

自噬在胶质瘤治疗中的进展

冯帆^{1,2}, 王亚雨² 综述 张健^{2*}, 衡雪源^{2*} 审校

1. 青岛大学医学部, 山东 青岛 266071

2. 临沂市人民医院神经外科, 山东 临沂 276000

摘要: 自噬 (Autophagy) 是一种细胞自我消化的过程, 其可以将损伤的、错误折叠的以及无功能的蛋白质吞噬并通过溶酶体发生降解。自噬发生于肿瘤进展的不同阶段, 近来越来越多体内体外试验证据表明自噬在促进胶质瘤 (Glioma) 增殖以及抑瘤方面均发挥了重要作用。在抑瘤方面, 胶质瘤应激状态下可发生致死性自噬, 促进胶质瘤细胞的死亡。在促瘤方面, 胶质瘤术后给予化疗, 胶质瘤细胞也可发生一种保护性自噬, 最终会导致替莫唑胺 (TMZ) 耐药, 大幅减弱治疗效果。本文将对自噬在胶质瘤中的双重作用, 基于自噬调节通路基础上研究的胶质瘤治疗方案以及近年来的新进展作一阐述。

关键词: 自噬; 胶质瘤; 自噬调节通路; 治疗方案

DOI: 10.16636/j.cnki.jinn.2018.05.016

1 自噬

自噬 (autophagy) 是一类细胞内物质降解的代谢过程, 待降解的细胞内物质 (损伤的、错误折叠的以及无功能的蛋白质) 首先被自噬小泡包裹, 随后被溶酶体中的水解酶降解^[1-3]。目前公认的两种自噬调节通路分别为泛素化途径以及泛素非依赖途径。在泛素化途径中, 通过 ATG5 与 ATG12 以及 ATG8 与磷脂酰乙醇胺 (PE) 发生泛素化连接, 进而使特异性受体通过 LC3 反应域与酶作用底物相结合从而激活自噬^[3-5]。在泛素非依赖途径中, 部分特异性受体 (如 NIX、FAM134B) 也可直接与 LC3 的反应域 (LIR) 结合, 启动自噬。研究发现微管相关蛋白轻链 3 (LC3) 参与了自噬的发生, 并被证明是哺乳动物细胞中常见的自噬体标记蛋白之一^[4]。细胞中自噬通路异常改变可使胞浆中受损的细胞器以及损伤的蛋白质聚集, 最终影响细胞的物质代谢导致疾病的发生。例如: 自噬受体 P62/SQSTM1 的聚集可使 NF-KB 以及 Nrf2 通路激活进而导致肿瘤的发生等^[5]。

2 自噬与肿瘤的发生

自噬与肿瘤的关系是复杂的。一方面, 自噬可通过维持应激状态下肿瘤干细胞的细胞表型, 使其长期保持分化增殖特性, 从而导致肿瘤的发生^[6,7]。自噬也可以通过调控肿瘤微环境, 为肿瘤细胞提供

营养物质从而促进肿瘤细胞的增殖。Lyssiotis 等人^[8,9]通过将胰腺星形细胞 (可分泌细胞基质) 与胰腺癌细胞共同培养, 发现星形细胞中自噬通路激活, 产生大量的丙氨酸, 为线粒体代谢提供原料, 促进胰腺癌细胞的增殖。另一方面, 也有研究证据表明自噬可作为肿瘤抑制剂。He 等人^[10]发现自噬相关蛋白 UVRAG 在大肠癌中表达下调, 通过抑制自噬从而促进了肿瘤的发展, 同时也使化疗敏感性下降。自噬在肿瘤发展中展现的双重作用, 目前已成为了肿瘤治疗的新突破口。

3 自噬在胶质瘤中的双重作用

自噬发生于肿瘤进展的不同阶段, 近来越来越多的证据表明自噬在促进胶质瘤增殖以及抑瘤方面均发挥了重要作用^[11,12]。在促瘤方面, 胞质被自噬体吞噬可作为“生物燃料”促进胶质瘤细胞的增殖, 同时在细胞应激状态下 (饥饿、放疗、化疗), 自噬也可抑制肿瘤细胞崩解, 维持细胞内物质合成和代谢从而起到了一种“肿瘤细胞保护作用”^[13]。在抑瘤方面, 自噬可使原癌基因发生突变, 使胶质瘤细胞核纤层降解, 细胞衰老进而发挥抑瘤作用 (致死性自噬)。此外, 自噬作用的发挥同时取决于细胞所处的环境、细胞的活性以及细胞应激时所激活的信号转导通路^[14]。

