

侯著法,赵冰洁,车虹,等. 对香豆酸诱导弥漫性大 B 细胞淋巴瘤细胞内质网应激介导的凋亡 [J]. 中国比较医学杂志, 2022, 32(10): 98-103.

Hou ZF, Zhao BJ, Che H, et al. Induction of endoplasmic reticulum stress-mediated apoptosis in diffuse large B-cell lymphoma cells by *p*-coumaric acid [J]. Chin J Comp Med, 2022, 32(10): 98-103.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2022.10.012

对香豆酸诱导弥漫性大 B 细胞淋巴瘤细胞内质网 应激介导的凋亡

侯著法,赵冰洁,车虹,易文静,刘培佳,刘松山*

(成都中医药大学附属医院血液科,成都 610072)

【摘要】 目的 探讨对香豆酸诱导弥漫性大 B 细胞淋巴瘤细胞内质网应激介导的凋亡。**方法** 选择弥漫性大 B 细胞淋巴瘤细胞(OCI-LY1),以不同浓度对香豆酸(0、0.4、0.8、1.6、3.2 mmol/L)作用于 OCI-LY1 细胞,采用 CCK8 法检测其抑制率及半数抑制浓度(IC_{50});随后设置分组:(1)空白对照组、对香豆酸($1/2 IC_{50}$ 组、 IC_{50} 组、 $2 IC_{50}$ 组);(2)空白对照组、对香豆酸 IC_{50} 组、4-PBA 组(5 mmol/L)、4-PBA+ IC_{50} 组,采用 CCK8 检测细胞活性;流式细胞术检测细胞凋亡;蛋白质印迹法(Western blot)检测细胞 GRP78、ATF6、CHOP、p-PERK、p-IRE1 α 蛋白相对表达量。**结果** 对香豆酸以剂量依赖性方式抑制 OCI-LY1 细胞增殖,其 IC_{50} 值为 2.601 mmol/L;与空白对照组相比, $1/2 IC_{50}$ 组、 IC_{50} 组、 $2 IC_{50}$ 组细胞抑制率、细胞凋亡及 GRP78、ATF6、CHOP、p-PERK、p-IRE1 α 蛋白表达明显升高($P<0.01$);与 IC_{50} 组相比,4-PBA 组、4-PBA+ IC_{50} 组细胞抑制率、细胞凋亡及 GRP78、ATF6、CHOP、p-PERK、p-IRE1 α 蛋白表达明显降低($P<0.01$);与 4-PBA 组相比,4-PBA+ IC_{50} 组细胞抑制率、细胞凋亡及 GRP78、ATF6、CHOP、p-PERK、p-IRE1 α 蛋白表达明显升高($P<0.01$)。**结论** 对香豆酸抑制 OCI-LY1 细胞增殖,可能通过激活 OCI-LY1 细胞内质网应激从而诱导细胞凋亡。

【关键词】 弥漫性大 B 淋巴瘤;对香豆酸;内质网应激;细胞凋亡

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2022) 10-0098-06

Induction of endoplasmic reticulum stress-mediated apoptosis in diffuse large B-cell lymphoma cells by *p*-coumaric acid

HOU Zhufa, ZHAO Bingjie, CHE Hong, YI Wenjing, LIU Peijia, LIU Songshan*

(Department of Hematology, Hospital of Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610072, China)

【Abstract】 Objective To investigate induction of endoplasmic reticulum stress-mediated apoptosis in diffuse large B-cell lymphoma cells by *p*-coumaric acid. **Methods** Diffuse large B-cell lymphoma cell line OCI-LY1 was treated with *p*-coumaric acid (0, 0.4, 0.8, 1.6 and 3.2 mmol/L) and the inhibition rate and half-inhibition concentration (IC_{50}) was determined by CCK8 assays. Subsequently, groupings were set as follows: (1) control group and *p*-coumaric acid groups ($1/2 IC_{50}$, IC_{50} and $2 IC_{50}$). (2) control group, *p*-coumaric acid IC_{50} group, 4-PBA group (5 mmol/L) and 4-PBA+ IC_{50} group. Cell activity was assessed by CCK8 assays. Apoptosis was detected by flow cytometry. Relative expression of GRP78, ATF6, CHOP, p-PERK and p-IRE1 α proteins was detected by Western blot. **Results** *p*-Coumaric acid inhibited

