

[文章编号] 1007-385X(2007)05-0401-04

· 院士论坛 ·

细胞信号转导与靶向抗肿瘤药物的研发

Cell signal transduction and development of targeted anti-tumor agent

王红阳, 丁 劲, 冯 贇(第二军医大学 东方肝胆外科研究所, 上海 200438)



[作者简介] 王红阳, 中国工程院院士、教育部长江“特聘教授”, 长期从事恶性肿瘤的基础与临床研究, 对肿瘤发生发展的分子病理机制和细胞信号转导研究有重要建树。1997 年回国创办了第二军医大学国际合作生物信号转导研究中心和东方肝胆外科医院综合治疗病区, 形成基础与临床结合的创新研究基地。在分子诊断方面, 筛选和研发了新的肝癌诊断标志物及血清检测单克隆抗体; 发现了新的抑制性受体对肝癌细胞生长、凋亡的调控机制和癌基因 P28 在肝癌的异常信号通路, 为肝癌防治提供了新的靶标; 分离和鉴定了 3 种新的酪氨酸磷酸酶, 提出了新的酶分类方法, 得到国际同行公认; 阐明 Wnt 通路中酪氨酸磷酸酶调控的重要作用及其机制, 对酶学研究做出了贡献。主持国家自然科学基金重点项目、国家杰出青年基金和上海市重大专项等多项研究。在 *J. E. M. Hepatology*、*Gastroenterology*(USA)、*Cancer Res* 和 *Nature* 等国际主流期刊发表论文 80 余篇, 先后获国家自然科学基金二等奖、何梁何利科技进步奖、军队科技进步一等奖等多个奖项, 被评为上海市“十大科技精英”和“优秀学科带头人”。E-mail: hywangk@vip. sina. com

[摘要] 癌症严重威胁着人类的健康和生命, 人们至今仍未真正全面了解癌症的致病机制。近年的研究表明, 细胞信号转导与肿瘤的发生、发展和复发、转移密切相关。业已证实, 促分裂原活化蛋白激酶(MAPK)系统、I κ B kinase/NF- κ B(IKK/NF- κ B)通路、Wnt- β -catenin 途径、TGF- β 信号系统、活性氧族(ROS)等多个信号转导途径形成了一个精密调控肿瘤细胞生长、分化、迁移和凋亡的复杂网络。针对肿瘤信号转导通路中关键分子研发的靶向药物, 如酪氨酸激酶受体单抗 Trastuzumab、活性酪氨酸酶抑制剂 Imatinib、表皮生长因子受体抑制剂 Gefitinib, 以及多靶点新药 Sorafenib 和 Sunitinib 等成功应用于临床, 把肿瘤的靶向治疗推进到一个崭新的阶段。然而, 肿瘤信号转导通路相关的小分子靶向药物仍存在着多种局限和不足。今后应大力研发新型多靶点药物, 临床上应强调分子靶标的综合性, 针对多途径多靶点的鸡尾酒疗法是很有前景的治疗策略。

[关键词] 肿瘤; 细胞信号转导; 分子靶标; 靶向药物

[中图分类号] R730.5 [文献标志码] A

长期以来, 恶性肿瘤一直严重威胁着人类的健康与生命。全世界的科学家在过去的数十年中付出了巨大努力, 从多个角度来研究恶性肿瘤的致病机制, 采用各种手段来进行预防、诊断与治疗, 但恶性肿瘤的发病率与致死率仍然居高不下。WHO 文件显示: 过去数十年中, 全世界每年有近 700 万人死于恶性肿瘤, 估计 2020 年将升至 1 000 万。过去 20 年来, 细胞信号转导领域的研究取得了重大进展, 发现信号转导网络与调控在肿瘤的发生、发展和复发、转移中起着重要作用, 针对肿瘤信号转导通路中关键分子的靶向治疗有望成为攻克恶性肿瘤的有效手段。

