

自噬相关基因 Beclin1 在乳腺癌发生发展及治疗中的作用

Roles of autophagy associated gene Beclin1 in carcinogenesis, progression and therapy of breast cancer

蒲倩 综述; 吴成林, 周丽君 审阅(解放军海军总医院 中心实验科, 北京 100048)

[摘要] 乳腺癌是女性最常见的、发病率位居恶性肿瘤首位的肿瘤。自噬是一种高度保守的溶酶体依赖性分解代谢途径, 参与细胞的生理和病理过程, 是细胞维持自稳态的重要机制之一, 并对肿瘤的生物有着复杂且重要的作用。Beclin1 是第一个在哺乳动物中发现的与自噬相关的抑癌基因, 其作为自噬体形成过程中的重要分子之一, 是调控细胞自噬活性的关键靶点。近年来的研究发现, Beclin1 与乳腺癌的发生发展及预后密切相关。其不仅可以降低乳腺癌的发生概率, 也能促进乳腺癌的进展。同时, Beclin1 也参与影响乳腺癌的辅助治疗效果, 既可以影响化疗药物诱导的乳腺癌细胞的凋亡, 也是乳腺癌内分泌治疗耐药的主要原因之一。Beclin1 与 HER2 之间的相互作用也影响着靶向药物的疗效。因此本文就 Beclin1 与乳腺癌的发生发展及其在治疗中的作用进行综述。

[关键词] 自噬; Beclin1 基因; 乳腺癌

[中图分类号] R737.9; R730.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2018)01-0098-06

乳腺癌是女性常见的恶性肿瘤, 近十几年来其发病率有逐年递增的趋势。2012 年全球约有 170 万乳腺癌新发病例, 并约有 52 万女性死于乳腺癌^[1]。2013 年中国乳腺癌新发病例约 27.9 万, 处于女性恶性肿瘤发病率首位^[2], 是女性肿瘤患者的主要死亡原因之一。因此, 深入探讨其发生发展的相关机制成为近年来研究的热点。越来越多的研究发现, 作为维持细胞自稳态的自噬在乳腺癌的进展及治疗中有着重要的意义^[3], Beclin1 是自噬起始阶段的关键调控分子之一, 同时也是第一个在哺乳动物中发现的与自噬相关的抑癌基因^[4], 其在多种肿瘤中的表达水平均有变化, 并且与肿瘤的发生发展以及治疗抵抗密切相关^[5-6]。本文将从 Beclin1 与自噬的关系、在乳腺癌中的表达变化和预后以及与乳腺癌的治疗 3 个方面进行综述。

1 Beclin1 与自噬

自噬作为机体对抗缺氧和饥饿等恶劣环境的一种重要过程, 主要通过降解细胞内受损的结构产生氨基酸、游离脂肪酸等物质以供蛋白质及能量的合成, 其主要过程包括: (1) 自噬的起始; (2) 细胞内底物的募集、自噬体 (autophagosome) 膜的延伸和成熟自噬体的形成; (3) 自噬体与溶酶体融合形成自噬溶酶体 (autolysosome); (4) 自噬体的降解与再循环 4 个阶段。并且这 4 个阶段受着精密的分子机制调控: 协同活化的 ULK1-ATG13-ATG101-FIP200 复合物和脂类激酶 Vps34-Beclin1 复合物驱动自噬体膜最初的形

成; 穿膜蛋白 ATG9 和 VMP1 参与从内体 (endosome) 和高尔基体募集脂质至自噬体膜; ATG5-ATG12-ATG16L1 和 LC3-PE 复合物也参与细胞内底物的募集、膜的延伸和自噬体的成熟; ATG7 和 ATG10 催化 ATG12 结合 ATG5、ATG7 和 ATG3 催化 PE 结合 LC3^[7]。

Beclin1 基因最初是由 Liang 等^[8]在研究致死性 Sinbis 病毒性脑炎的大鼠体内发现的, 是第一个被鉴定出的哺乳动物自噬相关基因 (autophagy-related gene, ATG), 位于人类染色体 17q21, 也被称为 BECN1, 有 12 个外显子^[9], 编码 450 个氨基酸。其蛋白分子相对分子质量约 60 000, 主要包括 3 个结构域: Bcl-2 同源 3 (Bcl-2 homology-3, BH3) 结构域、中央卷曲螺旋结构域 (central coiled-coiled domain, CCD) 和进化保守结构域 (evolutionarily conserved domain, ECD)^[10]。Beclin1 是自噬起始的一个关键调控分子, 它主要与 III 型磷脂酰肌醇 3 激酶 (class III phosphatidylinositol-3 kinase, PI3KC3) 形成 ATG14-Beclin1-

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目 (No.81602457, 31470897); 海军总医院创新培育基金资助项目 (No.CX-PY201602)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No.81602457, 31470897), and the Innovation Foundation of the Navy General Hospital (No.CXPY201602)

[作者简介] 蒲倩 (1993-), 女, 硕士生, 主要从事基因工程抗体的研究, E-mail: 13881187350@163.com

[通信作者] 周丽君 (ZHOU Lijun, corresponding author), 博士, 研究员, 博士生导师, 主要从事基因工程抗体的研究, E-mail: hz-zhoulj@126.com

