

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2018.08.002

· 基础研究 ·

桥接整合因子 1 通过 c-MYC 途径抑制非小细胞肺癌 A549 细胞中 PD-L1 的表达

李欢¹, 王梦杰¹, 张翔宇¹, 段玉青¹, 贾云龙¹, 刘欣燕², 刘丽华¹(1. 河北医科大学第四医院 肿瘤免疫治疗科, 河北石家庄 050035; 2. 河北省胸科医院 肿瘤科, 河北石家庄 050035)

[摘要] **目的:** 研究人非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC) A549 细胞中桥接整合因子-1(bridging intergrator-1, BIN1)对程序性死亡受体-配体 1(programmed death-ligand 1, PD-L1)表达的影响及其机制。**方法:** 采用 qRT-PCR 和 Western blotting 方法检测 A549 细胞和正常人胚肺成纤维细胞 2BS 中 *BIN1* 与 *PD-L1* 基因和蛋白表达情况, 通过基因转染技术、利用阳离子脂质体将含有人全长 *BIN1* 基因序列的真核表达质粒 CMV-MCS-GFP-SV40-Neomycin-BIN1 转染到 A549 细胞中(BIN1⁺组), 构建过表达 *BIN1* 的细胞株, 采用 RNA 干扰技术将干扰骨髓细胞瘤病毒癌基因(cellular-myelocytomatosis viral oncogene, *c-MYC*)的 *c-MYC*-siRNA 转染到 A549 细胞中(*c-MYC*-siRNA 组)以敲低 *c-MYC* 基因表达, 通过 qRT-PCR 和 Western blotting 方法验证转染效果及过表达 *BIN1* 基因或敲低 *c-MYC* 基因对 A549 细胞中 *c-MYC* 和 PD-L1 表达的影响。**结果:** 与 2BS 细胞相比, A549 细胞中 *BIN1* 基因和蛋白均呈低表达状态, 而 PD-L1 呈高表达状态(均 $P < 0.05$)。将携带 *BIN1* 基因的真核表达质粒转染到 A549 细胞后, *BIN1* 基因和蛋白表达水平较对照组显著升高($P < 0.05$), 而 *PD-L1* 表达显著降低($P < 0.05$)。*c-MYC*-siRNA 转染到 A549 细胞后, 细胞内 *c-MYC* 表达显著降低($P < 0.01$), *PD-L1* 表达明显下调($P < 0.01$)。**结论:** BIN1 过表达可以通过失活 *c-MYC* 通路降低 PD-L1 表达, 从而抑制 A549 细胞的免疫逃逸。

[关键词] 非小细胞肺癌; A549 细胞; 桥接整合因子-1; 骨髓细胞瘤病毒癌基因; 程序性死亡受体-配体 1; 免疫逃逸

[中图分类号] R730.2; R734.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2018)08-0762-05

Bridging intergrator-1 inhibits the expression of PD-L1 through c-MYC pathway in non-small cell lung cancer A549 cells

LI Huan¹, WANG Mengjie¹, ZHANG Xiangyu¹, DUAN Yuqing¹, JIA Yunlong¹, LIU Xinyan², LIU Lihua¹ (1. Department of Tumor Immunotherapy, Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050035, Hebei, China; 2. Department of Oncology, Hebei Chest Hospital, Shijiazhuang 050035, Hebei, China)

[Abstract] Objective: To investigate the effect and mechanism of bridging intergrator-1 (BIN1) on expression of programmed death-ligand 1 (PD-L1) in non-small cell lung cancer (NSCLC) A549 cells. **Methods:** Quantitative real-time polymerase chain reaction (qRT-PCR) and Western blotting were used to detect the mRNA and protein expression of *BIN1* and *PD-L1* in A549 cells and normal human embryo lung fibroblast 2BS cells, respectively. Eukaryotic expression plasmid CMV-MCS-GFP-SV40-Neomycin-BIN1 containing human full length *BIN1* gene sequence was transfected into A549 cells via cationic liposomes by using gene transfection technology (as BIN1⁺ group); *c-MYC*-siRNA was used to knockdown the expression of *c-MYC* in A549 cells through RNA interference technique (as *c-MYC*-siRNA group). The transfection efficiencies were verified by qRT-PCR and Western blotting, the effects of *BIN1* over-expression and *c-MYC* knock-down on the expression of *c-MYC* and PD-L1 in A549 cells were detected as well. **Results:** Comparing with 2BS cells, the expression of *BIN1* was down-regulated in A549 cells at both mRNA and protein levels, while the expression of PD-L1 was up-regulated (all $P < 0.05$). The expression of *BIN1* was increased at both mRNA and protein level in BIN1⁺ group, while the expression of PD-L1 was decreased significantly after *BIN1* transfection (all $P < 0.05$). After transfection of *c-MYC*-siRNA into A549 cells, the expression of *c-MYC* and *PD-L1* in *c-MYC*-siRNA group was down-regulated significantly (all $P < 0.01$). **Conclusion:** Over-expression of

