

• 综述 •

CDK4/6 信号通路靶向治疗剂在癌症治疗中的研究进展

刘子齐, 左涛, 徐锋, 徐平

军事科学院军事医学研究院 生命组学研究所 中国医学科学院蛋白质组学与药物研发新技术创新单元 国家蛋白质科学中心 (北京) 北京蛋白质组研究中心 蛋白质组学国家重点实验室, 北京 102206

刘子齐, 左涛, 徐锋, 等. CDK4/6 信号通路靶向治疗剂在癌症治疗中的研究进展. 生物工程学报, 2021, 37(7): 2232-2239.

Liu ZQ, Zuo T, Xu F, et al. CDK4/6 signaling pathway and its targeted therapeutic agents in cancer therapy: a review. Chin J Biotech, 2021, 37(7): 2232-2239.

摘要: 多数癌症的发生发展都具有细胞周期高度活化的特性。细胞周期蛋白依赖性激酶 4/6 (CDK4/6) 不仅在细胞有丝分裂中发挥了巨大作用, 而且参与了衰老、凋亡和组蛋白调节等诸多生物学过程, 并在多种癌症的发生发展中被异常激活。FDA 批准了 Palbociclib、Ribociclib 和 Abemaciclib 等 3 种靶向 CDK4/6 的抑制剂, 在临床上也取得了显著的疗效, 有效地延长了内分泌治疗耐药的乳腺癌患者以及其他多种类型癌症患者的生存期。但这些抑制剂的临床应用也面临着获得性耐药等问题。文中综述了 CDK4/6 参与的生物调控过程, 及其抑制剂在癌症治疗中的应用和面临的耐药性挑战。

关键词: 肿瘤, CDK4/6, CDK4/6 抑制剂, 耐药

CDK4/6 signaling pathway and its targeted therapeutic agents in cancer therapy: a review

Ziqi Liu, Tao Zuo, Feng Xu, and Ping Xu

State Key Laboratory of Proteomics, Beijing Proteome Research Center, National Center for Protein Sciences (Beijing), Research Unit of Proteomics & Research and Development of New Drug of Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing Institute of Lifeomics, Academy of Military Medical Sciences of Academy of Military Science, Beijing 102206, China

Abstract: The development and progression of most cancers have been well recognized as the result of highly activated cell cycle. Cyclin dependent kinase 4/6 plays important roles not only in mitosis, but also in multiple biological processes that contribute to cancer development, such as aging, apoptosis and histone modification. Three FDA approved CDK4/6 inhibitors, Palbociclib, Ribociclib and Abemaciclib, have been used as targeted cancer therapeutic agents to benefit patients with endocrine therapy-resistant breast cancer and other types of cancer, prolonging their survival. However, the clinical application of these inhibitors also leads to acquired drug resistance and other problems. This paper reviews the regulatory roles of CDK4/6, the application of CDK4/6 inhibitors in cancer and the challenge of drug resistance.

Keywords: neoplasm, CDK4/6, CDK4/6 inhibitor, drug resistance

Received: July 24, 2020; **Accepted:** September 30, 2020

Supported by: National Key Research and Development Project (No. 2017YFA0505100), National Natural Science Foundation of China (No. 31870824).

Corresponding author: Ping Xu. Tel: +86-10-61777113; E-mail: xupingghy@gmail.com

国家重点研发计划 (No. 2017YFA0505100), 国家自然科学基金 (No. 31870824) 资助。

从 20 世纪 90 年代起,以酵母为模型的细胞周期研究陆续展开,科学家们破译了真核细胞的有丝分裂过程。其中,细胞周期蛋白依赖性激酶 416 (Cyclin-dependent kinase 4/6, CDK4/6) 作为有丝分裂过程重要调节因子之一,广泛地参与到细胞的衰老、凋亡、组蛋白调控等过程,并且与多种癌症的发生发展密切相关。本文以研究较多的乳腺癌为主要对象,综述了 CDK4/6 信号通路失调致癌机制的研究进展,及其作为药靶已获批的 CDK4/6 抑制剂的临床进展和耐药性研究。

1 CDK4/6 信号通路概述

在多细胞生物中,细胞周期蛋白依赖性激酶 (CDKs) 是驱动所有细胞周期变化的关键调节酶。部分 CDK 细胞周期蛋白复合物直接参与了细胞周期,包括 3 个间期 CDKs (CDK2、CDK4 和 CDK6)、1 个有丝分裂期 CDK (CDK1,也称为细胞分裂控制蛋白 2 (Cell division cycle 2, CDC2)) 和 10 个分属 A、B、D 和 E 型的细胞周期蛋白^[1]。

