

MAP4K4在胰腺癌中的表达及增殖功能的研究

卢 诚,涂 敏,傅 跃,陈秋阳,刘东方,时国东,苗 毅,高文涛*

南京医科大学第一附属医院胰腺中心,江苏 南京 210029

[摘要] 目的:检测丝裂原激活蛋白激酶4(MAP4K4)在胰腺癌中的表达及意义,并研究其对胰腺癌细胞增殖功能的影响。方法:检索 GEPIA 和 Oncomine 数据库,分析 MAP4K4 在胰腺癌以及正常胰腺组织中的表达;检索 GEPIA 和 OncoLnc 数据库,分析 MAP4K4 的表达量与胰腺癌患者生存期之间的关系。免疫组化检测 MAP4K4 在人胰腺癌及癌旁组织中的表达并分析其与胰腺癌患者临床病理参数的相关性以及生存分析。qRT-PCR 和 Western blot 检测 MAP4K4 在人胰腺癌细胞株中的表达。慢病毒感染人胰腺癌细胞株 CFPAC-1 和 MIA PaCa-2 构建 MAP4K4 过表达及干扰细胞株, CCK-8 和克隆形成实验研究其增殖能力变化。结果:GEPIA 和 Oncomine 数据库显示 MAP4K4 在人胰腺癌中的表达显著高于正常胰腺组织($P < 0.01$)。GEPIA 和 OncoLnc 数据库表明胰腺癌中高表达 MAP4K4 组患者的总体和无病生存期显著低于低表达组患者($P < 0.01$)。免疫组化表明 MAP4K4 在人胰腺癌组织中的表达高于癌旁组织并与肿瘤大小、肿瘤分化相关($P < 0.05$),生存分析提示 MAP4K4 高表达的胰腺癌患者生存时间显著低于 MAP4K4 低表达的患者($P < 0.05$)。MAP4K4 过表达及干扰胰腺癌细胞株构建成功,过表达后胰腺癌细胞株增殖能力明显增加而干扰后显著降低($P < 0.05$)。结论:MAP4K4 在胰腺癌中表达增高并与预后负相关,且促进胰腺癌细胞增殖。

[关键词] MAP4K4;胰腺癌;表达;增殖

[中图分类号] R735.9

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2018)06-721-07

doi: 10.7655/NYDXBNS20180602

The expression of MAP4K4 in pancreatic cancer and its function of proliferation

Lu Cheng, Tu Min, Fu Yue, Chen Qiuyang, Liu Dongfang, Shi Guodong, Miao Yi, Gao Wentao*

Pancreas Centre, the First Affiliated Hospital of NMU, Nanjing 210029, China

[Abstract] **Objective:** To investigate the expression and significance of MAP4K4 in pancreatic cancer(PC) and study its effect on proliferation. **Methods:** GEPIA and Oncomine databases were retrieved to analyze the expression of MAP4K4 in pancreatic tumors and normal pancreatic tissues; GEPIA and OncoLnc databases were performed to assess the relationship between MAP4K4 level and the survival time for patients with PC. Immunohistochemistry was used to detect the expression of MAP4K4 in human pancreatic tumors and adjacent normal tissues, then correlation and survival analysis were conducted to investigate the relationship between MAP4K4 level and clinicopathological parameters. qRT-PCR and Western blot were used to detect the expression of MAP4K4 in human PC cell lines. Lentiviruses were used to infect CFPAC-1 and MIA PaCa-2 to construct the cell lines with MAP4K4 overexpression and interfering, then CCK-8 and colony formation assay were conducted to study the influence of MAP4K4 on proliferation. **Results:** GEPIA and Oncomine databases showed that the expression of MAP4K4 was significantly higher in human pancreatic tumors than that in normal pancreatic tissues($P < 0.01$). GEPIA and OncoLnc databases revealed that higher expression of MAP4K4 was significantly associated with poorer survival time of PC patients($P < 0.01$). Data derived from immunohistochemistry indicated that MAP4K4 level was higher in human pancreatic tumors than that in adjacent normal tissues and was correlated with tumor size and differentiation($P < 0.05$). Survival analysis showed that the survival time of patients with high level of MAP4K4 was significantly lower than that with low level($P < 0.05$). Cell lines with MAP4K4 overexpression and interfering were successfully constructed. MAP4K4 overexpression significantly promoted, whereas MAP4K4 knockdown inhibited PC cell proliferation compared with controls respectively($P < 0.05$). **Conclusion:** The expression of MAP4K4 is up-regulated in PC and correlated with poor prognosis, and it plays an important role in promoting proliferation *in vitro*.

