

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2017.04.047

MicroRNA 和自噬参与胆管癌发病机制的研究进展*

廖 飞 韩吉华 邵佳琳 郑 朝 孟宪志[△]

(哈尔滨医科大学附属第一医院 普通外科 黑龙江 哈尔滨 150001)

摘要:胆管癌是一种高度转移的恶性肿瘤,包括肝内胆管癌和肝外胆管癌,目前手术被认为是唯一的根治方案。胆管癌在全球的发病率和死亡率不断增加,原因很可能与早期胆管癌没有明显的临床表现,确诊时通常已达晚期阶段,及预后差、极易复发的特点有关。与人类胆管癌相关的 microRNAs 有很多,调节着胆管肿瘤的发生发展。此外,自噬作为细胞内环境的一种调节机制,也调节肿瘤恶变和癌症进展,在不同情况下治疗性干预,促进或抑制自噬将有利于胆管癌患者。现将 microRNA 和自噬参与胆管癌发生发展作一综述。

关键词:MicroRNA; 自噬; 胆管癌

中图分类号:R735.8 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2017)04-780-04

Research Progress of microRNA and Autophagy on the Pathogenesis of Cholangiocarcinoma*

LIAO Fei, HAN Ji-hua, SHAO Jia-lin, ZHENG Zhao, MENG Xian-zhi[△]

(Department of general surgery, First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang, 150001, China)

ABSTRACT: Cholangiocarcinoma (CCA), regarded as a highly metastatic cancer, occurs in either intrahepatic or extrahepatic biliary tract. Surgery is considered as the only curative treatment. The incidence and mortality of CCA are increasing worldwide, the reason of which may be that there is no specific clinical manifestation in earlier stage of CCA and it has usually developed into later period when diagnosed. Patients with CCA are also poorly prognosed as well as at a high risk to tumor recurrence. There are a large number of microRNAs associated with CCA in humans, which contribute to the carcinogenesis of biliary tract. In addition, autophagy, as an intracellular control mechanism, modulates the transformation and progression of CCA, too. Therapeutic interventions enhancing or decreasing autophagy, depending on the context, can be beneficial to CCA patients. In this article the literatures about the microRNA and autophagy in the Cholangiocarcinoma are reviewed.

Key words: MicroRNA; Autophagy; Cholangiocarcinoma

Chinese Library Classification(CLC): R735.8 **Document Code:** A

Article ID: 1673-6273(2017)04-780-04

前言

胆管癌(Cholangiocarcinoma, CCA)来源于胆管上皮细胞,是全球范围内常见的恶性肿瘤,约占消化道肿瘤的 3%,占原发性肝脏肿瘤 10% - 25%,发生率在肝脏肿瘤中仅次于肝细胞癌^[1,2]。胆管癌按解剖学部位不同分为肝内胆管癌(Intrahepatic Cholangiocarcinoma, ICC) 和肝外胆管癌 (Extrahepatic Cholangiocarcinoma, ECC)。肿瘤的特点和表现因分型不同而各具差异,因此,精确的分类对癌症患者的治疗和预后具有重大影响。

然而在全球不同地区胆管癌发病率各不相同^[3]。胆管癌的危险因素有些已经确定,有些还存在争议。前者主要包括原发性硬化性胆管炎、寄生虫感染和胆汁异常,而后者包括炎症性肠疾病、肥胖、糖尿病、吸烟以及肝硬化、乙型肝炎(HBV)和丙型肝炎(HCV)等^[4]。目前,外科手术在胆管癌早期阶段仍是唯一有效的治疗方案。但是胆管癌预后差,且极易复发,局部侵袭和

