

综述

肿瘤细胞的自噬和窖蛋白-1

刘艳¹, 王洋¹, 史丹¹, 邹伟^{1,2}

1 辽宁师范大学生命科学学院, 辽宁 大连 116081

2 辽宁省生物技术与分子药物研发重点实验室, 辽宁 大连 116081

刘艳, 王洋, 史丹, 等. 肿瘤细胞的自噬和窖蛋白-1. 生物工程学报, 2012, 28(8): 912-917.

Liu Y, Wang Y, Shi D, et al. Autophagy and Caveolin-1 in cancer: a review. Chin J Biotech, 2012, 28(8): 912-917.

摘要: 自噬作用是一种细胞通过溶酶体自我降解的过程, 在肿瘤的形成和发展中起着双重作用。窖蛋白-1 (Caveolin-1, Cav-1) 作为胞膜窖的标志蛋白, 介导许多生理和病理过程, 包括胞膜窖的形成、膜泡运输、维持细胞胆固醇稳态、信号转导和肿瘤的发生。近年来, 许多研究表明肿瘤细胞自噬和 Cav-1 存在一定关系。文中就近年来肿瘤细胞的自噬与 Cav-1 的关系及其在肿瘤发生和发展过程中的作用进行综述。

关键词: 自噬, 肿瘤, Caveolin-1, 缺氧诱导因子 1 α , 核因子 κ B

Autophagy and Caveolin-1 in cancer: a review

Yan Liu¹, Yang Wang¹, Dan Shi¹, and Wei Zou^{1,2}

1 College of Life Sciences, Liaoning Normal University, Dalian 116081, Liaoning, China

2 Liaoning Key Laboratories of Biotechnology and Molecular Drug Research and Development, Dalian 116081, Liaoning, China

Abstract: Autophagy, is an essential cellular process involving self-degradation of intracellular components via the lysosome, which plays the Janus role in cancer initiation and progression. Caveolin-1, a marker protein of caveolae, functions as scaffolding protein mediating many physiological and pathological processes including caveolae biogenesis, vesicular transport, cholesterol homeostasis, signal transduction and tumorigenesis. Recently, many reports showed that autophagy of tumor cells associated with stromal Cav-1. We reviewed that the relationship between autophagy and Cav-1 involved in tumorigenesis and development.

Keywords: autophagy, tumor, Caveolin-1, hypoxia inducible factor-1 α , nuclear factor κ B

Received: December 18, 2011; **Accepted:** April 20, 2012

Supported by: National Natural Science Foundation of China (Nos. 30570225, 30970353).

Corresponding author: Wei Zou. Tel: +86-411-85827080; E-mail: weizou60@126.com

国家自然科学基金 (Nos. 30570225, 30970353) 资助。

细胞内稳态依赖于大分子物质生物合成和分解代谢间的平衡。自噬 (Autophagy) 就是细胞用来达到这种动态平衡的重要机制之一,它是普遍存在于大部分真核细胞中的一种现象,从酵母到人类存在着共同的自噬分子调控机制。有趣的是,它能够保护细胞,也能造成细胞损伤,在细胞的生长、发育和疾病中起着重要的作用。

早在 50 年代末期,Palade 等在电子显微镜下就发现血管内皮细胞表面有一些颈瓶状的内陷结构。Yamada 等在膀胱上皮细胞表面发现同类结构,并将其命名为胞膜窖 (Caveolae)。窖蛋白 (Caveolin) 是构成细胞膜上胞膜窖主要结构的标志蛋白,由 *Caveolin* 基因家族编码而成,分子量 21~24 kDa。Glenney 等发现并克隆出胞膜窖的第一个标志性蛋白质-窖蛋白/VIP21 (现被称为窖蛋白-1 或 Cav-1)。*Cav-1* 基因是 *Caveolin* 基因家族的成员之一,是 Caveolae 的主要结构成分,参与许多细胞过程调节,如形成胞膜窖、膜泡运输、胆固醇运输、脂类稳定、血管形成以及细胞信号转导的调控。研究发现,*Cav-1* 作为抑癌基因,与肿瘤细胞增殖、侵袭、转移以及肿瘤多药耐药 (MDR) 等有关。本实验室前期研究结果表明,*Cav-1* 在肝细胞中同时起着抑制过度增殖和维持肝再生的双重作用^[1];在乳腺癌中,*Cav-1* 与 ER- α 36 相互作用调节的膜起始雌激素信号通路可以控制乳腺细胞转化^[2];在神经细胞中,*Cav-1* 与动物发育和学习记忆密切相关,可能参与中枢可塑性的调节^[3]。*Cav-1* 在一定时期分化的成纤维细胞、脂肪细胞、内皮细胞中高度表达。有证据证明 *Cav-1* 在成纤维细胞中扮演着肿瘤抑制因子的角色^[4]。更重要的是,在乳腺癌

