

DOI: 10.13376/j.cblls/2017045

文章编号: 1004-0374(2017)04-0341-08

## 肝细胞癌相关信号通路及靶向药物的研究进展

刘晶晶<sup>1,2,3,4</sup>, 牟艳玲<sup>2,3,4\*</sup>

(1 济南大学 山东省医学科学院医学与生命科学学院, 济南 250200; 2 山东省医学科学院药物研究所, 济南 250062; 3 国家卫生部生物技术药物重点实验室, 济南 250062; 4 山东省罕见病重点实验室, 济南 250062)

**摘要:** 肝细胞癌是一种多阶段病变的消化系统恶性肿瘤, 也是全球癌症发病率和死亡率的重要因素。尽管局部疗法, 包括手术切除、肝移植、肝动脉栓塞术有了改善, 但对于大多数患者而言, 预后仍然很差。随着分子生物学的发展, 分子疗法, 诸如索拉菲尼、激酶抑制剂都对晚期肝癌患者的生存期有了改善。识别这些异常激活的信号通路, 对理解导致肝癌发生的细胞过程和分子机制有很大帮助。现综述了参与肝细胞癌肿瘤形成、增殖和生存的多种信号通路及相关靶向药物, 为肝细胞癌的治疗提供理论依据。

**关键词:** 肝细胞癌; 信号通路; 靶向治疗

中图分类号: R735.7; R979.1 文献标志码: A

## Research progress of hepatocellular carcinoma associated signaling pathways and target agents

LIU Jing-Jing<sup>1,2,3,4</sup>, MU Yan-Ling<sup>2,3,4\*</sup>

(1 School of Medicine and Life Science, University of Jinan-Shandong Academy of Medical Science, Jinan 250200, China;  
2 Institute of Materia Medica, Shandong Academy of Medical Sciences, Jinan 250062, China;  
3 Key Laboratory for Biotech-Drugs Ministry of Health, Jinan 250062, China;  
4 Key Laboratory for Rare Disease of Shandong Province, Jinan 250062, China)

**Abstract:** Hepatocellular carcinoma is a digestive system malignancy with multiple stages. It is a significant cause of cancer-related morbidity and mortality worldwide. Despite improvements in local therapies including surgical resection, liver transplantation, and transarterial embolization, the prognosis remains poor for the majority of patients. With the development of molecular biology, molecular therapies such as sorafenib, tyrosine kinase inhibitor, have been shown to improve survival in patients with advanced HCC. Research aimed at identifying aberrant activation of signaling pathways has led to significant progress in our understanding of cellular processes and molecular mechanisms that occur during multistage events that lead to hepatocarcinogenesis. This paper reviews the multiple pathways involved in HCC oncogenesis, proliferation and survival and relevant targeted agents, to provide theoretical basis for the treatment of hepatocellular carcinoma.

**Key words:** hepatocellular carcinoma; signaling pathways; target therapy

肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 是肝脏原发性肿瘤中的一类恶性肿瘤, 占原发性肝癌的85%。HCC 是世界第五大常见的恶性肿瘤, 致死率居于世界第三位, 仅次于肺癌和结肠癌, 并且 HCC 的发生率呈逐年上升趋势, 这与无处不在的病毒性肝炎的散播有着密不可分的联系<sup>[1-2]</sup>。与此同时, 手术化疗放疗过程中的高度耐药性、术后的高复发

率、极为不良的预后以及传统 HCC 治疗药物不能很好地靶向肝癌细胞等而产生的过多副反应<sup>[2-4]</sup>等

收稿日期: 2016-05-19; 修回日期: 2016-09-21

基金项目: 山东省自主创新及成果转化专项(2014ZZCX 02105)

\*通信作者: E-mail: myling501@hotmail.com; Tel/Fax: 0531-82612443

迫切要求我们找到合适的方法应对 HCC。

## 1 HCC的发病机制

迄今为止, HCC 的发病机制仍不明确, 但在众多可能有关的发病机制中, 乙型肝炎病毒 (hepatitis B virus, HBV) 和丙型肝炎病毒 (hepatitis C virus, HCV) 诱导的癌基因激活和抑癌基因失活是引发 HCC 的主要因素: HBV 可以使肿瘤扩增, 引起基因组的不稳定, 延长病毒调控蛋白的表达以及敏化肝细胞中的致癌成分<sup>[5]</sup>; HCV 是能够引发众多肝脏疾病的因素, 诸如脂肪性肝炎、肝硬化、HCC 等, 研究发现 HCV 能够通过多条信号通路控制细胞周期<sup>[6]</sup>。这两者都直接或间接地从不同角度影响 HCC 的产生、扩增和转移, 参与了数条重要的细胞信号通路的改变。

Cui 等<sup>[7]</sup>研究表明, 细胞自噬的异常也是肝癌产生的重要因素之一。细胞自噬是真核生物进化上保守的对细胞内物质进行周转的重要过程, 通过溶酶体降解胞内蛋白和细胞器, 达到对细胞内物质的循环利用。自噬在 HCC 产生中发挥双重作用: 一是作为抗肿瘤机制抑制肿瘤的产生; 二是作为一种保护或者生存机制, 促进肿瘤产生以及导致治疗药物的耐药性。因此, 需要在 HCC 中运用不同的调节自噬的方式, 以达到防治 HCC 的目的。

除此之外, 其他能够导致肝癌的因素也有很多, 如, 环境中的致癌物质黄曲霉毒素 B1、饮用酒精过度都可能诱发氧化应激, 致使相关信号通路转导异常, 从而激发细胞增殖、胚胎发育等活性, 最终导致肝硬化以及 HCC 的产生等<sup>[8]</sup>。近年来, 关于锌指结构的转录因子家族 (Klfs) 与肝癌发病机制的