[Key words] MAP4K4; pancreatic cancer; expression; proliferation

[Acta Univ Med Nanjing, 2018, 38(06):721-727]

[基金项目] 国家自然科学基金(81372657, 81572381, 81672449);江苏省自然科学基金(BK20151027);江苏高校优势学科建设工程资助(JX10231801);江苏省创新能力建设专项(BM2015004);江苏省医学重点学科(ZDXKA2016005)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: gao11@hotmail.com

胰腺癌是消化系统中恶性程度极高的一种恶性肿瘤,预后极差,病死率接近发病率,死亡率居我国恶性肿瘤死因第7位以及美国第4位,其5年生存率不足8%^[1-2]。手术切除是目前治疗胰腺癌唯一有效的方法,然而由于其发病隐匿,大多数患者在确诊时已属于中晚期,失去了手术机会^[3]。因此阐明其发病机制和探索有效的治疗靶点依然是目前胰腺癌研究的重点。

丝裂原激活蛋白激酶4(MAP4K4,又称HGK/NIK),是丝/苏氨酸激酶亚家族STE20/MAP4K中的一员,属于MAPK信号转导通路上的上游激酶^[4]。MAP4K4在哺乳动物胚胎发育、免疫调节、炎症反应、代谢疾病、心血管疾病等生理和病理过程中发挥着重要的生物学作用^[5]。有研究表明,MAP4K4在多种实体肿瘤和肿瘤细胞系如胃癌^[4]、结直肠癌^[6]、肝癌^[7]、肺癌^[8]、胶质瘤^[9]等中高表达,参与细胞的增殖、侵袭、转移、分化、凋亡、周期调控、恶性转化等生物学行为^[10-11],发挥着重要的促癌作用^[5]。

最近,又有研究表明MAP4K4在Ⅱ期胰腺癌患者中高表达并与患者的不良预后相关^[12],但是其研究的层次并不深入。因此,本研究拟进一步探讨MAP4K4在胰腺癌及胰腺癌细胞株中的表达及临床意义,并初步探索其在增殖方面的生物学功能。

1 材料和方法

1.1 材料

GEPIA数据库(<http://gepia.cancer-pku.cn/>)、Oncomine数据库(<https://www.oncomine.org/>)、OncoLnc数据库(<http://www.oncolnc.org/>);人胰腺癌及癌旁组织标本由南京医科大学第一附属医院胰腺中心于胰腺手术中采集;人胰腺癌细胞株(BxPC-3、CF-PAC-1、COLO 357、MIA PaCa-2、PANC-1、SW1990)购于中国科学院上海细胞库,人正常胰腺导管上皮细胞株(hTERT-HPNE)购于美国模式培养物保藏所(ATCC),并冻存于本研究所;10%胎牛血清、1%青霉素-链霉素、DMEM培养基(Gibco公司,美国);MAP4K4阴性对照病毒、MAP4K4过表达病毒(广州易锦生物公司),MAP4K4干扰病毒、polybrene(上海吉玛公司),嘌呤霉素(AMRESCO公司,美国);TRIzol总RNA提取试剂(Invitrogen公司,美国),PrimeScript逆转录试剂(TaKaRa公司,日本),SYBR Green Master荧光定量PCR试剂(Roche公司,美国),7900HT荧光定量PCR仪(ABI公司,美国);全蛋白提取试剂盒(南京凯基公司),MAP4K4抗体(武

汉Proteintech公司), β -actin抗体、山羊抗鼠二抗、山羊抗兔二抗(CST公司,美国),ECL发光液(Millipore公司,美国);CCK-8试剂(DOJINDO公司,日本);结晶紫染色液(上海碧云天公司)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养

人胰腺癌细胞株培养于含10%胎牛血清和1%青霉素-链霉素的DMEM培养基中,人正常胰腺导管上皮细胞培养基按照ATCC官网说明进行配制。细胞放置于37℃和5%CO₂饱和湿度的条件下培养,取对数生长期的细胞用于实验。

1.2.2 免疫组化

人胰腺癌以及配对的癌旁组织芯片含有50对样本,组织芯片的制作以及免疫组化实验由南京医科大学第一附属医院病理科完成。主要步骤为:石蜡切片二甲苯、梯度酒精脱蜡和水化,抗原修复后用3%双氧水封闭,PBS冲洗,脱脂奶粉封闭,一抗(MAP4K4抗体,1:200)4℃孵育过夜,二抗、三抗室温各孵育1h,DAB显色3~10min,苏木素复染核2min,脱水后中性树胶封片。免疫组化的判读由2位专业的病理科医生完成,免疫组化评分计算公式如下:免疫组化评分=染色强度×染色阳性率×100。

1.2.3 慢病毒感染

收集对数生长期的细胞,以每孔 3×10^5 个细胞接种于6孔板中,待细胞生长至50%融合度时进行转染。转染时每孔加入20 μ L的MAP4K4阴性对照病毒(滴度 2×10^8 TU/mL)、20 μ L的MAP4K4过表达病毒(滴度 2×10^8 TU/mL)或6 μ L的MAP4K4干扰病毒(滴度 9×10^8 TU/mL)以及2 μ L的polybrene(5 μ g/ μ L),转染12h后更换新鲜培养基并每天换液。5d后向培养基中加入终浓度为2 μ g/mL的嘌呤霉素进行耐药细胞株的筛选用于下一步实验。MAP4K4过表达序列获取于NCBI:NM_004834.4。MAP4K4靶向shRNA序列为:5'-GGCGGAGA-AATACGTTCAT-3'。

