

miR-638抑制尤文肉瘤细胞的增殖和血管拟态形成的影响

王滕羽 张中卒 周新 陈佳骏 王群波*

(重庆医科大学附属永川医院骨科, 重庆 402160)

摘要 该研究旨在探讨miR-638在尤文肉瘤细胞中的表达及其对尤文肉瘤细胞增殖和血管拟态形成能力的影响, 进一步探讨其可能机制。应用qRT-PCR检测miR-638在尤文肉瘤细胞系(A673、SK-ES-1和RD-ES)中的表达; 转染人工合成miR-638 mimic到RD-ES和SK-ES-1细胞内, 运用CCK-8法和小管形成实验分别检测miR-638对A673和SK-ES-1细胞增殖及血管拟态形成能力的影响; 应用qRT-PCR和Western blot探讨对血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGFA)在A673细胞内是否为miR-638的靶基因, 回复实验验证VEGFA是否参与miR-638对A673细胞增殖和血管拟态形成的作用。结果表明, 与人间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSC)相比, 尤文肉瘤细胞内miR-638呈低表达趋势($P < 0.05$); 转染miR-638 mimic后, RD-ES及SK-ES-1细胞内miR-638升高明显, 表明miR-638 mimic转染成功; 转染miR-638组尤文肉瘤细胞增殖能力下降($P < 0.05$), 新生拟态血管分支数较对照组减少($P < 0.05$); 转染miR-638组A673和SK-ES-1细胞内VEGFA mRNA及蛋白质水平均明显下降, 提示miR-638能够调控尤文肉瘤细胞内VEGFA的表达; 回复实验结果显示, 同时转染了miR-638 mimic和pcDNA-empty组细胞内VEGFA的蛋白质水平最低, 生长速度最慢, 小管形成的分支数最少。miR-638在尤文肉瘤细胞中呈低表达, 过表达miR-638能够抑制尤文肉瘤细胞增殖及血管拟态形成, 该作用可能通过靶向调控VEGFA作用而实现的。

关键词 miR-638; 尤文肉瘤; VEGFA; 细胞增殖; 血管拟态形成

miR-638 Inhibits the Proliferation and Tubal Formation of Ewing Sarcoma Cells Partially through Regulating the VEGFA

Wang Tengyu, Zhang Zhongzu, Zhou Xin, Chen Jiajun, Wang Qunbo*

(Department of Orthopedics, Yongchuan Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 402160, China)

Abstract This work was to investigate the level of miR-638 in Ewing sarcoma cells (EWS) and its effects on the proliferation and tube formation of EWS, so as to further identify the putative mechanisms involved. The level of miR-638 was detected in EWS comparing with the mesenchymal stem cells (MSC) by qRT-PCR assays. We restored the level of miR-638 in RD-ES and SK-ES-1 cells through transfection with artificial miR-638 mimic. The CCK-8 and tubule formation experiments were used to explore the effects of miR-638 on the proliferation and tubal formation of EWS cells, respectively. Then qRT-PCR and Western blot assays were performed to explore the effects of miR-638 on the level of VEGFA. Rescue assays were performed to identify whether VEGFA was involved in

收稿日期: 2017-07-14 接受日期: 2017-09-18

国家自然科学基金(批准号: 81502329)资助的课题

*通讯作者。Tel: 15902323128, E-mail: wqb631113@163.com

Received: July 14, 2017 Accepted: September 18, 2017

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81502329)

*Corresponding author. Tel: +86-15902323128, E-mail: wqb631113@163.com

网络出版时间: 2017-12-04 12:01:09

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20171204.1201.008.html>

miR-638-mediated suppressive effects on EWS. The levels of miR-638 in three Ewing sarcoma cell lines were significantly lower than those in MSC ($P<0.05$); Compared with the control groups, the proliferation rates and the number of branches in the formation were significantly decreased ($P<0.05$). qRT-PCR and Western blot analysis showed that over-expression of miR-638 could significantly inhibit the levels of mRNA and protein of VEGFA. The results of rescue showed that the level of miR-638 mimic and pcDNA-empty target gene *VEGFA* was the lowest, the growth rate was the slowest, and the number of branches was the least. miR-638 was suppressed in EWS cells, and its over-expression inhibited cell proliferation and tubal formation of EWS, which might be mediated targeting VEGFA partially.

