

专  
家  
介  
绍

燕丹,女,中国药科大学临床药学博士,江苏省肿瘤医院副主任药师。江苏省抗癌协会学术秘书,江苏省药理学会会员。长期从事抗肿瘤药物暨肿瘤防治的研究工作,以及临床科学用药的管理和探索。目前主持在研课题共 4 项、作为主要研究骨干参与国家自然科学基金项目和江苏省科研项目。作为第一作者或通讯作者发表学术论文 10 余篇。

## 锌 $\alpha 2$ 糖脂蛋白通过调节 ATP 水平影响大肠癌 HT-29 细胞的侵袭能力

胡俊<sup>1</sup>,李原<sup>2</sup>,黄培林<sup>3</sup>,魏青<sup>4</sup>,常立功<sup>3</sup>,胡明玥<sup>3</sup>,周玲娜<sup>3</sup>,申霞<sup>3</sup>,燕丹<sup>4\*</sup>

(<sup>1</sup>南京红十字医院肿瘤科,江苏 南京 210001;<sup>2</sup>东南大学附属第二医院肿瘤科,江苏 南京 210003;<sup>3</sup>东南大学医学院病理学系,江苏 南京 210009;<sup>4</sup>江苏省肿瘤医院药剂科,江苏 南京 210009)

**[摘要]** 目的:锌  $\alpha 2$  糖脂蛋白(zinc-alpha-2-glycoprotein 1,ZAG)是新近发现的具有复杂功能的蛋白,ZAG 参与受精、脂代谢及免疫调节等多种细胞生物学行为,本研究探讨 ZAG 在大肠癌演进过程中的作用。方法:本研究构建 ZAG 干扰质粒,并转染入 HT-29 结肠癌细胞株,免疫印迹与逆转录聚合酶链式反应(RT-PCR)方法检测转染前后 ZAG 表达的变化;检测转染前后细胞三磷酸腺苷(adenosine triphosphate,ATP)含量的变化,以了解 ZAG 对细胞代谢的影响;利用小室实验检测转染前后 HT-29 细胞侵袭能力的变化。结果:ZAG 干扰质粒成功转染入 HT-29 细胞并筛选出稳定转染细胞株;转染后的 HT-29 细胞 ATP 水平上调,且转染后的 HT-29 侵袭能力增强。结论:研究结果提示 ZAG 可能通过调节 ATP 水平增强大肠癌 HT-29 细胞的侵袭能力,为大肠癌治疗提供了有价值的新靶点。

**[关键词]** ZAG;大肠癌;ATP;HT-29 细胞

**[中图分类号]** R735.34

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2016)11-1295-05

**doi:** 10.7655/NYDXBNS20161103

## Zinc-alpha-2-glycoprotein 1 regulates invasion ability of human colorectal carcinoma HT-29 cells by regulating ATP

Hu Jun<sup>1</sup>,Li Yuan<sup>2</sup>,Huang Peilin<sup>3</sup>,Wei Qin<sup>4</sup>,Chang Ligong<sup>3</sup>,Hu Mingyue<sup>3</sup>,Zhou Linna<sup>3</sup>,Shen Xia<sup>3</sup>,Yan Dan<sup>4\*</sup>

(<sup>1</sup>Department of Oncology,Nanjing Red Cross Hospital,Nanjing 210001;<sup>2</sup>Department of Oncology,the Second Hospital Affiliated to Southeast University,Nanjing 210003;<sup>3</sup>Department of Pathology,Medical College,Southeast University,Nanjing 210009;<sup>4</sup>Department of Pharmacy,Jiangsu Cancer Hospital,Nanjing 210009,China)

**[Abstract]** **Objective:**Zinc-alpha-2-glycoprotein 1 (ZAG) is a protein with multiple functions,such as participating in lipometabolism,saccharometabolism,energy metabolism,immunoreaction and fertilization. It is observed whether ZAG involved in the regulation of human colorectal cancer cell line(HT-29) in this study. **Methods:**ZAG-RNAi plasmids were constructed and transfected into human colorectal cancer HT-29 cells. The expressions of target proteins and gene were detected by Western blot and RT-PCR, respectively. Adenosine triphosphate(ATP) was assessed to investigate the activation of energy metabolism. The capacity of HT-29 cell migration was investigated using the Transwell migration assay. **Results:**ZAG interference plasmids were successfully transfected into HT-29 cells,and stably transfected cell lines were screened out. ATP level and the migration of ZAG inhibitor-treated cells were increased. **Conclusion:**The down-expression of ZAG promoted the expression of ATP and up-regulated the malignant phenotype of

**[基金项目]** 国家自然科学基金(81372152);北京医学奖励基金(YJHYXKYJJ-433);江苏省肿瘤医院青年基金(ZQ201503)

\*通信作者(Corresponding author),E-mail:sharon06243731@sina.com

HT-29 cells.

