

下调paxillin高表达对结直肠癌细胞SW480细胞信号转导及超微结构的影响

郑建伟, 尹洪芳, 汪欣, 刘玉村, 万远廉, 朱静

■背景资料

桩蛋白paxillin, 主要分布于黏着斑, 他是整合素信号通路中的关键分子, 是一种多结构域的LIM家族蛋白, 能为多种调节结构蛋白及信号转导蛋白提供结合位点, 在调节细胞信号传导、细胞的黏附与运动、组织结构形态及生长发育等方面发挥重要作用。近期研究表明paxillin表达量增高与多种恶性肿瘤的发生发展密切相关。

郑建伟, 汪欣, 刘玉村, 万远廉, 北京大学第一医院普外科 北京市 100034

尹洪芳, 北京大学第一医院病理科 北京市 100034

朱静, 北京大学第一医院外科实验室 北京市 100034

郑建伟, 博士, 主要从事胃肠肿瘤发生发展分子生物学机制的研究。

作者贡献分布: 本课题由郑建伟完成; 研究过程由郑建伟、尹洪芳及朱静操作完成; 数据分析由郑建伟与尹洪芳完成; 论文写作由郑建伟完成; 汪欣指导课题的设计; 刘玉村与万远廉指导课题的开展。

通讯作者: 汪欣, 副教授, 主任医师, 100034, 北京市西城区西什库大街8号, 北京大学第一医院普外科。wangxin_guo@hotmail.com
电话: 010-83572430

收稿日期: 2013-02-03 修回日期: 2013-03-05

接受日期: 2013-03-08 在线出版日期: 2013-03-28

SiRNA-mediated silencing of paxillin down-regulates ERK1/2 signaling and alters cell ultrastructure in colorectal carcinoma cell line SW480

Jian-Wei Zheng, Hong-Fang Yin, Xin Wang,
Yu-Cun Liu, Yuan-Lian Wan, Jing Zhu

Jian-Wei Zheng, Xin Wang, Yu-Cun Liu, Yuan-Lian Wan, Department of General Surgery, Peking University First Hospital, Beijing 100034, China

Hong-Fang Yin, Department of Pathology, Peking University First Hospital, Beijing 100034, China

Jing Zhu, Surgical Laboratory, Peking University First Hospital, Beijing 100034, China

Correspondence to: Xin Wang, Associate Professor, Department of General Surgery, Peking University First Hospital, 8 Xishiku Avenue, Xicheng District, Beijing 100034, China. wangxin_guo@hotmail.com

Received: 2013-02-03 Revised: 2013-03-05

Accepted: 2013-03-08 Published online: 2013-03-28

Abstract

AIM: To study the effect of silencing of paxillin overexpression on cell signaling and ultrastructure in colorectal carcinoma cell line SW480.

METHODS: Using empty plasmid as a negative control, two siRNA fragments were transfected into a colorectal carcinoma cell line SW480 which overexpresses paxillin. Stably transfected cells were screened and three new cell lines NC, SW545 and SW782 were obtained, which car-

ried the negative control, the siRNA targeting the site 545-565, and the siRNA targeting the site 782-802, respectively. The expression and site-specific phosphorylation of paxillin, FAK, ERK1/2 and AKT1/2/3 were examined in the four cell lines by Western blot. Specimens were prepared with cultured carcinoma cells to observe cell ultrastructure by transmission electron microscopy.

RESULTS: Paxillin overexpression in SW545 cells was not silenced at all, whereas silenced paxillin overexpression and remarkably reduced phosphorylation of paxillin (Tyr118) were observed in SW782 cells. Expression of AKT1/2/3 and FAK as well as their site-specific phosphorylation were substantially the same in the four cell lines. Although expression of ERK1/2 was substantially the same in the four cell lines, significantly reduced phosphorylation of ERK1/2 (Thr202/Tyr204) was observed in SW782 cells. There was no distinct ultrastructural difference between NC cells and SW480 cells, whereas dramatic ultrastructural changes were observed in SW782 cells, such as much more microvilli, microfilament and microtubule bundles, lysosomes and much less mitochondria.

CONCLUSION: Paxillin overexpression may play an important role in the malignant transformation of colorectal carcinoma cells, which is characterized by dramatic ultrastructural changes that can be reversed by silencing paxillin overexpression. Activation of ERK1/2 signaling downstream of paxillin is indispensable for the malignant transformation of colorectal carcinoma cells.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Paxillin; siRNA; SW480 cells; Cell signal transduction; Cell ultrastructure

Zheng JW, Yin HF, Wang X, Liu YC, Wan YL, Zhu J. SiRNA-mediated silencing of paxillin down-regulates ERK1/2 signaling and alters cell ultrastructure in colorectal carcinoma cell line SW480. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(9): 754-760 <http://www.wjgnet.com>

■同行评议者

樊祥山, 副主任医师, 南京大学医学院附属鼓楼医院病理科; 莫发荣, 副教授, 广西医科大学组织学与胚胎学教研室

wjgnet.com/1009-3079/21/754.asp DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i9.754>