[作者简介]侯著法(1970—),男,副主任医师,研究方向:血液病中西医结合研究。E-mail:houshufa2021@163.com

[通信作者]刘松山(1968—),男,主任医师,研究方向:血液病中西医结合研究。E-mail:pine009@163.com

OCI-LY1 cell proliferation in a dose-dependent manner with an IC_{50} value of 2.601 mmol/L. Compared with the control group, the cell inhibition rate, apoptosis, and GRP78, ATF6, CHOP, p-PERK and p-IRE1 α protein expression were significantly increased in the 1/2 IC_{50} , IC_{50} and 2 IC_{50} groups ($P < 0.01$). Compared with the IC_{50} group, the cell inhibition rate, apoptosis and GRP78, ATF6, CHOP, p-PERK, p-IRE1 α protein expression were significantly decreased in the 4-PBA group and 4-PBA+ IC_{50} group ($P < 0.01$). Compared with the 4-PBA group, cell inhibition rate, apoptosis and GRP78, ATF6, CHOP, p-PERK and p-IRE1 α protein expression were significantly increased in the 4-PBA+ IC_{50} group ($P < 0.01$). **Conclusions** *p*-Coumaric acid inhibits OCI-LY1 cell proliferation, possibly by activating endoplasmic reticulum stress and inducing apoptosis.

【Keywords】 diffuse large B lymphocytoma; *p*-coumaric acid; endoplasmic reticulum stress; apoptosis

弥漫性大 B 细胞淋巴瘤 (diffuse large B-cell lymphoma, DLBCL) 是成人最常见和最具侵袭性的淋巴组织肿瘤之一, 占非霍奇金淋巴瘤 (non-Hodgkin Lymphoma, NHL) 病例的 30% ~ 40%^[1]。DLBCL 具有浸润性生长快、恶性程度高、预后差等特点^[2]。早期淋巴瘤的治愈率约为 40% ~ 60%, 而晚期淋巴瘤的 5 年生存率不到 30%, 尽管目前标准 R-CHOP (利妥昔单抗、环磷酰胺、阿霉素、长春新碱和强的松) 治疗方案可以提高 DLBCL 患者的有效率, 但 30% ~ 40% 的患者对治疗无效或治疗后复发, 这表明标准的细胞毒治疗有其局限性^[3-4]。因此, 有必要寻找新的治疗药物或治疗策略, 以有效地提高 DLBCL 患者的生存率或延缓其复发。

目前, DLBCL 的治疗临床应用最广泛的为西药, 中药是一个全新的选择, 研究报道中医药已广泛应用于癌症的治疗, 天然产物/草药可以为包括 DLBCL 在内的多种肿瘤的单一疗法或联合治疗提供其他策略^[5]。对香豆酸 (*p*-coumaric acid, *p*-CA) 是白花蛇舌草的主要成分, 白花蛇舌草作为一种被广泛研究的抗肿瘤中草药, 已被证明可以抑制 NHL 细胞增殖^[6]。此外, 研究报道对香豆酸组合可抑制白血病细胞株 Kasumi-1 的增殖, 具有抗肿瘤作用^[7]。然而, 对香豆酸对 DLBCL 的作用尚不清楚。研究显示葡萄糖调节蛋白 (GRP78) 的诱导和未折叠蛋白反应 (UPR) 的激活在致癌性进展中起着关键作用, 因此, 可以利用癌细胞对这些 UPR 信号通路的生存依赖性增加来进行抗癌研究^[8]。基于此, 本研究拟探讨对香豆酸对 DLBCL 的作用, 并初步探讨其作用机制, 以期对 DLBCL 的治疗提供潜在方法。

1 材料和方法

1.1 细胞

弥漫大 B 细胞淋巴瘤 OCI-LY1 细胞 (批号:

