DOI: 10.16016/j.1000-5404.201409142

论著

抑制 GM130 表达对胃癌细胞增殖、侵袭及迁移能力的影响

冯阳阳,陈 婕,牟 玲,苏琳茜,易永芬 (400016 重庆,重庆医科大学基础医学院病理学教研室,分子医学与肿瘤研究中心)

[摘要] **目的** 分析 GM130 在不同分化人胃癌细胞系的差异表达,利用小干扰 RNA 技术来沉默 GM130 基因,研究其对胃癌细胞生物学行为的影响。**方法** 体外培养 3 株不同分化程度胃癌细胞系(高分化 MKN-28、中分化 SGC-7901、低分化 MKN-45),Western blot 和 RT-PCR 筛选出高表达的 GM130 细胞株 MKN-45、SGC-7901,设计并化学合成、转染、筛选出针对 GM130 的小干扰 RNA 片段。通过 MTT、Transwell、Matrigel 侵袭实验,观测下调 GM130 后对胃癌细胞株的生物学行为影响,Western blot 检测细胞中 MMP-2、MMP-9 蛋白的变化。**结果** Western blot 和 RT-PCR 检测结果显示,在 MKN-45、SGC-7901 细胞中 GM130 蛋白和 mRNA 水平呈现高表达水平。Western blot 和 qRT-PCR 结果显示在低分化胃癌 MKN-45 细胞中,GM130-siRNA-519 转染组 GM130 基因的表达水平显著抑制($P<0.05$)。与对照组相比,抑制转染组细胞的增殖、迁移能力明显下降,穿膜细胞数明显减少,MMP-2、MMP-9 的蛋白表达水平显著降低($P<0.05$)。**结论** 抑制 GM130 基因的表达下调可显著降低胃癌细胞的增殖和体外侵袭转移能力。

[关键词] GM130;RNA 干扰;胃肿瘤;增殖;侵袭;迁移
[中图法分类号] R394.3;R73-362;R735.2 [文献标志码] A

Effect of GM130 gene silencing on proliferation, invasion and migration in human gastric carcinoma cells

Feng Yangyang, Chen Jie, Mu Ling, Su Linqian, Yi Yongfen (Department of Pathology, Molecular Medicine and Cancer Research Center, College of Basic Medical Sciences, Chongqing Medical University, Chongqing, 400016, China)

[**Abstract**] **Objective** To explore the expression of Golgi matrix protein 130 (GM130) in different differentiated human gastric carcinoma cell lines and investigate the effect of small interference RNA-mediated GM130 gene silencing on the cell proliferation, invasion and migration *in vitro*. **Methods** Three different differentiated gastric carcinoma cell lines (MKN-28, SGC-7901 and MKN-45) were cultured *in vitro*. Western blot analysis and RT-PCR were carried out to screen MKN-45 cells and SGC-7901cells with high GM130 expression. GM130-targeting siRNA was designed, chemically synthesized and transferred into MKN-45 cells. The effects of GM130 gene silencing on the proliferation, migration and invasion of MKN-45 cells were analyzed by MTT assay, Transwell migration assay and Matrigel invasion assay, respectively. The expression of matrix metalloproteinase 2 (MMP2) and matrix metalloproteinase 9 (MMP9) were also detected by Western blotting. **Results** MKN-45 cells and SGC-7901 cells had high expression of GM130 at mRNA and protein levels. Western blotting and qRT-PCR showed that GM130-siRNA-519 significantly decreased the GM130 expression in the low differentiated MKN-45cells ($P<0.05$). The cell proliferation, migration and invasion of MKN-45 cells transfected with GM130-siRNA were suppressed ($P<0.05$), and the protein levels of MMP-2 and MMP-9 were significantly decreased ($P<0.05$). **Conclusion** Small interference RNA-mediated GM130 gene silencing can significantly inhibit the proliferation, migration and invasion in human gastric cancer cell line MKN-45.

