

• 论 著 •

Gab1 在胃癌组织中表达分析及通过 PI3K/AKT 通路调控转移的机制研究

李拓键

陆军军医大学第一附属医院健康管理中心, 重庆 400038

摘要:目的 探究 Grb2 相关结合蛋白 1(Gab1)表达在胃癌中的临床意义和通过 PI3K/AKT 通路调控转移的机制。方法 收集 2015 年 3 月至 2018 年 3 月胃癌组织和癌旁组织标本各 70 份,通过免疫组织化学染色检测 Gab1 表达水平,并分析 Gab1 表达水平与患者一般资料和病理特点的相关性。将胃腺癌细胞 AGS 分为空白组、对照组、Gab1 组和 Gab1+LY294002 组, Gab1 组通过转染 pCMV6-entry-Gab1 重组质粒过表达 Gab1,对照组转染阴性对照质粒。Gab1+LY294002 组培养基中加入 PI3K/AKT 抑制剂 LY294002 (5 μmol/L)。使用 qPCR 检测 Gab1 mRNA 相对表达水平,通过 Western blot 检测 Gab1、p-AKT 和 AKT 蛋白水平。分别通过 CCK-8 法、细胞划痕实验、Transwell 实验检测细胞增殖、迁移、侵袭能力。结果 Gab1 在癌旁组织中表达水平较低,在胃癌组织中的表达水平较高。存在淋巴转移、存在远端转移、T3+T4 浸润深度、Ⅲ~Ⅳ期患者较无淋巴转移、无远端转移、T1+T2 浸润深度、Ⅰ~Ⅱ期患者 Gab1 高表达水平所占比例更高 ($P<0.05$)。Gab1 组和 Gab1+LY294002 组细胞中 Gab1 mRNA 相对表达水平和蛋白表达水平均明显高于空白组和对照组 ($P<0.05$)。LY294002 对 Gab1 mRNA 和蛋白表达影响不明显。Gab1 组细胞活力、迁移和侵袭能力明显高于空白组、对照组和 Gab1+LY294002 组 ($P<0.05$),并且 Gab1 组的 AKT 磷酸化水平明显高于空白组、对照组和 Gab1+LY294002 组 ($P<0.05$)。结论 Gab1 在胃癌组织中高表达,并且高表达水平的 Gab1 与胃癌的恶性表型有关。上调的 Gab1 表达会通过激活 PI3K/AKT 通路促进胃癌细胞的细胞迁移和侵袭。

关键词:胃癌; Grb2 相关结合蛋白 1; PI3K/AKT; 迁移; 侵袭
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2022.02.015 **中图法分类号:**R735.2
文章编号:1673-4130(2022)02-0202-06 **文献标志码:**A

Expression analysis of Gab1 in gastric cancer and the mechanism of regulating metastasis through PI3K/AKT pathway

LI Tuojian

Health Management Center, the First Affiliated Hospital of Army Medical University, Chongqing 400038, China

Abstract:Objective To explore the clinical significance of Grb2-associated binding protein 1 (Gab1) expression in gastric cancer and the mechanism of regulating metastasis through PI3K/AKT pathway. **Methods** A total of 70 gastric cancer tissues and 70 adjacent tissues were collected from March 2015 to March 2018. The expression of Gab1 was detected by immunohistochemical staining. The correlation between Gab1 expression level and general information and pathology characteristics was analyzed. Gastric adenocarcinoma cell AGS was divided into blank group, control group, Gab1 group and Gab1+LY294002 group. Gab1 was overexpressed by transfection of the pCMV6-entry-Gab1 recombinant plasmid in the Gab1 group. The cells were transfected negative control plasmid in the control group. In the Gab1+LY294002 group, PI3K/AKT inhibitor LY294002 (5 μmol/L) was added in the medium in the Gab1+LY294002 group. Gab1 mRNA relative expression level was detected by qPCR, and Gab1, p-AKT and AKT protein levels were detected by Western blot. Cell viability, migration, and invasion were measured by CCK-8 method, cell scratch test, and Transwell test, respectively. **Results** Gab1 was scarcely expressed in adjacent tissues, but its expression level was increased in gastric cancer tissues. The number of cases of high expression level of Gab1 in patients with lymph node metastasis, distal metastasis, T3+T4 infiltration depth, stage Ⅲ—Ⅳ was more than that of cases of high ex-

