



doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2014.11.008
http://www.zpwz.net/CN/abstract/abstract4096.shtml

· 基础研究 ·

MK-2206 逆转人乳腺癌细胞耐药的作用及机制研究

焦明文, 袁凯, 王玉龙, 陈鸿强, 周婷, 付荣湛

(山东大学附属千佛山医院 两腺外科, 山东 济南 250014)

摘要

目的: 探讨 PI3K/Akt 信号通路抑制剂 MK-2206 对人乳腺癌细胞耐药的逆转作用及机制。

方法: 用 CCK-8 法检测阿霉素与 MK-2206 对 MCF-7 细胞 (阿霉素敏感) 与 MCF-7/ADR (阿霉素耐药) 细胞生长的抑制情况并计算各自 IC₅₀ 值。根据 IC₅₀ 结果, 选择低毒浓度阿霉素单独或联合不同浓度 MK-2206 处理 MCF-7 细胞和 MCF-7/ADR 细胞后, 分别用 CCK-8 法和流式细胞术检测 MK-2206 对阿霉素耐药与阿霉素诱导细胞凋亡的影响, 以及对 MCF-7/ADR 细胞内阿霉素蓄积的影响。用 MK-2206 单独作用 MCF-7 细胞与 MCF-7/ADR 细胞后, 采用 Western blot 法检测 PI3K/Akt 信号通路相关蛋白的表达。

结果: 阿霉素与 MK-2206 作用后, 两种细胞的增殖均受到明显抑制, 阿霉素对 MCF-7/ADR 的 IC₅₀ 值明显高于 MCF-7 的 IC₅₀ 值 ($P < 0.05$), 而 MK-2206 对两种细胞的 IC₅₀ 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。联合 MK-2206 可明显降低阿霉素对两种细胞 IC₅₀ 值, 但 MCF-7/ADR 细胞的降低程度明显大于 MCF-7 细胞 ($P < 0.05$); MK-2206 对阿霉素诱导的 MCF-7 细胞凋亡影响不明显, 但能明显增加 MCF-7/ADR 细胞的凋亡率 ($P < 0.05$)。不同浓度 MK-2206 对 MCF-7/ADR 细胞内阿霉素的蓄积差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。单独 MK-2206 处理后, MCF-7 细胞 p-(Thr308) Akt 蛋白表达明显下调 ($P < 0.01$), 但 p-(Thr246) PRAS40 蛋白表达无明显改变 ($P > 0.05$); MCF-7/ADR 细胞以上两种蛋白的表达均明显下调 (均 $P < 0.05$)。

结论: MK-2206 可以通过抑制 PI3K/Akt 信号通路来部分逆转人乳腺癌细胞的耐药性, 且乳腺癌细胞耐药可能主要与该通路的 PRAS40 蛋白活化有关。

[中国普通外科杂志, 2014, 23(11):1494-1500]

关键词

乳腺肿瘤; 抗药性, 肿瘤; 1- 磷脂酰肌醇 3- 激酶
中图分类号: R737.9

Reversal effect of MK-2206 on drug resistance in breast cancer cells and its mechanism

JIAO Mingwen, YUAN Kai, WANG Yulong, CHEN Hongqiang, ZHOU Ting, FU Rongzhan

(Department of Breast and Thyroid Surgery, Qianfoshan Hospital, Shandong University, Ji'nan 250014, China)

Corresponding author: FU Rongzhan, Email: furongzhan2014@163.com

ABSTRACT

Objective: To investigate the reversal effect of the PI3K/Akt signaling pathway inhibitor MK-2206 on drug resistance in human breast cancer cells and its mechanism.

基金项目: 山东省自然科学基金资助项目 (ZR2013HM040)。

收稿日期: 2014-09-21; 修订日期: 2014-10-16。

作者简介: 焦明文, 山东大学附属千佛山医院硕士研究生, 主要从事乳腺基础及临床方面的研究。

通信作者: 付荣湛, Email: furongzhan2014@163.com

Methods: The inhibitory effects of doxorubicin and MK-2206 on growth of MCF-7 cells (doxorubicin-sensitive) and MCF-7/ADR cells (doxorubicin-resistant) were examined by CCK-8 assay and their IC_{50} values were calculated. Based on the IC_{50} results, MCF-7 and MCF-7/ADR cells were treated with a selected low-toxic concentration of doxorubicin alone or combined with different concentrations of MK-2206, and then the influence of MK-2206 on doxorubicin-resistance and doxorubicin-induced apoptosis, and on doxorubicin accumulation in MCF-7/ADR cells were detected by CCK-8 assay and flow cytometry, respectively. MCF-7 and MCF-7/ADR cells were treated with MK-2206 alone, and then the expressions of the proteins associated with PI3K/Akt signaling pathway were determined by Western blot.

