



· 论 著 ·

PRUNE2点突变影响前列腺癌DU145细胞增殖、凋亡、侵袭和迁移

曹达龙, 朱文恺, 施国海, 张海梁, 王子良, 叶定伟

复旦大学附属肿瘤医院泌尿外科, 复旦大学上海医学院肿瘤学系, 上海 200032

[摘要] 背景与目的: *PRUNE2*是成神经细胞瘤的一个特异性预后相关基因, 在调节成神经细胞瘤的细胞分化、增殖和侵袭方面发挥着重要作用。*PRUNE2*低表达与前列腺癌的不良预后密切相关。探讨*PRUNE2*点突变对前列腺癌DU145细胞增殖、凋亡、侵袭和迁移的影响。方法: 通过构建*PRUNE2*基因野生型和突变型过表达的重组载体并将其转染到DU145细胞中构建相应稳转株。利用细胞计数试剂盒-8 (cell counting kit-8, CCK-8) 实验和克隆形成实验检测细胞恶性增殖能力, 通过细胞凋亡实验检测细胞凋亡能力, 采用transwell小室法检测细胞侵袭和迁移能力。采用蛋白质印迹法 (Western blot) 检测蛋白的表达水平, 通过免疫荧光和免疫共沉淀实验检测蛋白之间的相互作用。结果: 转染突变型*PRUNE2* E370K基因的DU145细胞恶性增殖、侵袭和迁移能力均较对照组显著增强, 细胞凋亡率显著降低, 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。*PRUNE2*与RhoA之间可以相互结合, 但是*PRUNE2* E370K突变体与RhoA之间的相关作用明显减弱。同时, *PRUNE2* E370K突变体促进Rho通路下游ROCK蛋白和FAK蛋白的表达, 促进与细胞增殖相关的Bcl-2和cyclin D1蛋白的表达, 同时抑制与侵袭、迁移相关抑制蛋白E-cadherin的表达。结论: 前列腺癌DU145细胞中*PRUNE2*基因点突变可以促进细胞增殖、侵袭和迁移, 并抑制细胞凋亡。

[关键词] 前列腺癌; *PRUNE2*; 增殖; 凋亡; 侵袭; 迁移

DOI: 10.19401/j.cnki.1007-3639.2021.06.001

中图分类号: R737.25 文献标志码: A 文章编号: 1007-3639(2021)06-0441-06

The influence of *PRUNE2* gene point mutation on proliferation, apoptosis, invasion and migration of prostate cancer DU145 cells CAO Dalong, ZHU Wenkai, SHI Guohai, ZHANG Hailiang, WANG Ziliang, YE Dingwei (Department of Urology, Fudan University Shanghai Cancer Center; Department of Oncology, Shanghai Medical College, Fudan University, Shanghai 200032, China)

Correspondence to: YE Dingwei E-mail: dwyeli@163.com

[Abstract] **Background and purpose:** *PRUNE2* is a specific prognostic gene for neuroblastoma and plays an important role in regulating cellular differentiation, proliferation and invasion of neuroblastoma. Low expression of *PRUNE2* gene is associated with poor prognosis of prostate cancer. The aim of this paper was to investigate the correlation of *PRUNE2* mutation with proliferation, apoptosis, invasion and migration of prostate cancer DU145 cells. **Methods:** Recombinant plasmids carrying wild-type and mutant-type *PRUNE2* were constructed and then transfected to prostate cancer DU145 cell line to construct corresponding stable transgenic strains. Cell counting kit-8 (CCK-8) assay and clone formation assay were used to detect the ability of cell proliferation. Apoptosis assay was used to detect the ability of apoptosis, and transwell assay was used to detect the abilities of invasion and migration of cells. Western blot was used to detect the level of protein expression. The interaction between proteins was detected by immunofluorescence and immunoprecipitation experiments. **Results:** DU145 cells transfected with mutant-type *PRUNE2* E370K exhibited significantly increased proliferation, invasion and migration, but significantly decreased apoptosis ($P<0.005$). It was also found that *PRUNE2* and RhoA could bind to each other, while the binding ability between mutant-type *PRUNE2* E370K and

RhoA was significantly weakened. We also found that mutant-type *PRUNE2* E370K promoted the expressions of ROCK and FAK proteins related with Rho pathway and the expressions of Bcl-2 and cyclin D1 proteins related with cell proliferation, and inhibited the expression of E-cadherin associated with cell invasion and migration. **Conclusion:** *PRUNE2* gene mutation positively promotes the proliferation, invasion and migration, and inhibits apoptosis of prostate cancer DU145 cells. These results provide important theoretical basis for studying the invasion and migration of prostate cancer.

