

# 自噬在非小细胞肺癌治疗中的研究进展

董庭君, 温居一

**[摘要]** 非小细胞肺癌(non-small-cell lung cancer, NSCLC)占有肺癌的85%,是全球癌症相关死亡的主要原因,目前的治疗方法主要包括手术治疗、放疗、化疗、生物治疗等。然而化疗的缓解率不高且不良反应明显,靶向治疗只对特定人群有效,且容易出现耐药问题,因此,需要开发新的、更有效的NSCLC治疗方法。细胞自噬在NSCLC的病理生理过程中起着重要作用,作者通过分析自噬在肿瘤中发挥的双刃剑作用,对自噬相关基因进行研究,综述自噬在铂类耐药、表皮生长因子受体酪氨酸激酶抑制剂耐药及与免疫检查点抑制剂的联合应用中起到的重要作用,分析自噬在NSCLC治疗的应用前景,为NSCLC的新疗法的发展提供一些参考。

**[关键词]** 自噬;非小细胞肺癌;自噬相关基因

**[中图分类号]** R734.2;R329.25

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 2095-3097(2020)04-0254-04

doi: 10.3969/j.issn.2095-3097.2020.04.016

## Research progress on autophagy in the treatment of non-small-cell lung cancer

DONG Tingjun<sup>1</sup>, WEN Juyi<sup>2</sup>

(1. The Second School of Clinical Medicine, Southern Medical University, Guangzhou Guangdong 510280, China;

2. Tumor Diagnosis and Treatment Center, the Sixth Medical Center,

Chinese PLA General Hospital, Beijing 100048, China)

**[Abstract]** Non-small-cell lung cancer (NSCLC) constitutes 85% of all lung cancers, and is the leading cause of cancer-related death worldwide. However, the remission rate of chemotherapy is not high and the side effects are obvious. Targeted treatment is only effective for specific population, and it is easy to appear drug-resistant problems, so new and more effective treatment methods of NSCLC need to be developed. Autophagy plays an important role in the pathophysiological process of NSCLC. Here, we analyzed the role of autophagy as the double-edged sword in the tumor, autophagy related genes, and reviewed the important role of autophagy in platinum resistance, epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors resistance and the combination with immune check-point inhibitor, evaluating the application prospect of autophagy in NSCLC, and providing few insights into the development of new NSCLC therapeutics.

**[Key words]** Autophagy; Non-small-cell lung cancer (NSCLC); Autophagy related genes

肺癌是我国乃至全世界最常见的恶性肿瘤之一,其中非小细胞肺癌(non-small-cell lung cancer, NSCLC)占有肺癌的85%,是全球癌症相关死亡的主要原因<sup>[1]</sup>。自噬是近年来的研究热点,它与肿瘤的发生、发展密切相关,并在肿瘤治疗中起着双刃剑的作用。作者就自噬在NSCLC中的发生、发展与治疗中的作用进行综述。

## 1 自噬与肿瘤

自噬是将细胞溶质和(或)其特定内容物递送至溶酶体以进行降解的细胞内分解代谢过程,它对真核生物中细胞内物质周转、响应和适应环境的变化至关重要<sup>[2]</sup>。在这个过程中,自噬将细胞溶质物质包裹在双层膜结构的自噬体中,随后自噬体和内

溶酶体囊泡融合,导致分离底物降解和再循环<sup>[3]</sup>。自噬的一个关键功能是分解蛋白质等大分子,提供氨基酸和其他产生能量和合成新蛋白质所必需的因素。自噬可以捕获大量物质,这种能力将自噬与蛋白酶体降解区别开来,使自噬成为各种环境中维持细胞内稳态的必要条件。在自噬体内发现的许多底物是威胁细胞生存能力的底物,如受损的细胞器、蛋白质聚集物和细胞内病原体<sup>[4]</sup>。

在正常细胞中,自噬功能可以维持细胞稳态。在饥饿或破坏性压力下,自噬被显著诱导,利用细胞内组分的再循环以维持细胞代谢功能。自噬减少细胞应激时出现的受损蛋白质和有毒细胞器的积累中起重要作用。这些细胞内碎片的积累会导致细胞死亡、组织损伤和促进肿瘤的慢性炎症<sup>[5]</sup>。因此,自噬可以促进生存并减轻损伤。

