

• 论 著 •

自噬蛋白 Beclin-1 与 N-myc 下游调控基因 2 在食管鳞状
细胞癌中的表达及其临床意义*

张 颖,王 宇

长治市人民医院病理科,山西长治 046000

摘 要:目的 探索自噬蛋白 Beclin-1 和 N-myc 下游调控基因 2(NDRG2)在食管鳞状细胞癌(ESCC)中的表达,并探讨两种蛋白作为 ESCC 预后分子标志物的临床价值。方法 采用免疫组织化学染色检测 Beclin-1 与 NDRG2 在 121 例 ESCC 组织中的表达,通过 Pearson 相关分析两者表达与临床病理参数的关系。根据 Beclin-1 与 NDRG2 的表达情况将所有患者分为 2 组,高、低表达组的生存概率通过 Kaplan-Meier 曲线计算,Log-rank 检验用于生存分析的比较。采用 Cox 比例风险模型进行单因素和多因素分析,确定 ESCC 患者的独立预后因子。结果 免疫组织化学染色分析显示 Beclin-1 蛋白在 121 例 ESCC 及癌旁组织中的阳性表达率分别为 40.5%(49/121)和 59.5%(68/121),差异有统计学意义($\chi^2=5.973, P=0.015$)。NDRG2 蛋白在 ESCC 组织中的阳性表达率亦明显低于癌旁组织,差异有统计学意义(46.3% vs. 61.2%; $\chi^2=5.385, P=0.020$)。Beclin-1 低表达者有更为频繁的淋巴结转移($\chi^2=6.158, P=0.013$)和更晚的 TNM 分期($\chi^2=4.538, P=0.033$),而 NDRG2 低表达与更晚的 T 分期($\chi^2=6.607, P=0.010$)和 TNM 分期($\chi^2=5.744, P=0.017$)相关。Kaplan-Meier 曲线显示,Beclin-1 低表达与高表达患者的 3 年总体生存(OS)率分别为 44.3%和 60.9%,差异有统计学意义($\chi^2=5.696, P=0.017$)。NDRG2 低表达者的预后亦明显低于 NDRG2 高表达者,3 年 OS 率分别为 43.9%和 59.2%($\chi^2=9.004, P=0.003$)。单、多因素 Cox 比例风险模型分析表明,Beclin-1 低表达($HR=1.727, 95\%CI:1.017\sim2.934, P=0.043$)、NDRG2 低表达($HR=1.671, 95\%CI:1.023\sim2.730, P=0.040$)与 TNM II~III 期($HR=3.823, 95\%CI:2.133\sim6.852, P<0.001$)是 ESCC 患者预后不良的独立预测因素。结论 Beclin-1 和 NDRG2 表达在 ESCC 中明显下调,且与患者不良预后相关,其可能是预测 ESCC 患者生存的预后标志物。

关键词:食管鳞状细胞癌; Beclin-1; N-myc 下游调控基因 2; 预后; 分子标志物
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2023.21.007 **中图法分类号:**R735.1
文章编号:1673-4130(2023)21-2592-06 **文献标志码:**A

Expression of Beclin-1 and N-myc downstream regulatory gene 2 (NDRG2) and their
clinical significance in esophageal squamous cell carcinoma*

ZHANG Ying, WANG Yu

Department of Pathology, Changzhi People's Hospital, Changzhi, Shanxi 046000, China

Abstract: Objective To explore the expression of autophagy protein Beclin-1 and N-myc downstream regulatory gene 2 (NDRG2) in esophageal squamous cell carcinoma (ESCC), and to explore the clinical value of these two proteins as prognostic molecular markers for ESCC. **Methods** Immunohistochemical staining was used to detect the expression of Beclin-1 and NDRG2 in 121 ESCC tissues, the relationship between their expression and clinical pathological parameters through Pearson correlation analysis. Test and analyze the relationship between their expression and clinical pathological parameters. All patients were divided into two groups based on the expression of Beclin-1 and NDRG2. The survival probabilities of the high and low expression groups were calculated using Kaplan-Meier curves, and the Log-rank test was used for comparison in survival analysis. Cox proportional hazards model was used for univariate and multivariate analysis analysis to determine the independent prognostic factors of ESCC patients. **Results** The results of immunohistochemical staining indicated that the positive rates of Beclin-1 expression in ESCC tissues and adjacent tissues were 40.5% (49/121) and 59.5% (68/121), with significant difference ($\chi^2=5.973, P=0.015$). Also, the positive rate of NDRG2 expression in ESCC tissues was significantly lower than that in adjacent tissues the difference was statistically significant (46.3% vs. 61.2%; $\chi^2=5.385, P=0.020$). Lymph node metastasis ($\chi^2=6.158$,

