

· 论 著 ·

## stathmin 蛋白促进人 SMMC-7721 肝癌细胞增殖侵袭能力\*

龚 舒<sup>1</sup>, 陶忠桦<sup>1</sup>, 刘晓燕<sup>1</sup>, 郭 坤<sup>2</sup>, 刘银坤<sup>2</sup>, 甘 淋<sup>1△</sup>

(1. 泸州医学院医学基础研究中心, 四川泸州 646000; 2. 复旦大学附属中山医院肝癌研究所, 上海 200032)

**摘 要:**目的 构建微管解离蛋白 stathmin 过表达的人 SMMC-7721 肝癌细胞株, 并探讨 stathmin 过表达对肝癌细胞增殖侵袭的影响。方法 采用脂质体将 Flag-pcDNA3.1-stathmin 重组质粒和 Flag-pcDNA3.1 空质粒分别转染入 SMMC-7721 肝癌细胞, 抗生素加压筛选, 构建稳定表达 stathmin 的 SMMC-7721 细胞(实验组), 以稳转空质粒的细胞为对照组, Western blot 对建系细胞进行鉴定。采用 CCK-8 和软琼脂克隆形成实验检测细胞增殖; 流式细胞术(FCM)检测细胞凋亡和细胞周期; 体外细胞运动侵袭实验(Transwell)测定细胞的运动、侵袭能力。结果 实验组中 stathmin 的表达  $0.76 \pm 0.12$  较对照组  $0.16 \pm 0.05$  明显增加 ( $P < 0.05$ ), 成功构建了过表达 stathmin 的人 SMMC-7721 肝癌细胞株; CCK-8 和软琼脂克隆形成实验显示, 实验组的细胞增殖较对照组明显增加 ( $A_{450} 0.60 \pm 0.05$  vs.  $0.29 \pm 0.03$ ,  $P < 0.01$ ); 实验组细胞凋亡降低 [ $(5.80 \pm 0.33)\%$  vs.  $(11.57 \pm 1.09)\%$ ,  $P < 0.05$ ], 细胞周期阻滞在  $G_2/M$  期; Transwell 实验结果证实, 与对照组比较, 实验组细胞运动和侵袭能力均显著加强[运动实验透膜细胞数:  $(54.03 \pm 7.21)$  个 vs.  $(130.45 \pm 14.13)$  个; 侵袭实验透膜细胞数:  $(17.75 \pm 2.52)$  个 vs.  $(57.76 \pm 8.50)$  个], 差异均有统计学意义 ( $P < 0.01$ )。结论 stathmin 的过表达能促进人 SMMC-7721 肝癌细胞的增殖侵袭能力。

**关键词:** stathmin; 肝肿瘤; 细胞增殖; 肿瘤浸润; 肿瘤转移

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2014.10.005

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2014)10-1168-03

## Stathmin for promoting cell proliferation and invasion ability in human SMMC-7721 hepatocellular carcinoma cells\*

Gong Shu<sup>1</sup>, Tao Zhonghua<sup>1</sup>, Liu Xiaoyan<sup>1</sup>, Guo Kun<sup>2</sup>, Liu Yinkun<sup>2</sup>, Gan Lin<sup>1△</sup>

(1. Research Center for Preclinical Medicine, Luzhou Medical College, Luzhou, Sichuan 646000, China;

