

引用本文:王婷,保红云,陈波,等.5-甲氧基色醇对急性髓细胞性白血病 U937 细胞增殖和迁移的影响及其机制研究[J].安徽医药,2021,25(6):1080-1083.DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2021.06.005.

◇ 药学研究 ◇



5-甲氧基色醇对急性髓细胞性白血病 U937 细胞增殖和迁移的影响及其机制研究

王婷,保红云,陈波,李晓娜

作者单位:云南省第三人民医院肾病血液科,云南 昆明 650000

基金项目:云南省教育厅科学研究基金项目(2019J0795)

摘要: **目的** 研究不同浓度 5-甲氧基色醇对急性髓细胞性白血病 U937 细胞增殖和迁移的影响并初步探讨其作用机制。**方法** 采用人胆囊收缩素/缩胆囊素八肽(CCK-8)法,检测不同浓度(8、16、32、64 $\mu\text{mol/L}$)的 5-甲氧基色醇对急性髓细胞性白血病 U937 细胞的增殖抑制率;流式细胞术检测 U937 细胞各处理组的凋亡比例;Transwell 实验检测不同浓度 5-甲氧基色醇对细胞 U937 迁移能力的影响;基于 5-甲氧基色醇的药效团,应用生物信息学技术预测 5-甲氧基色醇作用的蛋白靶点,并对蛋白靶点做通路富集分析;蛋白质印迹法检测不同浓度 5-甲氧基色醇对显著富集通路中的蛋白靶点磷脂酰肌醇 3 激酶(PI3K)和 Akt 激酶(AKT)的蛋白表达水平影响。**结果** CCK-8 结果显示,8、16、32、64 $\mu\text{mol/L}$ 5-甲氧基色醇以时间和浓度依赖方式抑制 U937 细胞的增殖[增殖抑制率 24 h: (17.4 $\pm$ 1.2)%、(31.6 $\pm$ 2.6)%、(43.5 $\pm$ 3.2)%、(58.28 $\pm$ 4.5)%, 72 h: (21.5 $\pm$ 1.8)%、(43.4 $\pm$ 2.4)%、(67.4 $\pm$ 6.1)%、(85.6 $\pm$ 3.9)%;均 $P<0.05$];流式细胞术实验结果显示,与对照组凋亡率(3.93 $\pm$ 0.19)%相比,5-甲氧基色醇明显促进细胞 U937 的凋亡[(7.5 $\pm$ 0.33)%、(8.99 $\pm$ 0.20)%、(13.71 $\pm$ 0.39)%];Transwell 实验结果显示,与对照组每视野下迁移细胞数(205 $\pm$ 14)个相比,8、16、32、64 $\mu\text{mol/L}$ 5-甲氧基色醇明显抑制细胞 U937 的迁移能力[(152 $\pm$ 18)个、(124 $\pm$ 9)个、(78 $\pm$ 22)个]($P<0.05$);生物信息学及通路富集结果显示,5-甲氧基色醇存在 100 个作用的蛋白靶点,这些蛋白靶点显著富集在包括 PI3K-AKT 信号通路等;对 PI3K-AKT 信号通路相关蛋白进行蛋白质印迹法检测其表达,结果显示,5-甲氧基色醇处理可明显减少 U937 细胞中 PI3K 和 AKT 蛋白的磷酸化水平(均 $P<0.05$)。**结论** 5-甲氧基色醇抑制 PI3K-AKT 信号通路的蛋白表达水平,进而抑制急性髓细胞性白血病 U937 细胞的增殖和迁移,促进 U937 的凋亡。

关键词: 急性髓细胞性白血病; 5-甲氧基色醇; 迁移; 增殖

Effect of 5-methoxytryptophol on proliferation and migration of acute myeloid leukemia cell line U937 and its mechanism

WANG Ting, BAO Hongyun, CHEN Bo, LI Xiaona

Author Affiliation: Department of Nephrology and Hematology, The Third People's Hospital of Yunnan Province, Kunming, Yunnan 650000, China

