

# 肌细胞增强因子 2D 影响肝癌细胞对索拉菲尼耐药的机制研究<sup>△</sup>

马清霞<sup>1\*</sup>, 王园园<sup>2</sup>, 马海龙<sup>3</sup>, 李培宇<sup>4</sup>, 杨月成<sup>1</sup>, 杨志宏<sup>1</sup>, 刘佳<sup>1</sup>, 姜国辉<sup>1#</sup> (1. 青岛大学药学院, 山东青岛 266071; 2. 青岛市市立医院内窥镜室, 山东青岛 266071; 3. 齐鲁工业大学电器工程与自动化学院, 济南 250300; 4. 青岛大学医学院松山医院心内科, 山东青岛 266071)

中图分类号 R735.7 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)17-2337-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.17.08

**摘要** 目的: 研究肌细胞增强因子 2D(MEF2D)影响肝癌细胞 PLC 对索拉菲尼耐药的作用机制。方法: 建立索拉菲尼肝癌耐药细胞株(PLC-DR3), 以过表达 Ad-MEF2D 载体感染 PLC(PLC-AdMEF2D), CCK-8 法检测索拉菲尼处理后 PLC、PLC-DR3、PLC-AdMEF2D 增殖能力, 并计算索拉菲尼对各细胞的半数抑制浓度(IC<sub>50</sub>)。采用 Western blot 法检测 PLC、PLC-DR3 中 MEF2D、细胞外调节蛋白激酶(ERK)、磷酸化 ERK(p-ERK)的表达和 PLC-AdMEF2D 细胞中 MEF2D、ERK、p-ERK、促分裂原活化蛋白激酶(MEK)、磷酸化 MEK(p-MEK)、快速发育生长因子同源蛋白 4(SPRY4)的表达。采用实时荧光定量聚合酶链式反应法检测 PLC、PLC-AdMEF2D 中 MEF2D mRNA 和 SPRY4 mRNA 的表达。结果: 索拉菲尼对 PLC、PLC-DR3、PLC-AdMEF2D 的 IC<sub>50</sub> 分别为 (8.23 ± 0.06)、(21.80 ± 0.06)、(19.46 ± 0.063) μmol/L。与 PLC 比较, PLC-DR3、PLC-AdMEF2D 的 IC<sub>50</sub> 明显升高 (P < 0.001); PLC-DR3 中总 ERK 表达量基本不变, MEF2D、p-ERK 的蛋白表达明显增强 (P < 0.001); PLC-AdMEF2D 中总 ERK、MEK 表达量基本不变, p-ERK 和 p-MEK 蛋白表达增强 (P < 0.01), SPRY4 蛋白表达明显减弱 (P < 0.001), SPRY4 mRNA 表达水平明显减弱 (P < 0.001)。结论: MEF2D 可能通过抑制 SPRY4 的表达, 激活 RAS/ERK 通路, 从而促进肝癌细胞对索拉菲尼耐药。

**关键词** 索拉菲尼; 肝癌细胞; 耐药机制; 肌细胞增强因子 2D

## Study on the Mechanism by Which MEF2D Induces the Resistance of Hepatoma Carcinoma Cells to Sorafenib

MA Qingxia<sup>1</sup>, WANG Yuanyuan<sup>2</sup>, MA Hailong<sup>3</sup>, LI Peiyu<sup>4</sup>, YANG Yuecheng<sup>1</sup>, YANG Zhihong<sup>1</sup>, LIU Jia<sup>1</sup>, JIANG Guohui<sup>1</sup> (1. College of Pharmacy, Qingdao University, Shandong Qingdao 266071, China; 2. Endoscopy Room, Qingdao Municipal Hospital, Shandong Qingdao 266071, China; 3. College of Electrical Engineering and Automation, Qilu University of Technology, Jinan 250300, China; 4. Dept. of Cardiology, Songshan Hospital, Medical College of Qingdao University, Shandong Qingdao 266071, China)