摘要

目的: 探讨下调paxillin高表达对结直肠癌细胞SW480细胞信号转导及超微结构的影响。

方法: 设计两种siRNA片段并用其转染高表达paxillin的结直肠癌细胞SW480细胞系, 以空质粒作为阴性对照, 构建稳定转染细胞系。NC组为转染空质粒的细胞系, SW545组是稳定转染针对paxillin545-565靶基因位点的siRNA片段的细胞系, SW782组是稳定转染针对paxillin782-802靶基因位点的siRNA片段的细胞系。Western blot检测SW480、NC、SW545及SW782 4组细胞系中paxillin、FAK、ERK1/2及AKT1/2/3的表达及特异位点磷酸化水平。利用培养细胞制备切片, 透射电镜下观察几组细胞系的超微结构。

结果: SW545细胞paxillin的高表达无明显改变, SW782细胞paxillin的高表达被显著下调, SW782细胞paxillin(Tyr118)磷酸化水平也显著降低。SW782细胞ERK1/2的表达水平无明显变化, 但是ERK1/2(Thr202/Tyr204)磷酸化水平显著降低。SW782细胞AKT1/2/3及FAK的表达及特异位点磷酸化水平均无明显变化。与SW480细胞相比, NC组细胞无明显超微结构改变, 但是SW782细胞却发生了显著的超微结构变化, 具有明显增多的微绒毛、微丝微管束与溶酶体以及明显减少的线粒体。

结论: 下调paxillin高表达能够逆转SW480细胞典型的恶性转化细胞的超微结构特征, paxillin高表达可能通过磷酸化激活paxillin及ERK1/2信号转导通路从而在结直肠癌发生发展中起着非常重要的作用。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 桩蛋白; siRNA; SW480细胞系; 细胞信号转导; 超微结构

郑建伟, 尹洪芳, 汪欣, 刘玉村, 万远廉, 朱静. 下调paxillin高表达对结直肠癌细胞SW480细胞信号转导及超微结构的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(9): 754-760 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/754.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i9.754>

0 引言

近期研究表明桩蛋白paxillin表达增高与结直肠癌的发生发展密切相关, 在转移性肾癌^[1]、高转

移潜能骨肉瘤^[2]及前列腺癌^[3]等多种恶性肿瘤也存在paxillin的高表达及磷酸化水平增高。在前期研究中, 我们发现结直肠癌中存在paxillin高表达, 而且paxillin的表达水平与结直肠癌淋巴结转移与侵袭性正相关。桩蛋白paxillin是整合素信号通路中的关键分子, 主要分布于粘着斑, 是一种多结构域的LIM家族蛋白, 能为多种调节结构蛋白及信号转导蛋白提供结合位点, 在调节细胞信号传导、细胞的黏附与运动、组织结构形态及生长发育等方面发挥着重要作用^[4]。FAK(focal adhesion kinase)^[5]、AKT1/2/3(protein kinase B)以及ERK1/2(extracellular signal-regulated kinase 1/2)是与paxillin有着密切的结构和功能联系的几种信号转导通路的关键蛋白(图1), 他们在多种肿瘤的发生发展的作用已经被广泛研究。整合素分子的聚合能引起FAK最主要的活化位点397位酪氨酸残基的自主磷酸化, 从而使FAK的Src家族激酶结合位点暴露出来^[6], 形成相互激活的FAK/Src复合物, 继而激活若干下游信号转导通路^[7]。Paxillin的关键活化位点118位酪氨酸残基能被FAK/Src复合物磷酸化^[8,9], 激活的paxillin能与ERK1/2结合并将其募集到粘着斑。在粘着斑, 活化的paxillin与Raf和MEK1/2结合, 引起ERK1/2的202位苏氨酸残基和204位酪氨酸残基的双磷酸化^[10]。充分活化的ERK1/2通过激活分布于胞浆、细胞核以及线粒体^[11]、溶酶体^[12]、高尔基体^[13]等细胞器的一系列下游底物而发挥其生物学效应, 负责调控胚胎发生以及细胞增殖、分化与凋亡等生理过程, 然而过度激活的ERK1/2信号转导通路与恶性肿瘤的进展和转移癌细胞的增殖有关^[14,15]。Paxillin也能通过与ERK1/2^[16]、ABI^[17]、poly-A结合蛋白^[18]和类固醇受体^[19]的相互作用在基因表达调控中发挥重要作用。397位酪氨酸残基的磷酸化使得FAK能与PI3K(phosphoinositide 3-kinases)结合, 通过PDK1(3-phosphoinositide dependent protein kinase-1)磷酸化AKT1/2/3的308位苏氨酸残基从而激活PI3K/AKT信号转导通路^[20]。然而PI3K/AKT信号转导通路的充分激活还需要AKT1/2/3的473位丝氨酸自主磷酸化或依赖PDK2的磷酸化^[21,22]。活化的AKT1/2/3进而磷酸化胞浆、细胞核内的多种底物, 从而调控细胞的代谢、蛋白合成、增殖、DNA修复和凋亡^[23], 也能刺激血管生成和上皮间变^[24,25]。恶性肿瘤细胞的超微结构改变已被深入研究, 已经发现恶性肿瘤的一些超微结构改变与其恶性生物学行为密切相关。结直

■研究前沿

paxillin的表达异常与结直肠癌细胞SW480细胞超微结构的变化密切相关。尽管其详细机制尚未明了, 这些有意义的发现揭示了paxillin高表达以及ERK1/2等信号转导通路在结直肠癌发生发展中的重要作用。

