

mTOR 与 S6K 在衰老进程中的作用 *

朱 枫 马利伟** 童坦君

(北京大学医学部基础医学院生物化学与分子生物学系, 北京大学衰老研究中心, 北京 100191)

摘要 衰老进程受到多个基因以及信号通路的调节。哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 mTOR 与核糖体 S6K 蛋白激酶不仅调节细胞的多种生理功能, 在衰老进程中也发挥着重要作用。最近的实验表明, 抑制 mTORC1 或 S6K 的活性可以延长小鼠的寿限。mTOR 通路通过多种方式在衰老进程中发挥作用, 包括细胞自噬、代谢副产物的积累以及影响组织干细胞的数量等等。而 S6K 在衰老进程中的作用并不十分清晰。目前 mTOR 和 S6K 已成为研究热点, 通过对这两个分子在衰老进程中作用的研究, 有望找到延长寿限的方法并揭示其中的机理, 本文对此作一综述。

关键词 哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 mTOR, 核糖体 S6K 蛋白激酶, 衰老

学科分类号 Q71, Q51

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2013.00295

雷帕霉素(rapamycin)是加拿大科学家斯坦利·斯科利纳从复活岛的土壤样本中提取出来的一种新型大环内酯类抗真菌药物, 鉴于该药在免疫抑制和抗肿瘤方面的重要作用, 目前已被广泛应用于临床。而最值得一提的是, 雷帕霉素还是筛选出的首个有效延长哺乳动物最大寿限的药物。作为抗衰老药物, 雷帕霉素在治疗早老症以及神经系统退行性病变等疾病时已经得到了很好的疗效^[1]。雷帕霉素是 mTOR(哺乳动物雷帕霉素靶蛋白)蛋白特异性抑制剂, 与细胞内受体 FKBP-12 结合形成复合物后直接作用于 mTOR 中的 FRB(FKBP-12-rapamycin binding)结构域, 从而抑制蛋白质活性^[2]。作为雷帕霉素的特异性作用靶点, mTOR 也随之成为衰老研究领域备受关注的分子。来自不同实验室的研究结果均证实, mTOR 确实参与衰老进程并发挥“双刃剑”般的双向调控作用。在 mTOR 的下游调控网络上, 存在一重要核糖体蛋白 S6 激酶, 即 S6K, mTOR 对其有活化作用。S6K 激活后, 参与调控 DNA 复制与翻译的基本生理过程。而最近研究发现, S6K 与衰老过程亦密切相关, 如在小鼠中敲除 S6K 基因可使小鼠寿命延长^[3]。本文拟对 mTOR-S6K 信号通路在衰老中的作用及其机制等方面的研究进展作简要介绍。

1 mTOR

mTOR 是一种由 2 459 个氨基酸组成的大分子蛋白, 分子质量为 289 ku。mTOR 由 N 端开始, 依次由重复的 HEAT 结构域、FAT 结构域(the focal adhesion targeting domain)、FRB 结构域(FKBP (FK506 binding protein)-rapamycin binding domain)及 FATC 结构域(the focal adhesion targeting domain of C-terminal)组成(图 1)。其中 FRB 结构域是 FKBP12-雷帕霉素复合物的结合位点(结合后使 mTOR 的活性受到抑制)^[4]。FATC 结构域可与 FAT 结构域结合, 使分子形成特殊空间结构, 暴露蛋白激酶结构域, 故这两个结构域的构象与 mTOR 的活性密切相关, 如 Nissim 等^[5]报道 FATC 与 FAT 结构域构象改变会导致 mTOR 丧失活性。目前研究发现, mTOR 参与组成两种蛋白质复合物, 即 mTORC1 (mTOR complex 1) 与 mTORC2 (mTOR

* 北京高等学校青年英才计划项目(YETP0057)和国家重点基础研究发展计划(2013CB530801)资助项目。

** 通讯联系人。

Tel: 010-82801454, E-mail: maliwei@bjmu.edu.cn

收稿日期: 2013-06-24, 接受日期: 2013-10-16

complex 2), 二者对雷帕霉素的反应时间不同, 短期使用雷帕霉素即可抑制 mTORC1 的活性, 而 mTORC2 的活性则需长期使用雷帕霉素后才可被抑制^[2].