[Key words] ZAG; colorectal cancer; ATP; HT-29 cells

[Acta Univ Med Nanjing, 2016, 36(11): 1295-1299]

锌  $\alpha$ 2 糖脂蛋白 (zinc- $\alpha$ 2-glycoprotein 1, ZAG) 是 Burgi<sup>[1]</sup> 使用锌盐沉淀法在人类血清中发现的, ZAG 基因定位于染色体 7q22.1, 基因全长约 9 302 bp, 分子量约 47 kDa<sup>[2-3]</sup>; ZAG 的氨基酸序列与脂肪因子高度同源, 因此也被认为是一种新型脂肪因子<sup>[4]</sup>; 新近研究发现, ZAG 与肿瘤细胞增殖分化相关, 还能够参与受精、脂代谢以及免疫调节。多项临床研究证实 ZAG 是多种肿瘤的标志物并与肿瘤的发生、发展、预后及患者的生存率有关<sup>[5]</sup>; 有研究显示 ZAG 能够调节脂肪代谢和糖代谢, 从而影响多种肿瘤细胞的恶性生物学行为<sup>[6-7]</sup>。大肠癌是消化道最为常见的恶性肿瘤之一, 随着我国人民生活水平的不断提高, 大肠癌的发病率具有明显上升趋势。但 ZAG 在大肠癌演进过程中的作用仍不清楚。本研究利用 RNAi 技术抑制人大肠癌 HT-29 细胞中 ZAG 基因的表达, 初步探讨 ZAG 在调节大肠癌 HT-29 细胞恶性表型中的作用。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

在基因库 (GenBank) 中查询得到人类 ZAG 基因序列 (XM\_003815725.1), ZAG-specific RNAi plasmid 干扰质粒 (上海吉玛公司), 人大肠癌 HT-29 细胞 (中国科学院上海细胞库), 培养基及血清 (Hyclone 公司, 美国); 转染试剂 X-tremeGENE HP (罗氏公司, 美国), 荧光显微镜 (尼康 T200 型, 日本); 兔抗人 ZAG 单克隆抗体、内参抗体及第二抗体 (Santa Cruz 公司, 美国), 引物合成及测序均由上海杰瑞公司完成; RNA 抽提试剂盒、RT-PCR 试剂盒 (Takara 公司, 日本), 半定量 PCR 仪 (Eppendorf 公司, 美国), 凝胶成像系统 (上海培清公司), 蛋白抽提试剂盒 (杭州碧云天公司); Transwell 小室 (Corning 公司, 美国), ATP 检测试剂盒 (南京建成生物有限公司)。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 细胞培养与转染

HT-29 细胞用 RPMI-1640 培养, 培养基中添加双抗, 10% 澳洲胎牛血清, 在 37°C、5% CO<sub>2</sub> 以及 95% 相对饱和湿度环境下培养。使用 X-tremeGENE HP 将 ZAG 干扰质粒转染入对数生长期的 HT-29 细胞

中, 经 G418 筛选形成稳定转染 ZAG 干扰质粒的 HT-29 细胞株。本研究设立空白组 (野生型 HT-29 细胞)、对照组 (转染 ZAG 干扰对照质粒的 HT-29 细胞株) 以及实验组 (转染 ZAG 干扰质粒的 HT-29 细胞株)。

