

MEK激酶及其抑制剂的研究进展

郝佩琪 安 输 杨 洋 刘 莹 郭晓汐 徐天瑞*

(昆明理工大学生命科学与技术学院, 细胞信号传导实验室, 昆明 650500)

摘要 丝裂原活化的细胞外信号调节激酶(mitogen-activated extracellular signal-regulated kinase, MEK)是一种可磷酸化靶蛋白上丝氨酸/苏氨酸和酪氨酸残基的双特异性激酶,也是RAS-RAF-MEK-ERK信号转导通路的主要组分。该信号通路参与了细胞凋亡,细胞周期进行,细胞迁移、分化、代谢和细胞增殖等众多过程的调节。大量研究表明,MEK结构及其表达水平的改变与肿瘤等多种疾病的发生密切相关。因此,对MEK特异性抑制剂的筛选成了当前国际上关于肿瘤治疗研究的热点。目前,已有多种MEK抑制剂被发现,部分已用于肿瘤等疾病的治疗,并显示出较好的临床疗效。该文将对MEK的结构、功能及MEK抑制剂的临床应用等方面的研究进展作一综述。

关键词 丝裂原活化的细胞外信号调节激酶; MEK抑制剂; 癌症

The Progress on MEK Kinases and Their Inhibitors

Hao Peiqi, An Shu, Yang Yang, Liu Ying, Guo Xiaoxi, Xu Tianrui*

(Cell Signaling Laboratory, Faculty of Life Science and Technology, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, China)

Abstract The mitogen-activated extracellular signal-regulated kinase (MEK) is a dual specificity kinase, and a key component of RAS-RAF-MEK-ERK/MAPK signaling pathway that phosphorylate serine/threonine and tyrosine residues on target protein. It plays a critical role in the regulation of diverse cellular processes, such as cell proliferation, differentiation, motility and survival, etc. Deregulation of Ras-Raf-MEK-MAPK/ERK pathway occurs in more than 30% of human cancers. As a key node of this pathway, MEK inhibition is an attractive therapeutics strategy in a number of cancers. Several potent, highly selective, non-ATP-competitive MEK inhibitors have been developed and assessed in numerous clinical studies over the past decades. Some of them showed promising therapeutic effects in different types of solid tumors. Here we summarize the advances in MEK structure and function research and discuss the development of MEK inhibitors.

Keywords MEK; MEK inhibitors; cancer

MAPK(mitogen-activated protein kinase, MAPK)信号转导通路由多条平行的三级联信号通路组成。MAPKK(mitogen-activated protein kinase kinase, MKK)位于通路的第二级(图1), MEK作为MAPKK家族中的重要成员,具有磷酸化底物的丝氨酸/苏氨酸

和酪氨酸残基的功能,通过磷酸化靶蛋白ERK1/2的T202/185和Y204/187(T: 苏氨酸, Y: 酪氨酸)使得ERK1/2活化, ERK1/2再通过调节多种转录因子的磷酸化水平或其他相关蛋白作用,进而影响多种生理功能。MEK分为分子量44 kDa和45 kDa的MEK1和

收稿日期: 2015-05-06 接受日期: 2015-07-13

国家自然科学基金(批准号: U1302225、81460253、81460417、81473342)和云南省高端科技人才基金(批准号: 2012HA008)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0871-65939327, E-mail: xtrgfq@hotmail.com

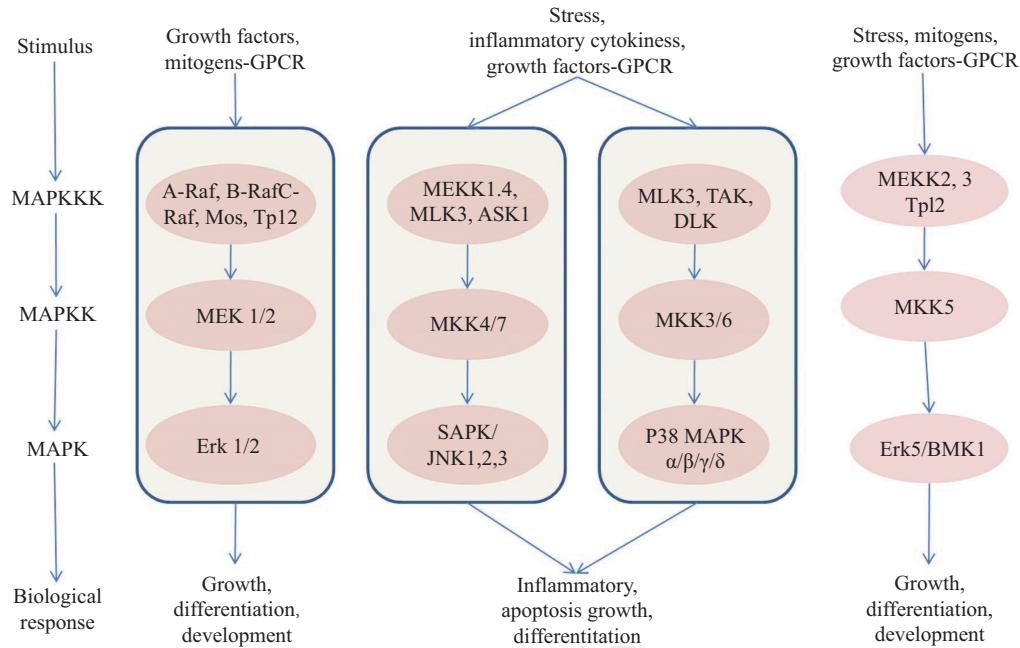
Received: May 6, 2015 Accepted: July 13, 2015

