

自噬与血管生成的研究进展

杜军辉, 马楼艳, 李 蓉

[摘要] 血管生成主要包括病理性及生理性血管生成2个方面, 新生血管形成在多种疾病致病中发挥重要作用, 主要包括肿瘤血管、眼底新生血管疾病(黄斑变性、糖尿病视网膜病变等), 在新生血管形成中自噬起到重要作用。肿瘤生长及侵袭转移与新生血管形成具有密切的相关性, 自噬性细胞死亡可能会在一定程度上对血管生成造成抑制, 而自噬也可以增强抗肿瘤药物作用。但是, 肿瘤组织自噬水平的提高, 同时会保护肿瘤组织, 导致抗肿瘤药物的耐药, 通过调节自噬能够更有效地控制肿瘤。在眼底新生血管疾病中, 自噬参与了新生血管形成, 通过抑制自噬能够更有效地控制眼底新生血管。

[关键词] 自噬; 血管生成; 肿瘤; 眼底新生血管

[中图分类号] R339.16; R77

[文献标志码] A

[文章编号] 2095-3097(2017)06-0381-04

doi: 10.3969/j.issn.2095-3097.2017.06.016

The progress of autophagy and angiogenesis

DU Junhui¹, MA Louyan², LI Rong³

(1. Department of Ophthalmology, the Ninth Hospital of Xi'an, Xi'an Shaanxi 710054, China; 2. The Second Department of Geriatrics, the Ninth Hospital of Xi'an, Xi'an Shaanxi 710054, China; 3. Department of Ophthalmology, the Affiliated Hospital of Xi'an Medical University, Xi'an Shaanxi 710032, China)

[Abstract] Angiogenesis, composed of pathological and physiological aspects, plays an important role in many diseases, such as tumor and retinal neovascular diseases (macular degeneration, diabetic retinopathy, et al). In the process of angiogenesis, autophagy may play a role. Angiogenesis is required for tumor growth, invasion and metastasis. A autophagic cell death may inhibit angiogenesis to some extent, while autophagy can enhance the effects of anti-neoplastic drugs. However, the high activity of autophagy in tumor cells could protect themselves to cause their resistance to anti-tumor drugs. Thus, regulating autophagy could control the tumor more effectively. Similarly, in retinal neovascular diseases, retinal angiogenesis could be more effectively controlled through inhibiting autophagy due to its participation.

[Key words] Autophagy; Angiogenesis; Tumor; Retinal neovascularization

自噬是近年来生物医学领域的研究热点, 关于自噬与血管生成的研究也逐渐受到人们的重视^[1]。血管生成是指血管原位细胞发生增生、迁移, 形成新的毛细血管进入无血管区域的生理过程。该复杂的生物学过程在器官发育及疾病病理过程中发挥重要作用, 尤其是在肿瘤和眼底新生血管疾病致病中起到重要作用。在肿瘤组织中的新生血管提供营养给不断浸润生长的原发肿瘤, 这与肿瘤发展及转移具有密切关系^[2]。在眼底新生血管研究中, 新生血管形成是导致眼底出血的主要原因。研究发现自噬与

眼底新生血管形成密切相关, 通过抑制自噬可以抑制缺氧、高糖、脂肪细胞因子 chemerin 等诱导的新生血管形成^[3-6]。作者对自噬与血管生成的关系进行综述。

1 自噬

自噬属于一种进化上高度保守的、以降解细胞内大分子物质以及受损细胞器等维持代谢平衡与细胞环境稳定的分解代谢途径, 这一过程主要由自噬相关基因进行调节。自噬体主要是由双层膜包裹待降解物质而形成的细胞质泡, 随后自噬体便会与溶酶体融合从而形成自噬溶酶体, 而待降解物质被溶酶体的酸性水解酶消化水解, 并且会释放回细胞质中, 从而能够实现循环利用以及某些细胞器的更新。自噬对于维持细胞的内环境稳态具有重要意义。

[基金项目] 国家自然科学基金青年项目(81500726); 陕西省自然科学基金基础研究计划面上项目(2016JM8018); 西安市社会发展引导计划医学研究项目[SF1508(3)]

[作者单位] 710054 陕西 西安, 西安市第九医院眼科(杜军辉), 老年病二科(马楼艳); 710032 陕西 西安, 西安医学院第一附属医院眼科(李 蓉)

