

## • 慢病专题:癌症 •

PTEN 通过 PI3K/Akt/mTOR 通路介导的自噬  
调控宫颈癌细胞顺铂耐药\*杜颖,高天<sup>△</sup>,赵纯全,张玉林

(重庆医科大学附属第一医院妇科,重庆 400016)

**[摘要]** 目的 探究 PTEN 通过磷酸肌醇-3 激酶/蛋白激酶 B/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(PI3K/Akt/mTOR)通路介导的自噬调控宫颈癌细胞顺铂耐药的机制。方法 2024 年 3 月通过大剂量冲击法诱导 HeLa 细胞顺铂耐药。采用转染沉默 PTEN,利用蛋白质印迹检测其对 PI3K/Akt/mTOR 通路和自噬的影响。将 HeLa 细胞分为 si-NC 组、si-PTEN 组、si-NC+3-甲基腺嘌呤(3-MA)组和 si-PTEN+3-MA 组。3-MA 处理转染 si-NC、si-PTEN 的 HeLa 细胞以抑制自噬,随后用顺铂处理,通过 CCK-8 法、克隆形成实验分析顺铂对各组细胞活力和增殖的影响。在动物实验中将裸鼠组 1 分为 OE-NC 组、OE-PTEN 组、OE-NC+顺铂组和 OE-PTEN+顺铂组,分别利用转染 OE-NC、OE-PTEN 的顺铂耐药的 HeLa 细胞构建荷瘤裸鼠模型,然后用顺铂干预裸鼠。裸鼠组 2 分为 si-NC 组、si-NC+顺铂组、si-PTEN+顺铂组和 si-PTEN+3-MA+顺铂组,分别利用转染 si-NC、si-PTEN 的 HeLa 细胞构建荷瘤裸鼠模型,通过腹腔注射 3-MA 抑制自噬,再利用顺铂干预,分别检测肿瘤生长情况。**结果** 与非耐药 HeLa 细胞比较,顺铂耐药的 HeLa 细胞 PI3K、Akt、mTOR 蛋白磷酸化水平,以及自噬水平均明显升高,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。与顺铂处理的 si-NC 组比较,si-PTEN 组 HeLa 细胞活力、增殖能力均明显提高,si-NC+3-MA 组细胞活力、增殖能力均进一步降低,且 si-PTEN+3-MA 组细胞活力、增殖能力均明显低于 si-PTEN 组,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ );过表达 PTEN 明显提高了耐药肿瘤细胞对顺铂的敏感性,此外沉默 PTEN 减弱顺铂对宫颈癌肿瘤模型的抑制作用,而抑制自噬则逆转了 PTEN 沉默对顺铂耐药的诱导,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。**结论** PTEN 的降低通过激活 PI3K/Akt/mTOR 通路诱导自噬促进宫颈癌细胞顺铂耐药。

**[关键词]** 宫颈癌; 顺铂; 耐药; 自噬; PTEN

DOI:10.3969/j.issn.1009-5519.2026.02.003

中图法分类号:R737.33

文章编号:1009-5519(2026)02-0253-07

文献标识码:A

PTEN mediates autophagy regulation of cisplatin resistance in cervical  
cancer cells through the PI3K/Akt/mTOR pathway\*DU Ying,GAO Tian<sup>△</sup>,ZHAO Chunquan,ZHANG Yulin(Department of Gynecology,the First Affiliated Hospital of Chongqing  
Medical University,Chongqing 400016,China)

**[Abstract]** **Objective** To explore the mechanism by which PTEN regulates autophagy to mediate cisplatin resistance in cervical cancer cells through the phosphoinositide-3 kinase/protein kinase B/mammalian rapamycin target protein(PI3K/Akt/mTOR) pathway. **Methods** In March 2024, HeLa cells were induced to develop cisplatin resistance using a high-dose shock method. PTEN was silenced by transfection, and the effects on the PI3K/Akt/mTOR pathway and autophagy were detected using Western blotting. HeLa cells were divided into si-NC group, si-PTEN group, si-NC+3-MA group, and si-PTEN+3-MA group. 3-MA was used to inhibit autophagy in HeLa cells transfected with si-NC and si-PTEN, and then treated with cisplatin. The effects of cisplatin on the viability and proliferation of each group of cells were analyzed using CCK-8 assay and clone formation experiment. In the animal experiment, the nude mouse group 1 was divided into OE-NC group, OE-PTEN group, OE-NC+cisplatin group, and OE-PTEN+cisplatin group. Nude mice models with tumor formation were constructed using cisplatin-resistant HeLa cells transfected with OE-NC and OE-PTEN, and then treated with cisplatin. The nude mouse group 2 was divided into si-NC group, si-NC+cisplatin group, si-PTEN

\* 基金项目:重庆市教育委员会科学技术研究项目(KJQN202200444)。

作者简介:杜颖(1985—),硕士研究生,副主任医师,主要从事妇科肿瘤及内分泌研究及妇科临床工作。 <sup>△</sup> 通信作者, E-mail: 434559631@qq.com。网络首发 [https://link.cnki.net/urlid/50.1129.R.20260122.1534.002\(2026-01-23\)](https://link.cnki.net/urlid/50.1129.R.20260122.1534.002(2026-01-23))

