

· 综 述 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2019.11.033

PI3K/AKT/mTOR 信号通路对脓毒症中细胞自噬的调控研究进展*

卓 萃¹, 史家欣²综述, 李小民^{1△} 审核

(徐州医科大学附属连云港医院:1. 急诊科;2. 呼吸内科, 江苏连云港 222002)

[摘要] 脓毒症是一种由严重感染引起的宿主反应失调所致的致命性的多器官功能障碍综合征(MODS), 是ICU的常见病, 病死率极高。关于脓毒症发生机制的研究表明, 自噬是真核生物对细胞内废物清除并进行物质周转的重要过程, 具有既可促使细胞存活, 也可促使细胞死亡的双重性。在脓毒症病程中, 通过自噬引起适当的细胞凋亡对重要脏器具有保护作用。PI3K/AKT/mTOR 通路是目前已知的多条信号通路中唯一的自噬抑制通路, 通过该信号通路调节脓毒症病程中自噬的发生与发展, 或许可以成为该病治疗的新靶点。

[关键词] 脓毒症; 自噬; PI3K/AKT/mTOR 信号通路

[中图法分类号] R392.32

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2019)11-1927-03

脓毒症从1991年被定义以来就是重症医学界最热门的难题之一。有数据显示, 全球每年罹患脓毒症约有3150万人, 死亡人数更是高达530万^[1]。近年来, 随着科学技术的发展, 人们虽然在如新型抗生素、连续肾脏替代疗法、呼吸机以及体外膜肺氧合等一系列抗感染及脏器支持治疗技术上取得了很大的进步, 但是仍然有约25%~30%的脓毒症患者死亡。在住院期间发生脓毒症的患者病死率也超过了10%^[2]。当前, 脓毒症治疗的侧重点在于对脓毒症后多器官功能障碍综合征(MODS)的对症支持。因此, 寻找针对脓毒症发病机制的病因的治疗方案, 探索脓毒症防治的新途径, 是当今的研究热点。

BOOMER等^[3]在一项对脓毒症患者尸检的研究结果中发现, 患者的脾、肺等脏器均存在免疫抑制以及功能障碍。而脓毒症免疫抑制的关键原因被认为是免疫细胞的自噬被抑制所导致的免疫细胞凋亡。自噬在脓毒症状态下是机体的一种顺应调节机制, 对重要脏器具有保护功能, 细胞过快或者过慢死亡均不利于机体稳态的维持, 最终可导致不良预后。有研究证实, 磷酸肌醇3激酶-蛋白质丝氨酸苏氨酸激酶(Phosphatidylinositol 3 kinase/protein kinase B signaling pathway, PI3K/AKT)信号通路和单腺苷酸活化的蛋白激酶(Adenosine monophosphate activated protein kinase pathway, AMPK)通路以及沉默信息调节因子1(Sirtuins1, Sirt1)信号通路是自噬表达过程中的经典信号转导通路, 且PI3K/AKT/mTOR信号通路是目前唯一已知的抑制性信号转导通路, 在调控细胞自噬水平中可能具有重要意义^[4]。

