

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2024.15.012

浸润性乳腺癌患者血清外泌体膜联蛋白 A6 表达水平与治疗反应的关系*

王 琼, 许 刚, 闫 融

西安交通大学第一附属医院肿瘤外科, 陕西西安 710000

摘 要:目的 探讨血清外泌体膜联蛋白 A6(ANXA6)在浸润性乳腺癌(IBC)患者中的诊断及预后预测价值,以及与新辅助化疗/他莫昔芬辅助内分泌治疗反应之间的关系。**方法** 选取 2014 年 1 月至 2017 年 3 月在该院进行手术且有腋窝淋巴结的 100 例 IBC 患者作为 IBC 组,其中 50 例术前接受新辅助化疗,50 例术后接受他莫昔芬辅助内分泌治疗。另选取同期 50 例成年女性作为非癌对照组。入组后收集所有研究对象血液标本。对于辅助内分泌治疗的 IBC 患者,进一步收集术中肿瘤组织标本和辅助内分泌治疗前 24 h 的血清标本。分离血清外泌体,采用实时荧光定量聚合酶链反应检测血清外泌体和肿瘤组织标本中 ANXA6 的表达水平。采用受试者工作特征(ROC)曲线评估血清外泌体 ANXA6 和糖类抗原 15-3(CA15-3)对 IBC 的诊断价值。采用 Spearman 相关对血清 ANXA6 表达水平与肿瘤组织 ANXA6 表达水平的相关性进行分析。**结果** IBC 组入组时血清外泌体 ANXA6 相对表达水平高于非癌对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。ROC 曲线分析结果显示,入组时血清外泌体 ANXA6 诊断 IBC 的 AUC 为 0.844(95%CI:0.792~0.896),明显大于 CA15-3 的 0.715(95%CI:0.653~0.786)。血清外泌体 ANXA6 高表达亚组肿瘤最大径大于低表达亚组,国际妇产科联盟分期高于低表达亚组,差异均有统计学意义($P<0.05$),且预示无复发生存结局不良。对于新辅助化疗和他莫昔芬辅助内分泌治疗患者,血清外泌体 ANXA6 低表达亚组患者获得完全反应加部分反应的比例高于高表达亚组,差异有统计学意义($P<0.05$)。入组时血清外泌体 ANXA6 表达水平与肿瘤组织 ANXA6 表达水平呈正相关性($r=0.490, P<0.05$)。术后进行辅助内分泌治疗前血清外泌体 ANXA6 表达水平明显低于入组时,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** IBC 患者血清外泌体 ANXA6 具备成为诊断和预测预后生物标志物的潜力,且高表达与新辅助化疗和他莫昔芬辅助内分泌治疗反应不良有关。

关键词:浸润性乳腺癌; 化疗; 外泌体膜联蛋白 A6; 预后; 诊断

中图法分类号:R737.9;R446.1

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2024)15-2198-06

Relationship between serum exosomal annexin A6 expression level and therapeutic response in patients with invasive breast cancer*

WANG Qiong, XU Gang, YAN Rong

Department of Surgical Oncology, the First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an, Shaanxi 710000, China

Abstract:**Objective** To investigate the diagnostic and prognostic value of serum exosome annexin A6 (ANXA6) in patients with invasive breast cancer (IBC) and its relationship with response to neoadjuvant chemotherapy/tamoxifen-assisted endocrine therapy. **Methods** A total of 100 IBC patients with axillary lymph nodes who underwent surgery in the hospital from January 2014 to March 2017 were selected as the IBC group. Among them, 50 received neoadjuvant chemotherapy before surgery and 50 received tamoxifen-assisted endocrine therapy after surgery. Another 50 adult women were selected as non-cancer control group. Blood samples of all subjects were collected after enrollment. For IBC patients with adjuvant endocrine therapy, further tumor tissue specimens and serum specimens 24 h before adjuvant endocrine therapy were collected. Serum exosomes were isolated and the expression level of ANXA6 in serum exosomes and tumor tissue samples was detected by real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction. Receiver operating characteristic (ROC) curve was used to evaluate the diagnostic value of serum exosomal ANXA6 and carbohydrate antigen 15-3 (CA15-3) for IBC. Spearman correlation was used to analyze the correlation between ANXA6 expression levels in serum and tumor tissues. **Results** The relative expression level of serum exo-

