·论　　著·

CDCA3 在食管癌中的表达及其对食管癌细胞增殖与凋亡的影响

方　兰[1]，卢一艳[1△]，刘金楠[2]
（1. 航天中心医院病理科，北京 100049；2. 中国人民解放军总医院病理科，北京 100039）

摘　要：目的　研究细胞周期相关因子（CDCA3）在食管癌组织和细胞中的表达及其对食管癌细胞增殖与凋亡的影响。**方法**　实时荧光定量 PCR（qPCR）检测 50 例食管癌组织及其配对的癌旁组织中 CDCA3 mRNA 的表达水平，同时检测 CDCA3 mRNA 在不同食管癌细胞系（Eca109、Kyse-170、TE1）和人食管鳞状上皮细胞系 Het-1A 中的表达水平；采用 si-CDCA3-1、si-CDCA3-2 转染 Eca109 和 TE1 细胞，另转染 si-NC 作为阴性对照，MTS 法检测细胞增殖能力，流式细胞仪检测细胞周期和凋亡变化；Western blot 检测 CDCA3、CyclinD1 和 cleaved caspase-3 蛋白的表达变化。**结果**　食管癌组织中 CDCA3 mRNA 的表达高于癌旁组织（$P<0.05$），Eca109、Kyse-170 和 TE1 细胞中 CDCA3 mRNA 表达高于人食管鳞状上皮细胞（$P<0.05$）。沉默 CDCA3 表达后，Eca109 细胞和 TE1 细胞的增殖率降低，G0/G1 期细胞比例增加（$P<0.05$）。沉默 CDCA3 表达后，Eca109 细胞和 TE1 细胞的凋亡率增加（$P<0.05$）。沉默 CDCA3 表达可降低 CyclinD1 蛋白表达和增加 cleaved caspase-3 蛋白表达（$P<0.05$）。**结论**　CDCA3 mRNA 在食管癌组织和细胞系中均高表达，干扰 CDCA3 的表达可能通过降低 CyclinD1 蛋白表达抑制细胞增殖，增加 cleaved caspase-3 蛋白表达促进细胞凋亡，提示 CDCA3 可能为食管癌的潜在治疗靶标。

关键词：食管癌；　CDCA3；　增殖；　凋亡
DOI：10.3969/j.issn.1673-4130.2020.05.016　　**中图法分类号：**R446.8；R735.1
文章编号：1673-4130(2020)05-0583-06　　**文献标识码：**A

Expression of CDCA3 in esophageal carcinoma and its effect on proliferation and apoptosis of esophageal cancer cells

FANG Lan[1], *LU Yiyan*[1△], *LIU Jinnan*[2]
(1. *Pathology Department, Aerospace Central Hospital, Beijing* 100049, *China*;
2. *Pathology Department, Chinese PLA General Hospital, Beijing* 100039, *China*)

Abstract: Objective　To study the expression of cell cycle related factor (CDCA3) in esophageal carcinoma tissues and cells and its effect on proliferation and apoptosis of esophageal cancer cells. **Methods**　Real-time quantitative PCR (qPCR) was used to detect the expression of CDCA3 mRNA in 50 cases of esophageal cancer tissues and their adjacent paracancerous tissues, and to detect CDCA3 mRNA in different esophageal cancer cell lines (Eca109, Kyse-170, TE1) and human esophageal squamous epithelial cell het-1A. Eca109 and TE1 cells were transfected with si-CDCA3-1 and si-CDCA3-2, and si-NC was used as a negative control. Cell proliferation was detected by MTS assay, and cell cycle and apoptosis were detected by flow cytometry. Western blot assay was used to detect the expression changes of CDCA3, CyclinD1 and cleaved caspase-3 proteins. **Results**　The expression of CDCA3 mRNA in esophageal carcinoma tissues was higher than that in adjacent tissues ($P<0.05$). The expression of CDCA3 mRNA in Eca109, Kyse-170 and TE1 cells was higher than that in normal human esophageal squamous cells ($P<0.05$). After silencing CDCA3 expression, the proliferation rate of Eca109 cells and TE1 cells decreased, and the proportion of cells in G0/G1 phase increased ($P<0.05$). After silencing CDCA3 expression, the apoptosis rate of Eca109 cells and TE1 cells increased ($P<0.05$). Silencing CDCA3 expression reduced CyclinD1 protein expression and increased cleaved caspase-3 protein expression ($P<0.05$). **Conclusion**　CDCA3 mRNA is highly expressed in esophageal carcinoma tissues and cell lines. Interfering with the expression of CDCA3 may inhibit cell proliferation by decreasing the expression of CyclinD1 protein, and increase the expression of cleaved caspase-3 protein to promote apoptosis. CDCA3 may be a potential therapeutic target for esophageal cancer.

