

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2020.02.004

· 基础研究 ·

## 沉默 CDC25A 基因后肝癌裸鼠移植瘤组织中差异表达基因的筛选

陈思, 唐艳萍, 李科志, 杨春, 黄小青, 陈秀娟, 曹骥(广西医科大学附属肿瘤医院 实验研究部, 广西 南宁 530021)

**[摘要]** **目的:** 探讨应用基因芯片技术筛选出可能受细胞分裂周期因子 25A (cell division cycle 25A, CDC25A) 调控的基因, 阐明并验证 CDC25A 对肝癌相关基因的表达具有调控作用。 **方法:** 本课题组前期通过 siRNA 干扰技术沉默人肝癌 HepG2 细胞中 CDC25A 的表达并成功构建了肝癌裸鼠移植瘤模型。基于上述研究成果, 在本研究中应用 Affymetrix 基因表达谱芯片技术进一步筛选沉默 CDC25A 后肝癌移植瘤组织中的差异表达基因, 并进行 GO 及 KEGG 分析, 应用 qPCR 对部分差异表达基因进行验证。 **结果:** 通过芯片技术筛选出沉默 CDC25A 基因的肝癌移植组织中的差异表达基因 188 个, 其中上调基因 78 个、下调基因 110 个。这些差异表达基因主要涉及细胞增殖、细胞凋亡、蛋白复合物结合、细胞外间隙等方面, 参与黏着斑、细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 受体相互作用等通路的改变。qPCR 对部分差异表达基因验证的结果显示, HIPK2 mRNA 表达上调, 微纤丝关联蛋白 5 (microfibrillar-associated protein 5, MFAP5) 和细胞周期蛋白 D1 (cyclin D1, CCND1) mRNA 表达下调, 与芯片检测结果一致。 **结论:** 应用人基因表达谱芯片技术成功筛选出沉默 CDC25A 后肝癌裸鼠移植瘤组织中的差异表达基因, 为探究 CDC25A 影响肝癌细胞生长提供了支持线索。

**[关键词]** 肝癌; 细胞分裂周期因子 25A; 人基因表达谱芯片; 移植瘤; GO 分析; KEGG 分析

**[中图分类号]** R735.7; R730.2; Q786 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2020)02-0123-06

## Screen of differentially expressed genes in liver cancer xenograft tissues after CDC25A gene silence

CHEN Si, TANG Yanping, LI Kezhi, YANG Chun, HUANG Xiaoqing, CHEN Xiujuan, CAO Ji (Department of Experimental Research, Cancer Hospital Affiliated to Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi, China)

**[Abstract]** **Objective:** To explore the genes that may be regulated by cell division cycle 25A (CDC25A) with gene chip technology, and to elucidate and verify that CDC25A has a regulatory effect on the expression of liver cancer related genes. **Methods:** CDC25A expression in human liver cancer HepG2 cells was silenced by siRNA interference technology and a nude mouse xenograft model of liver cancer was successfully constructed in our previous research. Affymetrix human gene expression profiling microarray was used to further screen differentially expressed genes (DEGs) after silencing CDC25A in liver cancer xenografts, and GO analysis and KEGG analysis were performed. Some of the DEGs were verified by qPCR. **Results:** The chip screened 188 DEGs in liver cancer xenograft tissues after CDC25A silence, including 78 up-regulated genes and 110 down-regulated genes. These DEGs mainly involved in cell proliferation, apoptosis, protein complex binding, extracellular space, etc., and associated with the changes in pathways such as focal adhesions and extracellular matrix (ECM) receptor interactions. qPCR showed that the expression of HIPK2 mRNA was up-regulated and the mRNA expressions of (microfibrillar-associated protein 5(MFAP5) and cyclin D1 (CCND1) were down-regulated, which were consistent with the results of microarray detection. **Conclusion:** Using human gene expression profiling chip, the DEGs in liver cancer xenograft tissues in nude mice after silencing CDC25A were successfully screened, providing effective clues for exploring the effect of CDC25A on the growth of liver cancer.

