

DOI: 10.13376/j.cblls/2019029

文章编号: 1004-0374(2019)02-0195-06

细胞自噬与非小细胞肺癌的研究进展

何 艳, 郑立敏, 龚雪巍, 盛德乔*

(三峡大学医学院, 肿瘤微环境与免疫治疗湖北省重点实验室, 宜昌 443002)

摘要: 自噬不仅与 NSCLC 的增殖、侵袭及转移密切相关, 而且在抗肿瘤药物介导的细胞死亡中发挥重要作用, 因此, 研发以自噬为靶点的药物可能是人类疾病治疗应用的新趋势。多种信号通路参与了细胞自噬的调控, 明确细胞自噬的调控机制能为 NSCLC 的靶向治疗提供新思路。

关键词: 自噬; NSCLC; 自噬相关基因; mTOR; 治疗

中图分类号: R734.2 **文献标志码:** A

Progress in the study of autophagy and non-small lung cancer

HE Yan, ZHENG Li-Min, GONG Xue-Wei, SHENG De-Qiao*

(Hubei Key Laboratory of Tumor Microenvironment and Immunotherapy,
College of Medical Science of China Three Gorges University, Yichang 443002, China)

Abstract: Autophagy is not only closely related to proliferation, invasion and metastasis of NSCLC, but also plays an important role in anti-tumor drug-mediated cell death. Thus, the development of drugs targeting autophagy may be a new trend in the treatment of human diseases. Various signaling pathways have been involved in the regulation of autophagy, and clarifying regulation mechanism of cell autophagy can provide new ideas for targeted therapy of NSCLC.

Key words: autophagy; non-small cell lung cancer; autophagy related gene; mammalian target of rapamycin; therapy

肺癌是全球最常见的癌症死亡原因之一^[1], 大多数为非小细胞肺癌 (non-small cell lung cancer, NSCLC), 约占肺癌发病率的 85%^[2]。NSCLC 的治疗方法有化疗、放疗、外科手术治疗等, 但肺癌患者的 5 年生存率仍无明显改善。自噬 (autophagy) 是指在细胞内形成双层膜结构, 包裹部分细胞质和需降解的细胞器、蛋白质等成分形成自噬体 (autophagosome), 并与溶酶体融合形成自噬溶酶体 (autophagolysosome), 降解其包裹的内容物的过程。自噬的调节与 NSCLC 的发生发展和侵袭转移密切相关。因此, 深入研究自噬与 NSCLC 发生发展的关系及其调控机制, 可为 NSCLC 临床治疗靶点的研究提供新思路。本文就细胞自噬在 NSCLC 中的作用及治疗等研究作一综述。

1 自噬的定义及主要调控因子

1.1 自噬的定义

自噬是真核生物中一个进化上高度保守的过

程, 用于降解和回收利用细胞内生物大分子和受损细胞器。自噬相关基因 (autophagy related gene, ATG) 由大隅良典最先在酵母中发现^[3], 目前已发现了 41 种^[4]。它们参与了自噬的诱导、起始、自噬膜的延长和成熟降解阶段。目前将自噬分为 3 类: 巨自噬 (macroautophagy)、微自噬 (microautophagy)、分子伴侣介导的自噬 (chaperon mediated autophagy, CMA), 通常所说的自噬是指巨自噬^[5-6]。

1.2 自噬的主要调控因子

1.2.1 mTOR

哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of

收稿日期: 2018-07-07; 修回日期: 2018-08-25

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(81172788);

湖北省高等学校优秀中青年科技创新团队计划(T201203);

肿瘤微环境与免疫治疗湖北省重点实验室(三峡大学)

开放基金课题(2015KZL07, 2017KZL06)

