

环孢素 A 对兔晶状体上皮细胞增殖过程中磷酸肌醇-3 激酶途径的影响

赵 宁, 张瑞君, 钟一凡, 刘 磊, 李 佳

基金项目: 中国辽宁省自然科学基金项目 (No. 201102259)

作者单位: (110001) 中国辽宁省沈阳市, 中国医科大学附属第一医院眼科

作者简介: 赵宁, 毕业于河北医科大学, 硕士, 主治医师, 研究方向: 白内障、眼底病。

通讯作者: 张瑞君, 博士, 教授, 研究方向: 白内障、眼眶疾病。

zhangwn1991@126.com

收稿日期: 2014-08-06 修回日期: 2014-11-20

Effect of cyclosporine A on the PI-3k pathway in proliferation of rat lens epithelial cells

Ning Zhao, Rui-Jun Zhang, Yi-Fan Zhong, Lei Liu, Jia Li

Foundation item: Natural Science Foundation of Liaoning Province, China (No. 201102259)

Department of Ophthalmology, the First Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China

Correspondence to: Rui-Jun Zhang. Department of Ophthalmology, the First Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China. zhangwn1991@126.com

Received: 2014-08-06 Accepted: 2014-11-20

Abstract

• AIM: To investigate the effect of cyclosporine A (CsA) on the phosphatidylinositol-3 kinase (PI-3k) pathway during procession of proliferation in epithelial cells of rabbit lens, and provide treatment strategies for after cataract on the basis of experiment.

• METHODS: Sixty eyes of 30 healthy white rabbits were operated by lens cortex removal in cataract surgery, and 30 right eyes were divided in treatment group and the other 30 eyes were divided in control group. From the first postoperative day, the control group eyes were dropped with normal saline 6 times each day, and the treatment group eyes were dropped with 1% CsA 6 times each day. Six rabbits were selected randomly and killed on the day before dropping and 1, 2wk, 1 and 2mo of postoperative day respectively. The lens of those killed rabbits were removed by surgery. The strategies of immunohistochemistry and mount *in situ* hybridization were used to detect the content of proliferating cell nuclear antigen (PCNA), gene of phosphate and tension homology deleted on chromosome ten (PTEN) mRNA, Ser473-R, respectively.

• RESULTS: The expression of PCNA and Ser473-R were both down-regulate after operation in treatment group

and control group, and the PCNA levels were significantly lower among treatment group than those in control group on 1wk (0.690 ± 0.035 vs 0.785 ± 0.015 , $t = 6.099$, $P < 0.01$) and 2wk (0.571 ± 0.038 vs 0.670 ± 0.037 , $t = 4.585$, $P < 0.01$). In addition, the levels of Ser473-R were significantly lower among treatment group than those in control group on 1wk (0.374 ± 0.031 vs 0.435 ± 0.030 , $t = 3.486$, $P = 0.006$) and 2wk (0.220 ± 0.022 vs 0.251 ± 0.020 , $t = 2.516$, $P = 0.031$). However, the expression levels of PTEN mRNA were continually increased 1wk ~ 1mo after operation, in which the expression levels of PTEN mRNA were significantly higher among treatment group than those in control group on 1wk (0.302 ± 0.027 vs 0.255 ± 0.038 , $t = 2.474$, $P = 0.033$).

• CONCLUSION: 1% CsA could inhibit the proliferation of epithelial cells in lens of rabbits with after cataract through preventing PI-3k pathway.

