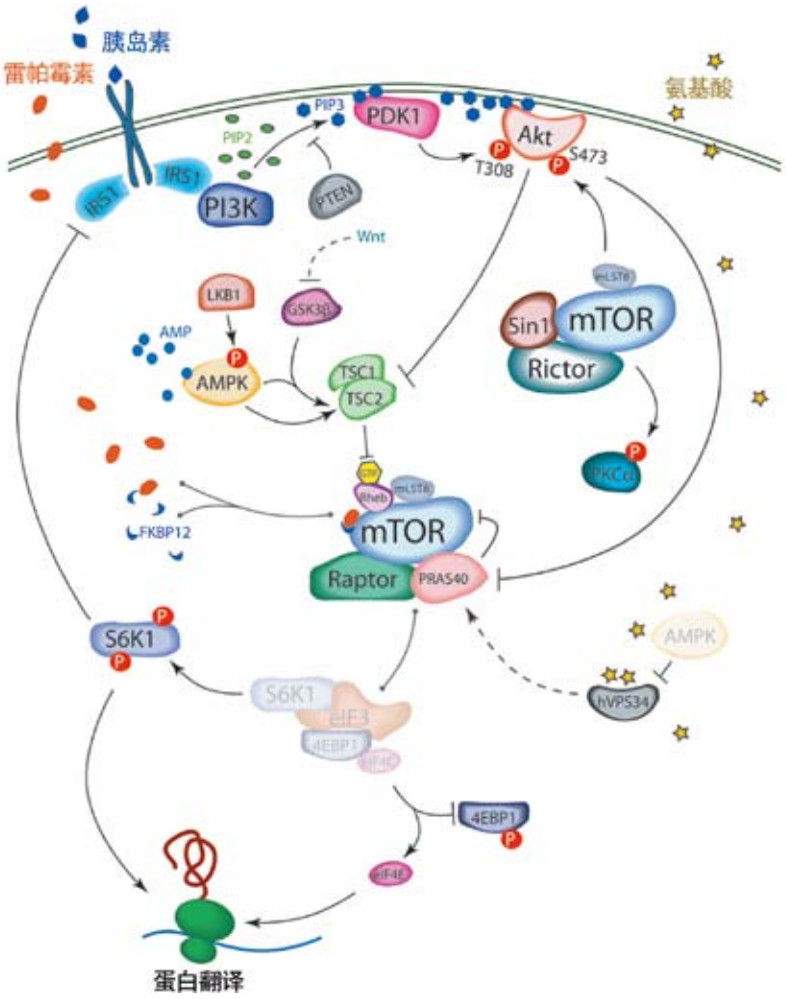


图9 哺乳动物细胞中的mTOR信号网络系统。mTORC1（即雷帕霉素敏感复合物），由mTOR、Raptor、mLST8和PRAS40组成。TSC1/2-Rheb是mTORC1主要的上游调节因子。经由TSC1/2-Rheb信号轴，mTORC1整合了细胞能级，生长因子和Wnt信号，通过磷酸化S6K1和4EBP1，来调节蛋白质翻译过程。磷酸化了的S6K1抑制IRS1功能，继而减弱胰岛素/PI3K信号传导。hVPS34已被报道能够感应mTORC1的有效性。mTORC2亚基包括mTOR、Rictor、Sin1和mLST8。mTORC2通过调节PKC和Akt控制细胞的结构和生存。mTORC2的上游调节尚未研究清楚。图中箭头表示“激活”，短横线表示“抑制”，虚线表示“结合”。
图片来源：*Cell Research*

四、几种蛋白激酶抑制剂在治疗心血管疾病方面的开发与应用

1. 调控Rho激酶的药物

Rho激酶参与多种心血管疾病的发病过程，抑制Rho激酶能够逆转相应的病理过程，因此，Rho激酶抑制剂的研制和开发对于诸多心血管病的防治具有重要的战略意义。其中研究较多的是Fasudil和Y27632。前者已经作为“世界首创的蛋白激酶抑制剂”于1999年在日本上市，用于治疗脑出血后的血管痉挛。Fasudil给药后迅速分配到各组织内，半衰期大鼠为1h，猴约114h。给药后24h内，67%的药物以原形药或异喹啉的氢

