

自噬，凋亡与骨肉瘤化疗耐药关系的研究进展

刘晓强^{1*}，郭世炳^{2#}

¹内蒙古医科大学，内蒙古 呼和浩特

²内蒙古医科大学第二附属医院骨肿瘤科，内蒙古 呼和浩特

收稿日期：2021年10月23日；录用日期：2021年11月18日；发布日期：2021年11月25日

摘要

骨肉瘤是最常见的原发恶性骨肿瘤，侵袭性强、容易转移、预后差、发病机制并不明确。化疗是治疗中的难题。提升化疗敏感性，抵抗化疗耐药性是其中难题，自噬与凋亡与骨肉瘤的发生、发展、侵袭、治疗密切相关，骨肉瘤化疗耐药是多基因、多通路、多水平的复杂问题，自噬与凋亡相关基因与骨肉瘤化疗耐药密切相关。Livin基因与BCL-2通过凋亡途径参与了骨肉瘤化疗耐药，HMGB1通过调节自噬诱导骨肉瘤化疗耐药。自噬与凋亡的协同作用对肿瘤化疗耐药关系巨大。

关键词

骨肉瘤，自噬，凋亡，化疗耐药

Research Progress on the Relationship between Autophagy, Apoptosis and Chemotherapy Resistance of Osteosarcoma

Xiaoqiang Liu^{1*}, Shibing Guo^{2#}

¹Inner Mongolia Medical University, Huhhot Inner Mongolia

²Department of Bone Oncology, The Second Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University, Huhhot Inner Mongolia

Received: Oct. 23rd, 2021; accepted: Nov. 18th, 2021; published: Nov. 25th, 2021

Abstract

Osteosarcoma is the most common primary malignant bone tumor with strong invasion, easy me-

*第一作者。

#通讯作者。

文章引用：刘晓强，郭世炳. 自噬，凋亡与骨肉瘤化疗耐药关系的研究进展[J]. 临床医学进展, 2021, 11(11): 5398-5403.
DOI: 10.12677/acm.2021.1111798

tastasis, poor prognosis and unclear pathogenesis. Chemotherapy is a difficult treatment. Improving the sensitivity of chemotherapy and resisting chemotherapy resistance is a difficult problem. Autophagy and apoptosis are closely related to the occurrence, development, invasion and treatment of osteosarcoma. Chemotherapy resistance of osteosarcoma is a complex problem with multiple genes, multiple pathways and multiple levels, and autophagy and apoptosis-related genes are closely related to chemotherapy resistance of osteosarcoma. Livin gene and BCL-2 are involved in chemotherapy resistance of osteosarcoma through apoptosis pathway, and HMGB1 induces chemotherapy resistance of osteosarcoma by regulating autophagy. The synergistic effect of autophagy and apoptosis has a great relationship with chemotherapy resistance of tumor.

Keywords

Osteosarcoma, Autophagy, Apoptosis, Chemotherapy Drug Resistance

Copyright © 2021 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

骨肉瘤是最常见的原发恶性骨肿瘤, 儿童、青少年、年轻人发生率较高, 占所有实体癌的百分之十[1][2]。肿瘤对组织的破坏会导致一系列的征状和体征。局部疼痛, 肿胀, 功能障碍以及肺转移为骨肉瘤主要特点[3][4], 最常见的是股骨远端, 胫骨近端和肱骨近端[5]。目前新诊断的骨肉瘤治疗包括 3~4 个细胞毒药物, 可以是以下化疗药物中的几种或者全部(顺铂, 阿霉素, 甲氨蝶灵, 环磷酰胺的新辅助化疗技术)[6]。化疗耐药的发展是骨肉瘤化疗的主要障碍, 是成功治疗癌症的重要挑战[7]。耐药是一个多因素参与的过程, 也是由细胞对肿瘤微环境的应激反应所介导的。化疗药物的使用中, 肿瘤耐药成为新的挑战, 肿瘤耐药性是指患者对某种抗肿瘤药物未出现治疗反应的现象, 化疗的效果很差[8]。而近年来骨肉瘤多药耐药更使骨肉瘤化疗棘手。化疗敏感性与骨肉瘤治疗效果密切相关, 提升化疗敏感性, 抵抗耐药性, 有助于骨肉瘤治疗。

