

自噬与肾癌

赵江波 王晓民

摘 要 在真核细胞的生命进程中,自噬既可以清除、消灭外来有害物质,又被认为是一种与细胞自身密切相关的程序性死亡机制。自噬的功能为细胞的存活创造了稳定的环境,在营养缺乏状态下维持着细胞代谢平衡及在环境压力下去清除损伤的细胞器。近年来,自噬成为热点受到越来越多的关注,随着研究深入,自噬在抑制肿瘤细胞方面显示了作用。但是,自噬调控的复杂性,又使得它的作用不单一。肿瘤早期,对肿瘤细胞合成物质的降解,起到抑制肿瘤生长作用;进展期,在氧气不足,营养受限等条件下,肿瘤细胞通过自噬降解作用,促进了自身的存活。调查数据显示,在男性泌尿系统恶性肿瘤中,肾癌的发生率逐年上升。近年来的研究表明,肾癌的发生和发展与自噬具有相关性。因此,本文就自噬在肾癌中的调控机制进行综述,以望为肾癌的治疗提供一些新的线索和途径。

关键词 自噬 肾癌治疗 细胞凋亡 细胞存活

中图分类号 R7

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2015.07.053

自噬 (autophagy) 是一种与细胞生存密切相关的表达。在细胞成长的早期,自噬现象的存在,为其提供充足的材料,清除不利物质;在细胞的晚期,自身凋亡又与自噬密切相关^[1]。自噬可以理解为程序性细胞死亡的一种表现。细胞凋亡的进一步了解,研究者于 1956 提出细胞程序性死亡概念。程序性细胞死亡不同于感染、炎症等带来的细胞非正常死亡,是个功能性概念^[2]。它是指多细胞生物细胞的死亡部分,在形成的时刻就已经预定好了,并且过程受到严格的控制。自噬性细胞死亡是一种正常细胞的功能,体内亚细胞成分和多余的蛋白质被溶酶体接受,进而降解,此过程是个复杂的催化过程,有人将其称为选择性的非 caspase 依赖的程序性细胞死亡。自噬按其现象主要分 3 种类型:微自噬 (microautophagy)、分子伴侣介导的自噬 (chaperone-mediated autophagy, CMA) 和巨自噬 (macroautophagy)。真核细胞中溶酶体膜经过本身形状的改变,来接近胞质中的底物进行包裹、吞噬,这种有效水解的过程被称为微自噬^[3];溶酶体表面有分子伴侣建立的特殊通道,细胞中可溶性的蛋白质可通过其进入溶酶体中被降解的过程的过程,被人称为分子伴侣介导的自噬^[4];第 3 类型巨自噬就是通常说的自噬,是指真核细胞胞质中具有双层结构的非溶酶体膜状物质,将长半衰期蛋白及外界或自身因

素而变性坏死的细胞器包裹,形成自噬泡,然后被溶酶体消化降解的过程^[5]。自噬不仅在细胞的自我平衡的维持中作用显著,而且同多种肿瘤抑制基因 (PTEN、PI₃K、Akt) 相互协同发挥作用。

一、自噬与肿瘤

自噬最早的理解来自希腊语——自我吞噬^[6]。Ashford 和 Porten 于 1962 借助电子显微镜对人肝细胞进行观察时,发现肝细胞内出现的复杂的分子变化过程,估计是人类第 1 次观察到的自噬现象。在这个过程中里由粗面内质网脱落构成膜的双层结构,这种结构在胞质内通过延伸的变化,接触细胞器及部分蛋白,形成自噬泡,与溶酶体相融诞生自噬溶酶体这种新的结构,自噬溶酶体会分解其内物质为细胞的生存提供原料及能量,实现细胞自身的更新^[7]。研究发现自噬与恶性肿瘤细胞对代谢变化压力的适应性反应密切相关^[8]。肿瘤进展的不同时期,自噬扮演不同角色。早期自噬起到抑制作用,晚期却起到促进肿瘤细胞生长的作用。肿瘤发生的早期,自噬受到抑制会导致蛋白合成量增加,进而肿瘤细胞持续增殖。研究人员利用基因技术将相关基因 Beclin 1 从小鼠身上敲除后,与正常小鼠比较,发现其多种癌症的发生率明显增高,这提示了在肿瘤发展的早期自噬对其具有一定的抑制作用^[9]。在肿瘤中心地带,细胞自噬作用加强,胞质内的细胞器及蛋白被降解,形成的氨基酸、核苷酸和脂肪酸等营养物质,进而被肿瘤细胞吸收,增强了自身的生存及侵袭能力^[10]。人体经过放射治疗后,肿瘤细胞会产生一些有害成分,如果提