1 自噬的概况

自噬是一种细胞的自食现象, 可根据底物被运送

至溶酶体的方式不同, 分为巨自噬、微自噬和细胞伴侣介导的自噬3种, 这里主要介绍的巨自噬也是通常所说的“自噬”, 是细胞内的溶酶体与细胞内的蛋白质、细胞器、病原体相结合, 使其降解的过程, 出现以双层膜包裹着细胞器、蛋白、病原体等为特征的自噬体可作为自噬发生的判断指标^[5]。从进化的角度看, 自噬是一种细胞内垃圾处理机制, 错误折叠的蛋白或衰老的长寿命蛋白、多余或者受损的细胞器、入侵的病原体、甚至整个细胞都可以成为自噬的靶点。这一过程避免了细胞进一步的不可逆的损伤, 为饥饿的细胞提供生存所必需的物质和能量以及对抗外源性病原微生物的感染^[6]。自噬体的形成受自噬相关调节基因 (autophagy-related gene, Atg) 产物及其他因子调控^[5]。哺乳动物雷帕霉素靶蛋白复合体1 (mammalian target of rapamycin, mTORC1) 通过抑制Unc-51样激酶1(Unc-51 like kinase 1, ULK1/atg1)复合物来抑制自噬; 饥饿状态及能量缺乏时, AMPK通过抑制mTORC1而激活自噬。此外, Beclin-1(Bcl-1/atg6)复合物受PI3K-Akt通路负向调节, 同时也可以与抗凋亡Bcl-2家族蛋白结合而被抑制^[7-8]。

由于自噬和细胞的凋亡往往相伴发生, 自噬在最初也是以“PCD-2”的名义被人们所认知。然而自噬与凋亡并不是同一个过程, 可以说自噬是连接凋亡与坏死的交互机制。目前大量研究认为, 自噬具有双重性, 既可促使细胞存活, 也可促使细胞死亡。这并不冲突, 只是一个病程转归中的不同的阶段, 自噬本身是一种细胞的自我保护机制, 早期的自噬有助于修复细胞损伤, 延长细胞的寿命, 而当自噬达到一定程度时就会导致细胞的凋亡。但是假如细胞自噬被抑制, 细胞未能及时清除自身无用的蛋白、细胞器或是病原

* 基金项目: 国家自然科学基金青年基金项目(81300052); 中国博士后科学基金项目(2015m570420); 江苏省卫生和计划生育委员会资助课题(H201558)。 作者简介: 卓萃(1991-), 住院医师, 硕士在读, 主要从事脓毒症细胞自噬相关的研究。 △ 通信作者, E-mail: lyglxm1@163.com。

微生物细胞,就将造成细胞膜破裂,细胞内物质外溢,也就是细胞的坏死,从而进一步引起一系列的炎症反应调节细胞自噬的水平,从根源中断瀑布式的炎症反应,将有望成为脓毒症治疗的新途径^[9-10]。

2 自噬与脓毒症的关系

早期的研究者在脓毒症的动物模型以及脓毒症临床患者的肝脏细胞中,分别观察到了自噬体和自噬相关基因产物如 LC3 等的增加。于是,提出自噬与脓毒症时的器官损伤可能密切相关^[11]。随后的研究也证实,在脓毒症的动物模型和临床患者的肺、肝脏、脾脏、心脏以及脑组织中均观测到了自噬的存在^[3,12-13]。

后来的多例盲肠穿孔术(ecal ligation and puncture,CLP)致小鼠脓毒症模型也证实,在 CLP 术后早期(3~6 h),多脏器中的自噬体及自噬相关标志物检出比例明显上升,而在晚期(8~12 h 以后)开始逐渐下降^[14-16]。目前主流观点认为,自噬在脓毒症的早期即被激活,并且呈现出短暂的活性升高趋势,随着早期高动力状态下诱导的自噬前体被大量损耗,在脓毒症后期则出现了明显的自噬障碍,尤其表现为溶酶体形成受阻,自噬的清除保护作用失效,导致了脓毒症晚期出现免疫麻痹的现象^[12]。脓毒症动物模型或是细胞层面上激活各种不同水平的自噬通路,对于部分细胞、组织和脏器具有一定的保护作用的相关文献的报道,也从另一个角度证实了上述观点。OAMI 等^[17]发现,阻断肝脏自噬形成加速了 CLP 脓毒症模型小鼠的死亡。赵恒光等^[18]也证实,雷帕霉素可以逆转脂多糖(LPS)预处理的小鼠的急性肺损伤。但目前相关研究仍然较少,其激活自噬的作用机制,以及激活自噬对其他脏器是否有保护作用仍有待进一步探究。