* 基金项目:西安市卫生健康委员会项目(J20190245)。

作者简介:王琼,女,医师,主要从事乳腺肿瘤、消化道肿瘤、甲状腺肿瘤方面的研究。

some ANXA6 in IBC group was higher than that in non-cancer control group, the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The ROC curve analysis showed that the AUC of serum exosome ANXA6 for diagnosis of IBC at enrollment was 0.844 (95%CI: 0.792–0.896), significantly greater than that of CA15-3 0.715 (95%CI: 0.653–0.786). The maximum tumor diameter of the high expression of serum exosome ANXA6 subgroup was larger than that of the low expression subgroup, and the stage of the International Union of Obstetrics and Gynecology was higher than that of the low expression subgroup, with statistical significance ($P < 0.05$). For patients with neoadjuvant chemotherapy and tamoxifen-assisted endocrine therapy, the proportion of complete and partial response in patients with low expression of serum exosome ANXA6 was higher than that in patients with high expression, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The expression level of serum exosome ANXA6 was positively correlated with the expression level of ANXA6 in tumor tissues ($r = 0.490, P < 0.05$). The expression level of ANXA6 in serum exosomes before postoperative adjuvant endocrine therapy was significantly higher than that at the time of enrollment, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** The serum exosome ANXA6 has potential of biomarkers for diagnosis and predicting prognosis in patients with IBC, and its high expression is associated with poor response to neoadjuvant chemotherapy and tamoxifen-assisted endocrine therapy.

Key words: invasive breast cancer; chemotherapy; exosomal annexin A6; prognosis; diagnosis

乳腺癌是全球女性中最常见的恶性肿瘤^[1-2]。随着乳腺癌早期诊断技术提高,乳腺癌的早期诊断率已大幅度提升,然而仍有 5%~10% 的患者在确诊时已出现远处转移,而且标准的化疗和激素治疗方案并不能明显减少乳腺癌的复发和转移,导致 90% 的患者死亡^[3]。由于许多因素的局限性和缺陷,目前少有有效的生物标志物来指导临床决策。外泌体是一类细胞内容酶体内陷形成的膜结合囊泡(30~200 nm)^[4],包含大量重要的生物活性物质,在细胞间信号传导及肿瘤发生和转移进程中发挥关键作用^[5]。最近的研究提出了一个假说,原发性耐药肿瘤细胞可释放外泌体,调节远处肿瘤细胞的生物学特性,进而增强其耐药性^[6]。膜联蛋白 A6(ANXA6)属于高度保守的膜联蛋白家族,以钙依赖的方式与酸性磷脂结合,可控制膜转运和细胞信号传导。有研究报道称,外泌体 ANXA6 参与了乳腺癌细胞的生长、增殖和侵袭过程^[7],然而,这在很大程度上仍然未得到临床证实。本研究揭示了浸润性乳腺癌(IBC)外泌体 ANXA6 的产生,以及其与新辅助化疗和他莫昔芬辅助内分泌治疗反应之间的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2014 年 1 月至 2017 年 3 月在本院手术且有腋窝淋巴结的 100 例 IBC 患者作为 IBC 组,所有患者均为初诊患者,确诊时年龄 29~75 岁,平均(50.22±12.73)岁。包括术前接受 TEC 方案(多西他赛,第 1 天 75 mg/m² 静脉推注;表柔比星,第 1 天 100 mg/m² 静脉推注;环磷酰胺,第 1 天 600 mg/m² 静脉推注。3 周为 1 个周期,共 4~6 个周期)的新辅助化疗患者 50 例,以及术前未接受新辅助化疗,但是术后接受他莫昔芬辅助内分泌治疗(每天口服 20 mg 他莫昔芬,对于复发风险较高的患者综合考虑年龄≤35 岁、肿块是否≥2 cm、淋巴结转移、细胞周

期调节蛋白-67 增殖指数>14%等,每隔 4 周皮下注射 3.75 mg 亮丙瑞林)的患者 50 例。排除未经病理检查诊断、继发性肿瘤,合并其他原发肿瘤或术后失访的患者。另选取同期既往未被诊断为任何恶性肿瘤的健康成年女性 50 例作为非癌对照组。入组后收集所有研究对象的血液标本,置于-20℃冰箱保存待测。对于辅助内分泌治疗的 IBC 患者,收集术中肿瘤组织标本和辅助内分泌治疗前 24 h 的血清标本并储存在-80℃冰箱以供进一步分析。所有研究对象在入组前均知情同意并签署知情同意书。本研究方案经本院医学伦理委员会审核批准(医科伦审 2019 第 61 号)。

