

• 基础论著 •

# Notch1 siRNA 对骨髓瘤细胞硼替佐米药物敏感性的影响

刘琰 李纯璞 刘双 毕高峰 李斑斑 滕清良 郭冬梅

**【摘要】** 目的 探讨 Notch1 siRNA 对体外内人骨髓瘤细胞 RPMI-8226 细胞硼替佐米药物敏感性的影响。方法 体外采用 Notch1 siRNA 转染 RPMI-8226 细胞, CCK-8 实验检测细胞增殖及硼替佐米药物的敏感性; Western blot 检测各组细胞 Notch1 蛋白表达变化; 将 RPMI-8226 细胞皮下注射于 NOD/SCID 小鼠, 建立人多发性骨髓瘤(MM)小鼠移植瘤模型, 将成瘤小鼠分为三组: NS+bortezomib (Notch1 siRNA 转染联合硼替佐米)组; CS+bortezomib (Control siRNA 转染联合硼替佐米)组; UN+bortezomib (硼替佐米)组, 观察各组肿瘤体积变化, 免疫组化染色法观察 Notch1 变化, TUNEL 法检测细胞凋亡。结果 Notch1 siRNA 有效下调骨髓瘤细胞 RPMI-8226 细胞 Notch1 蛋白表达; Notch1 siRNA 在 96 h 抑制细胞增殖作用明显增加, 与 CS 及 UN 组比较对细胞增殖的作用可见明显差异 ( $P<0.01$ ); Notch1 siRNA 转染组细胞对硼替佐米  $IC_{50}$  值为  $1.21 \mu\text{mol/L}$ , 与 Control siRNA 转染组及未转染组相比均存在统计学差异 ( $P<0.01$ ); Notch1 siRNA 降低移植瘤 Notch1 蛋白表达, Notch1 siRNA 转染组细胞的 AI 明显高于 Control siRNA 转染组及未转染组 ( $P<0.01$ ); Notch1 siRNA 转染联合硼替佐米组肿瘤体积明显减小, 13、17 及 21 d 与 Control siRNA 转染联合硼替佐米组比较均有统计学差异 ( $P<0.05$ )。结论 体外实验 Notch siRNA 抑制人骨髓瘤细胞 RPMI-8226 细胞增殖增加硼替佐米的敏感性, 体内试验证实 Notch siRNA 联合硼替佐米可以明显减小荷瘤 MM 小鼠肿瘤体积、增加凋亡, 提示 Notch1 是治疗 MM 的有效分子靶点。

**【关键词】** 多发性骨髓瘤; RNA, 小分子干扰; 小鼠, 近交 NOD; Notch 信号通路; 硼替佐米

**Effects of Notch1 siRNA on bortezomib sensitivity in a NOD/SCID mouse model of multiple myeloma** Liu Yan\*, Li Chunpu, Liu Shuang, Bi Gaofeng, Li Banban, Teng Qingliang, Guo Dongmei.

\*Department of Hematology, Qilu Hospital of Shandong University, Jinan 250012, China

Corresponding author: Guo Dongmei, Email: dongmeiguo@aliyun.com

**【Abstract】** **Objective** To study the effect of Notch1 siRNA on human myeloma cell line RPMI-8226 cells to bortezomib sensitivity *in vitro* and *in vivo*. **Methods** Notch1 siRNA was transfected into RPMI-8226 cells, and cell proliferation and drug sensitivity was detected by CCK-8 assay. The expression of Notch1 protein was detected by Western blot. RPMI-8226 cells were subcutaneously implanted in NOD/SCID mice, the mice were divided into three groups: NS+bortezomib (Notch1 siRNA transfection combined with bortezomib) group; CS+bortezomib (Control siRNA transfection in combination with bortezomib) group; UN+bortezomib (bortezomib) group. The changes of tumor volume were observed. The immunohistochemical staining method was used to observe the expressions of Notch1. TUNEL was used to detect apoptosis. **Results** Notch1 siRNA can effectively inhibit the expression of Notch1 protein in myeloma RPMI-8226 cells; Notch1 siRNA significantly inhibited cell proliferation at 96 hours, and there were obvious difference compared with the CS and UN groups on the cell proliferation