3 脓毒症中自噬的调控

PI3K/AKT 信号通路是目前唯一已知的自噬抑制信号转导通路,这一点在很多肿瘤和代谢性疾病的相关研究中已经得到了证实^[4,19-20],而且现有研究也证实,该信号通路参与了脓毒症中多种炎症因子的表达调控^[21-22]。PI3K 是一种广泛存在于多种哺乳动物细胞胞质当中的脂质激酶,其在接受到来自酪氨酸激酶和细胞表面 G 蛋白偶联受体的信号后,将 p85 调节亚基募集到靠近质膜的部位,p110 亚基通过与 p85 亚基结合,把底物膜磷脂酰肌醇 4,5-二磷酸(PIP2)转化为磷脂酰肌醇 3,4,5-三磷酸(PIP3),PIP3 可以和 AKT N 端的普列克同源结构域(Pleckstrin Homology domain,PH 结构域)相结合,使 AKT 从胞质转移到细胞膜上,并在 3-磷酸肌醇依赖性蛋白激酶 1(PDK1)和 3-磷酸肌醇依赖性蛋白激酶 2(PDK2)的辅助下,使位于 AKT 上的苏氨酸磷酸化位点(Thr308)和丝氨酸磷酸化位点(Ser473)磷酸化而使 AKT 激活。

mTOR 是进化保守的丝氨酸苏氨酸蛋白激酶,是活化后的 AKT 的底物,活化后的 AKT 可以使 mTOR 磷酸化,增强其活性,其至少有 2 种不同复合

物的催化亚基,即 mTORC1 和 mTORC2^[23]。目前认为活化后的 mTOR 通过 2 种途径发挥自噬调节作用,其一是直接作用于 Atg 蛋白,mTOR 能磷酸化多种自噬蛋白,阻断 ULK1 的二聚反应,阻碍诱导期自噬体的形成,达到抑制自噬的目的,其二是作为多条信号通路的交汇点,mTOR 有整合营养和生长因子信号的能力,其通过促进转录和翻译从而调整细胞的生命周期^[24-25]。

4 针对自噬可能的新治疗方向

针对自噬通路中的不同要素进行干预,改变病程中不同阶段信号通路的活性,可能成为脓毒症治疗新的方法以及突破点。mTOR 是目前在肿瘤及其他学科中发现的比较容易调控的一个靶点,通过抑制 mTOR 可以有效地激活自噬,反之亦然。

4.1 mTOR 抑制剂雷帕霉素 雷帕霉素(rapamycin)是一种在复活节岛 1~3 上被发现的一种由土壤细菌产生的大环内酯类抗生素,最初是作为一种低毒性的抗真菌药物,后被发现其有很强的免疫抑制能力作为用于减缓移植器官的排斥反应的免疫抑制剂在多国上市。近年来由于其对与 mTORC1 的明显抑制作用,也被用于诸如黑色素瘤等多种肿瘤患者的治疗中^[23]。雷帕霉素抑制 mTORC1 活性的主要机制是雷帕霉素与细胞内受体 FKBP12 形成的复合物干扰了作为将 mTORC1 底物募集到 mTORC1 复合物的重要支架蛋白 mTOR 和 Raptor 之间的相互作用,从而激活细胞的自噬^[26]。

4.2 mTOR 激动剂 MHY1485 4,6-二吗啉代-N-(4-硝基苯基)-1,3,5-三嗪-2-胺[4,6dimorpholino-N-(4-nitrophenyl)-1,3,5-triazin-2-amine,MHY1485]是一种人工合成的化合物,其可以通过抑制自噬体和溶酶体的融合而抑制自噬,同时其还具有 mTOR 激活效应^[27],YANG 等^[28]的研究也证实了 MHY1485 可以通过激活 mTOR 激酶改善紫外线诱导的皮肤细胞的死亡和凋亡,但 MHY1485 对于 mTOR 的作用机制目前还不为人们所详知。

