

DOI: 10.20135/j.issn.1006-8147.2024.06.0491

论著

NCAPG 和 CDK1 促进膀胱癌细胞增殖

李长建¹, 王会青¹, 王玉华¹, 王亚林¹, 窦启锋²

(1.新乡医学院第三附属医院泌尿外科, 新乡 453000; 2.新乡医学院第一附属医院泌尿外科, 卫辉 453100)

摘要 目的:探讨非 SMC 凝缩蛋白 I 复合物亚基 G(NCAPG)和细胞周期蛋白依赖性激酶 1(CDK1)在膀胱癌细胞和膀胱癌组织中的作用。方法:通过生物信息学分析,比较 NCAPG 和 CDK1 在膀胱癌和正常组织中的表达。之后再对 NCAPG 和 CDK1 进行相关性分析,对新乡医学院第一和第三附属医院泌尿外科 72 例膀胱癌患者术后病理组织进行免疫组化染色,进一步验证其相关性。选取膀胱癌细胞 T24 和 5637,将其分为两组,未敲低 NCAPG 的为对照组,转染 shRNA 敲低 NCAPG 的为 shRNA 组,qRT-PCR 和 Western 印迹验证敲低效果,通过克隆形成和 CCK-8 实验检测其对膀胱癌细胞增殖的影响,并应用细胞周期实验,检测其对膀胱癌细胞周期的影响。结果:与正常膀胱组织相比,NCAPG 和 CDK1 在膀胱癌组织中表达上调。NCAPG 和 CDK1 免疫组化染色的相关性分析进一步证实了 NCAPG 与 CDK1 相关($\chi^2=10.286, P<0.001$)。通过结合临床资料进一步发现,NCAPG 的表达与肿瘤大小密切相关($\chi^2=6.675, P=0.010$)。qRT-PCR 和 Western 印迹结果显示,NCAPG shRNA 明显抑制了 NCAPG mRNA($t=5.422, 5.238$, 均 $P<0.05$)及蛋白的表达($t=4.756, 4.122$, 均 $P<0.05$)。同时 CCK-8 实验和克隆形成实验发现,敲低 NCAPG 会抑制膀胱癌细胞的增殖($t=5.886, 4.147, 3.102, 3.745$, 均 $P<0.05$)。细胞周期结果发现,敲低 NCAPG 后阻滞了膀胱癌细胞的 G2/M 期($t=2.566, 2.926$, 均 $P<0.05$)。结论:NCAPG 和 CDK1 在膀胱癌细胞中高表达,会促进膀胱癌细胞的增殖。

关键词 NCAPG;CDK1;膀胱癌;治疗靶点;增殖

中图分类号 R737.14

文献标志码 A

文章编号 1006-8147(2024)06-0491-07

NCAPG and CDK1 promote bladder cancer cell proliferation

LI Changjian¹, WANG Huiqing¹, WANG Yuhua¹, WANG Yalin¹, DOU Qifeng²

(1.Department of Urology, The Third Affiliated Hospital of Xinxiang Medical College, Xinxiang 453000, China; 2.Department of Urology, The First Affiliated Hospital of Xinxiang Medical College, Weihui 453100, China)

Abstract Objective: To investigate the role of the non-SMC condensin I complex subunit G (NCAPG) and cyclin dependent kinase 1 (CDK1) in bladder cancer cells and bladder cancer tissues. **Methods:** Bioinformatics analysis was used to compare the expression of NCAPG and CDK1 in bladder cancer and normal tissues. The correlation between NCAPG and CDK1 was analyzed, and immunohistochemical staining was performed on the pathological tissues of 72 patients with bladder cancer after surgery in our hospital to further verify their correlation. Bladder cancer cells T24 and 5637 were selected and divided into two groups. The control group was the one that did not knock down NCAPG, and the shRNA group was the one that transfected shRNA to knock down NCAPG. QRT-PCR and Western blotting were used to verify the knockdown effect, clone formation and CCK8 assay were used to detect the effect of NCAPG on bladder cancer cell proliferation, and the cell cycle experiment was used to detect the effect on the cell cycle of bladder cancer. **Results:** NCAPG and CDK1 were up-regulated in bladder cancer tissues compared with normal bladder tissues. And the correlation analysis of NCAPG and CDK1 immunohistochemical staining further confirmed that NCAPG was related to CDK1($\chi^2=10.286, P<0.001$). Combined with clinical data, it was further found that the expression of NCAPG was closely related to tumor size ($\chi^2=6.675, P=0.010$). QRT-PCR and Western blotting results showed that NCAPG shRNA significantly inhibited the expression of NCAPG mRNA ($t=5.422, 5.238$, both $P<0.05$) and protein ($t=4.756, 4.122$, both $P<0.05$). Meanwhile, knockdown of NCAPG inhibited the proliferation of bladder cancer cells according to colony formation and CCK8 assay ($t=5.886, 4.147, 3.102, 3.745$, all $P<0.05$). Cell cycle results showed that NCAPG knockdown blocked the G2/M phase of bladder cancer cells ($t=2.566, 2.926$, both $P<0.05$). **Conclusion:** NCAPG and CDK1 are highly expressed in bladder cancer cells and can promote the proliferation of bladder cancer cells.

