

达沙替尼对人脐静脉内皮细胞的损伤与 PI3K/Akt 途径抑制有关

王茜¹, 周兆^{2,3}, 张雷^{2,4}, 吕林林², 刘革修^{2,3}

(1.广州市番禺区何贤纪念医院药剂科,广东省广州市 511400;2.暨南大学医学院血液研究所, 3.暨南大学再生医学教育部重点实验室,4.暨南大学生命科学与技术学院生物工程系,广东省广州市 510632)

[关键词] 达沙替尼; 细胞增殖; 细胞迁移; 细胞凋亡; 细胞周期; PI3K/Akt 途径

[摘要] 目的 探索达沙替尼对人脐静脉内皮细胞(HUVEC)增殖、迁移和凋亡等生物学特性的影响,为完善其临床应用提供资料。方法 实验分组:达沙替尼组(达沙替尼处理浓度为 50 nmol/L)、LY294002 组(PI3K 抑制剂,处理浓度为 20 μ mol/L)、联合处理组(达沙替尼处理浓度为 50 nmol/L、LY294002 处理浓度为 20 μ mol/L)及溶媒对照组(DMSO 浓度为 0.1%)。CCK8 法检测细胞活性,划痕法检测细胞迁移,流式细胞术检测细胞凋亡和细胞周期,Western blot 检测 Akt 和 p-Akt 蛋白水平。结果 达沙替尼(1~400 nmol/L)不仅抑制 HUVEC 增殖,而且诱导其凋亡、抑制其迁移、阻滞细胞周期 G1-S 期转化。随浓度的升高与处理时间的延长(50 nmol/L,24 h~96 h)达沙替尼对细胞增殖抑制作用和诱导凋亡作用明显,同时 HUVEC 的迁移能力随达沙替尼浓度(50~100 nmol/L)的升高而降低。达沙替尼和 PI3K 抑制剂 LY294002 两者单独处理时均具有细胞增殖抑制作用,两者均明显抑制 Akt 蛋白磷酸化水平;两者联合处理时虽然细胞增殖抑制作用增强,但对 Akt 蛋白磷酸化水平的影响与单独处理相比差异不明显。结论 达沙替尼可通过 PI3K/Akt 通路促进 HUVEC 损伤,抑制 HUVEC 增殖和迁移,改变细胞形态,阻滞 HUVEC G1-S 期转化,诱导细胞凋亡。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Inhibition of PI3K/Akt pathway involved in damaging of dasatinib to human umbilical vein endothelial cells

WANG Qian¹, ZHOU Zhao^{2,3}, ZHANG Lei^{2,4}, LV Lin-Lin², LIU Ge-Xiu^{2,3}

(1.Department of Pharmacy, Panyu Hexian Memorial Hospital of Guangzhou, Guangzhou, Guangdong 511400, China; 2. Institute of Hematology, 3.Key Laboratory for Regenerative Medicine of Ministry of Education, 4.Department of Bioengineering, College of Life Science and Technology, Jinan University, Guangzhou, Guangdong 510632, China)

[KEY WORDS] Dasatinib; Cell proliferation; Cell migration; Apoptosis; Cell cycle; PI3K/Akt pathway

[ABSTRACT] **Aim** To explore the effect of dasatinib on proliferation, migration, cell cycle and apoptosis of human umbilical vein endothelial cells cytologically and molecularly to offer help on clinical application of dasatinib. **Methods** Experimental grouping: dasatinib group (dasatinib concentration was 50 nmol/L) and LY294002 group (PI3K inhibitor, concentration was 20 μ mol/L), combined treatment group (dasatinib treatment concentration was 50 nmol/L, the concentration of LY294002 for 20 μ mol/L) and mock group (DMSO was 0.1%). Cell viability was measured by CCK8. The migration ability of human umbilical vein endothelial cells was measured by scratch assay. Apoptosis and cell cycle were analyzed by flow cytometry. The expression and phosphorylation of Akt protein were determined by Western blot.

