

# ANLN敲除对肺腺癌细胞在裸鼠体内生长的影响

朱思明\*, 李 标#

海南医学院第二附属医院胸外科一区, 海南 海口

收稿日期: 2023年5月28日; 录用日期: 2023年6月23日; 发布日期: 2023年6月30日

## 摘 要

目的: 通过敲除肺腺癌(Lung adenocarcinoma, LUAD)细胞Anillin肌动蛋白结合蛋白(anillin actin binding protein, ANLN)基因, 验证其对肺癌细胞增殖、迁移等生物功能及行为学影响。材料与方法: 将裸鼠分为对照组和实验组, 在对照组裸鼠中皮下注射对照组(Ctrl-A549)肺癌细胞悬液, 在实验组裸鼠中注射实验组(ANLN-A549)肺癌细胞悬液, 观察两组裸鼠皮下瘤体变化情况, 记录瘤体长短径、瘤体重量并计算瘤体体积, 整理数据, 进行对比分析; 用RT-PCR和Western Blot方法确定两组裸鼠成瘤的瘤体中ANLN基因的mRNA及蛋白表达情况。结果: 裸鼠皮下成瘤实验表明, 裸鼠皮下注射肺癌细胞(A549) 24天后, 对照组及实验组中的裸鼠均有瘤体形成, 成瘤率为100%。养殖观察期间, 随着时间的延长, 两组裸鼠皮下肿瘤的体积也不断增大, 比较8个时间点的裸鼠皮下瘤体体积, 得出实验组(ANLN-A549)相比较于对照组(Ctrl-A549)增大的速度更为缓慢, 两组不同时间点瘤体体积大小均有明显差异( $p < 0.05$ ); 在最后时间节点, 将小鼠进行安乐死后, 取出皮下肿瘤瘤体并进行称重, 结果显示实验组(ANLN-A549)瘤体重量较对照组(Ctrl-A549)明显减小( $p < 0.05$ )。RT-PCR和Western Blot实验结果表明, 实验组(ANLN-A549)中ANLN的mRNA及蛋白含量较对照组(Ctrl-A549)明显降低( $p < 0.05$ )。结论: ANLN基因的敲减显著抑制肺腺癌细胞在裸鼠体内的增殖能力。

## 关键词

ANLN, 肿瘤, 增殖及迁移, 非小细胞肺癌

## Effect of ANLN Knockout on the Growth of Lung Adenocarcinoma Cells in Nude Mice

Siming Zhu\*, Biao Li#

Department of Thoracic Surgery, The Second Affiliated Hospital of Hainan Medical University, Haikou Hainan

\*第一作者。

#通讯作者。

## Abstract

**Objective:** To investigate the effect of Anillin actin binding protein (ANLN) gene on proliferation, migration and behavior of lung adenocarcinoma (LUAD) cells, the expression of ANLN gene in LUAD cells was knocked out. **Materials and Methods:** The Nude mice were divided into control group and experimental group, the lung cancer cell suspension of control group (Ctrl-A549) was injected subcutaneously in the control group, and the lung cancer cell suspension of experimental group (ANLN-A549) was injected subcutaneously in the experimental group. The changes of subcutaneous tumors in the two groups were observed, the length and weight of tumors were recorded, the volume of tumors was calculated, and the data were collated and analyzed. The mRNA and protein expression of ANLN gene in the tumors of the two groups were determined by RT-PCR and Western Blot. **Results:** The tumor formation rate was 100% in the control group and the experimental group after 24 days of subcutaneous injection of lung cancer cells (A549) in nude mice. During the observation period, the subcutaneous tumor volume of the nude mice in the two groups increased with time, and the subcutaneous tumor volume of the nude mice in the experimental group (ANLN-A549) increased more slowly than that in the control group (Ctrl-A549) at 8 time points. There was a significant difference in tumor volume between the two groups at different time points ( $p < 0.05$ ); at the last time point, the mice were euthanized, and the subcutaneous tumors were taken out and weighed. The results showed that the tumor weight of the experimental group (ANLN-A549) was significantly lower than that of the control group (Ctrl-A549) ( $p < 0.05$ ). The results of RT-PCR and Western Blot showed that the mRNA and protein levels of ANLN in the experimental group (ANLN-A549) were significantly lower than those in the control group (Ctrl-A549) ( $p < 0.05$ ). **Conclusion:** Knockdown of ANLN gene significantly inhibits the proliferation of lung adenocarcinoma cells in nude mice.

