

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2023.09.005

· 基础研究 ·

CDC20 在子宫内膜癌中的表达及其对 RL95-2 细胞增殖和凋亡的影响

赵靓, 王娜, 刘春静, 杨钰杰, 赵薇, 刘丽晶(齐齐哈尔医学院附属第三医院 妇一科, 黑龙江 齐齐哈尔 161000)

[摘要] **目的:** 评估细胞分裂周期蛋白 20(CDC20)在子宫内膜癌(EC)中的表达,探讨其对 EC 细胞 RL95-2 周期和凋亡的影响及可能的机制。**方法:** 从癌症基因组图谱(TCGA)数据库获取 EC 的 mRNA 表达矩阵以及患者的临床信息,通过 R 语言分析 CDC20 mRNA 的差异表达情况及其与肿瘤分期的相关性,qPCR 及 WB 法检测 CDC20 在 RL95-2 细胞中的表达;向 RL95-2 细胞转染 sh-CDC20 以敲减 CDC20 的表达,采用 CCK-8 法和流式细胞术检测敲减 CDC20 对 RL95-2 细胞增殖活力、细胞周期分布和凋亡的影响,WB 法分析对 Mcl-1/p-Chk1 信号活性的影响;建立 RL95-2 细胞裸鼠移植瘤模型,评估敲减 CDC20 对肿瘤生长的抑制作用及对移植瘤组织中 Mcl-1/p-Chk1 信号轴和细胞凋亡的影响。**结果:** CDC20 在 EC 组织及 RL95-2 细胞中呈高表达(均 $P < 0.01$),且 CDC20 的高表达与 EC 的分期有关联。敲减 CDC20 可显著降低 RL95-2 细胞增殖活力($P < 0.01$),阻滞细胞周期于 G1 期($P < 0.01$),促进细胞凋亡($P < 0.01$),抑制细胞中 Mcl-1 和 p-Chk1 的表达($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。敲减 CDC20 可显著抑制 RL95-2 细胞裸鼠移植瘤的生长($P < 0.01$),降低移植瘤组织内 Mcl-1 和 p-Chk1 的表达($P < 0.01$),促进移植瘤细胞凋亡($P < 0.01$)。**结论:** CDC20 在 EC 组织中呈高表达且与肿瘤分期有关联,敲减 CDC20 能够抑制 RL95-2 细胞及其裸鼠移植瘤的生长而促进凋亡,这可能与 Mcl-1/p-Chk1 信号轴有关。

[关键词] 细胞分裂周期蛋白 20;子宫内膜癌;RL95-2 细胞;细胞周期;凋亡;生物信息学分析

[中图分类号] R737.33; R730.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2023)09-0777-07

CDC20 expression in endometrial cancer and its effects on the proliferation and apoptosis of RL95-2 cells

ZHAO Liang, WANG Na, LIU Chunjing, YANG Yujie, ZHAO Wei, LIU Lijing (No.1 Department of Gynecology, The Third Affiliated Hospital of Qiqihar Medical University, Qiqihar 161000, Heilongjiang, China)

[Abstract] **Objective:** To evaluate the cell division cycle 20 gene (CDC20) expression in endometrial cancer (EC), and to explore the role and possible mechanism of CDC20 in regulating cell cycle and apoptosis of EC RL95-2 cells. **Methods:** The mRNA expression matrix of EC and matched patients' clinical information were acquired from The Cancer Genome Atlas (TCGA) database. The differential expression of CDC20 mRNA in EC and its correlation with tumor stage were analyzed with R package. Then, CDC20 expression in RL95-2 cells was detected with qPCR and WB assay. sh-CDC20 was transfected into RL95-2 cells to knockdown CDC20 expression. The effects of CDC20 knockdown on the cell proliferative viability, cell cycle distribution and cell apoptosis were measured with CCK-8 assay and flow cytometry, respectively, and its effect on the activity of Mcl-1/p-Chk1 axis was explored with WB assay. RL95-2 cell transplanted tumor model in nude mice was established to evaluate the anti-tumor effect of sh-CDC20 and its effect on apoptosis and Mcl-1/p-Chk1 axis in tumor tissues. **Results:** CDC20 was highly expressed in EC tissues and RL95-2 cells ($P < 0.01$), and the high expression of CDC20 was strongly associated with EC tumor stage. Knockdown of CDC20 in RL95-2 cells could inhibit cell proliferative viability and cause cell cycle arrest at G1 phase ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), promote cell apoptosis ($P < 0.01$) and decrease the protein expressions of Mcl-1 and p-Chk1 in RL95-2 cells ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Knockdown of CDC20 remarkably inhibited the growth of xenografts in mice and reduced the expressions of Mcl-1 and p-Chk1 (all $P < 0.01$), while promoted tumor cells apoptosis ($P < 0.01$). **Conclusion:** CDC20 is highly expressed in EC tissues and is associated with tumor stage. Knockdown of CDC20 can inhibit the viability of RL95-2 cells and their transplanted tumors in nude mice and promote apoptosis, which may be related to the Mcl-1/p-Chk1 signaling axis.

