บทฟื้นฟูวิชาการ • Review Article

วิถีการส่งสัญญาณ PI3K/Akt ในเซลล์ปกติและเซลล์มะเร็ง

สุพักตร์ โยไธสง, วัชรินทร์ ลอยลม
ภาควิชาชีวเคมี และศูนย์วิจัยพยาธิใบไม้ตับและมะเร็งท่อน้ำดี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

PI3K/Akt Signaling Pathway in Normal and Malignant Cells

Supak Yothaisong, Watcharin Loilome
Department of Biochemistry and Liver Fluke and Cholangiocarcinoma Research Centre, Faculty of Medicine, Khon Kaen University, Khon Kean, 40002, Thailand

การถ่ายทอดสัญญาณของเซลล์โดยผ่านวิถี PI3K/Akt เกี่ยวข้องกับกระบวนการต่างๆ ภายในเซลล์ ได้แก่ การแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของเซลล์ การอยู่รอดของเซลล์ เมแทบอลิซึมของเซลล์ การเคลื่อนที่ของเซลล์ และการสร้างเส้นเลือด กลไกการกระตุ้นและการควบคุมการทำงานของวิถี PI3K/Akt เริ่มจากการกระตุ้น growth factor receptor บนผิวเซลล์เป็นผลให้เกิดการกระตุ้น PI3K และการสร้างสารสื่อสัญญาณตัวที่สอง คือ PIP3 จากนั้น PIP3 ทำหน้าที่ดึง Akt มายังพลาสมาเมมเบรน Akt จะถูกกระตุ้นด้วยการเติมหมู่ฟอสเฟตโดย PDK1 และ PDK2 โดย Akt ที่ถูกกระตุ้นจะทำหน้าที่เป็นตัวกลางในการกระตุ้นและยับยั้งโมเลกุลเป้าหมายต่างๆ ที่อยู่ภายในเซลล์ เป็นผลให้เกิดการอยู่รอดของเซลล์ผ่านกลไกที่หลากหลาย หลังจากนั้น PTEN จะทำหน้าที่เป็นตัวควบคุมการทำงานของวิถีนี้โดยดึงหมู่ฟอสเฟตออกจาก PIP3 ทำให้การกระตุ้นสัญญาณผ่านวิถีนี้สิ้นสุดลง การทำงานที่ผิดปกติของการส่งสัญญาณผ่านวิถี PI3K/Akt ซึ่งเป็นสาเหตุให้มีการกระตุ้นการทำงานของวิถีนี้ตลอดเวลา จะส่งผลให้เกิดการทำงานที่ผิดปกติของกระบวนการต่างๆ ภายในเซลล์และนำไปสู่การพัฒนาไปเป็นมะเร็งในที่สุด ดังนั้นโมเลกุลในวิถี PI3K/Akt จึงกลายเป็นเป้าหมายที่น่าสนใจในการพัฒนาเป็นยารักษามะเร็ง ในปัจจุบันนี้มีรายงานจำนวนมากที่แสดงให้เห็นว่าตัวยับยั้งต่อวิถี PI3K/Akt ที่ใช้ทั้งแบบที่เป็นยาเดี่ยวและใช้ร่วมกับยาเคมีบำบัดอื่น สามารถใช้ในการรักษาโรคมะเร็งได้อย่างมีประสิทธิภาพในการทดสอบทางคลินิค

PI3K/Akt signaling pathway regulates the processes of cell proliferation, survival, metabolism, motility and angiogenesis. PI3K/Akt signaling pathway can be activated by the activation of several growth factor receptors via their ligands, which results, in PI3K activation and second messenger, PIP3 production. After that, PIP3 recruits a translocation of Akt to the plasma membrane. Akt is then phosphorylated by PDK1 and the PDK2. Once activated, Akt mediates an activation and inhibition of several targets, resulting in cellular survival through various mechanisms. PIP3 is dephosphorylated by PTEN which acts as a negative regulator for this signaling pathway. Dysregulation of PI3K/Akt signaling pathway caused constantly active of this pathway, which resulting in cellular perturbations and leading to tumor development. Therefore, molecules in the PI3K/Akt signaling pathway have become an attractive target for cancer therapy. Nowadays, there are many reports reveal that inhibitors of PI3K/Akt signaling pathway, either alone or in combination with other chemotherapeutic drugs, can effectively use for cancer treatment in a clinical trial. Therefore, “a better understanding of this signaling pathway involved in cancer is essential for development of new drugs”.

Keywords: PI3K/Akt signaling pathway, protein kinase, drug target

**Corresponding Author: Watcharin Loilome, Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Khon Kean University, Khon Kaen, 40002, Thailand. Phone: 043-348386, E-mail: watloi@yahoo.com*

ดังนั้นความเข้าใจอันดีต่อวิถีนี้จึงเป็นสิ่งสำคัญที่จะใช้ในการพัฒนายาชนิดใหม่

ศรีนครินทร์เวชสาร 2555; 27(1): 66-76 • Srinagarind Med J 2012: 27(1): 66-76

บทนำ

การส่งทอดสัญญาณเข้าสู่เซลล์ (cellular signal transduction) คือกระบวนการที่เซลล์รับรู้ปัจจัยกระตุ้นจากภายนอกแล้วส่งทอดสัญญาณนั้นผ่านการทำงานของโมเลกุลหลายชนิดภายในเซลล์ จนนำไปสู่การตอบสนองของเซลล์ เช่น การแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของเซลล์ (cell proliferation) การเจริญเติบโตของเซลล์ (cell growth) การเคลื่อนที่ (migration) การอยู่รอดของเซลล์ (cell survival) การตายของเซลล์ (cell death) และเมแทบอลิซึม เป็นต้น กระบวนการถ่ายทอดสัญญาณของเซลล์ในภาวะปกติจะดำเนินไปอย่างเหมาะสมภายใต้การทำงานของโมเลกุลส่งสัญญาณและโมเลกุลควบคุมจำนวนมาก ดังนั้นหากเกิดความผิดปกติในการทำงาน เช่น โมเลกุลเหล่านี้ทำงานมากเกินไป หรือสูญเสียโครงสร้างและหน้าที่ เป็นต้น ผลลัพธ์ที่ตามมาจะนำไปสู่การเกิดโรคต่างๆ ได้รวมถึงโรคมะเร็ง

กระบวนการส่งทอดสัญญาณภายในเซลล์ที่สำคัญอันหนึ่งคือการเติมและสลายหมู่ฟอสเฟตบนโมเลกุลของโปรตีนต่างๆ เรียกกระบวนการนี้ว่า phosphorylation และ dephosphorylation ตามลำดับ กระบวนการดังกล่าวนี้เปรียบเทียบสวิตซ์ที่ส่งผลกระตุ้นหรือลดการทำงานของโปรตีนเอนไซม์ ซึ่งทำหน้าที่เติมหมู่ฟอสเฟต คือไคเนส (kinase) จะนำเอาหมู่ γ-phosphate จาก adenosine triphosphate (ATP) เติมให้โปรตีนที่ตำแหน่งจำเพาะ ได้แก่ serine/threonine และ tyrosine โปรตีนไคเนสจึงแบ่งออกเป็นกลุ่มตามตำแหน่งของกรดอะมิโนที่ถูกเติมหมู่ฟอสเฟตว่า serine/threonine kinase และ tyrosine kinase ส่วนเอนไซม์ซึ่งทำหน้าที่สลายหมู่ฟอสเฟตออกจากโปรตีน คือฟอสฟาเตส (phosphatase)