1.2.4 qRT-PCR

收集对数生长期的细胞,用TRIzol总RNA提取试剂按照说明书步骤提取细胞总RNA,用PrimeScript逆转录试剂将总RNA逆转录为cDNA,反应条件为37℃ 15min,85℃ 5s。下一步用SYBR Green Master荧光定量PCR试剂在7900HT荧光定量PCR仪上进行反应以检测目的基因的相对表达水平。反应体系为20 μ L,反应条件为95℃ 10min预变性;95℃ 15s变性,60℃ 60s退火、延伸,重复40个

循环;95 °C 15 s、60 °C 60 s、95 °C 15 s熔解曲线。通过 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法计算MAP4K4 mRNA的表达水平, β -actin 设为内参。MAP4K4的引物为:F:5'-GACTCCCCTGCAAAAAGTCTG-3';R:5'-GTCCATAGGTGCCATTTCCAA-3'。 β -actin的引物为:F:5'-TGACGTGGACATCCGCAAAG-3';R:5'-CTGGAAGG-TGGACAGCGAGG-3'。

1.2.5 Western blot

收集对数生长期的细胞,用全蛋白提取试剂盒按照说明书步骤提取细胞总蛋白,进行SDS-PAGE凝胶电泳,转膜至PVDF膜,5%脱脂奶粉室温封闭2 h,加入兔抗人MAP4K4抗体(1:1 000)、鼠抗人 β -actin抗体(1:1 000)4 °C孵育过夜。次日用TBST洗膜3次后,加入辣根过氧化物酶标记山羊抗鼠二抗(1:3 000)、辣根过氧化物酶标记山羊抗兔二抗(1:3 000)室温孵育2 h,TBST再次洗膜3次后,ECL发光液曝光显影。

1.2.6 CCK-8细胞增殖实验

分别取对数生长期的MAP4K4阴性对照组(CFPAC-1-NC、MIA PaCa-2-NC)、MAP4K4过表达组(CFPAC-1-MAP4K4、MIA PaCa-2-MAP4K4)和MAP4K4干扰组(CFPAC-1-shMAP4K4、MIA PaCa-2-shMAP4K4)细胞,接种于96孔板中,每孔 1×10^3 个细胞,每组细胞取5个复孔,分别培养1、2、3、4和5 d后进行CCK-8检测。具体方法:每孔加入10 μ L的CCK-8试剂,培养3 h后在酶标仪上测定各孔在450 nm处的吸光度值。

1.2.7 克隆形成实验

分别取对数生长期的MAP4K4阴性对照组(CFPAC-1-NC、MIA PaCa-2-NC)、MAP4K4过表达组(CFPAC-1-MAP4K4、MIA PaCa-2-MAP4K4)和MAP4K4干扰组(CFPAC-1-shMAP4K4、MIA PaCa-2-shMAP4K4)细胞,接种于6孔板中,每孔 1×10^3 个细胞,每组细胞取3个复孔。经常观察,当6孔板中出现肉眼可见的克隆时终止培养,弃去培养液并用PBS清洗2遍,用4%多聚甲醛溶液固定细胞15 min,结晶紫染色液染色并拍照。

1.3 统计学方法

采用SPSS 23.0以及GraphPad Prism 7软件对数据进行统计分析,定量资料两组间比较采用 t 检验,多组间比较采用单因素方差分析,相关性分析采用卡方检验,生存分析采用Kaplan-Meier检验法,数据以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,所有实验重复3次, $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 MAP4K4在胰腺癌组织中高表达

GEPIA数据库整合了TCGA和GTEx数据库的数据,分析结果显示MAP4K4在人胰腺癌中的表达显著高于正常胰腺组织,差异具有统计学意义(变化倍数 > 2 , $P < 0.01$,图1A)。Oncomine数据库Badea Pancreas数据集同样也表明MAP4K4在人胰腺癌中的表达显著高于正常胰腺组织,差异具有统计学意义(变化倍数=2.643, $P < 0.01$,图1B)。免疫组化评分表明在50对胰腺癌及癌旁组织中,MAP4K4在人胰腺癌组织中高表达而在癌旁组织中表达量相对较低($P < 0.01$,图1C),并且与肿瘤的分化呈负相关,代表性染色见图2。通过分析MAP4K4的表达量与胰腺癌患者临床病理参数的相关性,结果表明MAP4K4高表达与肿瘤大小($P=0.031$)、肿瘤分化($P=0.034$)相关,而与患者的性别、年龄、血管累及等无关(表1)。

