

· 研究进展 ·

我国临床前药物致癌试验转基因动物模型研究进展

杨艳伟^{1#}, 刘甦苏^{2#}, 吕建军¹, 王三龙¹, 张素才³, 柳全明², 范昌发^{2*} (1. 中国食品药品检定研究院国家药物安全评价监测中心、药物非临床安全评价研究北京市重点实验室, 北京 100176; 2. 中国食品药品检定研究院实验动物资源研究所, 北京 102609; 3. 北京昭衍新药研究中心股份有限公司, 北京 100176)

摘要 目的: 综述我国临床前药物致癌试验转基因动物模型研究进展。方法: 介绍致癌试验常用转基因动物模型的构建、利用转基因动物模型开展致癌试验的优势、国际认可及国际监管机构新药申报中的应用、国内外致癌试验相关指导原则、我国开展基于转基因动物致癌试验面临的困境以及转基因动物模型构建的最新进展。结果与结论: 基于转基因动物模型的致癌试验具有诸多优势也是目前国际趋势, 在我国建立临床前药物致癌试验转基因动物模型非常必要。

关键词: 临床前; 药物; 致癌试验; 转基因动物模型; 研究进展

中图分类号: R95; R994.232 文献标识码: A 文章编号: 1002-7777(2019)08-0880-07

doi:10.16153/j.1002-7777.2019.08.007

Research Progress of Transgenic Animal Models for Preclinical Carcinogenicity Study of Drugs in China

Yang Yanwei^{1#}, Liu Susu^{2#}, Lv Jianjun¹, Wang Sanlong¹, Zhang Sucai³, Liu Quanming², Fan Changfa^{2*} (1. Beijing Key Laboratory for Safety Evaluation of Drugs, National Center for Safety Evaluation of Drugs, National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100176, China; 2. Institute for Laboratory Animal Resources, National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 102609, China; 3. JOINN Laboratories(China) Co., Ltd., Beijing 100176, China)

Abstract Objective: To introduce the research progress of transgenic animal models for preclinical carcinogenicity study of drugs in China. **Methods:** The establishment of commonly used transgenic animal models for preclinical carcinogenicity study of drugs, advantages of the carcinogenicity study using transgenic animal models, international recognition and new drug application submitted to international regulatory agencies, guidelines for carcinogenicity study at home and abroad, dilemma of carrying out carcinogenicity study based on transgenic animal models in China, as well as latest progress of establishing transgenic animal models for carcinogenicity study in China were introduced. **Results and Conclusion:** The carcinogenicity study based on the transgenic animal models has many advantages and is now an global trend. It is necessary to establish transgenic animal models for preclinical carcinogenicity study of drugs in China.

Keywords: preclinical; drug; carcinogenicity study; transgenic animal model; research progress

目前,我国获得临床前药物安全性评价的GLP机构已有60多家,建立了较为系统完善的临床前药物安全性评价体系。药物致癌试验虽是药物临床前安全性评价的重要组成部分,但在我国起步较晚,具有开展临床前药物致癌试验资质的GLP中心仅有17家。1997年,人用药品注册技术要求国际协调会(The International Council for Harmonization of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use, ICH)发布了《药物致癌试验指导原则S1B》^[1],建议药物临床前致癌试验包括1项大鼠长期致癌试验和1项小鼠长期致癌试验;或1项大鼠长期致癌试验,加上1项短期或中期体内试验,包括啮齿类引发-促进模型、转基因小鼠模型和新生啮齿类动物致肿瘤模型,以缩短试验周期,减少动物数量并降低费用。转基因小鼠模型包括Tg.RasH2模型、p53^{+/-}敲除模型、Tg.AC模型及XPA敲除模型^[1]。近10年来,1项大鼠长期致癌试验加上1项基于转基因动物模型的致癌试验逐步成为美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)、经济合作与发展组织(Organization for Economic Cooperation and Development, OECD)等药物监管机构接受新药申报的致癌试验方法。本文旨在从致癌试验常用转基因动物模型的构建、利用转基因动物模型开展致癌试验的优势、国际认可及国际监管机构新药申报中的应用、国内外致癌试验相关指导原则、我国开展基于转基因动物致癌试验面临的困境等方面,介绍我国转基因动物模型研究进展,以期为我国临床前药物致癌试验转基因动物模型的构建和使用提供一定参考。