*通信作者: E-mail: shengdq@ctqu.edu.cn

rapamycin, mTOR) 是细胞生长和代谢的重要调节因子。mTOR 包括 mTORC1 和 mTORC2 两种复合物,前者对雷帕霉素更敏感,它通过磷酸化 Atg1/ULK1 (在酵母中命名为 Atg1,其哺乳动物同源蛋白命名为 ULK1) 复合物,从而抑制自噬。因此,对 mTORC1 活性的调节是自噬调节的重要部分。

mTORC1 对自噬的抑制作用依赖于细胞的营养状况。营养充足条件下,细胞内氨基酸及活化的表皮细胞生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR) 可以激活 I 型 PI3K 及 AKT, AKT 抑制结节性硬化复合物 (tuberous sclerosis complex, TSC) 的稳定性,使 Rheb 处于活化状态,从而激活 mTORC1。mTORC1 通过磷酸化 ULK1 (Unc-51 like autophagy activating kinase 1), 抑制 ULK 复合物的活性,抑制自噬^[7-8]。Saleiro 等^[9]研究表明, mTORC1 能激活 ULK1 活性。营养缺乏时,腺苷酸活化蛋白激酶 (AMP-activated protein kinase, AMPK) 可以抑制 mTORC1 而激活 ULK1,活化后的 ULK1 通过磷酸化 Vps34 复合体 I (Vps34-Beclin 1-Atg14) 激活脂质激酶 Vps34,产生磷脂酰肌醇三磷酸 (PIP3),促进自噬小体形成,诱导自噬的发生^[10-12]。

1.2.2 ULK1

哺乳动物有 2 个酵母自噬启动 ATG1 激酶同源蛋白,即 ULK1/2,统称为 ULK 激酶。ULK1 是 mTORC1 的底物,它有促进自噬的作用,其活性受 mTORC1 的磷酸化调节。在哺乳动物中,ULK1 可形成起始复合物 ULK1-Atg13-FIP200,对自噬的起始起调节作用。

1.2.3 AMPK

AMPK 是 AMP 依赖的蛋白激酶,它能调节细胞内的能量代谢。AMP/ATP 比值升高可以激活 LKB1-AMPK 通路,刺激分解代谢过程,为 ATP 的合成提供原料。AMPK 通过抑制 mTORC1 成分 Raptor 和激活 mTORC1 抑制因子 TSC2 来抑制 mTOR 活性,间接激活自噬^[13]。然而,当缺乏 mTORC1 抑制剂时,AMPK 可激活 ULK1。此外,钙通道通过 CAMKK2 介导 AMPK 磷酸化作用促进自噬^[14]。

1.2.4 Beclin-1

Beclin-1 为自噬激活因子,与 Bcl-2 结合后,其活性被 Bcl-2 蛋白家族抑制,抑制了自噬的发生。饥饿时,激活的 JNK1 可磷酸化 Bcl-2,干扰了 Bcl-2 和 Beclin-1 的相互作用,游离的 Beclin-1 与 Vps34 形成 Beclin-1-Vps34-Vps15 自噬复合物,诱

导自噬。此外, JNK 还能通过磷酸化 c-Jun 增强 Beclin-1 的表达进而促进自噬过程。未活化的 EGFR 在 SEC5 作用下与 Rubicon 结合,降低 Rubicon 与 Beclin-1 结合能力,促进 Beclin-1 与 Vps34 形成自噬复合物,促进自噬;活化的 EGFR 则磷酸化 Beclin-1,抑制自噬发生^[15]。AMBRA1 (activating molecule in BECN1-regulated autophagy protein 1) 是 Beclin-1 复合体的组成部分,ULK1 可激活其活性,而 mTORC1 抑制其活性^[16]。

1.2.5 PI3K

在哺乳动物细胞中,PI3K 分为 3 型, I 型 PI3K 和 III 型 PI3K (hVps34) 参与了细胞自噬调控过程。EGFR 激活 I 型 PI3K,进一步使 AKT 活化,AKT 抑制 TSC 活性,从而激活 mTORC1,抑制自噬。在正常组织中,RAS 通过激活 I 型 PI3K 抑制自噬发生,而 III 型 PI3K (hVps34) 通过 Beclin-1 结合 Atg14L 形成复合物,生成 3-磷酸磷脂酰肌醇 (PI3P),启动自噬体的形成,促进自噬。

mTOR、ULK1、AMPK 等多种调控因子参与自噬发生发展,并在其中发挥着重要作用。尽管自噬调控机制目前仍未完全清楚,但对自噬及其机制的深入研究,为揭示自噬在疾病发生中的作用及寻找新的治疗靶点奠定了基础。

