

曾灿,王可兵,曹石金. 雷公藤甲素负载外泌体抗小鼠前列腺癌作用分析 [J]. 中国比较医学杂志, 2020, 30(9): 49-53.
Zeng C, Wang KB, Cao SJ. Effect of triptolide-loaded exosomes on prostate cancer model mice [J]. Chin J Comp Med, 2020, 30(9): 49-53.
doi: 10.3969/j.issn.1671-7856. 2020.09.009

雷公藤甲素负载外泌体抗小鼠前列腺癌作用分析

曾 灿,王可兵*,曹石金

(深圳市南山区蛇口人民医院泌尿外科,广东 深圳 518067)

【摘要】 目的 探讨雷公藤甲素负载外泌体的抗小鼠前列腺癌作用。**方法** 实验分为对照组、TPL组和exo-TPL纳米粒组三组,MTT法观察细胞增殖抑制率,qPCR方法检测NF- κ B和p53表达情况。构建小鼠前列腺癌模型,从接种第8天开始,每周第1~2天给药,共给药2周,观察肿瘤体积和质量,记录小鼠的荷瘤生存期。观察不同组雷公藤甲素的血液药物浓度和组织分布情况。**结果** 与TPL组相比,exo-TPL纳米粒组对RM-1小鼠前列腺癌细胞的增殖抑制率明显提高,其NF- κ B mRNA表达水平显著降低,p53 mRNA表达水平显著升高。exo-TPL纳米粒组肿瘤体积和质量明显小于TPL组,生存期延长。与TPL组相比,exo-TPL纳米粒组可在血液和组织中保持更高的雷公藤甲素浓度。**结论** 与TPL组相比,exo-TPL纳米粒组可产生更强的抑制前列腺癌小鼠皮下瘤生长的作用。

【关键词】 前列腺癌;雷公藤甲素;外泌体

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2020)09-0049-05

Effect of triptolide-loaded exosomes on prostate cancer model mice

ZENG Can, WANG Kebing*, CAO Shijin

(Urology, Shenzhen Nanshan District Shekou People's Hospital, Shenzhen 518067, China)

【Abstract】 Objective To study the effect of triptolide-loaded exosomes in prostate cancer model mice. **Methods** A mouse model of prostate cancer was established and three groups of mice were prepared: control, TPL and exo-TPL groups. The MTT method was used to observe inhibition of cell proliferation. qPCR was used to detect the expression of NF- κ B and p53. On the 8th, 11th, 15th and 18th day after model induction, mice were administered TPL or exo-TPL. The volume and mass of tumors were observed and the survival time was recorded. The blood concentration and tissue distribution of triptolide were observed in the different groups. **Results** Compared with the TPL group, the inhibition of RM-1 prostate cancer cell proliferation was significantly increased in the exo-TPL nanoparticle group. The mRNA level of NF- κ B was significantly decreased, while that of p53 was significantly increased. The tumor volume and mass in the exo-TPL nanoparticle group were significantly smaller than those in the TPL group, and the survival time was prolonged. Compared with the TPL group, the exo-TPL nanoparticle group maintained higher concentrations of triptolide in blood and tissue. **Conclusions** Compared with TPL treatment, exo-TPL was more effective at suppressing prostate cancer.

【Keywords】 prostate cancer; triptolide; exosome

前列腺癌发病隐匿,早期诊断困难,我国前列腺癌的发病率呈现明显上升态势^[1-4]。雷公藤甲素

(triptolide, TPL)是传统中药雷公藤的主要药物成分,具有抗炎、抗肿瘤的功效,但毒副作用限制其在

[基金项目] 深圳市南山区科技创新局重点支持项目(2019002);深圳市南山区医学重点学科建设资助。

[作者简介] 曾灿(1973—),男,硕士,主治医师,主研方向:泌尿系肿瘤和结石。E-mail: zengcansg@aliyun.com

[通信作者] 王可兵,男,主任医师。E-mail: kebingwang2005@163.com

临床上使用,需要对其进行减毒增效^[5-10]。外泌体(exosome)是具有纳米大小的脂小囊,生物依从性好,是未来纳米载药系统中最具前景的载体^[11-16]。本研究采用体外培养的 NK 细胞分泌的外泌体作为雷公藤甲素的载体,制备负载 TPL 的纳米粒 exo-TPL,对 exo-TPL 进行表征分析,并研究其对 p53、NF- κ B 信号途径的影响,以及对前列腺癌移植的小鼠模型的疗效。通过研究比较 exo-TPL 纳米粒对 TPL 是否具有减毒增效的作用,是否对前列腺癌组织移植的小鼠模型的临床疗效优于 TPL。本研究为 TPL 的临床应用拓展新领域,也为前列腺癌等肿瘤的治疗提供新的候选药物。

