

DOI:10.3971/j.issn.1000-8578.2011.11.017

pAkt、Skp2 和 P27^{kip1} 蛋白在肝细胞癌中的表达及意义

张 萌, 彭 利, 乔治斌, 何宏涛, 周 焱, 徐 卓, 杨 涛, 梁占强

Expression and Clinical Significance of pAkt, Skp2 and P27^{kip1} Protein in Hepatocellular Carcinoma

ZHANG Meng, PENG Li, QIAO Zhi-bin, HE Hong-tao, ZHOU Ye, XU Zhuo, YANG Tao, LIANG Zhan-qiang

Department of Hepatobiliary Surgery, Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, China

Corresponding Author: PENG Li, E-mail: pengli72@sina.com

Abstract: Objective To explore the expression and clinical significance of pAkt, Skp2 and P27^{kip1} in hepatocellular carcinoma (HCC) patients. **Methods** The expression levels of pAkt, Skp2 and P27^{kip1} in 78 HCC and 21 normal liver tissues were evaluated by immunohistochemistry. The relationship between these molecules and clinicopathological variables was further analyzed. **Results** The positive expression rates of pAkt and Skp2 in HCC were 43.6% and 47.4% respectively, and significantly higher than those in normal liver tissue ($P < 0.05$). P27^{kip1} was expressed in 34.6% samples of HCC, and significantly lower than that in normal liver tissue ($P < 0.05$). pAkt expression level was correlated with tumor size, invasion (or lymph node metastasis) and TNM stage. Skp2 expression level was correlated with tumor size, cancer-embolus in portal vein and TNM stage. P27^{kip1} expression level was correlated with tumor size, tumor number and TNM stage. Moreover, There was a positive correlation between Skp2 and pAkt expression level ($r = 0.356, P = 0.001$), while an inverse correlation between Skp2 and P27^{kip1} expression level ($r = -0.313, P = 0.005$). HCC patients with high pAkt and Skp2 expression could survive much longer than those with low pAkt and Skp2 expression ($P = 0.000$, Log-rank test). No significant difference of survival time was observed within different P27^{kip1} expression groups ($P > 0.05$, Log-rank test). A multivariate analysis based on Cox regression model demonstrated that TNM stage, pAkt and Skp2 expression might be independent factors affecting the survival time of HCC patients. **Conclusion** The expression levels of pAkt, Skp2 and P27^{kip1} were closely correlated to the malignant biological behavior of HCC. Skp2 and pAkt were potential biomarkers evaluate the prognosis of HCC.

Key words: Hepatocellular carcinoma; Immunohistochemistry; pAkt; Skp2; P27^{kip1}

摘要:目的 探讨人肝细胞癌组织中 pAkt、Skp2 和 P27^{kip1} 蛋白的表达及其临床意义。**方法** 应用免疫组织化学方法检测 78 例肝细胞癌及 21 例正常肝组织中 pAkt、Skp2 和 P27^{kip1} 蛋白的表达,分析其与肝细胞癌临床病理特征及预后的关系。**结果** 肝细胞癌组织中 pAkt 及 Skp2 蛋白的高表达率分别为 43.6% 和 47.4%,显著高于正常肝组织 ($P < 0.05$),P27^{kip1} 蛋白的阳性表达率为 34.6%,显著低于正常肝组织 ($P < 0.05$)。pAkt 蛋白的表达与肿瘤直径、侵犯周围脏器或淋巴结转移及 TNM 分期有关 ($P < 0.05$);Skp2 蛋白的表达与肿瘤直径、门静脉癌栓及 TNM 分期有关 ($P < 0.05$);P27^{kip1} 蛋白的表达与肿瘤直径、数目及 TNM 分期有关 ($P < 0.05$)。Skp2 与 pAkt 蛋白表达呈正相关 ($r = 0.356, P = 0.001$),与 P27^{kip1} 蛋白表达呈负相关 ($r = -0.313, P = 0.005$)。pAkt、Skp2 蛋白高表达患者术后生存率明显低于低表达患者 ($P = 0.000$),P27^{kip1} 蛋白的表达与患者术后生存率无关。Cox 模型多因素分析结果显示, TNM 分期、pAkt 及 Skp2 蛋白的表达是影响肝细胞癌预后的独立因素。**结论** 肝细胞癌组织中 pAkt、Skp2 及 P27^{kip1} 蛋白的表达失调与肝细胞癌的恶性生物学行为密切相关,pAkt 及 Skp2 可以作为评价患者预后的指标。

