

哺乳动物雷帕霉素靶蛋白基因多态性(rs2295080)与结直肠癌患者预后的关联性研究

潘磊¹, 顾冬英², 胡凯敏³, 陈锦飞², 张苏展³

(1.浙江省中医院, 浙江 杭州 310006; 2.南京市第一医院, 江苏 南京 210006;

3.浙江大学医学院附属第二医院, 浙江 杭州 310009)

摘要: [目的] 对哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(*mTOR*)基因多态性(rs2295080)与结直肠癌患者预后的相关性进行分析。[方法] 随访行结直肠癌根治术的488例患者, 提取患者静脉血标本的DNA并进行基因分型, 分析*mTOR* rs2295080多态性与结直肠癌患者生存预后的关联。[结果] 在结肠癌患者中, rs2295080 GG基因型携带者的预后生存较TG/TT基因型明显下降(HR=3.07, 95%CI: 1.15~8.22)。同时发现该作用在中分化(HR=3.74, $P=0.008$), 无淋巴结转移(HR=11.87, $P<0.001$)和Ⅱ期(HR=14.74, $P<0.001$)的结肠癌患者中更加明显。而在直肠癌患者中, rs2295080 TG/GG基因型较TT基因型可明显提升患者的预后生存(HR=0.48, 95%CI: 0.23~0.99)。该保护作用在无远处转移(HR=0.28, $P=0.011$)和Ⅲ期(HR=0.21, $P=0.019$)的直肠癌患者中更加明显。[结论] *mTOR* rs2295080可能与结直肠癌患者的生存相关并可作为结直肠癌预测预后的生物标志物。

关键词: 结直肠癌; 单核苷酸多态性; 预后; *mTOR*

中图分类号: R735.3 文献标识码: A 文章编号: 1004-0242(2017)07-0567-07

doi: 10.11735/j.issn.1004-0242.2017.07.A013

Polymorphism in *mTOR* (rs2295080) and Its Association with Survival of Colorectal Cancer Patients

PAN Lei¹, GU Dong-ying², HU Kai-min³, et al.

(1. Zhejiang Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Hangzhou 310006, China;

2. The Affiliated Nanjing Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210006, China;

3. The Second Affiliated Hospital of Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou 310009, China)

Abstract: [Purpose] To investigate the association of polymorphisms in *mTOR*(rs2295080) and prognosis of colorectal cancer patients. [Methods] 488 surgically resected colorectal cancer patients were divided into several groups according to their genotypes, in order to explore the links between SNP rs2295080 and the survival of colorectal cancer patients in a Chinese population. [Results] Patients carrying rs2295080 GG genotype survived less than those with the TG/TT genotypes (HR=3.07, 95%CI: 1.15~8.22) in the colon cancer subgroup. This risk effect was more remarkable among patients with moderately differentiated cancers, no lymph node metastasis, and TNM stage II. For rectal cancer patients, rs2295080 TG/GG genotypes had better prognosis compared with the TT genotype (HR=0.48, 95%CI: 0.23~0.99). This risk effect was more remarkable among patients with no distant metastasis and TNM stage III. [Conclusions] SNP rs2295080 may be related to the survival of colorectal cancer patients and can be a potential prognostic biomarker of colorectal cancer.

Key words: colorectal cancer; single nucleotide polymorphism; prognosis; *mTOR*

结直肠癌是严重危害人类健康的常见消化系统恶性肿瘤, 仅次于肺癌和乳腺癌, 居全球肿瘤发病率第3位, 死亡率第4位。我国结直肠癌的发病率和死亡率均呈逐年上升趋势。尽管大多数结直肠癌新发

病例可进行根治性手术^[1], 但仍有20%~30%的新发病例由于转移无法根治性切除。此外, 40%~50%结直肠癌患者术后出现复发或肝、肺转移^[2]。这些无法根治性切除及术后复发、转移的结直肠癌患者通常预后很差^[3]。因此, 进一步研究结直肠癌的发生机制, 对疾病的早期诊断、早期治疗以及患者的生存预