Key words NCAPG;CDK1;bladder cancer;therapeutic target;proliferation

膀胱癌是最常见的恶性肿瘤之一,并且目前仍缺乏敏感的诊断生物标志物或有效的治疗措施。欧美 2024 年的预测统计数据发现,大约有 83 190 例

新诊断的膀胱癌病例,且约有 16 840 例患者将死于膀胱癌,其中男性患者比例较高^[1]。目前联合新辅助放化疗、免疫治疗、靶向治疗和内分泌治疗能明显改善患者的预后^[2]。然而,寻找膀胱癌患者敏感的生物标志物仍是目前迫切需要解决的问题^[3]。

非 SMC 凝缩蛋白 I 复合物亚基 G(the non-SMC

作者简介 李长建(1983-),男,副主任医师,硕士,研究方向:泌尿系统肿瘤的临床与基础研究;通信作者:窦启锋, E-mail: douqifeng@126.com。

condensin I complex subunit G, NCAPG)负责有丝分裂和减数分裂期间染色体的浓缩和稳定,其编码蛋白的磷酸化可激活凝缩蛋白复合体^[4]。研究表明,NCAPG可影响多种肿瘤细胞,包括肝癌、前列腺癌、乳腺癌、胃癌、胶质瘤、肺腺癌、结直肠癌、卵巢癌、子宫内膜癌细胞等的增殖、侵袭、转移和凋亡^[5]。虽然2022年的一项研究表明,NCAPG基因敲低可通过核因子(NF)- κ B信号通路抑制膀胱癌细胞的增殖^[6],推测NCAPG可能影响膀胱癌的发生、发展,但NCAPG在膀胱癌中的作用机制仍不清楚,且其作用仍需进一步证实。先前的诸多研究表明NCAPG与细胞增殖和细胞周期调控有关^[5],本研究试图探索NCAPG与细胞周期蛋白依赖性激酶1(cyclin dependent kinase 1, CDK1)的关系。

CDK1是丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶家族的成员,是高度保守的蛋白激酶复合物m期促进因子(m phase promoting factor, MPF)的催化亚基。CDK1在真核细胞周期的G1/S和G2/M期转变中发挥重要作用^[7]。这种蛋白的激酶活性由细胞周期蛋白的积累和通过细胞周期的破坏来控制^[8]。CDK1的失调与多种疾病的发生、发展相关^[9-12],但CDK1和NCAPG与膀胱癌进展的关系尚不明确。本文主要围绕NCAPG、CDK1与膀胱癌的相关性,进一步探讨NCAPG/CDK1作为膀胱癌靶向治疗的可能性。

1 资料与方法

1.1 资料选择 收集新乡医学院第一和第三附属医院泌尿外科72例患者的膀胱癌组织切片,所有参与本研究的患者及家属均在术前签署手术知情同意书。采集过程采用科学、严格的方法。分析相关蛋白表达与膀胱癌常见临床病理参数(包括年龄、性别、肿瘤分级和肿瘤大小)的相关性。

1.2 生物信息学分析 通过GEPIA在线数据库(<http://gepia.cancer-pku.cn/detail.php?gene=NCAPG>)分析NCAPG在膀胱癌和正常膀胱组织中的表达情况。基于GEPIA数据库(<http://gepia.cancer-pku.cn/detail.php?gene=CDK1>)分析膀胱癌组织和膀胱正常组织中CDK1的表达。通过The Human protein Atlas在线数据库获得正常膀胱组织和膀胱癌组织中NCAPG(<https://www.proteinatlas.org/ENSG000109805-NCAPG>)和CDK1(<https://www.proteinatlas.org/ENSG00000170312-CDK1>)蛋白的表达。

1.3 实验试剂 兔抗人抗NCAPG抗体(ab251864, Abcam plc, Cambridge, UK, 免疫组化稀释浓度1:100, Western印迹稀释浓度1:1000), 兔抗人抗CDK1抗体(ab133327, Abcam plc, Cambridge, UK, 免疫组化稀释浓度1:100), 山羊抗兔辣根过氧化物

酶(HRP)次级抗体(ab6721, Abcam, 武汉 proteintech 公司, 稀释浓度1:5000), IgG二级抗体(稀释浓度1:100, 北京中杉金桥生物技术有限公司)。RPMI-1640完全培养基(PM150110B, 武汉普诺赛公司), 胎牛血清(A5669701, 美国 Thermo Fisher 公司), 胰酶细胞消化液(C0201, 中国碧云天生物技术股份有限公司), 蛋白 Marker(P0068, 中国碧云天生物技术股份有限公司), β -action(ab179467, 英国 Abcam 公司), PVDF膜(FFP39, 中国碧云天生物技术股份有限公司), TRIzol试剂(R0016, 中国碧云天生物技术股份有限公司), 第一链cDNA合成试剂盒(K1621, 美国 Thermo Fisher 公司), FastStart Universal SYBR Green 预混液(4385612, 美国 Thermo Fisher 公司)。

1.4 免疫组化染色 按照免疫组化染色试剂盒的步骤,将肿瘤组织进行切片,每片约5 μ m,固定于福尔马林溶液中,随后放入石蜡中再次进行切片,每片厚度约4 μ m,65℃烘烤45 min,便于脱蜡,并按照二甲苯(1)10 min、二甲苯(2)10 min、无水乙醇(1)5 min、无水乙醇(2)5 min、95%酒精5 min、85%酒精5 min、75%酒精5 min的顺序进行浸泡。之后,在PBS缓冲液中洗涤3次,每次2 min。将抗原片放入枸橼酸缓冲液中,微波加热5 min,然后中火加热10 min。室温下冷却约2 h,再用PBS缓冲液洗涤2 min,重复3次。去除多余的水后,在湿箱中滴入H₂O₂15 min,用PBS缓冲液洗涤2 min,重复3次。将多余的水沥干,滴入抗体4℃过夜。次日将湿箱置于室温下静置至正常温度,用PBS缓冲液洗涤2 min,重复3次,室温下滴入IgG二级抗体2 h。用PBS缓冲液再次洗涤,滴入3,3'-二氨基苯联胺,室温染色约15~20 s,再用苏木精染色核5~8 s,自来水冲洗2 min。浸泡按照顺序,75%酒精、85%酒精、95%酒精各浸泡10 s,无水乙醇(1)、无水乙醇(2)各浸泡5 min,二甲苯(1)、二甲苯(2)各浸泡5 min。最后,用中性胶封闭并在显微镜下观察。