* 基金项目:山西省卫生健康委员会 2021 年度“四个一批”科技兴医创新计划项目(2021016)。
作者简介:张颖,女,主治医师,主要从事肿瘤学方面的研究。

$P=0.013$) was more frequent and TNM stage ($\chi^2=4.538, P=0.033$) was more advanced in ESCC patients with low Beclin-1 expression than those with high Beclin-1 expression, and low expression of NDRG2 was associated with advanced T stage ($\chi^2=6.607, P=0.010$) and TNM stage ($\chi^2=5.744, P=0.017$). Kaplan-Meier curves showed that the 3-year overall survival (OS) rates of patients with low and high expression of Beclin-1 were 44.3% and 60.9%, respectively ($\chi^2=5.696, P=0.017$). In addition, the 3-year OS rates of patients with low and high expression of NDRG2 were 43.9% and 59.2%, respectively ($\chi^2=9.004, P=0.003$). The patients with low expression of NDRG2 had a lower OS than those with high expression of NDRG2. The data of univariate and multivariate Cox analysis demonstrated that low expression of Beclin-1 ($HR=1.727, 95\%CI:1.017-2.934, P=0.043$), low expression of NDRG2 ($HR=1.671, 95\%CI:1.023-2.730, P=0.040$) and TNM II-III stage ($HR=3.823, 95\%CI:2.133-6.852, P<0.001$) were independent predictors of poor OS for ESCC patients. **Conclusion** Beclin-1 and NDRG2 expression are significantly down-regulated and associated with poor survival, and they might be useful to predict the survival outcome of ESCC patients.

Key words: esophageal squamous cell carcinoma; Beclin-1; N-myc downstream regulated gene 2; prognostic; biomarker

食管癌是最具侵袭性的恶性肿瘤之一,被列为全球第六大常见的癌症死亡原因^[1]。流行病学研究表明,食管癌具有明显的地理、种族和性别差异,食管鳞状细胞癌(ESCC)是东亚地区最常见的食管癌组织学类型,在我国约 90% 的食管癌为 ESCC^[2-3]。与食管腺癌相比,ESCC 恶性程度高、生物侵袭性强,尽管近年来诊断与治疗策略已取得了重大的进展,但患者总体生存(OS)率仍然很低^[4-5]。为了提高 ESCC 的早期诊断和改善患者预后,迫切需要寻找有价值的分子标志物和新型治疗靶点。

自噬是真核细胞降解、去除受损的细胞器或突变的细胞成分,维持细胞内环境稳定的重要途径^[6]。既往研究发现,异常的细胞自噬与癌症、阿尔茨海默病等多种疾病有关^[7-9]。随着肿瘤的恶性增殖,癌细胞由于营养缺乏,可以通过自噬获得能量并降解其内部成分以支持肿瘤的增殖和代谢。作为第一个自噬特异性基因,Beclin-1 在细胞自噬的调节中发挥着重要作用^[10-11]。目前,多项研究显示 Beclin-1 在非小细胞肺癌、胃癌、宫颈癌等多种恶性肿瘤组织中存在表达缺失,并参与了肿瘤的发生发展^[12-14]。然而,Beclin-1 作为 ESCC 患者预后标志物的临床价值尚有待进一步研究。N-myc 下游调控基因 2(NDRG2)是 N-myc 下调基因家族的成员之一,该家族的蛋白质以 α/β 水解酶折叠为主要特征^[15]。越来越多的证据表明,NDRG2 作为一种肿瘤抑制因子,在癌细胞的增殖、黏附、侵袭和转移等方面发挥关键作用^[16-17]。此外,NDRG2 的表达抑制被报道与多种肿瘤的治疗结果及不良预后密切相关^[18-19]。有研究表明,上调 NDRG2 可抑制食管癌细胞的增殖、侵袭、迁移和上皮-间充质转化(EMT)等的生物学行为^[20]。然而,NDRG2 在 ESCC 患者中的潜在预后价值仍不清楚。因此,本研究的主要目的是通过免疫组织化学染色检测 Beclin-1 与 NDRG2 在 ESCC 组织样本中的表达水平,并分析两者与患者临床病理特征及预后的关系,旨在探讨两

