

# 自噬相关基因 *ATG2B*、*ATG4D*、*ATG9B* 在浸润性 乳腺癌中的表达及临床意义\*

张雪梅<sup>1</sup>, 李宏江<sup>2</sup>, 王 达<sup>1</sup>, 黎 川<sup>1</sup>, 陈 璩<sup>1</sup>, 李昌龙<sup>1△</sup>

1. 四川大学华西基础医学与法医学院 生物化学与分子生物学教研室(成都 610041);

2. 四川大学华西医院 甲状腺与乳腺外科(成都 610041)

**【摘要】** 目的 检测自噬相关基因 *ATG2B*、*ATG4D*、*ATG9B* 在乳腺癌细胞系及人乳腺癌组织中的表达,探讨 3 个基因可能的临床意义及对乳腺癌进展的影响。方法 采用 Cancer Browser 筛查 *ATG2B*、*ATG4D*、*ATG9B* 3 个基因在乳腺癌中的表达情况;荧光定量 RT-PCR 检测 4 种乳腺癌细胞系(MCF-7、MDA-MB-231、MDA-MB-435S 和 ZR-75-30)以及 83 例乳腺癌组织中 3 个基因的表达量,进一步分别分析其表达与乳腺癌临床病理特征的关系。结果 通过 Cancer Browser 筛查出乳腺癌中存在异常表达基因 *ATG2B*、*ATG4D*、*ATG9B* ( $P=0.015$ ,  $P=0.028$ ,  $P=0.040$ );4 种细胞系均表达 *ATG2B*、*ATG4D*、*ATG9B*,且 *ATG2B*、*ATG9B* 在 4 种乳腺癌细胞系中的表达均低于阳性对照中该基因的表达( $P<0.001$ ),而 *ATG4D* 在乳腺癌细胞系中的表达高于阳性对照中的表达( $P<0.001$ );*ATG2B*、*ATG4D*、*ATG9B* 基因在乳腺癌组织中的表达均低于在乳腺癌旁组织( $P<0.001$ ,  $P=0.031$ ,  $P<0.001$ )。*ATG2B* 表达与雌激素受体状态( $r=0.949$ ,  $P=0.015$ )相关;*ATG4D* 表达与年龄( $r=-0.449$ ,  $P=0.005$ )相关;*ATG9B* 表达与腋窝淋巴结转移( $r=0.339$ ,  $P=0.043$ )和细胞角质蛋白 5/6 相关( $r=0.533$ ,  $P=0.043$ ),而 3 个基因的表达与其他临床病理参数均无关( $P>0.05$ )。结论 *ATG2B*、*ATG4D*、*ATG9B* 在乳腺癌中低表达,猜测是潜在的抑癌基因,且 *ATG2B*、*ATG4D*、*ATG9B* 均可能作为乳腺癌预后不良的新的分子标记物。

**【关键词】** 自噬相关基因 乳腺癌 表达

## Expressions and Clinical Significance of Autophagy-related Genes *ATG2B*, *ATG4D*, *ATG9B* in Breast Carcinoma

ZHANG Xue-mei<sup>1</sup>, LI Hong-jiang<sup>2</sup>, WANG Da<sup>1</sup>, LI Chuan<sup>1</sup>, CHEN Qu<sup>1</sup>, LI Chang-long<sup>1△</sup>. 1. Department of Biochemistry and Molecular Biology, West China School of Preclinical and Forensic Medicine, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 2. Department of Thyroid and Breast Surgery, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China

