

RhoA介导的细胞骨架在肿瘤发生发展中的作用

王 雪¹ 王维莉¹ 任 雨² 庄海慧¹ 王 萍^{1*}

(¹宁波大学医学院, 浙江省病理生理学技术研究重点实验室, 宁波 315211; ²宁波市泌尿肾病医院, 宁波 315101)

摘要 RhoA是Ras超家族中具有GTP酶活性的一种小G蛋白分子。RhoA在肿瘤组织的高表达与肿瘤的恶性程度密切相关。另外, RhoA的酶活性通过信号通路参与和调节微丝(microfilament, MF)和微管(microtubule, MT)细胞骨架的重排。新近研究表明, 活性RhoA调控细胞骨架改变, 进而诱导细胞癌变及肿瘤细胞增殖、入侵、转移、屏障功能和凋亡等多种生命活动。因此, 研究RhoA介导的细胞骨架在肿瘤发生发展中的作用具有重要意义。该文结合作者的最新研究成果, 对RhoA及其分子机制作一综述。

关键词 RhoA; 细胞骨架; 肿瘤发生; 肿瘤发展

Effects of RhoA-regulated Cytoskeleton in the Tumorigenesis

Wang Xue¹, Wang Weili¹, Ren Yu², Zhuang Haihui¹, Wang Ping^{1*}

(¹Zhejiang Provincial Key Laboratory of Pathophysiology, Ningbo University School of Medicine, Ningbo 315211, China;

²Department of Urologic Surgery, Ningbo Urology and Nephrology Hospital, Ningbo 315000, China)

Abstract RhoA is a small G-protein of Ras homolog gene family, which has the GTPase activity. Higher protein expression is tightly related with malignancy. Furthermore, RhoA activity controls the signal pathway and regulates cytoskeletal rearrangements. Recent reports showed that RhoA activity-induced cytoskeleton played a pivotal role in regulating cell behaviors. Accordance with our research, this review summarizes recent progress in studying the mechanisms of RhoA-mediated cytoskeleton in tumorigenesis.

Key words RhoA; cytoskeleton; tumorigenesis; tumor development

微丝(microfilament, MF)和微管(microtubule, MT)是细胞骨架的主要成分, 它们在细胞内形成骨架网络, 维持细胞形态。深入研究发现, MF和MT还参与调控细胞内众多的生理功能^[1-7]。其中, MF参与应力纤维^[1,5]、黏着斑^[2,5]和伪足^[3]等结构的形成, 进而促进癌细胞的转移和入侵等; MT参与有丝分裂纺锤体的形成, 牵拉染色体向两极运动^[7-8]。最近有文献表明, MF和MT作为信号转导的中介物, 与其他信号分子共同调控肿瘤的增殖、迁移和凋亡等行为^[9]。因此,

研究细胞骨架MF和MT调控的信号通路进而理解肿瘤的发生发展分子机制, 是目前的研究热点之一。

RhoA是细胞内重要的信号转导分子, 属于Rho亚家族成员中分子量为20~30 kDa的小G蛋白, 与GTP结合时活化, 又称Rho GTP酶。研究发现, RhoA蛋白在乳腺癌、膀胱癌、卵巢癌和胃癌等组织中的表达水平显著高于正常组织^[10-13]; 并且, RhoA/ROCK蛋白表达在膀胱癌从I到III级的发生发展过程中显著性升高^[11]。由此可见, RhoA及其下游效应蛋白组

收稿日期: 2013-06-14 接受日期: 2013-11-04

国家自然科学基金(批准号: 81071653、81372209)和浙江省自然科学基金(批准号: LY13H160038)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0574-87609595, E-mail: pinoav@hotmail.com

Received: June 14, 2013 Accepted: November 4, 2013

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81071653, 81372209) and Zhejiang Provincial Natural Science Foundation (Grant No.LY13H160038)

*Corresponding author. Tel: +86-574-87609595, E-mail: pinoav@hotmail.com

网络出版时间: 2014-01-28 11:42

URL: <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.11844/cjcb.2014.02.0184.html>

成的信号通路影响肿瘤的发展与恶化。Kakinuma等^[14]研究表明,在肿瘤细胞中RhoA参与调控MF重组,进而诱导应力纤维的形成。深入研究发现,RhoA通过上调moesin蛋白表达和磷酸化水平,促进伪足、黏着斑和膜状突起等结构形成,最终导致宫颈癌细胞迁移显著性增加^[15]。新近研究表明,唑啉生物碱处理肝癌HepG2细胞后抑制细胞增殖,其机制与细胞内PKC δ (Ser 643)磷酸化水平降低后下调RhoA活性,引起MF解聚和细胞周期受阻有关^[17]。另外,在血管内皮屏障调控中,RhoA和Rho激酶活性的降低会减少凝血酶诱导的外周MT解聚,而MT重排又参与凝血酶诱导的血管内皮细胞通透性的改变^[16]。由此可见,RhoA蛋白活性影响MF和MT纤维的排列方式,进而调控细胞通透性和增殖等生物学行为。本文结合我们的最新研究结果,对其介导的细胞骨架调控网络在肿瘤发生发展中的作用及其分子机制作一综述。

