XB130 in human hepatocellular carcinoma cell-lines was detected by Western blot and (qRT)-PCR. Small interfere RNA (siRNA) was transfected into Hep3B cell to down-regulate XB130 expression and interfering effect, and proliferation and survival related gene was detected by Western blot and (qRT)-PCR. Proliferation, cell cycle and apoptosis were detected by MTT and flow cytometry. **Results** XB130 protein and RNA was expressed in Hep3B, Huh7, HepG2 and MHCC97H cells, highest in Hep3B cell ($F=5.742, P<0.01$; $F=3.452, P<0.05$); Compared with siNC group, p-p21 and p-Akt protein in siXB130 group was lower ($t=8.462, P<0.01$; $t=9.742, P<0.01$), p21, Akt, Cleaved Capase-8 and Cleaved Capase-9 protein was higher ($t=12.247, P<0.01$; $t=6.452, P<0.01$; $t=11.634, P<0.01$; $t=12.273, P<0.01$);

收稿日期: 2016-01-25

[通信作者] 陆林, E-mail: LLin70@163.com

Compared with siNC group, at 72 h and 96 h, proliferation of Hep3B cells was decreased ($t = 8.176, P < 0.01$; $t = 2.246, P < 0.05$), more Hep3B cells stayed at G1 phase, less stayed at G2 and S phase ($t = 4.23, P < 0.05$; $t = 2.13, P < 0.05$; $t = 5.72, P < 0.05$), apoptosis rate was increased ($t = 8.633, P < 0.01$). **Conclusions** siXB130 down-regulating inhibits apoptosis and survival via p-21 phosphorylation and PI3K/Akt signal pathway in hepatocellular carcinoma cells and may be a target candidate for hepatocellular carcinoma therapy.

Keywords: hepatocellular carcinoma; Actin filament-associated protein 1-like 2; proliferation; apoptosis

肝细胞癌以发现晚,对放疗及化疗不敏感、进展迅速、术后复发率高及预后差为特点^[1]。肝细胞癌恶性行为以肿瘤增殖活跃,凋亡减缓,血管受侵为主要进展方式^[2]。大部分患者在首次确诊时不能进行根治性手术^[3]。而且一部分患者因肝硬化、重度肝功能不良不能耐受手术治疗,对中期或进展期肝细胞癌及不能手术肝细胞癌目前以索拉非尼为代表的靶向治疗为主要方式,但是多项研究表明,一大部分肝细胞癌患者并未从索拉非尼靶向治疗中获益,对新的靶基因及治疗靶点的探索仍然是肝细胞癌治疗的方向^[4]。磷脂酰肌醇 3 激酶 / 蛋白激酶 B(phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B,PI3K/Akt)是肝癌细胞增殖凋亡等恶性行为的重要信号通路^[5],肌动蛋白丝相关蛋白 1 相似蛋白 2 (actin filament-associated protein 1-like 2,XB130)是 PI3K/Akt 的上游调控基因,有研究显示,XB130 在胃癌、甲状腺癌及结肠癌细胞中通过 P21 磷酸化调控 PI3K/Akt 信号通路影响细胞增殖及凋亡等行为^[6],但在肝细胞癌中没有相关研究。本研究小干扰 RNA (small interfering RNA,siRNA)下调 XB130 表达,观察肝癌细胞株增殖及生存变化,并探讨其机制,为肝细胞癌诊断及治疗提供靶向候选基因。

1 材料与方法

1.1 材料

肝癌细胞株 Hep3B、Huh7、HepG2、MHCC97H 购自中科院上海细胞库,培养条件:90% MEM 培养基,10% 优质胎牛血清,95% 空气,5% 二氧化碳,37℃。取对数生长期的细胞进行实验。siXB130 和空载 (siNC) 质粒大连宝生物工程有限公司设计并合成,XB130、P-P21、P21、P-P27、P53、磷酸化的蛋白激酶 B (phosphor-protein kinase B,P-Akt)、Akt、Pro Capase-8、Cleaved Capase-8、Pro Capase-9、Cleaved Capase-9、 β -actin 抗体购自北京中杉金桥生物制品有限公司,2,2'-联喹啉-4,4'-二甲酸二钠(bicinchoninic acid,BCA)蛋白定量试剂盒及电化学发光 (Electrochemiluminescence,ECL)购自日本 Takara 公