pression level of Gab1 patients without lymph node metastasis, distal metastasis, T1 + T2 infiltration depth and stage I – II patients ($P < 0.05$). The Gab1 mRNA relative expression level and protein expression in the Gab1 group and Gab1 + LY294002 group were significantly higher than those in the blank group and the control group ($P < 0.05$). LY294002 had no significant effect on the expression of Gab1 mRNA and protein. The cell viability, migration and invasion abilities in the Gab1 group were significantly higher than those in the blank group, the control group and the Gab1 + LY294002 group ($P < 0.05$). The level of AKT phosphorylation in the Gab1 group was significantly higher than that in the blank group, the control group and the Gab1 + LY294002 group ($P < 0.05$). **Conclusion** Gab1 is highly expressed in gastric cancer tissues, and high expression levels of Gab1 are associated with the malignant phenotype of gastric cancer. Up-regulation of Gab1 expression would promote the cell migration and invasion of gastric cancer cells by activating the PI3K/AKT pathway.

Key words: gastric cancer; Grb2-associated binding protein 1; PI3K/AKT; migration; invasion

一项全球性的调查研究显示,2020 年胃癌的新发病患者共约 103 万例,占有恶性肿瘤的 5.7%,死于胃癌的患者共约 78 万例,占 8.2%^[1]。我国胃癌发病率较高,虽然新的靶向疗法、免疫疗法、个性化治疗等策略不断被应用于临床,但是胃癌的复发率和病死率仍然较高,探究胃癌发生和发展的机制是寻找新的诊断和治疗靶点的重要手段^[2]。Grb2 相关结合蛋白 1 (Gab1)是细胞的骨架蛋白,参与细胞形态的维持,并且在口腔鳞状细胞癌、肝细胞癌等疾病中具有促癌作用^[3-4]。PI3K/AKT 通路的激活是促进胃癌转移的重要信号通路,并且与胃癌的复发有关^[5]。近年来研究发现,Gab1 也可以作为信号通路中的“放大器”,通过激活通路促进肿瘤细胞的生长并抑制其凋亡,FAN 等^[6]的研究显示,Gab1 可能通过激活 PI3K/AKT 通路抑制软组织肉瘤细胞凋亡。然而,关于 Gab1 在胃癌中的表达特点及对胃癌细胞生物学行为的影响尚不清楚。本文主要分析 Gab1 在胃癌中的临床意义,并分析 Gab1 通过 PI3K/AKT 通路调控转移的机制,为临床更好地治疗胃癌提供新思路。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料来源 收集 2015 年 3 月至 2018 年 3 月在陆军军医大学第一附属医院进行胃癌切除术新鲜胃癌组织及癌旁正常组织(距离肿瘤组织距离 > 5 cm)标本各 70 份。纳入标准:(1)经过术后病理学检测确诊为胃腺癌;(2)入组前未经过化疗、放疗、靶向治疗;(3)知情同意。排除标准:(1)合并其他恶性肿瘤;(2)合并其他严重基础疾病。本研究经过陆军军医大学第一附属医院伦理委员会批准。

1.2 仪器与试剂 人胃腺癌细胞系 AGS 细胞来自美国典型培养物保藏中心。DMEM 培养基、胎牛血清、L-谷氨酰胺、青霉素和链霉素来自美国 Thermo Fisher 公司。PI3K/AKT 抑制剂 LY294002 购自中国 Selleck 公司。pCMV6-entry-Gab1 重组质粒及相

应的阴性对照质粒购自美国 OriGene 公司。Lipofectamine 2000 试剂来自美国 Thermo Fisher 公司。细胞计数试剂盒-8(CCK-8)来自中国 Beyotime 生物技术有限公司。Transwell 小室及配套试剂来自美国 BD Biosciences 公司。PCR 引物由中国 Genewiz 公司设计和合成。Trizol 试剂来自美国 Invitrogen 公司。反转录 cDNA 试剂盒和 SYBR Green PCR Master Mix qPCR 试剂盒来自瑞士 Roche 公司。ABI 7500 PCR 检测系统来自美国 Life technology 公司。RIPA 裂解缓冲液来自中国 Beyotime 公司。BCA 蛋白测定试剂盒和 ECL 试剂盒来自中国 Applygen 公司。Gab1 免疫组化染色试剂盒购自美国 Abcam 公司。Gab1、GAPDH 抗体和二抗来自美国 Abcam 公司。PVDF 膜来自美国 Bio-Rad 公司。

