

生殖医学

DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.000379

ROCK 在卵巢癌组织中的表达及其对卵巢癌细胞增殖与凋亡的影响

钟立¹, 孙彤¹, 刘祖翠²

(1. 重庆医科大学附属第一医院妇产科, 重庆 400016; 2. 重庆市巴南区人民医院妇科, 重庆 401320)

【摘要】目的:探讨 Rho 相关卷曲螺旋形成蛋白激酶(Rho-associated coiled-coil forming protein kinase, ROCK)在人卵巢癌组织中的表达及其对人卵巢癌 SKOV3 细胞增殖和凋亡的影响。**方法:**免疫组化 SP 法检测 ROCK 在 80 例人卵巢上皮性肿瘤中的表达。用 ROCK 抑制剂 Fasudil 处理 SKOV3 细胞, 细胞计数试剂盒(cell counting kit-8, CCK-8)检测细胞增殖, 流式细胞仪(flow cytometry, FCM)分析细胞凋亡水平, 分光光度法检测半胱氨酸蛋白酶-3(cysteiny aspartate specific proteinase-3, caspase-3)活性, Western blot 检测凋亡相关蛋白 p53 表达, 比较不同浓度 Fasudil 对细胞增殖、细胞凋亡、caspase-3 活性以及凋亡相关蛋白表达的影响。**结果:**ROCK 在恶性卵巢上皮性肿瘤的阳性表达明显高于良性肿瘤($\chi^2=20.961, P=0.000$), 在晚期上皮性卵巢癌组织中其表达高于早期肿瘤($\chi^2=16.675, P=0.000$)。不同浓度 Fasudil 处理组 SKOV3 细胞 24 h 增殖抑制率和凋亡率均明显高于未加药组($F=402.537, P=0.000; F=124.251, P=0.000$), 并均随药物浓度增加而逐渐升高, 且 Fasudil 呈浓度依赖性地增强 caspase-3 活性($F=32.423, P=0.000$)和 p53 蛋白的表达($F=31.599, P=0.000$)。**结论:**ROCK 在卵巢癌组织中有较高表达, 可能在卵巢癌细胞增殖和凋亡抑制中扮演一定角色。

【关键词】卵巢癌; Rho 相关卷曲螺旋形成蛋白激酶; 增殖; 凋亡

【中图分类号】R711.75

【文献标志码】A

【收稿日期】2014-03-26

Expression of ROCK in epithelial ovarian tumors and its effects on proliferation and apoptosis in ovarian carcinoma cells

Zhong Li¹, Sun Tong¹, Liu Zucui²

(1. Department of Gynaecology and Obstetrics, The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University; 2. Department of Gynaecology, People's Hospital of Banan District)

【Abstract】Objective: To investigate the expression of Rho-associated coiled-coil forming protein kinase (ROCK) in epithelial ovarian tumors and its effects on proliferation and apoptosis in ovarian carcinoma cells. **Methods:** Expression of ROCK in 80 patients with epithelial ovarian tumors was assessed by immunohistochemical staining. After being treated with Fasudil, the inhibitor of ROCK, the proliferation and apoptosis of SKOV3 cells were tested by cell counting kit-8 (CCK-8) and flow cytometry (FCM) respectively, the activity of cysteinyl aspartate specific proteinase-3 (caspase-3), caspase-3 was detected by spectrophotometry, and the expression of p53 was detected by Western blot. **Results:** The expression of ROCK was higher in epithelial ovarian carcinoma tissues than in benign tumors ($\chi^2=20.961, P=0.000$), and higher in advanced carcinoma tissues than in early carcinoma tissues ($\chi^2=16.675, P=0.000$). Compared with the untreated SKOV3 cells, the inhibition ratios and apoptosis rates in Fasudil treated cells were increased in a dose dependent relationship ($F=402.537, P=0.000; F=124.251, P=0.000$). In addition, Fasudil significantly enhanced caspase-3 activity ($F=32.423, P=0.000$) and increased the expression of p53 ($F=31.599, P=0.000$) in concentration-dependent manner. **Conclusion:** The expression of ROCK is higher in ovarian carcinoma than in benign tumor. ROCK may play a certain role in the proliferation and apoptosis of ovarian carcinoma cells.

