

mTOR 通路在眼科增殖相关性疾病中的研究进展

王逸涵¹, 柳林²

基金项目:上海市科学技术委员会科研计划项目(No. 124119a9500);浦东新区卫生局卫生(计生)科技项目(No. PW2013D-1)

作者单位:¹(200433)中国上海市,第二军医大学附属长海医院眼科;²(200127)中国上海市仁济医院眼科

作者简介:王逸涵,女,在读硕士研究生。

通讯作者:柳林,男,博士,博士研究生导师,教授,研究方向:白内障、眼底病。18918358758@163.com

收稿日期:2014-04-01 修回日期:2014-07-14

Research process of mTOR pathway in proliferative - relatively diseases in ophthalmology

Yi-Han Wang¹, Lin Liu²

Foundation items: Scientific Research Project of Shanghai Science and Technology Committee (No. 124119a9500); Science and Technology Project of Health Bureau in Pudong New Area, Shanghai (No. PW2013D-1)

¹Department of Ophthalmology, Changhai Hospital of the Second Military University, Shanghai 200433, China; ²Department of Ophthalmology, Shanghai Renji Hospital, Shanghai 200127, China

Correspondence to: Lin Liu. Department of Ophthalmology, Shanghai Renji Hospital, Shanghai 200127, China. 18918358758@163.com

Received:2014-04-01 Accepted:2014-07-14

Abstract

• The mammalian TOR (mTOR) pathway is a key regulator of cell growth and proliferation which is also a fundamentally important player in a large variety of human diseases. The pathway regulates many key cellular processes and is implicated in a large number of pathological conditions, including cancer, obesity, diabetes, and cardiovascular disease, age-related diseases and other proliferative disease. It integrates signals from nutrients, energy status and growth factors to regulate many processes, including autophagy, ribosome biogenesis and metabolism. Our article reviews the advancement of laboratory results on mTOR pathway in proliferative diseases in ophthalmology.

• **KEYWORDS:** mTOR pathway; posterior capsule opacification; proliferative vitreoretinopathy; proliferative diseases

Citation: Wang YH, Liu L. Research process of mTOR pathway in proliferative - relatively diseases in ophthalmology. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2014;14(8):1417-1420

摘要

mTOR 通路在细胞生长增殖过程中起十分重要的作用,越来越多的实验结果证明该通路的传导紊乱与肿瘤、糖尿病、肥胖、心血管疾病、年龄相关性疾病及其他与增殖性疾病有密切的联系。mTOR 通路通过整合来自营养、能量状态、氨基酸及生长因子的信号以调整诸如自噬、核糖体合成和细胞新陈代谢等生命活动。使用特异性的 mTOR 通路抑制剂可减缓并部分逆转疾病的发生。本文就 mTOR 通路在眼科部分增殖性疾病的研究进展进行综述。

关键词: mTOR 通路;后囊膜混浊;增生性玻璃体视网膜病变;增殖性疾病

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2014.08.13

引用:王逸涵,柳林. mTOR 通路在眼科增殖相关性疾病中的研究进展. *国际眼科杂志* 2014;14(8):1417-1420

0 引言

mTOR 是一种进化高度保守的蛋白质,其基因位于人常染色体 1p36.2 上,编码全长 2549 个氨基酸的 mTOR 蛋白,分子量为 289kD,属于丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 PIKK 家族(Ptdlns 3K-related kinase family, PIKK family)成员之一。mTOR 通路在细胞生长增殖过程中起着十分重要的作用,该通路的传导紊乱与许多肿瘤、糖尿病、肥胖、心血管疾病、年龄相关性疾病及其他与增殖异常的疾病有密切的联系^[1]。mTOR 通路通过整合来自营养、能量、氧分压、氨基酸及生长因子的信号而作用于下游分子,改变下游分子活性和调节磷酸化,影响细胞内 mRNA 的翻译、核糖体生物合成、细胞凋亡等多种生物学功能,从而控制细胞生长、增殖和分化^[2-5]。