Results The cell viability of human umbilical vein endothelial cells decreased gradually following the increasing concentration (1~400 nmol/L) and prolonged exposure to dasatinib (50 nmol/L, 24~96 h). Dasatinib and LY294002 (an inhibitor of PI3K), both inhibited cell viability of human umbilical vein endothelial cells. Dasatinib (50~100 nmol/L) weakened the migration capability of human umbilical vein endothelial cells. In addition, compared with control, dasatinib

[收稿日期] 2017-04-12

[修回日期] 2017-05-25

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81270568)

[作者简介] 王茜,博士,主管药师,研究方向为药物药理学,E-mail 为 wangqian86@hotmail.com。通讯作者刘革修,博士,硕士生研究生导师,研究方向为造血干细胞及其微环境,E-mail 为 tliugx@jnu.edu.cn。

(50 nmol/L) induced apoptosis and cell cycle arrest ($P < 0.05$) of human umbilical vein endothelial cells. The phosphorylation of Akt was inhibited by dasatinib and LY294002, and LY294002 had more powerful inhibition of p-Akt than dasatinib. **Conclusion** Dasatinib could facilitate the injuries of human umbilical vein endothelial cells via PI3K/Akt pathway, mainly to suppress the proliferation and migration of human umbilical vein endothelial cells, alter the cell morphology, blocked the G1-S transition and induced apoptosis.

达沙替尼作为第二代酪氨酸激酶抑制剂的代表药物,具有全新的分子结构,不仅能结合多种构象的 BCR-ABL,而且可抑制 Src 家族激酶^[1],是一种抗肿瘤靶向药物。达沙替尼不仅适用于甲磺酸伊马替尼耐药或不能耐受的所有病期的慢性髓性白血病的成人患者,而且对其他疗法耐药或不能耐受的费城染色体阳性的急性淋巴细胞性白血病成人患者也可适用。虽然达沙替尼在白血病的治疗中有很好的作用,但是其在治疗时也伴随着一定的副作用^[2-4],其中体液滞留和出血与毛细血管特性的改变有关。内皮细胞是血液与血管壁之间的屏障,在心血管系统中起着至关重要的作用:止血、抗凝和选择性渗透,参与炎症反应,影响血管的发生和体液平衡等。因此,本研究将探索达沙替尼对正常人脐静脉内皮细胞(human umbilical vein endothelial cells, HUVEC)增殖、迁移及凋亡等生物学行为的影响以及参与调控的潜在信号通路,以评估达沙替尼在临床应用时对正常内皮细胞的影响,为完善达沙替尼在临床中的治疗提供基础资料。

1 材料和方法

1.1 材料

达沙替尼购自美国 ApexBio 公司,溶于 DMSO,储存浓度为 20 $\mu\text{mol/L}$; HUVEC 株(编号为 C-003-5C,购自中国科学院细胞生物学研究所上海细胞库); RPMI1640 培养基(美国 Corning 公司);胎牛血清(浙江天杭生物科技股份有限公司); CCK8(日本同仁化学研究所);凋亡试剂盒和细胞周期试剂盒(南京凯基生物科技发展有限公司); PI3K 抑制剂 LY294002(美国 Selleck 公司); RIPA 细胞裂解液(上海碧云天生物技术有限公司); ECL 化学发光试剂盒(美国 Thermo Fisher 公司);鼠抗人 GAPDH 单抗(美国 Proteintech 公司);兔抗人 Akt 抗体、鼠抗人 p-Akt 抗体以及辣根过氧化物酶标记的羊抗鼠 IgG 和羊抗兔 IgG(美国 CST 公司)。

1.2 CCK8 法检测细胞增殖

将 HUVEC 接种于 96 孔板中(3000 个/孔),含 10%血清的 RPMI1640 培养基中过夜后换成含 3%

血清的 RPMI1640 培养基并加入达沙替尼(终浓度为: 0 nmol/L、1 nmol/L、10 nmol/L、50 nmol/L、100 nmol/L、200 nmol/L 和 400 nmol/L),达沙替尼终浓度为 0 nmol/L 组加入等量的 DMSO 溶剂,在 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 且饱和湿度的细胞培养箱中培养 48 h 后进行 CCK8 检测,测定波长为 450 nm。在观察达沙替尼对 HUVEC 增殖的时间-效应关系时,选择的浓度为 50 nmol/L,细胞接种密度为 1000 个/孔,检测时间点包括 24 h、48 h、72 h 和 96 h。为了验证达沙替尼通过 PI3K/Akt 通路调控内皮细胞的增殖和迁移等生物学行为,采用 PI3K 抑制剂 LY294002 (20 $\mu\text{mol/L}$)和达沙替尼(50 nmol/L)分别单独或者联合处理内皮细胞 48 h,并设置溶媒对照组,然后进行 CCK8 检测。

