

其他肿瘤

DOI:10.13406/j.cnki.cyx.001683

KIAA1456 抑制人卵巢癌裸鼠皮下移植瘤的生长

高燕洪, 王 佳, 张应凤

(重庆医科大学附属大学城医院妇产科, 重庆 401331)

【摘要】目的:探讨 KIAA1456 对人卵巢癌细胞株 HO-8910PM 裸鼠皮下移植瘤生长的影响。**方法:**将 15 只裸鼠随机分成 3 组:空白组(PM 组),阴性对照组[PM(NC)组],实验组[PM(KIAA1456)组]。利用人卵巢癌细胞株 HO8910PM 及本课题组前期通过慢病毒介导建立的阴性对照组细胞株 HO8910PM(NC)和过表达 KIAA1456 的细胞株 HO8910PM(KIAA1456)分别在空白组、阴性对照组、实验组建立裸鼠皮下移植瘤,待成瘤成功后,分别用 PBS 缓冲液和携带针对随机无关序列(NC)的慢病毒液 Lentivirus-NC(作为阴性对照, LV-NC),携带 KIAA1456 病毒液 Lentivirus-KIAA1456(LV-KIAA1456)每隔 4 d 进行一次瘤内定点注射治疗至 28 d 处死裸鼠,绘制肿瘤生长曲线并计算抑瘤率;采用实时荧光定量 PCR 和 Western blot 检测移植瘤组织中 KIAA1456 的表达情况;免疫组化检测移植瘤中 ki-67 和 PCNA 的表达情况。**结果:**HO8910PM(KIAA1456)移植瘤组 KIAA1456 表达量明显高于阴性对照组和空白对照组($P=0.000$);28 d 后处死裸鼠,HO8910PM(KIAA1456)组皮下移植瘤的体积明显小于阴性对照组和空白对照组($P=0.000$),抑瘤效果明显;移植瘤组织中 KIAA1456 的表达上调,ki-67 和 PCNA 表达明显下调。HO8910PM(KIAA1456)组移植瘤组织中 ki-67 和 PCNA 的表达明显低于阴性对照组和空白对照组,差异具有统计学意义($P=0.000$)。**结论:**过表达 KIAA1456 基因对人上皮性卵巢癌细胞 HO8910PM 裸鼠皮下成瘤的生长具有抑制作用,有望成为卵巢癌基因治疗的新靶点。

【关键词】卵巢癌;KIAA1456;裸鼠;组织移植瘤;基因治疗

【中图分类号】R737.31

【文献标志码】A

【收稿日期】2017-04-24

Inhibition of KIAA1456 on subcutaneous xenografts of human epithelial ovarian carcinoma in nude mice

Gao Yanhong, Wang Jia, Zhang Yingfeng

(Department of Obstetrics and Gynecology, University-Town Hospital, Chongqing Medical University)

【Abstract】Objective: To investigate the effect of KIAA1456 on the growth of subcutaneous xenografts of human epithelial ovarian cancer cell line HO-8910PM in nude mice. **Methods:** Fifteen SPF female BALB/c-nu nude mice were randomly divided into three groups: blank group (PM), negative control group [PM(NC)], experimental group [PM(KIAA1456)]. The human ovarian cancer cell line HO8910PM, the negative control group HO8910PM(NC) and the cell line HO8910PM over expression KIAA1456 [HO8910PM(KIAA1456)] were inoculated respectively into subcutaneous of each group to establish subcutaneous xenografts model in nude mice. After the tumor was successfully formed, the PBS buffer, venous fluid LV-NC and LV-KIAA1456 were respectively intratumoral injected in three groups for every four days. The nude mice were killed at the 28th day. The tumor growth curve was drawn and the tumor inhibition rate was calculated. The expression level of KIAA1456 mRNA and protein in xenografts was detected by Real-time fluorogenic quantitative PCR and Western blot. The expression of ki-67 and PCNA was detected by immunohistochemistry. **Results:** The expression of KIAA1456 in the HO8910PM(KIAA1456) xenografts group was significantly higher than that in the negative control group and blank control group ($P=0.000$). The volume of subcutaneous xenografts in HO8910PM(KIAA1456) group was significantly smaller than that in the negative control group and blank control group ($P=0.000$). The expression of ki-67 and PCNA in the HO8910PM(KIAA1456) group was significantly lower than that in the negative control group and the blank control group, with statistically significant differences ($P=0.000$).

