超声与放射

DOI:10.13406/j.cnki.cyxb.000674

RNAi技术应用于制备诊治卵巢癌的MR成像分子探针

吴晓凤，文　明
（重庆医科大学附属第一医院放射科，重庆　400016）

【摘　要】近年来随着分子影像学研究的深入发展，分子探针的设计、开发方面也取得了长足的进步。作为一种高效的序列特异性基因剔除技术，利用 RNA 干扰理论制备用于分子成像的探针，可望在对相应恶性肿瘤做出早期特异性诊断的同时，实现一体化的靶向基因治疗。本文就 RNA 干扰技术应用于制备诊治卵巢癌的 MR 分子成像探针研究做出综述。

【关键词】RNA 干扰；卵巢癌；分子探针；分子影像学
【中图分类号】R445.2；R319　　【文献标志码】A　　【收稿日期】2015-01-08

RNAi technology applied to the preparation of molecular probes for diagnosis and treatment of ovarian cancer

Wu Xiaofeng, Wen Ming
(*Department of Radiology, The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University*)

【Abstract】RNA interference(RNAi) offers great potential not only for *in vitro* target validation, but also as a novel therapeutic strategy based on the highly specific and efficient silencing of a target gene. The technique of RNAi could be used for preparing molecular probes, for making earlier and specific diagnosis, and for targeted gene therapy of malignant tumors.

【Key words】RNA interference; ovarian cancer; molecular probe; molecular imaging

1　概述

1.1　分子影像技术

分子影像学(molecular imaging, MI)是医学影像技术和分子生物学、化学、医学物理学、生物数学及生物信息学相结合的一门新的交叉学科。分子影像学的概念，可广义定义为利用无创性医学影像技术，对活体细胞和分子水平的生物过程进行定性或定量的可视化观察。与传统医学影像学不同，分子影像学观察的重点是可视化构成疾病基础的分子异常，而不是对由这些分子改变所构成的最终结果进行成像，目前这些研究成果已广泛应用于肿瘤的早期诊断、监测靶向治疗效果及细胞示踪等多个方面[1-3]。分子成像技术受多种因素的影响[4]，主要包括高效的分子探针(molecular probe, MP)构建、分子探针在活体细胞内的递送、信号的有效放大、高分辨率的体外成像设备等，其中，制备高效的分子探针是其中的关键因素，也是进行分子影像研究的先决条件。

分子探针即以特定方法将具有靶向特异结合能力的物质与能产生影像学信号的物质连接起来，用于特定分子成像的一类复合物[5]。鉴于目前已有多种成像技术应用于分子影像学的研究，如单光子发射计算机断层显像(single photon emission computed tomography, SPECT)、正电子体层成像(positron emission tomography, PET)、近红外线荧光影像技术(near infrared reflectance spectroscopy, NIRS)及磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)技术等，根据这些成像手段的不同，人们通常将分子探针分为以下 4 种[6]：①核医学探针：由产生影像信号的放射性同位素和能与靶分子特异结合的配体组成。②光学探针：利用生物发光、荧光蛋白或荧光染料标记在活体大分子上，用于组织病理变化的早期研究。③超声探针：主要由生物可降解聚合物(如脂质或蛋白质)构成，其表面可携带与靶向分子特异结合的配体或抗体，插入无反应性的低度可溶性气体(如氟碳)，以产生声学信号。④MRI 探针：即通过缩短周围水质子的 T1、T2 弛豫时间，以提高组织之间的图像对比度，达到 MRI 诊断的敏感性及特异性。此外，也有学者根据探针的特异性将其分为非靶向性探针、靶向性

作者介绍：吴晓凤 Email：jeweing@126.com，
研究方向：分子影像学。
通信作者：文　明 Email：13883669699@163.com。
基金项目：国家自然科学基金资助项目(编号：81171336)；国家临床重点专科建设经费资助项目。
优先出版：http://www.cnki.net/kcms/detail/50.1046.r.20150708.2246.001.html (2015-07-08)