2. Institution of Liver Cancer, Affiliated Zhongshan Hospital, Fudan University, Shanghai 200032, China)

**Abstract:** Objective To construct the stable stathmin-overexpression SMMC-7721 hepatocellular carcinoma cells and to explore the effect of stathmin-overexpression on the cell proliferation and metastasis in SMMC-7721 cells. **Methods** By using liposome, Flag-pcDNA3.1 and Flag-pcDNA3.1-stathmin plasmid were transfected into SMMC-7721 cells respectively, the stable Flag-pcDNA3.1 expression cells(control group) and the stable stathmin-overexpression cells(experimental group) were established after antibiotic resistant gene screening, and the cell lines were identified by Western Blot. Subsequently, the cell proliferation was detected by cell count kit(CCK-8) and the soft agar assay, the apoptosis and cell cycle were determined by the flow cytometry(FCM), and the cell motility and invasion were analyzed by the Transwell assay in vitro. **Results** The stathmin protein expression of the experimental group was significantly increased compared with the control group ( $0.76 \pm 0.12$  vs.  $0.16 \pm 0.05$ ,  $P < 0.05$ ), which indicated that the stathmin-overexpression human SMMC-7721 hepatocellular carcinoma cell line was successfully constructed. CCK-8 and the soft agar assay showed that the cell proliferation of the experimental group was higher than that of the control group ( $0.29 \pm 0.03$  vs.  $0.60 \pm 0.05$ ,  $P < 0.01$ ); additionally, the apoptotic ratio of the experimental group was decreased compared with the control group [ $(11.57 \pm 1.09)\%$  vs.  $(5.80 \pm 0.33)\%$ ,  $P < 0.05$ ], the cell cycle was arrested in the stage  $G_2/M$ ; the Transwell experiment results verified that the cell motility and the invasive ability of the experimental group were obviously reinforced compared with the control group[transmembrane cell numbers in migrant assay:  $(54.03 \pm 7.21)$  vs.  $(130.45 \pm 14.13)$ ; transmembrane cell numbers in invasive assay:  $(17.75 \pm 2.52)$  vs.  $(57.76 \pm 8.50)$  respectively], the differences had statistical significance ( $P < 0.01$ ). **Conclusion** The overexpression of stathmin promotes the cell proliferation and the invasive ability in SMMC-7721 hepatocellular carcinoma cells.

**Key words:** stathmin; liver neoplasms; cell proliferation; neoplasm invasiveness; neoplasm metastasis

微管解离蛋白 stathmin 位于人染色体 1p36.11, 是一种广泛分布的胞浆蛋白, 其 N 端有 4 个丝氨酸磷酸化位点, 分别是 Ser16、Ser25、Ser38 和 Ser63, 由不同的信号通路所调控。而 stathmin 则通过自身的磷酸化与去磷酸化调控微管系统的动态平衡, 参与纺锤体、极体的形成; 维持细胞形态、参与细胞分化; 并在细胞周期、信号传导方面发挥重要作用<sup>[1-2]</sup>。本研究在前期工作的基础上, 构建了稳定表达 stathmin 的人 SMMC-

7721 肝癌细胞模型, 从细胞水平探讨 stathmin 过表达对肝癌细胞生长增殖、细胞凋亡、细胞周期和侵袭转移能力的影响, 解析 stathmin 过表达与肝细胞肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)发生、发展的关系, 为研究 HCC 发生、发展的分子机制提供细胞模型和理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

 Flag-pcDNA3.1-stathmin 重组质粒由 Texas 大学

Baldassarre 教授馈赠。人 SMMC-7721 肝癌细胞系由本室保存。Lipofectamine™ 2000 购自 Invitrogen 公司;DMEM 培养基和胎牛血清购自 Gibco 公司;细胞裂解液和 BCA 法蛋白浓度检测试剂盒均购自上海碧云天生物科技有限公司;增强化学发光试剂盒购自美国 Pierce 公司;兔抗人 stathmin 抗体购自 Abcam 公司;小鼠抗人 3 磷酸甘油醛脱氢酶(GAPDH)由上海康城公司分装;辣根过氧化物酶标记二抗购自美国 Santa Cruz Biotechnology 公司;Cell Counting Kit-8(CCK8)试剂盒购自日本同仁化学研究所;膜连蛋白 V-异硫氰酸荧光素凋亡试剂盒购自美国 BD 公司。

## 1.2 方法

**1.2.1 建立稳定转染 stathmin 重组质粒肝癌细胞株** 按照 Lipofectamine™ 2000 说明书操作,分别将 Flag-pcDNA3.1 空质粒和 Flag-pcDNA3.1-stathmin 重组质粒分别转染状态良好的 SMMC-7721 细胞,24 h 后加入 Hygromycin 进行药物筛选。37 ℃、5%CO<sub>2</sub> 孵箱中培养,2~3 d 换液 1 次,直至稳转细胞株构建成功。将稳定表达 Flag-pcDNA3.1-stathmin 的 SMMC-7721 细胞记为实验组,稳定表达 Flag-pcDNA3.1 空质粒的 SMMC-7721 细胞记为对照组。

