

## microRNA-34a 靶向调控血管内皮生长因子对 U87 脑胶质瘤细胞侵袭、增殖的影响

何龙英

河北省邯郸市第一医院 肿瘤二科,河北 邯郸 056000

**摘要:**目的 探究 microRNA-34a 靶向调控血管内皮生长因子(VEGF)对 U87 脑胶质瘤细胞侵袭、增殖的影响。方法 将 microRNA-34a NC、microRNA-34a inhibitor、microRNA-34a mimic 分别转染至 U87 脑胶质瘤细胞,依次设为 NC 组、miR-34a inhibitor 组、miR-34a mimic 组,比较三组脑胶质瘤细胞 U87 增殖、侵袭、迁移情况,荧光素活性,VEGF mRNA 与蛋白表达情况。结果 转染后,miR-34a mimic 组细胞增殖抑制率高于 NC 组和 miR-34a inhibitor 组( $P<0.05$ );转染 48 h 后,miR-34a mimic 组细胞侵袭、迁移能力低于 NC 组和 miR-34a inhibitor 组( $P<0.05$ ),miR-34a inhibitor 组高于 NC 组( $P<0.05$ );转染 48 h 后,miR-34a inhibitor 组、miR-34a mimic 组 VEGF mRNA、蛋白相对水平分别高于、低于 NC 组[mRNA:( $2.34\pm 0.32$ )、( $0.49\pm 0.03$ )vs( $1.00\pm 0.06$ );蛋白:( $2.42\pm 0.16$ )、( $0.43\pm 0.06$ )vs( $1.00\pm 0.10$ )]( $F=256.230, 83.750$ ,均 $P<0.05$ )。结论 microRNA-34a 可以抑制脑胶质瘤细胞增殖、侵袭和迁移,其机制可能与抑制 VEGF 基因表达有关。 [国际神经病学神经外科学杂志, 2021, 48(2): 143-148]

**关键词:**脑胶质瘤;侵袭;增殖;microRNA-34a;血管内皮生长因子

中图分类号:R739.41

DOI:10.16636/j.cnki.jinn.1673-2642.2021.02.009

## Effect of microRNA-34a on invasion and proliferation of U87 glioma cells via targeted regulation of VEGF

HE Long-Ying

Department of oncology, the first hospital of Handan City, Handan, Hebei 056000, China

**Abstract: Objective** To explore the effect of microRNA-34a on the invasion and proliferation of U87 glioma cells via targeted regulation of the vascular endothelial growth factor (VEGF). **Methods** U87 glioma cells transfected with microRNA-34a NC, microRNA-34a inhibitor, and microRNA-34a mimic were divided into NC group, miR-34a inhibitor group, and miR-34a mimic group, respectively. The three groups were compared for the proliferation, invasion, and migration of U87 glioma cells as well as fluorescein activity and the mRNA and protein expression of VEGF. **Results** After transfection, the cell proliferation inhibition rate in the miR-34a mimic group was significantly higher than that in the NC group and miR-34a inhibitor group ( $P<0.05$ ); 48 hours after transfection, the cell invasion and migration ability was significantly lower in the miR-34a mimic group than in the NC group and miR-34a inhibitor group ( $P<0.05$ ), and was significantly higher in the miR-34a inhibitor group than in the NC group ( $P<0.05$ ); 48 hours after transfection, the relative mRNA and protein expression levels of VEGF were significantly higher in the miR-34a inhibitor group than in the NC group (mRNA:  $2.34\pm 0.32$  vs  $1.00\pm 0.06$ , protein:  $2.42\pm 0.16$  vs  $1.00\pm 0.10$ ,  $F=256.230$ ,  $P<0.05$ ), but the indices were significantly lower in the miR-34a mimic group than in the NC group (mRNA:  $0.49\pm 0.03$  vs  $1.00\pm 0.06$ , protein:  $0.43\pm 0.06$  vs  $1.00\pm 0.10$ ,  $F=83.750$ ,  $P<0.05$ ). **Conclusions** MicroRNA-34a can inhibit the proliferation, invasion, and migration of glioma cells, which may be associated with the inhibition of VEGF gene expression. [Journal of International Neurology and Neurosurgery, 2021, 48(2): 143-148]

