

综述

自噬影响卵巢癌细胞休眠的相关机制研究进展

孔露阳 江思思 杨梅芳 徐莹*

(嘉兴学院医学院, 嘉兴 314001)

摘要 休眠现象在哺乳动物细胞中广泛存在, 是细胞的一种稳定且主动的抑制状态。休眠状态的细胞代谢活性降低、转录和翻译受到抑制、抑癌基因表达增加、DNA损伤减少、存在G₀和G_{Alert}两个阶段, 化学药物、炎症等均可能影响细胞的休眠。在正常干细胞中, 休眠有助于维持组织的动态平衡, 对机体有一定的保护作用。而在肿瘤中, 休眠却可以帮助细胞逃避免疫监视, 适应环境, 抵抗药物, 恢复恶性增殖能力, 并为肿瘤复发做准备。化疗耐药以及肿瘤复发是卵巢癌预后极差的重要原因。近年来研究发现, 休眠与卵巢癌耐药和复发密切相关。该文旨在探讨卵巢癌细胞休眠特征, 从细胞自噬入手, 串联肿瘤血管生成、细胞周期和耐药之间的相互关系, 为卵巢癌的复发、转移、治疗和预防等研究提供新思路。

关键词 细胞休眠; 卵巢癌; 自噬

Research Progress on the Mechanism of Autophagy Affecting Ovarian Cancer Cell Dormancy

KONG Luyang, JIANG Sisi, YANG Meifang, XU Ying*

(Medical College of Jiaxing University, Jiaxing 314001, China)

Abstract Dormancy is widespread in mammalian cells, and is a stable and active state of inhibition of cells. The cellular metabolic activity in the dormant state is reduced, and transcription and translation are inhibited. Tumor suppressor gene expression is increased, while DNA damage is reduced. There are two stages of G₀ and G_{Alert}, and chemical drugs and inflammation may affect cell dormancy. In normal stem cells, dormancy helps maintain the dynamic balance of tissues and has a certain protective effect on the body. In tumors, dormancy can help cells escape immune surveillance, adapt to the environment, resist drugs, restore malignant proliferation, and prepare for tumor recurrence. Chemotherapy resistance and tumor recurrence are important reasons for the extremely poor prognosis of ovarian cancer. In recent years, studies have found that dormancy is closely related to drug resistance and recurrence of ovarian cancer. This article aims to explore the dormancy characteristics of ovarian cancer cells. Starting from autophagy, this article links the relationship among tumor angiogenesis, cell cycle and drug resistance, providing new ideas for the research of ovarian cancer recurrence, metastasis, treatment and prevention.

Keywords cell dormancy; ovarian cancer; autophagy

收稿日期: 2020-07-15 接受日期: 2020-08-07

国家级大学生创新创业训练计划项目(批准号: 201910354032)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0573-83641567, E-mail: xuyingmrd@yahoo.com

Received: July 15, 2020 Accepted: August 7, 2020

This work was supported by the National Students Innovation and Entrepreneurship Training Program (Grant No.201910354032)

*Corresponding author. Tel: +86-573-83641567, E-mail: xuyingmrd@yahoo.com

URL: <http://www.cjcb.org/arts.asp?id=5405>

休眠(dormancy)是细胞长期存活而又未见明显增殖的状态。正常组织中干细胞的休眠在维持组织动态平衡和损伤修复等方面具有重要的生理意义,而肿瘤细胞的休眠却成为了肿瘤逃逸和复发的罪魁祸首,可能导致肿瘤耐药的发生,因此,深入研究休眠的机制,可为肿瘤治疗提供新思路。

1 正常干细胞的休眠

在哺乳动物体内,许多组织中都含有少量具有组织特异性的成年干细胞(stem cell, SC),比如肌肉干细胞(muscle stem cell, MuSC)、造血干细胞(hematopoietic stem cell, HSC)、毛囊干细胞(hair follicle stem cell, HFSC)和神经干细胞(neural stem cell, NSC)等,它们的共同特征是细胞静止,处于一种休眠但可逆的状态。最近体内和体外的研究都表明,SC并不是被动地等待激活信号,而是积极地维持静止状态^[1]。

处于静止状态的细胞具有以下特征:(1)代谢活性降低^[2]。(2)转录和翻译受抑制^[3]。(3)抑癌基因表达增加,如视网膜母细胞瘤易感基因(retinoblastoma gene, Rb)和p53^[1]。(4)休眠期间可以最大限度地减少由细胞呼吸和细胞分裂引起的DNA损伤^[2],但是静止所伴随的DNA修复途径的减弱又会引起SC中DNA损伤的累积。当SC退出静止状态时会直接导致DNA损伤^[1]。(5)包含G₀和G_{Alert}两个阶段,G_{Alert}是一种介于静止和激活之间的静止警报状态(quiescence alert或称G_{Alert}),从G₀到G_{Alert}预示着细胞即将进入细胞周期^[4]。

1.1 干细胞休眠的机制

1.1.1 自噬调控休眠 细胞通过自噬作用分解细胞内容物、维持蛋白质稳态,促进静止细胞下调代谢率,减少活性氧的产生^[5]。骨骼肌干细胞利用细胞自噬和外源性丙酮酸,为干细胞从休眠进入活化状态提供所需的营养和能量^[6]。而在骨髓核干细胞中,饥饿性自噬通过调节p27,有效诱导细胞休眠^[7]。最近研究发现,自噬可通过调节p27或糖原合酶激酶3 β (glycogen synthase kinase 3 β , GSK3 β)/ β -连环蛋白(β -catenin)途径介导干细胞G₀/G₁期阻滞,从而引起休眠^[8-9]。

1.1.2 细胞周期与休眠调控 SC休眠的主要内在机制是限制细胞周期的进展。视网膜母细胞瘤蛋白-转录因子2(retinoblastoma protein-transcription factor

2, RB-E2F)通路在调节细胞周期中起着重要作用,已有研究证明, RB的缺失或表达下降会引起休眠的退出和细胞的增殖^[4]。p53在休眠的调节中也起一定的作用,其过表达会使离体MuSC处于静止状态^[10]。

1.1.3 休眠中表观遗传和miRNA(microRNA)的改变 组蛋白修饰和DNA甲基化作为重要的表观遗传修饰,通过控制染色质结构和DNA修饰,参与SC的转录调控,例如催化组蛋白3的赖氨酸27的三甲基化(trimethylation of lysine 27 on histone 3, H3K27me3)可以促进HSC的长期自我更新和静止^[11]。研究显示,许多miRNAs在静止细胞中具有更高的表达,miR-127-3p、miR-379-5p、miR-126-3p等^[12]已经被发现在干细胞休眠中起一定调节作用。

