

· 论 著 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2021.01.001

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.r.20201228.0920.006.html\(2020-12-30\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.r.20201228.0920.006.html(2020-12-30))

AURKA 介导 DNA 损伤修复通路对肝癌细胞 HepG2 的影响^{*}

彭期臻¹, 郝剑文¹, 秦 宇², 李慧锴³, 张雪宁^{1△}

(1. 天津医科大学第二医院放射科, 天津 300211; 2. 天津医科大学诊断学教研室, 天津 300070;

3. 天津市肿瘤医院肝胆肿瘤科, 天津 300060)

[摘要] **目的** 通过体内和体外实验探讨 Aurora A 蛋白激酶(AURKA)介导 DNA 损伤修复通路对人肝癌细胞 HepG2 的影响。**方法** 用 shRNA 和 AURKA 过表达质粒转染人肝癌细胞 HepG2, 以获得稳定转染的细胞系; 通过 CCK8 实验、细胞克隆形成实验和细胞划痕实验观察 AURKA 对细胞增殖及迁移侵袭能力的影响; 使用 α -微管蛋白(α -Tubulin)免疫荧光染色实验检测 AURKA 对细胞凋亡的影响; 利用 Western blot 检测 DNA 损伤修复通路中蛋白水平的变化; 最后, 通过苏木精-伊红染色和 TUNEL 染色对人肝癌裸鼠皮下成瘤模型进行分析。**结果** 与对照组比较, 敲低 AURKA 表达可显著抑制 HepG2 细胞的增殖、迁移侵袭并促进细胞凋亡($P < 0.05$), 显著降低 DNA 损伤修复通路中相关蛋白表达($P < 0.05$), 抑制肿瘤组织生长($P < 0.05$); 若 AURKA 表达上调, 则结果相反($P < 0.05$)。**结论** AURKA 在 HepG2 细胞增殖、侵袭和凋亡中起着至关重要的作用, 有望成为肝细胞癌治疗的新靶点。

[关键词] Aurora A 蛋白激酶; DNA 损伤; 凋亡; 肝细胞癌; 治疗靶点

[中图分类号] R735.7 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2021)01-0001-07

Effect of DNA damage repair pathway mediated by AURKA on HepG2 of liver cancer cells^{*}

PENG Qizhen¹, HAO Jianwen¹, QIN Yu², LI Huikai³, ZHANG Xuening^{1△}

(1. Department of Radiology, the Second Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300211, China; 2. Department of diagnostics, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China; 3. Department of Hepatobiliary Oncology, Tianjin Cancer Hospital, Tianjin 300060, China)

[Abstract] **Objective** To explore the mechanism of DNA damage repair pathway mediated by Aurora kinase A (AURKA) involved in human liver cancer cell HepG2 through in vivo and in vitro experiments. **Methods** Human liver cancer cell HepG2 was transfected with shRNA and AURKA overexpression vectors to obtained stable cell lines. The cells were then analyzed by CCK-8, colony formation and wound healing assay to observe the effect of AURKA on cell proliferation, migration and invasion. The effect of AURKA on apoptosis was detected using α -Tubulin immunofluorescence assay. Western blot was performed to detect the changes of DNA damage pathway proteins. Finally, subcutaneous tumor formation in nude mice with human liver cancer was analyzed by HE and TUNEL staining. **Results** Compared with the control group, AURKA knock-down can significantly suppress the cell proliferation, migration and invasion of HepG2 cells and promote apoptosis ($P < 0.05$), significantly reduce the expression of DNA damage pathway protein ($P < 0.05$), and inhibit growth of tumor tissue ($P < 0.05$). When AURKA expression is up-regulated, the result is the opposite ($P < 0.05$). **Conclusion** AURKA plays a critical role in cell proliferation, invasion and apoptosis of HepG2 cells and may serve as a potential therapeutic target for hepatocellular carcinoma treatment.

[Key words] Aurora kinase A; DNA damage; apoptosis; hepatocellular carcinoma; therapeutic target

肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 是全球第六大常见癌症, 每年有 84 万以上新增病例, 且近

^{*} 基金项目: 国家自然科学基金项目(81502019); 天津市自然科学基金项目(18JCYBJC93200)。 作者简介: 彭期臻(1994—), 在读硕士研究生, 主要从事肝细胞癌分子靶向治疗。 [△] 通信作者, E-mail: luckyxn@126.com。

