

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2016.32.003

## AIF 对人宫颈癌 Hela 细胞体外生物学活性的影响及机制研究\*

徐敏<sup>1</sup>, 邱雷<sup>2</sup>, 郭连峰<sup>3</sup>, 赵宁<sup>4</sup>, 张宪军<sup>4△</sup>, 张丽娟<sup>5</sup>

(1. 哈励逊国际和平医院医保科, 河北衡水 053000; 2. 哈励逊国际和平医院病理科, 河北衡水 053000;  
3. 哈励逊国际和平医院检验科, 河北衡水 053000; 4. 哈励逊国际和平医院妇科, 河北衡水 053000;  
5. 河北医科大学第二医院妇产科, 河北石家庄 050000)

**[摘要]** **目的** 探讨凋亡诱导因子(AIF)对人宫颈癌 Hela 细胞体外生物学活性的影响及其作用机制。**方法** 通过脂质体转染 pcDNA3 空载体质粒及 pcDNA3-AIF 质粒于宫颈癌 Hela 细胞, 采用免疫荧光反应, Real time PCR 及 Western blot 法检测细胞中 AIF 的表达。四甲基偶氮唑蓝(MTT)法检测细胞活力, Annexin V-PI 流式双染及 Hoechst 染色检测细胞凋亡情况, Real-time PCR 及 Western blot 法检测细胞中腺苷二磷酸核糖聚合酶-1(PARP-1)及核酸内切酶 G(EndoG)蛋白及 mRNA 的表达。**结果** 与 pcDNA3 组比较, pcDNA3-AIF 组细胞中 AIF 主要定位于细胞核中, 且细胞核中 AIF 蛋白及 mRNA 表达量皆显著提高( $P < 0.01$ ), 同时细胞活力下降, 细胞凋亡率提高( $P < 0.01$ ), 细胞中 PARP-1、EndoG 蛋白及 mRNA 表达量显著提高( $P < 0.01$ )。**结论** AIF 具有促进宫颈癌 Hela 细胞凋亡的作用, 可能与 PARP-1/AIF/EndoG 信号通路有关。

**[关键词]** 凋亡诱导因子; 宫颈肿瘤; Hela 细胞; 凋亡; 腺苷二磷酸核糖聚合酶-1; 核酸内切酶 G

**[中图分类号]** R711.7

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1671-8348(2016)32-4471-04

## Study on effect and mechanism of AIF on in vitro biological activity of human cervical cancer Hela cells\*

Xu Min<sup>1</sup>, Qiu Lei<sup>2</sup>, Guo Lianfeng<sup>3</sup>, Zhao Ning<sup>4</sup>, Zhang Xianjun<sup>4△</sup>, Zhang Lijuan<sup>5</sup>

(1. Department of Medical Insurance; 2. Department of Pathology; 3. Department of Clinical Laboratory;  
4. Department of Gynecology, Harrison International Peace Hospital, Hengshui, Hebei 053000, China; 5. Department of Obstetrics and Gynecology, Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang, Hebei 050000, China)

**[Abstract]** **Objective** To explore effect of apoptosis inducing factor(AIF) on the in vitro biological activity of human cervical cancer Hela cells and its mechanism. **Methods** Hela cells were transferred with pcDNA3 plasmid and pcDNA3-AIF plasmid. The location and expression of AIF in Hela cell was determined by immunofluorescent, realtime PCR and Western blot. The cell viability was detected by MTT. The cell apoptosis was examined by Annexin V-PI flow cytometry and Hoechst staining. The expression of poly(ADP-ribose)polymerases-1(PARP-1) and endonuclease G(EndoG) was detected by Western blot. **Results** Compared with the pcDNA3 group, AIF in the pcDNA3-AIF group was mainly localized in the nucleus, moreover the expression of AIF protein and mRNA in nucleus was significantly increased ( $P < 0.01$ ), meanwhile the cell viability was decreased, cell apoptotic rate was increased ( $P < 0.01$ ), the expressions of PARP-1 and EndoG protein and mRNA were significantly increased ( $P < 0.01$ ). **Conclusion** AIF has the effect for promoting Hela cell apoptosis, which might be related to PARP-1/AIF/EndoG signal pathway.