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No. U1302225, 81460253, 81460417, 81473342) and High-End Technology Talents Foundation in Yunnan Province (Grant No. 2012HA008)

*Corresponding author. Tel: +86-871-65939327, E-mail: xtrgfq@hotmail.com

网络出版时间: 2015-10-21 16:58:36

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20151021.1658.012.html>



经鉴定,有7种MEK激酶参与四种不同的MAPK信号转导途径,相应的MEK蛋白及其相关的信号通路如图所示。

Four distinct MAPK signaling pathways that seven MEK enzymes involved in have been identified. The corresponding MEK proteins and their associated signaling pathways are shown in the diagram.

图1 MAPKK及其信号通路
Fig.1 MAPKK proteins and their signaling pathways

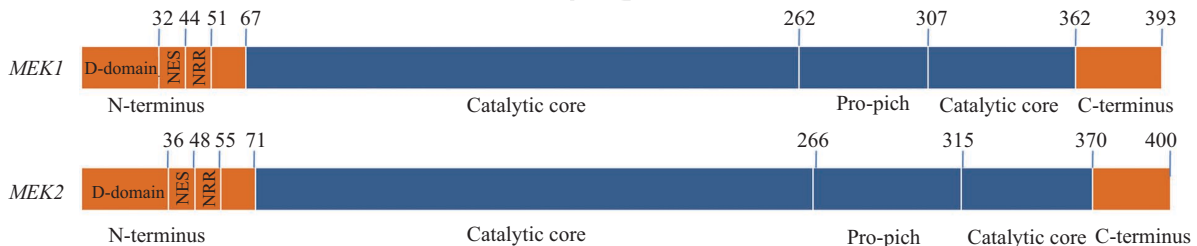


图2 人源MEK1和MEK2的基因结构图

Fig.2 Gene structure diagram of human MEK1 and MEK2

MEK2两种亚型,在激酶功能域有80%的氨基酸组成相同,在进化上是高度保守的^[1],但MEK1和MEK2各自功能不尽相同,甚至某些功能相互不可替代^[2]。

1 MEK的结构和功能

人源MEK1和MEK2的功能结构域已被解析(图2)。MEK1和MEK2都含有一个具有催化活性的中心结构域,中心结构域的中部含有一个富含脯氨酸的区域,中心结构域两侧分别连接一个较短的N-端区域和C-端区域,两侧区域和富含脯氨酸的区域其序列的相似性相对较低。这种局部结构的差异对MEK两个亚型的功能有着显著的影响。在N-末端区域,MEK1与MEK2的氨基酸只有58%的相似度。这些相似度较小的区域间接地作用于它们的底物ERK。MEK上的ERK结合位点(又称D-结构域)为一

个较短的由10个疏水性氨基酸组成的区域,该区域是MEK结合ERK1和ERK2的C-端的关键位点^[3-4]。

在D-结构域和催化核心之间含有一个核输出信号(nuclear export signal, NES),是MEK功能和亚细胞定位的关键。在静息状态下,细胞内的MEK主要分布于细胞质,如果将NES敲除或将其序列中的赖氨酸突变成丙氨酸时,MEK将主要定位于细胞核中。这表明活化的MEK将会进入细胞核发挥作用,之后又会通过NES转运出核^[5]。这个区域内的基因变异可能影响MEK的亚细胞定位。

与NES紧相连的有一个负调节区域(negative regulatory region, NRR),MEK1或MEK2缺失该位置的氨基酸将会分别导致激酶活性增加60或9倍^[6]。NRR区可形成一个无活性区域来覆盖ATP的结合位点从而抑制MEK的活性^[7],因此,NRR的基因突变会

