



电子、语音版

·综述·

儿童髓母细胞瘤中自噬机制研究进展

韩欣晟¹, 李坤¹, 赵英男¹, 潘亚文^{1,2,3}

1. 兰州大学第二临床医学院, 甘肃 兰州 730030

2. 兰州大学第二医院神经外科, 甘肃 兰州 730030

3. 甘肃省神经病学重点实验室, 甘肃 兰州 730030

摘要:自噬是细胞在各种应激条件下诱导的高度保守的分解代谢过程,可防止细胞损伤并在能量或营养缺乏的情况下促进细胞生存,并对各种细胞毒性损伤做出保护反应。因此该过程的功能障碍会导致许多人类疾病发生,已有研究表明其与神经退行性疾病、炎症性疾病和癌症之间存在明确的病因学联系。自噬通过多条信号通路调节髓母细胞瘤(MB)的发生发展。因此,调控自噬通路可能成为MB的新型治疗方案,该文将对近年来MB与自噬相关调控机制的研究进展做一综述。

[国际神经病学神经外科学杂志, 2022, 49(3): 78–81.]

关键词:髓母细胞瘤;自噬;自噬相关基因

中图分类号:R739.41

DOI:10.16636/j.cnki.jinn.1673-2642.2022.03.015

Research progress on autophagy in childhood medulloblastoma

HAN Xin-Sheng¹, LI Kun¹, ZHAO Ying-Nan¹, PAN Ya-Wen^{1,2,3}

1. The Second Medical College of Lanzhou University, Lanzhou, Gansu 730030, China

2. Department of Neurosurgery, Second Hospital of Lanzhou University, Lanzhou, Gansu 730030, China

3. Key Lab of Neurology of Gansu Province, Lanzhou, Gansu 730030, China

Corresponding author: PAN Ya-Wen, Email: panyw2018@163.com, phone number: 13919101788

Abstract: Autophagy is a highly conserved catabolic process of cells induced by various stress conditions. It can prevent cell damage, promote cell survival in the absence of energy or nutrition, and provide protection against various cytotoxic stimuli. Defects in autophagy can cause many human diseases, and have been shown to have clear etiological links to neurodegenerative diseases, inflammatory diseases, and cancer. Autophagy has been demonstrated to regulate the development and progression of medulloblastoma through multiple signaling pathways. Therefore, regulating autophagy pathways may be a new approach to treating medulloblastoma. This article reviews recent research progress on medulloblastoma and autophagy-related regulatory mechanisms. [Journal of International Neurology and Neurosurgery, 2022, 49(3): 78–81.]

Keywords: medulloblastoma; autophagy; autophagy-related gene

髓母细胞瘤(Medulloblastoma, MB)是儿童常见的颅内恶性肿瘤,约占儿童脑肿瘤的8%~10%,肿瘤主要发生在后颅窝,也可通过脑脊液扩散到整个大脑和脊髓^[1]。MB的组织病理学分类:经典型、大细胞型/间变型(large-cell/anaplastic, LCA)、促结缔组织增生型及广泛结节型(nodular desmoplastic, ND),其中LCA型肿瘤的预后最差,而ND型肿瘤预后相对较好^[2]。然而在这种分类下,

具有相似组织学MB变体之间的差异被忽略了,因此出现同为高风险组MB接受相同或相似治疗后却有不同临床转归的现象。显然简单依靠MB的病理分型来治疗MB已不能满足目前的治疗需求。随着分子时代的到来,2016年WHO依据基因组学将MB分为4个亚型,即WNT活化型(wingless, WNT)、SHH活化型(sonic hedgehog, SHH),group3型(G3-MB)和group4型(G4-MB),每个亚

收稿日期:2021-11-15;修回日期:2022-05-30

通信作者:潘亚文,Email: panyw2018@163.com,电话:13919101788。

型均具有独特的分子特征和临床特征^[3]。尽管目前多模式治疗下,发达国家儿童MB的5年总生存率(overall survival, OS)可达65%~71%^[4]。但幸存儿童仍遭受长期放疗带来的严重的继发性损害^[5]。因此,迫切需要新的治疗手段来改善MB患者的预后。

