

基于生物信息学分析 TFF3 在肺腺癌中的表达和调控作用

王志远¹，孟玲²，石娟¹，刘圆圆²，李瑞嶝³，李文鑫²，安淑红^{1*}

¹（山东第一医科大学（山东省医学科学院）临床与基础医学院人体解剖学教研室 济南 250000）

²（山东第一医科大学第二附属医院呼吸内科 泰安 271000）

³（阳信县职业中等学校医学技术系 滨州 251800）

摘要：

[目的] 采用生物信息学方法和体外细胞实验探索 TFF3 在肺腺癌中的作用。

[方法] 基于 TIMER、UALCAN 数据库分析 TFF3 在癌组织中的表达。基于 TCGA 数据库和 R 包，从临床特征、免疫微环境、肿瘤突变负荷、免疫治疗等多个角度分析 TFF3 高低表达患者组的特征差异。通过 RTCA 检测 TFF3 对 NCI-H1975 细胞数目的影响，通过 Western blot 检测 PI3K/Akt 信号通路 Akt 及其激活状态 p-Akt 的表达。

[结果] TFF3 在肺腺癌组织中表达增高，表达量与肺腺癌的病理类型有关，但与患者预后无关。TFF3 低表达与低肿瘤纯度相关。TFF3 和肿瘤突变负荷、数种免疫检查点基因表达呈负相关。TFF3 处理 NCI-H1975 细胞后，细胞总数上升。Western blot 结果表明，TFF3 能激活 p-Akt 基因表达。

[结论] TFF3 在某些肺腺癌亚型中表达升高，且与肺腺癌肿瘤免疫具有一定关联。TFF3 可促进肺腺癌细胞增殖，并可能通过激活 PI3K/Akt 信号通路发挥作用。TFF3 可能成为肺腺癌患者一个新的治疗靶点。

关键词： TFF3 肺腺癌 生物信息学分析 肿瘤免疫 PI3K/Akt

分类号：R734

Expression and the role of TFF3 in lung adenocarcinoma based on bioinformatics analysis

WANG Zhiyuan¹, MENG Ling², SHI Juan¹, Liu Yuanyuan², Li Ruidi³, Li Wenxin², An Shuhong¹

¹(Department of Human Anatomy, School of Clinical and Basic Medicine (Institute of Basic Medicine), Shandong First Medical University (Shandong Academy of Medical Sciences), Jinan250000, China)

² (Second Affiliated Hospital of Shandong First Medical University, Taian 271000, China)

³(Medical Technology Department of Yangxin County Secondary Vocational School, Binzhou251800, China)

Abstract:

Objective Exploring the role of TFF3 in lung adenocarcinoma using bioinformatics methods and in vitro cell experiments.

Methods This study aims to analyze the characteristic differences between patient groups with high and low TFF3 expression using the TCGA database and R package. The analysis will cover various perspectives, including clinical features, immune microenvironment, tumor mutation burden, and immunotherapy. The effect of TFF3 on the number of NCI-H1975 cells was determined using RTCA, while the expression of the PI3K/Akt signaling pathway Akt and its activated state p-Akt was detected using Western blot.

Results The expression of TFF3 was found to be increased in lung adenocarcinoma tissue, and this increase was found to be related to the pathological type of lung adenocarcinoma. However, it was not found to be associated with the prognosis of patients. Low expression of TFF3 was found to be associated with low tumor purity. Additionally, TFF3 was found to have a negative correlation with tumor mutation burden and the expression of several immune checkpoint genes. 本文系山东省医药卫生科技发展计划项目基金项目“TFF3 介导 PI3K/AKT/MYC 通路参与肺腺癌脑转移的作用机制”（项目编号：202003020569）的研究成果之一。

In our study, we treated NCI-H1975 cells with TFF3 and observed an increase in the total number of cells. Furthermore, the results from Western blot analysis indicated that TFF3 can activate the expression of the p-Akt gene.

Conclusions TFF3 is found to be upregulated in specific subtypes of lung adenocarcinoma and is closely linked with tumor immunity in this type of cancer. It has been observed that TFF3 can enhance the growth of lung adenocarcinoma cells, possibly by activating the PI3K/Akt signaling pathway. These findings suggest that TFF3 could potentially serve as a promising therapeutic target for individuals diagnosed with lung adenocarcinoma.

Keywords: TFF3 Lung adenocarcinoma Bioinformatics analysis PI3K/Akt

1 前言

肺癌是世界上导致癌症患者死亡的最常见原因^[1]，其发病率仍在逐年上升^[2]，非小细胞肺癌（non-small cell lung cancer，NSCLC）占肺癌病例的85%，肺腺癌和鳞状细胞癌是NSCLC的两种主要组织学类型^[3]。其中肺腺癌占NSCLC病例总数的47%^[4]。由于大部分肺癌患者就诊时已是晚期，无法接受手术治疗^[5]，即便现在治疗IV期肺癌的药物比以往任何时候都要多^[1]，但肺癌的预后仍较差，转移性非小细胞肺癌患者的5年总生存率低于5%^[3]。为提高晚期患者的生存期，急需寻找更有效的生物靶点，用于免疫治疗。

三叶因子3（Trefoil factor 3, TFF3）属于三叶因子家族，具有黏膜修复、信号转导、调节细胞凋亡等功能^[6,7]，在几乎所有粘膜表面的黏液分泌细胞中表达和分泌。TFF3在多种类型的癌症中都表达上调，如乳腺癌、胃癌、子宫癌^[8]。近年来，有大量证据支持TFF3的多种致癌作用，包括促进增殖和存活、参与迁移和侵袭，以及血管生成。这提示了它作为生物标志物的潜在用途。然而，TFF3在肺腺癌肿瘤发生发展过程中的表达情况及其与肿瘤患者临床特征的关系尚缺乏探讨，其对肺腺癌产生影响的机制尚未明确。

本研究基于生物信息学分析方法探讨TFF3在肺腺癌中的表达及其对临床特征的影响，并挖掘出潜在的影响途径，以期为TFF3后续的研究提供理论支持，为肺腺癌的发病机理及治疗提供帮助。