种蛋白作为 ESCC 预后分子标志物的价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 本研究选择 2015 年 6 月至 2018 年 10 月在本院胸外科接受食管癌根治性切除手术的 121 例 ESCC 患者作为研究对象,前瞻性收集其手术切除标本(包括未受肿瘤侵犯的癌旁正常组织)及临床病理资料,其中男 63 例(52.1%)、女 58 例(47.9%),平均年龄为(67.3 ± 11.4)岁,平均肿瘤最大径(5.41 ± 1.93)cm,高、中、低分化癌分别占 42.1%(51/121)、38.0%(46/121)和 19.9%(24/121);根据第 8 版食管癌 TNM 分期,II~III 期病例占所有患者的 54.5%。所有入选本研究的患者均应符合以下条件:(1)ESCC 的诊断经术后组织病理学证实;(2)无肺、骨、肝等远处转移;(3)临床病理资料完整;(4)随访时间大于 1 个月。

本研究经本院伦理委员会批准,所有组织样本与临床病理资料均在患者知情同意的情况下采集。

1.2 免疫组化染色与结果判读 将手术切除的 ESCC 肿瘤组织经福尔马林固定、石蜡包埋后,制成厚度为 4 μ m 的连续切片,进行免疫组织化学染色与分析。组织切片用二甲苯脱蜡,在浓度递增的乙醇中水化。使用磷酸盐缓冲液(PBS)冲洗后,置于 pH 6.0 的柠檬酸盐缓冲液中微波加热孵育 20 min,用以抗原修复。随后,在切片上加入 3% 的 H_2O_2 溶液,阻断内源性过氧化物酶活性。PBS 冲洗后,将组织切片与 1:200 比例稀释的 Beclin-1(产品编号:SC11427, Santa Cruz 公司,美国)与 NDRG2 一抗混合,并在 4 $^{\circ}C$ 下孵育过夜。次日,将组织切片与辣根过氧化物酶标记的 IgG 二抗继续孵育 30 min。使用二氨基联苯胺显色剂处理所有载玻片,并以苏木精复染、梯度乙醇脱水,中性树胶封片固定。

由两位高年资病理科医生对组织切片进行独立评估,根据 Beclin-1、NDRG2 的染色强度和阳性染色细胞数量进行半定量分析。染色强度的评分标准如

下:阴性为 0 分、浅黄色为 1 分、棕黄色为 2 分、棕色为 3 分。阳性染色细胞数量的评分标准:在光学显微镜下随机选取 5 个高倍视野,每个视野计数 200 个细胞,阳性染色细胞比例 $\leq 5\%$ 为 0 分,比例 $5\% \sim 25\%$ 为 1 分,比例 $25\% \sim 50\%$ 为 2 分,比例 $50\% \sim 75\%$ 为 3 分,阳性染色细胞比例 $> 75\%$ 为 4 分。Beclin-1、NDRG2 蛋白免疫组化染色的最终得分由染色强度与阳性染色细胞比例的分数的乘积计算得出。将 ≤ 4 分者纳入 Beclin-1 或 NDRG2 低表达组(阴性表达), > 4 分者分入 Beclin-1 或 NDRG2 高表达组(阳性表达)。如果两位评价者的结果有冲突,则由第 3 位病理学家进行复核,并协商得出相对一致的结果。

