

· 综述 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2018.24.021

# 自噬与肿瘤干细胞的研究新进展\*

龙梅芳,熊芳综述,叶小群<sup>△</sup>审校

(南昌大学第二附属医院呼吸内科,南昌 330006)

**[摘要]** 自噬是依赖于溶酶体,清除受损或多余蛋白及细胞器的一种降解途径,在细胞的生长、分化和维持内环境稳态等方面起重要作用。现今自噬已成为研究热点,近期研究表明自噬在肿瘤干细胞的起源、发生、发展和侵袭中起关键作用,自噬的增强或减弱,对各种肿瘤干细胞具有不同的影响,既可抑制肿瘤干细胞的发展,也可促进其存活并维持干细胞特性。本文将探讨归纳肿瘤及肿瘤干细胞中的自噬行为及相应生物学作用,为消除肿瘤干细胞及提高肿瘤的疗效提供新的思路。

**[关键词]** 自噬;肿瘤干细胞;肿瘤

**[中图分类号]** R730.2

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1671-8348(2018)24-3209-04

自噬(autophagy)是一种高度保守的分解代谢过程,是细胞非选择性的降解和吞噬细胞质中受损变性的蛋白、脂质、细胞器及细胞内病原体,并利用降解产物供能和提供原料等,从而促进细胞生存并维持稳态<sup>[1]</sup>。在不同种类的肿瘤及肿瘤发展的不同阶段中,自噬发挥着促进和抑制两种不同的影响,通过激活和抑制自噬可以提高肿瘤的疗效<sup>[2]</sup>。肿瘤干细胞(cancer stem cells, CSCs)是一种具有自我更新、多向分化和无限增殖潜能为特征的未成熟细胞,与肿瘤的发生、发展、转移及耐药有密切相关。这一理论为筛选靶向杀伤肿瘤干细胞的药物,提高药物对肿瘤的疗效,提供了理论依据<sup>[3]</sup>。自噬在肿瘤干细胞的生物学活动中亦起着重要作用,现今仍在不断探索中,本文将对自噬及其在肿瘤和肿瘤干细胞中的作用进行综述。

## 1 自噬

自噬是所有真核生物所特有的一种古老的生物学现象,过去 70 年来一直在研究<sup>[4]</sup>。研究发现,自噬有两种不同的分类方法:(1)根据自噬对降解底物的选择不同,将自噬分为选择性自噬(例如在营养剥夺期间)和非选择性自噬(例如在病原体侵袭或细胞器受损时)<sup>[5]</sup>。(2)根据细胞内底物运送到溶酶体的方式不同,分为巨自噬(macroautophagy)、微自噬(microautophagy)、分子伴侣介导的自噬(chaperone-mediated autophagy, CMA)。

目前,自噬的信号通路包括:哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin mTOR)信号转导通路、磷脂酰肌醇-3-激酶/苏氨酸蛋白激酶(phosphatidylinositol 3-kinase P13K/Akt)信号转导通路、活性氧类(reactive oxygen species, ROS)信号

转导通路、NF- $\kappa$ B(nuclear factor-kappaB, NF- $\kappa$ B)信号转导通路等。

正常生理情况下,大多数细胞中的自噬维持在较低的水平。当细胞内、外受到应激源刺激时,自噬可以显著增加,使细胞更好地适应这些改变<sup>[6]</sup>。应激源包括饥饿、缺氧、细胞内病原体的感染等。在营养物质被剥夺情况下,自噬能为细胞提供代谢中间体来满足生物能量需求。DU 等<sup>[7]</sup>研究发现,在葡萄糖营养剥夺的情况下,发现小鼠的心肌细胞中出现大量的自噬现象,减少因营养物质缺乏出现心肌细胞死亡;在缺氧期间,自噬可清除细胞质内过多的活性氧(ROS),从而减轻给细胞造成的氧化损伤;CHEN 等<sup>[8]</sup>表明在缺氧环境下番茄红素(抗氧化剂)可诱导自噬保护心肌细胞免于凋亡,研究者通过基因沉默 Bcln1,破坏自噬,同样剂量下的番茄红素,缺氧环境下出现心肌细胞大量凋亡,验证了作者的推测。当病原体入侵后,细胞自噬通过膜结构包裹病原体形成自噬泡,进而与溶酶体融合降解,这个过程称为异自噬(xenophagy),代表了“最先进”的免疫效应机制<sup>[9]</sup>。在一般外界应激源刺激下,自噬可以促进细胞存活,当自噬不适时的发生或过度激活,则会导致非程序性细胞凋亡(自噬性细胞凋亡)。研究表明神经节苷脂治疗病理状态下的神经胶质细胞时,可通过 ROS 介导神经胶质细胞自噬性凋亡,从而维持内环境的稳定<sup>[10]</sup>。

