

[DOI]10.12016/j.issn.2096-1456.2022.04.002

· 基础研究 ·

沉默 RhoA 基因对腺样囊性癌细胞迁移和侵袭的影响

迟增鹏¹, 周建华², 李文健³, 王莹⁴, 徐晓妹⁵, 陈正岗²

1. 潍坊医学院口腔医学院, 山东 潍坊(261021); 2. 青岛大学附属青岛市市立医院口腔医学中心, 山东 青岛(266071); 3. 大连医科大学口腔医学院, 辽宁 大连(116044); 4. 济南市第四人民医院口腔科, 山东 济南(250031); 5. 青岛大学附属青岛市市立医院肿瘤科, 山东 青岛(266071)

【摘要】 目的 探讨 RhoA 基因对唾液腺腺样囊性癌(salivary adenoid cystic carcinoma, SACC)细胞的迁移和侵袭能力的影响。方法 将液氮冻存的 20 例 SACC 及正常癌旁组织研磨匀浆, 分别提取总 RNA 和总蛋白检测 RhoA 的表达情况。同时构建 RhoA-siRNA 转染 2 个细胞株 SACC-LM 和 SACC-83 细胞进行细胞学实验, 实验分为实验组(转染 RhoA-siRNA 基因), 阴性对照组(转染 siRNA-NC 基因)和空白对照组。通过 qRT-PCR 检测各组细胞 RhoA 的 mRNA 表达并确定转染效率; Western blot 分析各组细胞 RhoA 及上皮-间充质转换(epithelial-mesenchymal transition, EMT)标志分子(E-cadherin、N-cadherin、Vimentin)的蛋白表达; Transwell 实验及划痕实验分析各组细胞侵袭和迁移能力的变化。结果 与正常癌旁组织相比, RhoA mRNA 和蛋白相对表达量在 SACC 组织中增高($P < 0.01$); 实验组与对照组相比, RhoA mRNA 的相对表达量和蛋白的相对表达量降低, E-cadherin 蛋白的相对表达量增加, N-cadherin、Vimentin 蛋白的相对表达量降低($P < 0.01$); 实验组细胞侵袭和迁移能力降低($P < 0.01$)。结论 RhoA 在 SACC 组织中表达增高; 体外沉默 RhoA 基因可有效抑制 SACC-LM 和 SACC-83 细胞迁移和侵袭能力, 其可能通过作用 EMT 影响 SACC 细胞迁移和侵袭能力。

【关键词】 小干扰 RNA; RhoA; 腺样囊性癌; 上皮-间充质转换; 迁移; 侵袭; E-钙黏蛋白; N-钙黏蛋白; 波形蛋白

【中图分类号】 R78 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 2096-1456(2022)04-0237-08

【引用著录格式】 迟增鹏, 周建华, 李文健, 等. 沉默 RhoA 基因对腺样囊性癌细胞迁移和侵袭的影响[J]. 口腔疾病防治, 2022, 30(4): 237-244. doi: 10.12016/j.issn.2096-1456.2022.04.002.

Effects of RhoA silencing on the migration and invasion of salivary adenoid cystic carcinoma CHI Zeng-peng¹, ZHOU Jianhua², LI Wenjian³, WANG Ying⁴, XU Xiaomei⁵, CHEN Zhenggang². 1. College of Stomatology, Weifang Medical University, Weifang 261021, China; 2. Department of Stomatology, Qingdao Municipal Hospital, Qingdao University, Qingdao 266071, China; 3. School of Stomatology, Dalian Medical University, Dalian 116044, China; 4. Department of Stomatology, Fourth People's Hospital of Jinan, Jinan 250031, China; 5. Department of Oncology, Qingdao Municipal Hospital, Qingdao University, Qingdao 266071, China

Corresponding author: CHEN Zhenggang, Email: chenzhg1973@163.com, Tel: 86-532-88905341

【Abstract】 **Objective** To explore whether RhoA plays a role in the migration and invasion of the salivary adenoid cystic carcinoma cell lines SACC-LM and SACC-83. **Methods** Total RNA and total protein were extracted from 20 salivary adenoid cystic carcinoma (SACC) and normal adjacent tissues frozen in liquid nitrogen to detect RhoA expression. RhoA-siRNA was constructed to transfect two cell lines (SACC-LM and SACC-83) for cytological experiments. The research included an experimental group (RhoA-siRNA transfection), negative control group (siRNA-NC transfection) and blank group by transient transfection with liposomes. Expression of RhoA mRNA and protein as well as the protein expression of biomarkers of epithelial-mesenchymal transition (EMT) were analyzed, including E-cadherin, N-cadherin,

【收稿日期】 2021-08-20; **【修回日期】** 2022-01-19

【基金项目】 国家自然科学基金项目(81372908)

【作者简介】 迟增鹏, 住院医师, 硕士, Email: 1658100261@qq.com

【通信作者】 陈正岗, 主任医师, 博士, Email: chenzhg1973@163.com, Tel: 86-532-88905341



微信公众号

and Vimentin. Furthermore, the changes in invasion and migration of cells in each group were analyzed by comparing the number of transmembrane cells in the Transwell assay and the results of the scratch test. **Results** Compared with normal adjacent tissues, RhoA protein and mRNA levels increased in SACC tissues. Compared with the control group, the relative expression levels of RhoA mRNA and protein decreased ($P < 0.01$), the relative expression levels of E-cadherin protein increased, and the relative expression levels of N-cadherin and vimentin protein increased in the experimental group ($P < 0.01$). Additionally, the trial results revealed that RhoA knockdown restrained cell migration and invasion ($P < 0.01$). **Conclusion** RhoA expression increased in SACC tissue. Silencing RhoA *in vitro* could effectively restrain cell migration and invasion in SACC-LM and SACC-83 cells through the regulation of EMT signaling pathways.

[Key words] siRNA; RhoA; SACC; EMT; migration; invasion; E-cadherin; N-cadherin; Vimentin
J Prev Treat Stomatol Dis, 2022, 30(4): 237-244.