การถ่ายทอดสัญญาณของเซลล์โดยส่งผ่านโปรตีนไคเนสในวิถี PI3K (Phosphatidylinositol 3-kinase)/Akt (PI3K/Akt signaling pathway) เป็นวิถีศูนย์กลางที่สำคัญวิถีหนึ่งในการส่งผ่านสัญญาณของเซลล์ ซึ่งสัญญาณจะถูกส่งผ่านไปยังโมเลกุลเป้าหมายที่หลากหลายและนำไปสู่การตอบสนองของเซลล์ที่เกี่ยวข้องโดยเฉพาะอย่างยิ่งเกี่ยวกับการอยู่รอดและการเจริญเติบโตของเซลล์ นอกจากนี้ยังพบว่าการส่งสัญญาณผ่านวิถี PI3K/Akt มีบทบาทสำคัญในการตอบสนองต่อการรักษามะเร็ง ดังนั้นการพัฒนายาที่มีความจำเพาะและมีเป้าหมายไปยับยั้งโมเลกุลหลักที่ทำงานในวิถี PI3K/Akt จึงเป็นที่สนใจในการประยุกต์ใช้เพื่อการรักษาโรคมะเร็ง ซึ่งในรายงานนี้จะกล่าวถึงโมเลกุลหลักที่เป็นองค์ประกอบ กลไกการส่งสัญญาณผ่านวิถี PI3K/Akt ในเซลล์ปกติและเซลล์มะเร็งตลอดจนตัวอย่างยาที่ใช้ในการยับยั้งโมเลกุลที่ทำงานในวิถี PI3K/Akt ซึ่งคาดว่าจะสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการรักษาโรคมะเร็งได้

1. องค์ประกอบและกลไกการทำงานของวิถี PI3K/Akt

โมเลกุลหลักที่มีบทบาทในการส่งสัญญาณผ่านวิถี PI3K/Akt ประกอบด้วย

1.1 PI3K

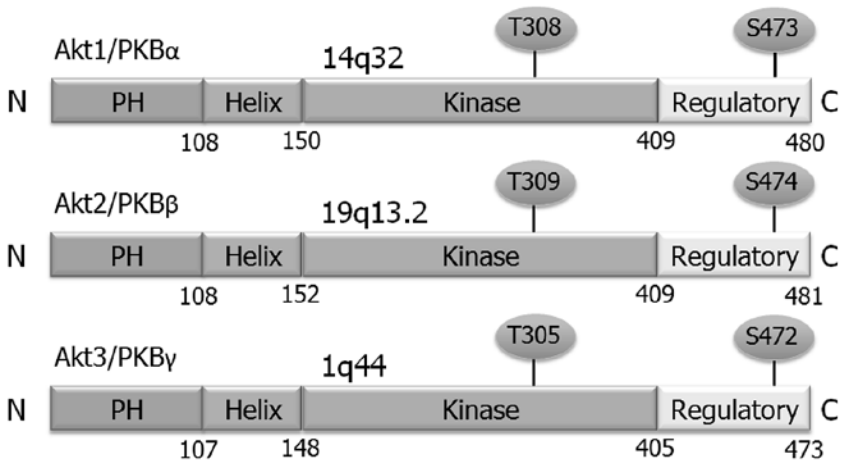
PI3K ถูกจัดอยู่ในกลุ่มลิปิดไคเนส (lipid kinase) เนื่องจากความสามารถในการเติมหมู่ฟอตเฟตให้แก่ inositol ring ที่ตำแหน่ง 3'-OH group ในโมเลกุลของ phosphatidylinositol (PI) และ phosphoinositide (PIP, PIP2) โดยมี ATP เป็นตัวให้หมู่ฟอสเฟต ทำให้เกิดเป็นโมเลกุลของ phosphatidylinositol-3-mono phosphate (PIP), phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate (PIP2) และ phosphatidylinositol-3,4,5-tris phosphate (PIP3) ซึ่ง PIP3 เป็นสารสื่อสัญญาณตัวที่สองทำหน้าที่ควบคุมกระบวนการต่างๆ ภายในเซลล์ เช่น การแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของเซลล์ การอยู่รอดของเซลล์ และเมแทบอลิซึมของเซลล์ เป็นต้น[1] PI3K ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม แบ่งออกเป็น 3 class ได้แก่ class I, II และ III โดยทั้งหมดสร้างจากยีนที่ต่างกัน การแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มนี้ อาศัยคุณสมบัติความจำเพาะกับซับสเตรท โครงสร้าง การแสดงออกในเนื้อเยื่อต่างๆ กลไกการกระตุ้นและการทำหน้าที่[2-4] (ตารางที่ 1)

1.2 Akt/Protein kinase B (PKB)

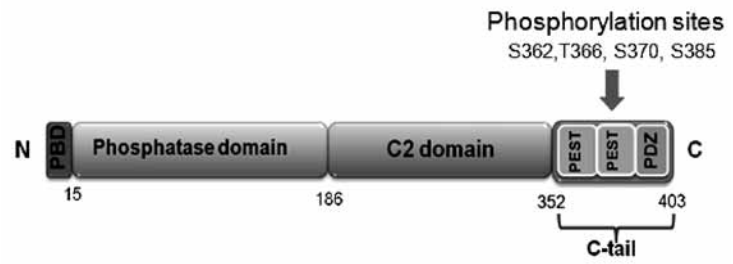
Akt/PKB เป็น serine/threonine kinase จัดเป็น downstream effector ของ PI3K พบว่ายีน *Akt1* และยีน *Akt2* มีลักษณะคล้ายกับ viral oncogene (*v-akt*) ซึ่งถูกค้นพบครั้งแรกในหนูที่เป็นมะเร็งต่อมน้ำเหลืองชนิดทีเซลล์ (T-cell lymphoma) [5]และต่อมามีการศึกษาที่ทำให้ทราบว่าส่วน kinase domainของ Akt คล้ายกับ Protein kinase A (PKA) และ Protein kinase C (PKC) ดังนั้นจึงเรียกว่า Protein kinase B[6] ปัจจุบัน Akt ที่แยกได้ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมมี 3 ชนิด (isoform) ได้แก่ Akt1/PKBα, Akt2/PKBβ และ Akt3/PKBγ (รูปที่ 1) ถึงแม้ทั้ง 3 ชนิด จะสร้างจากยีนที่ต่างกัน แต่มีลำดับกรดอะมิโนที่คล้ายกัน (amino acid homology) ประมาณร้อยละ 80 ของส่วนประกอบในโครงสร้าง[7]

ตารางที่ 1 การจำแนกชนิดของ PI3K โดยอาศัยคุณสมบัติความจำเพาะกับซับสเตรท โครงสร้าง การแสดงออกในเนื้อเยื่อต่างๆ กลไกการกระตุ้น และการทำหน้าที่ (ดัดแปลงจากเอกสารอ้างอิงลำดับที่ 2-4)

classes	subunits		การกระตุ้น	ซับสเตรท	เนื้อเยื่อที่พบ	หน้าที่
	catalytic	adaptor				
IA	p110α,β δ	p85α,β p55α,γ p50α	receptor tyrosine kinase และ โปรตีน Ras	PI PIP PIP2	พบในเนื้อเยื่อเกือบทุกชนิด	การเจริญเติบโตของเซลล์, เมแทบอลิซึม และการรักษาระดับกลูโคส
IB	p110γ	P101	G-protein-coupled receptors(GPCRs) และ โปรตีน Ras	PI PIP PIP2	เม็ดเลือดขาว	ส่งสัญญาณที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันของเซลล์
II	PI3K-CIIα,β γ	-	receptor tyrosine kinase และ integrin	PI PIP2	นิวเคลียสและกอลจิ แอพพาราตัส	เป็น downstream ของ chemokine receptor และ integrin
III	Vps34p analogues	p150	ยังไม่แน่ชัด	PI	ยังไม่แน่ชัด	การขนส่งโปรตีนภายในเซลล์