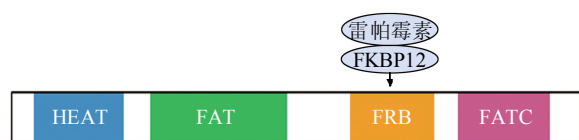


Fig. 1 The structure of mTOR

图 1 mTOR 结构示意图

mTORC1 与 mTORC2 蛋白复合物含有共同的结构组分, 也有各自特有的组分. 其中 mTOR、DEPTOR (DEP domain-containing mTOR-interacting protein)、mLST8 (mammalian lethal with SEC13 protein 8) 为二者共有. 而 RAPTOR (regulatory-associated protein of mTOR) 与 PRAS40 (40 ku Pro-rich Akt substrate) 为 mTORC1 所特有; RICTOR (rapamycin-insensitive companion of mTOR)、mSIN1 (mammalian stress-activated map kinase-interacting protein 1) 与 PROTOR (protein observed with RICTOR) 为 mTORC2 所特有^[2] (图 2). mTORC2 在衰老进程中的作用不明显且相关研究不多, 故下文主要介绍 mTORC1 在衰老进程中的作用及其机制.



Fig. 2 Subunits of mTORC1 and mTORC2

图 2 mTORC1 与 mTORC2 亚基组分示意图

2 核糖体 S6K 蛋白激酶

核糖体 S6K 蛋白激酶是 cAMP-cGMP 依赖性激酶和 PKC 激酶超家族成员之一, 与 4EBP1 共同作为 mTOR 主要的作用靶点. mTORC1 通过磷酸化使 S6K 激活^[3].

S6K 在哺乳动物中可以分为 S6K1 与 S6K2 两

类, 对 S6K2 的研究目前较少. S6K1 主要由三个部分组成, 分别为高度同源的氨基末端、丝氨酸 / 苏氨酸激酶催化区以及 C 端的自主调控区^[4] (图 3).

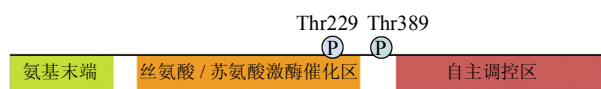


Fig. 3 The structure of S6K1

图 3 S6K1 结构示意图

S6K1 大致的活化途径是: 首先位于 C 端自主调控区的多个丝氨酸 / 苏氨酸位点磷酸化, 暴露出位于自主调控区与激酶催化区之间的 Thr389 位点, 使其易于磷酸化. Thr389 位点的磷酸化会进一步暴露激酶催化区的 Thr229 位点, 激活其酶活性^[4].

mTORC1-S6K1 通路可以调节细胞多种基本生理过程, 如 DNA 复制、mRNA 翻译以及蛋白质和脂质的合成. 近年研究发现该通路的异常不仅与诸多疾病相关, 还与衰老过程有密切的联系.

3 mTORC1-S6K1 信号通路与衰老

衰老是随着时间的推进在机体内出现的细胞以及组织器官的生理功能的衰退现象. 由于衰老会带来诸多病理改变, 使机体罹患老年病概率增加, 所以如何控制或者延缓衰老的进程是十分重要的. 最近就有学者认为, 由于衰老不仅会增加机体患病几率, 衰老本身也可造成器官功能衰竭, 甚至死亡, 所以可以将衰老看成一类疾病^[4], 而 mTORC1 则是其中一个重要的治疗靶标.

在 mTORC1-S6K1 通路中, mTORC1 的功能是作为环境的感受器, 接受并整合来自细胞外的各种信号或刺激, 然后通过磷酸化激活 S6K1 来调节细胞的各种生理功能. mTORC1 在上游受到 PI3K (phosphatidylinositol 3-kinases)/Akt 信号通路调节, 下游靶点有 S6K1 以及 4EBP1 (4E-binding protein 1). 4EBP1 可与 eIF4E 相互作用, 由此促进翻译起始. 而 S6K1 可被 mTORC1 磷酸化激活, 活化的 S6K1 进一步调控翻译过程以及细胞的生长增殖等诸多过程^[2]. 诸多与衰老密切相关的因素如应激、生长因子、营养状况及能量供给等都会影响到 mTORC1-S6K1 信号通路, 所以 mTORC1 在衰老进程中更像是一个感知机体所受的各种刺激和变化的感受器,

收集整合所收到的信号进而传递给下游分子, 通过调整相应的生理过程, 来响应环境的变化^[7].

