



· 论著 ·

Lyn激酶对肺腺癌EGFR下游信号通路的调节作用研究

戴曦^{1,2}, 李国平^{1,3}, 杨小琼¹, 王孝芸⁴, 伍娟⁵, 梁丽娴²

1. 西南医科大学附属医院呼吸内一科, 四川 泸州 646000 ;
2. 澳门科技大学中药质量研究国家重点实验室 / 澳门药物与健康应用研究院, 澳门特别行政区 999078 ;
3. 成都市第三人民医院 / 西南交通大学附属医院呼吸内科, 四川 成都 610000 ;
4. 西南医科大学附属医院炎症与变态反应实验室, 四川 泸州 646000 ;
5. 四川省第二中医医院呼吸内科, 四川 成都 610000

[摘要] 背景与目的: 目前, 酪氨酸激酶抑制剂(tyrosine kinase inhibitors, TKI)应用于存在表皮生长因子受体(epithelial growth factor receptor, *EGFR*)突变的患者虽然取得了重大突破, 但大约70%的患者仍难以避免地出现TKI耐药, 治疗效果不尽人意。本研究通过研究Lyn激酶对*EGFR*突变肺腺癌细胞株的调节作用, 探讨Lyn激酶对*EGFR*下游信号通路的影响, 以期寻找新的分子靶点, 提高肺癌的临床诊治水平。**方法:** 采用慢病毒转染方法构建Lyn激酶高表达的*EGFR*突变细胞株Hcc827(Hcc827-Lyn^{+/+}), 通过裸鼠荷瘤实验、MTT实验、克隆实验、侵袭实验及蛋白[质]印迹法(Western blot), 检测高表达Lyn激酶的Hcc827细胞株移植于裸鼠皮下后的生长状况, 以及Lyn激酶高表达Hcc827细胞株在体外培养时增殖、克隆、侵袭能力及*EGFR*下游信号通路相关蛋白的表达水平。**结果:** 与Hcc827细胞株比较, Hcc827-Lyn^{+/+}细胞株在裸鼠荷瘤实验中表现出更强的增殖能力, 但各组荷瘤裸鼠均未见明显远处转移。体外培养时, Hcc827-Lyn^{+/+}细胞株增殖、克隆及侵袭能力强于Hcc827细胞株。Hcc827-Lyn^{+/+}细胞株*EGFR*及其下游PI3K/AKT、JAK/STAT信号通路相关蛋白表达上调。**结论:** Lyn激酶高表达能通过*EGFR*下游信号通路上调*EGFR*突变肺腺癌细胞株的增殖、侵袭能力。

[关键词] Lyn激酶; 肺腺癌; 表皮生长因子受体; 裸鼠; 增殖; 侵袭

DOI: 10.19401/j.cnki.1007-3639.2018.01.006

中图分类号: R734.2 文献标志码: A 文章编号: 1007-3639(2018)01-0043-07

Effects of Lyn kinase on EGFR signaling pathway in lung adenocarcinoma DAI Xi^{1,2}, LI Guoping^{1,3}, YANG Xiaoqiong¹, WANG Xiaoyun⁴, WU Juan⁵, LEUNG Laihan² (1. Department of Respiratory, Affiliated Hospital of South West Medical University, Luzhou 646000, Sichuan Province, China; 2. State Key Laboratory of Quality Research in Chinese Medicine/Macau Institute for Applied Research in Medicine and Health, Macau University of Science and Technology, Taipa, Macau SAR 999078, China; 3. Department of Respiratory, the Third People's Hospital of Chengdu/Affiliated Hospital of Southwest Jiao Tong University, Chengdu 610000, Sichuan Province, China; 4. Inflammation and Allergy Laboratory, Affiliated Hospital of South West Medical University, Luzhou 646000, Sichuan Province, China; 5. Department of Respiratory, the Second Chinese Medicine Hospital of Sichuan Province, Chengdu 610000, Sichuan Province, China)