#### 1.2.2 RT-PCR 检测 ZAG 干扰效率

使用 TRIzol 提取实验组细胞总 RNA, 提纯的 RNA 溶解于无 RNA 酶双蒸水中, 测量提取样本中 RNA 的浓度, 分装并保存于 -80°C; 配置逆转录反应体系 (20  $\mu$ L) 进行如下程序反应: 50°C 45 min, 85°C 5 min; 分别构建以下引物: ZAG 上游引物 5'-GAGA-ATAACAGAAGCAGCGGAGCAT-3', 下游引物 5'-ATTGTGAAGAACATCTCCCCGTAAC-3';  $\beta$ -actin 上游引物 5'-G-CACCACACCTTCTACAATG-3', 下游引物 5'-TGCTTGCTGATCCACATCTG-3'。PCR 反应体系 (25  $\mu$ L) 进行如下程序反应: 94°C 5 min; 94°C 45 s, 60°C 50 s, 72°C 90 s, 30 个循环; 最后 72°C 10 min。PCR 产物在 2% 琼脂糖中电泳, 经溴化乙锭染色后在凝胶成像系统中显影并分析。

#### 1.2.3 Western blot 检测 ZAG 蛋白表达

收集各实验组细胞, R10 裂解混合液提取各组细胞总蛋白, 取各组总蛋白 10  $\mu$ g 上样。在 10% SDS-PAGE 凝胶系统中电泳, 半干转至 PVDF 膜上, 使用 1% BSA 封闭抗原 1 h, 使用含一抗的 BSA 过夜孵育, TBST 漂洗 3 次, 二抗 37°C 结合 1 h, 显色系统定影曝光, 使用 Image J 软件对各条带灰度值进行分析。

#### 1.2.4 ATP 含量测定

按照 ATP 含量试剂盒说明, 调整细胞浓度至  $3 \times 10^5$  个/mL, 以 2 mL/孔接种于 6 孔板中, 并设空白培养基为调零组; ATP 浓度 (mmol/gprot) = (实验组吸光度值 - 对照组吸光度值) / (标准品吸光度值 - 调零组吸光度值)  $\times$  标准浓度 ( $10^3 \mu$ mol/L)  $\times$  样品稀释比例 / 总蛋白浓度 (gprot/L)。

#### 1.2.5 Transwell 小室实验

将 50  $\mu$ L 稀释过的基质胶均匀地平铺于上室, 置于 37°C 自凝 30 min, 收集各组  $1 \times 10^5$  个细胞悬液加入上室, 向下室中加入适量体积完全培养基; 将培养体系置于 37°C、5% CO<sub>2</sub> 细胞培养箱中连续培养 36 h, 培养结束后使用多聚甲醛固定各组细胞, 0.5% 结晶紫染色, 随机选择不同视野 ( $\times 200$ ) 进行观察并记录。

### 1.3 统计学方法

统计分析采用SPSS17.0软件,分析结果使用均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ ),单一重复实验采用单因素方差分析, $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 ZAG 干扰质粒的转染与筛选

使用 X-tremeGENE HP 将干扰质粒及其对照质粒转入各组细胞,转染 48 h 后观察绿色荧光强度,经 G418 持续筛选出稳定转染 ZAG 干扰质粒和 ZAG 干扰对照质粒的 HT-29 细胞株(图 1),筛选出的稳转株进行后续实验。

### 2.2 RT-PCR 检测 ZAG 基因的表达

ZAG mRNA 在空白组、对照组与实验组中的相对表达分别为  $0.92 \pm 0.14$ 、 $0.89 \pm 0.12$  和  $0.45 \pm 0.11$ (与内参基因相比);空白组与对照组 ZAG mRNA 的表达差异无统计学差异( $P > 0.05$ ),与空白组相比,实验组 ZAG mRNA 相对表达较低( $P < 0.01$ );与对照组相比,实验组 ZAG mRNA 表达也较低( $P < 0.01$ ,图 2)。提示经 ZAG 干扰质粒转染的 HT-29 细胞,ZAG mRNA 的表达降低,ZAG 干扰质粒成功抑制了 ZAG 基因的表达。

### 2.3 Western blot 检测 ZAG 蛋白的表达

与基因检测结果类似,实验组 ZAG 蛋白相对表达均低于空白组和对照组(图 3A);ZAG 蛋白在空白组、对照组和实验组细胞中的相对表达分别为  $0.54 \pm 0.08$ 、 $0.51 \pm 0.06$  和  $0.32 \pm 0.03$ (图 3B)。蛋白检测结果提示 ZAG 干扰质粒能有效抑制 HT-29 细胞中 ZAG 蛋白的表达。

