

文章编号:1000-5404(2014)20-2093-05

论著

## PCDH10 基因在多发性骨髓瘤细胞中的作用

彭曦<sup>1</sup>, 陈建斌<sup>1</sup>, 李珍<sup>1</sup>, 袁海汀<sup>1</sup>, 谭栩<sup>1</sup>, 杨泽松<sup>2</sup> (400016 重庆, 重庆医科大学附属第一医院: 血液内科<sup>1</sup>, 血液内科实验室<sup>2</sup>)

**[摘要]** 目的 探讨 PCDH10 (protocadherin 10) 基因对多发性骨髓瘤细胞系 RPMI-8226 增殖、迁移和侵袭能力的影响及其相关机制。方法 采用脂质体将 pcDNA3.1 (+)PCDH10 及 pcDNA3.1 (+) 质粒稳定转染入骨髓瘤 RPMI-8226 细胞, 分别为 PCDH10 转染组、空质粒转染组, 未转染组作为对照。采用 RT-PCR 及 Western blot 检测转染前后 PCDH10 基因和蛋白的表达, 应用 MTT 法检测转染前后细胞的增殖能力; 应用 Transwell 小室实验检测转染前后细胞的迁移及侵袭能力; 应用 Western blot 检测增殖、迁移和侵袭相关蛋白表达水平。结果 PCDH10 基因转染 RPMI-8226 细胞后, PCDH10 在基因和蛋白水平均呈现高表达。MTT 结果显示, PCDH10 转染组增殖能力较对照组减弱; Transwell 实验结果显示 PCDH10 能抑制瘤细胞的迁移、侵袭能力, PCDH10 转染组迁移、侵袭的细胞数分别为  $(51.00 \pm 2.65)$ 、 $(51.00 \pm 8.00)$  个, 与对照组比较显著减少 ( $P < 0.05$ ); Western blot 检测结果显示 PCDH10 基因可下调 AKT、p-AKT、cyclinD1 和 MMP-9 的表达 ( $P < 0.05$ )。结论 PCDH10 基因可能通过下调 PI3K/AKT 通路活性而抑制多发性骨髓瘤细胞 RPMI-8226 的增殖、迁移和侵袭。

**[关键词]** PCDH10; 多发性骨髓瘤; 增殖; 迁移; 侵袭

**[中图分类号]** R394.3; R730.23; R733.3

**[文献标志码]** A

## Role of protocadherin 10 in multiple myeloma cells

Peng Xi<sup>1</sup>, Chen Jianbin<sup>1</sup>, Li Zhen<sup>1</sup>, Yuan Haiting<sup>1</sup>, Tan Xu<sup>1</sup>, Yang Zesong<sup>2</sup> (<sup>1</sup>Department of Hematology, <sup>2</sup>Laboratory of Hematology, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing, 400016, China)

**[Abstract]** **Objective** To investigate the effects of protocadherin 10 (PCDH10) gene on proliferation, migration and invasion of multiple myeloma (MM) cell line RPMI-8226 and its mechanism. **Methods** The RPMI-8226 cell line was transfected with pcDNA3.1 (+)PCDH10 and pcDNA3.1 (+) by lipofectamine and named as PCDH10 transfected group and empty vector group, respectively, with untreated cells as control. Real-time PCR and Western blot was used to investigate mRNA and protein expression of PCDH10. MTT assay was employed to determine cell proliferation. Transwell chamber and Matrigel assay were applied to observe the ability of migration and invasion. Western blotting was used to detect the expression of related proteins. **Results** The levels of mRNA and protein of PCDH10 were highly expressed in the PCDH10 transfected group. MTT assay showed that the proliferation of PCDH10-8226 cells was suppressed in the PCDH10 transfected group. The numbers of migration and invasion cells the PCDH10 transfected group were  $51.00 \pm 2.65$  and  $51.00 \pm 8.00$ , respectively, significantly less than those from the control group ( $P < 0.05$ ). Western blot results showed that PCDH10 could down-regulate the expressions of AKT, p-AKT, cyclinD1 and MMP-9 ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** PCDH10 gene inhibits proliferation, migration and invasion in MM cell line RPMI-8226, which may involves PI3K/ATK pathway.

