

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2014.03.020

PI3K/AKT/mTOR 信号通路抑制剂治疗结直肠癌的研究进展

Research progress of PI3K/AKT/mTOR signing pathway inhibitors in the treatment of colorectal cancer

王丽丽^{1,2}, 毕经旺^{1,2} (1. 中国人民解放军济南军区总医院 肿瘤科, 山东 济南 250031; 2. 辽宁医学院 研究生学院, 辽宁 锦州 121000)

[摘要] PI3K/AKT/mTOR 通路的异常活化在结直肠癌的发生发展中起到重要作用, 以此通路为靶点的药物已成为结直肠癌治疗的研究热点, 临床前和临床试验研究证明, 针对 PI3K/AKT/mTOR 通路的多种抑制剂具有抗肿瘤活性。越来越多的临床数据显示, *PTEN* 缺乏或 *PIK3CA* 基因突变对 PI3K/AKT/mTOR 通路抑制剂敏感, *KRAS* 突变则预示着耐药; 寻找针对这一通路抑制剂敏感的优势人群也成为结直肠癌的研究热点; 此外, PI3K/AKT/mTOR 通路也会影响常规治疗的疗效, 因此 PI3K/AKT/mTOR 通路抑制剂联合细胞毒治疗方案在结直肠癌中可能起到协同作用。

[关键词] PI3K/AKT/mTOR 信号通路; 抑制剂; 结直肠癌; 靶向治疗

[中图分类号] R735.3; R730.54

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2014)03-0348-05

结直肠癌是人类最常见的恶性肿瘤之一, 其发病率位居全球恶性肿瘤的第三位。结直肠癌在我国的病死率逐年升高, 已上升至恶性肿瘤的第 4 位。目前, 手术、化疗和放疗虽是结直肠癌的标准治疗, 但是结直肠癌的生存期没有很大改善, 中位生存期不足 20 个月^[1]。直到靶向药物如抗-EGFR 单克隆抗体的出现明显改善了晚期患者的生存期, 使中位生存期可达 2 年^[2-3]。抗-EGFR 单克隆抗体适用于 *KRAS* 野生型的结直肠癌患者, 但是部分 *KRAS* 野生的结直肠癌患者对抗-EGFR 单抗的治疗耐药, 有研究^[4]表明可能与 *PIK3CA* 突变有关。还有研究发现, PI3K 抑制剂、PI3K/mTOR 双重抑制剂对 *PIK3CA* 突变的结直肠癌细胞有抗肿瘤活性。如果采用抗-EGFR 单抗和 PI3K/AKT/mTOR 通路抑制剂联合治疗结直肠癌可能起到协同治疗和提高疗效的作用。

1 PI3K/AKT/mTOR 信号通路

PI3Ks 是一组脂质激酶, 在信号传导、细胞代谢和生存中起着关键性的作用。PI3K 根据其结构特点和底物特异性可分为 I、II、III 3 种类型。目前研究最广泛的是能被细胞表面受体激活的 I 型 PI3K, I 型又分为 IA 和 IB 两个亚型, IA 是催化亚基 p110 和调节亚基 p85 组成的异二聚体。PI3K IA 亚型由酪氨酸激酶受体 (RTK)、G 蛋白偶联受体 (GPCR) 和其他癌基因 (如 *RAS*) 激活。活化后的 PI3K 可使细胞膜上的 PIP₂ 磷酸化为 PIP₃。这个过程受抑制基因 *PTEN* 的负性调节, 使 PIP₃ 去磷酸