**1.2.2 Western blot 检测** 分别抽提对照组和实验组细胞的总蛋白,采用 2,2-联喹啉-4,4-二甲酸钠(BCA)法测定浓度。以 35 μg 总蛋白量进行上样,十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)后 10 V 稳压电转至聚偏氟乙烯(PVDF)膜;10%脱脂奶粉封闭后加入第一抗体(stathmin 工作浓度为 1:10 000),内参甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)工作浓度为 1:5 000,4 ℃ 孵育过夜;辣根过氧化物酶标记的第二抗体(1:10 000)室温孵育 1 h;洗涤后用增强化学发光试剂于暗室曝光显影。

**1.2.3 细胞增殖实验** 分别将对照组和实验组细胞按 4.5×10<sup>3</sup> 个/孔铺板,设立空白孔(仅有培养基),每组设 5 个平行孔。置 37 ℃、5%CO<sub>2</sub> 孵箱中培养 48 h,每孔加入 CCK8 溶液 10 μL,37 ℃孵箱中温育 1 h 后用酶标仪读取各孔 A<sub>450</sub>。

**1.2.4 细胞凋亡(AnnexinV+PI)的流式细胞术(FCM)检测** 按照 AnnexinV 凋亡染色试剂盒说明书操作,收集对照组和实验组对数生长期的 SMMC-7721 细胞,磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤后行 FCM 检测,用 TreeStar FlowJo 7.5.3 软件进行数据处理。

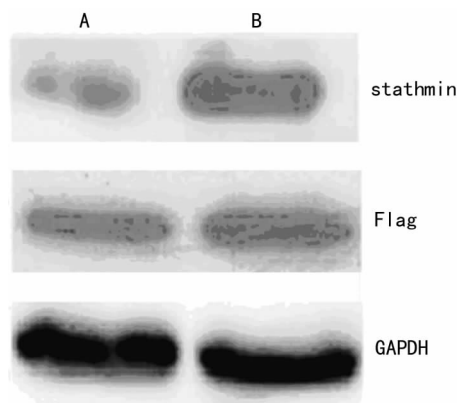
**1.2.5 细胞侵袭运动实验** 按照文献[3]进行操作。Transwell 侵袭小室上室中用 Matrigel 基质包被,37 ℃、5%CO<sub>2</sub> 孵箱中培养 6 h。分别将对照组和实验组 SMMC-7721 细胞按 1×10<sup>5</sup> 个/孔加入上室中,各设 3 个复孔。37 ℃、5%CO<sub>2</sub> 孵箱中培养 30 h 后终止实验。4%多聚甲醛室温固定,吉姆萨(Giemsa)染色,显微镜观察结果。细胞运动实验除 Transwell 侵袭小室上室不用 Matrigel 基质包被外,其余步骤同细胞侵袭实验。

**1.2.6 软琼脂克隆形成实验** 分别将实验组和对照组 SMMC-7721 细胞制备为单细胞悬液备用。以终浓度 0.6%琼脂糖铺制底层琼脂,37 ℃细胞孵箱温育 30 min;以终浓度 0.3%顶层琼脂稀释单细胞悬液至细胞浓度为 2 500 个/mL,分别接种至已包被底层琼脂的 6 孔板中。置于细胞孵箱中培养 14~20 d,观察细胞的克隆生长状况,照相并进行计算。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS11.0 统计软件进行分析。数据均采用  $\bar{x} \pm s$  表示,多组间比较采用单因素方差分析(ANOVA),组间两两比较采用配对 *t* 检验,以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

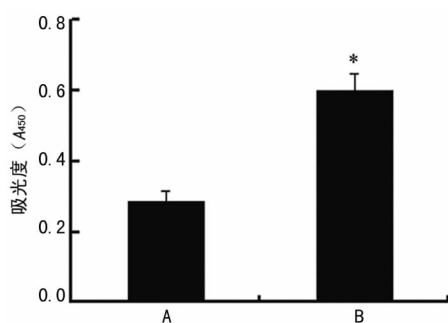
**2.1 过表达 stathmin 人 SMMC-7721 肝癌细胞株的建立和鉴定** 用 Flag 抗体检测新建细胞株的转染效率,Western blot 检测结果显示,对照组与实验组中 Flag 蛋白的相对表达量差异无统计学意义( $0.48 \pm 0.09$  vs.  $0.52 \pm 0.09$ , *P*>0.05),转染效率一致。实验组中 stathmin 蛋白相对表达量较对照组显著增高( $0.76 \pm 0.12$  vs.  $0.16 \pm 0.05$ , *P*<0.05),证实稳定表达 stathmin 蛋白的 SMMC-7721 肝癌细胞株建立成功,见图 1。