1.3 方法

1.3.1 免疫组织化学实验检测胃癌组织和癌旁组织中 Gab1 表达情况 将标本组织经过梯度乙醇脱水、透明处理后包埋至蜡块中,冷冻后切成 $4 \mu\text{m}$ 厚切片。将组织脱蜡并再水化。使用 3%的过氧化氢甲醇溶液封闭内源性过氧化物酶活性。使用蒸锅在 95°C 下于 0.01 mol/L 柠檬酸盐缓冲液($\text{pH} = 6.0$)中对切片进行热诱导的抗原回收。在切片标本中加入 Gab1 一抗(1:50 稀释)并在室温下孵育 45 min,加入生物素标记的 IgG 抗体(1:50 稀释)孵育 30 min。滴加 DAB 显色 5~6 min 后加入苏木紫染色 20 min。脱水透明化处理、封片。使用显微镜观察染色结果。通过半定量法评估:颜色深浅为 0~3 分,染色范围为 0~4 分,二者相乘之积作为染色强度。并根据染色强度评分的中位数,将胃癌组织分为 Gab1 低表达和高表达。

1.3.2 细胞培养及 Gab1 干扰 AGS 细胞的建立 为与临床标本对应,选择胃腺癌细胞进行研究。AGS 细胞在含有 10%胎牛血清、2 mmol/L-谷氨酰胺、1%青霉素(100 单位/毫升)和链霉素(100 $\mu\text{g}/\text{mL}$)的

DMEM 培养基中培养。37 ℃, 5% CO₂, 相对湿度 100%。细胞分为空白组、对照组、Gab1 组和 Gab1+LY294002 组。Gab1 组和 Gab1+LY294002 组使用 Lipofectamine 2000 试剂盒进行瞬时转染, 将 pC-MV6-entry-Gab1 重组质粒转染进入 AGS 细胞中, 转染 48 h 后收集细胞并通过 qPCR 和 Western blot 检测转染效率。对照组转染等量的阴性对照质粒。空白组不进行转染。Gab1+LY294002 组细胞培养基中加入 PI3K/AKT 抑制剂 LY294002 抑制 PI3K/AKT 通路, LY294002 的浓度为 5 μmol/L。

1.3.3 qPCR 检测各组细胞中 Gab1 mRNA 相对表达水平 通过 Trizol 获得细胞中总 RNA, 然后检测 RNA 的纯度和浓度。使用 cDNA 试剂盒将 1 μg RNA 反转录合成 cDNA (42 ℃ 60 min, 70 ℃ 5 min, 4 ℃ 保存)。使用 SYBR Green PCR Master Mix 进行 qPCR 试验 (在 95 ℃ 10 min, 40 个循环, 94 ℃ 15 s, 60 ℃ 1 min, 60 ℃ 1 min, 4 ℃ 保存)。GAPDH 作为内参, 通过比较循环阈值 (ΔΔCt) 用于分析 Gab1 mRNA 相对表达水平。Gab1 上游引物: 5'-GGT GGT GAA GTG GTC TGC TC-3'; 下游引物: 5'-TCG GGC TTC TTG CTT TGA CA-3'。GAPDH 上游引物: 5'-CAA GGT CAT CCA TGA CAA CTT TG-3'; 下游引物: 5'-GTC CAC CAC CCT GTT GCT GTA G-3'。

1.3.4 Western blot 检测各组细胞中 Gab1 蛋白表达水平和 AKT 蛋白磷酸化水平 在液氮下将细胞研磨并使用 RIPA 裂解缓冲液裂解, 使用 BCA 蛋白测定试剂盒测量总蛋白水平。使用 SDS-PAGE 分离等量的总蛋白 (120 V 下电泳 90 min), 随后将蛋白转移到 PVDF 膜上 (50 V, 120 min), 在含有 5% 脱脂牛奶的封闭溶液中封闭。将 PDVF 膜与 Gab1 抗体 (1:500 稀释) 在 4 ℃ 孵育过夜, 然后加入 1:5 000 稀释的 HRP 偶联二抗在室温下孵育 1 h。使用 ECL 试剂盒可视化蛋白条带, 并在 ImagePD 软件中使用 GAP-

DH 作为内参对蛋白条带的灰度进行定量。

1.3.5 CCK-8 法检测细胞活力 将 2×10⁴ 个细胞接种在 96 孔板 (每孔 100 μL), 在培养第 24、48 和 72 h 加入 10 μL CCK-8 试剂并在 37 ℃ 下培养 2 h, 通过酶标仪检测 450 nm 处的吸光度 (A) 值。