1 以新的视角研究恶性肿瘤的致病机制

人类与恶性肿瘤的斗争历程异常漫长与艰难复杂, 全世界科学家为此投入了大量人力、物力与财力, 在各个领域都取得了不同程度的进展。机体在环境与遗传的相互作用下累积了多基因变异而最终引发恶性肿瘤。致癌因素可分为物理因素(如紫外线、电离辐射)、化学因素(如石棉、吸烟) 与生物因素(如某些病毒与细菌感染, 以及真菌毒素污染的

食物)^[1-5]。肿瘤干细胞的概念为肿瘤研究带来了新的转机。科学家目前认为肿瘤干细胞才是肿瘤细胞的真正来源和复发转移的根本原因, 而常规化疗只针对一般肿瘤细胞, 对肿瘤干细胞并无作用。这种针对性和特异性都不强的治疗, 将必然导致肿瘤细胞“野火烧不尽, 春风吹又生”^[6]。系统生物学研究发现, 以往将精力过于集中于对机体的各个独立组成部分甚至仅仅某个基因进行研究, 忽略了人体是一个有机的整体, 她由多个信号途径相互交叉、多个器官和系统相互作用, 形成一个精密调控的复杂网络。今后应更多地强调从整体的视角来研究肿瘤, 研究各组成部分如何在一个复杂的系统中相互作用和相互影响^[7]。

但是, 目前这些阶段性的局部探索犹如盲人摸象, 离真正认识肿瘤致病机制的真实全貌还有很大

[基金项目] 国家自然科学基金海外杰出青年项目(No. 30428006); 国家自然科学基金重点项目(No. 30530790)。Supported by the National Natural Science Foundation of China for Overseas Excellent Young Scholars (No. 30428006); the Major Program of National Natural Science Foundation of China (No. 30530790)

距离。通过细胞信号转导网络调控来研究和阐明肿瘤的致病机制是必由之路。

2 肿瘤发生、发展相关的重要细胞信号通路

细胞是一个有机的微观系统,各个功能部分通过复杂的信号通路相互连接^[8]。细胞接收到外部信号后,通过复杂的信号处理做出应答,在此过程中,有多种信号转导通路在调节着细胞生长、分化、迁移和凋亡。

促分裂原活化蛋白激酶(mitogen activated protein kinases, MAPK)家族主要分为3类:细胞外信号调节激酶(extracellular-signal-regulated kinases, ERK)、c-Jun 氨基端激酶(c-jun N-terminal kinase, JNK)或应激活化蛋白激酶(stress-activated protein kinase, SAPK)以及 p38 MAPK。它们被证实细胞的基因表达、生长、分化、凋亡、代谢和应答等多方面起重要的调节作用^[9], MAPK 的过表达和激活可影响肿瘤的生长与转移^[10]。

IKK kinase/NF- κ B (IKK/NF- κ B)信号转导通路在多种生理和病理过程中起着极为关键的作用^[11]。NF- κ B 是一种核转录因子,在细胞应激时激活,调节与细胞增殖和死亡有关基因的表达^[12]。近年来,人们就炎症、感染与肿瘤间的关系开展了很多研究,发现有 15% 的恶性肿瘤死亡病例与慢性病毒或细菌感染有关。而 IKK 驱动的 NF- κ B 激活可以将炎症诱导的肿瘤生长转变为肿瘤退化,为多种恶性肿瘤的治疗提供了新的思路^[13]。

Wnt 信号途径是最重要的影响遗传发育和肿瘤生长的通路之一^[14]。多种遗传缺陷均可影响 Wnt 通路而致癌或促进肿瘤发展^[15]。Wnt 信号通路异常往往与 β -catenin 介导的某些基因过度激活有关。Wnt- β -catenin 信号转导途径的多个靶基因已被确定,其功能与控制细胞生长、分化和生存有关^[16]。

转化生长因子-(transforming growth factor beta, TGF- β)对肿瘤细胞和肿瘤微环境有自分泌与旁分泌效应,可同时对肿瘤生长起正性与负性调节作用。TGF- β 受体包含 I 型与 II 型亚基,它们是丝氨酸-苏氨酸激酶,可通过 Smad 蛋白家族传递信号。TGF- β 与其细胞表面受体结合后,II 型亚基可使 I 型亚基磷酸化,后者进一步磷酸化并激活 Smad2 蛋白。Smad2 与 Smad4 结合并转移到细胞核内,激活的 Smad 复合物可补充其他转录因子(transcription factors, TF)的作用,激活介导 TGF- β 生理效应的靶基因表达。部分激活的靶基因可刺激肿瘤形成。因此, TGF- β 信号转导通路被认为是促进肿瘤进展与侵袭的重要因素。