Abstract: **Objective** To investigate the effects of different concentrations of 5-methoxytryptophol on the proliferation and migration of acute myeloid leukemia cell line U937 and its mechanism. **Methods** Human cholecystokinin octapeptide (CCK-8) ELISA was used to detect the proliferation inhibition rate of 5-methoxytryptophol at different concentrations (8, 16, 32 and 64 $\mu\text{mol/L}$) on U937 cells of acute myeloid leukemia. The apoptotic ratios of U937 cells in each treatment group were determined by flow cytometry. Transwell assay was performed to determine the effects of different concentrations of 5-methoxytryptophol on the migration of U937 cells. Based on the pharmacophore of 5-methoxytryptophol, the protein targets of 5-methoxytryptophol were predicted by bioinformatics, and the protein targets received pathway enrichment analysis. Western blotting was used to detect the effects of different concentrations of 5-methoxytryptophol on the expression levels of protein targets in the significantly enriched pathway. **Results** CCK-8 results showed that 8, 16, 32 and 64 $\mu\text{mol/L}$ 5-methoxytryptophol inhibited the proliferation of U937 cells in a time-dependent and concentration-dependent manner [proliferation inhibition rate 24 h: (17.4 $\pm$ 1.2)%, (31.6 $\pm$ 2.6)%, (43.5 $\pm$ 3.2)%, (58.28 $\pm$ 4.5)%, 72 h: (21.5 $\pm$ 1.8)%, (43.4 $\pm$ 2.4)%, (67.4 $\pm$ 6.1)%, (85.6 $\pm$ 3.9)%; all $P<0.05$]. Flow cytometry results showed that compared with the apoptotic rate in the control group [(3.93 $\pm$ 0.19)%], 5-methoxytryptophol significantly promoted the apoptosis of acute myeloid leukemia cell line U937 [(7.5 $\pm$ 0.33)%, (8.99 $\pm$ 0.20)%, (13.71 $\pm$ 0.39)%]. Transwell assay results showed, compared with the number of migrated cells per field of view [(205 $\pm$ 14) cells] in the control group, 8, 16, 32, 64 $\mu\text{mol/L}$ 5-methoxytryptophol significantly inhibited the migration of acute myeloid leukemia cell line U937 ($P<0.05$) [(152 $\pm$ 18) cells, (124 $\pm$ 9) cells, (78 $\pm$ 22) cells]. Bioinformatics and pathway enrichment results showed that there were 100 functional protein targets of 5-methoxytryptophol, which were significantly enriched in the phosphatidylinositol 3-kinase and AKT

kinase (PI3K-AKT) signaling pathway. The expression of proteins related to the PI3K-AKT signaling pathway was detected by Western blotting, and the results showed that 5-methoxytryptophol treatment significantly reduced the phosphorylation levels of PI3K and AKT proteins in U937 cells (both $P < 0.05$). **Conclusion** 5-methoxytryptophol inhibits the protein expression level of the PI3K-AKT signaling pathway, thereby inhibiting the proliferation and migration of U937 cells in acute myeloid leukemia and promoting U937 apoptosis.

Key words: Acute myeloid leukemia; 5-methoxytryptophol; Migration; Proliferation

急性髓细胞性白血病 (Acute myeloid leukemia, AML) 是成年人最常见的一种高度异质性疾病, 主要由染色体易位和参与造血增殖、分化的基因突变引起低分化髓细胞的积累而导致^[1]。长期以来, AML 的治疗方案局限于化疗和造血干细胞移植^[2]。目前的高强度治疗方法可使年轻 AML 病人的治愈率约为 40%, 60 岁以上的老年 AML 病人的持久缓解率可达 15%^[3]。然而, 目前的 AML 治疗存在诸多问题, 如化疗耐药的发生、移植后复发等^[4-5]。因此, 探索更有效的治疗 AML 的药物迫在眉睫。

5-甲氧基色醇 (5-Methoxytryptophol) 是松科植物成熟松果体中提取的吲哚类化合物, 是松果的有效成分之一。具有抗氧化, 抗炎, 肿瘤抑制等作用^[6]。近年来, 研究发现, 5-甲氧基色醇通过细胞外信号调控的蛋白激酶 (ERK) 的磷酸化促进了 ERK1/2 通路的激活从而抑制破骨细胞形成、促进成骨细胞分化^[7]。然而, 5-甲氧基色醇对 AML 细胞的增殖和迁移能力的影响及其相关作用机制尚不清楚。本实验从 2018 年 1 月至 2019 年 7 月, 主要探讨 5-甲氧基色醇对 AML 细胞增殖和迁移方面生物学行为的影响, 为 AML 的临床治疗提供新的理论和实验依据。

