

DOI: 10.20135/j.issn.1006-8147.2026.03.0213

论著

# KIF15 对舌癌细胞增殖、迁移及体内成瘤能力的作用及机制研究

刘柯<sup>1</sup>, 崔永利<sup>2</sup>, 范向宁<sup>1</sup>, 杨彩玲<sup>3</sup>

(1.河南医药大学第三附属医院口腔正畸科, 河南医药大学口腔医学院, 新乡 453000; 2.河南科技学院医院口腔科, 新乡 453003; 3.河南医药大学第一附属医院口腔科, 新乡 453100)

**摘要** 目的:探讨驱动蛋白家族成员 15(KIF15)对舌癌细胞体外增殖和皮下成瘤的影响及意义。方法:将人舌癌细胞系 CAL-27 和 SCC-4 细胞分为 4 组:转染 scramble 质粒的 CAL-27 和 SCC-4 细胞分别作为 CAL-27 对照组和 SCC-4 对照组;成功转染 KIF15 shRNA 质粒的 CAL-27 和 SCC-4 细胞分别作为 shRNA CAL-27 组和 shRNA SCC-4 组。通过克隆形成和 CCK8 实验评价 KIF15 对体外舌癌细胞增殖的影响,划痕愈合实验和 Transwell 实验评价舌癌细胞迁移能力。基于 GEPIA 和 STRING 数据库进行 GO 和 KEGG 分析。进一步通过流式细胞术测定细胞周期。另外,选择 6 只 BalB/c 裸鼠随机分为对照组和实验组,每组 3 只,在体内实验通过构建体内肿瘤生长模型,探究 KIF15 对舌癌细胞的成瘤作用。结果:与各自对照组相比,CAL-27 shRNA 组、SCC-4 shRNA 组舌癌细胞的克隆形成能力显著下降( $t=8.616、11.394$ ,均  $P<0.05$ );细胞增殖活性显著降低( $t=7.300、8.921$ ,均  $P<0.05$ );细胞迁移能力均受到抑制( $t=12.971、12.880$ ,均  $P<0.05$ )。GO 和 KEGG 分析提示,KIF15 的作用机制与调节细胞周期有关。流式细胞术结果显示,与各自对照组相比,CAL-27 shRNA 组( $t=17.194, P<0.05$ )和 SCC-4 shRNA 组( $t=19.530, P<0.05$ )G2/M 期细胞占比显著增加( $t_{CAL-27}=17.194, t_{SCC-4}=19.530$ ,均  $P<0.05$ )。而 BalB/c 裸鼠植入敲低 KIF15 的舌癌细胞后发现,与对照组相比,实验组皮下成瘤能力受到抑制( $t=9.689, P<0.05$ ),蛋白免疫印迹法结果显示,与对照组相比,敲低组肿瘤组织 KIF15 的表达较低( $t=9.689, P<0.05$ )。结论:KIF15 在体内外实验中被证实能促进肿瘤生长,机制可能与影响细胞周期相关,提示其可能作为舌癌的潜在治疗靶点。

**关键词** 驱动蛋白家族成员 15;舌癌;细胞增殖;治疗靶点

中图分类号 R739.8

文献标志码 A

文章编号 1006-8147(2026)03-0213-08

## The effect and mechanism of KIF15 on the proliferation, migration and *in vivo* tumorigenicity of tongue cancer cells

LIU Ke<sup>1</sup>, CUI Yongli<sup>2</sup>, FAN Xiangning<sup>1</sup>, YANG Cailing<sup>3</sup>

(1. Department of Orthodontics, The Third Affiliated Hospital of Henan Medical University, School of Stomatology, Henan Medical University, Xinxiang 453000, China; 2. Department of Stomatology, Henan Institute of Science and Technology Hospital, Xinxiang 453003, China; 3. Department of Stomatology, The First Affiliated Hospital of Henan Medical University, Xinxiang 453100, China)

**Abstract Objective:** To explore the effects and significance of KIF15, a member of the kinesin family, on the *in vitro* proliferation and subcutaneous tumorigenesis of tongue cancer cells. **Methods:** The human tongue cancer cell lines CAL-27 and SCC-4 were divided into 4 groups: The CAL-27 and the SCC-4 cells transfected with the scramble plasmid were respectively used as the CAL-27 control group and the SCC-4 control group. The CAL-27 and the SCC-4 cells successfully transfected with the KIF15 shRNA plasmid were respectively used as the shRNA CAL-27 group and the shRNA SCC-4 group. The effects of KIF15 on the proliferation of tongue cancer cells *in vivo* were evaluated through colony formation and CCK8 assays. The migration ability of tongue cancer cells was assessed using scratch healing and Transwell assays. GO and KEGG analysis were performed based on GEPIA and STRING databases. The cell cycle was further determined using flow cytometry. In addition, 6 BalB/c nude mice were randomly divided into control group and experimental group, with 3 mice in each group. The tumorigenic effect of KIF15 on tongue cancer cells was investigated by constructing a tumor growth model *in vivo* experiments. **Results:** Compared with their respective control groups, the colony forming ability of tongue cancer cells in the CAL-27 shRNA group and SCC-4 shRNA group significantly decreased ( $t=8.616, 11.394$ , both  $P<0.05$ ); cell proliferation activity was significantly reduced ( $t=7.300, 8.921$ , both  $P<0.05$ ); and cell migration ability was inhibited.

基金项目 河南省科技攻关项目(252102310015)

作者简介 刘柯(1983-),男,副主任医师,硕士,研究方向:以正畸为主的口腔全科医学等;通信作者:杨彩玲,E-mail:Yangcailing1701@126.com。

ited ( $t=12.971, 12.880$ , both  $P<0.05$ ). GO and KEGG analysis suggested that the mechanism of action of KIF15 is related to regulating the cell cycle. Flow cytometry results showed that compared with their respective control groups, the proportion of G2/M phase cells significantly increased in the CAL-27 shRNA group ( $t=17.194, P<0.05$ ) and SCC-4 shRNA group ( $t=19.530, P<0.05$ ). Furthermore, after implanting KIF15-knockdown tongue cancer cells into BalB/c nude mice, it was found that the subcutaneous tumorigenesis ability of the experimental group was inhibited compared with the control group ( $t=9.689, P<0.05$ ). Western blotting results showed that the expression of KIF15 in tumor tissues of the knockdown group was lower than that of the control group ( $t=9.689, P<0.05$ ). **Conclusion:** KIF15 has been shown to promote tumor growth *in vitro* and *in vivo* experiments, and its mechanism may be related to its impact on the cell cycle, suggesting that it may be a potential therapeutic target for tongue cancer.

