

水产动物雷帕霉素受体信号通路的研究进展

辛芳^{1,2}, 王雷¹, 刘梅¹, 王宝杰¹, 蒋克勇¹, 孙国琼¹

(1. 中国科学院海洋研究所, 中国科学院实验海洋生物学重点实验室, 青岛海洋科学与技术国家实验室海洋生物学与生物技术功能实验室, 山东青岛 266071; 2. 中国科学院大学, 北京 100049)

摘要: 雷帕霉素受体信号通路(mTOR 信号通路)广泛存在于真核生物细胞中, 能够接收来自营养素、生长因子或者环境胁迫等的信号, 通过调控细胞的合成代谢和分解代谢, 实现对细胞生长和生理活动的精确调控。在 mTOR 信号通路的研究中, 水产养殖动物 mTOR 信号通路的研究仅见于少数几种鱼类、对虾和蟹类, 且其研究深度远远落后于模式生物。本文综述了近年来 mTOR 信号通路的研究进展, 包括 TOR 蛋白的发现与组成, 以及参与 mTOR 信号通路的信号因子和信号通路调控生命过程的机制。同时, 本文重点阐述了 mTOR 信号通路在水产动物细胞中的研究现状, 说明了水产动物 mTOR 信号通路研究的必要性, 以期水产养殖动物 mTOR 信号通路的进一步研究提供参考。

关键词: mTOR; 雷帕霉素; 水产动物; 代谢调控

中图分类号: Q51 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2016)01-0147-08

doi: 10.11759/hyhx20150115001

传统营养学对动物机体营养代谢过程的研究, 绝大部分是在机体水平上进行的。随着分子生物学技术日渐成熟, 并快速渗透到整个生物学领域, 营养学研究也有必要从细胞和分子水平阐明营养物质或生物活性物质调控机体营养分配与代谢的途径及机制。在此背景下, 分子营养学应运而生。人类对营养学生理作用的认识经历了由整个机体水平向器官、组织、亚细胞结构及分子水平这样一个逐渐深入的过程。1985年 Artemis^[1]首次提出并使用分子营养学这个名词术语。目前关于分子营养学尚无公认的定义。一般认为, 分子营养学主要是研究营养素与基因之间的相互作用^[1]。

在分子营养学研究领域, 胰岛素/胰岛素样生长因子信号途径(IIS, insulin/IGF signaling)和雷帕霉素受体信号通路(mTOR, mechanistic target of rapamycin signaling)是广泛存在于后生动物的两条与生长和营养密切相关的信号途径。其中 mTOR 途径也存在于一些无 IIS 的系统中, 如植物和酵母, 可见 mTOR 是一种更广泛更原始的细胞生长调节途径。近几十年来, 以酵母、线虫、果蝇和小鼠等为代表的模式生物的 mTOR 信号途径成为研究的热点, 并已取得系统的研究成果。

目前国内外水产动物营养研究, 大多是在机体水平上研究各种营养素对机体的作用、在机体内的代谢与平衡、影响机体吸收营养素的因素等问题。

随着鱼粉、鱼油资源的日益紧缺, 水产动物精准营养饲料研究已经成为亟待解决的问题。鱼粉、鱼油替代基础理论, 营养与抗应激, 营养与免疫, 营养与动物健康, 产品品质提升技术等成为水产动物营养研究的重要方向^[2]。日粮营养对于动物生长、代谢以及免疫的影响, 其根本机制必须通过分子水平的研究才能得到科学的分析和解释^[3]。开展水产动物分子营养学研究可以通过对不同营养状态下动物个体基因表达谱的差异分析, 发现更多用于评价营养状态的分子标记物, 有助于确定水产动物的营养需要量^[4]。此外, 随着消费者对水产动物品质的要求越来越高, 通过对营养素代谢途径的深入解析有助于开发特种饲料以调控营养代谢途径进而提升水产品品质。同时, 随着在分子水平对营养代谢和免疫机能调控途径交互作用的深入认识, 通过营养强化提升水产动物的健康水平也将具备更坚实的理论基础和指导。由此可见, 传统营养学理论和方法与分子营养学相结合才能更好地适应养殖发展的需求。目前, 从分子水平研究水产动物营养刚刚起步, 而针对甲壳动物

收稿日期: 2015-06-08; 修回日期: 2015-10-17

基金项目: 国家自然科学基金项目(41406151)

[Foundation: Program of National Natural Science Funds of China (41406151)]

作者简介: 辛芳(1989-), 女, 山东日照人, 硕士研究生, 研究方向为水产动物分子营养学, 电话: 0532-82898723, E-mail: rzxinfang@163.com; 刘梅, 通信作者, 电话: 0532-82898722, E-mail: liumei@qdio.ac.cn

的分子营养学研究更是鲜有报道。在 mTOR 信号通路的研究方面,水产养殖动物的 mTOR 信号通路研究仅见于少数几种鱼类、对虾和蟹类,而且研究深度远远落后于模式生物。

作者综述了近年来 mTOR 信号通路的研究进展并重点阐述了其在水产动物细胞中的研究现状,以期水产养殖动物 mTOR 信号通路的进一步研究提供参考。

1 TOR 蛋白

TOR(target of rapamycin)蛋白最初是在研究芽殖酵母对真菌毒素和免疫抑制剂雷帕霉素(rapamycin)的抗性突变中发现的^[5]。TOR 是雷帕霉素(rapamycin, RAPA)的靶蛋白。雷帕霉素在真核细胞内的受体是一个 12KDa 的小分子蛋白质,称为 FK506 结合蛋白 12(FK506-binding protein 12, FKBP12),而 FKBP12-RAPA 复合物的靶向物质是 TOR, FKBP12 与 RAPA 结合可以抑制 TOR 的活性^[6]。

