

自噬与肿瘤发生及治疗抵抗的相关研究进展

吴 昂¹, 高 贇²

(1. 杭州市肿瘤医院, 浙江 杭州 310002; 2. 浙江省肿瘤医院, 浙江 杭州 310022)

摘要: 自噬是细胞通过溶酶体降解损伤的细胞器和蛋白, 维持细胞内物质和能量平衡的途径。自噬在肿瘤发生发展的不同阶段扮演不同角色: 肿瘤发生早期抑制细胞恶性转化, 进展期维持或促进肿瘤生长。肿瘤治疗抵抗与压力诱导自噬水平改变有关, 自噬抑制剂的应用或将成为肿瘤治疗的新手段。

关键词: 自噬; 肿瘤; 治疗抵抗

中图分类号: R730.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2014)03-0248-04

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2014.03.B017

Autophagy in Tumorigenesis and Therapeutic Resistance

WU Ang¹, GAO Yun²

(1. Hangzhou Cancer Hospital, Hangzhou 310002, China; 2. Zhejiang Cancer Hospital, Hangzhou 310022, China)

Abstract: Autophagy is an evolutionarily conserved lysosomal degradation pathway that eliminates cytosolic proteins, organelles and maintains nutrients and energy balance. Autophagy plays different role in tumorigenesis and progress: inhibition of malignant transformation in early stage, and maintenance and promotion of growth of tumor in advanced stage. Numerous preclinical studies have demonstrated that cancer therapeutic resistance is closely related to pressure inducing autophagy. Application of inhibitor of autophagy will give a new strategy for cancer therapy.

Subject words: autophagy; neoplasms; therapeutic resistance

近 20 年来随着对肿瘤生物学的不断深入, 在肿瘤生理活动的各个方面, 如细胞凋亡、细胞周期检查点控制、肿瘤细胞与肿瘤微环境互相作用等, 已经鉴定并发现许多肿瘤标志物和肿瘤治疗靶点。最近研究指出自噬不仅参与细胞代谢、蛋白、细胞器转换、细胞生存维持等其它细胞功能, 自噬活性下调可能是肿瘤又一恶性特征。文章拟从自噬过程和调节机制入手, 分析最近自噬与肿瘤相关研究进展以及自噬与肿瘤治疗抵抗的关系。

1 自 噬

自噬是将受损的蛋白和细胞器从细胞内清除的

可被调控的细胞生物学过程。自噬是四十多年前在哺乳细胞自我消化过程中发现的, 是一种可调节的进化上保守的分解代谢过程, 参与相关物质的降解、再循环和生物合成反应^[1]。自噬参与应激反应是在随后的研究中逐渐被发现, 现在认为自噬参与细胞数量控制、维持组织稳态、能量产生等多个重要生物学功能。

自噬过程和机制比较复杂, 总的来说, 包括 5 个基本步骤: 发生、延长、关闭、成熟、降解。自噬首先形成双链囊泡(自噬体)包裹完整细胞器、蛋白聚合物、核酸、脂质体以及其它病原体的转运大分子, 然后自噬体与溶酶体融合形成自噬溶酶体, 溶酶体酶降解转运分子内容物。这一降解过程的最终产物为氨基酸、脂肪酸、和核苷酸, 最终重新释放入细胞质^[2]。

自噬复合体 4 个亚单位可分别调节自噬每个步骤。①ATG1/ULK 复合体; ②Vps34-PI3K, ATG6/Becn1; 第 1 和第 2 亚单位共同调节自噬的发生^[3]。

基金项目: 浙江省医药卫生科技计划(2011KYA033)

通讯作者: 高贇, 助理研究员, 硕士; 浙江省肿瘤医院肿瘤研究所, 浙江省杭州市拱墅区半山桥广济路 38 号(310022); E-mail: gaoy98@126.com