化为 PIP₂。PIP₃ 为信号蛋白磷酸肌醇依赖性蛋白激酶 (PDK1) 和丝氨酸-苏氨酸 AKT 提供锚定位点。一旦 AKT 蛋白的 Thr308 和 Ser473 分别被 PDK1 和 PDK2 磷酸化, 则 AKT 被完全激活^[5]。激活后的 AKT 可启动信号通路下游的级联反应, 如促进细胞生长、增殖、存活、迁移, 以及细胞增殖和肿瘤形成。mTOR 复合物 1 (mTORC1) 是 AKT 下游的靶点之一, AKT 通过磷酸化脯氨酸富集区 AKT 基质 1 (AKT1S1) 和结节性硬化症复合物 2 (TSC2) 而激活 TORC1^[6]。mTORC1 还调节蛋白质的合成。另一个 mTOR 复合物-mTORC2, 参与 AKT Ser473 的磷酸化过程^[7-8]。

2 PI3K/AKT/mTOR 信号通路在结直肠癌中的改变

PI3K/AKT/mTOR 信号通路在人类多种癌症中被异常激活, 包括结直肠癌、乳腺癌、子宫内膜癌、胰腺癌等。结直肠癌中这条通路的主要改变是 *PIK3CA* 基因突变、*PTEN* 表达的丢失。*PIK3CA* 基因编码 PI3K IA 亚型中的催化亚基 p110 α , *PIK3CA*

[基金项目] 山东省科技发展计划资助项目 (No. 2012YD18116)。Project supported by Science & Technology Development Program of Shandong Province (No. 2012YD18116)

[作者简介] 王丽丽 (1984 -), 女, 山东省聊城市冠县人, 硕士生, 主要从事 PI3K/AKT/mTOR 信号通路在结直肠癌中的研究。E-mail: wangmajia2008@163.com

[通信作者] 毕经旺 (Bi Jingwang, corresponding author), E-mail: jingwangbi@live.cn

突变主要发生在外显子 9(螺旋区)和外显子 20(激酶区),综合近些年的研究发现,PIK3CA 在结直肠癌中的突变率为 14% ~ 32%^[9-11]。临床前研究发现,PIK3CA 突变促进肿瘤的形成和血管新生,HIS1047 是最常见的突变^[12],但是与预后的相关性目前还不清楚。一些研究表明,PIK3CA 突变与结直肠恶性肿瘤分化的高低、病理类型、患者性别和肿瘤位置相关^[13-14]。PTEN 表达的丢失在中国结直肠癌患者的发生率为 30% ~ 64%,可诱导 PIP3 积聚和 PI3K 信号通路的激活,但是与患者的病理特征没有相关性^[15]。PI3K 通路的异常激活,不管是通过 PIK3CA 突变还是通过 PTEN 表达的丢失,都可引起结直肠癌患者对抗-EGFR 单克隆抗体治疗的耐药,进一步说明了这条通路在结直肠癌中的重要性。

3 PI3K/AKT/mTOR 信号通路抑制剂

PI3K/AKT/mTOR 信号通路抑制剂包括四种:PI3K 抑制剂、PI3K/mTOR 双重抑制剂、AKT 抑制剂和 mTOR 抑制剂。此外,抗血糖药物二甲双胍通过激活 AMP 蛋白激酶通路也可抑制 PI3K/AKT/mTOR 信号通路。

3.1 PI3K 抑制剂

PI3K 抑制剂包括广泛型 PI3K 抑制剂和亚型特异性 PI3K 抑制剂。广泛型 PI3K 抑制剂有 NVP-BKM120、XL-147、PX-866、PKI-587 和 GDC-0941,在临床前试验中显示 GDC-0941 和 NVP-BKM120 在多种细胞系中抑制肿瘤细胞的生长,并证明 NVP-BKM120 在 PI3KCA 突变的细胞中有特殊的活性^[16-17],其中 Mueller 等^[18] 研究还发现 NVP-BKM120 可诱导半数胃肠道癌细胞 G₂ 期的转化。

