

## mTOR通路在肿瘤骨转移中的作用

### Roles of mTOR signal pathway in bone metastases from cancer

朱志伦<sup>a</sup>综述; 刘子博<sup>a</sup>, 孙伟伟<sup>ab</sup>审阅(南京医科大学 a. 基础医学院; b. 人体解剖学系, 江苏南京 210000)

**[摘要]** 超过25%的实体瘤患者在晚期都会出现不同程度的骨转移。发生骨转移的肿瘤细胞与骨微环境内细胞相互作用, 骨稳态被打破, 建立起促进肿瘤生长、加速骨质破坏的恶性循环, 进一步促进肿瘤细胞在骨髓腔中浸润, 导致转移的级联反应。肿瘤骨转移是一个复杂的过程, 大量分子和信号通路参与其中。研究证实, 哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)信号通路活性的改变与肿瘤细胞的骨转移以及转移后骨质破坏密切相关。本文从肿瘤细胞的脱落、迁移、黏附和侵入等转移步骤以及骨代谢变化两方面对mTOR信号通路在肿瘤骨转移过程中的作用进行阐述, 为肿瘤骨转移的预防和治疗提供新的方向。

**[关键词]** 肿瘤; 骨转移; mTOR通路; 骨代谢

**[中图分类号]** R730.23; R73-37 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2018)08-0830-04

恶性肿瘤骨转移发生率高, 超过25%的实体瘤患者在晚期都会出现不同程度的骨转移。肿瘤骨转移后会起病理性的骨质增生或骨溶解, 导致骨的结构和形态发生改变, 患者出现病理性骨折、脊髓压迫、骨疼痛等并发症, 严重影响其生活质量<sup>[1]</sup>。目前临床尚无治疗骨转移的有效方法。肿瘤细胞表达趋化因子受体、整合素、溶骨因子和成骨因子等使肿瘤细胞易于扩散到骨, 而骨微环境为肿瘤细胞的生长提供了丰富的生长因子。一旦侵入骨质, 肿瘤细胞与骨微环境内细胞相互作用, 骨稳态被打破, 进一步促进肿瘤细胞在骨髓腔中浸润, 导致转移的级联反应和恶性循环<sup>[2]</sup>。哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)是一种进化中高度保守的丝/苏氨酸蛋白激酶, 属于PI3K蛋白激酶类(PIKK)家族的成员。有研究<sup>[3]</sup>证实, mTOR信号通路参与肿瘤细胞增殖与迁移等, 也参与肿瘤细胞骨转移后的骨转换。因此, 对mTOR信号通路的深入研究对肿瘤骨转移的靶向治疗具有重要意义。本文从肿瘤细胞骨转移过程以及骨代谢两方面对mTOR信号通路在肿瘤骨转移过程中的作用进行阐述, 旨在为肿瘤骨转移的预防和治疗提供新的方向。

#### 1 mTOR通路与肿瘤细胞转移

##### 1.1 肿瘤细胞从原发灶脱落和迁移

肿瘤细胞从原发灶脱落, 突破细胞外基质和基底膜组成的结构屏障是肿瘤细胞转移的首要条件。MMP、黏附分子等在肿瘤细胞脱落与聚合、黏附与去黏附过程中发挥重要作用。肿瘤细胞、肿瘤相关成

纤维细胞(fibroblast, FB)、肿瘤相关巨噬细胞(tumor-associated macrophage, TAM)等分泌的生长因子能够激活PI3K/AKT/mTORC1信号通路。mTORC1通过S6K1介导黏着斑激酶(focal adhesion kinase, FAK)和桩蛋白酪氨酸的磷酸化, 调控黏着斑形成; FAK也通过与mTORC1上游分子TSC2相互作用反馈调控S6K1活性。mTORC1通过S6K1和4E-BP1两条信号通路促进MMP-9 mRNA的表达和蛋白质的合成。此外, mTORC1通过上调VEGF和TGF $\beta$ 的表达促进肿瘤转移和血管生成, 也可以通过RhoA和Rac1信号通路使细胞发生上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT), 使肿瘤细胞失去极性、黏附能力下降, 进而获得较强的侵袭和转移能力<sup>[4-6]</sup>。

