

中药抑制非小细胞肺癌 PI3K/Akt/mTOR 信号通路克服 EGFR-TKIs 获得性耐药研究进展

蔡鹏涛¹, 吴志强¹, 郭 会¹, 舒琦瑾^{2*}

1. 浙江中医药大学, 浙江 杭州 310053

2. 浙江中医药大学附属第一医院 肿瘤科, 浙江 杭州 310006

摘要: 随着对肺癌发病机制及其生物学特性研究的不断深入, 分子靶向治疗尤其是表皮生长因子受体-酪氨酸激酶抑制剂(EGFR-TKIs)在非小细胞肺癌治疗方面取得了突破性进展, 然而经过 6~12 个月的治疗后, 大部分患者会对 EGFR-TKIs 产生获得性耐药。PI3K/Akt/mTOR 信号通路在非小细胞肺癌的发生发展中具有重要的作用, 该通路在肿瘤治疗方面已经有了比较广泛的研究。中药在对抗 EGFR-TKIs 耐药方面有很大的前景。就近年来中药通过抑制非小细胞肺癌 PI3K/Akt/mTOR 信号通路来克服 EGFR-TKIs 获得性耐药的研究进展进行综述。

关键词: 表皮生长因子受体-酪氨酸激酶抑制剂; 获得性耐药; PI3K/Akt/mTOR 信号通路; 非小细胞肺癌; 中药

中图分类号: R285 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2015)12-1849-04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2015.12.026

Research progress on Chinese materia medica in overcoming EGFR-TKIs acquired drugs resistance through PI3K/Akt/mTOR pathway

CAI Peng-tao¹, WU Zhi-qiang¹, GUO Hui¹, SHU Qi-jin²

1. Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China

2. Department of Oncology, The First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310006, China

Abstract: With in-depth study of the pathogenesis of lung cancer and its biological behaviour, molecular targeted therapy, especially the epidermal growth factor receptor-tyrosine kinase inhibitors (EGFR-TKIs) made a breakthrough in non-small cell lung cancer treatment. However, the majority of patients can produce the resistance to EGFR-TKIs after 6 to 12 months treatment, which called acquired drug resistance. PI3K/Akt/mTOR pathway plays an important role in the development of non-small cell lung cancer, this pathway in cancer treatment has been widely studied. Chinese materia medica (CMM) in overcoming EGFR-TKIs resistance has a bright future. In this review, we show the developments on CMM in overcoming EGFR-TKIs acquired drugs resistance through PI3K/Akt/mTOR pathway.

Key words: epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors; acquired drugs resistance; PI3K/Akt/mTOR pathway; non-small cell lung cancer; Chinese materia medica

肺癌是当今世界各国最常见的恶性肿瘤之一, 其死亡率高居所有恶性肿瘤首位^[1], 其中 75%~80%为非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)^[2]。近年来, 以吉非替尼(gefitinib, iressa)和厄洛替尼(erlotinib, tarceva)为代表的小分子表皮生长因子受体-酪氨酸激酶抑制剂(epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors,

EGFR-TKIs)正广泛应用于临床, 一线使用 EGFR-TKIs 的患者总生存期延长 2 倍以上, 超过了 2 年^[3], 但临床上所有 EGFR-TKIs 治疗有效的非小细胞肺癌患者, 都会在 6~12 个月后出现获得性耐药^[4], 使得该类药物在临床应用中受到了较大限制。PI3K/Akt/mTOR 信号通路作为细胞内重要信号转导通路, 通过影响下游多种效应分子的活化状态,

收稿日期: 2014-11-04

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(81173247)

作者简介: 蔡鹏涛(1989—), 男, 浙江台州人, 硕士研究生在读, 研究方向为中西医结合治疗肿瘤。

Tel: 15058108180 E-mail: caipthz@163.com

*通信作者 舒琦瑾 Tel: (0571)87072196 E-mail: shuqjh@163.com

对 NSCLC 的发生发展有重要的影响。中医药治疗肿瘤历史悠久,具有毒性小、安全有效、多靶点等优势,随着 EGFR-TKIs 在 NSCLC 治疗中的普及,寻找抑制 EGFR-TKIs 药物获得性耐药的中药制剂,受到越来越多的关注。