有丝分裂信号 (如 Ras-MAP 激酶和 PI3K 信号通路) 通过转录和转录后机制引起下游 cyclin D1 和 CDK4/6 形成复合物并激活,从而引起视网膜母细胞瘤蛋白家族 RB、RB1 (也被称为 p107) 和 RB2 (也被称为 p130) 的磷酸化和失活,使得 *E2F* 基因表达;与此同时允许 E 型周期蛋白 (E1 和 E2) 表达,并结合和激活 CDK2,促进细胞周期从 G1 期向 S 期发展^[2]。

除调节细胞周期外,CDK4/6-cyclin D1 复合物和 *E2F* 还对细胞代谢产生影响,调节代谢酶和代谢调节因子的表达和活性。CDK4/6-cyclin D1 复合物也可以磷酸化转录因子 FOXM1 (Forkhead box protein M1, 叉头盒蛋白质 M1),从而支持细胞增殖并抑制细胞衰老^[3]。CDK4/6 还可通过磷酸化 SMAD2 和 3 (*Drosophila* mothers against decapentaplegic protein 2/3) 的连接区,取消三聚体的激活功能,从而阻止特异性 TGF β 反应基因的

表达^[4]。CDK4/6 也可直接磷酸化蛋白质精氨酸甲基转移酶 5 (Protein arginine N-methyltransferase 5, PRMT5) 的激活亚单位 MEP50,从而激活 PRMT5^[5],使得八聚体 MEP50/PRMT5 复合物在基因启动子处催化组蛋白 H3 和 H4 (H3R8, H4R3) 中精氨酸残基的对称二甲基化。该功能与染色质结构的压缩和靶基因 (如 *CUL4A* 和 *CUL4B*) 的转录沉默有关^[6]。

2 肿瘤中 CDK4/6 通路的功能研究

2.1 CDK4/6 调控乳腺癌发生发展的功能研究

Cyclin D1 是 CDK4/6 通路中十分重要的一环。乳腺中 cyclin D1 的过表达会引发细胞癌变^[7]。大多数乳腺癌中会出现 cyclin D1 蛋白过表达的现象,但是其中只有 15%–20% 的乳腺癌中存在 cyclin D1 基因的扩增^[8]。因此, cyclin D1 蛋白过表达可能不是由于基因剂量的增加直接导致,而是在翻译后修饰等层面受蛋白质质量控制的调节所致。无论是哪个层面的原因, cyclin D1 表达量增加都将会导致 CDK4/6 的活性增加,引发下游的 RB 磷酸化,从而引起下游 *E2F* 基因的活化,最终加剧细胞的异常增殖。

在 CDK4/6 信号通路中,上游分子的肿瘤特异性突变,如 cyclin D1 上游的受体酪氨酸激酶 (RTKs)、RAS、RAF、PI3K 或 PTEN 等蛋白基因的改变,也可增强 cyclin D1 和 CDK4/6 的活性,从而促进下游细胞周期调控异常活化^[9]。例如在 *ErbB-2* 型乳腺癌中,高表达的 HER2 分子与 RTK 结合后激活了 Ras-Raf-MAPK 途径信号通路,驱动 cyclin D1 基因的过度表达,从而引发后续细胞异常增殖。

Cyclin D1 的稳定性也可能在乳腺癌^[10]中起重要作用。已有证据表明, cyclin D1 的功能改变是 *ErbB-2* 和 *Ras* 基因驱动的乳腺癌发生发展的关键^[8]。在 *ErbB-2* 驱动的乳腺癌中,也可能出现依赖 cyclin D1 的 CDK 激活功能的发育缺陷^[11]。这表明 cyclin D1-CDK4/6 所在细胞周期通路的众多

环节的失调都可能引发乳腺癌。

2.2 CDK4/6 通路抑制肿瘤细胞的衰老和凋亡

CDK4/6 的激活为肿瘤细胞提供了有效抑制细胞衰老和凋亡的能力。CDK4/6 的激活促进 G1-S 期转变,同时抑制细胞衰老和凋亡,为肿瘤提供助力。例如,在黑色素瘤细胞中,CDK4/6 通路主要对抗衰老^[12]。CDKs 通过 RB 蛋白和 FOXM1 的磷酸化对抗衰老,从而促进 *CCNE1* 和 *CCNE2*、*E2Fs*、*MCMs*、*CDT1*、*RAD51*、*XRCC2* 和 *MSH6* 等基因的 G1-S 期转录^[13-14]。