**[Key words]** apoptosis inducing factor; uterine cervical neoplasms; Hela cells; apoptosis; poly(ADP-ribose)polymerases-1; endonuclease G

宫颈癌是常见的妇科恶性肿瘤, 在女性恶性肿瘤中发病率居第 2 位<sup>[1-2]</sup>。宫颈癌的发病机制多样, 受多种因素影响, 其中细胞凋亡与细胞增殖的失衡在肿瘤的发生、发展中起着重要作用。细胞凋亡主要有依赖性含半胱氨酸的天冬氨酸水解酶 3 (Caspase 3) 及非依赖性 Caspase 3 水解酶两种途径, 其中凋亡诱导因子(AIF)通路是属于后一种, 是由线粒体途径直接诱导细胞凋亡却又独立于 Caspase 3 途径的一条信号通路<sup>[3-4]</sup>。已有报道 AIF 在包括宫颈癌、胃癌、肝癌等多种恶性肿瘤中高表达, 并与肿瘤的发生、发展密切相关<sup>[5-7]</sup>, 但 AIF 在宫颈癌中的作用机制尚未见报道, 因此本研究拟阐述 AIF 对宫颈癌 Hela 细胞凋亡的影响及相关机制。

## 1 材料与方法

**1.1 材料** 宫颈癌细胞 Hela 购于中国科学院细胞库, 目录

号: TCHu187。主要试剂和仪器: 兔抗 AIF, PARP-1, EndoG 多克隆抗体购于美国 Abcam 公司; 兔抗  $\beta$ -actin 单克隆抗体购于美国 Cell Signaling Technology 公司; Annexin V-PI 流式双染检测试剂盒, Hoechst 33258 染色试剂盒购于碧云天生物技术有限公司; pcDNA3 空载体质粒及 pcDNA3-AIF 质粒购于广州锐博生物技术有限公司; 四甲基偶氮唑蓝(MTT)购于 Gibco 公司; 胎牛血清, DMEM 培养基购于 Hyclone 公司。迷你双垂直电泳仪, 迷你转印电泳仪购于北京六一仪器厂公司; ChemiDoc™ XRS 凝胶成像系统购于美国 Bio-Rad 公司, AF6000 荧光显微镜(德国 Leica 公司)。

## 1.2 方法

**1.2.1 质粒的转染** 将宫颈癌细胞 Hela 接种于 96、24 或 6 孔板, 当细胞汇合度达到 50% 时, 用 Lipofectamine™ 2000 分别

\* 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81100394)。 作者简介: 徐敏(1981-), 中级医师, 本科, 主要从事妇产科疾病的研究。

△ 通讯作者, E-mail: xmlm520@163.com。

转染 pcDNA3 空载体质粒 (pcDNA3) 及 pcDNA3-AIF, 转染 6 h 后, 弃去转染液, 并通过 Realtime PCR, Western blot 及免疫荧光检测转染效果。

**1.2.2 Real time PCR 检测 AIF、PARP-1 及 Endo mRNA 表达** 采用 Trizol 法抽提细胞总 RNA。通过一步法将 RNA 逆转录为 cDNA, 并定量 PCR 检测。引物由上海生工生物工程有限公司合成。引物如表 1 所示。反转录体系为: 总 RNA 模板 2  $\mu$ L (1  $\mu$ g)、dNTP 混合物 2  $\mu$ L、MgCl<sub>2</sub> 2  $\mu$ L、加 EDPC 补充蒸馏水至 25  $\mu$ L。反应参数为: 95  $^{\circ}$ C 预变性 5 min, 95  $^{\circ}$ C 变性 30 s, 58  $^{\circ}$ C 退火 30 s, 72  $^{\circ}$ C 延伸 30 s, 循环次数为 40。以  $-\Delta\Delta$ CT 值法计算靶基因的相对表达水平: 3 次平行重复实验的平均值作为每个样本的 CT 值,  $\Delta$ CT=CT(目的基因)-CT(内参基因),  $\Delta\Delta$ CT= $\Delta$ CT(样本平均)- $\Delta$ CT(对照组), 因此目的基因相对表达水平 =  $2^{-\Delta\Delta$ CT}, 对照组的相对表达量为 20=1。