1 EGFR-TKIs 的作用机制

EGFR 是跨膜受体酪氨酸激酶 ErbB 家族的一员,由胞外功能区、穿膜区和胞内区组成。EGFR 与配体特异性结合后发生构象改变形成同源或异源二聚体,从而使 TKI 区激活及受体自动磷酸化,继而激活下游一系列信号转导通路。细胞的生长、增殖、分化和血管生成与 EGFR 信号转导通路有着密切的关联^[5]。EGFR-TKIs 通过与 ATP 或底物竞争性结合胞外的配体结合位点,阻断 EGFR 分子内 TKI 的活化及酪氨酸的自身磷酸化,抑制 EGFR 同源或异源二聚体的形成,从而抑制 EGFR 激活,阻止下游信号转导,抑制细胞增殖分化、加速细胞凋亡、抑制血管生成和肿瘤细胞转移。

2 EGFR-TKIs 获得性耐药的主要机制

EGFR-TKIs 获得性耐药的具体机制尚不完全清楚,目前认为主要与以下途径有关:(1) EGFR 基因第 20 外显子发生突变,TKI 活化域的第 790 位密码子苏氨酸被蛋氨酸取代,即 T790M 突变,进而引起 EGFR 空间构象发生改变,使 ATP 与 EGFR 的结合力显著增强了至少 10 倍^[6],而 TKI 与 EGFR 的结合力显著减弱。该通路约占 NSCLC 患者 EGFR-TKIs 获得性耐药的 50%^[7]。(2) 肝细胞生长因子受体(c-mesenchymal-epithelia transition factor, c-MET)基因的过度表达,在 EGFR 被阻断的情况下,通过 ErbB3/PI3K/Akt 信号通路向细胞内传递生存信号,从而绕过 EGFR 信号通路,促使肿瘤细胞增殖,抑制其凋亡,从而降低对 EGFR-TKIs 治疗的敏感性。该通路约占 NSCLC 患者 EGFR-TKIs 获得性耐药的 20%^[8]。(3) 其他机制,如 Her2 基因扩增^[9]、BRAF 基因突变^[10]、ATP 结合盒式转运蛋白 G2 蛋白突变^[11]等机制,均可导致 EGFR-TKIs 获得性耐药。

3 PI3K/Akt/mTOR 信号通路及其作用

磷脂酰肌醇-3 激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)是一种可催化磷脂酰肌醇 D3 位磷酸化的脂类激酶,其上游分子是 EGFR、c-MET、胰岛素样生长因子受体(insulin-like growth factor receptor, IGF1R)等 RTK 家族成员。随着各种生长因子作用于膜受体

并使之活化,PI3K 信号通路也因此而激活。

Akt 基因是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,是 PI3K 下游的作用靶点。PIP3 与 Akt 的 N 端含有 PH 结构域结合,Akt 从细胞质转移到细胞膜上,活化的 Akt 通过磷酸化作用激活或抑制下游的靶蛋白从而调节细胞的生物学特性^[12]。Akt 基因控制细胞内 mRNA 的翻译,参与膜蛋白转运、蛋白质降解、蛋白激酶 C 信号转导和核糖体合成等一系列病理生理过程^[13]。

哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)是一种与 PI3K/Akt 通路相关的蛋白激酶,mTOR 作为 Akt 的一个底物而被激活。mTOR 是控制蛋白翻译和细胞周期进展的重要调控因子,处于生长调节的中心环节。当受到生长因子和营养因素刺激时,mTOR 通路活化进而激活下游靶蛋白,对细胞生长和代谢进行调控。

第 10 染色体丢失的磷酸酶基因(phosphatase and tensin homologue deleted on chromosome 10, PTEN)是同时具有脂质磷酸酶和蛋白磷酸酶双特异性磷酸酶活性的抑癌基因,在细胞的生长发育、凋亡、迁移、信号转导等方面起着重要的调控作用。PTEN 功能丢失可激活 mTOR 信号传导通路,参与肿瘤的发生^[14]。

4 中药抑制 NSCLC PI3K/Akt/mTOR 信号通路克服 EGFR-TKIs 耐药的研究

中药是祖国传统文化的瑰宝,在抗肿瘤方面有着独特的疗效。中药单味药及复方中的多种活性成分通过多途径、多靶点、多方式在肿瘤治疗中发挥着重要作用。多项研究显示中药可以通过抑制 PI3K/Akt/mTOR 信号通路中的某个靶点来抑制该通路的活化,从而推迟 EGFR-TKIs 耐药事件出现的时间或者抑制耐药。

