

【基础研究】

作者简介:郭 满(1982-),男,河南南阳人,硕士,主治医师,主要从事三阴性乳腺癌自噬及免疫调节相关研究。

used to detect auto-phagy and apoptosis of MDA-MB-231 cells after OPN knockdown,western blot and real-time fluoescence quantitative polymerase chain reaction were used to detect the expression of p38MAPK and Beclin 1. **Results** The positive ex-pression rate of OPN protein in breast cancer tissue and normal breast tissue was 68. 3% (41/60) and 12. 5% (5/40), the positive ex-pression rate of OPN protein in breast cancer tissue was higher than that in the normal breast tissue ($\chi^2=56. 881$, $P=0. 000$). The positive expression rate of Beclin 1 protein in breast cancer tissues and normal breast tissues was 18. 3% (11/60) and 42. 5% (17/40) respectively, and the positive expression rate of Beclin 1 protein in breast cancer tissues was lower than that in normal breast tissue ($\chi^2=54. 692$, $P=0. 000$). OPN protein expression in tri-negative breast cancer tissues was negatively correlated with Beclin 1 protein expression ($r=-0. 713$, $P=0. 003$). After 48 h viral transfection, the relative expression of OPN mRNA and protein in the OPN-siRNA group was significantly lower than that in the CON-siRNA group and the mock group ($F=57. 170, 50. 410$, $P=0. 001$). After the down-regulation of OPN expression, the number of autophago-somes and early apoptosis rate in cells of the OPN-siRNA group were significantly higher than those of the CON-siRNA group and the mock group ($F=17. 590$, $P=0. 004$; $F=23. 180$, $P=0. 003$). In the OPN-siRNA group, the relative expression of Beclin 1 mRNA and protein was significantly higher than that of the CON-siRNA group and the mock group ($F=29. 873$, $32. 174$, $P=0. 001$), and the relative expression of p38MAPK mRNA and protein was lower than that of the mock group and the CON-siRNA group ($F=32. 735, 37. 110$, $P=0. 000$). There was no statistically significance in the number of autophago-somes, early apoptosis rate, relative expression of Beclin 1 mRNA and protein, and relative expression of p38MAPK mRNA and protein in cells between the mock group and the CON-siRNA group ($P>0. 05$). **Conclusion** Inhibition of OPN expression could promote autophagy and apoptosis of triple negative breast cancer cells, the underlying mechanism of this phenomenon may be related to down-regulation of p38MAPK and up-regulation of Beclin 1.

Key words: triple negative breast cancer; osteopontin; autophagy; p38 mitogen-activated protein kinase; Beclin 1

乳腺癌发病率居女性恶性肿瘤首位,病死率居第 2 位^[1]。三阴性乳腺癌是乳腺癌的一种亚型,指雌、孕激素受体和人表皮生长因子受体-2 均为阴性的乳腺癌,具有恶性程度高、预后差等特性^[2]。研究显示,骨桥蛋白(osteopontin, OPN)与乳腺癌增殖、迁移及放射治疗和化学治疗耐受有关,但其确切机制仍有待探索^[3]。自噬在多种肿瘤中广泛存在,是调控肿瘤细胞命运的重要过程^[4]。研究表明,Beclin 1 蛋白参与自噬体的形成,是一种自噬特异性蛋白。本研究拟探讨 OPN 和自噬相关蛋白 Beclin 1 在三阴性乳腺癌组织中的表达意义,并建立 OPN 低表达三阴性乳腺癌细胞模型,探讨 OPN 下调对三阴性乳腺癌细胞自噬、凋亡活性的影响及其机制。

1 材料与方法

1.1 标本来源 选取南阳市中心医院 2015 年 1 月至 2016 年 12 月收治的 60 例女性三阴性乳腺癌患者的癌组织标本为研究对象,年龄 27 ~ 61 (45. 0 ± 7. 6) 岁;另选取同期手术治疗的 40 例女性乳腺纤维腺瘤或乳腺增生结节患者的正常乳腺组织作为对照,年龄 21 ~ 64 (41. 0 ± 10. 3) 岁。本研究经医院伦理委员会批准,且所有患者签署知情同意书。

