

铁死亡抑制因子 KIF20A 对食管癌细胞生物学行为及铁死亡的影响

热则耶·麦麦提祖农¹⁾, 李秀娟²⁾, 刘玲¹⁾, 李卉³⁾

(1)新疆医科大学基础医学院生物化学与分子生物学教研室; 2)病理生理学教研室;

3)中心实验室, 新疆乌鲁木齐 830000)

[摘要] **目的** 探讨驱动蛋白家族成员 20A(KIF20A)在食管鳞状细胞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)中的表达及对 Eca109 细胞生物学行为和铁死亡的影响。**方法** 通过生物信息学分析预测 KIF20A 在 ESCC 中的表达。构建 KIF20A 敲低/过表达 Eca109 细胞系, 实验分组: 对照组, KIF20A 敲低组, KIF20A 过表达组。通过 CCK-8 法, Transwell 侵袭实验, 细胞划痕实验检测 KIF20A 对 Eca109 细胞增殖, 迁移能力的影响。采用 RAS 选择性致死化合物 3(RSL3)诱导建立铁死亡应激模型, 检测谷胱甘肽(glutathione, GSH), 丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量。**结果** 和对照组比较, KIF20A 敲低组细胞增殖活力降低($P < 0.05$), KIF20A 过表达组细胞增殖活力增加($P < 0.05$)。与对照组比较, KIF20A 敲低组细胞侵袭及迁移能力降低($P < 0.05$), KIF20A 过表达组细胞侵袭及迁移能力增加($P < 0.05$)。RSL3 诱导处理后, KIF20A 敲低组细胞裂解液中 GSH 含量低于对照组($P < 0.05$), MDA 含量高于对照组($P < 0.05$); KIF20A 过表达组细胞结果与之相反。**结论** KIF20A 在 ESCC 中高表达, 其在 Eca109 细胞中发挥着促进增殖、侵袭、迁移及抑制铁死亡的作用。

[关键词] 铁死亡; 驱动蛋白家族成员 20A; 食管鳞状细胞癌; RAS 选择性致死化合物 3

[中图分类号] R735.1 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 2095-610X(2024)02-0049-08

Effects of Ferroptosis Inhibitor KIF20A on Biological Behavior and Ferroptosis of Esophageal Carcinoma Cells

Rezeze Maimaitizunong¹⁾, LI Xiujuan²⁾, LIU Ling¹⁾, LI Hui³⁾

(1) Dept. of Biochemistry and Molecular Biology, School of Basic Medicine; 2) Dept. of

Pathophysiology; 3) Central Laboratory, Xinjiang Medical University,

Urumqi Xinjiang 830000, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the expression of KIF20A in ESCC and its effect on Eca109 cell biological behavior and ferroptosis. **Methods** The expression of KIF20A in ESCC was predicted by bioinformatics analysis. KIF20A knockdown /overexpression Eca109 cell line was constructed, Experimental groups: control group, KIF20A knockdown group, KIF20A overexpression group, and the effects of KIF20A on the proliferation, invasion, and migration of Eca109 cells were detected by CCK-8, Transwell invasion assay and cell scratch assay. On this basis, the ferroptosis model induced by RSL3 was established, and GSH and MDA contents were detected. **Results** Compared with the control group, the cell proliferation activity of the KIF20A knockdown group was significantly decreased ($P < 0.05$), and that of the KIF20A overexpression group was significantly increased ($P < 0.05$). Compared with the control group, the invasion and migration ability of the KIF20A knockdown group was decreased ($P < 0.05$), and the invasion and migration ability of the KIF20A overexpression group was increased ($P < 0.05$). After RSL3 induction, the GSH content in the cell lysate of the KIF20A knockdown group was lower than that of the control group ($P < 0.05$), and the MDA content was higher than that of the control group ($P < 0.05$).

[收稿日期] 2023-11-09

[基金项目] 新疆维吾尔自治区科技创新团队(天山创新团队)项目(2022TSYCTD0018)

[作者简介] 热则耶·麦麦提祖农(1998~), 女, 维吾尔族, 新疆喀什人, 在读硕士研究生, 主要从事肿瘤研究工作。

[通信作者] 李卉, E-mail: huihui922@126.com

Conclusion KIF20A is highly expressed in ESCC and plays a role in promoting proliferation, invasion, migration and inhibiting ferroptosis in Eca109 cells.

[**Key words**] Ferroptosis; KIF20A; ESCC; RSL3

食管癌(esophageal carcinoma, EC)是常见的消化道恶性肿瘤之一, 据国际癌症研究中心全球统计报告显示 2020 年我国食管癌新发病例以及新增死亡病例均超过了世界总数的 50 %^[1]。食管癌有 2 种组织学亚型, 其中近 90 % 的食管癌患者为食管鳞状细胞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)患者^[2]。虽然 ESCC 中晚期患者的治疗方案正在不断优化, 但患者 5 a 生存率依然很低^[3]。