探针及可激活探针[7]，其中可激活探针又称为“智能探针”，这些探针在注射初始状态几乎无信号，一旦被某种特定的分子生物反应事件激活，在其作用位点可提供强烈信号，并被特定的成像设备检测，如荧光素激活探针、蛋白酶激活探针等[8]。

由于 MRI 具有精细的空间分辨率和极佳的组织分辨率，在分子影像学研究中具有其他影像技术不可比拟的优越性，是目前最理想的分子影像学分析技术，MRI 分子探针也成为目前研究的热点。

1.2 MRI 分子探针

1990 年，Weissleder 等[9]最早描述了用右旋糖酐包裹表面的超顺磁性氧化铁颗粒，实现了肝细胞的主动靶向性成像，开创了 MR 分子成像的先河。随着纳米科技、生物医学等相关学科的持续发展，MRI 分子探针的发展也在不断地进步，一系列有特色、创新的分子探针不断地涌现。

通常，将 MRI 探针分为两类：一种是顺磁性探针，又称 T1 弛豫对比剂或阳性对比剂，以钆类（二乙三胺五醋酸钆，Dd-DTPA）应用最多，这是因为 Gd^{3+} 局域有 7 个不成对的电子，通过减小周围组织中水质子的自旋-晶格弛豫时间，能够增加这些质子的信号强度，从而提高组织的对比度。对于这类探针的制备，通常情况下均通过化学结合法完成，即将 Gd^{3+} 通过螯合物连接在大分子物质上，以实现特定分子的MR成像[10]；另一种是超顺磁性探针，如氧化铁纳米颗粒，又称 T2 弛豫对比剂或阴性对比剂，由氧化铁微粒（Fe_3O_4）或晶体组成，通过干扰局部磁场的均匀性而导致横向弛豫时间加速，使 T2 加权图像信号减低变暗，借此增强组织间的对比度。由于氧化铁颗粒在血液中的半衰期较短，容易被网状内皮系统吞噬，靶向性较差，需要进行特殊的表面修饰，修饰后的氧化铁颗粒粒径明显变小，电荷发生改变，能够逃避网状内皮系统的吞噬作用，在血液中循环的时间较长，极大增加了其靶向性[11]。

由于分子探针的物理特性不同，根据研究目的对其进行表面修饰，能够明显增加其进入组织或细胞的含量，从而最大程度地发挥其作用[12]。常用的表面修饰有 2 种方式，即添加表面活性剂和交换表面活性剂[13]，例如，利用生物相容性好的高分子材料（如葡聚糖）包裹金属粒子，将功能化磷脂质包被至粒子表面，可提高其亲水性[14]；或者通过生物素、-COOH、-SH 或-NH2 等基团，将 DNA 片段、蛋白质、多肽或抗体链接在磁性粒子上，在调节粒子生物相容性的同时，还能提高探针的靶向能力[15]。对于生长速度较快的细胞，尤其是肿瘤细胞，也可将其过度表达物质（如叶酸、抗体等）的受体与分子探针相耦合，通过所谓的“受体介导的胞吞作用”，来制备肿瘤细胞特异性靶向探针[16]。据文献报道[17]，利用抗血管内皮生长因子受体 2（vascular endothelial growth factor receptor 2，VEGFR2）抗体链接白蛋白、生物素及 Gd-DTPA 制成靶向分子探针，对大鼠 C6 胶质瘤 VEGFR2 进行活体 MR 成像，可清楚观察到肿瘤部位的信号增强。也有学者利用反义基因技术，通过碱基互补原理，将与目标 DNA 或 RNA 特定互补的短链核苷酸链接至 MR 对比剂，制成了高度特异性分子探针，并能进行活体动物的 MR 成像，如 Ren 等[18]通过 DOTA 螯合剂将人端粒酶逆转录酶反义核苷酸（human telomerase reverse transcriptase antisense oligonucleotide，hTERT ASON）标记在 Gd^{3+} 上，制备成反义探针 Dd-DOTA-ASON，转染人肺腺癌 A549 裸鼠模型并行 MR 成像，不但观察到肿瘤的 T1 信号强度明显高于对照组，且病理检查还提示此反义探针对 A549 肿瘤的生长有一定的抑制作用。

