

中药单体调控PI3K/Akt/mTOR信号通路治疗骨肉瘤的研究进展

杨浩东¹, 李宁^{1,2*}, 谢兴文², 丁聚贤³, 柳博³, 刘凯¹

(1. 甘肃中医药大学, 兰州 730000;

2. 甘肃中医药大学附属医院, 兰州 730000;

3. 甘肃省第二人民医院, 西北民族大学附属医院, 兰州 730030)

[摘要] 骨肉瘤是临床上常见的一种原发性骨恶性肿瘤,具有肿瘤异质性强,预后差,易发生局部侵袭和远处转移及病死率高的特点。新辅助化疗联合保肢术为目前治疗骨肉瘤的主要治疗手段,虽然通过此种治疗方法有效地降低了骨肉瘤患者的致残率和致死率,但随着化疗技术的应用,长时间化疗药物的使用使得骨肉瘤细胞对其产生耐药作用,降低了肿瘤细胞对药物的敏感度,使得此治疗方式具有了一定的局限性。近年来,随着中医药抗肿瘤的发展和进步,中医药以其治疗效果明显,不良反应少等优势受到了广泛的关注。磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)/蛋白激酶B(Akt)/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)信号通路作为经典的癌症信号通路,在骨肉瘤细胞中被异常激活,通过影响肿瘤细胞的周期、抑制肿瘤细胞的凋亡、抑制肿瘤细胞的自噬及促进肿瘤新生血管的生成,影响骨肉瘤细胞的增殖、侵袭和转移等活动。临床研究发现,中药单体可以通过调控PI3K/Akt/mTOR信号通路蛋白的活性,对骨肉瘤细胞的增殖、凋亡、自噬及新生血管的生成等方面产生作用,发挥抑制骨肉瘤组织和细胞发展的作用,并且能高效的逆转肿瘤细胞对抗癌药物的多药耐药。该文将从中医对骨肉瘤的认识和经验积累,及中药单体调控PI3K/Akt/mTOR信号通路在治疗骨肉瘤疾病的研究进展作一综述,以期对中医药治疗骨肉瘤疾病的应用提供参考。

[关键词] 骨肉瘤; 磷脂酰肌醇3-激酶/蛋白激酶B/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(PI3K/Akt/mTOR)信号通路; 中医; 中药单体; 肿瘤细胞

[中图分类号] R22;R242;R2-031;R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2023)03-0254-09

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20221527

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20220602.1805.004.html>

[网络出版日期] 2022-06-06 14:42:05

Chinese Medicine Monomers in Treatment of Osteosarcoma by Regulating PI3K/Akt/mTOR Signaling Pathway: A Review

YANG Haodong¹, LI Ning^{1,2*}, XIE Xingwen², DING Juxian³, LIU Bo³, LIU Kai¹

(1. Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China;

2. Affiliated Hospital of Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China;

3. Second Provincial People's Hospital of Gansu, Affiliated Hospital of Northwest Minzu University, Lanzhou 730030, China)

[Abstract] Osteosarcoma, a common primary bone malignancy, features high heterogeneity, poor prognosis, high propensity for local invasion and distant metastasis, and high mortality. At the moment, the major therapy is the combination of neoadjuvant chemotherapy and limb salvage surgery, which remarkably reduces the disability rate and fatality rate. However, long-term use of chemotherapeutic drugs leads to the

[收稿日期] 2022-04-07

[基金项目] 国家自然科学基金项目(82060873);甘肃省自然科学基金项目(20JR10RA326);甘肃省青年科技基金项目(21JR7RA672)

[第一作者] 杨浩东,在读硕士,从事中医药防治骨关节疾病的研究,E-mail:2260259055@

[通信作者] * 李宁,博士,博士生导师,从事中医药防治骨关节疾病的研究,E-mail:5356829960@qq.com

acquisition of drug resistance by osteosarcoma cells and reduces the sensitivity of the tumor cells to the drugs. Thus, this therapy is not satisfactory. In recent years, amid the advancement in the treatment of tumor, Chinese medicine has attracted extensive attention for the obvious therapeutic effect and few adverse reactions. Phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)/protein kinase B (Akt)/mammalian target of rapamycin (mTOR) signaling pathway, as a classic cancer signaling pathway, is abnormally activated in osteosarcoma cells, which affects the proliferation, invasion, and metastasis of osteosarcoma cells by influencing the cycle of tumor cells, inhibiting apoptosis and autophagy of tumor cells, and promoting tumor angiogenesis. According to clinical research, Chinese medicine monomers influence proliferation, apoptosis, and autophagy of osteosarcoma cells and angiogenesis by regulating the activity of proteins in PI3K/Akt/mTOR signaling pathway, thereby suppressing osteosarcoma tissues and cells. Moreover, they can reverse the resistance of tumor cells to multiple anticancer drugs. Based on the knowledge and experience of Chinese medicine in the treatment of osteosarcoma, this paper reviews the role of PI3K/Akt/mTOR signaling pathway in the treatment of osteosarcoma by Chinese medicine monomers, which is expected to serve as a reference for the application of Chinese medicine in the treatment of osteosarcoma.

