

KIF23基因沉默对肝癌HepG2细胞增殖、迁移及侵袭的影响

刘素娟¹, 林 曲², 柏明军¹, 周楚人¹, 陈俊伟¹, 吴 春¹, 黄明声¹
(中山大学附属第三医院 1.介入血管外科, 2.肿瘤内科, 广东 广州 510630)

摘 要:【目的】研究 KIF23 基因对肝癌 HepG2 细胞体外增殖、迁移及侵袭的影响,并探讨可能的作用机制。【方法】化学合成针对 KIF23 基因的 siRNA,通过脂质体转染至 HepG2 细胞中,应用 qRT-PCR 和 Western blot 法检测转染后 HepG2 细胞中 KIF23 mRNA 和蛋白表达变化。采用 CCK-8 法和平板克隆法检测 KIF23 沉默后对 HepG2 细胞增殖的影响,并通过细胞划痕实验和 Transwell 侵袭实验分别检测 KIF23 沉默后对迁移和侵袭能力的影响。Western blot 法检测 KIF23 基因沉默后对蛋白激酶 B(PKB/Akt)及磷酸化 Akt(p-Akt)蛋白表达的影响。【结果】KIF23-siRNA 能有效沉默 HepG2 细胞中 KIF23 的 mRNA 和蛋白表达(P 值均 <0.01)。CCK-8 实验、平板克隆实验、划痕实验和 Transwell 侵袭实验结果表明,KIF23-siRNA2 干扰组与阴性对照组、空白对照组比较,细胞的增殖、迁移和侵袭能力均明显受到抑制(P 值均 <0.05)。KIF23-siRNA2 干扰组 HepG2 细胞中总 Akt 蛋白的表达水平未发生变化,但磷酸化 Akt 蛋白的表达水平明显下调($P<0.05$)。【结论】KIF23 可能通过激活 Akt 信号转导通路促进人肝癌细胞的增殖、迁移及侵袭能力,KIF23 有望成为肝癌基因治疗的新靶点。

关键词: 肝细胞癌;RNA 干扰;KIF23;细胞增殖;迁移;侵袭

中图分类号: R735.7 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-3554(2018)01-0034-07

Effects of KIF23 Gene Silencing on Proliferation, Migration and Invasion of Human Hepatocellular Carcinoma HepG2 cells

LIU Su-juan¹, LIN Qu², BAI Ming-jun¹, ZHOU Chu-ren¹, CHEN Jun-wei¹, WU Chun¹,
HUANG Ming-sheng¹

(1.Department of Interventional Vascular Surgery, The Third Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510630, China; 2. Department of Medical Oncology, The Third Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University Guangzhou 510630, China)

Corresponding to: HUANG Ming-sheng; E-mail: huangmsh@mail.sysu.edu.cn

Abstract: 【Objective】To investigate the effect of KIF23 gene expression on the proliferation, migration and invasion of human hepatocellular carcinoma HepG2 cells in vitro, and to explore the possible mechanism. 【Methods】The KIF23 siRNA was transfected into HepG2 cells by lipofectamine 3000. The expression of KIF23 mRNA and protein in HepG2 cells was detected by qRT-PCR and Western blot. The effect of silencing KIF23 on the proliferation of HepG2 cells was studied by CCK-8 assay and plate clone formation assay. The tumor cell abilities of migration and invasion after transfection were measured by scratch assay and Transwell assay. The expression of protein kinase B (PKB/Akt) and phosphorylated Akt (p-Akt) protein in HepG2 cells transfected with KIF23-siRNA2 was detected by Western blot. 【Results】KIF23-siRNA could effectively silence the expression of KIF23 mRNA and protein in HepG2 cells ($P<0.01$). The results of CCK-8 assay, plate clone formation assay, scratch assay and Transwell assay demonstrated that the cell proliferation, migration and invasion ability of the KIF23-siRNA2 interference group were significantly inhibited, compared to the negative control group and the blank control group ($P<0.05$). The expression level of total Akt protein in HepG2 cells was not changed, but the expression level of phos-

收稿日期:2017-07-23

基金项目:广东省自然科学基金面上项目(S2012010008705);广东省自然科学基金博士启动项目(2015A030310171)

作者简介:刘素娟,硕士研究生, E-mail:liusujuan1992@126.com;黄明声,通信作者,主任医师,主要从事肝癌研究工作, E-mail: huangmsh@mail.sysu.edu.cn

phorylated Akt protein was down-regulated ($P<0.05$). 【Conclusions】 KIF23 may promote the proliferation, migration and invasion of human hepatocellular carcinoma cells by activating Akt signal transduction pathway. KIF23 is expected to be a new target for gene therapy of hepatocellular carcinoma.

