

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2019.05.004

探讨 As₂O₃ 诱导人胃癌 SGC-7901 细胞凋亡过程中 AKT 相关抗凋亡通路表达情况 *

马瑞金¹ 韩波^{1△} 杨宇² 林珊¹ 李瑛¹

(1 哈尔滨医科大学附属第一医院肿瘤二科 黑龙江哈尔滨 150001; 2 哈尔滨医科大学附属第二医院肿瘤科 黑龙江哈尔滨 150001)

摘要 目的:探讨三氧化二砷诱导胃癌细胞凋亡过程中,对 AKT 相关抗凋亡通路表达的影响。**方法:**分别用不同浓度(0 μmol/L、7.5 μmol/L、10 μmol/L、12.5 μmol/L 和 15 μmol/L)三氧化二砷(As₂O₃)溶液处理胃癌细胞 48 h,倒置显微镜观察细胞凋亡情况,并用 Western blot 方法检测 p70S6Kα、p-p70S6Kα、p70S6Kβ (S6 蛋白激酶 β, Ribosomal Protein S6 Kinase β)、p-p70S6Kβ、rpS6、p-rpS6、p-BAD、BAD、p-GSK3β、GSK3β 及 NF-κB2 等蛋白的表达情况与 As₂O₃ 作用浓度之间的关系。**结果:**随 As₂O₃ 作用细胞的浓度增大,p70S6Kα、p-p70S6Kα、p70S6Kβ、p-p70S6Kβ、p-BAD、p-GSK3β、NF-κB2 蛋白的表达减少,rpS6、p-rpS6、GSK3β 蛋白表达增多,各组间数据经统计学分析,P 值均 <0.05,具有统计学意义。BAD 蛋白的表达无明显改变,P>0.05。**结论:**As₂O₃ 诱导人胃癌 SGC-7901 细胞凋亡机制中包括 AKT 相关的多个抗凋亡途径的激活,AKT 在其中发挥重要作用。

关键词:三氧化二砷;胃肿瘤;细胞凋亡;蛋白激酶 B

中图分类号:R-33;R735.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2019)05-816-04

Explore the AKT Related Anti-apoptotic Pathways Expression in Arsenic Trioxide Induced Apoptosis of Human Gastric Cancer SGC-7901 Cells*

MA Rui-jin¹, HAN Bo^{1△}, YANG Yu², LIN Shan¹, LI Ying¹

(1 Department of Oncology The first Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang, 150001, China;

2 Department of Oncology The second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang, 150001, China)

ABSTRACT Objective: Explore the AKT related anti-apoptotic pathways expression in Arsenic trioxide induced apoptosis of human gastric cancer SGC-7901 cells. **Methods:** The gastric cancer cells were treated with different concentration (0 μmol/L, 7.5 μmol/L, 10 μmol/L, 12.5 μmol/L and 15 μmol/L) of As₂O₃ for 48 h. Cell apoptosis was observed by inverted microscope, the relationship between the expression of p70S6Kα, p-p70S6Kα, p70S6Kβ, p-p70S6Kβ, rpS6, p-rpS6, p-BAD, BAD, p-GSK3β, GSK3β, NF-κB2 and the concentration of As₂O₃ was detected by Western blot. **Results:** Using Western blot assay to detect protein level, we founded that the expression of p70S6Kα, p70S6Kβ, p-p70S6Kα, p-p70S6Kβ, p-BAD, p-GSK3β, NF-κB2 decreased, the expression of rpS6, p-rpS6, GSK3β expression increased, Statistical analysis of each group of data showed that the P value was <0.05, with statistical significance. The expression of BAD protein had no obvious change with the concentration of As₂O₃ cells increased, the P value was >0.05, with no statistical significance. **Conclusion:** As₂O₃ induces the activation of multiple anti-apoptotic pathways related to AKT in the apoptosis mechanism of human gastric cancer SGC-7901, and AKT plays an important role in it.

Key words: Arsenic trioxide; Stomach neoplasms; Apoptosis; AKT

Chinese Library Classification (CLC): R-33; R735.2 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2019)05-816-04

前言

人们对砷化合物的研究已经持续 2400 余年,砷及其衍生物被中国、希腊、罗马等历史记载具有治疗应用价值^[1-3],可作为多种疾病如溃疡、瘟疫、疟疾等的治疗药物^[4,5]。As₂O₃ 现已正式被美国食品药品监督管理局批准作为药物,应用于治疗复发或难治性急性早幼粒细胞白血病。随着医学的发展及人们的不断研究,As₂O₃ 在多种实体肿瘤中发挥抗肿瘤作用,如食道癌、肺癌、

