연구논문

Fibroblasts 세포주의 세포골격에서 아르곤 플라즈마의 효과: Cancer Therapy의 새로운 접근방법

한지혜, 남민경, 김용희¹, 박대욱, 최은하¹, 임향숙*

Effects of Argon-plasma Jet on the Cytoskeleton of Fibroblasts: Implications of a New Approach for Cancer Therapy

Ji-Hye Han, Min-Kyung Nam, Yong-Hee Kim¹, Dae-Wook Park, Eun Ha Choi¹, and Hyangshuk Rhim*

접수: 2012년 9월 28일 / 게재승인: 2012년 10월 11일
© 2012 The Korean Society for Biotechnology and Bioengineering

Abstract: Argon-plasma jet (Ar-PJ) is generated by ionizing Ar gas, and the resulting Ar-PJ consists of a mixture of neutral particles, positive ions, negative electrons, and various reactive species. Although Ar-PJ has been used in various biomedical applications, little is known about the biological effects on cells located near the plasma-exposed region. Here, we investigated the effects of the Ar-PJ on actin cytoskeleton of mouse embryonic fibroblasts (MEFs) in response to indirect as well as direct exposure to Ar-PJ. This Ar-PJ was generated at 500 mL/min of flow rate and 100 V electric power by our device mainly consisting of electrodes, dielectrics, and a high-voltage power supply. Because actin cytoskeleton is the key cellular machinery involved in cellular movement and is implicated in regulation of cancer metastasis and thus resulting in a highly desirable cancer therapeutic target, we examined the actin filament architectures in Ar-PJ-treated MEFs by staining with an actin-specific phalloidin labeled with fluorescent dye. Interestingly, the Ar-PJ treatment causes destabilization of actin filament

architectures in the regions indirectly exposed to Ar-PJ, but no differences in MEFs treated with Ar gas alone and in untreated cell control, indicating that this phenomenon is a specific cellular response against Ar-PJ in the live cells, which are indirectly exposed to Ar-PJ. Collectively, our study raises the possibility that Ar-PJ may have potential as anti-cancer drug effect through direct destabilization of the actin cytoskeleton.

Keywords: Argon-plasma jet, Cancer therapy, Actin cytoskeleton.

1. 서론

플라즈마는 가스가 전기적 자극 하에서 이온화되어 발생되는 전자, 이온, 라디칼과 같은 활성화된 인자들의 조합으로 이루어져 있으며, 기체, 액체, 고체와는 다른 제 4의 물질 상태를 말한다 [1]. 플라즈마는 반응성이 높은 활성 상태이므로 플라즈마에 노출된 대상과 반응하여 그 물성을 변화시키는 특성을 지니고 있어 공학분야에서 기계 표면처리 등에 많이 이용되고 있다 [1]. 최근, 의학분야에서 플라즈마에 대한 관심이 높아지고 있는데, 이는 플라즈마가 탁월한 살균효과를 가지고 있을 뿐만 아니라, 피부재생과 지혈 효과 등을 나타내므로 플라즈마 클리닉 조성을 통해 피부 미용에 이용되고 있으며, 얼굴의 양성 피부병변 치료 부분에서도 FDA 승인을 받아 활용되고 있다 [2-4]. 또한, 불활성 가스인 아르곤을 이용한 플라즈마 내시경은 비접촉성

가톨릭대학교 의생명과학교실
Department of Medical Life Sciences, Department of Biomedical Sciences, College of Medicine, the Catholic University of Korea, Seoul 137-701, Republic of Korea.
Tel: +82-2-2258-7475, Fax: +82-2-594-2385
e-mail: hrhim@catholic.ac.kr

¹광운대학교 플라즈마 바이오과학 연구센터

¹Plasma Bioscience Research Center, Kwangwoon University, 26 Kwangwoon-gil, Nowon-gu, Seoul 139-701, Republic of Korea.

지혈효과와 더불어 종양 제거를 위한 치료내시경술에 적용되고 있다 [5]. 치료에 많이 이용되는 레이저 (laser)는 열 자극에 의존한 방법인 반면, 플라즈마는 체온과 유사한 저온을 유지하며 라디칼과 같이 생체와 반응할 수 있는 요소들을 포함하고 있어 좀 더 다양하게 생체 적용이 가능할 것으로 보고되고 있다. 그러나 현재까지는 플라즈마 발생 시 동반되는 열효과에 의존한 임상적용 연구가 주를 이루고 있을 뿐, 생체 내 세포들과 플라즈마 상호작용에 관한 연구는 거의 없는 실정이다.

