

## • 实验研究 •

## 胰岛素样生长因子 1 型受体短发夹 RNA 抑制乳腺癌增殖和迁移能力的体外实验研究

陈亚宁 朱晨芳 顾岩

**【摘要】 目的** 应用短发夹 RNA(short hairpin RNA, shRNA)抑制乳腺癌 MDA-MB-231 细胞胰岛素样生长因子 1 型受体(type I insulin-like growth factor receptor, IGF-1R)的表达,探讨 IGF-1R 对乳腺癌体外增殖和迁移的作用。**方法** 构建携带有绿色荧光蛋白报告基因的 IGF-1R shRNA 质粒载体,脂质体介导转染 MDA-MB-231 细胞,通过倒置荧光显微镜检测转染效率,CCK-8 法检测细胞增殖能力,体外迁移实验检测细胞迁移能力。细胞增殖实验结果的组间比较采用重复测量方差分析和多元方差分析,RT-PCR 定量结果和迁移实验结果的组间比较采用单因素方差分析。**结果** 成功构建 IGF-1R shRNA 质粒载体,转染效率为 55%~60%。IGF-1R shRNA 转染 MDA-MB-231 细胞后,MDA-MB-231 细胞 IGF-1R mRNA 与蛋白表达水平显著下降;细胞体外增殖和迁移能力受到显著抑制( $P$  均 $<0.05$ )。**结论** IGF-1R shRNA 表达质粒可以有效抑制 MDA-MB-231 细胞 IGF-1R 的表达,显著抑制乳腺癌细胞的体外增殖和迁移能力。

**【关键词】** 胰岛素样生长因子 1 型受体;乳腺肿瘤;短发夹 RNA;RNA 干扰

**【中图分类号】** R737.9

**【文献标识码】** A

**shRNA-mediated IGF-1R silencing inhibits proliferation and migration of breast cancer cell MDA-MB-231 in vitro** CHEN Ya-ning, ZHU Chen-fang, GU Yan. Department of General Surgery, Shanghai Ninth People's Hospital, School of Medicine, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200011, China

Corresponding author: GU Yan, E-mail: yangu@sjtu.edu.cn

**【Abstract】 Objective** To investigate the effect of short hairpin RNA (shRNA)-mediated inhibition of type I insulin-like growth factor receptor (IGF-1R) on breast cancer cell MDA-MB-231. **Methods** Breast cancer cell MDA-MB-231 was transfected with an IGF-1R shRNA plasmid vector labeled with green fluorescent protein. The transfected cells were visualized by fluorescent microscope. The expression levels of IGF-1R mRNA and protein were detected respectively by RT-PCR and Western blot. The cell proliferation was evaluated by CCK-8 assay, and cell migration capacity was evaluated by transwell migration assay. Repeated measures ANOVA and multivariate analysis of variance were carried out for comparison of cell proliferation between groups, and analysis of variance was used for comparison of cell migration and the results by RT-PCR between groups. **Results** IGF-1R shRNA plasmid vector was successfully established. The transfection efficiency was 55%—60%. IGF-1R shRNA effectively down-regulated IGF-1R mRNA and protein expression. The proliferation

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30872521);上海市科委登山计划重点项目(06DZ19506)

作者单位:200011 上海,上海交通大学医学院附属第九人民医院普外科

通信作者:顾岩, E-mail: yangu@sjtu.edu.cn

and migration capacity of MDA-MB-231 cells were also effectively inhibited when compared to control shRNA (all  $P < 0.05$ ). **Conclusion** IGF-1R shRNA expression plasmid can effectively decrease IGF-1R gene expression, and inhibit the proliferation and migration capacity of MDA-MB-231 cell *in vitro*.