■ 相关报道

恶性肿瘤细胞的超微结构改变已被深入研究,已经发现恶性肿瘤的一些超微结构改变与其恶性生物学行为密切相关。本课题组同时观察了稳定转染下调SW480细胞paxillin高表达前后结直肠癌细胞超微结构,结果发现高表达paxillin的SW480细胞中细胞骨架的解体以及线粒体增多、畸形肿胀和溶酶体的减少等超微结构改变符合典型恶性转化细胞的特征,而通过下调SW480细胞paxillin高表达能够逆转这些恶性转化超微结构改变。

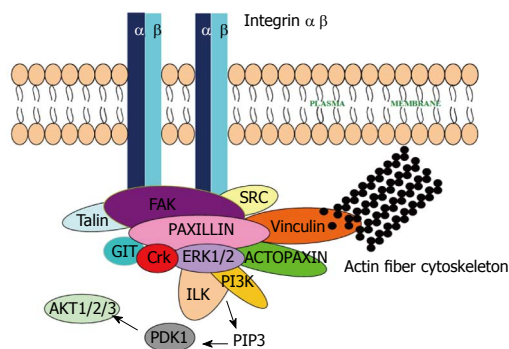


图1 FAK、AKT1/2/3及ERK1/2与paxillin的关系。

肠癌细胞系SW480高表达paxillin, 本课题通过研究下调paxillin高表达对SW480细胞多种信号转导通路及超微结构的影响, 以揭示paxillin高表达在结直肠癌发生发展中的作用及机制, 为临床分子靶向治疗提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料 结直肠癌细胞系由北京大学第一医院外科实验室提供。DMEM培养基及胎牛血清购自美国Gibco公司。paxillin siRNA购自上海吉玛公司, 其中paxillin siRNA 1针对paxillin 545-565靶基因位点(GGGCAGCAACCTTTCTGAAGT), paxillin siRNA 2针对paxillin 782-802靶基因位点(GGAGAGTCTCTTGATGAAGT)。Western blot检测所用的抗体见表1。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养及转染: SW480细胞培养于含100 mL/L胎牛血清, 100 kU/L青霉素和100 mg/L链霉素的DMEM培养基中, 定期检测以防微生物污染。将SW480细胞置于37 °C、50 mL/L CO₂的培养箱中传代培养, 实验细胞均处于对数生长期。当SW480细胞生长至80%-90%融合时, 按Lipofectamine 2000转染试剂说明书将空质粒(阴性对照)、paxillin siRNA 1和paxillin siRNA 2分别转染SW480细胞, 转染48 h后收集细胞, 利用G418抗性筛选稳定转染细胞, 得到3组稳定转染细胞系, 依次命名为: NC组、SW545组和SW782组。

1.2.2 Western blot: 依次收集SW480组、NC组、SW545组和SW782组4组细胞, 加入裂解缓冲液及蛋白酶、磷酸酶抑制剂, 充分裂解细胞15 min, 提取细胞总蛋白, Bradford分光光度法测定其蛋白质含量以确定上样量。以10%SDS-PAGE凝胶恒压电泳分离各组样品中的蛋白质, 利用恒电流电转将凝胶中的蛋白质转移至硝酸纤维素膜上, 置入含5%脱脂奶粉的TBST溶液室温封闭

2 h, 加入以含5%脱脂奶粉的TBST溶液稀释的一抗4 °C孵育过夜。第2天以TBST洗膜10 min×3次, 置于二抗TBST稀释液中室温孵育1 h, 洗膜10 min×3次, 加入Amersham ECL prime发光液, 曝光、洗片、分析。

1.2.3 超微结构观察: 以0.25%胰酶消化贴壁细胞得到各组细胞的细胞悬液, 以0.1 mol/L PBS清洗细胞悬液, 1 000 r/min离心5 min, 弃去上清, 再次以0.1 mol/L PBS清洗, 1 500 r/min离心10 min, 小心弃去上清, 切勿扰动细胞团块, 在细胞团块中加入2 mL 0.1 mol/L的戊二醛, 置于4 °C 1 h以上。将几组样本送至电镜室制备切片, 透射电镜下观察。

2 结果

2.1 paxillin及相关信号转导蛋白的表达和特异位点磷酸化水平 各组细胞paxillin及相关信号转导蛋白的表达和特异位点磷酸化水平Western blot检测结果如图2所示。SW545细胞的paxillin高表达无明显变化, SW782细胞的paxillin高表达被显著下调, 同时SW782细胞paxillin(Tyr118)磷酸化水平也显著降低。SW782细胞ERK1/2的表达水平无明显变化, 但是ERK1/2(Thr202/Tyr204)磷酸化水平显著降低。SW782细胞AKT1/2/3及FAK的表达及特异位点磷酸化水平均无明显变化。结果提示SW782细胞paxillin高表达的下调伴随着paxillin磷酸化水平的下调及其下游ERK1/2信号转导通路活性的下调。

2.2 超微结构观察 由于paxillin的高表达无明显下调, SW545细胞未被用于超微结构观察。SW480组、NC组和SW782组细胞有相似的细胞异型性。与SW480细胞相比, NC组细胞无明显超微结构改变, 但是SW782细胞却发生了显著的超微结构变化。SW480细胞表面只有稀疏的微绒毛(图3A); SW782细胞表面具有大量的微绒毛(图3B)。SW480细胞内有大量的线粒体, 溶酶体少见(图3C); SW782细胞内线粒体少见, 有多量成簇聚集的溶酶体(图3D)。SW480细胞内难以看到微丝微管束; SW782细胞内有多量微丝微管束(图3E)。SW480细胞内畸形肿胀的线粒体多见(图3C, 3F)。