Key words: hepatocellular carcinoma; RNA interference; KIF23; cell proliferation; migration; invasion

[J SUN Yat-sen Univ (Med Sci), 2018, 39(1):34-40]

肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 是肝脏最常见的原发性恶性肿瘤,具有较高的发病率和致死率^[1-2]。由于其具有容易转移复发的特点, HCC 患者常表现为预后不良^[3]。因此,我们需要进一步研究 HCC 转移复发的分子生物学机制,为其诊断和治疗提供新的策略。KIF23 (kinesin family member23) 是驱动蛋白家族中的一名成员,其在细胞运动过程中骨架的改变和细胞分裂过程中纺锤体形成中均有重要作用^[4-6]。近来的研究发现, KIF23 在乳腺癌^[7]、肺癌^[8]、胶质瘤^[9]等多种肿瘤中高表达,且表达水平与肿瘤的恶性程度和预后等密切相关。最近的研究也发现,在肝细胞癌患者肿瘤组织中 KIF23 有高表达^[10]。但驱动蛋白 KIF23 在肝癌发生、发展中的作用尚不清楚。为探究 KIF23 对肝癌细胞生物学行为的影响,本研究采用小干扰 RNA (small interfering RNA, siRNA) 沉默 KIF23 基因在 HepG2 细胞中表达,观察其对肝癌细胞增殖、迁移及侵袭能力的影响,并探讨可能的作用机制。

1 材料与方法

1.1 材料

人肝癌细胞系 HepG2 购自 ATCC; DMEM 细胞培养液、胎牛血清、胰蛋白酶 (美国 Gibco 公司); Lipofectamine3000 转染试剂 (Invitrogen 公司); 反转录试剂盒及 SYBR Premix Ex Taq II™ (Takara 公司); CCK-8 检测试剂盒 (日本同仁化学研究所); Transwell 小室 (美国 Corning 公司); Matrigel 胶 (美国 BD 公司); BCA 定量试剂盒 (上海碧云天公司)。KIF23 和 GAPDH 兔抗人单克隆抗体 (美国 Abcam 公司), 蛋白激酶 B (protein kinase B, PKB/Akt) 和磷酸化 Akt (phosphorylated Akt, p-Akt) 兔抗人多克隆抗体 (美国 Cell Signaling 公司)。阴性对照-siRNA (negative control-siRNA, NC-siRNA)

和 3 条针对 KIF23 基因的 siRNA 序列由广州锐博有限公司设计合成, KIF23-siRNA1 正义链: 5'-CGACAUAACUUACGACAAATT-3'; 反义链: 5'-UUUGUCGUAAGUUAUGUCGTT-3'; KIF23-siRNA2 正义链: 5'-GCUACAGACUCAACCGAAATT-3'; 反义链: 5'-UUUCGGUUGAGUCUGUAGCTT-3'; KIF23-siRNA3 正义链: 5'-GGAUAUACAGUGUGAGGUUTT-3'; 反义链: 5'-AACCCUCACACUGUAUAUCCTT-3'。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养与转染人肝癌细胞系 HepG2 细胞 用含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养液培养 HepG2 细胞,并置于 37 ℃、体积分数 5% CO₂ 培养箱中培养。采用对数生长期的细胞进行转染,转染前 1 天将处于对数生长期的 HepG2 细胞以 5×10⁵ 个/孔的密度接种于 6 孔板中。次日,当 HepG2 细胞密度为 60%~70% 时进行转染,具体操作按 Lipofectamine 3000 说明书进行。设立 NC-siRNA, KIF23-siRNA1, KIF23-siRNA2, KIF23-siRNA3 四组进行筛选合适的 siRNA 干扰 KIF23 基因。

1.2.2 qRT-PCR 法检测 KIF23 mRNA 的表达 分别取转染后 24 h 的各组细胞,加入 Trizol 提取细胞总 RNA,提取出的 RNA 经紫外分光光度计定量。参照 Takara 反转录试剂盒将提取的 RNA 反转录成 cDNA。以此 cDNA 为模板, qRT-PCR 法检测 KIF23 的表达,以 GAPDH 作为内参,采用 2^{-ΔΔCT} 法进行相对定量分析。引物序列, KIF23 上游引物: 5'-AACGCCTGGGAGGAGATACA-3'; 下游引物: 5'-TGGCAAAGGTGGAAAACCTCTG-3'; GAPDH 上游引物: 5'-GATTCCACCCATGGCAAATT-3'; 下游引物: 5'-TCTCGCTCCTGGAAGATGGT-3'。qRT-PCR 的反应条件是: 95 ℃ 3 min, 95 ℃ 5 s, 60 ℃ 30 s, 共 40 个循环。试验重复 3 次。