乳腺癌、胃癌、肝癌等^[6-9]。近年,As₂O₃ 在胃癌治疗中的作用被广泛研究,As₂O₃ 在胃癌中发挥多种作用,As₂O₃ 可调控胃癌细胞周期,抑制胃癌细胞增殖^[10];通过抑制 VEGF 的表达抑制胃癌新生血管的形成^[11];通过降低 VEGF-C 及 VEGFR-3 的表达,减少胃癌淋巴管生成^[12];诱导胃癌细胞发生凋亡^[13]。As₂O₃ 诱导胃癌细胞发生凋亡是其发挥抗胃癌作用的主要方面。细胞凋亡是细胞的一种程序性死亡,受基因的调控。近年研究发现,细胞内不仅存在促凋亡途径,还存在抗凋亡途径。促凋亡途径的相关

* 基金项目:黑龙江省自然科学基金面上项目(H2016041)

作者简介:马瑞金(1989-),硕士研究生,住院医师,主要研究方向:胃癌细胞凋亡相关研究,电话:15004645312,E-mail: 834882315@qq.com

△ 通讯作者:韩波,硕士研究生导师,主要研究方向:实体瘤综合治疗相关研究,电话:0451-85555050,E-mail: Bohan1964@163.com

(收稿日期:2018-05-28 接受日期:2018-06-23)

研究已有很多,抗凋亡途径的研究近年逐渐成为人们的研究方向,而 PI3K/AKT 信号通路已被公认为是肿瘤细胞抗凋亡的主要机制之一,其中 AKT 在该通路中发挥核心作用,参与多个下游信号通路的调节。

截至目前的大量研究已经为我们证实 As_2O_3 可以显著抑制胃癌细胞增殖^[6-13],并可以促进胃癌细胞凋亡,但抑制抗凋亡通路表达的具体机制还不十分明确,已有研究证实 As_2O_3 诱导胃癌细胞发生凋亡的同时,可以下调 AKT/mTOR 通路的表达^[14-16],而 PI3K/AKT/mTOR 通路是报道较多的介导细胞抗凋亡的通路,AKT 又参与调控其下游多种凋亡相关分子的功能,因此针对 AKT/mTOR 通路的继续研究,及对 AKT 相关通路,如 AKT/mTOR/S6K、AKT/BAD、AKT/GSK3 β 、AKT/NF- κ B 等通路的研究,有助于进一步揭示 As_2O_3 诱导胃癌细胞凋亡的分子机制,探索胃癌治疗新方向。

1 材料和方法

1.1 细胞系

本实验选用人胃癌 SGC-7901 细胞系,其为中分化胃腺癌细胞,自哈尔滨医科大学营养与食品卫生学院获得。

1.2 主要试剂与仪器

三氧化二砷溶液(As_2O_3),购自哈尔滨医大药业,保存于 4℃ 环境中。RPMI-1640 培养基购于 Hyclone 公司,优级胎牛血清购于杭州四季青生物工程材料有限公司。鼠抗 β -Actin 单克隆抗体、辣根标记抗兔 IgG 抗体、辣根标记抗鼠 IgG 抗体购于美国 Santa Cruz 公司,兔抗 p70S6K α 多克隆抗体、兔抗 p-p70S6K α 多克隆抗体、兔抗 p70S6K β 多克隆抗体、兔抗 p-p70S6K β 多克隆抗体、兔抗 rpS6 多克隆抗体、兔抗 p-rpS6 多克隆抗体、兔抗 BAD 多克隆抗体、兔抗 GSK3 β 多克隆抗体、兔抗 p-GSK3 β 多克隆抗体均购于美国 ImmunoWay 公司,兔抗 p-BAD 多克隆抗体、兔抗 NF- κ B2 多克隆抗体购于 Life Science Products& Services 公司。

电泳仪购自北京六一仪器厂,全自动凝胶成像分析系统购自上海立申科技仪器有限公司。

1.3 细胞培养

将胎牛血清与 RPMI-1640 按体积为 1:9 混合,配置成含 10%胎牛血清的 RPMI-1640 培养液。使用该培养基培养胃癌 SGC-7901 细胞,并放于 5% CO_2 ,37℃ 恒温条件下培养,可每日换液,亦可隔日换液。当细胞生长至约覆盖培养瓶底部 80%时可传代。

1.4 细胞用药处理

配置含 2%胎牛血清的 RPMI-1640 培养液,用其稀释 As_2O_3 原液,分别稀释得 7.5 μ mol/L、10 μ mol/L、12.5 μ mol/L 和 15 μ mol/L 的药物溶液,注意使用前配置,并在避光情况下操作。 As_2O_3 原液避光 4℃ 环境保存。取生长状态良好的细胞均匀接种于培养瓶中,使瓶细胞数量大致相同,待细胞生长至密度为 80%左右时,弃原培养液,不同编号培养瓶细胞分别加入不同浓度药物溶液,空白对照组用含 2%胎牛血清的 RPMI-1640 的维持培养液处理,于恒温培养箱中,培养细胞 48 小时。