[Competing interests] The authors declare no competing interests.

This study was supported by the grants from National Natural Science Foundation of China (No.81372908).

唾液腺腺样囊性癌(salivary adenoid cystic carcinoma, SACC)是唾液腺恶性肿瘤之一,占唾液腺肿瘤的10%^[1-2]。SACC具有生长缓慢、复发率高、嗜神经侵袭、易远处转移及能在周围正常组织中检测出癌细胞浸润等特性。目前,临床上对SACC的治疗方式是手术切除、术后辅以放化疗的综合疗法,但治疗效果不佳^[3]。因此,探寻新的靶向治疗方法对SACC的治疗具有重要意义。RhoA蛋白是Ras超家族蛋白中RhoGTP酶亚家族的成员,其在细胞内可通过鸟嘌呤核苷酸交换因子(guanine nucleotide-exchange factor, GEF)的催化作用下由不活跃结合态形式转换为可调控细胞信号通路的活跃结合态形式^[4-5]。近年来研究证实,RhoA可介导下游靶点调控多种肿瘤细胞的增殖、侵袭和迁移等过程,与肿瘤发生、发展关系密切^[4,6],但关于RhoA与SACC在迁移和侵袭等恶性进展方面的研究仍然较少。本研究通过小干扰RNA技术对高侵袭性腺样囊性癌SACC-LM细胞和低侵袭性腺样囊性癌SACC-83细胞的RhoA基因进行体外沉默,观察RhoA基因对腺样囊性癌SACC-LM和SACC-83细胞迁移和侵袭能力的影响,为SACC分子靶向治疗的研究提供研究基础。

1 材料和方法

1.1 主要材料和试剂

20例SACC及正常癌旁组织源于青岛大学附属青岛市市立医院口腔颌面外科接受手术治疗的SACC患者的标本。人腺样囊性癌细胞株SACC-LM和SACC-83(由青岛大学附属医院口腔科提供)。

青霉素、链霉素(Gibco公司,美国),DMSO

(Amersco公司,美国),胎牛血清(BI公司,以色列),RNA提取试剂盒、反转录试剂盒、TB Green Premix Ex Taq™试剂盒(Takara公司,日本),RPMI-1640培养基(Gibco公司,美国),riboFect™CP转染试剂(广州市生物科技有限公司,中国),小干扰RNA片段构建与生成、实时定量PCR引物RhoA、引物GAPDH合成(上海生工生物工程有限公司,中国)。兔抗人多克隆RhoA抗体、E-钙黏蛋白(E-cadherin)抗体、N-钙黏蛋白(N-cadherin)抗体、波形蛋白(Vimentin)抗体、GAPDH抗体(CST公司,美国),羊抗兔IgG二抗(Santa Cruz公司,美国),胰蛋白酶(Gibco公司,美国),RIPA裂解液(雅酶生物医药科技有限公司,中国),蛋白酶抑制剂PMSF、磷酸酶抑制剂、BCA蛋白浓度测定试剂盒、SDS-PAGE配胶试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司,中国),Transwell小室(Corning公司,美国),微量移液器(Eppendorf公司,德国),CO₂恒温培养箱(Thermo Forma 311, Thermo Forma公司,美国),酶标仪(FC, Thermo Forma公司,美国),低温高速离心机(Megafuge 1.0R, Heraeus公司,德国),倒置相差显微镜(CKX53, Olympus公司,日本),高速台式离心机(PrimoR, Heraeus公司,德国),实时荧光聚合酶链反应仪(7900HT, ABI公司,美国),流式细胞仪(CytoFLEX Beckman Coulter公司,美国)。

1.2 方法

1.2.1 SACC及正常癌旁组织匀浆制备 本研究通过青岛大学附属青岛市市立医院医学伦理委员会审查批准(审批号:2021临审字第088号)。

将液氮冻存的20例SACC及正常癌旁组织研磨匀浆,分别提取总RNA和总蛋白,待qRT-PCR及Western blot检测RhoA的表达情况。

1.2.2 细胞培养 将SACC-LM和SACC-83细胞接种于T25培养瓶中,加入含10%胎牛血清、1%青霉素和链霉素的5 mL RPMI-1640完全培养基并置于恒温培养箱中进行培养。待贴壁细胞长至约80%~90%后,弃原培养基,PBS冲洗,加入1.5 mL胰蛋白酶于37℃环境下消化3~5 min成细胞悬液,吸取双倍量的完全培养基终止消化,并最终以1:4比例传代。

1.2.3 siRNA转染效率测定及分组 分别将处于对数生长期的SACC-LM和SACC-83细胞以密度为 2×10^5 个/孔接种于6孔板内,待细胞密度达铺板面积的1/3~1/2时进行转染。根据说明书在

1.5 mL EP管中加入120 μ L riboFECTTMCP Buffer和5 μ L 20 μ mol/L荧光基团Cy3标记的siRNA储存液,吹打混匀后加入12 μ L riboFECTTMCP Reagent。室温条件下孵育0~15 min,加入到1 863 μ L无双抗完全培养基中,使转染时siRNA终浓度为50 nmol/L。于荧光显微镜下明确RhoA-siRNA转染SACC细胞系48 h后的转染效率。根据RhoA基因序列构建2条小分子干扰RNA(RhoA-siRNA)和1条阴性序列作为对照(表1)。实验分组为实验组(转染RhoA-siRNA基因)、阴性对照组(转染NC-siRNA基因)和空白对照组,各组细胞转染后继续培养,完成后续实验。

表1 RhoA siRNA干扰序列和阴性对照序列

Table 1 RhoA siRNA interference sequences and negative control sequences

RhoA-siRNA	Product ID	Product name	Sequences
RhoA-siRNA-1-F	StB0010313A	genOFFTMst-h-RhoA _001	UUUCUAAACUAUCAGGGCUG
RhoA-siRNA-1-R			GCCCUGAUAGUUUAGAAAAU
RhoA-siRNA-2-F	StB0010313B	genOFFTMst-h-RhoA _002	GUUUAUUAUCUUAGUGUA
RhoA-siRNA-2-R			UACACUAAGAUUAAUAAAC
NC-siRNA-1-F	StB0010313C	genOFFTMst-h-RhoA _003	CAGUCAGGAGGAUCCAAAGUG
NC-siRNA-1-R			UUGUCAGUCCUCCUAGGUUUC