**Key words** KIF15; tongue cancer; proliferation; therapeutic target

舌癌是一种鳞状细胞癌,在口腔癌中占比很高,具有强浸润性且在早期即有较高的淋巴结转移的可能性<sup>[1]</sup>。迄今为止,包括舌癌在内的口腔癌是头颈部最常见的恶性肿瘤之一,被称为“全球发病率第六位的癌症”<sup>[2]</sup>。舌癌在 40~60 岁人群中具有较高发病率,且近年来发病年龄趋于年轻化<sup>[3]</sup>。舌癌具有高度恶性且极易发生转移,导致该病患者的预后差、死亡率高<sup>[4]</sup>。为提高舌癌患者的生存率和生活质量,研究人员开发了许多治疗靶点,如表皮生长因子受体(EGFR)和 erb-b2 受体酪氨酸激酶 2(ERBB2)等,但是现有的治疗靶点均难以达到治疗预期,故目前迫切需要新的治疗靶点<sup>[5]</sup>。

驱动蛋白家族(KIF)包含 40 余种以微管依赖方式运输蛋白质和细胞器的蛋白质<sup>[6]</sup>。先前研究表明,细胞有丝分裂需要 KIF 的参与,而 KIF 的过度表达则可能导致一系列错误,包括纺锤体过度分离、姐妹染色单体过早分离、提前分离以及最终形成双极或单极纺锤体等<sup>[7]</sup>。KIF15 是一种基于微管的、向正端运动的蛋白质,参与了多种细胞活动,如纺锤体形成和质膜运输等,并与 KIF11 相互协作以促进双极染色体的形成<sup>[8]</sup>。近年来,KIF15 在恶性肿瘤中的作用逐渐引起研究人员的关注。现有的多项研究报告,KIF15 促进多种肿瘤的进展,如胰腺癌、肺腺癌和乳腺癌,且可能在未来成为治疗多种癌症的潜在靶点<sup>[9]</sup>。然而,KIF15 在舌癌发生中的功能尚不清楚。因此,本研究拟探讨 KIF15 表达对舌癌细胞增殖的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

1.1.1 细胞分组 人舌癌细胞系 CAL-27 和 SCC-4 购自美国细胞培养物收藏中心(American Type Culture Collection, ATCC),细胞分为 4 组:转染 scramble 质粒的 CAL-27 和 SCC-4 细胞分别作为 CAL-27 对照组和 SCC-4 对照组,此两组细胞可以维持正常的 KIF15 表达能力;成功转染 KIF15 shRNA 质粒的 CAL-27 和 SCC-4 细胞分别作为 shRNA CAL-

27 组和 shRNA SCC-4 组,此两组细胞 KIF15 表达能力受到抑制。本研究设计的 KIF15 shRNA 序列如下:5'-AACCAACCAAGTAATGAAGGTGA-3'。

1.1.2 实验试剂 H-DMEM 培养基(11971025,美国 Thermo Fisher 公司),RPMI1640 培养基(11875093,美国 Thermo Fisher 公司),10%胎牛血清(04-001-1A,以色列 Biological Industries 公司),Invitrogen Lipofectamine® 2000(11668019,美国 Thermo Fisher 公司),抗生素-抗真菌剂(15240062,美国 Invitrogen 公司),FastStart Universal SYBR Green Master (Rox, 4913850001,瑞士 Roche 公司),RIPA 裂解液(R0010,中国索莱宝科技有限公司),多聚甲醛固定液(P0099,中国碧云天生物技术股份有限公司),抗 KIF15 抗体(ab272615,英国 Abcam 公司),羊抗兔二抗(LK2003,中国三箭生物技术有限公司), $\beta$ -actin 抗体(ab179467,英国 Abcam 公司)。

### 1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养 CAL-27 细胞用 H-DMEM 培养基进行培养,SCC-4 细胞培养于 RPMI1640 培养基,两种细胞的培养基均含有 10%胎牛血清和 1%抗生素-抗真菌剂,且培养于 37℃,5%CO<sub>2</sub> 环境中。利用 Invitrogen Lipofectamine® 2000 将 KIF15 shRNA 质粒转染至 CAL-27 和 SCC-4 细胞。细胞转染第 3 天,加入 2  $\mu$ g/mL 嘌呤霉素筛选阳性细胞。

1.2.2 RNA 提取和 qRT-PCR 使用 Trizol 试剂提取总 RNA,采用 M-MLV 逆转录酶试剂盒进行逆转录。利用 cDNA 第一链合成试剂盒进行 cDNA 的合成。运用 FastStart Universal SYBR Green Master (Rox)在 ABI7900HT 系统进行 qRT-PCR 实验。以 GAPDH 作为内参,通过定量 PCR 检测 KIF15 在 RNA 水平上的相对表达水平。首先进行预变性 95℃ 孵育 10 min,以确保所有 cDNA 模板完全解链为单链,并充分激活热启动 Taq DNA 聚合酶。随后进行循环扩增,共 40 个循环,每个循环包括两步:变性步骤 95℃ 维持 15 s,使双链 DNA 产物在每一轮扩增前彻底解离;退火 60℃ 维持 1 min,在此温度下引物与模板特异

性结合,同时 Taq DNA 聚合酶完成互补链的合成。引物列表见表 1。

表 1 RT-PCR 中引物序列  
Tab.1 Primer sequences in RT-PCR

基因	引物序列	引物长度(bp)
KIF15 上游引物	5'-AAGCAGGTAACATAAATCG-3'	19
KIF15 下游引物	5'-AATCCCGTAGTAAGAAGGT-3'	19
GAPDH 上游引物	5'-CGACCACTTTGTCAAGCTCA-3'	20
GAPDH 下游引物	5'-GGTTGAGCACAGGCTACTTTATT-3'	23