PI3KC3 复合物,参与募集细胞质中其他自噬调控蛋白,促进自噬体膜的形成^[11]。此外,其他自噬相关蛋白通过与 Beclin1 的不同区域发生直接或间接结合,进而调控自噬水平。比如在自噬早期阶段,Beclin1 直接结合紫外线放射抵抗相关基因(ultraviolet irradiation resistance-associated gene, *UVRAG*)的 CCD 结构域诱导自噬体的成熟^[12];凋亡抑制因子 Bcl-2 可以与 Beclin1 的 BH3 结构域结合,抑制 Vps34-Beclin1 复合物的形成,从而阻止 Beclin1 依赖的细胞自噬的发生^[13]。

2 Beclin1 与乳腺癌的发生发展及预后

多项研究发现,Beclin1 不仅可以作为抑癌基因降低乳腺癌的发病风险,也可以通过调节自噬促进乳腺癌的进展。1999 年 Beclin1 首次被确认为是一种抑癌基因,在 40%~75% 的散发性乳腺癌和卵巢癌中存在单等位基因缺失^[14]。2010 年对 Beclin1 在乳腺癌组织中的表达水平分析中发现,约 70% 的乳腺癌组织检测出 Beclin1 mRNA 和蛋白水平的降低^[15],并在淋巴结转移阳性、远端转移阳性以及 Ki67 阳性的乳腺癌组织中表达更低^[16]。Won 等^[17]用免疫组化技术检测 125 例侵袭性乳腺癌患者标本中 Beclin1 的表达后发现,Beclin1 在癌旁组织的乳腺导管上皮中呈现中到强等程度的表达,乳腺癌细胞中 Beclin1 阳性率为 42.4% (53/125),呈现降低的趋势。有研究^[18]通过对癌症基因图谱(The Cancer Genome Atlas, TCGA)和乳腺癌分子分类国际联盟(Molecular Taxonomy of Breast Cancer International Consortium, METABRIC)数据库检索分析发现,恶性程度更高的 HER2 阳性和 Basal-like 型(大部分为三阴性)乳腺癌比恶性程度较低的 luminalA/B 亚型呈现出更低的 Beclin1 的表达,且大部分患者已处于临床 III 期,分化状态较差。Choi 等^[19]检测了 489 例乳腺癌标本中 Beclin1 的表达水平,结果显示 Beclin1 的阴性率 70.1% (343/489),弱阳性率 26.2% (128/489),阳性率 3.7% (18/489),而且不同分子亚型的乳腺癌患者 Beclin1 表达下降的程度也有差异;同时在分析不同亚型、不同部位 Beclin1 表达时发现,相对其他亚型而言,其中三阴性乳腺癌细胞质 Beclin1 表达率最高,细胞核 Beclin1 表达率最低($P < 0.01$),可能与三阴性乳腺癌有更高的核多形性及有丝分裂有关。Liu 等^[20]通过免疫组化法检测 30 例三阴性乳腺癌和对应癌旁组织中 Beclin1 表达水平,结果发现三阴性乳腺癌组织中的表达水平显著低于癌旁组织,进一步用免疫斑点法验证其结果,也发现相比正常的乳腺组织而言,三阴性乳腺癌的 Beclin1 表达水平显著降低,而且通过对 TCGA 数据集分析发现,Beclin1 基因在三阴性乳腺癌组织($n=82$)中的表

达比在其他类型的乳腺癌组织中($n=391$)更低。Garbar 等^[21]也在 87 例乳腺癌患者中观察到相比 luminal I 型乳腺癌,Beclin1 在三阴性乳腺癌表达水平更低。Dong 等^[22]通过免疫组化和 Western blotting 法检测 378 例雌激素受体(estrogen receptor, ER)阳性和 HER2 阴性的乳腺癌患者中 Beclin1 的表达,发现 Beclin1 在正常乳腺上皮中高表达,而在 78.0% 乳腺癌组织中不表达或轻微表达。功能学研究^[4]发现,在乳腺癌 MCF-7 细胞中过表达 Beclin1 能增强细胞的自噬活性,同时会抑制细胞增殖、体外克隆形成和在裸鼠中的肿瘤形成能力。实验室研究^[23]发现,Beclin1 缺失的 MDA-MB-231 细胞,AKT 和 ERK 的磷酸化水平升高,Beclin1 与生长因子受体信号通路持续的强度及时间存在负相关,Beclin1 可以抑制乳腺癌细胞的侵袭转移。在 Beclin1^{+/+}突变小鼠中也发现,由 Wnt 通路激活诱导的肿瘤形成概率更高^[24]。以上研究都提示 Beclin1 作为自噬相关的抑癌基因,其表达水平降低可能抑制自噬活性,进而促进乳腺癌的发生发展。

