

细胞自噬在肿瘤发生发展中的作用*

向波¹⁾ 易梅²⁾ 李小玲¹⁾ 李桂源^{1)**}

(¹⁾中南大学肿瘤研究所, 长沙 410008; ²⁾中南大学湘雅医院皮肤科, 长沙 410008)

摘要 自噬是保守的细胞防御机制, 又是程序性细胞死亡机制。在多种人类肿瘤中存在细胞自噬活性改变。自噬活性降低促进肿瘤的发生和进展。综述了近年来细胞自噬在肿瘤中的研究进展, 从基因组不稳定性、炎-癌链转化和演进、致癌微生物感染和宿主免疫应答、细胞凋亡途径与自噬的交叉调节等角度探讨自噬抑制肿瘤的机理, 以及细胞自噬在肿瘤治疗中的作用。

关键词 自噬, 自噬性细胞死亡, 肿瘤发生

学科分类号 Q25, R730

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2011.00555

自噬过程是胞内出现双层膜结构, 包裹部分胞质和细胞器、蛋白质等成分形成自噬体(autophagosome), 并与溶酶体(lysosomes)融合形成自噬溶酶体(autophagolysosome), 通过蛋白质水解酶降解其所包裹的内容物, 以实现细胞本身的代谢需要和某些细胞器的更新。根据底物进入溶酶体内的途径不同可将自噬分为3种类型: 微自噬(microautophagy)、分子伴侣介导的自噬(chaperone mediated autophagy, CMA)、巨自噬(macroautophagy)^[1]。巨自噬即我们通常所讲的自噬(autophagy), 目前研究较为透彻, 也是本文主要探讨的内容。自噬与肿瘤的关系比较复杂。观察发现在多种人类肿瘤中均存在自噬活性的改变。另一方面, 适度的自噬活性有利于肿瘤细胞在代谢应激状态下生存。

1 自噬的分子机制

1.1 细胞自噬的过程

细胞自噬分为四个过程, 依次为: 自噬的诱导, 自噬体的形成, 自噬体的转运与融合, 自噬体的降解与再循环(图1)^[1]。遭受饥饿、氧化应激、低氧、高温、损伤等外界刺激情况下, 或细胞器的损坏、突变蛋白的积聚及微生物的侵袭等应激时, 可

以诱导细胞自噬发生(induction of macroautophagy)。发生自噬的细胞胞浆中出现大量游离的双层膜性结构, 称为前自噬泡(preautophagosome)或分隔膜(isolation membrane, IM)。分隔膜逐渐延伸, 将待降解的蛋白质或细胞器完全包绕形成自噬体(autophagosome, AP)。成熟的自噬体与细胞骨架微管系统相互作用, 被运输至溶酶体(lysosome), 这一过程称为自噬体的转运与融合(autophagosome docking and fusion)。自噬体外膜与溶酶体融合, 内囊泡释放入溶酶体, 形成自噬性溶酶体(autolysosome)。随后内囊泡酸化, 溶酶体内的水解酶将内囊泡的膜水解, 溶酶体蛋白水解酶活化, 进而水解内囊泡的内容物(breakdown and recycling)。自噬体水解后产生的氨基酸、核苷酸等营养成分可以被细胞利用。

* 国家自然科学基金(81000883, 81102065, 30971147, 81171930), 111计划(111-2-12), 湖南省科技计划(2011FJ3111, 10JJ7003), 中南大学自由探索计划(201012200017, 2011QNZT138)资助项目。

** 通讯联系人。

Tel: 0731-84805383, E-mail: ligy@xysm.net

收稿日期: 2011-11-23, 接受日期: 2012-02-28

1.2 自噬相关基因 (autophagy related gene, Atg) 及泛素样结合系统

参与自噬调控的基因被统一命名为自噬相关基因 (autophagy related gene, Atg), 是一类在进化上相当保守的基因家族. Atg 基因参与了细胞自噬的不同阶段. 现已有 31 个 Atg 基因被识别^[2]. 在哺乳动物中, 自噬相关基因通过两个泛素样结合系统参与自噬泡形成过程.

1.2.1 Atg12 结合过程. Atg12 结合过程 (Atg12 conjugation system) 由 Atg3、Atg5、Atg7、Atg10、Atg12 组成, 参与前自噬泡或 IM 的形成 (图 1). 在这一系统中, Atg7 具有泛素 E1 样酶活性, Atg10 和 Atg3 具有 E2 样酶活性. 首先 Atg7 催化 Atg12 活化, 之后转运至 E2 样酶 Atg10, 进而与 Atg5、Atg16L 结合, 形成一个三元复合物 Atg12-Atg5-Atg16L. Atg12-Atg5-Atg16L 结合前自噬泡外膜 (分

隔膜), 促进自噬泡的伸展扩张, 使之由开始的小囊泡样、杯样结构逐渐发展为半环状、环状结构^[3-4].

1.2.2 Atg8 结合过程. Atg8 结合过程 (Atg8 conjugation system) 又称为 LC3 修饰过程^[5-6] (图 1). 哺乳动物 LC3 是酵母 Atg8 基因的同源基因, 对自噬泡 (autophagosome) 的形成必不可少. LC3 前体 (ProLC3) 首先加工成胞浆可溶性形式 LC3-I, 暴露出其羧基末端的甘氨酸残基. 在 Atg4 参与下, Atg7 活化 LC3-I, 并转运至 E2 样酶 Atg3, 在其催化下, 磷脂酰乙醇胺 (phosphatidylethanolamine, PE) 与 LC3-I 结合, 插入分隔膜, 形成 LC3-II. LC3-II 具有融合性质, 能促进前自噬泡的延展. LC3-II 定位于前自噬体和自噬体, 是自噬的标志分子.

