Semnan University of Medical Sciences

KOOMESH

Journal of Semnan University of Medical Sciences

Volume 21, Issue 2 (Spring 2019), 205- 393

ISSN: 1608-7046

Full text of all articles indexed in:
Scopus, Index Copernicus, SID, CABI (UK), EMRO, Iranmedex, Magiran, ISC, Embase

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-04-30]

کومش- جلد ۲۱، شماره ۲ (پیاپی ۷۴)، بهار ۱۳۹۸

مقاله مروری

نقش اتوفاژی وابسته به توکسین‌های CagA و VacA هلیکوباکتر پیلوری در سرطان معده

بهمن یوسفی [۱](Ph.D)، مجید اسلامی [۲*](Ph.D)، پرویز کوخایی [۳و۴](Ph.D)، سعید ولی زاده [۲](Ph.D)، عبدالمجید قاسمیان [۵](Ph.D)

۱- گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان، ایران

۲ - گروه باکتری شناسی و ویروس‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان، ایران

۳ - مرکز تحقیقات سرطان، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان، ایران

۴- آزمایشگاه ایمونولوژی و ژن‌درمانی، مرکز سرطان کارولینسکا، بیمارستان دانشگاه کارولیسنکا، استکهلم، سوئد

۵- گروه میکروب‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی فسا، فسا، ایران

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۴۴۰۷۸۶۰۹ M.eslami@semums.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۳/۱۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۹/۱۷

چکیده

هلیکوباکترپیلوری باکتری میکروآئروفیلیک گرم منفی که به عنوان عامل القای التهاب مخاطی و سرطان معده معرفی شده است. از مهم‌ترین عوامل بیماری‌زای این باکتری فاکتورهای VacA و CagA که در سویه‌های بالینی با افزایش حدت بیماری همراه هستند. اتوفاژی یک مسیر تجزیه لیزوزومی محافظت شده که تخریب‌کننده محتوای سیتوپلاسمی بوده و در دفاع سلولی میزبان، بقا، تمایز و توسعه سلولی دارای اهمیت می‌باشد. اتوفاژی می‌تواند به هر دو شکل فعالیت سرکوب‌کننده توموری و یا کمک به پیشرفت سرطان داشته باشد و نقش مهمی در ایمنی میزبان و نگهداری هومئوستاتیک دارد. هلیکوباکترپیلوری می‌تواند مسیر اتوفاژی میزبان را از طریق فاکتورهای ویرولانس VacA و CagA تحت تاثیر قرار دهند و پیامدهای مهمی در سرطان‌زایی هلیکوباکترپیلوری داشته باشد. افزایش اتوفاژی در سلول‌های تومور مانع انباشت میتوکندری‌های غیرکارآمد می‌شود که می‌توانند تومورزایی را مختل سازند. در این مقاله مروری نتایج به‌دست آمده به این صورت بود که توانایی هلیکوباکترپیلوری برای دست‌کاری در مسیر اتوفاژی میزبان به عنوان یکی از جنبه‌های مهم پاتوژنز آن در نظر گرفته می‌شود و این‌که عفونت با هلیکوباکترپیلوری سبب ایجاد اتوفاژی در هر دو سلول‌های اپیتلیال معده و فاگوسیت‌های حرفه‌ای می‌شود. در سلول‌های اپیتلیال معده VacA فاکتور لازم برای ایجاد اتوفاژی می‌باشد. در حالی که CagA تنظیم‌کننده منفی این پدیده می‌باشد که با حذف این ژن از هلیکوباکترپیلوری اتوفاژی افزایش یافته و تولید سایتوکین‌های التهابی کاهش پیدا می‌کند.

واژه‌های کلیدی: اتوفاژی، سرطان معده، هلیکوباکتری پیلوری، آنتی ژن باکتریایی، پروتئین‌های باکتریایی

مقدمه

هلیکوباکتر پیلوری

هلیکوباکتر پیلوری باکتری گرم منفی کموارگانوتروف میکروآئروفیلیک که قبلاً تحت عنوان کمپیلوباکتر پیلوری نامیده می‌شد. هلیکوباکتر پیلوری اولین بار توسط مارشال و وارن از معده افراد جداسازی و کشت داده شد و به عنوان باکتری عامل القای التهاب مخاطی معرفی شد [۱]. هنگامی که باکتری تحت شرایط استرسی همچون فقر مواد غذایی، فشار اکسیژن، انکوباسیون طولانی، محیط حاوی مواد ممانعت‌کننده رشد مثل آنتی‌بیوتیک‌ها قرار بگیرد به فرم کوکوئیدی غیرقابل کشت (Viable but nonculturable) تبدیل می‌شود و در مورفولوژی و خصوصیات بیولوژیکی باکتری تغییر ایجاد می‌شود. اشکال کوکوئید به دو فرم دیده می‌شوند: فرمی که قادر به برگشت به حالت طبیعی است و فرمی که قادر به برگشت نیست. بازگشت اشکال کوکوئید به حالت اسپیرال، سبب عود بیماری و عدم ریشه‌کنی آن می‌گردد [۲].

اپیدمیولوژی

سرطان معده پنجمین سرطان شایع در جهان بعد از سرطان‌های ریه، سینه، کولورکتال و پروستات است. تقریباً دو سوم موارد سرطان معده در آسیای شرقی، اروپای شرقی و جنوب و مرکز آمریکا رخ می‌دهد نواحی که به عنوان جمعیت‌های در معرض خطر سرطان معده نامیده می‌شوند [۴،۳]. شیوع عفونت در کشورهای در حال توسعه شامل بیش از ۸۰٪ افراد بزرگ‌سال و در کشورهای توسعه‌یافته ۲۰٪ جمعیت ۳۰ سال و ۵۰٪ افراد مسن را شامل می‌شود. در کشورهای در حال توسعه درصد بالایی از کودکان تا ۱۰ سالگی آلوده می‌شوند، در حالی

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-04-30]

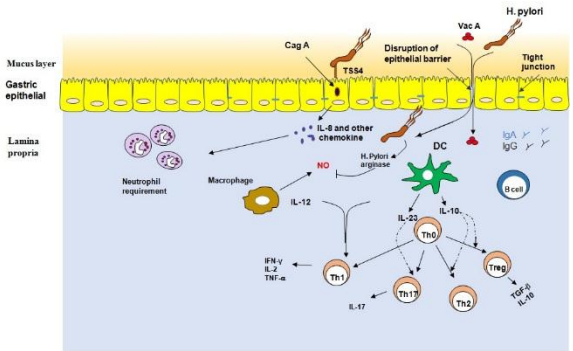
که در کشورهای توسعه‌یافته این رقم کم‌تر است. بروز عفونت مستقل از جنس می‌باشد و با افزایش سن، افزایش می‌یابد [۵]. اگر چه راه‌های انتقال عفونت به طور قطعی شناخته نشده، مطالعات اپیدمیولوژیک احتمال انتقال فرد به فرد را بیش‌تر مطرح می‌کند. انتقال توسط حیوانات، آب، مواد غذایی و اندوسکوپی نیز مطرح شده است [۳].

هلیکوباکتر پیلوری به عنوان یکی از موفق‌ترین پاتوژن‌های انسانی که تقریباً در معده نیمی از جمعیت جهان کلونیزه شده و در تمام طول عمر میزبان در بدن افراد باقی می‌ماند. کلونیزه شدن باکتری در موکوس معده در دوران بچگی اتفاق می‌افتد و در حدود ۱۰٪ از افراد آلوده بیماری‌های گاستریت و زخم معده تا لنفوم(MALT (Mucosa-Associated Lymphoid Tissue و سرطان معده نشان می‌دهند [۳]. انتقال از راه دهان به دهان احتمالاً بیش‌تر در کشورهای پیشرفته صورت می‌گیرد، ولی انتقال مدفوعی- دهانی بیش‌تر در کشورهای در حال توسعه صورت می‌گیرد. به جز موارد یاد شده، عوامل اجتماعی- اقتصادی هم‌چون فقر بهداشتی، ازدحام جمعیت، آلودگی آب، رفتارهای فردی مثل جوییدن غذای کودک توسط مادر از جمله عوامل موثر در میزان آلودگی در بیش‌تر کشورهای در حال توسعه می‌باشد [۶].

پاتوژنز هلیکوباکتر پیلوری

به نظر می‌رسد موفقیت هلیکوباکتر پیلوری در پاتوژنز به دلیل استراتژی‌های بقاء منحصر به فرد آن و توانایی فرار از سیستم ایمنی میزبان باشد. برای رسیدن به این هدف، هلیکوباکتر به تعدادی از فاکتورهای ویرولانس تکامل یافته مجهز شده است [۷]. دو تا از مهم‌ترین عوامل بیماری‌زایی این باکتری عبارتند از سم سیتوتوکسین واکوئله‌کننده (Vacuolating cytotoxin A, VacA) و پروتئین اجرایی همراه با سیتوتوکسین ژن A (Cytotoxin-associated gene A, CagA) می‌باشد. در سویه‌های بالینی، ژن CagA و VacA به شدت با افزایش حدت همراه هستند و سویه‌ها به دو نوع، نوع I (هر دو ژن CagA و VacA را بیان می‌کنند) و نوع II (فاقد بیان هر دو ژن CagA و VacA) طبقه‌بندی می‌شوند [۸].