2 自噬与肿瘤

2.1 自噬与肿瘤发生

自噬在肿瘤细胞中具有多重作用。自噬通过清除异常蛋白质及受损的细胞器,防止活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 介导的 DNA 损伤,维持基因组完整性;自噬能诱导肿瘤细胞发生程序性死亡,抑制肿瘤的生长;当肿瘤细胞缺乏营养物质时,细胞可以通过自噬降解蛋白质和细胞器,为肿瘤细胞生长提供所需的氨基酸、核苷酸等营养物质,维持肿瘤细胞的生存及更新,促进肿瘤细胞生长。

2.1.1 细胞自噬对肿瘤的抑制作用

自噬最初是在研究酵母菌应对饥饿环境时发现的,酵母菌通过自噬维持氨基酸水平和上调线粒体功能来支持饥饿条件下酵母细胞的存活。自噬的缺失或受抑制可导致多种肿瘤的发生。Beclin-1 是自噬中的关键调节蛋白, Liang 等^[17]研究发现,将大鼠的 Beclin-1 基因敲除后,大鼠的自噬能力明显降低,从而诱导了一系列自发性肿瘤; Beclin-1 基因的缺失导致的自噬能力下降是肿瘤发生的重要原因,证实了 Beclin-1 是肿瘤抑制基因。Yue 等^[18]研

究发现, *Beclin-1* 基因单倍体缺失的小鼠, 其患淋巴瘤、肺癌和肝癌等恶性肿瘤的可能性明显高于正常小鼠。White^[19] 发现, 在 *Beclin-1* 缺陷的小鼠体内, 永生化的乳腺上皮细胞具有更强的成瘤性。p62 是自噬体膜上识别受损的生物大分子或细胞器的受体分子, *Beclin-1* 等位基因缺失能引起 p62 的积累并最终导致肿瘤的发生^[20]。自噬则能消除过量累积的 p62, 抑制肿瘤的形成^[21]。

此外, 自噬能维持细胞内染色体的稳定, 防止癌基因激活, 预防肿瘤的发生。在应激条件下, 细胞内线粒体损伤, 可导致 ROS 的积累, 造成 DNA 损伤, 自噬能清除细胞内损伤的线粒体, 抑制 ROS 的产生。

2.1.2 细胞自噬促进肿瘤的进展

失巢凋亡是一种程序性细胞死亡形式, 而自噬与抗失巢凋亡有关。当肿瘤细胞脱离细胞外基质, 产生的代谢压力会诱发细胞自噬, 促进肿瘤细胞进入休眠状态, 使肿瘤细胞在恶劣的条件下仍能存活^[22]。在卵巢癌和消化道间质瘤的转移肿瘤细胞中, 肿瘤抑制基因 ARH I (aplasia ras homolog member I) 激活自噬, 从而促进肿瘤细胞休眠, 当 ARH I 的表达水平下降, 休眠的肿瘤细胞则恢复增殖潜能并迅速生长^[23]。肿瘤细胞处于高代谢状态, 营养供应相对不足, 细胞自噬活性增强可为肿瘤细胞的生长补充原料及营养, 对肿瘤细胞产生保护作用。当营养不足时, 肿瘤细胞激活突变的 K-Ras 或 H-Ras, 上调自噬的活性以维持其自身的氧化代谢活动^[24]。这些研究表明, 在肿瘤发生的晚期, 细胞自噬可促进肿瘤细胞的存活。

2.2 自噬与 NSCLC

目前, 在以小鼠为模型的研究中, 由致癌的 KRAS 和突变的 BRAF 诱发的 NSCLC 的起始和进展被用来研究疾病的分子机理^[25]。Guo 等^[24,26] 的研究表明, 在 RAS 突变的肺癌细胞中, 自噬水平明显高于正常细胞, 表明肺癌细胞存在自噬。他们的研究也表明, 在自噬功能受损的 NSCLC 细胞中积累了形态学异常的线粒体, 这说明完整的线粒体功能对 NSCLC 的生长至关重要。同样, Strohecker 等^[27] 发现, 在 BRAF 诱发肺癌的小鼠模型中, Atg7 的缺失也导致了功能失调的线粒体的累积, 并最终限制了肿瘤的生长。Guo 等^[24] 研究还表明, 由于脂肪酸的呼吸作用和氧化作用, 肿瘤有积累脂质的倾向, 更容易饿死。为了解自噬促进 NSCLC 生长和进展的确切机制, 实验还证明了, 在缺乏