1.3 划痕法测定细胞迁移

将 HUVEC 接种于 6 孔板中,培养基的血清含量为 10%,待细胞贴壁生长至融合,使用无菌的 200 μL 枪头垂直 6 孔板均匀地划 4 条互相垂直的横线, PBS 洗去脱落的细胞;然后在含不同浓度达沙替尼(0 nmol/L、50 nmol/L 和 100 nmol/L)的 RPMI1640 培养基中(含 3%血清)继续培养,分别于 0 h、12 h、24 h、36 h、48 h、60 h 和 72 h 在带有拍照系统的倒置显微镜(德国 Leica 公司)下观察拍照,然后使用 Image J 软件对各组在不同时间点的划痕宽度进行相对定量测量。

1.4 流式细胞术检测细胞凋亡和细胞周期

将 HUVEC 接种于 6 孔板中(50000 个/孔),置于含 10%血清的 RPMI1640 培养基中过夜后加入达沙替尼(50 nmol/L),并设置溶媒对照组;在 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 且饱和湿度的细胞培养箱中培养 48 h,于倒置显微镜下拍照观察;然后收集所有的细胞进行凋亡染色(Annexin V-FITC/PI 双染)和周期染色(PI 单染),处理过程参考试剂盒上提供的方法,于流式细胞仪(美国 ACEA 公司)上检测,使用 MultiCycle for Windows 软件进行分析。

1.5 Western blot 检测 Akt 和 p-Akt 的表达

将 HUVEC 接种至 25T 的细胞培养瓶中,待细胞长至 70%汇合时,加入达沙替尼(50 nmol/L)和 LY294002(20 $\mu\text{mol/L}$)单独或者联合处理,并设置

溶媒对照组;在 37℃、5%CO₂ 且饱和湿度的细胞培养箱中培养 24 h,收集所有细胞,RIPA 裂解法提取细胞总蛋白,BCA 法进行蛋白定量,然后进行常规电泳、转膜、封闭、洗膜、孵一抗、洗膜、孵二抗和 ECL 发光,最后于全自动化学发光和荧光凝胶成像系统(英国 Uvitec 公司)下显影,拍摄的照片用 Gel-Pro analyzer 6.0 软件进行分析。

1.6 统计学方法

所有的实验均重复 3 次,实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,应用 SPSS 22.0 统计软件进行统计学分析,GraphPad Prism 7.00 进行统计绘图;两组间比较采用 Student-t 检验;多组间比较采用 one-way ANOVA,组间多重比较采用 LSD 法; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 达沙替尼对 HUVEC 增殖的影响

达沙替尼(1 nmol/L)处理 48 h 明显抑制 HUVEC 增殖,且随着药物浓度的升高(1 nmol/L~100 nmol/L),HUVEC 活性逐渐下降。当浓度为 50 nmol/L 时, HUVEC 活性为溶媒对照组的 54.62%;当浓度为 400 nmol/L 时, HUVEC 活性只有溶媒对照组的 4.17%。因此在随后的研究中选择的浓度为 50 nmol/L。HUVEC 活性随着达沙替尼(50 nmol/L)处理时间的延长而逐渐降低,24 h 时即显示明显的抑制作用,96 h 时 HUVEC 活性受到严重抑制,只有溶媒对照组的 25.25%。表明达沙替尼以浓度和时间依赖性的方式抑制 HUVEC 活性。

此外,用达沙替尼(50 nmol/L)与 PI3K 抑制剂

LY294002(20 μ mol/L)分别处理 HUVEC,结果发现两者对 HUVEC 活性均有显著抑制作用,但两者之间没有显著的差别;两者联合处理时细胞增殖抑制作用增强(图 1)。提示达沙替尼可能通过调节 PI3K 的活性而对 HUVEC 的细胞学行为进行调控。

2.2 达沙替尼对 HUVEC 迁移的影响

在划痕实验中,溶媒对照组的划痕逐渐愈合(0 h~24 h);达沙替尼 50 nmol/L 组和达沙替尼 100 nmol/L 组的划痕宽度也在不断地减小(0 h~72 h)。由于溶媒对照组在 24 h 时划痕基本愈合,所以后面的观察只有达沙替尼 50 nmol/L 组和达沙替尼 100 nmol/L 组的数据。溶媒对照组划痕愈合最快,达沙替尼 50 nmol/L 组次之,达沙替尼 100 nmol/L 组最慢。提示达沙替尼以剂量依赖性的方式抑制 HUVEC 迁移(图 2)。