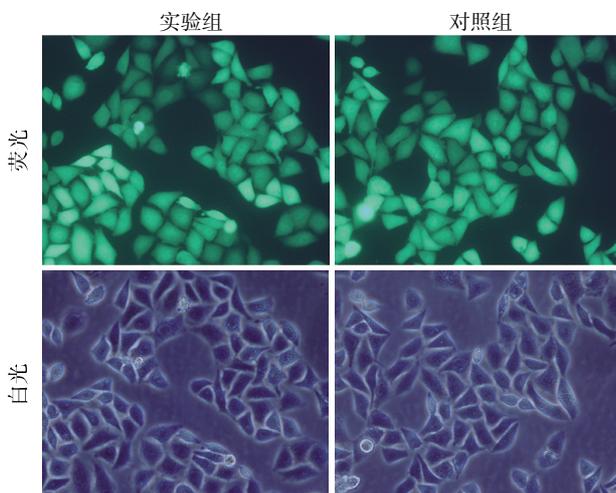
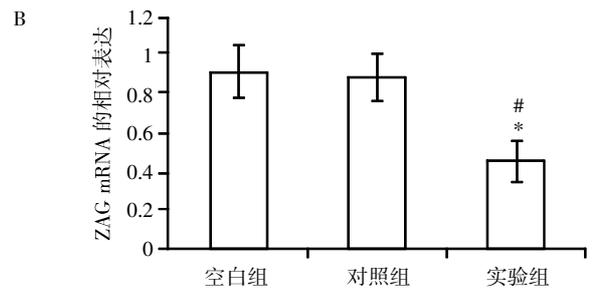
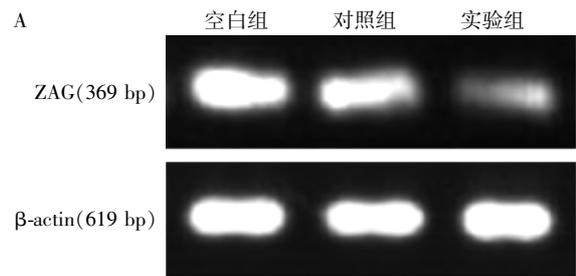


图 1 稳定转染 ZAG 的 HT-29 细胞株的筛选( $\times 200$ )

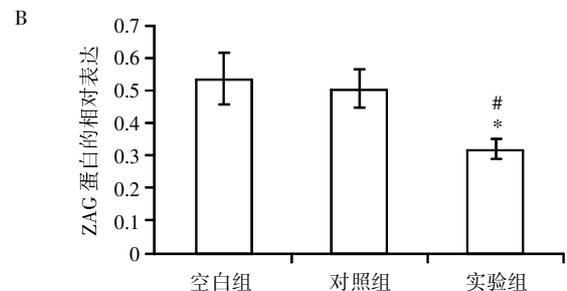
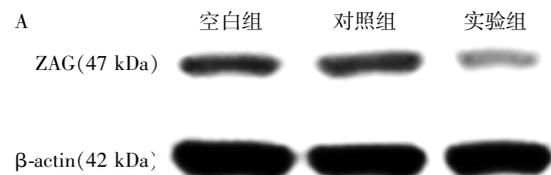
Figure 1 Selection of HT-29 cells transfected with a plasmid stably( $\times 200$ )



A: ZAG 扩增片段凝胶电泳图; B: ZAG mRNA 的相对表达。与对照组相比,  $*P < 0.01$ ; 与空白组相比,  $*P < 0.01$ ;  $n=3$ 。

图 2 转染前后 ZAG 基因表达变化

Figure 2 Expression of ZAG gene before and after transfection



A: ZAG 蛋白 Western blot 结果; B: ZAG 蛋白表达的相对定量分析。与对照组相比,  $*P < 0.05$ ; 与空白组相比,  $*P < 0.01$ ;  $n=3$ 。