2. 凋亡及其相关基因

凋亡, 是细胞在正常生存过程中受基因控制的一种细胞程序化主性消融过程, 骨肉瘤细胞的形成, 发展, 化疗与凋亡密切相关。凋亡细胞的形态学特点包括: 凋亡细胞呈圆形或者卵圆形, 早期胞质浓缩, 细胞体积缩小, 细胞质密度大。核内染色质凝聚是凋亡最典型的特征。在光镜及电镜下, 细胞皱缩, 凋亡体形成[9]。凋亡途径有很多, 有一条细胞凋亡的内部线粒体途径, 与肿瘤细胞增殖密切相关。其主要是受 BCL-2 家族调控的线粒体外膜的透化(momp)引起的细胞色素 c 向胞质的释放[10][11]。参与细胞凋亡的蛋白分子有主要有 BCL-2 家族, 其家族基因较多, 其中 BCL-2 既是原癌基因是凋亡抑制基因。BCL-2 基因主要编码两种作用相反的蛋白, 即抗凋亡蛋白和促凋亡蛋白。其中 BCL-2 和 Bcl-xL 为抗凋亡蛋白, 其余的 BAX, BAK, BAD 为抑制凋亡蛋白[12]。抗凋亡蛋白和抑凋亡蛋白之间的平衡影响肿瘤细胞的增殖和耐药性。Livin 基因是与细胞凋亡过程有关的基因。Livin 基因是凋亡抑制基因, Livin 基因位于人 20 号染色体 20q13.3 区域, 全长 4.6 kb, 包含七个外显子, Livin 基因抗凋亡的机制在很多实验观察和临床研究中得到证实, 其机制与 caspases 蛋白关系密切。凋亡与骨肉瘤发生, 发展, 治疗密切相关[13]。

2.1. BCL-2 与骨肉瘤化疗耐药的关系

BCL-2 是凋亡分子机制研究的主要靶分子。研究显示: BCL-2 在骨肉瘤组织中的表达率约为百分之 50, BCL-2 阳性表达与性别, 年龄, 肿瘤部位, 肿瘤直径, 病理分型无明显关系, 与肿瘤分期密切相关, 分期越高, 表达越显著。也就是说明与肿瘤恶性程度有关, 恶性程度越高, BCL-2 表达越高[14]。在一项研究骨肉瘤化疗与 BCL-2 的关系实验研究中, Miyashita 等采用基因转染方法, 发现与对照组相比, 高水平表达 BCL-2 蛋白的细胞更容易使细胞耐药[15]。此外, 刘等通过对表达 BCL-2 和不表达 BCL-2 的两种骨肉瘤组织进行对比的试验发现, BCL-2 组的骨肉瘤组织对化疗药物的反应率更低。提示 BCL-2 的表达对骨肉瘤的化疗耐药有较高的预测价值[16]。Bruna 等在使用紫杉醇诱导人成骨肉瘤细胞系(sao-2)凋亡的实验中发现 BCL-2 的表达与细胞的凋亡有明显的时效关系[17], 张等检测到, BCL-2 作为一种重要的抗凋亡分子, 其表达水平在骨肉瘤细胞中明显上调。