Conclusion: Overexpression of KIAA1456 inhibits the growth of human epithelial ovarian cancer cell HO8910PM in nude mice subcutaneously, which is expected to be a new target for oncogene therapy.

【Key words】ovarian cancer; KIAA1456; nude mice; tissue transplanted tumor; gene therapy

作者介绍:高燕洪, Email:305882060@qq.com,

研究方向:妇科肿瘤。

通信作者:王 佳, Email:752203031@qq.com。

基金项目:重庆市渝中区科技计划资助项目(编号:20150116);重庆市妇科微创诊治特色专科资助项目(编号:渝卫科教 2013 [46])。

优先出版: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20180504.1103.004.htm>

(2018-05-04)

上皮性卵巢癌是目前世界上致死率最高的一种妇科恶性肿瘤^[1-2]。因其临床症状隐匿,诊断时75%的患者已属晚期。因此寻求新的卵巢癌治疗方法具有重要意义。近年来,随着分子生物学的研究进展,靶向基因治疗成为治疗肿瘤的热点,这其中也包括卵巢肿瘤。研究表明,某些酶对转移核糖核酸(tRNA)的修饰作用在人类疾病的发生发展过程中起重要影响。tRNA 的异常修饰可能与肿瘤、神经系统疾病等密切相关^[3-5]。tRNA 甲基转移酶 9 样蛋白(human tRNA methyltransferase 9-like protein, hTRM9L)能介导催化未成熟的 tRNA 前体形成成熟的 tRNA,其编码基因位于 8 号染色体末端,命名为 KIAA1456。Begley 等^[6]发现在睾丸癌、乳腺癌及卵巢癌等中 KIAA1456 明显低表达,同类肿瘤中,恶性程度越高, KIAA1456 的表达量越少。本课题组前期研究证实,在卵巢癌细胞株 HO8910PM 过表达 KIAA1456 后,其体外生长受到明显抑制^[7]。本研究为进一步证实 KIAA1456 的抑癌作用,利用前期建立稳定过表达 KIAA1456 的人卵巢癌细胞株 HO8910PM 接种到裸鼠皮下构建裸鼠皮下移植瘤模型,并观察 KIAA1456 对肿瘤形成及生长的抑制作用,为临床治疗卵巢癌提供新的思路及理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞 人卵巢癌细胞株 HO8910PM 由重庆医科大学超生实验室惠赠,利用慢病毒介导过表达 KIAA1456 的 HO8910PM 细胞株和阴性对照细胞株由本课题前期试验完成,并经过鉴定^[7]。

1.1.2 试剂 过表达基因 KIAA1456 慢病毒液(LV-KIAA1456)和空载慢病毒液(LV-NC)购自上海吉凯基因公司;RPMI1640 培养基和胎牛血清购自 Gibco 公司;KIAA1456 抗体购自 Abcam 公司;内参 GAPDH 二抗、RIPA 蛋白裂解液、丝氨酸蛋白酶抑制剂苯甲基磺酰氟(phenylmethanesulfonyl fluoride, PMSF)、BCA(二喹啉甲酸)蛋白定量试剂盒、十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺(SDS-PAGE)试剂盒均购自碧云天生物公司;Trizol 总 RNA 提取试剂盒、逆转录试剂盒均购自 Takara 公司;Ki-67 和 PCNA 抗体购自 CST 公司。

