Archive of SID

DOI: 10.22122/jims.v39i628.13994 Published by Vesnu Publications

مجله دانشکده پزشکی اصفهان سال سی و نهم/شماره‌ی ۶۲۸/هفته‌ی چهارم مرداد ۱۴۰۰

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۲/۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۲/۳۰ تاریخ چاپ: ۱۴۰۰/۵/۲۸

ارتباط متقابل اتوفاژی و آپوپتوز در پیشرفت بدخیمی هپاتوسلولار کارسینوما

حمیرا صیدی[۱]، شکوفه ترابی[۲]، رؤیا رمضانخانی[۲]، بهاره شکوهیان[۳]، فائزه شکری[۴]، مسعود وثوق[۵]

مقاله مروری

چکیده

هپاتوسلولار کارسینوما (Hepatocellular carcinoma یا HCC) شایع‌ترین نوع بدخیمی کبد و بر اساس به‌روزرسانی اخیر Globocan در سال ۲۰۲۰، سومین علت مرگ و میر مرتبط با سرطان در جهان است. یکی از اهداف اصلی روش‌های درمانی مرسوم این بدخیمی، القای مرگ برنامه‌ریزی شده (آپوپتوز) در سلول‌های توموری است. از جمله مکانیسم‌های مهم تأثیرگذار در پاسخ سلول‌های توموری به آپوپتوز، فرایند اتوفاژی است. اتوفاژی، یک فرایند تخریب وابسته به لیزوزوم حفاظت شده است که به حفظ هموستاز و سازگاری متابولیکی سلول کمک می‌کند. آپوپتوز و اتوفاژی، دو مکانیسم اصلی در تنظیم مرگ و زنده‌مانی سلولی هستند. افزایش اتوفاژی در مراحل مختلف هپاتوسلولار کارسینوما، با افزایش بقای سلول‌های توموری و پیشرفت بدخیمی مرتبط است و از این طریق، فرار سلول‌های سرطانی از آپوپتوز را تسهیل می‌کند. مطالعات متعددی که به بررسی اثر مهار اتوفاژی در القای آپوپتوز سلول‌های توموری هپاتوسلولار کارسینوما پرداخته‌اند، حاکی از افزایش اثرات درمانی القا کننده‌های آپوپتوز پس از مهار اتوفاژی است. این مطالعه، به بررسی ارتباط متقابل اتوفاژی و آپوپتوز در بقای سلول‌های توموری هپاتوسلولار کارسینوما و تغییرات هدفمند تعادل بین این دو فرایند در درمان این بدخیمی پرداخته است.

واژگان کلیدی: نئوپلاسم کبد؛ کارسینوما هپاتوسلولار؛ آپوپتوز؛ اتوفاژی

ارجاع: صیدی حمیرا، ترابی شکوفه، رمضانخانی رؤیا، شکوهیان بهاره، شکری فائزه، وثوق مسعود. **ارتباط متقابل اتوفاژی و آپوپتوز در پیشرفت بدخیمی هپاتوسلولار کارسینوما.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۴۰۰؛ ۳۹ (۶۲۸): ۴۳۳-۴۲۱.

مقدمه

کبد، عضوی است که در عملکردهای متابولیسمی مختلف و مهم بدن دخیل می‌باشد و فعالیت سلول سرطانی کبد نسبت به حالت سالم، کاهش می‌یابد (۲-۱). این اندام از سلول‌های متفاوتی تشکیل شده است و ۸۰ درصد آن را هپاتوسیت‌ها (Hepatocytes) (سلول‌های پارانشیمی) تشکیل می‌دهند (۳). بر اساس نقش این اندام در تنظیم متابولیت‌ها و سم‌زدایی، نارسایی در عملکردهای کبدی ممکن است موجب طیف وسیعی از اختلالات با سطوح متفاوتی از شدت و حتی مرگ و میر شود (۲). هپاتوسلولار کارسینوما (Hepatocellular carcinoma یا HCC)، شایع‌ترین نوع سرطان کبد با میزان شیوع ۸۰-۷۰ درصد است. این بدخیمی، سومین علت مرگ و میر مرتبط با سرطان در جهان بوده است. برآوردها حاکی است که برخی مناطق آسیایی از نظر شیوع و موارد جدید بیماری و مرگ مرتبط با آن، رتبه‌ی اول را در میان قاره‌های جهان به خود اختصاص می‌دهند (۶-۴). طبق تحقیقات آژانس بین‌المللی سرطان و سازمان بهداشت جهانی، این بدخیمی علت بیش از ۷۸۲۰۰۰ مرگ در سال گزارش شده است و با نرخ بالای مرگ و میر به یکی از مشکلات بزرگ در حوزه‌ی سلامت جهان تبدیل شده است (۸-۷). در بسیاری از کشورهای جهان، میزان ابتلا به HCC در مردان ۴-۲ برابر بیشتر از زنان است (۹). از جمله مهم‌ترین عوامل افزایش دهنده‌ی ابتلا به این بدخیمی، اختلالات مزمن کبدی، ویروس‌های هپاتوتروپ نظیر ویروس‌های هپاتیت B و C، بیماری کبد چرب غیر الکلی (Nonalcoholic fatty liver disease یا NAFLD)، سمومی مانند آفلاتوکسین و استئاتوهپاتیت غیر الکلی

۱- دانشجوی دکتری بیولوژی تکوینی، مرکز تحقیقات علوم سلولی، پژوهشکده‌ی سلول‌های بنیادی، پژوهشگاه رویان، تهران، ایران
۲- دانشجوی دکتری علوم سلولی کاربردی، دانشکده‌ی فن‌آوری‌های نوین پزشکی، جهاد دانشگاهی پژوهشگاه رویان، تهران، ایران
۳- دانشجوی دکتری بیوتکنولوژی پزشکی، مرکز تحقیقات علوم سلولی، پژوهشکده‌ی سلول‌های بنیادی، پژوهشگاه رویان، تهران، ایران
۴- استادیار، مرکز تحقیقات علوم سلولی، پژوهشکده‌ی سلول‌های بنیادی، پژوهشگاه رویان، تهران، ایران
۵- دانشیار، مرکز تحقیقات علوم سلولی، پژوهشکده‌ی سلول‌های بنیادی، پژوهشگاه رویان، تهران، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: مسعود وثوق؛ دانشیار، مرکز تحقیقات علوم سلولی، پژوهشکده‌ی سلول‌های بنیادی، پژوهشگاه رویان، تهران، ایران
Email: masvos@Royaninstitute.org

This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 Unported License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

www.SID.ir

Archive of SID

(Non-alcoholic steatohepatitis یا NASH) است (۱۱-۹).

رویکردهای درمانی متداول برای این بدخیمی پیوند کبد، جراحی، شیمی درمانی و پرتودرمانی است (۱۲، ۷). به تازگی، استفاده از رویکردهای درمانی هدفمند مولکولی همانند مهار کننده‌های نقاط بازرسی سیستم ایمنی (Immune checkpoint inhibitors) و مهار کننده‌های رگ‌زایی پیشرفت زیادی داشته و اهداف ملکولی جدیدی در درمان هدفمند این بدخیمی مانند Transforming growth factor beta (TGFβ)، Fibroblast Growth Factor Receptor 4 (FGFR4) و Mesenchymal–epithelial transition (MET) نیز معرفی شده‌اند (۱۳). روش‌های درمانی بیماران مبتلا به سرطان کبد به دلیل ایجاد مقاومت دارویی و سمیت، اثربخشی متغیری داشته و تنها به بهبود نسبی در بیماران منجر شده است (۱۴). یکی از مکانیسم‌های درمانی رایج سیتوتوکسیک در درمان سرطان، فعال کردن نوع خاصی از مرگ برنامه‌ریزی شده‌ی سلولی (آپوپتوز) است (۱۵) که پروتئین‌های پیام‌رسان خاصی را هدف قرار می‌دهد که برای رشد سلول‌های سرطانی حیاتی است. پاسخ سلول‌های سرطانی به محرک‌های آپوپتوز، متفاوت می‌باشد و ممکن است پس از تیمار با عامل القا کننده‌ی آپوپتوز، به آستانه‌ی آپوپتوز نزدیک‌تر و یا از آن دورتر شوند. در القای آپوپتوز، پروتئین‌های مسیر پیام‌رسانی رشد و تکثیر سلولی مورد هدف قرار می‌گیرد. پاسخ سلول‌ها به این روش درمانی متفاوت است؛ به این صورت که بعضی سلول‌ها دچار آپوپتوز می‌شوند؛ در حالی‌که بعضی سلول‌ها با فعال‌سازی مکانیسم‌های سلولی دیگر که در اثر مهار شدن فرایند تکثیر القا می‌شود، از مرگ سلولی دورتر می‌شوند. یکی از فرایندهای مهمی که با مکانیسم‌های تنظیم کننده‌ی آستانه‌ی آپوپتوز در ارتباط است، اتوفاژی است (۱۴).

واژه‌ی اتوفاژی، منشأ یونانی دارد که به معنای «خود خواری» و از مکانیسم های پاتوفیزیولوژیکی است که با هدف زنده مانی و هموستاز سلولی القا می‌شود. اتوفاژی، فرایند هموستاتیک محافظت کننده‌ی سلولی است که طی آن، سلول‌ها اجزای سیتوپلاسمی و اندامک‌های خود را هضم و آن‌ها را در پاسخ به استرس در لیزوزم‌ها تخریب می‌کنند (۱۶). اجزای تنظیم کننده‌ی اتوفاژی با دستگاه‌های تنظیم کننده ی مرگ سلولی برنامه ریزی شده ارتباط تنگاتنگی برقرار می‌کنند که این ارتباط، امکان تعامل پویای قابل توجهی میان این دو فرایند ایجاد می‌کند (۱۴).

