

DOI:10.12025/j.issn.1008-6358.2017.20170190

自噬应用于肿瘤治疗的研究进展

伍思霖, 丁海林, 黄玉莹, 顾 晔, 张晓彪*

复旦大学附属中山医院神经外科, 上海 200032

[摘要] 自噬是一种自我分解过程,用于降解长寿命蛋白质或衰老坏死的细胞器。这一途径极度依赖溶酶体,广泛存在于真核细胞中且高度保守。细胞发生适宜程度的自噬可以保护细胞本身,帮助其抵抗外界的不良环境,然而当细胞自噬过度时,则会引起自噬性细胞死亡。近年来,随着对细胞自噬研究的不断深入,人们发现细胞自噬与大多数肿瘤的发生、发展密切相关。临床上有越来越多的与自噬作用相关的药物用于肿瘤的临床治疗,但是其对于不同肿瘤的治疗效果不一,并且其对正常细胞的影响需要通过更多的临床试验和实验研究来明确。本文就细胞自噬在肿瘤发生、发展中的“双刃剑”作用以及通过药物调节自噬来治疗肿瘤的相关进展作一综述。

[关键词] 自噬;细胞死亡;肿瘤;肿瘤治疗;凋亡**[中图分类号]** R 73-36 **[文献标志码]** A

Autophagy in clinical therapy of tumor: research progress

WU Si-lin, DING Hai-lin, HUANG Yu-ying, GU Ye, ZHANG Xiao-biao*

Department of Neurosurgery, Zhongshan Hospital, Fudan University, Shanghai 200032, China

[Abstract] Autophagy is a self-decomposing process that is used to degrade long-lived proteins or necrotic organelles. It is extremely dependent on lysosomes, widely present in eukaryotic cells and highly conserved. Autophagy can protect the cells themselves and help them resist the adverse environment at a proper level, but excessive autophagy can result in autophagic cell death. In recent years, with the comprehensive research of autophagy, it has been found that autophagy is closely related to the development and progression of most tumors. More drugs associated with autophagy are used for the clinical treatment of tumors, but they have different therapeutic effects on different tumors, so the impact of autophagy-related drugs on normal cells need to be identified through more clinical trials and experimental studies. This paper reviews the roles of autophagy in the occurrence and development of tumors, and recent progress in the treatment of cancer by regulating autophagy through drugs.

[Key Words] autophagy; cell death; tumor; therapy on tumor; apoptosis

1 自噬的定义和分类

自噬(autophagy)通常被认为是一种调节细胞内物质周转的自分解代谢机制,维持细胞和机体内环境稳态^[1]。自噬现象极为广泛地分布于真核生物细胞中,但其自身却是一个极度保守并且依赖溶酶体(lysosome)的自我消化过程^[2]。自噬在进化过程中高度保守,从单细胞真核生物到脊椎动物和人都有参与自噬过程的同源基因。泛素-蛋白酶系统主要降解大多数短寿命的蛋白质,与之不同,细胞自

噬则主要参与多种长寿命蛋白质的降解^[3]。

依据底物进入溶酶体内的方式,可将自噬分为3类:(1)巨自噬(macroautophagy);(2)微自噬(microautophagy);(3)分子伴侣介导的自噬(chaperone mediated autophagy,CMA)^[4]。而我们通常所说的自噬即是巨自噬^[5],主要涉及细胞质成分的降解,以及ATP和基本代谢原料(氨基酸、脂肪酸等)的回收,以在营养物剥夺/匮乏或代谢应激期间维持细胞生物合成,满足细胞生存所需的基本条件^[6]。通过研究单细胞真核生物酵母菌的自噬过

[收稿日期] 2017-03-09**[接受日期]** 2017-05-24

[基金项目] 上海市科学技术委员会引导项目(134119a1202),上海市卫生和计划生育委员会青年项目(20164Y0141)。Supported by Foundation of Science and Technology Commission of Shanghai Municipality(134119a1202) and Youth Project of Shanghai Municipal Health and Family Planning Commission (20164Y0141)。