远处转移仍是晚期胆管癌患者死亡率高的主要原因^[5]。因此,随着胆管癌分子机制研究的不断深入,探寻有效的分子治疗策略已成为进一步提高胆管癌患者生存率的关键。

1 MicroRNA 与胆管癌

MicroRNA(miRNA)是一组由约 22 个核苷酸组成的非编码小 RNA。目前已发现约 1400 种 miRNA 至少调节 60% 的人类基因的蛋白质表达^[6]。miRNA 通过结合到靶基因 3'-非编码区序列的特定位置诱导靶 mRNA 降解或抑制其翻译,从而在转录后水平调节基因表达。miRNA 与肿瘤的发生、病理分级、临床分期、肿瘤对药物的敏感性^[7]、耐药性及预后等相关,若干 miRNA 直接参与肿瘤(包括白血病,淋巴瘤,肝癌,胆管癌,肺癌,结肠癌,胃癌,胰腺癌等)的发生和发展^[8-10]。现已有许多将 miRNA 应用到肿瘤的治疗中(如白血病,乳腺癌及肺癌等)的例子,并取得了一定的效果^[11]。miRNA 在人体肝脏疾病中的作

* 基金项目:黑龙江省教育厅科学研究基金项目(12541305)

作者简介:廖飞(1989-),男,硕士,主要从事胆管疾病的基础和临床研究,电话:18645106104, E-mail: yx376406876@sina.com

[△] 通讯作者:孟宪志, E-mail: mengxianzhi@sina.com

(收稿日期:2016-04-09 接受日期:2016-04-30)

用已被广泛揭示^[12]。然而,miRNA 是如何参与了胆管癌的病理生理过程和发生发展途径还有待更多研究。下面对与胆管癌密切相关的 miRNAs 的重要调节过程进行总结。

1.1 MicroRNA 表达有利于胆管癌的治疗

1.1.1 miR-370 表达抑制胆管癌生长 miR-370 在人胆管癌表达下调^[13]。miR-370 的一个靶基因 MAP3K8 在胆管癌细胞中的表达受到 5-Aza-CdR 的抑制,而通过增强 IL-6 表达抑制 miR-370 能恢复 MAP3K8 在体外以及裸鼠移植瘤体内表达。因此,对 miR-370 表达的调节将影响 IL-6 依赖性肿瘤的生长^[14]。促进 miR-370 表达能抑制人恶性胆管细胞生长。此外,通过基因印迹检测发现来自父亲的 miR-370 等位基因通常是沉默的,而 IL-6 在胆管癌中过表达有效地抑制来自母体等位基因 miR-370 的表达。这些研究为“两次打击”学说解释 miR-370 表达抑制提供了理论依据^[14]。

1.1.2 miR-200c 和 miR-214 表达可抑制胆管癌远端转移 抑制 miR-200c 的表达可以诱导上皮细胞间质化(EMT),反之激活 miR-200c 可以阻止 EMT 发生和抑制肝内胆管癌远处转移和局部浸润^[15]。NCAM1 作为 miR-200c 的直接靶基因,与 miR-200c 表达呈负相关,其表达水平预示了胆管癌患者的存活率。miR-200b/200c 可以影响胆管癌细胞肿瘤的发生,瘤体形成及耐药性。所涉及的机制可能与 Rho 激酶 2 和 SUZ12 直接调节有关^[16,17]。

与非转移性肿瘤相比,具有转移性的胆管癌组织中 miR-214 的表达下调。实验证明,抑制 miR-214 的表达除了能促进人肝内胆管癌细胞的转移,还能增加 EMT 相关基因 Twist 的转录和降低 E-钙粘蛋白水平^[18]。其中下调的 miR-214 是通过直接调节 Twist,从而促进 EMT 的发生。因此,miR-214 在调控肝内胆管癌的远端转移起到至关重要作用^[18]。

1.1.3 miR-29b 表达促进胆管癌对化疗药物的敏感性 miR-29b 在胆管癌中表达下调。miR-29b 过表达除了可以增加吉西他滨(gemcitabine)对 HuH28 敏感性^[19],和减少 Mcl-1 蛋白在 KM-CH 细胞的表达,还使瘤细胞对肿瘤坏死因子相关的凋亡诱导配体 TRAIL 的敏感性增加。对 miR-29 过表达的良性肿瘤细胞转染含有锁核酸拮抗剂的 miR-29b,结果 Mcl-1 水平提高,TRAIL 调控细胞凋亡水平降低^[20]。研究证明,miR-29 对 Mcl-1 的直接效应为负调控。因此,miR-29b 对 Mcl-1 的调节可能成为一个增强胆管癌化疗疗效的有效方法。

