

- 24 van Rooij E, Quiat D, Johnson BA, et al. A family of microRNAs encoded by myosin genes governs myosin expression and muscle performance[J]. *Dev Cell*, 2009, 17(5):662-673.
- 25 Callis TE, Pandya K, Seok HY, et al. MicroRNA-208a is a regulator of cardiac hypertrophy and conduction in mice[J]. *J Clin Invest*, 2009, 119(9):2772-2786.
- 26 Ichimura A, Ruike Y, Terasawa K, et al. miRNAs and regulation of cell signaling[J]. *FEBS J*, 2011, 278(10):1610-1618.
- 27 Thum T, Gross C, Fiedler J, et al. MicroRNA-21 contributes to myocardial disease by stimulating MAP kinase signalling in fibroblasts[J]. *Nature*, 2008, 456(7224):980-984.
- 28 Hullinger TG, Montgomery RL, Seto AG, et al. Inhibition of miR-15 protects against cardiac ischemic injury[J]. *Circ Res*, 2012, 110(1):71-81.
- [收稿日期 2015-02-10][本文编辑 谭毅 吕文娟]

新进展综述

PI3K/AKT 信号通路与辐射抵抗机制的研究概况

秦 俭, 陆合明(综述), 陈甲信(审校)

基金项目: 广西科学研究与技术开发计划项目(编号:桂科攻 1140003B-69); 广西自然科学基金资助项目(编号:2010GXNSFB013081)

作者单位: 530021 南宁, 广西壮族自治区人民医院临床肿瘤中心放疗病区

作者简介: 秦 俭(1976-), 女, 硕士, 副主任医师, 研究方向: 恶性肿瘤放射增敏的研究。E-mail: jianusy@126.com

[摘要] 辐射抵抗的三个主要机制为内在辐射敏感性、肿瘤细胞增殖和乏氧。磷脂酰肌醇 3 激酶(PI3K)/蛋白激酶 B(AKT)信号通路是肿瘤细胞的存活通路之一, 该通路的激活与辐射抵抗密切相关。该文就 PI3K/AKT 信号通路与辐射抵抗机制作一综述。

[关键词] 放射治疗; 磷脂酰肌醇 3 激酶; 蛋白激酶 B; 辐射抵抗

[中图分类号] R 73.33; R 815 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2015)08-0799-04

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2015.08.33

The PI3-K/AKT signaling pathway and radiation resistance mechanisms QIN Jian, LU He-ming, CHEN Jia-xin. Department of Radiation Oncology of Clinical Cancer Center, the People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530021, China

[Abstract] The three major radiation resistance mechanisms are intrinsic radiosensitivity, tumor cell proliferation and hypoxia. The phosphatidylinositol-3-kinase(PI3-K)/protein kinase B(AKT) pathway is one of the survival pathways of tumor cells. Activation of this pathway is closely related to radiation resistance. This review focuses on the PI3K/AKT signal pathway and radiation resistance mechanisms.

[Key words] Radiotherapy; Phosphatidylinositol-3-kinase(PI3-K); Protein kinase B(AKT); Radiation resistance

磷脂酰肌醇 3 激酶(phosphatidylinositol-3-kinase, PI3K)/蛋白激酶 B(protein kinase B, AKT)信号通路对肿瘤的发生、发展和转归起重要作用, 目前也有研究表明它还参与了肿瘤的辐射抵抗和化疗耐药机制^[1]。肿瘤细胞的三个主要辐射抵抗机制为内在辐射敏感性、肿瘤细胞增殖和乏氧。放射治疗可以上调 PI3K/AKT 级联反应^[2]。本文旨在讨论在肿瘤细胞的微环境下 PI3K/AKT 信号通路对放疗后肿瘤细胞乏氧、增殖和 DNA 修复可能产生的影响。

1 PI3K/AKT 信号通路

PI3K 是一种细胞质复合物, 由一个 85 kDa 的调节亚基和一个 110 kDa 的催化亚基(p110 α)组成。酪氨酸激酶(tyrosine kinase, TK)受体在配体介导的激活过程中, p85-p110 复合物会被募集到受体中激活受体并产生磷脂酰肌醇 3,4,5-三磷酸(phosphatidylinositol 3,4,5-triphosphate, PIP3)。PIP3 的作用是作为第二信使并募集 AKT 到细胞膜上通过其同源结构域与细胞膜相连。在细胞膜上, AKT 被

