

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2019.03.013

· 临床研究 ·

lncRNA POU3F3 通过调节 MGMT 的表达影响高级别脑胶质瘤细胞对替莫唑胺耐药

段然¹, 颜成睿¹, 王磊²(1. 北京大学国际医院 神经外科, 北京 102206; 2. 首都医科大学附属北京天坛医院 神经外科, 北京 100070)

[摘要] **目的:** 探讨 lncRNA POU3F3 通过调节 MGMT 的表达影响高级别脑胶质瘤细胞对替莫唑胺(temozolomide, TMZ)耐药及其作用机制。**方法:** 选取 2016 年 1 月至 2018 年 1 月北京大学国际医院神经外科收治的 60 例患者组织标本, 其中, 脑外伤患者 12 例(正常组)、初发高级别脑胶质瘤患者 30 例(初发组)、复发高级别脑胶质瘤患者[复发组, 已经接受了手术治疗+TMZ 综合治疗再次复发的人群]18 例。采用 1、2、4 及 8 $\mu\text{g}/\text{ml}$ TMZ 诱导 U251 细胞并维持正常生长 1 周以构建抵抗 U251 TMZ 耐药细胞系(U251 TMZ-resistance, U251-TR); 正常组采用相同体积的 0.9% 生理盐水处理 U251 细胞。采用 qPCR 和 Wb 检测正常脑组织及神经胶质瘤细胞中 POU3F3 和甲基鸟嘌呤-DNA 甲基转移酶(methylguanine DNA methyltransferase, MGMT)mRNA 和蛋白的表达水平。慢病毒转染构建稳定干扰 POU3F3 的 U251-TR 细胞系(U251-TR stable interference POU3F3, U251-TR siPOU3F3), MTT 法验证 U251-TR 细胞并检测细胞 TMZ IC_{50} 值, Wb 检测细胞中 MGMT 蛋白的表达水平。**结果:** 与正常组及初发组比较, 复发组 POU3F3 表达显著增高($P < 0.01$), U251-TR 细胞 TMZ IC_{50} 值显著高于 U251 细胞($P < 0.01$), U251-TR siPOU3F3 细胞 TMZ IC_{50} 值显著低于 U251-TR 细胞(均 $P < 0.01$), 但高于 U251 细胞($P < 0.01$); U251-TR 细胞 POU3F3 及 MGMT mRNA 和蛋白的表达水平均高于 U251 细胞(均 $P < 0.01$), U251-TR siPOU3F3 细胞 POU3F3 及 MGMT mRNA 和蛋白表达水平均低于 U251-TR 细胞(均 $P < 0.01$)。**结论:** lncRNA POU3F3 是促进高级别脑胶质瘤细胞 TMZ 耐药性的关键因素, 可能对临床上 TMZ 耐药的研究有一定的意义。

[关键词] 长链非编码 RNA; POU3F3; 脑胶质瘤; 替莫唑胺; 耐药性; 甲基鸟嘌呤-DNA 甲基转移酶

[中图分类号] R739.41; R392.12 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2019)03-0328-05

lncRNA POU3F3 affects temozolomide-resistance in high-grade glioma cells via regulating MGMT expression

