

DOI: 10.13376/j.cbls/2017071

文章编号: 1004-0374(2017)06-0527-07

## 亮氨酰-tRNA合成酶在人类疾病治疗中的应用

龙 韬<sup>1,2</sup>, 刘如娟<sup>1,2\*</sup>, 王恩多<sup>1,3\*</sup>

(1 中国科学院上海生物化学与细胞生物学研究所, 分子细胞科学卓越创新中心, 国家分子生物学重点实验室, 上海 200031; 2 中国科学院大学, 北京 100864; 3 上海科技大学生命科学与技术学院, 上海 201210)

**摘 要:** 氨基酰-tRNA合成酶是蛋白质合成过程中的关键酶, 广泛参与细胞信号转导、免疫、发育以及疾病等复杂的生理过程。而亮氨酰-tRNA合成酶作为其中的一员, 由于其经典和非经典功能的研究比较透彻, 因而受到了药物研发人员的青睐。现综述了亮氨酰-tRNA合成酶应用于抗病原菌感染和抗肿瘤等方面的研究进展和治疗前景。

**关键词:** 亮氨酰-tRNA合成酶; 抗生素; 抗肿瘤

**中图分类号:** Q559; Q78; Q819 **文献标志码:** A

## The application of leucyl-tRNA synthetase in the treatment of human diseases

LONG Tao<sup>1,2</sup>, LIU Ru-Juan<sup>1,2\*</sup>, WANG En-Duo<sup>1,3\*</sup>

(1 State Key Laboratory of Molecular Biology, CAS Center for Excellence in Molecular Cell Science, Shanghai Institute of Biochemistry and Cell Biology, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China;

2 University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100864, China;

3 School of Life Science and Technology, Shanghai Technology University, Shanghai 201210, China)

**Abstract:** Aminoacyl-tRNA synthetase plays a key role in protein synthesis. Recently, those enzymes have been reported to involve in many complicated physiological process such as cell signaling, immune response, development and disease. As a member of them, leucyl-tRNA synthetase has been well studied in its canonical and noncanonical functions and gets the favour of drug researchers. This study summarizes the application of leucyl-tRNA synthetase in anti-infection and anti-tumor.

**Key words:** leucyl-tRNA synthetase; antibiotic; anti-tumor

氨基酰-tRNA合成酶(aminoacyl-tRNA synthetase, aaRS)是一类古老的蛋白质家族, 负责催化氨基酸与相应的tRNA的共价结合, 为在核糖体上进行蛋白质合成提供原料, 在细胞的基本生命活动中发挥重要作用。aaRS从20种天然氨基酸和氨基酸生物合成的中间体中选择正确的氨基酸, 将其催化加载到对应的tRNA上, 从而确保从mRNA到蛋白质翻译过程的高度精确性<sup>[1-2]</sup>。

根据保守序列和特征性结构域的不同, 20种aaRS分别对应20种氨基酸, 可以被分成两类, 每类包括10种aaRS。第一类aaRS催化活性中心由一个专一结合核苷酸的Rossmann折叠结构域组成, 第二类aaRS的催化结构域则是由7股反向平行的 $\beta$ -

折叠组成<sup>[1,3]</sup>。除精氨酰-、谷氨酰-和谷氨酰胺酰-tRNA合成酶通过一步反应实现tRNA的氨基酰化, 大部分aaRS催化的氨基酰化反应是由两步完成。第一步是氨基酸的活化反应: 氨基酸攻击三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)的 $\alpha$ -磷酸基团, 产生被活化的中间体氨基酰-AMP(adenosine monophosphate, AMP)和焦磷酸, 该反应又叫ATP-PPi交换反应(磷交换反应)。第二步是tRNA的氨基酰化反应: 活化的氨基酸被转移到tRNA的3'-

收稿日期: 2017-01-20; 修回日期: 2017-03-08

基金项目: 国家自然科学基金项目(91440204)

\*通信作者: E-mail: liurj@sibcb.ac.cn (刘如娟);  
edwang@sibcb.ac.cn (王恩多)

末端腺苷酸的核糖的羟基上产生氨基酰-tRNA 和 AMP。aaRS 催化氨基酸与对应的 tRNA 之间的酯化反应,是蛋白质合成的第一步反应,以确保反应产物 aa-tRNA 的高度精确性,在蛋白质合成的质量控制中起着重要的作用<sup>[2,4]</sup>。