Keywords miR-638; Ewing sarcoma; VEGFA; tube formation

尤文肉瘤(Ewing sarcoma)是常见的原发性恶性骨肿瘤之一,好发于儿童和青少年。该病恶性程度极高,具有病程短、复发快、转移率高等特点^[1-2]。临床治疗以放、化疗及手术为主,对于伴发转移的肿瘤患者,仅60%患者可局部治愈,5年生存率较差,低于30%^[3-4]。除遗传因素影响外,癌症的发生发展还受表观遗传学影响,其中小分子非编码的microRNA(miRNAs, miRNAs)发挥了重要作用^[5]。血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)是一种促进血管生成的重要细胞因子,可影响肿瘤细胞的增殖、转移和复发,促进肿瘤血管生成。VEGF有5个亚型,包括VEGFA、VEGFB、VEGFC、胎盘生长因子-1(placental growth factor-1, PIGF-1)和PGF-2, VEGFA对血管内皮细胞增殖和分化的影响最大,是最重要的一个亚型^[6]。有研究指出,VEGFA能受到多种miRNA的直接或间接调控,其调节某些特异性的miRNA表达可能成为抗VEGFA治疗肿瘤的新手段^[7-8]。根据现有的文献,在肝癌细胞中通过靶向调控VEGFA,抑制miR-638表达能够促进肝癌细胞的生长及新生血管形成^[9],但在尤文肉瘤细胞中是否有相同的生物学功能还未见报道,因此,本研究将探讨miR-638在尤文肉瘤细胞中的表达,检测其对细胞增殖及血管拟态新生能力的影响,探讨VEGFA是否参与其作用机制,为进一步研究尤文肉瘤的靶向治疗提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 细胞株与试剂

尤文肉瘤细胞株A673、RD-ES、SK-ES1均购于美国模式培养物集存库(American type culture collection, ATCC)。实验所用的药品包括: RPMI-1640培养基和胎牛血清(均购自Gibico公司), BCA

蛋白质定量试剂和CCK-8试剂盒(均购自上海碧云天生物技术有限公司), 0.25%胰蛋白酶、Lipofectamine 3000转染试剂和Trizol试剂(均购自Invitrogen公司), RIPA裂解液(购自武汉博士德生物工程有限公司), 人工合成的miR-638 mimics(模拟物)和scramble(阴性对照片段)(均购自Thermo Fisher公司), Taq DNA Polymerase、dNTP Mix、GeneRuler™1 KB DNA Ladder(均购自Fermentas公司), PrimeSTAR™ HS DNA Polymerase(购自TaKaRa公司), 鼠抗人VEGFA抗体、GAPDH抗体(均购自Cell Signaling公司), 辣根过氧化物酶标记的山羊抗小鼠、山羊抗兔的二抗(均购自北京中杉金桥生物技术有限公司)。

1.2 细胞培养及miR-638 mimic转染

细胞用含有10%的胎牛血清、100 U/mL青霉素及100 U/mL链霉素的RPMI-1640培养基培养,然后置于37 °C、5% CO₂恒温密闭细胞培养箱中。每隔2~3 d换液1次,待70%~80%细胞融合时,用胰蛋白酶消化传代进行后续实验。提前1 d消化生长状态良好的细胞,接种到6孔板中,次日转染时细胞生长达30%左右,按Lipofectamine 3000转染试剂盒提供的方法分别将6 μL miRNA-638 mimics或scramble mimics加入Opti-MEM中培养液配制成转染混合物,将转染混合物加入6孔板中,振动孔板使混合液和孔板中的细胞培养液混合,37 °C培养6 h后弃去培养基及转染试剂,转染4~6 h后更换新鲜含10% FBS的RPMI-1640培养液,继续培养用于后续实验。

1.3 Western blot检测

收集对数生长期的各细胞株,分别用含蛋白酶抑制剂的RIPA细胞裂解液裂解,提取蛋白质并用BCA法定量。制备10% SDS-PAGE凝胶,每孔加入30 μg蛋白质样品,经SDS-PAGE电泳1.5 h分离蛋白质,湿法电转PVDF膜1.5 h, 5%脱脂牛奶封闭1 h,加

