

抑制促肝再生磷酸酶-3对大肠癌细胞迁移能力的影响

赵高平, 周总光, 郑雪莲

赵高平, 四川省医学科学院 四川省人民医院胃肠外科 四川省成都市 610072

周总光, 郑雪莲, 四川大学华西医院消化外科研究室 四川省成都市 610041

赵高平, 2005年四川大学华西临床医学院博士, 主治医师, 主要从事胃肠道肿瘤基础与临床研究。

作者贡献分布: 此课题由赵高平与周总光设计; 赵高平与郑雪莲操作完成实验; 由赵高平分析数据并撰写论文。

通讯作者: 周总光, 教授, 博士生导师, 610041, 四川省成都市外南国学巷37号, 四川大学华西医院消化外科研究室。

zhgaoping@yahoo.com.cn

电话: 028-85422484

收稿日期: 2009-04-08 修回日期: 2009-06-24

接受日期: 2009-06-29 在线出版日期: 2009-07-28

Inhibition of phosphatase of regeneration liver-3 suppresses the migration of Colo-320 colon cancer cells

Gao-Ping Zhao, Zong-Guang Zhou, Xue-Lian Zheng

Gao-Ping Zhao, Department of Gastrointestinal Surgery, Sichuan Academy of Medical Sciences & Sichuan Provincial People's Hospital, Chengdu 610072, Sichuan Province, China

Zong-Guang Zhou, Xue-Lian Zheng, Department of Digestive Surgery, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan Province, China

Correspondence to: Professor Zong-Guang Zhou, Department of Digestive Surgery, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan Province, China. zhgaoping@yahoo.com.cn

Received: 2009-04-08 Revised: 2009-06-24

Accepted: 2009-06-29 Published online: 2009-07-28

Abstract

AIM: To investigate the effect of sodium orthovanadate (SoV), an inhibitor of phosphatase of regeneration liver-3 (PRL-3), on the migration of Colo-320 colon cancer cells.

METHODS: The expression levels of PRL-3 protein in seven colorectal cancer cell lines were examined by Western blot to screen the line with the highest expression of PRL-3 protein. The screened cell line was employed in subsequent drug intervention experiments. A scratch wound assay was performed to examine the effect of SoV (at a dose of 0.5 $\mu\text{mol/L}$) on the migration of Colo-320 cells. The migration distance of cells was determined under an inverted microscope.

The expression of PRL-3 mRNA in cells treated with SoV was detected by in situ hybridization.

RESULTS: Western blot analysis indicated that the colon cancer cell line Colo-320 had the highest expression level of PRL-3. The scratch wound assay showed that the migration distance of Colo-320 cells treated with SoV for 48 hours was significantly lower than that of control cells. The migration rate of SoV-treated cells was also significantly lower than that of control cells ($2.84 \pm 6.78 \mu\text{m/h}$ vs $39.12 \pm 10.11 \mu\text{m/h}$, $P < 0.00001$). In situ hybridization analysis showed that PRL-3 mRNA was highly expressed in control cells but not in SoV-treated cells.

CONCLUSION: SoV can effectively inhibit the migration of Colo-320 cells perhaps through downregulation of PRL-3 mRNA expression and suppression of PRL-3 catalytic activity.

Key Words: Phosphatase of regeneration liver-3; Colon cancer cell; Migration

Zhao GP, Zhou ZG, Zheng XL. Inhibition of phosphatase of regeneration liver-3 suppresses the migration of Colo-320 colon cancer cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2009; 17(21): 2147-2151

摘要

目的: 观察促肝再生磷酸酶-3(phosphatase of regeneration liver-3, PRL-3)抑制剂原钒酸钠(sodium orthovanadate, SoV)对大肠癌细胞株 Colo-320 迁移能力的影响。