[Key words] Prostate cancer; *PRUNE2*; Proliferation; Apoptosis; Invasion; Migration

前列腺癌是泌尿生殖系统常见的恶性肿瘤。2021年统计数据显示,前列腺癌位居欧美男性新发恶性肿瘤之首,同时亦是男性恶性肿瘤相关死亡的第二大原因^[1]。在中国,前列腺癌的发病率近年来呈快速增长态势^[2]。前期研究^[3-4]显示,前列腺癌抗原3 (prostate cancer antigen 3, PCA3) 显著高表达于前列腺癌中并能促进前列腺癌细胞的增殖;鉴于PCA3嵌在*PRUNE2*基因内含子6中以及它们的转录方向正好相反,我们进一步研究发现,*PRUNE2*基因受PCA3的负向调控。既往研究^[5]证实,*PRUNE2*还是成神经细胞瘤的一个特异性预后相关基因,在调节成神经细胞瘤的细胞分化、增殖和侵袭方面发挥着重要作用。前期研究^[4]还发现,在激素抵抗型前列腺癌患者癌组织中检测到*PRUNE2* E370K突变,突变后其表达的蛋白在该位点的氨基酸残基由谷氨酸(E)变成了赖氨酸(K),这可能引起该区域空间结构和功能的剧烈变化,进而调控其下游的信号转导通路变化。本研究拟探索此位点突变对前列腺癌细胞生物学行为的影响,以期发现前列腺癌诊治及预后评估的新靶点。

1 材料和方法

1.1 细胞系和细胞培养

人前列腺癌DU145细胞系购自美国典型培养物保藏中心(American Type Culture Collection, ATCC)细胞库。培养基为含有10%胎牛血清的RPMI-1640培养基,将DU145细胞置于培养基中于37℃、CO₂体积分数为5%的培养箱中进行培养。

1.2 主要试剂

细胞计数试剂盒-8 (cell counting kit-8, CCK-8) 购自日本同仁化学研究所, transwell小室购自美国Corning公司, Matrigel基质胶购自美国BD公司, LipofectamineTM2000购自美国

Invitrogen公司, 携带野生型和突变型*PRUNE2*基因的质粒购自上海毅乐生物科技有限公司, 凋亡检测试剂盒购自美国BD公司, *PRUNE2*抗体(ab80262)、E-cadherin抗体(ab40722)、cyclin D1抗体(ab134175)、Bcl-2抗体(ab692)、FAK抗体(ab131435)、ROCK抗体(ab134181)和RhoA抗体(ab187026)购自英国Abcam公司, β -actin内参抗体购自美国Proteintech公司, 兔源和鼠源荧光二抗购自美国Jackson实验室, 免疫共沉淀用磁珠购自美国Sigma-Aldrich公司。

1.3 包装病毒、细胞转染

选生长状态良好的HEK-293T细胞。将目的质粒10 μ g和包装质粒(pRSV-Rev、pMD2.G、pMDLg/pRRE和pCDH-puro)在1.5 mL Ependorf试管中混匀, RPMI-1640培养基定容至500 μ L; 在另一个1.5 mL Ependorf试管中加入25 μ L LipofectamineTM2000/LipofectamineTM3000, 用RPMI-1640培养基定容至500 μ L; 将两者混合后加入HEK-293T细胞置于培养皿中, 放入培养箱中培养。36~48 h后收取HEK-293T细胞上清液, 用0.45 μ m过滤器过滤后分装入1.5 mL Ependorf试管中(用于感染目的DU145细胞), -80℃保存备用。将待感染的DU145前列腺癌细胞接种在6孔板中, 待细胞贴壁后加入2 mL所收集的慢病毒颗粒至每孔中, 继续置于培养箱中培养24 h, 然后更换成完全培养基。期间, 定期观察细胞状态, 等到细胞快要长满时将其接种至25 cm²的培养瓶中培养。最后, 在细胞达到80%丰度时加入嘌呤霉素进行稳转株的筛选。

