

· 基础研究 ·

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2024.05.003

网络首发 [https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20240226.1206.005\(2024-02-26\)](https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20240226.1206.005(2024-02-26))细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂 3 在 HPV16 阳性
宫颈癌中的表达及意义^{*}谯 坤¹,徐殿琴²,朱小雨³,周鑫竹¹,张 瑜¹,谭玉洁^{1,3△}

(1. 贵州医科大学医学检验学院,贵阳 550004;2. 贵州医科大学附属医院高血压科,贵阳 550004;

3. 贵州医科大学附属医院临床检验中心,贵阳 550004)

[摘要] **目的** 探讨细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂 3(CDKN3)在人乳头瘤病毒 16(HPV16)阳性宫颈癌中的表达及意义。**方法** 检索并下载基因表达谱交互式分析(GEPIA)平台 CDKN3 在泛癌中的表达情况,并比较正常宫颈组织(13 份)和宫颈癌组织(306 份)CDKN3 表达水平;再访问并下载基因表达综合(GEO)数据库中 HPV16 阳性宫颈癌 GSE39001 数据集,比较 HPV16 阳性宫颈癌组织(43 份)与正常宫颈组织(12 份)CDKN3 mRNA 表达水平;通过免疫组织化学法检测贵州医科大学附属医院 12 例 HPV16 阳性宫颈癌、12 例 HPV16 阳性宫颈腺癌前病变、10 例 HPV16 阳性慢性宫颈炎患者及 7 例 HPV 阴性正常宫颈组织 CDKN3 表达情况;选取宫颈癌 SiHa(HPV16 阳性)、HeLa(HPV18 阳性)、HCC94(HPV 阴性)细胞株,使用 Western blot 检测其 CDKN3 表达差异。**结果** GEPIA 平台分析结果显示,CDKN3 在泛癌中高表达,且宫颈癌组织 CDKN3 表达水平明显高于正常宫颈组织($P<0.05$);GEO 数据集分析结果发现,HPV16 阳性宫颈癌组织 CDKN3 mRNA 相对表达水平明显高于正常宫颈组织($P<0.001$);免疫组织化学验证发现,HPV16 阳性宫颈癌、HPV16 阳性宫颈腺癌前病变、HPV16 阳性慢性宫颈炎及 HPV 阴性正常宫颈组织 CDKN3 阳性表达率分别为 91.7%、58.3%、0、0;宫颈癌细胞 Western blot 检测结果显示,宫颈癌 SiHa(HPV16 阳性)细胞 CDKN3 表达水平明显高于 HeLa(HPV18 阳性)和 HCC94(HPV 阴性)细胞($P<0.05$)。**结论** CDKN3 可能是 HPV16 阳性宫颈癌中一种潜在的致癌基因,可作为一种宫颈癌前病变及宫颈癌筛选标志物,并为后续的机制研究及靶向治疗提供理论基础。

[关键词] 人乳头瘤病毒 16 型;宫颈肿瘤;周期素依赖激酶抑制蛋白质类;免疫组织化学;细胞培养**[中图分类号]** R737.33**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2024)05-0651-06Expression and significance of cyclin dependent kinase inhibitor 3
in HPV16-positive cervical cancer^{*}QIAO Kun¹,XU Dianqin²,ZHU Xiaoyu³,ZHOU Xinzhu¹,ZHANG Yu¹,TAN Yujie^{1,3△}

(1. School of Clinical Laboratory Science,Guizhou Medical University,Guiyang,Guizhou 550004,China;

2. Department of Hypertension,the Affiliated Hospital of Guizhou Medical University,

Guiyang,Guizhou 550004,China;3. Clinical Laboratory Center,the Affiliated Hospital of

Guizhou Medical University,Guiyang,Guizhou 550004,China)