Key words: esophageal cancer;　CDCA3;　proliferation;　apoptosis

---

作者简介：方兰，女，住院医师，主要从事肿瘤病理相关的研究。　△　**通信作者**，E-mail：zhulie1980524@163.com。

本文引用格式：方兰，卢一艳，刘金楠. CDCA3 在食管癌中的表达及其对食管癌细胞增殖与凋亡的影响[J]. 国际检验医学杂志，2020，41(5)：583-587.

食管癌是全球肿瘤相关死亡的第六大原因，在男性中为第三常见肿瘤，女性中第五常见。统计数据显示，全球 2018 年食管癌死亡病例为 51 万左右，我国食管癌病例死亡人数占全球一半以上，是我国男性和女性肿瘤相关死亡的第三大主要原因[1-2]。目前食管癌的治疗包括手术、放疗和化疗等手段，三者的联合治疗具有一定的疗效，但是患者预后仍然较差[3]。因此，研究影响食管癌发生、发展中的潜在分子机制，对寻找食管癌治疗候选靶点、开发靶向药物、改善患者预后具有重大意义。细胞周期相关因子（CDCA3）是促使细胞进行有丝分裂的始动因子，在多种肿瘤组织中表达增加，参与肿瘤恶性疾病的进展[4-7]。SU 等[8]采用生物信息学分析发现 CDCA3 为食管癌中差异表达基因之一，然而 CDCA3 在食管癌中的具体作用目前仍不明确。本研究分析了 CDCA3 在食管癌组织和细胞中的表达，并分析了 CDCA3 对食管癌细胞增殖和凋亡的影响及其可能的作用机制，现作如下报道。

1　材料与方法

1.1　一般资料　收集 2016 年 1 月至 2018 年 1 月入住航天中心医院行首次手术切除的食管癌患者的癌组织及其配对的癌旁组织标本各 50 例。纳入研究的患者术前未接受包括放化疗等任何形式的抗肿瘤治疗，经病理专家证实为食管癌，所有患者均签署知情同意书，所有操作均符合航天中心医院伦理委员会规定。

1.2　细胞、试剂与仪器　食管癌细胞系 Eca109、Kyse-170、TE1 和人食管鳞状上皮细胞 Het-1A 均购自美国 ATCC 细胞库；RPMI1640 培养基、FBS 和 0.25%胰蛋白酶购自美国 Gibco 公司；RNA 提取试剂 RNAiso Plus、PrimeScript™ RT reagent Kit 反转录试剂盒和 SYBR Premix Ex Taq™ qRT-PCR 试剂盒均购自日本 Takara 公司；CDCA3、内参 GAPDH 引物由上海捷瑞生物工程有限公司合成；转染试剂脂质体 Lipofectamine 2000 为赛默飞世尔科技公司产品；CDCA3 siRNA 由上海吉凯有限公司设计；MTS 试剂盒购自美国 Biovision 公司；细胞周期及细胞凋亡 Annexin Ⅴ-FITC /PI 检测试剂盒均购自上海碧云天生物技术有限公司；蛋白 RIPA 裂解液购自美国 Solarbio 公司。CDCA3、CyclinD1 和 clevead caspase-3 兔多克隆抗体购自英国 Abcam 公司，Mastercycler Ep Realplex qRT-PCR 仪购自德国 Eppendorf 公司；Multiskan MK3 型酶标仪购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司；倒置显微镜购自日本 Olympus 公司；BDFACS Calibur 流式细胞仪购自美国 Becton Dickinson 公司；Mini-PROTEAN Tetra 电泳仪购自美国 Bio-Rad 公司。

1.3　方法

1.3.1　实时荧光定量 PCR（qPCR）检测食管癌组织和细胞中 CDCA3 mRNA 的表达　采用 RNA 提取试剂 RNAiso Plus 提取组织和细胞中的总 RNA，测定 RNA 浓度及纯度（以 A_{260}/A_{280} 进行判断）后，根据反转录试剂盒中的操作指南将总 RNA 反转录为 cDNA，以 cDNA 为模板进行 PCR 扩增，以 GAPDH 为内参，GAPDH 上游引物 5′-ACA ACT TTG GTA TCG TGG AAG G-3′，下游引物 5′-GCC ATC ACG CCA CAG TTT C-3′，CDCA3 上游引物 5′-AAG AGC GTC CCA GTC ACA C-3′，下游引物 5′-CCA GCA CTA GGT GAA CGG G-3′；反应条件：95 ℃预变性 5 s，95 ℃变性 5 s、60 ℃退火 30 s，共 40 个循环。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算 CDCA3 mRNA 的相对表达水平。实验重复 3 次，取平均值。