1.2.4 RhoA-siRNA沉默RhoA基因 分别向6孔板中加入处于对数生长期的SACC-LM和SACC-83细胞,密度为 2×10^5 个/孔,待细胞密度达铺板面积的1/3~1/2时进行转染。参考试剂盒操作说明书,同上述制备的步骤,使小分子RNA最终浓度为50 nmol/L。将制备好的转染复合物加入相应6孔板内(每个孔的终末体积均为2 mL),混匀以后继续于孵育箱中培养。转染48 h后进行后续实验的检测。

1.2.5 qRT-PCR检测RhoA mRNA表达 按照试剂盒说明书分别提取组织匀浆及各转染组细胞的总RNA并用紫外分光光度计检测所提RNA的浓度和纯度。

取适量RNA反转录为cDNA,每组取2 μ L cDNA进行实时定量PCR实验,每组设3个副孔。RhoA上游引物序列:5'-TTCCATCGACGCCCTGATAGTTTA-3',下游引物序列:5'-CACGTTGGGACAGAAATGCTTG-3';内参GAPDH上游引物序列:5'-GCACCGTCAAGGCTGAGAAC-3',下游引物序列:5'-TGGTGAAGACGCCAGTGA-3'。PCR反应体系的配置及反应参数等均按TB Green Premix Ex TaqTM II试剂盒说明书进行。反应结束后,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算腺样囊性癌和正常癌旁组织中RhoA

mRNA的表达,并依据实验组中RhoA mRNA的相对定量结果选取沉默效率最高组进行后续实验的研究,实验重复3次。

1.2.6 Western blot检测蛋白表达 使用RIPA裂解液裂解组织匀浆中组织细胞及各转染组细胞,分别提取总蛋白。应用BCA试剂盒进行蛋白浓度测定后制备分离胶和浓缩胶,蛋白上样量每孔约15~20 μ L,蛋白Marker 3 μ L。然后采用湿转法将蛋白转至聚偏二氟乙烯(polyvinylidene fluoride, PVDF)膜上,5%脱脂牛奶室温摇床封闭PVDF膜1 h后加入一抗(RhoA, 1:5 000; E-cadherin, 1:1 000; N-cadherin, 1:1 000; Vimentin, 1:1 000; GAPDH, 1:5 000),4℃孵育过夜。弃一抗,TBST稀释二抗(1:50 000),使PVDF膜浸泡其中,室温摇床孵育2 h。然后充分洗涤PVDF膜5次,5 min/次。后滴加工作液于PVDF膜上,反应数分钟待荧光带明显后,用滤纸吸去多余的底物液,覆上保鲜膜,X线胶片压片后依次放入显影液显影、定影液定影,冲洗胶片,Image J (Image J 1.51j8, National Institute of Mental Health, 美国)软件分析结果,实验重复3次。

1.2.7 细胞划痕实验 用血球计数板调整转染48 h后各组细胞的细胞密度,使细胞隔天达到6孔板面积的90%。将紫外线灭菌的直尺与孔板底部横线

垂直,用200 μL 移液枪枪头尖端在6孔板底部沿直尺垂直划线。PBS冲洗2~3次去除划下的细胞,加入无血清培养基,于0、24 h拍照测定并用Image J软件分析,结果取均值。实验重复3次。

1.2.8 细胞侵袭实验 将已铺好基质胶的Transwell小室置于24孔板,上室与下室分别加入500 μL 无血清培养基,37 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱水化2 h。向转染后的细胞悬液内加入无血清培养基,使细胞密度为 2×10^5 个/mL,Transwell上室加入200 μL 含细胞的无血清培养基,上室下方加入650 μL 培养基(含10%胎牛血清),培养48 h后去除上室残留的细胞,置于甲醛溶液中浸泡15~20 min,后在500 μL 含0.1%的甲紫溶液中浸泡15 min并用蒸馏水清洗,置显微镜下观察拍照,随机选取5个不同视野计数

穿膜细胞数,取均值,每组重复3次。

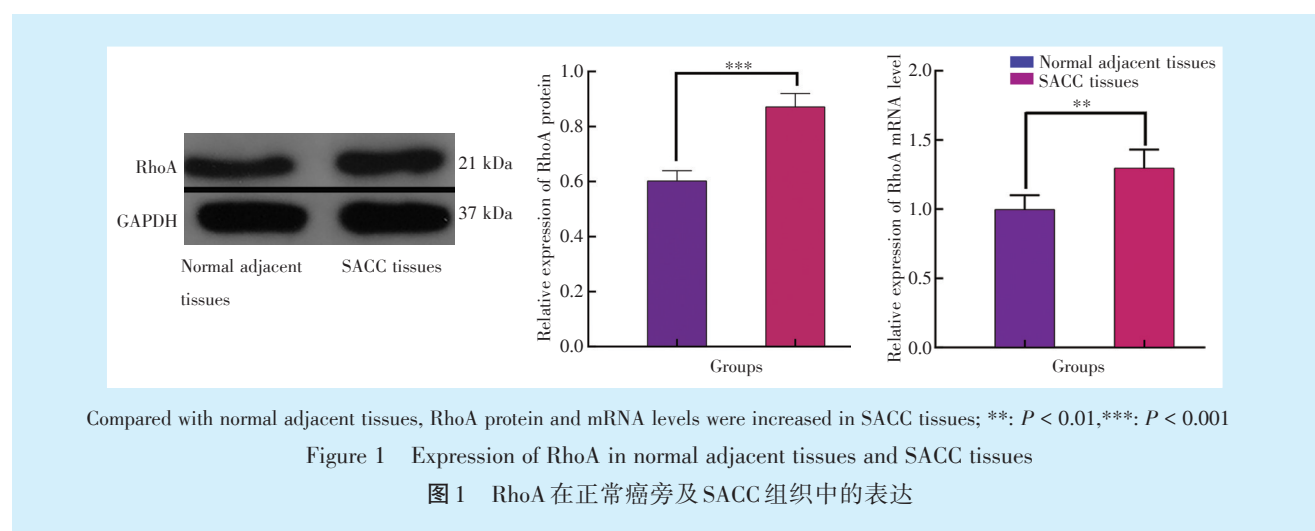
1.3 统计学分析

采用SPSS 25.0对实验结果进行统计分析。计量资料的组间比较用 t 检验,多组间比较用单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 RhoA在正常癌旁及SACC组织中的表达

