

KIF11通过NLRP3-caspase-1-焦亡途径调节肿瘤微环境促进肾细胞癌细胞生长

魏久富* 李春生 梁梦蝶 李绍林
(赤峰学院附属医院泌尿外科, 赤峰 024000)

摘要 该文旨在探讨驱动蛋白家族成员11(KIF11)对肾细胞癌(RCC)细胞焦亡的影响及潜在机制。将ACHN细胞分为7组: si-KIF11-NC组、si-KIF11组、si-KIF11+Ac-YVAD-CMK组、si-NOD样受体热蛋白结构域相关蛋白3(NLRP3)-NC组、si-NLRP3组、si-NLRP3+si-KIF11组、si-KIF11+MCC950组。逆转录实时荧光定量聚合酶链式反应(RT-qPCR)和蛋白质免疫印迹(Western blot)分析细胞KIF11、NLRP3及焦亡相关基因或蛋白表达情况; 酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒检测细胞胱天蛋白酶-1(caspase-1)活性及白细胞介素-1 β (IL-1 β)、IL-18水平; 流式细胞术检测细胞焦亡率; 克隆形成实验和细胞划痕实验分别检测细胞增殖与迁移情况。结果显示, 与HK-2细胞相比, RCC细胞中KIF11 mRNA和蛋白表达水平升高($P<0.05$), 而caspase-1和NLRP3蛋白表达水平均明显降低($P<0.05$)。与si-KIF11-NC组相比, si-KIF11组caspase-1活性、IL-1 β 水平、IL-18水平、活化型胱天蛋白酶-1(cleaved caspase-1)蛋白水平、N-GSDMD蛋白水平、IL-1 β 蛋白水平、IL-18蛋白水平、细胞焦亡率均明显升高($P<0.05$)。与si-KIF11组相比, si-KIF11+Ac-YVAD-CMK组caspase-1活性、IL-1 β 水平、IL-18水平、cleaved caspase-1蛋白水平、N-GSDMD蛋白水平、IL-1 β 蛋白水平、IL-18蛋白水平、细胞焦亡率均明显降低($P<0.05$)。与si-KIF11组相比, si-NLRP3+si-KIF11组、si-KIF11+MCC950组ACHN细胞中NLRP3、cleaved caspase-1、N-GSDMD、IL-1 β 、IL-18蛋白表达水平均明显降低, 且细胞焦亡率明显降低($P<0.05$)。与si-KIF11-NC组相比, si-KIF11组ACHN细胞克隆形成数量、迁移率均明显降低($P<0.05$)。与si-KIF11组相比, si-KIF11+Ac-YVAD-CMK组、si-NLRP3+si-KIF11组、si-KIF11+MCC950组ACHN细胞克隆形成数量、迁移率均明显增加($P<0.05$)。因此, KIF11敲除可能通过诱导NLRP3炎性小体调控的细胞焦亡, 从而抑制RCC细胞的增殖与迁移。

关键词 肾细胞癌; 焦亡; NLRP3炎症小体; caspase-1

KIF11 Regulates the Tumor Microenvironment Through the NLRP3-caspase-1-Pyroptosis Pathway to Promote Renal Cell Carcinoma Cell Growth

WEI Jiufu*, LI Chunsheng, LIANG Mengdie, LI Shaolin

(Department of Urology, Affiliated Hospital of Chifeng University, Chifeng 024000, China)

Abstract This article aims to explore the effect of KIF11 (kinesin family member 11) on pyroptosis of RCC (renal cell carcinoma) cells and its potential mechanisms. ACHN cells were divided into seven groups: si-

收稿日期: 2026-04-20

接受日期: 2026-05-19

赤峰市科学技术协会2025–2026年度自然科学科研课题立项计划(批准号: SZR2025067)资助的课题

*通信作者。Tel: 19969098321, E-mail: wj1989fu@163.com

Received: April 20, 2026

Accepted: May 19, 2026

This work was supported by the Chifeng City Association for Science and Technology 2025–2026 Natural Science Research Project Approval Plan (Grant No. SZR2025067)

*Corresponding author. Tel: +86-19969098321, E-mail: wj1989fu@163.com

KIF11-NC group, si-KIF11 group, si-KIF11+Ac-YVAD-CMK group, si-NLRP3 (NOD-like receptor thermal protein domain associated protein 3)-NC group, si-NLRP3 group, si-NLRP3+si-KIF11 group, and si-KIF11+MCC950 group. RT-qPCR (reverse transcription quantitative polymerase chain reaction) and Western blot analysis of the expression of KIF11, NLRP3, and pyroptosis-related genes or proteins in cells; ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) kit detection of cell caspase-1 activity and level of IL-1 β (interleukin-1 β) and IL-18; flow cytometry was used to detect the rate of pyroptosis in cells; the colony formation assay and the cell scratch assay were used to detect cell proliferation and migration, respectively. The results showed that, compared with HK-2 cells, RCC cells exhibited increased mRNA and protein expression level of KIF11 ($P<0.05$), alongside significantly reduced protein expression level of caspase-1 and NLRP3 ($P<0.05$). Compared with the si-KIF11-NC group, the si-KIF11 group showed significant increases in caspase-1 activity, IL-1 β level, IL-18 level, cleaved caspase-1 protein level, N-GSDMD protein level, IL-1 β protein level, IL-18 protein level, and the rate of pyroptosis ($P<0.05$). Compared with the si-KIF11 group, the si-KIF11+Ac-YVAD-CMK group showed significantly reduced in caspase-1 activity, IL-1 β level, IL-18 level, cleaved caspase-1 protein level, N-GSDMD protein level, IL-1 β protein level, IL-18 protein level, and the rate of pyroptosis ($P<0.05$). Compared with the si-KIF11 group, the si-NLRP3+si-KIF11 group and the si-KIF11+MCC950 group displayed significantly lower protein expression level of NLRP3, cleaved caspase-1, N-GSDMD, IL-1 β , and IL-18, as well as a significantly reduced rate of pyroptosis in ACHN cells ($P<0.05$). Compared with the si-KIF11-NC group, the si-KIF11 group exhibited a significant decrease in both the number of colonies formed and the migration rate of ACHN cells ($P<0.05$). Compared with the si-KIF11 group, the si-KIF11+Ac-YVAD-CMK group, the si-NLRP3+si-KIF11 group, and the si-KIF11+MCC950 group all showed significant increases in colony formation and migration rates of ACHN cells ($P<0.05$). Therefore, *KIF11* knockout may inhibit the proliferation and migration of RCC cells by inducing pyroptosis regulated by the NLRP3 inflammasome.