表 1 PCR 引物序列

目的基因	引物
AIF	上游: 5'-TGC TTT CAA GCA GAA ACT GG-3'
	下游: 5'-TCT AGA GGA ACA CGC CAT TG-3'
PARP-1	上游: 5'-GCC GCC TAC TCT ATC CTC AGT-3'
	下游: 5'-GGG CTT CTT CAT TCC AAA GTC-3'
EndoG	上游: 5'-TGG ACG ACA CCT TCT ACC TG-3'
	下游: 5'-CTG CGG CTG TAC TTC TCA AG-3'
$\beta$ -actin	上游: 5'-CCC ATC TAT GAG GGT TAC GC-3'
	下游: 5'-TTT ATG TCA CGC ACG ATT TC-3'

**1.2.3 免疫荧光检测** 将 HeLa 细胞加到 24 孔板的玻片上, 24 h 后, 进行转染, 48 h 后取出细胞爬片, 磷酸盐缓冲液 (PBS) 洗涤, 4% 多聚甲醛固定 20 min, 再加入 1% Triton X-100 进行细胞穿膜处理 30 min, PBS 洗涤, 加入 1% 牛血清室温封闭 1 h, 接着加入兔抗人 AIF 多克隆抗体, 4  $^{\circ}$ C 过夜, 二抗 (FITC 标记) 室温孵育 1 h。细胞核在室温进行 PI 染色 15 min, 后于荧光显微镜下进行检测。细胞核染为红色, 细胞膜染为绿色。

**1.2.4 MTT 法检测 HeLa 细胞活力** 按“1.2.1”进行操作后, 分别于 24、48、72、96 h 后, 加入 MTT, 继续培养 4 h 后吸弃培养液, 每孔加入 DMSO, 震荡使结晶物充分溶解, 于酶标仪 490 nm 处测光密度 (OD) 值, 以 OD 值表示细胞相对活力。

**1.2.5 Annexin V-PI 流式双染检测 HeLa 细胞凋亡** 按“1.2.1”进行操作后, 48 h 后消化收集细胞, 避光染色 30 min 上机检测。按照 Annexin V-FITC/PI 细胞凋亡检测试剂盒说明书的方法, 在 1 h 内进行流式细胞仪检测。

**1.2.6 Hoechst 染色检测 HeLa 细胞凋亡** 按“1.2.1”进行操作后, 48 h 后消化收集细胞, 后按照 Hoechst 33258 染色试剂盒说明书进行操作, 在荧光显微镜下观察并拍照。

**1.2.7 Western blot 检测** 按“1.2.1”进行操作后, 48 h 后消化收集细胞, 加入 RIPA 裂解液, 裂解细胞, 吸取上清液即可获得总蛋白。采用 BCA 试剂盒测定蛋白浓度。蛋白变性并上样, 进行十二烷基硫酸钠 (SDS) 凝胶电泳 1~2 h, 后湿法转膜 30~50 min。一抗孵育, 4  $^{\circ}$ C 过夜; 二抗室温孵育 1~2 h。在凝胶成像系统中曝光。

**1.3 统计学处理** 采用的 SPSS17.0 统计软件, 计量资料用  $\bar{x}\pm s$  表示, 采用 *t* 检验分析, 以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 AIF 转染的鉴定** pcDNA3 组中 AIF 在细胞中呈点状, 主要位于细胞质中, 在转染 pcDNA3-AIF 组中 AIF 蛋白已有大部分位于细胞核内, 见图 1。pcDNA3 组及 pcDNA3-AIF 组细胞核中 AIF 蛋白及 mRNA 表达水平分别为 [(0.19 $\pm$ 0.02) vs. (0.95 $\pm$ 0.09),  $P=0.004$ ] 及 [(0.27 $\pm$ 0.03) vs. (0.88 $\pm$ 0.09),  $P=0.005$ ], 差异有统计学意义 ( $P<0.01$ ), 见图 2。

