

第二代 mTOR 抑制剂的抗肿瘤研究进展

潘燕红^{1,2}, 郭夏熠¹, 陆茵^{1,2,3*}, 陈文星^{1,2,3**}

(1. 南京中医药大学药学院, 江苏 南京 210023; 2. 江苏省中药药效与安全性评价重点实验室, 江苏 南京 210023; 3. 江苏省中医药防治肿瘤协同创新中心, 江苏 南京 210023)

[摘要] 哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mTOR) 是 PI3K/Akt/mTOR 等多种信号通路的下游分子, 在细胞增殖、分化、转移和存活中发挥重要作用, 已成为癌症治疗的一个重要靶标。传统的 mTOR 抑制剂主要是雷帕霉素及其衍生物, 能特异性抑制 mTORC1, 但在部分癌症临床治疗中未达到预期疗效, 且易产生耐药性。第二代 mTOR 抑制剂即双重或多重 mTOR 抑制剂能与 mTOR 的催化位点竞争 ATP, 高度选择性地抑制 mTORC1 和 mTORC2, 比单靶点 mTOR 抑制剂具有更大的治疗优势。此外, 某些天然来源产物也具有对 mTOR 的抑制作用, 且毒性、副作用更小。综述近几年有关 mTOR 及其抑制剂在抗肿瘤方面的研究进展。

[关键词] mTORC1; mTORC2; mTOR 抑制剂; 抗肿瘤

[中图分类号] R979.1

[文献标志码] A

[文章编号] 1001-5094 (2016) 11-0858-07

Research Progress in Anti-tumor Activity of the Second Generation mTOR Inhibitors

PAN Yanhong^{1,2}, GUO Xiayi¹, LU Yin^{1,2,3}, CHEN Wenxing^{1,2,3}

(1. College of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China; 2. Jiangsu Key Laboratory for Pharmacology and Safety Evaluation of Chinese Materia Medica, Nanjing 210023, China; 3. Jiangsu Collaborative Innovation Center of Traditional Chinese Medicine (TCM) Prevention and Treatment of Tumor, Nanjing 210023, China)

[Abstract] As a downstream molecule of various pathways such as PI3K/Akt/mTOR pathway, mTOR plays important roles in cell proliferation, differentiation, metastasis and survival, emerging as a key protein target of anticancer drugs. Traditional mTOR inhibitors, rapamycin and its analogs, can effectively inhibit mTORC1, but suffer from limited clinical efficacy and easy development of drug resistance. The second generation mTOR inhibitors are dual or multiple mTOR inhibitors that can compete with the catalytic site of mTOR for ATP and inhibit both mTORC1 and mTORC2 with a high selectivity, showing advantages over single inhibitors. Furthermore, some natural compounds have been found to inhibit mTOR with low toxicity and less side effects. In this paper, we reviewed the latest research in mTOR and its inhibitors as anticancer drugs.

[Key words] mTORC1; mTORC2; mTOR inhibitor; antitumor

哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin, mTOR) 是一种非典型丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶, 为磷酸肌醇 3 激酶 (phosphoinositide 3 kinase, PI3K) 相关蛋白激酶家族成员之一^[1]。mTOR 在生物体内以 mTORC1 和 mTORC2 两种复合物的形式存在。mTOR 可整合营养、能量及生长因子等多种细胞外信号,

参与基因转录、蛋白质翻译、核糖体合成及细胞骨架合成等生物过程, 在细胞生长、增殖、凋亡和代谢中发挥极为重要的作用。在人类多种肿瘤中, mTOR 均异常激活^[2-4]。使用 mTOR 抑制剂可有效抑制胰腺癌、胃癌、前列腺癌、嗜铬细胞瘤等多种肿瘤细胞异常激活的 PI3K/Akt/mTOR 信号通路, 进而抑制肿瘤细胞的迁移和侵袭及上皮间质转化^[2-5]。研究发现, 第一代 mTOR 抑制剂雷帕霉素 (rapamycin) 及其衍生物 (rapalogs) 能特异性抑制 mTORC1, 但在应用中会出现 mTORC1/IRS-1 负反馈通路作用减弱和 PI3K/Akt、MEK/MAPK 通路激活的现象, 使其抗肿瘤作用显著下降。后研究发现, mTORC2 可直接磷酸化 Akt, 且其抑制作用不产生负反馈通路激活。第二代 mTOR 抑制剂即双重或多重 mTOR 抑制剂能与 mTOR 的催化位点竞争 ATP, 高度选择性

接受日期: 2016-07-02

项目资助: 江苏省自然科学基金 (No.BK2012854); 国家自然科学基金 (No.81173174, No.81673648, No.81673725); 江苏省青蓝工程资助; 江苏省中药学优势学科资助 (PAPD); 校预研基金 (No.13XXYZ4)

*** 通讯作者:** 陆茵, 教授, 博士生导师;

研究方向: 肿瘤药理学;

Tel: 025-86798154; **E-mail:** luyingreen@126.com

**** 通讯作者:** 陈文星, 副教授;

研究方向: 肿瘤药理学;