Cyclin D1-CDK4/6-RB1 对凋亡具有双重作用,但仍存在一定争议。最新模型认为,肿瘤中 cyclin D1-CDK4/6-RB1 通路的异常活化既可以解除对凋亡基因的抑制,在癌症初期起到抑制肿瘤的作用,也可以在癌症后期和其他分子(如 p53)共同作用,打破原有平衡,从而抑制凋亡,加剧肿瘤的发生发展^[15]。

在急性 T 淋巴细胞白血病(T-ALL)癌细胞中抑制 CDK4/6 会触发细胞凋亡^[12],但在多种恶性肿瘤中的研究表明凋亡反应可能与 cyclin D3 的关系更为密切^[16]。同时在乳腺癌中抑制 CDK4/6 并不能引发凋亡。

2.3 CDK4/6 通路促进肿瘤血管新生

在黑色素瘤中,过表达的 CDK6 可与转录因子 c-JUN 形成复合物^[17],使 VEGF-A 因子转录增强,或者在不依赖 *E2F* 的情况下控制 *EZH2* 来增加血管生成,而疾病血管生成是癌细胞发生发展的基础。最新模型认为 CDK4 的存在与否决定 CDK6 在 VEGF-A 转录中的作用,只有当 CDK4 充足且作为促进细胞周期的主要因素时,才有足够多的 CDK6 在 VEGF-A 启动子上发挥转录功能^[18],加剧血管生成。

3 CDK4/6 抑制剂的研究和临床进展

3.1 CDK4/6 抑制剂在乳腺癌临床治疗中的应用

人体内 INK4 家族和 CIP/KIP 家族蛋白统称

为细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂 (CKIs)^[19]。INK4 蛋白家族包含 p16INK4A、p15INK4B、p18INK4C 和 p19INK4D, CIP/KIP 蛋白家族包括 p27KIP1、p21CIP1 和 p57KIP2。其中 p16INK4A 是最著名的 cyclin D1-CDK4 的天然抑制剂,其表达量可以作为多种癌症的特征标志。CDK4/6 抑制剂不仅在乳腺癌中被广泛应用,同时也在黑色素瘤、非小细胞肺癌、肝癌等癌症治疗中有潜在的价值。

人工合成抑制剂 Palbociclib (PD0332991)、Ribociclib (LEE011) 和 Abemaciclib (LY2835219) 是目前美国 FDA 已经批准的 3 种 CDK4/6 抑制剂。临床上,对乳腺癌患者采用 6 种标准处理方法:外科手术、放射治疗、化疗、激素疗法、靶向治疗和免疫疗法。其中 CDK4/6 抑制剂属于靶向治疗方法中的一类,主要针对联合激素治疗激素受体阳性 HER2 阴性的晚期乳腺癌。Palbociclib 或 Ribociclib 与来曲唑联用治疗乳腺癌已被批准为一线治疗方案^[20-21]。Abemaciclib 于 2017 年 9 月正式获得美国 FDA 批准上市^[22]。

20 世纪 90 年代初,CDK 广谱抑制剂(如 Flavopiridol 和 Dinaciclib)的临床疗效欠佳,科学家们便开始着重开发特异性的 CDK4/6 抑制剂。Pfizer 公司开发了口服抑制剂 PD0332991,即 Palbociclib。该抑制剂通过 G1 期阻滞、pRb 的去磷酸化以及减少 *E2F* 基因表达抑制肿瘤^[23]。尽管对于其他类型的乳腺癌,如三阴乳腺癌 (TNBC)、HR+/HER2+乳腺癌和 AR+乳腺癌的研究相对较少,但众多临床试验(表 1)和基础研究也在陆陆续续进行中(<https://clinicaltrials.gov/>)。例如,HSulf-1 的过度表达与 CDK4/6 抑制剂 Palbociclib 联合治疗对视网膜母细胞瘤 (RB) 阳性的 TNBC 具有协同抗肿瘤作用,这提示 HSulf-1 可能是 TNBC 的 CDK4/6 抑制剂治疗中的一个潜在协同治疗靶点^[24]。

Ribociclib 在表达功能性 pRB 蛋白的 HR+/HER2-转移性乳腺癌中具有抗增殖的能力^[25]。三期临床试验 MONALEESA-2 证明 Ribociclib

