

DOI:10.3969/j.issn.1000-9760.2022.02.014

# 自噬在胶质母细胞瘤发生发展中的作用\*

张 鲁 综述 靳 峰<sup>△</sup> 审校

(济宁医学院临床医学院, 济宁 272013; 济宁医学院附属医院, 济宁 272029)

**摘 要** 自噬是细胞内维持稳态和保护细胞在应激条件下免于死亡的过程,通过溶酶体途径降解受损细胞器及错误折叠的蛋白质发挥作用。自噬在胶质母细胞瘤(GBM)中发生频繁,可导致长期化疗后多药耐药(multidrug resistance, MDR)。自噬在胶质瘤及 MDR 细胞中发挥双重作用,既参与其发生发展,同时也能清除凋亡抑制的肿瘤细胞。本文综述了自噬在 GBM 发生及发展中的作用,总结了影响自噬的相关信号通路,探讨自噬调节作为一种肿瘤治疗策略的可行性。

**关键词** 胶质母细胞瘤;自噬;多药耐药

**中图分类号**:R739.41 **文献标识码**:B **文章编号**:1000-9760(2022)04-131-04

## The impact of autophagy during the development and survival of glioblastoma

ZHANG Lu, JIN Feng<sup>△</sup>

(School of Clinical Medicine, Jining Medical University, Jining 272013 China;

Affiliated Hospital of Jining Medical University, Jining 272029, China)

**Abstract:** Autophagy is a process of maintaining homeostasis and protecting cells from death under stress. It can degrade damaged organelles and misfolded proteins through lysosomal pathway. Autophagy not only occurs frequently in glioblastoma, but also easily leads to multidrug resistance (MDR) after long-term chemotherapy. Autophagy plays a dual role in tumor and MDR cells as it can not only participate in its occurrence and development, but also eliminate apoptosis inhibitory cells. This paper reviews the role of autophagy in the occurrence and development of glioblastoma, summarizes the related signal pathways affecting autophagy, and discusses the feasibility of autophagy regulation as a tumor treatment strategy.

**Keywords:** Glioma; Autophagy; Multidrug resistance.

自噬在肿瘤发生发展中起双重作用。有时它是胶质瘤细胞的保护过程,又称保护性自噬,可以为 DNA 损伤修复或其他细胞过程提供稳定的营养和能量;同时使细胞失去对药物、饥饿等应激状态的敏感性,在不利条件下促进代谢、免疫逃避、侵袭转移,维持肿瘤的存活和生长,引起肿瘤对治疗药物的耐药性<sup>[1]</sup>,并参与多药耐药(multidrug resistance, MDR)细胞的形成<sup>[2]</sup>。化疗药物联合自噬抑制剂抑制自噬有利于增强药物的敏感性,减少 MDR 发生<sup>[3]</sup>。相反,过度自噬引起独立于凋亡的“II 型程序性细胞死亡”,又称“自噬细胞死亡”,化

疗药物联合自噬诱导剂时自噬过度激活逆转 MDR,可能作为耐药胶质瘤新的治疗方向。因此,研究自噬调节在胶质瘤中的发生发展具有重要意义。

## 1 自噬

### 1.1 自噬过程

溶酶体-自噬系统是蛋白质降解的主要途径之一,在自噬过程中溶酶体降解细胞质材料并再次循环利用。这一过程依赖众多自噬蛋白(Atg)复合体及多种泛素连接体系的参与。自噬体形成起始于 Atg1/ULK1 的激活,自噬体膜来自高尔基体,依靠 Vps34、Vps15、Beclin1 和 Atg14 的调控形成自噬体的双层膜结构,类泛素连接体系在自噬体延伸

\* [基金项目] 济宁医学院教师科研扶持基金(JYFC2018FK J139)

<sup>△</sup>[通信作者] 靳峰, E-mail: jinfengsdjn@163.com

包裹降解底物的过程中发挥作用,形成具有 E3 泛素连接酶活性的 Atg12-Atg5-Atg16L1 复合物<sup>[4]</sup>, LC3-I 在 Atg4B 切割后暴露含有甘氨酸残基的 C 末端,C 末端在 Atg7 和 Atg3 介导下经 Atg12-Atg5-Atg16L1 复合物催化与磷脂酰乙醇胺(PE)结合形成 LC3-II。LC3-II 经过 Vps34-Atg6/Beclin1 复合物催化作为一种材料直至延伸形成完整自噬体<sup>[5]</sup>。自噬体外膜与溶酶体膜在 Rab7 和 Vps34-Atg6/Beclin1 复合物辅助下结合形成自噬溶酶体,溶酶体内的水解酶进入自噬溶酶体内降解底物及自噬体内膜为能量供细胞利用,并通过 Atg4B 将自噬体外膜的 LC3-II 分割为 LC3-I 和 PE 重新利用<sup>[6]</sup>。

