

# 干扰 AURKA 基因表达对人骨肉瘤细胞系 U2-OS 细胞增殖与细胞周期的影响

马方方, 陆 超\*

(南京医科大学第一附属医院儿科, 江苏 南京 210029)

**[摘要]** 目的: 探讨 AURKA 基因表达下调对骨肉瘤细胞增殖和细胞周期分布的影响。方法: 脂质体瞬时转染法介导 AURKA 小干扰 RNA (small interfering RNA, siRNA) 处理骨肉瘤 U2-OS 细胞, 采用实时荧光定量 PCR 及 Western blot 方法检测转染前后 AURKA mRNA 和蛋白表达, CCK8 实验检测细胞活力变化, 流式细胞术检测细胞周期分布变化, Western blot 检测周期相关蛋白的表达, 5-溴脱氧尿嘧啶核苷 (BrdU) 细胞增殖实验检测细胞增殖情况。结果: AURKA siRNA 作用 U2-OS 细胞后, AURKA mRNA 和蛋白的表达水平较正常对照组及阴性对照组显著降低, 且差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 两对照组间 AURKA 表达无明显差异; 下调 AURKA 表达后, 细胞活力降低, 且作用 72 h 后抑制率最高, 约为  $(36.63 \pm 2.38)\%$ ; 细胞周期中 S 期细胞比例下降, G2/M 期细胞比例增加, 与正常对照组及阴性对照组相比差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 提示存在 G2/M 期阻滞, S 期细胞增殖率下降 ( $P < 0.05$ ), 周期相关蛋白 D1 (Cyclin D1) 表达水平下降 ( $P < 0.05$ ), 周期相关蛋白 B1 (Cyclin B1) 表达水平明显增加 ( $P < 0.05$ )。结论: 下调 AURKA 表达可抑制骨肉瘤细胞 U2-OS 的增殖, 同时导致细胞阻滞于 G2/M 期。

**[关键词]** AURKA; 骨肉瘤; RNA 干扰; 细胞增殖; 细胞周期

**[中图分类号]** R738.1

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2016)06-670-06

**doi:** 10.7655/NYDXBNS20160606

## Therapeutic effects of siRNA targeting AURKA gene on tumor proliferation and changes of cell cycle in human osteosarcoma cell line U2-OS

Ma Fangfang, Lu Chao\*

(Department of Pediatrics, the First Affiliated Hospital of NJMU, Nanjing 210029, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the inhibition effect of down-regulation of small interfering RNA (siRNA) targeting AURKA gene on the proliferation and cell cycle distribution of osteosarcoma cells. **Methods:** AURKA siRNA was synthesized and transfected into osteosarcoma U2-OS cells via Lipofectamine 2000. Then, the AURKA mRNA and protein expression were examined by real-time fluorescence quantitative PCR (qRT-PCR) and Western blot assay, respectively. CCK8 assay and BrdU cell proliferation assay were performed to evaluate cell viability and proliferation, respectively. Cell cycle distribution was observed by flow cytometry. The expressions of cyclin B1 and cyclin D1 were determined by Western blot assay. **Results:** Both mRNA and protein levels of AURKA in U2-OS cells transfected with AURKA siRNA were significantly decreased compared with those of the other two groups (both  $P < 0.05$ ). There were no significant differences in the expressions of AURKA between the two control group. CCK8 assay showed that down-regulated AURKA inhibited cell viability and the inhibition rate reached to the highest level at approximately  $(36.63 \pm 2.38)\%$  after 72 h ( $P < 0.05$ ). The proportion of S phase cells in the cell cycle was decreased and G2/M phase cells was increased compared with those in the normal control group and negative control group, respectively (both  $P < 0.05$ ), suggesting the presence of G2/M phase arrest and decreased cell proliferation in S phase ( $P < 0.05$ ). Meanwhile, the expressions of cyclin D1 and cyclin B1 were significantly down-regulated and elevated (both  $P < 0.05$ ), respectively. **Conclusion:** Inhibition of AURKA expression suppressed cell growth and led to G2/M arrest of human osteosarcoma cell line U2-OS.

