

网络出版时间: 2021-8-19 14:08 网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20210819.1122.006.html>

自噬对 PC9/GR 细胞吉非替尼敏感性及 PD-L1 影响的体外研究

李 轩 程 浩 方 乐 郝吉庆

摘要 目的 探讨在体外影响自噬对吉非替尼耐药肺腺癌细胞 PC9/GR 药物敏感性及程序性死亡配体-1 (PD-L1) 的影响。方法 实时荧光定量 PCR 及 Western blot 法检测吉非替尼敏感细胞株 PC9 及吉非替尼耐药细胞株 PC9/GR 自噬相关蛋白 LC3II/LC3I、Beclin1 及 PD-L1 表达水平; CCK-8 实验检测 PC9 和 PC9/GR 细胞对吉非替尼敏感性以及抑制 PC9/GR 自噬后各组细胞增殖情况; Western blot 法检测调控 PC9/GR 自噬后 LC3II/LC3I、p62 及 PD-L1 的表达。结果 PC9/GR 细胞中自噬及 PD-L1 表达高于 PC9 细胞, CCK-8 实验显示 PC9/GR 细胞对吉非替尼 IC₅₀ 高于 PC9 细胞, 抑制自噬后 PC9/GR 细胞对吉非替尼药物敏感性部分恢复 ($P < 0.05$)。Western blot 显示在 PC9/GR 细胞中诱导自噬 PD-L1 表达增加, 抑制自噬 PD-L1 表达减少, 且随自噬抑制剂处理的时间及浓度的改变而变化 ($P < 0.05$)。结论 体外实验结果提示, 抑制自噬可能增强肺腺癌耐药细胞对吉非替尼的敏感性, 提示 PD-L1 可能被自噬调控, PD-L1 可能参与体外抑制自噬逆转吉非替尼耐药的过程。

关键词 自噬; 程序性死亡配体 1; EGFR-TKI 耐药; 非小细胞肺癌

中图分类号 R 734.2

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2021)10-1535-06
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2021.10.006

肺癌是世界范围内癌症常见的死亡原因之一, 非小细胞肺癌 (non small cell lung carcinoma, NSCLC) 约占肺癌总数的 85%, 且表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR) 突变占 NSCLC 患者 50%~60%, 大部分患者发现时已是晚期, 预后较差^[1]。目前靶向治疗和放化疗是晚期 NSCLC 患者的主要治疗手段^[2]。然而随着用药时间的延长, 大多数接受酪氨酸激酶抑制剂 (tyrosinase inhibitor, TKIs) 治疗的患者不可避免地会产生获得

性耐药, 但其耐药机制及如何有效治疗靶向药物耐药后肺癌也成为国内外研究的热点。导致 EGFR-TKIs 耐药的机制是多种多样的, 目前尚不十分清楚^[3]。研究^[4]表明自噬可在肺癌细胞中被 EGFR-TKI 激活, 高水平自噬可能与 EGFR-TKIs 继发性耐药相关。程序性死亡因子配体-1 (programmed death ligand 1, PD-L1) 是经典的免疫逃逸分子, 相关研究^[5]表明 PD-L1 在吉非替尼继发性耐药细胞中表达升高, 但其是否参与继发性耐药尚不明确。该研究观察调节自噬对 PC9/GR 耐药细胞株药物敏感性及对 PD-L1 表达的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞培养 人肺腺癌吉非替尼敏感细胞株 PC9 (EGFR19 外显子缺失突变) 和人肺腺癌吉非替尼耐药细胞株 PC9/GR 购自中国科学院上海细胞库, 培养基为含 10% 胎牛血清、100 U/ml 青霉素和链霉素的高糖 DMEM, 置于 37 °C、5% CO₂ 培养箱中培养。

1.1.2 主要试剂和仪器 DMEM (高糖) 购自美国 Hyclone 公司; 胎牛血清购自杭州四季青生物公司; CCK-8 试剂盒购自美国 Apexbio 公司; RT-qPCR 试剂盒及逆转录试剂盒购自日本 TaKaRa 公司; LC3B、PD-L1、p62、Beclin1 (一抗) 购自美国 CST 公司; 山羊抗兔多抗、山羊抗鼠多抗 (二抗) 购自北京中杉金桥公司; 吉非替尼购自大连美仑生物科技有限公司, 按照说明书配置储存浓度为 10 mmol/L 的溶液, 分装后放于 -20 °C 冰箱中; 氯喹二磷酸盐 (chloroquine, CQ)、雷帕霉素 (rapamycin, Rap) 购自北京索莱宝公司, CQ 按说明书配制成储存浓度为 100 mmol/L 的溶液, Rap 分装后按说明书配制成储存浓度为 400 μmol/L 的溶液, 放于 -20 °C 冰箱中备用; 3-甲基腺嘌呤 (3-methyladenine, 3-MA) 购自美国 MCE 公司, 分装后按说明书配制成储存浓度为 20 mmol/L 的溶液, 放于 -20 °C 冰箱中备用。细胞培养箱购自美国 SHELDON 公司产品; 酶标仪购自美国 SHELDON 公司。

