

DOI: 10.13376/j.cbls/2018085

文章编号: 1004-0374(2018)07-0723-09

自噬在肿瘤发生发展中的调控作用 以及通过靶向自噬抑制肿瘤的研究进展

徐 然^{1,2}, 邵 弘³, 朱 静^{4*}

(1 南通大学医学院, 南通 226000; 2 淮安市医药生物技术研究所淮安市消化道肿瘤重点实验室, 淮安 223001; 3 南京师范大学, 南京 210000; 4 南京医科大学附属淮安第一医院, 淮安 223001)

摘 要: 细胞自噬 (autophagy) 是一种依赖于溶酶体清除并回收折叠错误、受损、变性或衰老的蛋白质或细胞器的机制。正常细胞可通过自噬过程来维持物质代谢、内环境稳态及基因组完整性。细胞自噬功能的紊乱与多种疾病的发生发展密切相关。近年来, 大量研究表明, 人类多种肿瘤细胞中存在着异常的自噬机制, 并且自噬在肿瘤的发生发展中扮演着重要的角色。在不同类型的肿瘤细胞或肿瘤的不同阶段中, 自噬所产生的作用是不同, 甚至是相反的。现主要探讨自噬在不同的肿瘤发生发展阶段中的调控作用, 讨论自噬与肿瘤细胞代谢及耐药性的关系, 并总结近年来通过靶向自噬来治疗肿瘤的研究进展。

关键词: 自噬; 肿瘤; 代谢; 耐药性; 自噬抑制剂

中图分类号: Q25; R730.2; R730.5 **文献标志码:** A

Regulation of autophagy in tumor cells and application of targeting autophagy in cancer

XU Ran^{1,2}, SHAO Hong³, ZHU Jing^{4*}

(1 Medical School of Nantong University, Nantong 226000, China; 2 Huai'an Key Laboratory of Gastrointestinal Cancer, Huai'an Institute of Medical Biotechnology, Huai'an 223001, China; 3 Nanjing Normal University, Nanjing 210000, China; 4 The Affiliated Huai'an No.1 People's Hospital of Nanjing Medical University, Huai'an 223001, China)

Abstract: Autophagy is an evolutionarily conserved process that delivers cellular materials to lysosomes for degradation, leading to the breakdown and eventual turnover of the resulting macromolecules. Autophagy plays a wide variety of physiological and pathophysiological roles, and aberrations in autophagy have been observed in many diseases. Recent progress has demonstrated that the disorder of autophagy is closely related to the formation and development of some malignant tumors. Here, we focus on the cell and molecular biology of mammalian autophagy and review the regulation of autophagy in tumor metabolism and drug resistance. Finally, we discuss the data from published autophagy trials in cancer and some of the insights these have provided.

Key words: autophagy; tumor; metabolism; drug resistance; autophagy inhibitors

1 细胞自噬概述

1.1 自噬的分类

细胞自噬 (autophagy) 是一种重要的胞内物质分解代谢过程。折叠错误、受损、变性或衰老的蛋白质或细胞器被双层膜包裹, 随后与溶酶体融合, 在溶酶体酸性水解酶的作用下分解成氨基酸等小分子物质被细胞回收并重新利用^[1]。根据运输方式和

内容物的不同, 自噬被分为微自噬 (microautophagy)、巨自噬 (macroautophagy) 和分子伴侣介导的自噬

收稿日期: 2018-04-20; 修回日期: 2018-05-13

基金项目: 江苏省自然科学基金项目(SBK2015021930);
淮安市应用研究与科技攻关(社会发展)计划(HAS
2014015)

*通信作者: E-mail: zhujinghuaian@sina.com

(chaperone-mediate autophagy, CMA)。在微自噬过程中,溶酶体直接包裹并降解老化或损伤的细胞器。巨自噬的过程需要内质网和高尔基体来源的膜包裹待降解物质,接着送入溶酶体进行降解。在此过程中,内质网和高尔基体膜被拉长并包裹物质形成双层膜结构,称为自噬体 (autophagosome)。分子伴侣介导的自噬通过分子伴侣与胞内蛋白结合,接着在分子伴侣的介导下胞内蛋白被送入溶酶体。目前巨自噬的研究较为深入具体,本文主要就巨自噬进行探讨。

1.2 自噬的分子机制

多种自噬相关基因 (autophagy-related gene, Atg) 和信号通路参与自噬的调控,信号通路主要包括 I 型 PI3K 信号通路、III 型 PI3K 信号通路、LKB1/AMPK 信号通路和 p53 信号通路。在自噬的启动阶段,自噬主要受哺乳动物雷帕霉素靶蛋白复合物 1 (mammalian target of rapamycin complex 1, mTORC1)、FAK 家族结合蛋白 200 (FAK family-interacting protein of 200 kDa, FIP200) 和 Atg13 形成的 Atg1/ULK 蛋白复合物、Atg1/酵母 Atg1 的哺乳动物同源蛋白 1 (mammalian homologue 1, ULK1) 共同调控^[2-3]。当细胞缺乏能量时, mTORC1 活性降低, ULK1 和 Atg13 与 FIP200 相互作用,诱导囊泡成核与伸展^[4-5]。