免疫组化结果判定:2名病理医师双盲法状态下,高倍镜(400 \times)观察肿瘤细胞,出现明显染色颗粒判为阳性细胞。染色程度评分规则:无染色,0分;轻微染色,1分;中等染色,2分;强染色,3分。染色细胞所占比例评分:无染色,0分;染色面积<25%,1分;染色面积26%~50%,2分;染色面积51%~75%,3分;染色面积>75%,4分。最终评分为染色强度与染色面积的乘积,随后根据评分将72例膀胱癌患者组织进行分组,分数 ≥ 4 为高表达组,分数<4为低表达组。

1.5 细胞培养及分组 膀胱癌T24和5637细胞购自北京国家实验细胞资源共享平台,在RPMI 1640

培养基中添加 10% 胎牛血清, 37℃, 5% CO₂ 培养箱中维持。采用基因法收集慢病毒载体和对照载体的 shRNA, 构建慢病毒质粒, 插入 shRNA 用于敲减人 NCAPG。之后用 shNCAPG 慢病毒感染 T24 和 5637, 培养 3 d 后筛选阳性细胞。将未进行 NCAPG 基因敲减的细胞作为对照组, 敲减 NCAPG 基因的细胞作为 shRNA 组。

1.6 RNA 提取和 RT-PCR 用 TRIzol 试剂 (Invitrogen) 提取总 RNA, 采用 PrimeScript RT 试剂盒 (Invitrogen) 进行 cDNA 生成。NCAPG 上游引物 5'-GAGGCTGCTGTCGATTAAGGA-3', 下游引物 5'-AACTGTCTTATCATCCATCGTGC-3'。引物长度 21~23 bp。使用 SuperReal PreMix (Tiangen Biotech) 进行 qRT-PCR, 程序如下: 温度维持在 95℃, 每次 3 min, 共 35 个周期, 在 35 个周期中, 温度 95℃ 维持 5 s, 温度 58℃ 维持 30 s, 温度 72℃ 维持 30 s。为了保证 DNA 的产生, 根据 ABI StepOne 系统进行融化曲线分析。采用 2^{-ΔΔCt} 法将相对基因表达归一化为内参 β-肌动蛋白, 所有实验均独立进行 3 次。

1.7 Western 印迹 应用蛋白质提取试剂盒 (KeyGEN Biotech, 南京, 中国) 测量蛋白质浓度。细胞在裂解缓冲液中裂解 (60 mmol/L Tris-HCl, pH 6.8, 2% SDS, 20% 甘油, 0.25% 溴酚蓝, 1.25% 2-巯基乙醇和蛋白酶抑制剂混合物)。接下来, 蛋白质 (30~50 mg) 用 10% SDS-PAGE 凝胶电泳, 并转移到 PVDF 膜上。然后, 用 10% 的脱脂乳阻断膜阻断 1 h, 将膜与抗体在 4℃ 下孵育过夜。第 2 天, 用 TBST 缓冲液洗涤 3 次后, 用山羊抗兔 HRP 二抗孵育 PVDF, PBS 反复冲洗, 然后加 ECL 发光液, 采用图像分析系统对目的条带进行扫描分析, 蛋白的相对表达用相对密度表示。

1.8 CCK-8 将 3×10³ 个转染 NCAPG shRNA 的 T24 和 5637 细胞接种于 96 孔板, 每孔加入 5 mg/mL MTT 10 μL, 继续培养 5 d。最后加入 CCK-8 试剂, 观察 570 nm 吸光度。

1.9 集落形成试验 将转染 NCAPG shRNA 的 3×10³ 膀胱癌 T24 和 5637 细胞再次接种到 6 孔板中 1 周。最后用 4% 多聚甲醛固定细胞, 结晶紫染色。

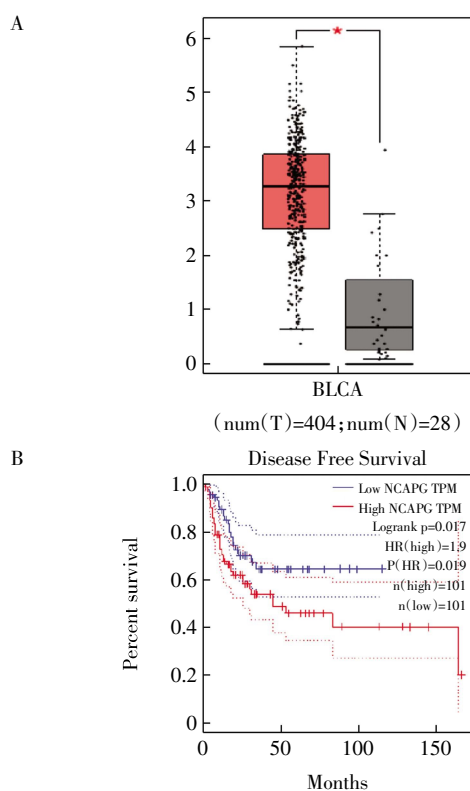
1.10 细胞周期检测 把对数生长期的细胞消化、重悬离心后, 用事先配好的 95% 的乙醇固定细胞, 4℃ 过夜后离心, 重悬细胞后将细胞悬液转入流式专用管中, 加入 500 μL 碘化丙啶后行流式细胞仪检测。

1.11 统计学处理 采用 Graphpad 软件进行后续分析, 符合正态分布的计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间均数比较采用 *t* 检验, 计数资料采用 *n*(%) 表示, 组间比较采用 χ^2 检验, 采用 χ^2 检验分析 CDK1

