

南蛇藤提取物通过 Cofilin1 抑制胃癌 BGC-823 细胞转移的机制

王海波^{1,2}, 倪腾洋^{1,2}, 冯俊^{1,2}, 李丹^{1,2}, 金凤^{1,2},
王维民¹, 朱光^{1,2}, 戴小军¹, 陶立德^{1,2}, 陶丽¹, 刘延庆^{1,2*}

(1. 国家中医药管理局胃癌毒邪论治重点研究室, 江苏省中西医结合老年病防治重点实验室, 扬州大学肿瘤防治重点实验室, 江苏扬州 225009; 2. 扬州大学附属医院, 江苏扬州 225009)

[摘要] 目的:探讨南蛇藤乙酸乙酯提取物(*Celastrus orbiculatus* extract, COE)抑制胃癌侵袭转移的作用及其机制。为胃癌的中医药预防与治疗寻求新的靶点,为开发有效的抗胃癌中药奠定理论和实验基础。方法:利用前期蛋白质二维电泳技术,在胃癌中筛选出 COE 作用于胃癌的差异大的靶点蛋白。然后利用蛋白免疫印迹法(Western blot)检测 COE(20, 40, 80 mg·L⁻¹)干预后细胞中丝切蛋白 1(Cofilin 1, CFL1)水平的表达情况。最后利用分子克隆技术,将胃癌细胞株 BGC-823 中的 CFL1 表达抑制,然后联合 COE 进行干预,检测 COE 是否能影响胃癌细胞的侵袭转移。结果:在前期实验基础上经过细胞水平的验证,CFL1 能够在胃癌细胞中稳定高表达;Western blot 结果显示,COE 能抑制胃癌细胞中 CFL1 的表达,经不同质量浓度 COE(20, 40, 80 mg·L⁻¹)处理 24 h 的 BGC-823 细胞,其 CFL1 的水平受到了不同程度的抑制。随着 COE 的浓度递增,CFL1 的表达逐渐减弱。与空白组比较,COE40, 80 mg·L⁻¹组 CFL1 表达显著减少($P < 0.01$);利用小干扰 RNA(siRNA)技术干扰胃癌 BGC-823 细胞株后,CFL1 表达受到明显抑制,与空白组比较,siRNA-CFL1 慢病毒转染组 BGC-823 细胞中 CFL1 受到显著抑制($P < 0.01$);细胞侵袭实验(transwell)显示 COE 能显著减少胃癌 BGC-823 细胞敲低表达后细胞的透膜细胞数($P < 0.01$)。结论:COE 能明显抑制胃癌 BGC-823 细胞的转移,其机制可能与抑制 CFL1 的过度表达有关。

[关键词] 南蛇藤提取物; 中医药; 胃癌; 丝切蛋白; 侵袭转移

[中图分类号] R22; R242; R273; R2-031; R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)19-0112-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20181921

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180712.1050.017.html>

[网络出版时间] 2018-07-16 9:37

Effect of *Celastrus orbiculatus* Extract in Inhibiting Metastasis of Gastric Cancer BGC-823 Cells via Cofilin1

WANG Hai-bo^{1,2}, NI Teng-yang^{1,2}, FENG Jun^{1,2}, LI Dan^{1,2},
JIN Feng^{1,2}, WANG Wei-min¹, ZHU Guang^{1,2}, DAI Xiao-jun¹,
TAO Li-de^{1,2}, TAO Li¹, LIU Yan-qing^{1,2*}

(1. Key Laboratory of Toxic Pathogens-Based Therapeutic Approaches of Gastric Cancer, State Administration of Traditional Chinese Medicine, Jiangsu Key Laboratory of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine for Prevention and Treatment of Senile Disease, Key Laboratory of Cancer Prevention and Treatment, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China;
2. Affiliated Hospital of Yangzhou University, Yangzhou 225009, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the role and mechanism of *Celastrus orbiculatus* extract (COE) in inhibiting the metastasis of gastric cancer, in order to seek new targets in preventing and treating gastric cancer with traditional Chinese medicine and lay a theoretical and experimental foundation for the development of effective anti-