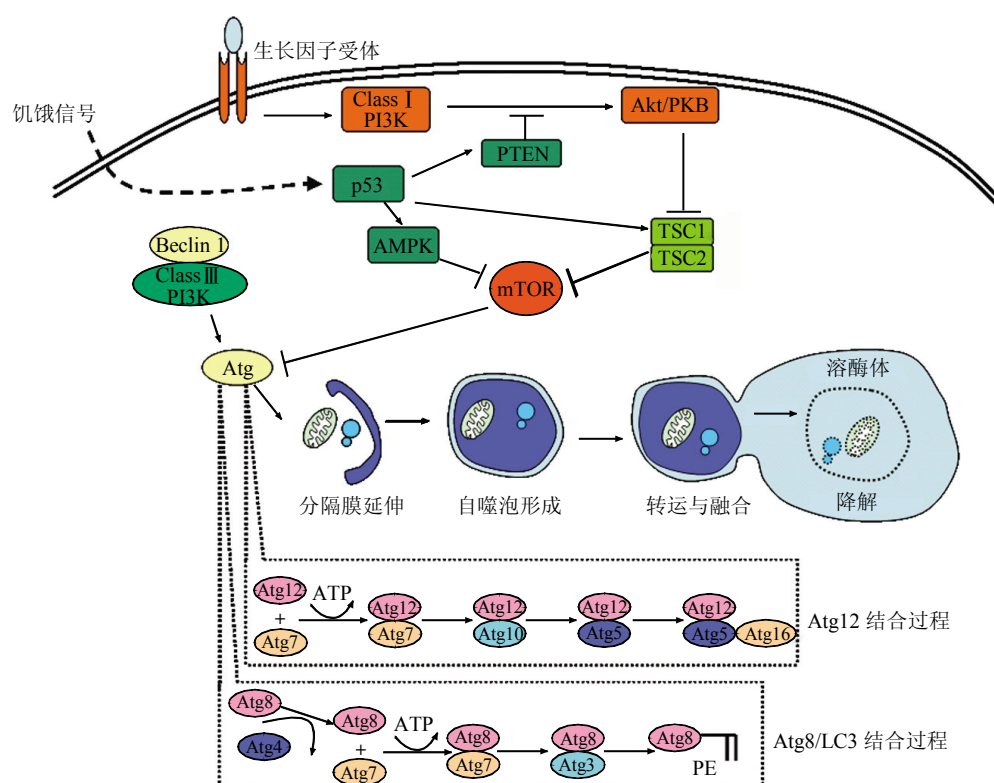


Fig. 1 Schematic model of genetic regulation of autophagy

图 1 细胞自噬的基因调控模式

细胞自噬的正调控因子 (绿色) 包括磷酸酶和张力蛋白同源蛋白 (PTEN), p53, AMP 激活性蛋白激酶 (AMPK), III 型 PI3K, 结节性硬化症蛋白 1 (TSC1) 和结节性硬化症蛋白 2 (TSC2), 细胞自噬的负性调控因子 (橙色) 包括 I 型 PI3K, Akt/ 蛋白激酶 B (PKB), mTOR.

2 自噬的两面性: 存活机制 VS 死亡机制

在营养供应丰富的情况下, 非特异性的细胞自

噬仅维持很低的水平. 自噬通常是细胞应对外界刺激作出的一种防御性反应. 采用凋亡缺陷的细胞研究发现, 撤除细胞因子 IL-3 可以诱导 $Bax^{-/-}Bak^{-/-}$ 细

胞发生自噬。撤除细胞因子导致细胞膜上葡萄糖转运受体快速降解, 因而细胞无法摄取胞外的葡萄糖进行代谢。在这种情况下, $Bax^{-/-}Bak^{-/-}$ 细胞通过自噬消化自身以维持必需的 ATP 供应, 对于维持细胞的活力十分关键, 在生长因子缺乏的情况下能维持生存数周, 直至超出细胞代偿能力而死亡^[7]。由于 *Beclin1* 单等位基因缺失导致细胞自噬能力降低, 在代谢应激状态下, 细胞的存活能力受损^[8]。因此, 自噬一直以来被认为是一种促存活机制 (pro-survival mechanism)^[9]。

然而, 自噬通常发生于正在死亡的细胞^[10]。对于这一现象有两种截然不同的观点。一种观点认为这种现象是因为应激强度超出细胞的代偿能力, 细胞尝试通过自噬维持生存失败而死亡。另一种观点则认为自噬本身可能就是一种细胞死亡机制^[11]。过去几年中, 随着自噬相关基因的不断发现, 人们逐渐认识到细胞自噬如同凋亡一样, 也是受基因严密调控的生物学过程。Shimizu 等研究发现, 来源于 *Bax/Bak* 双基因敲除小鼠的胚胎成纤维细胞尽管对凋亡产生抵抗, 但是该细胞在死亡刺激信号下涌现大量自噬体, 发生非凋亡性细胞死亡 (non-apoptotic death)。随后研究证实这种非凋亡性程序性细胞死亡由自噬相关蛋白 *APG5* 和 *Beclin 1* 介导。采用 3-甲基腺嘌呤 (3-methyl adenine, 3-MA) 抑制细胞自噬可以抑制这种细胞死亡^[12]。该研究确定了自噬是细胞死亡机制之一。迄今为止, 关于自噬性细胞死亡 (autophagy-mediated cell death) 的机制尚未明了。

3 自噬的抑瘤作用

研究发现, 某些肿瘤如肝癌细胞自噬水平低于正常细胞^[13]。自噬具有抑制肿瘤的作用首要的证据来自于 *Beclin 1* 基因敲除小鼠。*Beclin 1* 基因是 *Atg6/Vps30* 的哺乳动物同源基因, 是介导其他自噬蛋白定位于前自噬泡的关键因子。*Beclin 1* 基因缺失的小鼠自噬水平降低且肿瘤发生率提高, 是支持自噬具有抑瘤作用最直接的佐证之一^[14]。早先认为, 自噬介导的细胞死亡具有抑制肿瘤发生的作用。最近的研究发现, 自噬抑制肿瘤的作用并不是简单地通过促进肿瘤细胞死亡来实现。相反, 在肿瘤细胞凋亡受阻、自噬功能丧失所导致的细胞坏死增加, 可能是促进肿瘤不断演进的祸端。自噬对肿瘤的限制性作用, 并不能简单地归因于自噬性细胞死亡, 而是通过多种层面、多种机制来实现的。

