

学校编码：10384

分类号_____密级_____

学号：21620130154117

UDC_____

厦 门 大 学

博 士 学 位 论 文

Hippo信号通路调控肝细胞多倍体和肿瘤发生的机理研究

Hippo signaling suppresses cell ploidy and tumorigenesis
through Skp2

张世浩

指导教师姓名：周大旺教授

专业名称：细胞生物学

论文提交日期：2017年5月

论文答辩时间：2017年5月

学位授予日期：2017年 月

答辩委员会主席：

评 阅 人：

2017年 月

厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为()课题(组)的研究成果,获得()课题(组)经费或实验室的资助,在()实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名):

年 月 日

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

() 1.经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，于年月日解密，解密后适用上述授权。

() 2.不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

年 月 日

目录

摘要.....	IX
Abstract.....	X
第一章 前言.....	1
1.1 肝脏细胞多倍体.....	1
1.1.1 肝细胞多倍体形成的机理.....	1
1.1.2 肝细胞多倍体的功能.....	2
1.1.3 多倍体与肝脏基因组多样性和肿瘤的关系.....	3
1.1.4 多倍体、异倍体、基因组不稳定与肿瘤.....	4
2 Hippo 信号通路.....	7
1.2.1 Hippo 信号通路概述.....	7
1.2.2 Hippo 信号通路组成及调控机制.....	7
1.2.3 Hippo 信号通路效应分子 Yap/Taz 的转录调控.....	9
1.2.3 Hippo 信号通路在肝脏再生中的作用.....	10
1.2.4 Hippo 信号通路在肝脏肿瘤.....	12
1.2.5 原癌基因 Yap 在肝癌中的功能.....	13
1.2.6 Hippo 信号通路在多倍体.....	14
1.3 原癌基因 Skp2 的调控机制及与肿瘤的关系.....	15
1.3.1 RING finger 泛素化降解系统.....	15
1.3.2 E3 泛素连接酶 Skp2 的工作机制.....	16
1.3.3 Skp2 的翻译后修饰.....	17
1.3.4 Skp2 与肿瘤的关系.....	18
1.3.5 Skp2 与多倍体的关系.....	19
1.3.6 Skp2 称为肿瘤治疗靶点.....	20
1.3.7 Hippo 信号通路与 Skp2 信号通路的潜在相关性.....	21
第二章 实验材料与方法.....	23
2.1 常用实验材料.....	23
2.1.1 实验小鼠.....	23
2.1.2 细胞系.....	23
2.1.3 人肝癌样品.....	23
2.1.3 质粒资源.....	23
2.1.4 实验仪器及耗材.....	24

2.1.5 实验相关药品和试剂	25
2.2 常用实验方法.....	27
2.2.1 质粒克隆实验	27
2.2.2 荧光定量 PCR (qPCR)	34
2.3 细胞相关实验与方法.....	36
2.3.1 细胞培养	36
2.3.2 细胞转染	37
2.3.3 腺病毒的制备	39
2.3.4 线相关病毒 (AAV) 的制备.....	42
2.3.5 细胞免疫荧光实验	43
2.3.7 小鼠原代 MEF 细胞的提取	46
2.4 蛋白质实验相关方法.....	47
2.4.1 细胞表达蛋白样品的制备	47
2.4.2 SDS-PAGE 蛋白电泳	47
2.4.3 免疫共沉淀	49
2.4.4 肝脏组织乙酰化检测	50
2.4.5 体外泛素化实验	50
2.5 小鼠相关实验.....	51
2.5.1 小鼠基因型鉴定	51
2.5.2 MK2206 处理小鼠.....	51
2.5.3 腺病毒感染小鼠肝脏	51
2.5.4 小鼠肝脏总蛋白的提取	52
2.6.免疫组化相关实验.....	52
2.6.1 组织包埋	52
2.6.2 组织石蜡切片	53
2.6.3H&E 染色.....	53
2.6.3 免疫组织化学 (IHC)	54
第三章 结果与分析.....	57
3.1 Hippo 信号通路调控肝细胞多倍体	57
3.1.1 Hippo 信号通路缺失或者 Yap 的激活导致肝细胞多倍体增多	57
3.1.2 Hippo 信号通路缺失诱导肝细胞中心体增多和基因组不稳定性.....	59
3.2 Hippo 信号通路通过 p27 调控多倍体与肿瘤的发生	60
3.2.1 Hippo 信号通路调控 p27 的蛋白水平	60