**[Key words]** AURKA; osteosarcoma; RNA interfere; cell proliferation; cell cycle

[Acta Univ Med Nanjing, 2016, 36(06): 670-675]

**[基金项目]** 国家自然科学基金(81170487)

\*通信作者 (Corresponding author), E-mail: chaodoctor@163.com

骨肉瘤是起源于间叶组织最常见的原发性恶性骨肿瘤,好发于儿童及青少年,该肿瘤恶性程度高,预后差,易发生肺部转移<sup>[1]</sup>,因此寻找新的有效治疗方案为临床工作的重点。AURKA 编码的 Aurora A 是丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶 Aurora 激酶家族的重要成员,通过调节中心体、微管和纺锤体功能而调控细胞的有丝分裂<sup>[2]</sup>。研究表明 AURKA 在许多肿瘤,如食管癌<sup>[3]</sup>、胃癌<sup>[4]</sup>、直肠癌<sup>[5]</sup>、乳腺癌<sup>[6-7]</sup>、宫颈癌<sup>[8]</sup>、子宫内膜癌<sup>[9]</sup>等中表达增加,是一个新的癌基因,其过表达可促进细胞增殖并抑制肿瘤细胞凋亡。本研究旨在通过抑制 AURKA 基因表达,观察其对骨肉瘤细胞生长及周期的影响,从而为骨肉瘤的治疗寻找新的治疗靶点。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

人骨肉瘤细胞系 U2-OS (中国科学院上海生命科学院细胞资源中心)。AURKA 基因小干扰 RNA (small interfering RNA, siRNA) 序列为 sense 5'-GCA-GAGAACUGCUACUUAUTT-3', antisense 5'-AUAAG-UAGCAGUUCUCUGCTT-3'; siRNA-NC 序列为 sense 5'-UUCUCCGACGUGUCACGUTT-3', antisense 5'-ACGUGACACGUUCGGAGAATT-3' (上海吉玛制药有限公司)。脂质体 Lipofectamine 2000、TRIzol Reagent (Invitrogen 公司, 美国), 高糖 DMEM 培养基、胎牛血清、青霉素-链霉素双抗 (Hyclone 公司, 美国), RNA 逆转录试剂盒、SYBR<sup>®</sup> Premix Ex Taq<sup>™</sup> (Tli RNaseH Plus) (TaKaRa 公司, 日本), Cell Counting Kit (同仁化学研究所, 日本); 抗 Aurora A 抗体 (Bioword 公司, 美国), 抗细胞周期蛋白 B1 (Cyclin B1) 抗体、抗细胞周期蛋白 D1 (Cyclin D1) 抗体 (Proteintech 公司, 美国), 抗  $\beta$ -actin 抗体 (Sigma 公司, 美国), 抗 GAPDH 抗体 (武汉博士德生物科技有限公司), HRP 标记山羊抗兔 IgG、HRP 标记山羊抗鼠 IgG (Jackson Immuno Research 公司, 美国); BCA 蛋白浓度测定试剂盒、SDS-PAGE 凝胶配制试剂盒 (上海碧云天生物科技有限公司), ECL 试剂盒、5-溴脱氧尿嘧啶核苷 (BrdU) 细胞增殖检测试剂盒 (Millipore 公司, 美国)。流式细胞分析技术由南京医科大学测试研究中心提供支持。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 细胞培养

细胞生长于含 10% 胎牛血清、1% 青霉素-链霉素双抗的高糖 DMEM 培养基中, 置于含 5% CO<sub>2</sub> 的

37℃ 培养箱中常规孵育, 每 2~3 d 换液传代, 取对数生长期的细胞用于实验。

#### 1.2.2 实验分组及细胞转染

将 U2-OS 细胞制成细胞悬液, 接种至 12 孔板中, 实验分为 3 组, 正常对照组、阴性对照组 (转染 siRNA-NC 组)、转染 AURKA-siRNA 组, 每组设 3 个复孔。采用阳离子脂质体 Lipofectamine 2000 进行转染, 根据 Lipofectamine 2000 使用说明, 将处于对数生长期的细胞接种于 12 孔板培养至 70%~80% 汇片, 去除培养基, 分别将 siRNA、siRNA-NC (各 4 pmol) 及 Lipofectamine 2000 (2  $\mu$ L) 溶于 50  $\mu$ L 的无血清高糖 DMEM 培养基中, 分别记为 A、B、C 液, 室温下静置 5 min 后将 A 液与 C 液混合, B 液与 C 液混合, 枪头轻轻吹打以混匀, 室温孵育 20 min 后将两混合液轻铺于细胞上, 放于 37℃ 含 5% CO<sub>2</sub> 培养箱中继续孵育, 6 h 后去除转染液, 继续以含 10% 胎牛血清的高糖 DMEM 培养基培养。