+ cisplatin group, and si-PTEN+3-MA+cisplatin group. Nude mice models with tumor formation were constructed using HeLa cells transfected with si-NC and si-PTEN, and 3-MA was used to inhibit autophagy before cisplatin intervention. The tumor growth was detected in each group. **Results** Compared with non-resistant HeLa cells, the phosphorylation levels of PI3K, Akt, and mTOR proteins and the autophagy level in cisplatin-resistant HeLa cells were significantly increased, and the differences were statistically significant ( $P < 0.05$ ). Compared with the si-NC group treated with cisplatin, the viability and proliferation ability of HeLa cells in the si-PTEN group were significantly increased, while the viability and proliferation ability of the si-NC+3-MA group were further decreased, and the viability and proliferation ability of the si-PTEN+3-MA group were significantly lower than those of the si-PTEN group, and the differences were statistically significant ( $P < 0.05$ ). Overexpression of PTEN significantly increased the sensitivity of resistant tumor cells to cisplatin. In addition, silencing PTEN weakened the inhibitory effect of cisplatin on cervical cancer tumor models, and inhibiting autophagy reversed the induction of cisplatin resistance by PTEN silencing. The differences were statistically significant ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** The reduction of PTEN induces autophagy through activating the PI3K/Akt/mTOR pathway, promoting cisplatin resistance in cervical cancer cells.

**[Key words]** Cervical cancer; Cisplatin; Drug resistance; Autophagy; PTEN

宫颈癌是全球女性第四大常见癌症,最新统计显示,全球每年约有 66.2 万例宫颈癌新发病例和 34.89 万例死亡病例,发病率和病死率分别列第 4、9 位<sup>[1]</sup>。现阶段,化疗仍是治疗宫颈癌的常用方法之一<sup>[2]</sup>,顺铂相关联合化疗药物能有效抑制肿瘤生长,提高生存率<sup>[3-4]</sup>。然而临床实践中一些患者会产生获得性顺铂耐药,顺铂耐药可导致基于顺铂的化疗失败,并导致疾病进展或复发<sup>[5-6]</sup>。然而目前关于宫颈癌顺铂耐药的机制仍不清楚,严重阻碍了治疗方法的进展。最近研究揭示,顺铂耐药性的形成与自噬过程的诱导紧密相连<sup>[7-8]</sup>。自噬作为哺乳动物细胞内蛋白质降解的核心途径,在饥饿、化疗药物刺激等应激条件下负责长寿命蛋白质、细胞质细胞器及其他细胞成分的降解与回收<sup>[9-10]</sup>。自噬能通过溶酶体途径降解和回收衰老的细胞器和蛋白质,为细胞提供营养和能量<sup>[11]</sup>。有研究表明,耐药宫颈癌细胞自噬水平升高,而抑制自噬则能恢复宫颈癌细胞对药物的敏感性<sup>[12]</sup>,但其具体调控机制仍不清楚。

PTEN 又称为 MMAC1/TEP1,于 1997 年由 3 个独立实验室同时发现<sup>[13]</sup>。作为肿瘤抑制因子,PTEN 是磷酸肌醇-3 激酶/蛋白激酶 B/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(PI3K/Akt/mTOR)这一主要细胞生长和存活信号通路的负调节因子,通过促进细胞凋亡<sup>[14]</sup>、抑制细胞周期<sup>[15]</sup>,以及细胞迁移<sup>[16]</sup>发挥肿瘤抑制作用。此外,PI3K/Akt/mTOR 通路也与耐药和自噬有关,有研究发现,该通路能提高自噬速度,且 PI3K/Akt/mTOR 通路的激活能明显提高膀胱癌<sup>[17]</sup>、乳腺癌<sup>[18]</sup>细胞对顺铂的耐药性。然而 PTEN 能否通过调控 PI3K/Akt/mTOR 通路调节自噬参与了宫颈癌细胞的顺铂耐药则仍不清楚。本研究探讨了 PTEN 通过 PI3K/Akt/mTOR 通路介导的自噬调控宫颈癌细胞顺铂耐药的机制,现报道如下。

## 1 材料与方法

**1.1 材料** 宫颈癌细胞系 HeLa 购自美国 ATCC

公司。

## 1.2 方法

**1.2.1 细胞培养** 2024 年 3 月使用含 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养基(Life Technologies,美国)在 37 °C、含 5% CO<sub>2</sub> 的培养环境中保存。本研究经过本院伦理委员会批准(审批号: IACUC-CQMU-2024-0362)。

**1.2.2 构建耐药 HeLa 细胞株** 通过大剂量冲击法诱导 HeLa 细胞耐药细胞系,命名为 HeLa-CR 细胞<sup>[9]</sup>。将处于对数生长期的 HeLa 细胞接种于细胞培养瓶中,待细胞贴壁后向培养基中加入 100 μg/mL 的顺铂溶液培养 24 h。去除含顺铂的培养基,用无菌的磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤细胞 2 次,去除残留药物,然后加入新鲜的不含顺铂的完全培养基,让细胞恢复生长一段时间直至细胞形态基本恢复正常。当细胞恢复生长并达到一定的汇合率后再次加入相同浓度的顺铂溶液进行冲击,如此反复间断诱导,每次冲击后均让细胞有足够的时间恢复生长。然后通过 CCK-8 法测量不同浓度顺铂下细胞活力[计算半数抑制浓度(IC<sub>50</sub>)值]。