△ Corresponding author, E-mail: changlongli@scu.edu.cn

**【Abstract】** **Objective** To investigate the expressions and clinical significance of autophagy-related gene 2B (*ATG2B*), autophagy-related gene 4D (*ATG4D*), autophagy-related gene 9B (*ATG9B*) in breast cancer cell lines and breast cancer. **Methods** Cancer Browser screening was applied to study the differential expressions of *ATG2B*, *ATG4D*, *ATG9B* genes in breast cancer. Quantitative Real-time PCR was used to measure the expressions of these three genes in human breast cancer cell lines (MCF-7, MDA-MB-231, MDA-MB-435S and ZR-75-30) as well as 83 cases of breast cancer samples with paired normal breast tissues. The relationships between the expressions of these genes and clinicopathological characteristics were further analyzed. **Results** Cancer Browser screening found abnormal expressions of *ATG2B*, *ATG4D*, *ATG9B* in breast cancer ( $P=0.015$ ,  $P=0.028$ ,  $P=0.040$ ). All four breast cancer cell lines expressed *ATG2B*, *ATG4D*, *ATG9B*, and the expression of *ATG2B*, *ATG9B* was significantly lower than positive control ( $P<0.001$ ), but *ATG4D* expression was higher than positive control ( $P<0.001$ ). The expressions of *ATG2B*, *ATG4D*, *ATG9B* in breast cancer were all lower than those in the adjacent normal tissues ( $P<0.001$ ,  $P=0.031$ ,  $P<0.001$ ). Furthermore, the expression of *ATG2B* was correlated with ER ( $r=0.949$ ,  $P=0.015$ ), and the expression of *ATG4D* was related to age ( $r=-0.449$ ,  $P=0.005$ ), the expression of *ATG9B* was correlated to lymph node metastasis and cytokeratin 5/6 status ( $r=0.339$ ,  $P=0.043$ ;  $r=0.533$ ,  $P=0.043$ ). **Conclusion** *ATG2B*, *ATG4D*, *ATG9B* genes shows low expressions in breast cancer, which may become new molecular markers for the prognosis of breast cancer.

**【Key words】** Autophagy-related genes Breast carcinoma Expression

乳腺癌是女性最常见的恶性肿瘤,其在中国的发病率和死亡率分别是 37.86/100 000 和 9.21/100 000,且呈逐渐增长之势<sup>[1]</sup>。因此探讨乳腺癌发

\* 国家自然科学基金(No. 81070452)资助

△ 通讯作者, E-mail: changlongli@scu.edu.cn

生发展的分子机制,寻找早期诊断和治疗的有效途径,对提高患者的生存期和生存质量具有重要意义。至今在有关肿瘤治疗中,以诱导肿瘤细胞凋亡为主。但是近几年在癌症、神经退化以及自我免疫等疾病中发现的自噬引起了广泛关注,它与凋亡间复杂的关系为肿瘤治疗的研究带来了新的方向。自噬被认为是Ⅱ型程序性细胞死亡(programmed cell death, PCD),它是细胞在自噬相关基因 (autophagy related gene, *ATG*) 的调控下利用溶酶体降解自身受损的细胞器或大分子物质的过程<sup>[2]</sup>。作为自噬过程的主要组分和调节子, *ATG* 在自噬体形成过程中的任意改变都将导致自噬体形成障碍。

从自噬过程本身来看,我们能够获悉大多数自噬相关基因的功能和性质,但是对于自噬本身是否在肿瘤细胞和正常细胞之间有差异,现阶段还未知。所以本课题通过 Cancer Browser 对数据库中的部分癌症数据进行分析后发现,与正常组织相比, *ATG2B*、*ATG4D*、*ATG9B* 是异常表达基因,推测这3个基因可能与癌症有较为密切的联系。于是我们采用荧光定量 RT-PCR 检测4种乳腺癌细胞系及83例配对乳腺癌组织中3个基因 mRNA 的表达,并分析 *ATG2B*、*ATG4D*、*ATG9B* mRNA 表达量与乳腺癌临床病理因素的相关性,探讨 *ATG2B*、*ATG4D*、*ATG9B* 在乳腺癌发生发展过程中的作用,以期对乳腺癌早期诊断和基因治疗提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 细胞株** 乳腺癌细胞株 MCF-7、MDA-MB-231、MDA-MB-435S 和 ZR-75-30 购自郑州锦荣科技有限公司。

