

· 综述 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2015.31.040

细胞自噬与肿瘤治疗*

杨柯综述,潘耀柱[△]审校

(兰州军区兰州总医院血液科血液病研究所 730050)

[关键词] 自噬;肿瘤;治疗

[中图分类号] R730.5

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2015)31-4432-03

1 细胞自噬

普遍存在于真核生物细胞的降解途径主要有两条:泛素/蛋白酶体途径和自噬/溶酶体途径。自噬/溶酶体途径(auto-phagy)是大分子物质及细胞器的降解途径,尤其存在缺氧、营养匮乏、蛋白质错误折叠、病原菌感染等细胞适应性应激时,通过双层膜包裹待降解物形成自噬体,后运送至溶酶体隔离并被吞噬降解,用来维持细胞本身结构、代谢、功能的平衡和细胞器的更新,以及细胞内能量和物质的转移以适应不断变化的环境条件^[1],这一过程作为保持细胞稳态的必要过程不依赖 caspase 凋亡途径,而以出现自噬体为特征,与细胞生长、增殖、分化、凋亡、癌变等密切相关。

1.1 自噬的生理功能 营养缺乏时,细胞通过自噬作用加速分解受损、衰老和较不重要的细胞器,产生核苷酸、氨基酸、游离脂肪酸等能量物质,进行蛋白质合成和细胞结构的再循环;当氧化应激和病毒感染时,细胞还可通过自噬选择性降解受损或多余的过氧化物酶体、线粒体、内质网和 DNA,减少异常蛋白聚集体、细胞器和大分子物质的累积,保证细胞内环境稳定,有利细胞存活^[2]。此外,自噬在细胞内还能调节程序性细胞死亡,在组织结构重建、生长发育、感染免疫、肿瘤耐药等中起重要调控作用。

1.2 自噬双重作用 自噬对细胞的作用具有双重性,自噬作为一种自我保护适应性机制促进细胞存活的同时,还与细胞死亡紧密相关。一方面,受损细胞器、错误合成的蛋白通过自噬被降解,促进细胞存活;另一方面,自噬通过引起 DNA 损伤、氧化应激、抑制核因子- κ B(NF- κ B)活性等机制促进了细胞死亡^[3],过度自噬还可导致细胞自身过度消耗,诱发自噬性死亡即 II 型程序性细胞死亡。

2 自噬的调节信号及分子机制

2.1 PI3K-Akt-mTOR 信号途径 自噬是一个复杂的受多种信号途径调节的多步骤过程,主要与营养状况,生长因子等外界环境调控有关。一般情况,自噬呈低水平状态,这对维持细胞内蛋白和细胞器的稳定极其重要,过度激活 PI3K-Akt-mTOR 途径可以提高细胞生存率,现已证明该信号途径的异常可导致多种肿瘤及多药耐药的发生。mTOR 激酶作为 Akt 的下游靶点,可感受细胞内氨基酸、激素和 AMP/ATP 水平,是自噬负调节因子,主要调节细胞生长、增殖、存活和自噬等上游通路。营养丰富时,mTOR 激酶被激活,磷酸化自噬相关基因 Atg13,使与 Atg1 结合能力下降或被阻断,从而抑制自噬并促进细胞增殖^[4];但在营养缺乏、低氧、基因突变等应激条件时,mTOR 激酶使核糖体蛋白 6 激酶和转录起始因子结合蛋

白发生磷酸化,启动自噬相关基因和蛋白并参与形成自噬体膜,从而诱导自噬并抑制细胞生长。另外研究发现,肿瘤抑制基因 PTEN 和 ARHI 作为自噬正调节分子,使 PIP3 去磷酸化成 PIP2,解除 Class I PI3K 对自噬的阻滞,还能磷酸化激活和内质网应激有关的真核转录起始因子 eIF2 α ,促进 Atg12 的表达和诱导 LC3- I 向 LC3- II 转化,从而发挥正向调节作用^[5-6]。