Atg7 的 KRAS 或 BRAF 所诱发的 NSCLC 中, 谷氨酰胺的加入挽救了肿瘤的进展, 表明自噬为三羧酸循环提供了所需的氨基酸^[24,26]。

有研究发现, 神经营养因子受体相关的黑色素瘤抗原基因同源物 (neurotrophin receptor-interacting melanoma antigen-encoding gene homolog, NRAGE) 在肺癌细胞中过度表达。Zhou 等^[28] 研究表明, 在 A549 及 H1299 肺癌细胞中, 沉默 NRAGE 能激活 AMPK-ULK1-Atg13 自噬通路而增强自噬, 从而抑制肺癌细胞增殖。在肺腺癌细胞中, Src 酪氨酸激酶抑制剂 (Src-tyrosine kinase inhibitor, Src-TKI) 通过下调 miR-106a 表达, 上调自噬激酶 ULK1 表达, 诱导自噬的发生, 增强了肺腺癌细胞对 Src-TKIs 的敏感性, 导致癌细胞死亡^[29]。肿瘤抑制因子 PTEN 抑制 PI3K/AKT 通路, 酪蛋白激酶 1 α (casein kinase 1 α , CK1 α) 通过提高 PTEN 的稳定性和活性并诱导自噬来抑制 NSCLC 的生长^[30]。以上实验证明了自噬对 NSCLC 的抑制作用。

自噬对 NSCLC 也有促进作用。在厄洛替尼耐药的 NSCLC 中发现存在 RAF1 拷贝数增加或 N-RAS 突变, 它们可以通过 RAS/RAF/MEK/ERK 1/2 途径促进自噬发生^[31]。MiR-18a-5p 在 NSCLC 组织和细胞株中显著高表达, 进一步研究发现它可通过抑制干扰素调节因子 2 促进 NSCLC 的发生。MiR-18a-5p 不仅能促进 NSCLC 细胞的增殖、迁移, 抑制凋亡, 而且其过表达能增强自噬^[32]。另外, Ye 等^[33] 研究证实, miR-138 在肺癌组织中表达明显降低, 且与肺癌的分化程度和淋巴结转移呈负相关; 体外实验结果显示, miR-138 抑制了肺癌细胞的增殖、侵袭和迁移, 其机制之一是通过下调 Sirt1 的表达, 抑制上皮间质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) 及 AMPK-mTOR 信号转导通路, 从而抑制 NSCLC 细胞的自噬, 进而抑制 NSCLC 细胞的增殖、侵袭及转移。

铂类在 NSCLC 化疗中仍处于主导地位, 铂类联合新化疗药是目前治疗晚期 NSCLC 的首选方案。Mi 等^[34] 研究表明, 抑制自噬能使对顺铂耐药的 NSCLC 恢复药物敏感性。miR-146-5p 则可通过下调 Atg12 来抑制自噬, 从而增加 NSCLC 对顺铂的化学敏感性^[35]。2016 年, Zarogoulidis 等^[36] 研究发现, 自噬机制对免疫机制相关的药物抗性有显著的贡献。自噬抑制在晚期转移性肺癌组织中会引发 CD4⁺、Foxp3⁺ 肿瘤浸润淋巴细胞的上调, 而且自噬阻断可诱导对卡铂的化学增敏、免疫激活和细胞

周期阻滞^[36]。此外,放疗抵抗也是影响 NSCLC 疗效的因素之一。有研究表明, Beclin-1 和 LC3-II 在 NSCLC 的放疗抵抗细胞中被上调,这表明自噬的增强可能与癌细胞的放疗抵抗有关。同样, Chen 等^[37]研究也表明,在低氧条件下,自噬通过减少 ROS 从而增强细胞的放疗抵抗性。