1.2 细胞、试剂与仪器 MDA-MB-231 细胞株购自中国科学院上海细胞生物研究所;质粒 pLVTHM、pCMV、pMD2G 和 cDNA 反转录试剂盒购自美国 In-vitrogen 公司,OPN、p38 蛋白激酶(p38 mitogen-acti-

vated protein kinase, p38MAPK)、Beclin 1 抗体购自美国 Abcam 公司,链霉菌亲和素-过氧化物酶链结(streptavidin-peroxidase conjugated, SP)免疫组织化学检测试剂盒购自上海鼎杰生物科技有限公司,SYBR Green 试剂盒购自德国 Qiagen 公司,反转录引物由上海生工生物股份有限公司合成;FACS440 型流式细胞仪购自美国 BD Biosciences 公司,7500 型实时荧光定量聚合酶链反应(polymerase chain re-action, PCR)系统购自美国 ABI 公司, BOND-Max 全自动免疫组织化学染色机购自德国 Leica 公司, H600 透射电子显微镜购自日本日立公司。

1.3 实验方法

1.3.1 免疫组织化学检测乳腺癌组织和正常乳腺组织中 OPN 和 Beclin 1 蛋白表达 组织标本经 100 g · L⁻¹ 多聚甲醛固定,石蜡包埋,5 μm 连续切片。石蜡切片经脱蜡、梯度水化后,置 10 mmol · L⁻¹ 枸橼酸缓冲液(pH6. 0)中,热平台抗原修复 3 min,凉至室温。然后按照 SP 试剂盒说明检测 OPN 和 Beclin 1 蛋白在乳腺癌组织和正常乳腺组织中的表达。采用双盲法随机选择连续 10 个高倍视野,每个视野计数 100 个肿瘤细胞,以阳性细胞所占百分比及染色程度进行结果判定。以细胞中出现黄色及棕黄色颗粒为阳性表达,按阳性细胞所占百分比评分,0 分:阳性细胞百分比 < 10%; 1 分:10% ≤ 阳性细胞百分比 ≤ 25%; 2 分:26% ≤ 阳性细胞百分比 ≤ 50%; 3 分:阳性细胞百分比 > 50%。按染色深度评分:无染色为 0 分,淡黄色为 1 分,黄色为 2 分,棕黄色为 3

分。总分等于阳性细胞百分比和染色程度评分之和,0 分为阴性(-);1~2 分为弱阳性(+);3~4 分为阳性(++);≥5 分为强阳性(+++)。

1.3.2 OPN 基因敲除模型制备 参照文献[5]所述方法制备 OPN 低表达 MDA-MB-231 细胞株。用含体积分数 10% 胎牛血清的达尔伯克改良伊戈尔培养基培养 MDA-MB-231 细胞,置于 37 ℃、含体积分数 5% CO₂ 的无菌培养箱中培养。当细胞密度至满视野的 70% 时,胰蛋白酶消化用于传代培养。将处于对数生长时期的 MDA-MB-231 细胞用胰蛋白酶消化,以每孔 2×10^5 个细胞接种于 6 孔板中,培养 24 h,当细胞生长融合至 80% 时,将细胞分为特异性 OPN 小干扰 RNA (small interfering RNA, siRNA) 实验组 (OPN-siRNA 组)、非同源阴性 CON-siRNA 对照组 (CON-siRNA 组) 和 mock 空白对照组 (mock 组) 进行转染。采用酶切技术将 OPN-siRNA 序列 (5'-CGAGTCAGCTGGATGACC-3') 和 CON-siRNA 序列 (5'-ATTGCGTTCCGAG TAATCT-3') 两端嵌入 Mlu I 位/Cla I 酶切位点重组到 pLVTHM 载体,将混合质粒转染至 293T 细胞,培养获得所需 siRNA 慢病毒,并浓缩滴度至 5×10^{10} pfu · L⁻¹。采用 CON-siRNA 和 OPN-siRNA 慢病毒分别感染 MDA-MB-231 细胞, mock 组细胞只加转染试剂,48 h 后应用实时荧光定量 PCR 技术和 Western blot 法检测 OPN 基因敲除效果。