암환자 사망의 주요 원인은 암세포가 혈관이나 림프관을 따라 다른 조직으로 퍼지는 암전이 (metastasis)인 것으로 알려져 있다 [6,7]. 전이된 암세포의 주요한 특징은 세포골격 (cytoskeleton)의 변화, 세포부착 (cell adhesion), 사이토카인 (cytokine)들과 성장인자들의 유도와 같은 여러 복합적인 현상들에 의해 일어나는 세포이동 (cell migration)현상이다 [8-10]. 그리고 세포의 구조를 유지시키는 세포골격은 정상세포보다 암세포에서 더 역동적으로 변화하는 것으로 알려져 있다 [11]. Carcinogenesis에서 세포이동 현상을 조절하는 신호전달 경로 관련 Rho 계열 단백질 family 중의 하나인 Rac1이 과발현되어 있는 것이 보고 되었으며, 여러 Rho 계열 단백질들이 다른 종양들에서 공통적으로 과 발현되어 있는 것이 보고되고 있다 [12-14]. 이들 결과들은 세포이동 현상과 종양 발달과의 긴밀한 상관관계를 시사하고 있다.

세포골격은 세포질 내 소기관이며 유동적인 구조로 이루어져 있어 세포형태를 유지하는 중요한 역할을 할 뿐만 아니라, 세포이동을 가능하게 하는데 기여하고 있다 [15,16]. 세포골격은 섬유형태로 존재하고 있으며, 굵기에 따라 미세섬유 (또는 액틴섬유), 중간섬유, 미세소관의 세 종류로 나뉜다 [17]. 그 중 액틴 단백질로 구성된 미세섬유는 5-6 nm 굵기이며, 액틴 단백질들과 ATP결합을 통한 다발 형성과 ATP 가수분해 (hydrolysis)를 통한 다발 분리가 유동적으로 일어난다. 형성된 다발들의 교차결합에 의한 망 구조 형성을 통해 세포의 형태 결정, 구조 유지 및 세포이동에 관여하는 것으로 알려져 있다. 모든 암 진행단계에서 세포골격 섬유 중 미세섬유를 이루고 있는 액틴 다발의 역동적인 변화들이 공통적으로 나타나는 것이 보고 되었다 [18,19]. 최근에는 액틴 다발의 구성성분 중 하나인 F-액틴의 중합 반응 저해 정도가 항암제 민감도 측정 지표로 제시되고 있다 [20]. 또한 미세섬유 형성 억제제가 항암제 개발 타겟으로 주목 받아 [21], 미세섬유를 구성하는 액틴 다발을 불안정화시키는 여러 약물들의 항암효과가 보고되고 있다 [22,23]. 이들 중 미세섬유 중합 억제제인 cytochalasin D가 정상 세포보다 암세포에서 더 민감하게 액틴 다발 형성을 억제한다는 연구결과는 액틴 다발 분해를 타겟으로 한 약제가 암 특이적인 항암제로서 가능성이 있음을 보여 준다 [24]. 이들 일련의 연구결과들은 암세포에서 세포골격을 이루는 섬유 중 미세섬유의 분해 유도가 항암효과에 key가 될 수 있음을 시사한다. 이에 본 연구에서는 현재 임상에 적용되고 있는 아르곤 플라즈마 (Argon-plasma, Ar-PJ)와 항암제 개발의 중요한 타겟인 세포 내 미세섬유 구조와의 상호작용과 그 반응을 조사하고자 한다.

2. 재료 및 방법

2.1. 세포배양

세포 내 미세섬유 구조를 조사하기 위하여 세포 표면적이 넓고 부피가 적어 세포 내 골격 관찰이 용이한 mouse embryonic fibroblast (MEF) 세포주를 선택하였다. 사용한 MEF는 배 발생으로부터 14.5일째 된 mouse embryo (E14.5)로부터 분리된 섬유모세포이다 (Martin, *et al.*). 이 세포를 10% fetal bovine serum (FBS, Life technologies, California)과 1X penicillin/streptomycin (50 units/mL of penicillin and 50 µg/mL of streptomycin)을 첨가한 Dulbecco's Modified Eagles Medium (DMEM, Life technologies)배지에서 37°C, 5% CO₂ 상태로 배양하여 실험에 사용하였다.