收稿日期: 2016-02-03; 修回日期: 2016-07-19

通讯作者: 张苏展, E-mail: zhangscy@tom.com

后有着重要意义。

目前认为结直肠癌是一个多因素和多阶段的过程,是环境危险因素和遗传因素共同作用的结果^[4]。而影响结直肠癌预后的因素除了患者自身的临床病理特征之外,在很大程度上也与患者在手术治疗、药物敏感性方面遗传差异有关。遗传多态性,尤其是单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP),已经被用于在对环境暴露因素、手术治疗及药物治疗的个体间敏感性差异等方面的研究^[5,6]。截至到目前为止,已发现 11 个与结直肠癌有关的易感区域和位点,这 11 个 SNPs 中有 6 个位于 TGF β 1 信号通路中,包括了 SMAD7 基因的 rs4939827、BMP2 基因的 rs961253、BMP4 基因的 rs444235、RHPN2 基因的 rs10411210、CHD1 基因的 rs9929218 及 GREM1 基因的 rs4779584 位点。研究结果强有力地证明了遗传变异可能影响结直肠癌的发生和发展。

mTOR 是哺乳动物雷帕霉素靶蛋白,是一种由 2549 个氨基酸排列组成的丝氨酸/苏氨酸激酶^[7]。在结构上,mTOR 的雷帕霉素结合结构域包含在其中央部分和 C-末端激酶域^[8]。作为 PI3K/Akt/mTOR 信号通路的一个关键组成部分,mTOR 参与如细胞生长、增殖、代谢、迁移、血管生成和细胞凋亡等过程^[9-11]。在细胞中,mTOR 以 mTORC1 和 mTORC2 的催化亚基形式存在,这两种复合物参与细胞基因转录、蛋白质翻译起始、核糖体生物合成等^[12,13]。目前研究表明,mTOR 信号通路调控异常与肿瘤的发生和发展密切相关^[14],但导致这种现象的原因仍未定论。近来,一些病例对照研究报道了 mTOR 基因多态性与多种肿瘤的易感性及临床预后相关^[15-21],但这些研究主要集中在肿瘤的病因研究上,关于 mTOR 基因多态性与结直肠癌预后关系的报道甚少。本研究对 mTOR 基因多态性(rs2295080)与结直肠癌患者预后的相关性进行分析,为进一步了解 mTOR 基因多态性与结直肠癌患者预后的关系提供理论依据,并为结直肠癌患者合理治疗方案的制定及预后评估提供新思路。

1 资料与方法

1.1 研究对象

本研究经由浙江大学医学院附属第二医院伦理

委员会批准。研究中涉及研究对象的患者均知情并签有知情同意书。选取 2011 年 2 月至 2013 年 10 月于浙江大学医学院附属第二医院肿瘤外科行结直肠癌根治术 488 例患者,术前均经内镜检查及组织学病理确诊为结直肠腺癌,术后病理结果均经浙江大学医学院附属第二医院病理科两名以上经验丰富的医师确诊。488 例结直肠癌患者均为 R0 切除。收集患者的相关临床资料,如患者的性别、年龄、肿瘤位置、分化程度、临床分期等。根据 2010 年第七版国际抗癌联盟/美国癌症联合委员会(UICC/AJCC)提出的 TNM 分期标准对结直肠癌患者进行分期。

1.2 DNA 提取及基因分型

用磁珠法纯化 DNA 试剂盒(Magen 公司)提取结直肠癌患者静脉血标本的 DNA,DNA 鉴定合格后,采用 Real-time PCR 反应体系,运用 TaqMan 实时荧光 PCR 法在 ABI PRISM 7900HT 型荧光定量 PCR 仪上进行基因分型,分型结果用 SDS 2.4 版软件进行分析。基因分型是由 2 名研究人员使用盲法独立完成的。随机选择 10%的样本进行盲法复测,结果 100%一致。8 例样本由于提取的 DNA 浓度过低未能进行基因分型,予以剔除。

1.3 随访

对 488 例结直肠癌术后患者通过门诊复查或电话进行随访,以明确患者术后生存状况。自入组之日起,每半年随访 1 次,随访时间截至 2014 年 9 月。生存时间从术后第 1 天开始计算,至死亡之日或随访结束日,以月为单位计算生存期。至随访结束,本组病例共 34 例患者失访,454 例患者具有完整随访资料,随访率为 93%。

1.4 统计学处理

采用 SPSS 17.0 软件进行数据整理并对各项指标统计分析。中位生存时间(median survival time, MST)根据确诊日期至死亡日期或最近一次随访日期(2014 年 9 月)计算。以 Kaplan-Meier 方法绘制生存曲线并以 Log-rank 检验生存时间之间的差异。单因素和多因素 Cox 回归计算风险比(hazard ratio, HR)及 95%可信区间(confidence interval, CI)。统计检验均为双侧概率检验。 $P < 0.05$ 被认为差异有统计学意义,3 种基因模型(显性、隐性、共显性)用于估计终点事件,并以最小 P 值的模型作为最佳拟合模型。