入VEGFA一抗(1:1 000),于4℃孵育过夜,TBST漂洗3次,10 min/次。加入二抗(1:5 000),常温孵育1 h,TBST漂洗3次,10 min/次。滴加显影液,采用化学发光成像仪成像,以GAPDH为内参。

1.4 实时荧光定量PCR检测

利用Trizol法提取各组细胞总RNA,取1 μg总RNA逆转录成cDNA,以cDNA为模板,荧光定量PCR仪进行检测,采用SYBR荧光染料试剂盒,以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 值表示miR-638的mRNA相对表达量,实验重复3次。miR-638的表达量以U6为内参,VEGFA的表达量以GAPDH为内参。引物序列如下。miR-638逆转录引物序列为:5'-GTC GTA TCC AGT GCA GGG TCC GAG GTA TTC GCA CTG GAG GCC GCC-3'; miR-638上游引物为:5'-AGG GAT CGC GGG CGG GT-3';下游引物为:5'-CAG TGC AGG GTC CGA GGT-3'。U6上游引物为:5'-CTC GCT TCG GCA GCA CAT ATA CT-3';U6下游引物为:5'-ACG CTT CAC GAA TTT GCG TGT C-3'。VEGFA上游引物为:5'-GAA GGA GGA GGG CAG AAT C-3';VEGFA下游引物为:5'-CAC ACA GGA TGG CTT GAA G-3'。GAPDH上游引物为:5'-GAA GGA GGA GGG CAG AAT C-3';GAPDH下游引物为:5'-GAA GGA GGA GGG CAG AAT C-3'。

1.5 细胞增殖实验

CCK-8法检测细胞增殖能力,转染miR-638 mimic的细胞后16 h,吹打散细胞,调整细胞浓度为 1×10^5 个/mL,分到96孔板,每孔100 μL,即每孔细胞为 1×10^4 个。加入CCK-8溶液(10 μL)2 h后,收集培养0、24、48、72 h的细胞,采用CCK-8法进行细胞,用

酶标仪测定波长450 nm吸光度D值,实验重复3次。

1.6 血管拟态形成实验

将48孔培养板每孔内加入Matrigel(4℃过夜融解)100 μL,振荡使其均匀铺平(以上操作在冰浴上进行),置于37℃培养箱内,60 min后取出,观察其已形成凝胶状。每孔Matrigel上接种已转染对照组scramble和实验组miR-638的SK-ES-1和RD-ES细胞(4×10^4 个细胞)。每孔加入200 μL相应的条件培养基,每组3孔。置于37℃、5% CO₂培养箱内培养,每隔2 h于倒置显微镜下观察、照相并计数小管分支数量,每孔在低倍镜下随机取6个视野计算平均值,实验重复3次。

1.7 统计学分析

采用SPSS 22.0统计软件进行统计学分析,对于两组计量资料的差异比较采用两独立样本t检验;两组以上数据比较采用方差分析,以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异具有统计学意义。

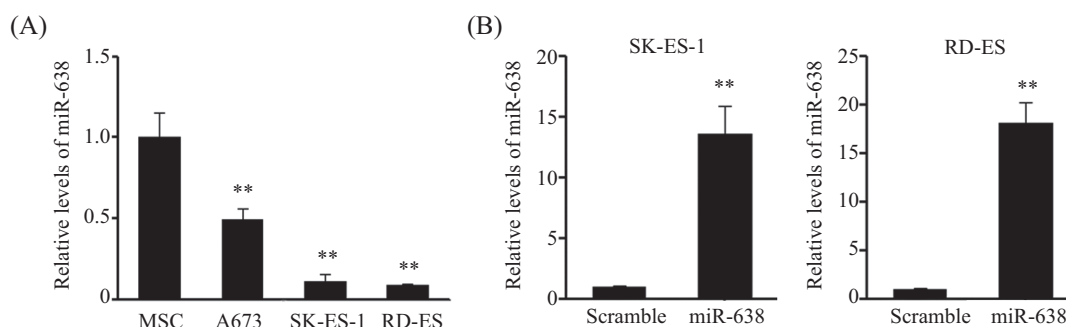
2 结果

2.1 miR-638在尤文肉瘤细胞中的表达

qRT-PCR检测结果表明,相比于人间充值干细胞(MSC细胞),尤文肉瘤细胞系(A673、SK-ES-1及RD-ES)中miR-638呈明显低表达趋势($P < 0.05$,图1A),提示miR-638在尤文肉瘤细胞中可能为抑癌基因。