3 讨论

与SW480细胞相比, NC组细胞无明显超微结构改变, 但是SW782细胞却发生了显著的超微结构变化, 具有明显增多的微绒毛、微丝微管束

表 1 Western blot 检测所用抗体

目的蛋白	一抗			二抗	
	稀释比	种属、克隆	货号	稀释比	货号
Paxillin	1 : 3 000	鼠单抗	ab3127	1 : 15 000	ZB2305 ZSGB
FAK	1 : 500	鼠单抗	sc-1688	1 : 3 000	ZB2305 ZSGB
AKT1/2/3	1 : 1 000	兔单抗	CST4685	1 : 1 000	ZB2301 ZSGB
ERK1/2	1 : 3 000	兔单抗	CST4695	1 : 3 000	ZB2301 ZSGB
p-Paxillin(Tyr118)	1 : 1 000	兔多抗	sc-101774	1 : 1 000	ZB2301 ZSGB
p-FAK (Tyr397)	1 : 500	兔多抗	ab4803	1 : 500	ZB2301 ZSGB
p-AKT1/2/3(Thr308)	1 : 500	兔多抗	sc-16646-R	1 : 500	ZB2301 ZSGB
p-AKT1/2/3(Ser473)	1 : 3 000	兔单抗	CST4060	1 : 3 000	ZB2301 ZSGB
p-ERK1/2(Thr202/Tyr204)	1 : 3 000	兔单抗	CST4370	1 : 10 000	ZB2301 ZSGB
β-actin	1 : 5 000	鼠单抗	TA-09 ZSGB	1 : 15 000	ZB2305 ZSGB

β-actin为Western blot检测内参. Western blot检测所使用的二抗均为山羊单抗.

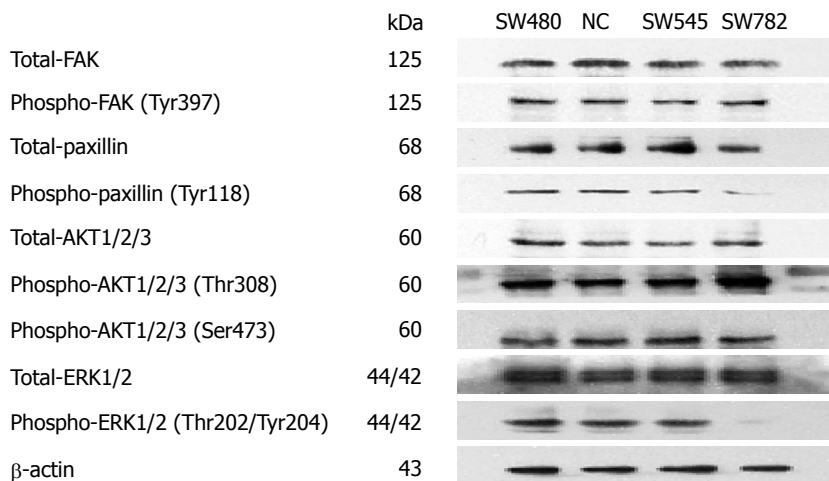


图 2 各组细胞paxillin及相关信号转导蛋白的表达和特异位点磷酸化水平Western blot检测结果.

与溶酶体以及明显减少的线粒体. 微绒毛、微丝微管束均是细胞骨架的重要组成部分, 细胞骨架能维持正常细胞的形态结构, 通过参与细胞信号转导和基因表达调控还能调节正常细胞的迁移、极性、侵袭、增殖和存活. 细胞骨架的这些调控作用在肿瘤细胞中往往出现紊乱, 从而导致肿瘤细胞增殖、变形、迁移和侵袭能力的变化^[26-28]. SW480细胞中微丝微管束的减少, 也可以称之为细胞骨架的解体, 早已被作为肿瘤细胞恶性转化的明确标志^[29]. 据报道, 肿瘤细胞不规则微绒毛的增多与肿瘤细胞的增殖和转移能力相关^[30], 这似乎与我们的实验结果相矛盾, 然而考虑到正常结直肠黏膜上皮细胞具有丰富的微绒毛, SW480细胞微绒毛的减少可能是结直肠黏膜上皮细胞恶性转化的表现之一, 或许能够解释这些看似矛盾的实验结果. 肿瘤生

物学界一个新兴主题就是肿瘤细胞能量代谢调节与肿瘤进展密切相关^[31,32]. SW480细胞中大量而且往往是畸形肿胀的线粒体, 标志着SW480细胞能量代谢状态的转化和线粒体膜电势能的显著改变. 线粒体在肿瘤发生进展中发挥着重要作用, 肿瘤生物学界一个新兴主题就是肿瘤细胞能量代谢调节与肿瘤进展密切相关^[31,32]. 值得注意的是, 线粒体和溶酶体均是与细胞凋亡调控有关的重要细胞器. 能够逃逸细胞凋亡是恶性肿瘤细胞的重要标志, 而正常细胞凋亡途径的抑制是肿瘤发生的必要机制^[33]. 涉及线粒体的内源性凋亡途径为防止癌变提供了重要保障, 而内源性凋亡途径的缺陷在肿瘤转移和化疗耐药中发挥重要的作用^[34,35]. 此外, 细胞凋亡也可以通过细胞表面的肿瘤坏死因子家族的死亡受体激活触发的, 称为外源性细胞凋亡途径. 不像

■创新盘点

本研究首先利用siRNA稳定转染高表达paxillin的结直肠癌细胞系SW480, 然后Western blot检测稳定转染细胞中paxillin、FAK、AKT1/2/3以及ERK1/2的表达及主要特异磷酸化位点的磷酸化水平, 结果发现在下调paxillin高表达的结直肠癌细胞中paxillin及ERK1/2的磷酸化水平也被显著下调, 提示paxillin高表达可能通过磷酸化激活paxillin及ERK1/2信号转导通路从而在结直肠癌发生发展中起着非常重要的作用.