**ABSTRACT** **OBJECTIVE:** To study the mechanism of myocyte enhancer factor 2D (MEF2D) affecting the resistance of hepatoma carcinoma cells PLC to sorafenib. **METHODS:** The liver cancer drug resistance cell strain (PLC-DR3) of sorafenib were established, over expression Ad-MEF2D carrier infected liver cancer cell PLC (PLC-AdMEF2D) and CCK-8 assay was used to determine the proliferation of PLC, PLC-DR3 and PLC-AdMEF2D, and the half inhibitory concentration (IC<sub>50</sub>) of sorafenib on each cell was calculated. Western blot assay was used to detect the protein expression of MEF2D, ERK and p-ERK in PLC and PLC-DR3, the protein expression of MEF2D, ERK, p-ERK, MEK, p-MEK and SPRY4 in PLC-AdMEF2D. RT-PCR was adopted to detect the mRNA expression of MEF2D and SPRY4 in PLC and PLC-AdMEF2D. **RESULTS:** IC<sub>50</sub> of sorafenib on PLC, PLC-DR3, PLC-AdMEF2D was (8.23 ± 0.06), (21.80 ± 0.06), (19.46 ± 0.063) μmol/L. Compared with PLC, the IC<sub>50</sub> of PLC-DR3 and PLC-AdMEF2D was increased significantly (P < 0.001); the total expression of ERK in PLC-DR3 keep stale, while the protein expression of MEF2D and p-ERK was increased significantly (P < 0.001); total expression of ERK and MEK in PLC-AdMEF2D kept stable, but the protein expression of p-ERK and p-MEK were increased significantly (P < 0.01), the protein expression of SPRY4 was decreased significantly (P < 0.001), while mRNA expression of SPRY4 was decreased significantly (P < 0.001). **CONCLUSIONS:** MEF2D can promote the generation and development of drug resistance of hepatoma carcinoma cells to

△ 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(No.81502065)

\* 硕士研究生。研究方向: 肿瘤药理学。E-mail: 18724702306@163.com

# 通信作者: 教授。研究方向: 肿瘤学。E-mail: 13370830026@163.com

sorafenib by inhibiting expression of SPRY4 and active of RAS/ERK pathway.

**KEYWORDS** Sorafenib; Hepatoma carcinoma cells; Resistant mechanism; MEF2D

肝癌是我国最常见的肿瘤之一,据统计,我国新增肝癌患者的病例数和死亡人数居全世界首位<sup>[1]</sup>。随着医学技术的发展,肝癌治疗的方式和方法有了大幅度的改善,但现有的治疗手段仍无法显著提高肝癌患者的生存率。肝癌易复发、易转移、预后差等问题仍然困扰着医务工作者和科研工作者<sup>[1]</sup>。

目前,RAS/细胞外调节蛋白激酶(ERK)抑制剂索拉菲尼在治疗肝癌上取得了一定的疗效,是肝癌晚期系统性治疗的唯一选择<sup>[2]</sup>。RAS/ERK 信号通路是肝癌的关键驱动因子,也是索拉菲尼的重要治疗靶点<sup>[3]</sup>。RAS/ERK 信号通路由一系列可以发生级联激活的蛋白激酶组成,如RAS、有丝分裂原激活的蛋白激酶(RAF)、促分裂原活化蛋白激酶(MEK)、ERK 以及通路负调控因子快速发育生长因子同源蛋白4(SPRY4)等,处于激活状态的ERK 影响一系列与增殖、存活、侵袭和免疫逃避相关的转录因子的稳定性、入核能力或促转录活性,最终导致肿瘤的发生、发展、转移和复发。然而部分肝癌患者对索拉菲尼存在不同程度的耐药,使得其预后较差。相关研究表明索拉菲尼耐药可能与RAS/ERK 级联激活相关<sup>[4]</sup>。作为肌细胞增强因子的成员之一,肌细胞增强因子2D(MEF2D)不仅在人体发育和生理功能中发挥重要作用<sup>[5]</sup>,而且MEF2D 异常表达与包括肝癌在内的多种疾病的发生发展也关系密切<sup>[6]</sup>。研究发现,MEF2D 的表达在肝癌中显著升高,不仅促进肝癌的恶化,还与肝癌患者的预后存在负相关<sup>[7]</sup>。因此,笔者思考MEF2D 是否在肝癌细胞对索拉菲尼的耐药中扮演着重要角色?基于此,笔者构建了索拉菲尼耐药肝癌细胞株,从细胞水平探究MEF2D 蛋白及RAS/ERK 通路的激活是否在肝癌细胞对索拉菲尼的耐药中起着关键作用;通过过表达MEF2D,从细胞水平探究MEF2D 蛋白是否负向调控RAS/ERK 通路的SPRY4 因子,使通路中ERK、MEK 磷酸化增加促进肝癌细胞对索拉菲尼的耐药。