注:KIF15:驱动蛋白家族成员 15

1.2.3 蛋白印迹实验 使用 RIPA 裂解液从 CAL-27 和 SCC-4 细胞提取总蛋白。用 BCA 分析试剂盒测定蛋白质浓度,利用标准液孔所得数据绘制标准曲线,进而利用回归方程与蛋白提取液所得 OD 值计算每一个孔中的样品浓度数值。以测得的蛋白浓度数据为依据,将获得的蛋白提取液使用 PBS 进行稀释,将每个样品的总蛋白浓度调整至基本相同。总蛋白通过浓度为 8%的 SDS-PAGE 凝胶分离,然后转移至 PVDF 膜。在室温下用 10%脱脂牛奶封闭 1 h 后,膜在 4℃环境下与抗 KIF15 抗体(1:1 000)和  $\beta$ -actin 抗体(1:1 000)孵育过夜,之后经过 TBST 的反复清洗处理 3 次,每次 5 min,在室温下与二抗(1:5 000)孵育 1 h 以确保充分结合,再依次重复 TBST 的清洗过程 3 次。ECL 染色显影液避免光照存放,PVDF 膜浸泡于该溶液中 10~20 s,并使用凝胶成像系统采集图像。

1.2.4 克隆形成实验 细胞分组同上所述,将 4 组细胞重悬,分别以  $3 \times 10^3$  个细胞/孔的密度接种于 6 孔板中,加入 2 mL 完全培养基,在 37℃、5% CO<sub>2</sub> 条件下培养 14 d,每 7 d 更换一次培养基。于 14 d 后使用 4%多聚甲醛固定液固定细胞 25 min,然后用 0.2%结晶紫溶液染色 15 min。随后,采用 PBS 洗涤,在显微镜下观测细胞数量及形态,拍照并使用 Image J 软件进行计数。

1.2.5 MTT 实验 4 组细胞重悬后,分别以  $1 \times 10^3$  个细胞/孔放入 96 孔板内,进一步于 37℃、5% CO<sub>2</sub> 条件下培养 2 d,之后在每孔中加入 10  $\mu$ L MTT 试剂继续培养 3 h。采用酶标仪在 450 nm 波长下观察吸光度。

1.2.6 划痕愈合实验 将 4 组细胞分别以  $2 \times 10^4$  个细胞/孔接种于 6 孔板中。于 37℃、5% CO<sub>2</sub> 条件下进行培养,当肉眼观察下可见完全细胞汇合后,用 10  $\mu$ L 无菌移液器吸头参照直尺制造划痕,并用 PBS 缓冲液洗去悬浮细胞,然后将培养板置于细胞

培养箱中继续培养 48 h。随后,使用显微镜观察细胞划痕愈合情况并拍照分析。

1.2.7 Transwell 实验 将 4 组细胞分别以  $1 \times 10^5$  个细胞接种于无血清培养基上室,24 孔板为下室,并用 100  $\mu$ L 基质胶作为细胞培养插入物。培养 36 h 后细胞从上室迁移至下室,将下室的细胞用 4%多聚甲醛在 4℃环境下固定 30 min,之后在室温下用 0.2%结晶紫溶液染色 15 min。最后,使用 PBS 冲洗风干后拍照并使用 Image J 软件计数。

1.2.8 细胞周期 将 4 组细胞用胰酶消化并重悬于 PBS 中,缓慢加入预冷处理的 70%乙醇,在 4℃环境下固定 24 h,之后离心分离细胞并重悬于含有 RNA 酶的 PBS 缓冲液中。然后使用碘化丙啶(PI)染色液在 37℃环境下避光染色 15 min。使用流式细胞仪上机检测,分析 3 个主要细胞周期的细胞百分比。

1.2.9 小鼠体内肿瘤生长模型 从北京维通利华实验动物技术有限公司购买 6~8 周龄的雌性 BalB/c 裸鼠,共 6 只。本研究在中国医学科学院放射医学研究所进行,动物伦理与福利批准号为 IRM-DWLL-2021206。为了方便后续测量并记录不同肿瘤在体内的生长情况,BalB/c 裸鼠被随机分为对照组和实验组,每组小鼠各 3 只,所有小鼠均于右侧腹股沟区皮下注射  $1 \times 10^6$  个对照组或敲低 KIF15 组的 CAL-27 细胞。自接种成功 14 d 后每间隔 7 d 测量 1 次肿瘤体积(长 $\times$ 宽<sup>2</sup> $\times$ 0.523 6),并在 49 d 后以颈椎脱臼法处死小鼠,并将体内肿瘤完整剥离,依照上述方法记录肿瘤组织体积并拍照,并通过蛋白免疫印记的方法探究 KIF15 的相对表达情况。

1.2.10 数据库分析 本研究使用 GEPIA 数据库(<http://gepia.cancer-pku.cn/>)的默认参数构建生存分析,并使用 cBioPortal 和 STRING 数据库(<https://www.cbioportal.org/>; <https://cn.string-db.org/>)分析 KIF15 的共表达基因和蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络。对于基因本体论(GO)和京都基因与基因组百科全书(KEGG)分析,将共表达基因(前 50 个基因)上传至 DAVID 数据库(<http://david.abcc.ncifcrf.gov/>)进行分析。

1.3 统计学处理 本研究使用 SPSS 20.0 和 Graphpad Prism 7.0 软件进行统计分析和图表绘制。符合正态分布的数据以均数 $\pm$ 标准差表示,计量资料组间比较使用 Student's *t* 检验,计数资料组间比较使用卡方检验, $P < 0.05$  为差异存在统计学意义。