[作者简介] 伍思霖,博士生。E-mail: wsl916@hotmail.com

*通信作者(Corresponding author)。Tel: 021-64041990-5047, E-mail: xiaobiao_zhang@163.com

程,发现首先胞质内出现大量游离的膜性结构,细胞逐步形成从头结构,称为前自噬泡(pre-autophagosome),其不断延长以吞噬和包裹坏死的细胞器或者变性的蛋白质,形成了具有双层膜的囊泡结构,也被称为自噬泡(autophagic vacuole),接着溶酶体和自噬泡外膜融合形成自噬性溶酶体(autophagolysosome),其含有的各种酸性水解酶导致了自噬体内膜及其内容物的降解^[7]。

在研究自噬过程中已经发现了至少 38 种参与酵母菌自噬过程的特异性基因,这些基因现均已统一命名为自噬相关基因(autophagy related gene, ATG),依次被命名为 ATG1、ATG2……ATG37、ATG38;哺乳动物自噬基因的命名与酵母菌类似,但也有细小差异,如 ATG8 在哺乳动物被称为 LC3/ATG8L/GABARAP、ATG12 被称为 hATG12/hAPG12,ATG6 则被称为 Beclin 1。这也是研究较多的 3 个自噬基因,在自噬过程中扮演着重要的角色^[8-9]。

2 自噬与肿瘤的发生和发展

细胞自噬错综复杂,涉及人类健康和疾病的许多方面,包括神经元变性、微生物感染、老化以及癌症等^[10-12]。许多研究^[12-14]发现,自噬与多种不同肿瘤发生、发展及预后有着极为密切的关系。研究^[15]显示,在人非小细胞肺癌 A549 细胞株中,自噬抑制剂一方面抑制了肿瘤细胞自噬,另一方面通过刺激 ROS 形成而促进 5-FU 诱导的细胞凋亡。Cho 等^[16]研究发现,Beclin 1 高表达与胃癌预后较好有关,提示自噬对于胃癌具有一定的抑瘤作用。研究^[17]提示,通过化学药物诱发的肝癌细胞系自噬能力明显下降,并且从肝癌细胞和癌前病变的肝结节中分离得到的溶酶体相关酶类的活性明显下降。Liang 等^[18]研究发现,在正常的乳腺上皮组织中 Beclin 1 呈现高表达,而在乳腺癌细胞中表达明显下调甚至缺失;在稳定转染 Beclin1 的人乳腺癌 MCF-7 细胞株发现,其不仅提高了肿瘤细胞的自噬程度,而且明显抑制了 MCF-7 细胞株的成瘤性。因此,选择 Beclin1 作为肿瘤基因治疗新靶点,提高肿瘤细胞的自噬能力,有望成为肿瘤治疗的新途径。

自噬在肿瘤细胞中的作用往往表现出两面性:一方面,在某些特定环境下,自噬通过抑制凋亡途径而保护肿瘤细胞;另一方面,自噬也可以通过清除有害的蛋白质和受损细胞器给予肿瘤细胞更多

的发展空间,从而起到保护肿瘤的作用。

3 自噬与肿瘤临床治疗

激素药物、化学治疗与放射治疗都可以不同程度地诱发细胞自噬。然而细胞自噬在肿瘤临床治疗中的作用与其在肿瘤发生、发展中的双面作用一样,也是一把双刃剑,可抑制或促进肿瘤的存活^[19-21]。此外,目前缺乏合适的自噬特异性药物用于肿瘤的临床治疗,但是针对某些自噬调节剂在肿瘤治疗中适用性和安全性方面的研究结果提供了一些这方面的实验依据。