A:对照组;B:实验组。

图 1 稳转细胞株中 stathmin 和 Flag 的表达

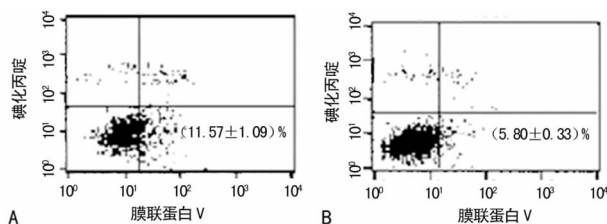
**2.2 stathmin 过表达可促进 SMMC-7721 细胞增殖** CCK-8 法结果显示,与对照组比较, stathmin 过表达的实验组细胞 A<sub>450</sub> 明显增加( $0.29 \pm 0.03$  vs.  $0.60 \pm 0.05$ , *P*<0.01),见图 2。



A:对照组;B:实验组;\*:*P*<0.01,与对照组比较。

图 2 CCK-8 检测细胞增殖

**2.3 stathmin 过表达对 SMMC-7721 细胞株细胞凋亡的影响** 对照组和实验组细胞凋亡率分别为( $11.57 \pm 1.09$ )%和( $5.80 \pm 0.33$ )%(图 3),实验组细胞凋亡被抑制(*P*<0.05); stathmin 高表达的 SMMC-7721 细胞明显阻滞于 G<sub>2</sub>/M 期, FCM 检测结果发现,与对照组(G<sub>2</sub>/M:5.75%)比较,实验组细胞(G<sub>2</sub>/M:13.06%)被明显阻滞在 G<sub>2</sub>/M 期。

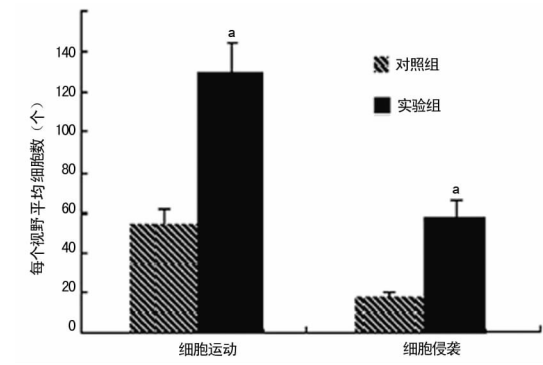


A:对照组;B:实验组。

图 3 FCM 检测细胞凋亡情况

**2.4 stathmin 过表达对 SMMC-7721 细胞运动侵袭能力的影响** 与对照组细胞相比较,实验组细胞运动、侵袭能力均显著

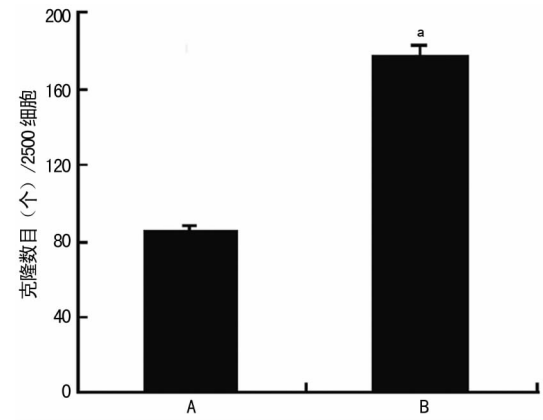
增高[运动实验透膜细胞数:(54.03±7.21)个 vs. (130.45±14.13)个;侵袭实验透膜细胞数:(17.75±2.52)个 vs. (57.76±8.50)个],差异均有统计学意义( $P<0.01$ ),见图 4。



a:  $P<0.01$ ,与对照组比较

图 4 Transwell 法检测两组细胞运动及侵袭能力

2.5 stathmin 过表达对 SMMC-7721 细胞软琼脂克隆形成率的影响 与对照组细胞克隆形成数(81.70±9.71)比较, SMMC-7721 实验组细胞克隆形成数(173.60±14.53)显著增高( $P<0.01$ ),见图 5。



