

RNA 干扰技术在视网膜疾病治疗中的研究进展

李光辉¹, 彭燕一²

作者单位:¹(541004)中国广西壮族自治区桂林市,桂林医学院;²(541001)中国广西壮族自治区桂林市,桂林医学院附属医院眼科

作者简介:李光辉,在读硕士研究生,研究方向:眼底病。

通讯作者:彭燕一,教授,主任医师,主任,硕士研究生导师,研究方向:白内障、角膜屈光手术、眼底病. yypeng_7@hotmail.com
收稿日期:2013-01-07 修回日期:2013-04-22

RNA interference technology's research progress in the treatment of retinal disease

Guang-Hui Li¹, Yan-Yi Peng²

¹Guilin Medical University, Guilin 541004, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China; ²Department of Ophthalmology, Affiliated Hospital of Guilin Medical University, Guilin 541001, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Correspondence to: Yan-Yi Peng, Department of Ophthalmology, Affiliated Hospital of Guilin Medical University, Guilin 541001, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. yypeng_7@hotmail.com
Received:2013-01-07 Accepted:2013-04-22

Abstract

• RNA interference exists widely in animals, which can induce specific genetic sequence to silence by double-stranded RNA molecules at the mRNA level. As a kind of new methods of blocking gene expression, RNA interference technology has become increasingly mature and perfect, it has opened up a new approach of gene therapy. RNA interference can effectively prevent the formation of new vessels in retina, restrain the occurrence and development of the proliferative vitreous retinopathy, and induce apoptosis of retinoblastoma cells. The research progress of the RNA interference in the above retinopathy was summarized in this review.

• **KEYWORDS:** RNA interference technology; retinal newborn vascular disease; proliferative vitreoretinopathy; retinoblastoma

Citation: Li GH, Peng YY. RNA interference technology's research progress in the treatment of retinal disease. *Guoji Yanke Zazhi(Int Eye Sci)* 2013;13(5):901-904

摘要

RNA 干扰(RNA interference, RNAi)是一种在动物中广泛存在的、通过双链 RNA 分子在 mRNA 水平上诱导特异

性序列基因沉默的过程。作为一种阻断基因表达的新手段, RNAi 技术日趋成熟完善,开辟了一条基因治疗的新途径。RNAi 技术能够有效阻止视网膜新生血管的形成,抑制增生性玻璃体视网膜病变的发生和发展,诱导视网膜母细胞瘤细胞的凋亡。现将 RNAi 技术在上述视网膜病变中的研究进展作一综述。

关键词: RNA 干扰技术;视网膜新生血管疾病;增生性玻璃体视网膜病变;视网膜母细胞瘤

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2013.05.17

引用:李光辉,彭燕一. RNA 干扰技术在视网膜疾病治疗中的研究进展. *国际眼科杂志* 2013;13(5):901-904

0 引言

RNA 干扰(RNA interference, RNAi)指与内源性 mRNA 编码区某段序列同源的双链 RNA 导入细胞时,该序列 mRNA 发生特异性的降解,并导致基因表达的沉默。自其发现以来引起生物学界的广泛关注,其应用遍及生物界各个领域,小干扰 RNA 在哺乳动物细胞中可明显阻止 HIV、流感、乙型和丙型肝炎及 SARS 病毒感染细胞,明显抑制多种癌基因的表达,使癌细胞生长受到抑制,并诱导肿瘤细胞凋亡。近来的研究表明, RNAi 技术在眼科领域的研究发现, RNAi 技术可用于治疗视网膜新生血管、增生性玻璃体视网膜病变、视网膜母细胞瘤等眼部疾病。RNAi 技术及其在眼科视网膜疾病中的研究取得了重要的进展。