[Key words] cell division cycle 20 (CDC20); endometrial cancer (EC); RL95-2 cell; cell cycle; apoptosis; bioinformatic analysis

[Chin J Cancer Biother, 2023, 30(9): 777-783. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2023.09.005]

[基金项目] 黑龙江省卫生健康委科研项目(No. 20210505010385)

[作者简介] 赵靓(1987—),女,硕士,主治医师,主要从事妇科肿瘤的基础与临床研究,E-mail:18686967333@163.com

[通信作者] 王娜,E-mail:Wangna109@qmu.edu.cn.

子宫内膜癌(endometrial cancer, EC)是常见的三大妇科恶性肿瘤之一,其发病率和病死率居于中国女性生殖系统恶性肿瘤的第二位^[1]。EC的常规治疗为经全子宫双附件切除加淋巴结清扫术后,必要时再加上术后辅助放疗或化疗;然而现有的医疗手段不能解决其高复发率、易耐药等问题,患者预后较差^[2-3]。因此探索其发生机制和寻找新的治疗靶点,对EC患者的预后具有重要的临床意义。本课题组前期通过生物信息学技术分析获取了与EC发生和发展相关的核心基因——细胞分裂周期蛋白20(cell division cycle 20, CDC20)。该基因定位于人1号染色体1p34.2,其编码蛋白质可作为细胞分裂周期后期促进复合物的底物识别亚基,经活化后形成E3泛素连接酶复合物,参与调控细胞周期进程、增殖分化、损伤修复以及细胞凋亡和迁移等生物学过程^[4-5]。通常CDC20被认为是致癌因子,促进肿瘤的发生发展,在多种肿瘤细胞甚至肿瘤干细胞中都存在CDC20的高表达^[6]。研究^[7]发现,外源性下调CDC20的表达抑制肝癌Hep3B和HepG2细胞的增殖而促进其凋亡,提示CDC20在肿瘤的进展中发挥重要的作用。此外,CDC20的高表达与前列腺癌^[8]、膀胱癌^[9]等的恶性进展密切相关。探究CDC20在EC中发挥的作用和相关机制,将进一步揭示EC的发病机制,并且为子宫内膜癌的防治提供有效策略。基于此,本研究通过构建靶向干扰CDC20的shRNA慢病毒载体敲减EC细胞RL95-2中CDC20的表达,探讨敲减CDC20对RL95-2细胞周期及凋亡等生物学行为的影响和相关机制。

1 材料与方法

1.1 主要材料与试剂

人子宫内膜上皮细胞hEEC和人EC细胞RL95-2均购自武汉尚恩生物技术有限公司,均采用含10%胎牛血清和1%双抗的DMEM/F12液体培养基、置于37℃、5%CO₂的培养箱内培养;定期更换培养液及传代,保持细胞良好的生存状态。18只SPF级雄性BALB/c-nu裸鼠[6~8周龄,18~21g,实验动物合格证号为SCXK(沪)2018-0006]购自凯学生物科技(上海)有限公司;动物实验研究方案经齐齐哈尔医学院伦理委员会审查批准,审批号:(齐)伦审[2021]102。FuGENE HD转染试剂购自Promega公司,Mcl-1及β-actin一抗购自Proteintech Group公司,p-Chk1一抗购自Affinity Biosciences公司,CCK-8细胞计数试剂盒、PI细胞周期检测试剂盒及Annexin V/PI凋亡检测试剂盒均购自Sigma-Aldrich公司,靶向干扰CDC20的shRNA慢病毒载体(sh-CDC20)及其阴性

对照载体(sh-NC)由上海吉玛基因股份有限公司设计并合成,其余试剂均为国产分析纯。

1.2 生物信息学方法分析CDC20在EC组织中的表达
用癌症基因组图谱(The Cancer Genome Atlas, TCGA)数据库(<https://www.cancer.gov/ccg/research/genome-sequencing/tcga>)获取EC的mRNA表达矩阵以及患者的临床信息,结合STRING数据库(<https://cn.string-db.org/>)及马修斯相关系数(Matthews correlation coefficient, MCC)算法,获取与EC发生和发展相关的核心基因——CDC20。通过R语言分析CDC20 mRNA的差异表达情况及其与肿瘤分期的内在联系。

1.3 细胞培养及转染

转染前,选生长状态良好的RL95-2细胞消化后接种至35 mm培养皿中,待细胞覆盖皿底约80%时,用无血清细胞培养液同步化处理。之后依据说明书进行sh-CDC20质粒的转染操作,步骤如下:用Opti-MEM优化培养基分别稀释sh-NC/sh-CDC20和转染试剂,静置20 min,然后将两者的混合物加至待转染细胞中,培养48 h。用qPCR和WB法验证转染效果后,按照此转染试剂方法,将细胞设置为对照组(Ctrl)、阴性转染组(sh-NC)和sh-CDC20转染组(sh-CDC20)并分别转染相应质粒,进行后续实验。