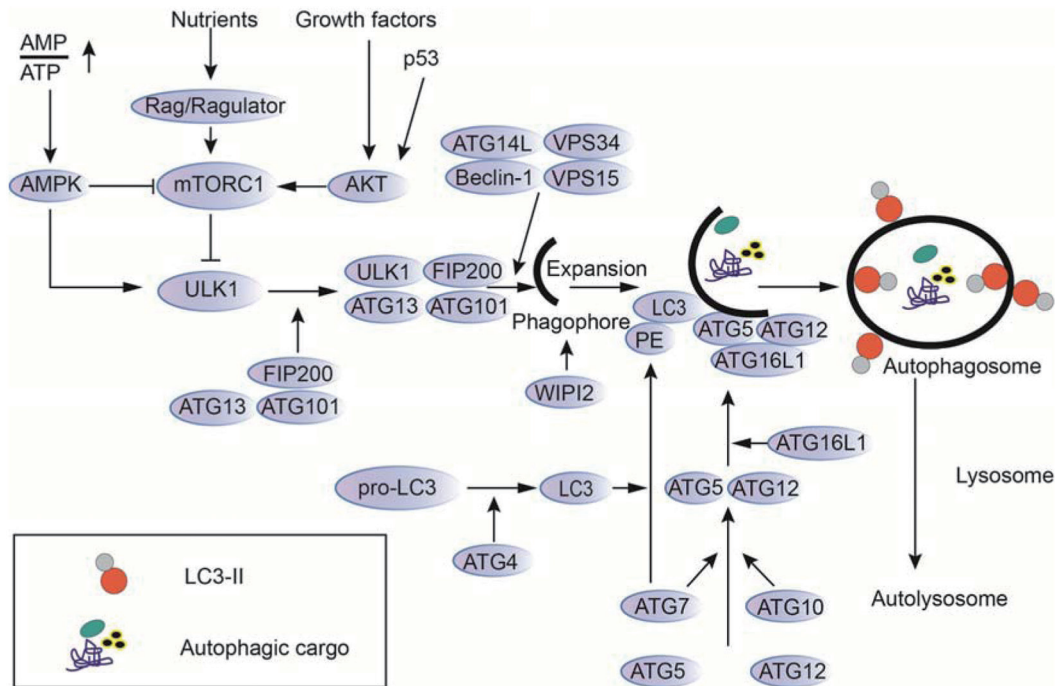
伸展的前自噬体将胞内老化或受损的细胞器包裹在其双层膜内形成自噬体,接着自噬体通过微管骨架与溶酶体融合形成自噬溶酶体,使内容物得到降解^[6-8]。图 1 简要阐明了自噬的过程及其分子机制。

2 自噬与肿瘤的关系

2.1 自噬对肿瘤促进作用

自噬可通过调节肿瘤与肿瘤微环境的关系来促进肿瘤的存活与增殖^[9-10]。肿瘤细胞可通过自噬过程来分解胞内物质,维持能量的平衡。当肿瘤细胞遭受低氧等环境压力时,缺氧诱导因子 1 α (hypoxia-inducible factor 1 α , HIF-1 α) 和 BCL-2/腺病毒 EIB19kd 结合蛋白 3 (BCL-2/adenovirus EIB 19kd-interacting protein 3, BNIP3) 被激活,破坏 Beclin1 (Atg6) 和 BCL-2 的相互作用,进而激活自噬通路来提高肿瘤对于低氧的应对能力。因此,抑制自噬可成为治疗肿瘤的辅助手段^[9,11-12]。此外,自噬可防止肿瘤失巢凋亡,促进肿瘤细胞的迁移与侵袭过程^[13]。

许多实验表明自噬在多种类型的肿瘤细胞中起到关键的促癌作用。在肿瘤缺氧区域可观察到升高的自噬水平,其有利于肿瘤细胞在缺乏营养的情况下生存^[14]。自噬可以提高肿瘤细胞在应对化疗、放疗或者靶向药物时的存活率,并使肿瘤细胞产生对



Atg: 自噬相关基因; mTORC: 哺乳动物雷帕霉素靶蛋白复合物; LC3: 微管相关蛋白1轻链3; PE: 磷脂酰乙醇胺; AMPK: 腺苷酸激活的蛋白激酶; VPS: 液泡分选蛋白; FIP200: FAK家族结合蛋白200 kDa

图1 自噬的过程及其分子机制

这些治疗的抗性^[15-16]。不仅如此, 自噬在肿瘤细胞维持稳态的过程中也起到重要作用。许多肿瘤细胞即使在营养充足的条件下也会提高自噬水平^[17-18]。在许多小鼠模型中, 自噬抑制可明显延缓肿瘤的生长过程。利用基因工程小鼠建立疾病模型有利于人们了解自噬在多种肿瘤疾病中所起的关键作用, 包括胰腺癌^[19-20]、肺癌^[21-24]、前列腺癌^[25]、黑色素瘤^[26]、胶质母细胞瘤^[27]和乳腺癌^[28-29]等。

2.2 自噬对肿瘤抑制作用

在肿瘤发生的前期, 自噬可维持细胞稳态来抑制肿瘤的发生发展, 其对肿瘤的抑制作用主要分为以下3个方面。(1) 维持染色体稳态。自噬可清除细胞在应激状态下损伤的线粒体, 防止由受损线粒体导致的活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 的积累。此外, 自噬可以为DNA的修复提供核苷酸原料, 从而维持染色体的稳态。(2) 抑制炎症反应。Beclin 1等位基因缺失可引起p62积累并抑制核转录因子 κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 通路, 从而促使Kupffer巨噬细胞聚集, 引发炎症反应^[30]。慢性炎症可激发机体致癌基因的活性, 而自噬可清除过量的p62, 缓解因细胞坏死而产生的炎症反应, 从而减少肿瘤发生的可能^[30]。(3) 促进免疫应答。自噬可促进CD4⁺ T细胞的活化与MHC I类和II类分子的抗原提呈, 增强机体的免疫应答, 进而促进机体对肿瘤细胞的清除。抗原提呈细胞内的自噬过程还可调控多种细胞因子的释放, 调节免疫应答反应。

自噬可以维持组织的稳态, 自噬的失调与许多疾病有着密切联系, 包括肿瘤和神经退行性疾病等。自噬在肿瘤细胞中起着复杂的作用, 并产生多种生物学效应^[9,31]。自噬的异常可导致多种致癌基因的激活 (如PIK3CA) 或抑癌基因的失活 (如PTEN), 因此, 抑制小鼠体内自噬基因的表达会促进肿瘤的发生。在Beclin1 (ATG6同源基因) 杂合小鼠身上即可观察到多种肿瘤疾病^[32-33]。当ATG5基因在小鼠体内被完全敲除, 自噬被完全抑制时, 可以观察到小鼠只有肝脏组织发生癌变^[34]。以上结果表明, 不同类型的组织可能对自噬的敏感性不同, 并且自噬可能是肿瘤在恶性转化过程中所必须具备的条件。Inami等^[35]特异性敲除Atg7基因也得到了类似的结论。