DOI:10.3877/cma.j.issn.1674-0785.2014.19.013

基金项目: 山东省优秀中青年科学家科研奖励基金 (BS2013SF030); 山东省自然科学基金 (2009ZRA09006, ZR2012HL38)

作者单位: 250012 济南, 山东大学齐鲁医院血液内科 (刘琰); 泰安市中心医院骨科 (李纯璞), 血液内科 (刘双、毕高峰、李斑斑、滕清良、郭冬梅)

通讯作者: 郭冬梅, Email: dongmeiguo@aliyun.com

( $P < 0.01$ ); IC50 value of bortezomib in NS group was 1.21  $\mu\text{mol/L}$ , and there were obvious difference compared with the CS and UN groups ( $P < 0.01$ ); Notch1 siRNA decreased expression of Notch1 protein in tumor cells; AI in NS group was significantly higher than that of CS group and non transfection group ( $P < 0.01$ ); Tumor volume in Notch1 siRNA transfection in combination with bortezomib group was significantly reduced at 17 d, 13 d, and 21 d, compared with control siRNA transfection in combination with bortezomib group ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** *In vitro*, Notch siRNA inhibits the proliferation of human myeloma RPMI-8226 cells, and increases bortezomib sensitivity. *In vivo*, tumor volume in Notch1 siRNA transfection in combination with bortezomib group is significantly reduced, and the apoptosis in NS group is increased, suggesting that Notch1 is an effective molecular target in the treatment of myeloma.

**【Key words】** Multiple myeloma; RNA, small interfering; Mice, inbred NOD; Notch signal pathway; Bortezomib

多发性骨髓瘤 (multiple myeloma, MM) 是一种浆细胞异常克隆性增殖的恶性疾病, 尽管近年来骨髓瘤的诊断治疗水平有了很大的提高, 但骨髓瘤治疗效果远未达到令人满意的程度<sup>[1]</sup>。临床应用中, 新药硼替佐米疗效不佳的难治性病例亦不少见。新近研究表明, Notch 信号通路参与 MM 发生发展及耐药, 有研究表明采用 Notch 信号通路抑制剂 GSI 可增加硼替佐米敏感性<sup>[2]</sup>, 又有研究表明 Notch2 的激活参与硼替佐米的耐药<sup>[3]</sup>, 由于 GSI 作用底物多样性不能明确究竟 Notch 通路的哪个分子参与硼替佐米的耐药。为阐明 Notch1 在 MM 硼替佐米耐药中存在的作用, 我们利用 Notch1 siRNA 特异性下调 Notch1, 探讨 Notch1 siRNA 对体内外人骨髓瘤细胞 RPMI-8226 细胞硼替佐米药物敏感性的影响。

## 材料和方法

1. 细胞和试剂: 人 MM 细胞株 RPMI-8226 由山东大学齐鲁医院保存。胎牛血清 (FBS)、DMEM 细胞培养液购自 Gibco 公司; 苯甲基磺酰氟 (PMSF)、RIPA 裂解液、BCA 蛋白浓度测定试剂盒 (BCA Protein Assay Kit) 购自碧云天公司; Notch1 兔多抗、兔抗人  $\beta$ -actin 单克隆抗体、羊抗兔荧光二抗购自 Abcam 公司。Notch1 siRNA、Control siRNA 为上海吉玛公司产品, Opti-MEM、Lipofectamine<sup>TM</sup>2000 为美国 Invitrogen 公司产品。TUNEL 凋亡试剂盒为德国罗氏公司产品。Notch1 siRNA 链由 25 个碱基组成, 针对的目的序列为 Notch1 的 RAM 区, 序列为: 5'-ACGAAGAACAGAAGCAAAGGCGG-3'<sup>[4]</sup>(前期研究基础), Control siRNA 5'-UUCUCCGAACGUGUCACGUTT-3'。

2. 细胞培养及 siRNA 转染: 将 MM 细胞株 RPMI-8226 培养于含有 10% FBS 的 DMEM 培养基

中, 在二氧化碳孵育箱中培养。取对数生长期细胞进行实验。以  $4 \times 10^5/\text{ml}$  密度接种细胞于 6 孔培养板进行转染。按转染试剂盒说明进行。分别设 Notch1 siRNA 转染组、Control siRNA 组及未转染组。继续培养 48 h, 收集细胞进行 Western-blot 检测。