导致MEK活性的改变。

富含脯氨酸的结构域位于中央催化结构域的后半部,被认为是MEKs与特异性调控蛋白质之间的作用位点^[8]。该区域的基因突变可影响其他特异性调控蛋白对MEK活性的调控作用。

2 MEK在肿瘤疾病发生中的作用

Ras-Raf-MEK-MAPK/ERK激酶级联反应使当前被了解最为透彻的信号通路之一。细胞外生长因子的刺激下或通路激酶组分的致癌突变均可激活该信号通路。目前,已在数种肿瘤细胞内检测到异常活化的RAS-ERK信号。该通路的异常活化可导致大量与肿瘤细胞分化、增殖、迁移和血管生长相关基因的表达。作为RAS-ERK信号通路的重要组成部分,与其他组分相比,MEK底物单一,其唯一底物为ERK,所以,MEK被认为是该信号通路的主干节点蛋白质。在肿瘤细胞生物学中,MEK是MAPK信号通路中特性了解最为透彻的激酶之一^[9]。

2.1 MEK在恶性黑色素瘤中的作用

恶性黑色素瘤是由皮肤和其他器官黑色素细胞恶变所产生的肿瘤。皮肤黑色素瘤表现为色素性皮肤病在数月或数年中发生明显改变。虽其发病率低,但其恶性度高,转移发生早,是死亡率较高的疾病^[10]。目前尚未完全阐明恶性黑色素瘤病因学,但RAS/MAPK信号通路为黑色素瘤恶性转化的关键细胞通路已经明确。40%~60%和15%~25%的黑色素瘤的发生分别是由于*B-RAF*和*N-RAS*基因突变产生,MEK作为RAS/MAPK信号通路中的重要成员,通过对MEK的调节可有效控制MAPK信号通路。抑制MEK可使由*B-RAF*和*N-RAS*突变所导致的黑色素瘤的信号通路活性降低。有报道显示,正在黑色素瘤的临床治疗中,*B-RAF*与MEK的抑制剂同时使用的效果比单独使用*B-RAF*抑制剂要好很多^[11]。因此,MEK可作为一个有效的分子靶点,为恶性黑色素瘤的治疗提供新的思路。

2.2 MEK在乳腺癌中的作用

乳腺癌是女性最为常见的恶性肿瘤之一,是一种通常发生在乳房腺上皮组织,严重影响女性身心健康甚至危及生命的疾病。MEK的激活是细胞周期进入S期的关键,持续激活MEK-ERK信号转导通路促进细胞周期素D1(cyclin D1)的表达及其与细胞周期依赖性激酶4(cyclin-dependent kinase 4, Cdk4)的结合,导致细胞从G₁期向S期转化,从而促进细胞

增殖^[12]。其他研究表明,在使用MEK抑制剂后,基底样乳腺癌可能会下调周期蛋白D1以及对P27蛋白有负调节作用^[13]。由此可见,MEK可作为治疗乳腺癌的一个有效靶点。

2.3 MEK对胰腺癌的作用

胰腺癌是一种恶性程度很高、诊断和治疗都很困难的消化道恶性肿瘤,约90%为起源于腺管上皮的导管腺癌。高度侵袭转移是胰腺癌的重要特征之一,也是导致胰腺癌患者不良预后的原因之一。胰腺癌中,*RAS*基因突变率高达70%~90%,这些突变可引起MEK异常活化,导致细胞增殖过度 and CpG岛甲基化异常^[14-16]。有实验证明,使用MEK抑制剂PD98059可以抑制胰腺癌细胞生长,阻滞细胞周期从G₀/G₁期向S期转化,并上调细胞周期相关基因的表达,降低DNA甲基化酶活性^[17]。此外,研究发现MEK对紧密连接蛋白occludin表达的影响与胰腺癌的转移密切相关,作为细胞间紧密连接的重要组成部分,occludin正常或高表达将会限制肿瘤细胞从肿瘤组织中的解离。目前,已在数种肿瘤细胞中发现MEK的活化可抑制occludin的表达,从而可促进肿瘤细胞的转移^[18-19]。利用MEK抑制剂U1026处理胰腺癌细胞发现occludin在肿瘤细胞间连接处的表达水平明显升高,肿瘤细胞呈更高的聚集状态。所以MEK抑制剂可通过提高胰腺癌细胞occludin的表达来抑制胰腺肿瘤细胞的侵袭和转移^[20]。