3-磷酸肌醇依赖性蛋白激酶 1 介导苏氨酸 308 位点磷酸化而激活。完全激活还需要丙酮酸脱氢酶激酶 2 (pyruvate dehydrogenase kinase 2, PDK2) 介导丝氨酸 473 位点磷酸化。激活后, AKT 转到细胞质和细胞核使它的底物磷酸化。PI3K/AKT 是 ErbB TK 受体家族下游主要靶点之一。这条通路的激活与表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR) 的激活状态相关。ErbB TK 受体家族包括 ERBB1 (EGFR), ERBB2 (HER-2/neu), ERBB3 (HER-3) 和 ERBB4 (HER-4), 这 4 个受体通过配体介导 (EGFR 和肿瘤生长因子)、受体同源或异源二聚化来激活。在异源二聚化中, ERBB-3 的细胞质域会发生酪氨酸磷酸化, 然后激活 PI3K。EGFR 本身是一个弱的 PI3K 直接激活剂, 尤其是在连接 RAS/PI3K/AKT 通路或结合 ErbB-3 时。已证实在一些肿瘤中, PI3K/AKT 信号牢牢地被 EGFR 控制着, 但这不是普遍的特征, 并且 EGFR 的过表达并不是 PI3K/AKT 激活所必需的。此外, TK 受体独立激活 PI3K/AKT 通路也可以在很多肿瘤中观察到, 其发生的机制也是多样的, 如受体突变或 PI3K 扩增、AKT 扩增、上游致癌基因如 RAS 激活或突变或 PTEN 表达减少等。肿瘤抑制基因 PTEN 通过在细胞膜上脱磷酸化对 PI3K/AKT 通路进行负调节。已证实 EGFR 表达 PTEN 的缺失, 肿瘤细胞会抵消 EGFR 抑制因子的抗肿瘤作用, 主要是通过允许 TK 受体输入使 AKT 活性独立。PTEN 也存在于细胞核中, 其通过磷酸酶的非依赖性着丝点蛋白和 DNA 双链断裂修复机理来维持染色体的稳定性。

2 PI3K/AKT 信号通路与辐射抵抗

2.1 PI3K/AKT 信号通路与内在辐射敏感性 辐射能够诱导多重信号通路激活, 至少部分取决于 EGFR 的表达^[3], 其中就包括辐射保护信号。电离辐射导致能量沉积或产生活性氧族导致复杂多样和有潜在致死性的 DNA 双链断裂。DNA 双链断裂的主要修复机制是同源重组和非同源末端连接 (nonhomologous endjoining, NHEJ)。同源重组一般发生在细胞周期的 S 期和 G2 期, 它大约能修复 20% 的 DNA 双链断裂^[4]。剩下大部分由辐射引起的 DNA 双链断裂更倾向于通过 NHEJ 来修复, 因此通过 NHEJ 的易错修复机制可能对疗效的影响更为重要。EGFR/PI3K/AKT 信号通路直接参与激活 DNA 依赖蛋白激酶催化亚基 (catalytic subunit of DNA-dependent protein kinase, DNA-PKcs)。DNA-PKcs 在 K-RAS 基因突变细胞中通过 NHEJ 机制来调节 DNA 双链断裂的

修复, 阻断这条通路则使 DNA 修复出现障碍。EGFR 核转运和 DNA-PKcs 共同导致 DNA-PKcs 依赖性 NHEJ 的增加^[5]。有研究发现 DNA-PKcs 在 EGFR 介导的辐射抵抗机制中起关键作用, 在 DNA-PKcs 缺乏的细胞中辐射保护效应消失^[3]。EGFR 抑制剂西妥昔单抗是一种针对 EGFR 配体结合域的免疫球蛋白 1 单克隆抗体, 它可以调节胞浆和胞核 DNA-PKcs 的平衡, 从而降低 DNA 的修复, 提高肿瘤细胞的辐射敏感性^[6]。RAS 信号激活了的 PI3K/AKT 信号通路会延长 DNA 已发生损伤的肿瘤细胞的存活, 因此产生辐射抵抗。这种情况的发生与由什么原因导致的 RAS 激活无关, RAS 突变或 TK 受体突变或过表达都有可能产生这种结果。在肿瘤细胞中通过选择性抑制 PI3K 或 AKT 通路激活 RAS 信号, 其辐射敏感性增强也印证了上述观点^[7]。Grosso 等^[8]研究发现 miR-210 能改善人肺癌细胞系 A549 的乏氧状况, 提高辐射敏感性。在人类肿瘤细胞中通过突变或者 TK 受体活性的 RAS 激活频繁发生, 表明 PI3K/AKT 介导的 DNA 损伤修复通路在辐射抵抗中起关键作用。