铁死亡是 2012 年首次被提出的一种非凋亡形式的细胞死亡, 其发生依赖于铁离子, 过多的铁离子诱导更多的氧自由基产生, 而不断累积的氧自由基攻击细胞膜中的多不饱和脂肪酸, 使其过氧化, 进一步导致细胞膜的破裂, 最终诱发细胞的死亡^[4]。其实细胞内氧自由基产生来源有很多, 由于细胞内含有强大的抗氧化系统在不断的阻断和清除过多产生的氧化物, 细胞才能在氧化和抗氧化物的动态平衡下维持着生命活动^[5]。铁死亡的发生受多基因的共同调控, 通过前期生物信息学分析筛选出 2 个 ESCC 中高表达的铁死亡相关基因, 分别是 RRM2 和 KIF20A。其中 KIF20A 被认为是铁死亡抑制因子^[6]。此外, KIF20A 作为驱动蛋白家族成员, 参与细胞有丝分裂过程, 调节细胞增殖, 在多种肿瘤中发挥着促癌基因的作用^[7], 而 KIF20A 在 ESCC 中的作用有待进一步研究。该研究旨在探究 KIF20A 对 ESCC 细胞生物学行为以及铁死亡的影响。

1 材料与方法

1.1 数据来源

ULCAN(<https://ualcan.path.uab.edu/index.html>)是一个开放式癌症数据分析网站^[8], 其可提供公开可用的癌症 OMICS 数据, 其中包括癌症基因组图谱(the cancer genome atlas, TCGA)。从 ULCAN 数据库中获取 EC 及正常组织 RNA-seq 数据。GEO(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>)数据库是各种高通量数据的公共数据库, 从 GEO 数据库中获取 GSE75241 数据集(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/query/GSE75241>)其包含 15 对 ESCC 及配对正常组织的基因表达谱信息。FerrDb(<http://www.zhounan.org/ferrdb/current/>)

是铁死亡调节基因和铁死亡相关疾病检索及可获取网站, 从中获取铁死亡相关基因集。

1.2 主要试剂与仪器

胎牛血清购于美国 Sigma-Aldrich 公司; 青链霉素, RPMI1640 购于美国 BI 生物公司, Opti-MEM, Lipofectamin3000 购于美国 Thermo Fisher 公司; 10 % SDS-PAGE 凝胶试剂盒购于北京博泰斯生物技术有限公司; PVDH 膜购于瑞士 Roche 公司; 脱脂奶粉购于德国 Biofrox 公司; KIF20A 抗体购于美国 Santa cruz 公司, 型号 sc-374508; GAPDH 及山羊抗兔 IgG、山羊抗鼠 IgG 均购于北京博奥森公生物技术有限公司; CCK-8 试剂购于北京博奥森生物技术有限公司, 型号 BA00208; 基质胶 Matrigel 购于美国 BD 公司; Transwell 细胞培养小室购于美国康宁公司; 嘌呤霉素、ECL 化学发光底物、4 % 多聚甲醛均购中国 Biosharp 公司; 0.1 % 结晶紫、DMSO、GSH 检测试剂盒、MDA 检测试剂盒均购于北京索莱宝生物科技有限公司; 铁死亡诱导剂 RSL3 购于美国 MCE 公司; 全波长酶标仪购于美国 BIO RAD 公司; 倒置显微镜购于日本 Nikon 公司。

1.3 细胞株及细胞转染

本研究所用食管鳞癌 Eca109 细胞购自中国科学院细胞库。在 10 % 胎牛血清+1 % 青链霉素+RPMI1640 完全培养基, 37 °C、5 % CO₂ 培养箱中培养。KIF20A 敲低慢病毒由汉恒生物科技有限公司设计, 分别是 shKIF20A-1: CCGTTCCTGCA TGATTGTC AA, shKIF20A-2: CCGATGACGATGTCC TAGTTT, 空载作为对照组。按照半体积病毒感染法进行病毒感染, 病毒 MOI 值分别是 30 和 10。感染 48 h 后以 1 mg/L 的嘌呤霉素连续进行 3 次筛选。KIF20A 过表达质粒由上海吉凯基因公司设计, 过表达质粒在 Opti-MEM 中稀释, 质粒浓度分别是 1.5 μg 和 2 μg, 用 Lipofectamin3000 转染至细胞中, KIF20A 敲低组用 sh-KIF20A 来表示, KIF20A 过表达组用 OE-KIF20A 来表示。

1.4 Western blot 检测转染效率

Western blot 实验检测 KIF20A 敲低/过表达转染效率。蛋白样品在 10 % SDS-PAGE 凝胶中进行电泳, PVDF 膜湿转 1.5 h, 用 5% 脱脂牛奶封闭,

抗体孵育 KIF20A(1:200), GAPDH(1:4000), 4 °C 过夜, 孵育二抗山羊抗兔 IgG、山羊抗鼠 IgG(1:10000) 常温 1 h, 滴加 ECL 化学发光底物显影。结果在 Fiji Image J v2.3.0(美国)软件中进行灰度值扫描。

1.5 CCK-8 法检测细胞活力

KIF20A 敲低/过表达细胞 5×10^3 个/孔的密度接种于 96 孔板中, 实验分组为 KIF20A 敲低组和对照组、KIF20A 过表达组和对照组, 每组分别设计 3 个平行副孔, 分别在 12 h, 24 h, 36 h 和 48 h 时更换含 10% CCK-8 溶液的培养基, 用全波长酶标仪在 450 nm 测量吸光度。每次实验至少设计 3 个平行复孔, 实验均重复 3 次。