3.2.2 Hippo 缺失使 p27 过多核内累积造成多倍体	63
3.2.3 p27 的敲低可以减少 Mst1/2DKO 产生的肿瘤	65
3.3 Hippo 通路调控 Skp2 亚细胞定位.....	68
3.3.1 Hippo 缺失使 Skp2 在细胞质累积	68
3.3.2 Hippo 信号通路调控 Skp2 的乙酰化	69
3.3.3 Yap 通过 AKT-p300 信号通路调控 Skp2 乙酰化.....	71
3.4 乙酰化的 Skp2 促进多倍体的分裂与肿瘤发生.....	72
3.4.1 乙酰化的 Skp2 不影响多倍体的数量	72
3.4.2 乙酰化的 Skp2 促进多倍体细胞的增殖	74
3.4.3 敲除 Skp2 可以抑制 Hippo 缺失造成的肝脏肿大和肿瘤	76
3.5 Yap-AKT-Skp2 信号通路与人肝癌密切相关	77
第四章 讨论与展望.....	79
参考文献.....	83
在学期间发表论文和专利.....	91
致谢语.....	93

Table of contents

Abstract in Chinese	IX
Abstract in English.....	X
Chapter 1 Introduction	1
1.1 Liver cell polyploid	1
1.1.1 Mechanism of polyploid formation in hepatocytes	1
1.1.2 Hepatocyte polyploid function	2
1.1.3 The relationship between polyploidy and liver genome diversity and tumor.....	3
1.1.4 Polyploid, aneuploidy, genomic instability and tumor	4
1.2 Hippo signaling pathway.....	7
1.2.1 Hippo signaling pathway Overview	7
1.2.2 Hippo signaling pathway composition and regulatory mechanisms.....	7
1.2.3 Transcriptional regulation of Hippo signaling pathway by Yap / Taz.....	9
1.2.3 The role of Hippo signaling pathway in liver regeneration	10
1.2.4 Hippo signaling pathways with liver tumors	12
1.2.5 The function of oncogene Yap in HCC	13
1.2.6 Hippo signaling pathways with polyploidy	14
1.3 Regulatory mechanism of oncogene Skp2 and its relationship with tumor	15
1.3.1 RING finger ubiquitization degradation system.....	15
1.3.2 The mechanism of E3 ubiquitin ligase Skp2	16
1.3.3 Skp2 post-translational modification	17
1.3.4 The relationship between Skp2 and tumor	18
1.3.5 The relationship between Skp2 and polyploidy.....	19
1.3.6 Skp2 is a tumor therapy target	20
1.3.7 The potential correlation between Hippo pathway and Skp2	21
Chapter 2 Materials and Methods	22
2.1 Materials.....	22
2.1.1 mouse model.....	22
2.1.2 cell lines.....	22
2.1.3 Patients HCC samples.....	22
2.1.3 Plasmids.....	22
2.1.4 Experiments and consumables	23

