

## YM155 诱导乳腺癌细胞 MDA-MB-231 自噬并促进其凋亡

樊晓东,甄林林\*,刘敏敏,厉 芝,宋 玮,丁亦含,施建华

(南京医科大学附属淮安第一医院甲乳外科,江苏 淮安 223300)

**[摘要]** 目的:研究生存素(survivin)抑制剂 YM155 对三阴性乳腺癌细胞株 MDA-MB-231 的凋亡及自噬的影响及其可能的作用机制。方法:采用 CCK-8 法检测不同浓度 YM155 对 MDA-MB-231 细胞增殖的影响,同时联合加入自噬抑制剂 3-甲基腺嘌呤(3-methyladenine,3-MA)处理细胞与单用组比较细胞增殖变化;流式细胞术检测细胞凋亡情况;Real-time PCR 法检测不同加药组与对照组细胞的 survivin、beclin 1 和 bcl-2 的 mRNA 表达量;蛋白质印迹法检测 survivin、bcl-2、caspase-3、PARP 及自噬相关蛋白 beclin 1 和 LC-3 表达变化情况。结果:YM155 对 MDA-MB-231 具有明显的生长抑制效应且呈剂量和时间依赖性。流式细胞结果显示 YM155 在 0.5、1.0、1.5 ng/mL 浓度对细胞的凋亡率分别是(11.9 ± 2.4)%、(21.7 ± 2.6)%、(30.8 ± 4.5)% ,与对照组(6.4 ± 1.2)%相比具有统计学意义( $P < 0.01$ )。当使用自噬抑制剂 3-MA(5 mmol/L)联合处理细胞 24 h 后细胞增殖率(62.5 ± 3.3)% ,与单用 YM155 组(54.7 ± 2.7)%相比,细胞增殖活性增强( $P < 0.05$ )。YM155 可显著下调 survivin 的 mRNA 和蛋白表达,降低 bcl-2 和提高 caspase-3、PARP 的蛋白表达,同时上调 beclin 1 表达及增加 LC-3 II / LC-3 I 的比值,促进细胞自噬的发生。结论:YM155 能够有效诱导乳腺癌细胞 MDA-MB-231 凋亡及自噬的发生,其诱导的自噬效应进一步促进其凋亡的发生。

**[关键词]** YM155;三阴性乳腺癌;生存素;凋亡;自噬

**[中图分类号]** R737.9

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2015)12-1697-06

**doi:**10.7655/NYDXBNS20151205

## YM155 enhances apoptosis in triple negative breast cancer MDA-MB-231 cells via autophagy

Fan Xiaodong, Zhen Linlin\*, Liu Minmin, Li Zhi, Song Wei, Ding Yihan, Shi Jianhua

(Huai'an First People's Hospital Affiliated to NJMU, Huai'an 223300, China)

**[Abstract]** Objective: To investigate the effect of YM155, a survivin inhibitor, on the apoptosis and autophagy of the triple negative breast cancer MDA-MB-231 cells. **Methods:** MDA-MB-231 cells was treated with different concentrations of YM155, the survival rate of the cells was determined by CCK-8 assay and the IC<sub>50</sub> (half inhibitory concentration) value of YM155 was calculated. The apoptosis rate was examined by Annexin V-FITC/PI double staining. The mRNA expression of survivin, beclin 1 and bcl-2 in MDA-MB-231 cells was detected by Real-time PCR. The protein expression of survivin, bcl-2, caspase 3, PARP, beclin 1 and LC-3 were detected by Western blot. **Results:** It was revealed that YM155 significantly inhibited the growth of MDA-MB-231 cells in a dose- and time-dependent model. The apoptosis rates of cells treated with 0.5, 1.0, 1.5 ng/mL YM155 were (11.9 ± 2.4)%, (21.7 ± 2.6)%, and (30.8 ± 4.5)%, respectively, which all had significant difference compared to control cells [(6.4 ± 1.2)%]. When a combination of 3-MA effect after 24 h, cell proliferation rate was significantly enhanced compared to that of the single YM155 group ( $P < 0.05$ ). With the increasing of YM155 concentration, the expression levels of mRNA and protein of survivin and BCL-2 were decreased, while the expression levels of caspase-3, PARP, beclin1 and LC-3 were increased. Compared with the YM155 group, the protein levels of LC-3 and caspase-3 were lower in YM155 + 3-MA group. **Conclusion:** YM155 could effectively inhibit MDA-MB-231 cells proliferation by inducing apoptosis and autophagy, while autophagy induction effect can enhance its apoptosis effect.