## Keywords

ANLN, Neoplasms, Proliferation and Migration, Non-Small Cell Lung Cancer

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

肺癌是一种起源于肺组织内的恶性肿瘤，其恶性程度与其他肿瘤相比较为高。据统计数据表明，在所有的恶性肿瘤中，肺癌的发病率占 11.4%，而其死亡率占 18%，因此肺癌一直都是引起癌症死亡的首要原因[1]。肺腺癌是非小细胞肺癌中的一种，约占肺癌的 40% [2]。早期的肺腺癌患者并没有特异性的临床症状，往往发现的时候已步入中晚期，我国肺癌病例的发现以临床晚期居多，2012~2014 年，中国 III~IV 期肺癌的占比为 64.6%，错过了最佳的治疗时间[3]。目前的关于肺腺癌的治疗方案包括手术治疗、化学治疗、放疗、靶向治疗及免疫治疗等常规治疗方案，虽然肺腺癌的治疗技术在持续进步，但是患者五年生存率并没有得到显著的提升[4]。因此，研究者们寻找有潜力的分子治疗靶点用于对肺癌的治疗显得尤为关键。

ANLN (anillin actin binding protein)是一种具有独特多结构域的保守蛋白，能够与其上下游的多个配

体机相互作用, 参与细胞的分裂, 从而调控对肿瘤细胞的增殖、迁移和侵袭产生影响[5]。在人类基因组中, ANLN 基因(NM\_018685)位于 7p14.2, 它含有 24 个外显子, 编码分子量为 123 KDa 的 1125 个氨基酸残基[6] [7] [8]。ANLN 参与了肿瘤的发生和进展, 本文采用了 A549 细胞中敲除 ANLN 基因, 探讨 ANLN 敲除对肺腺癌细胞在裸鼠体内生长的影响, 从而为寻找新的治疗肺腺癌的方法提供思路及实验支持。

## 2. 材料和方法

### 2.1. 材料

本实验选用的是 A549 肺癌细胞(上海市干细胞技术有限公司)。本实验中经由靶向 ANLN-siRNA 基因敲减技术得到的实验组(ANLN-A549)及对照组(Ctrl-A549)细胞均由广州源井生物科技有限公司制备。Anillin 抗体、GAPDH 抗体购于 Affinity 公司。RIPA 裂解液购于上海鼎国生物技术有限公司。FBS 胎牛血清、PBS 缓冲液、DMEM 高糖培养基、胰蛋白酶-EDTA (0.25%)均购于美国 Gibco 公司。经海南医学院医学伦理委员会批准, 选用 5 周龄 BALB/c-nu 裸鼠 16 只, 由湖南斯莱克景达实验动物有限公司提供, 许可证号: SCXK(湘) 2019-0004, 并在海南医学院实验动物中心完成动物实验。

### 2.2. 方法

#### 2.2.1. 细胞培养

A549 细胞培养条件: 首先配制完全培养基(89%DMEM 高糖培养基 + 10% FBS 胎牛血清 + 1%双抗), 然后配制 A549 细胞悬液, 后移至细胞培养瓶中, 最后放置于 CO<sub>2</sub> 浓度为 5%的细胞培养箱中, 37℃恒温培养。

#### 2.2.2. 靶向 ANLN-siRNA 设计及 ANLN-A549 细胞株的构建

本实验中 ANLN-siRNA 载体质粒由广州源井生物科技有限公司其专利技术进行构建, 首先取对数生长的状态的 A549 细胞, 制备为单细胞悬液, 放入离心机, 经 1000 r/min 的速度离心 5 分钟后, 经 PBS 洗涤离心后, 细胞重悬于电转移液中, 移入电击杯中, 用 10 μg ANLN-siRNA 质粒, 充分混匀, 在冰上放置半小时后, 进行电穿孔(电压 450 V/cm, 电容 25 μF, 时间: 0.9 ms), 转染后的细胞为实验组(ANLN-A549), 同时以空载体电转染为对照组(Ctrl-A549), 室温条件下放置半小时, 将细胞转移至含完全培养基的细胞培养瓶中, 放置于细胞培养箱中, 在 5% CO<sub>2</sub> 的状态下 37℃恒温继续培养, 实验组和对照组在转染两天后进行 RT-PCR 检测。