**【Key words】** type I insulin-like growth factor receptor; breast neoplasms; short hairpin RNA; RNA interference

胰岛素样生长因子 1 型受体(type I insulin-like growth factor receptor, IGF-1R)是一种跨膜分布的受体酪氨酸激酶,在体内主要介导胰岛素样生长因子-1(insulin-like growth factor-1, IGF-1)和 IGF-2 的生物学活性。IGF-1R 与多种恶性肿瘤的发生、发展有关,尤其与乳腺癌细胞的生物学行为关系密切<sup>[1]</sup>。研究发现,IGF-1R 不仅促进乳腺癌的生长,也能促进其转移<sup>[2]</sup>,因此 IGF-1R 很可能成为乳腺癌未来基因治疗的有效基因靶点。本研究以乳腺癌 MDA-MB-231 细胞为研究对象,通过转染 IGF-1R 短发夹 RNA(short hairpin RNA, shRNA)质粒载体,观察 IGF-1R shRNA 对乳腺癌细胞体外增殖和迁移能力的影响,为 RNA 干扰(RNA interference, RNAi)技术应用于乳腺癌基因治疗提供实验依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要材料与试剂

人乳腺癌细胞株 MDA-MB-231 购自南京凯基生物公司;pGCsi-U6/Neo/GFP 质粒由上海交通大学医学院附属瑞金医院消化研究所提供;DH5 $\alpha$  感受态细胞购自天根生化科技公司;细胞计数试剂盒(CCK-8)和 BeyoECL Plus 试剂盒购自碧云天生物技术研究;放射免疫沉淀试验(RIPA)缓冲液和抗 IGF-1R $\beta$  多克隆抗体购自 Cell Signaling Technology 公司;Transwell 小室(3422 型)购自 Costar 公司,纤维连接蛋白(FN)购自 BD 公司。

### 1.2 IGF-1R shRNA 质粒载体的构建

**1.2.1 IGF-1R shRNA 序列的设计:**根据 shRNA 的设计原则,参照文献[3]中小分子干扰 RNA(small interference RNA, siRNA)的作用靶点,并连上 *Bam*H I 和 *Hind* III 酶切位点,用于形成茎环结构的 9 bp 序列和终止序列,局部序列比对基本检索工具(basic local alignment search tool, BLAST)分析以保证序列的特异性。另设计一条阴性对照 shRNA 序列,即 control shRNA。DNA 序列由上海生工生物公司合成。序列如下:

IGF-1R shRNA 正义链:5'-GATCCATACGGATCACAAGTTGAGTTCAAGAGACTCAACTTGTGATCCGTATTTTTTGGGAAGCTAGCA -3',反义链:5'-AGCTTGCTAGCTTCCAAAAAATACGGATCACAAGTTGAGTCTCTTGAAGTCAACTTGTGATCACAACGTATG -3';control shRNA 正义链:5'-GATCCATGAAC

GTGAATTGCTCAATTTTCAAGAGAAATTGAGCAATTCACGTTTCATTTTTT  
GGAAGCTAGCA-3', 反义链: 5'-AGCTTGCTAGCTTCCAAAAAATGAACGTG  
AATTGCTCAATTTCTCTTGAAAATTGAGCAATTCACGTTTCATG -3'。

**1.2.2 构建表达 shRNA 的质粒载体:**参照笔者之前研究中质粒构建的方法<sup>[4]</sup>, 编码 shRNA 的正义链和反义链退火后, 在 T<sub>4</sub> DNA 连接酶的作用下与线性化 pGCsi-U6/Neo/GFP 质粒连接, 连接产物转化 DH5 $\alpha$  感受态细胞。转化后菌液均匀涂布于含氨苄青霉素(终质量浓度 50  $\mu$ g/ml)的 LB 琼脂平板上, 37  $^{\circ}$ C 恒温箱培养过夜。从每个培养皿上挑取 3 个单克隆菌落接种于 3 ml 含氨苄青霉素(终质量浓度 50  $\mu$ g/ml)的 LB 培养液中, 37  $^{\circ}$ C 恒温摇床(250 r/min, 振幅 2.6 cm)培养过夜。抽提质粒, *Nhe*I 酶切验证, 符合设计要求的重组质粒进一步作测序验证。

### 1.3 细胞培养和转染

MDA-MB-231 细胞用含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养基, 于 37  $^{\circ}$ C、5% CO<sub>2</sub> 的孵箱内培养, 细胞生长至 90% 融合时传代。取对数生长期的 MDA-MB-231 细胞进行质粒转染。细胞分 IGF-1R shRNA 组、control shRNA 组和磷酸盐缓冲液(PBS)组(空白组), 转染过程按照 Lipofectamine<sup>TM</sup> 2000 试剂说明书操作。重组质粒带有绿色荧光蛋白(green fluorescent protein, GFP)报告基因, 因此转染成功的细胞能够产生绿色荧光。转染后 48 h 在倒置荧光显微镜下使用 470 nm 蓝光作激发光, 观察绿色荧光细胞的数目, 计算转染效率。