## 1.2 自噬的分子调节机制

自噬调节的中枢调节因子是哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR),作为一种特殊的环境感受器,它可以对细胞内微环境变化及细胞外应激做出反应。mTOR 是自噬的负性调节因子,在营养充足时激活下游 mTOR 抑制自噬和蛋白质降解;反之,去磷酸化的 ULK1 从失活的 mTOR 复合物中解离并磷酸化 Atg13 诱导自噬发生<sup>[7]</sup>,灭活的 mTORC1 进一步激活含有 Atg14 的 III 型磷脂酰肌醇 3-激酶(PIK3C3/VPS34)诱导自噬发生,说明 mTOR 通过可直接激活 PIK3C3 调节自溶酶体重组,导致自溶酶体小管分选和溶酶体再生<sup>[8]</sup>。

PIK3CA 突变可激活间变性少突胶质细胞 PI3K/AKT/mTOR 通路,抑制凋亡及自噬,促进少突胶质细胞瘤恶性转化并促进异种移植物的生长<sup>[9]</sup>。Wolin 等<sup>[10]</sup>研究显示 ConBr 凝集素可下调 ERK 1/2、Akt 和 mTORC1 的表达,抑制 Akt/mTORC1 通路并诱导胶质瘤细胞的自噬细胞死亡。靶向 PI3K/AKT/mTOR 途径介导的自噬可能增强肿瘤细胞的替莫唑胺(TMZ)敏感性,避免 MDR 肿瘤细胞形成<sup>[11]</sup>。PI3K-mTOR 抑制剂 NVP-BEZ235 通过下调 PI3K-AKT-mTOR 途径,发挥抗肿瘤作用<sup>[12]</sup>, miR-450a-5p 通过抑制 EGFR 诱导的 PI3K/AKT/mTOR 信号通路,与吉非替尼协同抑制胶质瘤的发生,从而增强吉非替尼的药物敏感性<sup>[13]</sup>。雷帕霉素类似物等 mTOR 特异性抑制剂是治疗恶性胶质瘤的有效药物,利用 mTOR 通路及其抑制剂可以增强胶质母细胞瘤(GBM)对 TMZ 的敏感性,促进自噬细胞死亡。

## 1.3 自噬在细胞核水平的调节机制

### 1.3.1 p53 p53 可通过增强参与自噬诱导

(LKB1, ULK1/2) 和自噬体成熟(ATG4, ATG7, and ATG10)的基因表达来促进自噬过程。同时 P53 也是脂质神经酰胺(ceramide)介导的自噬细胞死亡下游靶点,Par-4/p53/BNIP3 通路在人脑恶性胶质瘤自噬介导的细胞死亡中起着至关重要的作用<sup>[14]</sup>。下调 RabGEF1 激活 p53 时,参与调节 AKT 和 ERK 通路,磷酸化的 AKT、p70S6K 和磷酸化的 ERK 均降低,诱导胶质瘤细胞自噬<sup>[15]</sup>。

### 1.3.2 转录激活因子 EB(TFEB)

哺乳动物 Atg8 蛋白(mAtg8s)是调节 mTOR 和溶酶体系统的 TFEB 的上游调节因子,在营养缺乏时 TFEB 激活自噬<sup>[16]</sup>,mTOR、ERK2 和 GSK3B 是磷酸化 TFEB 的主要激酶。TFEB 蛋白的表达和寡聚影响胶质瘤及其干细胞的耐药性,抑制 TFEB 的表达和寡聚作用可促进肿瘤细胞化疗敏感性<sup>[17]</sup>。