#### 2.2.3. 小鼠皮下肿瘤实验

把 16 只裸鼠随机分为实验组(ANLN-A549)及对照组(Ctrl-A549); 把处于对数生长期的 Ctrl-A549 组和 ANLN-A549 组细胞制成不含血清细胞悬液, 计数并调整浓度为  $2 \times 10^7$  个/mL。分别注射于实验组、对照组裸鼠右侧腋下, 注射量为每只裸鼠注射 0.1 ml。根据 A549 细胞的成瘤能力, 每 3 天观察并测量实验组及对照组裸鼠的瘤体大小及长径、短径, 并根据长短径计算瘤体体积(长径  $\times$  短径<sup>2</sup>/2), 收集每次记录数据。培养至一定时间后, 取出裸鼠皮下瘤体并拍照, 装入冻存管中并放入超低温冰箱(-80℃)保存, 以备后续实验。

#### 2.2.4. 蛋白印迹法(WB)

收集实验组、对照组裸鼠瘤体, 用液氮研磨完后, 加入 400 ul RIPA 强蛋白裂解液(蛋白酶抑制剂: 磷酸酶抑制剂 = 100:1:1)裂解 5 分钟, 然后在 13,500 r/min、4℃条件下离心 15 分钟。离心结束后, 轻轻吸取上清液移至 EP 管中, 将其置于冰上备用。根据配胶说明的方法进行配制 10%分离胶和 5%浓缩胶。将蛋白样品进行电泳先采用 80 V 恒压 30 分钟, 待 Marker 分离后, 改为 100 V 恒压 40 分钟。然后湿转

于无水甲醇浸过的 PVDF 膜, 转膜后将膜用 TBST 洗 3 次, 每次 10 分钟。转膜后, 将膜放置盒子上, 用 TBST 溶解 5% 的脱脂奶粉配制封闭液进行封闭, 摇床缓慢摇动 2 小时。封闭后将膜用 TBST 洗 3 次, 每次 5 min。加入一抗(ANLN 抗体, 稀释比 1:1000); 孵育: 一抗用 TBST 稀释, 4°C 摇床孵育过夜。一抗孵育后将膜小心的用 TBST 洗 3 次, 每次约 5 分钟左右。加入二抗(GAPDH 抗体, 稀释比 1:3000); 孵育: 稀释后的二抗孵育 2 h。二抗孵育后将膜小心的用 TBST 洗 3 次, 每次约 5 分钟左右。最后利用增强化学发光法(ECL)显影。

### 2.2.5. RT-量化 PCR 实验

采用 Eastep® Super 总 RNA 提取试剂盒提取实验组及对照组瘤体总 RNA, 然后逆转录合成 cDNA。使用 cDNA 合成试剂盒配制混合液(5 × gDNA digester Buffer 2 μL + gDNA digester 1 μL + RNA 500 ng + RNase free ddH<sub>2</sub>O To 10 μL), 吹打混匀, 并 42°C 孵育 2 min。孵育后再反应管中加入 2 × Hifair® II SuperMix plus, 吹打混匀。然后再 25°C 孵育 5 min, 42°C 孵育 30 min, 85°C 孵育 5 min 后逆转录产物。量化 PCR 扩增系统如下: Hieff® qPCR SYBR® Green Master Mix (Low Rox Plus) 10 μl, 正反引物各 0.4 μl (见表 1), cDNA 2 μl, 无 RNA 酶水补充至 20 μL。实时荧光定量 PCR 检测(RT-PCR): 采用两步法, 反应体系 20 μl, PCR 反应条件(表 2)。采用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  法进行数据分析, 统计各基因表达差, 以均数 ± 标准差表示, 用 t 检验或单因素方差分析方法。