2.2 miR-638 mimic成功转染至RD-ES及SK-ES-1细胞

将人工合成的miR-638-mimic转染至人尤文肉瘤细胞RD-ES及SK-ES-1细胞内,转染后24 h,转

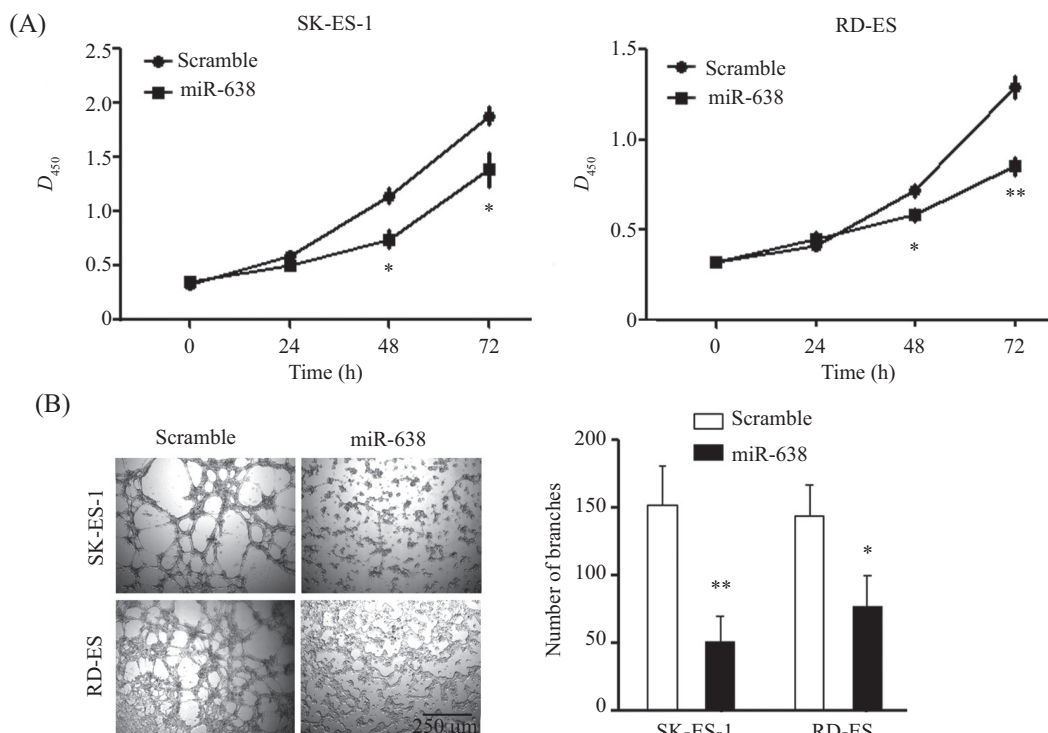


A: qRT-PCR检测EWS细胞株A673、SK-ES-1和RD-ES的miR-638的mRNA表达水平; B: miR-638 mimic转染到A673、RD-ES细胞后miR-638 mRNA的表达。** $P < 0.01$,与MSC组比较。

A: the expression levels of miR-638 in EWS cell lines, A673, SK-ES-1 and RD-ES was detected by qRT-PCR; B: SK-ES-1, RD-ES cells were transfected with miR-638 mimic and collected for qRT-PCR. ** $P < 0.01$ vs MSC group.

图1 尤文肉瘤细胞系A673、SK-ES-1和RD-ES中miR-638水平

Fig.1 miR-638 level in EWS lines A673, SK-ES-1 and RD-ES



A: CCK-8法检测转染miR-638/scramble对EWS细胞增殖的影响; B: miR-638对EWS细胞SK-ES-1和RD-ES血管生成能力的影响。* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, 与MSC组比较。

A: the proliferation of EWS cell lines was analyzed by CCK-8 assay after transfected with miR-638/scramble; B: effect of miR-638 in EWS cells SK-ES-1 and RD-ES cells on the formation of HUVEC tubules. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs MSC group.

