

学校编码: 10384
学号: 24520111153410

分类号____ 密级____
UDC____

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

**Pokemon 基因沉默促进肝癌细胞发生 Fas-
及线粒体途径介导的 Caspase-依赖性细胞
凋亡**

**Silencing of Pokemon Enhances Caspase-Dependent
Apoptosis via Fas- and Mitochondria-Mediated Pathways
in Hepatocellular Carcinoma Cells**

张玉琴

指导教师名称: 任建林 教授

专 业 名 称: 内科学 (消化系病方向)

论文提交日期: 2014 年 04 月

论文答辩日期: 2014 年 05 月

学位授予日期: 2014 年 月

答辩委员会主席: _____

评 阅 人: _____

2014 年 5 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

摘要

Pokemon 是 POK 转录因子家族中的一员，具有原癌基因的活性，在多种肿瘤中均高表达，但其在肝癌细胞中的深入研究较少。我们实验室前期研究结果已经证实了 Pokemon 在肝细胞癌中高表达，并且通过 AKT 及 ERK 依赖性信号通路促进肝癌细胞的增殖和迁移。肿瘤的发生不仅与细胞的异常增殖和分化有关，也与细胞凋亡的异常相关。细胞凋亡有两条经典凋亡信号途径：一是死亡受体激活途径，另一条是线粒体-细胞色素 C 途径。两条通路的活化最终均可导致 caspase 通路的活化。本课题拟验证在第三代铂类化疗药物奥沙利铂的凋亡诱导下，Pokemon 通过介导这两条凋亡信号途径从而参与肝细胞癌的发生发展。

本课题研究中，我们首先采用短发夹 RNA 稳定转染 HepG2 和 SMMC-7721 两株肝癌细胞株，并筛选稳定沉默 Pokemon 表达的肝癌细胞株。通过 TUNEL 凋亡检测及流式凋亡检测证实在奥沙利铂的凋亡诱导下，沉默 Pokemon 之后肝癌细胞凋亡率明显增加。其次，我们进一步探讨 Pokemon 沉默促进细胞凋亡相关分子信号通路。Western blots 结果显示沉默 Pokemon 表达的肝癌细胞中 P53 及其磷酸化水平明显增加，从而启动线粒体及死亡受体介导的凋亡途径。在 HepG2 肝癌细胞中，线粒体介导的凋亡途径中，Bcl-2 凋亡家族中的成员（包括 Bad、Bid、Bim、Puma）及 AIF 的表达增加，线粒体膜势能降低促进细胞色素 C 的释放。另外，在奥沙利铂的凋亡诱导下，沉默 Pokemon 表达的肝癌细胞中 Fas 受体、FADD 及其下游的靶基因 Caspase10 及 Caspase8 被激活。Caspase8 活性片段 p18、p10 的释放并进一步激活下游的靶基因如 Caspase9 及 Caspase3。再次，我们还探讨了 Pokemon 沉默对细胞周期的影响。流式细胞周期分析显示 Pokemon 基因沉默的 HepG2 在 G1 期分布增加，S 期细胞分布减少；RT-PCR 结果显示抑制细胞周期进展的细胞周期检控点基因在 Pokemon 低表达的细胞株中表达增加。

综上，我们得出结论 Pokemon 通过死亡受体/线粒体介导的 caspase 依赖性通路抑制肝癌细胞凋亡，从而参与肝癌细胞内源、外源性细胞凋亡途径的调控；此外，Pokemon 可能通过调控细胞周期检控点从而调节肝癌细胞周期的进展。因此，我们推测 Pokemon 可以作为人类癌症治疗中的新型化疗的靶基因。

关键词：Pokemon；肝细胞癌；凋亡

厦门大学博硕士论文摘要库

Abstract

The role of Pokemon (POK erythroid myeloid ontogenic actor), a recently identified POK transcription factor with proto-oncogenic activity, highly expressed in a wide variety of tumors, but in hepatocellular carcinogenesis has only been assessed by a few studies. Our previous study revealed that Pokemon is overexpressed in hepatocellular carcinomas (HCC) and promotes HCC cell proliferation and migration via an AKT- and ERK- dependent manner. Classical apoptosis can be initiated via two major pathways: the intrinsic or mitochondria-mediated pathway and the extrinsic or death receptor-mediated pathway. Activation of both pathways results in the activation of caspases. Oxaliplatin, a third-generation platinum-based chemotherapeutic agent, displays a broader spectrum of antitumor activity than cisplatin and carboplatin. We hypothesized that Pokemon can through the regulation of the two apoptotic pathway to in hepatocellular carcinoma (HCC) occurrence and development control under the action of oxaliplatin.