3.1 自噬缺陷导致基因组不稳定性 (genome instability) 增加

基因组不稳定性 (genome instability) 是肿瘤的标志特征, 也是诱发细胞癌变的机理^[15]。自噬作为保守的“看家” (house keeping) 机制, 通过自噬清除因氧化应激而受损的细胞器 (如线粒体和内质网) 避免受损细胞器的累积, 可以防止基因组损伤^[16]。肿瘤细胞在代谢应激状态下, 基因组不稳定性增加。*Beclin1* 单等位基因缺失 (monoallelically deletion)^[17] 严重损害细胞自噬能力, 不利于细胞在代谢应激状态下的存活, 但同时又促进了肿瘤发生^[8]。由 *Beclin 1* 基因缺失导致的细胞存活能力降低和肿瘤发生频率增加看似是一个悖论, 实质上其机理在于 *Beclin 1* 基因缺失提高了细胞在代谢应激状态下的基因组不稳定性。*Mathew* 等^[17] 研究证实, 由于 *Beclin 1* 基因缺失, 细胞无法通过自噬来维持自身代谢, 导致 DNA 损伤、基因扩增 (gene amplification) 和非整倍体 (aneuploidy) 频率增加, 由此所致的基因组不稳定性增加是肿瘤发生的原因所在。因此, 自噬有助于缓解代谢应激对细胞的压力, 防止由此产生的基因组损伤^[8]。然而, 目前对于自噬缺陷为何导致基因组不稳定性增加的机理尚未完全明了, 研究发现, *Beclin 1* 单等位基因缺失的细胞微管和中心体异常, 表现为中心体数目增加, 这有可能是导致染色体不稳定的原因之一^[17]。

3.2 自噬缺陷促进炎-癌链转化与演进

炎症被认为是肿瘤的第七大特征^[18]。炎症肿瘤微环境可以促进肿瘤细胞增殖、血管形成和侵袭转移^[18]。细胞凋亡与自噬性细胞死亡 (autophagic cell death) 分别属于 I 型和 II 型程序性细胞死亡。程序性细胞死亡是主动性细胞死亡, 不存在细胞内容物的释放, 因而不会引起周围组织的炎症。与此相反, 细胞坏死 (necrosis) 后细胞内容物释放至周围环境, 会引起炎症。当细胞凋亡途径和自噬途径同时失活时, 如果代谢应激持续的时间和强度超出细胞的耐受, 细胞将发生坏死。部分肿瘤细胞坏死后导致的炎性微环境将进一步刺激其余肿瘤细胞的增殖、转移^[19-20]。*Degenhardt* 等^[19] 研究发现, 在凋亡受阻的肿瘤细胞中, 持续激活的 *Akt* 激酶可以抑制细胞自噬活性, 促进代谢应激引起的细胞坏死, 引起巨噬细胞浸润, 激活 *p50 NF-κB*, 刺激炎症因子 *IL-6* 释放。从这一角度来说, 自噬可以发挥间接的抗炎作用。

肿瘤转移的启动环节需要促进细胞迁移和浸润

血管的信号刺激。实体肿瘤微环境常呈低氧、代谢应激状态。细胞自噬功能缺陷导致的细胞坏死增加,炎症细胞如巨噬细胞浸润其中。研究指出巨噬细胞浸润预示肿瘤预后不良^[21]。细胞自噬防止坏死引起的无菌性炎症和巨噬细胞浸润,不仅可以限制肿瘤细胞生长,同时也可以抑制肿瘤侵袭转移^[19,22]。

3.3 自噬与致瘤性微生物感染、宿主免疫应答

除了维持细胞的动态平衡生理功能,自噬是细胞降解长寿命蛋白的主要途径,其在先天免疫和适应性免疫应答中的作用也逐渐为人所知。然而研究发现,某些病毒可以颠覆或者利用宿主细胞的自噬机制,逃避宿主免疫应答,以利于病毒自身复制并获得生存优势^[23-24]。

3.3.1 疱疹病毒 vBcl-2 基因具有抑制自噬的作用。最近研究证实,某些伽玛疱疹病毒(gamma herpesvirus)包括卡波氏肉瘤相关病毒(Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus, KSHV)和 γ HV68 病毒 Bcl-2 同源基因(vBcl-2)不仅可以保护受病毒感染的细胞免受凋亡,同时可以通过直接结合 Beclin 1 蛋白抑制自噬的发生^[24-27]。 γ 2 疱疹病毒 vBcl-2 抑制宿主自噬活性,暗示自噬可能是病毒慢性感染和病毒相关肿瘤发生过程中极为重要的宿主免疫监视程序(host immune surveillance program)。vBcl-2 蛋白抑制自噬活性,可能有利于病毒持续感染^[24]。

3.3.2 EBV 潜伏感染与自噬。

EB 病毒(epstein-barr virus, EBV)也是一种疱疹病毒。EBV 的潜伏感染能够诱导伯基特淋巴瘤、鼻咽癌、胃癌和霍奇金淋巴瘤等多种淋巴细胞源性和上皮细胞源性的恶性肿瘤的产生^[28]。EBV 编码的病毒瘤蛋白 LMP1 是 EBV 诱导 B 淋巴细胞增殖所必需的。LMP1 是目前确认的病毒瘤基因,然而过量表达 LMP1 却会导致宿主细胞增殖能力下降。研究表明中等水平的 LMP1 蛋白促进细胞增殖,而高水平 LMP1 则引起白细胞郁滞(cytostasis),抑制蛋白合成。LMP1 可以不同方式诱导宿主细胞自噬:LMP1 较低水平表达引起 B 淋巴细胞发生早发型自噬;LMP1 蛋白高水平表达的 B 细胞则发生迟发型自噬;在 EBV 阳性的 B 淋巴细胞中抑制自噬,引起 LMP1 蛋白的集聚增加,克隆形成能力降低^[29]。EBV 利用宿主细胞自噬机制,来调节其自身瘤蛋白 LMP1 适量表达,以促进宿主细胞的增殖和转化。

EBV 还编码两个 Bcl-2 同源基因: BHRF1 和

BALF。BHRF1 和 BALF 对于 EBV 永生化 B 淋巴细胞是必不可少的。BHRF1 和 BALF 失活的 EBV 在体外不能使 B 淋巴细胞发生永生化^[28]。目前尚未见 BHRF1 和 BALF 基因是否具有类似于其他疱疹病毒 vBcl-2 基因抑制宿主细胞自噬的作用的报道。