2.2 MAP4K4在胰腺癌组织中的表达量与胰腺癌患者预后显著相关

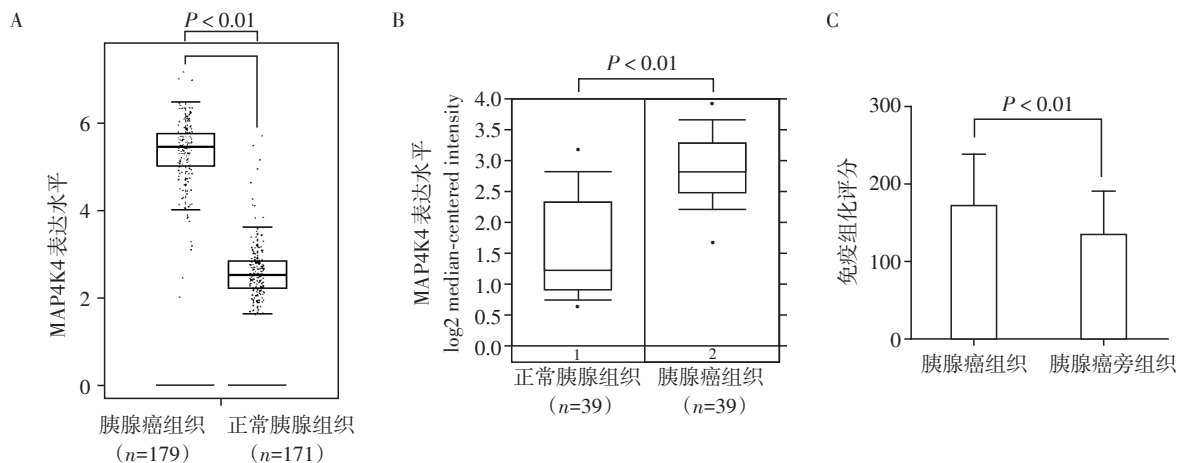
在GEPIA数据库中根据胰腺癌组织MAP4K4表达量的中位数分为高表达组和低表达组,进行总体生存期和无病生存期的生存分析,结果表明胰腺癌组织中MAP4K4的表达水平与胰腺癌患者的总体生存期和无病生存期显著相关,即高表达MAP4K4的胰腺癌患者预后越差,差异具有统计学意义(总体生存期 $P=0.05$,无病生存期 $P=0.02$,图3A、B)。OncoLnc数据库同样也表明胰腺癌组织中MAP4K4高表达与胰腺癌患者预后不良相关,差异具有统计学意义($P < 0.01$,图3C)。进一步对MAP4K4的表达与50例胰腺癌患者的总体生存期进行Kaplan-Meier生存分析,结果表明MAP4K4高表达的胰腺癌患者生存时间显著低于MAP4K4低表达的患者($P < 0.05$,图3D)。

2.3 MAP4K4在胰腺癌细胞株中高表达

为了进一步研究MAP4K4在胰腺癌中的表达,qRT-PCR和Western blot用来检测MAP4K4在人胰腺癌细胞株以及人正常胰腺导管上皮细胞株中的表达情况。结果表明,相比于人正常胰腺导管上皮细胞株hTERT-HPNE,胰腺癌细胞株BxPC-3、CFPAC-1、COLO 357、MIA PaCa-2、PANC-1、SW1990中MAP4K4表达均明显升高(图4A、B),其中CFPAC-1和MIA PaCa-2被选用于下一步实验。

2.4 MAP4K4过表达及干扰稳转细胞株的建立

MAP4K4阴性对照病毒、过表达病毒以及干扰



A: GEPIA 数据库; B: Oncomine 数据库 (Badea Pancreas 数据集); C: 免疫组化评分。

图1 MAP4K4在胰腺癌以及正常胰腺组织中的表达

Figure 1 Expression of MAP4K4 in pancreatic tumors and normal pancreatic tissues

表1 MAP4K4的表达量与胰腺癌患者临床病理参数的相关性

Table 1 Correlation of MAP4K4 level and clinicopathological parameters in patients with pancreatic cancer

临床病理参数	MAP4K4 表达		P 值
	低表达	高表达	
性别			
男	19	13	0.364
女	13	5	
年龄(岁)			
≤ 63	19	7	0.164
> 63	13	11	
肿瘤大小(cm)			
≤ 3.5	24	8	0.031
> 3.5	8	10	
肿瘤分化			
I / I ~ II / II	17	4	0.034
II ~ III / III	15	14	
神经累及			
无	15	5	0.186
有	17	13	
血管累及			
无	24	12	0.529
有	8	6	
淋巴结累及			
无	21	10	0.481
有	11	8	
临床分期			
I ~ II A	21	9	0.279
II B ~ IV	11	9	

病毒分别感染人胰腺癌细胞株 CFPAC-1 和 MIA PaCa-2 并进行耐药细胞株的筛选后, qRT-PCR 和 Western blot 用来检测过表达和干扰效率。结果表明, 相比于野生组和阴性对照组, MAP4K4 过表达和干扰效果明显 ($P < 0.01$, 图 5), MAP4K4 过表达及干扰的稳转细胞株构建成功, 可用于进一步实验。