1.6 Transwell 侵袭实验

实验前 24 h 将所需基质胶 Matrigel 转移至 4 °C, 其以 1:8 比例与无血清培养基稀释, 5×10^{-5} L/孔滴加至小室。待基质胶成膜, 上室为无血清培养基细胞悬液(细胞浓度为 2.5×10^8 个/L), 下室为 20% 血清的完全培养基, 实验分组为 KIF20A 敲低组和对照组、KIF20A 过表达组和对照组, 每组分别设计 3 个平行副孔。培养 48 h 后进行 4% 多聚甲醛固定, 0.1% 结晶紫染色, 在倒置显微镜下随机拍取 3 个视野, 用 Fiji Image J v2.3.0(美国)软件计数。实验重复 3 次。

1.7 细胞划痕实验

实验分组为 KIF20A 敲低组和对照组、KIF-20A 过表达组和对照组, 每组分别设计 3 个平行副孔。KIF20A 过表达组实验: 将细胞接种于 6 孔板, 待细胞密度达 90% 时对细胞进行转染, 按照转染说明, 在转染 6 h 后进行换液, 随后用 200 μ L 灭菌枪头笔直划线并拍照记录, 此时为 0 h 的迁移率。待 48 h 后给细胞换液后进行第 2 次拍照, Fiji Image J v2.3.0 软件扫描划痕面积, 通过以下公式计算迁移率(0 h 划痕面积-48 h 划痕面积)/0 h 划痕面积。KIF20A 敲低组实验: 将原先构建的 KIF20A 稳定敲低及对照组细胞接种于 6 孔板, 待细胞贴壁后进行划线, 随后步骤如同上述。每次实验至少设计 3 个平行复孔, 实验均重复 3 次。

1.8 最佳药物浓度筛选

铁死亡诱导剂 RSL3 干粉剂在 DMSO 中溶解, 配制成 10 mmol 的母液, 随后稀释至以下浓度: 0.1 μ mol, 0.5 μ mol, 1 μ mol, 5 μ mol, 10 μ mol, 30 μ mol, 50 μ mol, 同时 DMSO 为对照组。细胞按 5×10^3 个/孔的密度接种于 96 孔板中, 每个浓度及对照组分别设计 3 个平行副孔。加药 24 h 后在

倒置显微镜下拍照, CCK-8 法测量吸光度。最后在 Graphpad Prism9 软件非线性拟合方式计算出半抑制浓度 IC_{50} 值(half maximal inhibitory concentration)。

1.9 GSH 及 MDA 含量测定

在 Eca109 细胞中建立 KIF20A 敲低/过表达模型后分别加入 RSL3 诱导 Eca109 细胞发生铁死亡, 通过检测 GSH 及 MDA 含量以表示各组细胞间的铁死亡水平。实验分组为 KIF20A 敲低组和对照组、KIF20A 过表达组和对照组, 每组分别设计 3 个平行副孔。细胞处理 24 h 后, 研磨细胞取上清, 分别用 GSH 及 MDA 试剂盒进行含量测定。按照说明书操作步骤, GSH 提取统一每组细胞数为 2.5×10^6 个, 加入 5×10^{-4} L 提取液, MDA 提取统一每组细胞数为 5×10^6 个, 加入 1×10^{-3} L 提取液开展后续操作。

1.10 统计学处理

采用 SPSS 26.0 统计软件进行统计学分析。计量资料两独立样本组间比较, 若服从正态分布且方差齐, 采用两独立样本 *t* 检验, 以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 不服从正态分布的计量资料采用非参数 Mann-Whitney 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 KIF20A 的生物信息学分析

首先, 从 TCGA 数据库中获取了食管癌差异表达的前 50 个上调基因, 见图 1A。GEO 数据库中获取 GSE75241 作为验证数据集, 见图 1B, PCA 图显示此数据集癌和癌旁分组具有显著区别, 见图 1C。随后从 FerrDb 中获取铁死亡相关基因, 取三者交集, 结果显示有 2 个重叠基因, 分别是 RRM2 和 KIF20A, 其中选择 KIF20A 为研究的目的基因, 见图 1D。

2.2 KIF20A 敲低及过表达细胞的构建

以不同病毒滴度(MOI)构建稳定敲低细胞株(Eca109 细胞), 采用 Western blot 法检测干扰效率。与对照组比较, shKIF20A-1 组 MOI 值为 30 时目的分子表达量降低, 差异具有统计学意义($P < 0.01$), 因此选取此条件开展后续实验, 见图 2A, 2B。在 Eca109 细胞中分别转染 1.5 μ g 和 2 μ g 质粒, 结果显示 KIF20A 质粒浓度为 2 μ g 时目的分子表达量高于对照组, 差异具有统计学意义($P < 0.01$), 见图 2C、图 2D。