1.2 治疗反应及随访 临床反应评估是基于对新辅助化疗或辅助内分泌治疗后的核磁共振检查进行评估。根据文献[8]标准,完全反应(CR)被定义为没有临床证据证实乳腺和淋巴结存在肿瘤灶;部分反应(PR)被定义为肿瘤最大径缩小 30%以上;肿瘤最大径缩小≤30%或增大 20%被认为是临床疾病稳定(SD);肿瘤最大径增大 20%或出现新疾病则被认为是临床疾病进展(PD)。对所有 IBC 患者进行临床随访,前 2 年每 3 个月 1 次,随后 3 年每 6 个月 1 次,此后每年 1 次,随访至患者死亡或截至 2021 年 12 月 31 日。

1.3 外泌体分离及鉴定 将血液标本室温静置凝固后,4℃、3 000 r/min 离心 15 min,收集上清液。然后将上清液置于-20℃冰箱保存待测。用 0.45 μm 聚偏二氟乙烯过滤器过滤后,加入 ExoQuick 溶液并与上清液混合,将混合物在-4℃条件下孵育 30 min,然后以 4℃、120 000 r/min 超速离心 30 min,收集外泌体。用磷酸盐缓冲液(0.5 mg/mL)稀释外泌体样品,并固定在载样铜网上,用磷钨酸(2%)溶液孵育 1 min,然后滴加 2%的醋酸铀酰溶液,风干后用 100

keV 的透射电子显微镜(JEM-1-11 显微镜)观察外泌体颗粒形状。采用 Western blot 试验检测 CD63、热休克蛋白 70(HSP70)蛋白表达水平;使用放射免疫沉淀法缓冲液提取总蛋白,并采用二辛可宁酸法定量蛋白水平。采用十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶(10%)从样品中分离蛋白,随后转移到聚偏二氟乙烯膜上。依次用封闭液封闭,初级 CD63 抗体(1:1 000 稀释;ab59479)或 HSP70 抗体(1:1 000 稀释;ab2787)在 4 ℃ 条件下孵育过夜,山羊抗兔辣根过氧化物酶二抗(1:2 000 稀释,ab6721)室温下结合 1 h 后,通过曝光增强化学发光溶液将信号可视化^[5]。

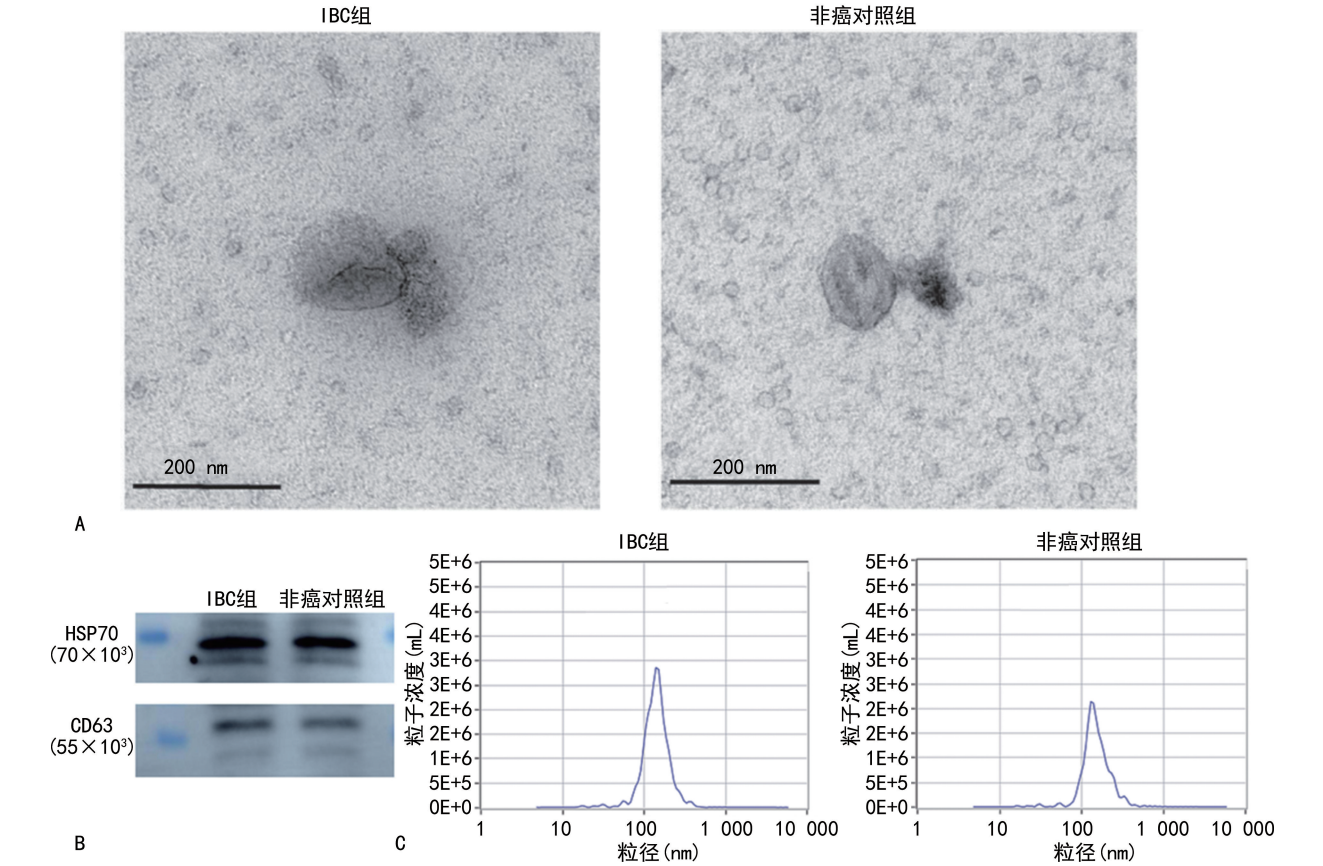
1.4 RNA 提取及 ANXA6 mRNA 表达水平检测
使用 MiniBEST 通用 RNA 提取试剂盒(美国 API 公司)从肿瘤组织标本和血清外泌体中提取总 RNA。测量 Peqlab NanoDrop 上的总 RNA 水平,并在 Agilent Bioanalyzer 2100 上使用 RNA LabChip 检查其质量。使用完整性数大于 6.5 的 RNA 合成 cDNA,用 PrimeScript™ RT 试剂盒(美国 Invitrogen 公司)反转录 cDNA。采用 SYBR® Premix Ex Taq™ II(美国 Invitrogen 公司)进行实时荧光定量聚合酶链反应