1.2.3 Western blot 检测 KIF23 蛋白的表达 分别取转染后 48 h 的各组细胞,按比例加入裂解液,充

分裂解后离心、提取细胞总蛋白。经BCA法定量蛋白后,分别取各组蛋白30 μg /孔进行SDS-PAGE凝胶电泳,300 mA恒流1.5 h后将蛋白转移至PVDF。用含5%脱脂牛奶室温封闭1 h,加入相应抗体,4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜,TBST洗3次,每次5 min;加入二抗,室温孵育2 h,TBST洗3次,每次5 min,拿到暗房进行曝光,胶片扫描后应用Image J图像分析软件进行灰度分析。试验重复3次。

1.2.4 CCK-8法检测KIF23对HepG2细胞增殖能力的影响 将生长至对数期的细胞进行胰酶消化、收集并离心,培养液重悬后进行细胞计数,并稀释至 $1\times 10^5/\text{mL}$ 。往96孔板进行接种,每孔100 μL 细胞悬浮液,即每孔接种约 1×10^4 个。培养箱培养过夜,按上述方法进行转染,并继续培养。实验分为3组,空白对照组(CON)、阴性对照组(转染NC-siRNA)、干扰组(转染干扰效果最强的KIF23-siRNA2)。每组设置5个复孔,分别于培养24、48、72、96 h后加入CCK-8试剂,每孔10 μL ,放入37 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱孵育2 h。最后进行检测(酶标仪波长450 nm),记录OD值。

1.2.5 平板克隆形成实验 分别收集各组对数生长期细胞,常规消化计数后, 1×10^3 个/孔接种于6孔板,每组设3个复孔,培养10 d后,待出现肉眼可见克隆时,弃去培养液,PBS冲洗后,甲醇溶液固定细胞15 min后,用苏木素染色15 min,光学显微镜下观察细胞,并计算细胞数 >50 个克隆个数。

1.2.6 划痕实验检测细胞的迁移能力 收集生长至对数期的细胞往6孔板进行接种,每孔接种约 5×10^5 个。培养箱培养过夜,分组进行转染,并继续培养。至培养达90%~100%汇合,用10 μL 移液枪头进行划痕,PBS洗三遍,尽量将划出来的细胞洗掉。再添加无血清培养液继续培养,分别于0、24、48 h置于高倍显微镜下对划痕距离拍照。对每组中的划痕距离进行测量,进行平均值计算,24、48 h对应的划痕距离与0 h的划痕距离的差值即为该时间段的迁移距离。每组实验设置3个复孔。

1.2.7 Transwell实验检测细胞的侵袭能力 用无血清DMEM培养液将Matrigel胶按照1:6的比例进行稀释,取100 μL 的稀释液包被Transwell小室底部膜的上室。将分组转染,并培养24 h的HepG2细胞常规消化,离心后再用无血清培养液重悬细胞,计数并稀释成 $3\times 10^5/\text{mL}$,取100 μL 种入Transwell小室内,下室为600 μL 15% FBS +

DMEM培养过夜。培养24 h后,小心取出各个上室,40 g/L多聚甲醛溶液固定10 min,甲醇室温下对细胞进行通透处理20 min,0.1%结晶紫染液染色室温下20 min,并用湿棉签小心将上室内膜表面的细胞擦掉;自然风干后显微镜下各组随机选取6个视野观察拍照并计数求平均值。每组实验设置3个复孔。

1.2.8 Western blot法检测KIF23-siRNA2转染后对Akt及p-Akt蛋白表达的影响 KIF23-siRNA2转染HepG2细胞48 h后,分别收集各组细胞,采用Western blot法检测Akt及p-Akt蛋白的表达,具体步骤参照1.2.3节,试验重复3次。

1.3 统计学分析

采用SPSS 17.0统计学软件进行统计分析。本研究中的各项实验均独立重复3次,所有结果以均数 \pm 标准差表示,多组间比较使用单因素方差分析,组内两两比较采用LSD-*t*检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