**Table 1.** PCR Primer Information  
**表 1.** PCR 引物信息

基因	引物序列(5'→3')
ANLN	F: CGTGCCAGACGAGAGAA R: GGCTGCTGCTGATTACTTG
GAPDH	F: AGGTCGGTGTGAACGGATTTG R: GGGGTCGTTGATGGCAACA

**Table 2.** Two-step reaction procedure  
**表 2.** 两步反应程序

循环步骤	温度	时间	循环数
预变性	95°C	5 min	1
变性	95°C	10 sec	40
退火/延伸	60°C	30 sec	
熔解曲线阶段	仪器默认设置		1

## 2.3. 统计学分析

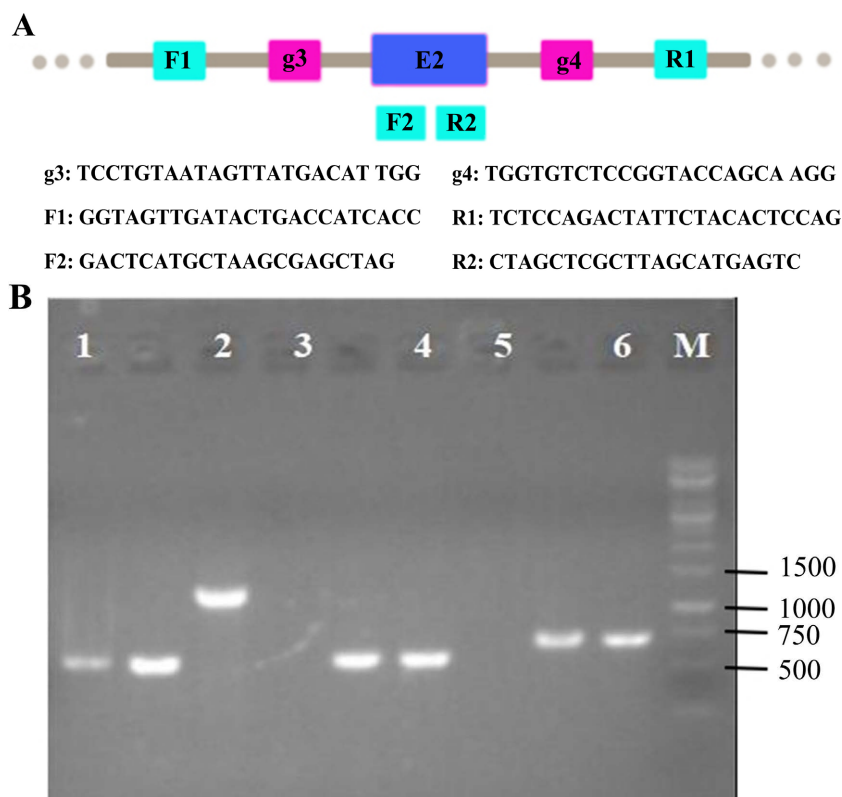
本实验采用 SPSS 22.0 软件对数据进行分析。两组数据间对比用 *t* 检验, 实验数据用平均值 ± 标准差表示, 多组数据之间的对比用单因素方差分析, 当  $p < 0.05$  时, 其差异具有统计学意义。

## 3. 结果分析

### 3.1. 基因敲除细胞株构建

使用 ANLN-SiRNA 质粒, 构建 ANLN 第二个外显子(E2)敲除的肺腺癌 A549 细胞株, 为对结果进行验证, 我们设计了不同引物(图 1(A)), 提取 DNA 后通过 PCR 扩增, 图 1(B)的条带 1 显示实验组敲除目

的基因后的一个短的条带(566 bp), 条带 2 显示对照组一个正常的条带(1272 bp)。条带 3、4 使用的 R2 引物位于 ANLN 的第二号外显子区域, 因此条带 3 基因敲除的细胞系没有扩增, 条带 4 对照组的 A549 显示正常大小的条带(581 bp)。条带 5、6 使用的 F2 引物位于 ANLN 的第二号外显子区域, 因此条带 5 基因敲除的细胞系没有扩增, 条带 6 对照组的 A549 细胞显示正常大小的条带(712 bp)。随后我们使用 F1、R1 引物对实验组和对照组进行测序, 结果显示, 实验组的基因的 DNA 显示缺失了 706 bp (见补充图 1), 证明模型构建成功。