活性氧簇(reactive oxygen species, ROS)是信号传递信使,能氧化肿瘤细胞侵袭过程中的关键靶分子,如 PKC 与蛋白酪氨酸磷酸酶(protein tyrosine phosphatase, PTP)。目前研究表明, MAPK 与 PAK 同时也受 ROS 调节^[19]。AP-1、Ets、Smad 和 Snail 等转录因子可调节多种转移相关基因。而 AP-1 和 Smad 可分别被 PKC 激活剂和 TGF- β 以 ROS 依赖的形式激活。此外, ROS 还可通过启动子中的抗氧化反应元件上调转录因子 Est-1 的表达。与 EMT 和转移有关的 ROS 调节相关基因包括 E-cadherin、integrin 和 MMP。全面了解 ROS 激活的信号转导、转录与基因表达调控可帮助抗肿瘤治疗方案的设计^[20]。

3 细胞信号通路相关的靶向药物的研发

多年来,科学家们致力于通过肿瘤分子机制研究寻找有治疗价值的分子靶标,开发治疗恶性肿瘤的靶向药物。

DNA 靶向治疗曾被认为开辟了肿瘤治疗的新时代,它与作用机制不同的药物联合应用时可显著提高患者生存率。但后来发现, DNA 靶向药物可使多个位点受影响,具有很强的毒性^[21]。

过去 10 年中,科学家们通过肿瘤信号转导研究确定了一批关键蛋白分子,据此开发的多种小分子靶向药物已经显示了良好疗效^[22],从而开创了肿瘤靶向治疗新阶段。同时,科学家们正在分离或改良设计其他多种小分子药物,用于控制肿瘤细胞中 MAPK 和 PI3K/Akt cascade 等通路的异常^[23-24]。

Trastuzumab(群司珠单抗;又称 Heceptine, 赫赛汀)是受体型酪氨酸激酶(receptor tyrosine kinase, RTK)HER2 的单克隆抗体,于 1998 年被 FDA 批准用于治疗乳腺癌,是新一代抗肿瘤药物的主要代表。Trastuzumab 与 RTK 的细胞外域结合,可诱导受体内化,引起 HER2 下调,使细胞周期阻滞、使与抗体依赖的细胞毒性作用受抑制^[25]。同时, Trastuzumab 还可经受体作用阻滞 HER2 的过度活化^[26]。临床试验显示, Trastuzumab 对受过与未受过治疗的转移性乳腺癌患者均有很好的疗效^[27-28]。与单独应用普通化疗药相比,联合应用 Trastuzumab 可使 HER2 过表达患者的生存期显著延长^[29]。

ABL(abelson leukaemia viral oncogene)是一种活性酪氨酸激酶蛋白,可驱动未成熟骨髓细胞增殖^[30-31]。其抑制剂 STI-571(Imatinib or Gleevec)可抑制该激酶,进而通过抑制 ABL 信号转导相关下游蛋白酪氨酸磷酸化而抑制表达 BCR-ABL 的细胞^[32]。研究已证实 Imatinib(伊马替尼;又称

Gleevec, 格列卫)在治疗慢性髓细胞性白血病(chronic myeloid leukemia, CML)中有显著疗效^[33-34],于2001年被批准用于干扰素- α 治疗失败的CML患者。此外,Imatinib还具有抗c-kit和血小板源性生长因子受体的酪氨酸激酶活性^[35],正在进行临床试验评估该药的作用^[36]。

除了Gleevec和Herceptin外,表皮生长因子受体(EGFR)药物Gefitinib(吉非替尼;又称Iressa,易瑞沙)是肿瘤靶向药物的又一成功例子。Gefitinib分别于2002年与2003年在日本和美国上市,用于治疗非小细胞肺癌(non-small-cell lung cancer, NSCLC)患者。两项II期临床试验表明,Gefitinib对常规治疗后恶化的NSCLC患者有效^[37-38]。但III期试验显示,Gefitinib与常规化疗药相比并不能延长NSCLC患者的生存时间^[39-40]。

