

EGFR-PI3K-Akt-mTOR 信号通路轴在头颈鳞状细胞癌中的研究进展

褚书舟 综述;范松青 审校

(中南大学湘雅二医院 病理科,湖南 长沙 410011)

关键词:头颈鳞状细胞癌;表皮生长因子受体;PI3K; Akt; mTOR
中图分类号:R739. 91 文献标识码:C 文章编号:1007 - 1520(2016)02 - 0161 - 04

1 EGFR-PI3K-Akt-mTOR 信号通路轴的基本概况

表皮生长因子(EGF)、转化生长因子(TGF)、双调蛋白(amphiregulin)、调节蛋白(heregulin)等多种配体均能激活表皮生长因子受体(EGFR)^[1-2],从而导致 PI3K (phosphoinositide-3kinases) 的活化(图 1)。PI3K 活化后磷酸化 PtdIns(4,5)P2 产生 PtdIns(3,4,5)P3^[3]。PtdIns(3,4,5)P3 转移 Akt 至细胞膜启动 Akt 的激活并引起 Akt 构象的改变,暴露 Akt 的 3 个调控位点,使其分别被磷酸化:催化功能区的 Thr308 被 PDK1 (3-phosphoinositide-dependent protein kinase1) 磷酸化^[4],mTOR-riCTOR (mammalian target of rapamycin-rapamycin insensitive companion of mTOR) 复合体能磷酸化 C' 端的 Ser473^[5],Ser129 也能被 caseinkinase2 磷酸化^[6]。Akt 激活后引起一系列下游靶位点的磷酸化而参与调控细胞代谢、细胞生长、凋亡、细胞生存和分化等过程。Akt 通过阻断促凋亡蛋白、诱导促细胞生存蛋白的合成促进细胞的存活^[5]。此外,Akt 能磷酸化 FOXO 家族成员:FOXO,FOXO3a,FOXO4,诱导其出核而阻止 FOXO 介导的促凋亡因子的转录^[7]。图 1 所示 mTORC1 (mTOR complex1) 是 Akt 下游的重要效应子,mTORC1 由 Akt 介导的磷酸化作用和 TSC (tuberous sclerosis complex) 的失活而激活。TSC 由肿瘤抑制蛋白 TSC2 (tuberin) 和 TSC1 (hamartin) 组成,磷酸化的 TSC 失去其抑制 Rheb1 的功能,结果导致 Rheb1 激活 mTORC1^[8]。PTEN (phosphateand tensin-

homolog deleted on chromosome 10) 是一种重要抑癌基因,经去磷酸化 PtdIns(3,4,5)P3 使其转变为 PtdIns(4,5)P2,发挥拮抗 PI3K 的作用^[9]。

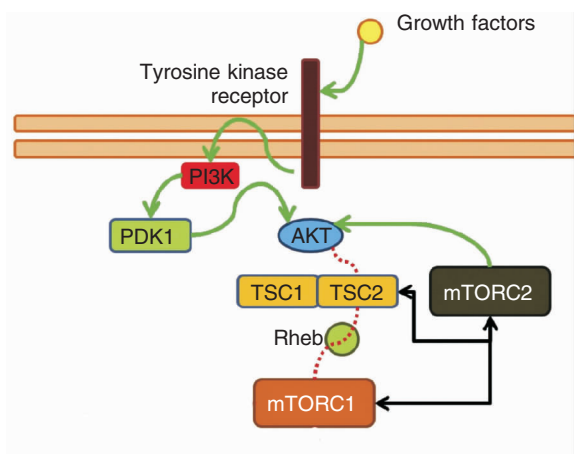


图 1 EGFR-PI3K-Akt-mTOR 信号通路轴

2 EGFR-PI3K-Akt-mTOR 信号通路轴的激活在头颈鳞状细胞癌发生、发展中的作用机制

2.1 EGFR 过表达

EGFR 的激活或突变引起其下游信号通路的级联放大效应,最终导致肿瘤细胞的不可控性增殖。EGFR 的过表达可能是肿瘤细胞增殖、放疗敏感性降低和肿瘤高复发率相关的独立预后标志物^[10]。EGFR 基因扩增引起 EGFR 的过表达,EGFR 可通过自发二聚化引起其激酶活性的过度激活。EGFR 的配体 TGF α 也能经自分泌的方式激活 EGFR,过表达 TGF α 的头颈鳞状细胞癌 (head and neck squamous cell cancer, HNSCC) 预后差^[11]。EGFR 已作为治疗 HNSCC 的新靶点,但部分 HNSCC 病例存在 EGFR