3 自噬与肿瘤代谢的关系

3.1 肿瘤代谢概述

肿瘤可以通过改变代谢状况来满足自身不断增

殖的需要^[36-37], 其中包括调节合成代谢从而为增殖提供所需物质。现已发现肿瘤细胞可利用多种途径来促进自身增殖, 如肿瘤细胞可通过增强糖酵解来促进增殖 (Warburg effect)^[38]。再者, 线粒体代谢对于ATP生成、氧化还原平衡以及各种类型肿瘤中其他关键代谢物的生物合成至关重要^[39]。因此, 针对代谢的治疗方式具有较大发展潜力, 临床前研究也证实了针对代谢治疗的可行性^[40-42]。针对代谢进行肿瘤治疗的方法要解决两大问题: 首先, 肿瘤代谢的可塑性较强, 肿瘤可迅速对代谢重新调节来应对外界压力; 再者, 针对代谢的治疗方式具有潜在的毒性。尽管如此, 针对肿瘤代谢的治疗方式仍然是肿瘤治疗的重要组成部分。

3.2 自噬对肿瘤代谢的调控

细胞通过自噬可以降解多种底物并对胞内物质进行回收利用, 因此, 自噬可以调控细胞内多种代谢途径^[43]。例如, 将碳水化合物降解为糖或将DNA降解成核苷可以促进糖酵解过程, 将蛋白质降解成氨基酸或将脂质降解成脂肪酸可以促进TCA循环等。当肿瘤细胞处于缺乏营养物质的情况下, 肿瘤细胞可通过自噬对代谢途径进行调节, 以适应不利的生存条件。多项研究也表明, 自噬在肿瘤细胞代谢途径中发挥重要的调控作用。Lock等^[13]发现自噬在RAS介导的致癌性转化过程中可将糖酵解维持在较高水平, Wei等^[29]对乳腺癌进行研究时也发现了类似现象, Karvela等^[44]也证实了慢性髓性白血病中自噬对于维持糖酵解的作用。此外, 胰腺癌的相关研究也证实细胞自噬可以通过对MiT/TFE转录因子的调控维持氨基酸的代谢循环^[45]。

在最近的相关研究中, 研究人员建立了小鼠肿瘤模型来研究自噬相关机制。Strohecker等^[23]构建的Braf基因突变的肺癌细胞失去了自噬功能, 这种肺癌细胞对饥饿较为敏感, 在饥饿状态时其氧消耗 (OCR) 较低。而在这种细胞中加入外源性谷氨酰胺后, OCR和细胞生长可以得到显著恢复, 提示自噬在肿瘤细胞代谢方面具有重要的调控作用。Guo等^[46]在研究肺癌时, 人工诱导肺癌细胞中Atg7基因发生突变, 发现Atg7缺失的细胞中堆积了大量缺陷性线粒体与甘油三酯, 提示细胞自噬的缺失会导致胞内缺陷性线粒体的堆积和细胞代谢表型的变化, 从而抑制肿瘤的发生发展。进一步研究表明, 在营养充足的情况下, 自噬缺失的细胞内只有葡萄糖摄取量和乳酸生成量有小幅度的增加^[47], 提示自噬主要在细胞营养缺乏时对代谢产生较为明显的影

响。当自噬缺失的细胞处于营养缺乏状态时, 细胞内核苷酸总量有大幅度下降, 表明自噬缺失的细胞可能是通过降解核苷酸来限制 AMP 的积累, 因此, 自噬在肿瘤细胞代谢过程中的一大作用是防止核苷酸的大幅度降解。除了对肿瘤细胞代谢的调控, 自噬在肿瘤细胞产生耐药性的过程中也起重要作用。

4 自噬与肿瘤耐药性

4.1 自噬与肿瘤耐药性的联系

越来越多的证据表明, 自噬在肿瘤细胞抵抗化疗过程中具有重要的调控作用。黑色素瘤细胞可通过内质网应激 (ER stress) 对 BRAF 抑制剂威罗菲尼 (vemurafenib) 产生耐药性^[48]。阻断其自噬过程后, 黑色素瘤细胞将丧失其对威罗菲尼的耐药性。一项临床试验也证实了此现象, BRAF 突变的脑肿瘤患者在接受威罗菲尼药物治疗后, 对其产生了耐药性, 随后在治疗过程中加入了溶酶体抑制剂氯喹 (chloroquine, CQ), 该患者对威罗菲尼的耐药性明显减弱^[49], 提示阻断自噬可提高肿瘤细胞对化疗药物的敏感性。只有当激酶抑制剂和自噬抑制剂一起使用时, 肿瘤的生长才会被长期控制住。因此, 该患者所取得的临床疗效的原因是克服了耐药性, 而并非是对自噬抑制剂产生新的敏感性。抑制自噬可以克服肿瘤细胞对 BRAF 突变产生耐药性的多种分子机制, 目前针对耐药性的自噬相关临床试验结果表明, 自噬抑制剂可以较好地克服肿瘤细胞对激酶抑制剂的耐药性^[47]。此外, 通过抑制自噬过程可以有效抵制膀胱癌^[50]、甲状腺癌^[51]、非小细胞肺癌 (NSCLC)^[52] 和 ALK 阳性肺癌细胞^[53] 等多种肿瘤细胞对酪氨酸激酶的耐药性。

