

G6PD 调控 PI3K/Akt 信号通路诱导肝癌细胞索拉非尼耐药的机制研究^Δ

杨蕙华^{1,2*}, 陈大红², 刁文婧², 吴亚菲², 李琴^{2#a}, 刘皋林^{1,2#b}(1. 上海交通大学药学院, 上海 200240; 2. 上海交通大学医学院附属第一人民医院临床药学科, 上海 200080)

中图分类号 R965;R735.7 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2022)19-2338-05
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2022.19.07



摘要 目的 基于磷脂酰肌醇3激酶/蛋白激酶B(PI3K/Akt)信号通路研究葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(G6PD)诱导肝癌细胞索拉非尼耐药的机制。方法 以肝癌细胞Huh7、索拉非尼耐药肝癌细胞Huh7-SR、G6PD稳定过表达的肝癌细胞Huh7-G6PD及其对照细胞Huh7-CT为研究对象,以索拉非尼或G6PD抑制剂(6-氨基烟酰胺)为干预药物,采用CCK-8法检测细胞活力,采用Western blot法检测G6PD蛋白表达水平及PI3K/Akt信号通路相关蛋白的磷酸化水平,采用流式细胞术检测细胞凋亡水平。结果 与Huh7细胞比较,Huh7-SR细胞中G6PD的表达水平显著升高($P<0.05$)。经6-氨基烟酰胺和索拉非尼联合干预后,Huh7-SR细胞存活率显著降低($P<0.01$)。经索拉非尼干预后,与Huh7-CT细胞比较,Huh7-G6PD细胞存活率显著升高($P<0.01$),凋亡率显著降低($P<0.01$)。经6-氨基烟酰胺干预后,Huh7-SR细胞中PI3K、Akt蛋白的磷酸化水平均显著降低($P<0.05$)。不加药物干预时,与Huh7-CT细胞比较,Huh7-G6PD细胞中PI3K、Akt蛋白的磷酸化水平均显著升高($P<0.01$)。结论 G6PD可通过激活PI3K/Akt信号通路诱导肝癌细胞索拉非尼耐药。

关键词 葡萄糖-6-磷酸脱氢酶;索拉非尼;耐药;磷脂酰肌醇3激酶/蛋白激酶B信号通路;肝癌细胞

Study on the mechanism of G6PD-induced sorafenib-resistance in hepatocarcinoma cell by activating PI3K/Akt signaling pathway

YANG Huihua^{1,2}, CHEN Dahong², DIAO Wenjing², WU Yafei², LI Qin², LIU Gaolin^{1,2}(1. School of Pharmacy, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China; 2. Dept. of Clinical Pharmacy, Shanghai General Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200080, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE** To investigate the mechanism of glucose-6-phosphate dehydrogenase(G6PD)-induced sorafenib-resistance in hepatocarcinoma cell based on phosphorylated 3-kinase/protein kinase B(PI3K/Akt)signaling pathway. **METHODS** Cell lines including hepatocarcinoma cell Huh7, sorafenib-resistant cell Huh7-SR, G6PD overexpressed cell Huh7-G6PD and its control cell Huh7-CT, and compounds including G6PD inhibitor (6-Aminonicotinamide, 6AN) and sorafenib were used as objects or intervention drugs in these research. CCK8 assay was applied to evaluate cell viability. The protein levels of G6PD and the phosphorylation levels of PI3K/Akt signaling pathway were detected by Western blot. Flow cytometry was utilized to investigate cell apoptosis. **RESULTS** Compared with Huh7 cells, the protein level of G6PD was significantly increased in Huh7-SR cells ($P<0.05$). The combination of 6AN and sorafenib reduced cell viability of Huh7-SR cells ($P<0.01$). However, compared with Huh7-CT, increased cell viability and decreased cell apoptosis rate were observed in Huh7-G6PD cells while cells were treated with sorafenib ($P<0.01$). Mechanistically, the phosphorylation levels of PI3K and Akt were significantly decreased in Huh7-SR cells that were treated with 6AN ($P<0.05$). Moreover, under the condition of no drug intervention, the phosphorylation levels of PI3K and Akt were significantly elevated in Huh7-G6PD cells when compared with Huh7-CT ($P<0.01$). **CONCLUSION** G6PD could induce sorafenib-resistance in hepatocarcinoma cell by activating PI3K/Akt signaling pathway.