而在癌症的背景下,这是一把双刃剑<sup>[6]</sup>。一方面,自噬使肿瘤细胞能够耐受包括缺氧微环境、饥饿

**[作者单位]** 510280 广东 广州,南方医科大学第二临床医学院(董庭君);100048 北京,中国人民解放军总医院第六医学中心肿瘤诊疗中心(温居一)

和某些形式的治疗在内的压力。即使在长时间的压力下,自噬也能延长生存期,产生休眠的肿瘤细胞,当条件更有利时,这些细胞有能力恢复生长。这种由自噬导致的应激存活、休眠和再生过程可能是成功治疗癌症的主要障碍。另一方面,自噬在减少应激损伤、限制肿瘤基因组织损伤发生中起重要作用。通过清除受损的蛋白质和细胞器,或者通过细胞内循环维持能量平衡,自噬最终可以防止导致肿瘤发生的基因组损伤。减少损伤还可以通过限制慢性细胞死亡和导致肿瘤发生的炎症来抑制肿瘤的发生<sup>[7]</sup>。因此,自噬调节是一种有前景的癌症治疗和预防的新方法,但应用明显依赖于背景。确定何时以及如何调节癌症中的自噬是一个令人兴奋的挑战,这将对寻找癌症的根除方法提供新见解<sup>[8]</sup>。

## 2 自噬相关基因在肺癌中的作用

酵母的遗传研究发现了自噬相关基因 (autophagy associated gene, ATG), 并揭示了自噬过程的分子信号通路的细节<sup>[9]</sup>。自噬途径可分为几个不同的阶段:起始、成核、成熟、融合和降解<sup>[10]</sup>。

自噬是生物体内一个高度保守的过程,依赖于一系列自噬相关蛋白的功能。ULK1 激酶、FIP200、ATG13、ATG101 组成的 ULK 复合物启动自噬<sup>[11]</sup>, 这个过程受 mTORC1、AMPK 等多种因素调节。Vps34 复合物由 Vps34 以及 Beclin-1、Vps15 和 ATG14L 组成, 主要负责自噬膜的成核。ATG5-ATG12 共轭系统及 ATG8/LC3 系统一起调节自噬膜的延伸和闭合<sup>[12]</sup>, ATG3、ATG4、ATG7、ATG16L1 等多种自噬相关蛋白参与到这个过程中。自噬体膜形成后,自噬囊泡被转运至溶酶体以进行降解,氨基酸、脂肪酸等降解底物被重定向至细胞质,以便在各种代谢过程中进一步重复使用<sup>[13]</sup>。

自噬的形成过程非常复杂,需要众多蛋白及信号通路的支持。因此,在自噬过程中,任何一个环节出现问题,都会导致自噬的缺失,继而对肿瘤的发生、发展或者治疗、预后产生影响。

对自噬相关蛋白的研究主要通过对关键蛋白进行。Wen 等<sup>[14]</sup>通过研究 393 名接受了放射治疗的北美 NSCLC 患者,对 4 个 ATGs (ATG2B、ATG10、ATG12、ATG16L2) 中的 9 个潜在功能单核苷酸多态性进行基因分型,发现 ATG16L2 rs10898880 CC 变异基因型患者的无局部复发生存率、无局部区域进展生存率和总生存率较好,但重度风险发生更高,表明该位点的多态性同时参与了抗肿瘤治疗和肺部炎症的过程,此外, Li 等<sup>[15]</sup>通过研究 323 名 NSCLC 患者血液样本中的 DNA,发现 ATG16L1 的 Thr300Ala 变体可