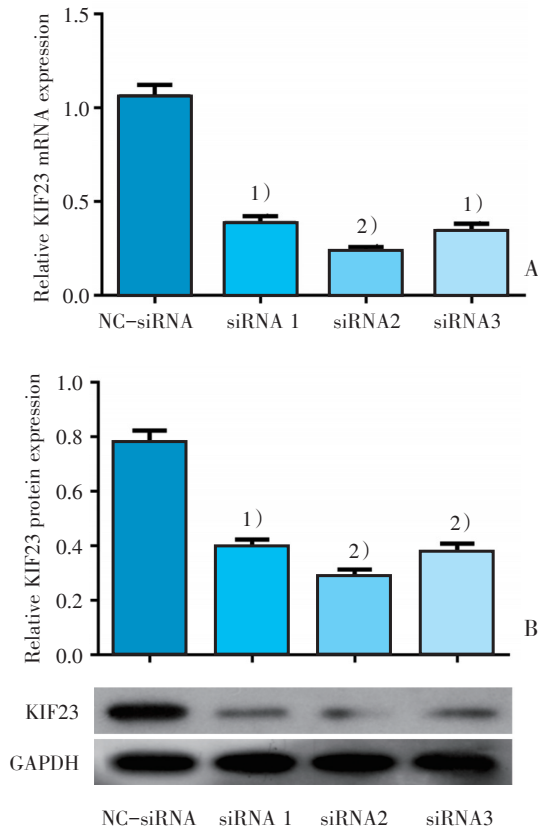
2.1 siRNA干扰对HepG2细胞中KIF23表达的影响

qRT-PCR结果显示,在HepG2细胞中转染KIF23-siRNA1, KIF23-siRNA2, KIF23-siRNA3的各组分别与阴性对照组比较,KIF23 mRNA的相对表达水平均明显下降,差异具有统计学意义($F=236.8, P<0.001$; LSD-*t*=19.50, $P<0.001$; LSD-*t*=24.02, $P=0.002$; LSD-*t*=20.76, $P<0.001$; 图1A),且KIF23-siRNA2组的KIF23相对表达强度低于KIF23-siRNA1, KIF23-siRNA3两组。

Western blot结果显示,在HepG2细胞转染KIF23-siRNA1, KIF23-siRNA2, KIF23-siRNA3的各组分别与阴性对照组间比较,KIF23蛋白的相对表达均明显下降,差异有统计学意义($F=128.7, P<0.001$; LSD-*t*=14.09, $P<0.001$; LSD-*t*=18.11, $P=0.001$; LSD-*t*=14.76, $P=0.004$; 图1B),且KIF23-siRNA2组的KIF23表达强度稍低于干扰KIF23-siRNA1, KIF23-siRNA3两组。因此选用转染KIF23-siRNA2进行后续实验。

2.2 KIF23基因沉默对HepG2细胞增殖能力的影响

CCK-8法检测结果显示,KIF23-siRNA2干扰



NC- siRNA: HepG2 cells transfected with negative control (NC)-siRNA; KIF23-siRNA1, KIF23-siRNA2, KIF23-siRNA3: HepG2 cells transfected with KIF23-siRNA1, KIF23-siRNA2, KIF23-siRNA3, respectively. 1) $P < 0.001$, vs NC-siRNA group; $n=3$. 2) $P < 0.01$, vs NC-siRNA group; $n=3$.

图1 分别采用qPCR(A)与Western blotting法(B)检测KIF23-siRNA对HepG2细胞中KIF23 mRNA及蛋白表达的影响

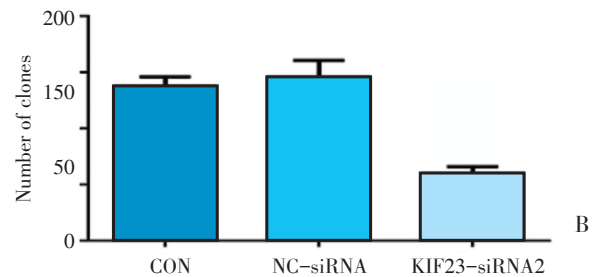
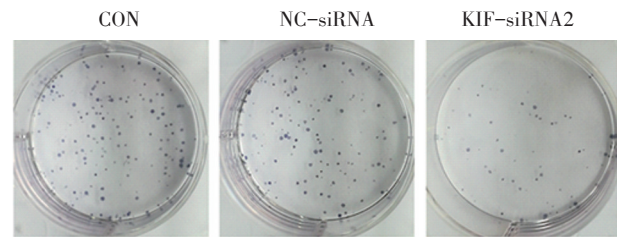
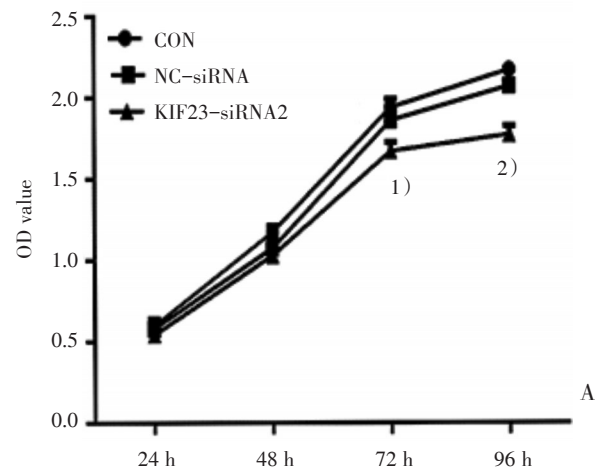
Fig.1 The expression levels of KIF23 mRNA (A) and protein (B) in HepG2 cells transfected with KIF23-siRNA were detected by qPCR and Western blotting, respectively