[Abstract] **Objective** To investigate the expression and significance of cyclin dependent kinase inhibitor 3 (CDKN3) in human papillomavirus type 16 (HPV16)-positive cervical cancer. **Methods** CDKN3 expression in pan-cancer was retrieved and downloaded from the Gene Expression Profiling Interactive Analysis (GEPIA) platform,and the expression levels of CDKN3 between normal cervical tissues (13 samples) and cervical cancer tissues (306 samples) were compared. Subsequently,GSE39001 data of HPV16-positive cervical cancer was sourced and downloaded from the Gene Expression Omnibus (GEO) database,and the expression levels of CDKN3 mRNA in HPV16-positive cervical cancer tissues (43 samples) and normal cervical tissues (12 samples) were compared. Immunohistochemical method was used to detect the expression of CDKN3 in 12 cases of HPV16-positive cervical cancer,12 cases of HPV16-positive cervical precancerous lesions,10 cases of HPV16-positive chronic cervicitis and 7 cases of HPV-negative normal cervical samples collected from the Affiliated Hospital of Guizhou Medical University. SiHa (HPV16-positive),HeLa (HPV18-positive) and HCC94

(HPV-negative) cervical cancer cell lines were selected, and their CDKN3 expression were detected by Western blot. **Results** The GEPIA platform analysis showed that CDKN3 was highly expressed in pan-cancer, and the expression level of CDKN3 in cervical cancer tissue was significantly higher than that in normal cervical tissue ($P<0.05$). The GEO dataset reflected a significantly increased CDKN3 mRNA expression level in HPV16-positive cervical cancer compared to normal cervical tissue ($P<0.001$). Immunohistochemical verification showed that the positive expression rates of CDKN3 in HPV16-positive cervical cancer, HPV16-positive cervical precancerous lesion, HPV16-positive chronic cervicitis and HPV-negative normal cervical tissues were 91.7%, 58.3%, 0 and 0, respectively. Western blot analysis of cervical cancer cells showed that the expression level of CDKN3 in SiHa (HPV16-positive) cells was significantly higher than that in HeLa (HPV18-positive) and HCC94 (HPV-negative) cells ($P<0.05$). **Conclusion** CDKN3 is a new oncogene of HPV16-positive cervical cancer, which may be used as a marker of cervical precancerous lesions and cervical cancer screening, and may provide a theoretical basis for subsequent mechanism research and targeted therapy.

[Key words] human papillomavirus type 16; uterine cervical neoplasm; cyclin-dependent kinase inhibitor proteins; immunohistochemistry; cell culture

宫颈癌是女性生殖系统中最常见的恶性肿瘤,严重威胁女性生命健康,其发病率高达 80/10 万,每年约 50 万新发病例且超过 25 万患者死亡,其中 80% 以上的新发病例位于发展中国家,是发展中国家女性死亡的重要病因^[1]。该病即使在肿瘤初期开始治疗,很多患者的情况仍然持续恶化。但早发现、早治疗仍是预防宫颈癌进一步恶化的关键;此外,寻找新的治疗策略也变得至关重要。研究指出,女性恶性肿瘤的形成和发展与细胞周期蛋白依赖激酶抑制剂(cyclin dependent kinase inhibitor, CKI)的异常表达紧密相关^[2-3]。CKI 的表达由细胞内多条途径调控^[4],通过研究这些途径在不同肿瘤中的活跃程度及 CKI 的表达模式,可以深入了解这些肿瘤的形成机制,从而为治疗女性恶性肿瘤提供关键信息^[5]。细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂 3(cyclin dependent kinase inhibitor 3, CDKN3)也称细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂 1(cyclin dependent kinase inhibitor 1, CDI1)或核蛋白相关蛋白(kinetochore associated protein, KAP),是双特异性蛋白磷酸酶家族的成员之一,作为一种细胞周期调控蛋白参与细胞周期调控^[6]。CDKN3 在肿瘤诊断、治疗耐药及预后判断方面均发挥作用^[7-8],但其在人乳头瘤病毒 16(human papilloma virus 16, HPV16)阳性宫颈癌中的表达及定位目前鲜有报道。因此,本研究旨在探讨 CDKN3 在 HPV16 阳性宫颈不同程度病变中的表达及意义,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