与来曲唑相结合治疗 HR+/HER2-晚期乳腺癌可以有效地提高无进展生存期 (Progression-free survival, PFS), 且该疗法目前已被美国 FDA 批准为一线疗法^[21]。

Abemaciclib 结合内分泌治疗在 HR+/HER2-转移性乳腺癌中的临床研究中已经进展到了三期 (NCT03155997)。Palbociclib 和 Ribociclib 对 CDK4/6 的特异性抑制是 CDK9 的 100 倍左右, 但 Abemaciclib 对 CDK4/6 的特异性抑制仅为 CDK9 的 9 倍。虽然在对 CDK4/6 的特异性上略逊于其他两种抑制剂, 但其药物活性不受 PIK3CA 的突变影响。同时, Abemaciclib 可以更好地跨过血脑屏障, 对于一些神经瘤或脑瘤有更好的疗效, 具有特殊的潜在意义^[26]。最近的研究表明, Abemaciclib 通过激活 HIPPO 信号通路诱导心肌细胞的凋亡和抑制细胞增殖, 这解释了该抑制剂引发心脏副作用的分子机制, 为临床上降低药物副作用提供基础^[27]。

3.2 CDK4/6 抑制剂在肝癌治疗中的应用

除了在乳腺癌中的应用, 近年来陆续报道了 CDK4/6 抑制剂在肝癌 (Hepatocellular carcinoma, HCC) 治疗中的功能研究。有研究表明 Palbociclib 通过促进可逆的细胞周期阻滞来抑制人肝癌细胞系的增殖, 同时 RB1 的丢失决定了 Palbociclib 的获得性耐药^[28]。不仅如此, Palbociclib 也可影响 DNA 修复动力学, 增强肝癌细胞的辐射敏感性, 作为放疗化疗的辅助用药^[29]。Palbociclib 通过激活 AMP 依赖的蛋白激酶 (AMPK) 和抑制蛋白磷

酸酶 5 (PP5) 的机制诱导肝癌细胞自噬和凋亡, 说明 Palbociclib 也可通过独立于 CDK4/6 的 PP5/AMPK 轴对 HCC 发挥抗肿瘤活性^[30]。也有研究报道了 Palbociclib 与成纤维细胞生长因子 4 (Fibroblast growth factor receptor 4, FGFR4) 的抑制剂联用对肝癌起到抑制作用^[31]。另一种 CDK4/6 抑制剂 Ribociclib 在 RB 蛋白高表达的 HCC 细胞系中表现出优秀的抗肿瘤活性^[32]。这说明 CDK4/6 抑制剂在除乳腺癌外的其他癌症治疗中有着巨大潜力, 并有待进一步研究。

3.3 CDK4/6 抑制剂与其他抗癌疗法联用于癌症治疗

CDK4/6 抑制剂除了众所周知对细胞周期的调控, 也有不少研究表明它们的使用会引发衰老。衰老是一种重要的肿瘤抑制机制, 衰老的诱导在肿瘤治疗过程中具有重要意义^[33]。p16/RB 途径是衰老机制的主要组成部分, 因此 CDK4/6 抑制剂的使用会引发细胞的衰老。在脂肪肉瘤细胞中, MDM2 E3 泛素连接酶 (E3 ubiquitin-protein ligase MDM2) 的下调和 HRAS 的抑制被证明是用 CDK4/6 抑制剂处理后诱导衰老所必经的途径^[34]。在黑色素瘤细胞中, mTOR 抑制已被证实是实现衰老的关键, 而 mTOR 抑制与 Palbociclib 联用可强化对细胞周期阻滞^[35]。在另一项研究中, Palbociclib 诱导的衰老与蛋白酶体活性增加有关^[36]。这些说明 CDK4/6 抑制剂中有关衰老的通路是十分复杂的, 并且提示衰老相关路径可以作为 CDK4/6 抑制剂的协同抑制靶点, 加强对肿瘤细胞的抑制效果。

表 1 Palbociclib、Ribociclib 和 Abemaciclib 在不同亚型乳腺癌中的临床试验

Table 1 Clinical trials of Palbociclib, Ribociclib and Abemaciclib in different subtypes of breast cancer

Study ID	Phase	Drug	Subtype	Number	Combination drugs
NCT04360941	1	Palbociclib	AR+TNMBC	45	Avelumab
NCT02947685	3	Palbociclib	HR+/HER2+MBC	496	None
NCT03285412	2	Ribociclib	ER+BC	81	Endocrine therapy
NCT03090165	1,2	Ribociclib	AR+TNBC	58	Bicalutamide
NCT03130439	2	Abemaciclib	Rb+TNMBC	37	None
NCT02675231	2	Abemaciclib	HR+/HER2+MBC	237	Trastuzumab, Fulvestrant

<https://clinicaltrials.gov/>.

