

# 葡萄糖、棕榈酸通过ROCK1-KIF2A通路 诱导结肠癌细胞中心体扩增

王朴<sup>1\*</sup> 杜斌<sup>2</sup> 牛紫旭<sup>3</sup> 周飞伦<sup>3</sup> 李少钦<sup>4</sup>

(<sup>1</sup>长治医学院, 基础医学部, 生物教研室, 长治 046000; <sup>2</sup>长治医学院, 基础医学部, 寄生虫教研室, 长治 046000;

<sup>3</sup>长治医学院, 第二临床学院, 长治 046000; <sup>4</sup>江苏师范大学, 生命科学学院, 徐州 211006)

**摘要** 为了研究微管解聚酶KIF2A如何参与葡萄糖、棕榈酸诱导的结肠癌HCT116细胞中心体扩增, 该实验使用葡萄糖(Glu, 25 mmol/L)、棕榈酸(Pal, 150  $\mu$ mol/L)处理HCT116细胞后, 再使用ROCK1抗体免疫沉淀其相互作用蛋白, 并将沉淀结果通过高通量质谱HPLC/MS鉴定。通过Western blot、siRNA、免疫荧光验证ROCK1的相互作用蛋白。结果显示, 在葡萄糖、棕榈酸共同处理后, 中心体定位的ROCK1可结合中心体蛋白定位的微管解聚酶KIF2A。敲降KIF2A的表达可降低葡萄糖、棕榈酸诱导的中心体扩增率。生物信息学分析显示, 癌组织KIF2A的mRNA表达水平较健康组织显著增加(健康组织 $3.275 \pm 0.385$ , Stage I  $4.460 \pm 0.682$ , Stage II  $4.436 \pm 0.620$ , Stage III  $4.365 \pm 0.680$ , Stage IV  $4.442 \pm 0.555$ ,  $P < 0.01$ ), 不同临床分期的结肠癌组织中KIF2A的表达量无显著差异。KIF2A的低表达与结肠癌的不良预后呈正相关(中位生存期为低表达1 765天vs高表达3 042天)。综上所述, ROCK1-KIF2A通路在葡萄糖、棕榈酸诱导的中心体扩增中起到了关键作用, 为糖尿病相关的结肠癌综合防治提供了实验依据。

**关键词** 葡萄糖; 棕榈酸; 中心体扩增; ROCK1; KIF2A

## Glucose and Palmitic Acid Induce Colon Cancer Cell Centrosome Amplification through ROCK1-KIF2A Pathway

WANG Pu<sup>1\*</sup>, DU Bin<sup>2</sup>, NIU Zixu<sup>3</sup>, ZHOU Feilun<sup>3</sup>, LI Shaoqin<sup>4</sup>

(<sup>1</sup>Department of Cell Biology, Faculty of Basic Medicine, Changzhi Medical College, Changzhi 046000, China;

<sup>2</sup>Department of Parasite, Faculty of Basic Medicine, Changzhi Medical College, Changzhi 046000, China;

<sup>3</sup>Second Clinical College, Changzhi Medical College, Changzhi 046000, China;

<sup>4</sup>School of Life Science, Jiangsu Normal University, Xuzhou 211006, China)

**Abstract** This work was to investigate how microtubule depolymerase KIF2A was involved in centrosome amplification induced by glucose and palmitic acid in colon cancer HCT116 cells. HCT116 cells were co-treated with glucose (25 mmol/L) and palmitic acid (150  $\mu$ mol/L), and then immunoprecipitated with ROCK1 antibody, and the precipitation results were identified by high throughput mass spectrometry HPLC/MS. Western blot, siRNA and immunofluorescence were used to verify the interacting proteins of ROCK1. The results showed that the centrosomal located ROCK1 could bind to the centrosomal protein-located microtubule depolymerase KIF2A after treatment with glucose and palmitic acid. Knockdown of KIF2A expression could reduce the amplification rate of centrosomes induced by glucose and palmitic acid. Bioinformatics analysis showed that the mRNA expression level

收稿日期: 2021-01-26 接受日期: 2021-05-20

山西省科技创新项目(批准号: 2020L0373)资助的课题

\*通讯作者。Tel: 15735171988, E-mail: wangpu@czmc.edu.cn

Received: January 26, 2021

Accepted: May 20, 2021

This work was supported by the Science and Technology Innovation Project of Shanxi Province (Grant No.2020L0373)

\*Corresponding author. Tel: +86-15735171988, E-mail: wangpu@czmc.edu.cn

of *KIF2A* in cancer tissue was significantly higher than that in healthy tissue (healthy tissues  $3.275 \pm 0.385$ , Stage I  $4.460 \pm 0.6818$ , Stage II  $4.436 \pm 0.620$ , Stage III  $4.365 \pm 0.680$ , Stage IV  $4.442 \pm 0.555$ ,  $P < 0.01$ ), there is no difference in the expression of *KIF2A* in colon cancer tissues of different clinical stages. The low *KIF2A* expression was positively correlated with poor prognosis of colon cancer (median survival: low expression 1 765 days vs high expression 3 042 days,  $P < 0.01$ ). In conclusion, ROCK1-*KIF2A* pathway plays a key role in centrosome amplification induced by glucose and palmitic acid, which provides experimental basis for comprehensive prevention and treatment of diabetes-related colon cancer.