一般来说,机体处于生理、病理条件下均存在一定程度的自噬,处于正常范围内自噬对细胞能够起到一定的保护与修复,若一旦自噬过度激活则会造成机体细胞的损伤与死亡^[7]。临床上最早对自噬现象的发现是通过电子显微镜观察人的肝细胞,这是细胞中初级溶酶体处理内源性底物的重要过程,一些已经遭到损坏的蛋白或者细胞器被双层膜结构的自噬小泡包裹后,送入溶酶体或者液泡中进行降解,并且将其进行循环利用^[8]。细胞自噬包括微自噬、巨自噬以及分子伴侣介导的自噬3种形式。其中,对于分子伴侣介导的自噬来说,其在运输的过程中不需要膜泡,也不会形成自噬体^[9];在运输中会直接通过溶酶体膜进入溶酶体腔,且具有选择性,一般在动物细胞衰老反应的过程中经常发生此种途径。

2 自噬与肿瘤血管生成

2.1 肿瘤与血管生成 根据相关的临床资料表明,肿瘤血管生成具有非常复杂的机制,且与组织特异性、肿瘤分级与分期、血管生成微环境具有较为密切的关系^[10]。一般来说,正常组织的血管生成主要是机体形态发生及创伤修复等基本过程,而病理性的血管生成属于疾病在发展过程中的重要部分^[11]。通过抑制新生血管的形成,可以显著抑制肿瘤体积的增大^[12],肿瘤的血管生成与肿瘤的生长及转移关系十分密切。在肿瘤血管生成的过程中,由肿瘤细胞释放血管生成因子激活血管的内皮细胞,从而在一定程度上促进内皮细胞的增殖及迁移,最终导致血管生成^[13]。在临床上针对抗血管生成的治疗过程中,大部分治疗的方法均是针对血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)通路,原因可能是在肿瘤血管生成的过程中生长因子具有至关重要的作用。一些血管抑制剂也在临床上已经被证实具有确切的抑制肿瘤效果^[14]。

2.2 自噬与肿瘤血管形成的研究 在肿瘤发生及转移过程中自噬具有双刃剑的作用,也就是说自噬能够在一定程度上抑制和促进肿瘤细胞,在肿瘤的不同阶段,自噬可能起到不同的作用,可能起到抑制或促进肿瘤发展的作用,并可能导致化疗药物产生抗药性^[15]。自噬性细胞死亡可能在一定程度上对血管生成造成抑制,而自噬也可以增强以细胞信号转导为靶点的抗肿瘤药物作用^[2]。研究发现,自噬性细胞死亡可能在一定程度上抑制血管的生成。内皮抑素是胶原 XVIII 分子的蛋白降解产物,在患者体外能够对内皮细胞增殖造成抑制,因而是目前作用最强且实验效果最好的肿瘤新生血管形成抑制因

子。通过电镜分析可以得出,内皮抑素可以诱导内皮细胞形成大量的自噬液泡,并且抗氧化剂以及含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶抑制剂无法对内皮抑素诱导的细胞自噬性死亡造成抑制,这说明内皮抑素抗血管形成机制的关键因素为诱导的内皮细胞自噬性死亡;除此之外,能诱导自噬的人第10号染色体缺失的磷酸酶及张力蛋白同源基因(phosphate and tension homology deleted on chromosome ten gene, PTEN)在裸鼠种植脑瘤内对肿瘤血管的生成在一定程度上造成抑制;但重组的野生型 PTEN 不会影响体外增殖,却会明显地减慢活体内肿瘤的生长,并延长小鼠的生存期,这表明 PTEN 能够调节肿瘤诱导的血管生成^[16]。

血管的形成在实体肿瘤中能够促进肿瘤的生长及转移,从而能够在一定程度上控制肿瘤血管的生成,对肿瘤的发展造成一定影响^[17]。相关研究资料表明,胶原蛋白裂解片段内皮抑素具有强大的血管抑制能力,能够在一定程度上对新生血管的形成及肿瘤生长造成抑制。内皮抑素能够作用于人内皮细胞,在电镜辅助下清晰可见大量的自噬囊泡形成^[18]。研究表明,很大一部分的血管生成抑制药物主要是通过提高内皮细胞中的含半胱氨酸的天冬氨酸特异性蛋白酶活性,促进其凋亡而实现治疗的目的^[2]。因此,当用人类血纤维蛋白溶酶原的第5个环饼区处理内皮细胞后,也会出现特异性自噬反应,并且会在一定程度上提高自噬相关蛋白 Beclin-1 的表达水平^[19-20]。一般来说,内皮细胞中第5个环饼区和内皮抑素的诱导自噬并不会依赖于缺氧或者营养缺乏等因素,甚至存在 VEGF 时也会激发自噬^[21]。内皮抑素在临床治疗过程中同样能够诱导内皮细胞从而形成大量的自噬液泡,最终导致自噬性死亡的发生^[22]。