TOR 蛋白是一个大分子、多结构域的丝氨酸/苏氨酸激酶,属于磷酸肌醇-3-激酶相关的激酶家族,含有一个 16-20 个氨基酸的 N 末端 HEAT 结构域、位于中间的 FAT 结构域(focal adhesion targeting domain)和 FRB 域(FKBP12-rapamycin binding domain)、位于 C 末端的激酶结构域和 FATC 域(focal adhesion targeting domain of C-terminal domain)。从酵母到哺乳动物,所有的 TOR 蛋白初级结构高度保守。雷帕霉素通过与 FKBP12 形成复合体进而迅速结合激酶结构域上游一个保守区域从而抑制 TOR 蛋白的功能。另外,有研究认为在 FATC 域与激酶域之间有一个 NRD 域(negative regular domain),是 TOR 的负性调节结构域^[7]。由于 TOR 包含的几个相互独立的结构域都能够和特定蛋白质发生相互作用,因而 TOR 能结合不同蛋白质发挥其功能作用。

在模式生物中的研究发现, TOR 通过形成 2 种不同的复合体行使其功能: TOR-Raptor 复合物 TORC1 和 TOR-Rictor 复合物 TORC2,其中 TORC1 对雷帕霉素敏感,主要参与生长的调控^[8-9]。目前已知 TORC1 含有 6 个蛋白组份:催化亚基 TOR 蛋白;参与底物识别的调控蛋白 Raptor;负向调控因子 PRAS40 和 Deptor;正向调控因子 mLST8(也称为 GβL);以及 Tti1/Tel2f 复合物^[10]。TORC2 对雷帕霉素不太敏感^[11],主要蛋白组分有:催化亚基 TOR 蛋白、mLST8、Deptor、Tti1/Tel2 复合物、Rictor、mSin1

和 Protor1/2;主要功能是参与肌动蛋白细胞骨架的构建^[10]。

2 mTOR 信号通路参与调控的生命过程及调控机制

在机体细胞中, mTOR 信号通路接收来自于营养、生长因子或者环境胁迫等信号,通过调控细胞的合成代谢和分解代谢,实现对细胞生长和生理活动的精确调控。

2.1 TOR 蛋白上游信号传导

在 TOR 蛋白的上游,多种因子包括雷帕霉素、生长因子、环境胁迫和营养等都可调控 TORC1 的功能^[12]。

雷帕霉素通过结合 FKBP12 蛋白直接抑制 TOR 的活性^[13],当 FKBP12-RAPA 复合物结合于 TOR 的 FRB 域,则抑制 TOR 的活性,使信号不能继续传导。

激素和生长因子通过 PI3K/Akt/TOR 信号通路实现其调控作用。PI3K/Akt/TOR 是 mTOR 的一条上游信号传导通路,与细胞生长和增殖密切相关。结合结节性脑硬化复合体(TSC, tuberous sclerosis complex)调控 TORC1 的活性^[14]。激素和生长因子可活化 PI3K(磷脂酰肌醇 3 激酶)进而激活 Akt/PKB 活性, Akt/PKB 引起的磷酸化作用可导致 TSC2 与 TSC1 二聚体复合物解聚。具有 GTP 酶激活作用的 TSC2 可激活 Rheb 的 GTP 酶活性,其可以直接磷酸化 TORC1 蛋白将其活化^[15]。

细胞的营养和能量状态通过腺苷酸活化蛋白激酶(AMPK, AMP-activated protein kinase)将信号传递给 TOR^[16]。AMPK 是一种丝氨酸/苏氨酸激酶,作为关键的能量感受器存在于所有真核生物中。当细胞营养和能量匮乏时, AMPK 通过磷酸化大量底物阻止合成代谢促进分解代谢。在营养匮乏时, AMPK 可直接磷酸化 TSC2 和 Raptor 蛋白将信号传递给 TORC1,从而阻止细胞生长,节约能量。组织缺氧也可促进 AMPK-TSC 的激活,从而抑制 TORC1 的活性。

与细胞通过 AMPK 感知能量和葡萄糖水平变化相比,氨基酸信号如何传递给 TORC1 仍所知甚少。氨基酸是细胞生长所需蛋白质的来源,是激活 mTOR 信号通路必需的因子。生长因子和其它刺激在氨基酸缺乏的情况下不能独立激活 mTOR 信号通路。尽管到目前为止,很多文章不断报道一些蛋白因

子参与了氨基酸对 mTOR 信号通路的激活作用，但是其确切的调控机制仍是一个研究热点。具有 GTP 酶活性的 Rag 蛋白家族可能处于氨基酸信号到 TORC1 之间的中心位置。此外 Rheb、Ragulator 复合物、PATs、RalA、Rab5、Arf1、mLST8、聚磷酸肌醇多激酶(IPMK)、GCN2(general control non-repressed 2) 等都参与了氨基酸到 TOR 的信号传导^[17]。

2.2 TOR 蛋白下游信号传导

在 TORC1 下游，很多参与蛋白合成、脂类代谢和能量代谢的蛋白受 mTOR 信号通路的影响以调控细胞的生长和增殖。

蛋白合成是目前了解最清楚的受 mTOR 信号通路影响的生命过程。活化后的 TOR 可以调节两条平行的调节 mRNA 翻译的信号通路：4E-结合蛋白(4E-BP)和 S6 激酶(S6K)通路。TORC1 直接磷酸化 4E-结合蛋白(4E-BP)和 S6 激酶(S6K)，从而促进蛋白合成^[18]。4E-BP1 的磷酸化激活了 cap-依赖性翻译的起始。S6K1 的磷酸化导致了参与蛋白合成的多种蛋白的转录激活和翻译的起始延伸。