[Keywords] osteosarcoma; phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B/mammalian target of rapamycin (PI3K/Akt/mTOR) signaling pathway; Chinese medicine; Chinese medicine monomer; tumor cell

骨肉瘤(OS)是一种恶性骨肿瘤,以儿童和青少年为主要的发病人群,占儿童和青少年骨恶性肿瘤的25%~35%,男性的发病率高于女性,病变常见于人体的长骨干骺端,以股骨远端和胫骨近端发病较为多见^[1-2]。OS具有高死亡率和高致残率的特点,无论是给患者的家庭还是社会都带来了沉重的负担。随着医疗技术水平的提升,目前对于骨肉瘤的疾病诊断和临床治疗水准都有了十分显著的提升,尤其是化疗方案的出现,使得骨肉瘤患者的5年生存率有显著提高,到目前为止,OS患者的5年生存率已提高到55%~70%^[3-4]。虽然现代医学所采用的新辅助化疗与保肢相结合的治疗方式提高了骨肉瘤的临床疗效,但是仍然有很大一部分患者应用此治疗方式疗效欠佳^[5],导致肿瘤复发和进行肢体远端转移^[6],究其原因是因为肿瘤细胞的产生和发展是一个由多基因参与、多信号通路交叉作用的复杂过程,长时间化疗药物的应用使得肿瘤细胞对其产生耐药,降低了肿瘤细胞对药物的敏感度^[7-8],并且因为保肢手术和抗癌药物昂贵的费用及患者无法耐受治疗时的痛苦,使得此治疗方式具有了一定的局限性^[9]。

中医药以其独特的优势和临床疗效,在肿瘤疾病的防治中发挥了及其重要的作用。相关研究发现,中医药具有多生物活性成分、多靶点、多通路协同、高效价廉和副作用少的治疗优势,能有效抑制肿瘤生长及肿瘤血管的形成,并且能高效的逆转肿瘤细胞对抗癌药物的多药耐药^[10-12]。随着对骨肉瘤

发病机制研究的深入,相关研究表明骨肉瘤的发生和发展与细胞内的多种信号通路失调紧密相关^[13-16]。磷脂酰肌醇3-激酶/蛋白激酶B/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(PI3K/Akt/mTOR)信号通路作为在细胞中广泛存在的信号传导通路之一,可以影响包括骨肉瘤在内的多种肿瘤的形成过程^[17-19]。现有的研究证明,该条信号通路通过改变其下游信号分子的活化状态,作用于肿瘤细胞的增殖、凋亡及自噬等途径,并且促进肿瘤的新生血管生成^[20]。本文通过对应用中医药干预PI3K/Akt/mTOR信号通路相关蛋白的表达治疗OS的文章进行分析、整理,阐明骨肉瘤的中医药治疗与PI3K/Akt/mTOR信号通路之间的关系,以期为中医药在治疗骨肉瘤方面的应用提供参考。

1 PI3K/Akt/mTOR 信号通路

PI3K/Akt/mTOR 信号通路是细胞内一条重要的信号传导通路,能够接受胞外多种信号的刺激调节细胞的生物学活动^[21-22]。PI3K是一种由调节亚基P85和催化亚基P110的异源二聚体构成的脂质激酶,根据其结构和信号通路可分为PI3K I,PI3K II和PI3K III 3种类型。3种类型中,研究人员对PI3K I的研究最为广泛,PI3K I能被细胞表面的受体激活,分为IA和IB两个亚型,其中IA在肿瘤细胞中最为常见,其具有蛋白激酶和类脂激酶两者的双重活性,在细胞膜的信号转导、膜转运和代谢等过程中有着十分关键的调节作用^[23-24]。Akt是PI3K下游非常重要的活性信号靶点,由PH结构域、

催化域及调节域3部分构成,其中调节域发挥丝氨酸/苏氨酸激酶磷酸化的功能。PI3K作为脂质激酶,与被磷酸化的酪氨酸残基缔合,激活自身的催化亚基P110,将磷脂酰肌醇(4,5)二磷酸[PI(4,5)P₂]的肌醇环3位磷酸化,生成磷脂酰肌醇(3,4,5)三磷酸[PI(3,4,5)P₃]^[25],诱导Akt的3级结构的构象发生改变,PIP₃作为第二信使将Akt转运到质膜上,将Akt主要的两个磷酸化残基(Ser473和Thr308)暴露,使两个残基分别被3-磷脂酰肌醇依赖性激酶1(PDK1)和3-磷脂酰肌醇依赖性激酶2(PDK2)磷酸化^[26],从而完全激活Akt,使其成为有活性的激酶进一步调节下游信号分子^[27-28]。mTOR作为PI3K/Akt/mTOR信号传导通路上的重要蛋白,有2种结构相似却功能不同的复合体,分别是哺乳动物雷帕霉素复合物1(mTORC1)和哺乳动物雷帕霉素复合物2(mTORC2)。活化后的Akt蛋白直接将mTORC1磷酸化,激活后的mTORC1继续磷酸化下游的效应分子,调节p70核糖体S6蛋白激酶、自噬激酶1、真核起始因子4E和转录因子EB等蛋白的磷酸化或表达,并介导核苷酸和蛋白质等物质的合成;mTORC2则调节Akt、血清/糖皮质激素调节激酶和蛋白激酶C等物质的磷酸化或活性表达,控制细胞的生长、增殖、代谢和自噬^[29-30]。

2 中医对骨肉瘤的认识及经验积累

2.1 中医对骨肉瘤的认识 在祖国医学的传统典籍中,并无骨肉瘤的病名记载,根据其病变部位疼痛、肿胀、周围关节活动受限、下肢跛行及全身发热的临床表现,如在《黄帝内经·灵枢·痈疽》中记载:“发于膝,名曰疵痈,其状大,痈色不变,寒热,如坚石”,多将其归属于“下石疽”“骨疽”“骨瘤”“骨蚀”等范畴。中医学认为此病的产生多由患者先天禀赋不足,导致正气亏虚,邪气趁虚而入,随经络气血运行,深入骨髓,造成局部气血凝滞,血脉闭阻,日久积聚成瘤,如在《黄帝内经·灵枢·刺节真邪》中记载:“虚邪之入于身也深,寒与热相搏,久留而内著,寒胜其热,则骨疼肉枯,热胜其寒,则烂肉腐肌为脓,内伤骨,内伤骨为骨蚀。”

现代医家的观点也与之相似,以中医整体观为出发点,将骨肉瘤的病因分为内因、外因和不内外因。内因包括个人体质、精神状态、年龄、遗传等因素,外因即为机体感受外邪的侵袭,外邪又称“六淫”,是机体外感疾病的主要致病因素,包括“风、寒、暑、湿、燥、火”6种邪气,与骨肉瘤的发生密切相关,而在当今社会,所谓的外邪还应该包括超出

