

学校编码: 10384
学号: 32320141153397

分类号__密级__
UDC__

廈門大學

碩 士 學 位 論 文

**AGR2 蛋白在腫瘤細胞耐藥中的功能及機
制研究**

**The Function and Mechanism of AGR2 in Drug Resistant
Cancer**

王奉莉

指導教師姓名: 呂忠顯教授
專 業 名 稱: 化學生物學
論文提交日期: 2017 年 4 月
論文答辯時間: 2017 年 5 月
學位授予日期: 2017 年 月

答辯委員會主席: __
評閱人: __

2017 年 月

厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为()课题(组)的研究成果,获得()课题(组)经费或实验室的资助,在()实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名):

年 月 日

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

（ ） 1. 经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，
于 年 月 日解密，解密后适用上述授权。

（ ） 2. 不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

年 月 日

目录

摘要.....	1
Abstract	2
第一章 前言	4
1.1 肿瘤耐药性	4
1.1.1 肿瘤耐药性简介	4
1.1.2 肿瘤耐药性的机制	5
1.1.3 多样性耐药机制的应用	9
1.1.4 肿瘤耐药性的应对对策	10
1.2 AGR2 的功能及机制	12
1.2.1 AGR2 结构与生物学功能	12
1.2.2 AGR2 与肿瘤及肿瘤耐药性	16
1.3 本课题研究的意义	19
第二章 实验材料与方法.....	21
2.1 实验材料	21
2.1.1 细胞株.....	21
2.1.2 菌种及质粒.....	21
2.1.3 主要试剂.....	21
2.1.4 主要仪器.....	23
2.1.5 试剂盒.....	25
2.1.6 主要溶液及配制.....	25
2.2 实验方法.....	29
2.2.1 慢病毒过表达 AGR2 核心质粒的构建.....	29
2.2.2 转化 Stb13 菌株.....	29
2.2.3 慢病毒包装.....	29
2.2.4 慢病毒感染 BL-7402 细胞.....	30
2.2.5 AGR2 过表达稳转细胞系的筛选	30
2.2.6 乳腺癌细胞培养.....	30
2.2.7 肝癌细胞及其耐药细胞的培养.....	31
2.2.8 MTT 法检测 BL-7402 细胞和 BL-7402/FU 细胞的生存率	31
2.2.9 Western Blot 实验	31
2.2.10 细胞免疫荧光.....	32
2.2.11 siRNA 敲降 BL-7402/FU 细胞中的 AGR2.....	33
2.2.12 流式细胞仪检测细胞凋亡.....	33
2.2.13 TUNEL 法检测细胞凋亡.....	33
第三章 结果分析.....	35
3.1 耐药细胞株的鉴定.....	36
3.2 AGR2 在不同细胞中的表达检测	37
3.3 慢病毒构建 AGR2 过表达的 BL-7402 细胞系	39
3.4 过表达 AGR2 蛋白能提高 BL-7402 细胞的耐药性	40
3.5 敲降 AGR2 蛋白可以降低对 BL-7402/FU 细胞凋亡能力和增殖的影响	41

3.6 敲除 AGR2 对 MCF-7 细胞药物刺激下凋亡和增殖的影响	43
3.7 相关信号蛋白的检测	45
第四章 讨论	46
4.1 AGR2 蛋白在乳腺癌和肝癌细胞中的表达	47
4.2 AGR2 可以提高药物刺激下细胞的抗凋亡能力和增殖能力	47
4.3 相关机制的分析及预测	48
第五章 结论	50
参考文献	51
致谢	57