In the present study, We employed stable transfection with short hairpin RNA to stably silence the expression of Pokemon in the HepG2, SMMC-7721 hepatocellular carcinoma cell lines. We used the TUNEL assay and FACS analysis to demonstrate that oxaliplatin induced apoptosis was significantly increased in cells with silenced Pokemon. Western blots showed that p53 expression and phosphorylation were significantly increased in Pokemon defective cells, thereby initiating the mitochondria-mediated and death receptor-mediated apoptotic pathways. In the mitochondria-mediated pathway, expression of pro-apoptotic Bcl-2 family members (including Bad, Bid, Bim and Puma) as well as AIF was increased and decreasing the mitochondrial membrane potential resulted in cytochrome C released from mitochondrial in HepG2 si-Pokemon cells. In addition, upon oxaliplatin treatment of Pokemon-silenced cells, the FAS receptor, FADD and their downstream targets caspase-10 and caspase-8 were activated, causing increased release of caspase-8 active fragments p18 and p10. Increased activated caspase-8-mediated cleavage and activation of downstream effector caspases such as caspase-9 and caspase-3 was observed in HepG2 si-Pokemon cells as compared to control. Silencing Pokemon induces cell cycle arrest and up-regulation of cell cycle checkpoints in HepG2 cells as shown by flow cytometry and RT-PCR analyses.

Therefore, silencing of Pokemon enhances caspase-dependent apoptosis via Fas- and mitochondria-mediated pathways in hepatocellular carcinoma cells, and Pokemon might serve as an important mediator of crosstalk between intrinsic and extrinsic apoptotic pathways in HCC cells. Moreover, Pokemon may through the regulation of cell cycle checkpoints to induces cell cycle arrest. So our findings suggest that Pokemon could be an attractive therapeutic target gene for human cancer therapy.

Key words: Pokemon; Hepatocellular carcinoma; Apoptosis

厦门大学博硕士论文摘要库

| | |
|------------------------------------|-----------|
| 第一章 前言 | 1 |
| 1.1 Pokemon 基因 | 1 |
| 1.1.1 Pokemon 的发现及结构域 | 1 |
| 1.1.2 Pokemon 的生物学功能 | 1 |
| 1.1.3 Pokemon 与肿瘤发生的关系及其作用机制 | 1 |
| 1.2 肝癌的发生机制 | 4 |
| 1.3 细胞凋亡 | 6 |
| 1.3.1 细胞凋亡与肿瘤 | 6 |
| 1.3.2 p53 基因 | 6 |
| 1.3.3 细胞凋亡通路 | 7 |
| 1.3.4 化疗药物对细胞凋亡的调控 | 8 |
| 1.4 细胞周期与肿瘤 | 9 |
| 1.5 实验设计 | 9 |
| 第二章 材料与方法 | 10 |
| 2.1 材料 | 10 |
| 2.1.1 细胞、菌株、质粒 | 10 |
| 2.1.2 实验所用引物 | 10 |
| 2.1.3 仪器与耗材 | 10 |
| 2.1.4 试剂 | 11 |
| 2.1.5 主要试剂配制方法 | 11 |
| 2.2 方法 | 13 |
| 2.2.1 靶向 Pokemon 基因的 siRNA 重组质粒的构建 | 13 |
| 2.2.2 稳转细胞功能学研究（细胞凋亡） | 22 |
| 2.2.3 Pokemon 参与细胞凋亡信号通路调控的研究 | 25 |
| 2.2.4 Pokemon 参与细胞周期调控的功能研究 | 28 |

