

PFN2在胃癌组织中高表达并促进胃癌细胞的增殖和迁移

胡曙民, 史良会

皖南医学院第一附属医院弋矶山医院胃肠外科, 安徽 芜湖 241001

摘要:目的 研究PFN2作为胃癌新的预后评价指标及作为胃癌治疗全新靶点的潜力。方法 组织层面上,应用免疫组织化学检测100例胃癌组织及其癌旁组织中PFN2蛋白表达水平;根据PFN2表达量,将研究对象分为癌组织中PFN2高表达组(46例)、低表达(48例)组,以及癌旁组织中PFN2高表达组(26例)、低表达(49例)组;采用 χ^2 检验、Spearman相关性以及Kaplan-Meier生存分析法,分析PFN2蛋白表达水平与患者的临床参数之间关系;细胞功能上,敲低MKN-45细胞中PFN2,将其分为control-siRNA组与PFN2-siRNA组;过表达MKN-45细胞中PFN2,将其分为control-vector组与PFN2-vector组,选取Transwell实验、CCK-8实验检测PFN2对胃癌MKN-45细胞增殖及迁移影响。结果 在胃癌组织中PFN2蛋白表达高于癌旁组织($P<0.01$);PFN2蛋白的表达水平和胃癌病人的M分期显著正相关($P<0.05$);在胃癌组织中,PFN2表达和VEGFR表达呈正相关关系($P<0.01$);PFN2蛋白高表达的胃癌患者预后更差($P<0.01$),并且是胃癌预后的独立预测因子($P<0.05$);MKN-45细胞中高表达PFN2组较低表达组增殖、迁移能力更强($P<0.001$)。结论 PFN2蛋白在胃癌组织中高表达,并促进人胃癌MKN-45细胞的增殖、迁移。

关键词:胃癌;PFN2;MKN-45细胞

Profilin 2 is highly expressed in gastric cancer and promotes tumor cell proliferation and migration

HU Shumin, SHI Lianghui

Department of Gastrointestinal Surgery, Affiliated Yijishan Hospital of Wannan Medical College, Wuhu 241001, China

Abstract: Objective To investigate the expression of profilin 2 (PFN2) in gastric cancer and assess its potential value as a novel prognostic indicator and a therapeutic target. **Methods** We collected gastric cancer and paired adjacent tissues from 100 patients for immunohistochemical detection of PFN2 expression. According to the expression level of PFN2, the patients were divided into two groups with high (46 cases) and low (48 cases) PFN2 expression in cancer tissues, and also into two groups with high (26 cases) and low (49 cases) PFN2 expression in adjacent tissues. Chi-square test, Spearman correlation and Kaplan-Meier survival analysis were used to analyze the relationship between PFN2 protein expression level and the patients' clinical parameters. We also tested the effects of PFN2 knockdown and overexpression on the proliferation and migration of MKN-45 cells using Transwell assay and CCK-8 assay. **Results** The expression of PFN2 protein was significantly higher in gastric cancer tissues than in adjacent tissues ($P<0.01$). PFN2 expression was positively correlated with M-stage of gastric cancer and VEGFR expression in the tumor tissues ($P<0.01$). A high expression of PFN2 protein was significantly correlated with a poor prognosis of gastric cancer patients ($P<0.01$), and was an independent predictor of the prognosis of gastric cancer. In MKN-45 cells, the cells overexpressing PFN2 showed significantly stronger proliferation and migration abilities than those with PFN2 knockdown ($P<0.001$). **Conclusion** PFN2 protein is highly expressed in gastric cancer tissues to promote the proliferation and migration of the tumor cells. PFN2 may serve as a potential diagnostic marker, a prognostic indicator and a therapeutic target for gastric cancer.

Keywords: gastric cancer; profilin 2; MKN-45 cells

胃癌是最常见的恶性肿瘤之一,其死亡率及发病率均位居恶性肿瘤前列^[1-3]。Profilin(PFN)是一种肌动蛋白结合蛋白,可以高亲和力结合ATP-肌动蛋白单体并催化肌动蛋白丝上的核苷酸交换(ATP取代ADP)^[4,5]。这种由ATP水解驱动的定向肌动蛋白丝生长,是细胞运动、形态变化和许多细胞转运事件的驱动力^[6]。而PFN2是PFN家族的一种同工型蛋白,是肌动蛋白聚合的特征明确的调节剂^[7]。既往研究认为PFN2主要在脊椎动物的神经元中表达,且相关研究都涉及其对谷氨酸

能神经元神经递质胞吐相关作用^[8,9]。最近研究发现,在不同类型的癌症中PFN2的表达会发生改变。例如,在乳腺癌组织中PFN2表达显著上调^[10];在口腔鳞状细胞癌中,PFN2可以抑制肿瘤的生长和侵袭^[11];PFN2与食管鳞状细胞癌的预后不良相关,被认为是治疗靶点^[11];PFN2可以促进HT29人结肠直肠癌干细胞的迁移和侵袭^[12]。PFN2已被证实多种肿瘤的发展中发挥重要作用,而它的表达和功能在胃癌中是未知的^[10-12]。此外我们通过检索TCGA数据发现,胃癌组织中高表达的PFN2的患者较低表达者预后更差。虽然胃癌的诊断及治疗方法已有进步,但对于晚期胃癌患者并无令人满意的疗效^[13-15]。常规的肿瘤标志物如癌胚抗原、糖类抗原ca19-9不能作为胃癌的特异性指标,且胃癌早期的临床表