注: (A) 构建 ANLN 第二号外显子敲除的 SiRNA 以及对其结果验证的示意图, g3 和 g4 分别代表进行第二号外显子敲除的先导序列, F1、R1、F2、R2 是对敲除结果进行验证的 PCR 引物, F1 位于 g3 的 5'端外侧, R1 位于 g4 的 3'端外侧, F2、R2 位于第二号外显子区域。使用不同 PCR 引物对基因敲除细胞系进行验证。(B) 条带 1、2 为 F1/R1 引物下的测序结果(注: 条带 1 重复两次); 条带 3、4 为 F1/R2 引物下的测序结果(条带 4 重复两次); 条带 5、6 为 F2/R2 引物下的测序结果(注: 条带 6 重复两次)。

**Figure 1.** Construction of a gene knockout A549 cell line using ANLN-SiRNA

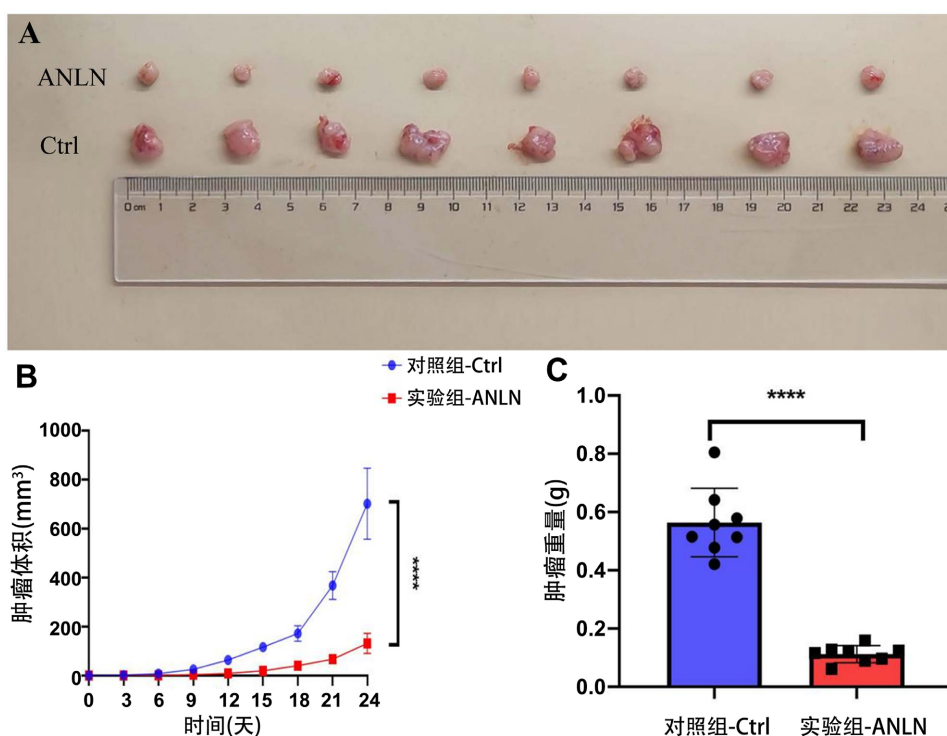
**图 1.** 使用 ANLN-SiRNA 构建基因敲除的 A549 细胞系

### 3.2. 裸鼠皮下成瘤实验结果

分别在裸鼠皮下移植 ANLN-A549 实验组、Ctrl-A549 对照组细胞后, 选取 7 个不同时间点对裸鼠皮下肿瘤进行测量(分别为接种后第 6 天、9 天、12 天、15 天、18 天、21 天、24 天), 测的肿瘤体积对照组分别为  $7.77 \pm 3.09 \text{ mm}^3$ 、 $25.06 \pm 2.88 \text{ mm}^3$ 、 $63.39 \pm 8.25 \text{ mm}^3$ 、 $116.43 \pm 10.04 \text{ mm}^3$ 、 $171.75 \pm 32.01 \text{ mm}^3$ 、 $367.59 \pm 56.63 \text{ mm}^3$ 、 $701.74 \pm 145.59 \text{ mm}^3$ , 而实验组分别为  $0.96 \pm 0.43 \text{ mm}^3$ 、 $3.58 \pm 1.14 \text{ mm}^3$ 、 $8.61 \pm 1.39 \text{ mm}^3$ 、 $19.93 \pm 3.07 \text{ mm}^3$ 、 $40.23 \pm 5.75 \text{ mm}^3$ 、 $67.10 \pm 4.66 \text{ mm}^3$ 、 $130.93 \pm 40.75 \text{ mm}^3$ , 两组不同时间节点肿瘤体积大小均有明显差异( $p < 0.05$ , 图 2(B))。将皮下接种 A549 细胞的两组裸鼠在接种后第 24 天进行安