2.2. Livin 基因参与骨肉瘤化疗耐药

Livin 基因是与凋亡抑制有关的基因, 研究发现, Livin 基因在顺铂, 长春新碱, 足叶己苷和 5 氟尿嘧啶等化疗药物多药耐药性产生过程中发挥重要作用[13] [18]。李等[19]在一项用 Livin 基因增强骨肉瘤转化和顺铂耐药性的体外实验研究中。研究证实: 在重组 Livin-shrna 质粒并转染导入骨肉瘤内 u2os 细胞中, 采用其中稳定转染的细胞克隆, 用 Westblot 和 PCR 进行验证, 与无转染组和阴性对照组比较, 克隆细胞中 Livin 的 mRNA 及蛋白质水平下降。克隆实验结果显示: 与无转染组和阴性对照组比较, Livin-shrna 组中 u2os 形成的数量更少。提示 Livin 基因能够增强 u2os 细胞的骨肉瘤转化能力。并且发现, Livin-shrna 组的 u2os 细胞中可见凋亡小体形成, 无转染组, 阴性对照组并未见到, 与无转染组, 阴性对照组相比, Livin 表达沉默明显增强了一线化疗药物顺铂的凋亡诱导效应, 本研究显示: Livin 表达下调明显增强了骨肉瘤顺铂的化疗敏感性, 提示 rna 介导的 Livin 基因治疗有望与常规化疗药物联合成为治疗多药耐药性导致的复发性骨肉瘤有效方案之一。此外, 研究显示 Livin 表达沉默 u2os 细胞中线粒体相关表面蛋白和蛋白酶和 DNA 修复酶发生变化, 暗示了它可能激活了凋亡线粒体途径。由于 IAP 家族主要通过激活 Nf-kb 和 MARP 信号通路促进肿瘤生长和抑制肿瘤产生, 因此本研究中, Livin 表达沉默可能通过抑制 nf-kb 信号转导调节其下游因子从而介导了程序性细胞死亡。

3. 自噬过程概述: 细胞自噬过程

自噬机制与细胞受损, 肿瘤密切相关。在外界压力, 饥饿, 缺氧, 和内质网应激等特殊情况下, 自噬是一种生存机制。mTOR 激酶是自体吞噬诱导过程中关键的酶, 正负调控 mtor 可分别激活和抑制自噬[20]。此外, ULK1 一直以来都被认为是自噬的一个关键调控因子, 目前发现 AMPK 和 mTOR 这两个激酶可催化 ULK1 的磷酸化, 这在自噬中起着十分重要的作用[21]。细胞自噬过程分为 4 个阶段, 第一, 自噬诱导信号被接受, 类脂质体形成小的膜结构, 电镜下扩张, 形态结构改变, 形成自噬前体。第二阶段, 自噬前体包裹细胞内的分子物质及细胞器等, 行程密闭的球状自噬体, 第三阶段, 自噬体形成后, 与细胞内吞作用形成的吞噬泡, 吞饮泡等融合, 第四阶段, 自噬体与溶酶体结合, 形成自噬溶酶体[22] [23]。

HMGB1 通过调节自噬诱导骨肉瘤化疗耐药

HMGB1 是 HMG 蛋白超家族的一员, 是一种调节基因转录, 基因修复的非组蛋白核蛋白, 广泛存在于哺乳动物的各种细胞中, HMGB1 可以由细胞受到应激后主动分泌, 也可由坏死细胞被动释放[24]。HMGB1 是一种新型的 DNA 结合蛋白。当细胞受到各种不同的刺激时, HMGB1 从细胞核迅速转移到细胞质或细胞外, 通过直接和自噬蛋白 beclin1 相互作用, 使其脱离 BCL-2 直接调节自噬[25]。此外, HMGB1

能通过 pi3k-mek-erk 信号通路间接调节自噬[26]。HMGB1 不仅会在骨肉瘤化疗过程中高表达并且调节自噬, Hmgb1 的表达通过干扰自噬和凋亡途径调节化疗反应和耐药。黄[27]研究显示: 化疗药物阿霉素, 顺铂, 和甲氨蝶呤促进骨肉瘤细胞 MG-63, sAoS-2 和 U-2OS 内 HMGB1 表达, 在体外实验中抑制 HMGB1 增加了骨肉瘤对化疗药物敏感性, 体外实验中 HMGB1 的过量表达增加了骨肉瘤对化疗的耐药性, 动物实验证实抑制 HMGB1 表达恢复骨肉瘤细胞对化疗药物的敏感性。HMGB1 调节骨肉瘤细胞化疗过程中发生的自噬。在骨肉瘤化疗过程中 HMGB1 参与调节自噬中 beclin1-pi3kc3 复合物的形成。Guo 等[1]研究发现, HMGB1 在体外由抗癌药物诱导, 骨肉瘤在化疗期间 HMGB1 水平升高介导自噬, HMGB1 介导的体外骨肉瘤细胞化疗过程中的自噬, 抑制骨肉瘤细胞的增殖、迁移和侵袭。