EBNA1 是 EBV 编码的核蛋白,能调节 EBV 基因的复制,增强病毒基因的转录,并能保证 EBV 以附加体的形式稳定存在于被感染的细胞内^[28]。EBNA1 蛋白含有数个 CD4 抗原表位(epitopes),可以通过 MHC II 途径为 CD4⁺T 细胞识别,这一抗原提呈过程据报道是通过自噬实现的^[30]。尽管 EBV 阳性的 B 淋巴细胞因为组成性表达 LMP1 蛋白,通常表现出较高水平的自噬活性^[31],由于 EBNA1 蛋白定位于核内,通常难以进入自噬途径而被抗原提呈^[32]。这可能是 EBV 得以终身潜伏感染宿主的奥秘所在。

3.3.3 自噬与幽门螺杆菌。幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*)感染是胃癌明确的病因。幽门螺杆菌感染可以诱导人源性胃上皮细胞(human-derived gastric epithelial cells, AGS)发生自噬。*H. pylori* 诱导自噬体产生依赖于其自身的空泡毒素(vacuolating cytotoxin, VacA)。研究发现,胞内的 VacA 与自噬标志 GFP-LC3 存在共定位,抑制细胞自噬提高胞内 VacA 蛋白稳定性。因此,自噬可以限制细菌毒性蛋白对上皮细胞的损伤、抑制炎症^[33]。然而,也有研究表明,在 *H. pylori* 感染的上皮细胞自噬体中观察到处于分裂周期的 *H. pylori*,这提示 *H. pylori* 有可能在自噬体内存活,可能影响抗原提呈,并导致 *H. pylori* 对抗微生物治疗产生抵抗^[34]。

3.4 在肿瘤中持续活化的信号途径对自噬产生抑制作用

3.4.1 磷酸肌醇-3-激酶(PI3K)/Akt(PKB)途径。

I 型(Class I)与 III 型(Class III)这两型 PI3K 参与调控细胞自噬过程(图 1)。Class I PI3K/PKB 信号途径在多种肿瘤中异常激活,对自噬具有负调节作用。生长因子结合胞膜生长因子受体,激活 Class I PI3K,进一步磷酸化 3-磷酸肌醇依赖性蛋白激酶-1(phosphoinositide-dependent kinase-1, PDK1)和 Akt(PKB)蛋白,促使 PDK1 和 Akt 活化,抑制自噬的发生^[35]。PTEN(phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten)磷酸酶是 Class I PI3K 途径的抑制分子,具有促进细胞自噬的作用^[36]。结节性硬化症(tuberous sclerosis complex, TSC)蛋白 1 和 2(TSC1 和 TSC2)可通过抑制小 G 蛋白 Rheb,

抑制 mTOR 激酶的活性, 促进自噬. 而活化的 Akt/PKB 可以抑制 TSC1 和 TSC2 的活性, 对细胞自噬发挥抑制作用^[36]. 与 Class I PI3K 相反, Class III PI3K/hVps34 可以正向调节自噬. Class III PI3K 与 Beclin 1 结合形成复合物, 生成 3-磷酸磷脂酰肌醇 (PI3P), 促使其他自噬蛋白定位于前自噬体, 促进细胞自噬的发生^[37]. 经典的自噬抑制剂 3-甲基腺嘌呤 (3-MA) 通过抑制 Class III PI3K 的活性抑制自噬.

3.4.2 mTOR (mammalian target of rapamycin) 通路. mTOR 激酶是氨基酸、ATP 和激素的感受器, 位于 PI3K/Akt 通路下游, 在肿瘤中高表达或突变而过度激活^[38]. mTOR 信号通路激活可以抑制自噬活性^[39] (图 1). 哺乳动物 Ulk1 基因是酵母 ATG1 的同源基因, 是启动自噬的关键分子. 研究发现, 在营养缺乏 (glucose starvation) 的情况下, 磷酸腺苷 (AMP) 激活的蛋白激酶 (AMP-activated protein kinase, AMPK) 直接磷酸化 Ulk1 蛋白 Ser 317、Ser 777 位点激活 Ulk1, 促进自噬的发生, 在营养充分的条件下, mTOR 激酶磷酸化 Ulk1 蛋白 Ser 757 位点, 并阻止 Ulk1 与 AMPK 结合, 抑制细胞自噬^[40]. 采用 mTOR 蛋白激酶抑制剂雷帕霉素 (rapamycin) 处理细胞, 抑制 mTOR 通路的活性, 即使在营养供应充分的情况下也可以诱导自噬^[41].

3.5 细胞凋亡途径与自噬的交叉调节

3.5.1 Bcl-2 家族成员. 多数人类肿瘤细胞 Bcl-2 家族成员表达增高^[42]. 在人类和小鼠都发现 Beclin 1 基因与抗凋亡的 Bcl-2 家族成员结合, 包括 Bcl-2、Bcl-XL、Bcl-w 和 Mcl-1. 这些分子是重要的抗凋亡因子, 它们与 Beclin 1 结合, 可以发挥抑制自噬的作用^[43-44]. 缺失突变体分析显示 Beclin 1 基因的 112~159aa 区域是 Beclin 1 与 Bcl-2、Bcl-xL 结合的位点^[43]. 有趣的是, 调节自噬的 Beclin 1 基因本身可能也属于仅含有一个 BH3 结构域 (domain) 的 Bcl-2 家族成员. 序列分析表明 Beclin 1 的 112~123aa 构成一个 BH3 结构域^[43, 45]. Beclin 1 基因的 BH3 domain 与促凋亡分子 Bak、Bad、Bim 的 BH3 domain 高度同源. 最新的研究发现, Beclin 1 蛋白是 caspase 的底物, caspase 激活剪切 Beclin 1 蛋白形成的 C 端片段可以放大线粒体介导的细胞凋亡途径, 而含有 BH3 domain 的 N 端则不具备促进细胞凋亡的作用^[46-47].

