

ANXA1 在孕早期绒毛和蜕膜组织中的表达作用

李红梅 刘学庆 余秋波 董艳玲 丁裕斌 王应雄 何俊琳*

(重庆医科大学公共卫生学院生殖生物学研究室, 重庆 400016)

摘要 采用二维聚丙烯酰胺凝胶电泳(2D-PAGE)分析妊娠早期胚胎绒毛和子宫蜕膜组织细胞的蛋白质组。结果发现一个等电点约 6.6、分子量约 38 kDa 的蛋白质点在蜕膜组织中表达明显下调,经基质辅助激光解析电离飞行时间质谱(MALDI-TOF-MS)测定其胶内酶解后的肽质量指纹谱(peptide mass fingerprint, PMF)和数据库搜索鉴定此蛋白质点为膜联蛋白-A1 (ANXA1)。进一步采用 RT-PCR、Western 印迹和免疫组织化学技术分析 ANXA1 在胚胎绒毛和子宫蜕膜组织细胞中的表达情况,证实了 ANXA1 mRNA 水平及其蛋白质在蜕膜组织细胞中呈现低水平表达,实验结果提示 ANXA1 可能在滋养细胞浸润和胎盘形成过程中发挥重要作用。

关键词 膜联蛋白-A1; 绒毛; 蜕膜; 蛋白质组学; 胚胎植入

胚胎成功植入母体后,细胞与细胞、细胞与细胞外基质黏附及相互作用在胚胎发育过程中起重要作用。膜联蛋白-A1 (ANXA1, annexin I, lipocortin I) 是膜粘蛋白超家族成员之一,约占细胞总蛋白的 2%,其参与膜转运及膜表面一系列依赖钙调蛋白的活动,包括囊泡运输、胞吐作用中的膜融合、信号转导、钙离子通道的形成、调控炎症反应、细胞分化和细胞骨架蛋白间的相互作用。近年来研究发现,ANXA1 是一种与生殖活动密切相关的蛋白质,在兔的卵巢、输卵管、子宫和胎盘中,ANXA1 是唯一的主要免疫活性蛋白^[1],而对于 ANXA1 在人胚胎发育及妊娠维持中的作用研究甚少。本文运用差异蛋白质组学相关技术、质谱和生物信息学技术以及分子生物学技术,鉴定并分析 ANXA1 mRNA 和蛋白质在正常妊娠早期绒毛和蜕膜组织的表达情况,以探讨 ANXA1 在滋养细胞浸润和胎盘形成中的可能作用。

1 材料与方 法

1.1 实验材料

选择妊娠第 10 周正常人工流产胚胎绒毛和子宫蜕膜组织各 25 例(重庆医科大学附属第一医院妇产科,标本收集均征得病人知情同意。选择无遗传病史、无产道异常、无免疫系统异常等情况下自愿终止妊娠的标本)。

1.2 试剂

FBS 购自 Hyclone 公司, DMEM、Dnase I、Percoll、30% 丙烯酰胺(29:1, 3.3% C)、三羟甲基氨基甲烷(Tris)、二硫苏糖醇(DTT)、硫脲(Thiourea)、

十二烷基硫酸钠(SDS)、甘氨酸(glycin)购自 Bio-Rad 公司,超纯脲(ultra urea)、四甲基乙二胺(TEMED)、丙基硫酸盐(CHAPS)、苯甲基磺酰氟(PMSF)、蛋白质预染 Marker、考马斯亮蓝 R-250、G-250 购自 Sigma 公司,合成引物、Trizol 试剂、琼脂糖购自上海生物工程公司(Sangon),胰蛋白酶和逆转录酶购自 Promega 公司,PCR 试剂盒购自 TaKaRa 公司,ANXA1 抗体购自 Santa Cruz 公司,PVDF 膜、HRP 标记的二抗、SP9001 免疫组化试剂盒、DAB 酶底物试剂盒购自北京中杉公司,其余试剂均为国产分析纯。

1.3 实验方法

1.3.1 蜕膜和绒毛组织的获取 将人工流产标本置于装有生理盐水的消毒器皿中,用 4 °C 生理盐水反复洗涤标本后,仔细分离绒毛枝和蜕膜组织,再将分离的绒毛枝和蜕膜组织分别置于不同的消毒皿中,并用 4 °C 生理盐水冲洗标本组织 10 次(冲洗工具分别使用,互补混用),然后置于 4 °C 冰箱备用。