2.3 自噬与肿瘤耐药的机制研究 研究表明,血管抑制剂可以诱导血管内皮细胞的自噬,使细胞自噬水平升高,加速细胞代谢,从而为细胞在饥饿状态下提供必要的营养,而度过危险期,结果造成新生血管的复发^[23]。贝伐单抗是一种 VEGF 抑制剂,可以通过抑制肿瘤血管的生成而抑制肿瘤的生长。最近研究发现,贝伐单抗抗血管治疗可引起肝癌 SMMC-7721 种植瘤细胞自噬的上调,表现为自噬相关蛋白 Beclin-1、LC3 表达的增加,自噬可能是抗血管治疗时肿瘤细胞自我保护的一种机制;抑制体外低氧培养条件下肝癌细胞的自噬可以降低细胞活力,促进其凋亡;联合应用贝伐单抗与自噬抑制剂,可以显著抑制肿瘤生长和促进肿瘤细胞凋亡^[24]。在恶性胶质瘤的研究中也发现,贝伐单抗可以引起细胞自噬水平的提高,联合应用贝伐单抗与自噬抑制剂可以

促使细胞发生凋亡性细胞死亡,体内研究也证实了两者联合可以显著抑制恶性胶质瘤的生长,因此作者认为联合自噬抑制剂可能有助于改善抗血管药物治疗的耐药性问题^[25]。可见,自噬可能参与了肿瘤对抗血管药物治疗的耐药机制,通过以自噬为靶点的联合治疗,可能有助于更好地控制肿瘤生长。

3 自噬与眼底新生血管疾病

3.1 眼底新生血管疾病 眼底新生血管疾病在眼科是一类常见疾病,也是眼科治疗的难点,多年来一直是眼科研究的热点,主要包括湿性年龄相关性黄斑变性、视网膜静脉阻塞、糖尿病视网膜病变、早产儿视网膜病变等。眼底新生血管的形成可以带来一系列病理改变,如玻璃体积血、视网膜出血、渗出、黄斑水肿、新生血管性青光眼及牵拉性视网膜脱离等,成为患者致盲重要原因。目前临床上治疗眼底新生血管主要采用抗 VEGF 药物,能够在一定程度上抑制血管内皮细胞增殖及新生血管的生成;虽然取得了较好的临床效果,但是抗 VEGF 药物存在治疗后复发问题,需要多次重复治疗,带来的并发症以及昂贵的治疗费用,使许多患者错过了治疗机会。多年来,临床上试图通过联合治疗减少复发,但到目前为止仍不能有效防止复发^[26-28]。

3.2 眼底新生血管与自噬研究 研究发现,自噬在体外猴脉络膜视网膜血管内皮细胞 RF/6A 新生血管形成中起到关键作用,以自噬为靶点可以显著抑制体外新生血管的形成^[3-4]。体外研究新生血管形成的方法是通过培养血管内皮细胞,观察细胞增殖、迁移和管腔形成。研究发现,脂肪细胞因子 chemerin 在体内视网膜病变患者血清中表达水平升高,与增生性糖尿病视网膜病变相关^[29]。在体外研究中也发现,脂肪细胞因子 chemerin 能够激活 RF/6A 细胞自噬,并促进 RF/6A 细胞增生、迁移和管腔形成,通过自噬抑制剂能够抑制细胞增生、迁移和管腔形成,提示自噬参与脂肪细胞因子 chemerin 诱导的视网膜新生血管形成^[5]。此外,高糖也能够激活 RF/6A 细胞自噬,促进体外新生血管形成,通过抑制自噬能够抑制细胞迁移和管腔形成^[4]。这些研究表明,自噬可能参与了糖尿病患者视网膜新生血管的形成。肿瘤坏死因子- α 是一种炎症因子,与新生血管的形成具有密切关系。有研究发现,肿瘤坏死因子- α 能够通过激活 RF/6A 细胞自噬,促进细胞增生、迁移和管腔形成,通过抑制自噬能够抑制体外新生血管的形成,提示自噬同样可能参与了炎症诱导的视网膜新生血管形成^[3]。还有一项研究表明,自噬与缺氧诱导的新生血管形成密切相关,通过抑制自噬能