KEYWORDS glucose-6-phosphate dehydrogenase; sorafenib; resistance; phosphorylated 3-kinase/protein kinase B signaling pathway; hepatocarcinoma cell

^Δ 基金项目 国家自然科学基金资助项目(No.81572449);上海申康医院发展中心临床三年行动计划重大临床研究项目(No. SHDC2020CR4076)

* 第一作者 硕士研究生。研究方向:肿瘤药理学。E-mail: huihuayang@163.com

#a 通信作者 副教授,硕士生导师,博士。研究方向:肿瘤药理学。电话:021-37798731。E-mail:liqin0626@hotmail.com

#b 通信作者 教授,博士生导师,博士。研究方向:肿瘤药理学与临床药理学。电话:021-37798312。E-mail:gaolinliu@aliyun.com

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是全球发病率增长最迅速的癌症之一,其主要危险因素包括肥胖、吸烟、乙型肝炎病毒及酒精性肝炎,患者的5年生存率仅20%^[1]。索拉非尼是一种多激酶抑制剂,可抑制Raf激酶、血管内皮细胞生长因子受体、血小板衍生生长因子受体、Fms样酪氨酸激酶3、原癌基因*c-Kit*及孤儿受体酪氨酸激酶等的活性,具有抑制肿瘤生长和阻断肿瘤新生血管形成的双重抗肿瘤效应^[2]。2007年索拉非尼被批

准用于手术不能切除的晚期 HCC 的一线治疗,成为 HCC 治疗的重大突破^[3],但随之产生的耐药问题给肝癌治疗带来了巨大的挑战^[4]。因此,阐明 HCC 索拉非尼耐药的机制及寻找 HCC 治疗的新靶点将具有重要临床意义。

葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(glucose-6-phosphate dehydrogenase, G6PD)是磷酸戊糖途径的限速酶和关键酶,可促进磷酸戊糖代谢产生还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸而平衡氧化应激水平,且其高表达与多种恶性肿瘤(如肾细胞癌、肺癌等)的进展密切相关^[5-7]。相关研究还发现, G6PD 可促进非小细胞肺癌、卵巢癌、胰腺癌等对顺铂、紫杉醇及厄洛替尼产生耐药^[8-10],因此,抑制 G6PD 可增强抗肿瘤药物对耐药细胞的毒性作用。目前,有关 G6PD 在 HCC 索拉非尼耐药中的作用未见报道。基于此,本研究将探讨 G6PD 在 HCC 索拉非尼耐药中的作用机制,以期寻找逆转 HCC 索拉非尼耐药的潜在靶点提供理论依据。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器包括 BB150 型细胞培养箱(美国 Thermo Fisher Scientific 公司)、5424R 型低温离心机(德国 Eppendorf 公司)、J2-MC 型高速冷冻离心机[贝克曼库尔特商贸(中国)有限公司]、BD Accuri_C6 型流式细胞仪(美国 BD 公司)、Epoch 2t 型全波长酶标仪(美国 BioTek 有限公司)、Tannon 5200 型化学发光成像系统(上海天能科技有限公司)。

1.2 主要药品与试剂

索拉非尼、G6PD 抑制剂 6-氨基烟酰胺(6-aminonicotinamide, 6AN)、盐酸嘌呤霉素、CCK-8 试剂盒购自美国 MCE 公司(批号分别为 83807、87547、87126、100266); Annexin V FITC Apop Dtec Kit I 购自美国 BD 公司(批号 0076884);胎牛血清、胰蛋白酶、DMEM 培养基购自美国 Gibco 公司(批号分别为 2148169CP、8121521、2462637);ECL 发光试剂盒购自苏州新赛美生物技术有限公司(批号 P10300);兔源蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt)、磷酸化 Akt (phosphorylated Akt, p-Akt)、磷脂酰肌醇 3 激酶 (phosphoinositide 3-kinase, PI3K)、G6PD 抗体和小鼠源 β -肌动蛋白(β -actin)抗体均购自美国 CST 公司(货号分别为 4685S、4060S、4257S、12263S、58169S);兔源磷酸化 PI3K (phosphorylated PI3K, p-PI3K)、辣根过氧化物酶(HRP)标记的羊抗兔免疫球蛋白 G 和 HRP 标记的羊抗鼠免疫球蛋白 G 均购自上海爱必信生物科技有限公司(货号分别为 abs130869、abs20002ss、abs20039ss)。