2.3 达沙替尼对 HUVEC 凋亡及其形态学的影响

50 nmol/L 达沙替尼处理 48 h, HUVEC 的凋亡率(7.78% \pm 0.24%)明显上升,与溶媒对照组(1.06% \pm 0.12%)相比有显著差异($P < 0.01$;图 3)。证实达沙替尼可诱导 HUVEC 凋亡。另外,细胞形态也发生了显著的变化:细胞生长分布呈破碎的岛样,细胞回缩,不再呈现出典型的卵圆形或三角形(图 4),提示达沙替尼破坏了细胞间的联系。

2.4 达沙替尼对 HUVEC 细胞周期的影响

与溶媒对照组相比,50 nmol/L 达沙替尼处理 48 h 后,G0/G1 期细胞数量显著增加,S 期细胞数量显著减少($P < 0.05$);两组 G2/M 期细胞数量没有显著差异(图 5)。提示达沙替尼可诱导 HUVEC 细胞周期阻滞。

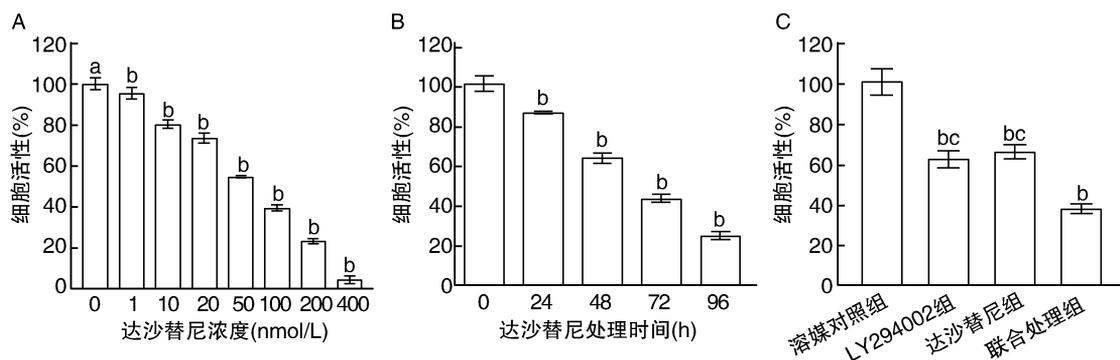


图 1. 达沙替尼以剂量和时间依赖性的方式抑制 HUVEC 增殖($\bar{x} \pm s$, $n = 3$) A 为不同剂量的达沙替尼对 HUVEC 增殖的影响, B 为达沙替尼(50 nmol/L)处理不同时间对 HUVEC 增殖的影响, C 为达沙替尼(50 nmol/L)和 LY294002(20 μ mol/L)单独或联合处理对 HUVEC 增殖的影响。a 为 $P < 0.05$, b 为 $P < 0.01$, 与 0 nmol/L 达沙替尼组或达沙替尼处理 0 h 组或溶媒对照组比较; c 为 $P < 0.01$, 与联合处理组比较。

Figure 1. Dasatinib inhibited the proliferation of HUVEC in a dose-dependent and time-dependent manner