DUAN Ran¹, YAN Chengrui¹, WANG Lei²(1. Neurosurgery, Peking University International Hospital, Beijing 102206, China; 2. Neurosurgery, Beijing Tiantan Hospital Affiliated to Capital Medical University, Beijing 100070, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the mechanism of long non-coding RNA POU3F3 (lncRNAPOU3F3) affecting temozolomide (TMZ)-resistance in high-grade glioma cells via regulating MGMT expression. **Methods:** Sixty cases of tissues from patients treated at the Department of Neurosurgery, Peking University International Hospital during January 2016 and January 2018 were collected for this study, including 12 cases from brain trauma patients (normal group), 30 cases from primary high-grade glioma patients (primary onset group) and 18 cases from recurrent high-grade glioma patients (recurrence group, accepted surgery+TMZ already). U251 cells were induced with TMZ at the concentration of 1, 2, 4 and 8 $\mu\text{g}/\text{ml}$ and maintained normal growth for a week to construct TMZ-resistant U251 cell line (U251 TMZ-resistance, U251-TR); and the normal control group was treated with equal volume of physiological saline. Reverse transcription polymerase chain reaction (qPCR) and Wb were used to detect the mRNA and protein expressions of POU3F3 and MGMT (methylguanine DNA methyltransferase) in normal brain tissues and glioma cells. Lentivirus transfection was used to construct U251 cell line with stable POU3F3 interference (U251-TR siPOU3F3); CCK-8 was used to detect TMZ IC_{50} value (the half maximal inhibitory concentration) in each group of U251 cells, and Wb was used to detect the expression of MGMT protein in each group of cells. **Results:** Compared with the normal group and primary onset group, the expression of POU3F3 in recurrence group was significantly increased ($P < 0.01$). The TMZ IC_{50} of U251-TR cells was significantly higher than that of U251 cells ($P < 0.01$), and The TMZ IC_{50} of U251-TR siPOU3F3 cells was significantly lower than that of U251-TR cells but higher than that of U251 cells (all $P < 0.01$). The protein and mRNA expressions of POU3F3 and MGMT in U251-TR cells were significantly higher than that in U251 cells ($P < 0.01$).

[基金项目] 首都卫生发展科研专项基金资助项目(No.2018-2-1072)。Project supported by the Capital Special Fund for Health Development and Scientific Research(No.2018-2-1072)

[作者简介] 段然(1986-), 男, 博士生, 住院医师, 主要从事神经系统肿瘤外科及靶向治疗的研究, E-mail: akmyj85@163.com. 18701634379

while those expressions in U251-TR siPOU3F3 cells were significantly lower than those in U251-TR cells ($P<0.01$). **Conclusion:** lncRNA POU3F3 is the key factor to promote TMZ resistance in human high-grade gliomas cells, which may exert certain guiding significance in the clinical treatment for TMZ resistance.

[Key words] long non-coding RNA (lncRNA); POU3F3; gliomas; temozolomide(TMZ); drug resistance; methylguanine DNA methyltransferase(MGMT)

[Chin J Cancer Biother, 2019, 26(3): 328-332. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2019.03.013]

颅内恶性肿瘤种类繁多,治疗难度高,绝大多数预后较差,其中尤以脑胶质瘤最为常见。脑胶质瘤是由于大脑和脊髓中的胶质细胞发生恶变,常见症状包括头痛、恶心、呕吐、癫痫和视物模糊等,严重影响患者生存质量,导致了严重的社会经济负担^[1]。随着外科手术治疗、放疗、化疗及靶向药物等治疗方式的进步,脑胶质瘤患者预后有所改善,其中替莫唑胺(temozolomide, TMZ)作为目前临床上治疗脑部胶质瘤最有效率的药物之一,其有效性及安全性都已经被广泛证实。然而, TMZ耐药性的产生严重影响了其临床应用^[2]。因此,明确 TMZ耐药的形成机制对于临床用药指导及应用具有重要价值。随着基因技术的进步,长链非编码 RNA(long non-coding RNA, lncRNA)逐渐得到了广泛研究,它能够影响编码蛋白基因上游启动子的转录、抑制 RNA 聚合酶、干扰 mRNA 的剪切等,从而发挥其重要作用,特别是在肿瘤产生、侵袭与转移等领域上具有特定的作用^[3]。IPOU3F3 作为 lncRNA 的一种,目前已经报道^[4]与肝细胞癌及结直肠癌等细胞恶性表型密切相关。因此,本研究对 POU3F3 与人脑胶质瘤细胞 TMZ 耐药的关系进行了探究,并对其可能的作用机制进行初步分析,为临床治疗提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 标本、细胞系与主要试剂