รูปที่ 1 โครงสร้างของโปรตีน Akt ซึ่งประกอบด้วย pleckstrin homology (PH) domain, helical domain (Helix), kinase domain และ regulatory domain โดยทั้ง 3 ชนิด ถูกสร้างมาจากยีนที่อยู่บนโครโมโซมต่างกัน แต่มีตำแหน่งที่สามารถถูกเติมหมู่ฟอสเฟตของ Akt ทั้ง 3 ชนิด ใกล้เคียงกัน (ดัดแปลงจากURL:http://atlasgeneticsoncology.org/Genes/AKT1ID355ch14q32.html, http://atlasgeneticsoncology.org/Genes/AKT2ID517ch19q13.html และ http://atlasgeneticsoncology.org//Genes/AKT3ID615ch1q44.html)



รูปที่ 2 โครงสร้างของ PTEN ประกอบด้วย PIP2-binding domain (PBD), Phosphatase domain, C2 domain และ C-terminal (C-tail) ซึ่งภายในประกอบด้วย proline, glutamic acid, serine, threonine (PEST) motifs ซึ่งเป็นบริเวณที่ถูกควบคุมสำหรับการสลาย PTEN ผ่าน ubiquitination และ postsynaptic density protein–Drosophila disc large tumor suppressor–zonula occludens 1 protein(PDZ)domain (ดัดแปลงจากURL:http://atlasgeneticsoncology.org/Genes/AKT1ID355ch14q32.html, http://atlasgeneticsoncology.org/Genes/AKT2ID517ch19q13.html และ http://atlasgeneticsoncology.org//Genes/AKT3ID615ch1q44.html)

การแสดงออกของ Akt พบว่า Akt1 และ Akt2 พบได้ในเนื้อเยื่อทั่วไป โดย Akt1 มีบทบาทในการพัฒนาของตัวอ่อน การเจริญเติบโตและการอยู่รอดของเซลล์ ส่วน Akt2 มักพบมากในเนื้อเยื่อที่เป็นเป้าหมายของอินซูลิน จึงมีบทบาทในการรักษาระดับน้ำตาลในเลือด (glucose homeostasis) ส่วน Akt3 มีรายงานระบุว่าพบในสมอง และเกี่ยวข้องกับการเจริญของเซลล์สมอง [8] ถึงแม้ Akt ทั้ง 3 ชนิด จะทำหน้าที่เฉพาะที่แตกต่างกันแต่ไม่ได้แยกกันชัดเจนมากนักโดยเฉพาะ Akt1 และ Akt2

1.3 Phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten (PTEN)

PTEN เป็นเอนไซม์ฟอสฟาเตส ทำหน้าที่ดึงหมู่ฟอสเฟตออกจาก PIP2 และ PIP3 ที่ตำแหน่ง 3'-OH group ใน inositol ring ดังนั้นจึงเป็นตัวควบคุมวิถี PI3K/Akt โครงสร้างของ PTEN (รูปที่ 2) ในสภาวะสงบ PTEN จะอยู่ที่ไซโตพลาซึม โดย PBD จะบดบัง catalytic site เมื่อ PTEN เคลื่อนที่มายังพลาสมาเมมเบรนผ่านการปฏิสัมพันธ์กับโปรตีนหลายชนิดที่เกาะอยู่บนพลาสมาเมมเบรน (membrane-anchored protein) โดยอาศัย PDZ domain ที่อยู่บน C-tail PBD จึงสามารถจับกับ PIP2 และ PIP3 ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างและส่วน catalytic site ถูกเปิดออก PTEN จึงอยู่ในสภาวะที่ทำงานได้ (active form) การทำงานของ PTEN ถูกยับยั้งเมื่อถูกเติมหมู่ฟอสเฟตบน C-tail[9]

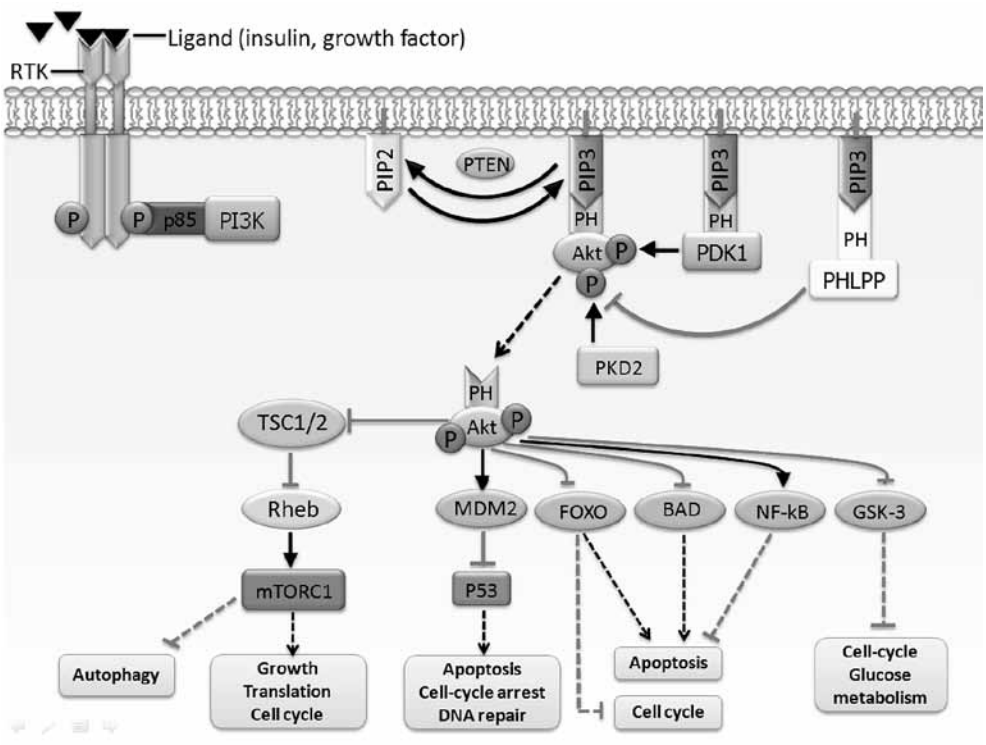
กลไกการกระตุ้นและการควบคุมการทำงานของวิถี PI3K/Akt

