

· 讲座 ·

自噬在乳腺癌发生发展中作用的研究进展

任雅丽 姜平

自噬现象普遍存在于真核细胞,是细胞在营养成分缺失或低氧等应激状态下,将自身蛋白质和细胞器隔离后降解,循环再利用以维持生命的一种行为。判断自噬的唯一金标准是在透射电镜下观察到自噬泡,表现为双层膜或多层膜包绕的泡状结构。自噬是近几年生物学领域的研究热点之一,其在乳腺癌中的研究取得了长足进展。本文就自噬在乳腺癌的发生、发展、治疗及预后判断中的作用进行总结,并归纳目前已知的分子机制。

1 自噬的形态学特点及其与肿瘤的关系

自噬现象于 1962 年被发现之后,在很长时间内学者们对它的认识相当有限,曾一度将其与凋亡混淆。现已明确认识到无论形态还是功能自噬都与凋亡不同^[1]。自噬发生时,最初表现为细胞质的一部分,包括细胞器被双层膜结构分离包被,称为自噬体(autophagosome),随后自噬体与溶酶体融合形成自噬溶酶体(autolysosome),其内容物被溶酶体水解酶降解。透射电镜是唯一公认的检测自噬的金标准,其特征为,双层膜或多层膜包绕的大小不一的泡状小体——自噬泡,其内有时可见结构完整的细胞器,如线粒体、内质网等。近几年,自噬在肿瘤中作用的研究受到越来越广泛的关注。有学者认为,自噬将同凋亡相比肩,成为生命科学研究中的又一非常重要的领域^[1]。

自噬现象普遍存在于真核细胞。当细胞处于营养成分缺失或低氧等应激状态时,自噬过程启动,由细胞内的膜结构将蛋白质和细胞器隔离后进行降解,从而循环利用这些物质以获得维持生命所必需的 ATP 及其他对生存至关重要的基本成分。从该角度讲,自噬的存在使细胞能更好地适应环境变化,增强其存活能力;另一方面,过强的自噬可直接导致程序性细胞死亡,为了与凋亡相鉴别,将其称为Ⅱ型程序性细胞死亡^[2]。

目前,虽然自噬已成为肿瘤研究领域最热门的话题之一,但其作用尚未明确。一方面,自噬可以抑制肿瘤,如自噬抑制或缺失能导致细胞的恶性转化,产生自发性肿瘤(如自噬基因 beclin 1 敲除的小鼠^[3]);另一方面,由于细胞遭

遇应激(如抗肿瘤药物)时,自噬可以保护细胞并提高其存活能力,因此,自噬激活也可能有利于肿瘤的发展。同样,针对不同情况采用抑制自噬和增强自噬的方法都可能增强治疗效果。比如,适当抑制自噬能削弱细胞的生存能力增加细胞死亡^[4];抑制自噬拮抗蛋白如 B 细胞淋巴瘤/白血病-2(B-cell lymphoma/leukemia, BCL-2)、蛋白激酶 C- δ (protein kinase C delta, PKC δ)及组织转谷氨酰胺酶(transglutaminase 2, TG2),则能引起自噬性细胞死亡^[5],二者均有助于肿瘤治疗。

2 自噬在乳腺癌发生发展中的作用

乳腺癌是女性最常见的恶性肿瘤之一。中国原属乳腺癌低发区,但因生活习惯等的改变^[6],近些年其发病率有超过宫颈癌而居女性恶性肿瘤首位的趋势。近年来,有关乳腺癌的研究发现,自噬在乳腺癌的发病及治疗中发挥着重要作用。