有研究显示,Beclin1 在有些患者中呈现高表达,可以促进乳腺癌的发生发展。在 114 例侵袭性小叶癌(invasive lobular carcinoma, ILC)和 692 例侵袭性导管癌(invasive ductal carcinoma, IDC)中发现,具有较高增殖活性的 IDC 中 Beclin1 的表达比在 ILC 中更高^[25]。Gu 等^[26]运用 siRNA 干扰的方法下调 MCF-7 和他莫昔芬耐药株 MCF-7(MCF-7R)细胞 Beclin1 的蛋白表达水平,发现随着 Beclin1 表达的下降,MCF-7 和 MCF-7R 细胞的存活率降低而凋亡的比例有所增加。Huo 等^[27]的研究发现,单等位缺失 Beclin1 基因会减少 Palb2 缺失诱导的小鼠乳腺肿瘤形成。Gong 等^[28]还发现,Beclin1 在乳腺癌细胞系中的乳腺癌干细胞/祖细胞球中呈现高表达,而且在敲除 Beclin1 后,乳腺球形成的大小和数量都减小,作者认为 Beclin1 对维持乳腺癌干细胞/祖细胞的增殖起重要作用。实验研究^[29-30]显示,在正常培养环境下转染 Beclin1 基因可抑制 BT-549 和 MDA-MB-231 细胞的增殖,而在饥饿、缺氧等环境下,转染 Beclin1 基因可减少 BT-549 和 MDA-MB-231 细胞的死亡;并且转染 Beclin1 基因后 BT-549 和 MDA-MB-231 细胞更多地处于 G0/G1 期。这可能是由于转染 Beclin1 基因后 BT-549 和 MDA-MB-231 细胞的自噬活性提高,可减少其在低营养环境下的死亡。以上研究结果提示,Beclin1 对乳腺癌细胞产生不同的影响可能与其所处的具体环境有关,但对乳腺癌的发生发展等影响的两面性的机制还有待深入研究。

乳腺癌中 Beclin1 表达高低作为预后指标的报道也并不一致。Tang 等^[18]在 1 971 例乳腺癌的研究中根

据 Beclin1 的表达水平高低将患者划分为高、中、低组,进行与临床预后相关分析,发现 Beclin1 表达水平低的患者预后最差($P<0.01$),多因素分析显示在调整了 BRCA1、年龄、肿瘤分级、大小、分期、亚型、P53 变异和治疗方式后,Beclin1 表达的降低与乳腺癌患者生存期缩短显著相关($HR=0.6, P=0.02$),因此作者认为 Beclin1 可以作为乳腺癌独立的预后指标。Dong 等^[22]也发现,Beclin1 低表达患者的 5 年总生存率(OS, 85.1% vs 94.1%, $P=0.005$)和无远处转移生存率(DMFS, 79.1% vs 89.3%, $P=0.037$)较 Beclin1 高表达差, Cox 多变量分析证实 Beclin1 可以作为 OS 和 DMFS 独立的预后因子。He 等^[31]通过搜索多个公共数据库资料发现,Beclin1 在 620 例乳腺癌患者中起保护作用($HR=0.45, 95\% CI=0.26-0.78$), Meta 分析也显示 Beclin1 高表达患者的预后较好。Akemi 等^[32]在 115 例 IDC 病例中发现,乳腺癌细胞的 Beclin1 表达率高于间质细胞,但是仅凭 Beclin1 的高低不足以作为判断预后好坏的指标,相反,如果患者乳腺癌细胞中 Beclin1 表达下降而间质细胞 Beclin1 表达增加,这预示该患者极容易发生局部复发和术后淋巴结转移,无病生存期较短。然而, Won 等^[17]基于 Kaplan-Meier 方法发现, Beclin1 表达高低与侵袭性乳腺癌患者的累积生存率长短之间没有显著差异($P=0.2852$), Cox 回归模型多因素分析也显示 Beclin1 不能作为乳腺癌独立的预后因子。Wang 等^[30]在对 53 例三阴性乳腺癌患者研究时也发现, Beclin1 过表达与淋巴结及远处转移相关而与患者的 5 年 OS 无关。总之,至今大部分的研究还是倾向于 Beclin1 的表达是与患者 OS 相关的独立预后因素, Beclin1 表达越高其预后越好。

3 Beclin1 与乳腺癌的治疗

3.1 Beclin1 与乳腺癌化疗的关系

化疗是目前乳腺癌辅助治疗的有效手段之一。化疗的机制主要是诱导肿瘤细胞多种效应,包括凋亡、坏死、自噬、有丝分裂障碍和衰老等,以阻止肿瘤细胞增殖。自噬在化疗药物诱导乳腺癌细胞凋亡过程中起重要作用,乳腺癌细胞对化疗的耐药性可能归因于其自噬活性的增加,癌细胞可以利用自噬途径获取必要的营养物质及能量,帮助增加其对恶劣环境的耐受性,从而降低了对化疗药物的敏感性。体外实验^[33]表明,自噬抑制药物与化疗药物相结合具有更好的抗肿瘤效果。Abdel-Mohsen 等^[34]发现接受 6 个周期的 FAC 化疗方案(氟尿嘧啶、表阿霉素、环磷酰胺)治疗后,乳腺癌患者血清中 Beclin1 水平显著升高。Rai 等^[35]发现,白藜芦醇联合多柔比星(doxorubicin, DOX)能通过抑制 Beclin1 等自噬相关分子的表