1 材料和方法

1.1 实验动物

每组各 10 只 2~4 周龄,体重 15~20 g 的 SPF 雌性 SCID 裸鼠,实验鼠由广东省医学实验动物中心提供并饲养[SCXK(粤)2016-0041][SYXK(粤)2017-0119],动物实验研究的伦理经由深圳市南山区蛇口人民医院审批(20190801-02),做到了 3R 原则。

1.2 主要试剂

雷公藤甲素购自 sigma 公司。RM-1 小鼠前列腺癌细胞株购自中国科学院细胞库。

1.3 实验方法

1.3.1 Nk-exo 的制备和标志物鉴定

用小鼠骨细胞作为 NK 的种子细胞,采用培养 NK 细胞的方法大量培养 NK 细胞,NK 经流式细胞仪鉴定符合其典型特征,如高表达 CD16,不表达 CD3。分离纯化外泌体的方法采用超速离心的方法。用 BCA 方法检测外泌体的总蛋白量,用 DLS 检测外泌体的粒径大小、zeta 电位,用透射电镜观察纯化的外泌体大小,用 RT-PCR 分析 NK 来源的外泌体中特异的 MIRNAS,证明外泌体来自 NK 细胞。

1.3.2 exo-TPL 纳米粒的制备

利用纯化和鉴定后的 exosome,用 PBS 重悬后,加入等量的 TPL,采用电转法制备 exo-TPL 复合纳米粒,电极条件为电压 400 V,电容 125 μ F,4 mm 电转杯进行电转。用倒置离心超滤膜过滤去除游离的和非特异性结合的雷公藤甲素。应用反相高效液相色谱法,集合超速冷冻离心法测定 exo-TPL 纳米粒的载药量和包封率。HPLC 法测定 exo-TPL 纳米粒的体外释药性能。

1.3.3 MTT 法

将细胞接种于 96 孔板,每孔 100 μ L,细胞数约

1×10^4 常规培养 24 h。除对照组加入生理盐水外,其他 3 组分别给予 exo-TPL 纳米粒、TPL 和空白纳米粒继续培养 24 h、48 h。弃上清,PBS 清洗细胞后加入 MTT 20 μ L 和无血清培养基 80 μ L,37 $^{\circ}$ C 孵育 4 h。离心弃上清,每孔加入 DMSO 150 μ L,放在摇床上低速振荡 10 min,用酶标仪检测 570 nm 处的吸光度值。根据公式统计细胞存活率。公式如下:活细胞率(%)=(实验组吸光度值/对照组吸光度值) $\times 100\%$ 。

1.3.4 qPCR

按照 RNA 提取试剂盒提取细胞的 RNA,用紫外/可见分光光度计测定细胞的 RNA 的浓度。按照 TaKaRa 反转录试剂盒 PrimeScripttm RT reagent Kit with gDNA Eraser 说明书进行反转录,合成 cDNA。以反转录得到的 cDNA 为模板按照 TaKaRa SYBR Premix Ex Taq II 说明书进行 PCR。琼脂糖凝胶电泳分析扩增产物条带。数据分析所用方法为 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法,其中 Ct 值为基因进入指数增长期的循环数,而 ΔCt 为处理组目的基因的 Ct 值与对照组目的基因的 Ct 值之差。引物序列为:GAPDH(上游引物 5'-ACCACAGTCCATGCCATCAC-3';下游引物 5'-TCCACCACCCTGTTCGCTGTA-3');p53(上游引物 5'-CAGCCAAGTCTGTGCTTGCAC-3';下游引物 5'-CTATGTGCGAAAAGTGTTCCTGTCATC-3');NF- κ B(上游引物 5'-AGTTGAGGGGACTTTCACAGGC-3';下游引物 5'-GCCTGGGAAAGTCCCCTCAACT-3')。

1.3.5 前列腺癌移植小鼠模型的构建

收集培养的 RM-1 小鼠前列腺癌细胞,细胞计数后配成浓度为 1×10^7 /mL 的细胞悬液,接种于小鼠右侧腋窝皮下。每只小鼠 200 μ L,对照组小鼠接种等体积生理盐水。模型小鼠尾静脉注射 TPL 或 exo-TPL 纳米粒,空白纳米粒为对照组,观察肿瘤体积大小和小鼠存活时间。