方法: 应用Western blot方法检测PRL-3在7株大肠癌细胞中的表达, 筛选表达最强的1株做下一步抑制实验。选择PRL-3拮抗剂SoV, 通过细胞划痕实验观察其在0.5 $\mu\text{mol/L}$ 浓度下对癌细胞运动能力的影响, 高倍倒置显微镜下计算细胞迁移距离。细胞爬片原位杂交观察SoV对PRL-3 mRNA的表达。

结果: PRL-3表达最强的结肠癌细胞株为 Colo-320。细胞划痕实验显示, SoV作用48 h 细胞仅迁移相当于4-7个细胞的距离, 400×

■背景资料

促肝再生磷酸酶-3(PRL-3)又称为PTP4A3, 属于一类新型小分子蛋白酪氨酸磷酸酶。其最显著的特征是在COOH-端有独一无二的异戊二烯基化结构域单元, 与细胞内膜的蛋白定向和蛋白间相互作用关系密切。最早发现该基因与结直肠癌肝转移有关, 随后研究表明该基因还在胃癌、肺癌、乳腺癌、卵巢癌、黑色素瘤等肿瘤的发生、发展及晚期转移过程中扮演重要角色。

■同行评议者

戴冬秋, 教授, 中国医科大学附属第一医院肿瘤外科; 吴泰瑞, 教授, 山东省立医院肝胆外科

■研发前沿

结直肠癌转移是影响患者预后的最主要因素。PRL-3在肝转移灶中持续、稳定、高表达,是药物作用的理想靶点。围绕该靶点从不同角度研究和开发药物,将会是该领域今后发展的方向和重点。

倍镜下精确测量20个细胞在0-48 h迁移距离,计算对照组细胞迁移速度为 $39.12 \pm 10.11 \mu\text{m/h}$, SoV为 $12.84 \pm 6.78 \mu\text{m/h}$, 差异非常显著($P < 0.00001$)。SoV作用细胞48 h后原位杂交结果未见PRL-3 mRNA阳性表达。

结论: SoV能显著抑制Colo-320细胞迁移能力,其机制可能与抑制PRL-3酶活性以及基因转录有关。

关键词: 促肝再生磷酸酶-3; 大肠癌细胞; 迁移

赵高平, 周总光, 郑雪莲. 抑制促肝再生磷酸酶-3对大肠癌细胞迁移能力的影响. 世界华人消化杂志 2009; 17(21): 2147-2151
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/2147.asp>

0 引言

细胞的生长、分化、转化等过程受酪氨酸的磷酸化/脱磷酸化组成的信号传导网络调控^[1-3]。蛋白酪氨酸磷酸酶(protein tyrosine phosphatases, PTPs)在酪氨酸的脱磷酸化过程中扮演着重要角色。如果这种平衡遭到破坏,最终会引起人类包括癌症和糖尿病在内的多种疾病^[4-5]。PRL-3作为小分子PTP,其COOH-端有一个特殊的异戊二烯基化结构域单元,这种独一无二的结构赋予细胞以特殊功能^[6-7]。虽然体内外实验已表明PRL-3能促进细胞生长、浸润、迁移以及癌性转移^[7-13],但以PRL-3为靶点,采用拮抗剂抑制其活性,观察拮抗剂对肿瘤的生长和转移的影响,目前尚未见报道。SoV即原钒酸钠(sodium orthovanadate),为PRL-3相对特异性抑制剂。已有研究显示,SoV能有效地抑制PTPs酶的活性区域^[14]。本论文观察SoV在体外对表达PRL-3的结肠癌细胞株Colo-320细胞迁移能力的影响,旨在为将来可能将SoV应用于临床提供实验依据。

■相关报道

研究显示, PRL-3的表达与多种恶性肿瘤的淋巴管浸润、淋巴结转移和肿瘤分期有关,是预测胃癌进展的一个新的分子标志物,是结直肠癌肝转移唯一的独立预测因素。Kaplan-Meier生存曲线表明, PRL-3表达组患者预后要比PRL-3(-)组好, PRL-3表达程度与生存时间呈负相关。