图2 miR-638对尤文肉瘤细胞SK-ES-1和RD-ES中增殖和血管形成的影响

Fig.2 The effect of of miR-638 on proliferation and tubule formation in EWS cells SK-ES-1 and RD-ES

染组miR-638组细胞内miR-638表达较对照组升高明显($P < 0.01$, 图1B), 表明转染后细胞内miR-638表达。

2.3 过表达miR-638对尤文肉瘤细胞增殖能力的影响

CCK-8法分别检测转染miR-638后24 h、48 h、72 h, SK-ES-1及RD-ES细胞增殖能力的变化。结果显示, 转染后24 h内, 转染miR-638组及scramble组对尤文肉瘤细胞增殖能力无明显变化; 转染后48 h, 转染miR-638 mimic组细胞增殖能力较对照组细胞增殖能力下降明显, 且差异有统计学意义($P < 0.05$, 图2A)。

2.4 过表达miR-638对尤文肉瘤细胞血管拟态新生能力的影响

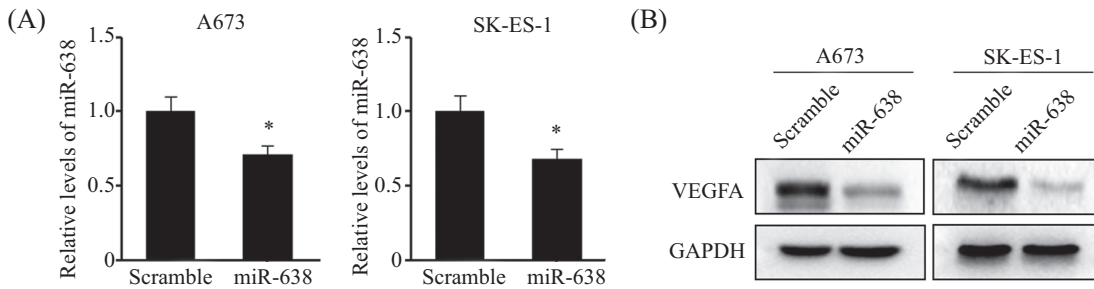
血管拟态形成实验结果显示, 转染miR-638 mimic组RD-ES和SK-ES-1细胞后6 h, 细胞形成完整闭合小管的数量明显少于对照组($P < 0.05$, 图2B), 提示miR-638能够抑制尤文肉瘤细胞血管拟态形成。

2.5 miR-638对尤文肉瘤细胞VEGFA的mRNA及蛋白质水平的影响

检测转染miR-638 mimic后A676和SK-ES-1细胞株中mRNA及蛋白质水平变化。结果显示, 转染miR-638 mimic的A676和SK-ES-1细胞内的VEGFA的mRNA(图3A)及蛋白质表达(图3B)水平较对照组均明显下降, 提示尤文肉瘤细胞中miR-638靶向调控VEGFA表达。

2.6 回复实验验证VEGFA参与miR-638介导的抑癌功能

为了进一步验证VEGFA是否参与miR-638介导的抑癌作用, 我们进行了回复实验。将转染miR-638/scramble mimic后SK-ES-1细胞分别转染pcDNA3.1-VEGFA/pcDNA-empty质粒, 转染miR-638后转染pcDNA3.1-VEGFA质粒能够部分增强VEGFA蛋白质表达。共转染miR-639 mimic和pcDNA-empty组细胞VEGFA蛋白质表达水平最低(图4A), 细胞生长速度最慢(图4B), 小管形成实验生成的小管数量最少(图4C)。共转染pcDNA-VEGFA