Selman 等^[4]通过实验发现, 敲除 S6K1 基因的小鼠寿命延长, 出现衰老相关病理表型的几率大大降低. 这说明 S6K1 在衰老进程中发挥重要的作用. 热量限制对于疾病以及衰老都有保护作用, 但其机制目前还不很清楚. 在敲除 S6K1 基因的小鼠中, 观察到其基因表达的情况与热量限制的小鼠极其相似^[9]. 这一结果提示, S6K1 对于衰老的调控很有可能与热量限制密切相关, 然而具体机制有待进一步研究.

以下具体介绍目前已知的 mTORC1 参与衰老调控的上下游作用网络(图 4).

3.1 mTORC1 上游影响因素

3.1.1 胰岛素/PI3K 通路. 胰岛素/PI3K 通路是 mTORC1 最具有代表性的上游活化通路^[8]. 胰岛素或者胰岛素样生长因子与细胞表面受体结合会导致胰岛素受体底物蛋白酪氨酸磷酸化, 进而招募并激活 PI3K. PI3K 激活后会在细胞浆膜层产生 PtdIns^[9-11], 引起 PDK1 介导的 Akt 磷酸化激活过程^[12-13]. 活化的 Akt 会进一步磷酸化 Tsc2(tuberous sclerosis complex 2), 从而削弱 Tsc1-Tsc2 复合物对于 Rheb 的抑制作用, 上调 mTORC1 的活性^[14].

3.1.2 Ras/MAPK 通路. 丝裂原激活的 Ras/MAPK 通路同样可以作用于 mTORC1. 在丝裂原激活 Ras/MAPK 通路之后, 可以直接磷酸化 mTORC1 中的 raptor 结构域, 从而活化 mTORC1 的功能^[15-16]. Ras/MAPK 通路还通过拮抗 TSC1/TSC2 复合物的抑制功能, 然后如上述过程那样来上调 mTORC1 的活性^[17-18].

3.1.3 应激.

细胞内多种应激反应会下调 mTORC1 的活性^[19]. 缺氧会影响到线粒体呼吸链, 降低葡萄糖的利用效率, 从而使细胞中的 ATP 减少, 细胞中 AMP 转化为 ATP 增加^[20]. 这样 AMPK 就会被激活, 活化的 AMPK 进一步磷酸化 TSC2, 增强了 TSC1-TSC2 复合物对 mTORC1 的抑制作用, 从而降低 mTORC1 的活性^[21].

DNA 损伤会激活 p53 转录, 进而增强 p53 靶基因 sestrins1 和 sestrins2 的表达. 而 sestrins 蛋白水平升高会激活 AMPK, AMPK 激活后通过上文提到的 TSC1-TSC2 复合物来下调 mTORC1 的功能^[22].

3.2 mTORC1-S6K1 参与调控与衰老相关的基本生理过程

3.2.1 mRNA 翻译. mTORC1-S6K1 信号通路可以调节 mRNA 的翻译. 磷酸化的 4EBP1 与 eIF4E 结合于 mRNA 的 5'端来阻止翻译起始. 当 mTORC1 磷酸化激活之后, 会进一步磷酸化 S6K1 与 4EBP1, 使得 4EBP1 与 eIF4E 脱离、S6K1 与 eIF3 脱离, 而后 eIF4G 与 eIF4E 结合, 从而形成 eIF4F 复合物. 而游离出来的 S6K1 可磷酸化激活 eIF4B, 进而增强 eIF4A 的功能. 这一系列结构上的改变使核糖体 40S 亚基被招募到 mRNA 的 5'端从而起始翻译过程^[4]. 研究表明, 抑制 mRNA 的翻译会使动物的寿命延长, 同时, 喂食雷帕霉素也可抑制小鼠 mRNA 的翻译^[23], 说明翻译过程受抑可能是雷帕霉素影响衰老的机制之一.