1.3.2　细胞培养及转染　Eca109、Kyse-170、TE1 和 Het-1A 细胞均接种于含 10%FBS 的 RPMI1640 培养基中，培养在 37 ℃、5%CO_2 培养箱中，待细胞融合度为 90%时传代。Eca109、TE1 细胞生长至对数期时，胰酶消化以 2×10^5 个/孔接种于 6 孔板中，按照转染说明书将 siRNAs 和 si-NC 转染至细胞中，细胞转染 48 h 后采用 qPCR 验证 siRNAs 沉默效果。对照序列（si-NC 序列）：5′-UUC UCC GAA CGU GUC ACG UTT-3′。si-CDCA3-1 序列：5′-GCA AUA GAU GGA AAC CAA ATT-3′；si-CDCA3-2 序列：5′-GCU CUC CUA CUC UUG GUA UTT-3′；si-CDCA3-3 序列：5′- GAG UGA AGU AUU UGA AAC UTT-3′；选取沉默效果较好的两条 si-CDCA3 序列进行后续实验。

1.3.3　MTS 增殖实验　Eca109、TE1 细胞生长至对数期时，胰酶消化以 3 000 个/孔接种于 96 孔板中，每组有 6 个平行孔，按照转染说明书将转染沉默效果较好的两条 si-CDCA3 转染至细胞中，继续培养 72 h，弃掉培养基，每孔加入 100 μL 新鲜培养基和 20 μL MTS 工作液，细胞培养箱孵育 2 h 后，全波长扫描仪测取每个样品在 490 nm 波长处测的吸光度（A）值，细胞增殖抑制率＝$(A_{实验组}-A_{对照组})/A_{对照组}\times100\%$。

1.3.4　流式细胞仪检测细胞周期和凋亡情况　（1）细胞周期：收集转染 si-CDCA3 48 h 的 Eca109、TE1 细胞，PBS 洗 3 次后，加入预冷的 75%的乙醇固定 2～24 h，以每管 1×10^6 个细胞，加入 500 μL Binding Buffer、25 μL PI 和 10 μL RNase A 染液，混匀后避光室温孵育 30 min。于流式细胞仪进行检测。（2）细胞凋亡：收集转染 si-CDCA3 48 h 的 Eca109、TE1 细胞，PBS 洗 3 次后，以每管 1×10^6 个细胞，加入 500 μL Binding Buffer、5 μL PI 和 5 μL Annexin Ⅴ-FITC 染液，混匀后避光室温孵育 15 min。PBS 洗 1 次后，流式细胞仪检测并分析凋亡细胞数。

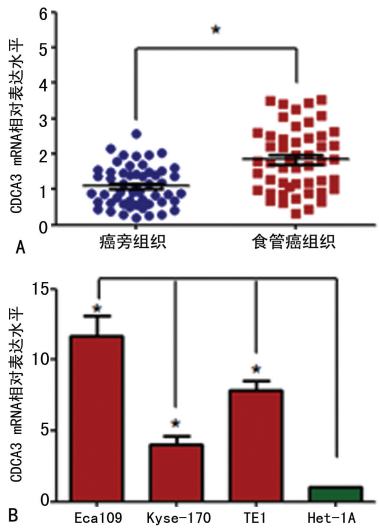
1.3.5　Western blot 检测蛋白表达　收集转染 si-CDCA3 48 h 的 Eca109、TE1 细胞，加入蛋白裂解液（含有 100×的蛋白酶和磷酸酶抑制剂），超声充分裂解 30 min，在低温下（4 ℃）以 14 000 r/min 的转速进行 20 min 的离心运动，获得细胞总蛋白，BCA 法检测蛋白浓度，加入 Loading Buffer 煮沸，之后将蛋白经湿转移至聚偏二氟乙烯（PVDF）膜上，在室温下采用 8%脱脂牛奶进行封闭，2 h 后采用 TBST 冲洗，加入

目的基因一抗，在 4 ℃的环境下孵育过夜，次日 TBST 洗 3 次，加入二抗，在室温下孵育 1 h，ECL 化学发光法曝光条带。采用 Quantity One 5.0 软件进行分析，计算目的条带灰度值与 GAPDH 灰度值的比值。

1.4　统计学处理　采用 SPSS19.0 进行统计学分析。CDCA3 mRNA 相对表达水平等计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示，两组间的比较采用 t 检验，多组间的比较采用单因素方差分析，多组间的两两比较采用 LSD-t 检验。以 $\alpha=0.05$ 为检验水准。

2　结　　果

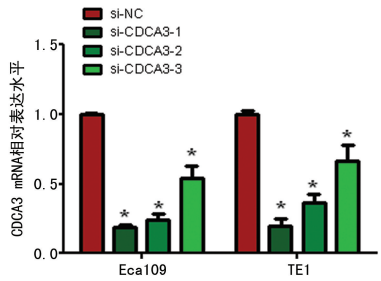
2.1　CDCA3 mRNA 在食管癌组织和细胞中的表达水平　食管癌组织中 CDCA3 mRNA 的相对表达水平为 1.84±0.89，高于癌旁组织的 1.07±0.57（$P<0.05$），见图 1A。CDCA3 mRNA 在食管癌细胞系 Eca109、Kyse-170、TE1 中的表达水平分别为 11.65±2.46、4.02±1.05、7.86±1.21，均高于在食管鳞状上皮细胞 Het-1A 中的表达水平（1.00±0.10，$P<0.05$）。Eca109 和 TE1 细胞系中 CDCA3 mRNA 的表达水平高于 Kyse-170 细胞系（$P<0.05$），选 CDCA3 mRNA 高表达的 Eca109 和 TE1 细胞系进行后续实验，见图 1B。