相对于反义基因技术，基因干扰技术对肿瘤细胞的抑制作用更完全、特异性更高[19]，将小干扰 RNA（small interference RNA，siRNA）携带至分子探针上，则可制成具有更高特异性、同时具备诊断及治疗双功能的 MR 分子探针。

2 RNA 干扰（RNA interference，RNAi）

RNAi 是指在真核生物进化过程中高度保守的、由双链 RNA（double-strended RNA，dsRNA）诱发的、同源 mRNA 高效特异性降解的现象，最终导致蛋白质的翻译过程终止，即产生特异性基因沉默[20]。近几年来，RNAi 研究取得了突破性进展，被 *Science* 杂志评为 2001 年的十大科学进展之一，并名列 2002 年十大科学进展之首。由于使用 RNAi 技术可以特异性剔除或关闭特定基因的表达，所以该技术已被广泛用于探索基因功能和恶性肿瘤的基因治疗领域[21]。

2.1 RNAi 的作用机制

外源性基因随机整合到宿主细胞基因组内，并利用宿主细胞进行转录时，常产生一些 dsRNA 片段。宿主细胞胞质中的核酸内切酶 Dicer 将 dsRNA 切割成多个具有特定长度和结构的小片段 RNA（约 21~23 bp，即 siRNA）。siRNA 再与核酶复合物结合，形成 RNA 介导的沉默复合物（RNA-induced silencing complex，RISC），RISC 兼备核酸酶及解旋酶的作用，能特异性降解与 siRNA 同源的靶 mRNA。在 ATP 供能条件下，RISC 中的一个核心组分核酸内切酶 Argonaute（Ago）负责催化 siRNA，其中一条链去寻找互补的 mRNA 链，然后对 mRNA 进行切割，被切割后断裂的 mRNA 随机降解，从而诱发宿主细胞针对这些 mRNA 的降解反应[22]。siRNA 不仅能引导 RISC 切割同源单链 mRNA，还可作为引物与靶 RNA 结合，并在 RNA 聚合酶（RNA-dependent RNA polymerase，RdRP）作用下，合成更多新的 dsRNA，这些新合成的 dsRNA 再被 Dicer 切割，产生大量的次级 siRNA，导致产生级联放大的瀑布效应，最终将靶 mRNA 完全降解。

研究发现[23]，RNA 干扰除了可由小干扰 RNA（siRNA）介导外，也可由微干扰 RNA（micro interference RNA，miRNA）及短发卡 RNA（short hairpin RNA，shRNA）介导。

2.2 RNAi 技术用于卵巢癌的基因治疗

RNAi 对肿瘤如卵巢癌进行基因治疗研究，主要集中在与肿瘤发生和转移相关基因（如癌基因、抑癌基因、肿瘤转移

相关基因）以及耐药基因、细胞凋亡、信号转导、有丝分裂有关的基因方面。例如，已有学者将针对原癌基因 HER2/neu、Hras 等的 siRNA 转染卵巢癌细胞株，观察到肿瘤细胞的增殖能够受到有效抑制[24-25]。癌症高表达基因 1（highly expressed in cancer gene 1，Hec1）在细胞的有丝分裂中起重要作用，Numnum 等[26]以腺病毒作为载体，将 Hecl siRNA 转染卵巢癌细胞株 HEY 和 SKOV3，发现转染后的癌细胞中 Hecl 表达明显减少，凋亡率明显增高。