BFN60808875) 购自中国科学院上海生科院细胞资源中心。

1.2 主要试剂与仪器

对香豆酸购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司; 内质网应激抑制剂 4-苯基丁酸 (4-PBA) 购自 Sigma; CCK8 试剂、细胞凋亡检测试剂购自上海碧云天生物技术有限公司; Annexin V/PI 凋亡试剂盒购自美国 BD 公司; GRP78、ATF6、CHOP、p-PERK、p-IRE1 α 抗体及 β -actin 抗体均购自英国 Abcam 公司; Western blot 细胞裂解液、BCA 蛋白浓度测定试剂盒、ECL 发光试剂盒均购自上海碧云天生物技术有限公司。低温高速离心机购自湖南湘仪集团; 流式细胞仪购自美国 BD 公司; 电泳仪购自北京君意东方电泳设备有限公司; Bio-Rad 全功能成像仪购自上海天能科技有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 CCK8 法检测细胞增殖

用含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养基培养细胞, 置于 37℃、5% CO_2 、95% 湿度培养箱中培养, 隔天换液, 传代 1 次, 取对数生长期的细胞用于后续实验。

取对数生长期细胞, 按照 5×10^3 个/孔的细胞量将细胞接种于 96 孔板中, 置于 37℃、5% CO_2 、95% 湿度培养箱中培养 24 h, 分组加入不同浓度对香豆酸 (0、0.4、0.8、1.6、3.2 mmol/L), 每个样本设 6 个平行孔, 继续培养 24 h。随后, 每孔加入 10 μ L CCK8 溶液, 37℃ 继续培养 2 h, 通过酶标仪测量 450 nm 处的光密度值 (OD) 来评估细胞增殖情况。抑制率 (%) = $[1 - (OD_{\text{实验组}} - OD_{\text{空白组}}) / (OD_{\text{对照组}} - OD_{\text{空白组}})] \times 100\%$, 计算对香豆酸 IC_{50} 进行后续实验。

1.3.2 Annexin V/PI 双染检测细胞凋亡

取对数生长期细胞, 按照 5×10^5 个细胞/皿的密

度接种细胞至 60 mm 培养皿中,培养 24 h 后设置分组为:(1)空白对照组、对香豆酸(1/2 IC_{50} 组、 IC_{50} 组、2 IC_{50} 组);(2)空白对照组、对香豆酸 IC_{50} 、4-PBA 组(5 mmol/L)、 IC_{50} +4-PBA 组。按组别分别加入对香豆酸或 4-PBA。采用 Annexin V-FITC/PI 凋亡试剂盒检测细胞凋亡,将细胞用冰冷磷酸盐缓冲液洗涤后,用含有 Annexin V 和 PI 的结合缓冲液在室温黑暗环境中孵育 15 min,用流式细胞仪检测细胞凋亡并分析各组细胞凋亡率。

1.3.3 Western blot 检测 GRP78、ATF6、CHOP、p-PERK、p-IRE1 α 蛋白表达

设置分组:(1)空白对照组、对香豆酸(1/2 IC_{50} 组、 IC_{50} 组、2 IC_{50} 组);(2)空白对照组、对香豆酸 IC_{50} 、4-PBA 组(5 mmol/L)、 IC_{50} +4-PBA 组,按组别分别干预。24 h 后收集细胞并用含有蛋白酶抑制剂的 RIPA 裂解缓冲液裂解,BCA 试剂盒测量细胞裂解物中的蛋白质浓度,经 10% SDS-PAGE 电泳后,将分离出的蛋白质转移到 PVDF 膜上,用 5% 脱脂牛奶室温孵育 1 h 后,分别与 GRP78、ATF6、CHOP、p-PERK、p-IRE1 α (1 : 500) 或 β -actin (1 : 1000) 一抗在 4℃ 下孵育过夜,再与辣根过氧化物酶偶联二抗在室温下孵育 2 h。ECL 试剂盒检测免疫反应条带,使用 Bio-Rad 全功能成像系统采集图像,Image-ProPlus 分析光密度,以 β -actin 为内参,对照组目标蛋白质相对含量为 1,计算各组蛋白质的相对表达量,实验重复 3 次。

1.4 统计学方法

运用 SPSS 22.0 软件和 GraphPad Prism 8.0 软件进行统计学分析,计量资料以平均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,多组间均数的比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA)。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 对香豆酸对 OCI-LY1 细胞增殖的影响