在氨基酸活化反应过程中,aaRS 对于那些在侧链体积大小和形状上相似的氨基酸的精确识别比较困难,容易生成误活化氨基酸(以氨基酰-AMP 的形式存在)和误氨基酰化产物(以氨基酰-tRNA 的形式存在)。如果对于错误产物不校正,就会导致误氨基酰-tRNA 作为蛋白质生物合成的原料进入核糖体,错误氨基酸进而通过核糖体上的蛋白质翻译系统进入新生成的蛋白质多肽链,造成蛋白质一级序列改变,最终导致细胞生长滞缓和细胞凋亡<sup>[5]</sup>。在漫长的进化中,不断有附加肽段插入到核心结构域中,并伴随着 N-端和 C-端结构域的融合。这些结构域的融合赋予 aaRS 非常关键的对误氨基酰-tRNA 的编校功能,从而对蛋白质合成原料进行质量控制。典型的编校结构域含有酶的第二个活性中心,用于水解去除错误的氨基酰化产物。已报道具有编校活性的 aaRS 包括第一类酶 a 亚类的亮氨酸-、异亮氨酸-和缬氨酸-tRNA 合成酶<sup>[6-8]</sup>,以及第二类酶中的苏氨酸-、脯氨酸-、丙氨酸-和苯丙氨酸-tRNA 合成酶<sup>[9-11]</sup>。

亮氨酸-tRNA 合成酶(leucyl-tRNA synthetase, LeuRS)属于第一类 aaRS 的 a 亚类,拥有特征性的高亮氨酸、KMSKS 和 Rossmann 折叠序列以及典型的编校结构域。多年来,通过结构生物学、分子生物学和生物化学等研究,揭示了不同物种来源的 LeuRS 的催化机制既保守又存在差异,这为以靶向 LeuRS 的具有选择性的新型抗生素的研发提供了坚实的理论依据。同时,对高等真核 LeuRS 的研究发现,LeuRS 还参与了细胞信号转导和调控,从而开启了 LeuRS 与人类疾病研究的新热点。本文将从 LeuRS 的经典蛋白质合成功能和非经典信号转导功能两方面入手,探讨 LeuRS 在抗病原菌感染和抗肿瘤方面的研究进展。

## 1 以 LeuRS 为靶点的抗生素的研究

细菌、真菌等微生物不断产生的抗药性严重威胁着人类的健康。近年来,由于临床上抗生素的广泛使用,使得病原微生物耐药性的发展加剧,最常见的有耐甲氧西林的金黄色葡萄球菌、耐青霉素的肺炎链球菌、耐万古霉素的肠球菌和耐多种药物的

结核分枝杆菌。因此,开发针对新靶点的治疗药物来应对耐药菌株的感染刻不容缓。而 aaRS 作为生命体中必需的关键酶,首先,不仅维持了细胞的基本生命活动,对细胞的存活起着极其重要的作用;其次,它们广泛分布于细胞有机体中,且低等和高等生物来源的同一种 aaRS 在进化过程中产生了一些差异,为开发具有选择性高、副作用小的药物提供了可能。由于 aaRS 具有丰富的生物化学和结构生物学等研究背景,目前国际上一些大的医药公司和研究单位都以 aaRS 作为靶点,为筛选新型抗生素进行了深入的研究。异亮氨酸-tRNA 合成酶(isoleucyl-tRNA synthetase, IleRS)抑制剂莫罗多星(商品名百多邦)作为抗菌药物在临床外伤感染中具有丰富的应用史,也为以 aaRS 作为靶点的抗菌药物研发增添了信心<sup>[12]</sup>。而在 20 种 aaRS 中,LeuRS 在生化以及结构方面的研究比较透彻,以 LeuRS 为靶点的抗生素也得到了广泛的研究。下面就介绍几种以 LeuRS 为靶点的抗生素的应用。

### 1.1 AN2690 是靶向于 LeuRS 编校结构域的抗真菌药物

AN2690 (图 1)是苯并硼环类化合物,它的发现源于美国 Anacor 公司开发水溶性化学小分子抑菌剂用于治疗甲癣的药物化学项目<sup>[13]</sup>。它对皮肤病原菌具有普遍的抑菌活性,能显著抑制临床甲真菌病的主要致病菌——红毛癣菌和须癣毛癣菌的生长(MIC = 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )<sup>[13]</sup>。甲真菌病是由定植在指甲下的皮肤真菌侵染甲板,从而引发的指趾甲病。全球大约有 10% 的人群受到此类疾病的困扰,其中糖尿病患者、老年人等多发群体中发病率高达 33%~50%<sup>[14-16]</sup>。甲真菌病不仅严重影响了身体健康和生活质量,而且其强大的传染性也危害着公众健康。目前,主要采用口服特比萘芬、口服伊曲康唑、外涂环匹罗司和外涂阿莫罗芬的方法进行治疗。然而,口服药物有潜在副作用,且复发率高,外涂药物则甲板穿透力差,导致药效降低<sup>[13]</sup>。AN2690 的抑菌活性与环匹罗司相近,但其穿透甲板的能力是后者的 250 倍<sup>[13]</sup>。因此,AN2690 有可能取代传统药物,为指趾甲病患者带来福音。