**Keywords** glucose; palmitic acid; centrosome amplification; ROCK1; *KIF2A*

在中国, 每年新发结肠癌患者为38.8万人, 发病率持续上升, 时至今日, 结肠癌的发病率已跃居第三位<sup>[1]</sup>。近年来临床研究表明, II型糖尿病(type 2 diabetes, T2D)可显著增加(1.5~3.0)倍的结肠癌发生率<sup>[2]</sup>, 与结肠癌的不良预后以及升高的死亡风险存在显著相关性。

中心体扩增诱导的染色体不稳定是结肠癌发生的重要机制。在85%的结肠癌患者中均可观察到染色体不稳定的现象, 非整倍染色体的出现使得结肠肿瘤具有高水平的瘤内异质性, 促进肿瘤的进化, 且与结肠癌的不良预后密切相关。结肠癌中非整倍染色体的出现与高水平的中心体扩增之间具有较强的因果关系。

中心体扩增是指细胞内含有两个以上的中心体数目。扩增的中心体可通过分散、聚集的方式形成异常的纺锤体, 经由多极分裂、伪二级分裂等不对称分裂的方式, 诱导有丝分裂过程中的染色体的不均等分配, 导致子代细胞出现非整倍体<sup>[3]</sup>。癌组织细胞的扩增率与癌症的TNM分期、病理分型、癌症预后等存在显著的正相关。基因过表达、敲除动物模型的研究表明, 体细胞的中心体扩增可诱导染色体的不稳定<sup>[4]</sup>, 致使各种癌症的发生、发展<sup>[5]</sup>。

前期的研究表明, T2D常见病理生理因子葡萄糖(glucose, Glu)、棕榈酸(palmitic acid, Pal)可通过AKT/ROS/ROCK1信号转导通路, 增加HCT116、MCF-7、HeLa等细胞的中心体扩增率<sup>[6]</sup>。

ROCK1(Rho-associated coiled-coil-containing protein kinase 1)是Rho下游的细胞骨架调控蛋白, 与胰岛素抵抗<sup>[7]</sup>、血管功能障碍<sup>[8]</sup>等T2D并发症的发生存在相关性, 是糖尿病治疗的潜在靶点<sup>[9]</sup>。ROCK1的抑制可极显著降低AOM/DSS诱导的小鼠结肠癌发生<sup>[10]</sup>。研究表明, ROCK1的缺失可降低细胞周期相关蛋白Cyclin D1、CDK2及CDK4的表达, 抑制细

胞周期的G<sub>1</sub>/S转换<sup>[11]</sup>, 降低癌细胞的增殖能力, 提示ROCK1可间接影响细胞周期相关蛋白的表达, 从而调控细胞周期的进行。前期研究中, 通过ROCK1与中心体蛋白 $\gamma$ -tubulin的荧光共定位, 我们发现并初步研究了ROCK1的中心体定位以及ROCK1的蛋白表达量对中心体扩增的促进作用。但中心体定位ROCK1诱导中心体扩增的分子机制仍需深入研究。

鉴于此, 我们将使用co-IP与HPLC/MS连用的方式, 发现并鉴定与ROCK1存在相互作用的中心体蛋白, 并初步探讨ROCK1与其潜在下游底物之间的相互作用及其该通路对葡萄糖、棕榈酸诱导结肠癌细胞中心体扩增的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 细胞与试剂

人结肠细胞HCT116购自中国医学科学院。低糖(5 mmol/L)/高糖(25 mmol/L) DMEM培养基、0.25%胰蛋白酶、青/链霉素均购自北京Gibco公司; BSA、细胞转染脂质体Lipofectamine 2000购自Thermo Fisher公司; 免疫沉淀琼脂糖珠IP05购自Millipore公司; 抗*KIF2A*兔抗体(D125969)购自生工生物(上海)股份有限公司; 抗 $\gamma$ -tubulin小鼠单克隆抗体(ab113166)、山羊抗鼠荧光二抗594(ab150116)购自Abcam公司; 抗ROCK1兔抗体(4035)、山羊抗兔荧光二抗488购自CST公司。

### 1.2 实验方法

**1.2.1 细胞培养** HCT116结肠癌细胞培养于37 °C, 胎牛血清含量为10%的低糖DMEM培养基中。棕榈酸使用无水乙醇溶解, 按照摩尔浓度比为1:3的比例与5%的BSA混合, 于37 °C孵育30 min, 使BSA与棕榈酸充分交联。

