

PI3K/Akt 信号转导通路与 Basal-like 型乳腺癌的分子治疗

PI3K/Akt Signaling Pathway and Molecular Therapy for Basal-like Breast Cancer
ZHOU Rui-juan, DU Hao-xin

周瑞娟, 杜好信
(厦门市中医院, 福建 厦门 361009)

摘要: 磷脂酰肌醇-3 激酶/蛋白激酶 B(PI3K/Akt)信号转导通路与肿瘤的发生、发展密切相关。研究表明,PI3K/Akt 信号通路的活化具有促进乳腺癌细胞增殖及减少细胞凋亡、分化的作用。基底细胞样(Basal-like)乳腺癌是乳腺癌的一种亚型,因其分子表型独特无明确的治疗靶点且恶性程度高、预后差。随着对 PI3K/Akt 信号转导通路及基底细胞样型乳腺癌发生、发展的研究不断深入,开发应用 PI3K/Akt 信号通路抑制剂可能为 Basal-like 型乳腺癌提供有效的分子治疗药物。

关键词: 磷脂酰肌醇 3-激酶;蛋白激酶 B;信号通路;基底细胞样型乳腺癌;抑制剂

中图分类号: R737.9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-0242(2013)02-0111-04

磷脂酰肌醇-3 激酶/蛋白激酶 B(phosphatidylinositol-3-kinases/protein kinase B, PI3K/Akt) 信号转导通路作为细胞内重要信号转导通路之一,通过影响下游多种效应分子的活化状态,在细胞内发挥着调控细胞增殖与凋亡的作用,与人类多种肿瘤的发生、发展密切相关^[1]。近年来研究发现,PI3K/Akt 信号通路对于乳腺癌的发生、血管生成及肿瘤细胞的侵袭、转移及拮抗放化疗和内分泌治疗中有着重要的意义^[2,3]。基底细胞样乳腺癌(Basal-like breast carcinoma, BLBC)是一种 ER、PR 及 Her-2 均不表达的分子亚型,恶性程度高、预后差。文献报道,Basal-like 型乳腺癌患者在 PI3K/Akt 通路上存在某些关键因子突变或缺失^[4,5],因此针对 PI3K/Akt 信号转导通路,寻求有效的分子治疗成为国内外乳腺癌研究的热点。

1 PI3K/Akt 信号转导通路的结构特点

PI3K/Akt 通路广泛存在于细胞中,是参与细胞生长、增殖、分化调节的信号转导通路。PI3K 是由 1

个催化亚基 p110 和 1 个调节亚基 p85 构成的异源二聚体。在哺乳动物中,根据不同的结构、作用物、分布、活化机制和功能的不同,PI3K 家族被分为 I、II、III 三类。其中 I A 类 PI3K(p110)由 RTKs(酪氨酸受体)激活,具有调节细胞增殖、生长、存活等功能^[6]。PI3K(p110 α)亚基与蛋白激酶具有同源性,本身既具有 Ser/Thr 激酶的活性,也具有磷脂酰肌醇激酶的活性。Akt,又称蛋白激酶 B(protein kinase B, PKB),是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶。Akt 的 PH 结构域在进化中高度保守,表明其可能具有重要的功能。PI3K 通过两种方式激活,一种是与具有磷酸化酪氨酸残基的生长因子受体或连接蛋白相互作用,引起二聚体构象改变而被激活;另一种是通过 Ras 和催化亚基 p110 直接结合导致 PI3K 的活化^[7]。PI3K 激活的结果是催化细胞膜上磷脂酰肌醇 4,5 二磷酸(PIP₂)磷酸化产生第二信使磷脂酰肌醇 3,4,5 三磷酸(PIP₃),PIP₃ 与细胞内含有 PH 结构域的信号蛋白 Akt 和 PDK1(phosphoinositide dependent kinase-1)结合,Akt 转位于细胞膜并获得催化活性,催化自身的 Ser124 和 Thr450 磷酸化,PDK1 能催化 Akt 蛋白的 Thr308 磷酸化,Akt 还可能通过 PDK2(如整合素连接激酶 ILK)对其 Ser473 的磷酸化导致 Akt 的完