收稿日期:2011-01-06;修回日期:2011-07-08

基金项目:河北省高校强势特色学科资助项目 [2005(52)];河北省卫生厅资助课题(06142)

作者单位:050011 石家庄,河北医科大学第四医院肝胆外科

通信作者:彭利,E-mail:pengli72@sina.com

作者简介:张萌(1977-),男,博士,主治医师,主要从事肝胆肿瘤基础与临床的研究

关键词:癌,肝细胞;免疫组织化学;pAkt;S 期激酶相关蛋白 2;P27^{kip1}

中图分类号:R735.7 文献标识码:A

文章编号:1000-8578(2011)11-1283-05

0 引言

我国是全球肝细胞癌发病率最高的国家。肝细胞癌临床症状出现晚、发展迅速,治疗效果差,预后不佳,为我国第二位恶性肿瘤致死病因,是我国恶性肿瘤防治研究的重点。深入研究肝细胞癌发生发展、侵袭转移的机制,有效的评估患者预后有重要的临床意义。pAkt 是磷脂酰肌醇-3-激酶/蛋白激酶 B (phosphatidylinositol-3-kinase/protein kinase B, PI3K/Akt)通路的作用核心^[1],通过激活下游多种靶蛋白,抑制凋亡,促进多种肿瘤细胞的增殖、侵袭和转移^[2]。最近研究发现,S 期激酶相关蛋白 2(S-phase kinase associated protein 2, Skp2)为 pAkt 的下游底物之一^[3]。Skp2 的过高表达将加速降解细胞周期蛋白激酶抑制蛋白 P27^{kip1},使细胞周期调节失控,最终导致癌变的发生^[4]。有关 pAkt/Skp2/P27^{kip1} 通路是否参与肝细胞癌的恶性生物学行为及对患者预后的影响报道较少。本实验采用免疫组织化学方法联合检测肝细胞癌组织及正常肝组织中 pAkt、Skp2 和 P27^{kip1} 蛋白的表达,结合患者临床病理特征及术后生存期,初步探讨它们在肝细胞癌中表达的意义及预后价值。

1 资料和方法

1.1 组织标本来源及一般资料

收集河北医科大学第四医院肝胆外科 2004 年 10 月—2007 年 12 月手术切除并经病理证实的随访资料完整的肝细胞癌标本 78 例。术前均未经过任何抗肿瘤治疗。男 71 例,女 7 例,年龄 30~73 岁,中位年龄 56 岁。标本切除离体立即固定于 10%中性甲醛溶液,石蜡包埋。78 例肝细胞癌的一般资料见表 1。另取肝血管瘤患者之肝组织 21 例作为对照。由两位有经验的病理医师进行病理组织学诊断。

1.2 主要试剂

pAkt 兔抗人单克隆抗体购自美国 Epitomics 公司,Skp2 兔抗人多克隆抗体及 P27^{kip1} 鼠抗人单克隆抗体均购自美国 Santa Cruz 公司。即用型非生物素免疫组织化学 EliVision™ super 检测试剂盒(KIT-9922)、即用型快捷免疫组织化学 MaxVision™2 试剂盒(KIT-5920)均购自福州迈新生物技术开发有限公司。

