

自噬及其在癌细胞中作用机制的研究

孙玉涛 徐立红*

(浙江大学医学院生物化学与遗传学系, 杭州 310058)

摘要 自噬是广泛存在于真核细胞中的生命现象, 是以细胞质空泡化为特征的溶酶体依赖性的降解途径。自噬从酵母至哺乳动物细胞均很保守, 它在耐受饥饿和缺血、清除衰老细胞器、清除细菌和异物、维持细胞活性和延长寿命等方面起着非常重要的作用。该文主要对自噬体的发生过程、分子机制及在癌细胞中的调控作用等方面进行简要概述。

关键词 自噬; 信号调控; 癌细胞; 分子机制

细胞死亡分为程序性细胞死亡和坏死, 其中程序性细胞死亡又可分为两种, I型是细胞凋亡, II型为自噬性细胞死亡。细胞自噬(autophagy)最早由Ashford和Porten于1962年用电子显微镜在人的肝细胞中观察到, 是细胞中初级溶酶体处理内源性底物的重要过程, 同时参与维持蛋白代谢平衡及细胞内环境的稳定, 它在清除废物、结构重建以及细胞生长发育中起重要作用^[1]。近年来, 随着酵母模型的建立以及分子生物学、基因技术的发展, 自噬的研究有了很大的进展。

1 细胞自噬概述

在自噬过程中, 部分或整个细胞质、细胞器被包裹进双层膜的囊泡, 形成自噬泡(autophagic vacuole)或自噬体(autophagosome)。自噬体形成后很快变成单层膜, 然后与溶酶体结合形成自噬溶酶体, 完成内容物的降解, 以实现细胞本身的代谢需要和细胞器的更新。自噬作为细胞生存的一种机制在很多生理过程如清除损伤及衰老细胞器上发挥重要作用^[2-3]。

1.1 自噬的分类

根据底物进入溶酶体内的途径不同可将自噬分为3种类型: 微自噬(micro-autophagy)、巨自噬(macro-autophagy)和分子伴侣介导的自噬(chaperone-mediated autophagy, CMA)^[4]。巨自噬即通常所指的自噬, 巨自噬过程中, 细胞浆中的可溶性蛋白和变性坏死的细胞器被非溶酶体来源的双层膜结构包裹, 即自噬泡, 并被自噬泡携带到溶酶体中降解加工。在微自噬中也发生相似的过程, 是通过溶酶体膜自身变形、包裹并吞噬细胞浆中的底物进行的。CMA是胞浆内

蛋白结合到分子伴侣后转运到溶酶体腔中, 被溶酶体酶消化。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是有选择性的, 而前两者无明显的选择性^[5]。

1.2 自噬发生过程

自噬的发生过程主要包括4个阶段, 即底物诱导自噬前体(proautophagosome, PAS)的形成、自噬体(autophagosome)形成、自噬体与溶酶体融合和自噬体内容物被降解^[6]。在即将发生自噬的细胞胞浆中会出现许多游离双层膜结构, 并逐渐形成杯状凹陷, 这些结构称为自噬前体。自噬前体逐渐延伸, 包裹细胞质或损伤的细胞器形成泡状结构, 此称为自噬体, 其中包裹着变性坏死的细胞器和部分胞浆。自噬体多位于细胞核周围以及线粒体和粗面内质网附近。这些游离双层膜的来源目前尚不清楚, 有人提出来源于粗面内质网, 也有人认为来源于晚期高尔基复合体及其膜囊泡^[7], 也有可能是重新合成的。自噬体的外膜与溶酶体膜融合, 内膜及其所包裹的物质进入溶酶体腔, 形成自噬溶酶体(autophagolysosome或autolysosome)。此过程使进入溶酶体的物质分解为其组成成分(如蛋白质分解为氨基酸、核酸分解为核苷酸), 并被细胞再利用。正常量的自噬水平通过上述过程降解受损和老化的细胞器, 从而对细胞稳态起到重要作用。