患者体内,*Cav-1* 缺失是一个浸润性的癌症相关成纤维细胞 (Cancer associated fibroblasts, CAFs) 的标志^[5]。

由此可见,*Cav-1* 与肿瘤细胞的关系非常密切,所以以下将就近年来肿瘤细胞自噬的研究进展及与 *Cav-1* 的关系展开讨论,也为肿瘤的治疗和预防提供新的思路。

1 什么是自噬

早在上世纪的 50 年代比利时科学家 Christian de Duve 在电镜下观察时发现一种由膜包裹胞内大分子物质和细胞器后形成具有双层或多层膜的结构,即自噬体或自噬液泡 (Autophagic vacuole)。他发现自噬体形成后,通过与溶酶体融合形成自噬性溶酶体 (Autophagy lysosome),完成对包裹物质的降解和循环再利用。并且在 1963 年溶酶体国际会议上首先提出了“自噬”这种说法。时隔一个世纪后,人们又提出自噬性程序性死亡是一种新的程序性死亡方式,随着参与自噬性死亡途径的关键分子的鉴定成功,我们对其分子机制、生理功能和在病理过程中的作用有了进一步的了解。

作为一种新的程序性细胞死亡的方式,自噬在进化过程中是高度保守的,从酵母、果蝇、到脊椎动物以及人类,都可以找到参与自噬的同源基因。根据细胞内底物运送到溶酶体腔的方式不同,细胞自噬可分为 3 种主要的方式:巨自噬 (Macroautophagy)、微自噬 (Microautophagy) 和分子伴侣介导的自噬 (Chaperone mediated autophagy, CMA)^[6]。巨自噬即通常所指的自噬,胞质被来源于内质网的非核糖体区域、高尔基体

等脱落的双层膜所包绕。在微自噬中也发生相同的包绕过程,但包绕底物的是自身发生内陷的溶酶体膜。CMA 是指某些胞浆蛋白与分子伴侣结合后转运到溶酶体内被酶消化的过程。CMA 的底物是可溶的蛋白分子,所以 CMA 降解途径在清除蛋白质时有选择性,而前两者无明显的选择性。

2 肿瘤细胞中的自噬

研究发现,多种肿瘤细胞中均有自噬活性的改变,自噬与肿瘤发生和肿瘤细胞生长之间存在着一定的关系^[7-8]。肿瘤的发展阶段、组织类型、细胞分化状态、周围环境及特定的基因特征和信号转导途径共同影响自噬的活性与结果。对于肿瘤细胞来说,自噬起着双刃剑的作用,诱导自噬可以导致某些肿瘤细胞的死亡,而在一些肿瘤细胞中抑制自噬有时候也可以促进其凋亡。

首先,自噬是肿瘤细胞自身免受缺乏营养、电离辐射和治疗损伤的一种保护机制。在肿瘤进展过程中,由于供血减少,肿瘤细胞特别是肿瘤内部细胞在乏氧和营养受限的状况下生存。有趣的是,低氧和营养缺失均能刺激自噬启动,通过自噬对胞内物质的降解和循环利用而改变新陈代谢,肿瘤细胞对应激作出适应性反应得以生存。例如在不允许大规模增殖的肿瘤微环境下,肿瘤细胞还可以激活自噬以介导卵巢肿瘤细胞的休眠^[9]。在大多数的人类肿瘤细胞中都观察到了 PI3K 途径的持续活化^[10]。此外,自噬包含衰老和受损细胞器的清除,自噬通过去除受损细胞器,保护肿瘤细胞以对抗抗癌治疗(如:放疗、化疗),使细胞逃避凋亡^[11]。

其次,自噬也可作为一种肿瘤抑制机制。当

细胞中受损细胞器产生的活性氧类 (Reactive oxygen species, ROS) 对 DNA 造成损伤,从而诱发肿瘤发生的时候,自噬可以参与清理受损的线粒体和过氧化物酶体,维持细胞功能和染色体的稳定性,抑制肿瘤发生。Ding 等^[12]在对 44 名肝细胞性肝癌患者的研究中发现癌组织中 Beclin1 的表达下调,由此得出自噬可能抑制肿瘤的发生。但并不是所有的肿瘤自噬反应都一致,如人上皮样肺癌细胞、人宫颈癌细胞株 HeLa 细胞、鼠恶性畸胎瘤细胞、淋巴细胞等。