2.4 MEK在非小细胞肺癌中的作用

非小细胞肺癌(non-small-cell carcinoma)是最为常见的肺癌,占肺癌总数的80%。非小细胞肺癌主要包括腺癌、鳞状细胞癌(即肺鳞癌)、大细胞未分化癌三类,其对于传统化疗敏感性较差。大约有30%非小细胞肺癌存在*K-RAS*的基因突变,1%~3%非小细胞肺癌存在*BRAF*的突变。*BRAF*突变主要发生在腺癌,且通常不是V600E突变。在对人类肺癌细胞基因突变的筛查过程中,发现只有极少数肺癌细胞中MEK的P298L氨基酸发生了改变^[21]。因此,MEK的突变在肺癌中是罕见的。有研究表明,应用MEK抑制剂可以显著地减少小鼠非小细胞肺癌模型血管的生成并降低血管内皮生长因子的表达^[22]。MEK抑制剂可增强肿瘤细胞对放疗的敏感性。其具体作用机制可能并非诱导肿瘤细胞的凋亡,而是通过损伤肿瘤细胞DNA使其无法进行完全的分裂,从而导致四倍体或多倍体产生,诱导有丝分裂紊乱^[23]。

3 MEK抑制剂

如上所述, MEK的异常活化与众多肿瘤的发生和发展密切相关。MEK抑制剂不仅可下调MEK的自身活性, 还可阻断异常活化的RAS和RAF对MEK的过度激活, 降低整条通路的活性。所以, 尝试用MEK抑制剂来干预肿瘤的发生和发展是当前肿瘤治疗领域的重要研究内容。目前已有较多的MEK抑制剂被发现, 这些抑制剂以ATP非竞争性抑制剂为主, 当该抑制剂与MEK结合后, 导致ATP结合位点的构象变化, 使得ATP无法结合到MEK上, 抑制MEK的磷酸化^[24-25]。MEK抑制剂部分已获批进入临床使用或临床研究(表1)。下面就一些在肿瘤治疗方面具有较好临床疗效的MEK抑制剂作一概述。

3.1 CI1040

CI1040是第一代进入临床试验中的MEK抑制剂^[26], 其分子式为: $C_{17}H_{14}ClF_2IN_2O_2$, 是一种口服活性抑制剂, 其 IC_{50} 值为17 nmol/L。与大多数激酶

抑制剂不同, CI1040及其他MEK抑制剂的分子量一般均较小。CI1040并不直接打断ATP的连接, 而是通过间接链接到相邻的特异位点^[27]。实验证明, CI1040对细胞的贴壁生长有抑制作用。最常见的副作用有腹泻、乏力和皮疹^[28]。98%的毒性为1或2级。另外, CI1040抑制体内FGF介导的血管再生, 降低VEGF表达, 并提高Taxol在人移植瘤模型中的抗肿瘤效力。但在II期临床试验中, CI1040并未表现出良好的抗肿瘤疗效, 其仅能稳定12%癌症患者的病情。CI1040不尽人意的临床疗效主要与其较差的药代动力学有关, 如CI1040在体内半衰期较短, 生物利用度也较低^[29]。但CI1040为下一代MEK抑制剂的改良和研发提供了模板。

3.2 PD0325901

通过优化CI1040核心的二苯胺结构和氧脲酸盐的侧链, 研究者开发出了第一个二代MEK抑制剂PD0325901, 其 IC_{50} 值为0.33 nmol/L。相对于

表1 MEK1/2在临床试验中的不良反应

Table 1 MEK1/2 inhibitor and its adverse reaction in clinical practice

MEK1/2抑制子 MEK1/2 inhibitor	化学式 Chemical formula	指示/目标人群 Indication/target population	不良临床反应 Clinical adverse reaction
CI1040 (PD184325)		Breast cancer, CRC, pancreatic cancer	Diarrhoea, fatigue and rash
PD0325901 (AS703026)		Breast cancer, NSCLC, CRC, melanoma	Rash, diarrhea, unsteady gait, syncope and dizziness
Selumetinib (AZD6244)		NSCLC, melanoma, pancreatic cancer, inflammation	Rash and diarrhoea
AZD8330 (ARRY-424704)		melanoma	Rashand, change in mental status
Binimetinib (MEK162)		Rheumatoid arthritis	Centralserous-like retinopathy and acneiform dermatitis
Refametinib (RDEA119, Bay 86-9766)		Melanoma, CRC	Rash, diarrhea, elevated lipase levels and somnolence
Trametinib		Melanoma, CRC	Rash, diarrheaand central serous retinopathy