1 RhoA介导的细胞骨架调控网络在肿瘤发生中的作用

人体正常细胞受到化学(苯、有机氯杀虫剂等)、物理(电离辐射、X射线、紫外线等)或病毒(DNA肿瘤病毒和RNA肿瘤病毒)等刺激后均可导致原癌基因的激活或正常基因癌变,最终诱发癌症发生^[18-21]。在癌变过程中,RhoA蛋白表达的改变至关重要。研究发现,将组成型激活突变体RhoA-G14V转染正常人乳腺上皮细胞后,RhoA活性显著性升高导致细胞出现永生化现象。随后将高表达RhoA的永生化细胞与人工基底膜混合后注入裸鼠乳腺内,无肿瘤形成;但是用微阵列方法筛查发现,RhoA诱导的永生化细胞高表达*ZNF-217*、*ELF3*和*S100P*等癌基因,此结果与乳腺癌细胞中的结果一致。因此,认为这些永生化细胞内RhoA活性显著性升高,导致正常的乳腺上皮细胞有向肿瘤细胞转化的趋势^[22]。暗示RhoA蛋白具有致癌的潜能。虽然RhoA蛋白的高表达没有直接导致癌症的发生,但引起癌基因的高表达增加了癌症发生的可能性。

当细胞受到不同致癌因子作用时,致癌因子往往通过激活RhoA蛋白介导的信号通路诱导肿瘤发生,其作用机制与细胞骨架改变密切相关。Fincham等^[24-25]发现,在*v-Src*基因激活后,正常细胞向肿瘤细胞转化。该过程中参与酪氨酸磷酸化作用的蛋白p190磷酸化后与p120^{Ras-GAP}相结合,引起下游效应蛋

白RhoGAP(GTP酶激活蛋白)的激活^[23],从而抑制了细胞内RhoA活性,结果导致鸡胚成纤维细胞内应力纤维被破坏,进一步造成MF纤维束部分丢失,细胞变小;而瞬时转染组成型激活突变体Val14-RhoA(该组成型激活Rho蛋白对RhoGAP不敏感)后,*v-Src*诱导的MF破坏和细胞的形变过程被逆转。由此可见,RhoA介导的MF重组和细胞形态改变在*v-Src*诱导的癌变过程中发挥关键作用。Cytolethal distending toxins(CDTs)能够破坏DNA双链结构,但同时激活抑制死亡的信号通路和肿瘤的发生^[26-28]。Guerra等^[29]在研究CDTs的致癌作用机理时发现,CDTs处理后激活了细胞内RhoA介导的抑制死亡的信号通路,蛋白质组学的方法证实RhoA蛋白与DNA修复相关的FEN1蛋白相互作用,后者修复DNA损伤^[30]。进一步研究表明,RhoA蛋白高表达后促进应力纤维形成和有丝分裂原活化蛋白激酶p38(MAPK p38)的磷酸化水平升高;然而,下调FEN1蛋白表达后逆转上述效应。上述结果表明,CDTs通过激活RhoA介导的细胞骨架调控网络促进细胞存活,使细胞摆脱死亡威胁。但是,DNA损伤修复后引起的基因不稳定性增加是CDTs损伤后致癌的关键。由此可见,RhoA介导的细胞骨架调控网络在肿瘤发生过程中发挥了重要作用(图1)。

2 RhoA介导的细胞骨架调控网络在肿瘤发展中的作用

2.1 RhoA介导的细胞骨架调控网络与肿瘤细胞增殖

为了研究RhoA对细胞增殖的影响,Morin等^[31]用GTP酶缺陷突变体V14RhoA和带有抗四环素标记基因的野生型RhoA质粒转染鼠胚胎纤维细胞(Swiss3T3)后,在高浓度四环素的完全培养基中以上两种细胞增殖被显著性抑制;随着四环素剂量降低,其对转染V14RhoA质粒的细胞增殖抑制作用逐渐加强,但对转染野生型RhoA细胞的生长抑制作用改变不明显。由此可见,RhoA活性负调控细胞增殖。进一步深入研究RhoA活性抑制细胞增殖的机制时发现,转染V14RhoA引起S期细胞数显著性降低,而G₁和G₂/M细胞数显著性增加;同时与胞质分裂相关的蛋白ECT2(与RhoA相关联的鸟嘌呤核苷酸交换因子)和周期蛋白cyclin B1显著性降低。这些结果表明,RhoA活性升高将细胞阻滞在G₁和G₂/M期,延缓细胞