1 mTOR 作用机制

细胞的生长需要大量结构蛋白及能够精确调控细胞生长增殖的调控蛋白,蛋白形成过程中准确无误的转录、翻译、合成过程是细胞生命活动的重要前提。mTOR 包括两个不同的蛋白复合物:对雷帕霉素敏感的 mTOR 复合物 1(mTORC1)和对雷帕霉素不敏感的 mTOR 复合物 2(mTORC2)。mTORC1 复合物包括 mTOR、Raptor 和 SLT8,由 PI3K/Akt 信号通路直接作用激活,被 TSC1-TSC2 复合物和 PRAS40 所抑制,在接受上游信号后将信息传达给下游 2 个在翻译过程中起重要作用的蛋白:4E-BP1 和 S6K1,通过对 4E-BP1 和 S6K1 磷酸化而影响特定 mRNA 翻译的开始,以达到调控细胞生长、增殖的目的。mTORC2 复合物包括 mTOR、PRR5、mLST8/GBL、Rictor 和 mSIN1,由生长因子激活,Rictor 通过与 PRR5 相互作用对 mTORC2 进行调节,通过磷酸化下游 PKC- α 和 AKT 而影

响细胞骨架形成^[6]。LKB1-AMPK-TSC-mTOR 是另外一个信号通路,它在机体能量代谢等方面起重要调节功能。在此通路中,抑癌基因 LKB1 抑制 AMP-相关蛋白激酶(AMP-activated protein kinase, AMPK)作用,因 AMPK 对 TSC 起正向调控作用,从而达到对 mTOR 的负性调节^[2],进而影响下游信号传导。

2 mTOR 通路在眼科增殖性疾病中的研究进展

2.1 后发性白内障

后发性白内障又称后囊膜混浊 (posterior capsule opacification, PCO), 是白内障超声乳化或囊外摘除联合人工晶状体植入术后最常见的并发症,也是导致术后视力再次下降的主要原因,其发生率较高,在儿童更高达 100%,故预防 PCO 的发生已成为目前研究的热点之一^[7]。组织病理学已证实残留的前囊膜或赤道部晶状体上皮细胞(Lens epithelial cell, LEC)增殖、向后囊移行并发生纤维化是 PCO 发生的主要原因,手术后检测到房水中表皮生长因子、血小板衍生因子、成纤维生长因子、转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β) 均有升高^[8],尤其是转化生长因子- β_2 (transforming growth factor- β_2 , TGF- β_2) 浓度明显升高,且升高程度与术后时间成正比,最终稳定在较高水平^[9]。TGF- β_2 是目前已知的与诱导 LECs 发生上皮细胞-间充质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)关系最为密切的细胞因子。TGF- β_2 可诱导 α -平滑肌肌动蛋白、纤维连接蛋白等与 EMT 相关基因的表达式,诱导 LECs 发生 EMT^[10,11]。已有研究证明, TGF- β_2 可以激活 PI3K/ERK/mTOR 通路,已进行的体外实验检测结果得出,经一定浓度 TGF- β_2 刺激的人晶状体上皮细胞中 mTOR 通路,随着时间的迁移,磷酸化 mTOR (phosphorylated mTOR, p-MOR) 数量不断增加,且与 EMT 的程度成正比。已有多种 PI3K 抑制剂、mTOR 抑制剂及 PI3K/mTOR 双重抑制剂用于研究特异性阻断通路不同靶点对晶状体上皮细胞 EMT 进程的影响,发现抑制 mTOR 通路能显著减少人晶状体上皮细胞(human lens epithelial cell, HLEC)的增殖和间质化^[12-15]。提示 mTOR 可能是 PCO 发病主要的原因之一且可以作为 PCO 的诊断性指标以及预防的潜在治疗靶点^[16]。

