

## 5-脱氧杂氮胞苷对人肝癌细胞 HepG2 增殖及 beclin1 表达的影响

谈高 曾斌<sup>△</sup> 熊丹 阳琼 薛义炯 廖罗罡睿

(南华大学附属第一医院 消化科 湖南 衡阳 421001)

**摘要** 目的:观察 5-脱氧杂氮胞苷(5-aza-CdR)对 HepG2 细胞生长抑制及 beclin1 表达的影响,以探讨其抗肿瘤发生的潜在机制。方法:采用四甲基偶氮唑盐(MTT)法检测 5-aza-CdR 对 HepG2 细胞的生长抑制;用相差显微镜观察不同药物浓度下不同时间段的肝癌细胞形态学改变;采用 RT-PCR 法和 Western blot 法检测 5-Aza-CdR 对抑癌基因 beclin1 的 mRNA 和蛋白表达的影响。结果:5-aza-CdR 可抑制 HepG2 细胞生长,呈剂量依赖性,并上调 beclin1 的 mRNA 和蛋白的表达。结果:显示 102.4 $\mu$ mol/L 5-aza-CdR 作用 72 小时细胞增殖抑制率最高,可达(84.3 $\pm$  3.31)%, beclin1 的 mRNA 和蛋白表达上调最明显,与对照组相比差异有统计学意义。结论:5-aza-CdR 可抑制 HepG2 细胞增殖,其机制可能是通过恢复某些抑癌基因的表达,上调 beclin1 的 mRNA 和蛋白表达。

**关键词** 5-脱氧杂氮胞苷;肝癌细胞;HepG2; beclin1 基因

**中图分类号** R735.7 **文献标识码** A **文章编号** 1673-6273(2012)14-2654-04

## Effect of 5-aza-2'-Deoxycytidine on Proliferation of HepG2 Cells and Expression of Beclin1

TAN Gao, ZENG Bin<sup>△</sup>, XIONG Dan, Yang Qiong, XUE Yi-jiong, LIAO Luo-gang-rui

(Department of Gastroenterology, The First Affiliated Hospital of Nanhua University, Hengyang, Hunan 421001)

**ABSTRACT Objective:** To observe the effect of 5-aza-2'-deoxycytidine on cell growth of HepG2 and the expression of beclin1, and to investigate the potential mechanism of its anti tumorigenesis. **Methods:** Cell growth inhibition was assayed by MTT method; Morphological changes of HepG2 were observed by phase contrast microscopy under different drug concentrations in different time periods; To detect the effect of 5-aza-CdR on expression of mRNA and protein in tumor suppressor gene beclin1 by RT-PCR and Western blot. **Results:** 5-aza-2'-deoxycytidine could inhibit HepG2 cell growth in a concentration-dependent manner, and increased beclin1 expression of mRNA and protein. The results showed that after 72 hours in 102.4 $\mu$ mol/L 5-aza-CdR intervention the rate of cell proliferation inhibition reached its maximum, up to (84.3 $\pm$  3.31)%, beclin1 expression of mRNA and protein increased most significantly. Difference was statistically significant compared with the control group. **Conclusions:** 5-aza-2'-deoxycytidine can inhibit the proliferation of HepG2 cells, and the mechanism may be that 5-aza-2'-deoxycytidine restores some tumor suppressor genes expression and increases the expression of beclin1.

**Key words:** 5-aza-2'-deoxycytidine; Hepatoma cells; HepG2; Beclin1 gene

**Chinese Library Classification(CLC):** R735.7 **Document code:** A

**Article ID:** 1673-6273(2012)14-2654-04

在肿瘤的发生发展过程中抑癌基因被沉默起着重要作用,而近年来 DNA 甲基化这种沉默基因表达的调控方式受到了越来越多的重视,它与抑癌基因的失活关系密切,主要在转录水平抑制抑癌基因的表达<sup>[1-6]</sup>。5-脱氧杂氮胞苷(5-aza-2'-deoxycytidine, 5-aza-CdR)是一种 DNA 甲基化酶抑制剂,可使抑癌基因 CpG 岛去甲基化而恢复其表达。本实验观察了 5-aza-CdR 对肝癌细胞 HepG2 的增殖抑制作用以及对调节 beclin1 的 mRNA 及蛋白表达的影响。

