

细胞自噬及其与口腔鳞状细胞癌间的相关性

邢雪 卢树静 金鑫综述 陈谦明 曾昕审校

(口腔疾病研究国家重点实验室, 四川大学 成都 610041)

[摘要] 细胞自噬是真核细胞程序性死亡的形式之一, 广泛存在于包括肿瘤在内的多种病理生理过程中。细胞自噬是一降解系统, 可清除细胞内物质, 其降解物质供细胞重复利用, 对饥饿状态下氨基酸池的维持起着非常重要的作用。口腔鳞状细胞癌与细胞自噬间存在着密切的关系, 本文就细胞自噬的分类和功能以及调控机制, 细胞自噬的相关基因和蛋白, 细胞自噬的诱发因素, 细胞自噬与口腔鳞状细胞癌间的关系, 细胞自噬与其他肿瘤间的关系等研究进展作一综述。

[关键词] 细胞自噬; 口腔鳞状细胞癌; 肿瘤

[中图分类号] R 739.8 **[文献标志码]** A **[doi]** 10.7518/gjkq.2013.02.032

Cell autophagy and its correlation with oral squamous cell carcinoma Xing Xue, Lu Shujing, Jin Xin, Chen Qianming, Zeng Xin. (State Key Laboratory of Oral Diseases, Sichuan University, Chengdu 610041, China)

[Abstract] Cell autophagy is one type of programmed cell death in eukaryotic cells. And it has been widely implicated in many physiological and pathological processes, including cancer. Cell autophagy is a bulk degradation system, which controls the clearance and re-use of intracellular constituents, and is important for the maintenance of an amino acid pool essential for survival. Recent studies show that cell autophagy is correlated closely to oral squamous cell carcinoma. This review summarizes classifications, functions, regulatory mechanisms and autophagy-related genes and proteins. This review also concentrates on predisposing factors of cell autophagy and the correlation between cell autophagy and oral squamous cell carcinoma and other tumors.

[Key words] cell autophagy; oral squamous cell carcinoma; tumor

细胞自噬是指大部分为双层膜, 有时为多层或单层的细胞膜包裹部分细胞质和细胞内需降解的细胞器和蛋白质等与溶酶体融合形成自噬溶酶体, 降解其所包裹的内容物, 以实现细胞稳定和细胞器的更新。

1 细胞自噬的分类和功能及调控机制

1.1 细胞自噬的分类

根据细胞内底物进入溶酶体腔的方式不同, 细胞自噬可分为巨自噬、微自噬和分子伴侣介导的自噬三种方式。巨自噬是通过双层膜结构将细胞质中的蛋白质和细胞器包裹形成自噬体, 由自噬体将其包含的细胞质中的蛋白质和细胞器携带

到溶酶体中降解加工; 微自噬是通过溶酶体膜的内陷包裹吞噬细胞质中的底物分子; 分子伴侣介导的自噬具有一定的选择性, 由分子伴侣热休克蛋白-70 识别带有 KFERQ 序列的可溶性细胞质蛋白底物。分子伴侣-底物复合物与溶酶体上的受体溶酶体相关膜蛋白-2A 结合后, 底物去折叠, 位于溶酶体腔中的热休克蛋白-70 介导底物在溶酶体膜转位, 进入溶酶体腔中的底物在水解酶作用下分解为其组成成分, 被细胞再利用。

1.2 细胞自噬的功能

细胞自噬是细胞在饥饿和能量匮乏等代谢压力下的一种生理过程。细胞自噬的功能主要包括以下几个方面: 1) 细胞内的蛋白质、细胞器和细胞质通过自噬作用被包裹和消化, 降解成核苷、氨基酸和脂肪酸, 合成新的大分子和腺苷三磷酸供循环利用, 从而维持细胞的正常代谢和生存^[1]; 2) 在某些情况下可以选择性地清除某些细胞成分, 例如受损的线粒体、内质网和 DNA, 减少异常蛋

[收稿日期] 2012-03-17; **[修回日期]** 2012-10-12

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目 (30930100, 81072218, 30-872872); 四川省青年科技基金资助项目 (09ZQ026-037)