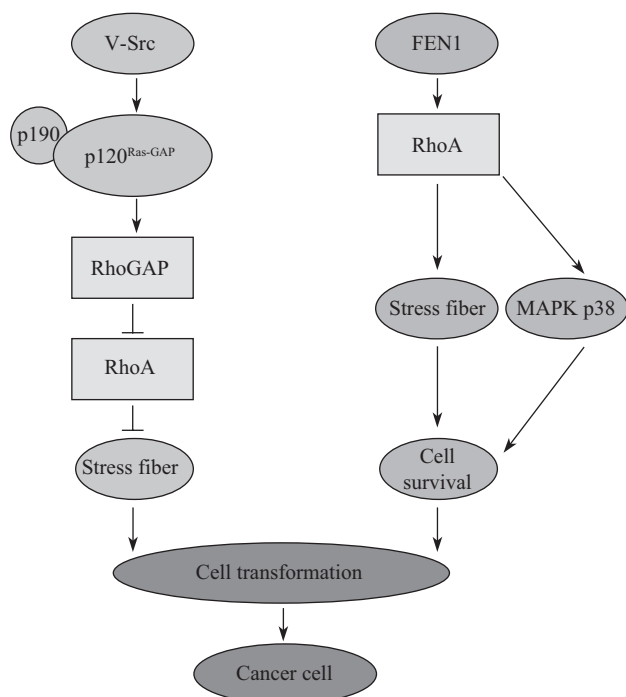


图1 RhoA介导的信号转导通路诱导肿瘤发生

Fig.1 RhoA-mediated different signal transduction pathways in the tumorigenesis

进入S期,从而抑制细胞增殖。

Wei等^[17]用Clauszoline-I处理肝癌细胞HepG2和正常肝细胞LO2后发现,肝癌细胞的增殖被显著性抑制;同时细胞内RhoA活性降低,并伴随MF解聚。深入研究发现, Clauszoline-I的细胞毒性效应与细胞周期阻滞和PKC δ 蛋白(细胞增殖相关的蛋白)的磷酸化水平有关^[32]。和正常肝细胞相比, Clauszoline-I诱导肝癌细胞S期和G₂/M细胞数显著性增加;细胞核内Chk1激酶蛋白表达(S和G₂/M期重要的检查点激酶)显著性减少; PKC δ (Ser 643)磷酸化水平降低。此外他们还发现, PKC δ 抑制剂(rotterlin)处理肝癌细胞后,细胞内PKC δ 的Ser 643磷酸化和RhoA活性显著性降低,提示PKC δ 磷酸化与RhoA活性正相关。因此他们推测, PKC δ 磷酸化水平升高引起的RhoA活性降低,参与细胞周期的受阻,从而产生抗细胞增殖效应。但是, RhoA活性调控不同肿瘤细胞增殖的机制差异及RhoA活性、MF解聚和细胞周期三者之间具体的调控机制尚需深入研究。

2.2 RhoA介导的细胞骨架调控网络与肿瘤细胞的入侵和转移

细胞迁移是肿瘤细胞入侵和转移的关键步骤。迁移之初,胞体形变形成有极性的板状伪足、丝状

伪足和黏着斑等富含F-actin的结构^[33-35];然后在细胞收缩力的作用下,细胞不断重复着向前方伸出突起,牵拉后方胞体不断循环前进。

细胞迁移的第一步就是形成板状伪足、丝状伪足和黏着斑等。He等^[15]在研究血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor C, VEGF-C)诱导宫颈癌细胞SiHa迁移机制时发现,活化的RhoA诱导moesin(微丝连接蛋白)蛋白表达和磷酸化水平显著性增加后,引起MF重排并向细胞膜下迁移形成特殊的膜结构(板状伪足、丝状伪足和黏着斑复合体);而且细胞水平迁移和向各个方向入侵细胞外基质的能力显著性加强。但是, RNA干扰moesin基因表达后, VEGF-C诱导的细胞迁移和入侵被显著性抑制。另外,下调细胞内RhoA和ROCK蛋白的酶活性会降低moesin蛋白的表达。因此,他们认为细胞内moesin的活化需要激活RhoA/ROCK-2信号通路; moesin/RhoA/ROCK-2通路诱导MF重组后形成板状伪足、丝状伪足和黏着斑等,这些结构成为细胞迁移的助推器,加速驱使细胞移动。此外, MT同样参与了伪足的形成。Zaoui等^[36]发现,乳腺癌SKBR3和T47D细胞迁移过程中,外源性生长因子heregulin- β 1处理引起ErbB2受体酪氨酸激酶活化后,促进MT参与伪足形成。而基因Memo(ErbB2的效应器)敲除后, MT向伪足伸入的趋势受到抑制;但高表达RhoA或其效应蛋白mDial1后,上述现象被逆转。此结果表明,在细胞迁移过程中Memo-RhoA-mDial1信号通路促进MT参与伪足的形成。由此可见, RhoA介导MF和MT形成特殊结构从而增强肿瘤细胞的运动能力。

