

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2021.20.002

网络首发 <https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20210630.1749.022.html>(2021-07-01)

RhoGDI1 通过抑制骨肉瘤细胞凋亡促进其顺铂耐药性的研究*

谢明忠¹,尹 静²,林碧蓉¹,李 茜¹,古钦文¹,戚力升¹,彭道琥¹,朱 凯¹,李 森^{1△}

(1.西南医科大学附属中医医院骨伤科,四川泸州 646699;2.重庆市北碚区中医院麻醉科 400700)

[摘要] **目的** 探讨抑制 Rho 蛋白鸟苷酸解离抑制因子-1(RhoGDI1)的表达对骨肉瘤顺铂耐药性的影响。**方法** 在骨肉瘤细胞中通过 siRNA 抑制 RhoGDI1 的表达(si-RhoGDI1-1、si-RhoGDI1-2 组),CCK-8 实验检测其对骨肉瘤细胞增殖和顺铂耐药性的影响,划痕实验和体外 Transwell 检测其对骨肉瘤细胞迁移及侵袭能力的影响,流式细胞术(FACS)和实时荧光定量 PCR(RT-qPCR)检测 RhoGDI1 对骨肉瘤细胞凋亡的影响。**结果** 与 si-Control 组(转染无意义序列)比较,si-RhoGDI1-1、si-RhoGDI1-2 组骨肉瘤细胞的增殖速度明显降低($P<0.01$),对顺铂的耐受性明显降低($P<0.01$),迁移到下室的细胞数显著减少;划痕实验和 FACS 结果显示,与 si-Control 组比较,si-RhoGDI1-1、si-RhoGDI1-2 组细胞的修复能力明显减弱($P<0.05$ 、 $P<0.01$),细胞凋亡率($P<0.01$)和凋亡诱导因子 Bax 的表达水平明显升高($P<0.01$)。**结论** RhoGDI1 通过抑制骨肉瘤细胞凋亡促进骨肉瘤细胞顺铂耐受性。

[关键词] 骨肉瘤;Rho 蛋白鸟苷酸解离抑制因子-1;顺铂耐药性;细胞凋亡;化疗敏感性

[中图法分类号] R730.3 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2021)20-3426-04

RhoGDI1 promotes cisplatin resistance of osteosarcoma cells
by inhibiting apoptosis*

XIE Mingzhong¹,YIN Jing²,LIN Birong¹,LI Qian¹,GU Qinwen¹,
QI Lisheng¹,PENG Daohu¹,ZHU Kai¹,LI Sen^{1△}

(1. Department of Orthopedics and Traumatology, Affiliated Traditional Chinese Hospital of Southwest Medical University, Luzhou, Sichuan 646699, China; 2. Department of Anesthesiology, Traditional Chinese Medicine Hospital of Beibei District, Chongqing 400700, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the effect of inhibiting the expression of RhoGDI1 on cisplatin resistance of osteosarcoma. **Methods** The expression of the RhoGDI1 was inhibited by siRNA in the osteosarcoma cells (si-RhoGDI1-1 group, si-RhoGDI1-2 group). The CCK-8 assay was used to determine the effect of RhoGDI1 on the osteosarcoma cell proliferation and the cisplatin resistance of the osteosarcoma cells. The scratch test and the Transwell in vitro were used to detect the effects on the migration and invasion of osteosarcoma cells. The flow cytometry (FACS) and RT-qPCR were used to detect the effect of RhoGDI1 on apoptosis of osteosarcoma cells. **Results** Compared with the si-Control group (transfected with unintentional sequence), the proliferation rate and cisplatin tolerance of osteosarcoma cells in the si-RhoGDI1-1 and si-RhoGDI1-2 groups decreased significantly ($P<0.01$), the number of cells migrated to the inferior chamber decreased significantly ($P<0.01$). The scratch test and FACS results at 12 h and 24 h showed that the cell repair ability of the si-RhoGDI1-1 and si-RhoGDI1-2 groups was significantly weaker than that of the si-Control group ($P<0.05$, $P<0.01$). The apoptosis rate and the expression of Bax of the si-RhoGDI1-1 and si-RhoGDI1-2 groups were significantly increased than that of the si-Control group ($P<0.01$). **Conclusion** The RhoGDI1 promotes cisplatin resistance of osteosarcoma cells by inhibiting apoptosis.

