

硕士学位论文

**LIMK1、COFILIN1、DESTRIN**

**在胃癌中表达及临床病理意义**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 研 究 生 姓 名 | ： | 吴勇军 |
| 指导教师姓名、职称 | ： | 苏 琦 教授 |
| 学科、专业名 称 | ： | 病理学与病理生理学 |
| 研 究 方 向 | ： | 胃癌发生与防治的分子机制 |

2014 年 9 月

南华大学学位论文原创性声明

本人声明，所呈交的学位论文是本人在导师指导下进行的研究工作及取得的研究成果。尽我所知，除了论文中特别加以标注和致谢的地方外，论文中不包含其他人已经发表或撰写过的研究成果，也不包含为获得南华大学或其他单位的学位或证书而使用过的材料。与我共同工作的同志对本研究所作的贡献均已在论文中作了明确的说明。本人完全意识到本声明的法律结果由本人承担。

作者签名： 年 月 日

南华大学学位论文版权使用授权书

本学位论文是本人在南华大学攻读 硕 （博/硕）士学位期间在导师指导下完成的学位论文。本论文的研究成果归南华大学所有，本论文的研究内容不得以其它单位的名义发表。本人同意南华大学有关保留、使用学位论文的规定，即：学校有权保留学位论文，允许学位论文被查阅和借阅；学校可以公布学位论文的全部或部分内容，可以采用复印、缩印或其它手段保留学位论文；学校可根据国家或湖南省有关部门规定送交学位论文。同意学校将论文加入《中国优秀博硕士学位论文全文数据库》，并按《中国优秀博硕士学位论文全文数据库出版章程》规定享受相关权益。同意授权中国科学信息技术研究所将本学位论文收录到《中国学位论文全文数据库》，并通过网络向社会公众提供信息服务。对于涉密的学位论文，解密后适用该授权。

作者签名： 导师签名： 

2010 年 12 月 13 日 2010 年 12 月 13 日

**本研究基金资助项目**

1. 湖南省卫生厅科研课题计划项目 No B2008-067

2. 湖南省科技厅科技计划 No 2008SK3010

3. 湖南省教育厅科学研究项目 No 06C694

4. 湖南省教育厅科学研究项目 No 05C455

5. 湖南省重点学科建设项目基金资助 No 2006-180

目 录

中文摘要 1

英文摘要 2

[前言 4](#_TOC_250009)

[材料与方法 7](#_TOC_250008)

[结果 11](#_TOC_250007)

[讨论 19](#_TOC_250006)

[结论 23](#_TOC_250005)

[参考文献 24](#_TOC_250004)

[综述 29](#_TOC_250003)

[在读期间发表的论文 39](#_TOC_250002)

[主要英文缩略语索引 40](#_TOC_250001)

[致谢 41](#_TOC_250000)

LIMK1、COFILIN1、DESTRIN在胃癌中表达

及临床病理意义中文摘要

目的：检测LIMK1、cofilin1和destrin在胃癌中的表达及其临床病理意义。

方法：应用组织芯片与免疫组织化学SP法检测胃癌、非典型增生及正常组织中LIMK1、cofilin1和destrin的表达。采用SPSS 17.0软件进行统计学处理分析。结果：按研究需要制作5×10芯片4张，组织位点的形态可观测率在98.46%。

LIMK1、cofilin1、destrin 在正常组织、非典型增生组织与胃癌中表达分别为

23.5%、42.3%与62.96%, 35.29%、50.00%与77.78%, 35.29%, 69.23%与86.42%，

组间均具有显著性差异（*P*<0.05）。在高分化、中分化、低分化腺癌的表达分别为20.00%，47.06%、71.19%，40.00%、64.71%、84.75%，40.00%、64.71%、96.61%，

有随分化程度降低均呈上升的趋势，组间差异显著（*P*<0.05）。瘤体积≤3.0cm的胃癌中LIMK1、cofilin1、destrin的表达分别为34.37%、59.38%、65.63%明显低于＞3.0cm的81.63%、89.80%、100%，组间有显著性差异（*P*<0.05）。淋巴结转移组表达分别为70.91%、85.45%、100%均明显高于未转移组46.15%、61.54%、57.69%，有统计学意义（*P*<0.05）。TNM分期Ⅲ、Ⅳ期表达73.47%、87.76%、

100%分别明显高于Ⅰ、Ⅱ期46.88%、62.5%、65.63%（*P*<0.05）。根据LIMK1、

COFILIN1、DESTRIN表达结果的等级资料进行Spearman等级相关分析显示，

LIMK1、cofilin1及destrin之间存在明显正相关。LIMK1、cofilin1、destrin表达与患者性别、年龄差异无显著性（*P*> 0.05）。

结论：

1. LIMK1与胃癌的分化程度、肿瘤大小、淋巴结转移、临床分期密切相关。

2. cofilin1与胃癌的分化程度、肿瘤大小、淋巴结转移、临床分期密切相关。

3. destrin与胃癌的分化程度、肿瘤大小、淋巴结转移、临床分期密切相关。

4. LIMK1、cofilin1和destrin在胃癌中表达成正相关，与胃癌进展及预后密切相关，可能是侵袭转移重要生物标记。

关键词：胃癌；组织芯片；免疫组织化学； LIMK1； cofilin1； destrin

**Clinicopathological Significance of Expression of LIMK1, Cofilin1 and Destrin in Gastric Cancer**

**Abstract**

**Objective:** To investigate the expression of LIMK1, cofilin1 and destrin in gastric cancer, normal tissue and atypical hyperplasia and clinicopathological significance.

**Methods:** Tissue chip and immunohistochemistry (SP method) were used to detect the expression of LIMK1, cofilin1 and destrin in 81 cases of gastric cancer, 34 cases of normal tissue and 26 cases of atypical hyperplasia. Analysis the data use spss16.0, significance was set at *P*<0.05.

**Results:** According to the research, 4 pieces of 5×10 chips were made. The observable rate of the tissue sites form is 98.46%.

The expression positive rate of LIMK1, cofilin1, destrin in normal tissue, atypical hyperplasia and gastric carcinoma were 23.5%, 42.3% and 62.96%, 35.29%, 50.00%

And 77.78%, 35.29%, 69.23% and 86.42%, respectively, the difference between the groups has statistical significance(*P*<0.05).

The expression positive rate of LIMK1, cofilin1 and destrin in well, moderately differentiated and poorly differentiated adenocarcinoma was 20.00%, 47.06% and 71.19%, 40.00%, 64.71% and 84.75%, 40.00%, 64.71% and 96.61%, respectively,

Increased with the decreased level of differentiation, the difference between the groups has statistical significance(*P*<0.05).

The expression positive rate of LIMK1, cofilin1 and destrin in gastric tumor smaller than 3.0cm was 34.37%, 59.38% and 65.63%, lower than that of bigger than 3.0cm of 81.63%, 89.80% and 100%, respectively, the difference between the groups has statistical significance(*P*<0.05). The expression positive rate of lymph node metastasis group was 70.91%, 85.45% and 100%, were significantly higher than the group without metastasis 46.15%, 61.54% and 57.69%, respectively, the difference between the groups has statistical significance(*P*<0.05). The expression positive rate

OfⅢandⅣstage of TNM was 73.47%, 87.76% and 100%, significantly higher than

That ofⅠandⅡstage 46.88%, 62.5% and 65.63%, respectively (*P*<0.05). According to the level of expression of the LIMK1, Cofilin1, Destrin, results of data analysis Spearman rank correlation showed that there is significant positive correlation between LIMK1, cofilin1 and destrin. LIMK1, cofilin1 and destrin expression with gender and age, no significant difference *(P*> 0.05).

**Conclusion:**

1. The expression of LIMK1 has close correlation with the degree of differentiation, tumor volume, lymph node metastasis and TNM staging in gastric cancer.

2. The expression of Cofilin has close correlation with the degree of differentiation, tumor volume, lymph node metastasis and TNM staging in gastric cancer.

3. The expression of Destrin has close correlation with the degree of differentiation, tumor volume, lymph node metastasis and TNM staging in gastric cancer.

4. LIMK1, Cofilin1 and Destrin are closely related positively correlating with each other, which is closely related to the occurrence, development [and](http://www.iciba.com/and/) prognosis, and it may be regarded as an important biomarker in gastric cancer.

**Key Words:** gastric cancer; Tissue chip; Immunohisochemistry; LIMK1; Cofilin1; Destrin

前 言

胃癌在全世界范围内是发病率最高的癌症之一，我国胃癌发病率和死亡率高居世界首位。1/10人口死因抽样调查结果表明，胃癌死亡率（25.2/10万）呈上升趋势，占全部恶性肿瘤死亡的23.2%，为欧美发达国家的4.2-8.0倍，其特点是乡村比城市高、男性比女性高、青壮年高、西部比东部高，5年生存率低（发达国家33%，发展中国家20.5%）[1,2]。由于患者就诊时大多已经发生侵袭转移，从而手术、化疗、放疗等疗效差。因此，研究胃癌侵袭转移的分子机制，寻找其关键标记，为侵袭转移的早期诊断、预后判断及靶向干预治疗具有十分重要的临床意义。

肿瘤细胞侵袭是转移最关键性的步骤，而确定肿瘤的侵袭方式对有效的癌症治疗是非常重要的[3]。近年来，大量研究证实，肌动蛋白细胞骨架重组对于肿瘤细胞迁移、粘附和侵袭是基本的[4]。细胞迁移是由细胞伪足启动的高度整合的多阶段过程，迁移和侵袭的细胞形成的伪足结构取决于其形态、结构与功能特征，包括丝状伪足、板状伪足和侵袭性伪足，这些结构的形成由位于细胞前沿的时空调控的肌动蛋白聚合作用所驱动，细胞迁移调控紊乱可促进肿瘤侵袭与转移。肿瘤细胞利用其内在的迁移能力侵袭临近的组织和脉管系统，最后发生转移。在侵袭转移的癌细胞中，与肌动蛋白细胞骨架迁移相关信号分子上调[5]。而肌动蛋白解聚因子(actin-depolymerizing factor, ADF) /cofilin家族蛋白通过刺激肌动蛋白纤维的解聚与分离充当着肌动蛋白细胞骨架动力的关键调节剂，其活性与癌细胞的恶性与侵袭特性有关。尽管ADF/cofilin的研究比30年前更多了，但是，对这些蛋白的研究仍然是当前细胞迁移领域的前沿。ADF/cofilin是普遍见于所有真核生物的肌动蛋白结合蛋白，主要有cofilin1、肌特异性亚型cofilin2和destrin（又称ADF）三个成员[4,6-10]. siRNA沉默ADF或cofilin可导致F-actin的积聚，细胞缺乏运动性和胞质分裂，改变极化的薄层伪足突出和含有桩蛋白粘着物的分布[6,7]。研究表明，LIMK（Lim kinase）是肿瘤细胞侵袭转移中调节肌动蛋白细胞骨架的分子，

LIMK家族包括LIMK1和2，属于丝氨酸蛋白激酶，与调控肌动蛋白聚合和微管分解有关[10,11]。LIMK通过Rho GTPases途径的激活，PAK1、4和ROCK激酶活化环内的苏氨酸残基磷酸化，调控ADF/cofilin，影响肌动蛋白丝结构[10,11]。

LIMK1可磷酸化ADF/cofilin, RNA干扰ADF、Cofilin和LIMK1的表达可明显

减少肿瘤细胞迁移，表明LIMK1介导的ADF/Cofilin磷酸化与肿瘤细胞迁移与侵袭有关[4]。迁移的上皮细胞前缘突出需要对板状伪足中的肌动蛋白丝网络的精密调节。Rac1/Pak1/LIMK1 信号途径可调控层状伪足内的ADF/cofilin 活性。

ADF/cofilin活性增加可加速F-actin倒转和逆行流动，导致层状伪足变宽[12]。研究发现，Nischarin可通过负性调节LIMK/Cofilin途径，抑制乳腺癌细胞的LIMK活化、Cofilin磷酸化，调控细胞侵袭[13]。有人应用cDNA芯片检测感染I型幽门螺旋杆菌胃癌的差异基因表达显示，LIMK、LIMK mRNA上调，其可能是Hp相关发病机制的新靶点[14]。

我们在研究二烯丙基二硫（DADS）抗肿瘤作用的前期工作证实，DADS能体内外明显抑制人胃癌细胞增殖，并可诱导向正常细胞分化。同时，采用蛋白质组学研究DADS诱导人胃癌细胞的差异蛋白质，初步鉴定24个蛋白质，发现