1.3 自噬的功能

自噬过程经历的时间相对较短, 半衰期只有8 min左右, 说明自噬是细胞对于环境变化的快速反

收稿日期: 2011-12-15 接受日期: 2012-03-28

国家自然科学基金(No.81172703)资助项目

*通讯作者。Tel: 0571-88208265, E-mail: xulihong@zju.edu.cn

应, 对新陈代谢起着非常重要的作用^[8]: (1) 自噬是对外源性刺激(包括营养缺乏、感染、氧化应激等)的适应性反应, 通过其降解产物来合成氨基酸以及其它一些新陈代谢和生物合成所必需的元素; (2) 自噬也可以被看作是一种维持内环境稳定的机制, 包括再生已老化的蛋白质、过氧化物酶、线粒体以及调节内质网的大小, 清除不需要的及损伤的细胞器和分子; (3) 自噬在特定的组织中还有特殊的功能, 如参与肺泡 II 型细胞表面活性物质在细胞内合成; (4) 自噬可以作为一种防御机制清除胞质内受损的细胞器、代谢产物, 进行亚细胞水平上的重构, 保护受损的细胞, 同时它也可以作为一种细胞死亡程序诱导细胞主动性死亡^[9]。

2 自噬形成的分子机制

目前, 至少已经鉴定出 27 种参与酵母自噬的特异性基因, 另外还有 50 多种相关基因。其命名最初为 APG、AUT 和 CVT, 为了统一标准, 2003 年 Klionsky 以酵母的自噬基因为标准进行了统一命名, 以“autophagy”中的 Atg 命名, 用来代表自噬相关基因及其对应蛋白^[10]。哺乳动物自噬基因的命名与酵母的相似, 但也有个别差异, 如酵母的 *Atg8* 在哺乳动物称为 *LC3*, 酵母的 *Atg6* 在哺乳动物称为 *Beclin-1*。随着研究的深入, 许多酵母中自噬相关基因的同源物均已在哺乳动物中找到, 并分离鉴定成功, 这说明自噬是一个进化保守的过程, 其分子机制从酵母到哺乳动物十分相似。目前, 人们对这些基因在细胞自噬中的功能已有所了解。

2.1 两个泛素样蛋白结合系统

在自噬激活过程中, *Atg1* 和 *Atg13* 的去磷酸化将引起 *Atg1-Atg11-Atg17-Atg20-Atg24* 复合物和 *Atg8-Atg13* 这两种复合物的结合, 并促进下游自噬信号激活。而在自噬体具体形成过程中则需要两个泛素样蛋白结合系统: 一个是调节自噬蛋白 *Atg12-Atg5* 结合系统, 另一个是 *LC3* 脂化系统, 这两个系统对自噬体的形成起着至关重要的作用^[11]。第一个泛素样蛋白结合系统包括四个 Atg 蛋白: *Atg5*、*Atg7*、*Atg10*、*Atg12*。在这个系统中 *Atg7* 和 *Atg10* 在催化过程中分别相当于泛素样激酶 E1 和 E2。第二个泛素样蛋白结合系统包括 *Atg3*、*Atg4*、*Atg7*、*Atg8*。*Atg12* 首先由 E1 样酶 *Atg7* 活化, 之后转运至 E2 样酶 *Atg10*, 最后与 *Atg5* 结合, 形成自噬体前体。*LC3* 前体形成后, 首先

加工成胞浆可溶性形式 *LC3-I*, 并暴露出其羧基末端的甘氨酸残基。同样, *LC3-I* 也被 *Atg7* 活化, 转运至第二种 E2 样酶 *Atg3*, 并被修饰成膜结合形式 *LC3-II*。*LC3-II* 定位于前自噬体和自噬体, 它与荧光蛋白形成融合蛋白后, 很容易在细胞内定位, 所以 *LC3-II* 通常被用作哺乳动物细胞中自噬体膜的标记蛋白^[12]。一旦自噬体与溶酶体融合, 自噬体内的 *LC3-II* 即被溶酶体中的水解酶降解。哺乳动物细胞内源性 *Atg5* 和 *Atg12* 主要以结合形式存在; 而胞浆可溶性 *LC3-I* 和膜结合型 *LC3-II* 的比例在不同组织和细胞类型变化很大。哺乳动物细胞自噬过程中两条泛素样加工修饰过程并不是相互独立的, 而是相互联系的。

2.2 PI3 激酶复合物

自噬体的形成也依赖于磷脂酰肌醇三磷酸 (PI3) 激酶作用。PI3 激酶可使磷脂酰肌醇 3 位磷酸化生成磷脂酰肌醇-3-磷酸 (PI3P), 募集胞浆中含 FYVE 或 PX 基序的蛋白质, 用于自噬体膜的形成^[13]。Class III PI3K 还可与 *Beclin-1* 形成复合物参与自噬体的形成^[14]。Hirsako 等^[15]将 PI3 激酶抑制剂如 Wortmannin、3-MA 导入细胞中发现自噬体不能形成, 细胞自噬被抑制, 从而得出 PI3 激酶活性与自噬体初期形成密切相关。