与 NCAPG 的关系以及 NCAPG 表达与膀胱癌常见临床病理参数的相关性。P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 NCAPG 在膀胱癌组织中高表达 通过生物信息学分析, 本研究比较了 NCAPG 在膀胱癌组织和正常膀胱组织中的表达, 共统计 432 个临床样本 (包含 404 个膀胱癌样本和 28 个正常膀胱组织), 结果显示, 与正常膀胱组织相比, NCAPG 在膀胱癌组织中表达显著上调 (图 1A)。根据在线数据库分析结果显示, NCAPG 表达与膀胱癌的无病生存率密切相关 (P<0.05, 图 1B)。



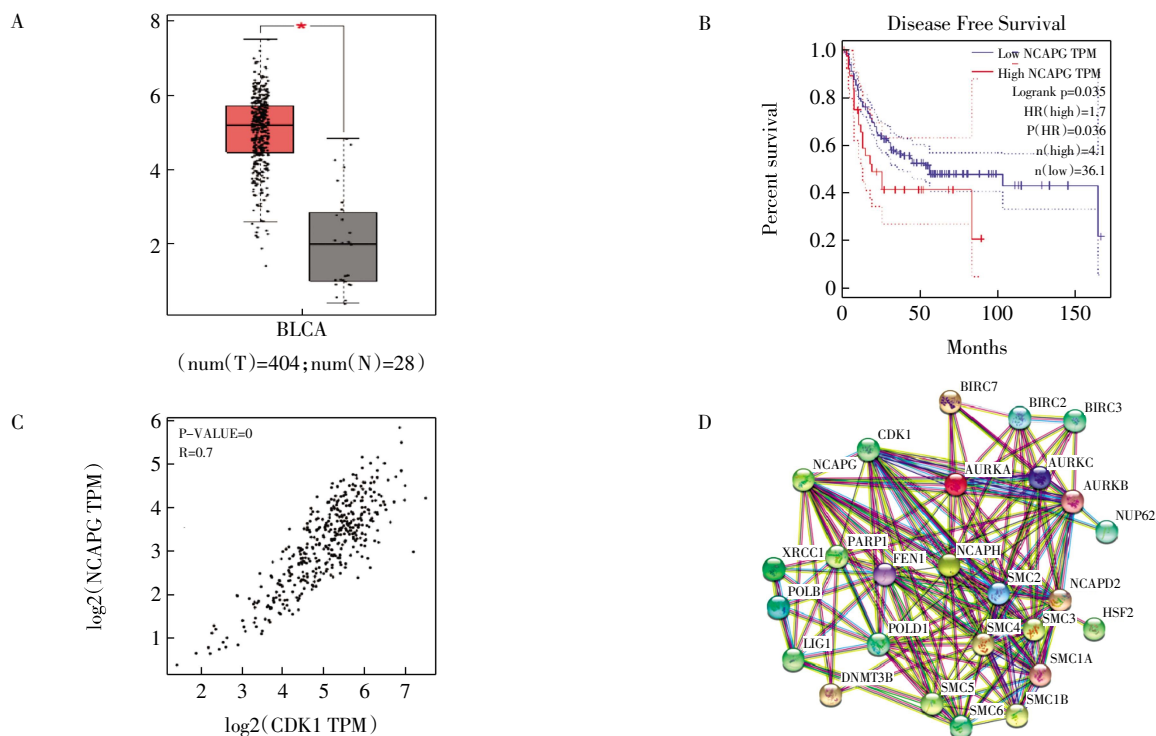
注: A: GEPIA 数据库中 NCAPG 在膀胱癌和正常组织中的表达情况; B: 膀胱癌患者低表达 NCAPG 和高表达 NCAPG 的无病生存率; NCAPG: 非 SMC 凝缩蛋白 I 复合物亚基 G

图 1 NCAPG 的表达水平与膀胱癌发病率呈正相关

Fig.1 The expression level of NCAPG was positively correlated with the incidence of bladder cancer

2.2 CDK1 与 NCAPG 相关并在膀胱癌中表达上调 CDK1 在膀胱癌中的表达明显高于正常膀胱组织 (图 2A)。在线数据库发现, CDK1 的表达与膀胱癌的无病生存率显著相关 (图 2B)。CDK1 与 NCAPG 密切相关 ($R=0.7$, $P<0.001$, 图 2C), CDK1 通过许多关键因素与 NCAPG 相互作用 (图 2D)。