[Key words] osteosarcoma; RhoGDI1; cisplatin resistance; apoptosis; chemosensitivity

骨肉瘤(osteosarcoma)是儿童和青少年最常见的原发恶性骨肿瘤,多见于长骨干骺端,细胞异质性高,极易出现耐药、复发和转移,导致患者死亡^[1]。从某种程度上来说,近 30 年来骨肉瘤患者 5 年存活率未能进一步提高的主要原因是化疗耐药。近期 1 项多中心、大样本的临床研究显示经典的 MAP(metho-

* 基金项目:四川省卫生和计划生育委员会科研项目(18PJ466);西南医科大学-西南医科大学附属中医医院联合培育项目(18PJ466)。
作者简介:谢明忠(1982-),主治医师,硕士,主要从事脊柱脊髓疾病及骨肿瘤的防治研究。△ 通信作者,E-mail:lisen_swmctcm@163.com。

trexate 甲氨蝶呤, cisplatin 顺铂, doxorubicin 阿霉素)化疗方案仍是治疗骨肉瘤的金标准^[2]。此外,虽然顺铂作为 1 种 DNA 损伤药物,属于临床治疗骨肉瘤的经典化疗方案用药,但其剂量相关的肾毒性、耳毒性、性功能障碍等并发症,限制了其临床使用剂量^[3-4]。Rho 蛋白鸟苷酸解离抑制因子-1(RhoGDI1)是非常重要的调控 Rho 蛋白活性的信号分子,其发挥生理功能是通过与 Rho 蛋白结合形成复合物^[5]。既往研究发现 RhoGDI1 在多种恶性肿瘤中表达水平上调,如在高侵袭性的卵巢癌、肺癌、结直肠癌中,RhoGDI1 和 RhoGDI1-Rac1 复合物的水平均显著升高^[6]。同时,RhoGDI1 在肿瘤组织中的表达水平与肿瘤的组织学分级及患者的预后密切相关^[7]。靶向 RhoGDI1 的 siRNA 能诱导肿瘤细胞凋亡,同时能增加对化疗药物紫杉醇的敏感性^[8-9]。综上所述,随着对 RhoGDI1 研究的深入及相关信号通路的阐明,RhoGDI1 已成为一个新的抗肿瘤治疗靶点^[10-12],但目前尚无抑制 RhoGDI1 的表达可以抑制骨肉瘤顺铂耐药性的研究。

1 材料与方法

1.1 细胞、试剂及仪器

人骨肉瘤细胞系 143B^[13](武汉大学中国典型培养物保藏中心),顺铂(中国 Selleck 公司),青链霉素双抗、RPMI-1640 培养基、0.05% 胰蛋白酶(美国 Gibco 公司),胎牛血清(美国 Hyclone 公司),PCR 引物(深圳华大基因),LipofectamineRNAiMAX 和 TRIzol(美国 Invitrogen 公司),反转录试剂盒和实时荧光定量 PCR(RT-qPCR)试剂盒(大连宝生物工程有限公司),CCK-8 试剂盒(日本同仁公司),荧光素酶检测试剂盒(美国 Promega 公司),细胞凋亡检测试剂盒(美国 Roche 公司)、Transwell 小室(美国 Corning 公司)。