除调控蛋白合成外，TORC1 也调控脂类物质合成以补充新增殖细胞的细胞膜形成。在此过程中，TORC1 主要通过调控参与脂肪酸和胆固醇合成的 SREBP1/2 转录因子发挥作用^[19]。TORC1 活性的抑制可减少 SREBP1/2 的表达并削弱它们的活性，从而显著降低脂类代谢相关基因的表达。TORC1 可通过 S6K1 和 Lipin-1 等调控 SREBP1/2 的活性。

当细胞中能量水平低时，TORC1 参与调节代谢和 ATP 产生。TORC1 通过激活 H1F1 的转录和翻

译促进糖酵解产生能量^[20]。H1F1 α 是很多糖酵解基因的正向调控因子。另一研究报道 TORC1 参与调控线粒体 DNA 的含量，其基因的表达参与氧化代谢，这一过程可能通过 PPAR- γ 共激活因子 1 α (PGC1 α)和转录因子 Ying-Yang1(YY1)之间的相互作用实现^[21]。

此外，TORC1 还参与抑制细胞的自我吞噬作用和溶酶体形成。在 TORC1 活性受到抑制时，自噬体形成并吞噬细胞质中的蛋白和细胞器并与溶酶体融合，导致细胞成分的降解和细胞成分的循环利用。TORC1 可通过多种机制参与调控自我吞噬作用。例如，TORC1 可以调控 death-associated protein1 (DAP1)-一种自噬作用的抑制因子^[22]。

截至目前，尽管分离鉴定了很多参与细胞合成或分解代谢的蛋白受到 TORC1 的影响，在基因转录水平或蛋白活性状态方面发生了改变。但是 mTOR 信号通路如何根据外界信号准确调控细胞内的营养代谢？mTOR 途径中还有那些成员尚未被发现？已经发现的蛋白成员如何发挥作用？在对蛋白质合成的调控中，除促进翻译起始之外，是否同时调控 tRNA、rRNA 的转录？各种蛋白因子之间发生怎样的相互作用从而影响细胞的合成和分解代谢？上述问题都有待于进一步的验证和解答。

mTOR 信号通路的上下游调控通路如图 1 所示。

3 水产动物 mTOR 信号通路的研究进展

与酵母、果蝇、小鼠等模式生物相比，在分子水平上研究水产动物生长代谢调控机制的报道较少。

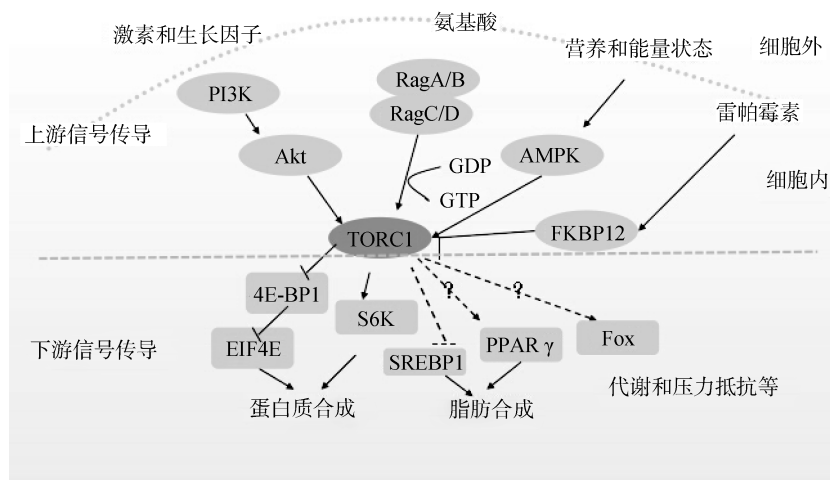


图 1 mTOR 信号通路示意图^[11]

Fig. 1 Schematic diagram of mTOR signaling pathway^[11]

到目前为止,有关 mTOR 信号途径的研究主要集中在鱼类,少数几篇报道与甲壳动物有关。

3.1 鱼类 mTOR 信号通路的研究

3.1.1 斑马鱼 mTOR 信号通路的研究

鱼类中斑马鱼作为一种模式生物,由于在细胞培养、基因工程操作方面已经具备较成熟的实验技术,而且有较完善的基因组序列信息,因此在 mTOR 信号通路调控生命过程中的作用机理方面开展了较为深入的研究。

Craig 等通过检测斑马鱼在禁食和恢复摄食后相关基因的表达变化后认为,斑马鱼是一个适于研究人体代谢类疾病的理想模型^[23]。以果糖处理斑马鱼幼鱼可导致肝脂肪积累、炎症和氧化胁迫,在此过程中, TORC1 在这种非酒精引发的脂肪肝生成过程中发挥了重要作用^[24]。除调控代谢外,斑马鱼中的研究发现, mTOR 信号通路的调控对于心肌炎的治疗有显著的效果。以 mTOR 信号通路的选择性抑制剂雷帕霉素进行心肌炎治疗可取得良好的效果^[25-28],这一治疗效果可能与 mTOR 信号途径对细胞自噬作用的调控有关^[25]。多重酰基辅酶 A 脱氢酶缺失症(Multiple Acyl-CoA Dehydrogenase Deficiency, MADD)是一种严重的线粒体功能紊乱导致的多器官功能障碍。在斑马鱼中发现一个由于基因突变导致的 MADD 突变体,改变该突变体的 mTOR 信号通路可延缓症状的产生,从而为改善疾病提供了新的治疗策略^[29]。