2.3 NCAPG 与 CDK1 的相关性 基于 Human Protein Atlas 数据库, 本研究发现在正常组织和癌组织中, NCAPG 的表达与 CDK1 表达的趋势是一致的



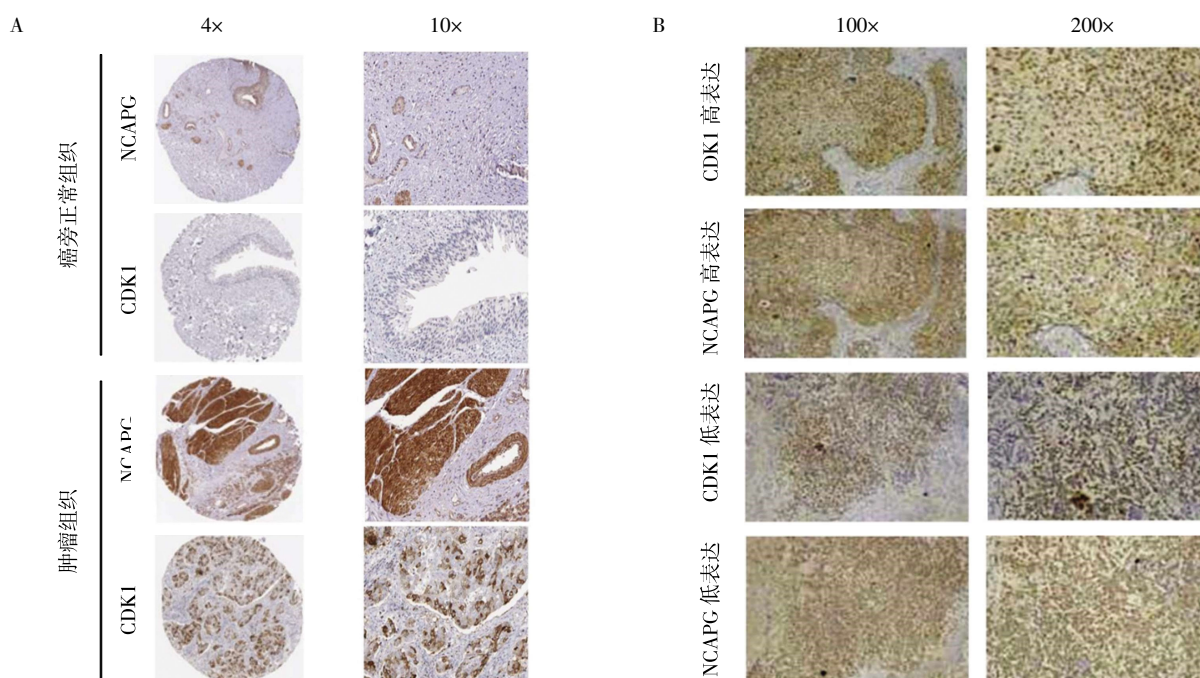
注:A:与正常膀胱组织相比,膀胱癌中 CDK1 升高;B:CDK1 表达与无病生存率相关;C:GEPIA 数据库显示 NCAPG 与 CDK1 关系密切;D: NCAPG 与 CDK1 蛋白-蛋白相互作用网络;NCAPG:非 SMC 凝缩蛋白 I 复合物亚基 G;CDK1:细胞周期蛋白依赖性激酶 1

图2 NCAPG 与 CDK1 相关并在膀胱癌组织中上调

Fig.2 NCAPG was associated with CDK1 and upregulated in bladder cancer

(图 3A)。对 72 例膀胱癌样本的免疫组化染色发现,其中 NCAPG 高低表达的例数分别为 40 和 32 例,而 CDK1 高低表达的例数分别为 42 和 30 例。在相同组织进行不同基因染色时,发现共有 30 例病例

在 NCAPG 高表达时,CDK1 同样出现高表达;而有 20 例在 NCAPG 低表达时,CDK1 也表现出低表达,NCAPG 表达情况与 CDK1 表达情况密切相关($R=10.286, P=0.001$)。

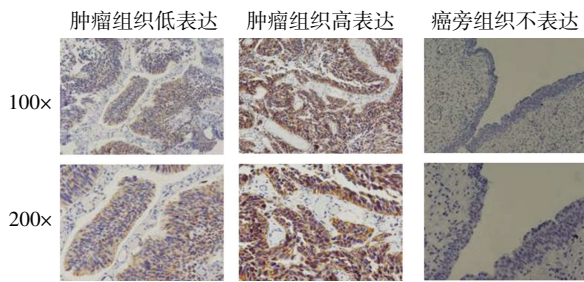


注:A:The Human Protein Atlas 数据库的正常组织和癌组织中 NCAPG 和 CDK1 的表达;B:NCAPG 高表达的病例与 CDK1 高表达相似; NCAPG:非 SMC 凝缩蛋白 I 复合物亚基 G;CDK1:细胞周期蛋白依赖性激酶 1

图3 免疫组化染色检测 NCAPG 与 CDK1 蛋白表达的相关性

Fig.3 Correlation between NCAPG and CDK1 protein expression detected by immunohistochemical staining

2.4 NCAPG 在膀胱癌组织中高表达,且表达程度与肿瘤体积呈正相关。与正常膀胱组织相比,NCAPG 在膀胱癌组织中的表达明显上调(图 4)。分析 NCAPG 表达与膀胱癌常见临床病理参数的相关性,发现 NCAPG 的表达与膀胱癌的肿瘤大小密切相关($P=0.010$),而与年龄、性别和肿瘤分级无关(均 $P>0.05$,表 1)。