3.5.2 P53 与自噬. P53 是最重要的促凋亡基因之一, 在多种人类肿瘤中失活. P53 也具有调节自噬

的作用^[48-50]. 一些应激如肿瘤胁迫 (oncogenic stress) 及 DNA 损伤等, 除了可以激活 p53 蛋白诱导凋亡, 在特定情况下亦能活化 p53 诱导自噬的发生^[50]. p53 诱导自噬的机制之一是通过活化磷酸腺苷 (AMP) 激活的蛋白激酶 (AMP-activated protein kinase, AMPK) (图 1). AMPK 具有能量代谢感受器的作用, 受 p53 激活之后可以负性调节 mTOR 信号通路, 从而促进细胞自噬的发生^[48]. p53 诱导自噬的另一途径是转录依赖途径, 是通过上调 mTOR 的抑制因子 PTEN 和 TSC1 基因^[50] (图 1). 除此之外, p53 还负责转录损伤诱导的自噬分子 (damage-regulated autophagy modulator, DRAM) 表达, DRAM 同样可以抑制 mTOR 信号的活化, 促进细胞自噬^[51].

4 自噬与肿瘤治疗

由于调控细胞凋亡相关的信号通路紊乱, 多数肿瘤细胞对凋亡产生抵抗 (apoptosis resistance), 自噬性细胞死亡使杀灭这类凋亡抵抗的肿瘤细胞成为可能. mTOR 信号通路的天然抑制剂雷帕霉素 (rapamycin) 可以诱导肿瘤细胞自噬, 并抑制肿瘤的生长^[38]. 然而作为一种存活机制, 自噬又可以促进肿瘤细胞在代谢应激状态下的存活. 在某些情况下, 化疗药物诱导的自噬增强促进了肿瘤细胞耐药表型的获得. ER⁺ 的乳腺癌细胞在接受 4-OHT 治疗时会出现自噬活性增加. 对 4-OHT 耐药的 ER⁺ 的乳腺癌细胞表现出更强的药物诱导自噬活性, 但并不引起 caspase 依赖性的细胞死亡增加. 相反, 如果采用自噬抑制剂联合 4-OHT 处理 4-OHT 耐药的细胞, 则可以引起 ER⁺, 4-OHT 耐药的细胞发生凋亡^[52-53].

尽管自噬活性降低促进了细胞的恶性转化, 但不同组织类型的肿瘤自噬活性不同. 例如在卵巢癌、肝癌、脑胶质瘤以及食管癌等组织中, Beclin 1 蛋白表达降低, 并观察到细胞自噬活性降低. 生存分析显示, Beclin 1 表达阳性的患者预后优于 Beclin 1 阴性的患者^[54-57]. 然而鼻咽癌 (nasopharyngeal carcinoma, NPC) 组织中 Beclin 1 蛋白表达增高, 与低氧诱导因子 HIF-1 α 表达呈正相关. Beclin 1 蛋白高表达的鼻咽癌患者在接受放疗联合化疗之后预后较 Beclin 1 蛋白阴性的患者差^[58]. 这可能是因为鼻咽癌通常采取放疗, 放疗期间肿瘤组织微血管密度 (tumor microvascular density, MVD) 降低导致组织缺氧, 而缺氧通过诱导细胞自噬活性增加, 促

进肿瘤细胞在低氧环境下存活, 因此导致对放疗敏感性降低. 高自噬活性的肿瘤细胞可能在恶劣环境中具有更强的生存优势, 也可能使治疗效果减弱. 因此, 有必要根据特定肿瘤组织遗传信息特征及自噬活性来选择采用自噬激动剂或是自噬抑制剂进行联合治疗. 在不同肿瘤模型中开展的研究表明, 单用或联用自噬激动剂或自噬抑制剂都可能提高肿瘤治疗的效果. 以下简述了部分自噬激动剂和自噬抑制剂在肿瘤治疗中的应用.

4.1 自噬激动剂

4.1.1 雷帕霉素及其衍生物. 雷帕霉素(rapamycin, RAPA)是一种新型大环内酯类免疫抑制剂, 具有抑制 mTOR 激酶和诱导细胞自噬的作用^[38]. RAPA 对多种组织来源的肿瘤细胞具有抑制作用, 包括横纹肌肉瘤(rhabdomyosarcoma)、神经母细胞瘤(neuroblastoma)、胶质母细胞瘤(glioblastoma)、小细胞肺癌(small-cell lung carcinoma)、骨肉瘤(osteosarcoma)、胰腺癌(pancreatic carcinoma)、肾细胞癌(RCC)、前列腺癌(prostate cancer)和乳腺癌(breast cancer)等^[39]. 此外, 一些新型的雷帕霉素衍生物(rapamycin analogs), 如 CCI-779/temsirolimus 和 RAD-001/everolimus, 因其水溶性及在溶液中的稳定性更好, 比 RAPA 更适于临床应用. CCI-779/temsirolimus 是惠氏制药(Wyeth)研发的雷帕霉素衍生物, 针对该药物开展的多项二期临床实验(phase II study)结果表明, CCI-779/temsirolimus 对难治性肾细胞癌、复发性胶质母细胞瘤、转移性乳腺癌具有治疗作用^[60-62]. RAD-001/everolimus 是诺华制药(Novartis)研发的雷帕霉素衍生物, 通过抑制 mTOR 激酶活性, 诱导自噬, 增强 PTEN 缺失的前列腺癌细胞对放射治疗的敏感性^[63]. 采用 3-methyladenine 3-MA 抑制细胞自噬导致 Bax 和 Bak 双基因敲除的成纤维细胞对放射治疗抵抗, 而采用 RAD001 诱导自噬则恢复其放射敏感性^[64].

4.1.2 奥美拉唑. 奥美拉唑(omeprazole, OMP)是一类质子泵抑制剂(proton pump inhibitors, PPI), 常用于胃炎治疗, 最近研究发现具有抑制肿瘤细胞生长的作用^[65]. 最新的研究发现, OMP 以剂量依赖性方式诱导胰腺癌 MiaPaCa-2 和 ASPC-1 细胞发生自噬, 增强 5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-FU)和吉西他滨(gemcitabine, GEM)的治疗效果^[66]. 然而也有研究发现, 另外一种 PPI 埃索美拉唑(esomeprazole)处理黑色素瘤细胞之后发生的细胞自噬会减弱埃索美拉唑的抗肿瘤作用^[67], 这可能是

由于不同肿瘤的遗传背景差异所致.