• KEYWORDS: cyclosporine A; lens epithelial cells; after cataract; gene of phosphate and tension homology deleted on chromosome ten

Citation: Zhao N, Zhang RJ, Zhong YF, *et al.* Effect of cyclosporine A on the PI-3k pathway in proliferation of rat lens epithelial cells. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2014;14(12):2135-2138

摘要

目的: 研究环孢素 A 对白内障术后晶状体上皮细胞增殖过程中磷酸肌醇-3 激酶 (phosphatidylinositol-3 kinase, PI-3k) 途径的影响, 为后发性白内障的治疗提供实验依据。

方法: 将健康白色家兔 30 只 60 眼, 行双眼透明晶状体皮质吸除术, 右眼为治疗组, 左眼为对照组。术后第 1d 起, 对照组眼用生理盐水点眼 6 次, 而治疗组眼应用 1% 环孢素 A (cyclosporine A, CsA) 眼药水点眼 6 次。分别在术后第 1d 未点药前、术后 1wk, 2wk, 1mo 和 2mo 各处死随机选择的 6 只兔, 摘取双眼球。应用免疫组织化学、原位杂交方法检测赤道部晶状体上皮细胞中增殖细胞核抗原 (proliferating cell nuclear antigen, PCNA) 及张力蛋白同源的 28 号染色体缺失磷酸酯酶 mRNA (PTEN mRNA) 和 Ser473-R 的表达。

结果: 术后两组 PCNA 和 Ser473-R 的表达均逐渐降低, 其中 1wk (0.690 ± 0.035 vs 0.785 ± 0.015 , $t = 6.099$, $P < 0.01$) 和 2wk (0.571 ± 0.038 vs 0.670 ± 0.037 , $t = 4.585$, $P < 0.01$) 时治疗组 PCNA 表达均显著低于对照组。另外, 1wk (0.374 ± 0.031 vs 0.435 ± 0.030 , $t = 3.486$, $P = 0.006$) 和 2wk (0.220 ± 0.022 vs 0.251 ± 0.020 , $t = 2.516$, $P = 0.031$) 时治疗组 Ser473-R 的表达均显著低于对照组。术后 1wk ~ 1mo 时, 两组 PTEN mRNA 均逐渐回升。术后 1wk, 治疗组 A 值显著高于对照组 (0.302 ± 0.027 vs 0.255 ± 0.038 , $t = 2.474$,

$P=0.033$)。

结论:环孢素 A 对兔眼白内障术后晶状体上皮细胞增殖过程中 PI-3k 途径有显著抑制作用,为研究 CsA 抑制后发性白内障提供实验依据。

关键词:环孢素 A;晶状体上皮细胞;后发性白内障;PTEN
DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2014.12.07

引用:赵宁,张瑞君,钟一凡,等.环孢素 A 对兔晶状体上皮细胞增殖过程中磷酸肌醇-3 激酶途径的影响.国际眼科杂志 2014;14(12):2135-2138

0 引言

后发性白内障是白内障手术后常见的并发症,可严重影响患者视功能的恢复。目前对后发性白内障进行的激光手术或后囊膜撕开术存在并发症,也缺乏有效的药物防治。所以,有必要探索防治后发性白内障新的治疗方法。目前普遍认为后发性白内障主要是由白内障术后残留的晶状体上皮细胞增殖、移行引发^[1]。既往研究表明,细胞信号传导机制在晶状体上皮细胞增殖过程中起重要作用,细胞信号传导中磷酸肌醇-3 激酶(phosphatidylinositol-3 kinase, PI-3k)途径是其中十分重要的途径^[2,3]。PI-3k 途径中的关键指标为蛋白激酶 B (protein kinase B, PKB) 的活性标志物 Ser473-R^[4,5],而其负调节分子为 PTEN 基因(gene of phosphate and tension homology deleted on chromosome ten, PTEN)^[6,7]。最近研究表明,环孢素 A (cyclosporine A, CsA)除了具有强大免疫抑制效应外,在适当浓度下能有效地抑制体外培养的晶状体上皮细胞的增殖^[8]。但 CsA 局部点眼对于活体动物晶状体上皮细胞的研究尚未见相关报道。本研究拟探索应用兔眼开展晶状体皮质吸出术,术后给予 CsA 点眼,使用免疫组织化学、原位杂交技术,观察不同时间点晶状体上皮细胞中增殖指标——增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA)和 PI-3k 途径中关键指标 Ser473-R 及其抑制基因 PTEN 的表达情况,探讨 CsA 对晶状体上皮细胞增殖的影响和影响机制。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物与分组 选用中国医科大学实验动物部提供的健康白色家兔 30 只 60 眼,8~10 周龄,雌雄各半,体质量 1.5 ± 0.3 kg,每只兔右眼为治疗组,左眼为对照组。