自噬能够诱导肿瘤细胞对多种化疗药物产生耐药性, 如卵巢癌细胞可通过自噬对细胞毒性药物紫杉醇产生耐药性^[54]。此外, 有实验表明, 食管癌和卵巢癌细胞对化疗药物顺铂的耐药性也是由于自噬诱导产生的^[55-56]。由 ER 应激引起的自噬也可诱导慢性淋巴细胞白血病 (chronic lymphocytic leukemia, CLL) 细胞对细胞周期蛋白依赖性激酶 (cyclin-dependent kinase, CDK) 抑制剂的耐药性^[57]、胶质母细胞瘤对组蛋白去乙酰化酶 (histone deacetylase, HDAC) 抑制剂的耐药性^[58]。鉴于自噬与肿瘤细胞耐药性的关系, 靶向自噬可能成为未来肿瘤治疗的突破口。

4.2 AMPK与HSF1介导的自噬促进肿瘤耐药

AMP 激活蛋白激酶 (AMP-activated protein kinases,

AMPK) 信号转导通路参与肿瘤细胞代谢、细胞凋亡、自噬等多种肿瘤细胞生理过程^[59], 因此, AMPK 是研究肿瘤耐药性的重要切入点。Piraud 等^[60] 研究发现, 肿瘤放疗可激活 AMPK 对下游共济失调基因突变 (ataxia telangiectasia mutated, ATM) 的调控, 并抑制 mTOR 蛋白, 从而通过促进自噬增强肿瘤细胞对放疗的耐受。热激因子 1 (heat shock factor protein 1, HSF1) 是细胞应对诸多应激条件时的主要转录调节器^[61]。研究表明, HSF1 可直接与 ATG7 启动子结合, 上调 ATG7 的表达量, 进而激活细胞自噬并促进肿瘤细胞耐药^[62]。

4.3 ROS介导的自噬促进肿瘤耐药

许多抗肿瘤治疗可促使肿瘤细胞产生活性氧 (ROS)。多项研究表明 ROS 通过调控自噬来影响肿瘤的耐药性。在针对肝癌的治疗药物中, 一种靶向 Bcl-2 的抗肝癌药物 Apogossypolone (ApoG2) 可以通过激活 ROS/JNK/ERK 来促进自噬。相关研究发现, 抗氧化剂 N-乙酰半胱氨酸 (N-acetylcysteine, NAC) 不仅可以抑制 ROS 介导的自噬, 还可增强 ApoG2 对肝癌细胞的凋亡诱导作用, 从而增强肝癌细胞对 ApoG2 的敏感性^[63]。上述结果表明, 抗癌药物 ApoG2 可激活 ROS/JNK/ERK 信号通路来促使肝癌细胞上调自噬水平, 进而通过自噬对 ApoG2 产生耐药性。而抗氧化剂 (例如 NAC) 可通过抑制 ApoG2/ROS/JNK/ERK 通路介导的自噬, 从而增强肿瘤细胞对抗肿瘤药物的敏感性。在针对恶性神经胶质瘤的治疗药物中, 替莫唑胺 (temozolomide, TMZ) 可通过激活 ROS/ERK 同时诱导细胞自噬和凋亡。进一步研究发现, 自噬抑制剂与 TMZ 联合使用可显著抑制 ROS/ERK 介导的自噬, 肿瘤细胞对 TMZ 的敏感性显著提高^[64]。此外, ROS 仍可通过其他通路诱导细胞自噬, 如 ROS-p62-NRF 以及 PINK1-ROS-DAPK-PKD-VPS34 等信号通路^[65], 这些通路是否与细胞耐药性相关有待进一步考证。

5 靶向自噬的相关临床试验进展

5.1 针对自噬进行肿瘤治疗的可行性

肿瘤细胞的自噬如果受到抑制, 会导致线粒体代谢受损、氧化还原失衡、核苷酸消耗、能量供应减少等生物学效应。因此, 在某些情况下, 抑制自噬可以抑制肿瘤细胞的生长, 甚至导致肿瘤细胞死亡。许多临床前研究证实了通过靶向自噬来延缓肿瘤发生发展的可行性^[49,66-70]。大量的体外实验, 包括建立基因工程小鼠模型 (GEMM) 和人源性肿瘤组

织异种移植 (PDX) 模型, 也已经证实了靶向自噬进行肿瘤治疗的可行性^[9,11,16]。

5.2 靶向自噬进行药物联合治疗的实验研究

目前在临床上主要使用 CQ 和羟氯喹 (hydroxy-chloroquine, HCQ) 来作为靶向自噬的药物。CQ 和 HCQ 可阻断自噬体和溶酶体的融合, 从而破坏自噬对胞内物质的降解过程^[71]。除了针对自噬, CQ 还可从多种途径发挥抗肿瘤作用, 如以不依赖自噬的方式增加肿瘤细胞对化疗药物的敏感性^[72]。Briceno 等^[73]进行了第一批临床试验, 他们将 18 例患有胶质母细胞瘤的患者分成两组进行临床用药治疗, 经过 CQ、放疗和 TMZ 共同治疗的患者和对对照组相比有明显较长的中位生存期 (实验组 33 个月, 对照组 11 个月)。另外, CQ 联合放疗治疗还可延缓脑肿瘤在颅内的转移^[74-75]。

药代动力学药效学参数 (PK-PD 参数) 也反映出靶向自噬进行药物联合治疗的效果^[76-82]。目前通过靶向自噬进行肿瘤治疗的早期临床试验信息见表 1, 这些试验为针对自噬的肿瘤治疗研究提供了许

多参考信息。在犬淋巴瘤的研究中, HCQ 联合化疗药物多柔比星 (doxorubicin) 的治疗效果初步证明了 HCQ 和化疗药物联合治疗的安全性^[76]。此外, 基于人的临床研究也相继开展, 包括恶性实体瘤和黑色素瘤^[77-79]、胶质母细胞瘤^[80]和骨髓瘤^[81]等。HCQ 的最大耐受剂量 (MTD) 与同时使用的其他治疗药物种类相关。在一项对于恶性实体瘤的 I 期临床研究中, 将 HCQ 和组蛋白去乙酰化酶 (HDAC) 抑制剂联合使用, 测定出 HCQ 的 MTD 值为 600 mg/d; 而 HCQ 和伏立诺他联合使用时, HCQ 的 MTD 值为 400 mg/d^[77]。与此同时, 在胶质母细胞瘤中将 HCQ 同放疗和替莫唑胺一起使用也得到类似的结论^[80]。

