

抑制自噬通过促进 Caspase 依赖性细胞凋亡逆转鼻咽癌紫杉醇耐药性的研究

陈亦龙¹, 李 维¹, 苏雪萍², 谭国林¹, 李和清¹

(1. 长沙市中南大学湘雅三医院, 湖南 长沙 410000; 2. 南宁市中国人民解放军第三〇三医院, 广西 南宁 530000)

摘 要: [目的] 探讨细胞自噬在鼻咽癌紫杉醇耐药中的作用及其机制。[方法] 以鼻咽癌亲本细胞和紫杉醇耐药细胞为研究对象。自噬抑制剂 3-MA 抑制自噬, siRNA 下调自噬蛋白 Beclin-1 的表达, 分别应用集落形成实验检测细胞的增殖能力, 流式细胞术检测凋亡水平, 蛋白印迹分析检测自噬相关蛋白和 Caspase 蛋白的表达水平, 透射电子显微镜和荧光显微镜进行细胞形态学观察。通过基因芯片技术分析 Caspase 家族基因在亲本和耐药细胞中的不同表达。[结果] 紫杉醇耐药细胞中自噬蛋白 Beclin-1、LC3-II 的表达水平高于亲本细胞 ($P<0.05$)。用自噬抑制剂 3-MA 预处理鼻咽癌耐药细胞后, CNE-1/Taxol+3-MA 和 HNE-2/Taxol+3-MA 细胞的 IC_{50} 值分别为 $(6.25\pm 1.0)\text{nmol/L}$ 、 $(2.19\pm 0.19)\text{nmol/L}$, 与对照组相比, 细胞的生长抑制率明显增加 ($P<0.01$)。鼻咽癌紫杉醇耐药细胞转染 Beclin-1-siRNA 后, CNE-1/Taxol 细胞和 HNE-2/Taxol 细胞的 IC_{50} 值分别为 $(5.69\pm 1.23)\text{nmol/L}$ 、 $(3.08\pm 0.67)\text{nmol/L}$, 转染后的细胞对紫杉醇的敏感性明显高于阴性对照组。通过 3-MA 和 Beclin-1-siRNA 抑制自噬能增加紫杉醇诱导的 Caspase 依赖的细胞凋亡, 同时能部分逆转鼻咽癌细胞紫杉醇耐药。[结论] 紫杉醇诱导的鼻咽癌细胞自噬可能是通过降低 Caspase 依赖的细胞凋亡, 从而部分参与了紫杉醇耐药, 抑制自噬能通过促进凋亡从而增加鼻咽癌细胞对紫杉醇的敏感性。

关键词: 鼻咽肿瘤; 紫杉醇; 自噬; 凋亡; 耐药

中图分类号: R739.62 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-0242(2018)08-0626-08

doi: 10.11735/j.issn.1004-0242.2018.08.A012

Inhibition of Autophagy Sensitizes Taxol-resistant Nasopharyngeal Carcinoma Cells to Taxol Treatment by Enhancing Taxol-induced Caspase-dependent Apoptosis

CHEN Yi-long¹, LI Wei¹, SU Xue-ping², TAN Guo-lin¹, LI He-qing¹

(1. Third Xiangya Hospital of Central South University, Changsha 410000, China; 2. PLA 303 Hospital, Nanning 530000, China)

Abstract: [Purpose] To investigate the effects and mechanisms of autophagy in the taxol resistance of nasopharyngeal carcinoma (NPC) cells. [Methods] The NPC parental (CNE-1, HNE-2) and taxol-resistant (CNE-1/Taxol, HNE-2/Taxol) cells were used in the study; 3-MA was used as autophagy inhibitors; siRNA to Beclin-1 was used to inhibit expression of Beclin-1. Colony formation assay was utilized to detect cell proliferation; flow cytometry assay was used to detect apoptosis. Expression of autophagy-related protein and cleaved Caspase 3 were measured by Western blot analysis. Morphology studies were performed using transmission electron microscopy and fluorescent microscopy. The cDNA microarray was used to analyze the different expression levels of caspase family genes between parental and taxol-resistant cells. [Results] The expression levels of autophagy protein Beclin-1, LC3-II in taxol-resistant cells were higher than those in parental cells ($P<0.05$). The IC_{50} values of taxol in CNE-1/Taxol and HNE-2/Taxol were $(6.25\pm 1.0)\text{nmol/L}$ and $(2.19\pm 0.19)\text{nmol/L}$ after pretreatment with 3-MA, which were significantly lower than that in control groups ($P<0.01$). The IC_{50} value of taxol in CNE-1/Taxol and HNE-2/Taxol were $(5.69\pm 1.23)\text{nmol/L}$ and $(3.08\pm 0.67)\text{nmol/L}$ after transfection with Beclin-1-siRNA, which were significantly lower than those in control groups ($P<0.05$). Inhibition of autophagy through 3-MA and Beclin-1-siRNA enhanced taxol-induced caspase-dependent apoptosis, resulted in partial reversal of the acquired taxol resistance in taxol-resistant cells. [Conclusion] The taxol-induced autophagy may protect nasopharyngeal carcinoma cells from caspase-dependent apoptotic death, and inhibition of autophagy can increase the taxol sensitivity by increasing apoptosis.