3 以自噬为靶点的药物在NSCLC治疗中的应用

自噬与各种基本细胞过程密切相关。自噬在抗肿瘤药物介导的细胞死亡中发挥重要作用,因此,自噬可能是肿瘤治疗的一种新策略。

3.1 雷帕霉素及其衍生物

mTORC1 在自噬通路中占有重要地位,因此通过抑制 mTORC1 促进自噬,诱导细胞走向死亡程序,是抗肿瘤药物研究的方向之一。最经典的自噬相关药物雷帕霉素的作用靶点即为 mTORC1。目前用于临床研究的促自噬剂有雷帕霉素 (rapamycin, RAPA) 及其衍生物 RAD001、依维莫司 (everolimus)、西罗莫司 (sirolimus)。雷帕霉素是一种新型大环内酯类免疫抑制剂,它通过抑制 mTORC1 促进细胞自噬,对 NSCLC 肿瘤细胞具有抑制作用。雷帕霉素的免疫抑制作用已在临床上应用,它能有助于抗癌及防止器官移植排斥反应^[38]。雷帕霉素处理能有效抑制 A549 小鼠肺癌生长并提高小鼠存活率^[39] (表 1)。

3.2 表皮生长因子受体酪氨酸激酶抑制剂

表皮生长因子受体酪氨酸激酶抑制剂 (epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors, EGFR-TKIs) 有厄洛替尼 (erlotinib)、吉非替尼 (gefitinib)、埃克替尼 (icotinib)、阿法替尼 (afatinib)、AZD9291 等。EGFR-TKIs 靶向治疗曾对 EGFR 突变敏感型 NSCLC 具有显著治疗效果,但也出现了耐药性。ATG5 和 Beclin-1 是与自噬有关的基因,当敲除 ATG5 或 Beclin-1 基因后,细胞对厄洛替尼的敏感

性显著增加^[40]。Liu 等^[41]发现,吉非替尼与顺铂联合用药不能增强对 NSCLC 的杀伤作用,而加入自噬抑制剂后,可明显促进细胞凋亡,表明自噬参与了对癌细胞的保护作用。因此,自噬抑制剂与靶向药物联合应用,通过抑制自噬来克服 EGFR-TKIs 的耐药性,可增强药物对肿瘤的杀伤作用。在 NSCLC 患者中,EGFR 的突变可能与程序性死亡配体 1 (programmed death ligand-1, PD-L1) 的高表达有关, Jiang 等^[42]研究证明第三代 EGFR-TKI 抑制剂 AZD9291 在体外培养的 EGFR 突变的 NSCLC 细胞中下调了 PD-L1 的表达,从而在 EGFR 突变的 NSCLC 患者的肿瘤微环境中重新激活 T 细胞的免疫活性。

自噬在 NSCLC 的 EGFR-TKIs 靶向治疗过程中扮演了“双刃剑”角色。由于自噬能诱导肿瘤细胞发生程序性死亡,有研究将 EGFR-TKIs 与自噬促进剂联合使用,能提高 EGFR-TKIs 敏感性。NSCLC 细胞系 H1299 由于缺乏抑癌基因 p53 且过量表达野生型 EGFR,其对 EGFR-TKIs 敏感性较差;将厄洛替尼和雷帕霉素联合使用,克服了因缺乏 p53 而导致的对 EGFR-TKIs 的耐药性,明显增加细胞对厄洛替尼的敏感性,促进 EGFR-TKIs 类药物对 NSCLC 的杀伤作用。

3.3 PI3K抑制剂

PI3K 是理想的治疗靶点,但在目前的临床研究中,单独使用 PI3K 抑制剂治疗肿瘤尚未达到预期目的,将 PI3K 抑制剂与其他药物联合应用,取得了一定的临床疗效。

NVP-BEZ235 是一种 PI3K 抑制剂,对乳腺癌、肾细胞癌和前列腺癌的治疗已进入临床试验。NVP-BEZ235 通过抑制 NVP/mTOR 通路,抑制了抗凋亡因子 MCL-1 的表达,促进了促凋亡因子 Bim 的激活^[43]。有证据表明,将 NVP-BEZ235 与 AZD6244 (MEK 抑制剂) 联合使用,诱导了 Bim 的表达,从而促进了 NSCLC 细胞凋亡。NVP-BEZ235 联合 STAT3 抑

表1 以自噬为靶点的药物在NSCLC治疗中的研究

药物	作用机制	模型	文献
帕雷霉素	mTOR	A549细胞株+鼠模型	39
氯喹+吉非替尼	溶酶体抑制剂+EGFR-TKIs	PC9细胞株	41
AZD9291	EGFR-TKIs	NSCLC细胞株	42
NVP-BEZ235	PI3K抑制剂	A549、H460细胞株	44
BYL719	PI3K抑制剂	NSCLC细胞株	46
硫化舒林酸酰胺	AKT抑制剂	A549、H1299、HOP-62	47
藤黄素	抑制AKT/mTOR通路	A549、NCI-H460	48
姜黄素	抑制mTOR/PI3K/AKT通路	A549、H1299	49-50