【Key words】 ovarian carcinoma; Rho-associated coiled-coil forming protein kinase; proliferation; apoptosis

作者介绍: 钟立, Email: zls63266388@sina.com,

研究方向: 妇科肿瘤。

通信作者: 孙彤, Email: suntg98@163.com。

基金项目: 国家临床重点专科资助项目(编号: 国卫办医函[2013]544号)。

优先出版: <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.13406/j.cnki.cyx.000379.html>

Rho 相关卷曲螺旋形成蛋白激酶(Rho-associated coiled-coil forming protein kinase, ROCK)属于丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶家族成员,为 Rho 三磷酸鸟苷(guanosine triphosphate, GTP)酶下游靶分子,可激活并调节细胞骨架蛋白的再生、促进细胞间黏附形成^[1],在细胞增殖、分化、凋亡中起着重要作用^[2-4]。卵巢癌是女性生殖系统常见的三大恶性肿瘤之一,死亡率居妇科恶性肿瘤之首。如何早期诊断和治疗卵巢癌一直是妇科肿瘤研究的热点。前期研究显示 ROCK 与卵巢癌细胞浸润密切相关^[5-6]。目前 ROCK 对人卵巢癌细胞增殖及凋亡的影响尚未见报道。本研究探讨 ROCK 在卵巢癌组织中的表达,并应用 ROCK 抑制剂 Fasudil 处理人卵巢癌 SKOV3 细胞,探讨其对卵巢癌 SKOV3 细胞增殖、凋亡、半胱氨酸蛋白酶-3(cysteine specific proteinase-3, caspase-3)活性以及凋亡相关蛋白表达的影响。

1 材料与方法

1.1 患者资料

收集 2011 年 3 月至 2012 年 3 月重庆医科大学附属第一医院妇科收治的 80 例卵巢上皮性肿瘤标本。其中恶性肿瘤 42 例,患者年龄 21~79 岁,平均 52 岁;病理类型:浆液性囊腺癌 25 例,黏液性囊腺癌 9 例,其他类型 8 例(子宫内膜样癌 6 例,透明细胞癌 2 例);临床分期:按国际妇产科联盟(Federation International of Gynecology and Obstetrics, FIGO)(1986 年)的分期标准,Ⅰ期 7 例,Ⅱ期 7 例,Ⅲ期 25 例,Ⅳ期 3 例;病理分化程度:高分化 9 例,中分化 14 例,低分化 19 例。良性肿瘤 38 例,患者年龄 18~75 岁,平均 43 岁;病理类型:浆液性囊腺瘤 16 例,黏液性囊腺瘤 22 例。所有患者的临床资料完整,术前均未接受过放、化疗治疗。

1.2 细胞、试剂和仪器

人卵巢癌细胞系 SKOV3 由重庆医科大学病理生理教研室惠赠。Fasudil 购于美国 Sigma 公司。兔抗人 ROCK、p53 多克隆抗体购自美国 Proteintech 公司,兔抗人 β -actin 多克隆抗体购自武汉博士德生物工程有限公司,辣根过氧化物酶标记山羊抗兔 IgG、SP 免疫组化试剂盒(SP-9000)、DAB 显影试剂盒购自北京中杉金桥生物技术有限公司。Annexin V-PE/7-AAD 细胞凋亡检测试剂盒、caspase-3 分光光度法检测试剂盒购自凯基公司。细胞计数试剂盒(cell counting kit-8, CCK8)购于同仁化学研究所。

