

肝癌组织中 FN 和 PTEN 的表达及其临床意义

吴金柱, 蔡卫华, 陆仁飞, 顾春燕, 王卫兵, 邱 烽, 许桐林

(南通大学附属第三人民医院肝胆外科, 南通 226010)

【摘要】目的:探讨抑癌基因纤黏连蛋白(fibronectin, FN)、张力蛋白同源基因蛋白(phosphatase and tensin homology deleted on chromosome ten, PTEN)在肝细胞性肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)组织中的表达及其临床意义。**方法:**收集 215 例 HCC、癌旁组织和 19 例正常肝组织,用 RT-PCR、Western blot、免疫组化 SP 法检测 FN、PTEN mRNA 和蛋白表达,分析 FN 和 PTEN 表达与 HCC 临床病理特征的关系。**结果:**肝癌组织中 FN mRNA 和蛋白表达均明显高于癌旁组织及正常肝组织($F=142.334, P=0.000$);而 PTEN 低于癌旁组织及正常肝组织,且在癌旁组织中的表达亦明显低于正常肝组织($F=80.861, P=0.000$)。FN 表达阳性患者组较阴性患者组生存时间短;而 PTEN 表达阳性患者组较阴性患者组生存时间长,且在 1 年以后两者生存期有统计学意义($P<0.05$)。**结论:**HCC 癌组织中 FN、PTEN 在肝癌组织中存在异常表达,两者异常表达可能在肝癌的发生发展、侵袭转移中起一定的促进或抑制作用。

【关键词】肝细胞性肝癌;纤黏连蛋白;张力蛋白同源基因蛋白;基因表达

【中图分类号】R739.4

【文献标志码】A

【收稿日期】2014-11-18

Expression of FN and PTEN in hepatocellular carcinoma and its clinical significance

Wu Jinzhu, Cai Weihua, Lu Renfei, Gu Chunyan, Wang Weibing, Qiu Feng, Xu Tonglin
(Department of Hepatobiliary Surgery, the Third Affiliated Hospital, Nantong University)

【Abstract】Objective: To investigate the expressions of fibronectin(FN) and phosphatase and tensin homology deleted on chromosome ten(PTEN) in hepatocellular carcinoma(HCC) tissue and its clinical significance. **Methods:** Totally 215 cases of HCC(paraneoplastic tissues) and 19 cases of normal liver tissues were collected. The expressions of FN and PTEN mRNA and protein were detected by RT-PCR, Western blot and immunohistochemical SP method respectively. The correlation between the expressions of FN and PTEN and clinicopathologic features of HCC was analyzed. **Results:** The expressions of FN mRNA and protein in hepatocellular carcinoma tissue were significantly higher than those in paraneoplastic and normal liver tissue. The expressions of PTEN were significantly lower than those in paraneoplastic and normal liver tissue($F=142.334, P=0.000$). And the expression in paraneoplastic tissues was obviously lower than that in normal liver tissue($F=80.861, P=0.000$). The survival time of FN positive expression group was shorter than that of negative groups; the survival time of PTEN positive expression group was longer than that of negative group; both had statistical significances after one year($P<0.05$). **Conclusion:** FN and PTEN are abnormally expressed in HCC tissue, which might play a promoting or inhibiting effect in the occurrence, development, invasion and metastasis of HCC.

【Key words】hepatocellular carcinoma; fibronectin; phosphatase and tensin homology deleted on chromosome ten; gene expression

肝细胞肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是常见的恶性肿瘤,其发生与发展受多种基因的调控,其中抑癌基因起到重要的作用,抑癌基因的失活、突变、异常表达可导致肿瘤转移^[1]。近年发现纤黏连蛋

白(fibronectin, FN)和张力蛋白同源基因蛋白(phosphatase and tensin homology deleted on chromosome ten, PTEN)在多种恶性肿瘤中表达升高,两者的表达与 HCC 关系密切^[2],本研究旨在探讨 FN 和 PTEN 表达水平在 HCC 发生发展、侵袭转移中的作用。