收稿日期: 2013-08-20; **修回日期:** 2013-12-27

③LC3,其功能为促进自噬进行。LC3 插入内外双层膜被用来检测自噬。ATG12 通过 ATG7 与 ATG12 相连接,它和 ATG10 与泛素系统 E1、E2 组分类似。ATG5 与 ATG12 连接作用煜 ATG16L,形成复合体促进 LC3 的脂化^[4,5]。④第 4 个亚单位包括跨膜蛋白 ATG9 和 VMP1。ATG9 在哺乳动物自噬过程的作用目前还不太清楚,可能与将膜转运至自噬体有关。VMP1 可以与 Beclin 互作,其过表达可诱导自噬^[6]。自噬水平受多条信号转导通路控制,并且与环境改变关联。通常情况,自噬在细胞呈低水平,这对维持细胞内蛋白和细胞器的数量稳定在正常水平非常重要。营养缺乏是最易导致自噬的诱因,这时自噬常常通过 mTOR 途径活化^[7]。mTORC1 是一个具有激活活性的营养探测器,当细胞能量和氨基酸水平充足时可以驱动细胞的生物合成和细胞生长。在高营养状态,mTOR 与 ULK1 结合并将其磷酸化,抑制其激酶活性从而阻止自噬启动^[8]。有趣的是,还存在一条通过空间结构调节 mTOR 的补充途径——mTOR 被招募到溶酶体膜,并作为自噬溶酶体的组分。能量变化也是调节自噬的途径之一。AMPK 接受能量应激,通过负相调节 mTORC1 和直接磷酸化 ULK1 催化并促进自噬^[9]。Bcl-2 作为细胞凋亡途径的经典分子^[10],也参于自噬调节机制。

2 自噬与肿瘤发生发展

关于自噬在肿瘤中的研究目前是如火如荼。现多数研究者认为自噬在肿瘤中扮演双重角色:肿瘤发生早期抑制细胞恶性转化,进展期维持或促进肿瘤生长。

自噬在肿瘤发生初期可以抑制肿瘤细胞恶性转化。Beclin 是酵母 ATG6 蛋白的哺乳类同源体,在乳腺癌和卵巢癌患者中都发现 *BECN1* 基因拷贝丢失,提示自噬抑制肿瘤发生。*BECN1* 基因敲除的杂合小鼠倾向于发生多种肿瘤。Mizushima 实验室构建敲除 Atg5 模型小鼠,这种杂合小鼠更易被诱导发生肝癌,可以通过调节性清除 Atg7 在肝脏中的表达可以诱发肝脏良性肿瘤^[11]。Komatsu 实验室也得到类似的结果^[12]。White 实验室进一步证实自噬抑制肿瘤的机制^[13]。他们发现在不发生自噬和凋亡的细胞中,更容易发生肿瘤。坏死和炎症可以形成促进肿瘤生

长的微环境,而研究表明自噬降低容易导致基因组不稳定和非整倍体,从而促使肿瘤发生。另外,抑制自噬使 p62 蛋白过表达,进而下调 NFκB,ROS 积聚,DNA 损伤增加^[14]。p62 含有 UBA 功能域,能与泛素化蛋白结合,像 LIR 一样(LC3 结合区域),将目标蛋白转运至自噬溶酶体。p62 蛋白还可以通过与 Keap1 结合,下调 NRF2,一个抗毒性转录因子,从而促进肿瘤发生,但具体机制目前尚未阐明^[15,16]。总之,自噬通路下游分子 p62 过表达导致 NRF2 蛋白持续激活在肝细胞肝癌的发生中扮演了重要角色^[12]。

自噬一方面作为肿瘤抑制因子阻止肿瘤发生,另一方面却又促进肿瘤进展。这是由于肿瘤生长速度快,导致肿瘤细胞缺氧及营养物质缺乏,肿瘤细胞通过激活自噬,从而维持细胞存活。自噬为生活环境恶劣的肿瘤细胞提供了有效的供养途径,使肿瘤细胞能够在低氧和低养分的微环境下继续生存,并发生侵袭和转移。细胞与胞外基质或者毗邻细胞脱离接触而诱发的特殊细胞程序性死亡称为“失巢凋亡”,而肿瘤细胞能够克服这种失巢凋亡,在血管缺失的情况下继续存活,自噬在其中发挥了非常关键的作用^[17,18]。自噬可以被 ROS 系统通过各种途径激活,包括直接修饰 ATG4,提高 HMGB1 表达水平和胞外释放。当自噬过程被 ROS 激活后,自噬可通过降解氧化蛋白,受损伤的线粒体,减轻 ROS 引起的损伤,对肿瘤细胞发挥保护性作用^[19]。

