

自噬与肺部疾病研究进展*

杨莉 肖凌 陈临溪**

(南华大学药物药理研究所, 衡阳 421001)

摘要 自噬(autophagy)是广泛存在于真核细胞中的基本生命现象, 是细胞适应环境变化、防御病原微生物侵袭、维持内环境稳定的重要机制。多种肺部疾病中存在自噬活性的变化, 自噬与肺部疾病的发生、发展密切相关。自噬在慢性阻塞性肺病、肺气肿、肺癌、肺结核等许多肺部疾病中发生, 且发挥重要作用。现从自噬与多种肺部疾病的关系角度进行综述, 有助于了解自噬在肺部疾病中发挥的作用, 以便进一步研究自噬的调节, 为肺部疾病的治疗提供新思路。

关键词 自噬, 慢性阻塞性肺病, 肺气肿, 肺癌, 肺结核, 肺动脉高压

学科分类号 R56, R363

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2011.00429

自噬是细胞通过单层或双层膜包裹待降解物形成自噬体(autophagosome), 然后运送到溶酶体(lysosome)形成自噬溶酶体, 降解其所包裹的内容物, 以实现细胞本身的代谢需要和细胞器的更新, 因所有过程均在同一细胞中完成, 所以被称为自噬。

1 概述

细胞的死亡方式有2种, 程序性细胞死亡(programmed cell death, PCD)和细胞坏死, 其中程序性细胞死亡有Ⅰ型(细胞凋亡)和Ⅱ型(自噬性细胞死亡)两种类型^[1]。自噬, 即自体吞噬, 是指溶酶体降解利用细胞内物质成分(如长寿蛋白和某细胞器)的过程^[1-2]。自噬是真核细胞内的一种溶酶体依赖性的高效的亚细胞降解途径, 在清除废物、细胞的生长发育、维持蛋白质代谢平衡和细胞内环境的稳定中发挥重要作用, 对防止如神经退行性病变、肿瘤、心肌病、病原微生物侵入感染等疾病以及对防止老化、延长寿命有积极作用。根据底物进入溶酶体途径的不同, 可将细胞自噬分为: 巨自噬(macroautophagy, 即通常所指的自噬)、微自噬(microautophagy)和分子伴侣介导的自噬(chaperon mediated autophagy, CMA)。

1.1 自噬发生过程及分子机制

自噬过程中, 自噬体与溶酶体结合形成自噬溶酶体(简称自噬体), 其可降解细胞质中受损、变性的大分子和细胞器, 并将降解产物循环利用, 从而为细胞的正常生存、代谢提供原料, 但过度自噬则引起细胞的过量损伤, 导致细胞死亡, 即程序性细胞死亡。自噬体发生过程如下: a. 分隔膜的形成。在饥饿、某些激素等因素刺激下, 双层膜的杯状分隔膜开始在被降解物的周围形成。b. 自噬体的形成。随着分隔膜逐渐延伸, 将要被降解的胞浆成分包绕并隔离开形成自噬体。c. 自噬体的运输、融合。自噬体与溶酶体融合形成自噬体, 期间自噬体的内膜及其内容物被溶酶体酶降解, 随后降解产物被输送到胞浆中, 供细胞重新利用。d. 自噬体的降解。自噬体融合后, 最终被溶酶体中的水解酶溶解, 产物在细胞内再循环利用。

自噬形成过程中, 多种自噬相关基因(autophagy associated gene, ATG)参与自噬泡的形成, 其中2

* 国家自然科学基金资助项目(30901577)。

** 通讯联系人。

Tel: 0734-8281587, E-mail: chenlinxi@tom.com

收稿日期: 2011-09-22, 接受日期: 2011-12-26

个泛素样蛋白系统及其泛素化修饰发挥重要作用, Atg12 结合过程与前自噬泡的形成相关, 而微管相关蛋白 1 轻链 3 (microtubule-associated protein 1 light chain 3, LC3) 修饰过程对自噬泡的形成必不可少, 均与自噬泡的形成息息相关. Atg12 与 Atg5 结合形成自噬体前体, Atg12-Atg5 复合物的相互作用在 Atg12 结合和 LC3 修饰 2 条泛素化修饰过程中起重要作用. LC3 前体形成后, 首先加工成胞浆可溶性形式 LC3- I, 并暴露出其羧基端的甘氨酸残基. 随后, LC3- I 被修饰成膜结合形式 LC3- II, LC3- II 定位于前自噬体和自噬体, 使之成为自噬体的标志分子.