图 3 HT-29 细胞转染前后 ZAG 蛋白表达变化

Figure 3 Expression of ZAG protein before and after transfection

### 2.4 ZAG 干扰质粒对 HT-29 细胞 ATP 水平的影响

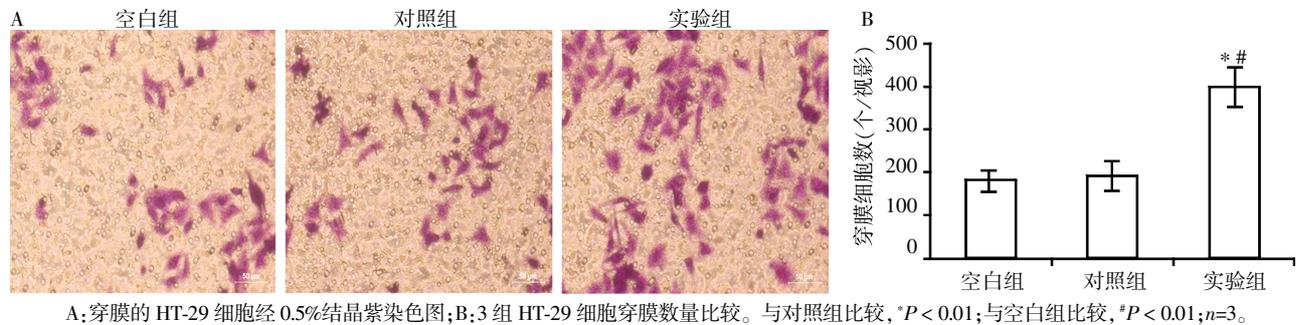
空白组、对照组和实验组的 ATP 浓度分别是  $(527.51 \pm 97.62)$ 、 $(672.26 \pm 86.91)$ 、 $(945.28 \pm 89.36)$  mmol/grot。空白组与对照组相比, ATP 浓度无差异;与其他两组相比,实验组 ATP 浓度较高( $P < 0.05$ ),结果提示抑制 ZAG 表达可导致人结肠癌细胞 HT-29 的 ATP 水平增高。

### 2.5 ZAG 干扰质粒对 HT-29 细胞侵袭能力的影响

经 ZAG 干扰质粒转染的 HT-29 细胞侵袭能力

较对照组和空白组增强,空白组、对照组和实验组穿过基底膜的细胞数分别为 $(183.46 \pm 24.34)$ 、 $(194.26 \pm 34.24)$ 、 $(398.13 \pm 45.25)$ 个/视野。与其他

两组相比,实验组穿膜细胞数最多( $P < 0.01$ ,图 4)。提示 ZAG 干扰质粒能够增强 HT-29 细胞的侵袭能力。



A:穿膜的 HT-29 细胞经 0.5%结晶紫染色图;B:3 组 HT-29 细胞穿膜数量比较。与对照组比较,\* $P < 0.01$ ;与空白组比较,\* $P < 0.01$ ;n=3。

图 4 HT-29 细胞转染前后侵袭能力的变化

Figure 4 Invasion ability before and after transfection in HT-29 cell

### 3 讨论

通常认为,ZAG 主要由上皮细胞分泌,正常人的血清、尿液及体液中均能检测出低含量的 ZAG,因氨基酸序列与脂肪因子高度同源,ZAG 最初被认为是一种新型脂肪动员因子;随后研究也发现,ZAG 能强烈促进脂肪分解、加速脂肪利用<sup>[8]</sup>;向小鼠体内注入 ZAG 后,小鼠体重随注入 ZAG 量的增加和时间延长而降低;敲除 ZAG 基因的小鼠体重及体脂含量明显高于野生型 ZAG 小鼠;ZAG 不仅参与脂肪分解和利用,还可能参与脂肪的合成以及脂肪细胞的分化。2004 年,Russell 等<sup>[9]</sup>发现在肿瘤恶病质患者血清与尿液中的 ZAG 浓度高于正常人,这一发现使人们开始重新审视 ZAG 与肿瘤的相关性;73%的前列腺癌组织 ZAG 表达阳性,且高表达的 ZAG 常与不良预后和生存率相关<sup>[10]</sup>;79.9%的乳腺癌组织 ZAG 表达阳性,93.9%的乳腺癌旁组织 ZAG 表达阳性,正常乳腺组织中 ZAG 低表达<sup>[11]</sup>;但 ZAG 在肺癌组织中的表达与正常肺组织无差异,肺癌组织中 ZAG mRNA 的含量与预后无相关性<sup>[12]</sup>;在胃癌患者中,ZAG 的低表达与肿瘤分期呈正相关,ZAG 高表达的胃癌患者 5~10 生存率高于 ZAG 低表达的患者<sup>[13]</sup>;而且在肝癌患者中,高表达 ZAG 的患者具有较长生存期和较好预后,低表达 ZAG 的患者多提示预后不良<sup>[14]</sup>。可见,ZAG 在不同肿瘤中作用并不尽相同,而且现有研究关于 ZAG 在肿瘤演进过程中的作用尚不一致;本研究利用 RNAi 技术,通过构建 ZAG 干扰质粒,并转染入 HT-29 细胞,研究 ZAG 表达的变化对人结肠癌细胞 HT-29 侵袭能力的影响,并研究 ZAG 在结肠癌细胞 HT-29 中的作用及初步