人体健康承受范围之外的空气污染、化学污染及各种辐射等对机体有损害的不利因素,除去以上2种原因之外,不内外因也是骨肉瘤发病的重要原因之一,人体常因先天禀赋不足,又饮食偏嗜、喜食肥甘厚味,并且易受“喜、怒、忧、思、悲、恐、惊”七情所伤,或因暴力及金石外伤等因素损伤机体骨骼,又复感外邪侵袭等内外作用,致使人体气血凝滞,脏腑功能失调,经络不通,导致肿瘤的产生。

2.2 中医对骨肉瘤的治疗经验积累 在现代临床上,根据骨肉瘤的发病原因在辨证上将其分为血瘀证、痰瘀互结证、肾阳虚证、脾肾阳虚证、气血两虚证、肾阴虚证等六种证型,治疗上予以活血化瘀、化痰散结、健脾益肾、补肾填精、补气养血之法^[31-32]。如孙桂芝教授认为本病的产生的根本因素是因为先天禀赋不足,肾气亏虚,肾精空弱,导致骨养无力,邪毒趁虚内侵,著而不去及后天因素所致的肾虚不固,致使气血不和、痰浊血瘀内生,在临床治疗中以本虚标实为基础,辨脾肾之盈虚,瘤毒之寒热、痰湿之有无和血瘀之利弊^[33]。遵循中医整体观念及辩论论治的特点,全方位考虑患者病情特点,综合分析骨肉瘤患者的个人体质、饮食习惯及日常生活和工作等相关因素,标本同治,内外结合、虚实兼顾,以调节机体状态的平衡为要务,恢复阴阳平衡的状态,即所谓的“阴平阳秘,精神乃治”。

中医治疗肿瘤疾病的优势不在于消除肿瘤本身,或缩小肿瘤的大小,而在于依据其辨证论治的诊治特点,基于中医理论对不同证型的肿瘤患者个体化治疗,控制肿瘤的生长及其发展,以改变患者的机体状态为基本点,提高患者的生存质量,以延长患者的生存期为终极治疗目标,使患者实现带瘤高质量生存^[34-35]。

3 PI3K/Akt/mTOR信号通路对骨肉瘤细胞的影响

3.1 PI3K/Akt/mTOR信号通路与骨肉瘤细胞增殖与凋亡 PI3K/Akt/mTOR信号通路作为细胞内重要的一条信号传导通路,与细胞的生命活动密切相关,在骨肉瘤细胞或其他肿瘤细胞中,具有加快肿瘤细胞周期运行、促进细胞增殖、抗凋亡、抑制细胞自噬及促进肿瘤新生血管生成等功能,对肿瘤的发生和发展有着十分重要的作用^[36-38]。

相关研究发现,PI3K/Akt/mTOR信号通路通过调控肿瘤细胞周期影响肿瘤细胞的增殖^[39]。Akt蛋白被上游的PI3K磷酸化激活后,能够促进细胞周期促进因子(c-Myc)的转录增加蛋白表达,并且抑制

糖原合成酶激酶-3 β (GSK-3 β)的蛋白活性,进而抑制细胞周期蛋白D₁(cyclin D₁)等与细胞周期相关蛋白的降解^[40]。同时,具有活性的Akt蛋白能够将抑癌基因p21 CIP1活化,阻断其与细胞增殖核抗原(PCNA)的结合,使PCNA与聚合酶D结合,加快骨肉瘤细胞的细胞周期,使其从G₁期过渡到S期,其下游的mTOR蛋白在被激活磷酸化后,将信号传递给下游的靶蛋白,启动蛋白翻译过程,加速细胞分裂进入S期,促进骨肉瘤细胞的大量增殖^[41]。

在影响骨肉瘤细胞凋亡方面,PI3K/Akt/mTOR通路作为一条经典的抗凋亡信号通路,能够对多种细胞凋亡家族进行干预调控,Akt蛋白被PI3K蛋白活化后,能够将促凋亡蛋白B细胞淋巴瘤-2(Bcl-2)相关凋亡促进因子(Bad)磷酸化,促进Bad与Bcl-2或B细胞淋巴瘤-xL(Bcl-xL)的分离,使得抗凋亡蛋白快速增加,从而发挥抗细胞凋亡的作用,并且激活后的Akt蛋白能够抑制细胞色素C和凋亡诱导因子(AIF)释放,激活胱天蛋白酶(Caspase)家族,在活化Caspase-9前体的基础上进一步抑制线粒体的激活途径,从而干预细胞凋亡^[42]。

3.2 PI3K/Akt/mTOR信号通路与骨肉瘤细胞自噬

在干预骨肉瘤细胞自噬方面,研究证明,PI3K/Akt/mTOR信号通路在肿瘤细胞自噬过程中起重要作用,与自噬的发生有着密切的关系^[43-44],PI3K作为信号通路的主要参与者,当其受到抑制后能够阻止其下游靶基因Akt蛋白及mTOR蛋白的磷酸化,而下游的mTOR蛋白是一种自噬负性调节激酶^[45],其mTOR C1亚型是自噬过程中发挥调节作用的上游活性因子之一,当mTOR的活性被抑制后,下游靶基因Unc-51样激酶1(ULK1)活性被激活,ULK1能够促使自噬相关蛋白(ATG)复合体的产生,增加微管相关蛋白轻链3(LC3)II/LC3I^[46],使LC3II通过自噬相关蛋白Atg3及Atg7的调节下转移至细胞膜演变成自噬小体,促进骨肉瘤细胞的自噬。

3.3 PI3K/Akt/mTOR信号通路与骨肉瘤细胞血管化

在影响肿瘤新生血管生成方面,血管内皮生长因子(VEGF)作为促进血管内皮生长最有效的细胞因子^[47],其上游基因缺氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)在诱导新生血管生成中占据主要地位,VEGF因子通过与其蛋白上的结合位点与HIF-1 α 结合发挥调控肿瘤新生血管的生成^[48]。当PI3K中的催化亚基(p110)被激活后,能够诱导VEGF蛋白的表达从而使细胞内皮迁移,且下游磷酸化后的Akt蛋白和mTOR蛋白能够上调HIF-1 α 的表达水平,进一步