收稿日期:2021-11-10

基金项目:2021安徽省卫生健康委科研项目(AHWJ2021b109)

作者简介:胡曙民,硕士,E-mail: 792771189@qq.com

通信作者:史良会,博士,教授,E-mail: shilianghui@163.com

现及体征也不典型,这导致胃癌的早期诊断率较低^[16]。进一步探索特异性及灵敏性更高的检测指标和新的治疗靶点十分必要。结合PFN2在其它恶性肿瘤中的作用以及其生物学特征,它在胃癌的发展中可能也发挥了关键作用。本研究旨在从实验基础上为PFN2作为胃癌诊断的生物学标志物、预后评价指标、生物治疗靶点提供理论依据。

1 资料和方法

1.1 研究对象

选取2006年7月~2007年4月在本院行胃癌根治术的患者共100例(其中80例癌组织具有相应的癌旁组织)。本研究中所有纳入患者均由病理证实为胃癌,并严格遵守纳入、排除标准。纳入标准:(1)患者依从性好,临床资料完整;(2)患者知情同意本研究,能完成随访。排除标准:(1)合并其他部位恶性肿瘤的患者;(2)合并其它可能影响血清中肿瘤标记物表达的疾患;(3)存在自身免疫系统疾病、精神类疾病、妊娠、哺乳等可能影响本研究结果的患者。本研究通过了医院伦理委员会审批(编号:KJ20201008)。

选用人胃癌MKN-45细胞(皖南医学院弋矶山医院中心实验室细胞库),培养基使用含10%血清RPMI 1640,并培养于培养箱中,具体进行养育的环境设置为5% CO₂、恒温37℃。

1.2 方法

1.2.1 临床数据收集 对所有纳入研究的患者进行临床数据收集,收集患者临床资料包括性别(男性、女性)、年龄(≤60岁、>60岁)、肿瘤大小(≤5 cm、>5 cm)、病理分级、TNM分期、临床分期等数据。

1.2.2 组织芯片制作 手术切除标本常规石蜡包埋,首先在HE染色切片上进行定位,制成两块组织芯片模块。选取癌组织100个位点,癌旁正常组织80个位点,取样针直径2 mm,制作2个芯片蜡块,以4 μm厚度连续切片,敷贴于经1%多聚赖氨酸处理的载玻片,分别进行HE染色供形态学观察及免疫组化检测。

1.2.3 免疫组化 采用免疫组化染色方法,观察整张组织切片,每个芯片在电镜下随机选择四域,并采用免疫组化染色阳性率评分,即由染色强度和密度确定评价。染色强度计分:0分(阴性),1分(弱阳性),2分(中正),和3分(强阳性);染色阳性率计分:0分(阴性),1分(1%~20%),2分(21%~40%),3分(41%~60%),4分(61%~80%),5分(81%~100%)。以“染色强度”计分和“染色阳性率”计分的乘积为总分。

1.2.4 样本分组及处理方法 使用耶鲁大学开发的软件X-tile,根据胃癌患者的总生存期,确定分组临界值,PFN2表达评分≤5分为低表达组,>5分为高表达组。将

研究对象分为癌组织中PFN2高表达组(46例)、低表达组(48例),以及癌旁组织中PFN2高表达组(26例)、低表达组(49例)。统计分析每组胃癌组织中PFN2表达情况与临床特征的关系、胃癌组织中PFN2与ki67、p53、VEGFR、CD133的表达相关性、PFN2蛋白表达与胃癌患者生存期的相关性。

1.2.5 细胞实验分组及处理方法 体外培养人胃癌MKN-45细胞,使用lip2000(ThermoFisher)进行转染,将PFN2 siRNA与NC siRNA别分转染至MKN-45细胞PFN2 siRNA组和control-siRNA组,使用Western blot验证siRNA转染后对细胞中PFN2表达的干扰效果,再通过Transwell实验、CCK-8实验来对比成功转染siRNA的两组MKN-45细胞的迁移能力及增值能力;将PFN2 vector与NC vector别分转染至MKN-45细胞PFN2 vector组和control vector组,使用Western blot验证vector转染后PFN2过表达效果,再选取Transwell实验、CCK-8实验对比成功转染vector的两组MKN-45细胞的迁移能力及增值能力。

1.2.6 Western blot 将分组处理后的MKN-45细胞,使用预冷的PBS洗涤细胞2次,然后加入细胞裂解液(含PMSF,碧云天)冰上裂解细胞30 min,收集细胞裂解液,放入超高速低温离心机进行离心,预冷4℃,离心20 min,12 000 r/min。收集的上清液,中加入SDS上样缓冲液煮沸6 min,取等量蛋白进行SDS-PAGE。电泳分离的蛋白结束后,将蛋白转印至NC膜上。然后用5% BSA(索莱宝)室温封闭2 h。TBST清洗后加入相应一抗(Abcam公司PFN2抗体,1:500稀释)4℃孵育过夜。TBST清洗后加入二抗(1:10 000稀释,CST公司)室温孵育2 h,TBST清洗后3次后用化学发光成像系统检测实验结果。使用Image J软件对蛋白表达进行半定量分析。