为了避免广泛型 PI3K 抑制剂引起的副作用,选择 p110 催化亚基作为靶点的亚型特异性抑制剂正在进行探索。PI3K 亚型特异性抑制剂包括 p110 α 、p110 β 、p110 γ 和 p110 δ 抑制剂,其中用于肿瘤治疗的主要是 p110 α 和 p110 δ ,目前 p110 β 在肿瘤治疗中也有所研究。p110 α 抑制剂如 INK1117 和 NVP-BYL719,临床前试验研究发现其对 PIK3CA 突变的肿瘤细胞系显示有活性。BYL719 除了 PIK3CA 突变,对 PIK3CA 扩增和 ERBB2 扩增的肿瘤细胞系也有较高的药物敏感性^[19]。近来对 BYL719 的 I 期临床试验研究结果显示:在 BYL719 治疗有反应的肿瘤中都发现有 PIK3CA 突变,且包括 KRAS 突变的结肠癌,另外该实验还发现有部分患者疾病稳定期延长,包括结直肠癌患者^[20]。BYL719 最常见的副作用有高血糖症、腹泻、疲劳、皮疹和胃肠道毒性;

高血糖症是 BYL719 最常见也是剂量限制性的不良反应。这可能与抗血糖药物激活 AMP 蛋白激酶通路相关。p110 α 抑制剂 GDC-0032(NCT01296555)和 INK-1114(NCT01449370)目前也进入 I 期临床试验,研究结果目前还未报道。

p110 δ 主要表达于白细胞,它的超表达可见于各种淋巴细胞增生障碍包括慢性粒细胞白血病^[21]、多发性骨髓瘤^[22]等。临床前试验显示,p110 δ 抑制剂 GS-1101^[21-22]和 AMG 319^[23] 在淋巴恶性肿瘤中显示有活性。

p110 β 在某些 PTEN 缺乏肿瘤的 PI3K 信号通路中起到关键作用,因此 p110 β 抑制剂在这些特殊的患者中可能有效。在临床前模型中已证明 PTEN 缺乏肿瘤的生长和生存依赖于 PI3K β 通路的激活^[24-25]。几个 PI3K β 特异性抑制剂在 PTEN 缺乏的细胞系和移植模型中都显示有抗肿瘤活性^[19,26-27],包括 KIN-193。在临床方面,PI3K β 选择性抑制剂 GSK2636771 用于 PTEN 缺乏晚期实体瘤患者的 I 期临床试验已开始进行(NCT01458067),PI3K β 选择性抑制剂 SAR260301 单药和联合威罗菲尼用于 BRAF 突变的黑色素瘤的 I 期临床试验,近来也已开始进行(NCT01673737)。

3.2 mTOR/PI3K 双重抑制剂

mTOR/PI3K 抑制剂与 PI3Ks 和 mTOR1/2 竞争性的联合 ATP,对 PI3K/AKT/mTOR 通路的抑制要强于对单个位点的抑制,因此这些药物也可产生更高水平的毒性反应。PI3K-mTOR 双重抑制剂如 NVP-BE235、GDC-0980、NVP-BGT226、XL765 和 SF-1126,正在进行临床前试验评估。GDC-0980 和 NVP-BE235 在多种癌细胞系和肿瘤异种移植小鼠模型中可减少细胞的生长^[28-29],其中 BEZA235 单药可使半数胃肠道癌细胞停滞在 G₁ 期,联合伊利替康用于结肠癌细胞系中在诱导细胞凋亡方面有协同作用^[18]。随后 GDC-0980 和 NVP-BE235 在晚期实体瘤中进行了 I 期临床试验,结果显示有抗肿瘤活性^[30-31]。到目前为止,这些抑制剂与广泛型 PI3K 抑制剂的安全性相似,常见副作用包括恶心、腹泻、疲劳和呕吐。

3.3 AKT 抑制剂

AKT 抑制剂竞争性地结合 ATP 结合位点或抑制 AKT 的变构调节。大多数竞争性 ATP 抑制剂是非选择性的,这类抑制剂特别是在 AKT 突变或基因扩增肿瘤患者中有效。但是 AKT 靶向治疗潜在的危险是抑制剂可能代偿性增加依赖 AKT 的 PI3K 效应,AKT 对下游靶点负性调节的缺失也可能有害

