

Oncol, 2010, 31(4): 487-489.

[24] Lewis G, Peake M, Aultman, et al. Cost-effectiveness of erlotinib versus docetaxel for second-line treatment of advanced non-small cell lung cancer in the United Kingdom [J]. J Int Med Res, 2010, 38(1): 9-21.

[25] Sun Y, Shi Y, Zhang L, et al. A randomized, double-blind

phase III study of icotinib versus gefitinib in patients with advanced non-small cell lung cancer (NSCLC) previously treated with chemotherapy (COGEN) [J]. J Clin Oncol, 2011, 29(1): 20-25.

(收稿日期: 2012-05-08 修回日期: 2012-08-23)

· 综 述 ·

mTOR Complex1-S6K1 信号通路在 2 型糖尿病发生发展中的作用

张颖综述, 郝进[△]审校

(重庆医科大学附属第二医院皮肤科 400002)

关键词: 糖尿病, 2 型; mTOR Complex1-S6K1; 信号通路

doi: 10.3969/j.issn.1671-8348.2012.31.038

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2012)31-3333-03

随着人们生活水平的提高, 全身代谢性疾病逐渐成为影响人类生活质量的主要疾病之一。在近年来的调查研究中发现, 糖尿病的发生率较过去 20 年间呈数倍增加, 尤其糖尿病并发症引起的死亡率较前大大提升。所以深入研究糖尿病的发生、发展机制成为目前治疗糖尿病的关键。mTOR 信号通路是雷帕霉素的靶分子, 是丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶, 在感受营养信号、调节细胞生长和增殖中起关键性的作用。mTOR Complex1-S6K1 信号通路可受如生长因子、激素、能量信号等多种因素的调节, 在糖尿病的发生、发展中起重要作用。本文将详细阐述 mTOR Complex1-S6K1 信号通路在糖尿病的发生发展中的作用机制。

1 mTOR Complex1-S6K1 信号通路

1.1 mTOR 的功能、结构及组成 mTOR 是在哺乳动物中发现的一个高度保守的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶, 由 2 549 个氨基酸组成, 相对分子质量为 290×10^3 , 属于 PIKK 超家族成员之一, 其作用与细胞调节, 增生调控和癌细胞新陈代谢有关。PIKK 家族成员羧基末端有丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶区域, 类似于磷脂酰肌醇 3 激酶和磷脂酰肌醇 4 激酶的催化域。在氨基末端存在有 20 多个 HEAT 串联重复序列。每一个 HEAT 基序都有大约 40 个氨基酸组成, 形成一个反向平行的 α 环。在多蛋白复合物中, HEAT 可以介导蛋白质之间的相互作用。氨基端一侧 FRB 区域相对分子质量为 11×10^3 , 是 FKBP12-雷帕霉素与 mTOR 结合区域, 此位点可以抑制雷帕霉素和 mTOR 之间的相互作用。雷帕霉素与 FKBP12 结合后可以中断蛋白质之间的相互作用从而抑制 mTOR 的功能^[1]。氨基端一侧的 FAT 区域, 大约有 500 个氨基酸。FAT 区域仅在 PIKK 家族存在的情况下出现, 但其机制仍然不清楚。目前推测, 此区域功能可能类似于 HEAT 串联重复序列充当支架或蛋白质之间相互作用的区域。羧基末端包含一个大约 35 个氨基酸的短序列称为 FATC 区域。FATC 区域仅仅在与 FAT 区域相互作用的时候存在, 可能对 PIK 相关激酶的催化活性有重要作用^[2]。在哺乳动物中, mTOR 以两种复合物的形式存在。

mTOR Complex1 包含 mTOR、Raptor、PRAS40、G β L, 可以被雷帕霉素阻断, 细胞内的生长因子、营养物质、能量等因素可以通过调节下游靶蛋白(如 S6K1、4E-BP1 等)的活性, 影响蛋白质翻译、mRNA 生成、核糖体形成等代谢过程^[3-5]。

mTOR Complex2 包含 mTOR、Rictor、mSin1 和 mLST8, 对雷帕霉素不敏感, 但可以磷酸化蛋白激酶 B(PKB/Akt), 两种复合物都受到有丝分裂原的刺激, 但仅有 mTOR Complex1 受到营养物质和能量摄入的控制^[4-6]。