作者单位:150001 哈尔滨医科大学附属第四医院泌尿外科

通讯作者:王晓民,教授,主任医师,硕士生导师,电子信箱:

825690757@qq.com

高了自噬活性就可以及时清除它们,并且降解所形成的底物及能量还可为其他生命活动供应应急,这就为修复受损细胞来赢得有利条件^[11]。研究发现抑制细胞自噬后,在乳腺癌、肾癌和结肠癌等细胞中可以观察到细胞凋亡增加。在肝癌的转移研究中发现,肝癌早期自噬能限制肿瘤中的坏死与炎症,从而间接抑制肝癌细胞的转移^[12]。而在后期,当肝癌细胞穿过血管或定居身体其他器官时,自噬会保护应激的肿瘤细胞,从而促进肝癌细胞的转移^[13]。由此可知,在肿瘤的进程中,自噬既有杀伤作用又有保护作用,随着研究的深入两者间的临界点会明显起来,这将是对抗肿瘤的新途径。

二、自噬在肾癌发生、发展中的作用

1. 自噬相关 Akt/mTOR 和 Beclin1 途径:PI₃K 介导的信号转导通路控制着细胞转录、蛋白翻译及血管生成等多种生命活动,此外也与细胞的周期调控密切相关。PI₃K 是 Akt/mTOR 通路的上游分子,它的异常激活能够诱导细胞的生长、增殖和转移及周围血管生成。所以,在肿瘤细胞的抑制、诱导、凋亡及逆转耐药性方面可以借助抑制 PI₃K 分子的激活来实现^[14]。而 mTOR 作为 PI₃K - Akt 下游的效应分子,可以抑制细胞内自噬的发生。由于 mTOR 激酶在自噬启动阶段起重要作用,所以可以通过细胞外的氨基酸通路来调节细胞的生长,借助 Akt - mTOR 途径调控细胞自噬^[15]。有关资料显示依据 PI₃K 结构、功能的多样性,可将其分为 3 种类型(I 型、II 型和 III 型)。至今为止只发现 I 型和 III 型的 PI₃K 参与了自噬的调节。有关人士在研究抑癌基因时,发现人类第 10 号染色体同自噬相关联,它的张力蛋白同源基因(phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten, PTEN)是自噬的正向调控因子,提高自噬活性可以通过降低 PI₃K 激酶的浓度,抑制 mTOR 的活化来实现,其功能的失常与肾癌的发生、发展密切相关^[16]。Soubrier 等^[17]引用 Western blot 法分析后发现,在 7 种人肾细胞癌(786 - 0、UOK - 126、UOK - 128、A498、ACHN、Caki - 1 和 Caki - 2)中,同正常肾组织相比 Akt 的 S473 和 T308 位点磷酸化增多使 Akt 表达出现上调,而 Akt 的表达与 PI₃K 的表达成正比,与 PTEN 的表达呈反比。Akio 等^[18]进行了一项观察研究,他们在 48 例肾癌患者当中,发现 18 例患者 Akt 表达明显增高,其升高幅度与肿瘤分级及转移呈正比,但是却与患者生存时间呈反比。在构成 III 型 PI₃K 信号通路中 Beclin 1 (Atg6 或 BECN1)蛋白发挥