2 材料与方法

2.1 数据来源

肺腺癌患者基因表达数据来自TCGA公共数据库的503例肿瘤组织及54例正常组织。肺腺癌患者临床数据来自TCGA。

2.2 表达差异分析

在TIMER数据库中研究TFF3在各种癌症类型中的表达。在UALCAN数据库，进一步研究TFF3在肺腺癌不同亚型中的表达。

2.3 临床特征的相关性分析

从癌症基因组图谱（TCGA）数据库下载486例肺腺癌患者相应的临床信息，探究TFF3表达在肺腺癌患者的不同年龄、性别、TNM分期中的表达差异。

2.4 预后相关性分析

对不同患者的TFF3表达水平、性别、年龄、TNM分期、进行预后单因素及多因素COX回归，分析TFF3表达与预后的关系。

2.5 肿瘤微环境分析

基于ESTIMATE算法分析TCGA肿瘤样本微环境中免疫基质细胞丰度及肿瘤纯度与TFF3表达的关系。探讨免疫检查点基因在TFF3不同水平下的表达、TFF3是否通过作用于肿瘤微环境（TME, Tumor microenvironment）来影响肺腺癌患者的预

后、TFF3 的表达量和肿瘤突变负荷之间是否具有相关性。

2.6 免疫浸润和免疫治疗分析

利用 CIBERSORT 探讨 TFF3 表达与肿瘤浸润免疫细胞之间的相关性，比较免疫细胞在 TFF3 高低表达组是否有差异性。从 TCIA 网站下载肺腺癌患者免疫治疗的临床数据，比较高、低 TFF3 表达组患者对免疫治疗的反应。

2.7 基因共表达网络

使用 R 包中“BiocManager”包、“limma”包、“corrplot”包、“circlize”包，提取共表达基因的表达量，绘制 TFF3 基因共表达圈图。

2.8 细胞系与主要试剂

肺腺癌 NCI-h1975 细胞系(中国医学科学院基础研究所),重组人 TFF3 蛋白(Abcam 公司), RPMI1640 培养基(美国 Hyclone 公司), 胎牛血清(美国 Gibco 公司), 胰蛋白酶、牛血清白蛋白 v、RIPA 裂解液、PMSF 蛋白酶抑制剂、4*蛋白上样缓冲液、ECL 显影液、20*PBS 缓冲液、Tween-20, Akt、p-Akt 一抗及二抗、TFF3 单克隆抗体及二抗、GAPDH 抗体(美国 Proteintech 公司), 聚偏二氟乙烯膜 PVDF 膜(美国 MILLIPORE 公司), 蛋白 Maker(美国 ThermoFisher Scientific 公司), 甲醇(天津市永大化学试剂有限公司)。

2.9 细胞培养

NCI-h1975 细胞系置于 RPMI 1640 (w/o Hepes) 10%FBS 培养。于 37℃、5%CO₂ 培养箱培养，待细胞长至 80%，胰蛋白酶消化进行传代。

2.10 Real Time Cellular Analysis (RTCA) 细胞增殖活性测定

打开 RTCA 软件，设置程序时长、检测间隔、细胞品系及处理因素、细胞数量等基本信息。向 E-plate16 孔板加样 50 μl 细胞培养液，放入检测仪，确定 Message 界面无警告、无报错即可进行后续操作。向 E-plate16 孔板加样提前计数的 100 μl 细胞悬液（每 100 μl 细胞悬液中含 5000 个 NCI-h1975 细胞），悬空轻轻晃动 E-plate16 孔板，使细胞分布均匀。将 E-plate16 孔板放入检测仪中静置 30 min，使细胞沉降贴壁，然后开始运行程序。当细胞指数高于 1.5 后，暂停程序进行干预处理，轻轻弃去含血清的培养基，沿孔壁加入 150 μl 内含 TFF3 的纯 RPMI 1640 培养基，对照组同样换液加入等量纯培养基。换液处理后将 E-plate16 孔板再次放回培养箱内的仪器中，需静置 30 min 后开始继续检测，直至程序结束。

2.11 Western blot 检测蛋白表达

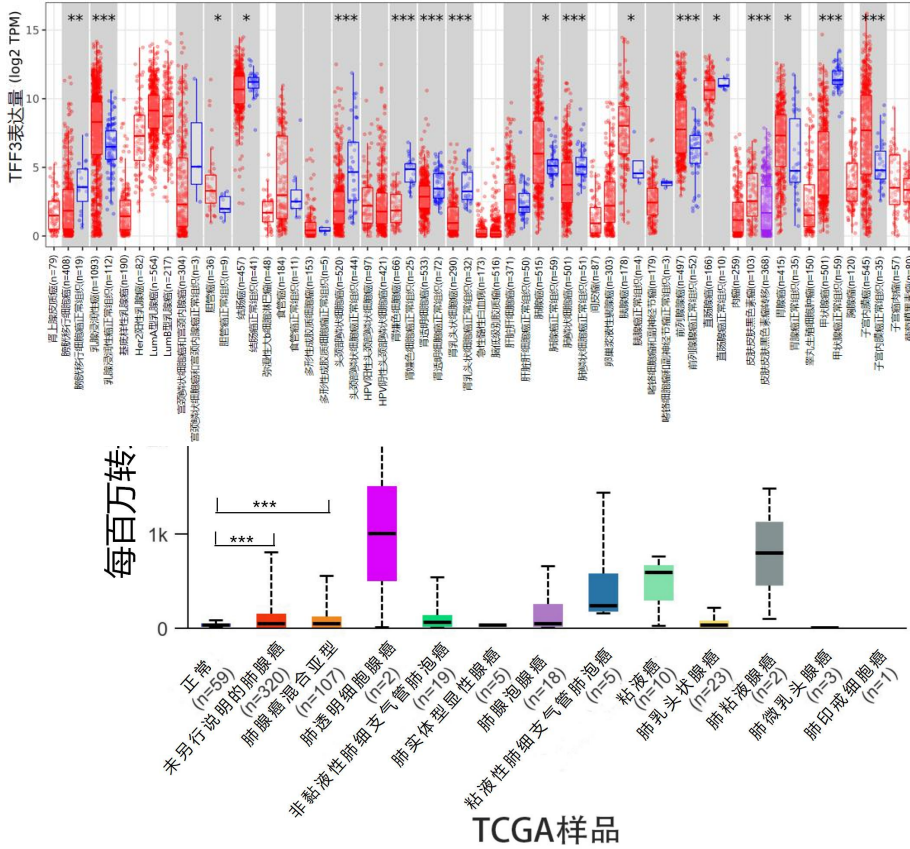
用 TFF3 (200ng /ml) 处理细胞，分别作用 0、15min、30min、60min、90min、120min，收集上述处理的 4 组细胞，RIPA 裂解液：PMSF：蛋白磷酸酶抑制剂 = 100:1:1 冰上裂解细胞 25min。4℃，13000rpm，离心 25min，获得上清，放入新的 EP 管内，与 4*蛋白上样缓冲液混合，于恒温金属浴中煮 5min，即获得细胞总蛋白样品。随后进行 10% SDS-PAGE 凝胶电泳，电压 80V，时间 30min 后改变电压 110V，时间 60min；利用湿转膜法，电压 100V，电转时间 120min。5% BSA (Bovine Serum Albumin, 牛血清白蛋白) 封闭 65min。分别孵育一抗、二抗，加 ECL 显影液显色，分别分析目的蛋白 p-Akt、Akt 表达情况。