Results: The proliferations in both types of cells were significantly inhibited by either doxorubicin or MK-2206 treatment, and the IC_{50} value of doxorubicin for MCF-7/ADR cells was significantly higher than that for MCF-7 cells ($P < 0.05$), while the IC_{50} values between MK-2206 for the both type of cells had no significant difference ($P > 0.05$). The IC_{50} values of doxorubicin for both types of cells were decreased by combination treatment of MK-2206, but the decreasing degree in MCF-7/ADR cells was significantly greater than that in MCF-7 cells ($P < 0.05$). MK-2206 exerted no obvious influence on the doxorubicin-induced apoptosis in MCF-7 cells, but significantly increased the doxorubicin-induced apoptosis in MCF-7/ADR cells ($P < 0.05$). No significant difference was noted in doxorubicin accumulation among MCF-7/ADR cells treated with various concentrations of MK-2206 ($P > 0.05$). After MK-2206 treatment alone, the protein expression of p-(Thr308) Akt was significantly down-regulated ($P < 0.05$), and the protein expression of p-(Thr246) PRAS40 showed no significant change ($P > 0.05$) in MCF-7 cells, while both of the above protein expressions were significantly down-regulated in MCF-7/ADR cells (both $P < 0.05$).

Conclusion: MK-2206 can partially reverse the drug resistance in breast cancer cells via inhibition of the PI3K/Akt signaling pathway, in which PRAS40 protein activation may contribute importantly to the drug resistance in breast cancer cells. [Chinese Journal of General Surgery, 2014, 23(11):1494-1500]

KEYWORDS

Breast Neoplasms; Drug Resistance, Neoplasms; 1-Phosphatidylinositol 3-Kinase; Reversal

CLC number: R737.9

乳腺癌是威胁妇女身心健康的常见恶性肿瘤, 发病率位居女性恶性肿瘤的第 1 位。化疗是乳腺癌综合治疗的重要步骤之一, 但化疗可以使乳腺癌细胞产生多药耐药, 从而导致化疗失败^[1-2]。多药耐药^[3] (multi-drug resistance, MDR) 是指对一种药物具有耐药性的同时, 对其他结构不同, 作用靶点不同的抗肿瘤药物也具有耐药性, 从而使乳腺癌细胞逃避化疗药物的杀伤作用。研究^[4]表明磷脂酰肌醇 3-激酶 (phosphatidylinositol-3 kinase, PI3K) / 蛋白激酶 B (protein kinase B, PKB, Akt) 信号传导通路的激活参与了乳腺癌的多药耐药机制。因此, PI3K-Akt 信号通路被认为是重要的乳腺癌治疗靶点, 其小分子抑制剂在乳腺癌的靶向治疗方面具有良好的应用前景。

MK-2206 (图 1) 是人工合成的高选择性非 ATP 竞争的特异性的小分子 Akt 抑制剂^[5]。在多种肿瘤中都显示了较好的肿瘤抑制效果, 目前已进入到 II 期临床研究阶段^[6]。本实验以人乳腺癌细

胞耐阿霉素 MCF-7/ADR 细胞为研究对象, 在细胞水平探讨 MK-2206 对其杀伤及逆转作用, 为乳腺癌的临床用药提供依据。

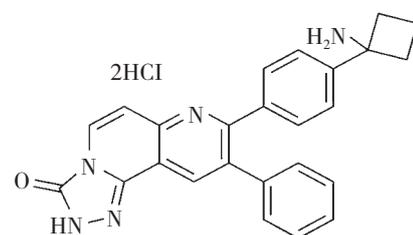


图 1 MK-2206 的分子结构

Figure 1 Molecular structure of MK-2206

1 材料与方**1.1 细胞、试剂与仪器**

人乳腺癌 MCF-7 (阿霉素敏感) 和 MCF-7/ADR 细胞株购自上海博谷生物科技有限公司。

MK-2206 粉末购自美国 Selleck chemicals 公司, NO.S1078; RPMI-1640 和胎牛血清购自美国 Gibco 公司; 阿霉素 (ADM) 购自意大利法玛西亚普强公司; CCK-8 检测试剂购自美国 SAB 公司; Annexin V/碘化丙啶 (PI) 试剂盒购自碧云天公司; 兔单抗 p-(Thr246) PRAS40 抗体, 货号 Ab134084、兔多抗 p-(Thr308) AKT 抗体, 货号 Ab38449 均购自 Abcam 公司; 鼠单抗 GAPDH 抗体及相应的辣根过氧化物酶 (HRP) 标记的二抗购自北京天德悦生物公司。CO₂ 细胞培养箱 (美国 Thermo Fisher 公司); 流式细胞仪 (美国 BD 公司); 酶标仪 (美国 MD 公司); 倒置相差显微镜 (日本 Olympus 公司); 台式高速离心机 (美国 Thermo Fisher 公司)。以上仪器均由千佛山医院医学转化中心提供。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 人乳腺癌 MCF-7 和 MCF-7/ADR 细胞用含有 10% 胎牛血清, 100 U/mL 青霉素和 0.1 mg/mL 链霉素的 RPMI1640 培养液置于 37 °C、CO₂ 体积分数为 5% 的饱和湿度培养箱中培养。0.25% 胰蛋白酶消化传代。为了维持 MCF-7/ADR 的耐药性, 在培养液中加入终浓度为 1 μg/mL 的阿霉素。实验前 2 周, 对 MCF-7/ADR 进行无药培养。取对数生长期细胞进行实验。