1.4 CCK-8细胞增殖实验

实验分成两组: 一组为*PRUNE2*野生型(对照组), 另一组为*PRUNE2*突变型(实验组), 均设置6个平行孔。按照10 000个/孔(100 μ L)的密度将实验组和对照组细胞分别接种到96孔板

中,然后在培养箱中培养至细胞贴壁,然后分别
在第1、2、3、4和5天的同一个时间点,按照10 μ L
CCK-8检测试剂/100 μ L培养基的比例加入CCK-8检
测试剂,培养2 h后使用酶标仪检测450 nm波长下
的各孔吸光度(D)值。根据所得D值进行比较、
作图。实验重复3次。

1.5 细胞克隆形成实验

按照400个/孔的比例将处于对数生长期的实
验组和对照组细胞分别铺于6孔板内(每组设置3
个平行孔),放置于37 $^{\circ}$ C细胞培养箱中培养,共
2周。培养过程中每3~4 d观察细胞生长情况,根
据细胞生长情况换细胞培养基。克隆数达20~30
个时弃上清液,用PBS小心浸洗2遍。随后依次
使用4%多聚甲醛1 mL/孔固定30 min,使用0.5%
结晶紫在室温下固定0.5 h, PBS洗3遍后在空气
中晾干后进行拍照,计算细胞的克隆数目并进行比
较。实验重复3次。

1.6 细胞凋亡实验

取对数生长期的细胞(分为实验组和对照
组),使用胰酶消化细胞,离心(每次800 \times g离
心5 min), PBS重悬细胞。用4 $^{\circ}$ C预冷的PBS洗
2次。加入250 μ L 1 \times 结合缓冲液重悬细胞并转移至
5 mL流式管中,然后依次加入5 μ L Annexin V/PE
和10 μ L 7-AAD,混匀(注意避光),在室温下让
其反应15 min。加入400 μ L 1 \times 结合缓冲液,混匀
后在1 h内上流式细胞仪检测。保存图片,记录早
期凋亡和晚期凋亡比例,分析并作图。

1.7 侵袭、迁移实验

细胞侵袭和迁移能力的评价采用transwell
小室法。使用无血清培养基按1:5比例稀释
60 μ L的Matrigel基质胶,然后加入到transwell
小室上层,放置8 h,备用。实验分成两组:一
组为PRUNE2野生型,作为对照组;另一组为
PRUNE2突变型,作为实验组,均设置3个平行
孔。将稀释于200 μ L无血清培养基中的15 000个
实验组或对照组细胞分别接种在不同transwell小
室的上层。然后将它们分别放至在含有750 μ L完
全培养基的24孔板中,于37 $^{\circ}$ C培养箱中培养。
2 d后,依次将小室转移到含有4%多聚甲醛的24
孔板中固定30 min,以及转移到含0.5%结晶紫的
24孔板中固定0.5 h(室温下),再用PBS洗3遍。

随后擦去小室的上层细胞,然后在显微镜下进
行细胞计数并拍照,实验重复3次。迁移能力的检
测:与侵袭能力检测不同的是,transwell小室上
层不加Matrigel基质胶,其余步骤相同。实验重
复3次。

1.8 蛋白质印迹法(Western blot)检测 PRUNE2蛋白及相关蛋白表达情况

PRUNE2是Rho信号转导通路的重要调控
因子之一,Rho信号转导通路调节肿瘤细胞侵
袭、迁移过程。按照Western blot的标准流程检测
PRUNE2蛋白以及与该通路和细胞增殖、侵袭、
迁移相关蛋白(E-cadherin、cyclin D1、Bcl-2、
FAK、ROCK和RhoA)的水平。

1.9 免疫荧光实验

先将灭菌的圆形盖玻片置入24孔板中,
然后每孔铺50 000个细胞,分成两组:一组
为PRUNE2野生型,作为对照组;另一组为
PRUNE2突变型,作为实验组,培养箱内培养过
夜。第2天,PBS洗净后每孔加入300 μ L 4%多聚
甲醛,室温固定30 min。PBS洗净后转移至冰上
操作,每孔加入300 μ L预冷的含0.1% Triton X-100
的1%BSA,室温封闭1.5 h。PBS洗净后每孔加
入200 μ L不同种属来源的一抗,4 $^{\circ}$ C摇床上温育
过夜。PBS洗净后每孔加入200 μ L按比例稀释的
不同种属来源的带有不同荧光标记的二抗,注意
避光。PBS洗净后用镊子/针尖小心将盖玻片取
出,用吸水纸吸去背面及边缘水分,有细胞附着
的面朝下贴在载玻片上,4 $^{\circ}$ C温育15 min。随后
在激光共聚焦显微镜进行荧光检测,拍照,图片
处理。