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No. 81201607); 河北杰出青年基金资助项目(No. H2014206320); 河北人才培养项目资助(No. A201401040)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No.81201607), the Outstanding Youth Foundation of Hebei Province (No. H2014206320), and the Foundation for High Level Talents of Hebei Province (No. A201401040)

[作者简介] 李欢(1993-), 女, 硕士生, 主要从事肿瘤免疫治疗的临床与基础研究, E-mail: vandol_lh@163.com

[通信作者] 刘丽华(LIU Lihua, corresponding author), 博士, 教授, 主任医师, 博士生导师, 主要从事肿瘤免疫与生物治疗, E-mail: lihualiu567@hotmail.com

BIN1 could reduce the expression of PD-L1 by inactivating the c-MYC pathway, thereby inhibiting the immune escape of A549 cells.

[Key words] non-small cell lung cancer (NSCLC); A549 cell; bridging intergrator-1 (BIN1); cellular-myelocytomatosis viral oncogene (c-MYC); programmed death-ligand 1 (PD-L1); immune escape

[Chin J Cancer Biother, 2018, 25(8): 762-766. DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2018.08.002]

肺癌是全世界发病率和病死率最高的恶性肿瘤, 严重威胁人类健康, 其中非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)约占所有病理类型的85%^[1-2]。虽然临床上用于治疗NSCLC的手术、化疗、放疗、靶向治疗等方法不断进步, 但患者的整体生存率并未明显提高^[3]。近年来, 免疫检查点阻断治疗法已取得突破性进展, 特别是程序性死亡受体-1(programmed death-1, PD-1)/程序性死亡受体-配体1(programmed death-ligand 1, PD-L1)抑制剂于2016年10月被美国FDA批准作为单药应用于转移性NSCLC的一线治疗, 但是只有约20%的患者在治疗中获益^[4]。因此, 探索PD-1/PD-L1的相关调控机制对于提高免疫检查点阻断治疗效果至关重要。桥接整合因子-1(bridging intergrator-1, BIN1)是具有抑癌作用的配体蛋白, 在许多恶性肿瘤如食管癌、乳腺癌、黑色素瘤中表现为低表达甚至表达缺失^[5-7]。BIN1通过与骨髓细胞瘤病毒癌基因(cellular-myelocytomatosis viral oncogene, c-MYC)编码蛋白的N端结合发挥抑癌功能, 抑制肿瘤细胞的恶性生物学行为^[7]。但其在NSCLC发生发展中的作用鲜有研究。本研究旨在分析NSCLC A549细胞中BIN1对PD-L1表达的影响, 并探讨其机制。

1 材料与方 法

1.1 细胞株、主要试剂和仪器

人NSCLC细胞株A549(BIN1低表达)和正常人胚肺成纤维细胞2BS由中国医学科学院基础医学研究所提供, 于本实验室冻存。2BS细胞和A549细胞分别用含10%胎牛血清、青霉素(100 U/ml)及链霉素(100 μg/ml)的DMEM培养基和RPMI 1640培养基常规培养。RPMI 1640培养基和DMEM培养基及胰蛋白酶均购自美国Gibco公司, 胎牛血清购自杭州四季青公司, TRIzol及转染试剂Lipofectamine™2000购自美国Invitrogen公司。qRT-PCR中所需试剂均购自北京全式金生物公司, 引物由上海生工合成。质粒提取试剂盒购自天根生化试剂公司, 真核表达重组质粒CMV-MCS-GFP-SV40-Neomycin-BIN1和空白对照质粒CMV-MCS-GFP-SV40-Neomycin均购自上海吉凯基因生物公司。c-MYC-siRNA购自上海吉玛生物公司, ECL化学发光试剂盒购自碧云天公司。兔抗人BIN1单克隆抗体购自Merck Millipore公司, 山羊抗兔二抗购自Abcam公司。实时荧光定量PCR仪(Mastercycler ep realplex)购自德国Eppendorf公司。