2.12 统计学处理

使用 R4.3.1 软件进行统计分析及图形绘制。采用 Spearman 相关分析数据相关性。两个连续数据比较采用 t 检验，多个连续数据比较采用 Kruskal - Wallis 检验。采用 Kaplan - Meier 分析和 Log - rank 检验计算生存差异。所有统计分析均以 P<0.05 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 TFF3 在肺腺癌肿瘤组织中表达量增高，且与肺腺癌的亚型有关
在 TIMER 数据库，探究 TFF3 在各种癌症类型中的表达（图 1A）。发现，TFF3 在肺腺癌肿瘤组织中表达水平高于正常组织 ($P < 0.05$)。在 UALCAN 数据库，对 TFF3 在肺腺癌不同亚型中的表达进行分析（图 1B），发现 TFF3 在肺腺泡腺癌、肺微乳头腺癌表达量高于正常组 ($P < 0.05$)，而在肺透明腺癌、粘液性肺细支气管肺泡癌、非黏液性肺细支气管肺泡癌、肺乳头状腺癌中的表达和正常组相比无明显差异。



A

B

TCGA 样品	最小值	下四分位数	中位数	上四分位数	最大值
正常组 (n=59)	5.642	21.5	29.442	40.493	78.06
未另行说明的肺腺癌 (n=320)	0.159	9.964	41.238	138.984	792.399
肺腺癌混合亚型 (n=107)	1.408	10.007	40.981	111.718	555.964
肺透明细胞腺癌 (n=2)	4.133	498.476	992.818	1487.161	1981.503
非黏液性肺细支气管肺泡癌 (n=19)	8.059	23.206	58.231	127.251	529.194
肺实体型显性腺癌 (n=5)	23.361	24.618	25.874	26.222	26.57
肺腺泡腺癌 (n=18)	5.079	15.911	49.021	237.249	657.566
粘液性肺细支气管肺泡癌 (n=5)	151.258	178.082	232.274	565.474	1429.318
粘液癌 (n=10)	19.364	296.363	581.867	645.849	758.67
肺乳头状腺癌 (n=23)	2.266	8.151	27.503	66.131	216.082
肺黏液腺癌 (n=2)	98.926	441.497	784.069	1126.64	1469.211
肺微乳头腺癌 (n=3)	3.065	4.338	5.611	7.367	9.122
肺印戒细胞癌 (n=1)	2241.356	2241.356	2241.356	2241.356	2241.356

C

图 1 肺腺癌患者 TFF3 表达水平

A. TIMER 数据库中，TFF3 在各种癌症类型中的表达；B 和 C. UALCAN 数据库，TFF3 在肺腺癌不同亚型中的表达；* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ ，*** $P < 0.001$

3.2 TFF3 表达量与肺腺癌患者的年龄相关

分析 TCGA 数据库中 486 名肺腺癌患者中 TFF3 表达水平（图 2），发现在年龄 > 65 岁的患者中，TFF3 的表达量显著降低 ($P < 0.05$)。而 TFF3 表达量在不同的性别以及 T、N、M 分期无明显差异。

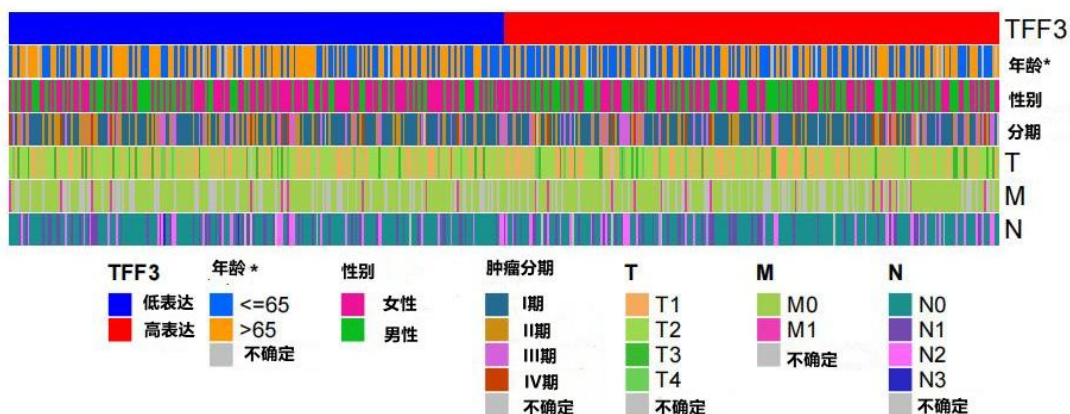


图 2 TFF3 表达水平与肺腺癌患者临床特征相关性的热图

3.3 TFF3 与肺腺癌患者预后无关

对 TCGA 数据库中 TFF3 表达水平和临床特征进行预后单变量、多变量 COX 回归分析（图 3A），单变量 COX 回归分析显示 TNM 分期与预后相关 ($P < 0.05$)；TFF3