3.1 致死性自噬

3.1.1 自噬的抑瘤作用与机制 脑组织通过自

基金项目: 山东省自然科学基金 (编号: ZR2015HL044)

收稿日期: 2018-07-05; 修回日期: 2018-09-27

作者简介: 冯帆 (1993-), 男, 青岛大学医学部硕士研究生, 从事脑肿瘤、颅脑损伤的临床与基础研究。

通信作者: 1. 张健 (1966-), 男, 硕士生导师, 主任医师, 教授, 职务: 科主任, 主要研究方向: 脑肿瘤微创与功能的临床与基础研究;

2. 衡雪源 (1962-), 男, 博士生导师, 主任医师, 教授, 职务: 院长, 主要研究方向: 脑肿瘤、颅脑损伤临床与基础研究。

噬可抑制细胞内的损伤蛋白集聚,同时可以上调 P62/SQSTM1 以及泛素化作用来阻止线粒体损伤,维持正常脑组织的代谢^[15]。胶质瘤中活性氧 (ROS) 水平上调,可激活 ERK1/2 通路,促使细胞发生致死性自噬以及凋亡,抑制胶质瘤的生长^[16]。当葡萄糖调节蛋白 (GRP78) 上调、同时 CHOP/eIF2a 磷酸化时,可激活 AKT/mTOR/p70S6b 通路,使胶质瘤发生自噬性死亡;如果自噬阻滞,该通路的激活可将细胞的致死性自噬转变为凋亡,仍可促进胶质瘤细胞发生死亡^[17]。有趣的是,Shin 等人^[18]在 PTEN 缺失的 U87MG 细胞系中也证明,抑制 PI3K/AKT/mTOR 通路也可通过自噬来导致胶质瘤细胞的死亡。之前研究也表明 Beclin-1/LC3-II (自噬相关蛋白) 在胶质瘤中的表达与胶质瘤患者的生存期呈正相关^[19]。此外,通过敲低自噬相关基因 (ATGs) 可使自噬蛋白 P62 上调,从而促进正常脑细胞的死亡, DNA 双链损伤、慢性炎症,激活原癌通路促进胶质瘤的发生^[20]。越来越多的证据表明自噬与胶质瘤的发生密切相关。

3.1.2 基于抑瘤作用研究的胶质瘤治疗方案

肿瘤的致死性自噬已成为目前治疗胶质母细胞瘤的热门方向。Walker 等^[21]证明,长期应用三环类抗抑郁药 (TCAs)——丙米嗪 (IM) 可通过激活自噬过程,进而降低胶质母细胞瘤的发生率。Shchors 等^[22]人在其基础上通过丙米嗪 (IM) 与抗凝药物噻氯匹定 (TIC) 联合应用,通过抑制鸟嘌呤受体 P2Y12 阻断了单用丙米嗪产生的负反馈抑制作用,使 AC-CAMP-EPAC1 自噬通路进一步激活,提高了胶质母细胞瘤患者的治疗效果。Pallichankandy 等人^[16]的体外实验也证明了血根碱 (SNG) 可使促使胶质瘤细胞线粒体氧化呼吸链产生大量 H₂O₂/ROS,从而使 MAPK 下游的 ERK1/2 通路磷酸化激活,导致细胞发生致死性自噬,抑制胶质瘤的生长。

3.2 胶质瘤“自我保护”性自噬

3.2.1 自噬的促瘤作用以及机制 人体细胞中 RAS 原癌基因突变在肿瘤中较为常见,其通过影响 GTP 水解导致细胞发生损伤^[23]。自噬可引发糖酵解反应,通过 Ras 介导的原癌基因转化进而促进胶质瘤细胞的增殖^[24]。之前已有实验证明当胶质瘤细胞处于缺氧微环境时,自噬可使细胞发生免疫抑制,包括抑制 T 淋巴细胞毒性介导的肿瘤细胞溶解,以及抑制 NK 细胞介导的细胞凋亡,从而促进胶质瘤的发生与发展^[25]。Dolma 等人^[25]的体外实

验发现,抑制中枢神经系统 (CNS) 多巴胺 D4 受体 (DRD4),进而抑制 PDGFR-b 介导的 ERK1/2 通路以及 mTOR 通路的激活,可抑制自噬最后阶段自噬体与溶酶体融合降解,抑制自噬潮 (autophagy flux),促进胶母源性神经干细胞 (GNS) 发生凋亡。此外,自噬这种“自我保护”作用也是胶质瘤化疗耐药性产生的主要机制,也是目前临床上胶质瘤术后治疗的巨大困难与挑战。