Tel: 025-86798154; **E-mail:** chenwxcn@hotmail.com

地抑制 mTORC1 和 mTORC2, 比单靶点 mTOR 抑制剂具有更大的治疗优势^[5-7]。现对 mTOR 及其抑制剂的抗肿瘤研究进展作一综述。

1 mTORC1

mTORC1 由 mTOR、mTOR 调控结合蛋白 (regulatory-associated protein of TOR, raptor)、mLST8 (mammalian lethal with Sec13 protein 8, 也称 GβL)、PRAS40 (proline-rich-Akt substrate, 40 kDa) 和 Deptor (DEP-domain-containing mTOR-interacting protein) 组成。mTORC1 对雷帕霉素敏感, 且受生长因子、营养、能量信号的调控, 通过磷酸化下游的真核翻译起始因子结合蛋白 (eukaryotic initiation factor 4E-binding protein 1, 4E-BP1) 和核糖体蛋白 S6 激酶 1 (p70 ribosomal protein S6 kinase 1, S6K1) 控制蛋白及染色体的合成, 调节细胞的生长及增殖^[8]。

生长因子通过激活 PI3K/Akt 和 Ras-Raf-MEK-ERK 通路, 可抑制结节性硬化复合物 II (TSC2) 磷酸化、激活 mTORC1。TSC1/2 复合物是 mTOR 的功能性阻遏剂^[9]。机体在氧化应激、缺氧、营养缺乏时, 消耗细胞内 ATP, 腺苷单磷酸活化蛋白激酶 (AMP-activated protein kinase, AMPK) 被激活并磷酸化 TSC2 上特定部位, 激活 TSC 的 Rheb-GAP 活性, 催化 Rheb-GTP 转化为 Rheb-GDP, 从而抑制 mTORC1 的活性。新发现的 mTORC1 底物——生长因子受体结合蛋白 10 (GRB10) 是受 mTORC1 调控的抑癌基因, mTORC1 磷酸化 GRB10 并使其稳定, 导致其对胰岛素信号刺激的 PI3K 及 ERK-MAPK 通路反馈性抑制^[10-11]。在反馈通路中, 活化的 mTORC1 可通过 S6K1 介导的磷酸化和胰岛素受体底物-1 (IRS-1) 的降解抑制 PI3K 通路, 为 mTORC1 抑制 PI3K-Akt 信号的一个重要反馈机制。

2 mTORC2

mTORC2 由 mTOR、mLST8、Deptor、Rictor (rapamycin-insensitive companion of mTOR)、哺乳动物应激激活蛋白激酶反应蛋白 1 (mammalian stress-activated protein kinase interacting protein 1, mSIN1) 及 Protor 1/2 (protein observed with Rictor-1/2) 组成, 通过 mSIN1 和蛋白激酶 C-α (PKCα) 可参与肌动蛋

白的调节和细胞骨架的形成。mTORC2 高表达可促进细胞存活, 低表达则诱导细胞凋亡。最新研究表明, mTORC2 是通过阻遏内源性抑制蛋白 CIP2A 与蛋白磷酸酶 2A (PP2A) 的结合, 恢复 PP2A 对 c-Myc 的去磷酸化, 促使 c-Myc 降解, 从而降低 miR-9-3p 的转录及其对转录因子 E2F1 表达的抑制, 最终抑制细胞的凋亡^[12]。

mTORC2 虽对雷帕霉素不敏感, 但若延长雷帕霉素的作用时间, mTORC2 也会受到明显抑制, 甚至下调至激活 Akt 的阈值以下^[13-14]。与 mTORC1 相似, 生长因子也能通过 PI3K 通路激活 mTORC2, 但其具体机制尚未阐明。mTORC2 还与细胞黏附有关, Chen 等^[15]通过沉默 Rictor 和应用选择性 mTORC1/2 抑制剂发现, 其对入横纹肌肉瘤细胞和子宫颈癌细胞的黏附具有明显抑制作用。但与 mTORC1 不同的是, mTORC2 并非通过 S6K1、4E-BP1, 而是通过 Akt 非依赖的方式参与细胞黏附过程。