PD0325901的前体CI1040而言,其在生物利用度和代谢稳定性方面均得到显著的改善。PD0325901在抑制MEK活性方面的效价更是高于CI1040约500倍。在PD0325901 I期临床实验中,大多数癌症患者肿瘤组织的ERK磷酸化水平明显降低。治疗中最常见的副作用有皮疹、腹泻、恶心和急性神经毒性症状如视力障碍和步态障碍等^[29],并且这些副作用与PD0325901的剂量有关。在II期临床试验中,癌症患者开始表现出对PD0325901的耐药性。这主要是因为除了RAS-ERK信号通路外,PI3K-Akt也在众多肿瘤的发生过程中发挥重要作用,这两条通路之间存在较强的交互作用(cross talk),也正是这种交互作用使肿瘤患者对单一通路抑制剂产生了耐药性^[30]。这也似乎提示,联合应用MEK和PI3K抑制剂将会有较好的临床疗效。但最近的临床试验表明,PD0325901和PI3K抑制剂PF04691502的联合应用在肿瘤治疗方面的有效性的提升远远小于它们对患者所带来的毒副作用的提高,所以,目前已停止了PD0325901的临床研究。

3.3 Selumetinib

Selumetinib(AZD6244)是MEK1/2强效的特异性抑制剂,其分子式为 $C_{17}H_{15}BrClF_4N_4O_3$, IC_{50} 值为10 nmol/L,是作用于MEK1/2的第2代口服高效选择性ATP非竞争性抑制剂^[23]。AZD6244主要作用于MEK的激活环节,使得MEK在与ATP及底物结合的情况下也不能被激活。有相关报道指出,AZD6244通过对MEK1/2信号通路的拮抗作用从而影响肿瘤细胞增殖与周期调节相关因子,如周期蛋白D1、cdc-2、c-Myc等低表达,最终诱导肿瘤细胞的凋亡^[31-33]。AZD6244在一些癌症治疗中已表现出良好的临床疗效,其可以通过抑制ERK1/2和p90RSK的磷酸化来抑制原代(hepatocellular carcinoma, HCC)细胞的生长,同时,也伴随着caspase-3和caspase-7释放得加强及断裂的聚腺苷二磷酸核糖聚合酶[poly (ADP-ribose) polymerase, PARP]得增多。而AZD6244在P38、JNK、PI3K及MEK5/ERK5通路中没有很明显的作^[34]。AZD6244对感知乳腺癌细胞系中的Raf突变和非小细胞肺癌细胞系中的Ras突变有很高的灵敏性^[35],但是有皮疹和腹泻等副作用。Selumetinib目前已进入临床III期试验。

3.4 AZD8330

AZD8330也是一种有效的ATP非竞争性MEK

特异性抑制剂,其 IC_{50} 值为7 nmol/L。利用肿瘤细胞抑制模型研究表明,在可耐受条件下其对肿瘤生长的最大抑制率可达90%,并呈剂量依赖性。近期已完成AZD8330的临床I期研究,研究结果表明,其最大耐受剂量为40 mg/d。与其他MEK抑制剂类似,AZD8330最常见的毒副作用主要有皮炎、恶心和呕吐等^[29],但发生率稍微降低,视神经的毒副作用发生率降低更为明显。通过观察病人外周血单核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMC)的ERK磷酸化水平发现,AZD8330并不能有效地抑制病人的MEK活性^[36]。但该研究结果提示,由于AZD8330毒副作用较小,其可以作为肿瘤联合治疗的一种主要的MEK抑制剂。

3.5 Binimetinib

Binimetinib(MEK162), IC_{50} 值为12 nmol/L,是最近公开的一种有效的、选择性、ATP非竞争性的MEK1/2抑制剂。它通过抑制p-ERK的产生达到对MAPK通路的抑制。Binimetinib常见的不良反应是痤疮样皮炎、中心性浆液性视网膜病变^[31],其中,肌酸磷酸激酶升高是最为常见的3-4级不良反应^[37]。Binimetinib目前已进入临床III期试验。

3.6 Refametinib

Refametinib(RDEA119, Bay 86-9766), IC_{50} 值为19 nmol/L和17 nmol/L,是一种有效的、非ATP竞争性的、高选择性的MEK1和MEK2抑制剂,Refametinib选择性结合到MEK1/2酶的变构“袋”中,高效抑制A375、SK-MEI-28、Colo205、HT-29和BxPC3等肿瘤细胞的增殖。Refametinib抑制含获得性功能^{V600E}BRAF突变导致的人肿瘤细胞系的贴壁生长,其副作用有皮疹、腹泻、脂肪酶水平升高、嗜睡等^[29]。Refametinib目前已进入临床II期试验。