1.3 细胞

人肝癌细胞 Huh7 购自中国科学院化学与细胞生物学研究所。G6PD 稳定过表达的肝癌细胞 Huh7-G6PD 及其对照细胞 Huh7-CT 购自上海和元生物技术有限公司。

2 方法

2.1 细胞培养

Huh7 细胞培养于含 1% 青霉素-链霉素、10% 胎牛血清的 DMEM 培养基中(以下简称“培养基”),置于 37 °C、5%

CO₂ 恒温培养箱中培养。每隔 2 d 换液 1 次,当细胞生长融合度为 80%~90% 时进行细胞传代。Huh7-G6PD 细胞及其对照细胞 Huh7-CT 均培养于含 2 μ g/mL 盐酸嘌呤霉素的培养基中,其他条件与 Huh7 细胞相同。

2.2 索拉非尼耐药肝癌细胞的构建

采用间歇梯度浓度法构建索拉非尼耐药肝癌细胞 Huh7-SR:将 Huh7 细胞按“2.1”项下方法培养,当细胞融合度为 60%~70% 时,加入含索拉非尼的培养基(索拉非尼浓度从 2 μ mol/L 开始设置,后续每稳定 1 次则增加 1 μ mol/L),间隔 12 h 观察 1 次,当细胞融合度为 80%~95% 时进行细胞传代。不断重复以上步骤直至细胞在含特定浓度的索拉非尼培养基中稳定生长。本研究构建的 Huh7-SR 细胞可在索拉非尼浓度为 6 μ mol/L 的培养基中稳定生长,故后续用此浓度来维持 Huh7-SR 细胞的耐药性。

2.3 实验方法与技术

2.3.1 CCK-8 法检测细胞活力 将对数生长期细胞以 5×10^3 个/孔接种于 96 孔板中,培养 24 h 后,将细胞分为空白孔(含培养基,不含细胞、药物)、对照孔(含培养基、细胞,不含药物)及药物干预孔(含培养基、细胞、药物),平行设置 3 个复孔。各组细胞加或不加药物干预后,弃培养基,每孔加入 CCK-8 试剂,孵育 1 h 后,采用酶标仪测定各孔光密度(optical density, OD)值,并计算细胞存活率或抑制率,其中细胞存活率 = [(药物干预孔 OD 值 - 空白孔 OD 值) / (对照孔 OD 值 - 空白孔 OD 值)] \times 100%,药物抑制率 = 1 - 细胞存活率。

2.3.2 Western blot 法检测蛋白表达水平 将对数生长期细胞铺于 6 cm 培养皿,待细胞生长至 60% 时,加或不加药物干预后,以磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤细胞后保存于 -80 °C 备用。冰上解冻细胞,加入含蛋白酶抑制剂和磷酸酶抑制剂的 RIPA 裂解液提取总蛋白,并采用 BCA 法检测总蛋白浓度。将总蛋白变性后,取 30 μ g 总蛋白在 10% 分离胶中进行 90 V 恒压电泳,随后 300 mA 恒流转膜 80 min;封闭液封闭 10 min、TBST 洗涤 10 min,分别加入相应一抗,于 4 °C 孵育过夜, TBST 洗涤 10 min \times 3 次;加入二抗室温孵育 60 min, TBST 洗涤 10 min \times 3 次;以 ECL 发光试剂显色,并于化学发光成像系统中显影,采用 Image J 软件测定蛋白灰度值,以目的蛋白与磷酸化蛋白或内参蛋白的灰度值比值表示蛋白磷酸化水平或表达水平。

2.3.3 流式细胞术检测细胞凋亡水平 将对数生长期细胞以 2×10^5 个/孔接种于 6 孔板中,加药干预后,以胰酶消化细胞,离心,收集细胞;细胞以 PBS 洗涤 3 次后,重悬于 100 μ L 的 BD binding buffer 中,转移至流式管中,加入 Annexin V FITC 和碘化吡啶(iodide pyridine, PI)各 5 μ L,避光孵育 15 min。采用流式细胞仪检测细胞的早期、晚期凋亡率,并计算总凋亡率(总凋亡率 = 早期凋亡率 + 晚期凋亡率)。