3 肿瘤细胞的自噬与 Cav-1

3.1 肿瘤细胞中 Cav-1 的作用

许多研究已经表明, Cav-1 的缺乏是一个预测肿瘤复发和转移的重要标志。Ubaldo 等在共培养模型中首次提出, MCF7 乳腺癌细胞与其相邻的正常成纤维细胞之间的相互作用能促使成纤维细胞中 Cav-1 的下调^[13-15]。Cav-1 的降低引起缺氧诱导因子 1 α (HIF-1 α) 在 CAFs 中表达升高,从而增强自噬。自噬产生的养分(如游离氨基酸和核苷酸)可以转移至肿瘤细胞以维持其高能量的需求。本实验室利用 siRNA 技术基因沉默 MCF10A-ST1 细胞内 Cav-1 表达,建立了 Cav-1 低表达而 ER- α 36 高表达的乳腺细胞模型 MCF10A^{CE},细胞的增殖速率明显加快,在软琼脂培养基上形成的集落数目明显增多,提示 Cav-1 基因沉默可以明显促进人乳腺上皮细胞的转化^[2]。反义抑制 Cav-1 的表达足以诱导细胞转化,而且 Cav-1 基因敲除的小鼠肿瘤发生率显著提高。因此,学者推断 Cav-1 基因可能是候选的抑癌基因。然而,近几年研究表明, Cav-1 在少数肿瘤中亦发挥癌基因样的作用,如在前

列腺癌中 Cav-1 表达上调,且表达水平与肿瘤细胞的恶性程度呈正相关, Cav-1 表达下调可逆转这些肿瘤细胞的恶性表型^[16-17]。Ho 等研究也发现特征化的肺腺癌细胞 Cav-1 上调是调节丝足形成所必要的,进而增加肺腺癌细胞侵袭能力^[18]。

3.2 肿瘤自噬标志基因和 Cav-1

近年来发现,自噬体的形成与许多基因相关。缺氧诱导因子 1 α (HIF-1 α) 既是介导低氧反应最主要的转录因子,也是自噬的标志基因,被称为自噬的分子驱动器。同时,几项研究已经表明,组织缺氧能够提升核因子 κ B (NF κ B) 转录因子的激活。NF κ B 是 HIF-1 α 的一个转录催化剂,在正常氧含量和低氧环境下, NF κ B 和 HIF-1 α 的激活是一致的,并且 NF κ B 是 HIF-1 α 的积累所必需的^[19]。由此可见, HIF-1 α 与 NF κ B 信号之间相互依赖、相互调节^[20-22]。值得注意的是,这些基因的激活和功能对肿瘤细胞的调控都与 Cav-1 密切相关。

3.2.1 HIF-1 α 与 Cav-1

HIF-1 α 作为自噬的分子驱动器,它的激活能够诱导成纤维细胞中 Cav-1 降低。Toullec 等用药物激活成纤维细胞中的 HIF-1 α 时发现, Cav-1 的表达水平降低。而抑制 HIF-1 α 可以解除低氧诱导的 Cav-1 的降解。同样,通过药物抑制 NF κ B,可以防止 Cav-1 的降解。如用氧化应激诱导物 (ROS) 处理细胞,可以诱导自噬的 Cav-1 降解。可见,氧化应激作用通过诱导 HIF-1 α 和 NF κ B 的激活,调控促进自噬的 Cav-1 的降解。据报道,氧化应激提高成纤维细胞的转移速度,加速肿瘤的扩散^[23]。而恰恰这种细胞中 Cav-1 表达水平很

低, Cav-1 缺乏又可以使 HIF-1 α 积累,进一步使线粒体功能紊乱从而诱导自噬^[24]。这表明 HIF-1 α 的激活驱动自噬的 Cav-1 的降解,在 HIF-1 α 激活作用和 Cav-1 降低之间提供一个积极的“前馈”控制回路。

3.2.2 NF κ B 与 Cav-1

人们通常认为,巨噬细胞 NF κ B 的激活能够促进新陈代谢,但 NF κ B 的活性在 CAFs 中扮演什么样的角色并不十分清楚。研究已经表明, NF κ B 激活可能促进肿瘤的生长。例如 Mueller 等研究发现,结肠直肠癌转移的成纤维细胞 NF κ B 活性增强,并促使 IL-8 (浸染和血管生成的重要趋化因子) 高表达^[25]。此外来自乳腺、胰腺和皮肤癌的 CAFs,与正常的成纤维细胞相比,表现出一个前炎症基因信号。重要的是,这些炎症成纤维细胞是通过依赖 NF κ B 的机制促进肿瘤的生长^[26]。研究证明, Cav-1 基因的敲除能够促进 NF κ B 和 NF κ B 靶基因的转录激活^[27]。此外,药物抑制 NF κ B 可以预防 CAFs 中 Cav-1 的降解。相反,严重的 Cav-1 缺乏可以激活 NF κ B 从而促进自噬,这清楚地表明, Cav-1 的缺乏和 NF κ B 激活之间是互相促进的关系。