**[Key words]** liver cancer; cell division cycle 25A (CDC25A); human gene expression chip; xenograft tumor; GO analysis; KEGG analysis  
[Chin J Cancer Biother, 2020, 27(2): 123-128. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2020.02.004]

**[基金项目]** 国家自然科学基金资助项目 (No.81260080); 广西自然科学基金资助项目 (No. 2017GXNSFBA198003); 广西壮族自治区中青年教师基础能力提升项目资助 (No.2017KY0102)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No.81260080), the Natural Science Foundation of Guangxi Zhuang Autonomous Region (No.2017GXNSFBA198003), and the Middle and Young Teachers' Basic Ability Improvement Project of Guangxi Zhuang Autonomous Region (No.2017KY0102)

**[作者简介]** 陈思 (1992-), 女, 硕士生, 主要从事肝癌病因学和发病机制的研究, E-mail: doctorchensi@sina.com

**[通信作者]** 曹骥 (CAO Ji, corresponding author), 研究员, 硕士生导师, 主要从事肝癌病因学和发病机制的研究, E-mail: caojien@163.com

肝癌是最常见的恶性肿瘤之一,病死率很高。在美国的2019年最新癌症统计报告中,肝癌的发病率和病死率持续上升,上升速度高于其他癌症<sup>[1]</sup>。在男性中肝癌死亡率上升1.6%,女性中上升2.7%<sup>[2]</sup>。随着对肝癌分子机制的深入研究,一些基因被认为与肝癌有关,但其机制尚不完全清楚。细胞分裂周期因子25A(cell division cycle 25A, CDC25A)是CDC25家族的重要成员,是一种双特异性蛋白磷酸酶,可水解酪氨酸和丝氨酸/苏氨酸,使其去磷酸化。CDC25A在细胞周期进程中发挥着至关重要的作用,其可通过激活Cyclin-CDK复合物促进G1/S期、G2/M期的转化,是DNA损伤应答的重要靶点<sup>[3-4]</sup>。CDC25A是癌基因,与肿瘤的发生发展密切相关,是肝癌<sup>[5]</sup>、乳腺癌<sup>[6]</sup>、肺癌<sup>[7]</sup>、肠癌<sup>[8]</sup>等多种肿瘤的治疗靶点。本课题组前期研究<sup>[9-10]</sup>发现,用RNAi沉默CDC25A基因后可有效调控人肝癌细胞HepG2的增殖、侵袭和转移,表明CDC25A可作为治疗肝癌的关键靶点。因此,本研究通过Affymetrix芯片技术分别对沉默和未沉默CDC25A基因的人肝癌HepG2细胞构建的裸鼠移植瘤组织进行检测,寻找差异表达基因,初步探究CDC25A对肝癌的作用机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要材料与试剂

课题组前期采用慢病毒LV-shRNA-CDC25A和LV-shRNA-NC分别转染HepG2细胞,再将转染成功和未经转染的HepG2细胞分别接种裸鼠,构建敲降CDC25A的LV组、NC组和Control组肝癌裸鼠移植瘤模型<sup>[9-10]</sup>,取各组瘤组织保存在-80℃备用。

RNA提取试剂TRIzol购自美国Invitrogen公司,逆转录试剂盒(PrimeScript RT Reagent Kit)、qPCR试剂盒(PrimeScript RT Reagent)均购自TaKaRa生物工程(大连)有限公司,人基因表达谱芯片(GeneChip® PrimeView™ Human Gene Expression Array)、人基因表达谱芯片检测试剂盒(GeneChip 3' IVT Expression Kit)均购自美国Affymetrix公司,凝胶电泳系统(Bioanalyzer-2100)购自美国Agilent公司,超微量分光光度计(NanoDrop 2000)、基因芯片洗涤工作站(GeneChip FluidicsStation450)、基因芯片扫描仪(GeneChip Scanner 3000)均购自美国Thermo公司。引物由生工生物工程股份有限公司(上海)合成。

### 1.2 提取肝癌裸鼠移植瘤组织总RNA

采用TRIzol法提取LV、NC组移植瘤的总RNA,通过超微量分光光度计检测其浓度和纯度,并用凝胶电泳系统检测总RNA的完整性。当 $1.7 < D_{260}/D_{280} < 2.2$ 且 $RIN \geq 7.0$  and  $28S/18S > 0.7$ 时,样本质检合格。