司,实时定量逆转录聚合酶链反应法(qRT-PCR)逆转录试剂盒、miRNA 提取分离试剂盒、qRT-PCR 逆转录试剂盒购自立陶宛 Fermentas 公司。Lipo2000 试剂盒购自南京凯基生物公司。噻唑蓝 [3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2-H-tetrazolium bromide,MTT]及磷脂酰丝氨酸外翻分析-荧光素 / 碘化丙啶 (Annexin V-FITC/Propidium Iodide,Annexin V-FITC/PI) 试剂盒购自美国 Invitrogen 公司。引物由宁波康贝生化有限公司设计合成,见表 1。实验分为 siXB130 转染组 (siXB130),空白对照组 (siNC) 及未转染组 (MOCK 组)。

表 1 qRT-PCR 引物序列

组别	引物序列
XB130	正义:5'-CGGACTCAGACUCU-TGCCUTU-3'
	反义:5'-CUGUAGCTUACCGGTTGUUCG-3'
siNC	正义:5'-CTCTTCCGCCTAUCGTCCAG-3'
	反义:5'-CCAGGUTCACCGGUTGCA-3'

1.2 研究方法

1.2.1 蛋白免疫印迹法 (Western blot) 依据蛋白提取试剂盒说明书应用蛋白裂解液对细胞进行裂解,提取总蛋白,BCA 试剂盒定量蛋白浓度为 25 mg/ml,稀释终浓度为 0.5 mg/ml,配制 BCA 工作试剂,取 60 μ g 蛋白加上样缓冲液混合,煮沸蛋白变性,每条泳道上样蛋白 60 μ g,进行 12% 十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳,80 V 电压下电泳 90 min,转移到聚偏二氟乙烯膜。5% 脱脂奶粉封闭,加一抗后封膜,孵育过夜。TBST 洗膜后加入二抗,室温摇床上孵育时间 2 h,TBST 清洗,ECL 发光显像,对灰度值定量分析, β -actin 为内参照组。

1.2.2 qRT-PCR 依照试剂盒说明书分离并纯化细胞总 RNA,稀释 RNA 样本浓度至 1 g/L,按逆转录-扩增试剂盒说明书对 RNA 进行逆转录和扩增。按照 miRNA 提取分离试剂盒说明书检测总 RNA 完整性并计算 RNA 浓度及纯度。甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase,GAPDH) 为内参照 qRT-PCR 反应条件:95℃ 预变性 5 min,

95℃变性 30 s,56℃退火 30 s,72℃延伸 1 min,共 35 个循环,72℃下再延伸 5 min。得到溶解曲线后采用 $\Delta\Delta Ct$ 法分析结果。

1.2.3 siXB130 及 siNC 转染 Hep3B 转染前 24 h 取对数生长期 Hep3B 细胞消化成单细胞悬液,以 20×10^4 孔接种至 24 孔板中,对融合高于 70% 的细胞株依照 Lipo 2000 说明书步骤进行转染,转染后改为含 10% 胎牛血清培养基继续培养,48 h 后以 Western blot 及 qRT-PCR 检测转染效率。

1.2.4 MTT 法检测转染后 Hep3B 增殖 按 MTT 试剂盒操作步骤,以 5×10^3 细胞 / 孔密度将各组细胞分别接种于 96 孔板,设立 3 个复孔,在培养 24 h、48、72 和 96 h 后,每孔加 5 mg/ml 浓度的 MTT 液 $2 \mu\text{l}$,温育 4 h 后弃上清液,加入二甲亚砜 $150 \mu\text{l}$ 后振荡溶解结晶,在酶联免疫检测仪上以 570 nm 波长光测定光吸收值,重复 3 次后计算平均值。