注:NCAPG:非 SMC 凝缩蛋白 I 复合物亚基 G

图 4 NCAPG 在膀胱癌组织中的高表达

Fig.4 High expression of NCAPG in bladder cancer

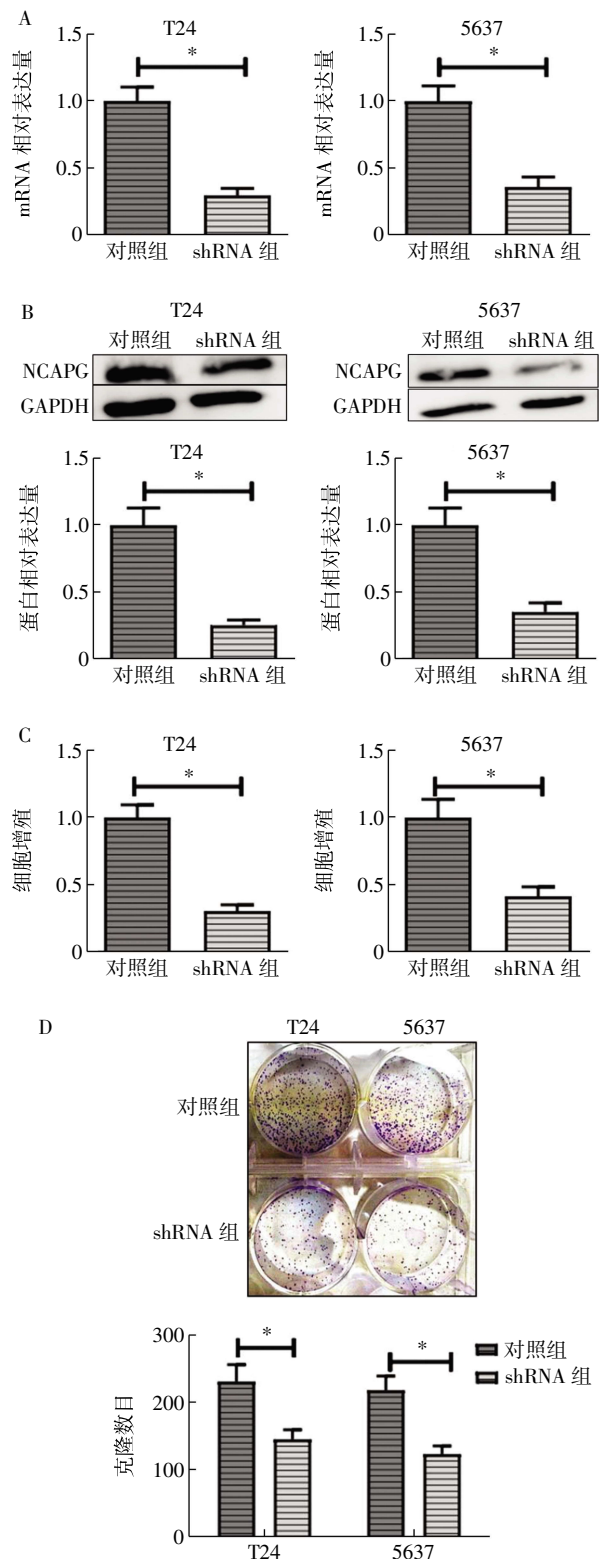
表 1 NCAPG 和 72 例膀胱癌病例临床病理特征的关系[n(%)]

Tab.1 Relationship between NCAPG and clinicopathological features of 72 cases of bladder cancer[n(%)]

临床病理特征	例数	NCAPG 表达水平		χ^2	P
		低 $n=32$	高 $n=40$		
年龄(岁)				2.185	0.139
55	38(52.7)	20(62.5)	18(45.0)		
≥ 55	34(47.3)	12(37.5)	22(55.0)		
性别				0.340	0.560
男	40(55.6)	19(59.4)	21(52.5)		
女	32(44.4)	13(40.6)	19(47.5)		
肿瘤分化				0.044	0.833
低	37(51.4)	16(50.0)	21(52.5)		
高	35(48.6)	16(50.0)	19(47.5)		
肿瘤大小(cm)				6.675	0.010*
< 4	35(48.6)	21(65.6)	14(35.0)		
≥ 4	37(51.4)	11(34.7)	26(65.0)		

注:NCAPG:非 SMC 凝缩蛋白 I 复合物亚基 G;* $P<0.05$

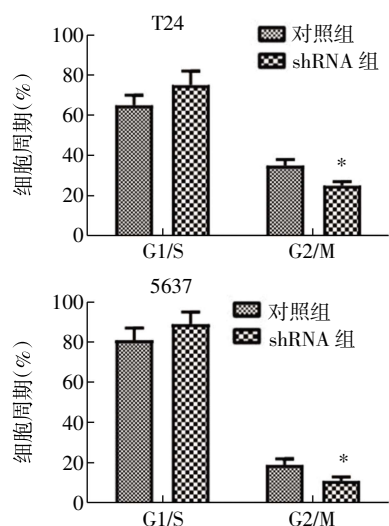
2.5 敲低 NCAPG 抑制膀胱癌细胞的增殖。与对照组相比,shRNA 组的 mRNA ($t=5.422, 5.238$, 均 $P<0.05$)和蛋白($t=4.756, 4.122$, 均 $P<0.05$)均明显受到抑制(图 5A、5B)。CCK-8 结果显示,与对照组相比,shRNA 组 T24 和 5637 细胞的增殖能力明显受到抑制($t=5.886, 4.147$, 均 $P<0.05$,图 5C)。NCAPG 可以明显促进 T24 和 5637 细胞的克隆形成能力($t=3.102, 3.745$, 均 $P<0.05$,图 5D)。本研究进行了细胞周期相关实验,发现使用 shRNA 敲低 NCAPG,对照组和 shRNA 组阻滞了 T24 和 5637 细胞的 G2/M 期($t=2.566, 2.926$, 均 $P<0.05$,图 6)。



注:A~B: 敲除 NCAPG 显著抑制 T24 和 5637 细胞中 NCAPG mRNA 和蛋白的表达;C: 敲低 NCAPG 抑制 CCK-8 的增殖能力;D: 敲低 NCAPG 抑制 T24 和 5637 细胞的克隆形成能力;* $P<0.05$; NCAPG:非 SMC 凝缩蛋白 I 复合物亚基 G;CDK1:细胞周期蛋白依赖性激酶 1