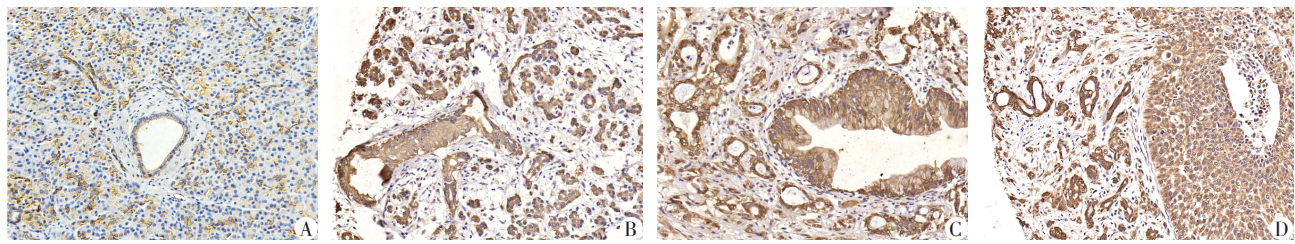
2.5 MAP4K4 过表达及干扰对胰腺癌细胞增殖功能的影响

接下来通过 CCK-8 细胞增殖实验和克隆形成实验检测 MAP4K4 过表达及干扰后细胞增殖能力的变化。CCK-8 细胞增殖实验表明, 相比于对照组, MAP4K4 过表达后, CFPAC-1 和 MIA PaCa-2 的增殖能力明显增加 ($P < 0.05$, 图 6A); 而 MAP4K4 干扰后, CFPAC-1 和 MIA PaCa-2 的增殖能力显著减弱 ($P < 0.05$, 图 6B)。克隆形成实验也表明相同的结论 ($P < 0.05$, 图 7A、B)。

3 讨论

胰腺癌作为一种恶性程度极高的肿瘤, 预后极差, 手术切除依然是目前治疗胰腺癌最有效的方法^[13]。然而胰腺癌起病隐匿、进展迅速, 就诊时可以手术切除者不足 20%。并且由于术后复发、转移率高以及对辅助放疗化疗不敏感等原因, 即使根治性手术后胰腺癌 5 年生存率也仅为 15%~25%^[3]。因此, 迫切需要探索新的有效的方法治疗胰腺癌。研究表明胰腺癌中存在多种基因变化, 但是在胰腺癌发生发展过程中涉及的特定基因的改变尚不清楚^[12]。

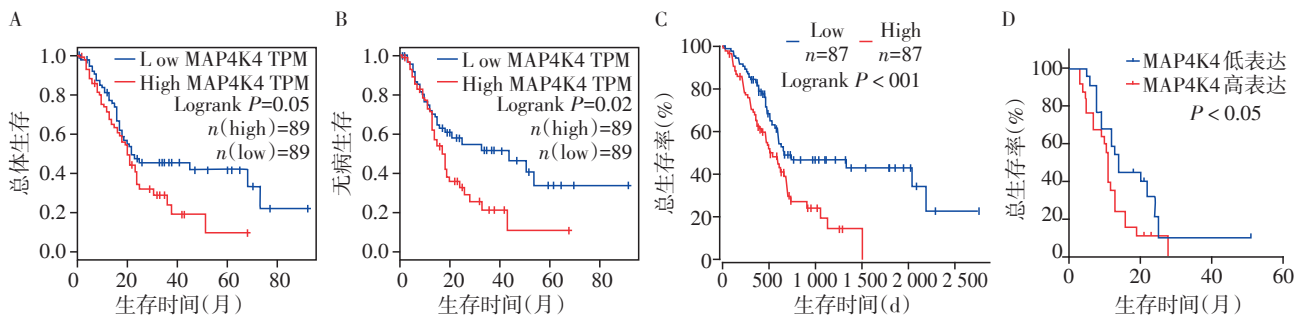
人 MAP4K4 基因位于 2 号染色体 2q11.2, 有 5 个选择性剪切的转录本, 其编码的蛋白包含约 1 200 个



A: 癌旁组织; B: 高分化胰腺癌; C: 中分化胰腺癌; D: 低分化胰腺癌。

图2 MAP4K4在不同分化的胰腺癌以及癌旁组织中的表达(×200)

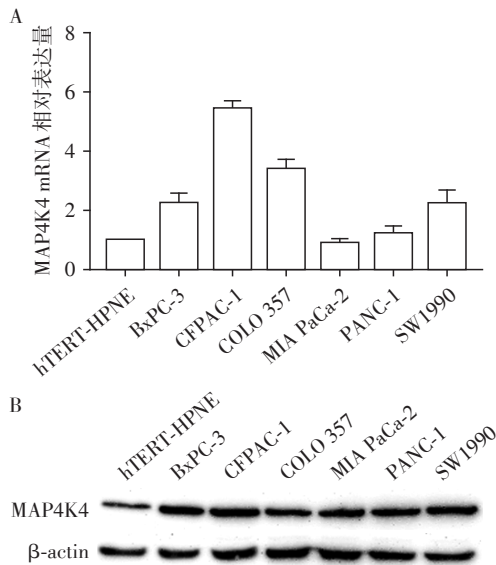
Figure 2 Expression of MAP4K4 in pancreatic cancer of different differentiation stages and adjacent tissues(×200)



