

## · 综 述 ·

## PI3K-Akt 信号通路与肿瘤细胞凋亡关系的研究进展

黄秀兰<sup>1,2</sup>, 崔国辉<sup>1</sup> 综述; 周克元<sup>1</sup> 审校

## Correlation of PI3K-Akt Signal Pathway to Apoptosis of Tumor Cells

HUANG Xiu-Lan<sup>1,2</sup>, CUI Guo-Hui<sup>1</sup>, ZHOU Ke-Yuan<sup>1</sup>

[ABSTRACT] PI3K-Akt signal pathway is an important intracellular signal transduction pathway. It plays important roles in cell apoptosis and survival by affecting the activity of downstream effector molecules, and it is closely associated with the development and progression of human tumors, therefore, PI3K and Akt might be potential targets for tumor therapy. This article reviewed recent progress on the composition, function, regulation and anti-apoptosis of PI3K-Akt signal pathway, and discussed its potential application to tumor gene therapy.

KEYWORDS: PI3K-Akt; Signal transduction; Apoptosis; Neoplasm; Targeted therapy

1. 广东医学院  
生物化学与分子生物学研究所,  
广东 湛江 524023  
2. 广东医学院  
附属医院儿科研究室,  
广东 湛江 524001

1. Institute of Biochemistry and  
Molecular Biology,  
Guangdong Medical College,  
Zhanjiang, Guangdong, 524023,  
P. R. China  
2. Laboratory of Pediatrics,  
Affiliated Hospital,  
Guangdong Medical College,  
Zhanjiang, Guangdong, 524001,  
P. R. China

通讯作者: 周克元

Correspondence to: ZHOU Ke-Yuan

Tel: 86-759-2388301

E-mail: kyz@gdmc.edu.cn

基金项目: 国家自然科学基金  
(No. 30672741)

Grant: National Natural Science  
Foundation of China  
(No. 30672741)

收稿日期: 2007-04-17

修回日期: 2007-07-02

【摘 要】 PI3K-Akt 信号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, 在细胞内发挥着抑制凋亡、促进增殖的关键作用, 它与人类多种肿瘤的发生发展密切相关。本文综述了 PI3K-Akt 信号通路的组成与功能、调节以及其抗肿瘤细胞凋亡作用机理等方面的研究进展, 并就其抗细胞凋亡作用在肿瘤治疗中的应用作了评述, 期待为以 PI3K-Akt 信号通路中关键分子为靶点的肿瘤治疗研究提供参考。

关键词: PI3K-Akt; 信号转导; 细胞凋亡; 肿瘤; 靶向治疗

中图分类号: R73.3 文献标识码: A

文章编号: 1000-467X(2008)03-0331-06

细胞凋亡是机体细胞在正常生理或病理状态下发生的一种自发的、程序化的死亡过程, 它的发生受到机体的严密调控。目前认为, 细胞内的基因直接控制着细胞凋亡的发生和发展, 而细胞外部因素通过信号转导影响这些细胞内基因的表达或其表达产物的活化, 从而间接地调控细胞凋亡。细胞凋亡异常与多种疾病的发生发展有着直接的联系, 包括肿瘤、病毒性疾病及多种退行性病变。研究表明, 组成性活化的 PI3K-Akt 信号通路在广泛的人类肿瘤谱中失调, 如卵巢癌<sup>[1]</sup>, 乳腺癌<sup>[1]</sup>, 恶性胶质瘤<sup>[2]</sup>, 子宫内膜癌<sup>[3]</sup>, 成神经管细胞瘤<sup>[4]</sup>, 鼻咽癌<sup>[5]</sup>, 骨髓增生异常综合征<sup>[6]</sup>等。其主要是由于 PIK3CA 基因编码的 PI3K 扩增和/或其他多种因素导致的 Akt 的过度活化<sup>[7]</sup>, 或者是该通路某些调控成分如 PTEN 的突变所导致的功能缺失<sup>[4]</sup>。目前, 以 PI3K-Akt 信号通路中组成性活化的关键分子为

靶点的肿瘤治疗研究正在深入<sup>[8]</sup>。

## 1 PI3K-Akt 信号通路的组成与功能

3-磷酸肌醇激酶(phosphoinositide 3-kinase, PI3K) 家族成员属于原癌基因, 是肌醇与磷脂酰肌醇(phosphatidylinositol, PI) 的重要激酶, 正常情况下, 由其活化而产生的类脂产物有 3, 4-二磷酸磷脂酰肌醇[PI(3, 4)P<sub>2</sub>]、3, 5-二磷酸磷脂酰肌醇[PI(3, 5)P<sub>2</sub>]和 3, 4, 5-三磷酸磷脂酰肌醇[PI(3, 4, 5)P<sub>3</sub>]。PI(3, 4, 5)P<sub>3</sub> 作为细胞内的第二信使, 是 Akt(又名蛋白激酶 B, PKB) 转位于胞膜并被活化所必需的。PI3K 与 Akt 组成的 PI3K-Akt 信号通路在细胞的增殖和存活中起着重要的作用<sup>[9]</sup>。

PI3K 是一种可使肌醇环第三位羟基磷酸化的磷脂酰肌醇激酶。已发现三种 PI3K 同工酶, 其中研究最广泛的

是能被细胞表面受体所激活的型 PI3K, 它是由一个催化亚基和一个调节亚基组成的异源二聚体。哺乳动物细胞中型 PI3K 的催化亚基又分为 A 和 B 两个亚型, 它们分别从酪氨酸激酶连接受体和 G 蛋白连接受体传递信号。A 型 PI3K 是由催化亚单位 p110 和调节亚单位 p85 所组成的异二聚体蛋白, 具有磷脂酰肌醇激酶和丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶的双重活性。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 p110 直接结合导致 PI3K 的活化<sup>[9]</sup>。PI3K 激活的结果是在质膜上产生第二信使 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 的完全活化<sup>[10, 11]</sup>。