1 材料和方法

1.1 材料 7株人大肠癌细胞株,即LoVo、CaCo-2、SW620、Ls-174t、Colo-320、HRC-99、HRC-101。LoVo和Ls-174t细胞株购自中国科学院上海细胞库, CaCo-2、SW620、Colo-320为四川大学华西医学中心保存培养, HRC-99、HRC-101为四川大学华西医院消化外科研究室原代培养至50代。HRC-99取自46岁女性中-低分化直肠癌患者, Duke's C期; HRC-101取自54岁男性中分化直肠癌患者, Duke's B期。上述细胞均用含10%新生牛血清、100 kU/L青霉素、

100 $\mu\text{g/L}$ 链霉素和0.01 mol/L HEPES的RPMI 1640培养基,在37℃、饱和湿度及50 mL/L CO₂条件下传代培养。

1.2 方法

1.2.1 Western blot法检测7株癌细胞PRL-3蛋白表达: 将冻存的7株细胞株迅速解冻,洗涤后离心培养,直至细胞呈对数生长。分别提取总蛋白质,制作标准蛋白曲线,测定蛋白浓度,按总蛋白量60 μg 上样行SDS-PAGE电泳分析,一抗为1:1000兔抗人PRL-3(美国Zymed公司),二抗为1:1000的辣根过氧化物酶连接的羊抗兔IgG,选 β -actin做内对照。用化学发光试剂盒(美国Sigma公司)在PVDF膜上显示条带,根据PRL-3蛋白量/ β -actin蛋白量比值来比较7株癌细胞PRL-3差异性表达。

1.2.2 细胞划痕实验(wound-healing assay)测定细胞迁移能力: 通过上述Western blot方法筛选出PRL-3高表达细胞株Colo-320,胰蛋白酶消化后配制成单细胞悬液。取2张盖玻片清洗消毒后放入6孔板的2个孔中,取含 1×10^8 个/L Colo-320细胞的完全培养基1 mL滴入这2个孔中,并完全浸没盖玻片,放入CO₂恒温孵箱中培养,隔日换培养液,直到玻片上几乎爬满单层细胞。用微量吸液管头在2张玻片上表面正中各划一条直线痕迹,用温PBS冲洗掉脱落细胞,倒置显微镜下照相(Olympus公司, IX-40型)。该实验需用血细胞计数台镜下观察和计算Colo-320细胞在药物干预下移动距离。同盖玻片清洗消毒方法,准备2块血细胞计数台,将3张玻片小心分别放在血细胞计数台上,注意上表面朝上。镜下调整玻片位置,使细胞划痕线与血细胞计数台中某一刻度直线重叠,作为药物干预前的位置标志。用树脂将玻片黏合在血细胞计数台上,保证位置不会在转运过程中移动,然后一起放入较大培养皿中(已消毒)。在玻片上滴加含0.5 $\mu\text{mol/L}$ SoV(Sigma公司)完全培养液,浸满整个玻片上表面。设另一张玻片为对照组,只加完全培养基。放入CO₂恒温孵箱中培养48 h,期间每隔6 h观察同一视野一次并拍照(100×、200×和400×各1张),每隔12 h换培养基或含药物的培养基1次。以上步骤重复3次。

1.2.3 高倍倒置显微镜下计算细胞迁移距离: 细胞孵育48 h后,照相记录观察视野中细胞的最终位置。血细胞计数台中心计数线最小正方形边距为1/4 mm,边缘计数线最小长方形长为1/4×5 mm。在400×倍镜下测出20个细胞(从0-48 h间断