### 1.3 基因芯片检测筛选敲降CDC25A后移植瘤组织

### 中表达显著改变的差异表达基因

采用GeneChip® PrimeView™人基因表达谱芯片,包含36 000多个转录本。首先将抽提到的LV、NC组(每组包含6个重复样本)的总RNA制备Poly-A RNA/总RNA混合物,使用“第一链cDNA合成”程序合成第一链cDNA,第一链合成结束后立即进行“第二链合成cDNA”程序合成第二链cDNA,随后进行体外转录。通过人基因表达谱芯片检测试剂盒合成aRNA,并纯化,将纯化的aRNA加入配好的aRNA片段化反应液中进行片段化。在片段化后的aRNA中加入杂交反应液配成杂交混合物,然后与Affymetrix芯片探针杂交,取出芯片,用基因芯片洗涤工作站对芯片进行自动洗染,洗染完成后采用基因芯片扫描仪扫描芯片,结果采用R-Project软件进行数据分析及绘图,并采用Expression console软件对扫描结果进行解析获得注释结果,根据两组样本间的基因表达差异倍数(Fold change)(上调或下调倍数) $> 1.5$ 且显著性检验结果 $P < 0.05$ 的标准筛选出差异表达基因。采用GO注释富集分析对筛选出来的差异表达基因参与的生物过程(biological process, BP)、分子功能(molecular function, MF)及细胞组分(cellular component, CC)进行分析;基于KEGG与BioCarta数据库进行基因相关功能及生物学通路分析,通过Fisher精确检验评价其差异程度。

### 1.4 qPCR验证部分差异表达基因在肝癌裸鼠移植瘤组织中的表达水平

利用逆转录试剂盒将肝癌裸鼠移植瘤总RNA逆转录为cDNA。qPCR方法检测CDC25A、同源结构域相互作用蛋白激酶2(homeodomain interacting protein kinase 2, HIPK2)、微纤丝关联蛋白5(microfibrillar-associated protein 5, MFAP5)和细胞周期蛋白D1(cyclin D1, CCND1)mRNA的表达水平,以GAPDH为内参。应用Primer5.0软件设计引物(表1)。按qPCR试剂盒说明操作,反应条件为95℃预变性30 s,变性95℃ 5 s,退火60℃ 30 s共40个循环。每组样本设置3个重复孔,同时扩增各样本的目的基因和内参基因,实验独立重复3次。采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 分析法计算目的mRNA的相对表达量。

### 1.5 统计学处理

采用SPSS 19.0软件分析,呈正态分布的计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,以独立样本t检验分析正态分布数据的组间差异,以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 成功构建敲降CDC25A的肝癌裸鼠移植瘤模型 qPCR检测结果显示, LV组中CDC25A mRNA

相对表达量显著低于 NC 组和 Control 组  $[(0.32 \pm 0.07) \text{ vs } (0.99 \pm 0.05)、(1.05 \pm 0.10)]$ , 均  $P < 0.05$ , 表明肝癌移植瘤模型组织样本合格。

2.2 敲降 CDC25A 的肝癌移植瘤组织中筛选出 118 个差异表达基因

2.2.1 芯片数据质量评估 信号强度分布曲线图展示了所有芯片探针的信号强度分布情况。不同样本的信号强度分布曲线重合度越好, 表示芯片实验的可靠性越高。如图 1 所示, 所有样本在一个信号强度区间内的样本数的平均 Z-score 值均小于 2, 表示芯片结果的可靠性均符合继续分析标准。

表 1 qPCR 引物序列  
Tab.1 Primer sequences for qPCR

Gene	Sequence
GAPDH	F: 5'-TGA CT TCAACAGCGACACCCA-3' R: 5'-CACCCGTGTGCTGTAGCCAAA-3'
CDC25A	F: 5'-TTCCTCTTTTACACCCAGTCA-3' R: 5'-TCGGTTGTCAAGTTTGTAGTTC-3'
HIPK2	F: 5'-GCCAGTCAACACCAGTCACCAC-3' R: 5'-GGCTGCTGCTGCTGGAAGTG-3'
MFAP5	F: 5'-TGCTGGGATGAGAAATTACCT-3' R: 5'-ACTGGTGAAGCATAACTGATGA-3'
CCND1	F: 5'-TACCGCTCACACGCTTCTCTC-3' R: 5'-ACCTCCTCCTCCTCTTCTCTC-3'

