

2型糖尿病病理生理因素通过SKA1 诱导细胞中心体扩增

刘琴琴 王朴 李少钦*

(山西大学生命科学学院, 太原 030006)

摘要 为研究糖尿病相关的细胞中心体扩增的分子机制, 并证明糖尿病的病理生理因素(病生因素)通过纺锤体和动粒相关蛋白1(spindle and kinetochore associated complex protein 1, SKA1)诱导细胞中心体扩增, 该研究采用免疫荧光、Western blot检测糖尿病病生因素高葡萄糖、高胰岛素、高自由脂肪酸(棕榈酸)处理下中心体扩增情况、SKA1表达情况及在干扰SKA1后对中心体扩增的影响。结果显示, 糖尿病病生因素高葡萄糖、高胰岛素、高自由脂肪酸(棕榈酸)显著诱导HCT116、MCF-7、Hela细胞中心体的扩增, 处理组较对照组细胞中心体扩增率显著升高($P<0.01$); 糖尿病病生因素处理组中SKA1蛋白表达量较对照组显著升高($P<0.01$), SKA1 siRNA组中SKA1蛋白表达量与三因素处理组相比显著降低($P<0.01$); SKA1的siRNA组中的中心体扩增率较三因素处理组显著降低($P<0.01$)。该研究证明, 2型糖尿病病生因素在HCT116、MCF-7、Hela中通过SKA1诱导细胞中心体扩增。

关键词 2型糖尿病; SKA1; 中心体扩增

The Pathophysiological Factors of Type 2 Diabetes Induce Centrosome Amplification Via SKA1

Liu Qinqin, Wang Pu, Li Shaoqin*

(School of Life Sciences, Shanxi University, Taiyuan 030006, China)

Abstract In the present study, we investigated the molecular mechanism of diabetes-associated cell centrosome amplification and proved that the pathophysiological factors of type 2 diabetes induced the centrosome amplification via spindle and kinetochore associated complex protein 1 (SKA1). Firstly, cells were treated with the pathophysiological factors of type 2 diabetes (high glucose, high insulin, and high free fatty) and centrosome amplification was detected by immunofluorescence. Secondly, the expression of SKA1 was detected by Western blot. Finally, the effect on the centrosome amplification after interference with SKA1 was detected by immunofluorescence. The results showed that high glucose, high insulin, high palmitic acid significantly induced the centrosome amplification in HCT116, MCF-7 and Hela cell, the centrosome amplification rate of the treatment group was significantly higher than the control group ($P<0.01$). The expression of SKA1 protein in the diabetic disease treatment group was significantly increased ($P<0.01$), and the expression of SKA1 protein in SKA1 siRNA group was significantly lower than that in the three-factor treatment group ($P<0.01$). The centrosome amplification rate of SKA1 siRNA group was significantly lower than which of the three-factor treatment group ($P<0.01$). This study

收稿日期: 2018-07-22

接受日期: 2018-12-03

山西大学人才基金(批准号: 113533901005、113545017)和山西省科技厅基金(批准号: 2015081034、201601D11066)资助的课题

Received: July 22, 2018

Accepted: December 3, 2018

*通讯作者。Tel: 18535146037, E-mail: lee_shao@hotmail.com

This work was supported by the Talent Foundation of Shanxi University (Grant No.113533901005, 113545017) and the Foundation of Shanxi Provincial Science and Technology Department (Grant No.2015081034, 201601D11066)

*Corresponding author. Tel: +86-18535146037, E-mail: lee_shao@hotmail.com

网络出版时间: 2018-12-28 12:44:45

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20181228.1244.002.html>

demonstrates that the pathophysiological factors of type 2 diabetes induce cell centrosome amplification via SKA1 in HCT116, MCF-7, and HeLa cell.

Keywords type 2 diabetes; SKA1; centrosome amplification

2型糖尿病是当今危害人类健康的第三大慢性非传染性疾病, 国际糖尿病联盟(International Diabetes Federation, IDF)数据表明, 至2017年全球有4.51亿糖尿病患者, 预计至2045年总人数将增至6.93亿^[1]; 其中, 1型糖尿病占糖尿病总病例的5%~10%, 2型糖尿病占90%~95%^[2], 除1型糖尿病与2型糖尿病外, 糖尿病的分型还包括妊娠糖尿病和其他特殊类型糖尿病。2型糖尿病是一种复杂的代谢紊乱疾病, 长期高血糖会导致机体多器官受损, 造成较严重的并发症, 进而导致发病率和死亡率的升高。糖尿病的并发症分为急性并发症和慢性并发症, 急性并发症包括酮症酸中毒(diabetic ketoacidosis, DKA)、高渗性昏迷(hyperosmotic nonketonic coma, HNC)、乳酸性酸中毒(lactic acidosis, LA)以及糖尿病低血糖症^[3]。糖尿病慢性并发症根据累及器官和血管的不同, 又分为微血管并发症(如糖尿病视网膜病变、糖尿病肾病以及糖尿病周围神经病变等)和大血管并发症(如心脑血管疾病、周围血管病变等)。有研究表明, 与无糖尿病并发症的妇女相比, 糖尿病并发症严重指数等于2和大于等于3(DCSI=2和DCSI \geq 3)的妇女更有可能被诊断为乳腺癌^[4]。同时, 流行病学研究表明, 糖尿病患者患结肠癌、子宫内膜癌和乳腺癌等多种类型癌症的风险更高^[3,5]。这一现象在结肠癌中表现尤为明显, 临床研究发现, 糖尿病患者患结肠癌的风险增加1.3~3.0倍^[5-7]。然而, 2型糖尿病和癌症之间潜在的生物学联系仍然未知。本实验通过研究糖尿病与癌症相关的信号通路为防治糖尿病相关癌症提供指导。