Correspondence to: LEUNG Laihan E-mail: lhleung@must.edu.mo

[Abstract] **Background and purpose:** The application of tyrosine kinase inhibitor (TKI) in lung cancer patients with epidermal growth factor receptor (*EGFR*) mutations has been a significant breakthrough recently. However, almost 70% patients would suffer from TKI drug resistance inevitably so that the treatment effect is unsatisfactory. In order to look for new molecular target for improving the level of clinical diagnosis and treatment of

lung cancer, this study aimed to investigate the regulatory effects of Lyn kinase on cell line with *EGFR* mutation and the influence of Lyn kinase on EGFR downstream signaling pathway. **Methods:** The lentiviral vector expressing Lyn was used to construct the Lyn kinase high expression Hcc827 cell lines (Hcc827-Lyn^{+/+}). By means of tumor bearing experiment in nude mice, MTT experiment, cloning experiment, invasion experiment and Western blot method, we detected the ability of proliferation, cloning and invasion of high Lyn kinase expression Hcc827 cell lines and expression level of EGFR signaling pathway related proteins. **Results:** Compared with Hcc827 cell lines, Hcc827-Lyn^{+/+} cell lines showed stronger ability of proliferation in nude mice tumor bearing experiment. However, there was no distant metastasis in any nude mouse. Results of in vitro culture showed Hcc827-Lyn^{+/+} cell lines had stronger ability of proliferation, cloning and invasion compared with Hcc827 cell lines. The related proteins of EGFR and its downstream signaling pathway were upregulated in Hcc827-Lyn^{+/+} cell lines. **Conclusion:** High expression of Lyn kinase can promote the proliferation, cloning and invasion ability of Hcc827 cell lines. These effects are achieved by EGFR signaling pathway upregulation.

[Key words] Lyn kinase; Lung adenocarcinoma; Epidermal growth factor receptor; Nude mice; Proliferation; Invasion

我国由于工业化速度加快、环境污染加重等因素, 现已位居肿瘤发病率和死亡率榜首, 成为因肺癌死亡人数攀升最快的国家。国家癌症中心发布数据显示, 2006—2011年, 我国肺癌发病率为130.2万, 其中, 男性84.6万, 女性45.6万^[1]。到2015年, 我国全年约有429万例新发癌症患者和281万例因癌症导致的死亡患者, 其中, 无论是发病率还是死亡率, 肺癌均占据第1位^[2]。据美国发布的数据显示, 2016年美国大约有224 390例新发肺癌患者, 共15 808例患者死于肺癌^[3]。由此可见, 肺癌在全球范围内都是发病率、死亡率极高的肿瘤, 造成的社会负担日趋沉重, 是一个亟待解决的公共健康问题。目前我国肺癌采用的是手术、化疗、放疗及生物治疗相结合的综合治疗方法, 但其1和5年生存率仅为44%和17%, 其中小细胞肺癌的5年生存率仅7%^[4]。肺癌的发生、发展是一个多基因参与、多因素影响和多步骤进展的复杂过程, 近年来, 虽然针对非小细胞肺癌的分子靶向药物取得了一定的疗效, 但仍有较多限制, 因此深入研究肺癌, 正确认识其生物学特性, 进一步寻找新的调节靶点, 并由此发现新的药物针对潜在分子治疗靶点进行治疗, 对于肺癌的防治至关重要。

Lyn激酶是受体酪氨酸蛋白激酶(Src family of protein tyrosine kinases, SFK)家族的重要成员之一, 该家族作为细胞信号转导的关键酶, 广泛参与机体免疫应答、炎症反应等病理生理过程^[5]。在进一步的研究中, 越来越多的证据表

明, SFK家族成员参与多种实体肿瘤的发生、发展。本研究着重探讨Lyn激酶通过影响表皮生长因子受体(epithelial growth factor receptor, EGFR)下游信号通路调节EGFR突变肺腺癌细胞株Hcc827发生、发展的分子机制, 对于肺腺癌的诊断、分子靶向治疗都有重要的意义。

1 材料和方法

1.1 实验试剂

人肺腺癌细胞株Hcc827(*EGFR*外显子19缺失突变, 购自美国模式培养物保藏所)由澳门科技大学中药质量研究国家重点实验室冻存并复苏; 5周龄雄性裸鼠购自重庆腾鑫比尔实验动物公司; EFIA-eGFP-puro、EFIA-eGFP-Lyn-puro慢病毒载体构建于赛业(广州)生物科技有限公司; Lyn、EGFR、p-EGFR、STAT3、p-STAT3和Bcl-2抗体购自英国Abcam公司; PI3K、p-PI3K、AKT1、p-AKT1、小鼠抗兔二抗和猴抗小鼠二抗购自美国Santa公司。

