

自噬在胃癌干细胞中的作用及研究进展

田恒金^{1,2}, 汪非凡¹, 高培垚¹, 陈阿敏¹, 王娜¹, 张强¹

1. 蚌埠医学院第一附属医院检验科, 安徽蚌埠 233000; 2. 蚌埠医学院肿瘤基础研究与临床检验诊断重点实验室, 安徽蚌埠 233000

[摘要] 胃癌干细胞 (gastric cancer stem cell, GCSC) 是一组异质细胞, 具有自我更新能力, 并具有多重分化、迁移、转移和耐药性的潜力。GCSC 的来源可能与胃干细胞的来源密切相关, 它在胃癌的发生、发展中起着重要作用。细胞自噬是由自噬相关基因严格调控的细胞内稳态过程, 是细胞应对饥饿、缺氧和放/化疗等各种细胞应激的生物大分子分解过程。它涉及细胞内蛋白质、复合物或自噬体中的细胞器。越来越多的研究发现自噬与维持肿瘤干细胞的干性及与肿瘤的发生密切相关。

[关键词] 细胞自噬; 胃癌干细胞; 胃癌; 蛋氨酸

[中图分类号] R573 **[文献标识码]** A **[DOI]** 10.3969/j.issn.1673-9701.2024.06.028

胃癌 (gastric cancer, GC) 是危及人类生命的恶性肿瘤, 在所有恶性肿瘤中发病率排名第 4 位。在我国, GC 的发病率在各类恶性肿瘤居第 2 位, 每年新诊断的 GC 患者超过 40 万人, 死亡约 30 万人, 占全球 GC 总死亡率的 40% 以上, 是影响人类健康的最常见的恶性肿瘤之一^[1]。GC 在发病早期通常无症状, 可能延误诊断, 错失手术治疗时机。虽然近年来 GC 的诊治取得了长足进展, 但仍缺乏有效的早期诊断指标, 晚期 GC 的预后仍不容乐观^[2]。胃癌干细胞 (gastric cancer stem cell, GCSC) 具有自我更新、侵袭转移的能力, 其负责 GC 的进展、复发、转移和耐药并与 GC 的发展密切相关。自噬是通过溶酶体系统 (植物和酵母的液泡) 降解过量或受损的细胞器、大蛋白质聚集体和入侵的病原体的一个高度保守的生理过程^[3]。自噬在 GCSC 中具有重要的生物学功能, 本文通过自噬在 GC 和 GCSC 中的作用进行综述。

1 细胞自噬

1.1 自噬的定义

自噬即亚细胞水平上的“自食”, 是指由自噬相关基因 (autophagy related genes, ATG) 引起的应激适应过程, 被定义为负责降解溶酶体中的胞浆蛋白和亚细胞器的细胞过程^[4]。这一过程发生在大多数组织的基础水平, 有助于细胞质成分的常规周转, 并作为组织动态平衡的一部分。通常, 自噬可由饥饿或其他形式的细胞应激诱导, 导致溶酶体降解和降解产物的循环, 生成细胞构建模块和能量, 用于细胞更新和稳态^[4-5]。同时自噬越来越被认为是一种蛋白质和细胞器的质量控制机制。自噬具有许多调节