重要作用。Beclin 1 是自噬体起始阶段所必须的成分之一,被广泛认为是一种肿瘤抑制因子,研究证实 Beclin 1 缺乏会严重影响自噬体的形成^[19]。如果敲除 Beclin 1 时,观察到自噬现象将被抑制,这样会使细胞更容易导致营养缺乏诱导的死亡。Beclin 1 蛋白还可以与 Beclin 2 相互作用,其在自噬诱发作用下被 Beclin 2 选择性地结合在内质网上,阻碍 VSP34 和 Beclin1 的结合从而抑制了自噬的发生^[20]。定位于细胞内质网、线粒体及核膜上的 Beclin 2 抑制细胞凋亡过程中位于 Beclin 2 氨基端的跨膜区发挥重要作用,所以杀灭特定的肿瘤可以通过抑制 Beclin 2 诱导自噬来实现,并且在耐受治疗肿瘤的研究中,有关 Beclin 2 过表达也起具有一定的指导作用。通过抑制内质网上 Beclin 1 和 Beclin 2 的相互作用,同时上调 Beclin 1 和下调 Beclin 2 激活自噬通路,促进自噬并抑制癌细胞生长,这可成为治疗肾癌的潜在途径之一。

2. p53 调控自噬与肾癌的相关性:p53 是一种重要的抑癌基因,在肿瘤的形成过程中,p53 既可以抑制细胞的癌变,也可以修复肿瘤细胞中受损的基因,其在自噬形成中起到了关键的调控作用^[21]。在肿瘤细胞生长过程中,有 50% 以上 p53 基因会发生突变,这种变化在一定范围内起到抑制肿瘤细胞生长的作用。在蛋白质(protein)的起始细胞周期中,编码 p53 基因作为一种转录因子(transcriptional factor)发挥关键作用。如果细胞所发送的是健康信号,那么 p53 蛋白决定细胞开始分裂活动。如果外界或自身因素造成细胞损伤,又不能得到及时修复,p53 基因编码的蛋白质将参与细胞凋亡(apoptosis)的启动。如果该细胞 p53 基因存在缺陷,就丧失了对细胞分裂减慢或监视作用,细胞在不利条件下会继续分裂,具有癌变倾向^[22]。细胞的凋亡与修复取决于基因 p53,如果 DNA 变异较小,p53 就促使修复,反之诱导细胞凋亡。p53 基因刚发现时,被认为是一种癌基因,但随着研究的不断加深,p53 基因所编码蛋白质的抑癌作用逐渐显露。在研究过程中,人员发现肿瘤组织半数以上会出现 p53 基因的突变,这可能暗示该基因的突变与肿瘤的产生有关。p53 基因自身调控着细胞的成长周期,如果本身构像改变,该基因就转变成癌基因,细胞将无止尽分裂、生长。进一步研究,发现在 p53 基因调控细胞凋亡过程中,存在起关键作用的蛋白,例如 Bax/Bcl2、Fas/Apol、IGF - BP3 等。细胞发生凋亡时细胞色素 C 等凋亡因子将被 Bcl - 2 阻止从线粒体

释放,来抵抗凋亡的进行,但是线粒体上电压依赖性离子通道会与 Bax 相互作用,导致细胞色素 c 释放,促进凋亡^[23]。而 Bax 的表达以及 Bcl-2 的表达变化,由 p53 来主导完成。也有一些研究者认为 p53 对线粒体的直接刺激会导致其释放有毒的自由基诱导的细胞凋亡^[24]。DNA 发生损伤时,其可以抑制 Cdk 活性,利于 DNA 修复;但是随着 DNA 损伤的进一步加深,它却诱导细胞凋亡途径。有研究者对临床标本进行研究时发现,p53 阳性比例在发生淋巴及远处转移的肾癌患者中明显增多,以此可以推测 p53 基因的突变可能与肾癌(renal cell carcinoma,RCC)的侵袭和转移有关。此外,有文献提及在体外环境下将 p53 基因转染 RCC 细胞中,发现这样能够明显抑制肿瘤细胞生长^[25]。