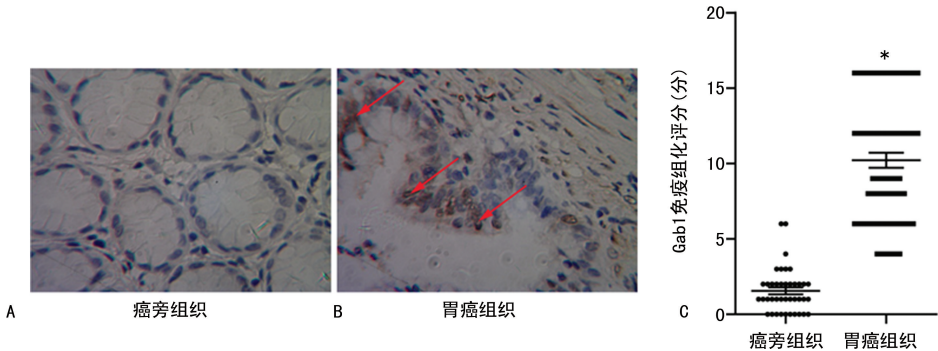
1.3.6 细胞划痕实验检测细胞迁移能力 将各组细胞消化后分别接种在 6 孔板中, 每孔 1×10⁶ 个细胞, 然后在 37 ℃, 5% CO₂, 相对湿度 100% 条件下培养直至 90% 汇合。使用 200 μL 的移液枪头从上至下轻轻划伤细胞, 将划掉的细胞洗去。在相同条件下继续培养 24 h。在显微镜下测量细胞划痕距离的百分比 (两端前缘距离/初始划痕宽度×100%)。

1.3.7 Transwell 实验检测细胞侵袭能力 将完全培养基加入到 Transwell 小室的下室, 将基质胶加入到上室。将 3×10⁴ 个细胞加入至上室培养。培养 24 h 后洗去未侵入下室的细胞。将细胞使用 20% 甲醇固定, 并用 0.2% 结晶紫染色。在倒置显微镜下计数每个视野侵入下室的细胞数目。

1.4 统计学处理 采用 Graphpad 6.0 软件进行数据处理及统计分析。所有试验设立 3 个复孔。计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 进一步两两比较采用 SNK-*q* 检验。以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 Gab1 在胃癌中的表达水平及与临床病理参数的关系 Gab1 在癌旁组织中表达水平较低, 染色强度为 (1.38±0.26), 但是在胃癌组织中的表达水平较高, 染色强度为 (5.07±0.82), 并且 Gab1 定位于细胞质, 见图 1。存在淋巴转移、存在远端转移、T3+T4 浸润深度、Ⅲ~Ⅳ期患者较无淋巴转移、无远端转移、T1+T2 浸润深度、Ⅰ~Ⅱ期患者 Gab1 高表达水平所占比例更高 (*P* < 0.05), 见表 1。



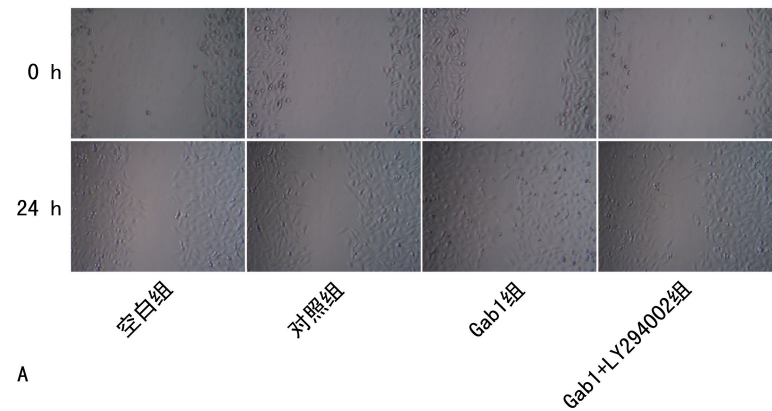
注: A、B 为免疫组织化学染色检测癌旁组织和胃癌组织中 Gab1 的表达, C 为癌旁组织和胃癌组织中 Gab1 免疫组化染色评分比较; 与癌旁组织比较, * *P* < 0.05。

图 1 Gab1 在胃癌组织和癌旁组织中的表达特点

2.2 各组细胞中 Gab1 mRNA 相对表达水平和蛋白表达水平比较 Gab1 组和 Gab1+LY294002 组细胞中 Gab1 mRNA 相对表达水平和蛋白表达水平均明显高于空白组和对照组 ($P<0.05$), 且 LY294002 对 Gab1 mRNA 相对表达水平和蛋白表达水平影响不明显, 见图 2。