组在转染后 24、48 h 两个时间段 3 组细胞的 OD 值无明显区别 (24 h $F=2.814$, $P=0.137$; 48 h $F=3.489$, $P=0.098$)。而 72 h 后干扰组 OD 值为 1.668 ± 0.054 ; 空白组与阴性组分别为 1.936 ± 0.052 ; 1.857 ± 0.060 ; 96 h 后干扰组 OD 值为 1.770 ± 0.054 ; 空白组与阴性组分别为 2.169 ± 0.003 ; 2.067 ± 0.006 , 干扰组和空白组、阴性组两两比较, 差异具有统计学意义, 增殖能力明显受到抑制 (72 h $F=18.33$, $P=0.003$; $LSD-t=5.889$, $P=0.001$; $LSD-t=4.163$, $P=0.006$; 96 h $F=128.8$, $P < 0.001$; $LSD-t=15.45$, $LSD-t=11.50$, P 值均 < 0.001 , 图 2A)。以上

结果提示沉默 KIF23 表达能够抑制肝癌 HepG2 细胞的增殖。

2.3 KIF23 基因沉默对 HepG2 细胞克隆形成能力的影响

细胞平板克隆形成实验结果显示, KIF23-siRNA2 干扰组的细胞克隆形成数 (59.7 ± 6.1) 明显低于 2 个对照组 (137.3 ± 8.6)、(146.3 ± 14.0), 差异有统计学意义 ($F=66.35$, $P < 0.001$; $LSD-t=9.39$,



CON: HepG2 cells without transfection; NC- siRNA: HepG2 cells transfected with NC- siRNA; KIF23- siRNA2: HepG2 cells transfected with KIF23-siRNA2. 1) $P < 0.01$, vs CON and NC-siRNA groups; $n=3$. 2) $P < 0.001$, vs CON and NC-siRNA groups; $n=3$.