[收稿日期] 20180308(002)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81773944);江苏省研究生科研创新计划项目(KYCX17_1892);扬州大学优秀博士学位论文基金项目

[第一作者] 王海波,博士,执业医师,从事中西医结合临床肿瘤学研究,E-mail: whbosy@163.com

[通信作者] *刘延庆,教授,主任中医师,博士生导师,从事中西医结合临床肿瘤学研究,E-mail: liuyq@yzu.edu.cn

gastric cancer drugs are very important. **Method:** According to the results of the previous two-dimensional electrophoresis experiment, the differentially expressed target proteins of COE (20, 40, 80 mg·L⁻¹) in gastric cancer were screened out. Then the expression of Cofilin 1 (CFL1) in the gastric cancer cells after COE intervention was detected by Western blot. Finally, the molecular cloning technique was used to inhibit the expression of CFL1 in gastric cancer BGC-823 cells, then COE was used to detect whether it could affect the metastasis of gastric cancer cells. **Result:** CFL1 was stably overexpressed in gastric cancer cells based on previous experiments. Western blot results showed that COE inhibited the expression of CFL1 ($P < 0.01$). Various concentrations of COE (20, 40, 80 mg·L⁻¹) inhibited the expression of CFL1 in BGC-823 cells. And the expression of CFL1 was significantly inhibited by small interfering RNA (siRNA) ($P < 0.01$). The transwell experiments showed that COE markedly reduced the number of transmembrane cells in low expressed BGC823 cells, with statistically significant differences ($P < 0.01$). **Conclusion:** COE could significantly inhibit the metastasis of gastric cancer BGC-823 cells, and its mechanism may be related to the inhibition of overexpression of CFL1.

[**Key words**] *Celastrus orbiculatus* extract; traditional Chinese medicine; gastric cancer; cofilin; metastasis

胃癌是我国常见的消化系统肿瘤,其发病率和死亡率均位于消化系统肿瘤之首,根据我国 2013—2014 年的癌症统计,从发病率和死亡率来看,胃癌已经成为仅次于肺癌的第二大癌种,严重威胁着人民的健康^[1-2]。在胃癌早期筛查普及率不高的地区,由于胃癌的症状不典型,不易被早期诊断,多数患者到医院就诊时已是进展期或者晚期^[3-4]。对于胃癌的治疗,手术仍是目前最主要的手段,但是对于中晚期胃癌,手术治疗后的转移和复发几乎成了制约生存率、提高生存率最关键的问题。鉴于目前化疗药物的昂贵价格,远远超出多数患者的经济能力,因此能够开发出有效的经济实惠的抗胃癌侵袭转移的药物显得十分迫切和重要。最近研究表明,中草药的复方、提取物和单体显示出了广泛的抗肿瘤优势,已成为目前抗肿瘤药物研究中的重要部分。传统中药南蛇藤 *Celastrus orbiculatus* 又名过山风、降龙草,属卫矛科南蛇藤属植物,其根、茎、叶、果实、种子均可入药。课题组前期已获得南蛇藤茎乙酸乙酯提取物及其制备及应用的专利授权(授权号 200710025343.3)。前期实验研究显示,南蛇藤乙酸乙酯提取物(COE)具有明显的抗肿瘤作用,能够抑制多种恶性肿瘤细胞生长并诱导其凋亡^[5-8],也可以抑制多种恶性肿瘤的侵袭转移和增殖^[9-11],但其对于胃癌的抑制作用,其靶点及信号通路尚不十分清楚。本研究在前期蛋白质二维电泳筛选靶点的基础上,从细胞水平进行验证,运用蛋白免疫印迹法(Western blot)分析了 COE 对丝切蛋白 1(CFL1)的表达影响,并运用分子生物学技术,对潜在靶点进行了抑制,进一步佐证南蛇藤提取物抑制胃癌的靶点,