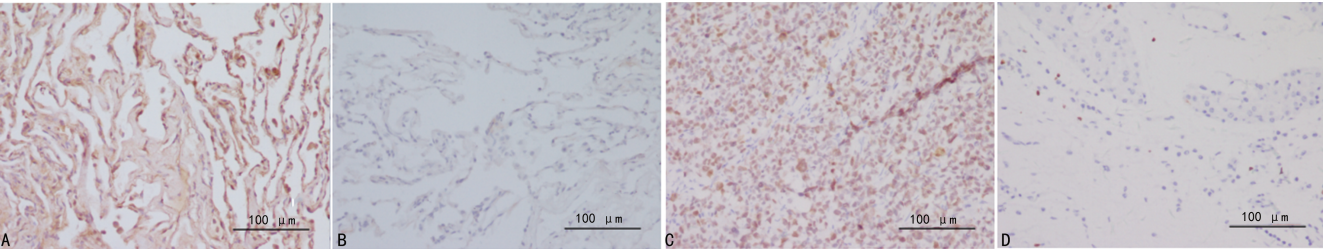
1.3 随访 本科负责对所有研究对象进行定期随访,通过查阅门诊或住院病例及电话探访等方式了解患者的生存状态。生存分析的主要研究结局为 OS,所有患者的 OS 从手术当天开始计算,直至因任何原因死亡或最后一次随访作为观察终点。截至末次随访,全组无失访病例,中位随访时间为 35.0 个月。

1.4 统计学处理 采用 SPSS23.0 软件进行数据收集、处理和统计分析,采用 Pearson 相关评估 Beclin-1、NDRG2 表达与临床病理变量之间的相关性。高、低表达组 ESCC 患者的生存概率通过 Kaplan-Meier

曲线计算,Log-rank 检验用于生存分析的比较。采用 Cox 比例风险模型进行单因素和多因素分析,确定 ESCC 患者的独立预后因子,在单因素分析中的显著变量被纳入多因素分析进一步评估。风险比(HR)和 95%置信区间(CI)用于评估测试参数对死亡事件的影响。上述所有统计检验均为双侧分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 Beclin-1、NDRG2 在 ESCC 组织中的表达及其临床意义 Beclin-1 和 NDRG2 蛋白在 ESCC 组织中的免疫组化表达结果如图 1 所示,Beclin-1、NDRG2 的阳性表达主要定位于正常食管上皮细胞的细胞质中。在检测的 121 例样本中,Beclin-1 蛋白在 ESCC 肿瘤组织中的阳性表达率为 40.5%(49/121),明显低于癌旁组织的 59.5%(68/121),差异有统计学意义($\chi^2 = 5.973, P = 0.015$)。NDRG2 蛋白在 ESCC 组织中的阳性表达率亦明显低于癌旁组织,分别为 46.3%(56/121)和 61.2%(74/121),差异有统计学意义($\chi^2 = 5.385, P = 0.020$)。免疫组化染色的结果证实与癌旁组织相比,Beclin-1 和 NDRG2 蛋白在 ESCC 组织中呈明显低表达。



注:A 和 C 为 Beclin-1 和 NDRG2 蛋白在癌旁组织中呈高表达;B 和 D 为 ESCC 组织中呈低表达。
图 1 Beclin-1 和 NDRG2 蛋白在 ESCC 组织中的免疫组化染色结果($\times 200$)

分析 Beclin-1 和 NDRG2 表达与 ESCC 临床病理特征的关系,如表 1、表 2 所示,Beclin-1 低表达者有更为频繁的淋巴结转移($\chi^2 = 6.158, P = 0.013$)和更为进展的 TNM 分期($\chi^2 = 4.538, P = 0.033$),而 NDRG2 低表达与更晚的 T 分期($\chi^2 = 6.607, P = 0.010$)和 TNM 分期($\chi^2 = 5.744, P = 0.017$)相关。然而,未发现 Beclin-1 和 NDRG2 表达与患者年龄、性别、组织学分化或肿瘤最大径之间存在显著性关系($P > 0.05$)。

2.2 Beclin-1、NDRG2 表达在 ESCC 患者中的预后意义 在这个队列中,所有 ESCC 患者的 3 年和 5 年 OS 率分别为 51.0%和 31.4%,Kaplan-Meier 生存曲线显示 Beclin-1 低表达与高表达患者的 3 年 OS 率分别为 44.3%和 60.9%,Beclin-1 低表达与 ESCC 患者不良预后显著相关($\chi^2 = 5.696, P = 0.017$),如图 2A 所示。此外,NDRG2 低表达者的预后亦明显劣于 NDRG2 高表达者,3 年 OS 率分别为 43.9%和