1.3 方法

1.3.1 SP 免疫组化染色 常规石蜡切片,切片厚度 4 μ m,取连续切片直接贴于经多聚赖氨酸处理过的载玻片。参照试剂盒说明作免疫组化染色。SP 染色结果的判断参照文献^[7]的

方法进行。阳性范围:随机观察 5~10 个中倍视野(10×20 倍),每个视野计数 100 个肿瘤细胞,将每个视野中阳性细胞数的平均百分比作为该切片的阳性细胞百分率。判别标准:阳性百分率 $<5\%$ 为 0 分, $5\%\sim 25\%$ 为 1 分, $26\%\sim 50\%$ 为 2 分, $>50\%$ 为 3 分。染色强度:无着色为 0 分,黄色为 1 分,(深)棕黄色为 2 分,棕褐色为 3 分。上述 2 项结果相加,0 分为阴性(-),1~3 分为弱阳性(+),4~5 分为中等度阳性(++),6 分为强阳性(+++)。另以 PBS 代替一抗为阴性对照。

1.3.2 细胞培养 用含 10%小牛血清、100 U/ml 青霉素及 100 U/ml 青链霉素的 RPMI1640 培养液,于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 、70%湿度条件下培养,观察细胞生长状态。隔日换液,当细胞生长达 70%~80%融合度时,以 0.25%胰酶消化传代。

1.3.3 CCK8 检测各加药组细胞的生长增殖情况 取对数生长长期的 SKOV3 细胞,按 4×10^3 个细胞/孔的密度接种于 96 孔培养板,每组设 3 个复孔。24 h 后更换为含终浓度为 0、50、100 $\mu\text{mol/L}$ 和 200 $\mu\text{mol/L}$ Fasudil 的培养液,继续培养 24 h 后,加入 CCK8 10 μl /孔,培养 1 h 后,酶标仪 450 nm 处测定光密度(optical density, OD)值。计算公式:细胞增殖抑制率=(1-实验组 OD 值/阴性对照组 OD 值) $\times 100\%$ 。

1.3.4 流式细胞仪(flow cytometry, FCM)检测细胞凋亡率 将 SKOV3 细胞分别按 1×10^5 个/孔接种于 6 孔板中,每组设 3 个复孔,24 h 后更换为含终浓度为 0、50、100、200 $\mu\text{mol/L}$ 的 Fasudil 培养液,继续培养 24 h。按照 Annexin V-PE/7-AAD 细胞凋亡检测试剂盒说明书进行操作:收集细胞, PBS 洗涤 3 次,加入 500 μl 的 Binding Buffer 悬浮细胞,再加入 1 μl Annexin V-PE 混匀;室温、避光、反应 5~15 min,加入 5 μl 7-AAD 染液,混匀;室温、避光、反应 5~15 min;1 h 内流式细胞仪检测各组细胞凋亡水平。

1.3.5 分光光度法检测 caspase-3 活性 取对数生长长期的 SKOV3 细胞,按 4×10^3 个/孔细胞的密度接种于 96 孔培养板,每组设 3 个复孔。24 h 后更换为含终浓度为 0、50、100 和 200 $\mu\text{mol/L}$ Fasudil 的培养液,继续培养 24 h。消化离心收集细胞, PBS 洗涤 2 次,吸弃上清液,在沉淀的细胞中加入 150 μl 裂解液,置冰上裂解 30 min,4 $^{\circ}\text{C}$, 10 000 g 离心 1 min。按试剂盒说明进行 caspase-3 活性检测。酶标仪 400 nm 波长读取吸光值。