表 1 胃癌患者 Gab1 表达水平与临床病理参数的关系(<i>n</i>)				
临床病理参数	<i>n</i>	Gab1 表达		<i>P</i>
		低表达	高表达	
年龄(岁)				
≤60	30	13	17	0.779
>60	40	16	24	
性别				
男	34	14	20	0.967
女	36	15	21	
肿瘤最大径(cm)				
≤5	23	11	12	0.628
>5	47	18	29	
淋巴转移				
否	24	18	6	<0.001
是	46	11	35	
远端转移				
否	23	19	4	<0.001
是	47	10	37	
浸润深度				
T1+T2	26	15	11	0.034
T3+T4	44	14	30	
浸润深度				
I~II 期	21	14	7	0.005
III~IV 期	49	15	34	

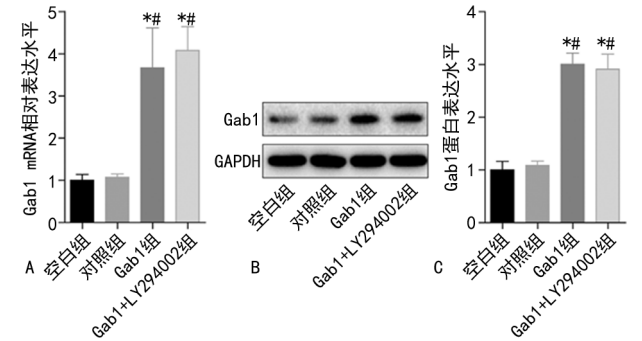
2.3 各组细胞活力比较 在培养 72 h 后, Gab1 组的 A 值(0.82 ± 0.06)明显较对照组、空白组和 Gab1+LY294002 组升高 ($P<0.05$)。LY294002 会阻断 Gab1 对细胞活力的促进作用, 见图 3。



注: A 为细胞划痕实验检测各组细胞的迁移能力; B 为各组细胞迁移能力比较; 与对照组比较, * $P<0.05$; 与空白组比较, # $P<0.05$; 与 Gab1 组比较, ^ $P<0.05$ 。

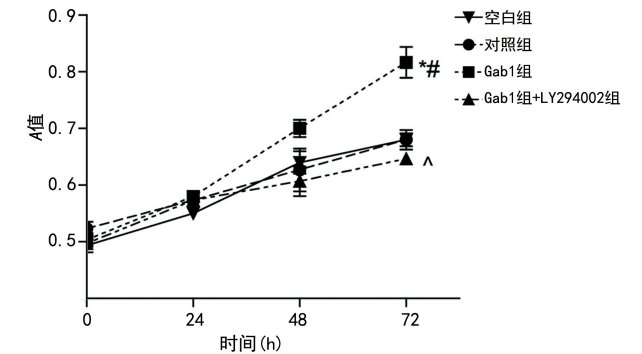
图 4 各组细胞迁移能力比较

2.4 各组细胞迁移和侵袭能力比较 培养 24 h 后, 对照组的划痕宽度为 0 h 时宽度的 ($50.37\%\pm0.12\%$), Gab1+LY294002 组为 ($49.24\%\pm0.13\%$), 与空白组比较差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。Gab1 组的细胞划痕距离百分比为 0 h 时的 ($26.17\%\pm0.09\%$), 明显低于空白组、对照组、Gab1+LY294002 组 ($P<0.05$)。见图 4。Gab1 组侵袭细胞数目明显高于空白组、对照组、Gab1+LY294002 组 ($P<0.05$)。见图 5。



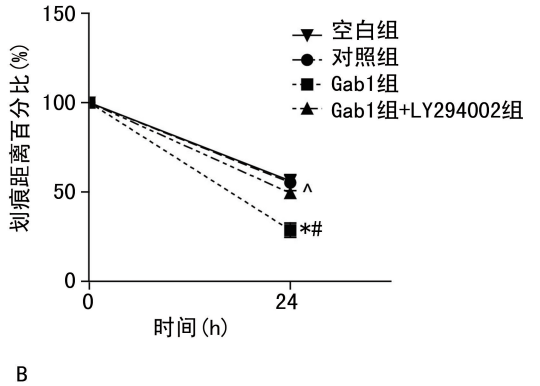
注: A 为各组细胞中 Gab1 mRNA 相对表达水平比较; B 为 Western blot 检测各组中 Gab1 蛋白表达水平; C 为各组细胞中 Gab1 蛋白表达水平比较; 与对照组比较, * $P<0.05$; 与空白组比较, # $P<0.05$ 。