近年来，针对肿瘤形成的多种调节因子的靶向治疗也取得了一定的进展。例如，血管内皮生长因子（vascular endothelial growth factor，VEGF）是公认的调节、促进肿瘤新生脉管形成最主要的一组因子，与肿瘤的预后密切相关。研究发现，在卵巢癌细胞中，VEGF 也存在着过表达，学者们除了将靶点直接定位于 VEGF 进行研究外[27-28]，还对能够调节 VEGF 表达的基因或信号通路[29-30]，如细胞外基质金属蛋白酶（extracellular matrix metalloproteinase inducer，EMMPRIN）、Akt3 等进行研究。另外，Sasaroli 等[31]对卵巢癌中的 ADAM12、CDCP1、CSPG2 等 13 种肿瘤血管标记物研究后，认为它们可望成为卵巢癌靶向治疗与诊断的新方向。同样，胰岛素样生长因子-Ⅰ受体（insulin-like growth factor-Ⅰ receptor，IGF-IR）也广泛表达于多种类型的肿瘤细胞表面，与细胞的增殖分化密切相关。An 等[32]将构建的 IGF-IR 基因 RNAi 质粒，通过脂质体法转染入人卵巢癌 OVCAR3 细胞中，发现 IGF-IR 的 mRNA 及蛋白水平均明显降低，表明针对 IGF-IR 的 siRNA 导入细胞后，显著抑制了内源性 IGF-IR 的表达，他们还通过观察转染后细胞的增殖情况，发现 IGF-IR 的 siRNA 能够显著抑制 OVCAR3 细胞的增殖。

针对与肿瘤浸润、转移的相关基因为靶点的 RNAi 治疗，也可在抑制卵巢癌的进展方面发挥重要作用。研究[33]发现，CXCL12-CXCR4 信号通路与卵巢癌的增殖和播散有关，通过 AMD3100 阻断该信号通路，可抑制肿瘤的生长与转移，尤其是进展期肿瘤，明显提高了患者的生存率。若 IQGAP1 过度表达，通常提示卵巢腺癌患者预后不良，Dong 等[34]制备了靶向 IQGAP1 的 shRNA，以质粒作为载体转染卵巢癌细胞株 HO-8910PM，实验结果显示癌细胞中 IQGAP1 mRNA 和蛋白的水平明显降低，癌细胞浸润力和转移力同样明显下降，这一结论为临床治疗提供了新的思路。

3 卵巢癌的 MR 分子探针研究进展

3.1 单模态 MR 分子探针

这类探针通常选用靶向性强的配基偶联分子，以减少对非靶脏器的干扰。就卵巢癌而言，研究中常使用的配基包括受体、单克隆抗体（monoclonal antibody，mAb）以及多肽等。Zhen 等[35]针对卵巢癌 IGROV-1 细胞株过表达的叶酸受体，将由亲水基包裹的钆二聚体螯合物与叶酸配基相偶联，制成 P886 探针，该探针转染 IGROV-1 细胞后，体外 MR 成像可检测到细胞中的 T1 信号明显增高。Quan 等[36]将卵巢癌单克隆抗体（ovarian cancer monoclonal antibodies 183B2，OCMab 183B2）与超微型超顺磁性氧化铁颗粒（USPIOs）共轭连接后制成分子探针，并转染卵巢癌裸鼠模型，普鲁士染色显示该探针的转染率可达 96.06%，而活体 MR 扫描可观察到肿瘤组织的 T2 信号明显降低。Li 等[37]利用化学合成法，将LTVSPWY-PEG-CS（LTVSPWY peptide-modified PEGylated chitosan）七肽小分子，修饰氧化铁颗粒，并连接聚乙二醇、壳聚糖制成的分子探针，可在体外有效转染高表达 HER2 的卵巢癌 SKOV3 细胞系，并被 MR 扫描所检测到。