1.1.4 miR-494 阻滞胆管癌细胞周期 G2/M 期过渡从而抑制其增殖 miR-494 作为细胞周期 G2/M 过渡期的重要调节器在人胆管癌表达下调。miR-494 上调介导多个靶基因参与 G1/S 过渡期的调节,诱导肿瘤细胞生长迟缓^[21]。除了其靶基因周期蛋白相关性激酶 6 外,miR-494 还被证明参与调节 G2/M 过渡期的几种蛋白的表达,如 polo 样激酶 1,细胞周期蛋白 B1,细胞分裂周期 2 和细胞分裂周期 20,以及拓扑异构酶 II α 。因此,miR-494 除明显阻滞了胆管癌细胞 G2/M 期过渡,还参与胆管癌细胞增殖的调节^[22]。

1.1.5 miR-192 作为胆管癌在循环血液中的生物标志物 最近报道,miRNA 参与了胆管肿瘤早期形成和体内稳态调节。胆管肿瘤能释放 miRNA 进入循环血液或胆汁,游离的 miRNA 可能来自于细胞外小泡降解,如外质体,即胆管癌患者胆汁。例

如,miR-192 在胆管癌中表达上调,胆管癌患者与健康人群相比,血清中 miR-192 水平发生不同程度的升高,并且证实 miR-192 表达水平与肿瘤的转移和患者存活时间相关。因此,miR-192 可以被当作理想的生物标志物用于胆管癌的诊断和预后。

1.2 MicroRNA 表达不利于胆管癌的治疗

1.2.1 miR-21 表达促进了胆管癌细胞生长、侵袭和抗化疗作用 众多研究表明,miR-21 的特点是在胆管癌的生长发育和远端转移方面起到重要调控作用。miR-21 在人类胆管癌中过表达,PTEN、PDCD4、RECK 作为 miR-21 在胆管癌细胞中的靶基因。miR-21 过表达抑制肿瘤抑制因子 PTEN,促进胆管癌细胞对化疗药物吉西他滨的抵抗作用,miR-21 还可抑制 PDCD4 的表达阻止了胆管癌细胞发生凋亡。此外,miR-21 的表达抑制 RECK,促进胆管癌细胞的侵袭。

1.2.2 miR-26a 促进胆管癌增殖和体外集落形成 人胆管癌细胞中 miR-26a 表达上调^[23]。miR-26a 过表达促进胆管癌细胞增殖和体外集落形成。GSK-3 β 已被证明是 miR-26a 的直接靶基因。miR-26a 介导的 GSK-3 β 的下调诱导活化 β -catenin 和下游基因的表达,包括 c-myc, cyclinD1 和过氧化物酶增殖活化受体 II α 。 β -catenin 的减少将部分抑制 miR-26a 诱导肿瘤细胞的增殖和集落形成。因此,miR-26a 通过抑制 GSK-3 β 引起 β -catenin 的激活,从而促进胆管癌肿瘤细胞生长^[23]。

与人类相关的 miRNA 有很多,而每一个 miRNA 都能调控数百个靶基因和蛋白表达。胆管癌的发生常常由于细胞信号通路受阻,这也是人类肿瘤发生的基本特征,而许多信号通路都涉及到 miRNA 的调节。因此,研究 miRNA 在胆管癌发病机制中的作用从而将其更好地运用于癌症的诊断,治疗和预后很有必要。

2 自噬与胆管癌

2.1 自噬的发生

细胞自噬(autophagy)是发生在真核细胞中一种相对保守的物质分解代谢的过程,它通过“自我清除”细胞内无用的、累积的蛋白质聚集物和有缺陷的细胞器维持细胞内环境的稳态。因胞浆中物质运输到溶酶体的方式不同而分为小自噬,大自噬和分子伴侣介导的自噬三种。蛋白酶体和自噬作为细胞中两大降解系统,最终都在溶酶体中完成整个分解过程^[24]。二者却因具体功能和降解底物不同而有所区别,二者都能降解蛋白质,但只有自噬能够分解其他大分子,甚至整个细胞器。大自噬过程中,细胞接受自噬诱导信号后,在胞浆中形成一个双层膜结构的吞噬泡(Phagophore),不断延伸包裹损坏的蛋白质和细胞器后形成一个密闭的球形,即自噬体(autophagosome)。自噬体与溶酶体融合形成自噬溶酶体(autolysosome)自噬体中的物质被溶酶体酶降解,产物氨基酸、脂肪酸等被输送到胞浆中,以满足细胞自身代谢需要和细胞器的更新。我们所说的自噬通常指大自噬。