收稿日期:2012-09-25;修回日期:2012-11-26
通讯作者:杜好信,E-mail: 168dhx@163.com

全活化^[8,9],对细胞周期、细胞凋亡和血管新生等产生调节作用。

PI3K/Akt 信号转导通路受抑癌基因 *PTEN* 的调节。*PTEN* 基因 (phosphatase and tensin homologue deleted on chromosome ten) 是 1997 年发现的抑癌基因,编码的 *PTEN* 蛋白是至今为止发现的第一个具有蛋白质和脂类双重特异性磷酸酶活性的抑癌因子,可以使酪氨酸、丝/苏氨酸残基脱磷酸,从而抑制 Akt 的活化。*PTEN* 通过使 PIP3 在 3' 羧基位脱磷酸生成 PIP2,拮抗 PI3K 的活性,从而实现 PI3K/Akt 通路的负调控。另外它还特异性诱导细胞周期素依赖激酶 (cyclin dependent kinases, CDKs) 抑制因子,并通过 GSK-3 途径降解 cyclin D1,使细胞停滞于 G₁ 晚期。*PTEN* 功能的丧失引起第二信使 PIP3 的大量聚集,过度激活下游通路,赋予细胞癌的特性^[10]。*PTEN* 基因的突变或缺失见于多种肿瘤,正常乳腺腺泡上皮细胞和导管上皮细胞的胞质中有较强的 *PTEN* 蛋白表达。在肿瘤细胞上,转染 *PTEN* 基因具有抑制细胞生长、促进细胞凋亡及引起细胞周期发生阻滞的作用^[11]。

2 PI3K/Akt 信号通路与 Basal-like 型乳腺癌

乳腺癌是一类高度异质性的恶性肿瘤,编码 PI3K (p110 α) 的 *PIK3CA* 基因突变、抑癌基因 *PTEN* 的缺失和突变及 Akt 的异常活化不仅与肿瘤发生相关,而且与肿瘤的恶性度、转移率都有着密切的关系^[12,13]。有文献报道,活化的 Akt 能够与其他肿瘤基因协同作用从而引起并加强、加速乳腺肿瘤发生^[14]。

Basal-like 型乳腺癌是具有基底细胞基因表型和形态特点,并不同程度地表达基底细胞角蛋白和(或)肌上皮标志物的乳腺癌,其恶性度高,侵袭性强,临床预后差^[5,15]。研究证实,在一系列内外因素的作用下,PI3K/Akt 信号转导通路在促进乳腺癌发生发展的各信号传导网络中起到关键作用^[16,17],通过影响下游因子表达,主要包括 GSK-3、IRS-1、PDE-3B (phosphodiesterase-3B)、BAD、caspase-9、叉头转录因子、NF- κ B、mTOR、eNOS、Raf 蛋白激酶、BRCA1 及 p21^{Gp1/WAF1} 等^[18],在诱导乳腺癌细胞恶性增殖、血管新生和转移以及肿瘤细胞逃避抗癌药物的杀伤过程

中起到了极其重要的作用^[19]。临床研究显示,Basal-like 型乳腺癌中 *PIK3CA* 的突变率比激素受体阳性的乳腺癌少^[13]; *PTEN* 的阳性表达率明显低于非特殊类型浸润性导管癌,Akt 活化的水平明显高于其他类型乳腺癌,*PTEN* 表达与 Akt 的磷酸化水平呈明显的负相关^[20],可见 *PTEN* 表达缺失和 Akt 磷酸化参与了 Basal-like 型乳腺癌的发生和发展。

3 PI3K/Akt 信号通路抑制剂治疗 Basal-like 型乳腺癌现状

激活 PI3K/Akt 信号通路,可引起乳腺癌细胞发生一系列生物学改变,包括细胞代谢变化、基因表达改变、蛋白合成变化等^[19],主要表现为抑制乳腺癌细胞凋亡、影响细胞周期和促进肿瘤生长等^[21]。PI3K/Akt 信号通路的各种抑制剂的出现为临床肿瘤防治提供了新的思路^[22,23],针对 PI3K/Akt 信号转导途径中的关键靶点治疗已经成为 Basal-like 型乳腺癌治疗的重要策略之一。