1.2 S6K1 的功能及组成 S6K1 是 mTOR 信号通路下游的效应蛋白之一, 是一个属于 AGC 激酶家族的 Ser/Thr 激酶。它参与调节细胞生长、分化增殖以及蛋白质合成等过程。S6K1 的激活可以通过磷酸化 S6 核糖体蛋白促进细胞增殖及蛋白质合成^[7]。

S6K1 包括两个亚型, 分别是 S6K1L 和 S6K1S, 前者主要存在于细胞核中, 后者主要存在于细胞质中, 在细胞中两者的调控方式相似。S6K1 的活性主要取决于其残基的功能, 其残基主要包括 T229、T389、S371。相关研究表明残基 T389 是雷帕霉素最敏感的结合位点, 并可直接调控 T389 的磷酸化, 同样也可以通过 3' 磷酸肌醇依赖的激酶(PDK1)介导 T229 的磷酸化^[6]。

1.3 mTOR Complex1-S6K1 信号通路活化的调控机制 mTOR Complex1-S6K1 信号通路受多种因素的调控, 氨基酸、葡萄糖等信号通过 Class III PI3K 通路激活 mTORC1, 胰岛素及生长因子等则通过 Class I PI3K/PKB 通路激活 mTORC1。mTORC1 通路激活使其下游分子 4E-BP1、S6 增加, 从而促进细胞生长及代谢^[8-9]。

2 mTOR Complex1-S6K1 信号通路对糖尿病发生、发展的影响及机制

糖尿病是一组以慢性血糖水平增高为特征的代谢性疾病, 是由于胰岛素分泌和(或)作用缺陷所引起。2 型糖尿病的发病原因非常复杂, 除遗传因素外, 主要为营养过剩、能量积聚过多而引起的肥胖。在糖尿病发生发展过程中所出现的高血糖和脂代谢紊乱可进一步降低胰岛素敏感性并且损伤胰岛 B 细胞功能。上述所说的糖尿病发病特征均可活化 mTOR 信号通路。

2.1 营养物质对 mTOR Complex1-S6K1 信号通路的激活作用 胰岛素诱导经典 I PI3K-PKB 信号通路同样可以被其他生长因子激活, 比如表皮生长因子(EGF)、胰岛素样生长因子(IGF)和血小板衍生生长因子(PDGF)^[10]。上述路径一旦被激活, PKB/Akt 能够介导许多特殊底物的磷酸化, 除了 caspase 9 和细胞死亡拮抗剂 BCL-2(BAD), 最终达到促存活反应^[11]。