Keywords renal cell carcinoma; pyroptosis; NLRP3 inflammasome; caspase-1

肾细胞癌 (renal cell carcinoma, RCC) 是一种起源于肾小管上皮细胞的恶性肿瘤, 是全球十大常见癌症之一^[1]。全球范围内, RCC 约占所有癌症诊断和死亡病例的 2%。在 RCC 的各种亚型中, 透明细胞性 RCC 最为常见, 占有 RCC 病例的 80%~90%^[2]。手术是局限性 RCC 唯一的根治性治疗方法。然而, 约有三分之一接受手术治疗的患者会出现远处部位复发, 一旦疾病进展, 总体预后较差^[3]。因此, 深入了解肿瘤生物学特性将有助于为 RCC 患者提供新的治疗策略。

肿瘤微环境可促进肿瘤的生长、迁移、侵袭和血管生成^[4]。肿瘤微环境的主要特征之一是炎症, 伴随有免疫细胞的激活和促炎细胞因子的产生。细胞焦亡是一种新近被识别的程序性炎症细胞死亡方式, 其特征为细胞肿胀、膜穿孔以及白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、IL-18 等促炎细胞因子的释放^[5]。炎症小体通常由 NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3 (NOD-like receptor thermal protein domain associated protein 3, NLRP3)、凋亡相关蛋

粒样蛋白 (apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD, ASC) 以及效应蛋白 pro-胱天蛋白酶-1 (pro-caspase-1) 组成。激活的 caspase-1 促进促炎细胞因子 IL-1 β 和 IL-18 的释放, 并将 GSDMD 切割成 N-GSDMD, 最终导致细胞焦亡。近来证据证实, 细胞焦亡参与癌症的发展^[6]。值得注意的是, 细胞焦亡既可以抑制肿瘤的发生和发展, 也可能诱导形成有助于肿瘤生长的微环境^[7]。例如, 近期一项研究揭示, 贝沙罗汀可通过诱导细胞焦亡抑制卵巢癌的恶性进展^[8], 而另一项研究则表明, GSDMD 介导的细胞焦亡能促进结直肠癌细胞的增殖并加速其进展^[9]。已证实, NLRP3 炎症小体诱导的细胞焦亡可抑制 RCC 增殖并延缓肿瘤进展^[10-12]。

驱动蛋白家族成员 11 (kinesin family member 11, KIF11) 是一种参与多种细胞过程的分子马达蛋白。KIF11 能够影响中心体的分离以及纺锤体的形成。此外, 有研究表明, KIF11 的缺失会导致细胞分裂缺陷和细胞周期阻滞, 从而诱导细胞凋亡^[13]。多项研究已评估了 KIF11 表达与多种恶性肿瘤 (如前列腺

癌、乳腺癌、恶性胸膜间皮瘤、胃癌等)临床病理特征的相关性^[14]。一项生物信息学分析显示, *KIF11*是与RCC预后显著相关的关键基因,有望成为RCC诊断和治疗的有价值生物标志物^[15]。此外, *KIF11*也被鉴定为是与宫颈癌焦亡相关的关键预后基因和潜在治疗靶点^[16]。然而,在RCC中, *KIF11*在RCC细胞焦亡中的作用尚不明确。因此,本研究旨在探讨*KIF11*影响RCC细胞焦亡的分子机制,以期对RCC的机制研究提供新视角。

1 材料与方

1.1 细胞系与试剂

肾细胞癌细胞系(786-O、ACHN、A498、CAKI-1和OSRC-2)及人肾小管上皮细胞系(HK-2)购自ATCC。786-O和OSRC-2细胞系使用RPMI-1640培养基培养,ACHN和A498细胞系使用含Earle's平衡盐的最低必需培养基培养,CAKI-1细胞则使用McCoy's5A培养基培养。所有培养基均添加10%热灭活胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)和1%链霉素-青霉素。HK-2细胞系在含K-SFM(角质形成细胞无血清培养基)的完全培养基中培养。所有细胞系均在37 °C、含5% CO₂的培养箱中培养。

RPMI-1640培养基、FBS(货号: 118751119、A5256701)购自美国ThermoFisher Scientific公司;靶向*KIF11*和*NLRP3*不同序列的siRNA及阴性对照由上海吉玛制药技术有限公司设计并合成;NLRP3抑制剂MCC950(货号: S7809)购自美国Selleckchem公司; caspase-1特异性抑制剂Ac-YVAD-CMK(货号: N-1330)购自瑞士BaChem公司; TRIzol试剂(货号: 15596026CN)购自美国Invitrogen公司; PrimeScript RT反转录试剂盒、SYBR Premix Ex Taq试剂盒(货号: RR047Q、RR39LR)购自日本TaKaRa公司; StepOnePlus实时PCR系统(货号:)购自美国Applied Biosystems公司; IL-18、IL-1 β 酶联免疫吸附测定(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)试剂盒(货号: PI558、PI305)和caspase-1活性检测试剂盒(货号: C1102)购自上海碧云天科技有限公司; 抗*KIF11*、抗caspase-1、抗IL-1 β 、抗IL-18、抗N-GSDMD、抗GAPDH的一抗(货号: ab254298、ab207802、ab283818、ab243091、ab219800、ab181602)和山羊抗兔二抗(货号: ab6721)购自美国Abcam公司; 抗cleaved caspase-1、抗NLRP3的一抗(货号: #4199、

#13158)购自美国Cell Signaling Technology公司。

1.2 细胞分组及处理

将ACHN细胞分为7组: si-KIF11-NC组(转染si-KIF11-NC)、si-KIF11组(转染si-KIF11)、si-KIF11+Ac-YVAD-CMK组(转染si-KIF11后,用20 μ mol/L的caspase-1特异性抑制剂处理2 h^[17])、si-NLRP3-NC组(转染si-NLRP3-NC)、si-NLRP3组(转染si-NLRP3)、si-NLRP3+si-KIF11组(共转染si-NLRP3和si-KIF11)、si-KIF11+MCC950组(转染si-KIF11后,用20 μ mol/L的NLRP3炎症小体特异性抑制剂MCC950处理2 h^[18])。对于细胞转染,将ACHN细胞(每孔 2×10^5 细胞)培养于6孔板中,并根据制造商说明书,使用Lipofectamine 2000试剂盒将靶向*KIF11*(si-KIF11)或*NLRP3*(si-NLRP3)的siRNA及相应的阴性对照(si-KIF11-NC、si-NLRP3-NC)分别转染至细胞。37 °C孵育6 h后更换培养基,细胞继续培养42 h,用于后续实验。

1.3 逆转录实时荧光定量聚合酶链式反应(reverse transcription quantitative polymerase chain reaction, RT-qPCR)

使用TRIzol试剂从细胞系中提取总RNA。通过分光光度法测定RNA的浓度和纯度,按照PrimeScript RT逆转录试剂盒说明书操作,将RNA逆转录为互补DNA。RT-qPCR分析使用SYBR Premix Ex Taq试剂盒和StepOnePlus实时PCR系统进行。所有结果均以*GAPDH*为内参进行标准化,并使用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法确定基因的相对表达量。目的基因引物由上海生物工程技术有限公司设计。