观察相同的细胞)向划痕中心直线移动的距离, 统计学分析对照组和实验组各20个细胞移动距离有无差异。

1.2.4 细胞爬片原位杂交观察SoV对PRL-3 mRNA的表达影响: 普通血盖片打底及消毒后制作对照组和实验组细胞爬片。待细胞贴片后, 换液加入含0.5 $\mu\text{mol/L}$ SoV完全培养液, 对照组不加药。继续培养48 h后用含40 g/L多聚甲醛的固定液4℃固定10 min。杂交前按酒精梯度脱水及脱酒精到水。盖玻片上滴加30 g/L柠檬酸新鲜稀释的胃蛋白酶, 37℃通透细胞片20 min, 后再用固定液室温下固定10 min, 蒸馏水洗3次。按每张细胞片20 μL 加预杂交液, 38℃孵育2-4 h。在杂交前将地高辛标记的cDNA探针(探针序列为5'-ccacatgcgctttctctccccgacacctcgcgtgcacttg-3', 上海生能博彩生物技术有限公司)在80℃短暂复性, 然后加入杂交液20 μL , 其浓度为5 $\mu\text{g/L}$ 。恒温箱38℃-42℃杂交过夜。杂交后在37℃下用不同浓度的SSC洗涤, 共4次。最后显色阶段分别滴加封闭液, 生物素化鼠抗地高辛抗体, SABC及生物素化过氧化物酶, 水洗后酒精脱水, 二甲苯透明, 封片。

统计学处理 数据以mean \pm SD表示, 采用t检验方法, 用SPSS10.0统计软件分析。

2 结果

2.1 细胞株中PRL-3蛋白差异性表达 Western blot检测结果如图1所示, PRL-3蛋白在Ls-174t、Colo-320、SW620、HRC-99、HRC-101细胞株中可见表达, 其中Ls-174t、Colo-320和HRC-99表达最强, SW620和HRC-101细胞表达次之。另两株细胞LoVo、CaCo-2未见PRL-3蛋白表达。Ls-174t细胞株在培养皿中悬浮生长, 不利于观察; HRC-99原代培养细胞还未建立稳定细胞株系; Colo-320细胞贴壁生长, 且形态较好, 所以我们选择其作为下一步干预实验的研究对象。

2.2 SoV作用后细胞迁移能力的变化 48 h后, 对照组细胞几乎铺满了划痕区域, 而SoV组细胞仅仅迁移了相当于4-7个细胞的距离, 细胞迁移速度远远低于对照组(图2A-D), 细胞的运动能力显著受抑制。在400 \times 倍镜下精确测量20个细胞在0 h到48 h间迁移距离, 计算对照组细胞迁移速度为39.12 \pm 10.11 $\mu\text{m/h}$, SoV为12.84 \pm 6.78 $\mu\text{m/h}$, 两组细胞迁移速度有非常显著差异($P<0.00001$, 图2E-F)。

2.3 细胞形态及PRL-3 mRNA的表达变化 倒置

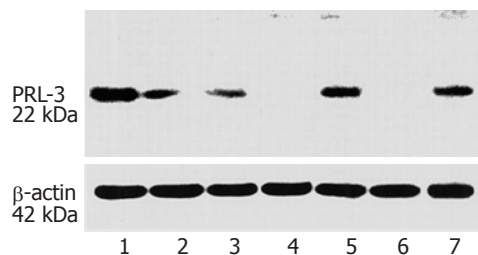


图1 PRL-3蛋白在结直肠癌细胞株中的差异性表达。1: HRC-99; 2: HRC-101; 3: SW620; 4: CaCo-2; 5: Colo-320; 6: LoVo; 7: Ls-174t。

显微镜下观察细胞形态, 对照组Colo-320细胞接种贴壁48 h进入指数生长期后, 细胞表现为高折光性, 呈长条梭形, 细胞相互紧密嵌合。原位杂交结果显示PRL-3 mRNA在胞质中强表达, 有些细胞还可看到胞核表达; SoV处理细胞48 h后可见明显的细胞损伤现象, 部分细胞表现为外形皱缩、变小变圆, 折光度下降, 细胞集落小且散在。原位杂交结果未见PRL-3 mRNA阳性表达(图3)。