**1.1.2 组织标本** 选取2013年6月至2014年12月四川大学华西医院手术切除的未进行化疗、放疗等治疗的83例患者的浸润性乳腺癌 (invasive breast cancer, IBC) 及配对正常组织 (matched normal tissues, MNT) 标本。MNT 组标本来源于患者自身癌旁组织,且经病理检验为正常乳腺组织。标本均存放于液氮中用于提取 RNA。患者均为女性,年龄31~75岁,中位年龄48岁;根据美国联合委员会关于癌症(AJCC)第七版 TNM 分期:Ⅰ期患者8例,Ⅱ期41例,Ⅲ、Ⅳ期34例;根据2003年 WHO 乳腺癌分类:非特殊型浸润性导管癌(组织学分级Ⅰ级8例,Ⅱ级24例,Ⅲ级38例)70例,浸润性小叶癌2例,导管原位癌7例,黏液癌及其他4

例;有淋巴结转移37例、无淋巴结转移44例;雌激素受体(estrogen receptor, ER)阳性63例,阴性20例;孕激素受体(progesterone receptor, PR)阳性56例,阴性27例。部分患者临床病理资料有缺项。本研究获得医学伦理委员会批准,并取得患者知情同意。

**1.1.3 主要试剂** 100 mL/L 胎牛血清、基础培养基 H-DMEM(Gibco-BRL)、胰蛋白酶(HyClone)、TRIzol 试剂及引物合成购自 Invitrogen 公司;逆转录及 RT-PCR 反应试剂购自 TaKaRa 公司;cDNA 标准品购自上海申友公司。

### 1.2 方法

**1.2.1 Cancer Browser 筛查自噬相关基因表达差异** 以浸润性乳腺癌 RNA 高通量测序的结果 IlluminaHiSeq 为衡量标准并将自噬相关基因作为搜索目标,在 Cancer Browser 数据库 (<https://genomecancer.ucsc.edu/proj/site/hgHeatmap/>) 中做表达分析。

**1.2.2 细胞培养** MCF-7、MDA-MB-231、MDA-MB-435S 和 ZR-75-30 乳腺癌细胞系接种在含 100 mL/L 胎牛血清的基础培养基 H-DMEM,置于 37 °C、50 mL/L CO<sub>2</sub> 饱和湿度培养箱内培养,隔日更换培养基,2 d 传代1次,取 P<sub>4</sub> 进行实验。

**1.2.3 RNA 提取及逆转录** TRIzol 法提取细胞株及乳腺组织总 RNA。用 PrimeScript<sup>®</sup> RT Recation Kit With gDNA Eraser 将 1 μg RNA 按操作程序进行逆转录,所获 cDNA 于 -20 °C 保存。

**1.2.4 Real-Time PCR (RT-PCR) 检测 *ATG2B*、*ATG4D*、*ATG9B* mRNA 的表达** 采用 RT-PCR 方法,以 β-actin 为内参基因,以 cDNA 标准品为细胞系阳性对照,检测 *ATG2B*、*ATG4D*、*ATG9B* mRNA 在4种乳腺癌细胞系、IBC 组及 MNT 组组织中表达水平。其引物序列及产物大小见表1。20 μL 反应体系为 SYBR<sup>®</sup> Premix Ex Taq<sup>™</sup> II (Tli RNaseH Plus) 10 μL,上、下游引物(10 μmol/L)各 0.8 μL, cDNA 3 μL 和灭菌去离子水 5.4 μL。扩增反应条件:95 °C 30 s, 95 °C 10 s, 60.6 °C (*ATG2B*、*ATG4D*)、62.3 °C (*ATG9B*、β-actin) 30 s, 39 个循环。熔融条件:95 °C 10 s, 65 °C 5 s, 后以 0.5 °C/s, 升至 95 °C 终止。20 g/L 琼脂糖凝胶分离 PCR 产物。