降低 NSCLC 患者脑转移的风险。这些研究表明自噬的程度影响了肿瘤的发生、发展及预后。

## 3 自噬在肺癌相关治疗中的研究进展

3.1 自噬在铂类耐药中的作用 目前,含有 EGFR 突变、ALK 或 ROS1 融合的患者可以进行分子靶向治疗<sup>[16]</sup>,由于大多数患者缺乏这些分子改变,仍然依靠以铂类为基础的全身化疗<sup>[17]</sup>。然而,使用一段时间后,铂类的抵抗、耐药性问题也愈加突出,原发性及继发性耐药限制其临床疗效。目前认为,铂类的耐药与自噬相关<sup>[18]</sup>。Circu 等<sup>[19]</sup>用自噬抑制剂氯喹处理 A549cisR (顺铂抗性) 细胞,可以诱导溶酶体膜透化,通过组织蛋白酶介导的部分 caspase 独立机制增强顺铂对这些细胞的治疗活性。siRNA 沉默 ATG5 后也显著增强顺铂对 A549cisR 细胞的细胞毒性。因此,在 NSCLC 中,溶酶体膜透化激活和自噬抑制是对抗获得性顺铂抵抗的有效治疗方式。

3.2 自噬在 EGFR-TKIs 治疗和耐药中的作用 表皮生长因子受体酪氨酸激酶抑制剂 (epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors, EGFR-TKIs) 药物是目前治疗 NSCLC 的重要手段,然而,随着治疗的进行,绝大多数患者都会出现明显的耐药现象<sup>[20]</sup>。耐药性出现的一个重要因素是 EGFR-TKIs 药物的使用诱发了保护性自噬<sup>[21]</sup>, PI3K-AKT-mTORC1 通路、P53-AMPK-mTORC1-ULK1 通路、EGFR-Rubicon-Beclin 1 通路、RAS/RAF/MEK/ERK1/2 通路等都参与其中。Zou 等<sup>[22]</sup>发现厄洛替尼可以在表达野生型 EGFR 耐药的 NSCLC 中诱导自噬,并且诱导程度比在 EGFR 敏感细胞中更高,表明自噬是细胞保护性的。当厄洛替尼和自噬抑制剂氯喹或羟氯喹共同使用时肿瘤生长的抑制效果会得到明显加强,进一步分析发现肿瘤细胞中凋亡水平明显增强。因此, EGFR-TKIs 药物与自噬抑制剂的联合应用可能是一种新的临床策略,可以增强 EGFR 靶向 NSCLC 的疗效。

Osimertinib (OSI), 也称为 AZD9291, 是一种第 3 代 EGFR-TKIs, 用于治疗患有 EGFR T790M 突变的 NSCLC 患者<sup>[23]</sup>。Tang 等<sup>[24]</sup>发现 OSI 增加了细胞质空泡的积累,诱导癌细胞中 LC3-II 和 GFP-LC3 斑点的表达,诱导了 NSCLC 细胞的自噬通量。此外, OSI 诱导了 NSCLC NCI-H1975 细胞中 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的产生,活性氧 (如超氧化物、NO、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 等) 的产生对于 OSI 诱导的自噬、细胞活力下降和 NSCLC 细胞凋亡至关重要。

3.3 自噬与免疫疗法的关系 近年来,癌症免疫疗法备受关注,并且在许多癌症患者中有很好的疗效。PD-L1 抗体与 T 细胞的 PD-1 受体结合可以阻断 PD-1 对 T 细胞的抑制作用,从而杀伤肿瘤细胞<sup>[25]</sup>。

目前,帕博利珠单抗已被推荐为 NSCLC 一线治疗,纳武利尤单抗及阿特珠单抗被推荐为 NSCLC 的二线治疗<sup>[26]</sup>。PD1 受体及其配体 PD-L1 可能与癌细胞中的自噬发生串扰。Clark 等<sup>[27]</sup>证明,在小鼠黑色素瘤和人卵巢癌中,肿瘤细胞内源性 PD-L1 上调 mTOR 复合物 1 信号传导以抑制自噬并使肿瘤细胞对自噬抑制剂敏感。Wang 等<sup>[28]</sup>发现药物抑制剂或小干扰 RNA 抑制自噬可以增加培养的胃癌细胞和异种移植瘤中 PD-L1 的水平。IFN- $\gamma$  也促进 PD-L1 基因转录,其作用通过自噬抑制而增强。结果表明自噬抑制通过 NF- $\kappa$ B 信号传导上调 PD-L1 蛋白的水平,而 IFN- $\gamma$  通过 STAT1 信号传导诱导 PD-L1 表达。由此我们可以推测,自噬抑制与 PD-L1 抗体联合使用是一组富有吸引力的组合,特别是对于具有高水平自噬的肿瘤,同时也能运用到肺癌的治疗当中,当然这需要进一步的基础及临床研究支持。