**1.2.3 细胞分组和转染** 为分析自噬在 PTEN 调控耐药中的机制,将 HeLa 细胞分为 si-NC 组、si-PTEN 组、si-NC+3-甲基腺嘌呤(3-MA)组和 si-PTEN+3-MA 组,通过转染沉默 PTEN,通过在培养基中加入终浓度为 5 mmol/L 的 3-MA 抑制自噬,然后利用顺铂处理。使用 Invitrogen(美国)的 Lipofectamine™ 3000 试剂盒,根据说明书进行操作。使用购自中国 Generay 公司的 si-PTEN、OE-PTEN,以及对应的阴性对照(si-NC、OE-NC)。当 HeLa 细胞汇合度达到约 70% 时准备进行转染。每 10 厘米培养皿中加入 50 nmol 的 si-PTEN 或 OE-PTEN,以及对应的阴性对照 si-NC 或 OE-NC。将 50 nmol 的 si-PTEN 或 OE-PTEN 和 si-NC 分别用无血清培养基稀释至 1.5 mL。取 15 μL 的 Lipofectamine™ 3000 试剂和 15 μL

的 P3000<sup>TM</sup> 试剂分别用无血清培养基稀释至 1.5 mL。将稀释后的 si-PTEN 或 OE-PTEN 和 si-NC 与稀释后的 Lipofectamine<sup>TM</sup> 3000 和 P3000<sup>TM</sup> 混合,轻轻摇匀,室温孵育 5 min。将上述混合物加入 10 cm 培养皿中,轻轻摇动培养皿,使混合物均匀分布,在 37 °C、含 5%CO<sub>2</sub> 的培养环境中孵育 6 h 后小心去除培养皿中的旧培养基,加入 5 mL 新鲜的含 10%胎牛血清的 RPMI-1640 完全培养基,在 37 °C、含 5%CO<sub>2</sub> 的培养环境中继续孵育 48 h。收集细胞用于后续实验。

**1.2.4 实时荧光定量-聚合酶链反应(PCR)检测 mRNA** 将细胞样本放入 1.5 mL 的 EP 管中,并在冰浴条件下加入 1 mL 的 Trizol 试剂,然后剧烈摇晃 EP 管 15 s,使样本充分混匀,之后将 EP 管在室温下静置 3 min,以便样本充分反应。随后 4 °C、12 000×g 离心 15 min。离心结束后将上层的水相小心转移到 1 个新的 EP 管中。接着使用水相中的异丙醇来沉淀 RNA,4 °C、12 000×g 离心 10 min,弃上清液,然后用 75%乙醇洗涤 RNA 沉淀,Trizol 与 75%乙醇比例为 1:1。洗涤后 4 °C、7 500×g 离心 5 min。采用 TAKARA 公司生产的 PrimeScript II first-strand cDNA 合成试剂盒,将提取到的 RNA 精准反转录成 cDNA。随后在 Applied Biosystems<sup>TM</sup> 7500 实时 PCR 系统上使用 SolarBio 公司生产的 SYBR Green PCR Master Mix 试剂盒进行实时荧光定量 PCR 分析,反应条件:先进行一个初始变性阶段,95 °C 持续 15 s;然后进入 40 个循环的扩增阶段,每个循环均包括 60 °C 持续 30 s 的退火与延伸步骤;最后再进行一个额外的 72 °C、30 s 的延伸步骤,以确保反应完全。以 GAPDH 作为内参,以 2<sup>-ΔΔC<sub>t</sub></sup> 方法检测 mRNA。

**1.2.5 蛋白质印迹检测蛋白水平** 使用 100 μL 细胞裂解液、1 μL 蛋白酶抑制剂、1 μL 的苯甲基磺酰氟(PMSF)新鲜配制的裂解液裂解细胞,轻轻混匀,冰上孵育 30 min。将裂解后的样本 4 °C、12 000×g 离心 15 min。将离心后的上清液小心收集到另一个 1.5 mL 的离心管中(上清液中含有可溶性蛋白质,是后续实验的主要样本)。取 2.5 μL 样本与 22.5 μL 三蒸水混合,以稀释样本中的蛋白质。使用 BCA 法测定蛋白质浓度。采用 8%~12%的十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺(SDS-PAGE)进行蛋白质分离,将样本加载到 SDS-PAGE 凝胶的加样孔中进行电泳分离。将 SDS-PAGE 凝胶与聚偏二氟乙烯或硝酸纤维素膜放在转膜夹中,采用 90 V 恒压转膜 90 min,结束后将膜放入含 5%脱脂奶粉的 Tris 缓冲盐溶液(含 0.1% Tween-20)中,摇床封闭 2 h。将膜分别放入 1:1:800 稀释的兔单抗 PTEN(ab32199, Abcam, 美国)、PI3K(ab302958)、p-PI3K(ab278733)、Akt(ab8805)、p-Akt(ab38449)、mTOR(ab134903)、p-mTOR(ab109268)、微管相关蛋白 1 轻链 3-II(LC3 II)/I(ab232940)中,4 °C 孵育过夜。次日将膜用 Tris 缓冲盐溶液洗涤 3 次,每次 5 min,以去除未结合的一抗。

然后加入二抗(1:2 000, ab6721),37 °C 缓慢摇动 2 h。使用电化学发光试剂盒(Amersham Biote)进行化学发光显影。将膜放入电化学发光试剂中确保试剂充分覆盖膜表面,然后使用 X 光胶片或成像系统进行显影。使用 IPP6.0 软件进行印迹可视化,通过内参 GAPDH 进行蛋白表达分析。

**1.2.6 CCK-8 法检测细胞活力** 将已完成转染处理的 Hela 细胞以每孔 5×10<sup>3</sup> 的细胞密度均匀接种至 96 孔板中,每孔加入 100 μL 细胞悬液。将 96 孔板置于细胞培养箱中,37 °C、5%CO<sub>2</sub> 的培养环境中继续培养 48 h,确保细胞充分贴壁生长。向每孔中添加 10 μL CCK-8 试剂,确保试剂覆盖所有细胞,轻轻振荡 96 孔板以混匀。将 96 孔板转移至 37 °C 孵育箱中孵育 2 h。使用 ELX800 酶标仪(BioTek 公司)在 450 nm 波长下测定各孔的吸光度值。