**Keywords:** Glioma; invasion; proliferation; microRNA-34a; vascular endothelial growth factor

收稿日期:2020-09-17;修回日期:2021-03-19

作者简介:何龙英,女,硕士研究生,主治医师,研究方向:肿瘤学,Email:sunzxongli@126.com。

脑胶质瘤为脑神经胶质细胞发育异常肿瘤,属于中枢神经系统中最常见原发性颅内肿瘤,发病后主要表现为颅内压异常升高、头部剧烈疼痛引发喷射状呕吐、神经功能丧失伴随视力和认知功能障碍以及癫痫发作等<sup>[1]</sup>。全球性全身肿瘤调查数据<sup>[2]</sup>显示脑胶质瘤病死率仅次于胰腺癌、肺癌,具有发病率高、危害性高以及病死率高特点。目前,临床上主要靠手术切除结合放射、化学药物治疗,但鉴于该病存在术后肿瘤复发率高、转移性强、预后差等问题,因此极难根治和治愈,其治疗自然成为研究者们长期关注的重点,加强研究脑胶质瘤相关机制研究尤为重要。多项临床研究证实microRNA(miR)在脑胶质瘤细胞中异常表达,与脑胶质瘤的发生密切相关,胶质瘤细胞株(U87)过表达miR-32和miR-23c可以有效抑制U87细胞增殖、侵袭和迁移等细胞生物学行为能力<sup>[3-4]</sup>;神经胶质瘤(U251)中miR-127-3p过表达可以抑制U251细胞增殖并促进凋亡<sup>[5]</sup>。利用体外细胞实验探究miR-34a对U87脑胶质瘤细胞侵袭、增殖的影响,并初步分析其可能分子机制,以期揭示miR-34a作为脑胶质瘤诊断指标及治疗靶点的价值及意义。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 细胞株 人脑胶质瘤细胞株U87,购自中国科学院深圳先进技术研究院。

1.1.2 实验试剂 1640培养基、胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)、胰蛋白酶、青霉素、链霉素、磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS)等均购自美国ThermoFisher公司,Lipofectamine™ 2000脂质体购自美国Invitrogen公司,microRNA-34a NC、microRNA-34a inhibitor、microRNA-34a mimic均购自生工生物工程(上海)股份有限公司,噻唑蓝[3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2-H-tetrazolium bromide, MTT]、二甲基亚砜(Dimethylsulfoxide, DMSO)、Transwell小室购自美国Corning公司,Trizol、逆转录试剂盒、SYBR GREEN qPCR试剂盒均购自美国Invitrogen公司,pmirGLO载体、双荧光素酶活性检测试剂盒购自美国Progenia公司,兔抗人一抗甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)、富亮氨酸重复序列免疫球蛋白样结构域-1(leucine-rich repeats and immunoglobulin-like domains 1, LRIG1)均购自美国Abcam公司,羊抗兔IgG(HRP标记)二抗购自美国Proteintech公司,喹啉甲酸(Quinoline-5-carboxylic acid, BCA)蛋白浓度测定试剂盒和Western blotting化学发光试剂盒购自美国Thermo公司,血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)基因、内参基因GAPDH等由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。

1.1.3 实验设备 恒温培养箱(上海今友试验设备有限

公司)、紫外分光光度计(碧云天生物技术有限公司)、光学显微镜(日本Nikon公司)、酶标仪(美国Thermo公司)、全自动化学发光和荧光凝胶成像系统(英国Uvitec公司)。

### 1.2 方法

1.2.1 细胞分组与转染 培养细胞在6孔板中生长融合度至60%时,按照Lipofectamine™ 2000试剂说明书,在细胞中转染microRNA-34a NC、microRNA-34a inhibitor、microRNA-34a mimic,依次分为NC组、miR-34a inhibitor组和miR-34a mimic组。