اتوفاژی بر اساس مکانیسم عمل به سه دسته تقسیم می‌شود که شامل ماکرواتوفاژی، میکرواتوفاژی و اتوفاژی تعدیل شده توسط پروتئین‌های چپرون (Chaperon) است. در بسیاری از مطالعات، این فرایند یکی از اهداف توسعه‌ی داروهای ضد سرطان کبد است (۱۴، ۷). نشانگرهای مرتبط با اتوفاژی مانند پروتئین ۱ زنجیره‌ی سبک ۳ مرتبط با میکروتوبول Microtubule-associated protein 1A/1B-light chain 3 (LC3) و بکلین ۱ (Beclin-1)، عوامل پیش‌آگهی بالقوه برای بدخیمی هپاتوسلولار کارسینوما است (۱۷). در بسیاری از مطالعات نیز نقش اتوفاژی در پیشرفت و همچنین، سرکوب بدخیمی‌های مجاری گوارشی آشکار شده است (۱۸).

هدف از انجام این مطالعه، بررسی مسیرهای مولکولی آپوپتوز و ارتباط این مسیرها با پروتئین‌های فعال کننده‌ی اتوفاژی است. همچنین، بررسی تأثیر احتمالی و ارتباط اتوفاژی با مهار یا القای آپوپتوز در پیشرفت و درمان بدخیمی HCC از اهداف این مطالعه است. علاوه بر آن، در صورت مؤثر بودن مهار اتوفاژی بر نزدیک شدن سلول‌ها به آستانه‌ی آپوپتوز، می‌توان از این راهکار به عنوان یک مسیر درمانی مشخص در کنترل هر چه بهتر بدخیمی شایعی مانند HCC استفاده کرد.

مرگ برنامه‌ریزی شده‌ی سلولی و ارتباط آن با درمان سرطان

مرگ برنامه‌ریزی شده‌ی سلولی (آپوپتوز) به طور معمول در دو مسیر داخلی و خارجی صورت می‌گیرد. در مسیر داخلی، مجموعه‌ای از پیام‌های پیش‌برنده مانند آسیب DNA، استرس، اشعه و کمبود عوامل رشد موجب افزایش نفوذپذیری غشای خارجی میتوکندری (Mitochondrial outer membrane permeabilization یا MOMP) می‌شود و به دنبال آن آزاد شدن سیتوکروم C (Cytochrome c) به داخل سیتوپلاسم، اتصال به عامل فعال کننده‌ی پروتئاز آپوپتوزی-۱ (Apoptotic protease activating factor-1 یا APAF-1) و شکل‌گیری آپوپتوزوم اتفاق می‌افتد (۱۹). آپوپتوزوم، منجر به فعال شدن کاسپاز ۹ می‌شود که آن هم به نوبه‌ی خود کاسپازهای مؤثر ۳ و ۷ را فعال می‌کند و سرانجام آپوپتوز اتفاق می‌افتد. در مسیر خارجی نیز اتصال گیرنده‌های مرگ خانواده‌ی عامل نکروز کننده‌ی تومور (Tumor necrosis factor یا TNF) به لیگاندهای خود باعث فعال شدن آبشار داخل سلولی می‌شود که باعث فعال‌سازی کاسپاز ۸ می‌گردد. کاسپاز ۸ فعال شده نیز در نهایت کاسپاز ۳ را فعال می‌کند (۱۹).

در فرایند مرگ برنامه‌ریزی شده‌ی سلولی، پروتئین‌های خانواده‌ی B-cell lymphoma2 (BCL2) دخیل است. پروتئین‌های مهاری این خانواده B-cell lymphoma2-like2 (BCL-W)، Myeloid cell leukemia1 (MCL-1) و B-cell lymphoma extra large (BCL-XL) است که وظیفه‌ی مهار فرایند آپوپتوز را بر عهده دارد. در مقابل، پروتئین‌های پیش‌آپوپتوزی این خانواده، B-cell lymphoma 2 (BCL2)، BCL2 homologous antagonist/killer (BAK) و Bcl2 Associated X (BAX) پروتئین‌های القا کننده‌ی آپوپتوز نامیده می‌شود و در نهایت، پروتئین‌های

www.SID.ir

Archive of SID

(BIM) BCL2- interacting mediator of cell death، (PUMA) P53 upregulated modulator of apoptosis، NOXA، (BAD) BCL2 Associated Agonist of Cell Death، BID، BIK و BMF نیز که به عنوان پروتئین‌های دارای یک دومین BH3 شناخته می‌شود، پروتئین‌های آغازگر آپوپتوز است (۲۰). یکی از ژن‌هایی که در مسیر آپوپتوز نقش مهمی ایفا می‌کند، P53 است. این پروتئین القا کننده‌ی ذاتی آپوپتوز است که در شرایط استرس‌زا و آسیب DNA فعال می‌شود و در ۵۰ درصد از سرطان‌ها دچار جهش می‌گردد (۲۱).

تعادل بین پروتئین‌های مهار کننده و القا کننده‌ی آپوپتوز، تعیین کننده‌ی وقوع یا عدم وقوع MOMP است که در نتیجه‌ی آن، سلول به آستانه‌ی مرگ نزدیک، و یا از آن دور می‌شود. این موضوع در درمان سرطان بسیار مورد توجه است؛ به طوری که هدف بیشتر رویکردهای درمانی، شروع MOMP و القای آپوپتوز است. روش مطلوب در درمان سرطان، القای سلول‌های سرطانی به عبور از آستانه‌ی آپوپتوزی خود و متعهد کردن به مرگ سلولی و جلوگیری از این حالت در سلول‌های سالم است. به علت ارتباط اجزای درگیر در تنظیم آستانه‌ی آپوپتوز و مکانیسم اتوفاژی، می‌توان برای دریافت پاسخ بهتر در درمان سرطان از دستکاری این مکانیسم به عنوان یک راهکار مؤثر استفاده کرد (۱۴).

اتوفاژی

فرایند اتوفاژی به منظور حفظ هموستاز سلولی با حذف تجمعات پروتئینی و اندامک‌های آسیب دیده در شرایطی همچون کمبود مواد غذایی، آسیب به DNA و آسیب به اندامک‌های سلولی فعال می‌شود (۲۲). این فرایند توسط ژن‌های مرتبط با اتوفاژی (Autophagy related genes یا ATGs) تنظیم می‌شود (۱۷). در واقع، عمل اتوفاژی موجب افزایش ایمنی سلول و مقاومت آن در برابر استرس، پیری و شکل‌گیری تومور می‌شود. نقش اتوفاژی در بروز سرطان بسیار پیچیده و قابل توجه است (۲۳).

مکانیسم اتوفاژی (ماکرواتوفاژی) فرایندی چند مرحله‌ای است که حدود ۲۰ پروتئین مرکزی اتوفاژی (ATG) در آن شرکت می‌کنند. این پروتئین‌ها وظیفه‌ی سازماندهی محتوای سیتوپلاسمی اتوفاژی را در خلال ساختار وزیکول غشایی دو لایه‌ای بر عهده دارند. این ساختار غشایی دو لایه (اتوفاگوزوم) به لیزوزوم‌های اسیدی ملحق و در نهایت، با فعالیت آنزیم‌های لیزوزومی حساس به pH، محتوای واکوئل اتوفاژی تخریب می‌شود (۲۵-۲۴).

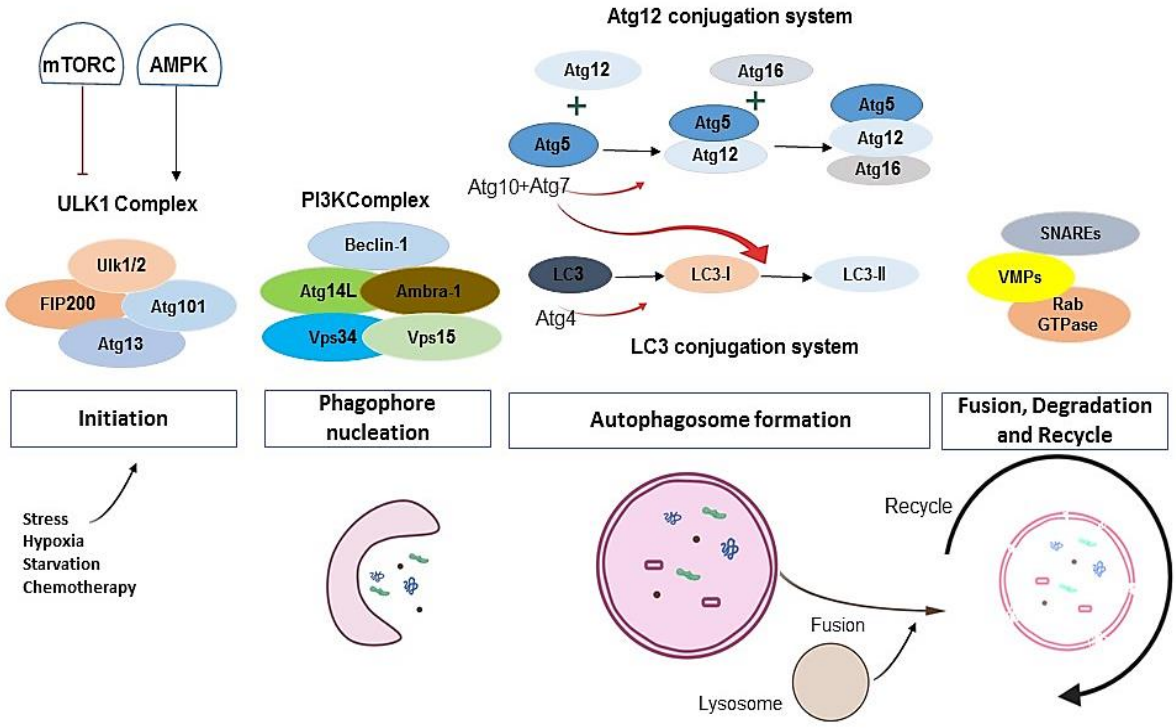
به صورت کلی، مراحل این فرایند به این صورت است که ۱- مرحله‌ی آغازین توسط مجموعه‌های پروتئین کیناز فعال شده با آدنوزین مونوفسفات (AMP-activated protein kinase یا AMPK)، کیناز ۱ شبیه به UNC51 (Unc-51 like autophagy activating kinase 1 یا ULK1) و کمپلکس The mammalian target of rapamycin (mTORC1) شروع می‌شود. ULK1 که آغاز کننده‌ی فرایند است، موجب فسفریله شدن فسفاتیدیل اینوزیتول کیناز-۳ (VPS34) می‌شود. کمپلکس mTORC1 با مهار ULK1 مانع شروع اتوفاژی و تشکیل اتوفاگوزوم می‌شود. ۲- تشکیل فاگوفور (غشای جدا شده که به طور معمول منشأ آن شبکه‌ی اندوپلاسمی است)، توسط مجموعه‌ی Beclin-1 –3-kinase Phosphoinositide (PI3KIII) صورت می‌پذیرد که شامل بکلین ۱، Vps34 (گروه ۳ PI3K)، p150 (هومولوگ Vps15)، ATG14L و Activating molecule in Beclin-1-regulated autophagy (Ambra-1) است. ۳- در این مرحله، فاگوفور به شکل یک اتوفاگوزوم کامل کشیده می‌شود. این فرایند توسط دو مجموعه‌ی پروتئینی کونژوگه شده‌ی شبه یوبی‌کویتین شامل ATG5-ATG12-ATG16L و LC3-II (ATG8) صورت می‌گیرد (LC3-I به LC3-II تبدیل و پس از تشکیل اتولیزوزوم تخریب می‌شود). ATG4 با ایجاد شکاف در LC3 به ایجاد LC3-I منجر می‌شود. پس از این مرحله، مجموعه‌ی ATG5، ATG7 و ATG3 با فعالیت آنزیمی به اتصال فسفاتیدیل اتانول آمین (PE) به LC3-II منجر می‌شود که در نتیجه، این ترکیب می‌تواند به غشای اتوفاگوزوم متصل شود. LC3-II متصل شده به غشای اتوفاگوزوم یک جایگاه اتصال برای پروتئین‌های آداپتوری است که سوبستراهای اتوفاژی را به سمت اتوفاگوزوم حمل می‌کند (۴). در مرحله‌ی پایانی، پس از الحاق اتوفاگوزوم و لیزوزوم، اتولیزوزوم ایجاد می‌شود و در نهایت، تخریب اتولیزوم و بازیافت محموله‌ی اتوفاژی صورت می‌گیرد (۲۶، ۲۴، ۱۷) (شکل ۱).