1.2.7 CCK-8实验 将分组处理后的MKN-45细胞种植于24孔细胞培养板,至细胞贴壁。采用CCK-8试剂盒(碧云天)检测,具体操作按厂家提供的说明书进行。使用酶标仪450 nm波长测量并记录分析。

1.2.8 Transwell实验 分组处理后的MKN-45细胞,用无血清的RPMI 1640培养基重悬,吸取100 μL细胞悬液置于小室上层,含10%胎牛血清的RPMI 1640培养基600 μL置于下层。培养箱中培养24 h。PBS溶液清洗后,用棉棒擦除底膜上层的细胞,底膜下层的细胞用多聚甲醛固定30 min。PBS溶液再次清洗,使用结晶紫染色10 min。PBS溶液清洗后,放置在显微镜下观察并拍照。

1.2.9 统计学分析 采用SPSS 20.0统计软件进行统计学分析。对PFN2在癌组织及癌旁组织表达差异采用 t 检验;PFN2表达与临床数据特征的相关性采用 χ^2 检验;对胃癌组织中PFN2、ki67、p53、VEGFR、CD133的表达

相关性分析采用 Spearman 秩相关系数;采用 Kaplan-Meier 生存分析法和 log-rank 统计检验进行生存期单因素分析;多因素分析采用 Cox 风险回归模型。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 胃癌组织中 PFN2 的表达

组织芯片中可见 PFN2 蛋白表达的结构保存完好,位点共 180 个,排列整齐,免疫组织化学的染色结果良好,阳性染色呈棕黄色颗粒(图 1)。部分位点无法判读,包括 6 例癌组织和 5 例癌旁组织,在可以判读的位点中,94 例胃癌组织中,PFN2 蛋白表达水平最低评分 1.00,最高评分 15.00,平均分为 5.88 ± 2.74 ;而 75 例癌旁组织中,PFN2 蛋白表达水平最低评分 1.00,最高评分 8.75,平均分为 0.88 ± 1.83 。通过数据分析显示,PFN2 蛋白在胃癌组织的表达水平显著高于癌旁组织,有差异有统计学意义($P < 0.01$)。

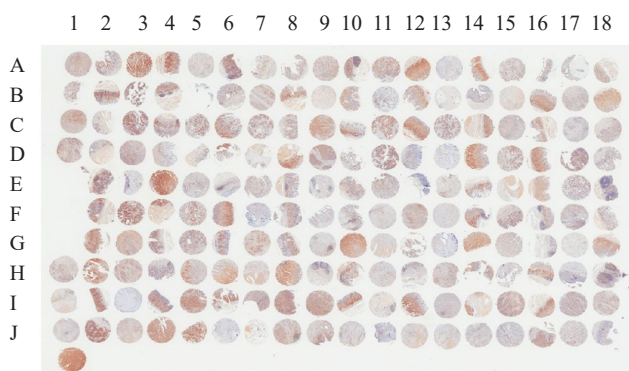


图 1 组织芯片免疫组化染色结果

Fig.1 Immunohistochemical staining of the tissue chip.

2.2 胃癌组织中 PFN2 表达情况与临床特征的关系

纳入研究的 100 例患者中,男性 64 例、女性 36 例,年龄为 32~81 岁,随访到 2015 年 7 月(8~9 年)。其中部分患者临床资料缺失(2 例年龄不详,2 例肿瘤大小不详,1 例 T 分期不详,2 例 N 分期不详,1 例 M 分期不详,2 例临床分期不详,3 例患者失访)。通过胃癌组织中 PFN2 蛋白表达和胃癌患者临床指标(性别、年龄、肿瘤大小、TNM 分期、临床分期)进行检验分析,结果显示 PFN2 蛋白在胃癌组织的表达水平和胃癌病人的 M 分期正相关,差异有统计学意义($P < 0.05$,表 1)。

2.3 胃癌组织中 PFN2、ki67、p53、VEGFR、CD133 的表达相关性分析

通过对免疫组化染色胃癌组织中 PFN2、ki67、p53、VEGFR、CD133 的表达情况进行 Spearman 相关性分析。统计分析结果显示:在胃癌组织中,PFN2 表达和 VEGFR 表达呈现正相关关系,差异有统计学意义($P < 0.01$,

表 2)。

2.4 PFN2 蛋白表达与胃癌患者生存期的相关性分析

对纳入的 100 例胃癌病人进行随访 8-9 年结果分析,其中 26 例生存,71 例死亡,3 例失访。对结果进行 Kaplan-Meier 生存曲线分析,结果显示:胃癌组织中 PFN2 蛋白高表达的患者较低表达患者预后显著更差,差异有统计学意义($P < 0.01$,图 2);而癌旁组织中 PFN2 蛋白高表达的患人同样较低表达的患者预后更差,差异有统计学意义($P < 0.01$,图 3)。将单因素分析中有统计学意义的变量纳入 COX 多因素生存回归分析,结果显示:PFN2 蛋白胃癌组织表达分组是胃癌病人的独立预测因子($P < 0.05$,表 3)。