1 RNAi 技术的作用机制

因为 RNA 干扰抑制基因表达方面具有特异性强、高效性、副作用小等优点, RNA 干扰已被广泛应用于基因功能研究及基因治疗领域。

RNAi 的确切作用机制还不十分清楚,目前认为, RNAi 的基本作用机制如下^[1-4]:外源性或内源性的双链核糖核酸(double-stranded RNA, dsRNA)在细胞内与一种具有 dsRNA 特异性的 RNA 酶 III 内切核酸酶(RNAase III endonuclease)-Dicer 结合为酶-dsRNA 复合物。随即被切割成 21~23nt 的 RNA 片段,即 siRNA。带有 3' 端 2nt 突出及磷酸化的 5' 端,是 RNAi 的起始诱导物。Dicer 通过 PAZ 队结构域与含有 PAZ 结构域的 Argonaute 蛋白相互作用,核酸内外切酶、解旋酶与 Argonaute 蛋白连接进而与 siRNA 形成沉默复合体(RNA induced silencing complex, RISC)。需要指出的是, RISC 和 Dicer 是相分离的, RISC 是不能处理 dsRNA 成 siRNA 的,表明 Dicer 不是 RISC 的一个组成部分。RISC 中的解旋酶应用 ATP 解开 siRNA 双链,使其反义链互补结合到靶向的 mRNA 上与

之相匹配的特异性序列,RISC中的核酸酶降解 mRNA,降解的 mRNA 随后迅速地被细胞其他的 RNA 酶所降解,从而使目的基因沉默,产生 RNAi 现象。siRNA 也能与 RISC 和 mRNA 联系在一起,在解开 siRNA 的双链后,反义 RNA 链能作为双链 RNA 合成的一个引物以 mRNA 为模板,在 RISC 中的 RNA 依赖性 RNA 聚合酶(RNA dependent RNA polymerase, RdRP)的作用下形成新的 dsRNA,再次被 Dicer 识别并切断,形成新的 siRNA,再循环作用于另外的靶向 RNA。这种不断放大的瀑布式作用形成大量新的 siRNA,介导新一轮的同源 mRNA 降解。从而产生级联放大效应显著增强了对基因表达的抑制作用。

2 RNAi 与视网膜疾病

2.1 RNAi 与视网膜新生血管疾病

视网膜新生血管是一类由于视网膜血循环障碍与视网膜缺血缺氧引起的病变。它可由多种眼病引起,如视网膜静脉阻塞、眼缺血综合征、增生性糖尿病视网膜病变、早产儿视网膜病变等,各种眼病所伴发的视网膜新生血管均可导致视网膜出血、纤维化、视网膜脱离乃至失明。传统的治疗眼部新生血管性疾病的方法主要是针对已经形成的新生血管,而且是在眼部疾病达到一定程度时开始治疗,不能从根本上阻止新生血管的形成。RNAi 技术作为一种阻断基因表达的新手段,技术日趋成熟,其为视网膜新生血管性疾病开辟了一条基因治疗的新途径。

近期研究发现,糖基化终末产物牛血清白蛋白(advanced glycation bovine serum albumin, AGE-BSA)可诱导血管内皮细胞发生间质转型,细胞的迁移活性及成管能力增强^[5]。毕超等^[6]使用 ANXA2 (annexin A2, ANXA2) siRNA 干扰 AGE-BSA 培养的人脐静脉内皮细胞中 ANXA2 的表达;免疫沉淀及 Western Blot 检测 ANXA2 蛋白的表达, FITC-鬼笔环肽染色观察 ANXA2 对人脐静脉内皮细胞骨架重塑的影响,划痕法观察 ANXA2 对人脐静脉内皮细胞迁移能力的影响。结果显示, ANXA2 参与 AGE-BSA 诱导的人脐静脉内皮细胞细胞骨架重塑及细胞迁移能力改变,为视网膜新生血管性疾病的防治寻找有效的分子靶点提供了理论依据。RNA 干扰技术为糖尿病视网膜病变的预防治疗提供新的思路及方法。

许惠卓等^[7]采用 Smith 方法制备早产儿视网膜病变(retinopathy of pre-maturity, ROP)模型,玻璃体腔注射 HIF-1 α 特异性小片段干扰 RNA; Western Blot 检测小鼠视网膜 HIF-1 α 和血管内皮生长因子(VEGF)的表达, FITC-Dextran 荧光照影视网膜铺片和组织切片观察小鼠视网膜新生血管和新生血管内皮细胞核数目。研究证明, HIF-1 α siRNA 可抑制 HIF-1 的表达,下调视网膜 VEGF 的表达, VEGF 的表达与 HIF-1 有着密切的关系;通过 RNA 干扰技术,下调 HIF-1 的表达,可明显抑制视网膜新生血管的发生。RNA 干扰技术为临床治疗 ROP 提供了新的思路。