1.2.2 CCK-8 法检测 ADM 和 MK-2206 的细胞毒性 实验分为: MCF-7+ 阿霉素组、MCF-7/ADR+ 阿霉素组、MCF-7+MK-2206 组、MCF-7/ADR+MK-2206 组、空白对照组。取细胞浓度为 1×10^5 /mL 的对数生长期 MCF-7 和 MCF-7/ADR 细胞, 以 100 μL/孔接种于 96 孔板, 每组设 3 个复孔。24 h 后更换为含有不同浓度阿霉素 (0、10、20、40、80、160 μg/mL) 和 MK-2206 (0、5、10、20、40、80 nmol/L) 的新培养基, 空白对照组加含等体积 DMSO 的培养液。继续培养 24 h 后, 更换为含有 CCK-8 的新培养基。继续培养 2 h 后, 自动酶标仪 450 nm 处测定各孔吸光度 (OD)。取 3 孔平均值计算细胞生长抑制率。抑制率 (%) = (1 - 实验组 OD 值 / 对照组 OD 值) × 100%。应用 SPSS 19.0 计算半数抑制率 IC₅₀。耐药倍数 = IC₅₀ (MCF-7/ADR) / IC₅₀ (MCF-7)。将抑制率 < 15% 的药物浓度作为低细胞毒性浓度。

1.2.3 CCK-8 法检测 MK-2206 逆转 MCF-7/ADR 耐药 实验分为 MCF-7+ 阿霉素组、MCF-7+ 阿霉素 +MK-2206 组、MCF-7/ADR+ 阿霉素组、MCF-7/

ADR+ 阿霉素 +MK-2206 组。MK-2206 取 1.2.1 中筛选出的低毒浓度 (0、5、10、20 nmol/L)。其余方法同 1.2.2。计算逆转倍数, 逆转倍数 = IC₅₀ (阿霉素作用组) / IC₅₀ (阿霉素 +MK-2206 作用组)。

1.2.4 FCM 法检测 MCF-7 和 MCF-7/ADR 细胞凋亡 实验分: MCF-7+MK-2206+ 阿霉素组、MCF-7/ADR+MK-2206+ 阿霉素组、空白对照组。取对数生长期的 MCF-7 和 MCF-7/ADR 细胞制备成单细胞悬液, 接种于 6 孔板中。细胞贴壁培养 24 h 后, 实验组更换为含有不同浓度 MK-2206 (0、5、10、20 nmol/L) 和低毒浓度阿霉素 (40 μg/mL) 的 RPMI1640 培养基。空白对照组更换为含有相同体积浓度 DMSO 的 RPMI1640 培养基。继续培养 24 h 后, 按照 Annexin V-FITC 细胞凋亡检测试剂盒说明, 调整细胞浓度至 1×10^6 /mL。取 100 μL 细胞悬液分别加入 5 μL Annexin V-FITC 染色液和 10 μL 碘化丙啶染色液 (PI), 室温避光孵育 15 min。补齐总体积至 500 μL, 4 °C 冰浴避光放置。过滤后在流式细胞仪上测定细胞早期凋亡的百分比。

1.2.5 FCM 法检测 MCF-7/ADR 细胞内阿霉素含量 对照组加阿霉素 (40 μg/mL), 实验组加阿霉素 (40 μg/mL) 和不同浓度的 MK-2206 (5、10、20、40 nmol/L) 共同孵育 24 h 后, 取对数生长期的 MCF-7/ADR 细胞, 制备成单细胞悬液, 调整细胞浓度至 1×10^6 /L。1 000 r/min 离心 5 min, 用 4 °C 预冷 PBS 冲洗, 反复 3 次。用冷 PBS 重悬细胞计数。4 °C 保存, 上机检测。激发波长为 488 nm, 接收波长为 575 nm。细胞内阿霉素的含量以细胞的荧光强度作为标准比对。