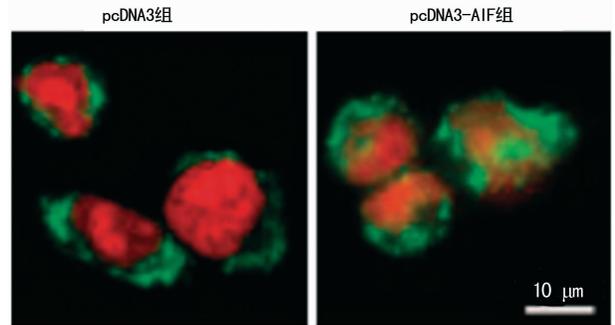


图 1 AIF 蛋白在 HeLa 细胞中的表达及定位

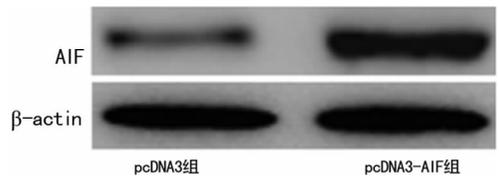
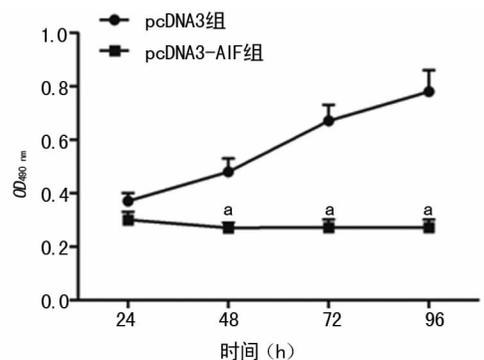


图 2 AIF 蛋白在 HeLa 细胞中的表达

**2.2 pcDNA3-AIF 对 HeLa 细胞活力的影响** 在作用 24、48、72、96 h 时, 与 pcDNA3 组比较, pcDNA3-AIF 组细胞活力显著降低, 差异有统计学意义 ( $P=0.009$ ,  $P=0.004$ ,  $P=0.005$ ,  $P=0.006$ ), 见图 3。且在 48、72、96 h 时作用强度一致。



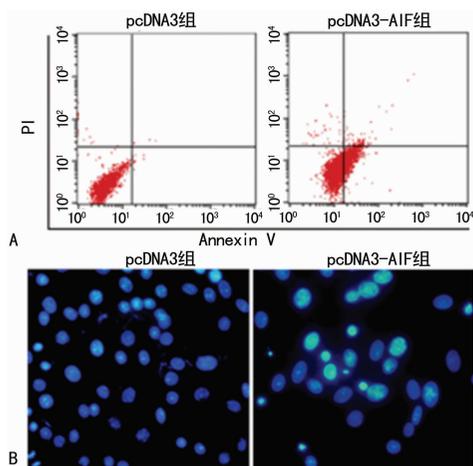
<sup>a</sup>:  $P<0.01$ , 与 pcDNA3 组比较。

图 3 pcDNA3-AIF 对 HeLa 细胞活力的影响

**2.3 pcDNA3-AIF 对 HeLa 细胞凋亡情况的影响** 表 2 所示, 经流式双染及 Hoechst 染色发现, 与 pcDNA3 组比较, pcDNA3-AIF 组细胞凋亡率显著提高, 差异均有统计学意义 ( $P=0.003$ ,  $P=0.005$ ), 见图 4。

**2.4 pcDNA3-AIF 对 HeLa 细胞核中 PARP-1 及 EndoG 表达的影响** 与 pcDNA3 组比较, pcDNA3-AIF 组细胞核中 PARP-1、EndoG 蛋白 ( $P=0.006$ ,  $P=0.005$ ) 及 mRNA 表达均显著升高, 差异均有统计学意义 ( $P=0.008$ ,  $P=0.004$ ), 见

图 5、6。



A: 流式细胞术检测; B: Hoechst 染色检测(×200)。

图 4 pcDNA3-AIF 对 HeLa 细胞凋亡情况的影响

表 2 pcDNA3-AIF 对 HeLa 细胞凋亡情况的影响(̄±s, %)

组别	流式细胞术检测结果		Hoechst 染色结果
	早期凋亡	晚期凋亡	
pcDNA3 组	1.28±0.13	2.45±0.23	5.48±0.54
pcDNA3-AIF 组	12.43±1.20 <sup>a</sup>	27.36±2.75 <sup>a</sup>	39.96±4.00 <sup>a</sup>