1.2 实验方法

1.2.1 Hcc827细胞株培养及慢病毒转染

将合适密度的Hcc827细胞置于37℃、CO₂体积分数为5%的恒温箱中培养, 培养基为预热的RPMI-1640完全培养基(含10%胎牛血清、100 U/mL青霉素和0.1 mg/mL链霉素双抗), 隔天更换培养基, 所有操作均在超净工作台上完成。选择对数生长期细胞, 当细胞汇合度约为85%时, 常规胰酶消化计数, 将细胞按2×10⁵/孔

接种于6孔板,待细胞汇合度达到30%时,弃原培养基,每孔加入1 mL新鲜无血清培养基,分别加入适量EFIA-eGFP-puro(Hcc827-GFP,空载体对照组)或EFIA-eGFP-Lyn-puro(Hcc827-Lyn^{+/+},Lyn高表达实验组)病毒液,培养24 h后观察细胞状态并更换新鲜全培养基,培养48 h后在荧光显微镜下观察到明显绿色荧光表达证实转染成功。

1.2.2 裸鼠荷瘤实验

5周龄Balb/c-nu裸鼠15只,随机分为3组($n=5$),选择对数生长期Hcc827细胞和稳定转染的Hcc827-GFP、Hcc827-Lyn^{+/+}细胞,常规胰酶消化,用无血清的RPMI-1640培养基调整细胞浓度为 1×10^6 /mL,用1 mL注射器将细胞与基质胶1:1混合液注射至裸鼠前腿根部皮下,每只裸鼠注射0.2 mL,第2天使用游标卡尺测量肿瘤大小,长轴记为A,短轴记为B,肿瘤体积 $=A \times B^2/2$,绘制肿瘤生长曲线。第35天脊髓离断处死裸鼠,剥离瘤块。裸鼠的饲养及相关操作均于西南医科大学SPF级实验动物房中完成。

1.2.3 免疫荧光检测肿瘤细胞Lyn蛋白表达

选择对数生长期Hcc827、Hcc827-GFP和Hcc827-Lyn^{+/+}细胞,以较低密度接种于共聚焦皿,第2天换液,待观察到形成细胞克隆群时以4%多聚甲醛固定细胞30 min,依次完成细胞核穿孔、封闭、温育一抗、二抗及DAPI染色等步骤,在共聚焦显微镜下观察Lyn蛋白表达水平。

1.2.4 MTT实验

选择对数生长期Hcc827、Hcc827-GFP和Hcc827-Lyn^{+/+}细胞,按 5×10^3 个/孔接种于96孔板上,每孔100 μ L,每组设10个复孔,37 $^{\circ}$ C、CO₂体积分数为5%的条件下分别培养24和48 h;另将上述3种细胞按 3×10^3 个/孔接种于96孔板上,每孔100 μ L,每组设10个复孔,37 $^{\circ}$ C、CO₂体积分数为5%的条件下培养72 h。避光条件下每孔加入MTT溶液10 μ L,在培养箱中继续培养3 h取出,300 \times g离心5 min,弃上清液,每孔加入100 μ L Formazan溶解液,继续培养4 h,在显微镜下观察到黑紫色结晶完全溶解后,摇床振荡摇匀,酶标仪检测570 nm波长处吸光度(D)值,并计算存活率,存活率(%)=(实验组D值-空白组D值)/(对照组D值-空白组D值) $\times 100\%$ 。

1.2.5 克隆实验

选择对数生长期Hcc827、Hcc827-GFP和Hcc827-Lyn^{+/+}细胞,调整细胞浓度后按500个/皿接种于直径60 mm的培养皿中,第2天更换培养基。10 d后弃培养基,4%多聚甲醛固定30 min,瑞氏-吉姆萨染液染色,观察克隆形成情况。

1.2.6 侵袭实验

低温下用无血清的RPMI-1640分别将Matrigel稀释至3 mg/mL,人纤维连接蛋白稀释至125 μ g/mL,分别均匀涂在Transwell上室的内、外表面,超净工作台内过夜干燥,使用前用紫外线照射1 h。水化1 h后在下室中加入1 mL RPMI-1640全培养基,将对数生长期的Hcc827、Hcc827-GFP和Hcc827-Lyn^{+/+}细胞按 1×10^5 个/mL的密度重悬于含0.1%胎牛血清蛋白的RPMI-1640无血清培养基中,每孔300 μ L细胞悬液,每组设置3个复孔,37 $^{\circ}$ C、CO₂体积分数为5%的条件下培养24 h,4%多聚甲醛固定上室外表面30 min,瑞氏-吉姆萨染液染色,在显微镜下观察穿膜细胞数。