Akt 是分子量约为 57 ku 的丝/苏氨酸蛋白激酶, 哺乳动物中的 Akt 是病毒原癌基因 v-Akt 的同源物。Akt 家族的成员有 Akt1、Akt2、Akt3 三个亚型, 又分别称为 PKB $\alpha$ 、PKB、PKB。Sale 等<sup>[12]</sup>利用亚型特异的反义寡核苷酸探针策略对 Akt 及其三个亚型的功能进行研究, 发现三个 Akt 亚型均参与下游底物的活化, 其中以 Akt2 的作用为主。Akt 的三个亚型在氨基酸序列上有 80% 以上的同源性, 而且它们在结构方面很相似, 均有三个不同的功能区域的共同结构特征。一是氨基末端的 PH 区域, 包括约 100 个氨基酸序列和类似于其他信号分子的 3 磷酸肌醇结合区域, 它能调节蛋白质-蛋白质和蛋白质-脂质的相互作用; 二是重要的激酶区位于 Akt 分子的中央区, 与 PKA、PKC 有高度的相似性, 该区域的 308 位点还包含有 Akt 部分活化所必需的苏氨酸; 三是羧基末端的调节区, 约有 40 个氨基酸序列, 其中包含有疏水基序 F-X-X-F/Y-S/T-Y/F(X 是任意氨基

酸), 是蛋白激酶的一个特征, 该区域中丝/苏氨酸残基的磷酸化是 Akt 完全活化所必需的。PI3K 激活的 Akt 可以通过磷酸化作用激活或抑制其下游靶蛋白 Bad、Caspase9、NF- $\kappa$ B、Forkhead、mTOR、Par-4、P21 等, 而介导胰岛素、多种生长因子等诱发的细胞生长, 经多种途径促进细胞存活, 是重要的抗凋亡调节因子<sup>[11]</sup>。

## 2 PI3K-Akt 信号通路的调节

PI3K-Akt 信号通路是受多因素调节的, 其负反馈主要由类脂磷酸酶 PTEN (phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten) 和 SHIP2 (SH2-containing inositol 5-phosphatase) 调节的, 它们分别从 PIP3 的 3 和 5 去除磷酸而将其转变成 PI (4, 5) P2 和 PI (3, 4) P2 而降解, 从而阻断 Akt 及其下游效应分子的有效活化<sup>[13]</sup>。因此, 提高磷酸酶 PTEN 或 SHIP2 的活性能够消除 PI3K-Akt 信号通路的抗细胞凋亡作用。此外, PI3K-Akt 信号通路的抗细胞凋亡作用还受到其他一些细胞特异的酶或蛋白的影响。最近 Wang 等<sup>[14]</sup>研究证明, 在 PC12 细胞中存在一种神经内分泌相关的磷酸酶 (NEAP), 它能够抑制 PI3K 调节亚基 P85 的磷酸化, 负调节 PI3K-Akt 信号通路, 但其具体机制尚需进一步研究。Maira 等的研究已表明 Akt 能被一种 C 末端调节蛋白 (CTMP) 所灭活, CTMP 能结合 Akt 并通过抑制 Akt 的磷酸化而阻断下游信号的传递, CTMP 的过表达能够逆转 v-Akt 转化细胞的表型<sup>[15, 16]</sup>。蛋白磷酸酶 2A (PP2A) 能够使 Akt 的 Ser473 位点去磷酸化而使其失活, 但人乳头瘤病毒癌蛋白 (E7) 和热休克蛋白 90 (HSP90) 能够与 Akt 结合, 阻止 Akt 被 PP2A 磷酸酶的去磷酸化, 具有保护 Akt 的作用<sup>[18, 19]</sup>。脂肪酸合酶 (Fas) 在人类的大部分肿瘤细胞中高表达<sup>[20]</sup>。Wang 等<sup>[21]</sup>研究发现在人卵巢癌细胞中, PI3K-Akt 信号通路中 Akt 的活化能调节 Fas 的表达, 而 Fas 又能正反馈调节 PI3K-Akt 信号通路。当用 Fas 的抑制剂 C75 抑制 FAS 的活性时, 能下调 Akt 的活化, 促进癌细