2.2. 아르곤 플라즈마의 세포 처리

MEF는 cover glass에 약 80% confluence가 되게 배양하였다. 전압과 유량을 미세 조절할 수 있는 아르곤 플라즈마 장치를 자체 제작하였다. 배양액을 제거한 후, 아르곤 가스 유량을 500 mL/min로 방출하면서 동시에 100 V 전압을 걸어 아르곤 플라즈마를 발생시켜 세포 표면에 30초간 조사하였다.

2.3. 핵 염색법

아르곤 플라즈마를 처리하였을 때, 세포막이 정상적으로 유지되고 있는지 조사하기 위하여 두 가지의 핵염색법을 사용하였다. Propidium iodide (PI)는 세포막 손상 시 핵을 염색하는 시약으로 Sigma-Aldrich사 (St. Louis, USA)제품을 사용하였다. 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI)은 세포막 손상 여부와 관계없이 모든 세포의 핵을 염색하는 시약으로 Sigma-Aldrich사제품을 사용하였다. 배양액에 PI (4 µg/mL)를 희석하여 아르곤 플라즈마에 노출시킨 MEF에 3분간 처리해 주고, 4% paraformaldehyde (PFA, Sigma)로 37°C에서 15분간 고정시켜 주었다. PFA로 고정시킨 세포에 3차 증류수로 희석한 DAPI (2 µg/mL)를 4분간 처리한 후, 3차 증류수로 3번 washing하였다. Cover glass에 plating되어 있는 MEF 위에 mounting solution을 떨어뜨린 후 slide glass를 덮어 고정시켜 준 다음 형광현미경으로 세포막 유지 여부를 조사하였다. 형광현미경에서 PI의 경우는 488 nm 파장에서, DAPI의 경우는 364 nm 파장에서 세포를 관찰하였다.

2.4. 형광염색법

아르곤 플라즈마가 세포 내 미세섬유 구조에 영향을 미치는지 조사하기 위해, F-액틴에 특이적으로 결합할 수 있는 phalloidin (Life technologies) 시약을 사용하였다. MEF를 4% PFA로 fixing한 다음 세포에 남아있는 aldehyde기를 제거하기 위해 50 mM NH₄Cl (in PBS)로 5분 동안 quenching 해 준 후, PBS로 10분간 3번 washing해 주었다. 0.1% Triton X-100 (in PBS)로 3분간 처리하여 항체가 세포막을 잘 투과할 수 있도록 해준 후, 항체에 대한 비 특이적 결합을 줄이기 위해 2% BSA (in PBS)로 상온에서 1시간 동안 blocking시켜 주었다. Phalloidin을 2% BSA에 1 : 40 비율로 희석하여 상온에서 30분간 반응시킨 후, 반응하지 않은

phalloidin을 제거하기 위해 3차 DW로 washing해 주었다. Cover glass에 plating되어 있는 MEF를 mounting solution을 이용하여 slide glass에 고정시킨 후 633 nm 파장에서 세포를 관찰하였다.

2.5. 면역 블로팅 (Immunoblotting, IB)

배양한 MEF를 scraper로 긁어 harvest 후, 1X Cell lysis buffer (cell signaling technology, Danvers, MA)로 suspension하여 ice에 30분간 incubation하였다. Cell debris를 제거하기 위해서 4°C에서 13,200 rpm으로 30분간 centrifugation한 후, cell lysate를 회수하였다. Bradford protein assay (Bio-Rad, CA, USA)로 cell lysate 내 단백질 농도를 정량하였다. Protein sample (5 µg)은 12% sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)를 사용하여 분리하였다. 면역블로팅 분석을 위해 gel을 니트로셀룰로오스막 (Whatman, Germany)으로 이동 (transfer)시켰다. 니트로셀룰로오스막을 블로킹 (blocking)용액 (5% non-fat dried milk in TBS-T)에 넣어 상온에서 1시간 동안 incubation한 후, TBS-T [10 mM Tris-HCl (pH 7.5), 150 mM NaCl, 0.1% Tween-20]으로 10분간 3회 반복 세척하였다. 니트로셀룰로오스막은 블로킹용액에 1/2000으로 희석한 β -actin antibody (Sigma)와 1시간 동안 incubation하였다. 그리고 HRP-conjugated secondary antibody가 1/5000으로 희석된 블로킹용액으로 상온에서 1시간 동안 다시 incubation하였다. 중간 세척은 TBS-T로 10분간 3회 반복하였다. 마지막으로 니트로셀룰로오스막은 화학발광키트 (ECL, Amersham Bioscience, UK) 용액에 2분간 incubation한 후, X-ray 필름 (AGFA, Mortsel, Belgium)에 현상하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 아르곤 플라즈마 처리에 의한 세포 표면 변화