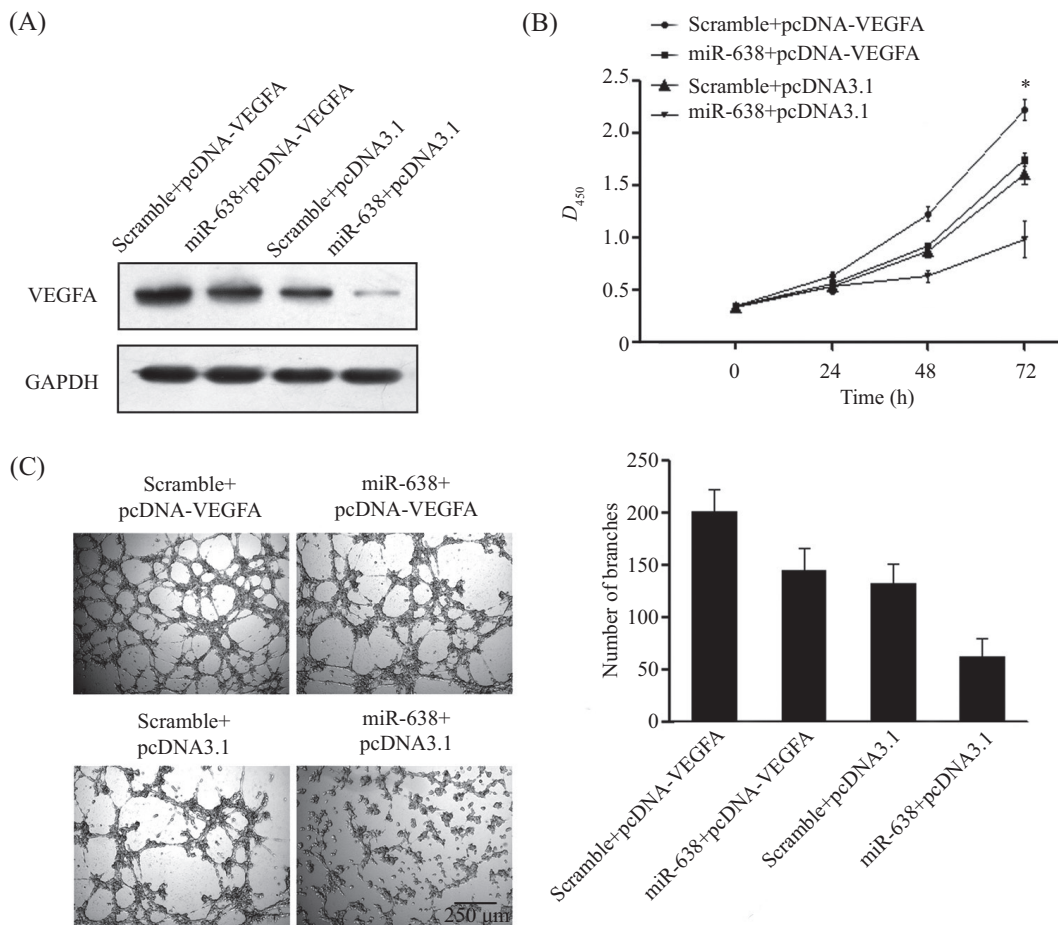


A: qRT-PCR检测转染miR-638模拟物至A673, SK-ES-1细胞VEGFA的mRNA的表达水平; B: Western blot检测转染miR-638模拟物至A673、SK-ES-1细胞VEGFA的蛋白水平。* $P < 0.05$, 与MSC组比较。

A: SK-ES-1, RD-ES cells were transfected with miR-638 mimic and collected for qRT-PCR; B: the protein level of VEGFA and GAPDH in SK-ES-1 and RD-ES cells was detected by Western blot after transfected with miR-638/scramble. * $P < 0.05$ vs MSC group.

图3 miR-638对尤文肉瘤细胞RD-ES和Sk-ES-1中VEGFA mRNA和蛋白质水平的影响

Fig.3 The effect of miR-638 on VEGFA mRNA and protein levels in RD-ES and SK-ES-1 of EWS cells



A: 用pcDNA-VEGFA/pcDNA-empty和miR-638/scramble mimic不同组合分别转染A673细胞后, Western blot检测不同转染组合A673细胞中VEGFA的蛋白水平; B: 用图A的方法处理后, CCK-8法检测不同转染组合中A673细胞的增值水平; C: 用图A的方法处理后, 不同转染组合对A673细胞中的血管形成能力。

A: miR-638 mimic or scramble were transfected with pcDNA3.1 or pcDNA-VEGFA in A673. The protein levels of VEGFA were assay by Western blot; B: CCK-8 assays were used to detect and explore the effects of VEGF cell proliferation in A673 cells treat as described in (A); C: the tubule formation were performed to detect the effects on cell invasion of A673 cells treated as described in (A).