细胞的重要过程, 包括自我更新、分化、衰老和凋亡^[6]。自噬属于分解代谢, 是一个高度保守的能量依赖性病理、生理适应过程。

1.2 自噬的类型

自噬是一种在所有真核生物中高度保守的细胞降解和循环过程, 自噬主要分为 3 种类型: 微自噬、大自噬和伴侣介导的自噬 (chaperone-mediated autophagy, CMA)。该 3 种自噬在形态上虽然各不相同, 但它们的最终目的是将产物运送到溶酶体里面进行循环和降解^[7]。大自噬和微自噬都涉及动态膜重排以吞噬部分细胞质, 它们具有隔离大结构的能力。微自噬是指细胞质内容物通过溶酶体膜的内陷或变形进入溶酶体的过程^[8]。最初研究中, 在电镜下 Percoll 颗粒在体外大鼠肝溶酶体内通过溶酶体膜的突起和内陷而被吞没, 从而形成囊泡。一项研究表明, 一种叫作内体微自噬的微自噬样过程将可溶性胞浆蛋白运输到晚期内体多泡体的囊泡^[9]。而 CMA 是一种独特的选择性自噬形式, 具有高度特异性; 通过它特定的胞浆蛋白一个接一个地穿过溶酶体膜进行降解, 而所有 CMA 底物共有的是一个与 KFERQ 样生化相关的五肽靶向基序, 称为 CMA 靶向基序。降解可溶性胞浆蛋白亚群的选择性是 CMA 的独特特性, 它是直接由两个因素决定: 底物蛋白氨基酸序列中存在识别靶向基序及蛋白质在展开后逐一进入溶酶体腔^[7]。而大自噬 (俗称的自噬) 也不同于微自噬和 CMA。在自噬过程中部分细胞质被隔离成一个双膜囊泡, 称为自噬体。自噬体通过膨胀形成而不是通过膜出芽形成。在酵母中诱导大自噬时, 自噬体的形成开始于单个液泡周位点, 称为吞噬细胞

基金项目: 安徽省自然科学基金面上项目 (1908085MH258)

通信作者: 张强, 电子信箱: bbyxyzq@163.com

组装位点 (phagophore assembly site, PSA)^[10]。在完整的自噬体与溶酶体/液泡融合时,内部的单膜囊泡被释放到腔内。在其他情况下,产生的自噬体的膜被溶解,细胞的内容物被降解,产生的大分子通过膜孔被运送回细胞质中,以便循环使用。

2 GCSC

2.1 GCSC 来源

关于 GCSC 的起源主要有两种假说:第 1 种假说认为 GCSC 来源于胃干细胞的突变,导致正常胃黏膜向萎缩性胃炎、肠上皮化生、不典型增生演变,最后向 GC 转化^[11]。基于这一假设,评估 GCSC 在不同解剖区域的表型和表达不同的特异性标记是至关重要的。尤其是 LGR5+ (富含亮氨酸的 G 蛋白偶联受体 5) 亚群位于幽门腺的底部,由 Aaron J. W. Dr Hsueh 团队首次发现。Lgr5 的过表达已在多种癌症中被报道,它已被证明是肿瘤干细胞 (cancer stem cell, CSC) 的起源^[12]。而 Villin+ 细胞位于幽门前腺的底部, Villin 是一种钙调控的肌动蛋白交联蛋白。Qiao 等^[13]证实,这种蛋白虽然罕见,但具有分化为多种胃黏膜细胞的潜力。此外,在其他研究中,由 Villin-Cre 建立的 GC 小鼠模型已被证明具有 CSC 的特性。第 2 种假说认为 GCSC 来源于骨髓间充质干细胞 (bone marrow mesenchymal stem cell, BMMSC)^[14]。BMMSC 是一种成体干细胞,它们可以迁移、再生并具有多重分化的潜力。当幽门螺杆菌感染引起胃损伤时, BMMSC 迁移到胃上皮并参与组织修复,提示 BMMSC 参与 GC 的发生发展。有人认为上皮间质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) 可产生 GCSC, EMT 是上皮细胞通过失去细胞间接触和细胞骨架重组而获得成纤维母细胞表型的过程。EMT 通过细胞浸润和转移促进肿瘤的发展,被认为是肿瘤扩散的关键步骤,因为它通过细胞侵袭和转移促进肿瘤的发展^[15-16]。