**[Key words]** YM155; TNBC; survivin; apoptosis; autophagy

[Acta Univ Med Nanjing, 2015, 35(12): 1697-1702]

**[基金项目]** 江苏省科技厅、江苏省人才办资助项目(BRA2014129);淮安市科技局资助项目(HAS2013021)

\*通信作者(Corresponding author), E-mail: Simu1027@sina.com

乳腺癌是妇女发病率最高的恶性肿瘤,占全身恶性肿瘤的 7%~10%<sup>[1]</sup>。其中占乳腺癌发病率 12%~17%的三阴性乳腺癌 (triple negative breast cancer, TNBC)是指雌激素受体 (estrogen receptor, ER)、孕激素受体 (progesterone receptor, PR) 和人表皮生长因子受体 2 (human epidermal growth factor receptor-2, HER-2) 均为阴性的一种特殊类型乳腺癌,其多发生于绝经前的年轻女性,由于其不能从内分泌及 HER-2 靶向治疗中获益,是各种乳腺癌分型中恶性程度最高、最容易复发和转移、预后最差的类型<sup>[2]</sup>。因此,如何对 TNBC 实施有效治疗,已成临床研究的热点和难点。

生存素 (survivin) 是凋亡抑制蛋白 (inhibitor of apoptosis protein, IAP) 家族中的一员,具有调节细胞有丝分裂、抗凋亡功能。诸多研究表明 survivin 与肿瘤发生、发展关系密切,下调肿瘤细胞 survivin 表达可增加细胞凋亡率及其对化疗的敏感性<sup>[3]</sup>,故其有望成为新的抗肿瘤靶点。而作为 survivin 特异性抑制剂 YM155,具有广谱抗肿瘤能力<sup>[4]</sup>。本研究旨在观察 YM155 对 TNBC 细胞株 MDA-MB-231 的凋亡及自噬的相关影响,探讨其相关机制,为其将来应用于 TNBC 治疗积累实验依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

YM155、自噬抑制剂 3-甲基腺嘌呤 (3-methyladenine, 3-MA) (Selleck 公司, 美国), L-15 培养基、胎牛血清、胰蛋白酶 (Gibco 公司, 美国), Annexin V-FITC/PI 凋亡检测试剂盒、CCK-8 试剂盒及蛋白裂解液及 BCA 蛋白定量标准品、RNA 提取试剂盒、RT-PCR 试剂盒和实时定量 PCR 试剂盒 (南京凯基生物), 所用引物由大连宝生物公司合成; survivin, bcl-2, caspase-3,  $\beta$ -actin, LC3 蛋白抗体 (Bioworld 公司, 美国)。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 细胞株及其培养

人乳腺癌细胞株 MDA-MB-231 购自中国科学院上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研究所, 用 L-15 培养基+10%胎牛血清, 置于 37℃ 无 CO<sub>2</sub> 的培养箱内培养。

#### 1.2.2 CCK-8 检测细胞增殖情况

取处于对数生长期的 MDA-MB-231 细胞, 用加 10%胎牛血清 L-15 培养液配制成浓度  $7 \times 10^4$  个/mL 的细胞悬液, 吹匀加入 96 孔板, 每孔 100  $\mu$ L, 预培养 24 h 后吸出培养基重新加入终末浓度为 1.25、

2.50、5.00、25.00、250.00 ng/mL 的 YM155 培养基, 每个浓度设 4 个复孔, 作用 24、48 h, 设对照组 (不加药) 和空白组 (只有培养液, 无细胞), 然后在每个时间点加入 CCK-8 试剂 10  $\mu$ L, 37℃、无 CO<sub>2</sub> 环境中继续培养 2 h 后, 在 450 nm 处读取吸光度 (A), 取 4 孔的平均值进行计算, 细胞生长抑制率的计算公式如下: 生长抑制率 (%) =  $(A_{\text{对照组}} - A_{\text{实验组}}) / (A_{\text{对照组}} - A_{\text{空白组}}) \times 100\%$ 。计算 YM155 对 MDA-MB-231 在 24、48 h 的半数抑制浓度 (the half maximal inhibitory concentration, IC<sub>50</sub>)。同上述实验方法, 按以下分组分别加入 YM155、3-MA、YM155+3-MA, 同时设立对照组, YM155 终末浓度为 1.5 mg/mL, 3-MA 终末浓度为 5 mmol/L 作用 24 h 后, 测量 24 h 各孔吸光度值, 计算各组细胞增殖率。