年来发病率一直呈上升趋势^[1]。监测 HCC 生物标志物可以对早期 HCC 进行筛查与诊断,经过肿瘤切除、肝移植或射频消融术治愈的部分患者生存期可以达到 5 年以上^[2]。然而,对于更多的被诊断为晚期 HCC 的患者,化疗是唯一的治疗方法,由于存在多种复杂的耐药机制,晚期 HCC 患者的总体预后仍然较差^[3]。近年来 HCC 的分子靶向治疗是研究热点^[4-5]。Aurora 蛋白激酶(aurora kinase A, AURKA)是一种丝氨酸/苏氨酸激酶,可调节细胞有丝分裂周期和细胞凋亡,与癌症的发病机制密切相关^[6-7]。AURKA 是各种癌症(例如乳腺癌、胰腺癌、泌尿道上皮癌等)中扩增和表达最多的基因之一,且高表达的 AURKA 可促进肿瘤进展至中晚期,可能导致不良预后^[8-9]。研究表明,DNA 损伤反应(DNA damage response, DDR)中 DNA 的损伤和异常变化,特别是 DNA 修复过程在癌症进展中起到关键作用,对 DDR 分子机制的深入了解将为癌症的预防和治疗提供新的思路^[10]。因此,AURKA 及 DDR 在肿瘤发生发展过程中发挥重要作用,但目前有关 AURKA 在 DDR 中的作用机制研究较少。本研究构建以增强绿色荧光蛋白(EGFP)为载体的 shRNA 和 AURKA 过表达质粒,获得肝癌稳定转染细胞系,通过体外和体内实验系统地研究 AURKA 对肝癌细胞的影响,并对 AURKA 在 DDR 中的分子机制进行了初步探讨,敲低 HCC 中 AURKA 表达水平有望成为 HCC 新的治疗方案。

1 材料与方法

1.1 材料

人肝癌 HepG2 细胞由天津医科大学基础医学院保存。MLN8237 购自美国 Selleck 公司;CCK8(Cell Counting Kit-8)试剂盒购自美国 MCE 公司; α -微管蛋白(α -Tubulin)抗体购自美国 Acam 公司,DDR 抗体试剂盒购自美国 Cell Signaling Technology 公司;AURKA 相关表达质粒和慢病毒包装试剂盒 EndoFectinTM-Lenti 购自美国 Genecopoeia 公司。

1.2 细胞培养

将肝癌细胞 HepG2 加入含 10% 胎牛血清、青霉素和链霉素各 100 μ g/mL 的 DMEM 培养液中,置于 37 $^{\circ}$ C、5% CO_2 的培养箱中培养。实验均取对数生长期细胞。

1.3 构建 HepG2 稳定转染细胞系

取对数生长期 HepG2 细胞,分为 shAURKA 组及 shCTRL 组(对照组)、AURKA OE 组及 AURKA EV 组(对照组)。根据 EndoFectinTM-Lenti 说明书分

别利用 shRNA 和 AURKA 过表达质粒转染细胞后,通过流式细胞分选仪分选绿色荧光蛋白(EGFP)阳性细胞。分选后的转染细胞扩增后,置于细胞培养箱中传代培养。

1.4 RNA 提取和实时荧光定量聚合酶链反应(RT-PCR)

收集转染后的各组细胞,用 TRIzol 法提取各组细胞总 RNA,紫外分光光度计检测总 RNA 水平及纯度。采用 All-in-OneTM qPCR Mix 进行反转录反应,使用 SYBR Green 法在 ABI 7500 RT-PCR 仪上进行 RT-PCR。反应条件:95 $^{\circ}$ C 5 min(聚合酶活化),然后进行 40 个循环[95 $^{\circ}$ C 30 s(变性),55 $^{\circ}$ C 30 s(退火)和 72 $^{\circ}$ C 30 s(延伸)]。检测引物为 AURKA,上游引物序列 5'-GGA ATA TGC ACC ACT TGG AAC A-3',下游引物序列 5'-TAA GAC AGG GCA TTT GCC AAT-3';以 GAPDH 作为内参,上游引物序列 5'-ACA ACT TTG GTA TCG TGG AAG G-3',下游引物序列 5'-GCC ATC ACG CCA CAG TTT C-3'。最后使用目的基因和内参基因的 Ct 值,通过 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算目的基因的相对表达水平,其中 $2^{-\Delta\Delta Ct} = \text{实验组}/\text{对照组}; Ct = \text{实验组}(Ct_{\text{目的}} - Ct_{\text{内参}}) - \text{对照组}(Ct_{\text{目的}} - Ct_{\text{内参}})$ 。实验重复 3 次。

1.5 CCK8 实验

取对数生长期的各组细胞,接种于 96 孔培养板中,24 h 后向每组的 3 个孔各加入 10 μ L CCK8 试剂,继续孵育 1~2 h,使用酶标仪测定上述孔在波长 450 nm 处的吸光度(A)值,此时为第 1 天的 A 值;之后,分别在第 2、3、4、5 天向每组剩余孔的其中 3 个孔加入 10 μ L CCK8 试剂,并重复第 1 天的操作。记录各组第 1~5 天的 A 值。实验重复 3 次。