การกระตุ้นการทำงานของวิถีนี้เริ่มจากตัวกระตุ้นที่จำเพาะ (specific ligand) จับกับ receptor tyrosine kinase บนผิวเซลล์แล้วทำให้เกิดการจับคู่และเติมหมู่ฟอสเฟตที่ตำแหน่งกรดอะมิโนไทโรซีน ของ receptor จากนั้น PI3K จะถูกดึงมาที่พลาสมาเมมเบรนผ่านการจับระหว่าง SH2 domain บน adaptor subunit ของ PI3K กับ receptor บริเวณกรดอะมิโนไทโรซีนที่ถูกเติมหมู่ฟอสเฟต นำไปสู่การการกระตุ้นการทำงานของ PI3K โดยไปเติมหมู่ฟอสเฟตให้กับ PIP2 กลายเป็น PIP3 ซึ่ง PIP3 ทำหน้าที่เป็นสารสื่อสัญญาณตัวที่สอง ในการส่งสัญญาณภายในเซลล์ โดย PIP3 จะดึง Akt มายังพลาสมาเมมเบรนผ่านทาง PH domain จากนั้น Akt จะถูกกระตุ้นโดยการเติมหมู่ฟอสเฟตสองตำแหน่งคือ ทรีโอนีน 308 (T308) ของ kinase domain และ เซอรีน 473 (S473) ของบริเวณ regulatory domain การเติมฟอสเฟตที่ตำแหน่งแรกเกิดขึ้นโดยใช้เอนไซม์ชื่อ phosphoinositide-dependent protein kinase 1 (PDK1)[10] สำหรับการเติมฟอสเฟตที่ตำแหน่งเซอรีน 473 นั้น เรียกชื่อเอนไซม์ที่มาเติมฟอสเฟตว่า PDK2 ซึ่งยังไม่เป็นที่สรุปแน่ชัดว่าคือโมเลกุลใด เพราะมีการค้นพบที่ไม่ตรงกันในหลายงานวิจัย เช่น mitogen activated protein kinase activated protein kinase 2 (MAPKAPK2)[11], integrin-linked kinase 1 (ILK1)[12], protein kinase C βII (PKC βII)[13], PI3K-related protein kinase (PIKK) family: DNA-dependent protein kinase (DNA-PK)[14], ataxia telangiectasia mutant (ATM)[15] และล่าสุดคือ rictor-mTOR complex (mTORC2)[16] เมื่อได้รับกระตุ้น Akt จะทำหน้าที่เป็นตัวกลางในการกระตุ้นและยับยั้งโมเลกุลเป้าหมายต่างๆ ที่เป็นซับสเตรทภายในเซลล์ โดยซับสเตรทส่วนใหญ่จะมีลำดับกรดอะมิโนที่จำเพาะ คือ RXRXX (S/T) ซึ่งเป็นบริเวณที่ Akt เติมหมู่เฟสเฟตให้ โดย X คือกรดอะมิโนชนิดใดก็ได้ R คือกรดอะมิโนอาร์จีนีน (arginine) ส่วน S และ T คือกรดอะมิโนเซอรีน และกรดอะมิโนทรีโอนีน ตามลำดับ[17] ซึ่งลำดับกรด

อะมิโนที่จำเพาะดังกล่าวถูกค้นพบโดยอาศัยลำดับของกรดอะมิโนที่พบในโมเลกุลของเอนไซม์ glycogen synthase kinase 3 (GSK-3) ซึ่งเป็นซับสเตรทตัวแรกที่ถูกค้นพบของ Akt[18] หลังจากถูกเติมหมู่ฟอสเฟตพบว่าซับสเตรทของ Akt จะเปลี่ยนไปอยู่ในรูปทั้งที่ไม่ทำงาน และในรูปที่ทำงานแล้วแต่ชนิดของซับสเตรท กลไกที่สำคัญอย่างหนึ่งเมื่อซับสเตรทถูกเติมฟอสเฟตโดย Akt คือปรับเปลี่ยนการเข้า-ออกของซับสเตรทระหว่างบริเวณไซโตพลาซึมและนิวเคลียส ซึ่งขึ้นกับชนิดของซับสเตรท หลังจากถูกเติมฟอสเฟตโดย Akt ซับสเตรทเหล่านี้จะทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับการการอยู่รอดของเซลล์ โดยผ่านกระบวนการต่างๆ ของเซลล์ ตัวอย่างเช่น เมื่อ Akt เติมหมู่ฟอสเฟตให้กับ murine double minute 2 (MDM2) ทำให้ MDM2 เคลื่อนที่เข้าสู่นิวเคลียสและไปชักนำให้เกิดการสลายของ p53 ผ่านทาง proteasome นำไปสู่การแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของเซลล์และดื้อต่อการตายแบบ apoptosis[19] (รูปที่ 3) การกระตุ้น PI3K/Akt จะสิ้นสุดลงเมื่อ PTEN ดึงหมู่ฟอสเฟตออกจาก PIP3 ที่ตำแหน่ง 3'-OH group ใน inositol ring หรือเอนไซม์ SH2 domain-containing inositol polyphosphate 5-phosphatase (SHIP) ทำหน้าที่ดึงหมู่ฟอสเฟตออกจาก PIP3 ที่ตำแหน่ง 5'-OH group ทำให้ได้เป็น PIP2[20] และพบว่า PH domain and leucine rich repeat protein phosphatase (PHLPP) สามารถยับยั้ง Akt ได้โดยดึงหมู่ฟอสเฟตออกจากตำแหน่ง S473 และ/หรือ T308 ของ Akt[21] ดังนั้น PTEN, SHIP และ PHPLP จึงทำหน้าที่เป็นตัวควบคุม (negative regulator) สำหรับวิถีนี้ (รูปที่ 3)

2. การกระตุ้นการทำงานที่ผิดปกติของวิถี PI3K/Akt และการเกิดมะเร็ง (cancer development)

จากข้อมูลข้างต้นแสดงให้เห็นว่าการกระตุ้นการทำงานของวิถี PI3K/Akt มีบทบาทในการทำงานของเซลล์ โดยเฉพาะเกี่ยวกับการอยู่รอด การแบ่งตัวและเพิ่มจำนวนของเซลล์ ดังนั้นหากการกระตุ้นการทำงานของวิถีนี้มีความผิดปกติ (dysregulation) ย่อมเป็นผลให้เกิดความผิดปกติในการทำงานของเซลล์ ซึ่งความผิดปกติของกระบวนการเหล่านี้สามารถส่งผลให้เซลล์ปกติพัฒนาไปเป็นมะเร็งได้[22] จากผลงานวิจัยที่ผ่านมาได้แสดงให้เห็นว่าในมะเร็งหลายชนิดมีความผิดปกติของวิถี PI3K/Akt ทั้งในส่วน upstream regulator, PI3K/Akt และ PTEN สามารถอธิบายรายละเอียดความผิดปกติในส่วนต่างๆได้ดังนี้



รูปที่ 3 กลไกการกระตุ้นวิถี PI3K/Akt ที่นำไปสู่การอยู่รอดของเซลล์และการควบคุมการกระตุ้นของวิถีนี้โดย PTEN, SHIP และ PHPLP (ดัดแปลงจากเอกสารอ้างอิงลำดับที่ 26)

ตารางที่ 2 อุบัติการณ์ของการเกิดการกลายพันธุ์ของยีน PIK3CA และยีน PTEN ในมะเร็งชนิดต่างๆ (ดัดแปลงจากเอกสารอ้างอิงลำดับที่ 26)

เนื้อเยื่อมะเร็ง (tumor tissue)	*PIK3CA*		*PTEN*	
	การกลายพันธุ์ (ร้อยละ)	**จำนวนตัวอย่าง**	**การกลายพันธุ์ (ร้อยละ)**	**จำนวนตัวอย่าง**
ต่อมลูกหมาก	29	7	14	371
เต้านม	27	987	6	561
มดลูก	23	199	38	1467
ลำไส้ใหญ่	15	1128	9	344
ท่อปัสสาวะ	17	162	9	142
รังไข่	8	670	8	574
กระเพาะอาหาร	8	362	5	446
ตับ	7	253	5	354
หลอดอาหาร	7	124	1	94
ตับอ่อน	6	66	1	67
ระบบประสาทส่วนกลาง	5	808	20	2758
ระบบเลือดและน้ำเหลือง	4	510	6	866
ปอด	3	537	8	548
ผิวหนัง	3	149	17	555
ต่อมไทรอยด์	2	186	5	591