同时, 衰老将进一步激活机体的免疫系统。CDK4/6 抑制剂可以诱导肿瘤细胞 MHC-I 复合物表达增强, 促进细胞毒性 T 细胞活化。联合使用检查点抑制剂 (如抗 PD-1 抗体) 可以进一步提高衰老癌细胞的免疫介导清除率, 从而抑制肿瘤^[33]。例如, 当 Ribociclib 与 PI3K α 抑制剂 Alpelisib 联合使用时, 会产生协同效应和免疫原性效应^[37]。另一项 CDK4/6 抑制剂治疗乳腺癌模型的研究发现, Abemaciclib 和 Palbociclib 在体内诱导生长停滞和肿瘤消退, 同时细胞毒性 T 细胞被招募到肿瘤中, 这可能是因为肿瘤细胞自身抗原呈递增加和调节性 T 细胞受到抑制^[38]。目前已经有众多检查点抑制剂和 CDK4/6 抑制剂相结合的临床试验正在进行中, 这种结合疗法旨在增强适应性免疫, 从而抑制肿瘤。

4 CDK4/6 抑制剂获得性耐药机制的研究

以 Palbociclib 在乳腺癌中的应用为例, 短时间大剂量给药 Palbociclib 后, 细胞周期被暂时抑制, 但是很快会向 S 期恢复, Rb 磷酸化以及 cyclin D1 蛋白等在首次暴露后 72 h 内恢复, 加入 PI3K 抑制剂可以延缓这种恢复^[39]。CDK4/6 抑制剂介导细胞衰老, 减少 mTOR 信号可以增强 CDK4/6 抑制剂诱导的衰老。长期给药将导致细胞内通路发生改变, 从而获得耐药性。这些改变包括细胞周期蛋白 E1 的过表达、RB 的缺失和突变, CDK4/6、CDK2 的激活和生长因子通路的激活等。例如有研究表明, 在多个 Palbociclib 耐药乳腺癌细胞系中均检测到 *CCNE1* 基因的显著上调和 *RB1* 拷贝数的减少, 且 *CCNE1/RB1* 比值可作为患者对 Palbociclib 产生耐药性的生物标志物^[40]。

另一项研究表明乳腺癌细胞对 Palbociclib 产生耐药后会出现糖代谢的重新编辑, 提示了对糖代谢的监测未来可作为耐药产生的标志, 以及在 CDK4/6 抑制剂使用的同时对糖代谢过程进行干预可能会帮助临床上的耐药患者^[41]。这说明耐药

标志物的研究十分重要, 并将对临床用药提供帮助。对于 Palbociclib 耐药患者, 放射治疗与 PI3K 或 mTOR 抑制剂联用的方法已陆续被报道, 且该联用方法正在进行临床试验^[42]。

目前, 关于另两种抑制剂的获得性耐药机制研究较少。近年来, 有研究表明 PI3K-PDK1 信号通路在介导对 Ribociclib 获得性耐药中起着关键的作用^[43]。另有研究报道在过表达 CDK6 的 Ribociclib 耐药细胞系中, p21 的水平下降, p21 水平与 CDK4/6 抑制剂 Ribociclib 的敏感性成正比, 表明 CDK6 的过度表达可能是 CDK4/6 抑制剂耐药的多种机制之一^[44]。有研究表明 Abemaciclib 耐药的乳腺癌细胞系对其他 CDK4/6 抑制剂表现出低敏感性, 但对 PI3K 抑制剂、mTOR 抑制剂和化疗药物的敏感性维持不变, 这为后续探索 Abemaciclib 耐药机制提供基础和帮助^[45]。

随着每一种抑制剂药物的研发和批准使用, 大多数靶向治疗剂会在临床上引发获得性耐药, 随后将展开众多以细胞、哺乳动物为模型的耐药机制研究。研究耐药性产生的原因或界定其标志物将对临床用药具有非常大的指导意义, 可以及时地对治疗方案进行改进, 延长患者的生存期。

5 展望

CDK4/6 分子在真核生物中最主要的功能是在细胞周期中与 cyclin D1 相结合, 作为一个重要节点对细胞生长进行调控。除了在细胞周期中的重要功能, CDK4/6 在衰老、DNA 修复、组蛋白甲基化调控等行为中也扮演着重要的角色。多种肿瘤可以利用 CDK4/6 所在通路的异常活化对抗衰老凋亡机制, 增加血管生成。