研究人员通过结构生物学、生物化学以及化学等研究手段阐明了 AN2690 对 LeuRS 的抑制机制。LeuRS 具有两个独立的活性中心,分别行使合成活性和编校活性。合成活性中心负责催化形成氨基酰-tRNA,而编校活性中心则负责水解误活化的氨基酰-AMP 和氨基酰-tRNA<sup>[6]</sup>。AN2690 结合在 LeuRS

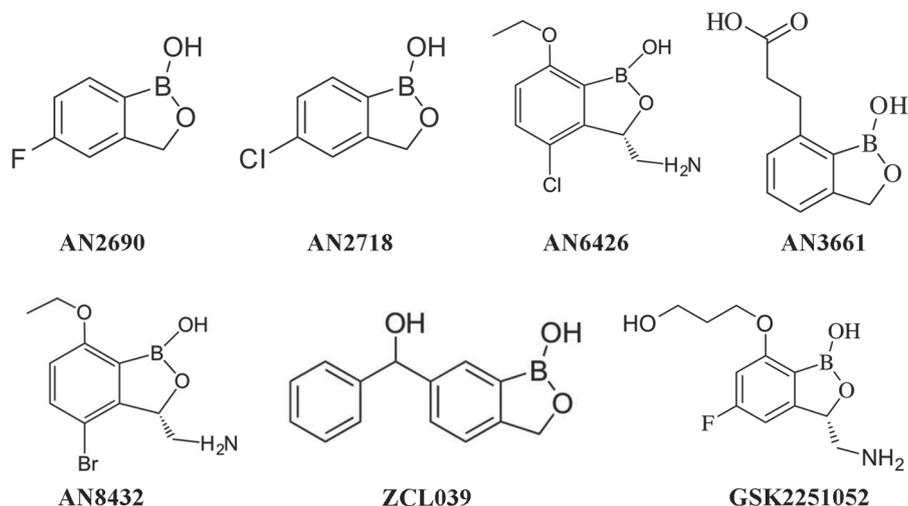


图1 AN2690及其衍生物结构图(图中分子结构式<sup>[20,23,27]</sup>)

的编校活性口袋, 从而使其不能水解误氨基酰化产物, 导致蛋白质合成中的氨基酸错误掺入合成的肽链中, 进而改变所合成的蛋白质的功能发挥杀菌作用<sup>[17]</sup>。X光晶体衍射结果显示, AN2690通过特有的硼原子在LeuRS的编校活性中心与tRNA<sup>Leu</sup>的3'-末端腺苷五碳环上的2'和3'羟基发生共价反应形成稳定的螺环加合物, 随后LeuRS上的T-rich肽段以及水分子共同作用形成稳定的硼-酶复合物, 从而将tRNA分子牢牢锁定在LeuRS的编校活性中心, 阻断tRNA向合成活性中心的摆动<sup>[18]</sup>。这种独特的tRNA诱捕机制依赖于分子中的硼原子及其所在的五元硼氧环, 当硼原子或者五元硼氧环被破坏时, 化合物将不能抑制LeuRS的活力<sup>[19]</sup>。显然, 这种机制还能够用于与LeuRS一样具有编校结构域的其他aaRS中, 从而开辟了一种新的药物设计模式。

目前, AN2690已经进入临床III期试验并已获得了FDA的新药审批。除此之外, AN2690的氯代物AN2718(图1)除了具有相同的抑制病菌以及穿透甲板的能力, 它对皮肤的刺激性较AN2690小, 是抗皮肤真菌感染的潜在药物, 比AN2690具有更广泛的用途<sup>[20]</sup>。

## 1.2 AN2690衍生物在不同疾病中的应用前景

利用苯并硼环类化合物的这种tRNA诱捕机制, 人们设计合成了一大类针对相应疾病的病原菌LeuRS为靶点的新型药物。

隐孢子虫(*Cryptosporidium*)可引起婴幼儿急性肠道感染, 在发展中国家有非常高的致死率<sup>[21]</sup>。另外, 隐孢子虫还能够感染免疫力低下者, 特别是艾滋病患者。硝唑尼特(Nitazoxanide)作为隐孢子虫

病的传统药物对于营养不良者和免疫力低下者的药效不高<sup>[22]</sup>。弓形虫(*Toxoplasma gondii*)可引起严重的先天性感染, 在成人和儿童中都有高致死率。传统的抗弓形虫病药物不仅价格昂贵、治疗时间长, 且具有很强的副作用。AN2690衍生物AN6426(图1)被报道能够显著抑制这两种病原微生物, 治疗这两种寄生虫产生的疾病<sup>[23]</sup>。其中AN6426对隐孢子虫的半数效应浓度EC<sub>50</sub>达到了2.2 μmol/L, 与传统药物硝唑尼特相当(EC<sub>50</sub>=1.9 μmol/L); 而对于弓形虫, 虽然AN6426的EC<sub>50</sub>只有76.9 μmol/L, 但对人体细胞没有毒性, 且与正缬氨酸联用可将其对弓形虫的EC<sub>50</sub>降至17.6 μmol/L。