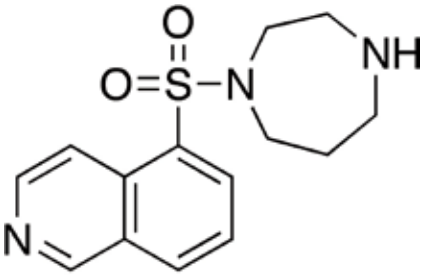


图10 Rho激酶抑制剂Fasudil的化学结构式。
图片来源：http://en.wikipedia.org/wiki/Fasudil

氧代谢产物的形式从尿中排泄。Fasudil的主要不良反应为肝功能损害、颅内出血和低血压。Y27632也能够显著抑制Rho激酶的活性，10μM的Y27632对Rho激酶活性的抑制率可以达到90%。这些抑制剂都已被用于多种心血管疾病的临床治疗[45, 46]。

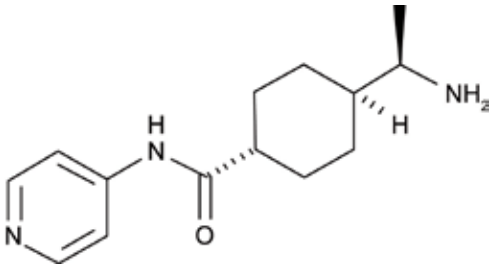


图11 Rho激酶抑制剂Y27632的化学结构式。图片来源：http://www.chemdrug.com/databases/8_0_cmbrqcxhbhjabeiu.html

1.1 Rho激酶抑制剂治疗动脉粥样硬化

在小型猪冠状动脉粥样硬化模型中，用Rho激酶抑制剂Fasudil进行8周的干预治疗，结果发现，Fasudil组冠状动脉粥样斑块明显消退；而采用非降压剂量的Fasudil则能明显抑制冠状动脉损伤，还能改善内皮舒张功能和产生超氧阴离子的功能。另外，长期应用Fasudil还能显著抑制心脏同种移植物的血管增厚以及静脉桥血管的粥样硬化样改变[47, 48]。

1.2 Rho激酶抑制剂治疗心肌缺血和心绞痛

动物实验显示，Rho激酶抑制剂Fasudil对慢性心肌缺血和心绞痛也有预防和治疗作用。Fasudil可预防加压素引起的模型动物ST段持续压低，明显缩小心肌纤维化面积，还能抑制ET-1、5-HT等诱导的冠脉血流下降和T波改变，减轻ET-1等引起的心肌坏死和炎性细胞侵润。在冠脉痉挛性心绞痛患者的冠脉内应用Fasudil可明显减轻所有患者乙酰胆碱（Ach）诱发的冠脉痉挛和心肌缺血，预防胸痛发作。进一步的研究还证实，Fasudil可能是治疗微血管性心绞痛的有效药物。最近的临床观察表明，Fasudil甚至对稳定型劳力性心绞痛患者也是有效的。给这类患者服用Fasudil能明显延长最大运动时间，剂量越大效果越好，并且患者对Fasudil耐受好，无明显副作用，说明Fasudil是安全有效治疗稳定型劳力性心绞痛的新一类扩血管药[47]。

1.3 Rho激酶抑制剂治疗高血压

短期应用Rho激酶抑制剂Y27632可降低各种高血压大鼠的血压。向SHR大鼠延髓孤束核局部注射小剂量的Y27632或hydroxyfasudil（Fasudil的活性代谢产物）可引起持续性的血压下降。另外，血管内注射Fasudil，高血压患者前壁血管的扩张反应明显高于正常血压者[49]。然而，Rho激酶抑制剂治疗高血压的远期效果尚未明确。

1.4 Rho激酶抑制剂治疗再狭窄

SMC的迁移在动脉成形术后再狭窄中起重要作用。Rho激酶抑制剂Y27632可使血管平滑肌细胞（SMC）对H^3-胸腺嘧啶的摄取明显减少，能明显抑制SMC的增殖[50]。球囊损伤大鼠颈动脉造模14天后，Y27632治疗组新生内膜形成明显少于对照组，有效防止了管腔狭窄的发生。Fasudil对内膜增殖的作用机制与Y27632不完全相同，肌球蛋白磷酸化是SMC能够完成迁移所必须的生化改变。Fasudil主要抑制肌球蛋白轻链激酶，抑制肌球蛋白磷酸化，从而抑制SMC的迁移，减少内膜增生，但并不影响SMC的增殖。冠脉损伤的小型猪服用Fasudil（5mg/ kg/d）8周后冠脉造影证实，Fasudil治疗组无明显的冠脉狭窄。