1.1.2 试剂与仪器 PTEN mRNA 原位杂交检测试剂盒、鼠抗兔 PCNA 单克隆抗体、小鼠 IgG 链酶亲合素生物素复合物免疫组化试剂盒、二氨基联苯胺(diaminobenzidin, DAB)显色试剂盒、焦碳酸二乙酯(diethyl pyrocarbonate, DEPC)均为武汉博士德公司产品。鼠抗兔 Ser473-R 多克隆抗体为美国 Santa Cruz Biotechnology, Inc 公司产品。RT-PCR 试剂盒, β -actin 引物由大连宝(Takara)生物工程有限公司提供。CataRhex 型超声乳化仪(瑞士 Oerthli Instrumente AG 公司产品);YZ20P 型手术显微镜(苏州六六视觉科技股份有限公司产品);Ax70 型显微镜系统(日本 Olympus 公司产品);显微图像分析采用 Metamorph 软件(美国 UIC 公司产品)。1%环孢素滴眼液为华北制药厂生产。

1.2 方法

1.2.1 动物模型及标本制备 家兔 30 只双眼均施行晶状体超声乳化术,建立后发性白内障动物模型。对照组眼术后第 1d 始用生理盐水点眼 6 次,治疗组眼术后第 1d 始应

用 1% CsA 眼药水点眼 6 次。分别在术后第 1d 未点药前、术后 1wk, 2wk, 1mo 和 2mo 分别处死随机选择的 6 只兔,摘取双眼球,在手术显微镜下剪除角膜及虹膜,剪断晶状体悬韧带,取出晶状体后立即用体积分数 4% 多聚甲醛固定 24h,石蜡包埋。然后制作连续切片,片厚 $5\mu\text{m}$ (玻片经 0.1% DEPC 处理,并用 0.1% DEPC 捞片)。分别行 PCNA 及 Ser473-R 免疫组化染色、PTEN mRNA 原位杂交。以 PBS 取代 PCNA 和 Ser473-R 一抗作为阴性对照;已知 PCNA 和 Ser473-R 染色阳性的膀胱癌组织切片作为阳性对照。

1.2.2 指标检测方法

1.2.2.1 免疫组织化学 SABC 法检测 PCNA 和 Ser473-R 的表达 石蜡切片常规梯度乙醇脱蜡,按试剂说明书操作,封闭内源性过氧化物酶,修复抗原后,滴加 PCNA 和 Ser473-R 的一抗和二抗,加 SABC。DAB 显色,苏木素复染,常规脱水、透明、封片。检测术前及术后各时间点 PCNA 和 Ser473-R 的表达。

1.2.2.2 原位杂交检测 PTEN mRNA 的变化 石蜡切片常规脱蜡,0.1% DEPC 冲洗,3% H_2O_2 于室温下浸泡 10min, 37°C 下胃蛋白酶消化 10min,滴加地高辛标记的 PTEN 寡核苷酸探针杂交液每片 $20\mu\text{L}$, 37°C 下过夜。杂交后在 37°C 下梯度 SSC 充分洗涤,滴加稳定液, 37°C 下静置 5h,室温下加封闭液静置 30min; 37°C 下生物素化抗地高辛抗体反应 20min, DAB 显色,苏木素复染。脱水、透明、封片。检测术前及术后各时间点 PTEN mRNA 表达。