细胞收缩能力是影响细胞运动的主要动力。在细胞迁移时,贴壁细胞后缘脱离胞体,同时引起细胞收缩,进而推动细胞向前方移动。Nie等^[37]在研究血栓素(thromboxane A₂, TxA)受体(TP)对前列腺癌细胞(PC-3细胞)运动的影响时发现, TP激动剂(U46619)处理引起细胞质中F-actin减少,细胞边缘F-actin聚集显著性增加,导致细胞变圆收缩,进而刺激PC-3细胞迁移;而TP拮抗剂(SQ29548)处理后阻止细胞的收缩行为导致细胞迁移被抑制。深入研究发现, TP介导的细胞收缩行为与RhoA蛋白有关。TP激活诱导GTP-RhoA蛋白表达增加;并且转染RhoA突变体高表达RhoA后促进U46619诱导的细胞收缩;而ROCK抑制剂(Y-27632)预处理或表达负显性RhoA后,抑制了U46619诱导的细胞收缩。因此,他

们认为细胞迁移过程中, TP激活RhoA/ROCK信号通路后诱导MF重排, 从而改变细胞收缩行为。由此可见, 外界因素激活细胞内RhoA活性后引起MF或MT形成特殊结构, 改变细胞收缩功能的同时改变细胞运动能力, 从而影响肿瘤细胞的转移和入侵。

2.3 RhoA介导的细胞骨架调控网络与肿瘤细胞的渗透性

细胞膜通透性是检测细胞屏障功能的重要指标。Birukova等^[38-39]在研究细胞骨架调控网络与内皮细胞屏障功能时发现, MT解聚药物引起了RhoA活性增加, 肌球蛋白轻链(myosin light chain, MLC)的磷酸化水平升高; MT解聚和跨膜电阻减少; 进而引起内皮细胞收缩和细胞膜通透性增强, 导致细胞屏障功能紊乱。然而, RhoA和ROCK抑制剂预处理拮抗了MT解聚和MLC磷酸化水平升高。这些结果表明, MT解聚在RhoA介导的内皮细胞屏障功能方面起重要作用。进一步研究发现细胞内cAMP浓度对细胞屏障具有保护作用。他们的结果表明, cAMP激活剂(forskolin)处理在显著性增加PKA活性的同时, 显著性抑制了MT解聚药物诱导的RhoA活性和MLC的磷酸化水平增加; 干扰应力纤维和细胞间缝隙的形成, 从而抑制了细胞膜通透性增大。因此, 内皮细胞屏障功能与细胞骨架调控网络密不可分。

血脑屏障(blood brain barrier)是机体参与固有免疫的内部屏障之一, 由介于血循环与脑实质间的软脑膜、脉络丛的脑毛细血管壁和包于壁外的胶质膜组成。毛细血管内皮细胞膜的通透性决定着血液中的溶质能否进入脑组织。神经胶质瘤是最常见的中枢神经系统恶性肿瘤, 术后化疗是目前最主要的治疗手段, 而血脑屏障和肿瘤组织的血肿屏障(blood-tumor barrier, BTB)大大阻碍抗癌药物进入脑组织, 降低了药物疗效。Ma等^[40-41]在研究增强抗癌药物进入脑组织的机理时发现, 血管舒缓激肽(bradykinin, BK)处理鼠脑微血管内皮细胞(BTB体外模型)后, 跨膜电阻增加, 辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)由细胞膜内向外的流量增加, 该结果说明细胞膜通透性增加; 而RhoA抑制剂(C3胞外酶)预处理后逆转了上述现象。另外, 经BK处理, 细胞内RhoA激活后紧密连接蛋白occludin的分布由膜下向中央迁移, 并伴随应力纤维形成。在深入研究发现ROCK抑制剂(Y-27632)处理或RNA干扰ROCK基因表达后, 与C3胞外酶抑制RhoA活性后导致的结