## 2 结果

2.1 敲低 KIF15 可抑制舌癌细胞的体外增殖与迁移能力 本研究用预先设计的 shRNA 转染舌癌

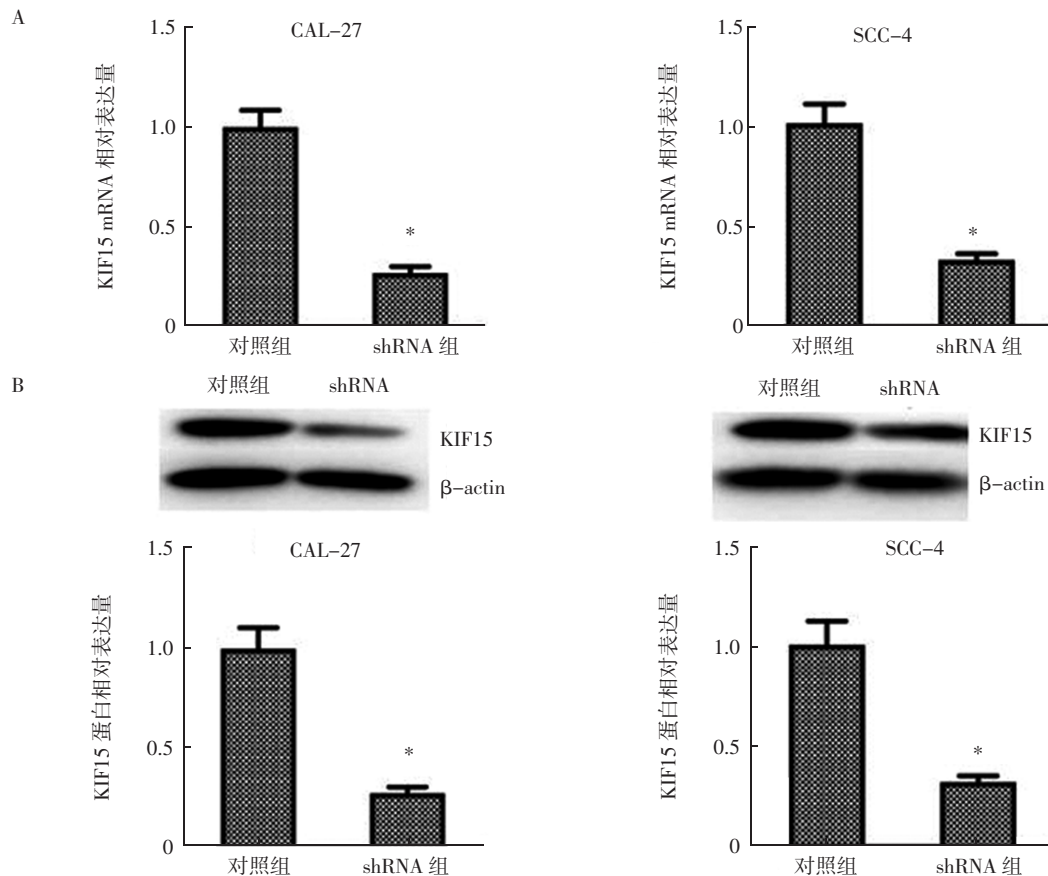
CAL-27 和 SCC-4 细胞, 筛选出效果最好的用于后续实验。实时荧光定量 PCR 实验显示, 与 CAL-27 对照组相比, shRNA CAL-27 组 KIF15 mRNA 的表达水平降低( $t=13.774, P<0.05$ , 图 1A)。蛋白免疫印迹实验显示, 与 CAL-27 对照组相比, shRNA CAL-27 组蛋白表达也降低( $t=11.352, P<0.05$ , 图 1B); 与 SCC-4 对照组相比, shRNA SCC-4 组的 KIF15 mRNA 蛋白的表达水平降低( $t=11.612, 9.612$ , 均  $P<0.05$ , 图 1)。同时, 克隆形成结果显示, 与各自对照组相比, CAL-27 shRNA 组、SCC-4 shRNA 组舌癌细胞的克隆形成能力显著下降( $t=8.616, 11.394$ , 均  $P<0.05$ , 图 2A)。CCK-8 实验表明, 与各自对照组相比, CAL-27 shRNA 组细胞和 SCC-4 shRNA 组细胞在 450 nm 处的 OD 值均显著降低( $t=7.300, 8.921$ , 均  $P<0.05$ ), 提示细胞增殖活性被显著抑制(图 2B)。Transwell 实验显示, 与各自对照组相比, CAL-27 shRNA 组( $t=12.971, P<0.05$ )和 SCC-4 shRNA 组( $t=12.880, P<0.05$ )细胞迁移能力均受到抑制, 并且在 CAL-27 shRNA 组细胞( $t=11.162, P<0.05$ )和 SCC-4

shRNA 组( $t=8.874, P<0.05$ )的划痕愈合实验中得以进一步印证(图 2C、2D)。

2.2 数据库分析 KIF15 的作用机制可能与调节细胞周期有关 为进一步探讨 KIF15 对舌癌细胞的影响作用, 本研究使用 cBioPortal 和 STRING 数据集(表 2)对 KIF15 在舌癌中的前 30 个共表达基因进行了分析, 共表达基因的 PPI 分析如图 3A 所示。随后, 对与 KIF15 共表达的前 30 个基因进行的 KEGG 分析和 GO MF/BP 分析表明, KIF15 可能参与了细胞周期过程(图 3B、3C, 表 3)。

2.3 流式细胞术检测 CAL-27 和 SCC-4 细胞的细胞周期 与各自对照组相比, CAL-27 shRNA 组( $t=17.194, P<0.05$ )和 SCC-4 shRNA 组( $t=19.530, P<0.05$ )G2/M 期细胞占比显著增加, 见图 4。

