

## CCDC66在结直肠癌中的表达及与肿瘤微血管密度的关系

刘淦<sup>1</sup>, 李晓敏<sup>2,3</sup>, 王健君<sup>4</sup>

1. 皖南医学院检验学院, 安徽 芜湖 241002;
2. 南方医科大学病理学系, 广东 广州 510515;
3. 皖南医学院病理学教研室, 安徽 芜湖 241002;
4. 皖南医学院组织学与胚胎学教研室, 安徽 芜湖 241002)

**摘要:**目的 探讨卷曲螺旋结构域蛋白(coiled-coil domain containing protein 66, CCDC66)在结直肠癌中的表达及与血管生成的关系。方法 应用qRT-PCR技术检测CCDC66在24例结直肠癌新鲜组织及6株结直肠癌细胞中mRNA的表达;通过免疫组织化学方法检测CCDC66蛋白在46例结直肠癌组织芯片中的表达,以及CCDC66在其中20例结直肠癌石蜡包块组织中的表达,并分析CCDC66表达与患者临床病理参数以及肿瘤微血管密度的关系。结果 与癌旁组织相比,在24例结直肠癌组织中CCDC66 mRNA的表达明显下调( $P < 0.01$ ),在6株结直肠癌细胞中的表达也显著低于正常结肠黏膜上皮来源细胞株FHC( $P < 0.01$ );免疫组化检测显示,CCDC66在46例结直肠癌组织芯片中的表达显著低于癌旁组织( $P = 0.0008$ ),CCDC66蛋白表达与肿瘤淋巴结转移( $P = 0.0361$ )和TNM分期( $P = 0.0361$ )有关;CCDC66高表达组肿瘤组织微血管计数显著低于CCDC66低表达组( $P = 0.0013$ )。结论 CCDC66在结直肠癌组织和细胞株中低表达,并与肿瘤转移有关,CCDC66可能通过抑制肿瘤血管生成抑制结直肠癌的转移。

**关键词:**CCDC66;结直肠肿瘤;肿瘤转移;微血管密度

中图分类号:R735.34

文献标识码:A

文章编号:1001-5817(2020)03-0270-05

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2020.03.002

## The expression of CCDC66 in colorectal cancer and its correlation with tumor microvessel density

Liu Gan<sup>1</sup>, Li Xiaomin<sup>2,3</sup>, Wang Jianjun<sup>4</sup>

1. School of Laboratory Medicine, Wannan Medical College, Wuhu 241002, Anhui, China;
2. Department of Pathology, Southern Medical University, Guangzhou 510515, Guangdong, China;
3. Department of Pathology, Wannan Medical College, Wuhu 241002, Anhui, China;
4. Department of Histology and Embryology, Wannan Medical College, Wuhu 241002, Anhui, China)

**Abstract:** **Objective** To elucidate the expression of coiled-coil domain containing protein 66 (CCDC66) in colorectal cancer (CRC) and its correlation with angiogenesis. **Methods** Quantitative real time PCR (qRT-PCR) was used to detect the expression of CCDC66 mRNA in CRC tissues of 24 patients and 6 CRC cell lines. An immunohistochemistry (IHC) method was used to detect the expression of CCDC66 protein in 46 CRC tissue chips and in 20 paraffin block CRC tissues out of them, and the correlation between CCDC66 expression and the clinicopathological parameters of patients, the microvessel density (MVD) was analyzed. **Results** The expression of CCDC66 mRNA in 24 CRC tissues was significantly decreased by comparing with that in the adjacent cancerous tissues ( $P < 0.01$ ), and its expression in 6 CRC cell lines was also lower than that in the normal colonic epithelial cell line FHC ( $P < 0.01$ ). Immunohistochemistry detecting results showed that the expression of CCDC66 protein in the tissue microarray containing CRC tissues of 46 cases was obviously lower than that in the adjacent cancerous tissues ( $P = 0.0008$ ). The expression of CCDC66 was correlated with