1.2.3 结果分析 免疫组织化学检测 PCNA 阳性为胞核呈棕黄色, Ser473-R 阳性表达信号为胞浆呈棕黄色。PTEN mRNA 阳性表达信号为胞浆呈棕黄色。在 400 倍镜下摄取每组切片随机选取的晶状体赤道部视野共 6 张,转入计算机,用 Metamorph 软件计算标本单位面积阳性细胞吸光度(A)值。

统计学分析:计量资料采用均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)进行统计学描述。所有相关数据的分析均采用 SPSS 软件包(12.0 版本)分析。计量资料各组间的统计学对比分析采用成组设计的独立样本 t 检验。双侧 $P<0.05$ 为是否存在统计学差异性的界值。

2 结果

2.1 两组兔不同时间 PCNA 蛋白的表达 术后 1d 时,两组 PCNA 表达的平均吸光度 A 值差异无统计学意义(0.859 ± 0.018 vs 0.862 ± 0.021 , $t=0.202$, $P=0.844$)。术后 1wk (0.690 ± 0.035 vs 0.785 ± 0.015 , $t=6.099$, $P<0.01$) 和 2wk (0.571 ± 0.038 vs 0.670 ± 0.037 , $t=4.585$, $P<0.01$), 对照组 PCNA 的表达显著低于治疗组。1mo (0.473 ± 0.011 vs 0.486 ± 0.025 , $t=1.194$, $P=0.260$) 至 2mo (0.490 ± 0.011 vs 0.501 ± 0.023 , $t=1.019$, $P=0.332$) 时, PCNA 表达逐渐减弱,两组比较无统计学差异($P>0.05$, 图 1)。

2.2 两组兔不同时间 Ser473-R 蛋白的表达 术后第 1d, 两组 Ser473-R 的表达均维持在高水平状态,两组差异无统计学意义(0.535 ± 0.028 vs 0.537 ± 0.025 , $t=0.125$, $P=0.903$)。术后 1wk (0.374 ± 0.031 vs 0.435 ± 0.030 , $t=3.486$, $P=0.006$)、2wk (0.220 ± 0.022 vs 0.251 ± 0.020 , $t=2.516$, $P=0.031$), 两组表达均逐渐减弱,治疗组表达均低于对照组。术后 1mo (0.154 ± 0.011 vs 0.173 ± 0.021 , $t=1.979$, $P=0.076$)、2mo (0.136 ± 0.021 vs 0.161 ± 0.020 , $t=2.188$, $P=0.053$), 两组差异无统计学意义($P>0.05$, 图 2)。

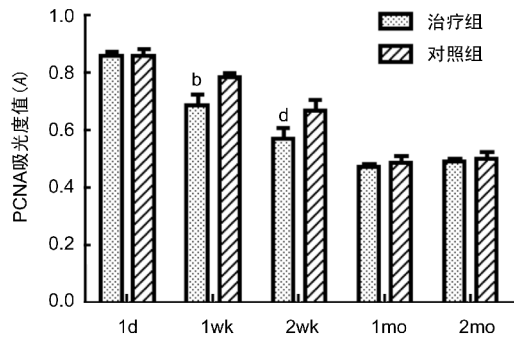


图1 治疗组与对照组兔眼晶状体上皮细胞中 PCNA 的吸光度 A 值 ^b $P < 0.01$ vs 对照组; ^a $P < 0.01$ vs 对照组。

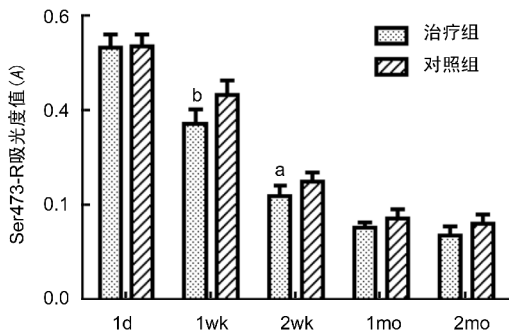


图2 治疗组与对照组兔眼晶状体上皮细胞中 Ser473-R 的吸光度 A 值 ^a $P < 0.05$ vs 对照组; ^b $P < 0.01$ vs 对照组。