基金项目:国家自然科学基金资助(81472773)。
作者简介:褚书舟,男,硕士。
通信作者:范松青,Email:Fansongqing2003@ hot mail. com

短突变型(EGFRv III),EGFRv III可能拮抗EGFR抗体治疗和顺铂治疗^[12]。有趣的是,约半数鼻咽癌(NPC)存在EGFR的过度激活,但抑制EGFR信号通路并不能完全阻止鼻咽癌的增长,提示可能存在如Wnt等其他信号通路在NPC细胞增长的过程中扮演了更为重要的角色^[13]。EB病毒编码蛋白如LMP-1(Epstein-Barr virus latent membrane protein-1)能引起EGFR的内吞并蓄积在核内,核内EGFR可作为一个转录因子促进细胞的增殖,而细胞浆内的EGFR则能与cyclinD1以及cyclinE蛋白结合来加速G1/S期的转变^[14]。由此可见,EGFR在鼻咽癌中不单纯只是细胞膜上的促增殖分子,同时还发挥着更为复杂的功能。

2.2 PI3K 激活

PI3K作为参与多种细胞信号通路的激酶,Akt是其下游一个重要的因子,能调节细胞增殖以及阻止细胞凋亡^[15]。PI3K/Akt为ERBB酪氨酸激酶受体家族最主要的下游信号通路之一。异二聚化ERBB3受体的胞浆区通过酪氨酸的磷酸化激活PI3K。PI3K一个催化性亚基的激活导致多种肿瘤组织中PI3K过度激活。PI3K过度激活在NPC的发生、发展过程中起非常关键性作用。存在多种不同机制介导PI3K的表达上调,LMP1可直接激活PI3K,从而导致Akt磷酸化^[14];随着NF- κ B的激活,LMP1的TRAF(TNF receptor associated factor)结合结构域就成了活化位点。PTEN是肿瘤的发展过程中一个重要的抑癌基因,PTEN表达水平的降低可能是PI3K过度激活的另一机制。约半数鼻咽癌存在PTEN的表达下调,这可解释部分鼻咽癌存在PI3K/Akt表达上调的现象^[16]。HNSCC极少见PTEN基因的突变,但存在PTEN的高甲基化,提示HNSCC下调PTEN表达水平可能是由PTEN基因的表现遗传学层面的改变所引起(即启动子高甲基化)^[17]。

2.3 Akt 磷酸化

AKT是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,与PKA、PKC高度同源,因此又被称之为蛋白激酶B(protein kinase B, PKB),在调控细胞生长、增殖、存活以及糖代谢中起重要作用。AKT能抑制促凋亡因子(如BAD,Procaspase-9以及FOXOs);激活并上调抗凋亡基因转录因子(如NF- κ B);通过Mdm2抑制p53;并可经磷酸化CDK抑制因子p21CIP1/WAF1和p27KIP1,使二者移出胞核而在胞质中降解,从而促进细胞增殖^[18]。Akt磷酸化激活能进一步导致

其下游分子的磷酸化,参与细胞代谢,增殖,生存和生长功能。Akt的上游分子PDK1被阻断,能有效地抑制肿瘤细胞的生长。绝大多数HNSCC存在Akt的持续激活,在HNSCC组织和HNSCC细胞系均能检测到Akt和磷酸化Akt的过表达^[15]。此外,大部分舌鳞状上皮癌前病变组织存在Akt的激活,提示Akt的激活可发生于HNSCC癌变进程中的较早期阶段,其激活也被看作是HNSCC预后较差的独立分子标志物^[19]。

2.4 激活的mTOR解除4EBP1对eIF4E的抑制作用

mTOR是PI3K信号通路下游一个重要位点,在肿瘤的发展、侵袭、转移和血管生成的过程中扮演关键角色,90%~100%的HNSCC存在AKT/mTOR信号通路的激活,与肿瘤的复发和患者生存率的降低显著相关^[20]。激活的mTOR能磷酸化调节蛋白质翻译的关键因子如P70-S6激酶(p70S6K)和真核翻译起始因子4E结合蛋白(4EBP1),后者解除4EBP1对eIF4E的抑制作用,最终导致促细胞生长的一系列蛋白质的翻译^[21-23]。eIF4E基因扩增和蛋白质的过表达常与HNSCC临床进展密切相关,HNSCC患者的手术切缘eIF4E阳性的复发率显著高于手术切缘eIF4E阴性患者^[24]。PI3K和mTOR抑制剂处理的HNSCC细胞发生上皮间质转化(epithelial-to-mesenchymal transition, EMT)的过程受到明显抑制,由此可见肿瘤细胞发生EMT可能与PI3K/mTOR通路有关。