(PCR),95 ℃ 30 s 1 个循环,95 ℃ 3 s,60 ℃ 30 s 40 个循环。引物设计如下:ANXA6 mRNA 正向引物:5'-ACGGTTGATTGTGGGCCTG-3';反向引物:5'-ACGGTTGATTGTGGGCCTG-3'。计算标本 Ct 值,并采用 2^{-ΔΔCt} 法计算相对 RNA 水平。

1.5 统计学处理 采用 SPSS22.0 统计软件进行数据分析处理。不符合正态分布的计量资料以 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示,两组间比较采用 Mann-Whitney U 检验。生存分析采用 Log-rank 检验和 Kaplan-Meier 生存曲线进行;采用受试者工作特征(ROC)曲线评估诊断的准确性;采用 Spearman 相关对血清 ANXA6 表达水平与肿瘤组织 ANXA6 表达水平的相关性进行分析。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 外泌体表型鉴定 使用透射电子显微镜区分外泌体的特征(图 1A);Western blot 试验检测结果显示,血清外泌体中特征外泌体蛋白标记物 CD63 和 HSP70 的表达均呈阳性(图 1B);纳米粒径追踪分析结果显示,IBC 组和非癌对照组外泌体粒径和密度基本一致(图 1C)。



注:A 为使用透射电镜观察的外泌体特征;B 为 Western blot 试验检测外泌体特征蛋白 CD63 和 HSP70 的表达;C 为纳米粒径追踪分析外泌体粒径和密度。

图 1 外泌体表型鉴定

2.2 IBC 组与非癌对照组血清外泌体 ANXA6 表达水平比较 IBC 组入组时血清外泌体 ANXA6 相对

表达水平为 1.31(0.93,1.94),高于非癌对照组的 0.92(0.76,1.22),差异有统计学意义($Z=4.738$,

$P<0.05$)。ROC 曲线分析结果显示,入组时血清外泌体 ANXA6 最佳截断值为 1.15,诊断 IBC 的 AUC 为 0.844(95%CI:0.792~0.896),明显大于 CA15-3 的 0.715(95%CI:0.653~0.786),差异有统计学意义($Z=2.998,P<0.05$)。见图 2。