1.2.7 蛋白[质]印迹法(Western blot)检测

EGFR、p-EGFR、PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt、STAT3、p-STAT3、Bcl-2和Caspase-3蛋白表达水平

将对数生长期Hcc827细胞和稳定转染的Hcc827-GFP、Hcc827-Lyn^{+/+}细胞接种于6孔板上,37 $^{\circ}$ C、CO₂体积分数为5%的条件下培养48 h,提取总蛋白并测定蛋白浓度;配制SDS-PAGE凝胶,按步骤完成电泳,转膜,封闭,一抗、二抗温育,洗膜,显影,测量灰度值。

1.3 统计学处理

采用SPSS 17.0软件对实验结果进行统计学分析。除裸鼠荷瘤实验外,所有实验均重复3次,计量数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,完成数据正态性检验和方差齐性检验,多组比较采用单因素方差分析,组间比较采用LSD或Tamhane's法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 裸鼠荷瘤实验结果

裸鼠荷瘤实验结果显示,以相同细胞数目

接种在相同条件下饲养35 d, Hcc827-Lyn^{+/+}细胞表现出更强的成瘤能力, 接种Hcc827-Lyn^{+/+}细胞的裸鼠最终成瘤体积平均值为591.0 mm³, 明显大于Hcc827细胞(253.2 mm³)和Hcc827-GFP细胞(240.9 mm³)接种裸鼠, 差异有统计学意义($F=8.583$, $P=0.005$, 图1A)。瘤块生长曲线显示, Hcc827-Lyn^{+/+}细胞组成瘤能力明显高于

Hcc827细胞和Hcc827-GFP细胞组, 后两者生长曲线趋于一致(图1B); 组间比较结果显示, 在不同时间点, Hcc827细胞组和Hcc827-GFP细胞组接种裸鼠之间, 瘤体大小差异无统计学意义($P>0.05$), 而Hcc827-Lyn^{+/+}细胞接种裸鼠的瘤体大小大于Hcc827细胞组, 差异有统计学意义($P<0.05$, 图1C)。

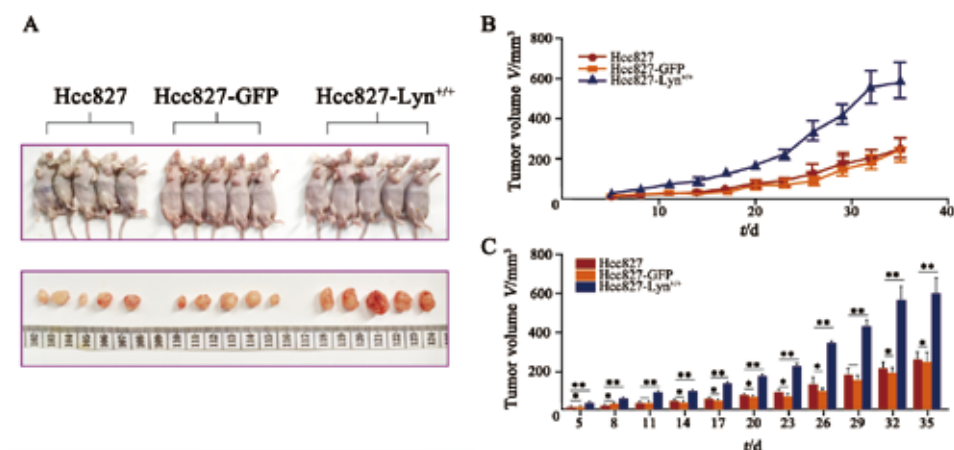


图 1 Lyn 激酶高表达促进体内种植的Hcc827细胞生长

Fig. 1 Over-expression of Lyn kinase promotes growth of Hcc827 cell line *in vivo* experiment

A: Comparison of tumor volume at 35th day in each group; B: The growth curve of each group; C: Comparison of tumor volume among different groups with time ($n=5$, $\alpha=0.05$, *: $P>0.05$, **: $P<0.05$)

2.2 免疫荧光检测肿瘤细胞Lyn蛋白表达

在共聚焦显微镜下观察, Hcc827-Lyn^{+/+}细胞组荧光强度高于Hcc827和Hcc827-GFP细胞组, 即Hcc827-Lyn^{+/+}细胞组Lyn蛋白表达高于Hcc827细胞组和Hcc827-GFP细胞组, 提示转染成功(图2A)。