2.2 增生性玻璃体视网膜病变

视网膜色素上皮细胞 (retinal pigment epithelium, RPE) 增殖、移行、发生 EMT 是导致增生性玻璃体视网膜病变 (proliferative vitreoretinopathy, PVR) 的原因^[17]。其病理过程主要是血-视网膜屏障 (blood-retinal barrier, BRB) 的通透性改变,使得 RPE 与血清中一种可以促炎症的蛋白酶——凝血酶相接触。凝血酶与 RPE 表面的相应受体结合后激活 PI3K 通路,通过 ERK1/2 激活下游 mTOR 并使其发生磷酸化, p-mTOR 参与了凝血酶介导的 RPE 细胞中 cyclin D1 表达的升高,促进 cyclin D1 蛋白的合成,从而导致了 RPE 的大量增殖。同时相关前期实验在大鼠糖尿病视网膜病变模型中检测到 PVR 中 TGF- β 的表达较正常组织升高,且以 TGF- β_2 为主,推测以 TGF- β 为代表的相关生长因子在 mTOR 通路的激活中也起重要作用。在增生的 PVR 中使用 PI3K/AKT/mTOR 通路抑制剂 Rapamycin 或 LY294002 可以特异性抑制通路的活化,从而抑制了细胞

的增殖,停止细胞周期,同时促进细胞凋亡。形态学上观察到,经过抑制剂处理的细胞变小,失去贴壁特性^[18]。Zhou 等^[19]则应用 siRNA 在人视网膜色素上皮细胞系中特异性沉默 mTOR 的表达,能够降低细胞的迁移、活化及增殖程度,同时在兔 PVR 模型中也验证了这一点。最新的研究表明, Akt/mTOR 通路对于调节基质金属蛋白酶-9 (matrix metalloproteinases-9, MMP-9) 的表达、活化及分泌亦有重要作用,可能为 RPE 细胞增殖移行的原因之一^[20],未来可作为治疗 PVR 潜在的靶点。

2.3 横纹肌肉瘤

在儿童的眼部横纹肌肉瘤 (Rhabdomyosarcoma, RMS) 中, mTOR 的高表达与肿瘤的转移及预后较差密切相关。mTOR 通路已被证明是 RMS 的发病原因之一,与 Hedgehog 通路一起在 RMS 中介导细胞增殖与 EMT^[21,22],使用裸鼠建立人 RMS 异种移植肿瘤细胞模型,用 Rapamycin 处理肿瘤细胞,发现细胞与增殖及侵袭力相关的生物标记有了明显的下调, Rapamycin 通过特异性抑制 mTOR 从而有效减弱了低分化的人 RMS 细胞的生长,并且细胞开始趋向凋亡,说明肿瘤生长的抑制与使用 Rapamycin 后 mTOR 通路的下调有关。同时,研究仍证明 Rapamycin 抑制了 mTOR 介导的 EMT 过程,而 EMT 是在许多实体肿瘤侵袭和转移过程中的作用机制之一。这些都说明了 mTOR 通路在肿瘤细胞增殖、迁移及 EMT 过程中发挥了重要作用^[23]。

2.4 眼部外伤性视神经损伤

眼部外伤性视神经损伤 (traumatic optic neuropathy, TON) 导致的视网膜神经节细胞 (retinal ganglion cells, RGC) 死亡是 TON 引起视力丧失的原因,目前尚无有效治疗方法。正常情况下,神经节细胞的轴突受损后,成熟的 RGC 不会再生,在轴索显微外科术后发生退化^[24]。mTOR 通路在中枢神经系统 (central nervous system, CNS) 的细胞生长增殖中至关重要,在生长发育阶段 mTOR 被大量活化,在成熟的中枢神经系统及神经元轴突受损时该通路被下调。在动物实验中通过人为介导特异性受体与配体的结合逐联激活 PI3K/Akt/mTOR 通路,可人为使受损的中枢神经系统的轴突再生^[25]。因此在不久的将来,人为干预 PI3K/Akt/mTOR 通路的活化可能做为治疗 TON 的有效方法,但仍需要更多的实验结论支持。