1.2 CCK-8 法筛选药物浓度

143B 细胞用胰酶消化后,重悬于新鲜的含 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养液中,按照 4 000~5 000/孔细胞接种于 96 孔板中,每孔 100 μ L。培养 24 h 后,每孔加入不同浓度的顺铂,每个浓度设置 3 个复孔,浓度梯度分别为 0、0.02、0.05、0.1、0.2、0.5、1.0、2.0、3.0、5.0 μ mol/L 和 10.0 μ mol/L。继续培养 48~72 h 后,每孔加入 10 μ L CCK-8 溶液(0.5 mg/mL)继续孵育 2~4 h,用酶标仪读取波长 450 nm 处的吸光度(A)值,半数抑制浓度(IC₅₀)通过软件进行非线性拟合求得。所有的实验数据均重复 3 次。细胞存活率=(实验组 A 值-空白对照 A 值)/空白对照 A 值;抑制率=1-存活率。

1.3 RNA 干扰实验

转染前 1 天将 143B 细胞按 5×10^4 /孔接种于 24 孔板中,转染当天,将 5 μ L LipofectamineRNAiMAX 转染试剂分别与 50 nmol/L siRNA-RhoGDI1-1(si-RhoGDI1-1 组)、siRNA-RhoGDI1-2(si-RhoGDI1-2 组)和 siRNA-control(si-Control 组)混合,并将只有

转染试剂的转染细胞作为空白对照组(Blank 组),室温静置 5 min 后,弃去 24 孔板中原培养液,加入上述混合液,于 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 条件下培养 6 h 后,换为正常培养液,此时记为 0 h,分别在第 48 和 72 h 后用 TRIzol 法提取总 RNA。转染前 1 d,143B 细胞以 1×10^4 /孔的密度接种于 96 孔培养板(红色区域),于 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 条件下培养,转染当天,按上述浓度转染 siRNA-RhoGDI1 和 siRNA-control,于 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 条件下培养 6 h 后,换为正常培养基,此时记为 0 h。分别在 24、48 和 72 h 后用 CCK-8 检测细胞增殖能力。

1.4 实时荧光定量 PCR(RT-qPCR)

弃去 24 孔培养板中的培养基,每孔加入 200 μ L TRIzol 充分裂解细胞后,转移到 1.5 mL 离心管中,加入 40 μ L 三氯甲烷,剧烈振荡混匀,室温静置 5 min 后 12 000 $\times$ g 离心 15 min。用粗口枪头吸取第 1 层上清液至新的离心管中,加入等体积异丙醇,并轻柔颠倒充分混匀,室温静置 10 min 后 12 000 $\times$ g 离心 10 min,并用 70%乙醇漂洗 2 次。室温晾干后加入 20~50 μ L 无 RNase 水溶解并测定 RNA 浓度。然后按照说明书进行一链 cDNA 合成和 RT-qPCR。BAX-正向:5'-CAC CAG CTCT GAG CAG ATC ATG AAG-3';BAX-反向:5'-GCG GCA ATC ATCC TCT GCA G-3'。引物为:RhoGDI1-正向 5'-GGA TGA GCA CTC GGT CAA CTA-3';RhoGDI1-反向 5'-GCC TCC TTG TAC TTT CGC AG-3'。RT-qPCR 反应条件:94 $^{\circ}$ C 30 s;94 $^{\circ}$ C 10 s,60 $^{\circ}$ C,72 $^{\circ}$ C 20 s,反应 40 个循环;添加熔解曲线。

1.5 Transwell 实验检测细胞侵袭能力

消化 143B 细胞并用无血清培养基重悬细胞后计算细胞密度,调整浓度为 1×10^5 /mL,在上室中加入 200 μ L 细胞悬液,下室加 600 μ L 含 10% FBS 的完全培养基,每组细胞都设置 3 个复孔,置于细胞培养箱中培养 48 h。取出小室并弃掉上室的细胞培养液,用 PBS 漂洗 2 次,用 4%多聚甲醛固定细胞 30 min,用干棉签吸走上室液体,用湿棉签轻轻拭去上室细胞,结晶紫染液染色 30 min,再次用 PBS 漂洗 2 次。计数基底膜下室的细胞数,倒置显微镜 200 倍光镜下选取 5 个视野计数穿过小室的骨肉瘤细胞数并计算每个视野细胞的平均细胞数,其细胞数量代表骨肉瘤细胞侵袭能力的大小。