Zinzalla 等^[16]通过基因测序发现, 核糖体是 mTORC2 的上游调控子, 当 mTORC2 与核糖体相互作用时, 无论 mTORC2 是否发生底物磷酸化或翻译, 均能被激活。mTORC1 通过激活核糖体生物合成、抑制自噬介导的核糖体翻转可间接激活 mTORC2。mTORC2 激活将引起 Akt 473 位丝氨酸 (Ser473) 磷酸化, Akt 激活进一步诱导 SIN1 T86 的磷酸化, mTORC2 活性增强, 促使 mTORC2 正向环路形成, 但抑制 TSC1/2 复合物时则会削弱该过程^[17-18]。但也有研究认为, TSC1/2 复合物并非 mTORC2 的直接激活物, 也不能通过负反馈通路抑制 PI3K 调控的 mTORC2 的活性, 虽然 mTORC2 的激活需 PI3K, 但 mTORC2 对 mTORC1 诱导的负反馈通路并不敏感^[19]。使用 Akt 抑制剂, 可明显抑制胰岛素引起的 SIN1 T86 磷酸化, 而改用 S6K 抑制剂、细胞敲除 raptor 和单敲或双敲 S6K1/2, 则无法得到相同的抑制效果^[17]。最近发现的血清和糖皮质激素诱导的蛋白激酶 I (serum and glucocorticoid-induced protein kinase, SGK1) 也是 mTORC2 作用底物之一, SGK1 的疏水部位磷酸化后 mTORC2 可调节 SGK1 的活性。mTORC2 发挥功能需保持其结构完整性, 而 mSIN1 和 Rictor 是 mTORC2 重要组成元件。研究发现,

利用短发卡状 RNA (short hairpin RNA, shRNA) 等将 mTORC2 或其组成成分 Rictor 沉默后, 可抑制皮肤癌等多种肿瘤细胞的增殖^[20-21]。Carr 等^[22] 在 DMBA/TPA 造模前将皮肤癌细胞 Rictor 敲除后发现, 肿瘤的演变进程明显推迟, 肿瘤发生率下降至 38%, 乳突淋瘤数量显著减少, caspase3 表达增加。Guertin 等^[23] 敲除 Rictor 后发现, PTEN (phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten) 缺失的前列腺癌细胞的成癌能力明显降低, 但正常前列腺上皮细胞却未受影响。表明, mTORC2 对于特异性敲除 PTEN 所引起的前列腺癌的发生发展具有重要影响, 为开发 mTORC2 特异性抑制剂用于抗癌治疗提供了有力依据。

3 雷帕霉素及其衍生物

第一代 mTOR 抑制剂包括雷帕霉素及其衍生似物, 能特异性抑制 mTORC1, 对多种肿瘤细胞的生长具有浓度和时间依赖性抑制作用, 增加肿瘤细胞对化疗药物的敏感性, 诱导凋亡的发生, 同时产生协同增效作用。2014 年刊登在 *GUT* 上的一篇文章中, 研究人员发现雷帕霉素这种老药可以新用, 即当给予因 mTOR 依赖的 PTEN 突变而发生胰腺癌的小鼠雷帕霉素后, 通过抑制 S6K 可有效阻断癌细胞的扩散和发展, 在某些小鼠机体中, 雷帕霉素甚至可促进肿瘤死亡, 为其治疗 mTOR 依赖的胰腺导管腺癌提供了依据^[24]。由于 mTOR 抑制剂的免疫抑制作用和较低肾毒性, 在移植手术中也发挥重要作用^[25]。雷帕霉素类似物脂化西罗莫司 (CCI-779) 和依维莫司 (RAD001) 等因其具有更好的水溶性和稳定性, 现已被美国 FDA 批准用于晚期/转移性肾细胞癌的治疗。

然而, 雷帕霉素在部分癌症临床治疗中未达到预期疗效, 且易产生耐药性。有研究认为, 雷帕霉素及其衍生物虽抑制了 mTORC1, 但同时会引起 PI3K/Akt、MEK/MAPK 通路的激活和负反馈抑制作用减弱, 使其抗肿瘤作用显著下降^[6-7]。也有研究指出, 许多对雷帕霉素耐药的肿瘤细胞, 特别是 Akt/蛋白激酶 B (PKB) 依赖的细胞, 在延长雷帕霉素作用时间后会呈现 mTORC2 水平降低的现象^[14], 这可能与 mTORC2 聚集受到抑制有关^[26]。最新研究显示, 雷帕霉素等第一代 mTOR 抑制剂的耐药性是由于谷氨酰胺转移酶 2

(TGM2) 表达增加引起, 若在治疗过程中加入 TGM2 抑制剂则能提高肿瘤细胞对雷帕霉素的敏感性, 增强疗效^[27]。目前临床研究显示, 单靶点 mTOR 抑制剂的治疗效果并不理想, 而双靶点或多靶点药物在抗恶性肿瘤的治疗中显示出一定的优势。

4 第二代 mTOR 抑制剂

4.1 PI3K/mTOR 双重抑制剂

PI3K/mTOR 双重抑制剂最初主要作为 PI3K 抑制剂使用, 随着其对 mTORC1 和 mTORC2 抑制作用的发现, 目前已被广泛用于 mTOR 的靶向治疗。mTOR、PI3K 均是磷酸肌醇激酶相关蛋白激酶家族成员, 两者的催化结构域高度同源。PI3K/mTOR 双重抑制剂作用于 mTOR 和 PI3K 的 ATP 结合位点的效力相同, 在降低 mTOR 激酶活性的同时抑制 PI3K 激酶活性, 进而抑制 Akt 上下游通路, 避免了第一代 mTOR 抑制剂产生的负反馈通路激活问题, 有效增强了对 mTOR 通路的抑制效果^[28-29]。PI-103、GNE-477、NVP-BEZ235、BGT226、XL765、SF-1126 和 WJD008 等 PI3K/mTOR 双重抑制剂, 能产生比单用 mTORC1 或 PI3K 抑制剂更独特的治疗优势^[9]。