1 自噬调节

细胞自噬(autophagy)又称II型程序性细胞死亡,在真核生物中,根据代谢物进入溶酶体的方式,已经确定了3种形式的自噬:微自噬、分子伴侣介导的自噬和巨自噬。微自噬是溶酶体膜延伸内陷,直接包裹和吞噬细胞内容的降解过程^[6]。分子伴侣介导的自噬具有高度特异性,需要热休克蛋白70(heat shock cognate 70 kDa protein, HSC70)识别氨基酸N端含有KFERQ信号的蛋白,然后被膜受体转运到溶酶体腔中降解^[7]。巨自噬是目前自噬途径中研究最广泛与最主要类型,其方式主要是通过形成特殊结构自噬体,捕获细胞内容和靶向蛋白质,然后自噬体与溶酶体融合并将其内容物输送到管腔中进行降解。该机制通常涉及自噬体的生长发育、与溶酶体的融合以及最终降解的一系列事件组成^[8]。自噬受一系列自噬相关基因(autophagy-related gene, ATG)调控。自噬通常由营养缺乏、活性氧(reactive oxygen species, ROS)、缺氧、药物刺激和内质网应激等因素诱导触发复杂信号转导途径。在营养缺乏和细胞应激时会触发5'-AMP激活蛋白激酶(5'-AMP activated protein kinase, AMPK)的激活,进而激活Unc-51样自噬激活激酶1(unc-51-like kinase 1, ULK1),然后ULK1复合物激活Beclin-1。Beclin-1诱导III类磷酸肌醇3-激酶(Phosphoinositide 3-kinase, PI3K)与VPS34复合物的形成和激活,VPS34复合物在内质网(endoplasmic reticulum, ER)或ER-线粒体接触位点上产生富含磷脂酰肌醇3-磷酸(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3P)的子域,其中PI3P结合蛋白可以招募E3样复合物ATG16L1(ATG5-12-16L1, ATG16L1)。随后,ATG16L1复合物促进LC3与磷脂酰乙醇胺(phosphatidylethanolamine, PE)结合,生成LC3-PE(LC3-II),最后,束缚因子、SNAP受体(SNAP receptor, SNARE)和磷脂介导自噬体与溶酶体融合使货物在溶酶体中降解和回收^[9-10]。而ATG蛋白及所形成的复合物及信号通路的失调与许多癌症发生有关^[11-12]。

2 自噬与肿瘤

自噬是一个紧密协调的过程,它将折叠错误的蛋白质、受损或老化的细胞器及突变的蛋白质隔离在双膜囊泡中形成自噬体,自噬体最终融合到溶酶体,最终被降解^[13]。由于自噬在人体内发挥着稳态作用,因此多种疾病发生与自噬失调有关,包括神经退行性疾病、自身免疫性疾病、炎症性疾病和癌症^[14]。研究表明,自噬可以充当肿瘤抑制剂或肿瘤促进剂。自噬对癌症的抑制作用主要

包括:①自噬可降解参与肿瘤发生的蛋白质;②自噬启动程序性死亡阻止恶性肿瘤细胞的存活;③自噬诱导压力相关反应抑制肿瘤的增殖;④自噬通过抗原呈递作用促进先天免疫进而消灭肿瘤细胞;⑤自噬是可控肿瘤干细胞并维持细胞稳态。自噬对癌症的促进作用主要包括:①自噬通过Warburg效应为癌细胞提供营养和能量;②自噬介导恶性肿瘤对缺氧、氧化应激和DNA损伤的适应;③自噬促进肿瘤发生过程中的血管生成、转移和侵袭;④自噬调节癌细胞内质网中未折叠蛋白反应;⑤自噬激活基质细胞中的氧化应激反应机制保护邻近的癌细胞的细胞死亡;⑥自噬增强癌细胞的放化疗耐药性^[15-16]。因此,既可通过利用增加自噬对肿瘤的抑制作用促进肿瘤的消亡,又可通过减少自噬对肿瘤的促进作用抑制肿瘤细胞的生长。许多临床前研究已经证明了晚期恶性肿瘤和目前存在的多种靶向疗法及DNA损伤剂可以诱导细胞自噬,因此抑制自噬可能是治疗晚期癌症的有效方法^[17]。转移是肿瘤侵袭的特定过程,大多数癌症患者因肿瘤转移而死亡,自噬在恶性肿瘤转移也起着双重作用,即抑制肿瘤转移,也可促进肿瘤转移^[18]。因此,靶向自噬是一种重要且新颖的癌症治疗方法,了解自噬与恶性肿瘤发生发展的潜在机制可能成为恶性肿瘤新的治疗前景。