هر فردی که حامل هلیکوباکتر پیلوری در معده‌اش می‌باشد، ارتشاح سلولی در مخاط معده خود دارند که در واقع آن را التهاب معده مزمن می‌نامند (شکل ۱) در اکثر بیماران (۸۰٪) هلیکوباکتر پیلوری علائم بالینی را ایجاد نمی‌کند و عفونت می‌تواند در تمام طول زندگی بدون این‌که مشکلی به‌وجود بیاورد همراه فرد باشد. ۱۰ تا ۲۰٪ از بیماران آلوده با تولید بیش از حد اسید معده همراه با زخم‌های گوارشی هستند، اما می‌توانند با آنتی‌بیوتیک درمان شوند. اما با توجه به شرایط عفونت و واکنش ایمنی بدن فرد نسبت به باکتری، درصد کمی (۰/۴-۱) از بیماران آلوده، مبتلا به آدنوکارسینوم معده می‌شوند. اگر چه عوامل تعیین‌کننده این نتیجه متغیر به خوبی شناخته نشده‌اند، توسعه واکنش التهابی و پاسخ ایمنی پایدار به عفونت به نظر می‌رسد برای توسعه بیماری محور اصلی باشند. سلول‌هایT در افراد آلوده تولید سایتوکاین-IFN γکه نسبت به IL-4 یاIL-5 غالب می‌باشد، نشان‌دهنده قطبیت شدید نسبت به پاسخ‌های ایمنی از نوع Th1 است. فاکتورهای ویرولانس هلیکوباکتر پیلوری نقش تعیین کننده‌ای در شروع تعاملات نزدیک با سلول‌های اپی‌تلیال میزبان و القاء التهاب در سطوح مخاطی معده می‌باشند. سویه‌های هلیکوباکتر پیلوری حاوی cag-PAI همراه با التهاب شدید ناحیه انترال معده، مقدار بالای سایتوکاین‌های مخاطی IL-1β و IL-8، زخم پپتیک و افزایش ترشح اسید در این بیماران می‌باشد. سایر عوامل مستعدکننده ابتلا به بیماری، مانند مدت زمان و بار میکروبی عفونت، ممکن است بر پیامدهای عفونت تاثیرگذار باشند، اما کم‌تر مورد مطالعه قرار گرفته‌اند. بررسی فاکتورهای اولیه عفونت (در کودکان) کم‌تر مورد مطالعه قرار گرفته است، اما نشان می‌دهد که این دوره پاسخ‌های پیش التهابی و سیتوکین‌های نوع Th1 در پاسخ به عفونت ایجاد می‌گردند. در بزرگسالان ارتشاح سلولی غالب سلول‌های نوتروفیل می‌باشند در حالی که در کودکان یک ارتشاح غالب از سلول‌های تک‌هسته‌ای و تکثیر بیش از اندازه فولیکول‌های لنفی ایجاد می‌شود. مکانیسم‌های اصلی تفاوت‌های آسیب‌شناسی بافتی و الگوی بیماری بین کودکان و بزرگسالان و مراحل اولیه و عفونت هنوز کاملاً مشخص نشده است [۹].



شکل ۱. پاتوژنز هلیکوباکترپیلوری و پاسخ های التهابی. هلیکوباکترپیلوری در لومن معده قرار می گیرد و با استفاده از آنزیم اوره از در اپی تلیوم معده تکثیر پیدا می کند. اتصال هلیکوباکترپیلوری به سلول های اپیتلیال و با تزریق CagA منجر به تولید IL-8 و دیگر کموکین ها می شود و فعال سازی پاسخ های سیستم ایمنی ذاتی و اکتسابی را در پی دارد[۹].

اگر چه هلیکوباکتر پیلوری به‌عنوان پاتوژن خارج سلولی تلقی می‌شود شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد که وارد سلول شده و در اتوفاگوزوم‌های ماکروفاژها، سلول‌های اپی‌تلیال معده

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-04-30]

و سلول‌های دندریتیک نیز تکثیر می‌کند [۱۰،۱۱]. عفونت با هلیکوباکتر پیلوری منجر به القای پاسخ‌های ایمنی ذاتی و انعطاف‌پذیری در میزبان می‌شود و پپتیدهای ضد میکروبی، تنظیم‌کننده‌های التهابی و انواع رادیکال‌های آزاد اکسیژن (Reactive oxygen species, ROS)تولید می‌شوند [۱۲]. سایتوکین‌ها توسط سلول‌های اپیتلیال به لامینا پروپریا آزاد می‌شوند که باعث فعال شدن ماکروفاژها، سلول‌های دندریتیک و دیگر واسطه‌های التهابی می‌شوند. سپس این پاسخ، ایمنی اولیه لنفوسیت‌های T، لنفوسیت‌های T تنظیمی، لنفوسیت‌های B و نوتروفیل‌ها را فعال می‌کند [۱۳]. تقریباً تمام افراد مبتلا به هلیکوباکتر پیلوری مبتلا به گاستریت مزمن می‌شوند. با این حال، فقط ۱۰ تا ۱۵٪ به بیماری زخم معده مبتلا می‌شوند و در ۱ تا ۳٪ هم سرطان معده ایجاد می‌شود. بنابراین، یک‌پارچگی پیچیده‌ای میان میزبان، محیط رشد و فاکتورهای باکتریایی وجود دارد که می‌توانند بر سرطان‌زایی این عفونت تاثیرگذار باشند [۱۳]. در سال‌های اخیر نشان داده شده است هلیکوباکتر پیلوری می‌تواند مسیر اتوفاژی میزبان را تحت تاثیر قرار داده، که یک فرایند حفاظت شده می‌باشد که در آن پروتئین‌های سیتوزولی، اندامک‌ها و پاتوژن‌ها در درون سلول جدا شده، هضم و تجزیه می‌گردند. مطالعات اخیر نشان می‌دهد که VacA می‌تواند مسیر اتوفاژی میزبان را دچار تغییراتی بکند که نتیجه آن ممکن است پیامدهای مهمی در سرطان‌زایی هلیکوباکتر پیلوری داشته باشد [۱۴].

اتوفاژی در عفونت هلیکوباکتر پیلوری

اتوفاژی، به معنای واقعی کلمه، خوردن خود می‌باشد، فرایندی است که در آن پروتئین‌های سلولی، اندامک‌ها و پاتوژن‌های درون سلولی داخل یک هلال غشایی جداسازی می‌شوند که به تدریج به طول آن اضافه شده و ساختار دو لایه غشایی متصل به هم را ایجاد می‌کنند که به آن اتوفاگوزوم گفته می‌شود. فیوز و اتصال اتوفاگوزوم با لیزوزوم، تشکیل یک اتوفاگولیزوزمی را می‌کند که آنزیم‌های تجزیه‌کننده را به داخل محفظه می‌رساند و منجر به تجزیه و هضم محتوای اتولیزوزم می‌شود. این فرآیند می‌تواند به صورت انتخابی یا غیر انتخابی باشد. اتوفاژی غیر اختصاصی تحت شرایط استرس و گرسنگی افزایش پیدا می‌کند و شامل تخریب حجم قابل توجهی از اجزای سیتوزولی برای فراهم کردن مواد مغذی سلولی می‌باشد. در مقابل، اتوفاژی انتخابی شامل هدف‌گذاری اختصاصی برای اندامک‌های آسیب‌دیده و یا پاتوژن‌های مهاجم می‌باشد. برای اتوفاژی انتخابی معمولاً "برچسب (Tag)" (به عنوان مثال از یوبیکوئیتین) برای شناسایی محموله برچسب زده شده برای تخریب اتوفاژیک مورد نیاز است [۱۵].

اتوفاژی از طریق محرک‌های شیمیایی مثل هیپوکسی، تخلیه انرژی، دما، هورمون‌ها، عوامل دارویی، سیتوکین‌ها و پیشرفت بیماری ایجاد می‌شود. در مقابل اتوفاژی ناقص دلالت بر پاتوژنز سرطان‌ها، سال‌خوردگی، آسیب نورونی، بیماری‌های عفونی و بیماری التهابی روده (IBD) دارد [۱۶]. در کارسینوژنزیس، اتوفاژی عملکرد سرکوب‌کننده تومور را دارد و از طریق تخریب ارگانل‌های آسیب‌دیده، کاهش عوامل فعال اکسیژن ROS و افزایش پایداری ژنومی انجام می‌شود. علاوه بر این به نظر می‌رسد ROS نقش مکانیکی در اتوفاژی داشته باشد [۱۷]. در سلول‌های AGS (Adenocarcinoma gastric cell line) نشان داده شده است که ROSها در القای اتوفاژی نقش داشته باشند، که می‌تواند از طریق افزودن آنتی‌اکسیدان N- استیل سیستئین قابل پیشگیری باشد. در مقابل، استفاده از یک مهارکننده NADPH اکسیداز (NADPH oxidase, NOX) یا مشابه سوپراکسید دسموتاز (SOD) Superoxide dismutase,میتوکندریایی نمی‌توان از اتوفاژی ناشی از VacA جلوگیری کرد، این در واقع نشان‌دهنده این است که NOX و ROS تولید شده به‌وسیله میتوکندری در اتوفاژی این مسیر درگیر نیستند. ظاهراً افزایش ROSدر عفونت هلیکوباکتر پیلوری می‌تواند منجر به کاهش سطح گلوتاتیون داخل سلولی با یک مکانیزم ناشناخته از طریق VacAشود [۱۸].