1.5 蛋白提取

细胞经不同浓度药物处理 48 小时后,分别收集细胞培养

瓶中的漂浮细胞及贴壁细胞,将细胞收集至 1.5 mL Eppendorf 管中,加入 300 μ L 预冷裂解液,吹打均匀,细胞裂解完成后进行充分离心,离心后吸上清液,得到蛋白溶液。吸取部分蛋白样测定蛋白浓度,剩余蛋白溶液中加入四分之一体积的与 5 $\times$ SDS 上样缓冲液,为了使蛋白充分变性,利于保存,沸水中煮 5 分钟,标记蛋白名称及日期,-20℃ 保存待用。

1.6 Western blot 检测蛋白表达

使用 5%脱脂奶粉作为封闭液,配制 SDS-PAGE 凝胶,不同分子量目的蛋白选择分离胶的浓度不同,使目的蛋白达到最佳分离效果。将分离胶按照所需比例配置好后,迅速加至制胶架玻璃板内,加完后用无水乙醇封闭,静置,待胶完全凝后配置浓缩胶,小心倒掉无水乙醇,迅速将浓缩胶灌入,并快速插入梳子,避免产生气泡,静置待胶凝固后使用。将电泳槽中加入足量 1 $\times$ 电泳缓冲液,上样前将蛋白样煮沸 5 分钟,分别加入蛋白 Marker 及蛋白检测样,蛋白按照等质量上样,上样完成后接通电源,电泳过程中,电压相对恒定不变,蛋白处于浓缩胶时,电压为 80 V,当蛋白电泳至分离胶时,电压改为 120 V。当溴酚兰电泳至玻璃板底部是,终止电泳,进行转膜。完成转膜后,放入配置好的一抗溶液内,4℃ 过夜。根据一抗来源选择鼠二抗或兔二抗,采用 ECL 曝光法于暗室进行显影,曝光后,将胶片放入显影液中显影,待出现清晰蛋白条带后,放入定影液中定影,最后取出晾干,并利用凝胶成像系统进行分析。

1.7 统计学分析

使用 SPSS 17.0 统计软件进行统计学分析,各组数据以 $\pm$ SD 表示,采用方差分析,组间差异比较利用 t 检验(P 值 <0.05,具有统计学意义)。

2 结果

2.1 不同浓度 As_2O_3 对 AKT/mTOR/S6K 信号通路抗凋亡通路相关蛋白的表达的影响

分别使用不同浓度 As_2O_3 溶液作用细胞 48 小时后,Western blot 法检测下游蛋白 p70S6K α 、p-p70S6K α 、p70S6K β 、p-p70S6K β 、rpS6、p-rpS6 表达,结果如图 1 所示随着药物浓度增加,p70S6K α 、p-p70S6K α 、p70S6K β 、p-p70S6K β 表达下调,并呈浓度依赖性;而 rpS6、p-rpS6 随着药物浓度的增加表达上调。

2.2 不同浓度 As_2O_3 对 AKT/BAD 信号通路的影响

分别使用不同浓度 As_2O_3 溶液作用细胞 48 小时后,Western blot 法检测下游蛋白 BAD、p-BAD 表达,结果如图 2 显示,随着药物浓度增加,p-BAD 表达下调,BAD 的表达无明显变化。

2.3 不同浓度 As_2O_3 对 AKT/GSK3 β 信号通路的影响

分别使用不同浓度 As_2O_3 溶液作用细胞 48 小时后,Western blot 法检测下游蛋白 p-GSK3 β 、GSK3 β 表达,结果如图 3 显示随着药物浓度增加,p-GSK3 β 表达下调,GSK3 β 随着药物浓度的增加表达上调。

2.4 不同浓度 As_2O_3 对 AKT/NF- κ B 信号通路的影响

分别使用不同浓度 As_2O_3 溶液作用细胞 48 小时后,Western blot 法检测下游蛋白 NF- κ B2 表达,结果如图 4 显示,随着药物浓度增加,NF- κ B2 表达下调,并呈浓度依赖性。