mTOR 信号通路除调控细胞生长和增殖外,还参与调控器官的正确形成。以雷帕霉素处理斑马鱼胚胎,除导致个体发育水平的小幅度延缓外,还导致消化道停滞在早期肠管阶段,可见 mTOR 信号通路在脊椎动物的肠道发育中参与调控上皮细胞的形成^[30]。目前的研究认为脊椎动物机体的左右不对称是由细胞表面的纤毛调控的,而 mTOR 信号通路与纤毛之间存在一个信号传递网络,通过该网络对机体的不对称发育进行调节^[31-32]。由上述研究可见,斑马鱼中关于 mTOR 信号通路的研究主要聚焦于以斑马鱼为模型,探讨人类代谢和发育相关疾病的发生机理和治疗方法。

3.1.2 养殖鱼类 mTOR 信号通路的研究

与斑马鱼相比,许多具有重要经济价值的养殖鱼类则将研究集中于探讨鱼类代谢调控本身以及饲料中重要营养素对鱼体生长和代谢相关基因表达的影响。其中以虹鳟和鲤鱼进行的研究较多。

2008 年, Seiliez 等^[33]首次报道了在鱼类中参与

mTOR 信号途径的几种与营养调控相关激酶的存在,它们的磷酸化状态在摄食后发生改变,从而开始了虹鳟的营养和代谢调控机理研究。

以 TORC1 信号途径的特异性抑制剂雷帕霉素注射虹鳟鱼,发现雷帕霉素可抑制虹鳟的 TORC1 信号通路,并进而抑制脂肪合成相关酶类的表达和活性。由此可见虹鳟鱼摄食后其肝脏脂肪合成的调节需要 TORC1 信号途径的参与^[34]。在经过遗传选育得到的肌肉脂肪含量较高的虹鳟鱼中,其肝脏的 TOR 蛋白含量显著提高,其肝脏中与脂肪合成相关的酶类表达量也显著提高,可见遗传选育导致了 mTOR 信号途径相关的脂肪合成作用的高度活化,并且可能提高了对葡萄糖的利用率^[35]。

在虹鳟鱼肌管细胞中,胰岛素和胰岛素样生长因子 IGF-I 作为合成代谢激素调控油酸和葡萄糖代谢,加入雷帕霉素后,胰岛素和 IGF-I 的调控作用受到抑制,可见虹鳟鱼体内 IIS 调控途径与 mTOR 信号途径之间存在密切的关联,共同调控机体的生长代谢^[36]。禁食的虹鳟鱼在腹腔注射雷帕霉素 4 小时后注射葡萄糖,发现雷帕霉素完全抑制了 S6K1 的激活,并对葡萄糖激酶和果糖-1,6-二磷酸酶(FBPase)有显著的抑制作用,证实了葡萄糖通过 TORC1 途径对肝脏葡萄糖激酶活性进行调节。而且与哺乳动物不同的是,高剂量雷帕霉素注射可通过抑制肝糖原异生作用提高鱼体对葡萄糖的耐受^[37]。

在虹鳟的肝细胞中,氨基酸单独作用可调控糖类和蛋白质代谢相关酶类基因的表达,但是调控方式不具有 mTOR 信号通路的作用模式,而氨基酸与胰岛素共同作用时,可产生具有典型 mTOR 通路调控模式的反应,包括脂肪合成和糖酵解的增强^[38]。在氨基酸当中,与甲硫氨酸和赖氨酸相比,亮氨酸具有更强的调控 mTOR 信号通路的作用,当其和胰岛素共同作用时,可抑制葡萄糖-6-磷酸酶的表达达 90%,提高脂肪酸合成酶基因表达达 4 倍以上^[39]。在虹鳟鱼的细胞培养基中加入氨基酸可抑制细胞自噬体形成,这一作用也与 mTOR 信号通路有关,而培养基中加入葡萄糖则起到相反的作用,而且其作用与 mTOR 信号通路无显著关联^[40]。

以重组人类肌肉生成抑制素(myostatin, MSTN)处理虹鳟肌管导致其直径缩小 20%,该作用与其对 TORC1 的抑制以及由此引发的细胞自噬作用有关^[41]。

除激素和特异的氨基酸成分以外,饲料中主要营养成分对虹鳟鱼 mTOR 信号通路也有强烈的影响,

随着饲料中蛋白/碳水化合物比例的降低, 摄食对 Akt/TOR 信号通路的激活作用也相应削弱^[42]。但是以植物蛋白和植物油替代鱼粉或鱼油并未对 mTOR 信号通路产生显著的影响^[43]。

四川农业大学周小秋研究组以鲤鱼为研究对象, 开展了多种营养素对鲤鱼生长代谢和免疫机能的影响研究, 其中 mTOR 信号途径的基因表达被作为一种重要的衡量指标。鲤鱼中的 TOR 蛋白基因序列与斑马鱼具有高度的相似性^[44]。在饲料中添加精氨酸可显著提高建鲤和草鲤肌肉中 TOR 基因的表达^[45-46]。但是其它营养素含量的提高却对 mTOR 信号途径产生了不同的影响。如色氨酸显著降低草鲤肠道 TOR 基因的表达^[47], 异亮氨酸显著提高了建鲤头肾中 TOR 基因的表达^[48], 缬氨酸不足会显著降低草鲤肠道 TOR 基因的表达^[49]。除氨基酸外, B 族维生素对建鲤脾脏 mTOR 信号通路产生正向的调控作用, 表现为 TOR 基因表达增强, 4E-BP2 基因表达降低, 但同时头肾 mTOR 信号通路产生相反的抑制作用^[50]。β-伴大豆球蛋白作为一种饲料过敏原可显著影响建鲤的生长, 其中也涉及对 TOR 基因表达的抑制^[51]。由此可见, 不同的营养素对鱼类的 mTOR 信号通路产生不同的调控作用, 在鱼体的不同器官产生的调控作用有所不同。其中更深入的机理尚待进行更加深入的探讨。