自噬泡形成早期阶段, Atg12-Atg5-Atg16L 复合物即与其外膜结合, 不仅促进了自噬泡的伸展扩张, 而且 Atg5 复合物与自噬泡膜的结合还促进了 LC3 向自噬泡的募集. 当双层膜结构的自噬泡即将形成环状闭合结构或刚刚闭合时, Atg5 复合物便从膜上脱离下来, 只留下膜结合形式的 LC3- II 定位于自噬泡膜上. 因此, LC3- II 含量的多少与自噬泡数量的多少成正比. 一旦自噬体与溶酶体融合, 自噬体内的 LC3- II 即被溶酶体中的水解酶降解. 此外, Atg12-Atg5-Atg16L 复合物的存在是自噬过程中膜的延伸所必需的, 延伸过程中, 一部分复合物定位于膜表面, 自噬体的双层膜结构形成后, 此复合物便从膜上解离下来.

1.2 自噬的特性

自噬具有以下特性: a. 维持细胞稳态. 细胞正常情况下很少发生自噬, 有诱发因素的存在时引发自噬. 自噬既可作为一种防御机制清除胞质内受损的细胞器、代谢产物, 进行亚细胞水平上的重构, 保护受损的细胞, 同时它也是一种细胞死亡程序诱导细胞主动性死亡^[9]. b. 自噬过程很快. 诱导后 8 min 即可观察到自噬体形成, 2 h 后自噬溶酶体基本降解消失. c. 自噬的可诱导性. 快速合成自噬相关蛋白, 导致大量自噬体的快速形成. d. 批量降解. 这是与蛋白酶体降解途径的显著区别. e. “捕获”胞浆成分的非特异性. 由于自噬的速度要快、量要大, 因此其为非特异性捕获, 与自噬的应急特性相适应. f. 自噬的保守性. 由于自噬有利于细胞的存活, 因此物种间以及各细胞类型之间(包括肿瘤细胞), 自噬都普遍被保留下来.

1.3 自噬的调控机制

自噬的信号调控: a. 哺乳动物雷帕霉素靶点

(mammalian target of rapamycin, mTOR) 信号途径. TOR 激酶对细胞生长具有重要调节作用, 抑制自噬发生, 发挥“门卫(gatekeeper)”作用. 雷帕霉素通过抑制 mTOR 的活性、p70S6 活性诱导自噬发生的作用. b. I 型磷脂酰肌醇三磷酸激酶(Class I PI3K)/ 蛋白激酶 B(protein kinase B, PKB) 途径. 胰岛素、生长因子等结合于跨膜胰岛素受体或酪氨酸激酶受体(IR, RTK)后, 激活 Class I PI3K, 结合 PKB 及其活化分子, 抑制自噬的发生. 结节性硬化蛋白(tuberous sclerosis, TSC)1/2 位于 Class I PI3K/PKB 途径的下游, 抑制 TOR 激酶的活性, 对自噬发挥正向调节作用; PTEN 磷酸酶(第 10 号染色体缺失的磷酸酶和张力蛋白同源等位基因, the phosphatase and tensin homologue deleted on chromosome 10)解除 Class I PI3K/PKB 途径对自噬的抑制, 而 3- 甲基腺嘌呤(3-methyladenine, 3-MA)通过抑制 PI3K 的功能而抑制自噬, 自噬正调控子 beclin1(自噬的主要调节剂)、UVRAG(UV radiation resistance-associated gene), 与负调控子 bcl-2 共同参与组成 Class III PI3 复合物, 调控自噬. c. Gαi3 蛋白和氨基酸. GTP 结合的 G 蛋白亚基 Gαi3 是自噬的抑制因子, 而 GDP 结合的 Gαi3 蛋白则是自噬的活化因子, 氨基酸作为自噬过程蛋白质降解物的终产物, 可负性反馈调节自噬. d. 其他. 激素在自噬的调节中也起重要作用, 胰岛素可抑制自噬, 而胰高血糖素则促进自噬.

2 自噬与肺部疾病

肺是一种重要的呼吸器官, 通常发生在肺部的常见疾病有慢性阻塞性肺病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)、肺结核(pulmonary tuberculosis)、慢性肺心病(chronic cardiopulmonary disease)、哮喘(asthma)、呼吸衰竭(respiratory failure)和肺癌(lung cancer)等. 本文主要就 COPD、肺癌、肺结核及肺动脉高压进行简述.

肺是一种主要具气体交换功能的复杂器官, 包括不同的细胞类型(内皮细胞、上皮细胞、间质细胞、炎症性细胞). 在肺细胞中, 自噬可能是对氧化应激引起损伤的一种普遍存在的可诱导的适应性反应, 其中, 引起氧化应激的因素包括缺氧、氧化剂、炎症、缺血再灌注、药物制剂、吸入性外源物等. 慢性缺氧和缺血再灌注发作可能导致肺血管细胞损伤^[4-5]. 本文将氧化应激及引起的肺损伤列入