3.1 自噬抑制剂在癌症治疗中的应用 在肿瘤组织中,与正常细胞相比,自噬更容易被治疗药物的细胞毒性作用以及代谢应激反应所诱发,从而保护肿瘤细胞免于死亡^[22]。因此,自噬抑制剂通常被认为在杀死癌细胞的过程中与化疗或放疗具有协同效应。研究发现在多种肿瘤模型中自噬抑制剂具有一定的抗癌作用,包括神经胶质瘤^[23]、结肠癌^[24]和前列腺癌^[25]等。顺铂(DDP)是一种广谱化疗药物,临床上广泛应用于治疗肺癌、膀胱癌及直肠癌等多种肿瘤治疗,但耐药性一直是临床治疗难以克服的障碍^[26]。研究^[27]表明,DDP 等药物可以引起肿瘤细胞自噬,提示肿瘤耐药性很可能与自噬有关。有研究^[28]提示,自噬抑制剂可能分别增强了 DDP 和 5-FU 在食管癌和结肠癌中的治疗功效。Liu 等^[29]研究发现,DDP 联合应用自噬抑制剂 3-MA 治疗食管鳞状细胞癌可以提高抑制率及细胞凋亡率,而且细胞周期组织在 S 期的细胞数增加。还有研究^[30]提示,3-MA 可以通过明显抑制肿瘤细胞 PI3K 激酶的活性从而阻断自噬的发生,而自噬表达下调可增强吉西他滨(抗代谢化疗药)对肺癌 A549 细胞的抑制作用,从而提高化疗效果。还有支持抑制细胞自噬作为抗癌策略的临床前研究^[31]提示,在治疗 HER2 过度表达的转移性乳腺癌病例中,肿瘤细胞的自噬作用增强了癌细胞对曲妥珠单抗的抗性,而通过 shRNA 敲低 LC3 导致抗性细胞被重新致敏,提高了肿瘤的治疗效果。在治疗慢性髓性白血病(CML)的临床研究^[32]中发现,自噬抑制药物或 RNAi 靶向自噬调节剂通过强化甲磺酸伊马替尼的作用诱导肿瘤细胞死亡。在不存在特异性靶向自噬调节剂的情况下,溶酶体性抗疟药物间接自噬抑制氯喹(CQ)和羟基氯喹(HCQ)能够有效地干扰溶酶体的酸化过程,并且最终阻止细胞自噬,目前

正用于结合多种肿瘤类型的标准治疗的临床试验研究。多数研究^[22,33]提示,抑制细胞自噬可能是提高恶性肿瘤治疗效果的重要途径之一,但是自噬抑制在癌症治疗中的作用机制仍不明,需要进一步的基础研究和临床试验研究来证实。

3.2 自噬诱导剂在癌症治疗中的作用 如前所述,虽然自噬抑制剂结合标准治疗正有望成为新的抗癌方案,但是某些癌细胞系和异种移植肿瘤对涉及自噬诱导而不是抑制的治疗方案更为敏感。这通常发生凋亡缺陷的细胞中,其中癌细胞致力于非凋亡性细胞死亡模式,包括坏死、程序性坏死和自噬细胞死亡^[33]。在多种癌细胞系的体外实验中,使用不同烷化剂(如放线菌素 D 和三氧化二砷)、激素(他莫昔芬和维生素 D 类似物)、基因治疗(包括 p53 和 p27kip1),均观察到自噬体的形成及不同程度的细胞死亡^[34-37]。然而,自噬在细胞死亡过程中是否起到积极作用仍不清楚,或者只是迫于生存环境的压力,细胞通过加强能量和氨基酸回收程序来维持生存力。因此,死亡细胞中自噬体的存在并不意味着自噬性细胞死亡,除非在等同的应激条件下降低自噬基本调节因子的表达,而出现细胞存活时间延长的现象^[38]。例如,STF-62247 是一种小分子激动剂,其可以诱导细胞自噬并选择性杀死与自噬体积累相关的 von Hippel-Lindau (VHL) 缺陷性肾癌细胞,有望成为治疗肾癌的新型靶向药物^[39]。