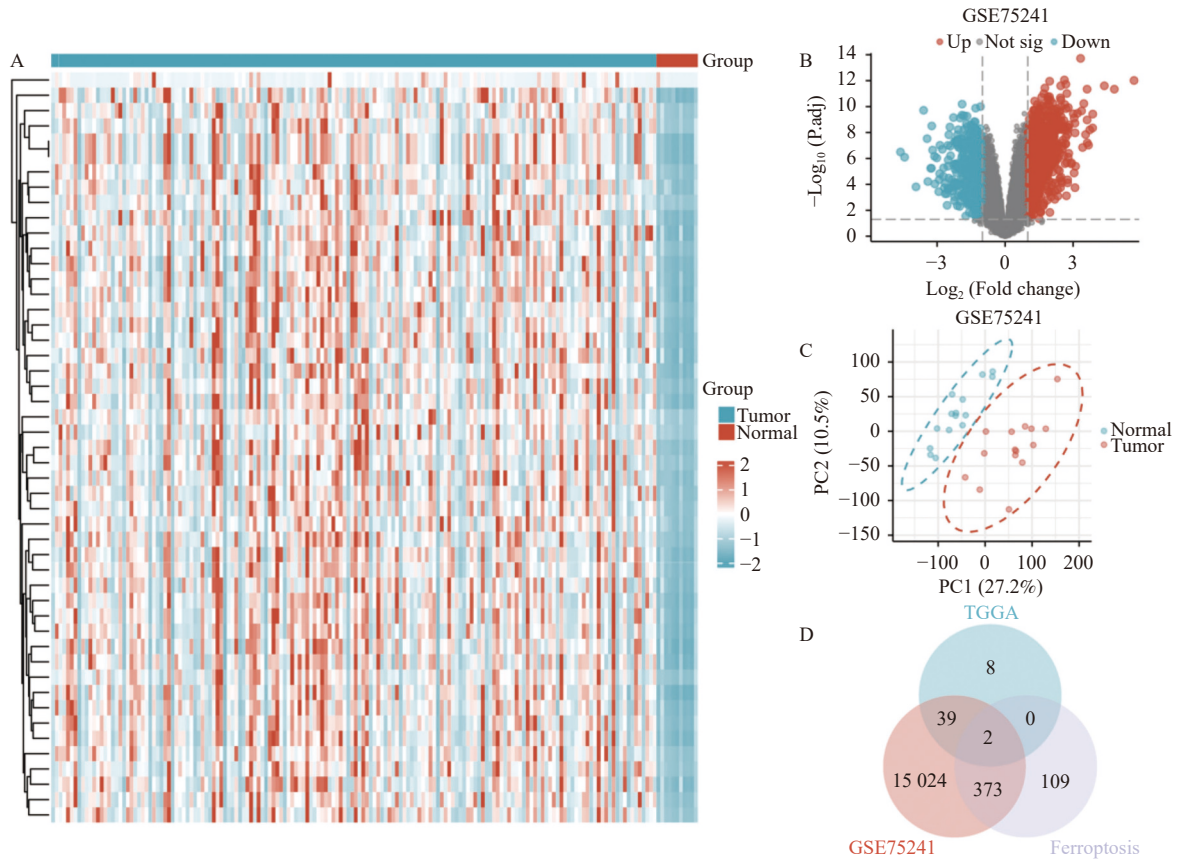


图 1 KIF20A 的表达谱分析

Fig. 1 Analysis of expression profile of KIF20A

A: 食管癌中高表达的前 50 个基因; B: GSE75241 数据集差异表达基因火山图; C: GSE75241 数据集 PCA 图; D: TCGA-GSE75241-铁死亡数据集韦恩图。

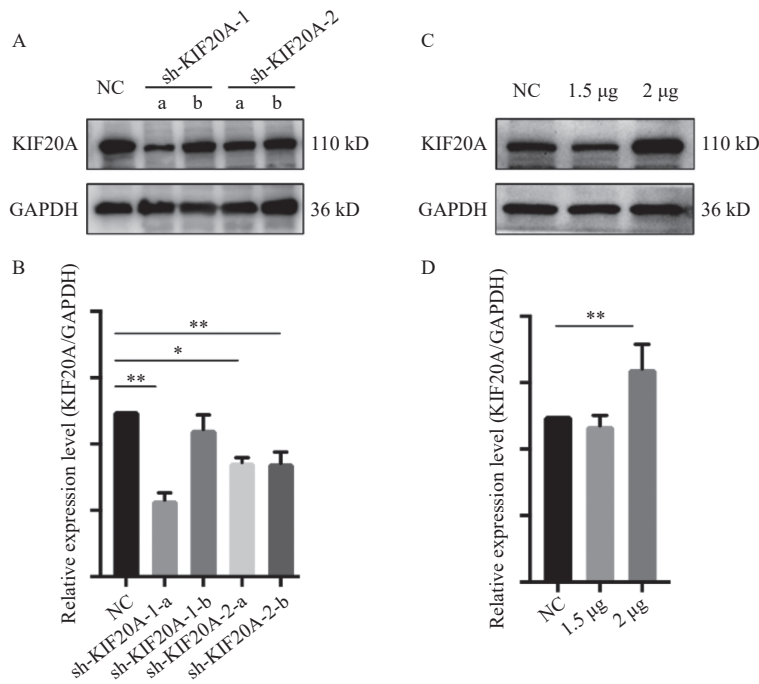


图 2 Western Blot 检测 KIF20A 敲低/过表达效率 $[(\bar{x} \pm s), n=3]$

Fig. 2 Western Blot detection of KIF20A knockdown/overexpression efficiency $[(\bar{x} \pm s), n=3]$

A: KIF20A 敲低效率测定电泳图; B: KIF20A 敲低效率测定统计分析柱状图, a: MOI=30, b: MOI=10; C: KIF20A 过表达效率测定电泳图; D: KIF20A 过表达效率测定统计分析柱状图; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