作者简介:吴金柱, Email: 935737678@qq.com,

研究方向:肝胆疾病的研究和治疗。

通信作者:蔡卫华, Email: 39235978@qq.com。

基金项目:南通市青年基金资助项目(编号:WQ2014030)。

优先出版: <http://www.cnki.net/kcms/detail/50.1046.r.20150617.2242.010.html>

(2015-06-17)

1 资料和方法

1.1 病例与标本

215 例 HCC 组织及其癌旁肝组织均为 2010 年 1 月至

2013年12月南通大学附属第三人民医院肝胆外科手术切除的新鲜标本和相应的石蜡包埋组织块,癌旁组织距肿瘤边缘>2 cm。男性166例,女性49例。年龄29~85岁,平均年龄(54.40±10.20)岁。术后病理均证实为HCC,术前均未接受放疗、化疗,具有完整的临床及病理资料。19例正常肝脏组织中2例是肝外伤手术标本,17例是同期因肝良性病变切除的远离病灶的肝脏组织,病理确诊为正常肝组织,血清HBsAg为阴性。用于检测mRNA的肝癌标本在手术离体后立即去掉坏死组织血块,迅速保存于液氮中;另留取免疫组化标本,常规固定、脱水、包埋、切片备用。3组患者在性别、年龄等方面无统计学差异,具有可比性(见表1)。向患者交待本研究目的及意义,经患者同意后,所有患者资料均保密,患者术后标本行我院常规病理检查及免疫组化后,行液氮保存,供本研究所用。

1.2 材料与试剂

TRIZOL(invitrogen公司)、逆转录试剂盒(大连宝生物工程有限公司)、PC试剂盒(大连宝生物工程有限公司)、FN及PTEN免源单克隆抗体;羊抗兔II抗。抗FN和抗PTEN兔多克隆抗体及SP试剂盒(福州迈新生物科技开发有限公司)。FN引物上游为:5'-TGACTCGCTTTGACTTCACCAC-3'和下游引5'-TCTCCTTCCTCGCTCAGTTCGT-3';PTEN引物上游为:5'-ACACGACGGGAAGACAAGTT',下游为5'-TCCTCTGGTCCTGGTATGAAG-3'。

1.3 RT-PCR检测

FN及PTEN mRNA的表达按大连宝生物工程有限公司说明书取使用Trizol从经过匀浆的组织中提取总RNA。取总RNA参照宝生物反转录说明书进行逆转录,所有反应均设立3个复孔。运用美国UVP GelDoc-IT凝胶成像系统在紫外302nm条件下进行扫描分析,计算FN、PTEN和β-actin特异性条带光密度值,结果以比值OD302(FN/β-actin)和OD302(PTEN/β-actin)表示,对FN和PTEN基因进行半定量分析。分别计算FN和PTEN mRNA的表达相对量^[9]。

1.4 Western blot检测FN和PTEN的蛋白表达

提取HCC、癌旁和正常肝组织总蛋白,Bradford比色法测定蛋白质浓度;加入相同质量的细胞裂解液,并加等体积的2×电泳加样缓冲液,然后沸水浴中3 min;接着上样、电泳、电转膜仪转膜,用5%脱脂牛奶室温封闭1 h,加入一抗,4℃孵育过夜,TBST洗涤3次,每10 min换液1次。加入二抗,37℃孵育45 min,TBST洗涤3次,每15 min换液1次。在暗室中压片,然后显影、定影,用Image plus 5.0软件进行灰度分析。

1.5 免疫组化SP法检测FN和PTEN的蛋白表达

收集术后病例标本蜡块行同一时间一次性切片,同一病例标本蜡块各切3张,厚5 μm,后脱蜡、水化组织切片;预处理组织切片;蒸馏水漂洗,置于TBS中。阻断内源性过氧化物酶;蒸馏水漂洗,置于TBS,10 min;一抗孵育10~30 min;TBS