[**Key words**] GM130; RNA interference; proliferation; invasion; migration

[基金项目] 国家自然科学基金(30672431);高等学校博士学科点专项科研基金(20060631006)
[通信作者] 易永芬,E-mail:yiyongfen1953@aliyun.com
[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20141210.1638.009.html(2014-12-10)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (30672431) and the Special Scientific Research Fund for Doctoral Program of Colleges and Universities (20060631006). Corresponding author: Yi Yongfen, E-mail: yiyongfen1953@aliyun.com

胃癌是一种在世界范围内非常常见的疾病,位于癌症死亡常见病因的第2位[1]。由于早期无明显症状及体征,往往难于早期诊断,到发现时多为晚期,治疗亦棘手。研究表明胃癌的GMⅡ[2]、FEN1[3]等基因的表达异常促进了胃癌的发生、发展。因此,探讨胃癌发生、发展的相关的基因以及进行针对性靶向治疗将是长期以来的研究重点。

高尔基体基质蛋白(Golgi matrix protein, GM130)定位于高尔基体的顺面囊上,对于高尔基体扁平囊重生和扁平囊堆叠起着至关重要的作用。它参与糖基化的控制、细胞周期进程以及在分泌途径中蛋白和脂质的转运。近来研究显示,已有将其作为有效抗癌治疗的靶向[4]。研究表明GM130在维持高尔基体结构形态中是首要的候补分子[5]。因此,GM130很快成为一种潜在流行的高尔基体标记物,发现其广泛表达于宫颈癌[6]、前列腺癌[7]、肺腺癌[8]等多种肿瘤,并与其发生、发展密切相关。目前国内外关于GM130在胃癌中的作用和意义报道极少,尚需深入研究。本实验通过在胃癌细胞株下调GM130的表达,观测其生物学行为的变化,为进一步研究GM130在胃癌发生、发展中的作用提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

胃癌细胞株MKN-28、MKN-45和SGC-7901均为重庆医科大学基础医学院分子医学与肿瘤研究中心冻存。RPMI1640培养基、胰蛋白酶购自Hyclone公司。胎牛血清、Opti-MEM购自Gibco公司。qRT-PCR试剂盒、DNA marker购自TaKaRa公司。Total RNA提取试剂盒购自OMEGA公司。Lipofectamine 2000转染试剂盒购自Invitrogen公司。GM130-siRNA-519、GM130-siRNA-683、GM130-siRNA-1163和Negative control siRNA由上海吉玛基因公司合成。GM130、β-actin的引物由宝生物工程大连有限公司合成。兔抗人GM130多克隆抗体购自Abcam公司。辣根过氧化物酶标记的羊抗兔IgG购自北京中杉金桥生物技术公司。Matrigel胶购自Bio-Rad公司,Transwell小室购自Millipore公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养和转染 胃癌细胞株MKN-28、MKN-45和SGC-7901细胞均接种在含10%新生牛血清、1×10^5 U/L青霉素、1×10^5 U/L链霉素的RPMI1640培养液中,37 ℃、5% CO_2饱和湿度培养箱中培养,待细胞长到90%时进行传代培养,将对数生长期细胞用0.25%胰蛋白酶消化,加含10%新生牛血清的RPMI1640培养液终止消化。2~3 d传代1次,取对数生长期细胞进行实验。由公司针对GM130设计并合成3条有效片段转染到高表达的胃癌细胞株中,筛选出一条有干扰效果的GM130-siRNA-519,其正义链:5′-CUGGACUCCAGCUAUGUAATT-3′,反义链:5′-UUACAUAGCUGGAGUCCAGTT-3′;阴性对照组(negative control siRNA)正义链:5′-UUCUCCGAACGUGUCACGUTT-3′;反义链:5′-ACGUGACACGUUCGGAGAATT-3′。转染前1 d,消化对数生长期的MKN-45和SGC-7901细胞,按照1.0×10^5/mL分别接种于6孔板内,2 mL/孔,待细胞融合度达到40%,按照Lipofectamine 2000说明书进行操作,实验分组:(1)GM130 siRNA组:转染GM130特异性siRNA的RNA干扰组;(2)negative control siRNA组:转染非特异性siRNA的阴性对照组。