4.2 自噬抑制剂

氯喹(chloroquine, CQ)通过抑制溶酶体酸化(lysosomal acidification)发挥抑制细胞自噬的作用^[68]. 在费城染色体阳性(Philadelphia chromosome-positive cells)的慢性髓性白血病(chronic myeloid leukemia, CML)细胞中, 联用 CQ 显著提高了酪氨酸激酶抑制剂伊马替尼(imatinib mesylate, IM)的疗效^[69]. 此外, 在一种 myc 驱动的小鼠淋巴瘤模型中, CQ 抑制细胞自噬, 增强 p53 依赖的细胞凋亡. CQ 联合环磷酰胺(cyclophosphamide)治疗小鼠淋巴瘤消退较单用环磷酰胺更为显著, 且延迟复发^[70]. 巴佛洛霉素 A1(Bafilomycin A1)是另一种细胞自噬抑制剂^[71], 同样可以提高 imatinib 对 CML 的疗效^[69].

5 结 语

自噬是一种保守的细胞防御机制, 又是细胞程序性死亡方式之一. 在多种人类实体肿瘤中存在自噬活性的改变. 抑制自噬促进了肿瘤的发生和进展^[72]. 促进自噬或抑制自噬对不同类型的肿瘤具有抑制作用, 因此, 必须根据特定肿瘤的遗传信息特征以及肿瘤自身所具有的自噬活性来选择自噬激动剂或自噬抑制剂用于治疗. 不同于 macrophagy, 最近有研究发现, 多种肿瘤组织中分子伴侣介导的细胞自噬(chaperone-mediated autophagy, CMA)水平增强. CMA 增强有利于维持肿瘤细胞的代谢表型, 促进肿瘤的生长. 抑制 CMA 活性导致人肺癌移植瘤在裸鼠体内生长减慢、转移减少, 甚至引起业已存在的移植瘤消退^[73]. 这反映了生命的复杂性, 也提示不同的自噬方式对肿瘤发生具有不同的作用, 有待于进一步深入研究.

参 考 文 献

- [1] Mizushima N, Komatsu M. Autophagy: Renovation of Cells and Tissues. *Cell*, 2011, **147**(4): 728-741
- [2] Klionsky D J. Autophagy: from phenomenology to molecular understanding in less than a decade. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2007, **8**(11): 931-937
- [3] Mizushima N, Noda T, Yoshimori T, *et al.* A protein conjugation system essential for autophagy. *Nature*, 1998, **395**(6700): 395-398
- [4] Mizushima N, Sugita H, Yoshimori T, *et al.* A new protein conjugation system in human. *J Biol Chem*, 1998, **273**(51): 33889-33892
- [5] Sou Y, Waguri S, Iwata J, *et al.* The Atg8 conjugation system is indispensable for proper development of autophagic isolation membranes in mice. *Mol Biol Cell*, 2008, **19**(11): 4762-4775