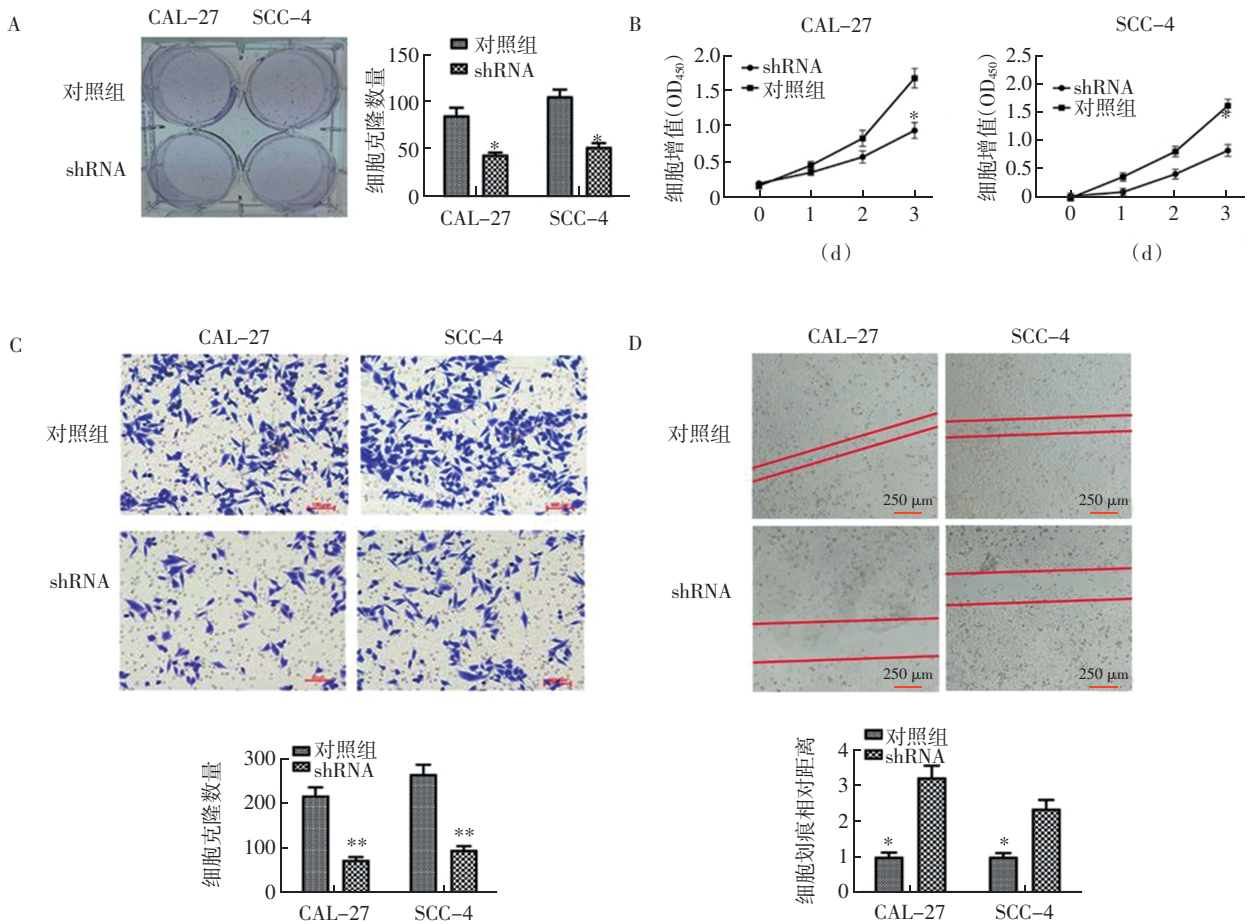
2.4 敲低 KIF15 在小鼠模型中抑制肿瘤生长 与对照组相比, 实验组肿瘤体积相对较小( $t=10.024, P<0.05$ , 图 5A)。蛋白免疫印迹法结果显示, 与对照组相比, 敲低组肿瘤组织 KIF15 的表达较低( $t=9.689, P<0.05$ , 图 5B)。



注:对照组:未敲低 KIF15 组;shRNA 组:敲低 KIF15 组; KIF15:驱动蛋白家族成员 15;A:qRT-PCR 检测结果显示 KIF15 的表达在 CAL-27 和 SCC-4 细胞中均被降低;B:蛋白印迹结果显示 KIF15 在 CAL-27 和 SCC-4 细胞中被明显沉默; \*  $P<0.05$

图 1 KIF15 在 CAL-27 和 SCC-4 舌癌细胞中被有效敲低

Fig.1 KIF15 is effectively knockdown in CAL-27 and SCC-4 tongue cancer cells



注:对照组:未敲低 KIF15 组;shRNA 组:敲低 KIF15 组; KIF15:驱动蛋白家族成员 15 ;A:对照组与 shRNA 组细胞集落差异;B:MTT 实验; C: Transwell 实验(比例尺=100 μm);D:细胞划痕愈合实验(比例尺=250 μm);\*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$

图 2 敲低 KIF15 抑制舌癌细胞的增殖和侵袭

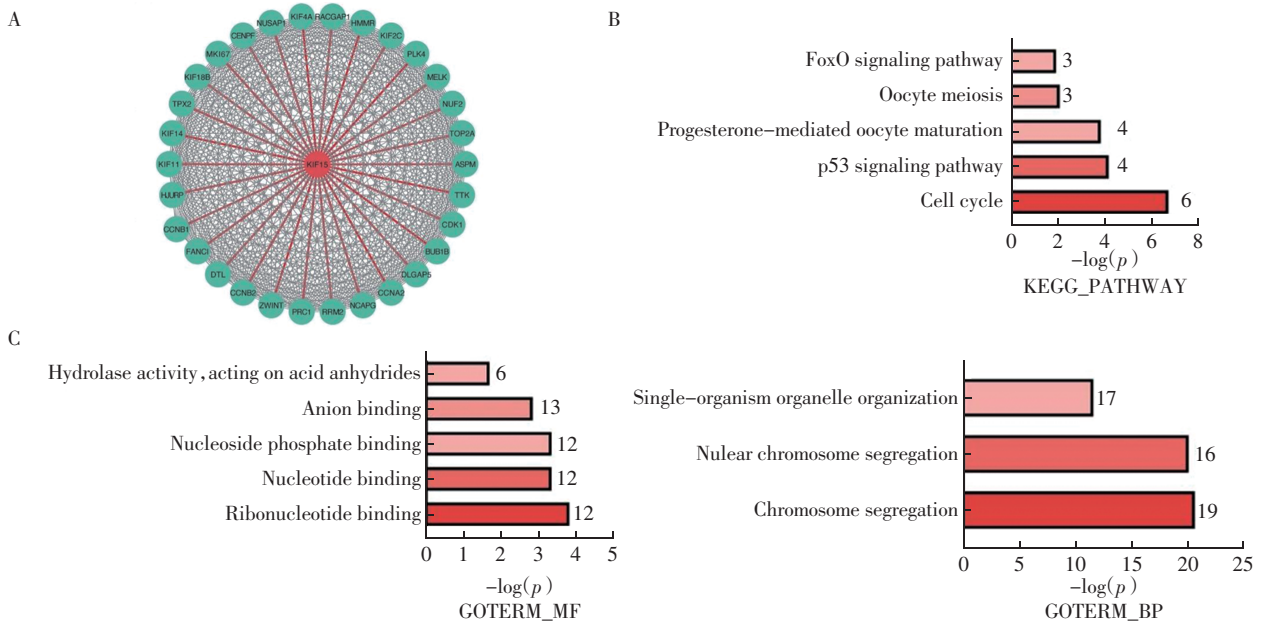
Fig.2 Knockdown of KIF15 inhibits proliferation and invasion in tongue cancer cells