**1.2.2 免疫荧光检测中心体数目** 细胞培养24 h后更换高糖培养基并加入终浓度为150  $\mu$ mol/L的棕

桐酸。处理48 h后加入-20 °C预冷的甲醇固定细胞, PBS清洗3次, 每次5 min, 0.1% Triton X-100透化细胞10 min, PBS清洗, 3% BSA室温封闭1 h。湿盒4 °C一抗(1:1 000)孵育过夜, 室温避光孵育二抗(1:1 000)1 h, 滴加封片液封片后立即使用显微镜观察, 每个样本观察300个细胞, 统计中心体扩增比例。

**1.2.3 siRNA干扰敲低KIF2A蛋白表达** 细胞铺板后, 当细胞聚合度达到50%左右时, 更换无血清、无双抗培养基并进行转染。使用的siRNA序列如下, *KIF2A*: 5'-CCA CUA GUG GAA ACA AUT T-3'。

**1.2.4 蛋白质免疫印迹(Western blot)检测相关蛋白水平** HCT116细胞处理24 h后, 使用预冷的RIPA裂解液收集细胞, 4 °C、10 000 r/min离心15 min, 100 °C煮沸10 min充分变性蛋白。电泳、转膜后, 5%脱脂牛奶封闭0.45 μmol/L的PVDF膜1 h, 4 °C孵育一抗过夜, TBST清洗3次, 每次5 min, 二抗室温孵育1 h, TBST清洗PVDF膜3次, 每次5 min, 滴加ECL发光液, 使用胶片曝光, 经显影, 定影后, 在扫描仪上扫描胶片。

**1.2.5 KIF2A恢复实验** 构建pcDNA3.1-*KIF2A*过表达质粒, 点突变*KIF2A*的siRNA靶序列为5'-CCC CUC GUU GAA ACA AUT T-3', 提取质粒后使用Lipofectamine 2000转染siRNA及pcDNA3.1-*KIF2A*过表达质粒至HCT116结肠癌细胞, Western blot检验*KIF2A*蛋白表达量, 免疫荧光检测中心体扩增率。

**1.2.6 蛋白免疫共沉淀及高通量质谱检测ROCK1差异结合蛋白** 细胞处理一定时间后丢弃培养基, 每10 cm培养皿中加入1 mL RIPA裂解液, 冰浴裂解30 min, 4 °C、10 000 r/min离心10 min后吸取澄清透明溶液, 加入20 μL琼脂糖珠进行预清除, 冰上摇晃2 h。样品中每1 mg总蛋白加入1 μg的ROCK1抗体, 冰浴4 h, 每组加入30 μL琼脂糖珠冰浴2 h, 用预冷的RIPA裂解液清洗琼脂糖珠3次。Western blot: 每管加入50 μL的2.5× loading buffer, 100 °C煮沸10 min; HPLC/MS: 上一步所得的沉淀经酸洗脱, 干冰中保存并送至上海拜谱生物科技有限公司检测, 鉴定相关蛋白并进行生物信息学分析。

**1.2.7 生物信息学分析*KIF2A*在结肠肿瘤中的mRNA表达量及其与预后的相关性** *KIF2A*在正常组织与肿瘤组织中的mRNA表达量数据来自临床生信之家(www.aclbi.com/static/index.html), mRNA表达量与预后数据来自于HUMAN PROTEIN

ATLAS(<https://www.proteinatlas.org>)。蛋白互作网络使用STRING数据库进行分析(<https://string-db.org>)。

**1.2.8 统计学分析** 实验数据使用Graph pad 8.0进行非参数*t*检验或One-Way ANOVA分析, 结果以平均值±标准差( $\bar{x} \pm s$ )形式呈现。<sup>#</sup>*P*<0.05表示差异显著, <sup>##</sup>*P*<0.01表示差异极显著, \**P*<0.05表示差异显著, \*\**P*<0.01表示差异极显著。