#### 1.2.3 流式细胞仪检测细胞凋亡

取对数生长期的 MDA-MB-231 细胞接种于 6 孔板,  $3 \times 10^5$  个/孔。待细胞培养 24 h 贴壁后, 分别按如下浓度的 YM155 (0.5、1.0、1.5 ng/mL) 处理细胞, 同时设立无药对照组。培养 24 h 后, 用不含 EDTA 的胰酶消化收集细胞, 冷 PBS 洗涤细胞 2 次后收集  $1 \times 10^5$  个细胞, 加入 500  $\mu$ L 的 Binding Buffer 悬浮细胞, 每管分别加入 5  $\mu$ L Annexin V-FITC 和 5  $\mu$ L Propidium Iodide 混匀后室温、避光反应 10 min, 上流式细胞仪检测细胞凋亡情况。实验重复 3 次。

同上述实验方法, 按以下分组分别加入 YM155、3-MA、YM155+3-MA, 同时设立对照组, YM155 终末浓度为 1.5 mg/mL, 3-MA 终末浓度为 5 mmol/L, 检测各组细胞凋亡情况。

#### 1.2.4 实时定量聚合酶链反应 (real-time PCR) 检测 survivin、bcl-2、beclin1 mRNA 的表达水平

取对数生长期的 MDA-MB-231 以  $5 \times 10^5$  个/孔的密度接种于 6 孔板, 待细胞生长至 90% 融合度时, 分别加入浓度 1、2 ng/mL 的 YM155 溶液 2 mL, 同时设立对照组, 24 h 后收集各组细胞, TRIzol RNA 试剂盒提取各组总 RNA, 检测 RNA 纯度和完整性后, 根据逆转录试剂盒说明反转录成 cDNA (引物序列见表 1)。按 SYBR Green 试剂盒说明进行 Real-time PCR 操作, 反应体系为 25  $\mu$ L: SYBR Green Ex Taq™ (2 $\times$ ) 12.5  $\mu$ L, cDNA 0.5  $\mu$ L, 上下游引物各 0.5  $\mu$ L, 去离子水 11  $\mu$ L。反应条件: 94℃ 预变性 10 min; 94℃ 30 s, 61℃ 30 s, 72℃ 1 min, 40 循环。实时连续荧光定量检测。目的基因表达的相对差异量采用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  计算。其中,  $\Delta Ct = Ct_{\text{目的基因}} - Ct_{\beta\text{-actin}}$ ;  $\Delta\Delta Ct = \Delta Ct_{\text{处理组}} - \Delta Ct_{\text{对照组}}$ 。

#### 1.2.5 蛋白质印迹法检测蛋白表达变化

表 1 RT-PCR 引物序列  
Table 1 Primers of RT-PCR

引物名称	引物序列(5'→3')
survivin(311 bp)	GGAGTCTGGGAAGGGTTG GAGTTTGGCTTGCTGGTC
bcl-2 (307 bp)	TTCTTTGAGTTCGGTGGGGTC TGCATATTTGTTGGGGCAGG
beclin 1(120 bp)	GGTGCTCTCGCAGATTCATC TCAGTCTTCGGCTGAGGTTCT
β-actin(190 bp)	CATGTACGTTGCTATCCAGGC CTCCTTAATGTCACGCACGAT

取对数生长期的 MDA-MB-231 以  $5 \times 10^5$  个/孔的密度接种于 6 孔板,待细胞生长至 90%融合度时,按分组(详见下)加入不同浓度 YM155(1、2 ng/mL)和自噬抑制剂 3-MA(5 mmol/L)处理收集细胞,同时设立对照组,PBS 洗涤 2 次后,加入蛋白抽提试剂提取总蛋白,用 BCA 法检测蛋白浓度,调整每个浓度至  $2 \mu\text{g}/\mu\text{L}$ ,然后取  $30 \mu\text{g}$  蛋白样品与  $2 \times$  上样缓冲液等体积混合,煮沸 5 min,行 SDS-PAGE 电泳、转膜、5%的脱脂奶粉封闭 2 h,分别加入特异性 survivin(1:1 000)、bcl-2(1:1 000)、caspase 3(1:1 000)、PARP(1:1 000)、beclin 1(1:1 000)、LC-3(1:1 000)抗体,摇床 4℃过夜,TBST 洗膜 3 次后加二抗室温孵育 2 h,TBST 洗膜 3 次后 ECL 发光法显色并用 Bio-rad 凝胶成像系统成像,并用 Imag-J 软件做灰度分析。