果一致。因此, 他们认为RhoA/ROCK信号通路诱导的应力纤维形成和紧密连接与BTB的渗透性密切相关。由此可见, 细胞膜通透性增加后破坏了细胞的内在平衡, 降低外来物质进入细胞难度, 对肿瘤细胞生存构成极大威胁。因此, 激活RhoA及其介导的信号通路有可能成为提高抗癌药物效率的一种新的手段。

2.4 RhoA介导的细胞骨架调控网络与肿瘤细胞的凋亡

细胞凋亡是由基因控制的细胞自主有序的死亡过程, 它涉及一系列基因的激活、表达以及调控等作用。目前, 诱导肿瘤细胞凋亡是抗癌药物的主要作用方式之一。Gajate等^[42]研究发现, 抗癌药物Aplidin能够诱导表达Fas基因的血癌细胞Jurkat凋亡。Fas及其配体(Fas ligand, FasL)、caspase-8和caspase-10蛋白酶原转运到细胞膜的脂筏中; 甲基 β 环糊精(methyl- β -cyclodextrin, MCD)破坏脂筏后发现, Fas聚集被破坏, 同时细胞凋亡被抑制。深入研究发现, Aplidin能够诱导与MF相关联的蛋白RhoA和其效应蛋白RhoGDI在细胞膜脂筏处显著性增加, 然后促进MF聚合, 从而诱导Fas在膜脂筏处聚集; 而MF破坏剂(cytochalasin B或jasplakinolide)处理后, Fas在脂筏中的聚集被抑制, 结果抑制了Aplidin诱导的细胞凋亡。因此他们认为, RhoA介导的MF重组在Fas诱导的细胞凋亡中不可或缺。而腺病毒早期区域4ORF4蛋白(early region 4 ORF4 protein, E4orf4)诱导乳腺癌细胞MCF7死亡机制与上述有所不同。Robert^[43]等发现在感染腺病毒的MCF7细胞中, E4orf4由细胞核向细胞质迁移, 与Src家族激酶相互作用的过程中需要Rho GTP酶信号通路的参与。Myosin II激活诱导的肌动蛋白在细胞核周围首先形成“篮网”结构; 然后随时间的延长逐渐改变形态, 最终形成包绕细胞核的“环状”结构, 同时细胞质中的应力纤维减少, 并且E4orf4处理引起细胞核收缩、染色体凝集等凋亡现象; 但是, myosin II抑制剂(blebbistatin)诱导肌动蛋白解聚, 破坏了肌动蛋白形成的上述结构, 同时伴随E4orf4由细胞质向细胞核迁移。因此他们认为, E4orf4移位至细胞质位点后在活性Rho GTP酶的调控下, 诱导细胞骨架重组、进而驱动核收缩、最终诱导乳腺癌细胞凋亡。由此可见, RhoA介导细胞骨架的调控在肿瘤细胞凋亡过程中不可或缺, 但其机理在不同肿瘤细胞中有所差