选取 2016 年 1 月至 2018 年 1 月北京大学国际医院神经外科收治的 60 例患者组织标本,其中脑外伤患者 12 例,初发高级别脑胶质瘤患者 30 例,复发高级别脑胶质瘤患者(已经接受了手术+TMZ 综合治疗再次复发)18 例,所有患者均行手术治疗,术中获取的标本采用液氮保存。本研究以 14 例脑外伤患者脑组织为正常组,35 例初发高级别脑胶质瘤患者肿瘤组织为初发实验组(初发组),12 例复发高级别脑胶质瘤患者肿瘤组织为复发实验组(复发组)。患者或其家属已签署了知情同意书,并经过了医院伦理委员会的批准。

人脑胶质瘤 U251 细胞系购自北纳生物公司,人胚肾细胞 293T 细胞系购自 ATCC 公司。替莫唑胺(50 mg/粒,批号 140130-160625,江苏天士力帝益药业有限公司)、DMEM/F12 培养基、嘌呤霉素、CCK-8 试剂盒及胎牛血

清均购于美国 Hyclone 公司,胰蛋白酶、阳离子聚合物均购于 Sigma 公司,转染脂质体 Lipofectamine RNAi MAX Reagent 购于美国 Thermo Scientific 公司,病毒包装质粒 pLP1-gag/pol、pLP2-Rev 和 pLP-VSVG 均购于美国 Addgene 公司, RNA 提取试剂 RNAiso Reagent、RNA 逆转录试剂盒及 SYBR Green 核酸荧光染料均购于 TaKaRa 公司,无核酶水购于美国 Invitrogen 公司,甲基鸟嘌呤-DNA 甲基转移酶(methylguanine DNA methyltransferase, MGMT)一抗(鼠单克隆抗体)购于美国 Abcam 公司,甲醇、异丙醇及无水乙醇购于国药集团化学试剂有限公司。

1.2 人脑胶质瘤 U251 耐药细胞的制备

U251 细胞在 75 cm² 培养瓶中生长,采用 DMEM/F12 培养基+10%胎牛血清+1%青霉素-链霉素溶液培养,于 37 °C、5%CO₂ 培养箱中培养。传代时使用胰蛋白酶消化 3 min,含血清培养基终止消化,按照 1:3 的比例,传代并继续培养。以 U251 细胞为体外胶质瘤实验模型,根据以往其他文献^[4]中的方法选出 TMZ 梯度诱导质量浓度:1、2、4 及 8 μg/ml。U251 细胞从最低浓度 1 μg/ml 开始筛选,诱导期间每 2~3 d 更换 1 次含 TMZ 的培养基,待细胞稳定生长 1 周后使用下一个筛选浓度,直到细胞在 8 μg/ml 浓度下稳定生长,即建立了 TMZ 耐药的 U251-TR 细胞系。以慢病毒 lncRNA siRNA 转染 U251-TR 细胞作为 U251 TMZ 耐药的 POU3F3 干扰细胞系。U251 未抵抗组:U251 细胞以等体积的生理盐水处理,并在 DMEM/F12、10%FBS、1%青霉素-链霉素培养基生长,放置 37 °C、5%CO₂ 孵箱中。U251 TMZ 耐药的 lncRNAPOU3F3 干扰细胞系的建立:通过 10 μl Lipofectamine RNAiMAX 转染 pLP1-gag/pol(每孔 0.75 μg)、pLP2-Rev(每孔 0.3 μg)和 pLP3-VSVG(每孔 0.45 μg)及目的质粒(每孔 1.5 μg)于 293T 细胞中,48 h 后收集病毒悬液,0.22 μm 过滤器过滤悬液。接种 U251-TR 细胞于 6 孔板中,在 DMEM/F12 培养基、10%胎牛血清、1 ml 病毒悬液培养,同时加入 3 μl 聚凝胺,连续感染 2 d,嘌呤霉素筛选。细胞状态良好后,即完成 U251-TR si-lncRNA 的构建。