ارتباط مسیرهای اتوفاژی و آپوپتوز

سرنوشت سلول توسط چندین مسیر پیام‌رسانی و در پاسخ به محدوده‌ای از محرک‌های خارج و داخل سلولی تعیین می‌شود. به احتمال زیاد، اصلی‌ترین مکانیسم مرگ سلولی، آپوپتوز است. اگر چه اتوفاژی نیز در شرایط خاصی می‌تواند به مرگ سلولی منجر شود، عملکرد اصلی آن به عنوان فرایند حفاظتی، حفظ زنده‌مانی (بقای) سلول است (۱۹). رابطه‌ی آپوپتوز و اتوفاژی در سلول‌های سرطانی بسیار پیچیده است. تحت شرایط خاص محیطی، اتوفاژی و آپوپتوز می‌توانند تأثیرات هم‌افزایی داشته باشند؛ در حالی که در شرایط دیگر، می‌توانند یکدیگر را مهار کنند (۲۷). در ایجاد ارتباط بین این دو مسیر سلولی، عوامل حیاتی مانند پروتئین بکلین ۱، کاسپازها، پروتئین P53 و مسیر پیام‌رسانی PI3K/AKT/mTOR نقش دارند.

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱. مکانیسم و مجموعه‌های پروتئینی مشارکت کننده در مسیر اتوفاژی. در ابتدا از طریق محرک‌هایی مانند استرس، هیپوکسی، گرسنگی و یا اثر داروهای شیمی درمانی، تجمع پروتئین‌های آغاز کننده‌ی اتوفاژی صورت می‌گیرد و پس از آن، فاگوفور (غشای جدا شده) تشکیل و طی مراحل بعد گسترش اتوفاگوزوم، الحاق آن با لیزوزوم، تخریب اتوفاگوزوم و در نهایت بازیافت محموله‌ی اتوفاژی صورت می‌گیرد.

پروتئین سرکوب کننده‌ی تومور P53 در هر دو مسیر آپوپتوز و اتوفاژی شرکت می‌کند و بر اساس جایگاه قرارگیری و چگونگی فعال شدن، می‌تواند نقش متفاوتی را در سلول ایفا کند. به طور معمول، وقتی P53 در سیتوپلاسم قرار داشته باشد با مهار AMPK به مهار اتوفاژی منجر می‌شود؛ اما زمانی که در اثر استرس سلولی P53 فسفریله یا استیله و وارد هسته می‌شود، باعث القای رونویسی از ژن‌های مربوط به اتوفاژی و آپوپتوز می‌شود.

از طرفی، در شرایط خاصی نیز با انتقال به میتوکندری، باعث آغاز MOMP و در نهایت آپوپتوز سلولی می‌شود (۲۸). این پروتئین از طریق هدف‌گیری مستقیم Damage-regulated autophagy modulator (DRAM) (رمز کننده‌ی یک پروتئین لیزوزومی که در شرایط بدخیمی در ایجاد ماکرواتوفاژی نقش دارد)، موجب افزایش اتوفاژی نیز می‌شود (۲۹). AKT نیز پروتئینی است که هر دو مسیر آپوپتوز و اتوفاژی را تحت تأثیر قرار می‌دهد. AKT در غشای خارجی میتوکندری با فسفریله کردن BAD موجب آزاد شدن BCL2 و با جلوگیری از آزاد شدن سیتوکروم C، در نهایت به مهار آپوپتوز منجر می‌شود و از طرفی با فسفریلاسیون تعدادی از پروتئین‌های مربوط به مسیر اتوفاژی مانند ULK1، ATG6 و 2 Tuberous Sclerosis Complex (TSC2) اتوفاژی را سرکوب می‌کند (۳۰).

ملکول‌های کلیدی مؤثر در تنظیم ارتباط بین مسیر داخلی آپوپتوز و اتوفاژی

مهم‌ترین مولکول مؤثر برای بیان ارتباط مولکولی مستقیم بین اتوفاژی و مسیرهای پیام‌رسانی آپوپتوز، تنظیم کننده‌ی اتوفاژی، بکلین ۱ است. این پروتئین، جزء کلیدی مجموعه‌ی PI3KIII است که فعال‌سازی VPS34 را به منظور تشکیل فاگوفور و شروع اتوفاژی امکان‌پذیر می‌کند. مطالعات اولیه با استفاده از قطعات کوتاه پروتئین بکلین ۱، جایگاه اتصال BCL2 به اسید آمینه‌های ۱۵۰–۸۸ آن را ترسیم کرده است. بر اساس داده‌ها، BCL2 می‌تواند اتوفاژی وابسته به بکلین ۱ را در مخمرها و اتوفاژی ناشی از گرسنگی را در سلول‌های پستانداران مهار کند. در واقع، BCL2 با مهار بکلین ۱ و در نتیجه، جلوگیری از تشکیل مجموعه‌ی PI3KIII موجب مهار اتوفاژی می‌گردد (۱۹). با وجود این، انجام مهار به جایگاه قرارگیری BCL2 بستگی دارد؛ به گونه‌ای که در صورت قرارگیری این پروتئین در شبکه‌ی اندوپلاسمی، موجب مهار اتوفاژی می‌شود؛ اما در صورت قرار گرفتن در میتوکندری، آپوپتوز را مهار می‌کند. پروتئین BCL2 نه‌تنها از طریق ارتباط مستقیم با