厦门大学博硕士论文摘要库

Content

Abstract in Chinese	1
Abstract	2
Chapter I Introduction	4
1.1 Drug resistance in tumor	4
1.1.1 Introduction to drug resistance in tumor.....	4
1.1.2 The mechanisms of drug resistance in tumor.....	5
1.1.3 Application of diversity mechanisms.....	9
1.1.4 Strategies to drug resistance in tumor.....	10
1.2 The Functions and Mechanisms of AGR2.....	12
1.2.1 Structure and Biological Functions of AGR2.....	12
1.2.2 AGR2 、 tumor and drug resistance in tumor.....	16
1.3 The significance of this research.....	19
Chapter II Experimental Materials and Methods.....	21
2.1 Experimental Materials.....	21
2.1.1 Cell lines.....	21
2.1.2 Bacteria and plasmids.....	21
2.1.3 Reagents.....	21
2.1.4 Instruments.....	23
2.1.5 Kits.....	25
2.1.6 Solutions and preparation.....	25
2.2 Methods.....	29
2.2.1 Construction of lentivirus core plasmid.....	29
2.2.2 Transformation of Stbl3 strain.....	29
2.2.3 Lentivirus packaging.....	29
2.2.4 BL-7402 cells were infected with lentivirus.....	30
2.2.5 Screening of AGR2 overexpression cell lines.....	30
2.2.6 Breast cancer cell culture.....	30
2.2.7 Culture of hepatocarcinoma cell and drug - resistant cell	31
2.2.8 The survival rate of BL-7402 cell and BL-7402/FU cell.. 31	31
2.2.9 Western Blot experiment.....	31
2.2.10 Cell immunofluorescence.....	32
2.2.11 siRNA knock down AGR2 in BL-7402/FU cell.....	33
2.2.12 Apoptosis detected by flow cytometry	33
2.2.13 Detection of apoptosis by TUNEL method.....	33
Chapter III Results and analysis.....	35
3.1 Identification of drug resistant cell lines.....	36
3.2 Expression of AGR2 in different cell lines.....	37
3.3 Construction of AGR2 overexpressing BL-7402 cell line	39

3.4 Overexpression of AGR2 protein can improve the resistance of BL-7402 cell.....	41
3.5 AGR2 knockdown can reduce apoptosis and proliferation in BL-7402/FU cell	41
3.6 Effects of AGR2 on apoptosis and proliferation of MCF-7 cell	43
3.7 Detection of related signaling proteins.....	44
Chapter IV Discussions	46
4.1 Expression of AGR2 protein in different cells.....	47
4.2 The effect of AGR2 in cell apoptosis and proliferation....	47
4.3 Analysis and prediction of related mechanisms.....	48
Chapter V Conclusions.....	50
References.....	51
Acknowledgements	57

摘要

前梯度蛋白 2 (anterior gradient-2, AGR2) 自发现以来就备受重视, 现阶段的研究主要集中于内源性和分泌性 AGR2 在各种肿瘤中的作用及机制。AGR2 蛋白结构特殊, 在细胞内定位广泛, 功能复杂多样。近期的一些研究证实 AGR2 可以与 IGF-1、HIF-1 α 、p38 等相互作用促进乳腺癌细胞对化疗药物的治疗产生耐药性。但是这些研究对于机制的研究都比较浅显, 而且对于 AGR2 在其他肿瘤的耐药性中是否发挥功能及发挥功能的方式、机制都没有研究。我们想通过我们的研究探究 AGR2 在不同肿瘤耐药性中发挥的作用, 并进一步总结出一条 AGR2 在肿瘤耐药性中发挥作用的通用机制。

本研究主要探究 AGR2 在乳腺癌细胞和肝癌细胞的耐药性中发挥的功能和机制, 以乳腺癌细胞 MCF-7 和肝癌细胞 BL-7402 及其耐药细胞 BL-7402/FU 为工具细胞。细胞免疫荧光实验和 Western Blot 实验结果均表明 AGR2 在 MCF-7 和 BL-7402/FU 细胞中高表达, 而在 BL-7402 细胞中的表达却很弱。AGR2 在肝癌细胞 BL-7402 和其耐药细胞 BL-7402/FU 中的差异表达是一个非常有趣的现象, 提示我们 AGR2 可能在肝癌细胞的耐药性中发挥作用。根据 AGR2 在各个细胞系中的表达量的不同构建 MCF-7-AGR2 敲除细胞系和 BL-7402-AGR2 过表达细胞系, 并用 siRNA 敲降 BL-7402/FU 中的 AGR2。在 BL-7402-AGR2 过表达细胞系中, 过表达 AGR2 后细胞的抗凋亡能力明显增强, 统计结果显示对照细胞和过表达细胞的实验结果有着显著的差异 ($p=0.0011 < 0.01$, $p=0.0005 < 0.001$)。在 MCF-7-AGR2 敲除细胞系的实验中显示敲除组凋亡细胞数量增多, 即细胞的抗凋亡能力降低, 而且 MTT 实验结果显示敲除组细胞的增殖能力也减弱 ($p=0.0003 < 0.001$)。除此之外, 用 siRNA 敲降 BL-7402/FU 细胞中的 AGR2 后, 用 Annexin V-FITC/PI 双染后经流式细胞仪检测发现敲降 AGR2 后的细胞凋亡比例增加, MTT 结果显示敲降细胞增殖能力也减弱。