## 1 材料

### 1.1 仪器

3543 CO<sub>2</sub>细胞培养箱、Mmultiskan FC 酶标仪、SimpliAmp™ 荧光定量聚合酶链式反应(qRT-PCR)仪均购自美国赛默飞世尔科技公司;PowerPac300 电泳仪(美国Bio-Rad 公司);Eclipse Ts100 荧光显微镜(日本尼康公司)。

### 1.2 药品与试剂

索拉菲尼(美国 Selleck 生物科技有限公司,批号:S1040,纯度:99.5%);DMEM 高糖细胞培养基(美国生命技术公司);腺病毒载体(上海吉凯基因化学技术公司);Trizol 总 RNA 提取试剂(碧云天生物研究所,批号:20171105);qRT-PCR 检测试剂盒(天根生化科技有限公

司,批号:R6424);CCK-8 试剂盒(上海七海复泰生物科技有限公司,批号:20170106);RIPA 裂解液(北京索莱宝生物科技有限公司,批号:20171206);MEF2D 抗体、MEK 抗体、p-MEK 抗体、ERK 抗体、p-ERK 抗体、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)抗体、兔二抗均购置美国 Abcam 公司。

### 1.3 细胞

人肝癌细胞 PLC 购自中国科学院上海细胞库。

## 2 方法与结果

### 2.1 细胞的培养

PLC 细胞采用含有 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基培养,置于 5% CO<sub>2</sub>、37 °C 的细胞培养箱中培养,取对数生长期的细胞进行试验。

### 2.2 CCK-8 法检测细胞增殖能力

将 PLC 以  $5 \times 10^3$  个/孔分别接种于 96 孔培养板中培养 24 h,加入终浓度为 0、2、4、8、16、32  $\mu\text{mol/L}$  的索拉菲尼,培养 48 h 后,每孔加入 10  $\mu\text{L}$  CCK-8 试剂,孵育 3 h 后,使用酶标仪在 450 nm 波长下测定细胞的光密度(OD)值。OD 值越大表示细胞增殖能力越强。根据公式计算细胞增殖抑制率(%): $[\text{空白组(索拉菲尼终浓度为 } 0 \mu\text{mol/L)} \text{OD} - \text{索拉菲尼处理组 OD}] / [\text{空白组 OD} \times 100\%$ ,然后通过 SPSS 软件计算半数抑制浓度(IC<sub>50</sub>)。

### 2.3 索拉菲尼耐药肝癌细胞株的构建

将对数生长期的 PLC 接种于含有 10% 胎牛血清的含药 DMEM 培养基(索拉菲尼终浓度为其对 PLC 的 IC<sub>50</sub>)中,孵育 72 h 后,弃去含药培养基,加入新鲜的 DMEM 培养基,继续培养 72 h 后用 PBS 清洗 3 遍,再用该含药 DMEM 培养基培养 72 h,共进行 3 次,构建索拉菲尼耐药肝癌细胞株(PLC-DR3)。然后用倒置显微镜观察 PLC 和 PLC-DR3 的细胞形态变化,利用“2.2”项下方法检测 PLC-DR3 增殖能力并计算索拉菲尼对 PLC-DR3 的 IC<sub>50</sub>,根据公式计算耐药指数:PLC-DR3 细胞 IC<sub>50</sub>/PLC 细胞 IC<sub>50</sub>。

### 2.4 过表达 MEF2D 对 PLC 增殖的影响

将 10 MOI(感染复数)的腺病毒载体 Ad-MEF2D(过表达 MEF2D 载体)感染 PLC(感染后细胞命名为 PLC-AdMEF2D)。利用“2.2”项下方法检测 PLC-AdMEF2D 的增殖能力并计算索拉菲尼对其的 IC<sub>50</sub>。

### 2.5 Western blot 法检测 PLC、PLC-DR3、PLC-Ad-MEF2D 中蛋白的表达

取 PLC、PLC-DR3、PLC-AdMEF2D 分别按照 RIPA 裂解液的操作说明提取细胞中总蛋白,BCA 法测定蛋白浓度,变性后进行十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳,然后转入聚偏二氟乙烯膜,经 5% 的脱脂奶粉室温封闭 1 h,分别置于稀释 1 000 倍的一抗液(MEF2D、ERK、

p-ERK、MEK、p-MEK、SPRY4抗体),封口,4℃孵育过夜,PBS洗膜3次后,加入稀释1000倍的兔二抗,室温孵育1h,PBS洗膜3次后进行显影,检测灰度值。以目标蛋白与内参GAPDH灰度值的比值表示MEF2D、ERK、p-ERK、MEK、p-MEK、SPRY4的相对表达水平。