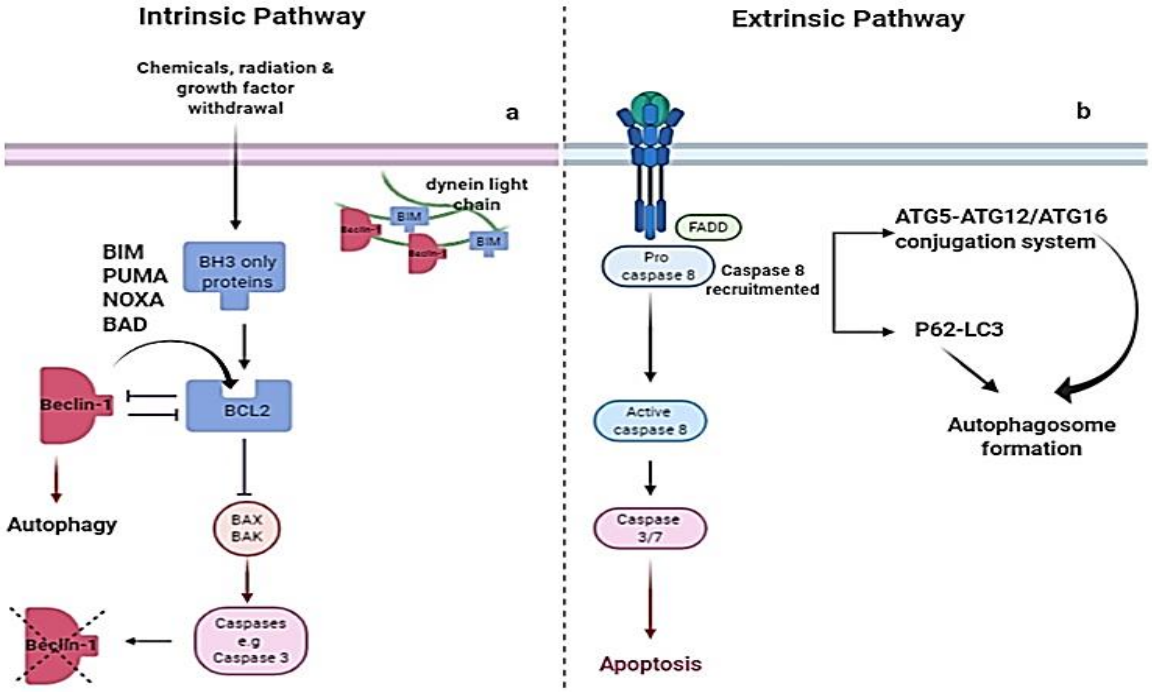
www.SID.ir

Archive of SID

بکلین ۱ می‌تواند اتوفاژی را مهار کند؛ بلکه از طریق جلوگیری از آزاد شدن کلسیم از شبکه‌ی اندوپلاسمی و به دنبال آن فعال شدن AMPK، مانع از راه‌اندازی اتوفاژی می‌شود (۲۹). همچنین، کاسپازها نیز صرف نظر از فعالیت آنزیمی خود می‌توانند فعالیت پروتئین‌های مرتبط با اتوفاژی را تنظیم کنند. کاسپازها با اتصال به بکلین ۱ موجب شکسته شدن و مهار فعالیت آن و بدین شکل، با مهار اتوفاژی موجب افزایش آپوپتوز خواهند شد. کاسپاز ۹ می‌تواند به عنوان تنظیم کننده‌ی اتوفاژی و آپوپتوز از طریق ارتباط با ATG7 عمل کند (۲۸). زمانی که ATGهایی مانند بکلین ۱ و ATG4D توسط کاسپازها شکسته می‌شود، عملکردشان تغییر می‌کند و با قرارگیری در میتوکندری موجب تقویت آپوپتوز تعدیل شده توسط میتوکندری می‌شود (۳۱). پروتئین پیش آپوپتوزی BCL2- interacting mediator of cell death (BIM) نیز به صورت منفی اتوفاژی را کنترل می‌کند و موجب قرارگیری نابه‌جای بکلین ۱ روی زنجیره‌های سبک پروتئین داینئین (LC8) اسکلت سلولی می‌شود (۱۹) (شکل ۲a).

ملکول‌های کلیدی مؤثر در تنظیم ارتباط مسیر خارجی آپوپتوز و اتوفاژی

فعال‌سازی مسیر خارجی آپوپتوز، همان‌طور که بیان شد با اتصال لیگاند به گیرنده‌های مرگ اعضای خانواده‌ی گیرنده‌ی عامل نکروزه کننده‌ی تومور (Tumor necrosis factor receptor یا TNFR) یعنی TRAILR1/R2 هستند، صورت می‌گیرد. اتصال لیگاند مرگ به گیرنده‌اش، موجب شکل‌گیری سکوی فعال‌سازی کاسپاز به نام مجموعه‌ی پیام‌رسانی القا کننده‌ی مرگ (Death inducing signaling complex یا DISC) می‌شود. در این مسیر، پروتئین آداپتور Fas-associated protein with death domain (FADD) موجب اتصال دنباله‌ی سیتوپلاسمی گیرنده‌ی مرگ به کاسپاز ۸ و فعال‌سازی آن می‌گردد (۱۹). از طرفی، اتصال FADD به مجموعه‌ی ATG5-ATG12/ATG16، فراخوانی کاسپاز ۸ برای تشکیل اتوفاگوزوم را امکان‌پذیر می‌کند و از این طریق، مانع اجرای آپوپتوز از طریق مسیر خارجی می‌شود (۱۹). پروتئین FADD دارای دو دومین است؛ دومین اتصالی به نام دومین مرگ و دومین مؤثر مرگ که اولی فعالیت متابولیکی ندارد و از طریق ارتباط با ATGها می‌تواند موجب افزایش اتوفاژی شود (۲۹). از طرف دیگر، کاسپاز ۸ از طریق ارتباط با پروتئین متصل شونده به یوبی‌کویتین (P62) و LC3، که در گسترش فاگوفور و تشکیل اتوفاگوزوم دخیل است، در پیشبرد اتوفاژی نقش ایفا می‌کند (۱۹) (شکل ۲b).



شکل ۲. ارتباط متقابل مسیرهای داخلی و خارجی آپوپتوز و اتوفاژی a) ارتباط پروتئین‌های مسیر داخلی آپوپتوز و پروتئین تنظیم کننده‌ی اتوفاژی (بکلین ۱). b) استفاده از پروتئین Caspase 8 توسط پروتئین‌های مسیر اتوفاژی به منظور تشکیل اتوفاگوزوم.
(این شکل توسط سایت https://app.biorender.com طراحی شده است).

www.SID.ir

Archive of SID

نقش اتوفاژی در مهار بدخیمی هپاتوسلولار کارسینوما

اتوفاژی پایه با حفظ پایداری ژنوم در سلول‌های طبیعی به عنوان سرکوب کننده‌ی تومور عمل می‌کند. یافته‌ها حاکی است که حذف بکلین ۱، ATG5 یا ATG7 با بروز فنوتیپ هپاتوسلولار کارسینوما در ارتباط است (۲۳). مطالعات در مدل‌های موشی هموزیگوت و هتروزیگوت فاقد ژن بکلین ۱ حاکی از کاهش قابل توجه فعالیت اتوفاژی و بروز بدخیمی‌هایی همانند هپاتوسلولار کارسینوما در موش‌ها بوده است (۱۷). همچنین، در مدل‌های تراریخته‌ی فاقد ژن‌های ATG7 و ATG5، فنوتیپ بدخیمی اولیه‌ی کبد مشاهده شد که این فنوتیپ، ناشی از هپاتوسیت‌های فاقد این ژن‌ها است (۲۳). علاوه بر این، نتایج مطالعات نشان داده است که تجمع سوبسترای اتوفاژی P62، ناشی از کاهش اتوفاژی، به افزایش آسیب‌های میتوکندریایی و استرس اکسیداتیو منجر می‌شود که آسیب بافتی مزمن و جهش ژنومی در سلول‌های پیش‌ساز کبدی را به دنبال خواهد داشت (۲۶).

نقش اتوفاژی در پیشرفت هپاتوسلولار کارسینوما

بسیاری از مطالعات در کنار نقش سرکوب کننده‌ی توموری اتوفاژی در سرطان کبد به بررسی نقش اتوفاژی در توسعه‌ی بدخیمی پرداخته است. سلول‌های سرطانی برای حفظ بقا و تکثیر خود در طی پیشرفت و تهاجم تومور به مواد غذایی و اکسیژن فراوان نیاز دارند؛ این در حالی است که به طور معمول، فرایند هیپوکسی یا عدم تعادل بین میزان اکسیژن در دسترس با اکسیژن مصرفی در محیط توموری رخ می‌دهد. در این شرایط، اتوفاژی به عنوان تنظیم کننده کلیدی هموستاز سلولی در حفظ و زنده‌مانی سلول‌های توموری عمل می‌کند. اتوفاژی ناشی از هیپوکسی، پتانسیل آپوپتوزی سلول‌های هپاتوسلولار کارسینوما و در نتیجه، پاسخ به درمان را کاهش می‌دهد (۲۳) و با حفظ متابولیسم اکسیداتیو یا تسهیل گلیکولیز، به پیشرفت روند تومورزایی منجر می‌شود (۲۲). شاخص تشکیل اتوفاگوزوم پروتئین LC3-II است و می‌تواند منعکس کننده‌ی القا و یا مهار اتوفاژی باشد (۱۷). بیان بیش از حد LC3-II با تهاجم عروقی و متاستاز HCC مرتبط است (۳۲). تحقیقات نشان می‌دهد که میزان mRNA LC3 در بافت‌های HCC به میزان قابل توجهی از سلول‌های پارانشیمی غیر توموری، بیشتر و با اندازه‌ی تومور مرتبط است. علاوه بر این، افزایش فعالیت اتوفاژی در مناطق هیپوکسیک توموری نیز مشاهده شده است (۱۷). در حالت گرسنگی، رادیکال‌های فعال اکسیژن به ویژه هیدروژن پراکسید (H_2O_2) در سلول‌های سرطانی تولید می‌شود. تولید این رادیکال‌های فعال اکسیژن، موجب ایجاد شرایط استرس اکسیداتیو می‌شود که به منظور تولید اتوفاگوزوم ضروری است و در صورتی که اتوفاژی نتواند بر این استرس اکسیداتیو ایجاد شده غلبه کند، سلول‌ها با مرگ سلولی روبه‌رو می‌شوند (۲۷).

بر این اساس، اتوفاژی نقش دو گانه‌ای در تومورزایی سلول‌های کبدی ایفا می‌کند؛ به این صورت که به منظور کاهش استرس اکسیداتیو و آسیب DNA، برای جلوگیری از آغاز تومورزایی کبد لازم است و برعکس، زمانی که تومور کبدی ایجاد شد، این فرایند باعث سرکوب بیان ژن‌های مهار کننده‌های توموری و در نتیجه به گسترش هپاتوسلولار کارسینوما منجر می‌شود (۳۳).