1.2.2 细胞增殖能力检测(MTT) 在转染24、48及72 h后按照10 μL/孔加入MTT溶液,置于恒温细胞培养箱培养4 h,吸去培养液,按照100 μL/孔加入DMSO,于恒温震荡仪上震荡10 min,采用全波长酶标仪测定OD值(570 nm),计算细胞增殖抑制率。细胞增殖抑制率=(转染组OD-空白组OD)/空白组OD×100%。

1.2.3 细胞侵袭能力检测(Transwell法) 将Matrigel凝胶置于4℃过夜;次日将液化Matrigel与1640培养基以1:8比例稀释,按照50 μL/孔Matrigel稀释液铺入Transwell上室内,风干成胶,1640完全培养基按照600 μL/孔加于Transwell下室内,继续培养24 h, PBS清洗后用预冷过95%乙醇固定10 min,0.5%结晶紫染色液染色15 min, PBS淋洗并风干后于显微镜下观察和拍照,统计侵袭细胞总数。

1.2.4 细胞迁移能力检测(Transwell法和划痕实验法) 细胞悬液密度调至 $5 \times 10^4$ 个/mL,将Transwell小室放置于24孔板中,向上室内加入100 μL细胞悬液,剩余步骤同Transwell细胞侵袭实验。细胞悬液按照 $5 \times 10^5$ 个/mL密度均匀铺于6孔板内,次日至培养板内细胞生长融合度约100%时,用无菌移液器枪头于正中央位置划痕成一直线,利用PBS清洗掉划去细胞,直至划痕处完全没有细胞存在,然后继续于培养基中培养,48 h后将细胞培养板置于显微镜下观察并拍照,并利用Image plus软件测量细胞划痕间迁移距离。

1.2.5 双荧光素酶报告实验检测 通过miRcode对microRNA-34a与靶基因3'-端非编码区域(3'-UTR)碱基情况进行预测。根据生物信息学分析获得VEGF靶基因结合序列信息,分别合成野生型、突变型VEGF基因结合序列片段(WTVEGF、MUT VEGF),利用pmirGLO载体构建表达载体,然后分别转染至NC组、miR-34a inhibitor组、miR-34a mimic组细胞内,于恒温培养箱培养48 h后,收集细胞悬液,按照双荧光素酶报告检测试剂盒说明书操作,检测各组荧光素酶活性。

1.2.6 VEGF基因表达水平检测 实时荧光定量PCR(quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR):使用Trizol提取细胞总RNA,分别采用紫外分光光度计、琼脂糖凝胶电泳检测RNA含量、完整性,按照逆转

录试剂盒说明书逆转录合成 cDNA,按照 qPCR 试剂盒说明书进行操作,并用 BioRad 分析软件定量分析 mRNA 水平。本次选用 GAPDH 为内参,相对表达量采用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  计算。

蛋白免疫印迹法(Western blotting)方法:利用 RIPA 裂解液充分裂解细胞,离心后收集总蛋白,利用 BCA 蛋白定量检测试剂盒测定蛋白浓度,将各组蛋白进行十二万基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE),然后采用湿转法转膜 1.5 h,并用 5% 脱脂奶粉于室温条件下摇床上封闭 1 h,分别加入事先稀释好一抗(GAPDH、VEGF,均采用 TBST 溶液以 1:1 000 比例稀释),4℃ 冰箱摇床上孵育过夜(14~16 h),TBST 洗膜 3 次,15 min/次,加入事先稀释好 HRP 标记二抗(采用 TBST,以 1:2 000 比例稀释),室温摇床上孵育 1 h,TBST 洗 3 次,15 min/次,利用 Western blotting 化学发光试剂盒显影和拍照,最后利用 Gel-Pro analyzer 6.0 凝胶定量分析软件对蛋白定量。

### 1.3 统计学方法

应用 SPSS 21.0 统计软件进行统计分析,所有实验均重复 3 次,计量资料采用均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,两组间比较采用 Student-*t* 检验;多组间比较采用单因素方差分析,组间进一步两两比较采用 LSD-*t* 检验,以  $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 三组 U87 细胞增殖能力比较