1.3.6 Western blot 检测 p53 蛋白的表达 取对数生长长期的 SKOV3 细胞分别种至相等溶剂培养瓶中,每瓶约 5×10^5 个细胞,培养 24 h 后更换为含终浓度为 0、50、100、200 $\mu\text{mol/L}$ Fasudil 的培养液,继续培养 24 h。提取各组细胞总蛋白,BCA 法测定各组蛋白浓度。行 10% SDS-PAGE 分离蛋白,用湿转法将蛋白转至聚偏二氟乙烯(polyvinylidene difluoride, PVDF)膜上,室温封闭 1 h。分别加入 p53、 β -actin 抗体两者工作液稀释比例均为 1:500,4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜;再加入辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔 IgG(工作液稀释比例为 1:1 000),反应 2 h,最后用电化学发光试剂盒显影。目的蛋白的相对表达量=目的蛋白条带灰度值/ β -actin 条带灰度值。实验重复 3 次。

1.4 统计学分析

所有数据均使用 SPSS 18.0 统计软件进行分析。计量资料采用均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间均数比较采用单因素方差分析; 等级资料采用 Kruskal-Wallis 检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 SP 免疫组化染色

ROCK 阳性着色位于卵巢上皮性肿瘤细胞胞浆(图 1)。42 例上皮性卵巢癌组织中 ROCK 阳性表达例数为 31 例, 而在 38 例良性肿瘤中只有 8 例表达, ROCK 在卵巢癌组织中的表达明显高于良性肿瘤($\chi^2=20.961, P=0.000$)(表 1)。上皮性卵巢癌组织中, ROCK 阳性表达在晚期癌组织中明显高于早期($\chi^2=16.675, P=0.000$), 在不同年龄、分化程度、病理类型之间无明显差异(表 2)。

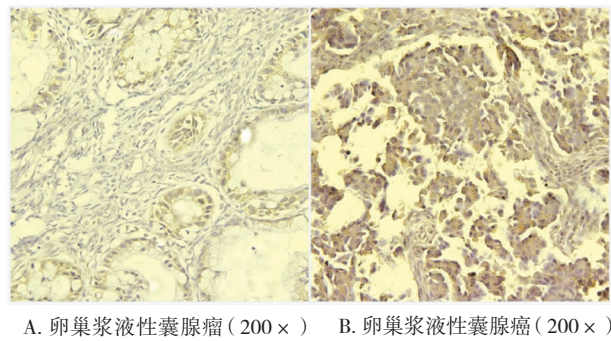


图 1 ROCK 在卵巢上皮性肿瘤的表达
Fig.1 Expression of ROCK in epithelial ovarian tumors

表 1 ROCK 在卵巢上皮性肿瘤中的表达
Tab.1 Expression of ROCK in epithelial ovarian tumors

组别	例数 (n)	ROCK表达				χ^2 值	P 值
		-	+	++	+++		
良性肿瘤	38	30	3	3	2	20.961	0.000
恶性肿瘤	42	11	7	15	9		

2.2 细胞生存率测定

相对于未加药组(0 $\mu\text{mol/L}$), 加入 50、100 $\mu\text{mol/L}$ 和 200 $\mu\text{mol/L}$ Fasudil 24 h 对细胞增殖的抑制率分别为(46.03 ± 2.48)%、(60.40 ± 2.43)%、(84.00 ± 5.03)%(表 3), Fasudil 显著增加卵巢癌细胞增殖抑制率, 该效应具有浓度依耐性($F=402.537, P=0.000$)(图 2)。

表 2 ROCK 表达与卵巢癌临床病理学特征的关系
Tab.2 Relationship between the expression of ROCK and the clinical and pathological features in epithelial ovarian carcinomas

病理特征	组别	例数 (n)	ROCK表达				χ^2 值	P 值
			-	+	++	+++		
年龄(岁)	<50	20	7	4	7	2	3.369	0.066
	≥50	22	4	3	8	7		
FIGO 分期	I ~ II	14	10	2	1	1	16.675	0.000
	III ~ IV	28	1	5	14	8		
分化程度	低分化	19	5	2	7	5	0.666	0.717
	中分化	14	3	4	6	1		
	高分化	9	3	1	2	3		
分类	浆液性	25	6	1	11	7	3.111	0.211
	黏液性	9	3	3	2	1		
	其他	8	2	3	2	1		