自噬与 COPD 的研究中总结叙述。

2.1 自噬与 COPD

COPD 是一种由慢性吸食香烟(cigarette smoke, CS) 所致的功能减退的疾病, 其包括组织破坏如肺气肿(pulmonary emphysema)、支气管炎(bronchitis)及纤维化^[6]。COPD 是对吸烟的异常细胞反应为特征的进行性肺疾病, 导致组织损伤、气流阻塞, 其中, 肺气肿是指肺部终末细支气管远端气腔出现异常持久的扩张, 并有肺泡壁和细支气管的破坏, 而无明显肺纤维化。

已有研究探索 COPD 发病机制中的氧化应激、炎症、免疫、染色体重组。吸烟及其他污染物或生物燃料所导致的氧化剂与抗氧化剂的失调, 经过调节氧化还原反应敏感的转录因子效应, 在 COPD 的发病机制中发挥了重要作用, 自噬和展开蛋白反应, 导致慢性肺炎反应。

氧化剂与抗氧化剂失调以及外源性氧化剂引起氧化应激, 其中, 外源性氧化剂是炎症和呼吸性疾病(慢性阻塞性肺病、特发性肺纤维化、慢性阻塞性肺疾病综合征和哮喘)的重要因素。肺及其上皮细胞是吸入环境中有害物质所引起肺损伤的主要部位。

近期研究发现, 用水合的香烟提取物(cigarette smoke extract, CSE) 处理人支气管上皮细胞 Beas-2B, 细胞内活性氧(reactive oxygen species, ROS)生成增加^[7]。CSE 处理肺上皮细胞, 电子显微分析显示自噬泡(autophagic vacuoles, AV)形成增加, 说明诱导了自噬。CSE 引发了 LC3-II 的聚集, 且 LC3-II 通过巴伐洛霉素 A1(bafilomycin A1)和蛋白酶抑制剂使得自噬量进一步增加^[7-8]。N-乙酰基-L-半胱氨酸和夹竹桃麻素(apocynin)处理 Beas-2B 细胞, 产生了氧化酶依赖性的 $O_2^{\cdot-}$, 使受损的 CSE 所诱导的 LC3B 活化^[8]。而且, 血红素氧和酶 1(heme oxygenase 1, HO-1)处理后, 调节了自噬活性。CSE 处理后, HO-1 的过表达抑制了 LC3-II 积聚, 也抑制了基础的 beclin 1 表达, 此模型中, HO-1 的过表达与细胞死亡的减少有关, 尤其与外源性凋亡的减少有关。因此, CSE 处理过程中, HO-1 siRNA 处理使 LC3 活性增加, 且促进 caspase-8 依赖性细胞死亡^[7]。HO-1 需要进一步的实验阐明 HO-1 调节自噬以及具优势细胞保护功能的自噬蛋白表达的机制。虽然在体外吸烟的特殊情况下, 自噬的激活促使上皮细胞死亡, 但需要进一步实验以说明在包括氧化肺细胞损伤的其他形式模

型中自噬功能的重要性。

硫芥子(sulfur mustard, SM)是一种双功能烷化剂, 对肺具有高毒性, 吸入后诱导急性和慢性肺损伤, 如闭锁性疾病、气道炎症、急性呼吸窘迫综合征、气管支气管狭窄、支气管炎、闭塞性细支气管炎等。

研究显示^[9], SM 中毒后, 随着活性 caspases 和 DNA 修复酶类及 Bax 的表达增加, 肺中出现了 DNA 损伤、凋亡、自噬, 这与呼吸道炎症细胞聚集、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)及其他促炎细胞因子的表达增加有关, 也与活性氧和氮有关, 且 SM 处理后, 肺中基质金属蛋白酶上调, 认为此促成上皮细胞从基底膜分离及肺上皮阻碍的破坏。有实验研究^[10], 将雄性大鼠麻醉、气管插管、以蒸汽吸入方式用 0.7~1.4 mg/kg SM 处理后, 导致快速肺毒性, 包括灶性溃疡及气管和支气管上皮的分离。潜在黏膜层、肺泡中隔壁、组织中炎症细胞增加, SM 处理也导致环氧合酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)、TNF α 、诱导型一氧化氮和酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)和基质金属蛋白酶 9(matrix metalloproteinase 9, MMP-9)等炎症标志物的表达增加。实验证实 SM 诱导的氧化应激及损伤与细胞毒素炎症蛋白的产生有关, 可能由此而引起的凋亡、自噬最终导致肺病发病。

研究发现^[11], 聚乙二胺(polyamidoamine, PAMAM)纳米粒通过 Akt-TSC2-mTOR 信号通路诱导自噬性细胞死亡而促进急性肺损伤。

有趣的是, 吸入物质诱导的自噬可能不仅引起了细胞毒性, 还可能存在另一种相反的细胞防御功能。已报道, 动物急性肺损伤模型中, CO、有毒气体及可能的治疗分子发挥细胞保护作用, 实验显示^[12], CO 处理鼠肺后, 时间依赖性增加微管相关蛋白轻链 3B(microtubule-associated protein 1 light chain 3 beta, MAP-LC3B)的表达及活性。研究表明^[13], 金纳米粒子(gold nanoparticles, AuNPs)处理 MRC-5 人肺成纤维细胞, 诱导了自噬及氧化性应激, 并出现了自噬体的形成、AuNPs 的摄取以及自噬相关蛋白, 如 MAP-LC3 及 Atg7 的上调, 表明 AuNPs 处理人肺成纤维细胞可产生氧化应激, 且氧化应激与自噬紧密相关, 自噬可能是对抗氧化应激毒性的细胞防御机制。