### 1.4 RT-PCR 检测转染后细胞 IGF-1R mRNA 的表达水平

转染后 48 h, 使用总 RNA 抽提试剂盒分别抽提 IGF-1R shRNA 组、control shRNA 组和空白组细胞的总 RNA。取 0.5  $\mu$ g 总 RNA 用于 RT-PCR 反应, 参照 RT-PCR 说明书进行操作。IGF-1R 的引物序列: 上游引物为 5'-GGAGGCTGAATACCGCAAAGTC-3', 下游引物为 5'-AAAGACGAAGTTGGAGGCGCT-3', 扩增片段为 325 bp。以磷酸甘油醛脱氢酶(glyceral-dehyde phosphate dehydrogenase, GAPDH)作为内参, 其引物序列: 上游引物为 5'-AGAAGGCTGGCTCATTTG-3', 下游引物为 5'-AGGGGCCATCCACAGTCTTC-3', 扩增片段为 258 bp。反应条件为: 94  $^{\circ}$ C, 3 min 预变性; 94  $^{\circ}$ C, 30 s 变性; 59  $^{\circ}$ C, 30 s 退火; 72  $^{\circ}$ C, 1 min 延伸(30 次循环扩增), 末次延伸 72  $^{\circ}$ C, 5 min。以 100 bp DNA Marker 作为相对分子质量标准, 1.1% 琼脂糖凝胶电泳, 使用 GeneGenius 凝胶成像分析系统进行扫描分析。以 IGF-1R 扩增条带的灰度值与 GAPDH 扩增条带灰度值的比值作为该组细胞 IGF-1R mRNA 的相对表达量, 实验重复 3 次, 取平均值。

### 1.5 Western blot 检测转染后细胞 IGF-1R 蛋白表达水平

转染后 72 h, 使用 RIPA 缓冲液抽提各组细胞总蛋白, 蛋白定量、变性, 取 30  $\mu$ g 蛋白样品于十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)分离后电

转于 PVDF 膜上,室温封闭 1 h 后,加入抗 IGF-1R $\beta$  和抗 GAPDH 的一抗,4 °C 孵育过夜,TBST(tris-buffered saline with tween-20)漂洗 5 次后加入相应的辣根过氧化物酶(HRP)标记二抗,室温摇床孵育 2 h,TBST 漂洗 5 次,使用超敏电化学发光(ECL)试剂盒 BeyoECL Plus 显影,通过 Image Station 4000R 凝胶成像系统照相并分析蛋白表达水平。

### 1.6 CCK-8 法检测转染后细胞增殖

CCK-8 试剂盒是一种基于 WST-8 的高灵敏度检测细胞增殖的试剂盒。细胞转染后 48 h 收集各组细胞( $3 \times 10^7 \text{ L}^{-1}$ ),以每孔 100  $\mu\text{l}$  接种于 96 孔板,每组设 3 个副孔。培养 12 h 后换成含 0.1% 牛血清白蛋白(BSA)的无血清 RPMI 1640 培养液继续培养 12 h,使细胞静止于  $G_0/G_1$  期。将细胞置于含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养液中培养 1~4 d。每孔加入 CCK-8 溶液 10  $\mu\text{l}$ ,孵育 2 h 后,于酶标仪 450 nm 波长测吸光度 [ $D(450)$ ] 值。实验重复 3 次,绘制细胞生长曲线。细胞增殖抑制率 =  $(1 - \text{实验组}[D(450)]\text{值} / \text{对照组}[D(450)]\text{值}) \times 100\%$ 。

### 1.7 体外迁移实验检测转染后细胞迁移能力

在 Transwell 小室聚碳酸酯微孔滤膜的下室面滴加 40  $\mu\text{l}$  FN(质量浓度 25  $\mu\text{g}/\text{ml}$ )后风干。各组细胞转染后 48 h 取 100  $\mu\text{l}$  ( $5 \times 10^7 \text{ L}^{-1}$ ) 接种于上室,每组设 3 个副孔。下室加入 500  $\mu\text{l}$  含 15% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养基,置于 37 °C、5%  $\text{CO}_2$  孵箱内培养 24 h。弃上室液体,湿棉签擦去滤膜上室面未迁移的细胞,4% 多聚甲醛固定 15 min,0.1% 结晶紫(crystal violet,CV)染色 20 min,清水漂洗 3 遍后风干,10% 乙酸脱色 20 min,洗脱液于酶标仪上 570 nm 波长测吸光度 [ $D(570)$ ] 值,间接反映迁移细胞数目。实验重复 3 次。