综合以上研究结果, AGR2 可以调控细胞的增殖和抗凋亡能力, 使细胞能够在化疗药物的有效浓度中存活, 并使细胞产生对药物的耐受性, 最终导致肿瘤的耐药性。除此之外, 我们对 AGR2 在这些功能中所依赖的信号通路也有了初步的探讨, 为深入研究 AGR2 在肿瘤耐药性的功能及发挥功能的机制奠定了基础, 也

为应对肿瘤耐药性提供了一种新的治疗方案。

关键词：前梯度蛋白 2； 肿瘤耐药性； 凋亡和增殖

厦门大学博硕士论文摘要库

Abstract

Anterior Gradient-2(AGR2) attracted much attention since its discovery. At present, the research focused on the role and mechanism of endogenous and secretory AGR2 in various tumors. The structure of AGR2 protein is special, so it is widely located in the cell and the function is complex and diverse. Recent studies have shown that AGR2 interacts with IGF-1, HIF-1 α , p38, etc. to promote the resistance of breast cancer cells to the treatment of chemotherapeutic drugs. However, these studies are relatively simple for the mechanisms; the function and mechanism of AGR2 in other tumor resistance have not been studied. Through our study, we want to explore the role of AGR2 in the pathogenesis of different tumors and to further summarize the general mechanism of AGR2 in tumor resistance.

In this study, the effects and mechanisms of AGR2 on breast cancer and hepatocellular carcinoma resistance were studied. The breast cancer cell MCF-7 and hepatocellular carcinoma cell BL-7402 and its drug-resistant cell BL-7402/FU were used as the tool cells. The results of immunofluorescence assay and Western Blot showed that AGR2 was highly expressed in MCF-7 and BL-7402/FU cells, but was weak in BL-7402 cell. The differential expression of AGR2 in hepatocellular carcinoma cell BL-7402 and its drug resistant cell BL-7402/FU is a very interesting phenomenon, suggesting that AGR2 may play a role in the resistance of hepatocellular carcinoma cells. The MCF-7-AGR2 knockout cell line and BL-7402-AGR2 overexpressing cell lines were constructed according to the expression of AGR2, the AGR2 in BL-7402 / FU cell was knocked down by siRNA. In the BL-7402-AGR2 overexpressing cell line, the anti-apoptotic ability of the cell was significantly enhanced. The results showed that there were significant differences between the co

control cell and the overexpression cell ($p=0.0011 < 0.01$, $p=0.0005 < 0.001$).

In the MCF-7-AGR2 knockout cell line, the number of apoptotic cell in the knockout group was increased, that is, the anti-apoptotic ability of the cell was decreased ($p=0.0003 < 0.001$), and the MTT assay showed that the proliferation ability of the knockout cell was also weakened. In addition, knock down AGR2 in BL-7402/FU cell by siRNA, double staining cells with Annexin V-FITC/PI, then detected by flow cytometry. The result showed that after knock down AGR2, the proportion of apoptosis increased, MTT results showed cell proliferation is also weakened.

Based on these results, AGR2 can mediate cell proliferation and apoptosis, so that cells can survive in the efficacy of chemotherapy drugs, then the cells produce drug tolerance, ultimately lead to tumor resistance. In addition, we have a preliminary discussion on the signal pathways that AGR2 relies on in these functions, which lays a foundation for further study of AGR2's function and mechanism in drug resistant tumor, which may be strategies for drug resistance in tumor.

Keyword: AGR2; Drug Resistance in Tumor; Apoptosis and Proliferation

第一章 前言

恶性肿瘤是全球较大的公共卫生问题之一，极大地危害着人类健康，并且将会成为威胁人类健康的第一杀手。中国由于工业化、城镇化和人口老龄化进程的加快，以及不良的生活方式和环境污染等问题的存在面临的形势也愈发严峻。近些年来肿瘤一直都是科学家研究的热点和难点，虽然现在已有很多治疗肿瘤的药物和方法，但是化学疗法仍是肿瘤患者主要的治疗方法之一。在临床上，很多肿瘤在治疗早期经化疗药物治疗时可取得理想的治疗效果，但是，在接下来的治疗过程中肿瘤细胞都会或早或晚的以各种机制发生对抗肿瘤药物的耐药性，使肿瘤的治疗更加的困难。因此，肿瘤细胞的耐药性已成为提高癌症患者治疗效果和生存率的一个主要障碍。