2021-07-23 接收

基金项目: 安徽省 2018 年度重点研究与开发计划项目 (编号: 1804h08020240)

作者单位: 安徽医科大学第一附属医院肿瘤内科, 合肥 230022

作者简介: 李 轩, 女, 硕士研究生;

郝吉庆, 女, 副教授, 主任医师, 博士生导师, 责任作者, E-mail: ayfy_hjq@163.com

1.2 方法

1.2.1 RT-qPCR 检测自噬水平 应用 RT-qPCR 法测定 PC9 组、PC9/GR 组细胞中 PD-L1、Beclin1 表达情况。用 TRIzol 提取细胞总 RNA, 用逆转录试剂盒获得产物 cDNA, 采用 SYBR Green 荧光定量试剂盒测定 PD-L1 和 Beclin1 表达情况, 应用 RT-qPCR 法测定 PC9/GR 组、2.5 mmol/L 3-MA 处理 PC9/GR 组、5 mmol/L 3-MA 处理 PC9/GR 组、10 mmol/L 3-MA 处理 PC9/GR 组、50 μ mol/L CQ 处理 PC9/GR 组、100 nmol/L Rap 处理 PC9/GR 组细胞 PD-L1 表达, 以 GAPDH 为管家基因, 由公式 $\text{Folds} = 2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算检测基因的相对表达强度。

1.2.2 Western blot 检测自噬及 PD-L1 水平 利用 Western blot 检测 PC9 组、PC9/GR 组、2.5 mmol/L 3-MA 处理 PC9/GR 组、5 mmol/L 3-MA 处理 PC9/GR 组、10 mmol/L 3-MA 处理 PC9/GR 组、50 μ mol/L CQ 处理 PC9/GR 组、100 nmol/L Rap 处理 PC9/GR 组细胞中 Beclin1 (p62)、PD-L1、LC3 II/LC3 I 蛋白表达情况。加入细胞裂解液 RIPA/PMSF (100 : 1) 将细胞重悬, 置冰上摇晃裂解 30 min, 4 $^{\circ}\text{C}$ 、14 000 r/min 离心 30 min, 取上清液, BCA 法测定总蛋白浓度, 在 SDS-PAGE 凝胶中电泳, 转膜、封闭, 切膜, GAPDH、PD-L1、LC3 II/LC3 I、Beclin1、p62 (1 : 1 000) 一抗 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜, 将 PVDF 膜置于含兔抗或鼠抗 IgG (1 : 10 000) 二抗的 5% 脱脂牛奶中, 室温摇晃孵育 1 h, 用 ECL 化学发光试剂盒进行显影, 以 GAPDH 为内参。

1.2.3 CCK-8 实验测定细胞增殖 收集 PC9、PC9/GR 细胞, 各组细胞稀释为 8×10^4 /ml 细胞悬液, 接种于 96 孔板中, 每孔 100 μ l, 培养 24 h 后, 将含不同浓度的吉非替尼培养基加入 PC9 及 PC9/GR 细胞孔中, 吉非替尼药物浓度梯度设定: 0、0.04、0.2、1、5、25、50、100 μ mol/L; 收集 PC9/GR 细胞、1 μ mol/L 吉非替尼处理 PC9/GR 组、5 mmol/L 3-MA

处理 PC9/GR 组、50 μ mol/L CQ 处理 PC9/GR 组、5 mmol/L 3-MA + 1 μ mol/L 吉非替尼处理 PC9/GR 组、50 μ mol/L CQ + 1 μ mol/L 吉非替尼处理 PC9/GR 组, 培养 48 h 后每孔加入 10 μ l 含 10% CCK-8 溶液, 孵育 2 h 后, 酶标仪上 450 nm 处测吸光度 (optical density, OD) 值。细胞活力值 (%) = [(实验组 OD 值 - 空白组 OD 值) / (对照组 OD 值 - 空白组 OD 值)] \times 100%, 并计算各组的 IC₅₀ 值。每组浓度设 5 个复孔, 独立重复实验 3 次。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 20 和 Prism 6.0 软件进行分析, 实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。两组间数据比较采用 *t* 检验, 多组间数据比较采用单因素方差分析, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 自噬在细胞株 PC9 和 PC9/GR 细胞中表达