القای آپوپتوز از طریق مهار اتوفاژی در بدخیمی هپاتوسلولار کارسینوما

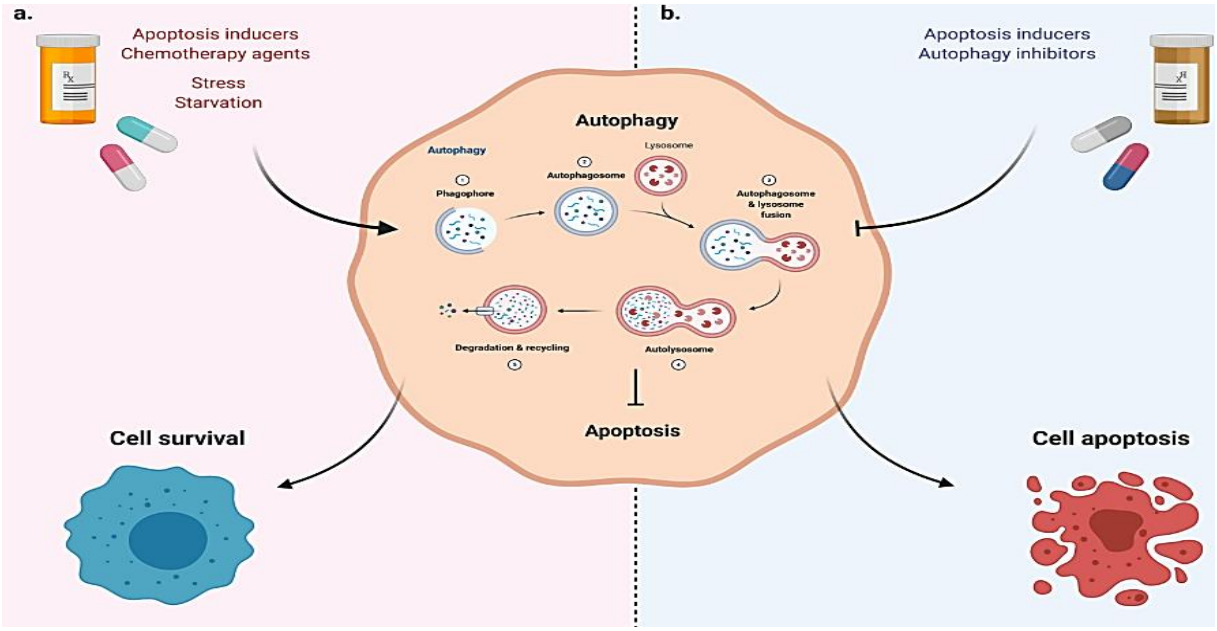
هپاتوسلولار کارسینوما، یکی از کشنده‌ترین بدخیمی‌ها در سراسر جهان است. با وجود درمان‌های پیشرفته‌ای که برای این بدخیمی وجود دارد، مقاومت به درمان و عدم القای آپوپتوز مشکل اساسی است (۲۲). نتایج بسیاری از مطالعات نشان دهنده‌ی تأثیر قابل توجه روش‌های ترکیبی شامل مهار کننده‌ی اتوفاژی کلروکین (Chloroquine یا CQ) و شیمی درمانی همزمان بر افزایش آپوپتوز در سلول‌های سرطانی و کاهش رشد تومور در مدل‌های زنوگرافت موش است (۲۷).

همان‌طور که اشاره شد، اتوفاژی دربدخیمی اولیه‌ی کبد نقش دوگانه‌ای دارد و با توجه به این که فرایندی وابسته به وضعیت (سالم یا سرطانی) است، در بدخیمی موجب فرار سلول‌های سرطانی از مرگ می‌شود و درمان را با محدودیت روبه‌رو می‌کند (۲۴). به منظور درمان بدخیمی‌هایی نظیر هپاتوسلولار کارسینوما، علاوه بر استفاده از داروهای ضد توموری در بسیاری از مطالعات، از مهار کننده‌های اتوفاژی به منظور جلوگیری از پیشرفت بیماری استفاده شده است. مهار اتوفاژی بقای سلول را کاهش و سمیت سلولی را در ترکیب با داروهای شیمی‌درمانی افزایش می‌دهد (۱۷) (شکل ۳).

مطالعات در سال ۲۰۱۸ نشان داد آپی‌ژنین (Apigenin) که یک فلاونوئید است، با اثر ضد توموری خود موجب مهار تکثیر و القای آپوپتوز و افزایش اتوفاژی در سلول‌های بدخیم کبدی می‌شود و اگر این ماده با مهار کننده‌ی اتوفاژی ۳-متیل آدنین (3-MA) همراه شود، می‌تواند به عنوان راهکار درمانی بالقوه برای بدخیمی اولیه‌ی کبد مورد استفاده قرار گیرد (۳۴). همچنین، بایکالین (Baicalein) (نوعی فلاونوئید) با هدف‌گیری Sar1-ADP ribosylation factor family of small GTPase (SAR1B GTPase) موجب مهار اتوفاژی، و در همراهی با القا کننده‌های آپوپتوز، موجب افزایش پاسخ سلول‌های بنیادی آغاز کننده‌ی تومور کبدی (Tumor initiating stem cell like cells یا TICs) به درمان می‌شود (۳۵). اپیگالوکاتچین ۳-O-گالات (Epigallocatechin-3-O-gallate یا EGCG) نیز در ترکیب با دوکسوروبیسین (Doxorubicin یا DOX)

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۳. تنظیم آپوپتوز از طریق مهار اتوفاژی در سلول‌های رده‌ی بدخیمی هپاتوسلولار کارسینوما. a) سلول‌های سرطانی در ریز محیط سرطانی و تحت شرایط درمان با داروهای شیمی‌درمانی در معرض آسیب بیشتر DNA، کمبود مواد غذایی و شرایط استرس‌زا قرار می‌گیرند که موجب فعال شدن مسیر اتوفاژی در این سلول‌ها می‌شود و سلول‌را از مرگ نجات می‌دهد. b) هنگامی که سلول‌های سرطانی هم‌زمان تحت تیمار با داروهای القا کننده‌ی آپوپتوز و مهار کننده‌های اتوفاژی قرار می‌گیرند، مرگ به صورت مؤثر در آن‌ها القا می‌شود. (این شکل توسط سایت https://app.biorender.com طراحی شده‌است).

باعث کاهش میزانATG5 و بکلین ۱ می‌شود و تشکیل اتوفاگوزوم را مهار می‌کند؛ از این رو، موجب افزایش پاسخ به القای آپوپتوز در سلول‌های رده‌ی بدخیمی کبد می‌شود (۳۶).

در مطالعه‌ی دیگری، نقش هم‌افزایی سورافنیب (Sorafenib) و مهار کننده‌های هیستون داستیلاز (HDACIs) در مهار تکثیر سلول‌های هپاتوسلولار کارسینوما در محیط آزمایشگاهی (in vitro)، دیده شده است. در این تیمار، افزایش اتوفاژی نقش جبرانی دارد و در صورت مهار اتوفاژی با القای کاهش بیان بکلین ۱ توسط siRNA و یا استفاده از مهار کننده‌ی اتوفاژی ۳-متیل آدنین، اثر سورافنیب در کاهش زنده‌مانی سلول‌های رده‌ی هپاتوسلولار کارسینوما تقویت می‌شود (۳۷). سورافنیب مهار کننده‌ی کینازی است که دارای تأییدیه‌ی Food and Drug Administration (FDA) برای درمان بدخیمی اولیه‌ی کلیه‌ها و کبد است. این دارو، از طرفی تکثیر را در سلول‌های بدخیمی کبدی کاهش می‌دهد، اما موجب افزایش میزان لیزوزوم می‌شود و از این طریق، با القای اتوفاژی، مقاومت به درمان ایجاد می‌کند. ورتپورفین (Verteporfin یا VP) مشتقی از بنزوپورفین است و در ابتدا در درمان سرطان به عنوان حساس کننده به نور (Photosensitizer) مورد استفاده قرار می‌گرفت؛ به این صورت که با فعال‌سازی نور غیر حرارتی به تولید رایکال‌های آزاد اکسیژن در سلول‌های توموری و مرگ این سلول‌ها منجر می‌شود. این دارو در غیاب نور نیز با مهار تشکیل اتوفاگوزوم خواص ضد توموری خود را ایفا می‌کند. ورتپورفین همراه با سورافنیب به افزایش نفوذپذیری غشای لیزوزوم (Lysosome membrane Permeabilization یا LMP) و آلکالیزه شدن آن، منجر می‌گردد و از این طریق، باعث کاهش اتوفاژی و زنده‌مانی سلول‌های سرطانی می‌شود. همچنین، ورتپورفین در همراهی با سورافنیب با مهار اتوفاژی، حساسیت به درمان را در بدخیمی اولیه کبد افزایش می‌دهد (۳۸). کلروکین تنها داروی مهارکننده اتوفاژی است که دارای تأییدیه FDA است. مکانیسم عمل این دارو از طریق مهار الحاق لیزوزوم و اتوفاگوزوم است و بر اساس مطالعات موجب مهار رشد و کاهش زنده مانی سلول‌های بدخیمی کبدی می‌شود (۳۹).

لینیفانیب (Linifanib) به عنوان یک داروی شیمی‌درمانی منجر به القای اتوفاژی شده است، اما زمانی که این دارو در همراهی با یک مهار کننده‌ی اتوفاژی (CQ) و یا مهار کننده‌ی ژن‌های تنظیم کننده‌ی اتوفاژی (ATG7 و ATG5) به کار رفته است، اثر ضد سرطانی این دارو در مدل‌های موشی بدخیمی اولیه‌ی کبدی افزایش یافته است (۴۰). اگزالی‌پلاتین (Oxaliplatin) که نتایج امیدوار کننده‌ای را در بالین در درمان بسیاری از تومورهای انسانی نشان داده است، موجب افزایش اتوفاژی در سلول‌های سرطانی و از این طریق، ایجاد مقاومت دارویی می‌گردد. این دارو همراه با یک مهار کننده‌ی الحاق لیزوزوم و اتوفاگوزوم منجر به افزایش میزان آپوپتوز از طریق افزایش بیان Caspase3 در رده‌ی سلولی HepG2 شده و حساسیت دارویی در

www.SID.ir

Archive of SID

رده‌های سلولی هپاتوسلولار کارسینوما را افزایش داده است (۴۱). بر اساس نتایج مطالعه‌ی جدیدی، افزایش بیان عامل YTH N6-Methyladenosine RNA Binding Protein 1 (YTHDF1) تحت شرایط هایپوکسی، منجر به القای اتوفاژی در سلول‌های سرطانی کبد می‌شود و از این طریق، میزان رشد و بقای سلول‌ها را افزایش می‌دهد. پس از تیمار سلول‌ها در این بدخیمی با ۳- متیل آدنین و بررسی میزان بیان پروتئین شاخص اتوفاژی (LC3)، نتایج نشان داده است که پس از کاهش بیان این پروتئین، میزان رشد و مهاجرت و تهاجم سلول‌های سرطانی و همچنین، قابلیت تومورزایی آن‌ها کاهش یافته است (۴۲). بعضی مواد شیمیایی با منشأ گیاهی مانند پلی‌فیلین I (Polyphyllin I) در جهت درمان انوع مختلفی از بدخیمی‌ها در مطالعات مورد استفاده قرار می‌گیرند. بر اساس یافته‌ها، این ماده موجب افزایش اتوفاژی در سلول می‌شود. به همین منظور، زمانی که در همراهی با یک مهار کننده‌ی اتوفاژی مورد استفاده قرار گرفته است، میزان اثر آن بر سلول‌های سرطان کبد افزایش یافته و افزایش آپوپتوز را در این سلول‌ها به دنبال داشته است (۴۳). سیس‌پلاتین (Cisplatin) با افزایش بیان آنزیم سیتوپلاسمی Branched-chain amino acid transaminase 1 (BCAT1) منجر به افزایش میزان اتوفاژی شده است. نتیجه‌ی مطالعات حاکی از نقش BCAT1 در کاهش میزان حساسیت سلول‌های سرطان کبد و مدل‌های زنوگرافت به سیس‌پلاتین است. تیمار سلول‌های رده‌ی سرطان کبد با مهار کننده‌ی اتوفاژی CQ و یا ۳- متیل آدنین موجب معکوس شدن نتایج و افزایش حساسیت سلول‌ها به درمان با سیس‌پلاتین و آپوپتوز القا شده توسط این دارو شده است (۴۴).