制剂, 通过增加一种内质网压力蛋白 CHOP (C/EBP homologous protein) 的表达, 使 NSCLC 细胞对凋亡更敏感^[44]。此外, NVP-BEZ235 通过对其促凋亡作用来调节自身的自噬, 将它与自噬抑制剂氯喹结合在一起, 对肺癌细胞有更强的抑制作用^[45]。BYL719 是亚型特异性 PI3K 抑制剂, 将其与色瑞替尼 (ALK 抑制剂) 联用, 可以逆转体外培养的 NSCLC 细胞株对色瑞替尼的耐药^[46]。

3.4 其他与自噬相关的药物

AKT 抑制剂是自噬调节的一个重要靶点, AKT 抑制剂用于 NSCLC 治疗已进入临床研究阶段。自噬促进剂硫化舒林酸酰胺可抑制 AKT/mTOR 信号通路, 促进细胞自噬, 通过引起细胞自噬性死亡治疗 NSCLC^[47]。此外, 一些中草药制剂也被发现具有诱导自噬的活性并可用于肿瘤治疗。藤黄素 (Gambogic)^[48] 可通过抑制 AKT/mTOR 路径来诱导 A549 细胞的自噬; 将藤黄素与雷帕霉素联合使用可导致更多细胞死亡, 因此, 藤黄素可作为 NSCLC 患者的辅助治疗。另有研究表明, 姜黄素 (Gurcumin) 通过抑制 mTOR/PI3K/AKT 信号通路从而诱导肺癌细胞的自噬及凋亡^[49-50]。此外, He 等^[51] 研究显示, 重楼甙体皂苷 (paris polyphylla steroidal saponins, PPSS) 可在体外诱导 A549 细胞的凋亡和自噬, 提示 PPSS 具有成为抗肺癌药物的潜力。

4 展望

自噬是保守的细胞防御机制, 也是程序性细胞死亡机制, 对肿瘤进展具有双重作用。自噬与 NSCLC 的发生、发展及治疗密切相关。mTOR、ULK1、AMPK、Beclin、PIK3 等调控因子在自噬调节过程中起重要作用; 合理利用自噬效应可促进抗癌药物的敏感性, 或结合自噬相关信号通路以开发新的 NSCLC 靶向治疗药物。然而, 由于自噬在 NSCLC 中的作用机制是非常复杂的, 目前这一领域的研究仍然有限, 因此在开发新的抗肺癌药物的过程中, 仍有许多问题尚未解决, 一方面, 需明确自噬是否参与了抗癌药物作用于癌细胞的过程; 另一方面, 自噬在细胞微环境中的作用复杂, 如何在不影响其他细胞的情况下调节自噬, 是研究以自噬为靶点的药物在 NSCLC 治疗中亟待解决的问题。