- [6] Geng J, Klionsky D J. The Atg8 and Atg12 ubiquitin-like conjugation systems in macroautophagy. *EMBO reports*, 2008, **9**(9): 859–864
- [7] Lum J J, Bauer D E, Kong M, *et al.* Growth factor regulation of autophagy and cell survival in the absence of apoptosis. *Cell*, 2005, **120**(2): 237–248
- [8] Karantza-Wadsworth V, Patel S, Kravchuk O, *et al.* Autophagy mitigates metabolic stress and genome damage in mammary tumorigenesis. *Genes Dev*, 2007, **21**(13): 1621–1635
- [9] Yu L, Strandberg L, Lenardo M J. The selectivity of autophagy and its role in cell death and survival. *Autophagy*, 2008, **4**(5): 567–573
- [10] Hendy R, Grasso P. Autophagy in acute liver damage produced in the rat by dimethylnitrosamine. *Chem Biol Interact*, 1972, **5**(6): 401–413
- [11] Levine B, Yuan J. Autophagy in cell death: an innocent convict?. *J Clin Invest*, 2005, **115**(10): 2679–2688
- [12] Shimizu S, Kanaseki T, Mizushima N, *et al.* Role of Bcl-2 family proteins in a non-apoptotic programmed cell death dependent on autophagy genes. *Nat Cell Biol*, 2004, **6**(12): 1221–1228
- [13] Ding Z B, Shi Y H, Zhou J, *et al.* Association of autophagy defect with a malignant phenotype and poor prognosis of hepatocellular carcinoma. *Cancer Res*, 2008, **68**(22): 9167–9175
- [14] Liang X H, Jackson S, Seaman M, *et al.* Induction of autophagy and inhibition of tumorigenesis by beclin 1. *Nature*, 1999, **402**(6762): 672–675
- [15] Negrini S, Gorgoulis V G, Halazonetis T D. Genomic instability-an evolving hallmark of cancer. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2010, **11**(3): 220–228
- [16] Rosenfeldt M T, Ryan K M. The multiple roles of autophagy in cancer. *Carcinogenesis*, 2011, **32**(7): 955–963
- [17] Mathew R, Kongara S, Beaudoin B, *et al.* Autophagy suppresses tumor progression by limiting chromosomal instability. *Genes Dev*, 2007, **21**(11): 1367–1381
- [18] Colotta F, Allavena P, Sica A, *et al.* Cancer-related inflammation, the seventh hallmark of cancer: links to genetic instability. *Carcinogenesis*, 2009, **30**(7): 1073–1081
- [19] Degenhardt K, Mathew R, Beaudoin B, *et al.* Autophagy promotes tumor cell survival and restricts necrosis, inflammation, and tumorigenesis. *Cancer cell*, 2006, **10**(1): 51–64
- [20] Fésüs L D M, Petrovski G. Autophagy shapes inflammation. *Antioxid Redox Signal*, 2011, **14**(11): 2233–2243
- [21] Bingle L, Brown N J, Lewis C E. The role of tumour-associated macrophages in tumour progression: implications for new anticancer therapies. *J Pathol*, 2002, **196**(3): 254–265
- [22] DeNardo D G, Johansson M, Coussens L M. Immune cells as mediators of solid tumor metastasis. *Cancer Metastasis Rev*, 2008, **27**(1): 11–18
- [23] Lee H K, Iwasaki A. Autophagy and antiviral immunity. *Curr Opin Immunol*, 2008, **20**(1): 23–29
- [24] Liang C, Xiaofei E, Jung J U. Downregulation of autophagy by herpesvirus Bcl-2 homologs. *Autophagy*, 2008, **4**(3): 268–272
- [25] Pattingre S, Tassa A, Qu X, *et al.* Bcl-2 antiapoptotic proteins inhibit Beclin 1-dependent autophagy. *Cell*, 2005, **122**(6): 927–939
- [26] Liang C, Feng P, Ku B, *et al.* Autophagic and tumour suppressor activity of a novel Beclin1-binding protein UVRAG. *Nat Cell Biol*, 2006, **8**(7): 688–698
- [27] Sinha S, Colbert C L, Becker N, *et al.* Molecular basis of the regulation of Beclin 1-dependent autophagy by the γ -herpesvirus 68 Bcl-2 homolog M11. *Autophagy*, 2008, **4**(8): 989–997
- [28] Altmann M, Hammerschmidt W. Epstein-Barr virus provides a new paradigm: a requirement for the immediate inhibition of apoptosis. *PLoS Biology*, 2005, **3**(12): e404
- [29] Lee D Y, Sugden B. The latent membrane protein 1 oncogene modifies B-cell physiology by regulating autophagy. *Oncogene*, 2007, **27**(20): 2833–2842
- [30] Paludan C, Schmid D, Landthaler M, *et al.* Endogenous MHC class II processing of a viral nuclear antigen after autophagy. *Science*, 2005, **307**(5709): 593–596
- [31] Leung C S, Taylor G S. Nuclear shelter. *Autophagy*, 2010, **6**(4): 560–561
- [32] Leung C S, Haigh T A, Mackay L K, *et al.* Nuclear location of an endogenously expressed antigen, EBNA1, restricts access to macroautophagy and the range of CD4 epitope display. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, **107**(5): 2165–2170
- [33] Terebiznik M R, Raju D, Vázquez C L, *et al.* Effect of *Helicobacter pylori*'s vacuolating cytotoxin on the autophagy pathway in gastric epithelial cells. *Autophagy*, 2009, **5**(3): 370–379
- [34] Wang Y H, Wu J J, Lei H Y. When *Helicobacter pylori* invades and replicates in the cells. *Autophagy*, 2009, **5**(4): 540–542
- [35] Mathew R, Karantza-Wadsworth V, White E. Role of autophagy in cancer. *Nat Rev Cancer*, 2007, **7**(12): 961–967
- [36] Maiuri M C, Tasdemir E, Criollo A, *et al.* Control of autophagy by oncogenes and tumor suppressor genes. *Cell Death Differ*, 2008, **16**(1): 87–93
- [37] Kihara A, Kabeya Y, Ohsumi Y, *et al.* Beclin-phosphatidylinositol 3-kinase complex functions at the trans-Golgi network. *EMBO Rep*, 2001, **2**(4): 330–335
- [38] Easton J B, Houghton P J. mTOR and cancer therapy. *Oncogene*, 2006, **25**(48): 6436–6446
- [39] Jung C H, Ro S H, Cao J, *et al.* mTOR regulation of autophagy. *FEBS Lett*, 2010, **584**(7): 1287–1295
- [40] Kim J, Kundu M, Viollet B, *et al.* AMPK and mTOR regulate autophagy through direct phosphorylation of Ulk1. *Nat Cell Biol*, 2011, **13**(2): 132–141
- [41] Noda T, Ohsumi Y. Tor, a phosphatidylinositol kinase homologue, controls autophagy in yeast. *J Biol Chem*, 1998, **273**(7): 3963–3966
- [42] Yip K W, Reed J C. Bcl-2 family proteins and cancer. *Oncogene*, 2008, **27**(50): 6398–6406
- [43] Maiuri M C, Le Toumelin G, Criollo A, *et al.* Functional and physical interaction between Bcl-XL and a BH3-like domain in Beclin-1. *EMBO J*, 2007, **26**(10): 2527–2539
- [44] Maiuri M C, Criollo A, Tasdemir E, *et al.* BH3-Only proteins and BH3 mimetics induce autophagy by competitively disrupting the interaction between Beclin 1 and Bcl-2/Bcl-XL. *Autophagy*, 2007,