MTT 检测结果显示,三组不同时间点细胞增殖抑制率比较,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。转染后 miR-34a mimic 组 U87 细胞增殖抑制率均高于 NC 组、miR-34a inhibitor 组( $P < 0.05$ ),但 NC 组和 miR-34a inhibitor 组间比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。见表 1。

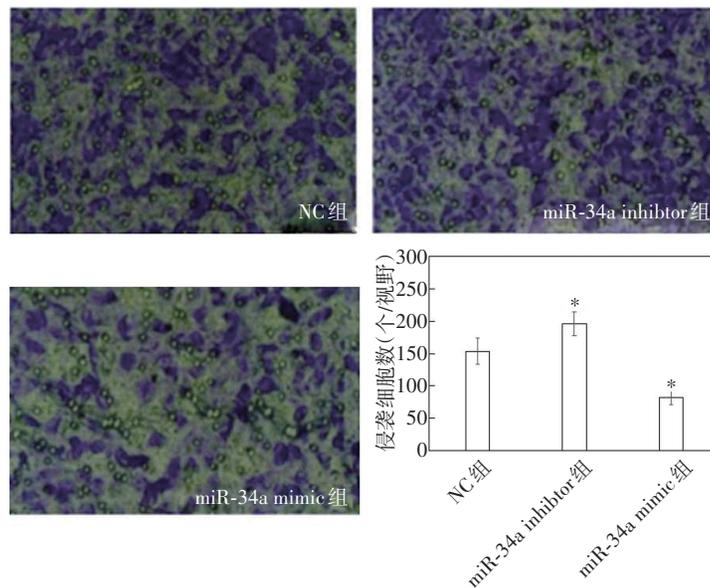
表 1 三组 U87 细胞增殖能力比较

组别	细胞增殖抑制率/%		
	24 h	48 h	72 h
NC 组	4.88±0.52	5.24±1.22	7.92±1.88
miR-34a inhibitor 组	4.26±0.35	4.93±0.32	7.04±1.53
miR-34a mimic 组	23.56±3.98 <sup>①②</sup>	36.27±5.44 <sup>①②</sup>	32.53±4.91 <sup>①②</sup>
<i>F</i> 值	66.698	93.564	62.843
<i>P</i> 值	0.000	0.000	0.000

注:①与 NC 组比较, $P < 0.05$ ;②与 miR-34a inhibitor 组比较, $P < 0.05$

### 2.2 三组对 U87 细胞侵袭能力比较

Transwell 检测结果显示,三组 U87 细胞侵袭能力比较,差异有统计学意义( $F=73.142, P=0.000$ ),其中 miR-34a inhibitor 组 U87 细胞侵袭能力高于 NC 组( $P < 0.05$ ),但 miR-34a mimic 组低于 NC 组和 miR-34a inhibitor 组(均  $P < 0.05$ )。见图 1。



\*与 NC 组比较, $P < 0.05$

图 1 三组 U87 细胞侵袭能力比较( $\times 40$ )