1.2 BIN1真核表达重组质粒转染A549细胞

待A549细胞生长至70%~80%汇合时, 用胰蛋白酶消化并收集细胞, 用6 ml 1640培养基重悬, 铺6孔板, 继续培养24 h。待细胞汇合至80%左右时分为BIN1转染组(BIN1⁺组, 转染真核表达质粒CMV-MCS-GFP-SV40-Neomycin-BIN1)、空白质粒转染组(pCDH组, 转染空白对照质粒CMV-MCS-GFP-SV40-Neomycin)及空白对照组(Con组, 不转染任何质粒), 转染步骤均按照Invitrogen公司的Lipofectamine™2000转染试剂说明书进行操作。

1.3 qRT-PCR和Western blotting法鉴定BIN1基因转染效果

转染48 h后, 分别提取BIN1⁺组、pCDH组和Con组细胞内RNA, 以GAPDH为内参照, 用qRT-PCR和Western blotting分别检测3组细胞内BIN1 mRNA和蛋白的表达情况。

BIN1(296 bp)上游引物: 5'-CAAGTCCCCATCTCAGCCAG-3'、下游引物: 5'-GGATCACCAGCACACATCA-3'; GAPDH(154 bp)上游引物: 5'-GT-CACCTTCACCGTTCCAGTTTT-3', 下游引物: 5'-CT-TAGTTGCGTTACACCCTTTCTT-3'。将RNA反转录为cDNA, 反转录反应条件: 40 °C 60 min, 25 °C 5 min, 70 °C 5 min, 所得cDNA保存于-20 °C冰箱备用。cDNA扩增反应条件: 95 °C预变性10 min; 95 °C变性15 s, 59 °C退火30 s, 72 °C延伸30 s, 进行35个循环; 72 °C延伸7 min。根据每孔荧光信号达到阈值时经历的循环数作为Ct值, 以2^{-ΔΔCt}法计算BIN1 mRNA的相对表达量, ΔΔCt=[Ct(实验组目的基因)-Ct(实验组内参基因)]-[Ct(对照组目的基因)-Ct(对照组内参基因)]。实验重复3次。

BCA法定量后各组细胞总蛋白, 各取30 μg的样品煮沸10 min后置于冰上冷却, 用10% SDS-PAGE分离蛋白后电转移至PVDF膜, 5%脱脂中封闭2 h。TBST洗膜3次后加入兔抗人BIN1一抗4 °C孵育过夜, TBST洗膜3次后, 加入HRP标记山羊抗兔二抗室温孵育2 h, TBST洗膜3次, 采用ECL行放射自显影。用Quantity One4.6软件分析图像, 以GAPDH为内参照, 与各个检测蛋白条带的灰度值之比表示蛋白的相对表达量。实验重复3次。

1.4 qRT-PCR和Western blotting法检测A549和2BS细胞中c-MYC和PD-L1表达

分别提取BIN1⁺组、pCDH组、Con组A549细胞

和2BS细胞内的RNA和总蛋白,按1.3中方法,用qRT-PCR法检测各细胞中*PD-L1*、*c-MYC* mRNA表达情况,Western blotting检测相关蛋白表达水平,一抗为兔抗人*PD-L1*、*c-MYC*抗体,二抗为山羊抗兔抗体。实验重复3次。

1.5 RNA干扰技术敲低A549细胞*c-MYC*基因的表达

取对数生长的A549细胞,接种于6孔板中,培养24 h后分为转染*c-MYC*-siRNA(*c-MYC*-siRNA)组及空白对照Con(Con-siRNA)组。干扰片段分别为:*c-MYC*-siRNA:5'-AACGUUAGCUUCACCAACAUU-3';Control-siRNA:5'-AAUUCUCCGAACGUGUCACGU-3'。预实验筛选出有效的转染片段序列用于本实验。具体转染步骤同1.2,转染完成后将细胞培养板置于37℃、5%CO₂的培养箱中培养,6 h后将含转染复合物的培养基弃去,重新加入新鲜培养基置于培养箱中培养48 h。转染48 h后,抽提2组细胞内的RNA和总蛋白,按1.3中方法用qRT-PCR检测各组细胞中*c-MYC* mRNA表达水平,Western blotting检测相