漂洗10 min;EnVision™孵育10~30 min;TBS漂洗10 min;色源底物溶液孵育10 min;蒸馏水漂洗;复染及封片。评判标准^[9]:随机计数50个高倍镜中阳性细胞的百分比,阳性细胞数<1%为0分,1%~30%为1分,31%~75%为2分,>75%为3分,根据染色的深度记分为0~3分,标本无色为0分,浅黄色为1分,棕黄色为2分,棕褐色为3分。将2项指标相乘(0~9分),记录染色结果,2项相乘分数0~4分者计阴性表达(-),5~9分者计阳性表达(+)。所有实施过程由同一病理医师实施及评判。

1.6 统计学处理

采用SPSS 13.0统计软件进行数据统计处理,计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,计数资料用率和比表示。计量资料2组间均数比较采用两独立样本t检验,3组比较采用单因素方差分析,两两比较采用SNK-q法检验;计数资料采用卡方检验。检验水准α=0.05。

2 结果

2.1 一般资料比较

2组患者在性别、年龄、体质量方面无统计学差异,具有可比性。见表1。

表1 3组患者临床资料

Tab.1 Clinical data of three groups

组别	性别(男/女)比例	年龄(岁)	体质量(kg)
HCC/癌旁	166/49	54.40 ± 13.32	68.95 ± 9.72
正常组织	16/3	60.58 ± 11.69	71.63 ± 8.26
t ² 值	0.495	1.377	1.144
P值	0.579	0.242	0.270

2.2 FN和PTEN在肝癌、癌旁组织中mRNA的表达情况

经RT-PCR检测分析看出FN在癌组织中的表达明显高于在癌旁组织和正常肝组织中表达(F=142.334,P=0.000),且癌组织、癌旁组织、正常组织两两比较亦有统计学意义(P<0.05);而PTEN在癌组织中的表达明显高于在癌旁组织和正常肝组织中表达(F=80.861,P=0.000),且癌组织、癌旁组织、正常组织两两比较亦有统计学意义(P<0.05)。见表2。

表2 不同组织类型肝组织的FN及PTENmRNA表达情况($\bar{x} \pm s$)

Tab.2 Expression of FN and PTENmRNA in different tissue types of liver tissue ($\bar{x} \pm s$)

组别	FN	PTEN
HCC	1.542 ± 0.313	0.847 ± 0.312
癌旁组织	1.254 ± 0.254	1.123 ± 0.242
正常组织	0.529 ± 0.215	1.456 ± 0.146
F值	142.334	80.861
P值	0.000	0.000

2.3 FN 和 PTEN 在肝癌、癌旁组织中蛋白表达情况

通过 Western blot 检测 FN 和 PTEN 在 HCC 组织中的表达(平均灰度值),FN 在 HCC 组织中的表达均较在癌旁组织和正常肝组织中的表达高($P<0.05$),而 PTEN 低($P<0.05$); FN 在癌旁组织中的表达亦高于在正常肝组织中的表达($P<0.05$),而 PTEN 低($P<0.05$)。见表 3、表 4、图 1。

表 3 不同组织类型肝组织的 FN 表达情况

Tab.3 Expression of FN in different tissue types of liver tissue

组别	例数 (n)	表达强度 (n)				阳性率 (%)	χ^2 值 P 值
		-	+	++	+++		
HCC	215	32	61	64	58	85.11	$\chi^2=58.671,$ $P=0.000$
癌旁组织	215	73	69	43	30	66.05	
正常组织	19	17	1	1	0	10.53	

注:与肝癌组织及正常肝组织比较

表 4 不同组织类型肝组织的 PTEN 表达情况

Tab.4 Expression of FN in different tissue types of liver tissue

组别	例数 (n)	表达强度 (n)				阳性率 (%)	χ^2 值 P 值
		-	+	++	+++		
HCC	215	176	21	14	4	18.14	$\chi^2=75.271,$ $P=0.000$
癌旁组织	215	114	47	36	18	46.97	
正常组织	19	0	5	7	7	100.00	