然而, 靶向自噬所取得的临床疗效并不完全乐观, 使用 HCQ 联合化疗和放射治疗的 I/II 期试验发现, 胶质母细胞瘤患者的生存率没有得到显著改善^[80]。在一项利用 HCQ 单一疗法治疗转移性胰腺癌的研究中, HCQ 没有显示出明显的临床效果^[82]。然而, 这项研究是在晚期癌症患者中进行的, 提示

表1 靶向自噬进行肿瘤治疗的早期临床试验信息

肿瘤类型	自噬抑制剂	试验阶段	临床反应	参考文献
胶质母细胞瘤	CQ	III	中位生存期: 33个月(对照组: 11个月)	[73]
NSCLC、SCLC、 乳腺癌、卵巢癌	CQ	Pilot	中位生存期: 5.7个月 PFS: 55%	[74]
NSCLC、乳腺癌	CQ	II	ORR: 54%(对照组: 55%) PFS: 83.9%(对照组: 55.1%)	[75]
非霍奇金淋巴瘤	HCQ	I	PFS: 5个月 ORR: 93.3%	[76]
实体瘤	HCQ	I	1 PR 2 SD	[77]
实体瘤、黑色素瘤	HCQ	I	实体瘤患者: 67% SD 黑色素瘤患者: 74% SD	[78]
实体瘤、黑色素瘤	HCQ	I	实体瘤患者: 10% PR; 27% SD 黑色素瘤患者: 14% PR; 27% SD	[79]
胶质母细胞瘤	HCQ	I/II	中位生存期: 15.6个月	[80]
骨髓瘤	HCQ	I	14% PR 45% SD	[81]
PDAC	HCQ	II	PFS: 10% 中位PFS: 46.5 d OS: 69 d (2.3个月)	[82]
胶质母细胞瘤	CQ	III	中位生存期: 24月(对照组: 11月)	[83]
NSCLC	HCQ	I	1 PR; 4SD; ORR 5%	[84]
胶质母细胞瘤	CQ	病例系列(5名患者)	2PR; 1SD	[85]
实体瘤	HCQ	I	40% PR; 44% SD	[86]
肉瘤	HCQ	病例系列(10名患者)	6 PR; 3SD; 1PD	[87]
PDAC	HCQ	I/II	61%患者体内CA19-9减少	[88]

注: NSCLC: 非小细胞肺癌; SCLC: 小细胞肺癌; PDAC: 胰腺癌; CQ: 氯喹; HCQ: 羟氯喹; OS: 总体生存期; PFS: 无进展生存期; PR: 部分缓解; SD: 疾病稳定; ORR: 总缓解率; PD: 疾病进展

HCQ 单一疗法可能在晚期癌症中有较大的局限性。对胰腺癌进行联合 HCQ 和吉西他滨 (gemcitabine) 的术前治疗可以使 61% 患者的血清肿瘤标志物癌抗原 19-9 (CA19-9) 下降^[88]。此外, 这些患者的无进展生存期 (progression free survival, PFS) 和总体生存期 (overall survival, OS) 都有所提高 (实验组 PFS: 15.03 个月; 对照组 PFS: 6.9 个月; 实验组 OS: 34.83 个月; 对照组 OS: 10.83 个月)^[88]。总而言之, 靶向自噬的治疗方法仍有许多提升的空间, 虽然研究人员已经进行了多种抗癌药物和自噬抑制剂或诱导剂联合治疗肿瘤疾病的实验, 但针对不同情况下组合这些药物的临床效果的相关研究还比较少。如果能够进一步阐明自噬在肿瘤发生发展过程中的机制, 再与改进的临床研究相结合, 就能够进一步明确应该在哪些通路上影响自噬, 并且根据具体的患者、具体的肿瘤类型和阶段设计治疗方案来取得更好的临床效果。

6 总结与展望

自噬是一种广泛存在的重要生命现象, 贯穿于正常细胞生长发育和生理病理过程。自噬和肿瘤的关系是复杂的, 自噬可以在不同的肿瘤类型和肿瘤阶段中产生不同的影响。对细胞自噬的研究不仅具有理论意义, 而且也具有非常重要的临床应用价值。迄今为止, 临床试验主要使用 CQ 及其衍生物等溶酶体抑制剂, 更加有效的自噬抑制剂 (比如 Lys05) 也正在研发过程中^[67-70]。尽管初步结果令人兴奋, 但这些药物毕竟还是处于早期临床前研究中, 这些靶向自噬的药物的选择和使用剂量需要进一步的探索^[89]。

目前, 以 PD1/PD-L1 免疫检查点抑制剂为代表的免疫疗法成为当今肿瘤研究的热点。但不容忽视的是, 该方法仍然在许多方面存在局限性, 例如 PD1/PD-L1 免疫检查点抑制剂在 PD-L1 低表达的肿瘤患者身上疗效并不明显。不可否认的是, 众多类型的肿瘤细胞中都存在着异常的自噬, 并且自噬在许多方面影响着肿瘤细胞, 利用肿瘤细胞与正常细胞自噬的差异而设计合理的靶向自噬的治疗方案, 可能会成为未来肿瘤治疗的新方向。

[参 考 文 献]