关蛋白表达水平。

1.6 qRT-PCR和Western blotting法鉴定敲低*c-MYC*对A549细胞中*PD-L1*表达的影响

以*c-MYC*-siRNA沉默A549细胞中的*c-MYC*基因后,采用qRT-PCR和Western blotting法检测*PD-L1*表达,方法同1.4部分,实验重复3次。

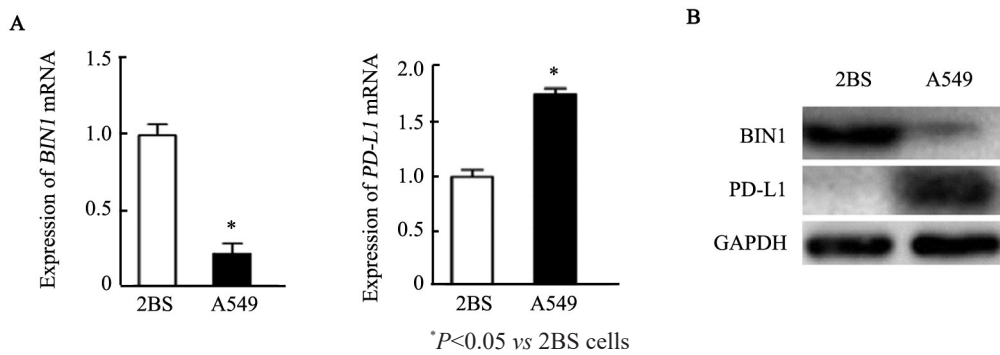
1.7 统计学处理

采用SPSS21.0统计软件对所有数据进行分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间均数比较采用单因素方差分析。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2BS、A549细胞中*BIN1*和*PD-L1*的表达状态

qRT-PCR和Western blotting检测结果(图1)发现,与正常人胚肺成纤维细胞2BS对比,肺腺癌A549细胞中*BIN1*基因和蛋白均呈低表达状态,而*PD-L1*呈高表达状态($P < 0.05$)。



A: Statistical histograms of mRNA; B: The bands of proteins in Western blotting image and statistical histograms of protein

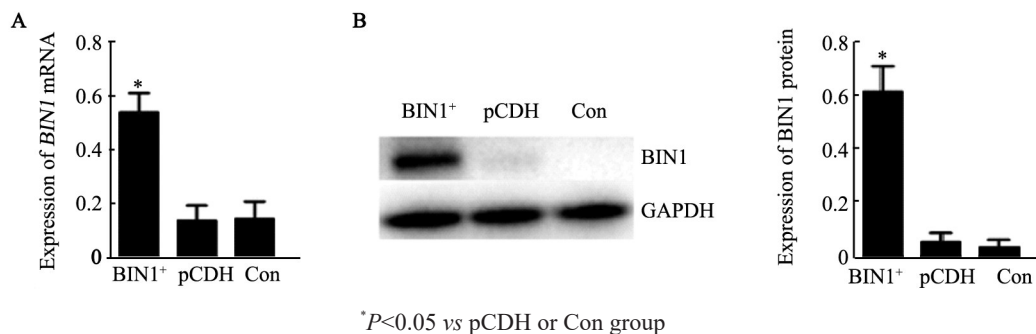
图1 2BS和A549细胞中*BIN1*和*PD-L1*的表达

Fig.1 Expression of *BIN1* and *PD-L1* in 2BS and A549 cells

2.2 成功构建*BIN1*过表达的A549细胞株

采用qRT-PCR和Western blotting法验证携带*BIN1*基因质粒转染A549细胞的效果,检测结果(图

2)发现,*BIN1*⁺组*BIN1*基因和蛋白表达水平较pCDH组、Con组显著上调(均 $P < 0.05$),pCDH组和Con组在基因和蛋白表达上的差异无统计学意义($P > 0.05$)。



*P < 0.05 vs pCDH or Con group

A: Statistical histograms of mRNA; B: Bands of proteins in Western blotting image and the statistical histograms of proteins

图2 转染*BIN1*基因的A549细胞中*BIN1*的表达

Fig.2 Expression of *BIN1* in A549 cells after *BIN1* transfection

2.3 BIN1 过表达抑制 A549 细胞中 PD-L1 的表达

为了明确 BIN1 对 PD-L1 表达的影响,采用 qRT-PCR 和 Western blotting 方法检测 BIN1 转染前后 PD-L1 表达水平变化,结果(图3)发现,BIN1⁺组 PD-L1 基因和蛋白表达较 pCDH 组和 Con 组均显著下调($P < 0.05$),pCDH 组和 Con 组在基因表达差异无统计学意义($P > 0.05$)。