[作者简介] 邢雪 (1985—), 女, 山东人, 硕士

[通讯作者] 曾昕, Tel: 028-85503480

白质和细胞器的堆积,维持细胞的自我稳态;3)细胞自噬又是天然免疫应答的重要组成部分,宿主细胞通过自噬途径可将入侵的病原体降解。

1.3 细胞自噬的调控机制

细胞自噬的调控机制非常复杂,至今尚不明确。研究显示,细胞自噬的调控机制主要有以下几个方面。1)雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)信号途径:在营养丰富的情况下,mTOR磷酸化细胞自噬相关基因(autophagy-related gene, ATG)13, ATG13蛋白在高磷酸化的状态下,与 ATG1 蛋白的亲和力下降,致使 ATG1 蛋白激酶的活性降低;相反,在饥饿条件下,mTOR 的活性被抑制, ATG13 蛋白去磷酸化并与 ATG1 蛋白激酶紧密结合,导致 ATG1 蛋白激酶激活,后者启动细胞自噬。2)磷脂酰肌醇-3-激酶(phosphatidylinositol-3-kinase, PI3K)/蛋白激酶B(protein kinase B, PKB)途径:I型 PI3K 是细胞自噬的负调节分子,其产生的PI(3,4)P2和PI(3,4,5)P3可结合 PKB 及其活化分子磷脂酰肌醇依赖性蛋白激酶-1,抑制细胞自噬;3)激素、促丝裂原激活蛋白激酶和钙也存在于细胞自噬错综复杂的调控网络中,但其具体机制尚不明确。

2 细胞自噬的相关基因和蛋白

ATG 是参与细胞自噬的基因,包括 30 余种,其中有四组 ATG 编码蛋白在细胞自噬的诱导、产生、成熟和再循环中起着重要的作用。这四组蛋白分别是 ATG1-ATG11-ATG17-ATG20-ATG24 复合物和 ATG8-ATG13 复合物:上游自噬信号被激活, ATG1-ATG11-ATG17-ATG20-ATG24 复合物和 ATG8-ATG13 复合物因 ATG1 和 ATG13 的去磷酸化而结合,促进下游自噬信号激活; ATG6-ATG14-空泡蛋白分选 15-III 型 PI3K 复合物:参与细胞自噬体膜的形成; ATG8 和 ATG12 遍在蛋白系统: ATG8 的修饰过程对细胞自噬体的形成必不可少, ATG12 系统直接参与细胞自噬体前体的形成; ATG2-ATG9-ATG18 复合物:协助其他 ATG 蛋白从成熟的自噬体上脱离和循环利用^[2]。

另有研究^[3]发现,许多癌基因的编码蛋白质如 PI3K、PKB-1、B 细胞淋巴瘤或白血病(B cell lymphoma/leukemia, BCL)-2 家族抗程序性细胞死亡蛋白和抑癌基因 P53 抑制细胞自噬,一些肿瘤抑制蛋白如 B 细胞淋巴瘤同源-3 蛋白、死亡伴随蛋白-1、第 10 号染色体缺失的磷酸酶和张力蛋白

同源(phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten, PTEN)基因和丝氨酸/苏氨酸激酶(serine/threonine kinase, STK)-11 以及结节性硬化复合物(tuberous sclerosis complex, TSC)-1 和 2 等引发细胞自噬。

BCL-2 既是程序性细胞死亡调控基因,还控制细胞自噬过程^[3]。抗程序性细胞死亡基因 BCL-2^[4]、BCL-XL^[5]、BCL-W^[6]和骨髓细胞白血病(myeloid cell leukemia, MCL)-1 基因^[7]可以抑制细胞自噬;因此,利用反义寡核苷酸^[8]或 siRNA 杂交双链^[9]敲除 BCL-2 基因,可在包括白血病和乳腺癌在内的不同细胞系内引起细胞自噬。

研究显示, P53 基因可转导活化编码溶酶体蛋白的损伤调节自噬调控基因。P53 特异性抑制剂- α 抑制和 siRNA 特异性敲除人 P53 基因,致 P53 蛋白失活可诱发人恶性细胞系如 HFFF2 成纤维细胞、HCT116 结肠癌细胞、SH-SY5Y 神经母细胞瘤和海拉细胞^[9]等自噬。

PTEN 是位于 10 号染色体上的具有双重特异磷酸酶活性的磷酸酶基因,有 9 个外显子, cDNA 序列中有一个由 1 209 个核苷酸组成的开放阅读框。细胞自噬的信号转调控取决于 PTEN 蛋白的活性, PTEN 蛋白可通过负调控 I 型 PI3K 诱导细胞自噬,为细胞自噬的正调控因子^[10]。

3 细胞自噬的诱发因素

当下,诱发细胞自噬的因素主要包括外界的营养成分、低血低氧的状态、生长因子的质量浓度、病原体的感染和细胞内的代谢压力等,但是,各种因素诱发细胞自噬的具体作用机制仍不清楚。