2 结 果

2.1 研究对象的一般人口学特征和临床病理资料

本研究最终纳入了 446 例结直肠癌患者。患者中位年龄 62 岁(四分位间距 53~70 岁)。男性 260 例(58.3%),女性 186 例(41.7%)。结肠癌 206 例(46.2%),直肠癌 240 例(53.8%)。病理类型均为腺癌。446 例(100%)均接受手术切除,且 202 例(45.3%)接受术后辅助化疗。临床分期:Ⅰ期 77 例(17.3%)、Ⅱ期 177 例(39.7%)、Ⅲ期 152 例(34.0%)、Ⅳ期 40 例(8.9%)(Table 1)。最长随访时间 43 个月,中位随访时间 26 个月(四分位间距 20~33 个月),在随访期内,有 62 例患者死亡。

肿瘤分化程度、浸润深度、是否有淋巴结转移、

是否有远处转移和 TNM 分期均与生存时间有显著性关联($P<0.05$)。随着浸润深度、淋巴结转移、远处转移和 TNM 分期的上升,结直肠癌的死亡风险也随之上升($P<0.001$)。此外,低分化(MST 32.7 个月)的结直肠癌患者与高分化(MST 37.6 个月)的患者相比,死亡风险显著性上升($HR=3.28, 95\%CI:1.18\sim 9.12$)。

2.2 *mTOR* rs2295080 对结直肠癌预后的影响

mTOR rs2295080 多态性与总的结直肠癌生存未发现任何显著性的关联(Table 2)。将结直肠癌按不同原发部位分成结肠癌和直肠癌两类进行进一步的分层分析,发现 *mTOR* rs2295080 多态性分别对结肠癌和直肠癌患者的生存有显著性影响(Table 3)。在结肠癌患者中,以 rs2295080 TG/TT 基因型

(MST 为 36.8 个月)作为参照的隐性基因模型,GG 基因型携带者(MST 31.2 个月)的预后生存明显下降($HR=3.07, 95\%CI:1.15\sim 8.22, P=0.018$, Figure 1)。而在直肠癌患者中,以 rs2295080 TT 基因型(MST 34.7 个月)作为参照的显性基因模型, TG/GG 基因型(MST 39.9 个月)可明显提升患者的预后生存($HR=0.48, 95\%CI:0.23\sim 0.99, P=0.049$, Figure 2)。

进一步对两亚组的临床特征进行单因素生存分析,结果显示性别($P=0.377$)、年龄($P=0.558$)、分化程度($P=0.08$)及浸润深度($P=0.163$)与结肠癌患者预后无明显相关性,而淋巴结转移($P<0.001$)、远处转移($P=0.001$)和临床分期($P<0.001$)是影响结肠癌患者预后的相关因素。而对于直肠癌患者,性别($P=0.617$)、年龄($P=0.928$)及分化程度($P=0.179$)与预后无明显相关性,而浸润深度

Table 1 Patients' characteristics and clinical features

Variables	Patients (n=446)	Survival (n=384)	Deaths (n=62)	MST (months)	P	HR(95%CI) ^a
Age (years)						
≤60	202	175	27	36.3	0.737	1.00
>60	244	209	35	38.3		0.92(0.55~1.52)
Gender						
Male	260	227	33	39.0	0.389	1.00
Female	186	157	29	35.6		1.25(0.75~2.06)
Primary tumor						
Colon	206	181	25	36.5	0.278	1.00
Rectum	240	203	37	38.2		0.75(0.45~1.26)
Tumor grade						
Well	62	57	5	37.6	0.018	1.00
Moderate	329	286	43	38.7		1.57(0.62~3.97)
Low	55	41	14	32.7		3.28(1.18~9.12)
Depth of invasion						
T ₁	17	15	2	35.5	<0.001	1.00
T ₂	73	72	1	39.7		0.11(0.01~1.23)
T ₃	231	203	28	39.2		1.04(0.25~4.36)
T ₄	125	94	31	33.1		2.23(0.53~9.34)
Lymph node metastasis						
N ₀	271	253	18	38.1	<0.001	1.00
N ₁ /N ₂	175	131	44	35.0		4.10(2.36~7.11)
Distant metastasis						
M ₀	406	362	44	39.5	<0.001	1.00
M ₁	40	22	18	25.6		5.63(3.20~9.89)
TNM stages						
Ⅰ	77	74	3	38.9	<0.001	1.00
Ⅱ	177	166	11	38.3		1.62(0.45~5.81)
Ⅲ	152	122	30	37.0		5.30(1.61~17.39)
Ⅳ	40	22	18	25.1		17.20(5.05~58.51)

Note: a: Adjusted for age and gender.

