

## 自噬与肿瘤干细胞

### Autophagy and cancer stem cells

陈丰嘉 综述; 刘雨晴, 姚子昂 审阅(大连大学 生命科学与技术学院, 辽宁省糖脂代谢重点实验室, 辽宁 大连, 116622)

**[摘要]** 肿瘤干细胞(cancer stem cell, CSC)是一类能持续自我更新并保持分化潜能的细胞,是影响恶性肿瘤形成、增殖、转移、复发的重要因素,并在肿瘤发生发展中起主导作用。研究发现,CSC的生理学功能可受到基因、微环境的影响,除此之外,自噬对维持CSC的存活、分化潜能及维护肿瘤微环境稳定也发挥了重要作用,并且CSC的自噬过程对肿瘤的发生及转移也有重要影响。

**[关键词]** 肿瘤干细胞;细胞自噬;细胞生存;微环境

**[中图分类号]** R730.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2017)08-0912-06

癌症是威胁人类健康的头号杀手,至今没有找到彻底有效的治疗方法。实体肿瘤是由肿瘤细胞和非肿瘤细胞组成的复杂的动态系统,肿瘤细胞是癌症产生的直接原因,部分非肿瘤细胞是构成肿瘤生长的微环境的重要因素。肿瘤微环境包括渗透性内皮细胞、骨髓间质细胞、免疫细胞、癌症相关成纤维细胞和一些细胞外基质成分等。肿瘤干细胞(cancer stem cell, CSC)是肿瘤组织的重要组成部分,具有较强的自我更新、无限增殖及分化潜能,是肿瘤发生发展及转移的根源。长期使用现代疗法治疗肿瘤会使肿瘤微环境产生改变,最近研究发现,细胞自噬在构建肿瘤微环境、维持CSC生存中扮演了重要角色。

细胞自噬具有高度保守性并参与大部分细胞新陈代谢的生理过程,如细胞的生长发育、免疫调控等过程<sup>[1]</sup>。自噬异常与细胞生理病理紊乱有关,如感染、神经病变、癌症、衰老等<sup>[2]</sup>。根据包裹物及运输方式不同,可将细胞自噬分为大自噬(macroautophagy)、小自噬(microautophagy)和分子伴侣介导参与的自噬(chaperone-mediated autophagy, CMA)。最近有人研究了自噬过程与抗肿瘤治疗的关系<sup>[3]</sup>,但对于CSC如何影响治疗过程仍没有得出明确结论。本文总结分析了CSC中的自噬作用,并对通过调节自噬相关蛋白影响CSC以达到治疗癌症的对策做了讨论。

### 1 细胞自噬

细胞自噬是细胞在能量缺乏、病原入侵、运动刺激和代谢废物累积等时,通过自身的调节促进细胞解毒并且提供能量的行为。自噬始于由双层膜包裹胞质蛋白等底物的非降解性囊泡,此囊泡被称为自噬体。随后自噬体与溶酶体融合,融合体称为自噬

溶酶体,它可将蛋白和退化的细胞器等包裹后降解并释放到细胞质中重新利用。

#### 1.1 自噬诱导阶段

分子水平上,参与诱导自噬发生主要涉及到两个复合物:UNC-51样酶(UNC-51 like kinase, ULK)复合物和膜泡分拣蛋白34(vacuolar protein sorting 34, Vps34)-Beclin1(BECN1)复合物<sup>[4]</sup>。ULK复合物是自噬起始阶段作用的蛋白复合物,由ULK1、ULK2、RB1诱导卷曲螺旋1型蛋白(RB1CC1,即最为人知的FIP200)、Atg13和Atg101组成<sup>[5]</sup>。根据细胞中能量和营养是否缺乏,ULK1复合物对自噬过程具有正负两方面的调控;Vps34-Beclin1复合物(也被称为Class III phosphatidylinositol-3 kinase (PI3K)复合物)是由Vps34、Beclin1、Ambra1以及Atg14L组成的调控平台。此复合物作为自噬早期的关键物质,通过在隔离膜成核时III型磷脂酰肌醇转化为III型磷脂酰肌醇3激酶(PI3K)形式促进自噬<sup>[6]</sup>。最后通过Vps34复合物启动膜泡的成核反应,募集自噬相关蛋白到膜上,形成前自噬体(pre-autophagosomal structure, PAS)<sup>[7]</sup>。