1.2.6 Western blot 法检测蛋白的表达 收集细胞, 用预冷 RIPA 裂解液冰上孵育 20 min, 13 000 r/min, 4 °C, 离心 20 min。离心后取上清, 用 BCA 蛋白定量试剂盒进行蛋白定量, 调整蛋白浓度, 煮沸变性 5 min。10 μg/孔上样, 12% SDS-PAGE 电泳, 转至 PVDF 膜。3% BSA-TBST 室温封膜轻摇 30 min。加入稀释好的 p-(Thr246) PRAS40 (1:4 000) 和 p-(Thr308) Akt (1:4 000) 抗体, 放 4 °C 过夜。TBST 洗膜 5 次, 每次 3 min。加入稀释好的二抗 (1:20 000), 室温轻摇 40 min, TBST 洗膜 6 次, 每次 3 min。ECL 显影、定影和扫描。用软件 Image J 分析各条带灰度值, 以目的蛋白灰度值与 GAPDH 灰度值的比值作为蛋白相对表达量进行分析。

1.3 统计学处理

应用统计软件 SPSS 19.0 对数据进行统计学分析。计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间数据比较采用单因素方差分析, 回归分析采用直线相关, 两两比较采用 SNK 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CCK-8 检测结果

不同浓度的阿霉素和 MK-2206 均对 MCF-7 和 MCF-7/ADR 细胞的增殖有抑制的作用, 且呈浓

度依赖性 (图 2)。其中阿霉素对 MCF-7 和 MCF-7/ADR 的 IC_{50} 分别为 $(130.61 \pm 0.50) \mu\text{g/mL}$ 及 $(1746.86 \pm 35.92) \mu\text{g/mL}$, 耐药倍数为 13.38 倍, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。MK-2206 对 MCF-7 和 MCF-7/ADR 的 IC_{50} 分别为 $(50.27 \pm 2.26) \text{nmol/L}$ 及 $(52.82 \pm 1.83) \text{nmol/L}$, 耐药倍数为 1.05 倍, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), MK-2206 与阿霉素合用后, MCF-7 和 MCF-7/ADR 对阿霉素的 IC_{50} 均有不同程度的下降, 但以 MCF-7/ADR 的下降更明显 ($P < 0.05$), 不同浓度 MK-2206 干预后的阿霉素 IC_{50} 与单用阿霉素的 IC_{50} 之间差异具有统计学意义 ($P < 0.05$) (表 1)。

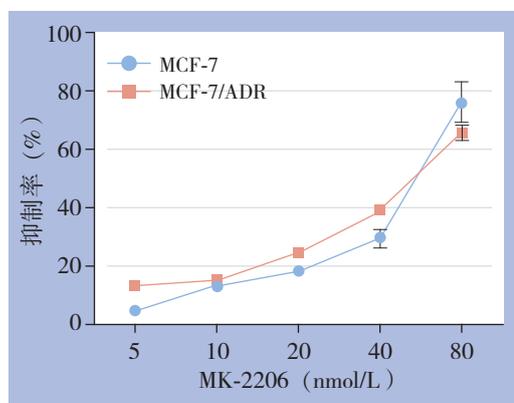
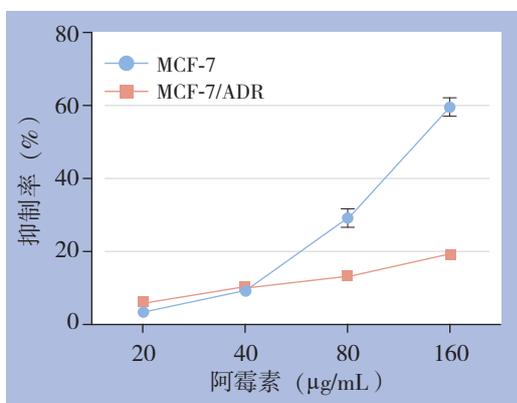


图 2 阿霉素和 MK-2206 对两种细胞的生长抑制率比较

Figure 2 Comparison of the inhibition rates of doxorubicin and MK-2206 in the two types of cells

表 1 MK-2206 对 MCF-7 和 MCF-7/ADR 阿霉素耐药的影响 ($n=6$)

Table 1 The influence of MK-2206 on doxorubicin-resistance in MCF-7 and MCF-7/ADR cells ($n=6$)

MK-2206 (nmol/L)	阿霉素 IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)		逆转倍数	
	MCF-7	MCF-7/ADR	MCF-7	MCF-7/ADR
0	130.61 \pm 0.50	1746.86 \pm 35.92	—	—
5	122.67 \pm 0.36 ¹⁾	1111.65 \pm 77.07 ¹⁾	1.06	1.57 ²⁾
10	121.75 \pm 1.48 ¹⁾	828.82 \pm 36.67 ¹⁾	1.07	2.11 ²⁾
20	92.50 \pm 1.48 ¹⁾	431.66 \pm 26.08 ¹⁾	1.41	4.05 ²⁾

注: 1) 与同种细胞 0 nmol/L MK-2206 处理组比较, $P < 0.05$; 2) 与 MCF-7 细胞相同 MK-2206 浓度组比较, $P < 0.05$