اتوفاژی یک مسیر هضم لیزوزومی محافظت شده است که تخریب‌کننده محتوای سیتوپلاسمی بوده و در دفاع سلولی میزبان اهمیت دارد. اتوفاژی برای بقا، تمایز و توسعه سلولی ضروری بوده و نقش مهمی در ایمنی میزبان و پایداری سلولی دارد. سه مسیر متمایز در اتوفاژی شناسایی شده است که شامل:

۱) ماکرواتوفاژی
۲) اتوفاژی با واسطه چاپرون
۳) میکرواتوفاژی [۱۹]

ماکرواتوفاژی

ماکرواتوفاژی شناخته شده‌ترین مسیر اتوفاژی است که در آن غشای بیرونی اتوفاگوزوم با یک لیزوزوم متصل شده تا محتوای خودش را در یک اتولیزوزوم تخلیه کند. ماکرواتوفاژی به‌وسیله فعال شدن یک مجموعه تنظیمی از مولکول‌ها (حاوی Vps34، Beclin 1، Vps15، Ambra1 و Atg14) (Autophagy-related gene) که باعث جذب LC3 به غشای جداسازی اتوفاگوزوم می‌شود. حذف انتخابی میتوکندری (میتوفاژی؛ فرم خاصی از ماکرواتوفاژی) نیاز به کمپلکس پیچیده(PINK1-parkin (PTEN-induced putative kinase 1 و فاکتور-Bnip3 (BCL2/adenovirus E1B 19 kDa protein interacting protein 3) دارد. پروتئین‌هایی که برای تخریب

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-04-30]

لیزوزومی متعهد هستند (از جمله BAG3 (Bcl-2 associated athanogene 3) و فیلامن) با زنجیره‌های پلی‌یوبیکوئیتین برچسب‌گذاری شده و به اتوفاگزوم توسط پروتئین داربست p62 تحویل داده می‌شوند (شکل ۲–A) [۲۰،۲۱].

انتقال مطالعات اتوفاژی از مورفولوژی به ماشین‌های مولکولی بر اساس شناسایی ژن‌های Atg متکی بود و منجر به شناسایی بیش از ۳۰ ژن از Atg ها شد. در میان این ژن‌های Atg، یک زیرگروه شامل تقریباً ۱۸ ژن در میان انواع مختلف اتوفاژی، از جمله ماکرواتوفاژی غیر انتخابی، مسیر سیتوپلاسم به سمت واکوئله شدن (یک مسیر شبه اتوفاژی بیوسنتتیک)، میتوفاژی و پکسوفاژی می‌باشد. به طور خاص، محصولات مربوط به این زیرگروه ژنی برای تشکیل اتوفاگوزم مورد نیاز هستند، و از اجزای اصلی تشکیل هسته اتوفاژی محسوب می‌شوند. این پروتئین‌های هسته اتوفاژی را می‌توان به زیر گروه‌های عملکردی مختلفی تقسیم کرد: (A) کمپلکس ULK Atg1/ (Atg1، Atg11، Atg13، Atg17، Atg29 و Atg31) که در تنظیم القاء تشکیل اتوفاگوزوم نقش دارند. Atg9 (B) و سیستم cycling آن (Atg2، Atg9 و Atg18) پس از مونتاژ مجتمع Atg1 در PAS (Phagophore Assembly Site)، نقش مهمی در تحویل غشا به فاگوفور در حال گسترش بعد از تشکیل کمپلکس Atg1 و PAS دارند. (C) PtdIns 3-kinase (PtdIns3K) کمپلکس (Vps34، Vps15، Vps30/Atg6 و Atg14) در مرحله هسته‌زایی وزیکول عمل می‌کند و در به‌کارگیری پروتئین‌های پیوند متصل به PtdIns3P به PAS نقش دارند؛ (D) دو سیستم شبه یوبیکوئیتین (Ubiquitin-like, Ubl) برای کونژوگه شدن: Atg12 (Atg5، Atg7، Atg10، Atg12 و Atg16) و Atg8 (Atg3، Atg4، Atg7) که Atg8 در گسترش وزیکول نقش دارد. کمپلکس Atg5-Atg12-Atg16L1 با پروتئین مرتبط با میکروتوبول جفت شده (با زنجیره سبک ۳ LC3) و کمپلکس ایجاد می‌کند که برای شکل‌گیری و پیدایش اتوفاگوزوم نیاز است. کونژوگاسیون این کمپلکس با غشای اتوفاگوزوم به باز پس‌گیری دیگر پروتئین‌های اتوفاژی برای بلوغ کمک می‌کند. LC3 (Microtubule-associated protein 1A/1B-light chain 3) در سیتوپلاسم فیوز می‌شود. با القای اتوفاژی LC3 تغییر می‌یابد، LC3-II لیپیدی می‌شود و در غشاهای داخلی و خارجی اتوفاگوزوم لوکالیزه می‌شود. LC3-II در سلول‌های پستانداران به عنوان مارکر گلد استاندارد فعالیت اتوفاژیک محسوب می‌شود [۲۳،۲۲].

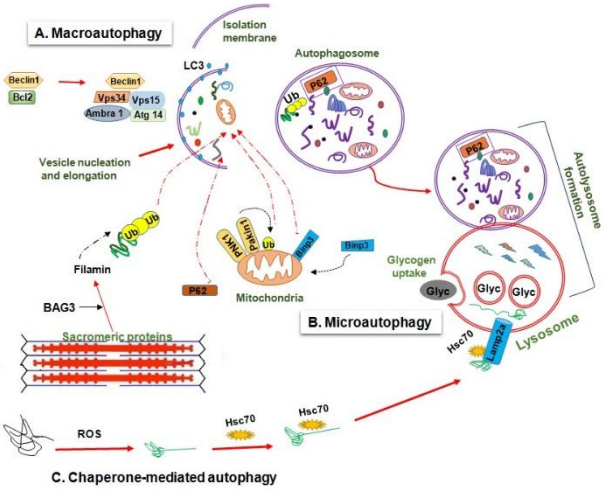
از بین ژن‌های Atg، ژن Atg16L1 در کروموزوم ۲ q37.1 قرار گرفته که کدکننده یک پروتئین حاوی ۶۳۰–۵۸۰ اسید آمینه از جمله یک ناحیه N- انتهایی که واسطه بر هم کنش با Atg12-Atg5 کونژوگه بوده و دومین پیچ در پیچ (Coiledcoil) که واسطه دایمریزاسیون Atg16L1 است. اتوفاژی ناقص، در منوسیت‌ها اتفاق می‌افتد جایی که افراد پلی‌مورفیسم در ژن اتوفاژی Atg16L1 دارند که نسبت به توسعه بیماری کرون حساسیت دارند. این افراد آلل‌هایی دارند که حساسیت اکتسابی نسبت به عفونت‌های هلیکوباکتر پیلوری را افزایش می‌دهند. در بررسی‌های انجام شده حضور ریسک فاکتور شناخته شده بیماری کرون، Atg16L1 rs 2241880 است که خطر عفونت هلیکوباکتر پیلوری در افراد سفید پوست آلمانی و اسکاتلندی را افزایش می‌دهد [۲۴].

اتوفاژی با واسطه چاپرون (Chaperone-mediated autophagy, CMA)

پروتئین‌هایی که توسط عوامل مختلف مانند گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) آسیب دیده‌اند، توالی مشخصی از اسید آمینه (KFERQ) آن‌ها آشکار می‌شود که توسط چاپرون Hsc70 (Heat Shock cognate protein 70KDa) شناخته می‌شوند، که به نوبه خود از طریق تعامل با گیرنده‌های Lamp2a (Lysosome-associated membrane protein 2) آن‌ها را به لیزوزوم انتقال می‌دهند [۲۵].