1.3.3 实时荧光定量 PCR 检测各组细胞中 OPN、p38MAPK、Beclin 1 mRNA 的表达 转染病毒 48 h 后用 mRNA 提取试剂盒提取各组细胞总 RNA,用反转录 PCR 试剂盒进行反转录。用实时荧光定量 PCR 系统试剂盒进行 cDNA 扩增。荧光定量 PCR 扩增条件:95 ℃ 10 min;95 ℃ 15 s、60 ℃ 45 s,40 个循环。使用 2^{-ΔΔCt} 法参照甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (glyceraldehyde3-phosphate dehydrogenase, GAPDH) 定义产物相对量。OPN 上游引物序列:5'-TCCAAC-GAAAGCCATGACCA-3',下游引物序列:5'-CTGT-GGGGACAACCTGGAGTG-3',扩增片段长度 226 bp; p38 MAPK 上游引物序列:5'-CCCGAACGATAC-CAGAACC-3',下游引物序列:5'-GCGTGAATGATG-GACTGAAA-3',扩增片段长度 135 bp; Beclin 1 上游引物序列:5'-GGCTGAGAGACTGGATCAGG-3',下游引物序列:5'-CTGCGTCTGGGCATAACG-3',扩增片段长度 127 bp; GAPDH 上游引物序列:5'-CAC-CATCTTCCAGGAGCGAG-3',下游引物序列:5'-AGAGGGGGCAGAGATGATGA-3',扩增片段长度 154 bp。

1.3.4 Western blot 检测各组细胞中 OPN、p38MAPK、Beclin 1 蛋白表达 转染 48 h 后用全细

胞蛋白提取试剂盒提取各组细胞总蛋白,二喹啉甲酸法测定蛋白浓度,然后依次进行电泳、转膜、封闭,一抗、二抗孵育,最后电化学发光法显影。免疫反应带采用 Image J 分析软件参照 β-actin 进行量化。抗 OPN、抗 p38MAPK、抗 Beclin 1 的稀释浓度均为 1:1 000,抗 β-actin 的稀释浓度为 1:500。

1.3.5 透射电镜技术观察各组细胞自噬体形成情况 病毒转染 48 h 后调整 3 组细胞密度为 2×10^8 L⁻¹,体积分数 1% 戊二醛溶液固定 2 h,体积分数 1% 锇酸固定 1 h,丙酮梯度脱水^[6]、浸透、包埋和切片,切片厚度约 60 nm,超薄切片用醋酸铀溶液染 20 min,铅染液处理 5~6 min,透射电镜观察细胞自噬体形成情况。自噬体特征:新月状或杯状双层或多层膜结构,存在包绕细胞质成分的现象。采用双盲法随机选取连续 10 个高倍视野 (×1 000),计数每个视野中的自噬体个数,取均数。

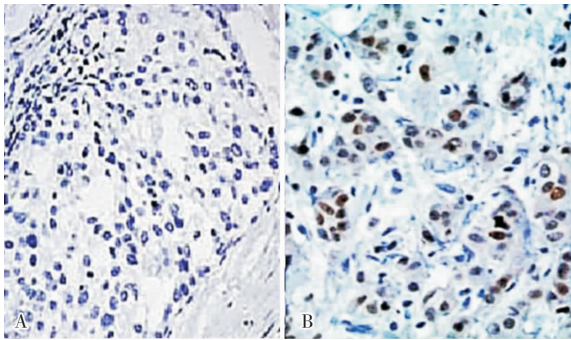
1.3.6 流式细胞术检测各组细胞凋亡情况 病毒转染 48 h 后调整 3 组细胞密度为 2×10^8 L⁻¹。取 1 mL 细胞悬液,于 4 ℃ 下 1 000 r · min⁻¹ 离心 10 min,弃上清液。加入 1 mL 冷的磷酸盐缓冲液 (phosphate buffered solution, PBS),轻轻震荡使细胞悬浮,于 4 ℃ 下 1 000 r · min⁻¹ 离心 10 min,弃上清液。对于贴壁细胞,先用胰蛋白酶消化,再用 PBS 洗涤。将细胞重悬于 200 μL Binding Buffer。加入 10 μL AnnexinV-异硫氰酸荧光素 (fluorescein isothiocyanate, FITC),轻轻混匀,避光室温反应 15 min 或 4 ℃ 反应 30 min。加入 300 μL Binding Buffer,再加入 5 μL 碘化丙啶 (propidium iodide, PI),使用流式细胞仪在 488 nm 的氩离子激光下进行检测。