1.2.5 流式细胞仪检测细胞周期及凋亡 取转染 48 h 的细胞转移至 EP 管,预冷磷酸缓冲盐溶液 (phosphate buffer saline, PBS) 1 ml 洗涤后加 1 ml 的预冷 70% 乙醇混匀,4℃固定 24 h 后 $1\ 000\text{ g}$ 离心 5 min。弃上清液后预冷 PBS 1 ml 洗涤,以 PBS 重悬,一部分细胞加 0.5% PI $25 \mu\text{l}$ 、10 μl RNase A (10 mg/ml),4℃避光温浴后以流式细胞仪 488 nm 波长处测细胞周期。另一部分细胞依照 Annexin V-FITC/PI 试剂盒说明书步骤测定细胞凋亡。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 18.0 统计软件进行数据分析,计量资料用均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,进行方差分析,再用 LSD- t 进行两两比较,率的比较用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 siXB130 蛋白及 mRNA 在肝癌细胞株中的表达

Western blot 显示,siXB130 蛋白在肝癌细胞株 Hep3B、Huh7、HepG2、MHCC97H 的 siXB130/ β -actin 灰度比分别为 (0.613 ± 0.276) 、 (0.328 ± 0.146) 、 (0.436 ± 0.107) 和 (0.384 ± 0.118) ,在 Hep3B 细胞株中表达量最高 ($F=5.742, P < 0.01$)。见图 1A;qRT-PCR 显示,siXB130 mRNA 在肝癌细胞株 Hep3B、Huh7、HepG2、MHCC97H 中 siXB130/GAPDH 吸光度比分别为 (0.563 ± 0.124) 、 (0.307 ± 0.029) 、 (0.398 ± 0.036) 和 (0.325 ± 0.017) ,siXB130 mRNA 在 Hep3B 细胞的表达量最高 ($F=3.452, P < 0.05$)。见图 1B。选择表达

量高的 Hep3B 细胞进行 siRNA 转染。

2.2 Western blot 及 qRT-PCR 检测转染效率

Western blot 显示,MOCK 组、siNC 组及 siXB130 组的 siXB130/ β -actin 灰度比分别为 (0.572 ± 0.143) 、 (0.608 ± 0.117) 和 (0.124 ± 0.095) ,差异有统计学意义 ($F=7.259, P < 0.01$)。见图 2A;qRT-PCR 显示,MOCK 组、siNC 组及 siXB130 组 siXB130/GAPDH 吸光度比分别为 (0.427 ± 0.102) 、 (0.421 ± 0.099) 和 (0.485 ± 0.114) ,差异有统计学意义 ($F=6.437, P < 0.01$)。图 2B 转染效率佳,可进行下一步实验。

2.3 增殖相关基因蛋白水平表达

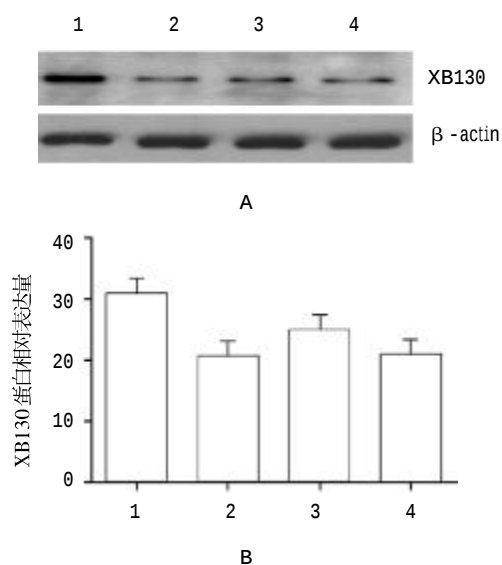
Western blot 显示,与 siNC 组比较,siXB130 组中 P-P21 及 P-Akt 蛋白表达下调 ($t=8.462, P < 0.01$; $t=9.742, P < 0.01$),P21 及 Akt 蛋白表达上调 ($t=12.247, P < 0.01$; $t=6.452, P < 0.01$),P-P27、P27 及 P53 蛋白表达无变化 ($t=1.783, P > 0.05$; $t=1.257, P > 0.05$; $t=1.479, P > 0.05$)。见图 3。