1.6 划痕实验检测细胞迁移能力

各组 143B 细胞接种于 24 孔板中,每孔 5 000 个细胞,培养至 70%~80%密度后,用 10 μ L 枪头划出 1 条划痕,更换新鲜培养基除去漂浮细胞后,显微镜下拍照并作为 0 h 对照,并于 48 h 后再观察拍照划痕并计算划痕愈合情况。

1.7 流式细胞术(FACS)检测细胞凋亡率

各组 143B 细胞用胰酶消化后,重悬于新鲜的含 10% FBS 的 RPMI-1640 细胞培养液中,按照 3×10^5 /孔接种于 6 孔板中。培养 24 h 后,每孔加入不同

浓度的药物,浓度梯度分别为 0 $\mu\text{mol/L}$ 、0.625 $\mu\text{mol/L}$ 、1.250 $\mu\text{mol/L}$ 、2.500 $\mu\text{mol/L}$,培养 2 d,弃培养基,每孔加 1 mL 0.25% 的胰酶进行消化,镜下观察细胞收缩变圆后,加入完全培养基终止消化,1 200 $\times$ g 离心 3 min,弃上清液,PBS 缓冲液清洗 2 次。加入碘化丙啶(PI) 1 mL (5 mg/mL),室温避光 20 min。上机检测。

1.8 统计学处理

采用 GraphPad Prism8.0 软件进行统计处理,计量资料用 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 利用 siRNA 敲低 RhoGDI1

本研究设计了 RhoGDI1 的两条干扰序列,将其导入骨肉瘤细胞系 143B 细胞后,48 h 和 72 h 后分别收集 RNA,通过 RT-qPCR 检测发现 si-RhoGDI1-1 组、si-RhoGDI1-2 组 RhoGDI1 mRNA 相对表达水平较 si-Control 组明显降低($P<0.01$),见图 1。

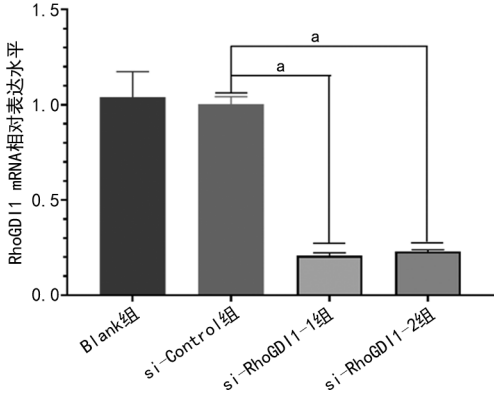
2.2 敲低 RhoGDI1 降低了 143B 细胞的增殖

CCK-8 检测发现 si-RhoGDI1-1 组、si-RhoGDI1-2 组骨肉瘤细胞的增殖能力较 si-Control 组明显降低($P<0.01$),见图 2。

2.3 敲低 RhoGDI1 降低了 143B 细胞侵袭和迁移能力

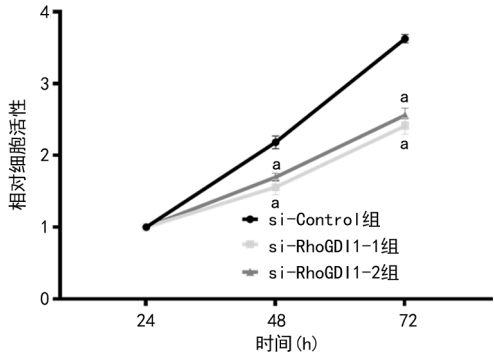
Transwell 实验显示,与 si-Control 组比较,si-RhoGDI1-1 组、si-RhoGDI1-2 组迁移到下室的 143B 细胞数显著减少,见图 3A。划痕实验显示,与 si-Control 组比较,si-RhoGDI1-1 组、si-RhoGDI1-2 组的