### 1 材料和方法

#### 1.1 试剂

**作者简介:** 谈高(1983-)男,硕士研究生,主要研究方向:消化道肿瘤防治,电话:0734-8279018, E-mail:tgao0316@163.com

**△通讯作者:** 曾斌,男,副教授,副主任医师,主要研究方向:消化道肿瘤防治, E-mail: zbs1229@163.com

(收稿日期:2011-12-30 接受日期:2012-01-25)

培养基 RPMI1640 为美国 Gibco 公司产品,胎牛血清购自杭州四季青生物工程材料有限公司,胰蛋白酶(trypsin)、噻唑蓝(MTT)、二甲基亚砜(DMSO)购自美国 Amresco 公司。5-aza-CdR 购于美国 Sigma 公司,用磷酸盐稀释液(PBS)溶解稀释成 21.9mmol/L 的母液, -70℃ 保存,使用时用 1640 稀释成合适浓度的工作液。5-氟尿嘧啶(5-FU)为上海旭东海普药业有限公司产品。RT-PCR 检测试剂盒购自北京天根生化科技有限公司。Beclin1 鼠抗人单克隆抗体、兔抗鼠二抗均购自美国 Santa Cruz 公司, Beclin1 引物由上海生工生物技术有限公司合成。

#### 1.2 方法

**1.2.1 细胞培养** 人肝癌细胞株 HepG2 购于中国典型培养物中心(China Center for Type Culture Collection, CCTCC),用含 10%胎牛血清的 RPMI1640 培养基在 37℃、5%CO<sub>2</sub>、充分湿度饱和的条件下培养,细胞呈单层贴壁生成,每 2-3 天传代 1 次,传代时用 0.25%胰蛋白酶消化 3-5 分钟,取对数生长期细胞用于实验。

1.2.2 细胞增殖抑制率(MTT)分析 用 MTT 法检测 5-aza-CdR 对 HepG2 细胞的生长抑制,将对数生长期细胞以每孔 10000 个接种于 3 块 96 孔培养板,培养 6 小时,待细胞贴壁后加入不同浓度 5-aza-CdR 20 $\mu$ l,使其终浓度分别为 0.4 $\mu$ mol/L、1.6 $\mu$ mol/L、6.4 $\mu$ mol/L、25.6 $\mu$ mol/L、102.4 $\mu$ mol/L,未加药物组为阴性对照组,加 5-FU(100 $\mu$ mol/L)干预组为阳性对照组,每组设 6 个复孔,37℃、5% CO<sub>2</sub> 条件下培养,每隔 24h 取样 1 次,连续 3 次。每次取样时移去培养液,每孔加入 5g/L 的 MTT 液 20 $\mu$ l,继续培养 4h 后移去上清液,每孔加入 DMSO 150 $\mu$ l,震荡 10min 使紫蓝色沉淀充分溶解,用酶标仪(Ex-800)在 570nm 波长测吸光度值(A 值)。按公式  $IR(\%) = (1 - \text{实验组 A 均值} / \text{对照组 A 均值}) \times 100\%$ ,计算出相对增殖抑制率(IR)。以上实验重复 3 次。培养过程中用相差显微镜观察细胞形态变化。

1.2.3 采用 RT-PCR 法检测 bedin1 基因 mRNA 表达的情况 按 Trizol 试剂盒说明书采用一步法提取经 5-aza-CdR 处理和未处理的细胞总 RNA,以 DNA/RNA 测定仪测定 RNA 的纯度和浓度。按逆转录合成试剂盒说明书合成 cDNA。以 Bedin1 及 GAPDH 的引物进行 PCR 反应,反应条件:95℃ 预热 5min,95℃ 变性 1min,60℃ 退火 30s,72℃ 延伸 1min,共 30 个循环,最后 72℃ 延伸 5min,扩增产物于 20g/L 琼脂糖凝胶电泳,凝胶成像系统下观察并拍照,实验重复 3 次。其中 GAPDH 作为内参对照,引物序列 Sense 5'ACCACAGTCCATGCCATCA-C3',Anti-sense: 5'TCCACCACCTGTTGCTGTA3',片段大小为