注：A 为 CDCA3 mRNA 在食管癌组织和癌旁组织中的表达；B 为 CDCA3 mRNA 在食管癌细胞系中的表达；组间比较，* $P<0.05$。

图 1　CDCA3 mRNA 的表达

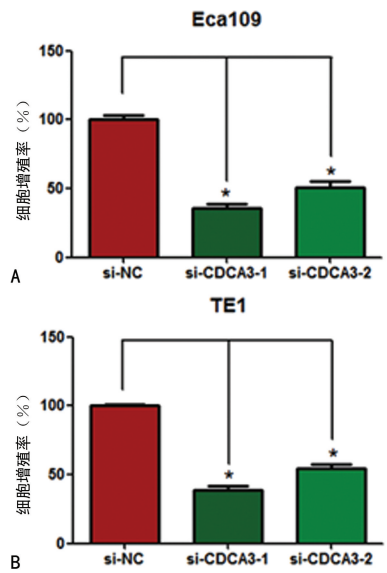
2.2　检测转染 si-CDCA3 的沉默效果　Eca109 细胞转染 si-NC、si-CDCA3-1、si-CDCA3-2 和 si-CDCA3-3 后的 CDCA3 mRNA 表达水平分别为 1.00±0.02、0.19±0.03、0.24±0.08 和 0.54±0.16，与 si-NC 相比，转染 si-CDCA3-1、si-CDCA3-2 和 si-CDCA3-3 后的细胞 CDCA3 mRNA 表达水平降低（$P<0.05$）；TE1 细胞转染 si-NC、si-CDCA3-1、si-CDCA3-2 和 si-CDCA3-3 后的 CDCA3 mRNA 表达水平分别为 1.00±0.06、0.20±0.09、0.36±0.11 和 0.66±0.20，与 si-NC 相比，转染 si-CDCA3-1、si-CDCA3-2 和 si-CDCA3-3 后的细胞 CDCA3 mRNA 表达水平降低（$P<0.05$），见图 2。后续实验采用 si-CDCA3-1 和 si-CDCA3-2 来沉默 CDCA3 的表达。



注：与转染 si-NC 的同系细胞比较，* $P<0.05$。

图 2　Eca109 和 TE1 细胞转染 si-CDCA3 后 CDCA3 mRNA 的表达情况

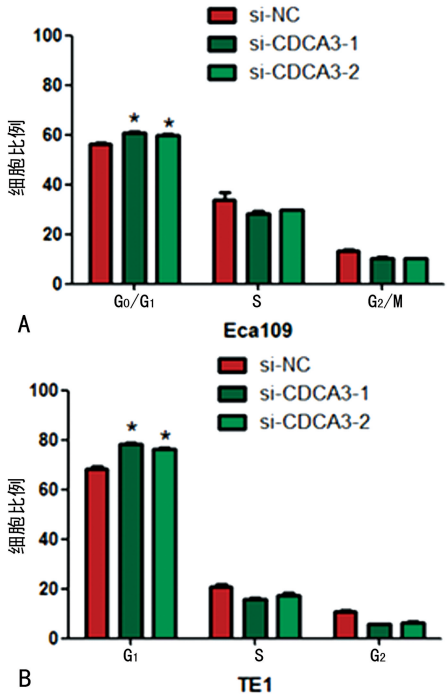
2.3　沉默 CDCA3 表达对食管癌细胞增殖的影响　Eca109 细胞转染 si-NC、si-CDCA3-1 和 si-CDCA3-2 后的增殖率分别是（100.00±5.00）%、（36.00±5.29）%和（50.67±8.39）%，与 si-NC 相比，转染 si-CDCA3-1 和 si-CDCA3-2 的细胞增殖率降低（$P<0.05$）；TE1 细胞转染 si-NC、si-CDCA3-1 和 si-CDCA3-2 后的增殖率分别是（100.00±3.24）%、（38.67±5.51）%和（54.33±5.69）%，与 si-NC 相比，转染 si-CDCA3-1 和 si-CDCA3-2 后的细胞增殖率降低（$P<0.05$）。见图 3。