2. PKC抑制剂

Resveratrol（RV）是一种来源于包括红酒在内的饮料中的物质，通过加强内皮的完整性有助于治疗动脉硬化症和心血管疾病。RV主要通过抑制PKC-α，影响PKC的信号途径来保护心血管和内皮[51, 52]。有研究人员发现依赖Ca^{2+}的由DAG或佛波酯激活的PKC-α与膜结合能够被RV抑制，其IC_{50}都是2mmol/L。RV的抑制活性与佛波酯浓度有关，而与Ca^{2+}浓度和PS无关，说明RV是与PKC的C1区竞争从而抑制其活性。

热休克反应（HSR）发生时，PKC激活可能是心肌内源性自身保护的关键环节。Che是一种高效、高选择性的PKC抑制剂，对PKC活力呈剂量依赖性抑制作用（IC_{50} = 0. 66μmol/ L），作用部位是催化区底物蛋白结合片断，通过它可以有效抑制PKC的激活。有研究发现HSR前给予大鼠PKC抑制剂Che，大鼠MAP、Ps、Pd和HR值显著低于HSR组，心肌MDA和NO的含量却显著高于HSR组，说明PKC抑制剂Che完全阻断了HSR对热暴露大鼠心血管系统的保护作用。此亦证明HSR可通过PKC信号转导机制，减轻热暴露后的MAP、Ps和Pd等下降，抑制热暴露大鼠心肌MDA和NO的过量生成，从而对热暴露大鼠心血管系统产生保护作用。

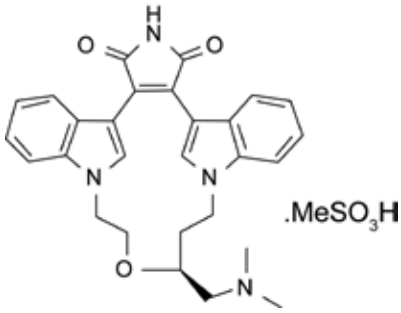


图12 PKC-β抑制剂LY333531的化学结构式。
图片来源：http://www.axonmedchem.com/product/1401ly333531.html

此外，PKC-β已被证实在心衰发展过程中具有巨大作用，因此它很可能成为治疗心衰的标靶物。PKC-β特异抑制剂LY333531在心肌肥大和衰竭模型中的效应很有意义，在治疗心衰中将会有所进展。LY333531对于PKC-β的抑制作用比PKC-α强50倍，比其它PKC亚型和激酶的抑制强250倍。在糖尿病病人的临床试验中，LY333531具有很好的耐受性并能够减轻糖尿病引起的视黄醛血液动力学异常情况。利用LY333531抑制PKC-β能够阻止正常人急性高血糖引起的内皮依赖性血管舒张[53]。