یکی از ویژگی‌های متمایز اتوفاژی با واسطه چاپرون این است که پروتئین‌هایی که از طریق این مسیر اتوفاژی تحت شرایط تخریب قرار می‌گیرند و به صورت منحصر به فرد از طریق یک روند تشخیص موتیف توالی اسیدهای آمینه انتخاب می‌شوند. این اجازه را می‌دهد تا به صورت یک سیستم کارآمد پروتئین‌های آسیب‌دیده و غیر طبیعی را بدون اختلال در پروتئین‌های همسایه و یا حتی یک پروتئین از یک مجموعه چند پروتئینی را برداشت و حذف نماید. علاوه بر این، این مکانیسم انتخابی اجازه می‌دهد تا اتوفاژی با واسطه چاپرون نقش نظارتی در فرآیندهای چندسلولی از طریق کمک به تعدیل سطوح داخل سلولی آنزیم‌ها، عوامل رونویسی و پروتئین‌هایی که در بقاء سلول نقش دارند، داشته باشند. CMA یک فرآیند چند مرحله‌ای است که شامل: (I)شناسایی سوبسترا و هدف گیری لیزوزومی؛ (II) اتصال سوبسترا و از هم باز شدن آن؛ (III) جابه‌جایی سوبسترا و (IV) تجزیه سوبسترا در لومن لیزوزوم. شناسایی پروتئین‌های سوبسترا در سیتوزول به‌وسیله اتصال یک پروتئین چاپرون سازنده، پروتئین hsc70، به یک توالی تکراری از توالی اسیدهای آمینه صورت می‌گیرد که در تمام سوبستراهای CMA وجود دارند (شکل C۲–) [۲۶،۲۱،۹].

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-04-30]



شکل ۲. ماکرواتوفاژی، میکرواتوفاژی و اتوفاژی وابسته به چاپرون و مشارکت آنها در تجزیه و هضم پروتئین ها و ارگانل های داخل سیتوپلاسمی: (A) فعالیت ماکرواتوفاژی به کمک یک کمپلکس تنظیمی (شامل Vps34، Beclin 1، Vps15، Ambra1 و Atg14) است که باعث فراخوانی پروتئین LC3 به اتوفاگوزوم اولیه (جداشده از غشا) می شود. حذف انتخابی میتوکندری (میتوفاژی؛ یکی از مکانیسم های اختصاصی ماکرواتوفاژی محسوب می گردد) که نیازمند کمپلکس پروتئینی PINK1-parakin و فاکتورهای Bnip3 می باشد. پروتئین هایی که برای تخریب لیزوزومی متعهد هستند (از جمله BAG3 و filamin) توسط زنجیره های یوبیکوئیتین برچسب میخورند و توسط پروتئین p62 به اتوفاگوزوم منتقل می شوند. (B) میکرواتوفاژی درگیر در بلع مستقیم پروتئین های کوچک داخل ستوپلاسمی به لیزوزوم می باشد. (C) در اتوفاژی وابسته به چاپرون (CMA) پروتئین های آسیب دیده به وسیاه فاکتورهای مختلف از قبیل رادیکال های آزاد اکسیژن، توالی خاصی از اسید های آمینه را (به نام موتیف KFERQ) در معرض قرار می دهند که توسط چاپرون Hsc70 شناسایی شده و به کمک گیرنده Lamp2a به داخل لیزوزوم منتقل می شوند[۲۱].

میکرواتوفاژی

میکرواتوفاژی شامل جذب مستقیم پروتئین‌های کوچکی از سیتوپلاسم به لیزوزوم‌ها می‌باشد. این فرایند تجزیه به طور کلی غیرانتخابی و انتخابی لیزوزومال می‌باشد، مستلزم جذب مستقیم محموله‌های سیتوپلاسمی در یک غشاء مرزی با استفاده از لوله‌های اتوفاژیک می‌باشد، که هر دو واکنش پیوستن و از هم‌گسیختگی و رهاسازی آن در داخل و لومن انجام می‌شود. با ویژگی‌های سازنده آن، میکرواتوفاژی سوبستراهای محلول می‌تواند از طریق فقر نیتروژن و یا رپامایسین از طریق راه‌های پیچیده سیگنالینگ تنظیمی راه‌اندازی شود. عملکرد اصلی میکرواتوفاژی در جهت حفظ اندازه اندامک‌های سیتوپلاسمی، هوموستاز غشاء و بقای سلولی تحت محدودیت نیتروژن، می‌باشد. علاوه بر این، میکرواتوفاژی، ماکرواتوفاژی و اتوفاژی با واسطه چاپرون و دیگر مسیرهای خوردن خود با هم‌دیگر هماهنگ شده‌اند. سه فرم از میکرواتوفاژی انتخابی، از جمله میکروپکسوفاژی، میکرواتوفاژی قطعه قطعه‌ای از هسته تحت شرایط خاصی فعال می‌شوند (شکل ۲-B) [۲۱،۲۷].

نقش اتوفاژی در سرطان

شواهد موجود نشان می‌دهد اتوفاژی نقش خاصی در سرطان داشته باشد که می‌تواند به هر دو شکل فعالیت سرکوب‌کننده توموری و یا کمک به پیشرفت سرطان داشته باشد. اتوفاژی عملکرد مهمی در محدود کردن التهاب، آسیب بافتی و بی‌ثباتی ژنوم دارد که این عوامل موثر در سرطان‌زایی هستند. در سلول‌هایی که دچار نقص در اتوفاژی هستند، این اختلال منجر به تجمع ROSها و چاپرون‌های P62ها، شبکه اندوپلاسمی و میتوکندرهای آسیب‌دیده سلولی می‌شود. این فنوتیپ با سلول‌هایی همراه است که دیگر قادر به حفظ هموستاز داخل سلولی از طریق حذف پروتئین‌ها و اندامک‌های آسیب‌دیده نیستند [۲۹،۲۸].

به طور اجتناب‌ناپذیری، سلول‌هایی که دچار اختلال و نقص در اتوفاژی هستند، تجمع مواد سیتوتوکسیک را در پی دارند که منجر به افزایش جهش در DNA شده که از این طریق ایجاد سرطان را تقویت می‌کنند. عملکرد اتوفاژی در سرکوب‌کنندگی تومور به طور مستقیم با جهش در ژن‌های مرتبط با اتوفاژی و یا حذف تک آللی در بسیاری از سرطان‌ها مرتبط می‌باشد. به عنوان مثال، حذف منو آللی ژن BECN1 در سرطان سینه، تخمدان، پروستات و سایر سرطان‌ها گزارش شده است [۳۰].

با این حال، در بعضی موارد، اتوفاژی هم‌چنین می‌تواند احتمال ایجاد تومور را تقویت کند. ریز محیط کنترلی تومور به طور معمول دارای کمبود مواد مغذی، اکسیژن و عوامل رشد (ایسکمی) می‌باشد [۳۱]. در این شرایط، اتوفاژی تنظیم شده می‌تواند بقای سلول‌های تومور را افزایش دهد. افزایش اتوفاژی در سلول‌های تومور هم‌چنین مانع انباشت میتوکندری‌های غیرکارآمد می‌شود که می‌توانند تومورزایی را مختل سازند. در واقع، به همین علت، اتوفاژی برای القای تومور مغزی که به وسیله انکوژن Ras راه‌اندازی می‌شود، ضروری می‌باشد [۳۲]. اگر چه التهاب، ROSها و DNA آسیب‌دیده، همگی جزء عواملی هستند که در بروز تومور نقش دارند، با این حال می‌توانند برای خود تومور نیز مضر باشند. بنابراین، اتوفاژی ممکن است بقای تومور را با محدود کردن التهاب بیش از حد، ROS و آسیب DNA افزایش دهد [۳۴،۳۳].

بر اساس مطالعات انجام گرفته نقش ضد توموری اتوفاژی و مولکول‌های دخیل در این پروسه تا حدودی مشخص شده‌اند از جمله Atg4C، Bif-1 (Bax-interacting factor-1) و UVRAG (UV radiation resistance-associated gene) که سرکوب‌کننده‌های تومور هستند [۳۵]. شناسایی مسیرهای

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-04-30]

پیام‌رسانی ضد توموری از جمله PTEN (Phosphatase and tensin homolog)، TSC1/2 (Tuberous sclerosis proteins 1 and 2)، LKB1 (Liver kinase B1) و P53 که تحریک‌کننده اتوفاژی هستند. گزارش شده است که سلول‌های توموری تحت فشار انتخابی از مداخلات درمانی احتمالاً از اتوفاژی محافظت می‌شوند که این به عنوان پاسخ سلولی سازگار عمل کرده و منجر به مقاومت شیمیایی و بقای سلول سرطانی می‌شود [۳۶].

در زمینه سرطان‌زایی معده مطالعات اخیر نشان داده که افزایش بیان Beclin-1 با پیش‌آگهی مطلوب سرطان معده در ارتباط است. اتوفاژی با اثر محافظتی ماترین یک ماده مخدر طبیعی که در سوفورا فلاوسنس یافت می‌شود مرتبط است. علاوه بر این نشان داده شده است که IFN-γ با القای اتوفاژی سلول‌های اپیتلیال و آپوپتوز سلول T در یک مدل موشی سرطان‌زایی در معده را مهار می‌کند [۳۷].

نکته جالب توجه ارتباط بین پلی‌مورفیسم IRGM (Immunity-related GTPase family M protein) (rs 4958847 و rs 13361189) و سرطان معده در جمعیت قفقازی است که توسط بورادا و همکاران انجام گرفت. نشان داده شد که IRGM rs 4958847 خطر سرطان معده در این افراد را کاهش می‌دهد. IRGM روی کروموزوم ۵ q33.1 واقع شده و پروتئین M خانواده GTPase مرتبط با ایمنی را کد می‌کند که در شکل‌گیری واکوئل اتوفاژیک درگیر است [۳۸].