2.5 敲低 PFN2 蛋白表达对人胃癌细胞 MKN-45 增殖、迁移功能影响

通过 Western blot 检测 control-siRNA 组与 PFN2-siRNA 组 PFN2 蛋白表达水平。结果显示转染后成功敲低 MKN-45 细胞 PFN2 蛋白表达水平($P < 0.001$,图 3)。

通过 CCK-8 细胞增殖实验检验两组细胞增殖能力。结果显示:control-siRNA 组较 PFN2-siRNA 组增殖能力更强,差异有统计学意义($P < 0.001$,图 4)。

通过 Transwell 细胞迁移实验检验 control-siRNA 组与 PFN2-siRNA 组迁移能力。细胞计数后,通过 *t* 检验统计分析,结果显示:PFN2-siRNA 组 MKN-45 细胞较 Control-siRNA 组迁移能力更弱,差异有统计学意义($P < 0.001$,图 5)。

2.6 过表达 PFN2 蛋白表达对人胃癌细胞 MKN-45 增殖、迁移影响

通过 Western blot 检测 control-vector 组与 PFN2-vector 组 PFN2 蛋白表达水平。结果显示转染后成功敲低 MKN-45 细胞 PFN2 蛋白表达水平,差异有统计学意义($P < 0.001$,图 6)。

通过 CCK-8 细胞增殖实验检验 control-vector 组与 PFN2-vector 组增殖能力。结果显示:PFN2-vector 组 MKN-45 细胞较 control-vector 组增殖能力更强,差异有统计学意义($P < 0.001$,图 7)。

通过 Transwell 细胞迁移实验检验 control-vector 组与 PFN2-vector 组迁移能力。结果显示:对照组 MKN-45 细胞较实验组迁移能力更强,差异有统计学意义($P < 0.001$,图 8)。

3 讨论

PFN2 属于 PFN 家族 4 个成员组成之一,一同参与肌动蛋白的单体结合并介导肌动蛋白的聚合^[17, 18]。研究发现 PFN2 在中枢神经系统中表达,并参与调节突触的结构和功能^[19, 20]。虽然 PFN2 表达于中枢神经系统,但也广泛表达于其他组织细胞中。在源自各种组织(包

表 1 胃癌组织中 PFN2 表达情况与临床特征的关系

Tab.1 Relationship between PFN2 expression in gastric cancer tissues and clinical features of the patients

Feature	Cases	PFN2 (n)		Pearson χ^2	P
		Low	High		
All	94	48	46		
Gender				0.640	0.424
Male	61	33	28		
Female	33	15	18		
Age(year)				0.650	0.420
≤60	31	18	13		
>60	61	30	31		
Tumor diameter (cm)				0.174	0.677
≤5	46	22	24		
>5	46	24	22		
T-stage				0.005	0.942
T1/T2	13	7	6		
T3/T4	71	39	32		
N-stage				0.322	0.570
N0/N1	40	22	18		
N2/N3	53	26	27		
M-stage				5.066	0.024*
M0	85	46	39		
M1	8	1	7		
AJCC-stage				5.221	0.156
I	9	5	4		
II	30	17	13		
III	46	24	22		
IV	8	1	7		

*P<0.05.

括肺,结肠和食道)的癌症中,PFN2的表达对癌细胞迁移和增殖具有重要作用^[21-23]。在癌症治疗研究上,基因治疗一直是研究的前沿和重点。而PFN2能否促进胃癌细胞增殖和迁移尚未见报道,因此研究PFN2对胃癌的影响具有重要意义。

本研究通过免疫组化发现胃癌组织中PFN2高表达,意味着PFN2有促进胃癌发生发展的可能。因为PFN2分布广泛且作用于肌动蛋白,与细胞的运动、细胞突起等发生的形态上改变、细胞质分裂、物质的运输功能密切相关。结合PFN2基因是一个生物进化中非常保守的基因,说明PFN2可能发挥促进癌症的发生发展的重要作用,也可能成为早期胃癌诊断的新指标。

VEGFR是血管内皮生长因子(VEGF)的受体,是人体重要的信号蛋白^[24, 25]。VEGF/VEGFR信号传导主要负责肿瘤血管生成,是抑制肿瘤生长和抗血管生成治疗的主要靶途径^[26, 27]。本研究通过PFN2与血管内皮生长因子受体(VEGFR)抗体相关性分析发现,在胃癌组

织及癌旁组织中PFN2表达和VEGFR表达显著正相关,表明PFN2和VEGFR可能存在相互作用。现已有许多有效对抗VEGF表达的抗癌药物,如阿柏西普治疗转移性结肠癌、贝伐单抗治疗肺癌和结肠癌等多种癌症,还有雷莫芦单抗,用于胃癌患者治疗。这表明PFN2作为下一个胃癌靶向治疗的新兴方向的有着巨大潜力^[28-30]。