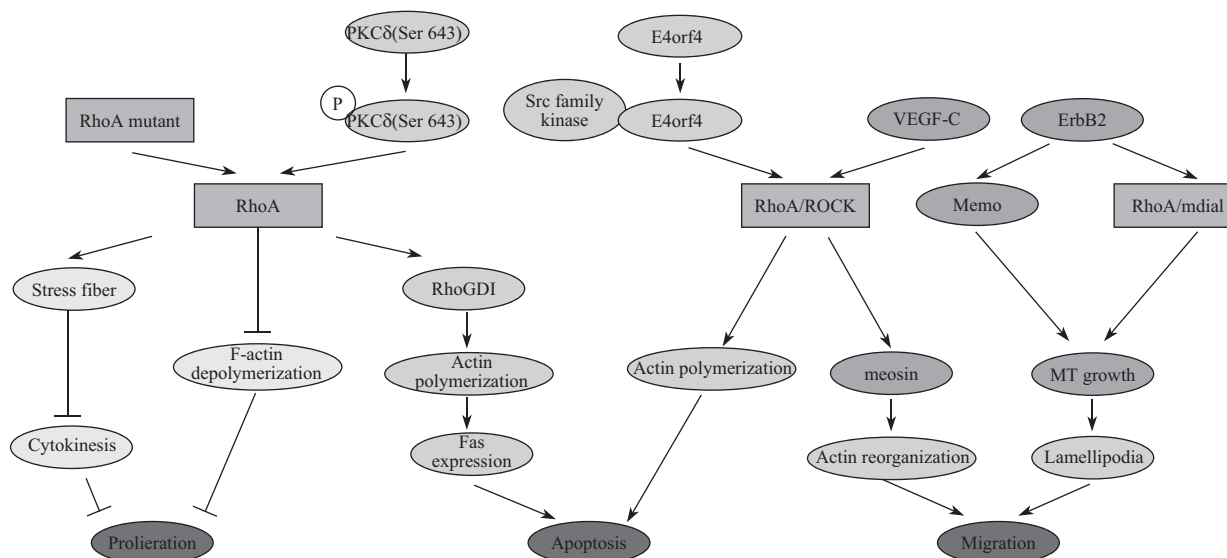


图2 RhoA介导的细胞骨架网络在肿瘤细胞增殖、迁移和凋亡中的作用

Fig.2 RhoA-mediated cytoskeletal network in proliferation, migration and apoptosis of cancer

异。我们实验室的前期研究表明,在宫颈腺癌细胞HeLa的凋亡过程中, MF解聚后聚积在靠近胞核的胞质和凋亡小体内; MT由原来的MT组织中心(MTOC)向细胞四周呈放射状排列发生重组,形成“环状微管结构”位于质膜下方,并包绕片段化的细胞核和质膜相连的凋亡小体,最终参与维持凋亡后期细胞的形态^[44-45]。

综上所述, RhoA蛋白表达异常导致MF重排或MT破坏,直接影响肿瘤细胞生理功能,而并非只是维持细胞在特定发展阶段的形态结构。RhoA介导细胞骨架调控是肿瘤细胞进行生命活动的必要环节。但是,上述研究成果在RhoA介导细胞骨架信号通路精细调控与针对不同肿瘤的个体化治疗方面机制研究仍需深入。

3 展望

越来越多的研究表明, RhoA介导的细胞骨架调控网络在肿瘤发生发展过程中起到关键的作用。外界因素刺激诱导正常细胞向肿瘤细胞转变之初,细胞内RhoA活性增加,诱导细胞骨架纤维排列发生改变,进而影响细胞形态。但是,由于RhoA在不同肿瘤细胞中的作用机制存在差异,同时RhoA调控的信号通路和其他信号通路间的串扰研究较少。因此,我们认为RhoA活性的改变成为预测癌症发生及其分级的标准之一还有待深入研究。

肿瘤细胞向远处转移、扩散是治疗中后期癌症

的最大难题。RhoA作为调控细胞骨架纤维排列的分子开关,调控肿瘤细胞增殖、迁移、屏障功能及凋亡活动,在肿瘤细胞的整个生命活动中发挥至关重要的作用(图2)。因此,研究RhoA介导的细胞骨架调控网络有助于我们从多个角度了解肿瘤发生发展的分子机制,也为我们开发以RhoA和细胞骨架为靶点的新型抗癌药物提供了理论依据。

参考文献 (References)

- Hoffman LM, Jensen CC, Chaturvedi A, Yoshigi M, Beckerle MC. Stretch-induced actin remodeling requires targeting of zyxin to stress fibers and recruitment of actin regulators. *Mol Biol Cell* 2012; 23(10): 1846-59.
- Ciobanasu C, Faivre B, Le Clainche C. Actin dynamics associated with focal adhesions. *Int J Cell Biol* 2012; 2012: 941292.
- Yang C, Svitkina T. Visualizing branched actin filaments in lamellipodia by electron tomography. *Nat Cell Biol* 2013; 13(9): 1012-4.
- Singh VP, McNiven MA. Src-mediated cortactin phosphorylation regulates actin localization and injurious blebbing in acinar cells. *Mol Biol Cell* 2008; 19(5): 2339-47.
- Wei S, Gao X, Du J, Su J, Xu Z. Angiogenin enhances cell migration by regulating stress fiber assembly and focal adhesion dynamics. *PLoS One* 2011; 6(12): e28797.
- Bunnell TM, Burbach BJ, Shimizu Y, Ervasti JM. beta-Actin specifically controls cell growth, migration, and the G-actin pool. *Mol Biol Cell* 2011; 22(21): 4047-58.
- Tsai CY, Ngo B, Tapadia A, Hsu PH, Wu G, Lee WH. Aurora-A phosphorylates Augmin complex component Hic1 protein at an N-terminal serine/threonine cluster to modulate its microtubule binding activity during spindle assembly. *J Biol Chem* 2011; 286(34): 30097-106.