注：与 si-NC 比较，* $P<0.05$。

图 3　沉默 CDCA3 对 Eca109 和 TE1 细胞增殖的影响

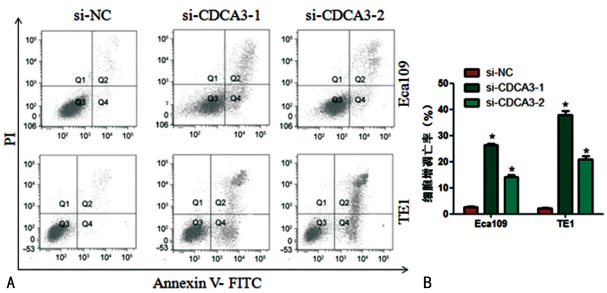
2.4　沉默 CDCA3 表达对食管癌细胞周期的影响　Eca109 细胞转染 si-NC、si-CDCA3-1 和 si-CDCA3-2 后，G_0/G_1 期细胞比例分别是（56.12±1.05）%、（61.00±0.53）%和（59.90±0.66）%，与 si-NC 相比，转染 si-CDCA3-1 和 si-CDCA3-2 细胞的 G_0/G_1 期细胞比例增加（$P<0.05$）；TE1 细胞转染 si-NC、si-CDCA3-1 和 si-CDCA3-2 后的 G_0/G_1 期细胞比例分别是（68.10±2.05）%、（78.45±0.28）%和（76.11±1.20）%，与 si-NC 相比，转染 si-CDCA3-1 和 si-CDCA3-2 后的细胞 G_0/G_1 期细胞比例增加（$P<0.05$）。见图 4。



注：与 si-NC 比较，* $P<0.05$。

图 4　沉默 CDCA3 表达对 Eca109 和 TE1 细胞周期的影响

2.5　沉默 CDCA3 表达对食管癌细胞凋亡的影响　Eca109 细胞转染 si-NC、si-CDCA3-1 和 si-CDCA3-2 后的凋亡率分别是(0.25±2.67)%、(26.33±1.19)%和(14.07±1.59)%，与 si-NC 相比，转染 si-CDCA3-1 和 si-CDCA3-2 细胞的凋亡率增加($P<0.05$)；TE1 细胞转染 si-NC、si-CDCA3-1 和 si-CDCA3-2 后的凋亡率分别是(2.17±0.317)%、(38.00±2.65)%和(21.00±2.00)%，与 si-NC 相比，转染 si-CDCA3-1 和 si-CDCA3-2 细胞的凋亡率增加($P<0.05$)。见图 5。

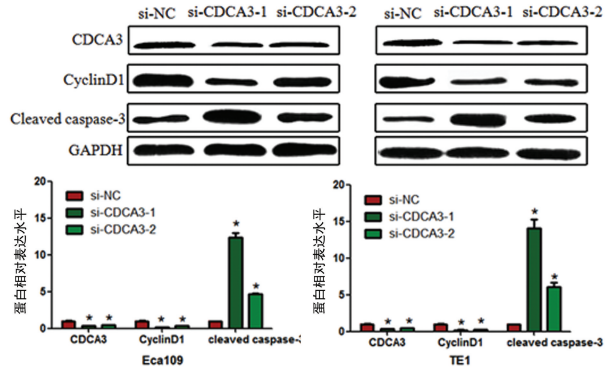


注：与 si-NC 比较，* $P<0.05$。

图 5　沉默 CDCA3 表达对 Eca109 和 TE1 细胞凋亡的影响

表 1　各组细胞中 CDCA3、CyclinD1 和 cleaved caspase-3 蛋白相对表达水平

细胞系	蛋白	转染 si-NC	转染 si-CDCA3-1	转染 si-CDCA3-2
Eca109	CDCA3	1.00±0.05	0.10±0.04	0.28±0.10
	CyclinD1	1.00±0.10	0.12±0.05	0.35±0.11
	cleaved caspase-3	1.00±0.00	12.33±1.06	4.67±0.21
TE1	CDCA3	1.00±0.03	0.17±0.09	0.21±0.12
	CyclinD1	1.00±0.05	0.18±0.07	0.23±0.10
	cleaved caspase-3	1.00±0.02	13.99±2.03	6.04±1.03



注：与 si-NC 比较，* $P<0.05$。

图 6　沉默 CDCA3 表达对 Eca109 和 TE1 细胞 CyclinD1、cleaved caspase-3 蛋白表达的影响

2.6　沉默 CDCA3 表达对 CyclinD1、cleaved caspase-3 蛋白的影响　为进一步探讨 CDCA3 表达对食管癌细胞增殖和凋亡作用的机制，检测沉默 CDCA3 表达对 CyclinD1、cleaved caspase-3 的影响。Western-blot 检测发现，与转染 si-NC 的细胞相比，转染 si-CDCA3-1 和 si-CDCA3-2 细胞中 CDCA3 蛋白表达水平降低($P<0.05$)。沉默 CDCA3 后，Eca109 和 TE1 细胞中 CyclinD1 蛋白表达减少，而 cleaved caspase-3 蛋白表达增加($P<0.05$)。见图 6、表 1。