4.1 姜黄素

姜黄素是从姜黄 *Curcuma longa* L.、莪术 *Curcuma zedoaria* (Christm.) Rosc. 和郁金 *Curcuma aromatica* Salisb. 等姜黄属植物中提取的一种化学成分,是植物界很稀少的具有二酮的色素,为二酮类化合物,具有调血脂、抗肿瘤、抗炎、利胆、抗氧化等作用^[15]。盛琦等^[16]研究了姜黄素对吉非替尼耐药 NSCLC 细胞株 PC9/G2 耐药性的影响及作用机制,发现姜黄素对吉非替尼耐药细胞株 PC9/G2 具有耐药逆转作用,其逆转作用机制可能是通过下调 EGFR 下游信号通路中 PI3K 的表达水平,从而诱导更多的凋亡蛋白 caspase-3 的活性实现的。另外,还

有一些研究^[17-20]表明,姜黄素对 EGFR 相关信号通路上多个靶基因具有调控作用,显示出姜黄素对 EGFR-TKIs 耐药逆转的极大潜力。

4.2 蟾毒灵

蟾毒灵是从蟾酥中提取的蟾毒内酯类物质,具有较强的抗肿瘤及强心、麻醉等作用。蟾毒灵可通过线粒体或死亡受体介导的途径诱导肿瘤细胞凋亡,也可以通过抑制 EGFR 活化从而阻断 PI3K/Akt 信号通路来抑制肿瘤细胞的增殖^[21-22]。康小红等^[23]研究蟾毒灵与吉非替尼联合用药对肺腺癌 H1975 细胞吉非替尼耐药的逆转作用,发现蟾毒灵可使耐药的 H1975 细胞对吉非替尼再次敏感,结合蛋白质印迹法检测,发现蟾毒灵通过下调 p-EGFR、p-PI3K 和 p-Akt 蛋白的表达来抑制 EGFR-PI3K/Akt 信号通路的活化,从而逆转吉非替尼耐药。

4.3 β -榄香烯

β -榄香烯是从莪术中提取的抗癌药物,其抗癌作用疗效确切,不良反应少,且具有拮抗耐药的作用,已广泛应用与临床。郇飞宇等^[24]通过 β -榄香烯对肺腺癌 PC9/ZD 细胞株吉非替尼耐药的逆转研究发现, β -榄香烯联合吉非替尼能够明显抑制耐药细胞的增殖,促进耐药细胞的凋亡,而且能够增强耐药细胞对吉非替尼的敏感性,调节磷酸化 Erk 及 Akt 等信号通路,抑制 Erk 蛋白磷酸化使其失活从而逆转 EGFR-TKIs 的耐药。

4.4 乌骨藤

乌骨藤为番荔枝科攀援灌木植物白叶瓜馥木 *Fissistigma glaucescens* (Hance) Merr. 的根,味辛、涩,性温,归肝经,具有祛风湿、通经活血、止血之功效。研究显示乌骨藤具有广谱抗肿瘤作用,对胃癌、肝癌、肺癌、食管癌、卵巢癌、宫颈癌等恶性肿瘤有较好的疗效。消癌平为乌骨藤有效成分提取物的商品名。顾晓燕等^[25]采用厄洛替尼 NSCLC 耐药细胞株 PC9/G2 为靶细胞进行逆转研究,发现消癌平联合厄洛替尼对 PC9/G2 细胞具有明显的杀伤作用,细胞存活率比单用厄洛替尼组降低 15%~23%,说明消癌平对耐药细胞株 PC9/G2 有较好的逆转耐药作用。其机制可能是通过下调 EGFR 下游通路 PI3K 的表达,进而提高 caspase-3 活性实现的。

4.5 南方红豆杉

南方红豆杉 *Taxus chinensis* (Pilger) Rehd. var. *mairei* (Lemee et Lévl) Cheng et L. K. Fu 属浅根植物,是濒临灭绝的天然珍稀抗癌植物。其性味苦、

平,有小毒,归心经;功效消肿散结,主治肿瘤、肾病、风湿等。舒琦瑾等^[26-27]通过研究南方红豆杉水提物诱导人肺癌 A549 细胞凋亡的机制,发现南方红豆杉水提物能明显降低 A549 细胞 EGFR 磷酸化残基 pEGFR (Y1068) 的表达水平,调控下游信号的传导,并通过调节 survivin 蛋白的表达来发挥诱导凋亡的作用,同时发现南方红豆杉水提物可能通过下调 EGFR/MAPK 信号通路来实现抑制 A549 移植瘤的生长^[28]。通过这些先期研究,发现南方红豆杉也可能通过阻断 EGFR/PI3K/Akt 信号通路来克服吉非替尼耐药,目前该结论尚有待进一步证实。