3. CCK-8 实验检测细胞增殖: Notch1 siRNA 对 RPMI-8226 细胞增殖的影响: 将 Notch1 siRNA 转染组、Control siRNA 组及未转染组 RPMI-8226 细胞按  $5 \times 10^3$  个/孔, 接种于 96 孔板中。在 24、48、72、96 h 时间点, 根据 CCK-8 说明书操作, 酶联免疫检测仪测定 570 nm 处的吸光度 OD 值, 并记录结果。

检测各组细胞对硼替佐米药物的敏感性: 将取对数生长期 Notch1 siRNA 转染组、Control siRNA 组及未转染组 RPMI-8226 细胞, 按每孔  $5 \times 10^3$  个细胞, 接种至 96 孔圆底细胞培养板, 每个样本设 3 个复孔, 加入硼替佐米, 培养 2 d。设定硼替佐米的浓度梯度为 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0  $\mu\text{mol/L}$ ;  $(Y_1 - Y_2) / (X_1 - X_2) = M$ ;  $Y_1 - MX_1 = B$ ;  $B - 50 / -M = IC_{50}$ ,  $(X_1, Y_1)$  与  $(X_2, Y_2)$  分别为低于和高于 50% 抑制率的数值 ( $X$  为药物浓度,  $Y$  为抑制率)<sup>[5]</sup>。

4. RPMI-8226 荷瘤 NOD/SCID 小鼠模型的建立: 选择 4~6 周龄糖尿病抵抗/重症联合免疫缺陷 (NOD/SCID) 雌小鼠 18 只 (购于中国医学科学院实验动物研究所), 在层流架带盖鼠盒的 IVC 智能笼中饲养 (符合 SPF 级标准)。取对数生长期 RPMI-8226 细胞用 2% 台盼蓝计数活细胞数, 无血清的 DMEM 培养液洗涤后调整细胞密度为  $1 \times 10^8/\text{ml}$ , 每只 NOD/SCID 小鼠左腹股沟部皮下接种 0.2 ml (细胞数  $2 \times 10^7/\text{只}$ ), 共 18 只, 使之皮下

成瘤, 无菌环境下继续饲养 NOD/SCID 小鼠并定期观察皮下结节形成和生长状况。当肿瘤体积平均  $1.650 \text{ mm}^3$ , 动物被随机分成三组, 每组 5 只小鼠, siRNA 转染组小鼠每周瘤体内注射 2 次  $1.2 \text{ nmol}$  siRNA, 混合 opti-mem I medium 终体积为  $50 \mu\text{l}$ , 共 2 周。每组静脉注射硼替佐米 ( $0.75 \text{ mg/kg}$ ), 每周注射 2 次, 连续 2 周。每 4 天观察比较各组移植瘤的生长情况, 测定皮下肿瘤最长径 (a) 及垂直径 (d), 按公式  $v = \pi/6ad^2$  计算肿瘤相对体积。

5. Western-blot 观测 Notch1 蛋白水平表达的变化: 按时收集细胞,  $4^\circ\text{C}$  预冷的 PBS 洗涤收集细胞 2 次, 加入 RIPA 裂解液冰上作用 20 min 离心后上清液转移至新 EP 管。BCA 法测定蛋白浓度, 按比例加入  $5\times$  上样缓冲液,  $95^\circ\text{C}$  煮沸 5 min, 瞬间离心备用。SDS-PAGE 聚丙烯酰胺凝胶电泳, 浓缩胶电压  $60 \text{ V}$ , 35 min, 分离胶  $120 \text{ V}$ , 60 min。半干转膜仪转 PVDF  $200 \text{ mA}$ , 1 h。5% 牛奶封闭液封闭 1.5 h, TBST 洗膜 3 次, 一抗  $4^\circ\text{C}$  孵育过夜, TBST 洗膜 3 次, 二抗孵育室温 2 h, TBST 洗膜 3 次, 荧光显色。

6. 肿瘤免疫组织化学方法检测 Notch1 表达: 于 21 d 后颈椎脱臼法处死小鼠, 分离、摘除小鼠皮下瘤块, 用 10% 甲醛固定、石蜡包埋并进行免疫组织化学方法检测蛋白表达。免疫组化染色结果判定: 用已知阳性片作为阳性对照, PBS 代替一抗作阴性对照。结果以阳性细胞所占百分比表示, 即低倍镜下 (放大 40 倍) 随机选取 5 个视野, 每个视野计数 100 个细胞, 取其均值。