1.6 克隆形成实验

取对数生长期的各组细胞,接种于 12 孔培养板中,每组设立 3 个复孔;细胞培养约 10 d 后,待出现肉眼可见的集落时终止培养;形成克隆后,以磷酸盐缓冲液(PBS)清洗细胞,4% 多聚甲醛固定后用结晶紫染色液染色,然后用蒸馏水清洗后晾干,拍照并使用 Image J 软件计算细胞克隆数。实验重复 3 次。

1.7 细胞划痕实验

取对数生长期的各组细胞,接种于 12 孔培养板中,每组设立 3 个复孔;待细胞贴壁达 80% 融合时,用枪头在孔内垂直、均匀地划横线,横线横穿过孔,此时记为第 0 小时,分别于第 0、24、48 小时在显微镜下拍照。使用 Image J 软件测量细胞划痕迁移距离,计算

第 48 小时与第 0 小时的细胞划痕迁移距离之比。实验重复 3 次。

1.8 免疫细胞荧光染色

将盖玻片进行高温、高压灭菌处理后用无菌镊子放置到 12 孔板的孔内;取对数生长期的各组细胞,接种于 12 孔培养板中;24 h 后吸去细胞培养液,PBS 溶液洗涤 1 次,加入 4%多聚甲醛后-20 °C 冰箱固定 20 min;将固定好的细胞用通透液(0.1% Triton X-100/PBS)通透 15 min 后,用封闭液 37 °C 封闭 1 h,然后与稀释好的一抗 4 °C 孵育过夜;加入稀释好的二抗,室温避光孵育 1 h;向每张盖玻片加入含 4',6-二脒基-2-苯基吲哚(DAPI)的封片液,将盖玻片的细胞面向下小心铺于载玻片上,用铝箔纸包裹并-20 °C 保存;使用荧光显微镜观察各组细胞。

1.9 Western blot

取对数生长期的各组细胞,接种于 6 孔培养板中;24 h 后收集、提取各组细胞蛋白质并进行定量检测;每孔按 25 μg 的蛋白进行凝胶电泳后,转移至聚偏氟乙烯(PVDF)膜上,封闭后分别加入 DDR 抗体试剂盒内的抗体,4 °C 孵育过夜;加入相应二抗,室温孵育 1 h;显影液显影、定影,在 ChemiDoc 成像系统中进行曝光成像,检测蛋白质条带,使用 Image Lab 软件分析目的条带灰度值,以目的蛋白条带灰度值与内参蛋白 GAPDH 条带灰度值的比值表示目的蛋白相对表达水平。实验重复 3 次。

1.10 人肝癌裸鼠皮下成瘤模型的建立及组织免疫化学染色

所有动物实验程序均已获得天津医科大学实验动物管理和使用委员会(IACUC)的批准。将 12 只 5 周龄的雌性 BALB/c 裸鼠分为 4 组;裸鼠右前肢皮下分别接种 4 组肝癌细胞后(5×10⁶ 个细胞/只),每天观察裸鼠一般状况;待可触及皮下瘤体,使用游标卡尺每 3 天测量 1 次肿瘤的长径和宽度,肿瘤体积用长×宽²/2 公式计算(单位:mm³),并绘制肿瘤生长体积曲线;待 4 组裸鼠瘤体大小有一定差异时,处死、解剖全部裸鼠,取出瘤体并进行拍照,然后置于 4%甲醛溶液中保存,进行常规组织包蜡及切片的制作;对肿瘤标本组织切片进行苏木精-伊红染色(hematoxylin-eosin staining, HE)及 TUNEL 染色。

1.11 统计学处理

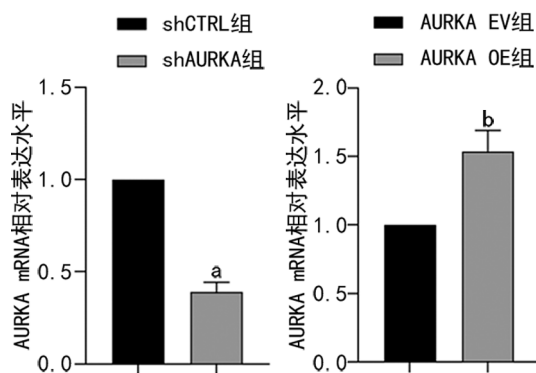
实验数据采用 GraphPad Prism8 统计软件进行分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用独立样本 *t* 检验,多组间比较用单因素方差分析。计数资

料采用百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 shCTRL/shAURKA、AURKA EV/AURKA OE HepG2 稳定转染细胞系的构建及鉴定