1.3 统计学方法

采用 SPSS20.0 及 GraphPad Prism 5 软件对实验数据统计分析,所有实验都重复 3 次,实验结果以均数  $\pm$  标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,采用单因素方差分析,组内两两比较采用 LSD 检验。 $P \leq 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 YM155 抑制 MDA-MB-231 的增殖

CCK-8 法检测结果显示:YM155 对细胞 MDA-MB-231 的生长抑制效果呈剂量和时间依赖性,经 YM155 处理 24、48 h 后细胞的抑制率随药物浓度的递增而升高;同一药物浓度,随时间作用增加细胞抑制增殖效果也增加。经计算 YM155 对 MDA-MB-231 在 24、48 h 的  $IC_{50}$  分别为  $(1.701 \pm 0.185)\text{ng/mL}$  (95% CI: 1.492~1.941 ng/mL)、 $(0.853 \pm 0.119)\text{ng/mL}$  (95% CI: 0.723~1.007 ng/mL)。

### 2.2 自噬促进了 YM155 抑制 MDA-MB-231 的增殖作用

CCK-8 法检测结果显示:YM155 (1.5 ng/mL)+3-MA(5 mmol/L)联合处理 MDA-MB-231 细胞 24 h 后细胞的增殖率  $(62.5 \pm 3.3)\%$  相对于单用 YM155 (1.5 ng/mL)组的  $(54.7 \pm 2.7)\%$  显著增强 ( $t=3.169$ ,  $P=0.034$ ),结果具有统计学意义。抑制细胞自噬可以减弱 YM155 对 MDA-MB-231 细胞增殖的抑制作用,表明抑制自噬削弱了这种抑制作用。

### 2.3 YM155 促进 MDA-MB-231 细胞凋亡

收集经 0.5、1.0、1.5 ng/mL 浓度的 YM155 处理的细胞和对照组细胞,经 Annexin V-FITC 法检测细胞凋亡结果显示(图 1):YM155 能诱导 MDA-MB-231 细胞发生凋亡,与对照组凋亡率  $(6.4 \pm 1.2)\%$  相比,凋亡率分别是  $(11.9 \pm 2.4)\%$ 、 $(21.7 \pm 2.6)\%$ 、 $(30.8 \pm 4.5)\%$ ,差异均具有统计学意义 ( $P < 0.05$ ),且诱导凋亡效应随浓度升高而升高。

### 2.4 自噬促进了 YM155 对 MDA-MB-231 的凋亡作用

经 Annexin V-FITC 法检测细胞凋亡结果显示(图 2):当 YM155(1 ng/mL)联合自噬抑制剂 3-MA(5 mmol/L)作用细胞后细胞凋亡率为  $(14.8 \pm 1.7)\%$ ,与单用 YM155(1 ng/mL)组凋亡率  $(21.7 \pm 2.6)\%$  相比差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ ),显示出当抑制细胞自噬后,YM155 促凋亡的效应也相应被削弱。

### 2.5 YM155 对各相关基因 mRNA 表达的影响

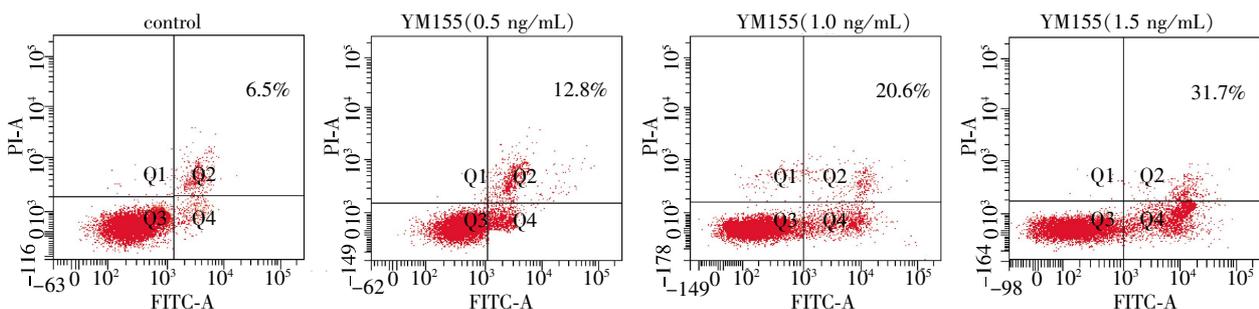


图 1 Annexin V-FITC 法检测 YM155 对 MDA-MB-231 细胞作用 24 h 后的细胞凋亡率

Figure 1 The apoptotic rates of MDA-MB-231 cells after treatment with different concentration of YM155 for 24 h detected by Annexin V-FITC