参 考 文 献

- [1] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2018. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68: 7-30
- [2] Zhou C, Yao LD. Strategies to improve outcomes of patients with EGFR-mutant non-small cell lung cancer: review of the literature. *J Thorac Oncol*, 2016, 11: 174-86
- [3] Takeshige K, Baba M, Tsuboi S, et al. Autophagy in yeast demonstrated with proteinase-deficient mutants and conditions for its induction. *J Cell Biol*, 1992, 119: 301-11
- [4] Wen X, Klionsky DJ. An overview of macroautophagy in yeast. *J Mol Biol*, 2016, 428: 1681-99
- [5] Sahu R, Kaushik S, Clement CC, et al. Microautophagy of cytosolic proteins by late endosomes. *Dev Cell*, 2011, 20: 131-9
- [6] Patel AS, Morse D, Choi AM. Regulation and functional significance of autophagy in respiratory cell biology and disease. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2013, 48: 1-9
- [7] Wong PM, Puente C, Ganley IG, et al. The ULK1 complex: sensing nutrient signals for autophagy activation. *Autophagy*, 2013, 9: 124-37
- [8] Puente C, Hendrickson RC, Jiang X. Nutrient-regulated phosphorylation of ATG13 inhibits starvation-induced autophagy. *J Biol Chem*, 2016, 291: 6026-35
- [9] Saleiro D, Mehrotra S, Kroczyńska B, et al. Central role of ULK1 in type I interferon signaling. *Cell Rep*, 2015, 11: 605-17
- [10] Shimobayashi M, Hall MN. Making new contacts: the mTOR network in metabolism and signalling crosstalk. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2014, 15: 155-62
- [11] 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
- [12] Park JM, Jung CH, Seo M, et al. The ULK1 complex mediates MTORC1 signaling to the autophagy initiation machinery via binding and phosphorylating ATG14. *Autophagy*, 2016, 12: 547-64
- [13] Hardie DG. AMPK -- sensing energy while talking to other signaling pathways. *Cell Metab*, 2014, 20: 939-52
- [14] Hoyer-Hansen M, Bastholm L, Szyniarowski P, et al. Control of macroautophagy by calcium, calmodulin-dependent kinase kinase- β , and Bcl-2. *Mol Cell*, 2007, 25: 193-205
- [15] Wei Y, Zou Z, Becker N, et al. EGFR-mediated Beclin 1 phosphorylation in autophagy suppression, tumor progression, and tumor chemoresistance. *Cell*, 2013, 154: 1269-84
- [16] Nazio F, Strappazon F, Antonioli M, et al. mTOR inhibits autophagy by controlling ULK1 ubiquitylation, self-association and function through AMBRA1 and TRAF6. *Nat Cell Biol*, 2013, 15: 406-16
- [17] Liang XH, Jackson S, Seaman M, et al. Induction of autophagy and inhibition of tumorigenesis by beclin 1. *Nature*, 1999, 402: 672-6
- [18] Yue Z, Jin S, Yang C, et al. Beclin 1, an autophagy gene essential for early embryonic development, is a haplo-insufficient tumor suppressor. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100: 15077-82
- [19] White E. The role for autophagy in cancer. *J Clin Invest*, 2015, 125: 42-6
- [20] Mathew R, White E. Autophagy in tumorigenesis and