#### 1.2.3 实时荧光 PCR 法检测 AURKA mRNA 表达

U2-OS 细胞转染 siRNA 24 h 后根据 TRIzol 法提取细胞总 RNA, 紫外分光光度计测定所提取 RNA 浓度及  $D(260 \text{ nm})/D(280 \text{ nm})$  后, 根据反转录试剂盒说明将 RNA 反转录为 cDNA。

设计 AURKA 引物: 上游 5'-GCC CTGTCT-TACTGTTCATTCG-3', 下游 5'-AGGTCTCTTGGTATG TGTTCG-3'; 内参 GAPDH 引物: 上游 5'-TGACTTCAACAGCGACACCCA-3', 下游 5'-CACC-CTGTTGCTGTAGCCAAA-3'。根据 SYBR<sup>®</sup> Premix Ex Taq<sup>™</sup> (Tli RNaseH Plus) 使用说明, 配置 20  $\mu$ L 反应体系后进行 PCR 扩增, 实时荧光 PCR 检测 AURKA 基因 mRNA 相对表达量, 在分析系统中读取 Ct 值结果,  $\Delta\text{Ct}=\text{Ct}_{\text{AURKA}}-\text{Ct}_{\text{GAPDH}}$ ,  $\Delta\Delta\text{Ct}=\Delta\text{Ct}_{\text{转染 siRNA 组}}-\Delta\text{Ct}_{\text{阴性对照组}}$ ,  $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$  为 AURKA 的相对 mRNA 表达量。

#### 1.2.4 Western blot 检测目的蛋白表达

转染 siRNA 48 h 后收集细胞抽提总蛋白, BCA 法测定蛋白浓度, 12% 的十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶 (SDS-PAGE) 分离蛋白, 湿转法转膜, 5% 脱脂奶粉封闭 1 h, 一抗 4℃ 过夜后洗膜, HRP 标记的二抗室温孵育 1 h, 洗膜后 ECL 试剂盒显影特异蛋白条带。采用天能 Gel Image System 分析软件进行灰度值分析, 以目的蛋白与内参蛋白条带灰度值的比值均数作为各蛋白的相对表达量。

#### 1.2.5 CCK-8 实验检测转染后细胞活力变化

将细胞悬液接种于 96 孔板, 每组设 3 个复孔, 分组处理 24、48、72、96 h 后, 每孔加入 CCK-8 溶液

10  $\mu\text{L}$ , 37 $^{\circ}\text{C}$  培养箱中继续培养 4 h, 酶标仪测定 450 nm 波长下的吸光度值, 根据吸光度值计算细胞抑制率, 细胞抑制率(%)=[(对照组吸光度值-实验组吸光度值)/(对照组吸光度值-空白组吸光度值)] $\times$ 100%, 以上实验重复 3 次, 取平均值。

### 1.2.6 流式细胞术(FCM)检测细胞周期分布

将 U2-OS 细胞制成细胞悬液接种至 6 孔板中, 待细胞长至 70%~80% 汇片, 用脂质体 Lipofectamine2000 转染 AURKA siRNA 及 NC-siRNA, 转染 6 h 后进行半换液, 细胞于含 5%  $\text{CO}_2$  的 37 $^{\circ}\text{C}$  培养箱孵育 48 h 后用胰酶将贴壁细胞消化为单个细胞, 室温离心收集, 弃上清, PBS 洗涤细胞 3 次, 75% 预冷酒精重悬-20 $^{\circ}\text{C}$  固定过夜, 次日将样品送至南京医科大学分析测试中心进行流式细胞周期检测。

### 1.2.7 BrdU 细胞增殖实验检测细胞增殖情况

将细胞悬液接种于 96 孔板, 待细胞贴壁生长 24 h 后进行细胞转染, 转染后 24 h 每孔加入 20  $\mu\text{L}$  BrdU 反应液, 继续置于 37 $^{\circ}\text{C}$  培养箱孵育 24 h; 将上清液吸掉, 每孔加入 200  $\mu\text{L}$  固定液, 室温孵育 30 min; 1 $\times$ 洗脱液洗板 3 次, 吸水纸吸干; 每孔加入 100  $\mu\text{L}$  预稀释的 BrdU 检测抗体, 室温孵育 1 h; 1 $\times$ 洗脱液洗板 3 次; 干燥后每孔加入 100  $\mu\text{L}$  过氧化物酶标记的山羊抗小鼠抗体, 室温孵育 30 min; 1 $\times$ Wash Buffer 洗板 3 次; ddH<sub>2</sub>O 冲板 1 次后吸水纸吸干, 干燥后于暗室中每孔加入 100  $\mu\text{L}$  过氧化物酶底物 TMB, 室温孵育 30 min; 每孔加入 100  $\mu\text{L}$  终止液后酶标仪 450 nm 波长读数, 以上实验重复 3 次。