疟疾是经按蚊叮咬或输入疟原虫(*Plasmodium falciparum*)携带者的血液而感染疟原虫所引起的虫媒传染病。每年全球仍有将近10万人因感染疟疾而死亡, 其中相当一部分为儿童<sup>[24]</sup>。然而, 疟原虫已经对目前已有的药物, 如奎宁等产生了抗药性。AN3661(图1)是具有潜力的先导抗疟药物, 对PfLeuRS的半抑制浓度IC<sub>50</sub>在nmol/L级别。以它为先导药物在不同部位加不同功能基团, 有可能显著提高其对疟原虫的抑制效率和选择性<sup>[20]</sup>。另外, 还有研究表明, AN6426和AN8432(图1)也同样对疟原虫具有高效的抑制效率<sup>[25]</sup>。

肺炎链球菌(*Streptococcus pneumoniae*)是细菌性肺炎的主要病原菌, 可以引发肺炎、中耳炎、脑膜炎、菌血症和败血症等多种疾病, 5岁以下儿童和60岁以上老人普遍易感。2005年, 世界卫生组织估计每年有160万人死于肺炎链球菌疾病, 其中70万~100万为低于5岁的儿童<sup>[26]</sup>。ZCL039(图1)

是作用于 *SpLeuRS* 编校结构域的高选择性反竞争抑制剂 ( $IC_{50} = 1.72 \mu\text{mol/L}$ ), 具有较好的抗肺炎链球菌活性, 但与青霉素相比, 其活力低了近 78.5% [27]。因而, 仍有必要对该化合物进行优化以提高其生物学活性和物种选择性, 降低细胞毒性。ZCL039 较 AN2690 多出一个苯甲醇的衍生基团, 如果在苯环侧面引入一个合适长度的羟基或羰基, 建立与相应残基之间的氢键作用, 就可能提高 ZCL039 与酶的结合能力, 增强化合物的抑制活性, 因而是优化的关键 [27]。对苯环基团的衍生修饰也将提高 ZCL039 对 *SpLeuRS* 的专一性, 降低其与人胞质 *LeuRS* 的亲合力。

GSK2251052 (图 1) 是最初设计靶向于革兰氏阴性菌的 *LeuRS*, 但是许多革兰氏阳性菌也能够被其抑制, 是一种潜在的广谱抗生素 [28-29]。GSK-2251052 对于肠杆菌科具有较强的抑制效率 ( $MIC = 0.25\sim 4 \mu\text{g/mL}$ ), 而对于人体的危害较小 [28, 30]。这得益于它的 3-aminomethyl 基团能够与 *LeuRS* 编校活性中心相应的一些极性氨基酸残基形成稳定的氢键, 从而能够形成更加稳定的酶-tRNA 复合物 [20]。然而, GSK2251052 没能通过治疗尿路感染的临床 II 期试验, 因为少部分受试者产生了对 GSK2251052 的耐药性 [31]。后续的研究表明, 对细菌进行 GSK2251052 处理后, 细菌 *LeuRS* 编校中心的一些位点的氨基酸残基产生了突变。这些突变使得 GSK2251052 与 *LeuRS* 的结合变弱, 从而导致药物不能够与酶和 tRNA 形成稳定的复合物, 进而使细菌产生了耐药性 [31-32]。虽然 GSK2251052 没能够通过临床试验成为上市药物, 但是对其产生耐药性的分子机制研究会有利于进一步合成更有效的抗耐药的苯并硼环类 *LeuRS* 抑制剂药物。

### 1.3 靶向于 *LeuRS* 合成活性中心的化合物的应用前景

*LeuRS* 的合成活性中心具有特征性的 HIGH 和 KMSKS 特征序列以及 Rossmann 折叠, 而不同物种来源的 *LeuRS* 的合成活性中心也存在差异性。因此, *LeuRS* 的合成活性中心也是药物设计的重要靶点。人非洲锥虫病, 又名瞌睡病, 是布氏锥虫 (*Trypanosoma brucei*) 经由采蝇叮咬传播, 从而寄生在脊椎动物血液或组织中引起的疾病。此病在非洲具有极高的死亡率, 且用于此病的传统药物副作用高、药效低, 对感染晚期基本无作用 [33]。通过模拟药物与 *TbLeuRS* 的合成活性中心的复合物结构, 研究人员设计了一系列针对于 *TbLeuRS* 的化合物。其中硫脲类化合物 N-(4-sulfamoylphenyl) thioureas 通过模

拟氨基酰 -AMP 和氨基酰 -AMS 的结构能够靶向 *TbLeuRS* 的合成活性中心, 具有较高的抑制效率 ( $IC_{50} = 1.1 \mu\text{mol/L}$ )。而且此类化合物对人胞质 *LeuRS* (*hcLeuRS*) 不敏感 ( $IC_{50} = 55.5 \mu\text{mol/L}$ ), 是潜在的抗锥虫病先导化合物 [34]。