2.1 ความผิดปกติของ upstream regulator

ในมะเร็งหลายชนิดพบว่า receptor ที่กระตุ้นการทำงานของวิถี PI3K/Akt มีการแสดงออกที่มากเกินไป (overexpress) หรืออยู่ในภาวะที่ถูกกระตุ้นตลอดเวลา (permanently active) ได้แก่ receptor tyrosine kinases, G-protein-coupled receptors และ โปรตีน Ras ในรูป active[23] ตัวอย่าง receptor tyrosine kinases เช่น human epidermal growth factor receptor 2 (ErbB2/HER-2) โดยพบว่ามีการแสดงออกที่เพิ่มสูงขึ้นสัมพันธ์กับการลุกลามของมะเร็ง (advanced tumor stage) และการดื้อต่อยาเคมีบำบัดและรังสีรักษา ดังนั้นระดับของ ErbB2/HER-2 อาจเป็นตัวชี้วัดที่สำคัญในมะเร็งหลายชนิด โดยเฉพาะอย่างยิ่งในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมที่พบว่ามีการเพิ่มจำนวนของยีน ErbB2/HER-2 (gene amplification)[24] ส่วนการกระตุ้นอยู่ตลอดเวลาของโปรตีน Ras นั้นพบว่าเกิดจากการกลายพันธุ์ของยีนแบบ point mutation ซึ่งพบประมาณร้อยละ 25 ของมะเร็งที่พบในมนุษย์ทั้งหมด และส่งผลให้เกิดการกระตุ้น PI3K ได้มากขึ้น โดยในที่สุดนำไปสู่การเจริญเติบโตแบบที่ไม่ต้องอาศัยเซลล์ยึดเกาะ (anchorage-independent growth) และการปรับโครงสร้างใหม่ของ cytoskeletal (cytoskeletal reorganization) ที่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเซลล์ [25]

2.2 ความผิดปกติของ PI3K/Akt

ความผิดปกติของ PI3K ที่พบในมะเร็งหลายชนิดเกิดจากการกลายพันธุ์และการเพิ่มจำนวนของยีน ซึ่งทำให้มีการกระตุ้นการทำงานแบบถาวรของ PI3K และมีการแสดงออกที่เพิ่มสูงขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งยีน *PI3KCA* ที่สร้าง p110α catalytic subunit ของ subclass IA พบมีความถี่สูงของการกลายพันธุ์ในมะเร็งหลายชนิด (ตารางที่ 2)[26] และพบว่ามีการเพิ่มจำนวนของยีน ของ *PIK3CA* ในมะเร็งของหู คอ จมูก มะเร็งปากมดลูก มะเร็งกระเพาะอาหาร มะเร็งปอด และมะเร็งรังไข่[26] นอกจากนี้ยังมีรายงานเกี่ยวกับการกลายพันธุ์ของยีน *PIK3CA* พบว่ามีความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงของโมเลกุลอื่นที่เกี่ยวข้องในวิถี เช่น พบร่วมกับการสูญเสียการทำหน้าที่ของ PTEN หรือสัมพันธ์กับการแสดงออกที่เพิ่มสูงขึ้นของ ErbB2/HER-2 เป็นต้น[27] ในส่วนของ adaptor subunit มีการศึกษาพบว่าการกลายพันธุ์ของ p85 adaptor subunit สามารถพบได้ในมะเร็งหลายชนิดเช่นเดียวกัน [4]

ความผิดปกติของ Akt ที่พบในมะเร็ง โดยส่วนใหญ่เกิดจากการเพิ่มจำนวนของยีน โดยพบการเพิ่มจำนวนของยีน *Akt1* ในมะเร็งหลายชนิด เช่น มะเร็งกระเพาะอาหาร[5] มะเร็งสมองชนิด glioma[28] และพบการเพิ่มจำนวนของยีน *Akt2* ใน มะเร็งตับอ่อน[29] มะเร็งเต้านมและมะเร็งรังไข่[30]

ส่วนการเกิดการกลายพันธุ์ ของยีน *Akt* ที่ทำให้การทำงานของ Akt เพิ่มสูงขึ้นนั้น มีการรายงานน้อยมาก จากการศึกษาของ Carpten JD. และคณะ พบการกลายพันธุ์ ในยีน *Akt1* คือกรดอะมิโนตำแหน่งที่ 17 เปลี่ยนจากกรดอะมิโนกลูตามิก (glutamic) ไปเป็นไลซีน (lysine) ใน PH domain ของ Akt1 ซึ่งเป็นตำแหน่งที่จับกับ PIP3 เป็นผลให้ Akt1 ถูกดึงมายังเซลล์เมมเบรนได้ดีและนานยิ่งขึ้น เนื่องจากกรดอะมิโนไลซีน สามารถสร้างพันธะไฮโดรเจน (H-bond) กับโมเลกุลของ phosphoinositide ทำให้การกระตุ้น Akt1 เพิ่มสูงขึ้น และพบการกลายพันธุ์ดังกล่าว ประมาณร้อยละ 8 ในมะเร็งเต้านมร้อยละ 6 ในมะเร็งลำไส้และร้อยละ 2 ในมะเร็งรังไข่[31] ถึงแม้การกลายพันธุ์ ของ Akt ทั้ง 3 isoform ยังไม่เป็นที่เข้าใจแน่ชัดและอยู่ระหว่างการศึกษา อย่างไรก็ตาม มีการศึกษาที่เกี่ยวกับ Akt และมะเร็งแสดงให้เห็นว่า Akt สัมพันธ์กับการดำเนินโรคของมะเร็ง เช่น พบการแสดงออกที่เพิ่มสูงขึ้นของ Akt2 มีบทบาทสำคัญในการเกิดแพร่กระจาย (metastasis) ของเซลล์มะเร็งลำไส้ โดยเมื่อกดการแสดงออก Akt2 เป็นผลให้ยับยั้งการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งลำไส้ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ[32] นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าการกระตุ้นการทำงานที่สูงขึ้นของ Akt1 สัมพันธ์กับการแสดงออกของ PTEN ที่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในมะเร็งปอดชนิดเซลล์ขนาดเล็ก[33] และในมะเร็งท่อน้ำดีพบว่าการกระตุ้นการทำงานที่สูงขึ้นของ Akt1 สัมพันธ์กับการแสดงออกที่เพิ่มสูงขึ้นของ EGFR[34]

2.3 ความผิดปกติของ PTEN

PTEN เป็นตัวควบคุมที่สำคัญของวิถี PI3K/Akt ดังนั้นหากมีการสูญเสียการทำหน้าที่ของ PTEN ย่อมนำไปสู่การกระตุ้น PI3K/Akt อย่างถาวร พบว่าในเซลล์หลายชนิดที่มีการแสดงออกของ PTEN สูง PTEN ทำหน้าที่เป็นตัวต้านมะเร็ง (tumor suppressor) ด้วยการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ นอกจากนี้จากการศึกษาในเซลล์เพาะเลี้ยงมะเร็งเต้านมพบว่า PTEN ทำหน้าที่เป็นตัวต้านมะเร็ง โดยยับยั้งการเจริญเติบโต และการเหนี่ยวนำให้เกิดการกระตุ้นการตายของเซลล์แบบ apoptosis[35] งานวิจัยหลายชิ้นแสดงให้เห็นว่าการสูญเสียการทำหน้าที่ของ PTEN จากการเกิดการกลายพันธุ์นำไปสู่การเกิดมะเร็ง โดยเฉพาะในมะเร็งสมองชนิด glioma พบว่ามีการกลายพันธุ์ ของยีน *PTEN* ที่สูง (ตารางที่ 2)[26] และในมะเร็งท่อน้ำดีพบว่าการแสดงออกของ PTEN สัมพันธ์กับการอยู่รอดของผู้ป่วย[36]