2.1.5 Chemicals and reagents	24
2.2 Methods	26
2.2.1 Molecular Cloning	26
2.2.2 Real Time-PCR	33
2.3 Cell experiments and methods	35
2.3.1 Cell culture.....	35
2.3.2 Cell transfection.....	36
2.3.3 Preparation of adenoviruses.....	37
2.3.4 Preparation of AAV	40
2.3.5 Cell immunofluorescence assay.....	42
2.3.7 Mouse primary MEF cells	45
2.4 Protein - related methods.....	45
2.4.1 Preparation of cell expression protein samples.....	45
2.4.2 SDS-PAGE	46
2.4.3 IP assay	48
2.4.4 Detection of liver tissue acetylation.....	48
2.4.5 In Vitro Ubiquitization Experiment.....	49
2.5 Mice related experiments	50
2.5.1 Genotyping	50
2.5.2 MK2206 treatment mice	50
2.5.3 Adenovirus infects mouse liver	50
2.5.4 Extraction of total liver protein from mice	50
2.6. IHC assay	51
2.6.1 Organized embedding.....	51
2.6.2 Organize paraffin sections	52
2.6.3 H&E staining	52
2.6.3 IHC staining.....	53
Chapter 3 Results and analysis.....	53
3.1 Hippo signaling pathway regulates hepatocyte polyploidy	53
3.1.1 Loss of Hippo or Yap activation leads to increased hepatoid polyploidy	53
3.1.2 Loss of Hippo induces hepatocyte centrosome and genomic instability	55
3.2 Hippo signaling pathway regulates polyploid and tumorigenesis through p27.....	58
3.2.1 Hippo signaling pathway regulates p27 protein levels	58

3.2.2 Hippo deletion causes p27 to accumulate excessively caused by polyploidy ...	61
3.2.3 P27 knockdown can reduce Mst1 / 2DKO tumor	63
3.3 Hippo pathway regulates Skp2 subcellular localization.....	66
3.3.1 Hippo deletion induces Skp2 accumulate in cytoplasm	66
3.3.2 The Hippo signaling pathway regulates the acetylation of Skp2.....	67
3.3.3 Yap controls Skp2 acetylation via the AKT-p300 signaling pathway.....	69
3.4 Acetylated Skp2 promotes polyploid division with tumorigenesis	70
3.4.1 Acetylated Skp2 does not affect the number of polyploids	70
3.4.2 Acetylated Skp2 promotes the proliferation of polyploid cells	71
3.4.3 Knockout Skp2 can inhibit Hippo deletion caused liver enlargement and HCC73	
3.5 Yap-AKT-Skp2 signaling pathway is closely related to human liver cancer.....	74
Chapter 4 Discussion and Prospect	86
References	88
Published and patents during the learning	96
Acknowledgement	97

摘要

多倍体 (polyploidy) 是指细胞中含有超过两套染色体组, 多倍体在生物界广泛存在, 常见于高等植物、真菌、昆虫、鱼类和两栖类。虽然大多数真核生物的体细胞是二倍体, 即仅含有两组染色体, 分别遗传自父本和母本。但是在一些特定组织如心脏、肝脏等就含有多倍体细胞, 特别是肝脏组织含有较高比例的多倍体。

多倍体细胞中心体过多复制异常分裂可以导致细胞产生异倍体、基因组不稳定性以及肿瘤的发生。前期的文献报道, 多倍体细胞的形成与增殖主要是 p53 依赖的调控细胞周期与细胞老化。Hippo 通路在四倍体细胞中是激活的, 因此我们进一步研究了 Hippo 信号通路在二倍体细胞与多倍体细胞之间的转化以及肿瘤形成中的作用。

我们发现 Hippo 信号通路的关键效应蛋白 Yap 可以促进肝脏细胞从二倍体向多倍体的转化并且促进多倍体细胞的异常分裂, 加速肿瘤的发生发展。Yap 的激活可以通过 AKT 促进乙酰转移酶 p300 对 E3 泛素连接酶 Skp2 的乙酰化修饰。Skp2 的乙酰化修饰使 Skp2 定位在细胞质内, 使得核内 Skp2 泛素化降解的底物 p27 不能被降解, 从而导致 p27 在细胞核内大量聚集。p27 在细胞核内的大量聚集造成细胞基因组的内复制, 导致多倍体的形成以及中心体的过多复制。此外, 细胞质内乙酰化的 Skp2 可以降解促凋亡蛋白 Foxo1/3, 使得多倍体细胞分裂、基因组不稳定性 and 肿瘤的发生。

我们通过小鼠基因敲除实验, 验证了在 Hippo 缺失的小鼠中再敲除 AKT 或者 Skp2 能够很好的抑制肿瘤的发生。同时, 在临床病人样本中我们也找到了肿瘤发生与 Yap-AKT-Skp2 信号通路有很好的相关性。因此我们可以确定 Hippo-Yap 信号通路在调控多倍体形成及肿瘤发生中起着重要的作用。