在自然界中存在一种天然的亮氨酸 -AMP 类似物 Agrocin 84, 它作为一种“Trojan-Horse”通过模拟植物根瘤底物农杆菌糖酯 (agrocinopine) 的结构, 进而通过相应受体进入致瘤农杆菌 (*Agrobacterium tumefaciens*) 体内, 从而杀死病菌 [35-36]。一旦进入病菌体内, Agrocin 84 就会被分解为能抑制 *LeuRS* 活性的毒性成分 TM84 [37-38]。Agrocin 84 是由土壤杆菌分泌的亮氨酸 -AMP 类似物, 能抑制大多数革兰氏阴性菌, 包括土壤杆菌自身的生长, 但土壤杆菌还编码 *LeuRS* 的另一种同源酶 AgnB2 来补偿 Agrocin 84 的抑制效应 [39]。亮氨酸 -AMP 类似物由于连接氨基酰与腺苷的氨基磺酸脂、磷酸酯键和氨基末端的电荷性使得其细胞渗透性低, 从而降低药效。因此, Agrocin 84 巧妙地利用“Trojan-Horse”方式进入到病菌体内的作用机制值得药物开发人员借鉴。

## 2 以 *LeuRS* 为靶点的抗肿瘤药物的研究

在长期的进化过程中, aaRS 除了行使正常的氨基酰化功能, 还参与了转录、翻译等调控过程。酶的多功能性一方面有助于细胞的生长, 另一方面也使得它们参与了其他一些疾病, 甚至肿瘤的发生和发展, 如人胞质 TyrRS 和 TrpRS 最早被发现能够生成调控血管生成和抗血管生成的细胞因子, 从而赋予它们在肿瘤血管发生中的负调控作用, 因而具有潜在的肿瘤药物的研发前景 [40-41]。

目前, 已经有研究报道了高等生物 *LeuRS* 的非经典功能 [42-43]。研究表明, *hcLeuRS* 作为细胞内氨基酸浓度的感受器, 调控 mTOR 介导的信号通路。当外界氨基酸浓度升高时, *hcLeuRS* 通过与 mTORC1 中的调节蛋白质 RagD 直接相互作用而组装到 mTORC1 中, *hcLeuRS* 结合的是非活性的 RagD-GTP, 而 *hcLeuRS* 通过其 GAP (GTPase-activating protein) 结构域促进 RagD-GTP 转变成活性的 RagD-GDP [43]。RagD-GDP 与 RagB-GTP 形成的异源二聚体可以使 mTORC1 复合体向溶酶体转位, 进而激活下游通路 [43]。mTOR1 信号通路与细胞生长、凋亡、自噬等密切相关 [44-45]。其中, mTOR1 能够通过磷酸化 S6K1 和 4E-BP1 来调控蛋白质合成。而 S6K1 和

4E-BP1 与肿瘤的发生发展密切相关<sup>[44-46]</sup>。因此, mTOR1 信号通路是一个潜在的抗肿瘤靶点。目前靶向于 mTOR1 的雷帕霉素及其类似物的研究进展不顺, 主要原因是雷帕霉素具有细胞毒性, 并且仅能够抑制 mTOR1 部分活力<sup>[47-48]</sup>。而 LeuRS 作为 mTOR1 的上游调控元件, 可以设计靶向于 LeuRS 的化合物来抑制 mTOR1 的活力, 进而发挥抗肿瘤的作用。

第一类靶向于 LeuRS 的抗肿瘤药物来源于 AN2690 的类似物<sup>[49]</sup>。这类药物能够显著抑制 hcLeuRS 的活力, 进而抑制细胞生长<sup>[49]</sup>。由于肿瘤细胞的生长较正常细胞快, 因而肿瘤细胞对此类化合物的敏感性要高于正常细胞。不过此类化合物直接抑制 hcLeuRS 氨基酰化活力, 具有太强的细胞毒性, 选择性不强, 成为抗肿瘤药物的可能性不高。

第二类靶向于 LeuRS 的抗肿瘤药物来源于亮氨酸和亮氨酰-AMP 的类似物。因为 LeuRS 调控 mTOR 信号通路是氨基酸, 特别是亮氨酸依赖的<sup>[43]</sup>, 而亮氨酸类似物, 如 leucinol 也能够抑制 mTOR 的活力<sup>[50]</sup>, 因而设计能够抑制 mTOR 活力而又不影响 LeuRS 的酰化活力, 是此类化合物筛选的一大方向。恶唑类化合物 (S)-4-isobutyloxazolidin-2-one 是亮氨酸的类似物, 它能够显著抑制亮氨酸依赖的 mTOR1 的活力而不影响 LeuRS 本身的酰化活力<sup>[51]</sup>。另一方面, 它对于耐雷帕霉素的结肠癌细胞具有很强的抑制效率<sup>[51]</sup>。同样地, Leu-AMP 类似物同样能够抑制依赖亮氨酸的 mTOR1 的活力, 仅对 LeuRS 的酰化活力产生微弱影响<sup>[52]</sup>。更重要的是, 此类化合物能明显抑制耐雷帕霉素的结肠癌细胞而对正常细胞没有影响, 因而有可能成为潜在的抗结肠癌的专一性药物<sup>[52]</sup>。