1.1.3 裸鼠 无特定病原体(specific pathogen-free, SPF)级雌性 BALB/c 裸鼠 15 只,4~6 周龄,体质量为 16~18 g,购自北京华阜康生物科技股份有限公司,实验动物许可证号:SCXK(京)2014-0004。饲料由重庆医科大学动物实验中心提供,饲料、饮水、垫料均经高压蒸汽灭菌处理。水和饲料自由饮食。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养及细胞悬液的制备 分别将空白对照组细胞 HO8910PM,阴性对照组细胞株 HO8910PM(NC)和慢病毒介导过表达 KIAA1456 的细胞株 HO8910PM(KIAA1456)从液氮罐中取出复苏,然后置于细胞培养箱中传代培养。待其处于对数生长期,经胰酶消化,离心弃上清液后重悬于不含血清的 RPMI1640 培养基中并计数,用胎牛血清调整浓度,稀释成 $5 \times 10^6/200 \mu\text{L}$ 的细胞悬液置于冰盒中暂存,备用。

1.2.2 裸鼠皮下移植瘤模型的建立 将 15 只无特定病原体(SPF)级雌性 BALB/c 裸鼠用随机数表法分为 3 组,每组 5 只,分别命名为空白对照组(PM 组)、阴性对照组[PM(NC)组]、实验组[PM(KIAA1456)组]。将 HO8910PM、HO8910PM(NC)、HO8910PM(KIAA1456)3 组细胞悬液用 1 mL 注射器分别注射于空白对照组、阴性对照组、实验组 3 组裸鼠左前肢腋下皮肤下,每只裸鼠注射量为 $5 \times 10^6/200 \mu\text{L}$ 。注射 7 d 后观察成瘤率(以肿瘤体积为 3~4 mm³ 为肿瘤建模成功)。成瘤后,①空白对照组瘤内定向注射 PBS 50 μL ;②阴性对照组瘤内定向注射空载慢病毒液 LV-NC 50 μL ;③实验组瘤内定向注射携带过表达载体慢病毒液 LV-KIAA1456 50 μL 。每隔 4 d 注射 1 次,同时用游标卡尺测量肿瘤最大径(a)和最大横径(b),并根据体积计算公式 $VT(\text{mm}^3) = \pi/6 \times a \times b^2$ 计算各组肿瘤体积,制作生长曲线。28 d 后处死裸鼠,测量肿瘤体积大小及质量,并计算抑瘤率(%)=(空白对照组平均瘤重-基因过表达组平均瘤重)/空白对照组平均瘤重 $\times 100\%$ 。部分肿瘤组织保存于液氮中,部分肿瘤组织常规石蜡包埋切片。

1.2.3 移植瘤组织中总 RNA 提取及 RT-PCR 将空白对照组、阴性对照组、实验组各组肿瘤组织分别在液氮环境下研磨成粉末状后再加入 TRIZOL 试剂,以 200 mg/1 000 μL 。提取步骤按 TRIZOL 操作说明书进行。采用 Thermo 光谱仪测定 RNA 纯度,根据 Takara 逆转录试剂盒说明书逆转录反应合成 KIAA1456 cDNA,采用 SYBR@Green 试剂及 PCR 仪扩增 KIAA1456 及 GAPDH,算出相应 Ct 值,使用 2^{- $\Delta\Delta\text{Ct}$} 法来计算相对 mRNA 含量,分析各组之间 KIAA1456 表达差异。KIAA1456 上游引物:5'-CCGGAGGCCAACTGATGATTT-3',下游引物:5'-CAGAAGAGCTACTCAGAGC-3';GAPDH 上游引物 5'-CACCACAGGACAGTACAGGAT-3',下游引物:5'-CGTGCTGAATAATACCACTCA-3'。

1.2.4 移植瘤组织中总蛋白提取及 Western blot 检测 根据 RIPA 蛋白裂解液操作说明书分别提取 3 组肿瘤组织总蛋白,经 BCA 法蛋白定量后加入蛋白缓冲液稀释,在 SDS-PAGE 分离孔中加入样品 35 μg 体系分离蛋白,然后将蛋白转移到 PVDF 膜,用 5%的脱脂奶粉封闭 1 h,孵育兔抗人 KIAA1456 抗体(1:1 000),兔抗人 GAPDH 抗体(1:1 000)4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜。洗涤后分别加入二抗山羊抗兔(1:5 000)37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 60 min,洗涤后,加入 ECL 发光剂,用 Image-lab 显影,作灰度值分析。