实时荧光定量 PCR 检测结果显示: PC9/GR 组细胞中自噬相关基因 Beclin1 表达水平略高于 PC9 组, 但差异无统计学意义 (图 1A)。Western blot 检测结果显示: PC9/GR 组细胞中自噬相关蛋白 Beclin1 与 PC9 组相比差异无统计学意义, 但 LC3 II/LC3 I 高于 PC9 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.0001$) (图 1B、1C)。

2.2 不同方式处理后耐药细胞 PC9/GR 增殖活性

CCK-8 实验结果显示: 吉非替尼对 PC9 组、PC9/GR 组细胞增殖的抑制作用均随着浓度的增加而逐渐增强。PC9/GR 组细胞的吉非替尼 IC₅₀ 高于 PC9 组细胞的吉非替尼 IC₅₀, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$) (图 2A、2B)。此外, 加入 2 种不同的自噬抑制剂后, PC9/GR 细胞增殖受到抑制, 较吉非替尼单药 (1 μ mol/L) 比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 且 3-MA 抑制作用更明显, 故选择 3-MA 进行后续实验 (图 2C、2D)。

2.3 PD-L1 在细胞株 PC9 和 PC9/GR 细胞中表

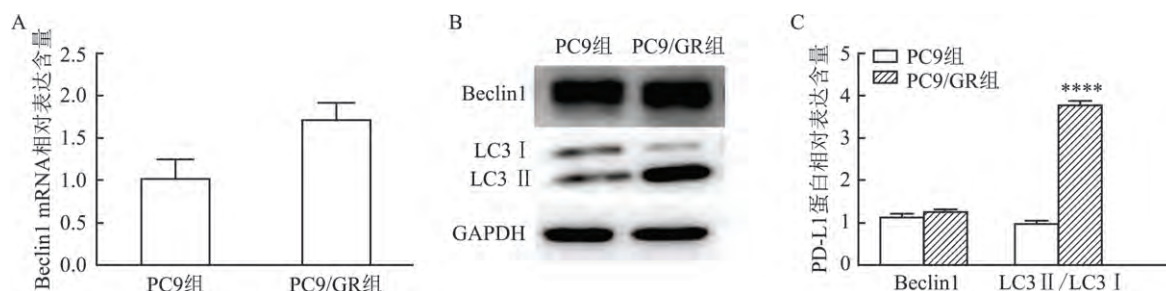


图1 RT-qPCR 和 Western blot 检测 PC9 及 PC9/GR 基础自噬水平

A: PC9 组与 PC9/GR 组细胞中 Beclin1 mRNA 的表达; B: PC9 组与 PC9/GR 组细胞中 Beclin1 及 LC3 II/LC3 I 蛋白表达; C: B 图中蛋白灰度值统计; 与 PC9 组比较: **** $P < 0.0001$