1 致癌试验常用转基因动物模型的构建

曾用于致癌试验的转基因动物模型有Tg.RasH2模型、p53^{+/-}敲除小鼠模型、Tg.AC模型以及XPA敲除模型等^[1]。但目前使用较为广泛的模型是Tg.RasH2模型,其次是p53^{+/-}敲除小鼠模型。2004年以前提交给美国FDA新药申报中,Tg.AC模型使用较多,但在此之后基本不用于致癌试验。XPA敲除模型由于其价值不明确,目前不推荐使用。

1983年,Weinberg和Barbacid首先从人膀胱癌细胞系中分离出一种基因,后面命名为*c-Ha-ras*,该基因在体外可使NIH 3T3细胞发生恶性转化,而人的正常组织中提取的DNA则无此功能。后来,

在多种癌变组织中均发现该基因发生突变;更多的研究结果显示,该基因如果发生突变、高表达后会导致机体癌变^[2]。1990年,日本科学家首先通过转基因方法将该基因导入C57BL/6胚胎中,建立了转入人原癌基因*c-Ha-ras*的转基因小鼠模型,命名为rasH2。随后,在国际生命科学委员会(International Life Sciences Institute, ILSI)和健康与环境科学委员会(Health and Environmental Sciences Institute, HESI)倡导下,联合全球大约50多家试验室展开联合验证,系统地测试了该模型对几十种已知致癌物的敏感性和特异性,积累了大量的背景数据。这些数据表明,该模型对致癌物敏感,可以作为评价药物潜在致癌性的动物模型^[3-6]。采用该小鼠模型评价的实例较多,对遗传毒性和非遗传毒性致癌物或者药物均可进行致癌性评价^[7-9]。此外,由于模型的自发肿瘤率直接影响结果判定,故对该模型的自发肿瘤发生率监测一直备受关注^[6]。

与该原癌基因致癌的原理相反,p53基因具有抑癌功能,当该基因表达受阻或表达水平降低时,机体容易致癌。基于此原理,利用干细胞打靶技术,将p53基因一个拷贝敲出,获得p53^{+/-}敲除小鼠模型^[10-12]。后续的研究也表明,该模型对遗传毒性致癌物敏感,可用于遗传毒性药物潜在致癌性评价^[13-14]。但后续实验发现,该模型假阳性偏高,使用逐渐减少。在2010年之后提交给美国FDA的新药申报中,未见采用该模型用于致癌性评价。

Tg.AC模型是将*v-Ha-ras*基因转入小鼠基因组而成,该小鼠模型曾用于经皮给药药物致癌试验的替代模型^[15-16],但由于准确性和敏感性方面缺陷,目前使用逐渐减少,为其他模型取代。

2 利用转基因动物模型开展致癌试验的优势

利用转基因动物模型开展致癌试验,较普通啮齿类动物而言有诸多优势,包括动物用量少、试验周期短、费用低、特异性及敏感性高等多个方面,如表1所示;该模型符合国际上通行的3R原则要求。通常,需要6个月完成试验,此时小鼠自发肿瘤极低,而普通大鼠和小鼠致癌试验周期为2年,接近动物生命终点,此时的大鼠和小鼠均易产生高比例的自发性肿瘤,故难以区分肿瘤发生是由药物潜在致癌性引起还是动物自发产生,难以得出

可靠的结果。很多研究表明,利用转基因动物模型评价药物潜在致癌性敏感性更高,特异性更强^[17],目前,在我国方兴未艾,有很大的发展空间和应用价值。

表1 利用转基因动物模型开展致癌试验的优势

比较项目	普通动物	转基因动物
动物用量	多(50只/性别/组)	少(15~25只/性别/组)
供试品需求	多	少
试验周期	2年	0.5年
结果解释	高剂量为最大耐受剂量,对临床参考意义有限	高剂量可提高,对临床参考意义大
试验费用	高	低
个体差异	大	小
靶器官特异性	无特异的靶器官	有特异的靶器官
特异性	低	高
敏感性	低	高