**1.2.7 克隆形成实验检测增殖** 将处于对数生长期的细胞使用胰酶进行消化处理,用完全培养基重悬细胞,形成均匀的细胞悬液。对细胞悬液进行计数,以确定细胞浓度。准备 6 孔板培养板,每孔接种 500 个细胞。将接种后的 6 孔板置于培养箱中继续培养 14 d。在培养过程中每 3 天更换 1 次培养基,并同时观察细胞生长状态,确保细胞健康生长。用 PBS 洗涤细胞 1 次,以去除培养基和浮游的细胞。每孔加入 4%多聚甲醛 1 mL,固定细胞 60 min,使细胞形态得以保持。再次用 PBS 洗涤细胞 1 次,以去除多聚甲醛。每孔加入结晶紫染液 1 mL,对细胞进行染色 10 min。染色完成后用 PBS 洗涤细胞数次,以彻底去除结晶紫染液。然后使用数码相机对整个 6 孔板及每个孔进行单独拍照,记录克隆形成情况。

**1.2.8 构建荷瘤裸鼠模型与分组** 裸鼠组 1 分为 OE-NC 组、OE-PTEN 组、OE-NC+顺铂组和 OE-PTEN+顺铂组。为分析 PTEN 对 Hela 细胞顺铂耐药的调控作用通过转染提高 Hela-CR 细胞 PTEN 水平,构建荷瘤裸鼠模型后利用顺铂干预。裸鼠组 2 分为 si-NC 组、si-NC+顺铂组、si-PTEN+顺铂组和 si-PTEN+3-MA+顺铂组。为分析自噬在 PTEN 调控顺铂耐药中的作用利用转染 si-PTEN 的 Hela 细胞构建荷瘤裸鼠模型,通过腹腔注射 3-MA 抑制自噬,然后利用顺铂干预。通过皮下注射的方法构建荷瘤裸鼠模型,具体方法:在细胞注射前 1 周将 5 月龄、体重 18~20 g 的裸鼠转移至新的实验室环境饲养,直至其适应环境。使用胰蛋白酶或其他合适的酶制剂将指数生长阶段的细胞从培养瓶中分离出来。将细胞保存在 100%的细胞培养液中,并置于冰中以保持其活力。使用玻璃血细胞计数室,使 0.1 mL 的体积包含 5×10<sup>6</sup> 个转染后的细胞。使用 18 号针头将细胞吸入注射器进行侧面注射,避免皮内注射及注入肌肉层,注射须在几秒内完成。注射完成后将针抽出一部分使基质凝固并使皮肤覆盖针道,然后将针完全取出,注射后观察小鼠 30 min,确保每只小鼠恢复正常。

注射后 7 d 可触摸到肿瘤肿块, 24 d 后颈椎脱臼安乐处死小鼠, 取出肿瘤组织。

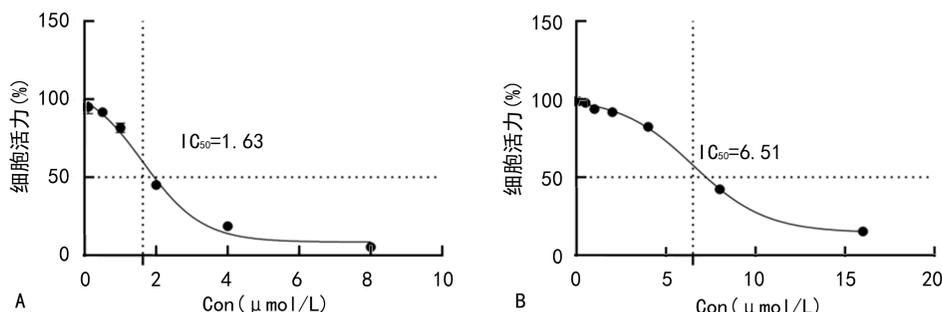
**1.3 统计学处理** 应用 SPSS22.0 统计软件进行数据分析, 计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示, 采用 *t* 检验、ANOVA 和 Tukey 事后检验等。  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 非耐药 Hela 细胞与 Hela-CR 细胞的细胞活力比较** 顺铂对非耐药 Hela 细胞的  $IC_{50}$  值为 1.63

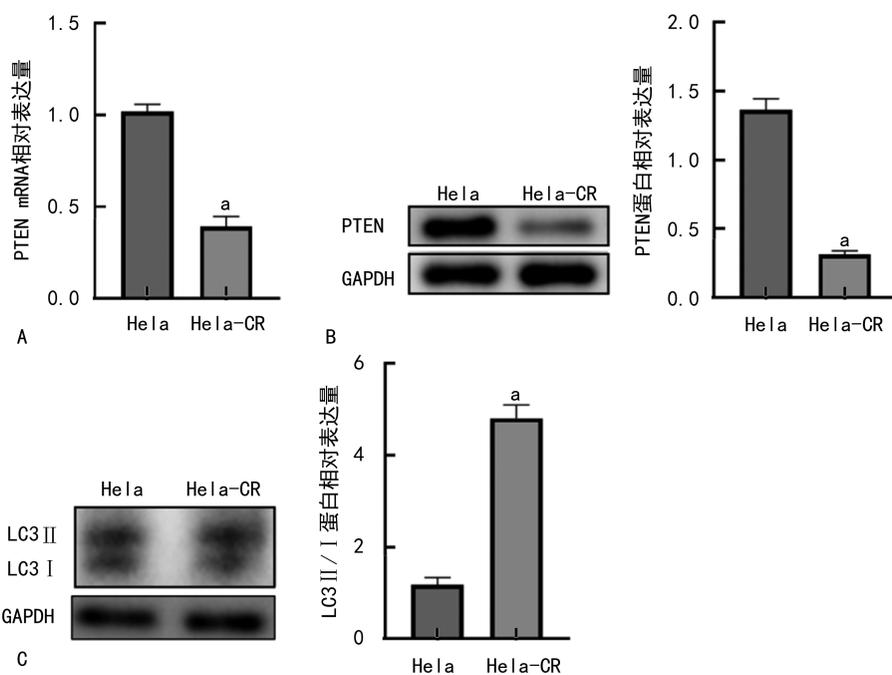
$\mu\text{mol/L}$ , Hela-CR 细胞的  $IC_{50}$  值为 6.51  $\mu\text{mol/L}$ 。见图 1。