2.4 Huh7-SR 细胞对索拉非尼耐药性的考察

2.4.1 索拉非尼对 Huh7-SR 细胞活力的影响 采用 CCK-8 法进行检测。将 Huh7 细胞和 Huh7-SR 细胞按

“2.3.1”项下方法分组与给药,索拉非尼的给药浓度为3、10、30 $\mu\text{mol/L}$,干预时间为24 h,然后检测细胞存活率。上述实验重复3次。

2.4.2 索拉非尼对Huh7-SR细胞凋亡水平的影响 采用流式细胞术进行检测。将Huh7细胞和Huh7-SR细胞按“2.3.3”项下方法分组与给药,索拉非尼的给药浓度为6 $\mu\text{mol/L}$,干预时间为24 h,然后检测细胞总凋亡率。上述实验重复3次。

2.5 G6PD对Huh7-SR细胞索拉非尼敏感性的影响

2.5.1 G6PD在Huh7-SR细胞中的表达水平 采用Western blot法进行检测。将Huh7细胞和Huh7-SR细胞按“2.3.2”项下方法培养,不用药干预,直接检测2种细胞中G6PD的表达水平(以G6PD蛋白与内参 β -actin灰度值的比值表示G6PD的表达水平)。上述实验重复3次。

2.5.2 G6PD抑制剂对Huh7-SR细胞活力的影响 采用CCK-8法进行检测。将Huh7-SR细胞按“2.3.1”项下方法分组与给药,6AN的给药浓度为1、3、10、30、100、300、1 000 $\mu\text{mol/L}$ (浓度根据预实验结果设置),干预时间为24 h。上述实验重复3次。采用在线计算工具(<https://www.aatbio.com/tools/ic50-calculator>),计算半数抑制浓度(IC_{50})值。

2.5.3 G6PD抑制剂对Huh7-SR细胞的耐药逆转作用考察 采用CCK-8法进行检测。将Huh7-SR细胞分为对照组(无药物干预)、索拉非尼组(2 $\mu\text{mol/L}$)、索拉非尼+6AN组(索拉非尼2 $\mu\text{mol/L}$ +6AN 20 $\mu\text{mol/L}$),各组给药浓度根据“2.5.2”项下结果和预实验结果设置,干预时间为48 h,然后按“2.3.1”项下方法培养后测定各组细胞存活率。上述实验重复3次。

2.6 G6PD过表达对Huh7细胞索拉非尼敏感性的影响

2.6.1 G6PD过表达对Huh7细胞活力的影响 取G6PD稳定过表达的肝癌细胞Huh7-G6PD及其对照细胞Huh7-CT,按“2.3.1”项下方法分组与给药,索拉非尼的干预浓度为3、10、30 $\mu\text{mol/L}$,干预时间为24 h,然后测定细胞存活率。上述实验重复3次。

2.6.2 G6PD过表达对Huh7细胞凋亡水平的影响 采用流式细胞术进行检测。取G6PD稳定过表达的肝癌细胞Huh7-G6PD及其对照细胞Huh7-CT,按“2.3.3”项下方法培养后测定细胞凋亡率,索拉非尼的干预浓度为6 $\mu\text{mol/L}$,干预时间为24 h。上述实验重复6次。

2.7 G6PD调控肝癌细胞对索拉非尼耐药的机制考察

2.7.1 Huh7-SR细胞中PI3K/Akt信号通路相关蛋白表达的检测 采用Western blot法进行检测。将Huh7细胞与Huh7-SR细胞按“2.3.2”项下方法培养,然后检测2种细胞中PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt蛋白的表达,以p-PI3K与PI3K、p-Akt与Akt的灰度值比值分别表示PI3K、Akt蛋白的磷酸化水平。上述实验重复3次。

2.7.2 G6PD抑制剂对Huh7-SR细胞中PI3K/Akt信号通路相关蛋白表达的影响 采用Western blot法进行检测。将Huh7-SR细胞分为对照组(无药物干预)和6AN组(20 $\mu\text{mol/L}$),6AN的干预时间为48 h,然后按“2.7.1”项下方法检测细胞中PI3K、Akt蛋白的磷酸化水平。上述实验重复3次。