图 5 NCAPG 敲低抑制 T24 和 5637 细胞的增殖

Fig.5 NCAPG knockdown inhibited the proliferation of T24 and 5637 cells



注:与对照组相比,* $P < 0.05$;NCAPG:非SMC凝缩蛋白I复合物亚基G

图6 NCAPG敲低调控T24和5637细胞的细胞周期分布

Fig.6 Cell cycle distribution of T24 and 5637 cells regulated by NCAPG knockdown

4 讨论

膀胱癌是泌尿系统最常见的恶性肿瘤之一,因其病死率高、进展快而广为人知。高发病率和复发率是众多膀胱癌患者面临的最棘手的问题。许多患者确诊时已属晚期,无明显症状,这给治疗和诊断带来很大困难。NCAPG通过影响肿瘤细胞的增殖、侵袭、转移和凋亡,在多种肿瘤的发生、发展中发挥作用,包括肝细胞癌、前列腺癌、乳腺癌、胃癌、肺腺癌、结直肠癌、卵巢癌和子宫内膜癌^[13]。同时,NCAPG的表达与肺腺癌的N分期、M分期、临床分期密切相关,对判断肺腺癌患者的预后具有重要价值^[14-15]。有研究还发现,NCAPG在胶质瘤组织中高度表达,随着肿瘤分级的增加,NCAPG的表达显著增加,并且NCAPG的高表达是胶质瘤患者总体生存不良的预测因素^[16]。

本研究发现,NCAPG在膀胱癌组织中较正常组织表达上调,并与无病生存率相关。同时发现NCAPG的表达高于正常组织,其表达水平与肿瘤大小密切相关。以上结果提示NCAPG在膀胱癌组织中表达升高,并与膀胱癌的预后和一些临床病理特征相关,这与2022年的一项研究结果相似,即NCAPG基因敲低可通过NF- κ B信号通路抑制膀胱癌细胞的增殖^[17]。之后通过NCAPG shRNA转染膀胱癌T24和5637细胞进行CCK-8、克隆形成实验和细胞周期实验。发现敲低NCAPG可以通过调节细胞周期分布,显著抑制细胞的增殖和进展,这与近年来相关的研究相似,均说明NCAPG在促进肿瘤细胞增殖方面起重要作用^[18]。

本研究通过在线数据库进一步发现NCAPG与

CDK1密切相关。这与之前的研究成果相似,有研究团队认为CDK1作为细胞周期调节蛋白家族的一员,参与细胞周期的维持,其过度表达与肿瘤有关,CDK1抑制剂可能会恢复扭曲的细胞周期系统的平衡^[19]。同时,CDK1也是肾癌、肝癌、胰腺癌和肺癌的独立生物标志物^[20]。之后,通过免疫组化染色进一步分析NCAPG和CDK1的相关性,结果表明NCAPG与CDK1密切相关,这些NCAPG高表达的患者几乎都有CDK1高表达,这与Huang等^[21]和Zhou等^[22]发现相似,即抑制CDK1的活性可以促进细胞凋亡,促进CDK1的表达可以加重肿瘤的恶性程度。因此,NCAPG/CDK1复合物可能成为膀胱癌潜在的新型诊断标志物和治疗策略。

综上所述,根据生物信息学分析,本研究初步提出NCAPG和CDK1在膀胱癌组织中上调,并且NCAPG与CDK1之间存在紧密的相互作用。NCAPG促进膀胱癌细胞的增殖以及膀胱肿瘤的生长。但是,本研究的结果尚不完整,需要进一步的体内外研究来证实NCAPG和CDK1在膀胱癌中的具体关系。未来的研究方向是进一步探索NCAPG/CDK1与膀胱癌的关系。

参考文献:

- [1] RANTI D, BIEBER C, WANG Y S, et al. Natural killer cells: unlocking new treatments for bladder cancer[J]. Trends Cancer, 2022, 8(8): 698-710.
- [2] SIEGEL R L, GIAQUINTO A N, JEMAL A. Cancer Statistics, 2024[J]. CA Cancer J Clin, 2024, 74(1): 12-49.
- [3] GRAYSON M. Bladder cancer[J]. Nature, 2017, 551(7679): S33.
- [4] LI S, WANG J, ZHANG Z, et al. Establishment and validation of nomograms to predict the overall survival and cancer-specific survival for non-metastatic bladder cancer patients: a large population-based cohort study and external validation[J]. Medicine (Baltimore), 2024, 103(11): e37492.
- [5] CAI X, GAO J, SHI C, et al. The role of NCAPG in various of tumors[J]. Biomed Pharmacother, 2022, 155: 113635.
- [6] TANG F, YU H, WANG X, et al. NCAPG promotes tumorigenesis of bladder cancer through NF- κ B signaling pathway[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2022, 622: 101-107.
- [7] MICHOWSKI W, CHICK J M, CHU C, et al. Cdk1 controls global epigenetic landscape in embryonic stem cells[J]. Mol Cell, 2020, 78(3): 459-476.
- [8] CHEN J, WANG W, LI S, et al. RNA-seq reveals role of cell-cycle regulating genes in the pathogenicity of a field very virulent infectious bursal disease virus[J]. Front Vet Sci, 2024, 11: 1334586.
- [9] XIE B, WANG S, JIANG N, et al. Cyclin B1/CDK1-regulated mitochondrial bioenergetics in cell cycle progression and tumor resistance[J]. Cancer Lett, 2019, 443: 56-66.
- [10] LI M, HE F, ZHANG Z, et al. CDK1 serves as a potential prognostic

(下转第502页)