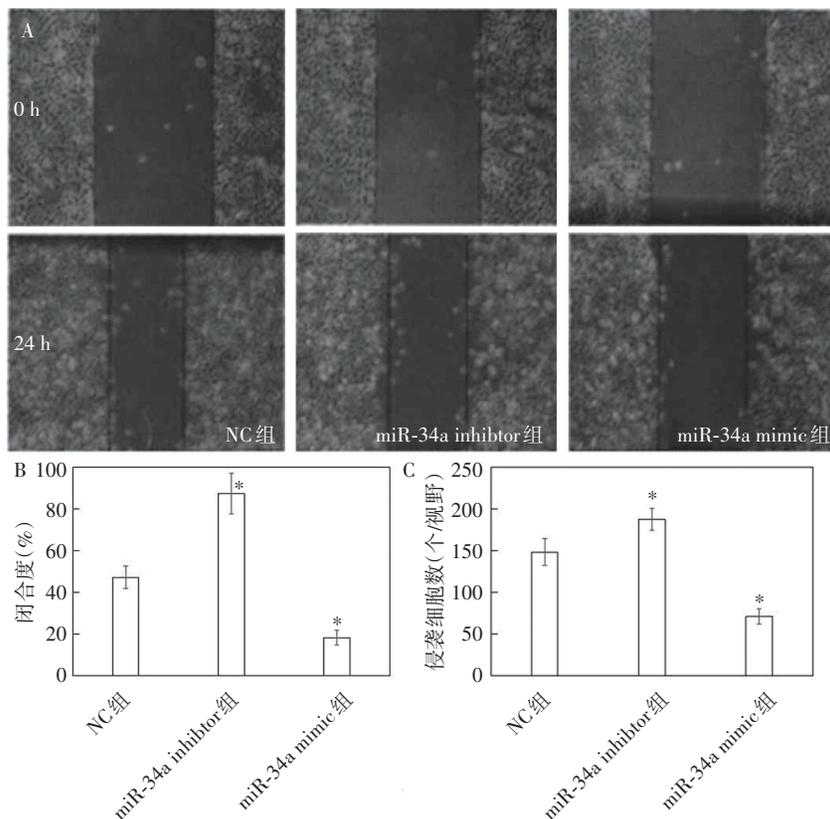
### 2.3 三组 U87 细胞迁移能力比较

NC 组、inhibitor 组、miR-34a inhibitor 组 U87 细胞迁移能力比较,差异有统计学意义( $F_{\text{闭合度}}=69.200, F_{\text{侵袭细胞数}}=$

### 2.4 microRNA-34a 靶基因序列预测与验证

miRcode 软件预测 microRNA-34a 靶基因见图 3A,

80.927,均  $P=0.000$ ),其中 miR-34a inhibitor 组 U87 细胞迁移能力高于 NC 组( $P < 0.05$ ),但 miR-34a mimic 组 U87 低于 NC 组和 miR-34a inhibitor 组(均  $P < 0.05$ )。见图 2A-C。VEGF mRNA 3'-UTR 包含 miR-34a 种子区域的互补位点(图 3B),进一步双荧光素酶活性检测显示,NC 组、miR-



A、B:划痕实验; C:Transwell 迁移实验。\*与 NC 组比较,  $P < 0.05$

图2 细胞迁移能力检测结果( $\times 200$ )

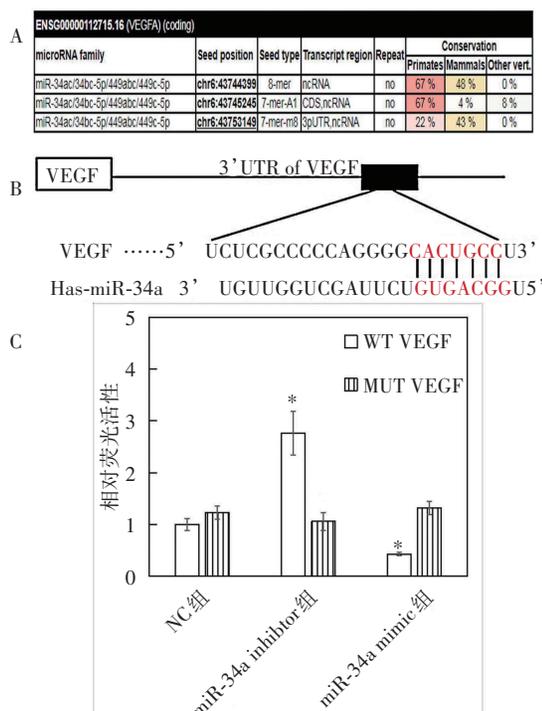
34a inhibitor 组、miR-34a mimic 组在 MUT VEGF U87 细胞株中荧光素酶活性对比无差异 ( $F=1.335, P=0.267$ ); 但在 WT VEGF U87 细胞株中, 三组荧光素酶活性比较, 差异有统计学意义 ( $F=72.077, P=0.000$ ), 其中 miR-34a inhibitor 组、miR-34a mimic 组荧光素酶活性分别高于、低于 NC 组 ( $P < 0.05$ ), 详见下图 3C。