收集 2018 年 4—12 月贵州医科大学附属医院病理科经病理诊断确诊的 12 例 HPV16 阳性宫颈癌、12 例 HPV16 阳性宫颈癌前病变、10 例 HPV16 阳性慢性宫颈炎患者及 7 例 HPV 阴性正常宫颈者对应组织石蜡切片,所有患者术前均未接受放化疗及靶向治疗。宫颈癌 SiHa (HPV16 阳性)、HeLa (HPV18 阳性)、HCC94 (HPV 阴性)细胞株均购自武汉普诺赛

(Procell)生命科技有限公司。本研究经贵州医科大学附属医院医学伦理委员会审核通过[2019 伦审第(166)号]。

1.2 方法

1.2.1 生物信息学分析

1.2.1.1 基因表达谱交互式分析(Gene Expression Profiling Interactive Analysis, GEPIA)平台分析 CDKN3 基因在宫颈癌及其他癌症数据集中的表达

利用 GEPIA 网站(<http://gepia.cancer-pku.cn/>)分析 CDKN3 在腺样囊性癌、乳腺浸润性癌和宫颈鳞状细胞癌等 33 种人类癌症,以及 306 份宫颈癌组织样品和 13 份正常宫颈组织样品中的表达情况,在网站选中 CDKN3 进行在线分析并以散点图表示。

1.2.1.2 基因表达综合(Gene Expression Omnibu, GEO)数据库分析 CDKN3 在 HPV16 阳性宫颈癌数据集中的表达

利用 GEO 数据库(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>)分析 CDKN3 mRNA 在 HPV16 阳性宫颈癌组织(43 份)及正常宫颈组织(12 份)中的表达。

1.2.2 免疫组织化学检测 CDKN3 在 HPV16 阳性宫颈癌组织中的表达

取贵州医科大学附属医院病理科 HPV16 阳性宫颈癌(12 份)、HPV16 阳性宫颈癌前病变(12 份)、HPV16 阳性慢性宫颈炎(10 份)及 HPV 阴性正常宫颈(7 份)组织样品,以 10% 甲醛溶液固定,随后进行石蜡包埋。将固定后的组织切割为薄片,置于玻片上烤干;经过脱蜡和水化处理,柠檬酸钠抗原修复液修复 3 min;3% 过氧化氢孵化 30 min 以阻断内源性过氧化物活性,随后用磷酸盐缓冲液(PBS)冲洗 5 min;山羊血清中孵化 30 min 以阻止非特异性结合,然后加入 CDKN3 抗体(1:100),并在 4℃ 湿盒中孵化过夜。第 2 天,切片室温平衡 30 min,移除一抗;PBS 清洗 3 次,每次 10 min,再加入酶标山羊抗兔 IgG 聚合物(武汉三鹰生物有限公司),室温孵化 2 h;移除二抗

并再次用 PBS 清洗,二氨基联苯胺(DAB)显色 3~5 min;苏木素复染,盐酸乙醇分化、返蓝、脱水、透明化,最后进行封片处理。根据组织切片着色的阳性细胞数量和染色范围进行评分。在 5 个高倍镜视野下观察并使用二级计分法,染色强度和范围结合形成最终的免疫组织化学评分,其中 0 分为阴性,1~2 分为弱阳性,3~4 分为中等阳性,5 分及以上为强阳性。本研究将阴性和弱阳性归类为阴性,中等阳性和强阳性归类为阳性。