图4 miR-638通过靶向VEGFA调节SK-ES-1细胞的增殖和血管拟态新生能力

Fig.4 miR-638 regulates the proliferation and angiogenesis of SK-ES-1 cells by targeting VEGFA

和scramble mimic, 靶基因表达的蛋白质水平最高(图4A), 细胞生长速度最快(图4B), 小管形成实验生成的小管数量最多(图4C)。

3 讨论

miRNAs作为一类内源性非编码的微RNAs, 通过与靶mRNA的3'UTR区域互补配对, 影响靶基因mRNA的稳定性或翻译。越来越多研究发现, miRNAs在多个生物进程中发挥重要的生物学功能^[10-11], 其可以通过调节与肿瘤发生发展相关的蛋白质发挥调控肿瘤发生发展的作用^[12-13]。

根据已有的文献报道, miR-638在多种不同类型的人类肿瘤中担当不同的生物学功能, 如在肝癌、胃癌、肺癌可发挥抑癌作用^[14-16], 而在黑色素瘤中却被认为是促癌因素^[17]。我们的研究发现, 尤文肉瘤细胞A673、RD-ES和SK-ES-1中的miR-638相比于人MSC细胞呈低表达趋势, 提示miR-638在尤文肉瘤细胞中可能担当抑癌基因的功能。过表达miR-638后尤文肉瘤细胞的增殖及血管拟态新生能力明显受到抑制, 进一步说明miR-638在尤文肉瘤中可能担当抑癌基因的功能。瘤灶内新生血管生成是促进癌细胞增殖的重要病理环节, 新生的血管能够为细胞增殖提供必需的氧及营养^[18]。VEGFA作为VEGF家族的成员, 是已知的最强有力的促血管生成因子, 它由多种正常细胞和肿瘤细胞分泌, 作为在恶性肿瘤中检测价值较高的一类指标, 在多种肿瘤组织的血管形成中起关键作用^[19], 有很多其他血管生成因子的血管生成作用是通过增强VEGFA的表达及生成作用实现的^[20]。本文也证实, 通过过表达miR-638能够抑制尤文肉瘤细胞中VEGFA的mRNA和蛋白质水平, 提示尤文肉瘤细胞中miR-638能够调控VEGFA的表达。回复实验进一步证实, 回复EWS细胞中VEGFA的表达, 能够部分逆转miR-638在SK-ES-1细胞中的抑癌功能, 减弱miR-638对增殖及血管拟态新生能力的抑制作用。由此我们推测, miR-638能够抑制尤文肉瘤细胞的增殖及血管拟态新生, 其作用可能部分是通过下调VEGFA的表达实现的。

综上所述, 在尤文肉瘤中存在miR-638的表达下调, 过表达miR-638能明显抑制尤文肉瘤细胞的增殖和血管拟态形成, 其作用可能通过靶向调控尤文肉瘤中VEGFA的表达, 进而发挥抑制尤文肉瘤发

展和转移的功能, 这为尤文肉瘤诊断、治疗及预后评估提供了新的研究思路。

参考文献 (References)