激活VEGF促进新生血管的形成^[49]。

4 中药单体干预PI3K/Akt/mTOR信号通路治疗骨肉瘤

4.1 抑制骨肉瘤细胞增殖

肿瘤细胞增殖是肿瘤组织生长的基础,也是肿瘤细胞转移和侵袭的前提。肿瘤细胞具有自泌或内分泌性产生促增殖因子的能力,在机体内具有不受控增殖性的特性。相关研究证明,在骨肉瘤的发生和发展过程中PI3K/Akt/mTOR信号通路经常被激活,激活后的信号通路发挥相关调节作用,影响肿瘤细胞的增殖和侵袭^[50-52]。第10号染色体缺失的磷酸酶和张力蛋白同源基因(PTEN)是具有磷酸酶活性的抑癌基因,通过将PIP3转化为PIP2,并且催化其产生其他反应从而抑制细胞的增殖^[53-54]。PTEN在多种类型的肿瘤细胞中都存在异常表达,作为Akt蛋白的关键负性调节因子,在信号通路的传导过程中起着十分重要的作用,能够对PI3K/Akt信号通路起到负向调节的作用^[37]。现代研究证明,通过调节抑癌基因PTEN的表达或使用PI3K/Akt/mTOR信号通路抑制剂,均可抑制肿瘤细胞的增殖及逆转肿瘤细胞的多药耐药。WANG等^[55]探究白皮杉醇(PIC)对骨肉瘤细胞U2OS和MG-63的影响,发现PIC能够使肿瘤细胞在G₂期延迟,在G₁和S期细胞百分比降低,并且下调了磷酸化(p)-PI3K、p-Akt、p-mTOR在细胞体内的表达水平,在加入通路激动剂740Y-P后,能够逆转PIC对肿瘤细胞增殖的抑制作用,说明PIC抑制骨肉瘤细胞的增殖和诱导凋亡的机制通过抑制PI3K/Akt/mTOR通路活性来实现。吴琪等^[56]通过研究发现丹皮酚联合顺铂可明显下调骨肉瘤细胞中PI3KCA、Akt、mTOR mRNA等蛋白的表达,上调PTEN mRNA表达,从而阻断PI3K/Akt/mTOR信号通路靶基因的表达,发挥抑制肿瘤细胞增殖的作用。杨志强等^[57]探究紫草素(SK)抗骨肉瘤的作用机制,研究发现SK能够抑制骨肉瘤细胞U2OS和MG-63的增殖,且抑制程度随浓度和时间的增加而增强,SK能够降低肿瘤细胞中p-Akt、p-PI3K和细胞增殖核抗原67(Ki67)的表达水平且上调切割的(cleaved)Caspase-3/Caspase-3和Bcl-2相关X蛋白(Bax)/Bcl-2,应用PI3K激活剂IGF-1后,能够显著逆转SK对肿瘤细胞的抑制作用,说明SK可能是通过抑制PI3K/Akt通路的活性从而抑制骨肉瘤细胞的增殖。蛇床子素作用于骨肉瘤U-2OS细胞后,能够下调肺腺癌转录物1(MALAT1)的表达水平,并且能够下调细胞中p-PI3K、p-Akt、基质金属蛋白酶-

2 (MMP-2)、MMP-9 等蛋白的表达水平,而当 MALAT1 过表达时,蛇床子素对以上蛋白的抑制作用有所减弱,说明蛇床子素抑制肿瘤细胞的增殖和转移可能与下调 MALAT1、阻断 PI3K/Akt 信号通路有关^[58]。

4.2 促进骨肉瘤细胞凋亡 细胞凋亡,被公认为是一种正常的程序性细胞死亡,对胚胎细胞的正常发育和维持细胞稳态有着十分重要的意义。机体内的一系列分子机制指导去除恶性或异常细胞,这一事件是由外部信号(如细胞死亡受体的触发)或由线粒体依赖的内在级联激活的,而肿瘤细胞则利用一系列分子过程来逃避凋亡,造成细胞凋亡失调,加速了非典型细胞的增殖及其对抗癌治疗药物的耐药性。PI3K/Akt/mTOR 信号通路作为控制细胞生命周期的重要细胞内通路,始终与细胞的增殖和存活紧密相关,在大多数的癌症中,这条信号通路变得过度活跃,最终通过抑制细胞凋亡而导致无限制的增殖。WU 等^[59]通过采用不同浓度的原花青素 B₂ 处理 MNNG 和 143B 骨肉瘤细胞株,实验结果显示,不同浓度的原花青素 B₂ 处理后,骨肉瘤细胞株中的促凋亡蛋白 Bax、cleaved Caspase-9、cleaved Caspase-3 和切割的多聚二磷酸腺苷核糖聚合酶降解产物(cleaved PARP)的蛋白表达水平都随着原花青素 B₂ 浓度的增加而增加, Bcl-2、PI3K、Akt mRNA、p-PI3K 和 p-Akt 等蛋白的表达水平均显著降低,并且通过应用 PI3K 激活剂 740Y-P 激活 PI3K/Akt 信号通路研究发现,PI3K 激活剂 740Y-P 可以逆转原花青素 B₂ 对骨肉瘤细胞增殖和凋亡的影响,降低 OS 细胞的凋亡率,这些结果证实了原花青素 B₂ 通过抑制 PI3K/Akt 信号通路抑制 OS 细胞增殖并诱导其凋亡。勾旭升等^[60]探究槲皮素对软骨肉瘤细胞(SW1353)线粒体的抑制机制,研究发现槲皮素能够上调肿瘤细胞中 ROS、Bax 水平,并下调 p-Akt、Bcl-2 的表达水平,通过抑制 Akt 蛋白的活化,导致线粒体功能下降,从而启动肿瘤细胞内线粒体的凋亡程序,促进凋亡。曲国欣等^[61]发现木犀草素可以降低骨肉瘤 U2OS 细胞 p-PI3K、p-Akt、磷酸化核转录因子- κ B(NF- κ B)抑制蛋白激酶(p-IKK)、NF- κ B 等蛋白的表达,上调 Bax、Caspase-2 mRNA 表达水平,并且下调 Bcl-2 mRNA 的表达,证明木犀草素能够通过抑制 PI3K/Akt/NF- κ B 信号通路的活性从而促进肿瘤细胞的凋亡。研究发现,松乳菇多糖能够通过 PI3K/Akt 通路抑制 MG-63 移植瘤裸鼠肿瘤的生长,降低瘤重,并且促进组织中肿瘤细胞