乐处死, 从 16 只裸鼠皮下取出肿瘤体并进行称重, 结果显示实验组瘤体重量( $0.112 \pm 0.030$  g)较对照组( $0.564 \pm 0.118$  g)明显减小( $p < 0.05$ , 图 2(A)和图 2(C))。



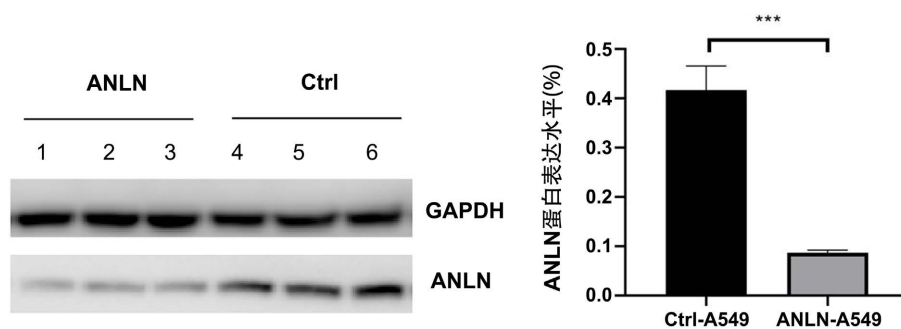
注: (A)为在裸鼠皮下成瘤实验中第 24 天取出的肿瘤组织, (B)为不同时间节点测量的肿瘤组织体积的统计学处理结果, (C)为(A)肿瘤组织重量的统计学处理结果。\*\*为  $p < 0.01$ ; \*\*\*为  $p < 0.001$ ; \*\*\*\*为  $p < 0.0001$ 。

**Figure 2.** Subcutaneous tumor formation experiment in nude mice

**图 2.** 裸鼠皮下成瘤实验

### 3.3. 蛋白印迹法(WB)实验结果

WB 检测 ANLN-A549 实验组和 Ctrl-A549 对照组裸鼠皮下肿瘤中 ANLN 的蛋白量的变化, 相比于 Ctrl-A549 组, ANLN-A549 组的 ANLN 的蛋白含量减少, 具有统计学意义( $p < 0.05$ , 图 3)。



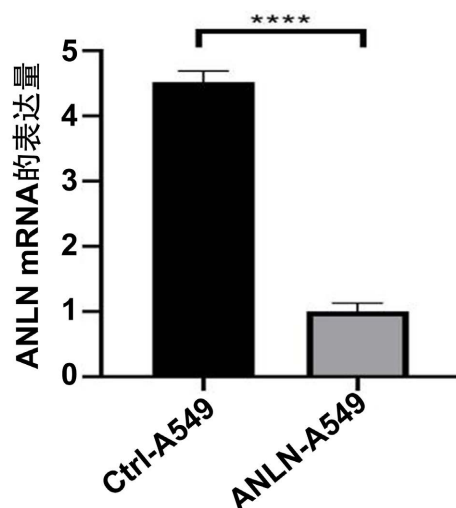
注: ANLN-A549 和 Ctrl-A549 在裸鼠皮下成瘤后 ANLN 蛋白的表达水平及统计学结果。\*\*为  $p < 0.01$ ; \*\*\*为  $p < 0.001$ ; \*\*\*\*为  $p < 0.0001$ 。

**Figure 3.** Western blotting experiment

**图 3.** 蛋白印迹法(WB)实验

### 3.4. RT-PCR 实验结果

RT-PCR 检测 ANLN-A549 实验和 Ctrl-A549 对照组裸鼠皮下成瘤后, 肿瘤中 ANLN 的 mRNA 表达量的变化, ANLN-A549 组较 Ctrl-A549 组中 ANLN 的 mRNA 表达量减少, 具有统计学意义( $p < 0.05$ , 图 4)。