研究发现:自噬基因 beclin 1 在 40%~75% 的人乳腺癌中发生等位基因缺失;在人乳腺癌上皮细胞系及组织中,内源性 beclin 1 蛋白的表达通常较低,但在正常乳腺上皮细胞中呈高表达;在人乳腺癌细胞系 MCF-7 中 beclin 1 可以通过促进自噬而抑制细胞增殖和体外克隆性生长^[7]。同样, beclin 1 基因突变小鼠肿瘤的发生率也明显增高^[3]。近来有研究者认为,在尚未发生侵袭的乳腺癌发病早期,肿瘤细胞能够利用自噬来克服低氧或低营养的环境,进而延迟凋亡,增强自身存活能力^[8]。

3 自噬在乳腺癌进程中的作用机制

乳腺癌体外及体内实验均发现,自噬缺失能激活 DNA 损伤反应,促进基因扩增,使凋亡减弱,促进肿瘤形成。因此,学者们推测自噬可以限制代谢应激,保护基因组的稳定性^[9]。其中, beclin 1 发挥着重要作用。据文献报道, beclin 1 可下调雌激素信号系统活性和细胞的生长,在肿瘤的抗雌激素治疗耐受中起作用^[10]。在乳腺癌细胞系中,他莫昔芬刺激可引起 c-Jun 的 N-末端蛋白激酶 1(c-Jun N-terminal protein kinase 1, JNK1)活化,继之以 BCL-2 磷酸化和 beclin 1 与 BCL-2 分离,激活自噬^[11]。他莫昔芬刺激也可引起肽基辅氨酰异构酶 Pin1 增加, Pin1 通过上调转录因子 E2F-4 和早期生长应答基因 1(early growth response gene 1, Egr-1)引起自噬^[12]。此外,他莫昔芬刺激还可引起固醇类物质堆积及 beclin 1 表达增加,进而导致固醇及 beclin 1 依赖的自噬发生^[13]。

Sivaprasad 等^[14]发现,用肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)刺激 MCF-7 细胞会产生时间依赖性的细胞外信号调节激酶(extracellular regulated protein 1/2, ERK1/2)活性增强伴自噬增强;抑制 ERK1/2 磷酸化则导致 TNF

依赖的自噬减弱。在乳腺癌细胞系 MDA-MB-231 中,过氧化物酶体增殖物活化受体 γ (peroxisome proliferators activated receptors γ , PPAR γ) 的活化引起低氧诱导因子 1 α (hypoxia-inducible factor 1 α , HIF1 α) 上调,后者介导 PPAR γ 引起的自噬激活^[15]。饥饿或生长因子抑制剂可激活自噬,同时伴有 AMP 激酶及真核延伸因子-2 (eukaryotic elongation factor 2, eEF-2) 激酶的活化增强;抑制 eEF-2 激酶则自噬水平降低^[16],而转录激活因子 4 (activating transcription factor 4, ATF4) 可以上调 LC3B 水平,激活自噬^[17]。据文献报道,在 MCF-7 细胞中,抑制乳腺癌易感基因 1 (breast cancer susceptibility gene 1, BRCA1) 或过表达鞘氨醇激酶 (sphingosine kinase 1, SK1) 能导致自噬水平增加^[18-19],抑制 caspase 9 则自噬受抑^[20]。此外,在缺乏 caspase 3 的 MCF-7 细胞中,放射作用可以通过激活内质网应激来激活自噬^[21]。自噬在乳腺癌中的作用及机制总结如图 1。

