

DOI:10.3724/SP.J.1008.2010.00264

pcDNA3.1-Annexin A1 真核表达载体对结直肠癌细胞迁移、侵袭的影响

杨晓群¹, 葛慧娟¹, 汪佳祺², 余宏宇^{1*}, 何金¹, 刘惠敏¹, 蔡在龙²

1. 第二军医大学长征医院病理科, 上海 200003

2. 第二军医大学长海医院中心实验室, 上海 200433

[摘要] **目的** 探讨 Annexin A1 对结直肠癌细胞迁移、侵袭能力的影响。**方法** 构建重组质粒 pcDNA3.1-Annexin A1, 转染至结直肠癌细胞株 SW480 中, G418 筛选稳定表达株, 实时荧光定量 PCR、蛋白质印迹检测转染前后 Annexin A1 mRNA 及蛋白表达; 以空载体转染组及未转染 SW480 细胞作为对照, 通过划痕修复实验和 Transwell 细胞侵袭实验对转染前后细胞的迁移和侵袭能力进行比较观察和分析。**结果** 成功构建重组质粒 pcDNA3.1-Annexin A1 载体; 实时荧光定量 PCR 和蛋白质印迹检测结果均显示, 重组体 pcDNA3.1-Annexin A1 稳定转染细胞株中 Annexin A1 mRNA 及蛋白表达均明显高于空载体转染及未转染组细胞 ($P < 0.01$), 而后两者间比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 重组体 pcDNA3.1-Annexin A1 转染组 SW480 细胞的迁移率 (0.415 ± 0.002) 明显高于空载体转染组 (0.267 ± 0.003) 及未转染组细胞 (0.271 ± 0.002), 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$), 而后两者间差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 与空载体转染组 (162.80 ± 12.07) 及未转染组 (164.25 ± 9.50) 相比, 重组体 pcDNA3.1-Annexin A1 转染组穿膜细胞数 (221.75 ± 12.07) 增多, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。**结论** 人 Annexin A1 基因表达上调能提高结直肠癌细胞迁移和侵袭能力。

[关键词] 结直肠肿瘤; Annexin A1 基因; 真核表达; 划痕修复; Transwell 侵袭实验

[中图分类号] R 735.34

[文献标志码] A

[文章编号] 0258-879X(2010)03-0264-05

Effects of eukaryotic expression vector pcDNA3.1-Annexin A1 on migration and invasion of colon cancer cells

YANG Xiao-qun¹, GE Hui-juan¹, WANG Jia-qi², YU Hong-yu^{1*}, HE Jin¹, LIU Hui-min¹, CAI Zai-long²

1. Department of Pathology, Changzheng Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200003, China

2. Department of Central Laboratory, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

[Abstract] **Objective** To evaluate the effects of Annexin A1 on migratory and invasive ability of colon cancer cells. **Methods** Eukaryotic expression vector pcDNA3.1-Annexin A1 was constructed and analyzed by restriction analysis and sequencing. The recombinant plasmid pcDNA3.1-Annexin A1 was transfected into SW480 cells by liposome-mediated gene transferred method. The stable transfectants were obtained after screening with G418. Real-time PCR and Western blotting analysis were used to examine the expression of Annexin A1 mRNA and protein in SW480 cells before and after transfection. Wound-healing experiment and Transwell invasion assays were used to study the effects of Annexin A1 on the migratory and invasive ability of SW480 cells. **Results** The recombinant plasmid pcDNA3.1-Annexin A1 was successfully constructed. The results of real-time PCR and Western blotting analysis showed that the Annexin A1 expression was significantly higher in cells transfected with pcDNA3.1-Annexin A1 than in un-transfected cells or those transfected with empty vectors ($P < 0.01$), while there was no significant difference between the last two groups ($P > 0.05$). The migratory rate of SW480 cells in pcDNA3.1-Annexin A1 group was significantly higher than those in un-transfected cells or transfected with empty vectors ($[0.415 \pm 0.002]$ vs $[0.267 \pm 0.003]$ and $[0.271 \pm 0.002]$, $P < 0.05$), and there was no significant difference between the latter two groups. The migrating SW480 cells in pcDNA3.1-Annexin A1 group was significantly more than those in the other two groups ($[221.75 \pm 12.07]$ vs $[162.80 \pm 12.07]$ and $[164.25 \pm 9.50]$, $P < 0.05$). **Conclusion** Overexpression of Annexin A1 can increase the migratory and invasive ability of SW480 cell line.