■同行评价

本文通过siRNA技术下调大肠癌细胞SW480中paxillin的表达水平,从而观察癌细胞的超微结构特征以及可能的分子机制,具有一定的创新性和临床价值。

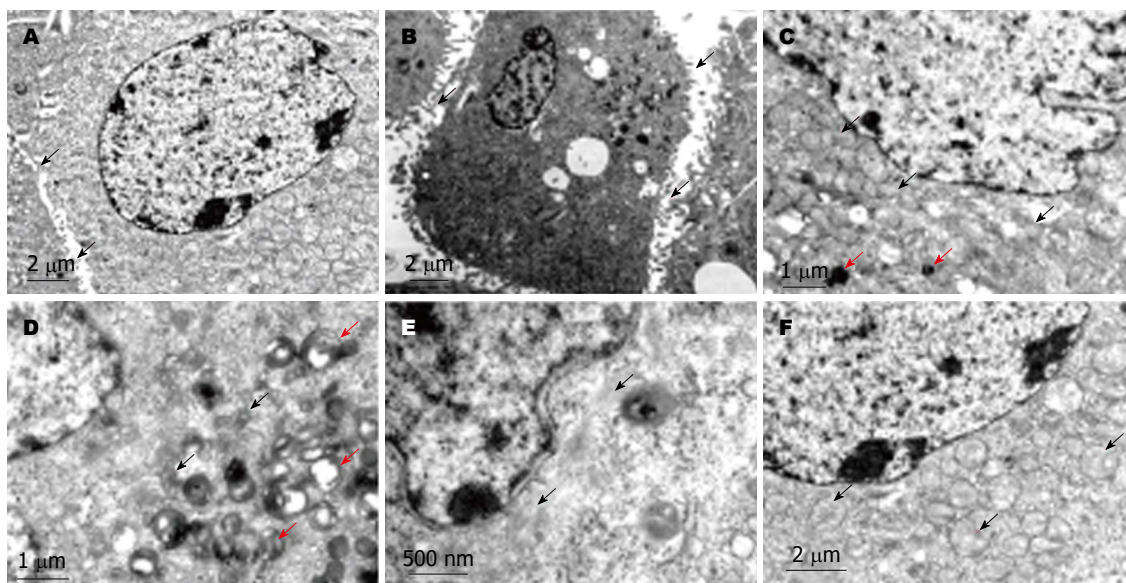


图3 SW782细胞的超微结构变化. A: SW480细胞表面只有稀疏的微绒毛(箭头). B: SW782细胞表面具有大量的微绒毛(箭头). C: SW480细胞内有大量的线粒体(箭头),溶酶体少见(红箭头). D: SW782细胞内线粒体少见(箭头),有多量成簇聚集的溶酶体(红箭头). E: SW782细胞内有多量微丝微管束(箭头). F: SW480细胞内畸形肿胀的线粒体多见(箭头).

前述两种典型的凋亡途径需要有半胱天冬酶的激活^[36,37],溶酶体细胞死亡途径是以溶酶体的高通透性及蛋白酶继而易位进入细胞质激活凋亡为特征的,他可以在肿瘤细胞的经典凋亡途径均存在各种缺陷时发挥替代作用^[38].因此线粒体及溶酶体数目与形态的变化,提示SW480细胞存在线粒体及溶酶体的功能异常,可能借助上述机制逃逸细胞凋亡.综上所述,paxillin高表达的SW480细胞中细胞骨架的解体以及线粒体增多、畸形肿胀和溶酶体的减少等超微结构改变符合恶性转化细胞的特征,通过下调SW480细胞的paxillin高表达能够逆转这种恶性转化超微结构特征.

Western blot检测结果提示SW782细胞paxillin高表达的下调伴随着paxillin磷酸化水平的下调及其下游ERK1/2信号转导通路活性的下调.这一发现提示paxillin高表达可能通过磷酸化激活paxillin及ERK1/2信号转导通路从而在结直肠癌发生发展中起着非常重要的作用. Rho家族小GTP酶蛋白负责细胞微丝骨架的调节,而paxillin对这一调节过程中的时空协调发挥着核心作用.通过抑制Rho信号转导,ERK1/2信号转导途径的激活可导致恶性转化细胞的微丝骨架解体,进而通过肌动蛋白动力学的改变和细胞黏附能力的下降导致细胞迁移能力的增强^[39]. Paxillin能通过其LD结构域与微管骨架相结合,可能有助于微管组织中心的重新定位^[40],而ERK1/2的激