阐明 COE 抑制胃癌侵袭转移的作用机制,寻找潜在的靶点。

1 材料

1.1 南蛇藤有效成分的提取 南蛇藤(广州致信合药业有限公司,批号 070510),经中国药科大学中药资源研究所鉴定,属卫矛科植物 *Celastrus orbiculatus* 的干燥茎。南蛇藤茎经本课题组合作方,中国药科大学王强教授课题组完成萜类化合物的提取及鉴定^[12]。提取流程,同批次购买的南蛇藤茎,切断,烘干,进行机械粉碎,烘干,再粉碎成粉末,95%乙醇回流提取 3 次,回收溶剂得到浸膏将浸膏与硅藻土拌匀,真空低温抽干,随后用乙酸乙酯热水浴回流加热,过滤,回收得到乙酸乙酯浸膏(其中总萜类化合物含量 68.3%),提取物得率约 2%。

1.2 细胞 人胃癌细胞株 BGC-823,SGC-7901 购自中国科学院上海细胞库,编号分别为 TCHu 11, TCHu 46,正常胃黏膜细胞 GES 购自 ATCC 生物资源中心,编号为 28200。

1.3 试剂及抗体 RPMI 1640 培养基(美国 Hyclone 公司,批号 SH30809.01);胎牛血清(FBS,美国 Gibco 公司,批号 1874905);CFL1, β -肌动蛋白(β -actin)单克隆抗体(美国 Cell Signaling 公司,批号分别为 8503S,4970);BCA 定量试剂盒(上海碧云天公司,批号 P0011);HRP 标记的羊抗兔免疫球蛋白(Ig)G 二抗(杭州华安生物公司,批号 HA1001)。

1.4 仪器 SERIES 8000 WJ 型恒温培养箱(美国 Thermo 公司);EnSpire 型号全自动酶标仪(美国 PerkinElmer 公司);IX73 型倒置荧光显微镜(日本 Olympus 公司);mini X25 型垂直电泳仪,ChemiDoc

XRS + 型凝胶成像系统, Universar Hood III 蛋白凝胶分析系统(美国 Bio-Rad 公司)。

2 方法

2.1 细胞培养与传代 人胃癌细胞株 BGC-823 细胞培养在含有 10% FBS 的 1640 培养基中, 常规培养于 37 °C 含 5% CO₂ 的培养箱中。显微镜下观测, 细胞到 70% ~ 85%, 用胰蛋白酶消化细胞备用。

2.2 药物分组 取 COE 1.6 g 融于 DMSO 1 mL 中, 配制成 160 g·L⁻¹ 的母液, 在后续实验中用 2% FBS 的 1640 培养基稀释成 20, 40, 80 mg·L⁻¹ 的质量浓度梯度进行研究, 空白组只加含 2% FBS 的 1640 培养基。

2.3 CFL1 在不同胃癌细胞系以及人正常胃黏膜细胞中的表达 为了进一步确定 CFL1 在胃癌中的作用, 胃癌不同细胞系和正常胃黏膜细胞被用来检测 CFL1 在不同细胞系中的差异表达。将不同细胞系接种于 6 孔板中, 24 h 后提取总蛋白, 进行凝胶电泳实验, 电转膜, 全自动蛋白免疫印迹法 (Western blot) 系统分析。

2.4 Western blot 检测 COE 对人胃癌细胞中 CFL1 蛋白表达 取对数生长期的人胃癌细胞 BGC-823 接种于 6 孔板中, 在培养箱中培养过夜。再分别给予 COE (20, 40, 80 mg·L⁻¹) 作用细胞 24 h 后收集细胞总蛋白。将细胞培养液移除, 磷酸盐缓冲液 (PBS) 洗 2 遍, 每孔加入裂解液 100 μL, 冰上裂解 30 min, 用细胞刮刮下细胞。收集裂解液体, 充分吹匀, 12 000 r·min⁻¹ 离心 20 min, 收集上清, BCA 测总蛋白浓度, 平衡每孔浓度后, 加入上样缓冲液后煮蛋白 5 min, 进行 15% 的 SDS-PAGE 电泳, 110 V, 90 min 电泳结束将蛋白点转移到 PVDF 膜上, 5% 脱脂牛奶室温封闭 2 h, 一抗 (1:1 000) 4 °C 孵育过夜, TBST 洗 3 遍, 每次 10 min。二抗 (1:2 000) 室温孵育 2 h, TBST 洗 3 遍, 采用凝胶成像系统拍照观察结果, 使用 Image J 软件进行条带灰度值分析。