4.3 其他调节自噬的药物 由自蝇状青霉中分解出来的抗真菌类抗生素,渥曼青霉素(wortmanin)可通过抑制 III 型 PI3K 活性,达到阻断自噬体的形成、抑制自噬的效果^[29];此外,白藜芦醇、二甲双胍和 AICAR 等均可以通过激活 AMPK 和 Sirt1 信号通路对自噬产生正性调控的作用^[30]。AMPK 信号通路还可以通过抑制 mTOR1 活性,达到激活自噬的目的。

5 总结与展望

PI3K/AKT/mTOR 信号通路作为一条经典的自噬抑制信号通路,其作用贯穿在脓毒症发生发展的全过程,基础研究已证实,自噬早期处于过度激活状态,随着病情的进展会出现自噬障碍,抑制免疫,进而影响多脏器功能,雷帕霉素作为自噬的激动剂被在细胞层面和动物模型中证实,对脓毒症造成的多脏器功能损伤有一定的抑制和缓解作用。因此,充分认识自噬

的两面性,有效的调控自噬,在脓毒症早期抑制自噬,在脓毒症晚期改善自噬障碍,促进完整的自噬流,将有利于细胞的存活和脏器的保护,这可能将成为脓毒症治疗的新的思路。

参考文献

- [1] FLEISCHMANN C, SCHERAG A, ADHIKARI N K, et al. Assessment of global incidence and mortality of hospital-treated sepsis. Current estimates and limitations[J]. *Am J Res Crit Care Med*, 2016, 193(3): 259-272.
- [2] SEYMOUR C W, LIU V X, IWASHYNA T J, et al. Assessment of clinical criteria for sepsis: for the third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3)[J]. *Jama*, 2016, 315(8): 762-774.
- [3] BOOMER J S, TO K, CHANG K C, et al. Immunosuppression in patients who die of sepsis and multiple organ failure[J]. *Jama*, 2011, 306(23): 2594-2605.
- [4] 孙超. 基于自噬和 PI3K-AKT-mTOR 信号转导通路研究缺血预处理对糖尿病心肌缺血/再灌注损伤的保护作用[D]. 北京: 协和医学院中国医学科学院, 2017: 98-107.
- [5] O'KEEFE L, DENTON D. Using drosophila models of amyloid toxicity to study autophagy in the pathogenesis of alzheimer's disease[J]. *Biom Res Int*, 2018(3): 1-14.
- [6] YANG Z, KLIONSKY D J. Eaten alive: a history of macroautophagy[J]. *Nature Cell Biol*, 2010, 12(9): 814-822.
- [7] 吴田田, 姚咏明. 提高脓毒症中自噬对重要脏器保护效应的认识[J]. *中华急诊医学杂志*, 2017, 26(2): 135-138.
- [8] PEI H, BIN C, YU H, et al. Autophagy suppresses proliferation of HepG2 cells via inhibiting glypican-3/wnt/ β -catenin signaling[J]. *Oncot Thera*, 2018(11): 193-200.
- [9] QI C, JIAN K, FU C. The independence of and associations among apoptosis, autophagy, and necrosis[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2018, 3(18): 1-4.
- [10] SU Y J, YI Q, ZHAO F Y, et al. Regulation of autophagy by the nuclear factor κ B signaling pathway in the hippocampus of rats with sepsis[J]. *J Neur*, 2015, 12(1): 1-12.
- [11] WATANABE E, MUENZER J T, HAWKINS W G, et al. Sepsis induces extensive autophagic vacuolization in hepatocytes: a clinical and laboratory-based study[J]. *Lab Inves*, 2009, 89(5): 549-561.
- [12] SHANKAR-HARI M, PHILLIPS G S, LEVY M L, et al. Developing a new definition and assessing new clinical criteria for septic shock: for the third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3)[J]. *Jama*, 2016, 315(8): 775-787.
- [13] HO J, YU J, WONG S H, et al. Autophagy in sepsis: Degradation into exhaustion? [J]. *Autophagy*, 2016, 12(7): 1073-1082.
- [14] SUNAHARA S, WATANABE E, HATANO M, et al. Influence of autophagy on acute kidney injury in a murine cecal ligation and puncture sepsis model[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(8): 1-12.