注:与肝癌组织及正常肝组织比较

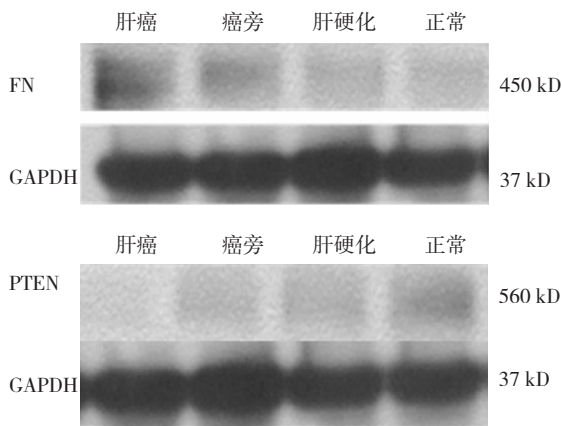
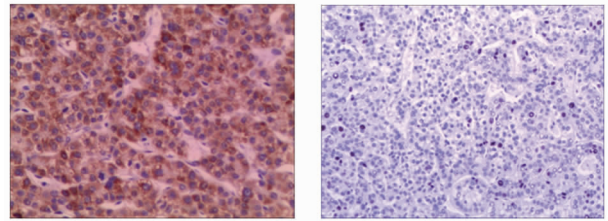


图 1 FN 及 PTEN 在各组织中的表达情况

Fig.1 FN and PTEN expressions in different tissue types of liver tissue

2.4 FN、PTEN 蛋白在肝细胞肝癌的表达与临床病理因素分析

FN 及 PTEN 在肝细胞肝癌组织中的表达(见图 2),FN 在合并癌栓,淋巴结转移,AFP 阳性,肿瘤数目多发的肝癌组织中的表达高,而在不同分化程度及不同肿瘤直径的肝癌组织中表达差异无统计学意义。PTEN 在低分化肝癌细胞,合并癌栓,AFP 阳性,淋巴结转移,肿瘤直径 ≥ 2 cm 的肝癌组织中表达较低,而在不同肿瘤数目的肝癌组织中表达无统计学意义,PTEN 蛋白表达与 HBsAg 无关,与组织学分级及转移有关,见图 2、表 5 及表 6。



A. FN 在肝癌组织中高表达, FN 染色多见于胞膜及基底膜,癌巢周围间质表达较强
B. PTEN 在肝癌组织中低表达,PTEN 染色多见于细胞质,癌巢中心表达较强

图 2 FN 及 PTEN 在肝癌组织中的表达情况

Fig.2 FN and PTEN expressions in hepatocellular carcinoma tissues

表 5 FN 及 PTEN 蛋白在肝癌、癌旁及正常肝组织中的表达

Tab.5 FN and PTEN protein expression in hepatocellular carcinoma, paraneoplastic and normal tissues

组别	表达水平	阳性	阴性	%	χ^2 值	P 值
FN	HCC	176	39	81.86	48.356	0.000 ^a
	癌旁	131	84	60.93		
	正常肝组织	3	16	18.75		
PTEN	HCC	62	153	28.84	44.736	0.000 ^a
	癌旁	103	112	47.90		
	正常肝组织	19	0	100.00		