### 1.3 统计学方法

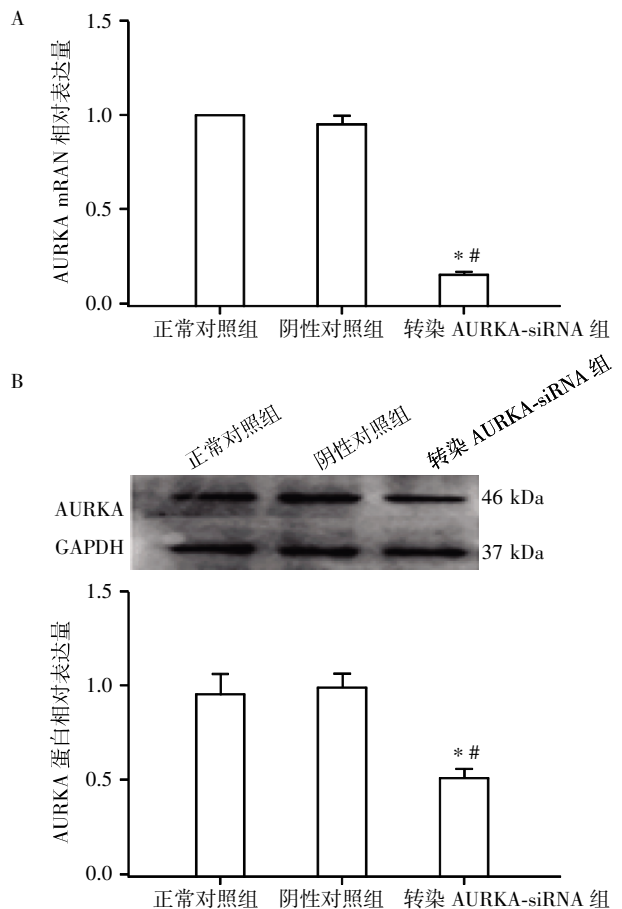
所有实验结果均用 均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 采用 IBM SPSS Statistics 统计包进行统计分析; 多组间均数比较采用 one-way ANOVA 分析, 均数间的两两比较采用 LSD-*t* 法, 以  $P \leq 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 U2-OS 细胞转染 AURKA-siRNA 后 AURKA 表达水平的变化

细胞转染 24 h 后, 收集各组细胞, 实时荧光定量 PCR 检测 AURKA 的 mRNA 表达水平。转染 AURKA-siRNA 组 AURKA 相对 mRNA 表达量为  $0.17 \pm 0.03$ , 抑制率约达 83%, 较其他两组显著降低, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 而阴性对照组(转染 siRNA-NC 组) 与正常对照组相比无显著性差异 ( $P > 0.05$ , 图 1A)。Western blot 显示, U2-OS 细胞转

染 siRNA 后 AURKA 表达水平较正常对照组及阴性对照组降低, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ , 图 1B)



A: 细胞转染 AURKA-siRNA 后显著抑制 AURKA mRNA 表达; B: 细胞转染 AURKA-siRNA 后显著抑制 AURKA 蛋白表达。与正常对照组比较, \* $P < 0.05$ ; 与阴性对照组比较, # $P < 0.05$ ;  $n=3$ 。

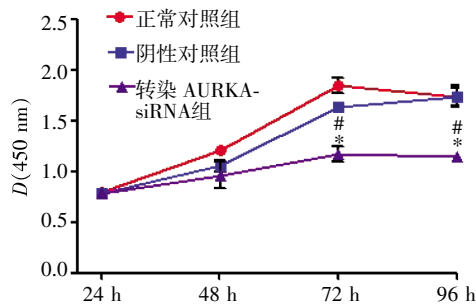
图 1 转染 siRNA 后 U2-OS 细胞中 AURKA 的表达  
Figure 1 AURKA expression after transfected with AURKA-specific siRNA in U2-OS cells

### 2.2 干扰 AURKA 表达后 U2-OS 细胞活力变化

为了解转染 siRNA 后对骨肉瘤细胞 U2-OS 细胞活力的影响, 对 3 组细胞进行 CCK8 实验。结果显示, 与正常对照组及阴性对照组相比, 转染 AURKA-siRNA 组细胞生长明显受到抑制, 且存在时间依赖性, 在转染 AURKA-siRNA 72 h 后抑制效率最高, 约为  $(36.63 \pm 2.38)\%$ , 与两对照组相比差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 两对照组间差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ , 图 2)。