2.4 凋亡相关基因蛋白水平表达

Western blot 显示,与 siNC 组比较,siXB130 组中 Cleaved Capase-8 及 Cleaved Capase-9 蛋白表达上调 ($t=11.634, P < 0.001$; $t=12.273, P < 0.01$),Pro-Capase-8 及 Pro Capase-9 蛋白表达无变化 ($t=1.0913, P > 0.05$; $t=1.008, P > 0.05$)。见图 4。

2.5 MTT 检测 siXB130 干扰后 Hep3B 细胞增殖

MTT 显示,通过采集 Hep3B 细胞培养 0、24、48、72 和 96 h 时间点的生存率,siNC 组及 siXB130 组



1: Hep3B; 2: Huh7; 3: HepG2; 4: MHCC97H; A: Western blot; B: qRT-PCR

图 1 siXB130 蛋白及 mRNA 在肝癌细胞株中表达

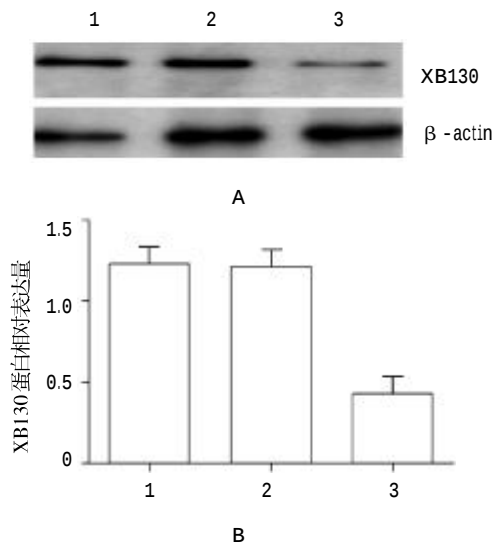
细胞生存率在 72 h: $(69.56 \pm 6.23)\%$ vs $(41.89 \pm 7.48)\%$ 及 96 h: $(80.92 \pm 2.66)\%$ vs $(46.83 \pm 2.09)\%$, 差异有统计学意义 ($t=8.176, P<0.01; t=2.246, P<0.05$), siXB130 表达下调后 Hep3B 细胞增殖能力下降。见图 5。

2.6 流式细胞术检测 siXB130 转染后 Hep3B 细胞周期变化

流式细胞术显示,转染 siXB130 的 Hep3B 停留在 G₁ 期比例增高, G₂ 及 S 期比例减少,与 siNC 组比较,差异有统计学意义 ($t=4.23, P<0.05; t=2.13, P<0.05; t=5.72, P<0.05$)。见表 2。

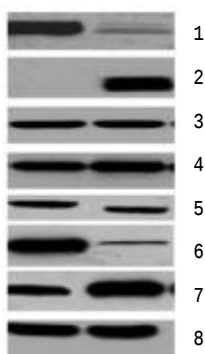
2.7 流式细胞术检测 siXB130 干扰后 Hep3B 细胞凋亡改变

siNC 组与 siXB130 组 Hep3B 细胞凋亡率分别为 15.63% 和 36.81%, 差异有统计学意义 ($t=8.633, P<0.01$)。见图 6。siXB130 表达下调后 Hep3B 细胞凋亡率升高。



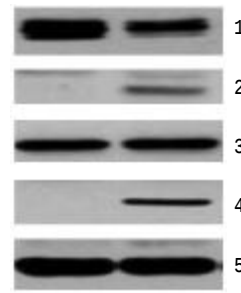
1: MOCK; 2: siNC 组; 3: siXB130; A: Western blot; B: qRT-PCR