自噬(autophagy)功能失调,人类恶性肿瘤的新特征之一^[25],是胆管癌细胞针对饥饿、缺氧、药物等外界环境刺激的一个重要适应性反应。细胞通过介导 PI3K/Akt、AMPK-mTOR 和 MAPK/ERK 通路,或激活 Tp53/RAS 系统等改变自噬水平,在

胆管癌的发生与增殖、凋亡、转移、预后及其对药物的敏感性和耐药性等方面起到了关键的作用^[26,27]。众所周知,自噬在肿瘤调节过程中扮演着双重角色^[28]。目前一种观点是,这主要取决于肿瘤细胞类型、环境和发展阶段。

2.2 自噬调节不利于胆管癌的治疗

2.2.1 自噬发生促进胆管癌细胞的存活 一方面,肿瘤的生长和生存对自噬具有依赖性。自噬在 Ras 介导的肿瘤形成过程中维持线粒体代谢和能量平衡^[29]。研究表明,自噬在应激条件下促进了肿瘤细胞的存活。饥饿能够激活自噬发生以及相关蛋白的表达,如 LC3II, Beclin1 等。自噬诱导性细胞死亡是通过清除损坏和有害的细胞,如抗癌试剂作用的癌细胞或细胞感染病原微生物^[30]。然而,剥夺细胞氨基酸,模拟肿瘤微环境相对营养缺乏,诱导自噬的形成,并未导致细胞凋亡,抑制自噬反而促进细胞凋亡。因此,自噬在营养相对缺乏的条件下促进了胆管癌细胞存活。自噬对肿瘤的保护作用还表现在不仅对大多数抗癌药物有拮抗作用,而且能抑制治疗上的诱导应激和肿瘤细胞损伤。因此,抑制自噬可能提高抗癌治疗的功效。

2.2.2 促进自噬诱导胆管癌细胞发生侵袭和远端转移 此外,自噬可以保护细胞避免从细胞外基质分离后就发生失巢凋亡现象,揭示了自噬在肿瘤远处转移的另一作用^[31],其参与许多的癌症的浸润^[32,33]。研究发现,自噬的发生促进了胆管癌细胞侵袭。氯喹能在饥饿条件下抑制自噬,减弱 TGF- β 1 诱导的胆管癌细胞侵袭性。体外研究报道,自噬通过诱导 EMT 发生促进肝癌细胞的侵袭,并且 TGF- β /Smad3 信号的激活在调节细胞自噬诱导 EMT 过程中起着关键作用^[32]。

2.3 自噬调节有利于胆管癌的治疗

2.3.1 促进自噬相关基因的表达将抑制肿瘤细胞的增殖和瘤体形成 另一方面,一些自噬相关基因对肿瘤的增殖和形成产生抑制作用。如,PTEN、p53、TSC1、TSC2 和 Bax-1。此外,自噬相关基因蛋白,包括 Beclin1、UVRAG、Atg5 和 Atg4c 等也具有肿瘤抑制作用。事实上,自噬相关基因 Beclin1 和 UVRAG 的单等位基因的缺失经常在人类癌症中发现,并且 Beclin1 和 UVRAG 过表达抑制肿瘤细胞的增殖和瘤体的形成^[34]。