7. TUNEL 法检测细胞凋亡: 肿瘤细胞凋亡的检测参照 TUNEL 凋亡试剂盒说明书进行。实验设 DNase I 为阳性对照, 不含 TdT 反应液的阴性对照。结果以阳性细胞所占百分比表示, 即随机选取 10 个视野 ( $\times 200$ ), 每个视野计数 100 个细胞, 取其均值。凋亡指数 (apoptotic index, AI) (%) = (凋亡细胞数/肿瘤细胞总数)  $\times 100\%$ 。

8. 统计学分析: 采用 SPSS 13.0 软件分析。常规进行方差齐性检验和正态性分析检验。计量资料数据以均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示。两组资料之间采用独立样本的  $t$  检验, 以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 结 果

1. Notch1 siRNA 有效下调骨髓瘤细胞 Notch1 蛋白表达: Western blot 的结果显示, Notch1 siRNA 转

染组细胞 Notch1 的蛋白表达低于 Control siRNA 转染组细胞, 提示 Notch1 siRNA 有效下调 Notch1 蛋白的表达, 见图 1。

2. Notch1 siRNA 能抑制骨髓瘤细胞的增殖: CCK8 检测各组 OD 值, Notch1 siRNA 转染 48 h 后随着作用时间的延长, Notch1 siRNA 抑制细胞增殖作用明显增加, 96 h 与 CS 比较对细胞增殖的作用可见明显差异 ( $1.12 \pm 0.43$  vs.  $1.78 \pm 0.13$ ,  $t = 4.98$ ,  $P < 0.01$ ) (图 2), 而 Control siRNA 转染组与未转染组相比未见明显差异, 表明 Notch1 siRNA 能抑制骨髓瘤 RPMI-8226 细胞增殖。

3. Notch1 siRNA 能增加骨髓瘤细胞对硼替佐米的敏感性: CCK-8 实验结果显示 Notch1 siRNA 可增加 MM RPMI-8226 细胞对硼替佐米的敏感性。经统计学分析, Notch1 siRNA 转染组细胞对硼替佐米的  $\text{IC}_{50}$  值为 ( $1.21 \pm 0.19$ )  $\mu\text{mol/L}$ , 与 Control siRNA 转染组 ( $2.25 \pm 0.15$ )  $\mu\text{mol/L}$  相比存在统计学差异 ( $t = 7.44$ ,  $P < 0.01$ ), 见图 3。而 Control siRNA 转染组与未转染组相比未见明显差异。

4. Notch1 siRNA 对荷瘤小鼠肿瘤细胞 Notch1 蛋白表达及细胞凋亡的影响: 选择 4~6 周龄糖尿病抵抗/重症联合免疫缺陷 (NOD/SCID) 雌鼠, 取对数生长期的 RPMI-8226 细胞 ( $2 \times 10^7$ ) 皮下注射到雌鼠左腹股沟部, 每只无血清的细胞悬液  $0.2 \text{ ml}$ , 大约 5~7 d 摸到粟粒大小结节, 10~12 d 肿瘤明显生长 (图 4)。

Notch1 siRNA 转染组细胞的 Notch1 蛋白表达明显低于 Control siRNA 转染组及未转染组 ( $P < 0.01$ ), 而且 Notch1 siRNA 转染组细胞的 AI 明显高于 Control siRNA 转染组及未转染组 ( $P < 0.01$ ) (表 1, 图 5)。

表 1 Notch1 在小鼠瘤组织中的表达及各组凋亡指数变化 (% ,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	Notch1	AI
UN 组	$25.20 \pm 4.71$	$3.40 \pm 2.11$
CS 组	$25.80 \pm 4.97$	$4.60 \pm 3.23$
NS 组	$3.60 \pm 1.14^{ac}$	$18.80 \pm 3.54^{bd}$

注: 与 CS 组比较,  $^a t = 7.54$ ,  $^a P < 0.01$ ;  $^b t = 5.13$ ,  $^b P < 0.01$ 。与 UN 组比较,  $^c t = 7.72$ ;  $^c P < 0.01$ ;  $^d t = 6.47$ ,  $^d P < 0.01$