的凋亡率,其作用途径与其下调 PI3K、Akt、p-Akt 蛋白的表达水平相关^[62]。

4.3 诱导骨肉瘤细胞自噬 自噬是指老化或受损的细胞器被内质网包围的过程,其产生的小泡被称为自噬体,与溶酶体融合后形成自噬溶酶体进行降解过程,从而清除细胞内受到损伤的细胞器、蛋白质及侵入机体的病原体,从而改善细胞内环境,被认为是一个重要的细胞代谢过程^[63-64]。PI3K/Akt/mTOR 信号通路因机体损伤或者氧化应激被激活,PI3K 被激活后,上调与自噬过程相关的关键调节因子,PI3K 磷酸化 Akt 的两个磷酸化残基 Thr308 和 Ser473 位点,使 Akt 蛋白活化,活化后的 Akt 磷酸化 mTOR, mTOR 是细胞生长和代谢的关键调节剂。ZHANG 等^[65]发现灵芝破壁孢子水提取物能诱导骨肉瘤细胞 HOS、U2OS 自噬,促进了 HOS 和 U2OS 细胞凋亡小体和自噬小体的形成,通过诱导骨肉瘤细胞的自噬启动和增加自噬体积来阻断自噬通量。LIU 等^[66]通过研究发现人参皂苷 Rg₅ 能有效抑制人骨肉瘤细胞增殖,且呈剂量依赖关系, Rg₅ 降低了 PI3K、Akt 和 mTORC1 的磷酸化激活,PI3K/Akt 刺激因子 IGF-1 逆转了 Rg₅ 诱导的 MG-63 细胞自噬,证实了 Rg₅ 通过自噬相关蛋白 LC3 介导的自噬途径诱导人骨肉瘤细胞凋亡,在生理条件下,激活 PI3K/Akt/mTORC1 可抑制 LC3 活性,而 Rg₅ 通过抑制通路的活化来激活 LC3。

4.4 抑制骨肉瘤血管新生 肿瘤新生血管的生成,是肿瘤细胞增殖的必要条件。新生血管的生成成为肿瘤组织提供了增殖和生长所需的氧气和营养物质,还为肿瘤细胞向周围组织侵袭进程中进入循环系统完成转移提供了条件。VEGF 作为一种重要的促血管生成因子, VEGF 及其家族(VEGF-A、VEGF-B、VEGF-C、VEGF-D)能够特异性地促进血管内皮细胞进行分裂、增殖及迁移等生命活动,并且能够参与多种类型肿瘤疾病的发生和后续发展,其作用十分强大,能够促使相关的血管壁通透性增高、促进相应血管支持物的生成及血管内皮细胞的增殖,进而促使肿瘤新生血管的生成。VEGF 是血管平衡转换中的关键因子^[67],其家族成员 VEGF-A 在 OS 细胞中呈现高表达水平状态,并与肿瘤的复发、转移及预后呈正相关^[68]。相关研究证明,通过抑制 PI3K/Akt 通路的活性可以阻断 HIF-1 α /VEGF 相关蛋白的表达,减少肿瘤新生血管的生成,从而抑制骨肉瘤细胞的生长^[48]。mTOR 蛋白作为 Akt 的下游的靶蛋白,不仅能够促进 VEGF 蛋白的表达^[69],

而且能够调节 STAT3 的活化进而促进血管新生^[70], 因此通过干预 PI3K/Akt/mTOR 信号通路能够抑制肿瘤新生血管的生成, 进而抑制骨肉瘤的发展。将中药单体抗骨肉瘤的相关机制总结, 见增强出版附加材料。

5 问题与展望

骨肉瘤作为临床上常见的原发性恶性骨肿瘤, 具有较高的肺转移率和病死率, 给患者的生存带来了严重的威胁。现代医学对于 OS 的治疗以新辅助化疗联合保肢技术为主, 临床上尚未发现特效的治疗药物和治疗方法。随着对骨肉瘤发病机制的深入认识, 研究发现骨肉瘤的发生和发展与肿瘤细胞内的 PI3K/Akt/mTOR 信号通路的传导活性紧密相关, 作为骨肉瘤细胞内一条重要的信号传导通路, PI3K/Akt/mTOR 信号通路可以通过调控骨肉瘤细胞的自噬、增殖与凋亡、血管新生等多种途径影响骨肉瘤。因此, 基于此条信号通路进行抗肿瘤药物的研究具有广阔的发展前景。本文系统阐述了骨肉瘤与 PI3K/Akt/mTOR 信号通路之间的关系及中药单体调控 PI3K/Akt/mTOR 信号通路治疗骨肉瘤的研究进展, 发现中药单体能够通过干预调控 PI3K/Akt/mTOR 信号通路的活性从而达到抑制肿瘤细胞增殖, 诱导肿瘤细胞凋亡和自噬及抗肿瘤新生血管生成的作用, 在调节靶基因治疗方面有着显著的治疗效果, 且药物的副作用相对较少。