**基金项目:**国家自然科学基金(81902479);安徽高校自然科学基金(KJ2018A0251);安徽省大学生创新创业训练计划(201810368140)

**第一作者简介:**刘淦(1999-),男,在读本科学学生,E-mail:975293427@qq.com

**通讯作者简介:**王健君(1981-),男,硕士,副教授,研究方向:肿瘤的基因治疗,E-mail:39001683@qq.com

tumor lymph node metastasis ( $P = 0.0361$ ) and TNM staging ( $P = 0.0361$ ). The MVD count in tumor tissues of the high CCDC66 expression group was lower than that in the low CCDC66 expression group ( $P = 0.0013$ ). **Conclusion** The expression of CCDC66 is downregulated in CRC tissues and cell lines, which is correlated with tumor metastasis. CCDC66 may inhibit CRC metastasis by suppressing tumor angiogenesis.

**Key words:** CCDC66; colorectal neoplasms; tumor metastasis; microvessel density

结直肠癌发病率逐年上升,目前我国结直肠癌发病率在男性位于第三位,女性位于第二位,死亡率位于所有肿瘤的第四位<sup>[1-2]</sup>。传统治疗方案为手术切除肿瘤并结合放化疗,但化疗药物均存在毒副作用及耐药性影响疗效,而近些年新出现的肿瘤靶向药治疗及免疫治疗又存在受益人群较少的缺憾,很多结直肠癌患者由于伴有 K-Ras 突变并不能应用抗 EGFR 靶向药治疗<sup>[3]</sup>。因此进一步阐明结直肠癌发生及转移的机制,探寻有效的靶向药物作用靶点,对于改善结直肠癌患者的治疗现状至关重要。卷曲螺旋结构域蛋白 66 (coiled-coil domain containing protein 66, CCDC66) 是中心粒卫星蛋白<sup>[4]</sup>,其基因突变可引起狗的视网膜萎缩<sup>[5]</sup>,但是测序分析发现 CCDC66 与人的视网膜营养不良性萎缩并无相关性<sup>[6]</sup>。有文献报道 CCDC66 缺氧时在结直肠癌细胞中表达降低<sup>[7]</sup>,而恶性肿瘤组织由于生长旺盛及肿瘤性血管结构异常<sup>[8]</sup>,均存在不同程度的缺氧,缺氧导致下调表达的 CCDC66 在结直肠癌中的表达及与血管生成是否有关,尚未见文献报道。我们通过 qRT-PCR、免疫组织化学染色等技术检测 CCDC66 在结直肠癌中的表达,分析其表达与临床病理参数的相关性,并初步探讨 CCDC66 表达与结直肠癌微血管密度的关系,可能为结直肠癌抗肿瘤血管生成治疗提供新的靶点。

## 1 材料和方法

1.1 标本及组织芯片制备方法 24 例结直肠癌新鲜组织取自南方医科大学附属南方医院普外科手术切除的结直肠癌患者,肿瘤组织及癌旁组织各取黄豆般大小样本,置于液氮中储存直至提取总 RNA。并收集 2018 年 6 月—2018 年 12 月皖南医学院附属弋矶山医院普外科收治的结直肠癌肠癌手术切除标本(结直肠癌组织及癌旁组织)46 对,经常规石蜡包埋制备石蜡标本。并对石蜡标本进行 HE 染色,标记待取的典型肿瘤部位,应用组织芯片仪(北京博医康实验仪器有限公司)分别穿刺每对供体蜡块放入受体蜡块孔中制备 2 个  $6 \times 8$  阵列组织芯片(其中每个阵列空 2 孔用于标记)。上述标本来源于术前均未接受放化疗患者,术后病理均证实为结直肠癌,均已收集完整的临床病理资料。