2.3.2 抑制自噬提高了胆管癌细胞对化疗药物的敏感性从而促进凋亡 如今已经证实,常规的化疗和放疗对延长胆管癌患者寿命基本无效。此外,化疗引起获得性耐药也一直是一个重要的临床问题。顺铂和阿霉素是临床上重要的抗癌药物,能刺激癌细胞引起自噬激活^[35]。顺铂的抗肿瘤作用主要归因于铂化合物能诱导 DNA 损伤,而阿霉素抗肿瘤作用则通过嵌入 DNA 抑制大分子合成。然而,激活自噬是否引起化疗耐药?通过自噬抑制剂和腺病毒转染 siRNA 干扰自噬蛋白、Beclin1,阻断自噬的激活,可以促进细胞对化疗药物的敏感性,导致更多的肿瘤细胞发生凋亡。因此,在饥饿条件下,自噬抑制剂或 siRNA 抑制自噬发生,从而抑制胆管癌细胞增殖,促进凋亡。Beclin 1 下调不但使胆管癌细胞对抗肿瘤药物更敏感,还提高了 DNA 损伤药物对胆管癌的化疗效果。

Ambra1 已被确定为 Beclin1 自噬相关调节过程中的正调节因子^[36], Ambra1 与 Beclin1 结合使 Beclin1/Vps34 复合物更加稳定。Ambra1 不仅作为 Beclin1 的辅因子促进其相关激酶的活性,还是一个介导自噬发生重要的上游调控因子。虽然我们

对 Ambra1 参与癌症调节作用的了解有限,但研究证实,增加 Ambra1 的表达与胰导管癌患者存活率低显著相关^[37]。总之,研究表明,自噬的发生可能与胆管癌的恶性表型和预后差密切相关。Ambra1 的过度表达参与了这一过程,并且 Ambra1 很可能是胆管癌预后的一个候选指标。

自噬作为细胞内环境的一种调节机制,防止肿瘤恶变和癌症进展,在不同情况下治疗性干预,促进或抑制自噬将有利于胆管癌患者。然而,关于自噬与胆管癌的报道有限,还有待进一步研究。

3 MicroRNA 和自噬在调节胆管癌发病机制过程中很可能存在相关性

近年来,我们对自噬过程有了更深入的研究。许多自噬相关蛋白已被识别,以及在酵母和哺乳动物中的功能特点得到确认。此外,我们也开始揭示自噬的一些生理作用。然而,尽管研究有很大进展,但仍有许多问题悬而未决。作为与肿瘤尤其是胆管癌密切相关的 miRNA 与自噬在调节胆管癌发生发展过程中是否存在某些内在的关系?

近期,国内外研究小组陆续发现参与自噬调节的 miRNAs, 这些 miRNAs 通过对靶基因的抑制,直接或间接参与自噬相关基因的表达,进而调节自噬的过程,如 miR-885-3p^[38]、miR-375^[39]以及 miR-155^[40]。举例说明,miR-375 可抑制 PDK1 表达,调控 PDK1/AKT/mTOR 信号通路,抑制了肿瘤的生长和活性。该途径 AKT 的抑制本可以调节 mTOR 促进自噬^[41],然而 miR-375 直接互补结合到 ATG7 3' 非编码区,抑制其 mRNA 与蛋白的表达,从而抑制了肝癌细胞在应激状态下自噬的发生^[39]。对人肝癌组织检测 ATG7 表达水平比癌旁组织普遍升高,有利于线粒体自噬的发生,提高了肿瘤细胞在针对代谢应激时的自我保护能力。因此,miR-375 对 ATG7 基因的靶向抑制是 miR-375 抑制肝癌细胞应激性自噬发生进而起到抗癌作用的一个重要分子机制。然而,在胆管癌中异常表达的 miRNA 与自噬调节之间的关系的报道仍是处于零的阶段。因此,我们猜想 miRNA 异常表达可能参与了缺氧或饥饿诱导胆管癌细胞自噬的调节,为我们研究胆管癌相关分子机制提供了新的方向。

参考文献(References)

- [1] Gatto M, Bragazzi MC, Semeraro R, et al. Cholangiocarcinoma: update and future perspectives[J]. Dig Liver Dis, 2010, 42(4): 253-260
- [2] Shaib Y, El-Serag HB. The epidemiology of cholangiocarcinoma[J]. Semin Liver Dis, 2004, 24(2): 115-125
- [3] Tyson GL, El-Serag HB. Risk factors for cholangiocarcinoma[J]. Hepatology, 2011, 54(1): 173-184
- [4] Shin HR, Oh JK, Masuyer E, et al. Epidemiology of cholangiocarcinoma: an update focusing on risk factors [J]. Cancer Sci, 2010, 101(3): 579-585
- [5] Gores GJ, Baskin-Bey ES, Baron TH, et al. Treatment endpoints for advanced cholangiocarcinoma [J]. Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol, 2004, 1(1): 4-5
- [6] Ebert MS, Sharp PA. Roles for microRNAs in conferring robustness to biological processes[J]. Cell, 2012, 149(3): 515-524
- [7] Meng XZ, Zheng TS, Chen X, et al. microRNA expression alteration after arsenic trioxide treatment in HepG-2 cells [J]. J Gastroenterol Hepatol, 2011, 26(1): 186-193