2.7.3 G6PD过表达对细胞中PI3K/Akt信号通路相关蛋白表达的影响 采用Western blot法进行检测。将Huh7-G6PD细胞和Huh7-CT细胞按“2.3.2”项下方法培养,然后按“2.7.1”项下方法检测2种细胞中PI3K、Akt蛋白的磷酸化水平。上述实验重复3次。

2.8 统计学方法

采用GraphPad Prism 8.0、SPSS 25.0对数据进行统计学分析,计数资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用LSD-*t*检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

3 结果

3.1 Huh7-SR细胞对索拉非尼耐药性的考察结果

在索拉非尼干预下,与Huh7细胞相比,Huh7-SR细胞存活率显著升高($P<0.05$),细胞凋亡率显著降低($P<0.05$),由此表明,相比于Huh7细胞,Huh7-SR细胞对索拉非尼的耐药性增强。结果见图1。

3.2 G6PD对Huh7-SR细胞索拉非尼敏感性的影响结果

如图2A所示,与Huh7细胞比较,G6PD在Huh7-SR细胞中的表达水平显著升高($P<0.05$)。CCK-8结果显示,在Huh7-SR细胞中,单用索拉非尼干预后细胞存活率无明显变化,表明该细胞对索拉非尼耐药;而经G6PD抑制剂6AN(IC_{50} 为47.89 $\mu\text{mol/L}$)和索拉非尼联合干预后,Huh7-SR细胞存活率显著降低($P<0.01$),表明G6PD抑制剂可恢复Huh7-SR细胞对索拉非尼的敏感性,逆转索拉非尼耐药。结果见图2B、图2C。