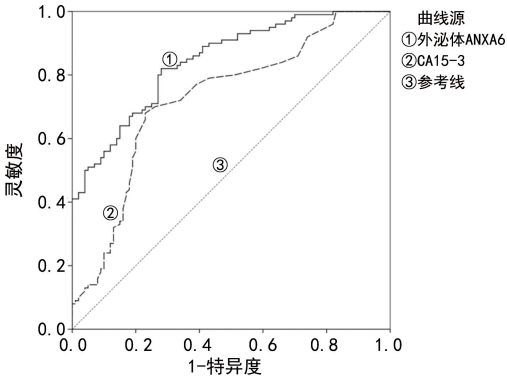


图 2 血清外泌体 ANXA6 和 CA15-3 诊断 IBC 的 ROC 曲线

2.3 血清外泌体 ANXA6 表达与 IBC 患者临床病理特征及预后的关系 将血清外泌体 ANXA6≤最佳截断值的 18 例 IBC 患者纳入低表达亚组,平均年龄(50.67±11.49)岁;其余 ANXA6>最佳截断值的 82 例 IBC 患者纳入高表达亚组,平均年龄(50.12±10.51)岁。血清外泌体 ANXA6 高表达亚组肿瘤最大径大于低表达亚组,国际妇产科联盟(FIGO)分期高于低表达亚组,差异均有统计学意义($P<0.05$),见表 1。生存曲线分析结果显示,血清外泌体 ANXA6 低表达亚组与高表达亚组累积无复发生存结局生存曲线比较,差异有统计学意义(Log rank $\chi^2=1.626,P=0.048$),但总生存结局生存曲线比较,差异无统计学意义(Log rank $\chi^2=0.218,P=0.641$)。见图 3。

表 1 血清外泌体 ANXA6 表达与 IBC 患者临床病理特征的关系(n)

临床病理特征	血清外泌体 ANXA6		χ^2	P
	低表达亚组 ($n=18$)	高表达亚组 ($n=82$)		
肿瘤最大径(cm)			11.056	0.004
<2	9	13		
2~5	7	39		
>5	2	30		
淋巴结数量(个)			2.980	0.225
0	8	20		
1~3	4	27		
≥4	6	35		
FIGO 分期			7.665	0.022
I 期	8	21		
II 期	8	23		
III 期	2	38		

续表 1 血清外泌体 ANXA6 表达与 IBC 患者临床病理特征的关系(n)

临床病理特征	血清外泌体 ANXA6		χ^2	P
	低表达亚组 ($n=18$)	高表达亚组 ($n=82$)		
ER 状态			0.054	0.817
阴性	8	34		
阳性	10	48		
PR 状态			0.018	0.894
阴性	6	26		
阳性	12	56		
HER-2 状态			0.271	0.603
阴性	8	42		
阳性	10	40		
病理类型			0.988	0.320
浸润性导管癌	8	47		
浸润性小叶癌	10	35		

注:HER-2(+);FISH 或 CISH 检测(+)或 IHC 检测(+),IHC (+)的患者由 FISH 或 CISH 检测进一步证实。2010 年,ASCO 和 CAP 制定了乳腺癌 ER 和 PR 研究指南,建议 ER 和 PR 阳性标准为核染色阳性≥1%。ASCO 为美国临床肿瘤学会;CAP 为美国病理学家学院;CISH 为显色原位杂交;FISH 为荧光原位杂交;HER-2 为人表皮生长因子受体 2;ICH 为免疫组织化学;NCCN 为国家综合癌症网络;PR 为孕激素受体;ER 为雌激素受体。

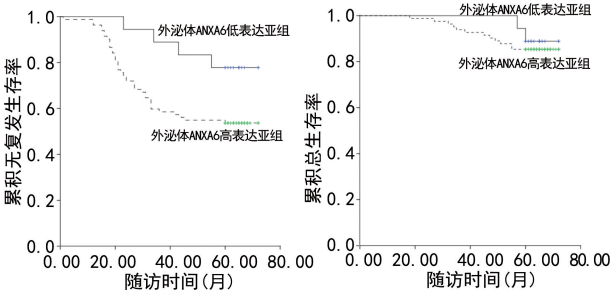


图 3 IBC 组患者随访 5 年无复发生存曲线和总生存曲线

2.4 血清外泌体 ANXA6 表达与新辅助化疗反应的关系 术前接受新辅助化疗的 50 例 IBC 患者中血清外泌体 ANXA6 高表达 39 例(高表达亚组),血清外泌体 ANXA6 低表达 11 例(低表达亚组)。低表达亚组患者获得 CR+PR 的比例高于高表达亚组,差异有统计学意义($\chi^2=11.989,P=0.007$),见表 2。ROC 曲线分析结果显示,入组时血清外泌体 ANXA6 对预测新辅助化疗治疗反应不良(SD+PD)的 AUC 为 0.823(95%CI:0.686~0.960),明显大于 CA15-3 的 0.608(95%CI:0.443~0.772),差异有统计学意义($Z=5.190,P<0.05$),见图 4。