3.7 Trametinib

Trametinib也是一种ATP非竞争性二代MEK抑制剂, IC_{50} 值为0.92 nmol/L,其在纳摩尔水平就能显著地抑制MEK1/2的活性。临床前实验研究表明,Trametinib可有效抑制含有B-RAF或RAS突变的肿瘤细胞系ERK的磷酸化及肿瘤细胞的增殖。HT-29和COLO205肿瘤细胞移植模型也表明,Trametinib具有非常强的抗肿瘤活性。虽然,目前已有十三种MEK抑制剂能够进入临床试验,但只有Trametinib首次进入临床III期试验并表现出较好的临床疗效。相对于常规化疗而言,Trametinib可显著延长病人平均

无进展生存率(median progression-free survival)^[38-39]。

除上述所列举的MEK抑制剂之外, U0126、PD98059、Cobimetinib、E6201、Pimasertib、RO4987655、RO5126766、TAK-733和GDC-0623等MEK抑制剂也已进入临床前期测试阶段。

4 总结与展望

RAF-MEK-ERK信号通路是一种重要的细胞信号转导途径,影响着许多基本的细胞生理过程,例如,细胞的增殖、分化和凋亡等生物学过程。因为,RAF-MEK-ERK信号通路是细胞信号网络的一条主干通路,这条通路的调控失常将不可避免地导致细胞癌变。而作为该信号通路中的关键节点蛋白质,MEK在肿瘤的发生中起着重要作用,而且,与RAF-MEK-ERK通路上的其他蛋白质相比,以MEK为靶点的肿瘤治疗选择性强,而且靶点唯一。所以,针对MEK特异性抑制剂的研发及其临床应用一直是研究的热点。目前,已有13种MEK抑制剂能够进入临床试验,但由于其明显的毒副作用及长期使用所产生的耐药性极大地削弱MEK抑制剂在肿瘤治疗方面的临床疗效。所以,探明MEK抑制剂产生耐药性的具体分子机制及通过联合用药减少用药剂量和减轻毒副作用已成为药物研发人员新的关注点。在这方面的研究突破也将会为MEK抑制剂对肿瘤的治疗提供的新机遇。

参考文献 (References)