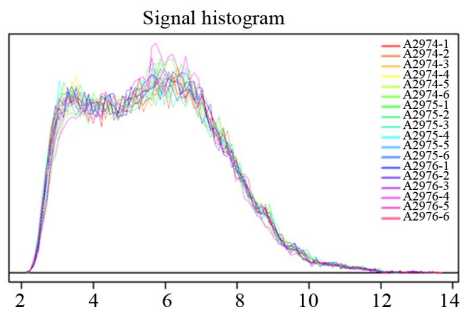


图 1 芯片信号强度分布曲线图  
Fig.1 Signal strength distribution curve of chip probes

芯片相对对数信号强度箱线图(图 2)展示了所有芯片的相对对数信号强度的分布情况, 所有样本的 Z-score 值中位数均小于 2, 表示该项目中的芯片实验的重复性较好, 符合继续分析标准。

芯片样本中, A2976 为沉默 CDC25A 基因的肝癌移植瘤(LV 组), A2975 为未沉默 CDC25A 基因的肝癌移植瘤(NC 组), A2974 为正常肝癌细胞系 HepG2 细胞构建的肝癌移植瘤(Control 组)。因 NC 组和 Control 组的基因表达水平间差异极小, 后续研究仅针对 LV 组和 NC 组进行。

2.2.2 基因表达谱结果 根据明显的差异表达基因

( $|\text{Fold Change}| > 1.5$  且  $P < 0.05$ ) 进行筛选并绘制火山图(图 3), 分析得到差异表达基因共 188 个, 其中上调基因 78 个、下调基因 110 个; 图 3 中, 横坐标数值以 2 为底的对数变换, 代表差异倍数, 纵坐标数值以 10 为底的对数变换, 代表差异有统计学意义的 P 值, 红色点为以  $|\text{Fold Change}| \geq 1.5$  且  $P < 0.05$  为标准筛选的 188 个差异表达基因, 灰色点为其他无显著差异的基因。选取差异表达基因中上调或下调差异较大且与肿瘤相关的 8 个基因列于表 2 中。

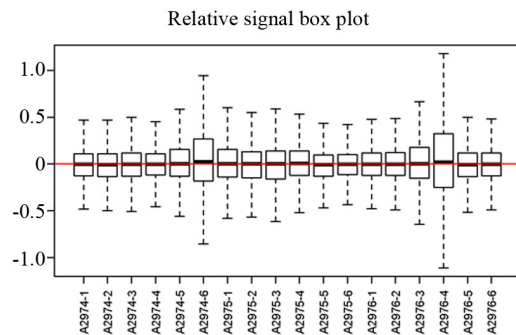


图 2 芯片相对对数信号强度箱线图  
Fig.2 Boxplots of relative signal intensity values

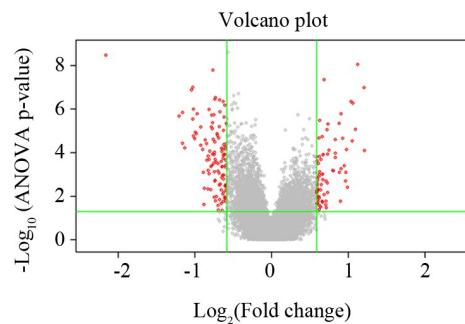


图 3 差异表达基因火山图  
Fig.3 Volcano plots of differentially expressed genes

散点图(图 4)展示了 LV 组与 NC 组之间的信号强度在直角坐标系平面上的分布情况, 图中每一个点的横纵坐标代表一个探针组在 NC 组和 LV 组中的信号强度, 平行的绿色实线为差异参考线, 参考线内区间的点代表信号强度无显著变化的探针组, 区间外的红色点代表在 LV 组中信号强度相对上调的探针组(即对应代表该组中差异表达基因), 绿色点代表在 NC 组中信号强度相对上调的探针组。

利用筛选出的 188 个差异表达基因的表达谱对 LV 和 NC 两组样本进行层次聚类分析并绘制热图(图 5)。在聚类分析热图中, 红色表示基因的表达程度相对上调, 绿色表示基因的表达程度相对下调, 黑色表示基因的表达没有显著变化, 灰色表示基因的信号强度未检出。

表2 敲降CDC25A基因后部分差异表达明显的基因

Tab.2 Part of the DEGs after the down-regulation of CDC25A gene

Gene	Description	Fold change	P
MFAP5	microfibrillar associated protein 5	-4.472	0.000
ANKRD1	ankyrin repeat domain 1 (cardiac muscle)	-2.306	0.000
KLRC2	killer cell lectin-like receptor subfamily C, member 2	-2.234	0.000
CCND1	cyclin D1	-1.515	0.000
COL1A2	collagen, type I, alpha 2	2.048	0.000
PTGFR	prostaglandin F receptor (FP)	2.075	0.000
ACTC1	actin, alpha, cardiac muscle 1	2.086	0.000
HIPK2	homeodomain interacting protein kinase 2	2.307	0.000