图2 CCK-8法(A)和平板克隆形成实验(B)分别检测KIF23基因沉默对HepG2细胞增殖和克隆形力的影响

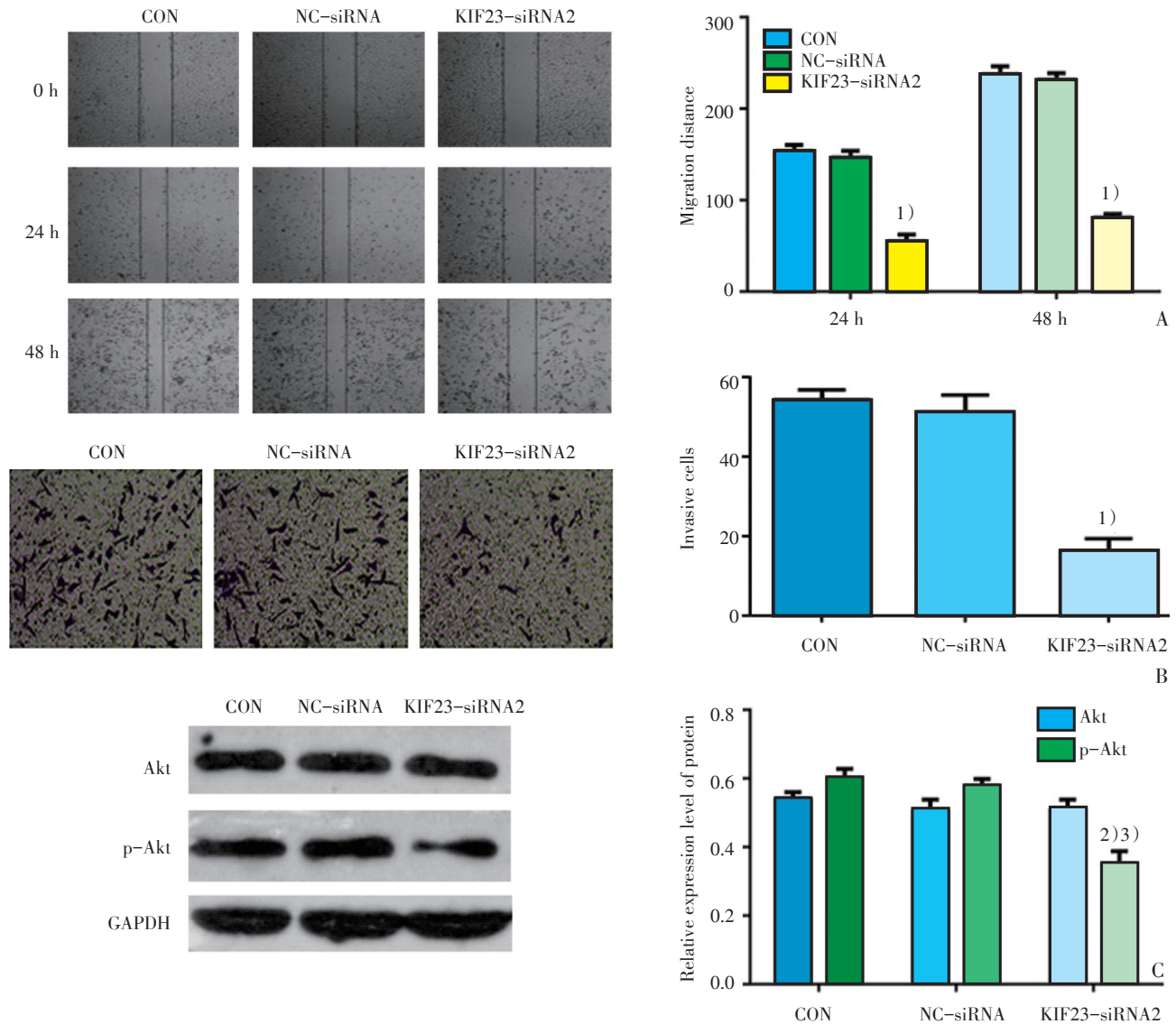
Fig.2 Effects of KIF23 gene silencing on proliferation and clone formation of HepG2 cells were detected by CCK-8 assay (A) and plate clone formation assay (B), (Hematoxylin staining), respectively

LSD- $t=10.48$, P 值均 <0.001 , 图2B), 而2个对照组间比较, 差异无统计学意义($P=0.318$), 提示沉默KIF23表达可明显抑制肝癌HepG2细胞的克隆形成能力。

2.4 KIF23基因沉默后对HepG2细胞迁移能力的影响

划痕实验测量结果显示: 24 h后空白对照组, 阴性对照组, KIF23-siRNA2干扰组的迁移距离分别为 (153.0 ± 7.2) 、 (147.3 ± 6.7) 、 (55.3 ± 6.8) μm , 48 h

后迁移距离分别为 (237.3 ± 9.0) 、 (232.3 ± 6.4) 、 (81.3 ± 3.5) μm 。24 h、48 h KIF23-siRNA2干扰组迁移距离均显著低于空白对照组、阴性对照组, 且干扰组与空白组、阴性组比较, 差异均有统计学意义(24 h $F=189.6$, $P<0.001$; LSD- $t=17.58$, LSD- $t=16.56$, P 值均 <0.001 ; 48 h $F=524.0$, $P<0.001$; LSD- $t=28.09$, LSD- $t=27.19$, P 值均 <0.001 , 图3A)。结果提示, 沉默KIF23基因表达后, 肝癌HepG2细胞的迁移能力受到明显抑制。



Cells were detected by wound healing assay (A, $\times 40$) and Transwell invasion assay (B, crystal violet staining, $\times 100$), respectively. The expression levels of Akt and phospho-Akt (p-Akt) proteins in HepG2 cells transfected with KIF23-siRNA2 were detected by Western blotting (C). CON: HepG2 cells without transfection; NC-siRNA: HepG2 cells transfected with negative control (NC)-siRNA; KIF23-siRNA2: HepG2 cells transfected with KIF23-siRNA2. 1) $P<0.001$, vs CON and NC-siRNA groups; $n=3$; 2) $P<0.01$, vs NC-siRNA group; $n=3$; 3) $P<0.05$, vs CON group; $n=3$

图3 KIF23基因沉默对HepG2细胞迁移、侵袭能力和磷酸化Akt蛋白表达的影响

Fig.3 Effects of KIF23 gene silencing on migration, invasion and the phospho-Akt (p-Akt) proteins expression of HepG2