1.3.2 蛋白质样品的制备 取绒毛和蜕膜组织,按 50 mg 标本加 1 ml 裂解缓冲液(7 mol/L 超纯脲、2 mol/L 硫脲、4% CHAPS、65 mmol/L DTT、40 mmol/L Tris、0.2% pH 3-10 的 Pharmalyte、0.1 g/L PMSF),经液氮反复冻融、研磨 3 次后加入 0.02 g/L Dnase 和 5 mg/L Rnase,4 °C 放置 15 min,12 000 r/min,4 °C 离

收稿日期:2009-03-09 接受日期:2009-06-09

重庆市自然科学基金重点项目(渝科发计字[2004]47 号)资助

* 通讯作者。Tel: 023-68485001, Fax:023-68485008, E-mail:

hejunlin_11@yahoo.com.cn

心 30 min。取上清液装, $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存, Bradford 法测定上清液中蛋白质浓度。

1.3.3 二维凝胶电泳 将提取的绒毛或蜕膜组织蛋白样品 $500\text{ }\mu\text{g}$ 加入重泡胀液中, 使总体积为 $200\text{ }\mu\text{l}$, 用等电聚焦仪, 按如下程序自动进行: ① 14 h 重泡胀; ② 250 V , 0.5 h ; ③ $1\text{ }000\text{ V}$, 0.5 h ; ④ $8\text{ }000\text{ V}$, 4 h , 聚焦至 $40\text{ }000\text{ Vh}$ (伏小时)。等电聚焦结束后, 将 IPG 胶条分别放入 5 ml 平衡液 I (2% DTT) 和 5 ml 平衡液 II (含 2.5% 碘乙酰胺) 中, 各平衡 15 min , 然后进行第二向垂直平板 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳。

1.3.4 染色及图像分析 考马斯亮蓝 R-250 染色 2 h , 脱色过夜。染色后的凝胶用 Nikon D100+AF-SNIKKOR $17\sim 35\text{ mm } 1:2.8\text{D}$ 数码相机进行拍摄, 用 PDQuest 8.0 软件进行图像分析, 以绒毛组为参考胶, 将蜕膜组与之相比较, 选取 3 倍以上的差异点作为目的蛋白进行质谱分析。

1.3.5 差异表达蛋白 MALDI-TOF 质谱分析 (1) 蛋白质斑点 PMF 样本的制备 沿染色区边缘切下目的蛋白质点, 用 50% ACN/ 25 mmol/L 碳酸氢铵 ($400\text{ }\mu\text{l}$, $\text{pH } 8.0$) 脱色 15 min ; 将胶块浸入 100% ACN 中 5 min (ACN 中不能有酸性物质), 真空离心干燥 $20\sim 30\text{ min}$; 加入 $10\sim 15\text{ }\mu\text{l}$ 胰蛋白酶液, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 放置 30 min , $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 空气浴 $16\sim 20\text{ h}$ 左右; 吸出反应液, 置 EP 管中, 加入 $50\text{ }\mu\text{l } 50\%$ ACN/ 5% TFA, 轻微振荡萃取 60 min , 离心, 吸上清液置前一 EP 管中, 再萃取一次。萃取液 (反应液和两次萃取液) 冷冻真空抽干约 1 h , $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存。(2) 质谱分析 冻干样品管中加入 $3\text{ }\mu\text{l } 50\%$ ACN/ 0.5% TFA 溶解, 加基质溶液 $3\text{ }\mu\text{l}$, 混匀后取 $1\text{ }\mu\text{l}$ 点样于不锈钢板上, 空气自然干燥后备用。在基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱仪上进行分析, 用 ABI 公司提供的 Mix1 肽混合物标准品、Angiotensin II 标准品和 ACTH fragment $18\sim 39$ 标准品为外标校正质谱峰, 得到 PMF。