达,抑制乳腺癌细胞的增殖和转移,促进乳腺癌细胞的凋亡。Zhang 等^[36]发现,藏红花酸能降低 Beclin1、提高 ATG1 的表达水平,逆转氟尿嘧啶诱导的自噬对细胞的保护作用,从而增强氟尿嘧啶对乳腺癌 MCF-7 细胞的杀伤作用。以上研究提示,可以通过干扰 Beclin1 降低细胞自噬水平抑制乳腺癌细胞的侵袭转移,增强乳腺癌细胞对化疗药物的敏感性,增加凋亡,提高化疗药物的抗癌功效。

3.2 Beclin1 与乳腺癌内分泌治疗的关系

内分泌治疗是乳腺癌辅助治疗的主要方法之一,可显著提高乳腺癌患者的存活率。有研究^[37]发现,在 ER 阳性乳腺癌细胞中, Beclin1 可以下调雌激素的信号通路和促生长反应,因此导致抗雌激素抗体雷诺昔芬、4-羟基他莫昔芬耐药的发生,上调 Beclin1 的表达可以降低抗雌激素药物介导的肿瘤抑制作用;相反,抑制 Beclin1 基因可以增加抗雌激素药物介导的肿瘤细胞的死亡^[38]。Qadir 等^[39]发现,干扰 Beclin1 表达可以降低他莫昔芬耐药株 MCF-7 细胞的存活,增加其凋亡。Motawi 等^[40-41]发现,咖啡酸苯乙酯联合他莫昔芬治疗能增强对乳腺癌细胞的毒性作用,并伴随有 Beclin1 的降低。Gu 等^[26,42]研究发现,在他莫昔芬耐药株 MCF-7R 细胞中, Beclin1 蛋白表达水平高于对照 MCF-7 细胞,而下调 Beclin1 的 MCF-7 和 MCF-7R 细胞对他莫昔芬的敏感性显著提高了,表现为在他莫昔芬作用下 MCF-7 和 MCF-7R 细胞体外增殖及克隆形成能力有一定程度减弱,凋亡增加,细胞 G0/G1 期阻滞增加以及迁移侵袭的能力减弱;接着也发现下调 Beclin1 的 MCF-7 和 MCF-7R 细胞中 HER2 的表达水平也随之下降,另外在敲除 Beclin1 的细胞中,运用质粒上调 HER2 的表达,发现 MCF-7 和 MCF-7R 细胞又表现出对他莫昔芬的耐药性,提示干扰 Beclin1 可能是通过调节 HER2 水平的下降从而引发 ER 阳性乳腺癌增加对他莫昔芬的敏感性。Qi 等^[43]推测乳腺癌 MCF-7 细胞对他莫昔芬产生耐药性可能主要是因为 Beclin1 从 Bcl-2 复合物中解离出来,因此增强了 ATG14-Beclin1-PI3KC3 复合物的活性。

Ueno 等^[44]在对 70 例 ER 阳性 HER-2 阴性样本研究时发现,芳香化酶抑制剂依西美坦(exemestane)治疗后乳腺癌细胞 Beclin1 和 LC3 水平升高,而凋亡相关标志物 M30 表达下降;乳腺癌细胞 Beclin1 水平与标志物 Ki-67 表达成正相关,乳腺癌细胞 Beclin1 表达水平越高, Ki-67 越高,细胞增殖越快,患者对依西美坦的临床疗效越差,高水平 Beclin1 能保护细胞免于死亡。氟维司群(fulvestrant)是新型的 ER 拮抗剂,可选择性下调雌激素水平、ER 的表达,抑制癌细胞生长。Crawford 等^[45]研究发现,干扰 Beclin1 可以降低

氟维司群诱导的坏死而增加 MCF-7 细胞的凋亡,从而恢复细胞对氟维司群的敏感性。然而, Yu 等^[46]发现沉默 miR-21 能改变乳腺癌细胞对氟维司群和他莫昔芬的敏感性,主要通过上调 Beclin1 和 LC3-II 的水平增加自噬性死亡,表明克服耐药性有可能通过提高 Beclin1 表达来增加乳腺癌细胞的自噬性死亡来实现。以上研究提示, Beclin1 与乳腺癌内分泌耐药机制密切相关,可以通过调控 Beclin1 表达缓解内分泌治疗的高耐药率。

