

# 山东省科学技术奖—科技进步奖公示内容

## 一、项目名称

Kinesin 家族成员调控肿瘤侵袭转移的分子机制研究

## 二、申报奖种

山东省科技进步奖

## 三、申报单位

青岛大学 山东大学齐鲁医院 山东大学

## 四、推荐单位意见

该项目阐述了沉默 Kif2a 对 Tca8113 细胞增殖和侵袭转移能力的影响,揭示沉默 Kif2a 对舌癌增殖及侵袭转移的抑制作用并阐述了沉默 Kif2a 通过 Rho/ROCK 信号转导通路调控肿瘤细胞侵袭转移的机制,为以细胞骨架为靶点的抗肿瘤转移治疗提供新型靶分子和理论依据。立项新颖,具有创新性,课题按时顺利完成,达到预期研究目标,并发表相关 SCI 论文多篇,建议推荐申报科技进步奖。

## 五、项目简介

- 1、首先在原有研究结果基础上,通过 MTT 实验、克隆生成实验、流式细胞术、划痕实验、Transwell 小室实验观察了 Kif2a 基因沉默对舌癌细胞 Tca8113 细胞增殖及侵袭迁移能力的影响。结果显示, Kif2a 基因沉默能显著抑制舌癌的增殖和侵袭转移能力。进一步研究了临床常用化疗药物 5-氟尿嘧啶(5-Fu)与 Kif2a 基因沉默对裸鼠移植瘤生长的协同抑制效应, Kif2a 基因沉默能显著增强 5-Fu 对 Tca8113 细胞的增殖抑制效应,增加 Tca8113 细胞对 5-Fu 的药物敏感性。
- 2、构建细胞移植瘤裸鼠模型。活体、实时观察 Kif2a 基因沉默对裸鼠移植瘤生长的作用,记录裸鼠生存期并绘制生存曲线。结果显示 Kif2a 基因沉默显著抑制裸鼠移植瘤的生长。
- 3、Real time RT-PCR 及 Western blot 技术检测空白对照组、阴性对照组及 Kif2a 干扰组细胞内 Rho 家族成员 RhoA、ROCK1、Rac1 及 Cdc42 基因的表达情况。结果发现,与阴性对照组比较, Kif2a 干扰组细胞内 RhoA、ROCK1、Rac1 及 Cdc42 的基因表达水平显著下降。
- 4、应用 Rho/ROCK 信号通路特异性抑制剂 LY-27632 和激动剂溶血磷脂酸 LPA,

人工划痕实验及 transew11 小室显示 Kif2a 基因沉默抑制 Tca8113 细胞迁移,表明 Kif2a 可能通过 RhoA/ROCK 信号通路调控细胞的迁移能力。

5、Kif2a 干扰组细胞中 PI3K、Akt 及 Bcl-2 基因 mRNA 及蛋白的表达水平均显著降低,而 Bax 基因的 mRNA 及蛋白表达水平显著升高,由此推测 Kif2a 基因沉默可能通过 PI3K/Akt 信号通路相关分子影响细胞的凋亡,特别是通过调控 Bcl-2/Bax 的比值。

6、构建稳定敲除 Kif2a 基因的 Tca8113 细胞裸鼠转移瘤模型,并采用免疫组化染色方法检测转移瘤组织内 RhoA、ROCK1、Rac1 及 Cdc42 等蛋白表达的变化。结果显示 Kif2a 基因沉默显著抑制 RhoA、ROCK1、Rac1 及 Cdc42 的表达,表明 Kif2a 基因沉默抑制 Tca8113 细胞的侵袭转移能力,这一作用可能是通过调控 Rho/ROCK1 信号通路而实现的。

本研究首次阐述舌鳞癌中 Kif2a 基因沉默对细胞侵袭转移能力的影响。该研究结果将丰富 Kif2a 的研究,并为口腔肿瘤抗转移治疗提供新的思路及理论依据。首次阐述 Kif2a 可能通过自身解聚微管改变细胞骨架,并通过 Rho 蛋白家族及 Rho/ROCK 信号转导通路调控肿瘤侵袭转移的分子机制,为舌癌筛选以细胞骨架为靶点的抗肿瘤转移治疗的新型靶分子提供重要的线索和理论依据。

**六、客观评价:** 该项目阐述了沉默 Kif2a 对 Tca8113 及 SAS 细胞增殖和侵袭转移能力的影响,揭示沉默 Kif2a 对舌癌增殖及侵袭转移的抑制作用并阐述了沉默 Kif2a 通过 Rho/ROCK 信号转导通路调控肿瘤细胞侵袭转移的机制,为以细胞骨架为靶点的抗肿瘤转移治疗提供新型靶分子和理论依据。立项新颖,具有创新性,课题按时顺利完成,达到预期研究目标,并发表相关 SCI 论文多篇,具有较高的临床意义。