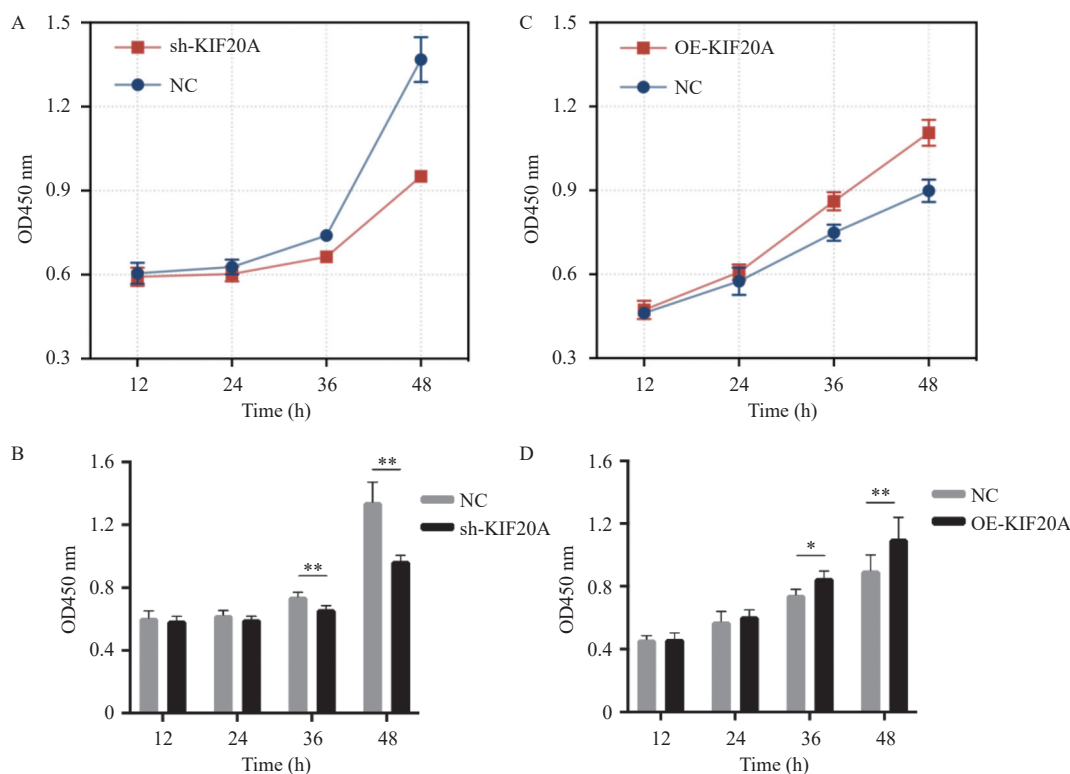


图3 CCK-8法检测 KIF20A 敲低/过表达组细胞增殖能力 $[(\bar{x} \pm s), n=3]$

Fig. 3 The proliferation ability of KIF20A knockdown/overexpression group was detected by CCK-8 assay $[(\bar{x} \pm s), n=3]$

A: KIF20A 敲低/对照组细胞生长曲线; B: KIF20A 敲低/对照组细胞增殖能力统计分析柱状图; C: KIF20A 过表达/对照组细胞生长曲线; D: KIF20A 过表达/对照组细胞增殖能力统计分析柱状图; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 。

2.3 敲低/过表达 KIF20A 对 Eca109 细胞增殖能力的影响

通过 CCK-8 法检测各组细胞的增殖能力, 结果显示 KIF20A 敲低组细胞增殖能力在 36 h 和 48 h 表现出明显的抑制作用, 且吸光度值低于对照组, 差异具有统计学意义 ($P < 0.01$), 见图 3A ~ 3B。KIF20A 过表达组细胞吸光度值在 36 h 和 48 h 高于对照组, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 见图 3C ~ 3D。上述结果提示, KIF20A 影响 Eca109 细胞的增殖能力, 并且起正向促进作用。

2.4 敲低/过表达 KIF20A 对 Eca109 细胞侵袭能力的影响

实验结果显示, KIF20A 敲低组侵袭细胞数低于对照组, 差异具有统计学意义 ($P < 0.01$), 见图 4A ~ 4B。KIF20A 过表达组侵袭细胞数高于对照组, 差异具有统计学意义 ($P < 0.001$), 见图 4C ~ 4D。上述结果提示, KIF20A 促进 Eca109 细胞的侵袭能力。

2.5 敲低/过表达 KIF20A 对 Eca109 细胞迁移能力的影响

细胞划痕实验结果显示, 划痕后 48 h, KIF20A 敲低组细胞迁移能力明显降低, 愈合率

低于对照组, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$), 见图 5A ~ 5B。KIF20A 过表达组细胞迁移能力明显升高, 愈合率高于对照组, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$), 见图 5C ~ 5D。以上结果提示, KIF20A 对 Eca109 细胞的迁移能力起正向促进作用。

2.6 Eca109 细胞铁死亡模型的构建

给细胞分别加入浓度为 0.1 μmol , 0.5 μmol , 1 μmol , 5 μmol , 10 μmol , 30 μmol , 50 μmol 的 RSL3 稀释溶液, 24 h 后 CCK-8 法检测细胞活力, 结果显示, Eca109 细胞在 RSL3 的作用下细胞形态发生明显的改变, 加药组较 DMSO 组细胞, 体积减小, 形态显皱缩, 红色箭头所指, 见图 6A ~ 6B。此外, 与对照组相比 0.5 μmol , 5 μmol , 10 μmol , 30 μmol , 50 μmol 组细胞活力降低, 差异具有统计学意义 ($P < 0.001$), 见图 6C。进一步计算得出 Eca109 细胞的 IC_{50} 值为 5.128 μmol 。