Note: 1) $P < 0.05$ vs. the same type of cells treated with 0 nmol/L MK-2206; 2) $P < 0.05$ vs. MCF-7 cells treated with the same MK-2206 concentration

2.2 FCM 检测结果

2.2.1 细胞凋亡 Annexin V-FITC 双染法结果显示 0、5、10、20 nmol/L 的 MK-2206 作用于 MCF-7 和 MCF-7/ADR 细胞 24 h 后, 对阿霉素诱

导的 MCF-7 细胞凋亡影响较小, 但可浓度依赖性明显提高阿霉素诱导的 MCF-7/ADR 细胞凋亡 ($P < 0.05$) (表 2)。

表 2 MK-2206 对阿霉素诱导的 MCF-7 和 MCF-7/ADR 细胞凋亡的影响 ($n=3$)

Table 2 The effect of MK-2206 on doxorubicin-induced apoptosis on MCF-7 and MCF-7/ADR cells ($n=3$)

MK-2206 (nmol/L)	凋亡率	
	MCF-7	MCF-7/ADR
0	2.57 \pm 0.25	1.97 \pm 0.11
5	3.03 \pm 0.06	4.00 \pm 0.44 ¹⁾
10	3.52 \pm 0.15	4.92 \pm 0.35 ¹⁾
20	3.60 \pm 0.16 ¹⁾	12.80 \pm 0.99 ¹⁾

注: 1) 与同种细胞 0 nmol/L MK-2206 处理组比较, $P < 0.05$

Note: 1) $P < 0.05$ vs. the same type of cells treated with 0 nmol/L MK-2206

2.2.2 MCF-7/ADR 细胞内阿霉素含量 阿霉素含量测定结果显示, 加入浓度分别为 0、5、10、

20、40 nmol/L 的 MK-2206 后, 细胞的荧光强度分别为 (3 412.50 ± 146.37)、(3 643.24 ± 12.73)、(3 038.05 ± 11.31)、(2 934.33 ± 32.53) 和 (3 876.64 ± 257.39) a.u.。各实验组与对照组之间差异没有统计学意义 ($P>0.05$) (图 3)。

2.3 Western blot 结果

与对照组比较, 5、10 nmol/L MK-2206 处理 MCF-7 细胞与 MCF-7/ADR 细胞 24 h 后, MCF-7 细胞 p-(Thr308)Akt 蛋白表达明显下调 ($P<0.05$), p-(Thr246) PRAS40 条带先下降后上升, 实验组与对照组之间差异无统计学意义 ($P>0.05$); MCF-7/ADR 细胞 p-(Thr246) PRAS40 和 p-(Thr308) Akt 蛋白的表达均明显下调, 且呈浓度依赖性, 实验组与对照组之间差异有统计学意义 ($P<0.05$) (图 4)。

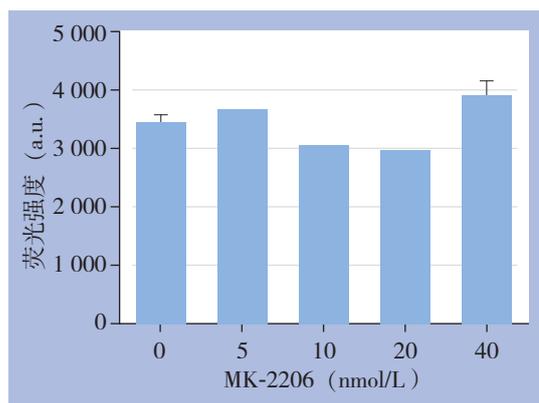


图 3 不同浓度 MK-2206 对 MCF-7/ADR 细胞内阿霉素浓度的影响

Figure 3 Influence of different MK-2206 concentration on doxorubicin level in MCF-7/ADR cells