**[Key words]** protocadherin 10; multiple myeloma; migration; invasion

Supported by the Key Project of Medical Scientific Research of Chongqing Municipal Health Bureau (2011-1-032). Corresponding author: Chen Jianbin, Tel: 86-23-89012918, E-mail: cqchenjianbin2007@126.com

**[基金项目]** 重庆市卫生局 2011 年医学科研计划重点项目 (2011-1-032)

**[通信作者]** 陈建斌, 电话: (023)89012918, E-mail: cqchenjianbin2007@126.com

**[优先出版]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20140816.1328.005.html> (2014-08-16)

多发性骨髓瘤(multiple myeloma, MM)是浆细胞恶性增殖性疾病,是发病率较高的血液恶性肿瘤,约占整个血液系统疾病的10%<sup>[1]</sup>。目前主要靠大剂量联合化疗和造血干细胞移植来治疗。瘤细胞的迁移和侵袭是多发性骨髓瘤的特征,与疾病的发生、发展密切相关;抑制肿瘤的迁移和侵袭,可以为骨髓瘤的治疗提供新靶点。

PCDH10基因位于4q28.3,属钙黏素家族,是一种原钙黏素蛋白<sup>[2]</sup>。原钙黏素蛋白主要参与细胞之间的黏附、细胞因子相互作用、信号转导等功能<sup>[3-4]</sup>。PCDH10基因已被证实为一种抑癌基因,其编码的蛋白沉默在人类多种癌症中,与细胞生长、迁移和浸润等恶性生物学行为相关<sup>[5-11]</sup>。有研究表明体外过表达PCDH10基因能抑制瘤细胞增殖、迁移、侵袭,但其抑癌具体机制尚未阐明。我们前期研究发现,PCDH10基因在RPMI-8226细胞中因其甲基化而沉默,利用去甲基化药物手段可使其恢复表达,且能抑制多发性骨髓瘤的生长、血管新生等<sup>[7]</sup>。本研究探讨PCDH10基因对多发性骨髓瘤增殖、迁移、侵袭的影响,并探索其可能机制,以进一步了解PCDH10在多发性骨髓瘤细胞中的抑癌作用。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要试剂和仪器

RPMI-8226细胞系由上海第二军医大学长征医院血液科侯健教授惠赠。pcDNA3.1(+ )PCDH10重组质粒以及pcDNA3.1(+ )TP53真核表达载体由日本Kazusa基因研究所惠赠。RPMI1640、胎牛血清(Gibco公司,美国),二甲亚砜(DMSO, Sigma公司),DNA Marker 2000(天根生物公司),逆转录及PCR试剂盒(TaKaRa公司),质粒DNA提取试剂盒(Qiagen公司,美国),Lipofectamine 2000脂质体转染试剂及Trizol reagent(Invitrogen公司)。Matrigel胶购自美国Becton Dickinson公司。Costar3422 Transwell小室购自美国Corning公司。抗PCDH10抗体(Abcam公司),抗AKT、p-AKT、cyclinD1、MMP-9、 $\beta$ -actin、GAPDH抗体及HRP标记的羊抗兔IgG二抗(Cell Signaling Technology公司)。CO<sub>2</sub>培养箱,倒置显微镜,其余试剂均为国产分析纯。

### 1.2 方法

1.2.1 细胞培养 RPMI-8226细胞系于含10%胎牛血清(Gibco公司,美国)的RPMI1640培养基中,在37℃、5%的CO<sub>2</sub>及饱和湿度条件下传代培养,每2~3天换液1次。选取对数生长期细胞进行实验。