3.3 Beclin1 与乳腺癌靶向 HER2 治疗及放疗的关系

3.3.1 靶向 HER2 治疗 针对 HER2 过表达乳腺癌,靶向治疗是比较理想的辅助治疗方式。目前靶向 HER2 的药物主要有曲妥珠单抗、帕妥珠单抗等单克隆抗体和拉帕替尼等小分子酪氨酸激酶抑制剂。在分析乳腺癌微阵列数据集时发现, Beclin1 和 HER2 之间存在直接的相互作用, Beclin1 缺失和 HER2 扩增之间存在显著的关联^[47]。有研究^[48]发现, HER2 过表达能通过 Beclin1 相互作用抑制自噬,主要体现在以下 3 个方面: (1) 与 Beclin1 结合, 从而降低 Beclin1-VPS34 复合物酶活性; (2) 调节 Beclin1 表达。Chen 等^[49]发现, miR216-b 能与 Beclin1 mRNA 结合而抑制其转录, 西妥昔单抗在治疗乳腺癌时能抑制 miR216-b 从而促进 Beclin1 的表达; (3) 上调 Bcl-2 与 Beclin1 的结合^[50]。因此, 治疗乳腺癌的靶向药物曲妥珠单抗和帕妥珠单抗在抑制 HER2 的同时能增强细胞的自噬水平, 减少对细胞的损伤作用, 容易导致靶向药物的耐药性。Lozy 等^[51]发现, 在 HER2 过表达的乳腺癌细胞中, 抑制 Beclin1 能增强 BT474 对曲妥珠单抗的敏感性。Han 等^[52]发现, 拉帕替尼可以减少 BT474 和 SKBR3 细胞表面 HER2 的表达并破坏 HER2 与 Beclin1 复合物的共定位, 因此导致 Beclin1 的积累。Beclin1 过表达可以提高 HER2 磷酸化并能削弱拉帕替尼对 HER2 的去磷酸化作用, 激活肿瘤细胞 HER2 存活信号通路, 同时也验证了敲除 Beclin1 可以增强拉帕替尼诱导的细胞凋亡。上述研究提示, Beclin1 可能在乳腺癌靶向 HER2 药物治疗中起保护性作用。

3.3.2 放疗 放疗是乳腺癌患者保乳术后主要的辅助治疗方式, 它可以降低余下乳腺组织及邻近淋巴结的复发风险, 有效提高患者的生存率。有研究^[53-54]显示, 根据乳腺癌细胞类型及所处的环境压力不同, 自噬可能促进或者减弱放疗的细胞毒作用。Luo 等^[55]发现, 放疗能激活自噬, 并作为一种保护机制有助于乳腺癌细胞的生存。Yi 等^[56]发现, miR-199a-5p 过表达能明显降低 MCF-7 细胞中由放疗诱导的 Beclin1 表达, 表明 miR-199a-5p 能通过靶向 Beclin1 抑制自噬, 从而有可能增强 MCF-7 细胞对放疗的敏感

性; 对于 MDA-MB-231 细胞, miR-199a-5p 过表达却增加 Beclin1 表达, 但与阴性对照组相比, miR-199a-5p 能明显减弱放疗组 MDA-MB-231 细胞的存活率, 有助于增加 MDA-MB-231 细胞对放疗的敏感性; He 等^[57]也发现, 在缺氧的环境下, 通过干扰 Beclin1 表达, 随着照射剂量的增加, MCF-7 和 MDA-MB-231 细胞的生存率逐渐下降, 对放疗的敏感性逐渐增加。然而 Cui 等^[58]发现, 在 4Gy 剂量的照射下, MCF-7 细胞 Beclin1 表达水平会升高, 而且敲低 Beclin1 后, 放射诱导的细胞自噬性死亡被部分抑制。

4 结 语

Beclin1 作为一种重要的抑癌基因, 在大部分乳腺癌患者中呈现缺失的状态, 但又作为自噬体起始复合物形成的关键基因, 在乳腺癌中的高表达可以帮助肿瘤细胞在高压环境中存活, 也和乳腺癌耐药有着显著的关联。但是现阶段关于 Beclin1 在乳腺癌细胞中的表达, 对乳腺癌的发生发展、预后及治疗方面的具体调节机制以及信号转导通路存在一定的争议, 因此对 Beclin1 进行更深入而全面的研究, 有助于临床医生寻找防治乳腺癌的新靶点、提高乳腺癌患者的 5 年 OS, 为乳腺癌的临床治疗提供更好的理论支撑。

[参 考 文 献]

- [1] TORRE L A, BRAY F, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics, 2012[J]. CA Cancer J Clin, 2015, 65(2): 87-108. DOI: 10.3322/caac.21262.
- [2] 陈万青, 郑荣寿, 张思维, 等. 2013 年中国恶性肿瘤发病和死亡分析[J]. 中国肿瘤, 2017(1): 1-7. DOI: 10.11735/j.issn.1004-0242.2017.01.A001.
- [3] ZHOU Y, RUCKER E B, ZHOU B P. Autophagy regulation in the development and treatment of breast cancer[J]. Acta Biochimica et Biophysica Sinica, 2015, 48(1): 60-74. DOI: 10.1093/abbs/gmv119.
- [4] LIANG X H, JACKSON S, SEAMAN M, et al. Induction of autophagy and inhibition of tumorigenesis by beclin 1[J]. Nature, 1999, 402(6762): 672-676. DOI: 10.1038/45257.
- [5] GALLUZZI L, PIETROCOLA F, BRAVO SAN PEDRO J M, et al. Autophagy in malignant transformation and cancer progression[J]. EMBO J, 2015, 34(7): 856-880. DOI: 10.15252/embj.201490784.
- [6] ZHOU K, WANG L, CHENG R, et al. Eleme increases autophagic apoptosis and drug sensitivity in human cisplatin (DDP)-resistant lung cancer cell line SPC-A-1/DDP by inducing beclin-1 expression[J/OL]. Oncol Res, 2017, 2017[2017-09-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28550680>. DOI: 10.3727/096504017X14954936991990.
- [7] FOUGERAY S, PALLET N. Mechanisms and biological functions of autophagy in diseased and ageing kidneys[J]. Nat Rev Nephrol, 2015, 11(1): 34-45. DOI: 10.1038/nrneph.2014.201.
- [8] LIANG X H, KLEEMAN L K, JIANG H H, et al. Protection against fatal Sindbis virus encephalitis by beclin, a novel Bcl-2-interacting protein[J]. J Virol, 1998, 72(11): 8586-8596.