1 材料与方法

1.1 细胞及材料 AML U937 细胞购自美国 ATCC 细胞库; 5-甲氧基色醇购自武汉 MCE 生物公司; RPMI 1640 培养基、10% 胎牛血清 (FBS), 购自美国 Gibco 生物公司; 人胆囊收缩素/缩胆囊素八肽 (CCK-8) 试剂, 凋亡试剂盒购自上海碧云天生物技术有限公司。BCA 定量试剂盒、SDS-PAGE 胶制胶试剂盒购自索莱宝生物公司; 兔多克隆磷脂酰肌醇 3 激酶 (PI3K)、磷酸化磷脂酰肌醇 3 激酶 (p-PI3K)、Akt 激酶 (AKT) 和磷酸化 Akt 激酶 (p-AKT) 抗体、鼠单克隆甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (GAPDH) 抗体、山羊抗兔和山羊抗鼠二抗均购自武汉三鹰生物公司。5-甲氧基色醇用二甲基亚砜 (DMSO) 配制成 0.1 mol/L 的母液放置于 -20 °C 储存, 用时以含 10% 胎牛血清的 1640 培养基稀释成各个浓度的工作液使用。Novo-express 流式细胞仪购自美国艾森生物公司; 全波段多功能酶标仪购自美国 BioTek 公司; 凝胶成像系统购自美国 Bio-red 公司。

1.2 细胞培养 AML U937 细胞用含有 10% FBS、1% 青霉素及 1% 链霉素的 RPMI 1640 培养基培养, 置于 5% 二氧化碳、37 °C 培养箱中, 取生长状态良好的细胞用于下一步实验。

1.3 人胆囊收缩素/缩胆囊素八肽 (CCK-8) 法检测细胞增殖能力 AML U937 细胞以每孔 4 000 个铺入到 96 孔板中, 每组设置 5 个复孔。分别用 8、16、32、64 $\mu\text{mol/L}$ 浓度的 5-甲氧基色醇处理细胞, 对照组则予以含有等体积 DMSO 的 1640 培养基, 每孔 100 μL 培养体系。分别在 48、72 h 后, 加入 CCK-8 液 10 μL , 继续在培养箱中避光孵育 2 h 后, 用酶标仪在 450 nm 处检测吸光度, 每组实验重复 3 次。

1.4 流式细胞仪检测细胞凋亡 取对数生长期的 U937 细胞 (1×10^5 个/毫升) 接种于六孔板中, 培养 24 h 后, 分别加入 5-甲氧基色醇 (8、16、32 $\mu\text{mol/L}$) 及含等体积 DMSO 作为对照。继续培养 48 h, 消化离心收集细胞, 加入 2.5 μL 的碘化丙啶 (PI) 和 2.5 μL 的膜联蛋白 V-异硫氰酸荧光素 (Annex V-FITC), 室温避光反应 30 min 后, 流式细胞仪检测。

1.5 Transwell 实验检测细胞迁移能力 U937 以无血清培养基重悬, 200 μL 含 2×10^5 个细胞的悬液加入到 Transwell 上室中, 再分别加入不同浓度 5-甲氧基色醇 (8、16、32 $\mu\text{mol/L}$), 以加入等体积二甲基亚砜 (DMSO) 处理作为对照。Transwell 下室加入 700 μL 含 10% FBS 的 DMEM 培养基。24 h 后, 弃掉培养基, 多聚甲醛固定后, 结晶紫染色, 每孔随机选取 5 个视野, 于正置显微镜下拍照, 计数每视野下的迁移细胞数。实验重复 3 次。

1.6 生物信息学预测 5-甲氧基色醇作用的蛋白靶点并进行通路富集分析 从 PubChem Compound Search databases (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pccompound>) 中下载 5-甲氧基色醇的 3D 结果文件, 导入化合物 3D 结构文件使用在线预测化合物作用的蛋白靶点的网站 SwissTargetPrediction (<http://www.swisstargetprediction.ch/>), 解析出化合物的药效团, 并基于药效团模型预测从而获得 5-甲氧基色醇作用的蛋白靶点。并将预测得到的靶点蛋白应用在线数据库 DAVID (<https://david.ncifcrf.gov/>) 进行通路富集分析。设置 $P < 0.05$ 为判断通路显著性富集的标准。

1.7 蛋白质印迹法检测 PI3K、p-PI3K、AKT 和 p-AKT 的表达 BCA 定量后蛋白样品经电泳、转膜至 PVDF 膜后,用含 5% 的脱脂奶粉封闭 2 h,分别加入一抗(兔源性多克隆 PI3K、p-PI3K、AKT 和 p-AKT 抗体和鼠源性 GAPDH 内参抗体)4 ℃ 过夜。TBST 洗涤 3 次后,加入二抗室温孵育 2 h,曝光。以目的条带与内参 GAPDH 的灰度值的比值为目的蛋白的表达量。实验重复 3 次。