3.2.2 蛋白质折叠系统. 翻译的减少可减轻对蛋白质折叠系统的压力^[24], 而细胞内折叠错误的蛋白质数量减少, 可延缓细胞衰老. mTORC1 在磷酸化激活 S6K1 之后, 活化的 S6K1 会进一步磷酸化与蛋白质折叠密切相关的 CCT- β 蛋白, 从而影响蛋白质折叠过程^[25]. 故 mTORC1-S6K1 可通过调控蛋白质折叠系统进而影响细胞的衰老进程.

3.2.3 线粒体呼吸链. 氧自由基的产生可造成细胞损伤, 加速细胞衰老. 而抑制 mTORC1 的活性, 可使改善线粒体呼吸功能的蛋白质高表达, 由此改善线粒体呼吸, 抑制氧自由基产生^[26]. 也就是说, mTORC1-S6K1 通路可选择性抑制保护性蛋白的翻译, 增加氧自由基产生, 而具体机制尚待研究.

3.2.4 细胞自噬. 细胞的自噬似乎意味着细胞生命的终结, 但是这一过程可快速清理衰老细胞, 减少机体内的代谢副产品, 所以这一过程实际上有利于减缓衰老进程^[27]. 雷帕霉素处理后, 细胞的自噬功能显著增强, 可见 mTORC1 还能通过一些未知的机制来抑制细胞的自噬^[5].

3.2.5 干细胞衰老. 在组织器官的层面上, 干细胞是维持组织器官的功能结构所必需的. 在组织中有细胞坏死或凋亡时, 干细胞会产生不均等的分裂, 产生一个新的干细胞以及一个新的组织细胞, 来替代坏死或者凋亡的细胞, 以此维持组织器官的功能^[27-28]. 最近发现 Wnt 蛋白可使干细胞衰老加速, 而该作用就是通过 mTOR 来实现的. 实验中观察到, 使用雷帕霉素可抑制干细胞衰老进程, 证实 mTOR 确实起作用^[29]. 同时, 在针对鼠造血干细胞

的研究中发现激活 mTOR 会使 p16^{Ink4a}、p19^{ARF} 以及 p21^{Kip1} 表达升高, 导致干细胞数减少. 反之, 雷帕

霉素疗法可抑制这一过程^[30]. 可见, mTOR 会促使干细胞衰老或者死亡, 导致组织器官的衰老.