485bp, Bedin1 引物序列: Sense 5'CTAAGTCGTCCAACAAC-AGCAC3' Anti-sense 5'CGATGTCAAAAAGGTCCC3',片段大小:360bp。结果用 Image J 分析,以阳性条带的光密度值与内参对照条带的光密度值的比值作为阳性条带的相对表达量。

1.2.4 采用 Western blot 法检测 bedin1 基因蛋白表达的情况 用 200 $\mu$ l RIPA buffer 裂解细胞后,采用考马斯亮蓝法进行蛋白定量,在常规电泳、转印和封闭后,加入鼠抗人单克隆抗体抗-Bedin1(1:1000)4℃ 孵育过夜,兔抗鼠二抗(1:3000)室温孵育 4h,最后用碱性磷酸酶染色 5min 后进行曝光显影,结果用 Image J 分析, GAPDH 为内参对照,以阳性条带的光密度值与内参对照条带的光密度值的比值作为阳性条带的相对表达量。

1.2.5 统计学分析 应用 SPSS13.0 统计软件,各实验数据用均数 $\pm$ 标准差表示,多样本均数行单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD-t 检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 5-aza-CdR 对 HepG2 细胞的生长抑制作用

MTT 法检测结果显示 5-aza-CdR 对 HepG2 细胞有显著的生长抑制作用,且抑制率呈浓度依赖性,在 102.4 $\mu$ mol/L 处理 72h 时,5-aza-CdR 对 HepG2 细胞的抑制率最明显,高达 (84.3 $\pm$  3.31)%,接近阳性对照组 5-FU 对细胞的增殖抑制率,抑制率数值用均数 $\pm$ 标准差表示,  $N=3$ ,  $P < 0.05$ ,与阴性对照组比较差异有显著性(图 1)。

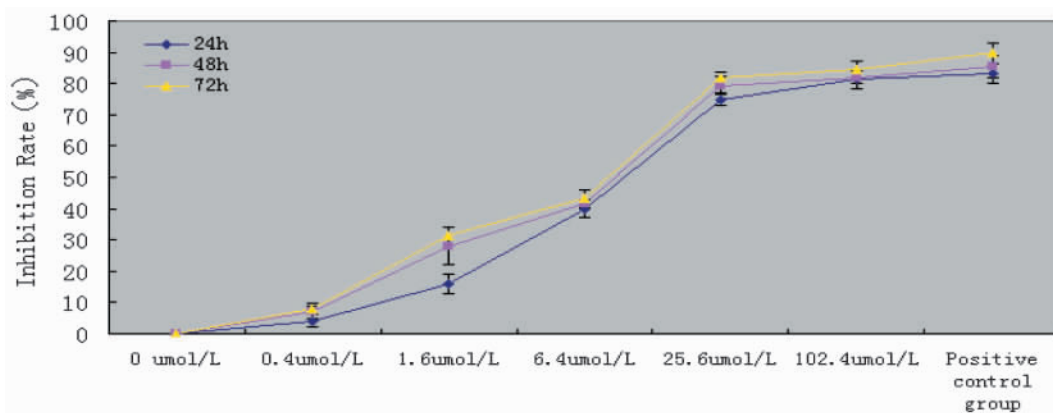


图 1 5-aza-CdR 对人肝癌细胞 HepG2 增殖活性的抑制作用

Fig.1 The growth inhibition effete of 5-aza-CdR on human hepatoma cells HepG2

### 2.2 细胞形态学变化

在相差显微镜下观察 5-aza-CdR 处理前后人肝癌细胞 HepG2 形态学的变化,可见阴性对照组细胞生长良好,而药物处理组细胞体积较大,形状较圆,大小不均匀,密度减小且不匀,随着药物浓度增加及作用时间的延长,上述变化越明显。如图 2,代表不同药物浓度处理 72h 时的细胞形态。