1.3 免疫组织化学染色方法

采用免疫组织化学一步法(EliVision™ super 检测试剂盒)。切片均用 2%APES 处理,4 μm 连续切片。使用枸橼酸盐缓冲液抗原热修复。pAkt 和 Skp2 抗体以 1 : 100 稀释;P27^{kip1} 抗体以 1 : 70 稀释。以 PBS 代替一抗作为阴性对照;以已知阳性的宫颈癌切片作为 pAkt 的阳性对照;已知阳性的乳腺癌切片作为 Skp2、P27^{kip1} 的阳性对照。

表 1 pAkt、Skp2 和 P27^{kip1} 蛋白在肝细胞癌中的表达与临床病理特征的关系

Table 1 The relationship of pAkt, Skp2 and P27^{kip1} protein with clinical pathologic data in hepatocellular carcinoma

| Variable | n | pAkt(n, %) | | | | Skp2(n, %) | | | | P27 ^{kip1} (n, %) | | | |
|-------------------------------|----|------------|----------|----------------|-------|------------|----------|----------------|-------|----------------------------|----------|----------------|-------|
| | | Low | High | χ ² | P | Low | High | χ ² | P | Low | High | χ ² | P |
| Age(years) | | | | | | | | | | | | | |
| ≤50 | 19 | 11(57.9) | 8(42.1) | | | 10(52.6) | 9(47.4) | | | 13(68.4) | 6(31.6) | | |
| >50 | 59 | 33(55.9) | 26(44.1) | 0.023 | 1.000 | 31(52.5) | 28(47.5) | 0.000 | 1.000 | 38(64.4) | 21(35.6) | 0.102 | 0.790 |
| Gender | | | | | | | | | | | | | |
| Male | 71 | 41(57.7) | 30(42.3) | | | 37(52.1) | 34(47.9) | | | 47(66.2) | 24(33.8) | | |
| Female | 7 | 3(42.9) | 4(57.1) | 0.129 | 0.720 | 4(57.1) | 3(42.9) | 0.000 | 1.000 | 4(57.1) | 3(42.9) | 0.004 | 0.949 |
| Tumor size(cm) | | | | | | | | | | | | | |
| ≤5 | 36 | 30(83.3) | 6(16.7) | | | 27(75.0) | 9(25.0) | | | 17(47.2) | 19(52.8) | | |
| >5 | 42 | 14(33.3) | 28(66.7) | 19.709 | 0.000 | 14(33.3) | 28(66.7) | 13.497 | 0.000 | 34(81.0) | 8(19.0) | 9.744 | 0.002 |
| Tumor amount | | | | | | | | | | | | | |
| Single | 66 | 38(57.6) | 28(42.4) | | | 32(48.5) | 34(51.5) | | | 47(71.2) | 19(28.8) | | |
| Multiple | 12 | 6(50.0) | 6(50.0) | 0.237 | 0.754 | 9(75.0) | 3(25.0) | 2.863 | 0.121 | 4(33.3) | 8(66.7) | 4.872 | 0.027 |
| Cancer-embolus in Portal Vein | | | | | | | | | | | | | |
| Yes | 9 | 2(22.2) | 7(77.8) | | | 0(0) | 9(100) | | | 7(77.8) | 2(22.2) | | |
| No | 69 | 42(60.9) | 27(39.1) | 3.392 | 0.066 | 41(59.4) | 28(40.6) | 9.017 | 0.003 | 44(63.8) | 25(36.2) | 0.210 | 0.647 |
| Invasion or Metastasis | | | | | | | | | | | | | |
| Yes | 12 | 3(25.0) | 9(75.0) | | | 3(25.0) | 9(75.0) | | | 10(83.3) | 2(16.7) | | |
| No | 66 | 41(62.1) | 25(37.9) | 5.690 | 0.026 | 38(57.6) | 28(42.4) | 4.321 | 0.058 | 41(62.1) | 25(37.9) | 1.190 | 0.275 |
| TNM stage | | | | | | | | | | | | | |
| I | 2 | 2(100) | 0(0) | | | 1(50.0) | 1(50.0) | | | 1(50) | 1(50) | | |
| II | 31 | 27(87.1) | 4(12.9) | | | 25(80.6) | 6(19.4) | | | 14(45.2) | 17(54.8) | | |
| III | 44 | 15(34.1) | 29(65.9) | | | 15(34.1) | 29(65.9) | | | 35(79.5) | 9(20.5) | | |
| IV | 1 | 0(0) | 1(100) | 24.152 | 0.000 | 0(0) | 1(100) | 17.485 | 0.000 | 1(100) | 0(0) | 10.361 | 0.005 |