<sup>a</sup>: P<0.01, 与 pcDNA3 组比较。

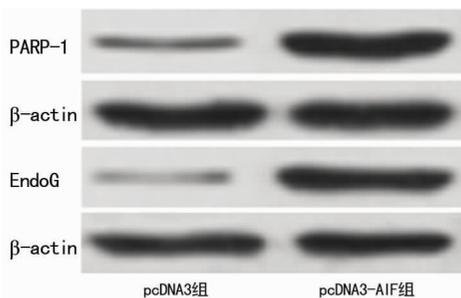
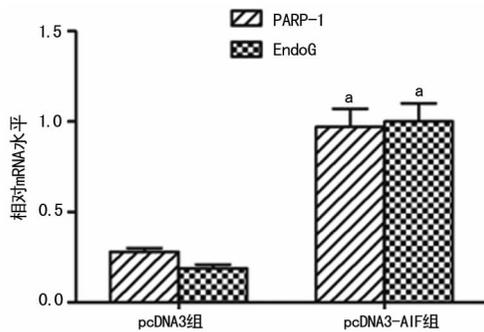


图 5 pcDNA3-AIF 对 HeLa 细胞核中 PARP-1 及 EndoG 蛋白表达的影响



<sup>a</sup>: P<0.01, 与 pcDNA3 组比较。

图 6 pcDNA3-AIF 对 HeLa 细胞核中 PARP-1 及 EndoG mRNA 表达的影响

### 3 讨 论

AIF 是 1996 年由 Susin 等在采用 Caspase 光谱抑制剂 z-VAD.fmk 处理鼠肝细胞线粒体膜中发现的一种活动蛋白。AIF 是一种黄素蛋白,人源 AIF 位于 X 染色体 q25-26 区。在

正常生理状态下,AIF 定位于细胞线粒体膜间隙中,在外界凋亡信号刺激下,AIF 将由线粒体膜进入细胞质,继而通过核定位信号进入细胞核,进而直接引起染色体聚集及 DNA 等大分子断裂,导致细胞凋亡。说明 AIF 对于细胞凋亡的影响不仅与其表达量有关,更主要的是看其所定位的亚细胞位置<sup>[8]</sup>。因此本研究首先转染 pcDNA3-AIF 质粒及空载体质粒,结果发现 pcDNA3-AIF 组细胞中 AIF 主要定位于细胞核中,且蛋白及 mRNA 表达量显著提高。同时代安亚等<sup>[8]</sup>研究结果表明,腺病毒载体转染 AIF 到白血病 K562 能直接显著的诱导细胞凋亡。赵悦等<sup>[9]</sup>的研究也表明真核表达载体 pcDNA3-AIF 能显著的降低乳腺癌 MCF 细胞线粒体膜电位,提高细胞凋亡率。此现象说明过表达 AIF 可能诱导 HeLa 细胞凋亡。所以本研究进一步通过 MTT,流式双染及 Hoechst 染色检测转染后两组细胞凋亡率,结果表明 pcDNA3-AIF 组比 pcDNA3 组细胞活力显著降低,细胞凋亡率上升,与代安亚等<sup>[8]</sup>、赵悦等<sup>[9]</sup>的研究结果一致,说明过表达 AIF 对 HeLa 细胞凋亡起着促进作用。