1.2 细胞培养 人结直肠癌细胞株 SW480、SW620、HT29、RKO、Caco-2、LoVo 及正常结肠黏膜上皮细胞株 FHC 均购自美国模式培养物集存库(American Type Culture Collection, ATCC)公司。肿瘤细胞用含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养基培养, FHC 用含 20% 胎牛血清的 DMEM 培养基培养,置于  $37^{\circ}\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  孵箱内,当细胞融合度为 70%~80% 时,取生长状态好的细胞用于实验。

1.3 组织、细胞 RNA 提取及逆转录 结直肠癌及癌旁组织总 RNA 提取由广州维柏鑫生物技术有限公司完成,细胞总 RNA 提取应用 RNAiso<sup>TM</sup> Plus(Takara 公司)裂解细胞后,应用苯酚氯仿抽提法提取。RNA 逆转录反应根据 PrimeScript<sup>TM</sup> RT reagent Kit with gDNA Eraser(TaKaRa 公司)说明书进行, cDNA 用无菌超纯水稀释 5~10 倍,用于 qRT-PCR 反应。

1.4 实时荧光定量 PCR (quantitative real-time PCR, qRT-PCR) 使用 SybrGreen qPCR Mastermix (DBI 公司)说明书进行 qRT-PCR,避光条件下在冰上配置 qRT-PCR 反应体系,应用 ABI7500 荧光定量 PCR 仪检测各样品的 Ct 值,即反应管内的荧光信号达到所设定的阈值时总共经历的循环次数, qRT-PCR 反应程序为:  $95^{\circ}\text{C}$ , 预变性 1 min;  $95^{\circ}\text{C}$ , 变性 15 s;  $60^{\circ}\text{C}$ , 退火及延伸 34 s; 40 个循环;用  $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$  方法进行数据分析<sup>[9]</sup>, 计算每个样本的平均  $\Delta\text{Ct}$  ( $\Delta\text{Ct} = \text{Ct}_{\text{CCDC66}} - \text{Ct}_{\text{GAPDH}}$ ), 分析细胞株 CCDC66 相对表达量时,以 FHC 细胞  $\Delta\text{Ct}$  作为对照, 计算  $\Delta\Delta\text{Ct} = \Delta\text{Ct}_{\text{CCDC66}} - \Delta\text{Ct}_{\text{GAPDH}}$ , 以公式  $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$  计算肿瘤细胞株相对表达量; 所用引物 CCDC66: 上游  $5' \rightarrow 3'$  GATGGGCAATGCACTTTGATTC, 下游  $5' \rightarrow 3'$  CAGGTTGTTTGTGTGTTGACTG; GAPDH: 上游  $5' \rightarrow 3'$  GGAGCGA GATCCCTCCAAAAT, 下游  $5' \rightarrow 3'$  GGCTGTTGT-CATACTTCTCATGG; 引物由北京睿博兴科生物技术有限公司合成。

1.5 免疫组织化学染色及结果判读 参照增强型二步法检测试剂盒(北京中杉金桥生物技术有限公司)说明书进行免疫组织化学染色。Anti-CCDC66 及 Anti-CD31 抗体均购自武汉华美生物工程有限公司, 1:100 稀释, PBS 缓冲液、枸橼酸盐缓冲液购自武汉博士

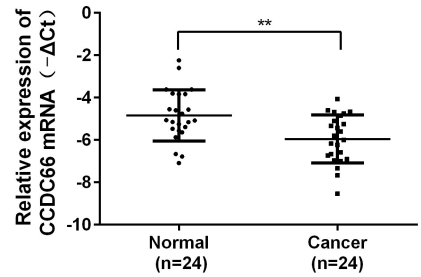
德生物工程有限公司, DAB 显色液均购自北京中杉金桥生物技术有限公司。CCDC66 染色结果由三位病理医生独立判读, 根据染色强度分为阴性、弱阳性(淡黄色)、强阳性(棕黄色), 其中染色强度为阴性或弱阳性, 且染色比例 < 50% 判定为低表达, 其余为高表达。微血管密度计数(microvessel density, MVD)参照 Weidner 方法<sup>[10]</sup>, 即低倍镜(100 倍)下扫视整个切片, 选择切片中间质微血管密度最为丰富的区域, 在高倍镜下随机观察 3 个视野计数微血管数目, 取平均值作为微血管密度。