2.2 GCSC 特征

CSC 首先在急性髓系白血病中被发现,被认为是肿瘤细胞的一个小亚群,具有自我更新、无限增殖的能力,被认为与肿瘤进展、免疫逃逸、复发、转移和耐药有关^[17]。越来越多的研究证实 GCSC 的存在及其在 GC 进展、免疫逃逸、复发和转移中的作用。有研究表明 GC 中存在 GCSC^[18]。Han 等^[19]从 GC 患者切除的 GC 标本中分离培养 GCSC 和肿瘤相关成纤维细胞 (cancer-associated fibroblasts, CAF), 他们发现 CAF 分泌的 NRG1 通过调节 GCSC 的自我更新促进了 GC 的进展。Hasegawa 等^[20]发现 CAF 可通过调节 TGF- β 信号通路来维持和增强 GCSC 的肿

瘤干细胞样特性。Yes 相关蛋白参与许多恶性肿瘤的进展,并被认为是通过转化生长因子- β -活化激酶 1 或抑制脂质素型前列腺素 D2 合成酶和前列腺素 D2 受体 2 的表达来增强 GCSC 表面标志物的表达和自我更新^[21]。同时,研究表明 GCSC 与免疫系统有着密切的相互作用。一方面, GCSC 有助于产生免疫抑制肿瘤微环境,以逃避免疫监视;另一方面,围绕 GCSC 的免疫细胞可将非 GCSC 转化为 GCSC,并保持其 CSC 的性质。

3 细胞自噬与 GCSC

3.1 自噬参与 GCSC 相关通路

自噬在 GC 中起着双刃剑的作用,它对 GC 有促进和抑制两个方面的作用。长期幽门螺杆菌感染可损害胃黏膜的自噬,最终可能促进胃黏膜的肿瘤发生。而 Beclin1、微管相关蛋白轻链和 P62/SQSTM1 被认为是自噬相关标志物,具有 GC 预后价值。自噬抑制剂和自噬诱导剂显示出 GC 治疗的前景。同时自噬也是 CSC 存活和耐药性的一个主要因素^[22]。自噬在维持 CSC 和癌细胞之间的动态平衡中发挥至关重要的作用。GCSC 作为 GC 发病的基础, GCSC 有多种信号通路参与,最常见的有 Wnt 信号通路、Notch 信号通路、Hedgehog 信号通路和 Hippo 信号通路等^[23]。

3.1.1 Wnt 信号通路

Wnt/ β -catenin 信号通路被认为是组织修复和干细胞更新的关键。根据 β -catenin 是否被激活, Wnt/ β -catenin 信号通路通常分为典型信号通路和非典型信号通路^[24]。在癌变过程中,典型的 Wnt/ β -catenin 通路参与 GCSC 的增殖与分化,而非典型的 Wnt/ β -catenin 通路参与 EMT 和 GCSC 的启动有关^[25]。Liu 等^[26]研究表明 ICG-001 通过阻断 Wnt/ β -catenin 信号通路,显著抑制 GCSC 的干细胞样特性及 GC 细胞系的生长、耐药和转移。同时,细胞自噬的激活通过 Wnt/ β -catenin 信号介导的单羧酸转运蛋白 1 的上调促进肿瘤转移和糖酵解,因此它们在 GCSC 发生和治疗反应中发挥关键作用。

3.1.2 Notch 信号通路

Notch 信号通路对于 GC 中肿瘤发生所需的 CSC 的维持至关重要。Notch 信号通路是 GC 发生中最活跃的通路之一,在 GC 发生与胃干 (祖) 细胞增殖之间的联系中起着关键作用^[27]。在缺氧、饥饿等应激环境下, GCSC 也被证实通过自噬系统维持其细胞活性。因此,自噬抑制剂氯喹 (chloroquine, CQ) 也被认为是包括 GC 在内的潜在癌症治疗药物之一。CQ 是一种抗疟药物,具有抑制自噬体形成的作用。细胞自噬对 GCSC 细胞活力的维持作用与 Notch 信号通路的异常有关。Li 等^[1]报道自噬抑制剂 CQ 对 GCSC 的细胞活力有抑制作

用,与 5-氟尿嘧啶联合使用时抑制 GCSC 增殖作用明显增强;进一步的研究表明,自噬可通过调节 Notch 信号通路来调控 GCSC 的耐药性,说明细胞自噬可通过靶向 GCSC 发挥抗肿瘤作用。