4. 自噬与凋亡的关系

目前认为, 自噬与凋亡存在以下三种关系, 第一, 自噬为凋亡所需, 第二, 自噬与凋亡相互拮抗, 第三, 自噬与凋亡相互协同促进死亡[28]。自噬与凋亡并非相互独立, 而是相互关联, 其分子通路之间可以发生交叉串扰, 串扰机制主要包括, beclin1 与 BCL-2 的相互作用, caspase 对 beclin1 的剪切作用, ATG12-ATG3 间的相互作用, p53 的交叉调节作用等[29]。自噬本身呈现出一种悖论, 因为它可以对细胞的存活和死亡都产生的影响, 因此, 它与凋亡的关系是复杂的。自噬在骨肉瘤进展中的作用一直存在争议。自噬能诱导化疗耐药也能增强化疗敏感性。自噬与细胞凋亡密切相关, 深入了解自噬, 以自噬为突破口, 并利用自噬调节细胞凋亡对骨肉瘤的化疗有重要意义。细胞凋亡与自噬的协同作用和肿瘤化疗耐药关系巨大。现主要探讨细胞凋亡与自噬的协同作用。

细胞凋亡与自噬具有协同作用

自噬与凋亡的交互作用较为多见, 自噬和凋亡各自的作用可以诱导细胞死亡, 在自噬与凋亡功能都正常的情况下, 可以是共同促进, 也可以是一种为主, 一种为辅助。在细胞有缺陷时, 可以表现为一种代替另一种[30]。普黄酮是一种新型的吡啶类化合物, 吡啶类化合物有大环共轭体系, 具有刚性平面结构, 是一种良好的荧光试剂, 可以用作化学发光探针, 吡啶类化合物可以插入 DNA 双链之间, 阻止细菌和病毒的繁衍, 科学家利用这一性质来阻断癌细胞增殖[31]。Zhang 等[32]研究发现, 通过研究普黄酮对 MG63 细胞活力的影响, 以及对 MG63 细胞凋亡和自噬的诱导作用的研究过程中发现, 普黄酮诱导的细胞死亡与细胞凋亡与细胞自噬有关结果表明, 普黄酮能够通过细胞死亡与细胞自噬的协同作用发挥抗癌作用。南蛇藤醇是一种三萜烯药物, 萜烯化合物是由五个碳原子的异戊二烯通过头对头或者头对尾作用连接在一起, 形成含有不同数量异戊二烯单元的单萜, 二萜, 三萜, 萜类化合物通过不同作用机制发挥着不同的生物活性, 三萜类化合物作为信号分子, 在抗肿瘤方面发挥广泛作用。具有强效的抗肿瘤作用, 三萜烯药物在骨肉瘤细胞中通过活性氧类/c-Jun 氨基端激酶信号通路, 诱导细胞凋亡和自噬[33]。

5. 展望

关于细胞凋亡和自噬如何影响骨肉瘤细胞化疗的潜在因素已经探讨了很多, 但仍有很多问题需要解决。目前关于骨肉瘤的治疗, 化疗效果是最大阻碍。自噬与骨肉瘤细胞向肿瘤转化及与骨肉瘤细胞增殖与耐药性的关系, 目前还尚未研究清楚。此外, 细胞自噬与凋亡之间的相互作用很复杂, 其分子机制尚未完全阐明。深入了解自噬与凋亡的关系及其与肿瘤细胞增殖的关系有助于为骨肉瘤的治疗提供新的方法。

参考文献

- [1] Guo, S., Bai, R., Liu, W., et al. (2014) miR-22 Inhibits Osteosarcoma Cell Proliferation and Migration by Targeting HMGB1 and Inhibiting HMGB1-Mediated Autophagy. *Tumor Biology*, 35, 7025-7034.