3 自噬与肿瘤治疗抵抗

自噬作用既可以启动自噬性死亡程序抑制肿瘤的发展,同时它也是肿瘤细胞的一种适应性反应,保护肿瘤细胞,防止营养缺乏和药物带来的损害。多项体内和体外研究发现,在肿瘤细胞脱离细胞基质,缺氧和缺营养成分的环境下,自噬为肿瘤细胞提供庇护,使肿瘤细胞具有强大的生存能力,通过多种途径抑制自噬可能将提高肿瘤对放疗、化疗、免疫治疗的敏感性。化疗药物可以引起肿瘤细胞保护性自噬,能够维持内环境的稳定,使肿瘤细胞适应缺氧环境,继续存活。体外研究发现用于恶性胶质瘤治疗的替莫唑胺在处理神经胶质瘤细胞 U373-MG 细胞后 72h 细胞自噬水平增高,细胞增殖受到抑制。但在处理 1 周后细胞增殖能力又重新恢复,提示药物诱导的细

胞死亡可能由于自噬水平的改变而被逆转, 自噬可能与治疗耐药性的产生关系密切。细胞 Thompson 实验室揭示在淋巴瘤小鼠模型中自噬可以被 p53 恢复或化疗诱导^[20]。用氯喹抑制自噬或 RNA 干扰技术抑制 ATG 基因表达可促进细胞死亡。氯喹通过影响溶酶体的 pH 值从而干预自噬溶酶体的降解过程^[21]。系列研究也证实自噬在放疗、细胞毒作用和肿瘤靶向治疗中都有协同作用。

高迁移率族蛋白 B-1(HMGB1)介导的自噬可以促进骨肉瘤耐药的发生^[22,23]。骨肉瘤好发于儿童及青少年。铂类、阿霉素类都是常用的治疗骨肉瘤的药物,使用这些药物后可以提高骨肉瘤细胞 HMGB1 基因和蛋白的表达水平。HMGB1 上调后与 Bcl-2 竞争性结合 BECN1, 使 BECN1-PtdIns3KC3 复合体增多,刺激自噬体成熟并诱发自噬^[24]。HMGB1 是这一信号通路的上游分子, 因此敲除 HMGB1 或抑制其表达可以抑制自噬,促进细胞凋亡,逆转肿瘤细胞耐药现象。HMGB1 介导的自噬可作为骨肉瘤治疗的潜在靶点。

紫杉类药物也是临床常用的一线化疗药物,因易造成肿瘤细胞获得性耐药而使用受到限制。肿瘤细胞对紫杉类耐药性与药物诱导细胞凋亡反应减弱而自噬水平增强有关^[25]。3-甲基腺嘌呤可以抑制细胞基础水平的自噬, 该药与铂类药物联合使用可以增强铂类药物对肿瘤细胞的体外杀伤作用, 且该协同作用与给药时间有关^[26],有望成为新的肿瘤化疗增敏剂。

4 小 结

自噬作为真核细胞的一种进化高度保守机制,在维持细胞内环境稳定和压力应激下的应答活化各方面都发挥重要作用。Atg 基因家族作为主要成员参与自噬过程, mTOR 途径是自噬活化重要信号通路, 检测 LC3 分子为目前自噬水平检测的基本手段。自噬在肿瘤发生的不同阶段扮演不同角色。抗肿瘤治疗可以活化自噬, 通过调节细胞基础水平自噬来调节肿瘤对药物的敏感性、逆转肿瘤耐药或许将成为肿瘤治疗的新手段。深入研究自噬与肿瘤以及肿瘤治疗抵抗之间的关系, 将对找到靶向自噬关键分子的抗肿瘤药物、逆转肿瘤耐药性重要的意义。