1.2.3 细胞实验

1.2.3.1 细胞培养

SiHa(HPV16 阳性)、HeLa(HPV18 阳性)细胞置于含 10% 胎牛血清(FBS)的 DMEM 培养基中,37℃、5% CO₂ 条件下培养;HCC94(HPV 阴性)细胞置于培养基 RPMI-1640+10% FBS+1% 青霉素(Penicillin,P)/链霉素(Streptomycin,S)中,37℃、5% CO₂ 条件下培养。均每 2~3 天更换培养基,细胞达 80%~90% 融合时,使用 0.25% 胰蛋白酶进行传代培养。

1.2.3.2 Western blot 检测宫颈癌细胞 CDKN3 的表达水平

取对数生长期 SiHa(HPV16 阳性)、HCC94(HPV 阴性)和 HeLa(HPV18 阳性)细胞,接种于 6

孔板,24 h 后用 RIPA 液裂解并测定蛋白浓度。利用 5% 浓缩胶和 10% 分离胶进行电泳,将蛋白转移至聚偏氟乙烯(PVDF)膜,含 5% 脱脂奶粉的 TBST 中封闭 3~4 h,兔抗人 CDKN3 抗体(1:1 000 稀释,美国 Bioworld 公司)孵育过夜;TBST 清洗膜 3 次,在辣根过氧化物酶(HRP)标记的山羊抗兔二抗(1:10 000 稀释,美国 Santa Cruz 公司)中孵育 2 h;TBST 清洗 3 次,使用电化学发光(ECL)法显影。以 3-磷酸甘油醛脱氢酶(GAPDH)为内参,用 Image J1.53 软件分析 CDKN3 相对表达水平。

1.3 统计学处理

采用 SPSS24.0 软件进行统计分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验;计数资料以频数或百分比表示,组间比较采用 χ^2 检验;以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 CDKN3 在泛癌中高表达

通过访问 GEPIA 平台,比较 CDKN3 在大部分肿瘤组织中的表达情况,并进一步检索比较正常宫颈组织(13 份)和宫颈癌组织(306 份)CDKN3 的表达,结果显示:宫颈癌及其他肿瘤组织 CDKN3 表达水平明显高于正常组织(*P*<0.05),见图 1、2。