1.4 蛋白质免疫印迹(Western blot)分析

收集细胞,用含苯甲基磺酰氟的RIPA裂解缓冲液裂解。使用二喹啉酸钾蛋白测定试剂盒测定蛋白浓度。取等量总蛋白通过10%十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳进行分离,然后将其转移至聚偏氟乙烯膜上。用5%脱脂牛奶在室温下封闭1 h后,将膜与一抗(稀释比例均为1:1 000)在4 °C下孵育过夜。随后,将膜与二抗(1:5 000)在37 °C下孵育1 h。经化学发光试剂显色、成像后,使用ImageJ软件分析目的蛋白条带的灰度值(*GAPDH*为内参)。

1.5 caspase-1活性测定

使用Caspase-Glo[®] 1炎症小体检测试剂盒评估细胞上清液中的caspase-1活性。简言之,将细胞接种于96孔板中,每孔加入Caspase-Glo[®] 1试剂。然后在室温下孵育1 h。随后,在室温下以5 00 r/min振荡培

养板5 min, 再在室温下孵育30 min。使用多功能酶标仪(Victor X, PerkinElmer, 美国)检测吸光度(D)值, 并根据标准曲线计算其活性。

1.6 ELISA分析

使用ELISA试剂盒按照制造商说明书检测细胞培养上清液中IL-1 β 、IL-18的水平。收集ACHN细胞上清液于离心管中, 4 °C、500 \times g离心3 min。将待测样本或不同浓度的标准品按每孔100 μ L加入对应反应孔中, 室温孵育2 h。洗板6次并拍干。加入生物素化抗体(每孔100 μ L), 室温孵育1 h。洗板6次并拍干。加入辣根过氧化物酶标记的链霉亲和素(每孔100 μ L), 室温避光孵育20 min。加入显色剂TMB溶液(每孔100 μ L), 室温避光孵育20 min。加入终止液(每孔50 μ L), 混匀后立即于450 nm波长处测定吸光度(D)值, 绘制标准曲线计算IL-1 β 、IL-18水平。

1.7 流式细胞术

收集细胞时, 在37 °C下使用0.25%胰酶消化贴壁细胞3 min, 并轻柔吹打将其制成单细胞悬液, 4 °C、1 000 r/min离心5 min, 弃去上清液收集细胞沉淀。用预冷的磷酸盐缓冲液洗涤2次, 4 °C、1 000 r/min再次离心5 min后弃上清。将适量的FAM-YVAD-FMK(caspase-1特异性标记物)工作液和碘化丙啶(propidium iodide, PI)工作液加入到细胞沉淀中, 轻轻混匀后, 在37 °C、5% CO₂的细胞培养箱中避光孵育30 min, 再次用磷酸盐缓冲液洗涤并重悬, 使用流式细胞仪(CytoFLEX LX型)进行检测。FAM-YVAD-FMK和PI双染的细胞即为焦亡细胞。

1.8 克隆形成实验

将ACHN细胞接种于6孔板。细胞贴壁后, 按分组情况处理细胞。然后, 在37 °C下用0.25%胰蛋白酶消化收集细胞, 并用培养基重悬。随后, 按照1 000/孔的密度将其接种于6孔板中, 在无药的完全培养基中培养10 d。最后, 用4%多聚甲醛室温固定集落15 min, 并用结晶紫溶液在室温下进行染色20 min。在显微镜(Olympus, 日本)下计数阳性集落(>50/集落)的数量。

1.9 细胞划痕实验

本研究将ACHN细胞接种于6孔板, 在含10% FBS的培养基中过夜培养。然后, 按分组情况处理细胞。用200 μ L移液器吸头划出划痕, 并用磷酸盐缓冲液洗涤去除细胞碎片。随后, 将上清液更换为无血清培养基。分别在0 h和24 h使用显微镜(放大倍数, \times 200; BX53型, Olympus, 日本)拍摄划痕间隙。

1.10 统计分析

使用SPSS 20.0软件进行统计分析。所有实验至少重复3次。数据以均值 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示。两组间比较采用Student's t 检验。多组间比较采用单因素方差分析, 使用Tukey差异检验进行事后比较。统计学显著性设定为 $P<0.05$ 。

2 结果

2.1 KIF11在RCC细胞系中表达上调, 而caspase-1和NLRP3表达下调

RT-qPCR和蛋白质免疫印迹分析结果显示, 与HK-2细胞相比, 各RCC细胞系中KIF11 mRNA和蛋白表达水平均增加($P<0.05$), 其中ACHN细胞中KIF11表达水平最高。同时, 蛋白质免疫印迹分析显示, 与HK-2细胞相比, ACHN细胞中cleaved caspase-1和NLRP3蛋白表达水平明显降低($P<0.05$)。因此, 本研究选择ACHN细胞系进行后续实验。见图1。

2.2 si-KIF11和si-NLRP3在细胞中的转染鉴定

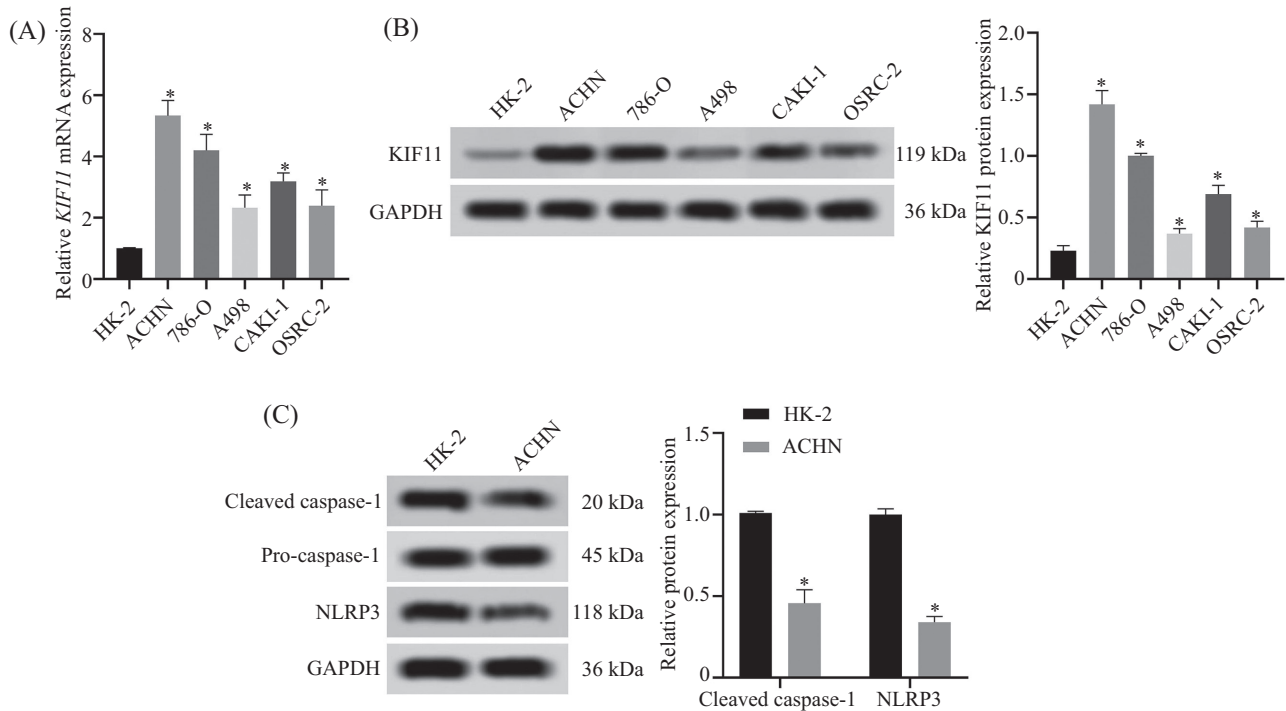
为验证si-KIF11和si-NLRP3在细胞中的转染效率, 本研究进行了RT-qPCR和蛋白质免疫印迹分析。结果显示, 与si-KIF11-NC组相比, si-KIF11组ACHN细胞中KIF11 mRNA和蛋白表达水平均明显降低($P<0.05$)。与si-NLRP3-NC组相比, si-NLRP3组ACHN细胞中NLRP3 mRNA和蛋白表达水平均明显降低($P<0.05$), 说明si-KIF11和si-NLRP3在ACHN细胞中转染成功。见图2。