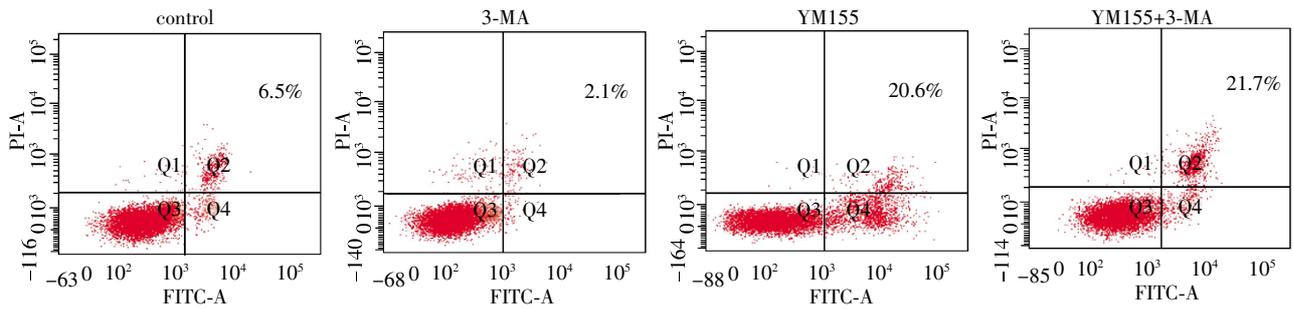


图 2 Annexin V-FITC 法检测 YM155(1 ng/mL) 和 3-MA(5 mmol/L) 联合或单用对 MDA-MB-231 细胞作用 24 h 后的细胞凋亡率

Figure 2 The apoptotic rates of MDA-MB-231 cells after treatment with YM155(1 ng/mL) or 3-MA(5 mmol/L) alone and in combination for 24 h detected by Annexin V-FITC

YM155 处理 MDA-MB-231 细胞 24 h 后, MDA-MB-231 细胞中的 survivin mRNA 表达水平明显降低, 随着 YM155 浓度增加, 细胞 survivin mRNA 表达越少 ( $P < 0.05$ )。bcl-2 mRNA 略下调, 随着 YM155 浓度增加表达越少; 自噬相关蛋白 beclin 1 mRNA 表达随着 YM155 浓度增加表达量上调 (表 2,  $P < 0.05$ )。

表 2 YM155 处理 MDA-MB-231 细胞 24 h 后 mRNA 表达水平的影响

Table 2 The effects of YM155 for 24 h on the mRNA expression levels of Survivin, beclin 1 and Bcl-2 in MDA-MB-231 cells ( $n=3, \bar{x} \pm s$ )

YM155 (ng/mL)	survivin	beclin 1	Bcl-2
0	1.01 ± 0.11	1.00 ± 0.18	1.00 ± 0.15
1	0.69 ± 0.21*	1.23 ± 0.13	0.82 ± 0.19
2	0.52 ± 0.18*	1.39 ± 0.09*	0.63 ± 0.16*