作用。事实上, 依赖 AKT 的 PI3K 信号效应-SGK3, 在 PIK3CA 突变的癌症中能促进肿瘤的形成^[32]。尽管存在这些担忧, 变构的 AKT 抑制剂 MK2206 在多种肿瘤细胞系的临床前研究显示抗肿瘤活性, 当前已进入 II 期临床实验^[33]。MK2206 和竞争性 AKT 抑制剂如 ARQ092、AZD5363、GDC-0068 和 GSK2141795 在晚期实体瘤中正在进行早期临床试验。

3.4 mTOR 抑制剂

mTOR 抑制剂仅抑制 mTORC1 或同时抑制 mTORC1/2。当前正在进行临床开发的 mTORC1 抑制剂包括依维莫司、替西罗莫司和地磷莫司。已有的研究^[34]显示, 依维莫司单药用于晚期转移性结直肠癌时显示单药耐药。近来, 依维莫司联合 tivozanib (VEGF 受体抑制剂) 用于复发或转移性的结直肠癌的 II 期临床试验^[35]显示, 2 个月无疾病进展 (PFS) 率为单药 tivozanib 的 30% 提高到 50%。替西罗莫司单药治疗化疗后复发的结直肠癌时, 38% 的患者可获得疾病稳定, 中位进展时间为 45 d^[36]。替西罗莫司联合抗血管生成抗体贝伐珠单抗在多种肿瘤患者中的 I 期临床试验^[37]显示, 39% 的 PIK3CA 突变和/或 PTEN 突变/缺失的结直肠癌患者获得 PR/CR。地磷莫司联合贝伐珠单抗治疗晚期癌症的 I 期临床试验^[38]显示, 65% 的患者获得疾病稳定 (SD), 但部分患者出现了肠穿孔, 包括结直肠癌患者。在这些研究中常见的副作用包括疲劳、恶心、黏膜炎、腹泻和皮疹。

值得注意的是 mTORC1 抑制剂可激活 mTOR-S6K1-IRS1 负反馈环, 从而可能导致 PI3K 活性的增加^[39]。对此已开发的第二代 mTOR 抑制剂的靶点是 mTORC1 和 mTORC2。在临床前研究中, mTORC1/2 抑制剂 AZD8055 和 OSI-027 在多种细胞系和移植模型中产生剂量依赖性的生长抑制包括结直肠癌模型^[40-41]。目前 AZD8055, OSI-027 和 INK128 用于实体瘤治疗正在进行早期临床试验。

PI3K/AKT/mTOR 通路抑制剂使用的限制性可能是多种信号反馈回路的存在和信号通路间的交联。PI3K/AKT/mTOR 通路抑制剂联合其他治疗可能会提高疗效。RTKs 的激活可刺激 PI3K/AKT/mTOR 和 RAS/RAF/MEK 两条信号通路, 并有证据显示抑制这两条通路可能优于抑制其中任意一条通路。已有研究^[42]报道, MEK 抑制剂 Selumetinib 联合 mTOR 抑制剂 AZD8055 用在治疗包括结直肠癌等多种癌细胞移植的小鼠模型中, 显示具有增加抗肿瘤活性的作用。

4 结论

PI3K/AKT/mTOR 信号通路在结直肠癌的发生、发展中有重要作用, 多种以这条通路为作用靶点的抑制剂已成为研究热点。当前 PI3K/AKT/mTOR 通路抑制剂单药或联合其他治疗用于晚期或复发的结直肠癌的试验正在进行中。临床前数据对于回答以下问题是有帮助的, 如这条通路抑制剂对哪些结直肠癌患者最有效和哪些患者最可能从这条通路抑制剂的治疗中获益。但是不能完全依赖于临床前试验结果, 还需要进行临床验证。如有研究^[20]显示, 临床前试验中 KRAS 和 PIK3CA 同时突变的细胞系对 BYL719 耐药, 而此实验中 KRAS 和 PIK3CA 同时突变的结肠癌患者对 BYL719 的治疗有反应。PI3K/AKT/mTOR 通路抑制剂效果的不确定性可能是该通路与其他通路之间存在交互作用。临床前数据显示 PI3K/AKT/mTOR 通路抑制剂联合其他通路抑制剂可能会解决这一问题, 但也需要进行临床验证。