A: 对照组; B: 实验组; a:  $P<0.01$ ,与对照组比较。

图 5 软琼脂克隆形成实验分析两组细胞克隆形成情况

3 讨 论

HCC 是中国一种常见的恶性肿瘤,其发展迅速,易转移;目前手术仍是主要治疗方法,但是术后易复发,故病死率高,居中国恶性肿瘤死亡率的第 2 位<sup>[4-5]</sup>。肝癌发生、发展的分子机制尚不清楚,故阐明肝癌的发生、发展机制,筛查有效的分子诊疗靶点,对降低肝癌患者的发病率和复发率,提高患者的生存质量和预后具有重要意义。

stathmin 作为重要的微管解离蛋白,传统的研究主要集中在微管解聚、极体形成、细胞形态、细胞周期等方面;但是近年来越来越多的研究显示 stathmin 可能在肿瘤发生、发展过程中发挥作用。有文献报道 stathmin 在多种肿瘤中表达上调,如乳腺癌、前列腺癌、肺癌、肉瘤、淋巴瘤等<sup>[6-8]</sup>,且 stathmin 表达增加与肿瘤 TMN 分期、进程和预后具有相关性<sup>[9-11]</sup>。但是 stathmin 如何参与肝癌发生、发展的分子机制仍不清楚。

目前已有研究发现 stathmin 可能参与肝癌的发生、发展过程。Wang 等<sup>[12]</sup>在研究 p27 调控 HCC 侵袭转移的分子机制时发现,p27 与 stathmin 存在相互作用,但是高转移肝癌细胞中检测 p27 和 stathmin 的表达,发现二者的表达水平并不一致,提示 p27/stathmin 并不是调节 HCC 的侵袭转移主要途径。另有文献在研究 HCC 的治疗药物藤黄衍生物时,采用蛋

白质组学方法筛查藤黄作用肝癌细胞株的差异蛋白样点时发现,在肝癌细胞中高表达的 stathmin 可能是藤黄衍生物的主要靶点,其功能缺失能发挥抗 HCC 作用<sup>[13]</sup>。Hsieh 等<sup>[14]</sup>采用 PCR 技术在正常肝组织、未转移肝癌、伴转移的肝癌和早期复发的肝癌组织中检测 stathmin 的表达,发现 stathmin 的表达与肝癌的转移、早期复发和预后有相关性。

本课题前期研究通过 RNA 干扰的方法,在高转移的人 HCCLM3 肝癌细胞中使 stathmin 表达缺失,实验结果显示, stathmin 表达缺失可明显抑制肝癌细胞的细胞增殖,促进细胞凋亡,并显著降低肿瘤细胞的黏附、运动和侵袭能力,提示 stathmin 的表达在肝癌的发生、发展中发挥作用<sup>[15]</sup>。但是 stathmin 是一种磷酸化蛋白,可作为信号转导子广泛参与调控细胞微管稳态、维持细胞形态、调节细胞周期、细胞运动等重要细胞生理活动。这样一个多功能调控子的表达缺失必将导致细胞多个信号通路紊乱,致多种细胞功能发生改变。为了进一步证明 stathmin 与肝癌发生、发展的关系,本研究构建了 stathmin 过表达的人肝癌细胞株作为 stathmin 表达增加的细胞模型,是对前期 stathmin 敲除实验结果的反向验证。本研究选择 stathmin 表达低、侵袭转移能力弱的人 SMMC-7721 肝癌细胞中进行实验,稳定转染 stathmin 的重组质粒,构建了 stathmin 过表达的 SMMC-7721 细胞株,进而观察 stathmin 过表达与肝癌细胞增殖、凋亡、侵袭运动等变化。结果发现在 SMMC-7721 肝癌细胞中过表达 stathmin,可显著促进 SMMC-7721 细胞增殖,抑制细胞凋亡,使细胞周期阻滞在 G<sub>2</sub>/M 期,且明显增加细胞的运动和侵袭。本研究的结果与前期 stathmin 表达缺陷的结果一致,证实 stathmin 表达在肝癌致瘤过程中发挥了重要作用。