**1.2.5 统计学方法** *ATG2B*、*ATG4D*、*ATG9B* 在乳腺癌细胞系中的表达采用 2<sup>-ΔΔC<sub>t</sub></sup> 法计算相对含量,以2倍差异为阈值判断基因是否显著差异表达。

表 1 引物序列  
Table 1 Primer sequences

Primer name	Sequence (5'-3')	Product size (bp)
ATG2B	F: TGCCATCTGCTGCATTTCAAG	81
	R: GTGCTGCTACCCGGGACATTA	
ATG4D	F: CGCTAGTGGCACACATCCTC	216
	R: TCACGCAGGGCACATACAC	
ATG9B	F: CAGGCACCAGGAAGCCAGAA	106
	R: GCAGGAAACAAAGTCCACAAAGC	
β-actin	F: CCACGAACTACCTTCAACTCC	132
	R: GTGATCTCCTTCTGCATCCTGT	

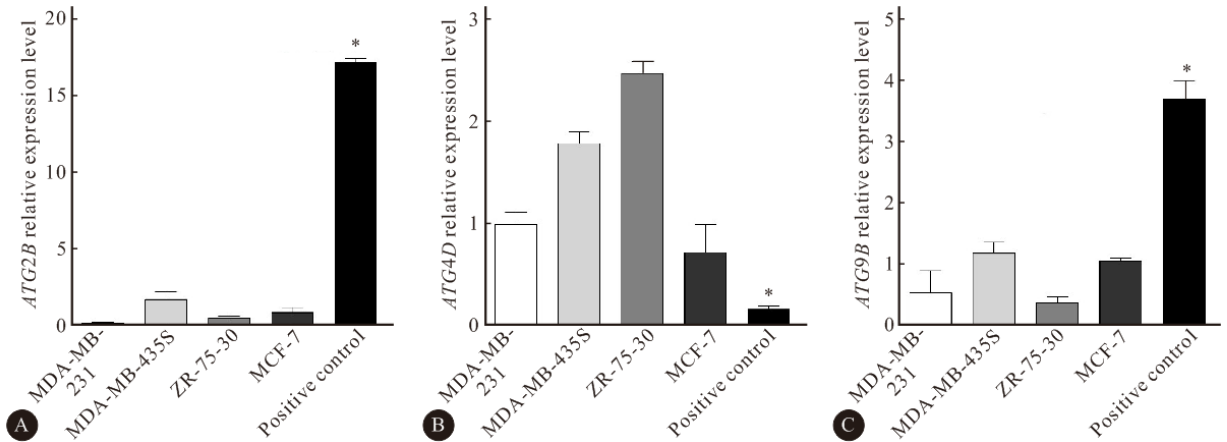
F: Forward; R: Reverse

表达倍数变化为 -2 或者更低的标本(将倍数变化值  $\leq 1$  的值用其倒数的负数表示)定义为低表达,同时将表达倍数变化为 2 或更高的标本定义为高表达。样本计量资料采用中位值和全距表示。样本间差异表达分析采用 Wilcoxon 符号秩和检验,基因表达与临床病理相关性采用 Spearman 相关分析法,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 Cancer Browser 筛查自噬相关基因表达

通过 Cancer Browser 数据库对乳腺癌数据进行分析后发现,有基因表达数据的自噬相关基因是



附图 自噬相关基因 ATG2B(A)、ATG4D(B)、ATG9B(C)在 4 种乳腺癌细胞系中的表达水平

Fig Autophagy related genes ATG2B (A), ATG4D (B), ATG9B (C) expression levels in four breast cancer cell lines

\*  $P < 0.001$ , vs. other groups

50.3), IBC 组中 ATG2B mRNA 表达量是 1.04 (0~72.9); MNT 组中 ATG4D mRNA 表达量是 1.65 (0~65.0), IBC 组中 ATG4D mRNA 表达量是 1.11 (0~6.84); MNT 组中 ATG9B mRNA 表达量是 2.26 (0~71.49), IBC 组中 ATG9B mRNA 表达量是 0.96 (0~845.58)。Wilcoxon 符号秩和检验发现在 IBC 组中 ATG2B、ATG4D、ATG9B mRNA 表达量分别低于 MNT 组 ( $P < 0.001$ ,  $P = 0.031$ ,  $P < 0.001$ )。ATG2B、ATG4D、ATG9B 基因分别