143B 细胞修复能力减弱($P<0.05$, $P<0.01$),见图 3B。



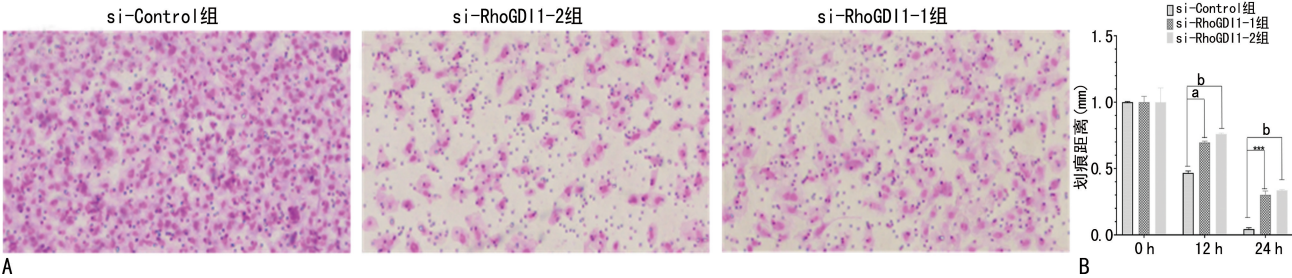
^a: $P<0.05$ 与 si-Control 组比较。

图 1 RT-qPCR 检测两个 siRNA 敲低 RhoGDI1 的转录水平



^a: $P<0.05$ 与 si-Control 组比较。

图 2 CCK-8 实验检测两个 siRNA 敲低 RhoGDI1 后 143B 细胞增殖情况



A: Transwell 实验; B: 划痕实验定量分析; ^a $P<0.05$; ^b $P<0.01$, 与 si-Control 组比较。

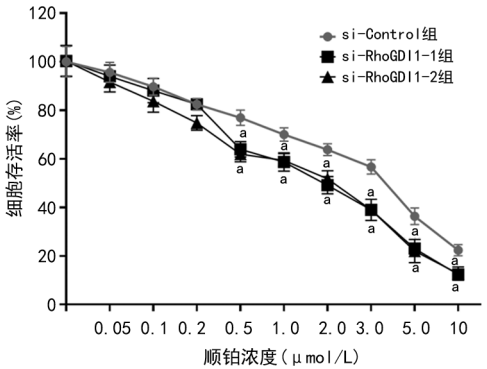
图 3 干扰 RhoGDI1 表达降低了骨肉瘤细胞的侵袭和迁移能力

2.4 干扰 RhoGDI1 表达可以降低骨肉瘤细胞对顺铂的耐药性

CCK-8 检测发现,与 si-Control 组比较,si-RhoGDI1-1 组、si-RhoGDI1-2 组 143B 细胞对顺铂的耐受性明显降低($P<0.05$),见图 4。