3.2.2 自噬与胶质瘤化疗耐药机制 烷化剂替莫唑胺 (TMZ) 是目前治疗胶质瘤最有效的化疗药物^[26-28]。研究表明,随着化疗剂量的增加,胶质瘤细胞可通过 O6-甲基鸟嘌呤-DNA 甲基转移酶 (MGMT) 修复 TMZ 对细胞造成的甲基化损伤,从而产生 TMZ 耐药^[27]。在应用 TMZ 基础上可通过激活多种通路来激活 GBM 细胞发生自噬。Chen 等人^[28]在体外实验中证明了 TMZ 抑制 GBM8901 细胞系增殖,但同时其可激活 AMPK 进而抑制 AKT/mTOR 通路来激活自噬,产生 TMZ 的耐受。Lin 等人^[29]将 U87MG/BGM840 细胞系暴露于不同浓度 TMZ 环境中,发现细胞中发生了内质网应激反应,同时 JNK/钙离子通路激活诱导自噬发生,下调了 TMZ 的抑瘤效果。另外,ERK 通路激活诱导大量氧自由基产生,亦参与了自噬介导的 TMZ 耐药。

3.2.3 基于自噬“自我保护”作用研究的耐药胶质瘤治疗方案 TMZ 耐药的产生是 GBM 临床治疗上的巨大挑战,也是 GBM 复发的主要原因,氯喹 (CQ)/巴弗洛霉素 A1 (BafA-1) 作为自噬抑制剂,通过抑制自噬最后阶段 LC3 II 的降解,从而抑制自噬。Filippi-Chiela 等人^[30]证实了 CQ/BafA-1 可以克服自噬介导的 TMZ 耐药。在 U251/U87MG 中,敲低自噬调节基因 ATG5,通过抑制自噬体的形成,可反转胶质瘤的耐药^[29]。Jalota 等人^[31]的体外实验结果表明在 U87MG/A172/LN222/GBM8401 细胞系中,2-脱氧葡萄糖与 TMZ 联合应用,可抑制自噬从而提高胶质瘤对 TMZ 的敏感性。但最近的研究表明,敲低 AKT3-PI3K 通路,通过进一步上调自噬,使细胞周期发生阻滞,也可以提高 TG98GBM 细胞系对 TMZ 以及 BCNU (卡莫司汀) 的敏感性。此外,Stojcheva 等^[32]也证明了凋亡抑制剂 BIM 通过靶向敲低 miR-138,增强胶质瘤细胞的自噬反应,从而抑制了胶质瘤细胞对 TMZ 的耐药。

4 讨论及展望

目前越来越多的研究表明自噬的双重作用主

要取决于肿瘤的类型,肿瘤细胞的活性及所处的微环境,因此在胶质瘤中我们可以通过促进胶质瘤细胞发生致死性自噬,或抑制诱导TMZ耐药性产生的保护性自噬来提高胶质瘤的治疗效果,尤其是复发型胶质瘤。

近年来的研究表明,胶质瘤术后应用TMZ治疗会激活自噬产生TMZ耐药,然而当我们通过调节信号转导通路使自噬反应进一步加剧时,自噬会诱导胶质瘤细胞发生凋亡,该发现也为耐药胶质瘤治疗方案的研究打开了新思路。此外,免疫疗法在胶质瘤治疗领域中迅速兴起,其具体机制涉及溶瘤病毒、细胞周期阻滞、T细胞嵌合基因受体的调节、自噬通路的改变等^[33]。免疫疗法与自噬的关系有望在将来的研究中加以论证。自噬在胶质瘤中发挥的作用是复杂的,理清目前已发现的自噬调节通路,发现新的通路并在其基础上研究新的治疗方案有可能作为今后胶质瘤领域研究的重点之一。