1.2.5 移植瘤组织的免疫组织化学检测 将 3 组肿瘤组织分别经常规石蜡包埋、切片、脱蜡和水化后,经柠檬酸缓冲液抗

原修复,分别加入兔抗人 KI-67 单克隆抗体工作液和兔抗人 PCNA 单克隆抗体工作液,4 ℃ 孵育过夜,PBS 漂洗 3 次。再加入山羊抗兔二抗工作液,室温孵育 30 min,PBS 洗涤 3 次后,经 PAB 显色,苏木精对比复染。采用 IPP6.0 软件检测各组移植瘤组织免疫组化切片积分光密度值(integrated option density,IOD),平均 IOD 值=积分 IOD/图片总面积(Sum Area)。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 19.0 统计软件,服从正态分布数据用均值 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,各组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 Bonferroni 法;不服从正态分布数据采用中位数(M) ± 四分位数间距(Q)表示,进行 Kruskal-Wallis 秩和检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 皮下移植瘤生长情况及结果

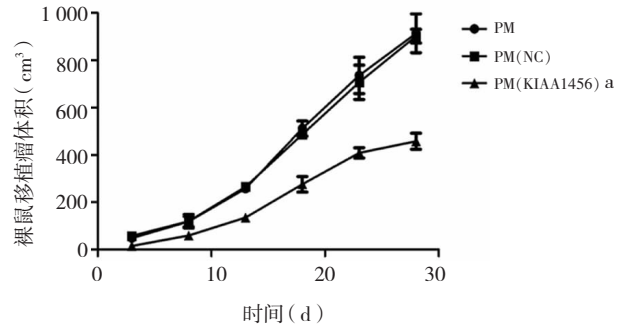
经病理证实空白对照组、阴性对照组、实验组 3 组裸鼠成瘤率为 80%。在成瘤成功后分别给予不同的干预措施(慢病毒液或 PBS 瘤内定点注射),28 d 处死裸鼠,剥离皮下移植瘤。实验组肿瘤生长速度明显小于空白对照组和阴性对照组,如图 1A 所示。实验组肿瘤体积为(458.223 ± 39.336) mm³;空白对照组肿瘤体积为(914.048 ± 94.674) mm³;阴性对照组肿瘤体积为(902.335 ± 33.661) mm³,差异具有统计学意义($F=69.592, P=0.000$),空白对照组和阴性对照组肿瘤体积无差异($P=1.000$),实验组肿瘤体积明显小于空白对照组和阴性对照组,有统计学意义($P=0.000$)(表 1、图 1B)。实验组肿瘤质量为(0.493 ± 0.025) g;空白对照组肿瘤质量为(0.725 ± 0.025) g;阴性对照组肿瘤质量为(0.753 ± 0.033) g,差异具有统计学意义($F=104.181, P=0.000$),空白对照组和阴性对照组肿瘤质量无差异($P=0.594$),实验组肿瘤质量明显小于空白对照组和阴性对照组,有统计学意义($P=0.000$),抑瘤率为 34.437% 和 32.192%(表 1)。在整个实验过程中,各组裸鼠皮肤注射部位均未出现破溃、糜烂及坏死现象,各组裸鼠均死亡 1 只。早期裸鼠的饮食、体质量、精神活动情况没有明显改变,随着肿瘤的形成并逐渐增大,裸鼠逐渐消瘦、活动减少、反应迟钝。

表 1 3 组裸鼠皮下移植瘤平均体积大小及重量比较

Tab.1 Comparison of weights and volume of subcutaneous tumors in nude mice in three groups