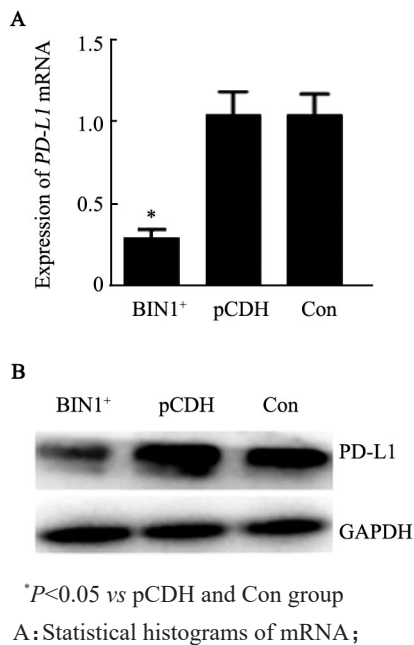


图3 转染 BIN1 基因的 A549 细胞中 PD-L1 的表达升高
Fig.3 Expression of PD-L1 was increased in A549 cells after BIN1 transfection

2.4 敲低 c-MYC 基因抑制 A549 细胞 PD-L1 的表达

为了明确 c-MYC 与 PD-L1 表达的关系,以 c-MYC-siRNA 沉默 A549 细胞中的 c-MYC 基因,采用 qRT-PCR 和 Western blotting 方法检测 PD-L1 表达,结果(图4)发现,与 Con 组相比,c-MYC-siRNA 组细胞中 c-MYC 表达显著降低($P < 0.01$),说明 A549 细胞中 c-MYC 被成功敲低;与 Con 组相比,c-MYC-siRNA 组细胞中 PD-L1 表达显著下调($P < 0.01$)。

3 讨论

近年来,免疫检查点 PD-1/PD-L1 阻断治疗成为免疫治疗的焦点。研究^[8]证实,PD-1/PD-L1 信号通路的激活可促使免疫抑制性肿瘤微环境形成,使肿瘤细胞逃避机体免疫监视,而阻断 PD-1/PD-L1 信号通路可以逆转肿瘤免疫微环境,增强内源性抗肿瘤免疫效应。PD-L1 蛋白在腺癌中表达高于鳞癌,在 NSCLC 原发肿瘤部位的表达阳性率约为 27.0%~57.5%^[9-12]。其主要生物学功能是通过与 T 细胞表面

的 PD-1 受体结合,抑制 T 细胞的活化、增殖及对肿瘤的杀伤能力,增加抗原特异性 T 细胞凋亡,并维持调节性 T 细胞的抑制功能。

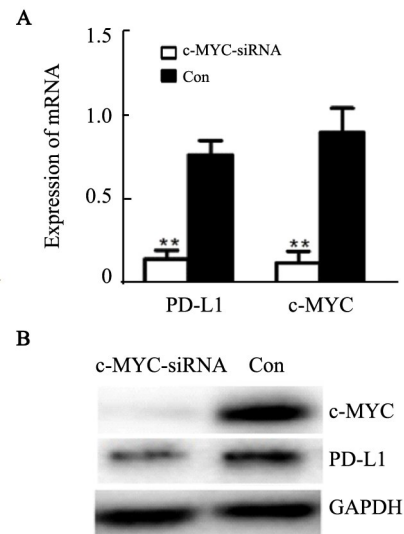


图4 沉默 A549 细胞中的 c-MYC 基因后 PD-L1 的表达下调
Fig.4 Expression of PD-L1 in A549 cells was decreased after c-MYC gene silencing