| | |
|---|-----------|
| 第三章 结果 | 29 |
| 3.1 在肝细胞癌细胞株中, 奥沙利铂刺激下沉默 Pokemon 基因后能促进细胞的凋亡 | 29 |
| 3.1.1 肝细胞癌细胞 Pokemon 的表达及沉默效果验证 | 29 |
| 3.1.2 奥沙利铂刺激下 Pokemon 基因沉默促进肝细胞癌细胞的凋亡 | 29 |
| 3.2 Pokemon 基因表达沉默促进凋亡相关蛋白的表达 | 32 |
| 3.2.1 Human Apoptosis Array 检测 Pokemon 基因沉默后凋亡相关蛋白的变化 | 32 |
| 3.2.2 RT-PCR 检测凋亡相关蛋白的变化 | 33 |
| 3.3 Pokemon 基因沉默促进 p53 表达 | 33 |
| 3.4 Pokemon 基因表达沉默启动死亡受体介导的细胞凋亡信号通路 | 34 |
| 3.5 Pokemon 基因沉默改变 Bcl-2 家族蛋白的表达 | 35 |
| 3.6 Pokemon 基因沉默抑制肝细胞癌细胞周期进展 | 36 |
| 第四章 讨论与展望 | 39 |
| 4.1 肝细胞癌的研究进展 | 39 |
| 4.1.1 分子与生化标志物 | 39 |
| 4.1.2 microRNA | 40 |
| 4.1.3 表观遗传学 | 41 |
| 4.1.4 肿瘤基质 | 41 |
| 4.1.5 氧化损伤 | 42 |
| 4.1.6 细胞信号通路 | 43 |
| 4.2 我们的研究 | 43 |
| 4.3 展望 | 45 |
| 参 考 文 献 | 47 |
| 英文缩略词表 | 54 |
| 致谢 | 57 |
| 硕士期间发表的学术论文及所获奖励 | 58 |

Table of Contents

| | |
|---|-----------|
| Chapter 1 Introduction | 1 |
| 1.1 Pokemon | 1 |
| 1.1.1 Discovery and domain of Pokemon | 1 |
| 1.1.2 Biological function of Pokemon | 1 |
| 1.1.3 Pokemon in tumor | 1 |
| 1.2 The mechanism of Hepatocellular carcinoma | 4 |
| 1.3 Cell Apoptosis | 6 |
| 1.3.1 Cell apoptosis in tumor | 6 |
| 1.3.2 p53 | 6 |
| 1.3.3 The pathways of cell apoptosis | 7 |
| 1.3.4 The regulation of chemotherapy drugs for cell apoptosis | 8 |
| 1.4 Cell cycle in tumor | 9 |
| 1.5 Experiment design | 9 |
| Chapter 2 Materials and Methods | 10 |
| 2.1 Materials | 10 |
| 2.1.1 Cell line and plasmid | 10 |
| 2.1.2 Primers | 10 |
| 2.1.3 Instruments and consumables | 10 |
| 2.1.4 Reagents | 11 |
| 2.1.5 Main reagent preparation method | 11 |
| 2.2 Methods | 13 |
| 2.2.1 The construction of si-pokemon plasmid | 13 |
| 2.2.2 The function of stable pokemon-knockdown cell lines in HCC | 22 |
| 2.2.3 The regulation of pokemon for cell apoptosis pathways | 25 |
| 2.2.4 The regulation of pokemon for cell cycle | 28 |
| Chapter 3 Experimental results and Conclusion | 29 |
| 3.1 Silencing of Pokemon enhances apoptosis in HCC cells | 29 |
| 3.1.1 The expression of pokemon in HCC cells and the validation of si-pokemon cell lines construction | 29 |

| | |
|--|-----------|
| 3.1.2 Silencing pokemon enhances cell apoptosis with oxaliplatin | 29 |
| 3.2 Sliencing of Pokemon enhances the expression of apoptosis-related proteins | 32 |
| 3.2.1 Human Apoptosis Array analysis | 32 |
| 3.2.2 RT-PCR | 33 |
| 3.3 Sliencing of Pokemon increases p53 expression | 33 |
| 3.4 Silencing of Pokemon initiates death receptor-mediated apoptosis | 34 |
| 3.5 Silencing of Pokemon alters the expression Bcl-2 family proteins | 35 |
| 3.6 Silencing Pokemon induces cell cycle arrest and up-regulation of cell cycle checkpoints in HepG2 cells as shown by flow cytometry and RT-PCR analyses | 36 |
| Chapter 4 Discussion and expetation | 39 |
| 4.1 Research of the molecular mechanism of hepatocellular carcinoma | 39 |
| 4.1.1 Molecular and biochemical cellular markers | 39 |
| 4.1.2 microRNA | 40 |
| 4.1.3 Epigenetic variations | 41 |
| 4.1.4 Tumor stroma | 41 |
| 4.1.5 Oxidative damage | 42 |
| 4.1.6 Cell signaling pathways | 43 |
| 4.2 Discussion | 43 |
| 4.3 Expetation | 45 |
| References | 47 |
| Abbreviation | 54 |
| Acknowledgement | 57 |
| Papers published and rewards obtained during the master | 58 |