- [8] Sun H, Meng X, Han J, et al. Anti-cancer activity of DHA on gastric cancer--an in vitro and in vivo study [J]. *Tumour Biol*, 2013, 34(6): 3791-3800
- [9] Medina PP, Nolde M, Slack FJ. OncomiR addiction in an in vivo model of microRNA-21-induced pre-B-cell lymphoma [J]. *Nature*, 2010, 467(7311): 86-90
- [10] Iorio MV, Ferracin M, Liu CG, et al. MicroRNA gene expression deregulation in human breast cancer [J]. *Cancer Res*, 2005, 65(16): 7065-7070
- [11] Kong YW, Ferland-McCollough D, Jackson TJ, et al. microRNAs in cancer management[J]. *Lancet Oncol*, 2012, 13(6): e249-258
- [12] Takahashi K, Yan I, Wen HJ, et al. microRNAs in liver disease: from diagnostics to therapeutics [J]. *Clin Biochem*, 2013, 46 (10-11): 946-952
- [13] An F, Yamanaka S, Allen S, et al. Silencing of miR-370 in human cholangiocarcinoma by allelic loss and interleukin-6 induced maternal to paternal epigenotype switch [J]. *PLoS One*, 2012, 7(10): e45606
- [14] Meng F, Wehbe-Janek H, Henson R, et al. Epigenetic regulation of microRNA-370 by interleukin-6 in malignant human cholangiocytes [J]. *Oncogene*, 2008, 27(3): 378-386
- [15] Oishi N, Kumar MR, Roessler S, et al. Transcriptomic profiling reveals hepatic stem-like gene signatures and interplay of miR-200c and epithelial-mesenchymal transition in intrahepatic cholangiocarcinoma [J]. *Hepatology*, 2012, 56(5): 1792-1803
- [16] Karakatsanis A, Papaconstantinou I, Gazouli M, et al. Expression of microRNAs, miR-21, miR-31, miR-122, miR-145, miR-146a, miR-200c, miR-221, miR-222, and miR-223 in patients with hepatocellular carcinoma or intrahepatic cholangiocarcinoma and its prognostic significance[J]. *Mol Carcinog*, 2013, 52(4): 297-303
- [17] Peng F, Jiang J, Yu Y, et al. Direct targeting of SUZ12/ROCK2 by miR-200b/c inhibits cholangiocarcinoma tumorigenesis and metastasis[J]. *Br J Cancer*, 2013, 109(12): 3092-3104
- [18] Li B, Han Q, Zhu Y, et al. Down-regulation of miR-214 contributes to intrahepatic cholangiocarcinoma metastasis by targeting Twist[J]. *FEBS J*, 2012, 279(13): 2393-2398
- [19] Okamoto K, Miyoshi K, Murawaki Y. miR-29b, miR-205 and miR-221 enhance chemosensitivity to gemcitabine in HuH28 human cholangiocarcinoma cells[J]. *PLoS One*, 2013, 8(10): e77623
- [20] Mott JL, Kobayashi S, Bronk SF, et al. mir-29 regulates Mcl-1 protein expression and apoptosis[J]. *Oncogene*, 2007, 26(42): 6133-6140
- [21] Olaru AV, Ghiaur G, Yamanaka S, et al. MicroRNA down-regulated in human cholangiocarcinoma control cell cycle through multiple targets involved in the G1/S checkpoint [J]. *Hepatology*, 2011, 54(6): 2089-2098
- [22] Yamanaka S, Campbell NR, An F, et al. Coordinated effects of microRNA-494 induce G (2)/M arrest in human cholangiocarcinoma [J]. *Cell Cycle*, 2012, 11(14): 2729-2738
- [23] Zhang J, Han C, Wu T. MicroRNA-26a promotes cholangiocarcinoma growth by activating beta-catenin [J]. *Gastroenterology*, 2012, 143(1): 246-256 e248
- [24] Dunn WA Jr. Autophagy and related mechanisms of lysosome-mediated protein degradation [J]. *Trends Cell Biol*, 1994, 4 (4): 139-143
