

肿瘤多药耐药与自噬的研究进展

赵英迪, 刘克辛*

大连医科大学药学院, 辽宁 大连 116044

摘要: 肿瘤多药耐药 (multidrug resistance, MDR) 对肿瘤的药物治疗的疗效有严重的影响。多药耐药拥有十分复杂的发生发展的机制。通过讨论自噬与药物抗肿瘤时的相互影响, 旨在阐明自噬与肿瘤细胞多药耐药的关系, 为今后抗肿瘤药物治疗的临床应用提供新的思路。

关键词: 肿瘤; 自噬; 多药耐药

中图分类号: R962.2

文献标志码: A

文章编号: 1674-6376 (2018) 01- 0005 - 09

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2018.01.002

Advances in multidrug resistance and autophagy of antitumor drugs

ZHAO Yingdi, LIU Kexin

College of Pharmacy, Dalian Medical University, Dalian, Liaoning 116044, China

Abstract: Tumor multidrug resistance (MDR) has seriously affected the efficacy of drug therapy on tumors. The occurrence of multidrug resistance has a very complex mechanism. In this paper, we discuss the relationship between autophagy and drug anti-tumor, aiming to elucidate the relationship between autophagy and multidrug resistance in tumor cells, and provide new ideas for the clinical application of anticancer drugs.

Key words: tumor; autophagy multidrug; resistance

肿瘤的发病率居高不下, 还有上升的趋势, 已经严重的威胁了生命健康, 因而受到了越来越多的关注。肿瘤多药耐药 (multidrug resistance, MDR) 已经成为了临床上肿瘤复发的原因之一, 这也对成功治愈肿瘤提出了难题。MDR 是肿瘤细胞敏感性下降的表现, 是对用过的药物和其他具有不同的化学结构和作用机制的药物的敏感性下降。克服因 MDR 导致的疗效不佳及肿瘤复发已经成为现今肿瘤学研究的主要方向之一。自噬 (autophagy) 在众多解释肿瘤细胞出现多药耐药现象的机制中占据着重要的位置。

真核细胞在生存环境变化时通过自噬这一过程让溶酶体降解细胞内特有的物质成分, 生命体凭借这一过程尽力维持内环境稳定并度过不佳的生存环境。自噬参与肿瘤细胞生存、繁殖等多个过程, 同时自噬也与肿瘤细胞应对抗肿瘤药物的反应有

密切而复杂的关系。明确自噬与肿瘤细胞 MDR 的发生之间的关系, 并将之与临床结合起来治疗肿瘤, 是很多研究者致力解决的课题。

1 自噬

1.1 自噬定义及诱发因素

自噬是细胞中一种进化保守的过程, 用膜包裹待降解物的自噬体与溶酶体结合, 其内的水解酶对内源性物质进行水解消化, 并通过对过度或不必要的蛋白质或衰老细胞器的分解代谢来维持甚至是恢复细胞内环境的平衡, 使得细胞在恶劣的环境中依然可以保持较高的生存能力^[1]。

细胞可以在多种因素的诱发下提高自噬的表达, 包括血氧、生长因子等营养物质的缺乏, 细胞因蛋白质、细胞器、内环境紊乱等引起的毒性增加等^[2]。

1.2 自噬的分类及形成过程

按照运输方式的不同对自噬进行分类。

收稿日期: 2017-06-05

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81473280)

第一作者: 赵英迪 (1995—), 女, 汉族, 本科生, E-mail: 18842664360@163.com

*通信作者: 刘克辛, 男, 博士, 教授, 博士生导师、享受国务院特殊津贴专家, 研究方向为药物转运体与药理学。

Tel: (0411)86110407 E-mail: kexinliu@dlmedu.edu.cn

1.2.1 大自噬 大自噬 (macroautophagy) 在外环境能保证细胞正常生存时保持低表达, 利于维持细胞的正常生理活动。然而在应对某些应激状况时自噬水平可以快速上调。整个过程分为 4 步: 待分解的物质被细胞质中形成的“芽形”分隔膜延伸并包裹, 形成前自噬体结构; 分隔膜闭合形成自噬体; 自噬体转移并与溶酶体融合, 自噬溶酶体形成; 溶酶体水解酶降解被包裹的产物 (图 1) [3]。

1.2.2 小自噬 小自噬 (microautophagy) 直接通过溶酶体表面的变形包裹摄取内源性待降解物。整个过程分为 3 步: 溶酶体膜变形; 变形的膜直接包裹吞噬底物; 溶酶体水解酶水解被包裹的底物 (图 1) [4]。

1.2.3 分子伴侣介导自噬 (CMA) CMA 是一种特异性的细胞自噬机制。整个过程分为 3 步: 细胞胞质中的分子伴侣特异性识别底物, 并与之结合形成分子伴侣-底物复合物; 复合物与溶酶体膜上的受体结合, 结合后底物去折叠, 并在另一种分子伴侣的介导下完成在溶酶体膜上的转位; 底物在水解酶的作用下水解 (图 1) [4]。

1.3 自噬调节的信号通路

1.3.1 调节自噬的两条信号通路 Beclin 1-hVps34 通路 (图 2) [4]: 在正常情况下, Beclin 1 和 hVps34、

ATG14 及 p150 形成复合物, Beclin 1 介导的自噬因定位于内质网的 Bcl-2 与 Beclin 1 的 BH3 结构域结合而受到抑制。细胞处于营养缺乏等恶劣的环境中时, Bcl-2 从 Beclin 1-hVps34-ATG14-p150 复合物上解离, 诱导自噬的表达 [4-5]。

TOR-ATG1 复合物通路 (图 2) [4]: 活化的丝氨酸/苏氨酸激酶复合物 (ULK1/2-ATG13-FIP200) 累积, 激活了磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸 3-激酶复合物 (PI3K), 形成了一个“C 形膜” (自噬前体), 自噬的整个过程由此开始, 之后自噬体形成、自噬溶酶体形成, 带降解物被水解。正常情况下 TOR 能抑制 ATG1 介导的自噬。雷帕霉素、饥饿、缺氧等能抑制 TOR 活性并激活自噬 [4, 6]。