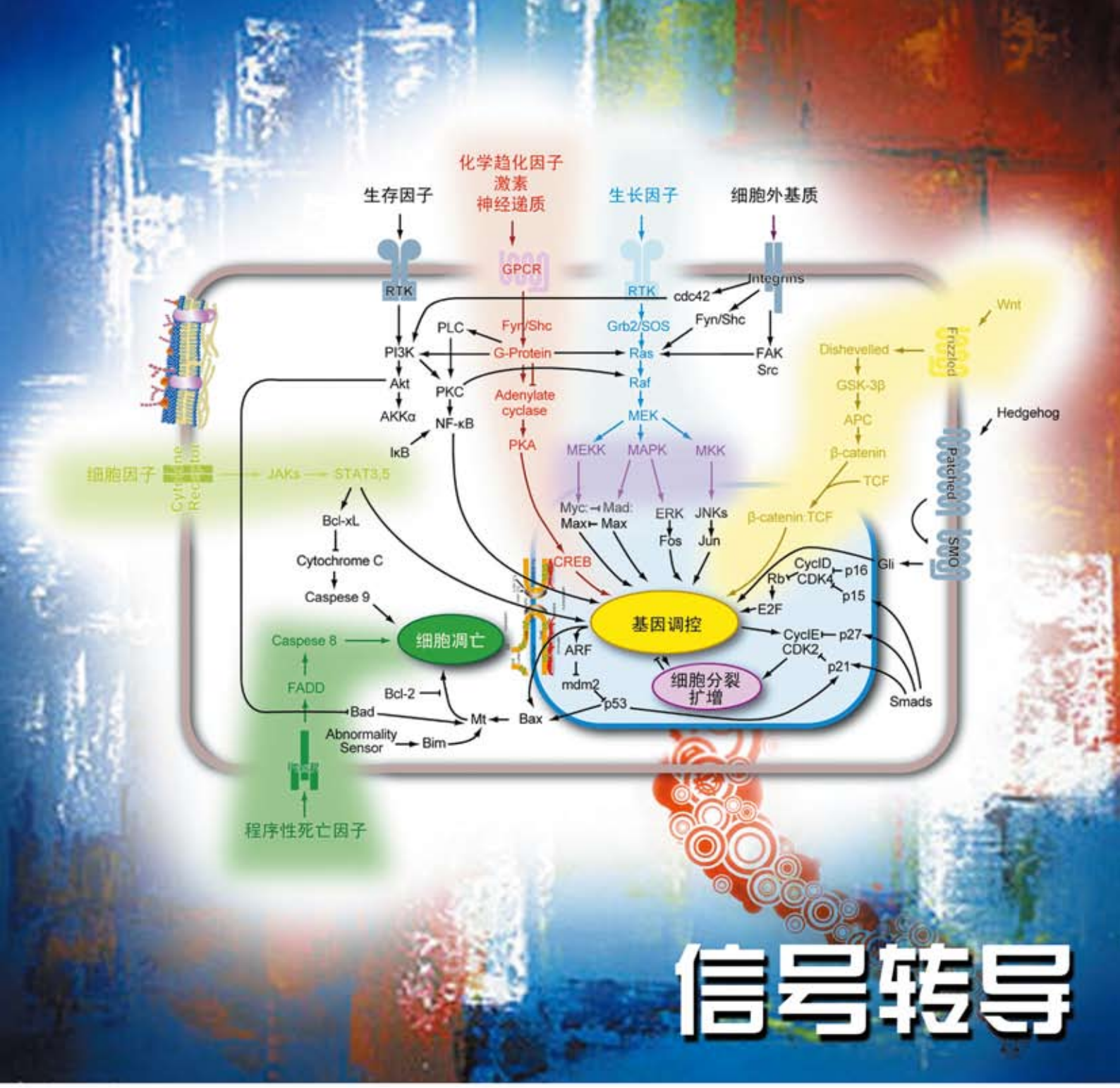
除了能够单独用药之外，PKC抑制剂还能够与ROCK抑制剂合用，治疗高血压等疾病，因为两种激酶都是通过钙敏感来调节血管紧张度的。

3. GSK-3β抑制剂

锂（Li^{+}）是第一个被发现的GSK-3β抑制剂[54]。目前，锂已经作为寻找GSK-3β抑制剂工具药而得到广泛应用，但锂抑制GSK-3β活性的机制目前尚不完全清楚，可能与锂能抑制钾的丢失或与镁（Mg^{2+}）竞争有关。GSK-3β的抑制，会导致β连环蛋白聚集在细胞质和细胞核内，这一反应具有潜在的抗凋亡和血管生成效应。在MI模型大鼠中，GSK-3β抑制剂锂和SB216763能够模拟缺血预处理介导的血管生成和心肌保护作用。

已有研究报道称，缺血后使用挥发性麻醉剂能够激活再灌注损伤补救激酶，降低心肌损伤程度。最近又发现异氟烷进行麻醉后，能通过抑制GSK-3β保护再灌注损伤。

除了在心血管疾病方面的作用，GSK-3β与糖尿病、阿尔茨海默病、中风、双向情感障碍、肿瘤和炎症等多种疾病的发生都密切相关，GSK-3β抑制剂为这些重大疾病的治疗提供了新的手段。GSK-3β抑制剂临床应用面临的一个重要问题就是选择性特异性低。随着对GSK-3β活性调节和多种疾病发病分子调节机制研究的进展，将会开发出更多具有高选择性的GSK-3β抑制剂，为多种疾病的药物治疗带来广泛的应用前景[54]。



信号转导

- Primer Array：检测样品中信号转导途径的激活情况。
- OmicsLink™ ORF克隆：组成型表达蛋白，激活信号转导途径。
- OmicsLink™ shRNA克隆：敲减基因表达，抑制级联信号途径。

GeneCopoeia™
Expressway to Discovery

GeneCopoeia, Inc.
Tel: 301-515-6982 (USA)
Fax: 301-515-6983 (USA)
Web: http://www.genecopoeia.com

复能基因
FulenGen

广州复能基因有限公司
电话：(020) 32052376、32052410、32290874
传真：(020) 32052877
公司网址：http://www.fulengen.com

4. 调节AMPK的药物

苯乙双胍（phenformin）为糖尿病病人一线用药，它通过促进组织葡萄糖的吸收、减少食物中糖的吸收及抑制糖异生来发挥降糖作用。近年有研究发现，phenformin可以通过激活AMPK从而抑制内皮细胞及血管平滑肌细胞的增殖。二甲双胍（metformin）可以降低糖尿病病人的肿瘤发生率，这与它经由AMPK抑制细胞增殖有关[55, 56]。