[Key words] colorectal neoplasms; annexin A1 gene; eukaryotic expression; wound-healing experiment; Transwell invasion assays

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2010, 31(3):264-268]

[收稿日期] 2009-12-24

[接受日期] 2010-02-10

[作者简介] 杨晓群, 硕士生. E-mail: yangxiaqun963@163.com

* 通讯作者 (Corresponding author). Tel: 021-81886122, E-mail: yuhongyu795@hotmail.com

结直肠癌是近年来发病率逐渐呈上升趋势的恶性肿瘤,而肿瘤转移已经成为影响大肠癌患者预后的重要因素,并且是导致恶性肿瘤患者死亡的主要原因。膜联蛋白 A1(Annexin A1, AnxA1, lipocortin I)是膜联蛋白超家族中的一员,它参与抗炎反应、细胞分化和增殖、细胞死亡信号调控、凋亡细胞吞噬清除等多种重要的细胞生命活动^[1]。近年来的研究表明 Annexin A1 表达失调与肿瘤密切相关,并可能与肿瘤的侵袭转移相关^[2-7]。本实验旨在构建 pcDNA3.1-Annexin A1 真核表达载体,将其转染结直肠癌细胞株 SW480,探讨 Annexin A1 对结直肠癌细胞迁移、侵袭能力的影响,为进一步研究 Annexin A1 在结直肠癌侵袭和转移等方面的作用及机制奠定基础。

1 材料和方法

1.1 主要材料与试剂 SW480 结肠癌细胞株购自中国科学院细胞库(ATCC 号为 CCL-228);真核表达载体 pcDNA3.1(+)(Invitrogen)由长海医院中心实验室提供;限制性核酸内切酶 *Bam*H I、*Xho* I 购自 Fermentas 公司;G418 购自 Merck 公司;Trizol、LipofectamineTM 2000 脂质体为 Invitrogen 公司产品;质粒中抽(去内毒素)试剂盒购自北京博大泰克公司;MaximaTM SYBR Green qPCR Master Mix 荧光定量 PCR 试剂盒均购自 Fermentas 公司;鼠抗人 Annexin A1 单克隆抗体购自 Abcam 公司,鼠抗人 β -actin 单克隆抗体购自 Sigma 公司;总蛋白提取试剂盒和蛋白浓度 BCA 测定试剂盒均购自 Pierce 公司;Transwell 小室(孔径 8 μ m)购自 Corning Costar 公司。

1.2 pcDNA3.1-Annexin A1 真核表达载体的构建

1.2.1 Annexin A1 基因的克隆 根据 GenBank 中人 Annexin A1 的 mRNA 核酸序列(NM_000700)设计引物,引物序列:正向 5'-GAG GAT CCA AAT GGC AAT GGT ATC AGA -3'、反向 5'-GAC TCG AGT TTA GTT TCC TCC ACA AAG -3'(下划线部分分别为 *Bam*H I、*Xho* I 的酶切位点)。从新鲜正常人胎盘组织中克隆人的 Annexin A1 的全长基因,通过 PCR 法扩增所需片段,然后行 1.0% 琼脂糖凝胶电泳鉴定片段大小,切胶回收。

1.2.2 pcDNA3.1-Annexin A1 真核表达载体的构建及鉴定 将回收、纯化获得的目的片段与 pcDNA3.1 质粒行 *Bam*H I、*Xho* I 双酶切后,经

1.0% 琼脂糖凝胶电泳,切胶回收。以 T₄ DNA 连接酶 16℃ 连接过夜,*Bam*H I、*Xho* I 双酶切鉴定,送上海美季公司行双向测序,并与 GenBank 上的 Annexin A1 mRNA 序列进行比对。