活可导致微管的去稳定^[41].激活的ERK1/2可以与微管结合并直接调节其动力学^[42]或通过影响微管相关蛋白的磷酸化^[43]来调节微管的动力学.因此,paxillin和下游ERK1/2信号通路的激活或许能够解释SW480细胞微丝、微管细胞骨架解体.线粒体的数量调控需要染色体DNA与线粒体DNA的协调转录和高能量利用区域的产生及线粒体的定向转运^[10].在细胞核内,激活ERK1/2可以调节基因的表达,影响多种线粒体蛋白的表达,进而影响线粒体的诸多功能^[44].深入研究证实线粒体内存在激活的ERK1/2,提示激活的ERK1/2可能影响许多线粒体本身的功能,例如线粒体依赖的细胞生存/凋亡调控^[45]、调节线粒体膜电势能和ATP的生成^[46]以及调节线粒体基因的表达^[11].而且,依赖paxillin和ERK1/2调控的细胞骨架系统还负责线粒体等细胞器和囊泡的细胞内转运^[47].尽管目前对于paxillin的表达和活化与线粒体的变化之间的关系所知甚少,paxillin和ERK1/2信号转导通路的激活或许也能够解释SW480细胞线粒体超微结构的变化.如同线粒体等细胞器,溶酶体的运动也依赖于细胞微丝和微管骨架^[47,48].微丝还参与内涵体和溶酶体的稳态分布的维护以及这两种细胞器之间的膜转运^[49,50].由于paxillin和ERK1/2信号转导通路负责细胞骨架系统的调控,paxillin和ERK1/2信号转导通路必然能够影响溶酶体的功能.如上所述,激活的ERK1/2也可能通过激活胞浆中

和包括溶酶体在内的各种细胞器中的多种底物,影响溶酶体的生成和功能, paxillin也能通过与ERK1/2相互作用在基因表达调节中发挥着重要作用. 因此paxillin和ERK1/2信号转导通路的激活会影响溶酶体的数目和功能, 这也能够解释SW480细胞溶酶体超微结构改变.

总之, 通过阻断paxillin高表达能够逆转结直肠癌细胞系SW480的典型恶性转化细胞的超微结构特征; paxillin高表达可能通过磷酸化激活paxillin及ERK1/2信号转导通路从而在结直肠癌发生发展中起着非常重要的作用. 尽管详细机制尚未明了, 这些有意义的发现揭示了paxillin高表达以及ERK1/2等信号转导通路在结直肠癌发生发展中的重要作用, 提供了进一步深入研究的方向, 将来或许能够为结直肠癌临床治疗找到新的治疗靶点.