5. Notch1 siRNA 联合硼替佐米有效降低移植瘤的体积: 所有实验鼠经注射各处理组均无明显异常表现和毒副作用。在注射前, 各组肿瘤生长情况无明显区别。结果显示 Notch1 siRNA 转染联合

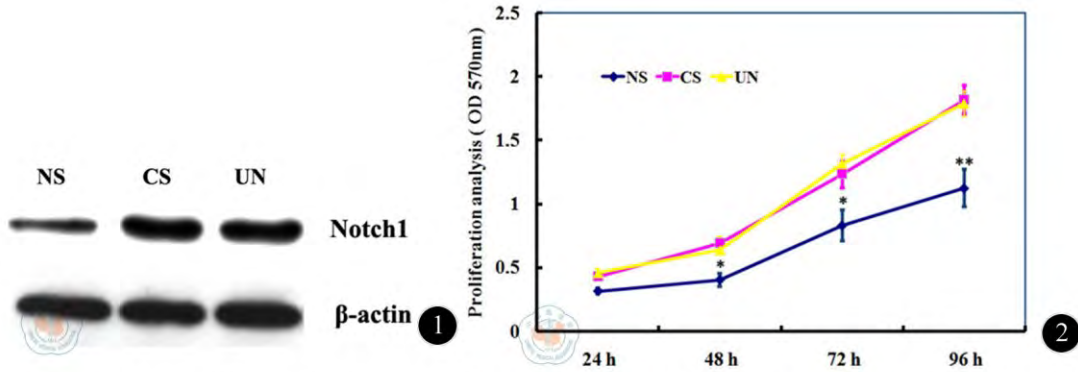


图1 各组细胞Notch1蛋白表达变化 (NS代表Notch1 siRNA转染组; CS代表Control siRNA转染组; UN代表未转染组)

图2 CCK-8检测各组骨髓瘤细胞增殖变化情况



图3 各组细胞IC50情况 图4 NOD/SCID小鼠成瘤图片

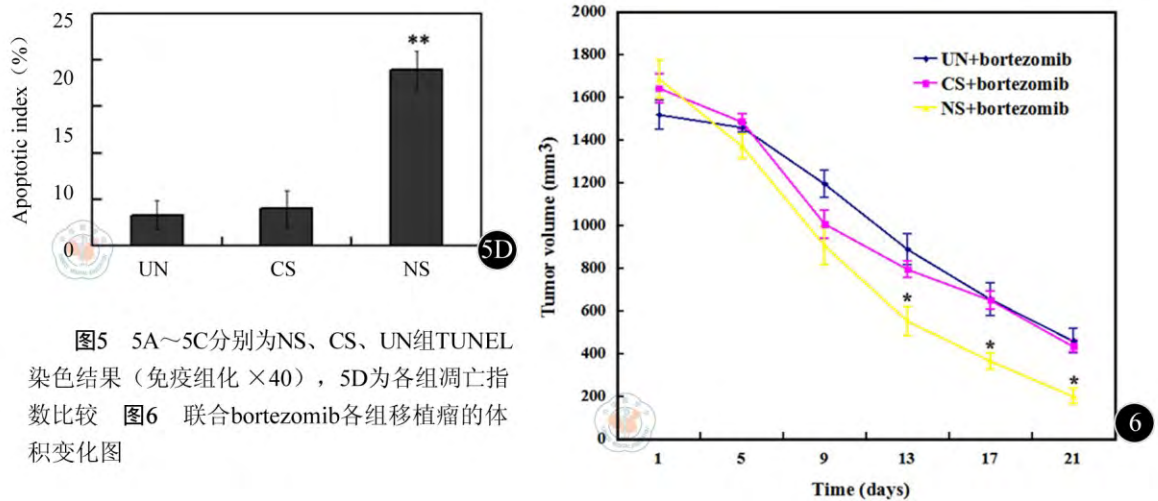
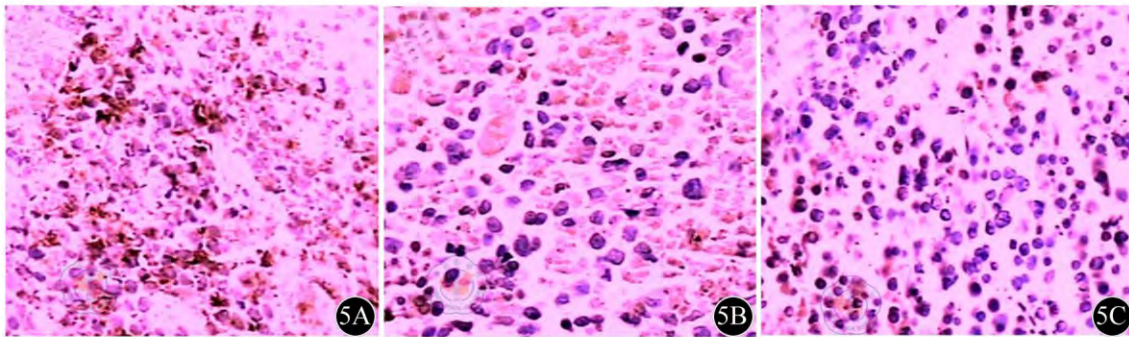