2.5 慢病毒转染, 抑制胃癌细胞中 CFL1 表达 为了进一步明确 CFL1 与胃癌侵袭转移之间的关系, 利用分子生物学技术构建包装 siRNA-CFL1 慢病毒, 抑制 CFL1 在细胞中的表达。首先, 取对数生长期的人胃癌细胞 BGC-823, 以每孔 5 × 10⁴ 个细胞数接种于 6 孔板中过夜。然后将慢病毒加入培养液中, 继续孵育 24 h 后, 换上新鲜的培养基, 再过 24 h 后荧光显微镜下观察转染效率。随后用 Western blot 验证 CFL1 的抑制效果。

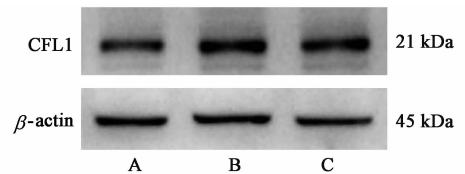
2.6 transwell 检测 COE 通过 CFL1 抑制胃癌侵袭

转移 为了验证 CFL1 和 COE 对胃癌转移的抑制作用, 取对数生长期的胃癌细胞 BGC-823, siRNA-BGC-823, 调整密度至 1 × 10⁵ 个/mL, 分别接种细胞悬液 200 μL 于小室的上部, 下室加入含 10% FBS 的 1640 培养基。继续培养 24 h, 取出小室, 用棉签轻轻去除上室的细胞, 甲醇固定 20 min, 0.1% 结晶紫室温下染色 20 min, PBS 轻轻冲洗, 显微镜下取 5 个视野统计。

2.7 统计学分析 所有数据用 SPSS 19.0 统计软件进行处理分析, 所有统计结果均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用 *t* 检验, 多组组间比较采用完全随机设计的单因素方差分析, 组间两两比较用 LSD 进行分析, *P* < 0.05 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 CFL1 在不同胃癌细胞系和正常人胃黏膜细胞中的表达情况 与正常胃黏膜 GES 细胞组比较, BGC-823, SGC-7901 细胞组中 CFL1 蛋白的表达明显增高 (*P* < 0.05, *P* < 0.01), 见图 1, 表 1。提示 CFL1 在胃癌细胞中异常过表达。



A. GES 细胞; B. BGC-823 细胞; C. SGC-7901 细胞

图 1 CFL1 在不同胃癌细胞系中蛋白表达电泳

Fig. 1 Electrophoresis of CFL1 in different gastric cancer cell lines

表 1 CFL1 在不同胃癌细胞系中蛋白表达 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

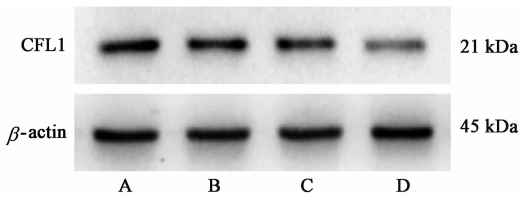
Table 1 Expression of CFL1 in different gastric cancer cell lines ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	CFL1/β-actin
GES 细胞	1.00 ± 0.36
BGC-823 细胞	1.97 ± 0.97 ²⁾
SGC-7901 细胞	1.59 ± 0.53 ¹⁾