刘爱华等^[8]在小鼠氧诱导视网膜病变新生血管动物模型中,采用脂质体介导,玻璃体腔注射 VEGF siRNA 表

达质粒,研究表明, VEGF siRNA 可有效抑制小鼠缺血性视网膜病变模型新生血管的形成。RNA 干扰技术为抑制缺血性视网膜病变新生血管的形成提供了新的方法。

在血管新生过程中, Rac1 基因可以调控血管新生起始因素的表达和活性,进而抑制多种下游新生血管生成因子的表达。李娟娟等^[9]采用光动力学建立视网膜新生血管的动物模型,构建 Rac1-siRNA 表达载体,将重组载体及空白载体分别进行玻璃体内转染。研究证明, Rac1-siRNA 重组载体对视网膜新生血管生成有抑制作用,重组载体对正常的视网膜组织无明显的毒副作用,这是一种安全有效的方法。利用 RNA 干扰技术抑制 Rac1 基因的表达能有效抑制视网膜新生血管的形成。

整合素(Integrin) α , β_3 是参与新生血管形成的重要因素。杨成明等^[10]在高浓度氧诱导小鼠视网膜新生血管病变动物模型中,将重组 pGCU6-si-Integrin 干涉质粒注射到小鼠眼玻璃体内中,通过酶染色视网膜铺片,视网膜切片及视网膜免疫组化;结果证实, Integrin α , β_3 的干涉质粒玻璃体体内注射可有效抑制视网膜新生血管的形成,组织学检查未发现毒副作用。RNA 干扰技术具有注射方便,局部药物浓度高,作用靶点唯一的特点,是防治视网膜新生血管类疾病一种新的方法。

最近的研究表明促红细胞生成素(erythropoietin, EPO)是一种强效的血管内皮细胞有丝分裂源。EPO 通过其促血管内皮细胞增殖、迁移作用参与了视网膜新生血管的形成^[11]。熊思齐等^[12]将 EPO 特异性 siRNA 转染于正常氧及低氧条件下对 NIH/3T3 细胞内;研究表明, EPO 特异性 siRNA 能在正常氧及缺氧的环境下高效抑制细胞内 EPO 的表达,从而为利用 RNA 干扰技术靶向 EPO 抑制视网膜新生血管的发生提供了理论基础。

2.2 RNAi 与增生性玻璃体视网膜病变

增生性玻璃体视网膜病变(proliferative vitreoretinopathy, PVR)是指在裂孔源性视网膜脱离或视网膜复位术后,由于视网膜色素上皮细胞及神经胶质细胞的增生和收缩,又造成牵拉性视网膜脱离的病变。近年来随着玻璃体手术的开展,虽然能使各种复杂的视网膜脱离达到解剖复位,但视力的恢复有限,难以阻止 PVR 的再发生,手术也不能控制眼内细胞增生及减少神经元细胞死亡。PVR 的治疗一直是学者们研究的热点,目前尚没有能应用于临床、疗效确定的药物。而随着对 PVR 发病机制及 RNAi 技术认识的逐渐深入,应用 RNAi 技术预防和减缓 PVR 的发展进程必将成为眼科学者研究的重要方向。

整合素连接激酶(integrin linked kinase, ILK)是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,参与整合素、生长因子、Wnt 等多种信号转导通路,与细胞的持续增殖、黏附性丧失、迁移以及分化、凋亡等密切相关,在部分上皮细胞中高度表达。张奕霞等^[13]将以 ILK 为靶基因设计合成特异性的 siRNA 转染人视网膜色素上皮细胞(human retinal pigment epithelium, hRPE)中, RT-PCR 检测 siRNA 对 ILK 基因表达的抑制作用, MTT 法检测转染前后 hRPE 细胞增殖活性;结果显示,以 ILK 为靶向的特异性 siRNA,可以高效率地下调 hRPE 细胞中 ILK 基因的表达,同时