นอกจากการกระตุ้นการทำงานที่ผิดปกติของวิถี PI3K/Akt จะนำไปสู่การเกิดมะเร็งแล้ว วิถีนี้ยังมีบทบาทสำคัญในการตอบสนองต่อการรักษาโดยเฉพาะทำให้ดื้อต่อการรักษา ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าวิถี PI3K/Akt เกี่ยวข้องกับการดื้อยาเคมีบำบัดและรังสีรักษา ยกตัวอย่างเช่นในมะเร็งเต้านม มีรายงานว่าการแสดงออกที่เพิ่มสูงขึ้นของ Her2/Neu ทำให้เกิดการกระตุ้น Akt ที่เพิ่มขึ้นและเหนี่ยวนำเซลล์มะเร็งให้ดื้อต่อยาเคมีบำบัด โดย Akt ทำหน้าที่เติมหมู่ฟอสเฟตให้โปรตีน MDM2 ทำให้ MDM2 สามารถเข้าไปในนิวเคลียสและยับยั้งการทำงานของโปรตีน p53[37] ยิ่งไปกว่านั้นในมะเร็งเต้านมยังมีรายงานว่าการกระตุ้น Akt1 ที่สัมพันธ์กับการแสดงออกที่เพิ่มสูงขึ้นของ Her2/Neu และมีบทบาทสำคัญในการทำให้เกิดการดื้อยาหลายชนิด (multidrug resistance)[38]

3. การพัฒนายารักษามะเร็งที่ยับยั้งโมเลกุลเป้าหมายในวิถี PI3K/Akt

ในปัจจุบันพบว่าการรักษามะเร็งด้วยยาเคมีบำบัดและรังสีรักษายังให้ผลไม่เป็นที่น่าพอใจในมะเร็งส่วนใหญ่ ทั้งนี้เนื่องจากเซลล์มะเร็งยังคงมีการดื้อต่อการรักษา กลไกสำคัญที่ทำให้เซลล์มะเร็งอยู่รอดและไม่ถูกทำลายโดยยาเคมีบำบัดอาจเกิดจากหลายกลไก เช่น การขับยาออกจากเซลล์มะเร็งเพิ่มขึ้น การเปลี่ยนแปลงหรือเพิ่มจำนวนโมเลกุลเป้าหมายของยา หรือการเพิ่มสัญญาณเกี่ยวกับการอยู่รอด (survival signal) และการยับยั้งการตายแบบ apoptosis ภายในเซลล์ เป็นต้น ดังนั้นโมเลกุลต่างๆที่ทำให้เกิดการดื้อต่อการรักษาจึงมีบทบาทสำคัญและมักถูกกำหนดให้เป็นเป้าหมายของยา (drug target) ปัจจุบันมีการพัฒนายาหลายชนิดให้มีความจำเพาะต่อโมเลกุลดังกล่าว ดังนั้นโมเลกุลที่เป็นองค์ประกอบในวิถี PI3K/Akt จึงเป็นที่น่าสนใจของนักวิทยาศาสตร์ที่จะใช้เป็นเป้าหมายของยาในการรักษามะเร็ง ซึ่งประกอบด้วยโมเลกุลส่วนที่เป็น upstream regulators, PI3K/Akt และ downstream effectors การใช้ยาหรือตัวยับยั้ง (inhihitor) นั้นมีการพัฒนาเพื่อใช้ทั้งแบบที่เป็นยาเดี่ยว (single drug therapy) และที่ใช้ร่วมกับยาเคมีบำบัดอื่น (combination drug therapy) ทั้งนี้เพื่อเป็นการเสริมประสิทธิภาพในการรักษาโดยยาเคมีบำบัด ในปัจจุบันยาหรือตัวยับยั้งที่ใช้ยับยั้งการทำงานของโมเลกุลในวิถี PI3K/Akt มีหลายชนิด ซึ่งส่วนใหญ่อยู่ในระยะการทดสอบทางคลินิก (clinical trial) ดังแสดงในตารางที่ 3 ดังนี้

ตารางที่ 3 ตัวอย่างยาหรือตัวยับยั้งต่อโมเลกุลที่อยู่ในวิถี PI3K/Akt

โมเลกุลเป้าหมาย	ยา/ตัวยับยั้ง	ขั้นตอนการพัฒนา	กลุ่มประชากรที่ศึกษา	เอกสารอ้างอิง
EGFR	IMC-C225, cetuximab (Erbitux;Imclone)	Phase II	Colorectal cancer	Koo DH. [39]
	ZD1839, gefitinib (Iressa;AstraZeneca)	Phase III	Head and neck cancer Prostate cancer	Herbst RS. [40]
HER-2/Neu	OSI-774, erlotinib (Tarceva; OSI-Pharmaceuticals)	Phase II	Advanced lung adenocarcinoma	Zwitter M. [41]
	Trastuzumab (Herceptin; Genentech)	Registered	Breast cancer	Slamon DJ.[42]
PI3K/mTOR	SF-1126 (Semafore Pharmaceuticlas)	Phase I	Advanced solid tumors	Chiorean EG.[43]
	NVP-BEZ235 (Novartis)	Phase I/II	Advanced solid tumors (Breast cencer-enriched)	ClinicalTrials.gov
	NVP-BGT226 (Novartis)	Phase I/II	Advanced solid tumors (including Breast cencer)	ClinicalTrials.gov
	XL765 (Exelixis)	Phase I	Refractory solid tumors	LoRusso P.[44]
PI3K	Wortmannin	Preclinical	Leukemia	Wu Q.[45]
	LY294002	Preclinical	Colon cancer	Abdul-Ghani R.[46]
	PX-866 (Oncothyreon)	Phase I	Advanced solid tumors	Jimeno A.[47]
	XL147 (Exelixis)	Phase I	Advanced solid tumors	Shapiro G.[48]
	NVP-BKM120 (Novartis)	Phase I	Solid tumors	Markman B.[49]
	GDC-0941 (Genentech/ Piramed)	Phase I	Advanced solid tumors	Wagner A J.[50]
	CAL-101 (Calistoga Pharmaceuticals)	Phase I	Leukemia	Flinn I W.[51]
Akt	MK-2206	Phase I	Advanced solid tumors	Tolcher A W.[52]
	API2 (VioQuest Pharmaceuticals)	Phase I/II	Prostate cancer	Mohapatra S.[53]
	Perifosine	Phase II	Prostate cancer	Chee KG. [54]
mTOR	CCI-779 (Wyeth)	Phase II	Breast cancer	Chan S.I[55]
	RAD001 (Novartis)	Phase I/II	Advanced hepatocellular carcinoma	Zhu A X.[56]
	Rapamycin/sirolimus (Wyeth	Phase I/II	Hepatocellular carcinoma	Zhou J.[57]