전압을 걸어주지 않은 상태에서 동일한 유량의 아르곤 가스만 노출시킨 MEF를 대조군으로 하여 아르곤 플라즈마를 조사한 MEF의 세포골격 구조를 광학현미경 하에서 비교 분석하였다 (Fig. 1). 아르곤 플라즈마에 직접 접촉된 경우, 세포 위에 얇게 코팅되어 있던 잔여 배양액이 건조되어 반경 2 mm의 원형이 나타나는데, 이를 circle zone (C zone)으로 명명하였다. 이 C zone 내 세포를 광학현미경 하에서 200배 배율로 관찰한 결과, 세포형태가 쪼그라들어 세포 내 골격 구조를 거의 구분할 수 없는 영역이 나타나는데, 이를 dead zone으로 명명하였다. Dead zone의 변형된 세포 주변에 아르곤 플라즈마의 물리적인 힘에 의해 세포들이 cover glass로부터 떨어져 나가고 없는 영역이 존재하는데, 이를 void zone이라 명명하였다 (C zone 말단으로부터 1 mm 안쪽까지의 영역). Void zone 말단의 바깥쪽부터 2 mm 간격으로 4개의 zone으로 나누어 zone 1~4로 명명하였다.

Zone 1~4의 세포 내 미세섬유를 관찰하기에 앞서, 아르곤 플라즈마에 노출시킨 MEF를 PI, DAPI로 염색한 후 플라즈마 조사에 따른 세포막의 변화를 형광현미경 하에서

조사하였다 (Fig. 1(b)). PI dye는 세포막이 손상되면 세포 내부로 침투하여 DNA에 삽입되므로 488 nm 파장에서 발기 (excite)하여 red color의 형광을 나타낸다. C zone 세포의 86.8%가 red color 형광을 나타내고 있는 것을 관찰할 수 있었으며, 이는 C zone의 대부분의 세포가 플라즈마에 의해 세포막이 손상되어 있음을 말해 주고 있다. 따라서 C zone에 존재하는 세포는 다른 세포소기관과 더불어 세포막도 손상되어 있으므로, 이 영역의 세포는 아르곤 플라즈마에 의한 세포 내 미세섬유의 변화를 관찰하기에 부적합하다는 결론을 내렸다. 이와는 달리, zone 1~4에 존재하는 모든 세포는 DAPI (blue)로 염색되었으나 PI (red)로는 염색되지 않았다 (Fig. 1(b), Zone 1). 세포막이 정상적인 경우 PI dye가 침투하지 못하므로 형광현미경 하에서 red color의 형광이 나타나지 않는다. 따라서 zone 1~4에 존재하는 세포들은 세포막이 온전하게 유지되어 있고 전체 세포형태에 큰 변화가 없으므로, 세포 내 미세섬유를 용이하게 관찰할 수 있는 영역으로 선정하였다.

Fig. 1. The differential regional effects of Ar-PJ on cell membrane. (a) A schematic diagram of an Ar-PJ device used in this study. MEFs grown to 80% confluent monolayer on a cover glass were placed 10 mm below the nozzle exit of Ar-PJ. The C zone indicates a 2-mm radius circular area that directly contacts with Ar-PJ. Zones are divided into 2-mm intervals from the C zone. (b) Fluorescence images of Ar-PJ treated MEFs. After Ar-PJ treatment for 30 sec (500 mL/min of Ar gas flow rate and 100 V electric power), MEFs were stained with DAPI (blue, staining of nuclei) and PI (red, staining of dead cells).