在PFN2蛋白表达与患者预后上,本研究也显示在胃癌组织中PFN2蛋白高表达的病人的预后显著更差,而癌旁组织中PFN2蛋白高表达的病人预后同样更差,此外COX多因素生存回归分析结果也显示,PFN2表达是胃癌的独立危险因子。这些数据说明,PFN2可以作为胃癌预后的预测指标。

在胃癌细胞功能上,我们通过对胃癌MKN-45细胞系研究发现,过表达PFN2蛋白可以明显促进细胞的增殖和迁移,而敲低PFN2蛋白则出现细胞的增殖和迁移能力减弱。PFN2蛋白在胃癌细胞功能结果上显示,在细胞功能层面上,PFN2蛋白有着促进胃癌细胞的增

表 2 胃癌组织及癌旁组织中不同抗体表达水平的相关性分析

Tab.2 Correlation analysis of the expression levels of different antibodies in gastric cancer tissues and adjacent tissues

Items		PFN2 in T	PFN2 in A	ki67	p53	VEGFR	CD133
PFN2 in T	Correlation coefficient	1.000	0.065	-0.042	0.118	0.499**	0.150
	<i>P</i> value	-	0.592	0.688	0.258	0.000	0.149
	Cases	94	70	93	94	94	94
PFN2 in A	Correlation coefficient	0.065	1.000	-0.001	0.096	0.234*	-0.108
	<i>P</i> value	0.592	-	0.996	0.410	0.044	0.358
	Cases	70	75	73	75	75	75
ki67	Correlation coefficient	-0.042	-0.001	1.000	0.263**	0.255*	0.104
	<i>P</i> value	0.688	0.996	-	0.009	0.011	0.306
	Cases	93	73	98	98	98	98
p53	Correlation coefficient	0.118	0.096	0.263**	1.000	0.351**	0.254*
	<i>P</i> value	0.258	0.410	0.009	-	0.000	0.011
	Cases	94	75	98	100	100	100
VEGFR	Correlation coefficient	0.499**	0.234*	0.255*	0	1.000	0.305**
	<i>P</i> value	0.000	0.044	0.011	0.000	-	0.002
	Cases	94	75	98	100	100	100
CD133	Correlation coefficient	0.150	-0.108	0.104	0.254*	0.305**	1.000
	<i>P</i> value	0.149	0.358	0.306	0.011	0.002	-
	Cases	94	75	98	100	100	100

T: Cancer tissue; A: Adjacent cancer tissue. **P*<0.05, ***P*<0.01.

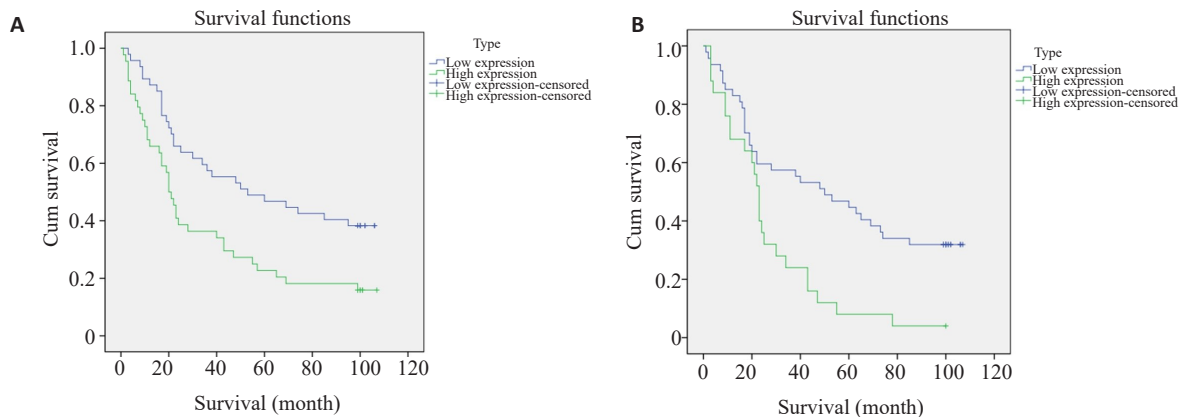


图2 PFN2 蛋白表达与胃癌患者生存期的相关性

Fig.2 Correlation between PFN2 expression and survival time of gastric cancer patients. A: Patients with a high expression of PFN2 protein in gastric cancer have worse prognosis (*P*<0.01). B: Patients with high expression of PFN2 protein in tissues adjacent to gastric cancer have a worse prognosis (*P*<0.01).