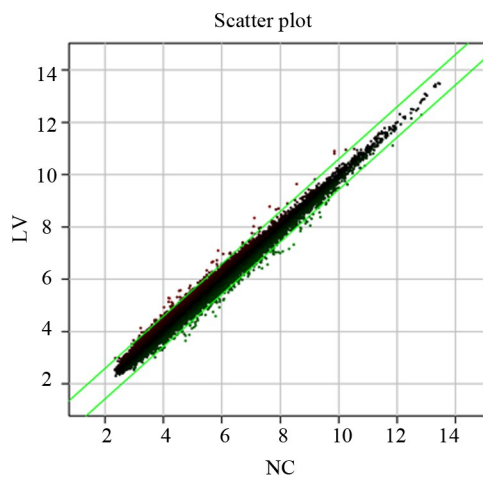


图4 芯片信号强度散点分布图

Fig.4 Scatter plots of signal intensity values of the chip probes

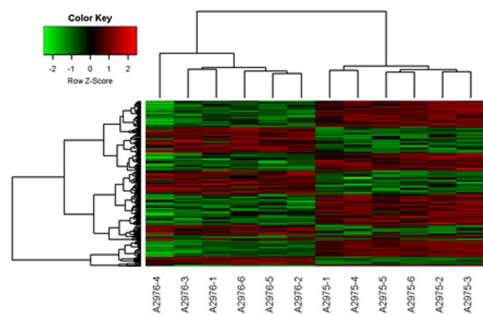


图5 差异表达基因聚类分析结果

Fig.5 Hierarchical cluster analyses of differentially expressed genes

差异表达基因染色体分布图(图6)展示了差异表达基因在染色体的分布情况,该图展示了人24条染色体的基本结构,以及差异表达基因在每条染色体上的具体位置。图中红色代表上调基因在染色体上的分布情况,绿色代表下调基因在染色体上的分布情况。

2.3 差异表达基因生物信息分析

GO分析是指基于 Gene ontology 数据库从参与的生物学过程、具有的分子功能和所处的细胞组分

等3个方面对这些基因进行分类。其中,生物学过程富集涉及细胞增殖、免疫系统过程、细胞凋亡等;分子功能富集涉及蛋白复合物结合、大分子复合物结合、细胞外基质结构组成等;细胞组分富集涉及细胞外间隙、细胞外间质、高尔基体等(图7)。



图6 差异表达基因染色体分布

Fig.6 Chromosome distribution of differentially expressed genes

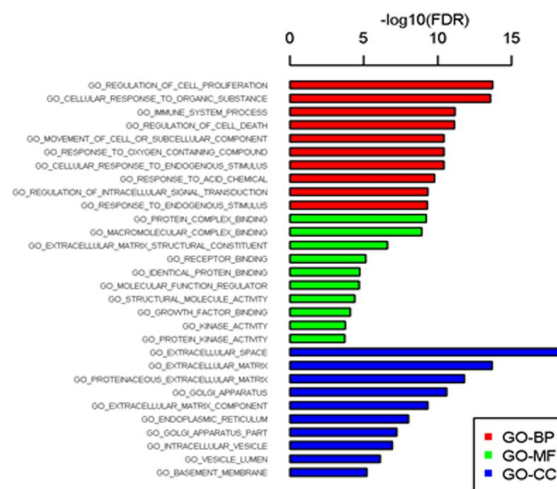


图7 差异表达基因的GO富集

Fig.7 GO enrichment of differentially expressed genes

Pathway 分析是基于 KEGG 与 BioCarta 数据库富集信号通路, 分析结果显示共涉及 5 条信号通路和 26 个基因, 其中差异最明显的通路为黏着斑激酶 (focal adhesion kinase, FAK) 通路。

#### 2.4 肝癌裸鼠移植瘤组织中的部分差异性基因表达变化与芯片检测结果一致

qPCR 检测结果 (图 9) 显示, 与 NC 组相比, LV 组 MFAP5、CCND1 mRNA 表达量明显降低 (均  $P < 0.05$ ), 而 HIPK2 mRNA 表达量明显升高 ( $P < 0.05$ ), 与芯片检测结果一致。