LIMK激酶（Lim kinase, LIMK）明显下调[15]。并且，运用蛋白质组学鉴定DADS诱导人白血病HL-60细胞分化18个差异表达蛋白质，发现cofilin1下调[16]。运用蛋白质组学鉴定DADS诱导人结肠癌SW480细胞的差异蛋白质20种差异表达的蛋白质，发现ADF，即destrin明显下调[17]。目前，有关LIMK1、cofilin1、

destrin在肿瘤中表达与临床病理的关系研究不多，只分别见LIMK1在前列腺癌与子宫颈癌表达[18,19]，cofilin1在食管癌中表达[20]，destrin在甲状腺癌中表达的报道[21]，尚未见LIMK1、cofilin1、destrin在胃癌表达与三者之间关系及其临床病理意义研究。

组织芯片（tissue chips, TC）又称组织微阵列(tissue microarrays, TMA)，是将数十至上千个小组织整齐地排放在一张载玻片上而制成的组织切片。1998 年，

Kononen等[22]首次提出了组织芯片的概念，并制作了乳腺癌的组织微阵列并应用荧光原位杂交、免疫组织化学和mRNA原位杂交技术研究了6种基因及其表达产物的表达状态，不但发现这些指标与乳腺癌的预后密切相关，而且与大组织的检测结果完全一致。组织芯片的诞生为医学研究提供了一种高通量、大样本分子水平的分析工具。这样用同一套组织芯片即可迅速地对上百种生物分子标记（如抗原，DNA和RNA）进行检测、分析。因此组织芯片技术是建立疾病、特别是肿瘤的生物分子文库的强有力的工具。

我们先前在胃癌发生发展中相关基因改变及临床意义的研究中发现，P53 突

变、Rb缺失、P21WAF1多态性及P16缺失及表达与胃癌发生发展、侵袭转移及临床分期有关，相关基因GSTπ、ER与C-myc基因异常甲基化及表达与胃癌浸润、转移密切相关[23-33]。本研究在前期工作的基础上，采用组织芯片技术检测胃癌、非典型增生和正常组织中LIMK1、cofilin1和destrin的表达水平，分析其表达差异，研究三者之间关系及其与胃癌肿瘤大小、病理分级、淋巴结转移以及

TNM分期的相关性，探讨胃癌侵袭转移的分子机制，寻找其关键标记，为侵袭转移的早期诊断、预后判断及靶向干预治疗奠定基础。

材料与方法

# 1.1 材料

## 1.1.1 临床资料

收集湘潭市第一人民医院病理科2003-2009年间胃癌手术切除标本81例作为研究对象，全部病例均经HE切片复读确认，术前均未进行放化疗。其中男性56例，女性25例，平均年龄55.35岁（27-81岁），肿块体积32例≤3.0 cm，49例＞3.0 cm。参考国家“863”重大项目“胃癌分子分型与个体化诊疗”课题组建议分型，高分化腺癌5例，中分化腺癌17例，低分化癌59例。胃癌中有淋巴

结转移者55例，无淋巴结转移者26例。TNM分期Ⅰ-Ⅱ期32例，Ⅲ-Ⅳ期49

例。同时收集非典型增生26例，正常胃粘膜34例（胃癌手术切除标本中距癌灶

10cm以上胃正常粘膜组织作为对照组）。

## 1.1.2 主要实验仪器

高压锅：浙江苏泊尔炊具股份有限公司生产，型号为GB15066-2004

电磁炉：深圳市格力厨具有限公司

轮转式组织切片机：英国Shandon公司生产，型号为Shandon Finesse ME+

微量移液器（10μl/20μl/100μl/1000μl）：德国eppendorf公司

-20℃冰箱：青岛海尔集团

光学显微镜：日本OLYMPUS公司显微摄像系统：日本OLYMPUS公司

免疫组织化学专用湿盒：福州迈新生物技术有限公司

免疫组织化学专用抗原修复架及修复盒：福州迈新生物技术有限公司电热恒温干燥箱：天津市泰斯特仪器有限公司

打孔针、取样针：用穿刺针自行改制作

## 1.1.3 试剂

LIMK1单克隆抗体（ZA0554）美国ABZOOM公司1:200

Cofilin1兔多克隆抗体（ZA0231）美国ABZOOM公司1:200

Destrin兔多克隆抗体（ab11072）美国ABCAM公司1:200

二步法SP通用试剂盒 福州迈新生物技术公司

DAB显色剂 福州迈新生物技术公司

0.1M PBS 福州迈新生物技术公司

0.01M柠檬酸盐抗原修复液（PH6.0）福州迈新生物技术公司

EDTA修复液 福州迈新生物技术公司

## 1.1.4 主要溶液配制

1）苏木精染液（20×）：苏木精0.5克、铵矾24克、NaIO30.5克、蒸馏水50ml、甘油30克、冰醋酸2ml。

2）1%的伊红染液：将1克伊红溶于100ml蒸馏水中。

3）DAB显色剂：1ml蒸馏水中滴加A、B、C瓶液体各一滴，混匀；即用即配。

## 1.1.5 载玻片、盖玻片及液体处理

1）将载玻片、盖玻片浸酸24h，自来水浸泡冲洗，蒸馏水浸泡冲洗，100℃烤箱烤干。

2）将处理好的洁净载玻片在多聚赖氨酸溶液中浸泡10min，60℃干燥1h，备用。

3）所用器械、器皿及液体均经高压灭菌处理。

# 1.2 方法

## 1.2.1 组织芯片的制作

1）组织芯片构建的准备工作：根据实验研究的目的和需要以及蜡块的大小条件，每个蜡块设计为5×10点阵。把各组样本的点阵放在一起，以便于切片和镜下对比观察。本实验设阵列孔的右下方最后一排最后一个孔为空白标记。以确定方位顺序。

2）定位：在显微镜下选取HE切片上出血坏死少、病变典型、无皱折且组织处理较好、有代表性的区域，再用标记笔在切片上作出标记，然后在相应蜡块上确定与玻片标记处相对应的位置并作好标记。为减少对原始蜡块的破坏，在不影响组织代表性的前提下，尽量选取蜡块周边的组织。

3）自制打孔针和取样针：将49根国产18号胸骨穿针针芯及一根16号腰穿针针鞘的尖端切割磨平，将胸骨穿刺针的针柄切割掉，尾端用细铜丝缠绕，留

出5mm长针芯。将缠好的针芯紧密捆绑在一起，放入大小相适的方形金属模具中，往模具中注入水泥，待其硬化后即制成阵列管针针芯打孔模具制。胸骨穿针的针芯用于打孔，腰穿针的针鞘用于取样。（如图1所示）。

4）制备受体蜡块：选用美国产熔点60~62℃的美克牌石蜡，每1000g石蜡中加入125g熔点62~67℃蜂蜡，按比例放入烧杯中加热融化后在65℃烤箱中静置10h，去除沉淀杂质，保留上层石蜡。如此反复3次。往方形金属模具中注入石蜡，将制好的49阵列针芯模具倒扣在蜡液中，待其冷却，取出阵列针芯模具，即制成49孔受体蜡块。

5）组织蜡芯的获取与置入：将所有供体蜡块排序编号完毕后再依次从中获取蜡芯，方法是将取样针垂直于供体蜡块上已标记好的目标组织区表面稍加压并旋转针杆，向下钻取组织，拔出后轻推取样针的内芯，将组织芯依次推入受体蜡块孔中或用镊子将组织芯放入受体蜡块孔中，用实心单针逐一将目标组织柱轻轻压平，使之与受体蜡块表面平齐。装样完成后，在蜡块表面轻轻的涂一层已融化的石蜡，并用玻片轻压使组织芯片排平并封闭阵列孔，防止组织蜡芯掉出。将制成的组织芯片蜡块装样面向下放在平板玻璃上，套入大小适合的当初包埋用金属模具中，置入50-52℃恒温箱中放置过夜，使两者重新融合成一体，即得到组织芯片蜡块（如图1所示）。

6）切片和裱片：制作好的组织列阵受体蜡块的切片和裱片与常规组织切片、裱片相同。切片的厚度为3～4μm，连续切片，再将切好的组织芯片裱于涂有黏附剂的载玻片上，以降低染色时的脱片率（如图1所示）。

## 1.2.2 免疫组化染色

所有免疫组化均按试剂盒注明的要求用SP法完成。每一种染色均设立阳性对照和阴性对照：用预实验中已知的阳性组织切片作为阳性对照；用0.1MPBS代替一抗，作为阴性对照。具体步骤如下：切片60℃烤箱~~烤蜡~~过夜；常规脱蜡至水；自来水冲水20 min; PBS冲洗3次，每次5 min；抗原修复LIMK1、Cofilin1、

Destrin：柠檬酸修复。3%过氧化氢室温孵育10 min，消除内源性过氧化物酶；甩掉过氧化氢，PBS冲洗3次，每次5 min；甩干PBS，滴加一抗（LIMK1, 1:200；

Cofilin1，1:200；Destrin，1:200），放入37℃烤箱1h；PBS冲洗3次，每次5 min；去除PBS液，每张滴加50ul聚合物增强剂（试剂A），室温下孵育20 min; PBS

冲洗3次，每次5 min；去除PBS液，每张滴加50ul酶标抗鼠/兔聚合物（试剂

B），室温下孵育30 min; PBS冲洗3次，每次5分钟；去除PBS液，每张滴加

50ul新鲜配制的DAB液显色，光镜下控制显色时间，约3-5 min；自来水冲洗，终止显色；苏木素复染1min, PBS返蓝5 min，脱水、透明、封片。

## 1.2.3. 结果判定

LIMK1、Cofilin1、Destrin蛋白阳性表达为棕黄或棕褐色颗粒，定位于胞浆。结果按Shimizu[13]方法判断，根据阳性细胞染色程度及着色细胞百分率进行记分：

0分不着色，1分浅棕色，2分深棕色；着色细胞<5%为0分，5%-25%为1分，

26%-50%为2分；> 50%为3分。两种分值相加，1分为（-）；2分为弱阳性（+）；其中2～3分为阳性（++）；4～6分为强阳性（+++）。（++）～（+++）判为阳性，（-）～（+）判为阴性。

## 1.2.4. 统计学分析

采用SPSS 17.0软件进行统计学处理分析，对所测定结果进行χ2检验，检验以*P*<0.05为有统计学意义。相关性分析采用Spearman等级相关分析，r＞0为具有正相关关系，r＜0为具有负相关关系，r＝0为具有零相关系。

结 果

# 2.1 组织芯片制备结果

## 2.1.1 阵列蜡块的质量

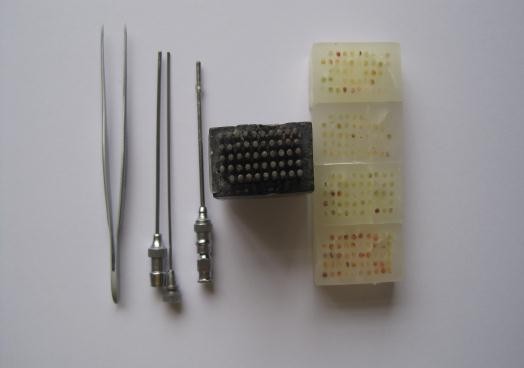
阵列蜡块完整，无开裂，组织蜡芯排列整齐有序，无移位（图1）。

## 2.1.2 组织芯片的质量

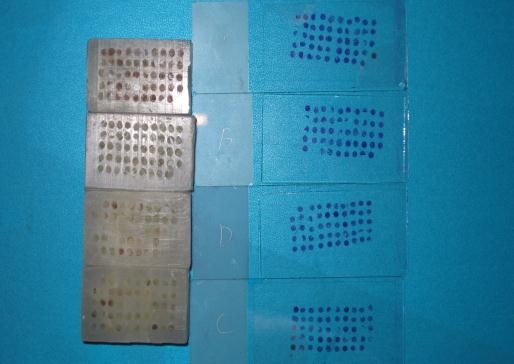
按课题需要制作组织芯片5×10蜡块4个，每张均以规则的点阵方式植入相同直径的圆形组织样本，组织学结构完整。组织点阵排列整齐，无点阵移位现象，有1个位点缺失，2个位点因定位错误未见可供研究的组织。其他位点组织均可见有研究意义的组织结构。组织位点的形态可观测率为98.46%（图1）。

## 2.1.3 HE和免疫组织化学染色质量

HE染色均匀，无脱片、异位和皱折。免疫组织化学染色无皱褶，2个位点于制片过程中脱片（图1）。



**A**



**B**

**图1** **组织芯片**

A： 打孔针、取样针与组织芯片腊块；B： 组织芯片的HE染色切片

# 2.2 LIMK1的表达

## 2.2.1 LIMK1蛋白在不同胃癌组织中的表达

正常上皮及非典型增生上皮可见LIMK1呈阴性或部分阳性表达，而胃癌呈强阳性表达，胞浆染成棕黄色细颗粒，均质分布。LIMK1在正常组织、非典型增生、胃癌中表达率分别为23.5%(8/34)、42.3%(11/26)、62.96%（51/81），组间差异有统计学意义（*P*<0.01）（图2，表1）。