59.2%,差异有统计学意义($\chi^2 = 9.004, P = 0.003$),如图 2B 所示。

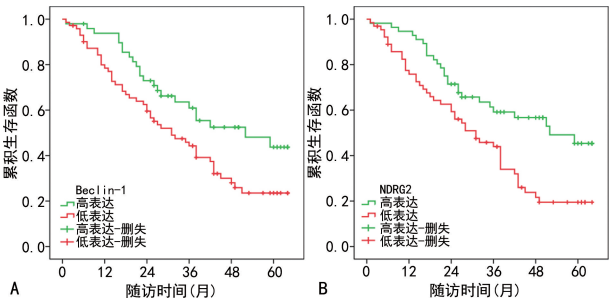


图 2 Beclin-1、NDRG2 表达与 ESCC 患者 OS 的关系

单因素 Cox 分析结果显示,组织学分化($P = 0.002$)、TNM 分期($P < 0.001$)、Beclin-1($P = 0.020$)及 NDRG2 低表达($P = 0.004$)与 ESCC 患者的低 OS 率显著相关。在多因素 Cox 回归模型中对这些参数做进一步调整,结果证实 Beclin-1 低表达($HR =$

1.727,95%CI:1.017~2.934, $P=0.043$)、NDRG2 低表达($HR=1.671,95\%CI:1.023\sim2.730,P=0.040$)及 TNM II~III 期($HR=3.823,95\%CI:2.133\sim6.852,P<0.001$)是 ESCC 患者预后不良的的独立预测因素。

表 1 Beclin-1 表达与 ESCC 患者临床病理特征的关系[$n(\%)$]				
临床病理因素	Beclin-1		χ^2	P
	低表达 ($n=72$)	高表达 ($n=49$)		
年龄(岁)			0.350	0.554
≤65	27(37.5)	21(42.9)		
>65	45(62.5)	28(57.1)		
性别			0.314	0.575
女	33(45.8)	25(51.0)		
男	39(54.2)	24(49.0)		
吸烟史			0.007	0.932
无	45(62.5)	31(63.3)		
有	27(37.5)	18(36.7)		
肿瘤位置			0.168	0.682
上段	34(47.2)	25(51.0)		
中、下段	38(52.8)	24(49.0)		
组织学分化			0.273	0.873
高分化	29(40.3)	22(44.9)		
中分化	28(38.9)	18(36.7)		
低分化	15(20.8)	9(18.4)		
肿瘤最大径(cm)			0.492	0.483
≤5	35(48.6)	27(55.1)		
>5	37(51.4)	22(44.9)		
T 分期			0.178	0.673
T _{1~2} 期	31(43.1)	23(46.9)		
T _{3~4} 期	41(56.9)	26(53.1)		
淋巴结转移			6.158	0.013
无	40(55.6)	38(77.6)		
有	32(44.4)	11(22.4)		
TNM 分期			4.538	0.033
I 期	27(37.5)	28(57.1)		
II~III 期	45(62.5)	21(42.9)		

表 2 NDRG2 表达与 ESCC 患者临床病理特征的关系[$n(\%)$]				
临床病理因素	NDRG2		χ^2	P
	低表达 ($n=65$)	高表达 ($n=56$)		
年龄(岁)			0.443	0.506
≤65	24(36.9)	24(42.9)		
>65	41(63.1)	32(57.1)		
性别			0.095	0.758
女	32(49.2)	26(46.4)		
男	33(50.8)	30(53.6)		
吸烟史			1.137	0.286
无	38(58.5)	38(67.9)		
有	27(41.5)	18(32.1)		
肿瘤位置			2.467	0.116
上段	36(55.4)	23(41.1)		
中、下段	29(44.6)	33(58.9)		
组织学分化			1.051	0.591
高分化	29(44.6)	22(39.3)		
中分化	22(33.8)	24(42.9)		
低分化	14(21.5)	10(17.9)		
肿瘤最大径(cm)			0.012	0.911
≤5	33(50.8)	29(51.8)		
>5	32(49.2)	27(48.2)		
T 分期			6.607	0.010
T _{1~2} 期	22(33.8)	32(57.1)		
T _{3~4} 期	43(66.2)	24(42.9)		
淋巴结转移			1.221	0.269
无	39(60.0)	39(69.6)		
有	26(40.0)	17(30.4)		
TNM 分期			5.744	0.017
I 期	23(35.4)	32(57.1)		
II~III 期	42(64.6)	24(42.9)		