**2.2 非耐药 Hela 细胞与 Hela-CR 细胞 PTEN mRNA 和蛋白水平、自噬水平比较** 与非耐药 Hela 细胞比较, Hela-CR 细胞中 PTEN mRNA 和蛋白水平均明显降低, 自噬标志蛋白——LC3 II / I 蛋白水平均明显升高, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见图 2。



注: A 为不同顺铂浓度下 Hela 细胞活力曲线; B 为不同顺铂浓度下 Hela-CR 细胞活力曲线。

图 1 非耐药 Hela 细胞与 Hela-CR 细胞的细胞活力比较



注: A 为非耐药 Hela 细胞和 Hela-CR 细胞中 PTEN mRNA 水平比较; B 为非耐药 Hela 细胞和 Hela-CR 细胞中 PTEN 蛋白水平比较; C 为非耐药 Hela 细胞和 Hela-CR 细胞中 LC3 II / I 蛋白水平比较; 与非耐药 Hela 细胞比较,  $^a P < 0.05$ 。

图 2 非耐药 Hela 细胞与 Hela-CR 细胞 PTEN mRNA 和蛋白水平、自噬水平比较

**2.3 沉默 PTEN 激活 PI3K/Akt/mTOR 通路并提高自噬水平** 与 si-NC 组比较, si-PTEN 组 PTEN mRNA 及蛋白水平均明显降低, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); si-PTEN 组 PI3K、Akt、mTOR 蛋白磷酸化水平均明显高于 si-NC 组, si-PTEN 组 LC3 II / I 蛋白水平明显高于 si-NC 组, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见图 3。

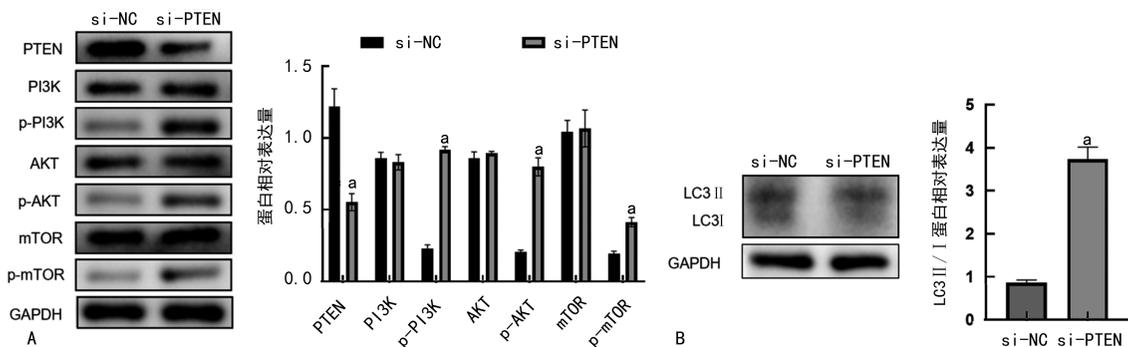
**2.4 抑制自噬阻断 PTEN 沉默对耐药性的促进** 与 si-NC 组比较, si-PTEN 组细胞活力、克隆形成能力均明显升高, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); si-NC +

3-MA 组细胞活力、克隆形成能力均明显降低, si-PTEN + 3-MA 组细胞活力、克隆形成能力均明显低于 si-PTEN 组, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见图 4。

**2.5 过表达 PTEN 提高 Hela-CR 细胞荷瘤裸鼠对顺铂的敏感性** 与 OE-NC 组比较, OE-PTEN 组肿瘤体积和质量均明显降低, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); OE-NC + 顺铂组体积和质量也均有所降低, OE-PTEN + 顺铂组肿瘤体积和质量均明显低于 OE-NC + 顺铂组。见图 5。

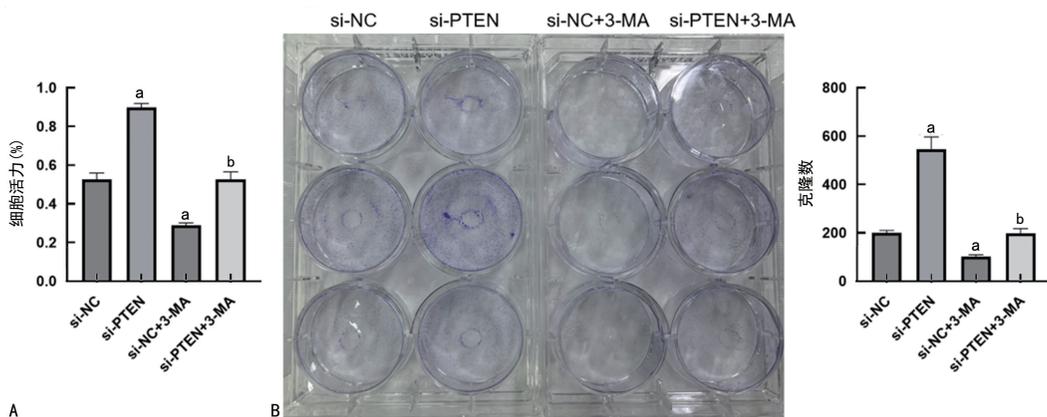
**2.6 抑制自噬阻断 PTEN 沉默对顺铂耐药性的诱导** si-NC+顺铂组肿瘤体积和质量均明显低于 si-NC 组, si-PTEN+顺铂组肿瘤体积和质量均明显高