图5 5A~5C分别为NS、CS、UN组TUNEL染色结果 (免疫组化  $\times 40$ ), 5D为各组凋亡指数比较 图6 联合bortezomib各组移植瘤的体积变化图

硼替佐米组肿瘤体积明显减小, 13、17及21 d与 Control siRNA 转染联合硼替佐米组比较均有统计学差异[(432±120) mm<sup>3</sup> vs. (800±66) mm<sup>3</sup>,  $t=6.01$ ; (366±32) mm<sup>3</sup> vs. (633±84) mm<sup>3</sup>,  $t=6.64$ ; (200±66) mm<sup>3</sup> vs. (436±50) mm<sup>3</sup>,  $t=6.37$ , 均  $P<0.01$ ]; 而药物联合 Control siRNA 转染组或单纯药物组各时间点比较均无统计学差异。见图6。

## 讨 论

硼替佐米单独或与其他药物相结合治疗 MM 患者取得了很高的反应率<sup>[6]</sup>。尽管初治患者取得良好的疗效, 但多数患者最终依旧复发。对硼替佐米初治敏感的患者进一步利用硼替佐米治疗, 在临床应用中部分患者显示获得性耐药。此外, 约20%~30%的 MM 患者开始对硼替佐米治疗呈现原发耐药, 归为原发性难治性疾病<sup>[7-8]</sup>。研究显示多个信号通路及酶抑制剂参与硼替佐米耐药, 例如 NF- $\kappa$ B 通路等<sup>[9]</sup>, 而许多酶抑制剂或者诱导分化可克服其耐药<sup>[10-11]</sup>。

Notch1 参与 MM 发生及发展。Notch 配体在骨髓瘤干细胞的自我更新中起关键作用<sup>[12]</sup>。在我们前期工作中发现 Notch1 信号过度活化促进骨髓瘤血管新生<sup>[13]</sup>。研究显示 GSI 通过抑制 p-Akt 和 Bcl-2 的表达抑制 MM 增殖<sup>[14]</sup>。有研究发现三氧化二砷通过抑制 Notch 信号通路抑制 MM 增殖<sup>[15]</sup>。新近研究表明, Notch 信号通路抑制剂可克服骨髓瘤细胞耐药, 有研究表明采用 Notch 信号通路抑制剂 GSI 可增加硼替佐米敏感性<sup>[2]</sup>, 又有研究表明 Notch2 的激活参与硼替佐米的耐药<sup>[3]</sup>, 由于 GSI 作用底物多样性不能明确究竟 Notch 通路的哪个分子参与硼替佐米的耐药。为阐明 Notch1 在 MM 硼替佐米耐药中存在的作用, 我们利用 Notch1 siRNA 特异性下调 Notch1, 通过体内外实验探讨 Notch1 siRNA 对人骨髓瘤细胞 RPMI-8226 细胞硼替佐米药物敏感性的影响。

我们的结果显示 Notch1 siRNA 有效下调骨髓瘤细胞 RPMI-8226 细胞 Notch1 蛋白表达; Notch1 siRNA 在 96 h 抑制细胞增殖作用明显增加, 与 CS 及 NS 组比较对细胞增殖的作用可见明显差异 ( $P<0.01$ ); Notch1 siRNA 转染组细胞对硼替佐米 IC<sub>50</sub> 值为 1.21  $\mu$ mol/L, 与 Control siRNA 转染组及未转染组相比均存在统计学差异 ( $P<0.01$ );