另外, 低氧环境也与自噬密切相关。呼吸抑制和线粒体 $O_2^{\cdot-}$ 生成增加, 提示低氧症与蛋白氧化剂

状态有关^[14]。近期研究提出,低氧诱导性因子1(hypoxia-inducible factor1, HIF-1)是低氧状态时哺乳动物自噬的主要调节剂,且证实了HIF1 α 对低氧诱导的自噬以及受损线粒体的更新代谢发挥主要作用^[15]。Bellot证实,利用siRNA依赖性敲除BCL-2/E1B相关蛋白3(BCL2-adenovirus E1B 19kD-interacting protein 3, BNIP3)和BNIP3L,抑制了低氧诱导的自噬,而常氧状态时,过表达BNIP3促进自噬。由此提示,HIF-1和BNIP途径可能是低氧环境中的一种存活机制。

以上研究提示,CSE、SM以及空气中的微粒和污染气体等可能通过促进ROS生成引起氧化应激及激活caspases或使TNF α 等炎症标志物表达增加,而引发自噬,且促进LC3-I向LC3-II转化增加、LC3-II聚集,使得自噬量进一步增加,从而引起肺支气管上皮细胞死亡以及组织损伤。低氧状态下,可能通过HIF-1调节氧化应激而使自噬相关基因或BNIP3表达上调而引发自噬,获得细胞所需营养及能量,从而可能成为低氧环境中的一种存活机制。

实验发现^[16],去除成年小鼠呼吸上皮细胞中Atg7后,导致细支气管上皮细胞增大及核孔蛋白p62(nucleoporin p62, p62)聚集,其将底物蛋白与自噬结构联系起来。通过肺组织的显微解剖而分离的细支气管上皮细胞,使细胞保护基因的表达增加。有趣的是,Atg7缺陷肺脏对胆碱能刺激(无明显炎症信号)具有高反应性,肿大的细支气管上皮细胞可能导致机械性气腔狭窄,且降低了气腔阻力增加的下限,由此表明,肺脏中自噬对肺内稳态维持的重要作用。

通过研究体内LC3B介导CS诱导的凋亡及肺气肿发展的机制^[17],发现吸烟后LC3B(-/-)小鼠肺中凋亡水平显著降低,且CS诱导的气腔增大得以缓解,LC3B与外源性凋亡因子Fas有关,caveolin-1(Cav-1)介导其相互作用。慢性吸烟过程中,Cav-1(-/-)小鼠肺中呈现高水平的自噬和凋亡,证实CS诱导的凋亡及肺气肿中自噬蛋白LC3B的关键作用。而Egr-1(-/-)小鼠中^[8],呈现基础水平的气腔增大,抵抗吸烟所致的自噬、凋亡和肺气肿。因而推测,慢性吸烟过程中,LC3B能促进组织损伤,暗示LC3B通过caveolin-1和Fas相互作用而发挥作用的机制,可调节凋亡。由此提示,自噬与细胞凋亡、肺气肿的发展密切相关,可能进一步导致COPD的形成。

已报道^[8]处于慢性香烟环境处理的鼠肺和香烟提取物处理的肺上皮细胞中自噬增加,且体外CSE处理后敲除自噬蛋白后凋亡减少,提示增加的自噬与上皮细胞死亡有关。

研究显示,用CS处理COPD患者,细胞及组织中自噬增加,自噬蛋白LC3B、Atg4、Atg5/12、Atg7活性也增加。实验得出,LC3B是CS诱导的肺上皮细胞死亡的正性调节剂^[17]。研究发现^[8],CSE或组蛋白脱乙酰基酶(histone deacetylase, HDAC)抑制剂处理人肺上皮细胞,快速诱导自噬。CSE降低了HDAC活性,导致早期反应基因1(early growth response-1, Egr-1)和E2F因子对自噬基因LC3B启动子结合的增加,并增加LC3B的表达。敲除Egr-1,抑制Atg4B(LC3B转换的重要因子)的表达,LC3B敲除抑制了自噬,使得CSE诱导的上皮细胞凋亡减少。由此提示,CSE可能通过调节HDAC活性而影响Egr-1以及LC3B的表达,进一步诱导自噬及肺上皮细胞死亡,从而导致COPD发病。需要进一步研究以揭示,COPD及其他肺疾病中,自噬是否发挥着起因、关联或保护以及内环境稳定的作用。