- [25] Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation [J]. *Cell*, 2011, 144(5): 646-674
- [26] Yothaisong S, Dokduang H, Techasen A, et al. Increased activation of PI3K/AKT signaling pathway is associated with cholangiocarcinoma metastasis and PI3K/mTOR inhibition presents a possible therapeutic strategy[J]. *Tumour Biol*, 2013, 34(6): 3637-3648
- [27] Wang TT, Cao QH, Chen MY, et al. Beclin 1 deficiency correlated with lymph node metastasis, predicts a distinct outcome in intrahepatic and extrahepatic cholangiocarcinoma [J]. *PLoS One*, 2013, 8(11): e80317
- [28] Mathew R, Karantza-Wadsworth V, White E. Role of autophagy in cancer[J]. *Nat Rev Cancer*, 2007, 7(12): 961-967
- [29] Guo JY, Chen HY, Mathew R, et al. Activated Ras requires autophagy to maintain oxidative metabolism and tumorigenesis [J]. *Genes Dev*, 2011, 25(5): 460-470
- [30] White E, Karp C, Strohecker AM, et al. Role of autophagy in suppression of inflammation and cancer [J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2010, 22(2): 212-217
- [31] Fung C, Lock R, Gao S, et al. Induction of autophagy during extracellular matrix detachment promotes cell survival [J]. *Mol Biol Cell*, 2008, 19(3): 797-806
- [32] Li J, Yang B, Zhou Q, et al. Autophagy promotes hepatocellular carcinoma cell invasion through activation of epithelial-mesenchymal transition[J]. *Carcinogenesis*, 2013, 34(6): 1343-1351
- [33] Koukourakis MI, Giatromanolaki A, Sivridis E, et al. Beclin 1 over- and underexpression in colorectal cancer: distinct patterns relate to prognosis and tumour hypoxia [J]. *Br J Cancer*, 2010, 103 (8): 1209-1214
- [34] Liang C, Feng P, Ku B, et al. Autophagic and tumour suppressor activity of a novel Beclin1-binding protein UVRAG[J]. *Nat Cell Biol*, 2006, 8(7): 688-699
- [35] Hou YJ, Dong LW, Tan YX, et al. Inhibition of active autophagy induces apoptosis and increases chemosensitivity in cholangiocarcinoma[J]. *Lab Invest*, 2011, 91(8): 1146-1157
- [36] Nazio F, Cecconi F. mTOR, AMBRA1, and autophagy: an intricate relationship[J]. *Cell Cycle*, 2013, 12(16): 2524-2525
- [37] Ko YH, Cho YS, Won HS, et al. Prognostic significance of autophagy-related protein expression in resected pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. *Pancreas*, 2013, 42(5): 829-835
- [38] Huang Y, Chuang AY, Ratovitski EA. Phospho-DeltaNp63alpha/miR-885-3p axis in tumor cell life and cell death upon cisplatin exposure[J]. *Cell Cycle*, 2011, 10(22): 3938-3947
- [39] Chang Y, Yan W, He X, et al. miR-375 inhibits autophagy and reduces viability of hepatocellular carcinoma cells under hypoxic conditions[J]. *Gastroenterology*, 2012, 143(1): 177-187 e178
- [40] Wang J, Yang K, Zhou L, et al. MicroRNA-155 promotes autophagy to eliminate intracellular mycobacteria by targeting Rheb [J]. *PLoS Pathog*, 2013, 9(10): e1003697
- [41] He XX, Chen T, Lin JS, et al. Inhibition of the replication of hepatitis B virus in vitro by a novel 2,6-diaminopurine analog, beta-LPA[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 369(2): 513-518