5 结语与展望

与传统的化疗相比,EGFR-TKIs 靶向治疗具有更大的优势,然而获得性耐药阻碍了靶向药物的应用。大量基础和临床研究已经表明 EGFR-TKIs 耐药涉及多种机制,对其具体机制的研究便成为解决这一问题的关键。PI3K/Akt/mTOR 信号通路的失调对肺癌的形成和发展具有重要的作用,活化的 PI3K/Akt/mTOR 通路可以激活下游多条信号的转导,促进 NSCLC 的进展。中药治疗肿瘤通过多靶点、多层次、综合调节作用,来推迟耐药事件出现的时间或者逆转耐,对于治疗 EGFR-TKIs 耐药有着非常好的前景。随着肺癌靶向治疗获得性耐药机制研究的不断加深,越来越多的研究者对中药克服 EGFR-TKIs 耐药进行了较为深入的研究,但目前仍然还有一些问题亟待解决:①已经证明了对 PI3K/Akt/mTOR 通路有抑制作用的中药是否也影响其他通路来克服 EGFR-TKIs 的耐药?②是否有其他的信号通路与 PI3K/Akt/mTOR 通路存在协同或抑制作用?③对于克服 EGFR-TKIs 耐药,在临床中如何将这相关中药与中医的辨证论治相结合?④上述研究均仅局限于中药单体水提物或有效成分,是否有中药复方也可以通过该通路克服 EGFR-TKIs 耐药?

随着对 EGFR-TKIs 耐药机制研究的深入,中药通过抑制 PI3K/Akt/mTOR 信号通路克服 EGFR-TKIs 获得性耐药的机制有了一些了解,不仅能为肺癌的个体化诊疗提供新的思路及更广阔的前景,更能为新时代中医的发展和中医药的现代化提供新的方向。

参考文献

- [1] Jemal A, Siegel R, Ward E, et al. Cancer statistic [J]. *Cancer J Clin*, 2009, 59(4): 225-249.
- [2] Tonimi M, Carvalho E C. Cancer risk and preventive