2.7 敲低/过表达 KIF20A 对 Eca109 铁死亡的影响

检测各组细胞铁死亡水平结果显示, KIF20A 敲低组细胞经 RSL3 诱导后 GSH 含量低于对照组 ($P < 0.05$), 见图 7A, 而 MDA 含量高于对照组 ($P < 0.01$), 见图 7B。RSL3 诱导后, KIF20A 过表达

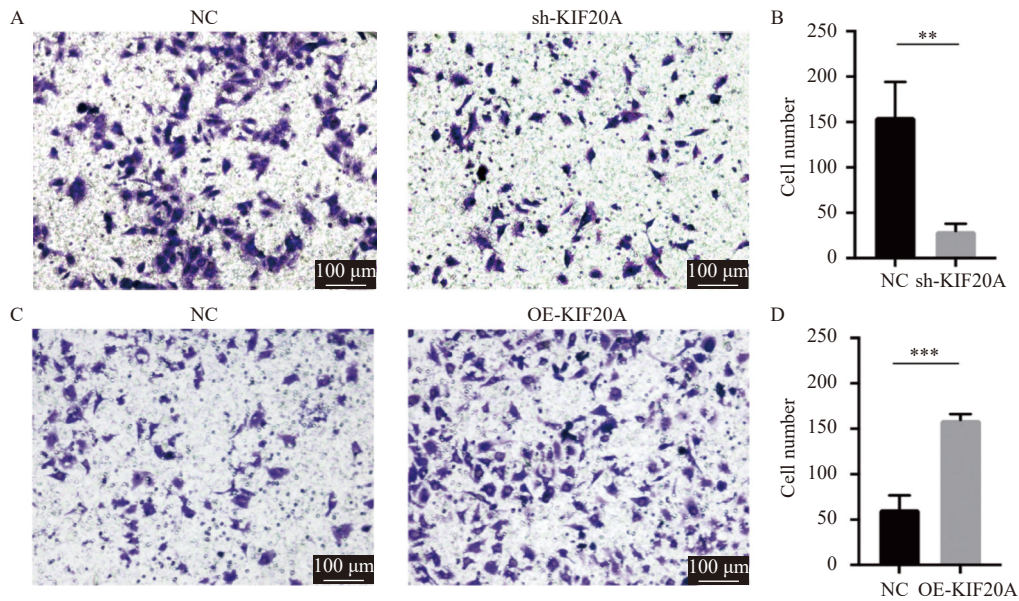


图 4 Transwell 侵袭实验检测 KIF20A 敲低/过表达组细胞侵袭能力 $[(\bar{x} \pm s), n=3]$

Fig. 4 The invasion ability of KIF20A knockdown/overexpression group was detected by Transwell invasion assay $[(\bar{x} \pm s), n=3]$

A: KIF20A 敲低/对照组侵袭细胞染色图; B: KIF20A 敲低/对照组细胞侵袭能力统计分析柱状图; C: KIF20A 过表达/对照组侵袭细胞染色图; D: KIF20A 过表达/对照组细胞侵袭能力统计分析柱状图; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 。

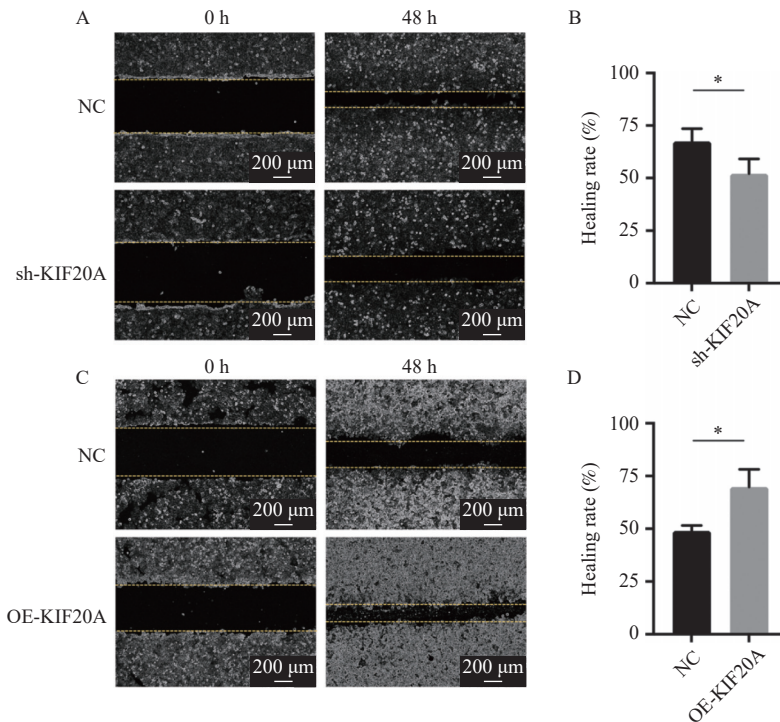


图 5 细胞划痕实验检测 KIF20A 敲低/过表达组细胞迁移能力 $[(\bar{x} \pm s), n=3]$

Fig. 5 Cell migration ability of KIF20A knockdown/overexpression group was detected by cell scratch assay $[(\bar{x} \pm s), n=3]$

A: KIF20A 敲低/对照组细胞迁移面积; B: KIF20A 敲低/对照组细胞迁移率统计分析柱状图; C: KIF20A 过表达/对照组细胞迁移面积; D: KIF20A 过表达/对照组细胞迁移率统计分析柱状图; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 。