参考文献

- [1] Tang XM, Yi J, Zhang HX, et al. Study on ultrastructure of endocrine cell lysosome [J]. Journal of Chinese Electron Microscopy Society, 1996, 15 (2-4):265-275.[汤雪明, 易静, 张蕙心, 等. 内分泌细胞溶酶体的超微结构研究[J]. 电子显微镜学报, 1996, 15(2-4):265-275.]
- [2] Nakatogawa H, Suzuki K, Kamada Y, et al. Dynamics and diversity in autophagy mechanisms: lessons from yeast[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2009, 10(7):458-467.
- [3] Simonsen A, Tooze SA. Coordination of membrane events during autophagy by multiple class III PI3-kinase complexes[J]. J Cell Biol, 2009, 186(6):773-782.
- [4] Hanada T, Noda NN, Satomi Y, et al. The Atg12-Atg5 conjugate has a novel E3-like activity for protein lipidation in autophagy[J]. J Biol Chem, 2007, 282(52):37298-37302.
- [5] Fujita N, Itoh T, Omori H, et al. The Atg16L complex specifies the site of LC3 lipidation for membrane biogenesis in autophagy[J]. Mol Biol Cell, 2008, 19(5):2092-2100.
- [6] Ropolo A, Grasso D, Pardo R, et al. The pancreatitis-induced vacuole membrane protein 1 triggers autophagy in mammalian cells [J]. J Biol Chem, 2007, 282 (51):37124-37133.
- [7] Neufeld TP. TOR-dependent control of autophagy: biting the hand that feeds [J]. Curr Opin Cell Biol, 2010, 22(2): 157-168.
- [8] Jung CH, Ro SH, Cao J, et al. mTOR regulation of autophagy[J]. FEBS Lett, 2010, 584(7):1287-1295.
- [9] Gwinn DM, Shackelford DB, Egan DF, et al. AMPK phosphorylation of raptor mediates a metabolic checkpoint[J]. Mol Cell, 2008, 30(2):214-226.
- [10] Qian HL, Wang HJ, Lin C. Advances in molecular cancer therapy in anti-apoptotic protein Bcl-2 family protein antagonist[J]. China Cancer, 2011, 20(1):100-102.[钱海利, 王海娟, 林晨. 抗凋亡蛋白 Bcl-2 家族蛋白拮抗分子在肿瘤治疗中的研究进展[J]. 中国肿瘤, 2011, 20(1):100-102.]
- [11] Mizushima N, Yoshimori T, Levine B. Methods in mammalian autophagy research[J]. Cell, 2010, 140(3):313-326.
- [12] Inami Y, Waguri S, Sakamoto A, et al. Persistent activation of Nrf2 through p62 in hepatocellular carcinoma cells[J]. J Cell Biol, 2011, 193(2):275-284.
- [13] Degenhardt K, Mathew R, Beaudoin B, et al. Autophagy promotes tumor cell survival and restricts necrosis, inflammation, and tumorigenesis[J]. Cancer Cell, 2006, 10(1):51-64.
- [14] Liu L, McKeen WL, Wang F, et al. MAP1S enhances autophagy to suppress tumorigenesis [J]. Autophagy, 2012, 8(2):278-280.