**A-1**



**A-2**



**B-1**



**B-2**



**C-1**



**C-2**



**D-1**



**D-2**



**E-1**



**E-2**

**图2** **LIMK1在胃癌中表达**

A：正常胃黏膜；B：非典型增生；C：高分化腺癌；D：中分化腺癌；E：低分化腺癌；

1: HE×200; 2：SP×200

**表1** **LIMK1表达与胃癌临床病理的关系**

| 临床指标 |  | 病例数 | LIMK 阳性率(%) | χ2 | P |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 性别 | 男性 | 56 | 33/56(58.92%) | 1.266 | 0.260 |
|  | 女性 | 25 | 18/25(72%) |  |  |
| 肿瘤大小 | ≤3.0cm | 32 | 11/32(34.37%) | 18.539 | 0.000 |
|  | ＞3.0cm | 49 | 40/49(81.63%) |  |  |
| 组别 | 正常上皮 | 34 | 8/34(23.53%) | 15.583 | 0.000 |
|  | 非典型增生 | 26 | 11/26(42.31%) |  |  |
|  | 胃癌 | 81 | 51/81(62.96%) |  |  |
| 分型 | 高分化 | 5 | 1/5(20.00%) | 7.513 | 0.023 |
|  | 中分化 | 17 | 8/17(47.06%) |  |  |
|  | 低分化 | 59 | 42/59(71.19%) |  |  |
| 淋巴结转移 | 无 | 26 | 12/26(46.15%) | 4.639 | 0.031 |
|  | 有 | 55 | 39/55(70.91%) |  |  |
| TNM 分期 | Ⅰ、Ⅱ期 | 32 | 15/32(46.88%) | 5.871 | 0.015 |
|  | Ⅲ、Ⅳ期 | 49 | 36/49(73.47%) |  |  |

## 2.2.2 LIMK1与胃癌临床病理指标的关系

表1所示，LIMK1表达水平与患者性别差异无统计学意义（*P*> 0.05）。肿瘤体积≤3.0cm的胃癌中LIMK1的阳性率为34.37%(11/32)，明显低于＞3.0cm的的阳性率81.63%(40/49)，两者有显著性差异（*P*<0.01）。高分化、中分化、低分化腺癌LIMK1表达率分别为20.00%（1/5）、47.06%(8/17)、71.19%（42/59），随分化程度降低，表达逐渐增高，组间均有显著性差异（*P*<0.05）。淋巴结转移组阳性率70.91% (39/55)显著高于无淋巴结转移组的46.15% (12/26)(*P*<0.05)。胃癌Ⅰ、Ⅱ期LIMK1阳性率为46.88%（15/32）明显低于Ⅲ、Ⅳ组LIMK1阳性率73.47%(36/49)(*P*<0.05)（图2）。

# 2.3 Cofilin1的表达

## 2.3.1 Cofilin1蛋白在不同胃组织中的表达

正常上皮及非典型增生上皮可见cofilin1呈阴性或部分阳性表达，而胃癌呈强阳性表达，胞浆染成棕黄色细颗粒，均质分布。cofilin1在正常组织表达率为

35.29%（12/34），非典型增生和胃癌的表达率分别为50.00% (13/26)、77.78% (63/81)，组间差异具有显著性（*P*<0.01）（图3，表2）。

**表2** **Cofilin1表达与胃癌临床病理的关系**

| 临床指标 |  | 病例数 | 阳性率(%) | χ2 | P |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 性别 | 男性 | 56 | 45/56(80.36%) | 0.698 | 0.403 |
|  | 女性 | 25 | 18/25(72.00%) |  |  |
| 肿瘤大小 | ≤3.0cm | 32 | 19/32(59.38%) | 10.36 | 0.002 |
|  | ＞3.0cm | 49 | 44/49(89.80%) |  |  |
| 组别 | 正常上皮 | 34 | 12/34(35.29%) | 21.552 | 0.000 |
|  | 非典型增生 | 26 | 13/26(50.00%) |  |  |
|  | 胃癌 | 81 | 63/81(77.78%) |  |  |
| 分型 | 高分化 | 5 | 2/5(40.00%) | 7.467 | 0.024 |
|  | 中分化 | 17 | 11/17(64.71%) |  |  |
|  | 低分化 | 59 | 50/59(84.75%) |  |  |
| 淋巴结转移 | 无 | 26 | 16/26(61.54%) | 5.842 | 0.016 |
|  | 有 | 55 | 47/55(85.45%) |  |  |
| TNM 分期 | Ⅰ、Ⅱ期 | 32 | 20/32(62.50%) | 7.144 | 0.008 |
|  | Ⅲ、Ⅳ期 | 49 | 43/49(87.76%) |  |  |



**A-1**



**A-2**



**B-1**



**B-2**



**C-1**



**C-2**



**D-1**



**D-2**



**E-1**



**E-2**

**图3** **Cofilin1在胃癌中表达**

A：正常胃黏膜；B：非典型增生；C：高分化腺癌；D：中分化腺癌；E：低分化腺癌；

1: HE ×100; 2：SP×100

## 2.3.2 Cofilin1与胃癌临床病理指标的关系

表2所示，Cofilin1表达水平与肿瘤体积相关，≤3.0cm的胃癌阳性率为59.4%

（19/32），＞3.0cm的阳性率89.8%(44/49)（*P*<0.01）。高分化、中分化、低分化腺癌表达率分别为40.00%(2/5)、64.71%(11/17)、84.75%(50/59)(*P*<0.05)。

Ⅰ、Ⅱ期阳性率62.5% (20/32)低于Ⅲ、Ⅳ期的87.76% (43/49)（*P*<0.01）。淋巴结

转移组表达85.45% (47/55)明显高于无淋巴结转移组的61.54% (16/26()

与患者性别差异无统计学意义（*P*> 0.05）。

# 2.4 Destrin的表达

## 2.4.1 Destrin蛋白在不同胃组织中的表达

*P*<0.05）。

正常上皮及非典型增生上皮可见destrin呈阴性或阳性表达，而胃癌呈强阳性表达，胞浆染成棕黄色细颗粒，均质分布。destrin在正常组织、非典型增生和胃癌的表达率分别为35.29%(12/34)，69.23% (18/26)与86.42% (70/81)，组间差异具有显著性（*P*<0.01）（图4，表3）。

表3 Destrin表达与胃癌临床病理的关系

| 临床指标 |  | 病例数 | 阳性率(%) | χ2 | P |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 性别 | 男性 | 56 | 48/56(85.71%) | 0.077 | 0.781 |
|  | 女性 | 25 | 22/25(88.00%) |  |  |
| 肿瘤大小 | ≤3.0cm | 32 | 21/32(65.63%) | 19.491 | 0.000 |
|  | ＞3.0cm | 49 | 49/49(100%) |  |  |
| 组别 | 正常上皮 | 34 | 12/34(35.29%) | 30.397 | 0.000 |
|  | 非典型增生 | 26 | 18/26(69.23%) |  |  |
|  | 胃癌 | 81 | 70/81(86.42%) |  |  |
| 分型 | 高分化 | 5 | 2/5(40.00%) | 21.231 | 0.000 |
|  | 中分化 | 17 | 11/17(64.71%) |  |  |
|  | 低分化 | 59 | 57/59(96.61%) |  |  |
| 淋巴结转移 | 无 | 26 | 15/26(57.69%) | 26.926 | 0.000 |
|  | 有 | 55 | 55/55(100%) |  |  |
| TNM 分期 | Ⅰ、Ⅱ期 | 32 | 21/32(65.63%) | 19.491 | 0.000 |
|  | Ⅲ、Ⅳ期 | 49 | 49/49(100%) |  |  |



**A-1**



**A-2**



**B-1**



**B-2**



**C-1**



**C-2**



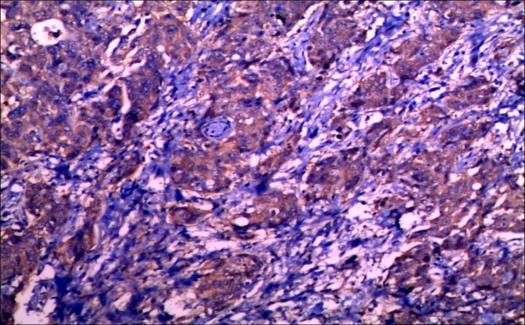
**D-1**



**D-2**



**E-1**



**E-2**

**图 4** Destrin**在胃癌中表达**

A：正常胃黏膜；B：非典型增生；C：高分化腺癌；D：中分化腺癌；E：低分化腺癌；

1: HE ×200; 2：SP×200

## 2.4.2 Destrin与胃癌临床病理指标的关系

表3所示，destrin表达水平与患者性别差异无统计学意义（*P*> 0.05），而与肿瘤体积相关，≤3.0cm的胃癌中destrin的阳性率为65.63% (21/32)，＞3.0cm的胃癌中destrin 的阳性率100%(49/49)，组间差异有统计学意义（*P*<0.01）。高分化、中分化、低分化腺癌表达率destrin分别为40.00%（2/5）、64.71%（11/17）、

96.61%（57/59），随分化程度降低，表达逐渐增高，组间均有显著性差异（*P*<0.01）。

Ⅰ、Ⅱ期destrin阳性率为65.63% (21/32)，比Ⅲ、Ⅳ期destrin阳性率100% (49/49)低，组间具有显著性差异（*P*<0.01）。淋巴结阳性组胃癌destrin表达阳性率100% (55/55)，明显高于无淋巴结转移组的57.69% (15/26)(*P*<0.01)。

# 2.5 胃癌中Limk1、Cofilin1、Destrin蛋白表达的相关性分析

表4所示，根据LIMK1、Cofilin1、Destrin表达结果的等级资料进行Spearman

等级相关分析，结果显示LIMK1、Cofilin1及Destrin之间存在明显正相关性。

表4 LIMK1、Cofilin、Destrin蛋白在胃癌中表达的相关性

| 指标 | LIMK1 | | Cofilin1 | | Destrin | |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | r 值 | P 值 | r 值 | P 值 | r 值 | P 值 |
| LIMK1 | 1.000 | 0.000 | 0.266 | 0.016 | 0.293 | 0.008 |
| Cofilin1 | — | — | 1.000 | 0.000 | 0.482 | 0.000 |
| Destrin | — | — | — | — | 1.000 | 0.000 |

讨 论

近年来，LIMK在肿瘤细胞迁移侵袭中的作用引起了广泛关注。LIMK家族包括LIMK 1和LIMK 2，而参与细胞侵袭转移的主要是LIMK1[35]. LIMK1基因位于人类染色体上7q11.23, mRNA编码LIMK1蛋白，参与决定细胞命运、生长调节、癌症发生及细胞骨架重组[10]。肿瘤细胞的迁移过程表现为周期性的边缘凸起、粘着和回缩，导致细胞向前“迈步”，肿瘤细胞迈步形成肌动蛋白微丝网络构成的侵袭性伪足[36]。众多分子参与了肌动蛋白聚合与解聚的调节过程[37-39]，其中，肌动蛋白解聚因子ADF/cofilin家族蛋白通过刺激肌动蛋白纤维的解聚与分离充当着肌动蛋白细胞骨架动力的关键分子，参与伪足形成[12,38,39]。

LIMK磷酸化作用可引起细胞骨架肌动蛋白动力学变化及微管解聚，促进肿瘤迁移侵袭[40]。因此，LIMK与cofilin1、destrin是肿瘤细胞侵袭转移中调控肌动蛋白细胞骨架的分子[5]。

**1.** **LIMK1在胃癌组织中的表达及作用**

在人体，LIMK1广泛存在于各种细胞系及组织中，尤其是脑、肾、肺、胃和睾丸[41]。实验证实，内源性LIMK1在多种恶性肿瘤细胞内高表达或活性增强，并通过不同的机制和途径参与肿瘤细胞的侵袭转移过程。LIMK1在人前列腺癌及前列腺癌各细胞系均高表达，与正常前列腺上皮细胞P69和BPH-1比较，前列腺癌M21和M12细胞LIMK1表达水平随着肿瘤发生与侵袭性特性增强而增加；LNCaP和M21细胞与转移性PC3、DU145和M12细胞LIMK1表达高2-3倍；转移性前列腺癌PC3和M21细胞高5-10倍。并且，转移性前列腺癌PC3和M21细胞LIMK1表达比低侵袭性LNCaP和M21细胞高。异位表达的LIMK1可使良性前列腺细胞获得转移能力，部分抑制LIMK1后可阻滞细胞在G2/M期，抑制细胞增殖、转变细胞形态，遏制转移性前列腺癌细胞的侵袭性。同时，发现前列腺癌中与转移相关的染色体基因位点在7ql1.2，而人类LIMK1基因定位在