组细胞 GSH 含量高于对照组 ($P < 0.05$), 见图 7C, MDA 含量低于对照组 ($P < 0.001$), 见图 7D。以上结果提示, KIF20A 的下调可以增强细胞铁死亡,

而 KIF20A 的高表达保护 Eca109 细胞不发生铁死亡。综上所述, 在 Eca109 细胞中, 敲低 KIF20A 的表达促进铁死亡的发生, 而过表达 KIF20A 可

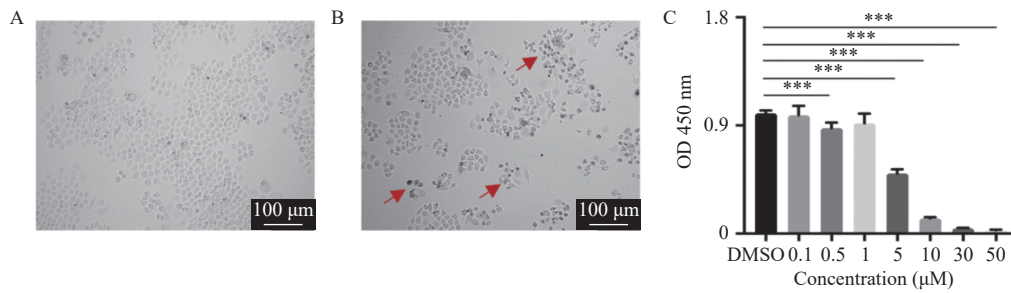


图6 CCK-8法检测RSL3诱导的Eca109细胞活力 $[(\bar{x} \pm s), n=3]$

Fig. 6 Eca109 cell viability induced by RSL3 was detected by CCK-8 $[(\bar{x} \pm s), n=3]$

A: DMSO组Eca109细胞形态图; B: RSL3组Eca109细胞形态图; C: 不同药物浓度组细胞活力检测统计分析柱状图; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 。

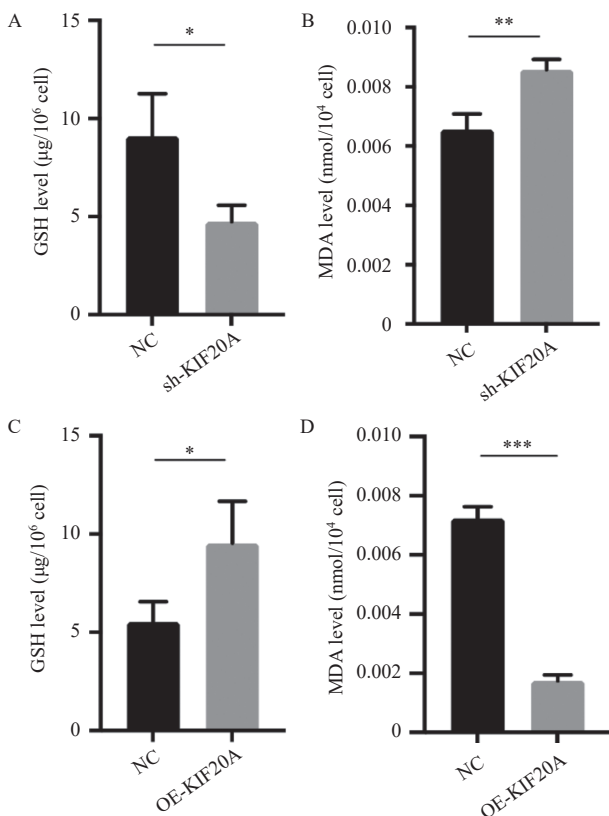


图7 GSH和MDA含量检测 $[(\bar{x} \pm s), n=3]$

Fig. 7 GSH and MDA content were detected $[(\bar{x} \pm s), n=3]$

A: KIF20A敲低/对照组GSH含量测定; B: KIF20A敲低/对照组MDA含量测定; C: KIF20A过表达/对照组GSH含量测定; D: KIF20A过表达/对照组MDA含量测定。* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 。

以抑制细胞的铁死亡。

3 讨论

铁死亡是一种新型的细胞死亡方式, 其是铁离子介导的氧自由基累积所诱发的氧化损伤过程^[9]。ESCC中关于铁死亡的研究, 早些年有报道

显示ESCC患者血清中含有浓度较高的MDA, 而抗氧化类酶的活性较低, 研究结果提示ESCC患者处于高氧化应激状态^[10]。随后的研究也明确指出ESCC组织中DNAJB6的低表达减少了对下游铁死亡抑制因子GPX4的抑制作用, 从而减少ESCC中的铁死亡^[11]。类似的研究结果提示着ESCC细胞通过抑制其本身的铁死亡从而制造利于自身生长的环境。

铁死亡与肿瘤细胞的上皮间质转化, 免疫细胞浸润, 化疗耐药性等生物特性有关。有大量研究指出, 多种抗癌药物除了具有传统的抑癌作用外, 还可以通过加速细胞的铁死亡从而达到更高的抑制作用。比如, 雄黄激活铁死亡通路抑制食管癌的进一步发展^[12], 同样的还有冬凌草甲素^[13], 五氨基酮戊酸^[14]等, 由于铁死亡通路复杂, 故涉及众多基因的调控, 因此, 针对铁死亡通路上的靶点设计及研发靶点药物的选择也更多。