BIN1 是一种具有抑癌功能的配体蛋白,c-MYC 结合域(c-MYC-binding domain, MBD)是其特异性结构。BIN1 通过与 c-MYC 结合发挥抑癌功能,从而控制细胞周期的转运、增殖和凋亡^[13]。在一些常见的恶性肿瘤中 BIN1 呈低表达甚至表达缺失状态^[11,14]。本课题组在前期研究^[15-16]中发现,BIN1 可以通过 NF- κ B 途径抑制 NSCLC 细胞的迁移和侵袭能力,通过 AKT-mTOM 通路诱导 NSCLC 细胞周期阻滞,BIN1 表达缺失对于驱动恶性肿瘤的进展有很重要的意义^[5-6,17-18]。近年来,已有学者^[19]证实 BIN1 可以通过抑制 IDO 的表达抑制肿瘤免疫逃逸,这表明 BIN1 对免疫系统也具有调控作用。研究^[20]表明,BIN1 能够与 c-MYC 蛋白结合以抑制其致癌作用,同时 c-MYC 可以在转录水平调控 PD-L1 的表达^[21]。因此,本研究旨在明确 NSCLC(A549 细胞)中 BIN1 对 PD-L1 表达的影响及其调控机制。结果发现与正常人胚肺成纤维细胞 2BS 对比,BIN1 在 NSCLC A549 细胞中呈低表达状态而 PD-L1 呈高表达状态。本研究还通过构建携带 BIN1 基因的质粒,利用基因转染技术将其转染到 A549 细胞中使 BIN1 高表达后,发现与 pCDH 组和 Con 组相比,BIN1⁺组中 PD-L1 表达下调,而在 pCDH 组和 Con 组的表达差异无统计学意义,说明 BIN1 可

以抑制PD-L1表达。c-MYC是c-MYC家族的一员,可促进细胞增殖、转化和去分化,在肿瘤的形成中起着重要的作用。本研究通过RNA干扰技术,将c-MYC-siRNA转染到A549细胞中以沉默c-MYC表达后PD-L1表达下降,说明c-MYC可以调控PD-L1表达。已有研究^[22]表明,BIN1能够与c-MYC的N端结合,通过诱导非半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶依赖式的细胞凋亡,抑制细胞的恶性转化。由此推测,在NSCLC中,BIN1是PD-L1潜在的蛋白调控因子,并且可以通过失活c-MYC通路降低PD-L1表达,由此抑制肿瘤细胞的免疫逃逸。

本研究通过基因转染和RNA干扰技术从正反两个方面论证在NSCLC A549细胞中BIN1对PD-L1表达状态的影响及相关机制,结果发现BIN1可以通过失活c-MYC途径抑制PD-L1表达,为深入探讨NSCLC中PD-L1的调控机制和提高免疫治疗效果奠定了实验基础。

[参考文献]