2.3 KIF11敲除可激活caspase-1依赖性细胞焦亡

为验证KIF11敲除对caspase-1依赖性细胞焦亡的影响, 本研究进行了ELISA检测、蛋白质免疫印迹分析以及流式细胞术检测。结果显示, 与si-KIF11-NC组相比, si-KIF11组caspase-1活性及IL-1 β 、IL-18水平明显增加($P<0.05$), cleaved caspase-1、N-GSDMD、IL-1 β 、IL-18蛋白表达水平和细胞焦亡率明显升高($P<0.05$)。与si-KIF11组相比, si-KIF11+Ac-YVAD-CMK组caspase-1活性及IL-1 β 、IL-18水平明显降低($P<0.05$), cleaved caspase-1、N-GSDMD、IL-1 β 、IL-18蛋白表达水平及细胞焦亡率明显降低($P<0.05$), 说明敲除KIF11可激活caspase-1依赖性细胞焦亡。见图3。

2.4 KIF11敲除可通过上调NLRP3诱导细胞焦亡

为验证KIF11敲除是否是通过NLRP3诱导的细



A: 各RCC细胞系中 *KIF11* mRNA 相对表达水平; B: Western blot 分析各 RCC 细胞系中 KIF11 蛋白表达水平; C: Western blot 分析各组细胞中 cleaved caspase-1、NLRP3 蛋白表达水平; * $P < 0.05$, 与 HK-2 细胞相比。 $\bar{x} \pm s$, $n = 3$ 。

A: relative expression levels of *KIF11* mRNA in various RCC cell lines; B: Western blot analysis of KIF11 protein expression in various RCC cell lines; C: Western blot analysis of cleaved caspase-1 and NLRP3 protein expression levels in different groups of cells; * $P < 0.05$ compared with HK-2 cells. $\bar{x} \pm s$, $n = 3$.

图1 KIF11在RCC细胞系中表达上调, 而cleaved caspase-1和NLRP3表达下调

Fig.1 KIF11 is upregulated in RCC cell lines, while cleaved caspase-1 and NLRP3 are downregulated

胞焦亡, 本研究设置了回复实验, 进行了蛋白质免疫印迹分析以及流式细胞术检测。结果显示, 与 si-NLRP3-NC 组相比, si-NLRP3 组 ACHN 细胞中 NLRP3、cleaved caspase-1、N-GSDMD、IL-1 β 、IL-18 蛋白表达水平均明显降低, 且细胞焦亡率明显降低 ($P < 0.05$); 与 si-NLRP3 组相比, si-KIF11 部分逆转了 si-NLRP3 组上述指标变化 ($P < 0.05$)。与 si-KIF11 组相比, si-NLRP3+si-KIF11 组、si-KIF11+MCC950 组 ACHN 细胞中 NLRP3、cleaved caspase-1、N-GSDMD、IL-1 β 、IL-18 蛋白表达水平均明显降低, 且细胞焦亡率明显降低 ($P < 0.05$), 说明 *KIF11* 敲除可通过上调 NLRP3 诱导细胞焦亡。见图 4。

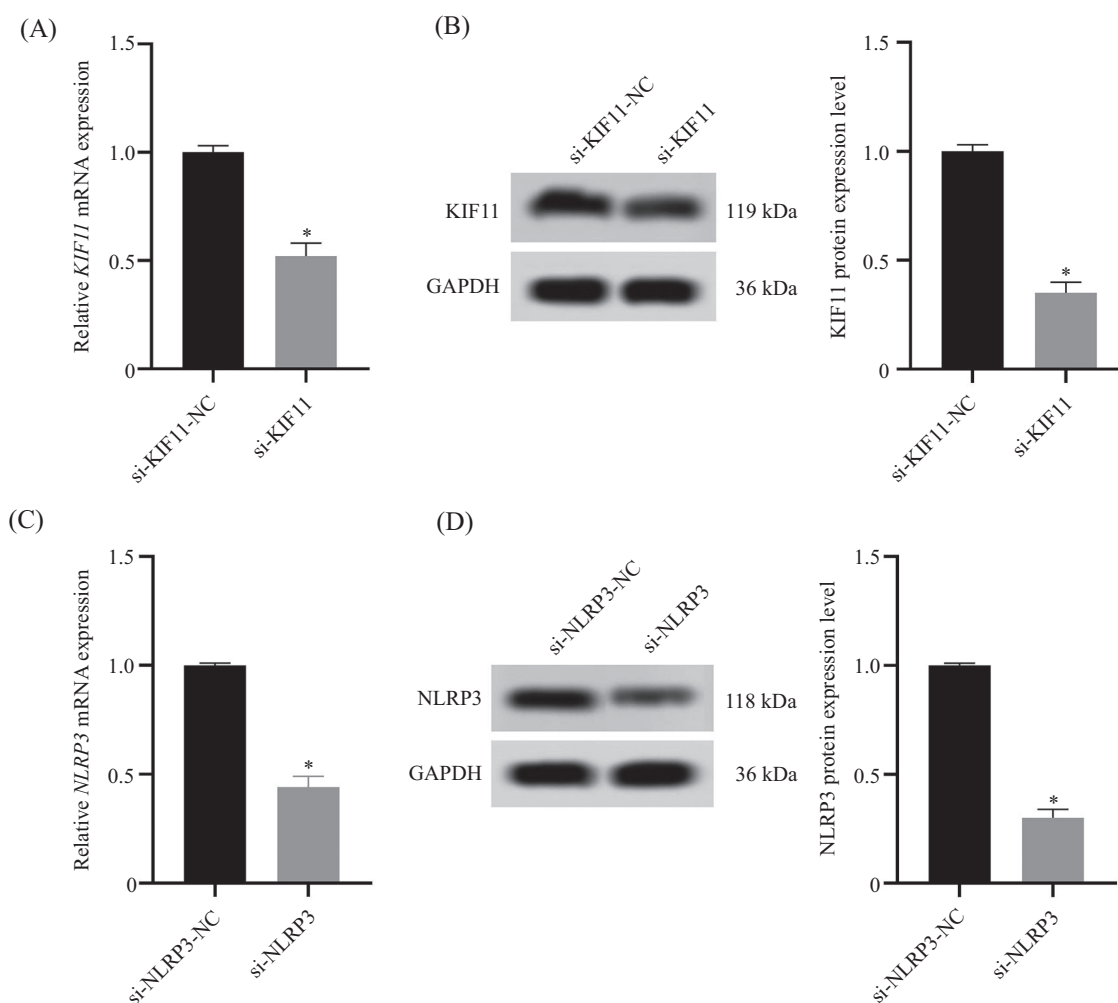
2.5 *KIF11* 敲除可通过上调 NLRP3 诱导焦亡抑制细胞的增殖和转移