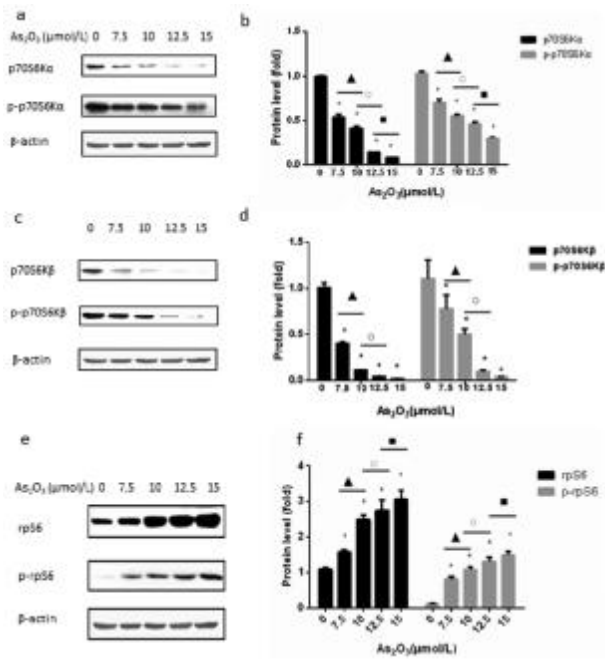


图1 不同浓度的 As_2O_3 溶液处理细胞48 h后 AKT/mTOR/S6K 通路蛋白表达情况

Fig.1 Effect of arsenic trioxide on the protein expression of AKT/mTOR/S6K passway at different doses for 48 h in cells

Note: Data were expressed as $\bar{x} \pm SD$, * $P < 0.05$, compared with group 0;

▲ $P < 0.05$, group 7.5 compared with group 10; ○ $P < 0.05$, group 10 compared with group 12.5; ■ $P < 0.05$, group 12.5 compared with group 15.

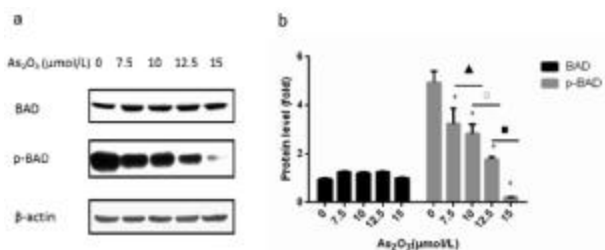


图2 不同浓度的 As_2O_3 溶液处理细胞48 h后 AKT/BAD 通路蛋白表达情况

Fig.2 Effect of arsenic trioxide on the protein expression of AKT/BAD passway at different doses for 48 h in cells

Note: Data were expressed as $\bar{x} \pm SD$, * $P < 0.05$, compared with group 0;

▲ $P < 0.05$, group 7.5 compared with group 10; ○ $P < 0.05$, group 10 compared with group 12.5; ■ $P < 0.05$, group 12.5 compared with group 15.

3 讨论

As_2O_3 诱导胃癌细胞凋亡的研究已有很多,课题组前期实验已经证实 As_2O_3 可以激活促凋亡途径的表达,同时 As_2O_3 可以下调 AKT 及 mTOR 的表达,说明 As_2O_3 诱导胃癌细胞凋亡的机制中包括抑制抗凋亡通路的表达。本文继续验证了 As_2O_3 对 mTOR 下游蛋白表达的影响,及对 AKT 下游其他通路的影响,证明 As_2O_3 可能通过抑制 AKT 的表达,从而影响其他 AKT 下游通路的表达,AKT 可能作为胃癌细胞抗凋亡途径的核心部分。

磷脂酰肌醇 3- 激酶 (Phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K), 有三个亚型,肿瘤的形成与 I 型 PI3K 有着密切的关系^[17]。I A

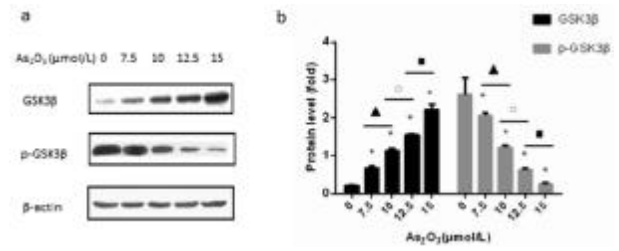


图3 不同浓度的 As_2O_3 溶液处理细胞48 h后 AKT/GSK3β 通路蛋白表达情况

Fig.3 Effect of arsenic trioxide on the protein expression of AKT/GSK3β passway at different doses for 48 h in cells

Note: Data were expressed as $\pm SD$, * $P < 0.05$, compared with group 0;

▲ $P < 0.05$, group 7.5 compared with group 10; ○ $P < 0.05$, group 10 compared with group 12.5; ■ $P < 0.05$, group 12.5 compared with group 15.