2.3 两组兔不同时间 PTEN mRNA 的表达 术后 1d 时, 两组 PTEN mRNA 相对含量 A 值无统计学意义 (0.535 ± 0.028 vs 0.537 ± 0.025 , $t = 0.125$, $P = 0.903$)。术后 1wk ~ 1mo 时, 两组 A 值均逐渐升高。术后 1wk (0.302 ± 0.027 vs 0.255 ± 0.038 , $t = 2.474$, $P = 0.033$), 治疗组 A 值高于对照组, 两组差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。术后 2wk (0.455 ± 0.023 vs 0.423 ± 0.028 , $t = 2.117$, $P = 0.060$)、1mo (0.562 ± 0.027 vs 0.532 ± 0.038 , $t = 1.589$, $P = 0.143$)、2mo (0.558 ± 0.038 vs 0.545 ± 0.043 , $t = 0.558$, $P = 0.589$), 两组差异无统计学意义 ($P > 0.05$, 图 3)。

3 讨论

本研究结果揭示, CsA 对兔眼白内障术后晶状体上皮细胞增殖过程中 PI-3k 途径中关键指标 Ser473-R 有显著抑制作用, 并且诱导其抑制基因 PTEN 在术后早期表达增强, 为研究 CsA 治疗后发性白内障提供了实验依据。

CsA 是从真菌中分离出来的由 11 个氨基酸组成的环多肽, 因易溶于多种有机溶剂, 可方便地配制为滴眼液而易于应用于临床。自 1976 年以来 CsA 作为高效的免疫抑制剂, 在眼科领域不仅用于角膜移植, 而且也用于多种与免疫有关的疾病, 并均取得了一定治疗效果。最近研究表明, CsA 除了具有强大免疫抑制效应外, 还具有抗增殖作用, 在适当浓度下能有效地抑制血管内皮细胞、皮肤成纤维细胞及表皮角质细胞、结膜下成纤维细胞的增殖, 展现了良好的应用前景。白内障术后应用 CsA 注入囊袋内, 抑制后发性白内障已有报道^[9]。但是, 眼内注入 CsA 风险大, 可能对角膜内皮、视网膜、视神经造成伤害。CsA 药物代谢动力学研究表明, 虽然角膜对 CsA 的通透性差, 但以脂质体等载体制成的滴眼液可以透过角膜, 局部点眼可在眼前节获得较好的治疗浓度, 而且角膜、晶状体、虹膜等组织可以起到药物储库的作用, 并维持较长的半衰期^[10]。

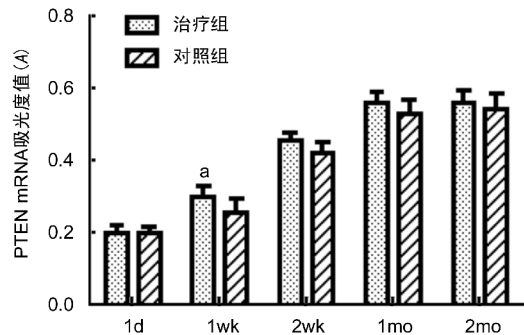


图3 治疗组与对照组兔眼晶状体上皮细胞中 PTEN mRNA 的吸光度 A 值 ^a $P < 0.05$ vs 对照组。

本次实验以 CsA 滴眼液的形式对白内障术后兔眼进行干预, 结果显示, 在实验的前 2wk 晶状体上皮细胞增殖受到了显著抑制作用, 但后期抑制作用不明显, 可能与药物的溶剂有关, 使透过角膜的药物浓度未能达到有效的浓度。