已报道 AIF 不依赖于 Caspase 途径,不受 Bcl-2 家族蛋白的影响,能够由上游刺激信号腺苷二磷酸核糖聚合酶-1 (PARP-1)诱导,进而进行细胞凋亡的调控<sup>[11]</sup>。PARP-1 是一种核蛋白酶,能参与细胞 DNA 损伤修复,基因调控转录,蛋白降解等多种生理过程。PARP-1 在正常生理条件下,与核纤层蛋白(laminB)共定位,在氧化应激,机械力,化学诱导剂等刺激下,与 laminB 脱离并积聚于核仁,进而在 DNA 损伤修复中发挥作用,但是过度的 DNA 损伤及 PARP-1 表达,造成细胞内 NAD 和 ATP 耗竭,能量的耗竭使得线粒体膜通透性增加,膜电位降低,并使线粒体肿胀破裂,使得 AIF 及 EndoG 从线粒体中释放出来,进入细胞核,诱发非 Caspase3 途径,最终导致细胞凋亡的产生<sup>[12]</sup>。Gerace 等<sup>[12]</sup>将 DNA 烷化剂 MNNG 处理海马神经元,发现 PARP-1 被持续激活,AIF 核转位并积聚,细胞凋亡率显著提高,而当转染 AIF 抗体后,能显著的抑制此变化。给予 PARP-1 抑制剂 PJ34 能显著的抑制外伤性脑损伤引起的神经细胞凋亡,并降低 PARP-1 表达,同时抑制 AIF 的核转位<sup>[13]</sup>。说明通过上调细胞核中 PARP-1 表达,进而促进 AIF 的核转位及在细胞核中的聚集,能显著的诱导肿瘤细胞凋亡。因此,本研究采用 Western blot 检测 pcDNA3-AIF 及 pcDNA3 转染后,细胞核中 PARP-1 及 AIF 的表达,结果表明过表达 pcDNA3-AIF 组细胞核中 PARP-1 表达量及 AIF 显著上调,提示过表达 AIF 亦能通过激活 PARP-1/AIF 途径,从而诱导 HeLa 细胞凋亡。此外在凋亡信号刺激下,线粒体特异性核酸酶 EndoG 能够与 AIF 蛋白一起从线粒体释放出来,引起细胞凋亡。谢丹等<sup>[14]</sup>研究表明通过使 AIF 定位于肿瘤细胞核中并在细胞核聚集,从而使 AIF 及 EndoG 表达上调,能显著的遏制肝癌肿瘤的生长。所以本研究进一步通过 Western blot 检测细胞核中 EndoG 的表达,结果表明 pcDNA3-AIF 组较 pcDNA3 组细胞核中 EndoG1 表达量显著上调,从而说明通过提高 AIF 表达,能通过激活 PARP-1/AIF/EndoG 信号通路从而诱导 HeLa 细胞凋亡。

综上所述,通过促进宫颈癌 HeLa 细胞中 AIF 的表达,能显著的提高其上游蛋白 PARP-1 表达,并上调其下游蛋白 EndoG 表达,从而诱导细胞凋亡。可以进一步采用 Caspase 抑制

剂及 PARP-1 抑制剂处理细胞来进一步说明 AIF 对 HeLa 细胞的凋亡诱导作用是独立于此通路的,是通过 PARP-1/AIF/EndoG 信号通路实现的<sup>[14-16]</sup>。

## 参考文献

- [1] 王妍,何慧仪. 宫颈癌相关基因的研究进展[J]. 中华肿瘤防治杂志,2011,18(16):1316-1320.
- [2] Larmour LI, Jobling TW, Gargett CE. A review of current animal models for the study of cervical dysplasia and cervical carcinoma[J]. *Int J Gynecol Cancer*, 2015, 25(8): 1345-1352.
- [3] Zhao YY, Yan DJ, Chen ZW. Role of AIF-1 in the regulation of inflammatory activation and diverse disease processes[J]. *Cell Immunol*, 2013, 284(1/2): 75-83.
- [4] Delavallée L, Cabon L, Galán-Malo P, et al. AIF-mediated caspase-independent necroptosis: a new chance for targeted therapeutics[J]. *IUBMB Life*, 2011, 63(4): 221-232.
- [5] 李海霞,鲁艳明,温冬雪,等. 凋亡诱导因子在宫颈癌组织中的表达及意义[J]. 中国医科大学学报, 2009, 38(4): 268-269, 273.
- [6] Da Silva LC, Forones NM, Ribeiro DA, et al. Immunoe-expression of DIABLO, AIF and cytochrome C in gastric adenocarcinoma assessed by tissue Microarray[J]. *Anticancer Res*, 2013, 33(2): 647-653.
- [7] 郭晓东,杨永平,楼敏,等. 凋亡诱导因子 AIF 在肝癌组织中的表达及临床意义[J]. 现代生物医学进展, 2011, 11(3): 502-504.
- [8] 代安亚,王方,冯文莉. 腺病毒介导的 AIF 及其突变体对 K562 细胞凋亡的影响[J]. 基础医学与临床, 2015, 35(11): 1453-1459.
- [9] 赵悦,肖华卫,王乐,等. 真核表达载体 PcDNA3. 0-AIF<sup>Δ</sup>1-480 构建及其促凋亡活性的研究[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2013, 20(11): 806-810.
- [10] Turner RL, Wilkinson JC, Ornelles DA. E1B and E4 oncoproteins of adenovirus antagonize the effect of apoptosis inducing factor[J]. *Virology*, 2014, 456(1): 205-219.
- [11] Fujikawa DG. The role of excitotoxic programmed necrosis in acute brain injury[J]. *Comput Struct Biotechnol J*, 2015(30): 212-221.
- [12] Gerace E, Masi A, Resta F, et al. PARP-1 activation causes neuronal death in the hippocampal CA1 region by increasing the expression of Ca<sup>2+</sup>-permeable AMPA receptors[J]. *Neurobiol Dis*, 2014, 70(5): 43-52.
- [13] Stoica BA, Loane DJ, Zhao Z, et al. PARP-1 inhibition attenuates neuronal loss, microglia activation and neurological deficits after traumatic brain injury[J]. *J Neurotrauma*, 2014, 31(8): 758-772.
- [14] 谢丹,林源,杨阿莉. 大黄素抑制人肝癌裸鼠移植瘤生长机制探讨[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2015, 22(1): 28-33.
- [15] 赵伟,张连双,李红星,等. 联合应用 PARP-1 与 Caspase-3 抑制剂对脊髓损伤大鼠神经细胞凋亡的影响[J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2015, 25(10): 926-934.
- [16] Han B, Wang TD, Shen SM, et al. Annonaceous acetogenin mimic AA005 induces cancer cell death via apoptosis inducing factor through a caspase-3-independent mechanism[J]. *BMC Cancer*, 2015, 15(1): 139.