本研究从铁死亡的角度出发, 通过生物信息学分析确定了ESCC中差异表达的铁死亡相关基因, 即RRM2和KIF20A。结合分子功能以及在铁死亡通路中的作用, 确定KIF20A为研究的目的基因。以往的肿瘤研究中KIF20A的功能研究以促进癌细胞有丝分裂和增殖能力为主, 如卵巢癌^[15]和肝癌^[16]等研究中, KIF20A被提及为促进癌症驱动分子。随着铁死亡机制研究的深入, KIF20A以间接的形式抑制细胞铁死亡的功能揭示^[5], 因此本研究结合KIF20A的以上2个功能, 在食管癌Eca109细胞中进行了肿瘤细胞恶性表型以及铁死亡方面的研究。

为了验证KIF20A对Eca109细胞增殖, 侵袭迁移能力的影响, 在细胞水平对KIF20A进行了敲低及过表达处理, 结果显示, KIF20A对Eca109细胞的增殖, 侵袭迁移能力起正向促进作用。为了探究KIF20A在ESCC细胞铁死亡中的作用,

通过敲低/过表达 KIF20A 后建立铁死亡应激模型, 结果显示 KIF20A 的表达下调使 Eca109 细胞对 RSL3 诱导的铁死亡更加敏感, MDA 含量增加, GSH 含量降低, 说明 KIF20A 敲低引发较高水平的铁死亡, 而 KIF20A 过表达组结果与之相反。以上结果与 KIF20A 的铁死亡抑制功能相符, 因此笔者认为 ESCC 组织中高表达的 KIF20A 可能通过抑制铁死亡的方式给予 ESCC 细胞更多的生长空间, 并且协助增强 ESCC 细胞的增殖, 侵袭迁移能力, 有望成为 ESCC 患者潜在的干扰及药物研发靶点。本研究结果属于初步探究 KIF20A 对 ESCC 细胞生物学行为及铁死亡表型的影响, 具体分子机制还需进一步探索及验证。

[参考文献]

- [1] 刘宇英, 魏君丽, 江柔, 等. 食管癌的流行病学及筛查研究进展[J]. 中华疾病控制杂志, 2022, 26(7): 839-844.
- [2] Arnold M, Soerjomataram I, Ferlay J, et al. Global incidence of oesophageal cancer by histological subtype in 2012[J]. *Gut*, 2015, 64(3): 381-387.
- [3] 李化龙. 食管癌的治疗进展[J]. 四川生理科学杂志, 2020, 42(4): 522-526.
- [4] Dixon S J, Lemberg K M, Lamprecht M R, et al. Ferroptosis: an iron-dependent form of nonapoptotic cell death[J]. *Cell*, 2012, 149(5): 1060-1072.
- [5] Jamar N H, Kritsiligkou P, Grant C M. The non-stop decay mRNA surveillance pathway is required for oxidative stress tolerance[J]. *Nucleic Acids Res*, 2017, 45(11): 6881-6893.
- [6] Yang C, Zhang Y, Lin S, et al. Suppressing the KIF20A/NUAK1/Nrf2/GPX4 signaling pathway induces ferroptosis and enhances the sensitivity of colorectal cancer to oxaliplatin[J]. *Aging (Albany NY)*, 2021, 13(10): 13515-13534.
- [7] Jin Z, Peng F, Zhang C, et al. Expression, regulating mechanism and therapeutic target of KIF20A in multiple cancer[J]. *Heliyon*, 2023, 9(2): e13195.
- [8] Chandrashekar D S, Karthikeyan S K, Korla P K, et al. UALCAN: An update to the integrated cancer data analysis platform[J]. *Neoplasia*, 2022, 25: 18-27.
- [9] Chen X, Kang R, Kroemer G, et al. Ferroptosis in infection, inflammation, and immunity[J]. *J Exp Med*, 2021, 218(6): e20210518.
- [10] Sehitogullari A, Aslan M, Sayir F, et al. Serum paraoxonase-1 enzyme activities and oxidative stress levels in patients with esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Redox Rep*, 2014, 19(5): 199-205.
- [11] Jiang B, Zhao Y, Shi M, et al. DNAJB6 promotes ferroptosis in esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Dig Dis Sci*, 2020, 65(7): 1999-2008.
- [12] 张雪莲, 杨如意, 王宏斌, 等. 铁死亡通路激活在雄黄抑制食管癌增殖和转移中的作用[J]. 药学报, 2022, 57(11): 3322-3330.
- [13] Zhang J, Wang N, Zhou Y, et al. Oridonin induces ferroptosis by inhibiting gamma-glutamyl cycle in TE1 cells[J]. *Phytother Res*, 2021, 35(1): 494-503.
- [14] Shishido Y, Amisaki M, Matsumi Y, et al. Antitumor effect of 5-aminolevulinic acid through ferroptosis in esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Ann Surg Oncol*, 2021, 28(7): 3996-4006.
- [15] Li Y, Guo H, Wang Z, et al. Cyclin F and KIF20A, FOXM1 target genes, increase proliferation and invasion of ovarian cancer cells[J]. *Exp Cell Res*, 2020, 395(2): 112212.
- [16] Wu C, Qi X, Qiu Z, et al. Low expression of KIF20A suppresses cell proliferation, promotes chemosensitivity and is associated with better prognosis in HCC[J]. *Aging (Albany NY)*, 2021, 13(18): 22148-22163.