1.10 免疫共沉淀

培养目标细胞至状态良好,PBS清洗后加入
预冷的RIPA缓冲液(已事先加入蛋白酶抑制剂
和磷酸化酶抑制剂),用细胞刮子将细胞收集
到Ependorf试管中。冰上温育45 min,期间每8~
10 min振荡器混匀1次,16 000 \times g离心15 min,
取上清液(取其中的10~20 μ L,用于Input实
验)。余下的样品,分成两部分,分别加入含
事先用RIPA缓冲液清洗过的磁珠的Ependorf试
管中。一管加入10 μ L诱饵蛋白抗体(如PRUNE2抗
体或RhoA抗体),另一管加入10 μ L IgG抗体,

做好标记。4 ℃, 摇床, 温育过夜。各组含样品的Ependorf试管放入磁力架, 弃上清液。加入400 μL预冷的RIPA缓冲液, 摇床旋转清洗, 5 min, 放入磁力架, 弃上清液, 如此反复清洗5次。加入RIPA缓冲液48 μL重悬, 再加入16 μL 4×SDS上样缓冲液, 95 ℃煮10 min。冷却, 离心(6 000×g离心5 min), 放入磁力架, 收集上清液。使用Western blot检测上述上清液中诱饵蛋白是否与目的蛋白结合。

1.11 统计学处理

该实验所涉及的统计学问题采用IBM SPSS 21.0软件进行处理。本研究中所涉及的组间比较采用*t*检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 *PRUNE2* E370K突变体对DU145细胞增殖和侵袭迁移能力的影响

前期我们在91例激素抵抗型前列腺癌患者癌组织中检测到10例癌组织中存在*PRUNE2* E370K突变, 即第370位氨基酸残基由酸性氨基酸——谷氨酸(E)变成了碱性氨基酸——赖氨酸(K), 这可能引起该区域空间结构和功能的剧

烈变化, 进而调控其下游的信号转导通路变化。通过慢病毒介导的转染方式, 将*PRUNE2*野生型和*PRUNE2* E379K突变型慢病毒质粒导入细胞内, 进而观察*PRUNE2* E370K突变体对细胞增殖和凋亡能力的影响。CCK-8检测结果发现, 在第3~5天时, *PRUNE2* E370K突变体组细胞较对照组细胞的生长趋势明显加快, 即*PRUNE2* E370K突变体能够促进细胞的增殖($P < 0.05$, 图1A)。随后, 利用克隆形成实验进一步发现, *PRUNE2* E370K突变体细胞的克隆形成能力也显著高于阴性对照组细胞($P < 0.05$, 图1B)。同时, 利用流式细胞仪检测发现*PRUNE2* E370K突变体相较于对照组能够抑制细胞的凋亡($P < 0.05$, 图1C)。这些结果均表明*PRUNE2* E370K突变体能够促进DU145细胞的恶性增殖能力。

通过侵袭和迁移能力的检测, 我们发现*PRUNE2* E370K突变体细胞的侵袭能力较对照组显著升高($P < 0.05$, 图1D), *PRUNE2* E370K突变体细胞迁移能力亦显著升高($P < 0.05$, 图1D)。这些结果表明, *PRUNE2* E370K突变体与前列腺癌DU145细胞的增殖、侵袭和迁移能力密切相关。