- [10] AL-OANZI Z H. Erectile dysfunction attenuation by naringenin in streptozotocin-induced diabetic rats[J]. *J Food Biochem*, 2019, 43(7):e12885.
- [11] SHARMA M, AKHTAR N, SAMBHAV K, et al. Emerging potential of citrus flavanones as an antioxidant in diabetes and its complications[J]. *Curr Top Med Chem*, 2015, 15(2):187-195.
- [12] KARA E, KAHRAMAN E, DAYAR E, et al. The role of resistin on metabolic syndrome-induced erectile dysfunction and the possible therapeutic effect of boldine[J]. *Andrology*, 2020, 8(6):1728-1735.
- [13] HSIEH T J, LIU T Z, CHERN C L, et al. Liriodenine inhibits the proliferation of human hepatoma cell lines by blocking cell cycle progression and nitric oxide-mediated activation of p53 expression[J]. *Food Chem Toxicol*, 2005, 43(7):1117-1126.
- [14] 王灿红, 彭德乾, 刘洋洋, 等. 沉香醇提取物对大鼠气滞血瘀心肌缺血的保护作用[J]. *药物评价研究*, 2019, 42(7):1279-1285.
- [15] 张岳阳, 黄长婷, 刘绍明, 等. 槲皮素对动脉性勃起功能障碍模型大鼠阴茎海绵体压力和一氧化氮合酶影响的实验研究[J]. *中国性科学*, 2015, 24(1):78-81.
- [16] 梁国庆, 沈育忠, 李建辉, 等. 中老年男性 ED 患者血清雄激素水平分析[J]. *中华男科学杂志*, 2014, 20(2):186-188.
- [17] ERŽEN B, ŠABOVIČ M. In young post-myocardial infarction male patients elevated plasminogen activator inhibitor-1 correlates with insulin resistance and endothelial dysfunction[J]. *Heart Vessels*, 2013;28(5):570-577.
- [18] GIUGLIANO F, ESPOSITO K, DI PALO C, et al. Erectile dysfunction associates with endothelial dysfunction and raised proinflammatory cytokine levels in obese men[J]. *J Endocrinol Invest*, 2004, 27(7):665-669.
- [19] YIN G N, OCK J, CHOI M J, et al. Gene expression profiling of mouse cavernous endothelial cells for diagnostic targets in diabetes-induced erectile dysfunction[J]. *Investig Clin Urol*, 2021, 62(1):90-99.
- [20] VISHNUBALAJI R, MANIKANDAN M, ALDAHMAH A, et al. Whole genome mRNA expression profiling revealed multiple deregulated pathways in stromal vascular fraction from erectile dysfunction patients[J]. *Biosci Rep*, 2018, 38(6):BSR20181015.
- [21] 王济, 王琦, 刘保兴, 等. 疏肝益阳胶囊对动脉性勃起功能障碍大鼠 VEGF、IGF 及 Akt1 激酶表达的影响[J]. *中华男科学杂志*, 2012, 18(2):184-188.
- [22] KAIDA Y, FUKAMI K, MATSUI T, et al. DNA aptamer raised against AGEs blocks the progression of experimental diabetic nephropathy[J]. *Diabetes*, 2013, 62(9):3241-3250.
- [23] CHHIPA A S, BORSE S P, BAKSI R, et al. Targeting receptors of advanced glycation end products (RAGE): preventing diabetes induced cancer and diabetic complications[J]. *Pathol Res Pract*, 2019, 215(11):152643.
- [24] 姜婷, 滕士超, 安晓飞, 等. 中医药干预 AGEs-RAGE 信号通路改善糖尿病肾病的机制研究概述[J]. *环球中医药*, 2022, 15(1):173-178.
- [25] 饶雅雯, 刘敏, 孙治中. 黄芪治疗糖尿病肾病的网络药理学机制[J]. *广州中医药大学学报*, 2020, 37(12):2424-2430.

(2024-06-15 收稿)

(上接第 496 页)

- biomarker and target for lung cancer[J]. *J Int Med Res*, 2020, 48(2):300060519897508.
- [11] HENRICH L M, GREIMELMAIER K, WESSOLLY M, et al. The impact of cancer-associated fibroblasts on the biology and progression of colorectal carcinomas[J]. *Genes (Basel)*, 2024, 15(2):209.
- [12] GAO J, LU Q, ZHONG J, et al. Identification and validation of an H2AZ1-based index model: a novel prognostic tool for hepatocellular carcinoma[J]. *Aging (Albany NY)*, 2024, 16(3):2542-2562.
- [13] CAI X, GAO J, SHI C, et al. The role of NCAPG in various of tumors[J]. *Biomed Pharmacother*, 2022, 155:113635.
- [14] WU Y, LIN Y, PAN J, et al. NCAPG promotes the progression of lung adenocarcinoma via the TGF- β signaling pathway[J]. *Cancer Cell Int*, 2021, 21(1):443.
- [15] GONG C, AI J, FAN Y, et al. NCAPG promotes the proliferation of hepatocellular carcinoma through PI3K/AKT signaling[J]. *Oncotargets Ther*, 2019, 12:8537-8552.
- [16] ZHENG G, HAN T, HU X, et al. NCAPG Promotes tumor progression and modulates immune cell infiltration in glioma[J]. *Front Oncol*, 2022, 12:770628.
- [17] XIE B, WANG S, JIANG N, et al. Cyclin B1/CDK1-regulated mitochondrial bioenergetics in cell cycle progression and tumor resistance[J]. *Cancer Lett*, 2019, 443:56-66.
- [18] TANG F, YU H, WANG X, et al. NCAPG promotes tumorigenesis of bladder cancer through NF- κ B signaling pathway[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2022, 622:101-107.
- [19] SOFI S, MEHRAJ U, QAYOOM H, et al. Targeting cyclin-dependent kinase 1 (CDK1) in cancer: molecular docking and dynamic simulations of potential CDK1 inhibitors[J]. *Med Oncol*, 2022, 39(9):133.
- [20] WANG Q, BODE A M, ZHANG T. Targeting CDK1 in cancer: mechanisms and implications[J]. *NPJ Precis Oncol*, 2023, 7(1):58.
- [21] HUANG S, XIAO J, WU J, et al. Tizoxanide promotes apoptosis in glioblastoma by inhibiting CDK1 activity[J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13:895573.
- [22] ZHOU L, MU D, CHEN Y. LINC00958 targets miR-145-3p/CDK1 axis to aggravate the malignancy of colon cancer[J]. *Ann Clin Lab Sci*, 2022, 52(5):695-706.

(2024-05-26 收稿)