1.3.6 一般情况

观察各组小鼠在服药过程中的毛发色泽、饮食、饮水和活动状态等。

1.3.7 药动学、生物分布和药效学研究

在小鼠体内注射 exo-TPL 纳米粒、TPL,在不同时间点取血样,用液质联用(LC-MS)分析血液中药物的含量,评价载药纳米粒的抗降解能力。取小鼠各器官液氮冻存,在冷冻条件下碾磨组织,用 LC-MS 检测各器官组织的药物含量,来研究载药纳米粒在体内的组织分布。

1.4 统计学方法

实验数据采用平均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组

间比较在进行方差齐性检验后采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义, 采用 SPSS 16.0 统计软件进行统计学分析。

2 结果

2.1 exo-TPL 纳米粒的制备

用小鼠骨细胞作为 NK 的种子细胞, 采用培养 NK 细胞的方法大量培养 NK 细胞, NK 经流式细胞仪鉴定符合其典型特征。电镜结果表明外泌体呈圆形, 大小较为均一, 粒径大小约 100 nm。qPCR 实验发现 NK 来源的外泌体中特异的 MIRNAS 高表达, 证明外泌体来自 NK 细胞。利用纯化和鉴定后的 exosome, 用 PBS 重悬后, 加入等量的 TPL, 采用电转法制备得到 exo-TPL 复合纳米粒。应用反相高效液相色谱法, 集合超速冷冻离心法测定 exo-TPL 纳米粒的载药量和包封率。其载药量可达 2.01%, 包封率为 60.42%。exo-TPL 纳米粒的释放率在 4 h 之后达到平衡, 最大释药率约为 65.00%。

2.2 细胞增殖抑制率的比较

用 10 ng/mL、40 ng/mL 和 80 ng/mL 的雷公藤甲素分别孵育 RM-1 小鼠前列腺癌细胞 24 h 和 48 h, MTT 结果表明, TPL 组能明显抑制 RM-1 小鼠前列腺癌细胞的增殖, 且抑制作用随着药物浓度和作用时间的增加呈剂量和时间依赖性的增加。exo-TPL 纳米粒组对 RM-1 小鼠前列腺癌细胞的增殖抑制率明显高于 TPL 组。见表 1。

2.3 NF- κ B 和 p53 表达水平比较

qPCR 结果显示, 80 ng/mL 雷公藤甲素孵育 RM-1 小鼠前列腺癌细胞 48 h, 与对照组相比, TPL 组和 exo-TPL 纳米粒组, RM-1 小鼠前列腺癌细胞的 NF- κ B mRNA 表达水平均显著降低。与 TPL 组相比, exo-TPL 纳米粒组 NF- κ B mRNA 表达水平显著降低。与对照组相比, TPL 组和 exo-TPL 纳米粒组, RM-1 小鼠前列腺癌细胞的 p53 mRNA 表达水平均显著升高。与 TPL 组相比, exo-TPL 纳米粒组 p53

mRNA 表达水平显著升高。见表 2。

免疫印记结果显示, 80 ng/mL 雷公藤甲素孵育 RM-1 小鼠前列腺癌细胞 48 h, 与对照组相比, TPL 组和 exo-TPL 纳米粒组, RM-1 小鼠前列腺癌细胞的 NF- κ B mRNA 表达水平均显著降低。与 TPL 组相比, exo-TPL 纳米粒组 NF- κ B mRNA 表达水平显著降低。与对照组相比, TPL 组和 exo-TPL 纳米粒组, RM-1 小鼠前列腺癌细胞的 p53 mRNA 表达水平均显著升高。与 TPL 组相比, exo-TPL 纳米粒组 p53 mRNA 表达水平显著升高。见图 1。

2.4 荷瘤小鼠一般形态学改变

将 1×10^7 /mL 浓度的 RM-1 小鼠前列腺癌细胞 200 μ L 接种于小鼠右侧腋窝皮下, 制备前列腺癌小鼠模型。从接种第 8 天开始, 分别尾静脉注射 TPL 或 exo-TPL 纳米粒, 给药剂量为 0.7 mg/kg, 对照组尾静脉注射等量空白纳米粒, 每周第 1~2 天给药, 共给药 2 周。对照组小鼠精神不佳、活动减少。与对照组相比, TPL 组和 exo-TPL 纳米粒组小鼠精神食欲佳。