机制;RT-PCR 与 Western blot 分析均提示,ZAG 干扰质粒及其对照质粒构建成功,且成功抑制 ZAG 在基因和蛋白水平的表达。

细胞侵袭和迁移涉及到细胞形态、位置和增殖能力的变化,这一过程也必然由线粒体提供能量支持(提供充足的 ATP)。最新研究已经证明,肿瘤细胞侵袭迁移过程中,伪足中线粒体数量明显增加,且 ATP 丰度也有所增加,同时与细胞能量代谢相关的 AMP 激活的蛋白激酶信号(细胞内的能量感受器)可调节肿瘤细胞伪足活性和细胞骨架的动态变化,直接影响肿瘤细胞侵袭能力<sup>[15]</sup>;不仅如此,ATP 相关转运蛋白也已被证明可直接参与调节肿瘤细胞活性和侵袭能力<sup>[16-18]</sup>;这些研究从另一个角度印证了 ATP 在肿瘤细胞侵袭过程中的重要性;多数肿瘤细胞依赖糖酵解获取能量,但部分肿瘤细胞却依赖谷氨酰胺或乳酸获取能量,但无论获取能量的形式如何,肿瘤细胞最终的目标都是获得侵袭、迁移、增殖和分化的最基本元素——ATP<sup>[19]</sup>。但在正常肺动脉内皮细胞中,ATP 联合脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)却能够使其活力显著下降<sup>[20]</sup>,体外实验还证实 ATP 还可由黄芪甲苷诱导表达,从而为临床使用黄芪甲苷改善主动脉缺氧状态提供了实验室依据<sup>[21]</sup>。如今 ATP 相关实验室检测即将应用于临床肿瘤治疗,届时可作为患者个性化治疗的依据<sup>[22]</sup>。

为进一步研究 ZAG 下调对人结肠癌 HT-29 细胞的影响,本研究检测了 HT-29 细胞转染 ZAG 干扰质粒前后 ATP 的变化,研究发现转染 ZAG 后的 HT-29 细胞的 ATP 水平较野生型 HT-29 有所升高,这一结果提示抑制 ZAG 可诱导 ATP 浓度增加;ATP 含量是能量代谢的重要指标,ATP 含量增加能促进

肿瘤细胞增殖,ATP浓度受多种因素影响,下调ZAG可能通过脂肪代谢影响三羧酸循环并最终影响ATP浓度,具体机制还有待研究;本研究还发现转染ZAG干扰质粒的HT-29细胞侵袭能力比野生型HT-29细胞强,这一结果可能是由于ZAG影响了ATP的表达并导致HT-29细胞侵袭能力的变化。尽管已经证实下调ZAG促进HT-29细胞ATP浓度以及侵袭能力增加,但涉及到的具体机制仍有待进一步研究。