注:a,肝癌组织与癌旁组织及正常肝组织比较

表 6 FN 及 PTEN 蛋白表达与 HCC 临床病理特征的关系

Tab.6 FN and PTEN protein expression and clinical pathological features of HCC

临床病理因素	n	FN		χ^2 值	P 值	PTEN		χ^2 值	P 值	
		阳性	%			阳性	%			
AFP($\mu\text{g/L}$)										
<400	168	117	69.64	5.833	0.016	62	36.90	5.235	0.022	
≥ 400	47	41	87.23			9	19.15			
HBsAg										
阳性	176	133	75.57	3.190	0.074	37	21.02	0.080	0.777	
阴性	39	24	61.54			9	23.08			
分化										
高-中	126	95	75.40	0.911	0.340	38	30.16	4.115	0.043	
低	89	72	80.90			16	19.10			
癌栓										
有	65	49	75.38	6.325	0.012	12	18.46	4.503	0.034	
无	150	86	57.00			49	32.67			
淋巴结转移										
有	49	43	87.76	5.929	0.015	5	10.20	5.048	0.025	
无	166	117	70.48			42	25.30			
肿瘤直径										
<2	58	42	72.41	0.501	0.479	17	29.31	11.916	0.001	
≥ 2	157	121	77.07			16	10.19			
肿瘤数目										
单发	187	128	68.45	5.152	0.023	44	23.53	2.341	0.126	
多发	28	25	89.29			3	10.71			

表 7 FN 及 PTEN 蛋白表达与患者预后关系[例(%)]
Tab.7 FN and PTEN protein expression and prognosis relations [cases (%)]

组别	n	复发			转移			生存			
		6个月	12个月	24个月	6个月	12个月	24个月	6个月	12个月	24个月	
FN	阳性	176	18(10.23)	26(14.20) ^a	42(23.86) ^a	4(2.27)	11(6.25)	38(21.59) ^a	174(98.86)	158(89.77) ^a	147(83.52) ^a
	阴性	39	1(2.56)	1(2.56)	3(7.69)	0(0.00)	0(0.00)	2(0.51)	39(100.00)	39(100.00)	38(97.44)
	χ^2 值		2.327	4.333	5.045	0.903	2.569	5.714	0.447	4.353	5.147
	P 值		0.209	0.035	0.025	1.000	0.221	0.017	1.000	0.049	0.021
PTEN	阳性	62	1(1.61) ^a	3(4.83) ^a	7(11.29) ^a	1(1.61)	3(4.83) ^a	5(8.06) ^a	61(98.39)	61(98.39) ^a	60(96.77) ^a
	阴性	153	15(9.80)	22(14.38)	39(25.49)	10(6.54)	22(14.38)	31(20.26)	152(99.35)	138(90.20)	133(86.93)
	χ^2 值		4.298	3.908	5.290	2.203	3.908	4.708	0.441	4.298	4.657
	P 值		0.044	0.048	0.021	0.183	0.048	0.030	0.495	0.044	0.031

注:a,P<0.05 有统计学意义

2.5 FN 和 PTEN 表在肝癌术后与肿瘤复发,转移及生存的关系

FN 和 PTEN 与患者术后的复发,转移及生存密切相关,而在术后 1 年以后,肝癌组织中 FN 表达阳性患者的复发率、转移率明显高于 FN 表达阴性患者,生存率差异有统计学意义(P<0.05);而 PTEN 表达强阳性患者的复发率、转移率明显低于表达阴性患者,生存率差异亦有统计学意义(P<0.05),见表 7。

3 讨 论

FN 是一种基质糖蛋白,介导了细胞间及与细胞外基质的相互黏附作用,在上皮来源的肿瘤可有细胞 FN 蛋白和基膜 FN 蛋白的缺失导致癌细胞黏附性的下降,癌细胞可以逃脱周围的束缚,并通过破坏基底膜发生肿瘤细胞的浸润和转移^[5]。另有研究表明 FN 与整合素结合可以上调肿瘤细胞 bcl-2 的基因表达,抑制 bax 的表达,说明 FN 可通过调节 bal-2 基因家族的表达发挥抗凋亡作用^[6-7],从而可能发现此基因在癌组织中可能出现高表达。本研究通过从 mRNA 和蛋白水平观察分析了 FN 在正常肝组织、肝细胞肝癌组织及癌旁组织中的表达情况, FN 在正常肝组织中低表达,在肝癌组织中高表达,可分析 FN 随着肝病变进一步进展,表达逐步升高,随着病变程度加重, FN 在合并癌栓,淋巴结转移,肿瘤数目多发的肝癌组织中的表达越高。本资料显示, FN 在肝细胞肝癌中的高表达,提示均参与了肝细胞肝癌的发生发展,可作为肝细胞肝癌恶性程度和侵袭转移的分子生物学标志物。