Key words: nasopharyngeal carcinoma; taxol; autophagy; apoptosis; chemoresistance

收稿日期: 2018-02-28; 修回日期: 2018-04-15

基金项目: 国家自然科学基金青年项目 (81702706)

通讯作者: 李和清, E-mail: heqingli@163.com

鼻咽癌是一种起源于鼻咽部黏膜上皮的肿瘤,常发生在鼻咽部咽隐窝和顶前壁,是我国南方各省及东南亚地区最常见的头部恶性肿瘤之一,因其原发灶隐蔽,早期发病不明显,大多数患者确诊时已是中晚期^[1]。其分布具有明显的地域性和种族性,个别城市的发病率高达 20.32/10 万^[2,3],EB 病毒感染、遗传因素、饮食和环境因素等与鼻咽癌密切相关,但具体的分子机制仍不清楚^[4]。大部分早中期鼻咽癌患者积极治疗后可以达到临床治愈。目前,放疗结合化疗是治疗中晚期鼻咽癌患者的主要手段,但随着治疗过程中产生的化疗耐药常常使晚期鼻咽癌患者出现远处转移和局部复发,降低了鼻咽癌患者的总体生存率^[5]。紫杉醇是鼻咽癌化疗中应用最广泛的药物之一,深入了解紫杉醇在鼻咽癌耐药中的分子机制至关重要。

自噬是一种进化上高度保守的细胞过程,细胞质中的蛋白质、细胞器和其他大分子等被称为自噬体或自噬小泡的双层膜囊泡包裹并运送到溶酶体降解^[6]。*Beclin1* 基因定位于 17q21,其编码蛋白是自噬通路的重要调节器。*Beclin1* 和细胞内的一些结合分子相互作用可出现自噬途径的激活或抑制^[7,8]。LC3 是自噬的标志性蛋白,其包括 LC3- I 和 LC3- II 两种分型,自噬激活后,LC3- I 型转化为 LC3- II 型位于自噬体膜上,LC3- II 型阳性表达率的高低代表着自噬活性的强弱^[9]。自噬在肿瘤化疗中的作用具有多面性。有资料显示自噬作为一种保护机制在某些肿瘤化疗过程中被激活使肿瘤细胞获得耐药^[10-12],另一方面,自噬作为一种杀伤机制在化疗中介导细胞的自噬性死亡^[13,14]。因此,自噬的诱导在肿瘤治疗中是利是弊取决于药物类型和肿瘤类型。目前,自噬在紫杉醇治疗鼻咽癌中的作用仍不清楚。

在本文中,我们研究了自噬在紫杉醇治疗鼻咽癌中的作用机制,以及自噬与紫杉醇诱导的细胞凋亡之间的联系。

1 材料与方法

1.1 细胞培养与试剂

人鼻咽癌亲本细胞系 CNE-1 和 HNE-2 均由中南大学肿瘤研究所惠赠。紫杉醇耐药细胞系 CNE-1/Taxol 和 HNE-2/Taxol 由本实验组通过在亲本细胞

系基础上用紫杉醇大剂量冲击和小剂量维持方法诱导而成^[15]。用含有 10%胎牛血清(Gibco BRL,Gaithersburg,MD,USA) 的 RPMI-1640 培养基(Hyclone,Logan,UT,USA),在 5%CO₂、37℃、饱和湿度条件下的细胞培养箱中培养。紫杉醇和 3-甲基腺嘌呤(3-MA)购置于 Sigma 公司(Sigma-Aldrich,St.Louis,MO,USA)。抗 Beclin-1、LC3、Caspase 3、GAPDH 的多克隆兔抗购于 Santa Cruz 公司(Santa Cruz,California,USA)。

1.2 透射电子显微镜观察细胞细微结构

收集样品并用 2.5%的戊二醛在 4℃条件下固定 2h,PBS 洗 3 次,每次 15min。然后在室温下用 1%的四氧化锇酸固定 1h,PBS 洗 3 次,每次 15min。样品用梯度丙醇脱水,然后用 1:1 丙酮包埋剂浸透 1h。次日升温、固化。用 Leica 显微薄片切片机将样品切成 50~100nm 的超薄切片,用乙酸双氧钨和醋酸铅双染色,最后在 Hitachi 7500 透射电子显微镜下以 80kV 的加速电压检测细胞的超微结构。

1.3 溶酶体功能:Lyso-ID 溶酶体检测试剂盒

Lyso-ID 溶酶体检测试剂盒 (EnzoLifesciences, Farmingdale,NY,USA) 检测酸性囊泡(内涵体,溶酶体,晚自噬体)。将对数生长期的细胞接种于 96 孔培养板,置于 5%CO₂、37℃的细胞培养箱中培养,待细胞长满孔底 90%满度时,吸尽旧培养液。将检测试剂盒中的 Lyso-ID green dye 和 Hoechst 33324 各 1μl 加入到 1ml 的细胞培养基中混匀,将其加入 96 孔板中,让细胞避光培养 30min,用 PBS 清洗细胞 2 遍。于 Leica 共焦显微镜下用活细胞成像系统显影。

1.4 蛋白印迹分析

收集不同条件下处理过的细胞,按 PMSF:RIPA=1:100 浓度配置裂解液(碧云天生物技术公司)裂解细胞。用 BCA 试剂盒(碧云天生物技术)按 BCA 法测各蛋白浓度。配制 12%的分离胶和 5%的浓缩胶。将适量各组样品(20μg)以及 marker 依次小心加入各个加样孔中,电泳,转膜。转膜成功后将 PVDF 膜放入加有 5%脱脂奶粉的平皿中,室温下封闭 1h。然后用 1×TBST 漂洗 3 次,每次 5min。加入稀释后的一抗再将膜置于 4℃冰箱过夜。次日回收一抗,1×TBST 漂洗 3 次,每次 5min,然后用稀释后的二抗将 PVDF 膜在室温下避光孵育 1h。回收二抗,用 1×TBST 液在摇床上洗涤 PVDF 膜 3 次,每次 5min。最后用增强化学发光法系统(Pierce)化学发光,显影。

1.5 小片段干扰 RNA 抑制 Beclin-1 在紫杉醇耐药细胞中的表达

将紫杉醇耐药细胞 CNE-1/Taxol 和 HNE-2/Taxol 按细胞密度 2×10^5 个/孔,接种于 6 孔板中,无血清培养基培养 1h。并于每孔中加入 200nmol/L siRNA (人类 Beclin-1 siRNA 是 5'-UGGAAUGGAAUGA-GAUUAATT-3' 和 5'-AAGAUUGAAGACACAGGAG-GC-3') 与质粒 (Invitrogen, Gaithersburg, Maryland) 的混合物,6h 后吸尽旧培养液,加入含有 30% 胎牛血清的培养基继续培养。48h 后收集细胞。蛋白印迹分析 Beclin-1 蛋白的表达水平。