渥曼霉素 (wortmanin, WM) 和 2-(4-吗啉基)-8-苯基-4 氢-1-苯并吡喃-4-酮 (LY294002) 已被确认其药理特性主要是抑制 PI3K 活性,可通过抑制 DNA-PK 和 ATM 的活性,增加细胞放射敏感性,DNA-PK 和 ATM 蛋白激酶功能区域的氨基酸序列均与 PI3K 有着相关性^[24],但因具有细胞毒性,目前临床应用受限。Wortmanin 和 LY294002 是结构明显不同的两种复合物,工作浓度差异较大。LY294002 的工作浓度较 Wortmanin 大,但是其在溶液中的稳定性较 Wortmanin 强,因此 LY294002 作为 PI3K 的抑制剂已广泛用于细胞生物学研究。有研究发现,Wortmanin 能够阻断 Basal-like 型乳腺癌细胞中孕酮对上皮间质化 (EMT) 的抑制作用,补充解释了 Basal-like 型乳腺癌的发病机制,并为寻求靶向治疗提供新的线索^[25]。LY294002 能有效抑制体内外乳腺癌细胞生长,阻滞细胞生长周期,并且发现 *PTEN* 缺失者较 *PIK3CA* 突变者更加敏感^[13];相反的是,靶向下游 mTOR 的抑制剂雷帕霉素 (rapamycin) 的敏感性对 *PTEN* 缺失者较 *PIK3CA* 突变不敏感^[26];LY294002 有抑制 Basal-like 型乳腺癌细胞生长的效应,但因其代谢快,单独应用不能导致细胞凋亡或死亡,并且较低剂量时仅能使极少量的 Akt 去磷酸化而失活,与

MEK 抑制剂联合应用可以提高疗效,从而更好地抑制增殖^[27,28];Basal-like 型乳腺癌细胞对于小分子 MEK(丝裂原活化蛋白激酶/细胞外信号调节激酶)抑制剂尤其敏感,发现其机制主要是基于靶向 MEK 和 PI3K 产生的协同作用来阻断 MEK-EGFR-PI3K 反馈机制,诱导凋亡和细胞周期阻滞^[15]。LY294002 或 Wortmannin 与常规放化疗联合应用具有协同作用并可减少毒性作用。对标准方案产生耐药的 Basal-like 型乳腺癌患者可以考虑联合应用 PI3K 抑制剂^[29]。

在 PI3K/Akt 信号通路中,磷酸化的 Akt(pAkt)也是一个很好的分子靶点,它处于此通路的上游,可以活化下游分子,促进乳腺癌的发展、使传统的治疗产生耐药^[30]。大约 58% 的乳腺癌组织中 pAkt 被过度活化,并且 her-2 过表达的肿瘤表达高水平的 pAkt。最早发现的 Akt 的抑制剂为抗炎药物塞来考昔,它一开始被认为是较好的抑制 Akt 活性的药物,但后来发现它在体内浓度较低,不能有效抑制乳腺癌中 Akt 的活性^[31]。塞来考昔的衍生物 OSU03012 和 OSU03013 在较低的浓度就能抑制 PDK-1 激酶的活性,抑制 Akt 的磷酸化^[32],能够有效地抑制癌细胞生长,并能够达到在体内发挥作用的有效浓度。这两种化合物不仅抑制 Akt 的磷酸化,而且能够抑制 Akt 的下游 GSK-3 磷酸化^[33]。PI3K 通路中多种分子的活性都可以被这两种化合物抑制,从而引起乳腺癌细胞的死亡,降低细胞的增殖率。Kucab 等^[34]发现 OSU03012 在抑制 Akt 方面表现出更高的专一性,并且表明 OSU03012 在体内具有很高的生物活性,毒副作用较低;可能是通过下调 Basal-like 型乳腺癌细胞 RANK 和 RANKL 表达从而发挥抑制细胞迁移的作用^[35]。

靶向下游 mTOR 的信号通路抑制剂为雷帕霉素(rapamycin),能够阻止 CDK(cyclin dependent kinase)的活化,抑制 Rb 蛋白的磷酸化,促进 cyclin D1 mRNA 和蛋白的降解,使得细胞周期停留在 G₁ 期,引起细胞凋亡,并且抑制肿瘤血管的形成^[22,36]。但其水溶性和化学稳定性都较差,所以限制了其作为抗癌药物的应用。雷帕霉素的衍生物以具有较好的药理学特性而得到深入研究,包括 CCI2779、RAD001 和 AP23573 等^[36]。在 Basal-like 型乳腺癌细胞中,雷帕霉素与顺铂联合可产生协同作用,这一协

同作用可能是通过由 p73 基因介导^[37];雷帕霉素联合环磷酰胺可以抑制肿瘤生长和转移,这种抗癌效应与癌细胞微环境密切相关;在相对缺氧的环境 HIF-1 α 可能参与调解,从而抑制 Akt 的活化反馈起到抗癌作用^[36]。