#### **七、推广应用情况:**

项目应用单位名称: 青岛大学附属医院

应用单位注册地址: 青岛市市南区江苏路 16 号

应用起止时间: 2013-2015 年

具体应用情况: 主要用于口腔肿瘤标志物的检测,并免疫组化检测口腔癌原发灶及淋巴结内转移灶中 Kif2a 的表达,用于肿瘤分期及预后判断。

#### **主要知识产权证明目录:**

1. L Zhang, **Wang CQ**, F Liu, ZQ Dong, P Zhao, XN Dong, FC Wei, X Qu, FG Xiang. Effect of human Dachshund homolog 1 on the proliferation, migration, and adhesion of squamous cell carcinoma of the tongue. Oral Surgery, Oral Medicine,

Oral Pathology, Oral Radiolog 2016;121:58-66.(通讯作者)

2. **Wang CQ**, Wang CG, Wei ZM, Li YJ, Wang WH, Li X, Zhao J, Zhou X, Qu X, Xiang FG. Suppression of motor protein KIF3C expression inhibits tumor growth and metastasis in breast cancer by inhibiting TGF- $\beta$  signaling. *Cancer Lett.* 2015;368(1):105-14.(IF=5.621)
3. **Wang CQ**, F G Xiang, Y J Li, X M Xing, N Wang, J H Chi, W J Yu, Relation between the expression of Mitotic Centromere-associated Kinesin and the progression of squamous cell carcinoma of the tongue. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiolog* 2014;117:353-360.
4. **Wang CQ**, YJ Li, ZM Wei, CJ Zhu, X Qu, FC Wei, XM Xing, W J Yu, Stable gene-silence of Kif2a synergistic with 5-Fluorouracil suppresses oral tongue squamous cell carcinoma growth in vitro and in vivo. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiolog* 2013 Jul; 116(1):49-54.
5. **Wang CQ**, Qu X, Zhang XY, Zhou CJ, Liu GX, Dong ZQ, Wei FC, Sun SZ. Overexpression of Kif2a promotes the progression and metastasis of squamous cell carcinoma of the oral tongue. *Oral Oncol.* 2010 Jan;46(1):65-9.
6. **Jianli Wang**, Siqin Ma, Rong Ma, Xun Qu, Wenjun Liu, Cuixia Lv, Song Zhao, Yunyun Gong. KIF2A silencing inhibits the proliferation and migration of breast cancer cells and correlates with unfavorable prognosis in breast cancer. *BMC cancer* 2014,14:461
7. 赵洁, **王成勤**, 赵涵, 董娴宁 乳腺癌免疫组化全自动染色与手工染色的体会 *临床与实验病理学杂志* 2014年1月; 30(1): 96-98(通讯作者)
8. Xia Y, Wang YW, Jiang YX, **Yu WJ**, Li YJ, Xiang FG, Wang CQ. Primary intravascular large B cell lymphoma of the endometrium. *Acta Histochem.* 2014 Jun;116(5):993-6. (通讯作者)
9. **Wang N**, Feng Y, Wang Q, Liu S, Xiang L, Sun M, Zhang X, Liu G, Qu X, Wei F, Neutrophils infiltration in the tongue squamous cell carcinoma and its correlation with CEACAM1 expression on tumor cells, 2014, *PLoS One* 9: e89991
10. **Wang N**, Wang QJ, Feng YY, Shang W, Cai M, Overexpression of Chemerin was associated with tumor angiogenesis and poor clinical outcome in squamous cell carcinoma of the oral tongue, *Clinical Oral Investigation*, 2014, 18: 997-1004.
11. **Jianli Wang**, Xiuli Xiao, Jianmin Wang, Naazneen Iqbal, Laurie Baxter, Kristin A. Skinner, David G. Hicks, Steven I. Hajdu, and Ping Tang\*. Predictors of Nipple–Areolar Complex Involvement by Breast Carcinoma: Histopathologic

Analysis of 787 Consecutive Therapeutic Mastectomy Specimens. *Ann Surg Oncol*, 19(4): 1174–1180, 2012. (SCI 收录 4.654)