PTEN 是具有双重特异性磷酸酶活性的抑癌基

因蛋白,其作用与 3,4,5-三磷酸磷脂酰肌醇(phosphatidylinositol (3,4,5)-trisphosphate, PIP3) 有关^[8]。PIP3 是细胞生长主要调控通路的关键因素之一,可刺激组织细胞生长。有研究表明^[9]PTEN 可能在肝细胞肝癌的发生发展过程中对 hTERT 的活化起着调控作用,其表达有望成为肝细胞肝癌的重要分子生物学指标。研究发现,PTEN 作为肿瘤抑制基因,在肝细胞肝癌中的杂合性缺失频率高达33%,PTEN 的阳性表达率随着肝癌组织组织学分级的降低及侵袭性的增高而明显下降,提示了在 HCC 的发生发展中, PTEN 可能与肝癌细胞的转移和浸润密切相关^[10-11],并提示肝癌的发生发展与 PTEN 的缺失或者突变有着某种密切的关系^[12-13]。Zhang 等研究表明 PTEN 在人体及小鼠肝脏中异常表达^[14-16],而本研究通过从 mRNA 和蛋白水平观察分析了 PTEN 在正常肝组织、肝细胞肝癌组织及癌旁组织中的表达情况,PTEN 在正常肝组织中完全表达,在肝癌组织中低表达, PTEN 在肝细胞肝癌中的表达明显低于癌旁及正常肝组织。通过分析 PTEN 在低分化肝癌细胞,合并癌栓,淋巴结转移,肿瘤直径≥2 的肝癌组织中表达较低,而在不同肿瘤数目的肝癌组织中表达无统计学意义,PTEN 蛋白表达与 HBsAg 无关,与组织学分级及转移有关。这与祝葆华^[3]研究相似,通过比较分析 PTEN 在肝细胞肝癌组织中表达低,PTEN 失活可能在肝癌的发生发展、侵袭转移中起一定的抑制作用。

本实验结果亦显示, FN 在肝癌组织中高表达, FN 染色多见于胞膜及基底膜,癌巢周围间质表达较强;PTEN 在肝癌组织中低表达,PTEN 染色多见于

细胞质,癌巢中心表达较强, FN 可能通过形成肝癌侵袭转移的微环境,促进肝癌的侵袭转移及术后复发而 PTEN 可能抑制癌细胞增长。通过术后随访表明, FN 阳性表达的术后复发率和术后肿瘤的转移率远远高于阴性患者,而 PTEN 表达强阳性患者的复发率、转移率明显低于表达阴性患者,说明 FN 及 PTEN 与肿瘤患者术后的预后密切相关。通过分析 FN 表达与患者预后正相关,提示 FN 在肝癌的浸润、转移方面起促进作用,并是患者术后预后不良的预测因素。PTEN 表达与患者的预后负相关,提示 PTEN 在抑制肝癌的发展及浸润、转移方面有一定的作用,且为患者预后良好的预测因素。故 FN 及 PTEN 异常表达可能与肿瘤的侵袭能力、转移能力、术后复发转移有一定的相关性,可作为一个潜在的肝癌发病与转移,预后的观察指标。

目前已有实验室研究 FN 在前列腺癌细胞及口腔鳞癌细胞中的高表达以及 PTEN 在胃癌及大肠癌以及肾透明细胞癌中的低表达^[17-18]。基因 FN 及 PTEN 的表达与肝癌有着密切的关系,通过本研究分析 FN 在 HCC 组织中表达上调和 PTEN 在 HCC 组织中表达下调; FN 和 PTEN 异常表达是 HCC 癌旁组织的早期分子事件。在临床工作中联合检测 FN 和 PTEN 的表达水平有利于判断 HCC 的侵袭转移能力,对指导 HCC 手术后化疗以及判断 HCC 患者预后情况亦具有帮助意义。