3.2 甲壳动物 mTOR 信号通路的研究

甲壳动物是一个种类丰富且古老的节肢动物类群, 它们当中一些种类长期以来作为研究动物进化、动物生理和环境适应机制的模型得到深入研究, 研究工作在水蚤类动物 *Daphnia pulex* 和 *Daphnia magna* 中进行的较为深入。然而, 我们对多数具有经济价值的甲壳动物(主要包括虾类和蟹类)的基因组和影响经济性状的基因仍所知甚少。其中与甲壳动物 mTOR 信号通路有关的研究工作包括以下几个方面。

Covi 等在地蟹 *Gecarcinus lateralis* 中发现了一种肌肉生长抑制素的同源基因 *Gl-Mstn*, 该基因的表达与地蟹螯足和胸部肌肉在蜕皮周期的生长有关^[52]。MacLea 等从三种甲壳动物中克隆了 mTOR 信号通路中的关键基因 *Rheb*, 发现 *Gl-Rheb* 基因在地蟹蜕皮前期的螯足中上调了接近 4 倍, 可推断由 *Gl-Rheb* 参与的 mTOR 信号通路在调控蜕皮周期的肌肉生长中起到重要作用^[53]。Abuhagr 等发现在离体条件下, 雷帕霉素可抑制青蟹 *Carcinus maenas* 和地蟹 *G. lateralis* 的 Y 器官分泌蜕皮激素, 表明蜕皮激

素的合成可能需要依赖 mTOR 信号通路调控的蛋白合成。在 *G. lateralis* 中, *Gl-mTOR*, *Gl-Akt* 和 *Gl-EF2* 基因在蜕皮前期的 Y 器官中表达有所提高, 但是在 *C. maenas* 中却没有发生变化^[54]。

中国科学院海洋研究所孙姝娟等首次从中国明对虾 *Fenneropenaeus chinensis* 中克隆鉴定了 TOR 蛋白的全长 cDNA 序列 *fch-TOR*, 并发现亮氨酸和精氨酸对 mTOR 信号通路具有显著的激活作用^[55]。PI3K-AKT 信号传导也是 mTOR 信号通路中的重要组分, 可参与细胞生长的调节, 国家海洋局第三海洋研究所阮灵伟等从凡纳滨对虾 *Litopenaeus vannamei* 中克隆鉴定了一个 *AKT* 基因, 并且发现 *lvakt* 可能在对虾对抗 WSSV 感染的免疫反应中起重要作用^[56]。

从已有的研究成果可见, 在甲壳动物中, mTOR 信号通路除调节生长代谢之外, 在蜕皮过程中发挥了重要的作用, 参与了内分泌系统的调节。此外, 在 mTOR 信号通路调控中, 特异氨基酸具有显著的激活作用, 其信号传导途径与免疫反应调控途径存在交叉作用。目前, 已有证据表明特殊的营养物质(如氨基酸、必需脂肪酸、维生素、矿物质)可提高水产动物的健康状况和对病害的抵抗力^[57]。通过对营养代谢和免疫调控途径的深入解析, 将有助于开发功能强化型饲料, 不仅满足养殖动物生长代谢的需要, 而且提高养殖动物的健康水平。

4 展望

在复杂的细胞生长和代谢调控网络中, mTOR 信号通路作为一种保守的细胞生长和代谢调控通路对动物个体大小、生长速度、寿命和代谢类疾病发生具有重要的调控作用, 同时与真核细胞其它生命过程调控通路存在复杂的交叉作用。mTOR 信号通路能够整合细胞、组织和个体周围复杂的营养环境信息, 并对环境做出相应的生理反应。目前对 mTOR 信号通路进行的很多研究是在动物细胞培养实验的基础上完成的, 细胞培养实验表明营养素只是 mTOR 信号通路的基础激活因子, 要更深入的了解营养素和生长因子对 mTOR 信号通路的激活作用必须进行动物的活体实验^[58]。根据不同水产动物生理结构和生长需求的差异, mTOR 信号通路在不同动物的特定生理过程中有各自特殊的功能, 因此对不同水产动物的 mTOR 信号通路进行研究显得尤为必要。

与酵母、果蝇和小鼠等模式生物相比, 经济型水产动物的生长代谢调控机理的研究报道很少。尤其

是较低等的甲壳动物和软体动物, 由于与模式生物之间的亲缘关系较远, 使得以同源克隆技术为主的传统分子生物学研究进展缓慢。随着二代高通量测序技术的日益推广, 以相对较低的经费支出获得非模式生物的基因组数据信息已经成为可能, 这为深入研究水产动物基因功能和基因表达量对生产性状的影响开辟了新的途径。当前, 为适应水产蛋白需求的提高以及野生水产动物资源的日渐减少, 水产养殖业呈现全球性的迅速增长。如何提高水产养殖业的产出一直是关注的焦点。鉴定某一养殖品种中与生长性状和代谢调控密切相关的基因以及位点是未来研究的基础。