3　讨　　论

肿瘤是疾病相关死亡的主要原因，而我国恶性肿瘤的发病率和病死率均居世界首位，近年来随着生活节奏的加快、工作压力的增加等外在环境因素及肿瘤异质性内在因素，使得肿瘤的发病率和病死率呈现上升趋势[9-10]。食管癌是恶性程度较高的肿瘤，由于早期症状的隐匿性，确诊时通常为晚期，患者预后较差。近年来靶向治疗为食管癌的治疗提供了新的思路，该方向也成为临床研究的重点[11-12]。恶性肿瘤的发生比较复杂，癌基因激活和抑癌基因失活产生的基因功能紊乱，是肿瘤发生、发展的重要因素[13-14]。不良的饮食习惯、吸烟等因素引起基因变异导致调控失常，促进食管癌的发生、发展，因此从基因分子水平探究诊治食管癌的新方向，已成为食管癌领域的研究热点[15-16]。

细胞的生长在于细胞的分裂，细胞分裂的失控导致细胞增殖异常是恶性肿瘤细胞的共同特征，细胞周期的进程取决于复杂的周期相关蛋白调节网络，研究已经证实周期相关蛋白分子与肿瘤的发生密切相关，靶向周期相关蛋白阻止细胞周期的进程可以显著抑制肿瘤的增殖能力，可能是改善患者疗效的潜在靶点[17]。细胞周期分裂相关蛋白家族成员 CDCA3，被称为进入有丝分裂的“触发因子”，CDCA3 作为 S 期激酶相关蛋白 1(SKP1)/淘汰素(Cullin1)/F-box(SCF)E3 泛素连接酶复合物的一部分，介导有丝分裂抑制激酶 wee1 的降解，从而介导细胞周期的进展[18]。本研究显示，在食管癌组织以及细胞系中 CDCA3 mRNA 的表达均高于癌旁组织以及正常人食管鳞状上皮细胞。研究报道，CDCA3 mRNA 在乳腺癌

组织中的表达水平显著高于对照组，并显著降低了患者的存活率[4]；非小细胞肺癌组织和细胞中 CDCA3 的表达水平均高于对照组[5]；生物信息学分析 CDCA3 在食管癌中表达上调[8]。此外，通过进一步研究发现，沉默 CDCA3 的表达可抑制食管癌细胞 Eca109、TE1 的增殖且使细胞阻滞于 G_0/G_1 期。ZHANG 等[6]研究发现在胃癌细胞 BGC823 中敲低 CDCA3 的表达抑制细胞增殖、集落形成和体内移植瘤的生长，诱导细胞 G_0/G_1 期的阻滞；QIAN 等[7]同样报道在结肠癌细胞 SW480 中敲减 CDCA3 的表达，在体内和体外均抑制细胞增殖，机制为细胞周期 G1 到 S 期的转换停滞，与本研究结果一致，但是 ADAMS 等[5]研究在非小细胞肺癌中抑制 CDCA3 的表达通过将细胞阻滞在 G_2/M 期发挥抑制细胞增殖的作用，表明 CDCA3 在不同的恶性肿瘤中发挥的调控作用机制可能不同。细胞凋亡是正常生命现象，细胞凋亡异常同样导致恶性肿瘤的发生，肿瘤的化疗、放疗等治疗中均涉及细胞凋亡的激活，因此细胞凋亡在肿瘤治疗中具有重要作用[19-20]。已有研究报道在非小细胞肺癌中 CDCA3 的缺失可诱导细胞的凋亡[5]，而 CDCA3 是否参与食管癌的细胞凋亡尚不清楚。本研究显示，沉默 CDCA3 表达后，凋亡细胞增多，表明 CDCA3 参与食管癌细胞的凋亡。

本研究已经发现 CDCA3 调控食管癌细胞增殖和凋亡，但是具体的作用机制仍需进一步研究。本研究采用 Western blot 检测 CDCA3 沉默后，Eca109、TE1 细胞中 CyclinD1 的表达降低。CyclinD1 是细胞周期的正性调控因子，通过促进 Rb 的磷酸化，使 pRb-E2F 复合物解离，E2F 促使 DNA 合成相关基因的转录，启动 G_1 期 DNA 的复制进入 S 期，CyclinD1 表达减少时，细胞周期阻滞在 G_1 期[21]，本研究结果提示 CDCA3 高表达可能通过增加 CyclinD1 蛋白的表达促进食管癌增殖。细胞凋亡涉及一系列的蛋白改变，凋亡发生的重要标志为 Caspase 蛋白家族的激活，其中 Caspase3 蛋白是细胞凋亡的执行分子，其被切割为 cleaved caspase-3 后可导致下游蛋白级联激活反应，是细胞凋亡不可逆的标志[22]。而沉默 CDCA3 的表达后，Eca109、TE1 细胞中 cleaved caspase-3 的表达增加，提示 CDCA3 高表达可能通过抑制 Caspase3 蛋白的表达抑制食管癌细胞凋亡。