12. **JianLi Wang**, Xun Qu, WenJun Liu, YanYan Wang, CuiXia Lv, JingZhong Sun, ShanZhen Sun, Rong Ma\*. Clinicopathological Significance of CEACAM1 Gene Expression in Breast Cancer. *Chinese Journal of Physiology*, 54(5): 332-339, 2011. (SCI 收录)
13. Liang W, **Wang J**, Wang C, Lv Y, Gao H, Zhang K, Liu H, Feng J, Wang L and R. Ma\*, "Detection of high-risk human papillomaviruses in fresh breast cancer samples using the hybrid capture 2 assay," *J Med Virol*, vol. 85, no. 12, pp. 2087-92, Dec 2013. (SCI 收录 2.47)
14. Zhao S, Yuan Q, Hao H, Guo Y, Liu S, Zhang Y, **Wang J\***, Liu H, Wang F, Liu K, Ling EA, and Hao A\*. Expression of OCT4 pseudogenes in human tumours: lessons from glioma and breast carcinoma. *J Pathol*. 223(5):672-82, 2011. (SCI 收录 5.2)
15. Song Zhao, Xiaodong Gai, Yongmei Wang, Weili Liang<sup>1</sup>, Haidong Gao, Kai Zhang, Huimin Wang, Yanhong Liu, **Jianli Wang\***, and Rong Ma\*. Diagnostic Values of Carcinoembryonic Antigen, Cancer Antigen 15-3 and Cancer Antigen 125 Levels in Nipple Discharge. *Chinese Journal of Physiology* 2015, 58(6): 385-392,
16. Song Zhao\*, Lanwei Xu\*, Wenjun Liu, Cuixia Lv<sup>4</sup>, Kai Zhang, Haidong Gao, **Jianli Wang**, Rong Ma. Comparison of the expression of prognostic biomarkers between primary tumor and axillary lymph node metastases in breast cancer. *Int J Clin Exp Pathol* 2015; 8(5):5744-5748
17. Yan-Rong Lv, \*, **Jian-Li Wang**, \*Kai Zhang, Hai-Dong Gao, Jing-Zhong Sun, Yun-Yun Gong, and Rong Ma. Human Papilloma Viruses (HPVs) no Co-Existence in Breast Cancer and Cervical Cells in the Same Patient. *Chinese Journal of Physiology* 57(2): 105-106, 2014
18. 王崇杰、**王建丽**、牟洁、王燕燕、张凯、高海东、吕翠霞、刘文君、张庆慧、马榕. 乳腺癌术前核芯针穿刺检测 ER、PR、C-erbB-2、Ki-67 的临床研究。中国现代普通外科进展杂志, 2011, 14(7): 517–520。
19. 刘冰天、**王建丽**、高海东、马榕. 乳腺导管内癌伴微浸润和粉刺样坏死的临床病理研究。中国现代普通外科进展杂志, 2011, 14(8): 606–609。

20. 马榕、**王建丽**、祝志强. 乳腺导管内乳头状肿瘤术式选择及评价. 中国实用外科杂志. 2011, 31 (10) : 959-960.

## 九、主要完成人情况表

1、王成勤 第一完成人 青岛大学医学院病理教研室讲师

对本项目技术创造性贡献: 作为项目主持人全面负责项目中全部实验技术的具体实施。熟练掌握本研究所需的免疫组化技术及 PCR、Western blot、载体构建、细胞培养、基因转染、稳定转染细胞株筛选等技术。2014-2015 年于美国 M.D.Anderson 癌症中心从事乳腺癌转移机制研究。主持国家自然科学基金 1 项。第一作者发表 SCI 收录论文 6 篇, 最高影响因子 5.6 分。兼任中国医学促进会委员, 青岛市医学会病理分会委员。

2. 王建丽, 第二完成人, 山东大学医学院副教授, 硕士研究生导师。山东省病理生理学会肿瘤专业主任委员, 中国动脉硬化杂志编委。2007-2008 年在美国 Rochester 大学医学中心病理学系从事乳腺癌诊断及转移机制研究。主持山东省卫生厅科研项目 1 项, 山东省自然科学基金一项, 参与国家自然科学基金和山东省自然科学基金各 4 项, 发表论文十余篇, 第一作者和通讯作者发表 SCI 收录论文 9 篇。本项目中主要负责细胞功能检测。

3. 王克涛, 博士, 山东大学齐鲁医院副主任医师。本项目中主要负责细胞培养及转染技术。擅长口腔肿瘤的诊断和治疗。第一作者发表 SCI 收录论文 1 篇。

4. 迟菁华, 博士, 青岛大学医学院病理教研室, 讲师, 本项目中负责动物实验。2011 年获日本福井大学医学部博士学位, 兼任中华医学会病理学会青岛市分会委员。目前主要从事肿瘤厌食机制相关研究。在 2005 至 2011 年赴日留学期间, 接受了严格的科研训练, 熟练掌握免疫荧光多重标记、活细胞工作站、激光共聚焦显微镜等技术。主持留学归国人员科研启动基金一项。第一作者发表 SCI 收录论文 2 篇。

5. 王文宏, 博士, 青岛大学医学院病理教研室讲师, 本项目中主要从事数据统计及论文撰写。已发表核心期刊收录论文多篇。

## 十、主要完成单位及创新推广贡献

1、青岛大学: 项目第一完成单位, 负责总体技术方案制定、可行性分析、技术路线确定及技术方案的实施。

2、山东大学齐鲁医院: 项目第二完成单位, 负责前期舌癌病例及标本收集、病例确定及项目推广使用。

3、山东大学: 项目第三完成单位, 负责乳腺癌标本收集、病例确定及项目推广

使用。

**十一、完成人合作关系说明：**本项目所有完成人均均为青岛大学医学院、山东大学医学院及齐鲁医院正式职工，在本项目实施过程中团结合作，保证了项目的顺利进行。王成勤系青岛大学医学院讲师，作为项目主持人，全面负责项目中全部实验技术的具体实施。王建丽系山东大学病理生理教研室副教授，本项目中主要负责细胞功能检测。王克涛系山东大学齐鲁医院口腔科副主任医师，本项目中主要负责细胞培养及转染技术。迟菁华系青岛大学医学院讲师，本项目中负责动物实验及相关检测。王文宏系青岛大学医学院讲师，本项目中负责数据统计及论文撰写。

联系人：周敬馨

联系电话：88369965