1.3 pcDNA3.1-Annexin A1 重组质粒转染及验证

1.3.1 pcDNA3.1-Annexin A1 重组质粒转染及稳定株的筛选 SW480 细胞常规培养于含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养基中,转染前一天,取处于对数生长期的 SW480 细胞,以合适密度接种到 6 孔培养板上使次日转染时细胞达到 60%~80% 融合。转染时分别在 Eppendorf 管中准备溶液 1 (240 μ l Opti-MEM + 10 μ l LipofectamineTM 2000, 温育 5 min),溶液 2 (4 μ g 质粒稀释于 Opti-MEM 培养液中,总体积补足 250 μ l),将溶液 1 与溶液 2 混合,室温静置 20 min,此期间细胞用 Opti-MEM 无血清培养液清洗 2 遍,每孔再加 2 ml Opti-MEM,后将混合液逐滴加入孔中,摇动培养板混匀,37℃、5% CO₂ 培养箱中培养 6 h,换完全培养液(即含 10% FBS),继续培养 24 h 后,800 μ g/ml G418 加压筛选阳性克隆并扩增培养传代。以转染 pcDNA3.1 空载体及未转染细胞作为对照。

1.3.2 实时荧光定量 PCR 检测转染前后细胞 Annexin A1 mRNA 的表达

分别提取 Annexin A1 基因稳定转染前后的 SW480 细胞总 RNA,反转录后进行实时荧光定量 PCR 检测,内参照为 GAPDH。Annexin A1 检测引物:正向 5'-GCA GGC TCG GTT TAT TGA AA-3';反向 5'-GCT GTG CAT TGT TTC GCT TA-3'。GAPDH 检测引物:正向 5'-CGG AGT CAA CGG ATT TGG TCG TAT TGG-3';反向 5'-GCT CCT GGA AGA TGG TGA TGG GAT TTC C-3'。反应条件为 50℃ 2 min; 95℃ 10 min,95℃ 15 s,60℃ 60 s,共 40 个循环,荧光信号监测。定量的方法以 2^{- $\Delta\Delta$ Ct}法(Ct 代表循环阈值)表示基因的表达量,以未转染细胞作对照, $\Delta\Delta$ Ct = 实验组 (Ct_{靶基因} - Ct_{GAPDH}) - 对照组 (Ct_{靶基因} - Ct_{GAPDH}),实验重复 3 次。

1.3.3 蛋白质印迹法检测转染前后各组细胞 Annexin A1 蛋白的表达

提取转染前后各组细胞总蛋白,用 Pierce 公司蛋白 BCA 法测定试剂盒进行总蛋白测定,行 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳,PVDF 膜电转膜,丽春红染色,观察转膜情况,5% 脱脂奶粉封闭,Annexin A1 单克隆抗体(1:400)4℃ 孵育过夜,TBS-T 洗膜,加入兔抗鼠二抗,ECL 显色,用 Fluor

Chem FC₂凝胶成像分析系统扫描,并测定平均光密度值,计算转染前后 Annexin A1/ β -actin 的比值,比较 pcDNA 3.1-Annexin A1 转染细胞、空载体转染细胞和未转染细胞三者间表达的差异。

1.4 划痕修复实验 取对数生长期的3组待测细胞,置入6孔板,细胞密度 1×10^6 /ml,每组设3个复孔。待细胞呈现单层贴壁生长状态时用 100 μ l 的 tip 头在6孔板内垂直划痕;换无血清培养液,37 $^{\circ}$ C 5% CO₂ 培养 24 h 后,在相差显微镜下随机选择5个100倍视野内测量划痕内面垂直距离。计算公式:细胞迁移率=[(修复前划痕内面垂直距离-修复后划痕内面垂直距离)/修复前划痕内面垂直距离] \times 100%。