## 2 肿瘤中自噬表现的两面性

自噬与各种生理病理过程和人类疾病密切相关,在肿瘤中的作用已被广泛研究,其可抑制早期肿瘤的发展,但也会促进晚期肿瘤的转移,起着一把“双刃剑”的作用<sup>[2]</sup>。(1)早期肿瘤阶段中的自噬,20 世纪

\* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(81660493);江西省自然科学基金资助项目(20171BAB205053, 20143ACB20011)。 作者简介:龙梅芳(1990—),在读硕士,主要从事肿瘤和呼吸系统方面的研究。 <sup>△</sup> 通信作者, E-mail:511201663@qq.com。

80 年代科学家就已经发现,肿瘤细胞的自噬能力与周围细胞相比,处于较低的水平。研究证明,自噬的缺陷导致受损蛋白质和细胞器的累积,诱导细胞产生应激反应,进而导致基因损伤、染色体不稳定、慢性组织损伤等,这些因素在肿瘤的起始阶段和肿瘤的转化过程起着重要的作用<sup>[11]</sup>。在研究特异性敲除 ATG5 的动物小鼠模型中,损伤的小鼠肝细胞诱发氧化应激和 DNA 损伤,因为自噬能力缺陷,不能有效的清除损伤的细胞器和蛋白质,累积的氧化损伤引起脂肪变性,最后诱发肝癌<sup>[12]</sup>,表明自噬可抑制肿瘤的发生。(2) 研究发现晚期肿瘤阶段中的自噬,当肿瘤面对氧化应激,如:缺氧、pH 改变、营养物质剥夺,自噬可以缓解细胞代谢压力,维持细胞活性,可以认为,自噬是肿瘤细胞的生存机制之一<sup>[13]</sup>。通过体内模型实验发现,自噬通过维持线粒体的结构和功能,维持肿瘤代谢,促进肿瘤生长<sup>[14]</sup>。YANG 等<sup>[15]</sup>研究胰腺癌转移模型中发现,胰腺癌与自噬有明显的依赖关系,自噬在胰腺癌中的水平明显更高,当用氯喹抑制自噬后,小鼠模型胰腺癌消退,存活时间延长。该研究说明自噬可促进癌症的进展。

### 3 正常干细胞中的自噬

干细胞是指具有增殖、自我更新能力及多向分化潜能的未分化细胞。研究发现自噬参与多种干细胞的调节<sup>[16]</sup>。OU 等<sup>[14]</sup>研究表明自噬可以减缓氧化应激,促进胚胎干细胞的存活。研究者利用高浓度的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (1 mM) 诱导人胚胎干细胞发现了细胞凋亡。然而,添加 3-甲基腺嘌呤(自噬抑制剂)与 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的组合发现人胚胎干细胞出现更多的凋亡。目前,国内外对造血干细胞中自噬的研究较少,现有研究表明自噬在造血干细胞中高度活跃,调控造血干细胞的静息、自我更新和分化的动态平衡<sup>[17]</sup>。如果这个平衡被打破,贫血、淋巴细胞减少、骨髓增生或造血恶性肿瘤(如白血病)等疾病将会接踵而来。研究发现自噬可以保护间充质干细胞,HOU 等<sup>[18]</sup>发现辐射可以诱导活性氧(ROS)积累,导致间充质干细胞损伤。饥饿或雷帕霉素诱导的自噬,可以减少 ROS 的积累和 DNA 损伤并维持间充质干细胞的干性。此外,抑制自噬导致 ROS 积累和 DNA 损伤的增加,则导致间充质干细胞的干性丧失。