سایتوتوکسین A (CagA)

CagA انکوپروتئین باکتریایی و شاخص ایمونوژنیک ۱۴۰–۱۲۰ کیلودالتونی است که توسط جزایر پاتوژنز Cag کد می‌شود و از طریق سیستم ترشحی تیپ ۴ (Type IV Secretion System, T4SS) وارد سلول میزبان می‌شود. جزیره پاتوژنز Cag تقریباً شامل ۳۰ ژن که در طی دوره تکامل از یک منشا ناشناخته توسط باکتری کسب شده و در داخل ژن گلوتامات راسماز وارد شده است. سویه‌های باکتری ممکن است کل جزیره پاتوژنز Cag را از دست داده باشند. پروتئین CagA از طریق سیستم ترشحی تیپ ۴ مستقیماً وارد سیتوپلاسم سلول‌های اپی‌تلیال می‌شود و در آن‌جا ریشه تیروزین آن توسط خانواده Src کیناز فسفریله می‌شود و مسیرهای انتقال پیام سلولی را تحت تاثیر قرار می‌دهد. اولین اثر فنوتیپی قابل مشاهده این توکسین تغییر شکل موفوولوژیکی سلول‌ها در شرایط آزمایشگاهی می‌باشد. این اثرات به حالت دراز شدن و پیدا کردن زواید بلند در سلول‌ها قابل مشاهده است که فنوتیپ مرغ مگس‌خوار (Hummingbird phenotype) نامیده می‌شود. دومین اثر مهم Cag تحریک انواع مختلف فاکتورهای رونویسی دخیل در کنترل اعمال ضروری سلولی نظیر تکثیر سلولی از طریق فاکتورهایی نظیر c-jun و c-fos است. سومین عمل این پروتئین تخریب اتصالات بین سلول‌های اپی‌تلیال است که باعث از بین رفتن سدهای سلولی و انتشار راحت‌تر مواد غذایی برای کسب توسط باکتری است [۴۰،۳۹].

یکی از ویژگی‌های کلیدی CagA توانایی برقراری ارتباط با کینازهای سلولی میزبان و ایجاد تغییرات در فسفوریلاسیون تیروزین می‌باشد. جایگاه‌های فسفوریلاسیون تیروزین در CagA حاوی توالی حفاظت شده‌ای از اسیدهای آمینه در انتهای ترمینال کربوکسیل شامل Glu-Pro-Ile-Tyr-Ala به اصطلاح (EPIYA) می‌باشد. بر اساس توزیع جغرافیایی گونه‌های هلیکوباکتر پیلوری که CagA را دارند و بر هم تابیدگی توالی اسیدهای آمینه، چهار نوع متمایز از موتیف‌های EPIYA شناسایی شده‌اند به نام EPIYA-A ، B، C و D [۴۱].

به عنوان مثال، ترانسفکشن در شرایط آزمایشگاهی سلول‌های اپیتلیوم معده انسان ((AGS) با نوع ABCCC نوع هلیکوباکتر پیلوری CagA) که دارای سه تکرار متوالی از EPIYA-C در ناحیه -C ترمینال می‌باشد که می‌تواند به طور قابل توجهی رونویسی از ژن‌های متعدد درگیر در سرطان معده را راه‌اندازی کند و به همین ترتیب در مقایسه با نوع Cag-AABC می‌تواند تولید اینترلوکین ۸ و دست‌کاری پروتئین‌های مربوط به Crk (CT10 regulator of kinase) و دیگر پروتئین‌های مرتبط با مسیر آپوپتوز سلولی (از طریق اثر ضد آپوپتوزی آن) را تحریک نمائید [۴۲].

ساختار این پروتئین در برخی گونه‌های هلیکوباکتر با بقیه متفاوت می‌باشد مثلاً بین صفر تا ۵ ریشه تیروزین برای فسفریله شدن در انواع مختلف این پروتئین وجود دارد که بیش‌تر بودن جایگاه‌های فسفوریلاسیون تغییرات اسکلت سلولی وسیع‌تری را در سلول‌های اپی‌تلیالی باعث می‌شود. سویه‌های با این نوع از پروتئین CagA از بیماران مبتلا به سرطان معده بیش‌تر جدا شده است. سطوح بالای IL-8 در سلول‌های اپی‌تلیالی سویه‌های +Cag نسبت به سویه‌های -Cag دیده می‌شود. این دیده به دلیل حضور پروتیئن CagA نیست بلکه به دلیل ترکیباتی نظیر مورامیل دی پپتید است که از طریق سیستم ترشحی تیپ ۴ به سیتوپلاسم ترشح می‌شود [۴۴،۴۳].

اثر عمیق CagA بر روی مسیرهای متعدد داخل سلولی موجب عواقب عمده‌ای مانند اختلال در حمل و نقل آکتین داخل سلولی، تحریک پاسخ‌های التهابی و اختلال در اتصالات محکم سلولی می‌شود. چنین فعالیت‌هایی از CagA بیش‌تر در توسعه سرطان معده نقش دارد [۴۵].

اتوفاژی و CagA

اثر فاکتور ویرولانس CagA در اتوفاژی که در ابتدا توصیف شده بود توسط تریبزنیک (Terebiznek) در سال ۲۰۰۹ حذف

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-04-30]

شده است. این فاکتور اخیراً به عنوان یک تنظیم‌کننده منفی اتوفاژی در موکوزای معده بیماران و سلول‌های AGS عفونی شده با یک سویه VacA غیر فانکشنال(VacA s1m2) شناسایی شده است. در نتیجه CagA ممکن است باعث مهار اتوفاژی از طریق مسیر سیگنالینگ c-Met-PI3k/Akt-mTOR (Mammalian Target of Rapamycin, mTOR) شود. علاوه بر این، این نویسندگان هم‌چنین دریافتند که P62 در بیوپسی معده بیماران عفونی شده با سویه‌های+CagA در مقایسه با عفونی شده با سویه‌های -CagA بیان بیش‌تری دارند [۴۶].

مشخص شده است که اتوفاژی در بافت‌های موکوزال معده عفونی شده با هلیکوباکتر پیلوری +CagA نسبت به سویه‌های هلیکوباکتر پیلوری -CagA کم‌تر تولید می‌شود که با تجمع SQSTM1 (Sequestosome 1) و کاهش بیان LAMP1 همراه می‌باشد. SQSTM1 محموله اصلی رسپتور متصل به یوبیکوئیتین در سلول‌ها است که توسط اتولیزوزوم‌ها تخریب شده که نقص در اتوفاژی منجر به تجمع SQSTM1 می‌گردد، بنابراین SQSTM1 نقش مفیدی در تولید سایتوکین‌های وابسته به NF-kB دارد. در شرایط آزمایشگاهی حذف ژن CagA با افزایش فعالیت اتوفاژیک، کاهش بیان SQSTM1 و سایتوکین‌ها همراه بود در حالی که بیان بیش از حد CagA سبب تنظیم کاهشی اتوفاژی القا شده در اثر گرسنگی می‌گردد. بنابراین تولید سایتوکین‌ها با مهار اتوفاژی افزایش یافته در حالی که با افزایش اتوفاژی کاهش می‌یابد. نتایج حاکی از آن است که اتوفاژی مهار شده توسط CagAمنجر به تجمع SQSTM1 شده که این نیز خود منجر به رهاسازی سایتوکین‌های وابسته به NF-kB می‌گردد [۴۷].

حذف CagA توانایی فعالیت Akt کیناز در سایت Ser-473 را کاهش و اتوفاژی را افزایش می‌دهد. C-Met siRNA به طور چشمگیری روی اتوفاژی میانجی‌گری شده توسط CagA اثر می‌گذارد و سطوح p-Akt، p-mTOR و p-S6 را کاهش می‌دهد. هر دوی C-Met siRNA و داروی MK-2206 می‌توانند پاسخ‌های التهابی را معکوس کنند. این یافته‌ها نشان می‌دهند که احتمالاً CagA به عنوان تنظیم‌کننده منفی اتوفاژی در پاسخ التهابی القا شده توسط هلیکوباکتر پیلوری عمل می‌کند مخصوصاً این‌که التهاب و اتوفاژی مشخصه‌های اصلی بدخیمی معده هستند. هم‌چنین راه درمان جدیدی در مورد بدخیمی‌های معده به خصوص پروفیلاکسی و درمان باز می‌کند [۴۸].

CagA فعال‌کننده C-Met از طریق موتیف CRPIA (تکرار محافظت شده مسئول برای فعالیت مستقل از فسفوریلاسیون) که برای فعال‌سازی مسیر سیگنالینگ PI3k/Akt و پاسخ‌های رونویسی پلئوتروپیک عفونت هلیکوباکتر پیلوری حیاتی می‌باشد از جمله فعال‌سازی NF-kB و بتا-کاتنین مسیر پیام‌رسانی PI3k/Aktاز طریق mTOR در اتوفاژی شرکت می‌کند و تنظیم‌کننده اتوفاژیک می‌باشد که در نتیجه منجر به سرکوب اتوفاژی می‌گردد [۴۶].