1.2.2 脂质体介导细胞转染 按照Lipofectamine 2000脂质体(Invitrogen公司,美国)说明书的方法,分别将pcDNA3.1

(+),pcDNA3.1(+ )PCDH10重组质粒导入RPMI-8226细胞,作为空质粒转染组和PCDH10转染组,未转染组仅转染脂质体。在无菌EP管中准备如下2种溶液,A液:将10 $\mu$ L脂质体加入到无血清RPMI1640液800 $\mu$ L中,混匀静置5min;B液:8 $\mu$ g质粒加入到无血清RPMI1640液800 $\mu$ L中,混匀静置5min;将A液与B液混匀,室温静置25min;将待转染的细胞PBS洗3次,重悬细胞沉淀(以无抗无血清培养液调整细胞数为1 $\times$ 10<sup>6</sup>个/mL),细胞悬液以每孔1mL加入6孔板中,每孔再加入无血清的1640培养液1mL继续培养,6h后更换含10%FBS的培养液,培养48h后收获转染细胞。转染72h后用G418药物进行筛选,先以800mg/L浓度初筛,再换用200mg/L继续筛选(待对照组的细胞大部分死亡后),直至阳性集落形成,即为稳定株。

1.2.3 RT-PCR检测PCDH10转染后RPMI-8226细胞PCDH10基因mRNA表达 收集各组细胞各1 $\times$ 10<sup>6</sup>个,用Trizol法(Invitrogen公司)提取总RNA,并按照逆转录试剂盒(TaKaRa公司)说明书将所得RNA逆转录成cDNA。PCDH10的上游引物:5'-ACTGCTATCAGGTATGCCTG-3',下游引物:5'-GTCTGTCAACTAGATAGCTG-3',扩增产物大小为219bp;内参基因 $\beta$ -actin的上游引物:5'-CTCCATCCTGGCCTCGCTGT-3',下游引物:5'-GCTGTACCTTCACCGTTCC-3',扩增产物大小为268bp。反应条件:95℃10min,1个循环。94℃30s,53℃30s(内参为51℃),72℃30s,PCDH10基因32个循环, $\beta$ -actin基因23个循环,最后72℃延伸3min<sup>[12]</sup>。PCR产物进行2%琼脂糖凝胶电泳。

1.2.4 Western blot检测PCDH10转染后RPMI-8226细胞PCDH10蛋白表达 收集各组细胞(各1 $\times$ 10<sup>7</sup>个),提取细胞总蛋白(碧云天蛋白提取试剂盒),BCA测定蛋白浓度。取50 $\mu$ g总蛋白经SDS-PAGE凝胶电泳,将蛋白电转至PVDF膜上。封闭液(1%脱脂牛奶)室温封闭1h,加入一抗(PCDH10 1:1000, $\beta$ -actin 1:2500),4℃摇床孵育过夜。次日用TBST洗膜3次,室温孵育二抗(山羊抗兔 1:2500)1h,暗室加入ECL反应液显影曝光。用Quantity One图像分析软件进行分析。

1.2.5 MTT检测细胞增殖 调整各组细胞密度至1 $\times$ 10<sup>4</sup>/mL,分别接种于96孔板,每孔200 $\mu$ L,每组设3个复孔。培养72h后,每孔加MTT 20 $\mu$ L(5g/L),继续培养4h后终止培养,每孔加DMSO 200 $\mu$ L振荡10min,在酶标仪上570nm波长处测定各孔光密度值[D(570)]。细胞增殖抑制率=[未转染组D(570)-转染组D(570)]/未转染组D(570) $\times$ 100%。实验重复3次。

1.2.6 Transwell迁移实验 采用孔径为8 $\mu$ m的24孔小室进行迁移实验。收集各组细胞,PBS洗3次,无血清培养基重悬细胞,调整各组细胞数为2 $\times$ 10<sup>5</sup>/mL,在上室中分别加入200 $\mu$ L各组细胞悬液,同时在下室中加入600 $\mu$ L含10%FBS的培养液,孵箱中培养24h后将Transwell小室取出。于显微镜下拍照并计数各组穿过膜至下室的细胞数量。