他汀类药物作为HMG-CoA还原酶抑制剂用于治疗高胆固醇血症，能明显降低合并有高胆固醇血症的心血管疾病患者的死亡率，并具有抑制细胞增殖的作用。AMPK激活也可磷酸化抑制HMG-CoA还原酶，降低胆固醇水平以保护心血管，它可能作用于他汀类药物的下游，但目前尚无实验证实。

瘦素早期激活AMPK有赖于AMP浓度的升高[57]，晚期则与下丘脑-交感神经系统有关。作用于中枢神经系统能够减少摄食，作用于外周则介导脂肪酸的氧化及葡萄糖的摄取，调动组织物质代谢。此外，脂联素也可激活AMPK，刺激骨骼肌脂肪酸氧化和葡萄糖摄取，抑制内源性葡萄糖产生以及抑制平滑肌细胞增殖，有抗糖尿病及抗动脉粥样硬化作用。

目前，抑制心血管重构药物的研究多集中于抗高血压药物，AMPK调节能量代谢及抑制细胞增殖的作用为血管重构的防治提供了新的思路和作用靶点。

5. p38 MAPK抑制剂

一些研究表明，亚型特异性的JNK和p38抑制剂在临床治疗心血管疾病方面具有一定的作用。如在大鼠心肌损伤模型中，一种口服的p38α MAPK抑制剂SD-282能显著改善心脏功能、减轻巨噬细胞浸润和减少心肌细胞凋亡[58]。SD-282还能改善皮下注射异丙肾上腺素所致的急性心肌损伤[59]。体外培养的大鼠心肌细胞，经过缺氧/再充氧处理，能够使线粒体ROS激活p38α MAPK，而其抑制剂SB203580能够显著抑制这一过程导致的细胞死亡。

细胞内外的各种刺激都可激活p38 MAPK信号传导通路，参与细胞增殖、分化、凋亡、坏死、细胞骨架重组及间质纤维化等各种病理生理反应。p38 MAPK在心力衰竭的过程中促进心肌重塑、细胞凋亡，直接或间接影响心肌的收缩力，但同时也有研究表明p38 MAPK对心脏也有一定的保护作用。这说明p38 MAPK在心衰发展中的作用是复杂的。

目前，高选择性以及安全的p38 MAPK抑制剂的开发正在进行中，然而虽然有大量有关该类抑制剂的体内实验，但由于其明显的肝毒性，少有药物通过II期临床。由于这一点以及p38 MAPK的各种亚型参与了许多生物过程，以此为靶点单纯设计抑制剂来作为治疗方案也许并非最好的思路。

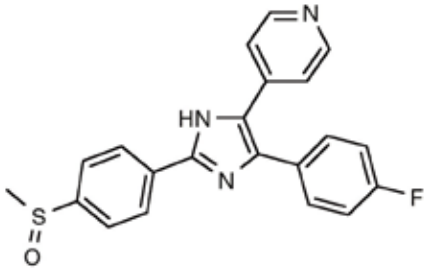


图13 p38α MAPK抑制剂SB203580的化学结构式。
图片来源：http://tong.dxy.cn/info/infoSupplyView.htm?id=ff8080811cd1c082011cdafc3f98116f

特约编辑招聘启事

为了及时收集生命科学最新资讯、提高《生命奥秘》办刊质量，现面向从事生命科学或对这学科有浓厚兴趣的科研人员、学生诚聘特约编辑（兼职）。

职位职责：

独立完成《生命奥秘》专题的策划：对基因组学、蛋白组学、生物信息学和细胞生物学等学科的发展以及生物医学领域相关技术（例如基因诊断技术、干细胞和克隆技术、生物芯片技术等）的应用进行翻译及深入评述。

选题要求内容新颖、评述精辟、注重时效和深入浅出。尤其欢迎以自身系统研究为基础的高水平译述与评论，结合所从事的科研工作提出自己的见解、今后设想或前瞻性展望。

要求：

1.具备基因组学、蛋白组学、生物信息学、细胞生物学等生命科学学科背景；
2.具备良好的生命科学前沿触觉；
3.具备较高的外文文献翻译、编译水平；
4.具备较强的选题策划、资料搜集、组织能力，以及专业稿件撰写能力；
5.具有高级职称；或者拥有（正在攻读）该领域的最高学位。

有意者请将个人简历发送至 editor@lifeomics.com
联系人：陈小姐