VAC A

ستوتوکسین واکوئل‌زا (VacA) به وزن ۸۸/۲ کیلودالتون بوده و القاکننده ایجاد واکوئل در سلول‌های کشت بافتی است. واجد ناحیه -N انتهایی P33 و -C انتهایی P55 که به غشای پلاسمایی اتصال و وارد سلول‌های میزبان می‌گردد. این پروتئین تسهیل‌کننده شکل‌گیری بقای داخل سلولی در سلول‌های معده و افزایش‌دهنده شدت بیماری است که باعث اتوفاژی در سلول‌های اپی‌تلیال معده می‌شود. اتوفاژی القا شده توسط VacA سبب کاهش سطوح VacA شده و بقای هلیکوباکتر پیلوری را کاهش می‌دهد. قرار گرفتن طولانی‌مدت در معرض VacA اتوفاژی را مختل کرده که این عمل توسط آنزیم کاتپسین D انجام می‌شود [۲۴]. VacA توکسین چند عملکردی که در کمپلکس اولیگومری بزرگ سر هم‌بندی شده و کانال‌های آنیونی را تشکیل می‌دهد. فعال‌کننده Calpain-1 در سلول‌های پاریتئال که ترشح‌کننده اسید مناسب بوده و اسدیته معده را کاهش می‌دهد. VacA روی مرگ سلولی اثر کرده و به دنبال اندوسیتوز در میتوکندری جایگزین می‌شود که القاکننده آپوپتوز در سلول‌های اپی‌تلیال معده است.

VacAاز طریق فعال‌سازی تشکیل پور در غشای داخلی میتوکندری، القاکننده رهاسازی سیتوکروم C و باز پس‌گیری پروتئین -۱ مرتبط با Dynamin است. VacA هم‌چنین افزایش‌دهنده تکثیر و تزاید سلولی با تعدیل مسیرهای مرتبط با رشد مثل P38 و بتا-کاتنین می‌باشد. ایمنی ذاتی و اکتسابی میزبان را تغییر داده و تحریک‌کننده آزادسازی گرانول‌های ترشحی از ماست سل و رهاسازی سایتوکین‌های پیش‌التهابی در منوسیت و ائوزینوفیل‌ها می‌باشد. VacA سرکوب‌کننده ایمنی با واسطه سلول‌های T و B و مهارکننده عرضه آنتی‌ژن و افزایش‌دهنده کلونیزاسیون H پیلوری است.VacA افزایش‌دهنده بقای داخل سلولی هلیکوباکتر پیلوری است که مسیر اندوسیتی میزبان را تعدیل کرده و نیچ تکثیری ایجاد می‌کند. VacA ساختارهای واکوئلی ایجاد کرده و به‌عنوان یک مخزن داخل سلولی عمل می‌کند و به دنبال عفونت چنین ساختارهای واکوئلی ایجاد می‌گردد و نقش مهمی در نگه‌داری عفونت دارند. این واکوئل‌ها منشا اندوزومی تاخیری دارند و با حضور مارکرهای این اندوزومال تاخیری مثل Rab7، CD63 و LAMP1 همراه است. حضور این مارکرها و کاهش PH در واکوئل‌های هلیکوباکتر پیلوری که با کاهش چشمگیر پروتئاز کاتپسین D در واکوئل‌های ایجاد شده توسط تیپ وحشی هلیکوباکتر پیلوری همراه بود [۵۰،۴۹].

VacA و اتوفاژی

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-04-30]

VacA هلیکوباکتر پیلوری القاکننده مرگ سلول اتوفاژیک در سلول‌های اپی‌تلیال معده از طریق مسیر استرس رتیکولوم اندوپلاسمیک است و می‌تواند با واکوئلاسیون پیش‌رفته و زخم معده و احتمالاً سرطان معده مرتبط باشد. شواهد نشان می‌دهد که اتوفاژی در مرگ سلولی القا شده توسط VacA دخالت دارد [۵۱].

VacA باعث القای اتوفاژی و افزایش مرگ سلول در کشت سلول سرطان معده در انسان می‌گردد. مهار اتوفاژی می‌تواند مرگ سلول ناشی از VacA را در سلول‌های AGS کاهش دهد. علاوه بر این تعداد زیادی رتیکولوم اندوپلاسمیک(ER) مشاهده شده و فسفوریلاسیون یک زیر واحد از فاکتور ۲ آغاز ترجمه یوکاریوتی (زیر واحد ۱) در سلول‌های AGS تیمار شده با VacAافزایش می‌دهد. در حالی که سرکوب استرس ER می‌تواند باعث کاهش اتوفاژی و مرگ سلولی از طریق نابودی فاکتور ۴ فعال‌کننده رونویسی و فاکتور رونویسی- ۳ القاکننده آسیب به(DNA-Damage- inducible transcript 3) DNA شود [۵۲].

علاوه بر این بیان سودوکیناز سه گانه همولوگ ۳ (tribbles homolog 3, TRIB3) که توسط VacA بر استرس ER به‌وجود می‌آید هم‌چنین نابودی TRIB3 می‌تواند مرگ سلولی ناشی از VacAرا کاهش دهد. در نهایت مهار اتوفاژی می‌تواند مرگ سلولی ناشی از VacAs1m1 و آپوپتوز را کاهش دهد. مهار آپوپتوز Z-VAD (carbobenzoxy-valyl-alanyl-aspartyl- [O-methyl]-fluoromethylketone) تاثیر معنی‌داری بر روی اتوفاژی القا شده توسط VacAs1m1 نداشته به این ترتیب نتایج نشان داد که VacA باعث مرگ سلول‌های اتوفاژیکی از طریق استرس ER در سلول‌های اپی‌تلیال معده می‌شود [۵۲].

اتوفاژی یک مکانیسم دفاعی میزبان علیه ارگانیسم‌های داخل سلولی مهاجم می‌باشد. هلیکوباکتر پیلوری با فرار از این سیستم پاسخ بقای داخل سلولی را افزایش می‌دهد. تغییر LC3-I سیتوزولیک به LC3-II و جایگزینی در غشای اتوفاگوزوم کلید اصلی القای اتوفاژی است. اتوفاژی پایداری داخل سلولی VacAرا تعدیل می‌کند تا بقای هلیکوباکتر پیلوری را محدود کند. اتوفاژی در سلول‌های میزبان شروع می‌شود تا توکسین‌های میکروبی را حذف کند. بنابراین از سلول در برابر آسیب‌های با واسطه توکسین محافظت می‌کند [۵۳].

سیتوتوکسین ایجادکننده واکوئل هلیکوباکتر پیلوری القاکننده اتوفاژی ناقص است. هلیکوباکتر مکانیسم‌های اندوسیتیک میزبان را غصب کرده تا در واکوئل‌های بزرگ نیچ‌های داخل سلولی ایجاد کند تا این‌که بقای خودش را افزایش دهد. اتوفاژی مسیر کلیدی تخریب اندوسیتی است که به طور معمول به کار گرفته می‌شود تا سلول از پاتوژن‌های مهاجم خلاص شود. مطالعات نشان داد که VacA اتوفاژی را در داخل بدن و شرایط آزمایشگاهی تغییر می‌دهد. بنابراین یک نقش محافظت سلولی ایفا می‌کند. در معرض قرار گرفتن VacA منجر به تجمع اتوفاگوزوم‌های ناقص و کاهش کاتپسین D می‌شود. فعالیت پورفورمینگ توکسین جهت اتوفاژی لازم است مثل لیستریولیزین O لیستریا منوسیتوژنز و سیتولیزین ویبریو کلرا که می‌توانند سبب اتوفاژی گردند. اتوفاژی با عملکردهای سرکوب‌کننده تومور مرتبط است که سطوح تولید عوامل فعال اکسیژن (ROS) را مهار می‌کند. اتوفاژی ناقص سبب افزایش ROS می‌شود و سبب ناپایداری ژنومی که منجر به تغییر شکل سرطانی می‌گردد [۱۸].

در عفونت هلیکوباکتر پیلوری اتوفاژی در پاسخ به فاکتور ویرولانس VacA القا شده و نقش محافظتی سلولی را ایفا می‌کند بنابراین در معرض قرار گرفتن طولانی با VacA اتوفاژی را مختل می‌کند که با استفاده از اتوفاگوزوم‌ها کاتپسین D کاهش یافته و فعالیت سوخت و ساز نیز کاسته می‌شود [۱۸].