第一章 前言

1.1 Pokemon 基因

1.1.1 Pokemon 的发现及结构域

Pokemon (POK 红系髓性个体发育因子), 又可称为 FBI-1、LRF、OCZF, 目前的研究发现其具有原癌基因的活性; 它是由 ZBTB7A 编码的, 是转录抑制因子 POK 家族当中的一员^[1-3]。Pokemon 最开始是于 1997 年从 HeLa 细胞的细胞核中纯化提取的一种细胞因子, 发现其能特异地结合野生型 1 型免疫缺陷病毒短转录诱导物。Pokemon 由两部分组成, 包括 N 末端的 POZ/ BTB 域和 C 末端的 Kruppel 型锌指结构。N 端的 POZ/ BTB 域是一段高度保守的蛋白-蛋白相互作用域, 可介导同源或异源二聚体形成; 而 C 端锌指结构域可介导特殊 DNA 的识别与结合, 并可通过补充组蛋白脱乙酰酶 (Histone deacetylase HDAC) 及染色质重构起强力的短暂转录抑制作用^[4-6]。

1.1.2 Pokemon 的生物学功能

Pokemon 基因大小有 21600bp, 其定位于人类染色体 19p13.3 区域, 而 pokemon 的 mRNA 大小为 4456bp, 包含两个外显子, 还有一个开放阅读框, 编码由 584 个氨基酸残基组成的蛋白多肽。目前研究发现过表达 Pokemon 蛋白主要定位于细胞核, 但是 POZ 结构域可改变其内源性定位, 使其部分定位于细胞质^[7,8]。人和鼠 Pokemon 基因及蛋白质具有高度同源性^[9]。Pokemon 的生物学功能主要包括个体发育 (胚胎红细胞形成、成肌细胞向骨骼细胞转化等)、分化及肿瘤的形成。

1.1.3 Pokemon 与肿瘤发生的关系及其作用机制

Pokemon 是一个原癌基因, 在人类多种肿瘤高表达, 目前的研究发现包括有结肠癌、前列腺癌、乳腺癌、肺癌及膀胱癌等, 均证实了 Pokemon 与肿瘤发生发展有着密切联系^[4]。这些研究结果表明 Pokemon 在肿瘤的发生过程中起着关键性作用。Pokemon 是具有原癌基因活性的转录抑制因子, 它不仅能调控细胞的增殖和肿瘤的分化, 而且还能调控其他原癌基因及抑癌基因的活性, 因此认为它应该是处于上游的原癌基因, 被称为“肿瘤的总开关”^[9]。

下面将阐述 Pokemon 在肿瘤发生中的作用机制:

1.1.3.1 Pokemon 的原癌基因活性

Pokemon 在多种肿瘤组织中高表达,是上游的原癌基因,除了其本身可以促进肿瘤细胞增殖、转化,还可调控多种原癌基因的活性,对肿瘤发生发展起着关键性的作用。Takahiro Maeda 等的研究采用野生型及 Pokemon 阴性的小鼠胚胎成纤维细胞,用腺病毒 E1A + H-ras^{V12}、Myc + H-ras^{V12}、T-Ag + H-Ras^{V12} 分别转染这两种细胞,结果证实 Pokemon 基因缺失的细胞其增殖、转化能力明显减弱及抗凋亡能力增强,说明原癌基因 Myc、H-ras 的增殖、转化能力依赖于 Pokemon,并且能抑制 E1A 的凋亡诱导活性^[9]。因此, Pokemon 可通过调控细胞增殖、转化活性从而促进肿瘤的发生。