### 2.3 AURKA-siRNA 对细胞周期的影响

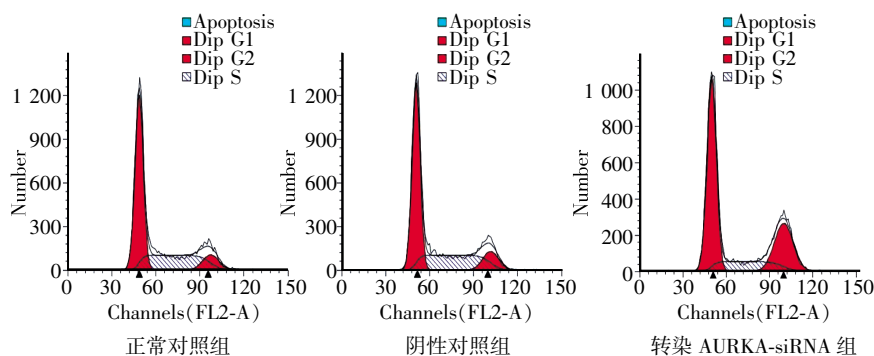
FCM 结果分析显示, 下调 AURKA 基因表达后, U2-OS 细胞 G0/G1 期的细胞比例无明显变化, S 期细胞比例由  $(30.84 \pm 4.64)\%$  下降至  $(19.31 \pm 3.99)\%$ , G2/M 期细胞比例由  $(10.63 \pm 1.87)\%$  增加至  $(25.11$



与正常对照组比较, \* $P < 0.05$ ; 与阴性对照组比较, # $P < 0.05$ ;  $n=3$ 。

图 2 AURKA-siRNA 对细胞活力的影响

Figure 2 AURKA-specific siRNA reduced cell viability in U2-OS cells



两组比较, \* $P < 0.05$ ;  $n=3$ 。

图 3 AURKA-siRNA 对细胞周期的影响

Figure 3 AURKA-specific siRNA induced cell cycle arrest in U2-OS cells

48 h 后, Cyclin D1 表达下降, 与空白对照组和阴性对照组相比差异均有统计学意义( $P$  均  $< 0.05$ ), 两对照组间蛋白表达无明显变化; Cyclin B1 表达上调, 与空白对照组和阴性对照组相比差异均有统计学意义( $P$  均  $< 0.05$ ), 两对照组间蛋白表达差异无明显变化(图 4B)。

### 3 讨论

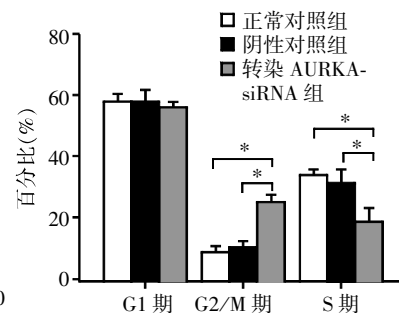
骨肉瘤作为最常见的原发性骨肿瘤, 目前治疗上仍然采用以外科手术为主、术后辅助化疗等多种措施的综合治疗。常用的一线化疗药物以阿霉素、甲氨蝶呤、顺铂、环磷酰胺为主<sup>[1]</sup>, 但是每种化疗药物均存在一定程度的细胞毒性, 缺乏组织特异性, 它在杀死肿瘤细胞的同时, 不可避免地伤害机体正常细胞, 因此寻找新的更加有效的治疗靶点及措施是当今骨肉瘤研究的热点问题。