### 1.3.3 叉头框转录因子 O 亚型 1(FoxO)

FoxO 通常被认为是肿瘤抑制因子,但它也能促进癌症的进展。内源性 FoxG1 的表达与 GBM 的进展呈正相关,FoxG1 通过下调 FoxO/Smad 信号来抑制胶质母细胞瘤的差异反应,从而发挥肿瘤细胞因子的作用<sup>[18]</sup>。抑制 PI3K/mTOR 通路诱导 FoxO 高表达可增强 GBM 细胞干细胞基因表达,FoxO 调节自噬诱导(ULK1、ULK2、SESN3)、成核(BECN1、ATG14、PI3K III)、延伸(MAP1LC3B、ATG4、ATG5、ATG12、GABARALI)和自噬体-溶酶体融合(Rab7 和另一种转录因子 TFEB)的基因<sup>[19]</sup>。

### 1.3.4 PTEN

PTEN 是常见的抑癌基因,在胶质瘤中广泛存在 PTEN 基因突变和缺失,与患者不良预后正相关。在 PTEN-PI3K/AKT/mTOR 信号通路,PTEN 可减少 AKT 的活化并阻止所有由 AKT 调控的下游信号传导事件,负调控 mTOR,促进自噬发生。药物诱导 DNA 损伤激活 ATM,在丝氨酸 113 处磷酸化 PTEN,诱导 PTEN 的核易位,核易位后,PTEN 诱导自噬,与激活 p-Jun-SESN2/AMPK 通路有关。这些结果表明,ATM 介导的 PTEN 磷酸化对 PTEN 核易位和 DNA 损伤后自噬的诱导至关重要<sup>[20]</sup>。下调 miRNA-494 通过诱导 PTEN 表达介导 Akt/mTOR 途径,诱导细胞凋亡自噬<sup>[21]</sup>。

## 2 自噬在 GBM 发生发展中的作用

### 2.1 自噬与 GBM 的发生

自噬在 GBM 发生和发展中具有相关性。在生长受限条件下,自噬抑制的胶质瘤细胞不能维持活跃的生长信号,容易衰老。自噬调节参与肿瘤免疫

反应,肿瘤细胞免疫逃避可通过自噬降解主要组织相容性复合物 I(MHC-I)和非标准自噬吞噬死亡的肿瘤细胞来介导;相反,死亡肿瘤细胞的自噬激活可以通过释放炎症信号刺激免疫原性细胞死亡<sup>[22]</sup>。此外,自噬可以通过调节受体酪氨酸激酶(RTK)信号和内存运输来支持肿瘤生长。自噬抑制增强了 GBM 对辐射和化疗的敏感性,包括 TMZ、HDAC 抑制剂和 RTK 靶向分子,均提示操纵自噬可能是 GBM 的一种新的治疗方向。

### 2.2 自噬与 GBM 的侵袭

自噬可能通过调节上皮-间充质转化(EMT)过程和 Met 信号在肿瘤细胞侵袭中发挥作用。胶质瘤通过 EMT 途径获得侵袭性,而自噬可以影响胶质瘤的表型变化。N-cadherin 水平降低会损害其黏附力可增强胶质瘤细胞迁移能力<sup>[23]</sup>,自噬刺激下调 EMT 主要调节因子 SNAIL 和 SLUG 并促进 N-cadherin 表达,说明自噬刺激可能抑制 GBM 的侵袭。相反,有实验显示自噬抑制剂阻断 Meg3 介导的胶质瘤 EMT、侵袭及转移<sup>[24]</sup>。核心蛋白多糖过表达通过 c-Met/Akt/mTOR 轴诱导自噬,抑制胶质瘤的侵袭和 EMT 表型。并且参与调节间充质标志物 Slug、vimentin、Twist 以及上皮标志物 E-cadherin 的表达<sup>[25]</sup>。

### 2.3 自噬与 GBM 的多药耐药

保护性自噬促进 MDR 发展,沉默 Atgs 抑制自噬使 MDR 细胞对化疗药敏感,有证据显示自噬对蒽环类诱导的 MDR 反应并保护 MDR 细胞免受损伤。一般情况下,自噬阻断凋亡的诱导,然而特殊情况下自噬细胞死亡有助于诱导细胞凋亡或坏死,它受 PI3K/AKT/mTOR 信号和 ROS 通路相关的调控<sup>[26]</sup>,通过消除受损的细胞器和回收正常细胞中的降解产物来发挥抗癌作用。自噬还可以在凋亡缺陷的 MDR 细胞中发挥促死亡作用并介导化学药物增敏逆转 MDR<sup>[27]</sup>。