1.2.7 Matrigel侵袭实验 按上述迁移实验的方法预处理

各组细胞。将 Matrigel 胶(BD, USA) 从  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  冰箱取出,  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  过夜融化, 用预冷枪头按 8:1 的比例吸取无血清 1640 培养基稀释 Matrigel 胶。取上述稀释的 Matrigel 胶  $50\text{ }\mu\text{L}$ , 均匀铺在上室底部,  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  放置 30 min, 使其凝固。接种细胞数为  $2\times 10^5/\text{mL}$ 。其他步骤同迁移实验。

1.2.8 Western blot 检测相关蛋白的表达 如上述的 Western blot 方法, 将蛋白转至 PVDF 膜上。封闭液(1% 脱脂奶粉)室温封闭 1 h, 分别用一抗抗 AKT、p-AKT、cyclinD1、MMP-9 抗体以 1:1 000 稀释, 内参 GAPDH 1:2 500 稀释,  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  孵育过夜。HRP 酶标山羊抗兔、山羊抗鼠二抗均以 1:2 500 稀释, 室温孵育 1 h 后, ECL 化学发光试剂(碧云天公司)显影检测。用 Quantity One 图像分析软件对条带进行分析。

### 1.3 统计学处理

所有实验重复 3 次, 计量资料以  $\bar{x}\pm s$  表示, 采用 SPSS 18.0 统计软件进行单因素分析及 LSD 法。

## 2 结果

### 2.1 RT-PCR 检测转染后 PCDH10 基因 mRNA 水平表达

分别提取各组细胞总 RNA 后进行 RT-PCR 检测, 以  $\beta$ -actin 为内参, 电泳检测证实 PCDH10 转染的 RPMI-8226 细胞在 mRNA 水平有 PCDH10 的高表达, 而未转染组及空质粒转染组则基本不表达(图 1A)。

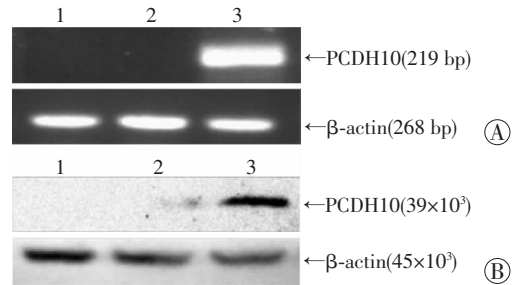
### 2.2 Western blot 检测转染后 PCDH10 基因的蛋白水平表达

分别提取各组蛋白, 用 Western blot 测定 PCDH10 蛋白表达。结果显示, 未转染组、空质粒转染组、PCDH10 转染组细胞中, 仅 PCDH10 转染组有 PCDH10 蛋白高表达, 而未转染组及空质粒转染组未见表达, 与 RT-PCR 结果符合(图 1B)。

### 2.3 PCDH10 基因对 RPMI-8226 细胞增殖能力的影响

转染 PCDH10 基因后行 MTT 细胞增殖实验, 结果显示未转染组、空质粒转染组、PCDH10 转染组的  $D(570)$  值分别为  $(2.74\pm 0.90)$ 、 $(2.26\pm 0.17)$ 、 $(1.08\pm 0.11)$ 。3 组之间两两比

较发现, PCDH10 转染组细胞增殖明显受到抑制, 与未转染组和空质粒组相比, 差异有统计学意义( $P<0.05$ ), 细胞增殖抑制率为 58.23%。而未转染组同空质粒转染组比较细胞增殖率无明显差异( $P>0.05$ ), 提示脂质体和空载体对骨髓瘤细胞增殖能力没有明显的影响。



1: 未转染组; 2: 空质粒转染组; 3: PCDH10 转染组  
图 1 RT-PCR(A) 与 Western blot(B) 检测转染后 MM 细胞中 PCDH10 mRNA 和蛋白的表达