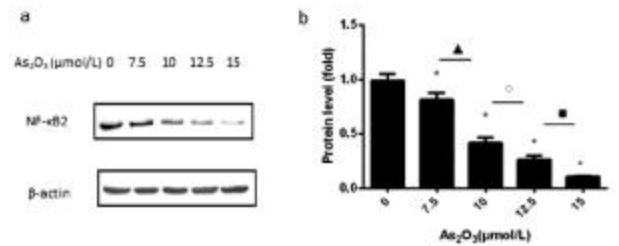


图4 不同浓度的 As_2O_3 溶液处理细胞48 h后 AKT/NF-κB 通路蛋白表达情况

Fig.4 Effect of arsenic trioxide on the protein expression of AKT/NF-κB passway at different doses for 48 h in cells

Note: Data were expressed as $\pm SD$, * $P < 0.05$, compared with group 0;

▲ $P < 0.05$, group 7.5 compared with group 10; ○ $P < 0.05$, group 10 compared with group 12.5; ■ $P < 0.05$, group 12.5 compared with group 15.

型 PI3K 是催化亚基 p110 与调节亚基 p85 组成的异二聚体,可以被受体酪氨酸激酶(Receptor tyrosine kinases, RTK), G 蛋白偶联受体和一些致癌基因激活。PI3K 被激活后,可以磷酸化磷脂酰肌醇二磷酸 (Phosphatidylinositol4, 5-bisphosphate, PI (4,5)P₂),使其转化为磷脂酰肌醇三磷酸(Phosphatidylinositol3, 4,5-trisphosphate, PI(3,4,5)P₃)^[18]。PIP₃ 可与细胞内同源结构蛋白结合,如 PDK1 和 AKT,并将它们募集到细胞膜,这一过程受抑癌基因 PTEN 和 INPP4B 的负性调控。AKT 的 Ser308 位点和 Thr473 位点都被磷酸化后,AKT 被激活。AKT 下游的主要效应器为 mTOR 复合物 1(mTORC1),调控其下游通路蛋白质的合成;mTOR 另一复合物 mTORC2,通过磷酸化 Thr473 位点激活 AKT^[19,20]。AKT 可通过磷酸化激活 mTOR, mTOR 又可通过磷酸化激活 S6K。S6K 已被证实有两个亚型(p70S6Kα 和 p70S6Kβ) 存在。mTOR/S6K 在肿瘤细胞中发挥多种作用。5' TOP mRNA 是一类 5' 末端普遍具有聚嘧啶序列的 mRNA, 5' TOP mRNA 可以编码和翻译延长因子、核糖体蛋白和 poly(A)-结合蛋白等。mTOR 可以通过磷酸化 S6K 促进 5' TOP mRNA 的选择性翻译,从而促进蛋白质的合成。mTOR/S6K 还参与调控细胞周期,雷帕霉素可抑制 T 淋巴细胞增殖,并可使其他细胞静止在 G1 期,促使纤维母细胞 G1-S 期转换延迟,这些机制都包含在其调控细胞生长的机制内^[21]。研究证实雷帕霉素对细胞周期方面的影响都是由于 S6K 的失活,而 S6K 可以调控细胞周期蛋白和细胞周期蛋白依赖性激酶的表达,雷帕霉素介导

的蛋白质合成抑制也与细胞周期蛋白 D1 和 p21 合成相关^[20]。因此 mTOR/S6K 可通过抑制蛋白质合成及调控细胞周期两方面影响细胞凋亡,本实验中,应用 As₂O₃ 处理胃癌细胞后,AKT、mTOR、S6K 及其活化形式表达均下降,表明 As₂O₃ 可能通过抑制 AKT/mTOR/S6K 通路的表达,抑制细胞蛋白质的合成及调控细胞周期,从而发挥抑制抗凋亡作用。rpS6 是 mTOR/S6K α 通路下游的主要效应蛋白之一,S6K 可磷酸化 rps6,磷酸化的 rpS6 参与一些 mRNA 的翻译调控。而在本实验中,As₂O₃ 处理细胞后,细胞内 S6K α 及 S6K β 表达下调,但 rpS6 及 p-rpS6 表达未下调,反而随着药物浓度的增加而上调,表明 S6K 在磷酸化 rpS6 过程中可能还存在其他机制,rpS6 的表达下调可能与细胞凋亡关系不大。有研究^[21]证实下调 rpS6 的表达可降低肿瘤细胞对 TRAIL 介导的细胞凋亡的敏感性, rpS6 在 TRAIL 诱导的肿瘤细胞凋亡中发挥促凋亡作用,而 S6K 发挥抗凋亡作用可能与磷酸化其他凋亡调控分子如 BAD 有关,而不是通过磷酸化 rpS6, rpS6 也只是 S6K 激活的目标分子之一。As₂O₃ 可通过抑制 AKT/mTOR/S6K 通路的表达来抑制细胞抗凋亡途径的表达,但并不是通过抑制 S6K/rpS6 通路, As₂O₃ 可上调 rpS6 及 p-rpS6 的表达, rpS6 可能参与其他促细胞凋亡途径发挥促凋亡作用。