关键词: 多倍体; Hippo; Yap; AKT; Skp2; p27; 肝细胞癌

Abstract

Polyploidy is a state in which cells possess more than two sets of homologous chromosomes. Polyploidy is a widespread physiological phenomenon observed particularly in plants, fungi, insects, fishes, and amphibians. Although most of the eukaryotic somatic cells are diploid, that is, only two groups of chromosomes, inherited from the male and female, respectively.

Polyploid cells Centrosome overreplication and abnormally dividing can lead to aneuploidy, genomic instability and tumorigenesis. Previous study reported that p53 is required for the induction of cell senescence to limit the proliferation of polyploidy cells . Hippo pathway is activated in tetraploid cells, so we further studied the role of Hippo signaling pathway in the transformation between diploid cells and polyploid cells and tumor formation.

Here we report that the Hippo pathway effector Yap promotes the diploid-polyploid conversion and polyploid cell growth through the Akt-Skp2 axis. Yap strongly induces the acetyltransferase p300-mediated acetylation of the E3 ligase Skp2 via Akt signaling. Acetylated Skp2 is exclusively localized in the cytosol, which causes hyper-accumulation of the cyclin-dependent kinase inhibitor p27, leading to cell mitotic arrest and subsequently cell polyploidy. Additionally, the pro-apoptotic factors FoxO1/3 are overly degraded by acetylated Skp2, resulting in polyploid cell division, genomic instability and oncogenesis.

Importantly, depletion or inactivation of Akt or Skp2 abrogated Hippo signal-deficiency-induced liver tumorigenesis, indicative of their epistatic interaction. At the same time, we also found a good correlation between tumorigenesis and Yap-AKT-Skp2 signaling pathway in clinical patient samples. Thus, we conclude that Hippo-Yap signaling suppresses cell polyploidy and oncogenesis through Skp2.

Keywords: polyploidy; Hippo; Yap; AKT; Skp2; p27; HCC

第一章 前言

1.1 肝脏细胞多倍体

一百多年前就有文献报道肝脏细胞存在多倍体。最初，通过分析肝脏组织切片，发现不同的肝细胞之间存在很大的异质性。细胞和细胞核的大小以及每个细胞内细胞核的数量都不同。现在我们知道肝细胞的多倍体由每个细胞核内的 DNA 含量决定，包括二倍体、四倍体、八倍体等，以及每个细胞中细胞核的数量^[1]。大部分的肝细胞是单核或者双核的，很少能观察到三核或更多细胞核的肝细胞。肝脏细胞多倍体化是年龄依赖的过程，大多数肝细胞在年轻时是二倍体，而在人类成年肝细胞中多倍体细胞占有一半左右^[2]。而在啮齿类动物中肝脏多倍体细胞占的比例更高，其中成年 C57BL 小鼠中 90% 以上的肝细胞是多倍体^[3]。

1.1.1 肝细胞多倍体形成的机理

多倍体细胞的产生方式是有组织特异性的。比如，成肌细胞间的细胞融合形成肌原纤维细胞，巨噬细胞间的细胞融合产生破骨细胞^[4]；巨核细胞 DNA 内复制而细胞核不分裂；心肌细胞胞质分裂失败导致四倍体^[5]。在肝脏中多倍体细胞的形成机制主要是细胞质分裂失败。如图 1.1 所示，大鼠在出生后断奶之前大部分肝细胞是二倍体。断奶后的大鼠 AKT 信号通路发生改变使得细胞质分裂失败。首先，一部分二倍体肝细胞通过细胞质分裂失败产生四倍体子代细胞，每个细胞含有两个二倍体细胞核。第二，双核四倍体肝细胞通过 DNA 复制和细胞质分裂产生单核的四倍体肝细胞。然后，一部分单核四倍体细胞在有丝分裂过程中胞质分裂失败，产生双核八倍体子细胞。最后，肝细胞分裂继续产生单核八倍体双核十六倍体等等。在小鼠和人的肝细胞中，起始的多倍体化也是由细胞质分裂失败产生的。然而，小鼠和大鼠之间的多倍体化的动力学是有差别的，当大鼠断奶后开始多倍体化时，小鼠在这个时间点已经有近一半的肝细胞已经是多倍体^[3]。