3 国际认可及国际监管机构新药申报中的应用

自从1997年ICH提出药物致癌试验新框架以来,先后获得美国FDA、欧盟、日本厚生省等国际监管机构与组织的广泛认可与采纳。美国FDA作为全球新药申报的风向标,在美国FDA新药申报中,越来越多的新药申报中采用转基因动物模型开展致癌性潜在致癌性评价,如表2所示。从2002-2013

年致癌试验中主要选择转基因模型动物有Tg.rasH2转基因模型、p53^{+/-}基因敲除模型,以及TG.AC模型。使用转基因模型开展致癌试验的新药申报比例逐年上升,其中,选择Tg.rasH2转基因模型的药物增加较快。2014-2018年间,FDA接受新药申报有127例,开展转基因模型致癌试验药物77个,其中选择Tg.rasH2转基因模型开展致癌试验的药物有22个^[18]。

表2 美国FDA新药申报中致癌试验转基因动物模型的选择

申报年份	转基因动物模型				总数	非传统致癌试验比例/%
	Tg.rasH2	P53 ^{+/-}	TG.AC	其他		
2002	1	5	4	0	10	16
2003	3	9	11	3	26	44
2004	6	7	3	1	17	28
2005	13	1	0	0	14	23
2006	6	5	1	1	13	18
2007	9	5	1	1	16	23
2008	12	3	1	0	12	22
2009	5	0	1	0	6	10
2010	12	2	0	0	14	33
2011	17	0	1	1	19	44
2012	9	0	0	3	12	24
2013	23	0	0	0	23	52

注:本表根据文献资料整理汇总^[19]。

4 国内外致癌试验相关指导原则

从1995年开始, ICH、FDA等机构发布了多项与致癌试验相关的指导原则, 分别从致癌试验开展的必要性、致癌性试验设计、致癌性试验的数据统计学分析、考虑要点、剂量选择等方面给予规范和阐述, 如表3所示^[1, 20-28]。2010年, 我国

原国家食品药品监督管理局 (State Food and Drug Administration, SFDA) 发布了《药物致癌试验必要性的技术指导原则》^[27], 但比国外指导原则发布晚了近5年, 可见我国在此领域发展较国外晚, 尚有大量工作需要推进。

表3 国内外不同监管机构颁布的致癌试验指导原则

机构	年份	指导原则名称	文献
ICH	1995	药物致癌试验必要性的指导原则 (S1A)	[20]
ICH	1997	药物致癌试验指导原则 (S1B)	[1]
FDA	2001	啮齿类动物致癌性试验设计和结果分析的统计学考虑	[21]
EMA	2001	致癌性风险潜力	[22]
FDA	2002	致癌性试验设计方案的提交	[23]
OECD	2002	长期毒性及致癌性试验分析及评价要点指南	[24]
EPA	2005	致癌物风险评价指南	[25]
ICH	2008	药物致癌试验的剂量选择 (S1C R2)	[26]
SFDA	2010	药物致癌试验必要性的技术指导原则	[27]
OECD	2010	长期毒性和致癌性研究的开展和设计指南 (支持指南 451、452和453)	[28]

5 我国开展基于转基因动物模型的致癌试验的困境

国外从转基因小鼠模型构建、生物学特性分析、模型敏感性与特异性分析、指导原则制定, 模型动物供应的商业化等方面做了大量工作, 从而建立起基于转基因动物模型的临床前药物短期致癌试验体系, 并越来越多地用于新药申报中, 极大促进了药物研发与上市。

相比之下, 一方面国内此转基因动物模型的构建及其基础研究、指导原则制定与规范起步均较晚; 另一方面, 随着我国临床前药物评价平台日趋完善和我国创新药物研发兴起, 近几年国内对转基因动物模型的需求不断增加。目前, 北京、上海、成都等地多家GLP机构均开展了基于转基因模型动物的短期致癌试验, 动物来源主要依赖从国外进口。

依赖国外进口转基因动物模型, 存在价格昂贵、周期漫长、进口渠道单一、来源不可靠等问题。例如, 从日本进口Tg.rasH2转基因小鼠, 每只动物价格达到400欧元左右, 一个短期致癌试验仅动物购买费用就高达数百万人民币。这种高昂成本无疑会间接转嫁到我国药物研发企业中, 最终由我国广大患者承担, 增加国人的用药成本。因此, 建立我国具有自主知识产权的短期致癌试验转基因动物模型迫在眉睫、势在必行。