研究不断深入, 发现 Klf2、Klf4、Klf5 等家族成员也参与了肝癌细胞的增殖、分化和转移等过程<sup>[9]</sup>。二乙基亚硝胺 (diethylnitrosamine, DEN) 也会造成肝损伤, 从而引起肝硬化和肿瘤<sup>[10]</sup>。李晓东等<sup>[11]</sup>研究指出, HCC 受到表观遗传学调控, 这些非基因序列改变所导致基因或者蛋白质表达的变化是可逆的、可遗传的, 这就提示 HCC 还可能是遗传所致。

## 2 HCC的相关信号通路及其靶向药物

HCC 的预后较差, 诊断多在疾病的晚期阶段, 严重地危害人们的生命和健康。目前, 根治疗法 (切除、肝移植、局部消融) 只适用于部分患者, 对于晚期肝癌患者, 全身和局部化疗、激素疗法和免疫疗法效果欠佳<sup>[12]</sup>。而随这些治疗产生的多药耐药以及一系列相关的不良反应, 成为了 HCC 治疗过程中的主要障碍。虽然有很多学者致力于新型抗癌药物的研究, 但尚无实质性进展。分子靶向药物可能是肝癌治疗的新方向, 因此寻找新的、有效的肝癌治疗化学药物具有重要的临床意义。

在 HCC 的发生发展过程中, 信号转导通路的激活或者抑制在肝癌细胞的生长调控中起着至关重要的作用, 信号通路中任何组分的改变都会导致细胞增殖和凋亡的失控, 发生癌变。通过研究影响 HCC 的信号通路中不同因子以及蛋白质的表达, 以及这些因子、蛋白对信号通路如何进行调节, 进而转为对 HCC 的调控, 能够为我们找到广泛而有效地针对 HCC 的生物靶点, 有助于我们开发新的靶向治疗药物。下面将介绍影响 HCC 的几条信号通路, 并简述了针对这些信号通路的常用靶向抑制剂。表 1、2 对 HCC 中的一些信号通路以及靶向抑制剂进行了总结。

表1 HCC相关信号通路及其靶向抑制剂

HCC相关信号通路	类型	靶向抑制剂
MAPK(Ras/Raf/Mek/Erk)	细胞质中间体	Sorafenib、Selumetinib、regorafenib、AZD6244、Vemurafenib、PLX-4720、PD0325901 <sup>[13-14]</sup>
EGF/EGFR	表皮生长因子	Cetuximab、Afatinib、AG-490、Lapatinib、Erlotinib、Gefitinib、CP724714 <sup>[15-17]</sup>
VEGF/VEGFR	血管内皮生长因子	Bevacizumab、Sorafenib、Brivanib、Sunitinib、Cediranib <sup>[18-20]</sup>
PI3K/Akt/mTOR	细胞质中间体	Wortmannin、LY294002、MK-2206、Rapamycin、Everolimus <sup>[21-22,7]</sup>
Hedgehog	分化级联	GDC-0449 <sup>[23]</sup>

### 2.1 MAPK(Ras/Raf/Mek/Erk)信号通路

Ras/Raf/Mek/Erk 信号转导通路作为 MAPK 众多通路中的一个, 是肝癌形成最关键的信号转导通路之一, 该通路是由受体酪氨酸激酶和胞浆蛋白激

酶组成的级联反应。

Ras/Raf/Mek/Erk 信号通路广泛地参与 HCC 的异常激活, 细胞的生长、转移等过程。在细胞外信号刺激下, Ras 作为 Raf/Mek/Erk 途径的上游蛋白,

表2 相关靶向抑制剂的临床试验阶段

HCC相关信号通路	靶向抑制剂	临床试验分期
MAPK(Ras/Raf/Mek/Erk)	Sorafenib	I、I~II、II、III、IV
	Selumetinib	II
	regorafenib	II
	AZD6244	I~II、II
EGF/EGFR	Cetuximab	I、II
	Lapatinib	II
	Erlotinib	I、I~II、II、III
	Gefitinib	II
VEGF/VEGFR	Bevacizumab	I、I~II、II
	Brivanib	I、II、III
	Sunitinib	II、III
PI3K/Akt/mTOR	Rapamycin	I、II~III、III
	Everolimus	I、I~II、II、III
	MK-2206	II
Hedgehog	GDC-0449	I、II

转化为激活型 Ras, 激活型 Ras 磷酸化激活大鼠肉瘤激活因子 (Raf), 活化了的 Raf 再激活丝裂原活化的细胞外信号调节激酶 (Mek), Mek 经磷酸化最终激活细胞外调节激酶 (Erk), 活化的 Erk 入核, 磷酸化转录因子 c-Jun、c-Fos、c-Myc、Elk-1、Stat3 等, 启动相应转录子的转录, 进而导致肝细胞增殖分化<sup>[24]</sup>。

目前已知, 所有真核细胞中均存在 Ras/Raf/Mek/Erk 这一信号转导通路, 血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF)、血小板源生长因子 (platelet derived growth factor, PDGF) 等与其受体结合后, 可通过刺激 Ras- 二磷酸鸟苷 (GDP) 转换为 Ras- 三磷酸鸟苷 (GTP), 从而导致 Ras 激酶过度活化, 进而以这种自体磷酸化方式激活 Ras/Raf/Mek/Erk 信号通路<sup>[25]</sup>。

不同于其他实体瘤, 在 HCC 中 Ras 的转化变异很频繁, 尤其是在肝癌晚期阶段<sup>[1]</sup>; 而该信号通路中 Ras 以及部分蛋白如 p21 的持续激活, 可以刺激一系列下游信号, 如磷酸化失活 I $\kappa$ B, 使得 NF- $\kappa$ B 从胞浆移入细胞核内, 影响抗凋亡基因的转录, 从而促进肝细胞生长分化以及抑制细胞凋亡, 最终导致肝细胞状态异常从而形成肿瘤<sup>[17]</sup>。蒋成英和戴广海<sup>[26]</sup> 研究发现, 肝硬化与 HCC 患者样本中 Raf 以及下游基因 Mek、Erk 表达均呈上调状态, HCC 患者中 Raf 的表达水平明显高于肝硬化患者。这表明 Raf 信号的异常激活在 HCC 发生过程中发挥极为重要的作用。