3 讨论

钒属于化学元素周期表中VB族的过渡元素, 广泛存在于自然界中, 参与人体许多不同的生理过程, 如细胞的生长和分化、糖类及脂类的代谢等^[15]。SoV是金属钒化合物, 最初研究发现, SoV作用于糖尿病模型大鼠后产生明显的胰岛素样效应, 表现为血糖下降、糖原合成增强、糖脂代谢趋于平衡^[16-19]。其原因可能与SoV抑制 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶活性有关。目前钒盐作为降血糖药物, 其口服制剂已完成临床I期试验, 进入II期试验阶段^[20-21]。

随着研究地深入, 人们发现SoV还可以通过改变酪氨酸磷酸酶功能区结构, 从而抑制酶的活性。核磁共振显示^[22-23], PRL-3酶活性中心在结合状态下是非常稳定的。在未与底物或抑制剂结合之前, 位于 $\beta 5$ 和 $\alpha 4$ 之间的磷酸盐结合环由于缺乏张力而不能很好地聚合, 这一区域核磁共振检测信号就很弱或无法检测。在加入SoV后, 由于离子从自由状态向结合状态转换, 活性位点环状区域检测到新的信号, 表明这些离子状态的底物通过配体与PRL-3结合, 使后者酶活性区域结构达到稳态。

为了了解SoV对肿瘤细胞运动能力的影响, 我们设计了Colo-320细胞爬片划痕实验。正如结果所示, 48 h后对照组细胞几乎铺满了划痕区域, 而SoV组细胞仅仅迁移了相当于4-7个细胞的距

■创新盘点

本文以PRL-3为靶点, 采用其相对特异性拮抗剂SoV抑制其活性, 观察其对结肠癌细胞迁移能力的影响, 同时提示PRL-3基因转录和酶活性受SoV双重抑制的作用机制, 目前尚未见报道。

■应用要点

本文观察到SoV作用结肠癌细胞后对细胞运动能力产生强烈的抑制效应,结合本课题组过去的研究报道,即SoV还对大肠癌细胞的增殖有抑制作用。这些研究作为将来可能将SoV应用于临床提供实验依据。