($P<0.001$)、淋巴结转移($P<0.001$)、远处转移($P<0.001$)和临床分期($P<0.001$)是影响预后的相关因素。rs2295080 与结肠癌和直肠癌患者的生存分层

析由分化程度、浸润深度、淋巴结转移、远处转移和 TNM 分期构成。发现 GG 基因型的危险作用在中分化($HR=3.74, P=0.008$)、无淋巴结转移($HR=11.87, P<0.001$)和 II 期($HR=14.74, P<0.001$)的结肠癌患者中更加明显。而 TG/GG 基因型的保护作用在无远处转移($HR=0.28, P=0.011$)和 III 期($P=0.019, HR=0.21$)的直肠癌患者中更加明显。

将 rs2295080 基因型对结肠癌和直肠癌患者生存临床结果的影响进行多变量逐步 Cox 回归分析。按照变量纳入标准为 0.05, 移除标准为 0.10, 结果显示, 淋巴结转移($P<0.001$)和 rs2295080($P=0.021$)是影响结肠癌患者预后的独立因素(Table 4)。有

Table 2 Association between rs2295080 and overall survival of colorectal cancer

rs2295080	Patients (n=446)	Survival (n=384)	MST (months)	HR (95%CI) ^a	P
TT	264	224	35.7	1.00	0.154
TG	158	142	39.6	0.67(0.37~1.19)	
GG	24	18	33.2	1.56(0.66~3.69)	
TT	264	224	35.7	1.00	0.368
TG/GG	182	160	39.0	0.79(0.47~1.33)	
TG/TT	422	366	38.7	1.00	0.169
GG	24	18	33.2	1.79(0.77~4.15)	

a: Adjusted for age and gender.

Table 3 Association between rs2295080 and survival of colon cancer and rectal cancer

rs2295080	Colon cancer					Rectal cancer				
	Patients* (n=206)	Survival (n=181)	MST (months)	HR (95%CI)	P	Patients* (n=240)	Survival (n=203)	MST (months)	HR (95%CI)	P
TT	121	109	36.9	1.00	0.060	143	115	34.7	1.00	0.144
TG	70	62	36.6	1.09(0.44~2.66)		88	80	39.9	0.48(0.22~1.05)	
GG	15	10	31.2	3.18(1.11~9.06)		9	8	35.0	0.50(0.07~3.66)	
TT	121	109	36.9	1.00	0.349	143	115	34.7	1.00	0.049
TG/GG	85	72	35.8	1.45(0.66~3.19)		97	88	39.9	0.48(0.23~0.99)	
TG/TT	191	171	36.8	1.00	0.018	231	195	38.1	1.00	0.630
GG	15	10	31.2	3.07(1.15~8.22)		9	8	35.0	1.62(0.22~11.81)	

Note: *: Adjusted for age and gender.