目前, 抑制 Raf 激酶的激活以及抑制部分蛋白激酶的表达策略已经成为治疗 HCC 的一种新途径。目前临床研究的 MAPK 靶向抑制剂有索拉菲尼 (Sorafenib)、Onafamib、Regorafenib、AZD6244 等, 口服多靶点抑制剂索拉菲尼主要的作用靶点或信号通路有 Raf/Mek/Erk、Jak/Stat、PI3K/Akt/mTOR、VEGFR、STAT、Wnt/ $\beta$ -catenin, 通过这些靶点可调控肝癌细胞的增殖、分化、转移以及凋亡<sup>[13-14]</sup>。索拉菲尼现已作为晚期肝癌治疗的一线药物, 用作晚期肝癌的治疗以及手术切除的辅助用药, 它有效靶向 MAPK 信号通路, 抑制肝癌细胞增殖、血管生成, 直接阻断肿瘤再生<sup>[27]</sup>。一项 III 期临床研究结果显示, 与安慰剂治疗组相比, 索拉菲尼可以显著延长晚期 HCC 患者的总生存期; 与此同时, 索拉菲尼存在如促进肿瘤转移、耐受性差等药物毒副作用, 使得该药并不能根治 HCC, 这对于患者而言, 无疑是致命的。选择性 Mek 靶向抑制剂司美替尼 (Selumetinib), 又名 AZD6244, 能阻止 Erk 的激活, 诱导肿瘤细胞的凋亡, 与多柔比星联用效果更好<sup>[14]</sup>。

针对 MAPK 通路的靶向研究治疗 HCC, 可以通过抑制通路中蛋白激酶的活化以及阻断通路上游生长因子与其受体的结合得以实现。

## 2.2 EGF/EGFR信号转导通路

表皮生长因子 EGF (epidermal growth factor, EGF) 及其受体 EGFR 在 HCC 的增殖、转移中起着重要作用, EGFR 在肝癌中过表达, 与肿瘤浸润和复发有关, 是预后不良因素之一。



该信号通路在人体 HCC 微环境中, 对肝癌细胞的增殖有诱导作用, 并对其中 CXCL5 和 CXCL8 蛋白的产生有促进作用, 这两种蛋白可以相互作用, 但可以被 EGFR、ERK、PI3K 抑制剂抑制<sup>[28]</sup>, 预示着 EGF/EGFR 信号通路可能是治愈 HCC 的潜在靶点。EGFR 也称为 ErbB1 或 Her1, 是一个具有受体酪氨酸激酶活性的跨膜糖蛋白家族, 包括 ErbB2 (Her2)、ErbB3 (Her3) 和 ErbB4 (Her4), 这些成员均含有胞外配体结构域、跨膜结构域以及含有激酶活性的胞内结构域。在与其相应配体如 EGF、转化生长因子 (transforming growth factor, TGF) 等结合后, EGFR 形成同源二聚体或异源二聚体, 二聚体化导致 EGFR 自身磷酸化的发生, 即可促发活化下游的其他信号通路<sup>[29]</sup>。

Huang 等<sup>[28]</sup>研究表明, EGF 能增加低转移性肝癌细胞的增殖潜力以及低或高转移性肝癌细胞的运动能力; 同时, 高浓度的 EGF 对 HepG2 表现出增殖抑制效应, 这可能与 EGF 的双相效应有关, 高浓度 EGF 会刺激下游相关信号通路, 如 PI3K/Akt/mTOR、Ras/Raf/Mek/Erk 通路, 而 Erk 和 Src/EGFR/STAT5 则可能是基于 EGF 浓度作为该条信号通路的开关。研究表明, EGFR 在肝癌中过表达, 这种过表达同细胞增殖分化及疾病分期相关, 因此, EGFR 可能是抑制肝癌的分子治疗靶点<sup>[30]</sup>。关于 HCC 组织中 EGFR 表达的临床病理学特征分析的研究中<sup>[29]</sup>, 免疫组化结果显示癌旁组织中 EGFR 蛋白表达高于 HCC 组织, 并且与肝硬化情况及术后复发有关, 这就有可能说明 EGFR 参与了 HCC 的发生发展过程, 检测癌旁肝组织中 EGFR 表达有助于预测 HCC 复发。

以 EGFR 为靶点的药物, 主要包括单克隆抗体西妥昔单抗 (Cetuximab)<sup>[15]</sup> 和小分子的酪氨酸激酶抑制剂吉非替尼、厄罗替尼 (Erlotinib) 和拉帕替尼 (Lapatinib)<sup>[16-17]</sup>。Cetuximab 是一种 IgG1 单克隆抗体, 可与 EGFR 竞争结合阻断细胞内信号转导途径, 抑制肿瘤生长、侵袭和转移, 诱导肿瘤细胞凋亡。在 II 期临床研究中, 肝癌患者对 Cetuximab 的耐受性较好, 但未完全缓解, 中位总生存期延长也并不明显; Lapatinib 可双重抑制细胞内 EGFR 和 HER2 的 ATP 位点, 阻止两者的同质和异质二聚化, 从而阻断信号转导, 抑制肿瘤细胞的生长; Erlotinib 是一种 EGFR/HER-1 拮抗剂, 对多种实体肿瘤具有一定疗效。