1.1 肿瘤耐药性

1.1.1 肿瘤耐药性简介

肿瘤耐药性通常发生在肿瘤细胞接触化疗药物的早期，二十世纪四十年代在烷化药物中发现这一现象^[1, 2, 3]，尽管联合使用化疗药物能够提高肿瘤患者的存活率^[4, 5]，但是肿瘤细胞的耐药性依然是传统化疗方法和新型靶向疗法治疗过程中的一大难题^[6]。细胞培养的方法使我们能在体外研究肿瘤细胞耐药性，并且细胞系已经被广泛应用于研究相关的机制^[7]。耐药在化疗发展的早期就已经被发现，1986年人类发现了MDR1(ABCB1, Pgp)^[8]，接下来又相继发现了其他的药物外排蛋白^[9]。

肿瘤细胞产生耐药性的速度非常令人吃惊。从乳腺癌新辅助疗法早期的样本中，我们可以发现，在四个疗程的CMF化疗后，肿瘤细胞对化疗药物的敏感性就已经显示出了相当大的差别^[10]。从原代细胞培养中得到的肿瘤细胞与正常的细胞相比，肿瘤细胞药物靶点的表达降低而耐药机制相关的基因的表达却是上升的^[11]。现已明确的证实，肿瘤细胞对化疗药物的敏感性是由调控药物敏感和耐药相关机制的基因的相对表达量调控的，而药物敏感性和耐药机制的表达是由肿瘤基因和环境共同决定的^[12-14]。

多数肿瘤细胞最开始是对化疗药物治疗有反应的，但是，并不是所有的肿瘤细胞都会被杀死，剩余的细胞能够重新生长并产生肿瘤，并且对相当多的药物治疗不再有反应^[10]。这一现象并不是单一的机制可以解释的，即药物耐药远远不仅是由基因调控和突变引起的。因此，尽管在一些情况下获得性药物耐药看起来是由特定的突变引起的，但是更多情况下是快速耐药起源于多种非突变、非基因机制^[11, 13, 14]。

随着靶点药物如酪氨酸激酶抑制剂(TKIs)被应用到实际的治疗中，人们迅速的发现，之前对肿瘤细胞药物耐药性的产生速度的解释过快，实际上的产生速度要慢一些^[15-17]。在 GIST 中发现伊马替尼耐药性的产生是由一种新的突变引起的，并且这种突变开始是在个别细胞中产生的，其他的细胞对药物依然有反应^[18-20]。在其他以突变点为靶点的药物中也得到同样的结果，如在非小细胞肺癌中的表皮生长因子受体 (EGFR) 抑制剂^[21, 22]和在乳腺癌中的 HER2 抑制剂^[23, 24]。肿瘤可以通过激活可替代的信号通路来代偿 EGFR 的阻滞，如增强 MET 和改变肿瘤微环境^[25]。在 EGFR 抑制剂耐受的非小细胞肺癌患者的样本中也发现了 MET，有的患者通过伴神经内分泌分化发展为小细胞型肺癌^[26]。

1.1.2 肿瘤耐药性的机制

抗肿瘤药物耐药性的形成的潜在原则适用于我们研究的所有的抗肿瘤药物。肿瘤细胞药物耐药的机制有很多不同的类型，而且多种机制可能会同时发生，因此对抗肿瘤细胞药物耐药性的对策也会很复杂。

1.1.2.1 药物靶点的改变：尽管应用于化疗的药物与新型靶向药物的分子途径不同的现象很普遍，但是所有的药物都有靶点却是众所周知的事情。细胞可以通过多种方法改变这些靶点，而快速下调目的基因的表达量是一种常见的方法，比如阿霉素对拓扑异构酶 II α 的作用^[11]，但是更常见的方法是通过突变导致的更细微的药物靶点的改变如受体酪氨酸激酶抑制剂。如果药物靶点恰好是由其他分子激活的信号通路的一部分，细胞可能会激活另外的可替代的分子机制来代偿这一信号通路，ALK 融合基因阳性的肺癌中 EGFR 的突变就是一个很好的例子^[27, 28]。