4 参考文献

- Jenq W, Cooper DR, Ramirez G. Integrin expression on cell adhesion function and up-regulation of P125FAK and paxillin in metastatic renal carcinoma cells. *Connect Tissue Res* 1996; 34: 161-174 [PMID: 9023046 DOI: 10.3109/03008209609000696]
- Azuma K, Tanaka M, Uekita T, Inoue S, Yokota J, Ouchi Y, Sakai R. Tyrosine phosphorylation of paxillin affects the metastatic potential of human osteosarcoma. *Oncogene* 2005; 24: 4754-4764 [PMID: 15870699 DOI: 10.1038/sj.onc.1208654]
- Tremblay L, Hauck W, Aprikian AG, Begin LR, Chapdelaine A, Chevalier S. Focal adhesion kinase (pp125FAK) expression, activation and association with paxillin and p50CSK in human metastatic prostate carcinoma. *Int J Cancer* 1996; 68: 164-171 [PMID: 8900422 DOI: 10.1002/(SICI)1097-0215(19961009)68:2<169::AID-IJC4>3.0.CO;2-W]
- Deakin NO, Turner CE. Paxillin comes of age. *J Cell Sci* 2008; 121: 2435-2444 [PMID: 18650496 DOI: 10.1242/jcs.018044]
- Scheswohl DM, Harrell JR, Rajfur Z, Gao G, Campbell SL, Schaller MD. Multiple paxillin binding sites regulate FAK function. *J Mol Signal* 2008; 3: 1 [PMID: 18171471 DOI: 10.1186/1750-2187-3-1]
- Bolós V, Gasent JM, López-Tarruella S, Grande E. The dual kinase complex FAK-Src as a promising therapeutic target in cancer. *Onco Targets Ther* 2010; 3: 83-97 [PMID: 20616959 DOI: 10.2147/OTT.S6909]
- Zhao J, Guan JL. Signal transduction by focal adhesion kinase in cancer. *Cancer Metastasis Rev* 2009; 28: 35-49 [PMID: 19169797 DOI: 10.1007/s10555-008-9165-4]
- Bellis SL, Miller JT, Turner CE. Characterization of tyrosine phosphorylation of paxillin in vitro by focal adhesion kinase. *J Biol Chem* 1995; 270: 17437-17441 [PMID: 7615549 DOI: 10.1074/jbc.270.29.17437]
- Schaller MD, Parsons JT. pp125FAK-dependent tyrosine phosphorylation of paxillin creates a high-affinity binding site for Crk. *Mol Cell Biol* 1995; 15: 2635-2645 [PMID: 7537852]
- Wortzel I, Seger R. The ERK Cascade: Distinct Functions within Various Subcellular Organelles. *Genes Cancer* 2011; 2: 195-209 [PMID: 21779493 DOI: 10.1177/1947601911407328]
- Galli S, Jahn O, Hitt R, Hesse D, Opitz L, Plessmann U, Urlaub H, Poderoso JJ, Jares-Erijman EA, Jovin TM. A new paradigm for MAPK: structural interactions of hERK1 with mitochondria in HeLa cells. *PLoS One* 2009; 4: e7541 [PMID: 19847302 DOI: 10.1371/journal.pone.0007541]
- Teis D, Taub N, Kurzbaue R, Hilber D, de Araujo ME, Erlacher M, Offterdinger M, Villunger A, Geley S, Bohn G, Klein C, Hess MW, Huber LA. p14-MP1-MEK1 signaling regulates endosomal traffic and cellular proliferation during tissue homeostasis. *J Cell Biol* 2006; 175: 861-868 [PMID: 17178906 DOI: 10.1083/jcb.200607025]
- Torii S, Kusakabe M, Yamamoto T, Maekawa M, Nishida E. Sef is a spatial regulator for Ras/MAP kinase signaling. *Dev Cell* 2004; 7: 33-44 [PMID: 15239952 DOI: 10.1016/j.devcel.2004.05.019]
- Pearson G, Robinson F, Beers Gibson T, Xu BE, Karandikar M, Berman K, Cobb MH. Mitogen-activated protein (MAP) kinase pathways: regulation and physiological functions. *Endocr Rev* 2001; 22: 153-183 [PMID: 11294822 DOI: 10.1210/er.22.2.153]
- Rubinfeld H, Seger R. The ERK cascade: a prototype of MAPK signaling. *Mol Biotechnol* 2005; 31: 151-174 [PMID: 16170216 DOI: 10.1385/MB:31:2:151]
- Ishibe S, Joly D, Zhu X, Cantley LG. Phosphorylation-dependent paxillin-ERK association mediates hepatocyte growth factor-stimulated epithelial morphogenesis. *Mol Cell* 2003; 12: 1275-1285 [PMID: 14636584 DOI: 10.1016/S1097-2765(03)00406-4]
- Woods AJ, Roberts MS, Choudhary J, Barry ST, Mazaki Y, Sabe H, Morley SJ, Critchley DR, Norman JC. Paxillin associates with poly(A)-binding protein 1 at the dense endoplasmic reticulum and the leading edge of migrating cells. *J Biol Chem* 2002; 277: 6428-6437 [PMID: 11704675]
- Lewis JM, Baskaran R, Taagepera S, Schwartz MA, Wang JY. Integrin regulation of c-Abl tyrosine kinase activity and cytoplasmic-nuclear transport. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996; 93: 15174-15179 [PMID: 8986783 DOI: 10.1073/pnas.93.26.15174]
- Sen A, De Castro I, Defranco DB, Deng FM, Melamed J, Kapur P, Raj GV, Rossi R, Hammes SR. Paxillin mediates extranuclear and intranuclear signaling in prostate cancer proliferation. *J Clin Invest* 2012; 122: 2469-2481 [PMID: 22684108 DOI: 10.1172/JCI62044]
- Reiske HR, Kao SC, Cary LA, Guan JL, Lai JF, Chen HC. Requirement of phosphatidylinositol 3-kinase in focal adhesion kinase-promoted cell migration. *J Biol Chem* 1999; 274: 12361-12366 [PMID: 10212207]
- Toker A, Newton AC. Akt/protein kinase B is regulated by autophosphorylation at the hypothetical PDK-2 site. *J Biol Chem* 2000; 275: 8271-8274 [PMID: 10722653 DOI: 10.1074/jbc.275.12.8271]
- Sarbassov DD, Guertin DA, Ali SM, Sabatini DM. Phosphorylation and regulation of Akt/PKB by the rictor-mTOR complex. *Science* 2005; 307: 1098-1101 [PMID: 15718470 DOI: 10.1126/science.1106148]
- Aksamitiene E, Kiyatkin A, Kholodenko BN. Cross-talk between mitogenic Ras/MAPK and survival PI3K/Akt pathways: a fine balance. *Biochem Soc Trans* 2012; 40: 139-146 [PMID: 22260680 DOI: 10.1042/BST20110609]
- Vivanco I, Sawyers CL. The phosphatidylinositol 3-Kinase AKT pathway in human cancer. *Nat Rev*