### 4 肿瘤干细胞中的自噬

肿瘤干细胞能通过自我更新和无限增殖维持肿瘤细胞群的生命力,最近的研究证明,自噬对肿瘤干细胞的存活及其耐药有关键作用。

**4.1 结肠癌干细胞与自噬** 结肠癌是最常见的恶性肿瘤之一<sup>[19]</sup>。常规的抗癌治疗(放射/化学疗法)主要是杀死肿瘤中大部分快速增殖的癌细胞,但可以保留相对静止的肿瘤干细胞。KWATRA 等<sup>[20]</sup>研究发现

来自苦瓜中的甲醇提取物可通过激活自噬来抑制结肠癌干细胞存活,进而提高化学药物对结肠癌的疗效。文献描述姜黄素可抑制肿瘤干细胞的自我更新,从而使耐药性肿瘤干细胞重新对药物敏感<sup>[21]</sup>。但 KANTARA 等<sup>[22]</sup>发现 DCLK1 阳性结肠癌干细胞亚型可抵抗姜黄素的毒性作用。姜黄素通过启动自噬过程(诱导酸性囊泡的形成,募集 LC3 到自噬体,增高 Bcln1 的表达)从而减弱杀伤结肠癌干细胞的能力。DCLK1-siRNA 沉默后自噬相关蛋白表达减少,结肠癌干细胞凋亡增多。由此猜测 DCLK1-siRNA 联合姜黄素将可能成为治疗结肠癌的新疗法。上述研究表明,激活自噬有利于结肠癌干细胞的存活,抑制自噬可提高肿瘤干细胞对化疗药物的敏感性,提高抗结肠癌的疗效。

**4.2 肝癌干细胞与自噬** 国内外对肝癌的基础研究中,肝癌干细胞的研究一直备受关注,这群细胞虽仅占肝癌细胞很小的比例,但它具有很高的致瘤性、转移能力和耐药性,在肝癌的发生、发展中扮演了重要的角色。肝癌常处于低氧低营养的肿瘤微环境中。肝癌干细胞是如何调控肝癌细胞适应这种微环境的机制尚不清楚。SONG 等<sup>[23]</sup>研究表明,自噬有助于 CD133 阳性肝癌干细胞在低氧和低营养的肿瘤微环境中的存活。研究者发现在低氧和低营养情况下,CD133 阳性肝癌细胞系比例增加,肝癌干细胞的干性更强,自噬囊泡和 LC3 自噬蛋白比例更多,凋亡比例更少;加入自噬抑制剂氯喹后,自噬水平下降,CD133 阳性肝癌干细胞的凋亡数量明显增多,自我更新能力减弱。LI 等<sup>[24]</sup>研究发现,CD133 阳性的肝癌干细胞可诱导自噬抵抗干扰素- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) 的免疫监控。ATG5 自噬蛋白敲低后可阻止肝癌干细胞诱导自噬,减弱肝癌干细胞增殖能力,增强干扰素- $\gamma$  免疫杀伤作用。上述两个例子表明自噬可保护肝癌干细胞。因此,猜测抑制自噬可增强肝癌干细胞对放化疗的敏感性,改善抗癌疗效。

**4.3 胰腺癌干细胞与自噬** 胰腺癌是恶性肿瘤中致死率最高、为数不多的发病率与病死率几乎相等的恶性肿瘤之一,近期研究表明,由 OPN/NF- $\kappa$ B 信号通路介导的自噬可维持胰腺癌干细胞的活性<sup>[25]</sup>。实验发现自噬相关蛋白 LC3 II / I 与胰腺癌干细胞标志物醛脱氢酶 1 (ALDH1)、CD44、CD133 的表达呈正相关,通过沉默 ATG5、ATG7 和 BECN1 或加入自噬抑制剂氯喹阻断自噬,在体外和体内中具有 ALDH1 活性的肿瘤干细胞群体表达降低,对吉西他滨的抵抗力减弱。ZHU 等<sup>[26]</sup>研究发现间歇性缺氧条件下由缺氧因子-1 $\alpha$  诱导的自噬可促进胰腺癌干细胞的转移和侵袭。自噬相关蛋白(LC3 和 Bcln1)和上皮间质转化(EMT)相关标志物(E-钙黏蛋白,波形蛋白和 N-钙黏