2.3 其它

Sec 基因在酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 中参与了自噬体膜形成。另外, 中间丝、微管等细胞骨架成分也参与了自噬体形成的晚期步骤。

3 自噬在癌细胞中的调控

3.1 mTORC1 依赖性的自噬调控

mTOR 是一种保守的丝/苏氨酸激酶, 广泛存在于真核细胞中, 对自噬的调节极为重要, 发挥“门卫” (gatekeeper) 作用^[16], 而且 mTOR 也成为一种新的肿瘤治疗靶标^[17]。哺乳动物细胞中 mTOR 有 mTORC1 和 mTORC2 两种亚型, 其中 mTORC1 在感受氨基酸、ATP 和激素方面发挥重要作用, 是细胞自噬的负调控因子, 可以抑制自噬的发生。研究发现, 即使是在营养物质充足的情况下, mTORC1 的抑制剂雷帕霉素 (rapamycin) 依然能够有效地引起自噬^[18]。

mTORC1 的上游通路中, 对 mTORC1 的调节主要是通过结节性硬化复合物 TSC (tuberous sclerosis complex) 和一种小分子鸟苷三磷酸酶 Rheb (Ras homolog enriched in brain)。后者在 GTP-Rheb 形式时

能结合mTORC1并增强其活性而抑制自噬^[19]。而TSC由TSC1和TSC2两部分组成,其中TSC2蛋白能够负调节Rheb,使具有mTORC1结合活性的GTP-Rheb转变为GDP-Rheb^[20]而抑制mTORC1活性,促进自噬的发生。研究发现,TSC1缺失导致的Rheb高活性会抑制自噬,最终由于错误折叠蛋白的过度积累而诱发细胞死亡^[21]。TSC主要是通过上游通路的磷酸化作用调节的。TSC2被AKT磷酸化后,这种负调节作用减弱,mTOR活性增强。在细胞氧化应激、能量不足时,AMP/ATP比值增加,AMPK活性增强,磷酸化激活TSC1/2蛋白,从而抑制mTOR、促进自噬形成^[22]。

在mTORC1调控的下游通路中,营养丰富的条件下,TOR能磷酸化Atg13,使Atg13与Atg1的亲合力下降,导致Atg1激酶活性降低,抑制自噬。相反,在饥饿条件下,TOR活性会被抑制,Atg13去磷酸化并与Atg1激酶紧密结合导致Atg1激酶激活,进而启动自噬的发生^[23]。哺乳动物中Atg1的同系物是ULK(UNC-51 like kinase)家族蛋白ULK1和ULK2,Atg13的同系物是mAtg13。在哺乳动物中,mTORC1除了能磷酸化mAtg13外还能磷酸化ULK1和ULK2。mTORC1可通过raptor与ULK1的作用磷酸化ULK1和mAtg13,抑制ULK1的活性,进而下调细胞自噬。

3.2 PI3K-Akt途径

磷酸肌醇-3-激酶(PI3K)/Akt(PKB)途径对自噬调控发挥重要作用,具有促进细胞生长的作用。其中PI3K分为Class I与Class III这两型。Class I PI3K是自噬的负调节分子,其产生的PI(3,4)P2和PI(3,4,5)P3可结合Akt(PKB)和它的活化分子PDK1,抑制自噬的发生。与Class I PI3K相反,Class III PI3K对自噬起到正向调节作用^[24]。因此,作为Class III PI3K的抑制剂如3-MA、LY294002可通过抑制Class III PI3K的活性抑制自噬的发生^[25]。此外,肿瘤抑制基因PTEN能够通过抑制Akt的活性对自噬起到正向调节作用。PTEN磷酸酶能使PI(3,4,5)P3去磷酸化,从而解除Class I PI3K/Akt(PKB)途径对自噬的抑制。因此,PTEN的缺失或者突变将提高Akt活性,抑制自噬。而研究发现,在鼠巨噬细胞J774中,细胞因子IL-10能够通过激活Class I PI3K抑制自噬发生^[26],显示出PI3K-Akt途径在癌症治疗中的潜力。