3.2.3 Cav-1 的缺乏促进自噬标记物的表达

Cav-1 的缺乏是否与自噬的标记物有关联呢?让 hTERT-fibroblasts (人类无限增殖的成纤维细胞) 经受缺氧,用 Cav-1 的抗体或自噬标记物 (LC3A/B 和 ATG16L) 的抗体和线粒体自噬的标记物 (BNIP3 和 BNIP3L) 抗体标记,结果表明,在纤维母细胞中,低氧诱导的自噬和线粒体自噬标记物的表达,与 Cav-1 的下调有直接关联^[26]。另外,在自噬标志蛋白 LC3B 引起的肺气

肿瘤细胞处在凋亡的过程中, Cav-1 起着非常重要的作用^[28]。

4 展望

越来越多的资料已显示自噬在许多肿瘤发生、发展和治疗中占有重要地位。作为肿瘤抑制机制, 自噬可以导致细胞死亡, 通过限制细胞数量或者减少 DNA 的突变概率以抑制肿瘤的形成; 作为肿瘤保护机制, 自噬可以保护癌细胞免受化疗药物的作用并延缓肿瘤细胞凋亡。此外, Cav-1 也是一个新的预测肿瘤复发和转移的重要因子, 人们对它在肿瘤细胞内降解信号过程的了解也十分重要。然而, 这个过程详细的信号机制仍然未知, 需要进一步研究。考虑到自噬和 Cav-1 在肿瘤中的复杂效应, 深入识别它们的功能将有助于找到抑制肿瘤生长的有效途径, 这对肿瘤发病机制的研究及临床治疗均有重要意义。

REFERENCES

- [1] Ren G, Wang ZC, Zou W, et al. Role of caveolin-1 in hepatocyte proliferation and liver regeneration. *Prog Physiol Sci*, 2009, 40(4): 341–344.
任刚, 王震春, 邹伟, 等. 窖蛋白-1 在细胞增殖和肝再生中的作用. *生理科学进展*, 2009, 40(4): 341–344.
- [2] Feng S, Wang Y, Zou W, et al. Caveolin-1 gene silencing promotes the activation of PI3K/AKT signal passageway mediated by breast epithelial cell ER α 36. *Science in China (Series C): Life Sci*, 2009, 39(9): 830–838.
封爽, 王洋, 邹伟, 等. Caveolin-1 基因沉默促进乳腺上皮细胞 ER α 36 介导的 PI3K/AKT 信号通路的激活. *中国科学 (C 辑): 生命科学*, 2009, 39(9): 830–838.
- [3] Zou W, Wang HX, Liu J, et al. Expression of caveolin-1 protein in the rat brain and its role in the discrimination learning. *Acta Physiol Sin*, 2006, 58(5): 429–434.
邹伟, 王红霞, 刘晶, 等. 大鼠脑内 Caveolin-1 蛋白的表达及其在分辨学习中的作用. *生理学报*, 2006, 58(5): 429–434.
- [4] Galbiati F, Volonte D, Engelman JA, et al. Targeted downregulation of caveolin-1 is sufficient to drive cell transformation and hyperactivate the p42/44 MAP kinase cascade. *EMBO J*, 1998, 17(22): 6633–6648.
- [5] Sloan EK, Ciocca DR, Pouliot N, et al. Stromal cell expression of caveolin-1 predicts outcome in breast cancer. *Am J Pathol*, 2009, 174(6): 2035–2043.
- [6] Hussey S, Terebiznik MR, Jones NL. Autophagy: healthy eating and self-digestion for gastroenterologists. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 2008, 46(5): 496–506.
- [7] Dikic I, Johansen T, Kirkin V. Selective autophagy in cancer development and therapy. *Cancer Res*, 2010, 70(9): 3431–3434.
- [8] Chen N, Debnath J. Autophagy and tumorigenesis. *FEBS Lett*, 2010, 584(7): 1427–1435.
- [9] Lu Z, Luo RZ, Lu YL, et al. The tumor suppressor gene *ARHI* regulates autophagy and tumor dormancy in human ovarian cancer cells. *J Clin Invest*, 2008, 118(12): 3917–3929.
- [10] Manning BD, Cantley LC. AKT/PKB signaling: navigating downstream. *Cell*, 2007, 129(7): 1261–1274.
- [11] Mizushima N, Levine B, Cuervo AM, et al. Autophagy fights disease through cellular self-digestion. *Nature*, 2008, 451(7182): 1069–1075.
- [12] Ding ZB, Shi YH, Zhou J, et al. Association of autophagy defect with a malignant phenotype and poor prognosis of hepatocellular carcinoma. *Cancer Res*, 2008, 68(22): 9167–9175.
- [13] Martinez-Outschoorn UE, Pavlides S, Whitaker-Menezes D, et al. Tumor cells induce the cancer associated fibroblast phenotype via caveolin-1 degradation: implications for breast