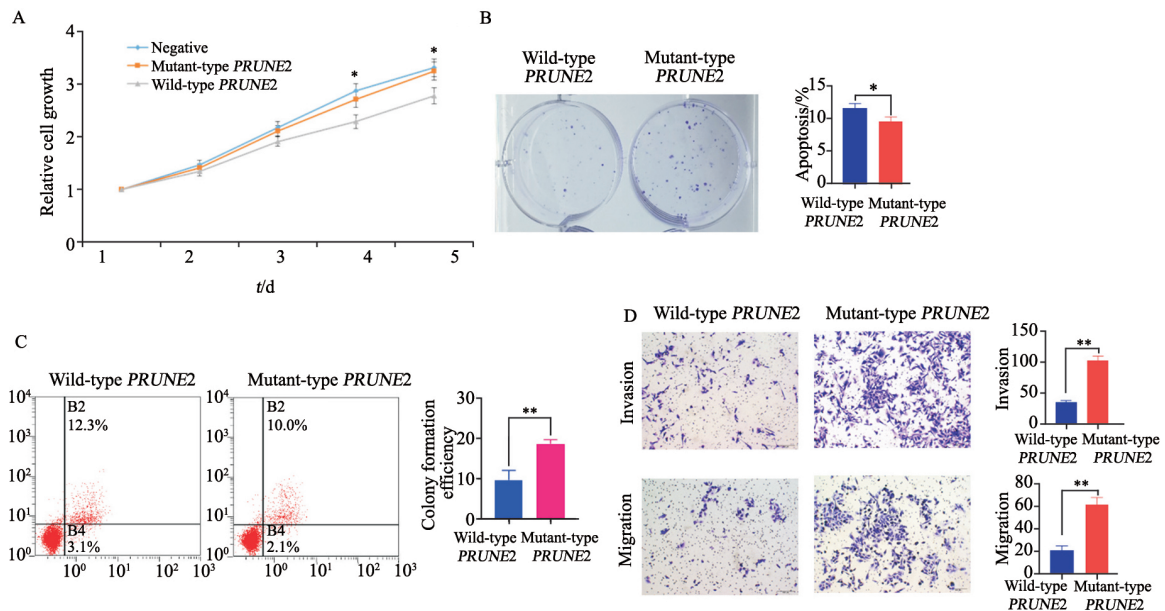


图1 *PRUNE2* E370K突变体促进前列腺癌细胞恶性增殖、侵袭和迁移

Fig. 1 Mutant-type *PRUNE2* E370K promoted malignant proliferation, invasion and migration of prostate cancer cells

A: Mutant-type *PRUNE2* E370K promoted the proliferation of DU145 cells; B: Mutant-type *PRUNE2* E370K enhanced the ability of clone formation; C: Mutant-type *PRUNE2* E370K suppressed apoptosis; D: Mutant-type *PRUNE2* E370K inhibited the invasion and migration of DU145 cells; *: $P < 0.05$, compared with each other; **: $P < 0.01$, compared with each other

2.2 PRUNE2 E370K突变体失去对Rho信号转导通路的抑制，调节下游靶基因的表达

PRUNE2基因位于9号染色体，可通过BNIPXL抑制RhoA以及细胞的转化，从而成为Rho信号转导通路的重要调节因子，而Rho信号转导通路又调节肿瘤细胞的侵袭、迁移过程。通过检测PRUNE2野生型和突变型蛋白以及与Rho通路和细胞增殖、侵袭、迁移相关蛋白水平后发现，PRUNE2 E370K突变体促进Rho下游ROCK蛋白和FAK蛋白的表达，以及促进与细胞增殖相关的Bcl-2和cyclin D1蛋白的表达，同时抑制与

侵袭、迁移相关抑制蛋白E-cadherin的表达（图2A）。为了进一步验证PRUNE2与Rho通路的关系，通过免疫荧光实验发现，PRUNE2与Rho通路中关键蛋白RhoA之间存在共定位（图2B）。随后，进一步通过免疫共沉淀实验发现PRUNE2与RhoA之间可以相互结合，但是PRUNE2 E370K突变体与RhoA之间的相关作用明显减弱（图2C和2D）。这些结果表明，PRUNE2 E370K突变体蛋白丧失对RhoA蛋白的结合能力，从而失去了对Rho下游信号转导通路的抑制作用，进而促进前列腺癌细胞恶性增殖、侵袭和迁移。