## 2.6 qRT-PCR法检测PLC、PLC-AdMEF2D中MEF2D、SPRY4 mRNA的表达

取PLC、PLC-AdMEF2D按照Trizol说明书提取总RNA,逆转录为cDNA,然后根据qPCR试剂盒说明书进行扩增。MEF2D的上游引物序列为5'-GACACAGC-ACCTCAGCAA-3',下游引物序列为5'-GGAGATCC-AAGAATACCC-3',扩增长度为110bp;SPRY4的上游引物序列为5'-AGTGGATCCGCCACCATGGAGCCC-CCGATCCCAC-3',下游引物序列5'-CTATTACTCGA-GTCAAGCGTAGTCTGGGACGTCGTATGGGTAGAA-AGGCTTGTCGGTCTG-3',扩增长度为120bp。GAPDH的上游引物序列为5'-AAGAGAGGCATCCTGACCCT-3',下游引物序列为5'-TACATGGCTGGGGT-GTTGAA-3',扩增长度为20bp。反应条件:95℃预变性5min;95℃变性10s,60℃退火20s,72℃延伸20s,共40循环。采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 相对定量法(目的基因 $C_t$ 值/内参基因 $C_t$ 值)对SPRY4、MEF2D的mRNA表达进行相对定量。

## 2.7 统计学分析

采用统计软件SPSS 18.0进行处理,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,两组间比较采用 $t$ 检验。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

## 3 结果

### 3.1 索拉菲尼对PLC增殖能力的影响

随着索拉菲尼药物浓度的增加,作用PLC 48h的OD值逐渐减小,PLC增殖能力减弱,PLC的 $IC_{50}$ 值为 $(8.23 \pm 0.06) \mu\text{mol/L}$ 。索拉菲尼对PLC增殖能力的影响结果见表1。

表1 索拉菲尼对PLC增殖能力的影响

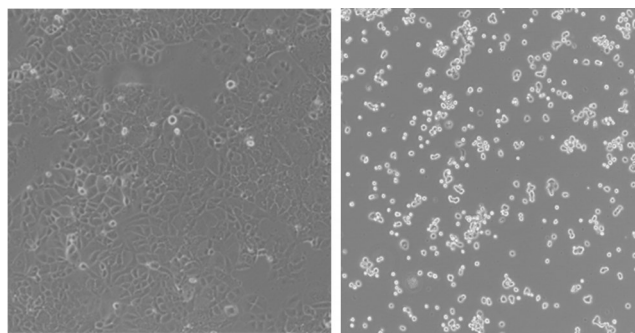
Tab 1 Effects of sorafenib on the proliferation ability of PLC

索拉菲尼	OD值	$IC_{50}$ , $\mu\text{mol/L}$
0 $\mu\text{mol/L}$	$1.160 \pm 0.170$	
2 $\mu\text{mol/L}$	$0.952 \pm 0.041$	
4 $\mu\text{mol/L}$	$0.844 \pm 0.032$	
8 $\mu\text{mol/L}$	$0.787 \pm 0.011$	$8.23 \pm 0.06$
16 $\mu\text{mol/L}$	$0.332 \pm 0.031$	
32 $\mu\text{mol/L}$	$0.091 \pm 0.006$	

### 3.2 索拉菲尼耐药肝癌细胞株的构建结果

PLC和PLC-DR3的细胞形态如图1所示,PLC-DR3细胞相比PLC细胞小,呈圆形,且有部分漂浮的死细胞。随着索拉菲尼药物浓度的增加,作用PLC-DR3细胞48h的OD值逐渐减小,经SPSS 18.0软件计算得

PLC-DR3的 $IC_{50}$ 为 $(21.80 \pm 0.06) \mu\text{mol/L}$ ,其耐药指数为3。索拉菲尼对PLC-DR3细胞增殖能力的影响结果见表2。



A. PLC细胞形态 B. PLC-DR3细胞形态

图1 PLC、PLC-DR3的形态( $\times 40$ )