**3.4 自噬在 NSCLC 治疗中的新的应用** 重组人精氨酸酶(recombinant human arginase, rhArg)是一种能够消耗精氨酸的酶,精氨酸耗竭疗法已被证明是治疗各种癌症的有效治疗方法<sup>[29]</sup>。Shen 等<sup>[30]</sup>发现 rhArg 可以在 NSCLC 细胞中诱导显著的细胞毒性和半胱天冬酶依赖性细胞凋亡,同时, Akt/mTOR 和 Erk 途径的 2 种信号通路和 ROS 参与 H1975 细胞中 rhArg 触发自噬的过程中,在 rhArg 处理的 NSCLC 细胞时,自噬起细胞保护作用。异种移植实验表明,与自噬抑制剂的组合增强了 rhArg 在体内的抗肿瘤功效。因此,单独剥夺精氨酸或与阻断自噬相结合可能是 NSCLC 的一种新颖且有前景的治疗方法。

CD47,又称整合素蛋白,是一种抗吞噬细胞分子,同时也是信号调节蛋白- $\alpha$ (signal regulatory protein alpha, SIRP $\alpha$ )的配体。可以抵御宿主对肿瘤细胞的免疫监视<sup>[31]</sup>。Zhang 等<sup>[32]</sup>构建了 SIRP $\alpha$ D1-Fc 融合蛋白,靶向 CD47,可以引发有效的巨噬细胞介导的吞噬作用和对 NSCLC 细胞的细胞毒性。在此过程中, SIRP $\alpha$ D1-Fc 可下调 Akt/mTOR 信号传导和蛋白质合成,触发自噬发挥细胞保护作用。同时靶向 CD47 和自噬可以显著增加巨噬细胞介导的对 NSCLC 细胞的吞噬作用和细胞毒性,并且在 NSCLC 异种移植模型中显示出增强的抗肿瘤作用。因此, SIRP $\alpha$ D1-Fc 和自噬抑制具有协同抗肿瘤作用,可以在体外和体内引起增强的抑制或甚至完全消除 NSCLC,有望成为 NSCLC 的治疗策略。

BECN1-PIK3C3-PIK3R4 复合物可以触发自噬蛋白级联反应。Zhan 等<sup>[33]</sup>发现,在不同的 NSCLC 细胞系中, TRIM59 蛋白显著增加。TRIM59 是一个潜在的肿瘤促进基因,促进了 NSCLC 细胞系的增殖

和迁移。进一步研究发现, TRIM59 在 NSCLC 的自噬调节中发挥重要作用。一方面, TRIM59 通过阻断 NF- $\kappa$ B 途径的激活减少了 BECN1 的转录。另一方面, TRIM59 调节 TRAF6 诱导的 K63 相关的 BECN1 泛素化,从而影响 BECN1-PIK3C3 复合物的形成。研究进一步证明, TRIM59 可介导 TRAF6 的 K48 连接泛素化并促进 TRAF6 的蛋白酶体降解。TRIM59 通过影响 BECN1 的转录和泛素化,在自噬调节中的新的双重作用<sup>[34]</sup>。