### 2.3 5-aza-CdR 处理后 bedin1 基因表达上调

RT-PCR 和 Western blot 结果显示,5-aza-CdR 处理后 bedin1 表达 mRNA 和蛋白的量增加,呈浓度依赖性,从 25.6 $\mu$ mol/L 起表达量明显增加,其中在 102.4 $\mu$ mol/L 时作用效果最明显,且有一定的时间依赖性,表现在同种浓度药物作用时间越长表达量越多。其中在 25.6 $\mu$ mol/L、102.4 $\mu$ mol/L 两种浓度的 5-aza-CdR 处理 24h、48h、72h 后,bedin1 mRNA 相对表达量分别是:

13.512 $\pm$  2.254、22.041 $\pm$  1.355、15.241 $\pm$  1.101、23.354 $\pm$  0.954; 16.558 $\pm$  0.720、23.902 $\pm$  0.4910,与阴性组比较差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ) (图 3B); 在 0.4 $\mu$ mol/L、1.6 $\mu$ mol/L、6.4 $\mu$ mol/L、25.6 $\mu$ mol/L、102.4 $\mu$ mol/L 五种浓度的 5-aza-CdR 处理 72h 后, Bedin1 蛋白的相对表达量分别是: 1.453 $\pm$  0.095、2.749 $\pm$  0.182、3.563 $\pm$  0.212、4.347 $\pm$  0.069、4.938 $\pm$  0.112,与阴性组比较差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ) (图 4B); 在 102.4 $\mu$ mol/L 5-aza-CdR 处理 72h 后,bedin1 表达 mRNA(图 3A)和蛋白的量(图 4A)最显著。