3 mTOR 信号通路与其他全身疾病

已有研究表明,肝癌、结肠癌等多种人类肿瘤中均存在 mTOR 的高表达和过度活化。抑制 mTOR 可促进细胞凋亡,这可能与使其使细胞长期处于 G1 期有关^[26],特异性阻断 mTOR 的表达可以引起这些肿瘤细胞的凋亡。在心血管疾病方面发现 mTOR 具有促进增殖作用,使用 Rapamycin 洗脱行经皮冠状动脉腔内血管成形术患者的植入支架,再狭窄率可以降低 90% 以上^[27],推测可能机制是通过抑制血管平滑肌细胞的增殖、并且促进其凋亡而实现的^[28]。肥厚性心脏病的发生被证明与心肌细胞中的 mTOR 激活有关, mTOR 通路的激活导致心肌细胞合成异常活跃^[29]。mTOR 通路在肾间质肌成纤维细胞活化过程中具有重要调控作用, Rapamycin 能够特异性抑制因 mTOR 信号通路激活而大量合成的 α -SMA^[30,31]。从而减缓肾间质的纤维化进程。有学者在小鼠身上尝试使

用 RNA 干扰技术沉默 mTOR 下游一重要调控因子 p70S6K, 发现特异性的沉默大大加强了小鼠对胰岛素调节血糖的敏感性, Kumar 等^[32]还发现在脂肪细胞中 Rictor/mTORC2 通路对于机体整体能量平衡非常重要, 表现为介导调节葡萄糖及类脂代谢必要的信号通路, 说明 mTOR 在糖代谢异常的疾病中起到重要作用。在很多年龄相关的疾病, 如年龄相关性黄斑变性、肌肉萎缩、脑卒中等疾病研究中亦发现了 mTOR 通路的激活^[33-35]。

4 结语

mTOR 信号通路在生物体内广泛存在, 影响细胞生物活动的各个方面, 并与临床疾病广泛联系。许多疾病的发病都与该通路的过度激活相关, 基础实验已经证明, 无论是使用抑制剂还是基因沉默技术降低 mTOR 的表达, 均可以减慢细胞增殖诱导凋亡, 同时在一定程度上逆转上皮间质转化。这在肿瘤的治疗, 抑制免疫排斥、逆转年龄相关性疾病等中, 有着非常重要的临床意义。但是 mTOR 通路联系广泛、功能多样, 其信号通路是否与自噬、凋亡有直接联系? 正负调节具体是如何平衡的? 特异性抑制 mTOR 表达治疗疾病时怎样提高特异性并减少副作用? 这些问题都将值得深入的研究。随着对 mTOR 通路与疾病相关性研究的深入, 有望解释更多疾病发生的原因并成为相关疾病的有效治疗靶点。

参考文献

- 1 Tsang CK, Qi H, Liu LF, et al. Targeting mammalian target of rapamycin (mTOR) for health and diseases. *Drug Discov Today* 2007; 12(3-4):112-124
- 2 Laplante M, Sabatini DM. mTOR signaling at a glance. *J Cell Sci* 2009; 122(20):3589-3594
- 3 Sarbassov DD, Ali SM, Sabatini DM. Growing roles for the mTOR pathway. *Curr Opin Cell Biol* 2005; 17(6): 596-603
- 4 Jewell JL, Russell RC, Guan KL. Amino acid signalling upstream of mTOR. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2013; 14(3):133-139
- 5 Saqcena M, Menon D, Patel D, et al. Amino acids and mTOR mediate distinct metabolic checkpoints in mammalian G1 cell cycle. *PLoS One* 2013; 8(8):e74157
- 6 Hara K, Maruki Y, Long X, et al. Raptor, a binding partner of target of rapamycin (TOR), mediates TOR action. *Cell* 2002; 110(2): 177-189
- 7 Fong CSU, Mitchell P, Rojchchina E, et al. Three-year incidence and factors associated with posterior capsule opacification after cataract surgery: the Australian prospective cataract surgery and age-related macular degeneration study. *Am J Ophthalmol* 2014; 157(1):171-179
- 8 Liegl R, Wertheimer C, Kernt M, et al. Attenuation of human lens epithelial cell spreading, migration and contraction via downregulation of the PI3K/Akt pathway. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2014; 25(2):285-292
- 9 Chen X, Xiao W, Chen W, et al. The epigenetic modifier trichostatin A, a histone deacetylase inhibitor, suppresses proliferation and epithelial-mesenchymal transition of lens epithelial cells. *Cell Death Dis* 2013; 4(10): e884
- 10 Lee EH, Joo CK. Role of transforming growth factor- β in transdifferentiation and fibrosis of lens epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999; 40(9):2025-2032
- 11 Hosler MR, Wang-Su ST, Wagner BJ. Role of the proteasome in TGF- β signaling in lens epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006; 47(5):2045-2052