在低血和低氧状态下,细胞自噬作用增强,以维持细胞的能量代谢和细胞的存活。在低血再灌注胎鼠心脏的心肌细胞中,细胞自噬增强^[11]。在肿瘤的新生血管形成不足导致肿瘤细胞内营养匮乏和低氧时,细胞自噬被诱导以避免肿瘤细胞的死亡。

结核分支杆菌是一种细胞内感染病原体,其致病机制可能与干扰细胞自噬体与溶酶体的融合有关^[11]。当采用饥饿或雷帕霉素上调宿主细胞自噬时,结核分支杆菌被转运到感染细胞的溶酶体中降解,雷帕霉素的药理作用使得吞噬小体生成和聚集,从而促进细胞自噬;细胞自噬在病毒感染中起到的积极作用主要表现在其抗原呈递成分,从而启动自噬反应^[12]。通过蛋白质印迹技术,可

以检测到水痘带状疱疹病毒感染细胞 LC3B 和 P62/SQSTM1, 电镜下可观察到自噬小体和晚期自噬的相关结构, 即水痘带状疱疹病毒感染细胞可以诱导自噬^[13]。丙型肝炎病毒感染也可诱导自噬小体的形成和自噬发生^[14]。

4 细胞自噬与口腔鳞状细胞癌

细胞自噬与口腔鳞状细胞癌 (oral squamous cell carcinoma, OSCC) 密切相关。一方面, 细胞自噬对癌细胞有保护作用, 即癌细胞可在营养匮乏时生存, 从而促进 OSCC 发展。随着 OSCC 细胞的不断生长, 其新生血管生成不足, 导致癌细胞饥饿和低氧, 再加上各种基因或者蛋白质的调控作用, 癌细胞自噬增加。癌细胞自噬的增加可降解自身变性的蛋白质和细胞器, 从而获取氨基酸、脂肪酸和核苷酸; 另一方面, 自噬对 OSCC 有抑制作用。研究^[15]显示, 在高侵袭性 OSCC 细胞中, 低表达肿瘤抑制基因 *PTEN*^[16]和 *P53*^[17], 高表达抗程序性细胞死亡基因 *BCL-2*。 *PTEN*和 *P53* 是两个最常见的肿瘤抑制基因, 二者皆诱导细胞自噬^[10, 18], *BCL-2* 基因直接与 *Beclin-1* 基因相互作用, 以抑制细胞自噬^[9]。在 OSCC 中, *PTEN*和 *P53* 基因诱导细胞自噬, 原癌基因 *BCL-2* 抑制细胞自噬, 而细胞自噬特异性基因 *Beclin-1* 本身就是抑癌基因, 即细胞自噬亦具有抑制 OSCC 的作用。

4.1 细胞自噬促进 OSCC 发展的作用机制

细胞槟榔果提取液通过氧化应激和上调低氧诱导因子, 可导致 OSCC 细胞自噬的发生^[19]。在亚洲, 咀嚼槟榔与口腔肿瘤的发生密切相关, 可引起口腔黏膜下纤维性变和口腔黏膜白斑等口腔癌前病变。用槟榔提取液培养的 OSCC 细胞有异常的信号改变, 槟榔提取液可激活核因子- κ B 和 P38, 促进活性氧的生成和 LC3-II 细胞的积累, 促进自噬小体产生。这就表明, 槟榔可诱导 OSCC 细胞自噬。经槟榔果提取液处理的 OSCC 细胞自噬明显增加, 而程序性细胞死亡却没有变化, 细胞自噬的抑制与程序性细胞死亡的发生和癌细胞生存能力的降低关系密切^[19]。该研究表明, 细胞自噬可能防止 OSCC 程序性细胞死亡, OSCC 细胞得以生存和增殖。

自噬相关的 16 类 (autophagy-related 16-like, ATG16L)-1 蛋白是一种具有高度保守性的蛋白质, 对自噬小体的形成起着非常重要的作用。 *Atg16L-1* 基因缺陷的小鼠胚胎成纤维细胞 (mouse embryo-

onic fibroblast, MEF) 即使在饥饿状态下, 其自噬小体也不会形成, 导致长周期蛋白降解的大量降低和 P62 的聚集^[20]。在 OSCC 细胞中, 用蛋白质组学测定其 *ATG16L-1* 基因的表达情况, 结果显示, 相对于人类健康的口腔角质形成细胞来说, *ATG16L-1* 基因在 OSCC 细胞包括细胞外基质、细胞质和质膜等中高表达。在癌细胞的细胞质, *ATG16L-1* 基因可诱导癌细胞自噬。OSCC 细胞自噬活性的增加, 又导致 *ATG16L-1* 基因表达异常。在细胞外基质中, *ATG16L-1* 基因高表达, 而且 *ATG16L-1* 基因高表达与 OSCC 细胞的淋巴和血管的侵袭和淋巴结转移密切相关。由此推断, 细胞自噬与 OSCC 细胞的血管侵袭和淋巴结转移具有相关性, 细胞自噬可能促进 OSCC 的恶性行为^[21]。