3.1.3 HIPPO 信号通路 在 GCSC 中, HIPPO 信号通路也是一种非常常见的信号通路,是一个高度保守的信号转导通路;它有助于调节 CSC 的自我更新和分化,同时也与癌症的发展和维持有关。作为一种信号调节因子, *PTPRU* 基因可通过抑制 *YAP* 基因的表达来减弱 GCSC 的干性,从而抑制 Hippo/YAP 信号通路^[28]。硬脂酰辅酶 a 去饱和酶-1 被认为是肿瘤干细胞样特性的原因。Gao 等^[29]报道硬脂酰辅酶 a 去饱和酶-1 通过 Hippo/YAP 信号通路增加了 GCSC 的干细胞样特性,这是 GC 肿瘤发生、化疗耐药和转移的关键“种子”。相反, siRNA 抑制或敲低硬脂酰辅酶 a 去饱和酶-1 会减弱 GCSC 的干细胞样特性。

4 蛋氨酸通过促进 RAB37 甲基化和磷酸化调控 GCSC 自噬

蛋氨酸 (methionine, Met) 是所有细胞所需的必需氨基酸。Cao 等^[30]发现人原发性 GC 细胞存在 Met 依赖性,即无 Met 的环境增强化疗对 GC 细胞的作用。此外, Met- γ 裂解酶是一种可特异性裂解 Met 的酶,通过裂解细胞上清液中的 Met 抑制 GCSC 的增殖。而补充 Met- γ 裂解酶可使 Met 裂解,降低 GCSC 中 RAB37 的甲基化和磷酸化,从而诱导 GCSC 自噬,抑制肿瘤生长^[31]。而且 Met 被证明通过促进甲基化过程参与自噬的调节。在酵母细胞中, Met 通过合成 SAM 诱导蛋白磷酸酶 2A 甲基化,从而抑制自噬,促进细胞生长^[32]。而 RAB37 是一种小 GTPase 蛋白,参与细胞内信号转导和囊泡传导。研究表明 *RAB37* 基因直接与自噬相关基因 5 结合,并以三磷酸鸟苷依赖性的方式促进自噬体的形成,抑制肿瘤生长^[33]。Met 可促进 GCSC 中 RAB37 的甲基化和磷酸化直接降低其表达,并通过 miR-200b/PKC α 轴抑制 RAB37 的活性,从而抑制 RAB37 介导的 GCSC 自噬,促进 GCSC 的细胞活力。有研究表明 miR-200b 在 GC 中是一种肿瘤抑制因子,发现 miR-200b 抑制剂激活了大鼠心脏成纤维细胞的自噬,提示 miR-200b 可能是自噬的调节因子^[34]。自噬与 GCSC 的相关信号通路关系密切,通过研究细胞自噬也能为治疗 GC 提供一个潜在的靶点。

5 小结与展望

GC 在我国是一种多发疾病,而 GC 的转移、复发和化疗耐药对 GC 患者来说是非常致命的。CSC 具有自我更新、分化并促进肿瘤的形成。越来越多

的证据表明 CSC 是肿瘤形成和复发的根源。因此,阐明 CSC 存活和 CSC 干性维持的机制对于提高抗癌治疗具有重要意义。同时肿瘤中 CSC 的存在有助于放化疗耐药、肿瘤复发和转移,这给肿瘤的治疗带来极大的困难。自噬是一个清除和回收细胞成分的过程,它促进对抗癌治疗的抵抗。自噬是 CSC 降低抗癌治疗耐药性的潜在靶点,而 GCSC 作为 CSC 的一种推动 GC 进展,它在 GC 的转移、复发、化疗和耐药中起关键作用。因此细胞自噬可能对 GCSC 也同样具有抗肿瘤的作用,GCSC 也可成为 GC 的潜在治疗靶点。未来的研究应集中于识别特异性 GCSC 和深入了解 GCSC 在 GC 中的致病机制及深入研究细胞自噬与 GCSC 的关系,从而实现其对 GC 治疗的革命性变革,更好为患者服务。