1.4 qPCR法检测转染sh-CDC20对RL95-2细胞中CDC20 mRNA表达水平的影响

采用TRIzol提取各组细胞总RNA,并将RNA逆转录合成cDNA,然后按qPCR试剂盒说明书中操作方法进行检测。qPCR反应条件:95℃变性2 min;95℃5 s,60℃10 s,共40个循环。CDC20 mRNA的表达以β-actin为内参对照,用2^{-ΔΔCt}法计算其相对表达量。qPCR引物序列: CDC20正向引物为5'-AGACATTCACCCAGCATCAAG-3',反向引物为5'-CATCCA CGGCACTCAGAC-3'; β-actin正向引物为5'-ACAGAGCCTCGCCTTTGCCGATC-3',反向引物为5'-ATCCTTCTGACCCATGCCCCACCA-3'。

1.5 WB法检测转染sh-CDC20对RL95-2细胞中相关蛋白表达水平的影响

用RIPA裂解液处理各组细胞并分别提取总蛋白,然后用BCA蛋白定量试剂盒定量。各组分别取60 μg蛋白样品,经WB电泳/转印仪进行蛋白分离与转印,转印蛋白后的PVDF膜用5%的脱脂乳粉在室温下封闭2 h,添加一抗Mcl-1(1:4 000稀释)、p-Chk1(1:1 000稀释)、CDC20(1:2 000稀释)和β-actin(1:10 000稀释),在4℃下反应过夜;漂洗后,加入HRP标记的羊抗兔二抗(1:2 000稀释),室温下反应1 h,用ECL法将蛋白印迹显影。用Imaging System

软件分析目的蛋白相对于内参 β -actin的表达量。

1.6 CCK-8法检测转染sh-CDC20对RL95-2细胞增殖活力的影响

采用CCK-8法检测细胞增殖活力。将各组细胞重新接种至96孔板中(密度为 5×10^3 个/孔)培养24 h,向每孔内加入10 μ L CCK-8试剂,反应2 h后经酶标仪检测各孔在450 nm波长处的光密度(D)值。细胞增殖活力=转染组D值/对照组D值 $\times 100\%$ 。

1.7 流式细胞术检测转染sh-CDC20对RL95-2细胞周期的影响

采用碘化丙啶(PI)DNA染色法进行流式细胞术检测细胞周期。取各组细胞,采用不含EDTA的胰酶消化,离心、弃上清液,加预冷的PBS漂洗并轻晃重悬细胞;加70%乙醇,置于4 $^{\circ}$ C下避光固定24 h,离心后用PBS洗涤。依据试剂盒说明书要求,加入RNase重悬并用PI染液在室温、避光条件下处理,流式细胞仪检测激发波长488 nm处的红色荧光强度,所得结果经FlowJo软件分析细胞周期分布。

1.8 流式细胞术检测转染sh-CDC20对RL95-2细胞凋亡的影响

用Annexin V/PI双染色法经流式细胞术检测细胞凋亡。细胞经相应处理后,消化收集并用预冷的PBS漂洗细胞,然后加200 μ L结合缓冲液重悬,避光条件下,依次加入10 μ L Annexin V-FITC和5 μ L PI染液反应10 min,经流式细胞仪分析细胞凋亡率。

1.9 构建子宫内膜癌RL95-2细胞裸鼠移植瘤模型观察敲减CDC20对移植瘤生长的影响

将18只裸鼠按随机表法随机分为3组:Ctrl组、sh-NC组和sh-CDC20组,每组6只。分别将3组细胞注射至相应组别的裸鼠背部皮下,每只注射细胞数约 5×10^6 个。待肿瘤长出后,每3 d用游标卡尺测量肿瘤大小,至第21天处死所有裸鼠,取出瘤体称重并测量大小。常规固定并经石蜡包埋,以备后续分析使用。

1.10 免疫组化法、TUNEL法检测敲减CDC20对移植

瘤组织中Mcl-1/p-Chk1信号蛋白表达及细胞凋亡的影响

用免疫组化法检测切片组织中Mcl-1及p-Chk1的表达,TUNEL法检测凋亡情况。石蜡包埋的组织切片依次经脱蜡、水化及封闭后,按说明书依次加入相应的抗体(Mcl-1及p-Chk1抗体均经1:200稀释)或TUNEL反应液,室温下反应1 h,洗涤后DAB显色、苏木精复染,将切片置于显微镜下观察染色结果。每张切片选5个视野进行分析。免疫组化染色判断:按文献[10-11]中方法,用Image J软件IHC Profiler插件自动分析免疫组化染色的阳性表达以及TUNEL阳性染色的情况。

1.11 统计学处理

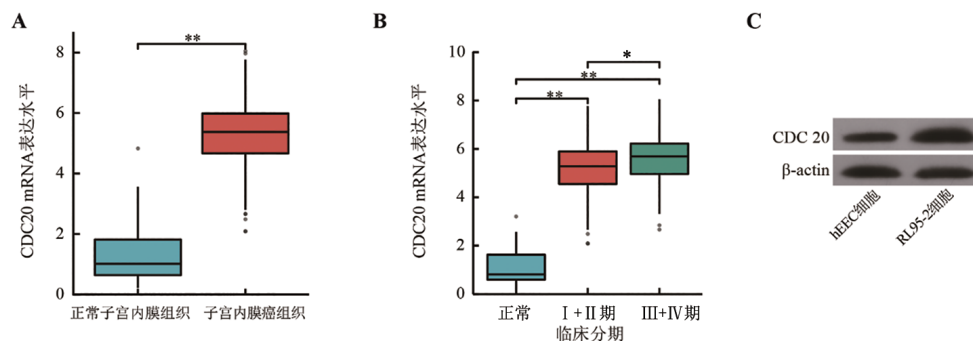
所有实验均独立重复3次,符合正态分布的计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,用GraphPad 8.3软件行统计学分析,两组间比较采用t检验,多组间比较采用单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 CDC20在EC组织和细胞中呈高表达