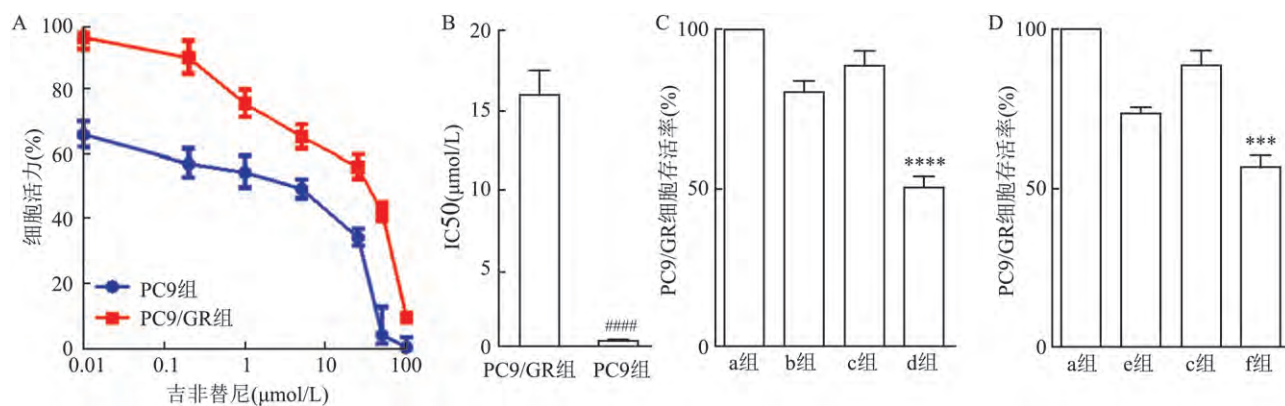


图2 CCK-8 实验测定不同方式处理后细胞增殖活性

A: CCK-8 实验检测 PC9 及 PC9/GR 细胞的细胞活力; B: PC9 及 PC9/GR 细胞的 IC50 值; C: 利用 3-MA 抑制自噬对吉非替尼耐药的逆转作用; a 组: PC9/GR 对照组; b 组: 3-MA 单药组; c 组: 吉非替尼单药组; d 组: 3-MA + 吉非替尼组; D: 利用 CQ 抑制自噬对吉非替尼耐药的逆转作用; a 组: PC9/GR 对照组; e 组: CQ 单药组; c 组: 吉非替尼单药组; f 组: CQ + 吉非替尼组; 与 PC9/GR 组比较: #### $P < 0.0001$; 与 c 组比较: *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$

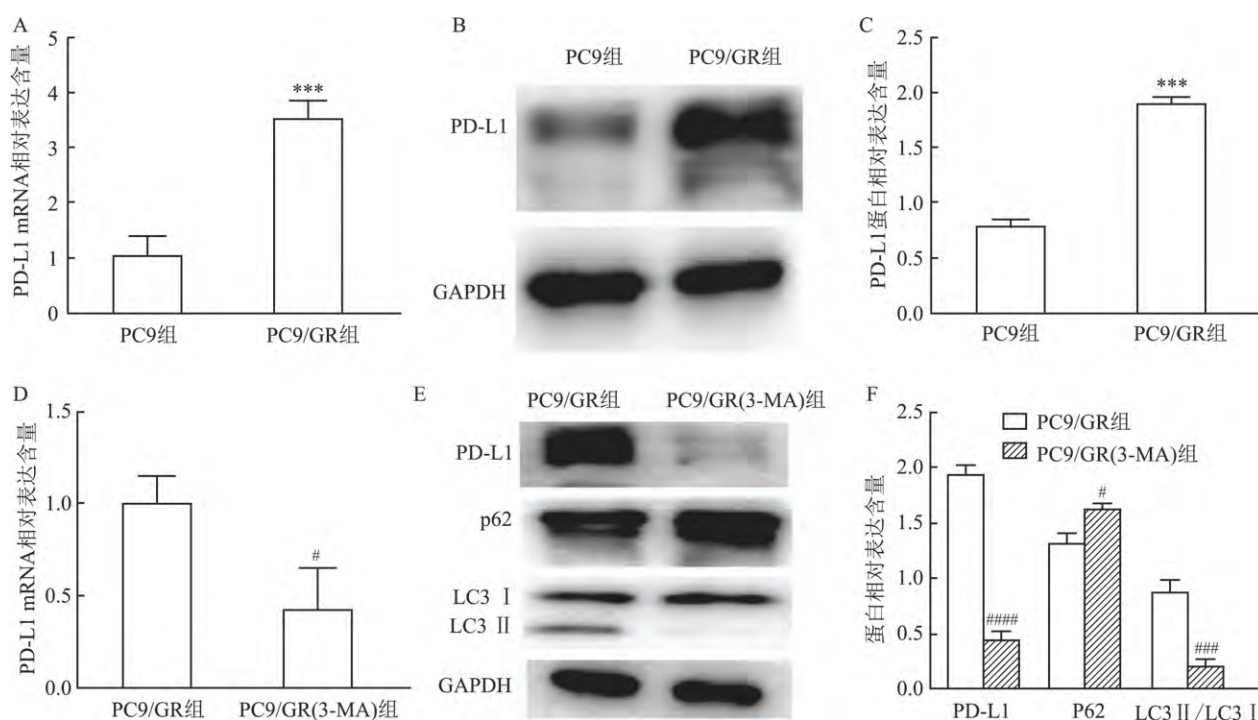


图3 PD-L1 在细胞株 PC9 和 PC9/GR 细胞中表达及抑制 PC9/GR 自噬后 PD-L1 变化

A: PC9 组与 PC9/GR 组细胞中 Beclin1 mRNA 的表达; B: PC9 组与 PC9/GR 组细胞中 PD-L1 蛋白表达; C: B 图中蛋白灰度值统计; D: PC9/GR 组与 5 mmol/L 3-MA 处理 24 h 后 PC9/GR 组细胞中 PD-L1 mRNA 的表达; E: PC9/GR 组与 5 mmol/L 3-MA 处理 24 h 后 PC9/GR 组细胞中 PD-L1 及 p62、LC3II/LC3I 蛋白表达; F: E 图中蛋白灰度值统计; 与 PC9 组比较: *** $P < 0.001$; 与 PC9/GR 组比较: # $P < 0.05$, ### $P < 0.001$, #### $P < 0.0001$