胞的凋亡。但具体的机制尚不清楚。

## 3 PI3K-Akt 信号通路 with 细胞凋亡

### 3.1 PI3K-Akt 信号通路抗细胞凋亡的机理

近年来研究表明, PI3K-Akt 能经多种途径抑制细胞凋亡, 促进细胞存活。PI3K-Akt 信号通路抗细胞凋亡的机制主要有: 直接调节作用。哺乳动物细胞的细胞凋亡是多级联反应的过程。BAD 是 Bcl-2 家族成员之一, 可与 Bcl-2 或 Bcl-xl 形成复合体而表现促凋亡活性。BAD 的功能受它的 Ser112 和 Ser136 位点磷酸化所调节。BAD 一旦磷酸化, 磷酸化的 BAD 能与伴侣蛋白 (Chaperone) 14-3-3 蛋白结合, 从而阻断 BAD 与 Bcl-2/或 Bcl-xl 形成二聚体, 使 BAD 不能发挥促细胞凋亡作用。Akt 是强有力的 BAD 激酶, 活化的 Akt 可以使 BAD 的 Ser136 位点磷酸化, 有效阻断 BAD 诱导的细胞凋亡。当用特异的 PI3K 抑制剂 wortmannin 和 LY294002 处理后, Akt 引起的 BAD 磷酸化受阻<sup>[11]</sup>。Akt 也能磷酸化 Bcl-2 家族成员 BAX 的 Ser184 位点, 负调控促凋亡功能<sup>[22]</sup>。促凋亡相关因子如半胱天冬酶 caspase-9 是细胞凋亡的启动者和效应者。活化的 Akt 可以使 caspase-9 Ser196 位点磷酸化而失活, 抑制其促凋亡作用<sup>[11]</sup>。Par-4 是一种促凋亡蛋白, Goswami 等<sup>[23]</sup>研究表明, Akt 能结合并磷酸化 Par-4, 从而灭活 Par-4 的促凋亡作用。通过 PI3K 抑制剂 PTEN、LY294002 或 DN-Akt1 等直接或间接抑制 Akt 的活性, 能够解除 Akt 对 Par-4 促凋亡作用的抑制, 增加肿瘤细胞的凋亡, 而且研究还表明, 这种凋亡是 Par-4 依赖性的。通过直接或间接影响转录因子家族 (Forkhead、NF- $\kappa$ B、p53 等) 发挥细胞存活调控作用。叉头转录因子 (Forkhead or FoxO) 家族成员的 4 个亚型 (FKHR/FoxO1、FoxO2、FKHRL1/FoxO3 和 AFX/FoxO4) 均能被 Akt 直接磷酸化, 磷酸化后的 Forkhead 蛋白能抑制促凋亡基因的转录功能, 负调节凋亡促进信号, 促进细胞存活。Forkhead 蛋白的靶基因是包括胞外的配体 FasL、TRAIL、TRADD 和胞内的凋亡组分 Bim、Bcl-6<sup>[24]</sup>。磷酸化的

Forkhead 家族转录因子能降低 FasL 的表达,从而减少细胞凋亡。在肿瘤细胞中,NF- $\kappa$ B 的典型功能是抗凋亡,从而赋予肿瘤细胞存活的优势。NF- $\kappa$ B 的活性依赖于 I $\kappa$ B 激酶(IKK)复合体的磷酸化和 I $\kappa$ B 的失调。Vandermore 等<sup>[26]</sup>研究证明 Akt 能够直接或间接调节 IKK 的活性,导致 NF- $\kappa$ B 的核转位、活化和 NF- $\kappa$ B 依赖的促进存活基因的转录。Akt 使 NF- $\kappa$ B 磷酸化后,激活它的转录功能,使促进细胞存活的 Bcl-2 家族成员 Bcl-xl 表达增强,从而促进细胞存活,当用特异的 PI3K 抑制剂 wortmannin 和 LY294002 处理后,NF- $\kappa$ B 的活化受到抑制。另外,Akt 同时还能使 NF- $\kappa$ B 的抑制酶 I $\kappa$ Ba 磷酸化,使 NF- $\kappa$ B 进入核内,调节抗凋亡基因的转录<sup>[26]</sup>。P53 是一个重要的介导 DNA 损伤引起的细胞凋亡的蛋白,其水平和功能能够被 MDM2 泛素连接酶抑制。MDM2 是 P53 的一种负性调节蛋白,能够结合 P53 蛋白,使 P53 的转录调节功能失活。Akt 能结合 MDM2 并磷酸化其 Ser166 和 Ser186 位点,诱导核输入或上调泛素连接酶的活性,进而促进 P53 的失活或降解,阻断 P53 介导的促凋亡转录反应<sup>[27,28]</sup>。YAP 是转录辅激活因子,它能够与核蛋白 P73 相互作用,并增强由于 DNA 损伤介导的 P73 依赖型凋亡,用特异的 siRNA 沉默 YAP 基因,能够延缓或减少 P73 介导的凋亡<sup>[29]</sup>。YAP 是近年来才被证明的 Akt 的底物,Akt 能够磷酸化 YAP 的 Ser127 位点,磷酸化的 YAP 是 P73 转录活性介导的凋亡抑制因子<sup>[30]</sup>。通过调节细胞周期影响细胞增殖。哺乳类动物雷帕霉素(the mammalian target of rapamycin, mTOR)是 Akt 下游的一个重要作用靶点,能够被 Akt 磷酸化激活,通过调控核糖体激酶 p70<sup>s6k</sup>(ribosomal S6-kinase, RSK)和 4E-BP-1 两条不同的下游通路,分别控制特定亚组分 mRNA 的翻译,进而调节蛋白质的合成,影响细胞的增殖。研究表明,mTOR 的活性能够被 PI3K 的抑制剂 wortmannin 和 LY294002 所抑制,抑制 mTOR 能够阻断其下游的 p70s6k 与 4E-BP-1 的信号通路,阻滞细胞周期在 G<sub>1</sub> 期,导致细胞生长停滞<sup>[31]</sup>。防止

线粒体释放凋亡因子。线粒体可释放细胞色素 c 及凋亡诱导因子,Akt 可阻止其释放从而起到抗细胞凋亡的作用<sup>[32,33]</sup>。

### 3.2 以 PI3K-Akt 信号通路分子为靶点的肿瘤治疗策略

近年来研究表明,PI3K-Akt 信号通路在多种肿瘤的发生发展中起着重要作用。PI3K-Akt 主要是通过影响其下游的多种效应分子而发挥其抗凋亡作用的。目前,通过基因干预方法敲除或小分子药物抑制 PI3K、Akt 及相关基因,阻断其对下游多种抗凋亡效应分子的活化,促进细胞凋亡已经成为肿瘤治疗研究的焦点。