#### 1.2 自噬体形成阶段

Atg9作为介导自噬体形成阶段的分子元件,有助于隔离膜招募脂类的穿膜蛋白。微管相关蛋白轻链3(LC3)的磷脂酰胺结合形式蛋白,称为LC3-PE或

**[基金项目]** 国家自然科学基金资助项目(No. 81373429)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81373429)

**[作者简介]** 陈丰嘉(1993-),男,辽宁大连人,硕士,主要从事乳腺癌干细胞分化相关研究,E-mail:fengjia0627@foxmail.com

**[通信作者]** 姚子昂(YAO Zi'ang, corresponding author),博士,教授,硕士生导师,主要从事生物化学与分子生物学研究,E-mail:854555759@qq.com

LC3-II。LC3-II是由一个泛素样(UBL)结合系统通过蛋白酶 ATG4 断裂 LC3 产生的细胞溶质形式的 LC3-I,再经过 E1 样酶 ATG7、E2 样酶 ATG3 以及 E3 样连接酶复合物 ATG5-ATG12-ATG16L1 的类似泛素系统作用,催化 PE 共价连接到 LC3-I 上,形成 LC3-II。一旦 LC3-II 生成并定位到成核的膜上,便参与膜的延长与封闭,并且在自噬的过程中,LC3-II 始终结合在自噬体膜上<sup>[8]</sup>。

### 1.3 自噬体融合降解阶段

在自噬体成熟的过程中,内容物的传递与摄取是由特异性的连接体介导的,包括自噬内容物受体底物 SQSTM1(通常称 P62),其首先连接到蛋白或细胞器(通常被泛素化修饰),然后通过 LC3-作用域(LC3-interacting region, LIR)与 LC3-样蛋白相互作用<sup>[9]</sup>。自噬体和溶酶体直接的融合是由多个可溶性 N-乙基马来酰亚胺敏感融合(N-ethylmaleimide-sensitive fusion, NSF)连接蛋白受体(soluble NSF attachment protein, SNARE)样的蛋白促进的<sup>[10]</sup>。自噬内容物的水解(包括连接体)依赖于溶酶体,其代谢活性是由活化 H<sup>+</sup>泵降低溶酶体腔的 pH 值触发的。最后溶酶体通透酶将这些降解产物外运到胞质再利用。

## 2 自噬与肿瘤

自噬在肿瘤的发生与发展过程中扮演了重要的角色,并且在不同肿瘤的不同生长阶段,自噬发挥的作用也不相同,既有促进作用也有抑制作用。

### 2.1 自噬对早期阶段肿瘤形成的抑制作用

自噬在肿瘤发生的早期可抑制肿瘤形成。抑癌基因如同源磷酸酶-张力蛋白基因(phosphatase and tensin homolog, PTEN)、丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 11 (serine/threonine protein kinase 11, STK11)能激活自噬。而致癌因子,如 PI3K-ATK 信号通路的过度活化、BCL-2 家族抗凋亡蛋白的过表达<sup>[11]</sup>等,能减弱自噬作用。自噬相关基因 *BECN1*、*ATG4C* 缺失的大鼠中容易形成肿瘤。此外有研究揭示了自噬在肿瘤免疫方面也发挥了重要作用,这也值得关注,如在肠炎和慢性胰腺炎导致的肿瘤形成过程中,常伴有自噬功能的障碍<sup>[12]</sup>;在某些病毒或细菌感染诱发的肿瘤形成过程中,自噬能够抵抗感染,抑制肿瘤形成<sup>[13]</sup>。

尽管现有结果略有差异,但得出的主要结论是自噬能抑制肿瘤形成,虽然具体分子机制尚不清楚,但可大概推测出几点原因:(1)自噬功能缺陷时,有害物质(如受损的线粒体、活性氧等)的累积能导致原癌基因激活促使肿瘤形成;(2)自噬能降解肿瘤细胞生长所需的蛋白或细胞器,使肿瘤生长缓慢;(3)肿瘤形成需要大量的血管,当血管形成过慢时,可能利

用缺氧/缺营养产生死亡细胞的良好渗透性达到运输转移目的,而自噬可以减少细胞死亡,从而降低细胞渗透性来抑制肿瘤生长。

### 2.2 自噬对肿瘤形成后存活的促进作用

大量研究发现,一旦肿瘤发生,为了维持与促进肿瘤的生长,肿瘤细胞会激活或继续维持自噬作用。在人肿瘤细胞系中,尤其是 RAS 蛋白构型改变诱导的胰腺癌细胞,相比于正常细胞,自噬调节发挥了重要作用。在饥饿、低氧的微环境下,自噬能够促进癌细胞存活<sup>[14]</sup>,这可能是由于在肿瘤形成后,氧及能量的缺乏会迫使肿瘤细胞通过自噬分解代谢提供营养物质以维持细胞存活<sup>[15]</sup>。

另有肿瘤模型实验验证了自噬促进肿瘤形成。(1)在 PyMT 鼠乳腺癌模型中, FIP200 的缺失限制了肿瘤的恶化<sup>[16]</sup>。(2)在 RAS 基因家族中 *KRAS* 基因突变的细胞通过扰乱代谢和线粒体功能使自噬能力丧失并限制肿瘤的生长<sup>[14]</sup>。(3)有研究<sup>[17]</sup>指出,在经过 *KRAS*<sup>G12D</sup> 或 *BRAF*<sup>V600E</sup> 基因突变诱导的肺癌模型中, *ATG5* 或 *ATG7* 缺失分别减少腺瘤或良性嗜酸性细胞瘤向腺癌的转变。(4)在 *KRAS*<sup>G12D</sup> 突变诱发胰腺导管腺癌(pancreatic ductal adenocarcinoma, PDAC)小鼠模型中, *ATG5* 或 *ATG7* 的缺失阻碍了肿瘤向 PDAC 发展。又在此实验基础上使 p53 缺失,发现其加快了肿瘤的发生发展<sup>[18]</sup>。(5)在含特殊乳腺癌易感基因[partner and localizer of BRCA2(breast cancer susceptibility gene 2), PALB2]相关肿瘤的模型中,自噬能够使乳腺癌更易发生并且促进肿瘤生长<sup>[19]</sup>。(6)自噬还可以减少细胞失巢凋亡的发生,提高肿瘤细胞的转移能力<sup>[20]</sup>。