1.3.6 数据库检索 使用国际互联网 Matrix Science 公司提供的程序进行数据库查询 (Mascot: Peptide Mass Fingerprint, <http://www.matrixscience.com/cgi/index.pl?page=/search-form-select.html>)。查询条件为: database (SwissProt); Type of search (Peptide Mass Fingerprint); Taxonomy (Homo sapiens); peptide values (monoisotopic); Peptide Mass tolerance ($0.5\sim 1.0\text{ Da}$); enzyme (Trypsin); Peptide Charge State ($1+$); Max Missed Cleavages ($1\sim 2$); Fixed modifications (Carbamidomethyl, C)。找寻与之匹配的相关蛋白

质, 同时查询其功能。

1.3.7 RT-PCR 分析 根据 ANXA1 编码序列设计引物 P1: $5'\text{-CATACCATAGAGGGAAACGG-3'}$, P2: $5'\text{-GACTTGGCTGATTCAGATGC-3'}$ 。以 β -肌动蛋白作为内对照, 引物 P1: $5'\text{-GTTGCGTTACACCC-TTTG-3'}$, P2: $5'\text{-TTTGACCTTGCCACTTCCAC-3'}$ (以上引物由 Invitrogen 公司设计合成)。ANXA1 基因扩增片段长度为 385 bp , β -肌动蛋白基因扩增片段长度为 148 bp 。按 Trizol 试剂盒操作手册分别提取绒毛组织和蜕膜组织总 RNA, oligdT 为引物逆转录, PCR 扩增。PCR 扩增参数: $94\text{ }^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min , 1 个循环; $92\text{ }^{\circ}\text{C } 50\text{ s}$, $54\text{ }^{\circ}\text{C } 30\text{ s}$, $72\text{ }^{\circ}\text{C } 40\text{ s}$, 30 个循环; $72\text{ }^{\circ}\text{C } 5\text{ min}$, 1 个循环。取 $5\text{ }\mu\text{l}$ 扩增产物加 $1\text{ }\mu\text{l } 6\times$ 加样缓冲液, 1.5% 琼脂糖凝胶电泳, Bio-Rad 凝胶成像系统摄像。

运用 Gel Doc 2000TM 凝胶成像系统分析 ANXA1 基因扩增产物与 β -肌动蛋白扩增产物凝胶图像, 测出两者积分光密度值及其比率值, 该比值作为 ANXA1 mRNA 的表达值。

1.3.8 Western 印迹分析 取预染蛋白质分子量标准和等量的绒毛和蜕膜组织总蛋白进行 SDS-PAGE; 将胶作电转移; 电转移后的 PVDF 膜用封闭液 (含 5% 脱脂奶粉的 PBST 液) 封闭 1 h ; 一抗按 $1:200$ 的比例加入封闭液中, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 过夜; 二抗按 $1:3\text{ }000$ 的比例加入封闭液中, 室温 1 h ; DAB 显色液显色, 以去离子水冲洗终止反应。

1.3.9 免疫组织化学 获取的绒毛和蜕膜组织, 切片脱腊后浸入 $\text{pH } 7.0$ 、 10 mmol/L 枸橼酸缓冲液中微波处理进行抗原修复, 于一抗 ($1:80$ 稀释) $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 温育过夜 ($12\sim 16\text{ h}$), 以 PBS 代替一抗作阴性对照, 显色剂为 DAB, 其余操作按 SP 试剂盒说明进行。

2 结果

2.1 2-DE 图谱特点

妊娠早期绒毛和蜕膜组织总蛋白 2-DE 考马斯亮蓝染色见图 1, 蛋白质分子主要集中在 $\text{pI } 4\sim 7$ 、分子量 $14.40\sim 116.00\text{ kDa}$ 范围内, 软件分析表明二者的凝胶匹配率为 45% 。进一步分析其蛋白质组差异, 结果显示, 等电点约 6.6 、分子量约 38 kDa 的蛋白质点在蜕膜组织中表达下调, 此蛋白质点报告 (Spot Report) 结果 (图 1 中箭头所示, 图 2, 表 1)