3 靶向EGFR/PI3K/Akt/mTOR信号通路轴治疗HNSCC的研究

3.1 抗EGFR抗体和TKIs靶向抑制EGFR

阻断EGFR信号通路的治疗方案包括针对受体的配体结合区域的单克隆抗体以及小分子酪氨酸激酶抑制剂(TKIs)^[25]。西妥昔单抗(cetuximab)联合放疗治疗局部或局部晚期HNSCC患者的Ⅲ期临床试验显示^[26]:接受联合治疗患者的总生存期(49个月)和总生存率(45.6%)明显高于放疗患者的总生存期(29.3个月)和总生存率(36.4%)。但上述临床试验治疗的总生存率提升主要体现在口咽癌患者,口咽癌属于HNSCC中预后较好且与HPV相关的肿瘤。当前针对局部晚期HNSCC的标准治疗方案仍然是顺铂为基础的放化疗方案,而到目前为止,还没有研究报告显示西妥昔单抗与放疗联合治疗能

获得与标准治疗方案相同乃至更好的疗效。TKI 类药物能竞争性地结合至 EGFR 的结合域,因而抑制 EGFR 磷酸化和其级联的受体酪氨酸激酶的激活。TKI 类药物对 HNSCC 治疗研究最多的是第一代 TKI 药物吉非替尼 (gefitinib) 和厄洛替尼 (erlotinib)。一项针对 HNSCC 患者的常规放化疗方案与在此基础上添加 gefitinib 的 II 期临床试验疗效研究,结果显示增加 gefitinib 组患者很难完成试验周期 (42% 的受试者因不能耐受而放弃),而且即使可完成整个试验过程,受试者也没有展现出比传统放化疗方案更好的疗效,甚至还会增加毒副作用^[27]。另一个 HNSCC II 期临床试验对比常规放化疗治疗组与添加 erlotinib 组的疗效,试验结果显示 erlotinib 虽然没有额外增加顺铂加放疗的毒副作用,但也不能提升完全缓解率 (CRR) 和无进展生存期 (PFS)^[28]。第二代 TKI 药物阿法替尼 (afatinib) 能与 EGFR 不可逆结合,可以显著提高 HNSCC 患者的 PFS 并且具有相当好的安全可控性^[29]。虽然目前仍缺乏积极的临床试验数据支持将 TKI 类药物纳入 HNSCC 的标准一线治疗方案,但其口服的优越性显示 TKI 类药物对 HNSCC 患者的辅助治疗有着巨大潜力。

3.2 阻断 AKT 激活

UCN-01 是 PDK1 的抑制剂,能抑制不同肿瘤细胞的生长。UCN-01 减少 cyclinD3 的表达,增加 p27 的表达,阻滞 HNSCC 细胞于细胞周期 G1 期,最终促进肿瘤细胞凋亡^[30],提示 UCN-01 具有治疗 HNSCC 的潜力。尽管针对 UCN-01 的 I 期临床试验已经获得一些积极的结果,但 UCN-01 单用或是联合其他药物都未能提供足够的证据支持其在 HNSCC 治疗中的疗效。MK-2206 是一种能口服的 AKT 抑制剂衍生物,体外细胞实验能显著抑制 HNSCC 细胞的迁移侵袭能力。HNSCC 的体内动物模型中,MK-2206 能抑制肿瘤大小,降低颈部淋巴结转移的发生率,从而提高移植瘤动物的生存率。MK-2206 和其他药物联合用药的许多转移性实体瘤的 II 期临床试验正在开展当中,相信会有助于未来 HNSCC 的治疗^[31]。

3.3 mTOR 抑制剂

mTOR 抑制剂是治疗 HNSCC 很有潜力的药物。自从坦西莫司 (temsirolimus, CCI-779) 作为第一个被 FDA 批准用于肾细胞癌患者的治疗的 mTOR 抑制剂以来,mTOR 通路中重要分子靶点引起了药物研究的极大兴趣。当前,最主要的研究是雷帕霉素的衍生物如坦西莫司、依维莫司 (everolimus,