1.8 统计学方法 采用 SPSS 19.0 软件进行统计学分析。结果数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。两组间比较采用独立样本 *t* 检验,多组间比较采用方差分析,组间两两比较使用 LSD-*t* 检验。 $P < 0.05$ 代表差异有统计学意义。

2 结果

2.1 5-甲氧基色醇明显抑制 AML U937 细胞的增殖 CCK-8 结果显示,8、16、32、64 $\mu\text{mol/L}$ 5-甲氧基色醇对 U937 的增殖抑制率分别为 48 h: (17.4 $\pm$ 1.2)%, (31.6 $\pm$ 2.6)%, (43.5 $\pm$ 3.2)% 和 (58.28 $\pm$ 4.5)%, 72 h: (21.5 $\pm$ 1.8)%, (43.4 $\pm$ 2.4)%, (67.4 $\pm$ 6.1)% 和 (85.6 $\pm$ 3.9)%。与对照组相比,48 h、72 h 的 5-甲氧基色醇各浓度处理组增殖抑制率均差异有统计学意义 ($F_{48\text{h}}=39$, $F_{72\text{h}}=114$, 均 $P < 0.05$; 8、16、32、64 $\mu\text{mol/L}$ 相邻浓度组之间相比 48 h: $t=4.85$ 、13.41、10.76、10.56, $P=0.018$ 、0.010、0.001、0.001; 72 h: $t=7.65$ 、12.98、20.02、18.07, $P=0.012$ 、0.011、0.001、0.000), 72 h 增殖抑制率相比于 48 h 增殖抑制率均明显升高。

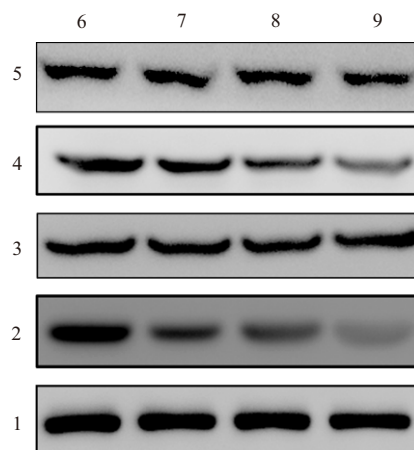
2.2 5-甲氧基色醇促进 AML U937 细胞凋亡 流式细胞术结果显示,对照组的凋亡率为 (3.93 $\pm$ 0.19)%, 而 8、16、32 $\mu\text{mol/L}$ 的 5-甲氧基色醇处理组 (7.5 $\pm$ 0.33)%, (8.99 $\pm$ 0.20)%, (13.71 $\pm$ 0.39)% 明显增多 ($F=24.39$, $P < 0.05$; $t=3.91$ 、6.72、7.85, $P=0.017$ 、0.003、0.001)。见图 1。

2.3 5-甲氧基色醇抑制 AML U937 细胞的迁移能力 Transwell 实验结果显示,对照组每视野下迁移细胞数为 (205 $\pm$ 14) 个, 而 8、16、32 $\mu\text{mol/L}$ 的 5-甲氧基色醇处理组 (152 $\pm$ 18) 个、(124 $\pm$ 9) 个、(78 $\pm$ 22) 个明显减少 ($F=114.2$, $P < 0.05$; $t=8.02$, 13.14, 14.58, $P=0.001$, 0.000, 0.000)。见图 2。

2.4 5-甲氧基色醇作用的蛋白靶点预测及通路富集分析 使用在线数据库 SwissTargetPrediction 预测 5-甲氧基色醇有 100 个靶点蛋白,并对这 100 个靶点蛋白构建蛋白互做网络,对其中 Degree 得分最高的 30 个靶点蛋白进行京都基因和基因组数据库 (KEGG) 通路富集分析,筛选出排在前 10 位显著富集的通路。其中,包括 PI3K-AKT 信号通路,神经激

活因子配受体互作通路,环腺苷酸 (cAMP) 信号通路和肿瘤发生相关通路等多个信号通路 (如图 3), 其中 PI3K-AKT 信号通路富集到的靶点最多,基于 PI3K 和 AKT 失衡在 AML 的迁移、凋亡过程中扮演着重要角色,推测 5-甲氧基色醇抑制 AML 增殖和迁移的分子机制可能与 PI3K-AKT 信号通路有关。