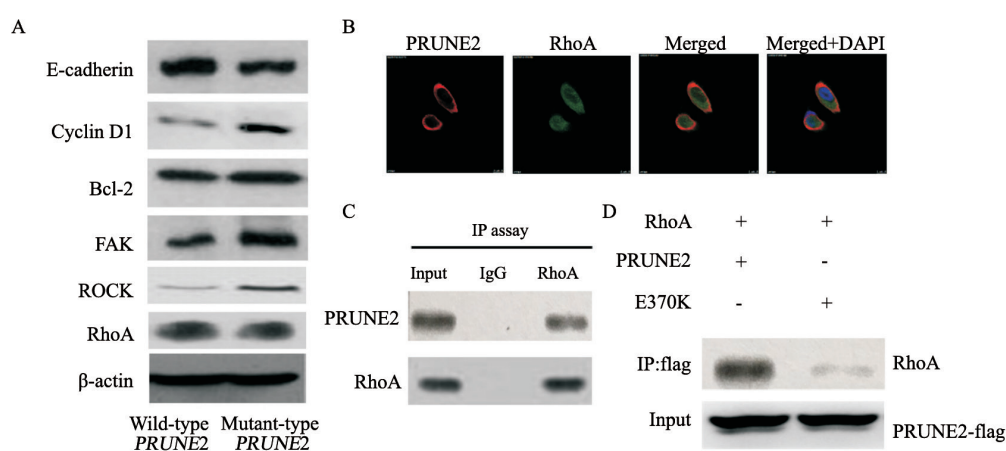


图2 PRUNE2 E370K突变体通过Rho信号转导通路促进前列腺癌进展

Fig. 2 Mutant-type PRUNE2 E370K promoted the progression of prostate cancer through Rho signaling pathway

A: Mutant-type PRUNE2 E370K induced the up-regulated expression of ROCK, FAK, Bcl-2 and cyclin D1, and suppressed E-cadherin expression; B: Immunofluorescence assay confirmed the co-localization of PRUNE2 and RhoA in cells; C: Immunoprecipitation showed an interaction between PRUNE2 and RhoA; D: When PRUNE2 E370K mutation was present, its binding to RhoA was weakened

3 讨论

既往的研究发现，PRUNE2是成神经细胞瘤的一个特异性预后基因，在调节成神经细胞瘤的细胞分化、增殖和侵袭方面发挥着重要作用^[5]。在前列腺癌领域，有研究^[6]发现，PCA3通过ADAR依赖的腺苷到肌苷的RNA编辑机制与PRUNE2形成PRUNE2/PCA3双链RNA调控PRUNE2的表达，以及在前列腺癌细胞中低表达PRUNE2会增强细胞增殖，这表明PRUNE2可能是前列腺癌进展的重要调控因子之一。进一步研究PRUNE2介导前列腺癌进展的机制有助于发现前列腺癌新的诊治靶点。

基因多态性不仅是个体间表型差异的遗传学基础，同时也是个体对常见疾病（如恶性肿瘤）

遗传易感性差异的主要来源。近年来，基因多态性，尤其是单核苷酸多态性（single nucleotide polymorphism, SNP），已被用作遗传标记来广泛地研究个体对常见疾病易感性、其对疾病进展的影响以及对治疗的反应^[7-8]。已有研究^[9]发现，18%的甲状旁腺癌中存在PRUNE2突变。我们前期研究显示，激素抵抗型前列腺癌组织中存在PRUNE2 E370K突变。进一步分析PRUNE2基因的功能区域可知，第370位氨基酸残基由酸性氨基酸——谷氨酸（E）变成了碱性氨基酸——赖氨酸（K），这可能引起该区域空间结构和功能的剧烈变化，进而调控其下游信号转导通路的变化。本研究发现，PRUNE2 E370K突变体相较于对照组能够显著促进细胞增殖、侵袭和迁移以及抑制细胞凋亡。因此，进一步深入研究

PRUNE2突变体介导前列腺癌恶性增殖、侵袭、迁移的机制, 可以为寻找新的前列腺癌干预靶点提供线索。

由于PRUNE2蛋白拥有BNIP2和Cdc42GAP同源结构域, 故其还能通过BNIPXL抑制RhoA以及细胞的转化, 从而成为Rho信号转导通路的重要调节因子^[10]。隶属于Ras超家族的Rho蛋白又称为Rho GTP酶, 尤其是RhoA、Rac1和Cdc42, 它们又是调控细胞形态改变、细胞与基质黏附及细胞骨架重组的重要信号转导通路分子, 从而调节肿瘤细胞侵袭、迁移的过程^[11-14]。同时, 有研究^[15-16]显示, Rho信号转导通路能够驱动前列腺癌的发生、发展。本研究发现, PRUNE2与Rho通路中关键蛋白RhoA之间存在相互作用, 以及相较于PRUNE2野生型PRUNE2 E370K突变体与RhoA之间的相关作用明显减弱。PRUNE2 E370K突变体上调Rho下游ROCK蛋白和FAK蛋白的表达, 以及与细胞增殖相关的Bcl-2和cyclin D1蛋白的表达, 同时抑制与侵袭、迁移相关抑制蛋白E-cadherin的表达。这些结果表明, PRUNE2 E370K突变体蛋白可能因为与RhoA蛋白结合减弱, 从而失去了对Rho信号转导通路的抑制作用, 进而促进前列腺癌的发生、发展。