虽然靶向药物得了巨大成功,但耐药性问题仍不可避免。例如由于酪氨酸激酶的点突变,患者可产生对Imatinib的抵抗^[41]。该问题可通过联合应用针对不同分子靶标的药物来解决。鉴于肿瘤是多基因参与的多阶段性复杂疾病,多靶点治疗药物的开发是更有前景的策略。Sorafenib正是这样一种新型多靶点抗癌药物,其不仅可通过直接阻滞RAF/MEK/ERK信号转导通路,还能通过抑制VEGF和PDGF阻止肿瘤血管生长而抑制肿瘤的进展^[42]。根据III期临床试验结果,Sorafenib最近已被FDA批准用于治疗晚期肾细胞癌。Sunitinib(Sutent, SU11248)是FDA批准的另一种小分子药物。它通过抑制VEGF-R2、R3、R1、DGFR- β 、KIT、LT-3、RET及相关信号通路而对肾细胞癌、胃肠间质瘤、神经内分泌肿瘤、肉瘤、甲状腺癌、黑素瘤、乳癌和非小细胞肺癌产生抗癌效应^[43]。

4 面临的挑战与前景

信号转导网络调控相关靶向药物的成功开发为人类防治肿瘤的研究展现了美好前景,同时也显示出靶点选择的重要性。与细胞增殖与生存有关的分子靶标,如影响细胞周期、凋亡或血管生成者在癌细胞中普遍存在;而特异性靶标则是某些肿瘤所特有的。未来在选择分子靶标时,无疑需要在通用性与特异性之间进行仔细筛选和权衡。

由于很多肿瘤都是积累了大量遗传变异后才发病的,联合应用新型靶向药物与有价值的普通化疗药可显著增强疗效^[44]。未来的肿瘤靶向治疗将强调靶标的综合性,同时针对多个途径不同靶点的鸡尾酒疗法有望取得良好疗效^[45]。

[参考文献]

- [1] Márquez-Garbán DC, Chen HW, Fishbein MC, *et al.* Estrogen receptor signaling pathways in human non-small cell lung cancer [J]. *Steroids*, 2007, 72(2): 135-143.
- [2] Ogden GR. Alcohol and oral cancer [J]. *Alcohol*, 2005, 35(2): 169-173.
- [3] Gençer S, Salepçi T, Ozer S. Evaluation of infectious etiology and prognostic risk factors of febrile episodes in neutropenic cancer patients [J]. *J Infect*, 2003, 47(1): 65-72.
- [4] Ruano-Ravina A, Figueiras A, Barros-Dios JM. Lung cancer and related risk factors: an update of the literature [J]. *Public Health* 2003, 117(3): 149-156.
- [5] Ponz de Leon M, Roncucci L. The cause of colorectal cancer [J]. *Dig Liver Dis*, 2000, 32(5): 426-439.
- [6] Bapat SA. Evolution of cancer stem cells [J]. *Semin Cancer Biol*, 2007, 17(3): 204-213.
- [7] Westerhoff HV, Palsson BO. The evolution of molecular biology into systems biology [J]. *Nat Biotechnol*, 2004, 22(10): 1249-1252.
- [8] Wolf B, Brischwein M, Lob V. Cellular signaling: aspects for tumor diagnosis and therapy [J]. *Biomed Tech (Berl)*, 2007, 52(1): 164-168.
- [9] Binetruy B, Heasley L, Bost F, *et al.* Concise review: regulation of embryonic stem cell lineage commitment by mitogen-activated protein kinases [J]. *Stem Cells*, 2007, 25(5): 1090-1095.
- [10] Huang C, Jacobson K, Schaller MD. MAP kinases and cell migration [J]. *J Cell Sci*, 2004, 117(20): 4619-4628.
- [11] Okamoto T, Sanda T, Asamitsu K. NF-kappa B signaling and carcinogenesis [J]. *Curr Pharm Des*, 2007, 13(5): 447-462.
- [12] Perkins ND. Integrating cell-signalling pathways with NF-kappa B and IKK function [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2007, 8(1): 49-62.
- [13] Schulze-Luehrmann J, Ghosh S. Antigen-receptor signaling to nuclear factor kappa B [J]. *Immunity*, 2006, 25(5): 701-715.
- [14] Polakis P. Wnt signaling and cancer [J]. *Genes Dev*, 2000, 14: 1837-1851.
- [15] Lustig B, Behrens J. The Wnt signaling pathway and its role in tumor development [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2003, 129(4): 199-221.
- [16] Major MB, Camp ND, Berndt JD, *et al.* Wilms tumor suppressor WTX negatively regulates WNT/beta-catenin signaling [J]. *Science*, 2007, 316(5827): 1043-1046.
- [17] Derynck R, Akhurst RJ, Balmain A. TGF-beta signaling in tumor suppression and cancer progression [J]. *Nat Genet*, 2001, 29(2): 117-129.
- [18] Biswas S, Guix M, Rinehart C, *et al.* Inhibition of TGF-beta with neutralizing antibodies prevents radiation-induced acceleration of metastatic cancer progression [J]. *J Clin Invest*, 2007, 117(5): 1305-1313.
- [19] Wu WS. The signaling mechanism of ROS in tumor progression [J]. *Cancer Metastasis Rev*, 2006, 25(4): 695-705.
- [20] Kopnin PB, Agapova LS, Kopnin BP, *et al.* Repression of sestrin