综上所述，CDCA3 在食管癌组织和细胞中表达均增加，在食管癌细胞中沉默 CDCA3 的表达可抑制细胞增殖、诱导 G_0/G_1 期细胞阻滞，并可以对细胞凋亡产生促进作用，其机制可能是调控 cyclinD1、cleaved caspase-3 蛋白的表达。CDCA3 可能是食管癌治疗的潜在分子靶点。本文未对 CDCA3 的表达与患者预后生存期进行分析，这将在今后研究中进一步探索。

4　结　　论

本文首次报道 CDCA3 在食管癌中高表达，发挥促癌基因的功能。抑制 CDCA3 的表达可能通过调控周期蛋白和凋亡蛋白抑制食管癌细胞的增殖。CDCA3 可能成为治疗食管癌新的治疗靶点。

参考文献

[1] BRAY F, FERLAY J, SOERJOMATARAM I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(6): 394-424.

[2] CHEN W, ZHENG R, BAADE P D, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(2): 115-132.

[3] DUDASH M J, SLIPAK S, DOVE J, et al. Lymph node harvest as a measure of quality and effect on overall survival in esophageal cancer: a national cancer database assessment[J]. Am Surg, 2019, 85(2): 201-205.

[4] PHAN N N, WANG C Y, LI K L, et al. Distinct expression of CDCA3, CDCA5, and CDCA8 leads to shorter relapse free survival in breast cancer patient[J]. Oncotarget, 2018, 9(6): 6977-6992.

[5] ADAMS M N, BURGESS J T, HE Y, et al. Expression of CDCA3 is a prognostic biomarker and potential therapeutic target in non-small cell lung cancer[J]. J Thorac Oncol, 2017, 12(7): 1071-1084.

[6] ZHANG Y, YIN W, CAO W, et al. CDCA3 is a potential prognostic marker that promotes cell proliferation in gastric cancer[J]. Oncol Rep, 2019, 1(2): 12-20.

[7] QIAN W, ZHANG Z, PENG W, et al. CDCA3 mediates p21-dependent proliferation by regulating E2F1 expression in colorectal cancer[J]. Int J Oncol, 2018, 53(5): 2021-2033.

[8] SU P, WEN S, ZHANG Y, et al. Identification of the key genes and pathways in esophageal carcinoma[J]. Gastroenterol Res Pract, 2016, 2016(1): 2968106.

[9] MONGRE R K, JUNG S, MISHRA C B, et al. Prognostic and clinicopathological significance of SERTAD1 in various types of cancer risk: a systematic review and retrospective analysis[J]. Cancers, 2019, 11(3): 337-346.

[10] TAKESHIMA H, USHIJIMA T. Accumulation of genetic and epigenetic alterations in normal cells and cancer risk[J]. Precis Oncol, 2019, 3(1): 7-12.

[11] LIN W C, DING Y F, HSU H L, et al. Value and application of trimodality therapy or definitive concurrent chemoradiotherapy in thoracic esophageal squamous cell carcinoma[J]. Cancer, 2017, 123(20): 3904-3915.

[12] SIEGEL R L, MILLER K D. Cancer Statistics, 2017[J]. CA Cancer J Clin, 2017, 67(1): 7-30.

[13] 陈学燕，李利亚. 多原发恶性肿瘤临床特点及发病机制的研究进展[J]. 中日友好医院学报，2019，33(1)：41-44.

[14] VIJAYAN S, SIDIQ T, YOUSUF S, et al. Class Ⅰ transactivator, NLRC5: a central player in the MHC class Ⅰ pathway and cancer immune surveillance[J]. Immunogenetics, 2019, 71(3): 273-282.

[15] XIE S H. Risk factors for oesophageal cancer[J]. Best Pract Res Clin Gastroenterol, 2018, 37(1): 3-8.

[16] 刘丹丹，孙惠杰，赵丹丹，等. 食管癌的诊断及治疗进展[J]. 癌症进展，2018，16(7)：804-806.

（下转第 591 页）

提供了新的方向。本研究一共鉴定到 1 146 个蛋白质，其中 948 个蛋白质包含定量信息。本课题组发现，相较于对照组，T1DM 患者血浆外泌体中有 37 个蛋白表达发生上调，122 个蛋白表达发生下调。

首先，本课题组对差异表达蛋白进行了功能分类，发现这些差异表达的蛋白质广泛参与了各个生物进程，并且定位于多个亚细胞结构中。另外，这些蛋白在细胞内发挥着不同的功能，参与到各种分子信号通路中。为检测差异表达蛋白在某些功能类型上富集趋势的显著性，本课题组对这些差异表达蛋白进行 KEGG 通路富集分析。KEGG 途径包括代谢、遗传信息处理、环境信息处理、细胞过程、人类疾病、药物开发等，是探索已知分子间相互作用的桥梁[14]。研究发现，差异蛋白主要集中于凝血与补体级联反应、胆固醇代谢及沙门氏菌感染等信号通路。这与 T1DM 发病机制方面的研究相符合。目前，关于 T1DM 发病机制的研究主要集中于自身免疫系统缺陷、遗传因素及病毒感染等[15]。

4　结　　论

本研究为进一步阐明 T1DM 发病机制提供了参考方向，并为 T1DM 的早期诊断提供了一些新的候选分子。

参考文献

[1] 中国疾病预防控制中心. 1996－2000 年国家糖尿病防治规划纲要[J]. 中国慢性病预防与控制，1996，2(2)：49-50.