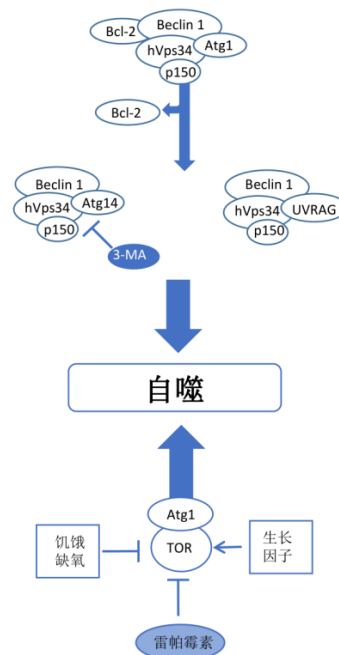


图 2 调节自噬的信号通路

Fig. 2 signaling pathways regulating autophagy

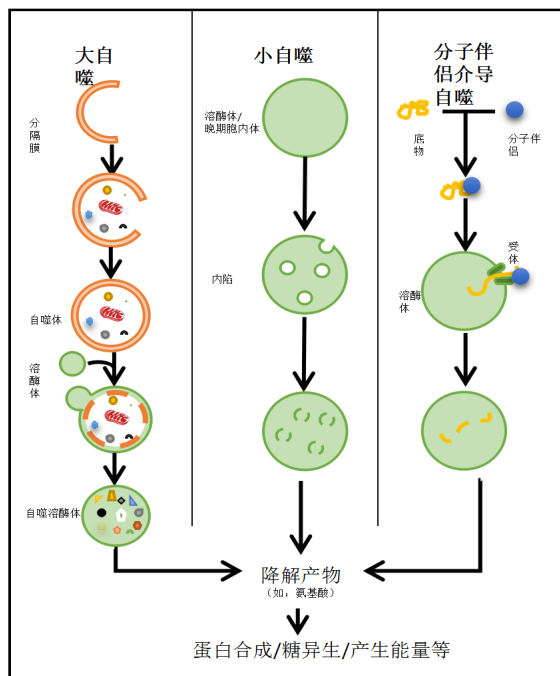


图 1 自噬的分类及形成过程

Fig. 1 Classification and formation of autophagy

1.3.2 ATG 家族与自噬的关系 ATG 在自噬体的形成中有重要的作用。哺乳动物中, ATG1/ULK 复合体是募集来的下游 ATG 蛋白的架构; ATG12-ATG5-ATG16 复合物可以激活 ATG3, 这一过程又与 ATG8-PE 的产生有关, ATG8-PE 对自噬相关的膜结构的起始延续完整有举足轻重的作用 [7]。有证据提示: 不同膜上的 ATG8-PE 复合物能够相互作用, 将各膜连在一起, 并引发膜之间的半融合 [8]。

1.3.3 mTOR 信号通路调节自噬 mTORC1 可以磷酸化 ULK1 复合体, 调控其活性, 自噬的起始受到

这一过程的调控^[9]。死亡相关蛋白1 (death-associated protein, DAP1) 是 mTOR 的底物, 可以直接参与对自噬的抑制作用^[10]。mTORC1 可以间接影响自噬及溶酶体相关基因的转录过程, 而这种对自噬的正向影响是通过促进自噬和溶酶体基因表达的转录因子 EB (transcription factor EB, TFEB) 的细胞核定位和活性进行调控而发挥的^[11]。

1.3.4 AMPK 与自噬的关系 当细胞处于各种生理性压力应激或是药物诱导时会引起 AMP 和 ADP 水平升高, 进而激活 AMPK。AMPK 可以磷酸化 Ser 317 和 Ser 777, 进而激活 ULK1, 促进自噬的产生^[9]。AMPK 和 mTORC1 都能通过调节 ULK1/2-ATG13-FIP200 直接参与自噬的调控, 但是 AMPK 和 mTOR 复合物对自噬的调节作用是相反的, AMPK 通过磷酸化激活 TSC1/2 复合物, 而这一过程抑制了 mTOR 的活性, 促进了自噬; AMPK 和 ULK1 之间的相互作用也可以被高活性的 mTOR 破坏, 自噬被抑制^[9,12]。AMPK 还可通过其他直接间接途径促进自噬。

1.3.5 其他 非编码 RNA: miRNA 对调控自噬过程有十分重要的作用, 因为 miRNA 表达模式的改变可以调控独特的自噬相关基因的表达, 参与调节自噬的信号转导通路^[13], 目前已知的大多数与自噬相关的 miRNA 主要影响自噬体的形成阶段。钙离子: Ca^{2+} 在正常生理状况下的细胞中可以与肌醇三磷酸受体 (InsP3R) 组成复合体, 该复合体可以抑制细胞自噬的表达。然而在外界环境欠佳时无法很好的合成复合体, 对自噬的抑制解除, 还可以导致 AMPK 的激活, 促进自噬的表达^[8,14]。生长因子能促进 TOR 活性并抑制自噬。3MA 是一种自噬抑制剂, 起作用的原理是抑制了 Beclin 1-hVps34-ATG14-p150 复合物的活性, 自噬起始被抑制。Tp53: Tp53 可以对自噬进行多个层面正向或是负向的复杂而精细的调控, 同时自噬也可以对 p53 进行调控进而影响细胞的活动, 自噬可以通过抑制 Tp53 的活性, 保持细胞线粒体的功能, 细胞的生存能力得到加强^[15]。表观遗传调控: 乙酰辅酶 A (AcCoA) 使得其涉及的组蛋白乙酰化的调节和自噬相关基因的转录发生变化, 从而抑制自噬^[16]。