4 问题与展望

Basal-like 型乳腺癌中 PI3K/Akt 信号转导通路上关键基因发生突变或异常,针对这一信号转导通路探寻有效的分子治疗药物成为重要的研究方向。虽然目前针对 PI3K/Akt 信号传导途径的乳腺癌分子诊断、靶向药物和个性化治疗尚处于初步研究阶段,临床应用仍需克服很多困难,但其明确的效应已得到众多研究者的证实。随着基础和临床研究的深入,有望为 Basal-like 型乳腺癌患者寻求一种有效的治疗手段,使其从分子靶向治疗中获益。

参考文献:

- [1] Freson Vara JA, Casado E, de Castro J, et al. PI3K/Akt signaling pathway and cancer [J]. *Cancer Treat Rev*, 2004, 30(2): 193-204.
- [2] McAuliffe PF, Meric-Bernstam F, Mills GB, et al. Deciphering the role of PI3K/Akt/mTOR pathway in breast cancer biology and pathogenesis [J]. *Clin Breast Cancer*, 2010, 10 (Suppl 3): S59-S65.
- [3] Tokunaga E, Kimura Y, Mashino K, et al. Activation of PI3K/Akt signaling and hormone resistance in breast cancer [J]. *Breast Cancer*, 2006, 13(2): 137-144.
- [4] Lopez-Knowles E, O'toole SA, Mcneil CM, et al. PI3K pathway activation in breast cancer is associated with the basal-like phenotype and cancer-specific mortality [J]. *Int J Cancer*, 2010, 126(5): 1121-1131.
- [5] Moulder SL. Does the PI3K pathway play a role in basal breast cancer? [J]. *Clin Breast Cancer*, 2010, 10 (Suppl 3): 66-71.
- [6] Luo J, Sobkiw CL, Hirshman MF, et al. Loss of class IA PI3K signaling in muscle leads to impaired muscle growth, insulin response, and hyperlipidemia [J]. *Cell Metab*, 2006, 3(5): 355-366.
- [7] Osaki M, Oshimura M, Ito H. PI3K-Akt pathway: its functions and alterations in human cancer [J]. *Apoptosis*, 2004, 9(6): 667-676.
- [8] Edwards LA, Thiessen B, Dragowska WH, et al. Inhibition of ILK in PTEN-mutant human glioblastomas inhibits PKB/Akt activation, induces apoptosis, and delays tumor