- energy metabolism: friend by day, foe by night. *Curr Opin Genet Dev*, 2011, 21: 113-9
- [21] Mathew R, Karp CM, Beaudoin B, et al. Autophagy suppresses tumorigenesis through elimination of p62. *Cell*, 2009, 137: 1062-75
- [22] Kenific CM, Thorburn A, Debnath J. Autophagy and metastasis: another double-edged sword. *Curr Opin Cell Biol*, 2010, 22: 241-5
- [23] Sosa MS, Bragado P, Debnath J, et al. Regulation of tumor cell dormancy by tissue microenvironments and autophagy. *Adv Exp Med Biol*, 2013, 734: 73-89
- [24] Guo JY, Chen HY, Mathew R, et al. Activated Ras requires autophagy to maintain oxidative metabolism and tumorigenesis. *Genes Dev*, 2011, 25: 460-70
- [25] Liu G, Pei F, Yang F, et al. Role of autophagy and apoptosis in non-small-cell lung cancer. *Int J Mol Sci*, 2017, 18: 367
- [26] 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
- [27] 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
- [28] Zhou Y, Huang N, Wu J, et al. Silencing of NRAGE induces autophagy via AMPK/Ulk1/Atg13 signaling pathway in NSCLC cells. *Tumour Biol*, 2017, 39: 1010428317709676
- [29] Rothschild SI, Gautschi O, Batliner J, et al. MicroRNA-106a targets autophagy and enhances sensitivity of lung cancer cells to Src inhibitors. *Lung Cancer*, 2017, 107: 73-83
- [30] Cai J, Li R, Xu X, et al. CK1 α suppresses lung tumour growth by stabilizing PTEN and inducing autophagy. *Nat Cell Biol*, 2018, 20: 465-78
- [31] Ramirez M, Rajaram S, Steininger RJ, et al. Diverse drug-resistance mechanisms can emerge from drug-tolerant cancer persister cells. *Nat Commun*, 2016, 7: 10690
- [32] Liang C, Zhang X, Wang HM, et al. MicroRNA-18a-5p functions as an oncogene by directly targeting IRF2 in lung cancer. *Cell Death Dis*, 2017, 8: e2764
- [33] Ye Z, Fang B, Pan J, et al. miR-138 suppresses the proliferation, metastasis and autophagy of non-small cell lung cancer by targeting Sirt1. *Oncol Rep*, 2017, 37: 3244-52
- [34] Mi S, Xiang G, Yuwen D, et al. Inhibition of autophagy by andrographolide resensitizes cisplatin-resistant non-small cell lung carcinoma cells via activation of the Akt/mTOR pathway. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2016, 310: 78-86
- [35] Yuwen DL, Sheng BB, Liu J, et al. MiR-146a-5p level in serum exosomes predicts therapeutic effect of cisplatin in non-small cell lung cancer. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2017, 21: 2650-8
- [36] Zarogoulidis P, Petanidis S, Domvri K, et al. Autophagy inhibition upregulates CD4⁺ tumor infiltrating lymphocyte expression via miR-155 regulation and TRAIL activation. *Mol Oncol*, 2016, 10: 1516-31
- [37] Chen X, Wang P, Guo F, et al. Autophagy enhanced the radioresistance of non-small cell lung cancer by regulating ROS level under hypoxia condition. *Int J Radiat Biol*, 2017, 93: 764-70
- [38] Porta C, Paglino C, Mosca A. Targeting PI3K/Akt/mTOR signaling in cancer. *Front Oncol*, 2014, 4: 64
- [39] Wang L, Wang R. Effect of rapamycin (RAPA) on the growth of lung cancer and its mechanism in mice with A549. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8: 9208-13
- [40] Li YY, Lam SK, Zheng CY, et al. The effect of tumor microenvironment on autophagy and sensitivity to targeted therapy in EGFR-mutated lung adenocarcinoma. *J Cancer*, 2015, 6: 382-6
- [41] Liu JT, Li WC, Gao S, et al. Autophagy inhibition overcomes the antagonistic effect between gefitinib and cisplatin in epidermal growth factor receptor mutant non-small-cell lung cancer cells. *Clin Lung Cancer*, 2015, 16: e55-66
- [42] Jiang XM, Xu YL, Huang MY, et al. Osimertinib (AZD9291) decreases programmed death ligand-1 in EGFR-mutated non-small cell lung cancer cells. *Acta Pharmacol Sin*, 2017, 38: 1512-20
- [43] Faber AC, Li D, Song Y, et al. Differential induction of apoptosis in HER2 and EGFR addicted cancers following PI3K inhibition. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106: 19503-8
- [44] Jin HO, Lee YH, Park JA, et al. Blockage of Stat3 enhances the sensitivity of NSCLC cells to PI3K/mTOR inhibition. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, 444: 502-8
- [45] Xu CX, Zhao L, Yue P, et al. Augmentation of NVP-BEZ235's anticancer activity against human lung cancer cells by blockage of autophagy. *Cancer Biol Ther*, 2011, 12: 549-55
- [46] Yip PY. Phosphatidylinositol 3-kinase-AKT-mammalian target of rapamycin (PI3K-Akt-mTOR) signaling pathway in non-small cell lung cancer. *Transl Lung Cancer Res*, 2015, 4: 165-76
- [47] Gurpinar E, Grizzle WE, Shacka JJ, et al. A novel sulindac derivative inhibits lung adenocarcinoma cell growth through suppression of Akt/mTOR signaling and induction of autophagy. *Mol Cancer Ther*, 2013, 12: 663-74
- [48] Zhao T, Wang HJ, Zhao WW, et al. Gambogic acid improves non-small cell lung cancer progression by inhibition of mTOR signaling pathway. *Kaohsiung J Med Sci*, 2017, 33: 543-9
- [49] Wang A, Wang J, Zhang S, et al. Curcumin inhibits the development of non-small cell lung cancer by inhibiting autophagy and apoptosis. *Exp Ther Med*, 2017, 14: 5075-80
- [50] Liu F, Gao S, Yang Y, et al. Antitumor activity of curcumin by modulation of apoptosis and autophagy in human lung cancer A549 cells through inhibiting PI3K/Akt/mTOR pathway. *Oncol Rep*, 2018, 39: 1523-31
- [51] He H, Sun YP, Zheng L, et al. Steroidal saponins from Paris polyphylla induce apoptotic cell death and autophagy in A549 human lung cancer cells. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2015, 16: 1169-73