### 1.8 统计学处理

用软件 SPSS 14.0 进行统计学分析。数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,使用 Shapiro-Wilk 法进行正态分布检验, $P > 0.05$  为满足正态分布;使用 Levene' test 进行方差齐性检验, $P > 0.05$  为满足方差齐性;在满足正态分布和方差齐性的条件下进行方差分析。对细胞增殖实验结果使用 Mauchly's test of sphericity 进行球形检验, $P < 0.05$  表明 4 个时间点重复测量的数据间存在高度相关性,故采用重复测量方差分析和多元方差分析;RT-PCR 定量结果和细胞迁移实验结果采用单因素方差分析, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 shRNA 表达质粒的构建和转染

IGF-1R shRNA 表达质粒和 control shRNA 表达质粒经 *Nhe* I 酶切电泳,可见一条 630 bp 的 DNA 条带(图 1),符合设计要求。经上海生工生物公司测序,重组质粒中插入的 shRNA 片段与设计的序列完全一致。



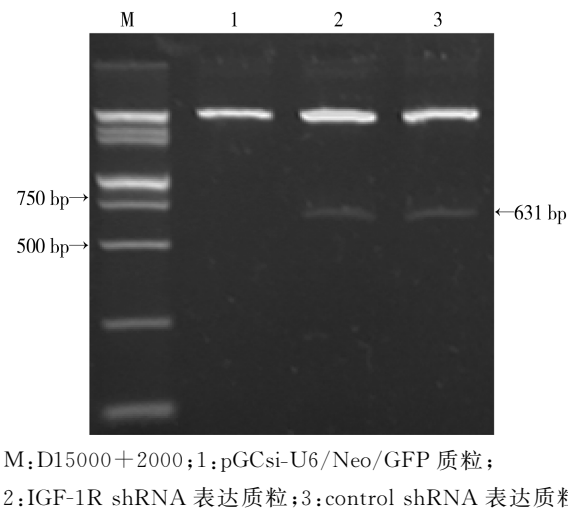


图 1 重组质粒的酶切验证

2.2 IGF-1R shRNA 在 MDA-MB-231 细胞中的转染效率

转染后 48 h 在倒置荧光显微镜下观察,转染成功的细胞产生绿色荧光。shRNA 表达质粒在 MDA-MB-231 细胞的转染效率为 55%~60%(图 2)。

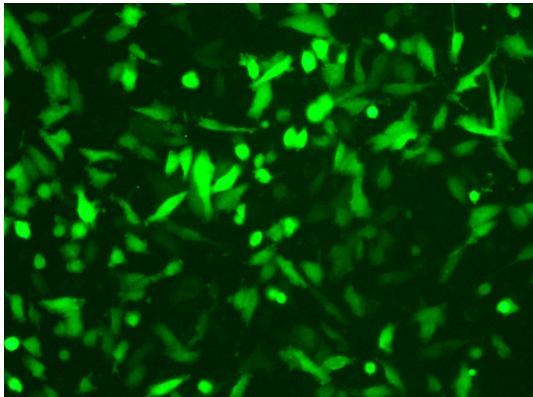


图 2 转染成功的 MDA-MB-231 细胞内表达绿色荧光蛋白(×200)

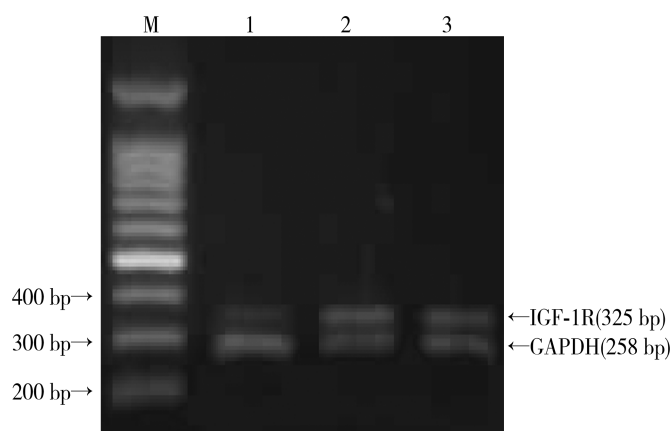
2.3 IGF-1R shRNA 抑制 MDA-MB-231 细胞 IGF-1R mRNA 表达