- [1] PAN X, WANG R, BIAN H B, et al. Overexpression of inhibitor of growth 4 enhances radiosensitivity in non-small cell lung cancer cell line SPC-A1[J]. *Technol Cancer Res Treat*, 2016, 16(5): 533-545. DOI: 10.1177/1533034616656315.
- [2] WEI M M, ZHOU G B. Long non-coding RNAs and their roles in non-small-cell lung cancer[J]. *Genomics Proteomics Bioinformatics*, 2016, 14(5): 280-288. DOI: 10.1016/j.gpb.2016.03.007.
- [3] RECK M, POPAT S, REINMUTH N, et al. Metastatic non-small-cell lung cancer (NSCLC): ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up[J]. *Ann Oncol*, 2014, 25(Suppl 3): iii27-iii39. DOI: 10.1093/annonc/mdu199.
- [4] RECK M, RODRIGUEZ-A D, ROBINSON A G, et al. Pembrolizumab versus chemotherapy for PD-L1-positive non-small cell lung cancer[J]. *N Engl J Med*, 2016, 375(19): 1823-1833. DOI: 10.1056/NEJMoa1606774.
- [5] GE K, DUHADAWAY J, SAKAMURO D, et al. Losses of the tumor suppressor BIN1 in breast carcinoma are frequent and reflect deficits in programmed cell death capacity[J]. *Int J Cancer*, 2000, 85(3): 376-383.
- [6] JIA Y L, WANG H Y, WANG Y, et al. Low expression of Bin1, along with high expression of IDO in tumor tissue and draining lymph nodes, are predictors of poor prognosis for esophageal squamous cell cancer patients[J]. *Int J Cancer*, 2015, 137(5): 1095-1106. DOI: 10.1002/ijc.29481.
- [7] PYNDIAH S, SAKAMURO D. c-c-MYC, PARP1 and BIN1 as targets for therapy of cancer cell resistance[J]. *Med Sci*, 2013, 29(2): 133-135. DOI: 10.1051/medsci/2013292006.
- [8] HAMANISHI J, MANDAI M, MATSUMURA N, et al. PD-1/PD-L1 blockade in cancer treatment: perspectives and issues[J]. *Int J Clin Oncol*, 2016, 21(3): 462-473. DOI: 10.1007/s10147-016-0959-z.
- [9] CHEN Y B, MU C Y, HUANG J A. Clinical significance of programmed death-1 ligand-1 expression in patients with non-small cell lung cancer: a 5-year-follow-up study[J]. *Tumori*, 2012, 98(6): 751-755. DOI: 10.1700/1217.13499.
- [10] KONISHI J, YAMAZAKI K, AZUMA M, et al. B7-H1 expression on non-small cell lung cancer cells and its relationship with tumor-infiltrating lymphocytes and their PD-1 expression[J]. *Clin Cancer Res*, 2004, 10(15): 5094-5100. DOI: 10.1158/1078-0432.ccr-04-0428.
- [11] MU C Y, HUANG J A, CHEN Y, et al. High expression of PD-L1 in lung cancer may contribute to poor prognosis and tumor cells immune escape through suppressing tumor infiltrating dendritic cells maturation[J]. *Med Oncol*, 2010, 28(3): 682-688. DOI: 10.1007/s12032-010-9515-2.
- [12] VELCHETI V, RIMM D L, SCHALPER K A. Sarcomatoid lung carcinomas show high levels of programmed death ligand-1 (PD-L1)[J]. *J Thorac Oncol*, 2013, 8(6): 803-805. DOI: 10.1097/JTO.0b013e318292be18.
- [13] SAKAMURO D, ELLIOTT K J, WECHSLER-REYA R, et al. BIN1 is a novel c-MYC-interacting protein with features of a tumour suppressor[J]. *Nat Genet*, 1996, 14(1): 69-77. DOI: 10.1038/ng0996-69.
- [14] DONG H, STROME S E, SALOMAO D R, et al. Erratum: tumor-associated B7-H1 promotes T-cell apoptosis: a potential mechanism of immune evasion[J]. *Nat Med*, 2002, 8(8):793-800.
- [15] 王佳丽, 张翔宇, 邓佳, 等. Bin1 基因通过NF-κB途径抑制非小细胞肺癌A549细胞的迁移和侵袭能力[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2016, 23(4): 481-485. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2016.04.004.
- [16] 张翔宇, 邓佳, 王佳丽, 等. 桥接整合因子1通过AKT-mTOR通路诱导非小细胞肺癌H1975细胞周期阻滞[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2017, 24(2): 122-126. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2017.02.004.
- [17] BAREKATI Z, RADPOUR R, LU Q, et al. Methylation signature of lymph node metastases in breast cancer patients[J/OL]. *BMC Cancer*, 2012, 12: 244[2018-03-06]. <https://bmccancer.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2407-12-244>. DOI: 10.1186/1471-2407-12-244.
- [18] PAN K, LIANG X T, ZHANG H K, et al. Characterization of bridging integrator 1 (BIN1) as a potential tumor suppressor and prognostic marker in hepatocellular carcinoma[J/OL]. *Mol Med*, 2012, 18: 507-518[2018-03-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3356425/>. DOI: 10.2119/molmed.2011.00319.
- [19] MULLER A J, DUHADAWAY J B, DONOVER P S, et al. Inhibition of indoleamine 2,3-dioxygenase, an immunoregulatory target of the cancer suppression gene Bin1, potentiates cancer chemotherapy[J]. *Nat Med*, 2005, 11(3): 312-319. DOI: 10.1038/nm1196.
- [20] LUNDGAARD G L, DANIELS N E, PYNDIAH S, et al. Identification of a novel effector domain of BIN1 for cancer suppression[J]. *J Cell Biochem*, 2011, 112(10): 2992-3001. DOI: 10.1002/jcb.23222.
- [21] CASEY S C, TONG L, LI Y, et al. c-MYC regulates the antitumor immune response through CD47 and PD-L1[J]. *Science*, 2016, 352(6282): 227-231. DOI: 10.1126/science.aac9935.
- [22] ELLIOTT K, GE K, DU W, et al. The c-Myc-interacting adaptor protein Bin1 activates a caspase-independent cell death program[J]. *Oncogene*, 2000, 19(41): 4669-4684. DOI: 10.1038/sj.onc.1203681.

[收稿日期] 2018-04-10

[修回日期] 2018-06-09

[本文编辑] 黄静怡