采用 Western blot 法检测 bedin1 基因蛋白表达的情况

## 3 讨论

bedin1 基因也称 BECN1 基因,位于人染色体 17q21,编码



图 2 5-aza-CdR 对人肝癌细胞 HepG2 细胞形态学的影响

Fig.2 The Morphological effete of 5-aza-CdR on human hepatoma cells HepG2

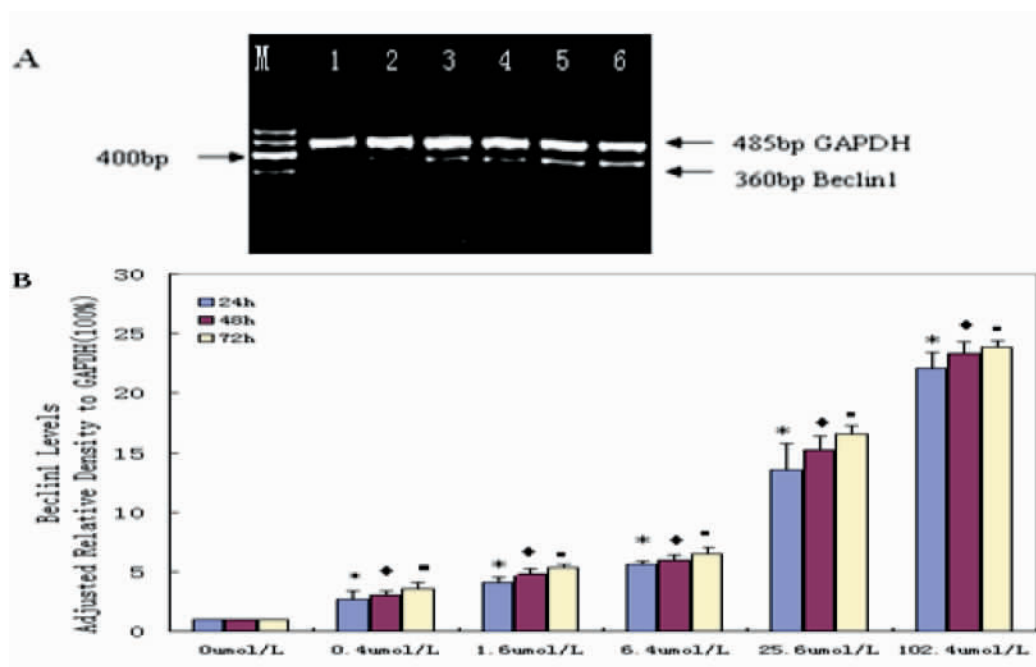


图 3 5-aza-CdR 对人肝癌细胞 HepG2 bedin1 基因 mRNA 表达的作用。A(M: marker、1: 0 $\mu$ mol/L、2: 0.4 $\mu$ mol/L、3:1.6 $\mu$ mol/L、4:6.4 $\mu$ mol/L、5:25.6 $\mu$ mol/L、6:102.4 $\mu$ mol/L) 在不同浓度 5-aza-CdR 处理 72h 后 RT-PCR 检测 mRNA 的表达,此图是三个独立实验其中之一结果图。B, 此图是 bedin1 mRNA 条带定量后的标准化相对比值图。数值用均数 $\pm$  标准差表示(N=3; \*P<0.05、◆P<0.05、■P<0.05), GAPDH 作为内参对照, 0 $\mu$ mol/L 组数值作为标准化指标

Fig.3 The effect of 5-aza-CdR on the expression of bedin1 gene in human hepatoma cells HepG2 detected by RT-PCR. A(M: marker, 1: 0 $\mu$ mol/L, 2: 0.4 $\mu$ mol/L, 3:1.6 $\mu$ mol/L, 4:6.4 $\mu$ mol/L, 5:25.6 $\mu$ mol/L, 6:102.4 $\mu$ mol/L), after the cells were treated with various concentrations for 72h, RT-PCR detected the expression of bedin1 mRNA, this is representative of three independent experiments. B, this picture showed the adjusted relative density ratio of quantification of the bedin-1 mRNA bands. Data represent mean  $\pm$  S.D. (N=3; \*P<0.05, ◆P<0.05, ■P<0.05). GAPDH was used as a loading control, and the values of 0 $\mu$ mol/L group were used as a standardized indicators

相对分子量约 60 000 的蛋白,其定位于高尔基体,参与 PI3K 复合物的组成和自噬体的形成<sup>[7]</sup>。bedin1 是参与自噬调控的非常重要的基因,可以通过提高细胞自噬抑制肿瘤的生长,也是候选的肿瘤抑制基因之一,它在多种肿瘤细胞株中呈低表达水平<sup>[8,9]</sup>。据报道在 75%的人类卵巢癌<sup>[10,11]</sup>、50%乳腺癌<sup>[12]</sup>和 40%前列腺癌<sup>[13]</sup>细胞存在 bedin1 单等位基因缺失突变,其表达量不同

程度下降<sup>[14]</sup>,表明基因缺失是多种肿瘤细胞株中 bedin1 基因低表达的调控机制之一。那么其是否也是肝癌细胞中 bedin1 基因表达调控的机制呢?曾有文章报道,bedin1 等位基因敲除的小鼠发生自发性恶性变(包括乳腺肿瘤、肺癌、肝癌等)几率增加,但这只表明在肝癌细胞中敲除 bedin1 基因有利于肝癌发生,至于肝癌中是否存在 bedin1 基因的单等位缺失以及此