2.5 血清外泌体 ANXA6 表达与辅助内分泌治疗反应的关系 50 例术后接受他莫昔芬辅助内分泌治疗的 IBC 患者中 43 例高表达(高表达亚组),7 例低表达(低表达亚组),低表达亚组患者获得 CR+PR 的比例

高于高表达亚组,差异有统计学意义($\chi^2=9.741,P=0.021$),见表 3。ROC 曲线分析结果显示,入组时血清外泌体 ANXA6 对于预测他莫昔芬辅助内分泌治疗反应不良(SD+PD)的 AUC 为 0.914(95%CI: 0.838~0.991),明显大于 CA15-3 的 0.660(95%CI: 0.505~0.816),差异有统计学意义($Z=5.092,P<0.05$),见图 5。

表 2 血清外泌体 ANXA6 表达与新辅助化疗反应的关系(n)

血清外泌体 ANXA6	n	CR	PR	SD	PD
低表达亚组	11	5	4	2	0
高表达亚组	39	2	21	13	3

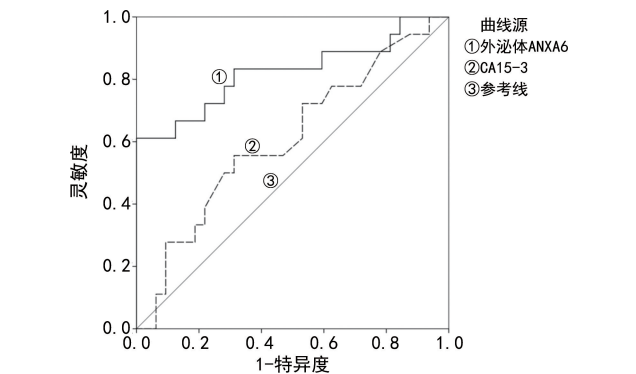


图 4 血清外泌体 ANXA6 和 CA15-3 用于预测 IBC 新辅助化疗治疗反应不良的 ROC 曲线

表 3 血清外泌体 ANXA6 表达与辅助化疗反应的关系(n)

血清外泌体 ANXA6	n	CR	PR	SD	PD
低表达亚组	7	4	3	0	0
高表达亚组	43	5	21	12	5

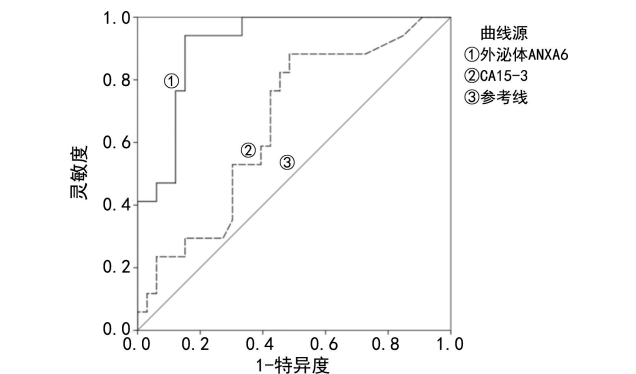


图 5 血清外泌体 ANXA6 和 CA15-3 用于预测 IBC 辅助内分泌治疗反应不良的 ROC 曲线

2.6 血清外泌体与肿瘤组织中 ANXA6 表达水平的相关性 50 例术后接受他莫昔芬辅助内分泌治疗的患者入组时血清外泌体 ANXA6 表达水平与肿瘤组织 ANXA6 表达水平呈正相关($r=0.490,P<0.05$)。术后进行辅助内分泌治疗前 24 h 再次检测血清外泌

体 ANXA6 表达水平为 1.00(0.82,1.52),明显低于入组时的[1.48(1.15,2.25)],差异有统计学意义($Z=-3.978,P<0.05$)。

3 讨 论

本研究从血清标本中分离获得外泌体作为研究标本,证实了血清外泌体 ANXA6 对于 IBC 的诊断和预后预测价值,结果显示,血清外泌体 ANXA6 高表达与术前接受新辅助化疗或术后接受辅助内分泌治疗均有关。