Fig 1 Morphology of PLC and PLC-DR3( $\times 40$ )

表2 索拉菲尼对PLC-DR3增殖能力的影响

Tab 2 Effects of sorafenib on the proliferation ability of PLC-DR3 cells

索拉菲尼	OD值	$IC_{50}$ , $\mu\text{mol/L}$	耐药指数
0 $\mu\text{mol/L}$	$1.003 \pm 0.062$		
2 $\mu\text{mol/L}$	$0.961 \pm 0.031$		
4 $\mu\text{mol/L}$	$0.899 \pm 0.024$		
8 $\mu\text{mol/L}$	$0.636 \pm 0.014$	$21.80 \pm 0.06$	3
16 $\mu\text{mol/L}$	$0.697 \pm 0.011$		
32 $\mu\text{mol/L}$	$0.346 \pm 0.009$		

### 3.3 过表达MEF2D对PLC增殖能力的影响

与PLC比较,过表达MEF2D后PLC-AdMEF2D的 $IC_{50}$ 为 $(19.46 \pm 0.063) \mu\text{mol/L}$ 明显增加( $P < 0.001$ ),表明过表达MEF2D后PLC的增殖能力增强。过表达MEF2D对PLC增殖能力的影响见表3。

表3 过表达MEF2D对PLC增殖能力的影响

Tab 3 Effects of over expression of MEF2D on the proliferation of PLC

索拉菲尼	OD值	$IC_{50}$ , $\mu\text{mol/L}$
0 $\mu\text{mol/L}$	$0.114 \pm 0.012$	
2 $\mu\text{mol/L}$	$0.800 \pm 0.031$	
4 $\mu\text{mol/L}$	$0.854 \pm 0.024$	
8 $\mu\text{mol/L}$	$0.906 \pm 0.033$	$19.46 \pm 0.063$
16 $\mu\text{mol/L}$	$0.932 \pm 0.041$	
32 $\mu\text{mol/L}$	$0.990 \pm 0.036$	

### 3.4 PLC、PLC-DR3中MEF2D、p-ERK、ERK蛋白的表达

与PLC比较,PLC-DR3中总ERK蛋白表达水平基本不变,MEF2D、p-ERK蛋白表达明显增强( $P < 0.001$ ),即ERK蛋白的磷酸化增强,说明MEF2D蛋白表达增强及ERK通路的激活在PLC对索拉菲尼耐药中起着重要作用。PLC、PLC-DR3中MEF2D、p-ERK、ERK蛋白的表达电泳图见图2,测定结果见表4。

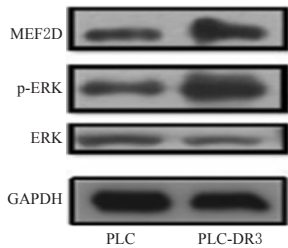


图2 PLC、PLC-DR3中MEF2D、p-ERK、ERK蛋白表达的电泳图

Fig 2 Electrophorograms of protein expression of MEF2D, p-ERK and ERK in PLC and PLC-DR3

表4 PLC、PLC-DR3中MEF2D、p-ERK、ERK蛋白表达水平的测定结果

Tab 4 Protein expression levels of MEF2D, p-ERK and ERK in PLC and PLC-DR3

细胞	MEF2D	p-ERK	ERK
PLC	0.23±0.032	0.16±0.021	0.67±0.012
PLC-DR3	0.91±0.02***	1.12±0.04***	0.59±0.04

注:与PLC比较,\*\*\* $P<0.001$

Note: vs. PLC, \*\*\* $P<0.001$

### 3.5 PLC、PLC-AdMEF2D中MEF2D、ERK、p-ERK、MEK、p-MEK、SPRY4蛋白的表达

与PLC比较,PLC-AdMEF2D中ERK、MEK表达量基本不变,p-ERK、p-MEK的表达增强( $P<0.01$ ),SPRY4蛋白的表达水平明显减弱( $P<0.001$ )。PLC、PLC-AdMEF2D中MEF2D、ERK、p-ERK、MEK、p-MEK、SPRY4蛋白表达的电泳图见图3,测定结果见表5。