2 MDR

2.1 MDR 定义

MDR 是肿瘤细胞群希望通过各种途径达到减

少或是阻止药物的杀伤力, 提高存活能力的目的的结果, 因而肿瘤细胞产生了 MDR。而 MDR 严重阻碍了肿瘤被成功治愈。

2.2 MDR 形成机制

MDR 的形成是多种机制共同作用的结果, 每一种机制都有十分复杂而精细的过程 (图 3)^[17]。

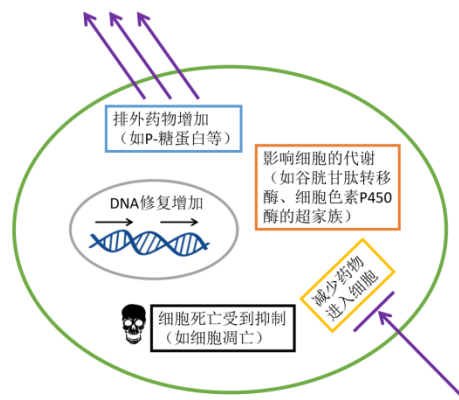


图3 MDR 的形成机制

Fig. 3 Formation mechanism of MDR

2.2.1 MDR 转运体的过表达 过度表达的 MDR 转运体是导致肿瘤细胞产生耐药性的重要原因之一^[17-18]。MDR 转运体中的三磷酸腺苷结合盒型转运蛋白超家族 (ABC) 被较为广泛而深入的研究^[19-20], 该家族成员众多, 是利用相似的跨膜结构域将化学治疗药物从肿瘤细胞中以 ATP 能量依赖的方式泵出, 因此肿瘤细胞中化疗药物的浓度降低, 抗肿瘤药物的杀伤能力下降, 化疗后可以存活更多的肿瘤细胞, 表现为肿瘤细胞产生 MDR。目前, 已经发现了 48 个 ABC 转运体^[21]。

P-糖蛋白 (permeability glycoprotein, P-gp) P-gp 是由 MDR1 基因编码的质膜糖蛋白, 肿瘤细胞对多种化疗药物如紫杉烷类、蒽环类、紫杉醇、长春花生物碱和表鬼臼毒素的抗性与过度表达的 P-gp 有关系^[22-24]。肿瘤细胞中的药物浓度因 P-gp 介导的药物外排而降低, 药物杀伤力降低, 肿瘤细胞对药物的抗性也因此产生。因此, 可以通过抑制 P-gp 的表达或功能来逆转耐药性的产生^[25]。

乳腺癌耐药蛋白 (breast cancer resistance protein, BCRP) BCRP 是细胞膜上的半转运蛋白。必须两个 BCRP 半转运体结合才能发挥生物活性, BCRP 通过促进细胞外排拓扑替康、甲氨蝶呤、伊立替康、米托蒽醌、夫拉平度和喜树碱等多种药物, 使得肿瘤细胞产生 MDR^[26]。

肺耐药蛋白 (lung resistance protein, LRP) LRP 不是 ABC 转运蛋白。LRP 是参与细胞内运输过程的复杂蛋白, 主要位于细胞质中, 可以介导细胞核和细胞质之间的细胞毒性药物的转运。LRP 可以介导多种药物如铂类、烷化剂等的药物耐药, 与膀胱癌^[27]、舌癌^[28]等肿瘤关系密切。

多药耐药相关蛋白 (multidrug resistance associated protein MRP) MRP 是位于细胞膜上促进药物外排的蛋白。MRP 的过表达导致了肿瘤细胞对长春花生物碱、米托蒽醌、表柔比星、甲氨蝶呤、顺铂、依托泊苷等药物的敏感性下降, 耐药性增加^[29-30]。

2.2.2 DNA 的损伤和修复 一些抗肿瘤药物通过多种途径损伤肿瘤细胞的遗传物质以达到治疗效果。修复损伤的 DNA 有 3 个基本途径: 核切除修复、基底切除修复、DNA 错配修复, 这些修复系统的失调可能与肿瘤细胞产生多药耐药有关^[31]。DNA 的修复通常会切除药物带来的致命的损伤, 修复效率的提高也为肿瘤细胞产生 MDR 提供了帮助, 然而 DNA 的修复和药物敏感性之间关系复杂, 并非单纯的因果关系^[32]。如在耐药的小细胞肺癌细胞中的碱基切除修复途径启动酶和关键酶有较高的表达^[33], 而 DNA 错配修复基因 MLH1、MLH2 的表达水平较低^[34]。

2.2.3 细胞凋亡 细胞凋亡是细胞的一种受到调控的死亡。部分药物的最终目的就是通过各种方法使肿瘤细胞凋亡。如多发性骨髓瘤 (MM) 患者中的 PI3KCA 高度表达, BYL719 可以抑制 PI3K 的信号转导、打乱细胞周期使肿瘤细胞 G1 期停滞, 诱导 MM 细胞凋亡, 逆转 MM 细胞的 MDR^[35]。有研究发现, 分泌聚集蛋白 (sClu) 通过保护细胞免受细胞凋亡相关因子 (如 NF- κ B) 或相关蛋白质 (如 Bcl-2) 诱导的细胞凋亡发挥作用, 因此 sClu 使得乳腺癌细胞具有抵抗肿瘤坏死因子 (TNF) - α 诱导的细胞凋亡的能力, 即使得乳腺癌细胞产生 MDR^[36]。

2.2.4 DNA 甲基化 当 DNA 被甲基化修饰时, 该基因的表达大多受到抑制。如 Mdr-1 启动子甲基化时, 其表达下调, 甲基化修饰抑癌基因时便不能和原癌基因平衡, 导致肿瘤细胞的产生^[37]。人神经胶质瘤细胞产生 MDR 可能与相关基因 DNA 产生甲基化而受到抑制有关, 耐药基因的 mRNA 和蛋白表达受到该过程的影响^[38]。宫颈癌细胞对吉西他滨产生抗性的原因可能是, 与甲基化无关的相关基因的表达下调以及 G9A 甲基转移酶的超表达。而胍苯哒嗪

具有抑制 G9A 甲基转移酶的表达的作用, 应用胍苯哒嗪的宫颈癌细胞可以恢复对吉西他滨的敏感性^[39]。

2.2.5 药物靶点或代谢酶改变 肿瘤细胞通过改变药物作用的靶点和代谢酶躲避药物带来的伤害。拓扑异构酶 II (topo II) 是 DNA 的复制中重要的代谢酶, 作用于肿瘤细胞内的 topo II 复合物的抗肿瘤药物如伊达比星、多柔比星、米托蒽醌和依托泊苷等导致 DNA 损伤断裂以及影响下游相应通路, 从而诱导细胞死亡。有研究表明, topo II 复合体可以诱导肿瘤细胞出现对上述药物敏感性下降, 耐药性增强的现象^[40-42]。谷胱甘肽转移酶 (GST) 通过消除细胞内的异物和有毒化合物稳定细胞内环境。GST 也被证明可以作为控制细胞增殖和细胞死亡的信号转导途径的调节剂, 参与肿瘤细胞生长和分化, 并且可以影响其 MDR 的产生^[43]。