1.3 qPCR 检测临床样本及 U251、U251-TR、U251-TR siPOU3F3 细胞中 POU3F3 表达水平

使用 TRIzol 提取 RNA,提取完成后检测 RNA 纯

度后。参考逆转录试剂盒说明书,将提取后的RNA进行逆转录,得到cDNA产物。根据qPCR试剂盒说明书进行qPCR反应,GAPDH作为内参,以PCR仪进行定量分析。内参基因GAPDH引物序列:上游为5'-TGTGGGCATCAATGGATTTGG-3',下游为5'-ACACCATGTATTCCGGGTCAAT-3';扩增大小为116 bp。lncRNA POU3F3引物序列:上游为5'-AATCACTGCAATTGAAGGAAAAA-3',下游为5'-CCTTGTTTTCCAACCCTTAGACT-3';扩增大小为241 bp。MGMT引物序列:上游为5'-GCACGAAATAAAGCTCCTGG-3',下游为5'-CAGTCCTCCGGAGTAGTTGC-3';扩增大小为403 bp。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算FOU3F3表达水平。实验重复3次。

1.4 CCK-8法检测U251及U251-TR细胞的耐药指数

接种对数生长期的待测细胞以每孔 5×10^3 个接种至96孔板,培养24 h待细胞贴壁完成后,弃上清,加入不同终质量浓度的TMZ与DMEM+10%FBS的混合液,浓度设置为0、0.5、1、2、4、8、16及32 $\mu\text{g/ml}$,设64个平行孔,处理48 h。每孔加入10 μl CCK-8液,37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 孵箱中孵育2 h,多孔板酶标仪检测450 nm处光密度(D)值。按照细胞生存曲线计算细胞半抑制浓度(IC_{50})及耐药指数。实验重复3次。

1.5 Wb检测U251、U251-TR及U251-TR siPOU3F3细胞系中MGMT蛋白的表达水平

RIPA裂解液与蛋白酶抑制剂混合后冰上裂解,离心提取,按照比例加入上样缓冲液煮沸。按照实验设计,依次上样,并开始电泳。电泳完成后,湿转至PVDF膜,5%脱脂奶粉封闭,一抗4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜,二抗37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育1 h,发光液曝光显影。一抗浓度比为1:1 000,二抗浓度比为1:2 000,以 β -actin作为内参。实验重复3次。

1.10 统计学处理

采用SPSS22.0统计学软件和GraphPad Prism5.0作图软件,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用t检验,多组间比较采用单因素方差分析。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 复发组肿瘤组织POU3F3表达水平明显升高

qPCR检测结果(图1)显示,初发组及复发组POU3F3表达水平明显高于正常组(均 $P < 0.01$);复发组POU3F3表达水平明显高于初发组($P < 0.01$)。

2.2 转染后U25-TR细胞 IC_{50} 值和耐药指数均下降

CCK-8结果(图2)显示,处理48 h后,U251、U251-TR及U251-TR siPOU3F3细胞组TMZ IC_{50} 值分别为 (2.748 ± 0.283) 、 (7.988 ± 0.946) 及 $(5.264 \pm$

$0.471)$ $\mu\text{g/ml}$,与U251细胞组相比,U251-TR及U251-TR siPOU3F3细胞组TMZ IC_{50} 值显著增高(均 $P < 0.01$);与U251-TR组比较,U251-TR siPOU3F3细胞组TMZ IC_{50} 值显著降低($P < 0.01$)。与U251-TR细胞组(耐药指数为2.907)相比,U251-TR siPOU3F3细胞组耐药指数(1.917)明显降低($P < 0.01$)。