7ql1.23，提示两者有相关性[3]。LIMK1在侵袭性前列腺癌及乳腺癌细胞系中的水平及活力均较低侵袭性癌细胞高[4]。LIMK1在人乳腺癌细胞中高表达，促进细胞增殖，增强细胞侵袭力，并促进体外血管发生。雌性裸小鼠乳腺癌细胞中高表达的LIMK1可促使癌细胞肝肺转移[42]。此外，LIMK1在人肺癌细胞系H1299[43]、人恶性胶质瘤细胞[44]、卵巢癌[45]高表达，参与了肿瘤细胞的侵袭迁移过程。

有关LIMK1在肿瘤组织中表达的报道较少。[Chhavi](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22Chhavi%22%5BCorporate%20Author%5D)等采用Western blot检测25例子宫颈正常组织、16例上皮内瘤变（CIN）与34例子宫颈癌LIMK1表达发现，宫颈癌LIMK1表达分别较正常组织与CIN明显高4.6与3.0倍。并且，

LIMK1表达与调控G2/M有关，宫颈癌G2/M期LIMK1表达1.04±0.13，分别高于正常组织与CIN的0.22±0.05与0.35±0.14。高表达LIMK1患者2年全部生存率明显低于低表达患者，高表达死亡患者为41.2% (14/34)，比低表达患者11.8%

（4/34）高3,5倍，提示LIMK1表达与子宫颈癌侵袭呈明显正相关，而与生存率呈负相关[19]。Davila等研究显示，在LIMK1高表达的前列腺癌组织中，LIMK1广泛分布于癌腺体上皮的胞浆与细胞核，而良性腺体局限于基底细胞，提示LIMK1表达可能是前列腺癌进展的生物标记[18]。

本研究结果显示，LIMK1 在正常组织、非典型增生、胃癌中表达分别为

23.5%、42.3%、62.96%，组间均具有显著性差异（*P*<0.01）。在高分化、中分化、低分化腺癌的表达分别为20.00%，47.06%、71.19%，随着分化程度降低表达逐渐增高（*P*<0.01）。瘤体积≤3.0cm的胃癌LIMK1表达34.37%明显低于＞3.0cm的81.63%（*P*<0.05）。淋巴结转移组表达70.91%明显高于未转移组46.15%

（*P*<0.05）。在Ⅰ与Ⅱ期62.5%显著低于Ⅲ与Ⅳ期90.00%（*P*<0.05）。提示LIMK1与胃癌分化程度、肿瘤大小、淋巴结转移、临床分期密切相关，在胃癌的侵袭转移过程中起着重要的作用，可能是侵袭和转移机制中一个关键生物标记。

2. Cofilin1在胃癌组织中的表达及作用

cofilin1是ADF/cofilin家族的主要成员。cofilin1基因定位于11q13染色体，编码一种低分子量(21kD)的肌动蛋白结合蛋白，Cofilin1 mRNA与蛋白在所有真核细胞中都有表达[46, 47]。研究显示，cofilin1富集于运动前沿如细胞褶皱处和伪足[48,49]。LIMK1可通过Ser3位点的磷酸化使cofilin1蛋白失活，使其不能与肌动蛋白丝结合，从而提高其稳定性，导致肌动蛋白细胞骨架的改变与伪足形成，RNA干扰Destrin、Cofilin1和LIMK1的表达可明显减少肿瘤细胞迁移，提示

LIMK1介导的ADF/Cofilin1磷酸化与肿瘤细胞迁移与侵袭有关[4]。

李振华等发现，1, 25(OH) 2D3抑制人骨肉瘤U2OS细胞增殖与p-cofilin1的表达水平有关[50]。凝血因子Xa可通过LIMK1介导Cofilin失活抑制癌细胞迁移

[51]. 在成人胶质细胞瘤中，cofilin1高表达可增加细胞移行速度[52]。乳腺肿瘤细

胞的侵袭性亚群cofilin1 mRNA高表达[53]。Cofilin1在高度侵袭性的小鼠成胶质细胞瘤C6细胞系中过表达[54]。

新近，Wang等发现，cofilin1在正常黏膜表达40.7%（24/59），并只在黏膜基底细胞弱-中度阳性，在食管癌表达79.7%（51/64），大部分癌细胞强阳性，并主要在细胞核表达，与正常黏膜组织差异显著(*P*<0.01)。淋巴结转移表达90.6%

（29/32）明显高于无转移68.8% (22/32) (*P* <0.05)。I/IIa期表达68.8% (22/32)显著低于IIb/III/IV期表达90.6% (29/32)(*P* <0.05)。G1、G2、G3分别表达40.0%

（2/5）、80.1% (38/47)、91.7% (11/12)，组间差异具有显著性意义(*P* <0.05). 同时，分析70例食管癌及其邻近正常上皮组织cofilin1 mRNA表达，发现食管癌高表达64.3% (45/70)明显高于正常组织（*P*<0.01）. 淋巴结转移表达80.6% (29/36)明显

高于无转移47.1% (16/34), I/IIa表达47.1% (16/34)明显低于IIb/III/IV的80.6% (29/36) (*P*<0.01)。提示cofilin 1与食管癌病理学分类、淋巴结转移和临床分期有关，cofilin1在食管癌发生起着重要作用，可能成为食管癌诊断与预后的一个新的生物标记以及治疗靶点[20]。

本研究发现，cofilin1在正常组织、非典型增生、胃癌组织分别表达35.29%、

50%、77.78%（*P*<0.01）；在高分化、中分化、低分化腺癌的表达分别为40.00%、

64.71%、84.75%，随分化程度降低而增加（*P*<0.01）；体积≤3.0cm 的胃癌表达

59.38%显著低于＞3.0cm的89.80%（*P*<0.01）。淋巴结转移表达85.45%显著高于未转移组61.54%（*P*<0.05）。Ⅰ、Ⅱ期62.5%显著低于Ⅲ、Ⅳ期87.76%（*P*<0.05）。提示cofilin1与胃癌分化程度、肿瘤大小、淋巴结转移与临床分期密切相关，在胃癌的侵袭转移过程中起着重要的作用，可能是胃癌侵袭转移的肿瘤标志物。

3. Destrin在胃癌组织中的表达及作用

Destrin属于ADF/cofilin1家族成员，基因定位于20p12.1，编码分子量为15-20

kD的肌动蛋白结合蛋白，参与细胞迁移、黏附、形态发生和细胞动力等方面[55]。一定条件下可促使肌动蛋白微丝解聚，是调控细胞骨架F-actin解聚和重构的重要因素。该家族蛋白能够切断肌动蛋白丝并结合到肌动蛋白单体(G-actin)上，加快体内肌动蛋白的转换率，通过切断肌动蛋白丝和增加解聚作用，在肌动蛋白动力中发挥重要的作用[56]。故此类蛋白的研究日益成为国内外关注的热点。有人发现，高表达destrin、cofilin的人结肠癌Isreco1细胞的侵袭特性各自不同，

只有destrin表现对胶原I上的细胞迁移和侵袭穿过基质胶是必须的，细胞粘附在collagen I或Matrigel上的p130Crk相关底物(p130Cas)的磷酸化是destrin依赖性的，而cofilin是不依赖的，提示destrin是Isreco1细胞侵袭表型的多种重要过程的有意义的调节剂[7]**。**[Verdon等发现，](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22Verdoni%20AM%22%5BAuthor%5D)Destrin可导致上皮过度增殖与新血管形成[57]。Cheng等研究显示，Tetrandrine抑制肝癌HepG2细胞增殖的蛋白质组学发现destrin下调[58]。[Onda等采用DNA微阵列分析甲状腺癌](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22Onda%20M%22%5BAuthor%5D)差异表达基因发现destrin高表达，并免疫组化验证destrin表达上调[21]。

本研究发现，destrin在正常组织、非典型增生、癌组织中表达分别为35.29%，69.23%与86.42%（*P*<0.05）。高分化、中分化、低分化腺癌表达分别为40.00%、

64.71%、96.61%，有随分化程度降低均呈上升的趋势（*P*<0.05）。瘤体积≤3.0cm的胃癌65.63%明显低于＞3.0cm的100%（*P*<0.05）。淋巴结转移组表达100%明显高于未转移组57.69%（*P*<0.05）。Ⅲ、Ⅳ期表达100%明显高于Ⅰ、Ⅱ期65.63%

（*P*<0.05）。提示destrin与胃癌分化程度、肿瘤大小、淋巴结转移、临床分期密切相关，在胃癌的侵袭转移过程中起着重要的作用，可能是胃癌侵袭和转移的一个关键生物标记。

4. LIMK1、cofilin1与destrin在胃癌中表达的关系

研究证明，LIMK、cofilin1、destrin是肿瘤细胞侵袭转移中调控肌动蛋白细胞细胞骨架的分子，与肿瘤侵袭转移有关[5]。本研究根据LIMK1、cofilin1、destrin表达结果的等级资料进行Spearman等级相关分析显示，LIMK1、cofilin1及destrin三者之间存在明显正相关，表明三者与胃癌分化程度、肿瘤大小、淋巴结转移、临床分期密切相关，在胃癌的侵袭转移过程中起着重要的作用，可能是胃癌侵袭和转移新的重要生物标记，提示联合检测LIMK1、cofilin1、destrin有助于对胃癌侵袭转移的早期诊断、预后判断及确定治疗方案，并且，可能成为治疗靶点。

综上所述，本研究采用组织芯片分别检测胃癌、非典型增生与正常组织中

LIMK1、cofilin1、destrin蛋白表达，显示胃癌呈高表达，三者表达分别与胃癌分化程度、肿瘤大小、淋巴结转移、临床分期密切相关，并且，三者之间存在明显正相关，表明三者在胃癌的侵袭转移过程中起着重要的作用，可能是胃癌侵袭转移新的重要生物标记，联合检测LIMK1、cofilin1、destrin对胃癌侵袭转移的早期诊断、预后判断及治疗方案确定具有一定实际应用价值。

结论

1. LIMK1与胃癌的分化程度、肿瘤大小、淋巴结转移、临床分期密切相关。

2. cofilin1与胃癌的分化程度、肿瘤大小、淋巴结转移、临床分期密切相关。

3. destrin与胃癌的分化程度、肿瘤大小、淋巴结转移、临床分期密切相关。

4. LIMK1、cofilin1和destrin在胃癌中表达成正相关，与胃癌进展及预后密切相关，可能是侵袭转移重要生物标记。

参考文献

[1] 孙秀娣, 牧人, 周有尚, 等. 中国胃癌死亡率20年变化情况分析及其发展趋势预测[J]. 中华肿瘤学杂志, 2004, 26(1): 4-9.

[[2] Parkin DM,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&amp;Cmd=Search&amp;Term=%22Parkin%20DM%22%5BAuthor%5D&amp;itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVAbstract) [Bray F,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&amp;Cmd=Search&amp;Term=%22Bray%20F%22%5BAuthor%5D&amp;itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVAbstract) [Ferlay J,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&amp;Cmd=Search&amp;Term=%22Ferlay%20J%22%5BAuthor%5D&amp;itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVAbstract) [et](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&amp;Cmd=Search&amp;Term=%22Pisani%20P%22%5BAuthor%5D&amp;itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVAbstract) al. Global cancer statistics, 2002[J]. CA Cancer J Clin, 2005, 55(2): 74-108.

[[3] Rösel D,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&amp;Cmd=Search&amp;Term=%22R%C3%B6sel%20D%22%5BAuthor%5D&amp;itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVAbstract) [Brábek J](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&amp;Cmd=Search&amp;Term=%22Br%C3%A1bek%20J%22%5BAuthor%5D&amp;itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVAbstract), [Tolde O,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&amp;Cmd=Search&amp;Term=%22Tolde%20O%22%5BAuthor%5D&amp;itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVAbstract) et al. Up-regulation of Rho/ROCK1 signaling in sarcoma cells drives invasion and increased generation of protrusive forces[J]. Mol Cancer Res, 2008, 6(9): 1410-20.

[[4] Horita Y,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&amp;Cmd=Search&amp;Term=%22Horita%20Y%22%5BAuthor%5D&amp;itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVAbstract) [Ohashi K](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&amp;Cmd=Search&amp;Term=%22Ohashi%20K%22%5BAuthor%5D&amp;itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVAbstract), [Mukai M](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&amp;Cmd=Search&amp;Term=%22Mukai%20M%22%5BAuthor%5D&amp;itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVAbstract), et al. Suppression of the invasive capacity of rat ascites hepatoma cells by knockdown of Slingshot or LIM kinase[J]. J Biol Chem, 2008, 283(10): 6013-21.

[[5] Yamaguchi H,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&amp;Cmd=Search&amp;Term=%22Yamaguchi%20H%22%5BAuthor%5D&amp;itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVAbstract) [Condeelis J](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&amp;Cmd=Search&amp;Term=%22Condeelis%20J%22%5BAuthor%5D&amp;itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVAbstract). Regulation of the actin cytoskeleton in cancer cell migration and invasion. Biochim Biophys Acta[J]. 2007, 1773(5): 642-52.