Western blot结果显示,与正常癌旁组织相比,RhoA蛋白表达量在SACC组织中的表达增高,差异具有统计学意义($t=61.92, P < 0.001$);qRT-PCR检测结果显示:与正常癌旁组织相比,RhoA的mRNA表达水平在SACC组织中的表达增高,差异具有统计学意义($t=16.72, P < 0.01$)(图1)。



2.2 siRNA转染效率

脂质体瞬时转染2 d后,倒置荧光显微镜下可发现超过90%以上的腺样囊性癌SACC-LM和SACC-83细胞都有红色荧光应答,表明细胞体外转染RhoA-siRNA成功(图2)。

2.3 转染RhoA-siRNA后RhoA的mRNA表达水平

qRT-PCR检测结果显示(图3),与SACC-LM细胞相比,SACC-83细胞中RhoA的mRNA表达水平低,差异具有统计学意义($t=27.06, P < 0.01$)。

转染RhoA-siRNA后,相较于空白对照组和siRNA-NC组,SACC-LM细胞、SACC-83细胞实验组RhoA-siRNA-2组、RhoA-siRNA-1组RhoA mRNA表达水平均显著下降,差异具有统计学意义($F_{LM} = 835.0, F_{83} = 3232.0, P < 0.01$)。各个实验组间RhoA mRNA表达比较,以RhoA-siRNA-1组的沉默效率最高,选择RhoA-siRNA-1组作为实验组干扰序列

siRNA进一步研究。

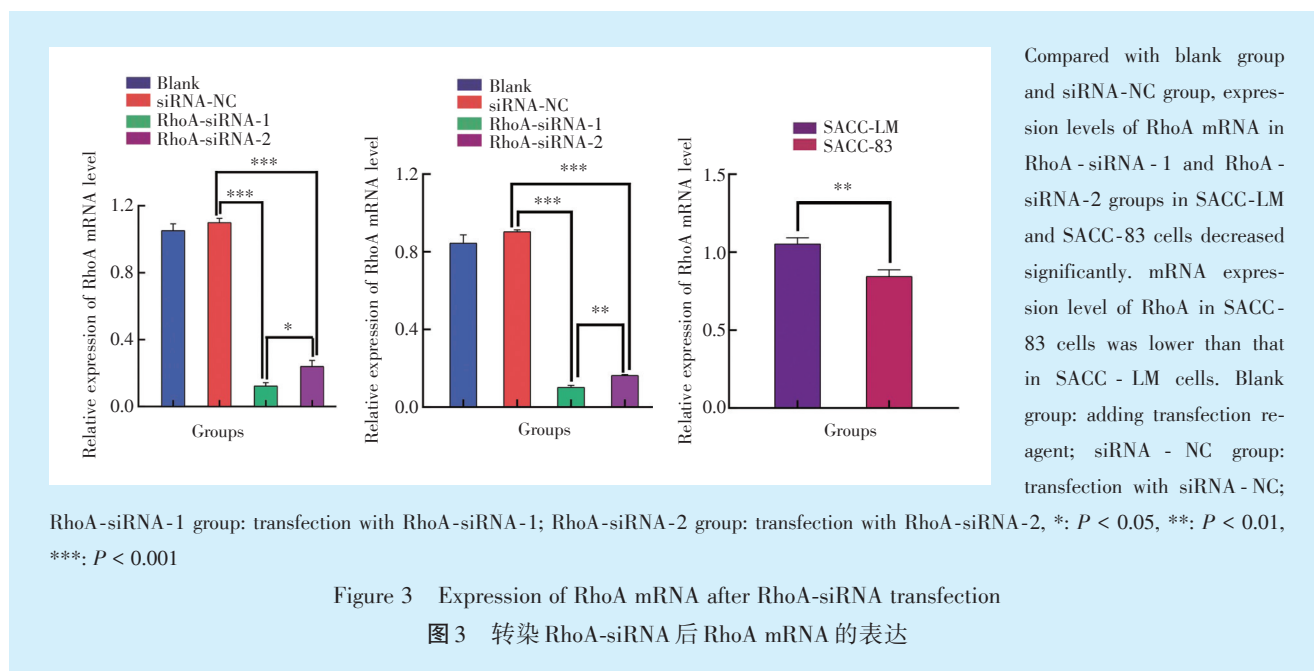
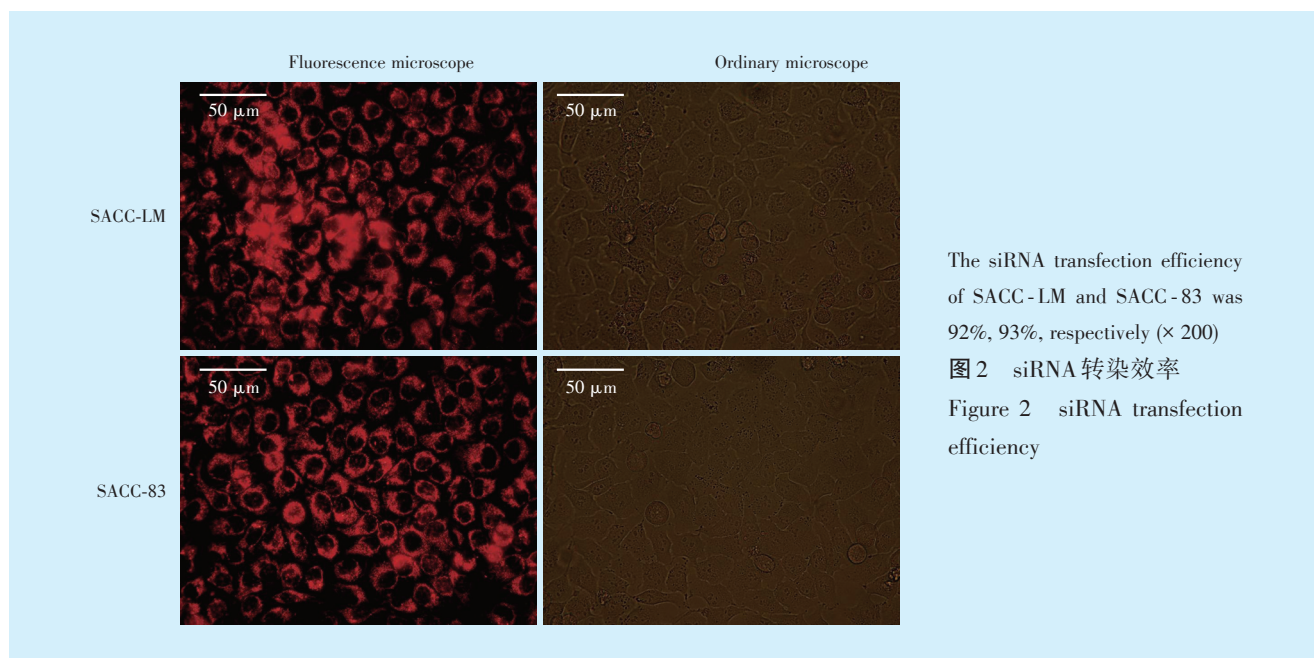
2.4 转染RhoA-siRNA后RhoA的蛋白表达水平