2.3 MTT实验检测Lyn激酶高表达对Hcc827细胞生长的影响

结果显示, 培养24、48和72 h时, Hcc827-Lyn^{+/+}细胞组D值均高于Hcc827细胞组和Hcc827-GFP细胞组, 以Hcc827细胞组为参照, Lyn激酶高表达提高了Hcc827细胞的存活力。而空载体对照组Hcc827-GFP细胞组与Hcc827细胞组比较, 差异无统计学意义($P>0.05$, 表1, 图2B、C)。

2.4 克隆实验检测Lyn激酶高表达对Hcc827细胞增殖能力的影响

结果显示, Hcc827细胞组克隆形成数为94.67个/皿, Hcc827-GFP细胞组克隆形成数为

96.00个/皿, Hcc827-Lyn^{+/+}细胞组克隆形成数为166.33个/皿。Hcc827-GFP细胞组与Hcc827细胞组比较, 差异无统计学意义($P=0.909$), 而Hcc827-Lyn^{+/+}细胞组克隆形成数明显高于Hcc827细胞组和Hcc827-GFP细胞组, 组间比较, 差异有统计学意义(P 均=0.001)。Lyn激酶明显促进了Hcc827细胞的增殖(图3)。

2.5 侵袭实验检测Lyn激酶高表达对Hcc827细胞侵袭能力的影响

在10倍目镜下观察, 结果显示, Hcc827细胞组穿膜细胞数为27.27个/视野; Hcc827-GFP细胞组穿膜细胞数为26.47个/视野; Hcc827-Lyn^{+/+}细胞组穿膜细胞数为54.87个/视野。Hcc827-GFP细胞组与Hcc827细胞组比较, 差异无统计学意义($P=0.776$), 而Hcc827-Lyn^{+/+}细胞组穿膜细胞数明显高于Hcc827细胞组和Hcc827-GFP细胞组, 组间比较, 差异有统计学意义(P 均<0.001)。Lyn激酶高表达增强了Hcc827细胞的侵袭能力(图3)。

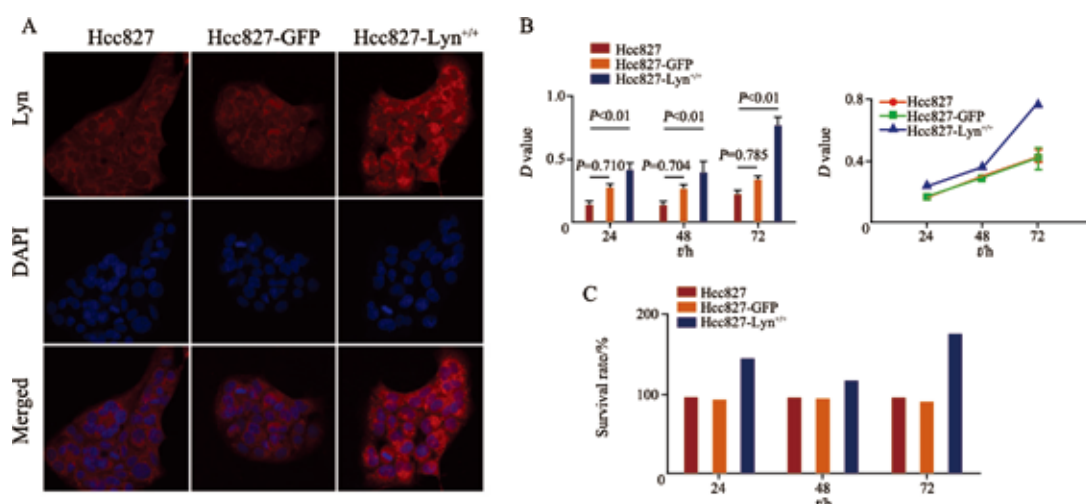


图2 Lyn激酶高表达促进体外培养的Hcc827细胞增殖

Fig. 2 Over-expression of Lyn kinase promotes proliferation of Hcc827 cell line *in vitro* experiment

A: The expression level of Lyn kinase protein in each group by immunofluorescence microscopy ($n=3$); B: MTT experiment to detect D value of different groups after cultured 24, 48 and 72 h ($n=20$, $\alpha=0.05$); C: Comparison of survival rate among different groups

表1 MTT实验比较各组D值及存活率

Tab. 1 Comparison of D value and survival rate among each group by MTT experiment