1.4 统计学处理 应用 SPSS 19.0 统计软件进行数据分析。计量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,采用 *t* 检验或单因素方差分析;计数资料进行 χ^2 检验、Fisher's 精确概率法及 Spearman 相关性检验;*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 OPN 和 Beclin 1 蛋白在三阴性乳腺癌组织及正常乳腺组织中的表达 免疫组织化学染色结果显示,OPN 蛋白阳性表达呈淡黄或棕黄色,定位于细胞质 (图 1)。OPN 蛋白在乳腺癌组织和正常乳腺组织中的阳性表达率分别为 68.3% (41/60) 和 12.5% (5/40),OPN 蛋白在乳腺癌组织中的阳性表达率高于正常乳腺组织,差异有统计学意义 ($\chi^2 = 56.881$, *P* = 0.000)。Beclin 1 蛋白表达主要见于细胞质,强阳性时细胞膜亦可见表达 (图 2)。Beclin 1 蛋白在乳腺癌组织和正常乳腺组织中的阳性表达率分别为 18.3% (11/60) 和 42.5% (17/40),Beclin 1 蛋白在

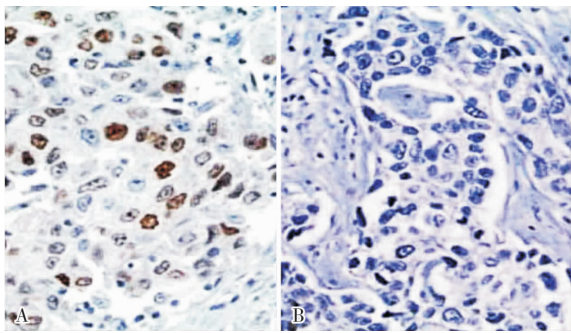
乳腺癌组织中的阳性表达率低于正常乳腺组织,差异有统计学意义($\chi^2 = 54.692, P = 0.000$)。Spearman 相关性分析结果显示,三阴性乳腺癌组织中 OPN 和 Beclin 1 表达呈负相关($r = -0.713, P = 0.003$)。



A: 正常乳腺组织;B: 乳腺癌组织。

图 1 OPN 蛋白在三阴性乳腺癌组织和正常乳腺组织中的表达 (SP, $\times 100$)

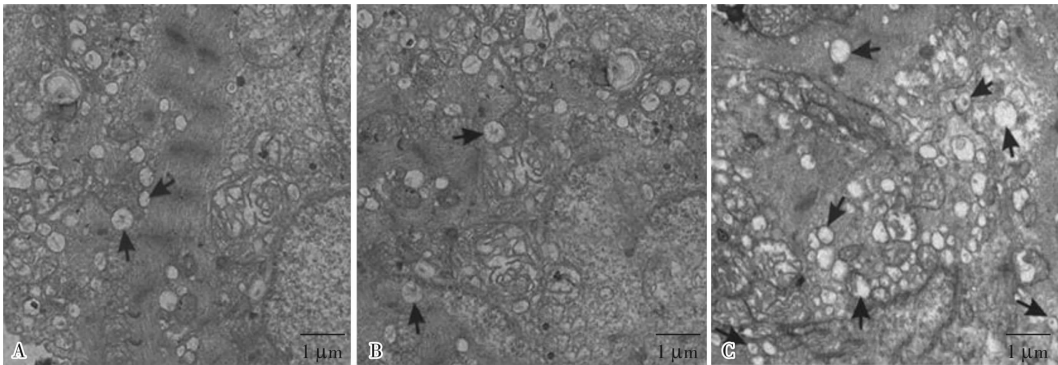
Fig.1 Expression of OPN protein in triple negative breast cancer and normal breast tissues (SP, $\times 100$)