- [9] AITA V M, LIANG X H, MURTY V V, et al. Cloning and genomic organization of beclin 1, a candidate tumor suppressor gene on chromosome 17q21[J]. *Genomics*, 1999, 59(1): 59-65. DOI: 10.1006/geno.1999.5851.
- [10] FU L L, CHENG Y, LIU B. Beclin-1: autophagic regulator and therapeutic target in cancer[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2013, 45(5): 921-924. DOI: 10.1016/j.biocel.2013.02.007.
- [11] SAGONA A P, NEZIS I P, BACHE K G, et al. A tumor-associated mutation of FYVE-CENT prevents its interaction with Beclin 1 and interferes with cytokinesis[J/OL]. *PLoS One*, 2011, 6(3): e17086[2017-09-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3063775/>. DOI: 10.1371/journal.pone.0017086.
- [12] HE S, NI D, MA B, et al. PtdIns(3)P-bound UVRAG coordinates Golgi-ER retrograde and Atg9 transport by differential interactions with the ER tether and the beclin 1 complex[J]. *Nat Cell Biol*, 2013, 15(10): 1206-1219. DOI: 10.1038/ncb2848.
- [13] 叶挺, 邵增务. Bcl-2/Beclin-1 复合体在自噬中的调节作用[J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2013, (6): 513-519. DOI: 10.13865/j.cnki.cjbm.2013.06.001.
- [14] LIANG X H, JACKSON S, SEAMAN M, et al. Induction of autophagy and inhibition of tumorigenesis by beclin 1[J]. *Nature*, 1999, 402(6762): 672-676. DOI: 10.1038/45257.
- [15] LI Z, CHEN B, WU Y, et al. Genetic and epigenetic silencing of the beclin 1 gene in sporadic breast tumors[J/OL]. *BMC Cancer*, 2010, 10: 98[2017-09-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2858113/>. DOI: 10.1186/1471-2407-10-98.
- [16] YAO Q, CHEN J, LV Y, et al. The significance of expression of autophagy-related gene Beclin, Bcl-2, and Bax in breast cancer tissues[J]. *Tumour Biol*, 2011, 32(6): 1163-1171. DOI: 10.1007/s13277-011-0219-9.
- [17] WON K Y, KIM G Y, KIM Y W, et al. Clinicopathologic correlation of beclin-1 and bcl-2 expression in human breast cancer[J]. *Human Pathol*, 2010, 41(1): 107-112. DOI: 10.1016/j.humpath.2009.07.006.
- [18] TANG H, SEBTI S, TITONE R, et al. Decreased BECN1 mRNA expression in human breast cancer is associated with estrogen receptor-negative subtypes and poor prognosis[J/OL]. *EBioMedicine*, 2015, 2(3): 255-263[2017-09-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4376376/>. DOI: 10.1016/j.ebiom.2015.01.008.
- [19] CHOI J, JUNG W, KOO J S. Expression of autophagy-related markers beclin-1, light chain 3A, light chain 3B and p62 according to the molecular subtype of breast cancer[J]. *Histopathology*, 2013, 62(2): 275-286. DOI: 10.1111/his.12002.
- [20] LIU L, HE J, WEI X, et al. MicroRNA-20a-mediated loss of autophagy contributes to breast tumorigenesis by promoting genomic damage and instability[J]. *Oncogene*, 2017, 36(42): 5874-5884. DOI: 10.1038/onc.2017.193.
- [21] GARBAR C, MASCAUX C, GIUSTINIANI J, et al. Autophagy is decreased in triple-negative breast carcinoma involving likely the MUC1-EGFR-NEU1 signalling pathway[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(5): 4344-4355.
- [22] DONG M, WAN X B, YUAN Z Y, et al. Low expression of Beclin 1 and elevated expression of HIF-1 α refine distant metastasis risk and predict poor prognosis of ER-positive, HER2-negative breast cancer[J]. *Med Oncol*, 2013, 30(1): 1-10. DOI: 10.1007/s12032-012-0355-0.