Time	D value			Survival rate		
	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
Hcc827	0.164 2±0.021 0	0.294 7±0.020 0	0.435 2±0.126 0	100.00%	100.00%	100.00%
Hcc827-GFP	0.160 6±0.017 0	0.291 7±0.015 0	0.413 7±0.228 0	97.80%	98.98%	95.06%
Hcc827-Lyn ^{+/+}	0.244 8±0.026 0	0.357 7±0.018 0	0.786 3±0.154 0	147.09%	121.38%	180.68%
F value	49.544	45.626	14.375	-	-	-
P value	0.000	0.000	0.000	-	-	-

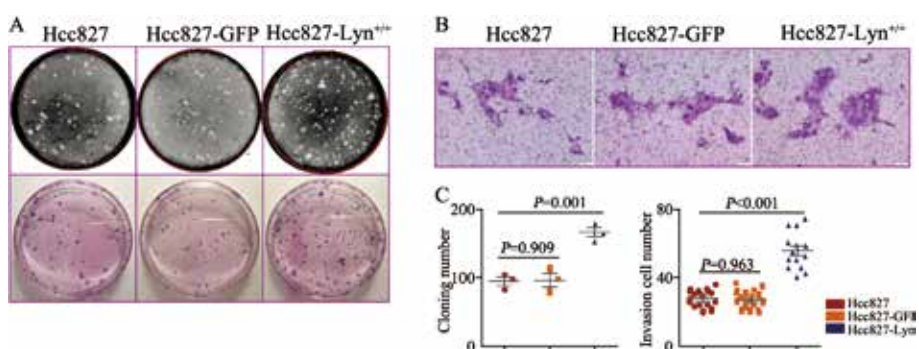


图3 Lyn激酶高表达增强体外培养的Hcc827细胞的克隆和侵袭能力

Fig. 3 Over-expression of Lyn kinase enhances the ability of cloning and invasion of Hcc827 cell line

A: The formation of cell colonies in each group was detected by colony formation assay; B: Transmembrane cells were captured by tumor invasion assay; C: Comparison of the number of colony formation and transmembrane cells among each group ($n=3$, $\alpha=0.05$)

2.6 Western blot检测EGFR及其下游信号通路相关蛋白表达水平

Western blot结果显示，与Hcc827细胞组和Hcc827-GFP细胞组比较，Hcc827-Lyn^{+/+}细胞组

Bcl-2蛋白表达升高，Caspase-3蛋白表达降低，提示Lyn激酶高表达改变了Hcc827细胞凋亡相关蛋白平衡，上调了抑凋亡蛋白表达水平同时下调了促凋亡蛋白表达水平。并且，Hcc827-

Lyn^{+/+}细胞组EGFR、p-EGFR, 以及其下游信号通路相关蛋白PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt、STAT3和p-STAT3的表达均明显升高, 提示Lyn