- [15] 王睿, 龚晓莹, 秦含玉, 等. 雷帕霉素诱导自噬对脓毒症急性肾损伤的保护作用[J]. *中华危重病急救医学*, 2016, 28(10): 927-932.
- [16] CHO H, KIM S, CHOI J, et al. Genipin alleviates sepsis-induced liver injury by restoring autophagy[J]. *British J Pharmacol*, 2016, 173(6): 980-991.
- [17] OAMI T, WATANABE E, HATANO M, et al. Blocking liver autophagy accelerates apoptosis and mitochondrial injury in hepatocytes and reduces time to mortality in a murine sepsis model[J]. *Shock*, 2018, 50(4): 427-434.
- [18] 赵恒光, 罗福玲, 雷帕霉素激活自噬流逆转脂多糖所致的急性肺损伤[J]. *中国药科大学学报*, 2015, 46(5): 605-609.
- [19] ZHOU Z W, LI X X, HE Z X, et al. Induction of apoptosis and autophagy via sirtuin1- and PI3K/Akt/mTOR-mediated pathways by plumbagin in human prostate cancer cells [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2015(9): 1511-1554.
- [20] WANG F, LI H, YAN X G, et al. Alisertib induces cell cycle arrest and autophagy and suppresses epithelial-to-mesenchymal transition involving PI3K/AKT/mTOR and sirtuin 1-mediated signaling pathways in human pancreatic cancer cells [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2015(9): 575-601.
- [21] MA X, YAO H, YANG Y, et al. miR-195 suppresses abdominal aortic aneurysm through the TNF- α /NF- κ B and VEGF/PI3K/AKT pathway[J]. *Int J Mol Med*, 2018, 41(4): 2350-2358.
- [22] 贾圣男, 史家欣, 李小民, 等. PI3K/AKT 信号通路在转录水平调控 VCAM-1 表达[J]. *重庆医学*, 2016, 45(29): 4036-4040.
- [23] AYLETT C H, SAUER E, IMSENG S, et al. Architecture of human mTOR complex 1[J]. *Science*, 2016, 351(6268): 48-69.
- [24] CRINO P B. The mTOR signalling cascade: paving new roads to cure neurological disease[J]. *Nature Rev Neurol*, 2016, 12(7): 379-392.
- [25] SAXTON R A, SABATINI D M. mTOR signaling in growth, metabolism, and disease[J]. *Cell*, 2017, 168(6): 960-976.
- [26] KIM D H, SARBASSOV D D, ALI S M, et al. mTOR interacts with raptor to form a nutrient-sensitive complex that signals to the cell growth machinery[J]. *Cell*, 2002, 110(2): 163-175.
- [27] CHOI Y J, PARK Y J, et al. Inhibitory effect of mTOR activator MHY1485 on autophagy: suppression of lysosomal fusion[J]. *PLoS One*, 2012, 7(8): 1-10.
- [28] YANG B, XU Q Y, GUO C Y, et al. MHY1485 ameliorates UV-induced skin cell damages via activating mTOR-Nrf2 signaling[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(8): 12775-12783.
- [29] WANG W, HE Y, YU G, et al. Sulforaphane protects the liver against CdSe quantum dot-induced cytotoxicity[J]. *PLoS One*, 2015, 10(9): 1-17.
- [30] CHEN M L, YI L, JIN X, et al. Resveratrol attenuates vascular endothelial inflammation by inducing autophagy through the cAMP signaling pathway[J]. *Autophagy*, 2013, 9(12): 2033.