注: ANLN-A549 和 Ctrl-A549 在裸鼠皮下成瘤后 ANLN 中 mRNA 的表达水平。\*\*为  $p < 0.01$ ; \*\*\*为  $p < 0.001$ ; \*\*\*\*为  $p < 0.0001$ 。

**Figure 4.** Real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction experiment

**图 4.** RT-PCR 实验

## 4. 讨论

肺癌是目前全球最致命的恶性肿瘤之一, 其一直以来居高不下的发病率及致死率给人类健康带来严重威胁, 同时也加重了社会的经济负担, 其中所有肺癌患者中, 肺腺癌患者约占 80%~85% [9] [10] [11]。Chen 等人利用生物信息学研究发现, ANLN 升高与肝细胞癌的进展相关, 他们敲除肝肿瘤细胞的 ANLN 基因后发现, 肝肿瘤细胞的有丝分裂受到损伤, 从而抑制肿瘤细胞的生长。动物实验研究表明, 向  $Anln^{+/+}$ ,  $Anln^{+/-}$ , 和  $Anln^{-/-}$  三个转基因小鼠的尾静脉中注射两种不同的原癌基因(c-Myc/NRAS), 随后发现在三种小鼠中,  $Anln^{-/-}$  小鼠由原癌基因引起的肝癌发生率降低, 但是表现为正常肝细胞数量增加和细胞核的多倍体化[12]。作者指出, ANLN 的存在与肝细胞癌的发生密切相关。Chen 等人对 TCGA 资料库中膀胱尿路上皮细胞癌(BLCA)患者的临床信息进行分析, 结果发现在 BLCA 组织中 ANLN 表达上调, 而且相比于 ANLN 表达量低的患者, ANLN 表达量高的 BLCA 患者的预后较差。而 ANLN 的过表达可以激活 JNK 信号通路, 进而使肿瘤细胞的增殖, 侵袭和迁移增强, 同时抑制 BLCA 细胞的凋亡[13]。Zeng 等人在 BLCA 肿瘤患者的肿瘤组织中发现 ANLN 的表达增高, 然后通过设计体外细胞实验, 将 J82 和 5637 肿瘤细胞中的 ANLN 片段进行敲减, 实验发现敲减后的肿瘤细胞停留在 G2/M 期, 从而导致肿瘤细胞的侵袭、增殖、转移能力下降[14]。Zhou 等人对 71 个乳腺癌肿瘤标本进行免疫组化分析, 结果显示 ANLN 在癌组织中表达较癌旁组织升高。随后通过基因敲减技术抑制 ANLN 基因在 ZR-75-30 和 MDA-MB-231 细胞中的表达, 结果验证了敲减后的肿瘤细胞较未敲减的肿瘤细胞在增殖、侵袭及迁移等能力下降[15]。这些结果表明 ANLN 的升高可以导致癌症的发生。

我们通过构建 ANLN-siRNA 质粒, 电转法转染 A549 细胞, 得到了敲除 ANLN 基因的 A549 细胞, 然后皮下接种到裸鼠体内, 同时对裸鼠成瘤后不同时间节点肿瘤体积进行测量, 结果显示, 实验组裸鼠皮下形成的肿瘤明显小于对照组, 并且在最后的时间节点上, 我们提取裸鼠实验组及对照组的皮下肿瘤, 对肿瘤的重量进行测量, 对照组的肿瘤重量要大于实验组肿瘤的重量, 再次证明了敲除 ANLN 对 A549 细胞增殖能力的影响。根据我们对裸鼠取瘤后瘤体的蛋白免疫印迹(WB)法及 RT-PCR 实验进行验证, 得出的结果显示, 实验组裸鼠瘤体中 ANLN 的蛋白含量及 mRNA 的表达量较对照组都明显降低, 证明了 A549 细胞在裸鼠体内增殖能力强弱与 ANLN 的表达相关。Suziki 等人通过对肺癌患者的肺癌组织标本进行组织微阵列芯片实验, 发现肺癌组织细胞核中 ANLN 高表达, 然后通过生存分析发现与患者的 5 年生存率与高表达的 ANLN 之间存在明显关联。然后通过 ANLN 的小干扰 RNA 降低了肺腺癌细胞中的 ANLN 表达, 结果导致了肺腺癌细胞的死亡[16]。我们的结果与其相一致, 在动物水平验证了 ANLN 与肺腺癌发生发展的总要作用。