2.2.6 肿瘤干细胞过度增殖 肿瘤干细胞 (CSCs) 是肿瘤细胞中的一个亚群。CSCs 的存在使得细胞的侵袭力和转移性更强, 也使得肿瘤细胞更加容易产生 MDR, 胃癌细胞中的肿瘤干细胞具有自我更新和分化的能力, 肿瘤干细胞中 mRNA 水平的 CD44、CD99 的表达增加, 可以成为新的治疗肿瘤靶点^[44]。

2.2.7 抗肿瘤药物代谢的改变 抗肿瘤药物在细胞内通过特定的途径代谢, 而肿瘤细胞可通过改变相应的代谢途径而产生对特定药物的耐药性。细胞色素 P450 (CYP) 酶的超家族对这一过程有重要作用。CYP 酶参与各种化疗药物如紫杉醇、长春花碱、长春新碱、多柔比星、依托泊苷等的代谢^[45]。CYP 的活动受到多种因素的影响, 如作为 P-gp 抑制剂的环孢素可以抑制 P-gp 介导的药物外排, 增加肿瘤细胞对多柔比星和依托泊苷的敏感性, 同时环孢素还可以抑制 CYP3A 介导的代谢, 进而影响部分抗肿瘤药物的药动学, 改变抗肿瘤药物原本的药效或毒性, 因此同时应用 P-gp 抑制剂和 CYP 相关药物时要多加注意^[46]。他莫昔芬在 CYP2D6 的影响下可以产生具有活性的代谢物^[47]。

2.2.8 miRNA 突变 miRNA 是一类高度保守的非编码单链 RNA 分子, 通过复杂的调控系统调节整个细胞的生理病理。miRNA 可以通过多种途径实现对于细胞的控制, 因而可以参与调节肿瘤细胞 MDR 的几乎所有机制^[48-49]。未来 miRNA 可能成为理想生物标志物用于预测化疗反应, 并且作为药物靶点

治疗 MDR^[50-51]。

2.2.9 其他 肿瘤细胞产生 MDR 还可能与其他的机制有关。上皮-间质转化 (EMT) 参与了肿瘤的转移和侵袭, 增加了肿瘤细胞的恶性程度^[52]。EMT 参与肿瘤细胞形成 MDR 是通过介导 EMT 的诱导因子上调 ABC 转运体的表达或引发其他产生 MDR 的途径发生的^[53]。缺氧: 主要在实体瘤中, 因为诱导肿瘤血管生成相关因子出现异常, 肿瘤的血流量混乱, 肿瘤细胞要在缺氧、低 pH 等恶劣的环境中存活, 就要适应环境而提高自身的能力, 因而在应对相同毒性的药物时抗性更强^[54]。

自噬与肿瘤细胞 MDR 的产生也有密切关系, 在下文有具体的说明。

3 自噬与 MDR

自噬对于维持细胞稳态十分重要。在恶劣的环境中, 自噬可以使细胞通过重复利用代谢物质存活一段时间; 研究表明缺失自噬关键基因的生物体或细胞更容易死亡; 自噬可以水解消化对细胞有毒性的折叠错误的蛋白, 这些自噬的特性很可能与肿瘤细胞发生 MDR 有关系^[55-56]。

自噬对细胞死亡过程也可以进行调控^[57]。自噬和一些调节细胞死亡程序的信号途径有相互重叠的位点: 自噬性死亡和凋亡之间有复杂的关系; 自噬与坏死也可能存在相互作用^[58]。

3.1 自噬相关基因参与 MDR 的形成

自噬相关基因可以增强肿瘤细胞的生存能力, 以应对抗肿瘤药物的作用, 而使得药物的毒性减弱。研究表明, 多种自噬相关基因与数种肿瘤细胞获得 MDR 的过程有密切联系, 如 ATG-5 的表达上调是产生保护性自噬的标志之一^[59]。缺失自噬关键基因的生物体或细胞更容易死亡, 说明自噬与维持细胞存活息息相关。在相关基因被敲除后, 肿瘤细胞的敏感性得以恢复。应用自噬相关的抑制剂或是靶向自噬的单克隆抗体或成未来的 MDR 临床疗法^[60]。

3.2 PI3K/Akt/mTOR 信号通路诱导的自噬与 MDR 的关系

PI3K/Akt/mTOR 信号通路使得肿瘤细胞的内环境更加适应含有药物的外环境, 减少在该种环境下的肿瘤细胞死亡, 这一过程主要通过对蛋白质和能量的调节完成。因此, mTOR 是联系细胞能量环境与自噬活性的中心调控途径, 可以在能量不足条件下增强产生 ATP 的代谢过程。mTORC1 可以磷酸化 ULK1, 使之与 ATG13 以及 RB1CC1/FIP200

形成可以抑制自噬体合成起始的复合物。mTOR 的活化可以被双青蒿素抑制, 从而诱导自噬, 提高肿瘤细胞的生存能力, 产生耐药性^[61]。NVP-BEZ235 可以抑制 PI3K 和 mTOR, 被降解物因自噬通量增加而增加, 细胞的正常活动受到影响, 实体瘤的生存能力下降^[62]。

还有其他一些生物活性物质可以通过这一信号通路对肿瘤细胞产生影响: 内源性高迁移率族蛋白-1 (high mobility group box-1, HMGB1) 具有调节白血细胞的作用, 可以激活该信号通路, 自噬表达因此增加^[63]; 血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 对血管生成具有强有力的诱导作用。相关基因的敲除可以使 mTORC1 的活性增加, 自噬活性受到抑制, 肿瘤细胞的敏感性增加^[64-65]; 表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR) 对细胞内环境的调节有重要作用^[66]。EGFR 与 Beclin 1 结合, Beclin 1-PI3K 的活性因此降低, 自噬受到抑制, 原本因自噬而死亡的细胞减少, 进而肿瘤细胞产生 MDR, TKI 作为 EGFR 酪氨酸激酶的抑制剂, 可以阻止这一过程的发生^[67-68]。