因此, EGF/EGFR 作为 HCC 生长因子中重要

的信号通路, 可以将其作为治疗 HCC 研究的一条主要靶向通路, 针对其研发相应的靶向抑制剂。

### 2.3 VEGF/VEGFR信号通路

VEGF 是体内最强的血管生成因子, 与其受体 (VEGFR) 结合后, 信号通路表达上调, 在肝癌血管生成、肿瘤生长和转移中扮演了重要的角色。

在 HCC 中, VEGF 被认为是血管内皮细胞的高度特异促有丝分裂原, 通过与 VEGFR 结合后发挥效应, VEGFR 主要包括 3 种酪氨酸激酶受体 VEGFR-1 (fms-样酪氨酸激酶 1, Flt-1)、VEGFR-2 (激酶插入区受体, Flk-1/KDR) 以及 VEGFR-3 (fms-样酪氨酸激酶 4, Flt-4), 而与 VEGF 结合后的 VEGFR 则产生自身磷酸化和去磷酸化, 激活后的受体触发一系列信号传导至细胞膜, 从而促进内皮细胞分化、扩散、增殖、转移, 并刺激成纤维细胞分泌细胞外基质, 最终形成新的肝癌血管<sup>[31-32]</sup>。VEGFR1、VEGFR2 两个受体均可以通过激活下游蛋白激酶或生长因子而促进 HCC 发展以及血管生成。

高建芝等<sup>[33]</sup>研究表明, 通过观察 HCC 组织, 发现 2 年内发生复发转移组 HCC 中 VEGF、GPC-3、p53 (突变型) 的表达均明显高于 2 年内未复发转移组, 说明 VEGF、GPC-3、p53 三者的高表达和 p16 表达缺失可能与 HCC 患者预后较差、肿瘤易转移和复发有关。通过检测 HCC 组织中这些因子、蛋白的表达水平, 有助于知道 HCC 的新的治疗靶点。此外, 一项针对 VEGFA 的关联研究表明<sup>[34]</sup>, VEGFA 对促进肝癌细胞生长起着重要作用, 且位于启动子区域的单核苷酸多态性位点 (single nucleotide polymorphism, SNP) 可能通过改变基因启动子表达活性影响肝癌发生的易感性, 这为以 VEGFA 启动子区域功能位点作为分子药物靶点抑制肝癌发展进程提供了一定依据。

目前, 以 VEGF/VEGFR 介导的信号通路设计分子靶向药物的主要靶点是 VEGFR1、VEGFR2。贝伐珠单抗 (Bevacizumab) 是针对 VEGF 的单克隆抗体, 靶向作用于 VEGF/VEGFR 信号通路<sup>[18]</sup>; 索拉非尼是口服的多靶点激酶抑制剂, 除了能阻滞 Ras/Raf/Mek/Erk 信号通路外, 还能抑制 VEGFR1、VEGFR2 的酪氨酸激酶活性, 诱导肿瘤细胞凋亡, 从而发挥抑制肿瘤细胞增殖及抗肿瘤血管生成的多重抗肿瘤作用<sup>[19]</sup>。Brivanib、Sunitinib、Cediranib 等也作为 VEGFR 抑制剂应用于临床中<sup>[20]</sup>。

因此, 可以把 VEGF/VEGFR 信号转导途径作为肝癌抗血管生成治疗的理想靶点, 治疗策略可以

是下调 VEGF 的表达, 阻断 VEGF 与 VEGFR 的结合, 干扰内皮细胞信号以及阻断 VEGF 与 VEGFR 结合后的信号转导, 抑制肝癌血管的生长和转移, 以此达到较广谱的抗肿瘤作用。

#### 2.4 PI3K/Akt/mTOR 信号通路

PI3K/Akt/mTOR 信号通路参与 HCC 进程中的多种变化, 主要影响肝癌细胞的增殖以及生长周期, 在肿瘤的形成和发展中起着重要的作用。

该通路的信号转导主要依赖于多种生长因子刺激激活 PI3K, 聚集到细胞膜, 产生二级信使, 如 PIP2、PIP3, 进一步激活下游信号分子 Akt, Akt 通过血小板-白细胞 C 激酶同源区与 PIP3 相结合, 通过磷酸化作用激活下游蛋白 (如 mTOR), 从而发挥调控肝癌细胞凋亡等功能<sup>[35]</sup>。哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin, mTOR) 是 PI3K/Akt 信号通路中一个关键底物, 属于非典型丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶, 可与细胞外信号结合, 影响关键基因转录以及蛋白质翻译, mTOR 与蛋白质合成、免疫、细胞运动、代谢、细胞凋亡及自噬等均有联系<sup>[36]</sup>。

PI3K/Akt/mTOR 信号通路的激活可以抑制由激酶诱发的肝细胞凋亡, 同时还参与了部分血管生成、肿瘤转移过程。俞媛和陈晓蓉<sup>[22]</sup>研究表明, PI3K/Akt/mTOR 信号通路在 HCC 发病过程中被过度激活, mTOR 呈高表达, 肿瘤细胞的凋亡受到明显抑制。此外, 该信号通路在 HCC 中还受到诸多细胞因子和炎性介质的影响, 如白细胞介素-6 可以通过激活此通路导致肿瘤细胞免受转化生长因子- $\beta$  的诱导而凋亡。Janku 等<sup>[37]</sup>研究发现, 半数左右的 HCC 患者中类脂磷酸酶 (phosphatase and tensin homologue deleted from chromosome 10, PTEN) 表达下降, 而 PTEN 属于一种抑癌基因, 通过促进 PIP3 去磷酸化生成 PIP2, 进而实现 PI3K 下游信号的负性调节, 达到抑制肝细胞增殖和促进肝细胞凋亡的目的, 即 PI3K/Akt/mTOR 信号通路的负反馈作用主要就是由 PTEN 来控制。所以, PTEN 的缺失或突变与 PI3K/Akt/mTOR 通路的持续活化有关, 同时也与肝癌细胞的形成进程密不可分, 针对该通路关键信号的靶向治疗已经展开。

现阶段, PI3K/Akt/mTOR 信号通路的药物主要有 PI3K 抑制剂、AKT 抑制剂、mTOR 抑制剂等, 渥曼青霉素 (Wortmannin) 属于不可逆 PI3K 抑制剂, 与赖氨酸残基通过磷酸盐共价反应形成一个共价键, 从而抑制 PI3K 的酶活性<sup>[21]</sup>; 另外, LY294002