与 0 ng/mL 组比较, \* $P < 0.05$ 。

### 2.6 YM155 对各相关蛋白表达的影响

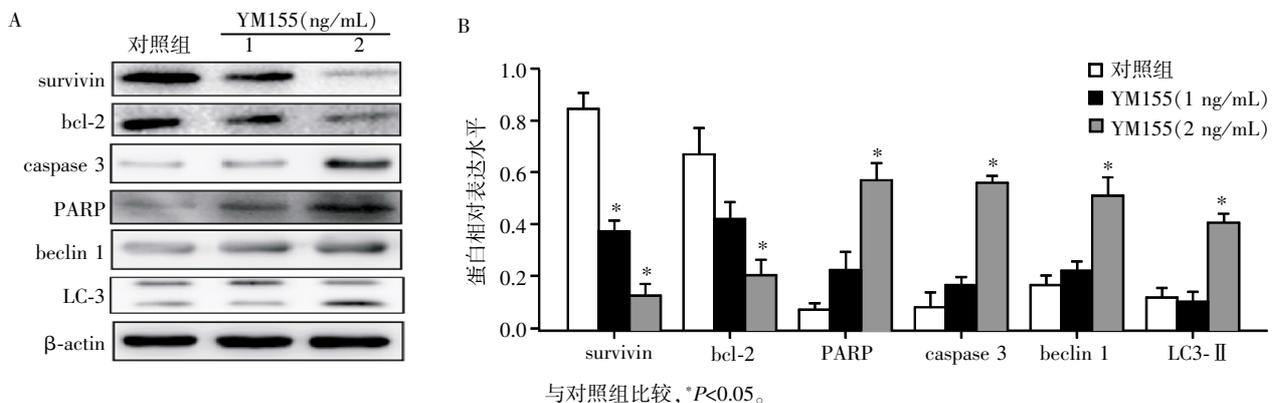
蛋白质印迹法检测各相关蛋白表达的结果显示, 与对照组相比, MDA-MB-231 经 YM155 不同浓度处理 24 h 后, survivin 蛋白表达明显下调, 并随着

浓度增加表达量越低 (图 3A); 抗凋亡蛋白 Bcl-2 蛋白表达与对照组相比也较明显下调, 促细胞凋亡蛋白 caspase 3 和 PARP 表达增加。

本研究还观察了 YM155 对 MDA-MB-231 细胞自噬相关指标 beclin 1 及 LC3 蛋白表达的变化。结果表明, 随着 YM155 浓度的提高, beclin1 表达水平及 LC-3 II / LC-3 I 的比值逐渐升高 (图 3)。当加入自噬抑制剂 3-MA 后, 自噬被抑制, 与单用 YM155 相比, caspase 3 的表达略下调, 意味着抑制自噬后, YM155 在细胞中引起的凋亡减少 (图 4)。该结果表明, YM155 既可诱导 MDA-MB-231 细胞凋亡, 又同时诱导细胞发生自噬, 自噬促进了细胞凋亡。

### 3 讨论

目前, TNBC 患者因其生物学特性不能从内分泌治疗及相关靶向治疗中获益, 从而导致其肿瘤局部复发及远处转移率高、生存期短、治疗效果不佳<sup>[5]</sup>。因此, 为 TNBC 患者寻找新的有效治疗方法势在必行, 而本研究即通过 YM155 抑制 survivin 和凋亡及促



与对照组比较, \* $P < 0.05$ 。

图 3 蛋白质印迹法检测不同浓度 YM155 处理 MDA-MB-231 细胞株后 24 h 各蛋白表达水平

Figure 3 The expression levels of each protein in YM155 treated MDA-MB-231 cells at different concentrations for 24 h detected by Western blotting

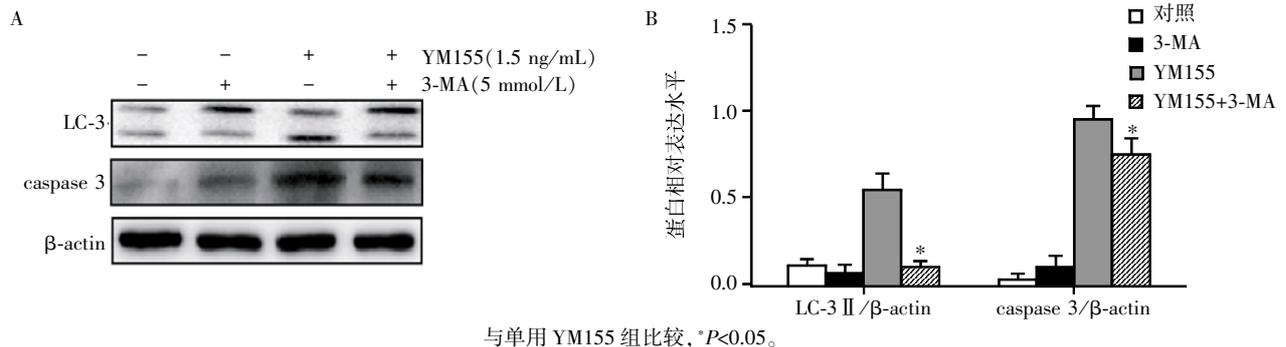


图 4 蛋白质印迹法检测 YM155 和 3-MA 联合和单用处理 MDA-MB-231 细胞株后各蛋白表达水平

Figure 4 The expression levels of each protein in MDA-MB-231 cells treated with YM155 or 3-MA alone or in combination for 24 h detected by Western blot