สรุป

การถ่ายทอดสัญญาณของเซลล์โดยวิถี PI3K/Akt ถือเป็นจุดศูนย์กลางที่สำคัญวิถีหนึ่งกับการอยู่รอดของเซลล์ และมีบทบาทสำคัญในการดำเนินโรคและการตอบสนองต่อการรักษาโรคมะเร็ง การกระตุ้นการทำงานที่ผิดปกติของวิถีนี้นำไปสู่การเกิดมะเร็งนั้น เกี่ยวข้องทั้งโมเลกุลที่เป็น upstream regulators, PI3K/Akt และ downstream effectors โดยพบความผิดปกติของโมเลกุลเหล่านี้ในมะเร็งหลายชนิดไม่ว่าจะเป็นการกลายพันธุ์ การเพิ่มจำนวนของยีน หรือการแสดงออกที่เพิ่มสูงขึ้น ดังนั้นโมเลกุลเหล่านี้จึงถูกใช้เป็นเป้าหมายในการศึกษาและพัฒนายาหรือตัวยับยั้งเพื่อว่าจะใช้เป็นเป้าหมายในการรักษามะเร็งนอกเหนือจากการใช้ยาเคมีบำบัด อย่างไรก็ตามยาหลายชนิดยังอยู่ในระหว่างการพัฒนาและที่ใช้อยู่ในปัจจุบันยังไม่สามารถยับยั้งเซลล์มะเร็งได้ทั้งหมด ทั้งนี้เซลล์มะเร็งมีการปรับตัวและพัฒนาตัวเองให้อยู่รอดได้ในสภาวะที่ไม่เอื้ออำนวย ดังนั้นความเข้าใจในกลไกที่เซลล์มะเร็งใช้ในการหลบหลีกหรือให้มีชีวิตอยู่รอดได้จึงเป็นจุดสำคัญที่จะนำไปสู่การรักษา การยับยั้งและทำลายเซลล์มะเร็งได้อย่างมีประสิทธิภาพต่อไป

เอกสารอ้างอิง

1. Wymann MP, Pirola L. Structure and function of phosphoinositide 3-kinases. Biochim Biophys Acta 1998; 1436:127-50.
2. Katso R, Okkenhaug K, Ahmadi K, White S, Timms J, Waterfield MD. Cellular function of phosphoinositide 3-kinases: implications for development, homeostasis, and cancer. Annu Rev Cell Dev Biol 2001; 17:615-75.
3. Koyasu S. The role of PI3K in immune cells. Nat Immunol 2003; 4:313-9.
4. Bader AG, Kang S, Zhao L, Vogt PK. Oncogenic PI3K deregulates transcription and translation. Nat Rev Cancer 2005; 5:921-9.
5. Staal SP. Molecular cloning of the akt oncogene and its human homologues AKT1 and AKT2: amplification of AKT1 in a primary human gastric adenocarcinoma. Proc Natl Acad Sci U S A 1987; 84:5034-7.
6. Andjelkovic M, Jones PF, Grossniklaus U, Cron P, Schier AF, Dick M, et al. Developmental regulation of expression and activity of multiple forms of the Drosophila RAC protein kinase. J Biol Chem 1995; 270:4066-75.
7. Murthy SS, Tosolini A, Taguchi T, Testa JR. Mapping of AKT3, encoding a member of the Akt/protein kinase B family, to human and rodent chromosomes by fluorescence in situ hybridization. Cytogenet Cell Genet 2000; 88:38-40.
8. Dummler B, Hemmings BA. Physiological roles of PKB/Akt isoforms in development and disease. Biochem Soc Trans 2007; 35:231-5.
9. Wang X, Jiang X. PTEN: a default gate-keeping tumor suppressor with a versatile tail. Cell Res 2008; 18:807-16.
10. Andjelkovic M, Maira SM, Cron P, Parker PJ, Hemmings BA. Domain swapping used to investigate the mechanism of protein kinase B regulation by 3-phosphoinositide-dependent protein kinase 1 and Ser473 kinase. Mol Cell Biol 1999; 19:5061-72.
11. Alessi DR, Andjelkovic M, Caudwell B, Cron P, Morrice N, Cohen P, et al. Mechanism of activation of protein kinase B by insulin and IGF-1. Embo J 1996; 15:6541-51.
12. Persad S, Attwell S, Gray V, Mawji N, Deng JT, Leung D, et al. Regulation of protein kinase B/Akt-serine 473 phosphorylation by integrin-linked kinase: critical roles for kinase activity and amino acids arginine 211 and serine 343. J Biol Chem 2001; 276:27462-9.
13. Kawakami Y, Nishimoto H, Kitaura J, Maeda-Yamamoto M, Kato RM, Littman DR, et al. Protein kinase C betaII regulates Akt phosphorylation on Ser-473 in a cell type- and stimulus-specific fashion. J Biol Chem 2004; 279:47720-5.
14. Feng J, Park J, Cron P, Hess D, Hemmings BA. Identification of a PKB/Akt hydrophobic motif Ser-473 kinase as DNA-dependent protein kinase. J Biol Chem 2004; 279:41189-96.
15. Viniegra JG, Martinez N, Modirassari P, Losa JH, Parada Cobo C, Lobo VJ, et al. Full activation of PKB/Akt in response to insulin or ionizing radiation is mediated through ATM. J Biol Chem 2005; 280:4029-36.
16. Sarbassov DD, Guertin DA, Ali SM, Sabatini DM. Phosphorylation and regulation of Akt/PKB by the rictor-mTOR complex. Science 2005; 307:1098-101.
17. Obata T, Yaffe MB, Leparc GG, Piro ET, Maegawa H, Kashiwagi A, et al. Peptide and protein library screening defines optimal substrate motifs for AKT/PKB. J Biol Chem 2000; 275:36108-15.
18. Cross DA, Alessi DR, Cohen P, Andjelkovich M, Hemmings BA. I nhibition of glycogen synthase kinase-3 by insulin mediated by protein kinase B. Nature 1995; 378:785-9.
19. Ogawara Y, Kishishita S, Obata T, Isazawa Y, Suzuki T, Tanaka K, et al. Akt enhances Mdm2-mediated ubiquitination and degradation of p53. J Biol Chem 2002; 277:21843-50.
20. Huber M, Helgason CD, Damen JE, Scheid M, Duronio V, Liu L, et al. The role of SHIP in growth factor induced signalling. Prog Biophys Mol Biol 1999; 71:423-34.