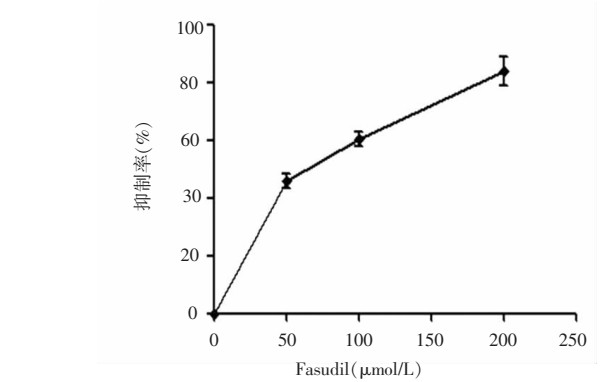


图 2 不同浓度 Fasudil 处理的 SKOV3 细胞增殖抑制率
Fig.2 Inhibition rates of SKOV3 cells in each group with different concentrations of Fasudil

2.3 细胞凋亡率检测

相对于未加药组(0 $\mu\text{mol/L}$), 加入 50、100 $\mu\text{mol/L}$ 和 200 $\mu\text{mol/L}$ Fasudil 24 h 细胞凋亡率分别为(20.83 ± 4.44)%、(54.39 ± 7.38)%、(72.07 ± 2.48)%, Fasudil 显著增加卵巢癌细胞凋亡率且具有浓度依耐性($F=124.251, P=0.000$)(图 3)。

2.4 caspase-3 活性检测

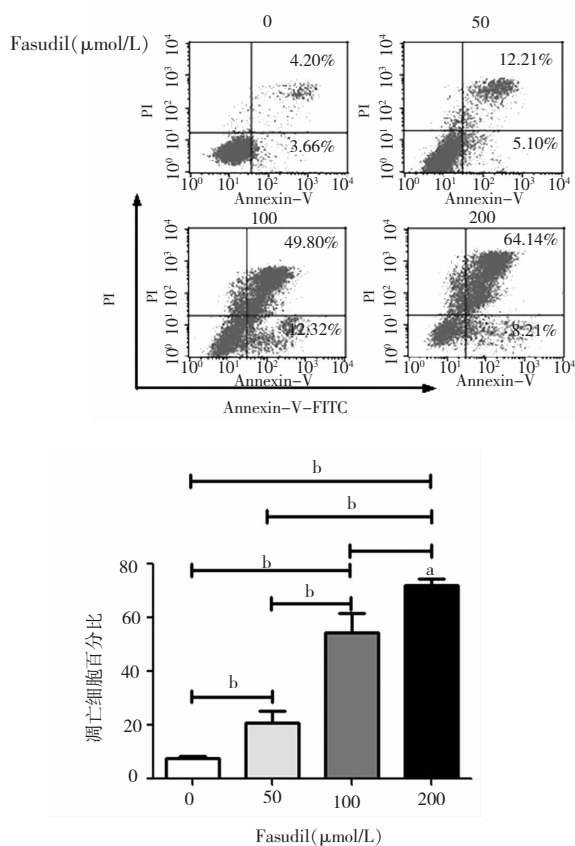
分光光度法检测结果显示, 相对于未加药组(0 $\mu\text{mol/L}$), 加入 50、100 $\mu\text{mol/L}$ 和 200 $\mu\text{mol/L}$ Fasudil 24 h 后, 卵巢癌细胞,

表 3 CCK-8 法检测不同浓度 Fasudil 处理的 SKOV3 细胞增殖抑制率
Tab.3 Inhibition rates of SKOV3 cells in each group with different concentrations of Fasudil