表达水平、年龄、性别均与预后无关；多变量 COX 回归分析显示仅 T、N 分期为独立的预后因素。以 TFF3 的表达量将肺腺癌患者分成高、低表达组，发现 TFF3 高、低表达组肺腺癌患者总生存期及无进展生存期无差异 ($P>0.05$) (图 3B)。

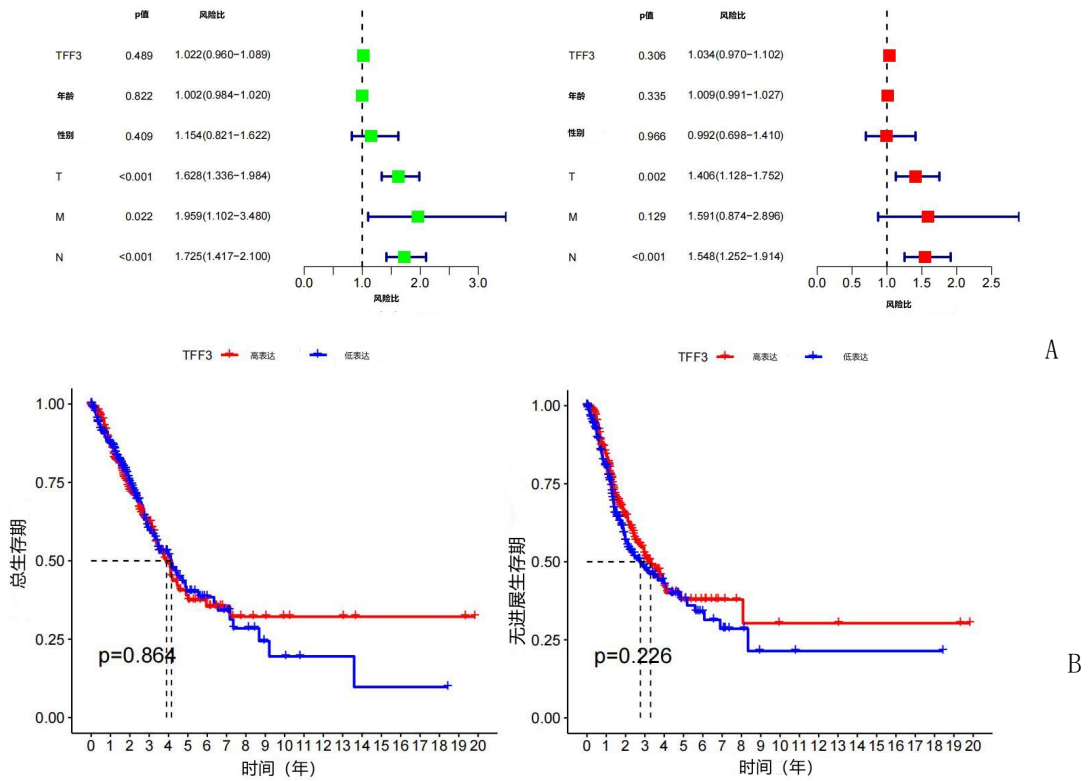


图 3 TFF3 表达与肺腺癌患者预后的相关性

A. TCGA 队列 TFF3 表达水平及肿瘤临床特征与总生存率的单变量和多变量 COX 回归分析森林图；B. TFF3 高低表达在 TCGA 队列中总生存期及无进展生存期的 Kaplan - Meier 分析

3.4 TFF3 低表达与低肿瘤纯度相关

ESTIMATE 算法分析显示 TFF3 低表达时，肿瘤微环境 (tumor microenvironment, TME) 中的免疫基质评分更高，肿瘤纯度更低。且相较于免疫细胞评分，TFF3 高低表达组之间基质评分的差异更显著 (图 4A)。肿瘤突变负荷分析 (图 4B) 显示，TFF3 和肿瘤突变负荷呈负相关 ($R=-0.093, P=0.043$)。