ATG2A~B、ATG3、ATG4A~D、ATG5、ATG7、ATG9A~B、ATG10、ATG12、ATG16L1 以及 ATG16L2。与正常组织相比,ATG2B、ATG4D、ATG9B 的表达差异较大,其中 ATG9B 的差异最大。同时我们也通过 Cancer Browser 对这些基因在其他肿瘤中的表达情况进行了数据分析,发现 ATG2B、ATG4D、ATG9B 相对于正常组织在大部分其他肿瘤中也都表现出明显的表达差异。并且相对于正常组织,ATG2B 呈明显的下调表达趋势 ( $P = 0.015$ ), ATG4D、ATG9B 在大部分癌症中都呈明显的上调表达趋势 ( $P = 0.028$ ,  $P = 0.040$ )。

### 2.2 ATG2B、ATG4D、ATG9B mRNA 在 4 种乳腺癌细胞系中的表达

见附图。在筛查出差异表达基因后,我们发现 ATG9B 在 4 种乳腺癌细胞系中的表达与 Cancer Browser 筛查出的结果正好相反,其相对于阳性对照均出现了下调 ( $P < 0.001$ );相反,ATG2B 呈现的下调表达与 ATG4D 呈现的上调表达 ( $P < 0.001$ ),与 Cancer Browser 筛查的结果一致。

### 2.3 ATG2B、ATG4D、ATG9B mRNA 在 MNT 组及 IBC 组中的表达

MNT 组中 ATG2B mRNA 表达量是 2.51 (0~

有 51.8% (43/83)、38.6% (32/83)、55.4% (46/83) 在 IBC 中低表达。

### 2.4 IBC 组 ATG2B、ATG4D、ATG9B mRNA 的表达与乳腺癌临床病理因素之间的关系

见表 2。IBC 组中,相比于 ER 阳性患者,ATG2B mRNA 表达倍数变化值在 ER 阴性患者中较小 ( $P = 0.015$ ); 年龄大于 49 岁患者 ATG4D mRNA 表达倍数变化值小于 49 岁及以下患者 ( $P = 0.005$ ); 淋巴结转移者 ATG9B mRNA 的表达水平

表 2 IBC 组患者 *ATG2B*、*ATG4D*、*ATG9B* mRNA 表达(倍数变化值)与临床病理特征的相关性Table 2 Correlations of *ATG2B*, *ATG4D* and *ATG9B* expression (fold change) with clinicopathological parameters in IBC group

Characteristics	n	<i>ATG2B</i>		<i>ATG4D</i>		<i>ATG9B</i>	
		r	P	r	P	r	P
Age (yr.)	83	-0.023	0.891	-0.449	0.005	-0.204	0.225
≤49	46						
>49	37						
Location	83	-0.080	0.617	0.224	0.158	0.174	0.278
Left	42						
Right	41						
Tumor diameter (mm)	83	0.405	0.817	1.091	0.580	0.522	0.770
≤20	36						
20-50	38						
≥50	9						
Grade	74	0.937	0.626	1.121	0.571	3.044	0.218
I	1						
II	28						
III	45						
Type	83	5.717	0.221	1.913	0.752	1.666	0.797
Invasive ductal carcinoma	70						
Ductal carcinoma <i>in situ</i>	7						
Invasive lobular carcinoma	2						
Mucinous	2						
Others	2						
Lymph node status	81	-0.093	0.583	0.143	0.400	0.339	0.043
Negative	44						
Positive	37						
ER status	83	0.949	0.015	0.042	0.860	-0.188	0.427
Negative	20						
Positive	63						
PR status	83	0.071	0.723	-0.247	0.214	-0.041	0.839
Negative	27						
Positive	56						
CK5/6 status	83	-0.046	0.879	0.048	0.865	0.533	0.043
Negative	68						
Positive	15						
Ki-67 status	82	0.308	0.143	-0.208	0.329	0.124	0.563
Negative	24						
Positive	58						
HER-2 status	82	2.097	0.350	0.266	0.876	2.030	0.362
Negative	18						
Equivocal	30						
Positive	34						
TNM stage	83	3.879	0.275	1.396	0.706	5.047	0.168
I	8						
II	41						
III-IV	34						
P63 gene status	77	0.167	0.678	0.033	0.948	0.460	0.214
Negative	68						
Positive	9						