注: 与 GES 细胞组 GES 细胞比较¹⁾ *P* < 0.05, ²⁾ *P* < 0.01。

3.2 COE 对人胃癌细胞 BGC-823 中 CFL1 表达的影响 经不同质量浓度的 COE 处理 24 h 的 BGC-823 细胞, 随着 COE 的浓度递增, CFL1 的表达在逐渐减弱。与空白组比较, COE 40, 80 mg·L⁻¹ 组 CFL1 的表达显著减少 (*P* < 0.01), 见图 2, 表 2。提示 COE 可显著减少 CFL1 蛋白的表达, 并呈浓度依赖性。

3.3 慢病毒转染对人胃癌细胞株 BGC-823 中 CFL1 的影响 siRNA-CFL1 慢病毒转染后采用荧光倒置



A. 空白组; B~D. COE(20, 40, 80 mg·L⁻¹)组

图 2 经 COE 干预后胃癌细胞 BGC-823 中 CFL1 蛋白表达电泳

Fig. 2 Electrophoresis of COE on expression of CFL1 in BGC-823 cells

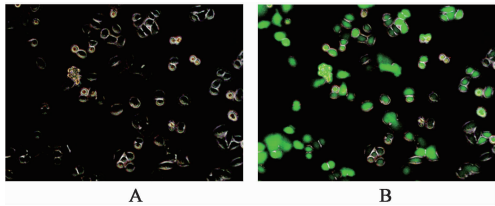
表 2 COE 对胃癌细胞 BGC-823 中 CFL1 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Table 2 Effect of COE effect on expression of CFL1 in BGC-823 cells ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

组别	质量浓度/mg·L ⁻¹	CFL1/ β -actin
空白	-	1.00 \pm 0.88
COE	20	0.90 \pm 0.13
	40	0.57 \pm 0.44 ²⁾
	80	0.31 \pm 0.66 ²⁾

注: 与空白组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ (表 3 同)。

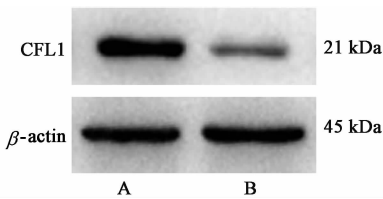
显微镜观察发现该胃癌细胞带有绿色荧光(图 3)。与空白组比较, siRNA-CFL1 慢病毒转染组 BGC-823 细胞中 CFL1 表达显著降低 ($P < 0.01$), 见图 4, 表 3。



A. Bright filed 组; B. Meger 组

图 3 慢病毒转染对人胃癌细胞株 BGC-823 中 CFL1 的影响 (荧光倒置显微镜, $\times 100$)

Fig. 3 Effect of lentiviral transfection on CFL1 in BGC-823 cells (fluorescent inverted microscope, $\times 100$)



A. 空白组; B. siRNA-CFL1 慢病毒转染组

图 4 siRNA-CFL1 慢病毒转染后 BGC-823 细胞中 CFL1 蛋白表达电泳

Fig. 4 Electrophoresis of CFL1 protein in control group and siRNA-CFL1 lentivirus transfection group

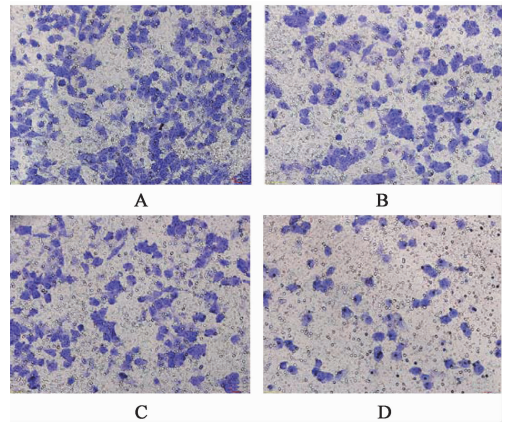
3.4 COE 对 BGC-823, siRNA-BGC-823 细胞转移的

表 3 空白组和 siRNA-CFL1 慢病毒转染组中 CFL1 蛋白表达变化 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Table 3 Changes in expression of CFL1 protein in control group and siRNA-CFL1 lentivirus transfection group ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