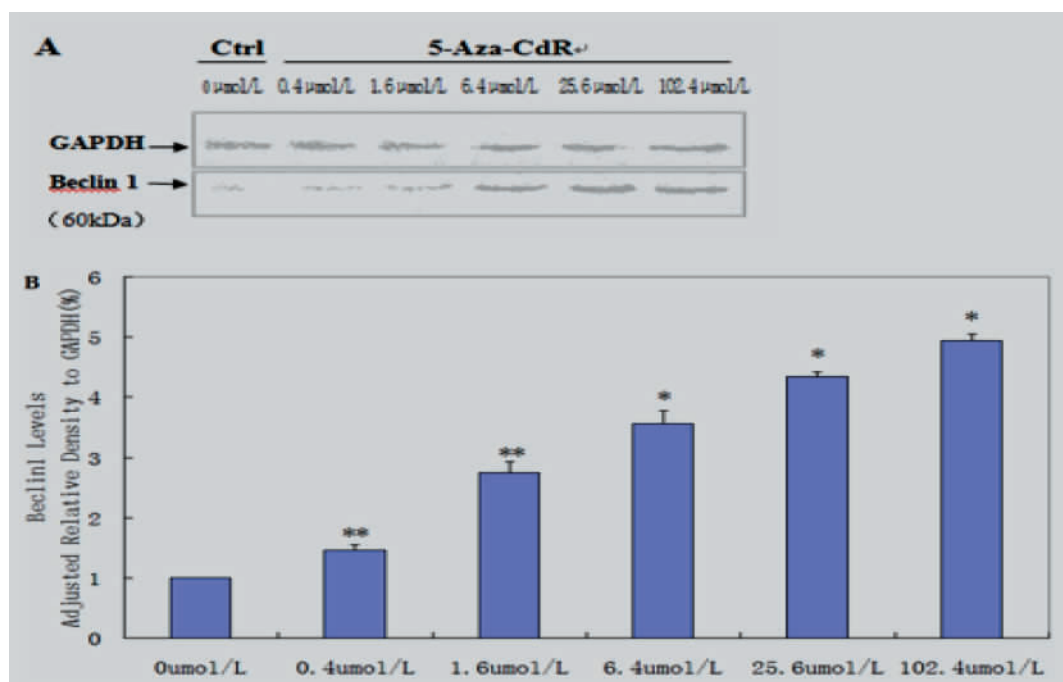


图4 Western blot 法结果显示,在 5-aza-CdR 处理 72h 后,人肝癌细胞 HepG2 beclin1 表达明显上调。A,用五种不同浓度 5-aza-CdR 处理后,细胞总的蛋白提取物用抗-beclin1 抗体检测,此为三个独立实验其中之一的检测结果图。B,此图为 Beclin1 蛋白免疫印迹条带定量后的标准化相对比值图。数值用均数±标准差表示(N=3,\*\*P<0.05,\*P<0.01),GAPDH 作为内参对照,0μmol/L 组数值作为标准化指标

Fig.4 Western blot showed beclin1 expression was significantly increased in human hepatoma cells HepG2 after a 72-h treatment with 5-aza-CdR. A, after the cells were treated with various concentrations, total cell extracts were probed with antibodies anti-beclin-1, this is one Fig. of detection results of three independent experiments. B, this picture showed the adjusted relative density ratio of quantification of the protein beclin-1 bands in the immuneoblots.

Data represent mean ± S.D. (N=3;\*\*P<0.05,\*P<0.01). GAPDH was used as a loading control, and the values of 0μmol/L group were used as a standardized indicators

种缺失突变是否导致其表达的下调都需要进一步的研究。通常基因表达的调控机制主要表现在点突变、杂合子缺失和 DNA 甲基化修饰三个方面。那么在肝癌细胞中是否存在 beclin1 基因表达的下调呢?如果存在其表达的下调,其表达调控的机制又是什么呢?有研究报道肝癌细胞中 beclin1 表达和自体吞噬是下调的,其下调程度可能和肿瘤恶性度和分型相关<sup>[15]</sup>。然而,也有研究表明肝癌组织中 beclin1 的表达和自体吞噬是上调的,其原因可能和 HBV 感染相关<sup>[16]</sup>,但具体机制尚不清楚。目前,在肝癌细胞中,关于 beclin1 的表达和自体吞噬情况的研究尚无定论。但本研究结果显示,经过甲基转移酶抑制剂 5-Aza-CdR 处理后,肝癌细胞 HepG2 的 beclin1 基因表达 mRNA 以及蛋白量均增加,且呈浓度依赖性,这表明在肝癌细胞中 beclin1 基因的表达受到抑制,而 DNA 异常甲基化是导致其表达下调的机制之一。我们知道在肿瘤的发生过程中,基因表达的调控程序经常被打断,那么在肝癌的发生过程中,针对 beclin1 基因是否还有其它的表达调控机制以及 beclin1 基因启动子区域的甲基化是通过何种机制对自身行使沉默作用的还有待进一步的研究。