ER: Estrogen receptor; PR: Progesterone receptor; HER-2; Human epidermal growth factor receptor-2; CK5/6: Cytokeratin 5/6

低于未转移者 ( $P = 0.043$ ), CK5/6 阳性患者 *ATG9B* mRNA 的表达水平低于 CK5/6 阴性患者 ( $P = 0.043$ )。3 个基因 mRNA 的表达水平与乳腺癌肿瘤大小、组织学分级等不相关。

### 3 讨论

自噬是一个多步骤的动态过程,包括诱导、成

核、延伸、自噬体延伸和自噬溶酶体 5 个阶段。ATG 及其他辅助因子贯穿整个自噬过程并参与到各种癌症和神经退行性疾病等的发展进程中。Qin 等<sup>[3]</sup>表明 ATG7 蛋白的较高表达水平与乳腺癌患者的生存相关。Scott 等<sup>[4]</sup>发现当在细胞中加强 *ATG1* 基因的表达时会造成细胞死亡。然而在胰腺癌的研究<sup>[5]</sup>中发现,当自噬抑制物 mTORC1 本身

被 Astrin 等抑制时,则通过激活自噬途径防止癌细胞凋亡,由此自噬被认为是一把“双刃剑”。ATG2B、ATG4D、ATG9B 蛋白均来自于自噬相关蛋白家族,其在自噬体形成过程中扮演着各不相同的角色。ATG2 是一个相对分子质量为  $178 \times 10^3$  的外周膜蛋白,在自噬诱导的状况下它与 ATG18 以相互依赖的方式定位于 PAS 从而参与了囊泡成核和自噬体形成的起始步骤。已有报道在胃癌和结肠直肠癌<sup>[6]</sup>中其亚型 ATG2B 基因的编码序列单核苷酸重复中发现的移码突变将导致癌症发生。ATG4D 是半胱氨酸蛋白酶 ATG4 家族的一员,广泛表达于各类组织和器官中。与酵母 ATG4 类似,ATG4 蛋白酶<sup>[7]</sup>在哺乳动物自噬途径中通过同时充当偶联剂和解偶联剂在调节 ATG8/LC3 系统中扮演着双重角色。Kyostila 等<sup>[7]</sup>的基因研究揭示了 ATG4D 隐性错义突变将引起新型神经退行性存储疾病。ATG9 是迄今发现的 30 多种酵母 ATG 蛋白中唯一的多跨膜蛋白,在自噬途径很早期起作用。例如在早期饥饿阶段<sup>[8]</sup>,ATG9 缺失的小鼠不能够存活;ATG9 缺失的成纤维细胞不能适时地诱导依赖于饥饿的自噬等。因此我们推测 ATG9 可能与自噬空泡的形成有关。

本研究发现 ATG2B、ATG4D、ATG9B 基因分别有 51.8%、38.6%、55.4% 在 IBC 中低表达。在 4 种乳腺癌细胞系中,ATG2B、ATG9B mRNA 的表达下调,ATG4D mRNA 的表达水平上调;ATG2B、ATG4D、ATG9B mRNA 在乳腺癌组织中的表达水平平均低于 MNT 组正常乳腺组织,该研究结果提示 ATG2B、ATG4D、ATG9B mRNA 表达降低与乳腺癌发生和发展密切相关且恶化的速度各异。同时本研究还发现 ATG2B mRNA 表达与 ER( $r=0.949$ ,  $P=0.015$ )有关,作为预后评价因素,乳腺癌中 ER 过度表达者预后相对较差;ATG4D mRNA 的表达与年龄呈负相关( $r=-0.449$ ,  $P=0.005$ );随着乳腺癌淋巴结转移程度的增加,ATG9B mRNA 的表达降低( $r=0.339$ ,  $P=0.043$ ),说明 ATG9B 可能参与乳腺癌淋巴结的转移进程,并且 ATG9B 表达也与 CK5/6 有关( $r=0.533$ ,  $P=0.043$ ),表明其表达很有可能参与到了细胞周期变化中。ATG2B、ATG4D、ATG9B 表达与肿瘤大小、组织学分级等不相关( $P>0.05$ )。从 ATG2B、ATG4D、ATG9B 基因在癌症中的表达差异来看,我们大约推测他们在癌症中有以下作用:①ATG2B、ATG4D、ATG9B 作为自噬相关基因,使得细胞能够通过自噬保护自身