达及抑制 PC9/GR 自噬后 PD-L1 变化 实时荧光定量 PCR 结果显示: PC9/GR 组细胞中 PD-L1 表达水平高于 PC9 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见图 3A。Western blot 检测结果显示: PC9/GR 组细胞中 PD-L1 蛋白表达与 PC9 组相比差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见图 3B、3C。3-MA 抑制 PC9/GR 自

噬后, LC3 II / LC3 I 下降, p62 升高, PD-L1 蛋白表达下降, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见图 3E、3F, 且 qPCR 结果与 Western blot 结果相一致。

2.4 不同浓度不同时间 3-MA 处理 PC9/GR 后 PD-L1 表达情况 Western blot 检测结果显示: 2.5、5、10 mmol/L 3-MA 组 PD-L1 表达较对照组下降, 差

异有统计学意义 ($P < 0.05$) ; 2.5 mmol/L 3-MA p62 表达较对照组上升, 但差异无统计学意义 ($P > 0.05$) ; 5、10 mmol/L 3-MA 组 p62 表达较对照组升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$) ; 2.5、5、10 mmol/L 3-MA 组 LC3 II /LC3 I 表达较对照组下降, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$) 。不同时间 3-MA 处理 PC9/

GR 结果显示: 4、8、24、48 h 3-MA 处理后的 PC9/GR PD-L1 和 LC3 II /LC3 I 较对照组下降, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$) ; 8、24、48 h 处理后的细胞 P62 蛋白较对照组上调, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$) , 且 24 h p62 蛋白变化最明显; qPCR 结果与 Western blot 结果一致, 见图 4。