从TCGA数据库中获取了EC的mRNA表达矩阵以及患者的临床信息,R语言分析结果显示CDC20 mRNA在EC组织中的表达水平显著升高($P < 0.01$,图1A);且不同分期的组织中CDC20 mRNA的表达存在显著差异($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),表现为分期越高,表达水平越高(图1B)。

通过qPCR及WB法验证CDC20在人子宫内膜上皮细胞hEEC和人EC细胞RL95-2中的表达。qPCR检测结果显示,在hEEC和RL95-2细胞中CDC20 mRNA的相对表达量分别为 0.97 ± 0.11 和 2.38 ± 0.12 ($P < 0.01$);WB法检测结果显示(图1C),在hEEC和RL95-2细胞中CDC20蛋白的相对表达量分别为 0.69 ± 0.06 和 1.92 ± 0.14 ($P < 0.01$),说明RL95-2细胞中CDC20的mRNA及蛋白水平均显著高于hEEC细胞($P < 0.01$)。



A: 基于TCGA数据库分析EC组织中CDC20 mRNA的表达;B: 基于TCGA数据库分析不同分期EC组织中CDC20 mRNA的表达;C: WB法检测hEEC、RL95-2细胞中CDC20蛋白表达水平。 $*P < 0.05$, $**P < 0.01$ 。

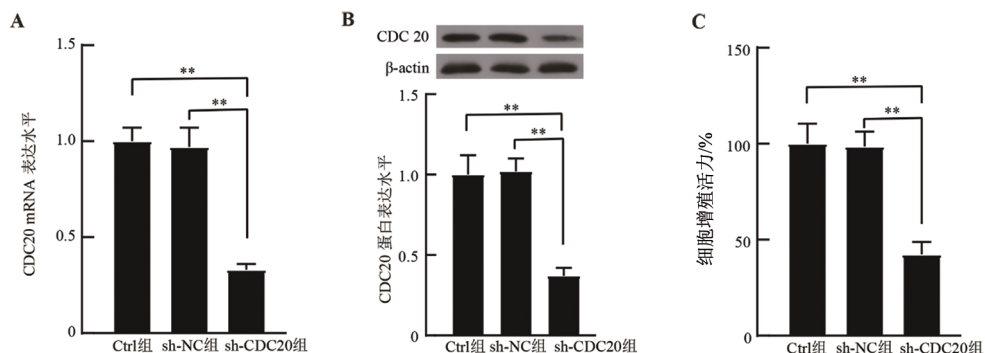
图1 EC组织和细胞中CDC20的表达

2.2 敲减 CDC20 抑制 RL95-2 细胞增殖活力并阻滞细胞周期于 G1 期

转染 sh-CDC20 之后, RL95-2 细胞中 CDC20 的 mRNA (图 2A) 及蛋白 (图 2B) 表达水平均显著降低 (均 $P < 0.01$), 说明转染 sh-CDC20 成功敲减了 RL95-2 细胞中 CDC20 的 mRNA 和蛋白表达。

CCK-8 法检测结果 (图 2C) 显示, 相较于 Ctrl 组和 sh-NC 组, sh-CDC20 组细胞增殖活力显著降

低 (均 $P < 0.01$)。流式细胞术分析细胞周期分布结果 (图 3) 显示, 相较于 Ctrl 组和 sh-NC 组, sh-CDC20 组 G1 期细胞所占百分比显著增加 [(85.54±4.12)% vs (68.36±4.39)%、(65.97±3.21)%], S 期和 G2/M 期细胞所占百分比均显著降低 [S 期: (11.31±1.04)% vs (21.23±3.42)%、(22.56±3.62)%; G2/M 期: (3.15±0.75)% vs (10.41±1.05)%、(11.47±1.56)%], 均 $P < 0.01$ 。



A、B: qPCR 法 (A)、WB 法 (B) 检测转染 sh-CDC20 的敲减效果; C: CCK-8 法检测敲减 CDC20 对 RL95-2 细胞活力的影响。* $P < 0.01$ 。