#### [参考文献]

- [1] Burgi W, Schmid K. Preparation and properties of Zn-alpha 2-glycoprotein of normal human plasma [J]. J Biol Chem, 1961, 236(4): 1066-1074
- [2] Ueyama H, Niwa M, Tada T, et al. Cloning and nucleotide sequence of a human Zn-alpha 2-glycoprotein cDNA and chromosomal assignment of its gene [J]. Biochem Biophys Res Commun, 1991, 177(2): 696-703
- [3] Ueyama H, Deng HX, Ohkubo I. Molecular cloning and chromosomal assignment of the gene for human Zn-alpha 2-glycoprotein [J]. Biochemistry, 1993, 32 (48): 12968-12976
- [4] Langouët M, Siquier-Pernet K, Sanquer S, et al. Contiguous mutation syndrome in the era of high-throughput sequencing [J]. Mol Genet Genomic Med, 2015, 3(3): 215-220
- [5] Hassan MI, Waheed A, Yadav S, et al. Zinc alpha 2-glycoprotein: A multidisciplinary protein [J]. Mol Cancer Res, 2008, 6(6): 892-906
- [6] Burdelski C, Kleinhans S, Kluth M, et al. Reduced AZGP1 expression is an independent predictor of early PSA recurrence and associated with ERG-fusion positive and PTEN deleted prostate cancers [J]. Int J Cancer, 2016, 138(5): 1199-1206
- [7] Xue Y, Yu F, Yan D, et al. Zinc- $\alpha$ -2-glycoprotein: a candidate biomarker for colon cancer diagnosis in Chinese population [J]. Int J Mol Sci, 2015, 16(1): 691-703
- [8] Bing C, Bao Y, Jenkins J, et al. Zinc-alpha2-glycoprotein, a lipid mobilizing factor, is expressed in adipocytes and is up-regulated in mice with cancer cachexia [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2004, 101(8): 2500-2505
- [9] Russell ST, Zimmerman TP, Domin BA, et al. Induction of lipolysis *in vitro* and loss of body fat *in vitro* by zinc-alpha2-glycoprotein [J]. Biochim Biophys Acta, 2004, 1636 (1): 59-68
- [10] Hale LP, Price DT, Sanchez LM, et al. Zinc alpha-2-glycoprotein is expressed by malignant prostatic epithelium and may serve as a potential serum marker for prostate cancer [J]. Clin Cancer Res, 2001, 7(4): 846-853
- [11] Dubois V, Delort L, Mishellany F, et al. Zinc-alpha2-glycoprotein: a new biomarker of breast cancer? [J]. Anticancer Res, 2010, 30(7): 2919-2925
- [12] Albertus DL, Seder CW, Chen G, et al. AZGP1 autoantibody predicts survival and histone deacetylase inhibitors increase expression in lung adenocarcinoma [J]. J Thorac Oncol, 2008, 3(11): 1236-1244
- [13] Huang CY, Zhao JJ, Lv L, et al. Decreased expression of AZGP1 is associated with poor prognosis in primary gastric cancer [J]. PLoS One, 2013, 8(7): e69155
- [14] Huang Y, Li LZ, Zhang CZ, et al. Decreased expression of zinc-alpha2-glycoprotein in hepatocellular carcinoma associates with poor prognosis [J]. J Transl Med, 2012, 10 (1): 106
- [15] Cunniff B, McKenzie AJ, Heintz NH, et al. AMPK activity regulates trafficking of mitochondria to the leading edge during cell migration and matrix invasion [J]. Mol Biol Cell, 2016, 27(17): 2662-2674
- [16] Tian Y, Tian X, Han X, et al. Expression of ATP binding cassette E1 enhances viability and invasiveness of lung adenocarcinoma cells *in vitro* [J]. Mol Med Rep, 2016, 14 (2): 1345-1350
- [17] Stransky L, Cotter K, Forgacs M. The function of V-ATPases in cancer [J]. Physiol Rev, 2016, 96 (3): 1071-1091
- [18] McGuire C, Cotter K, Stransky L, et al. Regulation of V-ATPase assembly and function of V-ATPases in tumor cell invasiveness [J]. Biochim Biophys Acta, 2016, 1857 (8): 1213-1218
- [19] Panisova E, Kery M, Kopacek J, et al. Enhanced metabolism as a common feature of cancer plasticity [J]. Neoplasia, 2016, 27(6): 834-843
- [20] 王再亮,孔辉,曾晓宁,等. 活性氧介导脂多糖联合三磷酸腺苷诱导的人肺动脉内皮细胞炎症小体活化 [J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2015, 35 (7): 968-974
- [21] 路遥,徐晋妣,卡智萍,等. 黄芪甲苷逆转血管紧张素 II 引起的主动脉平滑肌细胞线粒体功能障碍 [J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2015, 35(7): 975-980
- [22] 蒋松琪,江晓辉,陈志刚,等. ATP-TCA 实验及 EGFR mRNA 表达对中晚期结直肠癌化疗有效性的预测价值 [J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2015, 35(5): 691-694

[收稿日期] 2016-08-07