虽然 mTOR Complex1 的激活与这些反应有关,但是在缺乏营养物质或者细胞能量的时候 mTOR Complex1 的激酶活性是不会被 PI3K 触发的。目前有研究分析营养素的作用,尤其是氨基酸,揭示了存在一个新的信号级联反应激活 mTOR Complex1^[12-13]。氨基酸与 mTOR Complex1 有关的想法首先在培养肝细胞的研究中发现的,氨基酸可以抑制大分子自发吞噬作用的进行。在这项研究中,表明这种对大分子自发吞噬作用的抑制影响与增加 40S 核糖体亚基蛋白 S6 的磷酸化是相一致的。随后许多研究都表明氨基酸能够诱导 S6K1 和 4E-BP1 的磷酸化,尤其是依赖 mTOR Complex1 的支链氨基酸亮氨酸^[14]。后来在许多胰岛素敏感细胞中的实验表明氨基酸的缺乏使得 S6K1 和 4E-BP1 快速的去磷酸化,然而在雷帕霉素敏感的细胞中氨基酸的添加可以逆转这种反应^[15]。与最初的发现相反的是,目前的研究表明氨基酸信号转导为 mTOR Complex1 并不需要 TSC1-TSC2 复合物^[16]。的确,这些研究表明在 TSC1 或者 TSC2 水平减弱或者完全消失的细胞中 S6K1 的磷酸化完全可以耐受胰岛素。相反,S6K1 的活性仍然被氨基酸调控在 TSC1-TSC2 复合物缺失抑制信号。而且,虽然氨基酸诱导 mTOR Complex1 信号需要 Rheb,但是从 TSC1 或者 TSC2 不足的细胞中去掉氨基酸对 Rheb-GTP 水平没有影响;然而这种处理使 S6K1 快速去磷酸化^[12]。因而,内源性的 Rheb-GTP 对于这一反应是必需的,但是对于氨基酸缺乏的情况下激活 mTOR Complex1 是不足的。这些结果表明氨基酸的输入对于 mTOR Complex1 可能存在一种相似的信号通路。90 年代后期的研究表明氨基酸激活 mTOR Complex1 到 S6K1 和 4E-BP1 是 woman 青霉素敏感的,虽然氨基酸不能诱导 PKB/Akt 的激活。的确,小干扰 RNA 介导 class I PI3K 的缺失几乎完全阻止胰岛素诱导的 PKB/Akt S473 和 S6K1 T389 的磷酸化,但是对氨基酸诱导 S6K1 的激活没有影响。因而,woman 青霉素敏感靶向的氨基酸诱导的 mTOR Complex1 信号可能存在一种不同于 class I PI3K-PKB/Akt 信号路径的通路。许多药理学、生物化学及分子方法证明 class III PI3K hVps34 的活性受氨基酸有效性的调控,且通过 mTOR Complex1 信号通路被氨基酸刺激活化 S6K1 需要 hVps34^[12-13]。

2.2 能量对 mTOR Complex1-S6K1 信号通路的激活作用
通过细胞能量来调控 mTOR Complex1 信号的机制与生长因子和营养素是不同的。大量的研究依赖于急性或者慢性的能量缺乏对 mTOR Complex1 信号通路的作用。研究表明 mTOR Complex1-S6K1 信号通路对细胞内的 ATP 水平的微量改变是敏感的,并不依赖于氨基酸水平的改变。有研究表明用线粒体复合物 1 抑制剂鱼藤酮急性处理结果使细胞内的 ATP 水平微弱的减少并且活化胰岛素诱导的 S6K1。与 ATP 的稳态水平直接调控 mTOR 信号的能力相一致,ATP 对 mTOR 的 Km 值与细胞内的 ATP 浓聚物是相似的。然而,随后的研究表明用氧化磷酸化呼吸抑制剂寡霉素处理急性能量缺失,从而抑制 mTOR Complex1 信号介导的 AMP 激酶 (AMPK) 磷酸化和 TSC2 活化。与这一发现相一致的是,AMPK 变种激活后能够抑制 mTOR 信号通路。然而,Smith^[16]目前的报道用能量耗竭剂 2-脱氧葡萄糖急性处理 TSC2 缺失细胞,导致 S6K1 失活。dTSC2 是 TSC2 的果蝇属同系物,能够在能量缺失的果蝇属 KC167 细胞中活化,但位点浮动较大。因此,急性能量缺失很有可能与一个不依赖 AMPK 路径的低氧诱导基因 (REDD1) 有关。REDD1 受慢性能量缺失诱导,依次使 mTOR Complex1-S6K1 信号通路受到抑制,支持这一观点的是 REDD1 的缺失不会改变 AMPK 的

活性或者它磷酸化 TSC2 的能力。然而,它可以去除慢性能量缺失对 mTOR Complex1-S6K1 信号通路的抑制作用^[17]。有趣的是,目前研究糖皮质激素类对 mTOR Complex1 信号到 REDD1 的诱导有负性影响。REDD1 介导的能量缺失对 mTOR Complex1-S6K1 信号通路机制是尚不清楚的,但 TSC2 在该通路中有一定的调控作用^[17]。总之,这些数据表明能量水平影响 mTOR Complex1 信号是一个复杂过程还需要进一步研究。