图 2 敲减 CDC20 对 RL95-2 细胞活力的影响

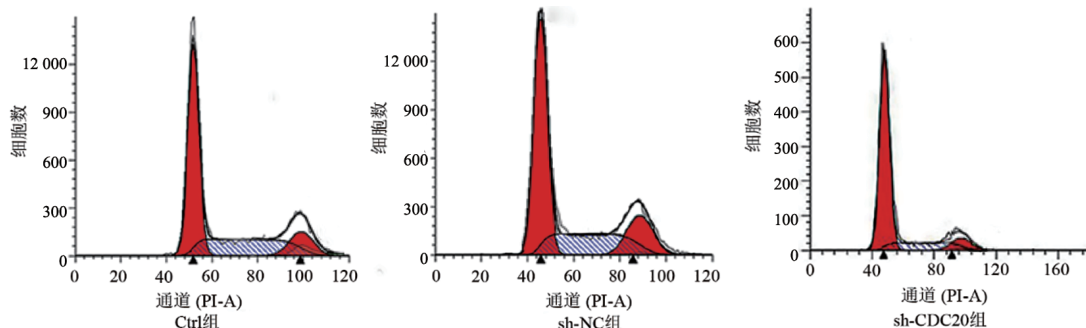


图 3 敲减 CDC20 对 RL95-2 细胞周期的影响

2.3 敲减 CDC20 促进 RL95-2 细胞的凋亡

流式细胞术检测结果 (图 4) 显示, 相较于 Ctrl 组和 sh-NC 组, sh-CDC20 组细胞凋亡率均显著增加 [(34.67±3.86)% vs (3.98±0.12)%、(5.32±0.67)%], 均 $P < 0.01$, 结果表明, 敲减 CDC20 可显著促进 RL95-2 细胞的凋亡。

2.4 敲减 CDC20 抑制 Mcl-1/p-Chk1 轴的关键蛋白表达

通过 WB 法检测细胞中 Mcl-1/p-Chk1 信号轴相关蛋白的表达情况, 结果 (图 5) 显示, 相较于 Ctrl 组和 sh-NC 组, sh-CDC20 组 RL95-2 细胞中 Mcl-1 和 p-Chk1 的蛋白表达水平均显著降低 (均 $P < 0.01$)。

2.5 敲减 CDC20 抑制 RL95-2 细胞裸鼠移植瘤的生长

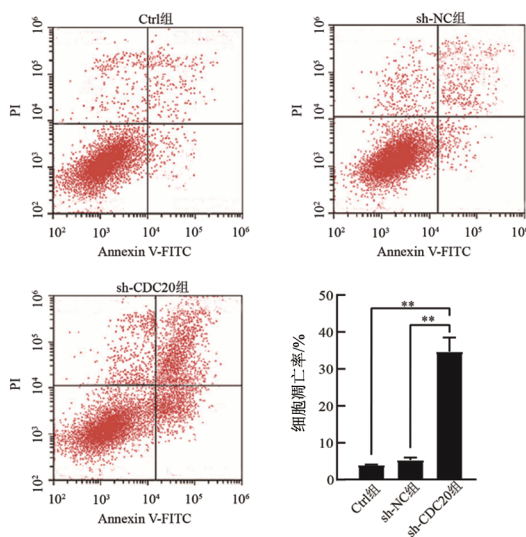
成功构建裸鼠 RL95-2 细胞移植瘤模型, 观察移植瘤生长情况结果 (图 6A~C) 显示, sh-CDC20 组移植

瘤的生长速度、体积及质量均显著低于 Ctrl 和 sh-NC 组 (均 $P < 0.01$)。TUNEL 法检测结果 (图 6D) 显示, sh-CDC20 组肿瘤组织中细胞凋亡指数高于 Ctrl 和 sh-NC 组 (均 $P < 0.01$)。免疫组化法检测结果 (图 6E) 显示, sh-CDC20 组肿瘤组织中 Mcl-1 和 p-Chk1 表达率显著低于 Ctrl 和 sh-NC 组 (均 $P < 0.01$)。

3 讨论

CDC20 通常被认为是一种癌基因。本课题组通过对 TCGA 数据库 mRNA 表达谱数据的分析发现, CDC20 在 EC 组织中呈高表达, 且随肿瘤分期的增加而表达上升, 提示 CDC20 与 EC 的发生和进展有着密切的联系。针对 CDC20 促癌机制的研究多集中于周期调控上, 且靶向 CDC20 的一些活性物质, 如灵芝三醇^[12]、全反式维甲酸^[13]以及一种新型异羟肟酸衍生物

“NAHA”^[14]均被证实通过不同的通路和机制阻滞癌细胞周期,进而抑制癌细胞增殖,这些研究也让靶向CDC20成为肿瘤分子靶向治疗的一种新策略。本研究的检测结果显示,敲减CDC20可显著降低EC细胞RL95-2的增殖活力,并阻滞细胞周期;这一结果与其他研究具有一致性。此外,本研究进一步分析了敲减CDC20对RL95-2细胞凋亡的影响,流式细胞术结果显示转染sh-CDC20可促进RL95-2细胞凋亡。同时,在体移植瘤实验也证实敲减CDC20可抑制RL95-2细胞移植瘤生长并诱导细胞凋亡。以上结果提示,敲减CDC20可诱导癌细胞周期停滞和细胞凋亡,进而阻滞EC的进一步发展,发挥抑瘤作用,可作为防治EC的一个新靶点。