21. Gao T, Furnari F, Newton AC. PHLPP: a phosphatase that directly dephosphorylates Akt, promotes apoptosis, and suppresses tumor growth. Mol Cell 2005; 18:13-24.
22. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. Cell 2000; 100:57-70.
23. Fresno Vara JA, Casado E, de Castro J, Cejas P, Belda-Iniesta C, Gonzalez-Baron M. PI3K/Akt signalling pathway and cancer. Cancer Treat Rev 2004; 30:193-204.
24. Slamon DJ, Godolphin W, Jones LA, Holt JA, Wong SG, Keith DE, et al. Studies of the HER-2/neu proto-oncogene in human breast and ovarian cancer. Science 1989; 244:707-12.
25. Rodriguez-Viciana P, Warne PH, Khwaja A, Marte BM, Pappin D, Das P, et al. Role of phosphoinositide 3-OH kinase in cell transformation and control of the actin cytoskeleton by Ras. Cell 1997; 89:457-67.
26. Chalhoub N, Baker SJ. PTEN and the PI3-kinase pathway in cancer. Annu Rev Pathol 2009;4:127-50.
27. Saal LH, Holm K, Maurer M, Memeo L, Su T, Wang X, et al. PIK3CA mutations correlate with hormone receptors, node metastasis, and ERBB2, and are mutually exclusive with PTEN loss in human breast carcinoma. Cancer Res 2005; 65:2554-9.
28. Knobbe CB, Reifenberger G. Genetic alterations and aberrant expression of genes related to the phosphatidyl-inositol-3'-kinase/protein kinase B (Akt) signal transduction pathway in glioblastomas. Brain Pathol 2003; 13:507-18.
29. Cheng JQ, Ruggeri B, Klein WM, Sonoda G, Altomare DA, Watson DK, et al. Amplification of AKT2 in human pancreatic cells and inhibition of AKT2 expression and tumorigenicity by antisense RNA. Proc Natl Acad Sci U S A 1996; 93:3636-41.
30. Bellacosa A, de Feo D, Godwin AK, Bell DW, Cheng JQ, Altomare DA, et al. Molecular alterations of the AKT2 oncogene in ovarian and breast carcinomas. Int J Cancer 1995; 64:280-5.
31. Carpten JD, Faber AL, Horn C, Donoho GP, Briggs SL, Robbins CM, et al. A transforming mutation in the pleckstrin homology domain of AKT1 in cancer. Nature 2007; 448: 439-44.
32. Rychahou PG, Kang J, Gulhati P, Doan HQ, Chen LA, Xiao SY, et al. Akt2 overexpression plays a critical role in the establishment of colorectal cancer metastasis. Proc Natl Acad Sci U S A 2008; 105:20315-20.
33. Tang JM, He QY, Guo RX, Chang XJ. Phosphorylated Akt overexpression and loss of PTEN expression in non-small cell lung cancer confers poor prognosis. Lung Cancer 2006; 51:181-91.
34. Schmitz KJ, Lang H, Wohlschlaeger J, Sotiropoulos GC, Reis H, Schmid KW, et al. AKT and ERK1/2 signaling in intrahepatic cholangiocarcinoma. World J Gastroenterol 2007; 13:6470-7.
35. Weng LP, Smith WM, Dahia PL, Ziebold U, Gil E, Lees JA, et al. PTEN suppresses breast cancer cell growth by phosphatase activity-dependent G1 arrest followed by cell death. Cancer Res 1999; 59:5808-14.
36. Chung JY, Hong SM, Choi BY, Cho H, Yu E, Hewitt SM. The expression of phospho-AKT, phospho-mTOR, and PTEN in extrahepatic cholangiocarcinoma. Clin Cancer Res 2009; 15:660-7.
37. Zhou BP, Liao Y, Xia W, Spohn B, Lee MH, Hung MC. Cytoplasmic localization of p21Cip1/WAF1 by Akt-induced phosphorylation in HER-2/neu-overexpressing cells. Nat Cell Biol 2001; 3:245-52.
38. Knuefermann C, Lu Y, Liu B, Jin W, Liang K, Wu L, et al. HER2/PI-3K/Akt activation leads to a multidrug resistance in human breast adenocarcinoma cells. Oncogene 2003; 22:3205-12.
39. Koo DH, Lee JL, Kim TW, Chang HM, Ryu MH, Lee SS, et al. A Phase II study of cetuximab (Erbitux) plus FOLFIRI for irinotecan and oxaliplatin-refractory metastatic colorectal cancer. J Korean Med Sci 2007; 22 Suppl:S98-S103.
40. Herbst RS. ZD1839: targeting the epidermal growth factor receptor in cancer therapy. Expert Opin Investig Drugs 2002; 11:837-49.
41. Zwitter M, Rajer M, Kovac V, Kern I, Vrankar M, Smrdel U. Intermittent chemotherapy and erlotinib for nonsmokers or light smokers with advanced adenocarcinoma of the lung: a phase II clinical trial. J Biomed Biotechnol;2011:185646.
42. Slamon DJ, Leyland-Jones B, Shak S, Fuchs H, Paton V, Bajamonde A, et al. Use of chemotherapy plus a monoclonal antibody against HER2 for metastatic breast cancer that overexpresses HER2. N Engl J Med 2001; 344:783-92.
43. Chiorean EG, Mahadevan D, Harris WB, Von Hoff DD, Younger A E. Phase I evaluation of SF1126, a vascular targeted PI3K inhibitor, administered twice weekly IV in patients with refractory solid tumors. J Clin Oncol 2009; 27:15s, (suppl; abstr 2558).
44. LoRusso P, Markman B, Tabernero J, Shazer R, Nguyen L, Heath E. A phase I dose-escalation study of the safety pharmacokinetics (PK), and pharmacodynamics of XL765, a PI3K/TORC1/TORC2 inhibitor administered orally to patients (pts) with advanced solid tumors. J Clin Oncol 2009; 27:146s,(suppl; abstr 3502).

45. Wu Q, Chen Y, Cui G, Cheng Y. Wortmannin inhibits K562 leukemic cells by regulating PI3k/Akt channel in vitro. J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci 2009; 29:451-6.
46. Abdul-Ghani R, Serra V, Gyorffy B, Jurchott K, Solf A, Dietel M, et al. The PI3K inhibitor LY294002 blocks drug export from resistant colon carcinoma cells overexpressing MRP1. Oncogene 2006; 25:1743-52.
47. Jimeno A, Hong D S, Hecker S, Clement R, Kurzrock R, Pestano L A, et al. Phase I trial of PX-866, a novel phosphoinositide-3-kinase (PI-3K) inhibitor. J Clin Oncol 2009; 27:156s, (suppl; abstr3542).
48. Shapiro G, Kwak E, Baselga J, Rodon J, Scheffold C, Laird A D, et al. Phase I dose-escalation study of XL147, a PI3K inhibitor administered orally to patients with solid tumors. J Clin Oncol 2009; 27:146s, (suppl; abstr 3500).
49. Markman B, Atzori F, Perez-Garcia J, Tabernero J, Baselga J. Status of PI3K inhibition and biomarker development in cancer therapeutics. Ann Oncol 2009; 21:683-91.
50. Wagner A J, Von Hoff D H, LoRusso P M, Tibes R, Mazina K E, Ware J A, et al. A first-in-human phase I study to evaluate the pan-PI3K inhibitor GDC-0941 administered QD or BID in patients with advanced solid tumors. J Clin Oncol 2009; 27:146s, (suppl; abstr 3501).
51. Flinn I W, Byrd J C, Furman R R, Brown J R, Lin T S, Bello C, et al. Preliminary evidence of clinical activity in a phase I study of CAL-101, a selective inhibitor of the p1108 isoform of phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K), in patients with select hematologic malignancies. J Clin Oncol 2009; 27:156s, (suppl; abstr 3543).
52. Tolcher A W, Yap T A, Fearen I, Taylor A, Carpenter C, Brunetto A T, et al. A phase I study of MK-2206, an oral potent allosteric Akt inhibitor (Akti), in patients (pts) with advanced solid tumor J Clin Oncol 2009 27:146s, (suppl; abstr 3503).
53. Mohapatra S, Chu B, Zhao X, Djeu J, Cheng JQ, Pledger WJ. Apoptosis of metastatic prostate cancer cells by a combination of cyclin-dependent kinase and AKT inhibitors. Int J Biochem Cell Biol 2009; 41:595-602.
54. Chee KG, Longmate J, Quinn DI, Chatta G, Pinski J, T wardowski P, et al. The AKT inhibitor perifosine in biochemically recurrent prostate cancer: a phase II California/Pittsburgh cancer consortium trial. Clin Genitourin Cancer 2007; 5:433-7.
55. Chan S, Scheulen ME, Johnston S, Mross K, Cardoso F, Dittrich C, et al. Phase II study of temsirolimus (CCI-779), a novel inhibitor of mTOR, in heavily pretreated patients with locally advanced or metastatic breast cancer. J Clin Oncol 2005; 23:5314-22.
56. Zhu AX, Abrams TA, Miksad R, Blaszkowsky LS, Meyerhardt JA, Zheng H, et al. Phase 1/2 study of everolimus in advanced hepatocellular carcinoma. Cancer 2011.
57. Zhou J, Wang Z, Wu ZQ, Qiu SJ, Yu Y, Huang XW, et al. Sirolimus-based immunosuppression therapy in liver transplantation for patients with hepatocellular carcinoma exceeding the Milan criteria. Transplant Proc 2008; 40: 3548-53.