#### 3.2.1 RNA 干扰技术

RNA 干扰(RNAi)是指生物体内利用双链 RNA(dsRNA)诱导同源靶基因的 mRNA 特异性降解,从而导致转录后基因沉默的现象。RNAi 主要通过核酸酶 Dicer 切割 dsRNA 生成 21-23nt 的小干扰 RNA(siRNA),继而由 siRNA 识别并靶向降解同源靶基因 mRNA,从而抑制靶基因的蛋白表达。PI3K-Akt 信号通路在乳腺癌的发生发展中起着重要作用,PI3K 的过表达与乳腺癌的恶性程度有关。PI3K-Akt 通路的活化能够抑制 FoxO 转录因子介导的细胞生长停滞和细胞凋亡。Reagan-shaw 等<sup>[34]</sup>研究表明,利用 RNAi 降低乳腺癌细胞中 PI3K 的表达,FoxO 转录因子活化增强,能够消除 PI3K-Akt 通路对 FoxO 转录因子介导的细胞生长停滞和细胞凋亡的抑制,促进癌细胞的凋亡;研究还发现,在雌激素受体 ER $\alpha$  阳性的乳腺癌细胞中,FoxO 转录因子的活化能够抑制 CDK4、CDK6、cyclin D1 的蛋白水平,p27<sup>Kip1</sup> 累积,导致细胞周期阻滞在 G<sub>1</sub> 期。TRAIL 是肿瘤坏死因子 TNF 家族的成员,是 PI3K-Akt 信号通路下游分子 Forkhead 的靶基因。TRAIL 能够选择性地诱导肿瘤细胞凋亡,在人结肠癌细胞株 KM20 和 KM12C 由于 PI3K-Akt 信号通路的激活,却能抑制 TRAIL 诱导的凋亡。使用针对 PI3K p85 调节亚单位和 Akt1 的 siRNA 和 TRAIL 联合治疗结肠癌,凋亡细胞的数量明显多于单独应用 TRAIL。而且 Akt1 siRNA 介导的 PI3K 通路的抑制

导致 TRAIL 死亡受体 4 和 5 增加。RNAi 在抑制 PI3K-Akt 的同时诱导 TRAIL 死亡受体表达,使抵抗性结肠癌细胞对 TRAIL 诱导的细胞死亡更加敏感<sup>[35]</sup>。编码 PI3K p100 催化亚单位的 PIK3CA 基因在大多数的人类肿瘤中发生突变。最近,Wang 等<sup>[36]</sup>研究发现 PIK3CA 基因突变型的结肠癌细胞株由于 PI3K-Akt 信号通路的激活,其能抵抗由生长因子缺乏诱导的细胞凋亡,对 PI3K 的抑制剂 LY294002 高度敏感,而且,PIK3CA 特异的 siRNAs 能够显著减少 DNA 的合成和/或诱导细胞凋亡。而 PIK3CA 基因野生型的结肠癌细胞株却没有表现出明显的 PI3K 活性,其虽然对 PI3K 的抑制剂 LY294002 诱导的生长抑制高度敏感,但对于 PI3K 抑制诱导的凋亡却不敏感,如果将突变型的 PIK3CA 基因转染至野生型的结肠癌细胞株后也能获得与 PIK3CA 基因突变型的结肠癌细胞株相同的特性。PI3K 特异性的 siRNA 除可降低体外结肠癌细胞的活力,还可抑制体内转移性结肠癌的生长<sup>[8]</sup>。Evi1 在肠上皮细胞和结肠癌中作为一个生存基因发挥作用,可活化 PI3K-Akt 信号通路,对生理性和治疗性凋亡刺激有不同程度的抵抗性。Evi1 在人结肠癌细胞中过表达,这种过表达与其扩增有关。利用特异的 siRNA 敲除人结肠癌细胞系 HT-29 的 Evi1 后,能抑制 Akt 的磷酸化并增加癌细胞对红杉醇介导的细胞凋亡的敏感性<sup>[37]</sup>。由此可见,对于 PI3K-Akt 相关的肿瘤,PI3K/Akt 及其相关基因有望成为基因疗法的靶点,同时也为联合使用 siRNA 和其他化学药物治疗肿瘤提供新的策略,进一步提高肿瘤的治疗效果。

#### 3.2.2 反义技术

基于质粒的反义载体或人工合成的反义寡核苷酸在较早前已经用于干扰 PI3K-Akt 信号通路。据报道,PI3K p85 基因相关的反义 cDNA 或反义寡核苷酸能下调 p85 基因的表达,消除 PI3K 信号。Akt1 的反义寡核苷酸能够降低癌细胞在软琼脂中的生长能力、诱导凋亡以及增加癌细胞对化疗药物敏感性等。而且,类似的结果在 PDK1 的反义寡核苷酸的研