- 12 Cho HJ, Baek KE, Saika S, et al. Snail is required for transforming growth factor- β -induced epithelial-mesenchymal transition by activating PI3 kinase/Akt signal pathway. *Biochem Biophys Res Commun* 2007; 353(2):337-343
- 13 林婷婷, 王思敏, 刘加勇, 等. 雷帕霉素对转化生长因子- β 2 诱导的人晶状体上皮细胞上皮-间叶样转化的抑制作用及其机制. *中华实验眼科杂志* 2013; 31(4):347-351
- 14 Liu H, Feng G, Wu L, et al. The effects of rapamycin on lens epithelial cell proliferation, migration, and matrix formation: an *in vitro* study. *Mol Vis* 2010; 16(16):1646-1653
- 15 Garlich JR, De P, Dey N, et al. A vascular targeted pan phosphoinositide 3-kinase inhibitor prodrug, SF1126, with antitumor and antiangiogenic activity. *Cancer Res* 2008; 68(1):206-215
- 16 Meng Q, Guo H, Xiao L, et al. mTOR regulates TGF- β 2-induced epithelial-mesenchymal transition in cultured human lens epithelial cells. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2013; 251(10):2363-2370
- 17 Parrales A, López E, Lee-Rivera I, et al. ERK1/2-dependent activation of mTOR/mTORC1/p70S6K regulates thrombin-induced RPE cell proliferation. *Cellular Signal* 2013; 25(4):829-838
- 18 Cai N, Dai SD, Liu NN, et al. PI3K/AKT/mTOR signaling pathway inhibitors in proliferation of retinal pigment epithelial cells. *Int J Ophthalmol* 2012; 5(6):675-680
- 19 Zhou P, Zhao MW, Li XX, et al. siRNA targeting mammalian target of rapamycin (mTOR) attenuates experimental proliferative vitreoretinopathy. *Curr Eye Res* 2007; 32(11):973-984
- 20 Wang C, Cao GF, Jiang Q, et al. TNF- α promotes human retinal pigment epithelial (RPE) cell migration by inducing matrix metalloproteinase 9 (MMP-9) expression through activation of Akt/mTORC1 signaling. *Biochem Biophys Res Commun* 2012; 425(1):33-38
- 21 Zibat A, Missiaglia E, Rosenberger A, et al. Activation of the hedgehog pathway confers a poor prognosis in embryonal and fusion gene-negative alveolar rhabdomyosarcoma. *Oncogene* 2010; 29(48):6323-6330
- 22 Petricoin EF, Espina V, Araujo RP, et al. Phosphoprotein pathway mapping: Akt/mammalian target of rapamycin activation is negatively associated with childhood rhabdomyosarcoma survival. *Cancer Res* 2007; 67(7):3431-3440
- 23 Kaylani SZ, Xu J, Srivastava RK, et al. Rapamycin targeting mTOR and hedgehog signaling pathways blocks human rhabdomyosarcoma growth in xenograft murine model. *Biochem Biophys Res Commun* 2013; 435(4):557-561
- 24 Leibinger M, Andreadaki A, Fischer D. Role of mTOR in neuroprotection and axon regeneration after inflammatory stimulation. *Neurobiol Dis* 2012; 46(2):314-324
- 25 Morgan-Warren PJ, Berry M, Ahmed Z, et al. Exploiting mTOR signaling: a novel translatable treatment strategy for traumatic optic neuropathy? *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013; 54(10):6903-6916
- 26 Hou G, Xue L, Lu Z, et al. An activated mTOR/p70S6K signaling pathway in esophageal squamous cell carcinoma cell lines and inhibition of the pathway by rapamycin and siRNA against mTOR. *Cancer Lett* 2007; 253(2):236-248
- 27 Moses JW, Leon MB, Popma JJ, et al. Sirolimus-eluting stents versus standard stents in patients with stenosis in a native coronary artery. *N Engl J Med* 2003; 349(14):1315-1323
- 28 胡新华, 杨军, 张志深. 反义 mTOR 基因局部转染对移植静脉内膜增生的影响. *中国医科大学学报* 2007; 36(2):163-165
- 29 Shioi T, McMullen JR, Kang PM, et al. Akt/protein kinase B promotes organ growth in transgenic mice. *Mol Cell Biol* 2002; 22(8):2799-2809
- 30 Huber TB, Walz G, Kuehn EW. mTOR and rapamycin in the kidney: signaling and therapeutic implications beyond immunosuppression. *Kidney Int* 2010; 79(5):502-511