1.1.4 干细胞微环境(stem cell niche)对休眠的影响 不同类型的成体SC都位于它们各自特定的微环境中,这个微环境又被称为干细胞龛,它决定了干细胞的命运,同时体内SC的休眠机制也依赖于各自特定的微环境。例如MuSC通过肌纤维和基膜微环境来调节细胞的静息状态。研究发现,Notch通路中效应分子Hes1(hairy and enhancer of split homolog 1)的过表达和由此产生的神经母细胞特异性转移因子(Achaete-scute homolog 1, Ascl1)表达抑制会促进卫星细胞的静止^[13]。另外也有研究表明了HSC、HFSC的微环境对休眠的影响^[4]。

1.2 干细胞退出休眠的机制

在营养充足或体育锻炼等生理刺激下,休眠的NSC可以退出休眠状态并生成新的神经元,而压力、焦虑和衰老则可能会降低NSC的增殖能力。胰岛素/胰岛素样生长因子(insulin/insulin-like growth factor, IGF)激活的胰岛素受体(insulin receptor, InR)/磷脂酰肌醇3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)/AKT通路是较为重要的调节休眠的方式之一^[14]。在急性应激的条件下,静止的HSC可以被细胞因子和促炎性作用刺激而重新激活,分裂分化并产生所需的髓系和红系细胞,但是在连续骨髓移植、慢性炎症、化疗和衰老所引起的慢性应激的情况下,休眠HSC不断被诱导增殖反而会引起细胞耗竭^[15]。

2 肿瘤休眠

2.1 肿瘤休眠的特征

肿瘤休眠是导致治疗失败、转移和肿瘤复发

的主要因素,可以分为肿瘤整体休眠和肿瘤细胞休眠两类,前者是由肿瘤细胞增殖和凋亡的平衡所引起的肿瘤整体生长停滞,血管生成因素和免疫因素是其可能的机制;后者是肿瘤细胞进入细胞周期的G₀/G₁期,暂时保持静止,进入休眠状态。肿瘤细胞休眠和整体休眠不是互相独立的,它们可以同时出现在肿瘤中,也可以互相继发导致混合的休眠表型。

肿瘤细胞休眠具有以下特征:(1) 免疫逃逸能力,肿瘤细胞普遍存在于健康人中,但癌症在人群中的发病率并没有那么高,其可能的原因是这些肿瘤细胞大部分都处于休眠状态,休眠状态中的肿瘤细胞可以逃避机体的免疫监视而长期存在。MALLADI等^[16]发现,当肺癌和乳腺癌中的潜伏性癌细胞(latency competent cancer, LCC)通过分泌重组人Dickkopf相关蛋白1(recombinant human Dickkopf-related protein 1, DKK1)进入休眠状态时,与NK细胞介导的靶向杀伤密切相关的因子的表达水平会明显下降,从而使休眠细胞能够规避NK细胞介导的清除作用,逃避免疫监视。(2) 上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)和间质-上皮转化(mesenchymal-epithelial transition, MET)特征,休眠细胞的EMT及其逆过程MET的特征并不是绝对对立的两面。早期休眠的细胞趋向于间充质表型,DAI等^[17]在五氟尿嘧啶诱导的休眠肺癌细胞中发现,这些细胞先进行EMT,然后进行MET,并且经历了EMT的细胞显示出更多的干细胞特征。另外,经历了EMT的休眠细胞比MET转化细胞具有更强的迁移和侵袭能力,以及更强的球体形成能力。细胞外基质(extracellular matrix, ECM)重塑和其他信号的诱导会使EMT/MET趋向于平衡状态,当EMT/MET状态逐渐趋向于上皮表型时将反过来促进细胞增殖^[18]。(3) 干细胞特性,部分休眠的肿瘤细胞可以表现出干细胞的分子特征。目前已经在各种肿瘤类型中建立了干性与休眠之间的联系,如乳腺癌^[19]和卵巢癌^[20]等。与体内正常的静止干细胞不同的是,表达干细胞特性的肿瘤休眠细胞具有DNA修复增强的特征,DNA修复途径相关分子的表达增加促进休眠的复苏以及恶性增殖能力的恢复^[17,21]。(4) 耐药性,EMT和干细胞表型都会引起癌细胞耐药性的增强^[22],PUIG等^[21]在大肠癌、黑素瘤和成胶质细胞瘤中发现进入慢循环

状态的肿瘤细胞具有更强的耐药性。FRANCES-CANGELI等^[23]进一步在结直肠肿瘤中发现,肿瘤中存在以EMT和干细胞表型为特征的休眠细胞,其通过上调转录因子E盒结合锌指蛋白2(transcription factor E-box binding zinc finger protein 2, ZEB2)/磷酸化的原癌基因丝苏氨酸蛋白激酶(phosphorylated proto oncogene serine protein kinase, pCRAF)/磷酸化的细胞凋亡信号调节蛋白1(phosphorylated apoptosis signal regulated protein 1, pASK1)因子的表达诱导肿瘤细胞向抵抗化疗状态过渡。

总之,休眠肿瘤细胞所具备的大部分特征都会帮助其逃避损伤、适应环境、自我修复,进而有利于其长期生存并为后期复发奠定基础,对这些特征的进一步研究可以为发现新的抗肿瘤策略提供有价值的证据。

2.2 肿瘤休眠的开关

2.2.1 化学药物导致肿瘤细胞休眠 化学药物的应用可能引起两种情况:早期敏感时增殖的细胞被杀灭,反映出最初的治疗高效性,或者引起肿瘤休眠,并以最小残留的形式在人体内持续存在。肿瘤细胞通过进入可逆的休眠状态来逃避靶向快速分裂细胞的治疗,并且,与正常干细胞休眠相似的是,肿瘤细胞休眠不是对药物治疗的被动应答而是一个主动的复发准备阶段。