为验证 *KIF11* 敲除是否可通过上调 NLRP3 诱导焦亡抑制细胞的增殖和转移, 本研究设置了回复实验, 进行了克隆形成实验和细胞划痕实验。结果显示, 与 si-KIF11-NC 组相比, si-KIF11 组 ACHN 细胞克隆形成数量、迁移率均明显降低 ($P < 0.05$)。与

si-KIF11 组相比, si-KIF11+Ac-YVAD-CMK 组、si-NLRP3+si-KIF11 组、si-KIF11+MCC950 组 ACHN 细胞克隆形成数量、迁移率均明显增加 ($P < 0.05$), 说明 *KIF11* 敲除可通过上调 NLRP3 诱导焦亡, 从而抑制细胞的增殖和转移。见图 5。

3 讨论

尽管近几十年来 RCC 诊疗技术不断进步, 但发生远处转移的患者预后仍然不佳。因此, 深入了解其分子机制并制定有效治疗策略至关重要。KIF11 作为癌症治疗新靶点, 在多种肿瘤中表达异常并促进疾病进展^[19], 其高表达常预示不良预后。例如, 在 多形性胶质母细胞瘤中, KIF11 高表达可驱动肿瘤细胞增殖与迁移, 而抑制 KIF11 可削弱其起始和自我更新能力^[20]。在口腔癌中, KIF11 高表达亦与不良预后显著相关^[21]。然而, KIF11 在 RCC 发生发展中的作用尚不明确。研究显示, KIF11 的高表达预示着 RCC 患者的不良预后^[22]。与该研究结果一致, 本研究也发现, RCC 细胞中 KIF11 的表达水平高于正常肾上皮细



A: 各组细胞*KIF11* mRNA相对表达水平; B: Western blot分析各组细胞*KIF11*蛋白表达水平; C: 各组细胞*NLRP3* mRNA相对表达水平; D: Western blot分析各组细胞*NLRP3*蛋白表达水平。* $P < 0.05$ 。 $\bar{x} \pm s$, $n = 3$ 。

A: relative expression level of *KIF11* mRNA in cells of each group; B: Western blot analysis of *KIF11* protein expression level in cells of each group; C: relative expression level of *NLRP3* mRNA in cells of each group; D: Western blot analysis of *NLRP3* protein expression level in cells of each group. * $P < 0.05$. $\bar{x} \pm s$, $n = 3$.