2.5 不同组荷瘤小鼠肿瘤大小对比

给药 2 周后, 剥离肿瘤后测量其体积和质量。与对照组相比, TPL 组和 exo-TPL 纳米粒组肿瘤体积和质量均明显减小。exo-TPL 纳米粒组肿瘤体积和质量明显小于 TPL 组。见表 3。

2.6 不同组荷瘤小鼠生存时间对比

对照组小鼠的平均荷瘤生存期为 (16.6 \pm 2.1) d, 与对照组相比, TPL 组和 exo-TPL 纳米粒组小鼠的平均荷瘤生存期延长, 分别为 (23.8 \pm 2.3) d 和 (27.4 \pm 2.2) d。exo-TPL 纳米粒组平均荷瘤生存期长于 TPL 组。见表 4。

2.7 血液中药物浓度

在小鼠体内注射 exo-TPL 纳米粒、TPL, 给药后第 7 天、14 天取血样, 用液质联用 (LC-MS) 分析血液中雷公藤甲素的含量, 评价载药纳米粒的抗降解

表 1 细胞增殖抑制率比较

Table 1 Comparison of cell proliferation inhibition rate

组别 Groups	24 h			48 h		
	10 ng/mL	40 ng/mL	80 ng/mL	10 ng/mL	40 ng/mL	80 ng/mL
对照组 Control group	0	0	0	0	0	0
TPL 组 TPL group	15.11 \pm 2.21	25.25 \pm 2.16	41.56 \pm 3.57	21.82 \pm 2.04	42.17 \pm 2.67	50.33 \pm 3.12
exo-TPL 纳米粒组 exo-TPL Nanoparticle group	30.21 \pm 2.32*	40.33 \pm 2.74*	62.17 \pm 3.61*	41.94 \pm 2.95*	63.66 \pm 3.18*	83.64 \pm 3.45*

注: 与 TPL 组相比, * $P < 0.05$ 。

Note. Compared with TPL group, * $P < 0.05$.

能力。见表 5。

2.8 雷公藤甲素组织分布情况

给药 2 周后,取小鼠各器官液氮冻存,在冷冻条件下碾磨组织,用 LC-MS 检测各器官组织的雷公藤甲素含量,来研究载药纳米粒在体内的组织分布。小鼠各组织雷公藤甲素含量测定结果见表 6。

3 讨论

前列腺癌发病隐匿,早期诊断困难,约有 75% 的患者确诊时已是进展期或晚期,并且最终都将丧

表 2 NF-κB 和 p53 表达水平比较

Table 2 Comparison of NF-κB and p53 expression levels

组别 Groups	NF-κB	p53
对照组 Control group	1.01±0.19	1.0±0.20
TPL 组 TPL group	0.66±0.10 [#]	1.31±0.21 [#]
exo-TPL 纳米粒组 exo-TPL Nanoparticle group	0.44±0.15 ^{**}	1.62±0.19 ^{**}

注:与 TPL 组相比, * $P < 0.05$;与对照组相比, [#] $P < 0.05$ 。下同。
Note. Compared with TPL group, * $P < 0.05$. Compared with control group, [#] $P < 0.05$. The same as below.

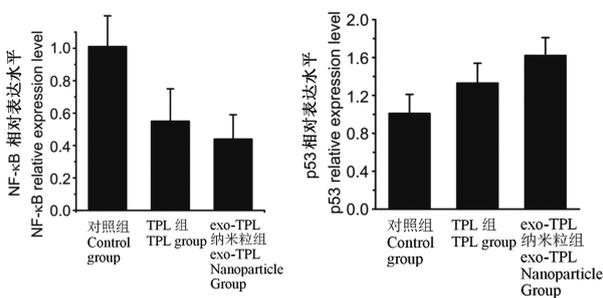
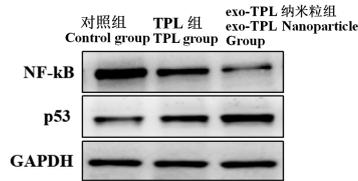


图 1 NF-κB 和 p53 蛋白表达水平比较

Figure 1 Comparison of NF-κB and p53 protein expression levels

失对雄激素的依赖性,转变为去势抵抗性前列腺癌。我国前列腺癌的发病率呈现明显上升态势。世界各国每年投入巨额经费进行前列腺癌基础研究和临床治疗,但至今尚未获突破性进展^[1-2]。近年来前列腺癌的免疫治疗取得较大进展,如前列腺癌的树突状细胞疫苗已上市、PROSTVAC 进入临床