A: GEPIA 数据库: 总体生存期; B: GEPIA 数据库: 无病生存期; C: OncoLnc 数据库: 总体生存期; D: 生存分析: 总体生存期。

图3 MAP4K4的表达与胰腺癌患者预后的关系

Figure 3 Relationship between expression of MAP4K4 and prognosis of patients with pancreatic cancer



A: qRT-PCR 分析胰腺癌细胞株中 MAP4K4 表达量; B: Western blot 分析胰腺癌细胞中 MAP4K4 表达量。

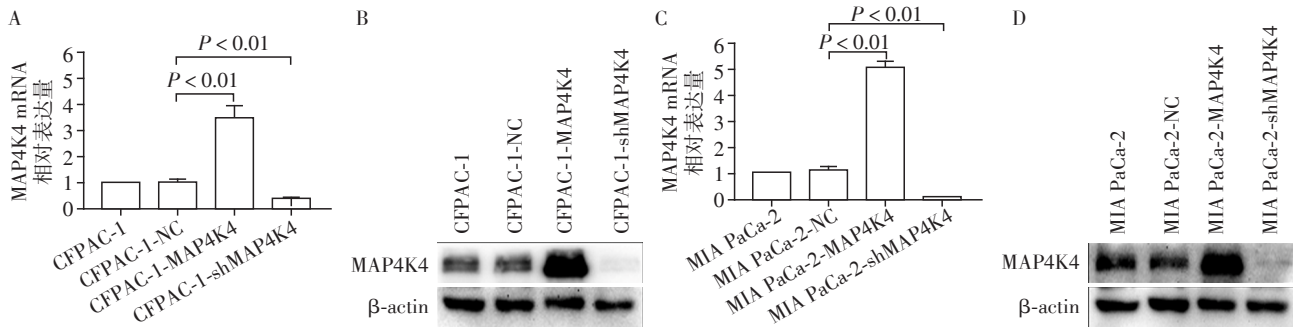
图4 MAP4K4在胰腺癌以及正常胰腺导管上皮细胞株中的表达

Figure 4 Expression of MAP4K4 in pancreatic cancer and ductal epithelial cell lines

氨基酸,分子量 140 kDa 左右^[14-16]。MAP4K4 最初作为酿酒酵母交配途径中的一个关键激酶于 1995 年被发现,随着研究的深入,后来发现其涉及细胞功

能的多个方面以及不同的生理和病理过程^[17]。近年来,越来越多的研究表明 MAP4K4 在肿瘤的发生发展中也起着重要的作用并且可能作为肿瘤治疗的一个重要靶点^[5]。Liu 等^[4]研究表明 MAP4K4 在胃癌中表达升高,shRNA 减少 MAP4K4 表达后胃癌细胞增殖能力降低、凋亡增加,细胞周期阻滞在 G1 期,可能是通过 Notch 信号通路发挥作用。Liu 等^[7]发现 MAP4K4 在肝细胞肝癌中表达异常升高,并且与患者的不良预后相关,涉及 JNK、NF- κ B 和 Toll 样受体信号通路。Feng 等^[18]研究表明 MAP4K4 通过 JNK 和 NF- κ B 信号通路促进肝癌细胞 EMT 和转移。Gao 等^[11]证实 MAP4K4 在肺腺癌中表达异常升高,并且可以通过 MAPK/ERK 信号通路影响肺癌细胞的增殖、侵袭和转移。

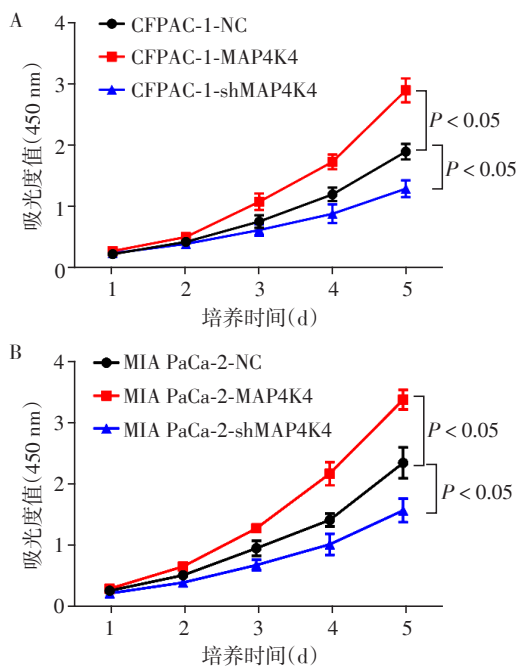
本研究主要探讨了 MAP4K4 在胰腺癌中的表达及对增殖功能的影响。首先,利用 GEPIA 和 OncoLnc 数据库分析了 MAP4K4 在胰腺癌以及正常胰腺中的表达情况,结果提示 MAP4K4 在胰腺癌中的表达显著升高,随后免疫组化实验也证实了此结论并表明 MAP4K4 的表达与肿瘤大小和肿瘤分化相关。接着分析 GEPIA 和 OncoLnc 数据库中的生存数据,表明 MAP4K4 的高表达与胰腺癌患者不良的预后显著相关,生存分析同样也提示 MAP4K4 高表达