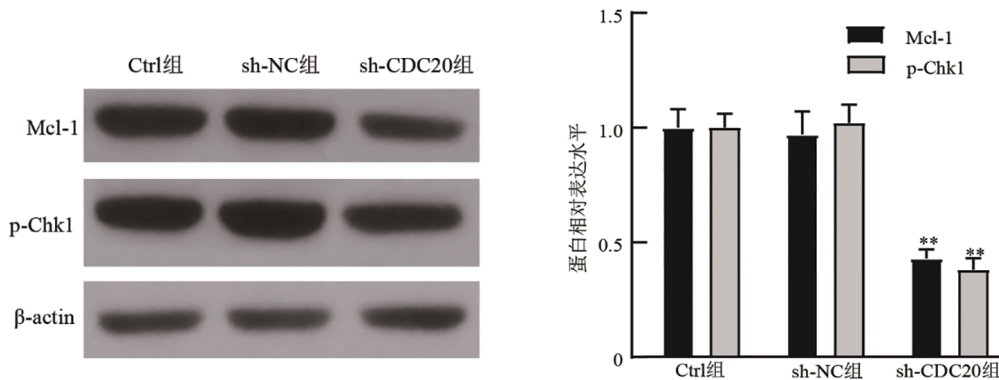
**P<0.01。

图4 敲减CDC20对RL95-2细胞凋亡的影响

基因一般是通过多分子、多通路的复杂方式对癌细胞的生物学行为进行调控,而关于CDC20对RL95-2细胞周期及凋亡的调控机制目前并没有系统的研究。在众多凋亡相关信号分子中,Bcl-2蛋白家

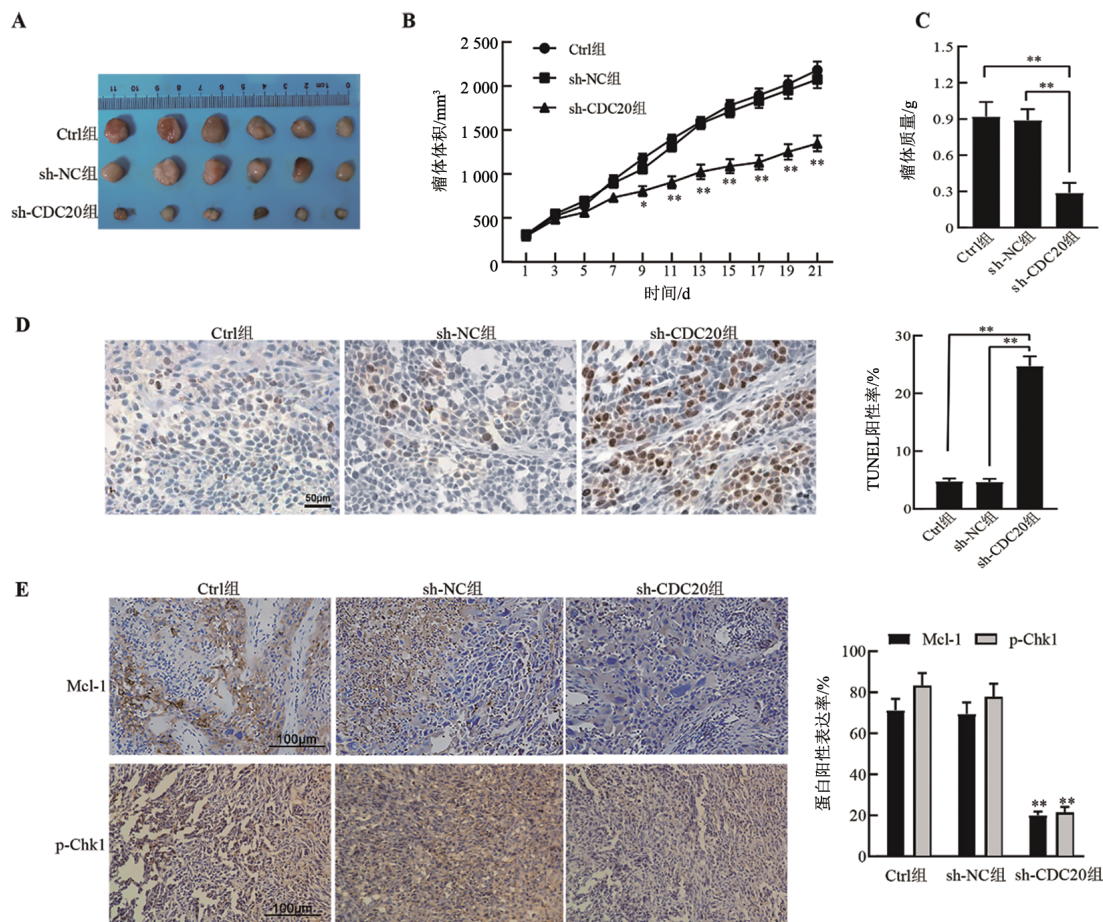
族被认为是中心调节分子,该家族包含抗凋亡(如Mcl-1及Bcl-2等)和促凋亡蛋白(如BAX及BIM等),其在有丝分裂紊乱诱发的细胞死亡过程中具有重要的作用^[15-17]。Mcl-1为CDC20下游分子之一,Mcl-1降解能抑制细胞周期运行和诱导细胞凋亡^[18]。HARLEY等^[18]发现,敲减CDC20能通过降解其下游分子抗凋亡蛋白Mcl-1进而发挥细胞周期阻滞和诱导细胞凋亡的作用。LI等^[19]研究发现M2I-1可通过阻断CDC20-MAD2之间的相互作用,抑制Mcl-1的表达,进而促进肿瘤细胞的死亡。为探讨敲减CDC20影响RL95-2细胞周期及凋亡的可能作用机制,本研究发现,转染sh-CDC20的RL95-2细胞中Mcl-1的表达降低。此外,无论何种形式的细胞死亡过程均伴随着DNA的损伤^[20-21]。Chk1即是细胞内基因组监视机制的核心成员,可通过DNA损伤检查点影响细胞周期进程,帮助修复受损伤的DNA^[22-23]。Chk1是DNA损伤的一种关卡激酶,以磷酸化的形式参与DNA损伤修复,其磷酸化受Mcl-1调控^[24]。GAO等^[25]的研究显示,下调CDC20能通过抑制Mcl-1/p-Chk1信号活性造成随后的DNA损伤修复受损进而增强辐射造成的结直肠癌细胞细胞凋亡。本研究发现,敲减CDC20可抑制RL95-2细胞中磷酸化Chk1的表达,在体实验检测结果与体外细胞实验结果一致。研究结果提示敲减CDC20的周期阻滞和促凋亡作用,可能是通过削弱Chk1的磷酸化,抑制DNA损伤的修复,同时抑制抗凋亡蛋白Mcl-1的表达,进而促使细胞进入程序性死亡过程;但此过程中涉及的机制仍需进一步研究。