从分子水平深入研究其调控机制不仅有助于阐明水产动物群体及个体的营养需求和代谢调控机理, 深入了解其生长规律; 也有可能从以下方面对水产养殖产生积极的推动作用。(1)通过研究水产动物细胞内参与营养物质代谢调控的分子机制, 有助于对动物营养需求进行更为精确的定性定量分析, 对必须营养成分如特定的氨基酸、脂肪酸、维生素等进行强化, 以提高饲料的营养价值, 预防和治疗营养代谢类疾病。(2) mTOR 信号通路不仅参与调控机体的营养代谢, 而且参与调控个体大小。阐明其调控机制, 对于将来通过基因工程手段改进养殖动物形状将具有理论指导意义。(3) mTOR 信号通路通过综合调控机体糖类、脂肪、蛋白质、能量的代谢维持细胞正常的生长, 深入阐明其调控机制, 使得精确调控营养走向成为可能, 使得有目的的改善水产动物某一方面的品质有了理论依据。(4) mTOR 信号通路中很多基因是结构基因或参与代谢调控的基因, 它们对性状具有直接或间接的影响。通过对这些基因的多态位点或基因型与表型性状之间的连锁分析, 有可能筛选出对数量性状具有影响的基因, 并估计出相应的效应值, 用于分子标记辅助育种, 从而培育出更具经济价值的新品种。

参考文献:

[1] 孙长灏. 营养学发展的历史回顾及展望[J]. 中华预防医学杂志, 2003, 9(37): 323-325.
Sun Changhao. Review and prospect of the development of nutriology[J]. Chinese Journal of Preventive Medicine, 2003, 9(37): 323-325.

[2] 吴群凤. 中国工程院院士麦康森: 水产动物营养参数研究至今仍不完整[J]. 水产科技情报, 2014, 41(3): 165.
Wu Qunfeng. Mai Kangsen, Academician of Chinese Academy of Engineering: Research on nutritional pa-

rameters of aquatic animals is still not complete[J]. Fisheries Science and Technology Information, 2014, 41(3): 165.

[3] 艾春香. 水产动物分子营养研究进展[J]. 福建农业学报, 2005, 20: 46-50.
Ai Cunxiang. Research progress in molecular nutriology of aquatic animal[J]. Fujian Journal of Agricultural Sciences, 2005, 20: 46-50.

[4] 李茜, 李建国. 动物分子营养学的研究进展[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2015, 1: 50-52.
Li Qian, Li Janguo. Research progress in molecular nutriology of animal[J]. Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine, 2015, 1: 50-52.

[5] Heitman J, Movva N R, Hall M N. Targets for cell cycle arrest by the immunosuppressant rapamycin in yeast[J]. Science, 1991, 253(5022): 905-909.

[6] Harding M W, Galat A, Uehling E, et al. A receptor for the immunosuppressant FK506 is a cis-trans peptidyl-prolyl isomerase[J]. Nature, 1989, 341(6244): 758-760.

[7] Hay N, Sonenberg N. Upstream and downstream of mTOR[J]. Genes & Development, 2004, 18(16): 1926-1945.

[8] Oshiro N, Yoshino K, Hidayat S, et al. Dissociation of raptor from mTOR is a mechanism of rapamycin-induced inhibition of mTOR function[J]. Genes Cells, 2004, 9(4): 359-366.

[9] Loewith R, Jacinto A E, Wullschlegel S, et al. Two TOR complexes, only one of which is rapamycin sensitive, have distinct roles in growth control[J]. Molecular Cell, 2002, 10(3): 457-468.

[10] Laplante M, Sabatini D M. mTOR signaling in growth control and disease[J]. Cell, 2012, 149(2): 274-293.

[11] Laplante M, Sabatini D M. mTOR signaling[J]. Cold Spring Harbor Perspectives in Biology, 2012, doi: 10.1101/cshperspect.a011593.

[12] Kim J, Guan K L. Amino acid signaling in TOR activation[J]. Annu Rev Biochem, 2011, 80: 1001-1032.

[13] Brown E J, Albers M W, Shin T B, et al. A mammalian protein target by G1-arresting rapamycin-receptor complex[J]. Nature, 1994, 369(6483): 756-758.

[14] Benvenuto G, Li S W, Brown S J, et al. The tuberous sclerosis-1 (TSC1) gene product hamartin suppresses cell growth and augments the expression of the TSC2 product tuberin by inhibiting its ubiquitination[J]. Oncogene, 2000, 19(54): 6306-6316.

[15] Claudio D V, Robbie L. The TOR signaling network from yeast to man[J]. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology, 2006, 38: 1476-1481.

[16] Gwinn D M, Shackelford D B, Egan D F, et al. AMPK phosphorylation of raptor mediates a metabolic checkpoint[J]. Molecular Cell, 2008, 30(2): 214-226.

[17] Jewell J L, Guan K L. Nutrient signaling to mTOR and cell growth[J]. Trends in Biochemistry sciences, 2013, 38(5): 233-242.

[18] Ma X M, Blenis J. Molecular mechanisms of mTOR-mediated translational control[J]. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 2009, 10(5): 307-318.