组别(Fasudil)	0 $\mu\text{mol/L}$	50 $\mu\text{mol/L}$	100 $\mu\text{mol/L}$	200 $\mu\text{mol/L}$	F 值	P 值
$A_{450\text{nm}}$ 值	0.862 ± 0.016	0.465 ± 0.029	0.341 ± 0.015	0.138 ± 0.046	402.537	0.000
抑制率(%)	0	46.03 ± 2.48 ^a	60.40 ± 2.43 ^a	84.00 ± 5.03 ^a		

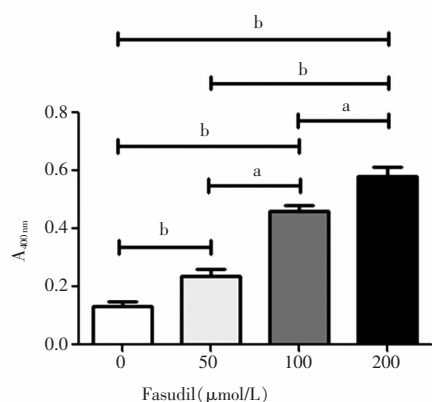
注: a, 组间两两比较 (LSD) $P < 0.01$, $A_{450\text{nm}}$ 值

caspase-3 活性明显增高且随 Fasudil 浓度的增加而增加,差异具有统计学意义 ($F=32.423, P=0.000$) (图 4)。



a. 组间两两比较 (LSD) $P < 0.05$, b. 组间两两比较 (LSD) $P < 0.01$

图 3 不同浓度 Fasudil 处理的 SKOV3 细胞凋亡率
Fig.3 Apoptosis rates of SKOV3 cells in each group with different concentrations of Fasudil



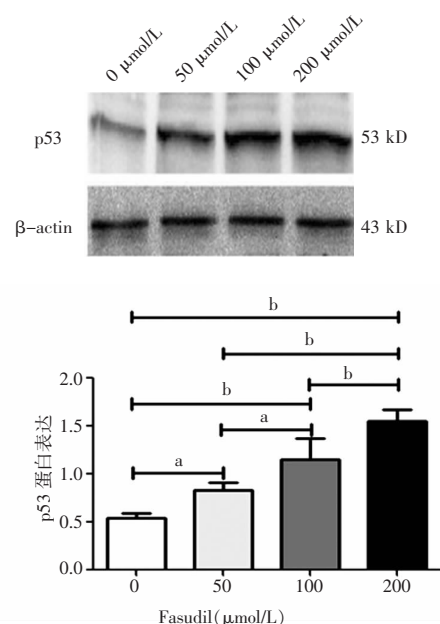
a. 组间两两比较 (LSD) $P < 0.05$, b. 组间两两比较 (LSD) $P < 0.01$

图 4 Fasudil 对 caspase-3 活性的影响

Fig.4 Effect of Fasudil on caspase-3 activity

2.5 Western blot 检测 p53 蛋白表达

Western blot 检测结果显示,相对于未加药组(0 μmol/L),加入 50、100 μmol/L 和 200 μmol/L Fasudil 24 h 后,卵巢癌细胞, p53 蛋白表达明显增高且随 Fasudil 浓度的增加而增加,差异具有统计学意义 ($F=31.599, P=0.000$) (图 5)。



a. 组间两两比较 (LSD) $P < 0.05$; b. 组间两两比较 (LSD) $P < 0.01$

图 5 p53 蛋白在不同浓度 Fasudil 处理组 SKOV3 细胞中的表达
Fig.5 Expression of p53 in SKOV3 cells treated with different concentrations of Fasudil