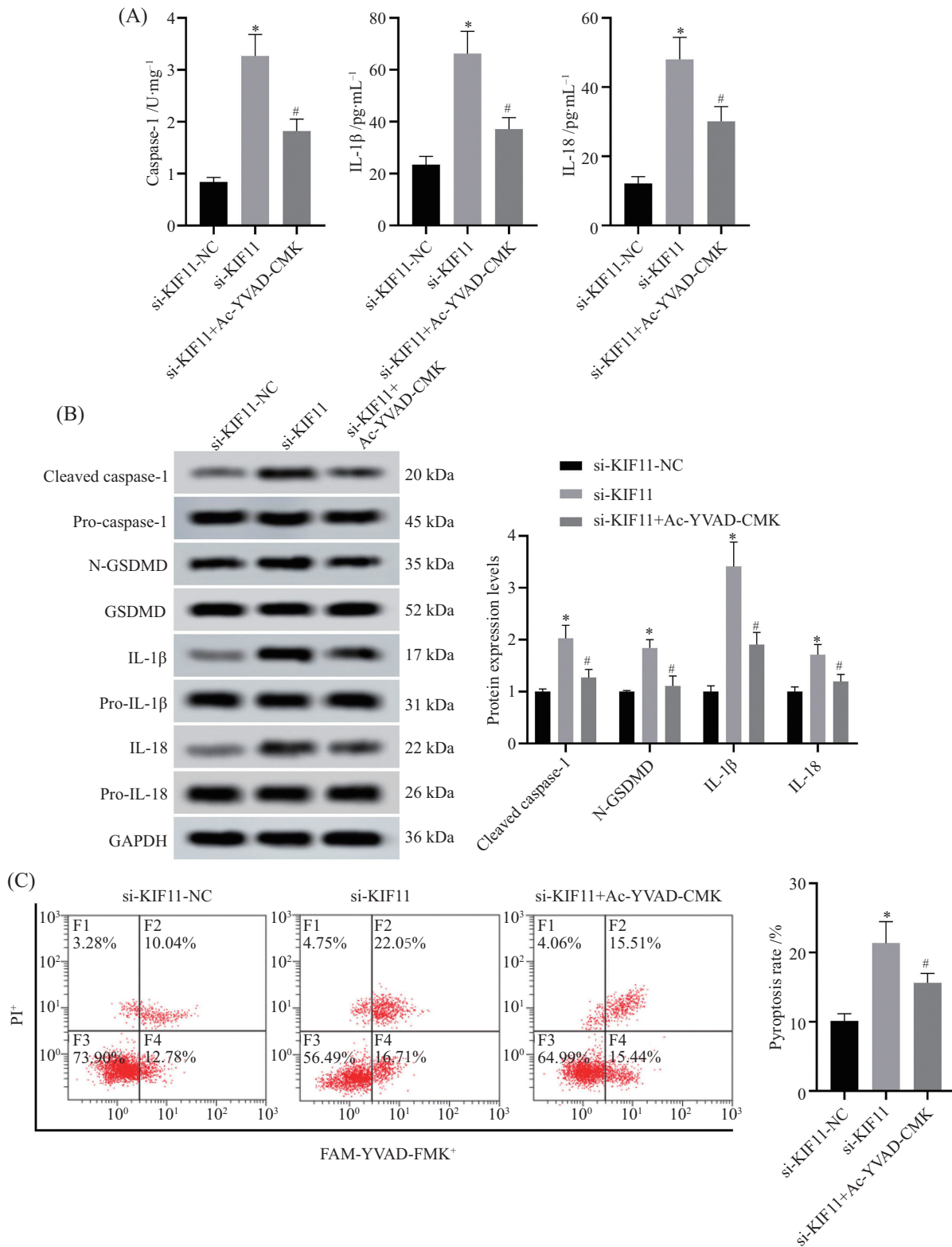
图2 si-KIF11和si-NLRP3在细胞中的转染鉴定

Fig.2 Transfection verification of si-KIF11 and si-NLRP3 in cells

胞, 而敲除*KIF11*则降低了其增殖和迁移能力, 提示*KIF11*可能作为致癌基因在RCC中发挥作用。

近年来, 焦亡相关机制被用于预测RCC的肿瘤微环境。细胞焦亡能促进抗肿瘤免疫、抑制肿瘤增殖, 部分药物可通过诱导焦亡实现抗癌效果^[5]。研究表明, RCC与焦亡密切相关。例如, 在RCC中, STING的耗竭通过诱导GSDMD依赖细胞焦亡产生抗肿瘤效应^[23]; 而Linc00023下调可能通过减少细胞焦亡促进RCC恶性进展^[24]。因此, 深入探究焦亡有望为RCC提供新治疗策略。本研究发现, 敲除细胞中的*KIF11*可促进RCC细胞焦亡, 提示*KIF11*可能通过抑制细胞焦亡促进RCC的进展。

NLRP3炎症小体是启动焦亡的关键上游调控节点。NLRP3识别内源性或外源性危险信号后, 通过适配蛋白ASC招募并激活caspase-1, 活化的caspase-1一方面切割pro-IL-1 β 和pro-IL-18产生成熟炎症因子IL-1 β 和IL-18, 另一方面切割GSDMD释放具有成孔活性的N-GSDMD片段, 导致细胞膜穿孔、内容物外泄及促炎因子释放, 最终引发焦亡性细胞死亡^[25-26]。在RCC肿瘤样本中NLRP3呈低表达, 提示其在RCC中可能起肿瘤抑制作用^[27]。本研究发现, 敲除*KIF11*可显著上调NLRP3表达, 并提升caspase-1、IL-1 β 、IL-18及N-GSDMD水平, 从而诱导焦亡, 这与唐洁等^[28]研究中沉默*KIF11*可提高肾透明细

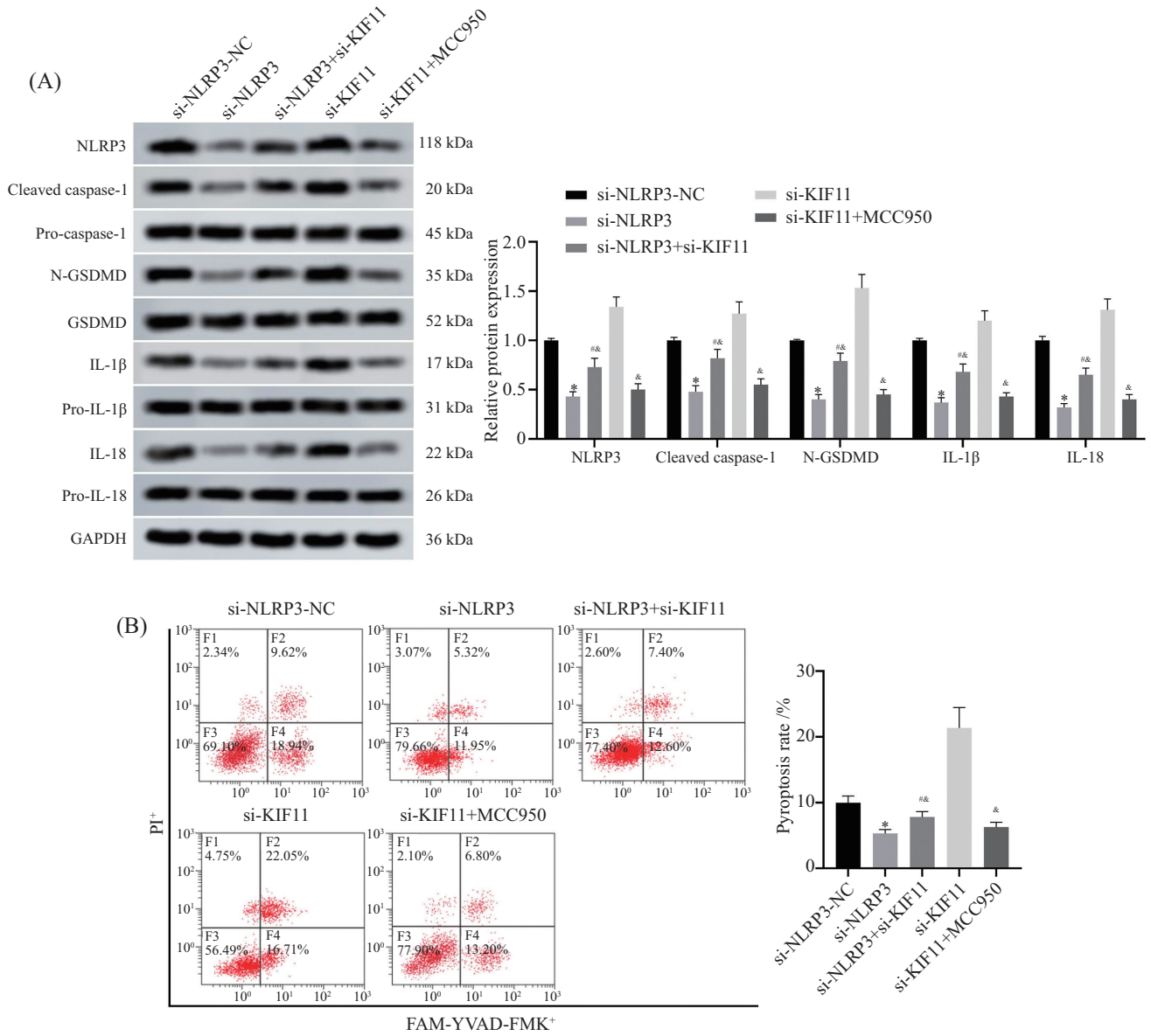


A: 各组细胞caspase-1活性及IL-1 β 、IL-18水平比较; B: Western blot分析各组细胞cleaved caspase-1、N-GSDMD、IL-1 β 、IL-18蛋白水平; C: 各组细胞焦亡率比较; * P <0.05, 与si-KIF11-NC组相比; # P <0.05, 与si-KIF11组相比。 $\bar{x} \pm s$, $n=3$ 。

A: comparison of caspase-1 activity and IL-1 β , IL-18 levels in cells of each group; B: Western blot analysis of cleaved caspase-1, N-GSDMD, IL-1 β , and IL-18 protein levels in cells of each group; C: comparison of pyroptosis rates in cells of each group; * P <0.05 compared with the si-KIF11-NC group; # P <0.05 compared with the si-KIF11 group. $\bar{x} \pm s$, $n=3$.