2.2 MALDI-TOF-MS 分析

目的蛋白点进行胶内酶切后, 进行 PMF 检测得

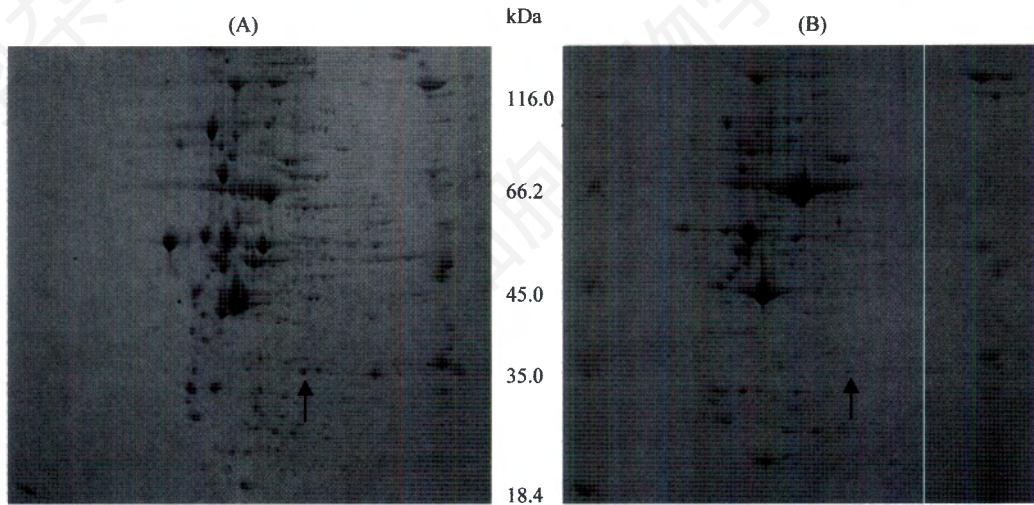


Fig.1 2-DE Coomassie brilliant blue staining from deciduas and villus

A: villus; B: deciduas.

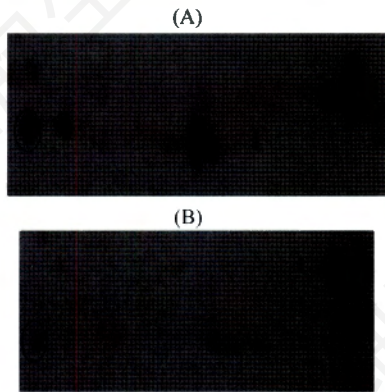


Fig.2 Spot report of the target protein from 2-DE

A: spot from villus; B: spot from deciduas.

Table 1 Sport Report of the target protein from 2-DE

Spot	Gel	pI	M_r (kDa)
A	A (villus)	6.64	38.79
B	B (deciduas)	6.73	38.43

Table 2 Level of ANXA1 mRNA in villus and deciduas

Sample	<i>n</i>	ANXA1 mRNA/ β -actin mRNA ($\bar{x}\pm s$)
Villus	25	0.86 \pm 0.03*
Deciduas	25	0.45 \pm 0.07

* means prominent difference between rows ($P<0.01$).

Table 3 Level of ANXA1 in villus and deciduas ($\bar{x}\pm s$)

Sample	<i>n</i>	ANXA1/ β -actin
Villus	25	0.76 \pm 0.10*
Deciduas	25	0.42 \pm 0.06

* means prominent difference between rows ($P<0.01$).

到 17 个质谱峰(图 3)。

2.3 Mascot: Peptide Mass Fingerprint 中 SWISS-PROT 数据库检索

据质谱峰值进行 Mascot 搜索, 蛋白质得分超过 54 分具有显著意义, 结果仅一个蛋白质 Mowse Score 具有显著意义, 其分值为 119 ($P<0.05$) (图 4), 此蛋白质为 ANXA1, 登陆号为 P04083 [Nominal mass (M_r): 38787; Calculated pI value: 6.64]。

2.4 RT-PCR 结果

妊娠早期正常蜕膜组织中的 ANXA1 mRNA 水平明显低于绒毛组(图 5, 表 2)。

2.5 Western 印迹结果

分析结果显示蜕膜组织中 ANXA1 的表达明显低于绒毛组(图 6, 表 3)。

2.6 免疫组织化学结果

在正常绒毛组织中可见 ANXA1 免疫染色黄褐色阳性物质广泛积聚在绒毛干滋养层细胞, 胞浆浓染(图 7A 箭头所示)。正常蜕膜组织也有 ANXA1 免疫染色阳性物质积聚, 但染色比正常绒毛浅(图 7B), 分布在上皮细胞(图 7B 箭头 1 所示)和蜕膜细胞(图 7B 箭头 2 所示)的胞浆中。正常绒毛组织阴性对照组(图 7C)和正常蜕膜组织阴性对照组(图 7D)未见明显 ANXA1 免疫染色阳性物质积聚。