综上所述,本研究在构建 stathmin 表达肝癌细胞株的基础上,通过细胞功能实验显示, stathmin 过表达能促进 SMMC-7721 肝癌细胞的细胞增殖和侵袭、抑制细胞凋亡,不仅证实 stathmin 在肝癌发生、发展过程发挥作用;也为深入探讨 stathmin 在肝癌发生、发展的分子机制提供良好的细胞模型。

参考文献:

[1] Filbert EL, Le Borgne M, Lin J, et al. Stathmin regulates microtubule dynamics and microtubule organizing center polarization in activated T cells[J]. J Immunol, 2012, 188 (11): 5421-5427.

[2] Missimer JH, Steinmetz MO, van Gunsteren WF, et al. Influence of 63Ser phosphorylation and dephosphorylation on the structure of the stathmin helical nucleation sequence: a molecular dynamics study [J]. Biochemistry, 2012, 51(42): 8455-8463.

[3] Gan L, Li J, Guo K, et al. The effects of stathmin on cell proliferation and tumor-related genes expressions in HC-CLM3 cells[J]. Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi, 2011, 19 (8): 571-576.

[4] Tanaka M, Katayama F, Kato H, et al. Hepatitis B and C virus infection and hepatocellular carcinoma in China: a review of epidemiology and control measures[J]. J Epidemiol, 2011, 21(6): 401-416.

[5] Wong VW, Chan HL. Prevention of hepatocellular carcinoma: a concise review of contemporary issues[J]. Ann Hepatol, 2012, 11(3): 284-293. (下转第 1174 页)

胞分化<sup>[14]</sup>。有研究表明,前 B 细胞分化必须要有 c-myb 基因的存在<sup>[15]</sup>。现有研究发现 c-myb 在白血病及其他许多恶性实体肿瘤(乳腺癌、直肠癌、肝细胞癌等)组织中高表达<sup>[7]</sup>。

本研究应用 real-time PCR 及兔抗人 SENP1 抗体检测 ALL 组患者的骨髓标本 SENP1 表达情况,结果均显示 SENP1 在 ALL 组患者中较对照组高表达,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。提示 SENP1 基因在 ALL 的发生、发展中可能起一定作用。应用 real-time PCR 及鼠抗人 c-myb 抗体检测 ALL 组患者的骨髓标本 c-myb 表达情况,结果显示 c-myb 在 ALL 组患者中较对照组高表达,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。提示 c-myb 基因可能在 ALL 的发生、发展中起一定作用。同时,本研究结果发现在 ALL 组患者中 SENP1 表达与 c-myb 表达呈正相关,提示 SENP1 可能对 c-myb 有调控作用。已有文献提示,c-myb 在细胞核内能被 SUMO 化,并调节 c-myb 活性<sup>[8-9]</sup>。本研究结果为阐明 SENP1 与 c-myb 在 ALL 中的作用及机制提供了新的线索。

#### 参考文献:

- [1] Vrooman LM, Silverman LB. Childhood acute lymphoblastic leukemia: update on prognostic factors[J]. *Curr Opin Pediatr*, 2009, 21(1): 1-8.
- [2] Schuler D, Szende B. Apoptosis in acute leukemia[J]. *Leuk Res*, 2004, 28(7): 661-666.
- [3] Geiss-Friedlander R, Melchior F. Concepts in sumoylation: a decade on[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2007, 8(12): 947-956.
- [4] Yeh ET, Gong L, Kamitani T. Ubiquitin-like proteins: new wines in new bottles[J]. *Gene*, 2000, 248(1): 1-14.
- [5] Kim JH, Baek SH. Emerging roles of desumoylating enzymes[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2009, 1792(3): 155-162.
- [6] Pelicci PG, Lanfrancone L, Brathwaite MD, et al. Amplification of the c-myb oncogene in a case of human acute myelogenous leukemia[J]. *Science*, 1984, 224(9): 1117-

1121.