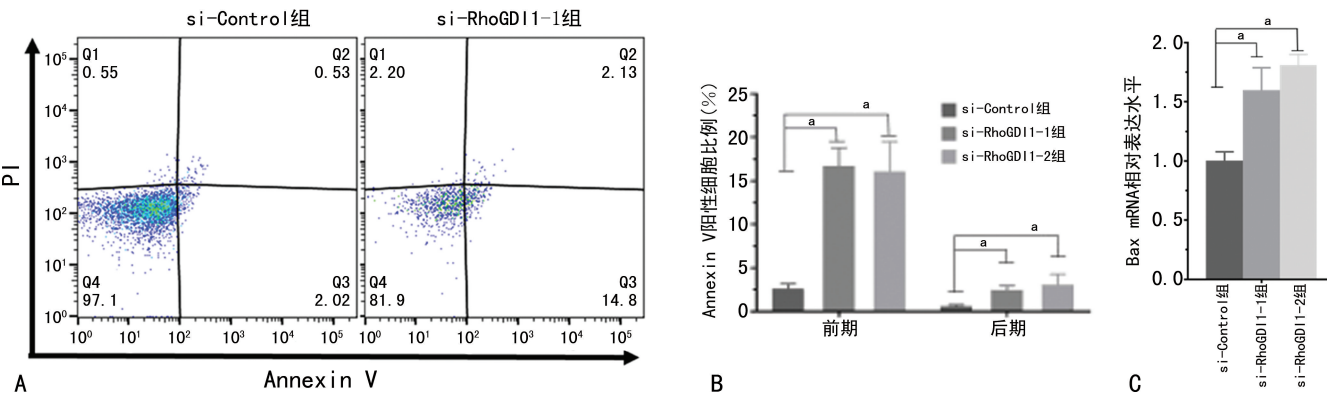
2.5 RhoGDI1 通过凋亡影响骨肉瘤细胞顺铂耐受性

FACS 检测发现 si-RhoGDI1-1 组的凋亡标记物 AnnexinV 阳性细胞(凋亡细胞)较 si-Control 组增加($P<0.01$),见图 5A、B;而 RT-qPCR 分析显示 si-RhoGDI1-1 组、si-RhoGDI1-2 组的凋亡诱导因子 Bax mRNA 的相对表达水平较 si-Control 组升高($P<0.01$),见图 5C。



^a: $P<0.05$ 与 si-Control 组比较。

图 4 敲低 RhoGDI1 降低了骨肉瘤细胞对顺铂的耐受性



A. FACS; B. AnnexinV 阳性细胞百分比; C. RT-qPCR 定量分析; ^a: $P < 0.01$.

图 5 RhoGDI1 对凋亡的影响

3 讨论

RhoGTPase 属于 Rho 家族小分子 G 蛋白, 该家族包括 Rho、Rac 和 Cdc42 亚家族, 在形态变化、细胞运动和细胞质分裂等细胞功能中发挥着重要作用^[14]。同许多 Rho 家族成员一样, RhoGTPase 可以在有活性的 GTP 结合形式和无活性的 GDP 结合形式间进行转换, 可通过调节下游酶联反应, 发挥分子调控开关的功能^[15]。有两种类型的调节因子调控了 RhoGTPase 的激活和失活: GDP/GTP 交换蛋白发挥激活作用, 而鸟苷酸解离抑制因子 (GDP dissociation inhibitor, GDI) 通过直接结合到 RhoGTPase 上抑制其活性, 在细胞质中 RhoGTPase 优先与 GDP 结合形成复合物 RhoGTPase, 抑制 RhoGTPase 转变为 GTP 结合形式, 从而使处于细胞质的 RhoGTPase 酶保持非活性状态; 细胞膜上 RhoGTPase 与 GTP 结合形式的 RhoGTP 酶相结合, 阻遏 GTP 酶的水解, 维持 RhoGTPase 酶的活性状态^[16]。本研究发现, 在骨肉瘤细胞系 143B 中干扰 RhoGDI1 表达, 143B 细胞的增殖和迁移速度显著下降, 其对顺铂的耐受性明显下降。与 si-Control 组细胞比较, 干扰 RhoGDI1 表达的 143B 细胞的凋亡比例明显增加, 促凋亡基因 Bax mRNA 表达也升高。Bax 是 Bcl-2 家族的促凋亡因子, 其在多种肿瘤组织中表达下调^[17]。本研究结果提示 RhoGDI1 具有抑制细胞凋亡的功能。