1.2.2 Western blot检测3种细胞株的GM130蛋白的表达 分别收集MKN-28、MKN-45和SGC-7901细胞,提取总蛋白,BCA法测定蛋白浓度。样品和上样缓冲液以4∶1混合变性,取38 μg/孔蛋白样品上样,经10% SDS-PAGE后,将蛋白样品转移至PVDF膜上,5%脱脂奶粉封闭1 h,加入GM130抗体(1∶1 000)和β-actin抗体(1∶1 000)4 ℃孵育过夜,TBST洗3次,每次10 min, HRP标记Ⅱ抗(1∶2 000)孵育2 h,ECL化学发光显影。

转染48 h后,收集MKN-45各组细胞(GM130-siRNA-519、GM130-siRNA-683、GM130-siRNA-1163、Negative control siRNA),取35 μg/孔蛋白样品上样,余步骤同上。

1.2.3 RT-PCR检测3种细胞株的GM130 mRNA的表达及沉默GM130后在MKN-45中mRNA的表达

提取3种细胞株及转染24 h后的MKN-45各组细胞(GM130-siRNA-519、GM130-siRNA-683、GM130-siRNA-1163、Negative control siRNA)的总RNA,核酸浓度测定仪测定其浓度和纯度,按照TaKaRa逆转录反应说明书合成cDNA。将逆转录的cDNA为模板,进行PCR反应,以β-actin为内参,各引物序列如下。PCR反应条件如下:第1步95 ℃预变性2 min;第2步94 ℃ 30 s、退火58.5 ℃ 30 s,72 ℃ 1 min,共35个循环;最后72 ℃ 10 min。结束后取反应产物5 μL进行1.5%琼脂糖凝胶电泳。

1.2.4 qRT-PCR检测沉默GM130后在胃癌细胞MKN-45的mRNA表达水平 提取转染24 h后的MKN-45各组细胞(GM130-siRNA-519、GM130-siRNA-683、GM130-siRNA-1163、Negative control siRNA)总

RNA,将逆转录反应后的 cDNA 产物稀释 10 倍后,以 β-actin 为内参进行实时荧光定量 PCR,反应条件为 95 ℃ 预变性 10 s;95 ℃ 5 s,58.5 ℃ 20 s, 72 ℃ 20 s (39 个循环),反应结束后建立溶解曲线。GM130 上游引物:5′-GCTGGTCTTACGGCTTGTGG-3′;下游引物:5′-CATTCTCGTCAGCCCGGTAA-3′;β-actin 上游引物:5′-CCTTCTACAATGAGCTGCGT-3′;下游引物:5′-CCTGGATAGCAACGTACATG-3′。

1.2.5 MTT 法测定 MKN-45 细胞的生长增殖曲线

转染 24 h,分别收集 MKN-45 的实验组、对照组的细胞,配成 2.0×10^4/mL 细胞悬液接种于 96 孔板内,100 μL/孔,每组设 5 个复孔。然后将培养板于 37 ℃、5% CO_2 饱和湿度培养箱中培养 4 d,每 24 h 取出 96 孔板,各孔加入 20 μL(5 mg/mL,即 0.5% MTT),4 h 后弃掉上清液,加 DMSO 150 μL/孔,置于摇床 10 min,酶标仪检测波长 490 nm 处光密度值[D(490)]。

1.2.6 Matrigel 检测细胞侵袭能力 将 Matrigel 胶和枪头置于 4 ℃冰箱过夜,用预冷的无血清 RPMI1640 培养基按 8∶1 稀释 Matrigel 胶并混匀,每孔 80 μL 均匀铺在 24 孔 Transwell 上室的聚碳酸酯膜上,紧贴小室底部加入并防止气泡的产生,置于 37 ℃孵箱 3 h。收集转染 24 h 后的各组细胞,用 0.25% 胰蛋白酶消化液对细胞进行消化,并制备成单细胞悬液,计数后将 5×10^3/孔接种于上室,将小室放于 24 孔板中,上室中加入 250 μL 无血清 RPMI1640 培养基,下室中加入 750 μL 含 10% 胎牛血清的 RPMI1640 培养基,37 ℃,5% 饱和湿度培养箱中培养 24 h 取出小室,用棉签轻轻擦掉上室细胞,PBS 洗 3 次,800 μL 甲醇固定 30 min,0.1% 结晶紫染色 20 min,蒸馏水冲洗干净,室温风干。显微镜下随机取 5 个视野计数,求取平均数。