因此, PI3K/Akt/mTOR 信号通路可能是骨肉瘤靶向治疗的有效手段。综合现有的国内外研究现状, 中药单体主要通过调控 PI3K/Akt/mTOR 信号通路途径抑制骨肉瘤细胞增殖、促进细胞凋亡、诱导细胞自噬、抑制血管化进程等方面具有良好的效果, 但目前的研究主要停留在中药单体对骨肉瘤治疗的基础实验研究阶段, 多为药物作用于体外骨肉瘤细胞系的研究, 异种移植动物模型类研究相对较少, 缺少相关的体内临床研究, 未验证对人体骨肉瘤防治的有效性和安全性, 并且未对在辨证论治体系指导下的中药复方和中成药治疗骨肉瘤的机制进行探究, 忽视了中医药组方配伍的优势, 且没有形成行业内统一的骨肉瘤疾病的中医诊断标准及证候分类标准, 因此严重制约了中医药对骨肉瘤辨证论治水平的提高和相关学术的发展和进步。

因此, 在今后的研究中应该加强对骨肉瘤的临床证候研究, 将现代医学和现有的研究成果相结合, 多学科交叉深入研究骨肉瘤的病因病理及 PI3K/Akt/mTOR 信号通路的作用机制, 探究多条信

号通路相互作用的关系, 运用大数据分析及网络药理学等技术手段进行新的药物作用靶点预测, 利用现代医药科技技术, 将中药单体与方剂配伍规律相结合, 研制出疗效更加突出, 作用靶点更加明确, 价格低廉的抗肿瘤药物, 充分发挥中医药多生物活性成分、多靶点、多通路协同作用的治疗优势, 体现出中医药防治骨肉瘤的作用和价值。

[参考文献]

- [1] HE J W, LI D J, ZHOU J H, et al. SP1-mediated upregulation of lncRNA LMCD1-AS1 functions as a ceRNA for miR-106b-5p to facilitate osteosarcoma progression [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 526(3): 670-677.
- [2] ANDERSEN G B, KNUDSEN A, HAGER H, et al. miRNA profiling identifies deregulated miRNAs associated with osteosarcoma development and time to metastasis in two large cohorts [J]. *Mol Oncol*, 2018, 12(1): 114-131.
- [3] HASHIMOTO K, NISHIMURA S, OKA N, et al. Outcomes of comprehensive treatment for primary osteosarcoma [J]. *SAGE Open Med*, 2020, doi: 10.1177/2050312120923177.
- [4] TAN G J S, GERRAND C H, RANKIN K S. Blood-borne biomarkers of osteosarcoma: A systematic review [J]. *Pediatr Blood Cancer*, 2019, 66(1): e27462. doi:10.1002/pbc.27462.
- [5] LIU Y, LIAO S, BENNETT S, et al. STAT3 and its targeting inhibitors in osteosarcoma [J]. *Cell Prolif*, 2021, 54(2): e12974.
- [6] ISAKOFF M S, BIELACK S S, MELTZER P, et al. Osteosarcoma: Current treatment and a collaborative pathway to success [J]. *J Clin Oncol*, 2015, 33(27): 3029-3035.
- [7] CAO Y, LI Z, MAO L, et al. The use of proteomic technologies to study molecular mechanisms of multidrug resistance in cancer [J]. *Eur J Med Chem*, 2019, 162:423-434.
- [8] ZHANG Y, YANG J, ZHAO N, et al. Progress in the chemotherapeutic treatment of osteosarcoma [J]. *Oncol Lett*, 2018, 16(5): 6228-6237.
- [9] 流小舟, 于沂阳, 施鑫, 等. 骨肉瘤复发患者的转归及影响长期生存的因素分析——一项基于多中心骨肉瘤复发患者的长期随访研究 [J]. *中华骨科杂志*, 2018, 38(18): 1089-1096.
- [10] 周沁阳, 蔡文涛, 陈勇. 中药抗流感病毒活性及作用机制研究新进展 [J]. *中草药*, 2019, 50(7): 1719-