综上,当肿瘤形成后,自噬会促进其存活并维持其继续生长。自噬对肿瘤的促进作用可能的原因有:(1)能够提供因肿瘤快速生长缺乏的营养成分;(2)可以清除阻碍肿瘤生长的代谢废物;(3)抑制肿瘤细胞失巢凋亡,提高转移能力从而促进存活、生长。不过目前仍未有明确定论,自噬在肿瘤的不同阶段发挥的作用各不相同,无论是肿瘤形成阶段的抑制作用,还是肿瘤细胞发展过程起到促进肿瘤生长、转移的作用,仍需要进一步探索。

## 3 自噬在 CSC 中的生理功能

自噬在维护不同种类干细胞功能中也发挥了极其重要的作用,如维护微环境稳态和干细胞特性等。在细胞静息状态或分化阶段,自噬能够调控相关蛋白及细胞器的生理状态。虽然自噬对于 CSC 的生物学意义还没明确阐明,但通过自噬在干细胞中的作用类比,相信自噬同样影响着 CSC 的生理功



能。下面将主要从自噬在CSC中的作用及发生的条件两方面来论述。

### 3.1 自噬促进CSC存活

自噬过程中的一些自噬相关元件对CSC的生存都起到促进作用。例如,(1)BECN1能促进乳腺癌干细胞的生存及致瘤性。Gong等<sup>[21]</sup>研究发现,乳腺癌干细胞富集量大的乳腺癌中Beclin 1表达量高。(2)ATG4A,当大量短发夹RNAs(shRNA)转染到CSC中后,ATG4A在CSC大量生成中发挥重要作用<sup>[22]</sup>。(3)自噬调控基因1(damage-regulated autophagy modulator 1, DRAM1)和P62在成年胶质母细胞瘤中大量表达,通过使用特定的siRNA作用于DRAM1和P62蛋白,胶质瘤干细胞在生物代谢、肿瘤迁移与侵袭过程都受到了调控<sup>[23]</sup>。

除了以上一些明确的自噬元件外,很多实验是通过控制自噬通路来验证自噬对CSC的促生存作用。如,通过特定敲除*LC3*和*ATG12*基因能抑制CD44<sup>+</sup>/CD24<sup>+</sup>样乳腺癌干细胞表达,三阴乳腺癌(triple negative breast cancer, TNBC)中非粘连性细胞(CD44<sup>+</sup>/CD24<sup>+</sup>样细胞)的自噬流要高于粘连细胞,经自噬抑制剂氯喹(chloroquine, CQ)处理后,在TNBC中CD44<sup>+</sup>/CD24<sup>+</sup>样细胞表达降低<sup>[24]</sup>;人胰腺CSC亚群能抵抗*KRAS*基因敲除带来的影响,而肿瘤的复发涉及到这些细胞的自噬活动<sup>[25]</sup>;慢性粒细胞白血病(chronic myelocytic leukemia, CML)是一种造血干细胞含有*BCR-ABL*融合基因的疾病,通过特异性敲除*ATG3*基因实验证明CML细胞和白血病发生都依赖自噬,*AGT4G*基因的减少也影响到CML干细胞/祖细胞的存活<sup>[26]</sup>;在TNBC CSC中,经过CQ处理后,由于自噬的抑制导致的线粒体结构破坏及DNA双链断裂的修复,有效减弱了体外或移植瘤模型肿瘤的迁移能力<sup>[27]</sup>。事实上,CQ不仅调控自噬,也涉及到溶酶体膜的通透性的改变以及线粒体内部相关信号的激活<sup>[28]</sup>,也有发现CQ是通过非自噬途径抑制CSC活性,如抑制Janus激酶2(Janus kinase 2, JAK2)激活或阻断CXCR4和Hedgehog信号通路<sup>[29,30]</sup>。这些实验都是控制自噬变化检测CSC的存活情况及生理状态,其中更有实验结果表明,通过促进或抑制自噬影响CSC继而影响肿瘤的发生发展。

上述都是直接控制自噬影响CSC,研究发现在肝癌中通过CSC表面标志物CD133介导激活的自噬可以促进癌细胞生存,在NOD/SCID小鼠模型中,CD133抗体能抑制球状体和移植瘤的形成,并且通过抑制自噬及促进坏死性细胞死亡来诱导癌细胞死亡<sup>[31]</sup>。在饥饿条件下,CD133转位到细胞质中促进自噬体的形成、葡萄糖的摄取和ATP的合成,但具体机