1.6 药物处理与细胞生长抑制试验

按细胞密度 6×10^2 个/孔将细胞接种于 6 孔培养板中,每孔 2ml 培养基,在 5%CO₂、37℃ 培养箱中培养 3h。然后将 2mmol/L 3-MA 或者 Beclin-1-siRNA 加入到培养基中让细胞继续培养 6h,再加入不同浓度的紫杉醇溶液培养 24h。培养结束后,吸尽旧培养基,更换新鲜培养基,并在显微镜下观察集落形成情况。10 天后,将细胞用 75% 的乙醇固定 20min,PBS 清洗后用亚甲蓝染色 15min。将亚甲蓝溶液漂洗后计算集落数量。并计算有无添加 3-MA 或者 Beclin-1-siRNA 的鼻咽癌细胞株的各个 IC₅₀ 值。

1.7 流式细胞术定量分析细胞凋亡

收集不同条件下处理过的细胞各 3×10^5 个。根据生产商的说明书,用 Annexin V-FITC 凋亡检测试剂盒 (BD Biosciences, San Diego, CA) 将细胞染色。

染色好的细胞用流式细胞仪 (BD FACS Canto) 检测,用软件 FCS Express v2.0 分析细胞凋亡率。

1.8 微阵列杂交与分析

利用 HG-U133 Plus 2.0 array (Affymetrix, Santa Clara, CA) 进行 cDNA 微阵列杂交与分析,利用基因芯片扫描阵列扫描仪 3000 (Affymetrix, Santa Clara, CA, US) 进行扫描。原始数据通过 MAS 5.0 计算程序用 GeneSpring 软件版本 11 (Agilent technologies, Santa Clara, CA, US) 处理。

1.9 统计学处理

实验数据资料以均数±标准差表示,采用 *t* 检验进行两个样本均数比较,以 $P < 0.05$ 认为差异具有统计学意义。所有数据采用 SPSS17.0 进行统计学分析。

2 结 果

2.1 人鼻咽癌亲本及紫杉醇耐药细胞系的化疗药物敏感性检测

用不同浓度的紫杉醇溶液刺激 2 株鼻咽癌亲本细胞 (CNE-1 和 HNE-2) 和 2 株鼻咽癌紫杉醇耐药细胞 (CNE-1/Taxol 和 HNE-2/Taxol), 细胞培养 2 周左右。通过集落形成实验以及绘制生长抑制曲线得出, CNE-1 的 IC₅₀ 值为 (1.32 ± 0.06) nmol/L, HNE-2 的 IC₅₀ 值为 (0.95 ± 0.14) nmol/L, CNE-1/Taxol 的 IC₅₀ 值为 (10.78 ± 0.43) nmol/L, HNE-2/Taxol 的 IC₅₀ 值为 (5.59 ± 0.30) nmol/L (Figure 1A、1B)。

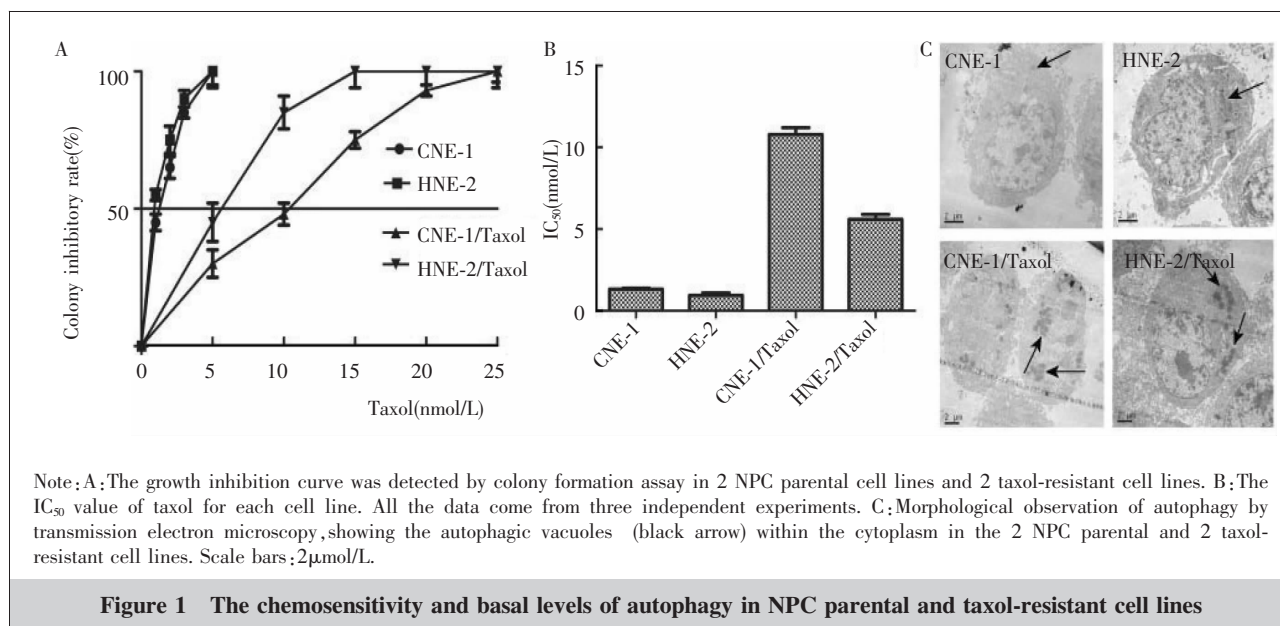
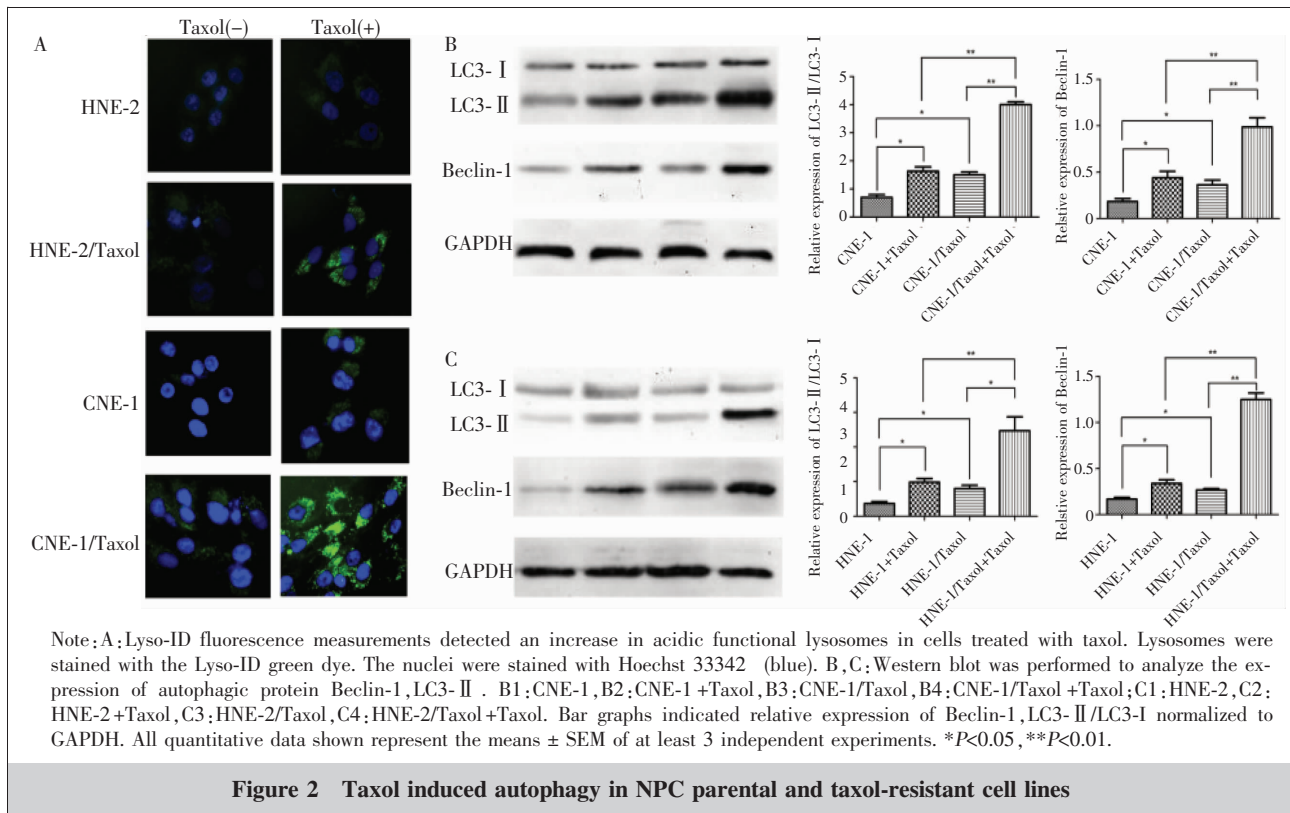