对获得的 shCTRL/shAURKA、AURKA EV/AURKA OE HepG2 稳定转染细胞系行 RT-PCR 检测 AURKA mRNA 表达水平,结果显示:shAURKA 组较 shCTRL 组相对低表达 AURKA mRNA;AURKA OE 组较 AURKA EV 组相对高表达 AURKA mRNA,差异有统计学意义($P < 0.05$),见图 1。

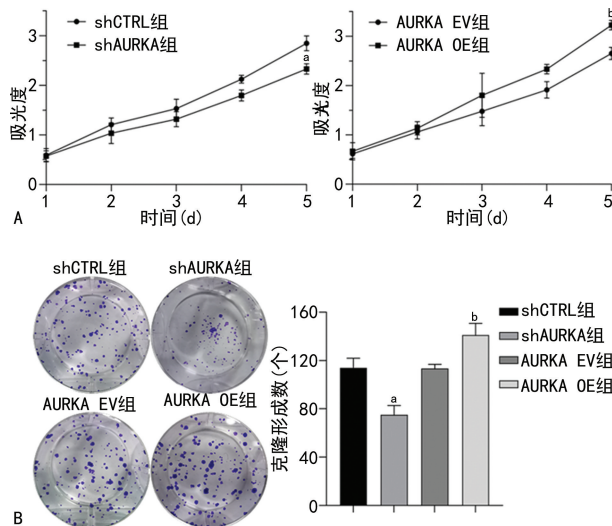


a: $P < 0.05$, 与 shCTRL 组比较; b: $P < 0.05$, 与 AURKA EV 组比较。

图 1 转染细胞系的 AURKA mRNA 表达水平

2.2 AURKA 对肝癌细胞增殖活性的影响

对肝癌稳定转染细胞系进行 CCK8 实验和细胞克隆形成实验,结果显示:与对照组细胞相比,shAURKA 组细胞增殖活性显著降低,而 AURKA OE 组细胞增殖活性显著增高,差异有统计学意义($P < 0.05$),见图 2。



A: CCK8 实验; B: 细胞克隆形成实验; a: $P < 0.05$, 与 shCTRL 组比较; b: $P < 0.05$, 与 AURKA EV 组比较。

图 2 AURKA 对 HepG2 细胞增殖活性的影响

2.3 AURKA 对肝癌细胞迁移侵袭能力的影响

用获得的肝癌稳定转染细胞系进行细胞划痕实验,结果显示:与对照组细胞相比,shAURKA 组细胞

迁移侵袭能力明显降低,而 AURKA OE 组细胞迁移侵袭能力明显提高,差异有统计学意义($P < 0.05$),见图 3。

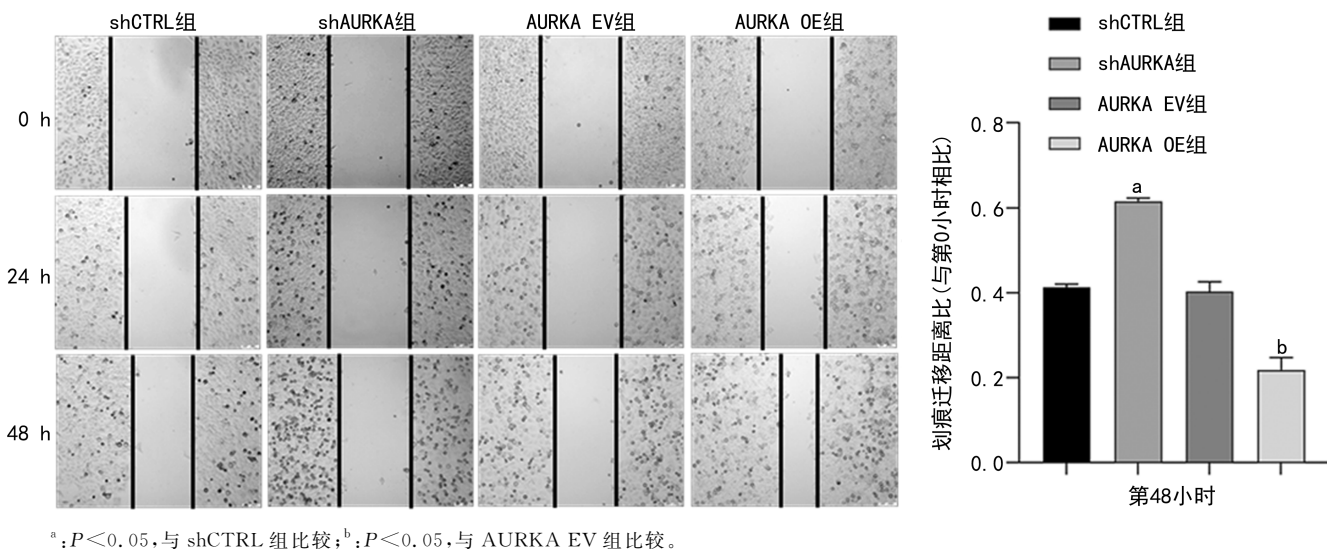


图 3 AURKA 对 HepG2 细胞迁移侵袭能力的影响 ($\times 200$)