3 讨论

作为一种重要的参与多种生物功能的蛋白质,

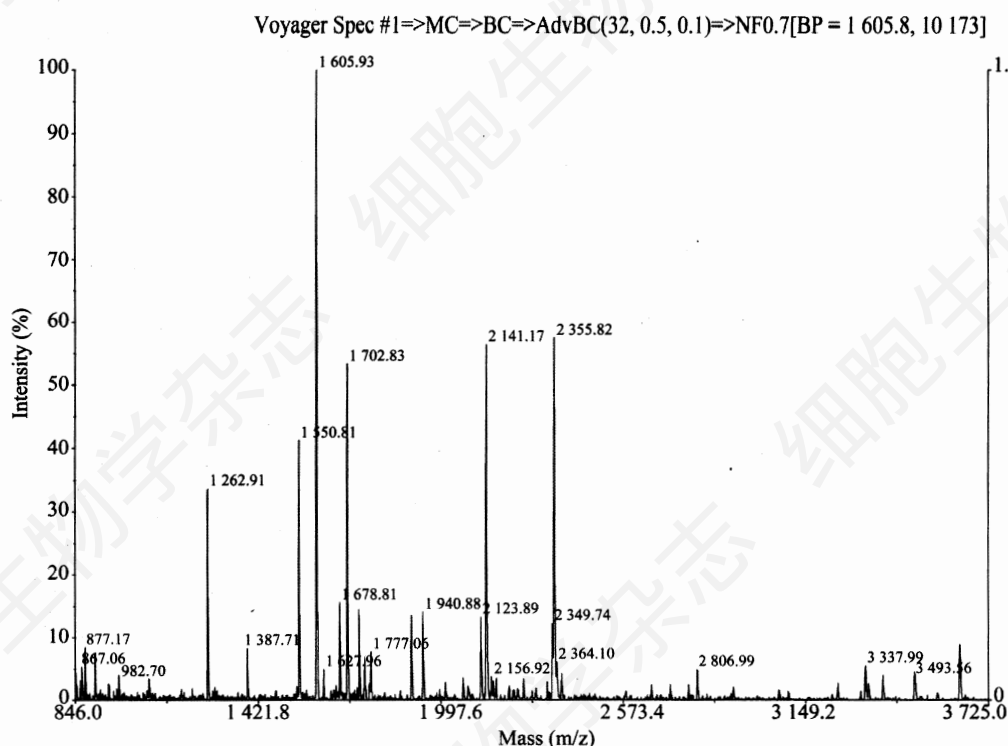


Fig.3 Peptide mass fingerprint of the target protein from 2D PAGE

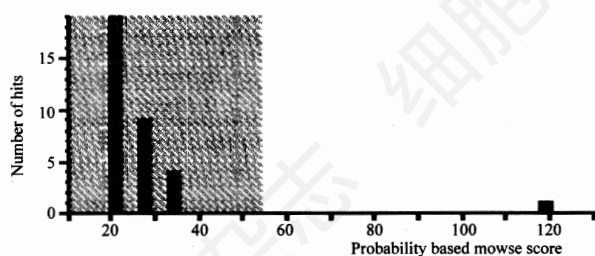


Fig.4 Protein scores greater than 54 are significant ($P < 0.05$)

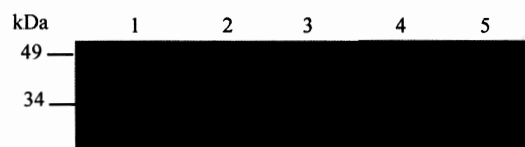


Fig.6 Expression of ANXA1 in villus and deciduas by Western blot

1: protein marker; 2: villus; 3: deciduas; 4: β -actin expression in villus; 5: β -actin expression in deciduas.