mTORC2的研究起步较晚, mTORC2除了参与调控细胞骨架重构以外, 还可以促进肿瘤的血管生成、调控细胞的极性和趋化运动以及介导细胞EMT的发生等。mTORC2可以通过多种不同的通路调控Rho、Rac和CDC42等小G蛋白的活性, 从而促进细胞骨架的重构。如在中性粒细胞中, mTORC2通过PKC/cAMP/RhoA/Rock信号通路调控Myosin II的磷酸化, 介导肌动蛋白向细胞皮质聚集, 促进趋化运动; 在HeLa细胞中, mTORC2通过调控PKC $\alpha$ 的活性

**[基金项目]** 国家自然科学基金资助项目(No. 81200431, No. 81572386)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China(No. 81200431, No. 81572386)

**[作者简介]** 朱志伦(1995-), 男, 临床医学七年制在读, 主要从事肿瘤骨转移的研究, E-mail: 1721258389@qq.com

**[通信作者]** 孙伟伟(SUN Weiwei, corresponding author), 博士, 讲师, 主要从事肿瘤的骨转移研究, E-mail: sunweiwei@njmu.edu.cn

从而控制 F-actin 的聚合<sup>[7]</sup>。此外,研究<sup>[8]</sup>发现 TGF- $\beta$  诱导细胞 EMT 过程中伴随着 mTOR 的激活,且 mTORC2 可能起更关键的作用: mTORC1 可能只调控部分细胞 EMT 发生,而 mTORC2 可能是更为广泛地调控细胞 EMT 发生的蛋白激酶复合体。

### 1.2 肿瘤细胞进入血液

肿瘤细胞进入血液后,生存环境发生改变,加上失巢凋亡现象,导致脱离原发灶的肿瘤细胞出现程序性细胞死亡,因此肿瘤细胞需要激活生存机制才能进行有效的骨转移。有研究<sup>[9]</sup>发现, mTORC2/AKT (S473) 通过磷酸化 FOXO3a 能够使肿瘤细胞抗失巢凋亡的能力增强; pAKT(S473) 聚集,通过阻断 c-Raf/Erk 通路进一步抵抗失巢凋亡。自噬是肿瘤细胞进入营养物质缺乏的静脉血后获得营养的一种重要途径。mTOR 信号通路在调控细胞自噬过程中发挥了重要作用。当营养和能量充足时, PIK3/AKT/mTORC1 通过磷酸化自噬复合体对自噬作用进行负调控。当营养和能量减少时, mTORC1 失活,自噬溶酶体发挥自噬作用。mTORC2 通过激活 AKT/mTORC1 间接影响细胞的能量代谢和存活。

### 1.3 肿瘤细胞在骨内归巢

CXCL12-CXC 趋化因子受体(CXCR)信号通路是控制肿瘤细胞归巢至骨的一条重要途径。CXCL12 又称基质细胞衍生因子 1 (stromal cell-derived factor 1, SDF-1), 主要由多种骨髓基质细胞产生,包括骨髓间充质干细胞、内皮细胞和成骨细胞等。肿瘤细胞通过表达趋化因子受体 CXCR4 和 CXCR7,与骨髓腔中的趋化因子 CXCL12 结合后模仿造血祖细胞从体循环进入骨髓。在临床癌症患者中,通过检测 CXCR4 表达能够预测乳腺癌、前列腺癌、结肠直肠癌和其他类型癌症的骨转移风险。因此,靶向 CXCL12-CXCR4(CXCR7)轴成为预防和治疗骨转移癌的希望<sup>[10]</sup>。