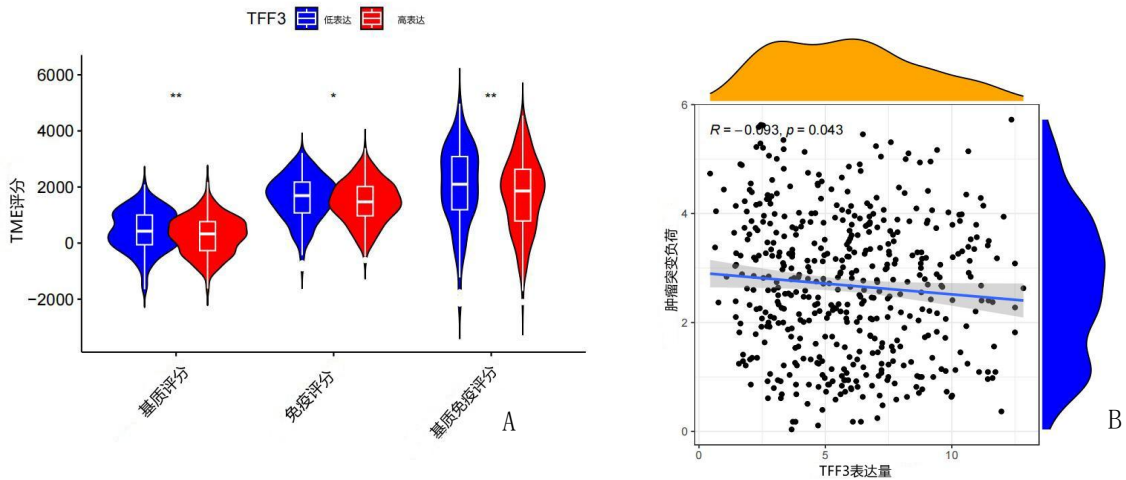


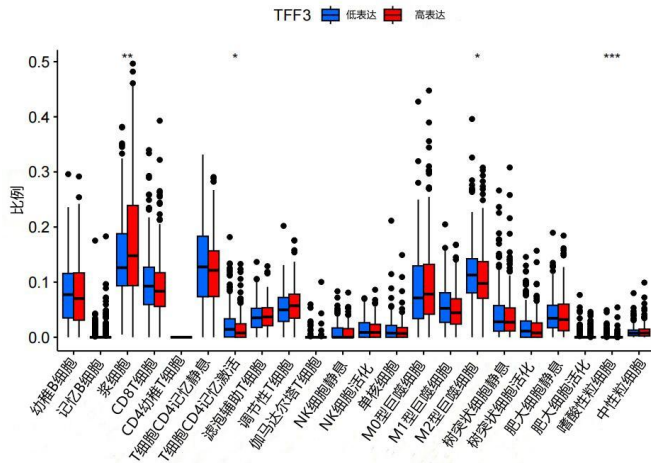
图 4 TFF3 表达对肺腺癌微环境细胞构成的影响

A. TFF3 表达与肿瘤微环境评分及肿瘤纯度相关性；B. TFF3 表达与肿瘤突变负荷的相关性

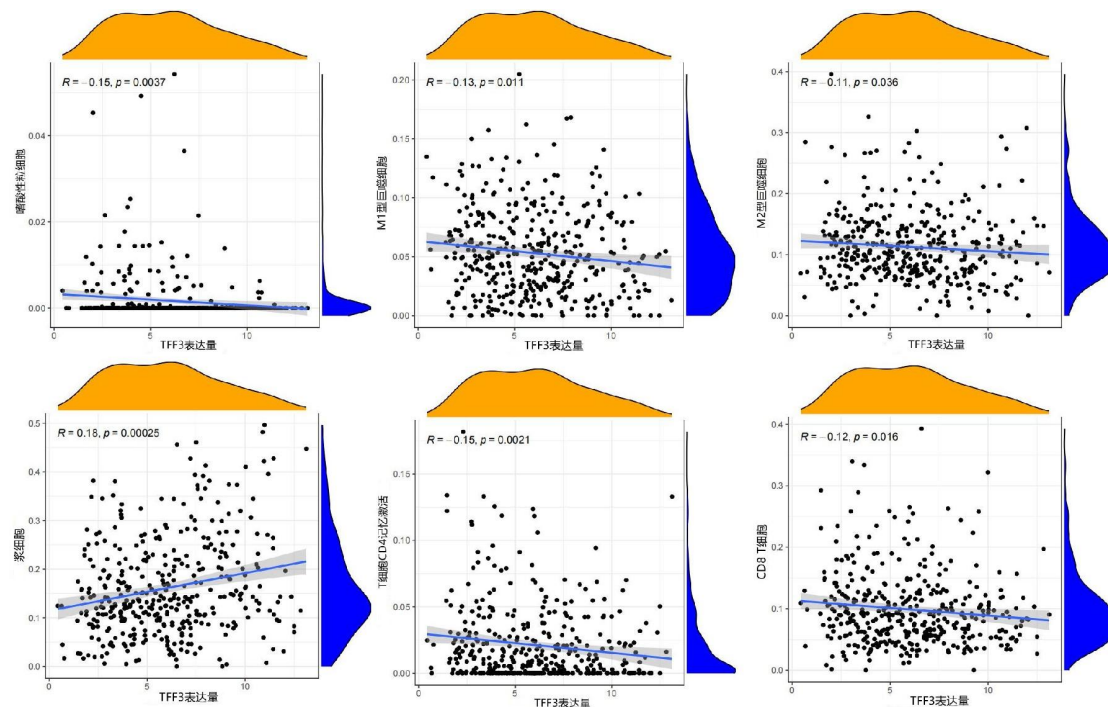
* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

3.5 TFF3 表达与免疫细胞的差异性分析

对免疫细胞在 TFF3 高低表达组进行差异性分析（图 5A），结果发现，浆细胞在 TFF3 高表达组中明显高于低表达组。而嗜酸性粒细胞、巨噬细胞 M1、M2、CD8、CD4+T 细胞和 TFF3 的表达呈负相关（图 5B）。