### 2.4 PCDH10 对 RPMI-8226 细胞迁移力的影响

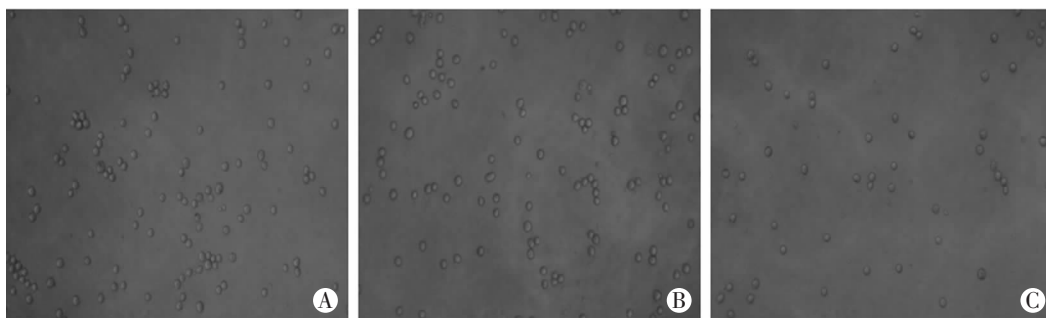
24 h 后穿过小室的未转染组、空质粒转染组和 PCDH10 转染组, 在每个低倍视野细胞数分别为  $(163.00\pm 12.49)$ 、 $(141.33\pm 15.28)$ 、 $(51.00\pm 2.65)$ , PCDH10 转染组细胞迁移能力较其他 2 组显著降低( $P<0.05$ ); 未转染组与空质粒转染组相比, 差异无统计学意义( $P>0.05$ , 图 2)。

### 2.5 PCDH10 对 RPMI-8226 细胞侵袭力的影响

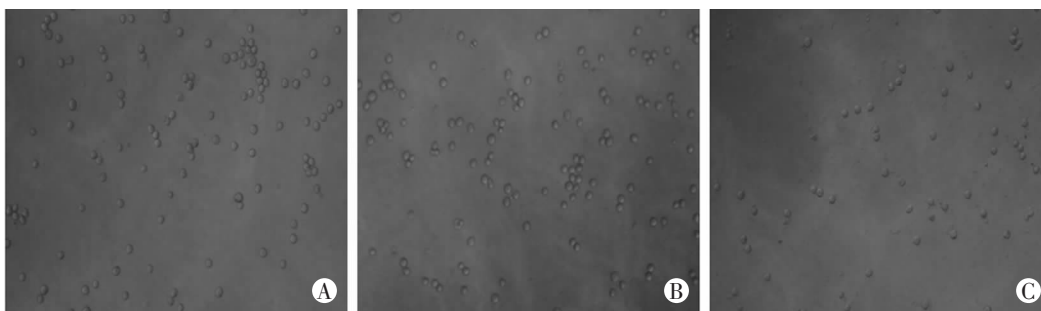
24 h 后穿过小室的未转染组、空质粒转染组和 PCDH10 转染组, 在每个低倍视野细胞数分别为  $(122.67\pm 17.04)$ 、 $(103.67\pm 12.67)$ 、 $(51.00\pm 8.00)$ , PCDH10 转染组细胞侵袭能力较其他 2 组明显降低( $P<0.05$ ); 未转染组与空质粒转染组相比, 差异无统计学意义( $P>0.05$ , 图 3)。

### 2.6 PCDH10 对增殖、迁移和侵袭相关蛋白表达的影响

AKT、p-AKT、cyclinD1、MMP-9 在 PCDH10 转染组细胞中的蛋白表达明显低于未转染组和空质粒转染组( $P<0.05$ ); 未转染组与空质粒转染组相比, 差异无统计学意义( $P>0.05$ , 图 4)。