表 3 ESCC 患者预后因素的单、多变量 Cox 回归分析				
临床病理因素	单因素分析		多因素分析	
	$HR(95\%CI)$	P	$HR(95\%CI)$	P
年龄				
>65 岁 <i>vs.</i> ≤65 岁	1.577(0.987~2.520)	0.057	—	—
性别				
男 <i>vs.</i> 女	0.858(0.540~1.363)	0.516	—	—
吸烟史				
有 <i>vs.</i> 无	1.090(0.680~1.747)	0.722	—	—
肿瘤位置				
中、下段 <i>vs.</i> 上段	1.026(0.645~1.632)	0.914	—	—

续表 3 ESCC 患者预后因素的单、多变量 Cox 回归分析

临床病理因素	单因素分析		多因素分析	
	HR(95%CI)	P	HR(95%CI)	P
组织学分化				
中、低分化 vs. 高分化	2.252(1.340~3.787)	0.002	1.175(0.678~2.037)	0.565
肿瘤最大径				
>5 cm vs. ≤ 5 cm	1.529 (0.954~2.450)	0.078	—	—
TNM 分期				
Ⅱ~Ⅲ vs. Ⅰ期	4.437 (2.514~7.830)	<0.001	3.823 (2.133~6.852)	<0.001
Beclin-1 表达				
低表达 vs. 高表达	1.804 (1.098~2.963)	0.020	1.727 (1.017~2.934)	0.043
NDRG2 表达				
低表达 vs. 高表达	2.048 (1.264~3.320)	0.004	1.671 (1.023~2.730)	0.040

注:—表示无数据。

3 讨 论

自噬在保护和杀伤肿瘤细胞方面扮演着双重作用,已成为目前肿瘤学研究的一个重要方向^[21-22]。Beclin-1 是细胞自噬过程中的一个关键调节因子,其表达变化也被报道与多种恶性肿瘤的发生发展密切相关。在本研究中,本文通过免疫组织化学发现 Beclin-1 在 ESCC 组织中的表达明显低于癌旁组织,其低表达与肿瘤 TNM 分期和淋巴结转移显著相关,是 ESCC 患者预后不良的独立预测因素。Beclin-1 异常表达及其在肿瘤癌变、进展中的作用已逐渐被认识,多数研究表明,Beclin-1 通过细胞自噬维持基因组的稳定性,在癌变的早期阶段显示出抑制作用。据报道,研究人员在约 58.3% 的卵巢癌、60.0% 的胃癌和 70.0% 的肺癌中观察到了 Beclin-1 的表达缺失^[13,23-24]。ALABIAD 等^[23]的研究表明,Beclin-1 在浆液性卵巢癌组织中的低表达与低分化癌和晚期肿瘤显著相关,是肝癌、乳腺癌等患者复发转移及预后不良的预测标志。这些研究结果表明,Beclin-1 在包括 ESCC 在内的恶性肿瘤中低表达,可能引起细胞自噬活性受到抑制,肿瘤细胞失去自噬能力而逐渐获得逃避细胞凋亡和增殖、侵袭的能力,促进肿瘤的发生与转移。GUO 等^[25]报道 Beclin-1 表达缺失明显加快了食管癌细胞在体外的增殖速度,提高了细胞的抗凋亡与迁移能力。因此,以 Beclin-1 作为治疗靶点抑制 ESCC 的发生和进展,或许可以为改善治疗结果和延长患者生存提供方向。