图3 KIF11敲除可激活caspase-1依赖性细胞焦亡

Fig.3 KIF11 knockout can activate caspase-1-dependent pyroptosis



A: Western blot analysis of NLRP3, cleaved caspase-1, N-GSDMD, IL-1β, and IL-18 protein expression levels in each group of cells; B: comparison of pyroptosis rates in each group of cells; * $P < 0.05$, with si-NLRP3-NC group compared; # $P < 0.05$, with si-NLRP3 group compared; & $P < 0.05$, with si-KIF11 group compared. $\bar{x} \pm s, n = 3$.

A: Western blot analysis of NLRP3, cleaved caspase-1, N-GSDMD, IL-1β, and IL-18 protein expression levels in each group of cells; B: comparison of pyroptosis rates in each group of cells; * $P < 0.05$ compared with the si-NLRP3-NC group; # $P < 0.05$ compared with the si-NLRP3 group; & $P < 0.05$ compared with the si-KIF11 group. $\bar{x} \pm s, n = 3$.

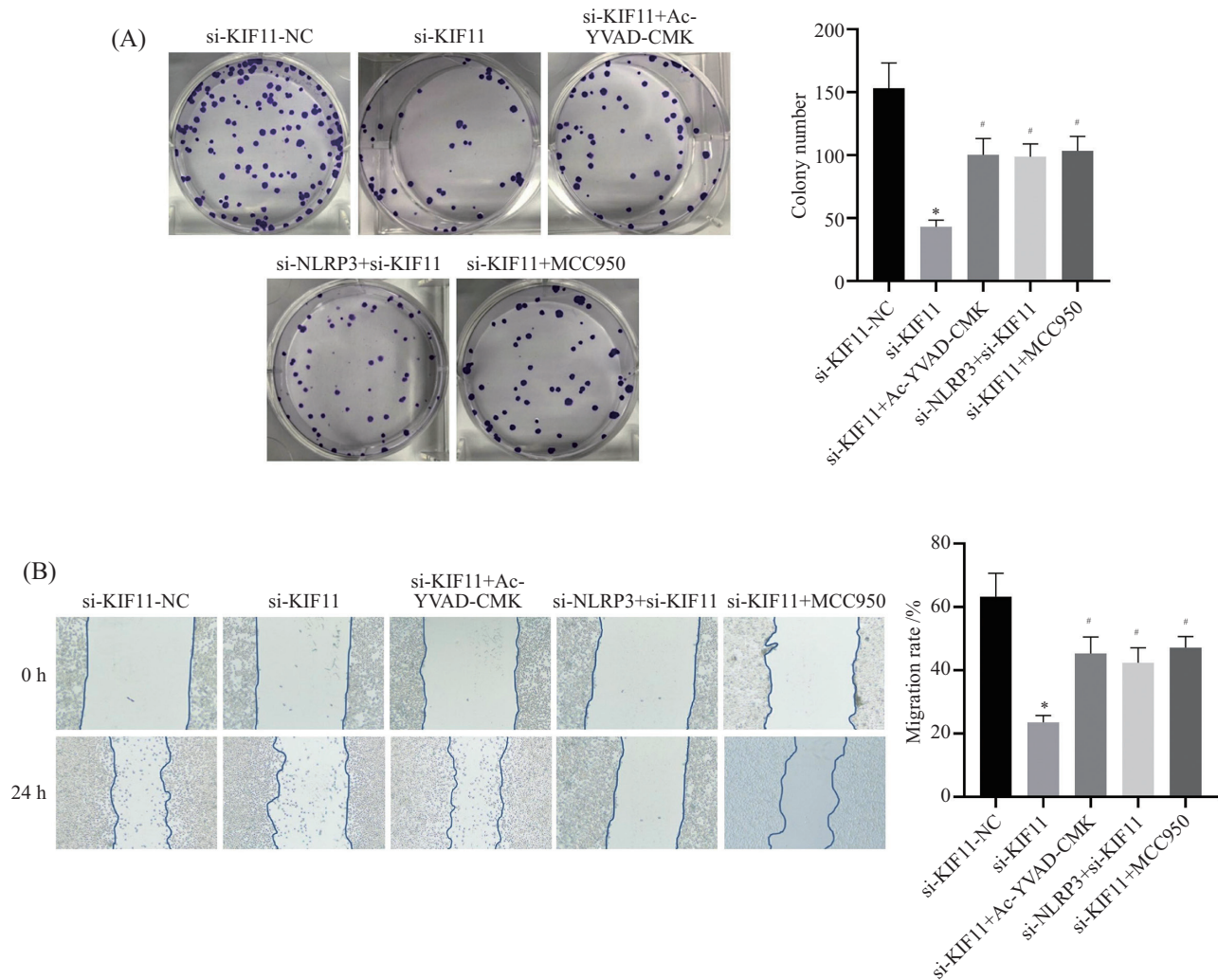
图4 KIF11敲除可通过上调NLRP3诱导RCC细胞焦亡

Fig.4 KIF11 knockout can induce pyroptosis in RCC cells by upregulating NLRP3

胞癌中细胞焦亡比例的结果一致。而caspase-1抑制剂Ac-YVAD-CMK或NLRP3抑制(si-NLRP3/MCC950)均可削弱KIF11敲除所诱导的细胞焦亡、增殖抑制及迁移抑制作用,提示KIF11敲除可能通过激活NLRP3-caspase-1-焦亡途径,抑制RCC细胞的增殖和转移。

综上所述, KIF11敲除可能通过诱导NLRP3炎性小体调控的细胞焦亡,从而抑制RCC细胞的增殖

与迁移。尽管本研究揭示了KIF11敲除可通过激活NLRP3炎性小体诱导细胞焦亡,但目前尚未阐明KIF11调控NLRP3的具体机制,且实验体系单一,缺乏体内验证,后续会运用染色质免疫沉淀、免疫共沉淀等一系列实验手段,围绕KIF11与NLRP3的调控机制展开深入探索,同时将选取多种细胞系、开展动物实验以及进行临床数据库分析纳入规划,以进一步丰富和完善该通路机制。



A: 各组细胞克隆形成数量比较; B: 各组细胞迁移率比较; * $P < 0.05$, 与si-KIF11-NC组相比; # $P < 0.05$, 与si-KIF11组相比。 $\bar{x} \pm s$, $n = 3$ 。

A: comparison of the number of cell clones formed in each group; B: comparison of cell migration rates in each group; * $P < 0.05$ compared with the si-KIF11-NC group; # $P < 0.05$ compared with the si-KIF11 group. $\bar{x} \pm s$, $n = 3$.