蛋白)表达水平高于常氧组,同时沉默缺氧因子-1 $\alpha$ 和抑制自噬后,胰腺癌干细胞的侵袭能力明显下降。SINGH 等<sup>[27]</sup>研究表明,罗特林通过 PI3K/AKT/mTOR 信号通路诱导自噬促进胰腺癌干细胞的存活。由此笔者猜测,抑制自噬可增强胰腺癌干细胞对化疗的敏感性,减弱胰腺癌的侵袭能力。

**4.4 前列腺癌干细胞与自噬** 根据国内外研究发现,在世界范围内,前列腺癌的发病率存在明显地理和种族差异,在欧洲和美国,前列腺癌占男性恶性肿瘤发病率的第 2 位,亚洲国家的发病率远低于欧洲国家,但近年来呈现上升趋势<sup>[28]</sup>。前列腺癌干细胞在癌症起始、进展和耐药中起主要作用。然而,在前列腺干细胞中诱导自噬的分子机制尚不清楚。KUMAR 等<sup>[29]</sup>研究罗特林(一种抗过敏和蠕虫的药物,现在可用于癌症的治疗)通过 PI3K/Akt/mTOR 信号通路诱导前列腺癌干细胞的自噬和凋亡。在罗特林的诱导下,发现前列腺癌干细胞出现大量的凋亡,同时通过电镜等技术观察前列腺癌干细胞出现大量的自噬颗粒;利用 RNAi 技术沉默 Beclin-1 和 ATG-7 的表达,自噬能力减弱,前列腺癌的凋亡速度减缓,研究证实罗特林诱导前列腺癌干细胞凋亡是诱导自噬实现的。

**4.5 膀胱癌干细胞与自噬** 膀胱癌是男性排名第 4,女性排名第 9 的最常见的癌症,是全球发病和病死的主要原因<sup>[30]</sup>。自噬是实体瘤耐药性的关键因素。然而,自噬调节膀胱癌干细胞的机制尚不清楚。OJHA 等<sup>[31]</sup>研究发现,通过普通膀胱癌细胞(T24)和耐药的膀胱癌干细胞(RT24)对比发现,在吉西他滨(GC)和丝裂霉素(MM)化疗药物的诱导下,T24 的细胞凋亡率明显大于 RT24,检查自噬通量的表达,RT24 中 LC3 II / I 高于 T24;使用渥曼青霉素(PI3K 自噬抑制剂)阻断 GC 或 MM 诱导的自噬,增加了膀胱癌干细胞的凋亡数量,进一步用 siRNA 方法敲除了自噬基因 Beclin1 实验结果相似。实验表明,氯喹联合吉西他滨、米霉素两种化疗药物,可以抑制膀胱癌细胞的生长、发育、成熟。自噬在膀胱癌干细胞的自我更新、分化、成瘤性、化疗敏感性等方面发挥重要作用,因此自噬抑制剂的应用有望成为膀胱癌新的治疗措施。

**4.6 肺癌干细胞与自噬** 肺癌的发病率和病死率在近 50 年来明显上升,20 世纪末,肺癌已成为发病率和病死率均居全球首位的恶性肿瘤<sup>[32]</sup>。迫切需要了解肺癌细胞的发生、发展和耐药等机制,为患者寻求更有效的治疗方法。近期研究表明肺癌干细胞利用自噬机制来维持肺癌的存活、耐药和复发。YANG 等<sup>[33]</sup>从 A549 肺癌细胞株中分离肺癌干细胞并且抑制自噬来增强顺铂的细胞毒作用,给肺癌的治疗带来的新的方向。研究者使用荧光激活细胞分选仪