中心体是广泛存在于大多数动物细胞中的细胞器, 是细胞中的微管组织中心, 调节细胞形态、运动、胞质运输并对有丝分裂期间纺锤体正常形成和功能发挥起重要作用。它由一对被中心体周质蛋白(pericentriolar material, PCM)围绕的中心粒组成。在正常情况下, 大多数动物细胞内不同的细胞周期阶段有一个或两个中心体, 无论是中心体的数目还是中心体的结构, 在每个细胞周期中都被精准控制。这种精准的调控类似于DNA的复制, 中心

体在每个细胞周期内仅复制一次, 在复制过程中两对中心粒组织两个中心体以确保双极纺锤体正确组装^[8]。然而临床研究发现, 在许多肿瘤组织中存在着中心体扩增现象^[9-10], 并且中心体扩增往往与不良预后有关^[11-12]。在细胞水平上, 中心体扩增调节细胞分裂、运动和转运^[13]; 在生物体水平上, 中心体扩增可以诱发果蝇^[14]和小鼠^[15]肿瘤的产生, 并增加癌症的侵袭力^[16]。

纺锤体和动粒相关蛋白1(spindle and kinetochore associated complex protein 1, SKA1), 不仅在有丝分裂期间定位在纺锤体微管和外部动粒界面上, 而且也富集在中心体上^[17]。研究表明, SKA1是一种新的中心粒蛋白, 首先SKA1与中心粒蛋白如Centrin-3、Cep135和CP110实现了共定位, 其次通过延时成像记录以及基因沉默实验表明, SKA1在中心粒的生成过程中必不可少^[17]。同时发现, SKA1的过表达会引起中心体的扩增, 研究通过延时成像记录为前列腺上皮细胞中由SKA1的过度表达通过中心粒的过度复制进而导致中心体扩增提供了直接证据^[17]。此外, 在体外前列腺癌细胞中过表达和基因沉默实验表明, 中心粒过度复制的严重程度与SKA1表达水平具有相关性^[17]。总之, 这些研究结果表明, SKA1的严格监管对控制中心体复制和中心体数量至关重要。

研究表明, 2型糖尿病患者的外周血细胞中心体扩增水平相比正常人增加了2.6倍, 且空腹血糖浓度、糖化血红蛋白所占百分数与中心体扩增率呈现出明显的相关性^[18]。本实验基于2型糖尿病患者体内会表现出高血糖症、高胰岛素血症和游离脂肪酸水平升高的病理生理因素, 采用高糖(15 mmol/L)、胰岛素(5 nmol/L)、棕榈酸(150 μ mol/L)在体外处理细胞的方法进行研究。我们的研究证明, 糖尿病病理生理因素通过纺锤体和动粒相关蛋白1(SK A1)导致中心体的扩增, 从而为糖尿病和糖尿病相关的癌症的发生建立了生物学的联系。

1 材料与方 法

1.1 细胞与试剂

人结肠癌细胞HCT116、人乳腺癌细胞MCF-7

和人宫颈癌细胞Hela为本实验室所保存。DMEM/低糖细胞培养基、DMEM/高糖细胞培养基、胎牛血清(货号: 11012-8611)购自浙江天杭生物科技股份有限公司。青/链霉素混合液(货号: P1400)购自北京索莱宝科技有限公司。细胞裂解液(货号: P0013B)、蛋白酶抑制剂混合物(货号: P1005)、蛋白酶磷酸酶抑制剂混合物(货号: P1045)购自上海碧云天生物技术有限公司。0.22 μm 、0.45 μm PVDF膜购自美国Milipore公司。转染siRNA包括SKA1-siRNA、NC-siRNA均购自生工生物工程(上海)股份有限公司。HRP-山羊抗兔抗体(货号: BA1054)购买自武汉博士德生物有限公司。兔SKA1多克隆抗体(货号: PAB16832)购自美国Abnova公司。兔ACTB多克隆抗体(货号: D110001-0100)购自生工生物工程(上海)股份有限公司。鼠Gamma Tubulin单克隆抗体(货号: ab11316)、兔Anti-Pericentrin抗体(货号: ab4448)、山羊抗鼠(货号: ab150116)荧光二抗购自美国Abcam公司。山羊抗兔(货号: 4412S)荧光二抗购自美国CST公司。胰岛素(货号: P3376-100IU)购自上海碧云天生物技术有限公司。棕榈酸(货号: P5585-25G)购自美国Sigma公司。转染试剂Lipofectamine 2000(货号: 11668-019)购自美国Invitrogen公司。

1.2 细胞培养和实验分组

人结肠癌上皮细胞HCT116、人乳腺癌细胞MCF-7和人宫颈癌细胞Hela置于37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 的恒温培养箱中,用含10%胎牛血清、1%双抗(青/链霉素)的DMEM培养基(低葡萄糖, 1g/L)培养。待细胞融合度达70%~80%后,将细胞分为空白对照组、三因素组、三因素+SKA1 siRNA组、三因素+NC siRNA组。其中,三因素为高糖、高胰岛素、高棕榈酸。