A: qRT-PCR 分析 CFPAC-1 中 MAP4K4 的过表达和干扰效果; B: Western blot 分析 CFPAC-1 中 MAP4K4 的过表达和干扰效果; C: qRT-PCR 分析 MIA PaCa-2 中 MAP4K4 中的过表达和干扰效果; D: Western blot 分析 MIA PaCa-2 中 MAP4K4 中的过表达和干扰效果。

图5 MAP4K4过表达及干扰稳转细胞株的建立

Figure 5 Construction of stable cell lines with MAP4K4 overexpression and interfering



A: MAP4K4 过表达明显促进 CFPAC-1 增殖, 干扰明显抑制; B: MAP4K4 过表达明显促进 MIA PaCa-2 增殖, 干扰明显抑制。

图6 CCK-8 细胞增殖实验检测 MAP4K4 过表达及干扰后细胞增殖能力的变化

Figure 6 CCK - 8 cell proliferation assay to detect the changes of proliferation ability after MAP4K4 overexpression and interfering

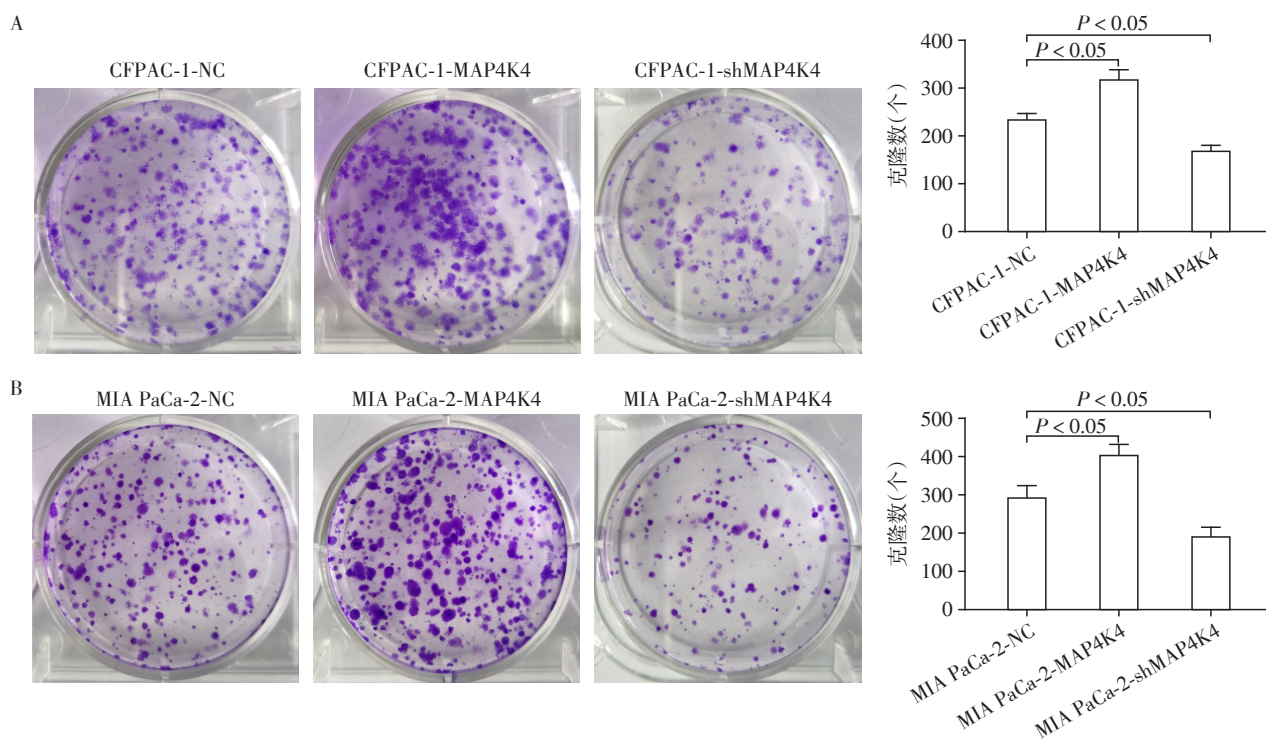
的胰腺癌患者生存时间显著低于 MAP4K4 低表达的患者。以上结果提示胰腺癌中异常高表达的 MAP4K4 可能发挥着重要的促癌作用。接下来本研究表明 MAP4K4 同样在人胰腺癌细胞株中也是高表达的, 通过慢病毒感染技术成功构建了人胰腺癌细胞株 CFPAC-1 和 MIA PaCa-2 的 MAP4K4 过表达以及干扰的稳转细胞株, CCK-8 细胞增殖实验和克隆形成实验检测细胞增殖能力, 结果表明 MAP4K4 过