究中也得到了证实。Akt2 的反义 RNAs 使过表达 Akt2 的 PCNC1 细胞在裸鼠中形成肿瘤的能力明显下降<sup>[38]</sup>。同样的结果在体外培养的脑胶质瘤细胞中也得到了证实<sup>[39]</sup>。致癌基因 MDM2 是 PI3K-Akt 信号通路中一个重要的调节因子, 在人类的多种肿瘤中高表达, 包括有软组织肿瘤、骨肉瘤、血液系统肿瘤、乳腺癌、结肠癌和前列腺癌等<sup>[40]</sup>。Bianco 等研究证明 MDM2 的反义寡核苷酸具有明显的抗肿瘤活性, 它能特异性地抑制 MDM2 的表达, 增强癌细胞对化疗和放疗的敏感性, 增强表皮生长因子抑制剂对激素抵抗和激素依赖的前列腺癌细胞的增殖、凋亡和蛋白表达的影响<sup>[41, 42]</sup>。王宏梅等<sup>[43]</sup>研究证明 ATM/PI3K 区反义 RNA 能够抑制鼻咽癌细胞系 CNE1 ATM 蛋白的表达及增强鼻咽癌细胞系 CNE1 对辐射的敏感性。对于特定的疾病或靶基因已经确证的疾病, 反义寡核苷酸单独应用或联合其他药物综合应用, 将是一种有效的治疗策略。

**3.2.3 小分子抑制剂** 在多种 PTEN 突变和/或 PI3K-Akt 信号通路活性上调的人类肿瘤细胞系中, 目前已经发现了该信号通路中多种激酶的小分子抑制剂 (small molecule inhibitors, SMIs), 它们具有选择性的抗肿瘤活性。Wortmannin 和 LY294002 是两种广泛应用的 PI3K 抑制剂, 它们特异性抑制 PI3Kp110 亚单位的催化活性, 阻断 PI3K-Akt 通路的活化, 能有效的增加化疗药物对癌细胞的敏感性<sup>[44]</sup>。但由于这两种抑制剂潜在的副作用, 目前还都限于体外研究。Akt 抑制剂是当前研发的热点, 它能拮抗 Akt 的抗凋亡作用, 破坏癌细胞耐药性, 诱导癌细胞凋亡。较早发现的 Akt 的抑制剂有抗炎药物塞来考昔 (Celecoxib, 是一种 COX-2 抑制剂) 及其衍生物 OSU-03012 和 OSU-03013, 其中 OSU-03012 在抑制 Akt 方面表现更高的专一性, 并且研究表明 OSU-03012 在体内具有很高的生物活性, 产生很低的毒副作用。现在, 研究进一步证实 Celecoxib 能够通过使 Akt 失活而抑制乳腺癌细胞的生长, 成为乳腺癌治疗研究中的主要药物之一<sup>[45]</sup>。Perifosine 是一种基

于脂的 Akt 抑制剂, 通过抑制 Akt 的膜转位, 降低 Akt 的活性, 抑制多种肿瘤细胞的生长<sup>[46]</sup>。期临床研究正在评价 perifosine 对于复发性胰腺癌、前列腺癌、复发性或转移性头颈癌和晚期软组织肉瘤的疗效<sup>[47-50]</sup>。PX-316 是另一个基于脂的 Akt 抑制剂, 它与 Akt 的 PH 结构域结合, 阻止 Akt 的膜定位。在临床前研究中, 每日腹腔注射 PX-316 能够抑制 Akt 活性并减缓 MCF-7 裸小鼠移植瘤的生长, 但是对于 HT-29 裸小鼠移植瘤仅有微弱的疗效<sup>[51]</sup>。Mandal 等<sup>[52]</sup>研究发现了 Akt 的抑制剂 1L-6-hydroxymethyl-chiro-inositol 2-(R)-2-O-methyl-3-O-octadecylcarbonate (LHMO)、KP-321-1 (KP-1) 和 KP-321-2 (KP-2)。其选择性抑制 Akt 的 IC<sub>50</sub> 值大约是 5 μmol/L, 明显小于其抑制 PI3K 的 IC<sub>50</sub> 值 90 μmol/L。KP-1 能够抑制甲状腺癌细胞中 Akt 的活化以及细胞增殖诱导细胞凋亡。KP-1 和 KP-2 能够有效抑制 Akt 的活化及神经胶质瘤细胞的生长, 诱导细胞凋亡, 并呈剂量依赖性。另外, KP-1 和 KP-2 还能够有效抑制 U251 和 U87 细胞形成集落的能力, 而对正常的星形胶质细胞和人成纤维细胞没有抑制效应<sup>[53]</sup>。最近, zhang 等<sup>[54]</sup>研究发现了一种新的 Akt 抑制剂 CMEP (9-chloro-2-methylellipticinium acetate), CMEP 是通过抑制 Akt Ser473 和 Thr308 的磷酸化下调 Akt 的活性, 而对 PI3K、PDK1 或 MAPK 的活性则没有影响。研究证明 CMEP 对多种 Akt 高度活化的前列腺癌细胞具有抗增殖和诱导凋亡的效应, 而对于 Akt 没有激活的其他癌细胞的抑制作用极微。相同的效应在荷瘤小鼠的试验中也得到了证实。雷帕霉素 (Rapamycin) 是一种 mTOR 的抑制剂, 是美国食品药品监督管理局批准适用于临床移植的免疫抑制剂, 但其衍生物 CC I-779、RAD-001 和 AP-23573 被明确定位为抗肿瘤药物。临床前研究结果表明, 这类化合物无论是单药还是与细胞毒药物联用, 都能够有效的抑制肿瘤生长。在临床、期研究中, 雷帕霉素衍生物有明显的抑制多种肿瘤的作用。在非小细胞肺癌、乳腺癌、子宫颈癌、泌尿系统