3.3 P53 的多型性诱导的自噬与 MDR 的关系

突变的抑癌基因 P53 与 MDR 的产生有密切关系。不同型态的 P53 通过不同的方式影响 MDR, 野生型 p53 通过诱导细胞凋亡以及突变型通过引发自噬细胞的死亡、坏死、凋亡逆转卵巢癌细胞的 MDR^[69]。正常情况下, p53 作为重要的转录因子是低表达的。p53 在 DNA 损害后表达量升高, 导致细胞生存受限甚至死亡。研究表明, 细胞营养物质缺乏时, 激活的 p53 可以抑制 mTOR 的活性并对其下游信号进行调节, 还可以通过活化 AMPK 对 mTOR 进行间接调节, 如自噬被激活, 引起了 p53 依赖性的保护性自噬^[70]。

3.4 MAPK 信号转导系统与 MDR 的关系

MAPK 信号转导系统是信号由细胞外到内的中转站, 对细胞的各个生理病理过程进行调节。MARK14/p38 α 是自噬使肿瘤细胞中产生耐药性的重要一环, 抑制自噬可以通过抑制 MARK14/p38, 以减少结肠癌细胞对药物的抗性^[71-72]。

ERK/NF- κ B 是 Ras-Raf-MAPK-ERK 信号通路重要的组成部分, 调节细胞多个生理病理过程, 有研究发现, 异黏蛋白 (metadherin, MTDH) 与宫颈癌对顺铂的抗性呈正相关, MTDH 通过减少

Caspase-3 分裂而激活了 ERK/NF- κ B 信号,增加了可以保护肿瘤细胞存活的自噬的表达^[73]。

3.5 miRNA 与 MDR 的关系

miRNA 是内源性非编码 RNA。不同类型的 miRNA 具有不同的功能,如何影响耐药细胞的产生或恢复的作用也不同。如 miR-22 通过抑制自噬并促进细胞凋亡增加结肠直肠癌(CRC)细胞对 5-氟尿嘧啶(5-FU)治疗的敏感性^[74]; miR-24-3p 的表达强度与小细胞肺癌(SCLC)对依托泊苷(VP16)-顺铂(DDP)的敏感性有直接关系,miR-24-3p 通过直接靶向自噬相关基因 ATG4A,抑制自噬表达,以减少 SCLC 细胞对 VP16-DDP 的抗性^[75];溶酶体相关蛋白的 miRNA 下调,导致自噬通量下降。miR-205 介导的自噬途径损伤会干扰前列腺癌细胞的解毒能力,而其与顺铂的毒性有关。丧失 miR-205 可以使得前列腺癌细胞产生 MDR^[76];抑制乳腺癌中相关 miRNA 的表达可以增加自噬通量,逆转对多柔比星的耐药性^[77]。miRNA、自噬、MDR 三者的关系复杂,明确其间的关系对了解 MDR 有重要意义。

3.6 热休克转录因子 1(heat shock factor 1, HSF1) 信号活化的自噬与 MDR 的关系

HSF1 可以直接结合 ATG7 启动子并上调其表达以调节自噬,使得乳腺癌细胞中的自噬表达增加并产生 MDR。敲除 HSF1 后化疗药物的疗效显著增加。今后可以将 HSF1/ATG7 轴作为药物的靶点,以改善肿瘤细胞的 MDR^[78]。

3.7 活性氧(ROS)诱导的自噬与 MDR 的关系

ROS 是细胞有氧代谢过程中产生的。过多的 ROS 会导致多种细胞内容物损伤,导致自噬和凋亡的发生。恶性胶质瘤细胞中的 ROS 激增和 ERK 的激活增加了自噬的表达,因而增加了对替莫唑胺(temozolomide, TMZ)的抗性。可通过对 ROS/ERK 的抑制增加细胞凋亡,缓解因自噬引发的 MDR。与此同时,白藜芦醇和 TMZ 协同作用可以提高脑肿瘤的疗效^[79]。

3.8 自噬缓解 MDR 的相关信号通路

自噬可以通过提高自噬通量使得细胞自身降解增加,正常的细胞生存增殖受到影响,而这一过程可能与以下通路有关。

K-ras 信号:羟基他莫昔芬及其衍生物 4-羟基他莫昔芬(4-hydroxytamoxifen, OHT)导致的恶性外周神经鞘细胞瘤(MPNST)细胞的死亡与自噬有

关,OHT 通过诱导对细胞生存至关重要的 K-ras 的自噬性降解增加肿瘤细胞的存活率,而这种诱导可以随着自噬液泡形成的遗传抑制而被减弱^[80]。

AMPK/mTOR 信号:有抗糖皮质激素细胞的急性淋巴细胞白血病(ALL)患者临床结局易不良。可以通过从 BCL-2 上解离 Beclin-1,降低 mTOR 活性,绕过线粒体凋亡中的障碍,快速激活肿瘤细胞自噬依赖性的坏死样凋亡,逆转对糖皮质激素的抵抗^[81]。

Met 信号:3-MA 是自噬抑制剂,乳突甲状腺癌(papillary thyroid cancer, PTC)细胞应用 3-MA 后对多柔比星的抵抗力下降。而作为一种天然强效自噬激活因子的 RAD001 激活了 PTC 细胞的自噬,再通过 Met 去磷酸化提高肿瘤细胞对多柔比星的敏感性,逆转 MDR^[82-83]。

4 结语

药物治疗是综合治疗肿瘤中必不可少的一个环节,但是肿瘤细胞产生的多药耐药已经严重影响了抗肿瘤药物的杀伤力,药物的疗效被削弱,肿瘤细胞更容易存活。很多关于自噬的研究表明,自噬在肿瘤细胞多药耐药的产生及发展中有着举足轻重的作用。一方面肿瘤细胞在应用抗肿瘤药物时可以通过自噬重复利用代谢物质或外排细胞毒性物质,维持肿瘤细胞的生存并使之获得 MDR。与自噬促进肿瘤细胞生存相反的是,可以通过增加肿瘤细胞的自噬通量,提高肿瘤细胞的自身降解,从而自噬促进肿瘤细胞的死亡,肿瘤细胞的耐药性在一定程度上得到逆转。自噬在抗肿瘤药物多药耐药中的具体机制需要更加深入的研究,从而在临床上可以提早预防因自噬增加而导致的 MDR,也可以有针对性的应用提高自噬通量的药物辅助传统抗肿瘤药物治疗肿瘤,以期增加肿瘤细胞的敏感性,甚至是逆转 MDR。