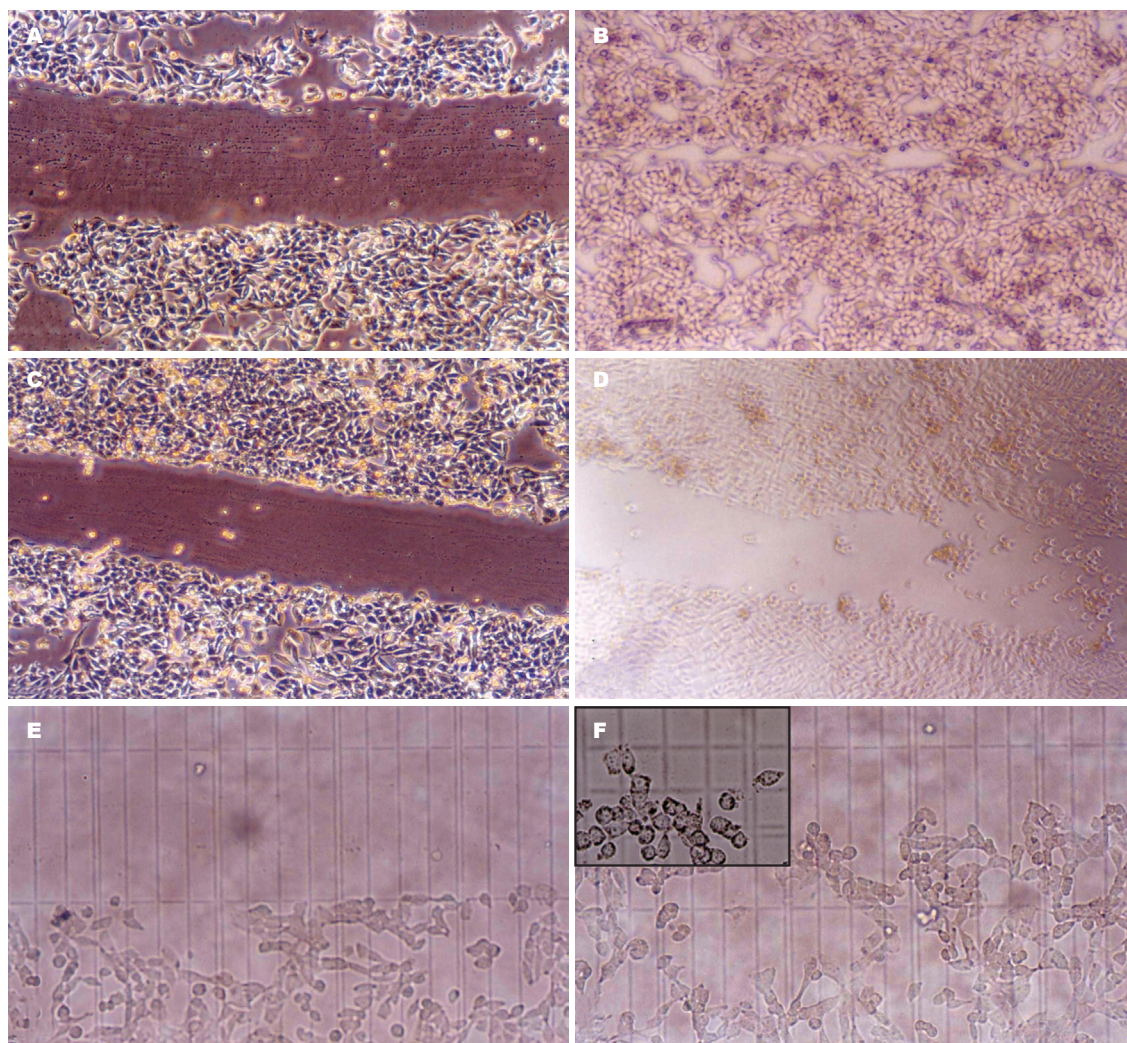


图2 SoV作用细胞后运动能力变化. A: 对照组0 h($\times 100$); B: 对照组48 h($\times 100$); C: SoV组0 h($\times 100$); D: SoV组48 h($\times 100$); E: 0 h细胞初始位置($\times 200$); F: SoV组48 h后细胞迁移位置($\times 200$).

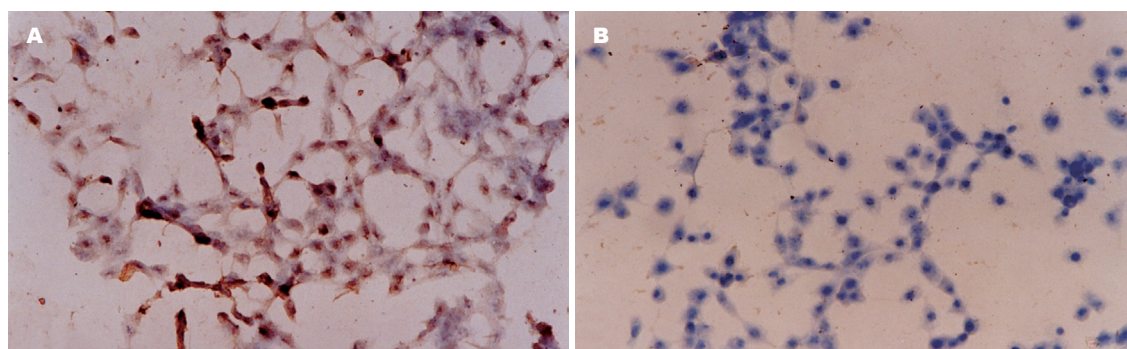


图3 Colo-320细胞在SoV作用后细胞形态改变及PRL-3 mRNA的表达(ISH $\times 200$). A: 对照组PRL-3 mRNA表达强烈; B: SoV组未见PRL-3 mRNA表达.