图5 *KIF11* 敲除可通过诱导焦亡抑制RCC细胞的增殖和转移

Fig.5 *KIF11* knockout can inhibit RCC cell proliferation and metastasis by inducing ferroptosis

参考文献 (References)

- 田熙, 徐文浩, 朱殊璇, 等. 2022年度肾细胞癌基础研究及临床诊疗新进展[J]. 中国癌症杂志(TIAN X, XU W H, ZHU S X, et al. Advances in the research, diagnosis and treatment of renal cell carcinoma in 2022 [J]. Chinese Journal of Cancer Research), 2023, 33(3): 191-200.
- 曾艳, 祝恒成, 杨康. 脱氧核糖核酸酶1在肾细胞癌中的作用及机制研究[J]. 生物技术进展(ZENG Y, ZHU H C, YANG K. The mechanism of DNASE1L3 in renal cell carcinoma[J]. Current Biotechnology), 2024, 14(3): 486-91.
- 曾澄龙, 吴筱辉, 林博涵, 等. 基于EPSTI1表达的临床病理特征列线图预测肾透明细胞癌预后[J]. 中国肿瘤临床(ZENG C L, WU X H, LIN B H, et al. Construction of prognostic nomogram based on clinicopathological characteristics and epithelial-stromal interaction 1 expression for clear cell renal cell carcinoma [J]. Chinese Journal of Clinical Oncology), 2024, 51(12): 595-601.
- WEI X, XIE F, ZHOU X X, et al. Role of pyroptosis in inflammation and cancer [J]. Cell Mol Immunol, 2022, 19(9): 971-92.
- YANG F, BETTADAPURA S N, SMELTZER M S, et al. Pyroptosis and pyroptosis-inducing cancer drugs [J]. Acta Pharmacol Sin, 2022, 43(10): 2462-73.
- RAO Z P, ZHU Y T, YANG P, et al. Pyroptosis in inflammatory diseases and cancer [J]. Theranostics, 2022, 12(9): 4310-29.
- HU D, CAO Q F, TONG M, et al. A novel defined risk signature based on pyroptosis-related genes can predict the prognosis of prostate cancer [J]. BMC Med Genomics, 2022, 15(1): 24.
- KOBAYASHI T, MITSUHASHI A, HONGYING P, et al. Bexarotene-induced cell death in ovarian cancer cells through Caspase-4-gasdermin E mediated pyroptosis [J]. Sci Rep, 2022, 12(1): 11123.
- TAN G, HUANG C Y, CHEN J Y, et al. HMGB1 released from GSDME-mediated pyroptotic epithelial cells participates in the tumorigenesis of colitis-associated colorectal cancer through the ERK1/2 pathway [J]. J Hematol Oncol, 2020, 13(1): 149.

- [10] TAN Y F, WANG M, CHEN Z Y, et al. Inhibition of BRD4 prevents proliferation and epithelial-mesenchymal transition in renal cell carcinoma via NLRP3 inflammasome-induced pyroptosis [J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(4): 239.
- [11] LI Z Y, XIA Z N, YU Y P, et al. A pyroptosis-associated signature plays a role in prognosis prediction in clear cell renal cell carcinoma [J]. *BMC Med Genomics*, 2022, 15(1): 204.
- [12] ZHU A Y, CHENG C, LIN S Q, et al. Silence of linc00023 inhibits pyroptosis and promotes cell proliferation via regulating p53 [J]. *Gene*, 2023, 882: 147628.
- [13] GAO W T, LU J J, YANG Z T, et al. Mitotic functions and characters of KIF11 in cancers [J]. *Biomolecules*, 2024, 14(4): 386.
- [14] SILVA J P N, SILVA P M A, BOUSBAA H. Kinesin spindle protein (KIF11) in mitosis and cancer [J]. *Int J Mol Sci*, 2025, 26(18): 8975.
- [15] NAMDARI H, REZAEI F, KARAMIGOLBAGHI M. Integrative meta-analysis and WGCNA reveal candidate diagnostic hub genes in clear cell carcinoma [J]. *Int J Cell Biol*, 2026, 2026: 5567255.
- [16] HOU Z C, TANG G J, CHU H, et al. Machine learning-based screening and validation of pyroptosis-associated prognostic genes and potential drugs in cervical cancer [J]. *BMC Med Genomics*, 2025, 18(1): 183.
- [17] LI J, ZHOU L, JIANG H Y, et al. Inhibition of FOSL2 aggravates the apoptosis of ovarian cancer cells by promoting the formation of inflammasomes [J]. *Genes Genomics*, 2022, 44(1): 29-38.
- [18] ZHANG N L, YAN L N, CAO H, et al. RBPMS2 can inhibit the NLRP3/caspase-1/GSDMD signaling pathway to resist pyroptosis in gastric cancer cells [J]. *Sci Rep*, 2025, 15(1): 21294.
- [19] GUO X H, ZHOU L, WU Y N, et al. KIF11 as a potential pan-cancer immunological biomarker encompassing the disease staging, prognoses, tumor microenvironment, and therapeutic responses [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2022, 2022: 2764940.
- [20] VENERE M, HORBINSKI C, CRISH J F, et al. The mitotic kinesin KIF11 is a driver of invasion, proliferation, and self-renewal in glioblastoma [J]. *Sci Transl Med*, 2015, 7(304): 304ra143.
- [21] DAIGO K, TAKANO A, THANG P M, et al. Characterization of KIF11 as a novel prognostic biomarker and therapeutic target for oral cancer [J]. *Int J Oncol*, 2018, 52(1): 155-65.
- [22] KOWALEWSKI A, JAWORSKI D, ANTOSIK P, et al. Over-expression of kif11 is a poor prognostic factor in clear cell renal cell carcinoma [J]. *Pol J Pathol*, 2022, 73(2): 82-7.
- [23] ZAKI S, ZHANG N, GILCHRIST M D. Optimization of forward pulsed currents for combining the precision shaping and polishing of nickel micro mould tools to reduce demoulding defects [J]. *Int J Adv Manuf Technol*, 2024, 131(7/8): 3631-49.
- [24] ZHU A Y, CHENG C, LIN S Q, et al. Silence of linc00023 inhibits pyroptosis and promotes cell proliferation via regulating p53 [J]. *Gene*, 2023, 882: 147628.
- [25] WANG J S, WU Z Y, ZHU M, et al. ROS induced pyroptosis in inflammatory disease and cancer [J]. *Front Immunol*, 2024, 15: 1378990.
- [26] REN Y D, FENG M X, HAO X D, et al. USP48 stabilizes gasdermin E to promote pyroptosis in cancer [J]. *Cancer Res*, 2023, 83(7): 1074-93.
- [27] WANG K S, XU T B, RUAN H L, et al. LXR α promotes cell metastasis by regulating the NLRP3 inflammasome in renal cell carcinoma [J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(3): 159.
- [28] 唐洁, 陈柯, 马慧敏, 等. 沉默驱动蛋白KIF11影响caspase-1介导的细胞死亡方式[J]. *中国病理生理杂志* (TANG J, CHEN K, MA H M, et al. Silencing of kinesin KIF11 impacts caspase-1-mediated cell death [J]. *Chinese Journal of Pathophysiology*), 2023, 39(1): 29-36.