Cai 等<sup>[35]</sup>发现,在 NSCLC 中,酪蛋白激酶 1 $\alpha$ (casein kinase 1 alpha, CK1 $\alpha$ )通过作为自噬诱导剂来抑制肿瘤生长,从而激活自噬调节,抑制肿瘤的 PTEN/AKT/FOXO3a/Atg7 轴。具体来说, CK1 $\alpha$  结合 PTEN 的 C 末端尾部并通过竞争性拮抗 NEDD4-1 诱导的 PTEN 多泛素化和消除 PTEN 磷酸化来增强 PTEN 稳定性和活性,从而抑制 AKT 活性并激活 FOXO3a 诱导的 Atg7 转录。值得注意的是,阻断 CK1 $\alpha$  诱导的 Atg7 依赖性自噬与致癌的 HRas<sup>V12</sup> 协同启动肺上皮细胞的肿瘤发生。在异种移植的肿瘤模型和人 NSCLC 样本中证实了 CK1 $\alpha$  调节的自噬程序与 CK1 $\alpha$ /PTEN/FOXO3a/Atg7 轴的抗肿瘤活性的关联。这表明自噬对 NSCLC 起杀伤作用,提供了 NSCLC 治疗新的方向。

通过研究自噬在肺癌治疗中的作用机制,有望发现新的治疗靶点,为研发新型靶向抗肿瘤药物提供新线索。然而,自噬是如何促进或抑制 NSCLC 的发生、发展机制非常复杂,目前还有很多未知的领域需要去发现、研究。在什么情况下尽可能地发挥自噬的抗癌作用,同时减少对正常细胞的影响,仍是亟待解决的问题。

## 【参考文献】

- [1] Liu G, Pei F, Yang F, et al. Role of autophagy and apoptosis in non-small-cell lung cancer[J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(2):367.
- [2] Udristioiu A, Nica-Badea D. Autophagy dysfunctions associated with cancer cells and their therapeutic implications [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 115: 108892.
- [3] Cassidy LD, Young AR, Pérez-Mancera PA, et al. A novel atg5-shRNA mouse model enables temporal control of autophagy in vivo[J]. *Autophagy*, 2018, 14(7):1256-1266.
- [4] Cadwell K. Crosstalk between autophagy and inflammatory signalling pathways: balancing defence and homeostasis [J]. *Nat Rev Immunol*, 2016, 16(11):661-675.
- [5] Choi AM, Ryter SW, Levine B. Autophagy in human health and disease[J]. *N Engl J Med*, 2013, 368(7):651-662.