- family genes contributes to oncogenic ras-induced reactive oxygen species up-regulation and genetic instability[J]. *Cancer Res*, 2007(10), 67: 4671-4678.
- [21] Slapak CA, Kufe DW. Principles of cancer therapy [M]// Isselbacher KJ. Harrison's principles of internal medicine. 14 th ed. New York: McGraw-Hill, 1988: 523-537.
- [22] Speake G, Holloway B, Costello G. Recent developments related to the EGFR as a target for cancer chemotherapy[J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2005, 5(4): 343-349.
- [23] Johnson GL, Dohlman HG, Graves LM. MAPK kinase kinases (MKKKs) as a target class for small-molecule inhibition to modulate signaling networks and gene expression[J]. *Curr Opin Chem Biol*, 2005, 9(3): 325-331.
- [24] Mitsiades CS, Mitsiades N, Koutsilieris M, *et al.* The Akt pathway: molecular targets for anti-cancer drug development[J]. *Curr Cancer Drug Targets*, 2004, 4(3): 235-256.
- [25] Kumar R, Shepard HM, Mendelsohn J. Regulation of phosphorylation of the c-erbB-2/HER2 gene product by a monoclonal antibody and serum growth factor(s) in human mammary carcinoma cells [J]. *Mol Cell Biol*, 1991, 11(2): 979-986.
- [26] Molina MA, Codony-Servat J, Albanell J, *et al.* Trastuzumab (herceptin), a humanized anti-Her2 receptor monoclonal antibody, inhibits basal and activated Her2 ectodomain cleavage in breast cancer cells[J]. *Cancer Res*, 2001, 61(12): 4744-4749.
- [27] Cobleigh MA, Vogel CL, Tripathy D *et al.* Multinational study of the efficacy and safety of humanized anti-HER2 monoclonal antibody in women who have HER2-overexpressing metastatic breast cancer that has progressed after chemotherapy for metastatic disease [J]. *J Clin Oncol*, 1999, 17(9): 2639-2648.
- [28] Vogel CL, Cobleigh MA, Tripathy D *et al.* Efficacy and safety of trastuzumab as a single agent in first-line treatment of HER2-overexpressing metastatic breast cancer[J]. *J Clin Oncol*. 2002, 20(3): 719-726.
- [29] Slamon DJ, Leyland-Jones B, Shak S *et al.* Use of chemotherapy plus a monoclonal antibody against HER2 for metastatic breast cancer that overexpresses HER2[J]. *N Engl J Med*, 2001, 344(11): 783-792.
- [30] Muller AJ, Young JC, Pendergast AM, *et al.* BCR first exon sequences specifically activate the BCR/ABL tyrosine kinase oncogene of Philadelphia chromosome-positive human leukemias[J]. *Mol Cell Biol*, 1991, 11(4): 1785-1792.
- [31] Deininger MW, Goldman JM, Melo JV. The molecular biology of chronic myeloid leukemia[J]. *Blood*, 2000, 96(10): 3343-3356.
- [32] Deininger MW, Goldman JM, Lydon N, *et al.* The tyrosine kinase inhibitor CGP57148B selectively inhibits the growth of BCR-ABL-positive cells[J]. *Blood*. 1997, 90(9): 3691-3698.