除了 AKT 信号通路，其他的很多因素也可以引起肝细胞的多倍体。比如，肝切手术后肝脏再生^[6]、氧化压力^[7]、铁离子过载^[8]和 p53 缺失^[9]。病理条件下，

比如病毒性肝炎也可以使肝脏多倍体细胞增多^[10]。这些因素是如何引起肝细胞多倍体化的还需要进一步的研究。

尽管细胞质分裂失败是形成肝细胞多倍体的主要原因，但是细胞融合同样发生于于肝脏中。这个观点现在还有一定的争议性，有文献报道肝细胞与肝细胞融合能够在发育中很容易的发生融合现象^[11]，而另一篇文章报道成熟的肝细胞与肝细胞不会发生融合^[12]。什么种类的肝细胞什么时候会发生融合产生多倍体细胞还需要进一步的研究。

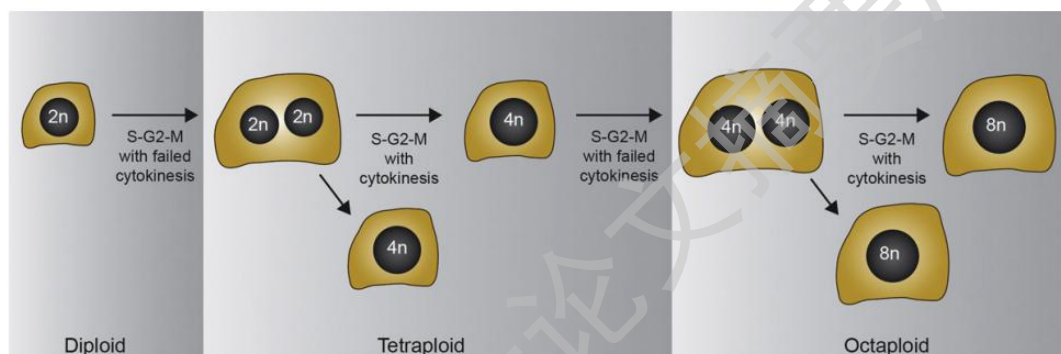


图 1.1 细胞质分裂失败导致肝细胞多倍体化^[13]

Fig1.1 Hepatocytes polyploidization by failed cytokinesis

1.1.2 肝细胞多倍体的功能

现在有几个观点被提出用以解释肝脏多倍体的重要功能。第一个假设是肝细胞的多倍体代表了肝细胞终末分化的状态，多倍体化伴随着肝细胞的静息增加和分裂功能的下降。为了验证这一假设，可以看到多倍体化具有肝细胞生命周期最后阶段的特征。由于多倍体伴随着年龄的增长而增加，多倍体肝细胞有缩短的端粒和复制的减弱。此外根据多倍体肝细胞在肝脏小叶的分布位置可以支持多倍体与终末分化的关系^[14]。现在已经有许多发表的文章证实二倍体细胞主要分布在门静脉周围，而多倍体细胞主要分布在中央静脉周围^[15]。肝细胞的成熟过程是从门静脉周围向中央静脉周围的移动，并在中央静脉附近老化被清除^[16]。但是，与此相悖的是在肝脏受到损伤时，比如肝切，多倍体有很强的分裂能力可以快速分裂使肝脏恢复到正常的大小^[17]。另外，体内分离到的多倍体肝细胞再移植到 Fah 缺陷的小鼠中，依然有很强的分裂能力^[3]。因此，终末分化