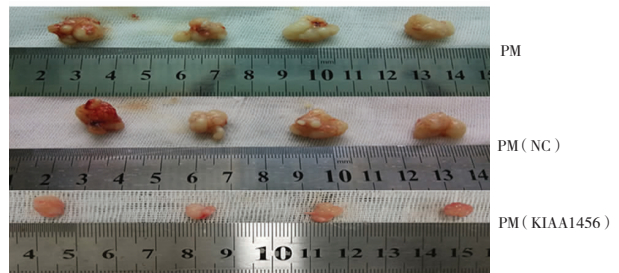
组别	体积 (mm ³)	质量 (g)	抑瘤率 (%)
PM组	914.048 ± 94.674	0.725 ± 0.025	
PM(NC)组	902.335 ± 33.661	0.753 ± 0.033	
PM(KIAA1456)组	458.223 ± 39.336 ^a	0.493 ± 0.025 ^b	34.437/32.192 ^c
F 值	69.592	104.181	
P 值	0.000	0.000	

注:a,与空白对照组及阴性对照组比较, $P=0.000$;b:与空白对照组及阴性对照组比较, $P=0.000$;c:实验组与空白对照组和阴性对照组比较,抑瘤率为 34.437% 和 32.192%



a: 与空白对照组及阴性对照组比较, $P=0.000$

A. 3 组裸鼠皮下移植瘤生长曲线



B. 3 组裸鼠皮下移植瘤大小

图 1 3 组裸鼠皮下移植瘤生长曲线及体积大小

Fig.1 Growth curve and volume of xenograft in three groups

2.2 裸鼠移植瘤组织中 KIAA1456 mRNA 和蛋白质检测结果

通过 RT-PCR 检测,以 2^{-ΔΔCt} 比较 KIAA1456 mRNA 水平定量检测结果,以空白对照组的瘤组织中 KIAA1456 mRNA 水平为对照(即为 1),表 2 结果显示阴性对照组和实验组瘤组织中 KIAA1456 mRNA 表达为空白对照组的(1.526 ± 0.493)、(1 332.574 ± 605.167)倍,差异具有统计学意义($H=7.448, P=0.024$),两两比较结果显示,实验组 KIAA1456 mRNA 表达较空白对照组和阴性对照组明显增加($P=0.024$),而空白对照组和阴性对照组之间没有明显差异($P=1.000$),见表 2 及图 2A。

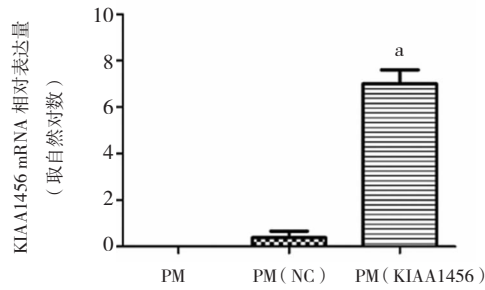
表 2 各组移植瘤组织 KIAA1456 mRNA 和蛋白质的表达

Tab.2 Expression of KIAA1456 mRNA and protein in subcutaneous tumors in nude mice in three groups

组别	KIAA1456 mRNA 相对表达 (2 ^{-ΔΔCt})	KIAA1456 灰度值
PM组	1.000 ± 0.000	5.338 ± 3.435
PM(NC)组	1.526 ± 0.493	5.596 ± 3.908
PM(KIAA1456)组	1 332.574 ± 605.167 ^a	16.590 ± 1.887 ^b
H/F 值	0.024	12.122
P 值	7.448	0.008

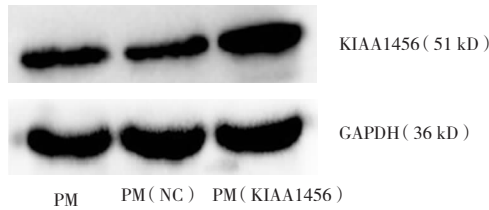
注:a,与空白对照组及阴性对照组比较, $P=0.024$;b:与空白对照组及阴性对照组比较, $P=0.008$