A: 正常乳腺组织;B: 乳腺癌组织。

图 2 Beclin 1 蛋白在三阴性乳腺癌组织和正常乳腺组织中的表达 (SP, $\times 100$)

Fig.2 Expression of Beclin 1 protein in triple negative breast cancer and normal breast tissues (SP, $\times 100$)



A: mock 组;B: CON-siRNA 组;C: OPN-siRNA 组;箭头示自噬体。

图 4 OPN 下调后各组细胞自噬体形成情况 ($\times 1\,000$)

Fig.4 Autophagy formation of the cells in each group after OPN down-regulation($\times 1\,000$)

2.4 OPN 下调后各组细胞凋亡率比较 结果见图 5。OPN-siRNA 组、mock 组、CON-siRNA 组细胞早期

2.2 MDA-MB-231 细胞 OPN 敲除效果 病毒转染 48 h 后,OPN-siRNA 组、CON-siRNA 组、mock 组细胞中 OPN mRNA 相对表达量分别为 0.31 ± 0.08 、 0.99 ± 0.05 和 1.10 ± 0.10 ,OPN-siRNA 组 OPN mRNA 相对表达量显著低于 CON-siRNA 组和 mock 组,差异有统计学意义($F = 57.170, P = 0.001$),CON-siRNA 组与 mock 组细胞中 OPN mRNA 相对表达量比较差异无统计学意义($P = 0.537$)。病毒转染 48 h 后,OPN-siRNA 组、CON-siRNA 组、mock 组细胞中 OPN 蛋白相对表达量分别为 0.35 ± 0.06 、 0.97 ± 0.07 和 1.03 ± 0.10 ,OPN-siRNA 组细胞中 OPN 蛋白表达显著低于 CON-siRNA 组和 mock 组,差异有统计学意义($F = 50.410, P = 0.001$),CON-siRNA 组与 mock 组细胞中 OPN 蛋白相对表达量比较差异无统计学意义($P = 0.613$);见图 3。结果证实构建的 OPN-siRNA 对 MDA-MB-231 细胞 OPN 表达具有良好的抑制效果。

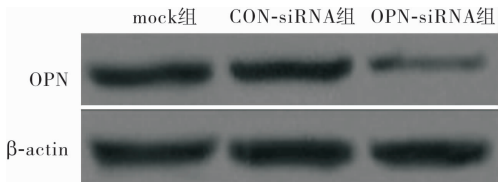


图 3 OPN 表达敲除效果鉴定

Fig.3 Identification of knockout effect of OPN expression

2.3 OPN 下调后自噬体形成情况 结果见图 4。OPN-siRNA 组、CON-siRNA 组、mock 组细胞中自噬体个数分别为 6.50 ± 1.43 、 2.40 ± 1.35 和 2.90 ± 1.66 ,OPN-siRNA 组细胞中自噬体个数显著高于 CON-siRNA 组和 mock 组,差异有统计学意义($F = 17.590, P = 0.004$);CON-siRNA 组与 mock 组细胞中自噬体个数比较差异无统计学意义($P = 0.459$)。

凋亡率分别为 0.425 ± 0.017 、 0.056 ± 0.007 和 0.049 ± 0.005 。OPN-siRNA 组细胞早期凋亡率显著

高于 mock 组和 CON-siRNA 组 ($F = 23.180, P = 0.003$), CON-siRNA 组与 mock 组细胞早期凋亡率比较差异无统计学意义 ($P = 0.173$)。