1.6 统计学方法 应用 GraphPad Prism6.0 进行统计分析, 计量资料用( $\bar{x} \pm s$ )表示, 两组计量资料统计采用 *t* 检验, 计数资料统计采用  $\chi^2$  检验。结直肠癌及癌旁组织 CCDC66 表达差异采用 *t* 检验, CCDC66 表达与患者临床资料之间的关系采用  $\chi^2$  检验或 Fisher 精确概率法统计; 以  $P < 0.05$  作为差异具有统计学意义。

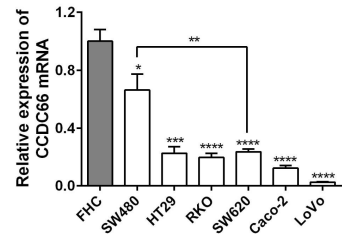
2 结果

2.1 CCDC66 在结直肠癌组织及细胞株中表达下调

应用 qRT-PCR 检测 24 例结直肠癌组织、癌旁组织及 6 株结直肠癌细胞 CCDC66 mRNA 的表达, 结果显示 CCDC66 mRNA 在结直肠癌组织中的表达低于癌旁组织 ( $t = 3.294, P < 0.01$ ) (见图 1A), CCDC66 mRNA 在 6 株结直肠癌细胞 SW480 ( $t = 4.271, P = 0.0129$ )、HT29 ( $t = 14.616, P < 0.0001$ )、RKO ( $t = 16.410, P < 0.0001$ )、SW620 ( $t = 16.11, P < 0.0001$ )、Caco-2 ( $t = 18.526, P < 0.0001$ )、LoVo ( $t = 21.080, P < 0.0001$ ) 中的表达均低于正常结肠黏膜上皮来源的细胞株 FHC, 并且在低转移潜能细胞株 SW480 中的表达高于高转移潜能细胞株 SW620 ( $t = 6.576, P = 0.0028$ ) (见图 1B)。应用免疫组织化学染色方法检测 CCDC66 在结直肠癌组织芯片中的表达, 结果显示 CCDC66 阳性染色主要位于细胞质内, 呈淡黄色或棕黄色弥漫或颗粒状。CCDC66 在结直肠癌癌旁黏膜上皮呈强阳性染色, 细胞质内呈现明显的棕黄色颗粒, 而大部分结直肠癌组织呈阴性或弱阳性染色, 细胞质内局限性淡黄色 (见图 2)。在 46 例结直肠癌组织中, 有 18 例 (39.13%) 高表达 CCDC66, 28 例 (60.87%) 低表达 CCDC66, 而配对癌旁组织中有 34 例 (73.91%) 高表达 CCDC66, 12 例 (26.09%) 低表达 CCDC66, CCDC66 在结直肠癌及癌旁组织中的表达差异具有统计学意义 ( $P < 0.001$ ), 见表 1。



A



B

图 1 CCDC66 mRNA 在结直肠癌组织、癌旁组织和结直肠癌细胞株中、正常结肠黏膜细胞的表达下调注:A:CCDC66 mRNA 在结直肠癌组织中的表达低于癌旁组织 ( $n = 24$ ); B:CCDC66 mRNA 在结直肠癌细胞株中的表达低于正常结肠黏膜上皮细胞株 FHC; \*:  $P < 0.05$ ; \*\*:  $P < 0.01$ ; \*\*\*:  $P < 0.001$ ; \*\*\*\*:  $P < 0.0001$ 。