[参 考 文 献]

- [1] BRAY F, FERLAY J, SOERJOMATARAM I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(6): 394-424.
- [2] ZHU Y, WANG H K, QU Y Y, et al. Prostate cancer in East Asia: evolving trend over the last decade [J]. Asian J Androl, 2015, 17(1): 48-57.
- [3] 曹达龙, 叶定伟, 张世林, 等. 前列腺癌特异抗原3对前列腺癌LNCaP细胞增殖的影响 [J]. 中国癌症杂志, 2012, 22(2): 135-138.
CAO D L, YE D W, ZHANG S L, et al. Effect of prostate cancer antigen 3(PCa3) on proliferation of LNCaP cells [J]. China Oncol, 2012, 22(2): 135-138.
- [4] CAO D L, YE D W, ZHANG H L, et al. A multiplex model of combining gene-based, protein-based, and metabolite-based with positive and negative markers in urine for the early diagnosis of prostate cancer [J]. Prostate, 2011, 71(7): 700-710.
- [5] MACHIDA T, FUJITA T, OOO M L, et al. Increased expression of proapoptotic *BMCC1*, a novel gene with the BNIP2 and Cdc42GAP homology (BCH) domain, is associated with favorable prognosis in human neuroblastomas [J]. Oncogene, 2006, 25(13): 1931-1942.
- [6] SALAMEH A, LEE A K, CARDÓ-VILA M, et al. *PRUNE2* is a human prostate cancer suppressor regulated by the intronic long noncoding RNA PCA3 [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2015, 112(27): 8403-8408.
- [7] MÖHLENDICK B, SCHMID K W, SIFFERT W. The GNAS SNP c.393C>T (rs7121) as a marker for disease progression and survival in cancer [J]. Pharmacogenomics, 2019, 20(7): 553-562.
- [8] LUAN L, WANG H Y, ZHAO B B, et al. Association of MDM2 gene SNP 309 polymorphism and human non-small cell lung cancer susceptibility: a meta-analysis [J]. Pathol Res Pract, 2019, 215(9): 152538.
- [9] YU W, MCPHERSON J R, STEVENSON M, et al. Whole-exome sequencing studies of parathyroid carcinomas reveal novel *PRUNE2* mutations, distinctive mutational spectra related to APOBEC-catalyzed DNA mutagenesis and mutational enrichment in kinases associated with cell migration and invasion [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2015, 100(2): E360-E364.
- [10] SOH U J, LOW B C. BNIP2 extra long inhibits RhoA and cellular transformation by Lbc RhoGEF via its BCH domain [J]. J Cell Sci, 2008, 121(Pt 10): 1739-1749.
- [11] HUMPHRIES B, WANG Z S, YANG C F. Rho GTPases: big players in breast cancer initiation, metastasis and therapeutic responses [J]. Cells, 2020, 9(10): E2167.
- [12] CLAYTON N S, RIDLEY A J. Targeting rho GTPase signaling networks in cancer [J]. Front Cell Dev Biol, 2020, 8: 222.
- [13] GUAN X Y, GUAN X L, DONG C, et al. Rho GTPases and related signaling complexes in cell migration and invasion [J]. Exp Cell Res, 2020, 388(1): 111824.
- [14] CHEN D Y, CHENG L, CAO H F, et al. Role of microRNA-381 in bladder cancer growth and metastasis with the involvement of BMI1 and the Rho/ROCK axis [J]. BMC Urol, 2021, 21(1): 5.
- [15] REYMOND N, IM J H, GARG R, et al. RhoC and ROCKs regulate cancer cell interactions with endothelial cells [J]. Mol Oncol, 2015, 9(6): 1043-1055.
- [16] DE PIANO M, MANUELLI V, ZADRA G, et al. Lipogenic signalling modulates prostate cancer cell adhesion and migration via modification of Rho GTPases [J]. Oncogene, 2020, 39(18): 3666-3679.

(收稿日期: 2021-02-03 修回日期: 2021-04-20)