CXCL-CXCR 能够经 PI3K/PTEN/AKT/mTOR 信号通路,增强肿瘤细胞运动能力。在胃癌 MKN-45 细胞系中,雷帕霉素能够阻断 CXCL12 介导的趋化作用<sup>[11]</sup>。此外,肿瘤细胞表达的整合素  $\alpha\beta 3$  与细胞外基质中的玻连蛋白结合后激活 mTORC1/4E-BP1,在低氧环境中促进乳腺癌细胞向骨髓中浸润<sup>[12]</sup>。虽然两个 mTOR 复合物在 CXCR4 介导的体外迁移中都发挥作用,但只有抑制 mTORC1 能够减缓肿瘤生长和减弱肿瘤细胞自发转移到淋巴结的能力,表明 mTORC1 阻断足以减少体内原发性肿瘤生长和 CXCR4/mTORC1 依赖性迁移和转移。

### 1.4 骨内转移灶形成

血管生成是处于休眠或半休眠状态的骨内微转

移灶发展为转移灶的关键步骤, VEGF、FGF、IGF-1、TGF- $\alpha$  和 PDGF 等血管生成因子在其中发挥了重要作用。休眠肿瘤细胞优先存在于骨血管壁,肿瘤细胞通过与内皮细胞来源的血小板反应蛋白-1 的黏附而保持静止状态。随着破骨细胞的活化,骨吸收释放的 TGF- $\beta$  和 IGF-1 促进了肿瘤细胞的存活和增殖,从而形成一个放大环,有效驱动肿瘤细胞的溶骨和转移。

mTORC2 通过一种与 mTORC1 不同的分子机制在促进骨髓腔内转移灶形成和血管生成方面发挥作用。mTORC1 通过上调 VEGF 和 TGF- $\beta$  的表达促进血管生成,而 mTORC2 通过抑制转录因子 FOXO1 的促凋亡活性,提高 VEGF 的表达水平或直接促进内皮细胞的存活和迁移促进新生血管形成。有研究<sup>[13]</sup>表明,雷帕霉素处理的小鼠具有比对照小鼠更小的肿瘤面积和更低的血管密度,这表明雷帕霉素可以通过抑制血管生成来抑制肿瘤生长。雷帕霉素的抗血管生成作用与 VEGF 翻译产物的减少和 VEGF 诱导的人脐静脉内皮细胞 (human umbilical vein endothelial cell, HUVEC) 管状形成的阻断有关。与单纯采用 mTORC1 抑制剂雷帕霉素相比,采用 mTORC1 和 mTORC2 双重抑制剂 OSI-027 或 OXA-01 可以在体内外更有效地抑制肿瘤细胞表达 VEGF。但也有研究<sup>[10]</sup>发现,敲除癌细胞中的 rictor 基因对内皮或淋巴血管网没有影响。

## 2 mTOR 通路与骨代谢

并不是所有在血液中存活下来的肿瘤细胞都能在骨内形成有效的转移,肿瘤细胞和骨微环境共同影响骨转移灶的形成。在正常状态下,骨代谢稳态受到严格的调控,肿瘤细胞发生骨转移后,黏附于骨基质的肿瘤细胞会打破平衡,并建立起促进肿瘤生长、加速骨质破坏的恶性循环。M-CSF、RANKL 和 TNF- $\alpha$  等破骨细胞分化相关因子通过 mTORC1/S6K 通路促进破骨细胞分化、抑制破骨细胞凋亡。破骨细胞能产生 C/EBP $\beta$  蛋白 (CCAAT/增强子结合蛋白  $\beta$ ) 的两种亚型,短的称为 LIP,长的称为 LAP。有研究<sup>[14-15]</sup>发现, mTOR 的活化导致 LIP 产生,从而抑制破骨细胞分化抑制因子 MafB 的生成。最新研究<sup>[16]</sup>表明, mTORC2 也参与调控破骨细胞的分化; SUN 等<sup>[17]</sup>在 prx1-cre; rictor<sup>fllox/fllox</sup> 小鼠中发现, mTORC2 通过调控 RANKL 的表达,促进破骨细胞的分化。