1.3 方法

1.3.1 免疫荧光观察细胞内中心体扩增情况 收集对数期生长的细胞,以每孔 1×10^5 个细胞的密度接种于6孔板内爬片上,设置3个复孔。待细胞贴壁后,进行siRNA转染,并给予三因素处理。处理24 h后,用预冷的PBS进行清洗,用-20 $^{\circ}\text{C}$ 预冷的甲醇丙酮(体积比为1:1)混合液在-20 $^{\circ}\text{C}$ 的冰箱中固定6 min,之后PBS清洗3次(每次10 min)。细胞在0.1% Triton X-100中透化15 min,再次PBS清洗后,使用5%牛血清白蛋白(bovine serum albumin, BSA)来封闭非特异性结合位点。于4 $^{\circ}\text{C}$ 条件下用5% BSA稀释的一抗(山羊抗鼠

Gamma Tubulin 1:1 000; 山羊抗兔Pericentrin 1:2 000)孵育过夜。第2天取出爬片,用PBS洗3次(每次10 min),再用5% BSA稀释的FITC荧光二抗(1:1 000)中室温避光孵育1 h。孵育完成后用PBS洗3次(每次10 min),接下来用DAPI染色封片。在荧光倒置相差显微镜下,用油镜观察各个细胞系的中心体扩增情况,每组200个细胞并记录每个细胞的中心体数目,计算中心体扩增率,每组3个重复。

1.3.2 siRNA转染 首先从培养箱中取出生长为合适汇合度的细胞,轻轻用PBS洗2次,加入无血清、无双抗的低糖培养基1.5 mL。取两个1.5 mL无RNA酶EP管,在250 μL 无血清、无双抗的低糖培养基中,加入10 μL siRNA(2×10^{-10} mol),作为A液,室温静置5 min;在250 μL 无血清、无双抗的低糖培养基中加入5 μL 转染试剂Lipofectamine 2000,作为B液,室温静置5 min。将A液与B液混合后,室温静置20 min。将A、B混合液缓缓加入培养基中,在37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 恒温培养箱中培养4~6 h后,将培养液换为完全培养基,培养箱继续培养24 h后,进行后续实验。siRNA序列如下所示,SKA1-si正义链: 5'-CCC GCU UAA CCU AUA AUC AAA-3',反义链: 5'-UUU GAU UAU AGG UUA AGC GGG-3';阴性对照siRNA正义链: 5'-UUC UCC GAA CGU GUC ACG U-3',反义链: 5'-ACG UGA CAC GUU CGG AGA A-3'。

1.3.3 Western blot检测相关蛋白水平 使用预冷的PBS清洗细胞后,细胞在含有蛋白酶抑制剂与蛋白酶磷酸酶抑制剂的RIPA裂解液中裂解以提取总蛋白,采用BCA测定蛋白浓度,将提取的蛋白裂解液与上样缓冲液按照4:1比例混合后煮沸5 min。将样品按30 μg /孔加入到配好的SDS-PAGE胶中,以浓缩胶80 V分离20 min、分离胶120 V分离90 min电泳分离蛋白。然后通过恒流220 mA电转90 min,将蛋白转移至PVDF膜。用含5%脱脂奶的TBST室温封闭1 h后,将膜与一抗(1:1 000)于4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜。TBST洗涤3次,每次10 min,羊抗兔HRP二抗在室温下孵育1 h, TBST洗涤3次,每次10 min。使用ECL试剂观察PVDF膜上结合的蛋白条带,并迅速用X-射线胶片压片,之后迅速放于显影液中显影,显出条带后,置于清水中以洗去胶片上残留的显影液,之后迅速放于定影液中定影。使用ImageJ软件进行蛋白灰度值分析。