总之,我们发现 beclin1 基因在肝癌细胞中是下调表达的,而 DNA 甲基化是其表达调控的一个原因,由于 beclin1 是细胞自噬的一个关键基因,而细胞自噬同细胞凋亡的关系非常密切,以及作为一种新型的抑癌基因它在肿瘤的发生发展中又起到了重要的作用,那么它的表观遗传学的研究可能会为肿瘤的

基因治疗提供新的靶点。

#### 参考文献(References)

- [1] Tanemura A, Terando AM, Sim MS, et al. CpG island methylator phenotype predicts progression of malignant melanoma[J]. Clin Cancer Res, 2009 Mar 1, 15(5):1801-1807
- [2] Shima K, Noshio K, Baba Y, et al. Prognostic significance of CDKN2A (p16) promoter methylation and loss of expression in 902 colorectal cancers: Cohort study and literature review [J]. Int J Cancer, 2011 Mar 1, 128(5):1080-1094
- [3] Kinoshita T, Nomoto S, Kodera Y, et al. Decreased expression and aberrant hypermethylation of the SFRP genes in human gastric cancer [J]. Hepatogastroenterology, 2011 May-Jun, 58(107-108):1051-1056
- [4] Tommasi S, Pinto R, Petriella D, et al. Oncosuppressor methylation: a possible key role in colon metastatic progression[J]. J Cell Physiol, 2011 Jul, 226(7):1934-1939
- [5] Jeyapalan JN, Noor DA, Lee SH, et al. Methylator phenotype of malignant germ cell tumours in children identifies strong candidates for chemotherapy resistance[J]. Br J Cancer, 2011 Aug 9, 105(4):575-585
- [6] Gasche JA, Hoffmann J, Boland CR, et al. Interleukin-6 promotes tumorigenesis by altering DNA methylation in oral cancer cells[J]. Int J Cancer, 2011 Sep 1, 129(5):1053-1063
- [7] Kihara A, Kabeya Y, Ohsumi Y, et al. Beclin-phosphatidylinositol 3-kinase complex function at the trans-Golgi network [J]. EMBO, 2001, 20(4): 330-335

(下转第 2694 页)