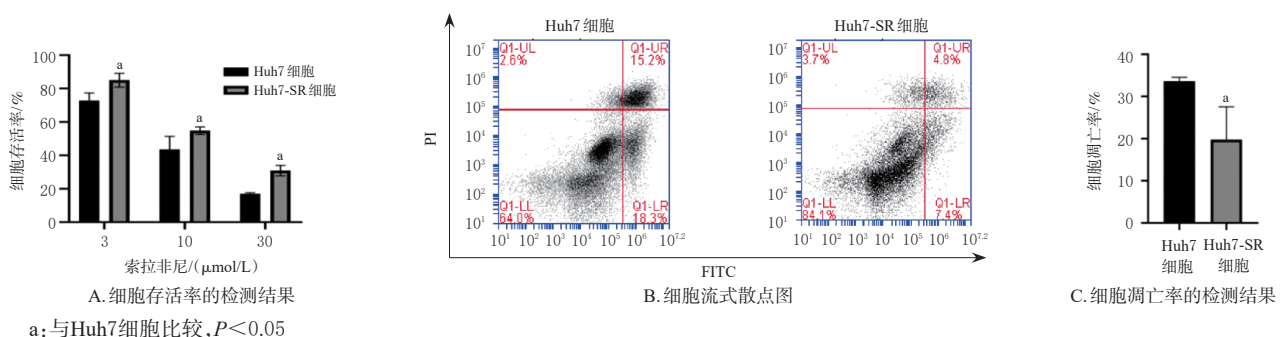


图1 Huh7-SR细胞对索拉非尼耐药性的考察结果

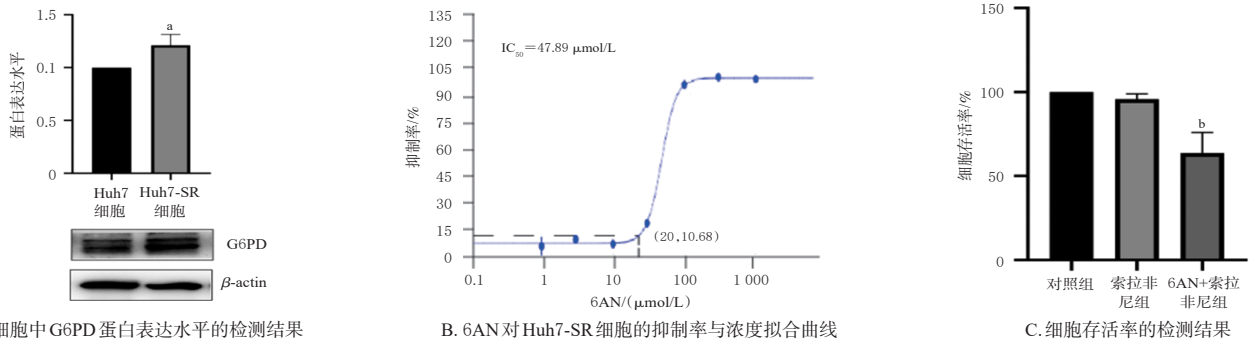


图2 G6PD对Huh7-SR细胞索拉非尼敏感性的影响结果

3.3 G6PD过表达对Huh7细胞索拉非尼敏感性的影响结果

在索拉非尼干预下,与Huh7-CT细胞比较,Huh7-G6PD细胞存活率显著升高($P < 0.01$),细胞凋亡率显著降低($P < 0.01$),表明G6PD过表达降低了Huh7细胞对索拉非尼的敏感性。结果见图3。

3.4 G6PD调控肝癌细胞索拉非尼耐药的机制考察结果

与Huh7细胞比较,Huh7-SR细胞中PI3K、Akt蛋白的磷酸化水平均显著升高($P < 0.05$),表明活化后的

PI3K/Akt信号通路参与了Huh7-SR细胞对索拉非尼的耐药。采用G6PD抑制剂6AN干预后,Huh7-SR细胞中PI3K、Akt蛋白的磷酸化水平均显著降低($P < 0.05$),表明G6PD抑制剂能抑制PI3K/Akt信号通路的激活。此外,与Huh7-CT细胞比较,Huh7-G6PD细胞中PI3K、Akt蛋白的磷酸化水平和G6PD表达水平均显著升高($P < 0.01$),表明G6PD过表达能激活PI3K/Akt信号通路。由此可知,G6PD可通过激活PI3K/Akt信号通路诱导Huh7细胞索拉非尼耐药。结果见图4。