够抑制缺氧诱导的 RF/6A 细胞迁移和管腔形成,提示自噬在缺氧诱导的视网膜新生血管疾病中同样发挥作用,如视网膜静脉阻塞^[6]。由此可见,自噬可能在多种眼底新生血管疾病中发挥作用,可能成为眼底新生血管疾病治疗的新靶点。

综上所述,近年来临床在自噬与血管生成的研究中取得了一定进展,尤其是在肿瘤和眼底新生血管疾病中自噬参与了病理性新生血管的形成过程。对自噬与新生血管的认识,有助于进一步了解肿瘤和眼底新生血管疾病的致病机制,通过调节自噬有助于更好地控制肿瘤与眼底新生血管疾病的发展。此外,自噬在血管抑制剂治疗耐药机制中发挥重要作用,通过以自噬为靶点有助于改善血管抑制剂耐药问题,在临床和基础研究中具有重要意义。但目前多数研究仍处于基础研究阶段,还需要进一步开展更深入的研究。

【参考文献】

- [1] Liu J, Fan L, Wang H, et al. Autophagy, a double-edged sword in anti-angiogenesis therapy [J]. *Med Oncol*, 2016, 33(1):10.
- [2] 赵嵌嵌,张月英,张维东.自噬与肿瘤血管生成[J].*国际肿瘤学杂志*,2014,41(4):251-254.
- [3] 李蓉,杜军辉,常远.肿瘤坏死因子- α 对 RF/6A 细胞自噬促进细胞增殖、迁移和管腔形成的影响[J].*眼科新进展*,2015,35(12):1132-1136.
- [4] 杜军辉,刘佳丽,马乐,等.自噬抑制剂 3-MA 抑制高糖条件下猴脉络膜视网膜血管内皮细胞血管形成[J].*临床眼科杂志*,2015,23(5):456-460.
- [5] Du JH, Li R, Yang L, et al. The role of autophagy in chemerin-induced angiogenesis of RF/6A cells [J]. *Clin Exp Med*, 2016, 9(9):17802-17811.
- [6] Li R, Du J, Chang Y. Role of autophagy in hypoxia-induced angiogenesis of RF/6A cells in vitro [J]. *Curr Eye Res*, 2016, 41(12):1566-1570.
- [7] 丁云鹏,赵奎,吴勇,等. Beclin-1 在胃癌血管生成拟态形成中的表达及意义[J].*中华胃肠外科杂志*,2014,17(7):716-719.
- [8] 杨光唯,蒋劲松,来集富,等.3-甲基腺嘌呤调控自噬对大鼠内皮祖细胞促进静脉血栓再通的作用及其机制[J].*中国临床药理学杂志*,2016,32(8):720-722.
- [9] 相建峰,林盛明,相燕洁,等.细胞自噬与肿瘤治疗[J].*中国中西医结合影像学杂志*,2012,10(2):174-176.
- [10] 丁云鹏.自噬特异性基因 beclin-1 在胃癌血管生成拟态中的表达及作用机制[D].苏州:苏州大学,2014.
- [11] 李旭.ROS 依赖的内质网应激-自噬反应在醉茄素 A 诱导人胰腺癌细胞凋亡中的作用研究[D].武汉:华中科技大学,2013.