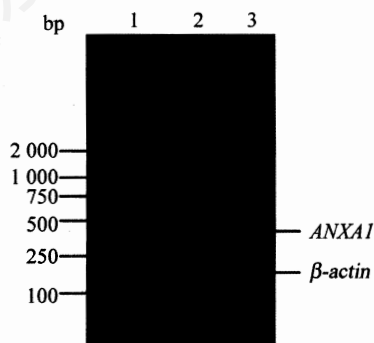


Fig.5 Expression of ANXA1 mRNA in villus and deciduas by RT-PCR

1: DNA marker; 2: ANXA1 mRNA expression in villus; 3: ANXA1 mRNA expression in deciduas.

ANXA1 在肿瘤领域研究较广泛: ① ANXA 与肿瘤的发生、发展相关。ANXA1 在肺腺癌、胰腺癌等中表达增强, 而在口腔鳞癌、头颈癌、子宫平滑肌瘤等中表达下调, 推断 ANXA1 可能通过各种信号途径, 诱导肿瘤细胞的增殖和分化, 在肿瘤的发生发展中起重要的作用^[2-6]; ② ANXA1 与肿瘤的转移相关; ③ ANXA1 有可能成为胰腺癌、前列腺癌^[7]等多种肿瘤早期诊断的一种标记物, 也可能是绿茶提取液治疗肺腺癌的一个潜在抗癌靶点^[8]。胚胎植入与肿瘤侵袭作用在机制上有许多相似之处, 但有关 ANXA1 在胚胎植入及其发育过程中是否扮演重要角色, 目前尚未见报道。

在胚胎发育中, 绒毛滋养细胞不断分化、增

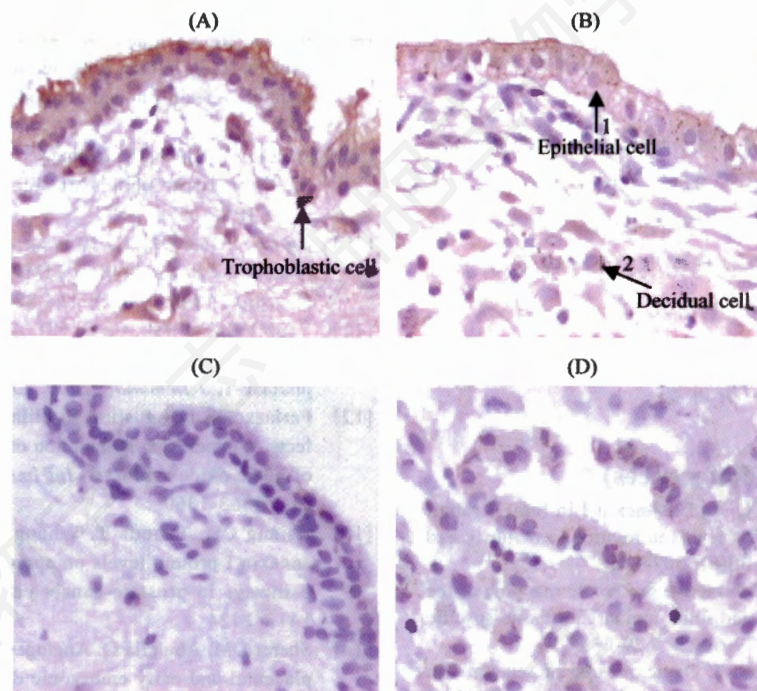


Fig.7 Immunohistochemical analysis of ANXA1 in villus and decidua (SP×400)

A: villus; B: deciduas; C: negative control (villus); D: negative control (deciduas).