综上所述,CDC20在EC组织中呈高表达且与肿瘤的分期密切相关,在RL95-2细胞中,敲减CDC20可通过抑制Mcl-1/p-Chk1信号轴诱导肿瘤细胞周期停滞和细胞凋亡,CDC20可能因此影响EC的进展。



与Ctrl组或sh-NC组比较,**P<0.01。

图5 敲减CDC20对RL95-2细胞移植瘤组织中Mcl-1/p-Chk1信号蛋白的影响



A: 各组分离的移植瘤照片; B: 各组移植瘤体积; C: 各组分离的移植瘤质量; D: 各组离体移植瘤组织中 TUNEL 染色图像以及统计学分析结果; E: 各组离体移植瘤组织中 Mcl-1 和 p-Chk1 免疫组化染色图像以及统计学分析结果。

与 Ctrl 组或 sh-NC 组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

图 6 敲减 CDC20 抑制裸鼠移植瘤生长和移植瘤组织中 Mcl-1/p-Chk1 信号

[参考文献]

[1] CROSBIE E J, KITSON S J, MCALPINE J N, *et al.* Endometrial cancer[J]. *Lancet*, 2022, 399(10333): 1412-1428. DOI: 10.1016/s0140-6736(22)00323-3.

[2] PALEARI L. New strategies for endometrial cancer detection and management[J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(7): 6462 [2023-05-15]. <https://doi.org/10.3390/ijms24076462>. DOI: 10.3390/ijms24076462.

[3] MARÍN-JIMÉNEZ J A, GARCÍA-MULERO S, MATÍAS-GUIU X, *et al.* Facts and hopes in immunotherapy of endometrial cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2022, 28(22): 4849-4860. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-21-1564.

[4] GREIL C, ENGELHARDT M, WÄSCH R. The role of the APC/C and its coactivators Cdh1 and Cdc20 in cancer development and therapy [J/OL]. *Front Genet*, 2022, 13: 941565 [2023-05-15]. <https://doi.org/10.3389/fgene.2022.941565>. DOI: 10.3389/fgene.2022.941565.

[5] PIANO V, ALEX A, STEGE P, *et al.* CDC20 assists its catalytic incorporation in the mitotic checkpoint complex[J]. *Science*, 2021, 371(6524): 67-71. DOI: 10.1126/science.abc1152.

[6] JEONG S M, BUI Q T, KWAK M, *et al.* Targeting Cdc20 for cancer therapy[J/OL]. *Biochim Biophys Acta BBA Rev Cancer*, 2022, 1877(6): 188824[2023-05-15]. <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2022.188824>. DOI: 10.1016/j.bbcan.2022.188824.

[7] ZHAO S, ZHANG Y C, LU X Q, *et al.* CDC20 regulates the cell proliferation and radiosensitivity of P53 mutant HCC cells through the Bcl-2/BAX pathway[J]. *Int J Biol Sci*, 2021, 17(13): 3608-3621. DOI: 10.7150/ijbs.64003.

[8] ZHANG Q, HUANG H, LIU A, *et al.* Cell division cycle 20 (CDC20) drives prostate cancer progression *via* stabilization of β -catenin in cancer stem-like cells[J]. *EBioMedicine*, 2019, 42: 397-407. DOI: 10.1016/j.ebiom.2019.03.032.

[9] ZHENG W, ZHAO Y B, WANG T S, *et al.* Identification of hub genes associated with bladder cancer using bioinformatic analyses[J]. *Transl Cancer Res TCR*, 2022, 11(5): 1330-1343. DOI: 10.21037/tcr-22-1004.