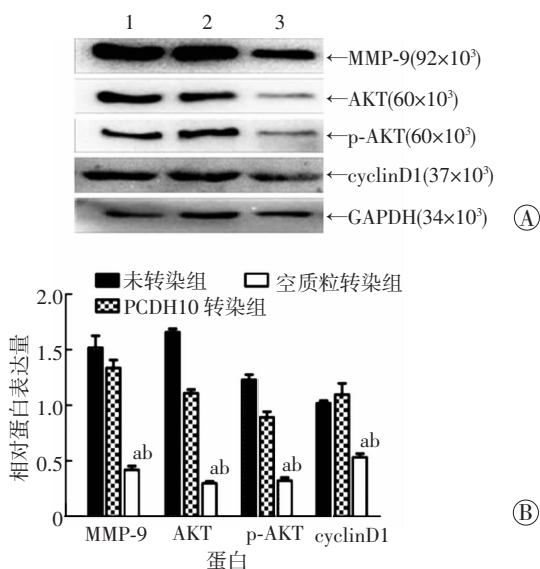


A: 未转染组; B: 空质粒转染组; C: PCDH10 转染组  
图 2 Transwell 小室检测 PCDH10 基因对各组骨髓瘤细胞迁移力的影响 ( $\times 100$ )



A:未转染组;B:空质粒转染组;C:PCDH10 转染组

图3 Matrigel 侵袭实验检测 PCDH10 基因对各组骨髓瘤细胞侵袭力的影响 (×100)



A:Western blot 检测结果 1:未转染组;2:空质粒转染组;3:PCDH10转染组;B:半定量分析结果 a: $P < 0.05$ ,与未转染组比较;b: $P < 0.05$ ,与空质粒转染组比较

图4 Western blot 检测 PCDH10 基因对骨髓瘤细胞内增殖和迁移侵袭相关蛋白的表达

### 3 讨论

癌基因的激活与抑癌基因的失活,是目前公认的肿瘤发生、发展的重要原因之一。PCDH10 基因已被证实为一种抑癌基因,在胃癌、食管癌、鼻咽癌、小细胞肺癌等实体瘤中广泛沉默,并参与了肿瘤细胞的增殖、侵袭和转移<sup>[13-15]</sup>。我们前期研究发现 PCDH10 基因在 MM 细胞系和 MM 患者中因其甲基化而沉默或低表达,且 PCDH10 可阻滞细胞于 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期,从而抑制肿瘤细胞增殖<sup>[7]</sup>。另外,Echizen 等<sup>[16]</sup>利用 RNA 干扰技术使胶质母细胞瘤细胞 PCDH10 基因缺失,发现 PCDH10 能影响瘤细胞的多种生物学行为。以上研究均说明 PCDH10 基因作为抑癌基因在人类肿瘤中起着调控作用,可能为多发性骨髓瘤的治疗提供了新思路、新靶点。

本研究发现,PCDH10 基因在 RPMI-8226 细胞系中不表达,通过 RT-PCR 和 Western blot 验证,脂质体转染 MM 细胞能使 PCDH10 基因在 mRNA 水平和蛋白水平均显著表达。为进一步研究 PCDH10 对多发性骨髓瘤细胞生物学行为的影响,首先采用 MTT 实验检测细胞的体外增殖能力。结果显示,PCDH10 转染组细胞增殖率明显低于未转染组和空质粒转染组,与之前的研究<sup>[17]</sup>相符。接着,采用 Transwell 实验研究 PCDH10 对多发性骨髓瘤迁移、侵袭行为的影响,结果显示 PCDH10 能抑制细胞迁移和侵袭,与 Ying 等<sup>[14]</sup>在鼻咽癌、结直肠癌、食管癌中的研究结果一致。为研究其机制,通过 Western blot 检测增殖、迁移相关蛋白发现 PCDH10 上调后 MM 细胞内 cyclinD1 和 MMP-9 水平显著下降;并且发现总的 AKT 和 p-AKT 水平与对照组比均显著下降(图 4)。这些结果表明 PCDH10 能抑制骨髓瘤细胞的增殖、迁移和侵袭行为,且本研究发现 PCDH10 可下调 cyclinD1、MMP-9 等关键蛋白,并参与调控 PI3K/AKT 通路,表明 PCDH10 可以作为治疗的潜在靶点,为 MM 的临床治疗提供了新的思路。