COPD目前的疗法极少有效,药物疗法的主要依据是支气管扩张药,另还有抗炎症药物、抗氧化剂、蛋白酶抑制剂等。近期研究也涉及慢性肺疾病中自噬的作用,调节自噬的信号通路的运用,在人类疾病的预防及治疗上提供了新方法。

2.2 自噬与肺癌

2.2.1 自噬与肺癌发展。

大量研究表明,在多种人类肿瘤中存在有自噬活性的改变,肿瘤的增殖、凋亡信号途径与自噬信号途径相互交错影响,由此可见,自噬与肿瘤的发生、发展有密切的关系。

自噬在癌症发病及疾病的药理学管理中有潜在功能^[18]。Beclin1是与Bcl-2相互影响的蛋白质,且在许多人类癌症中(包括乳腺、卵巢和前列腺癌)等位基因频繁缺失,beclin1为一种抑癌基因^[19-21]。Beclin1^{-/-}小鼠呈现出原发性恶性肿瘤高发状态,包括淋巴瘤、肝癌及肺癌^[21]。有趣的是,Nelfinavir(HIV蛋白酶抑制剂)在肺癌细胞中具抗增殖活性^[22],此复合物产生了一种自噬活性有关的强烈内质网应激反应,由此提示,Beclin1在肺癌发生发展中极其重要,其可能通过与Bcl-2相互作用以及经过应激反应引发自噬,从而导致肺癌细胞死亡。

据报道^[23],正常肺中,LC3A/Beclin-1 mRNA

转录的减少、LC3A 及 p62 蛋白的聚集减少, 说明辐射促使自噬相关结构的功能障碍, 但是否由于成熟缺陷或自噬体的异常降解, 需要进一步研究. 对术后的 115 名非小细胞肺癌(non small cell lung cancer, NSCLC)患者研究发现^[24], 存在着大量核样结构(stone-like structures, SLS), 表明自噬过度, 这与 NSCLC 较低存活率密切相关.

研究发现^[25], Atg5 和 Beclin-1 的敲除, 使辐射状态下 H460 肺癌细胞的存活率增加, 且小鼠 Beclin-1 单倍剂量不足使肺淋巴瘤及肺淋巴瘤的发生率增加. 据报道^[26], 自噬可在肺癌细胞中由表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)酪氨酸激酶抑制剂(tyrosine-kinase inhibitor, TKIs)激活, 抑制自噬增强了 EGFR-TKIs 的生长抑制作用. 另报道^[27], 经过不依赖 caspase 的凋亡和自噬, 肿瘤抑制基因 101F6 和抗坏血酸盐协同选择性地抑制非小细胞肺癌的生长. 综上提示, Beclin-1 与自噬的调节、肺癌的发生以及肺癌的生长密切相关, 通过调节自噬活性而影响肺癌细胞的生长、抑制或死亡. 自噬的增加可导致肺癌细胞死亡, 暗示自噬可能用来作为肺癌的治疗靶点.

越来越多的研究证明, 自噬在肿瘤的发生发展过程中起到了促进和抑制的双重作用, 在某些情况下可以互相转化, 一方面, 自噬通过对细胞内大分子物质和细胞器的再循环发挥维持肿瘤细胞自身能量平衡的重要功能; 另一方面, 有潜在促进肿瘤细胞生长的作用. 但更多的研究表明自噬在多种肿瘤细胞中也发挥着抗癌作用^[28].

另发现, COPD 增加了肺癌发生的危险性, 50%~70%的肺癌患者患 COPD, 且肺功能减弱是肺癌中重要现象, 表明 COPD 与肺癌之间密切相关. 最近研究发现慢性炎症在这两种疾病的发病机制中发挥着关键作用. 其他过程指标(如吸烟后, 染色质修饰/衍生变化, 血管发生及自噬与凋亡均发生改变)在 COPD 与肺癌发展中也极其重要.

2.2.2 自噬与肺癌的治疗.

肿瘤细胞可能利用自噬作为低氧状态的存活机制, 降低了化学疗法的有效性, 另一方面, 过度自噬也和肿瘤细胞死亡有关, 因此, 导致自噬细胞死亡的自噬增加, 可能是药物治疗学效应的基础.

实验发现^[29], 新的含胍吡唑诱导药处理 A549 肺癌细胞后, 诱导了自噬, 随后增殖受到剂量及时间依赖性抑制. 研究显示^[30], 灰叶素(tephrosin)经由自噬途径诱导 A549 肿瘤细胞死亡. 又有研究发

现^[31], 二氢辣椒碱(dihydrocapsaicin, DHC)处理肺癌 A549 和 H460 细胞, 过氧化氢酶下调, 导致 ROS 聚集及阻碍 LC3 的转化. 过表达过氧化氢酶的 H460 细胞能够诱导自噬. 雷帕霉素(rapamycin)处理 A549 和 H460 细胞减弱了 DHC 诱导的细胞死亡, 结果显示, 过氧化氢酶调节自噬, 自噬有利于保护细胞免于凋亡及坏死性细胞死亡. 此外^[32], 长春瑞滨(vinorelbine)能诱导 A549 细胞自噬, 早期自噬能延缓凋亡, 但最后自噬促进细胞死亡.