制尚未明确。CD133的减少能抑制移植瘤的形成<sup>[32]</sup>。更有趣的是,CD133能通过PI3K作用激活PI3K/AKT/mTOR信号通路,CD133的减少也降低了成胶质细胞瘤CSC的自我更新能力及成瘤性<sup>[33]</sup>,该实验结果也和PI3K/AKT/mTOR信号通路在血液及实体瘤CSC中发挥维护细胞存活的作用相吻合<sup>[34,35]</sup>。在胰腺癌组织中,LC3的表达与CD133密切相关,除了CD133外,还跟ALDH1、CD44等标志物成正相关。肿瘤组织中ALDH1/LC3共表达高的细胞存活能力强,球形培养细胞LC3-II表达高于正常肿瘤细胞,当抑制自噬后,CSC群数、ALDH1活性及球形细胞数都降低。此实验还证明了骨桥蛋白(osteopontin, OPN)介导的自噬与NF- $\kappa$ B信号通路相关<sup>[36]</sup>。无论直接或是间接的作用,更多的结果认为自噬的强弱对CSC特性维持及生存力都是积极作用。

### 3.2 自噬对CSC的其他作用

有研究<sup>[37]</sup>发现,自噬会促进CSC死亡,来自恶性胶质瘤中的CSC由于自噬相关蛋白和自噬体的累积导致细胞死亡,腺病毒受体也是如此,delta-24-RGD病毒治疗后的移植瘤中CSC能提高小鼠的存活,并且免疫荧光显示ATG5蛋白的高表达。同时发现自噬能影响CSC的可塑性。通过抑制mTOR诱导自噬,增加了CD133<sup>+</sup>样细胞数(可能是抑制了分化或使分化后细胞去分化),促进体内肿瘤生长<sup>[38]</sup>。类似的研究,低氧条件下激活自噬能促进非胰腺癌干细胞去分化成为干细胞样细胞,表明自噬能影响CSC的来源转化过程<sup>[39]</sup>。奥沙利铂诱导的自噬增加了结肠癌中CSC数量,同样参与到CSC干性的维持,抵抗治疗<sup>[40]</sup>。

### 3.3 自噬维持肿瘤微环境

肿瘤微环境对CSC的影响至关重要。很多肿瘤的发生来源于微环境的改变,而CSC会通过自噬活动适应改变的微环境。CSC在低氧、代谢及氧应激等外界刺激下能促进自我更新、增强适应性。在缺氧条件下,缺氧诱导因子(hypoxia inducible factor, HIF)能够调控干细胞标志物及促存活通路的激活,自噬就是其中一条重要的信号通路<sup>[41]</sup>。在破损血管、肿瘤低氧部位发现大量自噬体,HIF诱导的自噬能促进CD133<sup>+</sup>胰腺癌干细胞发生转移<sup>[42]</sup>。另外,抗血管生成药能促进缺氧条件下的CSC增多,这可能会限制抗癌药的药性<sup>[43]</sup>。这与自噬过程能促进CSC适应肿瘤微环境变化的假设相吻合,通过抑制自噬,会使缺氧条件下具有干细胞特性的胰腺癌细胞和氧/营养剥夺条件下CD133<sup>+</sup>肝癌干细胞生存能力降低。更有研究<sup>[44-45]</sup>发现,对PDAC患者的组织样本进行免疫组化检测,结果同时发现了低氧、多功能性和自噬标志

物。众多结果显示了CSC的自噬与肿瘤微环境息息相关,这些信息已经成为肿瘤研究的新方向。

综上所述,正常情况下CSC的自噬起到保护肿瘤生存生长的作用,但由于到目前的作用机制研究的不透彻,仍需要结合更多的实验或治疗来阐明相关机制。而在微环境稳定的时候通常自噬活动也稳定,当因为外界环境改变微环境时,肿瘤组织中的CSC会加强自噬从而保护肿瘤。

#### 4 自噬针对CSC的治疗应答

普通的癌症治疗,放射、化学治疗是通过杀死细胞完成遏制肿瘤的。CSC的自噬治疗是因为自噬会改变CSC对常规治疗的敏感性,或利用CSC自噬产生的毒性直接消灭细胞。常规疗法在杀死肿瘤细胞的特异性上存在问题,会带给患者很多负面作用。自噬疗法相对于常规疗法对细胞更温和,但自噬疗法对细胞的未知影响仍需进一步探索。