PCNA 是真核细胞 DNA 合成所必需的一种核蛋白, 是 DNA 多聚酶 δ 的辅助因子, 是细胞增殖的可信指标^[11]。本组实验再次以 PCNA 作为细胞增殖指标, 对兔晶状体上皮细胞增殖情况进行研究。结果显示, 术后第 1d, 两组兔晶状体上皮细胞的 PCNA 表达迅速增强, 提示术后残留的晶状体上皮细胞此时已大量进入增殖期。在术后 1wk 和 2wk 时, 应用 CsA 的治疗组兔眼晶状体上皮细胞 PCNA 的表达明显低于对照组。而术后 1mo 和 2mo 时, PCNA 表达减弱, 恢复术前水平, 两组比较无统计学意义。说明 CsA 对晶状体上皮细胞增殖有抑制作用, 最佳作用时间是术后 2wk 内。此结果可能与角膜对药物的渗透性有关: 术后早期, 角膜切口未完全闭合, 药物可以通过切口进入眼内; 后期, 角膜切口愈合, 药物完全从角膜渗透入眼内, 而角膜对 CsA 的转运有限, 不能形成有效的药物浓度。既往研究显示, CsA 对晶状体上皮细胞的增殖抑制作用是双向的, 在一定浓度范围内可以抑制增殖, 低浓度时可促进细胞增殖^[8]。从本次实验结果来看, CsA 未显著促进晶状体上皮细胞增殖。

既往研究表明, 白内障术后晶状体上皮细胞的增殖与细胞因子的作用显著相关。细胞因子通过多种途径将信号传递到胞核内, 从而调节细胞的生长。众多信号途径中 PI-3k 途径发挥着十分重要的作用^[12]。CsA 可以通过调节 PI-3k 信号途径而抑制细胞增殖^[13]。PI-3k 的活化继发于细胞因子诱导的 Ras 分子的活化或某些信号分子的酪氨酸磷酸化, 可催化胞膜中的脂类生成多种磷酸化的磷脂酰肌醇, 进而激活 PKB 及 p70S6K 等蛋白丝氨酸/苏氨酸激酶, 激活的 PKB 又通过影响其下游的信号分子, 激活抗细胞凋亡机制、葡萄糖代谢及蛋白质的合成等过程, 从而促进细胞的生长和增殖。PKB 家族蛋白分子的结构域中有一个丝氨酸位点 (Ser473/ Ser474), 当 Ser473 磷酸化以后, 引发其构型改变, 解除其对催化区的抑制而表现出酶活性, 因此磷酸化的 Ser473 可反映 PKB 的活性^[14]。本次实验结果进一步揭示, 经 CsA 治疗的兔眼晶状体上皮细胞的 Ser473-R 表达显著降低, 表明 CsA 滴眼液能透过角膜作用于晶状体上皮细胞, 减少 PKB 的磷酸化, 从而降低 PKB 的活性, 从而抑制了 PI-3k 信号途径, 使晶状体上皮细胞增殖减少。

磷酸酯酶(PTEN)位于细胞浆内,N端约有175个氨基酸与细胞骨架蛋白中张力蛋白和辅助蛋白具有高度同源性,在维持细胞结构中起重要的作用,PTEN基因作为一种抑制基因,在细胞的生长发育以及增殖与凋亡中有复杂而重要的作用。以往的研究证实,PTEN基因可以抑制PI3P的活化进而负反馈调节PI-3k途径及细胞增殖^[15]。本研究的前期实验证实,PTEN mRNA在正常兔晶状体上皮细胞中有表达,而在白内障术后,它可能通过抑制PI-3k信号转导途径中的磷酸化过程而抑制晶状体上皮细胞的增殖^[16]。CsA作用于晶状体上皮细胞,是否对PTEN基因有影响尚未见明确报道。有报道,器官移植术后大量应用CsA,可以降低PTEN基因表达^[17]。本次实验结果证实,术后1wk时,治疗组兔眼晶状体上皮细胞PTEN表达增强,说明CsA可能促进了PTEN的表达。在术后2wk~2mo时治疗组兔PTEN基因表达与对照组比较没有显著性,分析可能为PTEN基因已经与促进增殖的因素形成了一定的平衡。