于 si-NC+顺铂组, si-PTEN+3-MA+顺铂组肿瘤体积和质量均明显低于 si-PTEN+顺铂组, 差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。见图 6。



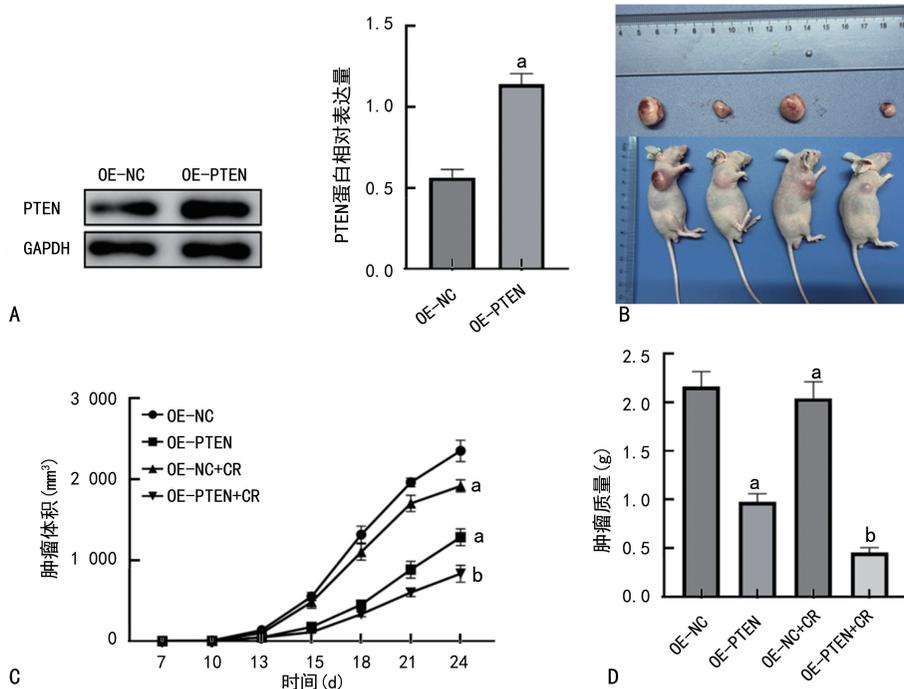
注: A 为沉默 PTEN 明显激活 PI3K/Akt/mTOR 通路; B 为沉默 PTEN 明显促进自噬蛋白——LC3 II / I 的表达; 与 si-NC 组比较,  $^a P < 0.05$ 。

图 3 沉默 PTEN 激活 PI3K/Akt/mTOR 通路并提高自噬水平



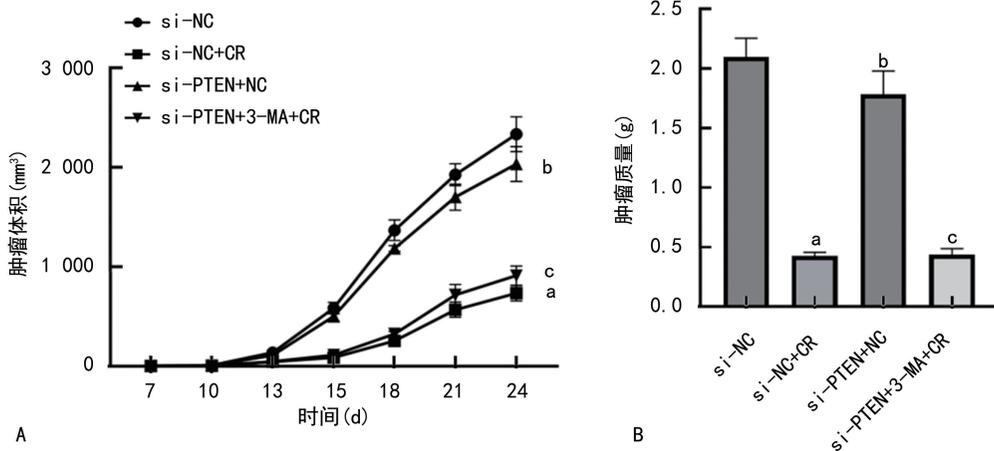
注: A 为 CCK-8 法检测沉默 PTEN 和抑制自噬对顺铂处理后 Hela 细胞活力的影响; B 为克隆形成实验检测沉默 PTEN 和抑制自噬对顺铂处理后 Hela 细胞增殖能力的影响; 与 si-NC 组比较,  $^a P < 0.05$ ; 与 si-PTEN 组比较,  $^b P < 0.05$ 。

图 4 抑制自噬阻断 PTEN 沉默对耐药性的促进



注: A 为 PTEN 过表达的 Hela-CR 细胞的构建; B 为各组中典型裸鼠展示; C、D 为各组裸鼠肿瘤体积和质量比较; 与 OE-NC 组比较,  $^a P < 0.05$ ; 与 OE-NC+PTEN 组比较,  $^b P < 0.05$ 。