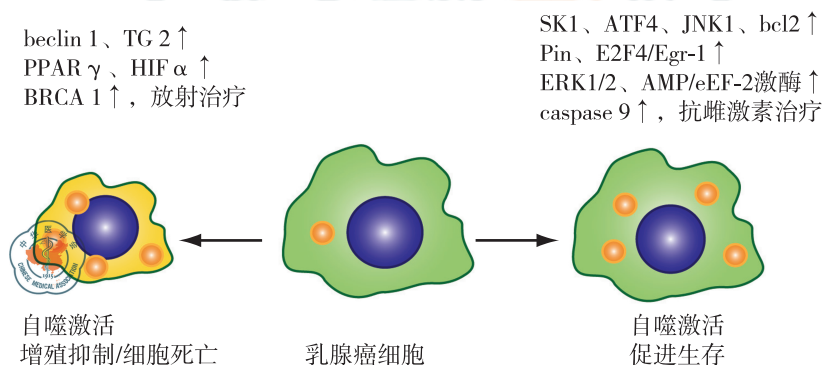


图 1 自噬在乳腺癌中的作用机制

4 自噬在乳腺癌治疗和预后判断中的作用

近来,研究者不断发现自噬在乳腺癌的治疗中发挥重要作用。应用他莫昔芬对 MCF-7 细胞进行治疗性实验的同时联合应用自噬抑制剂,能导致细胞活力进一步下降、线粒体介导的凋亡增加^[22]。研究表明,应用 4-羟基他莫昔芬治疗雌激素受体阳性的乳腺癌时,自噬是促进细胞存活的关键因素^[23]。此外,激活自噬可以削弱曲妥珠单抗抗体 (trastuzumab) 的治疗效果,而抑制自噬则可以加强其抑制细胞生长的作用^[24]。上述结果表明,采用传统药物治疗乳腺癌时,联合应用自噬抑制剂可能效果更好。与此相反,有研究发现,在 MCF-7 细胞中将野生型 BCL 和 BCL-2 共敲除后,细胞的自噬增强,同时其对抗激素治疗的敏感性及细胞坏死都增加;而将自噬抑制后,细胞对抗激素治疗的敏感性下降,细胞坏死减少^[25]。此外,抑制自噬能使 bak/bax (-/-) 的细胞抗放射能力增强,而过表达自噬相关基因 5 (autophagy-related gene 5, Atg5) 和 beclin 1 则可以增加乳腺癌细胞对放射的敏感性^[26]。在 MCF-7 细胞中,放射

治疗联合应用自噬诱导剂能使细胞死亡明显增加^[27]。同时,提高受照射乳腺癌细胞的自噬水平,可以延缓和抑制细胞增殖的恢复^[28]。

最近,Sivridis 等^[29]发现,用抗 LC3 抗体检测乳腺癌组织的自噬情况时,癌细胞自噬的染色情况可分为3种:胞质中弥散分布;胞质/胞核周分布;石块样分布,即圆形或无定形、平均直径 5 μm 的高密度团块。研究发现,如果肿瘤组织中含有一定量的石块样染色细胞,则肿瘤的分级较高,患者预后差;核周分布的染色强度与肿瘤大小及患者预后成反比;胞质中弥散分布的染色则无意义^[29]。鉴于自噬在肿瘤中的作用,且常规免疫组化方法即可得到满意的结果,因此,自噬有可能成为乳腺癌患者判断预后的依据之一。

5 结语

综上所述,自噬在乳腺癌发病、诊断、治疗及预后判断中具有重要作用。在进一步的探索中应注意以下几点:首先,要了解乳腺癌细胞的基础自噬水平。自噬是把双刃剑,“过”或“不足”都可能导致细胞生存能力的降低。这里的“过”或“不足”均是针对细胞的基础自噬水平而言。人体不同组织或同种组织中,正常细胞与肿瘤细胞间的基础自噬水平有很大的差别。因此,确定细胞的基础自噬水平是研究、判断自噬作用的前提。在肿瘤治疗时,采用“过”者强之,“不足”者弱之,很可能是一种正确的选择。其次,要了解不同病理分型的乳腺癌中自噬的发生情况。如前所述,不同类型的细胞中自噬水平是不同的,那么在不同病理分型的乳腺癌(如导管原位癌、浸润性导管癌等)中,细胞自噬的发生情况是否不同?其作用是否相同?对预后的判断是否有区别?这些都有待解决。第三,要了解发生自噬的细胞对其周围微环境的影响。研究发现,乳腺癌细胞可以“驱动”其周围纤维母细胞发生自噬并促进后者将自身的营养物质通过旁分泌的方式分泌出去,来“饲养”肿瘤细胞,促进肿瘤生长^[30]。以此类推,当癌细胞发生自噬时,也可能通过旁分泌等形式来改变其生存的微环境,为自身的生存、转移创造条件。鉴于肿瘤周围微环境对肿瘤的发生、发展及治疗具有非常重要的作用,无疑,对这个问题的探索将具有重要意义。