- <https://doi.org/10.1007/s13277-014-1965-2>
- [2] Corre, I., Verrecchia, F., Crenn, V., Redini, F. and Trichet, V. (2020) The Osteosarcoma Microenvironment: A Complex But Targetable Ecosystem. *Cells*, **9**, 976. <https://doi.org/10.3390/cells9040976>
 - [3] Biazzo, A. and De Paolis, M. (2016) Multidisciplinary Approach to Osteosarcoma. *Acta Orthopaedica Belgica*, **82**, 690-698.
 - [4] Cersosimo, F., Lonardi, S., Bernardini, G., Telfer, B., Mandelli, G.E., Santucci, A., Vermi, W. and Giurisato, E. (2020) Tumor-Associated Macrophages in Osteosarcoma: From Mechanisms to Therapy. *International Journal of Molecular Sciences*, **21**, 5207. <https://doi.org/10.3390/ijms21155207>
 - [5] Wittig, J.C., Bickels, J., Priebat, D., Jelinek, J., Kellar-Graney, K., Shmookler, B. and Malawer, M.M. (2002) Osteosarcoma: A Multidisciplinary Approach to Diagnosis and Treatment. *American Family Physician*, **65**, 1123-1132.
 - [6] Smrke, A., Anderson, P.M., Gulia, A., Gennatas, S., Huang, P.H. and Jones, R.L. (2021) Future Directions in the Treatment of Osteosarcoma. *Cells*, **10**, 172. <https://doi.org/10.3390/cells10010172>
 - [7] Li, S., Sun, W., Wang, H. et al. (2015) Research Progress on the Multidrug Resistance Mechanisms of Osteosarcoma Chemotherapy and Reversal. *Tumor Biology*, **36**, 1329-1338. <https://doi.org/10.1007/s13277-015-3181-0>
 - [8] 郝照勇, 刘扬中. 顺铂耐药的分子机制[J]. 中国科学: 化学, 2014, 44(4): 410-422.
 - [9] 李帅, 张炳东. 细胞凋亡途径的研究进展[J]. 山东医药, 2017, 57(37): 103-106.
 - [10] 李敏, 林俊. 细胞凋亡途径及其机制[J]. 国际妇产科学杂志, 2014, 41(2): 103-107.
 - [11] 钟明, 魏玲玲, 杨显富, 邓绍平. 外源性及内源性细胞凋亡机制研究进展[J]. 实用医院临床杂志, 2014, 11(2): 170-174.
 - [12] 陈金泉, 张世权. 骨肉瘤化疗耐药相关机制的研究进展[J]. 中国骨与关节杂志, 2017, 6(12): 918-923.
 - [13] 柴春艳, 李雅莉. Livin 基因与肿瘤的研究进展[J]. 陕西医学杂志, 2010, 39(1): 107-109.
 - [14] 封志强. Survivin、Bcl-2 在儿童骨肉瘤中的表达与细胞凋亡的相关性及临床意义[D]: [硕士学位论文]. 泰安: 泰山医学院, 2010.
 - [15] Miyashita, T. and Reed, J.C. (1993) Bcl-2 Oncoprotein Blocks Chemotherapy-Induced Apoptosis in a Human Leukemia Cell Line. *Blood*, **81**, 151-157. <https://doi.org/10.1182/blood.V81.1.151.151>
 - [16] 刘玉军, 李书忠, 郭树芳, 王胜利, 李玉军. LRP、Bcl-2 在骨肉瘤组织中的表达对化疗耐药的预测价值[J]. 滨州医学院学报, 2003(4): 247-249.
 - [17] Pucci, B., Bellincampi, L., Tafani, M., Masciullo, V., Melino, G. and Giordano, A. (1999) Paclitaxel Induces Apoptosis in Saos-2 Cells with CD95L Upregulation and Bcl-2 Phosphorylation. *Experimental Cell Research*, **252**, 134-143. <https://doi.org/10.1006/excr.1999.4591>
 - [18] Ding, Z.Y., Liu, G.H., Olsson, B. and Sun, X.F. (2013) Upregulation of the Antiapoptotic Factor Livin Contributes to Cisplatin Resistance in Colon Cancer Cells. *Tumor Biology*, **34**, 683-693. <https://doi.org/10.1007/s13277-012-0596-8>
 - [19] 李旭, 李岩, 程世孝, 李雷明, 孟凡贺, 王立国, 王军, 范广宇. Livin 基因增强骨肉瘤转化和顺铂耐药性的体外实验研究[J]. 中国医科大学学报, 2013, 42(8): 673-677+696.
 - [20] Alers, S., Löffler, A.S., Wesselborg, S. and Stork, B. (2012) Role of AMPK-mTOR-Ulk1/2 in the Regulation of Autophagy: Cross Talk, Shortcuts, and Feedbacks. *Molecular and Cellular Biology*, **32**, 2-11. <https://doi.org/10.1128/MCB.06159-11>
 - [21] Chen, P., Wang, Y., Chen, L., Song, N. and Xie, J. (2020) Apelin-13 Protects Dopaminergic Neurons against Rotenone-Induced Neurotoxicity through the AMPK/mTOR/ULK-1 Mediated Autophagy Activation. *International Journal of Molecular Sciences*, **21**, 8376. <https://doi.org/10.3390/ijms21218376>
 - [22] 李宜醒, 姚伟静, 易聪. 细胞自噬研究进展[J]. 中国细胞生物学报, 2019, 41(2): 192-201.
 - [23] Landsman, D. and Bustin, M. (1993) A Signature for the HMG-1 Box DNA-Binding Proteins. *Bioessays*, **15**, 539-546. <https://doi.org/10.1002/bies.950150807>
 - [24] 刘清, 丁光仁, 惠永峰, 严慧, 王琦. HMGB1 及其受体 RAGE 分子信号通路参与调节肝细胞肝癌增殖和侵袭转移机制的研究[J]. 临床和实验医学杂志, 2017, 16(3): 213-217.
 - [25] He, S., Cheng, J., Feng, X., Yu, Y., Tian, L. and Huang, Q. (2017) The Dual Role and Therapeutic Potential of High-Mobility Group Box 1 in Cancer. *Oncotarget*, **8**, 64534-64550. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.17885>
 - [26] 刘峰宇, 邓玉林, 马宏. HMGB1 在肿瘤相关疾病中的研究进展[J]. 生命科学仪器, 2020, 18(1): 18-25.
 - [27] 黄俊. HMGB1 在骨肉瘤对化疗药物耐药中所起的作用和机制研究[D]: [博士学位论文]. 长沙: 中南大学, 2012.