## 2 结果

### 2.1 葡萄糖、棕榈酸诱导结肠癌HCT116细胞中心体扩增

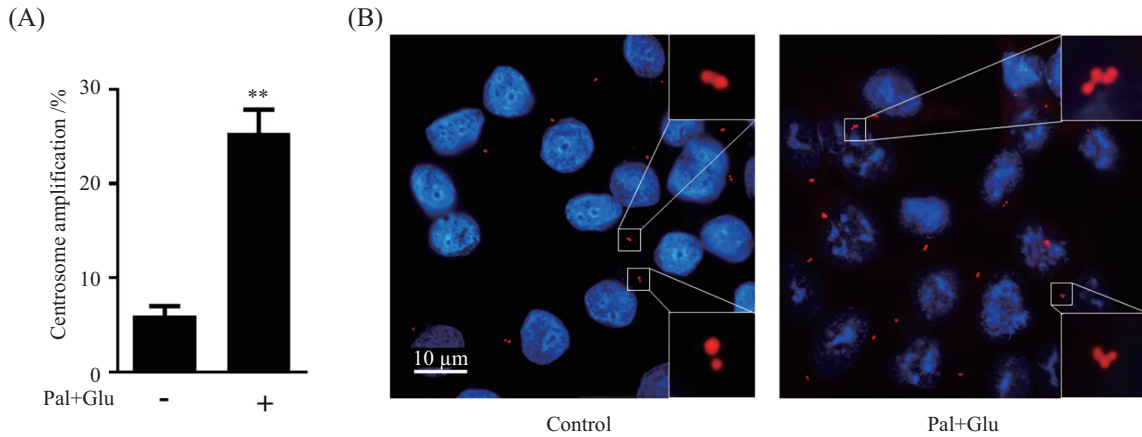
使用葡萄糖(25 mmol/L)、棕榈酸(150 μmol/L)处理HCT116细胞48 h, 可使得HCT116细胞中心体扩增率显著增加(图1A), 中心体扩增如图1B所示。

### 2.2 高通量质谱鉴定ROCK1相互作用中心体蛋白

使用ROCK1抗体进行免疫沉淀, 并进行HPLC/MS鉴定。仅存在于对照组的与ROCK1相互作用的中心体蛋白有ACTR1A、AURKB、MEAF6、NUDT21、NUMA1、RANBP1、TOP2A; 仅存在于处理组与ROCK1相互作用的中心体蛋白有BC-CIP、DCTN2、KIF2A、PLEKHG6、TPR、ZW10; 同时存在于两组与ROCK1相互作用的中心体蛋白有: CALM3、HSPA1B、CCT8、NPM1、HSPA6、CCT4、TCP1、CCT5、MDH1、DHX9、RUVBL2、C14orf166、CROCC、MAPRE1、PAFAH1B1。将上述结果通过STRING数据库进行蛋白相互作用分析。结果如图2所示, 与ROCK1存在相互作用的蛋白存在于两个复合体中, 分别为KIF2A、AURKB、ZW10、DCTN2、ACTR1A、PAFAH1BA、NUMA1构成的复合体与CCT5、CCT8、TCP1、CCT4、HSPA6、HSPA1A、HSPA1B、MDH1构成的复合体。

### 2.3 ROCK1结合KIF2A促进中心体扩增

通过分子对接分析, 我们发现ROCK1与KIF2A存在直接结合的可能。基于生物信息学分析, 首先我们检测了葡萄糖、棕榈酸处理36 h内KIF2A、ROCK1的蛋白表达量, 结果显示, 处理24 h后KIF2A的蛋白表达量显著下降, ROCK1的蛋白表达量显著上调(图3A)。通过co-IP实验, 检验ROCK1与KIF2A的相互作用。葡萄糖、棕榈酸处理后, 使用ROCK1抗体进行免疫共沉淀, 与ROCK1结合的KIF2A的含量显著升高(图3B)。反之, 使用KIF2A的抗体进行免疫共沉淀, 与KIF2A结合的ROCK1的含量显著



A: 葡萄糖、棕榈酸共同处理HCT116细胞48 h诱导中心体扩增; B: 葡萄糖、棕榈酸诱导的HCT116结肠癌细胞中心体扩增示意图。蓝色: DAPI, 红色: 中心体标记蛋白 $\gamma$ -tubulin。 \*\* $P < 0.01$ ,  $n = 3$ 。

A: Glu, Pal co-treatment promote centrosome amplification of HCT116 cancer cells after 48 h treatment; B: diagrammatic drawing of Glu and Pal promoted centrosome amplification. Blue: DAPI, red: centrosome marker  $\gamma$ -tubulin. \*\* $P < 0.01$ ,  $n = 3$ .