抑制 hRPE 细胞的增殖。RNA 干扰技术为研究治疗 hRPE 细胞异常 PVR 提供了新的思路。

肝细胞生长因子 (hepatocyte growth factor, HGF) 属于纤溶酶原依赖性的生长因子家族, 是一种间质来源的多效性生长因子, 具有促细胞分裂、增生、迁移以及分化等广泛的生物学活性。目前越来越多的研究表明, HGF 对诱发视网膜色素上皮细胞移行、增生, 并最终导致 PVR 起到了重要作用。郑炜^[14] 将化学合成的针对 HGF mRNA 的 siRNA 转染到 RPE 细胞中, 经 RT-PCR, Western Blot 检测, HGF 分子在 mRNA 和蛋白水平被抑制; 功能实验结果显示, RPE 细胞的增殖移行能力明显减弱, 这种方法进而可以抑制 PVR 的发生和发展。选择 HGF 作为靶分子, 利用 RNA 干扰技术抑制 HGF 的表达是 PVR 治疗的一个新方向。

mTOR (mammalian target of rapamycin) 是雷帕霉素 (rapamycin) 的靶分子, 是一种丝氨酸/苏氨酸激酶, 在感受营养信号、调节细胞生长与增殖中起着关键性的作用^[15]。周鹏^[16] 使用人 RPE 细胞注入兔眼玻璃体腔制作 PVR 模型, 同时将针对 mTOR 基因的 siRNA 注入兔眼玻璃体腔内, 检测其对体内胶原表达及 PVR 病变的影响; 结果发现, mTOR 特异 siRNA 能抑制 RPE 细胞的伸展和迁移, 抑制人 RPE 细胞 I 型、III 型、IV 型胶原的分泌, 能抑制兔眼内 PVR 病变总的胶原分泌, 进而抑制兔实验 PVR 的病变的发展。mTOR 特异 siRNA 为治疗 PVR 提供了一种新思路。

血小板源性生长因子 (platelet-derived growth factor, PDGF) 是由多种细胞产生, 能刺激平滑肌细胞、胶质细胞增生的多肽, 具有广泛的生理活性。目前越来越多的研究表明, 血小板源性生长因子对诱发视网膜色素上皮细胞的增殖、移行, 并最终导致 PVR 的发生起到了重要作用。Mori 等^[17] 研究发现增加 PDGF-A 的表达能导致广泛的视网膜胶质细胞收缩, 并牵拉视网膜脱离, 而不伴有新生血管组织, 类似于临床上的 PVR。孙蕾^[18] 将 RPE 细胞注射到大鼠玻璃体腔内制作了 PVR 的动物模型, 同时将针对 PDGF-A mRNA 设计的 siRNA 注入大鼠玻璃体腔内, 研究发现, 用 siRNA 阻断 PDGF-A 的表达, 可以降低 RPE 细胞的增殖能力, 进而可以抑制 PVR 的发生和发展。利用 RNA 干扰技术抑制 PDGF-A 的表达可能成为治疗 PVR 的一种新方法。

2.3 RNAi 与视网膜母细胞瘤 视网膜母细胞瘤 (retinoblastoma, RB) 为婴幼儿最常见的眼内恶性肿瘤。现有针对 RB 的治疗手段包括化疗、激光光凝、冷冻、放疗和眼球摘除等。首选的治疗方案为全身化疗联合局部巩固治疗 (如光凝和冷冻), 但这种方案对晚期 RB 患者疗效差, 同时化疗伴有严重的毒副作用, 且面临着化疗耐药性的问题^[19]。近年来肿瘤分子生物学新发现层出不穷, 使得基因治疗成为一种具有广阔应用前景的治疗方式。

研究表明, B 细胞特异性的莫罗尼白血病病毒插入位点 1 基因 (B cell-specific MLV integration site-1, Bmi-1) 在多种肿瘤中表达, 且和肿瘤的发生、发展和预后息息相关

关^[20]。谢满云等^[21] 利用体外化学合成法, 合成靶向 Bmi-1 基因的 siRNA 双链, 并将其转入培养的人 SO-RB₅₀ 瘤细胞中, 荧光定量 RT-PCR 和 Western Blot 分别检测转染 Bmi-1 siRNA 后的人 SO-RB₅₀ 瘤细胞中 Bmi-1 mRNA 和蛋白质水平的变化, MTT 法测定 Bmi-1 基因干扰后 SO-RB₅₀ 瘤细胞增殖情况, 流式细胞仪检测 Bmi-1 siRNA 对人 SO-RB₅₀ 瘤细胞凋亡的影响; 结果发现, Bmi-1 特异性 siRNA 能显著抑制人 SO-RB₅₀ 瘤细胞 Bmi-1 基因的表达, 抑制细胞生长, 可能通过促进瘤细胞凋亡而起作用。RNA 干扰技术抑制 Bmi-1 基因的表达为 RB 的治疗提供了新的方法。