研究发现,在原发性肿瘤中,肿瘤细胞可以根据化疗周期在增殖期和休眠期之间进行转换^[24],在癌症幸存者和动物模型中,也发现了成功完成癌症治疗后的远处肿瘤休眠现象^[25]。在乳腺癌中,LAN等^[26]的研究显示,大量甲氨蝶呤和阿霉素通过,Notch1基因胞内区β-连环蛋白(intracellular domain of Notch1 gene-β-catenin, ICN-β)/I型干扰素受体(type I interferon-inorganics, IFNAR)/干扰素调节因子7(interferon regulatory factor 7, IRF7)信号通路引起肿瘤细胞免疫表型的改变从而导致休眠,而该通路的失活会唤醒休眠的肿瘤细胞,导致复发和转移。DAI等^[17]发现,在暴露于五氟尿嘧啶的非小细胞肺癌中,残留的肿瘤细胞通过p53-p21-APC/C依赖性的细胞周期停滞途径引起休眠。

在卵巢癌中也有类似的发现,ZHOU等^[27]证明,顺铂给药会增加肿瘤中休眠细胞的比例,并且休眠细胞会表达高水平的干细胞标志物,并具有增强的克隆形成能力和致瘤性。进一步研究显示,化疗还

可能通过上调抗血管生成因子, 如凝血酶敏感蛋白1(thrombospondin 1, TSP1), 和下调促血管生成因子, 如缺氧诱导因子HIF-1(hypoxia inducible factor-1)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)等, 来促进肿瘤休眠^[28]。

2.2.2 炎症引起肿瘤细胞退出休眠 慢性炎症在癌症发展中发挥重要的作用。长期以来, 人们一直认为慢性炎症会通过增加自由基来促进细胞转化和恶性肿瘤发生。但并非所有患有炎症疾病的人就一定有癌症, 在病灶中也可以发现没有任何慢性炎症的原位癌。这些现象引起了关于慢性炎症和癌症之间是否存在因果关系的思考。对于这一矛盾证据的可能解释之一是, 重新唤醒休眠细胞可能是慢性炎症导致癌症发展的关键因素。

KRALL等^[29]在乳腺癌中发现手术诱导的炎症反应会引起休眠细胞的复苏, 而术后使用抗炎治疗可以降低肿瘤的早期转移性和复发率。其具体机制可能包括以下几种: (1) 炎症通过支持血管生成提供足够氧气和营养来促进休眠细胞的复苏、肿瘤复发和生长^[30]。(2) 炎症细胞因子干扰素- γ (interferon gamma, IFN- γ)^[31]可诱导肿瘤退出休眠。(3) 炎症引起的中性粒细胞聚集通过诱导中性粒细胞胞外杀菌网络的形成来唤醒休眠细胞, 激发肿瘤转移性生长^[32]。

以上研究支持以下假设: 与正常干细胞不同, 慢性炎症可能是肿瘤休眠细胞的唤醒因子, 并以此起到促进肿瘤发生发展的作用。

3 卵巢癌中休眠的机制

自噬、表观遗传、miRNA、细胞周期和细胞微环境等干细胞休眠机制也存在于众多肿瘤休眠调控中。除此之外, 肿瘤休眠机制还包括血管生成、免疫、致癌基因、细胞外基质等, 其中, 自噬、血管、细胞周期三者在卵巢癌休眠的发生发展中起到重要作用。

3.1 自噬诱导卵巢癌休眠的作用与通路

3.1.1 自噬是休眠的前提 自噬是一种通过双膜自噬体降解细胞器来维持应激期间细胞稳态的分解代谢过程。近年来许多证据表明, 卵巢癌中自噬与肿瘤休眠关系密切。在小鼠异种移植物中, 通过刺激ARHI(aplasia Ras homologue member I)基因表达诱导细胞自噬, 观察到卵巢癌出现较长

时间的生长停滞。此停滞并非永久, 随后会伴随着缓慢的细胞增生。而当抑制ARHI表达后, 肿瘤就会恢复复制能力, 出现爆发式增长。这种暂时的生长停滞但仍具有恢复增殖潜能的状态, 被称为肿瘤休眠^[33]。而抑制自噬则大大降低了休眠细胞的存活。更有趣的是, 自噬抑制并不会诱导增殖细胞死亡, 说明自噬阻断对休眠细胞的毒性作用具有特异性。由此可见, 休眠细胞以自噬作为生存策略。

3.1.2 自噬促进肿瘤转移早期进入休眠状态 肿瘤转移早期, 细胞处于缺血、缺氧等生长受限的微环境中, 自噬可通过自身组织的分解再利用为细胞抵抗环境压力, 维持细胞存活^[34]。抑制自噬可显著降低卵巢癌休眠细胞在体内外的存活。然而, 随着休眠的肿瘤细胞过渡到增殖期, 自噬下调, 并且随着其他生存信号的激活, 自噬的维持不再重要^[35]。在卵巢癌细胞中, 低自噬水平与迁移和侵袭倾向增加显著相关^[36]。处于休眠状态的转移性乳腺癌细胞对自噬抑制剂敏感, 而增殖期细胞对自噬抑制剂却具有抗性^[37]。综上, 在环境压力下, 肿瘤早期通过自噬躲避环境压力, 进入休眠状态。随着肿瘤细胞过渡到增殖期, 自噬便功成身退。

3.1.3 ARHI诱导自噬调控卵巢癌休眠的通路 ARHI又称DIRAS3(distinct subgroup of the Ras family member 3), 作为诱导自噬的抑癌基因, 与卵巢癌预后密切相关^[38]。上调SKOV3细胞ARHI表达后, 内源性Ras水平降低, 表明ARHI抑制上游激活蛋白(reliability, availability and serviceability, Ras)/分裂原活化抑制剂(mitogen-activated protein kinase kinase, MEK)/细胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase, ERK)通路激活^[39]。同样方法处理可显著抑制蛋白激酶B(protein kinase B, PKB)/AKT、哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)和70 kDa S6激酶(ribosomal protein S6 kinase, 70 kDa, p70S6K)的磷酸化, 与wortmannin(PI3K抑制剂)处理细胞结果类似, 表明ARHI也抑制PI3K/AKT通路。ARHI再表达与结节性硬化症抑癌基因1/2(tuberous sclerosis complex 1/2, TSC1/2)表达增加有关, 使癌细胞中丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)、p38、mTOR、p70S6K和S6的磷