Notch1 siRNA 转染组细胞的 AI 明显高于 Control siRNA 转染组及未转染组 ( $P<0.01$ ); Notch1 siRNA 转染联合硼替佐米组肿瘤体积明显减小, 13、17及21 d与 Control siRNA 转染联合硼替佐米组比较均有统计学差异 ( $P<0.05$ )。

综上所述, 我们的研究结果显示利用 Notch1 siRNA 可提高 MM 细胞对硼替佐米的敏感性, 证实 Notch1 参与 MM 细胞对硼替佐米的耐药, 同时揭示应用硼替佐米联合 Notch 抑制剂对骨髓瘤耐药患者具有较高的临床价值。

## 参 考 文 献

- [1] Abraham J, Salama NN, Azab AK. The role of p-glycoprotein in drug resistance in multiple myeloma[J]. *Leuk Lymphoma*, 2014: 1-8.
- [2] Chen F1, Pisklakova A, Li M, et al. Gamma-secretase inhibitor enhances the cytotoxic effect of bortezomib in multiple myeloma[J]. *Cell Oncol (Dordr)*, 2011, 34(6): 545-551.
- [3] Xu D, Hu J, De Bruyne E, et al. Dll1/Notch activation contributes to bortezomib resistance by upregulating CYP1A1 in multiple myeloma[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2012, 428(4): 518-524.
- [4] Guo D, Ye J, Dai J, et al. Notch-1 regulates Akt signaling pathway and the expression of cell cycle regulatory proteins cyclin D1, CDK2 and p21 in T-ALL cell lines[J]. *Leuk Res*, 2009, 33(5): 678-685.
- [5] Moussa O, Riker JM, Klein J, et al. Inhibition of thromboxane synthase activity modulates bladder cancer cell responses to chemotherapeutic agents[J]. *Oncogene*, 2008, 27(1): 55-62.
- [6] Richardson PG, Sonneveld P, Schuster M, et al. Extended follow-up of a phase 3 trial in relapsed multiple myeloma: final time-to-event results of the APEX trial[J]. *Blood*, 2007, 110(10): 3557-3560.
- [7] Moreau P, Richardson PG, Cavo M, et al. Proteasome inhibitors in multiple myeloma: 10 years later[J]. *Blood*, 2012, 120(5): 947-959.
- [8] Lonial S. Relapsed multiple myeloma[J]. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*, 2010, 2010: 303-309.
- [9] Fuchs O. Targeting of NF- $\kappa$ B signaling pathway, other signaling pathways and epigenetics in therapy of multiple myeloma[J]. *Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets*, 2013, 13(1): 16-34.
- [10] Que W1, Li S, Chen J. NS-398 enhances the efficacy of bortezomib against RPMI8226 human multiple myeloma cells[J]. *Mol Med Rep*, 2013, 7(5): 1641-1645.
- [11] Gu JL, Li J, Zhou ZH, et al. Differentiation induction enhances bortezomib efficacy and overcomes drug resistance in multiple myeloma[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2012, 420(3): 644-650.
- [12] Chiron D, Maïga S, Descamps G, et al. Critical role of the NOTCH ligand JAG2 in self-renewal of myeloma cells[J]. *Blood Cells Mol Dis*, 2012, 48(4): 247-253.
- [13] Guo D, Li C, Teng Q, et al. Notch1 overexpression promotes cell growth and tumor angiogenesis in myeloma[J]. *Neoplasma*, 2013, 60(1): 33-40.
- [14] Hu J, Zhu X, Lu Q. Antiproliferative effects of  $\gamma$ -secretase inhibitor, a Notch signalling inhibitor, in multiple myeloma cells and its

molecular mechanism of action[J]. J Int Med Res, 2013, 41(4): 1017-1026.

- [15] Hu J, Huang X, Hong X, et al. Arsenic trioxide inhibits the proliferation of myeloma cell line through notch signaling

pathway[J]. Cancer Cell Int, 2013, 13(1): 25.

(收稿日期: 2014-08-06)

(本文编辑: 梁雷)

刘琰, 李纯璞, 刘双, 等. Notch1 siRNA 对骨髓瘤细胞硼替佐米药物敏感性的影响[J/CD]. 中华临床医师杂志: 电子版, 2014, 8(19): 3477-3482.