Figure 1 The chemosensitivity and basal levels of autophagy in NPC parental and taxol-resistant cell lines



2.2 人鼻咽癌亲本细胞和紫杉醇耐药细胞中自噬的基础表达水平

透射电子显微镜是检测自噬最可靠的实验方法之一^[16],在鼻咽癌亲本细胞系(CNE-1、HNE-2)和紫杉醇耐药细胞系(CNE-1/Taxol、HNE-2/Taxol)中均可观察到自噬空泡,但紫杉醇耐药细胞系中自噬空泡的数量多于亲本细胞(Figure 1C),提示自噬参与鼻咽癌细胞的紫杉醇耐药。

2.3 紫杉醇诱导人鼻咽癌亲本细胞及紫杉醇耐药细胞中的自噬

为了明确在鼻咽癌细胞中紫杉醇是否诱导自噬蛋白 Beclin-1、LC3- II 的表达,应用 Lyso-ID 溶酶体检测试剂盒,检测细胞质内的酸性囊泡,包括自噬体。用含有紫杉醇溶液(5nmol/L)的培养基培养 CNE-1、HNE-2、CNE-1/Taxol 和 HNE-2/Taxol 细胞12h后,细胞质内酸性囊泡的数量及体积均较处理前增多(Figure 2A)。

为进一步证实自噬参与紫杉醇耐药,采用蛋白印迹分析蛋白 Beclin-1、LC3- II 的表达水平。发现在用紫杉醇处理后的 CNE-1、HNE-2、CNE-1/Taxol 和 HNE-2/Taxol 细胞中蛋白 Beclin-1、LC3- II 的表达水

平均较前明显增高(Figure 2B、2C)。

2.4 抑制自噬增加人鼻咽癌耐药细胞系对紫杉醇的敏感性

已证实自噬蛋白 Beclin-1、LC3- II 在 CNE-1/Taxol 和 HNE-2/Taxol 细胞中高表达,并且紫杉醇可诱导自噬蛋白 Beclin-1、LC3- II 的表达。为进一步探究自噬在紫杉醇耐药中的具体作用,首先用自噬抑制剂 3-MA (2mmol/L,6h)对 CNE-1/Taxol 和 HNE-2/Taxol 细胞进行预处理,然后用含有不同浓度的紫杉醇溶液培养细胞,观察集落形成情况,计算细胞生长抑制。CNE-1/Taxol+3-MA 细胞的 IC_{50} 值为 $(6.25 \pm 1.0)nmol/L$,HNE-2/Taxol+3-MA 细胞的紫杉醇 IC_{50} 为 $(2.19 \pm 0.19)nmol/L$ 。这些结果表明用自噬抑制剂 3-MA 预处理鼻咽癌耐药细胞后,细胞的生长抑制率明显增加(P <0.01),以及鼻咽癌耐药细胞对紫杉醇的敏感性也较前明显增加(Figure 3A)。

为进一步验证上述实验,鼻咽癌紫杉醇耐药细胞(CNE-1/Taxol 和 HNE-2/Taxol)转染 siRNA 降低 Beclin-1 的表达水平。与阴性对照组相比,实验组 CNE-1/Taxol+siRNA 细胞中 Beclin-1 的表达下降了 29.35%,HNE-2/Taxol+siRNA 细胞中 Beclin-1 的表