1.1.2.2 药物外排泵的表达：ABC 转运蛋白超家族中的蛋白包含了很多可以转运多种底物的膜蛋白。这些转运蛋白除了有能力将毒素转运出细胞之外，还能转运其

他底物如氨基酸,肽段,糖类,脂类,类固醇,胆盐,核苷酸和内源性代谢产物等^[9]。这些泵通过将多种毒素排出细胞外进而保护细胞。传统的药物耐药就是由MDR1(ABCB1)基因调控的,这个基因编码一种膜上的异型生物质的泵分子,被称为P-gp。这个泵的作用相对混杂,它将药物泵出细胞外的速度可能会大于药物进入细胞的速度,表现为细胞的耐受性。它还是血脑屏障中众多重要分子中的一员,已被广泛研究。众多的研究也发现了很多其他的泵,人类基因组包含了49个ABC转运蛋白超家族分子^[9],它们中的很多都有转运泵出药物的功能。除了MDR1之外,最广为人知的就是多药耐药相关蛋白(MRP1, ABCC1)和乳腺癌相关蛋白(BCRP, ABCG2)。药物化学家在设计药物的时候会将药物外排的机制列入参考范围,使外排泵的问题减轻,但是一些TKI类药物包括吉非替尼和埃罗替尼依然会被泵出细胞外^[29, 30]。一些代谢物和核苷酸相关的外排泵也被证明很重要,如hENT1基因已被证明是化疗药物敏感性基因表达研究的重要的调节因子^[12-14]。在肿瘤细胞中会发生药物泵快速的表达上调,并导致肿瘤细胞的药物耐药性^[11]。

1.1.2.3 解毒机制的表达: 药物积累到一定浓度机会发生药物代谢,很多药物的药物代谢动力学是相似的,也包括肿瘤细胞在内,但是肿瘤细胞的药物代谢可能存在相当大的不均匀性。已有很多研究证明在一些癌症中像GST π 这样的分子的表达会上调,这也是导致肿瘤细胞耐药性的一个潜在的原因^[31]。药物在一些高度分化的肿瘤细胞腔表面的结合和排泄可能可以解释细胞分化和和一些药物敏感性之间的关系,但是这些还有待于进一步的验证^[32, 33]。药物代谢和解毒作用的改变是很多肿瘤核心的耐药机制。例如,这些过程已经在浆细胞癌——多发性骨髓瘤中被研究,多发性骨髓瘤的大多数患者病情会反复并最终死于该病^[34]。编码摄入载体,异型物质受体,I相和II相药物代谢酶和外排蛋白的350种基因在新确诊的多发性骨髓瘤患者中都被检测到。在患者中编码异形物质受体和解毒作用相关的基因的表达有一个总体的下调,这样的结果对于患者的治疗是不利的。但是在这些病人中编码芳基碳氢化合物受体,核转运蛋白和Nrf2通路以及ABC转运蛋白的基因的表达却是上调的。

1.1.2.4 对细胞凋亡和细胞死亡敏感性的减弱: 在1970s,细胞凋亡被Currie和其他研究者认为是一种特殊形式的细胞死亡^[35, 36]。细胞凋亡吸引了病理学家的注意力,但是直到到了Gerard Evan等人的时期,细胞凋亡才在实验中被研究清楚,逃避凋亡是肿瘤巩固其发展基础的方法,也是肿瘤细胞对化疗和靶点药物产生耐药性

的一种重要机制。其他形式的细胞死亡也可能是由抗肿瘤药物引发的，包括细胞坏死，坏死性凋亡和细胞自噬^[37]。在所有的这些情况中，耐药性最大的特点可能是生存信号通路的激活，生存信号通路可以阻止细胞死亡。但是并不是所有形式的细胞死亡都是一样的，导致细胞死亡的细胞的损伤程度也是可变的。这种情况尤其适用于细胞自噬，细胞自噬可以提高肿瘤细胞对化疗药物的敏感性或耐药性^[38]。在一些情况下，细胞自噬的抑制剂可以提高肿瘤对化疗药物的敏感性^[39]。坏死性凋亡是一种非半胱天冬酶（caspase）依赖性的细胞死亡方式，由受体相互结合蛋白激酶(RIP1 and RIP3)和 MLKL 诱导。坏死性凋亡在肿瘤治疗中的重要性还存在争议，但是它可能会规避抗凋亡机制^[40]。