3 自噬与MB

3.1 自噬相关基因与MB

在颅内恶性肿瘤中,自噬机制与脑胶质瘤已有广泛研究^[19]。对于自噬与MB的研究主要集中在临床前实验阶段,早在2007年就发现在高级别胶质瘤及MB中自噬基因Beclin1的高表达^[20]。已知JAK-STAT信号通路通过介导信号转导和转录激活因子3基因(signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)的激活调节癌基因的转录,STAT3可转录激活Bcl-2(B-cell lymphoma-2, Bcl-2)表达,Bcl-2与Beclin1形成复合物,导致自噬基因Beclin1失活,因此抗精神分裂症药物匹莫齐特通过抑制STAT3信号转导增加自噬促进MB细胞凋亡^[21]。此外,MB患者中Beclin1调控自噬激活分子(activating molecule in Beclin1 regulated autophagy, AMBRA1)表达取决于c-MYC水平,并与G3-MB患者的不良预后相关,抑制AMBRA1也会抑制STAT3信号传导,并降低G3-MB干细胞的分化潜能,其部分机制是通过抑制自噬实现^[22]。富含半胱氨酸的酸性分泌蛋白(secreted protein acidic and rich in cysteine, SPARC)可以诱导MB细胞的自噬,然后通过组织蛋白酶B介导线粒体依赖性细胞凋亡。同时,SPARC可通过激活Src抑制RhoA/Rac/Cdc42活性降低MB细胞的迁移和侵袭,在对MB的治疗研究中发现,SPARC的表达诱导了MB细胞自噬介导的顺铂耐药性,而自噬抑制剂可以增加SPARC表达细胞中顺铂敏感

性^[23-24]。然而,一项关于Src激酶抑制剂达沙替尼的研究发现,达沙替尼联合极光激酶A抑制剂可诱导自噬的发生,抑制MB细胞的增殖和迁移^[25]。可见,对于Src激酶与MB细胞间的自噬之间机制仍需进一步研究。

3.2 MircoRNA与MB细胞中的自噬

近年来, MicroRNA(miRNA)对恶性肿瘤的调节作用已被许多实验证实,同时也有证据表明多种miRNA在MB细胞与正常小脑细胞中存在差异表达^[26]。与正常小脑组织相比,在MB细胞中miRNA-30a的表达下调,恢复miRNA-30a表达能抑制小鼠异种移植肿瘤增长。进一步分子机制表明miRNA-30a抑制肿瘤生长主要通过抑制自噬途径实现^[27]。此外,在部分G3/G4-MB患者中发现miRNA-204的下调,且miRNA-204下调患者的生存率明显下降。而miRNA-204表达下调主要与溶酶体途径的阳离子依赖性甘露糖-6-磷酸受体(M6PR)、胰岛素样生长因子2受体(IGF2R)基因相关,且miRNA-204表达下调抑制MB细胞的自噬^[28]。进一步实验表明,使用ATG5 shRNA抑制自噬后,MB细胞系的生长没有变化,但其侵袭能力下降,因此,自噬抑制剂可能是MB患者的潜在治疗药物,并可能减少高侵袭性MB细胞的放射治疗剂量以及放射治疗相关副作用^[29]。