-
- [28] 邓正亭, 李湧健, 程彬彬. 自噬与凋亡的相互关系在肿瘤方面的研究进展[J]. 现代肿瘤医学, 2015, 23(10): 1467-1471.
- [29] 唐琪, 布文兔, 王丹丹, 辛颖, 徐晓薇, 孙宏晨. 自噬与凋亡的相互作用及其对肿瘤发展过程影响的研究进展[J]. 吉林大学学报(医学版), 2015, 41(6): 1303-1306.
- [30] 付晶晶, 段君凯, 李红. 细胞自噬与凋亡的交互作用[J]. 生命的化学, 2014, 34(5): 649-653.
- [31] 武小军, 李婧婧, 郝家金, 王宇飞, 赵萍萍, 胡孝伦. 吡啶类化合物的应用研究进展[J]. 精细石油化工进展, 2017, 18(4): 54-57.
- [32] Zhang, M.S., Niu, F.W. and Li, K. (2015) Proflavin Suppresses the Growth of Human Osteosarcoma MG63 Cells through Apoptosis and Autophagy. *Oncology Letters*, **10**, 463-468. <https://doi.org/10.3892/ol.2015.3206>
- [33] Li, H.Y., Zhang, J., Sun, L.L., *et al.* (2015) Celastrol Induces Apoptosis and Autophagy via the ROS/JNK Signaling Pathway in Human Osteosarcoma Cells: An *in Vitro* and *in Vivo* Study. *Cell Death & Disease*, **6**, e1604. <https://doi.org/10.1038/cddis.2014.543>