- 3(4): 374–376
- [45] Sinha S, Levine B. The autophagy effector Beclin 1: A novel BH3-only protein. *Oncogene*, 2008, **27**: S137–S148
- [46] Cho D H, Jo Y K, Hwang J J, *et al.* Caspase-mediated cleavage of ATG6/Beclin-1 links apoptosis to autophagy in HeLa cells. *Cancer Lett*, 2009, **274**(1): 95–100
- [47] Djavaheri-Mergny M, Maiuri M C, Kroemer G. Cross talk between apoptosis and autophagy by caspase-mediated cleavage of Beclin 1. *Oncogene*, 2010, **29**(12): 1717–1719
- [48] Tasdemir E, Maiuri M C, Galluzzi L, *et al.* Regulation of autophagy by cytoplasmic p53. *Nat Cell Biol*, 2008, **10**(6): 676–687
- [49] Tasdemir E C M M, Morselli E, Criollo A, *et al.* A dual role of p53 in the control of autophagy. *Autophagy*, 2008, **4**(6): 810–814
- [50] Levine B, Abrams J. p53: The Janus of autophagy?. *Nat Cell Biol*, 2008, **10**(6): 637–639
- [51] Crichton D, Wilkinson S, O'Prey J, *et al.* DRAM, a p53-induced modulator of autophagy, is critical for apoptosis. *Cell*, 2006, **126**(1): 121–134
- [52] Samaddar J S, Gaddy V T, Duplantier J, *et al.* A role for macroautophagy in protection against 4-hydroxytamoxifen-induced cell death and the development of antiestrogen resistance. *Mol Cancer Ther*, 2008, **7**(9): 2977–2987
- [53] Schoenlein P V, Periyasamy-Thandavan S, Samaddar J S, *et al.* Autophagy facilitates the progression of ERalpha-positive breast cancer cells to antiestrogen resistance. *Autophagy*, 2009, **5**(3): 400–403
- [54] Pirtoli L, Cevenini G, Tini P, *et al.* The prognostic role of Beclin 1 protein expression in high-grade gliomas. *Autophagy*, 2009, **5**(7): 930–936
- [55] Shen Y, Li D D, Wang L L, *et al.* Decreased expression of autophagy-related proteins in malignant epithelial ovarian cancer. *Autophagy*, 2008, **4**(8): 1067–1068
- [56] Shi Y H, Ding Z B, Zhou J, *et al.* Prognostic significance of Beclin 1-dependent apoptotic activity in hepatocellular carcinoma. *Autophagy*, 2009, **5**(3): 380–382
- [57] Chen Y, Lu Y, Lu C, *et al.* Beclin-1 expression is a predictor of clinical outcome in patients with esophageal squamous cell carcinoma and correlated to hypoxia-inducible factor(HIF)-1alpha expression. *Pathol Oncol Res*, 2009, **15**(3): 487–493
- [58] Wan X B, Fan X J, Chen M Y, *et al.* Elevated Beclin 1 expression is correlated with HIF-1alpha in predicting poor prognosis of nasopharyngeal carcinoma. *Autophagy*, 2010, **6**(3): 395–404
- [59] Bjornsti M A, Houghton P J. The TOR pathway: a target for cancer therapy. *Nat Rev Cancer*, 2004, **4**(5): 335–348
- [60] Chan S, Scheulen M E, Johnston S, *et al.* Phase II study of temsirolimus (CCI-779), a novel inhibitor of mTOR, in heavily pretreated patients with locally advanced or metastatic breast cancer. *J Clin Oncol*, 2005, **23**(23): 5314–5322
- [61] Atkins M B, Hidalgo M, Stadler W M, *et al.* Randomized phase II study of multiple dose levels of CCI-779, a novel mammalian target of rapamycin kinase inhibitor, in patients with advanced refractory renal cell carcinoma. *J Clin Oncol*, 2004, **22**(5): 909–918
- [62] Galanis E, Buckner J C, Maurer M J, *et al.* Phase II trial of temsirolimus (CCI-779) in recurrent glioblastoma multiforme: A north central cancer treatment group study. *J Clin Oncol*, 2005, **23**(23): 5294–5304
- [63] Cao C, Subhawong T, Albert J M, *et al.* Inhibition of mammalian target of rapamycin or apoptotic pathway induces autophagy and radiosensitizes PTEN null prostate cancer cells. *Cancer Res*, 2006, **66**(20): 10040–10047
- [64] Kim K W, Mutter R W, Cao C, *et al.* Autophagy for cancer therapy through inhibition of pro-apoptotic proteins and mammalian target of rapamycin signaling. *J Biol Chem*, 2006, **281**(48): 36883–36890
- [65] Luciani F, Spada M, De Mito A, *et al.* Effect of proton pump inhibitor pretreatment on resistance of solid tumors to cytotoxic drugs. *J Natl Cancer Inst*, 2004, **96**(22): 1702–1713
- [66] Udelnow A, Kreyes A, Ellinger S, *et al.* Omeprazole inhibits proliferation and modulates autophagy in pancreatic cancer cells. *PLoS one*, 2011, **6**(5): e20143
- [67] Marino M L, Fais S, Djavaheri-Mergny M, *et al.* Proton pump inhibition induces autophagy as a survival mechanism following oxidative stress in human melanoma cells. *Cell Death Dis*, 2010, **1**(10): e87
- [68] Solomon V R, Lee H. Chloroquine and its analogs: A new promise of an old drug for effective and safe cancer therapies. *Eur J Pharmacol*, 2009, **625**(1–3): 220–233
- [69] 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 Clin Invest*, 2009, **119**(5): 1109–1123
- [70] Amaravadi R K, Yu D, Lum J J, *et al.* Autophagy inhibition enhances therapy-induced apoptosis in a Myc-induced model of lymphoma. *J Clin Invest*, 2007, **117**(2): 326–336
- [71] Yamamoto A, Tagawa Y, Yoshimori T, *et al.* Bafilomycin A1 prevents maturation of autophagic vacuoles by inhibiting fusion between autophagosomes and lysosomes in rat hepatoma cell line, H-4-II-E cells. *Cell Struct Funct*, 1998, **23**(1): 33–42
- [72] White E, Karp C, Strohecker A M, *et al.* Role of autophagy in suppression of inflammation and cancer. *Curr Opin Cell Biol*, 2010, **22**(2): 212–217
- [73] Kon M, Kiffin R, Koga H, *et al.* Chaperone-mediated autophagy is required for tumor growth. *Sci Transl Med*, 2011, **3**(109): 109ra117

Progress on Role of Autophagy in Cancer*

XIANG Bo¹⁾, YI Mei²⁾, LI Xiao-Ling¹⁾, LI Gui-Yuan^{1)**}

¹⁾ *Cancer Research Institute of Central South University, Changsha 410078, China;*

²⁾ *Department of Dermatology, Xiangya Hospital of Central South University, Changsha 410078, China)*

Abstract Autophagy is an evolutionarily conserved catabolic process crucial for development, differentiation, survival, and homeostasis. However, if it proceeds to completion, autophagy can lead to cell death. Changes in macroautophagy activity have been described in cancer cells and in solid tumors, and inhibition of macroautophagy promotes tumorigenesis. The review focuses on the importance of autophagy in tumour development and cancer therapy. We summarize what is currently known about autophagy, and discuss its role in cell death and survival. We discuss possible mechanisms underlying the anti-tumor activity of autophagy. We also discuss the effect of autophagy modulation in cancer therapy.

Key words autophagy, autophagy-mediated cell death, carcinogenesis

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2011.00555

* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (81000883, 81102065, 30971147, 81171930), Grant 111-2-12 from the National “111” Project from The Natural Science Foundation of Hunan Province, P.R. China (2011FJ3111, 10JJ7003), The Free Exploration Program of Central South University of China (201012200017, 2011QNZT138).

**Corresponding author.

Tel: 86-731-84805383, E-mail: ligy@xysm.net

Received: November 23, 2011 Accepted: February 28, 2012