A



B

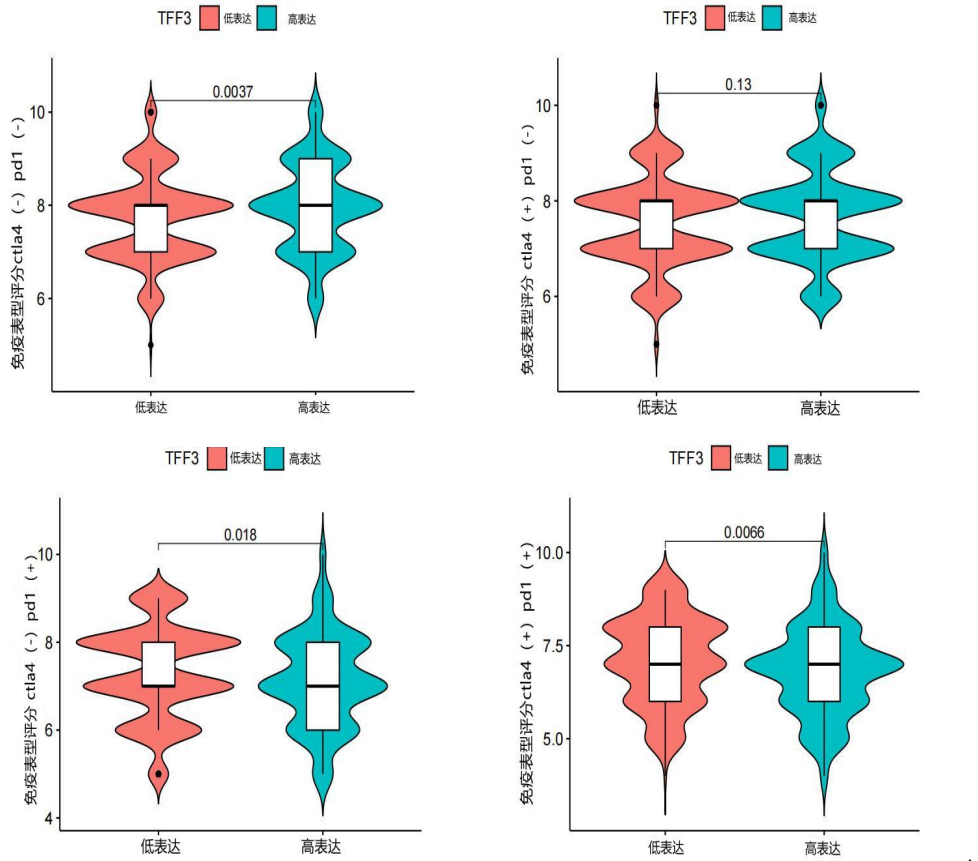
图 5 TFF3 与免疫细胞浸润之间的相关性

A. TFF3 表达在免疫细胞的差异分析；B. TFF3 表达与 6 种免疫细胞之间的相关性。* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

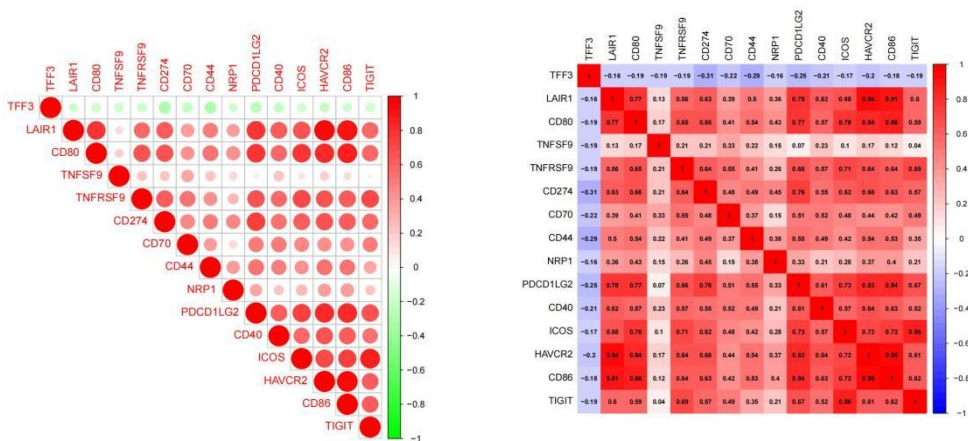
3.6 TFF3 在肺腺癌患者免疫治疗反应中的潜在价值

为探讨 TFF3 预测肺腺癌患者免疫治疗反应的可能性，对免疫检查点相关的基因和 TFF3 进行相关性分析，结果显示，TFF3 低表达时，部分免疫检查点基因往往有较高的表达水平，如免疫细胞表面抗原分子 CD 家族 CD80、CD274、CD70、CD44、CD86、CD40，肿瘤坏死因子受体超家族成员 TNFSF9 ($P < 0.01$)（图 6A）。从 TCIA 网站下载 515 例肺腺癌患者免疫治疗的临床数据，通过免疫表型评分

(immunophenoscore, IPS) 来评估免疫检查点抑制剂的治疗疗效，比较高、低 TFF3 表达组患者对免疫治疗的反应。结果发现，单独接受 CTLA4 抑制剂治疗时，高、低 TFF3 表达组的疗效差异无统计学意义；而在既不接受 PD-1 抑制剂也不接受 CTLA4 抑制剂治疗时，TFF3 高表达组治疗效果好；只接受 PD-1 抑制剂治疗时，TFF3 高表达组疗效好；PD-1 抑制剂及 CTLA4 抑制剂联合治疗时，TFF3 低表达组的疗效好 ($P < 0.05$) (图 6B)。



A



B

图 6 TFF3 在肺癌患者免疫治疗中的潜在价值

图 A 为 TFF3 与免疫检查点的相关性分析；图 B 为 TFF3 表达与免疫治疗分析

3.7 TFF3 促进肺癌细胞的增殖

利用实时无标记动态细胞分析技术 (RTCA, Real Time Cellular Analysis) 监

测各组（空白对照组、200ng/mlTFF3 组）肺腺癌细胞 NCI-h1975 的增殖能力。结果显示，应用 TFF3 处理后，细胞的增殖能力显著增强，明显高于对照组（图 8）。

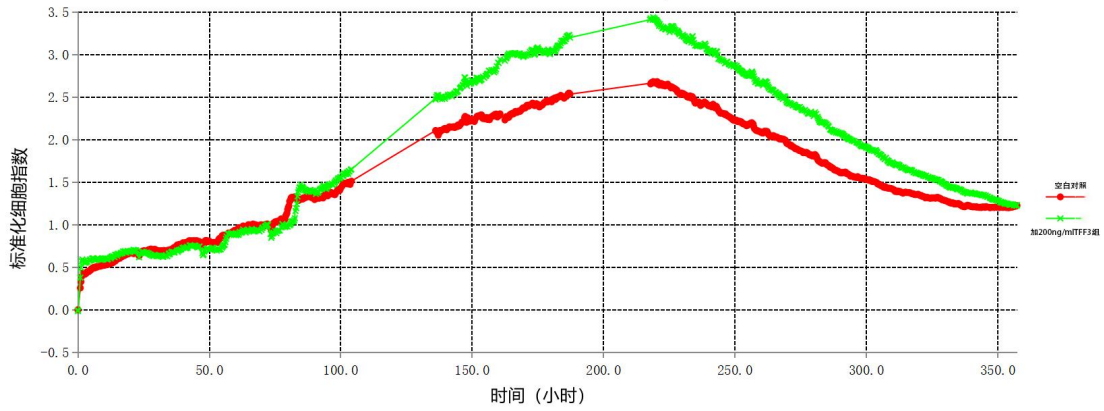


图 8 RTCA 监测细胞增殖

图中红色为空白对照组，绿色为加 200ng/mlTFF3 组

3.8 TFF3 基因共表达网络分析

共挖掘出 11 个共表达基因（图 9），包含 BPIFB2、KLK11、TFF1、KLK12、SEC11C、ARHGAP10、RAP2B、NABP1、RBMS1、MET、HES6。主要涉及了 DNA 损伤^[9]、DNA 复制^[10]、细胞周期调控^[10]、细胞骨架^[11]等过程。其中 KLK11^[12]、TFF1^[13]、RAP2B^[14]、ARHGAP10^[11]、MET^[15]都参与调节 PI3K/AKT 信号通路。