组别	CFL1/ β -actin
空白	1.00 \pm 0.05
慢病毒转染	0.12 \pm 0.02 ²⁾

影响 与空白组比较, COE 干预的 BGC-823 细胞和 siRNA-BGC-823 组细胞透膜数显著减少 ($P < 0.01$), 见图 5, 表 4。



A. siRNA-空白组; B. siRNA-CFL1 组; C. siRNA-空白 + COE 40 mg·L⁻¹组; D. siRNA-CFL1 + COE 40 mg·L⁻¹组

图 5 COE (40 mg·L⁻¹) 干预对 BGC-823 细胞和 siRNA-BGC-823 细胞侵袭的影响

Fig. 5 Effect of COE on invasion of BGC-823 and siRNA-BGC-823 cells

表 4 COE 对 BGC-823 细胞和 siRNA-BGC-823 细胞转移的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Table 4 Effect of COE on invasion of BGC-823 and siRNA-BGC-823 cells ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

组别	质量浓度/mg·L ⁻¹	24 h 侵袭细胞数目
siRNA-空白	-	100.00 \pm 4.04
siRNA-CFL1	-	56.67 \pm 4.06 ¹⁾
siRNA-空白 + COE	40	63.67 \pm 4.10 ¹⁾
siRNA-CFL1 + COE	40	30.33 \pm 3.28 ²⁾

注: 与 siRNA-空白组比较¹⁾ $P < 0.01$; 与 siRNA-空白 + COE 组比较²⁾ $P < 0.01$ 。

4 讨论

胃癌作为常见的消化道肿瘤之一, 其发病率和死亡率都高居第 2 位。尤其在某些农村地区, 其死亡率和发病率高居第 1 位^[13-14]。由于其早期症状不典型, 缺乏特异性强的分子诊断指标, 在确诊时患者常常处于进展期。早期胃癌的手术治疗 5 年生存率非常高, 但对于中晚期胃癌, 术后的复发和转移严重限制了生

存率的提高。因此寻找抑制胃癌转移的分子靶标,研发有效的抗胃癌转移的药物尤为重要。

中草药被认为是“人类的瑰宝”^[15],一些具有抗肿瘤作用的中草药制剂在中国已被沿用了几千年。如今,中草药作为抗肿瘤药物研究的热点,其抗肿瘤机制正在被逐步挖掘。CFL1 是一种参与调控肿瘤细胞侵袭与转移的重要分子,其作用是通过聚合、解聚纤丝状肌动蛋白(F-actin)来使细胞骨架发生改变,重构细胞的伪足与片层结构,从而调节细胞的运动与侵袭^[16]。研究表明,CFL1 的表达能够降低细胞与细胞外基质间的黏附,活化 CFL1 能够使 actin 链延长从而产生新的片状伪足,并确定肿瘤细胞运动的方向,而沉默 CFL1 会增加细胞与细胞外基质间的黏附^[17-18]。不仅如此,CFL1 还能通过诱导细胞骨架重塑调控上皮间质转化过程,上皮间质转化是肿瘤细胞侵袭与转移的重要过程^[19-20]。由此可以肯定 CFL1 在调控肿瘤侵袭转移方面发挥了举足轻重的作用。

本实验表明,相对于正常胃黏膜上皮细胞,CFL1 蛋白在胃癌细胞中高表达,并且在经 COE 干预后,CFL1 蛋白的表达明显下调,并呈浓度依赖性,表明 COE 能够明显抑制 CFL1 蛋白的表达。此外,与空白组比较,经 COE 干预的 BGC-823 细胞的侵袭转移能力明显下降。由此得出结论,COE 能明显抑制 BGC-823 细胞的转移,其机制可能与抑制 CFL1 的过度表达有关。COE 是如何下调 CFL1 蛋白的表达,并且其中有何信号途径参与,有待进一步研究。

[参考文献]

[1] Fock K M. Review article: the epidemiology and prevention of gastric cancer [J]. Aliment Pharmacol Ther, 2014, 40(3): 250-260.

[2] QU Y, DANG S, HOU P. Gene methylation in gastric cancer[J]. Clin Chim Acta, 2013, 424(9): 53-65.