3.2 双或多模态 MR 分子探针

目前临床应用的任何一种成像技术，都存在自身的优缺点，不能完美地提供检测脏器的所有信息；而单模态的分子探针，也不能提供组织器官所有的结构、功能和分子的信息。为了克服这些缺陷，学者们开始研究双模态或者多模态分子探针，即综合两种或多种不同模态探针的优点，制成“一体化”的分子探针，使其在诊断治疗和监测等方面可获得一些全新的信息。文献报道，将 MR 与其他成像技术进行联合制成的分子探针，如 MRI-光学探针、PET-MRI 探针或 MRI-荧光探针等，不仅能够提供高分辨率的组织结构信息，也能实现高灵敏的功能学成像[38-39]。Chen 等[40]将氨基功能化后的量子点（quantum dots，QD）与 VEGF 蛋白结合后，并连接DOTA-64Cu，制备 PET/NIFR 双功能探针，对肿瘤 U87MG 的 VEGFR 进行成像，相较于对照组，经近红外线成像及 microPET均可观察到肿瘤信号的明显增高，且高于肝、脾、淋巴结等网状内皮系统的信号摄取。间皮素（mesothelin，MSLN）与细胞的黏附相关，在卵巢癌中存在过度表达，而人鼠嵌合单克隆抗体（mouse-human chimeric monoclonal antibody，chAb）中的 MORAb-009，对间皮素有高度亲和力，Shin 等[41]将 MORAb-009 与金属螯合物 CHX-A”-DTPA 链接形成 CHX-A”-DTPA-MORAb-009，再用 111In 进行放射标记，制备的探针放射化学纯度可达>98%，将该探针注射种植了 A431/K5 细胞株的裸鼠，发现肿瘤细胞内的放射性集聚明显高于对照组，研究结果提示了一种有潜力的肿瘤诊治新方法。整合素在多种肿瘤表面和新生血管内皮细胞中有高表达，对肿瘤血管生成起着重要作用，其中 αvβ3 的作用尤为重要，Cui 等[42]设计合成了一种以 RGD 修饰表面的氧化铁颗粒，该分子探针标记有绿色荧光蛋白（green fluorescent protein，GFP）及铁蛋白，通过同步荧光显像及 MR 成像可观察到该探针能特异性的识别并成功转染高表达整合素 αvβ3 的肿瘤，体外 MR 成像显示 T2WI 信号与探针含量呈反比，也为早期检出高表达整合素的肿瘤（如卵巢癌等）提供了一种新策略。

3.3 RNAi 技术用于卵巢癌的 MR 分子探针

鉴于 RNAi 技术对恶性肿瘤等的特异性基因沉默作用，设想构建携带有 siRNA 的分子影像探针，可望在对肿瘤进行特异性分子成像的同时，还能进行靶向的基因治疗，即制备诊治一体化的分子探针。对此，学者们做出了相关研究，并取

得了一定的进展。

Kang等[43]以人端粒酶逆转录酶(hTERT)为兴趣靶点，制成由 99mTc 放射标记的携带有 siRNA 的 NHS-MAG3 分子探针，在转染 HepG2 肿瘤株后，发现该探针在血清内具有较强的稳定性，与对照组相比，具有更高的肿瘤摄取率及滞留率，且 siRNA 的活性不受影响，对 hTERT 的 mRNA 及蛋白产物具有明显的抑制作用，抗肿瘤效应明显，并能为 γ 照相机闪烁成像体外所监测到。Kumar 等[44]将超顺磁性氧化铁颗粒、靶向 uMUC-1 的小分子多肽 EPPT 以及人工合成的靶向肿瘤特异性抗凋亡基因 BIRC5 的 siRNA 连接，合成了一种“肿瘤靶向纳米级药物”(MN-EPPT-siBIRC5)，再标记上 Cy5.5，用于近红外线光学成像，并成功转染人乳腺癌 BT-裸鼠模型，通过在 MRI 及近红外线成像的观察下，检测到药物的传递过程及利用效率，并发现明显的抗凋亡基因 birc5 出现低表达，肿瘤细胞组较对照组出现更多的坏死及凋亡小体，这些现象表明实验出现了强烈的基因沉默效应，并为大多数高表达 birc5 基因的肿瘤(如乳腺癌、卵巢癌及胰腺癌等)的治疗提供了新依据。有学者[45]将人工合成的肿瘤细胞特异性单链抗体 scAbGD2 连接上超顺磁性氧化铁颗粒，制成低细胞毒性的靶向非病毒载体分子探针(scAbGD2-PEG-g-PEI-SPION)，携带针对 Bcl-2 的 siRNA 递送至肿瘤细胞内，发现该基因的 mRNA 表达明显受抑制(可达 46.34%)，并可促进肿瘤凋亡(肿瘤细胞凋亡达 50.76%)，体外 MR 扫描结果提示随着探针内铁离子浓度的增高，肿瘤的信号随之下降；众所周知，Bcl-2 作为一种肿瘤凋亡抑制基因，与肿瘤发生、发展有密切关系，在部分上皮性卵巢癌细胞中出现高表达，scAbGD2-PEG-g-PEI-SPION 分子探针的合成也为卵巢癌的分子显像方法提供了新思路。