Western blot结果显示(图4),与SACC-LM细胞相比,SACC-83细胞中RhoA蛋白表达水平低,差异具有统计学意义($t=29.73, P < 0.01$)。

转染RhoA-siRNA后,相较于空白对照组、siRNA-NC组,SACC-LM细胞、SACC-83细胞实验组RhoA、N-cadherin、Vimentin表达量降低,E-cadherin表达量增加,差异具有统计学意义($F_{LM-RhoA} = 126.4, F_{LM-E-cadherin} = 266.4, F_{LM-N-cadherin} = 130.6, F_{LM-Vimentin} = 562.5, P < 0.01; F_{83-RhoA} = 240.1, F_{83-E-cadherin} = 266.9, F_{83-N-cadherin} = 484.3, F_{83-Vimentin} = 690.3, P < 0.01$)(图4)。

2.5 RhoA-siRNA对细胞迁移能力的影响

观察0 h和24 h的划痕愈合情况显示,SACC-LM细胞($F=611.8, P < 0.01$)、SACC-83细胞($F=138.8, P < 0.01$)实验组未愈合面积明显大于siRNA-



NC组、空白对照组,细胞的迁移能力显著降低,差异具有统计学意义(图5)。

2.6 RhoA-siRNA 对细胞侵袭能力的影响

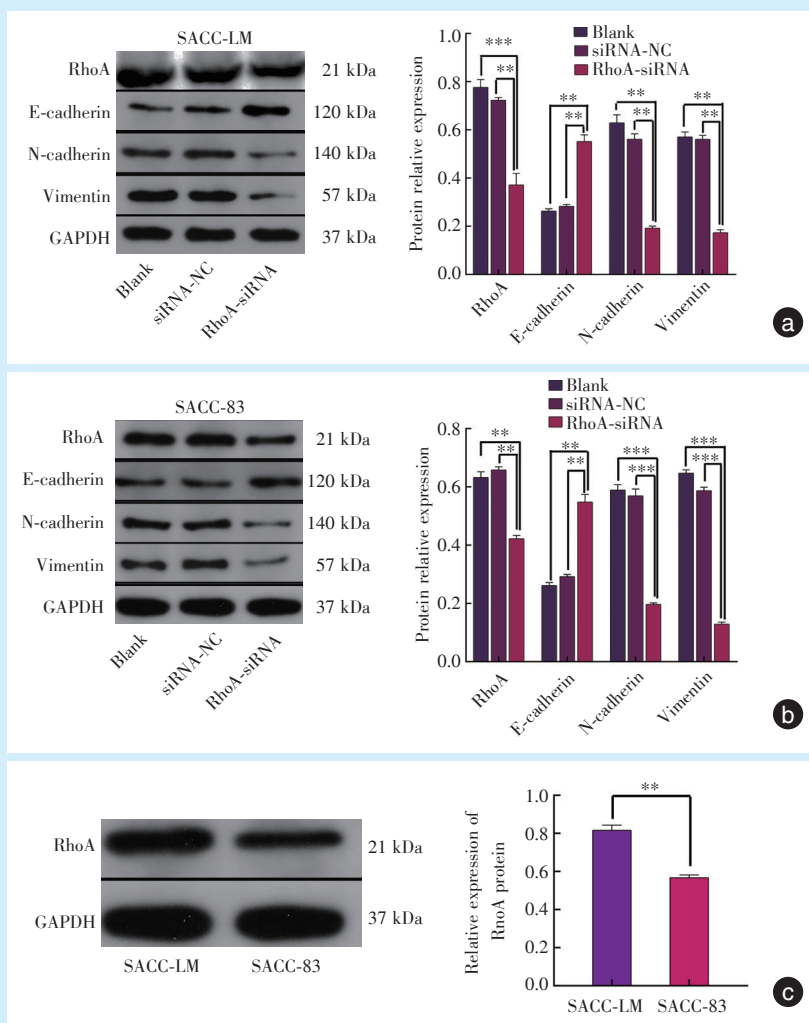
Transwell 实验显示,SACC-LM 细胞($F=294.9, P < 0.01$)、SACC-83 细胞($F=1\ 577.0, P < 0.01$)实验组细胞的侵袭能力较对照组降低,差异具有统计学意义($P < 0.01$)(图6)。