肿瘤、肉瘤、间皮瘤、淋巴瘤和胶质瘤的治疗中, 均观察到雷帕霉素衍生物使患者病情部分缓解和病程稳定。同时, 在上述临床研究中引入了一个作为监测临床响应的指标, 即检测外周淋巴细胞中 mTOR 下游底物 4E-BP-1 和 S6K1 的磷酸化程度。临床上, 用常规手段治疗肾癌易复发, 在一项针对肾癌的期临床研究中, 雷帕霉素衍生物 CC I-779 产生一例完全缓解, 数例部分缓解, 还有半数患者病程稳定达 24 周以上<sup>[55]</sup>。Christian 等<sup>[56]</sup>研究证明 MDM2 的小分子拮抗剂 nutlin-3 可用于 P53 途径失调的肿瘤, nutlin-3 结合 P53 的口袋蛋白, 破坏 P53 与 MDM2 的结合, 使 P53 稳定, 激活 P53 依赖的凋亡途径。另外, 一些小分子抑制剂通过间接作用于 PI3K-Akt 信号通路中的凋亡相关蛋白, 促进肿瘤细胞的凋亡, 抑制肿瘤的生长。目前, 已经应用于临床试验的抑制 PI3K-Akt 信号通路的小分子抑制剂有 Imatinib mesylate (STI571) 和表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR) 抑制剂 ZD1839。STI571 是一种靶向 CML BCR-ABL 融合蛋白的小分子, 研究表明 STI571 能够下调 BCR-ABL 阳性细胞的 BCR-ABL 蛋白水平, 诱导细胞凋亡。在 EGFR 高表达的多种癌细胞中, ZD1839 的抗肿瘤活性可能是通过抑制 EGFR 下调 Akt 的活性、诱导凋亡、抑制增殖<sup>[57, 58]</sup>。综上所述, 对于 PI3K-Akt 信号通路中过度活化或过度表达的关键性组成分子, 特异性的小分子抑制剂能够有效地阻断该通路过度活化引起的凋亡抑制效应, 增强肿瘤细胞对化疗药物的敏感性, 诱导细胞凋亡, 抑制肿瘤细胞的生长。

## 4 展望

多细胞生物通过细胞增殖和凋亡来维持自身的稳定, 若两者之间的动态平衡失调, 则可导致肿瘤的发生。PI3K-Akt 信号通路对于细胞的增殖和凋亡的调节是必需的, 其组成性活化与人类肿瘤的发生发展密切相关。通过基因干预方法敲除或小分子药物抑制 PI3K-Akt 及相关基因, 阻断其其对下

游多种抗凋亡效应分子的活化,能够促进细胞凋亡,有效抑制肿瘤的生长;并且能增加癌细胞对放化疗的敏感性,提高放化疗的疗效。提示对于与PI3K-Akt 信号通路机能亢进相关的多种肿瘤的治疗,PI3K-Akt 基因有望成为新的靶点。而且,这也为临床应用基因干预方法治疗恶性肿瘤提供新的策略。