图 2 各组细胞中 Gab1 mRNA 相对表达水平和蛋白表达水平比较

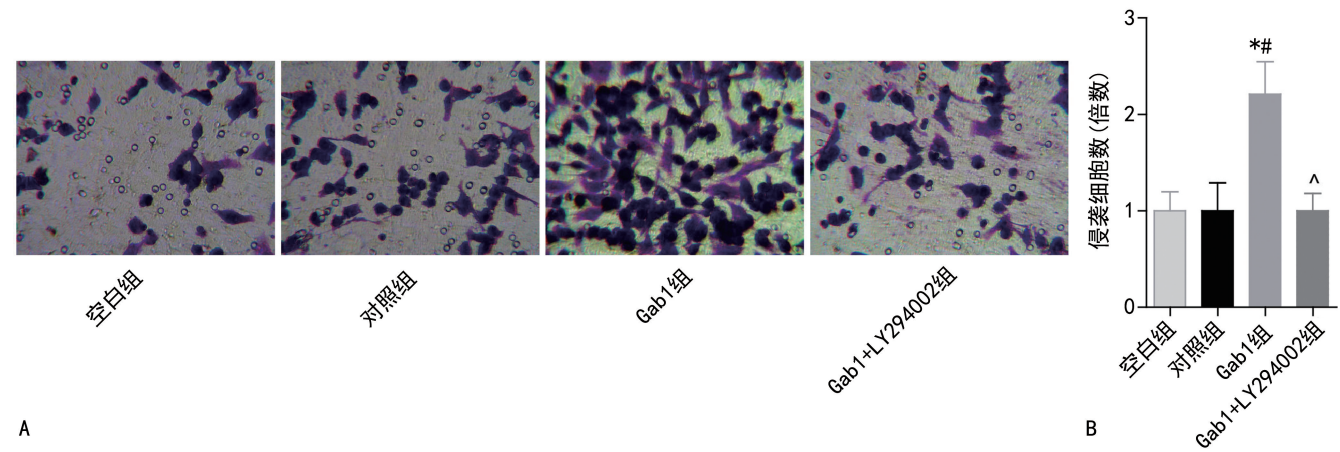


注: 与对照组比较, * $P<0.05$; 与空白组比较, # $P<0.05$; 与 Gab1 组比较, ^ $P<0.05$ 。

图 3 各组细胞的活力比较



注: A 为细胞划痕实验检测各组细胞的迁移能力; B 为各组细胞迁移能力比较; 与对照组比较, * $P<0.05$; 与空白组比较, # $P<0.05$; 与 Gab1 组比较, ^ $P<0.05$ 。

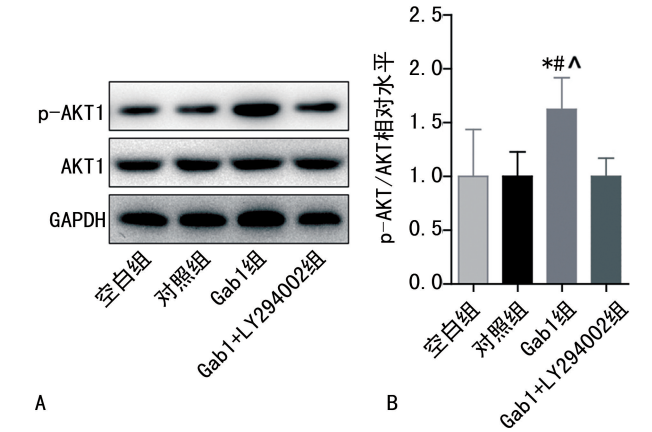


注:A为Transwell实验检测各组细胞的侵袭能力;B为各组细胞的侵袭能力比较;与对照组比较,* $P<0.05$;与空白组比较,# $P<0.05$;与Gab1组比较,^ $P<0.05$ 。

图5 图4 各组细胞侵袭能力比较

2.5 各组细胞 AKT 蛋白磷酸化水平比较

Gab1 组 AKT 蛋白磷酸化水平明显高于空白组、对照组和 Gab1+LY294002 组($P<0.05$),见图 6。



注:p-AKT为磷酸化AKT蛋白;A为Western blot检测各组细胞中AKT和p-AKT蛋白水平;B为各组细胞中p-AKT/AKT蛋白相对表达水平比较;与对照组比较,* $P<0.05$;与空白组比较,# $P<0.05$;与Gab1+LY294002组比较,^ $P<0.05$ 。