- behavior: persuasion as an intervention strategy [J]. *Rev Lat Am Enfermagem*, 2008, 16(5): 864-870.
- [3] Ohashi K, Maruvka Y E, Michor F, *et al.* Epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor-resistant disease [J]. *J Clin Oncol*, 2013, 31(8): 1070-1080.
- [4] Sequist L V, Waltman B, Dias-Santagata D, *et al.* Genotypic and histological evolution of lung cancer acquiring resistance to EGFR inhibitors [J]. *Sci Transl Med*, 2011, 3(75): 75ra26.
- [5] Ono M, Kuwano M. Molecular mechanisms of epidermal growth factor receptor (EGFR) activation and response to gefitinib and other EGFR-targeting drugs [J]. *Clin Cancer Res*, 2006, 12(24): 7242-7251.
- [6] Yun C H, Mengwasser K E, Toms A V, *et al.* The T790M mutation in EGFR kinase causes drug resistance by increasing the affinity for ATP [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(6): 2070-2075.
- [7] Kobayashi S, Boggon T J, Dayaram T, *et al.* EGFR mutation and resistance of non-small-cell lung cancer to gefitinib [J]. *N Engl J Med*, 2005, 352(8): 786-792.
- [8] Engelman J A, Zejnullahu K, Mitsudomi T, *et al.* Met amplification leads to gefitinib resistance in lung cancer by activating ERBB3 signaling [J]. *Science*, 2007, 316(5827): 1039-1043.
- [9] Takezawa K, Pirazzoli V, Arcila M E, *et al.* HER2 amplification: a potential mechanism of acquired resistance to EGFR inhibition in EGFR-mutant lung cancers that lack the second-site EGFR T790M mutation [J]. *Cancer Discov*, 2012, 2(10): 922-933.
- [10] Huang M H, Lee J H, Chang Y J, *et al.* MEK inhibitors reverse resistance in epidermal growth factor receptor mutation lung cancer cells with acquired resistance to gefitinib [J]. *Mol Oncol*, 2013, 7(1): 112-120.
- [11] Hopper-Borge E R, Rastushny V. Mechanism of tumor resistance to EGFR-targeted therapies [J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2009, 13(3): 339-362.
- [12] Solit D B, Basso A D, Olshen A B, *et al.* Inhibition of heat shock protein 90 function down-regulates Akt kinase and sensitizes tumors to Taxol [J]. *Cancer Res*, 2003, 63(3): 2139-2144.
- [13] 窦学军, 王亮, 路伟强, 等. AKT 和 PTEN 基因在非小细胞肺癌组织中的表达及临床意义 [J]. *北京医学*, 2014, 36(6): 458-461.
- [14] Sabatini D M. mTOR and cancer: insights into a complex relationship [J]. *Nat Rev Can*, 2006, 6(9): 729-734.
- [15] 余美荣, 蒋福升, 丁志山. 姜黄素的研究进展 [J]. *中草药*, 2009, 40(5): 828-831.
- [16] 盛琦, 陈建, 李茵. 姜黄素逆转非小细胞肺癌吉非替尼耐药的研究 [J]. *中国现代应用药学*, 2013, 30(4): 360-364.
- [17] Patel B, Gupta D, Elliott A, *et al.* Curcumin targets FOLFOX-surviving colon cancer cells via inhibition of EGFRs and IGF-IR [J]. *Antivan Res*, 2010, 30(2): 319-326.
- [18] Dorothy W, Mysore S, Keery S, *et al.* Liposome-encapsulated curcumin suppresses growth of head and neck squamous cell carcinoma *in vitro* and in xenografts through the inhibition of nuclear factor κ B by an AKT-independent pathway [J]. *Clin Can Res*, 2008, 14(19): 6228-6236.
- [19] Kim J H, Xu C J, Keum Y S, *et al.* Inhibition of EGFR signaling in human prostate cancer PC-3 cells by combination treatment with β -phenylethyl isothiocyanate and curcumin [J]. *Carcin*, 2006, 27(3): 475-482.
- [20] Hsiao Y P, Yu C S, Yu C C, *et al.* Triggering apoptotic death of human malignant melanoma a375. s2 cells by bufalin: involvement of caspase cascade-dependent and independent mitochondrial signaling pathways [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2012, 2012: 591241.
- [21] Zhu Z, Sun H, Ma G, *et al.* Bufalin induces lung cancer cell apoptosis via the inhibition of PI3K/Akt pathway [J]. *Int J Mol Sci*, 2012, 13(2): 2025-2035.
- [22] Jiang Y, Zhang Y, Luan J, *et al.* Effects of bufalin on the proliferation of human lung cancer cells and its molecular mechanisms of action [J]. *Cytotechnology*, 2010, 62(6): 573-583.
- [23] 康小红, 龚亚斌, 王丽芳, 等. 蟾毒灵逆转肺腺癌 H1975 细胞对吉非替尼耐药的体内实验研究 [J]. *肿瘤*, 2013, 33(4): 304-308.
- [24] 郇飞宇, 张爱琴, 孙燕. 榄香烯对肺腺癌 PC9/ZD 细胞株吉非替尼耐药的逆转作用 [J]. *中华中医药学刊*, 2014, 32(1): 131-133.
- [25] 顾晓燕, 汪洋, 陈建, 等. 消癌平对非小细胞肺癌厄洛替尼耐药的逆转作用 [J]. *药物与临床*, 2014, 11(6): 30-34.
- [26] 舒琦瑾, 李萍, 王彬彬. 南方红豆杉水提物诱导人肺癌 A549 细胞凋亡及其分子机制的实验研究 [J]. *中国中西医结合杂志*, 2011, 31(9): 1243-1247.
- [27] 舒琦瑾, 谢长生, 屠小龙. 南方红豆杉水提物抑制 EGFR/MAPK 通路诱导人肺癌 A549 细胞凋亡的研究 [J]. *中华中医药杂志*, 2013, 28(11): 3412-3416.
- [28] Shu Q J, Shen M H, Wang B B, *et al.* Aqueous extract of *Taxus chinensis* (Pilger) rehdi inhibits lung carcinoma A549 cells through the epidermal growth factor receptor/mitogen-activated protein kinase pathway *in vitro* and *in vivo* [J]. *J Tradit Chin Med*, 2014, 34(3): 293-301.