表 2 KIF15B 共表达基因(前 30 位)

Tab.2 The co-expression genes of KIF15B (Top 30)

排名	基因符号	对数似然得分	排名	基因符号	对数似然得分
1	<i>NUSAP1</i>	198.342	16	<i>MKI67</i>	134.584
2	<i>TOP2A</i>	187.103	17	<i>MELK</i>	133.557
3	<i>DLGAP5</i>	181.377	18	<i>RACGAP1</i>	127.058
4	<i>KIF11</i>	175.136	19	<i>PRC1</i>	126.933
5	<i>ASPM</i>	169.971	20	<i>KIF14</i>	123.134
6	<i>CENPF</i>	165.357	21	<i>KIF2C</i>	116.321
7	<i>TPX2</i>	160.843	22	<i>KIF4A</i>	115.671
8	<i>BUB1B</i>	157.639	23	<i>CCNB1</i>	115.666
9	<i>CCNA2</i>	149.005	24	<i>NUF2</i>	113.224
10	<i>NCAPG</i>	146.254	25	<i>RRM2</i>	111.489
11	<i>CCNB2</i>	144.619	26	<i>ZWINT</i>	109.804
12	<i>FANCI</i>	144.010	27	<i>HMMR</i>	109.019
13	<i>CDK1</i>	142.416	28	<i>HJURP</i>	107.019
14	<i>TTK</i>	141.141	29	<i>DTL</i>	100.654
15	<i>KIF18B</i>	137.534	30	<i>PLK4</i>	99.890

注:KIF15:驱动蛋白家族成员 15



注:KIF15:驱动蛋白家族成员 15;A:KIF15 前 30 个共表达基因的 PPI 分析;B:舌癌中 KIF15 前 30 个共表达基因的 KEGG 通路分析;C:舌癌中 KIF15 前 30 个共表达基因的 GO MF/BP 分析

图 3 敲低 KIF15 通过细胞周期阻滞抑制舌癌细胞的增殖

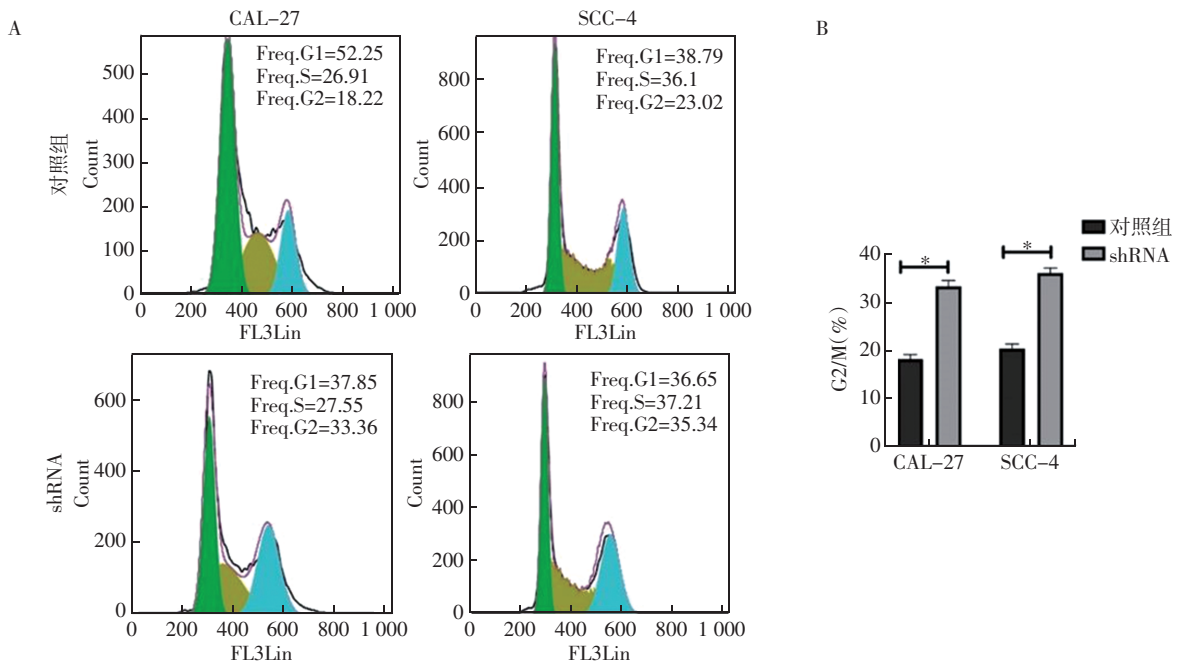
Fig.3 Knocking down KIF15 inhibits the proliferation of tongue cancer cells through cell cycle arrest

表 3 KIF15 共表达基因的 KEGG 通路分析

Tab.3 The KEGG analysis of co-expression genes of KIF15

	数量	基因	P	错误发现率
Hsa04110:细胞周期	6	<i>CCNA2,CCNB2,CCNB1,CDK1,BUB1B,TTK</i>	0.000	0.000
Hsa04115:p53 信号通路	4	<i>CCNB2,CCNB1,RRM2,CDK1</i>	0.000	0.001
Hsa04914:孕酮介导的卵母细胞成熟	4	<i>CCNA2,CCNB2,CCNB1,CDK1</i>	0.000	0.001
Hsa04114:卵母细胞减数分裂	3	<i>CCNB2,CCNB1,CDK1</i>	0.009	0.039
Hsa04068:FoxO 信号通路	3	<i>PLK4,CCNB2,CCNB1</i>	0.012	0.045