- cancer and DCIS therapy with autophagy inhibitors. *Cell Cycle*, 2010, 9(12): 2423–2433.
- [14] Witkiewicz AK, Dasgupta A, Sotgia F, et al. An absence of stromal caveolin-1 expression predicts early tumor recurrence and poor clinical outcome in human breast cancers. *Am J Pathol*, 2009, 174(6): 2023–2034.
- [15] Witkiewicz AK, Dasgupta A, Sammons S, et al. Loss of stromal caveolin-1 expression predicts poor clinical outcome in triple negative and basal-like breast cancers. *Cancer Biol Ther*, 2010, 10(2): 135–143.
- [16] Ho CC, Huang PH, Huang HY, et al. Up-regulated caveolin-1 accentuates the metastasis capability of lung adenocarcinoma by inducing filopodia formation. *Am J Pathol*, 2002, 161(5): 1647–1656.
- [17] Karam JA, Lotan Y, Roehrborn CG, et al. Caveolin-1 overexpression is associated with aggressive prostate cancer recurrence. *Prostate*, 2007, 67(6): 614–622.
- [18] Corn P G, Thompson T C. Identification of a novel prostate cancer biomarker, caveolin-1: implications and potential clinical benefit. *Cancer Manag Res*, 2010, 2: 111–122.
- [19] Rius J, Guma M, Schachtrup C, et al. NF- κ B links innate immunity to the hypoxic response through transcriptional regulation of HIF-1 α . *Nature*, 2008, 453(7196): 807–811.
- [20] Jung YJ, Isaacs JS, Lee S, et al. Hypoxia-inducible factor induction by tumour necrosis factor in normoxic cells requires receptor-interacting protein-dependent nuclear factor κ B activation. *Biochem J*, 2003, 370: 1011–1017.
- [21] Pantuck AJ, An JB, Liu HR, et al. NF- κ B-dependent plasticity of the epithelial to mesenchymal transition induced by *Von Hippel-Lindau* inactivation in renal cell carcinomas. *Cancer Res*, 2010, 70(2): 752–761.
- [22] An JB, Rettig MB. Mechanism of von Hippel-Lindau protein-mediated suppression of nuclear factor kappa B activity. *Mol Cell Biol*, 2005, 25(17): 7546–7556.
- [23] Toullec A, Gerald D, Despouy G, et al. Oxidative stress promotes myofibroblast differentiation and tumour spreading. *EMBO Mol Med*, 2010, 2(6): 211–230.
- [24] Martinez-Outschoorn UE, Balliet RM, Rivadeneira DB, et al. Oxidative stress in cancer associated fibroblasts drives tumor-stroma co-evolution: a new paradigm for understanding tumor metabolism, the field effect and genomic instability in cancer cells. *Cell Cycle*, 2010, 9(16): 3256–3276.
- [25] Mueller L, Goumas FA, Affeldt M, et al. Stromal fibroblasts in colorectal liver metastases originate from resident fibroblasts and generate an inflammatory microenvironment. *Am J Pathol*, 2007, 171(5): 1608–1618.
- [26] Erez N, Truitt M, Olson P, et al. Cancer-associated fibroblasts are activated in incipient neoplasia to orchestrate tumor-promoting inflammation in an NF- κ B-dependent manner. *Cancer Cell*, 2010, 17(2): 135–147.
- [27] Pavlides S, Tsigos A, Vera I, et al. Loss of stromal caveolin-1 leads to oxidative stress, mimics hypoxia and drives inflammation in the tumor microenvironment, conferring the “reverse Warburg effect”: a transcriptional informatics analysis with validation. *Cell Cycle*, 2010, 9(11): 2201–2219.
- [28] Chen ZH, Lam HC, Jin Y, et al. Autophagy protein microtubule-associated protein 1 light chain-3B (LC3B) activates extrinsic apoptosis during cigarette smoke-induced emphysema. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(44): 18880–18885.