也是目前研究比较深入的 PI3K 抑制剂, 可以有效增强化疗药物对癌细胞的敏感性<sup>[22]</sup>; MK-2206 是一种新型 Akt 抑制剂, 可以抑制 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期细胞活性, 诱导 HCC 细胞凋亡及自噬<sup>[22]</sup>; Rapamycin、Everolimus 则是抑制 mTOR 的药物, 可以抑制相关蛋白的转录和翻译<sup>[7]</sup>。针对 PI3K/Akt/mTOR 通路的靶向治疗, 可以从阐明其对肝癌细胞的增殖机制出发, 减少类脂磷酸酶的突变, 使紊乱的细胞周期得到恢复, 从而推进 HCC 的治疗进程。

#### 2.5 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路

Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路是目前研究比较透彻的信号通路, 常称之为 Wnt 经典信号通路, 可调控肝癌生长发育过程中的细胞生长、分化以及新陈代谢等进程。

目前已经发现, Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路主要通过激活其下游靶基因导致 HCC 的生成与发展。在有 Wnt 信号时, 可与跨膜受体 FZL 及辅助受体 LRP5/6 结合从而活化胞内 DVL, 抑制糖原合成酶激酶-3 $\beta$  (GSK-3 $\beta$ ) 活性, 从而抑制了  $\beta$ -catenin 的磷酸化, 阻止了  $\beta$ -catenin 的降解,  $\beta$ -catenin 聚集在细胞浆内并转位至细胞核, 与核转录因子 TCF/LEF 结合后使靶基因如 C-myc、cyclin D1、Survivin 等激活并表达, 导致细胞的异常增殖, 促进 HCC 进程<sup>[38-40]</sup>。

Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路主要通过影响细胞周期及细胞周期素的表达而对 HCC 起重要作用,  $\beta$ -catenin 基因的沉默能够诱发肝癌细胞中 cyclin B1 和 cyclin C 表达水平的改变, 使得细胞周期阻滞于 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期, 促进肿瘤产生<sup>[41]</sup>。Xie 等<sup>[42]</sup>研究表明, 在肝癌细胞中,  $\beta$ -catenin 在胞质内大量积累, Western blot 检测发现在 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路下游靶基因 cyclin D1 比在正常肝细胞中表达水平要高, 说明 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路在肝癌细胞中处于激活状态, 促进下游靶基因的表达以及细胞增殖。谢亮海等<sup>[43]</sup>研究发现, HBV 和 HCV 可上调 Wnt 促进 HCC 发生, 过表达的 Wnt-1 蛋白可能是  $\beta$ -catenin 核内积聚的重要原因, 进而促进了细胞增殖、细胞周期进程及细胞转化, 这表明在 HCC 进程中 HBV 以及 HCV 对 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路的活化起着促进作用。

DKK1 通过阻断 Wnt 信号通路, 产生了 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期阻滞作用, 减缓细胞增殖, 同时抑制了 HepG2 细胞的迁移; 而 Western blot 显示, 经 DKK1 处理后,  $\beta$ -catenin、cyclin D1 和 c-myc 蛋白表达水平下降,

GSK-3 $\beta$  蛋白表达水平上升, Wnt 信号通路被抑制, 说明 Wnt 信号通路通过调控下游周期蛋白的表达水平来调控 HepG2 细胞的增殖<sup>[2,43]</sup>。目前, 针对 Wnt 经典信号通路的靶向药物的研究并不多, 有待通过进一步实验发现。

针对 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路的疗法, 可以使 DKK1 作为治疗肝癌的作用靶点, 发挥抗癌作用的潜在价值, 也可以从多个通路间的共性及作用模式角度出发, 有助于高效、广谱 HCC 靶向药物研究的深入开展。

## 2.6 Hedgehog信号通路

Hedgehog(Hh) 信号通路是 HCC 形成常见的信号通路, 该通路的异常活化有助于肿瘤形成、血管生成、转移性播种等过程。

Hh 信号通路主要由 Hh 配体、2 个跨膜蛋白受体 Ptch 和 Smo、核转录因子 Gli 以及下游目的基因组<sup>[44]</sup>。当细胞外环境中无 Hh 配体时, Ptch 抑制了 Smo 蛋白活性, 阻滞了下游信号通路, 同时 Gli 蛋白与胞浆中的 Cos2、Fu 结合形成复合体, 磷酸化、水解后进入细胞核内, 抑制下游靶基因转录; 而当存在 Hh 配体时, Hh 配体就通过自分泌或旁分泌与细胞膜上 Ptch 受体结合, 解除对 Smo 的抑制, 促使 Gli 从复合体中游离, 以全长活性形式进入细胞核, 激活下游靶基因转录。

Hh 信号通路在 HCC 中异常激活, 可改变肿瘤间质信号导致肝癌进展, 在调节细胞功能以及胚胎的生长发育方面起着关键作用, 正常肝组织中则无 Hh 信号表达<sup>[45]</sup>。Lu 等<sup>[46]</sup>报道, Hh 信号通路可活化肝基质细胞及祖细胞而促进肝纤维化, Hh 信号通路有可能通过 Erk 途径上调基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinase, MMP) 表达, 从而调节肝癌细胞的侵袭以及新陈代谢。Sonic Hedgehog 信号通路相关分子在 HCC 组织中的表达更为强烈, 影响肿瘤的侵袭以及迁移, 转录因子 Gli 是唯一与 HCC 患者的不良预后有关的分子<sup>[47]</sup>, 因而可以将 Gli 在 Hh 途径中的表达作为一项有效的 HCC 预后指标。