2.3 生长因子及激素对 mTOR Complex1-S6K1 信号通路的作用
生长因子和激素类,比如胰岛素,通过 PI3K 信号途径来调控 mTOR Complex1^[6]。PI3K 经典路径的激活,从而启动许多信号通路的级联反应,引起细胞的生长和增殖,这种现象在多细胞动物中是普遍存在的^[8]。胰岛素与它同源的酪氨酸激酶受体相互作用结果使分子间的受体磷酸化,为 IRS1 和 IRS2 募集到细胞膜上形成了一个停泊位点^[6]。相应的,IRS1/IRS2 中特殊的磷酸化残基充当着细胞膜上 PI3K 关键信号分子的识别基序——第二信使磷脂酰肌醇 [PtdIns(3,4,5)P3]^[6]。PtdIns(3,4,5)P3 与 PH 区域的靶蛋白结合,包括 PKB/Akt 和磷酸肌醇依赖激酶 1(PDK1)。PtdIns(3,4,5)P3 与 PH 区域的 PKB/Akt 结合可以补充细胞膜上的这种激酶,但 PtdIns(3,4,5)P3 与 PH 区域的 PDK1 结合似乎不需要 S6K1 T299 的磷酸化。细胞膜上 PtdIns(3,4,5)P3 的活化是通过 PDK1 T308 和 mTORComplex2 S473 位点的磷酸化进行调控^[9]。信号通路中的反馈调节主要因子为脂磷酸酶,磷酸酶和张力蛋白同系物 (PTEN)。PTEN 使 PtdIns(3,4,5)P3 转变为 PtdIns(4,5)P2,PKB/Akt 在细胞膜上的数量减少。激活 PKB/Akt 的下游底物又包括糖原合酶激酶 3(GSK3)、叉头盒、转录因子和 TSC2。TSC2 又是一种肿瘤抑制基因。TSC2 的作用在于自身磷酸化使 TSC1-TSC2 复合物的分离和降解,从抑制的 GTP 酶活化蛋白, TSC2 活性中释放出小 GTP 酶 Rheb,推动 Rheb 到 GTP 得活化状态。GTP 结合 Rheb 能够激活 mTOR Complex1 信号通路的下游底物,比如 S6K1,通过直接改变 mTOR Complex1 活性或者靶向惟一的细胞间隙^[6]。

2.4 mTOR Complex1-S6K1 信号通路与糖尿病胰岛素抵抗
胰岛素抵抗是 2 型糖尿病发生、发展的关键,表现为胰岛素功能下降和高胰岛素血症。胰岛 β 细胞分泌的胰岛素是维持体内糖稳定的重要物质之一,胰岛素分泌相对或者绝对不足在糖尿病发生发展及糖尿病并发症的进展中起关键性作用。

目前认为胰岛素信号传导通路及胰岛素抵抗的机制主要是通过 PI3K-Akt-TSC1/2-mTORC1-S6K1 途径来完成的。胰岛素受体 (insulin receptor, IR)/胰岛素样生长因子受体 (insulin-like growth factor, IGF) 为酪氨酸激酶受体,分别与 Insulin 或 IGF 结合后引起胞内酪氨酸残基磷酸化。IR 或 IGF 酪氨酸残基磷酸化后与胰岛素受体底物 (insulin receptor substrates, IRS1-4) 上的磷酸化酪氨酸结合区 (phosphotyrosine binding domain, PTB) 结合,IRs 蛋白 N 端由 PH (pleckstrin homology) 区和 PTB 区构成,C 端含多个酪氨酸和丝氨酸/苏氨酸 (serine/threonine, Ser/Thr) 磷酸化位点。IRS 通过其磷酸化酪氨酸共同基序 (YxxM) 趋化结合并激活磷脂酰肌醇 3 激酶 (PI3K),从而通过 PI3K, Akt-TSC1/2-mTOR 信号通路激活 mTOR 下游信号分子 S6K1 和 4E-BP1,再通过促进细胞内某些重要蛋白质的合成调节细胞的生长分化。