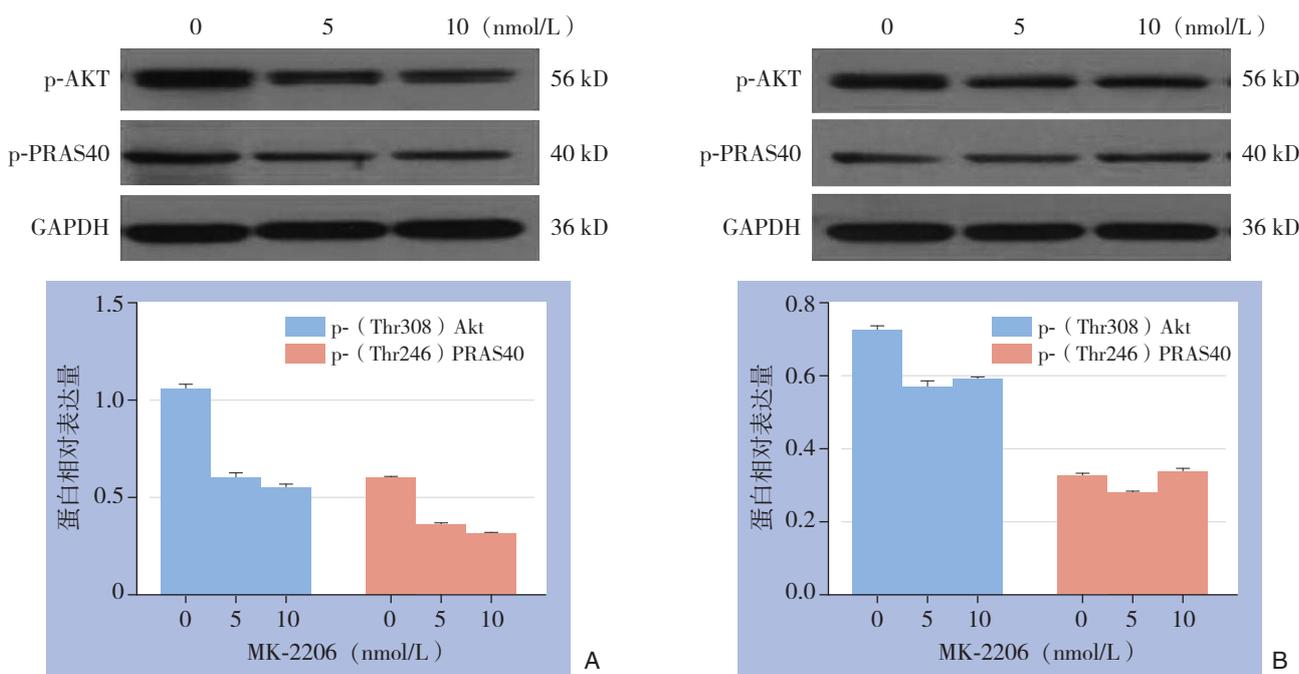


图 4 MK-2206 对 MCF-7/ADR 细胞与 MCF-7 细胞 PI3K/Akt 信号通路相关蛋白表达的影响 A: MCF-7/ADR 细胞; B: MCF-7 细胞

Figure 4 Influence of MK-2206 on the expressions of proteins associated with PI3K/Akt signaling pathway A: MCF-7/ADR cells; B: MCF-7 cells

3 讨论

导致肿瘤化疗失败的重要原因之一是肿瘤的 MDR, 产生 MDR 的机制包括药物介导的外排、酶介导的耐药机制、细胞凋亡基因、转录因子及其他因素。近年来人们为逆转肿瘤细胞的多药耐药进行

了大量尝试, 均因各种问题而限制了其实际应用价值。研究^[7-8]表明, PI3K/Akt 信号通路的激活参与了肿瘤的发生和恶性进展。随着 PI3K/Akt 信号通路与肿瘤耐药性之间的研究越来越多, PI3K/Akt 信号通路的激活被认为是肿瘤化疗多药耐药产生的新的机制^[9], PI3K/Akt 信号通路也成为重要

的逆转肿瘤耐药性的治疗靶点, 一些 PI3K/Akt 通路的小分子抑制剂在肿瘤的靶向治疗方面具有良好的应用前景^[10]。

最近, Andersen 等^[11]首次确认了 PRAS40 (proline-rich-Akt substrate, 40 kDa) 的 Thr246 位点磷酸化状态能准确代表 PI3K 信号通路的激活状态。结合前期研究^[12]对 p-(Thr246) PRAS40 在乳腺癌中的表达分析及其临床病理学意义和预后价值的评估, 结果提示 p-(Thr246) PRAS40 可能预测乳腺癌的多药耐药并参与这一过程。

Akt 是 PI3K/Akt 通路中的关键性效应分子^[13], 在多种肿瘤组织中都有 Akt 的过度表达和磷酸化^[14-15]。其主要作用是通过磷酸化来抑制细胞凋亡。如 Akt 可以磷酸化 BCL-2 家族的 Bad^[16-17] 和蛋白水解酶 caspase-9^[18] 来抑制凋亡。也可以通过磷酸化 GSK-3 β ^[19] 来阻止 cyclin D1^[20] 的降解。Clark 等^[21]发现, 细胞毒性药物能通过激活 PI3K 来提高 Akt 的磷酸化水平, 从而使细胞产生耐药。同时细胞毒性药物还可以激活酪氨酸激酶受体家族(包括 EGF 家族、PDGF 家族和 VEGF 家族)和 TNF 受体家族以及 IGF 受体家族, 活化 PI3K/Akt 通路, 使细胞产生耐药。这一发现提示可以通过抑制 PI3K/Akt 信号传导通路来逆转细胞耐药^[22-23]。