2.4 AURKA 对肝癌细胞凋亡过程的影响

用获得的肝癌稳定转染细胞系进行了 α -Tubulin 免疫荧光染色,并在共聚焦显微镜下观察细胞微观形态变化(红色荧光是 α -Tubulin,代表细胞纺锤丝;蓝色荧光是 DAPI,代表细胞核),结果显示:与对照组细胞相比,在 shAURKA 组细胞中观察到微管网络结构改变,纺锤体不能形成及染色体错位、细胞核崩解,而 AURKA OE 组细胞的微管蛋白聚合,纺锤体形成并出现多极分裂,中期染色体排列有序,见图 4。

2.5 AURKA 介导 DNA 损伤修复通路参与 HCC 发生

Western blot 实验结果显示:与对照组细胞相比,shAURKA 组细胞 DNA 损伤等相关蛋白表达水平显著降低,AURKA OE 组细胞 DNA 损伤等相关蛋白表达水平显著升高,差异有统计学意义($P < 0.05$),见图 5。

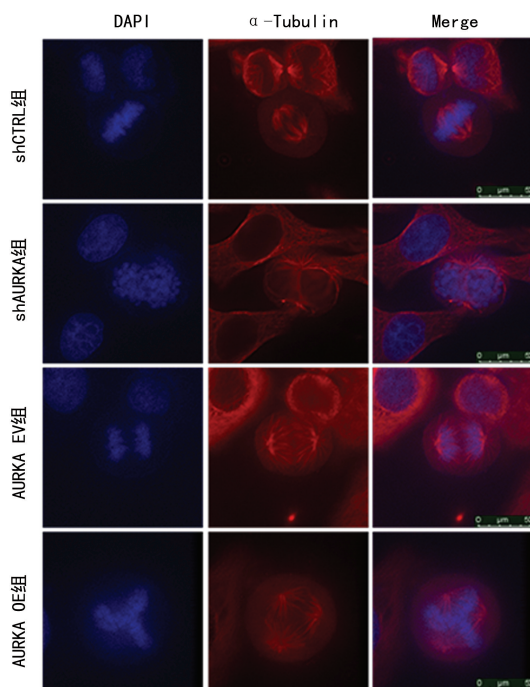


图 4 AURKA 对 HepG2 细胞凋亡过程的影响 ($\times 400$)