1.5 Transwell 细胞侵袭实验 用 matrigel 在 Transwell 上室制备人工基底膜,转染前后各组细胞用无血清 RPMI 1640 稀释成密度为 1×10^6 /ml 的细胞悬液,100 μ l 细胞悬液加入 Transwell 上室,下室加 600 μ l 条件培养液,37 $^{\circ}$ C 5% CO₂ 培养箱培养 36 h。取出 Transwell 小室,吸弃液体,用棉签擦净基底膜胶,PBS 漂洗后甲醛固定 30 min,苏木精染色。镜下计数(平均计数4个视野)。

1.6 统计学处理 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 Annexin A1 编码序列(coding sequence,CDS)的获得 PCR 成功扩增出人 Annexin A1 全长 cDNA,PCR 产物电泳后在 1 041 bp 附近获得扩增产物条带,与目的基因大小一致(图 1)。

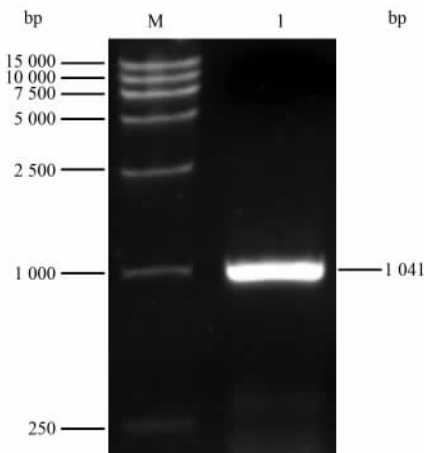


图 1 Annexin A1 基因的克隆
Fig 1 Clone of Annexin A1 gene
M: DNA marker; 1: Annexin A1 CDS

2.2 pcDNA3.1-Annexin A1 真核表达载体的鉴定

2.2.1 酶切鉴定 阳性克隆质粒用 *Bam*H I、*Xho* I 行双酶切,可见相应的基因编码区全长序列片段(1 041 bp)和线性化的 pcDNA3.1(+) 空载体片段(约 5.4 kb),与预期结果一致,以 pcDNA3.1 和未经双酶切的 pcDNA3.1-Annexin A1 为对照(图 2)。

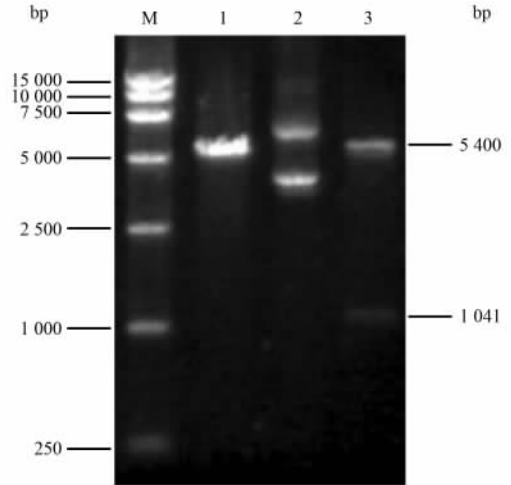


图 2 pcDNA3.1-Annexin A1 酶切鉴定图
Fig 2 Identification of pcDNA3.1-Annexin A1 by *Bam*H I and *Xho* I digestion

M: DNA marker; 1: pcDNA3.1; 2: pcDNA3.1-Annexin A1; 3: pcDNA3.1-Annexin A1 by *Bam*H I and *Xho* I digestion

2.2.2 测序鉴定 pcDNA3.1-Annexin A1 质粒中所含 Annexin A1 基因经 BLAST 比对与 GenBank 中公布的序列一致(序列登录号:NM_000700),序列全长 1 399 bp。测序图谱略。证实载体构建成功。

2.3 转染前后 Annexin A1 基因 mRNA 和蛋白表达的改变 实时荧光定量 PCR 结果(图 3)显示重组体 pcDNA3.1-Annexin A1 转染组 Annexin A1 mRNA 的表达显著高于空载体转染组和未转染组,差异具有统计学意义($P < 0.01$),而空载体转染组和未转染组表达差异无统计学意义($P > 0.05$)。Western 印迹结果(图 4)示重组体 pcDNA3.1-Annexin A1 转染组 Annexin A1 蛋白的表达显著高于空载体转染组和未转染组(0.670 vs 0.137, 0.670 vs 0.157, $P < 0.01$),而后两者间差异无统计学意义($P > 0.05$)。