PI-103 是一种 ATP 竞争性 PI3K/mTOR 双重抑制剂, 能选择性强效抑制 PI3K 各重组亚型包括 p110 α 、p110 β 、p110 δ 、p110 γ 以及 mTORC1 和 mTORC2, 其 IC₅₀ 分别为 2.0、3.0、3.0、15、20 和 83 nmol · L⁻¹。高剂量的 PI-103 (100 μ mol · L⁻¹) 也不会对血管内皮细胞生长因子受体 (VEGFR)、蛋白激酶 A (PKA)、PKC α 等蛋白激酶产生抑制作用^[8]。PI-103 对一些转移性肿瘤细胞系, 如黑色素瘤、宫颈癌、肺癌及乳腺癌均具有抗增殖活性。PI-103 在诱导细胞凋亡的同时能有效抑制白血病祖细胞集落的生成, 对于急性髓细胞白血病 (AML) 表现出很好的疗效^[30]。此外, PI-103 还能提高放射性治疗的疗效, 增加细胞对化疗药物的敏感性。由于 PI-103 血浆清除率很高、水溶性较差, 未能进入临床研究, 但以其为先导化合物, 开发了多个 PI3K/mTOR 双重抑制剂候选药物, 包括 WAY-001、WYE-354、WAY-600、WYE-687、Wyeth-1、Wyeth-2、KU0063794 和 KU-2 等。

NVP-BEZ235 是一种新型 PI3K/mTOR 双重抑制剂,

为咪唑并喹啉的衍生物,目前处于 I/II 期临床试验阶段。NVP-BEZ235 通过竞争性结合 ATP 位点抑制多种 PI3K 异构体和 mTOR 激酶的活性,与第一代 mTOR 抑制剂相比,其同时抑制 mTORC1 和 mTORC2 的特点,避免了 mTORC1 抑制所引起的负反馈抑制效应,有效地逆转 PI3K/mTOR 通路的过度活化。研究显示,NVP-BEZ235 除抑制肿瘤细胞增殖外还能诱导细胞凋亡,在增强抗癌药物如长春新碱和阿霉素等的抗肿瘤活性的同时,能逆转替莫唑胺等引起的 Akt 磷酸化水平升高^[31]。研究表明,即使在纳摩尔浓度下 NVP-BEZ235 也能有效抑制多种雷帕霉素耐药的结肠癌细胞株的生长,且与雷帕霉素及 PI3K 抑制剂相比,能更好地提高 SW620 细胞对药物的敏感性,抗肿瘤活性更优^[32-33]。

4.2 选择性 mTORC1/2 抑制剂

选择性 mTORC1/2 抑制剂克服了第一代 mTOR 抑制剂的不足,可在不影响 Akt 反馈通路的前提下,降低 PI3K/mTOR 双重抑制剂的毒性。与雷帕霉素相比,选择性 mTORC1/2 抑制剂能更有效地抑制细胞增殖,促进细胞凋亡,抑制 mTORC1 的程度也更完全^[13,34-35],同时与化疗药物联合给药还能提高药物敏感性,产生协同致死效应^[36-37]。

选择性 mTORC1/2 抑制剂包括 pp242、Torin1、way-600、wye-687、wye-354、ink128 和 AZD8055 等。与 PI3K 抑制剂不同,选择性 mTORC1/2 抑制剂能抑制 mTORC1 和 mTORC2 而不抑制其他激酶^[38]。在纳摩尔浓度下,选择性 mTORC1/2 抑制剂分别通过抑制 S6K1 (Ser235/236)、4E-BP1 (Ser422) 和 Akt (Ser47) 的磷酸化,有效地抑制 mTORC1 和 mTORC2 的活性^[5,35]。研究表明,AZD8055 可时间、剂量依赖性抑制 Hep-2 细胞增殖,同时可时间依赖性增加 caspase-3 的表达,诱导细胞凋亡^[39]。但有研究认为,AZD8055 的抗癌作用只是暂时的,因 AZD8055 只能短暂地抑制 Akt 激酶,甚至会因上皮生长因子受体 EGFR 的激活形成耐药^[7]。AZD8055 类似物 AZD2014 可有效抑制雷帕霉素耐药的雌激素受体阳性细胞的生长,其半数生长抑制率 $GI_{50} < 200 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$,全数抑制率 $TGI < 500 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ^[32];AZD2014 能同时抑制 mTORC1 和 mTORC2,产生比依