- 1 张中卒, 黄路, 曹凯. let-7与尤文肉瘤关系的研究进展. 南昌大学学报(医学版)(Zhang Zhongzu, Huang Lu, Cao Kai. Journal of Nanchang University, Medical Sciences) 2013; 53(6): 89-92.
- 2 Zhang Z, Huang L, Yu Z, Chen X, Yang D, Zhan P, *et al.* Let-7a functions as a tumor suppressor in Ewing's sarcoma cell lines partly by targeting cyclin-dependent kinase 6. DNA Cell Biol 2014; 33(3): 136-47.
- 3 Windsor R, Strauss S, Seddon B, Whelan J. Experimental therapies in Ewing's sarcoma. Expert Opin Inv Drugs 2009; 18(2): 143-59.
- 4 Li Y, Shao G, Zhang M, Zhu F, Zhao B, He C, *et al.* miR-124 represses the mesenchymal features and suppresses metastasis in Ewing sarcoma. Oncotarget 2017; 8(6): 10274-86.
- 5 Png KJ, Halberg N, Yoshida M, Tavazoie SF. A microRNA regulon that mediates endothelial recruitment and metastasis by cancer cells. Nature 2011; 481(7380): 190-4.
- 6 Benazzi C, Al-Dissi A, Chau CH, Figg WD, Sarli G, de Oliveira JT, *et al.* Angiogenesis in spontaneous tumors and implications for comparative tumor biology. ScientificWorldJournal 2014; 2014: 919570.
- 7 周君, 刘海玲, 陈亦乐, 文继舫, 李龙, 吴晓英. VEGF和miR-205及靶蛋白Ezrin和LaminA/C在卵巢癌中的表达及意义. 中南大学学报(医学版)(Expression and significance of VEGF, miR-205 and target protein Ezrin and Lamin A/C in ovarian cancer. J Cent South Univ, Med Sci) 2014; 39(2): 142-50.
- 8 Lu Y, Qin T, Li J, Wang L, Zhang Q, Jiang Z, *et al.* MicroRNA-140-5p inhibits invasion and angiogenesis through targeting VEGF-A in breast cancer. Cancer Gene Ther 2017; 24(9): 386-92.
- 9 Cheng J, Chen Y, Zhao P, Liu X, Dong J, Li J, *et al.* Down-regulation of miRNA-638 promotes angiogenesis and growth of hepatocellular carcinoma by targeting VEGF. Oncotarget 2016; 7(21): 30702-11.
- 10 Fazi F, Blandino G. MicroRNAs: non coding pleiotropic factors in development, cancer prevention and treatment. Microna 2013; 2(2): 81.
- 11 Li H, Yang BB. MicroRNA-regulated stress response in cancer and its clinical implications. Cell Cycle 2013; 12(13): 1983-4.
- 12 Esquela-Kerscher A, Slack FJ. Oncomirs—microRNAs with a role in cancer. Nat Rev Cancer 2006; 6(4): 259-69.
- 13 Babar IA, Cheng CJ, Booth CJ, Liang X, Weidhaas JB, Saltzman WM, *et al.* Nanoparticle-based therapy in an *in vivo* microRNA-155 (miR-155)-dependent mouse model of lymphoma. Proc Natl Acad Sci USA 2012; 109(26): E1695-704.
- 14 Wang F, Lou JF, Cao Y, Shi XH, Wang P, Xu J, *et al.* miR-638 is a new biomarker for outcome prediction of non-small cell lung cancer patients receiving chemotherapy. Exp Mol Med 2015; 47: e162.
- 15 Zhang J, Bian Z, Zhou J, Song M, Liu Z, Feng Y, *et al.* MicroRNA-638 inhibits cell proliferation by targeting pho-

- spholipase D1 in human gastric carcinoma. *Protein Cell* 2015; 6(9): 680-8.
- 16 Zhang Y, Zhang D, Jiang J, Dong L. Loss of miR-638 promotes invasion and epithelial-mesenchymal transition by targeting SOX2 in hepatocellular carcinoma. *Oncol Rep* 2017; 37(1): 323-32.
- 17 Bhattacharya A, Schmitz U, Raatz Y, Schönherr M, Kottek T, Schauer M, *et al.* miR-638 promotes melanoma metastasis and protects melanoma cells from apoptosis and autophagy. *Oncotarget* 2015; 6(5): 2966-80.
- 18 Tavazoie SF, Alarcón C, Oskarsson T, Padua D, Wang Q, Bos PD, *et al.* Endogenous human microRNAs that suppress breast cancer metastasis. *Nature* 2008; 451(7175): 147-52.
- 19 Ferrara N. VEGF-A: a critical regulator of blood vessel growth. *Eur Cytokine Netw* 2009; 20(4): 158-63.
- 20 米旭光, 李首庆, 刘 多, 魏海峰, 江显卓, 方艳秋. miR-126 在乳腺癌中与VEGF表达关系及其抗肿瘤效果. *中国免疫学杂志* (Mi Xugang, Li Shouqing, Liu Duo, Wei Haifeng, Jiang Xianzhuo, Fang Yanqiu. MiR-126 expression relationship with VEGF in breast cancer and its antitumor effect. *Chinese Journal of Immunology*) 2016; 32(7): 1000-3.