NDRG2 参与了细胞增殖、分化等多种病理生理过程,作为另一个新发现的肿瘤抑制因子同样备受关注。有研究发现,NDRG2 在多种人类癌症中表达下调,与肿瘤的侵袭性特征与不良预后密切相关^[26-28]。本研究的结果显示,NDRG2 在 ESCC 样本中的表达明显低于癌旁组织,其低表达与更晚的 T 分期、TNM 分期有关,提示 NDRG2 表达缺失可能在 ESCC 的进展中发挥关键作用。本研究发现 NDRG2 低表达患

者的 OS 率明显低于高表达者,NDRG2 是 ESCC 患者的独立预后因子。YANG 等^[20]的研究证实了本文的推测,发现食管癌细胞中的 NDRG2 表达明显低于正常食管上皮细胞,而上调 NDRG2 表达可显著减少细胞在体外形成集落的数量,抑制细胞的侵袭、迁移能力并促进细胞凋亡。体内动物实验也表明 NDRG2 对肿瘤生长具有显著抑制作用。此外,有研究报道了 NDRG2 表达缺失对 EMT 的诱导作用,NDRG2 可通过影响 E-钙黏蛋白、波形蛋白、基质金属蛋白酶的表达,调节肿瘤细胞的侵袭、转移能力^[29-30]。这些数据进一步支持 NDRG2 表达缺失参与了 ESCC 的发生发展,揭示了其作为 ESCC 患者预后分子标志与治疗靶点的潜在价值。

综上所述,本研究发现 Beclin-1 和 NDRG2 在 ESCC 样本中存在明显低表达,两者的表达水平与 T 分期、淋巴结转移和 TNM 分期显著相关,可作为 ESCC 患者预后不良的预测分子。这些信息有助于进一步探索 Beclin-1 和 NDRG2 蛋白在 ESCC 发生发展中的生物学功能及作用机制,并为分子靶向治疗提供潜在靶点。

参考文献

[1]

SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(3):209-249.

[2]

LIANG H, FAN J H, QIAO Y L. Epidemiology, etiology, and prevention of esophageal squamous cell carcinoma in China[J]. Cancer Biol Med, 2017, 14(1):33-41.

[3]

LIN Y, TOTSUKA Y, HE Y, et al. Epidemiology of esophageal cancer in Japan and China[J]. J Epidemiol, 2013, 23(4):233-242.

[4]

ALLEMANI C, MATSUDA T, DI CARLO V, et al. Global surveillance of trends in cancer survival 2000-14 (CONCORD-3):analysis of individual records for 37 513 025 patients diag-