在骨肉瘤的发生发展中, 存在众多癌基因的过表达及相关信号通路转导分子的表达上调, 因此通过抑制致癌基因的表达及下调肿瘤发生过程中相关的

± 2.27)% (图 3), 上述结果表明下调 AURKA 基因表达后细胞阻滞于 G2/M 期。

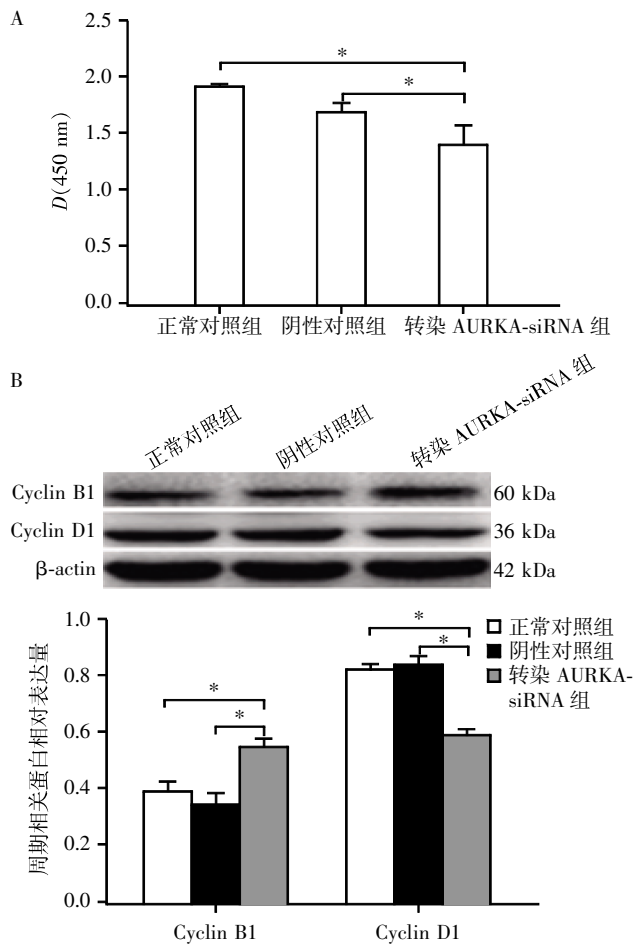
#### 2.4 转染前后 U2-OS 细胞增殖情况

U2-OS 细胞转染 AURKA-siRNA 48 h 后, BrdU 细胞增殖实验显示转染 AURKA-siRNA 组细胞与正常对照组及阴性对照组相比, S 期增殖细胞均受到抑制(图 4A), 与正常对照组相比, 转染 AURKA-siRNA 组细胞增殖抑制率约为  $(26.12 \pm 10.16)\%$ , 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ), 与阴性对照组相比抑制率约为  $(17.40 \pm 11.98)\%$ , 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ), 两对照组间差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。Western blot 显示, U2-OS 细胞转染 AURKA-siRNA



信号转导通路将起到抑制骨肉瘤组织生长的作用。研究表明 AURKA 基因在多种肿瘤, 如肺癌<sup>[10]</sup>、乳腺癌<sup>[6-7]</sup>、胃癌<sup>[4]</sup>、食管癌<sup>[3]</sup>及淋巴瘤<sup>[11]</sup>等恶性肿瘤组织及细胞中均表达上调, 且与肿瘤的临床分级、分期及预后有关, 提示 AURKA 与肿瘤发生发展有密切联系, 被认为是一种新的癌基因。目前 AURKA 基因与骨肉瘤的发生发展关系尚不十分明确, 张志宏等<sup>[12]</sup>已经证实 AURKA 蛋白在骨肉瘤组织中表达增加, 很可能参与了骨肉瘤的发生发展。为了进一步探讨和研究 AURKA 基因与骨肉瘤的发生发展关系, 本研究采用 RNA 干扰技术, 利用脂质体介导 siRNA 处理骨肉瘤细胞 U2-OS, 分别检测 AURKA 基因 mRNA 及蛋白表达情况, 结果显示两者表达情况均受到显著抑制, 证明 siRNA 成功转入细胞中并发挥了靶向抑制效应。

为了进一步了解下调 AURKA 表达后对细胞生长及周期分布的影响, 本研究分别采用 CCK8、BrdU 细胞增殖实验及流式细胞技术检测细胞活力、增殖及周期分布情况, 结果表明经过 siRNA 处理后细胞



A: 转染 AURKA-siRNA 组细胞增殖受到抑制(两组比较, \* $P < 0.05, n=3$ ); B: Cyclin B1 蛋白表达上调, Cyclin D1 蛋白表达下调(两组比较, \* $P < 0.05, n=3$ )。

图 4 下调 AURKA 抑制 U2-OS 细胞增殖

Figure 4 Inhibition of down-regulated AURKA expression on proliferation of U2-OS cells

生长受到抑制,且抑制率随作用时间延长而增加,72 h 后抑制效率最高,96 h 后抑制率开始下降;流式细胞术提示下调 AURKA 基因表达后 S 期细胞比例下降,G2/M 期细胞比例显著增多,G1 期细胞比例无明显变化;BrdU 细胞增殖实验也表明转染 siRNA 48 h 后细胞新合成的 DNA 减少,S 期细胞比例下降,细胞增殖受到抑制,这与流式细胞术检测细胞周期所得结果一致。本研究结果与 Jiang 等<sup>[13]</sup>利用慢病毒载体技术下调 AURKA 基因表达后观察到的结果类似,此外,Jiang 等<sup>[13]</sup>在裸鼠移植瘤的体内实验中同样观察到利用 RNA 干扰技术可抑制肿瘤生长。