- [23] ROHATGI R A, JANUSIS J, LEONARD D, et al. Beclin 1 regulates growth factor receptor signaling in breast cancer[J]. 2015, 34(42): 5352-5362. DOI: 10.1038/onc.2014.454.
- [24] CICCHINI M, CHAKRABARTI R, KONGARA S, et al. Autophagy regulator BECN1 suppresses mammary tumorigenesis driven by WNT1 activation and following parity[J]. 2014, 10(11): 2036-2052. DOI: 10.4161/auto.34398.
- [25] CHA Y J, KIM Y H, CHO N H, et al. Expression of autophagy related proteins in invasive lobular carcinoma: comparison to invasive ductal carcinoma[J/OL]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2014, 7(6): 3389-3398[2017-09-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4097258>.
- [26] GU Y, CHEN T, LI G, et al. Lower Beclin 1 downregulates HER2 expression to enhance tamoxifen sensitivity and predicts a favorable outcome for ER positive breast cancer[J/OL]. *Oncotarget*, 2016, 8(32): 52156[2017-09-20]. <http://europepmc.org/backend/ptpmcrender.fcgi?accid=PMC5581020&blobtype=pdf>. DOI: 10.18632/oncotarget.11044.
- [27] HUO Y, CAI H, TEPLOVA I, et al. Autophagy opposes p53-mediated tumor barrier to facilitate tumorigenesis in a model of PALB2-associated hereditary breast cancer[J]. *Cancer Discov*, 2013, 3(8): 894-907. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-13-0011.
- [28] GONG C, SONG E, CODOGNO P, et al. The roles of BECN1 and autophagy in cancer are context dependent[J]. *Autophagy*, 2012, 8(12): 1853-1855. DOI: 10.4161/auto.21996.
- [29] 王梦川, 吴爱国, 王日玮, 等. 转染 beclin1 基因诱导自噬对三阴性乳腺癌 BT-549 细胞生长的影响[J]. *中华乳腺病杂志(电子版)*, 2013, 7(1): 12-19. DOI: 10.3877/cma.j.issn1674-0807.2013.01.004.
- [30] WANG M C, WU A G, HUANG Y Z, et al. Autophagic regulation of cell growth by altered expression of Beclin 1 in triple-negative breast cancer[J/OL]. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8(5): 7049-7058[2017-09-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4509187/>.
- [31] HE Y, ZHAO X, SUBAHAN N R, et al. The prognostic value of autophagy-related markers beclin-1 and microtubule-associated protein light chain 3B in cancers: a systematic review and meta-analysis[J]. *Tumor Biol*, 2014, 35(8): 7317-7326. DOI: 10.1007/s13277-014-2060-4.
- [32] AKEMI M, TAKEUCHI T, KITO Y, et al. Expression of Beclin-1 in the microenvironment of invasive ductal carcinoma of the breast: correlation with prognosis and the cancer-stromal interaction[J/OL]. *PLoS One*, 2015, 10(5): e125762[2017-09-20]. <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0125762>. DOI: 10.1371/journal.pone.0125762.
- [33] DORR J R, YU Y, MILANOVIC M, et al. Synthetic lethal metabolic targeting of cellular senescence in cancer therapy[J]. *Nature*, 2013, 501(7467): 421-425. DOI: 10.1038/nature12437.
- [34] ABDEL-MOHSEN M A, AHMED O A, EL-KERM Y M. BRCA1 Gene mutations and influence of chemotherapy on autophagy and apoptotic mechanisms in egyptian breast cancer patients[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2016, 17(3): 1285-1292.
- [35] RAI G, MISHRA S, SUMAN S, et al. Resveratrol improves the anti-cancer effects of doxorubicin in vitro and in vivo models: a mechanistic insight[J/OL]. *Phytomedicine*, 2016, 23(3): 233-242[2017-09-20]. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2015.12.020>. DOI: 10.1016/j.phymed.2015.12.020.
- [36] ZHANG A, LI J. Crocetin shifts autophagic cell survival to death of breast cancer cells in chemotherapy[J]. *Tumor Biol*, 2017, 39(3):