图1 葡萄糖、棕榈酸共同诱导HCT116细胞中心体扩增

Fig.1 Glu, Pal promote centrosome amplification of HCT116 cancer cells

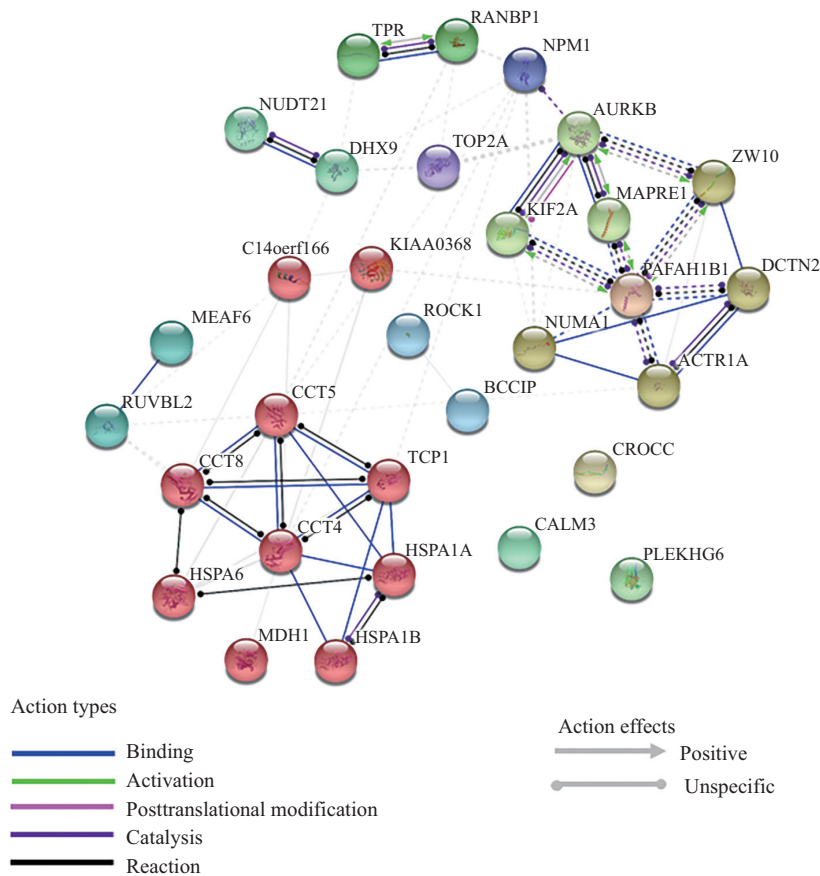
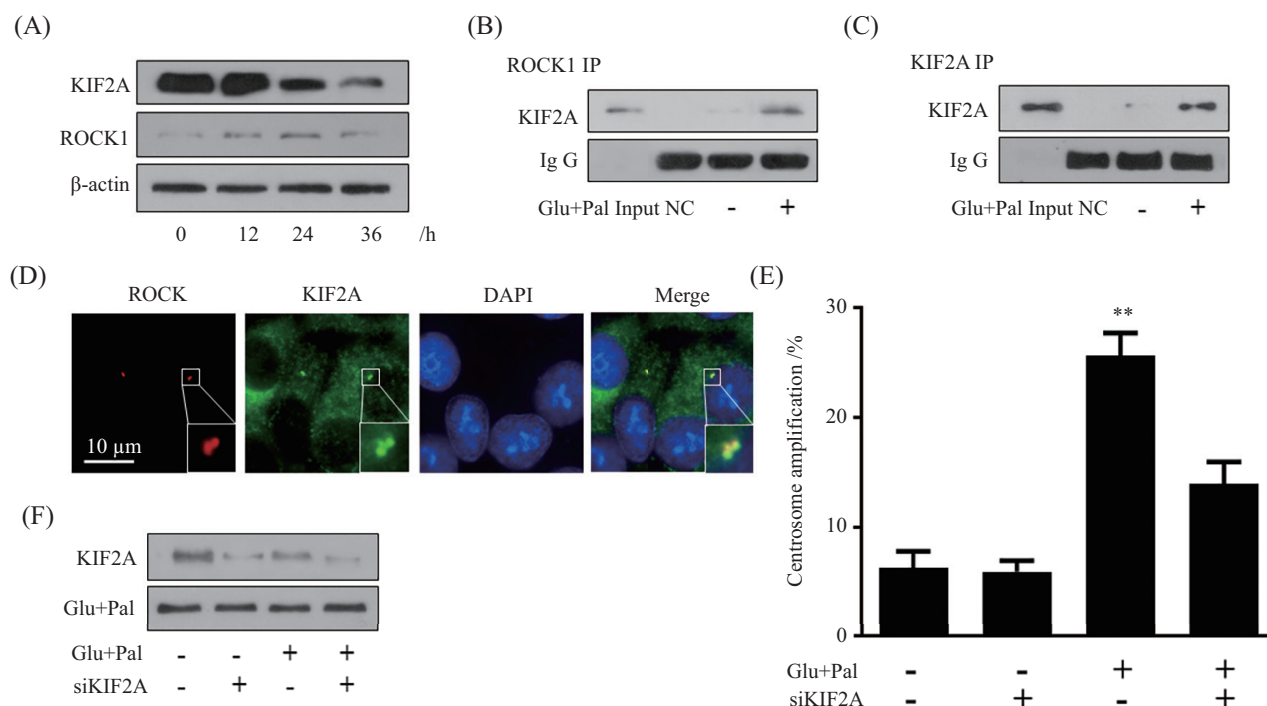


图2 HPLC/MS鉴定的ROCK1结合蛋白生物信息学分析

Fig.2 Bioinformatics analysis of HPLC/MS identified ROCK1 and its interacting proteins