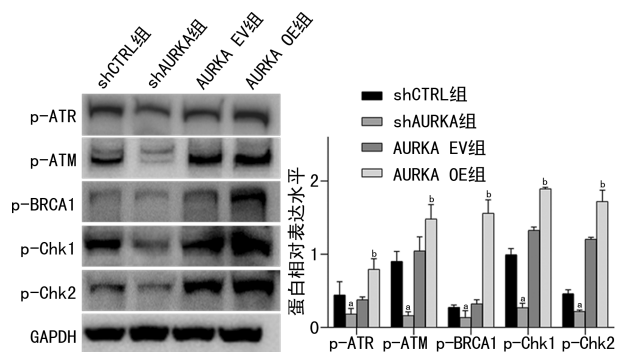


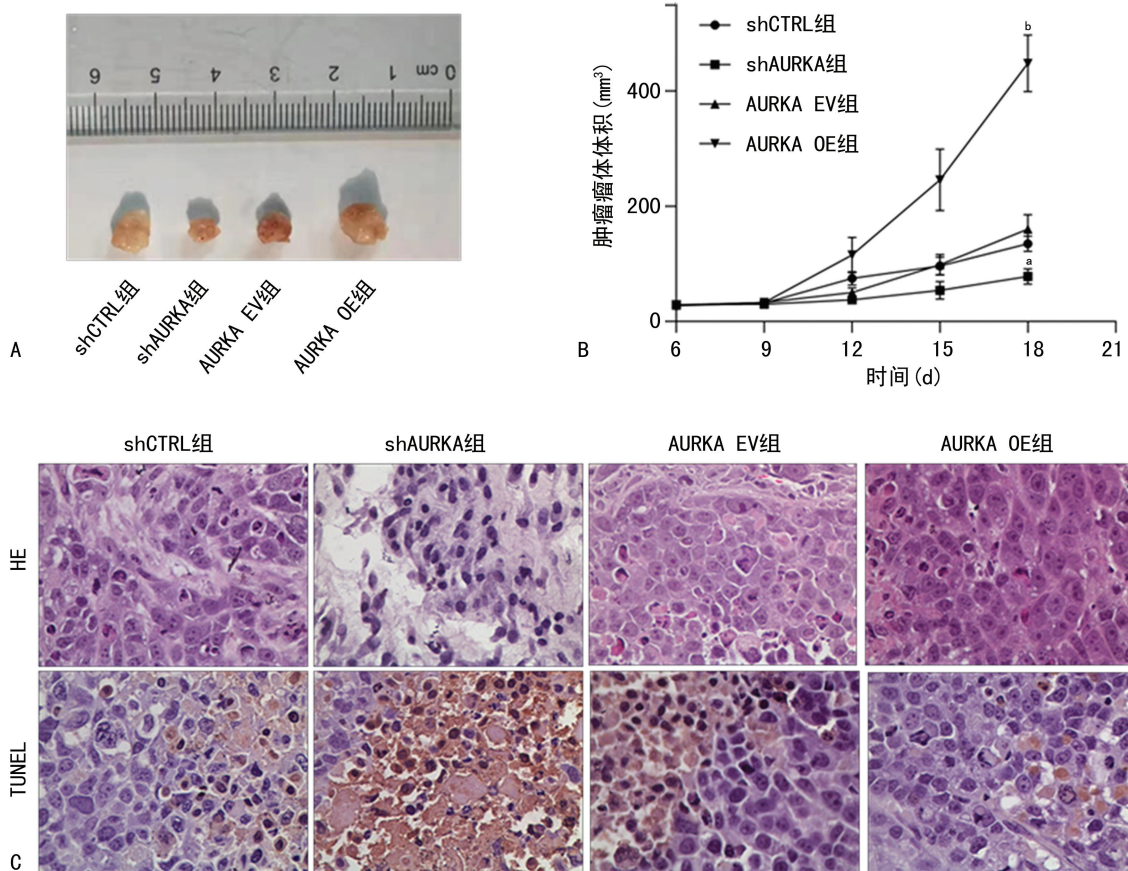
图 5 Western blot 检测 HepG2 细胞 DNA 损伤修复通路的表达水平

2.6 AURKA 表达水平对人肝癌裸鼠皮下成瘤生长情况的影响

利用肝癌稳定转染细胞系成功建立人肝癌裸鼠皮下成瘤模型,结果显示:与对照组相比,shAURKA 组肿瘤生长明显受到抑制且体积最小,而 AURKA OE 组肿瘤快速增长且体积最大,差异有统计学意义

($P < 0.05$), 见图 6A、B。HE 和 TUNEL 染色结果显示, 敲低 AURKA 表达可促进肿瘤细胞凋亡坏死,

AURKA 表达上调可抑制肿瘤细胞凋亡坏死, 见图 6C。



A: 人肝癌裸鼠皮下成瘤实验肿瘤标本; B: 人肝癌裸鼠皮下成瘤实验肿瘤平均体积的增长曲线 (^a: $P < 0.05$, 与 shCTRL 组比较; ^b: $P < 0.05$, 与 AURKA EV 组比较); C: 人肝癌裸鼠皮下成瘤实验肿瘤标本的 HE($\times 400$)和 TUNEL 染色($\times 400$)。

图 6 AURKA 表达水平影响人肝癌裸鼠皮下成瘤生长情况

3 讨 论

AURKA 是 Aurora 激酶家族中最重要的成员, 研究已证明完成一系列重要的有丝分裂过程(例如中心体形成、启动有丝分裂、纺锤体形成和胞质分裂等)均需要 AURKA。AURKA 通过调控细胞周期进程、增殖和/或凋亡信号通路、癌基因的致癌性、上皮间质转化及癌细胞的干细胞特性等, 在癌症发展过程中发挥多种作用^[11-12]。例如棕榈碱可通过靶向 AURKA 诱导结肠癌细胞 G₂/M 期阻滞及调控线粒体相关途径而促进凋亡^[13]; 上消化道腺癌组织样本中 AURKA 明显过表达, 抑制 AURKA 表达可导致细胞 G₂/M 期延迟、染色体多倍性和细胞死亡; 抑制 AURKA 表达可诱导成神经细胞瘤细胞衰老和 G₂/M 期停滞而抑制细胞生长^[14]; AURKA 介导 Wnt- β -catenin 信号通路参与慢性粒细胞白血病和头颈癌的肿瘤干细胞调控^[15]。