3.2. 아르곤 플라즈마 처리에 의한 세포 내 골격구조의 변화

이 Zone 1~4의 세포 내 골격구조와 아르곤 플라즈마의 상관 관계를 조사하기 위해, 공초점 형광현미경에서 광학상태로 1,000배 확대하여 세포의 내부 구조를 관찰하였다 (Fig. 2(a)). 공기만 노출시킨 대조군 세포 (untreated)와 아르곤 가스만 조사한 세포의 경우, 세포 내 가지 (branch)형태의 구조물이 관찰되는데, 이는 섬유 형태의 구조물로 추정된다. 이들을 3배 확대해서 관찰한 결과 일직선의 섬유형태 구조물이 선명

하게 확인되었다. 아르곤 플라즈마를 조사한 세포의 경우, 전체 세포 형태에는 큰 변화가 없었으나, 흥미롭게도 대조군에서 관찰되는 일직선 섬유형태의 구조물이 거의 관찰되지 않았다. 이를 3배 확대하여 관찰한 결과, 점 형태의 구조물이 세포질에 분포되어 있는 양상을 관찰할 수 있었다.

이 섬유구조의 분리가 항암치료의 타겟으로 주목받고 있는 액틴 다발로 이루어진 미세섬유 구조의 분리와 상관관계가 있는지 조사하기 위해, 액틴 다발의 구성 단백질 중 하나

인 F-액틴에 특이적으로 결합할 수 있는 phalloidin을 이용하여 세포를 형광염색하였다 (Fig. 2(b),(c)). 공초점 형광현미경 하에서 zone별로 세포들을 관찰한 결과, 아르곤 가스만 조사한 세포와 untreated한 대조군 세포의 경우, zone 1에서 zone 4까지 동일하게, F-액틴으로 구성되어 있는 미세섬유가 5-6 nm 굵기의 정상적인 섬유형태를 유지하고 있었다. 이와는 달리, 아르곤 플라즈마를 조사한 zone 1 내 세포에서는 red color 형광이 잘 관찰되지 않았다 (Fig. 2(c)). Zone 2 내 세포에서는 전체적으로, 미세섬유의 굵기가 5-6 nm 보다 현저히 가늘어져 있으며, F-액틴 다발 구조가 존재하지 않고 분리되어 세포질 내에 전체적으로 퍼져있는 양상을 띠고 있었다. Zone 3와 zone 4에서는 untreated한 대조군과 큰 차이를 나타내지 않았다.

아르곤 플라즈마 접촉영역 (면적: 12.6 mm²)의 세포는 세포사멸이 유도 (Dead zone)되거나 cover glass로부터 세포가 떨어져 나가지만 (Void zone), 아르곤 플라즈마 비접촉 영역 (면적: 387.4 mm²)에서는 세포사멸 등의 현상이 관찰되지 않는다 (Fig. 1(b)). 따라서, 세포 총단백질량에 영향을 미치는 dead zone과 void zone은 전체 세포의 약 3% 정도이므로 아르곤 플라즈마를 처리한 비교군의 total actin 양에는 변화가 거의 없을 것으로 예상된다. 이를 면역 블로팅법을 이용하여 증명하였다 (Fig. 2(d)).

이상의 결과들을 종합해 보면, 아르곤 플라즈마에 직접 노출된 부위는 세포구조 붕괴는 물론 세포사멸까지 유도되고, 직접 노출되지는 않았으나 인접한 부분은 플라즈마에 의해 형성된 여러 성분들이 세포와 상호작용을 통해 액틴 다발 분리 현상을 유도함을 알 수 있다. 또한, zone 1에서 zone 3까지 액틴 다발 분리 효과가 거리에 의존적으로 감소되는 현상은 상기에서 발견한 결과가 조사해 준 플라즈마에 의한 효과임을 뒷받침해주고 있다 (Fig. 2(c)). 이들 결과는 아르곤 플라즈마와 반응하는 세포소기관이 암세포 특이적인 치료 타겟으로 주목받고 있는 액틴 다발로 이루어진 미세섬유란 점에 있어 시사하는 바가 크다.