【关键词】 自噬;乳腺肿瘤;电子显微镜;beclin 1

【中图法分类号】 R737.9 【文献标识码】 A

参考文献

- [1] Klionsky DJ. Autophagy: from phenomenology to molecular understanding in less than a decade[J]. Nat Rev Mol Cell Bio, 2007,8(11):931-937.
- [2] Mizushima N, Levine B, Cuervo AM, et al. Autophagy fights disease through cellular self-digestion[J]. Nature, 2008, 451(7182):1069-1075.
- [3] Jin S, White E. Role of autophagy in cancer: management of metabolic stress[J]. Autophagy, 2007,3(1):28-31.

- [4] Levine B. Cell biology: autophagy and cancer[J]. Nature, 2007, 446(7137): 745-747.
- [5] Dalby KN, Tekedereli I, Lopez-Berestein G, et al. Targeting the prodeath and prosurvival functions of autophagy as novel therapeutic strategies in cancer[J]. Autophagy, 2010, 6(3): 322-329.
- [6] 耿翠芝. 降低乳腺癌患病风险: 解读 2010 年 NCCN《Breast Cancer Risk Reduction》[J/CD]. 中华乳腺病杂志: 电子版, 2010, 4(4): 368-373.
- [7] Liang XH, Jackson S, Seaman M, et al. Induction of autophagy and inhibition of tumorigenesis by beclin 1 [J]. Nature, 1999, 402(6762): 672-676.
- [8] Espina V, Liotta LA. What is the malignant nature of human ductal carcinoma *in situ*? [J]. Nat Rev Cancer, 2011, 11(1): 68-75.
- [9] Karantza-Wadsworth V, Patel S, Kravchuk O, et al. Autophagy mitigates metabolic stress and genome damage in mammary tumorigenesis[J]. Genes Dev, 2007, 21(13): 1621-1635.
- [10] John S, Nayvelt I, Hsu HC, et al. Regulation of estrogenic effects by beclin 1 in breast cancer cells[J]. Cancer Res, 2008, 68(19): 7855-7863.
- [11] Pattingre S, Bauvy C, Carpentier S, et al. Role of JNK1-dependent BCL-2 phosphorylation in ceramide-induced macroautophagy[J]. J Biol Chem, 2009, 284(5): 2719-2728.
- [12] Namgoong GM, Khanal P, Cho HG, et al. The prolyl isomerase Pin1 induces LC-3 expression and mediates tamoxifen resistance in breast cancer[J]. J Biol Chem, 2010, 285(31): 23 829-23 841.
- [13] de Medina P, Silvente-Poirot S, Poirot M. Tamoxifen and AEBS ligands induced apoptosis and autophagy in breast cancer cells through the stimulation of sterol accumulation[J]. Autophagy, 2009, 5(7): 1066-1067.
- [14] Sivaprasad U, Basu A. Inhibition of ERK attenuates autophagy and potentiates tumour necrosis factor-alpha-induced cell death in MCF-7 cells[J]. J Cell Mol Med, 2008, 12(4): 1265-1271.
- [15] Zhou J, Zhang W, Liang B, et al. PPARgamma activation induces autophagy in breast cancer cells[J]. Int J Biochem Cell Biol, 2009, 41(11): 2334-2342.
- [16] Cheng Y, Li H, Ren X, et al. Cytoprotective effect of the elongation factor-2 kinase-mediated autophagy in breast cancer cells subjected to growth factor inhibition[J]. PLoS ONE, 2010, 5(3): e9715.
- [17] Milani M, Rzymiski T, Mellor HR, et al. The role of ATF4 stabilization and autophagy in resistance of breast cancer cells treated with Bortezomib [J]. Cancer Res, 2009, 69(10): 4415-4423.