2.5 5-甲氧基色醇减少 AML U937 细胞中 p-PI3K 和 p-AKT 蛋白的表达 蛋白质印迹法结果显示,与对照组相比,8、16、32 $\mu\text{mol/L}$ 的 5-甲氧基色醇处理 U937 细胞中 PI3K 和 AKT 蛋白的相对表达量没有明显的改变,而 p-PI3K 和 p-AKT 蛋白的相对表达量明显减少,提示,5-甲氧基色醇靶向 PI3K-AKT 通路抑制 P-PI3K 和 p-AKT 的活化,见图 4。



注: 1—甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (GAPDH); 2—磷酸化 Akt 激酶 (p-AKT); 3—Akt 激酶 (AKT); 4—磷酸化磷脂酰肌醇 3 激酶 (p-PI3K); 5—磷脂酰肌醇 3 激酶 (PI3K); 6—对照组; 7—8 $\mu\text{mol/L}$ 的 5-甲氧基色醇处理组; 8—16 $\mu\text{mol/L}$ 的 5-甲氧基色醇处理组; 9—32 $\mu\text{mol/L}$ 的 5-甲氧基色醇处理组。

图 4 蛋白质印迹法检测不同浓度 5-甲氧基色醇对急性髓细胞性白血病 U937 中 PI3K、p-PI3K、AKT 和 p-AKT 表达的影响

3 讨论

AML 是最常见的造血系统肿瘤,增殖缺陷和分化受阻是导致白血病干细胞能过度增殖的两大原因^[8-9]。至今为止,大部分 AML 病人的治疗现状也不容乐观,即使能够通过化疗使病情完全缓解,复发的比率也仍然不容乐观,尽管目前临床上已有的治疗方案可使得部分病人疾病缓解,能够改善部分的生存率^[10-11]。但多数的化疗药物在治疗过程中存在药物的毒副作用和部分病人对临床常规的化疗药物不敏感^[12],或者治疗缓解后复发导致预后不良等^[13-14]。因此如何提高临床治疗的耐药以及病人生存率是目前亟须解决的问题。

近年来,传统中药的提取物在治疗 AML 中的价值越来越被重视。Jin Y 等研究发现复方苦参注射液通过调节过氧化物还原酶 (Prdxs)/活性氧 (ROS)/

硫氧还蛋白1(Trx1)信号通路抑制人AML^[15];Chen等^[16]研究发现,乌红苷通过影响AML细胞中磷脂酰肌醇1(PLSCR1)的表达和亚细胞定位,诱导细胞周期阻滞和分化。而5-甲氧基色醇是从松果中分离得到的一种天然吲哚类化合物。先前的研究表明,鹅松果体中5-羟基吲哚和5-甲氧吲哚在胚胎个体发育中起着重要的作用。而本研究中发现5-甲氧基色醇对AML的增殖和迁移能力有显著的抑制作用。进一步的分子生物学研究有助于解释AML的发病机制。

生物信息学及通路富集结果显示,5-甲氧基色醇调控AML的增殖和凋亡与PI3K-AKT信号通路密切相关^[17]。已有研究表明,PI3K/AKT信号通路的抑制是决定AML化疗反应及预后的最重要因素^[18]。PI3K是细胞内具有催化活性的信号蛋白,在细胞因子、药物、应激等因素的作用下会被激活。一旦激活,PI3K将磷脂酰肌醇(4,5)-二磷酸磷酸化为磷脂酰肌醇(3,4,5)-三磷酸,并促进Akt活化,从而调节细胞的增殖^[19]。在本研究中,5-甲氧基色醇处理抑制了U937细胞中PI3K和Akt的活性,其表现为其磷酸化水平的降低,从而降低了其下游激酶活性并抑制了该通路。

综上所述,5-甲氧基色醇通过调节PI3K-AKT抑制信号通路而抑制AML U937细胞的增殖和迁移。提示5-甲氧基色醇有利于AML的治疗。但是相关的具体分子机制仍不清楚,在我们课题组接下来的研究中,我们将会做进一步的详细研究。

(本文图1~3见插图6-2)