- 1726.
- [11] 王利,许言午,何建成. 基于“细胞因子风暴”探讨中医药治疗重型、危重型新型冠状病毒肺炎[J]. 中华中医药学刊, 2020, 38(6): 18-22,260.
- [12] 汤涛,董伟,张婧,等. 中药单体成分逆转肿瘤多药耐药的研究进展[J]. 中草药, 2017, 48(4): 792-797,846.
- [13] SHA L, MA D, CHEN C. Exosome-mediated Hic-5 regulates proliferation and apoptosis of osteosarcoma via Wnt/beta-catenin signal pathway [J]. Aging (Albany NY), 2020, 12(23): 23598-23608.
- [14] REN S, ZHANG X, HU Y, et al. Blocking the Notch signal transduction pathway promotes tumor growth in osteosarcoma by affecting polarization of TAM to M2 phenotype [J]. Ann Transl Med, 2020, 8(17): 1057.
- [15] JIAO Y, GUO Y, FAN Y, et al. Triggering of apoptosis in osteosarcoma 143B cell line by carbon quantum dots via the mitochondrial apoptotic signal pathway [J]. Biomed Res Int, 2020, doi: 10.1155/2020/2846297.
- [16] GAO X, ZHANG C, WANG Y, et al. Berberine and cisplatin exhibit synergistic anticancer effects on osteosarcoma MG-63 cells by inhibiting the MAPK pathway [J]. Molecules, 2021, 26(6):1666.
- [17] TAPIA O, RIQUELME I, LEAL P, et al. The PI3K/Akt/mTOR pathway is activated in gastric cancer with potential prognostic and predictive significance [J]. Virchows Arch, 2014, 465(1): 25-33.
- [18] FAN D, LIU Q, WU F, et al. Prognostic significance of PI3K/Akt/mTOR signaling pathway members in clear cell renal cell carcinoma [J]. PeerJ, 2020, doi: 10.7717/peerj.9261.
- [19] EDIRIWEERA M K, TENNEKOON K H, SAMARAKOON S R. Role of the PI3K/Akt/mTOR signaling pathway in ovarian cancer: Biological and therapeutic significance [J]. Semin Cancer Biol, 2019, 59:147-160.
- [20] LIU Q, WANG Z, ZHOU X, et al. miR-485-5p/HSP90 axis blocks Akt1 phosphorylation to suppress osteosarcoma cell proliferation and migration via PI3K/Akt pathway [J]. J Physiol Biochem, 2020, 76(2): 279-290.
- [21] 苏华华,王艳华. PI3K/Akt/mTOR信号通路在骨肉瘤中的作用[J]. 生命的化学, 2021, 41(5): 964-971.
- [22] CHIO C C, LIN M T, CHANG C P. Microglial activation as a compelling target for treating acute traumatic brain injury [J]. Curr Med Chem, 2015, 22(6): 759-770.
- [23] VANHAESEBROECK B, WHITEHEAD M A, PINEIRO R. Molecules in medicine mini-review: Isoforms of PI3K in biology and disease [J]. J Mol Med (Berl), 2016, 94(1): 5-11.
- [24] RISSO G, BLAUSTEIN M, POZZI B, et al. Akt/PKB: One kinase, many modifications [J]. Biochem J, 2015, 468(2): 203-214.
- [25] CONCHE C, SAUER K. Uncovering the PI3Ksome: Phosphoinositide 3-kinases and counteracting PTEN form a signaling complex with intrinsic regulatory properties [J]. Mol Cell Biol, 2014, 34(18): 3356-3358.
- [26] HERSCHBEIN L, LIESVELD J L. Dueling for dual inhibition: Means to enhance effectiveness of PI3K/Akt/mTOR inhibitors in AML [J]. Blood Rev, 2018, 32(3): 235-248.
- [27] SIMPSON D R, MELL L K, COHEN E E. Targeting the PI3K/Akt/mTOR pathway in squamous cell carcinoma of the head and neck [J]. Oral Oncol, 2015, 51(4): 291-298.
- [28] 宋紫临,吴丽丽,秦玲玲,等. PI3K/Akt信号通路与糖尿病的研究进展[J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2019, 21(6): 1264-1269.
- [29] HUANG S. mTOR signaling in metabolism and cancer [J]. Cells, 2020,9(10):2278.
- [30] DUAN Y, HAYBAECK J, YANG Z. Therapeutic potential of PI3K/Akt/mTOR pathway in gastrointestinal stromal tumors: Rationale and progress [J]. Cancers (Basel), 2020, 12(10):2972.
- [31] 严卿莹,刘云霞,姚勇伟,等. 基于数据挖掘和网络药理学研究原发性骨肿瘤的用药规律及作用机制[J]. 浙江中西医结合杂志, 2021, 31(9): 817-823.
- [32] 司富春,丁帅伟. 骨肉瘤中医证型与方药分析研究[J]. 世界中西医结合杂志, 2015, 10(7): 903-907.
- [33] 王辉,孙桂芝. 孙桂芝治疗骨肉瘤经验[J]. 世界中医药, 2012, 7(1): 21-22.
- [34] 程海波,姚志华,李柳,等. 中医肿瘤“带瘤生存”学术思想探讨[J]. 时珍国医国药, 2016, 27(6): 1436-1437.
- [35] LIU J, WANG S, ZHANG Y, et al. Traditional Chinese medicine and cancer: History, present situation, and development [J]. Thorac Cancer, 2015, 6(5): 561-569.
- [36] COSTA R L B, HAN H S, GRADISHAR W J. Targeting the PI3K/Akt/mTOR pathway in triple-negative breast cancer: A review [J]. Breast Cancer Res Treat, 2018, 169(3): 397-406.