在具有失巢凋亡的肿瘤中,自噬常作为细胞死亡的主要机制,因为具有功能性细胞凋亡的细胞在严重受压时进行快速和“清洁”(不与炎症相关)的凋亡性细胞死亡^[3]。因为在癌症中常发生细胞凋亡通路的缺失,所以正如前所述在极端压力下的肿瘤细胞常通过其他机制死亡。然而,自噬作为原发性细胞死亡机制之一,将为靶向应用的治疗方案利用自噬诱导更有效地杀伤肿瘤细胞提供理论依据。研究^[40]发现,他莫昔芬等雌激素受体拮抗剂以雌二醇受体为药物靶点,能够诱导乳腺癌细胞 MCF-7 发生过度自噬,引起自噬性细胞死亡。雷帕霉素、替莫唑胺和三氧化二砷在治疗恶性胶质瘤过程中可使肿瘤细胞自噬活性上调^[41]。这表明细胞自噬可能是癌细胞对抗肿瘤治疗的一种潜在的耐受机制。由此可以推测临床抗癌治疗不佳可能与放化疗过程中诱发了肿瘤细胞的自噬有关。雷帕霉素是一种新型大环内酯类抗真菌与免疫抑制剂,是 mTOR 蛋白的特异性抑制剂,还具有诱导细胞自噬的作

用^[42]。有研究^[43]发现,多数肿瘤细胞经雷帕霉素诱导后自噬标志物 LC3 表达上调,表明雷帕霉素可能主要通过抑制 mTOR 激酶活性提高肿瘤细胞的自噬活性,从而达到抑制肿瘤生长的目的。

4 展 望

细胞自噬在肿瘤和治疗反应中的作用无疑是很复杂的。自噬的双刃剑功能作为肿瘤抑制剂和癌细胞存活的保护剂,可能以相反的方式影响抗癌治疗功效。利用肿瘤中的功能性自噬状态和药理学自噬调节癌症治疗和预防为癌症治疗提供了新的机会。自噬缺陷与代谢应激、DNA 损伤累积、基因组不稳定性与肿瘤易感性相关,但仍然存在诸多问题。合理自噬上调可以保留细胞适应性和基因组完整性,以防止癌症发展和进展;长期自噬缺陷型肿瘤也可能对基因毒性和(或)代谢应激诱导抗癌剂,例如 DNA 损伤和抗血管生成药物特别敏感。相反,对于自噬能力较强的肿瘤组织,自噬往往成为他们在代谢应激条件下存活的重要途径,例如在肿瘤快速生长、转移和治疗期间,应用自噬抑制剂可以增加任何抗癌形式的功效,包括放射、化疗、生物制剂和组合方案。

总之,当利用自噬系统提高抗癌效益时,必须仔细考虑自噬的多方面性质及其与其他生物过程(包括细胞死亡途径)的相互影响。肿瘤细胞中的自噬调节机制,肿瘤自噬功能状态对癌症进展和对治疗反应的影响,以及阐明如何最佳地调节自噬以提高肿瘤防治的有效性,这些领域都值得深入探索和研究,以实现根除癌症的目标。

参考文献

- [1] CHENG J, LIAO Y, XIAO L, et al. Autophagy regulates MAVS signaling activation in a phosphorylation-dependent manner in microglia[J]. Cell Death Differ, 2017, 24(2): 276-287.
- [2] JIN S. P53, autophagy and tumor suppression [J]. Autophagy, 2005, 1(3): 171-173.
- [3] 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.
- [4] MIZUSHIMA N, KOMATSU M. Autophagy: renovation of cells and tissues[J]. Cell, 2011, 147(4): 728-741.
- [5] MAH L Y, RYAN K M. Autophagy and cancer[J]. Cold Spring Harb Perspect Biol, 2012, 4(1): a008821.