- [6] White E, Dipaola RS. The double-edged sword of autophagy modulation in cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2009, 15 (17): 5308-5316.
- [7] Marinkovic M, Sprung M, Buljubasic M, et al. Autophagy-modulation in cancer: current knowledge on action and therapy [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2018; 8023821.
- [8] Onorati AV, Dyczynski M, Ojha R, et al. Targeting autophagy in cancer [J]. *Cancer*, 2018, 124(16): 3307-3318.
- [9] Nakatogawa H, Ichimura Y, Ohsumi Y. Atg8, a ubiquitin-like protein required for autophagosome formation, mediates membrane tethering and hemifusion [J]. *Cell*, 2007, 130(1): 165-178.
- [10] Feng Y, He D, Yao Z, et al. The machinery of macroautophagy [J]. *Cell Res*, 2014, 24(1): 24-41.
- [11] Zachari M, Ganley IG. The mammalian ULK1 complex and autophagy initiation [J]. *Essays Biochem*, 2017, 61(6): 585-596.
- [12] Munz C. Autophagy proteins in phagocyte endocytosis and exocytosis [J]. *Front Immunol*, 2017, 8: 1183.
- [13] Parzych KR, Klionsky DJ. An overview of autophagy: morphology, mechanism, and regulation [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2014, 20(3): 460-473.
- [14] Wen J, Liu H, Wang L, et al. Potentially functional variants of ATG16L2 predict radiation pneumonitis and outcomes in patients with non-small cell lung cancer after definitive radiotherapy [J]. *J Thorac Oncol*, 2018, 13(5): 660-675.
- [15] Li QX, Zhou X, Huang TT, et al. The thr300ala variant of ATG16L1 is associated with decreased risk of brain metastasis in patients with non-small cell lung cancer [J]. *Autophagy*, 2017, 13(6): 1053-1063.
- [16] Lemjabbar-Alaoui H, Hassan OU, Yang YW, et al. Lung-cancer: biology and treatment options [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2015, 1856(2): 189-210.
- [17] Novello S, Barlesi F, Califano R, et al. Metastatic non-small-cell lung cancer: ESMO clinical practice guidelines for diagnosis, treatment and follow-up [J]. *Ann Oncol*, 2016, 27(suppl5): v1-v27.
- [18] Ren JH, He WS, Nong L, et al. Acquired cisplatin resistance in human lung adenocarcinoma cells is associated with enhanced autophagy [J]. *Cancer Biother Radiopharm*, 2010, 25(1): 75-80.
- [19] Circu M, Cardelli J, Barr MP, et al. Modulating lysosomal function through lysosome membrane permeabilization or autophagy suppression restores sensitivity to cisplatin in refractory non-small-cell lung cancer cells [J]. *Plos One*, 2017, 12(9): e184922.
- [20] Morgillo F, Della CC, Fasano M, et al. Mechanisms of resistance to EGFR-targeted drugs: lung cancer [J]. *ESMO Open*, 2016, 1(3): e000060.
- [21] Kwon Y, Kim M, Jung HS, et al. Targeting autophagy for overcoming resistance to anti-EGFR treatments [J]. *Cancers (Basel)*, 2019, 11(9): 1374.
- [22] Zou Y, Ling YH, 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 Thorac Oncol*, 2013, 8(6): 693-702.
- [23] Soria JC, Ohe Y, Vansteenkiste J, et al. Osimertinib in untreated EGFR-mutated advanced non-small-cell lung cancer [J]. *N Engl J Med*, 2018, 378(2): 113-125.
- [24] Tang ZH, Cao WX, Su MX, et al. Osimertinib induces autophagy and apoptosis via reactive oxygen species generation in non-small cell lung cancer cells [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2017, 321: 18-26.
- [25] Philips GK, Atkins M. Therapeutic uses of anti-PD-1 and anti-PD-L1 antibodies [J]. *Int Immunol*, 2015, 27(1): 39-46.
- [26] Reck M, Rodriguez-Abreu D, Robinson AG, et al. Pembrolizumab versus chemotherapy for PD-L1-positive non-small-cell lung cancer [J]. *N Engl J Med*, 2016, 375(19): 1823-1833.
- [27] Clark CA, Gupta HB, Sareddy G, et al. Tumor-intrinsic PD-L1 signals regulate cell growth, pathogenesis, and autophagy in ovarian cancer and melanoma [J]. *Cancer Res*, 2016, 76(23): 6964-6974.
- [28] Wang X, Wu W, Gao J, et al. Autophagy inhibition enhances PD-L1 expression in gastric cancer [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2019, 38(1): 140.
- [29] Fultang L, Vardon A, De Santo C, et al. Molecular basis and current strategies of therapeutic arginine depletion for cancer [J]. *Int J Cancer*, 2016, 139(3): 501-509.
- [30] Shen W, Zhang X, Fu X, et al. A novel and promising therapeutic approach for NSCLC: recombinant human arginase alone or combined with autophagy inhibitor [J]. *Cell Death Dis*, 2017, 8(3): e2720.
- [31] Vonderheide RH. CD47 blockade as another immune checkpoint therapy for cancer [J]. *Nat Med*, 2015, 21(10): 1122-1123.
- [32] Zhang X, Fan J, Wang S, et al. Targeting CD47 and autophagy elicited enhanced antitumor effects in non-small cell lung cancer [J]. *Cancer Immunol Res*, 2017, 5(5): 363-375.
- [33] Zhan W, Han T, Zhang C, et al. TRIM59 promotes the proliferation and migration of non-small cell lung cancer cells by upregulating cell cycle related proteins [J]. *PLoS One*, 2015, 10(11): e0142596.
- [34] Han T, Guo M, Gan M, et al. TRIM59 regulates autophagy through modulating both the transcription and the ubiquitination of BECN1 [J]. *Autophagy*, 2018, 14(12): 2035-2048.
- [35] Cai J, Li R, Xu X, et al. CK1 $\alpha$  suppresses lung tumour growth by stabilizing PTEN and inducing autophagy [J]. *Nat Cell Biol*, 2018, 20(4): 465-478.