3.3 缺氧与MB细胞中的自噬

已知缺氧会诱导肿瘤细胞中自噬的发生,缺氧诱导因子-1 α (hypoxia-inducible factor-1 α , HIF-1 α)是自噬的正向调节因子,刺激肿瘤代谢、血管生成和转移;并且与缺氧肿瘤的治疗抵抗有关^[30]。在MB患者中观察到HIF-1 α mRNA更高水平的表达,降低HIF-1 α 表达可降低MB的增值^[31]。在复发性MB患者脑脊液的多组学研究也发现了缺氧相关蛋白的上调,这些结果表明缺氧诱导的自噬促进了MB的进展,机制可能是缺氧激活自噬诱导M2巨噬细胞的形成,刺激其代谢转变,增加了MB细胞的耐药性^[32]。这些研究表明缺氧诱导的自噬参与了MB的发展。但关于更详细的机制仍需进一步研究阐明。

3.4 药物与MB细胞中的自噬

凋亡抑制蛋白(inhibitors of apoptosis proteins, IAP)在MB细胞系、组织及MB癌症干细胞中均高表达,IAP抑制剂联合顺铂或长春新碱通过激活caspase-3/7增加MB细胞的自噬引发I型和II型细胞死亡并减少了MB细胞增殖,且在CD133⁺的MB干细胞样细胞中作用更为显著^[33]。植物来源的大麻素(Cannabidiol, CBD)已被证明在脑瘤的临床前模型中表现出抗癌活性,在MB的体外实验研究证明,大麻素可诱导MB细胞周期停滞,促进活性氧产生,增加自噬和细胞凋亡,且与环磷酸腺苷出现了协同作用,但遗憾的是体内没有观察到明显的生存优势^[34]。丹参酮II A为中药丹参的重要活性成分,具有抗肿瘤的活性,在MB细胞中也显示了抗肿瘤作用,并增加了MB细胞中的

自噬^[35]。同样,白藜芦醇(Resveratrol, Res)在MB细胞中可能通过促进自噬形成与成熟抑制了肿瘤的增殖^[36]。已发现部分具有抗肿瘤活性的药物在MB中也显示同样的作用,并增加了MB细胞的自噬,但深层机制仍需探究,且部分体内实验显示并未增加小鼠模型的生存率,因此药物与自噬的临床转化也需进一步探究。

4 展望

MB作为儿童中枢系统肿瘤高度恶性肿瘤之一,尽管在以往的研究及临床治疗中已取得很大的进展,但由于其易复发,易转移,且常规治疗后易出现严重并发症的特点,目前传统治疗的效果常常无法令人满意。近年来,抑制自噬在部分肿瘤的治疗中已取得良好效果,但关于MB的研究仅限于临床前实验阶段,且不同研究发现,抑制自噬与诱导自噬都会影响MB细胞的增殖、迁移、侵袭,也有研究发现尽管在MB细胞中可以通过饥饿或化疗药物诱导自噬,同样用自噬抑制剂氯喹抑制自噬,但对MB细胞长期存活没有影响^[37]。因此需更进一步探讨自噬过程中MB的发生、转移、放化疗治疗后的敏感性及其长期有效性。且由于在人体内肿瘤疾病的异质性与小鼠模型不同,部分亚型小鼠MB基因表达与该亚型人MB的基因表达不同^[38],这可能导致目前在小鼠模型中自噬相关的研究转化为临床研究时失败。由于自噬与肿瘤之间存在着双重的关系,在肿瘤发生的不同阶段选择诱导还是抑制自噬都需进一步研究。此外,近年来单细胞组学、基因组学、高通量蛋白质组学、代谢组学等多重组学快速发展使对MB发生机制有了更进一步认识。因此,自噬联合多组学研究可能为MB自噬机制的系统阐明提供极为有利的帮助,为MB的治疗提供帮助。