##### 4.1 自噬改变CSC对治疗的敏感性

敲除自噬相关基因或药物抑制自噬能增加胶质瘤干细胞对放射治疗的敏感性。阻断PI3K/AKT通路并用CQ处理能提高抗肿瘤疗效<sup>[46]</sup>;卡铂能诱导自噬,用CQ处理卡铂诱导的自噬后发现,三阴乳腺癌干细胞明显受到抑制作用,并且肿瘤的生长也受到抑制<sup>[27]</sup>;盐霉素能有效杀死上皮CSC,其抗CSC潜在的分子机制普遍认为是直接阻碍自噬发生,敲除ATG7基因能增加盐霉素对乳腺癌干细胞存活和扩散的抑制作用<sup>[47]</sup>。抑制自噬能增强依托泊苷对胶质瘤细胞系CSC的杀伤作用,增加乳腺癌干细胞对依托泊苷F2的敏感度,抑制TNBC细胞微球体的形成,增强体内外帕比司他的抗癌功效<sup>[48]</sup>;姜黄素能增强双肾上腺皮质激素样激酶1(doublecortin like kinase 1, DCLK1)的活性,从而促进结肠CSC的增殖和自噬性生存<sup>[49]</sup>;白藜芦醇可以抑制Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路,并通过质粒转染使 $\beta$ -catenin过表达,降低白藜芦醇对细胞的毒性作用,同时抑制自噬并阻碍CSC发挥功能<sup>[50]</sup>。相关实验结果显示了CSC的自噬与肿瘤治疗密不可分。通过控制CSC自噬情况,能改善一些药物的治疗结果。

##### 4.2 自噬调控药物对CSC的毒性

同样,一些治疗药物对细胞产生的毒性可通过自噬相关分子机制进行调控。例如:(1)替莫唑胺,替莫唑胺能激活成胶质细胞瘤CSC自噬性死亡<sup>[26]</sup>;(2)白藜芦醇,能通过抑制Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路或上游凋亡信号通路的激活,诱导自噬的发生进而杀死乳腺癌干细胞<sup>[51]</sup>;(3)二甲双胍,是一种用于2型糖尿病的治疗药物,可以选择性杀死乳腺癌干细胞,推

测是通过调控mTOR信号通路来发挥抗CSC功能<sup>[52]</sup>。与上述自噬介导到其他治疗中的方式不同,某些情况下自噬对CSC的影响能够直接参与肿瘤的治疗。

虽然更多数研究中CSC的自噬治疗一定程度上是通过抑制自噬完成的,自噬抑制剂如氯喹、氢氯喹等在临床实验上也已经开展起来。但一些证据表明在癌症的治疗中要谨慎使用自噬抑制剂。自噬既在保护组织稳态起到一定的生理作用,并参与到先天/适应性免疫中,也是肿瘤发生和神经变性疾病的屏障,所以这种全身性抑制意味着可能具有不利影响。某些情况下,特殊的抗肿瘤药物通过自噬驱动具有抗肿瘤及抗CSC的活性,也意味着自噬的抑制可能导致治疗的失败。一些信号通路(如PI3K/AKT/mTOR级联)实际上抑制了自噬,被称为保护CSC,这也表明自噬的激活可能是一种潜在的杀死癌细胞(包括CSC)方法。所以,自噬在CSC中实际的影响可能取决于肿瘤的发生阶段、类型、微环境、遗传等等。

#### 5 小结

CSC的自噬研究对肿瘤的放化疗法有新的启示,为寻找更有效的癌症治疗方法提供了新的思路,但由于其作用机制极其复杂,至今仍未完全阐明,仍需要不断探索。不过,就目前研究结果而言,自噬在维持CSC的存活及稳定性、稳定CSC的微环境发挥了重要作用,这对通过自噬进行肿瘤治疗具有重要的指导意义。针对自噬在肿瘤早期的抑制作用及后期的促进作用,可以假设,由于肿瘤中CSC的存在,早期CSC处于休眠状态,自噬通过清除垃圾蛋白等方式抑制肿瘤发生,但当某种因素影响激活CSC后,自噬起促进作用的同时结合CSC特性导致肿瘤的发展。除了文中推测的原因外,还可能跟肿瘤血管生成及血管生成拟态相关。这些都需要进行进一步实验探索。希望通过对肿瘤中自噬相关机制更透彻的研究,为肿瘤靶向治疗提供新思路。另外一些自噬相关药物的负面作用同样值得注意。自噬在CSC中实际的影响取决于肿瘤的发生阶段、类型、微环境、遗传、表观遗传及代谢上下游,所以全面了解自噬分子机制及其在肿瘤及CSC中的生物学作用亦至关重要。

#### [参考文献]

- [1] YANG P, ZHANG H. You are what you eat: multifaceted functions of autophagy during *C. elegans* development[J]. *Cell Res*, 2014, 24 (1): 80-91. DOI: 10.1038/cr.2013.154.
- [2] WHITE E, MEHNERT J M, CHAN C S. Autophagy, metabolism, and cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2015,15;21(22):5037-5046. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-15-0490.
- [3] GEWIRTZ D A. The Challenge of Developing Autophagy Inhibition