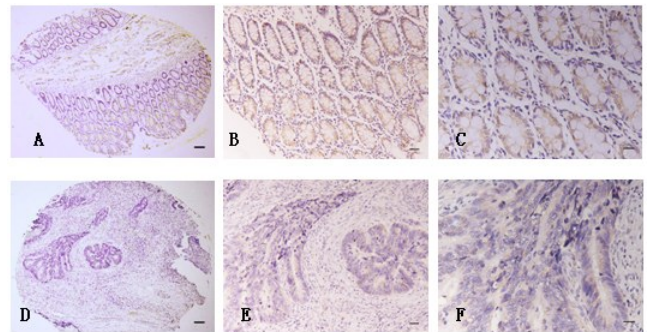


图 2 结直肠癌及癌旁组织 CCDC66 免疫组织化学染色注:A、B 和 C:高表达 CCDC66 的癌旁组织; D、E 和 F:低表达 CCDC66 的结直肠癌组织; 标尺:(A 和 D) 100 $\mu$ m, (B 和 E) 50 $\mu$ m, (C 和 F) 20 $\mu$ m。

表 1 CCDC66 在结直肠癌及癌旁组织中的表达差异

组织芯片	n	CCDC66		$\chi^2$	P
		高表达	低表达		
结直肠癌	46	18(39.13)	28(60.87)	11.323	<0.001
癌旁组织	46	34(73.91)	12(26.09)		

注:表内计数资料数据用[n(%)]表示。

2.2 CCDC66 在结直肠癌组织中的表达水平与患者临床病理参数的关系 在有淋巴结转移及无淋巴结转移、TNM I ~ II 期及 III ~ IV 期的结直肠癌组织中

CCDC66 的表达差异有统计学意义,提示 CCDC66 与淋巴结转移及 TNM 分期有关,而 CCDC66 与患者的年龄、性别及肿瘤的部位、直径、分化程度、浆膜是否侵犯等无关,见表 2。

表 2 CCDC66 在结直肠癌组织中的表达与患者临床病理参数的关系 ( $n=46$ )

临床病理参数	CCDC66		$\chi^2$	$P$
	高表达	低表达		
年龄(岁)			0.220	0.639
$\leq 55$	7	9		
$>55$	11	19		
性别			0.708	0.400
男	8	16		
女	10	12		
肿瘤部位			0.712	0.399
结肠	10	19		
直肠	8	9		
分化程度			0.003	0.954
高中分化	13	20		
低分化	5	8		
原发灶直径/cm			0.017	0.895
$\leq 4$	8	13		
$>4$	10	15		
浆膜侵犯			0.351	0.554
无	8	10		
有	10	18		
淋巴结转移			4.391	0.036
无	10	7		
有	8	21		
远处转移			—	0.064
无	17	19		
有	1	9		
TNM 分期			4.391	0.036
I~II	10	7		
III~IV	8	21		

注:“—”表示采用 Fisher 的精确检验结果(双侧)。

2.3 CCDC66 在结直肠癌组织中的表达与肿瘤微血管密度的关系 文献报道<sup>[7]</sup>缺氧会导致 CCDC66 在结直肠癌细胞中的表达下调,而缺氧是促进肿瘤血管生成的重要因素,为进一步探讨 CCDC66 在结直肠癌中的表达是否与肿瘤血管生成相关,我们应用免疫组织化学染色方法检测 20 例结直肠癌组织石蜡标本 CCDC66 及 CD31 的表达,并计数微血管密度,分析 CCDC66 表达与肿瘤 MVD 的关系,结果 20 例结直肠癌组织中 CCDC66 高表达 8 例,CCDC66 低表达 12 例,高表达组 MVD 计数平均为  $(16.88 \pm 1.90)$  个/高倍镜视野,低表达组 MVD 计数平均为  $(27.08 \pm 1.78)$  个/高倍镜视野,高表达 CCDC66 的结直肠癌组织的 MVD 计数明显低于低表达组 ( $t = 3.811, P =$