2.2 PI3K/AKT 信号通路与肿瘤细胞增殖 肿瘤细胞的增殖受分化状态、细胞周期基因调节和微环境 (包括氧和营养物质的可用度) 等因素的影响。在乏氧状况下, 肿瘤细胞的整个细胞周期进程会减缓, 一旦改善乏氧细胞的再氧合状况则会导致肿瘤细胞的快速再群体化。PI3K/AKT 主要是一条存活通路, 但它也可以通过作用于周期素 D 依赖蛋白激酶调节细胞周期 G1/S 期的转化, 参与肿瘤细胞增殖。抑制 EGFR 能够使 G1 期阻滞从而防止放射治疗的再群体化^[9,10]。分次放疗会加速肿瘤细胞的增殖。辐射导致 EGFR 酪氨酸磷酸化, 与 EGFR 的表达水平无关, 通过下游通路 PIP3 的激活如 RAF/促分裂原活化蛋白激酶通路 (mitogen-activated protein kinase, MAPK), 继而促进增殖。相反, 在 EGFR 主表达阴性的肿瘤细胞对射线的反应是肿瘤细胞的增殖被抑制。放疗联合抑制 EGFR 和 ERBB2 能进一步降低 AKT 活性和肿瘤细胞的增殖^[3]。放疗联合西妥昔单抗抑制 EGFR 能够显著抑制肿瘤的生长, 其机制可能为 G0/G1 细胞周期的转换从而减少了 EGF 诱导的 EGFR 和 ERBB2 的磷酸化^[11]。在 FaDu 细胞 (人下咽鳞状细胞癌细胞系) 分次放疗联合 EGFR/Erb-B 抑制剂 BIBW2992 能减少肿瘤细胞的再群体化和提高再氧合, 两者均有助于肿瘤的局部控制。这种提高再氧合的内在机制可能是由于肿瘤的快速消退和耗氧量减少^[12]。这些数据为临床研究

EGFR 靶向药物抗联合放疗治疗肿瘤提供了基本论据。

2.3 PI3K/AKT 信号通路与乏氧 乏氧是实体瘤的重要现象之一,能引起基因遗传的不稳定并产生更多的侵袭性表型从而导致对放化疗的抗拒。癌细胞有基因遗传和适应性改变的能力,因而能在乏氧状况下继续生存甚至增殖。低氧诱导因子 1 (HIF-1) 是一个关键的乏氧诱导产生的转录因子调节基因表达,其蛋白产物参与肿瘤生长和凋亡^[13,14]。一旦 HIF-1 被激活,就会导致许多基因产物包括血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF)、葡萄糖转运蛋白和碳酸酐酶 IX 的上调。在含氧量正常的情况下, HIF-1 α 通过与 von Hippel Lindau 蛋白或因子结合而快速失活,抑制 HIF-1 从而阻止其进一步转录。然而,在乏氧状况下转录活动是通过 PI3K/AKT 信号通路进行调节^[13]。这条通路的激活会导致转录和 HIF-1 表达增加。前列腺细胞在 AKT 或 PI3K 被抑制时 HIF-1 的转录被阻断,而持续激活 AKT 或 PTEN 显性失活时 HIF-1 的转录被激活^[14]。此外在肝癌细胞系可以观察到基质金属蛋白酶 2 和 HIF-1 α 过表达^[15]。在乳腺癌细胞系中也可以观察到抑制 HIF-1 α 和 VEGF 表达可以降低其腺癌细胞的增殖^[16]。在头颈肿瘤中已表明乏氧、血管生成和辐射敏感性之间紧密相关,阻断 PI3K/AKT 信号通道使 VEGF 和 HIF-1 α 二者表达减少,导致血管生成减少以及乏氧状况改善,从而提高辐射的敏感性^[17]。

2.4 PI3K/AKT 信号通路、乏氧和 VEGF 通过抑制 EGFR 调节 VEGF 是提高肿瘤氧合的重要机制之一。VEGF 在肿瘤诱导内皮细胞增殖和血管通透性引导新血管生成中至关重要。阻止新血管生成可以使脉管系统正常化,改善血流灌注,从而减轻肿瘤细胞乏氧。VEGF 是最广泛应用于研究诱导乏氧的蛋白之一^[17]。调节 VEGF 表达有两条通路,一条是通过 HIF-1 α 转录,另一条是 HIF 非依赖性通路,并且均参与 PI3K 和 AKT 信号通路^[16,17]。VEGF 是在乏氧状况下受 HIF-1 α 控制的基因之一,但在正常含氧状况下也可以通过 EGFR 或 PTEN 功能丢失而被激活。EGFR/PI3K/AKT 信号通路既可通过 EGF 以旁分泌的方式,也可通过 PI3K/AKT 通路的下游信号来控制 VEGF 的表达。在体内和体外实验均表明 PI3K 抑制剂能够减少 VEGF 的表达。另外 pAKT 能够抵消由 TK 抑制导致的 VEGF 活性下调,这表明 PI3K/AKT 能立即启动 TK 受体下游信号通路从而控制 VEGF 的表达^[18,19]。