- [6] CHEN W, SUN Y, LIU K, et al. Autophagy: a double-edged sword for neuronal survival after cerebral ischemia[J]. *Neural Regen Res*, 2014, 9(12): 1210-1216.
- [7] YOSHIMORI T. Autophagy: a regulated bulk degradation process inside cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, 313(2): 453-458.
- [8] MIZUSHIMA N, YOSHIMORI T, OHSUMI Y. The role of Atg proteins in autophagosome formation[J]. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2011, 27: 107-132.
- [9] RUSSELL R C, YUAN H X, GUAN K L. Autophagy regulation by nutrient signaling[J]. *Cell Res*, 2014, 24(1): 42-57.
- [10] WINSLOW A R, RUBINSZTEIN D C. Autophagy in neurodegeneration and development [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2008, 1782(12): 723-729.
- [11] YEN W L, KLIONSKY D J. How to live long and prosper: autophagy, mitochondria, and aging [J]. *Physiology (Bethesda)*, 2008, 23: 248-262.
- [12] MATHEW R, KARANTZA-WADSWORTH V, WHITE E. Role of autophagy in cancer[J]. *Nat Rev Cancer*, 2007, 7(12): 961-967.
- [13] LIN L, BAEHRECKE E H. Autophagy, cell death, and cancer[J]. *Mol Cell Oncol*, 2015, 2(3): e985913.
- [14] WHITE E, MEHNERT J M, CHAN C S. Autophagy, metabolism, and cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2015, 21(22): 5037-5046.
- [15] PAN X, ZHANG X, SUN H, et al. Autophagy inhibition promotes 5-fluorouracil-induced apoptosis by stimulating ROS formation in human non-small cell lung cancer A549 cells[J]. *PLoS One*, 2013, 8(2): e56679.
- [16] CHO Y Y, KIM D J, LEE H S, et al. Autophagy and cellular senescence mediated by Sox2 suppress malignancy of cancer cells[J]. *PLoS One*, 2013, 8(2): e57172.
- [17] LADE A, NOON L A, FRIEDMAN S L. Contributions of metabolic dysregulation and inflammation to nonalcoholic steatohepatitis, hepatic fibrosis, and cancer[J]. *Curr Opin Oncol*, 2014, 26(1): 100-107.
- [18] LIANG X H, JACKSON S, SEAMAN M, et al. Induction of autophagy and inhibition of tumorigenesis by beclin 1[J]. *Nature*, 1999, 402(6762): 672-676.
- [19] LEVY J M, THORBURN A. Targeting autophagy during cancer therapy to improve clinical outcomes[J]. *Pharmacol Ther*, 2011, 131(1): 130-141.
- [20] YOUN P, CHEN Y, FURGESON D Y. Cytoprotection against beta-amyloid (A β) peptide-mediated oxidative damage and autophagy by Keap1 RNAi in human glioma U87mg cells[J]. *Neurosci Res*, 2015, 94: 70-78.
- [21] VIJAYARATHNA S, GOTHAI S, JOTHY S L, et al. Can cancer therapy be achieved by bridging apoptosis and autophagy: a method based on microRNA-dependent gene therapy and phytochemical targets[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2015, 16(17): 7435-7439.
- [22] GEWIRTZ D A. Autophagy, senescence and tumor dormancy in cancer therapy[J]. *Autophagy*, 2009, 5(8): 1232-1234.
- [23] SHINGU T, FUJIWARA K, BOGLER O, et al. Stage-specific effect of inhibition of autophagy on chemotherapy-induced cytotoxicity[J]. *Autophagy*, 2009, 5(4): 537-539.
- [24] CAREW J S, MEDINA E C, ESQUIVEL J A 2nd, et al. Autophagy inhibition enhances vorinostat-induced apoptosis via ubiquitinated protein accumulation[J]. *J Cell Mol Med*, 2010, 14(10): 2448-2459.
- [25] KIM R H, COATES J M, BOWLES T L, et al. Arginine deiminase as a novel therapy for prostate cancer induces autophagy and caspase-independent apoptosis [J]. *Cancer Res*, 2009, 69(2): 700-708.
- [26] KOBERLE B, TOMICIC M T, USANOVA S, et al. Cisplatin resistance: preclinical findings and clinical implications[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2010, 1806(2): 172-182.
- [27] REN J H, HE W S, NONG L, et al. Acquired cisplatin resistance in human lung adenocarcinoma cells is associated with enhanced autophagy[J]. *Cancer Biother Radiopharm*, 2010, 25(1): 75-80.
- [28] LI J, HOU N, FARIED A, et al. Inhibition of autophagy by 3-MA enhances the effect of 5-FU-induced apoptosis in colon cancer cells[J]. *Ann Surg Oncol*, 2009, 16(3): 761-771.
- [29] LIU D, YANG Y, LIU Q, et al. Inhibition of autophagy by 3-MA potentiates cisplatin-induced apoptosis in esophageal squamous cell carcinoma cells[J]. *Med Oncol*, 2011, 28(1): 105-111.
- [30] MIAO X D, CAO L, ZHANG Q, et al. Effect of PI3K-mediated autophagy in human osteosarcoma MG63 cells on sensitivity to chemotherapy with cisplatin[J]. *Asian Pac J Trop Med*, 2015, 8(9): 731-738.
- [31] VAZQUEZ-MARTIN A, OLIVERAS-FERRAROS C, MENENDEZ J A. Autophagy facilitates the development of breast cancer resistance to the anti-HER2 monoclonal antibody trastuzumab[J]. *PLoS One*, 2009, 4(7): e6251.
- [32] BELLODI C, LIDONNICI M R, HAMILTON A, et al. Targeting autophagy potentiates tyrosine kinase inhibitor-induced cell death in Philadelphia chromosome-positive cells, including primary CML stem cells[J]. *J Clin Invest*, 2009, 119(5): 1109-1123.
- [33] KONDO Y, KONDO S. Autophagy and cancer therapy[J]. *Autophagy*, 2006, 2(2): 85-90.
- [34] CRIGHTON D, WILKINSON S, OPREY J, et al. DRAM, a p53-induced modulator of autophagy, is critical for apoptosis[J]. *Cell*, 2006, 126(1): 121-134.
- [35] BUYTAERT E, CALLEWAERT G, HENDRICKX N, et al. Role of endoplasmic reticulum depletion and multidomain proapoptotic BAX and BAK proteins in shaping cell death