升高(图3C)。ROCK1与KIF2A的相互作用显著增强。使用ROCK1、KIF2A抗体进行免疫荧光共定位,可见ROCK1与KIF2A存在相同中心体定位(图3D)。

siRNA干扰KIF2A的表达可显著降低葡萄糖、棕榈酸引起的中心体扩增,回补野生型KIF2A后中心体扩增被显著抑制(图3E和图3F)。结果提示,中心体定位



A: 葡萄糖、棕榈酸处理0、12、24、36 h后KIF2A、ROCK1的蛋白表达量; B: 使用ROCK1抗体进行免疫沉淀, 检测葡萄糖、棕榈酸处理24 h ROCK1结合KIF2A的蛋白量; C: 使用KIF2A抗体进行免疫沉淀, 检测葡萄糖、棕榈酸处理24 h KIF2A结合ROCK1的蛋白量; D: 免疫荧光共染色检测ROCK1、KIF2A的亚细胞定位; E: siRNA敲降KIF2A, 同时回补野生型KIF2A, 处理48 h后检测HCT116细胞中心体扩增; F: 处理24 h后检测KIF2A的蛋白表达量。\*\* $P < 0.01$ ,  $n = 3$ 。

A: the protein expression of KIF2A, ROCK1 after 12, 24, 36 h treatment of glucose and palmitic acid; B: immunoprecipitation and detect KIF2A protein expression using ROCK1 antibody after 24 h treatment of Pal and Glu; C: immunoprecipitation and detect ROCK1 protein expression using KIF2A antibody after 24 h treatment of Pal and Glu; D: co-immunofluorescence detect the subcellular localization of ROCK1 and KIF2A; E: knock down the expression of KIF2A using siRNA and rescue, detect centrosome amplification after 48 h treatment; F: detect the protein level of ROCK1 after 24 h treatment. \*\* $P < 0.01$ ,  $n = 3$ .

图3 ROCK1结合KIF2A促进中心体扩增

Fig.3 ROCK1 promote centrosome amplification through conjugate KIF2A

的ROCK1可通过结合KIF2A介导中心体扩增。

## 2.4 KIF2A与结肠癌的生物信息学分析

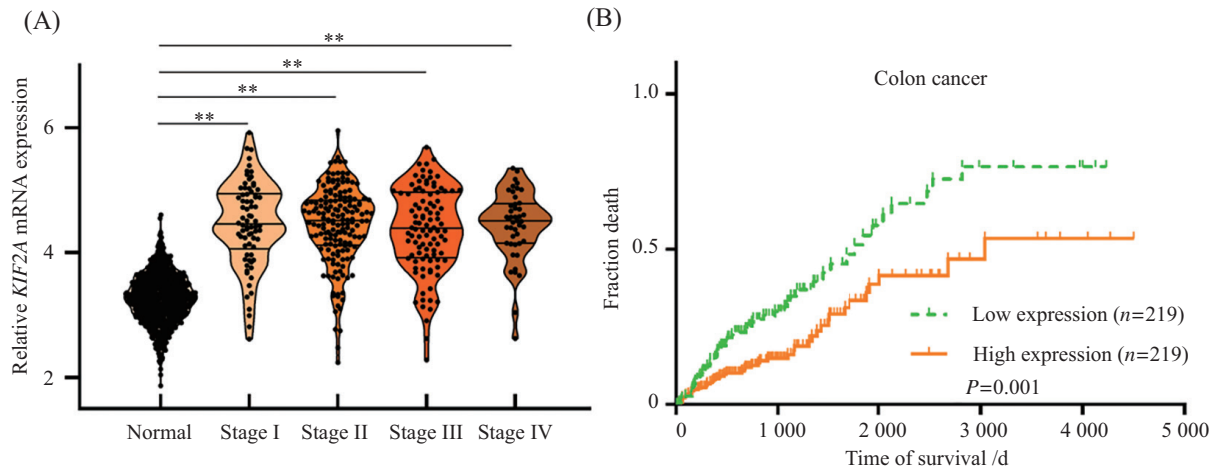
首先我们使用基于TCGA的分析软件分析了KIF2A在455例健康组织与820例结肠癌组织中的mRNA表达水平, 如图4A所示, 癌组织中KIF2A的mRNA水平显著升高(健康组织  $3.275 \pm 0.385$ , Stage I  $4.460 \pm 0.6818$ , Stage II  $4.436 \pm 0.620$ , Stage III  $4.365 \pm 0.680$ , Stage IV  $4.442 \pm 0.555$ ,  $P < 0.01$ ), 不同临床分期的结肠癌组织中KIF2A的mRNA表达无差异。最后我们分析了KIF2A的mRNA表达量与结肠癌预后的相关性, 如图4B所示, KIF2A的低表达与结肠癌的不良预后显著相关, 中位生存期为低表达1 765天 vs 高表达3 042天,  $P = 0.001$ 差异显著。