维莫司更完全的生长抑制作用;在体外,雌激素受体阳性的细胞对 AZD2014 最敏感。

Gordeev 等^[13]研究发现,1~500 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ pp242 即可彻底抑制 ERas 细胞增殖,而雷帕霉素用量达 2 000 $\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 仍不能完全抑制。与雷帕霉素诱导的非选择性自噬不同,pp242 处理 ERas 细胞,可选择性诱导线粒体自噬。RAS 和 PIK3CA 分别是判断 pp242 耐受与敏感的两个重要生物标志物。KRAS 突变型肿瘤细胞对 pp242 的耐受作用与 4E-BP1 的磷酸化水平密切相关^[40]。Torin1 是吡啶酮喹啉类化合物,是高选择性的 mTOR 抑制剂,比其他磷酸酰肌醇激酶相关激酶 (phosphatidylinositol kinase-related kinase, PIKK) 对 mTOR 的选择性至少高 200 倍^[35],其 IC_{50} 在 2~10 $\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 之间,可有效抑制 mTORC1 和 mTORC2 底物的磷酸化。此外,Torin1 还表现出比雷帕霉素更强的对细胞生长、增殖的抑制作用^[35]。PPQ 是喹啉衍生物,其能有效抑制早幼粒细胞性白血病 HL-60 细胞 PI3K-Akt-mTOR-p70S6K 通路,是潜在的选择性 mTORC1/2 抑制剂;PPQ 在诱导凋亡的同时能完全抑制 mTOR 激酶的功能,还能抑制 PI3K/Akt 反馈通路^[34]。因此,若能以喹啉为先导化合物开发一系列的 mTOR 抑制剂类抗癌药物,将为癌症治疗带来新希望。

4.3 ATP 竞争性 mTOR 激酶抑制剂

ATP 竞争性 mTOR 激酶抑制剂通过与 mTOR 激酶上游分子竞争 mTOR 激酶上的 ATP 结合位点,调控 mTOR 下游信号通路,同时减少 Akt 反馈激活作用,产生比第一代抑制剂更佳的抑癌效果。该类抑制剂克服了雷帕霉素的不足,更容易靶向 mTOR 结合位点,对肿瘤细胞的生长抑制作用更强,细胞凋亡诱导效应更好,是第二代 mTOR 抑制剂抗癌药物研究的重点,目前已设计合成了一些小分子的 ATP 竞争性 mTOR 并开展针对性癌症的治疗。

NVPBBD130、Ku0063794、WJD008 和 PKI402 等 ATP 竞争性 mTOR 激酶抑制剂通过抑制 mRNA 5' 端帽子结构依赖性翻译进而抑制肿瘤细胞的生长和增殖而发挥作用。Wahdan-Alaswad 等^[41]研究发现,Ku0063794 和 WYE-354 通过选择性识别 PI3K 的亚型,直接抑制 mTORC1 和 mTORC2 的活性,相比雷帕

霉素能更有效激活 Smad1/5 (drosophila mothers against decapentaplegic protein 1/5), 且明显升高 p-AktThr308 水平。MLN0128 可抑制 4E-BP1 和 N-myc 下游调节基因-1 (N-myc downstream-regulated gene 1, NDRG1) 的磷酸化, 阻止 mTORC1 抑制剂引起的 Akt 再激活, 显著抑制肉瘤细胞的增殖, 诱导细胞凋亡^[42]。使用 ATP 竞争性 mTOR 抑制剂 INK128 则可增强化疗药物阿霉素对成神经细胞瘤的杀伤作用, 促进阿霉素所引起的细胞凋亡^[43]。

5 具 mTOR 抑制活性的天然中药成分

虽然第二代 mTOR 抑制剂克服了第一代的部分缺陷, 但在使用时仍不可避免地导致诸如腹泻、贫血、中性粒细胞减少、非传染性肺炎等副作用, 严重限制了合成型 mTOR 抑制剂的推广^[25-26,44]。越来越多的研究表明, 一些植物来源的天然产物, 包括姜黄素、白藜芦醇、儿茶素 (EGCG)、染料木素和隐丹参酮等, 可直接或间接作用于 mTOR 信号通路^[45-48], 显示出对 mTOR 的抑制潜力。因天然药物自身的低毒性、副作用少, 及其多靶点、多效应的特点给 mTOR 抑制剂的开发带来了新的希望。

EGCG 是研究最多的绿茶多酚成分, 是一种 PI3K/mTOR 双重抑制剂, 与 ATP 竞争结合位点, 并与 PI3K 激酶结构域活性位点紧密结合, 具有开发用于癌症等多种疾病药物治疗的潜力^[49]。EGCG 通过激活 AMPK 可抑制 p53 阳性或阴性的人肝癌细胞下游包括 mTOR、S6K 和 4E-BP1 底物的磷酸化, 产生抑癌作用^[30]。姜黄素是一种多酚类天然产物, 在体外通过多条信号通路抑制神经胶质瘤、乳腺癌、肺癌、横纹肌肉瘤等多种肿瘤细胞的增殖、生长、转移, 诱导细胞凋亡, 目前处于 I、II 期临床试验阶段。研究表明, 姜黄素通过