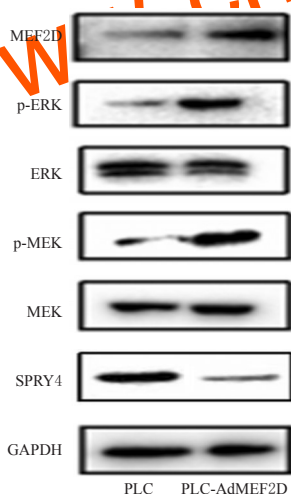


图3 PLC、PLC-AdMEF2D中MEF2D、ERK、p-ERK、MEK、p-MEK、SPRY4蛋白表达的电泳图

Fig 3 Electrophorogram of protein expression of MEF2D, ERK, p-ERK, MEK, p-MEK and SPRY4 in PLC and PLC-AdMEF2D

表5 PLC、PLC-AdMEF2D中MEF2D、ERK、p-ERK、MEK、p-MEK、SPRY4蛋白表达的测定结果

Tab 5 Protein expression of MEF2D, ERK, p-ERK, MEK, p-MEK and SPRY4 in PLC and PLC-AdMEF2D

细胞	MEF2D	p-ERK	ERK	p-MEK	MEK	SPRY4
PLC	0.23±0.032	0.16±0.021	0.67±0.012	0.32±0.013	0.68±0.024	1.21±0.12
PLC-AdMEF2D	0.64±0.013***	0.42±0.150**	0.59±0.017	0.69±0.021**	0.70±0.013	0.38±0.09***

注:与PLC比较,\*\* $P<0.01$ ,\*\*\* $P<0.001$

Note: vs. PLC, \*\* $P<0.01$ , \*\*\* $P<0.001$

因此推测,过表达MEF2D后使得ERK、MEK磷酸化增加,通路活性升高,从而增加PLC对索拉菲尼的耐药性。

### 3.6 PLC、PLC-AdMEF2D中MEF2D、SPRY4 mRNA的表达

与PLC比较,PLC-AdMEF2D中SPRY4 mRNA的表达明显减弱( $P<0.001$ ),说明过表达MEF2D抑制了SPRY4 mRNA的表达。PLC、PLC-AdMEF2D中MEF2D mRNA、SPRY4 mRNA的表达结果见表6。

表6 PLC、PLC-AdMEF2D中MEF2D mRNA、SPRY4 mRNA的表达结果

Tab 6 mRNA expressions of SPRY4 and MEF2D in PLC and PLC-AdMEF2D

细胞	MEF2D mRNA	SPRY4 mRNA
PLC	0.72±0.034	1.41±0.096
PLC-AdMEF2D	1.49±0.028***	0.52±0.042***

注:与PLC比较,\*\*\* $P<0.001$

Note: vs. PLC, \*\*\* $P<0.001$

## 4 讨论

肝癌是最常见的恶性原发性肝脏肿瘤,基础医学研究逐渐揭示了肝癌发生发展的分子机制,其中特定信号通路的异常激活对肝癌的形成、生长、转移和复发至关重要。研究发现,肝癌中RAS/ERK通路的活性处于持续激活的状态<sup>[8-9]</sup>。更为重要的是,异常激活的RAS/ERK通路促进了肝癌的发生、发展、转移和复发<sup>[10]</sup>,而且RAS/ERK通路活性强的肝癌患者往往预后较差<sup>[11]</sup>。由此可见,RAS/ERK通路是一个理想的肝癌治疗靶点。目前,RAS/ERK通路的抑制剂类药物已经应用到肝癌的治疗中,例如索拉菲尼。索拉菲尼作为多激酶抑制剂,可以通过抑制RAF和血管内皮生长因子受体激酶,阻断下游通路的激活达到抑制肝癌的作用,并且在其他实体瘤中也有临床效果<sup>[12]</sup>。在两项晚期肝癌患者的随机III期临床试验中,索拉菲尼治疗组的病人相对安慰剂组疾病进展时间延长2.8个月,同时总生存期延长2.3个月<sup>[2]</sup>。现有的临床结果显示,索拉菲尼对肝癌的治疗效果表现出较大的差异。部分患者应答程度较高,存活时

间显著延长,而部分患者则表现出对索拉菲尼的耐药,预后未得到改善<sup>[13]</sup>。索拉菲尼耐药性的产生限制了其治疗价值,一方面,肝癌患者对索拉菲尼敏感性存在差异的原因尚不清楚,另一方面,缺乏预测肝癌治疗预后的分子标记物<sup>[14]</sup>。因此,迫切需要研究肝癌对索拉菲尼发生耐药的分子机制。这不仅有助于肿瘤靶向治疗方案的制定,也有助于指导肿瘤耐药对策的制定,从而避免不必要的经济负担和毒副作用。