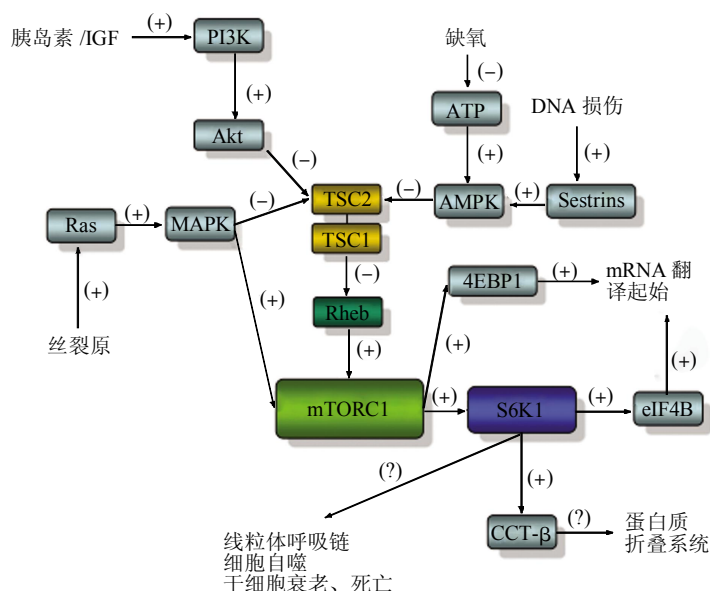


Fig. 4 The relationship between mTORC1-S6K1 signaling pathway and aging

图 4 mTORC1-S6K1 信号通路与衰老的联系

4 结 语

mTORC1-S6K1 通路对整体衰老进程的影响是毋庸置疑的, mTOR 蛋白特异性抑制剂雷帕霉素在衰老的干预及老年相关疾病的预防及治疗上也大有可为. 虽然阻断 mTORC1-S6K1 通路有延寿作用, 但是这个通路在机体生长过程中也起到另一些至关重要的作用, 所以不能不考虑使用雷帕霉素抑制 mTORC1 活性所带来的负面作用. 另一方面, 由于影响衰老进程的信号通路很多, 单从 mTOR 方面研究, 似有不足, 还应以此出发, 加以拓宽. 正是由于该领域存在着许许多多的未知, mTORC1-S6K1 通路的研究前景十分广阔. 对于 mTORC1-S6K1 通路与衰老关系的进一步探讨不仅有利于揭示衰老的分子机理, 更为人类获得特异而有效的“长寿药物”奠定理论及实验基础.

参 考 文 献

- [1] Mendelsohn A R, Larrick J W. Rapamycin as an antiaging therapeutic?: targeting mammalian target of rapamycin to treat Hutchinson-Gilford progeria and neurodegenerative diseases. *Rejuvenation Res*, 2011, **14**(4): 437-441
- [2] Zoncu R, Efeyan A, Sabatini D M. mTOR: from growth signal integration to cancer, diabetes and ageing. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2011, **12**(1): 21-35
- [3] Magnuson B, Ekim B, Fingar D C. Regulation and function of ribosomal protein S6 kinase (S6K) within mTOR signalling networks. *Biochem J*, 2012, **441**(1): 1-21
- [4] Selman C, Tullet J M, Wieser D, *et al.* Ribosomal protein S6 kinase 1 signaling regulates mammalian life span. *Science*, 2009, **326**(5949): 140-144
- [5] Nissim H, Nahum S. Upstream and downstream of mTOR. *Genes*, 2004, **18**(16): 1926-1945
- [6] Dennis P B, Pullen N, Pearson R B, *et al.* Phosphorylation sites in the autoinhibitory domain participate in p70(s6k) activation loop phosphorylation. *J Biol Chem*, 1998, **273**(24): 14845-14852
- [7] Sharp Z D. Aging and TOR: interwoven in the fabric of life. *Cell Mol Life Sci*, 2011, **68**(4): 587-597
- [8] Foster K G, Fingar D C. Mammalian target of rapamycin (mTOR): conducting the cellular signaling symphony. *J Biol Chem*, 2010, **285**(19): 14071-14077
- [9] Alessi D R, Pearce L R, Garcia-Martinez J M. New insights into mTOR signaling: mTORC2 and beyond. *Sci Signal*, 2009, **2**(67): pe27
- [10] Augustine J J, Bodziak K A, Hricik D E. Use of sirolimus in solid organ transplantation. *Drugs*, 2007, **67**(3): 369-391
- [11] Wessely R. New drug-eluting stent concepts. *Nat Rev Cardiol*,