- as a Therapeutic Strategy [J]. *Cancer Res*, 2016, 76(19):5610-5614. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-16-0722.
- [4] WANG Y, WU H, LI Z, et al. A positive feedback loop between GRP78 and VPS34 is critical for GRP78-mediated autophagy in cancer cells.[J].*Exp Cell Res*, 2016 (16)30433-435. DOI: 10.1016/j.yexcr.2016.12.017
- [5] KARANASIOS E,WALKER S A,OKKENHAUQ H, et al. Autophagy initiation by ULK complex assembly on ER tubulovesicular regions marked by ATG9 vesicles[J/OL]. *Nat Commun*, 2016, 7: 12420 [2017- 03- 09]. <https://www.nature.com/articles/ncomms12420>. DOI: 10.1038/ncomms12420.
- [6] KIM T M, BAEK J H, KIM J H, et al. Development of in vitro PIK3C3/VPS34 complex protein assay for autophagy-specific inhibitor screening [J/OL]. *Anal Biochem*, 2015,480:21- 27[2017- 03- 09]. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003269715001426?via%3Dihub>. DOI: 10.1016/j.ab.2015.04.004.
- [7] TAUSSIQ D, LIPATOVA Z, SEQEV N. Trs20 is required for TRAPP III complex assembly at the PAS and its function in autophagy[J]. *Traffic*, 2014 15(3): 327-337. DOI: 10.1111/tra.12145
- [8] NODA T, FUJITA N, YOSHIMORI T,et al. The Ubi brothers reunited [J]. *Autophagy*, 2008, 4(4): 540-541. DOI:10.4161/auto.5973.
- [9] KATSURAGI Y, ICHIMURA Y, KOMATSU M. p62/SQSTM1 functions as a signaling hub and an autophagy adaptor [J]. *FEBS J*, 2015, 282(24):4672-4678. DOI: 10.1111/febs.13540.
- [10] MORELLI E, GINEFRA P, MASTRODONATO V et al. Multiple functions of the SNARE protein Snap29 in autophagy, endocytic, and exocytic trafficking during epithelial formation in *Drosophila* [J]. *Autophagy*, 2014,10(12):2251- 2268. DOI: 10.4161/15548627.2014.981913.
- [11] MORSELLI E, GALLUZZI L, KEPP O, et al. Oncosuppressive functions of autophagy[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2011, 14(11): 2251-2269. DOI: 10.1089/ars.2010.3478.
- [12] REUTER S, GUPTA S C, CHATURVEDI M M, et al. Oxidative stress, inflammation, and cancer: how are they linked?[J] *Free Radic Biol Med*, 2010, 49(11): 1603- 1616. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2010.09.006
- [13] DERETIC V, SAITOH T, AKIRA S. Autophagy in infection, inflammation and immunity [J]. *Nat Rev Immunol*, 2013, 13(10): 722-737. DOI: 10.1038/nri3532.
- [14] GUO J Y , CHEN H Y , MATHEW R , et al.Activated Ras requires autophagy to maintain oxidative metabolism and tumorigenesis [J]. *Genes Dev*, 2011, 25(5): 460-470. DOI: 10.1101/gad.2016311.
- [15] WHITE E. Deconvoluting the context-dependent role for autophagy in cancer [J].*Nat Rev Cancer*, 2012, 12(6): 401-410. DOI: 10.1038/nrc3262.
- [16] WEI H, WEI S, GAN B, et al. Suppression of autophagy by FIP200 deletion inhibits mammary tumorigenesis [J]. *Genes Dev*, 2011, 25 (14): 1510-1527. DOI: 10.1101/gad.2051011.
- [17] RAO S, TORTOLA L, PERLOT T, et al. A dual role for autophagy in a murine model of lung cancer [J/OL]. *Nat Commun*, 2014, 5: 30-56[2017- 03- 09]. <https://www.nature.com/articles/ncomms4056>. DOI: 10.1038/ncomms4056.
- [18] ROSENFELDT M T, O'PREY J, MORTON J P, et al. p53 status determines the role of autophagy in pancreatic tumour development [J].*Nature*, 2013, 504(7479): 296-300. DOI: 10.1038/nature12865.