[3] MD C P W, MPH Z R, PHD D B P, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(2): 115-132.

[4] 邹文斌,李兆申. 中国胃癌发病率及死亡率研究进展[J]. 中国实用内科杂志, 2014, 34(4): 408-415.

[5] 顾昊,王海波,冯俊,等. 南蛇藤茎提取物对人胶质母细胞瘤细胞株 U251 增殖和凋亡的影响及机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(17): 115-120.

[6] 朱耀东,刘延庆,李平. 南蛇藤提取物对人胃癌 SGC-7901 细胞蛋白组学的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(2): 86-90.

[7] 曹玲,钱亚云,刘延庆,等. 南蛇藤提取物对高表达 maspin 的人胃癌 MGC-803 细胞凋亡的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(14): 97-101.

[8] YANG L, LIU Y, WANG M, et al. Celastrus orbiculatus extract triggers apoptosis and autophagy via PI3K/Akt/mTOR inhibition in human colorectal cancer cells[J]. Oncol Lett, 2016, 12(5): 3771-3778.

[9] 王海波,顾昊,赵雪煜,等. 南蛇藤提取物通过调控基质金属蛋白酶组及其抑制因子抑制人胃癌 SGC-7901 细胞侵袭转移的研究[J]. 中草药, 2016, 47(8): 1345-1350.

[10] 员林,张华,钱亚云,等. 南蛇藤提取物含药血清对小鼠肝癌 Hepa1-6 细胞的增殖能力和 VEGF-c 表达水平的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(11): 157-160.

[11] 杨庆伟,刘延庆,刘为为,等. 南蛇藤总萜提取物对肝癌 7721 细胞侵袭转移能力的影响[J]. 中草药, 2009, 40(3): 434-437.

[12] QIAN Y Y, ZHANG H, LIU Y, et al. Celastrus orbiculatus extract inhibits tumor angiogenesis by targeting vascular endothelial growth factor signaling pathway and shows potent antitumor activity in hepatocarcinomas *in vitro* and *in vivo* [J]. Chin J Integr Med, 2012, 18(10): 752-760.

[13] Sitarz R, Skierucha M, Mielko J, et al. Gastric cancer: epidemiology, prevention, classification, and treatment [J]. Cancer Manag Res, 2018, 10(2): 239-248.

[14] Looor A, Dumitrașcu D L. *Helicobacter pylori* infection, gastric cancer and gastropanel [J]. Rom J Intern Med, 2016, 54(3): 151-156.

[15] YUAN D, YANG X, GUO J C. A great honor and a huge challenge for China: you-you TU getting the nobel prize in physiology or medicine [J]. J Zhejiang Univ Sci B, 2016, 17(5): 405-408.

[16] Sidani M, Wessels D, Mouneimne G, et al. Cofilin determines the mi-gration behavior and turning frequency of metastatic cancer cells [J]. J Cell Biol, 2007, 179(4): 777-791.

[17] Moriyama K, Yahara I. Human CAP1 is a key factor in the recycling of cofilin and actin for rapid actin turnover [J]. J Cell Sci, 2002, 115(8): 1591-1601.

[18] Estornes Y, Gay F, Gevrey J C, et al. Differential involvement of destrin and cofilin-1 in the control of invasive properties of Isrecol human colon cancer cells [J]. Int J Cancer, 2007, 121(10): 2162-2171.

[19] WANG H, TAO L, JIN F, et al. Cofilin 1 induces the epithelial-mesenchymal transition of gastric cancer cells by promoting cytoskeletal rearrangement [J]. Oncotarget, 2017, 8(24): 39131-39142.

[20] ZHU Y, LIU Y, QIAN Y, et al. Antimetastatic effects of *Celastrus orbiculatus* on human gastric adenocarcinoma by inhibiting epithelial-mesenchymal transition and NF- κ B/snail signaling pathway [J]. Integr Cancer Ther, 2015, 14(3): 271-281.

[责任编辑 张丰丰]