利益冲突: 所有作者均声明不存在利益冲突。

[参考文献]

- [1] LI L Q, PAN D, ZHANG S W, et al. Autophagy regulates chemoresistance of gastric cancer stem cells via the Notch signaling pathway[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2018, 22(11): 3402-3407.
- [2] LU L, LIANG Q, ZHANG X, et al. Autophagy related noncoding RNAs: Emerging regulatory factors of gastric cancer[J]. Cancer Manag Res, 2022, 14: 2215-2224.
- [3] NAZIO F, BORDI M, CIANFANELLI V, et al. Autophagy and cancer stem cells: Molecular mechanisms and therapeutic applications[J]. Cell Death Differ, 2019, 26(4): 690-702.
- [4] CHEN X, HE Y, LU F. Autophagy in stem cell biology: A perspective on stem cell self-renewal and differentiation[J]. Stem Cells Int, 2018, 2018: 9131397.
- [5] CAO Y, LUO Y, ZOU J, et al. Autophagy and its role in gastric cancer[J]. Clin Chim Acta, 2019, 489: 10-20.
- [6] TALUKDAR S, DAS S K, EMDAD L, et al. Autophagy and senescence: Insights from normal and cancer stem cells[M]. Adv Cancer Res, 2021, 150: 147-208.
- [7] PARZYCH K R, KLIONSKY D J. An overview of autophagy: Morphology, mechanism, and regulation[J]. Antioxid Redox Signal, 2014, 20(3): 460-473.
- [8] MARZELLA L, AHLBERG J, GLAUMANN H. Autophagy, heterophagy, microautophagy and crinophagy as the means for intracellular degradation[J]. Virchows Arch B Cell Pathol Incl Mol Pathol, 1981, 36(2-3): 219-234.
- [9] SAHU R, KAUSHIK S, CLEMENT C C, et al. Microautophagy of cytosolic proteins by late endosomes[J]. Dev Cell, 2011, 20(1): 131-139.
- [10] HOLLENSTEIN D M, KRAFT C. Autophagosomes are