## [参 考 文 献]

- [1] Douglas A L, Faina B, Cindy J Y, et al. Frequent mutation of the PIK3CA gene in ovarian and breast cancer [J]. Clin Cancer Res, 2005, 11(8): 2875-2878.
- [2] Knobbe C B, Kieslich A T, Reifenberger G. Genetic alteration and expression of the phosphoinositid-3-kinase/Akt pathway genes PIK3CA and PIKE in human glioblastomas [J]. Neuropathol Appl Neurobiol, 2005, 31(5): 486-490.
- [3] Oda K, Stokoe D, Taketani Y, et al. High frequency of coexistent mutations of PIK3CA and PTEN genes in endometrial carcinoma [R]. Cancer Res, 2005, 65(23): 10669-10673.
- [4] Hartmann W, Digon-Sontgerath B, Koch A, et al. Phosphatidylinositol 3-kinase/AKT signaling is activated in medulloblastoma cell proliferation and is associated with reduced expression of PTEN [J]. Clin Cancer Res, 2006, 12(10): 3019-3027.
- [5] Or Y Y, Hui A B, Tam K Y, et al. Characterization of chromosome 3q and 12q amplicons in nasopharyngeal carcinoma cell lines [J]. Int J Oncol, 2005, 26(1): 49-56.
- [6] Nyakern M, Tazzari P L, Finelli C, et al. Frequent elevation of Akt kinase phosphorylation in blood marrow and peripheral blood mononuclear cells from high-risk myelodysplastic syndrome patients [J]. Leukemia, 2006, 20(2): 230-238.
- [7] Samuels Y, Wang Z, Bardelli A, et al. High frequency of mutations of the PIK3CA gene in human cancers [J]. Science, 2004, 304(5670): 554.
- [8] Piotr G, Rychahou M D, Lindsey N, et al. Targeted molecular therapy of the PI3K pathway therapeutic significance of PI3K subunit targeting in colorectal carcinoma [J]. Ann Surg, 2006, 243(6): 833-844.
- [9] Osaki M, Oshimura M, Ito H. PI3K-Akt pathway: its functions and alterations in human cancer [J]. Apoptosis, 2004, 9(6): 667-676.
- [10] Edwards L A, Thiessen B, Dragowska W H, 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.
- [11] Song G, Ouyang G L, Bao S D. The activation of Akt/PKB signaling pathway and cell survival [J]. J Cell Mol Med, 2005, 9(1): 59-71.
- [12] Sale E M, Hodgkinson C P, Jones N P, et al. A new strategy for studying protein kinase B and its three isoforms: role of protein kinase B in phosphorylating glycogen synthase kinase-3, tuberlin, WNK1, and ATP citrate lyase [J]. Biochemistry, 2006, 45(1): 213-223.
- [13] Sharrard R M, Norman J M. Regulation of protein kinase B activity by PTEN and SHIP2 in human prostate-derived cell lines [J]. Cell Signal, 2007, 19(1): 129-138.
- [14] Wang J Y, Lin C H, Yang C H, et al. Biochemical and biological characterization of a neuroendocrine-associated phosphatase [J]. J Neurochem, 2006, 98(1): 89-101.
- [15] Maira S M, Galetic I, Brazil D P, et al. Carboxyl-terminal modulator protein (CTMP), a negative regulator of PKB/Akt and v-Akt at the plasma membrane [J]. Science, 2001, 294(5541): 374-380.
- [16] Knobbe C B, Reifenberger J, Blaschke B, et al. Hypermethylation and transcriptional downregulation of the carboxyl-terminal modulator protein gene in glioblastomas [J]. J Nat Cancer Inst, 2004, 96(6): 483-486.
- [17] Ruvolo P P, Deng X, Ito T, et al. Ceramide induces Bcl2 dephosphorylation via a mechanism involving mitochondrial PP2A [J]. J Biol Chem, 1999, 274(29): 20296-20300.
- [18] Pim D, Massimi P, Dilworth S M, et al. Activation of the protein kinase B pathway by the HPV-16 E7 oncoprotein occurs through a mechanism involving interaction with PP2A [J]. Oncogene, 2005, 24(53): 7830-7838.
- [19] Solit D B, Basso A D, Olshen A B, et al. Inhibition of heat shock protein 90 function downregulates Akt kinase and sensitizes tumors to taxol [J]. Cancer Res, 2003, 63(9): 2139-2144.
- [20] Kuhajda F P. Fatty acid synthase and cancer: new application of an old pathway [J]. Cancer Res, 2006, 66(12): 5977-5980.
- [21] Wang H Q, Altomare D A, Skele K L, et al. Positive feedback regulation between Akt activation and fatty acid synthase expression in ovarian carcinoma cells [J]. Oncogene, 2005, 24(22): 3574-3582.
- [22] Xin M G, Deng X M. Nicotine inactivation of the proapoptotic function of bax through phosphorylation [J]. J Biol Chem, 2005, 280(11): 10781-10789.
- [23] Goswami A, Burikhanov R, de Thonel A, et al. Binding and phosphorylation of Par-4 by Akt is essential for cancer cell survival [J]. Molecular Cell, 2005, 20(1): 33-44.
- [24] Burgering B M, Medema R H. Decisions on life and death: FOXO forkhead transcription factors are in command when PKB/Akt is off duty [J]. J Leukoc Biol, 2003, 73(6): 689-701.
- [25] Vandermoere F, El Yazidi-Belkoura I, Adriaenssens E, et al. The antiapoptotic effect of fibroblast growth factor-2 is mediated through nuclear factor- $\kappa$ B activation induced via interaction between Akt and I $\kappa$ B kinase in breast cancer cells [J]. Oncogene, 2005, 24(35): 5482-5491.
- [26] Jeong S J, Pise-Masison C A, Radonovich M F, et al. Activated Akt regulates NF- $\kappa$ B activation, p53 inhibition and cell survival in HTLV-1-transformed cells [J]. Oncogene, 2005, 24(44): 6719-6728.
- [27] Mayo L D, Donner D B. The PTEN, Mdm2, p53 tumor suppressor-oncoprotein network [J]. Trends Biochem Sci, 2002, 27(9): 462-467.
- [28] Wee K B, Aguda B D. Akt versus p53 in a network of oncogenes and tumor suppressor genes regulating cell survival and death [J]. Biophys J, 2006, 91(3): 857-865.
- [29] Strano S, Monti O, Pediconi N, et al. The transcriptional coactivator Yes-associated protein drives p73 gene-