的生存和代谢,因而在癌症中的低表达能使癌细胞在接收到自噬相关信号后,顺利进入自噬状态,从而延长肿瘤细胞的存活;②ATG2B、ATG4D、ATG9B 的低表达阻断了癌细胞的凋亡途径,使得癌细胞免于死亡;③ATG2B、ATG4D、ATG9B 的下调表达在乳腺癌的发生发展过程中可能作为抑癌基因参与了乳腺癌的恶性表型的分子机制。因此 ATG2B、ATG4D、ATG9B 的定量检测可能作为乳腺癌诊断、预后不良的标志。

总之本研究证实了 ATG2B、ATG4D、ATG9B 在乳腺癌中的表达均低于正常乳腺组织,且与一些临床病理指标有关,提示在乳腺癌发生发展过程中,ATG2B、ATG4D、ATG9B 可能都发挥了不可低估的作用。但由于样本量有限,该研究在深入探讨乳腺癌自噬通路中并未提供太多线索。之后我们将进一步应用 RNA 干扰、表观遗传学检测等技术,探索 ATG2B、ATG4D、ATG9B 基因沉默对乳腺癌细胞功能学和生物学行为的影响以及他们在自噬途径中如何发挥作用,为乳腺癌的临床治疗及预后提供帮助,以期找到乳腺癌基因治疗的新靶点。

## 参 考 文 献

- 1 Chen W, Zheng R, Zeng H, *et al.* Annual report on status of cancer in China, 2011. *Chin J Cancer Res*, 2015; 27(1): 2-12.
- 2 Stanley RE, Ragusa MJ, Hurley JH. The beginning of the end: how scaffolds nucleate autophagosome biogenesis. *Trends Cell Biol*, 2014; 24(1): 73-81.
- 3 Qin Z, Xue J, He Y, *et al.* Potentially functional polymorphisms in ATG10 are associated with risk of breast cancer in a Chinese population. *Gene*, 2013; 527(2): 491-495.
- 4 Scott RC, Juhasz G, Neufeld TP. Direct induction of autophagy by Atg1 inhibits cell growth and induces apoptotic cell death. *Curr Biol*, 2007; 17(1): 1-11.
- 5 Thedieck K, Holzwarth B, Prentzell MT, *et al.* Inhibition of mTORC1 by astrin and stress granules prevents apoptosis in cancer cells. *Cell*, 2013; 154(4): 859-874.
- 6 Kang MR, Kim MS, Oh JE, *et al.* Frameshift mutations of autophagy-related genes ATG2B, ATG5, ATG9B and ATG12 in gastric and colorectal cancers with microsatellite instability. *J Pathol*, 2009; 217(5): 702-706.
- 7 Kyostila K, Syrja P, Jagannathan V, *et al.* A missense change in the ATG4D gene links aberrant autophagy to a neurodegenerative vacuolar storage disease. *PLoS Genet*, 2015; 11(4): e1005169. doi:10.1371/journal.pgen.1005169.
- 8 Zavodszky E, Vicinanza M, Rubinsztein DC. Biology and trafficking of ATG9 and ATG16L1, two proteins that regulate autophagosome formation. *FEBS Lett*, 2013; 587(13): 1988-1996.

(2015-07-30 收稿, 2015-11-25 修回)

编辑 吕 熙