- growth [J]. *Oncogene*, 2005, 24(22): 3596–3605.
- [9] Song G, Ouyang G, Bao S. The activation of Akt/PKB signaling pathway and cell survival[J]. *J Cell Mol Med*, 2005, 9(1): 59–71.
 - [10] Okumura K, Zhao M, Depinho RA, et al. PTEN: a novel anti-oncogenic function independent of phosphatase activity [J]. *Cell Cycle*, 2005, 4(4): 540–542.
 - [11] Chen Z, Trotman LC, Shaffer D, et al. Crucial role of p53-dependent cellular senescence in suppression of PTEN-deficient tumorigenesis [J]. *Nature*, 2005, 436(7051): 725–730.
 - [12] Bader AG, Kang S, Vogt PK. Cancer-specific mutations in PIK3CA are oncogenic in vivo [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006, 103(5): 1475–1479.
 - [13] Stemke-Hale K, Gonzalez-Angulo AM, Lluch A, et al. An integrative genomic and proteomic analysis of PIK3CA, PTEN, and AKT mutations in breast cancer[J]. *Cancer Res*, 2008, 68(15): 6084–6091.
 - [14] Blanco-Aparicio C, Renner O, Leal JF, et al. PTEN, more than the AKT pathway [J]. *Carcinogenesis*, 2007, 28(7): 1379–1386.
 - [15] Mirzoeva OK, Das D, Heiser LM, et al. Basal subtype and MAPK/ERK kinase (MEK)-phosphoinositide 3-kinase feedback signaling determine susceptibility of breast cancer cells to MEK inhibition[J]. *Cancer Res*, 2009, 69(2): 565–572.
 - [16] Bachman KE, Argani P, Samuels Y, et al. The PIK3CA gene is mutated with high frequency in human breast cancers [J]. *Cancer Biol Ther*, 2004, 3(8): 772–775.
 - [17] Chua BT, Gallego-Ortega D, Ramirez de Molina A, et al. Regulation of AKT (ser473) phosphorylation by choline kinase in breast carcinoma cells[J]. *Mol Cancer*, 2009, 8:131.
 - [18] Paez J, Sellers WR. PI3K/PTEN/AKT pathway. A critical mediator of oncogenic signaling[J]. *Cancer Treat Res*, 2003, 115:145–167.
 - [19] Jiang BH, Liu LZ. PI3K/PTEN signaling in angiogenesis and tumorigenesis [J]. *Adv Cancer Res*, 2009, 102:19–65.
 - [20] Marty B, Maire V, Gravier E, et al. Frequent PTEN genomic alterations and activated phosphatidylinositol 3-kinase pathway in basal-like breast cancer cells [J]. *Breast Cancer Res*, 2008, 10(6): R101.
 - [21] Kong D, Yamori T. Phosphatidylinositol 3-kinase inhibitors: promising drug candidates for cancer therapy [J]. *Cancer Sci*, 2008, 99(9): 1734–1740.
 - [22] Baselga J. Targeting the phosphoinositide-3 (PI3) kinase pathway in breast cancer[J]. *Oncologist*, 2011, 16(Suppl 1):12–19.
 - [23] Hernandez-Aya LF, Gonzalez-Angulo AM. Targeting the phosphatidylinositol 3-kinase signaling pathway in breast cancer [J]. *Oncologist*, 2011, 16(4): 404–414.
 - [24] Newton HB. Molecular neuro-oncology and development of targeted therapeutic strategies for brain tumors. Part 2: PI3K/Akt/PTEN, mTOR, SHH/PTCH and angiogenesis [J]. *Expert Rev Anticancer Ther*, 2004, 4(1): 105–128.
 - [25] Zuo L, Li W, You S. Progesterone reverses the mesenchymal phenotypes of basal phenotype breast cancer cells via a membrane progesterone receptor mediated pathway [J]. *Breast Cancer Res*, 2010, 12(3): R34.
 - [26] Weigelt B, Warne PH, Downward J. PIK3CA mutation, but not PTEN loss of function, determines the sensitivity of breast cancer cells to mTOR inhibitory drugs [J]. *Oncogene*, 2011, 30(29):3222–3233.
 - [27] Jang K, Kim M, Seo HS, et al. PTEN sensitizes MDA-MB-468 cells to inhibition of MEK/Erk signaling for the blockade of cell proliferation [J]. *Oncol Rep*, 2010, 24(3): 787–793.
 - [28] Rexer BN, Ghosh R, Arteaga CL. Inhibition of PI3K and MEK: it is all about combinations and biomarkers[J]. *Clin Cancer Res*, 2009, 15(14): 4518–4520.
 - [29] Hoefflich KP, O'Brien C, Boyd Z, et al. In vivo antitumor activity of MEK and phosphatidylinositol 3-kinase inhibitors in basal-like breast cancer models[J]. *Clin Cancer Res*, 2009, 15(14): 4649–4664.
 - [30] Lacerda L, Pusztai L, Woodward WA. The role of tumor initiating cells in drug resistance of breast cancer: Implications for future therapeutic approaches [J]. *Drug Resist Updat*, 2010, 13(4–5): 99–108.
 - [31] Hsu AL, Ching TT, Wang DS, et al. The cyclooxygenase-2 inhibitor celecoxib induces apoptosis by blocking Akt activation in human prostate cancer cells independently of Bcl-2[J]. *J Biol Chem*, 2000, 275(15): 11397–11403.
 - [32] Lee TX, Packer MD, Huang J, et al. Growth inhibitory and anti-tumour activities of OSU-03012, a novel PDK-1 inhibitor, on vestibular schwannoma and malignant schwannoma cells[J]. *Eur J Cancer*, 2009, 45(9): 1709–1720.
 - [33] Carraway H, Hidalgo M. New targets for therapy in breast cancer: mammalian target of rapamycin (mTOR) antagonists[J]. *Breast Cancer Res*, 2004, 6(5): 219–224.
 - [34] Kucab JE, Lee C, Chen CS, et al. Celecoxib analogues disrupt Akt signaling, which is commonly activated in primary breast tumours[J]. *Breast Cancer Res*, 2005, 7(5): 796–807.
 - [35] Tang ZN, Zhang F, Tang P, et al. Hypoxia induces RANK and RANKL expression by activating HIF-1 α in breast cancer cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2011, 408(3): 411–416.
 - [36] Zeng Q, Yang Z, Gao YJ, et al. Treating triple-negative breast cancer by a combination of rapamycin and cyclophosphamide: an in vivo bioluminescence imaging study[J]. *Eur J Cancer*, 2010, 46(6): 1132–1143.
 - [37] Wong SW, Tiong KH, Kong WY, et al. Rapamycin synergizes cisplatin sensitivity in basal-like breast cancer cells through up-regulation of p73[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2010, 128(2): 301–313.