有研究表明,胰岛素受体底物 1 (IRS1) 的丝氨酸磷酸化是引起胰岛素抵抗的主要机制之一。mTOR 在接受 Insulin/IGF 和营养信号 (如氨基酸、葡萄糖) 后通过 PI3K-Akt-TSC1/2-

mTOR 信号通路被激活,激活的 mTOR 在通过其下游底物 S6K1 引起 IRS1 丝氨酸残基磷酸化,反馈性调节胰岛素信号下传。体外研究发现,氨基酸可通过激活 mTOR/S6K 途径反馈性抑制胰岛素诱导的 PI3K 活化,并且证实这种抑制作用与 IRS1ser/thr 磷酸化有关^[18]。有研究发现在 KKAY、ob/ob2 型糖尿病小鼠模型中 S6K1 的活性都是增高的,脂肪组织中 IRS1 ser307 和 ser636/639 磷酸化增加,并且在敲除 S6K1 基因的高脂饲养小鼠中仍然保持胰岛素的敏感性,而 IRS1 ser307 和 ser636/639 下降。

2.5 mTOR Complex1-S6K1 信号通路与糖尿病引起的微血管病变的作用 糖尿病的血管病变从毛细血管到大中动脉均有不同程度的病变。毛细血管和细小动脉的内皮细胞增生,基底膜明显增厚,血管壁增厚、玻璃样变性,血栓形成导致血液供应障碍,进而引起相应组织或器官缺血和功能障碍,在肾脏和视网膜中表现尤为突出。

相关研究表明 mTOR 信号通路在糖尿病肾病发生发展的机制中起着重要作用,大量动物实验已经证明,雷帕霉素通过抑制 mTOR 信号通路使慢性肾脏疾病引起的间质性炎症,肾脏纤维化及肾功能不全得以改善。在糖尿病肾病中病理改变主要表现为肾血管及肾小球广泛增生、肾小球肥大引起肾脏灌注不足,而在其病理生理改变中 mTOR 信号通路起着关键性作用,主要表现为增加了肾小球基底膜的蛋白合成进而引起基底膜变薄和肾小球内膜基质的增生。而高血糖作为影响因素通过引起 PI3K、Akt 的活化及 AMPK 的抑制来激活 mTOR 信号通路^[19]。

糖尿病视网膜病变的主要病理变化是血管平滑肌细胞的分化异常,早期表现为微动脉瘤和视网膜小静脉扩张。血管平滑肌细胞在成人体内主要有分化、休眠、收缩 3 种形态,损伤可以诱导这 3 种形态的相互转化,也可以使血管平滑肌细胞基质的蛋白合成水平上调。mTOR 信号通路在血管平滑肌细胞基因表达的转录调控中起重要作用,其下游效应器 S6K1 的过度表达则抑制雷帕霉素诱导的蛋白收缩和 p21cip 表达。相关动物实验及研究也证明了 S6K1 对抗血管平滑肌细胞的分化起着重要作用。

3 展 望

mTOR Complex1-S6K1 在细胞增殖、生长、分化以及糖尿病的发生、发展过程中发挥着关键性的作用,在研究中发现还有很多对该信号通道的影响因素的作用机制尚不明确,比如细胞膜的电活动及蛋白通路对 mTOR Complex1-S6K1 的影响,以及 VEGF 在糖尿病创伤模型中与 mTOR 的作用机制等。学者还应对 mTOR Complex1-S6K1 进行深入的研究,让临床工作者全面了解 mTOR Complex1-S6K1 的机制,为糖尿病的预防、治疗以及并发症的研究和治疗提供理论依据,为今后的临床治疗提供新的手段。