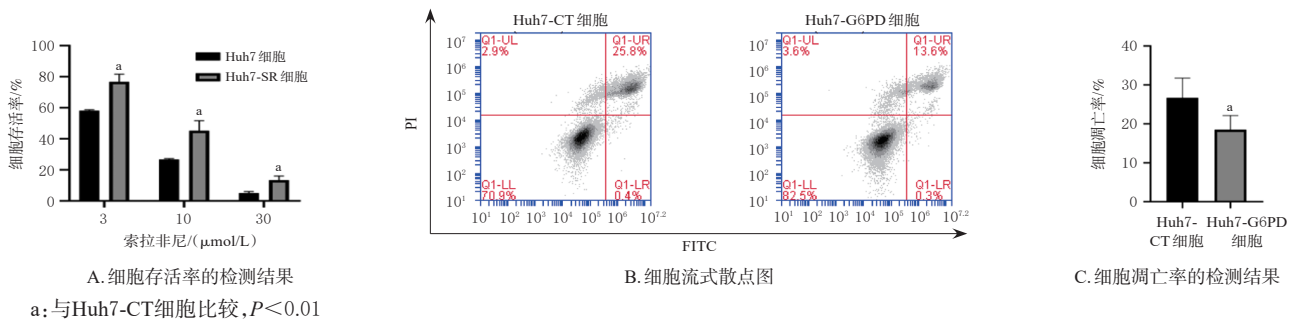


图3 G6PD过表达对Huh7细胞索拉非尼敏感性的影响结果

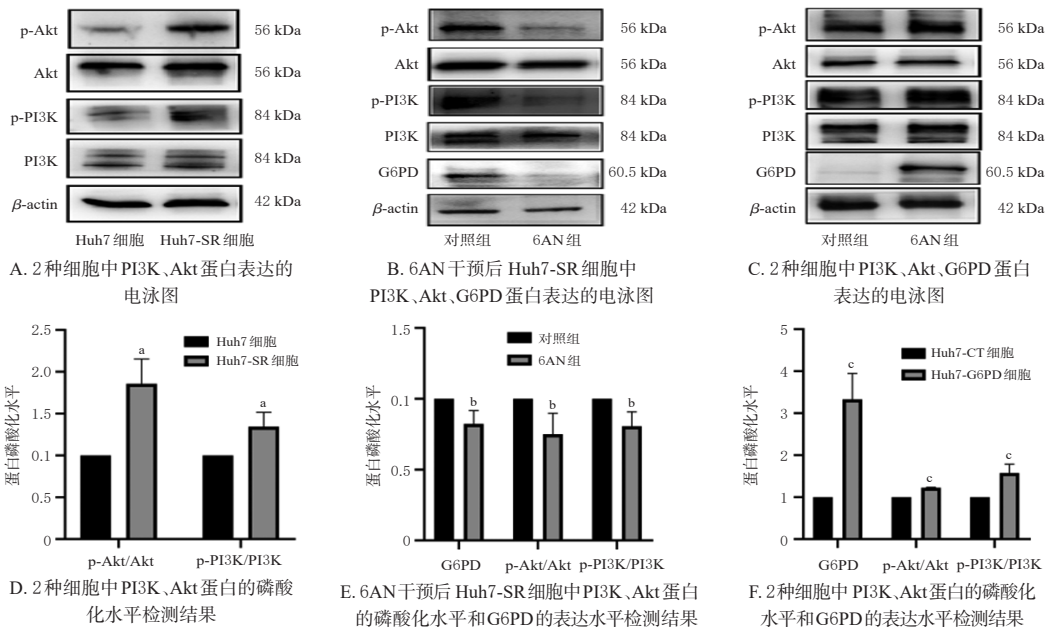


图4 G6PD调控肝癌细胞索拉非尼耐药的机制考察结果

4 讨论

一直以来,耐药是肿瘤治疗的主要限制因素,肿瘤细胞表观遗传改变、自噬增加、缺氧及有氧糖酵解增加等均可使肿瘤细胞对索拉非尼产生抵抗,从而严重影响索拉非尼的治疗效果^[11]。PI3K/Akt信号通路是肿瘤发生、发展与耐药的经典信号通路^[12-13]。相关研究表明,PI3K/Akt可通过调控免疫逃逸^[14]、转运体^[15]、有氧糖酵解^[16]等,引起肝癌细胞对索拉非尼耐药。G6PD作为磷酸戊糖代谢氧化还原阶段的关键酶,除了参与氧化还原的调节,还可以通过促进磷酸戊糖代谢物的生成间接参与Akt的激活^[17]。相关研究发现,在口腔鳞状细胞癌和膀胱癌细胞中敲减G6PD基因可使Akt活性被抑制^[18-19],这表明G6PD可调控Akt的活性。然而,在肝癌细胞索拉非尼耐药过程中G6PD是否可调控Akt尚不明确。

本研究首先在索拉非尼耐药的Huh7-SR细胞中发现G6PD的表达显著升高,但经G6PD抑制剂干预后,Huh7-SR细胞可恢复对索拉非尼的敏感性。与之相反,G6PD过表达可降低Huh7细胞对索拉非尼的敏感性。这提示G6PD高表达更容易导致索拉非尼耐药的发生。此外,在耐药细胞中抑制G6PD的表达可使PI3K/Akt信号通路活性被抑制,但在G6PD过表达的肝癌细胞(Huh7-G6PD细胞)中PI3K/Akt信号通路则被激活,这表明G6PD可通过激活PI3K/Akt信号通路诱导索拉非尼耐药。另外,有研究者报道,在肿瘤细胞中,PI3K/Akt信号通路的上下游相关分子如血管内皮细胞生长因子受体^[20]、丝裂原活化蛋白激酶^[21]及糖原合成酶激酶^[18]等均可被G6PD调控,后续也可基于这些相关分子探讨G6PD激活PI3K/Akt信号通路的具体机制。