酸化降低^[33]。ARHI的N-端结构域与Beclin 1(酵母ATG6同系物)结合,可破坏Beclin 1同二聚体,形成ARHI-Beclin 1异二聚体,促进Beclin 1单体与磷酸肌醇-3-激酶3(phosphoinositide-3-kinase class 3, PIK3C3)的相互作用,以此促进自噬起始复合物的形成^[40]。FOXO3a(forkhead box O3a)的低表达与卵巢癌晚期预后不良有关。ARHI使FOXO3a磷酸化,诱导ATG4、微管相关蛋白轻链3(microtubules associated protein 1 light chain 3, LC3)和Ras相关蛋白7(Ras-related protein 7, Rab7)等自噬基因转录^[41]。原发性卵巢癌中,ARHI和LC3的表达仅占21%~23%,而化疗后二次手术中腹膜表面肿瘤结节的LC3表达率高达81%~84%^[42],且ARHI的表达与LC3-I向LC3-II的转化增加及ATG4的上调显著相关。研究也发现,Rab7是晚期成熟自噬体和溶酶体融合所必需的。ARHI促进FOXO3a介导的Rab7表达。若将FOXO3a或Rab7敲除,自噬小体仍存在,但明显被抑制,产生大量融合的巨型自噬体^[43]。

综上,ARHI能够抑制PI3K/AKT/mTOR、人LKB1基因(liver kinase B1, LKB1)/AMP依赖的蛋白激酶[adenosine 5'-monophosphate (AMP)-activated protein kinase, AMPK]/mTOR信号转导通路,促进Beclin 1等基因表达,同时诱导LC3、ATG4、FOXO3a、Rab7蛋白表达增加,共同引起卵巢癌细胞自噬性休眠。

3.2 抑制血管生成可诱导卵巢癌休眠

肿瘤生长是血管依赖性的,休眠期肿瘤细胞缺乏血管生成能力而生长停滞。血管正性调节因子与负性调节因子是肿瘤血管生成天平的两端,由此提出“血管生成开关”的概念^[44]。当平衡倾向于促血管生成时,肿瘤发生进展或转移;而利用药物或环境因素使血管负性调节因子占据主导地位时,肿瘤进入休眠状态。在卵巢癌临床前实验模型中,通过联合使用VEGF、抗白细胞介素-8(interleukin-8, IL-8)受体抗体,成功抑制了休眠细胞的生长并延长了生存期^[45]。在休眠的卵巢癌细胞中,组织金属蛋白酶抑制因子3(tissue inhibitors of metalloproteinase 3, TIMP3)和钙黏附分子1(E-cadherin, CDH1)受表观遗传调控,两者的表达在休眠期间升高,在肿瘤恢复生长后降低。TIMP3和CDH1调控卵巢癌休眠的作用通过DNA甲基化和组蛋白修饰来实现^[46]。

3.3 血管因素与自噬共同调节休眠

3.3.1 抗血管生成与保护性自噬平衡 过度的抗血管生成治疗会影响氧的输送,导致肿瘤缺氧。HIF-1是缺氧条件下在哺乳动物中广泛存在的转录因子,被认为是缺氧诱导自噬的中枢调节因子^[47]。在生理条件下,Beclin 1通过其Bcl-2同源结构域3(Bcl-2 homology domain 3, BH3)与支持生存的蛋白质Bcl-2和人B细胞淋巴瘤因子-XL(recombinant human B-cell leukemia/lymphoma-XL, Bcl-XL)相互作用。然而,在缺氧条件下,活化的HIF-1上调Bcl-2/腺病毒E1B 19kDa结合蛋白3(adenovirus E1B 19kDa interacting protein 3, BNIP3),导致Beclin 1从Bcl-XL和Bcl-2中解离,游离的Beclin 1随后激活自噬。Beclin 1同时激活AMP依赖的蛋白激酶信号,活性氧水平上调等也参与自噬的调节^[48]。自噬的激活促进休眠的产生,这可能是抗血管生成药物耐药的机制之一。

3.3.2 促血管生成因子与自噬性死亡平衡 在体外实验中,增强自噬可发生自噬性死亡,这与体内异种移植物的休眠存活相违背,体现出肿瘤微环境的重要作用^[33]。在体内,肿瘤微环境中促血管生成因子,如VEGF等,有利于肿瘤存活。当细胞自噬被促血管生成因子部分抵消时,便产生肿瘤休眠^[49]。自噬抗增殖活性与血管因子的抗自噬促增殖活性之间的平衡,决定了肿瘤细胞是死亡、休眠还是退出休眠。

血管与自噬两者的关系在对立中体现平衡,也说明了肿瘤休眠在不同状态下存在不同的调节机制。根据肿瘤休眠特性,我们大胆假设,在肿瘤发生或转移早期,通过抑制自噬配合抗血管生成治疗可能有利于减少肿瘤休眠,提高化疗药物敏感性。而在肿瘤快速增殖期,促进自噬配合抗血管生成药物可能更有利于肿瘤进入休眠状态,延长患者生存时间。

3.4 细胞周期与休眠调控

上皮性卵巢癌产生的多细胞聚集体被称为球体(spheroids),其与原发肿瘤分离并通过腹水扩散而引起肿瘤复发。球体具有休眠的特性,包括退出细胞周期和对化学疗法的抵抗力。MuvB复合物[蛋白lin-9(protein lin-9, LIN9)、蛋白lin-37(protein lin-37, LIN37)、蛋白lin-52(protein lin-52, LIN52)、成视网膜细胞瘤结合蛋白4(retinoblastoma binding pro-

tein 4, RBBP4)和蛋白 lin-54(protein lin-54, LIN54)], 也被称为LIN复合物, 通过参与形成三个不同的转录调控复合体DREAM(DP、RB类袋状蛋白、E2F和MuvB)、MMB(Myb-MuvB)和FoxM1-MuvB来调节细胞周期相关基因表达, 进而在卵巢癌球体休眠中发挥重要作用^[50]。

当球体形成时, 在双特异性酪氨酸磷酸化调节激酶1A(dual-specificity tyrosine phosphorylation-regulated kinase 1A, DYRK1A)的作用下, MuvB、RB类袋状蛋白(p130或p107)、转录因子E2F4(E2F transcription factor 4, E2F4)和转录因子DP1(transcription factor DP1, E2F4)组成DREAM复合体, 通过抑制G₀期细胞中的800多个启动子来促进细胞周期退出, 引起休眠。一旦DYRK1A缺失, 将会导致DREAM复合体失活、MMB复合物增加, 进而引起休眠退出和球体存活能力下降^[51]。当RB被细胞周期蛋白(cyclin)-周期蛋白依赖性激酶(cyclin-dependent kinase, CDK)复合物激活而处于高磷酸化状态时, DREAM复合体发生拆解, MuvB、E2F、RB三者彼此解离, 促进S期基因转录。CDK的活性受CDK抑制物(CDK inhibitor, CKI)抑制, 如p16、p21、p27等, 其中p21的转录受p53控制。卵巢癌初始治疗的高敏感性可能是由p53功能突变无法组装DREAM从而无法进入静止状态所引起^[50]。