实验证明降低 ANLN 在 A549 细胞中的表达, 导致 A549 细胞在裸鼠体内的增殖能力下降。因此, 我们认为 ANLN 的表达可以影响肺腺癌细胞在动物体内的增殖能力, ANLN 为临床上对肺腺癌患者, 提供一个有效的分子治疗靶点。同时, 我们仍需要进一步的实验来验证敲除 ANLN 对其他肺腺癌细胞株的影响, 并在以后的研究中阐明 ANLN 分子的作用机理, 为将来治疗肺腺癌来提供实验和理论基础。

## 基金项目

2022 年, IncRNA MALAT1 对非小细胞肺癌(NSCLC)免疫微环境的影响及其调控机制(Effect of IncRNA MALAT1 on the Immune Microenvironment of Non-small Cell Lung Cancer (NSCLC) and Its Regulatory Mechanism), SQ2022MSXM1128, 海南省自然科学基金高层次人才项目。

## 参考文献

- [1] 曹毛毛, 陈万青. GLOBOCAN 2020 全球癌症统计数据解读[J]. 中国医学前沿杂志(电子版), 2021, 13(3): 63-69.
- [2] Shi, J., Hua, X., Zhu, B., *et al.* (2016) Somatic Genomics and Clinical Features of Lung Adenocarcinoma: A Retrospective Study. *PLOS Medicine*, **13**, e1002162. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1002162>
- [3] 赫捷, 李霓, 陈万青, 吴宁, 沈洪兵, 江宇, 李江, 王飞, 田金徽. 中国肺癌筛查与早诊早治指南(2021, 北京) [J]. 中国肿瘤, 2021, 30(2): 81-111.
- [4] Sharma, P. and Allison, J.P. (2015) Immune Checkpoint Targeting in Cancer Therapy: Toward Combination Strategies with Curative Potential. *Cell*, **161**, 205-214. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.03.030>
- [5] Zhang, L. and Maddox, A.S. (2010) Anillin. *Current Biology*, **20**, R135-R136. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2009.12.017>
- [6] Oegema, K., Savoian, M.S., Mitchison, T.J. and Field, C.M. (2000) Functional Analysis of a Human Homologue of the *Drosophila* Actin Binding Protein Anillin Suggests a Role in Cytokinesis. *Journal of Cell Biology*, **150**, 539-552. <https://doi.org/10.1083/jcb.150.3.539>
- [7] Georgouli, M., Herraiz, C., Crosas-Molist, E., *et al.* (2019) Regional Activation of Myosin II in Cancer Cells Drives Tumor Progression via a Secretory Cross-Talk with the Immune Microenvironment. *Cell*, **176**, 757-774. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.12.038>
- [8] 徐丽萌. Anillin 对细胞骨架蛋白和细胞力学特性的调节作用[D]: [硕士学位论文]. 太原: 太原理工大学, 2019.
- [9] Siegel, R.L., Miller, K.D. and Jemal, A. (2020) Cancer Statistics, 2020. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, **70**, 7-30. <https://doi.org/10.3322/caac.21590>
- [10] 陈艳丽, 王媛媛, 张勇, 李文洁. 中晚期非小细胞肺癌患者化疗前后 T 淋巴细胞亚群表达差异分析及临床意义[J]. 中华肺部疾病杂志(电子版), 2020, 13(1): 13-17.
- [11] 中华医学会肿瘤学分会, 中华医学会杂志社. 中华医学会肿瘤学分会肺癌临床诊疗指南(2021 版) [J]. 中华肿瘤杂志, 2021, 43(6): 591-621.
- [12] Chen, J., Li, Z., Jia, X., *et al.* (2022) Targeting Anillin Inhibits Tumorigenesis and Tumor Growth in Hepatocellular