参考文献

- [1] STEIN EM, DINARDO CD, POLLYEA DA, et al. Response kinetics and clinical benefits of nonintensive AML therapies in the absence of morphologic response [J]. Clin Lymphoma Myeloma Leuk, 2020, 20(2): e66-e75. DOI: 10.1016/j.clml.2019.11.017.
- [2] POLLYEA DA, AMAYA M, STRATI P, et al. Venetoclax for AML: changing the treatment paradigm [J]. Blood Adv, 2019, 3(24):4326-4335.
- [3] MAHALLEH M, SHABANI M, RAYZAN E, et al. Reinforcing the primary immunotherapy modulators against acute leukemia; monoclonal antibodies in AML [J]. Immunotherapy, 2019, 11(18):1583-1600.
- [4] SASCA D, SZYBINSKI J, SCHULER A, et al. NCAM1 (CD56) promotes leukemogenesis and confers drug resistance in AML [J]. Blood, 2019, 133(21):2305-2319.
- [5] OELLERICH T, SCHNEIDER C, THOMAS D, et al. Selective inactivation of hypomethylating agents by SAMHD1 provides a rationale for therapeutic stratification in AML [J]. Nat Commun, 2019, 10(1):3475.
- [6] HANUSZEWSKA M, PRUSIK M, LEWCZUK B. Embryonic ontogeny of 5-hydroxyindoles and 5-methoxyindoles synthesis pathways in the goose pineal organ [J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(16):3948.
- [7] SATUE M, RAMIS JM, DEL MAM, et al. A new role for 5-methoxytryptophol on bone cells function in vitro [J]. J Cell Biochem, 2015, 116(4):551-558.
- [8] MERCHER T, SCHWALLER J. Pediatric acute myeloid leukemia (AML): from genes to models toward targeted therapeutic intervention [J]. Front Pediatr, 2019, 7:401.
- [9] KUBASCH AS, SCHULZE F, GIAGOUNIDIS A, et al. Single agent talacotuzumab demonstrates limited efficacy but considerable toxicity in elderly high-risk MDS or AML patients failing hypomethylating agents [J]. Leukemia, 2020, 34(4):1182-1186.
- [10] DINARDO CD. Which novel agents hold the greatest promise in AML? [J]. Best Pract Res Clin Haematol, 2019, 32(4):101106. DOI: 10.1016/j.beha.2019.101106.
- [11] MARTINEZ CD, GIL C, SERRANO J, et al. A precision medicine test predicts clinical response after idarubicin and cytarabine induction therapy in AML patients [J]. Leuk Res, 2019, 76:1-10.
- [12] HEUDOBLE D, KLOBUCH S, THOMAS S, et al. Cutaneous leukemic infiltrates successfully treated with biomodulatory therapy in a rare case of therapy-related high risk MDS/AML [J]. Front Pharmacol, 2018, 9:1279.
- [13] LANCET JE. Is the overall survival for older adults with AML finally improving? [J]. Best Pract Res Clin Haematol, 2018, 31(4):387-390.
- [14] BRUNI E, REICHEL A, SCIMECA M, et al. Lowering etoposide doses shifts cell demise from caspase-dependent to differentiation and caspase-3-independent apoptosis via DNA damage response, inducing AML culture extinction [J]. Front Pharmacol, 2018, 9:1307.
- [15] JIN Y, YANG Q, LIANG L, et al. Compound kushen injection suppresses human acute myeloid leukaemia by regulating the Prdxs/ROS/Trx1 signalling pathway [J]. J Exp Clin Cancer Res, 2018, 37(1):277.
- [16] CHEN Y, HUI H, YANG H, et al. Wogonoside induces cell cycle arrest and differentiation by affecting expression and subcellular localization of PLSCR1 in AML cells [J]. Blood, 2013, 121(18):3682-3691.
- [17] TAN L, WEI X, ZHENG L, et al. Amplified HMGA2 promotes cell growth by regulating Akt pathway in AML [J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2016, 142(2):389-399.
- [18] ROSEN DB, HARRINGTON KH, CORDEIRO JA, et al. AKT signaling as a novel factor associated with in vitro resistance of human AML to gemtuzumab ozogamicin [J]. PLoS One, 2013, 8(1):e53518. DOI: 10.1371/journal.pone.0053518.
- [19] HERSCHBEIN L, LIESVELD JL. Dueling for dual inhibition: Means to enhance effectiveness of PI3K/Akt/mTOR inhibitors in AML [J]. Blood Rev, 2018, 32(3):235-248.

(收稿日期:2020-01-02,修回日期:2020-03-09)