1.4 结果判定

每个切片观察 10 个高倍镜视野，每高倍镜视野计数 100 个肿瘤细胞，综合判断阳性细胞染色数和染色强度。pAkt 蛋白参照文献^[5]判定标准，根据阳性细胞所占比例分为：阳性细胞<20%为低表达；阳性细胞≥20%为高表达。Skp2 参照文献^[6]标准分级：染色阳性细胞百分率<20%为低表达，≥20%为高表达。P27^{kip1} 参照文献^[6]标准分级：阳性细胞百分比<40%为阴性，≥40%为阳性。

1.5 随访及统计学方法

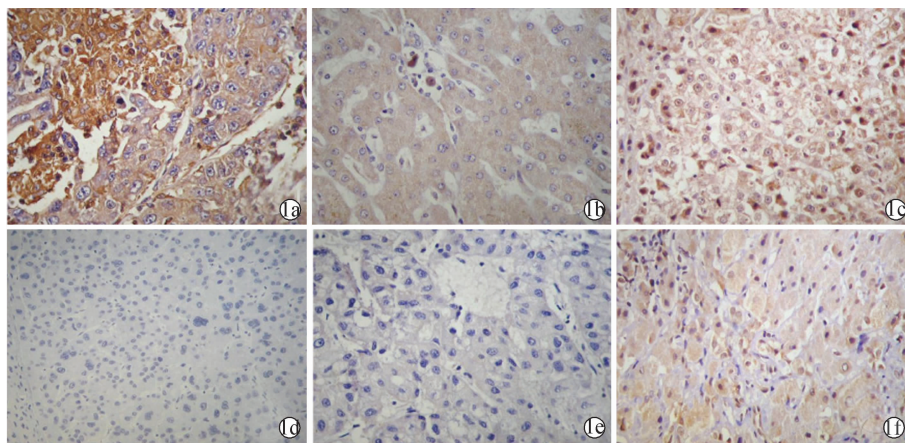
纳入本研究的所有病例均有完整随访资料，研究自手术之日起，至本研究结束(2010 年 1 月 1 日)止，随访时间单位为月，研究终点(阳性结局)定义为患者因肝癌或相应并发症死亡，研究结束时仍未出现阳性结局者定为删失。本研究随访时间 1.0~61.3 月，中位随访时间为 26.1 月。

计数资料阳性率之间的比较采用 χ^2 检验及 Fisher 精确检验算法；相关分析采用 Spearman 相关分析，生存分析采用 Kaplan-Meier 生存曲线，并经 Log-rank 检验。多因素分析采用 Cox 模型。所有统计学结果均采用 SPSS17.0 软件进行处理。P<0.05 认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 pAkt, Skp2 和 P27^{kip1} 蛋白在肝细胞癌组织中的表达与临床病理特征的关系