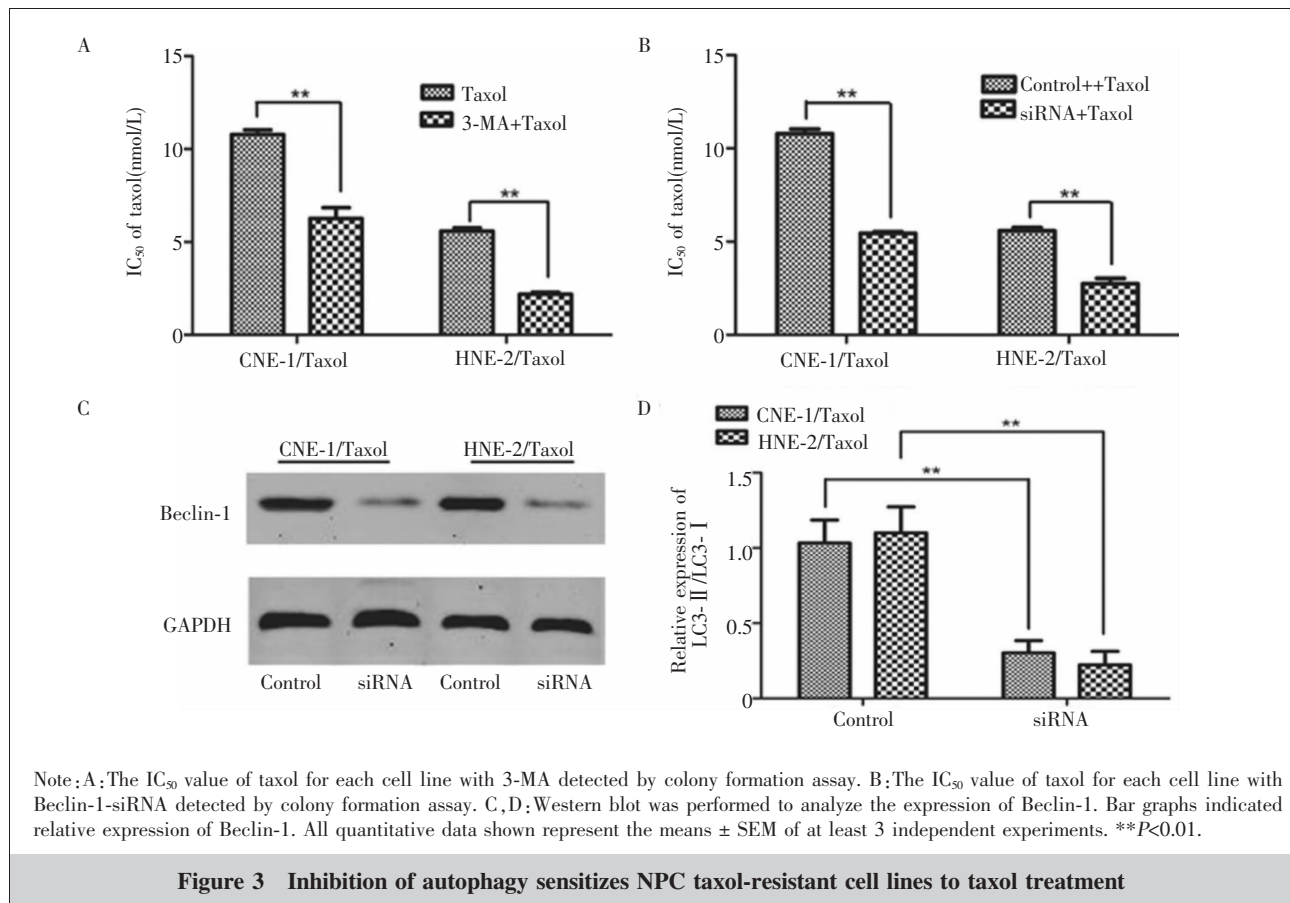


Figure 3 Inhibition of autophagy sensitizes NPC taxol-resistant cell lines to taxol treatment

达下降了 20.03%，且转染了 Beclin-1-siRNA 的 CNE-1/Taxol、HNE-2/Taxol 细胞对紫杉醇的敏感性明显高于阴性对照组 (Figure 3C, 3D)。转染 Beclin-1-siRNA 的 CNE-1/Taxol 细胞的 IC₅₀ 值为 (5.69±1.23) nmol/L，HNE-2/Taxol 细胞的 IC₅₀ 值为 (3.08±0.67) nmol/L (Figure 3B)。

2.5 抑制自噬增加人鼻咽癌亲本细胞系和耐药细胞系中紫杉醇诱导的细胞凋亡

为探究抑制自噬是否影响 CNE-1 和 CNE-1/Taxol 细胞中紫杉醇诱导的凋亡，用流式细胞仪检测自噬抑制剂 3-MA 对紫杉醇诱导的鼻咽癌细胞凋亡的影响。结果显示在添加了自噬抑制剂 3-MA 的亲本细胞及耐药细胞中紫杉醇诱导的细胞凋亡明显增加 (Figure 4A~4C)。