下调 p53 依赖的 B 淋巴细胞瘤-2 基因 (Bcl-2) 和髓细胞白血病基因-1 (Mcl-1) 的 mRNA 水平, 可显著诱导 NVP-BEZ235 治疗的人肾癌细胞 Caki 的凋亡^[50]。0~2.5 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的姜黄素即能抑制横纹肌肉瘤细胞株 Rh1 和 Rh30 mTOR 和其下游效应分子 S6K1 和 4E-BP1 的磷酸化。姜黄素可剂量依赖性增加过氧化物酶体增殖物激活受体 (peroxisome proliferator-activated receptor, PPAR) 的表达, 200 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时可抑制 80% 人子宫平滑肌肉瘤细胞生长, 诱导 DNA 断裂^[51]。隐丹参酮作为另一个潜在的 mTOR 抑制剂, 与 mTORC1 抑制剂不同, 能有效激活 Akt^[52], 虽其详细的作用机制尚未阐明, 但其良好的抗肿瘤作用为研究人员从中药中寻找 mTOR 抑制剂提供新选择。

6 结语

mTOR 在控制细胞的生长、增殖、分化和存活等过程中具有重要作用, 以 mTOR 为靶标成为抗肿瘤治疗的研究新热点。第二代 mTOR 抑制剂通过与 PI3K 或 mTOR 激酶上 ATP 结合位点竞争性结合, 选择性抑制 mTORC1 和 mTORC2 激酶相关的功能, 减少 Akt 的反馈激活, 增强肿瘤细胞对化疗药物的敏感性, 比单靶点 mTOR 抑制剂具有更大的治疗优势。但在临床使用时发现这种双重 mTOR 抑制剂对某些肿瘤不敏感, 还可能增加毒副作用。作为天然药物的中药成分, 可直接或间接作用于 mTOR 信号通路的多个靶点, 与其他靶标抑制剂组合治疗, 发挥药物的协同作用, 不仅显示出一定的疗效, 且不良反应较小, 有望成为肿瘤患者治疗的新选择。进一步开展成本低、疗效佳、毒性小的针对 mTORC1 和 mTORC2 双重或多重 mTOR 抑制剂的研发, 及更多预后标记物的发现, 将为肿瘤患者提供更好的个体化临床治疗。

[参考文献]

- [1] Laplante M, Sabatini D M. mTOR signaling in growth control and disease[J]. *Cell*, 2012, 149(2): 274-293.
- [2] Tang K D, Ling M T. Targeting drug-resistant prostate cancer with dual PI3K/mTOR inhibition[J]. *Curr Med Chem*, 2014, 21(26): 3048-3056.
- [3] Sharma N, Nanta R, Sharma J, et al. PI3K/AKT/mTOR and sonic hedgehog pathways cooperate together to inhibit human pancreatic cancer stem cell characteristics and tumor growth[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(31): 32039-32060.
- [4] Xing X, Zhang L, Wen X, et al. PP242 suppresses cell proliferation, metastasis, and angiogenesis of gastric cancer through inhibition of the