- subjects[J]. Shanghai Med, 2011, 34(5):345-350(In Chinese)
- [5] 中华医学会糖尿病学分会代谢综合征研究协作组. 中华医学会糖尿病学分会关于代谢综合征的建议 [J]. 中华糖尿病杂志, 2004, 12(3):156-161
- Metabolic syndrome study group of Chinese Diabetes Society. Suggestions of Chinese Diabetes Society on metabolic syndrome [J]. Chin J Diabetes, 2004, 12(3):156-161(In Chinese)
- [6] 中华医学会肝脏病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组. 非酒精性脂肪性肝病诊疗指南[J]. 中华肝脏病杂志, 2010, 18(3):163-166
- Fatty liver and alcoholic liver disease study group of Chinese Society of Hepatology. Guidelines for diagnosis and treatment of nonalcoholic fatty liver diseases[J]. Chin J Hepatol, 2010, 18(3):163-166(In Chinese)
- [7] Lau DC, Douketis JD, Morrison KM, et al. 2006 Canadian clinical practice guidelines on the management and prevention of obesity in adults and children[J]. CMAJ, 2007, 176:1-13
- [8] Bluher M. The distinction of metabolically 'healthy' from 'unhealthy' obese individuals[J]. Curr Opin Lipidol, 2010, 21:38-43
- [9] Karelis AD, St-Pierre DH, Conus F, et al. Metabolic and body composition factors in subgroups of obesity: what do we know?[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2004, 89:2569-2575
- [10] Kuk JL, Ardern CI. Are metabolically normal but obese individuals at lower risk for all-cause mortality?[J]. Diabetes Care, 2009, 32:2297-2299
- [11] Wildman RP. Healthy obesity [J]. Curr Opin Clin Nutr Metab Care, 2009, 12:438-443
- [12] Sorderberg C, Stal P, Askling J, et al. Decreased survival of subjects with elevated liver function tests during a 28 year follow-up[J]. Hepatology, 2010, 51:595-602
- [13] Ekstedt M, Franzen LE, Mathiesen UL, et al. Long-term follow-up of patients with NAFLD and elevated liver enzymes [J]. Hepatology, 2006, 44:865-873
- [14] Rector RS, Thyfault JP, Wei Y, et al. Non-alcoholic fatty liver disease and the metabolic syndrome: An update [J]. World J Gastroenterol, 2008, 14:185-192
- [15] Caballería L, Auladell MA, Torá n P, et al. Risk factors associated with nonalcoholic fatty liver disease in subjects from primary care units[J]. BMC Gastroenterology, 2008, 8: 442-491
- [16] Messier V, Karelis AD, Robillard ME, et al. Metabolically Healthy but Obese Individuals: Relationship with Hepatic Enzymes[J]. Metabolism Clinical and Experimental, 2010, 59:20-24
- [17] Stefan N, Kantartzis K, Machann J, et al. Identification and characterization of metabolically benign obesity in humans[J]. Arch Intern Med, 2008, 168:1609-1616
- [18] Pajunen P, Kotronen A, Korpi-Hyövähti E, et al. Metabolically healthy and unhealthy obesity phenotypes in the general population: the FIN-D2D Survey[J]. BMC Public Health, 2011, 11:754
- [19] Boden G, Shulman GI. Free fatty acids in obesity and type 2 diabetes: defining their role in the development of insulin resistance and beta-cell dysfunction[J]. Eur J Clin Invest, 2002, 32(Suppl 3):14-23
- [20] Adams LA, Lymp JF, St Sauver J, et al. The natural history of nonalcoholic fatty liver disease: a population-based cohort study[J]. Gastroenterology, 2005, 129:113-121
- [21] Fabbrini E, Sullivan S, Klein S. Obesity and nonalcoholic fatty liver disease: biochemical, metabolic, and clinical implications[J]. Hepatology, 2010, 51(2): 679-689

(上接第 2657 页)

- [8] Liang XH, Jackson S, Seaman M, et al. Induction of autophagy and inhibition of tumorigenesis by beclin 1 [J]. Nature, 1999, 402(6762): 672-676
- [9] Aita VM, Liang XH, Murty VV, et al. Cloning and genomic organization of beclin 1, a candidate tumor suppressor gene on chromosome 17q21[J]. Genomics, 1999, 59(1): 59-65
- [10] Tangir J, Muto MG, Bercowitz RS, et al. A 400 kb novel deletion unit centromeric to the BRCA1 gene in sporadic epithelial ovarian cancer[J]. Oncogene, 1996, 12(4):735-740
- [11] Futreal PA, Marks JR, Marks JR, et al. Detection of frequent allelic loss on proximal chromosome 17q in sporadic breast carcinoma using microsatellite length polymorphisms [J]. Cancer Res, 1992, 52(9): 2624-2627
- [12] H Saito, J Inazawa, S Saito, et al. Detailed deletion mapping of chromosome 17q in ovarian and breast cancers: 2 cM region on 17q21.3 often and commonly deleted in tumors[J]. Cancer Res, 1993, 53(14): 3382-3385
- [13] Gao X, Zacharek A, Salkowski A, et al. Loss of heterozygosity of the BRCA1 and other loci on chromosome 17q in human prostate cancer [J]. Cancer Res, 1995, 55(19):1002-1005
- [14] Cuervo AM, Dice JF, Knecht E, et al. A receptor for the selective uptake and degradation of proteins by lysosomes [J]. Science, 1996, 273(26):501-503
- [15] Ding ZB, Shi YH, Zhou J, et al. Association of Autophagy Defect with a Malignant Phenotype and Poor Prognosis of Hepatocellular Carcinoma[J]. Cancer Res, 2008 Nov 15, 68(22):9167-9175
- [16] Tang H, Da L, Mao Y, et al. Hepatitis B virus X protein sensitizes cells to starvation-induced autophagy via up-regulation of beclin 1 expression[J]. Hepatology, 2009 Jan, 49(1):60-71