- [7] Thompson MA, Ramsay RG. Myb: an old oncoprotein with new roles[J]. *Bioessays*, 1995, 17(4): 341-350.
- [8] Kanei-Ishii C, Nomura T, Egoh A, et al. Fbxw5 suppresses nuclear c-myb activity via DDB1-Cul4-Rbx1 ligase-mediated sumoylation[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2012, 426(1): 59-64.
- [9] Saether T, Pattabiraman DR, Alm-Kristiansen AH, et al. A functional SUMO-interacting motif in the transactivation domain of c-Myb regulates its myeloid transforming ability[J]. *Oncogene*, 2011, 30(2): 212-222.
- [10] Hay RT. SUMO-specific proteases: a twist in the tail[J]. *Trends Cell Biol*, 2007, 17(8): 370-376.
- [11] Zhu J, Zhou J, Peres L, et al. A sumoylation site in PML/RARA is essential for leukemic transformation[J]. *Cancer Cell*, 2005, 7(2): 143-153.
- [12] Zhou YE, O'Rourke JP, Edwards JS, et al. Single Molecule Analysis of c-myb Alternative Splicing Reveals Novel Classifiers for Precursor B-ALL[J]. *PLoS One*, 2011, 6(8): 1-11.
- [13] Greig KT, Carotta S, Nutt SL. Critical roles for c Myb in hematopoietic progenitor cells[J]. *Semin Immunol*, 2008, 20(4): 247-256.
- [14] Lieu YK, Reddy EP. Conditional c-myb knockout in adult hematopoietic stem cells leads to loss of self-renewal due to impaired proliferation and accelerated differentiation[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009, 106(51): 21689-21694.
- [15] Fahl SP, Crittenden RB, Allman D, et al. C-Myb is required for pro-B cell differentiation[J]. *J Immunol*, 2009, 183(9): 5582-5592.

(收稿日期: 2013-10-14 修回日期: 2013-12-07)

(上接第 1170 页)

- [6] Belletti B, Baldassarre G. Stathmin: a protein with many tasks. New biomarker and potential target in cancer[J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2011, 15(11): 1249-1266.
- [7] Long M, Yin G, Liu L, et al. Adenovirus-mediated Aurora A shRNA driven by stathmin promoter suppressed tumor growth and enhanced paclitaxel chemotherapy sensitivity in human breast carcinoma cells[J]. *Cancer Gene Ther*, 2012, 19(4): 271-281.
- [8] Sabherwal Y, Mahajan N, Helseth DL, et al. PDEF down-regulates stathmin expression in prostate cancer[J]. *Int J Oncol*, 2012, 40(6): 1889-1899.
- [9] Tan HT, Wu W, Ng YZ, et al. Proteomic analysis of colorectal cancer metastasis: stathmin-1 revealed as a player in cancer cell migration and prognostic marker[J]. *Proteome Res*, 2012, 11(2): 1433-1445.
- [10] Li N, Jiang P, Du W, et al. Siva1 suppresses epithelial-mesenchymal transition and metastasis of tumor cells by inhibiting stathmin and stabilizing microtubules[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011, 108(31): 12851-12856.

- [11] Ke B, Wu LL, Liu N, et al. Overexpression of stathmin 1 is associated with poor prognosis of patients with gastric cancer[J]. *Tumour Biol*, 2013, 34(5): 3137-3145.
- [12] Wang XQ, Lui EL, Cai Q, et al. p27Kip1 promotes migration of metastatic hepatocellular carcinoma cells[J]. *Tumour Biol*, 2008, 29(4): 217-223.
- [13] Wang X, Chen Y, Han QB, et al. Proteomic identification of molecular targets of gambogic acid: role of stathmin in hepatocellular carcinoma[J]. *Proteomics*, 2009, 9(2): 242-253.
- [14] Hsieh SY, Huang SF, Yu MC, et al. Stathmin1 overexpression associated with polyploidy, tumor-cell invasion, early recurrence, and poor prognosis in human hepatoma[J]. *Mol Carcinog*, 2010, 49(5): 476-487.
- [15] Gan L, Guo K, Li Y, et al. Up-regulated expression of stathmin may be associated with hepatocarcinogenesis[J]. *Oncol Rep*, 2010, 23(4): 1037-1043.

(收稿日期: 2013-09-24 修回日期: 2013-12-22)