### 2.5 microRNA-34a 对人脑胶质瘤细胞株 U87 VEGF 基因的调控

NC 组、miR-34a inhibitor 组、miR-34a mimic 组 VEGF 基因 mRNA、蛋白相对表达对比有统计学差异 ( $F_{\text{基因 mRNA}} = 256.230, F_{\text{蛋白}} = 83.750$ , 均  $P=0.000$ ), 其中 miR-34a inhibitor 组 VEGF 基因 mRNA、蛋白相对表达水平均低于 NC 组 ( $P < 0.05$ ), 但 miR-34a mimic 组高于 NC 组 ( $P < 0.05$ )。见图 4。

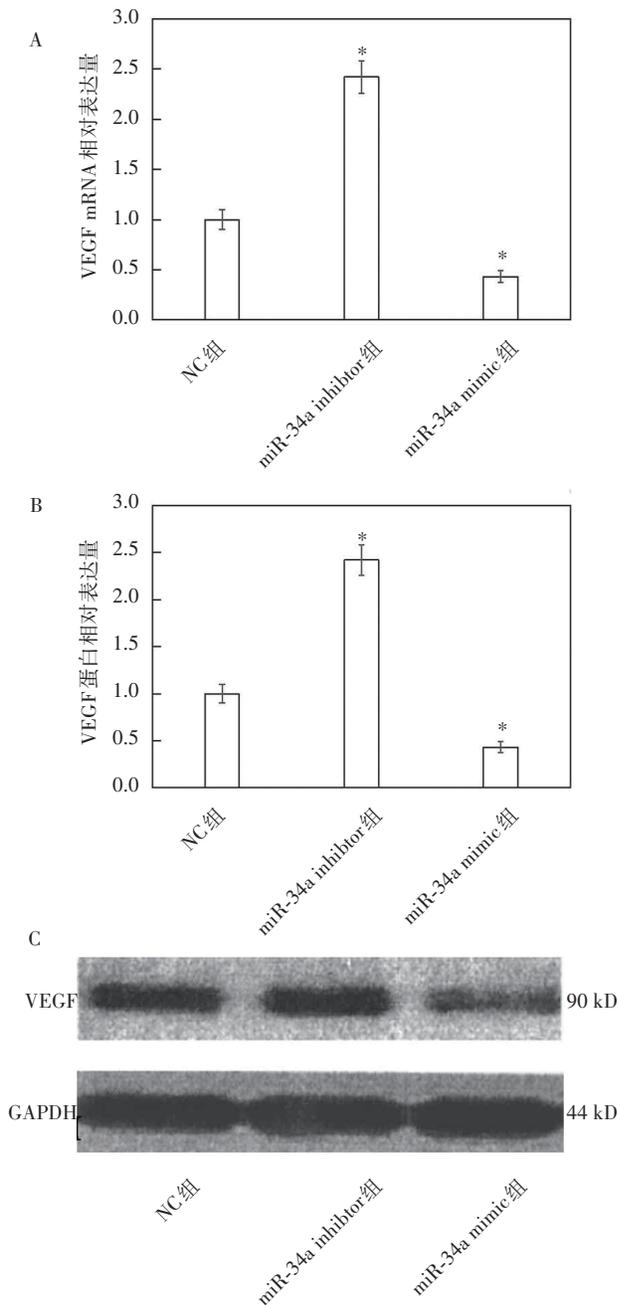
### 3 讨论

microRNAs(miRNAs)指的是一类由 18~25 个核苷酸组成的小型非编码 RNA 单链分子, 主要表达于高等真核细胞内, 参与胞内多种生物作用的调控<sup>[6-7]</sup>。miRNAs 参与信号调控网络覆盖细胞增殖、分化、凋亡发育等多种生物学过程、涉及多种肿瘤疾病如肺癌、乳腺癌、卵巢癌发生与进展<sup>[8]</sup>。体外细胞实验也证实恶性肿瘤细胞中 miRNA 存在异常低表达现象, 胶质瘤细胞株 U87 miRNA-32



A: microRNA-34a 靶基因生物信息图; B: microRNA-34a 与 VEGF 靶向结合位点; C: 双荧光素酶活性检测结果; \*与 NC 组比较,  $P < 0.05$