2.4 划痕分析结果 重组体 pcDNA3.1-Annexin A1 转染组 SW480 细胞的迁移率(0.415 ± 0.002)明显高于空载体转染组(0.267 ± 0.003)及未转染组细胞(0.271 ± 0.002),差异具有统计学意义($P <$

0.05),而后两者间差异无统计学意义($P>0.05$)。结果提示 Annexin A1 高表达后细胞迁移能力提高。

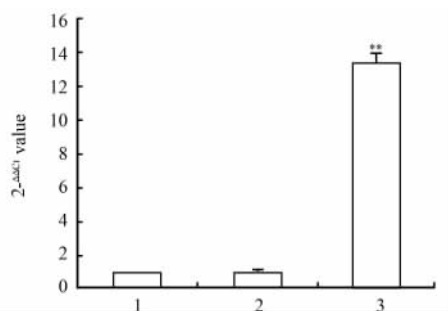


图3 转染前后 SW480 细胞中 Annexin A1 基因 mRNA 的表达

Fig 3 Expression of Annexin A1 mRNA in SW480 cells before and after transfection

1: SW480 cells; 2: pcDNA3.1/SW480 cells; 3: pcDNA3.1-Annexin A1/SW480 cells, $n=3, \bar{x} \pm s$, ** $P<0.01$ vs the other groups

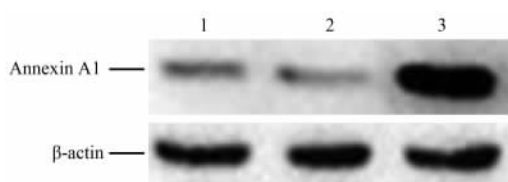


图4 转染前后 SW480 细胞中 Annexin A1 蛋白表达水平

Fig 4 Expression of Annexin A1 protein in SW480 cells before and after transfection

1: SW480 cells; 2: pcDNA3.1/SW480 cells; 3: pcDNA3.1-Annexin A1/SW480 cells

2.5 侵袭分析结果 与空载体转染组(162.80 ± 12.07)及未转染组(164.25 ± 9.50)相比, pcDNA3.1-Annexin A1 转染组穿膜细胞数(221.75 ± 12.07)显著增多,差异具有统计学意义($P<0.05$)。结果提示人 Annexin A1 基因上调能提高 SW480 细胞的侵袭能力。

3 讨论

结直肠癌转移是其发展的终末阶段,也是结直肠癌患者死亡的主要原因。其发生机制尚不清楚,成为肿瘤学研究难题之一。如能对其转移机制进行研究,探索其转移的关键分子机制和通路,在临床上采取有效的干预手段,对提高结肠癌患者的生存率有重要的意义。

膜联蛋白(Annexin, Anx)家族是一类钙依赖的磷脂结合蛋白,在大多数生物体细胞中含量较高(为蛋白质含量的 0.5%~2%),在细胞内参与一系列重要的生理功能。其中膜联蛋白 A1(Annexin A1,

AnxA1, lipocortin I),其相对分子质量为 38 000,具有 Annexins 家族所共有的中心结构域和承担独特功能的 N 端结构域。其基因定位于人染色体 9q12~q21.2,由 13 个外显子和 12 个内含子组成,其 cDNA 中 1 041 bp 的开放阅读框(open reading frame, ORF) 编码由 346 个氨基酸残基组成的 Annexin A1 蛋白。最初对于 Annexin A1 的研究多集中在炎症的调节、细胞增殖、凋亡等^[1],后来的研究发现其与肿瘤的发生发展密切相关,在肿瘤组织中异常表达,如在胰腺癌^[8]、肝癌^[9]、食管和食管交界处腺癌^[10]、毛细胞白血病^[11]和皮肤肿瘤^[12]中表达上调,在前列腺癌^[13]、食管癌^[14]、乳腺癌^[15]和头颈部肿瘤^[16-18]中表达下调;还与肿瘤的侵袭转移相关,如乳腺癌^[2]、胃癌^[3]、肝癌^[4]、黑素瘤^[5]、肺癌^[6]、头颈部肿瘤^[7]等。在结直肠癌的研究方面,文献^[19-20]报道利用蛋白组学技术从同一亲本来源、不同转移潜能细胞株 SW480 和 SW620 均筛选出了 Annexin A1 基因;Babbin 等^[21]以高表达 Annexin A1 的结直肠癌细胞系 SKCO-15 为模型,用 siRNA 阻断 Annexin A1 的表达,能显著降低 SKCO-15 细胞的侵袭能力,表明该基因在结直肠癌侵袭转移中起促进作用。在黑素瘤的研究中也发现经 siRNA 干扰 Annexin A1 的表达后细胞的侵袭能力明显降低^[5]。