本实验组选择卵巢癌表皮生长因子受体作为研究靶点，成功将多聚赖氨酸修饰的超顺磁性氧化铁(superparamagnetic iron oxide modified with Poly-L-lysine，SPIO-PLL)连接质粒 pGenesil1-shRNA，构建 SPIO-PLL-pshRNA 分子探针，观察到该探针在体外能成功转染卵巢癌细胞，在 SPIO-PLL 和质粒质量比达 6:1 时，二者可有效结合，并能有效降低磁共振 T2* 信号强度，且随探针浓度的升高，信号强度成比例降低。

4 存在的问题和前景展望

RNAi 比反义寡核苷酸及基因敲出等技术对肿瘤细胞的抑制性更完全，虽显示出极大的应用潜力，但目前对 RNAi 的研究仍停留在细胞和动物实验水平，进一步应用还有待大力的研究。此外，虽然 RNAi 对基因沉默具有特异性，但在某些实验情况下，siRNA 会引起脱靶效应[46]；载体系统转染效率不高、siRNA 在体内稳定性差等，这也是当前 RNAi 技术应用于临床的最大难题。

分子探针的开发与设计是分子影像技术的关键，目前能够有效应用于临床的分子探针并不多，而探针的研究也依赖着纳米技术、生物分子、材料科学等相关学科的发展以及学科之间的有效合作。利用多种先进技术和方法(如基因重组技术、基因干扰技术或组合化学手段)，设计出更新颖、特异性更强、灵敏度更高、具有诊治双功能的、多模态分子探针并应用至临床是未来分子影像学所需要努力的方向。

参 考 文 献

[1] Alberti C.From molecular imaging in preclinical/clinical oncology to theranostic applications in targeted tumor therapy[J].Eur Rev Med Pharmacol Sci,2012,16(14):1925-1933.

[2] Nilvebrant J,Astrand M,Georgieva-Kotseva M,et al.Engineering of bispecific affinity proteins with high affinity for ERBB2 and adaptable binding to albumin[J].PLoS One,2014,9(8):e103094

[3] Qawasmi I,Shmuel M,Eyal S.Interactions of ABCG2(BCRP) with epidermal growth factor receptor kinase inhibitors developed formolecular imaging[J].Front Pharmacol,2014(5):257-261.

[4] Wilson KE,Wang TY,Willmann JK.Acoustic and photoacoustic molecular imaging of cancer[J].J Nucl Med,2013,54(11):1851-1854.

[5] Liu Y,Yang Y,Zhang C.A concise review of magnetic resonance molecular imaging of tumor angiogenesis by targeting integrin αvβ3 with magnetic probes[J].Int J Nanomedicine,2013(8):1083-1093.

[6] Chen K,Chen X.Design and development of molecular imaging probes[J].Curr Top Med Chem,2010,10(12):1227-1236.

[7] Kobayashi H,Longmire MR,Oqawa M,et al.Rational chemical design of the next generation of molecular imaging probes based on physics and biology:mixing modalities,colors and signals[J].Chem Soc Rev,2011,40(9):4626-4648.

[8] Watanabe R,Sato K,Hanaoka H,et al.Minibody-indocyanine green based activatable optical imaging probes:the role of short polyethylene glycol linkers[J].ACS Med Chem Lett,2014,5(4):411-415.

[9] Obr AE,Edwards DP.The biology of progesterone receptor in the normal mammary gland and in breast cancer[J].Mol Cell Endocrinol,2012,357(1-2):4-17.