2.2 Beclin-1 和 bcl-2 信号途径 Beclin1 是自噬通路所必需的肿瘤抑制因子和自噬正调节因子,其表达缺失可以降低自噬活性,致使肿瘤细胞异常生长,主要机制是与 III 型磷脂酰肌醇三磷酸激酶(Class III PI3K)作用形成 Beclin1/Vps34 复合体,参与募集细胞质中含 3-磷酸磷脂酰肌醇(PtdIns3P)结合域的 Atg 蛋白复合体,用于自噬体双层膜形成并引导其他自噬蛋白定位于此膜上,此环节可通过 PI3K 抑制剂 3-MA、Wortmannin 干扰或阻断来影响自噬体形成。Beclin1 还可与其他自噬相关蛋白(UVRAG、p150、Bif-1、Atg14L、Rubicon、Ambra1、HMGB1、nPIST、VMP1、SLAM、IP3R、PINK 和 survivin 等)相互结合后作用 Vps-34,形成 Beclin-1-Vps34-Vps15 核心复合物,诱导自噬发生^[7-9]。bcl-2 作为一种凋亡抑制蛋白,通过自身磷酸化、去磷酸化及内质网修饰来参与细胞凋亡,并与 Beclin-1 竞争性结合而发挥负调节自噬作用。正常情况下,bcl-2 处于非磷酸化,与 Beclin-1 具有的 BH3 结构域紧密结合后,阻止其他自噬相关蛋白结合到自噬体膜上,从而抑制自噬,并且参与调节细胞凋亡。相反,当应激发生时,bcl-2 被磷酸化,与 Beclin-1 相互作用减弱,诱导自噬发生。但有趣的是,当 bcl-2 仅定位于内质网时才对 Beclin1/Vps34 蛋白复合体产生抑制自噬的作用,而 bcl-2 定位于线粒体时则与细胞凋亡有关。

2.3 p53 信号途径 p53 是人体重要的抑癌基因,调控很多靶基因表达,引导细胞反应,包括促进细胞凋亡、阻滞细胞周期、维持基因组稳定和抑制肿瘤形成等。一方面,在营养缺乏或者其他应激时,核内的 p53 作为转录因子可以转录腺苷酸活化蛋白激酶(AMPK)、PTEN、TSC1/TSC2 和 sestrin1/sestrin2 等抑制因子,负调节 mTOR 活性而诱导自噬以适应低能量状态和诱导凋亡发生;另一方面,细胞质中 p53 通过 Bax、BAD 及 BNIP3 等基因的激活,抑制 Beclin-1 与 bcl-2 活性,最终抑制自噬^[10]。

2.4 其他 在营养缺乏和氧供不足时,多余或折叠错误的蛋白能够促发内质网应激,目前由内质网应激诱导的自噬在肿瘤细胞中虽还未见报道,但在心肌细胞中已有研究表明^[11]:内质网应激可以通过蛋白激酶样内质网激酶和肌醇需求激酶诱导自噬的发生。自噬还可能与凋亡通路中的线粒体途径有关,且

* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(81372132)。 作者简介:杨柯(1989—),硕士,检测技师,主要进行自噬和多发性骨髓瘤相关性研究。 [△] 通讯作者,E-mail:panyaozhu@163.com。

不能通过干扰 Beclin siRNA 表达后被抑制^[12]。此外, NF- κ B、AMPK、SPK 和 JNK2 等信号途径都被发现可能与自噬相关。而激素也可以调节自噬, 如胰岛素可抑制自噬, 胰高血糖素则促进自噬。

3 自噬与肿瘤

自噬在肿瘤的发生、发展、转移及治疗中均具有重要作用。在脑部恶性肿瘤、消化系统肿瘤、生殖系统肿瘤、血液系统恶性肿瘤等化疗过程中, 化疗药物不仅诱导肿瘤细胞发生凋亡^[13], 而且还通过抑制 PI3K-Akt-mTOR 信号通路诱导肿瘤细胞发生自噬^[14]。这种自噬既能作为一种保护肿瘤存活的适应性机制, 还能与凋亡共同作用促使细胞死亡, 甚至当凋亡基因缺失或突变时, 成为细胞主要的死亡方式^[15]。一方面, 自噬可以抑制肿瘤。降低自噬活性, 损伤的 DNA 得不到有效修复, 可导致肿瘤发生。例如在卵巢癌、乳腺癌和前列腺癌中均发现自噬调节基因 Beclin1 或 Atg5 缺失, 敲除或沉默小鼠 Beclin1 基因, 肿瘤发生率增高^[16]。但研究发现自噬功能具有组织特异性, 不同组织中, 自噬的作用不同, 比如 Ahn 等^[17]研究发现: Beclin1 在胃癌中表达率达到 83%, 在结肠癌高达 95%, 而正常胃及结肠黏膜上皮细胞的 Beclin1 表达反而降低。另一方面, 自噬还可作为肿瘤细胞的保护机制, 自噬不仅能清除受损 DNA、线粒体、组织内活性氧类物质 (ROS) 和蛋白聚合物来减缓炎症及坏死、降低基因突变的速率, 同时为肿瘤细胞的生存及转移提供重要能量, 促进肿瘤细胞存活^[18-19]。虽然自噬具有细胞保护机制, 但自噬在肿瘤形成的不同阶段具有不同的效应, 比如在肿瘤发生早期, 自噬通过清除多余代谢产物、抑制慢性炎症扩散、调控诱导抑癌基因等方式来抑制肿瘤。而在进展阶段, 尤其是实体肿瘤内部血供不良时, 肿瘤细胞大量分裂增殖, 突变基因发生严重累积, 众多抑癌基因开始失活, 肿瘤细胞反而能够利用自噬来应对缺氧、营养匮乏, 并清除大量氧自由基、损伤的线粒体、DNA、蛋白聚合物等, 这也是造成化疗耐药的主要因素之一^[20]。