2.5 KIF23 基因沉默后对 HepG2 细胞侵袭能力的影响

Transwell 侵袭实验结果显示:KIF23-siRNA2 干扰组侵袭至小室膜下的细胞数为每个高倍视野(16.3 ± 3.1)个,显著少于空白对照组的(54.3 ± 2.5)个和阴性对照组的(51.3 ± 4.2)个,差异均有统计学意义($F=121.7, P<0.001$; $LSD-t=14.03, LSD-t=12.92, P$ 值均 <0.001 ,图 3B)。结果提示,沉默 KIF23 基因表达后,肝癌 HepG2 细胞的侵袭能力受到明显抑制。

2.6 KIF23 基因沉默对 HepG2 细胞中 Akt 信号通路相关蛋白表达的影响

Western blot 检测结果显示,与空白对照组及阴性对照组细胞相比,KIF23-siRNA2 干扰组细胞中 p-Akt 蛋白的表达水平受到明显的抑制,差异均有统计学意义($F=78.33, P<0.001$; $LSD-t=8.678, P=0.013$; $LSD-t=17.60, P=0.003$; 图 3C);而总 Akt 蛋白的表达水平在 3 组中没有明显的变化($F=1.398, P=0.217$)。以上结果表明,KIF23 可能是通过活化 Akt 信号通路而发挥其促进 HepG2 细胞增殖和侵袭的作用。

3 讨论

驱动蛋白是 1985 年由 Vale 等^[11]在鱿鱼的轴突中首次发现的,是真核细胞中一类具有 ATP 酶活性的马达蛋白。随着研究深入,迄今为止发现了 40 余种驱动蛋白,分为 14 个家族。驱动蛋白超家族可调控多种细胞功能,主要参与微管运动的调节。此外,在真核细胞的有丝分裂和减数分裂过程中也起重要作用,可参与纺锤体和中间体的形成、染色体的分离等^[12]。驱动蛋白类的微管相关运动蛋白由于其在分裂细胞的关键功能中的作用而成为有吸引力的抗癌靶标。许多相关的驱动蛋白抑制剂已经应用到临床阶段,其治疗潜力可能在未来几年内更明显^[13-14]。因此,探索驱动蛋白在肿瘤发生发展中的作用及相关机制具有重要意义。

KIF23 是由 Nislow 等^[4]首先鉴定发现的,作为体外移动反向平行微管的正末端运动酶,是驱动蛋白家族-6 中的成员之一,属于 N 型驱动蛋白,这种蛋白质在 N 末端区域含有驱动蛋白超家族的马达结构^[15]。Davies 等^[16]研究发现中心纺锤体由

KIF23 和非运动亚单位 CYK4 组成 2:2 异源四聚体,KIF23 从而通过影响纺锤体中期形成从而在细胞分裂中发挥作用。

驱动蛋白的表达或功能异常在肿瘤的发生发展中起重要作用^[17]。研究发现 KIF23 在正常组织中低表达或阴性表达,但是在许多肿瘤,如乳腺癌、肺癌、胶质瘤中均可检测到 KIF23 的高表达^[7-9],并且其异常表达与肿瘤的恶性程度、转移及预后有一定的关系。Kato 等^[8]研究发现大多数肺癌组织或细胞系中 KIF23 表达水平均较高,并且 KIF23 表达高的患者预示着更差的预后和更高的复发率。Iltzsche^[18]等发现 RNA 干扰介导 KIF23 的耗竭能够抑制体内肺肿瘤形成,并诱导肺癌细胞凋亡。在肝细胞癌中 KIF23 的作用也开始受到关注,Sun 等^[10]研究发现在肝细胞癌患者切除的肿瘤组织中 KIF23 高表达。但 KIF23 在肝细胞癌发生发展进程中所起的作用尚不清楚。本研究通过运用 RNA 干扰技术,下调肝癌细胞系 HepG2 细胞中 KIF23 的表达,探讨 KIF23 对肝癌细胞生物学行为的影响。qRT-PCR 和 Western blot 结果提示,KIF23-siRNA 能够成功下调 KIF23 在 HepG2 细胞中的表达。并且下调 KIF23 后,肝癌细胞的增殖能力明显抑制。

驱动蛋白在微管解聚和聚合运动过程中起到重要作用^[19],而微管与恶性肿瘤的侵袭转移过程密切相关^[20]。考虑到 KIF23 的微管结合及转运细胞内物质等功能,推测它在肿瘤细胞迁移侵袭中也发挥作用。本研究运用 KIF23-siRNA2 转染 HepG2 细胞后,运用划痕实验与 Transwell 实验证明了细胞的迁移和侵袭能力均下降了,并且 HepG2 细胞中 p-Akt 的表达受到明显抑制。由此提示在 HepG2 细胞中,KIF23 可能主要通过下调 Akt 的磷酸化水平来发挥抑制细胞增殖、迁移及侵袭作用,但具体的调控机制仍不清楚,有待进一步研究。今后我们也将探究 KIF23 在肝癌组织标本的表达情况及其临床意义,并通过动物实验继续探讨 KIF23 对体内肿瘤转移能力的影响。