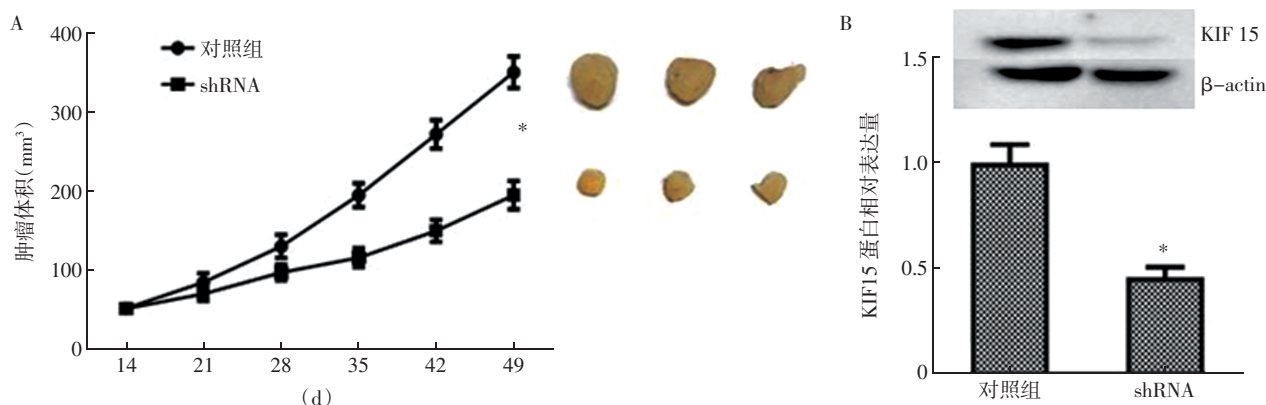
注:KIF15:驱动蛋白家族成员 15



注:对照组:未敲低 KIF15 组;shRNA 组:敲低 KIF15 组;KIF15:驱动蛋白家族成员 15;A:对照组与 shRNA 组 CAL-27 和 SCC-4 细胞的流式细胞术;B:对照组与 shRNA 组 CAL-27 和 SCC-4 细胞的 G2/M 比值;\*  $P < 0.05$

图 4 CAL-27 和 SCC-4 细胞中的细胞周期检测

Fig.4 Cell cycle detection in CAL-27 and SCC-4 cells



注: 对照组: CAL-27 细胞未敲低 KIF15 组; shRNA 组: CAL-27 细胞敲低 KIF15 组; KIF15: 驱动蛋白家族成员 15; A: CAL-27 对照组与 shRNA CAL-27 组细胞于裸鼠体内皮下植入成功 49 d 后获得完整肿瘤组织; B: CAL-27 对照组与 shRNA CAL-27 组肿瘤组织中 KIF15 表达的蛋白免疫印迹实验; \*  $P < 0.05$

图 5 小鼠体内敲低 KIF15 抑制舌癌细胞增殖

Fig.5 Knocking down KIF15 in mice inhibits the proliferation of tongue cancer cells

### 3 讨论

舌癌是最常见的口腔肿瘤之一,与其他类型的癌症类似,舌癌进展迅速、早期不易被发现,癌细胞极易转移。当舌癌被确诊时往往已进展到晚期阶段,因此错过手术治疗的时机<sup>[10]</sup>。因此,通过寻找与肿瘤侵袭性独立相关的生物标志物,进而制定更有效的治疗策略以更好地管理高风险病例的需求日益增长,这可以为晚期舌癌患者提供更有效的治疗靶点,以提高其生存率。

迄今为止,学者们已鉴定出 40 余个 KIF 家族成员,它们是一种保守的微管依赖性马达蛋白。KIF 家族在有丝分裂的多个阶段发挥重要作用,但是当它们过表达时则会引起染色体分离异常,形成非整倍体细胞,而这种染色体异常将会导致肿瘤发生。反之,当 KIF 低表达时则会导致细胞有丝分裂停滞,最终引发细胞凋亡<sup>[11]</sup>。近期研究发现 KIF 家族在多种肿瘤中表达增加,且表达水平与患者预后相关。有研究表明,KIF11 驱动了胶质母细胞瘤的细胞侵袭、增殖和自我更新,敲低 KIF11 后可降低胶质母细胞瘤细胞的自我更新能力,从而抑制其增殖能力<sup>[12]</sup>。另一项研究表明,KIF23 在肺癌组织中高表达,且其高表达预示了患者术后的高复发率<sup>[13]</sup>。

尽管 KIF15 已被广泛研究,但其在肿瘤中的具体作用机制尚未完全阐明。KIF15 与微管的相互作用已被大量报道,有学者认为,KIF15 是纺锤体马达蛋白,其通过协同因子 hKIF15 和抑制因子 hTpx2 改变纺锤体微管结构<sup>[14]</sup>。而在有丝分裂纺锤体组装过程中,KIF15 作为 Ki67 相互作用的伙伴,加速纺锤体伸长和中心体分离<sup>[13]</sup>。因此,KIF15 的失调可能导致异常细胞分裂、分化和肿瘤发生。

此外,KIF15 通过多种细胞通路影响肿瘤细胞

的行为。一项实验结果表明, KIF15 受雌激素  $17\beta$ -雌二醇调控,并促进乳腺癌细胞生长和产生他莫昔芬耐药性<sup>[15]</sup>。另一项研究显示,KIF15 在肺癌肿瘤组织中表达上调,而敲低 KIF15 可以显著抑制肺癌细胞的生长并导致人肺腺癌细胞系的 G1 期阻滞<sup>[16]</sup>。在肝细胞癌中,KIF15 通过抑制磷酸甘油酸脱氢酶降解,介导活性氧簇(ROS)失衡,进而促进肝癌的细胞增殖和迁移<sup>[17]</sup>。对于骨肉瘤,有研究显示 KIF15 表达与肿瘤浸润呈正相关,且敲低 KIF15 具有促进骨肉瘤细胞凋亡的作用<sup>[18]</sup>。另有研究结果显示,敲低 KIF15 通过抑制 Wnt/ $\beta$ -链蛋白信号来抑制子宫内膜癌的发展<sup>[19]</sup>。