外泌体的研究目前是一个令人兴奋的领域^[4,9-10],越来越多的证据表明,外泌体在细胞间信号传导、肿瘤发生、肿瘤转移和肿瘤微环境中发挥重要作用^[4-5]。然而,外泌体内容物的分子性质在很大程度上仍未阐明。尽管外泌体包含重要的生物活性物种,如蛋白分子、miRNAs、lncRNAs 和 circRNAs^[4],但这些分子的来源仍然是个谜。张珂等^[9]研究发现,外泌体 SU-MO1P3 与三阴性乳腺癌有很强的相关性。此外,外泌体是细胞间信息的载体,可调节肿瘤微环境,通过 RNA 分子和蛋白质等多种机制在耐药性中发挥重要作用。例如 LI 等^[7]通过肽段等重标记-液相色谱法和质谱法联合应用及 Western blot 试验显示,ANXA6 在耐药性肿瘤细胞及其衍生的外泌体中表达上调,敲除外泌体中 ANXA6 基因表达,可恢复人乳腺癌 MDA-MB-231 耐药细胞株对吉西他滨的敏感性;并且作者还发现外泌体 ANXA6 表达与表皮生长因子受体(EGFR)泛素化抑制和下调有关。有研究通过队列研究共纳入了 3 组血清标本,其中采用新辅助化疗 IBC 患者血清和肿瘤组标本证实,血清外泌体 ANXA6 表达水平与肿瘤组织 ANXA6 表达水平呈正相关,且术后血清外泌体 ANXA6 表达水平较入组时明显降低^[7]。因此,作者推测血清外泌体 ANXA6 可能主要是来源于原发性乳腺癌组织,并且作为外泌体包装成膜结构,最终释放到血液中。

ANXA6 等血清外泌体中蛋白分子的功能仍有待阐明。ANXA6 属于高度保守的膜联蛋白家族,这种蛋白质能以钙依赖的方式与酸性磷脂结合^[11]。WHALEN 等^[12]研究表明,ANXA6 与膜磷脂和特异性细胞外间质成分或肌动蛋白分子存在相互作用,进而影响与细胞膜快速重组相关的细胞过程,如细胞黏附和运动。有研究报道膜联蛋白家族与多种癌症,如膀胱癌和卵巢癌的耐药性有关^[13-15]。然而,目前尚少有关于乳腺癌患者血清外泌体 ANXA6 表达的报道。本研究揭示了 IBC 患者血清外泌体 ANXA6 的表达水平相对于非癌对照组人群普遍升高,并且血清外泌体 ANXA6 过表达与无复发生存期较差有关。因此,外泌体 ANXA6 有可能成为 IBC 患者诊断和预后评估的生物标志物。

乳腺癌的治疗需要复杂和系统的治疗方法,新辅

助化疗和辅助内分泌治疗明显改善了乳腺癌患者的预后。有研究者报道 ANXA6 高表达可能导致化疗耐药,其机制包括下调 EGFR/Ras 表达^[16]。膜联蛋白家族是一类与肿瘤关系密切的 Ca²⁺ 结合膜相关蛋白,它们与肿瘤细胞的耐药性有关,包括鼻咽癌中的 ANXA2^[17] 及肺癌中的 ANXA3^[18] 和 ANXA1^[19]。ANXA6 可控制膜转运和细胞信号传导,ANXA6 参与了乳腺癌细胞增殖和转移的正向调节,并且在来源于肿瘤组织的外泌体中被选择性地富集。据报道,化疗诱导的外泌体富含 ANXA6,有助于肺转移的建立,ANXA6 表达水平升高的患者在辅助内分泌治疗环境中出现疾病进展的风险更高,提示化疗耐药性可能与外泌体 ANXA6 的表达水平有关^[20]。

事实上,ANXA6 作为癌症生物标志物的潜力已被多项研究证实^[13-15],而本研究的数据则进一步提供了证据,证明治疗前血清外泌体 ANXA6 可能是肿瘤细胞对治疗反应性的可靠预测因素。本研究发现,在接受新辅助化疗或辅助内分泌治疗的 IBC 患者中,外泌体 ANXA6 过表达与治疗反应不良相关这些结果可能在未来为乳腺癌患者提供一种新的化疗策略,并且为进一步的临床试验提供了基础。

综上所述,本研究结果表明,外泌体 ANXA6 在 IBC 中发挥重要作用。血清外泌体 ANXA6 主要来源于原发性乳腺癌组织,然后释放到血液中,对于 IBC 的诊断及预测预后或化疗反应性均有一定临床应用价值。