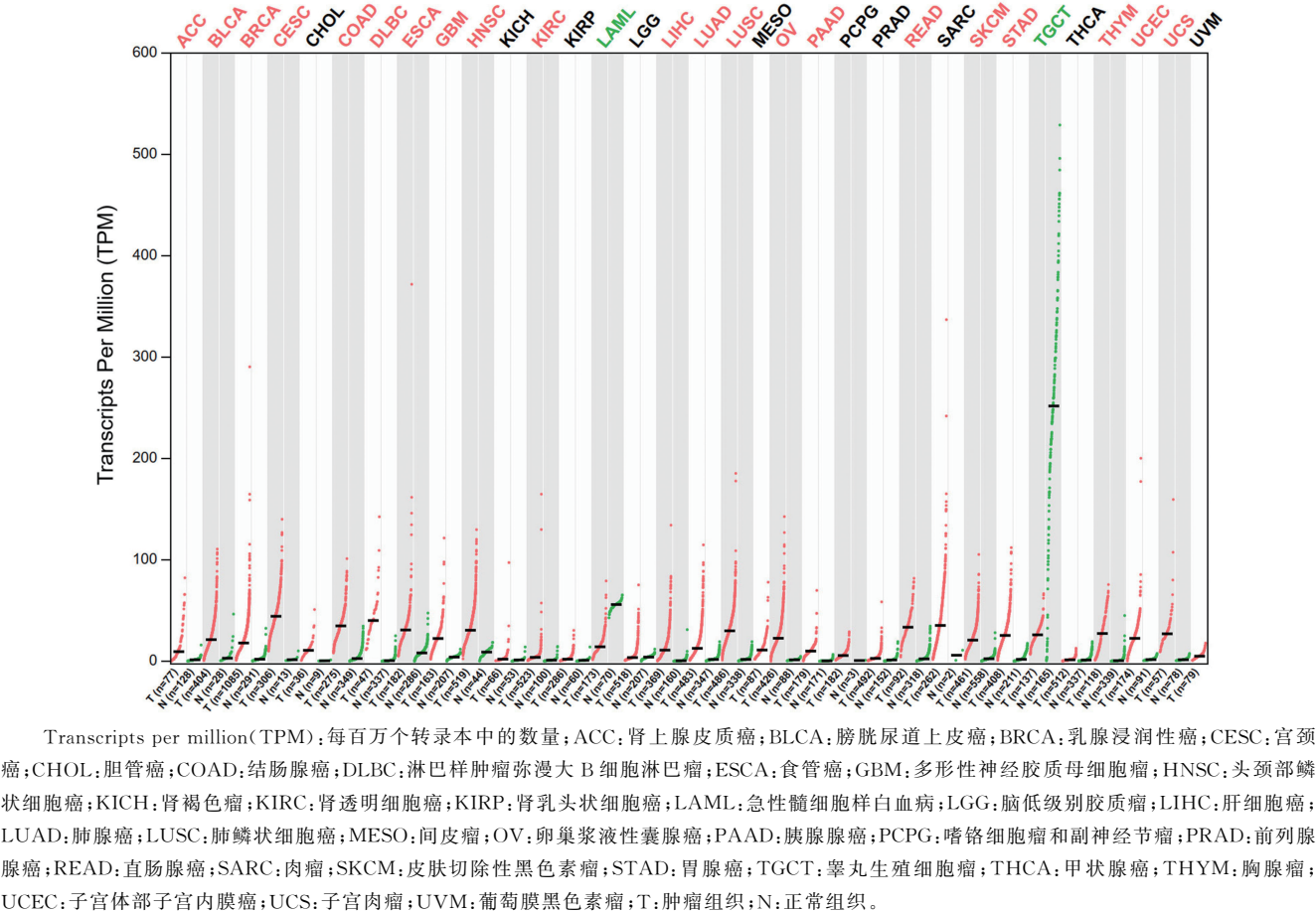
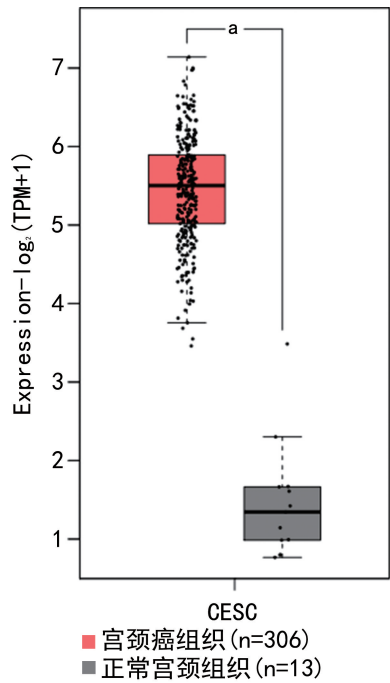


图 1 不同肿瘤组织 CDKN3 表达情况



TPM:每百万个转录本中的数量;CESC:宫颈癌;^a: $P<0.05$ 。
图 2 CDKN3 在宫颈癌及正常宫颈组织中的表达水平

2.2 CDKN3 mRNA 在 HPV16 阳性宫颈癌高表达

访问 GEO 数据库宫颈癌 GSE39001 数据集,分析正常宫颈组织(12 份)和 HPV16 阳性宫颈癌组织(43 份)CDKN3 mRNA 表达情况,结果显示:HPV16 阳性宫颈癌组织 CDKN3 mRNA 相对表达水平明显