3 讨论

Rho 蛋白家族作为 GTP 酶,是细胞内分子开关,在许多基本的细胞功能中发挥重要作用,如收缩、迁移、增殖和凋亡等^[8-10]。ROCK 属于丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶家族成员,为 Rho GTP 酶下游靶分子。可调节细胞的多种行为功能,激活并调节细胞骨架蛋白的再生、促进细胞间黏附的形成^[1],在细胞增殖、分化、凋亡以及肿瘤形成中起着重要作用^[2-4]。研究显示,ROCK 在肝癌、乳腺癌等肿瘤中表达增加,并与肿瘤的转移及预后相关^[11-12]。本研究通过免疫组化检测 ROCK 在 80 例卵巢上皮性肿瘤中的表达,结果提示 ROCK 在卵巢癌组织中的表达明显高于良性肿瘤,并且在 FIGO 分期为Ⅲ、Ⅳ期的卵巢癌组织中其表达明显高于Ⅰ、Ⅱ期卵巢癌组织,这与于月成等^[13]的研究一致。据此提示,高表达 ROCK 可能参与卵巢癌的发生发展。

近年来运用 ROCK 特异性抑制剂处理肿瘤细胞来研究 ROCK 在肿瘤发生发展中的作用已有报道。研究显示,ROCK 抑制剂 Y-27632 能降低人肝癌细胞和人神经胶质瘤细胞的侵袭能力^[2,14],并能降低肝癌转移模型中肝癌的发生率^[2]。ROCK 抑制剂也能诱导肿瘤细胞凋亡的发生。研究表明,在人

肝癌及结肠癌细胞中加入 Y-27632 后可诱导肿瘤细胞凋亡的发生^[2, 15];在胶质瘤细胞 T98G 和 U251 加入 ROCK 抑制剂 Fasudil 后,肿瘤细胞侵袭能力下降,并能引起细胞的凋亡且呈浓度依赖性^[16]。前期研究显示 ROCK 抑制剂 Y-27632、Fasudil 可抑制溶血磷脂酸(lysophosphatidic acid, LPA)诱导的卵巢癌细胞侵袭^[5, 17]。目前 ROCK 对人卵巢癌细胞增殖及凋亡的影响尚未见报道。本实验在人卵巢癌 SKOV3 细胞中加入逐渐递增浓度的 ROCK 抑制剂 Fasudil 后, CCK-8 检测结果显示随着 Fasudil 浓度的增加,卵巢癌细胞的增殖能力逐渐降低;流式细胞仪检测结果显示,卵巢癌 SKOV3 细胞凋亡率随着 Fasudil 浓度的增加而升高。caspase-3 是细胞凋亡过程中最主要的执行者和终末剪切酶,活化的 caspase-3 能剪切聚腺苷二磷酸-核糖聚合酶,脱氧核糖核酸酶抑制剂等。这些由 caspase-3 介导的蛋白剪切是细胞凋亡分子机制的重要组成部分。本研究显示, Fasudil 呈浓度依赖性地增强 SKOV3 细胞 caspase-3 活性,提示 Fasudil 可能通过增强 caspase-3 活性从而诱导 SKOV3 细胞凋亡。p53 是目前抗癌基因研究中最令人瞩目者,在肿瘤凋亡过程中发挥重要作用,本研究 Western blot 检测结果显示卵巢癌 SKOV3 细胞中 p53 表达水平随 Fasudil 浓度的增加而逐渐增高,提示 Fasudil 可能通过促进 p53 的聚集从而促进肿瘤细胞凋亡。以上结果显示 ROCK 抑制剂可抑制卵巢癌 SKOV3 细胞增殖,增加细胞凋亡,增强 caspase-3 活性以及凋亡相关蛋白 p53 的表达,提示 ROCK 在卵巢癌细胞增殖及凋亡抑制中扮演重要角色, ROCK 可能参与卵巢癌发生发展,但其具体的作用机制仍需进一步阐明。

综上所述, ROCK 可能通过促进细胞增殖同时抑制细胞凋亡参与卵巢癌的发生发展,因此可能成为卵巢癌治疗的新靶点。ROCK 抑制剂 Fasudil 能显著抑制细胞增殖并促进细胞凋亡,在卵巢癌中可能具有较好的治疗价值。