本研究的结果与上述研究基本一致,为了进一步探讨 KIF15 对舌癌细胞增殖的影响,本研究敲低了舌癌 CAL-27 和 SCC-4 细胞的 KIF15 表达,进行了蛋白免疫印迹、MTT 实验、克隆形成实验、划痕愈合实验和 Transwell 实验以观察 KIF15 表达水平、细胞增殖、克隆形成和迁移能力的变化。结果发现,在敲低 KIF15 基因并确认 KIF15 蛋白低表达的舌癌 CAL-27 和 SCC-4 细胞中,细胞的增殖活性受到明显抑制,克隆形成能力和迁移能力显著下降,表明 KIF15 的高表达在舌癌 CAL-27 和 SCC-4 细胞增殖和迁移作用中发挥了重要作用,可促进舌癌的发生、发展及转移。小鼠体内肿瘤生长模型的结果进一步表明, KIF15 敲低组 BalB/c 裸鼠在相同的肿瘤生长环境及时间内肿瘤体积明显小于对照组,且后续蛋白免疫印迹实验证实 KIF15 敲低组 BalB/c 裸鼠体内肿瘤组织的 KIF15 表达明显降低,表明敲低 KIF15 可以抑制舌癌肿瘤在动物模型的体内生长。本研究进一步分析了 cBioPortal 和 STRING 数据集,并发现 KIF15 具有一定数量的共表达基因,

提示其可能与多个基因共同参与了肿瘤发生、发展的过程。本研究进行了 KEGG 分析后发现, KIF15 可能参与了细胞周期、p53 信号通路、FoxO 信号通路等多种细胞生理活动过程。而在 GO MF/BP 分析后发现, KIF15 参与了染色体分离等细胞周期过程。且流式细胞术结果显示, 敲低 KIF15 可使舌癌细胞的细胞周期阻滞在 G2/M 期, 这可能是 KIF15 促进舌癌细胞增殖的机制之一。所有上述结果提示 KIF15 参与调控了舌癌细胞的增殖, 抑制其表达可能成为舌癌的新治疗策略。

综上, 本研究认为 KIF15 促进了舌癌细胞的增殖, 且抑制 KIF15 表达可导致癌细胞的细胞周期阻滞, 提示 KIF15 可作为舌癌的潜在治疗靶点。然而, 本研究存在许多局限, 没有进行临床样本的验证, 且需要探讨 KIF15 与舌癌二者之间更深入的相互作用机制, 以进一步巩固现有的结论。

#### 参考文献:

- [1] OKUYAMA K, NARUSE T, YANAMOTO S. Tumor microenvironmental modification by the current target therapy for head and neck squamous cell carcinoma[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2023, 42(1): 114.
- [2] WANG W, WANG Y, ZENG W, et al. Prognostic factors in surgically treated tongue squamous cell carcinoma in stage T1–2N0–1M0: a retrospective analysis[J]. *Cancer Med*, 2024, 13(3): e7016.
- [3] GHAZI N, SAGHRAVANI N, ANVARI K, et al. Evaluation of survival rate in patients with tongue squamous cell carcinoma: a retrospective single-center study[J]. *BMC Oral Health*, 2025, 25(1):658.
- [4] SCHOLFIELD D W, WILLIAMSON A J, CUNNING N, et al. Impact of tongue base mucosectomy on quality-of-life outcomes: systematic review and single-centre experience[J]. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 2025, 282(2):1027–1040.
- [5] SAKINAH–SYED G, LIEW J S, ABDUL MAJID N, et al. Alteration of primary cilia and intraflagellar transport 20 (IFT20) expression in oral squamous cell carcinoma (OSCC) cell lines[J]. *Peer J*, 2025, 13:e18931.
- [6] 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.
- [7] LI G, HUANG Y, HAN W, et al. Eg5 UFMylation promotes spindle organization during mitosis[J]. *Cell Death Dis*, 2024, 15(7):544.
- [8] LI S, WANG S, ZHANG L, et al. METTL3 methylated KIF15 promotes nasopharyngeal carcinoma progression and radiation resistance by blocking ATG7–mediated autophagy through the activation of STAT3 pathway[J]. *Transl Oncol*, 2025, 51:102161.
- [9] HE Z, WANG J, XU J, et al. Dynamic regulation of KIF15 phosphorylation and acetylation promotes focal adhesions disassembly in pancreatic cancer[J]. *Cell Death Dis*, 2022, 25;13(10):896.
- [10] LIN D, LI H, FENG X, et al. A SEER–based prognostic nomogram for early–stage (pT1–2N0M0) tongue squamous cell carcinoma and an observational analysis of postoperative radiotherapy[J]. *World J Surg Oncol*, 2025, 23(1):302.
- [11] YANG J, LIU L, XU X, et al. KIF15 promotes the development and progression of chordoma via activating PI3K–AKT signalling pathway[J]. *Heliyon*, 2024, 10(8):e29386.
- [12] BAI M, LIU X. Diagnostic biomarker KIF23 is associated with immune infiltration and immunotherapy response in gastric cancer[J]. *Front Oncol*, 2023, 13:1191009.
- [13] PAN D, FANG X, LI J. Identification of a novel gene signature based on Kinesin family members to predict prognosis in Glioma[J]. *Medicina (Kaunas)*, 2023, 59(2):414.
- [14] SONG Z, WANG Y, ZHU M, et al. Exploring ribosome biogenesis in lung adenocarcinoma to advance prognostic methods and immunotherapy strategies[J]. *J Transl Med*, 2025, 23(1):503.
- [15] PRIYANGA J, GUHA G, BHAKTA–GUHA D. Does microtubule motor–mediated centrosomal dyshomeostasis confer chemoresistance in breast cancer? [J]. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*, 2025, 30(1):14.
- [16] TABASSUM G, SINGH P, GURUNG R, et al. Investigating the role of Kinesin family in lung adenocarcinoma via integrated bioinformatics approach[J]. *Sci Rep*, 2023, 13(1):9859.
- [17] BADRALDIN S Q, ALFARTTOOSI K H, SAMEER H N, et al. The multifaceted role of KIF15 in cancer progression and therapy[J]. *Invest New Drugs*, 2025, 43(4):1022–1042.
- [18] XU G, HE Z, LIU Y. Arctigenin suppresses the proliferation and metastasis, and induces apoptosis and cycle arrest of osteosarcoma cells by inhibiting HMOX1 expression [J]. *Anticancer Agents Med Chem*, 2023, 23(20):2209–2216.
- [19] HUANG J, SUN X, DIAO G, et al. KIF15 knockdown inhibits the development of endometrial cancer by suppressing epithelial–mesenchymal transition and stemness through Wnt/beta–catenin signaling[J]. *Environ Toxicol*, 2023, 38(8):1824–1834.

(2025–11–14 收稿)