- 8 Moynihan KL, Pooley R, Miller PM, Kaverina I, Bader DM. Murine CENP-F regulates centrosomal microtubule nucleation and interacts with Hook2 at the centrosome. *Mol Biol Cell* 2009; 20(22): 4790-803.
- 9 Francis R, Xu X, Park H, Wei CJ, Chang S, Chatterjee B, *et al.* Connexin43 modulates cell polarity and directional cell migration by regulating microtubule dynamics. *PLoS One* 2011; 6(10): e26379.
- 10 Fritz G, Brachetti C, Bahlmann F, Schmidt M, Kaina B. Rho GTPases in human breast tumours: Expression and mutation analyses and correlation with clinical parameters. *Br J Cancer* 2002; 87(6): 635-44.
- 11 Kamai T, Tsujii T, Arai K, Takagi K, Asami H, Ito Y, *et al.* Significant association of Rho/ROCK pathway with invasion and metastasis of bladder cancer. *Clin Cancer Res* 2003; 9(7): 2632-41.
- 12 Horiuchi A, Imai T, Wang C, Ohira S, Feng Y, Nikaido T, *et al.* Up-regulation of small GTPases, RhoA and RhoC, is associated with tumor progression in ovarian carcinoma. *Lab Invest* 2003; 83(6): 861-70.
- 13 Cai J, Niu X, Chen Y, Hu Q, Shi G, Wu H, *et al.* Emodin-induced generation of reactive oxygen species inhibits RhoA activation to sensitize gastric carcinoma cells to anoikis. *Neoplasia* 2008; 10(1): 41-51.
- 14 Kakinuma N, Roy BC, Zhu Y, Wang Y, Kiyama R. Kank regulates RhoA-dependent formation of actin stress fibers and cell migration via 14-3-3 in PI3K-Akt signaling. *J Cell Biol* 2008; 181(3): 537-49.
- 15 He M, Cheng Y, Li W, Liu Q, Liu J, Huang J, *et al.* Vascular endothelial growth factor C promotes cervical cancer metastasis via up-regulation and activation of RhoA/ROCK-2/moesin cascade. *BMC Cancer* 2010; 10: 170.
- 16 Birukova AA, Birukov KG, Smurova K, Adyshev D, Kaibuchi K, Alieva I, *et al.* Novel role of microtubules in thrombin-induced endothelial barrier dysfunction. *FASEB J* 2004; 18(15): 1879-90.
- 17 Lin W, Wang Y, Lin S, Li C, Zhou C, Wang S, *et al.* Induction of cell cycle arrest by the carbazole alkaloid Clauszoline-I from *Clausena vestita* D. D. Tao via inhibition of the PKCdelta phosphorylation. *Eur J Med Chem* 2012; 47(1): 214-20.
- 18 Kim DW, Zhao L, Hanover J, Willingham M, Cheng SY. Thyroid hormone receptor beta suppresses SV40-mediated tumorigenesis via novel nongenomic actions. *Am J Cancer Res* 2012; 2(5): 606-19.
- 19 Poreba E, Broniarczyk JK, Gozdicka-Jozefiak A. Epigenetic mechanisms in virus-induced tumorigenesis. *Clin Epigenetics* 2011; 2(2): 233-47.
- 20 Tan YJ. Hepatitis B virus infection and the risk of hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2011; 17(44): 4853-7.
- 21 Kaufer BB, Arndt S, Trapp S, Osterrieder N, Jarosinski KW. Herpesvirus telomerase RNA (vTR) with a mutated template sequence abrogates herpesvirus-induced lymphomagenesis. *PLoS Pathog* 2010; 7(10): e1002333.
- 22 Zhao X, Lu L, Pokhriyal N, Ma H, Duan L, Lin S, *et al.* Overexpression of RhoA induces preneoplastic transformation of primary mammary epithelial cells. *Cancer Res* 2009; 69(2): 483-91.
- 23 Ellis C, Moran M, McCormick F, Pawson T. Phosphorylation of GAP and GAP-associated proteins by transforming and mitogenic tyrosine kinases. *Nature* 1990; 343(6256): 377-81.
- 24 Fincham VJ, Wyke JA, Frame MC. v-Src-induced degradation of focal adhesion kinase during morphological transformation of chicken embryo fibroblasts. *Oncogene* 1995; 10(11): 2247-52.
- 25 Fincham VJ, Chudleigh A, Frame MC. Regulation of p190 Rho-GAP by v-Src is linked to cytoskeletal disruption during transformation. *J Cell Sci* 1999; 112 (Pt 6): 947-56.
- 26 Frisan T, Cortes-Bratti X, Chaves-Olarte E, Stenerlow B, Thelestam M. The *Haemophilus ducreyi* cytolethal distending toxin induces DNA double-strand breaks and promotes ATM-dependent activation of RhoA. *Cell Microbiol* 2003; 5(10): 695-707.
- 27 Hassane DC, Lee RB, Pickett CL. *Campylobacter jejuni* cytolethal distending toxin promotes DNA repair responses in normal human cells. *Infect Immun* 2003; 71(1): 541-5.
- 28 Halazonetis TD, Gorgoulis VG, Bartek J. An oncogene-induced DNA damage model for cancer development. *Science* 2008; 319(5868): 1352-5.
- 29 Guerra L, Guidi R, Slot I, Callegari S, Sompallae R, Pickett CL, *et al.* Bacterial genotoxin triggers FEN1-dependent RhoA activation, cytoskeleton remodeling and cell survival. *J Cell Sci* 2011; 124(Pt 16): 2735-42.
- 30 Qiu J, Li X, Frank G, Shen B. Cell cycle-dependent and DNA damage-inducible nuclear localization of FEN-1 nuclease is consistent with its dual functions in DNA replication and repair. *J Biol Chem* 2001; 276(7): 4901-8.
- 31 Morin P, Flors C, Olson MF. Constitutively active RhoA inhibits proliferation by retarding G₁ to S phase cell cycle progression and impairing cytokinesis. *Eur J Cell Biol* 2009; 88(9): 495-507.
- 32 Xing AP, Du YC, Hu XY, Xu JY, Zhang HP, Li Y, *et al.* Cigarette smoke extract stimulates rat pulmonary artery smooth muscle cell proliferation via PKC-PDGFB signaling. *J Biomed Biotechnol* 2012; 2012: 534384.
- 33 Venkatarreddy M, Cook L, Abuarquob K, Verma R, Garg P. Neph- rin regulates lamellipodia formation by assembling a protein complex that includes Ship2, filamin and lamellipodin. *PLoS One* 2011; 6(12): e28710.
- 34 Ofer N, Mogilner A, Keren K. Actin disassembly clock determines shape and speed of lamellipodial fragments. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011; 108(51): 20394-9.
- 35 Gupton SL, Eisenmann K, Alberts AS, Waterman-Storer CM. mDia2 regulates actin and focal adhesion dynamics and organization in the lamella for efficient epithelial cell migration. *J Cell Sci* 2007; 120(Pt 19): 3475-87.
- 36 Zaoui K, Honore S, Isnardon D, Braguer D, Badache A. Memo-RhoA-mDia1 signaling controls microtubules, the actin network, and adhesion site formation in migrating cells. *J Cell Biol* 2008; 183(3): 401-8.
- 37 Nie D, Guo Y, Yang D, Tang Y, Chen Y, Wang MT, *et al.* Thromboxane A₂ receptors in prostate carcinoma: Expression and its role in regulating cell motility via small GTPase Rho. *Cancer Res* 2008; 68(1): 115-21.
- 38 Verin AD, Birukova A, Wang P, Liu F, Becker P, Birukov K, *et al.* Microtubule disassembly increases endothelial cell barrier dysfunction: Role of MLC phosphorylation. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2001; 281(3): L565-74.
- 39 Birukova AA, Liu F, Garcia JG, Verin AD. Protein kinase A attenuates endothelial cell barrier dysfunction induced by microtubule disassembly. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2004; 287(1): L86-93.