进自噬的相关角度为 TNBC 的治疗提供一种新思路。

survivin 是 IAP 家族中的一员,具有调节细胞有丝分裂、抑制凋亡等功能,survivin 在正常胎儿的多种组织中表达,但在绝大多数成人组织中不表达。相关研究发现乳腺癌患者血清中 survivin 抗体的表达水平要显著高于正常,且和患者的病理分期以及淋巴结转移相关<sup>[6]</sup>。

本研究发现,YM155 在低浓度(24 h 的 IC<sub>50</sub>: 1.701 ng/mL)时,MDA-MB-231 细胞增殖就受到明显抑制,且呈剂量依赖性增强。研究进一步探讨了 YM155 诱导细胞凋亡的作用,Annexin V-FITC 法检测结果显示 YM155 可诱导 MDA-MB-231 细胞凋亡,YM155 1.5 ng/mL 诱导细胞凋亡率达到 31.7%,较阴性对照组显著升高( $P < 0.01$ )。本研究通过 RT-qPCR 和蛋白质印迹法证实了 YM155 可显著抑制 MDA-MB-231 细胞 survivin 的表达,同时 caspase-3、PARP 表达上调,提示 YM155 通过抑制 survivin 表达来抑制 MDA-MB-231 细胞增殖,继而激活 caspase 细胞凋亡信号通路,进一步证实了 YM155 对 MDA-MB-231 的促凋亡活性。

本研究还发现了 YM155 促进了 MDA-MB-231 细胞自噬。在肿瘤的发生、发展中具有重要作用,适度自噬可促进细胞存活,而过度自噬则可以引发肿瘤细胞死亡<sup>[7]</sup>。beclin 1 作为调控细胞自噬的重要基因<sup>[8]</sup>,目前已确认是启动细胞自噬的必须基因<sup>[9]</sup>。研究表明,乳腺癌细胞常出现 beclin 1 基因缺失,beclin 1 的缺失和下调与乳腺癌的发生关系密切,认为 beclin 1 可能是乳腺癌发生的抑制基因<sup>[10]</sup>。相关研究表明<sup>[11]</sup>,抗凋亡蛋白 Bcl-2 可与 beclin 1 作用来抑制自噬体膜形成来抑制自噬,这种抗自噬功能可能帮助细胞在低自噬环境中存活。但 YM155 作用机制

尚不完全清楚,Kang 等<sup>[12]</sup>研究发现 YM155 除了特异性地抑制 survivin 的表达从而抑制细胞增殖和促凋亡,还能诱导自噬相关蛋白 beclin 1 的释放,beclin 1 可抑制 survivin 的抗凋亡作用,从而诱导细胞进一步凋亡,并且促进了细胞自噬的发生<sup>[13]</sup>,并且又进一步诱导凋亡,反过来又激活自噬作用的发生<sup>[14]</sup>,显示出了自噬与凋亡相互协调的作用,同时抑制了 survivin 还可以提高肿瘤细胞对放化疗的敏感性<sup>[15]</sup>。Wang 等<sup>[16]</sup>发现 YM155 在诱导前列腺癌细胞系凋亡的同时,促进其自噬发生,上调 survivin 的表达可削弱 YM155 的凋亡和自噬诱导效应,而 survivin siRNA 则可诱导自噬,该结果表明 YM155 的自噬诱导效应有助于强化其诱导凋亡作用,即 YM155 诱导肿瘤细胞发生自噬依赖性凋亡。Wang 等<sup>[17]</sup>在唾液腺恶性肿瘤中常见的腺样囊性癌中也发现了类似结果。

在本研究中,YM155 作用 MDA-MB-231 细胞后自噬相关指标和凋亡相关指标同步升高,表明与其他抗肿瘤药物一样,YM155 在诱导 MDA-MB-231 细胞凋亡的同时还可诱导细胞发生自噬,其诱导自噬的机制可能与 bcl-2 下调导致与其特异性结合的 beclin 1 表达增加,从而促进自噬的发生。本研究还发现,YM155 联合自噬抑制剂 3-MA 处理后,细胞自噬受到显著抑制,同时细胞的凋亡率也显著下降,表明 YM155 诱导的自噬起促进凋亡的作用,即 YM155 诱导 MDA-MB-231 细胞发生自噬依赖性凋亡。