因为 CDK4/6 的细胞周期功能, 其特异性抑制剂在肿瘤治疗上有着广泛应用, 本文着重关注了 Palbociclib、Ribociclib 和 Abemaciclib 三种已被美国 FDA 批准的抑制剂在乳腺癌和肝癌中的应用。CDK4/6 抑制剂为内分泌治疗产生耐药性的

乳腺癌患者提供了另一个思路。但同样地,一段时间的CDK4/6抑制剂使用也在临床上产生耐药,这是研究人员面临的巨大挑战。有研究报道,以IL-6/STAT3为靶点,用特异性STAT3抑制剂联合PARP抑制剂修复DNA缺失,可有效缓解Palbociclib获得性耐药^[46]。目前,多种其他抑制剂(如RTKs抑制剂、衰老通路相关分子抑制剂、免疫单抗等)与CDK4/6抑制剂联用的方法正在进行临床试验,以延长乳腺癌患者和其他癌症患者的生存期。

综上所述,CDK4/6网络是真核生物中与生长周期密切相关的重要途径,同时还兼具其他调控功能。恶性肿瘤这种生长失控的疾病与之密切相关。近十几年来,科学家较为清晰地解读了该通路,并将其抑制剂用在了癌症的临床试验和科学研究中。目前有大量正在进行和还未开始招募的临床试验,说明CDK4/6抑制剂具有很大潜力。此外,CDK4/6抑制剂的应用也从乳腺癌扩展到肝癌等其他癌症。未来,会有更多CDK4/6抑制剂在不同种类的癌症中得到应用。CDK4/6抑制剂对于肿瘤的治疗具有重大的意义,但不可避免地将引发获得性耐药,其耐药机理也亟待研究。当然,肿瘤异质性的存在也会在同种肿瘤中包含不同的耐药机制。基因组、蛋白质组等高通量研究技术的快速发展也加快了科学家对耐药机制的认识,加速了生物标志物的开发速度,更好地服务于临床。多种抑制剂联用是目前较为普遍的降低耐药性的临床用药思路,但并不能彻底解决耐药性问题,只能针对已有研究较为完善的情况进行缓解。希望在不久的将来能够在患者初次就诊时即可根据现有研究判断其预后和耐药情况,及时作出最适联合用药指导,将耐药问题的影响降到最低,这也是精准医疗追求的理念和目标。

REFERENCES

- [1] Malumbres M, Barbacid M. Cell cycle, CDKs and cancer: a changing paradigm. *Nat Rev Cancer*, 2009, 9(3): 153-166.
- [2] Harbour JW, Luo RX, Dei Santi A, et al. Cdk phosphorylation triggers sequential intramolecular interactions that progressively block Rb functions as cells move through G1. *Cell*, 1999, 98(6): 859-869.
- [3] Koo CY, Muir KW, Lam EWF. FOXM1: from cancer initiation to progression and treatment. *Biochim Biophys Acta*, 2012, 1819(1): 28-37.
- [4] Matsuzaki K, Kitano C, Murata M, et al. Smad2 and Smad3 phosphorylated at both linker and COOH-terminal regions transmit malignant TGF- β signal in later stages of human colorectal cancer. *Cancer Res*, 2009, 69(13): 5321-5330.
- [5] Karkhanis V, Hu YJ, Baiocchi RA, et al. Versatility of PRMT5-induced methylation in growth control and development. *Trends Biochem Sci*, 2011, 36(12): 633-641.
- [6] Aggarwal P, Vaites LP, Kim JK, et al. Nuclear Cyclin D1/CDK4 kinase regulates CUL4 expression and triggers neoplastic growth via activation of the PRMT5 methyltransferase. *Cancer Cell*, 2010, 18(4): 329-340.
- [7] Wang TC, Cardiff RD, Zukerberg L, et al. Mammary hyperplasia and carcinoma in MMTV-cyclin D1 transgenic mice. *Nature*, 1994, 369(6482): 669-671.
- [8] Yu QY, Sicinska E, Geng Y, et al. Requirement for CDK4 kinase function in breast cancer. *Cancer Cell*, 2006, 9(1): 23-32.
- [9] Sherr CJ, Beach D, Shapiro GI. Targeting CDK4 and CDK6: From discovery to therapy. *Cancer Discov*, 2016, 6(4): 353-367.
- [10] Russell A, Thompson MA, Hendley J, et al. Cyclin D1 and D3 associate with the SCF complex and are coordinately elevated in breast cancer. *Oncogene*, 1999, 18(11): 1983-1991.
- [11] Jeselsohn R, Brown NE, Arendt L, et al. Cyclin D1 kinase activity is required for the self-renewal of mammary stem and progenitor cells that are targets of *MMTV-ErbB2* tumorigenesis. *Cancer Cell*, 2010, 17(1): 65-76.
- [12] Choi YJ, Anders L. Signaling through cyclin D-dependent kinases. *Oncogene*, 2014, 33(15): 1890-1903.
- [13] Anders L, Ke N, Hydbring P, et al. A systematic screen for CDK4/6 substrates links FOXM1