参 考 文 献

- [1] Shibutani ST, Yoshimori T. A current perspective of autophagosome biogenesis. *Cell Res.* 2014, 24(1): 58-68.
- [2] 潘婕,汪敬业等. 自噬与神经系统疾病研究进展. *国际神经病学神经外科学杂志*. 2009, 36(6): 538-541.
- [3] Wilson MI, Dooley HC, Tooze SA. WIPI2b and Atg16L1: setting the stage for autophagosome formation. *Biochem Soc Trans.* 2014, 42(5): 1327-1334.
- [4] Iranpour M, Moghadam AR, Yazdi M, et al. Apoptosis, autophagy and unfolded protein response pathways in Arbovirus replication and pathogenesis. *Expert Rev Mol Med*, 2016, 18: e1.
- [5] Ghavami S, Sharma P, Yeganeh B, et al. Airway mesenchymal cell death by mevalonate cascade inhibition: Integration of autophagy, unfolded protein response and apoptosis focusing on Bcl2 family proteins. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2014, 1843(7): 1259-1271.
- [6] Pattabiraman DR, Weinberg RA. Tackling the cancer stem cells — what challenges do they pose? *Nat. Rev. Drug Discov.* 2014, 13(7): 497-512.
- [7] Peng Q, Qin J, Zhang Y, et al. Autophagy maintains the stemness of ovarian cancer stem cells by FOXA2. *J. Exp. Clin. Cancer Res.* 2017, 36(1): 171.
- [8] Sousa CM, Biancur DE, Wang X, et al. Pancreatic stellate cells support tumour metabolism through autophagic alanine secretion. *Nature* 2016, 536(7617): 479-483.
- [9] Lyssiotis CA, Kimmelman AC, Metabolic interactions in the tumor microenvironment. *Trends Cell Biol*, 2017, 27(11), 863-875.
- [10] He S, Zhao Z, Yang Y, et al. Truncating mutation in the autophagy gene UVRAG confers oncogenic properties and chemosensitivity in colorectal cancers. *Nat. Commun.* 2015, 6: 7839.
- [11] Feng Y, He D, Yao Z, et al. The machinery of macroautophagy. *Cell Res.* 2014, 24(1): 24-41.
- [12] Kimmelman AC, White E. Autophagy and tumor metabolism. *Cell Metab.* 2017, 25(5): 1037-1043.
- [13] Abdul Rahim SA, Dirkse A, et al. Regulation of hypoxia-induced autophagy in glioblastoma involves ATG9A. *British Journal of Cancer*, 2017, 117(6): 813-825.
- [14] Kraya AA, Piao S, Xu X, et al. Identification of secreted proteins that reflect autophagy dynamics within tumor cells. *Autophagy.* 2015, 11(1): 60-74.
- [15] Mizushima N, Komatsu M. Autophagy: Renovation of cells and tissues. *Cell*, 2011, 147(4): 728-741.
- [16] Pallichankandy S, Rahman A, et al. ROS-dependent activation of autophagy is a critical mechanism for the induction of anti-glioma effect of sanguinarine. *Free Radical Biology and Medicine*, 2015, 89: 708-720.
- [17] Liu WT, Huang CY, et al. Inhibition of glioma growth by minocycline is mediated through endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis and autophagic cell death. *Neuro-Oncology*, 2013, 15(9): 1127-1141.
- [18] Shin SY, Lee KS, et al. The antipsychotic agent chlorpromazine induces autophagic cell death by inhibiting the Akt/mTOR pathway in human U-87MG glioma cells. *Carcinogenesis*, 2013, 34(9): 2080-2089.
- [19] Pirtoli L, Cevenini G, et al. The prognostic role of Beclin 1 protein expression in high-grade gliomas. *Autophagy*, 2009, 5(7): 930-936.
- [20] Wei Y, An Z, Zou Z, et al. The stress-responsive kinases MAPKAPK2/MAPKAPK3 activate starvation-induced autophagy through Beclin 1 phosphorylation [serial online]. *Elife.* 2015, 4: 05289.
- [21] Walker AJ, Grainge M, et al. Survival of glioma and colorectal cancer patients using tricyclic antidepressants post-diagnosis. *Cancer Causes Control*, 2012, 23(12): 1959-1964.
- [22] Shchors K, Massaras A, Hanahan D. Dual targeting of the autophagic regulatory circuitry in gliomas with repurposed drugs elicits cell-lethal autophagy and therapeutic benefit. *Cancer Cell*, 2015, 28(4): 456-471.
- [23] Zhang F, Cheong, JK. The renewed battle against RAS-mutant cancers. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2016, 73(9): 1845-1858.
- [24] Lock R, Roy S, et al. Autophagy facilitates glycolysis during Ras-mediated oncogenic transformation. *Molecular Biology of the Cell*, 2011, 22(2): 165-178.