[参考文献]

- [1] Roper J, Richardson MP, Wanq WV, et al. The dual PI3K/mTOR inhibitor NVP-BEZ235 induces tumor regression in a genetically engineered mouse model of PIK3CA wild-type colorectal cancer [J]. PLoS ONE, 2011, 6(9): e25132.
- [2] Amado R G, Wolf M, Peeters M, et al. Wild-type KRAS is required for panitumumab efficacy in patients with metastatic colorectal cancer [J]. J Clin Oncol, 2008, 26(10): 1626-1634.
- [3] Bokemeyer C, Kohne C, Rougier P, et al. Cetuximab with chemotherapy (CT) as first-line treatment for metastatic colorectal cancer (mCRC): Analysis of the CRYSTAL and OPUS studies according to KRAS and BRAF mutation status [J]. J Clin Oncol, 2010, 28(15): abstr 3506.
- [4] Garrido-Laguna I, Hong DS, Janku F, et al. KRASness and PIK3Canness in patients with advanced colorectal cancer: Outcome after treatment with early-phase trials with targeted pathway inhibitors [J]. PLoS ONE, 2012, 7(5): e38033.
- [5] Ligresti G, Militello L, Steelman LS, et al. PI3KCA mutations in human solid tumors [J]. Cell Cycle, 2009, 8(9): 1352-1358.
- [6] Zhang J, Roberts TM, Shivdasani RA. Targeting PI3K signaling as a therapeutic approach for colorectal cancer [J]. Gastroenterology, 2011, 141(1): 50-61.
- [7] Engelman JA, Luo J, Cantley LC. The evolution of phosphatidylinositol 3-kinases as regulators of growth and metabolism [J]. Nat Rev Genet, 2006, 7(8): 606-619.
- [8] Courtney KD, Corcoran RB, Engelman JA. The PI3K pathway as drug target in human cancer [J]. J Clin Oncol, 2010, 28(6): 1075-1083.
- [9] Samuels Y, Wang Z, Bardelli A, et al. High frequency of muta-