参 考 文 献

- [1] Sliveira AP, Da Sliva Manoel-Caetano F, Aoki S, et al. Gene mutations and polymorphisms of TP53 and FHIT in chronic esophagitis and esophageal carcinoma[J]. *Anticancer Res*, 2011, 31(5): 1685-1690.
- [2] Pollicino T, Saitta C, Raimondo G. Hepatocellular carcinoma: the point of view of the hepatitis B virus[J]. *Carcinogenesis*, 2011, 32(8): 1122-1132.
- [3] 祝葆华, 陆元志, 苑进凯, 等. 肝癌组织中 PTEN 和 TIMP3 的表达及其临床意义[J]. *广东医学院学报*, 2012, 30(4): 371-374.
- [4] Yang YJ, Chen H, Huang P, et al. Quantification of plasma hTERT DNA in hepatocellular carcinoma patients by quantitative fluorescent polymerase chain reaction[J]. *Clin Invest Med*, 2011, 34(4): E238.
- [5] 张鸣杰, 张国雷, 魏云海, 等. FHIT、FN 和 PTEN 在肝癌组织中的表达及临床意义[J]. *中华普通外科杂志*, 2012, 27(6): 487-490.
- [6] Obara M, Sakuma T, Fuiikawa K. The third type III module of human fibronectin mediates cell adhesion and migration[J]. *J Biochem*, 2010, 147(3): 327-335.
- [7] Antonyak MA, Li B, Borouqhs JL, et al. Cancer cell-derived microvesicles induce transformation by transferring tissue transglutaminase and fibronectin to recipient cells[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108(12): 4852-4857.
- [8] 秦权林. PTEN 基因多态性及 PTEN 蛋白表达与家族聚集性肝癌遗传易感性研究[D]. 南宁: 广西医科大学, 2009.
- [9] 李步军, 代学强, 程 显, 等. 肝细胞肝癌 hTERT 和 PTEN 基因表达与临床病理特征关系的研究[J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2012, 19(19): 1480-1484.
- [10] Kechaggioglou P, Papi RM, Provatopoulou X, et al. Tumor suppressor PTEN in breast cancer: heterozygosity, mutations and protein expression[J]. *Anticancer Res*, 2014, 34(3): 1387-1400.
- [11] Stanich PP, Pilarski R, Rock J, et al. Colonic manifestations of PTEN hamartoma tumor syndrome: case series and systematic review[J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(7): 1833-1838.
- [12] Nogueira C, Kim KH, Sung H, et al. Cooperative interactions of PTEN deficiency and RAS activation in melanoma metastasis[J]. *Oncogene*, 2010, 29(47): 6222-6232.
- [13] 张 纓, 贾绍昌, 项 方, 等. miR-21 在肝癌细胞中的表达及其与抑癌基因 PTEN 的关系[J]. *临床肿瘤学杂志*, 2014, 19(6): 490-493.
- [14] Zhang M, Shan BE, Yuan NF, et al. Effect of topotecan on retinocytoma cell apoptosis and expression of Livin and PTEN[J]. *Chin Med J*, 2013, 126(2): 340-344.
- [15] 白 丽, 任 锋, 郑素军, 等. 抑制 PTEN 对小鼠肝缺血再灌注损伤的保护作用及其机制[J]. *中华肝脏病杂志*, 2014, 22(6): 451-455.
- [16] 郝礼森, 张晓岚, 任昌镇, 等. PTEN 过表达抑制体外活化肝星状细胞 Akt 的磷酸化, 实用医学杂志[J]. 2014, 30(7): 1069-1072.
- [17] Chen F, Yang D, Wang S, et al. Livin regulates prostate cancer cell invasion by impacting the NF- κ B signaling pathway and the expression of FN and CXCR4[J]. *IUBMB Life*, 2012, 64(3): 274-283.
- [18] Zhang Z, Pan J, Li L, et al. Survey of risk factors contributed to lymphatic metastasis in patients with oral tongue squamous cell carcinoma by immunohistochemistry[J]. *J Oral Pathol Med*, 2011, 40(2): 127-134.

(责任编辑: 冉明会)