3. 内质网的应激反应:内质网(endoplasmic reticulum,ER)作为真核细胞中膜管道系统,参与了胞质中蛋白质折叠、合成及分泌。正常情况下内质网具有极强的稳定性,但当内环境出现紊乱或外在因素影响下均会引发内质网的应激反应。这种反应主要涉及停滞蛋白质的翻译,加速蛋白质的降解等,最终会促使细胞启动 caspase-12 依赖的细胞凋亡程序。细胞凋亡时,脱离邻近细胞,自身形态发生改变,胞质浓缩,内质网与细胞膜融合,线粒体发生变化,核仁裂解,最终内陷分割形成多个凋亡小体。最后凋亡小体被组织识别、吞噬。研究人员用未折叠蛋白质应答(unfolded protein response,UPR)来定义这种反应,它涉及到 IRE1 α 和 ATF6 分子伴侣的产生以及通过 PERK 磷酸化 eIF2 α 来减弱蛋白转录。UPR 的另一通路会涉及到内质网相关降解系统(ERAD)来降解错误折叠的蛋白。内质网应激反应时,研究人员对参与 UPR 的标志性分子进行研究,发现 PERK、IRE-1、ATF6 这 3 条信号通路发挥重要作用。在非 ERS 条件下,这 3 个标志性分子与免疫球蛋白结合蛋白(immunoglobulin-binding protein, BiP)相连接,维持信号转导因子非活化状态。查阅大量研究资料表明,ERS 与促凋亡相关分子和促存活分子的活化密切相关,这种关联性决定了细胞是凋亡还是存活。细胞内发生 ERS 时,PERK 离开分子伴侣 Grp78,致使下游 eIF2 α 磷酸化失去活性,这一系列变化使多数蛋白合成停滞。但是,ATF4 表达会激活,进而使促凋亡相关分子的表达增加,引发细胞凋亡。研究证明内质网压力的变化与自噬性细胞死亡存在密切关系,可以以此来研究在内质网压力变化下肿瘤细胞的存活时间。

有报道表明,在低氧环境下,人体肿瘤和动物移植瘤中 PERK/eIF2 α 引起 ATF4 及 C/EBP 的同源蛋白质(CHOP/GADD153)表达,当这种低氧环境延长时,导致了凋亡的发生。对内质网应激的深入研究,有望将参与内质网应激的分子伴侣和感受蛋白,作为治疗肾癌的有效靶点。

以上几种自噬相关途径的研究显示,尽管自噬具有保护细胞的作用,但并非绝对的,也非无限的,自噬也参与细胞死亡的诱导,这就与癌症之间建立了连接。目前,临床上对肾癌的治疗多采用肾部分切除及肾癌根治术,术后多采用白细胞介素及干扰素的治疗,疗效不确切,而且不良反应较大。自噬由于可以维持细胞的稳态,同时与肾癌的发生和发展密切相关,所以可作为一个切入点,利用分子靶向机制进行治疗。但是在药物创造合适条件方面,存在难以避免触发肿瘤细胞保护机制,所以在药物干预自噬调控机制方面,仍有很多问题需要解决。这些问题的阐明,将进一步了解肾癌的发病机制,为肾癌的治疗带来新的希望。

参考文献

- Shintani T, Klionsky DJ. Autophagy in health and disease; a double-edged sword[J]. *Science*, 2004, 306(5698): 990-995
- Tsuda H, Ning Z, Yamaguchi Y, *et al.* Programmed cell death and its possible relationship with periodontal disease[J]. *Oral Sci*, 2012, 54(2): 137-149
- Klionsky D, Cuervo A, Seglen P. Methods for monitoring autophagy from yeast to human[J]. *Autophagy*, 2007, 3(3): 181-206
- 海杰, 谭玉珍. 细胞自噬的形态学特征和功能意义[J]. *解剖学报*, 2009, 10(5): 844-849
- Massey AC, Zhang C, Cuervo A. Chaperone-mediated autophagy in aging and disease[J]. *Current Topics in Developmental Biology*, 2006, 73: 205-235
- Mizushima N, Levine B, Cuervo A, *et al.* Autophagy fights disease through cellular self-digestion[J]. *Nature*, 2008, 451(7182): 1069-1075
- 吴昂, 高赞. 自噬与肿瘤发生及治疗抵抗的相关研究进展[J]. *肿瘤学杂志*, 2014, 03: 248-251
- White Eileen, Karp Cristina, Strohecker Anne M, *et al.* Role of autophagy in suppression of inflammation and cancer[J]. *Current Opinion in Cell Biology*, 2010, 22(2): 212-217
- Wang W, Zhu H, Wu S, *et al.* Effects of autophagy gene Beclin1 on growth of lung cancer A549 cells in nude mice transplanted tumor[J]. *Tumor*, 2011, 12: 1061-1066
- Sridhar S, Botbol Y, Macian F, *et al.* Autophagy and disease: always two sides to a problem[J]. *J Pathol*, 2012, 226(2): 255-273
- Li X, Fan Z. The epidermal growth factor receptor antibody cetuximab induces autophagy in cancer cells by downregulation HIF-1 α and Bcl-2 and activating the beclin-1/hVps 34 complex[J]. *Canc-*