图 5 过表达 PTEN 提高 Hela-CR 细胞荷瘤裸鼠对顺铂的敏感性



注: A、B 为各组裸鼠肿瘤体积和质量比较; 与 si-NC 组比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; 与 OE-NC+PTEN 组比较, <sup>b</sup> $P < 0.05$ ; 与 si-PTEN+顺铂组比较, <sup>c</sup> $P < 0.05$ 。

图 6 抑制自噬阻断 PTEN 沉默对顺铂耐药性的诱导

### 3 讨 论

有研究通过转染技术使顺铂耐药的肺癌细胞系重新表达 PTEN 发现, 这些细胞的顺铂敏感性明显恢复, 细胞增殖受抑制, 凋亡率增加<sup>[19]</sup>。但其在宫颈癌顺铂耐药的作用还有待于深入分析。为研究 PTEN 在宫颈癌细胞顺铂耐药的机制, 本研究通过大剂量冲击法诱导 Hela-CR 细胞, 结果显示, IC<sub>50</sub> 值从 1.63 μmol/L 升高至 6.51 μmol/L, 耐药细胞株构建成功。并且在获得耐药性后细胞中 PTEN mRNA 和蛋白水平均明显降低, 而自噬标志蛋白——LC3 II / I 水平明显升高, 提示了 PTEN 和自噬在宫颈癌顺铂耐药中的作用。

本研究为进一步分析 PTEN 调控自噬对宫颈癌顺铂耐药的调控机制, 通过转染沉默 PTEN 发现, PTEN 的降低明显激活了 PI3K/Akt/mTOR 通路并提高自噬水平。此外, 为进一步分析 PTEN 通过调控自噬调节宫颈癌细胞顺铂耐药, 利用自噬抑制剂——3-MA 分别处理转染 si-NC、si-PTEN 的宫颈癌细胞, 然后检测顺铂对细胞增殖影响。结果显示, 沉默 PTEN 明显提高了宫颈癌细胞对顺铂的抗性, 减弱了顺铂对增殖的抑制; 而使用 3-MA 抑制自噬不但提高了顺铂对宫颈癌细胞的杀伤力, 还阻断了 PTEN 沉默对顺铂耐药性的促进。此外, 本研究也进行了动物实验, 利用转染 OE-NC、OE-PTEN 的顺铂耐药 Hela 细胞构建荷瘤裸鼠模型, 然后利用顺铂干预, 结果显示, 顺铂对耐药肿瘤组织的抑制作用有限, 但过表达 PTEN 明显提高了顺铂对肿瘤体积和质量的抑制作用, 表明宫颈癌顺铂耐药与 PTEN 密不可分。然后本研究还分别利用转染 si-NC、si-PTEN 的 Hela 细胞构建荷瘤裸鼠模型, 利用 3-MA 抑制自噬后用顺铂处理, 结果显示, 沉默 PTEN 明显抑制了顺铂对肿瘤生长的抑制作用, 而使用 3-MA 抑制自噬又明显恢复了顺铂对肿瘤的抑制作用。

细胞自噬是一种高度保守的细胞过程, 通过溶酶体降解细胞内受损或多余的蛋白质和细胞器, 以维持细胞内环境的稳态, 越来越多的研究表明, 细胞自噬在癌症的发生、发展, 以及耐药机制中发挥着重要作用<sup>[20-21]</sup>。细胞自噬在某些情况下可作为一种应激反应机制, 帮助细胞应对外界环境的压力, 如缺氧、营养缺乏和药物刺激<sup>[22-23]</sup>。在癌症中 PTEN 的缺失或突变会导致 PI3K/Akt/mTOR 通路的异常激活, 会降低自噬相关基因的表达, 减少自噬体的形成和溶酶体的降解能力, 从而促进癌细胞在压力刺激的条件下的生存和增殖<sup>[24]</sup>。结合文献报道和本研究结果表明, PTEN 的降低会激活 PI3K/Akt/mTOR 通路并提高自噬水平, 从而促进宫颈癌细胞在顺铂刺激的环境下维持细胞稳态, 提高对顺铂的耐药性。

本研究也存在一些不足之处: (1) 关于 PTEN 抑制 PI3K/Akt/mTOR 通路调控自噬的分子机制仍需多种宫颈癌细胞中进行深入分析; (2) 该机制也可能通过调控其他机制诱导耐药; (3) 关于 PTEN 调控的自噬是否也参与了其他类型的药物, 如紫杉醇类药物耐药仍值得进一步研究。

综上所述, PTEN 的降低会激活 PI3K/Akt/mTOR 通路进而诱导自噬, 从而促进宫颈癌细胞对顺铂的耐药, 为顺铂耐药宫颈癌患者的治疗提供了新的启示, 为开发新的针对出现耐药的宫颈癌患者的治疗方案提供了理论基础。

### 参考文献

[1] BRAY F, LAVERSANNE M, SUNG H, et al. Global cancer statistics 2022: globocan estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. CA Cancer J Clin, 2024, 74(3): 229-263.