- 2010, **7**(4): 194–203
- [12] Alessi D R, James S R, Downes C P, *et al.* Characterization of a 3-phosphoinositide-dependent protein kinase which phosphorylates and activates protein kinase B α . *Curr Biol*, 1997, **7**(4): 261–269
- [13] Sarbassov D D, Guertin D A, Ali S M, *et al.* Phosphorylation and regulation of Akt/PKB by the rictor-mTOR complex. *Science*, 2005, **307**(5712): 1098–1101
- [14] Manning B D, Tee A R, Logsdon M N, *et al.* Identification of the tuberous sclerosis complex-2 tumor suppressor gene product tuberlin as a target of the phosphoinositide 3-kinase/Akt pathway. *Mol Cell*, 2002, **10**(1): 151–162
- [15] Carriere A, Cargnello M, Julien L A, *et al.* Oncogenic MAPK signaling stimulates mTORC1 activity by promoting RSK-mediated raptor phosphorylation. *Curr Biol*, 2008, **18**(17): 1269–1277
- [16] Carriere A, Romeo Y, Acosta-Jaquez H A, *et al.* ERK1/2 phosphorylate Raptor to promote Ras-dependent activation of mTOR complex 1 (mTORC1). *J Biol Chem*, 2011, **286** (1): 567–577
- [17] Ma L, Chen Z, Erdjument-Bromage H, *et al.* Phosphorylation and functional inactivation of TSC2 by Erk implications for tuberous sclerosis and cancer pathogenesis. *Cell*, 2005, **121**(2): 179–193
- [18] Roux P P, Ballif B A, Anjum R, *et al.* Tumor-promoting phorbol esters and activated Ras inactivate the tuberous sclerosis tumor suppressor complex *via* p90 ribosomal S6 kinase. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, **101**(37): 13489–13494
- [19] Sengupta S, Peterson T R, Sabatini D M. Regulation of the mTOR complex 1 pathway by nutrients, growth factors, and stress. *Mol Cell*, 2010, **40**(2): 310–322
- [20] Shackelford D B, Shaw R J. The LKB1-AMPK pathway: metabolism and growth control in tumour suppression. *Nat Rev Cancer*, 2009, **9**(8): 563–575
- [21] Inoki K, Zhu T, Guan K L. TSC2 mediates cellular energy response to control cell growth and survival. *Cell*, 2003, **115**(5): 577–590
- [22] Budanov A V, Karin M. p53 target genes sestrin1 and sestrin2 connect genotoxic stress and mTOR signaling. *Cell*, 2008, **134**(3): 451–460
- [23] Ravikumar B, Vacher C, Berger Z. Inhibition of mTOR induces autophagy and reduces toxicity of polyglutamine in fly and mouse models of Huntington disease. *Nat Genet*, 2004, **36**(6): 585–595
- [24] Pan K Z, Palter J E, Rogers A N. Inhibition of mRNA translation extends lifespan in *Caenorhabditis elegans*. *Aging Cell*, 2007, **6**(1): 111–119
- [25] Abe Y, Yoon S O, Kubota K, *et al.* p90 ribosomal S6 kinase and p70 ribosomal S6 kinase link phosphorylation of the eukaryotic chaperonin containing TCP-1 to growth factor, insulin, and nutrient signaling. *J Biol Chem*, 2009, **284**(22): 14939–14948
- [26] Zid B M, Rogers A N, Katewa S D. 4E-BP extends lifespan upon dietary restriction by enhancing mitochondrial activity in *Drosophila*. *Cell*, 2009, **139**(1): 149–160.
- [27] Hansen M, Chandra A, Mitic L L. A role for autophagy in the extension of lifespan by dietary restriction in *C. elegans*. *PLoS Genet*, 2008, **4**(2): e24
- [28] He S, Nakada D, Morrison S J. Mechanisms of stem cell self-renewal. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2009, **25**: 377–406
- [29] Castilho R M, Squarize C H, Chodosh L A, *et al.* mTOR mediates Wnt-induced epidermal stem cell exhaustion and aging. *Cell Stem Cell*, 2009, **5**(3): 279–289
- [30] Chen C, Liu Y, Zheng P. mTOR regulation and therapeutic rejuvenation of aging hematopoietic stem cells. *Sci Signal*, 2009, **2**(98): ra75

mTOR and S6K Play an Important Role in Ageing*

ZHU Feng, MA Li-Wei**, TONG Tan-Jun

*(Research Center on Aging, Department of Biochemistry and Molecular Biology, School of Basic Medical Sciences,
Peking University Health Science Center, Beijing 100191, China)*

Abstract Aging process is modulated by various genes and signaling pathways. Mammalian target of rapamycin (mTOR) and ribosomal protein S6 kinase (S6K) not only regulate the physiological functions of cells, but also play an important role in the ageing progression. Recent study showed that inhibiting mTORC1 or S6K can extend the life span of mice. mTOR signaling influences ageing through various ways, including cell autophagy, metabolic by-products accumulation and affects the number of stem cells in tissues. However, the role of S6K in the ageing process remains unclear yet. Studies on the role of these two molecules in the ageing process, which have become a hotspot, are expected to find the method to extend the life span of mammalian and reveal its mechanisms. This review will focus on the role of mTOR and S6K in ageing.

Key words mammalian target of rapamycin (mTOR), ribosomal protein S6 kinase (S6K), ageing

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2013.00295

* This work was supported by a grant from Beijing Higher Education Young Elite Teacher Project (YETP0057) and the National Basic Research Programs of China (2013CB530801).

**Corresponding author.

Tel: 86-10-82801454, E-mail: maliwei@bjmu.edu.cn

Received: June 24, 2013 Accepted: October 16, 2013