[[6] Van Troys M](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&amp;Cmd=Search&amp;Term=%22Van%20Troys%20M%22%5BAuthor%5D&amp;itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVAbstract), [Huyck L,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&amp;Cmd=Search&amp;Term=%22Huyck%20L%22%5BAuthor%5D&amp;itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVAbstract) [Leyman S,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&amp;Cmd=Search&amp;Term=%22Leyman%20S%22%5BAuthor%5D&amp;itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVAbstract) et al. Ins and outs of ADF/cofilin1 activity and regulation[J]. Eur J Cell Biol, 2008, 87(8-9): 649-67.

[[7] Estornes Y,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/?Db=pubmed&amp;Cmd=Search&amp;Term=%22Estornes%20Y%22%5BAuthor%5D&amp;itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVAbstract) [Gay F,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/?Db=pubmed&amp;Cmd=Search&amp;Term=%22Gay%20F%22%5BAuthor%5D&amp;itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVAbstract) [Gevrey JC](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/?Db=pubmed&amp;Cmd=Search&amp;Term=%22Gevrey%20JC%22%5BAuthor%5D&amp;itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVAbstract), et al. Differential involvement of destrin and cofilin1-1 in the control of invasive properties of Isreco1 human colon cancer cells[J]. Int J Cancer, 2007, 121(10): 2162-71.

[[8] Hotulainen P,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/?Db=pubmed&amp;Cmd=Search&amp;Term=%22Hotulainen%20P%22%5BAuthor%5D&amp;itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVAbstract) [Paunola E](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/?Db=pubmed&amp;Cmd=Search&amp;Term=%22Paunola%20E%22%5BAuthor%5D&amp;itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVAbstract), [Vartiainen MK,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/?Db=pubmed&amp;Cmd=Search&amp;Term=%22Vartiainen%20MK%22%5BAuthor%5D&amp;itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVAbstract) [et](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/?Db=pubmed&amp;Cmd=Search&amp;Term=%22Lappalainen%20P%22%5BAuthor%5D&amp;itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVAbstract) al. Actin-depolymerizing factor and cofilin1-1 play overlapping roles in promoting rapid F-actin depolymerization in mammalian nonmuscle cells. Mol Biol Cell. 2005; 16(2): 649-64.

[[9] Tammana TV,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&amp;Cmd=Search&amp;Term=%22Tammana%20TV%22%5BAuthor%5D&amp;itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVAbstract) [Sahasrabuddhe AA,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&amp;Cmd=Search&amp;Term=%22Sahasrabuddhe%20AA%22%5BAuthor%5D&amp;itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVAbstract) [Mitra K,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&amp;Cmd=Search&amp;Term=%22Mitra%20K%22%5BAuthor%5D&amp;itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVAbstract) et al. Actin-depolymerizing factor, ADF/cofilin1, is essentially required in assembly of Leishmania flagellum[J]. Mol Microbiol, 2008, 70(4): 837-52.

[[10] Scott RW](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&amp;Cmd=Search&amp;Term=%22Scott%20RW%22%5BAuthor%5D&amp;itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVAbstract), [Olson MF.](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&amp;Cmd=Search&amp;Term=%22Olson%20MF%22%5BAuthor%5D&amp;itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVAbstract) LIM kinases: function, regulation and association with human disease[J]. J Mol Med, 2007, 85(6): 555-68.

[[11] Bernard O.](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&amp;Cmd=Search&amp;Term=%22Bernard%20O%22%5BAuthor%5D&amp;itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVAbstract) Lim kinases, regulators of actin dynamics[J]. Int J Biochem Cell Biol, 2007, 39(6): 1071-6.

[[12] Delorme V,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&amp;Cmd=Search&amp;Term=%22Delorme%20V%22%5BAuthor%5D&amp;itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVAbstract) [Machacek M](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&amp;Cmd=Search&amp;Term=%22Machacek%20M%22%5BAuthor%5D&amp;itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVAbstract), [DerMardirossian C,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&amp;Cmd=Search&amp;Term=%22DerMardirossian%20C%22%5BAuthor%5D&amp;itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVAbstract) et al. Cofilin1 activity downstream of Pak1 regulates cell protrusion efficiency by organizing lamellipodium and

Lamella actin networks[J]. Dev Cell, 2007, 13(5):646-62.

[[13] Ding Y,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&amp;Cmd=Search&amp;Term=%22Ding%20Y%22%5BAuthor%5D&amp;itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVAbstract) [Milosavljevic T](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&amp;Cmd=Search&amp;Term=%22Milosavljevic%20T%22%5BAuthor%5D&amp;itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVAbstract), [Alahari SK](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&amp;Cmd=Search&amp;Term=%22Alahari%20SK%22%5BAuthor%5D&amp;itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVAbstract). Nischarin inhibits LIM Kinase to regulate Cofilin1 phosphorylation and Cell Invasion. Mol Cell Biol[J]. 2008, 28(11): 3742-56.

[[14] Bach S,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&amp;Cmd=Search&amp;Term=%22Bach%20S%22%5BAuthor%5D&amp;itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVAbstract) [Makristathis A,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&amp;Cmd=Search&amp;Term=%22Makristathis%20A%22%5BAuthor%5D&amp;itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVAbstract) [Rotter M](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&amp;Cmd=Search&amp;Term=%22Rotter%20M%22%5BAuthor%5D&amp;itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVAbstract), [et](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&amp;Cmd=Search&amp;Term=%22Hirschl%20AM%22%5BAuthor%5D&amp;itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVAbstract) al. Gene expression profiling in AGS cells stimulated with Helicobacter pylori isogenic strains (cagA positive or cagA negative) [J]. Infect Immun, 2002, 70(2): 988-92.

[15] Yao L, Qi S, Jie H, et al. The differential proteomic expression analysis of diallyl disulfide-treated human gastric cancer MGC803 cells[J]. FEBS J, 2005, 272 (Sup1): 445-445.

[16] He J, Su Q, Huang WG, et al. Proteomic initial Analysis of differentiation of human myeloid leukemia cells induced by diallyl disulfide[J]. FEBS J, 2005, 272 (Sup1 ): 440-440.

[17] 苏坚, 贺修胜, 容映晖, 等. DADS诱导人结肠癌细胞蛋白质组差异表达的分析[J]. 中国药理学通报, 2006, 22(5): 583-7.

[[18] Davila M,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&amp;Cmd=Search&amp;Term=%22Davila%20M%22%5BAuthor%5D&amp;itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_DiscoveryPanel.Pubmed_RVAbstractPlus) [Frost AR,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&amp;Cmd=Search&amp;Term=%22Frost%20AR%22%5BAuthor%5D&amp;itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_DiscoveryPanel.Pubmed_RVAbstractPlus) [Grizzle WE](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&amp;Cmd=Search&amp;Term=%22Grizzle%20WE%22%5BAuthor%5D&amp;itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_DiscoveryPanel.Pubmed_RVAbstractPlus), et al. LIM kinase 1 is essential for the invasive growth of prostate epithelial cells: implications in prostate cancer [J]. J Biol Chem, 2003, 278(38): 36868-75.

[[19] Yoshioka K,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22Yoshioka%20K%22%5BAuthor%5D) [Foletta V,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22Foletta%20V%22%5BAuthor%5D) [Bernard O.](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22Bernard%20O%22%5BAuthor%5D) et al. A role for LIM kinase in cancer invasion [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2003, 100(12): 7247-52.

[[20] Wang WS](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22Wang%20WS%22%5BAuthor%5D), [Zhong HJ](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22Zhong%20HJ%22%5BAuthor%5D), [Xiao DW](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22Xiao%20DW%22%5BAuthor%5D), et al. The expression of CFL1 and N-WASP in esophageal squamous cell carcinoma and its correlation with clinicopathological features[J]. Dis Esophagus, 2010, 23(6): 512-21.

[[21] Onda M,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22Onda%20M%22%5BAuthor%5D) [Emi M](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22Emi%20M%22%5BAuthor%5D), [Yoshida A,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22Yoshida%20A%22%5BAuthor%5D) et al. [Comprehensive gene expression profiling of anaplastic thyroid cancers with cDNA microarray of 25 344 genes.](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15613457) Endocr Relat Cancer[J]. 2004, 11(4): 843-54.

[22] Kononen J, Bubendorf L, Kallioniemi A, et al. Tissue microarrays for high- throughput molecular profiling of tumor specimens [J]. Nature Med, 1998, 4(7): 844-7.

[23] 苏琦, 何冬梅, 梁晓秋, 等. PCR-SSCP检测胃癌中P53基因突变[J]. 南华大学学报·医学版, 2001, 29(6): 542-5.

[24] 苏琦, 何冬梅, 梁晓秋, 等. P53基因在胃癌及癌前病变中表达的临床病理意

义[J]. 美国中华临床医学杂志, 2001, 3(2):85-7.

[25] He XS, Rong YH, Su Q, et al. Expression of p16 gene and Rb protein in gastric carcinoma and their clinicopathological significance[J]. World J Gastroenterol, 2005, 11 (15): 2218- 23.

[26] 苏琦, 何冬梅, 罗招阳, 等. Rb基因在胃癌的表达与浸润、转移和临床分期的关系[J]. 中国肿瘤临床, 2000, 27(1): 64-5.

[[27] He XS,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22He%20XS%22%5BAuthor%5D) [Su Q,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22Su%20Q%22%5BAuthor%5D) [Chen ZC,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22Chen%20ZC%22%5BAuthor%5D) et al. Expression, deletion and mutation of P16 gene in gastric cancer[J]. World J Gastroenterol, 2001, 7(4): 515-21.

[28] Xie HL, Su Q, He XS, et al. Expression of p21WAF1 and p53 and polymorphism ofp21WAF1 gene in gastric carcinoma[J]. World J Gastroenterol, 2004, 10(8): 1125-31.

[29] 梁晓秋, 苏琦, 杨和平, 等. 人胎盘型谷胱甘肽S转移酶在胃癌组织中的表达与基因甲基化关系的研究[J]. 中国肿瘤临床, 1999, 26(5): 352-4.

[30] 苏琦, 敖启林, 梁晓秋, 等. 胃癌中ER与C-myc的相关性研究[J]. 中国肿瘤临床, 2000, 27(10): 732-4.

[31] 苏琦, 敖启林, 贺修胜, 等. 胃癌ER基因CpG岛甲基化与表达及其意义[J]. 中国肿瘤临床, 2004, 31(11): 607-10.

[32] 苏琦, 敖启林, 梁晓秋, 等. 胃癌中ER表达及病理临床意义[J]. 中国肿瘤临床与康复, 2001, 8(4): 26-7.

[33] 肖冬梅, 何志藩, 苏琦, 等. 人胃癌组织中C-myc 外显子特异性位点去甲基化与表达的研究[J]. 癌症, 1997, 16(5): 331-3.

[34] 于颖彦, 吕有勇. 胃癌病理分型和诊断标准的建议[J]. 中华病理学杂志, 2010, 3(94): 266-9.

[35] 马艳华, 史玲, 苏琦. LIM激酶与肿瘤[J]. 国际病理科学与临床杂志, 2009, 29(6): 490-3.

[[36] Xu X,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&amp;Cmd=Search&amp;Term=%22Xu%20X%22%5BAuthor%5D&amp;itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_DiscoveryPanel.Pubmed_RVAbstractPlus) [Johnson P](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&amp;Cmd=Search&amp;Term=%22Johnson%20P%22%5BAuthor%5D&amp;itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_DiscoveryPanel.Pubmed_RVAbstractPlus), [Mueller SC](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&amp;Cmd=Search&amp;Term=%22Mueller%20SC%22%5BAuthor%5D&amp;itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_DiscoveryPanel.Pubmed_RVAbstractPlus). Breast Cancer Cell Movement: Imaging Invadopodia by TIRF and IRM Microscopy [J]. Methods Mol Biol, 2009, 571: 209-25.

[[37] Yang C](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&amp;Cmd=Search&amp;Term=%22Yang%20C%22%5BAuthor%5D&amp;itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_DiscoveryPanel.Pubmed_RVAbstractPlus), [Czech L,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&amp;Cmd=Search&amp;Term=%22Czech%20L%22%5BAuthor%5D&amp;itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_DiscoveryPanel.Pubmed_RVAbstractPlus) [Gerboth S](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&amp;Cmd=Search&amp;Term=%22Gerboth%20S%22%5BAuthor%5D&amp;itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_DiscoveryPanel.Pubmed_RVAbstractPlus), et al. Novel roles of formin mDia2 in lamellipodia and filopodia formation in motile cells [J]. PLoS Biol, 2007, 5(11): e317.