[10] JENSEN E C. Quantitative analysis of histological staining and fluorescence using ImageJ[J]. *Anat Rec (Hoboken)*, 2013, 296(3): 378-381. DOI: 10.1002/ar.22641.

[11] VARGHESE F, BUKHARI A B, MALHOTRA R, *et al.* IHC Profiler: an open source plugin for the quantitative evaluation and automated scoring of immunohistochemistry images of human tissue samples[J/OL]. *PLoS One*, 2014, 9(5): e96801 [2023-05-15]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24802416/>. DOI: 10.1371/journal.pone.0096801.

[12] JIANG J H, JEDINAK A, SLIVA D. Ganodermanontriol (GDNT) exerts its effect on growth and invasiveness of breast cancer cells

- through the down-regulation of CDC20 and uPA[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2011, 415(2): 325-329. DOI: 10.1016/j.bbrc.2011.10.055.
- [13] CHU Z W, ZHANG X Y, LI Q Y, *et al.* CDC20 contributes to the development of human cutaneous squamous cell carcinoma through the Wnt/ β -catenin signaling pathway[J]. *Int J Oncol*, 2019, 54(5): 1534-1544. DOI: 10.3892/ijo.2019.4727.
- [14] JIANG J H, THYAGARAJAN-SAHU A, KRCHŇÁK V, *et al.* NAHA, a novel hydroxamic acid-derivative, inhibits growth and angiogenesis of breast cancer *in vitro* and *in vivo*[J/OL]. *PLoS One*, 2012, 7(3): e34283[2023-05-15]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22479587/>. DOI: 10.1371/journal.pone.0034283.
- [15] SLOSS O, TOPHAM C, DIEZ M, *et al.* Mcl-1 dynamics influence mitotic slippage and death in mitosis[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(5): 5176-5192. DOI: 10.18632/oncotarget.6894.
- [16] ALLAN L A, SKOWYRA A, ROGERS K I, *et al.* Atypical APC/C-dependent degradation of Mcl-1 provides an apoptotic timer during mitotic arrest[J/OL]. *EMBO J*, 2018, 37(17): e96831[2023-05-15]. <https://doi.org/10.15252/embj.201796831>. DOI: 10.15252/embj.201796831.
- [17] WARREN C F A, WONG-BROWN M W, BOWDEN N A. Bcl-2 family isoforms in apoptosis and cancer[J/OL]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(3): 177[2023-05-15]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30792387/>. DOI: 10.1038/s41419-019-1407-6.
- [18] HARLEY M E, ALLAN L A, SANDERSON H S, *et al.* Phosphorylation of Mcl-1 by CDK1-cyclin B1 initiates its Cdc20-dependent destruction during mitotic arrest[J]. *EMBO J*, 2010, 29(14): 2407-2420. DOI: 10.1038/emboj.2010.112.
- [19] LI J Q, DANG N M, MARTINEZ-LOPEZ N, *et al.* M2I-1 disrupts the *in vivo* interaction between CDC20 and MAD2 and increases the sensitivities of cancer cell lines to anti-mitotic drugs *via* Mcl-1s[J]. *Cell Div*, 2019, 14(1): 1-15. DOI: 10.1186/s13008-019-0049-5.
- [20] MATT S, HOFMANN T G. The DNA damage-induced cell death response: a roadmap to kill cancer cells[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2016, 73(15): 2829-2850. DOI: 10.1007/s00018-016-2130-4.
- [21] YUAN L Q, WANG C, LU D F, *et al.* Induction of apoptosis and ferroptosis by a tumor suppressing magnetic field through ROS-mediated DNA damage[J]. *Aging*, 2020, 12(4): 3662-3681. DOI: 10.18632/aging.102836.
- [22] VAN HARTEN A M, BUIJZE M, VAN DER MAST R, *et al.* Targeting the cell cycle in head and neck cancer by Chk1 inhibition: a novel concept of bimodal cell death[J/OL]. *Oncogenesis*, 2019, 8(7): 38[2023-05-15]. <https://doi.org/10.1038/s41389-019-0147-x>. DOI: 10.1038/s41389-019-0147-x.
- [23] KLOMP J E, LEE Y S, GOODWIN C M, *et al.* CHK1 protects oncogenic KRAS-expressing cells from DNA damage and is a target for pancreatic cancer treatment[J/OL]. *Cell Rep*, 2021, 37(9): 110060[2023-05-15]. <http://dx.doi.org/10.1016/j.celrep.2021.110060>. DOI: 10.1016/j.celrep.2021.110060.
- [24] JAMIL S, STOICA C, HACKETT T L, *et al.* Mcl-1 localizes to sites of DNA damage and regulates DNA damage response[J]. *Cell Cycle*, 2010, 9(14): 2843-2855. DOI: 10.4161/cc.9.14.12354.
- [25] GAO Y, WEN P B, CHEN B, *et al.* Downregulation of CDC20 increases radiosensitivity through mcl-1/p-Chk1-mediated DNA damage and apoptosis in tumor cells[J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(18): 6692[2023-05-15]. <https://doi.org/10.3390/ijms21186692>. DOI: 10.3390/ijms21186692.

[收稿日期] 2023-06-29

[修回日期] 2023-08-07

[本文编辑] 黄静怡