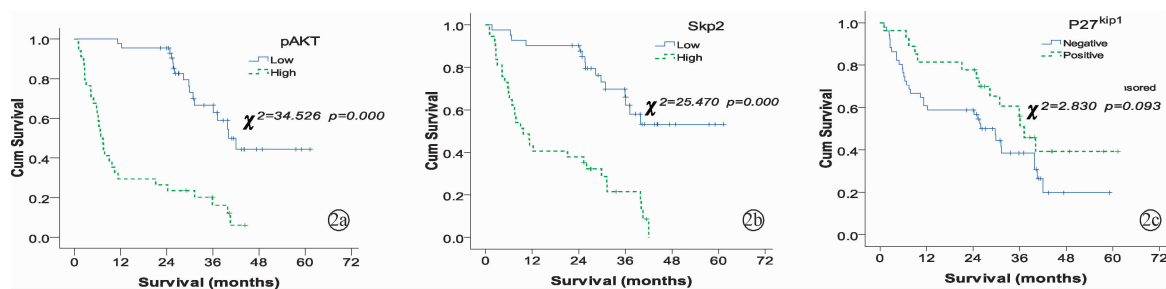
pAkt 蛋白的表达水平与肿瘤直径、是否侵犯周围脏器或淋巴结转移有关(P<0.05)，Skp2 蛋白的表达水平与肿瘤直径、有无门静脉癌栓有关(P<0.01)；P27^{kip1} 蛋白的表达水平与肿瘤直径及数目有关(P<0.05)；三者的表达水平均与肿瘤的 TNM 分期有关(P<0.01)，见表 1。



1a: high cytoplasmic expression of pAkt in HCC; 1b: low cytoplasmic expression of pAkt in normal liver tissue; 1c: high nuclear expression of Skp2 in HCC; 1d: low nuclear expression of Skp2 in normal liver tissue; 1e: negative expression of P27^{kip1} in HCC; 1f: positive nuclear expression of P27^{kip1} in normal liver tissue

图 1 pAkt, Skp2 和 P27^{kip1} 蛋白在不同组织中的表达(IHC × 400)

Figure 1 The expression of pAkt, Skp2 and P27^{kip1} protein in Hepatocellular Carcinoma tissues and normal liver tissues(IHC × 400)



2a: patients with high pAkt expression had a significantly worse outcome than those with low pAkt expression; 2b: patients with high Skp2 expression had a significantly worse outcome time than those with low Skp2 expression; 2c: no significant difference was observed between the two groups for P27^{kip1} expression

图 2 pAkt, Skp2 和 P27^{kip1} 蛋白在肝细胞癌组织中的表达与患者预后的关系

Figure 2 Kaplan-Meier survival analysis of hepatocellular carcinoma based on pAkt, Skp2 and P27^{kip1} expression

表 2 pAkt、Skp2 和 P27^{kip1} 蛋白在肝细胞癌及肝组织中的表达
Table 2 The expressions of pAkt, Skp2 and P27^{kip1} protein in different groups

| Groups | n | pAkt(n, %) | | | | Skp2(n, %) | | | | P27 ^{kip1} (n, %) | | | |
|----------|----|------------|----------|----------|-------|------------|----------|----------|-------|----------------------------|----------|----------|-------|
| | | Low | High | χ^2 | P | Low | High | χ^2 | P | Negative | Positive | χ^2 | P |
| Hepatoma | 78 | 44(56.4) | 34(43.6) | | | 41(52.6) | 37(47.4) | | | 51(65.4) | 27(34.6) | | |
| Normal | 21 | 19(90.5) | 2(9.5) | 8.297 | 0.004 | 18(85.7) | 3(14.3) | 7.551 | 0.011 | 5(23.8) | 16(76.2) | 11.640 | 0.001 |

2.2 pAkt、Skp2 和 P27^{kip1} 蛋白在肝细胞癌组织中的表达

pAkt 蛋白阳性染色为棕黄色或棕褐色粗颗粒状,定位于胞质,阴性染色为均一淡黄色细颗粒状;Skp2 蛋白阳性表达于胞核,呈棕褐色粗颗粒状;P27^{kip1} 蛋白阳性染色集中于细胞核,呈棕黄色至深棕色粗颗粒状,胞质淡染,见图 1。pAkt 和 Skp2 蛋白在肝细胞癌组织中的高表达率分别为 43.6%和 47.4%,21 例正常肝组织中的高表达率分别为 9.5%和 14.3%,差异有统计学意义($P < 0.05$)。P27^{kip1} 蛋白在肝细胞癌组织中的阳性表达率为 34.6%,在正常肝组织中的阳性表达率为 76.2%,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 2。