IGF-1R shRNA 组 IGF-1R mRNA 相对表达量比 control shRNA 组、空白组均低( $P<0.05$ );control shRNA 组与空白组 IGF-1R mRNA 表达水平的差异无统计学意义( $P>0.05$ ,表 1、图 3)。

表 1 转染 IGF-1R shRNA 对 MDA-MB-231 细胞 IGF-1R mRNA 表达量的影响

组别	IGF-1R mRNA 表达量	F 值	P 值
IGF-1R shRNA 组	$0.32 \pm 0.02^a$	30.596	0.01
control shRNA 组	$0.66 \pm 0.09^b$		
空白组	$0.67 \pm 0.06$		

a:  $P<0.05$ ,与 control shRNA 组和空白组比较;b:  $P>0.05$ ,与空白组比较

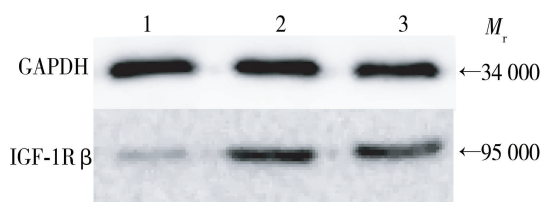


M:100 bp DNA marker;1:IGF-1R shRNA 组;2:control shRNA 组;3:空白组

图3 IGF-1R shRNA 抑制 MDA-MB-231 细胞 IGF-1R mRNA 表达

## 2.4 IGF-1R shRNA 抑制 MDA-MB-231 细胞 IGF-1R 蛋白表达

shRNA 表达质粒转染 MDA-MB-231 细胞 72 h 后,与 control shRNA 组和空白组相比,IGF-1R shRNA 组 IGF-1R 蛋白表达量显著下降(图 4)。



1:IGF-1R shRNA 组;2:control shRNA 组;3:空白组

图4 IGF-1R shRNA 抑制 MDA-MB-231 细胞 IGF-1R 蛋白表达

## 2.5 IGF-1R shRNA 抑制 MDA-MB-231 细胞体外增殖能力

shRNA 表达质粒转染后,IGF-1R shRNA 组细胞增殖减慢,与 control shRNA 组相比,第2~4 天的增殖抑制率分别为 28.09%、35.13%和 25.16%;而 control shRNA 组与空白组间细胞体外增殖能力的差异无统计学意义( $P>0.05$ ,表 2、图 5)。

表2 转染 IGF-1R shRNA 对 MDA-MB-231 细胞体外增殖能力的影响

组别	D(450)值			
	1 d	2 d	3 d	4 d
IGF-1R shRNA 组	0.20±0.02	0.23±0.02 <sup>a</sup>	0.33±0.02 <sup>a</sup>	0.46±0.04 <sup>a</sup>
control shRNA 组	0.21±0.02	0.32±0.01	0.50±0.02	0.62±0.03
空白组	0.21±0.02	0.31±0.01	0.51±0.02	0.63±0.03

a:  $P<0.01$ ,与 control shRNA 组和空白组比较

## 2.6 IGF-1R shRNA 抑制 MDA-MB-231 细胞的体外迁移能力

IGF-1R shRNA 组细胞的体外迁移抑制率为 33.98%,与 control shRNA 组、空白组比较,差异有统计学意义( $P$  均 $<0.05$ );control shRNA 组与空白组之间,迁移细胞数目的差异无统计学意义( $P>0.05$ )(表 3、图 6)。