RB 的生长依赖新生血管的形成, 抑制新生血管形成可能成为治疗 RB 的新途径。Slug 基因是转录因子 SNAIL 家族中编码锌指蛋白的基因。Slug 基因在恶性肿瘤中过度表达, 其既能下调肿瘤细胞内 E-cadherin 的表达, 又能上调细胞内 VEGF 蛋白的表达。王鲜等^[22] 构建了靶向 Slug 的 siRNA, 并将其转染于体外培养的视网膜母细胞瘤中; 鸡胚绒毛尿囊膜实验检测血管生成, MTT 比色法检测细胞存活率; 研究表明, Slug-siRNA 可抑制肿瘤血管的生成, 抑制 RB 细胞的生长增殖。血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 对内皮细胞的分裂和迁移具有激活作用, 并引起血管的生成。刘德荣等^[23] 将血管内皮生长因子特异性的 siRNA 转染入体外培养的视网膜母细胞瘤细胞中, 逆转录-聚合酶链反应 (RT-PCR) 法检测细胞 VEGF mRNA 的表达, Western Blot 法检测细胞 VEGF 蛋白的表达, MTT 法检测 VEGF 特异性 siRNA 对 RB 细胞生长的影响; 研究表明, VEGF 特异性 siRNA 能够特异性的沉默 VEGF 基因的表达, 能引起视网膜母细胞瘤细胞生长迟缓, 诱发视网膜母细胞瘤细胞凋亡。利用 RNA 干扰技术抑制新生血管的形成可能成为治疗 RB 的新途径。

Survivin 蛋白属于凋亡抑制蛋白 (inhibitor of apoptosis proteins, IAP) 家族成员, 具有控制有丝分裂和对抗细胞凋亡两种作用。Survivin 基因在分化完全的组织中不表达或低表达, 在大多数癌症组织中却有很强的表达。吴荒等^[24] 构建了针对 Survivin mRNA 特异靶序列的 Survivin-siRNA, 并将其转染入裸鼠视网膜母细胞瘤玻璃体腔移植瘤中; 利用半定量 RT-PCR 检测肿瘤组织中 Survivin mRNA 的表达, Western Blot 方法分析 Survivin 蛋白的表达, TUNEL 法检测肿瘤组织的凋亡; 研究表明, 成功构建的 Survivin-siRNA 重组质粒可以抑制裸鼠视网膜母细胞瘤玻璃体腔移植瘤中 Survivin 基因的转录和蛋白的表达, 诱导肿瘤细胞的凋亡。RNA 干扰技术为视网膜母细胞瘤的治疗提供了基因治疗的手段。

3 展望

近几年来, 人们对于 RNAi 机制的研究取得较大进展, 同时也在积极开展 RNAi 的应用研究。随着 RNAi 技术的不断发展与完善, 如表达载体系统的不断更新, 转染方式的改进, 必将在眼科领域的研究中得到最大限度的应用, 给眼组织基因功能研究及视网膜疾病治疗带来新的飞跃。RNAi 技术作为一种新技术虽然在视网膜疾病