- Cancer* 2002; 2: 489-501 [PMID: 12094235]
- 25 Larue L, Bellacosa A. Epithelial-mesenchymal transition in development and cancer: role of phosphatidylinositol 3' kinase/AKT pathways. *Oncogene* 2005; 24: 7443-7454 [PMID: 16288291 DOI: 10.1038/sj.onc.1209091]
 - 26 Lindberg U, Karlsson R, Lassing I, Schutt CE, Höglund AS. The microfilament system and malignancy. *Semin Cancer Biol* 2008; 18: 2-11 [PMID: 18024149 DOI: 10.1016/j.semcancer.2007.10.002]
 - 27 Royer C, Lu X. Epithelial cell polarity: a major gatekeeper against cancer? *Cell Death Differ* 2011; 18: 1470-1477 [PMID: 21617693 DOI: 10.1038/cdd.2011.60]
 - 28 Stevenson RP, Veltman D, Machesky LM. Actin-bundling proteins in cancer progression at a glance. *J Cell Sci* 2012; 125: 1073-1079 [PMID: 22492983 DOI: 10.1242/jcs.093799]
 - 29 Yamaguchi H, Condeelis J. Regulation of the actin cytoskeleton in cancer cell migration and invasion. *Biochim Biophys Acta* 2007; 1773: 642-652 [PMID: 16926057]
 - 30 Ren J, Hamada J, Okada F, Takeichi N, Morikawa K, Hosokawa M, Kobayashi H. Correlation between the presence of microvilli and the growth or metastatic potential of tumor cells. *Jpn J Cancer Res* 1990; 81: 920-926 [PMID: 1977729 DOI: 10.1111/j.1349-7006.1990.tb02668.x]
 - 31 Muñoz-Pinedo C, El Mjiyad N, Ricci JE. Cancer metabolism: current perspectives and future directions. *Cell Death Dis* 2012; 3: e248 [PMID: 22237205 DOI: 10.1038/cddis.2011.123]
 - 32 Pokorný J, Jandová A, Nedbalová M, Jelínek F, Cifra M, Kučera O, Havelka D, Vrba J, Vrba J, Coček A, Kobilková J. Mitochondrial metabolism - neglected link of cancer transformation and treatment. *Prague Med Rep* 2012; 113: 81-94 [PMID: 22691280]
 - 33 Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell* 2000; 100: 57-70 [PMID: 10647931 DOI: 10.1016/S0092-8674(00)81683-9]
 - 34 Kitada S, Pedersen IM, Schimmer AD, Reed JC. Dysregulation of apoptosis genes in hematopoietic malignancies. *Oncogene* 2002; 21: 3459-3474 [PMID: 12032782 DOI: 10.1038/sj.onc.1205327]
 - 35 Kirkin V, Joos S, Zörnig M. The role of Bcl-2 family members in tumorigenesis. *Biochim Biophys Acta* 2004; 1644: 229-249 [PMID: 14996506 DOI: 10.1016/j.bbamcr.2003.08.009]
 - 36 Fogg VC, Lanning NJ, MacKeigan JP. Mitochondria in cancer: at the crossroads of life and death. *Chin J Cancer* 2011; 30: 526-539 [PMID: 21801601 DOI: 10.5732/cjc.011.10018]
 - 37 Kirkegaard T, Jäättelä M. Lysosomal involvement in cell death and cancer. *Biochim Biophys Acta* 2009; 1793: 746-754 [PMID: 18948147]
 - 38 Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 2011; 144: 646-674 [PMID: 21376230 DOI: 10.1016/j.cell.2011.02.013]
 - 39 Barros JC, Marshall CJ. Activation of either ERK1/2 or ERK5 MAP kinase pathways can lead to disruption of the actin cytoskeleton. *J Cell Sci* 2005; 118: 1663-1671 [PMID: 15797923 DOI: 10.1242/jcs.02308]
 - 40 Robertson LK, Ostergaard HL. Paxillin associates with the microtubule cytoskeleton and the immunological synapse of CTL through its leucine-aspartic acid domains and contributes to microtubule organizing center reorientation. *J Immunol* 2011; 187: 5824-5833 [PMID: 22043013 DOI: 10.4049/jimmunol.1003690]
 - 41 Asrih M, Pellieux C, Papageorgiou I, Lerch R, Montessuit C. Role of ERK1/2 activation in microtubule stabilization and glucose transport in cardiomyocytes. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2011; 301: E836-E843 [PMID: 21771966 DOI: 10.1152/ajpendo.00160.2011]
 - 42 Reszka AA, Seger R, Diltz CD, Krebs EG, Fischer EH. Association of mitogen-activated protein kinase with the microtubule cytoskeleton. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995; 92: 8881-8885 [PMID: 7568036]
 - 43 Morishima-Kawashima M, Kosik KS. The pool of map kinase associated with microtubules is small but constitutively active. *Mol Biol Cell* 1996; 7: 893-905 [PMID: 8816996]
 - 44 Seger R, Hanoch T, Rosenberg R, Dantes A, Merz WE, Strauss JF, Amsterdam A. The ERK signaling cascade inhibits gonadotropin-stimulated steroidogenesis. *J Biol Chem* 2001; 276: 13957-13964 [PMID: 11278318]
 - 45 Lee HJ, Bach JH, Chae HS, Lee SH, Joo WS, Choi SH, Kim KY, Lee WB, Kim SS. Mitogen-activated protein kinase/extracellular signal-regulated kinase attenuates 3-hydroxykynurenine-induced neuronal cell death. *J Neurochem* 2004; 88: 647-656 [PMID: 14720214]
 - 46 Monick MM, Powers LS, Barrett CW, Hinde S, Ashare A, Groskreutz DJ, Nyunoya T, Coleman M, Spitz DR, Hunninghake GW. Constitutive ERK MAPK activity regulates macrophage ATP production and mitochondrial integrity. *J Immunol* 2008; 180: 7485-7496 [PMID: 18490749]
 - 47 Cordonnier MN, Dauzon D, Louvard D, Coudrier E. Actin filaments and myosin I alpha cooperate with microtubules for the movement of lysosomes. *Mol Biol Cell* 2001; 12: 4013-4029 [PMID: 11739797]
 - 48 Matteoni R, Kreis TE. Translocation and clustering of endosomes and lysosomes depends on microtubules. *J Cell Biol* 1987; 105: 1253-1265 [PMID: 3308906 DOI: 10.1083/jcb.105.3.1253]
 - 49 van Deurs B, Holm PK, Kayser L, Sandvig K. Delivery to lysosomes in the human carcinoma cell line HEp-2 involves an actin filament-facilitated fusion between mature endosomes and preexisting lysosomes. *Eur J Cell Biol* 1995; 66: 309-323 [PMID: 7544728]
 - 50 Durrbach A, Louvard D, Coudrier E. Actin filaments facilitate two steps of endocytosis. *J Cell Sci* 1996; 109 (Pt 2): 457-465 [PMID: 8838669]

编辑 李军亮 电编 鲁亚静