目前靶向 Hg 信号通路的药物主要是几种天然或合成的小分子抑制剂, 针对 Hh 通路中 Smo、Shh 和 Gli1 位点, 其中较有临床应用前景的有 GDC-0449。GDC-0449 是 Hh 通路抑制剂, 能够下调靶基因以及 HCC 中 VEGF 的表达, 有效降低微血管密度和肿瘤生长<sup>[23]</sup>。Hh 作为 HCC 中一条重要的信号通路, 其中所含有的转录因子 Gli 可以为研究肝癌细胞分子机制提供有力依据, 同时也为 HCC 的

治愈提供了可能。

## 2.7 其他HCC相关信号通路

胰岛素生长因子 (IGF)/IGFR 信号通路也是参与 HCC 发生发展过程的一条重要的信号通路, 该通路由 IGF 配体以及膜受体组成。当 IGF 配体与其膜受体结合时, 该信号通路被激活, 可通过信号级联反应, 如 PI3K/Akt/mTOR、MAPK 通路, 还能通过抑制其下游蛋白因子 STAT3 以及 c-Myc 促进肿瘤细胞增殖, 并抑制其凋亡, 增强 HCC 的转移<sup>[48-49]</sup>。目前研究的 IGF 抑制剂主要是 IMC-A12, 该药能诱导 HCC 细胞凋亡, 延迟肿瘤生长<sup>[50]</sup>。

肝细胞生长因子 (HGF)/c-Met 信号通路广泛参与 HCC 生长以及血管形成进程, 近年来也将其作为 HCC 的治疗靶点之一, HGF 与其受体 c-Met 结合后, 引起受体二聚化, 异常激活的 HGF/c-Met 通路能促进肝癌细胞的生长、扩散、黏附以及变形, 抑制其凋亡, 对于肿瘤血管内皮细胞的增殖也起着一定正向作用, 从而促进肿瘤组织的血管形成<sup>[51]</sup>。PHA665752 能够抑制 c-Met 磷酸化以及下游 ERK 和 Akt 的活性<sup>[52]</sup>, ARQ197 也作为临床 II 期药物靶向于 MET<sup>[20]</sup>。

TGF- $\beta$  信号通路对 HCC 的增殖扩散后期进程起着关键作用。在胞内, 传递 TGF- $\beta$  超家族的信号由 Smads 家族负责, Smad 作为 TGF- $\beta$  受体下游信号传导因子, 建立起胞膜与胞核之间关键、主要的信号转导<sup>[53]</sup>。Notch 信号通路参与了 HCC 的侵袭和转移, 通过钝化 MMP-2、MMP-9 以及 VEGF, 可以达到下调 Notch 信号通路的效果, 进而抑制 HCC 的侵袭<sup>[54]</sup>。纤维母细胞生长因子 (FGF)/FGFR 信号通路在 HCC 的发生发展中也扮演着重要的角色, French 等<sup>[55]</sup>和 Miura 等<sup>[56]</sup>研究发现, 改造小鼠 FGF19 基因后, 其后代也有 HCC 的形成, 同时在肝癌组织中, FGF19、FGFR4 的表达都要比在正常组织中要高, 说明肝癌的形成需要 FGF19 及其受体 FGFR4, 这就预示着 FGF19 和 FGFR4 可能是 HCC 重要的新治疗靶点。

## 3 信号通路间的相互作用

信号通路的异常在 HCC 中十分常见, 各条信号通路之间都存在着交叉反应, 信号应答的交互影响。

c-Met 最初被认为是一种融合基因, 为 HGF 受体进行编码, 磷酸化后可激活一系列的下游信号通路, 如 MAPK、PI3K 等<sup>[57]</sup>。同时, Huang 等<sup>[58]</sup>研究显示, HGF 对 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路有激活作用,



加快肿瘤细胞的新陈代谢以及刺激肝癌细胞的增殖、转移。Wnt/ $\beta$ -catenin 和 EGFR 之间的交叉反应对 HCC 的血管生成以及肿瘤的生长起着重要作用。HGF/c-Met 和 VEGF/VEGFR 信号通路之间存在强烈的交叉效应, 因此, 联合抑制这两条通路对肿瘤细胞增殖、骨架构建以及内皮细胞的转移具有一定成效, 是目前肝癌靶向治疗值得关注的方向。

Hh 信号通路中的核转录因子 Gli 是 TGF- $\beta$  通路的下游基因, 参与调节上皮间质转化; Wnt/ $\beta$ -catenin 通路与 MAPK 通路间产生交互效应是基于特定的细胞环境, MAPK 可以使 Smads 失活, 从而下调 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号转导产生级联反应, 共同影响肝癌细胞的生长与血管形成; 而在 HCC 中突变的  $\beta$ -catenin 信号则与微环境的重塑以及 TGF- $\beta$  的激活相互联系。

因此, HCC 的发生发展过程中存在多种信号通路之间的级联以及交叉反应, 弄清这些复杂的反应过程对治愈 HCC 起着至关重要的作用。

#### 4 结语

综上所述, HCC 发生时, 机体通过多种机制和信号途径促使肝硬化及其间质纤维化, 引发肝脏炎症, 导致肿瘤生成, 严重降低患者的生活质量和寿命。而癌细胞进展过程的病理生理机制仍有许多未知因素有待探究, 弄清各个信号通路之间的影响机制以及找到针对信号通路合适的靶点展开靶向性治疗对 HCC 的治愈以及下一步研究方向的展开起着至关重要的作用。