- [33] Druker BJ, Sawyers CL, Kantarjian H *et al.* Activity of a specific inhibitor of the BCR-ABL tyrosine kinase in the blast crisis of chronic myeloid leukemia and acute lymphoblastic leukemia with the Philadelphia chromosome[J]. *N Engl J Med*, 2001, 344(14): 1038-1042.
- [34] Kantarjian HM, Cortes JE, O'Brien S *et al.* Long-term survival benefit and improved complete cytogenetic and molecular response rates with imatinib mesylate in Philadelphia chromosome-positive chronic-phase chronic myeloid leukemia after failure of interferon-alpha[J]. *Blood*, 2004, 104(7): 1979-1988.
- [35] Druker BJ, Lydon NB. Lessons learned from the development of an ABL tyrosine kinase inhibitor for chronic myelogenous leukaemia [J]. *J Clin Invest*, 2000, 105(1): 3-7.
- [36] Heinrich MC, Blanke CD, Druker BJ *et al.* Inhibition of KIT tyrosine kinase activity: a novel molecular approach to the treatment of KIT-positive malignancies[J]. *J Clin Oncol*, 2002, 20(6): 1692-1703.
- [37] Silvestri GA, Rivera MP. Targeted therapy for the treatment of advanced non-small cell lung cancer: a review of the epidermal growth factor receptor antagonists[J]. *Chest*, 2005, 128(6): 3975-3984.
- [38] Cohen EE, Kane MA, List MA, *et al.* Phase II trial of gefitinib 250 mg daily in patients with recurrent and/or metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck[J]. *Clin Cancer Res*, 2005, 11(23): 8418-8424.
- [39] Hirsch FR, Varella-Garcia M, Bunn PA Jr, *et al.* Molecular predictors of outcome with gefitinib in a phase III placebo-controlled study in advanced non-small-cell lung cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2006, 24(31): 5034-5042.
- [40] Giaccone G, Herbst RS, Manegold C *et al.* Gefitinib in combination with gemcitabine and cisplatin in advanced non-small-cell lung cancer: a phase III trial—INTACT 1[J]. *J Clin Oncol*, 2004, 22(5): 777-784.
- [41] Gorre ME, Mohammed M, Ellwood K *et al.* Clinical resistance to STI-571 cancer therapy caused by BCRABL gene mutation or amplification[J]. *Science*, 2001, 293(5531): 876-880.
- [42] Adjei AA, Molina JR, Mandrekar SJ, *et al.* Phase I trial of sorafenib in combination with gefitinib in patients with refractory or recurrent non-small cell lung cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2007, 13(9): 2684-2691.
- [43] Wolter P, Dumez H, Schöffski P. Sunitinib and hypothyroidism [J]. *N Engl J Med*, 2007, 356(15): 1580.
- [44] Slamon DJ, Leyland-Jones B, Shak S, *et al.* Use of chemotherapy plus a monoclonal antibody against HER2 for metastatic breast cancer that overexpresses HER2[J]. *N Engl J Med*, 2001, 344(11): 783-792.
- [45] van 't Veer LJ, Dai H, van de Vijver MJ, *et al.* Gene expression profiling predicts clinical outcome of breast cancer[J]. *Nature*, 2002, 415(6871): 530-536.
- [收稿日期] 2007 - 10 - 08 [修回日期] 2007 - 10 - 17
- [本文编辑] 王莹