1.2.7 Transwell 检测细胞迁移能力 从 37 ℃、5% CO_2 饱和湿度培养箱中培养 12 h 取出 Transwell 小室,余步骤同侵袭实验。

1.2.8 Western blot 检测 GM130 表达下调后侵袭相关分子的表达变化 收集转染 48 h 后的各组细胞,采用 Western blot 检测 GM130(抗体稀释比例为 1∶1 000)、MMP-2(1∶400)、MMP-9(1∶1 000)等的表达,β-actin 抗体(1∶1 000),具体步骤同 1.2.2。

1.3 统计学分析

上述每个实验重复 3 次,采用 SPSS 17.0 统计学软件,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,2 组均数比较采用双样本 t 检验,多组均数间的比较用单因素方差分析。

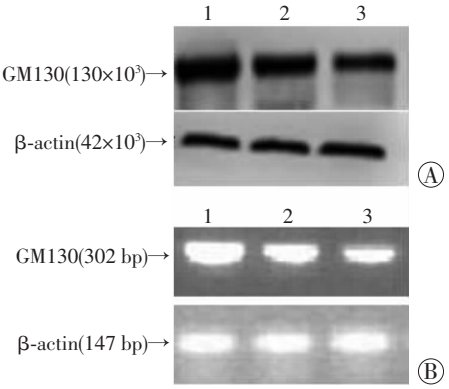
2 结果

2.1 GM130 高表达胃癌细胞株的筛选

Western blot 和 RT-PCR 结果见图 1。GM130 在中、低分化程度的胃癌细胞株中呈高表达状态($P < 0.05$),由于低分化胃癌 MKN-45 细胞具有更强的转移能力,故选择 MKN-45 细胞株用于后续实验的研究。

2.2 下调 GM130 表达在胃癌细胞中干扰效率的检测

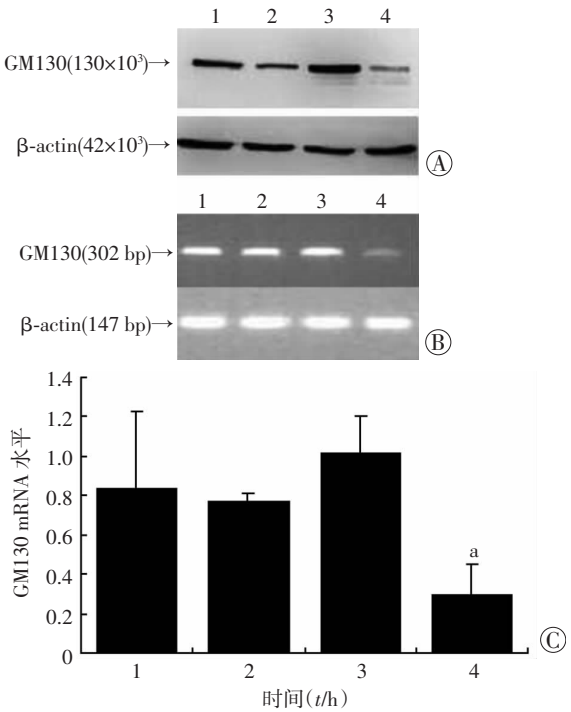
Western blot、RT-PCR 及 qRT-PCR 结果显示,GM130 特异性 siRNA 3 条序列片段分别转染 MKN-45 细胞后,GM130-siRNA-519 片段在 MKN-45 细胞株中被有效抑制,与对照组相比水平明显下降($P < 0.05$,图 2)。表明 GM130-siRNA-519 有效片段在低分化 MKN-45 细胞中被有效沉默。



1:MKN-45;2:SGC-7901;3:MKN-28

A:Western blot 检测结果;B:RT-PCR 检测结果

图 1 3 株胃癌细胞中 GM130 mRNA 和蛋白的表达

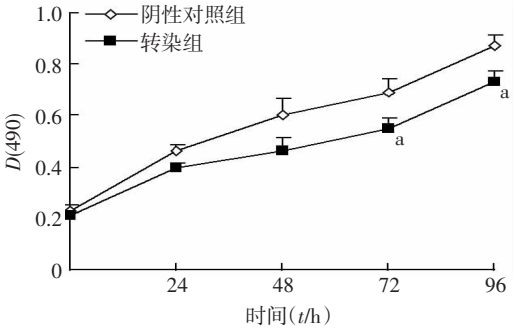


A:Western blot 检测结果;B:RT-PCR 检测结果;C: qRT-PCR 定量分析 1: GM130-siRNA-683;2: GM130-siRNA-1163;3:阴性对照组;4:GM130-siRNA-519;a:$P < 0.05$,与阴性对照组比较