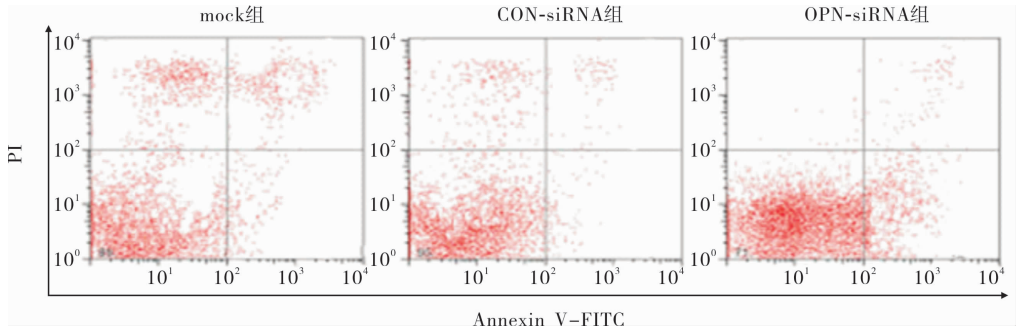


图 5 流式细胞术检测 OPN 下调后各组细胞凋亡情况
Fig. 5 Apoptosis of the cells in each group after OPN down-regulation detected by flow cytometry

2.5 OPN 下调后各组细胞中 p38MAPK 和 Beclin 1 比较 结果见图 6 和表 1。OPN-siRNA 组细胞中 Beclin 1 mRNA 和蛋白相对表达量明显高于 CON-siRNA 组和 mock 组, 差异有统计学意义 ($F = 29.873, 32.174, P = 0.001$); CON-siRNA 组与 mock 组细胞中 Beclin 1 mRNA 和蛋白相对表达量比较差异无统计学意义 ($P = 0.114$); OPN-siRNA 组细胞中 p38MAPK mRNA 和蛋白相对表达量低于 mock 组和 CON-siRNA 组, 差异有统计学意义 ($F = 32.735, 37.110, P = 0.000$); mock 组与 CON-siRNA 组细胞中 Beclin 1 mRNA 和蛋白相对表达量及 p38MAPK mRNA 和蛋白相对表达量比较差异无统计学意义 ($P = 0.997$)。

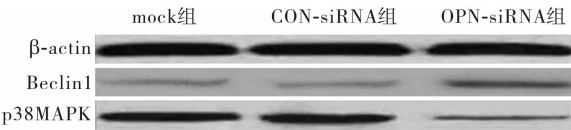


图 6 OPN 下调后各组细胞中 Beclin 1 和 p38MAPK 蛋白表达情况 (Western blot)

Fig. 6 Expression of Beclin 1 and p38MAPK proteins in the cells of each group after down regulation of OPN (Western blot)

表 1 OPN 下调后 3 组细胞中 p38MAPK 和 Beclin 1 相对表达量比较

Tab. 1 Comparison of the relative expression of p38MAPK and Beclin 1 in the cells among the ghhree groups after the down-regulation of OPN ($\bar{x} \pm s$)

组别	mRNA 相对表达量		蛋白相对表达量	
	Beclin 1	p38MAPK	Beclin 1	p38MAPK
mock 组	0.37 ± 0.04 ^a	0.93 ± 0.11 ^a	0.39 ± 0.06 ^a	0.97 ± 0.11 ^a
CON-siRNA 组	0.41 ± 0.06 ^a	1.07 ± 0.07 ^a	0.43 ± 0.07 ^a	1.01 ± 0.09 ^a
OPN-siRNA 组	0.97 ± 0.07	0.39 ± 0.05	0.99 ± 0.05	0.31 ± 0.07
F	29.873	32.735	32.174	37.110
P	0.001	0.000	0.001	0.000