激酶高表达进一步激活了EGFR信号通路, 通过该信号通路发挥其促进Hcc827细胞增殖、侵袭的作用(图4、5)。

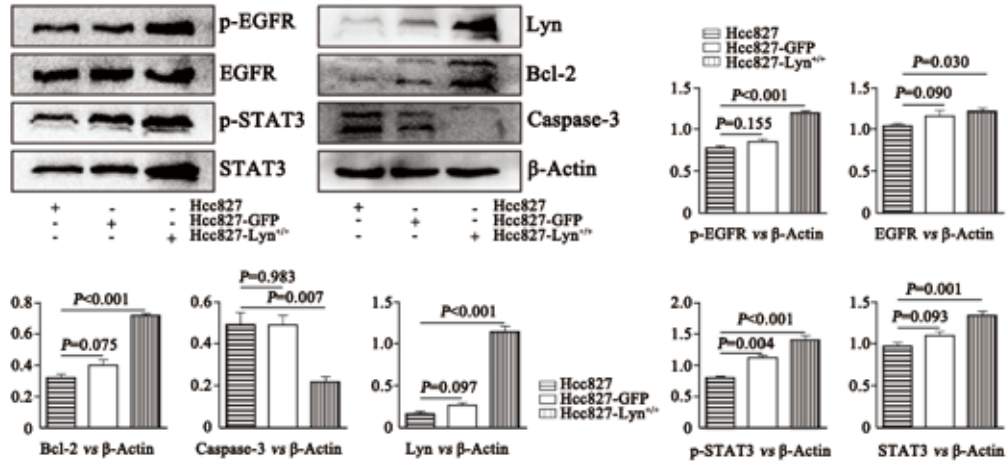


图 4 Western blot检测相关蛋白表达水平

Fig. 4 Expression level of the related proteins detected by Western blot

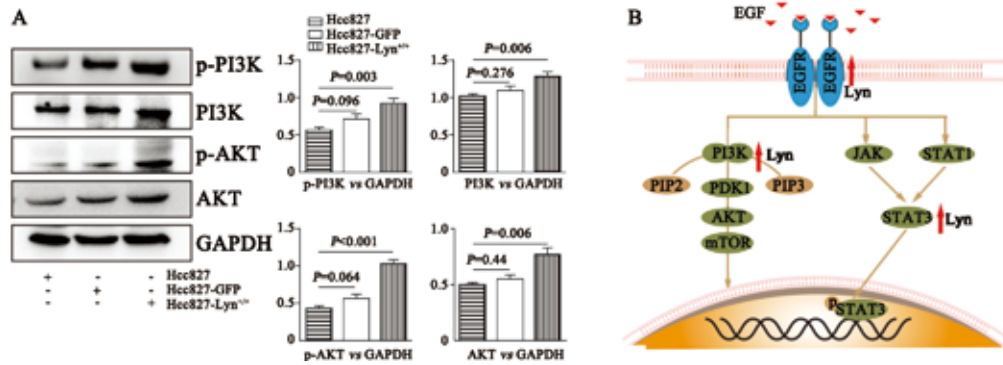


图 5 Lyn激酶通调节EGFR信号通路影响Hcc827细胞生物学特性

Fig. 5 Lyn kinase affects the biological characteristics of Hcc827 cell line through EGFR signal pathway

A: Expression level of the related proteins were detected by Western blot; B: Mechanism diagram of Lyn regulation on EGFR signaling pathway

3 讨 论

SFK属于非受体类蛋白酪氨酸激酶家族, 该家族成员之间的蛋白质结构具有高度的同源性, 包括SH1(酶促反应结构域)、SH2和SH3(调节SFK活性的关键结构域)、特异性N端SH4结构域及C端酪氨酸激酶功能域, 当SH1区域的416位点正控区发生磷酸化时SFK被激活, 进而通过其形成的一系列不同细胞膜受体在细胞生长、分化、迁移、形态特征及生存等信号转导中发挥着关键作用^[6-7]。近年来, 越来越多的证据显示, SFK通过生长因子信号级联参与实

体肿瘤的发生、发展^[8-12], 其中Lyn激酶是SFK家族重要成员, 在整合素信号途径中扮演关键角色, 该信号通路与肿瘤浸润转移关系密切, 同时已经明确EGFR是肺腺癌生长、侵袭的关键表面受体之一, EGFR通过持续激活, 形成二聚化后刺激Ras蛋白, 导致磷酸化级联反应的发生来激活其下游PI3K/Akt信号通路, 从而引起肿瘤的发生、发展。因此, 我们预测Lyn激酶与EGFR信号通路存在关联, 进而对肺腺癌发挥调节作用。

多变量分析中提到, Lyn表达水平与总体低存活率有关, 尤其在不吸烟的女性肺腺癌患者中表现突出, 使用SFK抑制剂达沙替尼抑制Lyn

活性后能降低Lyn高表达的肺腺癌细胞株的存活率和远处转移能力^[13]。另有学者提出, EGFR磷酸化调节与Lyn激酶活性有关, 该效应是通过RACK1和Cbp/PAG蛋白实现的^[14]。此外, 国内外尚缺乏更多相关研究报道。在前期研究中, 我们发现人肺腺癌组织中Lyn表达明显高于癌周正常组织, 但我们在鳞癌、小细胞癌组织中, 并没有发现Lyn高表达, 进一步支持Lyn激酶与EGFR可能存在的相关性。本研究选用19号密码子缺失的EGFR突变细胞株Hcc827, 通过建立Lyn激酶高表达细胞株, 发现Lyn对该细胞株的增殖、克隆及侵袭能力均起到了促进作用, 裸鼠荷瘤实验中, Hcc827-Lyn^{+/+}细胞株也表现出更强的成瘤能力和倍增能力。进一步的机制研究证实, Lyn明显上调了EGFR表达和磷酸化水平, 并且激活了下游PI3K/PDK/AKT和JAK/STAT3信号通路, 将EGFR信号转导入细胞中。