MK-2206 是新型高选择性小分子 Akt 抑制剂^[5], 表现出良好的实体瘤抑制活性^[24-25]。本研究结果显示, MK-2206 可明显降低阿霉素的 IC₅₀, 且呈浓度依赖性。高浓度的 MK-2206 可提高耐药细胞的凋亡率。同时, MK-2206 还可下调耐药细胞 Akt 和 PRAS40 磷酸化蛋白的表达。但 MK-2206 对阿霉素在细胞内的蓄积没有显著影响。以上结果提示, MK-2206 可以通过抑制 PI3K/Akt 信号传导通路来逆转 MCF-7/ADR 的耐药性。可能的途径有两条: 一是直接抑制 Akt 的磷酸化, 阻滞下游信号传导, 逆转其抗凋亡的特性; 二是通过下调 p-(Thr246)PRAS40 来封闭 PI3K 信号通路使其失活, 从而逆转耐药^[26]。

以 PI3K/Akt 信号通路为作用靶点^[27]的耐药逆转剂是当前研究的热点。相比于 THSG (二苯乙烯苷)、LY294002^[28]、Perifosine^[29-30] 及其他中药提取试剂, MK-2206 最大的优点在于其拥有更高的特异性、选择性和稳定性。研究^[31]显示, MK-2206 抑制 Akt 磷酸化的能力不会因为细胞基

因型的变异而丧失。同时 Hirai 等^[32]的研究证实: MK-2206 可以协同多种细胞毒性药物来抑制肿瘤活性。综上所述, MK2206 做为 PI3K/Akt 信号传导通路抑制剂, 具有广泛的临床应用前景。而以细胞信号传导通路为靶点进行的研究或许是抗癌药物发展的新途径。

参考文献

- [1] Cantley LC. The phosphoinositide 3-kinase pathway[J]. Science, 2002, 296(5573):1655-1657.
- [2] Longley DB, Johnston PG. Molecular mechanisms of drug resistance [J]. J Pathol, 2005, 205(2):275-292.
- [3] 刘顺芳, 刘谨文, 杨志芳, 等. DJ-1 shRNA 靶向逆转人乳腺癌阿霉素耐药细胞株 MCF-7/ADM 的耐药性 [J]. 中国普通外科杂志, 2010, 19(11):1219-1222.
- [4] Martelli AM, Tabellini G, Bressanin D, et al. The emerging multiple roles of nuclear Akt[J]. Biochim Biophys Acta, 2012, 1823(12):2168-2178.
- [5] Lindsley CW. The Akt/PKB family of protein kinases: a review of small molecule inhibitors and progress towards target validation: a 2009 update [J]. Curr Top Med Chem, 2010, 10(4):458-477.
- [6] Yap TA, Yan L, Patnaik A, et al. First-in-man clinical trial of the oral pan-AKT inhibitor MK-2206 in patients with advanced solid tumors [J]. J Clin Oncol, 2011, 29(35):4688-4695.
- [7] Samuels Y, Wang Z, Bardelli A, et al. High frequency of mutations of the PIK3CA gene in human cancers [J]. Science, 2004, 304(5670):554.
- [8] Poh TW, Pervaiz S. LY294002 and LY303511 sensitize tumor cells to drug-induced apoptosis via intracellular hydrogen peroxide production independent of the phosphoinositide 3-kinase-Akt pathway [J]. Cancer Res, 2005, 65(14):6264-6274.
- [9] Imai Y, Yoshimori M, Fukuda K, et al. The PI3K/Akt inhibitor LY294002 reverses BCRP-mediated drug resistance without affecting BCRP translocation[J]. Oncol Rep, 2012, 27(6):1703-1709.
- [10] Hernandez-Aya LF, Gonzalez-Angulo AM. Targeting the phosphatidylinositol 3-kinase signaling pathway in breast cancer[J]. Oncologist, 2011, 16(4):404-414.
- [11] Andersen JN, Sathyanarayanan S, Di Bacco A, et al. Pathway-based identification of biomarkers for targeted therapeutics: personalized oncology with PI3K pathway inhibitors[J]. Sci Transl Med, 2010, 2(43):43ra55. doi: 10.1126/scitranslmed.3001065.
- [12] Zhang H, Zhang X, Wu X, et al. Interference of Frizzled 1 (FZD1) reverses multidrug resistance in breast cancer cells through the Wnt/beta-catenin pathway [J]. Cancer Lett, 2012, 323(1):106-113.