殖、浸润,其中,细胞与细胞、细胞与细胞外基质之间的相互作用非常重要。大量研究表明,整合素、层粘连蛋白、纤维连接蛋白在滋养细胞的黏附、迁移过程中起着重要作用。本研究运用差异蛋白质组学技术研究发现人正常妊娠第10周绒毛组织和蜕膜组织中,ANXA1的表达存在显著差异(妊娠第10周,绒毛外滋养层细胞侵袭的高峰时段),该蛋白质在绒毛组织中表达上调,而在蜕膜组织中的表达显著下调,RT-PCR、Western印迹以及免疫组织化学实验也进一步证实了此时段ANXA1在胚胎绒毛组织和母体蜕膜组织中的这一表达特点。借鉴ANXA1在肿瘤领域里所取得的成绩,即ANXA1与肿瘤细胞的侵袭转移密切相关,而在胚胎植入与肿瘤细胞的侵袭作用在机制上存在高度的相似性,因而我们推测,绒毛组织中ANXA1表达的上调可能有利于促进滋养细胞的浸润,而蜕膜组织中ANXA1表达的下调可能调节着滋养细胞对蜕膜的适度侵袭,进而协调绒毛滋养细胞和蜕膜组织的相互作用,促进胎盘的形

妊娠早期绒毛滋养层细胞对子宫内膜的浸润深度决定着妊娠的结局,侵袭不足,可能引起流产,侵袭过度可能会引发绒癌。在滋养层细胞对蜕膜的浸润过程中,诸多因子扮演了重要角色,如IL-6可以提高MMP-2、MMP-9的生物活性,是细胞滋养层细胞

分泌明胶酶的重要调节介质^[9];IL-10能明显降低MMP-9的合成与细胞滋养层细胞的浸润活性,可能为滋养层细胞浸润的自分泌调节物^[10]。ANXA1与p38 MAPK和MAPK磷酸酶-1作用,能抑制IL-6的表达^[11],ANXA1也可刺激IL-10的释放^[12],激活p38和JNK改变信号转导平衡^[13],使滋养层细胞从增殖转向凋亡,从而抑制滋养层细胞的侵袭。此外,ANXA1还能通过FAS/FASL信号传递通路调节胚胎植入过程中蜕膜和绒毛细胞凋亡^[14,15],ANXA1可通过MAPK来调节FAS通路和增加FASL的表达。目前认为,ANXA1是TNF介导的细胞凋亡途径中的调控因子,能为TNF- α 传递死亡信号,启动细胞凋亡。已知Bcl-2是与妊娠密切相关的抑凋亡基因,过度表达Bcl-2可抑制ANXA1的核内移动而抑制细胞凋亡^[16,17]。根据这些现有证据,我们认为在胚胎发育过程中,ANXA1可以通过调控蜕膜和绒毛细胞的凋亡来防止滋养层细胞过度侵袭,ANXA1可能是妊娠早期“滋养层细胞有控性浸润”的调控因子。一方面,ANXA1参与多种细胞信号转导,放大促进侵袭蛋白信号,同时关闭侵袭抑制蛋白的活性,使绒毛滋养层细胞具有高侵袭力,这是胚胎成功植入的关键;另一方面,ANXA1作为一种侵袭负向调控因子与侵袭抑制蛋白相互作用,促进抑制蛋白的表达与活性,同时

与侵袭相关蛋白结合,抑制侵袭蛋白的表达与活性,使绒毛滋养层细胞从高侵袭力转向低或无侵袭力,以适应胚胎分化和发育的需要。

本研究发现在妊娠第10周绒毛滋养层细胞浸润的高峰时段,ANXA1在子宫蜕膜组织中表达显著下调,提示ANXA1此时作为一种侵袭抑制因子,调节滋养层细胞在子宫内膜的侵袭深度,维持妊娠期子宫内膜的微环境,保证胚胎的正常发育。但ANXA1在胚胎植入过程中对滋养层细胞浸润作用调控的确切机制尚不清楚,需要进一步证实。

参考文献(References)