图 2 siXB130 转染效率



1: P-P21; 2: P21; 3: P-P27; 4: P27; 5: P53; 6: P-Akt; 7: Akt; 8: β-actin

图 3 Western blot 检测转染后增殖相关基因表达



1: Pro Caspase-8; 2: Cleaved Caspase-8; 3: Pro Caspase-9; 4: Cleaved Caspase-9; 5: β-actin

图 4 Western blot 检测转染后凋亡相关基因表达

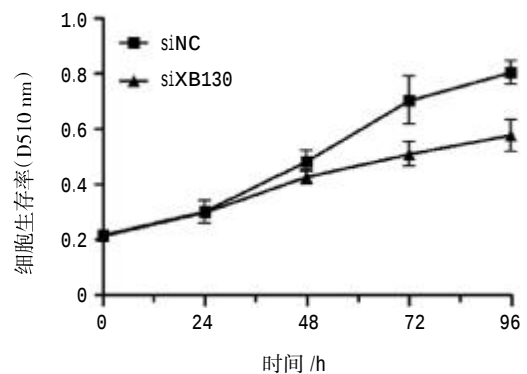
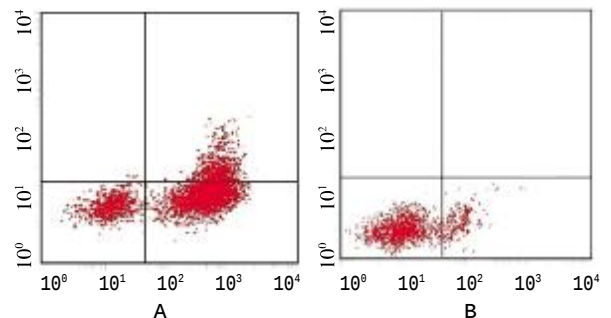


图 5 MTT 检测转染后 Hep3B 增殖

表 2 siXB130 干扰前后细胞周期比较 (% , $\bar{x} \pm s$)

组别	G ₁ 期	G ₂ 期	S 期
siNC 组	72.01 ± 2.49	13.54 ± 0.92	15.91 ± 1.28
siXB130 组	82.16 ± 1.48	9.27 ± 1.09	9.53 ± 1.74
t 值	4.23	2.13	5.72
P 值	0.036	0.041	0.027



A: siXB130; B: siNC

图 6 流式细胞术检测转染后 Hep3B 凋亡

3 讨论

肝癌在世界常见肿瘤中排名第 5 位, 病死率为第 3 位^[7]。目前, 治疗方式仍首选手术切除, 但大部分患者没有手术机会, 而且手术后复发率及转移率也较高^[8]。化疗和放疗对进展期肝癌的治疗有效率

也较低,化疗结合靶向治疗一定程度延长了患者的生存率,但是目前的靶向治疗只对一部分靶基因高表达患者有效,更多的靶点及靶向药物需要被确定及发现^[9-10]。有研究显示,XB130 在胃癌、甲状腺癌及肺癌等多种恶性肿瘤中表达上调,与肿瘤的不良预后相关,并对肿瘤细胞的增殖、凋亡、浸润及侵袭等行为具有调控作用^[11-12],但在肝细胞癌中没有相关研究。本研究目的在于观察 XB130 在肝细胞癌细胞中的表达及对增殖凋亡的作用,探讨其可能作用机制,为肝细胞癌诊断及治疗提供靶向候选基因及治疗靶点。