3 讨论

作为好发于唾液腺的恶性肿瘤,SACC 发病不易被发现且常伴有远处转移^[7]。研究表明,SACC

患者经过手术切除和放、化疗治疗后,整体复发率仍高达约 50%,发生远处转移率约为 31%,预后效果目前尚不理想^[8]。

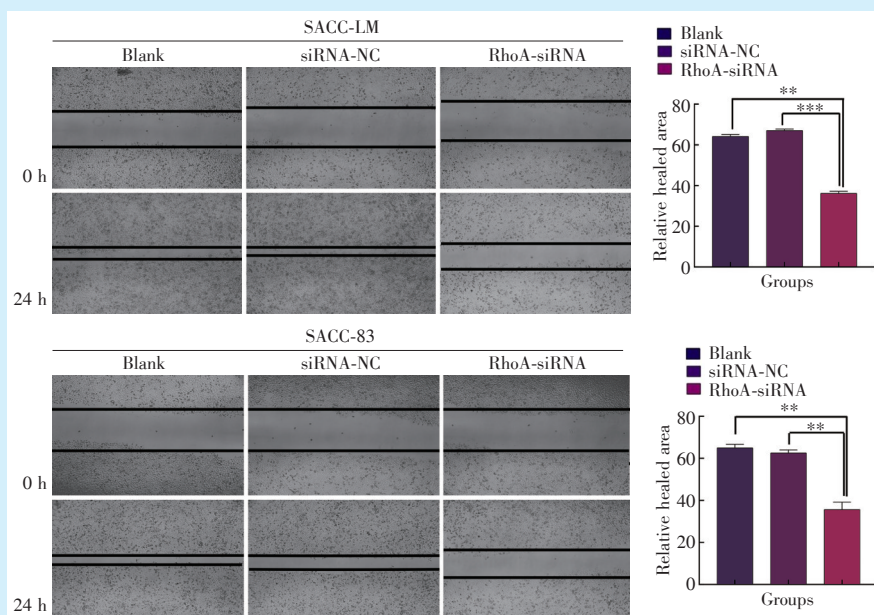
RhoA 是存在于细胞内的一种中间信号分子,其作为 Rho 亚家族的一种异构体是目前研究较多的与癌症相关的基因^[5,9]。Jansen 等^[4]认为,RhoA 在肺癌、胰腺癌、直肠癌等多种预后较差的肿瘤细胞中过度表达,并与其侵袭和迁移活动关联性强。而在本实验中,RhoA 在 SACC 组织中也表达增高,提示 RhoA 在 SACC 的发生发展中可能同样起重要作用。



a: expression of proteins after RhoA - siRNA transfection in SACC-LM cells; b: expression of proteins after RhoA - siRNA transfection in SACC-83; c: expression of RhoA protein in SACC-LM and SACC - 83. Blank group: adding transfection reagent; siRNA - NC group: transfection with siRNA - NC; RhoA - siRNA group: transfection with RhoA - siRNA - 1, *: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$, ***: $P < 0.001$

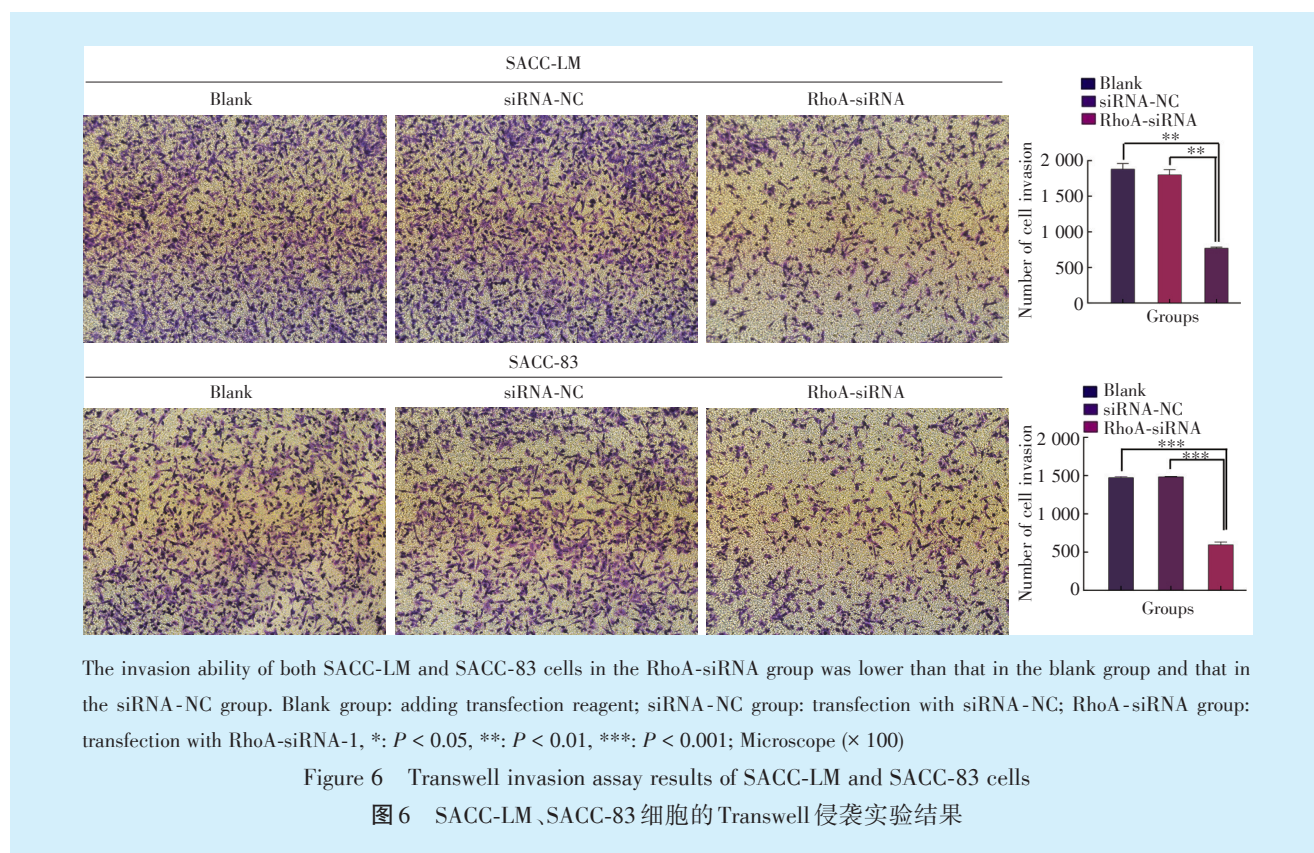
Figure 4 Expression of proteins after RhoA-siRNA transfection in SACC-LM and SACC-83 cells