实验显示^[33], 磷脂酰肌醇-3-激酶(phosphatidylinositol-3-kinase, PI3K)/mTOR 抑制剂可能是利用 EGFR 抑制剂获得性抵抗来治疗 NSCLC 的有效方法. 应用免疫组化法对 107 例小细胞肺癌(small cell lung cancer, SCLC)患者进行研究^[34], 检测 EGFR、p-mTOR、磷酸化核糖体蛋白 S6 激酶(p-p70s6K)等蛋白质的表达, 发现 28%小细胞肺癌患者中 EGFR/p-mTOR/p-p70s6K 的共表达, 且用埃罗替尼(erlotinib)和 RAD001 共同处理细胞发现, 两者联合应用在分子水平、细胞生存及增殖、自噬具协同作用. EGFR/mTOR 途径的联合抑制可能为有效治疗 SCLC 的方法.

据报道^[35], ABT-737 与雷帕霉素(rapamycin)的联合使用引起凋亡和自噬的共同诱导, 使 H460 细胞对放射疗法的敏感性增强, 且导致小鼠异种移植瘤中肿瘤生长明显迟缓. 另有研究发现^[36], 联合运用凋亡蛋白 caspase-3 抑制剂 Z-DEVD 和 mTOR 抑制剂 RAD001, 增强了肺癌细胞 H460 及异种移植瘤对放射疗法的敏感性. 另外, 黄连素通过自噬诱导与放射疗法联合使用, 增强了放射敏感性, 使得肺癌体内外模型中放射细胞毒性增强, 提示黄连素可能作为治疗肺癌的辅助疗法^[37].

综上, 自噬与肺癌的发生发展紧密相关, 其可能在肺癌的发生发展过程中起到了促进和抑制的双重作用. 许多药物与自噬有关, 通过调节自噬活性而影响肺癌细胞的凋亡及死亡, 从而进一步引起肺癌的生长抑制, 将自噬作为肺癌治疗靶点, 最终达到治疗肺癌以及良好预后的目的.

2.3 自噬与肺结核

肺结核(pulmonary tuberculosis)是结核分枝杆菌引起肺组织渗出、干酪样坏死及其他增殖性反应的传染病.

通过对肺结核患者中免疫相关 GTP 酶(immunity-related GTPase M, IRGM)基因多态性的研究^[38], 揭示 IRGM 是先天免疫的调节者, 可引发

自噬,可能具有保护人类免受肺结核分支杆菌欧美亚型(euro-American, EUAM)分化体感染的功能,IRGM-261T 突变体在此保护作用中发挥重要作用.由此提示自噬可能有保护机体以防止肺结核感染的作用,自噬与肺结核的感染及发病有关,但具体机制尚不清楚.

2.4 自噬与肺动脉高压

研究显示^[39],肺动脉高压患者及低氧肺动脉高压(pulmonary hypertension, PH)小鼠肺中,LC3B 表达增加,LC3B^{-/-}和 Egr-1^{-/-}小鼠对低氧诱导的 PH 的敏感性增加,且 LC3B 敲除增加了 ROS 生成、HIF-1 α 的稳定性及缺氧细胞的增殖.由此表明,自噬蛋白 LC3B 可通过对缺氧细胞增殖的调节,在 PH 发病机制中发挥着保护作用.

3 结 语

综上所述,自噬与慢性阻塞性肺病、肺气肿、肺结核、肺癌等许多肺部疾病密切相关,且发挥重要作用,尤其对于慢性阻塞性肺疾病和肺癌,越来越多的资料显示,自噬在慢性阻塞性肺病和肺癌的发生、发展及治疗中占有重要地位.自噬是目前肿瘤治疗的可能新靶点,但自噬和肿瘤的复杂关系还有待进一步探讨,自噬对肺癌细胞增殖及肺癌的发生发展可能有重要作用.将来可能通过诱导自噬或者抑制自噬而诱导凋亡以发挥抗癌作用,深入识别它的功能将有助于找到治疗肺部疾病的靶点,对临床上肺部疾病的治疗有重要意义.