本研究显示,XB130 蛋白及 mRNA 在肝癌细胞株中均有表达,对 Hep3B 细胞中 XB130 表达进行干扰,效率满意,XB130 表达下调后,P-P21 及 P-Akt 蛋白及 mRNA 表达下调,P21、Akt、Cleaved Capase-8 及 Cleaved Capase-9 蛋白及 mRNA 表达上调。LODYGA 等^[13]研究显示,PI3K/Akt 是 XB130 下游通路,XB130 通过对 Akt 的磷酸化调节 PI3K/Akt 通路活性,调控肿瘤细胞周期及生存,Capase-8、Capase-9、P27、P21 及 P53 是 PI3K/Akt 信号瀑布的下游基因,P21、P27 及 P53 磷酸化后调控肿瘤细胞周期及增殖,Capase-8 及 Capase-9 的前体被激活后调控细胞凋亡。本研究显示,XB130 下调后对 PI3K/Akt 信号通路的调控是通过抑制 Akt 磷酸化,从而下游 P21 磷酸化减弱,Capase-8 及 Capase-9 裂解激活,实现对该通路的调控。而并不是通过 P27 及 P53 表达水平变化发挥调控作用。WANG^[14]研究显示,在肝细胞癌中,PI3K/Akt 信号通路通过调控下游多种效应因子活性,对基因转录、翻译、核糖体合成、DNA 损伤修复、细胞凋亡和生存等功能。Akt 上具有苏氨酸位点及丝氨酸位点,这 2 个位点磷酸化后 Akt 即被激活,进而调控 P21 磷酸化水平。P21 是细胞周期负向调节因子,在 G₁/S 期调控中,与 Cyclin-cdk 复合物相结合抑制 Rb 蛋白磷酸化,诱导细胞周期停滞^[15]。P21 表达缺失或下调可引起细胞过度增殖及癌变^[16]。XB130 通过 PI3K/Akt 通路调控 P21、Capase-8 及 Capase-9 表达,在肝细胞癌中可能作为靶点控制 P21 磷酸化水平^[17-18]。本研究在进一步细胞试验中发现,XB130 表达下调后,肝癌细胞 Hep3B 增殖能力下降,Hep3B 停留在 G₁ 期比例增高,G₂ 及 S 期比例减少,凋亡率升高,表明 P21 磷酸化下降及 Capase-8/Capase-9 裂解增加后,Hep3B 细胞增殖能力

明显下降,生存力减弱,XB130 通过调控 PI3K/Akt 信号通路中 Akt 磷酸化水平,进而对 P21 磷酸化、Capase-8 及 Capase-9 裂解进行了调控,影响细胞周期、增殖及凋亡行为。

肝癌作为消化系统恶性程度最高的恶性肿瘤之一,其发病及进展过程是多基因、多因素作用的结果^[19],PI3K/Akt 是肝癌发生及发展过程中最重要的信号通路之一^[20],本研究通过观察 XB130 表达下调后该通路相关基因的变化及细胞增殖生存的影响,得出如下结论:下调 XB130 表达通过 PI3K/Akt 信号通路抑制 P21 磷酸化,激活 Capase-8 及 Capase-9 裂解调控肝细胞癌细胞增殖及生存,可作为肝细胞癌预后分析及靶向治疗的候选基因,为进一步在体实验提供前期基础。

参 考 文 献:

- [1] UCHIYAMA H, MINAGAWA R, ITOH S, et al. Favorable outcomes of hepatectomy for ruptured hepatocellular carcinoma: retrospective analysis of primary resected patients[J]. *Anti-cancer Res*, 2016, 36(1): 379-385.
- [2] YEH J H, HUNG C H, WANG J H, et al. Modifiable prognostic factors of hepatocellular carcinoma in patients with non-surgical treatment[J]. *PLoS One*, 2015, 10(12): DOI: 10.1371/journal.pone.0144893.
- [3] CASACCIA M, SANTORI G, BOTTINO G, et al. The procedure outcome of laparoscopic resection for 'small' hepatocellular carcinoma is comparable to laparoscopic radiofrequency ablation[J]. *J Minim Access Surg*, 2015, 11(4): 231-235.
- [4] WADA Y, TAKAMI Y, TATEISHI M, et al. The efficacy of continued sorafenib treatment after radiologic confirmation of progressive disease in patients with advanced hepatocellular carcinoma[J]. *PLoS One*, 2016, 11(1): DOI: 10.1371/journal.pone.0146456.
- [5] TANG H, LI R P, LIANG P, et al. miR-125a inhibits the migration and invasion of liver cancer cells via suppression of the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway[J]. *Oncol Lett*, 2015, 10(2): 681-686.
- [6] SHIOZAKI A, LODYGA M, BAI X H, et al. XB130, a novel adaptor protein, promotes thyroid tumor growth[J]. *Am J Pathol*, 2011, 178(1): 391-401.
- [7] POURHOSEINGHOLI M A, VAHEDI M, BAGHESTANI A R. Burden of gastrointestinal cancer in Asia; an overview[J]. *Gastroenterol Hepatol Bed Bench*, 2015, 8(1): 19-27.
- [8] TAKAMOTO T, SUGAWARA Y, HASHIMOTO T, et al. Evaluating the current surgical strategies for hepatocellular carcinoma[J]. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*, 2015 10: 1-17.
- [9] KOBAYASHI A, KAIDO T, HAMAGUCHI Y, et al. Impact of postoperative changes in sarcopenic factors on outcomes after hepatectomy for hepatocellular carcinoma[J]. *J Hepatobiliary Pan-*