图4 转染RhoA-siRNA后SACC-LM和SACC-83细胞的蛋白表达水平



Non - healing area of experimental group was significantly larger than that of siRNA - NC and blank groups, and migration ability of the cells was significantly reduced in SACC - LM and SACC-83 cells. Blank group: adding transfection reagent; siRNA - NC group: transfection with siRNA - NC; RhoA-siRNA group: transfection with RhoA-siRNA - 1; *: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$, ***: $P < 0.001$. Microscope ($\times 40$)

Figure 5 Results of scratch test of SACC-LM and SACC-83 cells
图5 SACC-LM、SACC-83细胞的划痕实验结果



本实验将 RhoA-siRNA 转染至 SACC-LM 和 SACC-83 细胞中对 RhoA 基因进行沉默,降低了 RhoA 蛋白的表达。Transwell 侵袭实验和细胞划痕实验检测结果显示 SACC 细胞的迁移和侵袭能力降低,表明沉默 RhoA 基因可通过影响 RhoA 蛋白的表达来调控 SACC 细胞的迁移和侵袭能力,表明 RhoA 基因与其迁移和侵袭活动成正相关。

肿瘤的迁移和侵袭是一个极为复杂的过程,受肿瘤细胞迁移能力、上皮-间充质转换(epithelial-mesenchymal transition, EMT)水平等多种因素的影响^[10]。EMT 是细胞从上皮表型退化并逐渐向间充质表型过渡转化的过程^[11],被认为是肿瘤发生迁移和侵袭的早期标志事件,使肿瘤细胞的恶性程度显著增加^[12]。当肿瘤细胞通过 EMT 获得迁移侵袭能力时,其上皮表型标志 E-cadherin 蛋白表达降低,间充质表型标志 N-cadherin 和 vimentin 蛋白表达升高,细胞彼此间的紧密连接程度降低,迁移和侵袭能力增强^[13]。E-cadherin 存在于被覆上皮和腺上皮中,其在正常细胞的胞浆中生成后,逐渐从细胞膜定位于粘附带上并稳定表达,使细胞之间紧密粘附^[14]。E-cadherin 可通过调控钙依赖性跨膜糖蛋白对粘附功能、细胞极性及细胞间连接诱导和维持起重要的作用^[15-16]。研究表明, E-cad-

herin 在肿瘤细胞内低于正常水平时,可使细胞不受限制而增殖过度,且使细胞连接不紧密而极易发生远处扩散和转移^[17]。Vimentin 是一个有着中央 α 螺旋结构域的蛋白,可通过调控细胞与细胞之间的黏附及迁移来发挥其生物学功能^[18]。研究表明, Vimentin 在胆管癌、乳腺癌等多种上皮源性肿瘤中均过度表达,与肿瘤的迁移和侵袭活动呈正相关^[19-20]。N-cadherin 集中定位于皮肤、肠道、肺、血管和肌肉内部等间质组织中,当上游信号分子激活 EMT 信号通路后,可诱导肿瘤上皮表型细胞的转化,促进肿瘤细胞的侵袭和迁移活动^[21-23]。本研究结果表明,体外沉默 RhoA 基因后, EMT 信号通路标志蛋白 N-cadherin、Vimentin 表达降低, E-cadherin 表达增高,提示沉默 RhoA 可有效抑制腺样囊性癌 SACC-LM 和 SACC-83 细胞的 EMT 过程。

综上所述, RhoA 基因与腺样囊性癌 SACC 细胞迁移、侵袭活动关系密切,应用小分子干扰 RNA 可有效影响 SACC 细胞中 RhoA 及 EMT 信号通路标志蛋白的表达,表明 RhoA 可激活 EMT 来介导其迁移和侵袭活动。由此推测 RhoA-siRNA 在一定程度上可以靶向降低 SACC-LM 和 SACC-83 细胞的迁移和侵袭能力。本研究为治疗 SACC 提供参考策略,也为靶向治疗 SACC 提供新的分子位点,下一步将深

入探究 RhoA 基因影响 SACC 细胞迁移和侵袭活动的具体机制,并结合体内实验加以验证,为 SACC 的靶向治疗提供依据。

【Author contributions】 Chi ZP processed the research and wrote the article, Li WJ, Wang Y, Xu XM analyzed the data. Chen ZG, Zhou JH designed the study, reviewed the article. All authors read and approved the final manuscript as submitted.