离, 迁移速度远远低于对照组($P < 0.00001$). Zeng *et al*^[8]观察到PRL-3主要聚集在细胞膜表面, 尤其是细胞膜的褶皱、突起以及空泡样延伸部分, 此外还可见于胞内肌动蛋白纤维上, 而这些结构在细胞的运动和浸润过程中起着重要的作用^[24-27]. 由此推断, SoV通过对PRL-3酶活性抑制,

可能是遏制结肠癌细胞Colo-320运动能力的主要原因.

正常培养状态下Colo-320细胞表现为高折光性, 呈长条梭形, 细胞相互紧密嵌合细胞, ISH结果显示, PRL-3 mRNA在胞质中呈现强表达, 有些细胞还可看到胞核表达. SoV($0.5 \mu\text{mol/L}$)

处理细胞48 h后可见明显的细胞损伤现象, 部分细胞表现为外形皱缩、变小变圆, 折光度下降, 细胞集落小且散在。SoV作用细胞48 h后ISH未见PRL-3 mRNA阳性表达, 此结果提示SoV在转录水平抑制PRL-3 mRNA的表达。这一发现很有意义, 因为之前的报道均仅述及SoV在蛋白水平抑制PRL-3酶活性。药物影响基因表达的机制很复杂, 如调控离子流动、与染色体结合影响转录、调节受体传导通路等。SoV抑制PRL-3 mRNA表达可能也是抑制Colo-320癌细胞迁移能力的原因之一。

总之, 针对PRL-3能促进细胞生长增殖, 提高细胞迁移和浸润能力的特点, 我们应用PRL-3抑制剂SoV进行干预Colo-320细胞对PRL-3的表达, 观察到由此产生的对结肠癌细胞运动能力强烈的抑制效应, 同时提示PRL-3基因转录和酶活性受SoV双重抑制的作用机制。本实验为将来可能将SoV应用于临床提供实验依据。