1.1.3.2 Pokemon-ARF-MDM2-p53 信号途径

Pokmeon 具有 N 端 BTB/POZ 结构域,是一段高度保守的蛋白-蛋白相互作用域,是许多转录因子、致癌基因蛋白、离子通道蛋白和一些机动蛋白相关蛋白的反应基序,是 Pokemon 致瘤作用的机制之一。p19ARF(鼠)、p14ARF(人)是由 Ink4a/ARF 基因编码的抑癌基因,其在癌基因的刺激下均能过量表达并诱导细胞凋亡。有研究采用荧光素酶报告基因、染色体免疫共沉淀 (Chromatin immunoprecipitation ChIP) 两种实验方法均证实了 p19ARF(鼠)、p14ARF(人)基因的启动子区域均有 Pokemon、E2F 的连接位点,且 Pokemon 通过其 N 端 BTB 结构域招募其他蛋白形成抑制复合物,并利用其 C 端锌指结构域特异性地结合 ARF 的启动子,抑制 ARF 的转录活性,使 ARF 蛋白合成受阻从而激活 MDM2,后者可抑制下游靶基因肿瘤抑制因子 p53 的表达,从而最终导致肿瘤发生^[9]。因此, Pokemon 可通过抑制 ARF-p53 途径对肿瘤的发生起重要的调控作用^[10]。

1.1.3.3 Pokmeon 通过抑制 Rb 调控细胞周期进展

细胞周期的进展是细胞增殖所必需的。转录因子 Rb (retinoblastoma) 是重要的抑癌因子,其可抑制细胞周期的进展,使其大部分停留在 G1/S 期。Rb 启动子区域有四个 GC 富集的启动子元件 (FRE),位于-308bp 至-188bp; 另外 Rb 启动子区域还包括 2 个 Sp1 连接位点。Sp1 转录因子与 Pokemon 在 DNA 片段上具有一定的相似性,因此 Pokemon 可通过直接与 FRE 结合或者通过竞争性结合 Sp1 连接位点从而抑制 Rb 的表达,调控细胞周期进入 S 期 (DNA 复制期),促进肿瘤的发生发展^[11,12]。另外, Pokemon 还可抑制阻滞细胞周期的其他关键因子

p21、Rb 下游 E2F 的表达，其机制可能通过竞争性结合 p21 的 Sp1/3 GC 盒子从而抑制 p21 基因的表达，最终调控细胞周期的进展^[13]。

1. 1. 3. 4 Pokemon 与 NF- κ B

NF- κ B 是转录因子蛋白家族中的一员，它是由以下 5 个亚单位组成：Rel (cRel)、p65 (RelA)、p50(NF- κ B1)、RelB 及 p52(NF- κ B2)。其中的三个亚单位 p65、cRel 和 RelB 均含有 C 端的反式激活结构域 (transactivation domain, TD) 及 N 端 Rel 同源区 (Rel homology domain, RHD)。N 端、C 端结构域在功能上各司其职，RHD 的 C 末端有一个核定位区域 (nuclear-localization sequence, NLS)，NLS 的功能主要是负责核易位、二聚体化及与 DNA 结合，而 TD 则与转录活化功能密切相关。另外 2 个亚单位 p50 和 p52 因为缺乏 TD，只有 RHD，所以 p50 和 p52 同源二聚体并不能激活下游靶基因的转录，它们在细胞内通常以各自的前体形式存在。NF- κ B 可以通过不同的二聚体的形式对不同靶基因的表达起到调控作用，那是因为由两个亚基组成的同源或异源二聚体可与靶基因上特定的序列 (- κ B 位点) 结合。p65 与 p50 组成的异二聚体是最常见的 NF- κ B 二聚体。NF- κ B 的抑制单位是 I κ B，其可通过 C 端锚蛋白重复序列 (ankyrin repeat motif) 与 NF- κ B 结合，从而抑制 NLS 的功能，最终阻止 NF- κ B 向细胞核内转移。在正常的细胞中，抑制单位 I κ B 与 NF- κ B 形成抑制复合体，使 NF- κ B 以未活性形式存在于胞浆中。当细胞受外界信号条件刺激后，I κ B 激酶复合体的 (I κ B kinase, I κ K) 活化可使 I κ B 磷酸化，与 NF- κ B 解离，从而使 NF- κ B 暴露核定位位点。游离的 NF- κ B 可迅速移位至细胞核，与核内的特异性 κ B 序列结合，从而诱导相关靶基因转录。