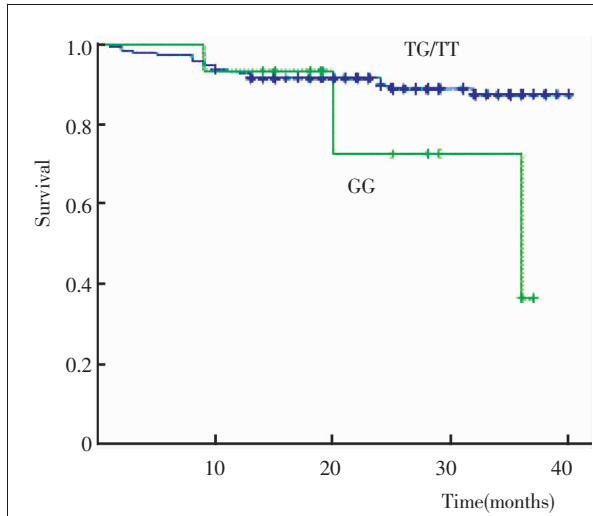


Figure 1 Kaplan-Meier survival curve of colon cancer in the recessive model

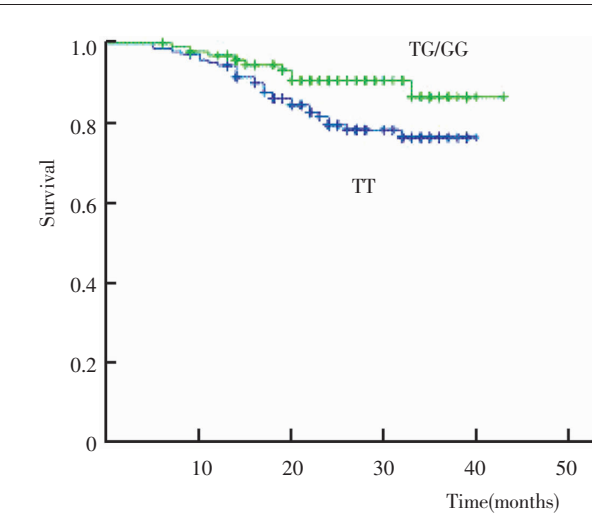


Figure 2 Kaplan-Meier survival curve of rectal cancer in the dominant model

Table 4 Cox regression analysis of survival factors of colon cancer

Variables	B	SE	HR	95%CI	P
Lymph node metastasis (N ₁ /N ₂ vs N ₀)	1.64	0.47	5.14	2.05~12.88	<0.001
rs2295080 (GG vs TG+TT)	0.58	0.25	1.78	1.09~2.92	0.021

Table 5 Cox regression analysis of survival factors of rectal cancer

Variables	B	SE	HR	95%CI	P
TNM stages (Ⅲ~Ⅳ vs Ⅰ~Ⅱ)	0.37	0.13	1.45	1.11~1.88	0.006
Distant metastasis (M ₁ vs M ₀)	1.32	0.40	3.72	1.71~8.11	0.001
rs2295080 (TG+GG vs TT)	-0.40	0.19	0.67	0.46~0.98	0.039

淋巴结转移患者的死亡风险是无淋巴结转移患者的 5.14 倍;rs2295080 GG 基因型携带者的死亡风险是 TG/TT 基因型携带者的 1.78 倍。而临床分期 ($P=0.006$)、远处转移 ($P=0.001$)、rs2295080 ($P=0.039$) 是影响直肠癌患者预后的独立因素 (Table 5)。Ⅲ~Ⅳ 期患者的死亡风险是 Ⅰ~Ⅱ 期患者的 1.45 倍;有远处转移患者的死亡风险是无远处转移患者的 3.72 倍;rs2295080 TT 基因型携带者的死亡风险是 TG/GG 基因型携带者的 0.67 倍。

3 讨 论

在本研究中,我们对 *mTOR* rs2295080 与结肠癌生存的关系进行了探讨。结果显示,携带 *mTOR* rs2295080 TG/TT 基因型的结肠癌患者的生存预后较携带 GG 基因型者更好,而携带 *mTOR* rs2295080 TG/GG 基因型的直肠癌患者的生存预后优于携带 TT 基因型者。此外,COX 回归模型分析显示,淋巴结转移和 rs2295080 是影响结肠癌患者预后的独立因素,而临床分期、远处转移及 rs2295080 是影响直肠癌患者预后的独立因素。这些发现提示 *mTOR* rs2295080 可作为预测结直肠癌患者预后的潜在标志物。

哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mTOR),也被称为 FRAP1(FKBP112-雷帕霉素相关蛋白),是 PI3K/Akt/mTOR 信号通路的一个关键组成部分^[9,23]。截至目前,已有大量的研究证实该通路中基因的遗传变异可能影响癌症的发生、发展和预后^[24,25]。PI3K/Akt/mTOR 信号通路活化能够加速细胞周期、减少细胞凋亡,并促进肿瘤细胞的迁移,这在脑胶质瘤、乳腺癌、卵巢癌中已有报道^[26-28]。激活的靶蛋白 mTOR 可以引起肿瘤细胞的快速增殖、癌蛋白分泌增加、细胞周期加