殖和迁移能力。

本研究也存在不足之处:(1)纳入的病例数量较少, 仍需更多的病例;(2)在胃癌中的具体作用机制仍在进一步研究中。

综上所述,本研究结果显示 PFN2 蛋白在胃癌组织表达显著高于癌旁,发现了 PFN2 表达和 VEGFR 表达显著正相关,还评估了 PFN2 蛋白的表达和胃癌病人的

临床分期以及预后的关系,最后在细胞层面上发现 PFN2 蛋白起促进胃癌细胞增殖和迁移的作用。我们认为 PFN2 蛋白有成为胃癌早期诊断生物学标志物、预后评价指标及治疗靶点的巨大潜力。

参考文献:

[1] Ree R, Kind L, Kaziales A, et al. PFN2 and NAA80 cooperate to

表 3 COX 多因素生存回归分析
Tab.3 COX multivariate survival regression analysis

Group	B value	SE	Wald test	DF	P	Exp (B)	95% CI for Exp (B)	
							Lower	Upper
PFN2 in T	0.866	0.339	6.533	1	0.011*	2.377	1.224	4.618
PFN2 in A	0.270	0.346	0.606	1	0.436	1.310	.664	2.583
Tumor diameter	0.219	0.401	0.298	1	0.585	1.245	0.568	2.729
Pathological grade	0.771	0.332	5.402	1	0.020*	2.161	1.128	4.140
T-stage	0.803	0.428	3.517	1	0.061	2.232	0.964	5.167
N- stage	0.273	0.301	0.824	1	0.364	1.314	0.728	2.372
M- stage	1.147	1.040	1.217	1	0.270	3.149	0.410	24.156

T: Cancer tissue; A: Adjacent cancer tissue. * $P < 0.05$.

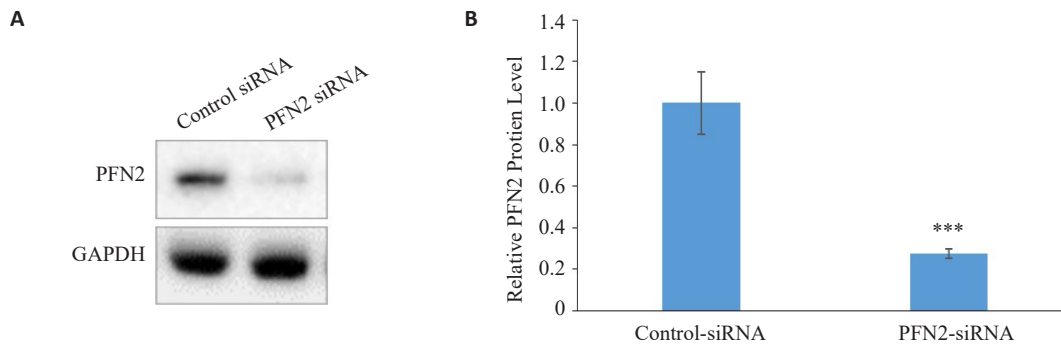


图 3 在 MKN-45 细胞中, control-siRNA 组与 PFN2-siRNA 组 PFN2 蛋白表达水平
Fig.3 PFN2 protein expression levels in the control-siRNA group and PFN2-siRNA group in MKN-45 cells.
*** $P < 0.001$ vs control-siRNA group.

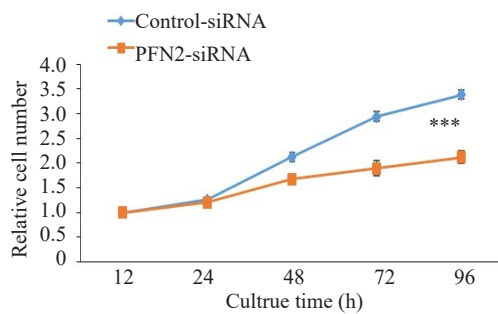


图 4 Control-siRNA 组与 PFN2-siRNA 组 MKN-45 细胞增殖能力
Fig.4 MKN-45 cell proliferation in Control-siRNA group and PFN2-siRNA group. *** $P < 0.001$ vs control-siRNA group.

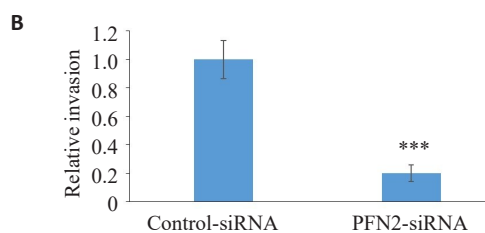
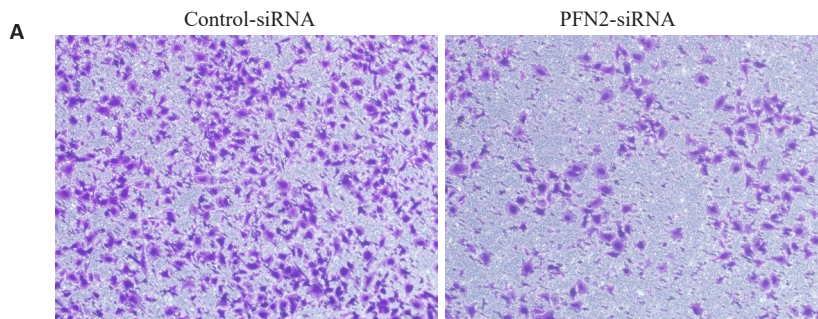


图 5 Control-siRNA 组与 PFN2-siRNA 组 MKN-45 细胞迁移能力
Fig.5 MKN-45 cell migration in Control-siRNA group and PFN2-siRNA group (Original magnification: $\times 200$, Crystal violet staining).
*** $P < 0.001$ vs control-siRNA group.