mTOR 通路在成骨细胞增殖和分化过程中的作用还有待于深入研究。YEH 等<sup>[18]</sup>用雷帕霉素处理胎

鼠颅盖骨细胞,发现骨生成标志物表达下降、骨结节矿化减少。而先前LEE等<sup>[19]</sup>发现,持续的雷帕霉素作用能够激活BMP/Smad信号通路,诱导成骨细胞标志物Osx、骨钙蛋白、骨保护素、骨黏连蛋白和骨唾液蛋白表达增加,促进人胚胎干细胞向成骨细胞分化。mTORC1和mTORC2通路均参与成骨细胞分化:在成骨细胞前体细胞中敲除raptor基因,成骨细胞分化晚期相关基因*Bglap*、*Ibsp*和*Col1a*表达下降,而分化早期相关基因*Runx2*、*SP7*和*Alpl*表达增加;BMP通过Smad和mTORC1两条信号通路诱导成骨细胞分化<sup>[20-21]</sup>。在*prx1-cre*; *ric1<sup>lox/lox</sup>*小鼠中,mTORC2通过调控*SP7*、*ALP*、*Ibsp*、*Bglap*等成骨相关基因的表达促进成骨细胞分化<sup>[16-17]</sup>。SEN等<sup>[22]</sup>发现,mTORC2经β-catenin抑制骨髓间充质细胞向脂肪细胞分化,促进成骨。

### 3 mTOR通路抑制剂在肿瘤骨转移中的作用

mTOR通路在肿瘤细胞转移和骨转换中的作用提示,mTOR通路抑制能够减少肿瘤骨转移以及转移后造成的病理性的骨溶解或骨生成。HUSSEIN等<sup>[23]</sup>用雷帕霉素处理骨髓腔注射诱导的小鼠乳腺癌骨转移模型,结果发现雷帕霉素能够减少溶骨性的骨质损伤,小鼠生存周期延长。雷帕霉素能阻断乳腺癌细胞4T1诱导破骨细胞前体细胞向成熟的破骨细胞分化。HARTWICH等<sup>[24]</sup>在成神经细胞瘤的小鼠骨转移模型中发现,雷帕霉素能促进OPG表达,抑制破骨细胞生成,小鼠血清OPG水平增加,骨容量和骨皮质厚度增加。OKUI等<sup>[25]</sup>在小鼠口腔鳞状细胞癌的骨转移模型中发现,mTOR抑制剂坦西莫斯能抑制破骨细胞生成和活性,缓解转移导致的溶骨性骨损伤。在临床试验<sup>[26]</sup>中发现,联合使用芳香酶抑制剂和依维莫司与单纯使用芳香酶抑制剂相比,能显著提高乳腺癌骨转移后处于无症状生存期的患者人数,骨转换包括骨形成和骨吸收得到明显抑制,患者出现骨折的风险显著降低。

### 4 结 语

肿瘤骨转移是一个多步骤的过程,其中机制错综复杂,因此需要更多的研究来阐明各个过程和机制的相互关系,找出肿瘤形成有效骨转移的关键环节。上述研究证明,mTOR通路活性影响肿瘤细胞骨转移整个过程以及肿瘤细胞骨转移后的骨稳态,因此,对mTOR作用的研究对于进一步认识肿瘤骨转移信号通路间的交互作用、发现潜在的分子机制以及靶向治疗药物的开发均有重要意义。

#### [参 考 文 献]

[1] HERNANDEZ R K, WADE S W, REICH A, et al. Incidence of bone

metastases in patients with solid tumors: analysis of oncology electronic medical records in the United States[J/OL]. *BMC Cancer*, 2018,18(1): 44[2017-09-28]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5756362/>. DOI: 10.1186/s12885-017-3922-0.