- formed at a distinct cellular structure[J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2020, 65: 50–57.
- [11] FU Y, LI H, HAO X. The self-renewal signaling pathways utilized by gastric cancer stem cells[J]. *Tumour Biol*, 2017, 39(4): 1010428317697577.
- [12] XU L, LIN W, WEN L, et al. Lgr5 in cancer biology: Functional identification of Lgr5 in cancer progression and potential opportunities for novel therapy[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2019, 10(1): 219.
- [13] QIAO X T, ZIEL J W, MCKIMPSON W, et al. Prospective identification of a multilineage progenitor in murine stomach epithelium[J]. *Gastroenterology*, 2007, 133(6): 1989–1998.
- [14] TAKAISHI S, OKUMURA T, WANG T C. Gastric cancer stem cells[J]. *J Clin Oncol*, 2008, 26(17): 2876–2882.
- [15] HAYASHIDA T, JINNO H, KITAGAWA Y, et al. Cooperation of cancer stem cell properties and epithelial-mesenchymal transition in the establishment of breast cancer metastasis[J]. *J Oncol*, 2011, 2011: 591427.
- [16] STOJNEV S, KRSTIC M, RISTIC-PETROVIC A, et al. Gastric cancer stem cells: Therapeutic targets[J]. *Gastric Cancer*, 2014, 17(1): 13–25.
- [17] YANG Y, MENG W J, WANG Z Q. The origin of gastric cancer stem cells and their effects on gastric cancer: Novel therapeutic targets for gastric cancer[J]. *Front Oncol*, 2022, 12: 960539.
- [18] TAKAISHI S, OKUMURA T, TU S, et al. Identification of gastric cancer stem cells using the cell surface marker CD44[J]. *Stem Cells*, 2009, 27(5): 1006–1020.
- [19] HAN M E, KIM H J, SHIN D H, et al. Overexpression of NRG1 promotes progression of gastric cancer by regulating the self-renewal of cancer stem cells[J]. *J Gastroenterol*, 2015, 50(6): 645–656.
- [20] HASEGAWA T, YASHIRO M, NISHII T, et al. Cancer-associated fibroblasts might sustain the stemness of scirrhous gastric cancer cells via transforming growth factor- β signaling[J]. *Int J Cancer*, 2014, 134(8): 1785–1795.
- [21] BIE Q, LI X, LIU S, et al. YAP promotes self-renewal of gastric cancer cells by inhibiting expression of L-PTGDS and PTGDR2[J]. *Int J Clin Oncol*, 2020, 25(12): 2055–2065.
- [22] BELLODI C, LIDONNICI M R, HAMILTON A, et al. Targeting autophagy potentiates tyrosine kinase inhibitor-induced cell death in Philadelphia chromosome-positive cells, including primary CML stem cells[J]. *J Clin Invest*, 2009, 119(5): 1109–1123.
- [23] FU Y, LI H, HAO X. The self-renewal signaling pathways utilized by gastric cancer stem cells[J]. *Tumour Biol*, 2017, 39(4): 1010428317697577.
- [24] WANG W, LI M, PONNUSAMY S, et al. ABL1-dependent OTULIN phosphorylation promotes genotoxic Wnt/ β -catenin activation to enhance drug resistance in breast cancers[J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 3965.
- [25] SONG Y, WANG Y, TONG C, et al. A unified model of the hierarchical and stochastic theories of gastric cancer[J]. *Br J Cancer*, 2017, 116(8): 973–989.
- [26] LIU Y, CHEN H, ZHENG P, et al. ICG-001 suppresses growth of gastric cancer cells and reduces chemoresistance of cancer stem cell-like population[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2017, 36(1): 125.
- [27] GIFFORD G B, DEMITRACK E S, KEELEY T M, et al. Notch1 and Notch2 receptors regulate mouse and human gastric antral epithelial cell homeostasis[J]. *Gut*, 2017, 66(6): 1001–1011.
- [28] GU J, ZHANG Z, LANG T, et al. PTPRU, as a tumor suppressor, inhibits cancer stemness by attenuating Hippo/YAP signaling pathway[J]. *Onco Targets Ther*, 2019, 12: 8095–8104.
- [29] GAO Y, LI J, XI H, et al. Stearoyl-CoA-desaturase-1 regulates gastric cancer stem-like properties and promotes tumour metastasis via Hippo/YAP pathway[J]. *Br J Cancer*, 2020, 122(12): 1837–1847.
- [30] CAO W X, OU J M, FEI X F, et al. Methionine-dependence and combination chemotherapy on human gastric cancer cells in vitro[J]. *World J Gastroenterol*, 2002, 8(2): 230–232.
- [31] XIN L, LI S H, LIU C, et al. Methionine represses the autophagy of gastric cancer stem cells via promoting the methylation and phosphorylation of RAB37[J]. *Cell Cycle*, 2020, 19(20): 2644–2652.
- [32] SUTTER B M, WU X, LAXMAN S, et al. Methionine inhibits autophagy and promotes growth by inducing the SAM-responsive methylation of PP2A[J]. *Cell*, 2013, 154(2): 403–415.
- [33] SHENG Y, SONG Y, LI Z, et al. RAB37 interacts directly with ATG5 and promotes autophagosome formation via regulating ATG5-12-16 complex assembly[J]. *Cell Death Differ*, 2018, 25(5): 918–934.
- [34] ZHAO X D, QIN R H, YANG J J, et al. DNMT3A controls miR-200b in cardiac fibroblast autophagy and cardiac fibrosis[J]. *Inflamm Res*, 2018, 67(8): 681–690.

(收稿日期: 2023–05–09)

(修回日期: 2023–05–24)