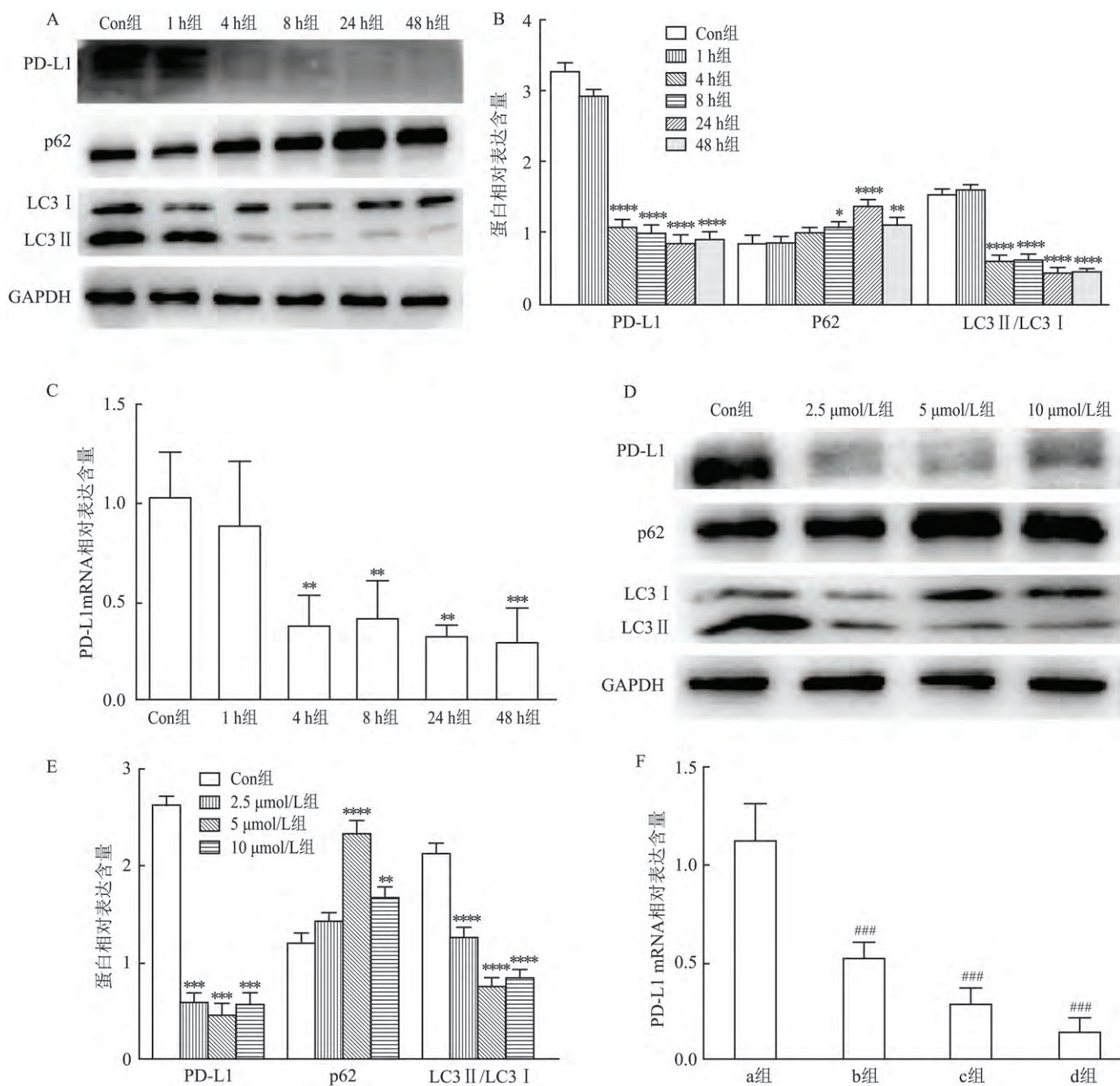


图4 不同浓度不同时间3-MA处理PC9/GR后PD-L1表达情况

A: 不同时间3-MA处理PC9/GR后PD-L1及p62、LC3 II /LC3 I蛋白表达情况; B: A图灰度值统计; C: 不同时间3-MA处理PC9/GR后PD-L1 mRNA表达情况; D: 不同浓度3-MA处理PC9/GR后PD-L1及p62、LC3 II /LC3 I蛋白表达情况; E: D图灰度值统计; F: 不同浓度3-MA处理PC9/GR后PD-L1 mRNA表达情况; a: PC9/GR对照组; b: 2.5 mmol/L 3-MA处理PC9/GR细胞组; c: 5 mmol/L 3-MA处理PC9/GR细胞组; d: 10 mmol/L 3-MA处理PC9/GR细胞组; 与Con组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$; 与PC9/GR对照组比较: ### $P < 0.001$

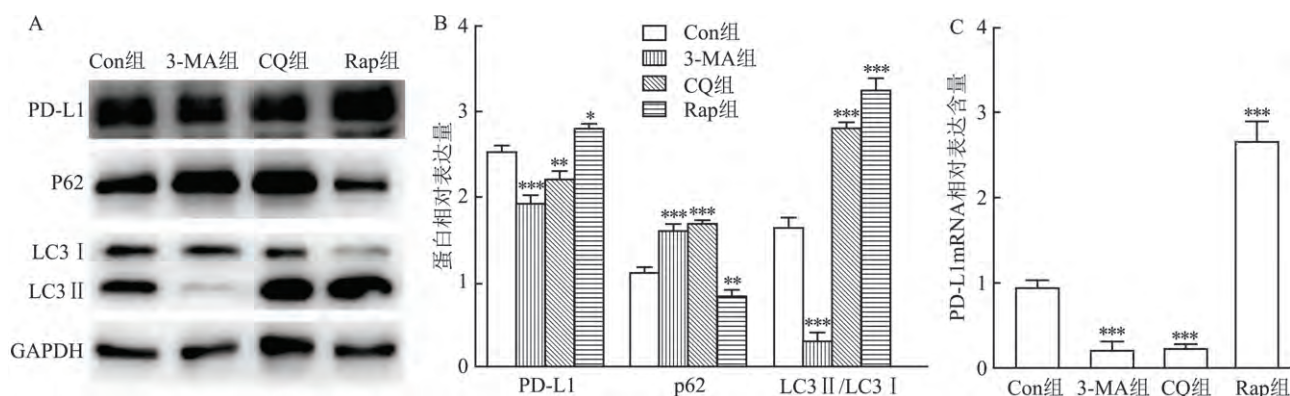


图5 不同药物处理后 PC9/GR 自噬水平和 PD-L1 水平

A: 不同药物处理 PC9/GR 后 PD-L1 及 p62、LC3 II/LC3 I 蛋白表达情况; B: 各蛋白灰度值统计; C: 不同药物处理 PC9/GR 后 PD-L1 mRNA 表达情况; 与 Con 组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

2.5 CQ、Rap、3-MA 处理后 PC9/GR 自噬水平和 PD-L1 水平 Western blot 检测结果显示: 3-MA 及 CQ 处理的 PC9/GR 的 PD-L1 较对照组下降, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。Rap 处理后的 PC9/GR 的 PD-L1 较对照组上升, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。3-MA 处理后的 PC9/GR 的 LC3II 蛋白表达较对照组下降, p62 较对照组上升, 自噬流通畅, 差异有统计学意义 ($P < 0.001$)。Rap 处理后的 PC9/GR 的 LC3 II 蛋白表达较对照组上升, p62 较对照组下降, 自噬流通畅, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。CQ 处理后的 PC9/GR 的 LC3II 蛋白表达较对照组上升, 但 p62 较对照组也上升, 自噬流不畅通, 自噬被抑制, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); qPCR 结果与 Western blot 结果一致, 见图 5。