参 考 文 献

- [1] MILLARD NE, DE BRAGANCA KC. Medulloblastoma[J]. J Child Neurol, 2016, 31(12): 1341-1353.
- [2] MYNAREK M, HOFF KVON, PIETSCH T, et al. Nonmetastatic medulloblastoma of early childhood: results from the prospective clinical trial HIT-2000 and an extended validation cohort[J]. J Clin Oncol, 2020, 38(18): 2028-2040.
- [3] LOUIS DN, PERRY A, REIFENBERGER G, et al. The 2016 World Health Organization classification of tumors of the central nervous system: a summary[J]. Acta Neuropathol, 2016, 131(6): 803-820.
- [4] MATHEW RK, O'KANE R, PARSLow R, et al. Comparison of survival between the UK and US after surgery for most common pediatric CNS tumors[J]. Neuro Oncol, 2014, 16(8): 1137-1145.
- [5] POLLACK IF, AGNIHOTRI S, BRONISER A. Childhood brain tumors: current management, biological insights, and future directions[J]. J Neurosurg Pediatr, 2019, 23(3): 261-273.
- [6] OKU M, SAKAI Y. Three distinct types of microautophagy based on membrane dynamics and molecular machineries[J].

- Bioessays, 2018, 40(6): e1800008.
- [7] FERNÁNDEZ-FERNÁNDEZ MR, GRAGERA M, OCHOA-IBARROLA L, et al. Hsp70 - a master regulator in protein degradation[J]. FEBS Lett, 2017, 591(17): 2648-2660.
 - [8] FENG YC, HE D, YAO ZY, et al. The machinery of macroautophagy[J]. Cell Res, 2014, 24(1): 24-41.
 - [9] YU L, CHEN Y, TOOZE SA. Autophagy pathway: cellular and molecular mechanisms[J]. Autophagy, 2018, 14(2): 207-215.
 - [10] DIKIC I, ELAZAR Z. Mechanism and medical implications of mammalian autophagy[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2018, 19(6): 349-364.
 - [11] LI XH, HE SK, MA BY. Autophagy and autophagy-related proteins in cancer[J]. Mol Cancer, 2020, 19(1): 12.
 - [12] LEVINE B, KROEMER G. Biological functions of autophagy genes: a disease perspective[J]. Cell, 2019, 176(1-2): 11-42.
 - [13] BEHRENDT C, SOWA ME, GYGI SP, et al. Network organization of the human autophagy system[J]. Nature, 2010, 466(7302): 68-76.
 - [14] MIZUSHIMA N, LEVINE B. Autophagy in human diseases[J]. N Engl J Med, 2020, 383(16): 1564-1576.
 - [15] POILLET-PEREZ L, WHITE E. Role of tumor and host autophagy in cancer metabolism[J]. Genes Dev, 2019, 33(11-12): 610-619.
 - [16] KOCATURK NM, AKKOC Y, KIG C, et al. Autophagy as a molecular target for cancer treatment[J]. Eur J Pharm Sci, 2019, 134: 116-137.
 - [17] ONORATI AV, DYCZYNSKI M, OJHA R, et al. Targeting autophagy in cancer[J]. Cancer, 2018, 124(16): 3307-3318.
 - [18] DOWER CM, WILLS CA, FRISCH SM, et al. Mechanisms and context underlying the role of autophagy in cancer metastasis[J]. Autophagy, 2018, 14(7): 1110-1128.
 - [19] 冯帆, 王亚雨, 张健, 等. 自噬在胶质瘤治疗中的进展[J]. 国际神经病学神经外科学杂志, 2018, 45(5): 507-510.
 - [20] MIRACCO C, COSCI E, OLIVERI G, et al. Protein and mRNA expression of autophagy gene Beclin 1 in human brain tumours[J]. Int J Oncol, 2007, 30(2): 429-436.
 - [21] RANJAN A, KAUSHIK I, SRIVASTAVA SK. Pimozide suppresses the growth of brain tumors by targeting STAT3-mediated autophagy[J]. Cells, 2020, 9(9): 2141.