细胞周期的正常进行离不开周期蛋白及其激酶的正确调控,其中 Cyclin D1 主要调控细胞由 G1 期进入 S 期,Cyclin B1 主要调控细胞由 G2 期进入 M 期<sup>[14]</sup>。王爱军等<sup>[15]</sup>研究表明 Aurora-A 激酶抑制剂

使胃癌 SGC7901 发生 G2/M 期阻滞、抑制细胞增殖,与 Cyclin D1 及增殖细胞核抗原(PCNA)表达下调有关。Lin 等<sup>[16]</sup>研究表明拓朴异构酶 II  $\beta$  毒性药物 XK-469 引起细胞周期阻滞于 G2/M 期与抑制 Cyclin B1 泛素化降解有关,且 Cyclin B1 的表达上调存在时间依赖性。Choi 等<sup>[17]</sup>研究同样证实用微管抑制剂诺考达唑处理人乳腺癌细胞 MCF-7 后,细胞停滞在有丝分裂前中期,与 Cyclin B1 及 Cdc2 kinase 高表达有关。本研究 Western blot 结果显示转染 AURKA-siRNA 48 h 后细胞周期蛋白 Cyclin D1 表达下调,Cyclin B1 表达增高,这与流式细胞周期中各期细胞比例变化及 BrdU 细胞增殖实验结果一致,表明细胞增殖受到抑制,G2/M 期阻滞与 Cyclin B1 高表达及 Cyclin D1 低表达有关。另外,Cyclin B1 是细胞凋亡调节因子,其高表达可参与诱导肿瘤细胞凋亡<sup>[18-19]</sup>。另有文献报道,AURKA 基因的过表达与 P53 突变有关<sup>[20]</sup>,并可通过多种途径使野生型 P53 蛋白失活,另一方面突变型 P53 可抑制野生型 P53 的活性,因此抑制 AURKA 基因表达从一定程度上恢复了 P53 的活性,从而抑制了肿瘤细胞的增殖。

综上所述,随着对 AURKA 基因研究的不断深入,其在恶性肿瘤中的作用将会逐渐清晰,有望成为一个新的肿瘤治疗靶点。本研究在细胞水平考察了 AURKA 基因与骨肉瘤发生发展的关系,为 AURKA 作为骨肉瘤治疗新靶点提供了实验依据。

[参考文献]

- [1] Isakoff MS, Bielack SS, Meltzer P, et al. Osteosarcoma: current treatment and a collaborative pathway to success [J]. *J Clin Oncol*, 2015, 33(27): 3029-3035
- [2] Zhu X, Mei J, Wang Z. Aurora-A kinase: potential tumor marker of osteosarcoma [J]. *J Cancer Res Ther*, 2014, 10 (Suppl): C102-C107
- [3] Katsha A, Belkhir A, Goff L, et al. Aurora kinase A in gastrointestinal cancers: time to target [J]. *Mol Cancer*, 2015, 14: 106
- [4] Yuan CX, Zhou ZW, Yang YX, et al. Inhibition of mitotic Aurora kinase A by alisertib induces apoptosis and autophagy of human gastric cancer AGS and NCI-N78 cells [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2015, 9: 487-508
- [5] Belt EJ, Brosens RP, Delis-Van Diemen PM, et al. Cell cycle proteins predict recurrence in stage II and III colon cancer [J]. *Ann Surg Oncol*, 2012, 19(Suppl 3): S682-S692
- [6] Kalinsky K, Lim EA, Andreopoulou E, et al. Increased expression of tumor proliferation genes in hispanic women