在肿瘤中, PI3K/PDK/AKT信号通路的编码基因存在DNA水平的结构突变, 缺乏iSH2和C-SH2结构域, 这种突变直接导致PI3K/AKT信号通路的活化和细胞转化, 尤其AKT, 是针对肿瘤细胞凋亡、增殖、侵袭及转移进行调节的关键信号因子^[15]。Lyn激酶不仅通过持续激活EGFR影响肺腺癌细胞生物学特性, 也与EGFR下游信号通路形成Lyn/PI3K/Akt、Lyn/STAT3信号途径, 直接磷酸化STAT3^[16], 参与EGFR突变肺腺癌细胞株的增殖、凋亡、侵袭及转移。Lyn激酶对肺癌的调节还有待更深入的研究, 进一步阐释其机制, 这有助于将肺癌生物靶向治疗和个体化精准治疗推向一个新的高度。

[参 考 文 献]

- [1] 石远凯, 孙燕, 于金明, 等. 中国晚期原发性肺癌诊治专家共识(2016年版) [J]. 中国肺癌杂志, 2016, 19(1): 1-15.
- [2] CHEN W, ZHENG R, BAADE P D, et al. Cancer statistics in China, 2015 [J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(2): 115-32.
- [3] SMITH R A, MANASSARAM-BAPTISTE D, BROOKS D, et

- al. Cancer screening in the United States, 2015: a review of current American cancer society guidelines and current issues in cancer screening [J]. CA Cancer J Clin, 2015, 65(1): 30-54.
- [4] BRAY F I, WEIDERPASS E. Lung cancer mortality trends in 36 European countries: secular trends and birth cohort patterns by sex and region 1970-2007 [J]. Int J Cancer, 2010, 126(6): 1454-66.
- [5] BUNDELA S, SHARMA A, BIEN P S. Potential therapeutic targets for oral cancer: ADM, TP53, EGFR, LYN, CTLA4, SKIL, CTGF, CD70 [J]. PloS one, 2014, 9(7): e102610.
- [6] PARSONS S J, PARSONS J T. Src family kinases, key regulators of signal transduction [J]. Oncogene, 2004, 23(48): 7906-7909.
- [7] MELLO A A, LEAL M F, REY J A, et al. Deregulated expression of SRC, LYN and CKB kinases by DNA methylation and its potential role in gastric cancer invasiveness and metastasis [J]. PloS one, 2015, 10(10): e0140492.
- [8] BJORGE J D, JAKYMIW A, FUJITA D J. Selected glimpses into the activation and function of Src kinase [J]. Oncogene, 2000, 19(49): 5620-5635.
- [9] 林伟, 陈金坤, 邱仙土, 等. Src酪氨酸激酶在人胃癌细胞转移中的作用和机制 [J]. 中国癌症杂志, 2012, 22(3): 177-182.
- [10] 孔璐, 张玉祥, 孙林, 等. 人胰腺癌细胞株HPAC和BxPC-3中Src/MAPK信号转导途径中pp60c-Src和pERK1/2表达的差异 [J]. 首都医科大学学报, 2008, 29(5): 589-592.
- [11] 孙释然, 玉素甫·买买提, 阎语, 等. 非受体酪氨酸激酶在乳腺癌组织的表达及其与预后的关系 [J]. 中华实验外科杂志, 2016, 33(1): 208-210.
- [12] 颜歌, 杜祥. 结直肠癌侵袭转移机制研究进展 [J]. 中国癌症杂志, 2005, 15(6): 579-582.
- [13] KIM Y J, HONG S, SUNG M, et al. LYN expression predicts the response to dasatinib in a subpopulation of lung adenocarcinoma patients [J]. Oncotarget, 2016, 7(50): 82876-82888.
- [14] SUTTON P, BORGIA JA, BONOMI P, et al. Lyn, a Src family kinase, regulates activation of epidermal growth factor receptors in lung adenocarcinoma cells [J]. Molecular Cancer, 2013, 12(1): 76.
- [15] 孙晓杰, 黄常志. PI3K-Akt信号通路与肿瘤 [J]. 世界华人消化杂志, 2006, 14(3): 306-311.
- [16] WANG L, KUROSAKI T, COREY S J. Engagement of the B-cell antigen receptor activates STAT through Lyn in a Jak-independent pathway [J]. Oncogene, 2007, 26(3): 2851-2859.

(收稿日期: 2017-08-05 修回日期: 2017-09-29)