[10] Ratzinger G,Agrawal P,Körner W,et al.Surface modification of PLGA nanospheres with Gd-DTPA and Gd-DOTA for high-relaxivity MRI contrast agents[J].Biomaterials,2010,31(33):8716-8723.

[11] Figuerola A,Di Corato R,Manna L,et al.From iron oxide nanoparticles towards advances iron-based inorganic materials designed for biomedical applications[J].Pharmacol Res,2010,62(2):126-143.

[12] Agrawal A,Deo R,Wang GD,et al.Nanometer-scale mapping and single-molecular detection with color-coded nanoparticle probes[J].Proc Natl Acad Sci USA,2008,105(9):3298-3303.

[13] Ittrich H,Peldschus K,Raabe N,et al.Superparamagnetic iron oxide nanoparticles in biomedicine:applications and developments in diagnostics and therapy[J].Rofo,2013,185(12):1149-1166.

[14] Choi IA,Li Y,Kim da J,et al.Ultra-small,uniform,and single bcc-phased Fe(x)Co(1-x)/graphitic shell nanocrystals for T1 magnetic resonance imaging contrast agents[J].Chem Asian J,2013,8(1):290-295.

[15] Ho D,Sun X,Sun S,Sun S.Monodisperse magnetic nanoparticles for theranostic applications[J].Acc Chem Res,2011,44(10):875-882.

[16] Yuan Z,Li WT,Ye XD,et al.Folate receptor-mediated targeted polymeric gadolinium complexes for magnetic resonance imaging in pulmonary tumor xenografts[J].Exp Ther Med,2012,3(5):903-907.

[17] He T,Smith N,Saunders D,et al.Molecular MRI assessment of vascular endothelial growth factor receptor-2 in rat C6 gliomas[J].J Cell Mol Med,2011,15(4):837-849.

[18] Ren BX,Yang F,Zhu GH,et al.Magnetic resonance tumor targeting imaging using gadolinium labeled human telomerase reverse transcriptase antisense probes[J].Cancer Sci,2012,103(8):1434-1439.

[19] Jing J,Li P,Li T,et al.RNA interference targeting connective tissue growth factor inhibits the transforming growth factor-β 2 induced proliferation in human tenon capsule fibroblasts [J].J Ophthalmol,2013 (2013):798-816.

[20] Yang S,Chen Y,Ahmadie R,et al.Advancements in the field of intravaginal siRNA delivery[J].J Control Release,2013,10,167(1):29-39.

[21] Bora RS,Gupta D,Mukkur TK,et al.RNA interference therapeutics for cancer:challenges and opportunities (review)[J].Mol Med Rep,2012,6(1):9-15.

[22] Scaggiante B,Dapas B,Farra R,et al.Improving siRNA bio-distribution and minimizing side effects[J].Curr Drug Metab,2011,12(1):11-23.

[23] Burnett JC,Rossi JJ.RNA-based therapeutics:current progress and future prospects[J].Chem Biol,2012,19(1):60-71.

[24] Tai W,Mahato R,Cheng K.The role of HER2 in cancer therapy and targeted drug delivery[J].J Control Release,2010,146(3):264-275.

[25] Wang Z,Hou J,Lu L,et al.Small ribosomal protein subunit S7 suppresses ovarian tumorigenesis through regulation of the PI3K/AKT and MAPK pathways[J].PLoS One,2013,8(11):e79117.

[26] Numnum TM,Makhija S,Lu B,et al.Improved anti-tumor therapy based upon infectivity——enhanced adenoviral delivery,of RNA interference in ovarian carcinoma cell lines [J].Gynecol Oncol,2008,108(1):34-41.

[27] Leng R,Zha L,Tang L.MiR-718 represses VEGF and inhibits ovarian cancer cell progression[J].FEBS Lett,2014,588(12):2078-2086.

[28] Zhou J,Gan N,Zhang W,et al.Proliferation suppression and apoptosis of ovarian carcinoma cells induced by small interfering RNA against vascular endothelial growth factor[J].J Obstet Gynaecol Res,2010,36(2):232-238.