- PI3K/AKT/mTOR pathway[J]. *Anticancer Drugs*, 2014, 25(10): 1129-1140.
- [5] Giubellino A, Bullova P, Nölting S, *et al.* Combined inhibition of mTORC1 and mTORC2 signaling pathways is a promising therapeutic option in inhibiting pheochromocytoma tumor growth: *in vitro* and *in vivo* studies in female athymic nude mice[J]. *Endocrinology*, 2013, 154(2): 646-655.
- [6] Blaser B, Waselle L, Dormond-Meuwly A, *et al.* Antitumor activities of ATP-competitive inhibitors of mTOR in colon cancer cells[J]. *BMC Cancer*, 2012, 12: 86.
- [7] Wei F, Zhang Y, Geng L, *et al.* mTOR inhibition induces EGFR feedback activation in association with its resistance to human pancreatic cancer[J]. *Int J Mol Sci*, 2015, 16(2): 3267-3282.
- [8] Lv X, Ma X, Hu Y. Furthering the design and the discovery of small molecule ATP-competitive mTOR inhibitors as an effective cancer treatment[J]. *Expert Opin Drug Discov*, 2013, 8(8): 991-1012.
- [9] Wang F, Chen X, Li C, *et al.* Pivotal role of augmented alphaB-crystallin in tumor development induced by deficient TSC1/2 complex[J]. *Oncogene*, 2014, 33(34): 4352-4358.
- [10] Hsu P P, Kang S A, Rameseder J, *et al.* The mTOR-regulated phosphoproteome reveals a mechanism of mTORC1-mediated inhibition of growth factor signaling[J]. *Science*, 2011, 332(6035): 1317-1322.
- [11] Yu Y, Yoon S O, Poulogiannis G, *et al.* Phosphoproteomic analysis identifies Grb10 as an mTORC1 substrate that negatively regulates insulin signaling[J]. *Science*, 2011, 332(6035): 1322-1326.
- [12] Zou Z, Chen J, Liu A, *et al.* mTORC2 promotes cell survival through c-Myc-dependent up-regulation of E2F1[J]. *J Cell Biol*, 2015, 211(1): 105-122.
- [13] Gordeev S A, Bykova T V, Zubova S G, *et al.* mTOR kinase inhibitor pp242 causes mitophagy terminated by apoptotic cell death in E1A-Ras transformed cells[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(42): 44905-44926.
- [14] Sarbassov D D, Ali S M, Sengupta S, *et al.* Prolonged rapamycin treatment inhibits mTORC2 assembly and Akt/PKB[J]. *Mol Cell*, 2006, 22(2): 159-168.
- [15] Chen L, Xu B, Liu L, *et al.* Both mTORC1 and mTORC2 are involved in the regulation of cell adhesion[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(9): 7136-7150.
- [16] Zinzalla V, Stracka D, Oppliger W, *et al.* Activation of mTORC2 by association with the ribosome[J]. *Cell*, 2011, 144(5): 757-768.
- [17] Yang G, Murashige D S, Humphrey S J, *et al.* A positive feedback loop between Akt and mTORC2 via SIN1 phosphorylation[J]. *Cell Rep*, 2015, 12(6): 937-943.
- [18] Humphrey S J, Yang G, Yang P, *et al.* Dynamic adipocyte phosphoproteome reveals that Akt directly regulates mTORC2[J]. *Cell Metab*, 2013, 17(6): 1009-1020.
- [19] Dalle P P, Sonntag A G, Thien A, *et al.* A dynamic network model of mTOR signaling reveals TSC-independent mTORC2 regulation[J]. *Sci Signal*, 2012, 5(217): ra25.
- [20] Micevic G, Muthusamy V, Damsky W, *et al.* DNMT3b modulates melanoma growth by controlling levels of mTORC2 component RICTOR[J]. *Cell Rep*, 2016, 14(9): 2180-2192.
- [21] Guo Z, Zhou Y N, Evers B M, *et al.* Apigenin inhibits mTORC2 through down-regulation of RICTOR expression in colorectal cancer cells[J]. *Gastroenterology*, 2011, 140(5): S400-S401.
- [22] Carr T D, Feehan R P, Hall M N, *et al.* Conditional disruption of rictor demonstrates a direct requirement for mTORC2 in skin tumor development and continued growth of established tumors[J]. *Carcinogenesis*, 2015, 36(4): 487-497.
- [23] Guertin D A, Stevens D M, Saitoh M, *et al.* mTOR complex 2 is required for the development of prostate cancer induced by Pten loss in mice[J]. *Cancer Cell*, 2009, 15(2): 148-159.
- [24] Morran D C, Wu J, Jamieson N B, *et al.* Targeting mTOR dependency in pancreatic cancer[J]. *Gut*, 2014, 63(9): 1481-1489.
- [25] Waldner M, Fantus D, Solari M, *et al.* New perspectives on mTOR inhibitors (rapamycin, rapalogs and TORKinibs) in transplantation[J]. *Br J Clin Pharmacol*, 2016, 82(5): 1158-1170.
- [26] Lee J S, Vo T T, Fruman D A. Targeting mTOR for the treatment of B cell malignancies[J]. *Br J Clin Pharmacol*, 2016, 82(5): 1213-1228.
- [27] Cao J, Huang W. Compensatory increase of transglutaminase 2 is responsible for resistance to mTOR inhibitor treatment[J]. *PLoS One*, 2016, 11(2): e0149388.
- [28] Dienstmann R, Rodon J, Serra V, *et al.* Picking the point of inhibition: a comparative review of PI3K/AKT/mTOR pathway inhibitors[J]. *Mol Cancer Ther*, 2014, 13(5): 1021-1031.
- [29] Chen J, Zhao K N, Li R, *et al.* Activation of PI3K/Akt/mTOR pathway and dual inhibitors of PI3K and mTOR in endometrial cancer[J]. *Curr Med Chem*, 2014, 21(26): 3070-3080.
- [30] Zhou H, Luo Y, Huang S. Updates of mTOR inhibitors[J]. *Anticancer Agent Med Chem*, 2010, 10(7): 571-581.