图6 各组细胞 AKT 蛋白磷酸化水平比较

3 讨 论

胃癌是最常见的癌症之一,在中国、日本、韩国等亚洲地区尤为普遍^[7]。虽然最近十年胃癌发病率得到一定的控制,但是胃癌的病死率仍居高不下。手术是治疗胃癌的最主要方法,但是大多数胃癌患者在确诊时已经处于晚期或者出现转移,晚期胃癌患者的5年生存率不足20%^[8]。肿瘤细胞无限增殖,强大的侵袭和转移能力是导致胃癌患者生存率低的主要原因之一,因此,探索胃癌转移过程中涉及的机制对发现胃癌诊断和治疗的潜在靶点至关重要。

Gab1属于Gab衔接子家族,参与信号的传导,研究已经发现Grb2在胃癌进展中发挥重要作用,Grb2-DENND1A复合物会被表皮细胞生长因子激活,从而诱导胃癌细胞迁移^[9],且Grb2通过调节下游的通路

参与胃癌的发生^[10]。Gab1蛋白是与Grb2结合的蛋白,但是关于Gab1在胃癌中的表达特点和对胃癌细胞的调控作用尚不清楚。过往研究显示,在横纹肌肉瘤和滑膜肉瘤中Gab1的表达水平明显升高,且高临床分期(Ⅲ和Ⅳ期)的肿瘤中Gab1阳性率明显高于低临床分期(Ⅰ和Ⅱ期)的肿瘤,提示在肉瘤中Gab1与不良的预后有关^[11]。Kaplan-Meier生存分析和Cox风险分析结果显示,Gab1高表达的卵巢癌患者术后具有更低的生存率,Gab1的高表达与卵巢癌FIGO晚期和淋巴结转移呈正相关,可作为预测预后的独立指标^[12]。此外,Gab1也可作为临床预测胶质瘤预后的指标^[13]。在本研究结果中,通过免疫组织化学染色发现Gab1在癌旁组织中表达水平较低,而胃癌组织中Gab1在细胞质中广泛表达,并且进一步的研究结果显示,在更高的临床分期、更深的浸润深度及存在远端转移和淋巴结转移患者中Gab1高表达水平患者所占比例更高,这提示在胃癌中Gab1可能参与肿瘤的发生和转移,并且可能成为预测胃癌患者预后的标志物,但是关于Gab1与胃癌患者预后的关系还需要扩大样本量进行长期的随访研究。

Gab1通过与Grb2蛋白结合参与信号的传导,Gab蛋白与Grb2结合后,会募集PI3K/AKT等蛋白,PI3K/AKT会通过Gab1中的磷酸酪氨酸基序与Gab1相互作用,从而参与调控细胞内信号通路的传导^[14-15]。而PI3K/AKT是胃癌发生和发展中的重要通路,研究显示PI3K/AKT通路的激活会促进一些原癌基因的表达,从而诱导细胞过度增殖并且具有高转移性^[16]。因此本研究进一步分析了过表达Gab1对胃癌细胞的迁移和侵袭的影响,以及Gab1是否通过PI3K/AKT通路发挥促癌作用。本研究通过转染pCMV6-entry-Gab1重组质粒以过表达Gab1,通过qPCR和Western blot验证了转染后Gab1 mRNA相

对表达水平和蛋白表达水平明显升高。进一步的细胞生物学实验结果也显示, Gab1 过表达时, 胃癌 AGS 细胞的细胞活力、迁移和侵袭能力明显升高, 而 PI3K/AKT 抑制剂 LY294002 会阻断 Gab1 对胃癌细胞生长和转移的促进作用。既往有研究发现, 提高 Gab1 的表达水平会促进乳腺癌细胞的转移能力^[17]。也有体外研究显示, 抑制 Gab1 表达水平具有抑制肺癌细胞增殖和侵袭的作用^[18]。本研究结果还显示, 过表达 Gab1 后会促进 PI3K 蛋白下游蛋白 AKT 的磷酸化, 并且使用 LY294002 抑制 PI3K/AKT 后会阻断 Gab1 对 AKT 磷酸化的促进作用。ZHANG 等^[19]研究显示, Gab1 会通过影响 PI3K/AKT 通路抑制 bFGF 诱导的生物学活性。本研究结果显示, 在胃癌细胞 AGS 中表达上调的 Gab1 可能通过激活 PI3K/AKT 通路促进细胞迁移和侵袭。但是关于 Gab1 通过 PI3K/AKT 通路调节胃癌细胞迁移和侵袭的机制仍需要进一步的体内试验验证。

综上所述, Gab1 在胃癌组织中高表达, 且高表达水平的 Gab1 与胃癌的恶性表型有关。上调的 Gab1 表达会通过激活 PI3K/AKT 通路促进胃癌细胞的细胞迁移和侵袭。这提示 Gab1 可能成为诊断和治疗胃癌的新靶点, 关于 Gab1 调控胃癌转移的机制值得进一步研究。