 - [22] NAZIO F, PO A, ABBALLE L, et al. Targeting cancer stem cells in medulloblastoma by inhibiting AMBRA1 dual function in autophagy and STAT3 signalling[J]. Acta Neuropathol, 2021, 142(3): 537-564.
 - [23] BHOOPATHI P, CHETTY C, GUJRATI M, et al. Cathepsin B facilitates autophagy-mediated apoptosis in SPARC overexpressed primitive neuroectodermal tumor cells[J]. Cell Death Differ, 2010, 17(10): 1529-1539.
 - [24] BHOOPATHI P, GONDI CS, GUJRATI M, et al. SPARC mediates Src-induced disruption of actin cytoskeleton *via* inactivation of small GTPases Rho-Rac-Cdc42[J]. Cell Signal, 2011, 23(12): 1978-1987.
 - [25] PETERSEN W, LIU JB, YUAN LP, et al. Dasatinib suppression of medulloblastoma survival and migration is markedly enhanced by combining treatment with the Aurora kinase inhibitor AT9283[J]. Cancer Lett, 2014, 354(1): 68-76.
 - [26] JOSHI P, KATSUSHIMA K, ZHOU R, et al. The therapeutic and diagnostic potential of regulatory noncoding RNAs in medulloblastoma[J]. Neurooncol Adv, 2019, 1(1): vdz023.
 - [27] SINGH SV, DAKHOLE AN, DEOGHARKAR A, et al. Restoration of miR-30a expression inhibits growth, tumorigenicity of medulloblastoma cells accompanied by autophagy inhibition[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2017, 491(4): 946-952.
 - [28] BHARAMBE HS, PAUL R, PANWALKAR P, et al. Downregulation of miR-204 expression defines a highly aggressive subset of Group 3/Group 4 medulloblastomas[J]. Acta Neuropathol Commun, 2019, 7(1): 52.
 - [29] PAUL R, BHARAMBE H, SHIRSAT NV. Autophagy inhibition impairs the invasion potential of medulloblastoma cells[J]. Mol Biol Rep, 2020, 47(7): 5673-5680.
 - [30] MASOUD GN, LI W. HIF-1 α pathway: role, regulation and intervention for cancer therapy[J]. Acta Pharm Sin B, 2015, 5(5): 378-389.
 - [31] CRUZEIRO GAV, REIS MBDOS, SILVEIRA VS, et al. HIF1A is overexpressed in medulloblastoma and its inhibition reduces proliferation and increases EPAS1 and ATG16L1 methylation[J]. Curr Cancer Drug Targets, 2018, 18(3): 287-294.
 - [32] REICHL B, NIEDERSTAETTER L, BOEGL T, et al. Determination of a tumor-promoting microenvironment in recurrent medulloblastoma: a multi-omics study of cerebrospinal fluid[J]. Cancers (Basel), 2020, 12(6): 1350.
 - [33] CHEN SM, LI YY, TU CH, et al. Blockade of inhibitors of apoptosis proteins in combination with conventional chemotherapy leads to synergistic antitumor activity in medulloblastoma and cancer stem-like cells[J]. PLoS One, 2016, 11(8): e0161299.
 - [34] ANDRADAS C, BYRNE J, KUCHIBHOTLA M, et al. Assessment of cannabidiol and Δ^9 -tetrahydrocannabinol in mouse models of medulloblastoma and ependymoma[J]. Cancers (Basel), 2021, 13(2): 330.
 - [35] 项荣, 邹剑. 丹参酮IIA对髓母细胞瘤的增殖凋亡及自噬的影响[J]. 重庆医学, 2018, 47(19): 2525-2528, 2533.
 - [36] 陈泰山, 何麟, 邓功建, 等. 白藜芦醇对人髓母细胞瘤细胞 Daoy 增殖的影响及其作用机制[J]. 中国生物制品学杂志, 2019, 32(6): 663-667, 672.
 - [37] LEVY JMM, THORBURN A. Modulation of pediatric brain tumor autophagy and chemosensitivity[J]. J Neurooncol, 2012, 106(2): 281-290.
 - [38] ŁASTOWSKA M, KARKUCIŃSKA-WIEĆKOWSKA A, WAS-CHEK JA, et al. Differential expression of mitochondrial biogenesis markers in mouse and human SHH-subtype medulloblastoma[J]. Cells, 2019, 8(3): 216.

责任编辑:王荣兵