的治疗应用还处于探索阶段,但已经取得了许多进展,相信其为眼科的研究和视网膜病变的治疗会带来巨大变革,造成广泛的影响。

参考文献

- 1 Brummelkamp TR, Bernards R, Agami R, *et al.* A system for stable expression of short interfering RNAs in mammalian cells. *Science* 2002; 296(5567): 550-553
- 2 Martinez J, Patkaniowska A, Urlaub H, *et al.* Single-stranded antisense siRNAs guide target RNA cleavage in RNAi. *Cell* 2002; 110(5): 563-574
- 3 Liu J, Carmell MA, Rivas FV, *et al.* Argonaute2 is the catalytic engine of mammalian RNAi. *Science* 2004; 305(5689): 1437-1441
- 4 Hammond S, Bernstein E, Beach D, *et al.* An RNA-directed nuclease mediates PTGS in *Drosophila* cells. *Nature* 2000; 404(6775): 293-296
- 5 Ma J, Liu T, Dong X, *et al.* Advanced glycation end products of bovine serum albumin-induced endothelial-to-mesenchymal transition in cultured human and monkey endothelial cells via protein kinase B signaling cascades. *Mol Vis* 2010; 51(16): 2669-2679
- 6 毕超, 杨侠, 董晓光. 膜联蛋白 A2 在糖基化终末产物诱导的内皮细胞骨架重构及迁移中的作用. *眼科新进展* 2012; 32(4): 322-326
- 7 许惠卓, 刘双珍, 熊思齐, 等. HIF-1 α 干扰 RNA 抑制早产儿视网膜病小鼠模型视网膜新生血管形成的研究. *中国当代儿科杂志* 2011; 13(8): 680-683
- 8 刘爱华, 孙靖, 田芳, 等. VEGF siRNA 抑制鼠视网膜新生血管的实验研究. *中华实验眼科杂志* 2011; 29(7): 600-604
- 9 李娟娟, 张美霞. Rac1-siRNA 抑制大鼠视网膜 NF- κ B 表达的实验研究. *眼科新进展* 2008; 28(9): 646-648
- 10 杨成明, 张兰华, 赵燕颖, 等. 整合素 α v β 3 小干扰 RNA 载体构建及其对人视网膜血管内皮细胞的干扰效应检测. *中国老年学杂志* 2008; 28(7): 641-643
- 11 Watanabe D, Suzuma K, Matsui S, *et al.* Erythropoietin as a retinal angiogenic factor in proliferative diabetic retinopathy. *N Engl J Med*

- 2005; 353(8): 782-792
- 12 熊思齐, 夏晓波. 正常氧及低氧环境下小干扰 RNA 抑制促红细胞生成素表达的研究. *国际眼科杂志* 2008; 8(11): 2192-2194
- 13 张奕霞, 杨炜, 邱明磊, 等. 整合素连接激酶对人视网膜色素上皮细胞增殖的影响. *眼科新进展* 2012; 32(9): 831-833, 840
- 14 郑炜. 靶向 HGF RNA 干扰抑制增生性玻璃体视网膜病变中 RPE 细胞增殖的实验研究. *吉林大学* 2009; 51-53
- 15 Meric-Bernstam F, Mills GB. Mammalian target of rapamycin. *Semin Oncol* 2004; 31(6 Suppl 16): 10-17
- 16 周鹏. siRNA 敲减雷帕霉素靶蛋白(mTOR)基因抑制增殖性玻璃体视网膜病变的实验研究. *北京大学* 2008; 39-43
- 17 Mori K, Gehlbach P, Ando A, *et al.* Retina-specific expression of PDGF-B versus PDGF-A: vascular versus nonvascular proliferative retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002; 43(6): 2001-2006
- 18 孙蕾. 靶向 PDGF-A RNA 干扰抑制增生性玻璃体视网膜病变中 RPE 细胞增殖的实验研究. *吉林大学* 2008; 77-83
- 19 Scheffler AC, Ciciarelli N, Feuer W, *et al.* Macular retinoblastoma: evaluation of tumor control, local complications, and visual outcomes for eyes treated with chemotherapy and repetitive foveal laser ablation. *Ophthalmology* 2007; 114(1): 162-169
- 20 Jiang LL, Li J, Song LB, *et al.* Bmi-1, stem cells and cancer. *Acta Biochim Biophys Sin* 2009; 41(7): 527-534
- 21 谢满云, 钟秀风, 李永平, 等. Bmi-1 基因沉默对人视网膜母细胞瘤 SO-RB_(50) 细胞生长的体外抑制作用. *中山大学学报(医学科学版)* 2011; 32(6): 723-728
- 22 王鲜, 王旭, 欧树安. 靶向 Slug 基因腺相关病毒载体的构建及其抑制视网膜母细胞瘤细胞生长的体外研究. *眼科新进展* 2010; 30(7): 644-648
- 23 刘德荣, 蔡可丽, 卓建, 等. RNA 干扰抑制视网膜母细胞瘤细胞血管内皮生长因子的表达. *山东大学学报* 2009; 47(7): 13-15, 20
- 24 吴荒, 孙莹, 张小猛, 等. Survivin-siRNA 对裸鼠视网膜母细胞瘤移植瘤的抑制研究. *中国实验诊断学* 2010; 14(2): 179-182