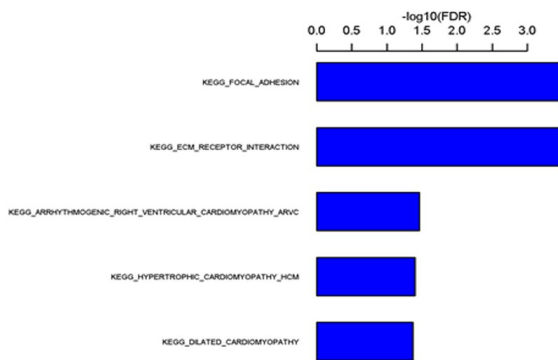


图 8 差异表达基因的 Pathway 富集

Fig.8 Pathway enrichment of differentially expressed genes

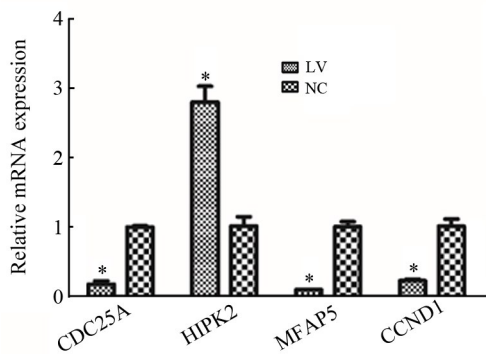


图 9 qPCR 验证部分差异表达基因

Fig.9 Verification of partial DEGs by qPCR

### 3 讨论

CDC25A 是一种具有双特异性的蛋白磷酸酶, 由 524 个氨基酸残基组成, 含有 N 端的调节结构域和 C 端的催化结构域。CDC25A 通过对 cyclin-CDK 复合物的去磷酸化和激活的作用正性调节 CDK, 进而 CDK 数量增加, 促进细胞周期进程<sup>[11]</sup>。CDC25A 的过表达可促进 G1/S 期和 G2/M 期的转变, 引起细胞周期调控异常, 导致肿瘤的发生。在肝癌肿瘤的发生发展过程中, CDC25A 基因显示出促进作用<sup>[12]</sup>。有研究<sup>[13]</sup>发现, 肝癌组织中 CDC25A 呈高表达, 其表达程度与肝

癌发生门脉转移呈显著的正相关, 同时肝癌组织中增殖细胞核抗原 (proliferating cell nuclear antigen, PCNA) 的表达随 CDC25A 表达量的增加而增加, 导致肝癌细胞增殖能力提高。本课题组前期研究<sup>[9-10]</sup>中证实 CDC25A 在肝癌组织中高表达, 敲降 CDC25A 基因可抑制肝癌细胞的增殖、侵袭、转移能力和阻滞细胞周期进程。

相比细胞体外培养, 肝癌裸鼠移植模型实现了体内观察人源肝癌细胞的生长, 可以更加准确地反映肝癌的生物学特性。为进一步探究 CDC25A 在肝癌发生中潜在的分子机制, 本研究通过人类基因表达谱芯片筛选经 RNA 干扰敲降和未敲降 CDC25A 基因的 HepG2 细胞构建的肝癌移植瘤组织的差异表达基因, 并对其进行生物信息学分析。芯片筛选出的 188 个差异表达基因中, 上调基因 78 个, 下调基因 110 个。利用 GO 和 KEGG 数据库对差异表达基因进行富集分析发现, 这些差异表达基因的功能主要富集在细胞增殖、细胞凋亡、蛋白复合物结合、细胞外间隙等方面的调控上, 参与黏着斑、ECM 受体相互作用等通路的改变。选取部分差异表达基因进行 qPCR 验证发现, 在沉默 CDC25A 基因的肝癌裸鼠移植瘤中 HIPK2 mRNA 表达上调, MFAP5、CCND1 mRNA 表达下调, 与芯片结果一致。CDC25A 可能通过调控这些差异表达基因, 从而参与肝癌的增殖、侵袭、转移等生物学过程。