表达后细胞增殖能力明显增强而 MAP4K4 干扰后增殖能力显著减弱。

综上所述, 本研究表明 MAP4K4 在胰腺癌中高表达并与患者的不良预后相关, 在体外可以发挥促进增殖的作用。进一步研究将探讨 MAP4K4 对胰腺癌细胞株其他生物学功能的影响, 并深入研究其促癌作用的具体机制, 从而确定其在胰腺癌诊断和治疗中的潜在价值及其所涉及的分子机制。

【参考文献】

- [1] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2017 [J]. CA Cancer J Clin, 2017, 67(1): 7-30
- [2] Chen W, Zheng R, Baade PD, et al. Cancer statistics in China, 2015 [J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(2): 115-132
- [3] Kamisawa T, Wood LD, Itoi T, et al. Pancreatic cancer [J]. Lancet, 2016, 388(10039): 73-85
- [4] Liu YF, Qu GQ, Lu YM, et al. Silencing of MAP4K4 by short hairpin RNA suppresses proliferation, induces G1 cell cycle arrest and induces apoptosis in gastric cancer cells [J]. Mol Med Rep, 2016, 13(1): 41-48
- [5] Gao X, Gao C, Liu G, et al. MAP4K4: an emerging therapeutic target in cancer [J]. Cell Biosci, 2016, 6: 56
- [6] Wang B, Shen ZL, Gao ZD, et al. MiR-194, commonly repressed in colorectal cancer, suppresses tumor growth by regulating the MAP4K4/c-Jun/MDM2 signaling pathway [J]. Cell Cycle, 2015, 14(7): 1046-1058
- [7] Liu AW, Cai J, Zhao XL, et al. ShRNA-targeted MAP4K4 inhibits hepatocellular carcinoma growth [J]. Clin Cancer Res, 2011, 17(4): 710-720
- [8] Qiu MH, Qian YM, Zhao XL, et al. Expression and prognostic significance of MAP4K4 in lung adenocarcinoma [J]. Pathol Res Pract, 2012, 208(9): 541-548



A: MAP4K4过表达明显促进CFPAC-1增殖,干扰明显抑制;B: MAP4K4过表达明显促进MIA PaCa-2增殖,干扰明显抑制。

图7 克隆形成实验检测MAP4K4过表达及干扰后细胞增殖能力的变化

Figure 7 Colony formation assay to detect the changes of proliferation ability after MAP4K4 overexpression and interfering

[9] Loftus JC, Yang Z, Kloss J, et al. A novel interaction between Pyk2 and MAP4K4 is integrated with glioma cell migration[J]. J Signal Transduct, 2013, 2013: 956580

[10] Feng XJ, Pan Q, Wang SM, et al. MAP4K4 promotes epithelial-mesenchymal transition and metastasis in hepatocellular carcinoma[J]. Tumour Biol, 2016, 37(8): 11457-11467

[11] Gao X, Chen G, Gao C, et al. MAP4K4 is a novel MAPK/ERK pathway regulator required for lung adenocarcinoma maintenance[J]. Mol Oncol, 2017, 11(6): 628-639

[12] Liang JJ, Wang H, Rashid A, et al. Expression of MAP4K4 is associated with worse prognosis in patients with stage II pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. Clin Cancer Res, 2008, 14(21): 7043-7049

[13] Tempero MA, Malafa MP, Al-Hawary M, et al. Pancreatic adenocarcinoma, version 2.2017, NCCN clinical practice guidelines in oncology [J]. J Natl Compr Canc Netw, 2017, 15(8): 1028-1061

[14] Delpire E. The mammalian family of sterile 20p-like protein kinases[J]. Pflugers Arch, 2009, 458(5): 953-967

[15] Yao Z, Zhou G, Wang XS, et al. A novel human STE20-related protein kinase, HGK, that specifically activates the c-Jun N-terminal kinase signaling pathway [J]. J Biol Chem, 1999, 274(4): 2118-2125

[16] Su YC, Han J, Xu S, et al. NIK is a new Ste20-related kinase that binds NCK and MEKK1 and activates the SAPK/JNK cascade via a conserved regulatory domain [J]. EMBO J, 1997, 16(6): 1279-1290

[17] Chuang HC, Wang X, Tan TH. MAP4K family kinases in immunity and inflammation[J]. Adv Immunol, 2016, 129: 277-314

[18] Feng XJ, Pan Q, Wang SM, et al. MAP4K4 promotes epithelial-mesenchymal transition and metastasis in hepatocellular carcinoma [J]. Tumour Biol, 2016, 37(8): 11457-11467

[收稿日期] 2018-02-07