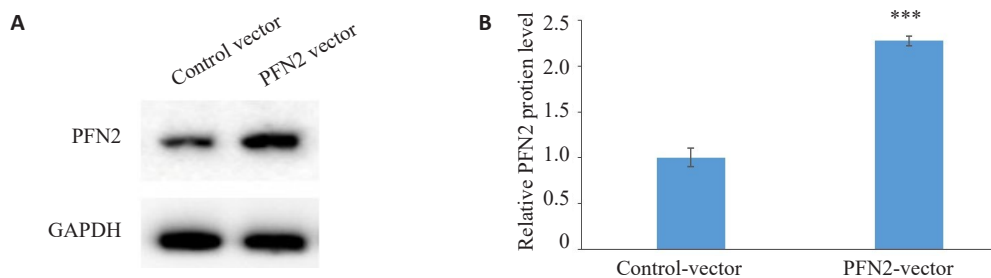


图6 在MKN-45细胞中,control-vector组与PFN2-vector组PFN2蛋白表达水平
Fig.6 PFN2 protein expression levels in the control-vector group and PFN2-vector group in MKN-45 cells. *** $P < 0.001$ vs control-vector.

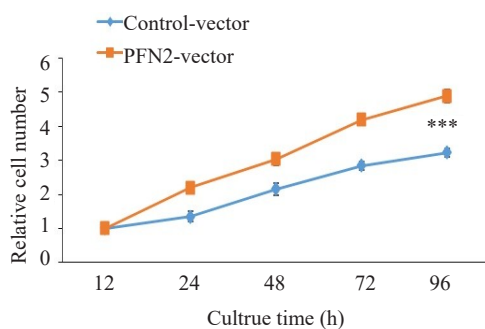


图7 PFN2-vector组与control-vector组MKN-45细胞增殖能力
Fig.7 MKN-45 cell proliferation in PFN2-vector group and control-vector group. *** $P < 0.001$ vs control-vector.

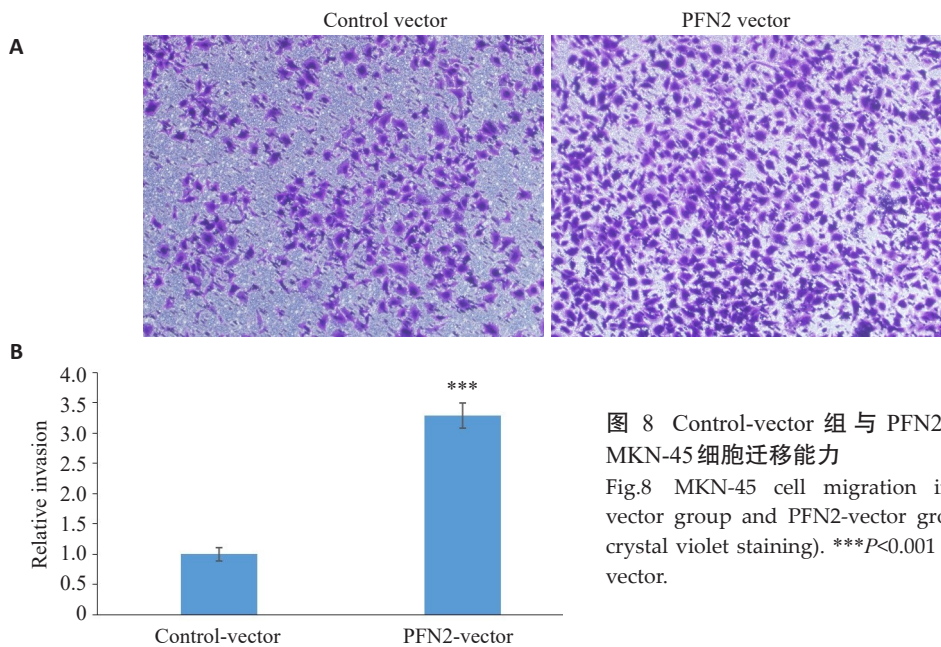


图8 Control-vector组与PFN2-vector组MKN-45细胞迁移能力
Fig.8 MKN-45 cell migration in control-vector group and PFN2-vector group ($\times 200$, crystal violet staining). *** $P < 0.001$ vs control-vector.

efficiently acetylate the N-terminus of actin [J]. Journal of Biological Chemistry, 2020, 295(49): 16713-16731.

[2] Pollard TD, Cooper JA. Actin, a central player in cell shape and movement[J]. Science, 2009, 326(5957): 1208-12.
[3] Tariq N, Basharat Z, Butt S, et al. Distribution analysis of profilin isoforms at transcript resolution with mRNA-seq and secondary structure in various organs of Rattus norvegicus[J]. Gene, 2016, 589 (1): 49-55.
[4] Uribe R, Jay D. A review of actin binding proteins: new perspectives [J]. Mol Biol Rep, 2009, 36(1): 121-5.
[5] Schlüter K, Jockusch BM, Rothkegel M. Profilins as regulators of

actin dynamics [J]. Biochim Biophys Acta BBA Mol Cell Res, 1997, 1359(2): 97-109.