## 3 讨论

前期的研究中, 我们使用免疫荧光共定位发现

了ROCK1的中心体定位, 但对中心体分布的ROCK1促进细胞中心体扩增的分子机制仍不清楚。通过高通量质谱, 我们鉴定了两个可能与ROCK1存在相互作用的复合体, 首先是分子伴侣复合体, 由CCT4、CCT5、CCT8、TCP1、HSPA1A、HSPA6、HSP1B组成, 通过消耗ATP来促进actin与tubulin的折叠。另一复合体包含KIF2A、DCTN2、AURKB、ZW10、MAPRE1、PAFAH1B1、ACTR1A。它参与调节与细胞器结合, 调节有丝分裂中期染色体排列和纺锤体, 参与微管的中心体锚定。结合co-IP的质谱结果, 我们发现ROCK1可能结合并磷酸化修饰微管解聚酶KIF2A。

KIF2A是驱动蛋白超家族中的一员, 主要位于中心体、纺锤体、间体、细胞质、细胞核; 通过调节细胞微管的解聚与聚合, 促进细胞周期的进行<sup>[12-13]</sup>。临床研究表明: KIF2A的T320L、S317N、H321D突



A: 健康组织与癌组织*KIF2A*的mRNA表达水平分析; B: *KIF2A*的mRNA表达与结肠癌患者预后相关性分析。 \*\* $P < 0.01$ 。

A: bioinformatics analysis of the mRNA level of *KIF2A* in both healthy and colon cancer tissues; B: bioinformatics analysis of the correlation between *KIF2A* mRNA level and prognosis of colon cancer patients. \*\* $P < 0.01$ 。

图4 结肠癌样本中对*KIF2A*进行生物信息学分析

Fig.4 Bioinformatics analysis of *KIF2A* in colon cancer

变可引起新生儿的头小畸形,发育迟缓<sup>[14]</sup>。

在有丝分裂的细胞中, *KIF2A*的表达与细胞纺锤体、染色体稳定密切相关; *KIF2A*的缺失, 常导致细胞周期延长、纺锤体紊乱、染色体不均等分裂<sup>[15]</sup>, 表明*KIF2A*的缺失可降低细胞染色体的稳定性。当细胞进入分裂期, *PLK1*与*Aurora A*则在不同的时期对*KIF2A*的活性进行完全不同的调控。*PLK1*在T554处磷酸化*KIF2A*, 促进*KIF2A*对细胞微管的解聚, 加速细胞的纤毛发生<sup>[16]</sup>。另一中心体相关的激酶*Aurora A*对*KIF2A*的结合却能够抑制其解聚活性, 从而促进微管结构的稳定<sup>[17]</sup>。然而*KIF2A*酶活性的缺失或过度激活均会影响染色体间的微管长度并扰乱中心纺锤体, 导致中心体扩增与细胞的不对称分裂<sup>[18-19]</sup>, *ROCK1*与*ROCK2*存在相似的催化结构域。

在神经细胞中, LPA的刺激可激活*ROCK2*, 直接于T482磷酸化*KIF2A*, 增强*KIF2A*的微管解聚酶活性, 降低微管的稳定性<sup>[20]</sup>。推测*ROCK1*也可能通过类似的分子机制增强*KIF2A*解聚酶活性, 诱导中心体的扩增、染色体不稳定。*ROCK1*如何磷酸化修饰*KIF2A*, 调节其微管解聚酶活性及其解聚酶活性与中心体扩增之间的关系有待进一步探讨。

在葡萄糖、棕榈酸处理后, HCT116细胞中*KIF2A*的蛋白水平显著降低, 进一步使用siRNA敲降*KIF2A*的蛋白表达, 则显著抑制中心体扩增。提示*ROCK1*-*KIF2A*通路促进细胞中心体扩增的方式可能为: *ROCK1*磷酸化激活*KIF2A*, 促进微管的解

聚, 降低微管系统的稳定性, 诱导中心体扩增, 敲降*KIF2A*的表达则有利于维持微管系统的稳定性并抑制葡萄糖、棕榈酸引起的中心体扩增。

在我们的处理模型中, *KIF2A*一定程度的低表达与细胞中心体的扩增存在相关性。基于TCGA的生物信息学的分析显示, 相较于健康组织, 癌组织*KIF2A*的mRNA表达量显著升高, 但*KIF2A*的mRNA水平低表达与结肠癌的不良预后相关, 即*KIF2A*的低表达与结肠癌的不良预后呈正相关。提示II型糖尿病可能通过以下的两种机制促进结肠癌的发展: (1) 在蛋白功能方面, 通过*ROCK1*-*KIF2A*通路, 降低*KIF2A*的微管解聚酶活性; (2) 在转录水平, 降低*KIF2A*的表达量, 降低有丝分裂过程中微管系统的动态调节能力, 诱导中心体扩增、染色体不稳定进而促进结肠癌的发展, 降低结肠癌患者的预后。

综上所述, 我们通过免疫沉淀与高通量质谱的方式鉴定了可能与*ROCK1*存在直接或间接作用的蛋白及复合体。为研究*ROCK1*调节中心体、细胞周期以及染色体稳定性的研究提供了实验基础。

## 参考文献 (References)

- [1] 郑荣寿, 孙可欣, 张思维, 等. 2015年中国恶性肿瘤流行情况分析[J]. 中华肿瘤杂志(ZHENG R S, SUN K, ZHANG S W, et al. Analysis of the prevalence of malignant tumors in China in 2015 [J]. Chinese Journal of Oncology), 2019, 41(1): 19-28.
- [2] KEUM N, BAO Y, SMITH-WARNER S A, et al. Association of physical activity by type and intensity with digestive system cancer risk [J]. JAMA Oncol, 2016, 2(9): 1146-53.