6 我国转基因动物模型构建的最新进展

建立我国基于转基因动物模型的致癌试验体系, 需要从“有模型动物可用、有背景数据可查、有关键技术支撑、有评价标准可考”等方面入手。首先, 需要建立转基因动物模型及其商业化供应体系与资源保存体系, 收集整理转基因动物模型的生物学基础数据, 包括血液学、生理学、血液生化

学、自发肿瘤发生率等基础数据。由于该数据将有助于结果判断,故模型相关的基础数据必须充分详实,来自多个中心。其次,建立基于转基因动物模型临床前药物潜在致癌性评价关键技术,包括符合指导原则的试验设计、符合国际规范的病理结果判断与统计学分析等工作同样需要多中心联合进行。最后,在详实准确的试验数据支持下,需要在国家相关部门牵头下,建立并修订我国的基于转基因动物模型的致癌试验相关指导原则。

中国食品药品检定研究院实验动物资源研究所,从2004年开始,参照国外转基因动物模型构建思路,构建了我国具有自主知识产权的转基因动物模型Tg.C57-ras^[29],并对这个模型的生物学特性、血液学、生理学、血液生物化学背景数据、遗传稳定性、自发性肿瘤等开展了深入研究^[30],进一步建立了这个模型资源的活体与冷冻保存方法及规模化供应体系^[31],联合北京、上海、山东等多家临床前安全性评价中心,对该模型的敏感性与特异性展开了联合验证。并从基因拷贝数、蛋白表达水平及已知致癌物敏感性等方面,与日本Tg.rasH2模型进行比较,积累了大量的数据(数据另文近期发表),并于2013年获得国家发明专利^[32]。

此外,为了完善转基因模型的提供,满足致癌试验需求,还构建了C57BL/6背景的p53^{+/-}基因敲除模型。目前,已经完成生物学特性、血液学、生理学、血液生物化学、MNU和尿烷诱导的肿瘤发生率试验,证明该模型遗传稳定、生产繁殖良好、易发肿瘤,已经在国内多家实验室使用^[33]。目前,关于该模型的专利申请也在进行中^[34]。

为了提供遗传更加稳定、拥有我国自主知识产权的动物模型,在总结十多年研发与验证致癌试验转基因模型基础上,最近研发出一种基于*c-Ha-ras*基因定点插入(Knockin)模型,该模型采用干细胞打靶技术建立,较转基因动物模型更加稳定,表型更加可靠,该模型的相关工作正在进行中。

7 建立我国致癌试验转基因模型的必要性及展望

建立基于转基因动物模型的临床前药物短期致癌试验体系,可以进一步加快我国创新药物研发和临床前药物安全性评价,降低国人的用药成本。因而,加快推动我国具有自主知识产权的转基因动物模型的构建与验证及其标准化,具有重要的现实

意义。

目前,对基于转基因动物模型开展的药物短期致癌试验越来越得到国内外监管机构的认可,也是今后的发展方向,主要模型包括Tg.rasH2转基因模型、p53^{+/-}基因敲除模型以及Tg.AC模型等,但是,转入*c-Ha-ras*基因的Tg.rasH2转基因模型使用更加广泛。为了给市场提供更多的选择,我们目前构建了我国具有自主知识产权的转入*c-Ha-ras*转基因模型Tg.C57-ras,以及p53^{+/-}基因敲除模型,其他转基因模型的构建也取得了实质性进展。下一步的工作是积累这些转基因动物模型的背景数据,建立稳定可靠的供应体系,并经过多个实验室联合验证,以确定模型的遗传稳定性以及标准化。

今后,将进一步完善Tg.C57-ras和p53^{+/-}基因敲除模型的基础背景数据,推动开展更多的实验室联合验证试验,并进一步监测其遗传稳定性。并在已有模型基础上,利用先进的技术,推出更加稳定可靠的新的定点插入动物模型。进一步与我国实验动物学会、全国临床前药物安全性评价中心、国家药物监管机构和新药研发企业合作,促进我国致癌试验相关指导原则的建立和完善。

参考文献:

- [1] International Conference on Harmonization (ICH) S1B. Testing for Carcinogenicity of Pharmaceuticals[EB/OL]. (1997-08-01) [2019-07-08]. <http://www.ich.org/products/guidelines/safety/article/safety-guidelines.html>.
- [2] Shimizu K, Goldfarb M, Shard Y, et al. Three Human Transforming Genes Are Related to the Viral Ras Oncogenes[J]. Proc Natl Acad Sci.USA, 1983, 80(8): 2112-2116.
- [3] Saitoh A, Kimura M, Takahashi R, et al. Most Tumors in Transgenic Mice with Human *c-Ha-ras* Gene Contained Somatically Activated Transgenes[J]. Oncogene, 1990, 5(8): 1195-1200.
- [4] Nambiar PR, Turnquist SE, Morton D. Spontaneous Tumor Incidence in rasH2 Mice: Review of Internal Data and Published Literature[J]. Toxicol Pathol, 2012, 40(4): 614-623.
- [5] Yamamoto S, Urano K, Koizumi H, et al. Validation of Transgenic Mice Carrying the Human Prototype *c-Ha-ras* Gene as a Bioassay Model for Rapid Carcinogenicity

- Testing[J]. Environ Health Perspect, 1998, 106 (Suppl 1) : 57-69.
- [6] Paranjpe MG, Belich JL, Mann PC, et al. A Comparison of Spontaneous Tumors in Tg.rasH2 Mice in 26 week Carcinogenicity Studies Conducted at a Single Test Facility during 2004 to 2012 and 2013 to 2018[J]. Toxicol Pathol, 2019, 47 (1) : 18-25.
- [7] Kawabe M, Urano K, Suguro M, et al. Establishment and Validation of an Ultra-Short-Term Skin Carcinogenicity Bioassay Using Tg-rasH2 Mice[J]. Vet Pathol, 2019, 300985819854440. doi: 10.1177/0300985819854440.
- [8] Li J, Morinello E, Larsen T, et al. Carcinogenicity Assessment of the Hedgehog Pathway Inhibitor, Vismodegib in Tg.rasH2 mice and Sprague-Dawley Rats[J]. Regul Toxicol Pharmacol, 2018, 92: 382-389.
- [9] Kim TW, Papagiannis CN, Zwick LS, et al. Comparison of the Class Effects of Antisense Oligonucleotides in CByB6F1-Tg (HRAS) 2Jic and CD-1 Mice[J]. Toxicol Pathol, 2019, 47 (1) : 82-92.
- [10] Donehower LA, Harvey M, Slagle BL, et al. Mice Deficient for p53 Are Developmentally Normal but Susceptible to Spontaneous Tumours[J]. Nature, 1992; 356: 215 - 221.
- [11] Richter K, Paakkola T, Mennerich D, et al. USP28 Deficiency Promotes Breast and Liver Carcinogenesis as Well as Tumor Angiogenesis in a HIF-independent Manner [J]. Mol Cancer Res, 2018, 16 (6) : 1000-1012.
- [12] Wang Y, Pascal LE, Zhong M, et al. Combined Loss of EAF2 and P53 Induces Prostate Carcinogenesis in Male Mice[J]. Endocrinology, 2017, 158 (12) : 4189-4205.
- [13] Mitsumori K. Evaluation on Carcinogenicity of Chemicals Using Transgenic Mice[J]. Toxicology, 2002, 181: 241-244.
- [14] Bondy GS, Coady L, Curran I, et al. Effects of Chronic Deoxynivalenol Exposure on P53 Heterozygous and P53 Homozygous Mice[J]. Food Chem Toxicol, 2016, 96: 24-34.
- [15] Tennant RW, Stasiewicz S, Eastin WC, et al. The Tg.AC (v-Ha-ras) Transgenic Mouse: Nature of the Model[J]. Toxicol Pathol, 2001, (29 Suppl) : 51-59.
- [16] Chanda S1, Erexson G, Frost D, et al. 26-Week Dermal Oncogenicity Study Evaluating Pure Trans-capsaicin in Tg.AC Hemizygous Mice (FBV/N) [J]. Int J Toxicol, 2007, 26 (2) : 123-133.
- [17] 宋征, 徐景宏, 王庆利, 等. 转基因小鼠在药物致癌性评价中的应用[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2010, 24 (6) : 557-561.
- [18] 张素才, 孙云霞. 从美国FDA近两年批准新药看致癌试验的设计[C]. 2016年第六届全国药物毒理学会论文集, 2016: 325-326.
- [19] David Jacobson-Kram. Cancer Risk Assessment Approaches at the FDA/CDER: Is the Era of the 2-year Bioassay Drawing to a Close[J]. Toxicol Pathol, 2010, 38 (1) : 169-170.
- [20] International Conference on Harmonization (ICH) . S1A: Guideline on the Need for Long-term Rodent Carcinogenicity Studies of Pharmaceuticals[EB/OL]. (1995) [2019-07-08]. <http://www.ich.org/products/guidelines/safety/article/safety-guidelines.html>.
- [21] Food and Drug Administration (FDA) . Draft Guidance for Industry-Statistical Aspects of the Design, Analysis and Interpretation of Chronic Rodent Carcinogenicity Studies of Pharmaceuticals[EB/OL] (2001) . [2019-07-08]. <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/Guidance-ComplianceRegulatoryInformation/Guidances/UCM079272.pdf>.
- [22] EMEA. Note for Guidance on Carcinogenic Potential (CPMP /SWP /2877 /00, 2001) [EB/OL]. (2001) [2019-07-08]. http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003258.pdf.
- [23] Food and Drug Administration (FDA) . Carcinogenicity Study Protocol Submissions[EB/OL]. (2002) [2019-07-08]. <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/UCM078924.pdf>.
- [24] Organization for Economic Cooperation and Development (OECD) . Guidance Notes for Analysis and Evaluation of Chronic Toxicity and Carcinogenicity Studies[EB/OL]. (2002) [2019-07-08]. http://www.oecd-ilibrary.org/environment/guidance-notes-for-analysis-and-evaluation-of-chronic-toxicity-and-carcinogenicity-studies_9789264078499-en.
- [25] U. S. Environmental Protection Agency (EPA) . Guidelines