- [15] Kwon J, Han E, Bui CB, et al. Assurance of mitochondrial integrity and mammalian longevity by the p62-Keap1-Nrf2-Nqo1 cascade[J]. *EMBO Rep*, 2012, 13(2):150–156.
- [16] Stepkowski TM, Kruszewski MK. Molecular cross-talk between the NRF2/KEAP1 signaling pathway, autophagy, and apoptosis[J]. *Free Radic Biol Med*, 2011, 50(9):1186–1195.
- [17] Kenific CM, Thorburn A, Debnath J. Autophagy and metastasis: another double-edged sword[J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2010, 22(2):241–245.
- [18] Horbinski C, Mojesky C, Kyprianou N. Live free or die: tales of homeless (cells) in cancer [J]. *Am J Pathol*, 2010, 177(3):1044–1052.
- [19] Scherz-Shouval R, Elazar Z. Regulation of autophagy by ROS: physiology and pathology[J]. *Trends Biochem Sci*, 2011, 36(1):30–38.
- [20] Amaravadi RK, Yu D, Lum JJ, et al. Autophagy inhibition enhances therapy-induced apoptosis in a Myc-induced model of lymphoma[J]. *J Clin Invest*, 2007, 117(2):326–336.
- [21] Hamano T, Gendron TF, Causevic E, et al. Autophagic-lysosomal perturbation enhances tau aggregation in transfectants with induced wild-type tau expression [J]. *Eur J Neurosci*, 2008, 27(5):1119–1130.
- [22] Huang J, Ni J, Liu K, et al. HMGB1 promotes drug resistance in osteosarcoma[J]. *Cancer Res*, 2012, 72(1):230–238.
- [23] Huang J, Liu K, Yu Y, et al. Targeting HMGB1-mediated autophagy as a novel therapeutic strategy for osteosarcoma [J]. *Autophagy*, 2012, 8(2):275–277.
- [24] Zhao M, Yang M, Yang L, et al. HMGB1 regulates autophagy through increasing transcriptional activities of JNK and ERK in human myeloid leukemia cells [J]. *BMB Rep*, 2011, 44(9):601–606.
- [25] Ajabnoor GM, Crook T, Coley HM. Paclitaxel resistance is associated with switch from apoptotic to autophagic cell death in MCF-7 breast cancer cells [J]. *Cell Death Dis*, 2012, 3:e260.
- [26] Quan HY, Wang MY, Zhang TF, et al. Mechanism of 3-methyladenine in promoting sensitivity of chemotherapeutics in oral squamous cell carcinoma in vitro[J]. *Journal of Jilin University (Medicine Edition)*, 2012, 38(1):50–53. [全海英, 王民艳, 张桐菲, 等. 3-甲基腺嘌呤增强口腔鳞癌体外化疗敏感性的作用机制 [J]. *吉林大学学报 (医学版)*, 2012, 38(1):50–53.]

关于启用稿件远程处理系统的通知

本刊已启用稿件远程处理系统,该系统包括作者在线投稿/查询、主编办公、专家审稿、编辑办公等功能,通过网上投稿、网上查稿、网上审稿,实现作者、编辑、审稿专家的一体化在线协作处理,从而构建一个协作化、网络化、角色化的编辑稿件业务处理平台。对于广大作者而言,该系统最大的优点是支持在线投稿,方便作者及时了解稿件处理进程,缩短稿件处理时滞。使用过程中具体注意事项如下:

(1)第1次使用本系统投稿的作者,必须在“作者登录”中先注册,才能投稿。注册时各项信息请填写完整。作者自己设定用户名和密码,该用户名密码长期有效。

(2)已注册过的作者,请不要重复注册,否则将导致查询稿件信息不完整。如果遗忘密码,可以致电编辑部查询。

(3)作者投稿请点击“作者登录”,登录后按照提示操作即可。投稿成功后,系统自动发送回执邮件,作者投稿后请随时关注邮箱提示,也可随时点击“作者登录”,获知该稿件的审理情况、处理进展、审稿意见等。

(4)网上投稿成功1周内,请将稿件处理费20元通过邮局汇款至编辑部(务必注明第一作者姓名、稿号和详细地址);并将以下文件邮寄至编辑部:①单位介绍信;②文章若属于基金项目资助,附上基金项目批文的复印件。编辑部收到稿件处理费和上述文件后,稿件将进入审稿程序。

稿件远程处理系统启用后,我刊只接受网上投稿,不再接收电子邮件投稿和纸质稿,《肿瘤学杂志》网址:<http://www.chinaoncology.cn>。

如有任何问题,请与编辑部联系!联系电话:0571-88122280。

《肿瘤学杂志》编辑部