[19] Laplante M, Sabatini D M. An Emerging Role of

- mTOR in Lipid Biosynthesis [J]. *Current Biology*, 2009, 19(22): 1046-1052.
- [20] Duvel K, Yecies J L, Menon S, et al. Activation of a Metabolic Gene Regulatory Network Downstream of mTOR Complex 1 [J]. *Molecular Cell*, 2010, 39(2): 171-183.
- [21] Cunningham J T, Rodgers J T, Arlow D H, et al. mTOR controls mitochondrial oxidative function through a YY1-PGC-1 alpha transcriptional complex [J]. *Nature*, 2007, 450(7170): 736-740.
- [22] Koren I, Reem E, Kimchi A. DAP1, a novel substrate of mTOR, negatively regulates autophagy [J]. *Current Biology*, 2010, 20(12): 1093-1098.
- [23] Craig P M, Moon T W. Fasted zebrafish mimic genetic and physiological responses in mammals: a model for obesity and diabetes? [J]. *Zebrafish*, 2011, 8(3): 109-117.
- [24] Sapp Valerie, Gaffney Leah, EauClaire Steven F. Fructose leads to hepatic steatosis in zebrafish that is reversed by mTOR inhibition[J]. *Hepatology*, 2014, 60(5): 1581-1592.
- [25] Ding Y H, Sun X J, Xu X L. TOR-autophagy signaling in adult zebrafish models of cardiomyopathy[J]. *Autophagy*, 2012, 8(1): 142-143.
- [26] Kushwaha S, Xu X L. Target of rapamycin (TOR)-based therapy for cardiomyopathy: evidence from zebrafish and human studies[J]. *Trends in Cardiovascular Medicine*, 2012, 22(2): 39-43.
- [27] Ding Y H, Sun X J, Redfield M, et al. Target of rapamycin (TOR)-based therapeutics for cardiomyopathy insights from zebrafish genetics[J]. *Cell Cycle*, 2012, 11(3): 428-429.
- [28] Ding Y H, Sun X J, Huang W, et al. Haploinsufficiency of target of rapamycin attenuates cardiomyopathies in adult zebrafish [J]. *Circulation Research*, 2011, 109(6): 658-669.
- [29] Kim S H, Scott S A, Bennett M J, et al. Multi-organ abnormalities and mTORC1 activation in zebrafish model of multiple acyl-CoA dehydrogenase deficiency[J]. *Plos Genetics*, 2013, 9(6), e1003563, doi: 10.1371/journal.pgen.1003563.
- [30] Makky K, Tekieli J, Mayer A N. Target of rapamycin (TOR) signaling controls epithelial morphogenesis in the vertebrate intestine[J]. *Developmental Biology*, 2007, 303(2): 501-513.
- [31] DiBella L M, Park A, Sun Z X. Zebrafish Tsc1 reveals functional interactions between the cilium and the TOR pathway [J]. *Human Molecular Genetics*, 2009, 18(4): 595-606.
- [32] Burkhalter M D, Fralish G B, Premont R T, et al. Grk51 controls heart development by limiting mTOR signaling during symmetry breaking [J]. *Cell Reports*, 2013, 4(4): 625-632.
- [33] Seiliez I, Gabillard J C, Skiba-Cassy S, et al. An in vivo and in vitro assessment of TOR signaling cascade in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. *American Journal of Physiology-regulatory Integrative and Comparative Physiology*, 2008, 295(1): 329-335.
- [34] Dai W W, Panserat S, Mennigen J A, et al. Post-prandial regulation of hepatic glucokinase and lipogenesis requires the activation of TORC1 signaling in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. *Journal of Experimental Biology*, 2013, 216(23): 4483-4492.
- [35] Skiba-Cassy S, Lansard M, Panserat S, et al. Rainbow trout genetically selected for greater muscle fat content display increased activation of liver TOR signaling and lipogenic gene expression[J]. *American Journal of Physiology-regulatory Integrative and Comparative Physiology*, 2009, 297(5): 1421-1429.
- [36] Sanchez-Gurmaches J, Cruz-Garcia L, Gutierrez J, et al. Endocrine control of oleic acid and glucose metabolism in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) muscle cells in culture[J]. *American Journal of Physiology-regulatory Integrative and Comparative Physiology*, 2010, 299(2): 562-572.
- [37] Dai W W, Panserat S, Terrier F, et al. Acute rapamycin treatment improved glucose tolerance through inhibition of hepatic gluconeogenesis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. *American Journal of Physiology-regulatory Integrative and Comparative Physiology*, 2010, 307(10): 1231-1238.
- [38] Lansard M, Panserat S, Plagnes-Juan E, et al. Integration of insulin and amino acid signals that regulate hepatic metabolism-related gene expression in rainbow trout [J]. *Amino Acids*, 2010, 39(3): 801-810.
- [39] Lansard M, Panserat S, Plagnes-Juan E, et al. L-leucine, L-methionine, and L-lysine are involved in the regulation of intermediary metabolism-related gene expression in rainbow trout hepatocytes[J]. *Journal of Nutrition*, 2011, 141(1): 75-80.
- [40] Belghit I, Pansera S, Sadoul B, et al. Macronutrient composition of the diet affects the feeding-mediated down regulation of autophagy in muscle of rainbow trout[J]. *Plos One*, 2013, 8(9), e74308, doi: 10.1371/journal.pone.0074308.
- [41] Seiliez I, Taty G C T, Bugeon J, et al. Myostatin induces atrophy of trout myotubes through inhibiting the TORC1 signaling and promoting Ubiquit-Proteasome and Autophagy-Lysosome degradative pathways[J]. *General and Comparative Endocrinology*, 2013, 186: 9-15.
- [42] Seiliez I, Panserat S, Lansard M, et al. Dietary carbohydrate-to-protein ratio affects TOR signaling and metabolism-related gene expression in the liver and muscle of rainbow trout after a single meal[J]. *American Journal of Physiology-regulatory Integrative and Comparative Physiology*, 2011, 300(3): 733-743.
- [43] Lansard M, Panserat S, Seiliez I, et al. Hepatic protein kinase B (Akt)-target of rapamycin (TOR)-signalling pathways and intermediary metabolism in rainbow trout[J]. *British Journal of Nutrition*, 2009, 102(11): 1564-1573.
- [44] Jiang J, Feng L, Liu Y, et al. Mechanistic target of rapamycin in common carp: cDNA cloning, characterization, and tissue expression[J]. *Gene*, 2013, 512(2): 566-572.
- [45] Chen G F, Feng L, Kuang S Y, et al. Effect of dietary arginine on growth intestinal enzyme activities and gene expression in muscle hepatopancreas and intestine of juvenile Jian carp [J]. *British Journal of Nutrition*, 2012, 108(2): 195-207.