3 讨论

自噬是一种自我消化的细胞过程, 通过形成双膜囊泡(自噬体)将细胞从细胞质中分离出来, 这种双膜囊泡可在短时间内降解包括细胞器和蛋白质在内的细胞内容物, 从而使细胞可以在恶劣的条件下(例如压力、缺氧和饥饿)生存^[6]。目前, 自噬在肿瘤的治疗中起着双重作用, 可以增加或降低治疗效果, 但是, 大多数研究认为自噬可以介导某些肿瘤的耐药性。诱导自噬可以促进抗癌药的耐药性, 抑制自噬可以有效逆转肿瘤治疗的耐药性^[7]。本研究显示, LC3 II/LC3 I 在吉非替尼耐药细胞株 PC9/GR 中上调; Beclin1 作为自噬形成的主要因子之一, 与自噬相互促进^[8], 其无明显变化考虑可能与 PC9/GR 为 PC9 敏感株继发耐药细胞有关。CCK-8 结果显示, PC9/GR 细胞对吉非替尼药物敏感性低于 PC9; 作为影响自噬过程中两种不同类型的自噬抑

制剂, 3-MA 影响自噬的形成过程, CQ 影响自噬溶酶体的降解, 3-MA 和 CQ 对细胞增殖的影响不同, 但二者均可部分逆转细胞对吉非替尼的耐药, 且 3-MA 抑制作用更明显。因此, 体外靶向自噬可能部分逆转 EGFR-TKI 治疗的耐药性。

PD-L1 属于重要的免疫检查点。PD-L1 与程序性死亡受体-1 (PD-1) 结合, PD-L1/PD-1 通路下调免疫应答效应 T 细胞, 从而引起免疫抑制^[9]。已有研究^[10]显示 PD-L1 高表达与原发性 EGFR-TKIs 耐药有关, 但对继发性耐药尚没有明确报道。目前考虑继发性耐药中 PD-L1 高表达涉及的可能更是一种适应性免疫抵抗^[5]。微管相关蛋白 1 轻链 3 (LC3) 是目前使用最常见的自噬体标志物, LC3I 向 LC3II 的转化可被认为是自噬发生的重要标志^[11]; p62 是第一个被发现的选择性自噬受体, 其降解是另一个广泛用于监测自噬活性的标志物, p62 直接与 LC3II 结合, 并被自噬选择性降解^[12]; LC3II 与 p62 变化方向相反时, 自噬流通畅, 但变化方向一致时, 自噬流不畅通, 代表自噬抑制, 故自噬的检测需结合 LC3 II/LC3 I 及 p62 的结果来观察^[13]。本研究显示, PD-L1 在吉非替尼耐药细胞株 PC9/GR 中表达上调, 用 3-MA 抑制自噬后, LC3II/LC3I 下降, p62 上升, 自噬流通畅, 自噬水平下降, PD-L1 表达降低, 差异有统计学意义。不同浓度 3-MA 处理 PC9/GR 时 5 mmol/L 3-MA LC3 II/LC3 I 及 p62 变化最明显, PD-L1 随自噬水平的改变而变化; 5 mmol/L 3-MA 处理 PC9/GR 不同时间时 24 h 后 LC3 II/LC3 I 及 p62 变化最明显, PD-L1 随自噬水平的改变而变化。当用氯喹处理 PC9/GR 时, LC3 II/LC3 I 上升, 但 p62 也上升, 自噬流不畅通, 代表自噬被抑制, PD-L1 表达降低, 差异有统计学意义; 当用 Rap 处理

PC9/GR 时, LC3 II /LC3 I 上升, p62 下降, 自噬被诱导, PD-L1 表达增加, 差异有统计学意义。进一步说明, 当不同药物上调或下调自噬时, PD-L1 也会随之增加或减少。

综上所述, 体外实验结果提示在吉非替尼耐药细胞中抑制自噬可部分逆转 PC9/GR 吉非替尼耐药性, 提示 PD-L1 可能受自噬调控, 且随自噬水平的变化而改变, PD-L1 可能参与体外抑制自噬逆转吉非替尼耐药的过程。但 PD-L1 如何参与体外抑制自噬逆转吉非替尼耐药的具体机制还需进一步探讨。