0.0013),见图 3。

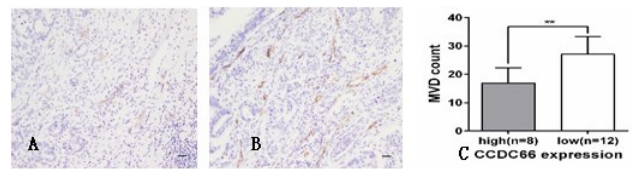


图 3 结直肠癌组织 CCDC66 表达与肿瘤微血管密度关系

注:A:高表达 CCDC66 的结直肠癌组织 CD31 免疫组织化学染色;B:低表达 CCDC66 的结直肠癌组织 CD31 免疫组织化学染色;C:柱状图示 CCDC66 高表达组和低表达组 MVD 计数统计;标尺:50 $\mu$ m。

### 3 讨论

研究显示,CCDC66 前转录本除了通过传统剪切生成线性 CCDC66 mRNA 外,还可以通过反向剪切生成环状 RNA,CCDC66 来源的环状 RNA 在结直肠癌中表达上调并且促进了结直肠癌的生长及转移,而同一前转录本来源的 CCDC66 mRNA 在结直肠癌中的表达下调<sup>[7]</sup>。在本项研究中,我们发现 CCDC66 无论在 mRNA 水平还是蛋白水平均在结直肠癌组织及细胞株中表达下调。根据 CCDC66 环状 RNA 和 mRNA 在结直肠癌中的表达情况,我们推测,相比正常组织,结直肠癌中 CCDC66 的剪切方式由传统剪切向反向剪切转变,生成更多的环状 RNA 而减少线状 mRNA 生成,从而导致 CCDC66 mRNA 及蛋白水平的下调,这也表明了肿瘤发生发展机制的复杂性,传统剪切与线性剪切之间存在竞争关系,但剪切调控的机制尚罕见报道。

此外,与 CCDC66 来源的环状 RNA 能够增强肿瘤恶性行为相反,我们通过统计分析 CCDC66 在结直肠癌芯片中的表达水平与患者临床病理参数的关系,结果发现 CCDC66 低表达与患者肿瘤的淋巴结转移有关,提示 CCDC66 在结直肠癌中的表达下调可能具有促进肿瘤转移的作用。转移是恶性肿瘤最具破坏性的行为,是结直肠癌患者治疗失败和死亡的主要原因,是多因素参与的复杂过程,包括早期肿瘤血管形成促进肿瘤生长、肿瘤细胞从原发部位脱落侵入基质<sup>[11]</sup>、癌细胞运动进入脉管系统运行、形成癌栓并躲避免疫系统攻击、穿出血管到继发部位、新生血管生成继续增殖形成转移灶<sup>[12]</sup>。其中肿瘤新生血管生成与转移灶形成具有密切的关系,新生血管不仅能够提供营养供原发肿瘤生长,而且为肿瘤转移提供了通道,转移后又为转移瘤生长提供营养,如果没有肿瘤新生血管生成,转移就不会发生。目前认为肿瘤血管生成的

本质是血管生成调控的失衡,使血管生成因子合成分泌增多而抑制血管形成的因子合成减少<sup>[13]</sup>。本研究进一步分析 CCDC66 表达与肿瘤微血管密度的关系,发现高表达 CCDC66 的结直肠癌组织的 MVD 计数明显低于 CCDC66 低表达组,提示 CCDC66 在结直肠癌中的表达下调可能具有促进肿瘤转移的作用,CCDC66 表达下调可能促进了结直肠癌组织的血管生成。有文献报道 CCDC66 缺氧条件在结直肠癌细胞株中的表达进一步下调<sup>[7]</sup>,恶性肿瘤由于生长旺盛,常存在不同程度的缺氧,缺氧的酸中毒环境会扰乱血管生成因子和抑制因子的表达平衡,促进肿瘤的侵袭性和转移<sup>[14-15]</sup>,表明 CCDC66 可能参与了缺氧对血管生成的调控。