快、G₁ 期时程缩短,有利于肿瘤的迅速发展发展^[29]。SNP rs2295080 以及另一个内含子 SNP rs11121704,位于 *mTOR* 启动子区域,最初由 Hildebrandt 等^[24]报道,当时在对食管癌患者的研究中,并没有发现 rs2295080 多态性与生存预后统计学关联。但现在,一些研究发现 *mTOR* 信号的组成性激活存在于部

分肿瘤中,并且相对于正常组织,mTOR 在肿瘤组织中存在高表达^[16]。此外,mTOR 高表达与许多癌症的预后不良相关,包括肾细胞癌、肺癌、乳腺癌、喉鳞状细胞癌、神经内分泌肿瘤、胆道腺癌和结直肠癌^[30-34]。我们的研究结果表明,mTOR rs2295080 TT 基因型与直肠癌患者的预后不良有关。而近来一项研究也发现携带 TT 基因型的患者相较于 TG/GG 基因型有 *mTOR* 高表达^[22]。对于结肠癌,我们发现 *mTOR* GG 基因型携带者有较差的预后。这种 rs2295080 导致的原发肿瘤部位不同,临床结果也不同的原因还需要进一步研究,但其很有可能与不同原发部位的生物学差别有关系。

目前一致认为临床分期是判断结直肠癌患者预后的最重要的因素^[35]。本研究结果与此相同,不同 TNM 分期的结直肠癌患者生存率有显著性差别 ($P<0.001$)。本研究中,将直肠癌患者分为 Ⅰ~Ⅱ 期和 Ⅲ~Ⅳ 期两组,两组的生存率分别为 92.9% 和 73.0% ($P<0.05$),将其纳入 Cox 模型多因素分析后,结果显示 Ⅲ~Ⅳ 期组的死亡风险是 Ⅰ~Ⅱ 期组的 1.45 倍,可认为临床分期是直肠癌患者预后的独立危险因素,这与以往研究结论相一致。因此准确的术后分期对于判断患者预后以及制定治疗方案有决定性意义。而 TNM 分期中的淋巴结转移和远处转移,本研究发现分别是结肠癌和直肠癌的独立预后因素。

目前认为肿瘤分化程度是影响结直肠癌患者预后的因素,肿瘤分化差的患者生存期明显低于分化好的患者^[36]。本研究结果显示低分化的结直肠癌患者的死亡风险是高分化患者的 3.28 倍。

本研究显示,性别和年龄不是预后的独立影响因素。目前多数研究认为性别对结直肠癌患者预后无显著性影响,但关于年龄对结直肠癌患者预后的影响报道不一致,国内的研究主要倾向于年龄不是

影响结直肠癌患者预后的独立因素^[37],但是有报道显示≤40岁的结直肠癌患者预后可能更差^[38,39]。本研究中虽然≤60岁组的结直肠癌患者中位生存时间低于>60岁组,但差异无统计学意义。目前关于青年结直肠癌患者预后较差的原因主要认为与肿瘤的临床病理特征和就诊时间晚、延误诊断有关。

在接受同样抗癌药物治疗方案的患者中分析 *mTOR* rs2295080 起到的作用很有意义。纳入本研究的患者中共有 202 例 (45.3%) 接受了术后辅助化疗,但患者使用了不同的化疗药物,并且部分患者未完成全部疗程。由于样本量太小,我们没有足够的统计学把握度来计算药物的影响作用。

本研究尚存在一些不足:首先,rs2295080 并不是 *mTOR* 基因上唯一的 多态性位点,但却是唯一纳入本研究的多态性位点,我们没有考虑位于其他基因座的与其连锁的多态性位点;其次,*ras* 基因突变、吸烟史、肿瘤家族史等作为结直肠癌发生的已知的重要因素,由于相关随访信息的缺乏没有纳入本研究。此外,我们收集了总生存时间的数据,却没有肿瘤特异性生存和复发的数据,并且本研究的随访时间较短、样本量相对较少,我们的研究结果有待进一步验证。

综上所述,*mTOR* rs2295080 是预测结直肠癌患者预后的独立标志物。携带 *mTOR* rs2295080 TG/TT 基因型的结肠癌患者的生存预后较携带 GG 基因型者更好,而携带 *mTOR* rs2295080 TG/GG 基因型的直肠癌患者的生存预后较携带 TT 基因型者更好。若将来有更多研究的验证,*mTOR* rs2295080 或可作为结直肠癌预测预后和制订个体化治疗方案的重要生物标志物。

参考文献:

- [1] Lombardi L, Morelli F, Cinieri S, et al. Adjuvant colon cancer chemotherapy: where we are and where we'll go[J]. Cancer Treat Rev, 2010, 36(Suppl 3): 34-41.
- [2] Gill S, Blackstock AW, Goldberg RM. Colorectal cancer[J]. Mayo Clin Proc, 2007, 82(1): 114-129.
- [3] Stintzing S. Management of colorectal cancer [J]. F1000Prime Rep, 2014, 6: 108.
- [4] Stadlander CT, Waterbor JW. Molecular epidemiology pathogenesis and prevention of gastric cancer[J]. Carcinogenesis, 1999, 20(19): 2195-2208.
- [5] Sato K, Close TJ, Bhat P, et al. Single nucleotide polymorphism mapping and alignment of recombinant chromosome substitution lines in barley [J]. Plant Cell Physiol, 2011, 52(5): 728-737.
- [6] Hayes BJ. Efficient parentage assignment and pedigree reconstruction with dense single nucleotide polymorphism data[J]. J Dairy Sci, 2011, 94(4): 2114-2117.
- [7] Dancey JE. Therapeutic targets: mTOR and related pathways[J]. Cancer Biol Ther, 2006, 5(9): 1065-1073.
- [8] Hudes GR. Targeting mTOR in renal cell carcinoma[J]. Cancer, 2009, 115(10 Suppl): 2313-2320.
- [9] Sanghera KP, Mathalone N, Baigi R, et al. The PI3K/ Akt/ mTOR pathway mediates retinal progenitor cell survival under hypoxic and superoxide stress [J]. Mol Cell Neurosci, 2011, 47(2): 145-153.
- [10] Edinger AL, Thompson CB. Akt maintains cell size and survival by increasing mTOR-dependent nutrient uptake [J]. Mol Biol Cell, 2002, 13(7): 2276-2288.
- [11] Daniel CC, Matthew BC, David JP, et al. The efficacy of the novel dual PI3-Kinase/mTOR inhibitor NVP-BEZ235 compared to rapamycin in renal cell carcinoma [J]. Clin Cancer Res, 2010, 16(14): 3628-3638.
- [12] Wysocki PJ. mTOR in renal cell cancer: modulator of tumor biology and therapeutic target [J]. Expert Rev Mol Diagn, 2009, 9(3): 231-241.
- [13] Smrz D, Kim MS, Zhang S, et al. mTORC1 and mTORC2 differentially regulate homeostasis of neoplastic and non-neoplastic human mast cells [J]. Blood, 2011, 118(26): 6803-6813.
- [14] Downward J. Targeting RAS signalling pathways in cancer therapy[J]. Nat Rev Cancer, 2003, 3(1): 11-22.
- [15] Li Q, Gu C, Zhu Y, et al. Polymorphisms in the mTOR gene and risk of sporadic prostate cancer in an Eastern Chinese population[J]. PLoS One, 2013, 8(8): e71968.
- [16] Cao Q, Ju X, Li P, et al. A functional variant in the MTOR promoter modulates its expression and is associated with renal cell cancer risk[J]. PLoS One, 2012, 7(11): e50302.
- [17] Chen J, Shao P, Cao Q, et al. Genetic variations in a PTEN/ AKT/mTOR axis and prostate cancer risk in a Chinese population[J]. PLoS One, 2012, 7(7): e40817.
- [18] Huang L, Huang J, Wu P, et al. Association of genetic variations in mTOR with risk of childhood acute lymphoblastic leukemia in a Chinese population [J]. Leuk Lymphoma, 2012, 53(5): 947-951.
- [19] Ming X, Guoquan T, Meiyun K, et al. A polymorphism (rs2295080) in mTOR promoter region and its association