- creat Sci, 2016, 23(1): 57-64.
- [10] TORK O M, KHALEEL E F, ABDELMAQSUD O M. Altered cell to cell communication, autophagy and mitochondrial dysfunction in a model of hepatocellular carcinoma: potential protective effects of curcumin and stem cell therapy [J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2015, 16(18): 8271-8279.
- [11] SHIOZAKI A, LIU M. Roles of XB130, a novel adaptor protein, in cancer[J]. J Clin Bioinforma, 2011, 17(1): 10.
- [12] SHI M, ZHENG D, SUN L, et al. XB130 promotes proliferation and invasion of gastric cancer cells[J]. J Transl Med, 2014, 4 (12): DOI: 10.1186/1479-5876-12-1.
- [13] LODYGA M, DE FALCO V, BAI X H, et al. Xb130, a tissue-specific adaptor protein that couples the RET/PTC oncogenic kinase to PI 3-kinase pathway [J]. Oncogene, 2009, 28 (12): 937-949.
- [14] WANG X, HAN L, ZHANG J, et al. Down-Regulated NRSN2 promotes cell proliferation and survival through PI3K/Akt/mTOR pathway in hepatocellular carcinoma[J]. Dig Dis Sci, 2015, 60(10): 3011-3018.
- [15] QIN X Y, FUJII S, SHIMIZU A, et al. Carboxylic derivatives of vitamin K2 inhibit hepatocellular carcinoma cell growth through caspase/transglutaminase-related signaling pathways[J]. J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo), 2015, 61(4): 285-290.
- [16] TAKESHITA H, SHIOZAKI A, BAI X H, et al. XB130, a new adaptor protein, regulates expression of tumor suppressive micro RNAs in cancer cells[J]. PLoS One, 2013, 8(3): DOI: 10.1371/journal.pone.0059057.
- [17] SHIOZAKI A, SHEN-TU G, BAI X, et al. XB130 mediates cancer cell proliferation and survival through multiple signaling events downstream of Akt [J]. PLoS One, 2012, 7 (8): DOI: 10.1371/journal.pone.0043646.
- [18] PARK C, JEONG J S, JEONG J W, et al. Ethanol extract of kalopanax septemlobus leaf induces caspase-dependent apoptosis associated with activation of AMPK in human hepatocellular carcinoma cells[J]. Int J Oncol, 2016, 48(1): 261-270.
- [19] ZUO Q, HUANG H, SHI M, et al. Multivariate analysis of several molecular markers and clinicopathological features in post-operative prognosis of hepatocellular carcinoma [J]. Anat Rec (Hoboken), 2012, 295(3): 423-431.
- [20] ZHANG Y, ZHENG L, DING Y, et al. MiR-20a induces cell radioresistance by activating the PTEN/PI3K/Akt signaling pathway in hepatocellular carcinoma [J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2015, 92(5): 1132-1140.

(张蕾 编辑)