参考文献

- [1] DESANTIS C E, MA J M, SAUER A G, et al. Breast cancer statistics, 2017, racial disparity in mortality by state[J]. CA Cancer J Clin, 2017, 67(6): 439-448.
- [2] BRAY F, FERLAY J, SOERJOMATARAM I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(6): 394-424.
- [3] 中国抗癌协会乳腺癌专业委员会. 中国抗癌协会乳腺癌诊治指南与规范(2019 年版)[J]. 中国癌症杂志, 2019, 29(8): 609-615.
- [4] REGEV-RUDZKI N, WILSON D W, CARVALHO T G, et al. Cell-cell communication between malaria-infected red blood cells via exosome-like vesicles[J]. Cell, 2013, 153(5): 1120-1133.
- [5] 唐梦甜, 周菊梅, 廖前进, 等. 外泌体环状 RNA 在肿瘤微环境中的研究进展[J]. 生物化学与生物物理进展, 2021, 48(2): 135-146.
- [6] 赵晓龙, 代晓燕, 毛成毅, 等. 非小细胞肺癌患者血浆外泌体 A E1 的表达与铂类化疗敏感性相关[J]. 基础医学与临床, 2021, 41(2): 165-170.
- [7] LI T, TAO Z H, ZHU Y H, et al. Exosomal annexin A6

induces gemcitabine resistance by inhibiting ubiquitination and degradation of EGFR in triple-negative breast cancer[J]. Cell Death Dis, 2021, 12(7): 684.

- [8] EISENHAUER E A, THERASSE P, BOGAERTS J, et al. New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1)[J]. Eur J Cancer, 2009, 45(2): 228-247.
- [9] 张珂, 张开炯, 吴立春, 等. 三阴性乳腺癌血清外泌体和组织中 SUMO1P3 表达及临床意义[J]. 临床肿瘤学杂志, 2021, 26(6): 523-529.
- [10] HESSVIK N P, LLORENTE A. Current knowledge on exosome biogenesis and release[J]. Cell Mol Life Sci, 2018, 75(2): 193-208.
- [11] KOROLKOVA O Y, WIDATALLA S E, WHALEN D S, et al. Reciprocal expression of annexin A6 and ras-GRF2 discriminates rapidly growing from invasive triple negative breast cancer subsets[J]. PLoS One, 2020, 15(4): e0231711.
- [12] WHALEN D S, WIDATALLA S E, KOROLKOVA O Y, et al. Implication of calcium activated rasGRF2 in annexin A6-mediated breast tumor cell growth and motility[J]. Oncotarget, 2019, 10(2): 133-151.
- [13] 舒峰, 刘宗来, 胡宗贵, 等. 转录因子 SETDB1 和 ANXA6 在膀胱癌中的表达水平及其临床意义[J]. 热带医学杂志, 2019, 19(9): 1094-1098.
- [14] 朱连成, 勾睿, 郭骞, 等. 膜联蛋白 A8 在卵巢上皮性浆液性肿瘤中的表达及临床意义[J]. 国际妇产科学杂志, 2020, 47(1): 41-45.
- [15] 刘古月, 闫佩毅, 涂焕平, 等. 乳腺癌患者 ANXA6 基因的表达及其病理意义[J]. 同济大学学报(医学版), 2021, 42(5): 678-684.
- [16] HOQUE M, ELMAGHRABI Y A, KÖSE M, et al. Annexin a6 improves anti-migratory and anti-invasive properties of tyrosine kinase inhibitors in EGFR overexpressing human squamous epithelial cells[J]. FEBS J, 2020, 287(14): 2961-2978.
- [17] 邹长桠, 何火聪, 苏颖, 等. 沉默放射抗拒鼻咽癌细胞 Annexin A2 基因表达对裸鼠鼻咽癌移植瘤放射敏感性的影响[J]. 生物医学工程与临床, 2017, 21(6): 646-652.
- [18] JIN Y F, HUANG Y T, CHEN P F. ANXA3 deletion inhibits the resistance of lung cancer cells to oxaliplatin[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2020, 24(7): 3741-3748.
- [19] 赵欢, 张萱, 韩志峰, 等. 血浆 p16、ANXA-1 抗体在非小细胞肺癌患者的表达变化及其作为诊断标志物的探讨[J]. 中国免疫学杂志, 2021, 37(11): 1376-1382.
- [20] GUO Z, GUO A, ZHOU C. Breast cancer stem cell-derived ANXA6-containing exosomes sustain paclitaxel resistance and cancer aggressiveness in breast cancer[J]. Front Cell Dev Biol, 2021, 9: 718721.