### 3 小结与展望

GBM 是最难治疗的脑肿瘤之一,自噬调节是一种有潜力的靶向治疗方案。保护性自噬使细胞免于凋亡并增强耐药性,参与 MDR 细胞生成。自噬抑制剂与化疗药物联合应用具有巨大的前景,临床中自噬抑制剂已开始应用,它既能单独使用又可以与 RTK 抑制剂或 EGFR/PI3K/AKT 抑制剂联合使用,并有效延长患者生存期。相反,自噬诱导剂诱导的自噬性细胞死亡直接杀伤癌细胞并逆转

MDR 细胞。但是由于自噬的双重作用,目前无法判断抑制剂或激活剂的应用窗口,建立化疗药物的阈值剂量来选择自噬作用方向是当前亟需解决的问题,并且需要进一步研究开发新的和特定的调节剂。重点将是解决保护性自噬提供的能量供应,寻找引起自噬细胞死亡的有效靶点,为患者提供个性化治疗方案,对当前治疗方案提供补充。

利益冲突:所有作者均申明不存在利益冲突。

### 参考文献:

- [1] Pratt J, Iddir M, Bourgault S, et al. Evidence of MTCBP-1 interaction with the cytoplasmic domain of MT1-MMP: Implications in the autophagy cell index of high-grade glioblastoma[J]. *Mol Carcinog*, 2016, 55(2): 148-160. DOI: 10.1002/mc.22264.
- [2] Kumar P, Zhang DM, Degenhardt K, et al. Autophagy and transporter-based multi-drug resistance[J]. *Cells*, 2012, 1(3): 558-575. DOI: 10.3390/cells1030558.
- [3] Huang T, Wan X, Alvarez AA, et al. MIR93(microRNA-93) regulates tumorigenicity and therapy response of glioblastoma by targeting autophagy[J]. *Autophagy*, 2019, 15(6): 1100-1111. DOI: 10.1080/15548627.2019.1569947.
- [4] Fujioka Y, Noda NN, Nakatogawa H, 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. DOI: 10.1074/jbc.M109.053520.
- [5] Yang Z, Klionsky DJ. An overview of the molecular mechanism of autophagy[J]. *Curr Top Microbiol Immunol*, 2009, 3351-3332. DOI: 10.1007/978-3-642-00302-8\_1.
- [6] Singh R, Cuervo AM. Autophagy in the cellular energetic balance[J]. *Cell Metab*, 2011, 13(5): 495-504. DOI: 10.1016/j.cmet.2011.04.004.
- [7] Alers S, Löffler AS, Wesselborg S, et al. Role of AMPK-mTOR-Ulk1/2 in the regulation of autophagy: cross talk, shortcuts, and feedbacks[J]. *Mol Cell Biol*, 2012, 32(1): 2-11. DOI: 10.1128/MCB.06159-11.
- [8] Yu L, McPhee CK, Zheng L, et al. Termination of autophagy and reformation of lysosomes regulated by mTOR[J]. *Nature*, 2010, 465(7300): 942-946. DOI: 10.1038/nature09076.
- [9] Tateishi K, Nakamura T, Juratli TA, et al. PI3K/AKT/mTOR Pathway Alterations Promote Malignant Progression and Xenograft Formation in Oligodendroglial Tumors[J]. *Clin Cancer Res*, 2019, 25(14): 4375-