RAD001)。坦西莫司能减少 S6 和 4EBP1 的表达,继而降低 FGF 和 VEGF 的活性,最终抑制 HNSCC 的生长。肿瘤细胞以及外周血单核细胞的 4EBP1 活性都随着 mTOR 被抑制而降低。p-mTOR 和 p-eIF4E 以及高表达 Akt 是判断 HNSCC 患者是否适用 mTOR 抑制剂的潜在分子标志物^[32]。依维莫司能抑制肿瘤淋巴管形成,防止 HNSCC 转移到颈部淋巴结,从而延长移植瘤模型动物的生存时间^[33]。这些研究结果提示雷帕霉素衍生物在 HNSCC 的靶向治疗中有着巨大的临床应用前景。

4 结语

EGFR/PI3K/Akt/mTOR 信号通路轴在 HNSCC 的发生、发展中具有重要作用,这一信号通路轴中关键分子为治疗靶点已成为当今的研究热点,相关药物正在进行临床前期或临床试验。但因 EGFR/PI3K/Akt/mTOR 信号轴的复杂性以及不同信号通路之间的交叉作用,当前 HNSCC 的分子靶向治疗仅适用于常规放化疗失去敏感性的替代治疗,或是常规放化疗基础上的辅助治疗。如果能确定各种具有预测靶向治疗疗效的生物标志物,可为 HNSCC 患者提供个体化的治疗方案。由此可见,HNSCC 的治疗模式将是在传统放化疗方案的基础上,联合靶向抑制相关信号通路轴,多层次抑制 HNSCC 细胞生长,促进细胞凋亡,这将成为 HNSCC 治疗的新思路。

参考文献:

- [1] Parfenov M, Pedamallu CS, Gehlenborg N, et al. Characterization of HPV and host genome interactions in primary head and neck cancers[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2014, 111(43): 15544–15549.
- [2] Rogers SJ, Harrington KJ, Rhys-Evans P, et al. Biological significance of c-erbB family oncogenes in head and neck cancer[J]. Cancer and Metastasis Reviews, 2005, 24(1):47–69.
- [3] Jethwa N, Chung GHC, Lete MG, et al. Endomembrane PtdIns (3, 4, 5) P3 activates the PI3K-Akt pathway[J]. Journal of cell science, 2015, 128(18): 3456–3465.
- [4] Vivanco I, Sawyers C. The phosphatidylinositol 3-Kinase AKT pathway in human cancer[J]. Nat Rev Cancer, 2002, 2(7):489–501.
- [5] Carnero A, Blanco-Aparicio C, Renner O, et al. The PTEN/PI3K/AKT signalling pathway in cancer therapeutic implications [J]. Curr Cancer Drug Targets, 2008, 8(3):187–198.
- [6] Di Maira G, Salvi M, Arrighi G, et al. Protein kinase CK2 phos-