در مطالعه‌ی جدیدی، اثر لاکتون‌های موجود در عصاره‌ی گیاه Saussurea lappa بر مهار اتوفاژی در رده‌های سلولی هپاتوسلولار کارسینوما مورد بررسی قرار گرفته است. بر اساس این مطالعه، لاکتون‌های کاستونولید (Costunolide یا CL) و دهیدروکاستوس لاکتون (Dehydrocostuslactone یا DCL) با مهار اتوفاژی موجب افزایش تجمع P62 در سلول‌ها شده و کاهش تکثیر و افزایش میزان آپوپتوز را در سلول‌های این بدخیمی به همراه داشته است (۴۵). طبق نتایج جدیدترین مطالعات، کیتوالیگوساکارید (Chitooligosaccharides) که محصول هیدرولیز کیتوسان (یک پلی‌ساکارید زیست‌تخریب‌پذیر) است، دارای اثرات ضد توموری در انواع مختلف سرطان بوده است. اثر این ماده بر سلول‌های سرطان کبد، موجب القای آپوپتوز از طریق افزایش بیان پروتئین پیش-آپوپتوزی Bax می‌باشد. علاوه بر این، نتایج این مطالعه نشان داده است که کیتوالیگوساکارید به تنهایی و یا در همراهی با CQ موجب مهار اتوفاژی نیز می‌گردد و از این طریق، بقای سلول‌های رده‌ی هپاتوسلولار کارسینوما را کاهش می‌دهد (۴۶).

در کنار شیمی‌درمانی از MicroRNA نیز در تنظیم فعالیت اتوفاژی استفاده می‌شود. این قطعات ژنتیکی که توالی غیر کد شونده‌ی RNA است، در فرایندهای بیولوژیکی نقش اساسی ایفا می‌کند (۴۷) و در کنترل پیشرفت بدخیمی کبد تأثیر مهمی دارد. به نظر می‌رسد تغییرات MicroRNAها به شدت در گسترش بدخیمی اولیه‌ی کبدی نقش دارند (۴۸).

محققان چینی با القای بیان بیش از حد miRNA-30a در رده‌های سلولی هپاتوسلولار کارسینوما نشان دادند که افزایش بیان این MicroRNA به مهار متاستاز ایجاد شده در اثر اتوفاژی منجر می‌شود؛ به این صورت که موجب کاهش پروتئین‌های مهم پیش برنده‌ی اتوفاژی ATG5 و بکلین ۱ می‌شود و از این طریق، اتوفاژی را کاهش می‌دهد (۴۹). همچنین، دیگر مطالعات نشان می‌دهد که miRNA-142-3P و miRNA-26a/26b به ترتیب با هدف قرار دادن ژن‌های مرتبط با اتوفاژی ATG5/ATG16L1 و ULK1 باعث افزایش میزان آپوپتوز و حساس شدن سلول‌های رده‌ی بدخیمی اولیه‌ی کبد به درمان می‌شود (۵۱-۵۰).

یافته‌ها حاکی از آن است که در تیمار سلول‌های رده‌ی سرطانی کبد با miRNA-223، بقای سلول‌ها کاهش و حساسیت به دوکسروبیسین افزایش یافته است. این MicroRNA، موجب مهار اتوفاژی از طریق هدف‌گیری ژن Forkhead box O 3a (FOXO3a) می‌شود (۵۲). یافته‌های مربوط به مطالعه‌ای در سال ۲۰۲۰ نشان می‌دهد که miRNA-29b با هدف‌گیری ATG9A موجب کاهش اتوفاژی و در نتیجه، کاهش مقاومت دارویی در هپاتوسلولار کارسینوما شده است. طبق یافته‌ها، این MicroRNA در رده‌های سلولی این بدخیمی کاهش بیان داشته است (۵۳). در مطالعه‌ی دیگری محققان نشان دادند که miRNA-375 تحت شرایط هیپوکسی با اتصال به انتهای غیر قابل ترجمه‌ی ATG7 (3′UTR) و در نتیجه، کاهش بیان آن، اتوفاژی را مهار می‌کند و باعث افزایش آپوپتوز سلول‌های رده‌ی هپاتوسلولار کارسینوما در محیط آزمایشگاهی و مدل‌های موشی این بدخیمی می‌گردد (۵۴).

نتایج مطالعه‌ای که به بررسی اثر miRNA-375 بر کاهش اتوفاژی القا شده توسط سورافنیب پرداخته است، نشان می‌دهد که miRNA-375 با هدف‌گیری ژن ATG14 می‌تواند موجب کاهش مقاومت سلول‌ها نسبت به درمان به این دارو شود (۵۵). این یافته‌ها تأیید کننده‌ی نقش اتوفاژی در تنظیم آپوپتوز و همچنین، اثر تغییرات هدفمند در تنظیم تعادل میان دو فرایند و کمک به کنترل پیشرفت بدخیمی اولیه‌ی کبد است.

رویکردهای تعدیل کننده‌ی اتوفاژی و تقویت کننده‌ی آپوپتوز در بدخیمی اولیه‌ی کبد در مطالعات بررسی شده در جدول ۱ آمده است.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱. رویکردهای تعدیل کننده‌ی اتوفاژی و تقویت کننده‌ی آپوپتوز در بدخیمی اولیه‌ی کبد

نویسنده (گان)	پروتئین(ها)،mRNA(s)، یا مسیر پیام‌رسانی هدف	کوچک مولکول/ دارو	یافته‌ها
Yang و همکاران (۳۴)	LC3-II and PI3K/Akt/mTOR pathway	3-Methyle adenine & Apigenin	افزایش پاسخ سلول به آپوپتوز القا شده توسط آپی‌ژنین، مهار تشکیل اتوفاگوزوم
Wu و همکاران (۳۵)	SAR1B GTPase	Baicalein	افزایش حساسیت به در مان با مهار کننده‌های mTORC1،کاهش اتوفاژی القا شده توسط مهار کننده‌های mTORC1
Chen و همکاران (۳۶)	Beclin-1,ATG5,autophagosome formation	EGCG& Doxorubicin(DOX)	افزایش پاسخ به درمان با دوکسوروبیسین، کاهش اتوفاژی ایجاد شده توسط دوکسوروبیسین، افزایش آپوپتوز
Yuan و همکاران (۳۷)	Becline-1, cell growth	3-Methyle adenine/ Becline-1 siRNA & Sorafenib	کاهش زنده‌مانی و مهار رشد از طریق کاهش اتوفاژی
Gavini و همکاران (۳۸)	Proliferation, Lysosome membrane stability, RAS pathway	Verteporfin& Sorafenib	افزایش حساسیت به درمان با سورافنیب، افزایش نفوذپذیری غشای لیزوزوم، کاهش زنده‌مانی
Lee و Jeon (۳۹)	Autophagosome–lysosome fusion	Chloroquine	افزایش مرگ سلولی وابسته به میتوکندری، کاهش اتوفاژی
Pan و همکاران (۴۰)	Autophagosome–lysosome Fusion, ATG5,ATG7	Linifanib & Chloroquine /ATG5,ATG7 siRNA	افزایش حساسیت به درمان با لینیفانیب در مدل‌های موشی، افزایش آپوپتوز
Du و همکاران (۴۱)	Autophagosome–lysosome Fusion, ATG7	Oxaliplatin & Chloroquine / ATG7 siRNA	افزایش حساسیت به درمان با اگزی‌پلاتین، افزایش آپوپتوز از طریق بیان Caspase3
Li و همکاران (۴۲)	LC3-II	3-Methyle adenine	کاهش اتوفاژی، تکثیر، مهاجرت و تهاجم در رده‌های سلولی سرطانی، افزایش آپوپتوز در محیط In vivo
Shi و همکاران (۴۳)	Autophagosome–lysosome Fusion, PI3K/Akt/mTOR pathway	PolyphyllinI & Chloroquine	کاهش اتوفاژی، کاهش تکثیر، افزایش آپوپتوز القا شده (وابسته به بیان کاسپاز) توسط پلی‌فیلین I
Luo و همکاران (۴۴)	BCAT1, LC3-II, mTOR	Cisplatin & Chloroquine/ 3-Methyle adenine/ leucine	کاهش اتوفاژی، کاهش میزان آنزیم BCAT1، افزایش آپوپتوز، افزایش حساسیت به درمان با سیس‌پلاتین
Okubo و همکاران (۴۵)	LC3, p62	Costunolide & Dehydrocostuslactone	مهار اتوفاژی، مهار تکثیر سلولی
Zhu و همکاران (۴۶)	Bax/Bcl-2, Autophagosome–lysosome Fusion	Chitooligosaccharides & Chloroquine	مهار تکثیر، افزایش آپوپتوز، مهار اتوفاژی
Fu و همکاران (۴۹)	Beclin-1 and ATG5	miRNA-30a	مهار اتوفاژی القا شده با گرسنگی، کاهش متاستاز ایجاد شده به واسطه‌ی اتوفاژی در محیط In vitro و In vivo
Jin و همکاران (۵۰)	ULK1,Beclin-1 and ATG7	miRNA-26a/26b	افزایش حساسیت به دوکسوروبیسین، افزایش آپوپتوز، کاهش اتوفاژی
Zhang و همکاران (۵۱)	ATG5/ATG16L1	miRNA-142-3P	افزایش حساسیت به درمان با سورافنیب از طریق مهار اتوفاژی In vitro و In vivo، افزایش آپوپتوز
Zhou و همکاران (۵۲)	FOXO3a	miRNA-223	تقویت آپوپتوز القا شده توسط دوکسوروبیسین، مهار اتوفاژی
Chang و همکاران (۵۴)	ATG7, ATG14	miRNA-375	مهار اتوفاژی القا شده تحت هیپوکسی، افزایش آپوپتوز، افزایش حساسیت به سورافنیب
Yang و همکاران (۵۵)	ATG9A	miRNA-29b	مهار اتوفاژی، کاهش مقاومت دارویی