本课题组前期研究发现,结直肠癌病理标本中 Annexin A1 在淋巴结转移灶比相应的原发灶中表达增强^[22]。在此基础上,本实验从正常人胎盘组织中提取 RNA,通过 RT-PCR 扩增出人的 Annexin A1 基因片段,设计构建了人 Annexin A1 的真核表达质粒 pcDNA3.1-Annexin A1,鉴定后成功转染至低表达该基因的 SW480 细胞中,显著上调 Annexin A1 mRNA 及蛋白的表达。进一步对转染前后细胞的迁移和侵袭能力检测发现,Annexin A1 基因表达上调后能提高结直肠癌细胞迁移和侵袭能力。本实验采取了上调 Annexin A1 基因表达的方法,结论与 Babbin 等^[21]的研究是一致的,Annexin A1 基因可促进结直肠癌细胞的迁移和侵袭能力。提示该基因可能与结直肠癌的转移有密切关系,可能为人类结直肠癌的基因治疗提供一条新的途径。

[参考文献]

- [1] Lim L H, Pervaiz S. Annexin 1: the new face of an old molecule [J]. FASEB J, 2007, 21: 968-975.
- [2] Kreunin P, Yoo C, Urquidí V, Goodison S. Proteomic profiling identifies breast tumor metastasis-associated factors in an iso-