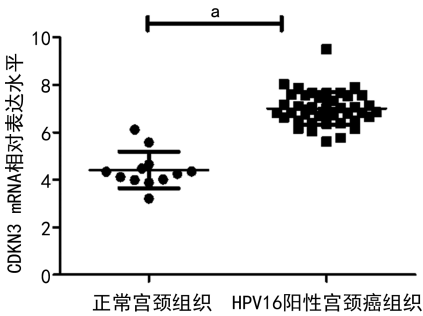
高于正常宫颈组织($P<0.001$),见图 3、4。

2.3 不同宫颈病变组织 CDKN3 表达情况

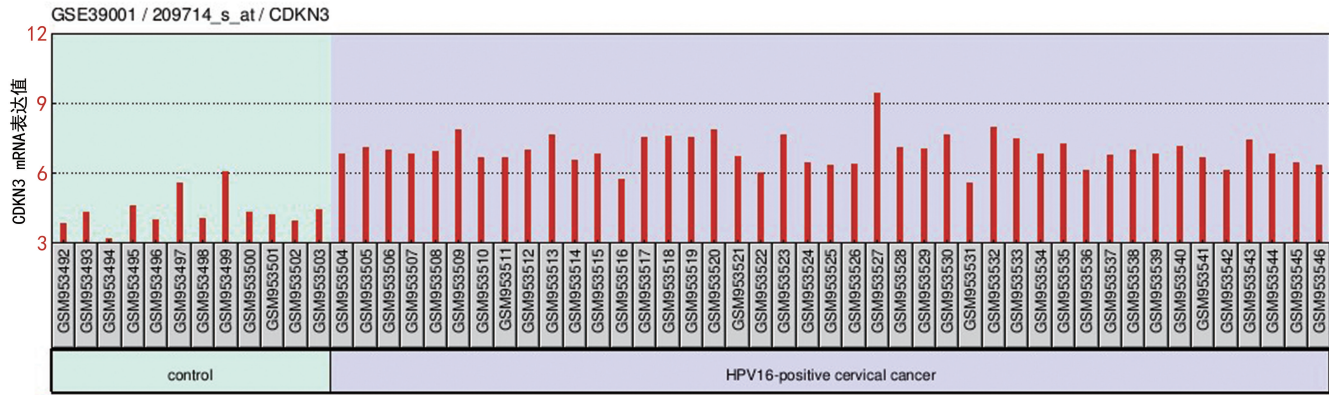
免疫组织化学检查结果显示,HPV16 阳性宫颈癌(12 份)、HPV16 阳性宫颈癌前病变(12 份)、HPV16 阳性慢性宫颈炎(10 份)及 HPV 阴性正常宫颈(7 份)组织切片中 CDKN3 阳性表达率分别为 91.7%(11/12)、58.3%(7/12)、0(0/10)、0(0/7),均定位于细胞质,见图 5。

2.4 不同宫颈癌细胞 CDKN3 表达情况

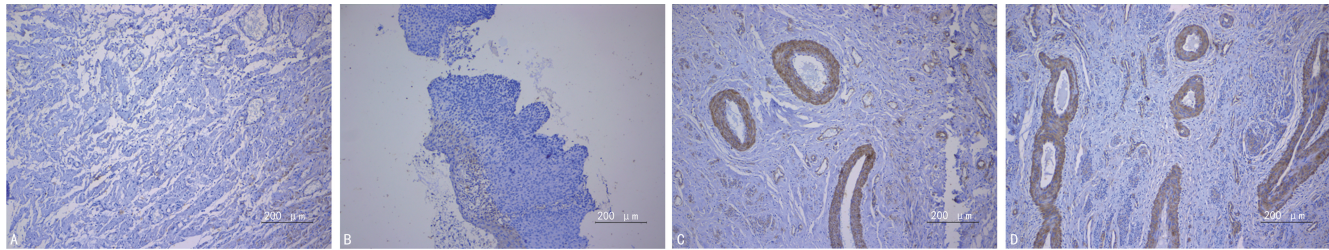
Western blot 检测结果显示,宫颈癌 SiHa(HPV16 阳性)细胞 CDKN3 表达水平高于宫颈癌 HeLa(HPV18 阳性)和 HCC94(HPV 阴性)细胞,差异均有统计学意义($P<0.05$),见图 6。