参 考 文 献

- [1] Bursch W. The autophagosomal lysosomal compartment in programmed cell death. *Cell Death Differ*, 2001, **8**(6): 569–581
- [2] Sapunar D, Vilovic K, England M, *et al.* Morphological diversity of dying cells during regression of the human tail. *Ann Anat*, 2001, **183**(3): 217–222
- [3] Mizushima N, Levine B, Cuervo A M, *et al.* Autophagy fights disease through cellular self-digestion. *Nature*, 2008, **451**(7182): 1069–1075
- [4] Pak O, Aldashev A, Welsh D, *et al.* The effects of hypoxia on the cells of the pulmonary vasculature. *Eur Respir J*, 2007, **30**(2): 364–372
- [5] Ng C S, Wan S, Yim A P. Pulmonary ischaemia-reperfusion injury: Role of apoptosis. *Eur Respir*, 2005, **25**(2): 356–363
- [6] Pauwels R A, Buist A S, Ma P, *et al.* Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease: National heart, lung, and blood institute and world health organization global initiative for chronic obstructive lung disease (GOLD). *Respir Care*, 2001, **46**(8): 798–825
- [7] Kim H P, Wang X, Chen Z H, *et al.* Autophagic proteins regulate cigarette smoke-induced apoptosis: Protective role of heme oxygenase-1. *Autophagy*, 2008, **4**(7): 887–895
- [8] Chen Z H, Kim H P, Sciurba F C, *et al.* Egr-1 regulates autophagy in cigarette smoke-induced chronic obstructive pulmonary disease. *PLoS One*, 2008, **3**(10): e3316
- [9] Weinberger B, Laskin J D, Sunil V R, *et al.* Sulfur mustard-induced pulmonary injury: Therapeutic approaches to mitigating toxicity. *Pulm Pharmacol Ther*, 2011, **24**(1): 92–99
- [10] Malaviya R, Sunil V R, Cervelli J, *et al.* Inflammatory effects of inhaled sulfur mustard in rat lung. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2010, **248**(2): 89–99
- [11] Chen G L, Liu H L, Sun Y, *et al.* PAMAM nanoparticles promote acute lung injury by inducing autophagic cell death through the Akt-TSC2-mTOR signaling pathway. *J Mol Cell Biol*, 2009, **1**(1): 37–45
- [12] Lee S J, Ryter S W, Xu J F, *et al.* Carbon monoxide activates autophagy via mitochondrial reactive oxygen species formation. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2011, **45**(4): 867–873
- [13] Li J J, Hartono D, Ong C N, *et al.* Autophagy and oxidative stress associated with gold nanoparticles. *Biomaterials*, 2010, **31**(23): 5996–6003
- [14] Chandel N S, McClintock D S, Feliciano C E, *et al.* Reactive oxygen species generated at mitochondrial complex III stabilize hypoxia-inducible factor-1 α during hypoxia: A mechanism of O₂ sensing. *J Biol Chem*, 2000, **275**(33): 25130–25138
- [15] Zhang H, Bosch-Marce M, Shimoda L A, *et al.* Mitochondrial autophagy is an HIF-1-dependent adaptive metabolic response to hypoxia. *J Biol Chem*, 2008, **283**(16): 10892–10903
- [16] Inoue D, Kubo H, Taguchi K, *et al.* Inducible disruption of autophagy in the lung causes airway hyper-responsiveness. *Biochem Biophys Res Commun*, 2011, **405**(1): 13–18
- [17] Chen Z H, Lam H C, Jin Y, *et al.* Autophagy protein microtubule-associated protein 1 light chain-3B (LC3B) activates extrinsic apoptosis during cigarette smoke-induced emphysema. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, **107**(44): 18880–18885
- [18] Kondo Y, Kanzawa T, Sawaya R, *et al.* The role of autophagy in cancer development and response to therapy. *Nat Rev Cancer*, 2005, **5**(9): 726–734
- [19] Liang X H, Jackson S, Seaman M, *et al.* Induction of autophagy and inhibition of tumorigenesis by beclin 1. *Nature*, 1999, **402**(6762): 672–676
- [20] Yue Z, Jin S, Yang C, *et al.* Beclin 1, an autophagy gene essential for early embryonic development, is a haploinsufficient tumor suppressor. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, **100**(25): 15077–15082
- [21] Qu X, Yu J, Bhagat G, *et al.* Promotion of tumorigenesis by heterozygous disruption of the beclin 1 autophagy gene. *J Clin Invest*, 2003, **112**(12): 1809–1820
- [22] Gills J J, Lopiccio J, Tsurutani J, *et al.* Nelfinavir, a lead HIV protease inhibitor, is a broad-spectrum, anticancer agent that induces endoplasmic reticulum stress, autophagy, and apoptosis in