2.3 pAkt、Skp2 和 P27^{kip1} 蛋白在肝细胞癌组织中表达的相关性

统计学相关分析显示:在肝细胞癌组织中,Skp2 与 pAkt 蛋白的表达呈正相关($r = 0.356, P = 0.001$),与 P27^{kip1} 蛋白的表达呈负相关($r = -0.313, P = 0.005$),见表 3。

表 3 Skp2 与 pAkt、P27^{kip1} 蛋白在肝细胞癌中表达的相关性
Table 3 Correlation between the expression of Skp2 and pAkt, P27^{kip1} in hepatocellular carcinoma

| | pAkt(n) | | r | P | P27 ^{kip1} (n) | | r | P |
|----------|---------|------|-------|-------|-------------------------|----------|--------|-------|
| | Low | High | | | Negative | Positive | | |
| Skp2 Low | 30 | 11 | 0.356 | 0.001 | 21 | 20 | -0.313 | 0.005 |
| High | 14 | 23 | | | 30 | 7 | | |

2.4 pAkt、Skp2 和 P27^{kip1} 蛋白在肝细胞癌组织中的表达与预后

表 4 78 例肝细胞癌中 pAkt、Skp2 和 P27^{kip1} 蛋白的表达与患者生存率的关系

Table 4 Univariate analysis of pAkt, Skp2 and P27^{kip1} protein for survival in 78 patients with hepatocellular carcinoma

| Variables | n | Survival rate (%) | | | Mean ($\bar{x} \pm s$, month) | 95% CI | P |
|---------------------|----|-------------------|--------|--------|------------------------------------|-------------|-------|
| | | 1-year | 3-year | 5-year | | | |
| pAkt | | | | | | | |
| Low | 44 | 97.7 | 66.6 | 44.4 | 44.54 ± 2.91 | 38.85~50.23 | |
| High | 34 | 29.4 | 16.1 | 6.1 | 14.43 ± 2.53 | 9.47~19.39 | 0.000 |
| Skp2 | | | | | | | |
| Low | 41 | 90.2 | 66.0 | 53.2 | 44.98 ± 3.28 | 38.54~51.41 | |
| High | 37 | 43.2 | 21.5 | 0.0 | 17.60 ± 2.53 | 12.63~22.57 | 0.000 |
| P27 ^{kip1} | | | | | | | |
| Negative | 51 | 60.8 | 38.5 | 19.8 | 27.45 ± 3.15 | 21.27~33.62 | |
| Positive | 27 | 81.5 | 56.0 | 39.3 | 38.85 ± 4.20 | 30.62~47.08 | 0.093 |

Kaplan-Meier 生存曲线及 Log-rank 检验显示:pAkt、Skp2 蛋白低表达组患者术后生存率明显高于高表达组,差异均有统计学意义($P = 0.000$),见图 2。P27^{kip1} 蛋白表达水平与肝细胞癌患者预后无关($P = 0.093$),见表 4。将肝细胞癌患者的肿瘤直径、肿瘤数目、有无门静脉癌栓、是否侵犯周围脏器或淋巴结转移、TNM 分期及 pAkt、Skp2 和 P27^{kip1} 蛋白的表达水平等因素纳入 Cox 模型,结果显示 TNM 分期、pAkt 及 Skp2 蛋白的表达是影响肝细胞癌预后的独立因素,见表 5。

3 讨论

pAkt 是 PI3K/Akt 信号转导通路的中心环节,在肿瘤组织中如结肠癌、胃癌、卵巢癌、甲状腺癌、乳腺癌等都有 pAkt 的过度表达。在体内外试验中,三肽化合物酪丝缬肽(YSV)^[7]和免疫调节剂 FTY720^[8]都可以通过去磷酸化 pAkt,诱导肝癌细胞系发生凋亡,抑制肝癌裸鼠移植瘤的生长。pAkt 位于体内多种信号通路的交叉点,可调控多种下游靶蛋白发挥作用^[9]。最近 Lin 等^[10]的研究显示,pAkt 可直接导致 Skp2 蛋白磷酸化,并引发 Skp2 在细胞中的重新分布,证明肿瘤细胞内 pAkt 的高水平与 Skp2 的积聚相关,认为 Skp2 为 Akt 下游的靶蛋白。Gao 等^[11]研究发现 pAkt 通过干扰 Skp2 与 APC/Cdh1 的结合调控 Skp2 的稳定性,肿瘤细胞中 pAkt 的升高可保护 Skp2 不被降解,并认为这一发现可以将乳腺癌和前列腺癌组织中 pAkt 和 Skp2 的表达水平明显升高联系起来。Reichert 等^[12]研