通过 Western blot 检测,以 GAPDH 作为内参,采用 Image-lab 软件定量分析各组 KIAA1456 的蛋白质表达水平,表 2 显示:空白对照组、阴性对照组与实验组 KIAA1456 蛋白表达分别为 5.338 ± 3.435 、 5.596 ± 3.908 和 16.590 ± 1.887 ,差异具有统计学意义 ($F=12.122, P=0.008$),两两比较结果显示:实验组 KIAA1456 蛋白表达较空白对照组和阴性对照组明显增加 ($P=0.08$),而空白对照组和阴性对照组之间没有明显差异 ($P=1.000$),见表 2 及图 2B。



a: 与空白对照组及阴性对照组比较, $P=0.024$

A. RT-PCR 检测移植瘤 KIAA1456 mRNA 表达水平



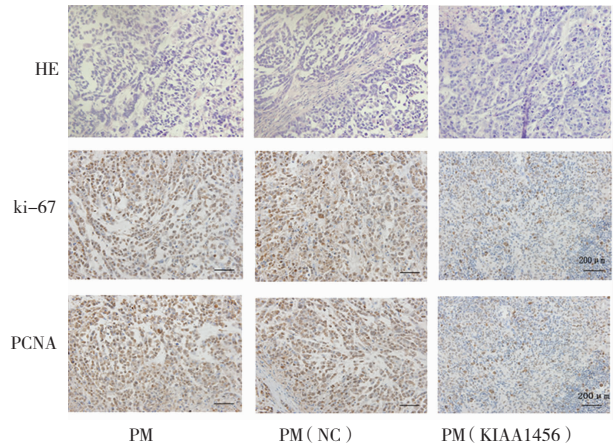
B. Western blot 检测移植瘤 KIAA1456 蛋白表达水平

图 2 各组移植瘤组织 KIAA1456 mRNA 和蛋白质的表达

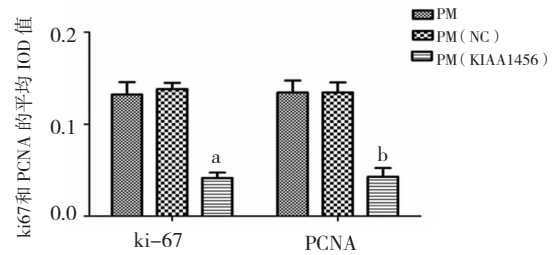
Fig.2 Expression of KIAA1456 mRNA and protein in subcutaneous tumors in nude mice in three groups

2.3 病理形态学观察及免疫组化检测裸鼠移植瘤组织中 ki-67 和 PCNA 表达结果

3 组移植瘤组织石蜡切片 HE 染色 400 倍光镜下观察显示:各组癌细胞均呈现大小、形态不一,成巢团状或栅栏状排列,细胞核大多成卵圆形,且癌巢中央有大小不等的坏死区域(图 3A)。免疫组化结果显示(图 3A):①各组移植瘤组织中 ki-67 的表达在空白对照组、阴性对照组和实验组中的平均 IOD 值为 0.132 ± 0.013 、 0.138 ± 0.007 、 0.041 ± 0.006 ,差异具有统计学意义 ($F=169.675, P=0.000$),两两比较显示,实验组 ki-67 的表达水平明显低于空白对照组和阴性对照组 ($P=0.000$),而空白对照组和阴性对照组 ki-67 的表达无差异 ($P=0.990$)(图 3B)。②各组移植瘤组织中 PCNA 的表达在空白对照组、阴性对照组和实验组中的平均 IOD 值为 0.134 ± 0.013 、 0.134 ± 0.011 、 0.043 ± 0.009 ,差异具有统计学意义 ($F=112.539, P=0.000$),两两比较显示,实验组 PCNA 的表达水平明显低于空白对照组和阴性对照组 ($P=0.000$),而空白对照组和阴性对照组 PCNA 的表达无差异 ($P=1.000$)(图 3B)。



A. HE 染色及免疫组化检测移植瘤组织 ki-67 和 PCNA 蛋白的表达



a: 与空白对照组及阴性对照组比较, $P=0.000$;
b: 与空白对照组及阴性对照组比较, $P=0.000$

B. 检测各组移植瘤组织 ki-67 和 PCNA 的平均 IOD 值

图 3 3 组移植瘤组织 HE 染色及 ki-67 和 PCNA 免疫组化及结果统计 (400 ×)