- vitro* and *in vivo*. Clin Cancer Res, 2007, **13**(17): 5183-5194
- [23] Zois C E, Giatromanolaki A, Kainulainen H, *et al.* Lung autophagic response following exposure of mice to whole body irradiation, with and without amifostine. Biochem Biophys Res Commun, 2011, **404**(1): 552-558
- [24] Karpathiou G, Sivridis E, Koukourakis M I, *et al.* Light-chain 3A autophagic activity and prognostic significance in non-small cell lung carcinomas. Chest, 2010, **140**(1): 127-134
- [25] Yue Z, Jin S, Yang C, *et al.* Beclin 1, an autophagy gene essential for early embryonic development, is a haploinsufficient tumor suppressor. Proc Natl Acad Sci USA, 2003, **100**(25): 15077-15082
- [26] Han W, Pan H, Chen Y, *et al.* EGFR tyrosine kinase inhibitors activate autophagy as a cytoprotective response in human lung cancer cells. PLoS One, 2011, **6**(6): e18691
- [27] Ohtani S, Iwamaru A, Deng W, *et al.* Tumor suppressor 101F6 and ascorbate synergistically and selectively inhibit non-small cell lung cancer growth by caspase-independent apoptosis and autophagy. Cancer Res, 2007, **67**(13): 6293-6303
- [28] William N H, Jin S K, Yang J M. A matter of life or death(or both): understanding autophagy in cancer. Clin Cancer Res, 2006, **12**(7): 1961-1965
- [29] Zheng L W, Li Y, Ge D, *et al.* Synthesis of novel oxime-containing pyrazole derivatives and discovery of regulators for apoptosis and autophagy in A549 lung cancer cells. Bioorg Med Chem Lett, 2010, **20**(16): 4766-4770
- [30] Li J, Wang X L, Fang Y C, *et al.* Tephrosin-induced autophagic cell death in A549 non-small cell lung cancer cells. J Asian Nat Prod Res, 2010, **12**(11): 992-1000
- [31] Choi C H, Jung Y K, Oh S H. Selective induction of catalase-mediated autophagy by dihydrocapsaicin in lung cell lines. Free Radic Biol Med, 2010, **49**(2): 245-257
- [32] Fu X, Pan Y, Wang J, *et al.* The role of autophagy in human lung cancer cell line A549 induced by Vinorelbine. Chin J Lung Cancer, 2008, **11**(3): 345-348
- [33] Moreira-Leite F F, Harrison L R, Mironov A, *et al.* Inducible EGFR T790M-mediated gefitinib resistance in non-small cell lung cancer cells does not modulate sensitivity to PI103 provoked autophagy. J Thorac Oncol, 2010, **5**(6): 765-777
- [34] Schmid K, Bago-Horvath Z, Berger W, *et al.* Dual inhibition of EGFR and mTOR pathways in small cell lung cancer. Br J Cancer, 2010, **103**(5): 622-628
- [35] Kim K W, Moretti L, Mitchell L R, *et al.* Combined Bcl-2/ mammalian target of rapamycin inhibition leads to enhanced radiosensitization *via* induction of apoptosis and autophagy in non-small cell lung tumor xenograft model. Clin Cancer Res, 2009, **15**(19): 6096-6105
- [36] Kim K W, Hwang M, Moretti L, *et al.* Autophagy upregulation by inhibitors of caspase-3 and mTOR enhances radiotherapy in a mouse model of lung cancer. Autophagy, 2008, **4**(5): 659-668
- [37] Peng P L, Kuo W H, Tseng H C, *et al.* Synergistic tumor-killing effect of radiation and berberine combined treatment in lung cancer: the contribution of autophagic cell death. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2008, **70**(2): 529-542
- [38] Intemann C D, Thye T, Niemann S, *et al.* Autophagy gene variant IRGM -261T contributes to protection from tuberculosis caused by Mycobacterium tuberculosis but not by M. africanum strains. PLoS Pathog, 2009, **5**(9): e1000577
- [39] Lee S J, Smith A, Guo L, *et al.* Autophagic protein LC3B confers resistance against hypoxia-induced pulmonary hypertension. Am J Respir Crit Care Med, 2011, **183**(5): 649-658

Research Progress of Autophagy and Pulmonary Diseases*

YANG Li, XIAO Ling, CHEN Lin-Xi**

(Institute of Pharmacy and Pharmacology, University of South China, Hengyang 421001, China)

Abstract Autophagy widely exists in eucaryotic cells which is essential vital phenomena. Autophagy is an important mechanism that makes cells adapting the environment change, defending invasion of pathogenic microorganism and maintaining homeostasis. The activity of autophagy fluctuates in many lung diseases, it closely related with the lung diseases' occurrences and developments. Autophagy has happened in pulmonary emphysema, chronic obstructive pulmonary disease, lung cancer, pulmonary tuberculosis and many other lung diseases, and plays an important role in these diseases. This review summarized it from the perspective of relationship of autophagy and lung diseases. It helps to understand the effect that autophagy produced in lung diseases and so as to further study the regulation of autophagy and to provide new ideas for the therapy of lung diseases.

Key words autophagy, COPD, pulmonary emphysema, lung cancer, pulmonary tuberculosis, pulmonary hypertension

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2011.00429

* This work was supported by a grant from The National Natural Science Foundation of China(30901577).

**Corresponding author.

Tel: 86-734-8281587, E-mail: chenlinxi@tom.com

Received: September 22, 2011 Accepted: December 26, 2011