- [46] Wang B, Liu Y, Feng L, et al. Effects of dietary arginine supplementation on growth performance, flesh quality, muscle antioxidant capacity and antioxidant-related signalling molecule expression in young grass carp (*Ctenopharyngodon idella*)[J]. *Food Chemistry*, 2015, 167: 91-99.
- [47] Wen H L, Feng L, Jiang W D, et al. Dietary tryptophan modulates intestinal immune response, barrier function, antioxidant status and gene expression of TOR and Nrf2 in young grass carp (*Ctenopharyngodon idella*)[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2014, 40(1): 275-287.
- [48] Zhao J, Liu Y, Jiang J, et al. Effects of dietary isoleucine on the immune response antioxidant status and gene expression in the head kidney of juvenile Jian carp[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2013, 35(2): 572-580.
- [49] Luo J B, Feng L, Jiang W D, et al. The impaired intestinal mucosal immune system by valine deficiency for young grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) is associated with decreasing immune status and regulating tight junction proteins transcript abundance in the intestine[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2014, 40(1): 197-207.
- [50] Wu P, Jiang J, Liu Y, et al. Dietary choline modulates immune responses and gene expressions of TOR and eIF4E-binding protein2 in immune organs of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian) [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2013, 35(3): 697-706.
- [51] Zhang J X, Guo L Y, Feng L, et al. Soybean β - Conglycinin Induces Inflammation and Oxidation and Causes Dysfunction of Intestinal Digestion and Absorption in Fish [J]. *Plos One*, 2013, 8(3): 58115, doi: 10.1371/journal.pone.0058115.
- [52] Covi J A, Bader B D, Chang E S, et al. Molt cycle regulation of protein synthesis in skeletal muscle of the blackback land crab, *Gecarcinus lateralis*, and the differential expression of a myostatin-like factor during atrophy induced by molting or unweighting [J]. *Journal of Experimental Biology*, 2010, 213(1): 172-183.
- [53] MacLea K S, Abuhagr A M, Pitts N L, et al. Rheb an activator of target of rapamycin in the blackback land crab *Gecarcinus lateralis* cloning and effects of molting and unweighting on expression in skeletal muscle [J]. *Journal of Experimental Biology*, 2012, 215(4): 590-604.
- [54] Abuhagr A M, MacLea K S, Chang E S, et al. Mechanistic target of rapamycin (mTOR) signaling genes in decapod crustaceans: Cloning and tissue expression of mTOR, Akt, Rheb, and p70 S6 kinase in the green crab, *Carcinus maenas*, and blackback land crab, *Gecarcinus lateralis* [J]. *Comparative Biochemistry and physiology*, 2014, 168: 25-39.
- [55] 孙娟娟, 刘梅, 彭劲松, 等. 中国明对虾 TOR 基因的克隆及精氨酸、亮氨酸对其表达的影响 [J]. *海洋科学*, 2010, 34(6): 71-80.
- Sun Shu Juan, Liu Mei, Peng Jinsong, et al. Molecular cloning of the TOR gene from *Fenneropenaeus chinensis* and its expression in response to arginine or leucine [J]. *Marine Sciences*, 2010, 34(6): 71-80.
- [56] Ruan L W, Liu R D, Xu X, et al. Molecular cloning and characterization of a threonine/serine protein kinase Ivakt from *Litopenaeus vannamei* [J]. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 2014, 32(4): 792-798.
- [57] Oliva-Teles A. Nutrition and health of aquaculture fish [J]. *Journal of Fish Diseases*, 2012, 35: 83-108.
- [58] Christian C D, Brendan D M. Signal integration by mTORC1 coordinates nutrient input with biosynthetic output [J]. *Nat Cell Biol*, 2013, 15(6): 555-564.

Mechanistic target of rapamycin signaling in aquatic animals

XIN Fang^{1,2}, WANG Lei¹, LIU Mei¹, WANG Bao-jie¹, JIANG Ke-yong¹, SUN Guo-qiong¹

(1. Key Laboratory of Experimental Marine Biology, Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Laboratory for Marine Biology and Biotechnology, Qingdao National Laboratory for Marine Science and Technology, Qingdao 266071, China; 2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Received: Jun., 8, 2015

Key words: mTOR; rapamycin; aquatic animals; metabolism regulation

Abstract: mTOR signaling is widely present in eukaryotic cells. It can receive signals from nutrients, growth factors, or environmental stresses and precisely regulate the growth and physiological activity of cells via monitoring anabolism and catabolism. Studies on mTOR signaling in aquatic animals have been performed only in fish, shrimps, and crabs and are far behind the studies on model organisms. In this article, we overviewed the research progress of mTOR signaling in recent years, including the discovery and components of TOR, the factors involved in mTOR signaling, and the regulation mechanism of mTOR signaling in the progression of life. This article also focuses on the current researches and the necessity of studying the mTOR signaling pathway in aquatic animals. This could provide a reference for further researches on the mTOR signaling pathway in aquatic animals.

(本文编辑: 梁德海)