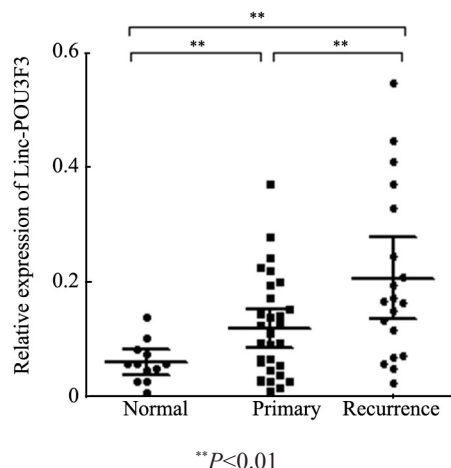


图1 不同临床样本中POU3F3表达水平

Fig. 1 Expression of POU3F3 in different clinical samples

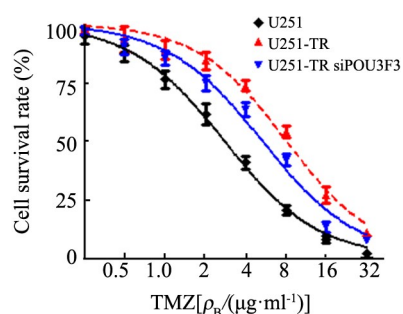


图2 U251、U251-TR及U251-TR si-POU3F3细胞TMZ IC_{50} 值的比较

Fig. 2 Comparison of TMZ IC_{50} values among U251, U251-TR and U251-TR siPOU3F3 cell groups

2.3 U251-TR组细胞中POU3F3和MGMT mRNA及蛋白的表达水平明显提高

qPCR检测结果(图3A)显示,U251组POU3F3表达水平明显低于U251-TR组(0.192 ± 0.040 vs 0.540 ± 0.067 , $P < 0.01$);U251组MGMT mRNA表达水平明显低于U251-TR组(0.244 ± 0.042 vs 0.617 ± 0.095 , $P < 0.01$)。Wb检测结果(图3B)显示,U251组MGMT蛋白表达水平明显低于U251-TR组(0.104 ± 0.022 vs 0.328 ± 0.057 , $P < 0.01$)。

2.4 U251-TR siPOU3F3组细胞中POU3F3及MGMT mRNA及蛋白的表达水平降低

qPCR检测结果(图4A)显示,U251-TR组

POU3F3 表达水平明显高于 U251-TR siPOU3F3 组 (0.612 ± 0.038 vs 0.184 ± 0.021 , $P < 0.01$); U251-TR 组 MGMT mRNA 表达水平明显高于 U251-TR siOU3F3 细胞组 (0.653 ± 0.056 vs 0.478 ± 0.023 , $P < 0.05$)。Wb 检测结果(图 4B)显示, U251-TR 组 MGMT 蛋白表达水平明显高于 U251-TR siPOU3F3 组 (0.340 ± 0.037 vs 0.159 ± 0.042 , $P < 0.01$)。

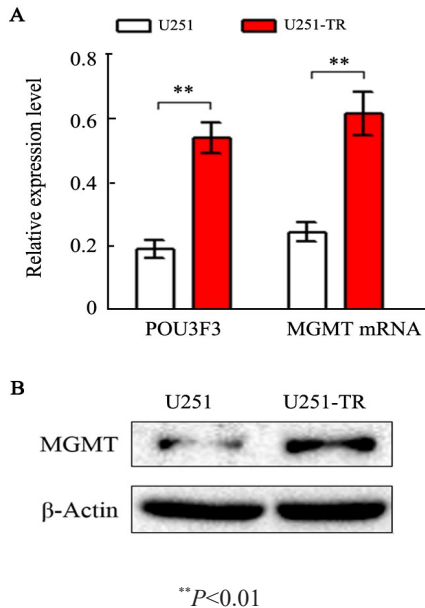


图3 U251 及 U251-TR 细胞系 POU3F3、MGMT mRNA(A)及蛋白(B)的表达水平
Fig. 3 MGMA mRNA(A) and protein(B), POU3F3 expression in U251 and U251-TR cell lines

3 讨论

lncRNA POU3F3 定位于人染色体 2q12.1 (Chr2q12.1)上,在逆转录链上的大小约 747 bp,在基因上游有 4 个 kb 的大小^[5-7]。有研究^[8]显示,POU3F3 在食管癌、结直肠癌及胶质瘤中过度表达。LI 等^[9]研究发现,与正常肝细胞相比,肝细胞癌组织和细胞中 POU3F3 的表达水平明显升高;并且其水平与临床分期、肿瘤大小、血管浸润转移呈正相关。同时,可显著促进肿瘤细胞的增殖、迁移和侵袭^[10]。SHAN 等^[11]研究还发现,POU3F3 可能通过调控细胞周期、凋亡及自噬对癌细胞的发生发展发挥着重要作用。XIONG 等^[12]发现,POU3F3 可以促进外周血 T 细胞 T-reg 的分布,通过招募 TGF-beta 和激活 TGF-beta 信号通路,增强肿瘤细胞的增殖。有研究^[13]认为,POU3F3 是脑胶质瘤细胞增殖、分化及侵袭的关键影响因素之一,与细胞耐药性相关,且与细胞增殖周期密切相关。但 POU3F3 是否参与脑胶质瘤细胞对替莫唑胺的耐药性仍有待证实。