3.3 LKB-AMPK途径

AMP激活的蛋白激酶(AMPK)广泛存在于真核

细胞中,可调节糖类、脂类等的分解与合成,在维持细胞内能量代谢平衡中发挥重要作用^[27-28]。当细胞处于低能量水平时,AMP/ATP比值增加,丝氨酸/苏氨酸激酶LKB1直接磷酸化激活AMPK,从而抑制mTOR,促进自噬的形成^[29]。LKB1-AMPK对mTOR的调控分为TSC依赖性途径和非TSC依赖性途径。研究表明,细胞能量不足时,AMPK被激活,磷酸化TSC,进而抑制mTORC1活性,引起自噬的发生^[30]。同时,多种非TSC依赖性通路也能对自噬正向调节。有研究发现,AMPK可不经TSC而直接磷酸化抑制mTORC1的活性部位Raptor,增强自噬,使细胞在能量不足时得以生存^[31]。而在哺乳动物中AMPK除了抑制mTOR促进自噬形成,还可以通过磷酸化ULK1 Ser317位点和Ser777位点直接诱导自噬的发生。当敲除小鼠胚胎成纤维细胞中AMPK基因或AMPK活性受抑制时,则不存在这些位点的磷酸化^[32-33]。同时,LKB1能够激活AMPK,是AMPK主要的上游调控因子,同时AMPK也受到其他上游信号的调节。实验表明,在下丘脑神经元细胞,淋巴细胞和内皮细胞中,Ca²⁺以及钙依赖性蛋白激酶2(CAMK2)能够激活AMPK,对自噬发挥正向调节作用^[34]。

3.4 p53的调控

p53是最常见的抑癌基因之一,在细胞未受到任何应激压力作用下,它是一种潜在的未被激活的转录因子,除具有刺激凋亡的功能外对自噬的调节也具有双重作用。p53正向调节自噬作用中,除了营养物质匮乏引起的p53依赖性自噬外,细胞毒性压力也可以引起自噬的发生。其中,p53通过两种方式抑制mTOR,一方面通过p53转录非依赖途径,毒性压力下,AMPK被激活,AMPK进一步抑制mTOR;另一个是转录依赖途径,通过上调mTOR负性调控因子AMPK(AMPK β 1和AMPK β 2)以及TSC1/TSC2、PTEN等,促进自噬的发生。同时,p53激活的自噬对凋亡启动起到了推动作用,而这与其对肿瘤的抑制作用保持了一致性。

与此同时,p53可负性调节自噬,其机制可能与p53的转录非依赖途径相关。研究发现,通过RNA干扰、药物等抑制p53表达,均能激活自噬^[35]。而这利于p53缺失细胞在能量不足情况下维持较高的ATP水平。p53介导的自噬最终导致细胞存活还是死亡,可能与细胞种类、刺激因子及不同信号通路的活化有关。有研究表明,细胞核内的p53作为一种转录激

活因子促进自噬的发生, 而胞浆内的p53通过多种途径来抑制自噬的发生, 由p53在细胞内的分布决定P53引起自噬还是抑制自噬^[36]。总体来看, p53与自噬的发生紧密相关, p53从多个层面调控自噬, 主要依赖于细胞所处的微环境和p53在细胞中的定位。

3.5 Beclin-1和Bcl-2途径调控

*Beclin-1*基因是*Atg6*的哺乳动物同源基因, 是自噬所必需的基因, 在自噬体双层膜形成过程中作用重要^[37]。*Beclin-1*作为肿瘤抑制基因通过调控细胞自噬以维持机体内环境稳定。

然而, 它在人类乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌中会高频率地缺失。在肺腺癌、肝细胞癌及淋巴瘤中表达率也很低, 且突变率高。

*Beclin-1*主要是通过与其自噬相关蛋白如Bcl-2、Vps34、p150、UVRAG、Bif1、Atg14等形成多蛋白质复合体对自噬发挥正向调节作用, 其中与Vps34和p150蛋白的相互作用是关键因素。另外*Beclin-1*与Vps34/p150与Atg14和UVRAG相互作用, 以完全独立的两种方式形成两种复合物, 后者在自噬的形成期和成熟期发挥调节作用^[38-39]。尽管这些蛋白复合物调节自噬的确切机制还不清楚, 研究已经证实*Beclin-1*与Vps34的相互作用对Vps34激活是必不可少的^[40]。

另外, 酵母Atg14在哺乳动物中的同源物Atg14/Atg14L/Barkor亦是*Beclin-1*结合蛋白, 其作用于*Beclin-1*蛋白复合物并促进自噬。研究证实, 通过RNAi抑制Atg14可导致细胞饥饿条件下的自噬受到抑制。

抗凋亡因子Bcl-2能降低对癌症化疗效果, 在乳腺癌细胞中过度表达50%~70%。研究发现, Bcl-2除了已经证实的抗凋亡功能, 还能够通过与*Beclin-1*相互作用而抑制自噬, 对细胞的生存具有重要意义^[41]。在乳腺癌MCF-7细胞中通过RNAi抑制Bcl-2, 将引发自噬和凋亡的发生。转染Bcl-2反义mRNA的HL-60细胞生长完全受抑, 电镜下可见细胞死亡是由自噬介导的, 与凋亡无关^[42]。