这个特征并不能准确的定义多倍体肝细胞的特征。

第二个假设是肝细胞的多倍体可以增加肝脏的功能。肝脏的功能主要是解毒、蛋白质的合成与分泌以及各种代谢等等。多倍体细胞拥有多套染色体组，这可以增加蛋白质的合成从而增加细胞的功能。为了验证这个观点，从小鼠的肝脏分离二倍体、四倍体和八倍体细胞，分析他们的基因表达情况。通过基因芯片技术的分析可以看到八倍体的肝细胞比二倍体细胞在基因表达和功能上都有四倍左右的提高^[18]。

第三个假设是多倍体可以保护细胞基因组不被损毁。肝脏可以保护机体不被外源有害物质的伤害，但是肝细胞会受到这些有害物质的伤害包括突变。例如，肝细胞在受到酒精或者其他有害代谢物刺激时可以引起基因的突变或者基因组的损伤^[19]。基因的改变可能导致肝脏肿瘤的发生。因此，肝细胞的多倍体可以给这些基因组损伤提供缓冲区。四倍体或八倍体细胞拥有多组染色体组，单一的染色体组的损伤不会带来灾难性的后果。比如，单个基因组肿瘤抑制基因的缺失可以利用其他染色体来弥补，保护细胞拥有正常的生理功能。

1.1.3 多倍体与肝脏基因组多样性和肿瘤的关系

肝脏不是唯一的存在不整倍体的器官。有文献报道在许多器官中存在着少量的不整倍体，包括血液系统^[20]、大脑^[21]、肾脏^[22]、滋养层细胞^[23]等等。不整倍体是通过什么机制形成并存在于多种器官中还不是很清楚。同样的在肝脏中调控多倍体肝细胞分裂的特殊机制还不是很清楚。到目前为止可以清楚的知道细胞的分裂精密的受到中心体的调控。如果中心体过多的复制可以使分裂的细胞形成多极分裂产生二倍体细胞和不整倍体细胞。啮齿动物用肝脏毒性试剂（四氯化碳）^[24]和硫代乙酰胺^[25]处理能够显著的增加二倍体细胞和减少多倍体肝细胞。同样的过氧化物处理^[26]肝切后的肝脏可以产生有差别的二倍体肝细胞。多倍体肝脏细胞的染色体来自很多不同的细胞这增加了肝细胞的基因组多样性，这可能有利于肝脏细胞抵御有毒试剂的侵害与增加肝细胞的功能。

肝脏和肿瘤在多倍体多样性方面有很多类似的地方。不整倍体存在于超过75%的肿瘤中而且四倍体在肿瘤中非常常见^[27-29]。过多的中心体和多极分裂都存在于肿瘤细胞和分裂的多倍体肝细胞中^[30]。不整倍体刺激产生肿瘤还是肿瘤的

发生造成了不整倍体细胞的产生还需要进一步研究。有文献报道自发的肝脏肿瘤中在正常肝脏中不整倍体肝细胞所占的比例很高^[31]。这说明肝脏的不整倍体和肝癌的发展存在着一定的关系。

2015 年来自法国科学家的一项最新研究进展，他们发现氧化应激会促进非酒精脂肪肝 (NAFLD) 发生病理性多倍体化，而这种病理性变化会进一步促进肝癌发生^[32]。这一研究成果或许对预防非酒精性脂肪肝诱导的肝癌具有重要意义。多倍体化是基因组可能发生的一个非常巨大的变化，在肝脏中，生理性多倍体化在肝脏发育过程中以及整个生命过程中都可能出现。但 Géraldine Gentric 等研究人员发现，在非酒精性脂肪肝中也会发生染色体的多倍体化。非酒精性脂肪肝是在世界范围内比较常见的肝脏代谢紊乱症，并且有研究证明非酒精性脂肪肝可能是导致肝癌发生的一个危险因子。