AURKA 在 HCC 中亦扮演至关重要的角色, 研

究证实 AURKA 在 HCC 的多种细胞系中表达升高, 并与 HCC 分级和分期密切相关^[16]。AURKA 与 Myc 基因启动子结合并诱导 AURKA 在肝癌细胞中的表达, 形成 Myc-AURKA 反馈环而导致 HCC 发生^[17]。AURKA 通过介导 NF- κ B/miR-21/PTEN/Akt 信号通路提高 HCC 的化学抗性, 这表明靶向 AURKA 将有助于降低 HCC 对化疗药物的抵抗性^[18]。抑制 HepG2 细胞中的 AURKA 表达可介导 PI3K/Akt/mTOR 途径诱导细胞自噬和细胞周期停滞, 并提高细胞的化疗敏感性^[19]。本研究首先利用 shRNA 和 AURKA 过表达质粒转染人肝癌细胞 HepG2, 进一步的体内和体外实验证实敲低 AURKA 表达可显著抑制 HepG2 细胞的增殖、迁移侵袭, 并导致细胞周期阻滞而抑制有丝分裂过程, 诱导细胞发生凋亡, 同时抑制人肝癌裸鼠皮下成瘤生长、促进其凋亡坏死, 从而抑制肿瘤组织生长; 而 AURKA 表达上调在 HepG2 细胞中起促癌作用。

众所周知,细胞发生 DNA 损伤时产生突变导致细胞癌变的可能性增加,而 DDR 可纠正 DNA 损伤因子或致癌物引起的 DNA 损伤,从而维持基因组稳定性,因此 DDR 效率低下是癌症发展过程中的重要驱动力^[20],近年来研究表明靶向 DDR 将有助于治疗多种癌症^[21-22]。例如 AURKA/p53/ATM/Chk2 介导的 DDR 途径与 miR-137 共同在多发性骨髓瘤的染色体不稳定性和耐药性中发挥作用^[23]。CDK12 抑制剂促进肝癌细胞 DDR,并可与索拉非尼协同治疗 HCC^[24]。AURKA 和 BRCA1/2 能够调控 ATM/Chk2 介导的 DNA 修复网络,破坏癌细胞的 DDR^[25]。本研究结果显示敲低 AURKA 表达可显著抑制 HepG2 细胞中 p-ATM、p-ATR、p-BRCA1、p-Chk1 和 p-Chk2 的蛋白表达,促进细胞 DDR 发生,防止细胞发生恶性转变;而 AURKA 表达上调,则抑制细胞 DDR 发生而起促癌作用,推测 AURKA 通过影响 ATM/Chk2 和 ATR/Chk1 介导的 DNA 损伤修复网络调控肝癌细胞的增殖、侵袭等过程。

目前已有研究表明 AURKA 激酶抑制剂,如 MLN8237、MLN8054 等有成为癌症靶向治疗药物的潜力^[26]。其中 MLN8237 目前已通过临床 I 期试验,临床 II、III 期试验正在积极开展中,MLN8237 在多种血液和实体肿瘤中均显示出有效的 AURKA 抑制和抗肿瘤活性^[27]。AURKA 激酶抑制剂在肿瘤中的有效治疗成果预示着 AURKA 有望成为治疗 HCC 的关键靶标。此外,ZHANG 等^[28]研究发现 MLN8237 与肝癌靶向化疗药物索拉非尼协同影响肝癌细胞的增殖、凋亡、血管形成等而发挥抗 HCC 作用,因此 MLN8237 联合已应用于临床的肝癌靶向药物协同增强 HCC 的治疗效果可能是未来的研究方向。

综上所述,AURKA 在肝癌细胞中起着重要的调控作用,并且与肝癌细胞的抗凋亡能力和 DDR 密切相关,抑制 AURKA 可以阻碍 HCC 发生发展,为 HCC 的临床治疗和诊断提供理论依据。因此,针对 AURKA 的靶向治疗有望成为 HCC 的新型治疗策略。

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] SINGAL A G, LAMPERTICO P, NAHON P. Epidemiology and surveillance for hepatocellular carcinoma: new trends[J]. J Hepatol, 2020, 72(2):250-261.
- [3] IKEDA K. Recent advances in medical management of hepatocellular carcinoma[J]. Hepatol Res, 2019, 49(1):14-32.
- [4] BANGARU S, MARRERO J A, SINGAL A G. Review article: new therapeutic interventions for advanced hepatocellular carcinoma[J]. Aliment Pharmacol Ther, 2020, 51(1):78-89.
- [5] LIKHITSUP A, RAZUMILAVA N, PARIKH N D. Treatment for advanced hepatocellular carcinoma: current standard and the future[J]. Clin Liver Dis (Hoboken), 2019, 13(1):13-19.
- [6] BERTOLIN G, TRAMIER M. Insights into the non-mitotic functions of Aurora kinase A: more than just cell division[J]. Cell Mol Life Sci, 2020, 77(6):1031-1047.
- [7] DAMODARAN A P, VAUFREY L, GAVARD O, et al. Aurora A kinase is a priority pharmaceutical target for the treatment of cancers[J]. Trends Pharmacol Sci, 2017, 38(8):687-700.
- [8] YANG N, WANG C, WANG J, et al. Aurora kinase A stabilizes FOXM1 to enhance paclitaxel resistance in triple-negative breast cancer[J]. J Cell Mol Med, 2019, 23(9):6442-6453.
- [9] GOMES-FILHO S M, DOSSANTOS E O, BERTOLDI E R, et al. Aurora A kinase and its activator TPX2 are potential therapeutic targets in KRAS-induced pancreatic cancer[J]. Cell Oncol (Dordr), 2020, 43(3):445-460.
- [10] SMITH H L, SOUTHGATE H, TWEDDLE D A, et al. DNA damage checkpoint kinases in cancer[J]. Expert Rev Mol Med, 2020, 22:e2.
- [11] YAN M, WANG C, HE B, et al. Aurora-A kinase: a potent oncogene and target for cancer therapy[J]. Med Res Rev, 2016, 36(6):1036-1079.
- [12] LI M, GAO K, CHU L, et al. The role of Aurora-A in cancer stem cells[J]. Int J Biochem Cell