参考文献

- [1] Sui X, Chen R, Wang Z, et al. Autophagy and chemotherapy resistance: a promising therapeutic target for cancer treatment [J]. Cell Death Dis, 2013, 4: e838.
- [2] Sun Y, Xing X, Liu Q, et al. Hypoxia-induced autophagy reduces radiosensitivity by the HIF-1 α /miR-210/Bcl-2 pathway in colon cancer cells [J]. Int J Oncol, 2015, 46(2): 750-756.
- [3] Mizushima N, Komatsu M. Autophagy: Renovation of cells and tissues [J]. Cell, 2011, 147(4): 728-741.
- [4] 秦正. 自噬生物学与疾病基础卷 [M]. 北京: 科学

- 出版社. 2015.
- [5] Zalckvar E, Berissi H, Eisenstein M, et al. Phosphorylation of Beclin 1 by DAP-kinase promotes autophagy by weakening its interactions with Bcl-2 and Bcl-XL [J]. *Autophagy*, 2009, 5(5): 720-722.
- [6] Gong J S, Kim G J. The role of autophagy in the placenta as a regulator of cell death [J]. *Clin Exp Reprod Med*, 2014, 41(3): 97-107.
- [7] Yuko Fujioka, Nobuo N. Noda, Hitoshi Nakatogawa, et al. Dimeric coiled-coil structure of *saccharomyces cerevisiae* Atg16 and its functional significance in autophagy [J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(2): 1508-1515.
- [8] Suzy Choi, Hyun Jin Kim. The Ca^{2+} channel TRPML3 specifically interacts with the mammalian ATG8 homologue GATE16 to regulate autophagy [J]. *Biochem Biophys Res Comm*, 2014, 443(1): 56-61.
- [9] Kim J, Kundu M, Viollet B, et al. AMPK and mTOR regulate autophagy through direct phosphorylation of Ulk1 [J]. *Nat Cell Biol*, 2011, 13(2): 132-141.
- [10] Koren I, Reem E, Kimchi A. Autophagy gets a brake DAP1, a novel mTOR substrate, is activated to suppress the autophagic process [J]. *Autophagy*, 2010, 6(8): 1179-1180.
- [11] J Martina A, ChenY, Gucek M, et al. MTORC1 functions as a transcriptional regulator of autophagy by preventing nuclear transport of TFEB [J]. *Autophagy*, 2012, 8(6): 903-914.
- [12] Dunlop E A, Tee A R. The kinase triad, AMPK, mTORC1 and ULK1, maintains energy and nutrient homeostasis [J]. *Biochem Soc Trans*, 2013, 41(4): 939-943.
- [13] Chen Z, Hu Z, Lu Z Q, et al. Differential microRNA profiling in a cellular hypoxia reoxygenation model upon posthypoxic propofol treatment reveals alterations in autophagy signaling network [J]. *Ox Med Cell Long*, 2013: 378484.
- [14] César Cárdenas, J. Kevin Foskett. Mitochondrial Ca^{2+} signals in autophagy [J]. *Cell Calcium*, 2012, 52(1): 44-51.
- [15] Guo J Y, Xia B, White E. Autophagy-Mediated Tumor Promotion [J]. *Cell*, 2013, 155(6): 1216-1219.
- [16] Eisenberg T, Schroeder S, Büttner S, et al. A histone point mutation that switches on autophagy [J]. *Autophagy*, 2014, 10(6): 1143-1145.
- [17] Gottesman M M, Fojo T, Bates S E. Multidrug resistance in cancer: role of ATP-dependent transporters [J]. *Nat Rev Cancer*, 2002, 2: 48-58.
- [18] Szakács G, Paterson J K, Ludwig J A, et al. Targeting multidrug resistance in cancer [J]. *Nat Rev Drug Disc*, 2006, 5(3): 219-234.
- [19] Schinke A H, Jonker J W. Mammalian drug efflux transporters of the ATP binding cassette (ABC) family: an overview [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2003, 55: 3-29.
- [20] Martín V, Sanchez-Sanchez A M, Herrera F, et al. Melatonin-induced methylation of the ABCG2/BCRP promoter as a novel mechanism to overcome multidrug resistance in brain tumour stem cells [J]. *Brit J Cancer*, 2013, 108(10): 2005-2012.
- [21] Gillet J P, Efferth T, Remacle J. Chemotherapy-induced resistance by ATP-binding cassette transporter genes [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2007, 1775: 237-262.
- [22] Sodani K, Patel A, Kathawala R J, et al. Multidrug resistance associated proteins in multidrug resistance [J]. *Chin J Cancer*, 2012, 31: 58-72.
- [23] Tiwari A K, Sodani K, Dai C L, et al. Revisiting the ABCs of multidrug resistance in cancer chemotherapy [J]. *Curr Pharm Biotechnol*, 2011, 12: 570-594.
- [24] Assaraf Y G, Rothen L, Hooijberg J H, et al. Loss of multidrug resistance protein 1 (MRP1) expression and folate efflux activity results in a highly concentrative folate transport in human leukemia cells [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278: 6680-6686.
- [25] Gottesman M M, Ling V. The molecular basis of multidrug resistance in cancer: the early years of P-glycoprotein research [J]. *FEBS Lett*, 2006, 580(4): 998-1009.
- [26] Mao Q C, Unadkat J D. Role of the Breast Cancer Resistance Protein (BCRP/ABCG2) in drug transport—An Update [J]. *AAPS J*, 2015, 17(1): 65-82.
- [27] Wang S, Meng Q, Xie Q, et al. Effect and mechanism of resveratrol on drug resistance in human bladder cancer cells [J]. *Mol Med Rep*, 2017, 15(3): 1179-1187.
- [28] Zhang B, Liu M, Tang H K, et al. The expression and significance of MRP1, LRP, TOPOII ss, and BCL2 in tongue squamous cell carcinoma [J]. *J Oral Pathol Med*, 2012, 41(2): 141-148.
- [29] Tu B, Zhu J, Liu S, et al. Mesenchymal stem cells promote osteosarcoma cell survival and drug resistance through activation of STAT3 [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(30): 48296-48308.
- [30] Kibria G, Hatakeyama H, Harashima H. Cancer multidrug resistance: mechanisms involved and strategies for circumvention using a drug delivery system [J]. *Arch Pharm Res*, 2014, 37(1): 4-15.
- [31] Wilson T R, Longley D B, Johnston P G. Chemoresistance in solid tumours [J]. *Ann Oncol*, 2006, 17(Suppl 10): x315-324.
- [32] Casorelli I, Boss C, Bignami M. DNA damage and repair in human cancer: molecular mechanisms and contribution to therapy-related leukemias [J]. *Environ Res Public Health*, 2012, 9(8): 170-182.