4387. DOI:10.1158/1078-0432.CCR-18-4144.
- [10] Wolin IAV, Heinrich IA, Nascimento APM, et al. ConBr lectin modulates MAPKs and Akt pathways and triggers autophagic glioma cell death by a mechanism dependent upon caspase-8 activation [J]. *Biochimie*, 2021, 180: 186-204. DOI:10.1016/j.biochi.2020.11.003.
- [11] Xu Z, Han X, Ou D, et al. Targeting PI3K/AKT/mTOR-mediated autophagy for tumor therapy [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2020, 104(2): 575-587. DOI:10.1007/s00253-019-10257-8.
- [12] Yu Z, Xie G, Zhou G, et al. NVP-BEZ235, a novel dual PI3K-mTOR inhibitor displays anti-glioma activity and reduces chemoresistance to temozolomide in human glioma cells [J]. *Cancer Lett*, 2015, 367(1): 58-68. DOI:10.1016/j.canlet.2015.07.007.
- [13] Liu Y, Yang L, Liao F, et al. MiR-450a-5p strengthens the drug sensitivity of gefitinib in glioma chemotherapy via regulating autophagy by targeting EGFR [J]. *Oncogene*, 2020, 39(39): 6190-6202. DOI:10.1038/s41388-020-01422-9.
- [14] Thayyullathil F, Cheratta AR, Pallichankandy S, et al. Par-4 regulates autophagic cell death in human cancer cells via upregulating p53 and BNIP3 [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res*, 2020, 1867(7): 118692. DOI:10.1016/j.bbamer.2020.118692.
- [15] Fan H, Xin T, Dong X, et al. RabGEF1 functions as an oncogene in U251 glioblastoma cells and is involved in regulating AKT and Erk pathways [J]. *Exp Mol Pathol*, 2021, 118: 104571. DOI:10.1016/j.yexmp.2020.104571.
- [16] Kumar S, Jain A, Choi SW, et al. Mammalian Atg8 proteins and the autophagy factor IRGM control mTOR and TFEB at a regulatory node critical for responses to pathogens [J]. *Nat Cell Biol*, 2020, 22(8): 973-985. DOI:10.1038/s41556-020-0549-1.
- [17] Sung GJ, Kim SH, Kwak S, et al. Inhibition of TFEB oligomerization by co-treatment of melatonin with vorinostat promotes the therapeutic sensitivity in glioblastoma and glioma stem cells [J]. *J Pineal Res*, 2019, 66(3): e12556. DOI:10.1111/jpi.12556.
- [18] Wang L, Wang J, Jin T, et al. FoxG1 facilitates proliferation and inhibits differentiation by downregulating FoxO/Smad signaling in glioblastoma [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 504(1): 46-53. DOI:10.1016/j.bbrc.2018.08.118.
- [19] Cheng Z. The FoxO-Autophagy Axis in Health and Disease [J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2019, 30(9): 658-671. DOI:10.1016/j.tem.2019.07.009.
- [20] Chen JH, Zhang P, Chen WD, et al. ATM-mediated PTEN phosphorylation promotes PTEN nuclear translocation and autophagy in response to DNA-damaging agents in cancer cells [J]. *Autophagy*, 2015, 11(2): 239-252. DOI:10.1080/15548627.2015.1009767.
- [21] Han K, Li ZJ, Sun P. MicroRNA494 promotes the proliferation and migration of human glioma cancer cells through the protein kinase B/mechanistic target of rapamycin pathway by phosphatase and tensin homolog expression [J]. *Oncol Rep*, 2019, 41(1): 351-360. DOI:10.3892/or.2018.6823.
- [22] Simpson JE, Gammoh N. The impact of autophagy during the development and survival of glioblastoma [J]. *Open Biol*, 2020, 10(9): 200184. DOI:10.1098/rsob.200184.
- [23] Catalano M, D'Alessandro G, Lepore F, et al. Autophagy induction impairs migration and invasion by reversing EMT in glioblastoma cells [J]. *Mol Oncol*, 2015, 9(8): 1612-1625. DOI:10.1016/j.molonc.2015.04.016.
- [24] Yang Z, Bian E, Xu Y, et al. Meg3 Induces EMT and Invasion of Glioma Cells via Autophagy [J]. *Onco Targets Ther*, 2020, 13989-1000. DOI:10.2147/OTT.S239648.
- [25] Jia Y, Feng Q, Tang B, et al. Decorin Suppresses Invasion and EMT Phenotype of Glioma by Inducing Autophagy via c-Met/Akt/mTOR Axis [J]. *Front Oncol*, 2021, 11659353. DOI:10.3389/fonc.2021.659353.
- [26] Kim SY, Hwangbo H, Kim MY, et al. Coptisine induces autophagic cell death through down-regulation of PI3K/Akt/mTOR signaling pathway and up-regulation of ROS-mediated mitochondrial dysfunction in hepatocellular carcinoma Hep3B cells [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2021, 697108688. DOI:10.1016/j.abb.2020.108688.
- [27] Huang T, Wan X, Alvarez AA, et al. MIR93(microRNA-93) regulates tumorigenicity and therapy response of glioblastoma by targeting autophagy [J]. *Autophagy*, 2019, 15(6): 1100-1111. DOI:10.1080/15548627.2019.1569947.

(收稿日期 2021-02-28)

(本文编辑:石俊强)