- Biol, 2018, 98: 89-92.
- [13] LIU X, ZHANG Y, WU S, et al. Palmatine induces G2/M phase arrest and mitochondrial-associated pathway apoptosis in colon cancer cells by targeting AURKA[J]. *Biochem Pharmacol*, 2020, 175: 113933.
- [14] YANG Y, DING L, ZHOU Q, et al. Silencing of AURKA augments the antitumor efficacy of the AURKA inhibitor MLN8237 on neuroblastoma cells[J]. *Cancer Cell Int*, 2020, 20: 9.
- [15] CHOU C H, YANG N K. Chromosome instability modulated by BMI1-AURKA signaling drives progression in head and neck cancer[J]. *Cancer Res*, 2013, 73(2): 953-966.
- [16] JENG Y M, PENG S Y, LIN C Y, et al. Overexpression and amplification of Aurora-A in hepatocellular carcinoma[J]. *Clin Cancer Res*, 2004, 10(6): 2065-2071.
- [17] LU L, HAN H, TIAN Y, et al. Aurora kinase A mediates c-Myc's oncogenic effects in hepatocellular carcinoma[J]. *Mol Carcinog*, 2015, 54(11): 1467-1479.
- [18] ZHANG K, CHEN J, CHEN D, et al. Aurora-A promotes chemoresistance in hepatocellular carcinoma by targeting NF-kappaB/microRNA-21/PTEN signaling pathway[J]. *Oncotarget*, 2014, 5(24): 12916-12935.
- [19] ZHU Q, YU X, ZHOU Z W, et al. Inhibition of aurora a kinase by alisertib induces autophagy and cell cycle arrest and increases chemosensitivity in human hepatocellular carcinoma HepG2 cells[J]. *Curr Cancer Drug Targets*, 2017, 17(4): 386-401.
- [20] PETSALAKI E, ZACHOS G. DNA damage response proteins regulating mitotic cell division: double agents preserving genome stability[J]. *FEBS J*, 2020, 287(9): 1700-1721.
- [21] FLEM-KARLSEN K, MCFADDEN E, OMAR N, et al. Targeting AXL and the DNA damage response pathway as a novel therapeutic strategy in melanoma[J]. *Mol Cancer Ther*, 2020, 19(3): 895-905.
- [22] SOUTHGATE H E, CHEN L, CURTIN N J, et al. Targeting the DNA damage response for the treatment of high risk neuroblastoma[J]. *Front Oncol*, 2020, 10: 371.
- [23] QIN Y, ZHANG S, DENG S, et al. Epigenetic silencing of miR-137 induces drug resistance and chromosomal instability by targeting AURKA in multiple myeloma [J]. *Leukemia*, 2017, 31(5): 1123-1135.
- [24] WANG C, WANG H, LIEFTINK C, et al. CDK12 inhibition mediates DNA damage and is synergistic with sorafenib treatment in hepatocellular carcinoma[J]. *Gut*, 2020, 69(4): 727-736.
- [25] SUN H, WANG Y, WANG Z, et al. Aurora-A controls cancer cell radio and chemoresistance via ATM/Chk2-mediated DNA repair networks [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1843(5): 934-944.
- [26] TANG A, GAO K, CHU L, et al. Aurora kinases: novel therapy targets in cancers[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(14): 23937-23954.
- [27] LIEWER S, HUDDLESTON A. Alisertib: a review of pharmacokinetics, efficacy and toxicity in patients with hematologic malignancies and solid tumors[J]. *Expert Opin Investig Drugs*, 2018, 27(1): 105-112.
- [28] ZHANG K, WANG T, ZHOU H, et al. A novel aurora-a inhibitor (mln8237) synergistically enhances the antitumor activity of sorafenib in hepatocellular carcinoma[J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2018, 13: 176-188.

(收稿日期: 2020-06-01 修回日期: 2020-10-02)