- tions of the PIK3CA gene in human cancers [J]. *Science*, 2004, 304(5670): 554.
- [10] Velho S, Oliveira C, Ferreira A, et al. The prevalence of PIK3CA mutations in gastric and colon cancer [J]. *Eur J Cancer*, 2005, 41(11): 1649-1654.
- [11] Baldus SE, Schaefer KL, Engers R, et al. Prevalence and heterogeneity of KRAS, BRAF, and PIK3CA mutation in primary colorectal adenocarcinomas and their corresponding metastases [J]. *Clin Cancer Res*, 2010, 16(3): 790-799.
- [12] 廖明娟, 陈红凤. PI3K/AKT/mTOR 信号通路抑制剂在乳腺癌中的研究进展 [J]. *中华肿瘤杂志*, 2010, 19(3): 230-234.
- [13] Nosho K, Kawasaki T, Ohnishi M, et al. PIK3CA mutation in colorectal cancer: Relationship with genetic and epigenetic alterations [J]. *Neoplasia*, 2008, 10(6): 534-541.
- [14] Barault L, Veyrie N, Jooste V, et al. Mutations in the RAS-MAPK, PI(3)K (phosphatidylinositol-3-OH kinase) signaling network correlate with poor survival in a population-based series of colon cancers [J]. *Int J Cancer*, 2008, 122(10): 2255-2259.
- [15] Mao C, Zhou J, Yang Z, et al. KRAS, BRAF and PIK3CA mutations and the loss of PTEN Expression in Chinese patients with colorectal cancer [J]. *PLoS ONE*, 2012, 7(5): e36653.
- [16] Maira SM, Pecchi S, Huang A, et al. Identification and characterization of NVP-BKM120, an orally available pan-class I PI3-kinase inhibitor [J]. *Mol Cancer Ther*, 2012, 11(2): 317-328.
- [17] Folkes AJ, Ahmadi K, Alderton WK, et al. The identification of 2-(1H-indazol-4-yl)-6-(4-methanesulfonyl-piperazin-1-ylmethyl)-4-morpholin-4-yl-thieno[3,2-d]pyrimidine (GDC-0941) as a potent, selective, orally bioavailable inhibitor of class I PI3 kinase for the treatment of cancer [J]. *J Med Chem*, 2008, 51(18): 5522-5532.
- [18] Mueller A, Bachmann E, Linnig M, et al. Selective PI3K inhibition by BKM120 and BEZ235 alone or in combination with chemotherapy in wild-type and mutated human gastrointestinal cancer cell lines [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2012, 69(6): 1601-1615.
- [19] Brana I, Siu LL. Clinical development of phosphatidylinositol 3-kinase inhibitors for cancer treatment [J]. *BMC Medicine*, 2012, 10: 161-176.
- [20] Juric D, Rodon J, Gonzalez-Angulo AM, et al. BYL719, a next generation PI3K alpha specific inhibitor: Preliminary safety, PK, and efficacy results from the first-in-human study [abstract]. In *Proceedings of the 103rd Annual meeting of the American association for cancer research: March 31-April 4 2012* [C]; Chicago, Philadelphia, PA: American Association for Cancer Research, 2012.
- [21] Herman SEM, Gordon AL, Wagner AJ, et al. Phosphatidylinositol 3-kinase- inhibitor CAL-101 shows promising preclinical activity in chronic lymphocytic leukemia by antagonizing intrinsic and extrinsic cellular survival signals [J]. *Blood*, 2010, 116(12): 2078-2088.
- [22] Ikeda H, Hideshima T, Fulciniti M, et al. PI3K/p110 is a novel therapeutic target in multiple myeloma [J]. *Blood*, 2010, 116(9): 1460-1468.
- [23] Norman P. Selective PI3K δ inhibitors, a review of the patent literature [J]. *Expert Opin Ther Pat*, 2011, 21(11): 1773-1790.
- [24] Jia S, Liu Z, Zhang S, et al. Essential roles of PI(3)K-p110beta in cell growth, metabolism and tumorigenesis [J]. *Nature*, 2008, 454(7205): 776-779.
- [25] Wee S, Wiederschain D, Maira SM, et al. PTEN-deficient cancers depend on PIK3CB [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(35): 13057-13062.
- [26] Ni J, Liu Q, Xie S, et al. Functional characterization of an isoform-selective inhibitor of PI3K-p110 β as a potential anticancer agent [J]. *Cancer Discov*, 2012, 2(5): 425-433.
- [27] Certal V, Halley F, Virone-Oddos A, et al. Discovery and optimization of new benzimidazole- and benzoxazole-pyrimidone selective PI3K β inhibitors for the treatment of phosphatase and TENsin homologue (PTEN)-deficient cancers [J]. *J Med Chem*, 2012, 55(10): 4788-4805.
- [28] Wallin JJ, Edgar KA, Guan J, et al. GDC-0980 is a novel class I PI3K/mTOR kinase inhibitor with robust activity in cancer models driven by the PI3K pathway [J]. *Mol Cancer Ther*, 2011, 10(12): 2426-2436.
- [29] Maira SM, Stauffer F, Brueggen J, et al. Identification and characterization of NVP-BEZ235, a new orally available dual phosphatidylinositol 3-kinase/mammalian target of rapamycin inhibitor with potent in vivo antitumor activity [J]. *Mol Cancer Ther*, 2008, 7(7): 1851-1863.
- [30] Spoerke JM, O'Brien C, Huw L, et al. Phosphoinositide 3-kinase (PI3K) pathway alterations are associated with histologic subtypes and are predictive of sensitivity to PI3K inhibitors in lung cancer preclinical models. [J]. *Clin Cancer Res*, 2012, 18(24): 6771-6783.
- [31] Shoji K, Oda K, Kashiyama T, et al. Genotype-dependent efficacy of a dual PI3K/mTOR inhibitor, NVP-BEZ235, and an mTOR inhibitor, RAD001, in endometrial carcinomas [J]. *PLoS ONE*, 2012, 7(5): e37431
- [32] Vasudevan KM, Barbie DA, Davies MA, et al. AKT-independent signaling downstream of oncogenic PIK3CA mutations in human cancer [J]. *Cancer Cell*, 2009, 16(1): 21-32.
- [33] Hirai H, Sootome H, Nakatsuru Y, et al. MK-2206, an allosteric Akt inhibitor, enhances antitumor efficacy by standard chemotherapeutic agents or molecular targeted drugs in vitro and in vivo [J]. *Mol Cancer Ther*, 2010, 9(7): 1956-1967.
- [34] Altomare I, Hurwitz H. Everolimus in colorectal cancer [J]. *Expert Opin Pharmacother*, 2013, 14(4): 505-513.
- [35] Wolpin BM, Ng K, Zhu AX, et al. Multicenter Phase II Study of Tivozanib (AV-951) and Everolimus (RAD001) for Patients With Refractory, metastatic colorectal cancer [J]. *Oncologist*, 2013, 18(4): 377-378.
- [36] Spindler KL, Sorensen MM, Pallisgaard N, et al. Phase II trial of temsirolimus alone and in combination with irinotecan for KRAS mutant metastatic colorectal cancer: Outcome and results of KRAS mutational analysis in plasma [J]. *Acta Oncol*, 2013, 52(5): 963-970.
- [37] Moroney J, Fu S, Moulder S, et al. Phase I study of the antiangiogenic