注:与 OPN-siRNA 组比较^a $P < 0.05$ 。

3 讨论

精准医疗时代更加注重根据乳腺癌不同分子特征施行个体化治疗^[7],而不同的分子特征对应的是癌细胞不同的胞内信号转导路径和生物学活性。研究发现,三阴性乳腺癌 MDA-MB-231 细胞中 OPN 表达下调后 S 期细胞比例由 22.77% 增长至 43.67%, 凋亡率由 3.60% 增长至 4.91%^[8]。且有研究显示,三阴性乳腺癌组织中 OPN 与细胞间黏附分子 1 (intercellular adhesion molecule 1, ICAM-1)、血管内皮生长因子 (vascular endo-thelial growth factor, VEGF) 表达呈正相关, OPN-siRNA 可抑制三阴性乳腺癌 MDA-MB-468 细胞中 ICAM-1 和 VEGF 的表达及细胞增殖^[9]。本研究结果发现,三阴性乳腺癌组织中 OPN 和 Beclin 1 表达呈负相关,同时,当 MDA-MB-231 细胞中 OPN 表达下调后细胞自噬及凋亡率也显著增强。

焦庆丽等^[10]研究发现,自噬在乳腺癌组织中呈低表达,并与人表皮生长因子受体 2、增殖细胞核抗原表达和 TNM 分期均呈负相关。许杜娟等^[11]研究认为,抑制自噬可以增加顺铂诱导的乳腺癌 MCF-7 细胞凋亡。而沉默微小 RNA-21 表达则可以促进自噬性细胞死亡,从而增强雌激素受体阳性乳腺癌细胞对他莫昔芬和氟维斯群的敏感性,而该作用的发挥依赖于微小 RNA-21 沉默后对磷脂酰肌醇 3 激酶-蛋白激酶 B-雷帕霉素靶蛋白信号转导通路的抑制^[12]。因此,自噬对肿瘤发生、发展的影响是复杂而多变的。有学者认为,自噬相关蛋白 Beclin 1 的表达依乳腺癌分子亚型而不同^[13]。本研究发现,三阴性乳腺癌 MDA-MB-231 细胞系 OPN 表达下调后 Beclin 1 蛋白表达显著增加,同时细胞自噬和凋亡率显著增强,这提示针对三阴性乳腺癌进行 OPN 靶向性抑制可能是一种有效的治疗选择。LI 等^[14]应用 Aurora 激酶抑制剂 MLN8237 处理 MCF-7 和

MDA-MB-231 细胞,发现癌细胞出现 G₂/M 期停滞、凋亡和自噬活性增强,同时 LC3 和 Beclin 1 表达增加,磷脂酰肌醇 3 激酶/蛋白激酶 B 和 p38MAPK 信号通路受到抑制。本研究发现,OPN 表达下调后 p38MAPK 表达随之下调,而 Beclin 1 表达则上调,这表明 OPN 对 Beclin 1 的调节可能是依赖 p38MAPK 信号通路发挥作用。

综上所述,抑制 OPN 表达可促进乳腺癌细胞自噬和凋亡,该作用的发挥可能通过 p38MAPK 信号通路调节 Beclin 1 表达而实现。本研究初步探讨了 OPN 调节乳腺癌发生、发展的信号转导机制,为以 OPN 为靶点的三阴性乳腺癌的治疗提供了理论支持。

参考文献:

[1] DESANTIS C, MA J, BRYAN L, *et al.* Breast cancer statistics, 2013[J]. *CA Cancer J Clin*,2014,64(1):52-62.

[2] DIETZE E C, SISTRUNK C, MIRANDA-CARBONI G, *et al.* Triple-negative breast cancer in African-American women: disparities versus biology[J]. *Nat Rev Cancer*,2015,15(4):248-254.

[3] ZDUNIAK K, ZIOLKOWSKI P, AHLIN C, *et al.* Nuclear osteopontin-c is a prognostic breast cancer marker[J]. *Br J Cancer*,2015,112(4):729-738.

[4] GU Y, LI P, PENG F, *et al.* Autophagy-related prognostic signature for breast cancer[J]. *Mol Carcinog*,2016,55(3):292-299.

[5] HABIB R, AKHTAR J, TAQI M, *et al.* Lentiviral vector-mediated survivin shRNA delivery in gastric cancer cell lines significantly inhibits cell proliferation and tumor growth[J]. *Oncol Rep*,2015,34(2):859-867.