- with gastric cancer in a Chinese population[J]. *PLoS One*, 2013, 8(3):e60080.
- [20] He J, Wang MY, Qiu LX, et al. Genetic variations of mTORC1 genes and risk of gastric cancer in an eastern Chinese population [J]. *Mol Carcinog*, 2013, 52 (Suppl): E70–E79.
- [21] Zhu ML, Yu H, Shi TY, et al. Polymorphisms in mTORC1 genes modulate risk of esophageal squamous cell carcinoma in eastern Chinese populations [J]. *J Thorac Oncol*, 2013, 8(6):788–795.
- [22] Shao J, Li Y, Zhao P, et al. Association of mTOR polymorphisms with cancer risk and clinical outcomes: a meta-analysis[J]. *PLoS One*, 2014, 9(5):e97085.
- [23] Yu J, Yaba A, Kasiman C, et al. mTOR controls ovarian follicle growth by regulating granulosa cell proliferation[J]. *PLoS One*, 2011, 6(7):e21415.
- [24] Hildebrandt MA, Yang H, Hung MC, et al. Genetic variations in the PI3K/PTEN/AKT/mTOR pathway are associated with clinical outcomes in esophageal cancer patients treated with chemoradiotherapy [J]. *J Clin Oncol*, 2009, 27 (6):857–871.
- [25] Chen M, Cassidy A, Gu J, et al. Genetic variations in PI3K-AKT-mTOR pathway and bladder cancer risk [J]. *Carcinogenesis*, 2009, 30(12):2047–2052.
- [26] Gheeyoung C, Steve H, Timothy F, et al. Analysis of the phosphatidylinositol 3-kinase signaling pathway in glioblastoma patients in vivo[J]. *Cancer Res*, 2003, 63(11): 2742–2746.
- [27] Neve RM, Holbor T, Hynes NE. Distinct roles for phosphoinositide 3-kinase, mitogen activated protein kinase and P38 MAPK in mediating cell cycle progression of breast cancer cells[J]. *Oncogene*, 2002, 21(29):4567–4576.
- [28] Philp AJ, Campbell IG, Leet C, et al. The phosphatidylinositol 3-kinase p85 alpha gene is an oncogene in human ovarian and colon tumors [J]. *Cancer Res*, 2001, 61 (20): 7426–7429.
- [29] Kozma SC, Thomas G. Regulation of cell size in growth, development and human disease: PI3K, PKB and S6K[J]. *Bioessays*, 2002, 24(1):65–71.
- [30] Liu LZ, Zhou XD, Qian G, et al. AKT1 amplification regulates cisplatin resistance in human lung cancer cells through the mammalian target of rapamycin/p70S6K1 pathway[J]. *Cancer Res*, 2007, 67(13):6325–6332.
- [31] Faried LS, Faried A, Kanuma T, et al. Expression of an activated mammalian target of rapamycin in adenocarcinoma of the cervix: a potential biomarker and molecular target therapy[J]. *Mol Carcinog*, 2008, 47(6):446–457.
- [32] Faried LS, Faried A, Kanuma T, et al. Predictive and prognostic role of activated mammalian target of rapamycin in cervical cancer treated with cisplatin-based neoadjuvant chemotherapy[J]. *Oncol Rep*, 2006, 16(1):57–63.
- [33] Hou G, Xue L, Lu Z, et al. An activated mTOR/p70S6K signaling pathway in esophageal squamous cell carcinoma cell lines and inhibition of the pathway by rapamycin and siRNA against mTOR[J]. *Cancer Lett*, 2007, 253(2):236–248.
- [34] Lee S, Choi EJ, Jin C, et al. Activation of PI3K/Akt pathway by PTEN reduction and PIK3CA mRNA amplification contributes to cisplatin resistance in an ovarian cancer cell line[J]. *Gynecol Oncol*, 2005, 97(1):26–34.
- [35] Jessica BO, Melinda AM, Clifford YK. Colon cancer survival rates with the new American joint committee on cancer sixth edition staging [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2004, 96 (19):1420–1425.
- [36] Kang JW. High risk factors of death after resection of advanced colorectal cancer[J]. *Journal of Abdominal Surgery*, 2003, 16(3):157–158.[康建伟.影响进展期大肠癌切除术后长期生存的高危因素分析 [J]. *腹部外科*, 2003, 16(3): 157–158.]
- [37] Wang JP, Yang ZL, Wang L. Multi-variate regression analysis of clinicopathological characteristics and prognosis of colorectal cancer[J]. *Chinese Journal of Oncology*, 2003, 25 (1):59–61.[汪建平, 杨祖立, 王磊.结直肠癌临床病理特征与预后的多因素回归分析[J]. *中华肿瘤杂志*, 2003, 25 (1):59–61.]
- [38] Alici S, Aykan NF, Sakar B, et al. Colorectal cancer in young patients: characteristics and outcome [J]. *Tohoku J Exp Med*, 2003, 199(2):85–93.
- [39] Paraf F, Jothy S. Colorectal cancer before the age of 40: a case-control study [J]. *Dis Colon Rectum*, 2000, 43 (9): 1222–1226.