(FACS)分离的 SP(slide population cells)细胞中,发现 MDR1 和 ABCG2 的表达显著上调,说明具有干细胞的特性。在普通培养条件下,肺癌干细胞的自噬水平低于肺癌细胞,然而在顺铂作用下,肺癌干细胞的自噬水平明显上升,Beclin1 和 LC3 II / I 表达上调,凋亡能力低于普通的肺癌细胞。使用 3-磷酸腺苷(3-MA)自噬抑制剂后,发现 SP 的凋亡比例明显上升。实验结果表明,自噬有助于 A549 肺癌 SP 细胞对顺铂的耐药能力,自噬可能是肺癌治疗中具有吸引力的靶点。

## 5 结语与展望

肿瘤的治疗的一直以来是全球不断努力攻克的难题。研究发现,在肿瘤的发生、发展中,自噬和肿瘤干细胞发挥着重要作用,二者对肿瘤的治疗也起着关键的作用。研究表明,在肿瘤治疗中,肿瘤干细胞中的自噬起着一把“双刃剑”的作用。在抗肿瘤治疗时,自噬起着协同作用,诱导肿瘤干细胞自噬性凋亡;而在耐药肿瘤细胞中,自噬却起着拮抗作用,保护肿瘤干细胞,抵抗化疗药物的毒性作用。目前对肿瘤干细胞中自噬的调节机制的研究尚少,肿瘤干细胞自噬研究的突破,将会为肿瘤治疗提供新的理论依据。

## 参考文献

- [1] CUI J, GONG Z, SHEN H M. The role of autophagy in liver cancer: molecular mechanisms and potential therapeutic targets[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1836(1): 15-26.
- [2] LIU J, DEBNATH J. The evolving, multifaceted roles of autophagy in cancer[J]. *Adv Cancer Res*, 2016(130): 1-53.
- [3] HUANG Z J, WU T T, LIU A Y, et al. Differentiation and transdifferentiation potentials of cancer stem cells [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(37): 39550-39563.
- [4] KLIONSKY D J. Autophagy: from phenomenology to molecular understanding in less than a decade[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2007, 8(11): 931-937.
- [5] HAMACHER-BRADY A, BRADY N R. Mitophagy programs: mechanisms and physiological implications of mitochondrial targeting by autophagy[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2016, 73(4): 775-795.
- [6] MURROW L, DEBNATH J. Autophagy as a stress-response and quality-control mechanism: implications for cell injury and human disease[J]. *Annu Rev Pathol*, 2013(8): 105-137.
- [7] DU X H, XIAO R J, XIAO F, et al. NAF-1 antagonizes starvation-induced autophagy through AMPK signaling pathway in cardiomyocytes[J]. *Cell Biol Int*, 2015, 39(7): 816-823.
- [8] CHEN F, SUN Z W, YE L F, et al. Lycopene protects against apoptosis in hypoxia/reoxygenation-induced H9C2