综上所述, RhoGDI1 与骨肉瘤细胞的侵袭、转移及快速增殖密切相关, 可能是一个有效的骨肉瘤预后标志物, 同时, 其表达降低可以提高骨肉瘤细胞对顺铂的敏感性。有关 RhoGDI1 在骨肉瘤生长、转移及耐药性中的作用机制将是笔者下一步的研究重点。本研究也为临床中通过调节 RhoGDI1 的表达水平提高骨肉瘤化疗敏感性提供了理论参考。

参考文献

[1] MIRABELLO L, ZHU B, KOSTER R, et al. Frequency of pathogenic germline variants in cancer-susceptibility genes in patients with osteosarcoma[J]. JAMA Oncol, 2020, 6(5): 724-

734.
[2] ISAKOFF M S, BIELACK S S, MELTZER P, et al. Osteosarcoma: Current treatment and a collaborative pathway to success[J]. J Clin Oncol, 2015, 33(27): 3029-3035.
[3] ZHENG H C. The molecular mechanisms of chemoresistance in cancers [J]. Oncotarget, 2017, 8(35): 59950-59964.
[4] SHEN D W, POULIOT L M, HALL M D, et al. Cisplatin resistance: a cellular self-defense mechanism resulting from multiple epigenetic and genetic changes[J]. Pharmacol Rev, 2012, 64(3): 706-721.
[5] JUNG H, YOON S R, LIM J, et al. Dysregulation of Rho GTPases in human cancers [J]. Cancers (Basel), 2020, 12(5): 1179.
[6] CHO H J, KIM J T, BAEK K E, et al. Regulation of Rho GTPases by RhoGDIs in human cancers[J]. Cells, 2019, 8(9): 1037.
[7] XIA B, WANG J. Adenosine inhibits ovarian cancer growth through regulating RhoGDI2 protein expression[J]. Drug Des Devel Ther, 2019, 13: 3837-3844.
[8] RONG F, LI W, CHEN K, et al. Knockdown of RhoGDIalpha induces apoptosis and increases lung cancer cell chemosensitivity to paclitaxel [J]. Neoplasma, 2012, 59(5): 541-550.
[9] PRIETO-DOMINGUEZ N, PARNELL C, TENG Y. Drugging the small GTPase pathways in cancer treatment: promises and challenges[J]. Cells, 2019, 8(3): 255.
[10] CLAYTON N S, RIDLEY A J. Targeting Rho GTPase signaling networks in cancer[J]. Front Cell Dev Biol, 2020, 8: 222.
[11] ZHU G F, XU Y W, LI J, et al. Mir20a/106a-WTX axis regulates RhoGDIa/CDC42 signaling and colon cancer progression[J]. Nat Commun, 2019, 10(1): 112.
(下转第 3435 页)