cyclinD1 是调控细胞周期 G<sub>1</sub> 期的关键蛋白,对细胞周期调控至关重要,从而影响细胞的增殖。研究表明抑制 MM 细胞增殖与下调 cyclinD1 蛋白相关<sup>[18]</sup>,且 PI3K/AKT 可以调控 cyclinD1 的表达。本研究表明 PCDH10 基因可降低 cyclinD1 表达,故我们推测 PCDH10 下调 cyclinD1 从而使细胞周期阻滞,进而起到抑制骨髓瘤细胞增殖的作用。

基质金属蛋白 MMP-9 与细胞的迁移、侵袭相关<sup>[19]</sup>,在细胞迁移和侵袭过程中起着重要作用。本研究显示 PCDH10 基因能降低 MMP-9 蛋白表达,因此,PCDH10 抑制骨髓瘤细胞迁移、侵袭行为可能与下调 MMP-9 相关。

AKT 是细胞生存通路 PI3K/AKT 的关键分子,磷

酸化的 AKT 可转移入细胞核、磷酸化 ELK1、SAP1a、Stat 等,促进肿瘤细胞的生长、增殖,抑制细胞的凋亡,促进细胞侵袭和转移,促进血管生成<sup>[20-21]</sup>。研究表明骨髓瘤细胞的增殖、迁移、侵袭也与 AKT 通路相关<sup>[20, 22]</sup>。本研究中,PCDH10 基因可以下调 AKT、p-AKT 蛋白表达,因此 PCDH10 基因抑制骨髓瘤细胞生物学行为可能与 PI3K/AKT 信号通路相关。

综上所述,本研究发现,PCDH10 基因能抑制多发性骨髓瘤 RPMI-8226 细胞的增殖、迁移和侵袭,且可能通过 PI3K/AKT 途径调节 cyclinD1 和 MMP-9 的蛋白表达,从而发挥其抑癌作用,进一步也表明 PCDH10 基因在多发性骨髓瘤发生、发展过程中起着重要作用,可能为阐明多发性骨髓瘤的发病机制提供了实验依据,但精确的分子机制还有待进一步研究。此外,PCDH10 基因是否参与其他通路的调节而影响多发性骨髓瘤的发生、发展,也亟待发掘。