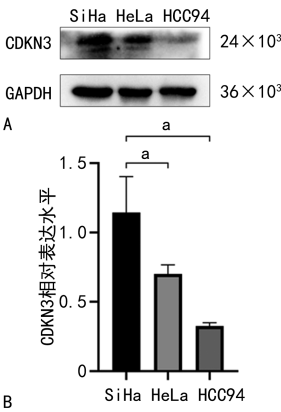
^a: $P<0.001$ 。
图 3 CDKN3 mRNA 在 HPV16 阳性宫颈癌及正常宫颈组织中的相对表达水平



control:正常宫颈组织;HPV16-positive cervical cancer:HPV16 阳性宫颈癌组织。
图 4 GSE39001 数据库中 55 份组织样品 CDKN3 mRNA 表达情况



A: HPV 阴性正常宫颈组织;B: HPV16 阳性慢性宫颈炎组织;C: HPV16 阳性宫颈癌前病变组织;D: HPV16 阳性宫颈癌组织。
图 5 不同宫颈病变组织 CDKN3 的表达(免疫组织化学染色)



A: Western blot 检测不同宫颈癌细胞 CDKN3 表达; B: 不同宫颈癌细胞 CDKN3 表达水平比较柱状图; ^a: $P<0.05$ 。

图 6 不同宫颈癌细胞 CDKN3 表达情况

3 讨 论

细胞周期是细胞生命活动的基本过程,对正常细胞增殖、分化和死亡至关重要^[9]。在癌症中,细胞周期调节功能紊乱是一个重要的特征,可导致细胞癌变^[10]。CDKN3 是一种双特异性蛋白磷酸酶,与细胞周期调节密切相关^[11-12]。它与细胞周期蛋白依赖性激酶(cyclin-dependent protein kinase, CDK)相互作用,调节细胞进入 S 期,影响细胞增殖^[13-15]。在不同类型的癌症中,CDKN3 的表达水平和作用不同,可能促进或抑制癌症的发展^[16-18]。例如,在前列腺癌中,CDKN3 高表达与较低的复发率相关,敲除 CDKN3 可抑制癌细胞增殖和侵袭^[19]。然而,在其他癌症中,如鼻咽癌和胃癌,CDKN3 的高表达与不良预后相关^[20-21]。尽管 CDKN3 在许多癌症中的作用已被研究,但其在 HPV16 阳性宫颈癌中的作用仍有待深入探究。因此,本研究从生物信息学角度及相关实验中探讨 CDKN3 在 HPV16 阳性宫颈癌中的表达和意义。

本研究首先采用生物信息学分析,通过公共数据库分析候选基因(CDKN3): (1)访问共享 GEPIA 平台,发现 CDKN3 在泛癌中普遍高表达;也有文献报道,在许多类型癌症中观察到 CDKN3 表达增加^[22-23]。此外,宫颈癌及其他肿瘤组织 CDKN3 表达水平均高于正常组织,这与 BARRÓN 等^[24]的研究结果一致。(2)访问 GEO 数据库,发现 HPV16 阳性宫颈癌组织 CDKN3 mRNA 表达水平明显高于正常宫颈组织($P<0.001$)。进一步选取不同宫颈病变组织通过免疫组织化学法证实, HPV16 阳性宫颈癌组织 CDKN3 阳性表达率高于 HPV 阴性正常宫颈组织和 HPV16 阳性慢性宫颈炎组织;此外, CDKN3 在 HPV16 阳性宫颈癌前病变中亦表达,且均定位于细胞质,这与 GEO 数据库中的结果相呼应。最后,本研究通过 Western blot 检测细胞中 CDKN3 表达水平,