- nosed with one of 18 cancers from 322 population-based registries in 71 countries[J]. *Lancet*, 2018, 391(10125):1023-1075.
- [5] JUNG H K, TAE C H, LEE H A, et al. Treatment pattern and overall survival in esophageal cancer during a 13-year period: a nationwide cohort study of 6,354 Korean patients[J]. *PLoS One*, 2020, 15(4):e0231456.
- [6] SAHA S, PANIGRAHI D P, PATIL S, et al. Autophagy in health and disease: a comprehensive review[J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 104:485-495.
- [7] SAXENA R, KLOCHKOVA A, MURRAY M G, et al. Roles for autophagy in esophageal carcinogenesis: implications for improving patient outcomes[J]. *Cancers (Basel)*, 2019, 11(11):1697.
- [8] ZHOU S, SUN X, JIN Z, et al. The role of autophagy in initiation, progression, TME modification, diagnosis, and treatment of esophageal cancers[J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2022, 175:103702.
- [9] FENG H, WANG N, ZHANG N, et al. Alternative autophagy: mechanisms and roles in different diseases[J]. *Cell Commun Signal*, 2022, 20(1):43.
- [10] XU H D, QIN Z H. Beclin 1, Bcl-2 and Autophagy[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2019, 1206:109-126.
- [11] WECHMAN S L, PRADHAN A K, DESALLE R, et al. New insights into beclin-1: evolution and pan-malignancy inhibitor activity[J]. *Adv Cancer Res*, 2018, 137:77-114.
- [12] DU H, CHEN L, LUO F, et al. Beclin-1 expression is associated with prognosis in a Bcl-2-dependent manner in non-small cell lung cancer[J]. *Oncol Lett*, 2020, 20(4):9.
- [13] GIATROMANOLAKI A, KOUKOURAKIS M I, GEORGIOU I, et al. LC3A, LC3B and Beclin-1 expression in gastric cancer[J]. *Anticancer Res*, 2018, 38(12):6827-6833.
- [14] SHEN M X, DING J B. Expression levels and roles of EMC-6, Beclin1, and Rab5a in the cervical cancer[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2017, 21(13):3038-3046.
- [15] MELOTTE V, QU X, ONGENAERT M, et al. The N-myc downstream regulated gene (NDRG) family: diverse functions, multiple applications[J]. *FASEB J*, 2010, 24(11):4153-4166.
- [16] KIM G, LIM S, KIM K D. N-myc downstream-regulated Gene 2 (NDRG2) function as a positive regulator of apoptosis: a new insight into NDRG2 as a tumor suppressor[J]. *Cells*, 2021, 10(10):2649.
- [17] KANG F, WANG Y, LUO Y, et al. NDRG2 gene expression pattern in ovarian cancer and its specific roles in inhibiting cancer cell proliferation and suppressing cancer cell apoptosis[J]. *J Ovarian Res*, 2020, 13(1):48.
- [18] CUI Y, SHEN G, MA L, et al. Overexpression of NDRG2 promotes the therapeutic effect of pazopanib on ovarian cancer[J]. *J Recept Signal Transduct Res*, 2021, 41(6):546-552.
- [19] GU A, XU J, YE J, et al. Low NDRG2 expression predicts poor prognosis in solid tumors: a meta-analysis of cohort study[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2020, 99(41):e22678.
- [20] YANG C L, ZHENG X L, YE K, et al. NDRG2 suppresses proliferation, migration, invasion and epithelial-mesenchymal transition of esophageal cancer cells through regulating the AKT/XIAP signaling pathway[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2018, 99:43-51.
- [21] FENG F, ZHANG M, YANG C, et al. The dual roles of autophagy in gliomagenesis and clinical therapy strategies based on autophagic regulation mechanisms[J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 120:109441.
- [22] RUSSELL R C, GUAN K L. The multifaceted role of autophagy in cancer[J]. *EMBO J*, 2022, 41(13):110031.
- [23] ALABIAD M, HARB O, MANDOUR D, et al. Prognostic and clinicopathological implications of expression of Beclin-1 and hypoxia-inducible factor 1 α in serous ovarian carcinoma: an immunohistochemical study[J]. *Pol J Pathol*, 2021, 72(1):23-38.
- [24] YU S, CHENG C, WANG J, et al. Loss of Beclin1 expression and Nrf2 overexpression are associated with poor survival of patients with non-small cell lung cancer[J]. *Anticancer Agents Med Chem*, 2018, 18(12):1680-1687.
- [25] GUO Y, LIU Y, YANG H, et al. Associations of porphyromonas gingivalis infection and low Beclin1 expression with clinicopathological parameters and survival of esophageal squamous cell carcinoma patients[J]. *Pathol Oncol Res*, 2021, 27:1609976.
- [26] CHEN W, PENG J, OU Q, et al. Expression of NDRG2 in human colorectal cancer and its association with prognosis[J]. *J Cancer*, 2019, 10(15):3373-3380.
- [27] TAMURA T, ICHIKAWA T, NAKAHATA S, et al. Loss of NDRG2 expression confers oral squamous cell carcinoma with enhanced metastatic potential[J]. *Cancer Res*, 2017, 77(9):2363-2374.
- [28] YAMAMURA A, MIURA K, KARASAWA H, et al. NDRG2, suppressed expression associates with poor prognosis in pancreatic cancer, is hypermethylated in the second promoter in human gastrointestinal cancers[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 484(1):138-143.
- [29] CHEN X L, LEI L, HONG L L, et al. Potential role of NDRG2 in reprogramming cancer metabolism and epithelial-to-mesenchymal transition[J]. *Histol Histopathol*, 2018, 33(7):655-663.
- [30] LEE D G, LEE S H, KIM J S, et al. Loss of NDRG2 promotes epithelial-mesenchymal transition of gallbladder carcinoma cells through MMP-19-mediated Slug expression[J]. *J Hepatol*, 2015, 63(6):1429-1439.