- with early-stage breast cancer[J]. *Cancer Invest*,2014,32(9):439-444
- [7] Li JP, Yang YX, Liu QL, et al. The investigational Aurora kinase A inhibitor alisertib (MLN8237) induces cell cycle G2/M arrest, apoptosis, and autophagy via p38 MAPK and Akt/mTOR signaling pathways in human breast cancer cells[J]. *Drug Des Devel Ther*,2015,9:1627-1652
- [8] Sun JM, Yang LN, Xu H, et al. Inhibition of Aurora a promotes chemosensitivity via inducing cell cycle arrest and apoptosis in cervical cancer cells[J]. *Am J Cancer Res*,2015,5(3):1133-1145
- [9] Umene K, Yanokura M, Banno K, et al. Aurora kinase A has a significant role as a therapeutic target and clinical biomarker in endometrial cancer[J]. *Int J Oncol*, 2015,46(4):1498-1506
- [10] Zeng B, Lei Y, Zhu H, et al. Aurora-A is a novel predictor of poor prognosis in patients with resected lung adenocarcinoma [J]. *Chin J Cancer Res*,2014,26(2):166-173
- [11] Humme D, Haider A, Möbs M, et al. Aurora kinase a is upregulated in cutaneous T-cell lymphoma and represents a potential therapeutic target[J]. *J Invest Dermatol*, 2015,135(9):2292-2300
- [12] 张志宏,刘志礼,罗庆丰,等. 激酶在骨肉瘤中的表达及意义[J]. *广东医学*,2013,34(10):1562-1564
- [13] Jiang Z, Jiang J, Yang H, et al. Silencing of Aurora kinase A by RNA interference inhibits tumor growth in human osteosarcoma cells by inducing apoptosis and G2/M cell cycle arrest[J]. *Oncol Rep*,2014,31(3):1249-1254
- [14] Nigg EA. Mitotic kinases as regulators of cell division and its checkpoints[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*,2001,2(1):21-32
- [15] 王爱军,施 华,郑宝军,等. Aurora 激酶抑制剂 VX-680 对胃癌 SGC7901 细胞增殖的影响[J]. *中华实验外科杂志*,2013,30(6):1241
- [16] Lin H, Liu XY, Subramanian B, et al. Mitotic arrest induced by XK469, a novel antitumor agent, is correlated with the inhibition of cyclin B1 ubiquitination[J]. *Int J Cancer*,2002,97(1):121-128
- [17] Choi HJ, Fukui M, Zhu BT. Role of cyclin B1/Cdc2 up-regulation in the development of mitotic prometaphase arrest in human breast cancer cells treated with nocodazole[J]. *PLoS One*,2011,6(8):e24312
- [18] 方志文,牟召霞,王新艳,等. p53 与 c-myc 和 cyclin B1 在卵巢上皮性癌组织中的表达及意义[J]. *中华肿瘤防治杂志*,2007,14(4):284-286
- [19] 赵春玲,宋咏梅,樊飞跃,等. 细胞周期蛋白 cyclin B1 与肿瘤[J]. *肿瘤*,2007,27(4):322-326
- [20] Katayama H, Wang J, Treekitkarnmongkol W, et al. Aurora kinase-A inactivates DNA damage-induced apoptosis and spindle assembly checkpoint response functions of p73[J]. *Cancer Cell*,2012,21(2):196-211

[收稿日期] 2015-11-18

(上接第 652 页)

- Meta-Analysis[J]. *PLoS One*,2015,10(7):e0133174
- [28] Heaphy CM, Yoon GS, Peskoe SB, et al. Prostate cancer cell telomere length variability and stromal cell telomere length as prognostic markers for metastasis and death[J]. *Cancer Discov*,2013,3(10):1130-1141
- [29] Chen Y, Qu F, He X, et al. Short leukocyte telomere length predicts poor prognosis and indicates altered immune functions in colorectal cancer patients[J]. *Ann Oncol*, 2014,25(4):869-876
- [30] Garcia-Aranda C, De Juan C, Diaz-Lopez A, et al. Correlations of telomere length, telomerase activity, and telomeric-repeat binding factor 1 expression in colorectal carcinoma[J]. *Cancer*,2006,106(3):541-551
- [31] Gansner JM, Rosas IO. telomeres in lung disease[J]. *Transl Res*,2013,162(6):343-352
- [32] Svenson U, Öberg Å, Stenling R, et al. Telomere length in peripheral leukocytes is associated with immune cell tumor infiltration and prognosis in colorectal cancer patients[J]. *Tumour Biol*,2016 [2016-04-30]. <http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs13277-016-4987-0>. DOI: 10.1007/s13277-016-4987-0
- [33] Fernández-Marcelo T, Morán A, De Juan C, et al. Differential expression of senescence and cell death factors in non-small cell lung and colorectal tumors showing telomere attrition[J]. *Oncology*,2012,82(3):153-164
- [34] Fernández-Marcelo T, Frías C, Pascua I, et al. Poly(ADP-ribose)polymerase 3 (PARP3), a potential repressor of telomerase activity [J]. *J Exp Clin Cancer Res*,2014,33:19

[收稿日期] 2016-05-03