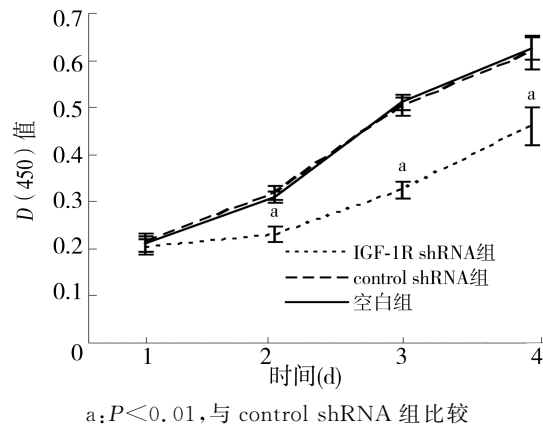


图 5 转染 IGF-1R shRNA 对 MDA-MB-231 细胞体外增殖能力的影响

表 3 转染 IGF-1R shRNA 对 MDA-MB-231 细胞体外迁移能力的影响

组别	D(570)值	F 值	P 值
IGF-1R shRNA 组	0.08±0.01 <sup>a</sup>	81.438	0.00
control shRNA 组	0.13±0.01 <sup>b</sup>		
空白组	0.13±0.01		

a:  $P < 0.05$ , with control shRNA group and blank group comparison; b:  $P > 0.05$ , control shRNA group and blank group comparison

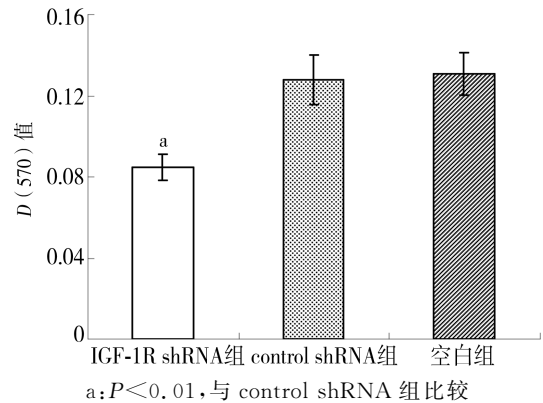


图 6 转染 IGF-1R shRNA 对 MDA-MB-231 细胞体外迁移能力的影响

3 讨论

乳腺癌是女性最常见的恶性肿瘤。以往的研究发现,IGF-1R 在乳腺癌组织中的表达水平高于正常<sup>[5]</sup>。过表达 IGF-1R 的转基因小鼠于 8 周龄即可形成乳腺肿瘤<sup>[6]</sup>。RNAi 是指双链 RNA 分子诱导同源目标 RNA 降解,导致特定基因表达沉默的现象。在细胞质核酸酶 Dicer 的作用下,shRNA 降解为 21~23 bp 的 siRNA,siRNA 结合其他元件形成 RNA 沉默诱导复合物(RNA-induced silencing complexes,RISCs),然后 siRNA 引导 RISCs 结合到与之互补的 mRNA 序列上,降解相应的 mRNA,导致蛋白表达水平下降,最终实现目的基因表达沉默<sup>[7]</sup>。RNAi 技术已广泛应用于基因功能研究和基因治疗领域。

本研究成功构建并转染了表达 IGF-1R shRNA 的质粒载体,对转染后乳腺癌细胞的 IGF-1R 基因与蛋白的检测发现 IGF-1R mRNA 与蛋白的表达显

著下降,表明 IGF-1R shRNA 转染实现了对 IGF-1R 基因表达抑制的作用。shRNA 表达质粒转染后,IGF-1R shRNA 组细胞增殖减慢,与 control shRNA 组相比,第 2~4 天的增殖抑制率分别为 28.09%、35.13%和 25.16%,与文献<sup>[8]</sup>中 IGF-1R shRNA 抑制乳腺癌细胞生长的报道一致。体外迁移实验结果显示,IGF-1R shRNA 组细胞的体外迁移抑制率为 33.98%,与 control shRNA 组和空白组比较,体外迁移抑制力受到显著抑制。该结果表明 IGF-1R 在乳腺癌细胞体外迁移过程中发挥重要作用。肿瘤细胞的转移过程包括侵袭、进入脉管、癌栓形成和继发组织内生长等步骤。IGF-1R 有可能通过增强乳腺癌细胞的迁移能力而促进肿瘤的转移。转染 IGF-1R shRNA 的 MDA-MB-231 细胞的体外增殖和迁移能力显著下降,提示通过 RNAi 技术沉默 IGF-1R 可以实现抑制乳腺癌细胞体外增殖和迁移的能力。