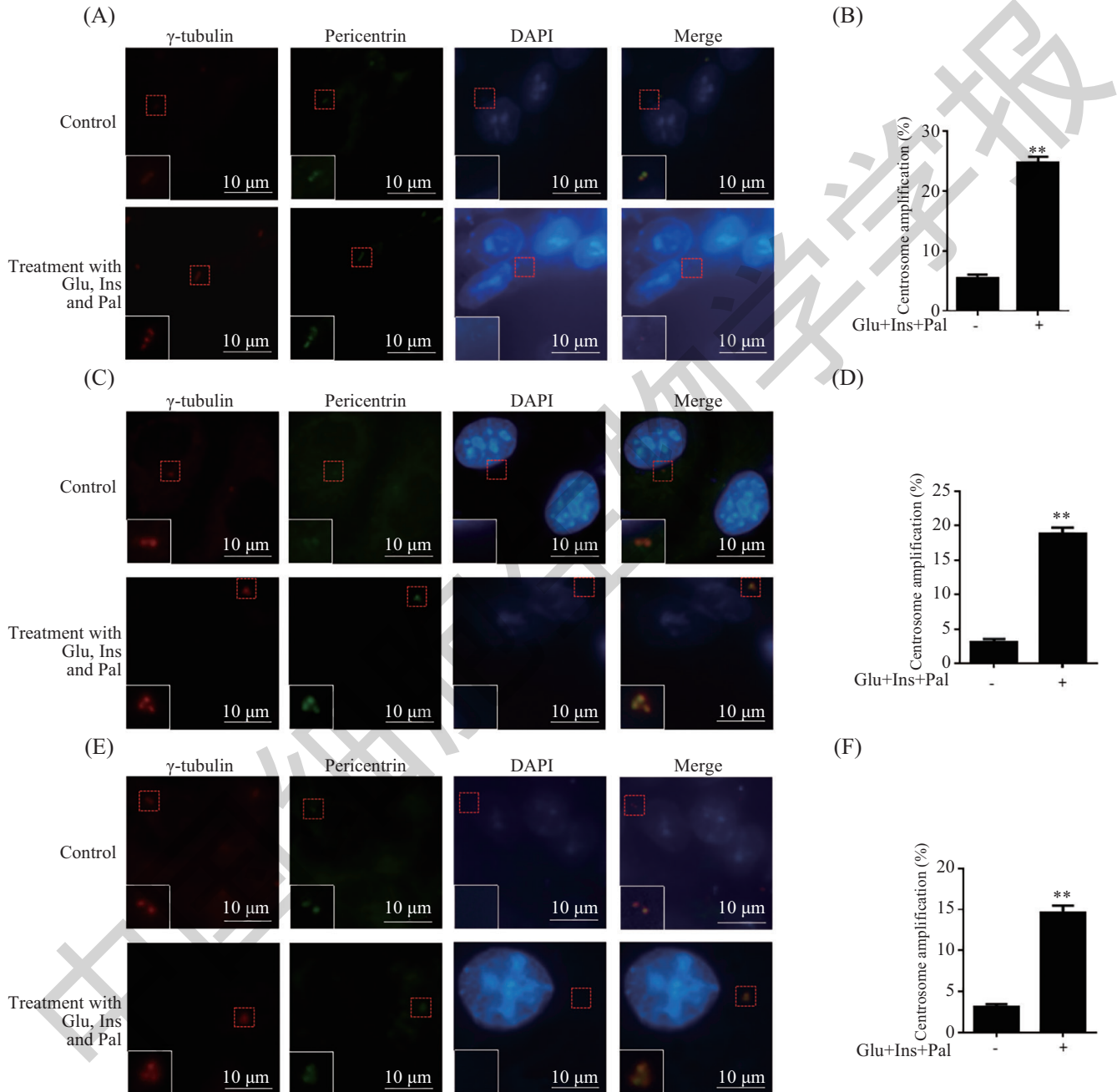
1.4 统计学分析

应用SPSS统计软件进行统计学分析, 采用*t*检验, 单因素方差分析分析数据显著性, 实验数据采用均数±标准差表示, 每个独立实验重复至少3次。 $P<0.05$ 表示差异显著, $P<0.01$ 表示差异极显著。

2 结果

2.1 高糖、胰岛素、棕榈酸诱导HCT116、MCF-7与Hela细胞中心体扩增

用高糖、胰岛素、棕榈酸处理HCT116、MCF-7与Hela细胞, 免疫荧光实验观察和计数中心体。如图1A、

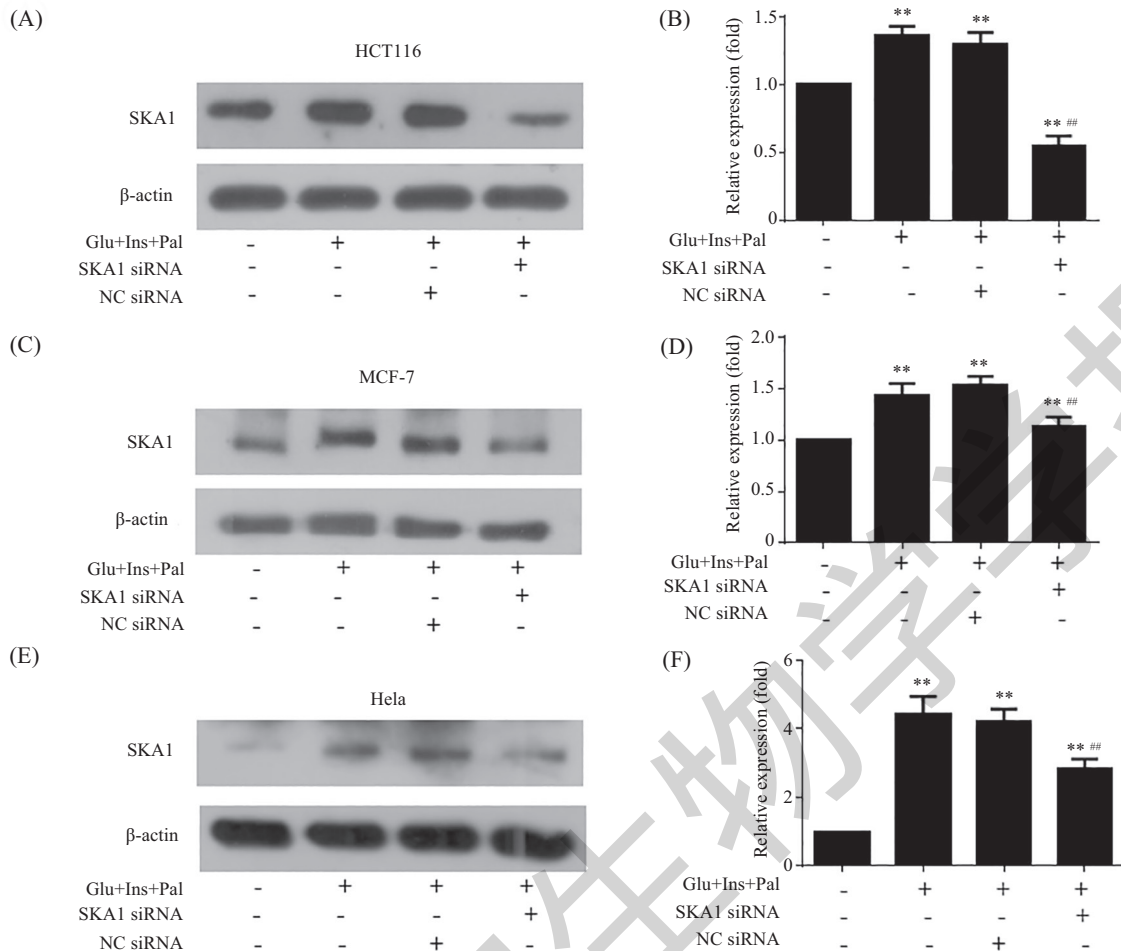


A、C、E为高糖、胰岛素、棕榈酸处理HCT116、MCF-7与Hela细胞中免疫荧光观察出现中心体扩增现象。B、D、F分别为对HCT116、MCF-7与Hela细胞中心体扩增率进行统计的结果, 分别与各自细胞系的对照组相比中心体扩增率显著升高, $**P<0.01$ 。