参考文献:

[1] Charles AH, Klann E. mTOR signaling: at the crossroads of plasticity, memory and disease[J]. Trends Neurosci, 2010, 33(2): 67-75.
 [2] Tsang CK, Qi H, Liu LF, et al. Targeting mammalian target of rapamycin (mTOR) for health and diseases[J]. Drug Discov Today, 2007, 12(3/4): 112-124.
 [3] Vander Haar E, Lee SI, Bandhakavi S, et al. Insulin signalling to mTOR mediated by the Akt/PKB substrate PRAS40[J]. Nat Cell Biol, 2007, 9(3): 316-323.

[4] 刘效磊,牛燕媚,傅力. mTOR/S6K1 信号通路研究进展[J]. 中国运动医学杂志, 2010, 29(1): 118-121.
 [5] Tremblay F, Brûlé S, Hee Um S, et al. Identification of IRS-1 Ser-1101 as a target of S6K1 in nutrient- and obesity-induced insulin resistance [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2007, 104(35): 14056-14061.
 [6] Um SH, D'aleccio D, Thomas G. Nutrient overload, insulin resistance, and ribosomal protein S6 kinase 1, S6K1 [J]. Cell Metab, 2006, 3(6): 393-402.
 [7] Kahn BB, Myers MG Jr. mTOR tells the brain that the body is hungry[J]. Nat Med, 2006, 12(6): 615-617.
 [8] Engelman JA, Luo J, Cantley LC. The evolution of phosphatidylinositol 3-kinases as regulators of growth and metabolism[J]. Nat Rev Genet, 2006, 7(8): 606-619.
 [9] Stephan W, Loewith R, Michael NH. TOR signaling in growth and metabolism[J]. Cell, 2006, 124(3): 471-484.
 [10] Gavi S, Shumay E, Wang HY, et al. G-protein-coupled receptors and tyrosine kinases: crossroads in cell signaling and regulation [J]. Trends Endocrinol Metab, 2006, 17(2): 48-54.
 [11] Plas DR, Thompson CB. Akt-dependent transformation: there is more to growth than just surviving [J]. Oncogene, 2005, 24(50): 7435-7442.
 [12] Nobukuni T, Joaquin M, Roccio M, et al. Amino acids mediate mTOR/raptor signaling through activation of class 3 phosphatidylinositol 3OH-kinase [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2005, 102(40): 14238-14243.
 [13] Byfield MP, Murray JT, Backer JM. hVps34 is a nutrient-regulated lipid kinase required for activation of p70 S6 kinase [J]. J Biol Chem, 2005, 280(38): 33076-33082.
 [14] Dann SG, Thomas G. The amino acid sensitive TOR pathway from yeast to mammals [J]. FEBS Lett, 2006, 580(12): 2821-2829.
 [15] Kimball SR, Jefferson LS. Signaling pathways and molecular mechanisms through which branched-chain amino acids mediate translational control of protein synthesis [J]. J Nutr, 2006, 136(1 Suppl): S227-231.
 [16] Smith EM. The tuberous sclerosis protein TSC2 is not required for the regulation of the mammalian target of rapamycin by amino acids and certain cellular stresses [J]. The J Biol Chem, 2005, 280(19): 18717-18727.
 [17] Sofer A, Lei K, Johannessen CM, et al. Regulation of mTOR and cell growth in response to energy stress by REDD1 [J]. Mol Cell Biol, 2005, 25(14): 5834-5845.
 [18] Drummond MJ, Bell JA, Fujita S, et al. Amino acids are necessary for the insulin-induced activation of mTOR/S6K1 signaling and protein synthesis in healthy and insulin resistant human skeletal muscle [J]. Clin Nutr, 2008, 27(3): 447-456.
 [19] Lieberthal L, Levine JS. The role of the mammalian target of rapamycin (mTOR) in renal disease [J]. JASN, 2009, 20(12): 2493-2502.