HIPK2 是一种抑癌基因, 在肿瘤的发生发展及转移过程中发挥重要作用。HIPK2 通过激活各种下游信号通路诱导肿瘤细胞凋亡, 最显著的是通过激活抑癌基因 p53 起作用<sup>[14-15]</sup>。同时, HIPK2 可介导 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路、磷酸化  $\beta$ -连环蛋白 ( $\beta$ -catenin), 导致蛋白酶体降解, 影响靶基因 (如 VEGF) 的转录, 从而抑制肿瘤血管生成<sup>[16-17]</sup>。因此推测, CDC25A 可能通过对 HIPK2 的负调控作用, 进而促进肝癌进展。

MFAP5 是一种多功能分泌蛋白, 在整合弹性微球、调节内皮细胞行为和细胞存活方面发挥重要作用。MFAP5 在许多恶性肿瘤中表达上调, 促进肿瘤的侵袭和转移。MFAP5 可促进 FAK、Erk1 和 cJun 的磷酸化, 激活 ERK 信号通路, 进而促进肿瘤进展和转移<sup>[18-19]</sup>。研究<sup>[20]</sup>表明, CDC25A 可诱导 ERK 的磷酸化, 其是否通过调控 MFAP5 而影响 ERK 需进一步研究。

CDC25A 可与 CDK4、CDK6 结合, 使成视网膜细胞瘤抑制蛋白 (retinoblastoma, Rb) 磷酸化, 诱导转录因子 E2F (transcription factor E2F) 发挥及其转录活性, 促进细胞周期 G1/S、G2/M 期的进程<sup>[21]</sup>。同时, CDC25A 可通过对酸性核糖体磷蛋白大亚基 (ribosomal protein large P0, P0RPLP0)、丙酮酸激酶 M2

(pyruvate kinase M2, PKM2)、钙蛋白酶小亚基(calpain small subunit 1, CPNS1)、生长因子受体结合蛋白2(growth factor receptor-bound protein 2, GRB2)的调控来激活CCND1,促进细胞G1/S期的转化,从而在许多肿瘤的发生发展中起到重要作用<sup>[22]</sup>。

本研究利用基因芯片技术筛选肝癌移植瘤中与CDC25A相关的基因,并对部分差异表达基因进行了初步验证,为深入探讨CDC25A在肝癌发生发展中的促进作用机制提供了新的线索。但本研究主要反映了基因在转录水平的改变,具有一定局限性,CDC25A在肝癌中调控这些差异表达基因的具体机制尚需后续进一步研究。