综上所述,本研究证实了 YM155 在体外可显著抑制 MDA-MB-231 的 survivin 表达,激活 caspase 信号通路,导致细胞凋亡,从而抑制了 MDA-MB-231 细胞增殖。同时本研究还发现 YM155 可以抑制 Bcl-2 的表达,而上调了与其特异性结合的 beclin 1 的表达,从而促进了细胞自噬的发生,同时还证明了 YM155 诱导的自噬起到了促进凋亡的作用,这些结

果表明 YM155 是通过诱导细胞自噬促进细胞凋亡从而抑制细胞增殖的,其自噬诱导效应与凋亡诱导效应具有协同抗肿瘤作用。本实验通过凋亡与自噬的角度阐述了 YM155 对 MDA-MB-231 的作用和影响机制,从而对其应用于 TNBC 治疗提供了前期实验基础,但其有效性和安全性仍需进一步研究。

#### [参考文献]

- [1] Forouzanfar MH,Foreman KJ,Delossantos AM,et al. Breast and cervical cancer in 187 countries between 1980 and 2010;a systematic analysis[J]. *Lancet*,2011,378(9801):1461-84
- [2] Rakha EA,El-Sayed ME,Green AR,et al. Prognostic markers in triple-negative breast cancer[J]. *Cancer*,2007,109(1):25-32
- [3] Guha M,Altieri DC. Survivin as a global target of intrinsic tumor suppression networks[J]. *Cell Cycle*,2009,8(17):2708-2710
- [4] Nakahara T,Kita A,Yamanaka K,et al. Broad spectrum and potent antitumor activities of YM155,a novel small-molecule survivin suppressant,in a wide variety of human cancer cell lines and xenograft models[J]. *Cancer Sci*,2011,102(3):614-621
- [5] Irvin WJ Jr,Carey LA. What is triple-negative breast cancer[J]. *Eur J Cancer*,2008,44(18):2799-2805
- [6] 马琳琳,褚为,王玉倩,等. Survivin 和 p53 在乳腺癌中的表达及其临床意义[J]. *中华实验外科杂志*,2014,31(12):2839-2840
- [7] Martinet W,Agostinis P,Vanhoecke B,et al. Autophagy in disease;a double-edged sword with therapeutic potential[J]. *Clin Sci(Lond)*,2009,116(9):697-712
- [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] Bhutia SK,Dash R,Das SK,et al. Mechanism of autophagy to apoptosis switch triggered in prostate cancer cells by antitumor cytokine melanoma differentiation-associated gene 7/interleukin-24[J]. *Cancer Res*,2010,70(9):3667-3676
- [10] John S,Nayvelt I,Hsu HC,et al. Regulation of estrogenic effects by beclin 1 in breast cancer cells[J]. *Cancer Res*,2008,68(19):7855-7863
- [11] Pattingre S,Tassa A,Qu X,et al. Bcl-2 antiapoptotic proteins inhibit Beclin 1-dependent autophagy[J]. *Cell*,2005,122(6):927-939
- [12] Kang R,Zeh HJ,Lotze MT,et al. The Beclin 1 network regulates autophagy and apoptosis[J]. *Cell Death Differ*,2011,18(4):571-580
- [13] Li Y,Jiang R,Zhao Y,et al. Opposed arsenite-mediated regulation of p53-survivin is involved in neoplastic transformation,DNA damage,or apoptosis in human keratinocytes[J]. *Toxicology*,2012,300(3):121-131
- [14] Ulasov IV,Tyler MA,Zhu ZB,et al. Oncolytic adenoviral vectors which employ the survivin promoter induce glioma oncolysis via a process of beclin-dependent autophagy[J]. *Int J Oncol*,2009,34(3):729-742
- [15] Chakravarti A,Zhai GG,Zhang M,et al. Survivin enhances radiation resistance in primary human glioblastoma cells via caspase-independent mechanisms[J]. *Oncogene*,2004,23(45):7494-506
- [16] Wang Q,Chen Z,Diao X,et al. Induction of autophagy-dependent apoptosis by the survivin suppressant YM155 in prostate cancer cells[J]. *Cancer Lett*,2011,302(1):29-36
- [17] Wang YF,Zhang W,He KF,et al. Induction of autophagy-dependent cell death by the survivin suppressant YM155 in salivary adenoid cystic carcinoma[J]. *Apoptosis*,2014,19(4):748-758

[收稿日期] 2015-03-27