图3 microRNA-34a 靶基因序列预测与验证



A: VEGF 基因 mRNA 相对表达量; B: VEGF 蛋白相对表达量; C: Western blotting 结果, 蛋白条带大小为 90 kD。\*与 NC 组比较,  $P < 0.05$

图4 microRNA-34a 对 VEGF 基因的调控

mRNA、miRNA-127-3p mRNA 水平低于正常胶质细胞株<sup>[9-10]</sup>。因此,学术界将 miRNA 视为揭示肿瘤发生与进展生物机制以及肿瘤治疗策略突破口。

本研究发现,转染后 miR-34a mimic 组 U87 细胞增殖抑制率均高于 NC 组和 miR-34a inhibitor 组,miR-34a mimic 组 U87 细胞迁移能力低于 NC 组和 miR-34a inhibitor 组。说明 microRNA-34a 过表达可以下调 U87 细胞的增殖、侵袭和迁移能力,这提示 microRNA-34a 在胶质瘤细胞中发

挥抑癌作用,可以阻止癌细胞肆意增殖和侵袭性转移。这与 Li 等<sup>[11]</sup>的研究结果相似,他们发现 miR-34a 修饰间充质干细胞在胶质瘤细胞中具有抗肿瘤作用,其主要经由降低靶基因 SIRT 表达发挥抗肿瘤作用,SIRT1 基因在肿瘤细胞 DNA 损伤、端粒长度缩短以及端粒酶活性损伤上发挥重要作用。国外研究者发现肿瘤相关巨噬细胞释放转化生长因子  $\beta 1$  经由抑制 miR-43a 表达而上调 VEGF 水平,最终促进结肠癌细胞增殖和侵袭<sup>[12]</sup>。

目前,国内外研究均表明肿瘤发生、发展依赖于肿瘤血管生成,肿瘤血管生成主要从两个方面发挥促癌作用:其一,为肿瘤细胞进行物质交换提供场所;其二,新生肿瘤血管可以分泌调节因子,这些调节因子通过某种胞内机制进一步促进肿瘤细胞增殖、侵袭<sup>[13]</sup>。肿瘤血管生成涉及到血管内皮细胞增殖、迁移及细胞外基质降解,其过程繁杂,且历时长,有赖于多种胞内信号分子的诱导与调控<sup>[14]</sup>。在众多相关细胞调控因子中,VEGF 是迄今鉴定出来最重要血管生成因子,具有促进血管内皮细胞分化、增生、迁移和浸润作用<sup>[15]</sup>。VEGF 是一种高度特异性、选择性血管内皮细胞有丝分裂原,在体外,VEGF 能诱导内皮细胞增生和迁移,同时能抑制内皮细胞凋亡,在体内,VEGF 是血管生成所必不可少重要参与因子,能特异性刺激血管内皮细胞增殖,能促进血管生成,增强血管渗透性<sup>[16]</sup>。本研究发现,在 WT VEGF U87 细胞株中,miR-34a inhibitor 组、miR-34a mimic 组荧光素酶活性分别高于、低于 NC 组;且 miR-34a inhibitor 组 VEGF 基因 mRNA、蛋白相对表达水平最低,miR-34a mimic 组最高。提示 miR-34a 可调控 VEGF 基因的表达。分析原因,VEGF 基因是 microRNA-34a 靶向基因,上调 microRNA-34a 可以下调 VEGF mRNA、蛋白水平,相反,下调 microRNA-34a 又会上调 VEGF mRNA、蛋白水平,这提示 microRNA-34a 可以直接靶向抑制脑胶质瘤细胞内 VEGF 转录和翻译水平,从而抑制胶质瘤细胞增殖、侵袭和迁移。这与以往证据<sup>[17]</sup>证实其参与调控肿瘤生长、浸润和转移等结论一致。

综上所述,通过上调 microRNA-34a 水平可以抑制 VEGF 基因表达,从而抑制胶质瘤细胞的增殖、侵袭和迁移,microRNA-34a 调控网络有望为今后脑胶质瘤靶向治疗提供新思路。