[[38] Nishita M](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22Nishita%20M%22%5BAuthor%5D&amp;itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVAbstract), [Tomizawa C](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22Tomizawa%20C%22%5BAuthor%5D&amp;itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVAbstract), [Yamamoto M](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22Yamamoto%20M%22%5BAuthor%5D&amp;itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVAbstract), et al. Spatial and temporal regulation of cofilin1 activity by LIM kinase and Slingshot is critical for directional cell migration [J]. J Cell Biol, 2005, 171(2): 349-59.

[[39] Soosairajah J](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22Soosairajah%20J%22%5BAuthor%5D&amp;itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVAbstract), [Maiti S](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22Maiti%20S%22%5BAuthor%5D&amp;itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVAbstract), [Wiggan O,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22Wiggan%20O%22%5BAuthor%5D&amp;itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVAbstract) et al. Interplay between components of a novel LIM kinase-slingshot phosphatase complex regulates cofilin1 [J]. EMBO J, 2005, 24(3): 473-86.

[[40] Gorovoy M,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22Gorovoy%20M%22%5BAuthor%5D&amp;itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVAbstract) [Niu J](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22Niu%20J%22%5BAuthor%5D&amp;itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVAbstract), [Bernard O,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22Bernard%20O%22%5BAuthor%5D&amp;itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVAbstract) et al. LIM kinase 1 coordinates microtubule stability and actin polymerization in human endothelial cells [J]. J Biol Chem, 2005, 280(28): 26533-42.

[[41] Foletta VC,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&amp;Cmd=Search&amp;Term=%22Foletta%20VC%22%5BAuthor%5D&amp;itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_DiscoveryPanel.Pubmed_RVAbstractPlus) [Moussi N,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&amp;Cmd=Search&amp;Term=%22Moussi%20N%22%5BAuthor%5D&amp;itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_DiscoveryPanel.Pubmed_RVAbstractPlus) [Sarmiere PD](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&amp;Cmd=Search&amp;Term=%22Sarmiere%20PD%22%5BAuthor%5D&amp;itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_DiscoveryPanel.Pubmed_RVAbstractPlus), et al. LIM kinase 1, a key regulator of actin dynamics, is widely expressed in embryonic and adult tissues [J]. Exp Cell Res, 2004, 294(2): 392-405.

[[42] Bagheri-Yarmand R](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&amp;Cmd=Search&amp;Term=%22Bagheri-Yarmand%20R%22%5BAuthor%5D&amp;itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_DiscoveryPanel.Pubmed_RVAbstractPlus), [Mazumdar A](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&amp;Cmd=Search&amp;Term=%22Mazumdar%20A%22%5BAuthor%5D&amp;itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_DiscoveryPanel.Pubmed_RVAbstractPlus), [Sahin AA](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&amp;Cmd=Search&amp;Term=%22Sahin%20AA%22%5BAuthor%5D&amp;itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_DiscoveryPanel.Pubmed_RVAbstractPlus), et al. LIM kinase 1 increases tumor metastasis of human breast cancer cells via regulation of the urokinase-type plasminogen activator system [J]. Int J Cancer, 2006, 118(11): 2703-10.

[[43] Lee YJ](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&amp;Cmd=Search&amp;Term=%22Lee%20YJ%22%5BAuthor%5D&amp;itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_DiscoveryPanel.Pubmed_RVAbstractPlus), [Mazzatti DJ](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&amp;Cmd=Search&amp;Term=%22Mazzatti%20DJ%22%5BAuthor%5D&amp;itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_DiscoveryPanel.Pubmed_RVAbstractPlus), [Yun Z,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&amp;Cmd=Search&amp;Term=%22Yun%20Z%22%5BAuthor%5D&amp;itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_DiscoveryPanel.Pubmed_RVAbstractPlus) et al. Inhibition of invasiveness of human lung cancer cell line H1299 by over-expression of cofilin [J]. Cell Biol Int, 2005, 29(11): 877-83.

[[44] Guo H,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&amp;Cmd=Search&amp;Term=%22Guo%20H%22%5BAuthor%5D&amp;itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_DiscoveryPanel.Pubmed_RVAbstractPlus) [Gu F,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&amp;Cmd=Search&amp;Term=%22Gu%20F%22%5BAuthor%5D&amp;itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_DiscoveryPanel.Pubmed_RVAbstractPlus) [Li W,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&amp;Cmd=Search&amp;Term=%22Li%20W%22%5BAuthor%5D&amp;itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_DiscoveryPanel.Pubmed_RVAbstractPlus) et al. Reduction of protein kinase C zeta inhibits migration and invasion of human glioblastoma cells [J]. J Neurochem, 2009, 109(1): 203-13.

[[45] Wang W](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&amp;Cmd=Search&amp;Term=%22Wang%20W%22%5BAuthor%5D&amp;itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVAbstract), [Eddy R,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&amp;Cmd=Search&amp;Term=%22Eddy%20R%22%5BAuthor%5D&amp;itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVAbstract) [Condeelis J](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&amp;Cmd=Search&amp;Term=%22Condeelis%20J%22%5BAuthor%5D&amp;itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVAbstract). The cofilin1 pathway in breast cancer invasion and metastasis [J]. Nat Rev Cancer, 2007, 7(6): 429-40.

[46] Maciver SK, Hussey PJ. The ADF/cofilin family: actin-remodeling proteins [J]. Genome Biol, 2002, 3(5): reviews 3007.

[[47] Bernstein BW](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22Bernstein%20BW%22%5BAuthor%5D), [Bamburg JR](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22Bamburg%20JR%22%5BAuthor%5D). ADF/cofilin: a functional node in cell biology [J]. Trends Cell Biol, 2010, 20(4): 187-95.

[48] Kuhn TB, Meberg PJ, Brown MD, et al. Regulating actin dynamics in neuronal growth cones by ADF/cofilin and rho family GTPases [J]. J Neurobiol, 2000 44(2): 126-44.

[49] Ghosh M, Song X, Mouneimne G, et al. Cofilin promotes actin polymerization and defines the direction of cell motility [J]. Science, 2004, 304(5671): 743-6.

[50] 李振华, 王岩, 赵建武, 等. 1, 25 (OH) 2D3对人骨肉瘤细胞增殖以及Cofilin信号转导通路的影响[ J ]. 中国实验诊断学, 2008, 12 (1) : 29-31.

[[51] Borensztajn K,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22Borensztajn%20K%22%5BAuthor%5D) [Peppelenbosch MP](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22Peppelenbosch%20MP%22%5BAuthor%5D), [Spek CA](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22Spek%20CA%22%5BAuthor%5D). Coagulation Factor Xa inhibits cancer cell migration via LIMK1-mediated cofilin inactivation [J]. Thromb Res, 2010, 125(6): e323-8.

[[52] Yap CT,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22Yap%20CT%22%5BAuthor%5D) [Simpson TI,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22Simpson%20TI%22%5BAuthor%5D) [Pratt T,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22Pratt%20T%22%5BAuthor%5D) et al. The motility of glioblastoma tumour cells is modulated by intracellular cofilin expression in a concentration-dependent manner[J]. Cell Motil Cytoskeleton, 2005, 60(3): 153-65.

[[53] Wang W](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22Wang%20W%22%5BAuthor%5D), [Goswami S](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22Goswami%20S%22%5BAuthor%5D), [Lapidus K,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22Lapidus%20K%22%5BAuthor%5D) et al. Identification and testing of a gene expression signature of invasive carcinoma cells within primary mammary tumors[J]. Cancer Res, 2004, 64(23): 8585-94.

[[54] Gunnersen JM](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22Gunnersen%20JM%22%5BAuthor%5D), [Spirkoska V,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22Spirkoska%20V%22%5BAuthor%5D) [Smith PE](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22Smith%20PE%22%5BAuthor%5D), et al. Growth and migration markers of rat C6 glioma cells identified by serial analysis of gene expression[J]. Glia, 2000, 32(2): 146-54.

[[55] Horita Y](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22Horita%20Y%22%5BAuthor%5D), [Ohashi K,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22Ohashi%20K%22%5BAuthor%5D) [Mukai M](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22Mukai%20M%22%5BAuthor%5D), et al. Suppression of the invasive capacity of rat ascites hepatoma cells by knockdown of Slingshot or LIM kinase[J]. J Biol Chem, 2008, 283(10): 6013-21.

[[56] Hotulainen P,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22Hotulainen%20P%22%5BAuthor%5D) [Paunola E](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22Paunola%20E%22%5BAuthor%5D), [Vartiainen MK,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22Vartiainen%20MK%22%5BAuthor%5D) et al. Actin-depolymerizing factor and cofilin-1 play overlapping roles in promoting rapid F-actin depolymerization in mammalian nonmuscle cells[J]. Mol Biol Cell, 2005, 16(2): 649-64.

[57] Verdoni AM, Aoyama N, Ikeda A, et al. Effect of destrin mutations on the gene expression profile in vivo[J]. Physiol genomics. 2008, 34(1): 9-21.

[[58] Cheng Z](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22Cheng%20Z%22%5BAuthor%5D), [Wang K,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22Wang%20K%22%5BAuthor%5D) [Wei J](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22Wei%20J%22%5BAuthor%5D), et al. [Proteomic analysis of anti-tumor effects by tetrandrine treatment in HepG2 cells[J].](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20554191) Phytomedicine, 2010, 17(13): 1000-5.

综述

Cofilin与肿瘤的关系

吴勇军唐仪综述苏琦审校

（南华大学附属湘潭临床学院，湖南湘潭411101）

**[摘要]**丝切蛋白（Cofilin）是肌动蛋白解聚因子/丝切蛋白家系(actin depolymerizing factor/cofilin, ADF/cofilin)家系中一个重要的成员，其功能在于与丝状肌动蛋白(F-actin)结合后加速肌动蛋白丝的解聚，从而促进肌动蛋白微丝的循环。Cofilin依赖的肌动蛋白解聚/切割活性的精确空间调节对细胞运动性至关重要。近期研究表明，cofilin的功能可能还包括作为细胞迁移前缘的调节因子，通过应答上游信号调整薄片状伪足和层状伪足的立体空间的相互作用。Cofilin及其信号通路不仅在正常机体，还在肿瘤的发生、发展过程中起着重要的作用。本文综述了Cofilin的结构、功能、组织表达，参与肿瘤细胞侵袭迁移的机制以及信号通路的调控。

[关键词] Cofilin；肿瘤；侵袭；迁移

Cofilin and tumor WU Yong-jun, TANG Yi

(Xiang Tan Affiliated Clinical Institute, University of South China, Hunan 411101,

China)

[Abstract] Cofilin is an important member of ADF∕cofilin family. It's function exist in accelerate the depolymerization of actin filaments and futher develop the recycle of actin filaments after its binding to F-actin. The fidelity vacuityregulation of actin deploy-merization and cutting activity which cofilin depended. Recent research shows cofilin's function inducing act as regulatory factor of cell anterior border migration, regulate the interaction of lamelliform pseudopodia through answering upstream signal. Cofilin and it's pathway signal plays an important role not only in normal body, but also in the development and progress of tumor. In this review, we outline the structure, function, expression in various tissues and mechanism of cofilin-induced cell invasiveness and migration, as well as regulatory pathways.