B-Myb在S期与MuvB结合形成MMB复合物, 促进有丝分裂所需基因的转录。B-Myb不仅可以通过合成MMB复合体来促进肿瘤细胞增殖, 而且还可以通过调节LIN52破坏DREAM复合体来抑制细胞休眠^[52]。在S/G₂中B-Myb的蛋白酶体被降解后, MuvB将FoxM1转录因子及时募集到有丝分裂所需的基因启动子上。

另外, ARHI可以通过非自噬机制升高p21和p27, 降低cyclin A、cyclin D1、CDK2和CDK4来增加G₁期的卵巢癌细胞比例, 抑制卵巢癌细胞的生长^[53]。

3.5 自噬调节细胞周期进程引起休眠

早期已有研究证实, 自噬可以使细胞周期停滞并促进细胞进入G₀/G₁的静止状态以抵抗外界压力^[54]。在卵巢癌中, WANG等^[55]发现, *ATG5*基因敲除可减少卵巢癌球形细胞中G₀细胞的百分比, 这说明自噬参与了卵巢癌细胞进入休眠状态的调控; 但同时他们也发现雷帕霉素可以促进静止的卵巢癌球形细胞在软琼脂上形成集落, 从而证明自噬

也是细胞重新进入细胞周期的关键。总而言之, 静止性卵巢癌球状细胞中的自噬通量可能较低, 但是自噬必需基因可以保持完整, 以便在需要退出休眠时快速激活自噬, 并为重新进入细胞周期创造合适的环境。值得注意的是, 在卵巢癌中也发现了许多G₀/G₁周期阻滞现象与自噬相关基因的改变同时出现的情况, 但是在外界靶向某种基因或使用治疗性药物, 引起肿瘤细胞受到损伤并被迫进入G₀/G₁期所引起的休眠与自噬没有直接联系^[56]。以上研究都说明自噬、细胞周期和休眠之间存在彼此联系和相互作用, 但目前尚未在卵巢癌中阐明三者间的基本通路, 根据其他肿瘤中的机制, 猜测在卵巢癌中自噬可能也通过上调p21/p27, 降解cyclin D1和CKD1的途径来影响周期进程从而导致休眠^[57]。

3.6 G₀/G₁期休眠细胞与耐药的关系

卵巢癌的化疗耐药与休眠有十分密切的关系, 已有研究证明休眠的卵巢癌细胞在RNA水平上类似于顺铂治疗后存活的细胞^[58]。

这似乎是一个可以预想的结果, 因为一旦进入休眠期, 那些靶向快速生长癌细胞的药物自然失去了作用。RNA聚合酶II转录介质亚单位12(the RNA polymerase II transcriptional mediator subunit 12, *MED12*)是一个可能的基因位点, 研究显示, 敲除*MED12*基因可以降低卵巢癌细胞中cyclin C和CDK8的表达进而使之进入G₀/G₁期, 并对紫杉醇、吉西他滨、托泊替康和5-氟尿嘧啶产生耐药性, 但是对细胞周期非特异性药物顺铂和卡铂没有影响^[59]。需要注意的是, 尽管顺铂的抗肿瘤作用对细胞周期是非特异性的, 但是静止的G₀/G₁期细胞仍比以S期为主的高度增殖细胞具有更高的顺铂耐药性, GAO等^[60]的研究证明了这一点, 他们发现双特异性磷酸酶6(dual specificity phosphatase 6, DUSP6)的过表达通过负调控ERK信号通路以及降低cyclin D3的表达水平引起卵巢癌细胞G₀/G₁期停滞, 也会增加卵巢癌细胞对顺铂的耐药性。另外, 卵巢癌的体外和体内实验也表明, 细胞中激活的活化T细胞胞浆4核因子(nuclear factor of activated T cells cytoplasmic 4, NFATC4)通路通过抑制MYC促进p27、抑制cyclin D3-CDK4表达所导致的G₀/G₁期阻滞会引起细胞对顺铂的耐药性增加^[61-62]。

以上这些最新研究表明, *MED12*、*DUSP6*、*NFATC4*、*MYC*是卵巢癌静止期的调节因子, 同时

它们可能也是化疗耐药性的指标,为临床上预测卵巢癌患者是否会对化疗有反应提供了一个可能的方案。对这些调节因子作用机制的进一步研究可能有助于克服与休眠细胞相关的化疗耐药性,并可根据其机制开发出新的抗耐药治疗措施。

3.7 炎症作用与卵巢癌细胞休眠

慢性炎症与卵巢癌之间也有密切的联系。与健康人群相比,患有盆腔炎的女性患卵巢癌的风险明显增加^[63]。另外,血清C-反应蛋白(C-reactive protein, CRP)水平升高也会增加患卵巢癌的风险^[64]。TRABERT等^[65]通过进一步研究发现,经常使用非甾体类抗炎药包括阿司匹林在内可以降低卵巢癌的风险。炎症与卵巢癌复发之间也有很强的相关性,免疫炎症指数^[66]等检测可以作为评估卵巢癌的预后的指标。近年的研究显示,刺激促血管生成细胞因子从而支持血管生成,可能是慢性炎症促进卵巢癌的发生发展的机制之一。趋化因子(C-X-C基序)配体1(CXC motif chemokine ligand 1, CXCL1)是许多炎症性疾病的促炎介质,可以通过激活CXC趋化因子受体2(CXC chemokine receptor 2, CXCR2)来促进卵巢癌血管生成和细胞增殖, GUO等^[67]发现, *CXCL1* 基因5'UTR内的单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP) rs11547681与中国汉族人群罹患卵巢癌的风险密切相关。此外,同源盒转录因子4(distal-less homeobox 4, DLX4)在卵巢癌细胞中的过表达,会诱导炎症相关因子一氧化氮合酶(nitric oxide synthase, NOS2)基因表达增加并伴随一氧化氮的释放,从而增强VEGF的分泌,引起卵巢癌血管生成的增加^[68]。但炎症引起的血管生成增加是否会直接作用于休眠的卵巢癌细胞并引起休眠的退出仍有待进一步探索。