(收稿日期:2016-04-05 修回日期:2016-05-18)

(上接第 4470 页)

- [1] 血事件的影响[J]. 实用医学杂志, 2014, 2(7): 1080-1083.
- [2] 袁慧. 心血管药物个体化用药指导的基因检测及临床意义[J]. 中华检验医学杂志, 2015(7): 442-444.
- [3] Karp ND, Boespflug S, Kumar JW, et al. ATF3 is a novel regulator of mouse neutrophil migration[J]. *Blood*, 2014, 123(13): 2084-2093.
- [4] Bonello M, Laine S, Arméro M, et al. Clinical impact of genetically determined platelet reactivity[J]. *J Cardiovasc Transl Res*, 2013, 6(3): 398-403.
- [5] 尤家聪. 强化抗血小板治疗对 PCI 术后 QT 离散度的影响[J]. 现代仪器与医疗, 2013, 19(4): 53-55.
- [6] Akihiro N, Mikio G, Hoshino M, et al. Phosphorylation of STEF/Tiam2 by protein kinase A is critical for Rac1 activation and neurite outgrowth in dibutyl cAMP-treated PC12D cells[J]. *Mol Biol Cell*, 2011, 22(10): 1780-1790.
- [7] 王涛. 血小板膜受体 P2Y12 基因多态性与冠心病患者氯吡格雷抵抗的相关性研究[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2015, 3(3): 353-355, 356.
- [8] 胡珺婷,杨向军. PCI 术后高血小板反应与 CYP2C19 基因多态性关系的分析[J]. 浙江临床医学, 2015, 17(10): 1673-1675.
- [9] Zhao ZY, Han CG, Liu JT, et al. TIAM2 enhances non-small cell lung cancer cell invasion and motility[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2013, 14(11): 6305-6309.
- [10] 王立娜,孙艺红,王长鹰,等. 氯吡格雷个体化治疗的现状与未来[J]. 中华医学杂志, 2015, 95(41): 3393-3395.
- [11] 郭元芳,杨波,成少永,等. 冠心病高血压及无基础心血管病患者房性早搏对血流动力学的影响[J]. 重庆医学, 2015, 44(28): 3930-3932.
- [12] Fuentes TR, Shepherd RL, Hard AM, et al. Distinct ligand specificity of the Tiam1 and Tiam2 PDZ domains[J]. *Biochemistry*, 2011, 50(8): 1296-1308.

(收稿日期:2016-06-20 修回日期:2016-08-08)