4.2 细胞自噬抑制 OSCC 的发展及其作用机制

Beclin-1 是 Liang 等^[22]在研究 *BCL-2* 基因保护中枢神经系统抵御辛德毕斯病毒感染机制时, 在成年大鼠脑基因中筛选两种酵母菌识别 *BCL-2* 基因相关产物时发现的一种新基因。 *Beclin-1* 基因主要是通过 III 型 PI3K 形成复合体来调节其他 ATG 蛋白在细胞自噬前体结构中的定位, 来调节细胞自噬活性的^[23-24]。研究^[25]证实, 通过上调 *Beclin-1* 基因在哺乳动物细胞中的表达可刺激细胞自噬。有报道称, *Beclin-1* 基因在 OSCC 细胞中低表达。低表达的 *Beclin-1* 基因可导致 OSCC 细胞自噬受到抑制, 细胞自噬的减少可导致 OSCC 细胞增殖能力及恶性表型增加, 肿瘤形成能力增加。也就是说, 细胞自噬可降低 OSCC 细胞的增殖能力及恶性表型, 抑制 OSCC 的发展。

STK-15 是一种与细胞周期调节有关的丝氨酸/苏氨酸激酶蛋白, 其拷贝数在 12% 的 OSCC 细胞有增加; 而且在细胞质, STK-15 蛋白几乎表达于全部的 OSCC 细胞中; 在细胞核, STK-15 蛋白的表达量随着肿瘤的进展逐渐增加。Kao 等^[26]发现在细胞核, STK-15 蛋白表达的增加与 OSCC 患者的不良预后密切相关。

5 细胞自噬与其他肿瘤

目前认为, 细胞自噬对肿瘤细胞有抑制和促进的双重作用^[27]。细胞自噬对肿瘤发挥抑制作用的机制可能缘于通过调节肿瘤细胞内过氧化物酶的浓度, 改变体内蛋白质代谢紊乱状态, 保持内环境稳定, 从而抑制肿瘤的形成。细胞自噬对肿瘤发挥促进作用的机制包括: 1) 在肿瘤的生长过

程中,尤其是在肿瘤内还没有形成足够的血管为肿瘤细胞提供营养时,肿瘤通过自身的细胞自噬克服营养匮乏和低氧环境,以保证肿瘤细胞的生存;2)细胞自噬对线粒体的分割可防止促程序性细胞死亡因子,如细胞色素 C 和程序性细胞死亡诱导因子的扩散;3)细胞自噬可清除电离辐射时受损的大分子或细胞器,以保证肿瘤细胞逃避电离辐射导致的程序性细胞死亡而存活下来。