参考文献

- [1] Liu X, Yang X, Zhan C, et al. Perineural invasion in adenoid cystic carcinoma of the salivary glands: where we are and where we need to go[J]. *Front Oncol*, 2020, 10: 1493. doi: 10.3389/fonc.2020.01493.
- [2] 王张嵩, 谢舒乐, 张汉卿, 等. 2 456 例唾液腺肿瘤临床病理分析[J]. *口腔疾病防治*, 2020, 28 (5): 298-302. doi: 10.12016/j.issn.2096-1456.2020.05.005.
Wang ZS, Xie SL, Zhang HQ, et al. Clinical and pathological analysis of 2 456 cases of salivary gland tumor[J]. *J Prev Treat Stomatol Dis*, 2020, 28(5): 298 - 302. doi: 10.12016/j.issn.2096 - 1456.2020.05.005.
- [3] Lloyd S, Yu JB, Wilson LD, et al. Determinants and patterns of survival in adenoid cystic carcinoma of the head and neck, including an analysis of adjuvant radiation therapy[J]. *Am J Clin Oncol*, 2011, 34(1): 76-81. doi: 10.1097/COC.0b013e3181d26d45.
- [4] Jansen S, Gosens R, Wieland T, et al. Paving the Rho in cancer metastasis: Rho GTPases and beyond[J]. *Pharmacol Ther*, 2018, 183: 1-21. doi: 10.1016/j.pharmthera.2017.09.002.
- [5] Kim JG, Islam R, Cho JY, et al. Regulation of RhoA GTPase and various transcription factors in the RhoA pathway[J]. *J Cell Physiol*, 2018, 233(9): 6381-6392. doi: 10.1002/jcp.26487.
- [6] Svensmark JH, Brakebusch C. Rho GTPases in cancer: friend or foe?[J]. *Oncogene*, 2019, 38(50): 7447-7456. doi: 10.1038/s41388-019-0963-7.
- [7] Zhao D, Li Q, Liu M, et al. Substrate stiffness regulated migration and invasion ability of adenoid cystic carcinoma cells *via* RhoA/ROCK pathway[J]. *Cell Prolif*, 2018, 51(3): e12442. doi: 10.1111/cpr.12442.
- [8] Zhao J, Wang J, Yu C, et al. Prognostic factors affecting the clinical outcome of carcinoma ex pleomorphic adenoma in the major salivary gland[J]. *World J Surg Oncol*, 2013, 11(1): 180. doi: 10.1186/1477-7819-11-180.
- [9] Humphries B, Wang Z, Yang C. Rho GTPases: Big players in breast cancer initiation, metastasis and therapeutic responses[J]. *Cells*, 2020, 9(10): 2167. doi: 10.3390/cells9102167.
- [10] Mittal V. Epithelial mesenchymal transition in tumor metastasis [J]. *Annu Rev Pathol*, 2018, 13: 395-412. doi: 10.1146/annurev-pathol-020117-043854.
- [11] Saitoh M. Involvement of partial EMT in cancer progression[J]. *J Biochem*, 2018, 164(4): 257-264. doi: 10.1093/jb.
- [12] 梁冰, 邓萌, 裴新红. TM4SF1 对乳腺癌 MDA-MB-231 细胞侵袭转移及 EMT 的影响[J]. *郑州大学学报(医学版)*, 2021, 56(4): 530-534. doi: 10.13705/j.issn.1671-6825.2020.11.131.
- [13] Liang B, Deng M, Pei XH. TM4SF1 participates in the invasion and metastasis in breast cancer cell MDA-MB-231 *via* regulating EMT[J]. *J Zhengzhou Univ (Med Sci)*, 2021, 56(4): 530-534. doi: 10.13705/j.issn.1671-6825.2020.11.131.
- [14] 李罡, 金莲锦, 张静, 等. 间充质干细胞对乳腺癌 MCF-7 细胞侵袭力的研究[J]. *中国肿瘤临床与康复*, 2020, 27(3): 266-270. doi: 10.13455/j.cnki.cjcor.2020.03.03.
Li G, Jin LL, Zhang J, et al. Effect of mesenchymal stem cells on the invasiveness of human breast cancer cell line MCF-7[J]. *Chin J Clin Oncol Rehabil*, 2020, 27(3): 266-270. doi: 10.13455/j.cnki.cjcor.2020.03.03.
- [15] Du B, Shim JS. Targeting epithelial - mesenchymal transition (EMT) to overcome drug resistance in cancer[J]. *Molecules*, 2016, 21(7): 965. doi: 10.3390/molecules21070965.
- [16] Aiello NM, Kang Y. Context-dependent EMT programs in cancer metastasis[J]. *J Exp Med*, 2019, 216(5): 1016-1026. doi: 10.1084/jem.20181827.
- [17] Coopman P, Djiane A. Adherens junction and E-cadherin complex regulation by epithelial polarity[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2016, 73 (18): 3535-53. doi: 10.1007/s00018-016-2260-8.
- [18] Wang L, Zhou Y, Joy QJ, et al. Gli is activated and promotes epithelial-mesenchymal transition in human esophageal adenocarcinoma[J]. *Oncotarget*, 2018, 9(1): 853 - 865. doi: 10.18632/oncotarget.22856.
- [19] Strouhalova K, Prechova M, Gandalovicova A, et al. Vimentin intermediate filaments as potential target for cancer treatment[J]. *Cancers (Basel)*, 2020, 12(1): 184. doi: 10.3390/cancers12010184.
- [20] Saentaweesuk W, Araki N, Vaeteewoottacharn K, et al. Activation of vimentin is critical to promote a metastatic potential of cholangiocarcinoma cells[J]. *Oncol Res*, 2018, 26(4): 605 - 616. doi: 10.3727/096504017X15009778205068.
- [21] Wang X, Ji S, Ma Y, et al. Vimentin plays an important role in the promotion of breast cancer cell migration and invasion by leucine aminopeptidase 3[J]. *Cytotechnology*, 2020, 72(5): 639 - 647. doi: 10.1007/s10616-020-00402-x.
- [22] Mrozik KM, Blaschuk OW, Cheong CM, et al. N-cadherin in cancer metastasis, its emerging role in haematological malignancies and potential as a therapeutic target in cancer[J]. *BMC Cancer*, 2018, 18(1): 939. doi: 10.1186/s12885-018-4845-0.
- [23] Cao ZQ, Wang Z, Leng P. Aberrant N-cadherin expression in cancer[J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 118: 109320. doi: 10.1016/j.biopha.2019.109320.
- [24] Adhikari M, Kaushik N, Ghimire B, et al. Cold atmospheric plasma and silymarin nanoemulsion synergistically inhibits human melanoma tumorigenesis *via* targeting HGF/c - MET downstream pathway[J]. *Cell Commun Signal*, 2019, 17(1): 52. doi: 10.1186/s12964-019-0360-4.

(编辑 张琳, 曾曙光)



官网