对香豆酸以剂量依赖性方式抑制 OCI-LY1 细胞的增殖,对香豆酸对 OCI-LY1 细胞的 IC_{50} 值为 2.601 mmol/L(图 1)。

2.2 对香豆酸对 OCI-LY1 细胞凋亡的影响

与空白对照组相比,对香豆酸 1/2 IC_{50} 组、 IC_{50} 组、2 IC_{50} 组细胞凋亡明显增加($P<0.01$),且呈现剂量依赖性(图 2)。

2.3 对香豆酸对 OCI-LY1 细胞内质网应激相关蛋白表达的影响

与空白对照组相比,对香豆酸 1/2 IC_{50} 组、 IC_{50} 组、2 IC_{50} 组 GRP78、ATF6、CHOP、p-PERK、p-IRE1 α 蛋白表达明显升高($P<0.01$)(图 3)。

2.4 抑制内质网应激对对香豆酸作用 OCI-LY1 细胞的影响

流式细胞凋亡结果显示,与空白对照组相比, IC_{50} 组、 IC_{50} +4-PBA 组细胞凋亡明显升高,4-PBA 组细胞凋亡明显降低($P<0.05$);与 IC_{50} 组相比,4-PBA 组、 IC_{50} +4-PBA 组细胞凋亡明显降低($P<0.01$);与 4-PBA 组相比, IC_{50} +4-PBA 组细胞凋亡明显升高($P<0.05$)(图 4A、图 4C)。CCK8 检测结果显示,与空白对照组相比, IC_{50} 组、 IC_{50} +4-PBA 组细胞抑制率明显升高($P<0.01$);与 IC_{50} 组相比,4-PBA 组、 IC_{50} +4-PBA 组细胞抑制率明显降低($P<0.01$);与 4-PBA 组相比, IC_{50} +4-PBA 组细胞抑制率明显升高($P<0.01$)(图 4B)。Western blot 检测结果显示,与空白对照组相比, IC_{50} 组、4-PBA+ IC_{50} 组细胞 GRP78、ATF6、CHOP、p-PERK、p-IRE1 α 蛋白表达明显升高,4-PBA 组细胞 GRP78、ATF6、CHOP、p-PERK、p-IRE1 α 蛋白表达明显降低($P<0.01$);与 IC_{50} 组相比,4-PBA 组、4-PBA+ IC_{50} 组细胞 GRP78、ATF6、CHOP、p-PERK、p-IRE1 α 蛋白表达明显降低($P<0.01$);与 4-PBA 组相比,4-PBA+ IC_{50} 组细胞 GRP78、ATF6、CHOP、p-PERK、p-IRE1 α 蛋白表达明显升高($P<0.01$)(图 4D)。

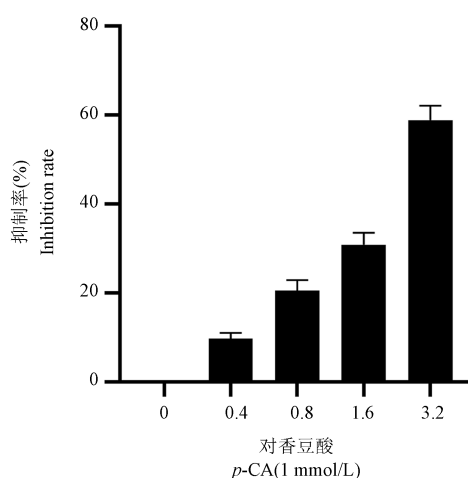
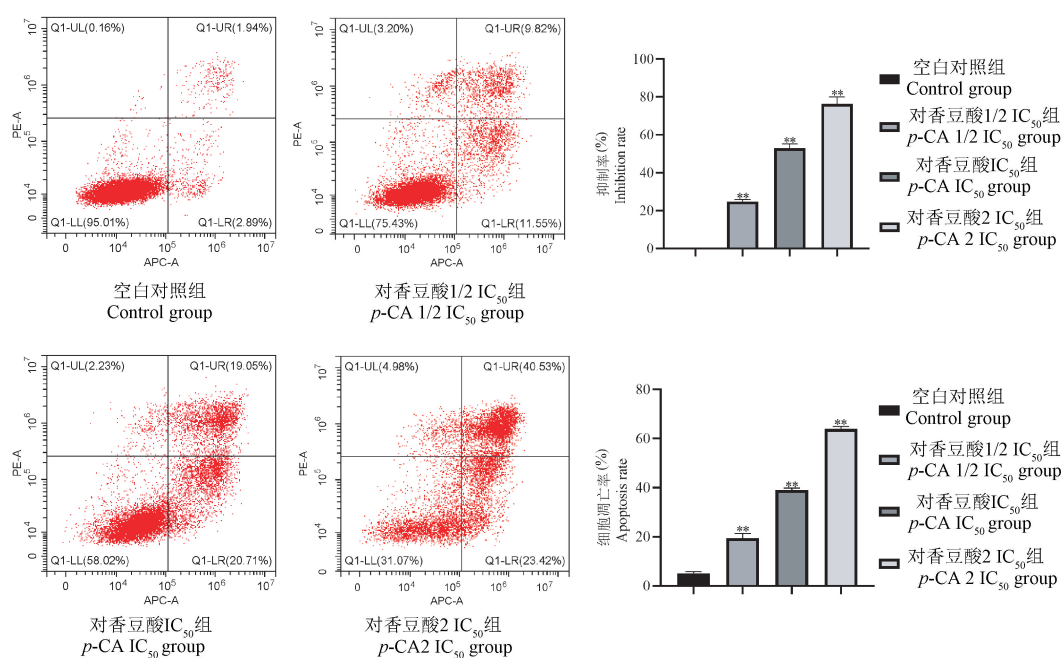