- [33] 余时沧, 黄桂君, 陆卫忠, 等. *N*-甲基化嘌呤-DNA-糖基化酶在肺癌 H446 多药耐药细胞中的表达 [J]. 重庆医学, 2006, (2): 110-111.
- [34] 郭芮伶, 吴国明, 戢福云, 等. DNA 错配修复基因甲基化在 H446 细胞获得性耐药中的作用 [J]. 第三军医大学学报, 2007(23): 2247-2250.
- [35] Azab F, Shireen V, Abraham J, et al. PI3KCA plays a major role in multiple myeloma and its inhibition with BYL719 decreases proliferation, synergizes with other therapies and overcomes stroma-induced resistance [J]. *Brit J Haematol*, 2014, 165(1): 89-101.
- [36] Wang Y, Wang X, Zhao H, et al. Clusterin confers resistance to TNF-alpha-induced apoptosis in breast cancer cells through NF-kappaB activation and Bcl-2 overexpression [J]. *J Chemother*, 2012, 24(6): 348-357.
- [37] Baker E K, El-Osta A. The rise of DNA methylation and the importance of chromatin on multidrug resistance in cancer [J]. *Exp Cell Res*, 2003, 290(2): 177-194.
- [38] 陈晋, 程远, 汪峰. DNA 甲基化与人神经胶质瘤细胞株 SHG-44 多药耐药的相关性 [J]. 中国老年学杂志, 2013(24): 6200-6202.
- [39] Candelaria M, de la Cruz-Hernandez E, Taja-Chayeb L, et al. DNA methylation-independent reversion of gemcitabine resistance by hydralazine in cervical cancer cells [J]. *PLoS One*, 2012, 7(3): e29181.
- [40] Ganapathi R N, Ganapathi M K. Mechanisms regulating resistance to inhibitors of topoisomerase II [J]. *Front Pharmacol*, 2013, 4: 89.
- [41] Geng M, Wang L, Chen X, et al. The association between chemosensitivity and Pgp, GST- π and Topo II expression in gastric cancer [J]. *Diagn Pathol*, 2013, 8: 198.
- [42] Nitiss J L. Targeting DNA topoisomerase II in cancer chemotherapy [J]. *Nat Rev Cancer*, 2009, 9: 338-350.
- [43] E Laborde. Glutathione transferases as mediators of signaling pathways involved in cell proliferation and cell death [J]. *Cell Death Different*, 2010, 17(9): 1373-1380.
- [44] Xue Z, Yan H, Li J, et al. Identification of cancer stem cells in vincristine preconditioned SGC7901 gastric cancer cell line [J]. *J Cell Biochem*, 2012, 113(1): 302-312.
- [45] Crommentuyn K M, Schellens J H, van den Berg J D, et al. In-vitro metabolism of anti-cancer drugs, methods and applications: paclitaxel, docetaxel, tamoxifen and ifosfamide [J]. *Cancer Treat Rev*, 1998, 24: 345-366.
- [46] Kivisto K T, Kroemer H K, Eichelbaum M. The role of human cytochrome P450 enzymes in the metabolism of anticancer agents: implications for drug interactions [J]. *Br J Clin Pharmacol*, 1995, 40: 523-530.
- [47] Mwinyi J, Vokinger K, Jetter A, et al. Impact of variable CYP genotypes on breast cancer relapse in patients undergoing adjuvant tamoxifen therapy [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2014, 73: 1181-1188.
- [48] Liang L H, He X H. Macro-management of microRNAs in cell cycle progression of tumor cells and its implications in anti-cancer therapy [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2011, 32: 1311-1320.
- [49] Patrick S. Mitchel, Rachael K. Parkin, Evan M. Kroh, et al. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008, 105(30): 10513-10518.
- [50] An X, Sarmiento C, Tan T, et al. Regulation of multidrug resistance by microRNAs in anti-cancer therapy [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2017, 7(1): 38-51.
- [51] Janikova M, Zizkova V, Skarda J, et al. Prognostic significance of miR-23b in combination with P-gp, MRP and LRP/MVP expression in non-small cell lung cancer [J]. *Neoplasma*, 2016, 63(4): 576-587.
- [52] Shang Y L, Cai X Q, Fan D M. Roles of epithelial-mesenchymal transition in cancer drug resistance [J]. *Curr Cancer Drug Targets*, 2013, 13(9): 915-929.
- [53] Saxena M, Stephens M A, Pathak H, et al. Transcription factors that mediate epithelial - mesenchymal transition lead to multidrug resistance by upregulating ABC transporters [J]. *Cell Death Dis*, 2011, 2(7): e179.
- [54] Harguindevy S, Arranz J L, Polo Orozco J D, et al. Cariporide and other new and powerful NHE1 inhibitors as potentially selective anticancer drugs an integral molecular/biochemical/metabolic/clinical approach after one hundred years of cancer research [J]. *J Transl Med*, 2013: 282.
- [55] Zhu L, Du H, Shi M, et al. ATG7 deficiency promote apoptotic death induced by Cisplatin in human esophageal squamous cell carcinoma cells [J]. *Bull Cancer*, 2013, 100(7/8): 15-21.
- [56] Cheng J, Chen J, Xie B, et al. Acquired multidrug resistance in human K562/ADM cells is associated with enhanced autophagy [J]. *Toxicol Mechan Methods*, 2013, 23(9): 678-683.
- [57] Fullgrabe J, Lynch-Day M A, Heldring N, et al. The histone H4 lysine 16 acetyltransferase hMOF regulates the outcome of autophagy [J]. *Nature*, 2013, 500(7463): 468-471.
- [58] Crighton D, Wilkinson S, O'Prey J, et al. Ryan. DRAM, a p53-induced modulator of autophagy, is critical for apoptosis [J]. *Cell*, 2006, 126(1): 121-134.
- [59] Ge J, Chen Z, Huang J, et al. Upregulation of autophagy-related gene-5(ATG-5) is associated with chemoresistance in human gastric cancer [J]. *PLoS One*, 2014, 9(10): e110293.