- myocardioblast cells through increased autophagy[J]. *Mol Med Rep*, 2015, 11(2): 1358-1365.
- [9] MAO K, KLIONSKY D J. Xenophagy: a battlefield between host and microbe, and a possible avenue for cancer treatment[J]. *Autophagy*, 2017, 13(2): 223-224.
- [10] HWANG J, LEE S, LEE J T, et al. Gangliosides induce autophagic cell death in astrocytes[J]. *Br J Pharmacol*, 2010, 159(3): 586-603.
- [11] TIAN Y, KUO C F, SIR D, et al. Autophagy inhibits oxidative stress and tumor suppressors to exert its dual effect on hepatocarcinogenesis [J]. *Cell Death Differ*, 2015, 22(6): 1025-1034.
- [12] BRECH A, AHLQUIST T, LOTHE R A, et al. Autophagy in tumour suppression and promotion[J]. *Mol Oncol*, 2009, 3(4): 366-375.
- [13] GUO J Y, KARSLI-UZUNBAS G, MATHEW R, et al. Autophagy suppresses progression of K-ras-induced lung tumors to oncocytomas and maintains lipid homeostasis [J]. *Genes Dev*, 2013, 27(13): 1447-1461.
- [14] OU X, LEE M R, HUANG X X, et al. SIRT1 positively regulates autophagy and mitochondria function in embryonic stem cells under oxidative stress [J]. *Stem Cells*, 2014, 32(5): 1183-1194.
- [15] YANG S H, WANG X X, CONTINO G, et al. Pancreatic cancers require autophagy for tumor growth[J]. *Genes Dev*, 2011, 25(7): 717-729.
- [16] GUAN J L, SIMON A K, PRESCOTT M, et al. Autophagy in stem cells[J]. *Autophagy*, 2013, 9(6): 830-849.
- [17] WARR M R, KOHLI L, PASSEGUE E. Born to survive Autophagy in hematopoietic stem cell maintenance[J]. *Cell Cycle*, 2013, 12(13): 1979-1980.
- [18] HOU J, HAN Z P, JING Y Y, et al. Autophagy prevents irradiation injury and maintains stemness through decreasing ROS Generation in mesenchymal stem cells[J]. *Cell Death Dis*, 2013, 4: e844.
- [19] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2016[J]. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66(1): 7-30.
- [20] KWATRA D, SUBRAMANIAM D, RAMAMOORTHY P A, et al. Methanolic extracts of bitter melon inhibit colon cancer stem cells by affecting energy homeostasis and autophagy[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2013; 702869.
- [21] SAHA S, ADHIKARY A, BHATTACHARYYA P, et al. Death by design: where curcumin sensitizes drug-resistant tumours[J]. *Anticancer Res*, 2012, 32(7): 2567-2584.
- [22] KANTARA C, O'CONNELL M, SARKAR S, et al. Curcumin promotes autophagic survival of a subset of colon cancer stem cells, which are ablated by DCLK1-siRNA [J]. *Cancer Res*, 2014, 74(9): 2487-2498.
- [23] SONG Y J, ZHANG S S, GUO X, et al. Autophagy contributes to the survival of CD 133<sup>+</sup> liver cancer stem cells in the hypoxic and nutrient-deprived tumor microenvironment[J]. *Cancer Lett*, 2013, 339(1): 70-81.
- [24] LI J, CHEN J N, ZENG T TG, et al. CD133<sup>+</sup> liver cancer stem cells resist interferon-gamma-induced autophagy [J]. *BMC Cancer*, 2016(16): 15.
- [25] YANG M C, WANG H C, HOU Y C, et al. Blockade of autophagy reduces pancreatic cancer stem cell activity and potentiates the tumoricidal effect of gemcitabine[J]. *Mol Cancer*, 2015(14): 179.
- [26] ZHU H T, WANG D Q, ZHANG L R, et al. Upregulation of autophagy by hypoxia-inducible factor-1 alpha promotes EMT and metastatic ability of CD133<sup>+</sup> pancreatic cancer stem-like cells during intermittent hypoxia [J]. *Oncol Rep*, 2014, 32(3): 935-942.
- [27] SINGH B N, KUMAR D, SHANKAR S, et al. Rottlerin induces autophagy which leads to apoptotic cell death through inhibition of PI3K/Akt/mTOR pathway in human pancreatic cancer stem cells[J]. *Biochem Pharmacol*, 2012, 84(9): 1154-1163.
- [28] GOMELLA L G. Prostate cancer statistics: anything you want them to be[J]. *Can J Urol*, 2017, 24(1): 8603-8604.
- [29] KUMAR D, SHANKAR S, SRIVASTAVA R K. Rottlerin induces autophagy and apoptosis in prostate cancer stem cells via PI3K/Akt/mTOR signaling pathway[J]. *Cancer Lett*, 2014, 343(2): 179-189.
- [30] BABJUK M, BURGER M, ZIGEUNER R, et al. EAU guidelines on non-muscle-invasive urothelial carcinoma of the bladder: update 2013[J]. *Eur Urol*, 2013, 64(4): 639-653.
- [31] OJHA R, SINGH S K, BHATTACHARYYA S. JAK-mediated autophagy regulates stemness and cell survival in cisplatin resistant bladder cancer cells[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2016, 1860(11): 2484-2497.
- [32] TORRE L A, SIEGEL R L, JEMAL A. Lung Cancer Statistics[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2016(893): 1-19.
- [33] YANG Y, FAN Y, QI Y, et al. Side population cells separated from A549 lung cancer cell line possess cancer stem cell-like properties and inhibition of autophagy potentiates the cytotoxic effect of cisplatin[J]. *Oncol Rep*, 2015, 34(2): 929-935.