BAD 作为 Bcl-2 家族的一员,是重要的促凋亡基因,编码 BAD 促凋亡蛋白,BAD 与 Bcl-2 和 Bcl-xL 形成二聚体,抑制 Bcl-2 和 Bcl-xL 抗凋亡的作用,而 AKT 磷酸化 BAD 后,使 BAD 与 Bcl-2 和 Bcl-xL 形成二聚体的能力减弱,从而增加了抗凋亡作用。本实验证实 As₂O₃ 可抑制 AKT 的表达,AKT 表达下调后,使 p-BAD 的表达下调,BAD 总蛋白无明显变化,AKT 对 BAD 的磷酸化作用减弱,恢复 BAD 的促凋亡功能。

GSK3 β 在肿瘤中发挥多种作用,有报道称 GSK3 β 的高表达与多种肿瘤的发生及发展呈正相关。GSK3 β 同时也参与细胞周期的调控,GSK3 β 可以通过磷酸化作用促使细胞周期蛋白 D1 降解,而细胞周期蛋白 D1 降解在细胞周期 G1/S 的转换中发挥重要作用^[17],也有研究发现 GSK3 β 可以诱导细胞促进凋亡相关的蛋白激酶的表达,如 Caspase 家族和 BAX 等^[23-25]。AKT 可以磷酸化 GSK3 β 的 Ser9 位点,抑制 GSK3 β 的活性。本实验证实了 As₂O₃ 处理细胞后,AKT 表达下调,p-GSK3 β 表达也下调,GSK3 β 表达上调,推测 As₂O₃ 可能通过抑制 AKT 的表达,降低 GSK3 β 的磷酸化,使 GSK3 β 可以调控细胞周期,介导细胞周期停滞或促进其他抗凋亡分子的表达,从而在促进细胞凋亡过程中发挥作用。

NF- κ B 作为一种核因子,已被证实在细胞中发挥抗凋亡的作用,其调控的基因产物在胃癌增殖、转移及化疗耐药中发挥重要作用^[26]。本实验得出 As₂O₃ 作用胃癌细胞后,可以下调 NF- κ B 的表达,表明 As₂O₃ 可通过抑制 NF- κ B 的表达来减弱细胞抗凋亡途径的表达,而 NF- κ B 的表达下调是通过 As₂O₃ 的直接作用还是通过 AKT 的作用尚不明确,有关 AKT 与 NF- κ B 关系的研究结论不一,但两者直接存在相互作用。

综上所述,本研究主要探讨 AKT 在细胞抗凋亡中的核心作用,As₂O₃ 对 AKT/mTOR/S6K、AKT/BAD、AKT/GSK3 β 通路及 NF- κ B 等表达的影响,进一步证实 As₂O₃ 可通过抑制 AKT 下游多个抗凋亡相关通路表达,促进胃癌细胞凋亡,而对各支

路之间的具体联系及机制还有待进一步的深入研究。

参考文献(References)