#### [参 考 文 献]

- [1] Sia D, Villanueva A. Signaling pathways in hepatocellular carcinoma. *Oncology*, 2011, 81: 18-23
- [2] Oishi N, Wang XW. Novel therapeutic strategies for targeting liver cancer stem cells. *Int J Biol Sci*, 2011, 7: 517-35
- [3] Zigmund E, Ben Ya'acov A, Lee H, et al. Suppression of hepatocellular carcinoma by inhibition of overexpressed ornithine aminotransferase. *ACS Med Chem Lett*, 2015, 6: 840-4
- [4] Toita R, Murata M, Tabata S, et al. Development of human hepatocellular carcinoma cell-targeted protein cages. *Bioconjugate Chem*, 2012, 23: 1494-501
- [5] Guerrieri F, Belloni L, Pediconi N, et al. Molecular mechanisms of HBV-associated hepatocarcinogenesis. *Semin Liver Dis*, 2013, 33: 147-56
- [6] Rusyn I, Lemon SM. Mechanisms of HCV-induced liver cancer: what did we learn from *in vitro* and animal studies?. *Cancer Lett*, 2014, 345: 210-5
- [7] Cui J, Gong ZY, Shen HM. The role of autophagy in liver cancer: Molecular mechanisms and potential therapeutic targets. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1836: 15-26
- [8] Lafaro KJ, Demirjian AN, Pawlik TM. Epidemiology of hepatocellular carcinoma. *Surg Oncol Clin N Am*, 2015, 24: 1-17
- [9] 董笑, 李琦. 转录因子Klfs家族影响肝细胞癌发生发展的机制研究进展. *中国肿瘤临床*, 2016, 43: 348-51
- [10] 赵彤, 李柏. 二乙基亚硝胺在小鼠诱发性肝癌模型中的应用. *中国比较医学杂志*, 2016, 26: 76-80
- [11] 李晓东, 王运帷, 胡静. 肝癌的表观遗传学研究进展. *现代肿瘤医学*, 2016, 24: 1501-4
- [12] 李蕊, 宋威江, 张少鹏, 等. Ras-MAPK通路在肝癌发病机制中的作用. *中日友好医院学报*, 2016, 30: 47-9
- [13] 张朝亚, 赵相轩, 卢再鸣, 等. 索拉非尼诱导肝细胞凋亡信号通路的研究进展. *临床肝胆病杂志*, 2016, 32: 816-20
- [14] O'Neil BH, Goff LW, Kauh JS, et al. Phase II study of the mitogen-activated protein kinase 1/2 inhibitor selumetinib in patients with advanced hepatocellular carcinoma. *J Clin Oncol*, 2011, 29: 2350-6
- [15] 李爱军, 马森林, 吴孟超. 分子靶向药物在肝癌治疗中的作用. *肝胆胰外科杂志*, 2015, 27: 255-8
- [16] 高军. 分子靶向药物在肝癌治疗中的应用. *中国普外基础与临床杂志*, 2011, 18: 560-3
- [17] Aravalli RN, Cressman EN, Steer CJ. Cellular and molecular mechanisms of hepatocellular carcinoma: an update. *Archiv Toxicol*, 2013, 87: 227-47
- [18] Cheng DF, Zhao YZ, Yao Q, et al. Design and initial evaluation of USPIO modified bevacizumab as a hybrid SPECT/MRI probe to hepatoma carcinoma cells. *J Nucl Med*, 2013, 54: 1169
- [19] Faloppi L, Bianconi M, Svegliati Baroni G, et al. P0313 correlation between VEGF and VEGF-R polymorphisms, toxicity and clinical outcome in HCC patients receiving sorafenib. *J Hepatol*, 2015, 62: 426
- [20] Bharadwaj M, Roy G, Dutta K, et al. Tackling hepatitis B virus-associated hepatocellular carcinoma-the future is now. *Cancer Metast Rev*, 2012, 32: 229-68
- [21] Mccubrey JA, Steelman LS, Chappell WH, et al. Ras/Raf/MEK/ERK and PI3K/PEN/Akt/mTOR cascade inhibitors: how mutations can result in therapy resistance and how to overcome resistance. *Oncotarget*, 2012, 3: 1068-111
- [22] 俞媛, 陈晓蓉. PI3K/Akt/mTOR信号转导通路在肝细胞癌发生发展中的作用. *临床肝胆病杂志*, 2014, 30: 954-7
- [23] Pinter M, Sieghart W, Schmid M, et al. Hedgehog inhibition reduces angiogenesis by downregulation of tumoral VEGF-A expression in hepatocellular carcinoma. *United Eur Gastroenterol J*, 2013, 1: 265-75
- [24] Psyrris A, Arkadopoulos N, Vassilakopoulou M, et al. Pathways and targets in hepatocellular carcinoma. *Expert Rev Anticancer Ther*, 2012, 12: 1347-57
- [25] Zhao X, Tian C, Puszyk WM, et al. OPA1 downregulation is involved in sorafenib-induced apoptosis in hepatocellular carcinoma. *Lab Invest*, 2013, 93: 8-19
- [26] 蒋成英, 戴广海. Ras Raf Mek Erk信号传导通路在肝细胞癌发生中的作用机制及在靶向治疗中的应用. *中国*