- Catalanotti F, Reyes G, Jesenberger V, Galabova-Kovacs G, de Matos Simoes R, Carugo O, *et al*. A MEK1-MEK2 heterodimer determines the strength and duration of the MEK signal. *Nat Struct Mol Biol* 2009; 16(3): 294-303.
- 易婷, 张浩, 彭宜红, 朱萌, 何晓燕, 黄孝天. MEK1-ERKs级联激活方式是调控单纯疱疹病毒II型复制的重要机制. *中国生物化学与分子生物学报* (Yi Ting, Zhang Hao, Peng Yihong, Zhu Meng, He Xiaoyan Huang Xiaotian. Activation of MEK1-ERKs is essential for herpes simplex virus type 2 (HSV2) replication. *Chinese journal of Biochemistry and Molecular Biology*) 2011; 27(2): 142-7.
- Yang SH, Whitmarsh AJ, Davis RJ, Sharrocks AD. Differential targeting of MAP kinases to the ETS-domain transcription factor ERK-1. *EMBO J* 1998; 17(6): 1740-9.
- Rubinfeld H, Hanoch T, Seger R. Identification of a cytoplasmic-retention sequence in ERK2. *J Biol Chem* 1999; 274(43): 30349-52.
- Bromberg-White JL, Andersen NJ, Duesbery NS. MEK genomics in development and disease. *Brief Funct Genomics* 2012; 11(4): 300-10.
- Mansour SJ, Candia JM, Gloor KK, Ahn NG. Constitutively active mitogen-activated protein kinase kinase 1 (MAPKK1) and MAPKK2 mediate similar transcriptional and morphological responses. *Cell Growth Differ* 1996; 7(2): 243-50.
- Fischmann TO, Smith CK, Mayhood TW, Myers JE, Reichert P, Mannarino A, *et al*. Crystal structures of ERK 1 binary and ternary complexes with nucleotides and inhibitors. *Biochemistry* 2009; 48(12): 2661-74.
- Jelinek T, Catling AD, Reuter CW, Moodie SA, Wolfman A, Weber MJ. RAS and RAF-1 form a signalling complex with ERK -1 but not ERK -2. *Mol Cell Biol* 1994; 14(12): 8212-8.
- Neuzillet C, Tijeras-Raballand A, de Mestier L, Cros J, Faivre S, Raymond E. MEK in cancer and cancer therapy. *Pharmacol Ther* 2014; 141(2): 160-71.
- Thumar J, Shahbazian D, Aziz SA, Jilaveanu LB, Kluger HM. MEK targeting in N-RAS mutated metastatic melanoma. *Mol Cancer* 2014; 13(1): 45.
- Kim T, Amaria RN, Spencer C, Jilaveanu LB, Kluger HM. Combining targeted therapy and immune checkpoint inhibitors in the treatment of metastatic melanoma. *Cancer Biol Med* 2014; 11(4): 237-46.
- 王殊, 王杉, 祝学光, 张嘉庆, 乔新民, 叶颖江, 等. 细胞外信号调节激酶及其上游激酶在人乳腺癌发生发展中的意义. *中华外科杂志* (Wang Shu, Wang Shan, Zhu Xueguang, Zhang Jiaqing, Qiao Xinmin, Ye Yingjiang, *et al*. Significance of MEK-ERK cascade in the development of human breast carcinoma. *Chinese Journal of Surgery*) 2002; 40(3): 171-4.
- Hoeflich KP, O'Brien C, Boyd Z, Cavet G, Guerrero S, Jung K, *et al*. *In vivo* antitumor activity of mek ERK and phosphatidylinositol 3-kinase inhibitors in basal-like breast cancer models. *Clin Cancer Res* 2009; 15(14): 4518-20.
- Espino PS, Pritchard S, Heng HH, Davie JR. Genomic instability and histone H3 phosphorylation induction by the RAS-mitogen activated protein kinase pathway in pancreatic cancer cells. *Int J Cancer* 2009; 124(3): 562-7.
- Espino PS, Pritchard S, Heng HH, Urrutia R. The sunset of somatic genetics and the dawn of epigenetics: A new frontier in pancreatic cancer research. *Curr Opin Gastroenterol* 2008; 24(5): 597-602.
- Gysin S, Lee SH, Dean NM, McMahon M. Pharmacologic inhibition of RAF → ERK → ERK signaling elicits pancreatic cancer cell cycle arrest through induced expression of p27Kip1. *Cancer Res* 2005; 65(11): 4870-80.
- 王霞, 王晖, 蒋楠, 梁三红, 吕文, 张啸, 等. MEK通路抑制剂对人胰腺癌细胞生长及细胞周期相关抑癌基因表达的影响. *中华胰腺病杂志* (Wang Xia, Wang Hui, Jiang Nan, Liang Sanhong, Lü Wen, Zhang Xiao, *et al*. Effects of mek signaling inhibitor on the growth of human pancreatic cancer cell lines and the expression of cell cycle associated genes. *Chinese Journal of Pancreatolgy*) 2011; 11(4): 259-62.
- Lemieux E, Bergeron S, Durand V, Asselin C, Saucier C, Rivard N. Constitutively active mek ERK 1 is sufficient to induce epithelial-to-mesenchymal transition in intestinal epithelial cells and to promote tumor invasion and metastasis. *Int J Cancer* 2009; 125(7): 1575-86.
- Martin TA, Das T, Mansel RE, Jiang WG. Enhanced tight junction function in human breast cancer cells by antioxidant,