- [60] Shen C, Wang W, Tao L, et al. Chloroquine blocks the autophagic process in cisplatin-resistant osteosarcoma cells by regulating the expression of p62/SQSTM1 [J]. *Int J Mol Med*, 2013, 32(2): 448-456.
- [61] Feng X, Li L, Jiang H, et al. Dihydroartemisinin potentiates the anticancer effect of cisplatin via mTOR inhibition in cisplatin-resistant ovarian cancer cells: involvement of apoptosis and autophagy [J]. *Biochem Biophys Res Comm*, 2014, 444(3): 376-381.
- [62] Kim K W, Myers C J, Jung D K, et al. NVP-BEZ-235 enhances radiosensitization via blockade of the PI3K/mTOR pathway in cisplatin-resistant non-small cell lung carcinoma [J]. *Genes Cancer*, 2014, 5(7/8): 293-302.
- [63] Yang L, Yu Y, Kang R, et al. Up-regulated autophagy by endogenous high mobility group box-1 promotes chemoresistance in leukemia cells [J]. *Leuk Lymph*, 2012, 53(2): 315-322.
- [64] Stanton M J, Dutta S, Polavaram N S, et al. Angiogenic growth factor axis in autophagy regulation [J]. *Autophagy*, 2013, 9(5): 789-790.
- [65] Stanton M J, Dutta S, Zhang H, et al. Autophagy control by the VEGF-C/NRP-2 axis in cancer and its implication for treatment resistance [J]. *Cancer Res*, 2013, 73(1): 160.
- [66] Zou Y, Ling Y H, 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]. *J Thor Oncol*, 2013, 8(6): 693-702.
- [67] Wei Y, Zou Z, Becker N, et al. EGFR-mediated Beclin 1 phosphorylation in autophagy suppression, tumor progression, and tumor chemoresistance [J]. *Cell*, 2013, 154(6): 1269-1284.
- [68] Han W, Pan H, Chen Y, et al. EGFR tyrosine kinase inhibitors activate autophagy as a cytoprotective response in human lung cancer cells [J]. *PLoS One*, 2011, 6(6): e18691.
- [69] Kong D, Ma S, Liang B, et al. The different regulatory effects of p53 status on multidrug resistance are determined by autophagy in ovarian cancer cells [J]. *Biomed Pharmacother*, 2012, 66(4): 271-278.
- [70] Feng Z, Zhang H, Levine A J, et al. The coordinate regulation of the p53 and mTOR pathways in cells [J]. *Proc Nat Acad Sci USA*, 2005, 102(23): 8204-8209.
- [71] Pailas S, Causse A, Marzi L, et al. MAPK14/p38 alpha confers irinotecan resistance to TP53-defective cells by inducing survival autophagy [J]. *Autophagy*, 2012, 8(7): 1098-1112.
- [72] de la Cruz-Morcillo M A, L Valero M L, Callejas-Valera J L, et al. P38MAPK is a major determinant of the balance between apoptosis and autophagy triggered by 5-fluorouracil: implication in resistance [J]. *Oncogene*, 2012, 31(9): 1073-1085.
- [73] Zhang J, Zhang Y, Liu S, et al. Metadherin confers chemoresistance of cervical cancer cells by inducing autophagy and activating ERK/NF- κ B pathway [J]. *Tumor Biol*, 2013, 34(4): 2433-2440.
- [74] Zhangad H, Tangab J, Liad C, et al. MiR-22 regulates 5-FU sensitivity by inhibiting autophagy and promoting apoptosis in colorectal cancer cells [J]. *Cancer Lett*, 2015, 356(2): 781-790.
- [75] Pan B, Chen Y, Song H, et al. Mir-24-3p downregulation contributes to VP16 - DDP resistance in small-cell lung cancer by targeting ATG4A [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(1): 317-331.
- [76] Pennati M, Lopercolo A, Profumo V, et al. miR-205 impairs the autophagic flux and enhances cisplatin cytotoxicity in castration-resistant prostate cancer cells [J]. *Biochem Pharmacol*, 2014, 87(4): 579-597.
- [77] Wang Z, Wang N, Liu P, et al. MicroRNA-25 regulates chemoresistance-associated autophagy in breast cancer cells, a process modulated by the natural autophagy inducer isoliquiritigenin [J]. *Oncotarget*, 2014, 5(16): 7013-7026.
- [78] 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]. *J Biol Chem*, 2013, 288(13): 9165-9176.
- [79] Lin C J, Lee C C, Shih Y L, et al. Resveratrol enhances the therapeutic effect of temozolomide against malignant glioma *in vitro* and *in vivo* by inhibiting autophagy [J]. *Free Rad Biol Med*, 2012, 52(2): 377-391.
- [80] Kohli L, Kaza N, Coric T, et al. 4-Hydroxytamoxifen induces autophagic death through K-Ras degradation [J]. *Cancer Res*, 2013, 73(14): 4395.
- [81] Bonapace L, Bornhauser B C, Schmitz M, et al. Induction of autophagy-dependent necroptosis is required for childhood acute lymphoblastic leukemia cells to overcome glucocorticoid resistance [J]. *J Clin Invest*, 2010, 120(4): 1310-1323.
- [82] Lin C I, Whang E E, Abramson M A, et al. Autophagy: A new target for advanced papillary thyroid cancer therapy [J]. *Surgery*, 2009, 146(6): 1208-1214.
- [83] Lin C I, Whang E E, Donner D B, et al. Autophagy induction with RAD001 enhances chemosensitivity and radiosensitivity through met inhibition in papillary thyroid cancer [J]. *Mol Cancer Res*, 2010, 8(9): 1217-1226.