- [31] Yu Z, Xie G, Zhou G, *et al.* NVP-BEZ235, a novel dual PI3K-mTOR inhibitor displays anti-glioma activity and reduces chemoresistance to temozolomide in human glioma cells[J]. *Cancer Lett*, 2015, 367(1): 58-68.
- [32] Guichard S M, Curwen J, Bihani T, *et al.* AZD2014, an inhibitor of mTORC1 and mTORC2, is highly effective in ER+ breast cancer when administered using intermittent or continuous schedules[J]. *Mol Cancer Ther*, 2015, 14(11): 2508-2518.
- [33] Kim M J, Koo J E, Han G Y, *et al.* Dual-blocking of PI3K and mTOR improves chemotherapeutic effects on SW620 human colorectal cancer stem cells by inducing differentiation[J]. *J Korean Med Sci*, 2016, 31(3): 360-370.
- [34] Kumar S, Guru S K, Venkateswarlu V, *et al.* A novel quinoline based second-generation mTOR inhibitor that induces apoptosis and disrupts PI3K-Akt-mTOR signaling in human leukemia HL-60 cells[J]. *Anticancer Agents Med Chem*, 2015, 15(10): 1297-1304.
- [35] Zhang Y J, Duan Y, Zheng X F. Targeting the mTOR kinase domain: the second generation of mTOR inhibitors[J]. *Drug Discov Today*, 2011, 16(7/8): 325-331.
- [36] Janes M R, Vu C, Mallya S, *et al.* Efficacy of the investigational mTOR kinase inhibitor MLN0128/INK128 in models of B-cell acute lymphoblastic leukemia[J]. *Leukemia*, 2013, 27(3): 586-594.
- [37] Atreya C E, Ducker G S, Feldman M E, *et al.* Combination of ATP-competitive mammalian target of rapamycin inhibitors with standard chemotherapy for colorectal cancer[J]. *Invest New Drugs*, 2012, 30(6):2219-2225.
- [38] Thoreen C C, Kang S A, Chang J W, *et al.* An ATP-competitive mammalian target of rapamycin inhibitor reveals rapamycin-resistant functions of mTORC1[J]. *J Biol Chem*, 2009, 284(12): 8023-8032.
- [39] Zhao L, Teng B, Wen L, *et al.* mTOR inhibitor AZD8055 inhibits proliferation and induces apoptosis in laryngeal carcinoma[J]. *Int J Clin Exp Med*, 2014, 7(2): 337-347.
- [40] Ducker G S, Atreya C E, Simko J P, *et al.* Incomplete inhibition of phosphorylation of 4E-BP1 as a mechanism of primary resistance to ATP-competitive mTOR inhibitors[J]. *Oncogene*, 2014, 33(12): 1590-1600.
- [41] Wahdan-Alaswad R S, Bane K L, Song K, *et al.* Inhibition of mTORC1 kinase activates Smads 1 and 5 but not Smad8 in human prostate cancer cells, mediating cytostatic response to rapamycin[J]. *Mol Cancer Res*, 2012, 10(6): 821-833.
- [42] Slotkin E K, Patwardhan P P, Vasudeva S D, *et al.* MLN0128, an ATP-competitive mTOR kinase inhibitor with potent *in vitro* and *in vivo* antitumor activity, as potential therapy for bone and soft-tissue sarcoma[J]. *Mol Cancer Ther*, 2015, 14(2): 395-406.
- [43] Zhang H, Dou J, Yu Y, *et al.* mTOR ATP-competitive inhibitor INK128 inhibits neuroblastoma growth *via* blocking mTORC signaling[J]. *Apoptosis*, 2015, 20(1): 50-62.
- [44] Cheng F, Wang L, Shen Y, *et al.* Preclinical evaluation of WYE-687, a mTOR kinase inhibitor, as a potential anti-acute myeloid leukemia agent[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, 470(2): 324-330.
- [45] Cerella C, Gaigneaux A, Dicato M, *et al.* Antagonistic role of natural compounds in mTOR-mediated metabolic reprogramming[J]. *Cancer Lett*, 2015, 356(2 Pt A): 251-262.
- [46] 佳娜提·达吾列提, 姜楠, 寇俊萍, 等. 调节细胞自噬的中药有效成分研究进展 [J]. *中草药*, 2014, 45(16): 2283-2292.
- [47] Ramshankar V, Krishnamurthy A. Chemoprevention of oral cancer: green tea experience[J]. *J Nat Sci Biol Med*, 2014, 5(1): 3-7.
- [48] Yin H, Zhou Y, Wen C, *et al.* Curcumin sensitizes glioblastoma to temozolomide by simultaneously generating ROS and disrupting AKT/mTOR signaling[J]. *Oncol Rep*, 2014, 32(4): 1610-1616.
- [49] Song Y P, Lee Y K, Kim Y M, *et al.* Control of AMP-activated protein kinase, Akt, and mTOR in EGCG-treated HT-29 colon cancer cells[J]. *Food Sci Biotechnol*, 2013, 22(1): 147-151.
- [50] Seo B R, Min K J, Cho I J, *et al.* Curcumin significantly enhances dual PI3K/Akt and mTOR inhibitor NVP-BEZ235-induced apoptosis in human renal carcinoma Caki cells through down-regulation of p53-dependent Bcl-2 expression and inhibition of Mcl-1 protein stability[J]. *PLoS One*, 2014, 9(4): e95588.
- [51] Wong T, Takeda T, Li B, *et al.* Curcumin disrupts uterine leiomyosarcoma cells through AKT-mTOR pathway inhibition[J]. *Gynecol Oncol*, 2011, 122(1): 141-148.
- [52] Chen W, Luo Y, Liu L, *et al.* Cryptotanshinone inhibits cancer cell proliferation by suppressing mammalian target of rapamycin-mediated cyclin D1 expression and Rb phosphorylation[J]. *Cancer Prev Res*, 2010, 3(8): 1015-1025.