总之,本研究结果表明,CsA可能通过抑制PI-3k途径中的关键酶PKB的活性及诱导抑制基因PTEN,从而抑制兔白内障术后晶状体上皮细胞的增殖。CsA药物安全性较好,未发生并发症。但所用滴眼剂的药物载体、溶剂如何才能使药物发挥更好的作用,以及CsA抑制晶状体上皮细胞增殖分子生物学原理还有待进一步研究。

参考文献

- 1 Sundelin K, Petersen A, Soltanpour Y, et al. *In vitro* growth of lens epithelial cells from cataract patients—association with possible risk factors for posterior capsule opacification. *Open Ophthalmol J* 2014;30(8):19–23
- 2 Weber GF, Menko AS. Phosphatidylinositol 3-kinase is necessary for lens fiber cell differentiation and survival. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006;47(10):4490–4499
- 3 Xiong W, Cheng BH, Jia SB, et al. Involvement of the PI3K/Akt signaling pathway in platelet-derived growth factor-induced migration of human lens epithelial cells. *Curr Eye Res* 2010;35(5):389–401

- 4 Hemmings BA, Restuccia DF. PI3K-PKB/Akt pathway. *Cold Spring Perspect Biol* 2012;4(9):a011189
- 5 Xue G, Hemmings BA. PKB/Akt-Dependent Regulation of Cell Motility. *J Natl Cancer Inst* 2013;105(6):393–404
- 6 Oudit GY, Penninger JM. Cardiac regulation by phosphoinositide 3-kinases and PTEN. *Cardiovasc Res* 2009;82(2):250–260
- 7 Matsuda S, Kobayashi M, Kitagishi Y. Roles for PI3K/AKT/PTEN pathway in cell signaling of nonalcoholic fatty liver disease. *ISRN Endocrinol* 2013;2013:472432
- 8 谭健,姚克,王凯军,等.环孢素A对兔晶状体上皮细胞增殖的影响. *眼科研究* 2005;23(2):189–191
- 9 Totan Y, Yağci R, Erdurmuş M, et al. Cyclosporin effectively inhibits posterior capsule opacification after phacoemulsification in rabbits: a preliminary study. *Clin Exp Ophthalmol* 2008;36(1):62–66
- 10 刘爱明,李伟,王本敏.环孢素A眼组织药代动力学研究进展. *解放军药学报* 2004;20(6):453–456
- 11 Mahler M, Miyachi K, Peebles C, et al. The clinical significance of autoantibodies to the proliferating cell nuclear antigen (PCNA). *Autoimmun Rev* 2012;11(10):771–775
- 12 Chandrasekher G, Bazan HE. Phosphatidylinositol 3-Kinase in bovine lens and its stimulation by insulin and IGF-1. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41(3):844–849
- 13 Werneck MB, Hottz E, Bozza PT, et al. Cyclosporin A inhibits colon cancer cell growth independently of the calcineurin pathway. *Cell Cycle* 2012;11(21):3997–4008
- 14 Fayard E, Xue G, Parcellier A, et al. Protein kinase B (PKB/Akt), a key mediator of the PI3K signaling pathway. *Curr Top Microbiol Immunol* 2010;346:31–56
- 15 Carnero A, Blanco-Aparicio C, Renner O, et al. The PTEN/PI3K/AKT signalling pathway in cancer, therapeutic implications. *Curr Cancer Drug Targets* 2008;8(3):187–198
- 16 赵宁,张瑞君,刘磊,等. PTEN基因对兔晶状体上皮细胞增殖抑制作用的实验研究. *眼科新进展* 2014;34(1):25–29
- 17 Han W, Ming M, He TC, et al. Immunosuppressive cyclosporin A activates AKT in keratinocytes through PTEN suppression. *J Biol Chem* 2010;285:11369–11377