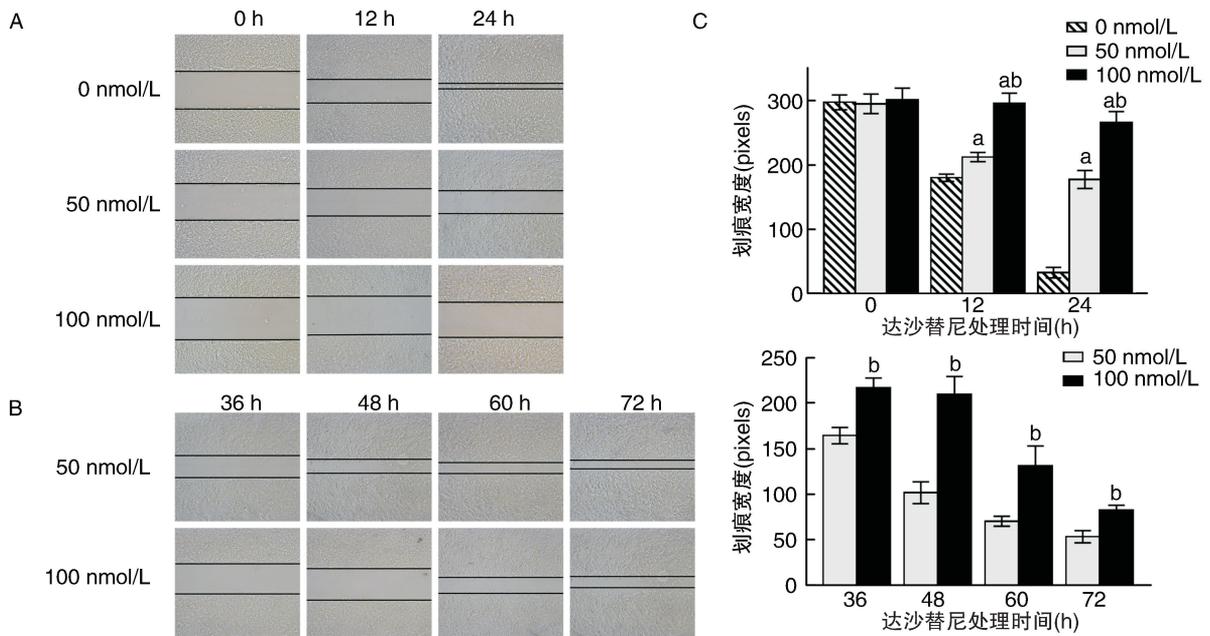


图 2. 不同浓度的达沙替尼对 HUVEC 迁移的影响(50×) A 为不同浓度的达沙替尼作用 0 h~24 h 对 HUVEC 迁移的影响,B 为不同浓度的达沙替尼作用 36 h~72 h 对 HUVEC 迁移的影响,C 为各组不同时间点划痕宽度的相对定量测量($\bar{x}\pm s, n=3$)。a 为 $P<0.01$,与溶媒对照组比较;b 为 $P<0.01$,与达沙替尼 50 nmol/L 组比较。

Figure 2. Effect of different concentration of dasatinib on HUVEC migration(50×)

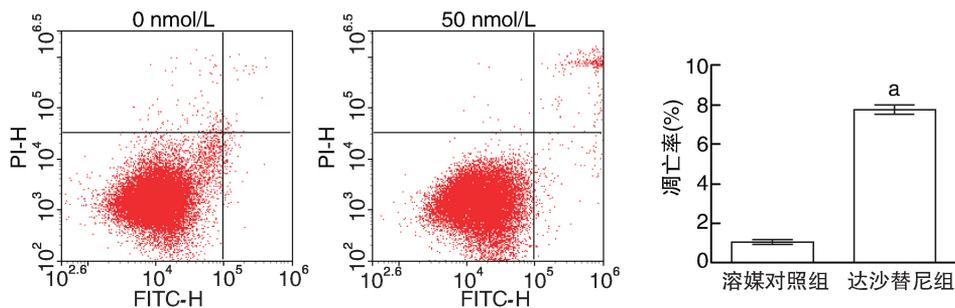


图 3. 达沙替尼诱导 HUVEC 凋亡($\bar{x}\pm s, n=3$) a 为 $P<0.01$,与溶媒对照组比较。

Figure 3. Dasatinib induced apoptosis of HUVEC($\bar{x}\pm s, n=3$)

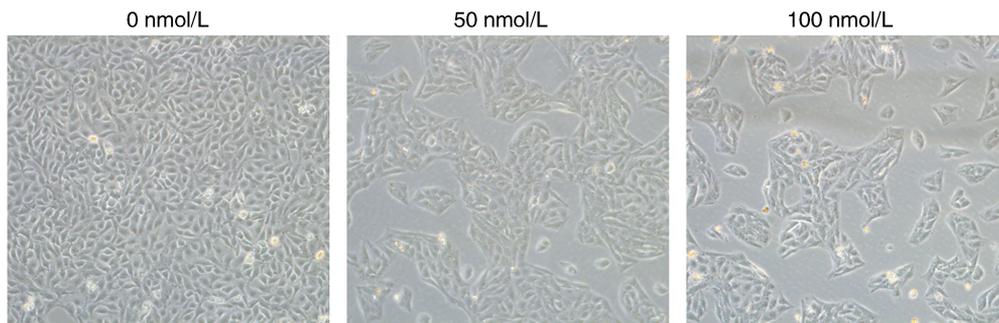


图 4. 达沙替尼对 HUVEC 形态的影响(50×, $n=3$)