[2] American Diabetes Association. Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus[J]. Diabetes Care，2003，26(Suppl 1)：S5-S20.

[3] KROMPA K，BARKA I，MALARD S，et al. Ketosis prone diabetes presenting as fulminant type 1 diabetes [J]. Pan Afr Med J，2018，31(1)：38.

[4] RAPOSO G，STOORVOGEL W. Extracellular vesicles：exosomes，microvesicles，and friends [J]. J Cell Biol，2013，200(4)：373-383.

[5] HESSVIK N P，LLORENTE A. Current knowledge on exosome biogenesis and release[J]. Cell Mol Life Sci，2018，75(2)：193-208.

[6] GARCIA-CONTRERAS M，BROOKS R W，BOCCUZZI L，et al. Exosomes as biomarkers and therapeutic tools for type 1 diabetes mellitus[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci，2017，21(12)：2940-2956.

[7] BANG C，THUM T. Exosomes：new players in cell-cell communication[J]. Int J Biochem Cell Biol，2012，44(11)：2060-2064.

[8] MATHIVANAN S，JI H，SIMPSON R J. Exosomes：extracellular organelles important in intercellular communication[J]. J Proteomics，2010，73(10)：1907-1920.

[9] CONDE-VANCELLS J，RODRIGUEZ-SUAREZ E，EMBADE N，et al. Characterization and comprehensive proteome profiling of exosomes secreted by hepatocytes[J]. J Proteome Res，2008，7(12)：5157-5166.

[10] SUBRA C，GRAND D，LAULAGNIER K，et al. Exosomes account for vesicle-mediated transcellular transport of activatable phospholipases and prostaglandins [J]. J Lipid Res，2010，51(8)：2105-2120.

[11] BEACH A，ZHANG H G，RATAJCZAK M Z，et al. Exosomes：an overview of biogenesis，composition and role in ovarian cancer[J]. J Ovarian Res，2014，7(1)：14.

[12] KAWAKAMI K，FUJITA Y，KATO T，et al. Integrin β4 and vinculin contained in exosomes are potential markers for progression of prostate cancer associated with taxane-resistance[J]. Int J Oncol，2015，47(1)：384-390.

[13] BEI Y，YU P，CRETOIU D，et al. Exosomes-based biomarkers for the prognosis of cardiovascular diseases[J]. Adv Exp Med Biol，2017，998(1)：71-88.

[14] MANYAM G，BIRERDINC A，BARANOVA A. KPP：KEGG pathway painter[J]. BMC Syst Biol，2015，9(Suppl 2)：S3.

[15] PYRLIS F，BROWN F，EKINCI E. Recent advances in management of type 1 diabetes[J]. Aust J Rural Health，2019，48(5)：256-261.

（收稿日期：2019-07-24　修回日期：2019-10-25）

（上接第 587 页）

[17] 卢姣云，张清媛. CDK4/6 抑制剂在抗肿瘤免疫中的研究进展[J]. 肿瘤学杂志，2019，14(3)：1-5.

[18] BI L，ZHOU B，LI H，et al. A novel miR-375-HOXB3-CDCA3/DNMT3B regulatory circuitry contributes to leukemogenesis in acute myeloid leukemia[J]. BMC cancer，2018，18(1)：182-189.

[19] GREEN D S，HUSAIN S R，JOHNSON C L，et al. Combination immunotherapy with IL-4 pseudomonas exotoxin and IFN-α and IFN-γ mediate antitumor effects in vitro and in a mouse model of human ovarian cancer[J]. Immunotherapy，2019，11(6)：483-496.

[20] SHI P，ZHANG S，ZHU L，et al. The third-generation EGFR inhibitor，osimertinib，promotes c-FLIP degradation，enhancing apoptosis including TRAIL-induced apoptosis in NSCLC cells with activating EGFR mutations [J]. Transl Oncol，2019，12(5)：705-713.

[21] 杨宣琴，王晓娟，步鹏，等. 食管鳞状细胞癌中异黏蛋白和细胞周期蛋白 D1 的表达及其临床意义[J]. 肿瘤研究与临床，2017，29(1)：20-22.

[22] YU J，LI S，QI J，et al. Cleavage of GSDME by caspase-3 determines lobaplatin-induced pyroptosis in colon cancer cells[J]. Cell Death Dis，2019，10(3)：193-199.

（收稿日期：2019-07-22　修回日期：2019-10-26）