- phosphorylation to senescence suppression in cancer cells. *Cancer Cell*, 2011, 20(5): 620-634.
- [14] Dean JL, Thangavel C, McClendon AK, et al. Therapeutic CDK4/6 inhibition in breast cancer: key mechanisms of response and failure. *Oncogene*, 2010, 29(28): 4018-4032.
- [15] Indovina P, Pentimalli F, Conti D, et al. Translating RB1 predictive value in clinical cancer therapy: are we there yet? *Biochem Pharmacol*, 2019, 166: 323-334.
- [16] Wang HZ, Nicolay BN, Chick JM, et al. The metabolic function of cyclin D3-CDK6 kinase in cancer cell survival. *Nature*, 2017, 546(7658): 426-430.
- [17] Kollmann K, Heller G, Schneckenleithner C, et al. A kinase-independent function of CDK6 links the cell cycle to tumor angiogenesis. *Cancer Cell*, 2016, 30(2): 359-360.
- [18] Kollmann K, Briand C, Bellutti F, et al. The interplay of CDK4 and CDK6 in melanoma. *Oncotarget*, 2019, 10(14): 1346-1359.
- [19] Sherr CJ, Roberts JM. CDK inhibitors: positive and negative regulators of G₁-phase progression. *Genes Dev*, 1999, 13(12): 1501-1512.
- [20] Finn RS, Crown JP, Lang I, et al. The cyclin-dependent kinase 4/6 inhibitor palbociclib in combination with letrozole versus letrozole alone as first-line treatment of oestrogen receptor-positive, HER2-negative, advanced breast cancer (PALOMA-1/TRIO-18): a randomised phase 2 study. *Lancet Oncol*, 2015, 16(1): 25-35.
- [21] Sonke GS, Hart LL, Campone M, et al. Ribociclib with letrozole vs letrozole alone in elderly patients with hormone receptor-positive, HER2-negative breast cancer in the randomized MONALEESA-2 trial. *Breast Cancer Res Treat*, 2018, 167(3): 659-669.
- [22] Kim ES. Abemaciclib: First global approval. *Drugs*, 2017, 77(18): 2063-2070.
- [23] Sobhani N, D'Angelo A, Pittacolo M, et al. Updates on the CDK4/6 inhibitory strategy and combinations in breast cancer. *Cells*, 2019, 8(4): 321.
- [24] Chen FX, Zhang ZC, Yu YH, et al. HSulf-1 and palbociclib exert synergistic antitumor effects on RB-positive triple-negative breast cancer. *Int J Oncol*, 2020, 57(1): 223-236.
- [25] Abraham J, Coleman R, Elias A, et al. Use of cyclin-dependent kinase (CDK) 4/6 inhibitors for hormone receptor-positive, human epidermal growth factor receptor 2-negative, metastatic breast cancer: a roundtable discussion by The Breast Cancer Therapy Expert Group (BCTEG). *Breast Cancer Res Treat*, 2018, 171(1): 11-20.
- [26] Raub TJ, Wishart GN, Kulanthaivel P, et al. Brain exposure of two selective dual CDK4 and CDK6 inhibitors and the antitumor activity of CDK4 and CDK6 inhibition in combination with temozolomide in an intracranial glioblastoma xenograft. *Drug Metabol Disposit*, 2015, 43(9): 1360-1371.
- [27] Zhou YJ, Li YF, Shen JW, et al. Abemaciclib induces apoptosis in cardiomyocytes by activating the Hippo signaling pathway. *Acta Biochim Biophys Sin*, 2020, 52(8): 875-882.
- [28] Bollard J, Miguela V, de Galarreta MR, et al. Palbociclib (PD-0332991), a selective CDK4/6 inhibitor, restricts tumour growth in preclinical models of hepatocellular carcinoma. *Gut*, 2017, 66(7): 1286-1296.
- [29] Huang CY, Hsieh FS, Wang CY, et al. Palbociclib enhances radiosensitivity of hepatocellular carcinoma and cholangiocarcinoma via inhibiting ataxia telangiectasia-mutated kinase-mediated DNA damage response. *Eur J Cancer*, 2018, 102: 10-22.
- [30] Hsieh FS, Chen YL, Hung MH, et al. Palbociclib induces activation of AMPK and inhibits hepatocellular carcinoma in a CDK4/6-independent manner. *Mol Oncol*, 2017, 11(8): 1035-1049.
- [31] Joshi JJ, Coffey H, Corcoran E, et al. H3B-6527 is a potent and selective inhibitor of FGFR4 in FGF19-driven hepatocellular carcinoma. *Cancer Res*, 2017, 77(24): 6999-7013.
- [32] Reiter FP, Denk G, Ziesch A, et al. Predictors of ribociclib-mediated antitumour effects in native and sorafenib-resistant human hepatocellular carcinoma cells. *Cell Oncol*, 2019, 42(5): 705-715.
- [33] Wagner V, Gil J. Senescence as a therapeutically relevant response to CDK4/6 inhibitors. *Oncogene*, 2020, 39(29): 5165-5176.
- [34] Kovatcheva M, Liu DD, Dickson MA, et al. MDM2