图 1 对香豆酸对 OCI-LY1 细胞增殖的影响

Figure 1 Effect of *p*-coumaric acid on the proliferation of OCI-LY1 cells

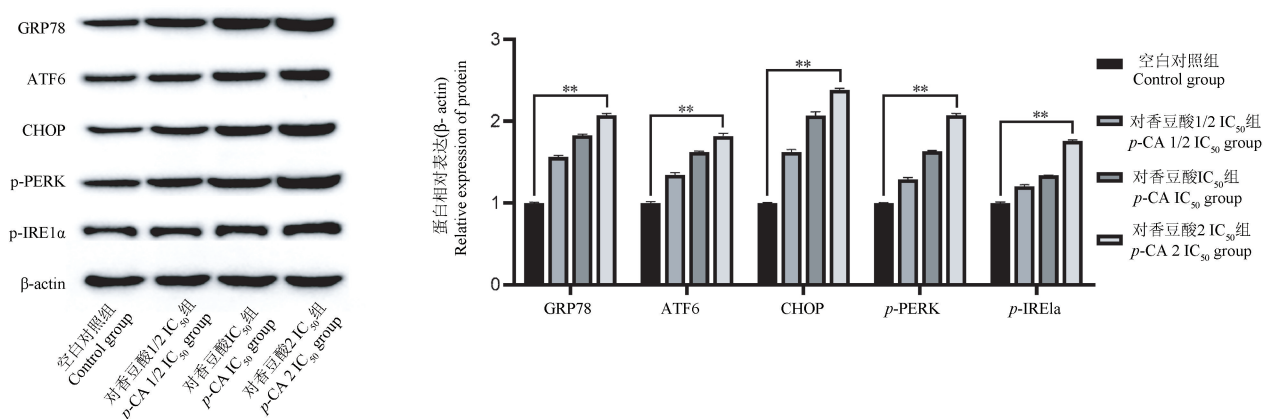


注:与空白对照组比较, ** $P < 0.01$ 。

图2 对香豆酸对 OCI-LY1 细胞凋亡的影响

Note. Compared with control group, ** $P < 0.01$.