A, C, and E were high glucose, insulin, and palmitic acid-treated HCT116, MCF-7, and HeLa cells and immunofluorescence observed the phenomenon of centrosome amplification. B, D, and F were the results of statistical analysis of the centrosome amplification rate of HCT116, MCF-7 and HeLa cells, respectively. The rate of centrosome amplification was significantly higher than that of the control group of each cell line, $**P<0.01$.

图1 高糖、胰岛素、棕榈酸处理后免疫荧光观察HCT116、MCF-7、Hela细胞中心体

Fig.1 HCT116, MCF-7 and HeLa were treated with high glucose, insulin and palmitic, and the centrosome amplification was detected by immunofluorescent staining under microscope



A、C、E: Western blot检测HCT116、MCF-7与HeLa细胞系中高糖、胰岛素、棕榈酸处理及在SKA1 siRNA转染后SKA1蛋白水平的变化; B、D、F: 蛋白灰度分析; ** $P < 0.01$, 与对照组相比较; ## $P < 0.01$, 与处理组相比较。

A,C,E: Western blot analysis of high glucose, insulin, palmitic acid treatment in HCT116, MCF-7 and HeLa cell lines and changes in SKA1 protein levels after SKA1 siRNA transfection; B,D,F: gray-value of SKA1 protein level. ** $P < 0.01$ compared with the control group; ## $P < 0.01$ compared with the treated group.

图2 高糖、胰岛素、棕榈酸处理后对SKA1蛋白表达的影响

Fig.2 Effect of high glucose, insulin and palmitic acid on the expression of SKA1 protein

图1C和图1E所示, 蓝色为细胞核, 红色与绿色表示中心体, 在三种细胞系中均出现了中心体扩增现象(图中所示为细胞中发生中心体扩增和正常中心体形态的代表图)。对中心体扩增率进行统计发现, 在HCT116、MCF-7与HeLa细胞中高糖、胰岛素、棕榈酸处理会诱发细胞产生中心体扩增。结果表明, 高糖、胰岛素、棕榈酸处理组中扩增的中心体数目显著高于对照组($P < 0.01$)(图1B、图1D和图1F)。

2.2 高糖、胰岛素、棕榈酸处理促进SKA1的高表达

高糖、胰岛素、棕榈酸处理HCT116、MCF-7与HeLa细胞系, 发现SKA1蛋白较对照组表达增强,

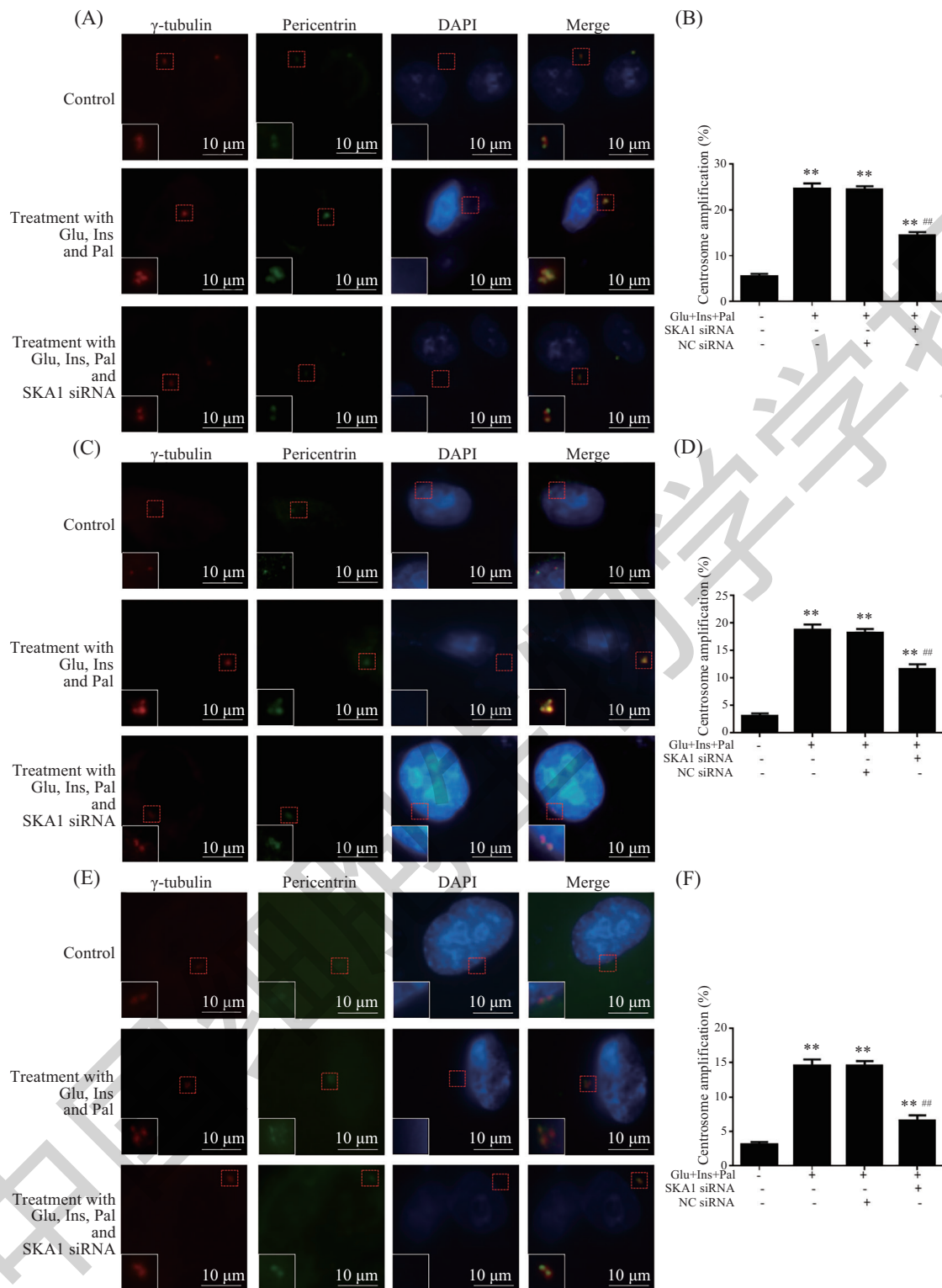
将SKA1 siRNA转染入HCT116、MCF-7与HeLa细胞后, SKA1蛋白在siRNA组中的表达显著低于三因素处理组(图2)。