مطالعات متعددی در مورد مشخص شدن وقایع پیام‌رسانی که موجب شروع اتوفاژی توسط VacA می‌شود انجام شده است. تسوگاوا و همکاران از جمله کسانی بودند که شروع به روشن کردن این مساله پرداختند، مطالعات آن‌ها نشان می‌دهدp53 که یک فعال‌کننده mTOR می‌باشد، در این مسیر درگیر است. این محققان نشان دادند که ROS القاء شده توسط VacA فسفوریلاسیون AKTرا تحریک می‌کند که پس از آن فسفوریلاسون مولکول دیگری به نام(MDM2 (Murine Double Minute 2 ، را موجب می‌شود که جزء اصلی E3 یوبیکوئیتین لیگاز درگیر در تخریب P53 می‌باشد. این گروه نشان دادند که افزایش سطح MDM2فسفوریله همراه با کاهشp53 پس از آلودگی با هلیکوباکتر پیلوری اتفاق می‌افتد. سطحMDM2 فسفوریله تنها در پاسخ به VacA s1m افزایش یافته است، در نتیجه این یافته القای اتوفاژی منحصراً باVacA s1m1 انجام می‌شود. بنابراین، سیگنالینگ از طریق تخریب P53 به نظر می‌رسد حداقل یکی از مکانیسم‌هایی باشد که توسط VacA باعث القای اتوفاژی در سلول‌های معده می‌شود. با توجه به این که درمان از طریق VacAموجب کاهش سطحATP می‌شود، این طور تصور می‌شود که اتوفاژی ناشی ازVacA ممکن است از طریق مسیرهای سیگنالینگ (Adenosine AMPK Monophosphate-Activated ProteinKinase)نیز القاء گردد. با این حال، برای چنین احتمالی تحقیقات بیش‌تری ضروری می‌باشد [۲۹].

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-04-30]

توانایی هلیکوباکتر پیلوری برای دست‌کاری در مسیر اتوفاژی میزبان به عنوان یکی از جنبه‌های مهم پاتوژنز آن در نظر گرفته می‌شود. در حال حاضر مطالعات متعددی نشان‌دهنده این موضوع می‌باشد که عفونت با هلیکوباکتر پیلوری سبب ایجاد اتوفاژی در هر دو سلول‌های اپی‌تلیال معده و فاگوسیت‌های حرفه‌ای می‌شود. در سلول‌های اپی‌تلیال معده VacA فاکتور لازم و کافی برای ایجاد اتوفاژی می‌باشد. اخیراً یاهیرو و همکارانش نشان داده‌اند که اتوفاژی ناشی از VacA ، از طریق اتصال VacA به پروتئین ۱ مرتبط با گیرنده لیپوپروتئین (Low density lipoprotein receptor-related protein 1, LRP1) شروع می‌شود. این مسیر با خاموش کردن بیان ژن LRP1 به کمک siRNA اینترنالیزه شده مورد تائید قرار گرفته است. علاوه بر این، اتوفاژی ناشی از VacA به نظر می‌رسد وابسته به اینترنالیزه شدن این توکسین باشد. جالب توجه است، فقط VacA S1m1 و نه VacA S1m2 باLRP1 واکنش داده و در اتوفاژی نقش دارد و منطقه VacAm2 در اتصال VacA-LRP1 دخالتی ندارد. هم‌چنین این مطالعه نشان داد که با استفاده از siRNA و خاموش کردن بیان LRP1 که اتوفاژی متصل به LRP1 مستقل از دیگر گیرنده‌های VacA، از جمله (Receptor $RPTP^{\beta}$ Protein Tyrosine Phosphatase)، RPTP و فیبرونکتین می‌باشد [۱۷].

نتیجه‌گیری

اتوفاژی از طریق محرک‌های شیمیایی مثل هیپوکسی، تخلیه انرژی، دما، هورمون‌ها، عوامل دارویی، سیتوکین‌ها و پیشرفت بیماری ایجاد می‌شود. به طور اجتناب‌ناپذیری، سلول‌هایی که دچار اختلال و نقص در اتوفاژی هستند، تجمع مواد سیتوتوکسیک را در پی دارند که منجر به افزایش جهش در DNA شده که از این طریق ایجاد سرطان را تقویت می‌کنند. توانایی هلیکوباکتر پیلوری برای دست‌کاری در مسیر اتوفاژی میزبان به عنوان یکی از جنبه‌های مهم پاتوژنز آن می‌باشد. نتایج مطالعات نشان می‌دهد که عفونت با هلیکوباکتر پیلوری سبب ایجاد اتوفاژی در هر دو سلول‌های اپی‌تلیال معده و فاگوسیت‌های حرفه‌ای می‌شود. بنابراین نتیجه‌گیری می‌شود که برای ایجاد اتوفاژی در سلول‌های اپی‌تلیال معده، VacA فاکتور لازم و کافی بوده که باعث مرگ سلول‌های اتوفاژیکی از طریق استرس ER در سلول‌های اپی‌تلیال معده می‌شود. در حالی که CagA تنظیم‌کننده منفی این پدیده می‌باشد که با حذف این ژن از هلیکوباکتر پیلوری اتوفاژی افزایش یافته و تولید سایتوکین‌های التهابی کاهش پیدا می‌کند.

تشکر و قدردانی

از همکاری گروه ایمونولوژی و گروه باکتری شناسی و ویروس شناسی دانشگاه علوم پزشکی سمنان تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

منابع

[1] Steensma DP, Kyle RA, Shampo MA, Robin Warren J. Helicobacter pylori and peptic ulcer. Mayo Clin Proc 2016; 91: e129-130.

[2] Ramamurthy T, Ghosh A, Pazhani GP, Shinoda S. Current perspectives on viable but non-culturable (VBNC) pathogenic bacteria. Front Public Health 2014; 2: 103.

[3] M Brown L. Helicobacter Pylori: Epidemiology and Routes of Transmission; 2000; 22: 283-297.

[4] Brenner H, Rothenbacher D, Arndt V. Epidemiology of stomach cancer. Methods Mol Biol 2009; 472: 467-477.

[5] EL H, ZR M, Franco B. Epidemiology of helicobacter pylori Infection. Helicobacter 2014; 19: 1-5.

[6] Vale FF, Vitor JM. Transmission pathway of Helicobacter pylori: does food play a role in rural and urban areas? Int J Food Microbiol 2010; 138: 1-12.

[7] Salama NR, Hartung ML, Muller A. Life in the human stomach: persistence strategies of the bacterial pathogen Helicobacter pylori. Nat Rev Microbiol 2013; 11: 385-399.

[8] Xiang Z, Censini S, Bayeli PF, Telford JL, Figura N, Rappuoli R, Covacci A. Analysis of expression of CagA and VacA virulence factors in 43 strains of Helicobacter pylori reveals that clinical isolates can be divided into two major types and that CagA is not necessary for expression of the vacuolating cytotoxin. Infect Immun 1995; 63: 94-98.

[9] Portal-Celhay C, Perez-Perez GI. Immune responses to Helicobacter pylori colonization: mechanisms and clinical outcomes. Clin Sci 2006; 110: 305-314.

[10] Chu YT, Wang YH, Wu JJ, Lei HY. Invasion and multiplication of Helicobacter pylori in gastric epithelial cells and implications for antibiotic resistance. Infect Immun 2010; 78: 4157-4165.

[11] Wang YH, Wu JJ, Lei HY. The autophagic induction in Helicobacter pylori-infected macrophage. Exp Biol Med (Maywood) 2009; 23: 178-180.

[12] Sepulveda AR. Helicobacter, inflammation, and gastric cancer. Curr Pathobiol Rep 2013; 1: 9-18.

[13] Fox JG, Wang TC. Inflammation, atrophy, and gastric cancer. J Clin Invest 2007; 117: 60-69.

[14] Tang B, Li N, Gu J, Zhuang Y, Li Q, Wang HG, et al. Compromised autophagy by MIR30B benefits the intracellular survival of Helicobacter pylori. Autophagy 2012; 8: 1045-1057.

[15] Weidberg H, Shvets E, Elazar Z. Biogenesis and cargo selectivity of autophagosomes. Annu Rev Biochem 2011; 80: 125-156.

[16] Choi KS. Autophagy and cancer. Exp Mol Med 2012; 44: 109-120.

[17] Greenfield LK, Jones NL. Modulation of autophagy by Helicobacter pylori and its role in gastric carcinogenesis. Trend Microbiol 2013; 21: 602-612.

[18] Tsugawa H, Suzuki H, Saya H, Hatakeyama M, Hirayama T, Hirata K, et al. Reactive oxygen species-induced autophagic degradation of Helicobacter pylori CagA is specifically suppressed in cancer stem-like cells. Cell Host Microbe 2012; 12: 764-777.

[19] Kao CY, Sheu BS, Wu JJ. Helicobacter pylori infection: An overview of bacterial virulence factors and pathogenesis 2016; 39: 14-23.

[20] Morris DH, Yip CK, Shi Y, Chait BT, Wang QJ. Beclin 1-VPS34 complex architecture: understanding the nuts and bolts of therapeutic targets. Front Biol (Beijing) 2015; 10: 398-426.

[21] Bonaldo P, Sandri M. Cellular and molecular mechanisms of muscle atrophy. Dis Model Mech 2013; 6: 25-39.

[22] Yorimitsu T, Klionsky DJ. Autophagy: molecular machinery for self-eating. Cell Death Differ 2005; 12: 1542-1552.