*Beclin-1*主要是通过BH3部位与Bcl-2上的BH3感受器相互作用。因此, 除了抑制Bcl-2, 还可以通过BH3模拟物干扰两者的相互联系, 促进自噬的发生。研究证实, 一种BH3模拟混合物能够竞争性阻断*Beclin-1*和Bcl-2/Bcl-X的抑制关系, 促进自噬的启动。目前看来, 在过度表达Bcl-2的癌细胞中抑制Bcl-2的表达或者阻断Bcl-2和*Beclin-1*的相互联系可以作为新的治疗措施。

3.6 其他

蛋白磷酸酶2A(protein phosphatase 2A, PP2A)是真核生物体内广泛存在的Ser/Thr蛋白磷酸酶, 其活性的改变在自噬的激活过程中发挥重要作用, 同时受到雷帕霉素的调控。研究发现, 雷帕霉素能够通过激活PP2A活性引起其底物磷酸化水平的改变, 最终抑制mTOR激活自噬^[43]。同时, 氨基酸作为蛋白质降解的终产物可负向反馈调节自噬。另外, 激素在自噬的调控中也起重要作用, 胰岛素可抑制自噬, 而胰高血糖素则促进自噬, 同时, 酪氨酸激酶受体、MAP激酶、钙也存在于自噬过程错综复杂的调控网络中, 但其机制还不甚清楚^[44]。

4 自噬对肿瘤的双重作用及其在癌症治疗中的意义

在对不同肿瘤细胞发展过程的研究中发现, 肿瘤细胞的自噬能力往往低于周边部位的正常细胞。如化学致癌物诱导形成的肝癌细胞, 在癌变前期的肝结节时就已经出现了自噬能力下降的现象。而鼠的胰腺细胞经致癌物质诱导后, 在癌变前期自噬能力增加, 当癌变完成后, 自噬能力反而降低^[45]。因此, 某些肿瘤细胞尽管癌变前自噬能力各有不同, 但在癌变之后其自噬能力均减少。这提示自噬能力的衰退可能有利于肿瘤的恶化^[46]。

另外, 有些肿瘤细胞保持了较高的自噬活性, 如结肠癌、肺癌细胞及人宫颈癌HeLa细胞等均有着很高的自噬降解潜能。研究表明, 持续缺乏血清或氨基酸约3 h, HeLa细胞中的自噬部分从4%上升到37%。这些肿瘤细胞所具有的高自噬活性对肿瘤细胞在恶劣环境中的生存起到了一定的保护作用, 也使一些抗肿瘤药物的作用减弱^[47]。

4.1 自噬促进肿瘤细胞生存

自噬是保护肿瘤细胞避免受到低营养、电离辐射和治疗损伤所诱导的应激的一种保护机制。氧气缺乏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, 从而使肿瘤细胞得以生存。而自噬对线粒体的分隔又可防止促凋亡因子如细胞色素和凋亡诱导因子(AIF)的扩散, 帮助细胞逃逸凋亡。例如使用100 μmol/L替莫唑胺(temozolomide)处理恶性神经胶质瘤细胞U3732MG, 3 d后可以看到细胞中有明显的自噬特征性改变, 而且细胞的增殖受到抑制, 但作用7 d后却

发现细胞开始增殖^[48]。这说明替莫唑胺诱导的自噬是可逆的,而且这种自噬可以保护肿瘤细胞,防止其死亡。Wu等^[49]发现,用于前列腺癌治疗的SFK(Src family kinase)临床疗效往往不太理想,这可能与此类药物会诱导高水平的细胞自噬有关。

4.2 自噬抑制肿瘤细胞增殖

自噬可作为肿瘤抑制因子。抑制自噬可使蛋白降解减少,合成代谢增加,导致癌前病变细胞的持续性生长。在致瘤动物实验中也观察到自噬能力的下降,二乙基亚硝胺诱导的原发性肝癌和癌前结节自噬能力较正常肝细胞下降,正常肝细胞经种植瘤大鼠腹水作用后自噬性蛋白降解被完全抑制。因此,通过药物诱导自噬活性来抑制肿瘤细胞的增殖可以作为癌症治疗的一种有效途径。研究发现,低浓度(50 $\mu\text{mol/L}$)的白藜芦醇(resveratrol)可通过诱导卵巢癌细胞自噬导致细胞死亡^[50],而他莫昔芬(tamoxifen)可通过神经酰胺介导,上调Beclin-1表达,诱导人乳腺癌细胞株MCF-7发生自噬性凋亡^[51]。