综上所述,本研究初步探讨了 KIF23 基因在 HepG2 细胞的作用,证明了 KIF23 的下调抑制了肝癌细胞的增殖、迁移及侵袭,并且可能主要通过调节 Akt 的磷酸化水平来发挥作用。KIF23 基因有可能作为肝癌基因治疗良好的潜在靶点,为药物研发提供新的依据。

参考文献:

- [1] Torre LA, Bray F, Siegel RL, et al. Global cancer statistics, 2012 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2015, 65(2): 87-108.
- [2] Forner A, Llovet JM, Bruix J. Hepatocellular carcinoma [J]. *Lancet*, 2012, 379(9822): 1245-1255.
- [3] Fitzmorris P, Shoreibah M, Anand BS, et al. Management of hepatocellular carcinoma [J]. *J Cancer Res Clin*, 2015, 42(5): 1208-1236.
- [4] Nislow C, Lombillo VA, Kuriyama R, et al. A plus-end-directed motor enzyme that moves antiparallel microtubules in vitro localizes to the interzone of mitotic spindles [J]. *Nature*, 1992, 359(6395): 543-547.
- [5] Liu X, Zhou T, Kuriyama R, et al. Molecular interactions of Polo-like-kinase 1 with the mitotic kinesin-like protein CHO1/MKLP-1 [J]. *J Cell Sci*, 2004, 117(15): 3233-3246.
- [6] Glotzer M. The molecular requirements for cytokinesis [J]. *Science*, 2005, 307(5716): 1735-1739.
- [7] Zou JX, Duan Z, Wang J, et al. Kinesin family deregulation coordinated by bromodomain protein ANCCA and histone methyltransferase MLL for breast cancer cell growth, survival, and tamoxifen resistance [J]. *Mol Cancer Res*, 2014, 12(4): 539-549.
- [8] Kato T, Wada H, Patel P, et al. Overexpression of KIF23 predicts clinical outcome in primary lung cancer patients [J]. *Lung Cancer*, 2016, 92: 53-61.
- [9] Takahashi S, Fusaki N, Ohta S, et al. Downregulation of KIF23 suppresses glioma proliferation [J]. *J Neurooncol*, 2012, 106(3): 519-529.
- [10] Sun X, Jin Z, Song X, et al. Evaluation of KIF23 variant 1 expression and relevance as a novel prognostic factor in patients with hepatocellular carcinoma [J]. *BMC Cancer*, 2015, 15(1): 961-969.
- [11] Vale RD, Reese TS, Sheetz MP. 1985a. Identification of a novel force-generating protein, kinesin, involved in microtubule-based motility [J]. *Cell*, 1985, 42(1): 39-50.
- [12] Miki H, Okada Y, Hirokawa N. Analysis of the kinesin superfamily: Insights into structure and function [J]. *Trends Cell Biol*, 2005, 15(9): 467-476.
- [13] Myers SM, Collins I. Recent findings and future directions for inter-polar mitotic kinesin inhibitors in cancer therapy [J]. *Future Med Chem*, 2016, 8(4): 463-489.
- [14] Matsuno K, Sawada J, Asai A. Therapeutic potential of mitotic kinesin inhibitors in cancer [J]. *Expert Opin Ther Pat*, 2008, 18(3): 253-274.
- [15] Wittmann T, Hyman A, Desai A. The spindle: A dynamic assembly of microtubules and motors [J]. *Nat Cell Biol*, 2001, 3(1): E28-34.
- [16] Davies T, Kodera N, Kaminski SG, et al. CYK4 promotes antiparallel microtubule bundling by optimizing MKLP1 neck conformation [J]. *PLoS Biol*, 2015, 13(4): e1002121.
- [17] Rath O, Kozielski F. Kinesins and cancer [J]. *Nat Rev Cancer*, 2012, 12(8): 527-539.
- [18] Iltzsche F, Simon K, Stopp S, et al. An important role for Myb-MuvB and its target gene KIF23 in a mouse model of lung adenocarcinoma [J]. *Oncogene*, 2017, 36(1): 110-121.
- [19] Sablin EP. Kinesins and microtubules: Their structures and motor mechanisms [J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2000, 12(1): 35-41.
- [20] Kline-Smith SL, Walczak CE. Mitotic spindle assembly and chromosome segregation: Refocusing on microtubule dynamics [J]. *Mol Cell*, 2004, 15(3): 317-327.

(编辑 孙慧兰)