- genic antibody bevacizumab and the mTOR/hypoxia-inducible factor inhibitor temsirolimus combined with liposomal doxorubicin: tolerance and biological activity [J]. *Clin Cancer Res*, 2012, 18 (20): 5796-5805.
- [38] Nemunaitis J, Hochster HS, Lustgarten S, et al. A phase I trial of oral ridaforolimus (AP23573; MK-8669) in combination with bevacizumab for patients with advanced cancers [J]. *Clin Oncol (R Coll Radiol)*, 2013, 25(6): 336-342.
- [39] O'Reilly KE, Rojo F, She QB, et al. mTOR inhibition induces upstream receptor tyrosine kinase signaling and activates Akt [J]. *Cancer Res*, 2006, 66(3):1500-1508.
- [40] Chresta CM, Davies BR, Hickson I, et al. AZD8055 is a potent, selective, and orally bioavailable ATP-competitive mammalian target of rapamycin kinase inhibitor with in vitro and in vivo antitumor activity [J]. *Cancer Res*, 2010, 70(1): 288-298.
- [41] Bhagwat SV, Gokhale PC, Crew AP, et al. Preclinical characterization of OSI-027, a potent and selective inhibitor of mTORC1 and mTORC2: Distinct from rapamycin [J]. *Mol Cancer Ther*, 2011, 10(8): 1394-1406.
- [42] Holt SV, Logie A, Davies BR, et al. Enhanced apoptosis and tumor growth suppression elicited by combination of MEK (selumetinib) and mTOR kinase inhibitors (AZD8055) [J]. *Cancer Res*, 2012, 72(7): 1804-1813.
- [收稿日期] 2013-12-06 [修回日期] 2014-04-25
[本文编辑] 阮芳铭