#### 参考文献:

- [1] Munshi N C, Avet-Loiseau H. Genomics in multiple myeloma[J]. Clin Cancer Res, 2011, 17(6): 1234 - 1242.
- [2] Morishita H, Yagi T. Protocadherin family: diversity, structure, and function[J]. Curr Opin Cell Biol, 2007, 19(5): 584 - 592.
- [3] Kim S Y, Yasuda S, Tanaka H, et al. Non-clustered protocadherin [J]. Cell Adh Migr, 2011, 5(2): 97 - 105.
- [4] Nakao S, Platek A, Hirano S, et al. Contact-dependent promotion of cell migration by the OL-protocadherin-Nap1 interaction[J]. J Cell Biol, 2008, 182(2): 395 - 410.
- [5] Bertrand K C, Mack S C, Northcott P A, et al. PCDH10 is a candidate tumour suppressor gene in medulloblastoma [J]. Childs Nerv Syst, 2011, 27(8): 1243 - 1249.
- [6] Li Z, Li W, Xie J, et al. Epigenetic inactivation of PCDH10 in human prostate cancer cell lines [J]. Cell Biol Int, 2011, 35(7): 671 - 676.
- [7] Li Y, Yang Z S, Song J J, et al. Protocadherin-10 is involved in angiogenesis and methylation correlated with multiple myeloma[J]. Int J Mol Med, 2012, 29(4): 704 - 710.
- [8] Lin Y L, Li Z G, He Z K, et al. Clinical and prognostic significance of protocadherin-10 (PCDH10) promoter methylation in bladder cancer [J]. J Int Med Res, 2012, 40(6): 2117 - 2123.
- [9] Narayan G, Scotto L, Neelakantan V, et al. Protocadherin PCDH10, involved in tumor progression, is a frequent and early target of promoter hypermethylation in cervical cancer[J]. Genes Chromosomes Cancer, 2009, 48(11): 983 - 992.
- [10] Yu B, Yang H, Zhang C, et al. High-resolution melting analysis of PCDH10 methylation levels in gastric, colorectal and pancreatic cancers[J]. Neoplasma, 2009, 57(3): 247 - 252.
- [11] Narayan G, Freddy A J, Xie D, et al. Promoter methylation-mediated inactivation of PCDH10 in acute lymphoblastic leukemia contributes to chemotherapy resistance[J]. Genes Chromosomes Cancer, 2011, 50(12): 1043 - 1053.
- [12] 李颖, 陈建斌, 宋君君, 等. 甲基化修饰致 PCDH10 基因在多发性骨髓瘤中沉默[J]. 第三军医大学学报, 2012, 34(9): 817 - 820.
- [13] Li Z, Chim J C, Yang M, et al. Role of PCDH10 and its hypermethylation in human gastric cancer[J]. Biochim Biophys Acta, 2012, 1823(2): 298 - 305.
- [14] Ying J, Li H, Seng T J, et al. Functional epigenetics identifies a protocadherin PCDH10 as a candidate tumor suppressor for nasopharyngeal, esophageal and multiple other carcinomas with frequent methylation[J]. Oncogene, 2006, 25(7): 1070 - 1080.
- [15] Tang X, Yin X, Xiang T, et al. Protocadherin 10 is frequently down-regulated by promoter methylation and functions as a tumor suppressor gene in non-small cell lung cancer[J]. Cancer Biomark, 2012, 12(1): 11 - 19.
- [16] Echizen K, Nakada M, Hayashi T, et al. PCDH10 is required for the tumorigenicity of glioblastoma cells[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2014, 444(1): 13 - 18.
- [17] 李珍, 陈建斌, 彭曦, 等. PCDH10 基因促进多发性骨髓瘤细胞凋亡及机制研究[J]. 第三军医大学学报, 2014, 36(5): 437 - 441.
- [18] Que W, Chen J, Chuang M, et al. Knockdown of c-Met enhances sensitivity to bortezomib in human multiple myeloma U266 cells via inhibiting Akt/mTOR activity[J]. APMIS, 2012, 120(3): 195 - 203.
- [19] Kang M H, Oh S C, Lee H J, et al. Metastatic function of BMP-2 in gastric cancer cells: the role of PI3K/AKT, MAPK, the NF- $\kappa$ B pathway, and MMP-9 expression [J]. Exp Cell Res, 2011, 317(12): 1746 - 1762.
- [20] Ho Y P, Kuo C W, Hsu Y T, et al. beta-Actin is a downstream effector of the PI3K/AKT signaling pathway in myeloma cells[J]. Mol Cell Biochem, 2011, 348(1/2): 129 - 139.
- [21] Wang R C, Wei Y, An Z, et al. Akt-mediated regulation of autophagy and tumorigenesis through Beclin 1 phosphorylation[J]. Science, 2012, 338(6109): 956 - 959.
- [22] Sun C Y, Hu Y, Huang J, et al. Brain-derived neurotrophic factor induces proliferation, migration, and VEGF secretion in human multiple myeloma cells via activation of MEK-ERK and PI3K/AKT signaling[J]. Tumor Biol, 2010, 31(2): 121 - 128.

(收稿:2014-04-25;修回:2014-05-22)

(编辑 王红)