综合辅助治疗是乳腺癌的重要治疗方法。对于雌激素受体(estrogen receptor,ER)阳性的乳腺癌患者,采取内分泌治疗可以显著降低死亡率,但有研究显示 1/4 的患者会对内分泌治疗形成耐药<sup>[9]</sup>。Song 等<sup>[10]</sup>研究发现,长期内分泌治疗可能导致乳腺癌细胞上调 IGF-1R 信号通路的活性。阻断 IGFs 通路则能够抑制雌激素对乳腺癌细胞的刺激作用<sup>[11]</sup>。因此,若将 ER 阻断剂和 IGF-1R 的靶向治疗联合使用,就有可能产生协同作用以进一步改善乳腺癌患者的预后<sup>[12]</sup>。对于 ER 阴性的乳腺癌患者,特别是 ER、孕激素受体和人表皮生长因子受体 2 均为阴性的三阴性乳腺癌,现有的治疗方法效果不佳,患者预后差,激酶受体更可能成为潜在的药物靶点<sup>[13]</sup>。本研究为乳腺癌靶向 IGF-1R 的基因治疗提供了实验依据,但通过 RNAi 技术沉默 IGF-1R 的方法应用于临床的可行性仍有待进一步研究。

## 参考文献

- [1] Werner H, Bruchim I. The insulin-like growth factor-I receptor as an oncogene[J]. Arch Physiol Biochem, 2009, 115(2): 58-71.
- [2] Sachdev D. Regulation of breast cancer metastasis by IGF signaling[J]. J Mammary Gland Biol Neoplasia, 2008, 13(4): 431-441.
- [3] 牛坚, 李向农, 韩泽广. 运用 siRNA 建立稳定低表达 IGF1R 基因的肝癌细胞株的实验研究[J]. 中国普外基础与临床杂志, 2007, 14(6): 679-684.
- [4] 朱晨芳, 钟强, 顾岩. 构建 RNA 干扰真核表达载体抑制肝癌细胞 IGF1R 表达的研究[J]. 上海交通大学学报(医学版), 2009, 29(10): 1163-1168.
- [5] Lann D, LeRoith D. The role of endocrine insulin-like growth factor-I and insulin in breast cancer[J]. J Mammary Gland Biol Neoplasia, 2008, 13(4): 371-379.
- [6] Jones RA, Moorehead RA. The impact of transgenic IGF-IR overexpression on mammary development and tumorigenesis [J]. J Mammary Gland Biol Neoplasia, 2008, 13(4): 407-413.
- [7] Takeshita F, Ochiya T. Therapeutic potential of RNA interference against cancer[J]. Cancer Sci, 2006, 97(8): 689-696.
- [8] Riedemann J, Sohail M, Macaulay VM. Dual silencing of the EGF and type 1 IGF receptors suggests dominance of IGF signaling in human breast cancer cells[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2007, 355(3): 700-706.
- [9] Musgrove EA, Sutherland RL. Biological determinants of endocrine resistance in breast cancer[J]. Nat Rev Cancer, 2009,



9(9):631-643.

- [10] Song RX, Chen Y, Zhang Z, et al. Estrogen utilization of IGF-1-R and EGF-R to signal in breast cancer cells[J]. J Steroid Biochem Mol Biol, 2010, 118(4-5): 219-230.
- [11] Fagan DH, Yee D. Crosstalk between IGF1R and estrogen receptor signaling in breast cancer[J]. J Mammary Gland Biol Neoplasia, 2008, 13(4): 423-429.
- [12] Miller TW, Pérez Torres M, Narasanna A, et al. Loss of phosphatase and tensin homologue deleted on chromosome 10 engages ErbB3 and insulin-like growth factor-I receptor signaling to promote antiestrogen resistance in breast cancer[J]. Cancer Res, 2009, 69(10): 4192-4201.
- [13] 齐晓伟. 三阴性乳腺癌研究进展[J/CD]. 中华乳腺病杂志: 电子版, 2008, 2(5): 612-617.

(收稿日期: 2010-06-17)

(本文编辑: 罗承丽)

陈亚宁, 朱晨芳, 顾岩. 胰岛素样生长因子 1 型受体短发夹 RNA 抑制乳腺癌增殖和迁移能力的体外实验研究[J/CD]. 中华乳腺病杂志: 电子版, 2011, 5(1): 49-57