Fig.3 HE analysis and immunohistochemical analysis of ki-67 and PCNA in three groups (400 ×)

3 讨论

KIAA1456 又名 tRNA 甲基转移酶 9 样蛋白 (hTRM9L)或 C8orf79,是一个蛋白编码基因,位于 8 号染色体末端。其功能与 tRNA 加工和基因表达相关,在哺乳动物中与其同源的 ALKBH8 位于 11 号染色体末端,在酵母菌生物中 Trm9 只有一条染色体编码^[8]。Begley^[6]、Chan^[9]等的研究表明:由酵母菌 Trm9 和 ALKBH8 编码蛋白所催化的摆动碱基修饰在细胞压力信号调节和 DNA 损伤修复、肿瘤细胞氧压力调节方面起重要作用。推测与其高度同源的位于 8 号染色体末端的 KIAA1456 也具有相似功能,进一步推测 KIAA1456 在生命活动中可能发挥的是抑癌作用。

tRNA 碱基摆动的修饰是基因分子水平调控的新领域,已有学者研究表明 tRNA 碱基的修饰可调控某些特殊的蛋白质表达水平。酵母菌 Trm9 基因可提高精氨酸 AGA 和谷氨酸 GAA 密码子的翻译水平,此结果有助于核苷酸还原酶大亚基提高 DNA

损伤应答的效率^[6],在人类及哺乳动物中,如果 KIAA1456 基因表达减少及缺失,势必会降低对 DNA 损伤的应答效率,而 KIAA1456 的过表达使终止细胞周期进程和促进 DNA 修复的细胞信号通路被激活,其激活依赖于毛细血管共济失调因子 ATM(ataxia telangiectasis multated)/毛细血管扩张性共济失调相关因子 ATR(ATM and rad3-related),ATM/ATR 活化后将激活下游的磷酸化检测点(checkpoint kinases) 1 和 2,其下游的主要效应器为肿瘤抑制因子 p53, p53 信号通路可阻止细胞周期进展及诱导凋亡^[10]。LINC 复合物在细胞有丝分裂激活过程中起重要作用,LIN9 是 LINC 家族中重要的成员之一。在 Mannefeld 等的研究中发现,DNA 损伤后会激活视网膜母细胞瘤(retinoblastoma)pRb 信号通路中的蛋白 p130 与 LIN9 形成 LINC 复合物,此过程在阻滞细胞周期由 G1 期进入 S 期中起决定性作用。然而,p53 在促进 p130 与 LIN9 向 LINC 转化起催化调控作用,促使 DNA 损伤后未修复的细胞启动凋亡程序^[11]。因此,KIAA1456 调控卵巢癌的生物行为的可能机制为:KIAA1456 过表达,使 DNA 损伤修复能力提高,触发了 p53 和 pRb 信号通路进入凋亡和细胞周期阻滞途径。因此,本研究在卵巢癌HO8910PM 细胞中外源性过表达 KIAA1456 后,发现 LIN9 蛋白的表达上调,可能通过上述机制使卵巢癌细胞周期阻滞在 G1 期,导致卵巢癌细胞生长减速。

前期细胞学实验也证明,用携带 KIAA1456 基因的慢病毒转染人卵巢癌细胞 HO8910PM 后,G0/G1 期细胞比例增加,S 及 G2/M 期细胞比例减少,说明在稳定表达 KIAA1456 的 HO8910PM 卵巢癌细胞中,KIAA1456 可诱导细胞周期阻滞在 G1 期^[7];且在 HO8910PM 细胞过表达 KIAA1456 后,PCNA 的表达量相对于对照组降低,说明在细胞水平 KIAA1456 对卵巢癌细胞 HO8910PM 的增殖具有抑制作用。