[2] WANG D, FANG X. Meta-analysis of the efficacy of neoadjuvant chemotherapy for locally advanced cervical cancer[J]. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2024, 297(6):

- 202-208.
- [3] MC C M, EMINOWICZ G, GALLARDO D, et al. Induction chemotherapy followed by standard chemoradiotherapy versus standard chemoradiotherapy alone in patients with locally advanced cervical cancer (GCIG INTERLACE): an international, multicentre, randomised phase 3 trial[J]. *Lancet*, 2024, 404(10462):1525-1535.
- [4] FANG C, ZHOU Y, FENG Y L, et al. QL1604 plus paclitaxel-cisplatin/carboplatin in patients with recurrent or metastatic cervical cancer: an open-label, single-arm, phase II trial[J]. *J Gynecol Oncol*, 2024, 35(6):e77.
- [5] HAIYE J, XIANGZHU W, YUNFEI Z, et al. Overexpressed NEK2 contributes to progression and cisplatin resistance through activating the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway in cervical cancer[J]. *Cancer Cell Int*, 2025, 25(1):45-49.
- [6] WANG W, JIA Y, LIU Y, et al. Downregulation of RhoB inhibits cervical cancer progression and enhances cisplatin sensitivity[J]. *Genes(Basel)*, 2024, 15(9):1186-1197.
- [7] ZHU Y, ZHANG C, YIN Q, et al. FOXO4 suppresses cisplatin resistance of triple-negative breast cancer by inhibiting autophagy[J]. *Am J Med Sci*, 2025, 369(2):252-263.
- [8] WANG Y, WANG Y S, YUAN C Y, et al. Naringin inhibits cisplatin resistance of ovarian cancer cells by inhibiting autophagy mediated by the TGF- $\beta_2$ /smad2 pathway[J]. *Transl Cancer Res*, 2024, 13(6):2618-2628.
- [9] NIXON R A. Autophagy-lysosomal-associated neuronal death in neurodegenerative disease [J]. *Acta Neuropathol*, 2024, 148(1):42-50.
- [10] TANG D L, RUI K, KLIONSKY D J. Autophagy-dependent ferroptosis mediates multiple sclerosis[J]. *Autophagy*, 2025, 21(2):257-259.
- [11] PALMER J E, WILSON N, SON S M, et al. Autophagy, aging, and age-related neurodegeneration [J]. *Neuron*, 2025, 113(1):29-48.
- [12] MUBTHASIMA P P, SINGH S A, KANNAN A. Sesamol-mediated targeting of EPHA2 sensitises cervical cancer for cisplatin treatment by regulating mitochondrial dynamics, autophagy, and mitophagy[J]. *Mol Biol Rep*, 2024, 51(1):949-953.
- [13] GRAZINI U, MARKOVETS A, IRELAND L, et al. Overcoming osimertinib resistance with AKT inhibition in EGFRm-driven non-small cell lung cancer with PIK3CA/PTEN alterations [J]. *Clin Cancer Res*, 2024, 30(18):4143-4154.
- [14] ZHANG H P, JIANG R Y, ZHU J Y, et al. PI3K/AKT/mTOR signaling pathway: an important driver and therapeutic target in triple-negative breast cancer [J]. *Breast Cancer*, 2024, 31(4):539-551.
- [15] JIANG M N, BAI H H, FANG S, et al. CircLIFRSA/miR-1305/PTEN axis attenuates malignant cellular processes in non-small cell lung cancer by regulating AKT phosphorylation[J]. *Mol Cancer*, 2024, 23(1):208-213.
- [16] MANIRUZZAMAN M, BHUIYAN M R H, JAMAN M S, et al. MicroRNA dynamics, PTEN/PI3K/AKT signaling, and their relationship to breast cancer: prospects for pharmaceuticals and natural product application [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2025, 209(3):467-485.
- [17] HO J N, BYUN S S, KIM D, et al. Dasatinib induces apoptosis and autophagy by suppressing the PI3K/Akt/mTOR pathway in bladder cancer cells[J]. *Investig Clin Urol*, 2024, 65(6):593-602.
- [18] BHAVE M A, QUINTANILHA J. Comprehensive genomic profiling of ESR1, PIK3CA, AKT1, and PTEN in HR(+)/HER2(-) metastatic breast cancer: prevalence along treatment course and predictive value for endocrine therapy resistance in real-world practice[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2024, 207(3):599-609.
- [19] XU M S, DENG X Y, XIANG N N, et al. PI3K enhances cisplatin sensitivity of nonsmall-cell lung cancer cells through inhibition of the PI3K/AKT pathway via stabilizing PTEN[J]. *ACS Omega*, 2024, 9(8):8995-9002.
- [20] SHI Z L, YANG S T, SHEN C L, et al. LAMP2A regulates cisplatin resistance in colorectal cancer through mediating autophagy[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2024, 150(5):242-246.
- [21] HUANG Y H, ZHANG R, LYU H, et al. LncRNAs as nodes for the cross-talk between autophagy and Wnt signaling in pancreatic cancer drug resistance[J]. *Int J Biol Sci*, 2024, 20(7):2698-2726.
- [22] QI G H, MA H L, TENG K, et al. SHCBP1 promotes cisplatin resistance of ovarian cancer through AKT/mTOR/autophagy pathway[J]. *Apoptosis*, 2025, 30(1):83-98.
- [23] YOUNG M J, WANG S A, CHEN Y C, et al. USP24-i101 targeting of USP24 activates autophagy to inhibit drug resistance acquired during cancer therapy[J]. *Cell Death Differ*, 2024, 31(5):574-591.
- [24] ZHANG W, DU D, LU H, et al. FAT10 mediates the sorafenib-resistance of hepatocellular carcinoma cells by stabilizing E3 ligase NEDD4 to enhance PTEN/AKT pathway-induced autophagy[J]. *Am J Cancer Res*, 2024, 14(4):1523-1544.

(收稿日期:2025-04-02 修回日期:2025-09-22)