- turnover and expression of ATRX determine the choice between quiescence and senescence in response to CDK4 inhibition. *Oncotarget*, 2015, 6(10): 8226-8243.
- [35] Yoshida A, Lee EK, Diehl JA. Induction of therapeutic senescence in vemurafenib-resistant melanoma by extended inhibition of CDK4/6. *Cancer Res*, 2016, 76(10): 2990-3002.
- [36] Miettinen TP, Peltier J, Härtlova A, et al. Thermal proteome profiling of breast cancer cells reveals proteasomal activation by CDK4/6 inhibitor palbociclib. *EMBO J*, 2018, 37(10): e98359.
- [37] Teo ZL, Versaci S, Dushyanthen S, et al. Combined CDK4/6 and PI3K α inhibition is synergistic and immunogenic in triple-negative breast cancer. *Cancer Res*, 2017, 77(22): 6340-6352.
- [38] Goel S, DeCristo MJ, Watt AC, et al. CDK4/6 inhibition triggers anti-tumour immunity. *Nature*, 2017, 548(7668): 471-475.
- [39] Herrera-Abreu MT, Palafox M, Asghar U, et al. Early adaptation and acquired resistance to CDK4/6 inhibition in estrogen receptor-positive breast cancer. *Cancer Res*, 2016, 76(8): 2301-2313.
- [40] Guarducci C, Bonechi M, Benelli M, et al. Cyclin E1 and Rb modulation as common events at time of resistance to palbociclib in hormone receptor-positive breast cancer. *NPJ Breast Cancer*, 2018, 4: 38.
- [41] Lorito N, Bacci M, Smiriglia A, et al. Glucose metabolic reprogramming of ER breast cancer in acquired resistance to the CDK4/6 inhibitor palbociclib. *Cells*, 2020, 9(3): 668.
- [42] McCartney A, Migliaccio I, Bonechi M, et al. Mechanisms of resistance to CDK4/6 inhibitors: potential implications and biomarkers for clinical practice. *Front Oncol*, 2019, 9: 666.
- [43] Jansen VM, Bhola NE, Bauer JA, et al. Kinome-wide RNA interference screen reveals a role for PDK1 in acquired resistance to CDK4/6 inhibition in ER-positive breast cancer. *Cancer Res*, 2017, 77(9): 2488-2499.
- [44] Iida M, Nakamura M, Tokuda E, et al. The p21 levels have the potential to be a monitoring marker for ribociclib in breast cancer. *Oncotarget*, 2019, 10(47): 4907-4918.
- [45] Iida M, Toyosawa D, Nakamura M, et al. Decreased ER dependency after acquired resistance to CDK4/6 inhibitors. *Breast Cancer*, 2020, 27(5): 963-972.
- [46] Kettner NM, Vijayaraghavan S, Durak MG, et al. Combined inhibition of STAT3 and DNA repair in palbociclib-resistant ER-positive breast cancer. *Clin Cancer Res*, 2019, 25(13): 3996-4013.

(本文责编 陈宏宇)