图 2 RT-PCR、qRT-PCR 及 Western blot 检测沉默 GM130 后的 mRNA 水平和蛋白表达

2.3 下调GM130对低分化胃癌细胞MKN-45增殖的影响

MMT法检测结果显示,与阴性对照组相比,转染组的细胞增殖受到明显抑制($P<0.05$,图3)。

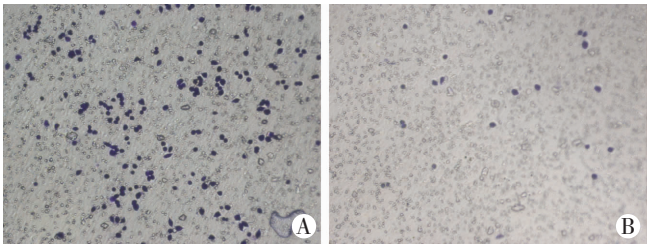


a: $P<0.05$,与阴性对照组比较

图3 MTT检测下调GM130后对MKN-45的细胞生长影响

2.4 下调GM130对低分化胃癌细胞MKN-45侵袭能力的影响

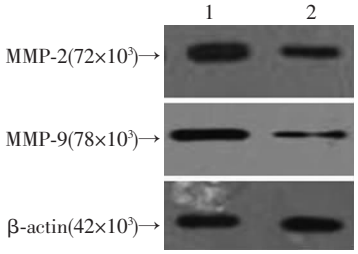
转染48 h后,显微镜下计数对照组和转染组穿越过基底膜的细胞数,结果显示,GM130转染组与阴性对照组中,每个低倍视野细胞数分别为(89.8±6.3)和(15.2±6.1)。转染组穿过基底膜的细胞数目显著低于对照组($P<0.05$,图4)。说明下调GM130基因后,MKN-45细胞的侵袭能力明显下降。



A:对照组;B:转染组

图4 Matrigel检测下调GM130对MKN-45细胞侵袭能力的影响 (结晶紫 ×100)

Western blot检测结果显示,下调GM130后,MKN-45细胞中MMP-2、MMP-9蛋白表达水平亦下调(图5)。说明下调GM130基因后,MKN-45细胞的侵袭能力下降。

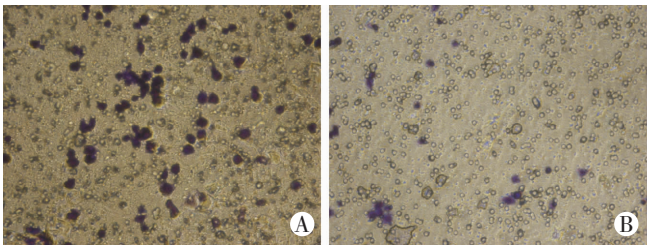


1:对照组;2:转染组

图5 Western blot检测下调GM130后MKN-45细胞中MMP-2和MMP-9蛋白的表达

2.5 下调GM130对低分化胃癌细胞MKN-45迁移能力的影响

转染48 h后,显微镜下计数对照组和转染组穿过Transwell上室的细胞数,结果显示,GM130转染组与对照组中,每个低倍视野细胞数分别为(147.8±13.1)和(54.6±10.6)。转染组穿过小室的细胞数目明显低于对照组($P<0.05$,图6)。说明下调GM130基因后,MKN-45细胞的迁移能力明显下降。



A:对照组;B:转染组

图6 Transwell检测下调GM130对MKN-45细胞迁移能力的影响 (结晶紫 ×100)