31 Lamouille S, Derynck R. Cell size and invasion in TGF- β -induced epithelial to mesenchymal transition is regulated by activation of the mTOR pathway. *J Cell Biol* 2007;178(3):437-451
32 Kumar A, Lawrence JC, Jung DY, et al. Fat cell-specific ablation of rictor in mice impairs insulin-regulated fat cell and whole-body glucose and lipid metabolism. *Diabetes* 2010;59(6):1397-1406
33 Kolosova NG, Muraleva NA, Zhbankina AA, et al. Prevention of age-related macular degeneration-like retinopathy by rapamycin in rats. *Am*

J Pathol 2012;181(2):472-477

34 Ramos FJ, Chen SC, Garelick MG, et al. Rapamycin reverses elevated mTORC1 signaling in lamin A/C-deficient mice, rescues cardiac and skeletal muscle function, and extends survival. *Sci Transl Med* 2012;4(144):144ra103

35 Johnson SC, Rabinovitch PS, Kaerberlein M. mTOR is a key modulator of ageing and age-related disease. *Nature* 2013;493(7432):338-345

第二届眼底病青年论坛暨眼底病 临床诊疗实践学习班在温州成功举办

由温州医科大学附属眼视光医院举办的第二届眼底病青年论坛暨眼底病临床诊疗实践学习班(J50-14-14)于2014年7月5-6日在温州圆满完成。本次会议特邀国内知名专家惠延年、黎晓新、林晓峰、赵培泉、许迅、颜华、贾亚丁、卢海、沈玺、王敏、孙晓东等教授进行讲座和讨论。20个专题讲座包括糖尿病研究现状、糖尿病 NVG 伪装综合征、儿童视网膜疾病抗 VEGF 治疗、TA 在玻璃体切除治疗 PDR 的新用途、视网膜影像新技术等。会议负责人宋宗明教授针对会议特点做了玻璃体手术传承与创新方面的报告,对其在临床研究工作中的多项新技术进行了汇报。会议的另一个特色是进行了20多例眼底疑难病例讨论。通过病案分析,提高了广大眼科医师的分析能力和实践水平。眼底病学组组长许迅教授还针对目前眼科临床研究现状作了临床研究伦理问题的报告,中华眼科杂志编辑部黄翊彬主任对眼底病医生如何提高医学论文写作及投稿成功率方面给予了详细指导。会议吸引了全国各地300多名眼科医师参加,为眼底病的诊疗提供了一个很好的交流学习平台。惠延年教授在会议总结时,高度评价会议以倡导创新为特色,并激励广大眼科青年医师勇于创新,不断学习新技术和新知识,提升自我创新能力。(宋宗明)