第三类药物着眼于破坏 LeuRS 与 RagD 的相互作用。LeuRS 作为 RagD 的 GAP 分子, 能够直接与 RagD 相互作用, 而且这种相互作用是依赖亮氨酸的<sup>[43]</sup>。通过设计小分子破坏 LeuRS 与 RagD 的相互作用, 从而使 RagD 不能够被 LeuRS 所激活, 进而起到抑制依赖亮氨酸的 mTOR 信号通路的目的。此类化合物相对于第二类药物有更明显的选择性和特异性。首先, 它们不会影响 LeuRS 经典的氨基酰化功能; 其次, LeuRS 与 RagD 的相互作用才是调控依赖亮氨酸的 mTOR1 通路的关键, 破坏这种相互作用才能进行有效的抑制。目前, 已经报道的此类化合物能够显著破坏 LeuRS 和 RagD 的相互作用, 进而选择性地抑制 mTOR1 的活力, 阻遏细

胞生长, 引起细胞凋亡<sup>[53]</sup>。

### 3 结论与展望

aaRS 作为生物进化的“活化石”, 在细胞生命活动中处于基础而重要的地位。tRNA 的氨基酰化作为蛋白质合成中必需的反应过程, 使得 aaRS 在生命体中有重要的地位。因此, 靶向 aaRS 的抗菌素的设计和具有巨大的研究前景。莫罗多星的成功应用以及 AN2690 的批准上市, 都为以 aaRS 为靶点的抗菌药物研发增添了信心。目前, 以 LeuRS 为靶点的抗生素主要以 AN2690 衍生物为主, 这也得益于苯并硼环类化合物所特有的 tRNA 诱捕机制。这种独特的作用方式有别于传统药物的作用方式, 因此, 通过靶向于不同病原菌 LeuRS, 此类化合物有望成为许多耐药疾病的新型特效药。

关于 aaRS 的非经典功能研究已经成为当前研究的一大热点, 目前发现的 aaRS 非经典功能涵盖了免疫、发育以及肿瘤等各个领域。随着对 LeuRS 研究的深入, 还有研究表明, LeuRS 除了通过与 RagD 相互作用直接调控 mTOR1 通路外, 还能通过与自噬相关因子 Vps34 相互作用间接调控 mTOR 通路, 从而也为以 LeuRS 为靶点的抗肿瘤药物的研发提供了新的思路<sup>[54]</sup>。总之, 随着对 LeuRS 以及其他 aaRS 的研究, 越来越多靶向于 LeuRS 以及其他 aaRS 的药物得以研发并应用于治疗多种疾病。

### [参 考 文 献]

- [1] Eriani G, Delarue M, Poch O, et al. Partition of tRNA synthetases into two classes based on mutually exclusive sets of sequence motifs. *Nature*, 1990, 347: 203-6
- [2] Ibba M, Soll D. Aminoacyl-tRNA synthesis. *Annu Rev Biochem*, 2000, 69: 617-50
- [3] Schimmel P, Ribas De Pouplana L. Footprints of aminoacyl-tRNA synthetases are everywhere. *Trends Biochem Sci*, 2000, 25: 207-9
- [4] Woese CR, Olsen GJ, Ibba M, et al. Aminoacyl-tRNA synthetases, the genetic code, and the evolutionary process. *Microbio Mol Biol Rev*, 2000, 64: 202-36
- [5] Lee JW, Beebe K, Nangle LA, et al. Editing-defective tRNA synthetase causes protein misfolding and neurodegeneration. *Nature*, 2006, 443: 50-5
- [6] Chen JF, Guo NN, Li T, et al. CP1 domain in *Escherichia coli* leucyl-tRNA synthetase is crucial for its editing function. *Biochemistry*, 2000, 39: 6726-31
- [7] Eldred EW, Schimmel PR. Rapid deacylation by isoleucyl transfer ribonucleic acid synthetase of isoleucine-specific transfer ribonucleic acid aminoacylated with valine. *J Biol Chem*, 1972, 247: 2961-64
- [8] Fersht AR, Kaethner MM. Enzyme hyperspecificity.