本研究发现,通过在肝癌细胞株中上调MEF2D表达,可从细胞水平确定过表达MEF2D可促进肝癌细胞对索拉菲尼耐药。其次,通过分子和细胞生物学技术确定MEF2D可通过抑制SPRY4表达继而影响其下游RAS/ERK通路的活性,最终影响肝癌细胞对索拉菲尼的耐药性。本研究结果为阐明MEF2D影响肝癌对索拉菲尼的耐药机制中的作用提供试验依据,也为预测肝癌患者采用索拉菲尼治疗的效果提供可能的分子标记物。

### 参考文献

- [1] YU G, JING Y, KOU X, et al. Hepatic stellate cells secreted hepatocyte growth factor contributes to the chemoresistance of hepatocellular carcinoma[J]. *PLoS One*, 2013, 8(9):73312-73321.
- [2] LIU L, CAO Y, CHEN C, et al. Sorafenib blocks the RAF/MEK/ERK pathway, inhibits tumor angiogenesis, and induces tumor cell apoptosis in hepatocellular carcinoma model PLC/PRF/5[J]. *Cancer Res*, 2006, 66(24):11851-11858.
- [3] CALVISI DF, LADU S, CONNER EA, et al. Inactivation of Ras GTPase-activating proteins promotes unrestrained activity of wild-type Ras in human liver cancer[J]. *J Hepatology*, 2011, 54(2):311-319.
- [4] GALMICHE A, CHAUFFERT B, BARBARE JC. New biological perspectives for the improvement of the efficacy of sorafenib in hepatocellular carcinoma[J]. *Cancer Lett*, 2014, 346(2):159-162.
- [5] POTTHOFF MJ, OLSON EN. MEF2: a central regulator of diverse developmental programs[J]. *Development*, 2007, 134(23):4131-4140.
- [6] PON JR, MARRA MA. MEF2 transcription factors: developmental regulators and emerging cancer genes[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(3):2297-2312.
- [7] MA L, LIU J, LIU L, et al. Overexpression of the transcription factor MEF2D in hepatocellular carcinoma sustains malignant character by suppressing G2-M transition genes[J]. *Cancer Res*, 2014, 74(5):1452-1462.
- [8] YOSHIDA T, HISAMOTO T, AKIBA J, et al. Spreds, inhibitors of the Ras/ERK signal transduction, are dysregulated in human hepatocellular carcinoma and linked to the malignant phenotype of tumors[J]. *Oncogene*, 2006, 25(45):6056-6066.
- [9] NEWELL P, TOFFANIN S, VILLANUEVA A, et al. Ras pathway activation in hepatocellular carcinoma and anti-tumoral effect of combined sorafenib and rapamycin in vivo[J]. *J Hepatology*, 2009, 51(4):638-639.
- [10] SHILO A, BEN HV, DENICHENKO P, et al. Splicing factor hnRNP A2 activates the RAS-MAPK-ERK pathway by controlling A-RAF splicing in hepatocellular carcinoma development[J]. *NVA*, 2014, 20(4):505-515.
- [11] CALVISI DF. Accomplices in crime: The diabolical liaison between protein tyrosine phosphatase 1B and ras in hepatocellular carcinoma[J]. *J Hepatology*, 2016, 63(5):1418-1420.
- [12] BERASAIN C. Hepatocellular carcinoma and sorafenib: too many resistance mechanisms? [J]. *Gut*, 2013, 62(12):1674-1675.
- [13] KUCZYNSKI EA, LEE CR, MAN S, et al. Effects of sorafenib dose on acquired reversible resistance and toxicity in hepatocellular carcinoma[J]. *Cancer Res*, 2015, 75(12):2510-2519.
- [14] NISHIDA N, KITANO M, SAKURAI T, et al. Molecular mechanism and prediction of sorafenib chemoresistance in human hepatocellular carcinoma[J]. *Dig Dis*, 2015, 33(6):771-779.

(收稿日期:2018-01-14 修回日期:2018-06-25)

(编辑:唐晓莲)

《中国药房》杂志——中文核心期刊, 欢迎投稿、订阅