表 5 78 例肝细胞癌患者预后的 Cox 多因素分析

Table 5 Multivariate Cox regression analysis for prognosis in 78 patients with hepatocellular carcinoma

| Variables | B | SE | χ^2 | RR | 95% CI for RR | P |
|-----------------|-------|-------|----------|-------|---------------|-------|
| TNM stage | 0.816 | 0.364 | 5.038 | 2.261 | 1.109~4.611 | 0.025 |
| pAkt expression | 1.210 | 0.338 | 12.827 | 3.354 | 1.730~6.504 | 0.000 |
| Skp2 expression | 1.069 | 0.343 | 9.722 | 2.913 | 1.488~5.706 | 0.002 |

究表明 PI3K/Akt 信号通路通过控制转录因子 E2F-1 与 Skp2 启动子远端的结合调节胰腺癌细胞中 Skp2 的转录。经 Kaplan-Meier 生存分析显示, 本实验肝细胞癌患者中 pAkt、Skp2 蛋白高表达组患者的预后较差, Cox 模型多因素分析显示 TNM 分期、pAkt 及 Skp2 蛋白的表达是影响肝细胞癌预后的独立因素, 提示 pAkt、Skp2 蛋白可以作为判断肝细胞癌患者预后的指标。

P27^{kip1} 是细胞周期负性调控因子, 主要抑制 Cyclin E-CDK2 和 Cyclin D-CDK4 等 G₁ 期激酶复合物, 阻滞细胞于 G₁ 期, 防止细胞过度增殖, 并与细胞凋亡有着密切的联系, 是公认的抑癌基因^[13]。研究发现几乎所有人类恶性肿瘤中均存在 P27^{kip1} 蛋白的表达下调或缺失, 并且大都同时伴有 Skp2 的负性表达变化^[14]。本研究也得出了一致的结果。目前研究认为 P27^{kip1} 蛋白主要的负性调节方式为泛素-蛋白酶体途径介导的降解^[15]。G₁ 晚期 P27^{kip1} 第 187 位苏氨酸被磷酸化, 随后被包括 Skp2 在内的泛素连接酶复合体(SCFSkp2)结合, 泛素化的 P27^{kip1} 在蛋白酶体内降解, 细胞由 G₁ 期进入 S 期, 其中 Skp2 的表达对于 P27^{kip1} 的泛素化和降解是必需的^[16]。但也有研究发现在肝细胞癌中 pAkt 能够磷酸化 P27^{kip1} Thr157, 阻断 P27^{kip1} 由胞质向胞核内转移, 使其不能发挥细胞周期调控的作用, 而且胞质中的 Thr157 磷酸化 P27^{kip1} 水平明显升高与患者较差的预后有关^[17]。这就提示我们, P27^{kip1} 功能的发挥与其细胞定位有关, pAkt 可以直接参与 P27^{kip1} 功能的调控。本实验没有发现 P27^{kip1} 蛋白与患者的预后有直接关系, 有待扩大样本量后进一步研究。

综上所述我们认为, pAkt 的过度表达说明在肝细胞癌中存在 PI3K/Akt 信号通路的失调, 并可能导致 Skp2 表达水平升高, 直接或间接的降低 P27^{kip1} 的表达水平。提示 PI3K/Akt 信号通路的失调可能是肝细胞癌发生发展和侵袭转移的一个重要原因, 针对 PI3K/Akt 信号通路及 Skp2 的分子靶向治疗有可能为肝细胞癌的治疗提供新的思路。