Figure 2 Effect of *p*-coumaric acid on apoptosis of OCI-LY1 cells



注:与空白对照组比较, ** $P < 0.01$ 。

图3 对香豆酸对 OCI-LY1 细胞内质网应激相关蛋白表达的影响

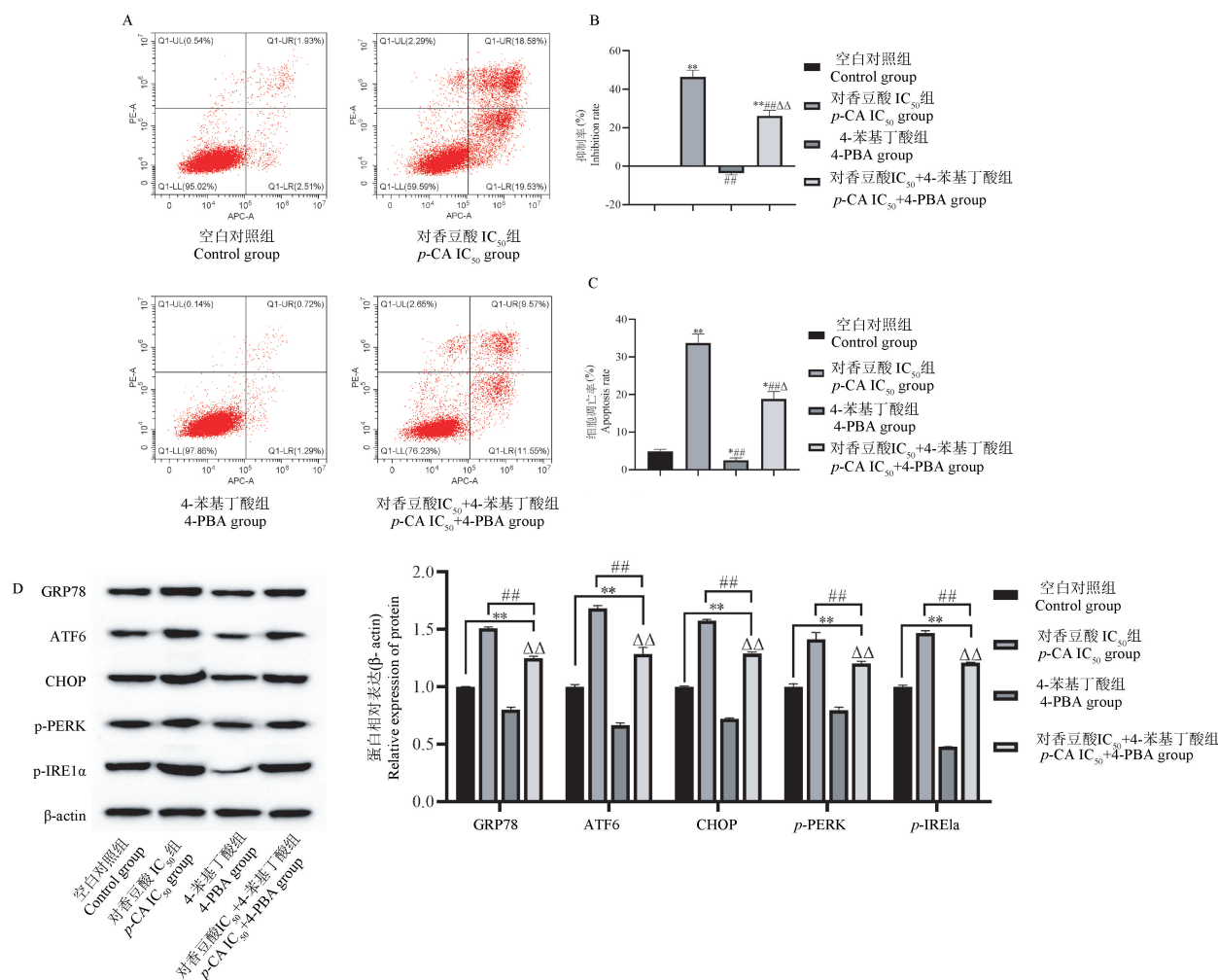
Note. Compared with control group, ** $P < 0.01$.

Figure 3 Effect of *p*-coumaric acid on the expression of endoplasmic reticulum stress-related proteins in OCI-LY1 cells

3 讨论

DLBCL 患者预后较差,虽然应用 R-CHOP 治疗方案可以进一步提高化疗效果,但近 40% 的患者会出现复发/难治性问题^[4]。因此,迫切需要有效的新治疗方法和/或新药来改善治疗结果。对香豆酸作为白花蛇舌草的主要成分之一,对香豆酸可通过