- [3] QUACH C, SONG Y, GUO H, et al. A truncating mutation in the autophagy gene UVRAG drives inflammation and tumorigenesis in mice [J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 5681.
- [4] PAIM L M G, FITZHARRIS G. Tetraploidy causes chromosomal instability in acentriolar mouse embryos [J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 4834.
- [5] AZIZ K, LIMZERWALA J F, STURMLECHNER I, et al. Ccn1 overexpression causes chromosome instability in liver cells and liver tumor development in mice [J]. *Gastroenterology*, 2019, 157(1): 210-26, e12.
- [6] WANG P, LU Y C, WANG J, et al. Type 2 diabetes promotes cell centrosome amplification via AKT-ROS-dependent signalling of ROCK1 and 14-3-3sigma [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 47(1): 356-67.
- [7] COPPS K D, WHITE M F. Regulation of insulin sensitivity by serine/threonine phosphorylation of insulin receptor substrate proteins IRS1 and IRS2 [J]. *Diabetologia*, 2012, 55(10): 2565-82.
- [8] YAO L, CHANDRA S, TOQUE H A, et al. Prevention of diabetes-induced arginase activation and vascular dysfunction by Rho kinase (ROCK) knockout [J]. *Cardiovasc Res*, 2013, 97(3): 509-19.
- [9] HETMANSKI J H R, DE BELLY H, BUSNELLI I, et al. Membrane tension orchestrates rear retraction in matrix-directed cell migration [J]. *Dev Cell*, 2019, 51(4): 460-75, e10.
- [10] YOSHIKAWA T, WU J, OTSUKA M, et al. Repression of microRNA function mediates inflammation-associated colon tumorigenesis [J]. *Gastroenterology*, 2017, 152(3): 631-43.
- [11] TANG L, DAI F, LIU Y, et al. RhoA/ROCK signaling regulates smooth muscle phenotypic modulation and vascular remodeling via the JNK pathway and vimentin cytoskeleton [J]. *Pharmacol Res*, 2018, 133: 201-12.
- [12] HOMMA N, TAKEI Y, TANAKA Y, et al. Kinesin superfamily protein 2A (KIF2A) functions in suppression of collateral branch extension [J]. *Cell*, 2003, 114(2): 229-39.
- [13] TROFIMOVA D, PAYDAR M, ZARA A, et al. Ternary complex of Kif2A-bound tandem tubulin heterodimers represents a kinesin-13-mediated microtubule depolymerization reaction intermediate [J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 2628.
- [14] TIAN G, CRISTANCHO A G, DUBBS H A, et al. A patient with lissencephaly, developmental delay, and infantile spasms, due to *de novo* heterozygous mutation of KIF2A [J]. *Mol Genet Genomic Med*, 2016, 4(6): 599-603.
- [15] ALI A, VEERANKI S N, CHINCHOLE A, et al. MLL/WDR5 complex regulates kif2a localization to ensure chromosome congression and proper spindle assembly during mitosis [J]. *Dev Cell*, 2017, 41(6): 605-22, e7.
- [16] MIYAMOTO T, HOSOBATA K, OCHIAI H, et al. The microtubule-depolymerizing activity of a mitotic kinesin protein kif2a drives primary cilia disassembly coupled with cell proliferation [J]. *Cell Rep*, 2015, 10(5): 664-73.
- [17] JANG C Y, COPPINGER J A, SEKI A, et al. Plk1 and Aurora A regulate the depolymerase activity and the cellular localization of Kif2a [J]. *J Cell Sci*, 2009, 122(Pt 9): 1334-41.
- [18] YI Z Y, MA X S, LIANG Q X, et al. Kif2a regulates spindle organization and cell cycle progression in meiotic oocytes [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 38574.
- [19] UEHARA R, TSUKADA Y, KAMASAKI T, et al. Aurora B and Kif2A control microtubule length for assembly of a functional central spindle during anaphase [J]. *J Cell Biol*, 2013, 202(4): 623-36.
- [20] OGAWA T, HIROKAWA N. Microtubule destabilizer kif2a undergoes distinct site-specific phosphorylation cascades that differentially affect neuronal morphogenesis [J]. *Cell Rep*, 2015, 12(11): 1774-88.