- 40 Ma T, Xue Y. RhoA-mediated potential regulation of blood-tumor barrier permeability by bradykinin. *J Mol Neurosci* 2010; 42(1): 67-73.
- 41 Ma T, Liu L, Wang P, Xue Y. Evidence for involvement of ROCK signaling in bradykinin-induced increase in murine blood-tumor barrier permeability. *J Neurooncol* 2011; 106(2): 291-301.
- 42 Gajate C, Mollinedo F. Cytoskeleton-mediated death receptor and ligand concentration in lipid rafts forms apoptosis-promoting clusters in cancer chemotherapy. *J Biol Chem* 2005; 280(12): 11641-7.
- 43 Robert A, Smadja-Lamere N, Landry MC, Champagne C, Petrie R, Lamarche-Vane N, *et al.* Adenovirus E4orf4 hijacks rho GT-Pase-dependent actin dynamics to kill cells: A role for endosome-associated actin assembly. *Mol Biol Cell* 2006; 17(7): 3329-44.
- 44 Wang P, Li JC. Trichosanthin-induced specific changes of cytoskeleton configuration were associated with the decreased expression level of actin and tubulin genes in apoptotic Hela cells. *Life Sci* 2007; 81(14): 1130-40.
- 45 Wang P, Xu S, Zhao K, Xiao B, Guo J. Increase in cytosolic calcium maintains plasma membrane integrity through the formation of microtubule ring structure in apoptotic cervical cancer cells induced by trichosanthin. *Cell Biol Int* 2009; 33(11): 1149-54.