调节某些 microRNA 的表达在 SNU-16 胃癌细胞中发挥其抗癌作用^[9]。可通过激活 PERK-eIF2α-ATF-4-CHOP 通路抑制结肠癌细胞 Grp78 上调进而诱导细胞凋亡^[10]。此外,对香豆酸可通过改善 1,2-二甲基胍给药大鼠结肠的解毒和凋亡过程来抑制息肉的形成^[11]。然而,对香豆酸在 DLBCL 中的作用尚未得到深入研究。由此,本研究以 OCI-LY1 细胞



注:与空白对照组相比, ** $P < 0.01$; 与 IC₅₀ 组相比, ## $P < 0.01$; 与 4-PBA 组相比, $\Delta\Delta P < 0.01$ 。

图 4 抑制内质网应激对对香豆酸作用 OCI-LY1 细胞的影响

Note. Compared with control group, ** $P < 0.01$. Compared with IC₅₀ group, ## $P < 0.01$. Compared with 4-PBA group, $\Delta\Delta P < 0.01$.

Figure 4 Effects of endoplasmic reticulum stress inhibition on *p*-coumaric acid-acting OCI-LY1 cells

为研究对象,探讨了对香豆酸对 OCI-LY1 细胞凋亡的诱导作用及机制。

研究已表明成功的抗癌治疗涉及有效和特异的肿瘤细胞死亡^[12]。在本研究中,对香豆酸诱导了恶性 OCI-LY1 细胞的凋亡,且呈现剂量依赖性方式降低其存活率。表明对香豆酸对 OCI-LY1 细胞凋亡具有促进作用。研究显示肿瘤细胞中内质网应激机制决定细胞的命运,在包括淋巴瘤在内的大多数肿瘤中参与细胞凋亡^[13]。在正常情况下,内质网应激结合的传感器,即 PERK、IRE1α 和 ATF6 通过 GRP78 的关联而保持在非激活状态;在内质网应激条件下,GRP78 从传感器上解离,未折叠蛋白反应被激活,游离的 GRP78 作为伴侣帮助新合成的蛋白质实现正确的折叠^[14-15]。此外,PERK 激活导致

eIF2α 磷酸化,阻止大部分蛋白质的翻译,但持续的 PERK 信号上调转录因子 CHOP,从而诱导 DNA 损伤蛋白,下调生存期蛋白 (Bcl2)^[16]。最后,ATF6 转位到高尔基体,在那里它的胞浆片段 (ATF6f) 控制内质网应激相关的降解基因^[17]。在本研究中,我们研究了 GRP78 及其下游靶点在对香豆酸干预的 OCI-LY1 细胞中的表达,结果显示对香豆酸干预的 OCI-LY1 细胞中 GRP78、ATF6、CHOP、p-PERK、p-IRE1α 蛋白表达明显升高,说明对香豆酸通过诱导长时间的內质网应激来抑制适应性反应。本研究得到了先前研究的证实,这些研究报道了某些化合物,如蝴蝶苷 B (Oroxin B)、EHMT2 抑制剂 Bix-01294 等,能够诱导 B 淋巴瘤细胞抑瘤性内质网应激,从而导致细胞凋亡^[18-19]。为了进一步明确对香

豆酸是否通过内质网应激影响 OCI-LY1 细胞凋亡, 本研究采用内质网应激抑制剂 4-PBA 作用细胞, 结果显示, 与对香豆酸 IC₅₀ 组相比, 4-PBA 组、4-PBA+IC₅₀ 组细胞凋亡及 GRP78、ATF6、CHOP、p-PERK、p-IRE1 α 蛋白表达明显降低, 但相比 4-PBA 组, 4-PBA+IC₅₀ 组细胞凋亡及 GRP78、ATF6、CHOP、p-PERK、p-IRE1 α 蛋白表达明显升高。提示对香豆酸诱导的细胞凋亡是由内质网应激介导的, 内质网应激进一步诱导了下游的凋亡信号。

综上所述, 本研究表明对香豆酸可能激活了内质网应激信号, 进而诱导 OCI-LY1 细胞凋亡, 是一种有效的治疗 DLBCL 的潜在预防药物, 对提高 DLBCL 的治疗效果具有重要的药用价值。

参考文献:

- [1] Li S, Young KH, Medeiros LJ. Diffuse large B-cell lymphoma [J]. Pathology, 2018, 50(1): 74–87.
- [2] Wang L, Li LR, Young KH. New agents and regimens for diffuse large B cell lymphoma [J]. J Hematol Oncol, 2020, 13(1): 175.
- [3] Liu Y, Barta SK. Diffuse large B-cell lymphoma: 2019 update on diagnosis, risk stratification, and treatment [J]. Am J Hematol, 2019, 94(5): 604–616.
- [4] Mondello P, Mian M. Frontline treatment of diffuse large B-cell lymphoma: beyond R-CHOP [J]. Hematol Oncol, 2019, 37(4): 333–344.
- [5] 王瑜, 朱明了, 何施燕, 等. 紫云英苷诱导 DLBCL 细胞系 OCI-LY8 凋亡 [J]. 中国病理生理杂志, 2021, 37(5): 885–890.
- [6] 李华, 周云, 温省初, 等. 白花蛇舌草通过 PI3K/Akt 信号通路抑制人非霍奇金淋巴瘤 Raji 细胞增殖 [J]. 现代肿瘤医学, 2020, 28(20): 3495–3499.
- [7] 陈智, 林圣云, 蒋剑平, 等. 白花蛇舌草对香豆酸组合物对急性髓系白血病细胞 Kasumi-1 生长抑制作用 [J]. 中国中西医结合杂志, 2017, 37(9): 1089–1094.
- [8] Hernandez I, Cohen M. Linking cell-surface GRP78 to cancer: From basic research to clinical value of GRP78 antibodies [J]. Cancer Lett, 2022, 524: 1–14.
- [9] Jang MG, Ko HC, Kim SJ. Effects of *p*-coumaric acid on microRNA expression profiles in SNU-16 human gastric cancer cells [J]. Genes Genomics, 2020, 42(7): 817–825.
- [10] Sharma SH, Rajamanickam V, Nagarajan S. Antiproliferative effect of *p*-Coumaric acid targets UPR activation by downregulating Grp78 in colon cancer [J]. Chem Biol Interact, 2018, 291: 16–28.
- [11] Sharma SH, Rajamanickam V, Nagarajan S. Supplementation of *p*-coumaric acid exhibits chemopreventive effect via induction of Nrf2 in a short-term preclinical model of colon cancer [J]. Eur J Cancer Prev, 2019, 28(6): 472–482.
- [12] Su Z, Yang Z, Xu Y, et al. Apoptosis, autophagy, necroptosis, and cancer metastasis [J]. Mol Cancer, 2015, 14: 48.
- [13] Debernardi J, Pioche-Durieu C, Cam EL, et al. Verotoxin-1-induced ER stress triggers apoptotic or survival pathways in burkitt lymphoma cells [J]. Toxins (Basel), 2020, 12(5): 316.
- [14] Best S, Hashiguchi T, Kittai A, et al. Targeting ubiquitin-activating enzyme induces ER stress-mediated apoptosis in B-cell lymphoma cells [J]. Blood Adv, 2019, 3(1): 51–62.
- [15] Best S, Liu T, Bruss N, et al. Pharmacologic inhibition of the ubiquitin-activating enzyme induces ER stress and apoptosis in chronic lymphocytic leukemia and ibrutinib-resistant mantle cell lymphoma cells [J]. Leuk Lymphoma, 2019, 60(12): 2946–2950.
- [16] Steinmetz TD, Schlötzer-Schrehardt U, Hearne A, et al. TFG is required for autophagy flux and to prevent endoplasmic reticulum stress in CH12 B lymphoma cells [J]. Autophagy, 2021, 17(9): 2238–2256.
- [17] Shigemi Z, Baba Y, Hara N, et al. Effects of ER stress on unfolded protein responses, cell survival, and viral replication in primary effusion lymphoma [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2016, 469(3): 565–572.
- [18] Yang P, Fu S, Cao Z, et al. Oroxin B selectively induces tumor-suppressive ER stress and concurrently inhibits tumor-adaptive ER stress in B-lymphoma cells for effective anti-lymphoma therapy [J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2015, 288(2): 269–279.
- [19] Xu L, Gao X, Yang P, et al. EHMT2 inhibitor BIX-01294 induces endoplasmic reticulum stress mediated apoptosis and autophagy in diffuse large B-cell lymphoma cells [J]. J Cancer, 2021, 12(4): 1011–1022.

[收稿日期] 2022-04-14