目前认为,自噬对于肿瘤细胞存在双重效应^[52],因此,可能是肿瘤发展不同阶段、组织类型、细胞分化状态、周围环境以及特定的基因特征和信号转导途径共同影响着自噬的活性和结果,一些自噬因大分子物质循环和有害物质的隔离使肿瘤细胞生存,一些自噬超过某一阈值大量降解蛋白质与细胞器导致自噬性死亡。

5 展望

自噬是广泛存在于真核细胞中的生命现象,贯穿于正常细胞生长发育和生理病理过程,自噬基因的发现使我们对细胞自噬的研究取得了巨大的进展,但是自噬与肿瘤发生发展的相互关系以及在癌症治疗中自噬性细胞死亡的调节机制还有许多不清楚的地方。因此,对细胞自噬作用和自噬性细胞死亡的研究不仅具有理论意义,而且也具有非常重要的应用价值。随着对自噬作用机制的深入研究,我们期望可以通过调控细胞的自噬水平,控制癌症及其它疾病的发展。

参考文献 (References)

1 Caballero B, Coto-Montes A. An insight into the role of autophagy in cell responses in the aging and neurodegenerative brain. *Histol Histopathol* 2012; 27(3): 263-75.

2 Edinger AL, Thompson CB. Death by design: Apoptosis, necrosis and autophagy. *Curr Opin Cell Biol* 2004; 16(6): 663-9.

3 Boya P, Gonzalez-Polo RA, Casares N, Perfettini JL, Dessen P, Larochette N, *et al.* Inhibition of macroautophagy triggers apoptosis. *Mol Cell Biol* 2005; 25(3): 1025-40.

4 Hussey S, Terebiznik MR, Jones NL. Autophagy healthy eating and self-digestion for gastroenterologists. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2008; 46(5): 496-506.

5 Majeski AE, Dice JF. Mechanisms of chaperone-mediated autophagy. *Int J Biochem Cell Biol* 2004; 36(12): 2435-44.

6 Reggiori F, Klionsky DJ. Autophagy in the eukaryotic cell. *Eukaryotic Cell* 2002; 1(1): 11-21.

7 Hamasaki M, Yoshimori T. Where do they come from Insights into autophagosome information. *FEBS Lett* 2010; 584(7): 1296-301.

8 Mizushima N, Levine B, Cuervo AM, Klionsky DJ. Autophagy fights disease through cellular self-digestion. *Nature* 2008; 451(7182): 1069-75.

9 Levine B, Yuan J. Autophagy in cell death: An innocent convict. *J Clin Invest* 2005; 115(10): 2679-88.

10 Klionsky DJ, Cregg JM, Dunn WA, Emr SD, Sakai Y, Sandoval IV, *et al.* A unified nomenclature for yeast autophagy-related genes. *Dev Cell* 2003; 5(4): 539-45.

11 Alonso S, Pethe K, Russell DG, Purdy GE. Lysosomal killing of *Mycobacterium* mediated by ubiquitin-derived peptides is enhanced by autophagy. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104(14): 6031-6.

12 Tanida I, Ueno T, Kominami E. LC3 conjugation system in mammalian autophagy. *Int J Biochem Cell Biol* 2004; 36(12): 2503-18.

13 Levine B, Yuan J. Autophagy in cell death: An innocent convict. *J Clin Invest* 2005; 115(10): 2679-88.

14 Liang XH, Jackson S, Seaman M, Brown K, Kempkes B, Hibshoosh H, *et al.* Induction of autophagy and inhibition of tumorigenesis by beclin1. *Nature* 1999; 402(6762): 672-6.

15 Hirotsako K, Imasato H, Hirota Y, Kuronita T, Masuyama N, Nishioka M, *et al.* 3-Methyladenine specifically inhibits retrograde transport of cation-independent mannose 6-phosphate/insulin-like growth factor II receptor from the early endosome to the TGN. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 316 (3): 845-52.

16 Glick D, Barth S, Macleod KF. Autophagy: Cellular and molecular mechanism. *J Pathol* 2010; 221(1): 3-12.

17 Ciuffreda L, Di Sanza C, Incani UC, Milella M. mTOR pathway: A new target in cancer therapy. *Curr Cancer Drug Targets* 2010; 10(5): 484-95.