4 自噬与抗肿瘤治疗

4.1 促进自噬治疗肿瘤 通过自噬抑制剂或靶向自噬相关调节因子干扰可促进肿瘤细胞存活, 由此可见, 抑制自噬促进肿瘤发生, 通过活化诱导细胞自噬来抑制和治疗肿瘤是可行的。化疗药物、放射疗法、激素疗法、细胞因子、基因治疗、天然化合物及光动力学疗法均已证明在体外培养的许多肿瘤细胞中可诱发自噬性细胞死亡, 且与不同抗癌药物联合应用时, 可以增加自噬依赖的细胞死亡的敏感性, 此外, 自噬诱导剂也能增强肿瘤化疗和放疗的效果, 可以利用上调 Beclin-1 和抑制 mTOR 活性等诱导自噬以治疗和预防肿瘤。三氧化二砷 (As₂O₃) 是一种急性早幼粒白血病 M3 常用的临床化疗药, 细胞毒作用主要通过释放细胞色素 C 和活化 caspase 凋亡途径来实现, 诱导 DNA 在 G₂/M 期滞留和诱发自噬性细胞死亡, 而自噬是引起癌基因 AML/RARA 下降的主要机制^[21]。Qian 等^[22]发现 As₂O₃ 可通过增加 Beclin1 的表达诱导肿瘤细胞自噬性死亡, Cheng 等^[23]发现, As₂O₃ 亦可诱导白血病 K562 细胞和阿霉素耐药细胞株 K562/ADM 发生自噬性细胞死亡。除此之外, As₂O₃ 通过与其他化学物质或放射治疗联用可协同抑制肿瘤。比如, 卡莫司汀 (BCNU) 与 As₂O₃ 联合应用于实体瘤细胞时, 可降低还原型谷胱甘肽 (GSH) 的量并致使 ROS 发生积累, 最终通过自噬的活化来抑制肿瘤。

伊马替尼作为 Bcr-abl 酪氨酸激酶竞争性抑制剂, 临床上常用来靶向治疗慢性粒细胞白血病 (CML), 被证明通过剂量

依赖方式过表达 Beclin1 或 Atg5 而诱导自噬性死亡^[24], 而且自噬抑制剂氯喹与伊马替尼联用后可以增加白血病细胞的化疗敏感性, 显著提高伊马替尼的细胞毒效应^[25]。

组蛋白脱乙酰基酶抑制剂 (histone deacetylase inhibitor, HDAC) 不仅可激活凋亡和活化肿瘤抑制基因, 还可通过下调 Akt/mTOR 信号通路引起自噬活化, 用 3-MA、氯喹抑制自噬或基因沉默 Atg5 则可减少其毒性作用。同样, 在他莫昔芬耐受的 MCF-7 (TAMR/MCF-7) 细胞中, HDAC 通过诱导 G₂/M 阻滞以及上调 LC3 II、Beclin1 来激活细胞凋亡, 同时诱导发生自噬, 而细胞自噬是其死亡的主要途径^[26]。此外, 研究发现, 达沙替尼可通过诱导内质网应激和慢性淋巴细胞白血病细胞自噬来对抗肿瘤细胞的抗药性^[27]。雷帕霉素作为 mTOR 抑制剂, 同样通过诱导细胞自噬来抑制肿瘤, 且与替莫唑胺联用后对胶质母细胞瘤表现出较强的杀伤作用。以上研究说明, 在肿瘤治疗中, 通过诱导自噬抑制肿瘤并提高肿瘤细胞对放疗的敏感性, 是今后研究的新方向。近期毒副作用更低、成本更小的天然药物如白藜芦醇、姜黄素、厚朴酚、苦参碱也是活化自噬抑制肿瘤研究的重点。