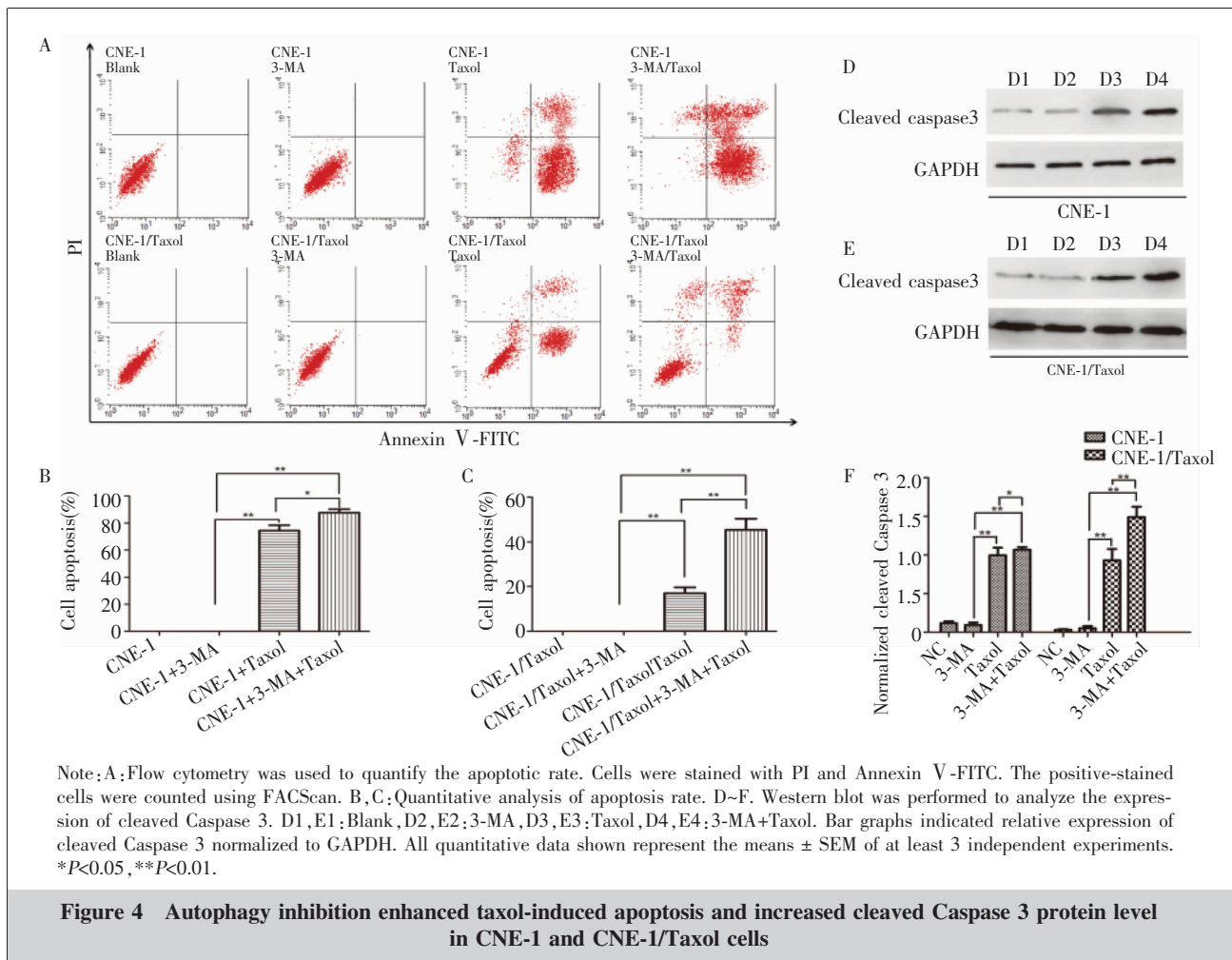
2.6 人鼻咽癌亲本细胞及紫杉醇耐药细胞中的 Caspase 家族基因在 cDNA 微阵列研究中的不同表达

Caspase 蛋白家族是细胞凋亡过程中重要的蛋白家族之一。通过比较鼻咽癌亲本细胞系 (CNE-1、HNE-2) 和耐药细胞系 (CNE-1/Taxol、HNE-2/Taxol) 的

基因表达谱，研究 Caspase 家族在鼻咽癌亲本细胞系和耐药细胞系中的不同表达水平。基因芯片显示，耐药细胞系中 Caspase 10、Caspase 8、Caspase 4、Caspase 3、Caspase 2 和 Caspase 1 的表达均较鼻咽癌亲本细胞系中的表达下调，其中蛋白 Caspase 8、Caspase 3 下调最明显。耐药细胞系中蛋白 Caspase 7、Caspase 6 的表达均较鼻咽癌亲本细胞系中的表达轻度上调，蛋白 Caspase 9 在 CNE-1/Taxol 细胞系中下调，在 HNE-2/Taxol 细胞系中上调 (Table 1)。

2.7 抑制自噬增加 Caspase-3 蛋白表达水平

为了进一步探究细胞凋亡和自噬与人鼻咽癌细胞对化疗敏感性之间的关系，我们在 CNE-1 细胞和 CNE-1/Taxol 细胞中均分别加入自噬抑制剂 3-MA 和紫杉醇溶液，检测细胞凋亡特异性标志物 Caspase 3 蛋白的表达。结果发现在 CNE-1 细胞和 CNE-1/Taxol 细胞中，同时加入自噬抑制剂 3-MA 和紫杉醇溶液其 Caspase 3 蛋白表达增加。表明自噬可能参与人鼻咽癌细胞中紫杉醇诱导的 Caspase 依赖性凋亡 (Figure 4D~4F)。



Note: A; Flow cytometry was used to quantify the apoptotic rate. Cells were stained with PI and Annexin V-FITC. The positive-stained cells were counted using FACSscan. B, C; Quantitative analysis of apoptosis rate. D~F. Western blot was performed to analyze the expression of cleaved Caspase 3. D1, E1: Blank, D2, E2: 3-MA, D3, E3: Taxol, D4, E4: 3-MA+Taxol. Bar graphs indicated relative expression of cleaved Caspase 3 normalized to GAPDH. All quantitative data shown represent the means $\pm$ SEM of at least 3 independent experiments. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

Figure 4 Autophagy inhibition enhanced taxol-induced apoptosis and increased cleaved Caspase 3 protein level in CNE-1 and CNE-1/Taxol cells

Table 1 Different expression of Caspase family genes between human NPC parental and taxol-resistant cells (fold change)

Caspase family	CNE-1/Taxol; CNE-1	HNE-2/Taxol; HNE-2
Caspase 10	0.68	0.38
Caspase 9	0.46	1.37
Caspase 8	0.18	0.20
Caspase 7	1.06	1.73
Caspase 6	2.19	1.25
Caspase 4	0.34	0.28
Caspase 3	0.17	0.29
Caspase 2	0.78	0.32
Caspase 1	0.66	0.86