- [22] 许琳,王凤云,唐旭东,等. 风药在肠易激综合征治疗中的应用[J]. 中医杂志, 2016, 57(23): 1999-2003.
- [23] 刘国玲,沈永杰,尤丽菊,等. 雷公藤多苷降低糖尿病肾病大鼠炎症细胞因子的表达[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2014, 30(7): 721-724.
- [24] 金善善,许文成,王小琴. 从炎症细胞因子探讨从风论治肾小球疾病的物质基础[J]. 辽宁中医杂志, 2019, 46(8): 1591-1594.
- [25] GAO Q, YANG M, ZUO Z. Overview of the anti-inflammatory effects, pharmacokinetic properties and clinical efficacies of arctigenin and arctiin from *Arctium lappa* L [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2018, 39(5): 787-801.
- [26] LEE S, SHIN S, KIM H, et al. Anti-inflammatory function of arctiin by inhibiting COX-2 expression via NF- κ B pathways [J]. *J Inflamm (Lond)*, 2011, 8(1): 16.
- [27] 王海颖,陈以平. 牛蒡子提取物减轻糖尿病大鼠肾脏病变的机理研究[J]. 中医药学刊, 2004, 22(7): 1250-1252.
- [28] MA S T, LIU D L, DENG J J, et al. Effect of arctiin on glomerular filtration barrier damage in STZ-induced diabetic nephropathy rats [J]. *Phytother Res*, 2013, 27(10): 1474-1480.
- [29] WU J G, WU J Z, SUN L N, et al. Ameliorative effects of arctiin from *Arctium lappa* on experimental glomerulonephritis in rats [J]. *Phyto-medicine*, 2009, 16(11): 1033-1041.
- [30] 郭亚春,黄群,宋鸿儒,等. 穿山龙总皂苷对胶原诱导性关节炎大鼠血清及滑膜组织肿瘤坏死因子 α 影响的研究[J]. 中国全科医学, 2012, 15(36): 4196-4199.
- [31] 周琦,张宁,卢芳,等. 穿山龙总皂苷对痛风性关节炎大鼠关节炎滑膜 IL-1 β 及其信号转导通路的影响[J]. 中药药理与临床, 2013, 29(6): 52-57.
- [32] 周琦,张宁,卢芳,等. 穿山龙总皂苷对白介素-1诱导的成纤维样滑膜细胞基质细胞衍生因子-1及 I κ B 激酶表达的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 2015, 35(2): 234-238.
- [33] 巨君芳,魏克民. 蚕砂提取物联合环孢菌素 A 治疗再生障碍性贫血的实验研究[J]. 中国中医药科技, 2010, 17(6): 513-514.
- [34] MENG X M, NIKOLIC-PATERSON D J, LAN H Y. TGF- β : the master regulator of fibrosis [J]. *Nat Rev Nephrol*, 2016, 12(6): 325-338.
- [35] 郑铁骑,邢翔飞. 细胞因子与肾间质纤维化相关性的研究进展[J]. 山东医药, 2017, 57(6): 107-110.
- [36] MA T T, MENG X M. TGF- β /Smad and Renal Fibrosis [J]. *Adv Exp Med Bio*, 2019, 1165: 347-364.
- [37] WU X M, PAN C Q, CHEN R, et al. BML-111 attenuates high glucose-induced inflammation, oxidative stress and reduces extracellular matrix accumulation via targeting Nrf2 in rat glomerular mesangial cells [J]. *Int Immunopharmacol*, 2020, 79: 106108.
- [38] 张颖. 中西医结合治疗糖尿病肾病并发蛋白尿的疗效观察[J]. 辽宁中医杂志, 2018, 45(7): 1432-1435.

(收稿日期:2021-02-23 修回日期:2021-05-08)

(上接第 3429 页)

- [12] CHO H J, HWANG Y S, YOON J, et al. EphrinB1 promotes cancer cell migration and invasion through the interaction with RhoGDI1 [J]. *Oncogene*, 2018, 37(7): 861-872.
- [13] MORROW J J, BAYLES I, FUNNELL A P W, et al. Positively selected enhancer elements endow osteosarcoma cells with metastatic competence [J]. *Nat Med*, 2018, 24(2): 176-185.
- [14] AKTORIES K, SCHWAN C, JANK T. Clostridium difficile Toxin biology [J]. *Annu Rev Microbiol*, 2017, 71: 281-307.
- [15] SENOO H, KAMIMURA Y, KIMURA R, et al. Phosphorylated Rho-GDP directly activates mTORC2 kinase towards AKT through dimerization with Ras-GTP to regulate cell migration [J]. *Nat Cell Biol*, 2019, 21(7): 867-878.
- [16] GOLDING A E, VISCO I, BIELING P, et al. Extraction of active RhoGTPases by RhoGDI regulates spatiotemporal patterning of RhoGTPases [J]. *Elife*, 2019, 8: e50471.
- [17] ALAM M, KASHYAP T, MISHRA P, et al. Role and regulation of pro-apoptotic Bax in oral squamous cell carcinoma and drug resistance [J]. *Head Neck*, 2019, 41(1): 185-197.

(收稿日期:2021-03-12 修回日期:2021-06-16)