- 肿瘤临床, 2008, 35: 1377-80
- [27] Shi JH, Liu SZ, Wierød L, et al. RAF-targeted therapy for hepatocellular carcinoma in the regenerating liver. *J Surg Oncol*, 2013, 107: 393-401
- [28] Huang PX, Xu XJ, Wang L, et al. The role of EGF-EGFR signalling pathway in hepatocellular carcinoma inflammatory microenvironment. *J Cell Mol Med*, 2014, 18: 218-30
- [29] 孙艳, 肖锋, 钱铮, 等. 肝细胞肝癌组织表皮生长因子受体表达的临床病理学特征分析. *南通大学学报:医学版*, 2016, 36: 33-6
- [30] Seshacharyulu P, Ponnusamy MP, Haridas D. Targeting the EGFR signaling pathway in cancer therapy. *Expert Opin Ther Targets*, 2012, 16: 15-31
- [31] 刘尧, 王长振, 刘明华, 等. VEGF/VEGFR信号转导通路在肝癌靶向治疗中的研究进展. *中国免疫学杂志*, 2013, 29: 97-101
- [32] Scartozzi M, Faloppi L, Svegliati Baroni G, et al. VEGF and VEGFR genotyping in the prediction of clinical outcome for HCC patients receiving sorafenib: The ALICE-1 study. *Int J Cancer*, 2014, 135: 1247-56
- [33] 高建芝, 杜经丽, 李佳, 等. VEGF相关信号通路在肝癌组织中的表达及临床意义. *临床与实验病理学杂志*, 2014, 30: 75-8
- [34] Wu X, Xin Z, Zhang W, et al. Polymorphisms in the VEGFA promoter are associated with susceptibility to hepatocellular carcinoma by altering promoter activity. *Int J Cancer*, 2013, 133: 1085-94
- [35] Tang H, Li RP, Liang P, et al. miR-125a inhibits the migration and invasion of liver cancer cells via suppression of the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway. *Oncol Lett*, 2015, 10: 681-6
- [36] Sheppard K, Kinross KM, Solomon B, et al. Targeting PI3 kinase/AKT/MTOR signaling in cancer. *Criti Rev Oncog*, 2012, 17: 69-95
- [37] Janku F, Hong DS, Fu S, et al. Assessing PIK3CA and PTEN in early-phase trials with PI3K/AKT/mTOR inhibitors. *Cell Rep*, 2014, 6: 377-87
- [38] Langeswaran K, Gowthamkumar S, Vijayaprakash S, et al. Influence of limonin on Wnt signalling molecule in HepG2 cell lines. *Nat Sci Biol Med*, 2013, 4: 126-33
- [39] Pez F, Lopez A, Kim M, et al. Wnt signaling and hepatocarcinogenesis: molecular targets for the development of innovative anticancer drugs. *J Hepatol*, 2013, 59: 1107-17
- [40] Tsoo CM, Yan MD, Shih YL, et al. SOX1 functions as a tumor suppressor by antagonizing the WNT/ $\beta$ -catenin signaling pathway in hepatocellular carcinoma. *Hepatology*, 2012, 56: 2277-87
- [41] Wang B, Sun X, Liu JY, et al. The effect of cell cycle and expression of cyclin B1 and cyclin C protein in hepatocellular carcinoma cell line HepG2 and SMMC-7721 after of silencing  $\beta$ -catenin gene. *Hepatogastroenterology*, 2012, 59: 515-8
- [42] Xie XL, Wei M, Kakehashi A, et al. 2-Amino-3-methylimidazo[4,5-f] quinoline (IQ) promotes mouse hepatocarcinogenesis by activating transforming growth factor- $\beta$  and Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathways. *Toxicol Sci*, 2012, 125: 392-400
- [43] 谢亮海, 蒋晗, 吴福生. Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路在HCC中的促进作用. *南方医科大学学报*, 2014, 34: 913-6
- [44] 刘佳, 朱琴梅, 胡弘毅, 等. Hedgehog信号通路在肝细胞癌发生发展中的作用. *临床肝胆病杂志*, 2015, 31: 300-4
- [45] Arzumanyan A, Sambandam V, Clayton MM, et al. Hedgehog signaling blockade delays hepatocarcinogenesis induced by hepatitis B virus X protein. *Cancer Res*, 2012, 72: 5912-20
- [46] Lu JT, Zhao WD, He W, et al. Hedgehog signaling pathway mediates invasion and metastasis of hepatocellular carcinoma via ERK pathway. *Acta Pharmacol Sin*, 2012, 33: 691-700
- [47] Chen JS, Huang XH, Wang Q, et al. Sonic hedgehog signaling pathway induces cell migration and invasion through focal adhesion kinase/AKT signaling-mediated activation of matrix metalloproteinase(MMP)-2 and MMP-9 in liver cancer. *Carcinogenesis*, 2013, 34: 10-9
- [48] 吴建锋, 赵腾, 曹广文. 肝癌相关的分子信号通路及治疗靶标. *第二军医大学学报*, 2015, 36: 373-7
- [49] Youness RA, El-Tayebi HM, Assal RA, et al. MicroRNA-486-5p enhances hepatocellular carcinoma tumor suppression through repression of IGF-1R and its downstream mTOR, STAT3 and c-Myc. *Oncol Lett*, 2016, 12: 2567-73
- [50] Rowinsky EK, Youssoufian H, Tonra JR, et al. IMC-A12, a human IgG1 monoclonal antibody to the insulin-like growth factor I receptor. *Clin Cancer Res*, 2007, 13: 5549s-55s
- [51] Chu JS, Ge FJ, Zhang B, et al. Expression and prognostic value of VEGFR-2, PDGFR- $\beta$ , and c-Met in advanced hepatocellular carcinoma. *J Exp Clin Cancer Res*, 2013, 32: 16
- [52] Cecchi F, Rabe DC, Bottaro DP. Targeting the HGF/Met signaling pathway in cancer therapy. *Expert Opin Ther Targets*, 2012, 16: 553-72
- [53] Massagué J. TGF- $\beta$  signalling in context. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2012, 13: 616-30
- [54] Zhou L, Wang DS, Li QJ, et al. Downregulation of the Notch signaling pathway inhibits hepatocellular carcinoma cell invasion by inactivation of matrix metalloproteinase-2 and -9 and vascular endothelial growth factor. *Oncol Rep*, 2012, 28: 874-82
- [55] French DM, Lin BC, Wang M, et al. Targeting FGFR4 inhibits hepatocellular carcinoma in preclinical mouse models. *PLoS One*, 2012, 7: e36713
- [56] Miura S, Mitsuhashi N, Shimizu H, et al. Fibroblast growth factor 19 expression correlates with tumor progression and poorer prognosis of hepatocellular carcinoma. *BMC Cancer*, 2012, 12: 2-15
- [57] Gao J, Inagaki Y, Song P, et al. Targeting c-Met as a promising strategy for the treatment of hepatocellular carcinoma. *Pharmacol Res*, 2012, 65: 23-30
- [58] Huang FI, Chen YL, Chang CN, et al. Hepatocyte growth factor activates Wnt pathway by transcriptional activation of LEF1 to facilitate tumor invasion. *Carcinogenesis*, 2012, 33: 1142-8