### [参考文献]

- [1] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer Statistics, 2019[J]. *CA Cancer J Clin*, 2019, 69(1):7-34. DOI: 10.3322/caac.21551.
- [2] CRONIN K A, LAKE A J, SCOTT S, et al. Annual report to the nation on the status of cancer, part II: national cancer statistics[J]. *Cancer*, 2018, 124(13): 2785-2800. DOI: 10.1002/cncr.31551.
- [3] HARBOUR J W, LUO R X, DEI SANTI A, et al. CDK phosphorylation triggers sequential intramolecular interactions that progressively block Rb functions as cells move through G1[J]. *Cell*, 1999, 98(6): 859-869. DOI:10.1016/s0092-8674(00)81519-6.
- [4] SUR S, AGRAWAL D K. Phosphatases and kinases regulating CDC25 activity in the cell cycle: clinical implications of CDC25 overexpression and potential treatment strategies[J]. *Mol Cell Biochem*, 2016, 416(1/2): 33-46. DOI:10.1007/s11010-016-2693-2.
- [5] YUAN P, LI J, ZHOU F, et al. NPAS2 promotes cell survival of hepatocellular carcinoma by transactivating CDC25A[J/OL]. *Cell Death Dis*, 2017, 8(3): e2704[2019-07-30]. <https://www.nature.com/articles/cddis2017131>. DOI:10.1038/cddis.2017.131.
- [6] QIN H, LIU W. MicroRNA-99a-5p suppresses breast cancer progression and cell-cycle pathway through downregulating CDC25A[J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(4): 3526-3537. DOI:10.1002/jcp.26906.
- [7] LI H, JIANG M, CUI M, et al. MiR-365 enhances the radiosensitivity of non-small cell lung cancer cells through targeting CDC25A[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 512(2): 392-398. DOI: 10.1016/j.bbrc.2019.03.082.
- [8] LIU W, WU M, DU H, et al. SIRT6 inhibits colorectal cancer stem cell proliferation by targeting CDC25A[J]. *Oncol Lett*, 2018, 15(4): 5368-5374. DOI: 10.3892/ol.2018.7989.
- [9] 李薇, 曹骥, 周玲丽, 等. RNA干扰技术沉默CDC25a基因对人肝癌细胞HepG2增殖的影响[J]. *中国病理生理杂志*, 2014, 30(12): 2142-2147. DOI:10.3969/j.issn.1000-4718.2014.12.005.
- [10] 李薇, 曹骥, 周玲丽, 等. RNAi沉默CDC25a基因对人肝癌细胞HepG2裸鼠移植瘤的影响[J]. *实用医学杂志*, 2015, 31(3): 348-352. DOI:10.3969/j.issn.1006-5725.2015.03.005.
- [11] DOZIER C, MAZZOLINI L, CENAC C, et al. CyclinD-CDK4/6 complexes phosphorylate CDC25A and regulate its stability[J]. *Oncogene*, 2017, 36(26): 3781-3788. DOI:10.1038/ncr.2016.506.
- [12] WANG X Q, ZHU Y Q, LUI K S, et al. Aberrant Polo-like kinase 1-Cdc25A pathway in metastatic hepatocellular carcinoma[J]. *Clin Cancer Res*, 2008, 14(21): 6813-6820. DOI:10.1158/1078-0432.ccr-08-0626.
- [13] XU X, YAMAMOTO H, SAKON M, et al. Overexpression of CDC25A phosphatase is associated with hypergrowth activity and poor prognosis of human hepatocellular carcinomas[J]. *Clin Cancer Res*, 2003, 9(5): 1764-1772. DOI:10.1093/carcin/bgg047.
- [14] PUVA R, NARDINOCCHI L, SACCHI A, et al. HIPK2 modulates p53 activity towards pro-apoptotic transcription[J/OL]. *Mol Cancer*, 2009, 8: 85[2019-08-01]. <https://molecular-cancer.biomedcentral.com/articles/10.1186/1476-4598-8-85>. DOI: 10.1186/1476-4598-8-85.
- [15] WANG X N, WANG K Y, ZHANG X S, et al. 4-Hydroxybenzoic acid (4-HBA) enhances the sensitivity of human breast cancer cells to adriamycin as a specific HDAC6 inhibitor by promoting HIPK2/p53 pathway[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 504(4): 812-819. DOI:10.1016/j.bbrc.2018.08.043.
- [16] PUCA R, NARDINOCCHI L, D'ORAZI G. Regulation of vascular endothelial growth factor expression by homeodomain-interacting protein kinase-2[J/OL]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2008, 27: 22[2019-08-01]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18644116>. DOI: 10.1186/1756-9966-27-22.
- [17] 王建国, 李一, 刘锦平. 同源结构域相互作用激酶2在恶性肿瘤中的研究进展[J]. *实用医院临床杂志*, 2018, 15(3): 262-266. DOI: CNKI: SUN:YYLC.0.2018-03-084.
- [18] WU Z, WANG T, FANG M, et al. MFAP5 promotes tumor progression and bone metastasis by regulating ERK/MMP signaling pathways in breast cancer[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 498(3): 495-501. DOI: 10.1016/j.bbrc.2018.03.007.
- [19] YEUNG T L, LEUNG C S, YIP K P, et al. Anticancer immunotherapy by MFAP5 blockade inhibits fibrosis and enhances chemosensitivity in ovarian and pancreatic cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2019(1): 1-30. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-19-0187.
- [20] KAR S, WANG M, HAM S W, et al. H32, a non-quinone sulfone analog of vitamin K3, inhibits human hepatoma cell growth by inhibiting Cdc25 and activating ERK[J]. *Cancer Biol Ther*, 2006, 5(10): 1340-1347. DOI:10.4161/cbt.5.10.3223.
- [21] TAKAHASHI-YANAGA F, SASAGURI T. GSK-3beta regulates cyclin D1 expression: a new target for chemotherapy[J]. *Cell Signal*, 2008, 20(4): 581-589. DOI: 10.1016/j.cellsig.2007.10.018.
- [22] SADEGHI H, GOLALIPOUR M, YAMCHI A, et al. CDC25A pathway toward tumorigenesis: Molecular targets of CDC25A in cell-cycle regulation[J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(3): 2919-2928. DOI: 10.1002/jcb.26838.

[收稿日期] 2019-10-05

[修回日期] 2019-12-29

[本文编辑] 黄静怡