Figure 4. Effect of dasatinib on morphology of HUVEC(50×, $n=3$)

2.5 达沙替尼对 HUVEC 内 Akt 蛋白的表达和磷酸化的影响

与溶媒对照组相比,达沙替尼组、LY294002 组

Akt 蛋白的表达量没有显著的变化。此外,达沙替尼组和 LY294002 组 p-Akt/Akt 比值显著小于溶媒对照组($P<0.01$),这表明达沙替尼(50 nmol/L)和

PI3K 抑制剂 LY294002 (20 $\mu\text{mol/L}$) 均抑制了 HUVEC 内 Akt 蛋白的磷酸化。但与达沙替尼组相比,LY294002 的作用更强烈($P<0.05$),两者联合处

理对 Akt 蛋白磷酸化水平的影响与 LY294002 单独处理相比差异不明显。这些结果表明达沙替尼可抑制 HUVEC 内 Akt 蛋白的磷酸化(图 6)。

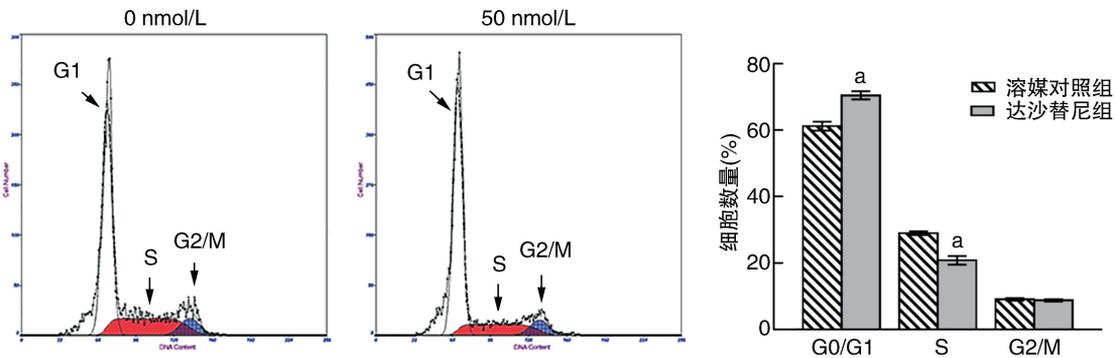


图 5. 达沙替尼对 HUVEC 细胞周期的影响($\bar{x}\pm s, n=3$) a 为 $P<0.05$,与溶剂对照组比较。

Figure 5. Effect of dasatinib on cell cycle of HUVEC($\bar{x}\pm s, n=3$)

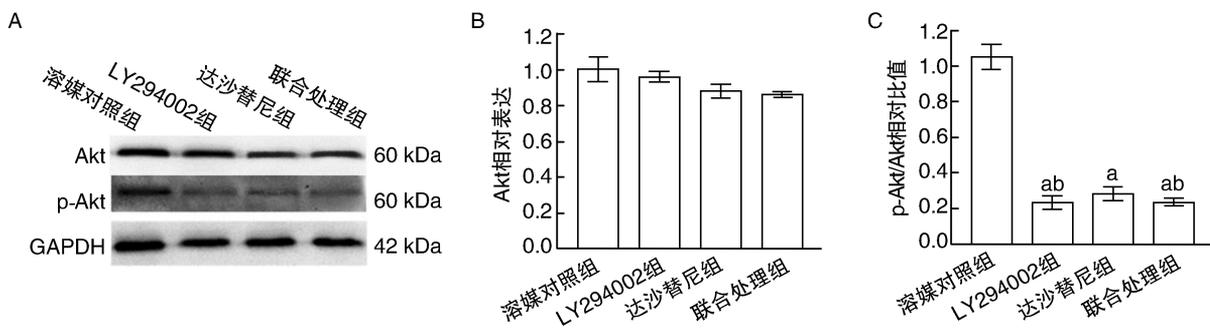


图 6. 达沙替尼抑制 HUVEC 内 Akt 蛋白磷酸化($\bar{x}\pm s, n=3$)

A 为不同处理后 HUVEC 内 Akt 和 p-Akt 的表达,B 为各组 Akt 蛋白表达的相对定量测量,C 为各组 p-Akt/Akt 比值。a 为 $P<0.01$,与溶剂对照组比较;b 为 $P<0.05$,与达沙替尼组比较。