- [37] EDIRIWEERA M K, TENNEKOON K H, SAMARAKOON S R. Role of the PI3K/Akt/mTOR signaling pathway in ovarian cancer: Biological and therapeutic significance [J]. *Seminars in Cancer Biology*, 2019, 59: 147-160.
- [38] WANG S, ZHAO G, ZHAO S, et al. The effects of interleukin-33 (IL-33) on osteosarcoma cell viability, apoptosis, and epithelial-mesenchymal transition are mediated through the PI3K/Akt pathway [J]. *Med Sci Monit*, 2020, doi:10.12659/MSM.920766.
- [39] TONG C J, DENG Q C, OU D J, et al. LncRNA RUSC1-AS1 promotes osteosarcoma progression through regulating the miR-340-5p and PI3K/Akt pathway [J]. *Aging (Albany NY)*, 2021, 13(16): 20116-20130.
- [40] VERGADI E, IERONYMAKI E, LYRONI K, et al. Akt signaling pathway in macrophage activation and M1/M2 polarization [J]. *J Immunol*, 2017, 198(3): 1006-1014.
- [41] SAXTON R A, SABATINI D M. mTOR signaling in growth, metabolism, and disease [J]. *Cell*, 2017, 168(6): 960-976.
- [42] ZHU G, ZHANG Y, DONG J, et al. Association between body mass index and male sperm apoptosis and apoptosis-related factors [J]. *Diabetes Metab Syndr Obes*, 2021, 14:1043-1051.
- [43] LI Y, GUO Y, FAN Y, et al. Melatonin enhances autophagy and reduces apoptosis to promote locomotor recovery in spinal cord injury via the PI3K/Akt/mTOR signaling pathway [J]. *Neurochem Res*, 2019, 44(8): 2007-2019.
- [44] HENNESSY B T, SMITH D L, RAM P T, et al. Exploiting the PI3K/Akt pathway for cancer drug discovery [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2005, 4(12): 988-1004.
- [45] ZONCU R, EFEYAN A, SABATINI D M. mTOR: from growth signal integration to cancer, diabetes and ageing [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2011, 12(1): 21-35.
- [46] MASSIMINI M, PALMIERI C, DE MARIA R, et al. 17-AAG and apoptosis, autophagy, and mitophagy in canine osteosarcoma cell lines [J]. *Vet Pathol*, 2017, 54(3): 405-412.
- [47] HUANG M, HUANG B, LI G, et al. Apatinib affect VEGF-mediated cell proliferation, migration, invasion via blocking VEGFR2/RAF/MEK/ERK and PI3K/Akt pathways in cholangiocarcinoma cell [J]. *BMC Gastroenterol*, 2018, 18(1): 169.
- [48] PENG N, GAO S, GUO X, et al. Silencing of VEGF inhibits human osteosarcoma angiogenesis and promotes cell apoptosis via VEGF/PI3K/Akt signaling pathway [J]. *Am J Transl Res*, 2016, 8(2): 1005-1015.
- [49] LIU G L, YANG H J, LIU B, et al. Effects of microRNA-19b on the proliferation, apoptosis, and migration of Wilms' tumor cells via the PTEN/PI3K/Akt signaling pathway [J]. *J Cell Biochem*, 2017, 118(10): 3424-3434.
- [50] 张宇, 马成华, 景鹏举, 等. 低强度脉冲超声通过PI3K/Akt/mTOR信号通路抑制骨肉瘤细胞的增殖[J]. *中国医学物理学杂志*, 2021, 38(3): 355-359.
- [51] SI X, XU F, XU F, et al. CADM1 inhibits ovarian cancer cell proliferation and migration by potentially regulating the PI3K/Akt/mTOR pathway [J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, doi: 10.1016/j.biopha.2019.109717.
- [52] 陈健, 郑洋. 白藜芦醇抑制骨肉瘤细胞系MG-63细胞增殖和迁移及其机制研究[J]. *临床和实验医学杂志*, 2017, 16(1): 34-38.
- [53] LUONGO F, COLONNA F, CALAPA F, et al. PTEN tumor-suppressor: The dam of stemness in cancer [J]. *Cancers (Basel)*, 2019, 11(8):1076.
- [54] YU W, CHEN P B, CHEN F C, et al. MicroRNA-744 promotes proliferation of osteosarcoma cells by targeting PTEN [J]. *Mol Med Rep*, 2020, 21(5): 2276-2282.
- [55] WANG B, LI J. Piceatannol suppresses the proliferation and induced apoptosis of osteosarcoma cells through PI3K/Akt/mTOR pathway [J]. *Cancer Manag Res*, 2020, 12:2631-2640.
- [56] 吴琪, 陈运中, 吴高明. 丹皮酚与顺铂联用对人骨肉瘤细胞MG-63增殖、凋亡及PI3K/Akt/mTOR信号通路的影响[J]. *中国药房*, 2021, 32(4): 438-442.
- [57] 杨志强, 陈路, 张雅茜, 等. 紫草素通过调节PI3K/Akt途径抑制骨肉瘤生长和作用机制研究[J]. *中国比较医学杂志*, 2022, 32(1): 68-74,96.
- [58] 曹飞, 王大峰, 曹向军, 等. 蛇床子素下调MALAT1抑制骨肉瘤细胞U-2OS增殖与侵袭[J]. *上海中医药大学学报*, 2020, 34(5): 46-51,56.
- [59] WU X, YU H, ZHOU H, et al. Proanthocyanidin B2 inhibits proliferation and induces apoptosis of osteosarcoma cells by suppressing the PI3K/Akt pathway [J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(20): 11960-11971.
- [60] 勾旭升, 李华哲, 李冕, 等. 槲皮素对软骨肉瘤线粒体抑制机制的研究[J]. *中国矫形外科杂志*, 2021,

- 29(7): 637-640.
- [61] 曲国欣, 纪志华, 付昆, 等. 木犀草素通过调节 PI3K/Akt/NF- κ B 信号通路对骨肉瘤 U2OS 细胞 EMT 转化和细胞生物学行为的影响 [J]. 海南医学院学报, 2019, 25(21): 1601-1606.
- [62] 江波, 胡芬, 何标. 松乳菇多糖通过 PI3K/Akt 信号通路对人骨肉瘤细胞 MG-63 裸鼠移植瘤生长的抑制作用 [J]. 中国药师, 2019, 22(9): 1591-1595.
- [63] XU Z, HAN X, OU D, et al. Targeting PI3K/Akt/mTOR-mediated autophagy for tumor therapy [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2020, 104(2): 575-587.
- [64] GALLUZZI L, GREEN D R. Autophagy-independent functions of the autophagy machinery [J]. Cell, 2019, 177(7): 1682-1699.
- [65] ZHANG W, LEI Z, MENG J, et al. Water extract of sporoderm-broken spores of ganoderma lucidum induces osteosarcoma apoptosis and restricts autophagic flux [J]. Onco Targets Ther, 2019, 12: 11651-11665.
- [66] LIU M Y, LIU F, LI Y J, et al. Ginsenoside Rg₅ inhibits human osteosarcoma cell proliferation and induces cell apoptosis through PI3K/Akt/mTORC1-related LC3 autophagy pathway [J]. Oxid Med Cell Longev, 2021, doi:10.1155/2021/5040326.
- [67] HAGHI A R, VAHEDI A, SHEKARCHI A A, et al. Correlation of serum intercellular adhesion molecule 1 and vascular endothelial growth factor with tumor grading and staging in breast cancer patients [J]. J Cancer Res Ther, 2017, 13(2): 257-261.
- [68] TABONE M D, BRUGIERES L, PIPERNO-NEUMANN S, et al. Prognostic impact of blood and urinary angiogenic factor levels at diagnosis and during treatment in patients with osteosarcoma: A prospective study [J]. BMC Cancer, 2017, 17(1): 419.
- [69] YIN T, WANG G, HE S, et al. Malignant pleural effusion and ascites induce epithelial-mesenchymal transition and cancer stem-like cell properties via the vascular endothelial growth factor (VEGF)/Phosphatidylinositol 3-Kinase (PI3K)/Akt/mechanistic target of rapamycin (mTOR) pathway [J]. J Biol Chem, 2016, 291(52): 26750-26761.
- [70] JHAVERI K, TEPLINSKY E, SILVERA D, et al. Hyperactivated mTOR and JAK2/STAT3 pathways: Molecular drivers and potential therapeutic targets of inflammatory and invasive ductal breast cancers after neoadjuvant chemotherapy [J]. Clin Breast Cancer, 2016, 16(2): 113-122.

[责任编辑 张丰丰]