- target specificity in response to DNA damage [J]. *Mol Cell*, 2005, 18(4): 447-459.
- [30] Basu S, Totty N F, Irwin M S, et al. Akt phosphorylates the Yes-associated protein, YAP, to induce interaction with 14-3-3 and attenuation of p73-mediated apoptosis [J]. *Mol Cell*, 2003, 11(1): 11-23.
- [31] Hidalgo M, Rowinsky E K. The rapamycin-sensitive signal transduction pathway as a target for cancer therapy [J]. *Oncogene*, 2000, 19(56): 6680-6686.
- [32] Gibson E M, Henson K S, Haney N, et al. Epidermal growth factor protects epithelial-derived cells from tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand-induced apoptosis by inhibiting cytochrome C release [J]. *Cancer Res*, 2002, 62(2): 488-496.
- [33] Kim E C, Yun B S, Ryoo I J, et al. Complestatin prevents apoptotic cell death: inhibition of a mitochondrial caspase pathway through AKT/PKB activation [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, 313(1): 193-204.
- [34] Reagan-Shaw S, Ahmad N. RNA interference-mediated depletion of phosphoinositide 3-kinase active forkhead box class o transcription factor and induce cell cycle arrest and apoptosis in breast carcinoma cells [J]. *Cancer Res*, 2006, 66(2): 1062-1069.
- [35] Rychahou P G, Murillo C A, Evers B M, et al. Targeted RNA interference of PI3K pathway components sensitizes colon cancer cells to TNF-related apoptosis inducing ligand (TRAIL) [J]. *Surgery*, 2005, 138(2): 391-397.
- [36] Wang J, Karen K, Hauser J, et al. Colon carcinoma cells harboring PIK3CA mutations display resistance to growth factor deprivation induced apoptosis [J]. *Mol Cancer Ther*, 2007, 6(3): 1143-1150.
- [37] Liu Y, Chen L, Ko T C, et al. Evi1 is a survival factor which conveys resistance to both TGF- and taxol-mediated cell death via PI3K/Akt [J]. *Oncogene*, 2006, 25(25): 3565-3575.
- [38] Chang F, Lee J T, Navolanic P M, et al. Involvement of PI3K/Akt pathway in cell cycle progression, apoptosis, and neoplastic transformation: a target for cancer chemotherapy [J]. *Leukemia*, 2003, 17(3): 590-603.
- [39] 康春生, 浦佩玉, 李捷, 等. 反义及显性负调节 AKT2 RNA 对脑胶质瘤细胞增殖抑制作用的体外研究 [J]. *癌症*, 2004, 23(11): 1267-1272.
- [40] Levav-Cohen Y, Haupt S, Haupt Y. Mdm2 in growth signaling and cancer [J]. *Growth Factor*, 2005, 23(3): 183-192.
- [41] Zhang R, Wang H, Agrawal S. Novel antisense anti-MDM2 mixed-backbone oligonucleotides: proof of principle, in vitro and in vivo activities, and mechanisms [J]. *Curr Cancer Drug Targets*, 2005, 5(1): 43-49.
- [42] Bianco R, Ciardiello F, Tortora G. Chemosensitization by antisense oligonucleotides targeting MDM2 [J]. *Curr Cancer Drug Targets*, 2005, 5(1): 51-56.
- [43] 王宏梅, 陈龙华, 郑小康, 等. 抑制 ATM/PI3K 功能区表达对鼻咽癌细胞 CNE1 辐射增敏的研究 [J]. *癌症*, 2006, 25(9): 1097-1101.
- [44] Ohta T, Ohmichi M, Hayasaka T, et al. Inhibition of phosphatidylinositol 3-kinase increases efficacy of cisplatin in in vivo ovarian cancer models [J]. *Endocrinology*, 2006, 147(4): 1761-1769.
- [45] Barnes N L, Warnberg F, Farnie G, et al. Cyclooxygenase-2 inhibition: effects on tumour growth, cell cycling and lymphangiogenesis in a xenograft model of breast cancer [J]. *Br J Cancer*, 2007, 96(4): 575-582.
- [46] Kondapaka S B, Singh S S, Dasmahapatra G P, et al. Perifosine, a novel alkylphospholipid, inhibits protein kinase B activation [J]. *Mol Cancer Ther*, 2003, 2(11): 1093-1103.
- [47] Marsh Rde W, Rocha Lima C M, Levy D E, et al. A phase trial of perifosine in locally advanced, unresectable, or metastatic pancreatic adenocarcinoma [J]. *Am J Clin Oncol*, 2007, 30(1): 26-31.
- [48] Posadas E M, Gulley J, Arlen P M, et al. A phase study of perifosine in androgen independent prostate cancer [J]. *Cancer Biol Ther*, 2005, 4(10): 1133-1137.
- [49] Argriss A, Cohen E, Karrison T, et al. A phase trial of perifosine, an oral alkylphospholipid, in recurrent or metastatic head and neck cancer [J]. *Cancer Biol Ther*, 2006, 5(7): 766-770.
- [50] Bailey H H, Mahoney M R, Ettinger D S, et al. Phase study of daily oral perifosine in patients with advanced soft tissue sarcoma [J]. *Cancer*, 2006, 107(10): 2462-2467.
- [51] Meuliet E J, Ihle N, Baker A F, et al. In vivo molecular pharmacology and antitumor activity of the targeted Akt inhibitor PX-316 [J]. *Oncol Res*, 2004, 14(10): 513-527.
- [52] Mandal M, Kim S, Younes M N, et al. The Akt inhibitor KP372-1 suppresses Akt activity and cell proliferation and induces apoptosis in thyroid cancer cells [J]. *Br J Cancer*, 2005, 92(10): 1899-1905.
- [53] Koul D, Shen R, Bergh S, et al. Inhibition of Akt survival pathway by a small-molecule inhibitor in human glioblastoma [J]. *Mol Cancer Ther*, 2006, 5(3): 637-644.
- [54] Zhang M, Fang X, Liu H, et al. Blockade of AKT activation in prostate cancer cells with a small molecule inhibitor, 9-chloro-2-methylellipticinium acetate (CMEP) [J]. *Biochem Pharmacol*, 2007, 73(1): 15-24.
- [55] Atkins M B, Hidalgo M, Stadler W M, et al. Randomized phase study of multiple dose levels of CCI-779, a novel mammalian target of rapamycin kinase inhibitor, in patients with advanced refractory renal cell carcinoma [J]. *J Clin Oncol*, 2004, 22(5): 909-918.
- [56] Christian T, James R, Zoran F, et al. Small-molecule MDM2 antagonists reveal aberrant p53 signaling in cancer: implications for therapy [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(6): 1888-1893.
- [57] Adachi S, Leoni L M, Carson D A, et al. Apoptosis induced by molecular targeting therapy in hematological malignancies [J]. *Acta Haematol*, 2004, 111(1-2): 107-123.
- [58] Campiglio M, Olgati C, Normanno N, et al. Inhibition of proliferation and induction of apoptosis in breast cancer cells by the epidermal growth factor receptor (EGFR) tyrosine kinase inhibitor ZD1839 (Iressa) is independent of EGFR expression level [J]. *J Cell Physiol*, 2004, 198(2): 259-268.

[编辑及校对: 林志祥]