综上所述,G6PD可通过激活PI3K/Akt信号通路诱导肝癌细胞索拉非尼耐药。

参考文献

- [1] SIEGEL R L, MILLER K D, FUCHS H E, et al. Cancer statistics, 2021[J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(1):7-33.
- [2] ESCUDIER B, EISEN T, STADLER W M, et al. Sorafenib in advanced clear-cell renal-cell carcinoma[J]. *N Engl J Med*, 2007, 356(2):125-134.
- [3] LLOVET J M, MONTAL R, SIA D, et al. Molecular therapies and precision medicine for hepatocellular carcinoma[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2018, 15(10):599-616.
- [4] FAN G H, WEI X Y, XU X. Is the era of sorafenib over? A review of the literature[J]. *Ther Adv Med Oncol*, 2020, 12:1758835920927602.
- [5] STINCONE A, PRIGIONE A, CRAMER T, et al. The return of metabolism: biochemistry and physiology of the pentose phosphate pathway[J]. *Biol Rev Camb Philos Soc*, 2015, 90(3):927-963.
- [6] GE T X, YANG J W, ZHOU S H, et al. The role of the pentose phosphate pathway in diabetes and cancer[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2020, 11:365.
- [7] YANG H C, WU Y H, YEN W C, et al. The redox role of G6PD in cell growth, cell death, and cancer[J]. *Cells*, 2019, 8(9):E1055.

- [8] HONG W P, CAI P H, XU C C, et al. Inhibition of glucose-6-phosphate dehydrogenase reverses cisplatin resistance in lung cancer cells via the redox system[J]. *Front Pharmacol*, 2018, 9:43.
- [9] FENG Q, LI X R, SUN W J, et al. Targeting G6PD reverses paclitaxel resistance in ovarian cancer by suppressing GSTP1[J]. *Biochem Pharmacol*, 2020, 178:114092.
- [10] SHARMA N, BHUSHAN A, HE J, et al. Metabolic plasticity imparts erlotinib-resistance in pancreatic cancer by upregulating glucose-6-phosphate dehydrogenase[J]. *Cancer Metab*, 2020, 8:19.
- [11] TANG W W, CHEN Z Y, ZHANG W L, et al. The mechanisms of sorafenib resistance in hepatocellular carcinoma: theoretical basis and therapeutic aspects[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2020, 5(1):87.
- [12] JIANG N N, DAI Q J, SU XR, et al. Role of PI3K/Akt pathway in cancer: the framework of malignant behavior[J]. *Mol Biol Rep*, 2020, 47(6):4587-4629.
- [13] MAYER I A, ARTEAGA C L. The PI3K/Akt pathway as a target for cancer treatment[J]. *Annu Rev Med*, 2016, 67:11-28.
- [14] XU G L, NI C F, LIANG H S, et al. Upregulation of PD-L1 expression promotes epithelial-to-mesenchymal transition in sorafenib-resistant hepatocellular carcinoma cells[J]. *Gastroenterol Rep (Oxf)*, 2020, 8(5):390-398.
- [15] ZHANG X Q, HE B, CHEN E M, et al. The aryl hydrocarbon receptor ligand ITE inhibits cell proliferation and migration and enhances sensitivity to drug-resistance in hepatocellular carcinoma[J]. *J Cell Physiol*, 2021, 236(1):178-192.
- [16] FENG J, LI J J, WU L W, et al. Emerging roles and the regulation of aerobic glycolysis in hepatocellular carcinoma[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2020, 39(1):126.
- [17] CHENG J, HUANG Y, ZHANG X H, et al. TRIM21 and PHLDA3 negatively regulate the crosstalk between the PI3K/Akt pathway and PPP metabolism[J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1):1880.
- [18] WANG Y F, LI Q X, NIU L X, et al. Suppression of G6PD induces the expression and bisecting GlcNAc-branched N-glycosylation of E-cadherin to block epithelial-mesenchymal transition and lymphatic metastasis[J]. *Br J Cancer*, 2020, 123(8):1315-1325.
- [19] CHEN X Y, XU Z J, ZHU Z J, et al. Modulation of G6PD affects bladder cancer via ROS accumulation and the AKT pathway *in vitro*[J]. *Int J Oncol*, 2018, 53(4):1703-1712.
- [20] LEOPOLD J A, WALKER J, SCRIBNER A W, et al. Glucose-6-phosphate dehydrogenase modulates vascular endothelial growth factor-mediated angiogenesis[J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(34):32100-32106.
- [21] ZHANG Q, HANQ Q, YANG Z, et al. G6PD facilitates clear cell renal cell carcinoma invasion by enhancing MMP2 expression through ROS-MAPK axis pathway[J]. *Int J Oncol*, 2020, 57(1):197-212.

(收稿日期:2022-04-01 修回日期:2022-08-19)

(编辑:唐晓莲)