3 讨 论

鼻咽癌在中国南方和东南亚地区的发病率较高,主要通过淋巴结转移至颈淋巴结,亦可通过血液

转移至骨、肺、肝。放射治疗是其主要治疗手段。对于早、中期患者,放疗效果明显,5年生存率大于80%^[17]。鼻咽癌的化疗有诱导化疗、同期化疗、辅助化疗以及三者相互组合的多种治疗方式^[18]。随着病变的进展,30%~40%患者出现远处转移和局部复发^[19]。转移性鼻咽癌的预后较差,一般认为其预后因素与患者的一般情况(行为状态评分、贫血)、疾病因素(出现转移的时间、转移类型、转移部位及数量)、治疗因素(化疗方案及强度、化疗周期数、是否进行联合治疗、对治疗的反应)有关,但尚缺乏多中心循证医学证据^[20]。过去几十年鼻咽癌在治疗方案上取得了巨大进步,但由于获得性耐药的发生,患者总体疗效欠佳^[21,22]。因此,考虑到紫杉醇在鼻咽癌治疗方面的广泛应用,寻找紫杉醇耐药的治疗靶点对提高临床疗效具有重要意义。

目前研究发现逆转耐药的机制包括减少药物的

吸收、增加药物的排泄等^[23,24]。到目前为止,这些机制尚未完全阐明。随着对自噬机制的深入了解,与自噬相关的基因在肿瘤靶向治疗方面存在可观的前景^[25,26]。然而,自噬在耐药方面的作用仍存在争议。在紫杉醇化疗中,自噬已被证明能减少肿瘤细胞死亡从而保护肿瘤细胞^[27-30];相反的,亦有文章证明自噬的表达增加了紫杉醇的敏感性^[31,32]。本文是首例研究自噬在紫杉醇治疗鼻咽癌中的作用机制的文章,结果显示鼻咽癌紫杉醇耐药细胞系的基础自噬水平高于亲本细胞系,抑制紫杉醇诱导的自噬水平能部分逆转紫杉醇耐药表型。以上结果表明自噬在鼻咽癌耐紫杉醇细胞中具有促进癌细胞生长的作用。

Maiuri 等^[33]表明自噬和凋亡在同一细胞中共存在且互相影响。为了探究自噬与细胞凋亡在紫杉醇治疗鼻咽癌中的关系,我们采用流式细胞术检测凋亡,结果发现在用紫杉醇溶液培养的细胞中加入自噬抑制剂 3-MA 可明显诱导细胞凋亡。为进一步探索自噬的表达抑制紫杉醇诱导细胞凋亡的潜在机制,基因芯片分析显示大多数 Caspase 家族基因在紫杉醇耐药细胞系中表达下调,蛋白印迹分析显示自噬抑制剂 3-MA 显著提高紫杉醇诱导的 Caspase 的表达水平,表明在鼻咽癌细胞中应用自噬抑制剂可增加紫杉醇诱导的 Caspase 依赖性凋亡。

总之,紫杉醇诱导的自噬能保护鼻咽癌细胞免受 Caspase 依赖性凋亡,抑制自噬能增强紫杉醇化疗的敏感性,本研究为以自噬信号通路上的关键分子为靶点逆转鼻咽癌紫杉醇耐药提供了理论基础。因此,对于紫杉醇耐药的鼻咽癌患者来说,应用自噬抑制剂可能是一种具有可观前景的、提高临床疗效的治疗方法。

参考文献:

- [1] Tian Z, Xia Q, Wang XY. PI3K/Akt signaling pathway and its research progress in nasopharyngeal carcinoma [J]. The Journal of Practical Medicine, 2016, 32(4): 678-680. [田忠, 夏婧, 王新颖. PI3K/Akt 信号通路及其在鼻咽癌发生发展中的研究进展[J]. 实用医学杂志, 2016, 32(4): 678-680.]
- [2] Li WD, Wei KR, Liang ZH, et al. An epidemiological exploration on risk factors of nasopharyngeal carcinoma in Zhongshan City [J]. Chinese Journal of Disease Control & Prevention, 2012, 16(6): 486-489. [李伟栋, 魏矿荣, 梁志

- 恒, 等. 中山市鼻咽癌流行病学危险因素探究[J]. 中华疾病控制杂志, 2012, 16(6): 486-489.]
- [3] Wei KR, Zheng RS, Zhang SW, et al. Nasopharyngeal carcinoma incidence and mortality in China, 2013[J]. Chinese Journal of Cancer, 2017, 6(1): 90.
- [4] Yi HM, Li YC, Zhong RH, et al. Expression, genetic and epigenetic alterations of LTF gene in nasopharyngeal carcinoma cell lines[J]. Chinese Journal of Oncology, 2010, 32(10): 729-733. [易红梅, 李艳春, 钟仁华, 等. 鼻咽癌细胞系中 LTF 基因的表达及遗传学与表观遗传学改变[J]. 中华肿瘤杂志, 2010, 32(10): 729-733.]
- [5] Hu CM, Zhang L. Nanoparticle-based combination therapy toward overcoming drug resistance in cancer [J]. Biochem Pharmacol, 2012, 83(8): 1104-1111.
- [6] Carew JS, Kelly KR, Nawrocki ST. Autophagy as a target for cancer therapy: new developments [J]. Cancer Manag Res, 2012, 4: 357-365.
- [7] Sahni S, Merlot AM, Krishan S, et al. Gene of the month: BECN1[J]. J Clin Pathol, 2014, 67(8): 656-660.
- [8] Guo XM, Chen Q. The function and application prospect of autophagy in tumor cells[J]. The Practical Journal of Cancer, 2017, 32(1): 171-172. [郭晓明, 陈琦. 自噬在肿瘤细胞中的功能与应用前景[J]. 实用癌症杂志, 2017, 32(1): 171-172.]
- [9] Holt SV, Wypianska B, Randall KJ, et al. The development of an immunohistochemical method to detect the autophagy-associated protein LC3-II in human tumor xenografts[J]. Toxicol Pathol, 2011, 39(3): 516-523.
- [10] Choi KS. Autophagy and cancer[J]. Exp Mol Med, 2012, 44(2): 109-120.
- [11] Hu YL, Jahangiri A, Delay M, Aghi MK. Tumor cell autophagy as an adaptive response mediating resistance to treatments such as antiangiogenic therapy[J]. Cancer Res, 2012, 72(17): 4294-4299.
- [12] Zou Z, Yuan Z, Zhang Q, et al. Aurora kinase A inhibition-induced autophagy triggers drug resistance in breast cancer cells[J]. Autophagy, 2012, 8(12): 1798-1810.
- [13] Mujumdar N, Saluja AK. Autophagy in pancreatic cancer: an emerging mechanism of cell death[J]. Autophagy, 2010, 6(7): 997-998.
- [14] Liu EY, Ryan KM. Autophagy and cancer -- issues we need to digest[J]. J Cell Sci, 2012, 125(Pt10): 2349-2358.
- [15] Peng X, Li W, Tan G. Reversal of taxol resistance by cisplatin in nasopharyngeal carcinoma by upregulation of thrombospondin-1 expression[J]. Anticancer Drugs, 2010, 21(4): 381-388.