Figure 6. Dasatinib inhibits Akt phosphorylation in HUVEC($\bar{x}\pm s, n=3$)

3 讨论

达沙替尼是一种抗肿瘤靶向药物,对肿瘤细胞具有增殖抑制作用^[5-6]。过去研究者主要关注达沙替尼对肿瘤细胞的影响,但是其对正常细胞增殖的影响却未曾探索。本研究观察了达沙替尼对 HUVEC 增殖、迁移、细胞周期和凋亡的影响以及参与这些过程的潜在信号通路,结果表明达沙替尼对正常的 HUVEC 也具有抑制作用:达沙替尼以浓度和时间依赖性的方式抑制 HUVEC 的增殖活性,并诱导其凋亡。

Src 激酶功能的异常活化会促进肿瘤细胞的迁移和浸润^[7]。由于达沙替尼属于酪氨酸激酶抑制剂,所以达沙替尼能够抑制肿瘤细胞的迁移。而且 Src 激酶广泛地表达于各种组织细胞中,所以本研究观察了达沙替尼对 HUVEC 迁移的影响。溶剂对

照组的划痕在 24 h 时基本愈合,但是在这段时间内达沙替尼组的划痕宽度变化比较小,尤其是高浓度的达沙替尼(100 nmol/L)严重抑制 HUVEC 迁移,而达沙替尼的临床相关浓度可高达 300 nmol/L^[8]。随后更长的观察时间内(24 h~72 h),达沙替尼组的划痕最终也未愈合;而且达沙替尼的浓度愈高,划痕的愈合速度愈慢。所以,我们得出推论:达沙替尼以浓度依赖性的方式抑制 HUVEC 迁移。

达沙替尼不仅抑制肿瘤细胞的增殖,还诱导肿瘤细胞的凋亡和细胞周期的阻滞。所以,本研究观察了达沙替尼对 HUVEC 凋亡和细胞周期的影响。50 nmol/L 达沙替尼处理 48 h,经流式细胞仪检测发现,达沙替尼组细胞凋亡率明显上升,G0/G1 期细胞数量增加,S 期细胞数量减少,而且达沙替尼组细胞形态发生明显的变化,细胞的生长分布异常。Src 激酶是黏着斑复合物的一部分,该复合物又可将整

联蛋白连接到细胞骨架上,对细胞间的连接和黏着有至关重要的作用。所以推测达沙替尼可能破坏了细胞间以及细胞与外基质间的黏着,并且阻滞细胞 G1-S 期的转化,诱导细胞凋亡。这些结果与 Johnson 等^[9]在研究达沙替尼对肿瘤细胞的影响时的研究结果一致。

为了验证达沙替尼通过 PI3K/Akt 通路调控内皮细胞增殖和迁移等生物学行为,本研究分别用 PI3K 抑制剂 LY294002 (20 $\mu\text{mol/L}$) 和达沙替尼 (50 nmol/L) 单独以及两者者联合处理 HUVEC, 然后检测 HUVEC 的增殖活性和胞内 Akt 蛋白的表达和磷酸化情况。PI3K 发挥激酶活性除了需要被磷酸化,还需要 ATP 的参与,而 LY294002 可与 ATP 竞争性地结合 PI3K, 从而抑制 PI3K 的激酶活性^[10]。此外,细胞内一些蛋白的磷酸化修饰,比如 Akt 和 STAT3, 也受 Src 激酶活化的正向调节^[4]。Akt 又称蛋白激酶 B, 是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶, 参与多个细胞生命过程, 像糖代谢、细胞增殖、细胞周期、细胞凋亡^[11] 以及细胞迁移等。已有研究表明在多种肿瘤细胞中, Akt 信号通路也参与达沙替尼对肿瘤细胞的抑制作用^[12-15]。本研究结果表明达沙替尼和 LY294002 均抑制 HUVEC 的增殖活性, 两者联合处理抑制作用增强。此外, Western blot 结果显示达沙替尼抑制 HUVEC 内 Akt 蛋白的磷酸化, 但其对于 Akt 磷酸化的抑制作用不如 LY294002 强烈。这些结果提示达沙替尼可抑制 PI3K 激酶活性, 抑制 Akt 蛋白磷酸化。所以可得出推论: 达沙替尼可通过 PI3K/Akt 信号通路调控 HUVEC 的增殖、迁移和凋亡及细胞周期等生物学行为。