- [19] HUO Y, CAI H, TEPLOVA I, et al. Autophagy opposes p53-mediated tumor barrier to facilitate tumorigenesis in a model of PALB2-associated hereditary breast cancer [J]. *Cancer Discov*, 2013, 3(8): 894-907. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-13-0011.
- [20] FUNG C, LOCK R, GAO S, et al. Induction of autophagy during extracellular matrix detachment promotes cell survival [J]. *Mol Biol Cell*, 2008, 19(3): 797 - 806. DOI: 10.1091/mbc.E07-10-1092.
- [21] GONG C, BAUVY C, TONELLI G, et al. Beclin-1 and autophagy are required for the tumorigenicity of breast cancer stem-like/progenitor cells[J]. *Oncogene*, 2013, 32(18): 2261-2272. DOI: 10.1038/onc.2012.252.
- [22] WOLF J, DEWI D L, FREDEBOHM J, et al. A mammosphere formation RNAi screen reveals that ATG4A promotes a breast cancer stem-like phenotype [J]. *Breast Cancer Res*, 2013, 15(6): R109. DOI: 10.1186/bcr3576.
- [23] GALAVOTTI S, BARTESAGHI S, FACCENDA D, et al. The autophagy-associated factors DRAM1 and p62 regulate cell migration and invasion in glioblastoma stem cells [J]. *Oncogene*, 2013, 32(6): 699-712. DOI: 10.1038/onc.2012.111.
- [24] CUFI S, VAZQUEZ-MARTIN A, OLIVERAS-FERRAROS C , et al. Autophagy positively regulates the CD44(+) CD24(-/low) breast cancer stem-like phenotype[J].*Cell Cycle*, 2011, 10(22): 3871-3885. DOI: 10.4161/cc.10.22.17976.
- [25] VIALE A, PETTAZZONI P, LYSSIOTIS C A, et al. Oncogene ablation-resistant pancreatic cancer cells depend on mitochondrial function [J]. *Nature*, 2014, 514(7524): 628- 632.DOI: 10.1038/nature13611.
- [26] ROTHE K, LIN H , LIN K B, et al. The core autophagy protein ATG4B is a potential biomarker and therapeutic target in CML stem/progenitor cells [J]. *Blood*, 2014, 123(23): 3622- 34.DOI: 10.1182/blood-2013-07-516807.
- [27] LIANG D H, CHOI D S, ENSOR J E, et al..The autophagy inhibitor chloroquine targets cancer stem cells in triple negative breast cancer by inducing mitochondrial damage and impairing DNA break repair [J].*Cancer Lett*, 2016,376(2):249-258. DOI: 10.1016/j.canlet.2016.04.002.
- [28] MAYCOTTE P, ARYAL S, CUMMINGS C T, et al. Chloroquine sensitizes breast cancer cells to chemotherapy independent of autophagy [J]. *Autophagy*, 2012, 8(2): 200- 212. DOI: 10.4161/auto.8.2.18554.
- [29] CHOI D S, BLANCO E, KIM Y S, et al. Chloroquine Eliminates Cancer Stem Cells Through Dereglulation of Jak2 and DNMT1 [J]. *Stem Cells*, 2014, 32(9): 2309-2323.DOI: 10.1002/stem.1746.
- [30] BALIC A, SORENSEN M D, TRABULO S M, et al. Chloroquine targets pancreatic cancer stem cells via inhibition of CXCR4 and hedgehog signaling [J]. *Mol Cancer Ther*, 2014, 13(7): 1758-1771. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-13-0948.
- [31] CHEN H, LUO Z, SUN W, et al. Low glucose promotes CD133 mAb-elicited cell death via inhibition of autophagy in hepatocarcinoma cells [J]. *Cancer Lett*, 2013, 336(1): 204-212. DOI: 10.1016/j.canlet.2013.04.031.
- [32] CHEN H, LUO Z, DONG L, et al. CD133/prominin-1-mediated autophagy and glucose uptake beneficial for hepatoma cell survival [J/OL]. *PLoS One*, 2013, 8: e56878[2017-03-09]. [http://www.cancerletters.info/article/S0304-3835\(13\)00365-0/fulltext](http://www.cancerletters.info/article/S0304-3835(13)00365-0/fulltext). DOI: 10.1371/