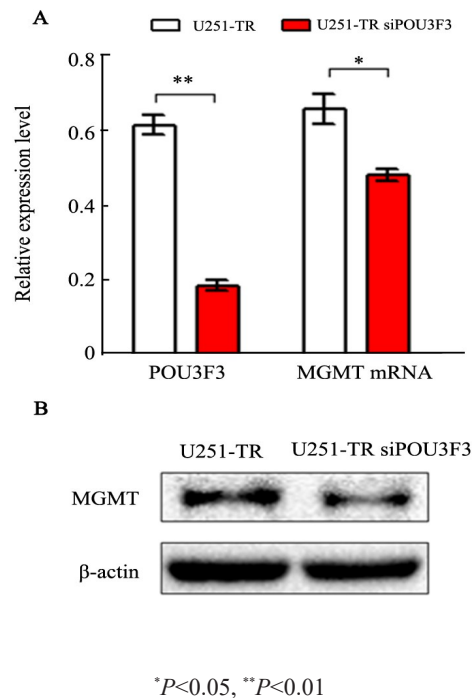


图4 U251-TR、U25-TR siPOU3F3 组细胞中 POU3F3、MGMT mRNA(A)和蛋白(B)的表达水平
Fig. 4 MGMT mRNA(A) and protein(B), POU3F3 expressions in U251-TR and U251-TR siPOU3F3 cell lines

本研究结果显示,POU3F3 在人脑胶质瘤组织中表达较高,并且在 TMZ 治疗失败所致的复发脑胶质瘤中表达更高,上述结果提示,POU3F3 可能与患者 TMZ 耐药性的形成密切相关。为了进一步明确它们之间的关系,通过在 U251-TR 细胞中检测了 POU3F3 的表达水平后,发现其表达水平相对于 U251 细胞显著增高,干扰 U251-TR 细胞 POU3F3 表达后,细胞中 TMZ 的 IC_{50} 值及耐药指数均出现了明显的降低,表明 POU3F3 在人脑胶质瘤细胞 TMZ 耐药性的形成中发挥着重要的促进作用。

此外, U251-TR siPOU3F3 细胞中 POU3F3 表达水平虽与 U251 的 POU3F3 表达水平无显著差异,但耐药指数却是明显降低,因此推测,脑胶质瘤的 TMZ 耐药形成是受多种因素的调控,而 POU3F3 仅是其中重要因素之一,故干扰 U251-TR 细胞 POU3F3 表达后,细胞敏感性仍维持在一个相对较高的水平。

另外, MGMT 可使 DNA 烷基化损伤得到修复,而 TMZ 的作用机制恰好是让 DNA 分子鸟嘌呤上基团的烷基化^[13-15]。因此, MGMT 可能是人胶质瘤细胞的 TMZ 化疗耐药性产生的重要原因。本研究结果发现, POU3F3 及 MGMT 表达存在密切的一致性,提示 POU3F3 可能通过调控 MGMT 的表达水平来发挥 TMZ 抵抗的生物学效应。

综上所述, lncRNA POU3F3 可能通过调节

MGMT 促进人脑胶质瘤细胞的 TMZ 耐药性。在后续研究中,本团队将进一步研究 lncRNA POU3F3 在人脑胶质瘤中作用的分子机制及其信号通路,为临床脑胶质瘤的药物靶向治疗、联合用药、抗耐药性提供一个新思路。

[参考文献]