- [18] Esteve JM, Armengod ME, Knecht E. BRCA1 negatively regulates formation of autophagic vacuoles in MCF-7 breast cancer cells[J]. Exp Cell Res, 2010, 316(16): 2618-2629.
- [19] Jeong HS, Choi HY, Lee ER, et al. Involvement of caspase-9 in autophagy-mediated cell survival pathway [J]. Biochim Biophys Acta, 2011, 1813(1): 80-90.
- [20] Kim KW, Moretti L, Mitchell LR, et al. Endoplasmic reticulum stress mediates radiation-induced autophagy by perleukin-2alpha in caspase-3/7-deficient cells[J]. Oncogene, 2010, 29(22): 3241-3251.
- [21] Lavieu G, Scarlatti F, Sala G, et al. Regulation of autophagy by sphingosine kinase 1 and its role in cell survival during nutrient starvation[J]. J Biol Chem, 2006, 281(13): 8518-8527.
- [22] Qadir MA, Kwok B, Dragowska WH, et al. Macroautophagy inhibition sensitizes tamoxifen-resistant breast cancer cells and enhances mitochondrial depolarization[J]. Breast Cancer Res Treat, 2008, 112(3): 389-403.
- [23] Samaddar JS, Gaddy VT, Duplantier J, et al. A role for macroautophagy in protection against 4-hydroxytamoxifen-induced cell death and the development of antiestrogen resistance[J]. Mol Cancer Ther, 2008, 7(9): 2977-2987.
- [24] Vazquez-Martin A, Oliveras-Ferraro C, Menendez JA. Autophagy facilitates the development of breast cancer resistance to the anti-HER2 monoclonal antibody trastuzumab[J]. PLoS ONE, 2009, 4(7): e6251.
- [25] Crawford AC, Riggins RB, Shajahan AN, et al. Co-inhibition of BCL-W and BCL2 restores antiestrogen sensitivity through BECN1 and promotes an autophagy-associated necrosis[J]. PLoS ONE, 2010, 5(1): e8604.
- [26] Kim KW, Mutter RW, Cao C, et al. Autophagy for cancer therapy through inhibition of pro-apoptotic proteins and mammalian target of rapamycin signaling[J]. J Biol Chem, 2006, 281(48): 36 883-36 890.
- [27] Paglin S, Lee NY, Nakar C, et al. Rapamycin-sensitive pathway regulates mitochondrial membrane potential, autophagy, and survival in irradiated MCF-7 cells[J]. Cancer Res, 2005, 65(23): 11 061-11 070.

- [28] Gewirtz DA, Hilliker ML, Wilson EN. Promotion of autophagy as a mechanism for radiation sensitization of breast tumor cells[J]. Radiother Oncol, 2009, 92(3):323-328.
- [29] Sivridis E, Koukourakis MI, Zois CE, et al. LC3A-positive light microscopy detected patterns of autophagy and prognosis in operable breast carcinomas[J]. Am J Pathol, 2010, 176(5):2477-2489.
- [30] Chiavarina B, Whitaker-Menezes D, Migneco G, et al. HIF1-alpha functions as a tumor promoter in cancer associated fibroblasts, and as a tumor suppressor in breast cancer cells: Autophagy drives compartment-specific oncogenesis[J]. Cell Cycle, 2010, 9(17):3534-3551.

(收稿日期:2011-01-07)

(本文编辑:罗承丽)

任雅丽,姜平. 自噬在乳腺癌发生发展中作用的研究进展[J/CD]. 中华乳腺病杂志:电子版, 2012, 6(3):328-333.