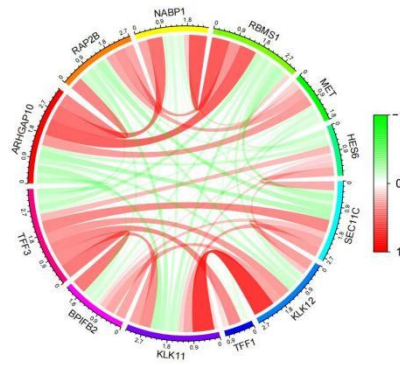


图 9 TFF3 共表达基因

3.9 TFF3 激活 PI3K/Akt 信号通路

用 TFF3 (200ng/ml) 处理细胞，分别作用 0、15min、30min、60min、90min、120min，获得各组细胞总蛋白样品，利用 WesternBlot 法对 PI3K/Akt 通路蛋白 Akt、p-Akt 进行检测。结果显示：TFF3 可促进 p-Akt 蛋白的表达，且作用 30min 后，p-Akt 蛋白表达与对照组相比显著上升，60min 时达到最高。但 Akt 蛋白的表达持续稳定，不受 TFF3 作用时间的影响（图 10）。

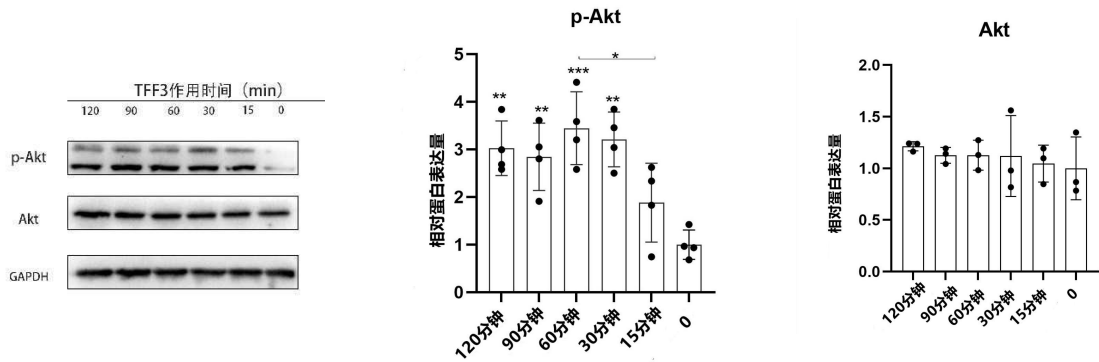


图 10 TFF3 处理后 p-Akt、Akt 蛋白表达情况

分别在对照组和加用 TFF3 (200ng/ml) 处理 NCI-h1975 细胞, 结果显示相比于对照组, 在 30min、60min、90min、120min 后 p-Akt 的表达均有不同的显著增加。** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

4 讨论

以往的研究表明, TFF3 在肺腺癌中显著表达^[4,6]。TFF3 水平可作为肺癌临床病理特征的替代标志物^[2]。但 TFF3 在肺腺癌的具体作用不清。本研究分析不同队列的 TFF3 在肿瘤与正常组织间的表达差异, 结果发现在肺腺癌组织中 TFF3 的表达增多, 且其表达与肺腺癌的亚型相关。通过对 TCGA 的临床数据进一步分析发现, 年龄越大的肺腺癌患者 TFF3 表达越低。而 TFF3 表达量与性别以及 T、N、M 分期无关。预后单因素及多因素 COX 回归分析显示 TFF3 表达不能影响患者预后。生存分析显示, TFF3 的表达不影响患者的生存期, 这均表明 TFF3 与肺腺癌患者预后无关, 不能作为肺腺癌患者的独立预后因子。

为进一步探究 TFF3 在肺腺癌可能的作用机制, 我们进行了肿瘤微环境分析。我们发现 TFF3 的表达水平和浆细胞呈正相关, 与嗜酸性粒细胞、巨噬细胞 M1、M2、CD8、CD4+T 细胞呈负相关。且 TFF3 低表达时, 免疫细胞表面抗原分子 CD 家族的免疫检查点基因表达增加。这说明 TFF3 和免疫检查点呈负调控的关系, 当 TFF3 高表达时, 可抑制这些免疫检查点的免疫功能, 从而促进肺腺癌的发生、发展。与之相符的是我们通过对 515 例肺腺癌患者的免疫治疗临床数据分析, 结果发现在既不接受 PD-1 抑制剂也不接受 CTLA4 抑制剂治疗时, 和只接受 PD-1 抑制剂治疗时, 都是 TFF3 高表达组疗效好。这对肺腺癌肿瘤晚期患者的免疫治疗具有一定参考价值。也有研究发现, 使用竞争性抑制抗体或 PTGS2 抑制剂阻断 TFF3-CD147 信号通路可减少小鼠结直肠癌肺转移^[16], 进一步说明了 TFF3 在肿瘤免疫调控过程中的作用。

已有体外实验部分研究证明, TFF3 可促进前列腺癌^[17]、结肠癌^[16]、甲状腺乳头状癌^[7]、宫颈腺癌^[18]中癌细胞增殖、侵袭, 体现了 TFF3 在肿瘤细胞增殖中的潜在调控作用。我们通过 RTCA 发现, 加用 TFF3 药物的 NCI-h1975 细胞总数显著增加。而 TFF3 二聚体小分子抑制剂 (AMPC) 单独使用或与传统的 MEK1/2 抑制剂联合使用对肺腺癌细胞的生长具有协同抑制作用^[19]。这均表明, 在肺腺癌患者中, TFF3 可促进肿瘤细胞增殖。

PI3K/AKT/mTOR 通路是参与正常细胞过程中最重要的信号通路之一, 其异常激活可调节自噬、上皮间充质转化、细胞凋亡、化疗耐药性和转移, 在多种肿瘤和疾病进展中发挥重要作用, 如胃癌^[20]、卵巢癌^[21]、前列腺癌^[22]、宫颈癌^[18]、肺纤维化^[23]、神经退行性疾病^[24]等。本实验中我们通过共表达基因分析发现, KLK11、TFF1、RAP2B、ARHGAP10、MET 与 TFF3 共表达, 且都参与调节 PI3K/AKT 信号通路。因此我们推测在肺腺癌中, TFF3 可能通过 PI3K/AKT 通路发挥作用。