参考文献:

[1] Franke TF. PI3K/Akt: getting it right matters [J]. *Oncogene*, 2008, 27(50):6473-6488.
 [2] Garcia-Echeverria C, Sellers WR. Drug discovery approaches targeting the PI3K/Akt pathway in cancer [J]. *Oncogene*, 2008, 27(41):5511-5526.
 [3] Ecker K, Hengst L. Skp2: caught in the Akt [J]. *Nat Cell*

Biol, 2009, 11(4):377-379.
 [4] Barré B, Perkins ND. The Skp2 promoter integrates signaling through the NF-kappaB, p53, and Akt/GSK3beta pathways to regulate autophagy and apoptosis [J]. *Mol Cell*, 2010, 38(4):524-538.
 [5] Malik SN, Brattain M, Ghosh PM, et al. Immunohistochemical demonstration of phospho-Akt in high Gleason grade prostate cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2002, 8(4):1168-1171.
 [6] Chiappetta G, De Marco C, Quintiero A, et al. Overexpression of the S-phase kinase-associated protein 2 in thyroid cancer [J]. *Endocr Relat Cancer*, 2007, 14(2):405-420.
 [7] Zhu Z, Jia J, Lu R, et al. Expression of PTEN, p27, p21 and AKT mRNA and protein in human BEL-7402 hepatocarcinoma cells in transplanted tumors of nude mice treated with the tripeptide tyroservatide (YSV) [J]. *Int J Cancer*, 2006, 118(6):1539-1544.
 [8] Lee TK, Man K, Ho JW, et al. FTY720 induces apoptosis of human hepatoma cell lines through PI3-K-mediated Akt dephosphorylation [J]. *Carcinogenesis*, 2004, 25(12):2397-2405.
 [9] Song G, Ouyang G, Bao S. The activation of Akt/PKB signaling pathway and cell survival [J]. *J Cell Mol Med*, 2005, 9(1):59-71.
 [10] Lin HK, Wang G, Chen Z, et al. Phosphorylation-dependent regulation of cytosolic localization and oncogenic function of Skp2 by Akt/PKB [J]. *Nat Cell Biol*, 2009, 11(4):420-432.
 [11] Gao D, Inuzuka H, Tseng A, et al. Akt finds its new path to regulate cell cycle through modulating Skp2 activity and its destruction by APC/Cdh1 [J]. *Cell Div*, 2009, 4:11.
 [12] Reichert M, Saur D, Hamacher R, et al. Phosphoinositide-3-kinase signaling controls S-phase kinase-associated protein 2 transcription via E2F1 in pancreatic ductal adenocarcinoma cells [J]. *Cancer Res*, 2007, 67(9):4149-4156.
 [13] Hershko D. Oncogenic properties and prognostic implications of the ubiquitin ligase Skp2 in cancer [J]. *Cancer*, 2008, 112(7):1415-1424.
 [14] Hershko D, Bornstein G, Ben-Izhak O, et al. Inverse relation between levels of p27(Kip1) and of its ubiquitin ligase subunit Skp2 in colorectal carcinomas [J]. *Cancer*, 2001, 91(9):1745-1751.
 [15] Pagano M, Tam SW, Theodoras AM, et al. Role of the ubiquitin-proteasome pathway in regulating abundance of the cyclin-dependent kinase inhibitor P27 [J]. *Science*, 1995, 269(5224):682-685.
 [16] Ungermannova D, Gao Y, Liu X. Ubiquitination of p27Kip1 requires physical interaction with cyclin E and probable phosphate recognition by SKP2 [J]. *J Biol Chem*, 2005, 280(34):30301-30309.
 [17] He S, Lu M, Xue W, et al. Phosphorylated p27 Kip1 on Thr157 is an important prognosis in human hepatocellular carcinoma in vivo and in vitro [J]. *Med Oncol*, 2011, 28(1):94-104.

[编辑:周永红;校对:黄园玲]