3 结语

PI3K/AKT 是一个集多种细胞功能于一身的重要调节器,这些功能包括增殖、侵袭、凋亡和上调乏氧相关蛋白。这条通路在内在的辐射敏感性、肿瘤细胞增殖和乏氧等三个主要的辐射抵抗机制中起关键作用。通过 EGFR 抑制阻断 PI3K/AKT 信号通路提高辐射敏感性,通过 VEGF 抑制血管生成、改善乏氧等不同机制影响肿瘤生长。重要的是 EGFR 非依赖性激活 PI3K/AKT 通路普遍存在,这也是治疗抵抗的一个重要环节。确定 EGFR/PI3K/AKT 通路的激活状态,也许有助于选择患者进行放化疗联合靶向的个体化治疗。

参考文献

- 1 Stegeman H, Span PN, Kaanders JH, et al. Improving chemoradiation efficacy by PI3-K/AKT inhibition[J]. *Cancer Treat Rev*, 2014, 40(10):1182-1191.
- 2 Dent P, Yacoub A, Contessa J, et al. Stress and radiation-induced activation of multiple intracellular signaling pathways[J]. *Radiat Res*, 2003, 159(3):283-300.
- 3 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 Opin Ther Targets*, 2015, 19(6):795-805.
- 4 Davis AJ, Chen BP, Chen DJ. DNA-PK: a dynamic enzyme in a versatile DSB repair pathway[J]. *DNA Repair (Amst)*, 2014, 17:21-29.
- 5 Kang KB, Zhu C, Wong YL, et al. Gefitinib radiosensitizes stem-like glioma cells: inhibition of epidermal growth factor receptor-Akt-DNA-PK signaling, accompanied by inhibition of DNA double-strand break repair[J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2012, 83(1):e43-e52.
- 6 Peddi P, Shi R, Nair B, et al. Cisplatin, cetuximab, and radiation in locally advanced head and neck squamous cell cancer: a retrospective review[J]. *Clin Med Insights Oncol*, 2015, 9:1-7.
- 7 Zhang T, Sun Q, Liu T, et al. MiR-451 increases radiosensitivity of nasopharyngeal carcinoma cells by targeting ras-related protein 14 (RAB14)[J]. *Tumour Biol*, 2014, 35(12):12593-12599.
- 8 Grosso S, Doyen J, Parks SK, et al. MiR-210 promotes a hypoxic phenotype and increases radioresistance in human lung cancer cell lines[J]. *Cell Death Dis*, 2013, 4:e544.
- 9 Vesely K, Jurajda M, Nenutil R, et al. Expression of p53, cyclin D1 and EGFR correlates with histological grade of adult soft tissue sarcomas: a study on tissue microarrays[J]. *Neoplasma*, 2009, 56(3):239-244.
- 10 Doyen J, Parks SK, Marcié S, et al. Knock-down of hypoxia-induced carbonic anhydrases IX and XII radiosensitizes tumor cells by increasing intracellular acidosis[J]. *Front Oncol*, 2013, 2:199.
- 11 Schiefeler C, Piontek G, Doescher J, et al. Inhibition of SphK1 reduces radiation-induced migration and enhances sensitivity to cetux-

- imab treatment by affecting the EGFR/SphK1 crosstalk[J]. *Oncotarget*, 2014, 5(20):9877-9888.
- 12 Gurtner K, Ebert N, Pfitzmann D, et al. Effect of combined irradiation and EGFR/Erb-B inhibition with BIBW 2992 on proliferation and tumour cure in cell lines and xenografts[J]. *Radiat Oncol*, 2014, 9:261.
 - 13 Nallamshetty S, Chan SY, Loscalzo J. Hypoxia: a master regulator of microRNA biogenesis and activity[J]. *Free Radic Biol Med*, 2013, 64:20-30.
 - 14 Mimeault M1, Batra SK. Hypoxia-inducing factors as master regulators of stemness properties and altered metabolism of cancer- and metastasis-initiating cells[J]. *J Cell Mol Med*, 2013, 17(1):30-54.
 - 15 Wang B, Ding YM, Fan P, et al. Expression and significance of MMP2 and HIF-1 α in hepatocellular carcinoma[J]. *Oncol Lett*, 2014, 8(2):539-546.
 - 16 Li G, Shan C, Liu L, et al. Tanshinone IIA inhibits HIF-1 α and VEGF expression in breast cancer cells via mTOR/p70S6K/RPS6/4E-BP1 signaling pathway[J]. *PLoS One*, 2015, 10(2):e0117440.
 - 17 Hsu HW, Wall NR, Hsueh CT, et al. Combination antiangiogenic therapy and radiation in head and neck cancers[J]. *Oral Oncol*, 2014, 50(1):19-26.
 - 18 Wouters A, Boeckx C, Vermorken JB, et al. The intriguing interplay between therapies targeting the epidermal growth factor receptor, the hypoxic microenvironment and hypoxia-inducible factors[J]. *Curr Pharm Des*, 2013, 19(5):907-917.
 - 19 Li J, Zhang C, Jiang H, et al. Andrographolide inhibits hypoxia-inducible factor-1 through phosphatidylinositol 3-kinase/AKT pathway and suppresses breast cancer growth[J]. *Oncotargets Ther*, 2015, 8:427-435.
- [收稿日期 2015-05-22][本文编辑 谭毅韦颖]