表 3 小鼠肿瘤体积和质量

Table 3 Mouse tumor volume and mass

组别 Groups	肿瘤体积 (mm ³) Tumor volume	肿瘤质量 (g) Tumor mass
对照组 Control group	313.43±31.12	0.70±0.13
TPL 组 TPL group	211.04±34.66 [#]	0.37±0.13 [#]
exo-TPL 纳米粒组 exo-TPL Nanoparticle group	169.22±23.55 ^{**}	0.31±0.14 ^{**}

表 4 小鼠生存时间

Table 4 Survival time of mice

组别 Groups	生存时间 (d) Survival time
对照组 Control group	16.6±2.1
TPL 组 TPL group	23.8±2.3 [#]
exo-TPL 纳米粒组 exo-TPL Nanoparticle group	27.4±2.2 ^{**}

表 5 血液中药物浓度

Table 5 drug concentration in blood

组别 Groups	浓度 (μg/L) Concentration	
	第 7 天 Day 7	第 14 天 Day 14
对照组 Control group	0	0
TPL 组 TPL group	0.04±0.01	0.06±0.01
exo-TPL 纳米粒组 exo-TPL Nanoparticle group	0.09±0.01 [*]	0.12±0.01 [*]

注:与 TPL 组相比, * $P < 0.05$ 。

Note. Compared with TPL group, * $P < 0.05$.

表 6 雷公藤甲素组织分布情况

Table 6 Tissue distribution of triptolide

组别 Groups	组织含量 (μg/g) Tissue content					
	肝 Liver	肺 Lung	脾 Spleen	肾 Kidney	心 Heart	脑 Brain
对照组 Control group	0	0	0	0	0	0
TPL 组 TPL group	0.18±0.12	0.16±0.05	0.12±0.02	0.18±0.05	0.12±0.03	0.12±0.04
exo-TPL 纳米粒组 exo-TPL Nanoparticle group	0.34±0.02 [*]	0.32±0.03 [*]	0.25±0.02 [*]	0.24±0.07 [*]	0.31±0.06 [*]	0.21±0.07 [*]

注:与 TPL 组相比, * $P < 0.05$ 。

Note. Compared with TPL group, * $P < 0.05$.

III 期试验^[17]。前期研究中,我们构建表达前列腺特异性膜抗原的腺病毒感染体外培养的树突状细胞疫苗和靶向体内树突状细胞亚群的负载前列腺特异性膜抗原的纳米疫苗进行体内外实验,结果均表明这些疫苗对前列腺癌细胞有一定的特异杀伤作用^[18],但现有免疫治疗的效果仍不理想,因此探索新的药物和治疗方法非常迫切。

雷公藤甲素(triptolide, TPL)是传统中药雷公藤的主要药物成分,具有抗炎、抗肿瘤的功效,但毒副作用限制其在临床上使用,需要对其进行减毒增效^[5-10]。外泌体(exosome)是具有纳米大小的脂小囊,生物依从性好,是未来纳米载药系统中最具前景的载体^[11-16]。本研究采用体外培养的自然杀伤细胞(NK)分泌的外泌体作为 TPL 的载体,制备新型 TPL 纳米粒(命名为 exo-TPL),对 exo-TPL 进行表征,并研究其对 p53、NF- κ B 信号途径的影响,以及对前列腺癌组织异物移植的小鼠模型的疗效。本研究为 TPL 的临床应用拓展新领域,也为前列腺癌等肿瘤的治疗提供新的候选药物。

本研究结果显示,exo-TPL 纳米粒组对 RM-1 小鼠前列腺癌细胞的增殖抑制作用随浓度的增加和作用时间的延长而增强。exo-TPL 纳米粒组的 TPL 可持续释放,持续作用于 RM-1 小鼠前列腺癌细胞,与 TPL 组相比,可以产生更强的抑制肿瘤细胞增殖的作用。NF- κ B 具有转录激活功能,广泛参与机体的应激和炎症反应并参与肿瘤的发生和发展^[19]。实验发现,与 TPL 组相比,exo-TPL 纳米粒组 NF- κ B mRNA 表达水平显著降低。p53 作为一种重要的抑癌基因,与肿瘤发生发展密切相关^[20]。与 TPL 组相比,exo-TPL 纳米粒组 p53 mRNA 表达水平显著升高。给药 2 周后,剥离肿瘤后测量其体积和质量,exo-TPL 纳米粒组肿瘤体积和质量明显小于 TPL 组,提示与 TPL 组比较,exo-TPL 纳米粒组可以更好的抑制前列腺癌皮下瘤的增长,并且可以明显延长荷瘤小鼠的生存时间。组织分布结果表明,TPL 在肝、肺、脾、肾、心、脑主要组织器官中均有分布,并呈现不同程度的差异分布。与 TPL 组相比,exo-TPL 纳米粒组可在血液和组织中保持更高的浓度,可以更好的发挥药效。