- genic model[J]. *Proteomics*, 2007, 7: 299-312.
- [3] Yu G, Wang J, Chen Y, Wang X, Pan J, Li Q, et al. Tissue microarray analysis reveals strong clinical evidence for a close association between loss of Annexin A1 expression and nodal metastasis in gastric cancer[J]. *Clin Exp Metastasis*, 2008, 25: 695-702.
- [4] Dai Z, Liu Y K, Cui J F, Shen H L, Chen J, Sun R X, et al. Identification and analysis of altered alpha1,6-fucosylated glycoproteins associated with hepatocellular carcinoma metastasis[J]. *Proteomics*, 2006, 6: 5857-5867.
- [5] Rondepierre F, Bouchon B, Papon J, Bonnet-Duquennoy M, Kintossou R, Moins N, et al. Proteomic studies of B16 lines: Involvement of Annexin A1 in melanoma dissemination[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2009, 1794: 61-69.
- [6] Lu Q Y, Jin Y S, Zhang Z F, Le A D, Heber D, Li F P, et al. Green tea induces Annexin-I expression in human lung adenocarcinoma A549 cells; involvement of Annexin-I in actin remodeling[J]. *Lab Invest*, 2007, 87: 456-465.
- [7] Wu W, Tang X, Hu W, Lotan R, Hong W K, Mao L. Identification and validation of metastasis-associated protein in head and neck cancer cell line by two-dimensional electrophoresis and mass spectrometry[J]. *Clin Exp Metastasis*, 2002, 19: 319-326.
- [8] Bai X F, Ni X G, Zhao P, Liu S M, Wang H X, Guo B, et al. Overexpression of Annexin I in pancreatic cancer and its clinical significance[J]. *World J Gastroenterol*, 2004, 10: 1466-1470.
- [9] Masaki T, Tokuda M, Ohnishi M, Watanabe S, Fujimura T, Miyamoto K, et al. Enhanced expression of the protein kinase substrate annexin in human hepatocellular carcinoma[J]. *Hepatology*, 1996, 24: 72-81.
- [10] Wang K L, Wu T T, Resetkova E, Wang H, Correa A M, Hofstetter W L, et al. Expression of Annexin A1 in esophageal and esophagogastric junction adenocarcinomas; association with poor outcome[J]. *Clin Cancer Res*, 2006, 12: 4598-4604.
- [11] Falini B, Tiacci E, Liso A, Basso K, Sabbatini E, Pacini R, et al. Simple diagnostic assay for hairy cell leukaemia by immunocytochemical detection of Annexin A1 (ANXA1)[J]. *Lancet*, 2004, 363: 1869-1870.
- [12] Hummerich L, Müller R, Hess J, Kokocinski F, Hahn M, Fürstenberger G, et al. Identification of novel tumour-associated genes differentially expressed in the process of squamous cell cancer development[J]. *Oncogene*, 2006, 25: 111-121.
- [13] Schaeffer E M, Marchionni L, Huang Z, Simons B, Blackman A, Yu W, et al. Androgen-induced programs for prostate epithelial growth and invasion arise in embryogenesis and are reactivated in cancer[J]. *Oncogene*, 2008, 27: 7180-7191.
- [14] Xia S H, Hu L P, Hu H, Ying W T, Xu X, Cai Y, et al. Three isoforms of annexin I are preferentially expressed in normal esophageal epithelia but down-regulated in esophageal squamous cell carcinomas[J]. *Oncogene*, 2002, 21: 6641-6648.
- [15] Shen D, Nooraie F, Elshimali Y, Lonsberry V, He J, Bose S, et al. Decreased expression of Annexin A1 is correlated with breast cancer development and progression as determined by a tissue microarray analysis [J]. *Hum Pathol*, 2006, 37: 1583-1591.
- [16] Garcia Pedrero J M, Fernandez M P, Morgan R O, Herrero Zapatero A, Gonzalez M V, Suarez Nieto C, et al. Annexin A1 down-regulation in head and neck cancer is associated with epithelial differentiation status[J]. *Am J Pathol*, 2004, 164: 73-79.
- [17] Koike H, Uzawa K, Nakashima D, Shimada K, Kato Y, Higo M, et al. Identification of differentially expressed proteins in oral squamous cell carcinoma using a global proteomic approach[J]. *Int J Oncol*, 2005, 27: 59-67.
- [18] Silistino-Souza R, Rodrigues-Lisoni F C, Cury P M, Maniglia J V, Raposo L S, et al. Annexin 1: differential expression in tumor and mast cells in human larynx cancer[J]. *Int J Cancer*, 2007, 120: 2582-2589.
- [19] 曲利娟, 丁彦青, 梁莉, 余英豪. 利用 2-DE 和 MALDI-TOF-MS 在人大肠癌高低转移潜能细胞株中筛选转移相关蛋白[J]. *福州总医院学报*, 2008, 5: 365-368.
- [20] 赵亮, 刘莉, 王爽, 李祖国, 丁彦. 采用蛋白质组学技术筛选大肠癌转移相关蛋白[J]. *生物化学与生物物理进展*, 2006, 33: 485-491.
- [21] Babbin B A, Lee W Y, Parkos C A, Winfree L M, Akyildiz A, Perretti M, et al. AnxA1 regulates SKCO-15 cell invasion by signaling through formyl peptide receptors[J]. *J Biol Chem*, 2006, 281: 19588-19599.
- [22] 葛慧娟, 杨晓群, 余宏宇, 何金, 刘惠敏. 结直肠癌及其淋巴结转移灶内 Annexin I 和 Annexin II 的表达及意义[J]. *第二军医大学学报*, 2009, 30: 340-341.
- Ge H J, Yang X Q, Yu H Y, He J, Liu H M. Expression of Annexin I and Annexin II in colorectal carcinoma and its lymphatic metastatic tissues[J]. *Acad J Sec Mil Med Univ*, 2009, 30: 340-341.

[本文编辑] 贾泽军, 邓晓群