2.3 SKA1介导中心体扩增

用三因素处理HCT116、MCF-7、HeLa细胞后, 细胞中心体扩增率显著升高($P < 0.01$), 而当加入SKA1 siRNA后, 三因素诱导的中心体扩增明显受到抑制($P < 0.01$), 表明SKA1介导中心体扩增(图3)。

3 讨论

本实验中, 与对照组相比高糖、高胰岛素、高脂肪酸(棕榈酸)三因素处理组出现三个及以上中



A, C, E: 免疫荧光观察在高糖、胰岛素和棕榈酸处理HCT116、MCF-7和Hela及在转染SKA1 siRNA后对中心体扩增的影响; B, D, F: 为在高糖、胰岛素和棕榈酸处理HCT116、MCF-7和Hela及在转染SKA1 siRNA后对中心体扩增数的统计; ** $P < 0.01$, 与对照组相比较; ## $P < 0.01$, 与处理组相比较。

A,C,E: immunofluorescence observation of HCT116, MCF-7 and HeLa treated with high glucose, insulin and palmitic acid and effects on centrosome amplification after transfection of SKA1 siRNA; B,D,F: HCT116 MCF-7 and HeLa were treated with high glucose, insulin and palmitic acid and the number of centrosome amplification after transfection of SKA1 siRNA; ** $P < 0.01$ compared with the control group; ## $P < 0.01$ compared with the treated group.

图3 SKA1介导中心体扩增

Fig.3 SKA1 mediate the centrosome amplification

心体扩增现象。在对中心体扩增率进行统计时发现, 处理组中中心体扩增率较对照组显著升高($P < 0.01$)。在相同处理条件下检测SKA1蛋白表达, 发现SKA1蛋白表达增加, 在加入SKA1的siRNA后, SKA1蛋白表达降低, 免疫荧光观察发现, 中心体扩增被抑制。本实验证明, SKA1参与了糖尿病病生因素诱发的中心体扩增。

纺锤体和动粒相关蛋白1(SKA1)作为一种微管结合蛋白, 定位于纺锤体微管和外动粒界面之间。SKA1招募SKA复合物(SKA1、SKA2和SKA3)结合到微管上, 在有丝分裂期间将动粒和纺锤体微管间联系在一起, 保证了有丝分裂的顺利进行。SKA1的缺失会导致严重的染色体分离缺陷, 而过度表达则导致微管的成核, 这揭示了SKA1在微管组织中的作用^[19-24]。体外实验证明, 在转基因前列腺小鼠模型中, 特异性上调SKA1会促进中心粒的过度复制, 导致自发性肿瘤发生^[17]。此外, SKA1是调控肝癌细胞增殖和凋亡的关键因子, 研究表明, 通过敲低SKA1可以导致细胞周期停滞在G₀/G₁期, 从而抑制肝癌细胞的增殖^[25]。研究表明, SKA1异常表达可能与其他实体瘤如胃癌、口腔腺鳞癌和神经胶质母细胞瘤的发生密切相关^[25-28]。本研究结果表明, SKA1参与了糖尿病的病生因素诱发的中心体扩增。

有研究表明, 细胞调节因子MDM2通过Notch1信号传导参与高葡萄糖诱导的足细胞有丝分裂灾难, 并在此过程中升高了细胞周期蛋白Aurora B的表达^[29]。有文献报道称, Aurora B可以通过磷酸化SKA1从而改变SKA1的定位与功能^[30], 但是并没有研究直接表明糖尿病与SKA1蛋白的关系。在本次实验中, 糖尿病的病生因素是否通过增加MDM2与Aurora B的表达, 从而导致SKA1表达的升高, 还需要更深入的研究。

中心体扩增的机制比较复杂, 目前潜在的机制有: (1)在一个细胞周期中出现中心粒的过度复制; (2)中心粒在S期重头复制; (3)有丝分裂期间中心粒复制, 但细胞没分裂, 即胞质分裂失败及细胞融合, 中心粒不受控制的分裂^[31]。随着研究深入, 越来越多的蛋白可能与之有关, 在分子水平上已经鉴定了许多用于细胞中心体扩增的信号介质。例如, Chk2位于中心体, 并控制亚毒性浓度的羟基脲引起的中心体扩增^[32]。细胞周期蛋白E^[33-35]的过表达也促进中心体扩增。Ras是一种中心体外的蛋白质, 已被证