4 结语与展望

肿瘤的复发、转移和耐药是目前肿瘤临床治疗领域面临的最关键挑战。利用休眠相关机制进行肿瘤治疗可能为我们提供了一个“治愈”肿瘤的机会,但其具体方案目前还颇有争议,可能取决于患者的肿瘤类型。大部分学者主张通过促进或维持肿瘤休眠来治疗癌症。如克唑替尼(Crizotinib)通过诱导自噬性死亡,消除治疗后休眠状态的耐药卵巢癌细胞,维持肿瘤增殖与自噬性死亡平衡^[69]; 节律化疗通过抑制血管生成以维持卵巢癌细胞休

眠平衡^[70-72],但仍需直接证据来证明这一点。通过促进或维持肿瘤休眠是治疗癌症的可能的方案,但无法预测长期处于休眠状态的细胞是否会在将来产生一些变异以及其是否会对靶向休眠的药物产生耐药。也有学者认为可以通过唤醒休眠细胞,提高抗增殖药物的疗效来治疗。小分子药物Harmine和INDY^[51]、RO5454948(两种DYRK1激酶的抑制剂)^[73-74]、AZ191^[75]通过抑制DYRK1使卵巢癌细胞重新进入细胞周期并使其凋亡,可能具有治疗作用,但是目前尚未在体内评估靶向DYRK1的药物。使用这种方法需要非常谨慎,毕竟唤醒休眠细胞后是否会激活尚不明确的肿瘤生长机制,或使其表现出更强的耐药性从而人为地引起复发,这些都是未知数,如果在休眠状态被唤醒后,没有对应高效的抗增殖药物,该策略可能会严重影响患者的预后。

近年来,肿瘤细胞休眠研究领域已经取得了重大进展,但肿瘤休眠的核心分子和关键作用机制仍不明确。从现有的研究中推测,自噬可能是卵巢癌休眠的共同核心通路,其与血管因素、细胞周期和耐药之间存在复杂的相互作用,但目前尚缺乏关键直接证据;炎症和由其引起的微环境变化可能也是未来肿瘤研究值得重点关注的领域,而参与休眠调控的炎症作用与自噬、血管因素和细胞周期调控之间的具体机制尚有待进一步研究。因此,深入探讨自噬与其他引起休眠因素间的信号交流、与肿瘤细胞耐药发生的关系,建立灵敏的休眠细胞检测方法和成熟的临床前休眠模型,寻找针对休眠机制的有效药物,并进一步探索休眠的诱导和退出机制,将有助于深入理解休眠机制,为肿瘤的复发、转移、治疗和预防等研究奠定坚实的基础,为癌症患者带来新的福音。

参考文献 (References)

- [1] TUMPEL S, RUDOLPH K L. Quiescence: good and bad of stem cell aging [J]. Trends Cell Biol, 2019, 29(8): 672-85.
- [2] COLLIER H A. The paradox of metabolism in quiescent stem cells [J]. FEBS Lett, 2019, 593(20): 2817-39.
- [3] OULHEN N, SWARTZ S Z, LAIRD J, et al. Transient translational quiescence in primordial germ cells [J]. Development, 2017, 144(7): 1201-10.
- [4] SO W K, CHEUNG T H. Molecular regulation of cellular quiescence: a perspective from adult stem cells and its niches [J]. Methods Mol Biol, 2018, 1686: 1-25.
- [5] LI X, HE S, MA B. Autophagy and autophagy-related proteins in cancer [J]. Mol Cancer, 2020, 19(1): 12.