转录因子 NF- κ B 介导的多种信号通路，在肿瘤发生发展起着重要的作用。其可介导细胞的增殖、转化、血管侵袭、肿瘤的转移，调控肿瘤的发生。Pokemon N 端的 POZ 结构域是一段高度保守的蛋白-蛋白相互作用域，可调控多种生物学功能包括肿瘤的发生、信号转导、凋亡、破骨细胞的形成等，其直接作用于转录因子 NF- κ B 的 Rel 同源结构域 (Rel homology domain RHD)，Lee DK 等^[8]研究采用共聚焦显微镜发现 Pokemon 促进 NF- κ B 入核及定位，并促进 NF- κ B 应答基因 E-selectin 的转录活性，从而导致肿瘤的发生。

1. 1. 3. 5 Pokemon 与 PI3K/Akt、c-Raf/MEK/ERK

PI3K/AKT 信号通路存在于多种肿瘤中，其不仅可以直接激活下游的信号分子，也可介导其他信号分子的下传及级联激活效应，从而在诸多信号通路中处于

核心地位，有报道发现该信号通路在结直肠癌、胃癌、卵巢癌及前列腺癌的发生发展发挥重要的功能。PI3K/AKT 信号转导途径不仅调控肿瘤的增殖，还促进癌细胞的迁移及侵袭；其机制是因为 PI3K/AKT 信号通路可以通过调控恶性肿瘤中过表达的胰岛素样生长因子受体促进癌细胞的远处转移；并且 AKT 的活化可以使 NF- κ B 的表达上调从而促进肿瘤细胞的浸润^[14]。

Ras/Raf/MEK/ERK 信号转导途径参与肿瘤细胞的增殖、迁移和侵袭活动；ERK 可以促进基质金属蛋白酶（matrix metalloproteinases, MMPs, 包括 MMP-2 及 MMP-9）的活化，并且可活化下游多种转录调控因子，从而达到降解细胞外基质使细胞得以穿透基底膜^[15]；在人类滋养细胞中，活化的 ERK 能抑制转移抑制分子 nm23 的表达从而促进肿瘤细胞黏附和运动^[16]。

我们实验室前期结果证实 Pokemon 在人类肝细胞癌组织中的表达高于正常肝组织及癌旁组织的表达水平，并且移植稳定沉默 Pokemon 的 HepG2 细胞的裸鼠，其肿瘤生长速度及大小均明显落后于移植对照细胞（即未干扰 Pokemon，而是稳定转染 Pu6 质粒的 HepG2 细胞）的裸鼠；另外通过构建稳转 si-Pokemon 的肝癌细胞 HepG2、Huh7，并通过体外实验（MTT、BrdU、Transwell 细胞迁移能力检测、细胞划痕实验）也证实了 Pokemon 是通过调节 PI3K/Akt 和 c-Raf/MEK/ERK 两条细胞信号途径，促进肝细胞癌细胞的生长、增殖和迁移过程，从而加快肝细胞癌的发生和发展^[17]。

1.2 肝细胞癌的发生机制

肝细胞癌（Hepatocellular Carcinoma HCC）是全世界常见的恶性肿瘤之一，也是第三大导致死亡的癌症。导致肝细胞癌发生、发展的组织病理学、分子机制仍尚未明确。但是有越来越多的证据认为在肿瘤发生前肝细胞的基因突变、表观遗传学的变异可以使肝细胞发育异常，形成小结节，最终导致肝细胞癌的发生。跟大多数的肿瘤一样，肝癌被认为是一种“炎症相关性癌症”，它是在一个炎症条件下产生的，具有促进细胞生存、增殖、迁移的炎症相关性机制。关于炎症机制、肿瘤形成机制目前已被广泛研究，且普遍认为炎症细胞在这些位点聚集，促进炎症因子释放，可导致活性氧的产生。活性氧在慢性炎症发展至肝炎、最终至癌症的整个过程，发挥着重要的作用。

肝细胞癌的发生是有多种危险因素参与，其中乙肝、丙肝病毒感染是肝细胞

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