- Rejection of threonine by the valyl-tRNA synthetase by misacylation and hydrolytic editing. *Biochemistry*, 1976, 15: 3342-6
- [9] Beebe K, Ribas De Pouplana L, Schimmel P. Elucidation of tRNA-dependent editing by a class II tRNA synthetase and significance for cell viability. *EMBO J*, 2003, 22: 668-75
- [10] Beuning PJ, Musier-Forsyth K. Hydrolytic editing by a class II aminoacyl-tRNA synthetase. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97: 8916-20
- [11] Dock-Bregeon A, Sankaranarayanan R, Romby P, et al. Transfer RNA-mediated editing in threonyl-tRNA synthetase. The class II solution to the double discrimination problem. *Cell*, 2000, 103: 877-84
- [12] Silvian LF, Wang J, Steitz TA. Insights into editing from an Ile-tRNA synthetase structure with tRNA<sup>Ile</sup> and mupirocin. *Science*, 1999, 285: 1074-7
- [13] Baker SJ, Zhang YK, Akama T, et al. Discovery of a new boron-containing antifungal agent, 5-fluoro-1,3-dihydro-1-hydroxy-2,1-benzoxaborole (AN2690), for the potential treatment of onychomycosis. *J Med Chem*, 2006, 49: 4447-50
- [14] Thomas J, Jacobson GA, Narkowicz CK, et al. Toenail onychomycosis: an important global disease burden. *J Clin Pharm Thera*, 2010, 35: 497-519
- [15] Elewski BE. Onychomycosis. Treatment, quality of life, and economic issues. *Am J Clin Dermatol*, 2000, 1: 19-26
- [16] Westerberg DP, Voyack MJ. Onychomycosis: current trends in diagnosis and treatment. *Am Fam Physician*, 2013, 88: 762-70
- [17] Lincecum TL Jr, Tukalo M, Yaremchuk A, et al. Structural and mechanistic basis of pre- and posttransfer editing by leucyl-tRNA synthetase. *Mol Cell*, 2003, 11: 951-63
- [18] Rock FL, Mao W, Yaremchuk A, et al. An antifungal agent inhibits an aminoacyl-tRNA synthetase by trapping tRNA in the editing site. *Science*, 2007, 316: 1759-61
- [19] Baker SJ, Tomsho JW, Benkovic SJ. Boron-containing inhibitors of synthetases. *Chem Soc Rev*, 2011, 40: 4279-85
- [20] Liu CT, Tomsho JW, Benkovic SJ. The unique chemistry of benzoxaboroles: current and emerging applications in biotechnology and therapeutic treatments. *Bioorg Med Chem*, 2014, 22: 4462-73
- [21] Kotloff KL, Nataro JP, Blackwelder WC, et al. Burden and aetiology of diarrhoeal disease in infants and young children in developing countries (the Global Enteric Multicenter Study, GEMS): a prospective, case-control study. *Lancet*, 2013, 382: 209-22
- [22] Amadi B, Mwiya M, Musuku J, et al. Effect of nitazoxanide on morbidity and mortality in Zambian children with cryptosporidiosis: a randomised controlled trial. *Lancet*, 2002, 360:1375-80
- [23] Palencia A, Liu RJ, Lukarska M, et al. Cryptosporidium and toxoplasma parasites are inhibited by a benzoxaborole targeting leucyl-tRNA synthetase. *Antimicrob Agents Chemother*, 2016, 60: 5817-27
- [24] Anthony MP, Burrows JN, Duparc S, et al. The global pipeline of new medicines for the control and elimination of malaria. *Malar J*, 2012, 11: 316
- [25] Sonoiki E, Palencia A, Guo D, et al. Antimalarial benzoxaboroles target plasmodium falciparum leucyl-tRNA synthetase. *Antimicrob Agents Chemother*, 2016, 60: 4886-95
- [26] Wardlaw T, Salama P, Johansson EW, et al. Pneumonia: the leading killer of children. *Lancet*, 2006, 368: 1048-50
- [27] Hu QH, Liu RJ, Fang ZP, et al. Discovery of a potent benzoxaborole-based anti-pneumococcal agent targeting leucyl-tRNA synthetase. *Sci Rep*, 2013, 3: 2475
- [28] Goldstein EJ, Citron DM, Tyrrell KL, et al. Comparative in vitro activities of GSK2251052, a novel boron-containing leucyl-tRNA synthetase inhibitor, against 916 anaerobic organisms. *Antimicrob Agents Chemother*, 2013, 57: 2401-4
- [29] Mendes RE, Alley MR, Sader HS, et al. Potency and spectrum of activity of AN3365, a novel boron-containing protein synthesis inhibitor, tested against clinical isolates of Enterobacteriaceae and nonfermentative Gram-negative bacilli. *Antimicrob Agents Chemother*, 2013, 57: 2849-57
- [30] Bowers GD, Tenero D, Patel P, et al. Disposition and metabolism of GSK2251052 in humans: a novel boron-containing antibiotic. *Drug Meta Dispos*, 2013, 41: 1070-81
- [31] O'Dwyer K, Spivak AT, Ingraham K, et al. Bacterial resistance to leucyl-tRNA synthetase inhibitor GSK2251052 develops during treatment of complicated urinary tract infections. *Antimicrob Agents Chemother*, 2015, 59: 289-98
- [32] Gupta A, Monteferrante C, Rasina D, et al. A polymorphism in leuS confers reduced susceptibility to GSK2251052 in a clinical isolate of *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2016, 60: 3219-21
- [33] Kennedy PG. Clinical features, diagnosis, and treatment of human African trypanosomiasis (sleeping sickness). *Lancet Neurol*, 2013, 12: 186-94
- [34] Zhang F, Du J, Wang Q, et al. Discovery of N-(4-sulfamoylphenyl)thioureas as *Trypanosoma brucei* leucyl-tRNA synthetase inhibitors. *Org Biomol Chem*, 2013, 11: 5310-24
- [35] Ryder MH, Tate ME, Jones GP. Agrocinosin A, a tumor-inducing plasmid-coded enzyme product, is a phosphodiester of sucrose and L-arabinose. *J Biol Chem*, 1984, 259: 9704-10
- [36] Kim H, Farrand SK. Characterization of the acc operon from the nopaline-type Ti plasmid pTiC58, which encodes utilization of agrocinosins A and B and susceptibility to agrocin 84. *J Bacteriol*, 1997, 179: 7559-72
- [37] Reader JS, Ordoukhanian PT, Kim JG, et al. Major biocontrol of plant tumors targets tRNA synthetase. *Science*, 2005, 309: 1533
- [38] Chopra S, Palencia A, Virus C, et al. Plant tumour biocontrol agent employs a tRNA-dependent mechanism to inhibit leucyl-tRNA synthetase. *Nat Commun*, 2013, 4: 1417
- [39] Chopra S, Palencia A, Virus C, et al. Structural charac-