参 考 文 献

- [1] Imamura F, Mukai M, Ayaki M, et al. Y-27632, an inhibitor of rho-associated protein kinase, suppresses tumor cell invasion via regulation of focal adhesion and focal adhesion kinase[J]. *Jpn J Cancer Res*, 2000, 91(8): 811-816.
- [2] Ogawa T, Tashiro H, Miyata Y, et al. Rho-associated kinase inhibitor reduces tumor recurrence after liver transplantation in a rat hepatoma model[J]. *Am J Transplant*, 2007, 7(2): 347-355.
- [3] Ying H, Biroc SL, Li WW, et al. The Rho kinase inhibitor fasudil inhibits tumor progression in human and rat tumor models[J]. *Mol Cancer Ther*, 2006, 5(9): 2158-2164.
- [4] Yang X, Di J, Zhang Y, et al. The Rho-kinase inhibitor inhibits proliferation and metastasis of small cell lung cancer[J]. *Biomed Pharmacother*, 2012, 66(3): 221-227.
- [5] Ogata S, Morishige K, Sawada K, et al. Fasudil inhibits lysophosphatidic acid-induced invasiveness of human ovarian cancer cells[J]. *Int J Gynecol Cancer*, 2009, 19(9): 1473-1480.
- [6] Horiuchi A, Kikuchi N, Osada R, et al. Overexpression of RhoA enhances peritoneal dissemination; RhoA suppression with Lovastatin may be useful for ovarian cancer[J]. *Cancer Sci*, 2008, 99(12): 2532-2539.
- [7] Brown RS, Wahl RL. Overexpression of glut-1 glucose transporter in human breast cancer. An immunohistochemical study[J]. *Cancer*, 1993, 72(10): 2979-2985.
- [8] Wettschureck N, Offermanns S. Rho/Rho-kinase mediated signaling in physiology and pathophysiology[J]. *J Mol Med*, 2002, 80(10): 629-638.
- [9] Tamura M, Nakao H, Yoshizaki H, et al. Development of specific Rho-kinase inhibitors and their clinical application[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2005, 1754(1-2): 245-252.
- [10] Otsu K, Sakano M, Masuda T, et al. The role of Rho-kinases in ameloblast differentiation[J]. *J Oral Biosciences*, 2013, 55(4): 159-164.
- [11] 程 朋, 李 焱, 谭 勇, 等. ROCK 蛋白在肝癌中的表达及临床意义[J]. *西南国防医药*, 2011, 21(2): 138-140.
- [12] 赵筱倩, 刘 晓. RhoA、ROCK 在乳腺癌组织中的表达及其意义[J]. *放射免疫学杂志*, 2012, 25(4): 439-442.
- [13] 于月成, 辛晓燕, 吴维光, 等. Rho 和 ROCK 蛋白在上皮性卵巢癌肿的表达以及临床意义[J]. *现代肿瘤医学*, 2006, 14(4): 461-464.
- [14] An L, Liu Y, Wu A, et al. microRNA-124 inhibits migration and invasion by down-regulating ROCK1 in glioma[J]. *PLoS One*, 2013, 8(7): e69478.
- [15] Nakashima M, Adachi S, Yasuda I, et al. Rho-kinase regulates negatively the epidermal growth factor-stimulated colon cancer cell proliferation[J]. *Int J Oncol*, 2010, 36(3): 585-592.
- [16] Deng L, Li G, Li R, et al. Rho-kinase inhibitor, fasudil, suppresses glioblastoma cell line progression in vitro and in vivo[J]. *Cancer Biology & Therapy*, 2010, 9(11): 875-884.
- [17] Jeong KJ, Park SY, Cho KH, et al. The Rho/ROCK pathway for lysophosphatidic acid-induced proteolytic enzyme expression and ovarian cancer cell invasion[J]. *Oncogene*, 2012, 31(39): 4279-4289.

(责任编辑: 关蕴良)