- [25] Dolma S, Selvadurai HJ, Lan X, et al. Inhibition of Dopamine Receptor D4 Impedes Autophagic Flux, Proliferation, and Survival of Glioblastoma Stem Cells. *Cancer Cell*, 2016, 29(6): 859-873.
- [26] Johnson DR, Chang SM. Recent medical management of glioblastoma. *Adv Exp Med Biol*, 2012, 746: 26-40.
- [27] Fisher BJ, Hu C, Macdonald DR, et al. Phase 2 study of temozolomide-based chemoradiation therapy for high-risk low-grade gliomas: preliminary results of Radiation Therapy Oncology Group 0424. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2015, 91(3): 497-504.
- [28] Chen CM, Syu JP, Way TD, et al. BC3EE2, 9B, a synthetic carbazole derivative, upregulates autophagy and synergistically sensitizes human GBM8901 glioblastoma cells to temozolomide. *Int J Mol Med*, 2015, 36(5): 1244-1252.
- [29] Lin CJ, Lee CC, Shih YL, et al. Resveratrol enhances the therapeutic effect of temozolomide against malignant glioma in vitro and in vivo by inhibiting autophagy. *Free Radical Biology & Medicine*, 2012, 52(2): 377-391.
- [30] Filippi-Chiela EC, Bueno e Silva MM, Thom'e MP, et al. Single-cell analysis challenges the connection between autophagy and senescence induced by DNA damage. *Autophagy*, 2015, 11(7): 1099-1113.
- [31] Jalota A, Kumar M, Das BC, et al. Synergistic increase in efficacy of a combination of 2-deoxy-D-glucose and cisplatin in normoxia and hypoxia: Switch from autophagy to apoptosis. *Tumour Biology*, 2016, 37(9): 12347-12358.
- [32] Stojcheva N, Schechtmann G, Sass S, et al. MicroRNA-138 promotes acquired alkylator resistance in glioblastoma by targeting the Bcl-2-interacting mediator BIM. *Oncotarget*, 2016, 7(11): 12937-12950.
- [33] Kaza, N, Kohli L, Roth KA. Autophagy in brain tumors: A new target for therapeutic intervention. *Brain Pathology*, 2012, 22(11): 89-98.

血管生成拟态在胶质瘤中的研究进展

罗斌华¹ 综述 荔志云^{2*} 审校

1. 甘肃中医药大学临床医学院, 甘肃 兰州 730000

2. 兰州军区兰州总医院神经外科, 甘肃 兰州 730050

摘要: 胶质瘤是成人神经系统最常见的恶性肿瘤之一, 具有广泛的血管化和高度的侵袭性, 预后差。传统的抗血管生成药物效果不理想。血管生成拟态 (Vasculogenic mimicry, VM) 是一种不依赖机体血管内皮细胞的全新的血流灌注系统, 被认为是传统抗血管治疗失败的主要原因之一。其形成机制复杂, 多种因素共同参与, 包括肿瘤微环境、干细胞、上皮间质转化及多条信号通路。本综述主要阐述了血管生成拟态在胶质瘤研究中的机制进展, 以及在此基础上开发的潜在抗血管生成药物。

关键词: 血管生成拟态; 胶质瘤; 机制

DOI: 10.16636/j.cnki.jinn.2018.05.017

胶质瘤是高度血管化的恶性实体瘤, 侵袭性高、预后差, 中位生存期仅 12 ~ 15 月^[1]。传统的抗血管生成药物主要针对内皮依赖性血管, 临床疗效并不理想。血管生成拟态 (Vasculogenic mimicry, VM) 作为一种不依赖机体血管内皮细胞的全新的血流灌注系统, 形态学上由肿瘤细胞和基底膜构成具有微循环功能的网状结构, 研究显示 VM 与肿瘤恶性程度、预后及抗血管治疗效果不理想密切相

关, 但关于 VM 机制十分复杂, 多种因素及信号通路参与其中。本文将对 VM 在胶质瘤中的机制以及在此基础上研发的抗 VM 治疗方法进行综述。

1 VM 形成机制

研究显示 VM 形成需要多种因素参与, 包括肿瘤微环境、干细胞、上皮间质转化及 TGF- β 、VE-cadherin、EphA 2、MMPs、LRIG1、COX-2、VEGFR-2、MIF、miRNA 等分子参与的多条信号通路。

收稿日期: 2018-08-20; 修回日期: 2018-10-08

作者简介: 罗斌华 (1989-), 女, 在读硕士研究生, 主要从事颅内肿瘤的基础与临床研究。

通信作者: 荔志云 (1962-), 男, 硕士, 教授, 硕士生导师, 主任医师, 主要从事创伤性颅脑损伤与颅内肿瘤的基础与临床研究。