www.SID.ir

Archive of SID

نتیجه‌گیری

با توجه به این که هپاتوسلولار کارسینوما سومین علت مرگ و میر مرتبط با سرطان در جهان است و بر اساس جدیدترین آمار، میزان شیوع و بروز آن در مناطق آسیایی رو به افزایش است (۵-۴)، توجه به مکانیسم‌های مؤثر در درمان و کنترل پیشرفت این بدخیمی بسیار قابل توجه است. تا کنون تمرکز بیشتر رویکردهای درمانی بر افزایش میزان آپوپتوز در سلول‌های سرطانی با کمترین میزان آسیب به سلول‌های سالم بوده است؛ با وجود این، پاسخ‌های متفاوت سلول‌های سرطانی به درمان‌های رایج و مقاومت به درمان مشاهده شده است (۱۷). با توجه به تعامل مسیرهای آپوپتوز و اتوفاژی به منظور دریافت پاسخ بهتر از رویکردهای درمانی، دست‌کاری و تعدیل فرایند اتوفاژی در بسیاری از مطالعات مورد بررسی قرار گرفته است. بر اساس این مطالب، مهار اتوفاژی، القای آپوپتوز را در سلول‌های سرطانی تسهیل می‌کند؛ چرا که این سلول‌ها به علت قرارگیری در شرایط استرس‌زا و کاهش مواد غذایی به ویژه هنگام شیمی‌درمانی به آستانه‌ی آپوپتوز نزدیک هستند؛ اما اتوفاژی موجب کاهش استرس و افزایش زنده‌مانی می‌شود و آن‌ها را از این آستانه دور می‌کند. تنظیم هدفمند ارتباط متقابل بین اتوفاژی و آپوپتوز در سلول‌های توموری، می‌تواند موانع اصلی در درمان مؤثر و جامع سرطان را از بین ببرد. بنابراین، مهار اتوفاژی و یا همراهی آن با عوامل درمانی سرطان، می‌تواند به عنوان راهکاری مؤثر به منظور درمان سرطان پیشنهاد شود. در مورد بدخیمی اولیه‌ی کبد، نقش اتوفاژی در پیشرفت مراحل متفاوت این بدخیمی و مهار آن در کاهش مقاومت به درمان بررسی شده است. با وجود این، باید توجه کرد که اتوفاژی فرایندی بسیار وابسته به وضعیت سلولی است. بنابراین، توصیه می‌شود که برای درمان هر سرطان جداگانه و اختصاصی مورد بررسی قرار گیرد.

References

1. Ruoss M, Damm G, Vosough M, Ehret L, Grom-Baumgarten C, Petkov M, et al. Epigenetic Modifications of the Liver Tumor Cell Line HepG2 Increase Their Drug Metabolic Capacity. Int J Mol Sci 2019; 20(2): 347
2. Heydari Z, Najimi M, Mirzaei H, Shpichka A, Ruoss M, Farzaneh Z, et al. Tissue Engineering in Liver Regenerative Medicine: Insights into Novel Translational Technologies. Cells 2020; 9(2): 304.
3. Vosough M, Moslem M, Pournasr B, Baharvand H. Cell-based therapeutics for liver disorders. Br Med Bull 2011; 100: 157-72.
4. Singal AG, Lampertico P, Nahon P. Epidemiology and surveillance for hepatocellular carcinoma: New trends. J Hepatol 2020; 72(2): 250-61.
5. The Global Cancer Observatory. Cancer Tomorrow [Online]. [cited 2021]; Available from: URL: https://gco.iarc.fr/tomorrow/en
6. Koo SY, Park EJ, Lee CW. Immunological distinctions between nonalcoholic steatohepatitis and hepatocellular carcinoma. Exp Mol Med 2020; 52(8): 1209-19.
7. Kiruthiga C, Devi KP, Nabavi SM, Bishayee A. Autophagy: A potential therapeutic target of polyphenols in hepatocellular carcinoma. Cancers (Basel) 2020; 12(3): 562.
8. Shahriari Felordi M, Torabi S, Shokoohian B, Farzaneh Z, Mohamadnejad M, Malekzadeh R, et al. Novel Cell-Based Therapies in Hepatic Disorders. J Mazand Univ Med Sci 2020; 30(185): 184-208. [In Persian].
9. McGlynn KA, Petrick JL, El-Serag HB. Epidemiology of Hepatocellular Carcinoma. Hepatology 2021; 73(S1): 4-9.
10. Mardpour S, Hassani SN, Mardpour S, Sayahpour F, Vosough M, Ai J, et al. Extracellular vesicles derived from human embryonic stem cell-MSCs ameliorate cirrhosis in thioacetamide-induced chronic liver injury. J Cell Physiol 2018; 233(12): 9330-44.
11. Nahand JS, Jamshidi S, Hamblin MR, Mahjoubin-Tehran M, Vosough M, Jamali M, et al. Circular RNAs: New Epigenetic Signatures in Viral Infections. Front Microbiol 2020; 11: 1853.
12. Esmaeilzadeh A, Ommati H, Kooshyar MM, Jarahi L, Akhavan RK, Saberi S, et al. Autologous Bone Marrow Stem Cell Transplantation in Liver Cirrhosis after Correcting Nutritional Anomalies, A Controlled Clinical Study. Cell J 2019; 21(3): 268-73.
13. Faivre S, Rimassa L, Finn RS. Molecular therapies for HCC: Looking outside the box. J Hepatol 2020; 72(2): 342-52.
14. Tompkins KD, Thorburn A. Regulation of apoptosis by autophagy to enhance cancer therapy. Yale J Biol Med 2019; 92(4): 707-18.
15. Farzaneh Z, Vosough M, Agarwal T, Farzaneh M. Critical signaling pathways governing hepatocellular carcinoma behavior; small molecule-based approaches. Cancer Cell Int 2021; 21(1): 208.
16. Liu B, Oltvai ZN, Bayir H, Silverman GA, Pak SC, Perlmutter DH, et al. Quantitative assessment of cell fate decision between autophagy and apoptosis. Sci Rep 2017; 7(1): 17605.
17. Lee YJ, Jang BK. The Role of Autophagy in Hepatocellular Carcinoma. Int J Mol Sci 2015; 16(11): 26629-43.
18. Shafabakhsh R, Arianfar F, Vosough M, Mirzaei HR, Mahjoubin-Tehran M, Khanbabaei H, et al. Autophagy and gastrointestinal cancers: the behind the scenes role of long non-coding RNAs in initiation, progression, and treatment resistance. Cancer Gene Ther 2021.
19. Fairlie WD, Tran S, Lee EF. Crosstalk between apoptosis and autophagy signaling pathways. Int Rev Cell Mol Biol 2020; 352: 115-58.
20. Lomonosova E, Chinnadurai G. BH3-only proteins in apoptosis and beyond: An overview. Oncogene 2008; 27(Suppl 1): S2-19.
21. Aubrey BJ, Kelly GL, Janic A, Herold MJ, Strasser