- [16] Mizushima N. Methods for monitoring autophagy [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2004, 36(12): 2491–2502.
- [17] Qiu F, Guo L, Mo HY, et al. Clinical observation of combination of taxotere and nedaplatin in the treatment of PF regimen resistant metastatic and recurrent nasopharyngeal carcinoma [J]. *Chinese Journal of Oncology*, 2012, 19(3): 217–219. [邱枋, 郭灵, 莫浩元, 等. 多西他赛联合奈达铂治疗 PF 方案耐药复发转移鼻咽癌的临床观察[J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2012, 19(3): 217–219.]
- [18] Li YY, Jin F, Wu WL, et al. Clinical results of recombinant human endostatin combined with chemoradiotherapy for locally advanced nasopharyngeal carcinoma[J]. *Chinese Journal of Oncology*, 2015, 37(2): 128–132. [李媛媛, 金凤, 吴伟莉, 等. 重组人血管内皮抑制素联合放化疗治疗局部晚期鼻咽癌的初步临床研究[J]. *中华肿瘤杂志*, 2015, 37(2): 128–132.]
- [19] Yang ZP, Du YG, Xie YH, et al. Inhibition effects of combination of radiotherapy and endostar on rats with nasopharyngeal carcinoma xenografts and its mechanism[J]. *Chinese Journal of Cancer Prevention and Treatment*, 2012, 19(4): 259–262. [杨芝萍, 杜月光, 谢永红, 等. 人重组血管内皮抑素联合放疗对鼻咽癌 CNE-2 裸鼠移植瘤抑制及其机制的探讨 [J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2012, 19(4): 259–262.]
- [20] Chen JH, Zong JF, Wu JX, et al. Prognostic analysis of nasopharyngeal carcinoma patients with distant metastasis after curative radiotherapy[J]. *Chinese Journal of Oncology*, 2015, 37(3): 216–221. [陈炬辉, 宗井凤, 吴君心, 等. 根治性放疗后远处转移鼻咽癌患者的预后分析[J]. *中华肿瘤杂志*, 2015, 37(3): 216–221.]
- [21] Cao SM, Simons MJ, Qian CN. The prevalence and prevention of nasopharyngeal carcinoma in China[J]. *Chin J Cancer*, 2011, 30(2): 114–119.
- [22] Tebra S, Kallel A, Boussen H, et al. Medical treatment of nasopharyngeal cancers[J]. *Tunis Med*, 2011, 89(4): 326–331.
- [23] Gottesman MM. Mechanisms of cancer drug resistance. *Annu Rev Med*, 2002, 53: 615–627.
- [24] Szakcer D, Paterson JK, Ludwig JA, et al. Targeting multidrug resistance in cancer[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2006, 5: 219–234.
- [25] Shibutani ST, Saitoh T, Nowag H, et al. Autophagy and autophagy-related proteins in the immune system[J]. *Nat Immunol*, 2015, 16(10): 1014–1024.
- [26] Bao XH, Naomoto Y, Hao HF, et al. Autophagy: can it become a potential therapeutic target? [J]. *Int J Mol Med*, 2010, 25(4): 493–503.
- [27] Chen K, Shi W. Autophagy regulates resistance of non-small cell lung cancer cells to paclitaxel[J]. *Tumour Biol*, 2016, 37(8): 10539–10544.
- [28] Guo Y, Huang C, Li G, et al. Paclitaxel induces apoptosis accompanied by protective autophagy in osteosarcoma cells through hypoxia-inducible factor-1 α pathway[J]. *Mol Med Rep*, 2015, 12(3): 3681–3687.
- [29] Liu S, Li X. Autophagy inhibition enhances sensitivity of endometrial carcinoma cells to paclitaxel[J]. *Int J Oncol*, 2015, 46(6): 2399–2408.
- [30] Zhang SF, Wang XY, Fu ZQ, et al. TXNDC17 promotes paclitaxel resistance via inducing autophagy in ovarian cancer[J]. *Autophagy*, 2015, 11(2): 225–238.
- [31] Veldhoen RA, Banman SL, Hemmerling DR, et al. The chemotherapeutic agent paclitaxel inhibits autophagy through two distinct mechanisms that regulate apoptosis[J]. *Oncogene*, 2013, 32(6): 736–746.
- [32] Zou CF, Jia L, Jin H, et al. Re-expression of ARHI (DIRAS3) induces autophagy in breast cancer cells and enhances the inhibitory effect of paclitaxel [J]. *BMC Cancer*, 2011, 11: 22.
- [33] Maiuri MC, Zalcvar E, Kimchi A, et al. Self-eating and self-killing: crosstalk between autophagy and apoptosis [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2007, 8(9): 741–752.

致作者/通讯作者

本刊对所有来稿不收任何形式的审稿费,同行评议审稿费用由本刊承担。来稿刊登后即给作者/通讯作者通过邮局,以印刷品挂号形式寄赠当期杂志 2 册,如未能及时收到,请登录 <http://www.chinaoncology.cn> 在所在杂志页面信息公告栏目中查询该期杂志作者邮寄名单,凭“挂刷号”可在当地邮局查询。因办刊经费困难,从 2016 年起稿酬改为给作者/通讯作者寄赠当期杂志以后的 12 期杂志或合订本,每期 1 册。在此期间,如您的邮寄地址有变化,请及时联系本刊:QQ:729586420,电话/传真:0571-88122280, E-mail:zgzl_09@126.com