18 He C, Klionsky DJ. Regulation mechanisms and signaling pathways of autophagy. *Annu Rev Genet* 2009; 43: 67-93.

19 Guertin DA, Sabatini DM. Defining the role of mTOR in cancer. *Cancer Cell* 2007; 12(1): 9-22.

20 Tee AR, Manning BD, Roux PP, Cantley LC, Blenis J. Tuberous sclerosis complex gene products, Tuberin and Hamartin, control mTOR signaling by acting as a GTPase-activating protein complex toward Rheb. *Curr Biol* 2003; 13(15): 1259-68.

21 Zhou X, Ikenoue T, Chen X, Li L, Inoki K, Guan KL. Rheb controls misfolded protein metabolism by inhibiting aggresome formation and autophagy. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009; 10(6): 8923-8.

- 22 Hippert MM, O'Toole PS, Thorburn A. Autophagy in cancer: Good, bad or both? *Cancer Res* 2006; 66(19): 9349-51.
- 23 Park HJ, Lee SJ, Kim SH, Han J, Bae J, Kim SJ, *et al.* IL-10 inhibits the starvation induced autophagy in macrophages via class I phosphatidylinositol 3-kinase(PI3K) pathway. *Mol Immunol* 2011; 48(4): 720-7.
- 24 Jaber N, Dou Z, Chen JS, Catanzaro J, Jiang YP, Ballou LM, *et al.* Class III PI3K Vps34 plays an essential role in autophagy and in heart and liver function. *Proc Natl Acad Sci USA* 2012; 109(6): 2003-8.
- 25 Katayama M, Kawaguchi T, Berger MS, Pieper RO. DNA damaging agent-induced autophagy produces a cytoprotective adenosine triphosphate surge in malignant glioma cells. *J Cell Death Differ* 2007; 14 (3): 548-58.
- 26 Rubinsztein DC. Autophagy: Where next? *EMBO Rep* 2010; 11(1): 3.
- 27 Shackelford DB, Shaw RJ. The LKB1-AMPK pathway: Metabolism and growth control in tumour suppression. *Nat Rev Cancer* 2009; 9(8): 563-75.
- 28 Luo Z, Saha AK, Xiang X, Ruderman NB. AMPK: the metabolic syndrome and cancer. *Trends Pharmacol Sci* 2005; 26(2): 69-76.
- 29 Budanov AV, Karin M. p53 target genes *sestrin1* and *sestrin2* connect genotoxic stress and mTOR signaling. *Cell* 2008; 134(3): 451-60.
- 30 Inoki K, Ouyang H, Zhu T, Lindvall C, Wang Y, Zhang X, *et al.* TSC2 integrates Wnt and energy signals via a coordinated phosphorylation by AMPK and GSK3 to regulate cell growth. *Cell* 2006; 126(5): 955-68.
- 31 Gwinn DM, Shackelford DB, Egan DF, Turk BE, Shaw RJ, Vasquez DS, *et al.* AMPK phosphorylation of raptor mediates a metabolic checkpoint. *Mol Cell* 2008; 30(2): 214-26.
- 32 Kim J, Kundu M, Viollet B, Guan KL. AMPK and mTOR regulate autophagy through direct phosphorylation of Ulk1. *Nat Cell Biol* 2011; 13(2): 132-41.
- 33 Sanchez AM, Csibi A, Raibon A, Cornille K, Gay S, Bernardi H, *et al.* AMPK promotes skeletal muscle autophagy through activation of forkhead FoxO3a and interaction with Ulk1. *J Cell Biochem* 2012; 113(2): 695-710.
- 34 Stahmann N, Woods A, Carling D, Heller R. Thrombin activates AMP-activated protein kinase in endothelial cells via a pathway involving Ca²⁺/calmodulindependent protein kinase kinase beta. *Mol Cell Biol* 2006; 26(16): 5933-45.
- 35 Young AR, Narita M, Ferreira M, Tavare S, Arakawa S, Darot JF, *et al.* Autophagy mediates the mitotic senescencetransition. *Genes Dev* 2009; 23(7): 798-803.
- 36 Maiuri MC, Galluzzi L, Morselli E, Kepp O, Malik SA, Kroemer G. Autophagy regulation by p53. *Curr Opin Cell Biol* 2010; 22(2): 181-5.
- 37 Cao Y, Klionsky DJ. Physiological functions of Atg6/Beclin 1: A unique autophagy related protein. *Cell Res* 2007; 17(10): 839-49.
- 38 Sun Q, Fan W, Chen K, Ding X, Chen S, Zhong Q. Identification of Barkor as a mammalian autophagy-specific factor for Beclin1 and class III phosphatidylinositol 3-kinase. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; 105(49): 19211-6.