- [12] 董志武. 血管内皮细胞自噬的调控及膜联蛋白 A7 促进内皮细胞自噬作用的研究[D]. 济南: 山东大学, 2011.
- [13] 钱祥云, 戈伟. 抗血管生成治疗耐药与肿瘤微环境关系的研究进展[J]. 中国医药导报, 2016, 13(18): 33-36.
- [14] Din FV, Valanciute A, Houde VP, et al. Aspirin inhibits mTOR signaling, activates AMP-activated protein kinase, and induces autophagy in colorectal cancer cells[J]. *Gastroenterology*, 2012, 142(7): 1504-1515.
- [15] 陈金东. 细胞自噬与细胞凋亡在细胞中的作用[J]. 遵义医学院学报, 2016, 39(3): 217-222.
- [16] Koukourakis MI, Giatromanolaki A, Sivridis E, et al. Beclin 1 over- and underexpression in colorectal cancer: distinct patterns relate to prognosis and tumour hypoxia[J]. *Br J Cancer*, 2010, 103(8): 1209-1214.
- [17] Park HJ, Lee SJ, Kim SH, et al. IL-10 inhibits the starvation induced autophagy in macrophages via class I phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) pathway[J]. *Mol Immunol*, 2011, 48(4): 720-727.
- [18] Jaber N, Dou Z, Chen JS, et al. Class III PI3K Vps34 plays an essential role in autophagy and in heart and liver function[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109(6): 2003-2008.
- [19] Levy JM, Thorburn A. Targeting autophagy during cancer therapy to improve clinical outcomes[J]. *Pharmacol Ther*, 2011, 131(1): 130-141.
- [20] Klement GL, Yip TT, Cassiola F, et al. Platelets actively sequester angiogenesis regulators[J]. *Blood*, 2009, 113(12): 2835-2842.
- [21] Lu Z, Luo RZ, Lu Y, et al. The tumor suppressor gene ARHI regulates autophagy and tumor dormancy in human ovarian cancer cells[J]. *J Clin Invest*, 2008, 118(12): 3917-3929.
- [22] Kim R. Recent advances in understanding the cell death pathways activated by anticancer therapy[J]. *Cancer*, 2005, 103(8): 1551-1560.
- [23] Chau YP, Lin SY, Chen JH, et al. Endostatin induces autophagic cell death in EAhy926 human endothelial cells[J]. *Histol Histopathol*, 2003, 18(3): 715-726.
- [24] Guo XL, Li D, Sun K, et al. Inhibition of autophagy enhances anticancer effects of bevacizumab in hepatocarcinoma[J]. *J Mol Med (Berl)*, 2013, 91(4): 473-483.
- [25] Hu YL, DeLay M, Jahangiri A, et al. Hypoxia-induced autophagy promotes tumor cell survival and adaptation to antiangiogenic treatment in glioblastoma[J]. *Cancer Res*, 2012, 72(7): 1773-1783.
- [26] 杜军辉, 李蓉. 非甾体抗炎药物局部点眼辅助治疗 AMD 研究进展[J]. 中华眼视光学与视觉科学杂志, 2015, 17(2): 122-125.
- [27] 杜军辉, 李蓉. 光动力疗法治疗脉络膜新生血管性疾病后导致的脉络膜低灌注[J]. 中华实验眼科杂志, 2013, 31(8): 788-791.
- [28] 杜军辉, 李夏, 成静. 光动力疗法联合血管内皮生长因子抑制剂及糖皮质激素治疗脉络膜新生血管性疾病的研究进展[J]. 中华临床医师杂志: 电子版, 2013, 7(15): 7180-7182.
- [29] Du JH, Li R, Xu L, et al. Increased serum chemerin levels in diabetic retinopathy of type 2 diabetic patients[J]. *Curr Eye Res*, 2016, 41(1): 114-120.

(收稿日期: 2016-12-08 本文编辑: 徐海琴)

(上接第 380 页)

- [27] Bachmayr-Heyda A, Reiner AT, Auer K, et al. Correlation of circular RNA abundance with proliferation--exemplified with colorectal and ovarian cancer, idiopathic lung fibrosis, and normal human tissues[J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 8057.
- [28] National Comprehensive Oncer Network. NCCN clinical practice guidelines in oncology: breast cancer (Version 2.2016) [EB/OL]. [2016-12-02]. <https://www.nccn.org/patients>.
- [29] Wang F, Nazarali AJ, Ji S. Circular RNAs as potential biomarkers for cancer diagnosis and therapy[J]. *Am J Cancer Res*, 2016, 6(6): 1167-1176.
- [30] Li P, Chen S, Chen H, et al. Using circular RNA as a novel type of biomarker in the screening of gastric cancer[J]. *Clin Chim Acta*, 2015, 444: 132-136.
- [31] Xie H, Ren X, Xin S, et al. Emerging roles of circRNA_001569 targeting miR-145 in the proliferation and invasion of colorectal cancer[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(18): 26680-26691.
- [32] Qin M, Liu G, Huo X, et al. Hsa_circ_0001649: a circular RNA and potential novel biomarker for hepatocellular carcinoma[J]. *Cancer Biomark*, 2016, 16(1): 161-169.
- [33] Suzuki H, Tsukahara T. A view of pre-mRNA splicing from RNase R resistant RNAs[J]. *Int J Mol Sci*, 2014, 15(6): 9331-9342.
- [34] Wu Q, Wang Y, Cao M, et al. Homology-independent discovery of replicating pathogenic circular RNAs by deep sequencing and a new computational algorithm[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109(10): 3938-3943.
- [35] Glazar P, Papavasileiou P, Rajewsky N. circBase: a database for circular RNAs[J]. *RNA*, 2014, 20(11): 1666-1670.

(收稿日期: 2016-12-18 本文编辑: 徐海琴)