- [2] COUGHLIN T, MORENO R R, MASON D, et al. Bone: a fertile soil for cancer metastasis[J]. *Curr Drug Targets*, 2017, 18(11): 1281-1295. DOI: 10.2174/1389450117666161226121650.
- [3] SOUSA S, CLÉZARDIN P. Bone-targeted therapies in cancer-induced bone disease[J]. *Calcif Tissue Int*, 2017, 102(2): 227-250. DOI: 10.1007/s00223-017-0353-5.
- [4] XU H, QIAN M, ZHAO K, et al. Inhibition of RAB1A suppresses epithelial-mesenchymal transition and proliferation of triple-negative breast cancer cells[J]. *Oncol Rep*, 2017, 37(3): 1619-1626. DOI: 10.3892/or.2017.5404.
- [5] YE Z, AL-AIDAROOS A Q, PARK J E, et al. PRL-3 activates mTORC1 in cancer progression[J/OL]. *Sci Rep*, 2015, 5: 17046[2017-09-28]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4657013/>. DOI: 10.1038/srep17046.
- [6] TALIAFERRO-SMITH L, OBERLICK E, LIU T, et al. FAK activation is required for IGF1R-mediated regulation of EMT, migration, and invasion in mesenchymal triple negative breast cancer cells[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(7): 4757-4772. DOI: 10.18632/oncotarget.3023.
- [7] WANG S, AMATO K R, SONG W, et al. Regulation of endothelial cell proliferation and vascular assembly through distinct mTORC2 signaling pathways[J]. *Mol Cell Biol*, 2015, 35(7): 1299-1313. DOI: 10.1128/MCB.00306-14.
- [8] TAN E J, OLSSON A K, MOUSTAKAS A. Reprogramming during epithelial to mesenchymal transition under the control of TGFβ[J]. *Cell Adh Migr*, 2015, 9(3): 233-246. DOI: 10.4161/19336918.2014.983794.
- [9] SAXTON R A, SABATINI D M. mTOR signaling in growth, metabolism, and disease[J]. *Cell*, 2017, 168(6): 960-976. DOI: 10.1016/j.cell.2017.02.004.
- [10] DILLENBURG-PILLA P, PATEL V, MIKELIS C M, et al. SDF-1/CXCL12 induces directional cell migration and spontaneous metastasis via a CXCR4/Gai/mTORC1 axis[J]. *FASEB J*, 2015, 29(3): 1056-1068. DOI: 10.1096/fj.14-260083.
- [11] CHEN G, CHEN S M, WANG X, et al. Inhibition of chemokine (CXC motif) ligand 12/chemokine (CXC motif) receptor 4 axis (CXCL12/CXCR4)-mediated cell migration by targeting mammalian target of rapamycin (mTOR) pathway in human gastric carcinoma cells[J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(15): 12132-12141. DOI: 10.1074/jbc.M111.302299.
- [12] POLA C, FORMENTI S C, SCHNEIDER R J. Vitronectin-αvβ3 integrin engagement directs hypoxia-resistant mTOR activity and sustained protein synthesis linked to invasion by breast cancer cells[J]. *Cancer Res*, 2013, 73(14): 4571-4578. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-13-0218.
- [13] ZHUANG G, YU K, JIANG Z, et al. Phosphoproteomic analysis implicates the mTORC2-foxo1 axis in vegf signaling and feedback activation of receptor tyrosine kinases[J/OL]. *Sci Signal*, 2013, 6(271): ra25[2017-09-28]. <https://cancerres.aacrjournals.org/content/73/14/4571.long>. DOI: 10.1126/scisignal.2003572.
- [14] MATTEUCCI E, MARONI P, DISANZA A, et al. Coordinate regulation of microenvironmental stimuli and role of methylation in