明会导致中心体扩增^[36]。在OSCC中, 中心体扩增是常见异常现象, 而p53/STK15转激活-非依赖通路可能参与中心体异常的形成, 与之共同参与OSCC的发生^[37]; HPVE6和HPVE7可能通过作用于不同的通路来阻碍中心体的自身平衡^[38]。中心体蛋白PLK4^[13]或Aurora A^[31]过度表达可导致中心体扩增。在此之中, 我们发现, SKA1过表达出现的中心粒结构与PLK4过表达所出现的结构相似, 通过SKA1-GFP(SKA1绿色融合蛋白)与中心粒蛋白Centrin3、Gamma tubulin、Cep135、CP110的共定位表明, SKA1不仅富集在纺锤体微管与外动粒的交界面外, 还富集在中心粒上, 所以SKA1的过表达导致中心粒的过度复制进而导致中心体扩增^[17]。

以上研究结果提示, 糖尿病病理生理因素通过SKA1诱导细胞中心体的扩增, 有实验证明, 中心体扩增能够使正常细胞转化为肿瘤细胞^[13], 所以中心体扩增可能是糖尿病人肿瘤易感性增加的生物学机理。

参考文献 (References)

- 1 Cho NH, Shaw JE, Karuranga S, Huang Y, da Rocha Fernandes JD, Ohlrogge AW, *et al.* IDF Diabetes Atlas: global estimates of diabetes prevalence for 2017 and projections for 2045. *Diabetes Res Clin Pract* 2018; 138: 271-81.
- 2 Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2012; 35 Suppl 1: S64-71.
- 3 Giovannucci E, Harlan DM, Archer MC, Bergenstal RM, Gapstur SM, Habel LA, *et al.* Diabetes and cancer: a consensus report. *CA Cancer J Clin* 2010; 60(4): 207-21.
- 4 Alenzi EO, Madhavan SS, Tan X. Association of the severity of diabetes-related complications with stage of breast cancer at diagnosis among elderly women with pre-existing diabetes. *Breast Cancer Res Treat* 2018; 167(1): 183-93.
- 5 Weiderpass E, Gridley G, Nyren O, Ekblom A, Persson I, Adami HO. Diabetes mellitus and risk of large bowel cancer. *J Natl Cancer Inst* 1997; 89(9): 660-1.
- 6 Nilsen TI, Vatten LJ. Prospective study of colorectal cancer risk and physical activity, diabetes, blood glucose and BMI: exploring the hyperinsulinaemia hypothesis. *Br J Cancer* 2001; 84(3): 417-22.
- 7 Hu FB, Manson JE, Liu S, Hunter D, Colditz GA, Michels KB, *et al.* Prospective study of adult onset diabetes mellitus (type 2) and risk of colorectal cancer in women. *J Natl Cancer Inst* 1999; 91(6): 542-7.
- 8 何润生, 滕俊琳, 陈建国. 中心体复制及调控机制研究进展. *中国细胞生物学学报* (He Runsheng, Teng Junlin, Chen Jianguo. *Advances in research on centrosome replication and regulation. Chinese Journal of Cell Biology*) 2012; 34(12): 1187-96.
- 9 Nigg EA. Centrosome aberrations: cause or consequence of cancer progression? *Nat Rev Cancer* 2002; 2(11): 815-25.