- selenium and polyunsaturated lipid. *J Cell Biochem* 2007; 101(1): 155-66.
- 20 周磊, 谭晓冬, 王巍, 戴显伟. 胰腺癌细胞解离中occludin和MEK/ERK信号通路的作用. *外科理论与实践*(Zhou Lei, Tan Xiaodong, Wang Wei, Dai Xiaodong. Involvement of tight junction transmembrane protein occludin and ERK /ERK signal transduction pathway in cell dissociation of pancreatic cancer. *Journal of Surgery Concepts & Practice*) 2010; 15(2): 153-9.
- 21 Bansal A, Ramirez RD, Minna JD. Mutation analysis of the coding sequences of ERK-1 and ERK-2 genes in human lung cancer cell lines. *Oncogene* 1997; 14(10): 1231-4.
- 22 苏君梅, 陈维亚. 非小细胞肺癌分子靶点基因突变的研究进展. *健康研究*(Su Junmei, Chen Weiya. A review of the researches on the genetic mutations in non-small cell lung cancer. *Health Research*) 2013; 33(1): 33-6.
- 23 陈子, 王莹. MEK抑制剂治疗非小细胞肺癌的研究进展. *国际呼吸杂志*(Chen Zi, Wang Ying. Progress on ERK inhibitor therapy for non-small cell lung cancer. *International Journal of Respiration*) 2014; 34(4): 269-73.
- 24 McCubrey JA, Steelman LS, Abrams SL, Chappell WH, Russo S, Ove R, *et al.* Emerging ERK inhibitors. *Expert Opin Emerg Drugs* 2010; 15(2): 203-23.
- 25 Chappell WH, Steelman LS, Long JM, Kempf RC, Abrams SL, Franklin RA, *et al.* RAS/RAF/ MEK/ERK and PI3K/PTEN/Akt/mTOR inhibitors: Rationale and importance to inhibiting these pathways in human health. *Oncotarget* 2011; 2(3): 135-64.
- 26 Friday BB, Adjei AA. Advances in targeting the RAS/RAF/MEK /ERK mitogen-activated protein kinase cascade with mek inhibitors for cancer therapy. *Clin Cancer Res* 2008; 14(2): 342-6.
- 27 Ohren JF, Chen H, Pavlovsky A, Whitehead C, Zhang E, Kuffa P, *et al.* Structures of human MAP kinase kinase 1 (MEK1) and MEK 2 describe novel noncompetitive kinase inhibition. *Nat Struct Mol Biol* 2004; 11(12): 1192-7.
- 28 Lorusso PM, Adjei AA, Varterasian M, Gadgeel S, Reid J, Mitchell DY, *et al.* Phase I and pharmacodynamic study of the oral MEK inhibitor CI-1040 in patients with advanced malignancies. *J Clin Oncol* 2005; 23(23): 5281-93.
- 29 Zhao Y, Adjei AA. The clinical development of MEK inhibitors. *Nat Rev Clin Oncol* 2014; 11(7): 385-400.
- 30 Haura EB, Ricart AD, Larson TG, Stella PJ, Bazhenova L, Miller VA, *et al.* A phase II study of PD-0325901, an oral MEK inhibitor, in previously treated patients with advanced non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 2010; 16(8): 2450-7.
- 31 Troiani T, Vecchione L, Martinelli E, Capasso A, Costantino S, Ciuffreda LP, *et al.* Intrinsic resistance to selumetinib, a selective inhibitor of MEK 1/2, by cAMP-dependent protein kinase A activation in human lung and colorectal cancer cells. *Br J Cancer* 2012; 106(10): 1648-59.
- 32 Morgillo F, Cascone T, D'Aiuto E, Martinelli E, Troiani T, Saintigny P, *et al.* Antitumour efficacy of MEK inhibitors in human lung cancer cells and their derivatives with acquired resistance to different tyrosine kinase inhibitors. *Br J Cancer* 2011; 105(3): 382-92.
- 33 Meng J, Dai B, Fang B, Bekele BN, Bornmann WG, Sun D, *et al.* Combination treatment with MEK and Akt inhibitors is more effective than each drug alone in human non-small cell lung cancer *in vitro* and *in vivo*. *PLoS One* 2010; 5(11): e14124.
- 34 Huynh H, Soo KC, Chow PK, Tran E. Targeted inhibition of the extracellular signal-regulated kinase pathway with AZD6244 (ARRY-142886) in the treatment of hepatocellular carcinoma. *Mol Cancer Ther* 2007; 6(1): 138-46.
- 35 Garon EB, Finn RS, Hosmer W, Dering J, Ginther C, Adhami S, *et al.* Identification of common predictive markers of *in vitro* response to the MEK inhibitor selumetinib (AZD6244; ARRY-142886) in human breast cancer and non-small cell lung cancer cell lines. *Mol Cancer Ther* 2010; 9(7): 1985-94.
- 36 Cohen RB, Aamdal S, Nyakas M, Cavallin M, Green D, Learoyd M, *et al.* A phase I dose-finding, safety and tolerability study of AZD8330 in patients with advanced malignancies. *Eur J Cancer* 2013; 49: 1521-9.
- 37 Ascierto PA, Schadendorf D, Berking C, Agarwala SS, van Herpen CM, Queirolo P, *et al.* MEK162 for patients with advanced melanoma harbouring NRAS or Val600 BRAF mutations: A non-randomised, open-label phase 2 study. *Lancet Oncol* 2013; 14(3): 249-56.
- 38 Bollag G, Hirth P, Tsai J, Zhang J, Ibrahim PN, Cho H, *et al.* Clinical efficacy of a RAF inhibitor needs broad target blockade in BRAF-mutant melanoma. *Nature* 2010; 467(7315): 596-9.
- 39 Flaherty KT, Robert C, Hersey P, Nathan P, Garbe C, Milhem M, *et al.* Improved survival with MEK inhibition in BRAF-mutated melanoma. *N Engl J Med* 2012; 367(2): 107-14.