参考文献

- [1] Siegel R L, Miller K D, Jemal A. Cancer Statistics, 2017 [J]. *CA Cancer J Clin* 2017, 67(1): 7–30.
- [2] 杨圣杰, 管燕, 马晓. 非小细胞肺癌的联合免疫治疗现状 [J]. *现代肿瘤医学* 2021, 29(10): 1813–6.
- [3] Piotrowska Z, Sequist L V. Epidermal growth factor receptor-mutant lung cancer: New drugs, new resistance mechanisms, and future treatment options [J]. *Cancer J* 2015, 21(5): 371–7.
- [4] Wang Z, Du T, Dong X, et al. Autophagy inhibition facilitates erlotinib cytotoxicity in lung cancer cells through modulation of endoplasmic reticulum stress [J]. *Int J Oncol* 2016, 48(6): 2558–66.
- [5] Peng S, Wang R, Zhang X, et al. EGFR-TKI resistance promotes immune escape in lung cancer *via* increased PD-L1 expression [J]. *Mol Cancer* 2019, 18(1): 165.
- [6] 张其程, 徐克. 自噬在 EGFR-TKI 类肿瘤靶向药物对肺癌的治疗和耐药中作用的研究进展 [J]. *中国肺癌杂志* 2016, 19(9): 607–14.
- [7] Tan Q, Joshua A M, Wang M, et al. Up-regulation of autophagy is a mechanism of resistance to chemotherapy and can be inhibited by pantoprazole to increase drug sensitivity [J]. *Cancer Chemother Pharmacol* 2017, 79(5): 959–69.
- [8] 黄野, 李红昌, 毕礼明, 等. 自噬相关蛋白 Beclin1 及 IL-18 与急性胰腺炎疾病程度的相关性 [J]. *安徽医科大学学报* 2019, 54(10): 1606–10.
- [9] Alsaab H O, Sau S, Alzharni R, et al. PD-1 and PD-L1 checkpoint signaling inhibition for cancer immunotherapy: mechanism, combinations, and clinical outcome [J]. *Front Pharmacol* 2017, 8: 561.
- [10] Hsu K H, Huang Y H, Tseng J S, et al. High PD-L1 expression correlates with primary resistance to EGFR-TKIs in treatment naïve advanced EGFR-mutant lung adenocarcinoma patients [J]. *Lung Cancer* 2019, 127: 37–43.
- [11] Jiang P, Mizushima N. LC3- and p62-based biochemical methods for the analysis of autophagy progression in mammalian cells [J]. *Methods* 2015, 75: 13–8.
- [12] Aparicio R, Hansen M, Walker D W, et al. The selective autophagy receptor SQSTM1/p62 improves lifespan and proteostasis in an evolutionarily conserved manner [J]. *Autophagy* 2020, 16(4): 772–4.
- [13] Yoshii S R, Mizushima N. Monitoring and measuring autophagy [J]. *Int J Mol Sci* 2017, 18(9): 1865.

Effects of autophagy on sensitivity to gefitinib and PD-L1 in PC9/GR cells *in vitro*

Li Xuan, Cheng Hao, Fang Yue, et al

(Dept of Oncology, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022)

Abstract **Objective** To investigate the effect of autophagy on drug sensitivity of PC9/GR and programmed death ligand-1 (PD-L1) in gefitinib-resistant lung adenocarcinoma cells *in vitro*. **Methods** Real-time fluorescence quantitative PCR and Western blot assay were performed to detect the expression levels of autophagy-related proteins LC3II/LC3I, Beclin1 and PD-L1 in gefitinib-sensitive cell line PC9 and gefitinib-resistant cell line PC9/GR; CCK-8 assay was performed to detect the sensitivity of PC9 and PC9/GR cells to gefitinib and the inhibition of PC9/GR; The expression of LC3II/LC3I, p62 and PD-L1 in PC9/GR cells after autophagy was detected by Western blot. **Results** The expression of autophagy and PD-L1 was higher in PC9/GR cells than that in PC9 cells, and CCK-8 assay showed that the IC50 for gefitinib was higher in PC9/GR cells than that in PC9 cells, and the sensitivity of PC9/GR cells to gefitinib was partially restored after inhibition of autophagy ($P < 0.05$). PD-L1 expression increased and inhibited autophagy PD-L1 expression decreased with the time and concentration of autophagy inhibitor treatment ($P < 0.05$). **Conclusion** The results of *in vitro* experiments suggest that inhibition of autophagy may enhance the sensitivity of lung adenocarcinoma resistant cells to gefitinib, suggesting that PD-L1 may be regulated by autophagy and that PD-L1 may be involved in the reversal of gefitinib resistance by inhibition of autophagy *in vitro*.

Key words autophagy; programmed death ligand 1; EGFR-TKI resistance; non small cell lung carcinoma