- terization of antibiotic self-immunity tRNA synthetase in plant tumour biocontrol agent. *Nat Commun*, 2016, 7: 12928
- [40] Wakasugi K, Slike BM, Hood J, et al. Induction of angiogenesis by a fragment of human tyrosyl-tRNA synthetase. *J Biol Chem*, 2002, 277: 20124-6
- [41] Wakasugi K, Slike BM, Hood J, et al. A human aminoacyl-tRNA synthetase as a regulator of angiogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99: 173-7
- [42] Bonfils G, Jaquenoud M, Bontron S, et al. Leucyl-tRNA synthetase controls TORC1 via the EGO complex. *Mol Cell*, 2012, 46: 105-10
- [43] Han JM, Jeong SJ, Park MC, et al. Leucyl-tRNA synthetase is an intracellular leucine sensor for the mTORC1-signaling pathway. *Cell*, 2012, 149: 410-24
- [44] Ma XM, Blenis J. Molecular mechanisms of mTOR-mediated translational control. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2009, 10: 307-18
- [45] Dowling RJ, Topisirovic I, Alain T, et al. mTORC1-mediated cell proliferation, but not cell growth, controlled by the 4E-BPs. *Science*, 2010, 328: 1172-6
- [46] Hsieh AC, Costa M, Zollo O, et al. Genetic dissection of the oncogenic mTOR pathway reveals druggable addiction to translational control via 4EBP-eIF4E. *Cancer Cell*, 2010, 17: 249-61
- [47] Chiarini F, Evangelisti C, McCubrey JA, et al. Current treatment strategies for inhibiting mTOR in cancer. *Trends Pharmacol Sci*, 2015, 36: 124-35
- [48] Thoreen CC, Sabatini DM. Rapamycin inhibits mTORC1, but not completely. *Autophagy*, 2009, 5: 725-6
- [49] Gao G, Yao Y, Li K, Mashausi DS, et al. A human leucyl-tRNA synthetase as an anticancer target. *OncoTargets Ther*, 2015, 8: 2933-42
- [50] Lynch CJ, Fox HL, Vary TC, et al. Regulation of amino acid-sensitive TOR signaling by leucine analogues in adipocytes. *J Cell Biochem*, 2000, 77: 234-51
- [51] Yoon S, Kim JH, Yoon I, et al. Discovery of (S)-4-isobutyloxazolidin-2-one as a novel leucyl-tRNA synthetase (LRS)-targeted mTORC1 inhibitor. *Bioorg Med Chem Lett*, 2016, 26: 3038-41
- [52] Yoon S, Kim JH, Kim SE, et al. Discovery of leucyladenylate sulfamates as novel leucyl-tRNA synthetase (LRS)-targeted mammalian target of rapamycin complex 1 (mTORC1) inhibitors. *J Med Chem*, 2016, 59: 10322-8
- [53] Kim J, Jung J, Koo J, et al. Diversity-oriented synthetic strategy for developing a chemical modulator of protein-protein interaction. *Nat Commun*, 2016, 7: 13196
- [54] Yoon MS, Son K, Arauz E, et al. Leucyl-tRNA synthetase activates Vps34 in amino acid-sensing mTORC1 signaling. *Cell Rep*, 2016, 16: 1510-7