[29] Zhao Y,Chen S,Gou W,et al.The role of EMMPRIN expression in ovarian epithelial carcinomas[J].Cell Cycle,2013,12(17):2899-2913.

[30] Liby TA,Spyropoulos P,Buff Lindner H,et al.Akt3 Controls VEGF secretion and angiogenesis in ovarian cancer cells[J].Int J Cancer,2012,130(3):532-543.

[31] Sasaroli D,Gimotty PA,Pathak HB,et al.Novel surface targets and serum biomarkers from the ovarian cancer vasculature[J].Cancer Biol Ther,2011,12(3):169-180.

[32] An Y,Cai Y,Guan Y,et al.Inhibitory effect of small interfering RNA targeting insulin-like growth factor-I receptor in ovarian cancer OVCAR3 cells[J].Cancer Biother Radiopharm,2010,25(5):545-552.

[33] Ray P,Lewin SA,Mihalko LA,et al.Noninvasive Imaging Reveals Inhibition of Ovarian Cancer by Targeting CXCL12-CXCR4[J].Neoplasia,2011,13(12):1152-1161.

[34] Dong PX,Jia N,Xu ZJ,et al.Silencing of IQGAP1 by shRNA inhibits the invasion of ovarian carcinoma HO-8910PM cells in vitro[J].J Exp Clin Cancer Res,2008(27):77.

[35] Wang ZJ,Boddington S,Wendland M,et al.MR imaging of ovarian tumors using folate-receptor targeted contrast agents[J].Pediatr Radiol,2008,38(5):529-537.

[36] Quan G,Du X,Huo T,et al.Targeted molecular imaging of antigen OC183B2 in ovarian cancers using MR molecular probes[J].Acad Radiol,2010,17(12):1468-1476.

[37] Jie LY,Cai LL,Wang LJ,et al.Actively-targeted LTVSPWY peptide-modified magnetic nanoparticles for tumor imaging[J].Int J Nanomedicine,2012(7):3981-3989.

[38] Hingtgen S,Figueiredo JL,Farrar C,et al.Real-time multi-modality imaging of glioblastoma tumor resection and recurrence[J].J Neurooncol,2013,111(2):153-161.

[39] Lee S,Chen X.Dual-modality probes for in vivo molecular imaging[J].Mol Imaging,2009,8(2):87-100.

[40] Chen K,Li ZB,Wang H,et al.Dual-modality optical and positron emission tomography imaging of vascular endothelial growth factor receptor on tumor vasculature using quantum dots[J].Eur J Nucl Med Mol Imaging,2008,35(12):2235-2244.

[41] Shin IS,Lee SM,Kim HS,et al.Effect of chelator conjugation level and injection dose on tumor and organ uptake of 111In -labeled MORAb-009,an anti-mesothelin antibody[J].Nucl Med Biol,2011,38(8):1119-1127.

[42] Li K,Zhang ZP,Luo M,et a1.Multifunctional ferritin cage nanostructures for fluorescence and MR imaging of tumor cells[J].Nanoscale,2012,4(1):188-193.

[43] Kang L,Wang RF,Yan P,et al.Noninvasive Visualization of RNA Delivery with 99mTc-Radiolabeled Small-Interference RNA in Tumor Xenografts[J].J Nucl Med,2010,51(6):978-986.

[44] Kumar M,Yigit M,Dai G,et al.Image-Guided Breast Tumor Therapy Using a siRNA Nanodrug[J].Cancer Res,2010,70(19):7553-7561.

[45] Shen M,Gong F,Pang P,et al.An MRI-visible non-viral vector for targeted Bcl-2 siRNA delivery to neuroblastoma[J].Int J Nanomedicine,2012(7):3319 - 3332.

[46] Deng Y,Wang CC,Choy KW,et al.Therapeutic potentials of gene silencing by RNA interference:principles,challenges,and new strategies[J].Gene,2014,538(2):217-227.

(责任编辑:冉明会)