· 科技动态 ·

Rad50 识别细胞质中的 DNA 并通过与 CARD9 相互作用促进 IL-1 β 的产生

一般来说,细胞质中是没有 DNA 存在的,如果有外源病原体的 DNA 侵入细胞质或者细胞质中出现了来自于细胞核或线粒体的 DNA,免疫系统则会通过防御机制触发免疫反应。近年来,细胞质中 DNA 的识别及其相关机制成为研究的热点并取得了一定成果。许多能够识别细胞质中 DNA 的分子(DNA sensor)相继被发现,包括 AIM2、cGAS、DAI、LRRFIP1、IFI16、DHX9、DDX36、DDX41 等。在今年 6 月的《Nature Immunology》上,来自德国慕尼黑工业大学(TUM)的 Ruland 教授带领的科学家小组,与慕尼黑大学(LMU)的同事合作,发现了细胞质中新发现的 DNA sensor——Rad50,并阐述了新的下游信号转导机制。

研究工作展开的线索来自于作者对 CARD9(caspase recruitment domain containing protein 9, CARD9)的研究。CARD9 是(CARD-containing proteins)家族中的一员,最早在 2000 年被发现,能够与 Bcl-10 相互作用活化 NF- κ B,参与天然免疫反应。它是 TLR、NOD2、ITAM 等下游信号转导中重要的接头分子,在天然免疫过程中发挥重要的作用。作者为进一步研究其在天然免疫中的作用,以 CARD9 作为诱饵蛋白并利用酵母双杂交实验,在人外周血 cDNA 文库中筛选与 CARD9 相互作用的蛋白,在众多候选蛋白中发现 Rad50 与 CARD9 作用最为显著。

Rad50 通常情况下存在于细胞核中,是用于维持染色体结构稳定的重要蛋白,能够与 Mre11 和 Nbs1 形成 MRN 复合体,在识别 DNA 双链断裂损伤并修复的过程中发挥着重要的作用。在这篇文章中,Ruland 教授的研究小组发现,在细胞质中存在 DNA 的情况下(无论是转染不同形式的 DNA 进入细胞质还是以 DNA 病毒直接感染细胞),Rad50 能够出核与 DNA 共定位,并与 CARD9 形成复合体,特异性介导细胞质中 DNA 诱导 IL-1 β 的产生。作者又进一步分别在 CARD9、Bcl-10 敲除以及 Rad50 条件敲除的小鼠的骨髓来源树突状细胞(BMDC)内,研究了 DNA-Rad50-CARD9 复合体介导产生 IL-1 β 的机制,发现在细胞质 DNA 存在的情况下,CARD9、Bcl-10 敲除以及 Rad50 条件敲除小鼠的 BMDC 产生 IL-1 β 明显减少;CARD9 缺陷时 P65 和 c-Rel 入核较野生型小鼠明显减少,并且只有在 CARD9 存在的情况下 Bcl-10 才能与 DNA-Rad50-CARD9 复合体共定位。这就说明,在细胞质中出现 DNA 的情况下,Rad50 能够识别 DNA 并且与 CARD9 相互作用形成复合体,CARD9 又能进一步招募 Bcl-10 并活化 NF- κ B,从而促进 IL-1 β 信使 RNA 的转录,促进 IL-1 β 前体的产生。

该篇文章通过对 Rad50 和 CARD9 的研究,进一步阐释了机体对 DNA 损伤的修复系统和对外来病原体 DNA 清除的固有免疫系统两者间的相关性。更重要的是,作者发现了一条全新的包含 DNA-Rad50-CARD9 在内的通过活化 NF- κ B 促进 IL-1 β 产生的信号通路,从而为 DNA 引起的自身免疫病的研究提供了新的线索。

[孟君 摘译,刘星光 审阅. Roth S, Rottach A, Lotz-Havla AS, et al. *Nat Immunol*, 2014, 15(6): 538-545.]