#### 参 考 文 献

- [1] 杨学军,江涛.脑胶质瘤临床诊断与治疗:积于跬步 蓄势超越[J].中国现代神经疾病杂志,2019,19(11):801-806.
- [2] 刘臣,李根华,李想,等.脑胶质瘤综合治疗的研究进展[J].中国微侵袭神经外科杂志,2019,24(4):182-185.
- [3] 张亮,刘沛东,解杨,等.miR-32通过抑制靶基因 KLF4 促进胶质瘤增殖和侵袭[J].中华神经外科杂志,2019,35(11):1167-1173.
- [4] 张金灿,廖勇仕,周敏,等.miR-23c 靶向调控 MTDH 抑制胶

- 质瘤U87细胞增殖迁移与侵袭[J]. 国际神经病学神经外科学杂志, 2019, 46(4): 395-400.
- [5] 颜洋, 韩美文, 汪应瑞. miR-127-3p通过下调靶基因MAPK4抑制神经胶质瘤增殖的机制研究[J]. 卒中与神经疾病, 2018, 25(4): 435-439.
- [6] Slattery ML, Herrick JS, Pellatt DF, et al. MicroRNA profiles in colorectal carcinomas, adenomas and normal colonic mucosa: variations in miRNA expression and disease progression[J]. *Carcinogenesis*, 2016, 37(3): 245-261.
- [7] 车佳, 黄兰兰, 姜琼, 等. 利用TCGA数据库分析miR-196b在结直肠癌患者中的临床表达特征并探索miR-196b的体外抗5-FU作用[J]. 中国病理生理杂志, 2018, 34(1): 152-157.
- [8] 赵文涛, 韩留鑫, 夏加伟, 等. 血清miR-26a、miR-122、AFP联合检测对肝癌的诊断效能[J]. 山东医药, 2018, 57(7): 73-75.
- [9] Wang QQ, He Y, Kan WQ, et al. microRNA-32-5p targets KLF2 to promote gastric cancer by activating PI3K/AKT signaling pathway[J]. *Am J Transl Res*, 2019, 11(8): 4895-4908.
- [10] Crisafulli L, Muggeo S, Uva P, et al. MicroRNA-127-3p controls murine hematopoietic stem cell maintenance by limiting differentiation[J]. *Haematologica*, 2019, 104(9): 1744-1755.
- [11] Li Q, Wang CD, Cai L, et al. miR-34a derived from mesenchymal stem cells stimulates senescence in glioma cells by inducing DNA damage[J]. *Mol Med Rep*, 2019, 19(3): 1849-1857.
- [12] Zhang DH, Qiu XG, Li JH, et al. TGF- $\beta$  secreted by tumor-associated macrophages promotes proliferation and invasion of colorectal cancer via miR-34a-VEGF axis[J]. *Cell Cycle*, 2018, 17(24): 2766-2778.
- [13] 齐鹏鹏, 于士洋, 吴梓齐, 等. 血管内皮生长因子的研究进展[J]. 牙体牙髓牙周病学杂志, 2016, 26(6): 381-384.
- [14] 朱言亮, 孟云, 罗萍. 脑胶质瘤中白细胞介素-24与血管内皮生长因子的表达[J]. 肿瘤学杂志, 2017, 23(5): 420-423.
- [15] 徐慧琳, 蔡元卿, 龚明福, 等. DTI定量参数对脑胶质瘤的诊断价值及其与血管内皮生长因子、细胞核增殖相关抗原的关系[J]. 现代生物医学进展, 2018, 18(14): 2661-2664.
- [16] 李俊, 叶亮, 王帆. 体外血管内皮生长因子单克隆抗体对C6胶质瘤细胞增殖、侵袭和迁移力的影响[J]. 神经损伤与功能重建, 2017, 12(1): 5-8.
- [17] 李振业, 张鹏飞, 周建华, 等. CD、VEGFR-1基因对恶性胶质瘤细胞和血管内皮细胞共培养体系中VEGF表达及细胞增殖的影响[J]. 临床和实验医学杂志, 2018, 17(24): 2617-2620.

责任编辑:王荣兵