6 参考文献

- [1] Kuma A, Hatano M, Matsui M, et al. The role of autophagy during the early neonatal starvation period [J]. *Nature*, 2004, 432(7020):1032-1036.
- [2] Levine B, Yuan J. Autophagy in cell death: An innocent convict[J]. *J Clin Invest*, 2005, 115(10):2679-2688.
- [3] Maiuri MC, Tasdemir E, Criollo A, et al. Control of autophagy by oncogenes and tumor suppressor genes [J]. *Cell Death Differ*, 2009, 16(1):87-93.
- [4] Pattinre S, Tassa A, Qu X, et al. Bcl-2 antiapoptotic proteins inhibit Beclin 1-dependent autophagy [J]. *Cell*, 2005, 122(6):927-939.
- [5] Maiuri MC, Le Toumelin G, Criollo A, et al. Functional and physical interaction between Bcl-X(L) and a BH3-like domain in Beclin-1 [J]. *EMBO J*, 2007, 26(10):2527-2539.
- [6] Erlich S, Mizrachy L, Segev O, et al. Differential interactions between Beclin 1 and Bcl-2 family members [J]. *Autophagy*, 2007, 3(6):561-568.
- [7] Saeki K, Yuo A, Okuma E, et al. Bcl-2 down-regulation causes autophagy in a caspase-independent manner in human leukemic HL60 cells [J]. *Cell Death Differ*, 2000, 7(12):1263-1269.
- [8] Akar U, Chaves-Reyez A, Barria M, et al. Silencing of Bcl-2 expression by small interfering RNA induces autophagic cell death in MCF-7 breast cancer cells [J]. *Autophagy*, 2008, 4(5):669-679.
- [9] Tasdemir E, Maiuri MC, Galluzzi L, et al. Regulation of autophagy by cytoplasmic p53 [J]. *Nat Cell Biol*, 2008, 10(6):676-687.
- [10] Arico S, Petiot A, Bauvy C, et al. The tumor suppressor PTEN positively regulates macroautophagy by inhibiting the phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B pathway [J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(38):35243-35246.
- [11] 王琦, 苏舒, 王立新. 胞内感染病原体与细胞自噬相互作用的研究进展 [J]. *东南大学学报: 医学版*, 2010, 29(3):344-347.
- [12] Gutierrez MG, Master SS, Singh SB, et al. Autophagy is a defense mechanism inhibiting BCG and *Mycobacterium tuberculosis* survival in infected macrophages [J]. *Cell*, 2004, 119(6):753-766.
- [13] Takahashi MN, Jackson W, Laird DT, et al. Varicella-zoster virus infection induces autophagy in both cultured cells and human skin vesicles [J]. *J Virol*, 2009, 83(11):5466-5476.
- [14] Ait-Goughoulte M, Kanda T, Meyer K, et al. Hepatitis C virus genotype 1a growth and induction of autophagy [J]. *J Virol*, 2008, 82(5):2241-2249.
- [15] 王霞, 孙善珍, 张晓英, 等. Fas, bcl-2 在金黄地鼠颊囊癌变过程中的表达 [J]. *上海口腔医学*, 2005, 14(2):155-158.
- [16] Squarize CH, Castilho RM, Santos Pinto D Jr. Immunohistochemical evidence of PTEN in oral squamous cell carcinoma and its correlation with the histological malignancy grading system [J]. *J Oral Pathol Med*, 2002, 31(7):379-384.
- [17] Tokman B, Gultekin SE, Sezer C, et al. The expression of p53, p16 proteins and prevalence of apoptosis in oral squamous cell carcinoma. Correlation with mode of invasion grading system [J]. *Saudi Med J*, 2004, 25(12):1922-1930.
- [18] Feng Z, Zhang H, Levine AJ, et al. The coordinate regulation of the p53 and mTOR pathways in cells [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2005, 102(23):8204-8209.
- [19] Lu HH, Kao SY, Liu TY, et al. Areca nut extract induced oxidative stress and upregulated hypoxia inducing factor leading to autophagy in oral cancer cells [J]. *Autophagy*, 2010, 6(6):725-737.
- [20] Saitoh T, Fujita N, Jang MH, et al. Loss of the autophagy protein Atg16L1 enhances endotoxin-induced IL-1 beta production [J]. *Nature*, 2008, 456(7219):264-268.
- [21] Nomura H, Uzawa K, Yamano Y, et al. Overexpression and altered subcellular localization of autophagy-related 16-like 1 in human oral squamous-cell carcinoma: Correlation with lymphovascular invasion and lymph-node metastasis [J]. *Hum Pathol*, 2009, 40(1):83-91.
- [22] Liang XH, Kleeman LK, Jiang HH, et al. Protection against fatal *Sindbis* virus encephalitis by beclin, a novel Bcl-2-interacting protein [J]. *J Virol*, 1998, 72(11):8586-8596.
- [23] Scarlati F, Maffei R, Beau I, et al. Role of non-canonical Beclin 1-independent autophagy in cell death induced by resveratrol in human breast cancer cells [J]. *Cell Death Differ*, 2008, 15(8):1318-1329.
- [24] Edinger AL, Thompson CB. Defective autophagy leads to cancer [J]. *Cancer Cell*, 2003, 4(6):422-424.
- [25] Liang XH, Jackson S, Seaman M, et al. Induction of autophagy and inhibition of tumorigenesis by beclin 1 [J]. *Nature*, 1999, 402(6762):672-678.
- [26] Kao SY, Chen YP, Tu HF, et al. Nuclear STK-15 expression is associated with aggressive behaviour of oral carcinoma cells *in vivo* and *in vitro* [J]. *J Pathol*, 2010, 222(1):99-109.
- [27] Gozuacik D, Kimchi A. Autophagy as a cell death and tumor suppressor mechanism [J]. *Oncogene*, 2004, 23(16):2891-2906.