Westernblot 结果验证了这一推论。但 TFF3 作用于 PI3K/AKT 的具体机制还需进一步研究。

总之，本研究发现 TFF3 在肺腺癌组织中表达增高，并且 TFF3 表达量与肺腺癌的病理类型、患者的年龄有关，但不影响患者预后。TFF3 可能通过抑制免疫检查点基因参与肿瘤免疫过程来影响肿瘤进展。TFF3 可促进肺腺癌细胞增殖，并可通过提高 p-Akt 蛋白表达激活 PI3K/Akt 信号通路。基因共表达分析挖掘出了多个可能涉及的靶点，但仍需要进一步实验和临床验证。TFF3 可以作为肺腺癌患者的治疗靶点，本研究为肺腺癌患者 TFF3 的相关研究提供了理论支持。

参考文献:

- [1] Nasim F, Sabath BF, Eapen GA. Lung cancer. *Med Clin North Am*, 2019 May, 103(3):463-473
- [2] Minegishi K, Dobashi Y, Koyama T, *et al.* Diagnostic utility of trefoil factor families for the early detection of lung cancer and their correlation with tissue expression. *Oncol Lett*, 2023 Feb 21, 25(4):139
- [3] Arbour KC, Riely GJ. Systemic therapy for locally advanced and metastatic non-small cell lung cancer: a review. *JAMA*, 2019 Aug 27, 322(8):764-774
- [4] Nguyen TT, Lee HS, Burt BM, *et al.* A lepidic gene signature predicts patient prognosis and sensitivity to immunotherapy in lung adenocarcinoma. *Genome Med.* 2022 Jan 12;14(1):5
- [5] 黄超, 王涛, 邱志新等. 不同病理类型肺腺癌临床和影像特征及预后分析[J]. *现代肿瘤医学*, 2022, 30(14):2548-2553
- [6] 常远敏, 尤青海. TFF3 与肺癌研究进展[J]. *临床肺科杂志*, 2020, 25(11):1746-1749
- [7] 杨兵, 张丹丹, 崔安宁, 等. TFF3 基因沉默对甲状腺乳头状癌 TPC-1 细胞增殖和侵袭的影响[J]. *解剖学研究*, 2020, 42(02):157-160
- [8] Luo W, Tahara S, Kawasaki K, *et al.* The expression of trefoil factor 3 is related to histologic subtypes and invasiveness in lung adenocarcinoma. *Oncol Lett*, 2021 Jan, 21(1):63
- [9] 张悦. miRNA-26a-5p 通过调控 NABP1/BARD1 增强顺铂治疗三阴性乳腺癌的敏感性[D]. 华中科技大学, 2022
- [10] 刘梦园. RNA 结合基序单链相互作用蛋白 1 (RBMS1) 参与胃癌细胞侵袭转移的机制研究[D]. 中国医科大学, 2021
- [11] 刘立威, 林俊豪, 陈逢生. ARHGAP10 基因在肺腺癌中的表达及其机制[J]. *中国医学物理学杂志*, 2023, 40(05):653-660
- [12] Zhang Y, Xu Z, Sun Y, *et al.* Knockdown of KLK11 reverses oxaliplatin resistance by inhibiting proliferation and activating apoptosis via suppressing the PI3K/AKT signal pathway in colorectal cancer cell. *Onco Targets Ther.* 2018 Feb 16;11:809-821
- [13] Elhadidy MG, El Nashar EM, Alghamdi MA, *et al.* A novel gastroprotective effect of zeaxanthin against stress-induced gastritis in male rats targeting the expression of HIF-1 α , TFF-1 and MMP-9 through PI3K/Akt/JNK signaling pathway. *Life Sci.* 2021 May 15;273:119297
- [14] 王继国, 王虹园, 李婷. miR-509-3p 靶向 RAP2B 基因通过 PI3K/AKT 信号通路调控喉癌细胞增殖、迁移和侵袭[J]. *中国老年学杂志*, 2021, 41(22):5093-5098
- [15] 朱志明, 周绮纯, 王娟娟等. 山柰酚通过 Met/PI3K/Akt/mTOR 通路诱导非小细胞肺癌 NCI-H1650 细胞发生自噬进而影响其增殖[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2023, 30(11):965-972
- [16] Cui HY, Wang SJ, Song F, *et al.* CD147 receptor is essential for TFF3-mediated signaling

- regulating colorectal cancer progression. *Signal Transduct Target Ther.* 2021;6(1):268
- [17] Che Y, Shi X, Shi Y, *et al.* Exosomes derived from miR-143-overexpressing MSCs inhibit cell migration and invasion in human prostate cancer by down regulating TFF3 [retracted in: *Mol Ther Nucleic Acids.* 2022 Dec 16;31:28]. *Mol Ther Nucleic Acids.* 2019;18:232-244
- [18] 刘海梅, 于凤胜, 王文杰等. TFF3 过表达促进宫颈腺癌 HeLa 细胞增殖迁移侵袭功能及其机制研究[J]. *现代妇产科进展*, 2020, 29(06):456-459
- [19] Zhang M, Wang B, Chong QY, *et al.* A novel small-molecule inhibitor of trefoil factor 3 (TFF3) potentiates MEK1/2 inhibition in lung adenocarcinoma. *Oncogenesis*, 2019 Nov 4, 8(11):65
- [20] Fattahi S, Amjadi-Moheb F, Tabaripour R, *et al.* PI3K/AKT/mTOR signaling in gastric cancer: Epigenetics and beyond. *Life Sci*, 2020 Dec 1, 262:118513
- [21] Ediriweera MK, Tennekoon KH, Samarakoon SR. Role of the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway in ovarian cancer: Biological and therapeutic significance. *Semin Cancer Biol*, 2019 Dec, 59:147-160
- [22] Wylaż M, Kaczmarska A, Pajor D, *et al.* Exploring the role of PI3K/AKT/mTOR inhibitors in hormone-related cancers: A focus on breast and prostate cancer. *Biomed Pharmacother.* 2023;168:115676
- [23] Wang J, Hu K, Cai X, *et al.* Targeting PI3K/AKT signaling for treatment of idiopathic pulmonary fibrosis. *Acta Pharm Sin B*, 2022 Jan, 12(1):18-32
- [24] Xu F, Na L, Li Y, *et al.* Roles of the PI3K/AKT/mTOR signalling pathways in neurodegenerative diseases and tumours. *Cell Biosci*, 2020 Apr 1, 10(1):54 (通讯作者: 安淑红 E-mail:68279553@qq.com)