综上所述,本研究在前列腺癌小鼠皮下瘤模型中证明,与 TPL 组相比,exo-TPL 纳米粒组可以产生更强的抑制肿瘤的作用。本研究为 TPL 的临床应用拓展新领域,也为前列腺癌等肿瘤的治疗提供新的候选药物。

参考文献:

[1] Gomella LG. Prostate cancer statistics: anything you want them to

- be [J]. *Can J Urol*, 2017, 24(1): 8603-8604.
- [2] Thoma C. Prostate cancer: Quality of life during chemohormonal therapy [J]. *Nat Rev Urol*, 2018, 15(5): 263.
- [3] Dasgupta P, Davis J, Hughes S. NICE guidelines on prostate cancer 2019 [J]. *BJU Int*, 2019, 124(1): 1.
- [4] Fenner A. Prostate cancer: Novel subtyping could aid stratification and therapy [J]. *Nat Rev Urol*, 2016, 13(8): 434-435.
- [5] Xi C, Peng S, Wu Z, et al. Toxicity of triptolide and the molecular mechanisms involved [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 90: 531-541.
- [6] Noel P, Von Hoff DD, Saluja AK, et al. Triptolide and its derivatives as cancer therapies [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2019, 40(5): 327-341.
- [7] Wei YM, Wang YH, Xue HQ, et al. Triptolide, a potential autophagy modulator [J]. *Chin J Integr Med*, 2019, 25(3): 233-240.
- [8] Hou ZY, Tong XP, Peng YB, et al. Broad targeting of triptolide to resistance and sensitization for cancer therapy [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 104: 771-780.
- [9] Hou W, Liu B, Xu H. Triptolide: Medicinal chemistry, chemical biology and clinical progress [J]. *Eur J Med Chem*, 2019, 176: 378-392.
- [10] Song W, Liu M, Wu J, et al. Preclinical pharmacokinetics of triptolide: a potential antitumor drug [J]. *Curr Drug Metab*, 2019, 20(2): 147-154.
- [11] Conlan RS, Pisano S, Oliveira MI, et al. Exosomes as reconfigurable therapeutic systems [J]. *Trends Mol Med*, 2017, 23(7): 636-650.
- [12] Zhu LY, Kalimuthu S, Gangadaran P, et al. Exosomes derived from natural killer cells exert therapeutic effect in melanoma [J]. *Theranostics*, 2017, 7(10): 2732-2745.
- [13] He C, Zheng S, Luo Y, et al. Exosome theranostics: biology and translational medicine [J]. *Theranostics*, 2018, 8(1): 237-255.
- [14] Milane L, Singh A, Matheolabakis G, et al. Exosome mediated communication within the tumor microenvironment [J]. *J Control Release*, 2015, 219: 278-294.
- [15] Wortzel I, Dror S, Kenific CM, et al. Exosome-mediated metastasis: communication from a distance [J]. *Dev Cell*, 2019, 49(3): 347-360.
- [16] Whitford W, Guterstam P. Exosome manufacturing status [J]. *Future Med Chem*, 2019, 11(10): 1225-1236.
- [17] Gulley JL, Borre M, Vogelzang NJ, et al. Phase III trial of PROSTVAC in asymptomatic or minimally symptomatic metastatic castration-resistant prostate cancer [J]. *J Clin Oncol*, 2019, 37(13): 1051-1061.
- [18] 王可兵, 高新, 庞俊, 等 AD-PSMA: 转染树突状细胞与细胞因子诱导的杀伤细胞共培养的体内抗前列腺癌作用 [J]. *武汉大学学报(医学版)*, 2013, 34(6): 814-817
- [19] Tilborghs S, Corthouts J, Verhoeven Y, et al. The role of nuclear factor-kappa B signaling in human cervical cancer [J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2017, 120: 141-150.
- [20] Crunkhorn S. Cancer: restoring p53 activity [J]. *Nat Rev Drug Discov*. 2018;17(6): 394.