- for Carcinogen Risk Assessment[EB/OL]. (2005) [2019-07-08]. http://www.epa.gov/raf/publications/pdfs/CANCE_GUIDELINES_FINAL_3-25-05.PDF
- [26] International Conference on Harmonization (ICH) . S1C (R2) : Dose Selection for Carcinogenicity Studies [EB/OL]. (2008) [2019-07-08]. <http://www.ich.org/products/guidelines/safety/article/safety-guidelines.html>.
- [27] 国家食品药品监督管理局. 药物致癌试验的技术指导原则[EB/OL]. (2010) [2019-07-08]. <http://www.sfda.gov.cn>.
- [28] Organization for Economic Cooperation and Development (OECD) . Guidance Document 116 on the Conduct and Design of Chronic Toxicity and Carcinogenicity Studies, Supporting Test Guidelines 451, 452 and 453: Second Edition, OECD Series on Testing and Assessment, No. 116[EB/OL]. [2019-07-08]. <http://www.oecd-ilibrary.org/content/book/9789264221475-en>.
- [29] 周舒雅, 左琴, 刘甦苏, 等. C57-ras转基因小鼠模型的建立[J]. 药物分析杂志, 2013, 33 (11) : 1928 - 1934.
- [30] 吕建军, 刘甦苏, 左琴, 等. C57-ras转基因小鼠模型的MNU验证试验[J]. 药物分析杂志, 2013, 33 (11) : 1935 - 1941.
- [31] 左琴, 刘甦苏, 周舒雅, 等. C57-ras 癌症转基因小鼠模型胚胎冷冻保种技术研究[J]. 中国比较医学杂志, 2013, 23 (5) : 45-50
- [32] 范昌发, 岳秉飞, 王军志, 等. 含有人源原癌基因 *c-Ha-ras* 的转基因小鼠的制作方法及其用途. CN101532018 [P]. 2009-09-16.
- [33] 李芊芊, 霍桂桃, 吕建军, 等. p53^{-/-} 基因敲除小鼠尿烷致癌性初步验证试验[J]. 中国药事, 2018, 32 (7) : 932-939.
- [34] 王佑春, 范昌发, 沈月雷, 等. 一种表型高度一致的恶性淋巴瘤模型的建立方法及其用途. CN108300737A [P]. 2018-07-20.

(收稿日期 2019年7月10日 编辑 范玉明)