4.2 抑制自噬治疗肿瘤 在体外培养的肿瘤细胞中, 清除 Beclin1 或敲除 Atg5 后会抑制肿瘤细胞正常生长, 说明通过抑制自噬用于肿瘤治疗也是有效的, 并且一些具有可激活细胞保护性自噬反应的药物与自噬抑制剂联用, 表现出协同作用和更好的抗肿瘤效果, 而且还能使耐药细胞提高或重新获得对治疗药物的敏感性, 可能与降低肿瘤细胞高耗能、高代谢及氧化磷酸化等相关。此外, 在动物肿瘤实验中同样也被证实自噬抑制剂与其他抗癌药物联用可增强化疗效果。

羟化氯喹 (HCQ)、氯喹 (CQ) 通过酸化溶酶体、干涉自噬体和溶酶体酸融合抑制自噬; LY294002、3-MA 和渥曼青霉素 (wortmannin) 通过抑制 I 和 III 型 PI3K 活性来抑制自噬体膜形成阻断自噬; 巴弗洛霉素 A1 (bafilomycin A1) 作为空泡-ATP 酶的直接抑制剂通过提高溶酶体 pH 值来阻滞自噬小体与溶酶体的融合。与组蛋白脱乙酰基酶抑制剂通过诱导自噬致使细胞死亡, bafilomycin A1 还可有效治疗伊马替尼耐药的慢性粒细胞白血病^[28]。另外, 5-氟尿嘧啶 (5-FU) 在治疗肿瘤中可诱导细胞产生具有保护机制的细胞自噬。

5 展望

随着对自噬的研究逐渐深入, 自噬作为一种细胞死亡和维持内环境稳定的必要存在机制, 不同肿瘤的发展阶段和不同类型的肿瘤细胞, 自噬发挥的作用也不尽相同。在抗肿瘤治疗中可以诱导细胞自噬性死亡, 但在耐药肿瘤细胞中, 自噬又表现为一种保护性机制, 而抑制自噬却又能提高肿瘤细胞对化疗药物的敏感性。正确认识自噬在肿瘤发生、发展中的作用, 需要更加深入研究自噬在促进生存和诱导死亡具体作用和机制, 充分利用自噬的有利因素并消除其不利因素, 为发掘新的化疗药物, 以及肿瘤的靶向自噬治疗提供一个新的突破点。

参考文献

- [1] 叶丽霖, 李玉峰. 细胞自噬与肿瘤耐药的研究进展[J]. 临床血液学杂志. 2013, 26(1): 63-64.
- [2] 朱永健. ARHI 基因与自噬在胰腺癌中的作用及相关机制的初探[D]. 北京: 中国协和医科大学, 2012.
- [3] 潘耀柱. 抑制自噬增加阿霉素对骨髓瘤细胞的促凋亡活性[D]. 西安: 第四军医大学, 2009.
- [4] 殷霞. 自噬在抗肿瘤治疗中的研究进展[J]. 现代妇产科