[6] Didry D, Carlier MF, Pantaloni D. Synergy between actin depolymerizing factor/cofilin and profilin in increasing actin filament turnover[J]. J Biol Chem, 1998, 273(40): 25602-11.
[7] Kang M, Ren MP, Li Y, et al. Exosome-mediated transfer of lncRNA PART1 induces gefitinib resistance in esophageal squamous cell carcinoma via functioning as a competing endogenous RNA[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2018, 37: 171.
[8] Pennathur A, Gibson MK, Jobe BA, et al. Oesophageal carcinoma [J]. Lancet, 2013, 381(9864): 400-12.

- [9] Pilo Boyl P, di Nardo A, Mulle C, et al. Profilin2 contributes to synaptic vesicle exocytosis, neuronal excitability, and novelty-seeking behavior[J]. *EMBO J*, 2007, 26(12): 2991-3002.
- [10] Wang JB, Jia YB, Wang NN, et al. The clinical significance of tumor-infiltrating neutrophils and neutrophil-to-CD8 + lymphocyte ratio in patients with resectable esophageal squamous cell carcinoma[J]. *J Transl Med*, 2014, 12: 7.
- [11] Kawaguchi T, Komatsu S, Ichikawa D, et al. Overexpression of TRIM44 is related to invasive potential and malignant outcomes in esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Tumour Biol*, 2017, 39(6): 101042831770040.
- [12] Wu Y, Yang Y, Xian YS. HCRP1 inhibits cell proliferation and invasion and promotes chemosensitivity in esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Chem Biol Interact*, 2019, 308: 357-63.
- [13] de la Fouchardiere C, Decoster L, Samalin E, et al. Advanced oesophago-gastric adenocarcinoma in older patients in the era of immunotherapy. A review of the literature [J]. *Cancer Treat Rev*, 2021, 100: 102289.
- [14] Song H, Zhu JW, Lu DH. Molecular-targeted first-line therapy for advanced gastric cancer [J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2016, 2016(7): 1-62.
- [15] Bockorny B, Pectasides E. The emerging role of immunotherapy in gastric and esophageal adenocarcinoma[J]. *Future Oncol*, 2016, 12(15): 1833-46.
- [16] Song ZY, Wu YY, Yang JB, et al. Progress in the treatment of advanced gastric cancer [J]. *Tumour Biol*, 2017, 39(7): 101042831771462.
- [17] Krishnan K, Moens PDJ. Structure and functions of profilins [J]. *Biophys Rev*, 2009, 1(2): 71-81.
- [18] Witke W, Sutherland JD, Sharpe A, et al. Profilin I is essential for cell survival and cell division in early mouse development [J]. *PNAS*, 2001, 98(7): 3832-6.
- [19] Schweinhuber SK, Meßerschmidt T, Hänsch R, et al. Profilin isoforms modulate astrocytic morphology and the motility of astrocytic processes[J]. *PLoS One*, 2015, 10(1): e0117244.
- [20] Lusciati S, Galy B, Gutierrez L, et al. The actin-binding protein profilin 2 is a novel regulator of iron homeostasis[J]. *Blood*, 2017, 130(17): 1934-45.
- [21] Yan JL, Ma CY, Gao Y. microRNA-30a-5p suppresses epithelial-mesenchymal transition by targeting profilin-2 in high invasive non-small cell lung cancer cell lines[J]. *Oncol Rep*, 2017, 37(5): 3146-54.
- [22] Zhang H, Yang WQ, Yan JL, et al. Loss of profilin2 contributes to enhanced epithelial-mesenchymal transition and metastasis of colorectal cancer[J]. *Int J Oncol*, 2018: 1118-28.
- [23] Ferrara N, Kerbel RS. Angiogenesis as a therapeutic target [J]. *Nature*, 2005, 438(7070): 967-74.
- [24] Holmes K, Roberts OL, Thomas AM, et al. Vascular endothelial growth factor receptor-2: Structure, function, intracellular signalling and therapeutic inhibition [J]. *Cell Signal*, 2007, 19(10): 2003-12.
- [25] Stüttfeld E, Ballmer-Hofer K. Structure and function of VEGF receptors [J]. *IUBMB Life*, 2009, 61(9): 915-22.
- [26] Goel HL, Mercurio AM. VEGF targets the tumour cell [J]. *Nat Rev Cancer*, 2013, 13(12): 871-82.
- [27] Siveen KS, Prabhu K, Krishnankutty R, et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) signaling in tumour vascularization: potential and challenges [J]. *Curr Vasc Pharmacol*, 2017, 15(4): 339-51.
- [28] Huang JF, Zhang XL, Tang Q, et al. Prognostic significance and potential therapeutic target of VEGFR2 in hepatocellular carcinoma [J]. *J Clin Pathol*, 2011, 64(4): 343-8.
- [29] Cancer Genome Atlas Research Network. Comprehensive molecular characterization of gastric adenocarcinoma [J]. *Nature*, 2014, 513(7517): 202-9.
- [30] Tejani M, Cheung E, Eisenberg P, et al. Phase I results from the phase 1/3 FIGHT study evaluating bemarituzumab and mFOLFOX6 in advanced gastric/GEJ cancer (GC) [J]. *J Clin Oncol*, 2019, 37(4_suppl): 91.

(编辑:余诗诗)