本研究结果证明达沙替尼可通过 PI3K/Akt 信号通路促进正常 HUVEC 损伤。达沙替尼是治疗白血病的良药, 但是在其治疗肿瘤时所引起的不良影响也不能忽视。本研究结果可对其临床应用提供参考, 从而采取相关的手段降低其对正常内皮细胞的损伤。此外, 本研究主要做的体外实验, 还需要体内实验进一步研究达沙替尼对 HUVEC 的影响。

[参考文献]

[1] Marin D, Bazeos A, Mahon FX, et al. Adherence is the critical factor for achieving molecular responses in patients with chronic myeloid leukemia who achieve complete cytogenetic responses on imatinib[J]. *J Clin Oncol*, 2010, 28(14): 2 381-388.

- [2] Dasgupta SK, Le A, Vijayan KV, et al. Dasatinib inhibits actin fiber reorganization and promotes endothelial cell permeability through RhoA-ROCK pathway[J]. *Cancer Med*, 2017, 6(4): 809-818.
- [3] Rajala HL, Missiry ME, Ruusila A, et al. Tyrosine kinase inhibitor therapy-induced changes in humoral immunity in patients with chronic myeloid leukemia[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2017, [Epub ahead of print].
- [4] Suh KJ, Lee JY, Shin DY, et al. Analysis of adverse events associated with dasatinib and nilotinib treatments in chronic-phase chronic myeloid leukemia patients outside clinical trials[J]. *Int J Hematol*, 2017, [Epub ahead of print].
- [5] Keating GM. Dasatinib: A review in chronic myeloid leukaemia and Ph+acute lymphoblastic leukaemia[J]. *Drugs*, 2017, 77(1): 85-96.
- [6] Sesumi Y, Suda K, Mizuuchi H, et al. Effect of dasatinib on EMT-mediated-mechanism of resistance against EGFR inhibitors in lung cancer cells[J]. *Lung Cancer*, 2017, 104: 85-90.
- [7] Summy JM, Gallick GE. Src family kinases in tumor progression and metastasis[J]. *Cancer Metastasis Rev*, 2003, 22(4): 337-358.
- [8] O'hare T, Walters DK, Stoffregen EP, et al. Combined Abl inhibitor therapy for minimizing drug resistance in chronic myeloid leukemia: Src/Abl inhibitors are compatible with imatinib[J]. *Clin Cancer Res*, 2005, 11(19): 6 987-993.
- [9] Johnson FM, Saigal B, Talpaz M, et al. Dasatinib (BMS-354825) tyrosine kinase inhibitor suppresses invasion and induces cell cycle arrest and apoptosis of head and neck squamous cell carcinoma and non-small cell lung cancer cells[J]. *Clin Cancer Res*, 2005, 11(19): 6 924-932.
- [10] Vlahos CJ, Matter WF, Hui KY, et al. A specific inhibitor of phosphatidylinositol 3-kinase, 2-(4-morpholinyl)-8-phenyl-4H-1-benzopyran-4-one(LY294002)[J]. *J Biol Chem*, 1994, 269(7): 5 241-248.
- [11] 李跃艳, 全智华. 槲皮素调控 PTEN-Akt 通路抑制 H₂O₂ 诱导的血管内皮细胞凋亡[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2013, 21(12): 1 089-092.
- [12] Coluccia AM, Cirulli T, Neri P, et al. Validation of PDGFRbeta and c-Src tyrosine kinases as tumor/vessel targets in patients with multiple myeloma: preclinical efficacy of the novel, orally available inhibitor dasatinib[J]. *Blood*, 2008, 112(4): 1 346-356.
- [13] Rice L, Lepler S, Pampo C, et al. Impact of the SRC inhibitor dasatinib on the metastatic phenotype of human prostate cancer cells[J]. *Clin Exp Metastasis*, 2012, 29(2): 133-142.
- [14] Chen J, Lan T, Zhang W, et al. Dasatinib enhances cisplatin sensitivity in human esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) cells via suppression of PI3K/AKT and Stat3 pathways[J]. *Arch Biochem Biophys*, 2015, 575: 38-45.
- [15] Li YJ, He YF, Han XH, et al. Dasatinib suppresses invasion and induces apoptosis in nasopharyngeal carcinoma[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(7): 7 818-824.

(此文编辑 文玉珊)