4 参考文献

- Blume-Jensen P, Hunter T. Oncogenic kinase signalling. *Nature* 2001; 411: 355-365
- Tonks NK, Neel BG. From form to function: signaling by protein tyrosine phosphatases. *Cell* 1996; 87: 365-368
- Denu JM, Stuckey JA, Saper MA, Dixon JE. Form and function in protein dephosphorylation. *Cell* 1996; 87: 361-364
- Streuli M. Protein tyrosine phosphatases in signaling. *Curr Opin Cell Biol* 1996; 8: 182-188
- Zhang ZY. Mechanistic studies on protein tyrosine phosphatases. *Prog Nucleic Acid Res Mol Biol* 2003; 73: 171-220
- Brown MS, Goldstein JL. Protein prenylation. Mad bet for Rab. *Nature* 1993; 366: 14-15
- Zeng Q, Si X, Horstmann H, Xu Y, Hong W, Pallen CJ. Prenylation-dependent association of protein-tyrosine phosphatases PRL-1, -2, and -3 with the plasma membrane and the early endosome. *J Biol Chem* 2000; 275: 21444-21452
- Zeng Q, Dong JM, Guo K, Li J, Tan HX, Koh V, Pallen CJ, Manser E, Hong W. PRL-3 and PRL-1 promote cell migration, invasion, and metastasis. *Cancer Res* 2003; 63: 2716-2722
- Matter WF, Estridge T, Zhang C, Belagaje R, Stancato L, Dixon J, Johnson B, Bloem L, Pickard T, Donaghue M, Acton S, Jeyaseelan R, Kadambi V, Vlahos CJ. Role of PRL-3, a human muscle-specific tyrosine phosphatase, in angiotensin-II signaling. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 283: 1061-1068
- Werner SR, Lee PA, DeCamp MW, Crowell DN, Randall SK, Crowell PL. Enhanced cell cycle progression and down regulation of p21(Cip1/Waf1) by PRL tyrosine phosphatases. *Cancer Lett* 2003; 202: 201-211
- Wu X, Zeng H, Zhang X, Zhao Y, Sha H, Ge X, Zhang M, Gao X, Xu Q. Phosphatase of regenerating liver-3 promotes motility and metastasis of mouse melanoma cells. *Am J Pathol* 2004; 164: 2039-2054
- Kato H, Semba S, Miskad UA, Seo Y, Kasuga M, Yokozaki H. High expression of PRL-3 promotes cancer cell motility and liver metastasis in human colorectal cancer: a predictive molecular marker of metachronous liver and lung metastases. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 7318-7328
- Guo K, Li J, Tang JP, Koh V, Gan BQ, Zeng Q. Catalytic domain of PRL-3 plays an essential role in tumor metastasis: formation of PRL-3 tumors inside the blood vessels. *Cancer Biol Ther* 2004; 3: 945-951
- Pelassy C, Breitmayer JP, Aussel C. Inhibition of phosphatidylserine synthesis during Jurkat T cell activation. The phosphatase inhibitor, sodium ortho-vanadate bypasses the CD3/T cell receptor-induced second messenger signaling pathway. *Eur J Biochem* 2000; 267: 984-992
- Stern A, Yin X, Tsang SS, Davison A, Moon J. Vanadium as a modulator of cellular regulatory cascades and oncogene expression. *Biochem Cell Biol* 1993; 71: 103-112
- Cortizo AM, Caporossi M, Lettieri G, Etcheverry SB. Vanadate-induced nitric oxide production: role in osteoblast growth and differentiation. *Eur J Pharmacol* 2000; 400: 279-285
- Brichard SM, Henquin JC. The role of vanadium in the management of diabetes. *Trends Pharmacol Sci* 1995; 16: 265-270
- Shafir E, Spielman S, Nachliel I, Khamaisi M, Bar-On H, Ziv E. Treatment of diabetes with vanadium salts: general overview and amelioration of nutritionally induced diabetes in the Psammomys obesus gerbil. *Diabetes Metab Res Rev* 2001; 17: 55-66
- Thompson KH, Leichter J, McNeill JH. Studies of vanadyl sulfate as a glucose-lowering agent in STZ-diabetic rats. *Biochem Biophys Res Commun* 1993; 197: 1549-1555
- Thompson KH, Orvig C. Vanadium in diabetes: 100 years from Phase 0 to Phase I. *J Inorg Biochem* 2006; 100: 1925-1935
- Thompson KH, Lichter J, LeBel C, Scaife MC, McNeill JH, Orvig C. Vanadium treatment of type 2 diabetes: a view to the future. *J Inorg Biochem* 2009; 103: 554-558
- Kozlov G, Cheng J, Ziomek E, Banville D, Gehring K, Ekiel I. Structural insights into molecular function of the metastasis-associated phosphatase PRL-3. *J Biol Chem* 2004; 279: 11882-11889
- Kozlov G, Cheng J, Lievre C, Banville D, Gehring K, Ekiel I. ¹H, ¹³C and ¹⁵N resonance assignments of the human phosphatase PRL-3. *J Biomol NMR* 2002; 24: 169-170
- Small JV, Stradal T, Vignal E, Rottner K. The lamellipodium: where motility begins. *Trends Cell Biol* 2002; 12: 112-120
- Mogilner A, Rubinstein B. The physics of filopodial protrusion. *Biophys J* 2005; 89: 782-795
- Atilgan E, Wirtz D, Sun SX. Mechanics and dynamics of actin-driven thin membrane protrusions. *Biophys J* 2006; 90: 65-76
- Le Clainche C, Carlier MF. Regulation of actin assembly associated with protrusion and adhesion in cell migration. *Physiol Rev* 2008; 88: 489-513

■同行评价

本研究立意新颖, 方法得当, 分析合理, 研究有一定意义。

编辑 李军亮 电编 何基才