- [1] Antman KH. Introduction: the history of arsenic trioxide in cancer therapy[J]. *Oncologist*, 2001, 6(Supplement 2): 1-2
- [2] Liu J, Lu Y, Wu Q, et al. Waalkes MP. Mineral arsenicals in traditional medicines: orpiment, realgar, and arsenolite[J]. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 2008, 326(2): 363-368
- [3] Mike M. Scientists explore use of arsenic in therapy [J]. *Journal of the National Cancer Institute*, 1998, 90(42): 1866-1867
- [4] Waxman S, Anderson K C. History of the development of arsenic derivatives in cancer therapy[J]. *Oncologist*, 2001, 6(Supplement 2): 3-10
- [5] Emadi A, Gore SD. Arsenic trioxide—an old drug rediscovered [J]. *Blood Reviews*, 2010, 24(4): 191-199
- [6] Shen ZY, Shen J, Cai WJ, et al. The alteration of mitochondria is an early event of arsenic trioxide-induced apoptosis in esophageal carcinoma cells [J]. *International Journal of Molecular Medicine*, 2000, 5 (2): 155-158
- [7] Ye J, Li A, Liu Q. Inhibitor of mitogen-activated protein kinase enhances apoptosis induced by arsenic trioxide in human breast cancer MCF-7[J]. *Cells Clinical and experimental pharmacology & physiology*, 2005, 32(12): 1042-1048
- [8] Jia Y, Liu D, Xiao D, et al. Expression of AFP and STAT3 is involved in arsenic trioxide-induced apoptosis and inhibition of proliferation in AFP-producing gastric cancer cells[J]. *PLoS One*, 2013, 8(1): e54774
- [9] Li H, Gong J, Jiang X, Shao H. Arsenic trioxide treatment of rabbit liver VX-2 carcinoma via hepatic arterial cannulation-induced apoptosis and decreased levels of survivin in the tumor tissue[J]. *Croatian Medical Journal*, 2013, 54(1): 12-16
- [10] Chen Z, Zhang H, Yang L, et al. Construction of a metabolomics profile of arsenic trioxide effect in gastric carcinoma cell line SGC7901 [J]. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2016, 48(5): 474-481
- [11] Xiao YF, Liu SX, Wu DD, et al. Inhibitory effect of arsenic trioxide on angiogenesis and expression of vascular endothelial growth factor in gastric cancer[J]. *World Journal of Gastroenterology*, 2006, 12(36): 5780-5786
- [12] Xiao YF, Chen X, Liu SX, et al. Effect of arsenic trioxide on vascular endothelial growth factor-C and its receptor (VEGFR-3) in nude mice with gastric cancer[J]. *Zhong guo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi*, 2008, 16(6): 1303-1307
- [13] Abudoureyimu A, Muhemaitibake A. Arsenic trioxide regulates gastric cancer cell apoptosis by mediating cAMP [J]. *European Review for Medical & Pharmacological Sciences*, 2017, 21(3): 612
- [14] Yu Y, Yang Y, Wang J. Anti-apoptotic and apoptotic pathway analysis of arsenic trioxide-induced apoptosis in human gastric cancer SGC-7901 cells[J]. *Oncology Reports*, 2014, 32(3): 973-978
- [15] Gao YH, Zhang HP, Yang SM, et al. Inactivation of Akt by arsenic trioxide induces cell death via mitochondrial-mediated apoptotic signaling in SGC-7901 human gastric cancer cells[J]. *Oncology Reports*, 2014, 31(4): 1645-1652
- [16] Toosi B, Zaker F, Alikarami F, et al. VS-5584 as a PI3K/mTOR inhibitor enhances apoptotic effects of subtoxic dose arsenic trioxide via inhibition of NF- κ B activity in B cell precursor-acute lymphoblastic leukemia[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2018, 102: 428-437

(下转第 871 页)

- Journal of the American College of Cardiology, 2017, 70(18): B335
- [6] Tishko V V, Sokolov A A, Belskih A N, et al. Impact of double filtration plasmapheresis on adhesion molecules levels in patients with stable coronary heart disease after coronary stenting [J]. Atherosclerosis Supplements, 2017, 30: 92
- [7] Martin S S, Michos E D. Mapping Hyperlipidemia in Young Adulthood to Coronary Risk: Importance of Cumulative Exposure and How to Stay Young[J]. Circulation, 2015, 131(5): 445-447
- [8] Puneekar R S, Fox K, Richhariya A, et al. Trends in real-world treatment modifications among high-cardiovascular disease risk patients with hyperlipidemia [J]. Journal of the American College of Cardiology, 2016, 67(13): 1923-1923
- [9] Navar B A M, Peterson E D, sr D R, et al. Hyperlipidemia in early adulthood increases long-term risk of coronary heart disease[J]. Circulation, 2015, 131(5): 451-458
- [10] Lanza G A. Angina Pectoris and Myocardial Ischemia in the Absence of Obstructive Coronary Artery Disease: Role of Diagnostic Tests[J]. Current Cardiology Reports, 2016, 18(2): 1-9
- [11] Simpson L O. Angina, ischemic heart disease and blood viscosity[J]. BMJ, 2015, 339: 464
- [12] Chen C H, Lin C L, Kao C H. Association between gastroesophageal reflux disease and coronary heart disease: A nationwide population-based analysis[J]. Medicine, 2016, 95(27): e4089
- [13] Krychtiuk K A, Kastl S P, Pfaffenberger S, et al. Association of Small Dense LDL Serum Levels and Circulating Monocyte Subsets in Stable Coronary Artery Disease[J]. Plos One, 2015, 10(4): e0123367
- [14] Luo J, Song W, Yang G, et al. Compound Danshen (Salvia miltiorrhiza) dripping pill for coronary heart disease: an overview of systematic reviews[J]. American Journal of Chinese Medicine, 2015, 43(01): 1550002
- [15] Yao Y, Feng Y, Lin W. Systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials comparing compound danshen dripping pills and isosorbide dinitrate in treating angina pectoris [J]. International Journal of Cardiology, 2015, 182: 46-47
- [16] Guo J, Yong Y, Aa J, et al. Compound danshen dripping pills modulate the perturbed energy metabolism in a rat model of acute myocardial ischemia[J]. Scientific Reports, 2016, 6: 37919
- [17] Liu H H, Xiong G X, Zhang L P. Therapeutic effect of the compound Danshen dripping pill combined with laser acupoint irradiation on early diabetic retinopathy [J]. Laser Physics Letters, 2017, 14 (6): 065602
- [18] Rehberger-Likozar A, Šebestjen M. Influence of trimetazidine and ranolazine on endothelial function in patients with ischemic heart disease[J]. Coronary Artery Disease, 2015, 26(8): 651
- [19] Zhao Y, Peng L, Luo Y, et al. Trimetazidine improves exercise tolerance in patients with ischemic heart disease[J]. Herz, 2015, 41(6): 1-9
- [20] Zhou W, Yuan W F, Chen C, et al. Study on material base and action mechanism of compound Danshen dripping pills for treatment of atherosclerosis based on modularity analysis[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2016, 193: 36-44
- [21] Lu B, Wu X. The Protective Effect of Compound Danshen Dripping Pills on Oxidative Stress after Retinal Ischemia/Reperfusion Injury in Rats[J]. Chinese Medicine, 2015, 6(2): 90-96
- [22] Jia C, Han S, Wei L, et al. Protective effect of compound Danshen (Salvia miltiorrhiza) dripping pills alone and in combination with carbamazepine on kainic acid-induced temporal lobe epilepsy and cognitive impairment in rats[J]. Pharmaceutical Biology, 2018, 56(1): 217
- [23] Zhu Y, Zeng Y, He C, et al. Effects of a Cardiotonic Medicine, Danshen Pills, on Cognitive Ability and Expression of PSD-95 in a Vascular Dementia Rat Model[J]. Neurophysiology, 2016, 48(4): 264-269