er Res, 2010, 70(14): 5942 – 5952

- 12 Zhang J, Yang Z, Xie L, *et al.* Statins, autophagy and cancer metastasis[J]. International Journal of Biochemistry and Cell Biology, 2012, 4(5): 745 – 752
- 13 Peng Y, Shi Y, Shen Y, *et al.* Promoting colonization in metastatic HCC cells by modulation of autophagy[J]. PLoS One, 2013, 8(9): e74407
- 14 Choe G, Horvath S, Cloughesy TF, *et al.* Analysis of the phosphatidylinositol 3' – kinase signaling pathway in glioblastoma patients in vivo. [J]. Cancer Research, 2003, 63(11): 2742 – 2746
- 15 Hwa J, Ro S, Cao J, *et al.* mTOR regulation of autophagy[J]. FEBS Letters, 2010, 584(7): 1287 – 1295
- 16 Cantley LC, Neel BG. New insights into tumor suppression: PTEN suppresses tumor formation by restraining the phosphoinositide 3 – kinase/AKT pathway[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1999, 96(8): 4240 – 4245
- 17 Sourbier C, Lindner V, Lang H, *et al.* The phosphoinositide 3 – kinase/Akt pathway: a new target in human renal cell carcinoma therapy [J]. Cancer Research, 2006, 66(10): 5130 – 5142
- 18 Akil H, Mototsugu O, Atsushi U, *et al.* Elevated Akt activation and its

- impact on clinicopathological features of renal cell carcinoma [J]. Journal of Urology, 2003, 169(2): 710 – 713
- 19 Dalby K, Tekedereli I. Targeting the prodeath and prosurvival functions of autophagy as novel therapeutic strategies in cancer[J]. Autophagy, 2010, 6: 322 – 329
- 20 Chang NC, Nguyen M, Germain M, *et al.* Antagonism of Beclin 1 – dependent autophagy by BCL – 2 at the endoplasmic reticulum requires NAF – 1 [J]. EMBO J, 2010, 29(3): 606 – 618
- 21 Zong W, Moll U. P53 in autophagy control [J]. Cell Cycle, 2008, 7(19): 2947
- 22 Porter PL, Gown AM, Krmap SG, *et al.* Wide spread p53 over expression in human malignant tumor [J]. American Journal of Pathology, 1992, 140(1): 145 – 153
- 23 Lorne J, Hussain S, Harris C. p53: 25 years after its discovery [J]. Trends in Pharmacological Sciences, 2004, 25: 177 – 181
- 24 Bensaad K, Vousden KH. P53: new roles in metabolism [J]. Trends Cell Biol 2007, 17(6): 286 – 291
- 25 张涛, 罗志刚. 肾癌基因研究进展 [J]. 当代医学, 2011, 09: 25 – 26
(收稿日期: 2014 – 11 – 20)
(修回日期: 2014 – 11 – 24)

(上接第 167 页)