4. 결론

본 연구결과에서는 아르곤 플라즈마가 세포에 비접촉성으로 작용 시 세포 내 미세섬유의 불안정화를 유도한다는 것을 증명하였다. 현재까지 암치료에는 수술요법, 방사선요법, 항암제를 이용한 화학요법이 주로 사용된다 [25,26]. 수술요법은 육안으로 구별 가능한 부분의 암 제거에는 효과적이지만, 수술요법으로 제거되지 못한 암세포의 전이를 완전히 막을 수 없다는 단점이 있다. 방사선요법 또한 육안으로 구별 가능한 부분의 암세포는 효과적으로 제거할 수 있지만, 내부 정상조직과 주변 장기의 방사선 피폭을 최소화해야 한다는 단점이 있다. 화학요법은 효과적인 전신의 항암치료가 가능하지만, 빠르게 성장하는 세포를 타겟으로 하는 경우가 많아서 빠른 분열이 일어나는 여러 정상조직까지 손상되는 부작용과 환자가 느끼는 고통이 크다는 단점이 있다. 따라서 이들 치료요법의 단점을 보완하고 장점을 극대화할 수 있는

Fig. 2. Destabilization of actin filament architectures in MEFs treated with Ar-PJ. After treatment with Ar-PJ for 30 sec, MEFs residing beside the C zone were visualized by a fluorescence microscope (Axiovision LE Rel. 4.4.). (a) Representative DIC images of zone 2. (b) Representative fluorescence images of zone 2. Cells were stained with phalloidin (red, staining of F-actin filaments) and DAPI (blue, staining of nuclei). Bottom panels represent a 3x increased magnification of white boxes. (c) Fluorescence images of zones 1-4 in Ar-PJ treated cells. Cells were stained with phalloidin (red) and DAPI (blue). Scale bar = 10 μ m. (d). IB assay for assessing the level of β -actin.

새로운 암세포 특이 항암요법 개발을 필요로 하고 있다.

아르곤 플라즈마는 레이저 기술과 처리방법이 유사하며, 세포재생 및 종양제거에 현재 이용되고 있으며 [5], 레이저와는 달리 비접촉성의 장점도 제시되고 있지만, 그 활용도는 여전히 높지 않은 실정이다. 최근, 액틴 다발로 이루어진 미세섬유가 화학적 요법의 하나인 항암제 타겟으로 주목받고 있으므로, 아르곤 플라즈마가 미세섬유의 불안정화를 유도한다는 본 연구결과는 플라즈마의 제한적인 임상적용을 탈피하여 보다 더 광범위하게 사용될 수 있을 것이라는 가능성을 제시한다. 아르곤 플라즈마가 직접 조사된 부분에서는 세포 사멸이 유도되므로 암조직 제거 시 사용되는 방사선요법과 유사한 효과를 얻을 수 있고, 플라즈마가 직접 노출되지 않은 인접 부위에서는 암세포 전이과정에서 작용하는 액틴 다발을 분리시킬 수 있어 화학요법 효과까지 나타낼 수 있을 것으로 사료된다. 또한, 아르곤 플라즈마의 경우는 방사선요법의 가장 큰 문제 중 하나인 내부 피폭에 대한 우려가 없고, 현재 플라즈마의 장점으로 제시되는 지혈효과를 통해 수술요법에서 그 강점도 살릴 수 있어, 앞으로 효과적인 항암치료 시스템으로 발전, 응용될 수 있을 것으로 본다. 따라서 본 연구결과는 아르곤 플라즈마가 항암치료에 다방면의 상생효과를 동시에 나타낼 수 있는 가능성이 있음을 제시하고 있다. 고주파치료나 레이저치료기전과 동일시 되어 플라즈마치료가 제한적으로 임상에 적용되어 왔으나, 이로부터 탈피하여 물리적인 기술과 더불어 심도 있는 생체 내 기전 및 세포반응 연구가 진행되어야 할 것이며, 이를 통해 향후 아르곤 플라즈마의 항암치료 분야 적용 및 폭 넓은 임상적용이 가능할 것이라 사료된다.

감사

본 연구는 한국연구재단 (2012-0001385, 2010-0029422)의 일부로 수행 되었습니다.