- 39 Matsunaga K, Saitoh T, Tabata K, Omori H, Satoh T, Kurotori N, *et al.* Two Beclin1-binding proteins, Atg14L and Rubicon, reciprocally regulate autophagy at different stages. *Nat Cell Biol* 2009; 11(4): 385-96.
- 40 Furuya N, Yu J, Byfield M, Pattingre S, Levine B. The evolutionarily conserved domain of Beclin1 is required for Vps34 binding autophagy and tumor suppressor function. *Autophagy* 2005; 1(1): 46-52.
- 41 He C, Bassik MC, Moresi V, Sun K, Wei Y, Zou Z, *et al.* Exercise-induced BCL2-regulated autophagy is required for muscle glucose homeostasis. *Nature* 2012; 481(7382): 511-5.
- 42 Saeki K, Yuo A, Okuma E, Yazaki Y, Susin SA, Kroemer G, *et al.* Bcl-2 down-regulation causes autophagy in a caspase-independent manner in human leukemic HL60 cells. *Cell Death Differ* 2000; 7(12): 1263-9.
- 43 Park IH, Yeum CE, Chae GT, Lee SB. Effect of Rifampicin to Inhibit Rapamycin-Induced Autophagy via the Suppression of Protein Phosphatase 2A Activity. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 2008; 30(4): 837-49.
- 44 Hyer-Hansen M, Bastholm L, Szyniarowski P, Campanella M, Szabadkai G, Farkas T, *et al.* Control of macroautophagy by calcium calmodulin-dependent kinase kinase-beta and Bcl-2. *Mol Cell* 2007; 25(2): 193-205.
- 45 Tóth S, Nagy K, Pálfi Z, Réz G. Cellular autophagic capacity changes during azaserine-induced tumour progression in the rat pancreas. Up-regulation in all premalignant stages and down-regulation with loss of cycloheximide sensitivity of segregation along with malignant transformation. *Cell Tissue Res* 2002; 30(9): 3409-16.
- 46 Levine B. Cell biology autophagy and cancer. *Nature* 2007; 446(7137): 745-7.
- 47 Cuervo AM. Autophagy: In sickness and in health. *Trends Cell Biol* 2004; 14(2): 70-7.
- 48 Kanazawa T, Germano IM, Komata T, Ito H, Kondo Y, Kondo S. Role of autophagy in temozolomide-induced cytotoxicity for malignant glioma cells. *Cell Death Differ* 2004; 11(4): 448-57.
- 49 Wu Z, Chang PC, Yang JC, Chu CY, Wang LY, Chen NT, *et al.* Autophagy blockade sensitizes prostate cancer cells towards Src family kinase inhibitors. *Genes Cancer* 2010; 1(1): 40-9.
- 50 Opirari AW, Tan L, Boitano AE, Sorenson DR, Aurora A, Liu JR. Resveratrol-induced autophagocytosis in ovarian cancer cells. *Cancer Res* 2004; 64(2): 696-703.
- 51 Scarlatti F, Bauvy C, Ventrucci A, Sala G, Cluzeaud F, Vandewalle A, *et al.* Ceramidemediated macroautophagy involves inhibition of protein kinase B and up regulation of Beclin-1. *J Biol Chem* 2004; 279(18): 18384-91.
- 52 Li Y, Zhang J, Chen X, Liu T, He W, Chen Y, *et al.* Molecular machinery of autophagy and its implication in Cancer. *Am J Med Sci* 2012; 343(2): 155-61.

The Study on Autophagy and Its Significance in Cancer

Sun Yutao, Xu Lihong*

(Department of Biochemistry and Genetic, Medical School of Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

Abstract Autophagy is a vacuolar process of cytoplasmic degradation by lysosome which widely exists in the eukaryotic cells. It is evolutionarily conserved from yeasts to mammalian cells and plays important roles in tolerating starvation and ischemia, cleaning the senescent organelles, eliminating bacteria and foreign matters, maintaining cellular activities and extending longevity. The present review focuses on recent progresses of the genesis and molecule mechanism of autophagy as well as its regulation to tumor cells.

Key words autophagy; signal regulation/control; cancer; molecule mechanism

Received: 2011-12-15 Accepted: 2012-03-28

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No.81172703)

*Corresponding author. Tel: 86-571-88208265, E-mail: xulihong@zju.edu.cn