- [1] Tsao FH, Chen X, Chen X, *et al.* Annexin I in female rabbit reproductive organs: varying levels in relation to maturity and pregnancy, *Lipids*, 1995, 30(6): 507-511
- [2] Oh P, Li Y, Yu J, *et al.* Subtractive proteomic mapping of the endothelial surface in lung and solid tumours for tissue-specific therapy, *Nature*, 2004, 429(6992): 629-635
- [3] Bai XF, Ni XG, Zhao P, *et al.* Overexpression of annexin 1 in pancreatic cancer and its clinical significance, *World J Gastroenterol*, 2004, 10(10): 1466-1470
- [4] 张雷, 杨筱, 钟来平, 等。膜联蛋白A1表达下降在口腔鳞癌中的意义, *中国口腔颌面外科杂志*, 2008, 6(1): 22-27
- [5] Garcia Pedrero JM, Fernandez MP, Morgan RO, *et al.* Annexin A1 down-regulation in head and neck cancer is associated with epithelial differentiation status, *Am J Pathol*, 2004, 164(1): 73-79
- [6] 林毅, 吕杰强, 吴洁丽, 等。子宫平滑肌瘤组织中 Annexin I 的表达及其意义, *实用医学杂志*, 2008, 24(17): 2942-2944
- [7] 刘腊军, 徐爱君, 方秀根。Annexin I 蛋白在人前列腺癌中的表达及临床意义, *现代生物医学进展*, 2008, 8(5): 910-912
- [8] Lu QY, Jin YS, Zhang ZF, *et al.* Green tea induces annexin I expression in human lung adenocarcinoma A549 cell involvement of annexin I in actin remodeling, *Lab Invest*, 2007, 87(5): 462
- [9] Meisser A, Cameo P, Islami D, *et al.* Effects of interleukin-6 (IL-6) on cytotrophoblastic cells, *Mol Hum Reprod*, 1999, 5(11): 1055-1058
- [10] Roth I, Fisher SJ. IL-10 is an autocrine inhibitor of human placental cytotrophoblast MMP-9 production and invasion, *Dev Biol*, 1999, 205(1): 194-204
- [11] Yang YH, Toh ML, Clyne CD. Annexin 1 negatively regulates IL-6 expression via effects on p38 MAPK and MAPK phosphatase-1, *J Immunol*, 2006, 177(11): 8148-8153
- [12] Ferlazzo V, D'Agostino P, Milano S. Anti-inflammatory effects of annexin-1: stimulation of IL-10 release and inhibition of nitric oxide synthesis, *Int Immunopharmacol*, 2003, 3(10-11): 1363-1369
- [13] Hsiang CH, Tunoda T, Whang YE. The impact of altered annexin I protein levels on apoptosis and signal transduction pathways in prostate cancer cells, *Prostate*, 2006, 66(13): 1413-1424
- [14] Sherer DM, Abulafia O. Angiogenesis during implantation, and placental and early embryonic development, *Placenta*, 2001, 22(1): 1-13
- [15] Hammer A, Dohr G. Expression of Fas-ligand in first trimester and term human placental villi, *Reprod Immunol*, 2000, 46(2): 83-90
- [16] Peralta Soler A, Mullin JM, Knudsen KA, *et al.* Tissue remodeling during tumor necrosis factor-induced apoptosis in LLC-PK1 renal epithelial cells, *Am J Physiol*, 1996, 270(5 Pt 2): F869-F879
- [17] 林瑞, 吕杰强, 谢丽微。凋亡及凋亡相关基因 *Bcl-2* 在不同植入部位妊娠的研究进展, *医学综述*, 2005, 11(1): 13-15

The Expression of ANXA1 between Deciduas and Villus in the First Trimester Pregnancy

Hong-Mei Li, Xue-Qin Liu, Qiu-Bo Yu, Yan-Ling Dong, Yu-Bin Ding, Ying-Xiong Wang, Jun-Lin He*

(The Laboratory of Reproductive Biology, The School of Public Health,
Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

Abstract Differential expression of ANXA1 in villus and deciduas from the first trimester pregnancy was investigated by two-dimensional gel electrophoresis and image analysis. The result showed the expression of a protein spot (isoelectric point is about 6.6, molecular weight is about 38 kDa) decreased significantly in deciduas. This protein spot was identified as ANXA1 by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry and database searching. Low level expression of ANXA1 was further confirmed in deciduas by RT-PCR, Western blotting and immunohistochemistry. The observation suggested that ANXA1 might play an important role in regulation the invasion of trophoblast and placentation during the early pregnancy.

Key words ANXA1; villus; deciduas; proteomics; implantation

Received: March 9, 2009 Accepted: June 9, 2009

This work was supported by the Key Program of the Natural Science Foundation of Chongqing City (No.2004-47)

*Corresponding author. Tel: 86-23-68485001, Fax: 86-23-68485008, E-mail: hejunlin_11@yahoo.com.cn