1.1.2.5 DNA 损伤修复能力的提高：因为肿瘤必须获得永久性的基因组突变，因此肿瘤可以被看作是一种 DNA 修复性的疾病，这些基因的改变可以产生基因表型，是进一步获得突变必须的。肿瘤细胞一旦获得了一种 DNA 修复途径的突变，它就会在不同的修复途径中发生突变。最好的例子就是 BRCA1/2。BRCA1/2 是 DNA 双链修复途径中的核心组成成分，其发生突变后，肿瘤细胞就会依赖于另一个 DNA 修复组分 PARP1，PARP1 的功能是负责复制叉的前进^[41]。在这些细胞中抑制 PARP1 的表达可以引起细胞死亡。这就是协同杀伤力的观念^[42]，并且被认为是肿瘤细胞防御的潜在的薄弱环节。尽管这一观念可以使临床医生提高肿瘤细胞和正常细胞之间的识别指标，但是这些方法依然存在造成肿瘤细胞耐药的可能。DNA 损伤可以被细胞识别，如果细胞不能修复损伤即导致细胞凋亡。如果凋亡的可能性减小，细胞就可以从很多 DNA 损伤中存活下来；另外一种方法是上调 DNA 修复相关的基因。很多细胞这两种方法都会使用。

1.1.2.6 细胞增殖的改变：应对不可修复的 DNA 损伤的正常反应就是细胞凋亡，但是 Gerard Evan 在对二倍体纤维瘤母细胞的研究结果显示：不生长的细胞死亡门槛会更高。暂时性的细胞增殖减弱部分是通过 p53 调控的。P53 表达水平上升最初只表现为细胞周期的减少，只有在表达量积累到一定程度是才会激活细胞凋亡^[43]。

1.1.2.7 其他因素：除了这几种关键的机制外，还有一些其他的肿瘤细胞外部的因素会促进肿瘤细胞的耐药性。这些因素包括肿瘤基质和微环境的影响^[44, 45]，肿瘤内异质性中肿瘤干细胞的作用^[46]，细胞自噬和肿瘤内异质性^[47]。

尽管肿瘤耐药性的研究领域很多都集中在肿瘤细胞和肿瘤细胞形成耐药性

的能力上,但是细胞群落在提高对化疗的耐药性中也发挥了主要作用。化学疗法,靶向疗法和放射性疗法都会导致肿瘤微环境中不同细胞群落和影响因子的招募。这些细胞群落将会通过诱导不同类型的细胞和分子途径来促进肿瘤细胞的耐药性,以此对肿瘤的形成提供支持,例如通过促进细胞的增殖(改变细胞增殖)或者促进细胞存活(减弱细胞对凋亡的敏感性)。因为肿瘤微环境是不均匀的,所以可以为多种不同的耐药机制的产生提供条件。例如,肿瘤缺氧可以影响肿瘤细胞内的多条信号通路,因此组织缺氧可以促进耐药性的形成^[44]。

肿瘤干细胞可能也在肿瘤复发中发挥了重要作用,因为这些肿瘤干细胞(CSCs)可以利用多种机制规避化疗药物的疗效(ABC 转运蛋白超家族的表达,乙醛脱氢酶表达上调,改变应对DNA损伤的促生存蛋白的表达和信号通路的改变)^[48, 49]。肿瘤细胞对药物耐受性更高的后果就是肿瘤干细胞用药物更难治愈。例如,整合素 $\alpha v\beta 3$ 在肿瘤干细胞中的表达有多种形式,可以调控促生存信号通路包括激活KRAS信号通路,KRAS可能促进肿瘤细胞对TKI药物耐药性的形成^[50]。

细胞自噬是一个复杂的事件,因为诱导细胞自噬既可以促进细胞死亡也可以促进细胞存活。因此细胞自噬既可以影响抗肿瘤药物的疗效也可以促进细胞对药物耐药性的形成。在其作为细胞管家的作用中,细胞自噬可以通过清除损伤的细胞器和大分子物质的重新利用来对抗肿瘤的形成。但是在形成肿瘤的过程中,这种保护功能就会转变成促生存功能,即当肿瘤细胞应激时,细胞自噬可以使肿瘤通过降低来自环境条件的生存压力。降低生存压力可以通过增加不必要的蛋白质和细胞器的异化来实现。在这些情况下,抑制细胞自噬可能对克服化疗药物的耐药性有所帮助^[51]。

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库