- [1] Klionsky DJ. Autophagy: from phenomenology to molecular understanding in less than a decade. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2007, 8: 931-7
- [2] Hosokawa N, Hara T, Kaizuka T, et al. Nutrient-dependent mTORC1 association with the ULK1-Atg13-FIP200 complex required for autophagy. *Mol Biol Cell*, 2009, 20: 1981-91
- [3] Rybstein MD, Bravo-San Pedro JM, Kroemer G, et al. The autophagic network and cancer. *Nat Cell Biol*, 2018, 20: 243-51
- [4] Kamada Y, Funakoshi T, Shintani T, et al. Tor-mediated induction of autophagy via an Apg1 protein kinase complex. *J Cell Biol*, 2000, 150: 1507-13
- [5] Karabiyik C, Lee MJ, Rubinsztein DC. Autophagy impairment in Parkinson's disease. *Essays Biochem*, 2017, 61: 711-20
- [6] Levy JM, Towers CG, Thorburn A. Targeting autophagy in cancer. *Nat Rev Cancer*, 2017, 17: 528-42
- [7] Yu L, Chen Y, Tooze SA. Autophagy pathway: cellular and molecular mechanisms. *Autophagy*, 2018, 14: 207-15
- [8] Klionsky DJ, Abdelmohsen K, Abe A, et al. Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy (3rd edition). *Autophagy*, 2016, 12: 1-222
- [9] Amaravadi R, Kimmelman AC, White E. Recent insights into the function of autophagy in cancer. *Genes Dev*, 2016, 30: 1913-30
- [10] White E. Deconvoluting the context-dependent role for autophagy in cancer. *Nat Rev Cancer*, 2012, 12: 401-10
- [11] Levy JM, Thorburn A. Targeting autophagy during cancer therapy to improve clinical outcomes. *Pharmacol Ther*, 2011, 131: 130-41
- [12] Towers CG, Thorburn A. Therapeutic targeting of autophagy. *EBioMedicine*, 2016, 14: 15-23
- [13] Lock R, Roy S, Kenific CM, et al. Autophagy facilitates glycolysis during Ras-mediated oncogenic transformation. *Mol Biol Cell*, 2011, 22: 165-78
- [14] Degenhardt K, Mathew R, Beaudoin B, et al. Autophagy promotes tumor cell survival and restricts necrosis, inflammation, and tumorigenesis. *Cancer Cell*, 2006, 10: 51-64
- [15] Rebecca VW, Amaravadi RK. Emerging strategies to effectively target autophagy in cancer. *Oncogene*, 2016, 35: 1-11
- [16] Thorburn A, Thamm DH, Gustafson DL. Autophagy and cancer therapy. *Mol Pharmacol*, 2014, 85: 830-8
- [17] Kimmelman AC. The dynamic nature of autophagy in cancer. *Genes Dev*, 2011, 25: 1999-2010
- [18] White E. The role for autophagy in cancer. *J Clin Invest*, 2015, 125: 42-6
- [19] Rosenfeldt MT, O'Prey J, Morton JP, et al. p53 status determines the role of autophagy in pancreatic tumour development. *Nature*, 2013, 504: 296-300
- [20] Yang A, Kimmelman AC. Inhibition of autophagy attenuates pancreatic cancer growth independent of TP53/TRP53 status. *Autophagy*, 2014, 10: 1683-4
- [21] Karsli-Uzunbas G, Guo JY, Price S, et al. Autophagy is required for glucose homeostasis and lung tumor maintenance. *Cancer Discov*, 2014, 4: 914-27
- [22] Rao S, Tortola L, Perlot T, et al. A dual role for autophagy in a murine model of lung cancer. *Nat Commun*, 2014, 5:

- 3056
- [23] Strohecker AM, Guo JY, Karsli-Uzunbas G, et al. Autophagy sustains mitochondrial glutamine metabolism and growth of BrafV600E-driven lung tumors. *Cancer Discov*, 2013, 3: 1272-85
- [24] Strohecker AM, White E. Targeting mitochondrial metabolism by inhibiting autophagy in BRAF-driven cancers. *Cancer Discov*, 2014, 4: 766-72
- [25] Santanam U, Banach-Petrosky W, Abate-Shen C, et al. *Atg7* cooperates with *Pten* loss to drive prostate cancer tumor growth. *Genes Dev*, 2016, 30: 399-407
- [26] Xie X, Koh JY, Price S, et al. *Atg7* overcomes senescence and promotes growth of BrafV600E-driven melanoma. *Cancer Discov*, 2015, 5: 410-23
- [27] Gammoh N, Fraser J, Puente C, et al. Suppression of autophagy impedes glioblastoma development and induces senescence. *Autophagy*, 2016, 12: 1431-9
- [28] Huo Y, Cai H, Teplova I, et al. Autophagy opposes p53-mediated tumor barrier to facilitate tumorigenesis in a model of PALB2-associated hereditary breast cancer. *Cancer Discov*, 2013, 3: 894-907
- [29] Wei H, Wei S, Gan B, et al. Suppression of autophagy by FIP200 deletion inhibits mammary tumorigenesis. *Genes Dev*, 2011, 25: 1510-27
- [30] Mathew R, White E. Autophagy in tumorigenesis and energy metabolism: friend by day, foe by night. *Curr Opin Genet Dev*, 2011, 21: 113-9
- [31] Nyfeler B, Eng CH. Revisiting autophagy addiction of tumor cells. *Autophagy*, 2016, 12: 1206-7
- [32] Qu X, Yu J, Bhagat G, et al. Promotion of tumorigenesis by heterozygous disruption of the beclin 1 autophagy gene. *J Clin Invest*, 2003, 112: 1809-20
- [33] Yue Z, Jin S, Yang C, et al. Beclin 1, an autophagy gene essential for early embryonic development, is a haploinsufficient tumor suppressor. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100: 15077-82
- [34] Takamura A, Komatsu M, Hara T, et al. Autophagy-deficient mice develop multiple liver tumors. *Genes Dev*, 2011, 25: 795-800
- [35] Inami Y, Waguri S, Sakamoto A, et al. Persistent activation of Nrf2 through p62 in hepatocellular carcinoma cells. *J Cell Biol*, 2011, 193: 275-84
- [36] Pavlova NN, Thompson CB. The emerging hallmarks of cancer metabolism. *Cell Metab*, 2016, 23: 27-47
- [37] Vander Heiden MG, DeBerardinis RJ. Understanding the intersections between metabolism and cancer biology. *Cell*, 2017, 168: 657-69
- [38] Vander Heiden MG, Cantley LC, Thompson CB. Understanding the Warburg effect: the metabolic requirements of cell proliferation. *Science*, 2009, 324: 1029-33
- [39] Weinberg SE, Chandel NS. Targeting mitochondria metabolism for cancer therapy. *Nat Chem Biol*, 2015, 11: 9-15
- [40] Kishton RJ, Rathmell JC. Novel therapeutic targets of tumor metabolism. *Cancer J*, 2015, 21: 62-9
- [41] Ross SJ, Critchlow SE. Emerging approaches to target tumor metabolism. *Curr Opin Pharmacol*, 2014, 17: 22-9
- [42] Vander Heiden MG. Targeting cancer metabolism: a therapeutic window opens. *Nat Rev Drug Discov*, 2011, 10: 671-84
- [43] Rabinowitz JD, White E. Autophagy and metabolism. *Science*, 2010, 330: 1344-8
- [44] Karvela M, Baquero P, Kuntz EM, et al. ATG7 regulates energy metabolism, differentiation and survival of Philadelphia-chromosome-positive cells. *Autophagy*, 2016, 12: 936-48
- [45] Perera RM, Stoykova S, Nicolay BN, et al. Transcriptional control of autophagy-lysosome function drives pancreatic cancer metabolism. *Nature*, 2015, 524: 361-5
- [46] Guo JY, Karsli-Uzunbas G, Mathew R, et al. Autophagy suppresses progression of K-ras-induced lung tumors to oncocytomas and maintains lipid homeostasis. *Genes Dev*, 2013, 27: 1447-61
- [47] Guo JY, Teng X, Laddha SV, et al. Autophagy provides metabolic substrates to maintain energy charge and nucleotide pools in Ras-driven lung cancer cells. *Genes Dev*, 2016, 30: 1704-17
- [48] Ma XH, Piao SF, Dey S, et al. Targeting ER stress-induced autophagy overcomes BRAF inhibitor resistance in melanoma. *J Clin Invest*, 2014, 124: 1406-17
- [49] Levy JM, Thompson JC, Griesinger AM, et al. Autophagy inhibition improves chemosensitivity in BRAF(V600E) brain tumors. *Cancer Discov*, 2014, 4: 773-80
- [50] Kang M, Lee KH, Lee HS, et al. Concurrent autophagy inhibition overcomes the resistance of epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors in human bladder cancer cells. *Int J Mol Sci*, 2017, 18: 321
- [51] Wang W, Kang H, Zhao Y, et al. Targeting autophagy sensitizes BRAF-mutant thyroid cancer to vemurafenib. *J Clin Endocrinol Metab*, 2017, 102: 634-43
- [52] Zou Y, Ling YH, Sironi J, et al. The autophagy inhibitor chloroquine overcomes the innate resistance of wild-type EGFR non-small-cell lung cancer cells to erlotinib. *J Thorac Oncol*, 2013, 8: 693-702
- [53] Ji C, Zhang L, Cheng Y, et al. Induction of autophagy contributes to crizotinib resistance in ALK-positive lung cancer. *Cancer Biol Ther*, 2014, 15: 570-7
- [54] Zhang SF, Wang XY, Fu ZQ, et al. TXNDC17 promotes paclitaxel resistance via inducing autophagy in ovarian cancer. *Autophagy*, 2015, 11: 225-38
- [55] Wang J, Wu GS. Role of autophagy in cisplatin resistance in ovarian cancer cells. *J Biol Chem*, 2014, 289: 17163-73
- [56] Yu L, Gu C, Zhong D, et al. Induction of autophagy counteracts the anticancer effect of cisplatin in human esophageal cancer cells with acquired drug resistance. *Cancer Lett*, 2014, 355: 34-45
- [57] Mahoney E, Lucas DM, Gupta SV, et al. ER stress and autophagy: new discoveries in the mechanism of action and drug resistance of the cyclin-dependent kinase inhibitor flavopiridol. *Blood*, 2012, 120: 1262-73
- [58] Li ZY, Zhang C, Zhang Y, et al. A novel HDAC6 inhibitor Tubastatin A: controls HDAC6-p97/VCP-mediated ubiquitination-autophagy turnover and reverses Temozolomide-