参考文献

- [1] SMYTH E C, NILSSON M, GRABSCH H I, et al. Gastric cancer[J]. Lancet, 2020, 396(10251): 635-648.
- [2] 周荣健, 张恒, 束平, 等. Ⅲ期胃癌根治术后预后因素分析及淋巴结转移率对预后的预测价值(附 995 例报告)[J]. 中华消化外科杂志, 2019, 18(3): 250-258.
- [3] XU L, LI J, KUANG Z, et al. Knockdown of Gab1 inhibits cellular proliferation, migration, and invasion in human oral squamous carcinoma cells[J]. Oncol Res, 2018, 26(4): 617-624.
- [4] SUN W, ZHANG Z C, WANG J L, et al. MicroRNA-150 suppresses cell proliferation and metastasis in hepatocellular carcinoma by inhibiting the GAB1-ERK axis[J]. Oncotarget, 2016, 7(10): 11595-11608.
- [5] TIAN L, ZHAO Z, XIE L, et al. MiR-361-5p suppresses chemoresistance of gastric cancer cells by targeting FOXM1 via the PI3K/Akt/mTOR pathway[J]. Oncotarget, 2017, 9(4): 4886-4896.
- [6] FAN Y, YANG F, CAO X, et al. Gab1 regulates SDF-1-induced progression via inhibition of apoptosis pathway induced by PI3K/AKT/Bcl-2/BAX pathway in human chondrosarcoma[J]. Tumor Biol, 2015, 37(1): 1141-1149.
- [7] CHEN W, ZHENG R, BAADE P D, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(2): 115-132.
- [8] THRUMURTHY S G, CHAUDRY M A, CHAU I, et al. Does surgery have a role in managing incurable gastric cancer? [J]. Nat Rev Clin Oncol, 2015, 12(11): 676-682.
- [9] YE B, DUAN B, DENG W, et al. EGF stimulates Rab35 activation and gastric cancer cell migration by regulating DENND1A-Grb2 complex formation[J]. Front Pharmacol, 2018, 9(1): 1343-1345.
- [10] YIM D G, GHOSH S, GUY G R, et al. Casein kinase 1 regulates Sprouty2 in FGF-ERK signaling[J]. Oncogene, 2015, 34(4): 474-484.
- [11] AL-HUSSEINAWI E, BUI M M, AHMED A A. Grb2-associated binding protein-1 as a biomarker in bone and soft tissue sarcomas[J]. Pathology, 2019, 51(6): 610-614.
- [12] HU L, LIU R. Expression of Gab1 is associated with poor prognosis of patients with epithelial ovarian cancer[J]. Tohoku J Exp Med, 2016, 239(3): 177-184.
- [13] LIU H, LI G, ZENG W, et al. Combined detection of Gab1 and Gab2 expression predicts clinical outcome of patients with glioma[J]. Med Oncol, 2014, 31(8): 77-78.
- [14] LEE J H, LIU R, LI J, et al. EGFR-phosphorylated platelet isoform of phosphofructokinase 1 promotes PI3K activation[J]. Mol Cell, 2018, 70(2): 197-210.
- [15] BONGARTZ H, GILLE K, HESSENKEMPER W, et al. The multi-site docking protein Grb2-associated binder 1 (Gab1) enhances interleukin-6-induced MAPK-pathway activation in an SHP2-, Grb2-, and time-dependent manner[J]. Cell Commun Signal, 2019, 17(1): 135-136.
- [16] AO R, GUAN L, WANG Y, et al. Silencing of COL1A2, COL6A3 and THBS2 inhibits gastric cancer cell proliferation, migration and invasion while promoting apoptosis through the PI3k-Akt signaling pathway[J]. J Cell Biochem, 2017, 119(6): 4420-4434.
- [17] WANG X, PENG J, YANG Z, et al. Elevated expression of Gab1 promotes breast cancer metastasis by dissociating the PAR complex[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2019, 38(1): 27-29.
- [18] XU B B, GU Z F, MA M, et al. MicroRNA-590-5p suppresses the proliferation and invasion of non-small cell lung cancer by regulating GAB1[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2018, 22(18): 5954-5963.
- [19] ZHANG J C, LI W X, WU L, et al. Scaffolding adapter protein Gab1 impairs bFGF-induced bio-activity via affecting PI3K-AKT pathway[J]. J Biol Regul Homeost Agents, 2019, 3(1): 53-62.