- 7 Zaric M, Mitrovic M, Nikolic I, *et al.* Chrysin induces apoptosis in peripheral blood lymphocytes isolated from human chronic lymphocytic leukemia[J]. Anti – cancer Agents in Medicinal Chemistry, 2014, 15(2): 189 – 195
- 8 Lirdprapamongkol K, Sakurai H, Abdelhamed S, *et al.* Chrysin overcomes TRAIL resistance of cancer cells through Mcl – 1 downregulation by inhibiting STAT3 phosphorylation[J]. International Journal of Oncology, 2013, 43(1): 329 – 337
- 9 Rehman MU, Tahir M, Khan AQ, *et al.* Chrysin suppresses renal carcinogenesis via amelioration of hyperproliferation, oxidative stress and inflammation: plausible role of NF – kappaB [J]. Toxicology Letters, 2013, 216(2 – 3): 146 – 158
- 10 Deng X, Zhao X, Lan Z, *et al.* Anti – tumor effects of flavonoids from the ethnic medicine Docynia delavayi (Franch.) Schneid. and its possible mechanism [J]. Journal of Medicinal Food, 2014, 17(7): 787 – 794
- 11 Huang C, Chen YJ, Chen WJ, *et al.* Combined treatment with chrysin and 1,2,3,4,6 – penta – O – galloyl – beta – D – glucose synergistically inhibits LRP6 and Skp2 activation in triple – negative breast cancer and xenografts [J]. Molecular Carcinogenesis, 2014, epub online
- 12 Szliszka E, Sokol – Letowska A, Kucharska AZ, *et al.* Ethanolic extract of Polish propolis: chemical composition and TRAIL – R2 death receptor targeting apoptotic activity against prostate cancer cells [J]. Evidence – based Complementary and Alternative Medicine, 2013, 2013: 757628
- 13 Jaganathan SK, Mandal M. Involvement of non – protein thiols, mitochondrial dysfunction, reactive oxygen species and p53 in honey – induced apoptosis [J]. Investigational New Drugs, 2010, 28(5): 624 – 633

- 14 Shimizu S, Narita M, Tsujimoto Y. Bcl – 2 family proteins regulate the release of apoptogenic cytochrome c by the mitochondrial channel VDAC [J]. Nature, 1999, 399(6735): 483 – 487
- 15 Sawicka D, Car H, Borawska MH, *et al.* The anticancer activity of propolis [J]. Folia histochemica et cytobiologica, 2012, 50(1): 25 – 37
- 16 Choudhari MK, Haghniaz R, Rajwade JM, *et al.* Anticancer activity of Indian stingless bee propolis: an in vitro study [J]. Evidence – based Complementary and Alternative Medicine, 2013, 2013: 928280
- 17 Wang HQ, Sun XB, Xu YX, *et al.* Astaxanthin upregulates heme oxygenase – 1 expression through ERK1/2 pathway and its protective effect against beta – amyloid – induced cytotoxicity in SH – SY5Y cells [J]. Brain Research, 2010, 1360: 159 – 167
- 18 Woo KJ, Jeong YJ, Park JW, *et al.* Chrysin – induced apoptosis is mediated through caspase activation and Akt inactivation in U937 leukemia cells [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2004, 325(4): 1215 – 1222
- 19 Li X, Huang Q, Ong CN, *et al.* Chrysin sensitizes tumor necrosis factor – alpha – induced apoptosis in human tumor cells via suppression of nuclear factor – kappaB [J]. Cancer Letters, 2010, 293(1): 109 – 116
- 20 Hong B, van den Heuvel AP, Prabhu VV, *et al.* Targeting tumor suppressor p53 for cancer therapy: strategies, challenges and opportunities [J]. Current Drug Targets, 2014, 15(1): 80 – 89
- 21 Sperka T, Wang J, Rudolph KL. DNA damage checkpoints in stem cells, ageing and cancer [J]. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 2012, 13(9): 579 – 590
- 22 Boussouar A, Barette C, Nadon R, *et al.* Acacetin and chrysin, two polyphenolic compounds, alleviate telomeric position effect in human cells [J]. Molecular Therapy Nucleic Acids, 2013, 2: e116
(收稿日期: 2014 – 12 – 01)
(修回日期: 2014 – 12 – 11)