References

- Kim, S. H., J. H. Kim, B. K. Kang, and H. S. Uhm (2005) Superhydrophobic CF_x coating via in-line atmospheric RF plasma of He-CF₄-H₂. *Langmuir*. 21: 12213-12217.
- Kilmer, S., N. Semchyshyn, G. Shah, and R. Fitzpatrick (2007) A pilot study on the use of a plasma skin regeneration device (Portrait PSR3) in full facial rejuvenation procedures. *Lasers Med. Sci.* 22: 101-109.
- Potter, M. J., et al. (2007) Facial acne and fine lines: transforming patient outcomes with plasma skin regeneration. *Ann. Plast Surg.* 58: 608-613.
- Bogle, M. A., K. A. Arndt, and J. S. Dover (2007) Evaluation of plasma skin regeneration technology in low-energy full-facial rejuvenation. *Arch. Dermatol.* 143: 168-174.
- Grund, K. E., D. Storek, and G. Farin (1994) Endoscopic argon plasma coagulation (APC) first clinical experiences in flexible endoscopy. *Endosc. Surg. Allied Technol.* 2: 42-46.
- Klein, C. A. (2008) Cancer. The metastasis cascade. *Science* 321: 1785-1787.
- Chiang, A. C. and J. Massague (2008) Molecular basis of metastasis. *N. Engl. J. Med.* 359: 2814-2823.
- Kedrin, D., J. van Rheenen, L. Hernandez, J. Condeelis, and J. E. Segall (2007) Cell motility and cytoskeletal regulation in invasion and metastasis. *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia* 12: 143-152.
- Rhodes, L. V., et al. (2011) Cytokine receptor CXCR4 mediates estrogen-independent tumorigenesis, metastasis, and resistance to endocrine therapy in human breast cancer. *Cancer Res.* 71: 603-613.
- Entschladen, F., Drell, T. L. t., Lang, K., Joseph, J., and Zaenker, K. S. (2004) Tumour-cell migration, invasion, and metastasis: navigation by neurotransmitters. *Lancet Oncol.* 5: 254-258.
- Olson, M. F. and E. Sahai (2009) The actin cytoskeleton in cancer cell motility. *Clin. Exp. Metastasis* 26: 273-287.
- Nobes, C. D. and A. Hall (1995) Rho, rac, and cdc42 GTPases regulate the assembly of multimolecular focal complexes associated with actin stress fibers, lamellipodia, and filopodia. *Cell*. 81: 53-62.
- Wennerberg, K. and C. J. Der (2004) Rho-family GTPases: it's not only Rac and Rho (and I like it). *J. Cell Sci.* 117: 1301-1312.
- Fritz, G., C. Brachetti, F. Bahlmann, M. Schmidt, and B. Kaina (2002) Rho GTPases in human breast tumours: expression and mutation analyses and correlation with clinical parameters. *Br. J. Cancer* 87: 635-644.
- Frixione, E. (2000) Recurring views on the structure and function of the cytoskeleton: a 300-year epic. *Cell Motil Cytoskeleton* 46: 73-94.
- Doherty, G. J. and H. T. McMahon (2008) Mediation, modulation, and consequences of membrane-cytoskeleton interactions. *Annu. Rev. Biophys.* 37: 65-95.
- Fuchs, E. and D. W. Cleveland (1998) A structural scaffolding of intermediate filaments in health and disease. *Science* 279: 514-519.
- Suresh, S. (2007) Biomechanics and biophysics of cancer cells. *Acta Biomater* 3: 413-438.
- Jordan, M. A. and Wilson, L. (1998) Microtubules and actin filaments: dynamic targets for cancer chemotherapy. *Curr Opin Cell Biol.* 10: 123-130.
- Sharma, S., et al. (2012) Correlative nanomechanical profiling with super-resolution F-actin imaging reveals novel insights into mechanisms of cisplatin resistance in ovarian cancer cells. *Nanomedicine* 8: 757-766.
- Statsuk, A. V., et al. (2005) Actin is the primary cellular receptor of bistramide A. *Nat. Chem Biol.* 1: 383-388.
- Hayot, C., et al. (2006) Characterization of the activities of actin-affecting drugs on tumor cell migration. *Toxicol Appl Pharmacol.* 211: 30-40.
- Coue, M., S. L. Brenner, I. Spector, and E. D. Korn (1987) Inhibition of actin polymerization by latrunculin A. *FEBS Lett.* 213: 316-318.
- Hemstreet, G. P., 3rd, et al. (1996) G-actin as a risk factor and modulatable endpoint for cancer chemoprevention trials. *J. Cell Biochem. Suppl.* 25: 197-204.
- Baskar, R., K. A. Lee, R. Yeo, and K. W. Yeoh (2012) Cancer and radiation therapy: current advances and future directions. *Int. J. Med. Sci.* 9: 193-199.
- DeVita, V. T., Jr. and E. Chu (2008) A history of cancer chemotherapy. *Cancer Res.* 68: 8643-8653.