- 进展,2012,21(9):725-726.
- [5] 杨湘怡,陶润知,聂亚雄. mTOR 依赖的自噬通路与神经变性疾病[J]. 中南医学科学杂志,2014,42(2):191-192.
- [6] 汤智平,关中. 自噬调节与肿瘤治疗相关的研究进展[J]. 中华肿瘤防治杂志,2013,20(6):477-478.
- [7] Itakura E, Mizushima N. Atg14 and UVRAG: mutually exclusive subunits of mammalian Beclin 1-PI3K complexes[J]. Autophagy,2009,5(4):534-536.
- [8] 袁文华,宋云霄. 自噬相关基因 Beclin 1 与肿瘤[J]. 中国医药指南,2012,12(5):47-48.
- [9] Matsunaga K, Saitoh T, Tabata K, et al. Two Beclin 1-binding proteins, Atg14L and Rubicon, reciprocally regulate autophagy at different stages[J]. Nat Cell Biol,2009,11(4):385-396.
- [10] 成娟. 自噬在白血病 K562/ADM 细胞多药耐药性及三氧化二砷抗白血病效应中的作用[D]. 兰州:兰州大学,2013.
- [11] Tannous P, Zhu H, Nemchenko A, et al. Intracellular protein aggregation is a proximal trigger of cardiomyocyte autophagy[J]. Circulation,2008,117(24):3070-3078.
- [12] Younce CW, Kolattukudy PE. MCP-1 causes cardiomyoblast death via autophagy resulting from ER stress caused by oxidative stress generated by inducing a novel zincfinger protein, MCPIP[J]. Biochem J,2010,426(1):43-53.
- [13] 黄佳圆,王锐,陈龙邦. Notch-1 信号通路与肿瘤耐药研究进展[J]. 医学研究生学报,2011,24(12):1301-1305.
- [14] 潘半舟,封冰. 自噬在调控抗肿瘤药物耐药中的研究进展[J]. 医学研究生学报,2012,25(12):1302-1305.
- [15] Giansanti V, Torriglia A, Scovassi AI. Conversation between apoptosis and autophagy: "Is it your turn or mine?"[J]. Apoptosis,2011,16(4):321-333.
- [16] 潘耀柱,王璇. 自噬与肿瘤[J]. 肿瘤防治研究,2011,38(9):1082-1083.
- [17] Ahn CH, Jeong EG, Lee JW, et al. Expression of Beclin1, an autophagy related protein, in gastric and colorectal cancers[J]. APMIS,2007,115(12):1344-1349.
- [18] 严俊,吴祖泽,王立生. 白血病细胞自噬调控的研究进展[J]. 中国实验血液学杂志,2010;18(2):540-543.
- [19] 吴昂,高贇. 自噬与肿瘤发生及治疗抵抗的相关研究进展[J]. 肿瘤学杂志,2014,20(3):248-249.
- [20] Tsuchihara K, Fujii S, Esumi H. Autophagy and cancer: dynamism of the metabolism of tumor cells and tissues[J]. Cancer Lett,2009,278(2):130-138.
- [21] 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.
- [22] Qian W, Liu J, Jin J, et al. Arsenic trioxide induces not only apoptosis but also autophagic cell death in leukemia cell lines via up-regulation of Beclin1[J]. Leuk Res,2007,31(3):329-339.
- [23] Cheng J, Wei HL, Chen J, et al. Antitumor effect of arsenic trioxide in human K562 and K562 /ADM cells by autophagy[J]. Toxicol Mech Methods,2012,22(7):512-519.
- [24] Ertmer A, Huber V, Gilch S, et al. The anticancer drug imatinib induces cellular autophagy[J]. Leukemia,2007;21(5):936-942.
- [25] Mishima Y, Terui Y, Mishima Y, et al. Autophagy and autophagic cell death are next targets for elimination of the resistance to tyrosine kinase inhibitors[J]. Cancer Sci,2008,99(11):2200-2208.
- [26] Lee YJ, Won AJ, Lee J, et al. Molecular mechanism of SAHA on regulation of autophagic cell death in tamoxifen-resistant MCF-7 breast cancer cells[J]. Int J Med Sci,2012,9(10):881-893
- [27] Amrein L, Soulires D, Johnston J, et al. p53 and autophagy contribute to dasatinib resistance in primary CLL lymphocytes[J]. Leuk Res,2011,35(1):99-102.
- [28] Carew JS, Nawrocki ST, Kahue CN, et al. Targeting autophagy augments the anticancer activity of the histone deacetylase inhibitor SAHA to overcome Bcr-Abl-mediated drug resistance[J]. Blood,2007,110(1):313-322.

(收稿日期:2015-06-23 修回日期:2015-07-16)

• 综述 • doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2015.31.041

高压氧治疗炎症性肠病作用机制的研究进展*

陈晨¹综述,孔德润²审校

(1. 皖南医学院弋矶山医院高压氧科,安徽芜湖 241001;2. 安徽医科大学第一附属医院消化内科,安徽合肥 230032)

[关键词] 炎症性肠病;高压氧;神经免疫调节;干细胞

[中图分类号] R574

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2015)31-4434-03

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是一类病因尚未完全明确的慢性非特异性肠道炎症性疾病,该病反复发作、迁延不愈,严重影响患者的生活质量,目前已有的治疗措施

并不能很好地控制病情及疾病进展,探索新的治疗方法已成为当务之急。近年来临床上对应用糖皮质激素、柳氮磺胺吡啶、甲硝唑、6-巯基嘌呤等常规药物及饮食治疗无效的重度溃疡性

* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(81271736);高校国家级大学生创新创业训练计划项目(201410366001)。作者简介:陈晨(1988—),住院医师,主要从事高压氧相关的神经疾病研究。