(上接第 819 页)

- [17] Qiu, YS, Liao GJ, Jiang NN. REG3A overexpression suppresses gastric cancer cell invasion, proliferation and promotes apoptosis through PI3K/Akt signaling pathway [J]. International Journal of Molecular Medicine, 2018, 3520
- [18] Buckles TC, Ziemba BP, Masson GR, et al. Single-Molecule Study Reveals How Receptor and Ras Synergistically Activate PI3K α and PIP3 Signaling[J]. Biophysical Journal, 2017, 113(11): 2396
- [19] Akinleye A, Avvaru P, Furqan M, et al. Phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) inhibitors as cancer therapeutics [J]. Journal of Hematology & Oncology, 2013, 6(1): 88-104
- [20] Am J U, Gong W J, Su Y, et al. Imperatorin shows selective antitumor effects in SGC-7901 human gastric adenocarcinoma cells by inducing apoptosis, cell cycle arrest and targeting PI3K/ Akt/m-TOR signalling pathway [J]. Journal of the Balkan Union of Oncology, 2017, 22(6): 1471
- [21] Zeng F, Zhao H, Liao J. Androgen interacts with exercise through the mTOR pathway to skeletal muscle hypertrophy [J]. Biology of Sport, 2017, 34(4): 313-321
- [22] Shi YF, Yu DJ, Jiang CY, et al. TRAF6 regulates proliferation of stromal cells in the transition and peripheral zones of benign prostatic hyperplasia via Akt/mTOR signaling[J]. Prostate, 2018, 78(3)
- [23] Shi J, Wang L, Zou C, et al. Tumor microenvironment promotes prostate cancer cell dissemination via the Akt/mTOR pathway[J]. Oncotarget, 2018[Epub ahead of print]
- [24] Zhu L, Ning N, Li Y, et al. Bistractylolide Modulates PI3K-Akt-GSK3 γ -Dependent Pathways to Protect against Glutamate-Induced Cell Damage in PC12 and SH-SY5Y Cells [J]. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2017, 2017(4): 1291458
- [25] Liu L, Zhou XM, Yang FF, et al. TRIM22 confers poor prognosis and promotes epithelial mesenchymal transition through regulation of AKT/ GSK3 β / β -catenin signaling in non-small cell lung cancer[J]. Oncotarget, 2017, 8(37): 62069-62080
- [26] Zhong ZF, Yu HB, Wang CM, et al. Furanodiene Induces Extrinsic and Intrinsic Apoptosis in Doxorubicin-Resistant MCF-7 Breast Cancer Cells via NF- κ B-Independent Mechanism [J]. Front Pharmacol, 2017, 8: 648