- 1393395128[2017-09-20]. <http://www.karger.com/journal/Home/224124>. DOI: 10.1177/1010428317694536.
- [37] JOHN S, NAYVELT I, HSU H C, et al. Regulation of estrogenic effects by beclin 1 in breast cancer cells[J]. *Cancer Res*, 2008,68(19): 7855-7863. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-07-5875.
- [38] SCHOENLEIN P V, PERIYASAMY-THANDAVAN S, SAMADAR J S, et al. Autophagy facilitates the progression of ER α -positive breast cancer cells to antiestrogen resistance[J]. *Autophagy*, 2009, 5(3): 400-403. DOI: 10.4161/auto.5.3.7784.
- [39] QADIR M A, KWOK B, DRAGOWSKA W H, et al. Macroautophagy inhibition sensitizes tamoxifen-resistant breast cancer cells and enhances mitochondrial depolarization[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2008,112(3): 389-403. DOI: 10.1007/s10549-007-9873-4.
- [40] MOTAWI T K, ABDELAZIM S A, DARWISH H A, et al. Could caffeic acid phenethyl ester expand the antitumor effect of tamoxifen in breast carcinoma? [J]. *Nutr Cancer*, 2016, 68(3): 435-445. DOI: 10.1080/01635581.2016.1153669.
- [41] MOTAWI T K, ABDELAZIM S A, DARWISH H A, et al. Modulation of tamoxifen cytotoxicity by caffeic acid phenethyl ester in MCF-7 breast cancer cells[J/OL]. *Oxid Med Cell Longev*, 2016, 2016: 3017108[2017-09-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4677239/>. DOI: 10.1155/2016/3017108.
- [42] 谷雨. Beclin 1 对雌激素受体阳性乳腺癌的三苯氧胺敏感性和预后的影响及相关机制[D]. 杭州: 浙江大学, 2015.
- [43] QI H, JIANG Z, WANG C, et al. Sensitization of tamoxifen-resistant breast cancer cells by Z-ligustilide through inhibiting autophagy and accumulating DNA damages[J/OL]. *Oncotarget*, 2017, 8(17): 29300-29317[2017-09-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC28431397/>. DOI: 10.18632/oncotarget.16832.
- [44] UENO T, SAJI S, SUGIMOTO M, et al. Clinical significance of the expression of autophagy-associated marker, beclin 1, in breast cancer patients who received neoadjuvant endocrine therapy[J/OL]. *BMC Cancer*, 2016, 16(1): 230[2017-09-20]. <http://europepmc.org/backend/ptpmrender.fcgi?accid=PMC4794811&blobtype=pdf>. DOI: 10.1186/s12885-016-2270-9.
- [45] CRAWFORD A C, RIGGINS R B, SHAJAHAN A N, et al. Co-inhibition of BCL-W and BCL2 restores antiestrogen sensitivity through BECN1 and promotes an autophagy-associated necrosis[J/OL]. *PLoS One*, 2010, 5(1): e8604[2017-09-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2797635/>. DOI: 10.1371/journal.pone.0008604.
- [46] YU X, LI R, SHI W, et al. Silencing of MicroRNA-21 confers the sensitivity to tamoxifen and fulvestrant by enhancing autophagic cell death through inhibition of the PI3K-AKT-mTOR pathway in breast cancer cells[J/OL]. *Biomed Pharmacother*, 2016, 77: 37-44[2017-09-20]. <http://sciencedirect.com/science/journal/07533322>. DOI: 10.1016/j.biopha.2015.11.005.
- [47] NEGRI T, TARANTINO E, ORSENIGO M, et al. Chromosome band 17q21 in breast cancer: significant association between beclin 1 loss and HER2/NEU amplification[J]. *Genes Chromosomes Cancer*, 2010,49(10): 901-909. DOI: 10.1002/gcc.20798.
- [48] HENSON E, CHEN Y, GIBSON S. EGFR family members' regulation of autophagy is at a crossroads of cell survival and death in cancer[J/OL]. *Cancers(Basel)*, 2017, 9(4): E27[2017-09-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5406702/>. DOI: 10.3390/cancers9040027.
- [49] CHEN Z, GAO S, WANG D, et al. Colorectal cancer cells are resistant to anti-EGFR monoclonal antibody through adapted autophagy[J/OL]. *Am J Transl Res*, 2016,8(2): 1190-1196[2017-09-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4846962/>.
- [50] PATTINGRE S, TASSA A, QU X, et al. Bcl-2 antiapoptotic proteins inhibit Beclin 1-dependent autophagy[J]. *Cell*, 2005, 122(6): 927-939. DOI:10.1016/j.cell.2005.07.002.
- [51] LOZY F, CAI-MCRAE X, TEPLOVA I, et al. ERBB2 overexpression suppresses stress-induced autophagy and renders ERBB2-induced mammary tumorigenesis independent of monoallelic Beclin loss[J]. *Autophagy*, 2014,10(4):662-676. DOI: 10.4161/auto.27867.
- [52] HAN J, HOU W, LU C, et al. Interaction between Her2 and Beclin-1 proteins underlies a new mechanism of reciprocal regulation[J]. *J Biol Chem*, 2013, 288(28): 20315-20325. DOI: 10.1074/jbc.M113.461350.
- [53] YANG Y, YANG Y, YANG X, et al. Autophagy and its function in radiosensitivity[J]. *Tumor Biol*, 2015, 36(6): 4079-4087. DOI: 10.1007/s13277-015-3496-x.
- [54] BRISTOL M L, DI X, BECKMAN M J, et al. Dual functions of autophagy in the response of breast tumor cells to radiation: cytoprotective autophagy with radiation alone and cytotoxic autophagy in radiosensitization by vitamin D 3[J]. *Autophagy*, 2012, 8(5): 739-753. DOI:10.4161/auto.19313.
- [55] LUO J, CHEN J, HE L. mir-129-5p attenuates irradiation-induced autophagy and decreases radioresistance of breast cancer cells by targeting HMGB1[J/OL]. *Med Sci Monit*, 2015, 21: 4122-4129[2017-09-20]. <http://pdfs.semanticscholar.org/7ba3/06f3f434965eb6e4d8af66abd4c33a65635a.pdf>. DOI: 10.12659/MSM.896661.
- [56] YI H, LIANG B, JIA J, et al. Differential roles of miR-199a-5p in radiation-induced autophagy in breast cancer cells[J]. *FEBS Lett*, 2013, 587(5): 436-443. DOI: 10.1016/j.febslet.2012.12.027.
- [57] HE W S, DAI X F, JIN M, et al. Hypoxia-induced autophagy confers resistance of breast cancer cells to ionizing radiation[J/OL]. *Oncol Res*, 2012, 20(5/6):251-258 [2017-09-20]. <http://www.ingentaconnect.com/content/cog/or>.
- [58] CUI L, SONG Z, LIANG B, et al. Radiation induces autophagic cell death via the p53/DRAM signaling pathway in breast cancer cells[J]. *Oncol Rep*, 2016, 35(6): 3639-3647. DOI: 10.3892/or.2016.4752.

[收稿日期] 2017-09-19

[修回日期] 2017-11-20

[本文编辑] 党瑞山