- bone metastasis from breast carcinoma[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2016, 1863(1): 64-76. DOI: 10.1016/j.bbamcr.2015.10.010.
- [15] DAI Q, XIE F, HAN Y, et al. Inactivation of regulatory-associated protein of mTOR (raptor)/mammalian target of rapamycin complex 1 (mTORC1) signaling in osteoclasts increases bone mass by inhibiting osteoclast differentiation in mice[J]. *J Biol Chem*, 2017, 292(1): 196-204. DOI: 10.1074/jbc.M116.764761.
- [16] CHEN J, HOLGUIN N, SHI Y, et al. mTORC2 signaling promotes skeletal growth and bone formation in mice[J]. *J Bone Miner Res*, 2015, 30(2): 369-378. DOI: 10.1002/jbmr.2348.
- [17] SUN W, SHI Y, LEE W C, et al. Rictor is required for optimal bone accrual in response to anti-sclerostin therapy in the mouse[J/OL]. *Bone*, 2016, 85: 1-8[2017-09-28]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4896354/>. DOI: 10.1016/j.bone.2016.01.013.
- [18] YE H L C, MA X, FORD F F, et al. Rapamycin inhibits BMP-7-induced osteogenic and lipogenic marker expressions in fetal rat calvarial cells[J]. *J Cell Biochem*, 2013, 114(8): 1760-1771. DOI: 10.1002/jcb.24519.
- [19] LEE K W, YOOK J Y, SON M Y, et al. Rapamycin promotes the osteoblastic differentiation of human embryonic stem cells by blocking the mTOR pathway and stimulating the BMP/Smad pathway[J]. *Stem Cells Dev*, 2010, 19(4): 557-568. DOI: 10.1089/scd.2009.0147.
- [20] CHEN J, LONG F. mTORC1 signaling controls mammalian skeletal growth through stimulation of protein synthesis[J]. *Development*, 2014, 141(14): 2848-2854. DOI: 10.1242/dev.108811.
- [21] KARNER C M, LEE S Y, LONG F. Bmp induces osteoblast differentiation through both Smad4 and mTORC1 signaling[J/OL]. *Mol Cell Biol*, 2017, 37(4). pii: e00253-16[2017-09-28]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5288572/>. DOI: 10.1128/MCB.00253-16.
- [22] SEN B, XIE Z, CASE N, et al. mTORC2 regulates mechanically induced cytoskeletal reorganization and lineage selection in marrow-derived mesenchymal stem cells[J]. *J Bone Miner Res*, 2014, 29(1): 78-89. DOI: 10.1002/jbmr.2031.
- [23] HUSSEIN O, TIEDEMANN K, MURSHED M, et al. Rapamycin inhibits osteolysis and improves survival in a model of experimental bone metastases[J]. *Cancer Lett*, 2012, 314(2): 176-184. DOI: 10.1016/j.canlet.2011.09.026.
- [24] HARTWICH J E, ORR W S, NG C Y, et al. Rapamycin increases neuroblastoma xenograft and host stromal derived osteoprotegerin inhibiting osteolytic bone disease in a bone metastasis model[J]. *J Pediatr Surg*, 2013, 48(1): 47-55. DOI: 10.1016/j.jpedsurg.2012.10.043.
- [25] OKUI T, SHIMO T, FUKAZAWA T, et al. Antitumor effect of temsirolimus against oral squamous cell carcinoma associated with bone destruction[J]. *Mol Cancer Ther*, 2010, 9(11): 2960-2969. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-10-0489.
- [26] MERCATALI L, SPADAZZI C, MISEROCCHI G, et al. The effect of everolimus in an in vitro model of triple negative breast cancer and osteoclasts[J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(11). pii: E1827[2017-09-28]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5133828/>. DOI: 10.3390/ijms17111827.

[收稿日期] 2017-12-30

[修回日期] 2018-05-23

[本文编辑] 党瑞山