[6] 董树旭,赵轶轩,王颖,等. 利用透射电镜技术分析血细胞自噬在血液病中的分布特点[J]. *中华血液学杂志*,2015,36(2):

144-147.

[7] 秦海运,潘淑云,李政,等. 复方苦参注射液联合拉帕替尼治疗 Her-2 阳性晚期乳腺癌疗效及对肿瘤标志物的影响[J]. *世界中医药*,2018,13(6):1472-1476.

[8] YANG L, WEI L, ZHAO W, *et al.* Down-regulation of osteopontin expression by RNA interference affects cell proliferation and chemotherapy sensitivity of breast cancer MDA-MB-231 cells[J]. *Mol Med Rep*,2012,5(2):373-376.

[9] ORTIZ-MARTINEZ F, SANMARTIN E, POMARES-NAVARRO E, *et al.* Osteopontin regulates VEGFA and ICAM-1 mRNA expression in breast carcinoma[J]. *Am J Clin Pathol*,2015,143(6):812-822.

[10] 焦庆丽,吴爱国,邵国利,等. 乳腺癌组织 Beclin 1 和 EMT 相关分子标志物表达及其临床意义探讨[J]. *中华肿瘤防治杂志*,2015,22(18):1456-1460.

[11] 许杜娟,杨翠,王猛武,等. 保护性自噬对顺铂诱导人乳腺癌 MCF-7 细胞凋亡的抑制作用探讨[J]. *安徽医药*,2015,19(1):152-155.

[12] 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]. *Biomed Pharmacother*,2016,361(77):37-44.

[13] JUNG Y Y, LEE Y K, KOO J S. The potential of Beclin 1 as a therapeutic target for the treatment of breast cancer[J]. *Expert Opin Ther Targets*,2016,20(2):167-178.

[14] LI J P, YANG Y X, LIU Q L, *et al.* The investigational aurora kinase A inhibitor alisertib (MLN8237) induces cell cycle G2/M arrest, apoptosis, and autophagy via p38 MAPK and Akt/mTOR signaling pathways in human breast cancer cells[J]. *Drug Des Devel Ther*,2015,9(9):1627-1652.

(本文编辑:杨 博 英文编辑:杨 博)

《新乡医学院学报》2019 年征订启事

《新乡医学院学报》(Journal of Xinxiang Medical University)创刊于 1984 年,是新乡医学院主管主办、国内外公开发行的综合性医学学术期刊。国际标准连续出版物号:ISSN 1004-7239,国内统一连续出版物号:CN 41-1186/R。现为月刊,每月 5 日出版,大 16 开本,每期 100 页。本刊设有专家论坛、专题报告、国家自然科学基金专题评述、基础研究、临床研究、综述等栏目。编辑部对来稿审理及时并严格执行“三审制”,对国家级、省部级科研基金项目资助的研究性论文优先发表。

本刊为“中国科技论文统计源期刊”(中国科技核心期刊)、中国精品科技期刊、中国高校优秀科技期刊、河南省一级期刊,目前被《中国学术期刊(光盘版)全文检索数据库》、《万方数据-数字化期刊群》、美国《化学文摘》、美国《乌利希期刊指南》、英国《公共卫生数据库》(Global Health)、《中国学术期刊文摘》、《中国医学文摘》、《中国药学文摘》等国内外权威性数据库、文摘期刊收录,标志着在本刊发表的论文将有机会被国内外著名检索系统收录,这对提高作者知名度及论文的影响力不无裨益。欢迎国内外医药工作者踊跃投稿。欢迎广大订户前往当地邮局订阅,邮发代号:36-145,每期定价 10.00 元,全年 120.00 元。编辑部地址:河南省新乡市金穗大道东段新乡医学院学报编辑部,邮政编码:453003。电话:0373-3029086,传真:0373-3831371,网址:www. xxyxyxb. com, E-mail: xxyxyxb@ 163. com。