[Key Words] Cofilin; Cancer; Invasion; Migration

肿瘤细胞的侵袭、转移是恶性肿瘤患者死亡的主要原因，由一系列复杂而连续的步骤所组成，涉及肿瘤自身与宿主之间错综复杂的关系，受到多种因素及相关基因的调控。丝切蛋白(Cofilin)是存在于真核生物中的一种低分子量（21KD）的肌动蛋白结合蛋白，它通过对肌动蛋白的解聚作用使肌动蛋白纤维能循环使用，从而保证肌动蛋白纤维能快速聚合和解聚，改变细胞与细胞外基质的黏附，促进细胞的运动和迁移。

1结构与功能

目前研究表明，哺乳动物*cofilin*基因有2种亚型，分别编码不同的蛋白，人

cofilin蛋白编码166个氨基酸。人*cofilin-1*基因定位于*11q13*，编码的蛋白cofilin-1在多种非肌肉组织，尤其是脑和肝中表达；*cofilin-2*基因定位于14号染色体，编码的蛋白cofilin-2主要在肌肉组织表达，包括骨骼肌和心肌等。二者在胚胎期到出生后的骨骼肌都有表达，但在出生后的发育阶段，cofilin-1在骨骼肌中的表达开始下降，而cofilin-2为成熟骨骼肌中唯一的亚型[1]。2种亚型在肌原纤维形成的早期都能够促进肌动蛋白丝的重组。Cofilin是肌动蛋白解聚因子/丝切蛋白(actin depolymerizing factor/cofilin, ADF/cofilin)家系中一个重要的成员，cofilin家族无论是全序列还是功能区域，都是高度保守的。有1个由5个β折叠（其中4个是反平行的）、5个α螺旋及C末端的一个短β链构成的折叠结构。其中，第

133位的组氨酸和第98位的天冬氨酸搭成一个盐桥，以稳定分子并为其提供适宜的pH环境[2]。细胞骨架是细胞内以蛋白质纤维为主要成分的网络结构，主要由微管、微丝（肌动蛋白纤维）和中间纤维3类蛋白纤维构成。其中微丝主要由肌动蛋白（actin）组成，以单体和多聚体两种表型存在。单体的肌动蛋白是由一条多肽链构成的球形分子，又称球状肌动蛋白（G-actin）；肌动蛋白的多聚体形成肌动蛋白丝，又称丝状肌动蛋白(F-actin)。细胞骨架对于维持细胞的形态结构、内部结构的有序性以及在细胞运动、物质运输、能量转换、信息传递、细胞分化等一系列方面起重要作用。

Cofilin的N末端和C末端有和F-actin结合的位点，其功能在于与F-actin结合使其解聚，增加G-actin从肌动蛋白微丝末端解离的速度，促使肌动蛋白微丝的循环[3]，使细胞骨架发生变化以至细胞发生进一步的改变。ADF/cofilin家族蛋白能够切断F-actin 并结合到G-actin 上，加快体内肌动蛋白的转换率。

ADF/cofilin家族成员对细胞骨架的调节参与许多细胞基础活动，包括细胞移动、粘附、形态发生和细胞动力等方面。

Cofilin还可以使G-actin聚合，产生膜突并决定细胞迁移的方向，cofilin依赖的肌动蛋白解聚/切割活性的精确空间调节对细胞运动性至关重要[4]。近期研究表明，cofilin的功能可能还包括作为细胞迁移前缘的调节因子，通过响应上游信号调整薄片状伪足和层状伪足的立体空间的相互作用[5]。在一定情况下，cofilin在重塑肌动蛋白构架方面可能也起着重要的作用。近期研究显示，迄今指明的无活性的p-cofilin显示出了细胞的活性功能，它可直接刺激受体控制的磷脂酶D1

（phospholipase D1, PLD1），此作用可能控制了多种细胞功能[6]。

2在正常组织中的分布

Cofilin优先分布于处于分裂期细胞的边缘部位，在分裂细胞的连接处比较集中，而胞核处的分布量减少[7]。许多研究显示Cofilin富集于运动前沿如细胞褶皱处和片足[8-9]。在充足的ATP-球状肌动蛋白存在的情况下，cofilin通过对肌动蛋白的剪切活动加速肌动蛋白解聚。Cofilin还通过回收利用ADP-丝状肌动蛋白，帮助细胞维持运动所需的ATP-球状肌动蛋白储量，在体内发挥持久的生理功能。活化的cofilin在细胞的运动中发挥着广泛而重要的作用，通过重新组织细胞前端的片足和片层结构，调节细胞向前“迈步”，Cofilin的活化对细胞的迁移是必须的[10]。

3 Cofilin与肿瘤的关系

3.1在癌组织中的表达及作用

最近的研究已经阐明cofilin在体外恶性肿瘤细胞侵袭和转移中的分子功能。

Cofilin对肿瘤细胞的调控作用主要表现在细胞转化的启动、细胞转移中细胞动力增强、细胞分裂3个方面。细胞转化的启动过程主要依赖细胞骨架的改变，以减少对粘附生长的依赖性。研究发现[11]，在腺癌细胞中cofilin能辅助细胞核形成树突状所需的肌动蛋白，细胞运动的增强依赖于在细胞外周F-actin新生长端的暴露，发动膜突出。说明cofilin不仅对细胞的运动起着重要作用，也是使细胞从静止状态变成运动状态的关键。因此阻断cofilin将可能成为抑制恶性肿瘤生长和转移的新靶点。有研究报道，在111例肺癌患者中，用元数据分析法分析肿瘤组织芯片，检测到cofilin-1在肺癌中高表达，进一步的实验验证了该结果。肺

癌初期（ⅠA，ⅠB 和ⅡA，ⅡB），cofilin 表达水平可以鉴别预后情况，cofilin高表达与低存活率有关，且侵袭实验证实cofilin mRNA和蛋白高表达与肺癌细胞侵袭性相关。cofilin可以作为非小细胞肺癌预后的生物标记[12]。在人乳腺癌细胞的侵袭性亚群中检测到cofilin在mRNA水平自发性过表达[13]。在112例乳腺癌中，cofilin mRNA的表达上调，并且在乳腺癌T0-T1和T2期，表达水平与正常乳腺组织具有显著差异[14]。研究发现，运用定量密度分析和共聚焦荧光显微镜检测人结肠癌细胞中F-actin的亚细胞分布和cofilin的表达情况，发现cofilin主要表达于细胞边缘，也是F-actin表达的地方，其在结肠癌细胞中高表达，且失活的磷酸化cofilin表达降低。据此推测，cofilin蛋白可以使侵袭性肿瘤细胞具有更强的迁移能力[15]。有研究发现，在人胃癌细胞AGS中，PAK4(p21-activated-kinase 4, p21活化激酶4)结合蛋白DGCR6L可以与PAK4共定位，且呈剂量依赖性的方式增高LIM结构域激酶(LIMK1)和cofilin的磷酸化水平，进而调节人胃癌细胞迁移[16]。另有研究表明，采用蛋白质和基因芯片的方法检测几种肿瘤标本可发现口腔鳞状细胞癌[17]、肾细胞癌[18]、卵巢癌[19]中的

cofilin高度表达。Cofilin在A549人肺癌[20]和人胰腺癌[21]等细胞株呈现高表达。这些研究均表明cofilin参与细胞侵袭过程。在人类胃癌组织中，cofilin的表达水平，cofilin的表达与人胃癌发生、发展及预后之间的关系，目前未见研究报道。

3.2参与肿瘤细胞迁移侵袭的机制

Cofilin是肿瘤细胞侵袭和转移过程中的一个重要调节因子，能诱导片状伪足的形成，影响细胞运动的方向[22]。目前，有许多重要蛋白介导了这种信号途径，这些蛋白包括WASP家族蛋白、Arp2/3复合物、LIM激酶和cofilin等[23]。其中，在肿瘤细胞中抑制cofilin活性可以减少肿瘤细胞的运动，对cofilin表达的抑制能减少肿瘤细胞的侵袭尤其是cofilin所涉及的肿瘤细胞的稳定。在人胶质母细胞瘤中，cofilin在蛋白水平的过度表达增加细胞的移行速度[24]。在mRNA水平的cofilin自发性过度表达己经在乳腺肿瘤细胞的侵袭性亚群中被检测到[25]。Cofilin通过解聚和切割F-actin来促使F-actin的循环。增加Cofilin活性将影响细胞边缘中F-actin运动并促进形成快速的肌动蛋白纤维逆流，降低细胞边缘“突出”和“收缩”两个动作的协调性，从而调节细胞向前“迈步”[26]。另外，体外试验发现cofilin对现存的F-actin进行修剪能引起Arp2/3的结合反应。在细胞内，这将引起actin在移动前

沿的聚集。这也提示cofilin在调节细胞趋化性中发挥作用[27]。

现有研究表明Cofilin在确定肿瘤运动方向，影响肿瘤细胞与基质的黏附，以及对肿瘤细胞核分裂、移动速度及侵袭性均产生重要作用。LIMK1 介导的

cofilin通路活性的增加或减低会引起相应程度肿瘤细胞运动、血管侵袭和转移程度的增加或降低[28]。细胞通过激活肌动蛋白聚集向目标物方向形成伪足对趋化信号做出反应，cofilin的活化使肌动蛋白链延长产生新的倒钩末端，并确定肿瘤细胞运动的精确方向[29]。通过抑制乳腺癌细胞MTLn3中cofilin的表达能使细胞向一极伸出突起、延长并作直线移动，cofilin的丧失会使做变形虫运动的肿瘤细胞以间叶细胞运动的模式移动。Cofilin的活化状态与乳腺癌细胞的侵袭、血管内渗和转移直接相关。Cofilin在蛋白水平的过量表达提高了肿瘤细胞迁移的速率，也能对生长因子诱导的肿瘤细胞迁移产生影响[30]。

3.3 Cofilin的调控

Cofilin通过磷酸化/去磷酸化而失活/活化，进而使得F-肌动蛋白的解聚速度发生变化，影响细胞骨架以及细胞的形态等等。Cofilin重要的作用位点是N末端丝氨酸3（Serine3, Ser3）位点，Ser3是所有cofilin蛋白家族中最保守的氨基酸。其上游调节子通过在Ser3位点的磷酸化和去磷酸化达到调节cofilin活性的目的。Ser3的氨基末端有LIM激酶（LIM1和LIM2）和TES激酶( testicular protein kinase, TESK)的磷酸化位点，二者对Ser3都具有高度的亲和力，能特异地使Ser3位点磷酸化。Ser3位点的磷酸化使cofilin失活，使其不能与F-actin结合，从而提高F-actin的稳定性；而这一位点的去磷酸化使得cofilin的肌动蛋白解聚活性复活。表明Ser3位点的磷酸化/去磷酸化，在肌动蛋白的组装和分解/切割中起到开关的作用[31]。LIM激酶和TES激酶对ADF/cofilin专一磷酸化，目前发现ROCK(Rho-associated, coiled-coil containing protein kinase 1)、CaM kinaseⅡ、蛋白激酶A（PKA）、蛋白激酶C(PKC)和肌球蛋白轻链激酶（MLCK）和GTPase家族成员Rho-GTP和Rac-GTP等均可在上游通过链式反应激活LIM激酶，进而发挥对ADF/cofilin的去磷酸化活性[32.,33]。PKC和PKA又可依次被小G-蛋白和

DAG(diacyglycerol)激活。LIMK1和LIMK2还可由PAK1(p21 活性激酶)以及

PAK4调节，PAK1和PAK4各自对LIMK1与LIMK2的508位与505位的苏氨酸片段磷酸化而发挥调节作用[34]。LIMK和SSH（slingshot, 弹弓蛋白）协同对

cofilin调节对细胞定向迁移至关重要，SSH和卤酸脱卤酶（HAD）家族磷酸酶

chronophin(CN)是Ser3脱磷酸化的主要激活物质[13]。cofilin通过调控迁移细胞前缘肌动蛋白动力学来调节薄片状伪足的延伸和极化细胞迁移。在活化的Jurkat T细胞中，cofilin活性由LIMK1和SSH时空调节。应用RNA干扰抑制LIMK1表达可以抑制趋化因子诱导的薄片状伪足形成和细胞迁移[35]。SSH广泛分布在哺乳动物的各种组织中，它的作用底物有cofilin、LIM激酶等。SSH为cofilin的专一磷酸酶，而SSH的过量表达能导致F-actin在细胞分裂末期和磷酸化cofilin的异常积聚，并伴随着卵裂沟的退化和多核细胞的形成[36]。因此，cofilin在细胞分裂中具有重要意义。

3.4 Cofilin与抗肿瘤药物的关系

Cofilin可能还参与肿瘤细胞耐化疗药物的过程。国内研究发现[37]，卵巢癌化疗敏感细胞核紫杉醇耐药细胞的比较蛋白质组学研究中，发现cofilin-1在耐药细胞中的表达普遍上调，cofilin过表达与紫杉醇耐药呈正相关。对24例化疗敏感患者与22例耐药患者的卵巢癌组织免疫组化染色研究结果显示，两组去磷酸化cofilin的表达水平相似；而磷酸化cofilin的表达水平存在显著性差异，化疗耐药组的表达量明显高于化疗敏感者。提示cofilin在卵巢癌组织内可能以磷酸化的形式发挥耐药作用，cofilin可能为卵巢癌紫杉醇耐药标记候选蛋白。

4结语

Cofilin作为一种重要的肿瘤细胞侵袭和转移的调节因子，与肿瘤的发生、发展有很大的相关性，cofilin不仅与影响细胞骨架的蛋白相关联，还与肌动蛋白家族复杂的激酶信号途径相关。明确cofilin如何参与肿瘤的侵袭过程，将有助于揭开肿瘤细胞侵袭转移的机制，为提高人类的健康水平提供有用的信息。Cofilin与肿瘤的恶性程度和侵袭转移密切相关，已日益受到关注，有望成为一个预测肿瘤病情发展及指导临床治疗的标记物，阻断cofilin将可能成为抑制恶性肿瘤生长和转移的新靶点。若干年内，对cofilin在肿瘤形成及侵袭转移过程中所发挥的各方面的作用将有令人鼓舞的进展，并藉此研发出相应的药物，为攻克肿瘤提供新的契机。

参考文献

[1] Verdoni AM, Aoyama N, Ikeda A, et al. Effect of destrin mutations on the gene expression profile in vivo [J]. Physiol genomics, 2008, 34(1): 9-21.