《中国临床新医学》杂志

基金课题论文和博士硕士研究生毕业论文征稿及奖励启事

《中国临床新医学》杂志是经国家新闻出版广电总局批准出版,由国家卫生和计划生育委员会主管,由中国医师协会和广西壮族自治区人民医院共同主办的国家级医学学术性科技期刊,国内统一连续出版物号为CN45-1365/R,国际标准刊号为ISSN1674-3806,邮发代号为48-173,国内外公开发行人。办刊宗旨:报道国内外医学科学的最新研究成果,传播医学科学的最新理论和信息,交流医学科学的最新经验,介绍医学科学的最新技术。报道内容包括基础研究、实验研究、临床研究、教学研究中的发明创造、成果报告和学术经验,临床疾病诊疗中的新技术、新项目、新方法等。栏目设置:专家特稿、基金课题报告、博硕论坛、临床研究、技术创新、护理研讨、短篇报道、循证医学、新进展综述等。

本刊征集各级基金课题论文和博士、硕士研究生毕业论文,并实行快速发表和有关奖励:

- 1 对基金课题论文和博士、硕士研究生毕业论文开辟“快速通道”以最快的速度发表(两个月内)。
- 2 对基金课题论文(作者须提供项目合同书复印件)和博士、硕士研究生毕业论文(须有院校推荐证明信)分别实行以下奖励:

- (1) 国家级基金课题论著性论文每篇奖励2000元,短篇论著每篇奖励1500元。
- (2) 省、部级基金课题论著性论文每篇奖励1500元,短篇论著每篇奖励1000元。
- (3) 各省、自治区、直辖市卫生厅(局)重点基金课题论著性论文每篇奖励1000元,短篇论著每篇奖励500元。
- (4) 博士研究生毕业论文(须提供院校推荐证明信)每篇奖励1000元,硕士研究生毕业论文(须提供院校推荐证明信)每篇奖励800元。

3 投稿要求和注意事项

- (1) 论文每篇要求在4000字以内(不包括图表和参考文献),并附300字以内的中文摘要、关键词;英文题目、作者姓名(汉拼)、单位英文名称、英文摘要和关键词。

- (2) 来稿须附单位推荐证明信,推荐信须明确表明“同意推荐、无一稿两投、不涉及保密及署名争议问题”,来稿请自留底稿。

- (3) 文稿须(A4纸打印)寄一份纸质打印稿,并发电子邮件(电子文稿必须是word文档)到编辑部。稿件所附照片一律要求使用原始照片。来稿要求按本刊书写格式规范进行书写,项目要齐全(包括题目、作者署名、基金项目批准单位及编号、作者单位、作者简介;中文摘要、关键词;英文摘要及关键词),字迹要清楚,标点要准确,文字应双倍行距打印。要注意特殊文种大小写、上下角标符号、缩略语等的正确书写。

- (4) 来稿请在署名下标明:基金项目(项目来源及编号);作者单位(包括邮编、所在地、单位名称);作者简介(包括姓名、出生年月、性别、学历、学位、技术职称、是否研究生导师、主要研究方向、电话号码和E-mail)。

- (5) 来稿请通过邮箱 zgclxyxzz@163.com 发至本刊编辑部。投稿推荐证明和基金课题项目合同书复印件请挂号或快递邮寄至广西南宁市桃源路6号广西壮族自治区人民医院内《中国临床新医学》杂志编辑部收。本刊网址: <http://www.zgclxyxzz@163.com>, E-mail: zgclxyxzz@163.com。邮政编码:530021。电话:0771-2186013。

《中国临床新医学》杂志编辑部