- induced ER stress-tolerance in GBM cells. *Cancer Lett*, 2017, 391: 89-99
- [59] Herzig S, Shaw RJ. AMPK: guardian of metabolism and mitochondrial homeostasis. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2018, 19: 121-35
- [60] Piraud M, Vianey-Saban C, Petritis K, et al. ESI-MS/MS analysis of underivatized amino acids: a new tool for the diagnosis of inherited disorders of amino acid metabolism. Fragmentation study of 79 molecules of biological interest in positive and negative ionisation mode. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2003, 17: 1297-311
- [61] Dai C, Sampson SB. HSF1: guardian of proteostasis in cancer. *Trends Cell Biol*, 2016, 26: 17-28
- [62] Desai S, Liu Z, Yao J, et al. Heat shock factor 1 (HSF1) controls chemoresistance and autophagy through transcriptional regulation of autophagy-related protein 7 (ATG7). *J Biol Chem*, 2013, 288: 9165-76
- [63] Cheng P, Ni Z, Dai X, et al. The novel BH-3 mimetic apogossypolone induces Beclin-1- and ROS-mediated autophagy in human hepatocellular carcinoma cells [corrected]. *Cell Death Dis*, 2013, 4: e489
- [64] 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 Radic Biol Med*, 2012, 52: 377-91
- [65] Li L, Ishdorj G, Gibson SB. Reactive oxygen species regulation of autophagy in cancer: implications for cancer treatment. *Free Radic Biol Med*, 2012, 53: 1399-410
- [66] Mulcahy Levy JM, Zahedi S, Griesinger AM, et al. Autophagy inhibition overcomes multiple mechanisms of resistance to BRAF inhibition in brain tumors. *Elife*, 2017, 6: e19671
- [67] McAfee Q, Zhang Z, Samanta A, et al. Autophagy inhibitor Lys05 has single-agent antitumor activity and reproduces the phenotype of a genetic autophagy deficiency. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109: 8253-8
- [68] Egan DF, Chun MG, Vamos M, et al. Small molecule inhibition of the autophagy kinase ULK1 and identification of ULK1 substrates. *Mol Cell*, 2015, 59: 285-97
- [69] Petherick KJ, Conway OJ, Mpamhanga C, et al. Pharmacological inhibition of ULK1 kinase blocks mammalian target of rapamycin (mTOR)-dependent autophagy. *J Biol Chem*, 2015, 290: 11376-83
- [70] Akin D, Wang SK, Habibzadegah-Tari P, et al. A novel ATG4B antagonist inhibits autophagy and has a negative impact on osteosarcoma tumors. *Autophagy*, 2014, 10: 2021-35
- [71] Yang YP, Hu LF, Zheng HF, et al. Application and interpretation of current autophagy inhibitors and activators. *Acta Pharmacol Sin*, 2013, 34: 625-35
- [72] Maycotte P, Aryal S, Cummings CT, et al. Chloroquine sensitizes breast cancer cells to chemotherapy independent of autophagy. *Autophagy*, 2012, 8: 200-12
- [73] Briceno E, Reyes S, Sotelo J. Therapy of glioblastoma multiforme improved by the antimutagenic chloroquine. *Neurosurg Focus*, 2003, 14: e3
- [74] Eldredge HB, Denittis A, Duhadaway JB, et al. Concurrent whole brain radiotherapy and short-course chloroquine in patients with brain metastases: a pilot trial. *J Radiat Oncol*, 2013, 2
- [75] Rojas-Puentes LL, Gonzalez-Pinedo M, Crismatt A, et al. Phase II randomized, double-blind, placebo-controlled study of whole-brain irradiation with concomitant chloroquine for brain metastases. *Radiat Oncol*, 2013, 8: 209
- [76] Barnard RA, Wittenburg LA, Amaravadi RK, et al. Phase I clinical trial and pharmacodynamic evaluation of combination hydroxychloroquine and doxorubicin treatment in pet dogs treated for spontaneously occurring lymphoma. *Autophagy*, 2014, 10: 1415-25
- [77] Mahalingam D, Mita M, Sarantopoulos J, et al. Combined autophagy and HDAC inhibition: a phase I safety, tolerability, pharmacokinetic, and pharmacodynamic analysis of hydroxychloroquine in combination with the HDAC inhibitor vorinostat in patients with advanced solid tumors. *Autophagy*, 2014, 10: 1403-14
- [78] Rangwala R, Chang YC, Hu J, et al. Combined MTOR and autophagy inhibition: phase I trial of hydroxychloroquine and temsirolimus in patients with advanced solid tumors and melanoma. *Autophagy*, 2014, 10: 1391-402
- [79] Rangwala R, Leone R, Chang YC, et al. Phase I trial of hydroxychloroquine with dose-intense temozolomide in patients with advanced solid tumors and melanoma. *Autophagy*, 2014, 10: 1369-79
- [80] Rosenfeld MR, Ye X, Supko JG, et al. A phase I/II trial of hydroxychloroquine in conjunction with radiation therapy and concurrent and adjuvant temozolomide in patients with newly diagnosed glioblastoma multiforme. *Autophagy*, 2014, 10: 1359-68
- [81] Vogl DT, Stadtmauer EA, Tan KS, et al. Combined autophagy and proteasome inhibition: a phase I trial of hydroxychloroquine and bortezomib in patients with relapsed/refractory myeloma. *Autophagy*, 2014, 10: 1380-90
- [82] Wolpin BM, Rubinson DA, Wang X, et al. Phase II and pharmacodynamic study of autophagy inhibition using hydroxychloroquine in patients with metastatic pancreatic adenocarcinoma. *Oncologist*, 2014, 19: 637-8
- [83] Sotelo J, Briceno E, Lopez-Gonzalez MA. Adding chloroquine to conventional treatment for glioblastoma multiforme: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Ann Intern Med*, 2006, 144: 337-43
- [84] Goldberg SB, Supko JG, Neal JW, et al. A phase I study of erlotinib and hydroxychloroquine in advanced non-small-cell lung cancer. *J Thorac Oncol*, 2012, 7: 1602-8
- [85] Bilger A, Bittner MI, Grosu AL, et al. FET-PET-based reirradiation and chloroquine in patients with recurrent glioblastoma: first tolerability and feasibility results. *Strahlenther Onkol*, 2014, 190: 957-61
- [86] Chi KH, Ko HL, Yang KL, et al. Addition of rapamycin and hydroxychloroquine to metronomic chemotherapy as a second line treatment results in high salvage rates for refractory metastatic solid tumors: a pilot safety and effectiveness analysis in a small patient cohort. *Oncotarget*,

- 2015, 6: 16735-45
- [87] Chi MS, Lee CY, Huang SC, et al. Double autophagy modulators reduce 2-deoxyglucose uptake in sarcoma patients. *Oncotarget*, 2015, 6: 29808-17
- [88] Boone BA, Bahary N, Zureikat AH, et al. Safety and biologic response of pre-operative autophagy inhibition in combination with gemcitabine in patients with pancreatic adenocarcinoma. *Ann Surg Oncol*, 2015, 22: 4402-10
- [89] Pasquier B. Autophagy inhibitors. *Cell Mol Life Sci*, 2016, 73: 985-1001