[[2] Plattner H.](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22Plattner%20H%22%5BAuthor%5D) Membrane trafficking in protozoa SNARE proteins, H+-ATPase, actin, and other key players in ciliates[J]. Int Rev Cell Mol Biol, 2010, 280: 79-184.

[[3] Wang Z,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22Wang%20Z%22%5BAuthor%5D) [Wang M,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22Wang%20M%22%5BAuthor%5D) [Carr BI.](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22Carr%20BI%22%5BAuthor%5D) Involvement of receptor tyrosine phosphatase DEP-1 mediated PI3K-cofilin signaling pathway in sorafenib-induced cytoskeletal rearrangement in hepatoma cells [J]. J Cell Physiol, 2010, 224(2): 559-65.

[[4] Matsumoto N](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22Matsumoto%20N%22%5BAuthor%5D), [Kitani R](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22Kitani%20R%22%5BAuthor%5D), [Maricle A,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22Maricle%20A%22%5BAuthor%5D) et al. Pivotal role of actin depolymerization in the regulation of cochlear outer hair cell motility[J]. Biophys J, 2010, 99(7): 2067-76.

[5] Delorme V, Anderson KL, et al. Cofilin activity downstream of regulates cell Protrusion efficiency by organizing lamellipodium and lamellan networks [J]. Dev Cell, 2007, 13(5): 646-62.

[6] Han L, Jakobs KH, et al. Direct stimulation of receptor-controlled phospholipase D1 by phosphor-cofilin[J]. EMBO J, 2007, 26(19): 4189-202.

[[7] Garg P,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22Garg%20P%22%5BAuthor%5D) [Verma R,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22Verma%20R%22%5BAuthor%5D) [Cook L,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22Cook%20L%22%5BAuthor%5D) et al. Actin-depolymerizing factor cofilin-1 is necessary in maintaining mature podocyte architecture [J]. J Biol Chem, 2010, 285(29): 22676-88.

[[8] Tammana TV,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22Tammana%20TV%22%5BAuthor%5D) [Sahasrabuddhe AA,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22Sahasrabuddhe%20AA%22%5BAuthor%5D) [Bajpai VK](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22Bajpai%20VK%22%5BAuthor%5D), et al. ADF/cofilin-driven actin dynamics in early events of Leishmania cell division[J]. J Cell Sci, 2010, 123(Pt 11): 1894-901.

[[9] Bernstein BW,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22Bernstein%20BW%22%5BAuthor%5D) [Bamburg JR](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22Bamburg%20JR%22%5BAuthor%5D). ADF/cofilin: a functional node in cell biology[J]. Trends Cell Biol, 2010, 20(4): 187-95.

[[10] Mazur AJ](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22Mazur%20AJ%22%5BAuthor%5D), [Gremm D,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22Gremm%20D%22%5BAuthor%5D) [Dansranjavin T](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22Dansranjavin%20T%22%5BAuthor%5D), et al. Modulation of actin filament dynamics by actin-binding proteins residing in lamellipodia [J]. Eur J Cell Biol, 2010, 89(5): 402-13.

[11] Ichetovkin I, Grant W, Condeelis J. Cofilin produces newly polymerized actin

Filaments that are preferred for dendritic nucleation by the Arp2/3 complex [J]. Curr Biol, 2002, 12(1):79-84.

[12] Castro MA, Dal-Pizzol F, Zdanov S, et al. CFL1 expression levels as a prognostic and drug resistance marker in nonsmall cell lung cancer [J]. Cancer, 2010, 116(15): 3645-55.

[13] Wang W, Goswami S, Lapidus K, et al. Identification and testing of a gene expression signature of invasive carcinoma cells within primary mammary tumors [J]. Cancer Res, 2004, 64(23): 8585-94.

[14] Zhang Y, Tong X. Expression of the actin-binding proteins indicates that cofilin and fascin are related to breast tumour size [J]. J Int Med Res, 2010, 38(3): 1042-8.

[15] Nowak D, Mazur AJ, Popow-Woźniak A, et al. Subcellular distribution and expression of cofilin and ezrin in human colon adenocarcinoma cell lines with different metastatic potential [J]. Eur J Histochem, 2010, 54(2): e14.

[16] Li X, Ke Q, Li Y, et al. DGCR6L, a novel PAK4 interaction protein, regulates PAK4-mediated migration of human gastric cancer cell via LIMK1 [J]. Int J Biochem Cell Biol, 2010, 42(1): 70-9.

[17] Turhani D, Krapfenbauer K, Thurnher D, et al. Identification of differentially expressed, tumor-associated proteins in oral squamous cell carcinoma by proteomic analysis [J]. Electrophoresis, 2006, 27(7): 1417-23.

[18] Unwin RD, Craven RA, Harnden P, et al. Proteomic changes in renal cancer and co-ordinate demonstration of both the glycolytic and mitochondrial aspects of the Warburg effect [J]. Proteomics, 2003, 3(8): 1620-32.

[19] Yan XD, Pan LY, Yuan Y, et al. Identification of platinum-resistance associated proteins through proteomic analysis of human ovarian cancer cells and their platinum-resistant sublines [J]. J Proteome Res, 2007, 6(2): 772-80.

[20] Keshamouni VG, Michailidis G, Grasso CS, et al. Differential protein expression profiling by iTRAQ-2DLC-MS/MS of lung cancer cells undergoing epithelial-mesenchymal transition reveals a migratory/invasive phenotype [J]. J Proteome Res, 2006, 5(5): 1143-54.

[21] Whiteman HJ, Weeks ME, Dowen SE, et al. The role of S100P in the invasion of pancreatic cancer cells is mediated through cytoskeletal changes and regulation of cathepsin D [J]. Cancer Res, 2007, 67(18): 8633-42.

[22] Ghosh M, Song X, Mouneimne G, et al. Cofilin p romotes actin polymerization and defines the direction of cell motility [J]. Science, 2004, 304 (5671): 743-6.

[23] Yamaquchi H, Condeelis J. Regulation of the actin cytoskeleton in cancer cell migration and invasion [J]. Biochim Biophys Acta, 2007, 1773 (5): 642-52.

[[24] Van Rheenen J](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22van%20Rheenen%20J%22%5BAuthor%5D), [Song X,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22Song%20X%22%5BAuthor%5D) [van Roosmalen W](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22van%20Roosmalen%20W%22%5BAuthor%5D), et al. EGF-induced PIP2 hydrolysis releases and activates cofilin locally in carcinoma cells [J]. J Cell Biol, 2007, 79(6): 1247-59.

[[25] Zhang Y,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22Zhang%20Y%22%5BAuthor%5D) [Tong X.](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22Tong%20X%22%5BAuthor%5D) Expression of the actin-binding proteins indicates that cofilin and fascin are related to breast tumour size[J]. J Int Med Res, 2010, 38(3): 1042-8.

[26] Delorme V, Machacek M, DerMardirossian C, et al. Cofilin activity downstream of Pak1 regulates cell p rotrusion efficiency by organizing lamellipodium and lamella actin networks [J]. Dev Cell, 2007, 13 (5): 646-2.

[[27] Matsumoto N](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22Matsumoto%20N%22%5BAuthor%5D), [Kitani R](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22Kitani%20R%22%5BAuthor%5D), [Maricle A,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22Maricle%20A%22%5BAuthor%5D) et al. Pivotal role of actin depolymerization in the regulation of cochlear outer hair cell motility [J]. Biophys J. 2010, 99(7): 2067-76.

[28] Wang W, Mouneimne G, Sidani M, et al. The activity status of cofilin is directly related to invasion, intravasation, and metastasis of mammary tumors [J]. J Cell Biol, 2006, 173 (3): 395-404.

[29] Hitchcock-Degregori SE. Chemotaxis: Cofilin in the driver's seat [J]. Curr Biol, 2006, 16 (24): R1030-2.

[30] Yap CT, Simpson TI, Pratt T, et al. The motility of glioblastoma tumour cells is modulated by intracellular cofilin exp ression in a concentration-dependent manner [J]. Cell Motil Cytoskeleton, 2005, 60 (3): 153-65.

[[31] Peterburs P](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22Peterburs%20P%22%5BAuthor%5D), [Heering J](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22Heering%20J%22%5BAuthor%5D), [Link G,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22Link%20G%22%5BAuthor%5D) et al. Protein kinase D regulates cell migration by direct phosphorylation of the cofilin phosphatase slingshot 1 like [J]. Cancer Res, 2009, 69(14): 5634-8.

[32] Meng Y, Takahashi H, Meng J, et al. Regulation of ADF/cofilin phosphorylation and synaptic function by LIM-kinase [J]. Neuropharmacology, 2004, 47(5): 746-54.

[33] Endo M, Ohashi K, Mizuno K. LIM kinase and slingshot are critical for neurite extension [J]. J Biol Chem, 2007, 282(18): 13692-702.

[34] Ishibashi F. High glucose increases phosphocofilin via phosphorylation of LIM kinase due to Rho/Rho kinase activation in cultured pig proximal tubular epithelial cells [J]. Diabetes Res Clin Pract, 2008, 80(1): 24-33.

[35] Subramaniam V, Vincent IR, Jothy S. Up regulation and dephosphorylation of cofilin: modulation by CD44 variant isoform in human colon cancer cells [J]. Exp Mol Pathol, 2005, 79(3): 187-93.

[36] Kaji N, Ohashi K, Shuin M, et al. Cell cycle-associated changes in slingshot phosphatase activity and roles in cytokinesis in animal cells [J]. J Biol Chem, 2003, 278(35): 33450-55.

[37] 李旻. 卵巢癌紫杉醇耐药相关蛋白的比较蛋白质组分析及耐药表达候选蛋

白cofilin-1的研究[D]. 中国协和医科大学，中国博士学位论文全文数据库, 2006。

**在读期间发表的论文**

1. 吴勇军, 李筝, 张漾, 赵毅, 伍镇江, 苏琦. D2-40检测LVD与胃癌临床病理的关系[J]. 中国临床实用医学, 2010, 4(1):5-8.

2. 吴勇军, 李筝, 唐仪. 免疫组化和原位杂交法诊断尖锐湿疣的对比研究[J]. 中国社区医生, 2010, 12(17):165-166.

3. 吴勇军, 唐仪, 苏琦. Cofilin与肿瘤的关系. 中国医学工程, 2011(待发表)

4. 吴勇军, 苏琦, 等. 胃癌侵袭转移分子机制研究及临床应用. 湖南省科技厅科技计划（2008SK3010）

5. 吴勇军, 苏琦, 等. 胃癌侵袭转移分子机制研究及临床应用. 湘潭市科技局科技计划项目（SF20081003）

主要英文缩略语索引

**(ABBREVIATIONS)**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 缩写 | 英文全称 | 中文名称 |
|  | Gastric cancer | 胃癌 |
| LIMK1 | LIM kinase1 | LIM 蛋白激酶 1 |
| COFILIN1 | cofilin1 | 微丝切割蛋白 |
| ADF | Actin-depolymerizing factor | 肌动蛋白解聚因子 |
| DSTN | destrin | 肌动蛋白解聚蛋白 |
| IHC | Immunohistochemistry | 免疫组织化学 |
| PBS | PHospHate buffer saline | 磷酸盐缓冲液 |
| S-P | Streptavidin-Peroxidas | 抗生物素蛋白链菌素/过氧化 |
| TMA | Ttissue microarray | 组织芯片/组织微阵列 |
| PAK | [P21-activated kinase](http://www.cell.com/redirectUrl/content/article/abstract?uid=PIIS009286740000043X) | p21 活化激酶 |
| EGF | Epidermal Growth Factor | 表皮生长因子 |

致谢

**衷心感谢我的导师苏琦教授。在我的硕士学习生涯中，导师对我悉心指导、严格要求和不倦教诲。导师严谨的治学态度、渊博的学识和清晰灵敏的思维方式使我终身受益。您的教导与鼓励我将铭记在心，是我继续科学研究的动力。**

**衷心感谢罗招阳教授在我学习、生活上给予的关怀和帮助。**

**衷心感谢贺修胜教授在我的求学之路上给予的种种关心、指导和帮助。**

**衷心感谢肿瘤所周秀田教授、朱建思教授、甘润良教授、梁晓秋教授、冬毕华教授、凌晖副教授、谭晖副教授、夏红博士和病理教研室全体老师对我的关怀和帮助。**

**衷心感谢我科室的唐仪同志和其他同仁、感谢我的同学和师兄妹们对我实验工作的大力协助和友情支持，使我度过了这段难忘的日子。**

**衷心感谢我深爱的父母、兄弟，在我漫长的求学道路上，是他们给了我无私的奉献和默默的支持，我的每一次进步都离不开他们的支持，正是由于他们全方位的支持、关怀和理解，才能让我集中精力顺利完成学业。**

**衷心感谢我深爱的妻子和儿子，他们带给我的幸福生活和精神力量是我前进中最大的动力。**

**最后，再次感谢所有帮助和关心我的人！**