- after hypericin-mediated photodynamic therapy[J]. *FASEB J*, 2006, 20(6): 756-758.
- [36] KANZAWA T, KONDO Y, ITO H, et al. Induction of autophagic cell death in malignant glioma cells by arsenic trioxide[J]. *Cancer Res*, 2003, 63(9): 2103-2108.
- [37] KANZAWA T, ZHANG L, XIAO L, et al. Arsenic trioxide induces autophagic cell death in malignant glioma cells by upregulation of mitochondrial cell death protein BNIP3[J]. *Oncogene*, 2005, 24(6): 980-991.
- [38] KROEMER G, LEVINE B. Autophagic cell death: the story of a misnomer[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2008, 9(12): 1004-1010.
- [39] TURCOTTE S, CHAN D A, SUTPHIN P D, et al. A molecule targeting VHL-deficient renal cell carcinoma that induces autophagy[J]. *Cancer Cell*, 2008, 14(1): 90-102.
- [40] CHOI K S. Autophagy and cancer[J]. *Exp Mol Med*, 2012, 44(2): 109-120.
- [41] CHIU H W, HO Y S, WANG Y J. Arsenic trioxide induces autophagy and apoptosis in human glioma cells in vitro and in vivo through downregulation of survivin[J]. *J Mol Med (Berl)*, 2011, 89(9): 927-941.
- [42] MERIC-BERNSTAM F, GONZALEZ-ANGULO A M. Targeting the mTOR signaling network for cancer therapy[J]. *J Clin Oncol*, 2009, 27(13): 2278-2287.
- [43] ZENG X, KINSELLA T J. Mammalian target of rapamycin and S6 kinase 1 positively regulate 6-thioguanine-induced autophagy[J]. *Cancer Res*, 2008, 68(7): 2384-2390.

[本文编辑] 叶 婷, 晓 路