www.SID.ir

Archive of SID

A. How does p53 induce apoptosis and how does this relate to p53-mediated tumour suppression? Cell Death Differ 2018; 25(1): 104-13.
22. Pang L, Liu K. Tumor-suppressing effects of autophagy on hepatocellular carcinoma. Liver Research 2018; 2(3): 157-60.
23. Liu L, Liao JZ, He XX, Li PY. The role of autophagy in hepatocellular carcinoma: friend or foe. Oncotarget 2017; 8(34): 57707-22.
24. Towers CG, Wodetzki D, Thorburn A. Autophagy and cancer: Modulation of cell death pathways and cancer cell adaptations. J Cell Biol 2020; 219(1.(
25. Pourhanifeh MH, Vosough M, Mahjoubin-Tehran M, Hashemipour M, Nejati M, Abbasi-Kolli M, et al. Autophagy-related microRNAs: Possible regulatory roles and therapeutic potential in and gastrointestinal cancers. Pharmacol Res 2020; 161: 105133.
26. Xue F, Hu L, Ge R, Yang L, Liu K, Li Y, et al. Autophagy-deficiency in hepatic progenitor cells leads to the defects of stemness and enhances susceptibility to neoplastic transformation. Cancer Lett 2016; 371(1): 38-47.
27. Gao L, Loveless J, Shay C, Teng Y. Targeting ROS-Mediated Crosstalk Between Autophagy and Apoptosis in Cancer. Adv Exp Med Biol 2020; 1260: 1-12.
28. Zhao GX, Pan H, Ouyang DY, He XH. The critical molecular interconnections in regulating apoptosis and autophagy. Ann Med 2015; 47(4): 305-15.
29. Thorburn A. Apoptosis and autophagy: regulatory connections between two supposedly different processes. Apoptosis 2008; 13(1): 1-9.
30. Noguchi M, Hirata N, Edamura T, Ishigaki S, Suizu F. Intersection of apoptosis and autophagy cell death pathways. Austin J Mol Cell Biol 2015; 2(1): 1004.
31. El-Khattouti A, Selimovic D, Haikel Y, Hassan M. Crosstalk between apoptosis and autophagy: molecular mechanisms and therapeutic strategies in cancer. J Cell Death 2013; 6: 37-55.
32. Wu DH, Jia CC, Chen J, Lin ZX, Ruan DY, Li X, et al. Autophagic LC3B overexpression correlates with malignant progression and predicts a poor prognosis in hepatocellular carcinoma. Tumour Biol 2014; 35(12): 12225-33.
33. Tian Y, Kuo CF, Sir D, Wang L, Govindarajan S, Petrovic LM, et al. Autophagy inhibits oxidative stress and tumor suppressors to exert its dual effect on hepatocarcinogenesis. Cell Death Differ 2015; 22(6): 1025-34.
34. Yang J, Pi C, Wang G. Inhibition of PI3K/Akt/mTOR pathway by apigenin induces apoptosis and autophagy in hepatocellular carcinoma cells. Biomed Pharmacother 2018; 103: 699-707.
35. Wu R, Murali R, Kabe Y, French SW, Chiang YM, Liu S, et al. Baicalein Targets GTPase-Mediated Autophagy to Eliminate Liver Tumor-Initiating Stem Cell-Like Cells Resistant to mTORC1 Inhibition. Hepatology 2018; 68(5): 1726-40.
36. Chen L, Ye HL, Zhang G, Yao WM, Chen XZ, Zhang FC, et al. Autophagy inhibition contributes to the synergistic interaction between EGCG and doxorubicin to kill the hepatoma Hep3B cells. PLoS One 2014; 9(1): e85771.
37. Yuan H, Li AJ, Ma SL, Cui LJ, Wu B, Yin L, et al. Inhibition of autophagy signi fi cantly enhances combination therapy with sorafenib and HDAC inhibitors for human hepatoma cells. World J Gastroenterol 2014; 20(17): 4953-62.
38. Gavini J, Dommann N, Jakob MO, Keogh A, Bouchez LC, Karkampouna S, et al. Verteporfin-induced lysosomal compartment dysregulation potentiates the effect of sorafenib in hepatocellular carcinoma. Cell Death Dis 2019; 10(10): 749.
39. Lee YG, Jeon TI. Modulation of the Autophagy-lysosomal Pathway in Hepatocellular Carcinoma Using Small Molecules. Molecules 2020; 25(7.(
40. Pan H, Wang Z, Jiang L, Sui X, You L, Shou J, et al. Autophagy inhibition sensitizes hepatocellular carcinoma to the multikinase inhibitor linifanib. Sci Rep 2014; 4: 6683.
41. Du H, Yang W, Chen L, Shi M, Seewoo V, Wang J, et al. Role of autophagy in resistance to oxaliplatin in hepatocellular carcinoma cells. Oncol Rep 2012; 27(1): 143-50.
42. Li Q, Ni Y, Zhang L, Jiang R, Xu J, Yang H, et al. HIF-1alpha-induced expression of m6A reader YTHDF1 drives hypoxia-induced autophagy and malignancy of hepatocellular carcinoma by promoting ATG2A and ATG14 translation. Signal Transduct Target Ther 2021; 6(1): 76.
43. Shi YM, Yang L, Geng YD, Zhang C, Kong LY. Polyphyllin I induced-apoptosis is enhanced by inhibition of autophagy in human hepatocellular carcinoma cells. Phytomedicine 2015; 22(13): 1139-49.
44. Luo L, Sun W, Zhu W, Li S, Zhang W, Xu X, et al. BCAT1 decreases the sensitivity of cancer cells to cisplatin by regulating mTOR-mediated autophagy via branched-chain amino acid metabolism. Cell Death Dis 2021; 12(2): 169.
45. Okubo S, Ohta T, Fujita H, Shoyama Y, Uto T. Costunolide and dehydrocostuslactone from Saussurea lappa root inhibit autophagy in hepatocellular carcinoma cells. J Nat Med 2021; 75(1): 240-5.
46. Zhu C, Zhao M, Fan L, Cao X, Xia Q, Zhou J, et al. Chitopentaose inhibits hepatocellular carcinoma by inducing mitochondrial mediated apoptosis and suppressing protective autophagy. Bioresources and Bioprocessing 2021; 8(1): 4.
47. Ashrafizadeh M, Zarrabi A, Hashemipour M, Vosough M, Najafi M, Shahinozzaman M, et al. Sensing the scent of death: Modulation of microRNAs by Curcumin in gastrointestinal cancers. Pharmacological Research 2020; 160: 105199.
48. Pomatto MAC, Bussolati B, D'Antico S, Ghiotto S, Tetta C, Brizzi MF, et al. Improved Loading of Plasma-Derived Extracellular Vesicles to Encapsulate Antitumor miRNAs. Mol Ther Methods Clin Dev 2019; 13: 133-44.
49. Fu XT, Shi YH, Zhou J, Peng YF, Liu WR, Shi GM, et al. MicroRNA-30a suppresses autophagy-mediated anoikis resistance and metastasis in hepatocellular carcinoma. Cancer Lett 2018; 412: 108-17.
50. Jin F, Wang Y, Li M, Zhu Y, Liang H, Wang C, et al. MiR-26 enhances chemosensitivity and promotes

www.SID.ir

Archive of SID

apoptosis of hepatocellular carcinoma cells through inhibiting autophagy. Cell Death Dis 2017; 8(1): e2540.

51. Zhang K, Chen J, Zhou H, Chen Y, Zhi Y, Zhang B, et al. PU.1/microRNA-142-3p targets ATG5/ATG16L1 to inactivate autophagy and sensitize hepatocellular carcinoma cells to sorafenib. Cell Death Dis 2018; 9(3): 312.

52. Zhou Y, Chen E, Tang Y, Mao J, Shen J, Zheng X, et al. miR-223 overexpression inhibits doxorubicin-induced autophagy by targeting FOXO3a and reverses chemoresistance in hepatocellular carcinoma cells. Cell Death Dis 2019; 10(11): 843.

53. Shi Y, Yang X, Xue X, Sun D, Cai P, Song Q, et al. HANR Enhances Autophagy-Associated Sorafenib Resistance Through miR-29b/ATG9A Axis in Hepatocellular Carcinoma. Onco Targets Ther 2020; 13: 2127-37.

54. Chang Y, Yan W, He X, Zhang L, Li C, Huang H, et al. miR-375 inhibits autophagy and reduces viability of hepatocellular carcinoma cells under hypoxic conditions. Gastroenterology 2012; 143(1): 177-87.

55. Yang S, Wang M, Yang L, Li Y, Ma Y, Peng X, et al. MicroRNA-375 Targets ATG14 to Inhibit Autophagy and Sensitize Hepatocellular Carcinoma Cells to Sorafenib. Onco Targets Ther 2020; 13: 3557-70.

www.SID.ir

Archive of SID

DOI: 10.22122/jims.v39i628.13994 Published by Vesnu Publications

Journal of Isfahan Medical School Vol. 39, No. 628, 4th Week, August 2021

Received: 24.04.2021 Accepted: 20.05.2021 Published: 26.08.2021

Autophagy and Apoptosis Crosstalk in Hepatocellular Carcinoma Progression

Homeyra Seydi[1], Shukoofeh Torabi[2], Roya Ramezankhani[2], Bahareh Shokoohian[3], Faezeh Shekari[4], Massoud Vosough[5]

Review Article

Abstract

Hepatocellular carcinoma (HCC) is the most common type of liver cancer and the third cause of cancer-related death worldwide based on a recent update of Globocan in 2020. The induction of programmed cell death (apoptosis) in tumor cells is one of the main targets of conventional therapies in cancer. One of the key mechanisms that impacts tumor cells apoptotic response is autophagy. Autophagy is a conserved lysosome-dependent degradation process that aids in the maintenance of cell homeostasis and metabolic compatibility. Apoptosis and autophagy are two main processes in controlling cell death and survival. Enhanced autophagy at various stages of HCC is related to increased tumor cells survival and malignancy development, allowing cancer cells to evade apoptosis. Various studies that investigated the effect of autophagy inhibition on apoptosis induction in HCC cells indicated that apoptosis inducers have a stronger therapeutic impact after autophagy inhibition. In this study, the crosstalk between autophagy and apoptosis in cells survival, as well as targeted alterations in the balance between these processes in HCC therapy are investigated.

Keywords: Liver neoplasms; Hepatocellular carcinoma; Apoptosis; Autophagy

Citation: Seydi H, Torabi S, Ramezankhani R, Shokoohian B, Shekari F, Vosough M. **Autophagy and Apoptosis Crosstalk in Hepatocellular Carcinoma Progression.** J Isfahan Med Sch 2021; 39(628): 421-33.

1- PhD Student in Developmental Biology, Department of Regenerative Medicine, Cell Science Research Center, Royan Institute for Stem Cell Biology and Technology, The Academic Center for Education, Culture and Research (ACECR), Tehran, Iran
2- PhD Student in Applied Cell Sciences, Department of Regenerative Medicine, Cell Science Research Center, Royan Institute for Stem Cell Biology and Technology, The Academic Center for Education, Culture and Research (ACECR), Tehran, Iran
3- PhD Student in Medical Biotechnology, Department of Regenerative Medicine, Cell Science Research Center, Royan Institute for Stem Cell Biology and Technology, The Academic Center for Education, Culture and Research (ACECR), Tehran, Iran
4- Assistant professor, Department of Stem Cells and Developmental Biology, Cell Science Research Center, Royan Institute for Stem Cell Biology and Technology, The Academic Center for Education, Culture and Research (ACECR), Tehran, Iran
5- Associate Professor, Department of Regenerative Medicine, Cell Science Research Center, Royan Institute for Stem Cell Biology and Technology, The Academic Center for Education, Culture and Research (ACECR), Tehran, Iran
Corresponding Author: Massoud Vosough, Associate Professor, Department of Regenerative Medicine, Cell Science Research Center, Royan Institute for Stem Cell Biology and Technology, The Academic Center for Education, Culture and Research (ACECR), Tehran, Iran; Email: masvos@Royaninstitute.org

www.SID.ir