Begley 等^[12]采用小组组织阵列法检测 KIAA1456 在肿瘤组织中的表达,小组组织阵列法检测了包含 18 种不同等级的肿瘤共计 306 种,检测结果发现在这些肿瘤中 KIAA1456 均有不同程度的低表达,且肿瘤分级越高,KIAA1456 表达的量减少得更加明显。在乳腺癌、膀胱癌、结肠癌、子宫颈癌和睾丸癌等肿瘤中,KIAA1456 比正常组织低表达,当过表达 KIAA1456 时,在活体实验中,肿瘤生长明显受抑制。本次实验研究中,在裸鼠成瘤实验中发现,过表达 KIAA1456 实验组的肿瘤体积和质量都明显小于空白对照组和阴性对照组,通过免疫组化检测裸鼠移

植瘤组织发现实验组肿瘤组织中 ki-67 和 PCNA 的表达均低于空白对照组和阴性对照组,提示实验组肿瘤的增殖活跃程度小于空白对照组和阴性对照组。说明 KIAA1456 在活体组织水平亦有抑制肿瘤生长的作用。

综上所述,本次实验研究从动物实验水平证实了 KIAA1456 抑制肿瘤生长的作用。但是其具体作用机制尚待更进一步研究。本次实验研究也为后续深入研究 KIAA1456 抑制肿瘤生长的机制奠定了实验基础。

参 考 文 献

- [1] Siegel R,Naishadham D,Jemal A. Cancer statistics[J]. CA Cancer J Clin,2013,63(1):11-30.
- [2] Guameri V,Piacentini F,Barbieri E,et al. Achievements and unmet needs in the management of advanced ovarian cancer[J]. Gynecol Oncol,2010,117(2):152-158.
- [3] Khan IA,Shaik NA,Pasupuleti N,et al. Screening of mitochondrial mutations and insertion-deletion polymorphism in gestational diabetes mellitus in the Asian Indian population[J]. Saudi J Biol Sci,2015,22(3):243-248.
- [4] Rojas-Benitez D,Thiaville PC,De Crecy-Lagard V,et al. The levels of a universally conserved tRNA modification regulate cell growth[J]. J Biol Chem,2015,290(30):18699-18707.
- [5] Ren W,Li Y,Li R,et al. Mitochondrial intergenic COII/tRNA9-bp deletion, a biomarker for hepatocellular carcinoma?[J]. Mitochondrial DNA A DNA Mapp Seq Anal,2016,27(4):2520-2522.
- [6] Begley U,Dyavaiah M,Patil A,et al. Trm9-catalyzed Trna modifications link translation to the DNA damage response[J]. Mol Cell,2007,28(5):860-870.
- [7] 陈怀梅,王佳,张应凤,等. 过表达人 tRNA 甲基转移酶 9 样蛋白 KIAA1456 抑制 HO8910PM 细胞增殖[J]. 细胞与分子免疫学杂志,2016,32(9):1183-1187.
- [8] Songe-Moller L, Van Den Born E, Leihne V, et al. Mammalian ALKBH8 possesses tRNA methyltransferase activity required for the biogenesis of multiple wobble uridine modifications implicated in translational decoding[J]. Mol Cell Biol,2010,30(7):1814-1827.
- [9] Chan CT,Dyavaiah M, Demott MS, et al. A quantitative systems approach reveals dynamic control of tRNA modifications during cellular stress[J]. PLoS Genet,2010,6(12):e1001247.
- [10] 张潇云,姜英,杨军. p53 非依赖性信号通路在 DNA 损伤致细胞凋亡中的研究进展[J]. 浙江大学学报(医学版),2013,42(2):217-223.
- [11] Mannefeld M,Klassen E,Gaubatz S. B-MYB is required for recovery from the DNA damage-induced G2 checkpoint in p53 mutant cells[J]. Cancer Res,2009,69(9):4073-4080.
- [12] Begley U,Sosa MS,Avivar-Valderas A,et al. A human tRNA methyltransferase 9-like protein prevents tumour growth by regulating LIN9 and HIF1-alpha[J]. EMBO Mol Med,2013,5(3):366-383.

(责任编辑:冉明会)