3 讨论

高尔基体是分泌途径中的一个主要的细胞器,负责接收从内质网运输来的几乎所有的新合成的分泌蛋白和膜蛋白,并将其处理、分类及运输到相应靶组织。近来研究表明内质网、高尔基体和溶酶体被视为干预癌症治疗的潜在靶向[9-10]。GM130作为一种顺面高尔基体基质蛋白,参与高尔基体结构的维持,在有丝分裂期间高尔基体的裂解和重组中起着重要作用[11-14]。当GM130蛋白锚定在高尔基体上时,能够稳定高尔基体的形态,并且有利于细胞分裂后扁平囊的重组装,才能将内质网运输过来的蛋白通过高尔基体进行翻译,加工修饰和分选,然后通过分泌运输到特定的亚细胞部位而发挥功能[14-15]。另外,还参与控制糖基化[16]、细胞周期进程[17]、细胞极化[18]和定向细胞移动[19]。GM130与多种类型的肿瘤侵袭和转移行为密切相关。下调GM130可使肺癌细胞侵袭能力下降,抑制小鼠肺癌模型中肿瘤生长及肿瘤血管生成[4];下调GM130抑制了高尔基体堆积中横状池的融合并干扰了影响分泌和膜蛋白的高尔基体酶的一致分布[20];亦导致内质网到高尔基体的运输部分程度地抑制或耽搁[21],而内质网和高尔基体能够刺激细胞共存机制和细胞自杀程序[22-23]。因此,控制内质网和高尔基体间的运输可能为抗癌治疗开辟独径。已有研究通过沉默GM130作为抗癌治疗的靶向来改变内质网和高尔基体之间蛋白运输的平衡[4]。

我们在前期实验中,初步分析了GM130在胃癌发生、发展中可能扮演着重要的角色[24]。本研究通过Western blot和RT-PCR检测在不同分化程度胃癌细

胞(MKN-28、SGC-7901、MKN-45)GM130蛋白的表达和mRNA的水平,结果都显示,在中分化胃癌细胞系SGC-7901和低分化胃癌细胞系MKN-45中的蛋白呈高表达水平。进而在低分化胃癌细胞系MKN-45中,从蛋白和mRNA水平上筛选出针对GM130基因有明显干扰效果的siRNA,研究其沉默后对其生物学行为变化的影响。MTT法结果显示:与阴性对照组相比,转染组的细胞增殖受到明显抑制作用,表明下调GM130,抑制了胃癌肿瘤细胞的增殖。

侵袭和转移是恶性肿瘤的基本生物学特征,不仅与肿瘤细胞的侵袭性增强、粘附能力下降有关,还与肿瘤的血管生成、细胞外基质的降解及间质重构等密切相关,本研究在体外侵袭实验中通过Transwell小室内铺一层Matrigel基质胶,来模拟人体基膜中的Ⅳ型胶原和层黏连蛋白等成分,细胞为获得营养物质向小室下方移动,一般正常细胞穿透基膜的能力较低,肿瘤细胞则会改变自身形态和分泌多种蛋白酶来降解胞外基质来促进其移动。Western blot检测结果显示,GM130表达下调后MMP-2、MMP-9表达也下调。表明下调GM130后,癌细胞中的高尔基复合体功能减退,分泌基质金属蛋白酶能力减弱,证明了其侵袭能力下降;与对照组相比,抑制转染组细胞增殖;其迁移和侵袭能力明显下降。

总之,本研究表明GM130与胃癌的恶性发展过程有密切关系,为临床治疗胃癌提供了新的靶向。但是GM130在胃癌发生、发展中的作用机制,以及在侵袭迁移中的分子机制和信号通路尚需进一步研究。

志谢 感谢在实验过程中给予细心帮助和耐心指导的李海玉同学以及实验室平台的所有成员

参考文献:

[1] 蒋振, 郭俊明, 肖丙秀. 特异性微小RNA抑制剂对胃癌细胞增殖的影响[J]. 中国病理生理杂志, 2009, 25(9): 1726-1730.
[2] 朱嫦, 杨雅莹, 易永芬. 高尔基体α-甘露糖苷酶Ⅱ在不同分化胃癌细胞和组织中的差异表达及意义[J]. 中国病理生理杂志, 2011, 27(10): 1890-1895.
[3] Wang K, Xie C, Chen D. Flap endonuclease 1 is a promising candidate biomarker in gastric cancer and is involved in cell proliferation and apoptosis[J]. Int J Mol Med, 2014, 33(5): 1268-1274.
[4] Chang S H, Hong S H, Jiang H L, *et al*. GOLGA2/GM130, cis-Golgi matrix protein, is a novel target of anticancer gene therapy[J]. Mol Ther, 2012, 20(11): 2052-2063.
[5] Nakamura N, Rabouille C, Watson R, *et al*. Characterization of a cis-Golgi matrix protein, GM130[J]. J Cell Biol, 1995, 131(6 Pt 2): 1715-1726.
[6] Brandstaetter H, Kendrick-Jones J, Buss F. Myo1c regulates lipid raft recycling to control cell spreading, migration and Salmonella invasion[J]. J Cell Sci, 2012, 125(Pt 8): 1991-2003.
[7] Friesland A, Zhao Y, Chen Y H, *et al*. Small molecule targeting Cdc42-intersectin interaction disrupts Golgi organization and suppresses cell motility[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2013, 110(4): 1261-1266.
[8] Hermeking H. The 14-3-3 cancer connection[J]. Nat Rev Cancer, 2003, 3(12): 931-943.
[9] Levine B, Yuan J, Autophagy in cell death: an innocent convict? [J]. J Clin Invest, 2005, 115(10): 2679-2688.
[10] Kroemer G, Jaattela M. Lysosomes and autophagy in cell death control[J]. Nat Rev Cancer, 2005, 5(11): 886-897.
[11] Lowe M. Structural organization of the Golgi apparatus[J]. Curr Opin Cell Biol, 2011, 23(1): 85-93.
[12] Xiang Y, Wang Y. New components of the Golgi matrix [J]. Cell Tissue Res, 2011, 344(3): 365-379.
[13] Kodani A, Kristensen I, Huang L, *et al*. GM130-dependent control of Cdc42 activity at the Golgi regulates centrosome organization[J]. Mol Biol Cell, 2009, 20(4): 1192-1200.
[14] Marra P, Salvatore L, Mironov A Jr, *et al*. The biogenesis of the Golgi ribbon: the roles of membrane input from the ER and of GM130[J]. Mol Biol Cell, 2007, 18(5): 1595-1608.
[15] Yadav S, Puri S, Linstedt A D. A primary role for Golgi positioning in directed secretion, cell polarity, and wound healing [J]. Mol Biol Cell, 2009, 20(6): 1728-1736.
[16] Koreishi M, Gniadek T J, Yu S, *et al*. The golgin tether giantin regulates the secretory pathway by controlling stack organization within Golgi apparatus[J]. PLoS One, 2013, 8(3): e59821.
[17] Maia A R, Zhu X, Miller P, *et al*. Modulation of Golgi-associated microtubule nucleation throughout the cell cycle[J]. Cytoskeleton (Hoboken), 2013, 70(1): 32-43.
[18] Sun S C, Kim N H. GM130: new insights into oocyte asymmetric division[J]. Cell Cycle, 2011, 10(15): 2419.
[19] Millarte V, Farhan H. The Golgi in cell migration: regulation by signal transduction and its implications for cancer cell metastasis[J]. ScientificWorldJournal, 2012, 2012: 498278.
[20] Puthenveedu M A, Bachert C, Puri S, *et al*. GM130 and GRASP65-dependent lateral cisternal fusion allows uniform Golgi-enzyme distribution[J]. Nat Cell Biol, 2006, 8(3): 238-248.
[21] Diao A, Frost L, Morohashi Y, *et al*. Coordination of golgin tethering and SNARE assembly: GM130 binds syntaxin 5 in a p115-regulated manner[J]. J Biol Chem, 2008, 283(11): 6957-6967.
[22] Maag R S, Hicks S W, Machamer C E. Death from within: apoptosis and the secretory pathway[J]. Curr Opin Cell Biol, 2003, 15(4): 456-461.
[23] Szegezdi E, Logue S E, Gorman A M, *et al*. Mediators of endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis[J]. EMBO Rep, 2006, 7(9): 880-885.
[24] 陈婕, 牟玲, 易永芬. 高尔基体基质蛋白130、14-3-3ζ、整合素α3在中、低分化胃癌组织的表达及意义[J]. 重庆医科大学学报, 2014, 39(12): 1679-1685.

(收稿:2014-09-20;修回:2014-11-18)
(编辑 汪勤俭)