综上,本研究发现 CCDC66 在结直肠癌中表达下调,并且与患者肿瘤的转移有关,低表达 CCDC66 的肿瘤组织具有更高的肿瘤微血管密度,可能是一新的血管生成抑制因子,对其对血管调控机制的进一步阐明,有望为血管生成治疗提供新的靶点。

#### 参考文献:

- [1] Torre LA, Bray F, Siegel RL, et al. Global cancer statistics, 2012 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2012, 65(2): 87-108.
- [2] Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012 [J]. *Int J Cancer*, 2015, 136(5): E359-386.
- [3] Sorich MJ, Wiese MD, Rowland A, et al. Extended RAS mutations and anti-EGFR monoclonal antibody survival benefit in metastatic colorectal cancer; a meta-analysis of randomized, controlled trials [J]. *Ann Oncol*, 2015, 26(1): 13-21.
- [4] Conkar D, Culfa E, Odabasi E, et al. The centriolar satellite protein CCDC66 interacts with CEP290 and functions in cilium formation and trafficking [J]. *J Sci*, 2017, 130(8): 1450-1462.
- [5] Dekomien G, Vollrath C, Petrasch-Parwez E, et al. Progressive retinal atrophy in Schapendoes dogs: mutation of the newly identified CCDC66 gene [J]. *Neurogenetics*, 2010, 11(2): 163-174.
- [6] Khan AO, Budde BS, Nurnberg P, et al. Genome-wide linkage and sequence analysis challenge CCDC66 as a human retinal dystrophy candidate gene and support a distinct NMNAT1-related fundus phenotype [J]. *Clin Genet*, 2018, 93(1): 149-154.
- [7] Hsiao KY, Lin YC, Gupta SK, et al. Noncoding Effects of Circular RNA CCDC66 Promote Colon Cancer Growth and Metastasis [J]. *Cancer Res*, 2017, 77(9): 2339-2350.
- [8] Li H, Adachi Y, Yamamoto H, et al. Insulin-like growth factor-I receptor blockade reduces tumor angiogenesis and enhances the effects of bevacizumab for a human gastric cancer cell line, MKN45 [J]. *Cancer*, 2011, 117(14): 3135-3147.
- [9] Schmittgen TD, Livak KJ. Analyzing real-time PCR data by the comparative C(T) method [J]. *Nat Protoc*, 2008, 3(6): 1101-1108.
- [10] Weidner N, Semple JP, Welch WR, et al. Tumor angiogenesis and metastasis—correlation in invasive breast carcinoma [J]. *N Engl J Med*, 1991, 324(1): 1-8.
- [11] 张金添, 林扬元, 谢群, 等. 食管癌组织中基质金属蛋白酶-9 水平的表达及临床意义 [J]. *右江民族医学院学报*, 2018, 40(6): 552-554, 558.
- [12] Rattanatanayong P, Keelawat S, Kitkumthorn N, et al. Epithelial-Specific SHP1-P2 Methylation - a Novel Universal Tumor Marker for Detection of Colorectal Cancer Lymph Node Metastasis [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2016, 17(8): 4117-4123.
- [13] Zhang W, Zhang M, Zhou B, et al. Expression and significance of vascular endothelial growth factor C from multiple specimen sources in esophageal squamous cell carcinoma [J]. *Int J Biol Markers*, 2012, 27(4): e359-365.
- [14] Baker AM, Bird D, Welti JC, et al. Lysyl oxidase plays a critical role in endothelial cell stimulation to drive tumor angiogenesis [J]. *Cancer Res*, 2013, 73(2): 583-594.
- [15] Su T, Wang Y, Wang J, et al. In Vivo Magnetic Resonance and Fluorescence Dual-Modality Imaging of Tumor Angiogenesis in Rats Using GEBP11 Peptide Targeted Magnetic Nanoparticles [J]. *J Biomed Nanotechnol*, 2016, 12(5): 1011-1022.

收稿日期: 2019-12-23; 修回日期: 2020-01-22