- phorylates and upregulates Akt/PKB[J]. *Cell Death and Differentiation*, 2005, 12(6):668–677.
- [7] Zhang X, Tang N, Hadden TJ, et al. Akt, FoxO and regulation of apoptosis[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, 2011, 1813(11): 1978–1986.
- [8] Menon S, Dibble CC, Talbott G, et al. Spatial Control of the TSC Complex Integrates Insulin and Nutrient Regulation of mTORC1 at the Lysosome[J]. *Cell*, 2014, 156(4): 771–785.
- [9] Milella M, Falcone I, Conciatori F, et al. PTEN: multiple functions in human malignant tumors [J]. *Frontiers in oncology*, 2015, 5:24.
- [10] Appert-Collin A, Hubert P, Crémel G, et al. Role of ErbB Receptors in Cancer Cell Migration and Invasion [J]. *Frontiers in pharmacology*, 2015, 6:283.
- [11] Ekblad L, Welinder C, Kjellén E, et al. Anti-or pro-proliferation-Conditional options for TGF- α and cetuximab in head and neck squamous cell carcinoma[J]. *Oral oncology*, 2015, 51(1): 46–52.
- [12] Wheeler SE, Egloff AM, Wang L, et al. Challenges in EGFRvIII Detection in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma[J]. *PloS one*, 2015, 10(2): e0117781.
- [13] Hsu C, Gao M, Chen C, et al. Inhibitors of epidermoid growth factor receptor suppress cell growth and enhance chemosensitivity of nasopharyngeal cancer cells in vitro[J]. *Oncology*, 2005, 68(4–6):538–547.
- [14] Perri F, Scarpati GDV, Giuliano M, et al. Epstein-Barr virus infection and nasopharyngeal carcinoma: the other side of the coin [J]. *Anti-cancer drugs*, 2015, 26(10): 1017–1025.
- [15] Polivka J, Janku F. Molecular targets for cancer therapy in the PI3K/AKT/mTOR pathway [J]. *Pharmacology & therapeutics*, 2014, 142(2): 164–175.
- [16] Ekizoglu S, Dogan S, Ulker D, et al. The Effect of LKB1 on the PI3K/Akt Pathway Activation in Association with PTEN and PIK3CA in HNC[J]. *Clinical Otolaryngology*, 2015, 40(6): 622–628.
- [17] Schagdarsurengin U, Gimm O, Dralle H, et al. CpG island methylation of tumor-related promoters occurs preferentially in undifferentiated carcinoma[J]. *Thyroid*, 2006, 16(7):633–642.
- [18] Lo HW. Akt destabilizes p57Kip2: Akt at the converging crossroad [J]. *Cell Cycle*, 2013, 12(6): 870–871.
- [19] Massarelli E, Liu DD, Lee JJ, et al. Akt activation correlates with adverse outcome in tongue cancer[J]. *Cancer*, 2005, 104(11): 2430–2436.
- [20] Horn D, Hess J, Freier K, et al. Targeting EGFR-PI3K-AKT-mTOR signaling enhances radiosensitivity in head and neck squamous cell carcinoma[J]. *Expert opinion on therapeutic targets*, 2015, 19(6):795–805.
- [21] Cornu M, Albert V, Hall MN. mTOR in aging, metabolism, and cancer[J]. *Curr Opin Genet Dev*, 2013, 23(1):53–62.
- [22] Howell JJ, Ricoult SJ, Ben-Sahra I, et al. A growing role for mTOR in promoting anabolic metabolism[J]. *Biochem Soc Trans*, 2013, 41(4):906–912.
- [23] Laplante M, Sabatini DM. mTOR signaling in growth control and disease[J]. *Cell*, 2012, 149(2):274–293.
- [24] Nathan CA, Amirghahari N, Abreo F, et al. Overexpressed eIF4E is functionally active in surgical margins of head and neck cancer patients via activation of the Akt/ mammalian target of rapamycin pathway[J]. *Clin Cancer Res*, 2004, 10(17):5820–5827.
- [25] Subramaniam D, Ruth He A, Hwang J, et al. Irreversible Multi-targeted ErbB Family Inhibitors for Therapy of Lung and Breast Cancer[J]. *Current cancer drug targets*, 2014, 14(9): 775–793.
- [26] Bonner J, Harari P, Giralt J, et al. Radiotherapy plus cetuximab for locoregionally advanced head and neck cancer: 5-year survival data from a phase 3 randomised trial, and relation between cetuximab-induced rash and survival [J]. *Lancet Oncol*, 2010, 11(1): 21–28.
- [27] Rodriguez CP, Adelstein DJ, Rybicki LA, et al. Single - arm phase II study of multiagent concurrent chemoradiotherapy and gefitinib in locoregionally advanced squamous cell carcinoma of the head and neck[J]. *Head & neck*, 2012, 34(11): 1517–1523.
- [28] Martins RG, Parvathaneni U, Bauman JE, et al. Cisplatin and radiotherapy with or without erlotinib in locally advanced squamous cell carcinoma of the head and neck: a randomized phase II trial [J]. *Journal of Clinical Oncology*, 2013, 31(11): 1415–1421.
- [29] Machiels JPH, Haddad RI, Fayette J, et al. Afatinib versus methotrexate as second-line treatment in patients with recurrent or metastatic squamous-cell carcinoma of the head and neck progressing on or after platinum-based therapy (LUX-Head & Neck 1): an open-label, randomised phase 3 trial[J]. *The Lancet Oncology*, 2015, 16(5): 583–594.
- [30] Patel V, Lahusen T, Leethanakul C, et al. Antitumor activity of UCN-01 in carcinomas of the head and neck is associated with altered expression of cyclin D3 and p27 (KIP1) [J]. *Clin Cancer Res*, 2002, 8(11):3549–3560.
- [31] Knowles JA, Golden B, Yan L, et al. Disruption of the AKT pathway inhibits metastasis in an orthotopic model of head and neck squamous cell carcinoma [J]. *The Laryngoscope*, 2011, 121(11): 2359–2365.
- [32] Ekshyyan O, Mills GM, Lian T, et al. Pharmacodynamic evaluation of temsirolimus in patients with newly diagnosed advanced-stage head and neck squamous cell carcinoma[J]. *Head & neck*, 2010, 32(12): 1619–1628.
- [33] Patel V, Marsh CA, Dorsam RT, et al. Decreased lymphangiogenesis and lymph node metastasis by mTOR inhibition in head and neck cancer[J]. *Cancer research*, 2011, 71(22): 7103–7112.

(收稿日期:2015–10–11)