- [6] GARCÍA-PRAT L, MUÑOZ-CÁNOVES P, MARTÍNEZ-VICENTE M. Monitoring autophagy in muscle stem cells [J]. *Methods Mol Biol*, 2017, 1556: 255-80.
- [7] TANG A H, RANDO T A. Induction of autophagy supports the bioenergetic demands of quiescent muscle stem cell activation [J]. *EMBO J*, 2014, 33(23): 2782-97.
- [8] DU J, ZHU X, GUO R, et al. Autophagy induces G0/G1 arrest and apoptosis in menstrual blood-derived endometrial stem cells via GSK3- β / β -catenin pathway [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2018, 9(1): 330.
- [9] LI B, SUN C, SUN J, et al. Autophagy mediates serum starvation-induced quiescence in nucleus pulposus stem cells by the regulation of p27 [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2019, 10(1): 118.
- [10] FLAMINI V, GHADIALI R S, ANTCZAK P, et al. The satellite cell niche regulates the balance between myoblast differentiation and self-renewal via p53 [J]. *Stem Cell Rep*, 2018, 10(3): 970-83.
- [11] LU Z, HONG C C, KONG G, et al. Polycomb group protein YY1 is an essential regulator of hematopoietic stem cell quiescence [J]. *Cell Rep*, 2018, 22(6): 1545-59.
- [12] CASTEL D, BAGHDADI M B, MELLA S, et al. Small-RNA sequencing identifies dynamic microRNA deregulation during skeletal muscle lineage progression [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 4208.
- [13] SUEDA R, KAGEYAMA R. Regulation of active and quiescent somatic stem cells by Notch signaling [J]. *Dev Growth Differ*, 2020, 62(1): 59-66.
- [14] DING W Y, HUANG J, WANG H. Waking up quiescent neural stem cells: molecular mechanisms and implications in neurodevelopmental disorders [J]. *PLoS Genet*, 2020, 16(4): e1008653.
- [15] SINGH S, JAKUBISON B, KELLER J R. Protection of hematopoietic stem cells from stress-induced exhaustion and aging [J]. *Curr Opin Hematol*, 2020, 27(4): 225-31.
- [16] MALLADI S, MACALINAO D G, JIN X, et al. Metastatic latency and immune evasion through autocrine inhibition of WNT [J]. *Cell*, 2016, 165(1): 45-60.
- [17] DAI Y, WANG L, TANG J, et al. Activation of anaphase-promoting complex by p53 induces a state of dormancy in cancer cells against chemotherapeutic stress [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(18): 25478-92.
- [18] WEIDENFELD K, BARKAN D. EMT and stemness in tumor dormancy and outgrowth: are they intertwined processes [J]? *Front Oncol*, 2018, 8: 381.
- [19] BAI X, NI J, BERETOV J, et al. Cancer stem cell in breast cancer therapeutic resistance [J]. *Cancer Treat Rev*, 2018, 69: 152-63.
- [20] ZHOU N, WU X, YANG B, et al. Stem cell characteristics of dormant cells and cisplatin-induced effects on the stemness of epithelial ovarian cancer cells [J]. *Mol Med Rep*, 2014, 10(5): 2495-504.
- [21] PUIG I, TENBAUM S P, CHICOTE I, et al. TET2 controls chemoresistant slow-cycling cancer cell survival and tumor recurrence [J]. *J Clin Invest*, 2018, 128(9): 3887-905.
- [22] HANGAUER M J, VISWANATHAN V S, RYAN M J, et al. Drug-tolerant persister cancer cells are vulnerable to GPX4 inhibition [J]. *Nature*, 2017, 551(7679): 247-50.
- [23] FRANCESCANGELI F, CONTAVALLI P, DE ANGELIS M L, et al. A pre-existing population of ZEB²⁺ quiescent cells with stemness and mesenchymal features dictate chemoresistance in colorectal cancer [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2020, 39(1): 2.
- [24] CREA F, NUR SAIDY N R, COLLINS C C, et al. The epigenetic/noncoding origin of tumor dormancy [J]. *Trends Mol Med*, 2015, 21(4): 206-11.
- [25] KURPPA K J, LIU Y, TO C, et al. Treatment-induced tumor dormancy through YAP-mediated transcriptional reprogramming of the apoptotic pathway [J]. *Cancer Cell*, 2020, 37(1): 104-22. e12.
- [26] LAN Q, PEYVANDI S, DUFFEY N, et al. Type I interferon/IRF7 axis instigates chemotherapy-induced immunological dormancy in breast cancer [J]. *Oncogene*, 2019, 38(15): 2814-29.
- [27] ZHOU N, WU X, YANG B, et al. Stem cell characteristics of dormant cells and cisplatin-induced effects on the stemness of epithelial ovarian cancer cells [J]. *Mol Med Rep*, 2014, 10(5): 2495-504.
- [28] GILLE J, SPIETH K, KAUFMANN R. Metronomic low-dose chemotherapy as antiangiogenic therapeutic strategy for cancer [J]. *J Dtsch Dermatol Ges*, 2005, 3(1): 26-32.
- [29] KRALL J A, REINHARDT F, MERCURY O A, et al. The systemic response to surgery triggers the outgrowth of distant immune-controlled tumors in mouse models of dormancy [J]. *Sci Transl Med*, 2018, 10(436): eaan3464.
- [30] TENG M W, SWANN J B, KOEBEL C M, et al. Immune-mediated dormancy: an equilibrium with cancer [J]. *J Leukoc Biol*, 2008, 84(4): 988-93.
- [31] NAMJOSHI P, SHOWALTER L, CZERNIECKI B J, et al. T-helper 1-type cytokines induce apoptosis and loss of HER-family oncodriver expression in murine and human breast cancer cells [J]. *Oncotarget*, 2019, 10(57): 6006-20.
- [32] ALBRENGUES J, SHIELDS M A, NG D, et al. Neutrophil extracellular traps produced during inflammation awaken dormant cancer cells in mice [J]. *Science*, 2018, 361(6409): eaao4227.
- [33] LU Z, LUO R Z, 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): 3917-29.
- [34] FLYNN A B, SCHIEMANN W P. Autophagy in breast cancer metastatic dormancy: tumor suppressing or tumor promoting functions [J]? *J Cancer Metastasis Treat*, 2019, 5: 43.
- [35] DOWER C M, WILLS C A, FRISCH S M, et al. Mechanisms and context underlying the role of autophagy in cancer metastasis [J]. *Autophagy*, 2018, 14(7): 1110-28.
- [36] ZHAO Z, ZHAO J, XUE J, et al. Autophagy inhibition promotes epithelial-mesenchymal transition through ROS/HO-1 pathway in ovarian cancer cells [J]. *Am J Cancer Res*, 2016, 6: 2162-77.
- [37] VERA-RAMIREZ L, VODNALA S K, NINI R, et al. Autophagy promotes the survival of dormant breast cancer cells and metastatic tumour recurrence [J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 1944.
- [38] ORNELAS A, MCCULLOUGH C R, LU Z, et al. Induction of autophagy by ARHI (DIRAS3) alters fundamental metabolic pathways in ovarian cancer models [J]. *BMC Cancer*, 2016, 16(1): 824.
- [39] LU Z, YANG H, SUTTON M N, et al. ARHI (DIRAS3) induces autophagy in ovarian cancer cells by downregulating