- 10 Duensing S, Lee BH, Dal Cin P, Munger K. Excessive centrosome abnormalities without ongoing numerical chromosome instability in a Burkitt's lymphoma. *Mol Cancer* 2003; 2: 30.
- 11 Nigg EA. Origins and consequences of centrosome aberrations in human cancers. *Int J Cancer* 2006; 119(12): 2717-23.
- 12 Gergely F, Basto R. Multiple centrosomes: together they stand, divided they fall. *Genes Dev* 2008; 22(17): 2291-6.
- 13 Anderhub SJ, Kramer A, Maier B. Centrosome amplification in tumorigenesis. *Cancer Lett* 2012; 322(1): 8-17.
- 14 Basto R, Brunk K, Vinadogrova T, Peel N, Franz A, Khodjakov A, *et al*. Centrosome amplification can initiate tumorigenesis in flies. *Cell* 2008; 133(6): 1032-42.
- 15 Fan G, Sun L, Shan P, Zhang X, Huan J, Zhang X, *et al*. Loss of KLF14 triggers centrosome amplification and tumorigenesis. *Nat Commun* 2015; 6: 8450.
- 16 Godinho SA, Picone R, Burute M, Dagher R, Su Y, Leung CT, *et al*. Oncogene-like induction of cellular invasion from centrosome amplification. *Nature* 2014; 510(7503): 167-71.
- 17 Li J, Xuan JW, Khatamianfar V, Valiyeva F, Moussa M, Sadek A, *et al*. SKA1 over-expression promotes centriole over-duplication, centrosome amplification and prostate tumorigenesis. *J Pathol* 2014; 234(2): 178-89.
- 18 Wang P, Lu YC, Wang J, Wang L, Yu H, Li YF, *et al*. Type 2 diabetes promotes cell centrosome amplification via AKT-ROS-dependent signalling of ROCK1 and 14-3-3 σ . *Cell Physiol Biochem* 2018; 47(1): 356-67.
- 19 Hanisch A, Sillje HH, Nigg EA. Timely anaphase onset requires a novel spindle and kinetochore complex comprising Ska1 and Ska2. *EMBO J* 2006; 25(23): 5504-15.
- 20 Gaitanos TN, Santamaria A, Jeyaprakash AA, Wang B, Conti E, Nigg EA. Stable kinetochore-microtubule interactions depend on the Ska complex and its new component Ska3/C13Orf3. *EMBO J* 2009; 28(10): 1442-52.
- 21 Welburn JP, Grishchuk EL, Backer CB, Wilson-Kubalek EM, Yates JR 3rd, Cheeseman IM. The human kinetochore Ska1 complex facilitates microtubule depolymerization-coupled motility. *Dev Cell* 2009; 16(3): 374-85.
- 22 Chan YW, Jeyaprakash AA, Nigg EA, Santamaria A. Aurora B controls kinetochore-microtubule attachments by inhibiting Ska complex-KMN network interaction. *J Cell Biol* 2012; 196(5): 563-71.
- 23 Schmidt JC, Arthanari H, Boeszoermyeni A, Dashkevich NM, Wilson-Kubalek EM, Monnier N, *et al*. The kinetochore-bound Ska1 complex tracks depolymerizing microtubules and binds to curved protofilaments. *Dev Cell* 2012; 23(5): 968-80.
- 24 Jeyaprakash AA, Santamaria A, Jayachandran U, Chan YW, Benda C, Nigg EA, *et al*. Structural and functional organization of the Ska complex, a key component of the kinetochore-microtubule interface. *Mol Cell* 2012; 46(3): 274-86.
- 25 Qin X, Yuan B, Xu X, Huang H, Liu Y. Effects of short interfering RNA-mediated gene silencing of SKA1 on proliferation of hepatocellular carcinoma cells. *Scand J Gastroenterol* 2013; 48(11): 1324-32.
- 26 Zhang B, Li KY, Chen HY, Pan SD, Jiang LC, Wu YP, *et al*. Spindle and kinetochore associated complex subunit 1 regulates the proliferation of oral adenosquamous carcinoma CAL-27 cells *in vitro*. *Cancer Cell Int* 2013; 13(1): 83-8.
- 27 Sun W, Yao L, Jiang B, Guo L, Wang Q. Spindle and kinetochore-associated protein 1 is overexpressed in gastric cancer and modulates cell growth. *Mol Cell Biochem* 2014; 391(1-2): 167-74.
- 28 Shi X, Chen X, Peng H, Song E, Zhang T, Zhang J, *et al*. Lentivirus-mediated silencing of spindle and kinetochore-associated protein 1 inhibits the proliferation and invasion of neuronal glioblastoma cells. *Mol Med Rep* 2015; 11(5): 3533-8.
- 29 Tang H, Lei CT, Ye C, Gao P, Wan C, Chen S, *et al*. MDM2 is implicated in high-glucose-induced podocyte mitotic catastrophe via Notch1 signalling. *J Cell Mol Med* 2017; 21(12): 3435-44.
- 30 Chan YW, Jeyaprakash AA, Nigg EA, Santamaria A. Aurora B controls kinetochore-microtubule attachments by inhibiting Ska complex-KMN network interaction. *J Cell Biol* 2012; 196(5): 563-71.
- 31 Castellanos E, Dominguez P, Gonzalez C. Centrosome dysfunction in *Drosophila* neural stem cells causes tumors that are not due to genome instability. *Curr Biol* 2008; 18(16): 1209-14.
- 32 Wang CY, Huang EY, Huang SC, Chung BC. DNA-PK/Chk2 induces centrosome amplification during prolonged replication stress. *Oncogene* 2015; 34(10): 1263-9.
- 33 Bagheri-Yarmand R, Biernacka A, Hunt KK, Keyomarsi K. Low molecular weight cyclin E overexpression shortens mitosis, leading to chromosome missegregation and centrosome amplification. *Cancer Res* 2010; 70(12): 5074-84.
- 34 Hinchcliffe EH, Li C, Thompson EA, Maller JL, Sluder G. Requirement of Cdk2-cyclin E activity for repeated centrosome reproduction in *Xenopus* egg extracts. *Science* 1999; 283(5403): 851-4.
- 35 Mussman JG, Horn HF, Carroll PE, Okuda M, Tarapore P, Donehower LA, *et al*. Synergistic induction of centrosome hyperamplification by loss of p53 and cyclin E overexpression. *Oncogene* 2000; 19(13): 1635-46.
- 36 Zeng X, Shaikh FY, Harrison MK, Adon AM, Trimboli AJ, Carroll KA, *et al*. The Ras oncogene signals centrosome amplification in mammary epithelial cells through cyclin D1/Cdk4 and Nek2. *Oncogene* 2010; 29(36): 5103-12.
- 37 卢虹, 杨宏, 蔡扬. 口腔鳞癌中心体扩增与p53 STK15蛋白表达相关性. *中国肿瘤临床*(Lu Hong, Yang Hong, Cai Yang. Correlation between centrosome amplification and expression of p53 STK15 protein in oralsquamous cell carcinoma. *Chinese Journal of Clinical Oncology*) 2013; 40(13): 775-8.
- 38 Zhang Y, Fu R, Liu Y, Li J, Zhang H, Hu X, *et al*. Dephosphorylation and mitochondrial translocation of cofilin sensitizes human leukemia cells to cerulenin-induced apoptosis via the ROCK1/Akt/JNK signaling pathway. *Oncotarget* 2016; 7(15): 20655-68.