- [1] ALFONSO J C L, TALKENBERGER K, SEIFERT M, et al. The biology and mathematical modelling of glioma invasion: a review[J/OL]. *J R Soc Interface*, 2017, 14(136): 20170490[2019-01-19]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29118112>. DOI: 10.1098/rsif.2017.0490.
- [2] KIZILBASH S H, GUPTA S K, CHANG K, et al. Restricted delivery of talazoparib across the blood-brain barrier limits the sensitizing effects of PARP inhibition on temozolomide therapy in glioblastoma[J]. *Mol Cancer Ther*, 2017, 16(12): 2735-2746. DOI:10.1158/1535-7163.MCT-17-0365.
- [3] CUI B, LI B, LIU Q, et al. LncRNA CCAT1 promotes glioma tumorigenesis by sponging miR-181b[J]. *J Cell Biochem*, 2017, 118(12): 4548-4557. DOI: 10.1002/jcb.26116.
- [4] PERAZZOLI G, PRADOS J, ORTIZ R, et al. Temozolomide resistance in glioblastoma cell lines: implication of MGMT, MMR, P-glycoprotein and CD133 expression[J/OL]. *PLoS One*, 10(10): e0140131[2019-01-19]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26447477>. DOI: 10.1371/journal.pone.0140131.
- [5] LANG H L, HU G W, CHEN Y, et al. Glioma cells promote angiogenesis through the release of exosomes containing long non-coding RNA POU3F3[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2017, 21(5): 959-972.
- [6] 费帆, 何永生, 王友于, 等. LncRNA ANRIL 在胶质瘤组织中的表达及其临床意义[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2018, 25(4): 370-375. DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2018.04.009.
- [7] 周云松, 温小辉, 张琦, 等. LncRNA SNHG16 在结肠癌组织和细胞中表达及其调控结肠癌细胞中 GPAM 表达的机制[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2019, 26(1): 58-66. DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2019.01.010.
- [8] GUO H, WU L, YANG Q, et al. Functional linc-POU3F3 is overexpressed and contributes to tumorigenesis in glioma[J]. *Gene*, 2015, 554(1): 114-119. DOI:10.1016/j.gene.2014.10.038.
- [9] LI Y C, LI Y N, WANG D, et al. linc-POU3F3 is overexpressed in hepatocellular carcinoma and regulates cell proliferation, migration and invasion[J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 105: 683-689[2019-01-19]. <http://europepmc.org/abstract/MED/29906746>. DOI: 10.1016/j.biopha.2018.06.006.
- [10] LI W, ZHENG J, DENG J Q, et al. Increased levels of the long intergenic non-protein coding RNA POU3F3 promote DNA methylation in esophageal squamous cell carcinoma cells[J]. *Gastroenterology*, 2014, 146(7): 1714-1726.
- [11] SHAN T D, XU J H, YU T, et al. Knockdown of lincPOU3F3 suppresses the proliferation, apoptosis, and migration resistance of colorectal cancer[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(1): 961-975. DOI: 10.18632/oncotarget.5830.
- [12] XIONG G, YANG L, CHEN Y, et al. LncRNA POU3F3 promotes cell proliferation in gastric cancer via increasing T-reg distribution[J]. *Am J Transl Res*, 2015, 7(11): 2262-2269.
- [13] NUSSINOV R, TSAI C J, JANG, H, et al. A new view of pathway-driven drug resistance in tumor proliferation[J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2017, 38(5): 427-437. DOI:10.1016/j.tips.2017.02.001.
- [14] 郑岩, 谢甲贝, 曹名波, 等. EGFRvIII/CAR-T 对 EGFRvIII+U87 胶质瘤细胞和裸鼠移植瘤的特异性杀伤作用[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2018, 25(4): 334 - 339. DOI: 10.3872 / j. issn. 1007 - 385X.2018.04.003.
- [15] NAGEL Z D, KITANGE G J, GUPTA S K, et al. DNA repair capacity in multiple pathways predicts chemoresistance in glioblastoma multiforme[J]. *Cancer Res*, 2017, 77(1): 198-206. DOI:10.1158/0008-5472.CAN-16-1151.

[收稿日期] 2018-12-27

[修回日期] 2019-02-12

[本文编辑] 王映红