研究人员通过非酒精性脂肪肝小鼠模型发现脂肪肝实体会出现多倍体化进程方面的变化，包括出现许多高度多倍体化的单核细胞，这在正常肝脏中是非常罕见的。对非酒精性脂肪肝炎病人进行活组织检查发现与正常人肝脏组织相比，NASH 病人的肝脏也会出现许多多倍体细胞。进一步对机制进行探究，研究人员证实 NAFLD 肝脏细胞并不能有效通过细胞周期中的 S/G2 期，主要是因为 G2/M 检验点阻止了 cyclinB1/CDK1 复合物的激活，导致细胞不能正常通过细胞周期，出现多倍体。研究人员同时发现，氧化应激能够促进肝脏多倍体细胞出现，对 NAFLD 肝脏细胞进行抗氧化剂处理能够恢复正常细胞周期，使细胞重回生理性多倍体状态。

综上所述，该文章发现在 NAFLD 中会出现肝脏细胞的病理性多倍体化，这种多倍体化主要是由于细胞周期暂停在 S/G2 期导致的，同时还证实氧化应激能够促进 NAFLD 发生病理性多倍体化，或许会对肝癌发生具有一定促进作用。这一研究成果对预防非酒精性脂肪肝诱导的肝癌具有重要意义^[33; 34]。

1.1.4 多倍体、异倍体、基因组不稳定与肿瘤

肿瘤细胞经常代表了一类含有改变过染色体的多倍体细胞。比如上皮肿瘤细胞中经常包含三套染色体或者四套染色体^[35]。然而，肿瘤细胞除了改变染色体总数，还会重新排列染色体序列：特定序列的扩增、删除、异位。虽然，异

倍体与肿瘤的关系在数十年前已经被发现，但是，这里面有一个中心问题并没有回答：到底是异倍体引起肿瘤还是肿瘤细胞的增殖导致了异倍体的产生^[36-38]。

现在科学家认为，基因组的 DNA 复制、DNA 损伤和修复保证了生物体基因组的稳定性，保持基因组的稳定性对生命体的正常生长发育起着至关重要的作用。细胞周期通常包括以下几个时期：复制前期（G1）、DNA 复制期（S）、复制后期（G2）和有丝分裂期（M）。在正常细胞中，DNA 复制只能发生在细胞周期的 S 期，即在 S 期完成 DNA 复制。其中有研究报道在肿瘤细胞中，M 期染色体的断裂和修复机制可以让肿瘤细胞生存得更好^[39]。在这项研究中，肿瘤细胞系在有丝分裂期（M 期）复制的 DNA 主要位于“脆性位点”（基因组特定区域），在有丝分裂前期，细胞会启动核酸酶 MUS81、DNA 聚合酶 POLD3 依赖的 DNA 复制，从而减少染色体的错误分离和不分离，由此在细胞周期的最后阶段，通过 DNA 复制修复肿瘤细胞因复制压力而产生的 DNA 损伤，维持染色体的稳定性^[40; 41]。

研究异倍体细胞在肿瘤中作用的最大障碍是异倍体细胞基因组的复杂性。很难找到一致的引起异倍体的基因突变，每个异倍体细胞都有其独特的基因突变。自发肿瘤的形成主要是自发基因突变的累积，任何基因的伤害都会增加突变的几率最终加速肿瘤的发生^[42-44]。基因组的不稳定性可以发生在单个基因的缺失或者增加，但是最主要的还是大段的染色体序列的重排。

众所周知，细胞分裂繁殖，它所有的染色体会进行一次 DNA 的复制。如果 DNA 复制的细胞元件受损，或引起 DNA 修复。就会导致基因组的损伤修复造成 DNA 特定序列的扩增异位和重排，诱导细胞的癌变。

有文献报道，染色体在 DNA 损伤修复时会断裂，染色体“脆性位点”在细胞分裂期会表现出间隙或不连续的间隔区，脆性位点在不同物种间保守，且该区域染色体更容易断裂，因此对促进肿瘤发生的基因组重排有影响^[41]。

基因组不稳定性与多发性骨髓瘤 (Multiple Myeloma)——一种无法治愈的癌症之间的联系机制还远远没有揭开。最近有文献报道指出中心体调控出错是导致该病的祸首。

多发性骨髓瘤的特点是染色体易位和染色体数目异常，也就是非整倍体性 (aneuploidy)。骨髓瘤细胞过量表达一种称为 RHAMM 的蛋白质。无论是癌细胞

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库