- journal.pone.0056878.
- [33] WEI Y, JIANG Y, ZOU F, et al. Activation of PI3K/Akt pathway by CD133-p85 interaction promotes tumorigenic capacity of glioma stem cells [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013, 110(17): 6829-6834. DOI: 10.1073/pnas.1217002110.
- [34] CHANG L, GRAHAM P H, HAO J, et al. Acquisition of epithelial-mesenchymal transition and cancer stem cell phenotypes is associated with activation of the PI3K/Akt/mTOR pathway in prostate cancer radioresistance [J/OL]. *Cell Death Dis*, 2013, 4: e875[2017-03-09]. <https://www.nature.com/cddis/journal/v4/n10/full/cddis2013407a.html>. DOI: 10.1038/cddis.2013.407.
- [35] FRANCIPANE M G, LAGASSE E. Selective targeting of human colon cancer stem-like cells by the mTOR inhibitor Torin-1 [J]. *Oncotarget*, 2013, 4(11): 1948-1962. DOI: 10.18632/oncotarget.1310
- [36] YANG M C, WANG H C, HOU Y C. Blockade of autophagy reduces pancreatic cancer stem cell activity and potentiates the tumoricidal effect of gemcitabine [J/OL]. *Mol Cancer*, 2015, 14(1):179[2017-03-09]. <https://molecular-cancer.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12943-015-0449-3>. DOI: 10.1186/s12943-015-0449-3.
- [37] JIANG H, GOMEZ-MANZANO C, AOKI H, et al. Examination of the therapeutic potential of delta-24-RGD in brain tumor stem cells: role of autophagic cell death [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2007, 99(18): 1410-1414. DOI: 10.1093/jnci/djm102.
- [38] YANG Z, ZHANG L, MA A, et al. Transient mTOR inhibition facilitates continuous growth of liver tumors by modulating the maintenance of CD133<sup>+</sup> cell populations [J/OL]. *PLoS One*, 2011, 6: e28405[2017-03-09]. <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0028405>. DOI:10.1371/journal.pone.0028405.
- [39] ZHU H, WANG D, LIU Y, et al. Role of the Hypoxia-inducible factor-1 alpha induced autophagy in the conversion of non-stem pancreatic cancer cells into CD133<sup>+</sup> pancreatic cancer stem-like cells [J/OL]. *Cancer Cell Int*, 2013, 13(1): 119[2017-03-09]. <https://cancer-ci.biomedcentral.com/articles/10.1186/1475-2867-13-119>. DOI: 10.1186/1475-2867-13-119.
- [40] YANG H Z, MA Y, ZHOU Y, et al. Autophagy contributes to the enrichment and survival of colorectal cancer stem cells under oxaliplatin treatment [J]. *Cancer Lett*, 2015, 361(1):128-136. DOI: 10.1016/j.canlet.2015.02.045.
- [41] QIANG L, WU T, ZHANG H W, et al. HIF-1alpha is critical for hypoxia-mediated maintenance of glioblastoma stem cells by activating Notch signaling pathway [J]. *Cell Death Differ*, 2012, 19(2): 284-294. DOI: 10.1038/cdd.2011.95.
- [42] ZHU H, WANG D, ZHANG L, et al. Upregulation of autophagy by hypoxia-inducible factor-1alpha promotes EMT and metastatic ability of CD133<sup>+</sup> pancreatic cancer stem-like cells during intermittent hypoxia [J]. *Oncol Rep*, 2014, 32(3): 935-942. DOI: 10.3892/or.2014.3298.
- [43] CONLEY S J, GHEORDUNESCU E, KAKARALA P, et al. Anti-angiogenic agents increase breast cancer stem cells via the generation of tumor hypoxia [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2012, 109(8): 2784-2789. DOI: 10.1073/pnas.1018866109.
- [44] RAUSCH V, LIU L, APEL A, et al. Autophagy mediates survival of pancreatic tumour-initiating cells in a hypoxic microenvironment [J]. *J Pathol*, 2012, 227(3): 325-335. DOI: 10.1002/path.3994.
- [45] SONG Y J, ZHANG S S, GUO X L, et al. Autophagy contributes to the survival of CD133<sup>+</sup> liver cancer stem cells in the hypoxic and nutrient-deprived tumor microenvironment [J]. *Cancer Lett*, 2013, 339(1): 70-81. DOI: 10.1016/j.canlet.2013.07.021.
- [46] FIRAT E, WEYERBROCK A, GAEDICKE S, et al. Chloroquine or chloroquine-PI3K/Akt pathway inhibitor combinations strongly promote gamma-irradiation-induced cell death in primary stem-like glioma cells[J/OL]. *PLoS One*, 2012, 7: e47357[2017-03-09]. <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0047357>. DOI: 10.1371/journal.pone.0047357.
- [47] GUPTA P B, ONDER T T, JIANG G, et al. Identification of selective inhibitors of cancer stem cells by high-throughput screening [J]. *Cell*, 2009, 138(4): 645-659. DOI: 10.1016/j.cell.2009.06.034.
- [48] YUE W, HAMAI A, TONELLI G, et al. Inhibition of the autophagic flux by salinomycin in breast cancer stem-like/progenitor cells interferes with their maintenance [J]. *Autophagy*, 2013, 9(5): 714-729. DOI: 10.4161/auto.23997.
- [49] BIASOLI D, KAHN S A, CORNELIO T A, et al. Retinoblastoma protein regulates the crosstalk between autophagy and apoptosis, and favors glioblastoma resistance to etoposide [J/OL]. *Cell Death Dis*, 2013, 4: e767[2017-03-09]. <https://www.nature.com/cddis/journal/v4/n8/full/cddis2013283a.html>. DOI: 10.1038/cddis.2013.283.
- [50] KANTARA C, O'CONNELL M, SARKAR S, et al. Curcumin promotes autophagic survival of a subset of colon cancer stem cells, which are ablated by DCLK1-siRNA [J]. *Cancer Res*, 2014, 74(9): 2487-2498. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-13-3536.
- [51] FU J, LIU Z G, LIU X M, et al. Glioblastoma stem cells resistant to temozolomide-induced autophagy [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2009, 122(11): 1255-1259. DOI:10.3760/cma.j.issn.0366-6999.2009.11.004.
- [52] MOHAMMED A, JANAKIRAM N B, BREWER M, et al. Antidiabetic drug metformin prevents progression of pancreatic cancer by targeting in part cancer stem cells and mTOR signaling [J]. *Transl Oncol*, 2013, 6(6): 649-659. DOI:10.1593/tlo.13556.

[收稿日期] 2017-03-13

[修回日期] 2017-06-28

[本文编辑] 黄静怡

欢迎访问《中国肿瘤生物治疗杂志》网站 [www.biother.org](http://www.biother.org)