- [13] Wang Y, Jiang XY, Liu L, et al. Phosphatidylinositol 3-kinase/ Akt pathway regulates hepatic stellate cell apoptosis[J]. *World J Gastroenterol*, 2008, 14(33):5186–5191.
- [14] Liu R, Liu D, Xing M. The Akt inhibitor MK2206 synergizes, but perifosine antagonizes, the BRAF(V600E) inhibitor PLX4032 and the MEK1/2 inhibitor AZD6244 in the inhibition of thyroid cancer cells[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2012, 97(2):E173–182.
- [15] Pant A, Lee H, Lu Z, et al. Inhibition of AKT with the orally active allosteric AKT inhibitor, MK-2206, sensitizes endometrial cancer cells to progesterin[J]. *PLoS One*, 2012, 7(7):e41593.
- [16] Wu XF, Xu R, Ouyang ZJ, et al. Beauvericin ameliorates experimental colitis by inhibiting activated T cells via downregulation of the PI3K/ Akt signaling pathway[J]. *PLoS One*, 2013, 8(12):e83013.
- [17] Sun X, Bao J, Nelson KC, et al. Systems modeling of anti-apoptotic pathways in prostate cancer: psychological stress triggers a synergism pattern switch in drug combination therapy[J]. *PLoS Comput Biol*, 2013, 9(12):e1003358.
- [18] Chruscinski AJ, Singh H, Chan SM, et al. Broad-scale phosphoprotein profiling of beta adrenergic receptor (beta-AR) signaling reveals novel phosphorylation and dephosphorylation events[J]. *PLoS One*, 2013, 8(12):e82164.
- [19] Pláteník J, Fišar Z, Buchal R, et al. GSK3beta, CREB, and BDNF in peripheral blood of patients with Alzheimer's disease and depression[J]. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2014, 50:83–93.
- [20] Tang XN, Lo CW, Chuang YC, et al. Prediction of the binding mode between GSK3beta and a peptide derived from GSKIP using molecular dynamics simulation[J]. *Biopolymers*, 2011, 95(7):461–471.
- [21] Clark AS, West K, Streicher S, et al. Constitutive and inducible Akt activity promotes resistance to chemotherapy, trastuzumab, or tamoxifen in breast cancer cells[J]. *Mol Cancer Ther*, 2002, 1(9):707–717.
- [22] Fei HR, Chen G, Wang JM, et al. Perifosine induces cell cycle arrest and apoptosis in human hepatocellular carcinoma cell lines by blockade of Akt phosphorylation[J]. *Cytotechnology*, 2010, 62(5):449–460.
- [23] Wang FZ, Peng-Jiao, Yang NN, et al. PF-04691502 triggers cell cycle arrest, apoptosis and inhibits the angiogenesis in hepatocellular carcinoma cells[J]. *Toxicol Lett*, 2013, 220(2):150–156.
- [24] Simioni C, Neri LM, Tabellini G, et al. Cytotoxic activity of the novel Akt inhibitor, MK-2206, in T-cell acute lymphoblastic leukemia[J]. *Leukemia*, 2012, 26(11):2336–2342.
- [25] Sangai T, Akcakanat A, Chen H, et al. Biomarkers of response to Akt inhibitor MK-2206 in breast cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2012, 18(20):5816–5828.
- [26] Cheng Y, Jiang S, Hu R, et al. Potential mechanism for endothelial progenitor cell therapy in acute myocardial infarction: Activation of VEGF- PI3K/Akte-NOS pathway[J]. *Ann Clin Lab Sci*, 2013, 43(4):395–401.
- [27] 许小草, 唐利立. PI3K 通路及与乳腺癌的关系及其意义的研究进展 [J]. *中国普通外科杂志*, 2011, 20(11):1240–1243.
- [28] 钱玉珺, 成向明, 王斌, 等. LY294002 对阿霉素诱导的人乳腺癌上皮-间质转化作用的影响 [J]. *中国医学科学院学报*, 2012, 34(4):319–323.
- [29] Elrod HA, Lin YD, Yue P, et al. The alkylphospholipid perifosine induces apoptosis of human lung cancer cells requiring inhibition of Akt and activation of the extrinsic apoptotic pathway[J]. *Mol Cancer Ther*, 2007, 6(7):2029–2038.
- [30] Vink SR, Schellens JH, Beijnen JH, et al. Phase I and pharmacokinetic study of combined treatment with perifosine and radiation in patients with advanced solid tumours[J]. *Radiother Oncol*, 2006, 80(2):207–213.
- [31] Gu X, Meng S, Liu S, et al. miR-124 represses ROCK1 expression to promote neurite elongation through activation of the PI3K/Akt signal pathway[J]. *J Mol Neurosci*, 2014, 52(1):156–165.
- [32] 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.

(本文编辑 宋涛)

本文引用格式: 焦明文, 袁凯, 王玉龙, 等. MK-2206 逆转人乳腺癌细胞耐药的作用及机制研究 [J]. *中国普通外科杂志*, 2014, 23(11):1494–1500. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2014.11.008
Cite this article as: JIAO MW, YUAN K, WANG YL, et al. Reversal effect of MK-2206 on drug resistance in breast cancer cells and its mechanism[J]. *Chin J Gen Surg*, 2014, 23(11):1494–1500. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2014.11.008