[23] Zens B, Sawa-Makarska J, Martens S. In vitro systems for Atg8 lipidation. Methods 2015; 75: 37-43.

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-04-30]

[24] Castano-Rodriguez N, Kaakoush NO, Goh KL, Fock KM, Mitchell HM. Autophagy in helicobacter pylori infection and related gastric cancer. Helicobacter 2015; 20: 353-369.

[25] Tekirdag K, Cuervo AM. Chaperone-mediated autophagy and endosomal microautophagy: Joint by a chaperone. J Biol Chem 2018; 293: 5414-5424.

[26] Chiang HL, Dice JF. Peptide sequences that target proteins for enhanced degradation during serum withdrawal. J Biol Chem 1988; 263: 6797-6805.

[27] Li WW, Li J, Bao JK. Microautophagy: lesser-known self-eating. Cell Mol Life Sci 2012; 69: 1125-1136.

[28] White E. Deconvoluting the context-dependent role for autophagy in cancer. Nat Rev Cancer 2012; 12: 401-410.

[29] Mathew R, Karp CM, Beaudoin B, Vuong N, Chen G, Chen HY, et al. Autophagy suppresses tumorigenesis through elimination of p62. Cell 2009; 137: 1062-1075.

[30] Sun Y, Peng ZL. Autophagy, Beclin 1, and Their Relation to Oncogenesis 2008; 39: 287-90.

[31] Degenhardt K, Mathew R, Beaudoin B, Bray K, Anderson D, Chen G, et al. Autophagy promotes tumor cell survival and restricts necrosis, inflammation, and tumorigenesis. Cancer Cell 2006; 10: 51-64.

[32] Guo JY, Chen HY, Mathew R, Fan J, Strohecker AM, Karsli-Uzunbas G, et al. Activated ras requires autophagy to maintain oxidative metabolism and tumorigenesis. Genes Dev 2011; 25: 460-470.

[33] Lock R, Roy S, Kenific CM, Su JS, Salas E, Ronen SM, Debnath J. Autophagy facilitates glycolysis during Ras-mediated oncogenic transformation. Mol Biol Cell 2011; 22: 165-178.

[34] Zhou S, Zhao L, Kuang M, Zhang B, Liang Z, Yi T, et al. Autophagy in tumorigenesis and cancer therapy: Dr. Jekyll or Mr. Hyde? Cancer Lett 2012; 323: 115-127.

[35] Choi KS. Autophagy and cancer. Exp Mol Med 2012; 44: 109-120.

[36] Rubinsztein DC, Codogno P, Levine B. Autophagy modulation as a potential therapeutic target for diverse diseases. Nat Rev Drug Discov 2012; 11: 709-730.

[37] Li Y, Zhang J, Ma H, Chen X, Liu T, Jiao Z, et al. Protective role of autophagy in matrineinduced gastric cancer cell death. Int J Oncol 2013; 42: 1417-1426.

[38] Tu SP, Quante M, Bhagat G, Takaishi S, Cui G, Yang XD, et al. Interferon-γ inhibits gastric carcinogenesis by inducing epithelial cell autophagy and T cell apoptosis. Cancer Res 2011; 71: 4247-4259.

[39] Kuo SH, Chen LT, Lin CW, Yeh KH, Shun CT, Tzeng YS, et al. Expressions of the CagA protein and CagA-signaling molecules predict < em> Helicobacter pylori dependence of early-stage gastric DLBCL. Blood 2017; 129: 188.

[40] Hatakeyama M, Higashi H. Helicobacter pylori CagA: a new paradigm for bacterial carcinogenesis. Cancer Sci 2005; 96: 835-843.

[41] Higashi H, Yokoyama K, Fujii Y, Ren S, Yuasa H, Saadat I, et al. EPIYA motif is a membrane-targeting signal of Helicobacter pylori virulence factor CagA in mammalian cells. J Biol Chem 2005; 280: 23130-23137.

[42] Vaziri F, Peerayeh SN, Alebouyeh M, Maghsoudi N, Azimzadeh P, Siadat SD, Zali MR. Novel effects of Helicobacter pylori CagA on key genes of gastric cancer signal transduction: a comparative transfection study. Pathog Dis 2015; 73.

[43] Fazeli Z, Alebouyeh M, Rezaei Tavirani M, Azimirad M, Yadegar A. Helicobacter pylori CagA induced interleukin-8 secretion in gastric epithelial cells. Gastroenterol Hepatol Bed Bench 2016; 9: S42-S46.

[44] Peters T, Owen R, Slater E, Varea R, Teare E, Saverymuttu S. Genetic diversity in the Helicobacter pylori cag pathogenicity island and effect on expression of anti-CagA serum antibody in UK patients with dyspepsia. J Clin Pathol 2001; 54: 219-223.

[45] Lee KE, Khoi PN, Xia Y, Park JS, Joo YE, Kim KK, et al. Helicobacter pylori and interleukin-8 in gastric cancer. World J Gastroenterol 2013; 19: 8192-8202.

[46] Li N, Tang B, Jia Yp, Zhu P, Zhuang Y, Fang Y, et al. Helicobacter pylori CagA Protein Negatively Regulates Autophagy and Promotes Inflammatory Response via c-Met-PI3K/Akt-mTOR Signaling Pathway. Front Cell Infect Microbiol 2017; 7: 417.

[47] Li N, Tang B, Jia YP, Zhu P, Zhuang Y, Fang Y, et al. Helicobacter pylori CagA protein negatively regulates autophagy and promotes inflammatory response via c-Met-PI3K/Akt-mTOR signaling pathway. Front Cell Infect Microbiol 2017; 7: 417.

[48] Gunn MC, Stephens JC, Stewart JA, Rathbone BJ, West KP. The significance of cagA and vacA subtypes of Helicobacter pylori in the pathogenesis of inflammation and peptic ulceration. J Clin Pathol 1998; 51: 761-764.

[49] Palframan SL, Kwok T, Gabriel K. Vacuolating cytotoxin A (VacA), a key toxin for Helicobacter pylori pathogenesis. Front Cell Infect Microbiol 2012; 2: 92.

[50] Borlace GN, Jones HF, Keep SJ, Butler RN, Brooks DA. Helicobacter pylori phagosome maturation in primary human macrophages. Gut Pathogens 2011; 3: 3-6.

[51] Zhu P, Xue J, Zhang ZJ, Jia YP, Tong YN, Han D, et al. Helicobacter pylori VacA induces autophagic cell death in gastric epithelial cells via the endoplasmic reticulum stress pathway. Cell Death Disease 2017; 8: 3207.

[52] Zhang K, Kaufman RJ. Identification and characterization of endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis in vivo. Methods Enzymol 2008; 442: 395-419.

[53] Terebiznik MR, Raju D, Vazquez CL, Torbricki K, Kulkarni R, Blanke SR, et al. Effect of Helicobacter pylori's vacuolating cytotoxin on the autophagy pathway in gastric epithelial cells. Autophagy 2009; 5: 370-379.

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-04-30]

Rewive Article

Role of autophagy associated with Helicobacter pylori CagA and VacA toxins in gastric cancer

Bahman Yousefi (Ph.D)[1], Majid Eslami (Ph.D) [*2], Parviz Kokhaei (Ph.D)[3,4], Saeid Valizadeh (Ph.D)[2], Abdolmajid Ghasemian (Ph.D)[5]

1 - Dept. of Immunology, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran
2 - Dept. of Bacteriology and Virology, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran
3 - Cancer Research Center, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran
4- Immune and Gene Therapy Lab, Cancer Centre Karolinska, Karolinska University Hospital, Stockholm, Sweden
5- Dept. of Microbiology, Fasa University of Medical Sciences, Fasa, Iran

* Corresponding author. +98 9144078609 M.eslami@semums.ac.ir Received: 3 Jun 2018; Accepted: 8 Dec 2018

Helicobacter pylori (H. pylori) is a gram-negative microaerophilic bacterium that has been introduced as a cause of mucosal inflammation and gastric cancer. The most important pathogenic factors are VacA and CagA, which are associated with increased disease severity in clinical strains. Autophagy is a protected lysosomal degradation pathway degrading cytoplasmic content and is important in host cell defense, survival, differentiation and development. It can have a tumor suppressor activity or cancer progression and plays an important role in host safety and homeostatic. H. pylori can affect host pathogenic pathway through VacA and CagA virulence factors and carcinogenesis. Increasing autophagy in tumor cells prevents the accumulation of non-functional mitochondria that can disrupt tumorigenicity.

The ability of H. pylori to manipulate host pathogenesis pathway is considered as one of the important aspects of its pathogenesis. Several studies have shown that infection with H. pylori causes autophagy in both gastric epithelial cells and phagocytes. In the epithelial cells of the stomach, VacA is a necessary factor in autophagy. While CagA is a negative regulator of the phenomenon, the elimination of this gene from H. pylori has increased autophagy and the production of inflammatory cytokines is reduced.

***Keywords**:* Autophagy, Gastric Cancer, Helicobacter Pylori, Bacterial Antigens, Bacterial Proteins

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-04-30]