- the epidermal growth factor receptor, inhibiting PI3K and Ras/MAP signaling and activating the FOXo3a-mediated induction of Rab7 [J]. *Cell Death Differ*, 2014, 21(8): 1275-89.
- [40] SUTTON M N, HUANG G Y, LIANG X, et al. DIRAS3-derived peptide inhibits autophagy in ovarian cancer cells by binding to Beclin1 [J]. *Cancers (Basel)*, 2019, 11(4): 557.
- [41] LU Z, BAQUERO M T, YANG H, et al. DIRAS3 regulates the autophagosome initiation complex in dormant ovarian cancer cells [J]. *Autophagy*, 2014, 10(6): 1071-92.
- [42] ZHONG L X, NIE J H, LIU J, et al. Correlation of ARHI up-regulation with growth suppression and STAT3 inactivation in resveratrol-treated ovarian cancer cells [J]. *Cancer Biomark*, 2018, 21(4): 787-95.
- [43] KUCHITSU Y, FUKUDA M. Revisiting Rab7 functions in mammalian autophagy: Rab7 knockout studies [J]. *Cells*, 2018, 7(11): 215.
- [44] VIALARD C, LARRIVÉE B. Tumor angiogenesis and vascular normalization: alternative therapeutic targets [J]. *Angiogenesis*, 2017, 20(4): 409-26.
- [45] MAO W, PETERS H L, SUTTON M N, et al. The role of vascular endothelial growth factor, interleukin 8, and insulinlike growth factor in sustaining autophagic DIRAS3-induced dormant ovarian cancer xenografts [J]. *Cancer*, 2019, 125(8): 1267-80.
- [46] LYU T, JIA N, WANG J, et al. Expression and epigenetic regulation of angiogenesis-related factors during dormancy and recurrent growth of ovarian carcinoma [J]. *Epigenetics*, 2013, 8(12): 1330-46.
- [47] BALAMURUGAN K. HIF-1 at the crossroads of hypoxia, inflammation, and cancer [J]. *Int J Cancer*, 2016, 138(5): 1058-66.
- [48] LU N, LI X, TAN R, et al. HIF-1 α /Beclin1-mediated autophagy is involved in neuroprotection Induced by hypoxic preconditioning [J]. *J Mol Neurosci*, 2018, 66(2): 238-50.
- [49] MAO W, PETERS H L, SUTTON M N, et al. The role of vascular endothelial growth factor, interleukin8, and insulinlike growth factor in sustaining autophagic DIRAS3-induced dormant ovarian cancer xenografts [J]. *Cancer*, 2019, 125(8): 1267-80.
- [50] INESS A N, LITOVCHICK L. MuvB: a key to cell cycle control in ovarian cancer [J]. *Front Oncol*, 2018, 8: 223.
- [51] MACDONALD J, RAMOS-VALDES Y, PERAMPALAM P, et al. A systematic analysis of negative growth control implicates the DREAM complex in cancer cell dormancy [J]. *Mol Cancer Res*, 2017, 15(4): 371-81.
- [52] INESS A N, FELTHOUSEN J, ANANTHAPADMANABHAN V, et al. The cell cycle regulatory DREAM complex is disrupted by high expression of oncogenic B-Myb [J]. *Oncogene*, 2019, 38(7): 1080-92.
- [53] LI X, LIU S, FANG X, et al. The mechanisms of DIRAS family members in role of tumor suppressor [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(5): 5564-77.
- [54] AN Z, TASSA A, THOMAS C, et al. Autophagy is required for G1/G0 quiescence in response to nitrogen starvation in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *Autophagy*, 2014, 10(10): 1702-11.
- [55] WANG Q, BU S, XIN D, et al. Autophagy is indispensable for the self-renewal and quiescence of ovarian cancer spheroid cells with stem cell-like properties [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2018, 2018: 7010472.
- [56] SHAO Y, LIU X, MENG J, et al. MicroRNA-1251-5p promotes carcinogenesis and autophagy via targeting the tumor suppressor TBCC in ovarian cancer cells [J]. *Mol Ther*, 2019, 27(9): 1653-64.
- [57] ZHENG K, HE Z, KITAZATO K, et al. Selective autophagy regulates cell cycle in cancer therapy [J]. *Theranostics*, 2019, 9(1): 104-25.
- [58] LAM T, AGUIRRE-GHISO J A, GELLER M A, et al. Immobilization rapidly selects for chemoresistant ovarian cancer cells with enhanced ability to enter dormancy [J]. *Biotechnol Bioeng*, 2020, doi: 10.1002/bit.27479.
- [59] LUO X L, DENG C C, SU X D, et al. Loss of MED12 induces tumor dormancy in human epithelial ovarian cancer via down-regulation of EGFR [J]. *Cancer Res*, 2018, 78(13): 3532-43.
- [60] GAO Y, LI H, HAN Q, et al. Overexpression of DUSP6 enhances chemotherapy-resistance of ovarian epithelial cancer by regulating the ERK signaling pathway [J]. *J Cancer*, 2020, 11(11): 3151-64.
- [61] COLE A J, IYENGAR M, PANESSO-GÓMEZ S, et al. NFATC4 promotes quiescence and chemotherapy resistance in ovarian cancer [J]. *JCI Insight*, 2020, 5(7): e131486.
- [62] REYES-GONZÁLEZ J M, ARMAIZ-PEÑA G N, MANGALA L S, et al. Targeting c-MYC in platinum-resistant ovarian cancer [J]. *Mol Cancer Ther*, 2015, 14(10): 2260-9.
- [63] MCALPINE J N, LISONKOVA S, JOSEPH K S, et al. Pelvic inflammation and the pathogenesis of ovarian cancer: a cohort study [J]. *Int J Gynecol Cancer*, 2014, 24(8): 1406-13.
- [64] MCSORLEY M A, ALBERG A J, ALLEN D S, et al. C-reactive protein concentrations and subsequent ovarian cancer risk [J]. *Obstet Gynecol*, 2007, 109(4): 933-41.
- [65] TRABERT B, NESS R B, LO-CIGANIC W H, et al. Aspirin, nonaspirin nonsteroidal anti-inflammatory drug, and acetaminophen use and risk of invasive epithelial ovarian cancer: a pooled analysis in the Ovarian Cancer Association Consortium [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2014, 106(2): djt431.
- [66] NIE D, GONG H, MAO X, et al. Systemic immune-inflammation index predicts prognosis in patients with epithelial ovarian cancer: a retrospective study [J]. *Gynecol Oncol*, 2019, 152(2): 259-64.
- [67] GUO M, XU C, CHEN Y Z, et al. Associations of CXCL1 gene 5'UTR variations with ovarian cancer [J]. *J Ovarian Res*, 2020, 13(1): 43.
- [68] BURKE A J, GARRIDO P, JOHNSON C, et al. Inflammation and nitrosative stress effects in ovarian and prostate pathology and carcinogenesis [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2017, 26(18): 1078-90.
- [69] BLESSING A M, SANTIAGO-O'FARRILL J M, MAO W, et al. Elimination of dormant, autophagic ovarian cancer cells and xenografts through enhanced sensitivity to anaplastic lymphoma kinase inhibition [J]. *Cancer*, 2020, 126(15): 3579-92.
- [70] VIVES M, GINESTÀ M M, GRACOVA K, et al. Metronomic chemotherapy following the maximum tolerated dose is an effective anti-tumour therapy affecting angiogenesis, tumour dissemination and cancer stem cells [J]. *Int J Can-*

- cer, 2013, 133(10): 2464-72.
- [71] LEE S J, GHOSH S C, HAN H D, et al. Metronomic activity of CD44-targeted hyaluronic acid-paclitaxel in ovarian carcinoma [J]. Clin Cancer Res, 2012, 18(15): 4114-21.
- [72] SIMSEK C, ESIN E, YALCIN S. Metronomic chemotherapy: a systematic review of the literature and clinical experience [J]. J Oncol, 2019, 2019: 5483791.
- [73] FRIEDMAN E. Mirk/dyrk1B linase in ovarian cancer [J]. Int J Mol Sci, 2013, 14(3): 5560-75.
- [74] HU J, DENG H, FRIEDMAN E A. Ovarian cancer cells, not normal cells, are damaged by Mirk/Dyrk1B kinase inhibition [J]. Int J Cancer, 2013, 132(10): 2258-69.
- [75] ASHFORD A L, OXLEY D, KETTLE J, et al. A novel DYRK1B inhibitor AZ191 demonstrates that DYRK1B acts independently of GSK3 β to phosphorylate cyclin D1 at Thr(286), not Thr(288) [J]. Biochem J, 2014, 457(1): 43-56.