发现 CDKN3 在宫颈癌 SiHa(HPV16 阳性)细胞中表达水平最高。这提示 CDKN3 可能与 HPV16 阳性感染的宫颈癌有关。本课题后期将选取 SiHa 细胞深入探索 CDKN3 在 HPV16 阳性宫颈癌发生、发展中的作用机制,为 HPV16 阳性宫颈癌的靶向治疗提供理论基础。

综上所述,CDKN3 可能是 HPV16 阳性宫颈癌中一种潜在的致癌基因,可作为一种宫颈癌前病变及宫颈癌筛选标志物,并为后续的机制研究及靶向治疗提供理论基础。

参考文献

[1] NIEVES-RAMÍREZ M E, PARTIDA-RODRÍGUEZ O, MORAN P, et al. Cervical squamous intraepithelial lesions are associated with differences in the vaginal microbiota of Mexican Women [J]. Microbiol Spectr, 2021, 9 (2): e0014321.

[2] ZOHNY S F, BAOTHMAN O A, EL-SHINAWI M, et al. The KIP/CIP family members p21^{Waf1/Cip1} and p57^{Kip2} as diagnostic markers for breast cancer[J]. Cancer Biomark, 2017, 18(4): 413-423.

[3] ZHANG L P, LI W J, ZHU Y F, et al. CDKN3 knockdown reduces cell proliferation, invasion and promotes apoptosis in human ovarian cancer[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2015, 8(5): 4535-4544.

[4] REINIUS M A V, SMYTH E. Anti-cancer therapy with cyclin-dependent kinase inhibitors: impact and challenges[J]. Expert Rev Mol Med, 2021, 23: e6.

[5] 赵耘佩, 徐珮, 许桂莲, 等. 细胞周期蛋白依赖激酶抑制剂与女性恶性肿瘤的研究进展[J]. 重庆医学, 2020, 49(8): 1354-1357.

[6] LI X, NI M, XIONG W, et al. Transcriptomics analysis and benchmark concentration estimating-based in vitro test with IOSE80 cells to unveil the mode of action for female reproductive toxicity of bisphenol A at human-relevant levels[J]. Ecotoxicol Environ Saf, 2022, 237: 113523.

[7] PAN X W, ZHANG H, XU D, et al. Identification of a novel cancer stem cell subpopulation that promotes progression of human fatal renal cell carcinoma by single-cell RNA-seq analysis

- [J]. *Int J Biol Sci*, 2020, 16(16):3149-3162.
- [8] DENG X, MA J, ZHOU W, et al. GID2 interacts with CDKN3 and regulates pancreatic cancer growth and apoptosis[J]. *Lab Invest*, 2023, 103(6):100122.
- [9] WANG Z. Regulation of cell cycle progression by growth factor-induced cell signaling[J]. *Cells*, 2021, 10(12):3327.
- [10] BLAGOSKLONNY M V. Hallmarks of cancer and hallmarks of aging[J]. *Aging (Albany NY)*, 2022, 14(9):4176-4187.
- [11] MORI J, SAWADA T, BABA T, et al. Identification of cell cycle-associated and -unassociated regulators for expression of a hepatocellular carcinoma oncogene cyclin-dependent kinase inhibitor 3[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2022, 625:46-52.
- [12] LIU J, MIN L, ZHU S, et al. Cyclin-dependent kinase inhibitor 3 promoted cell proliferation by driving cell cycle from G₁ to S phase in esophageal squamous cell carcinoma[J]. *J Cancer*, 2019, 10(8):1915-1922.
- [13] KNUDSEN E S, KUMARASAMY V, NAMBIAR R, et al. CDK/cyclin dependencies define extreme cancer cell-cycle heterogeneity and collateral vulnerabilities[J]. *Cell Rep*, 2022, 38(9):110448.
- [14] BURY M, LE CALVÉ B, FERBEYRE G, et al. New insights into CDK regulators: novel opportunities for cancer therapy[J]. *Trends Cell Biol*, 2021, 31(5):331-344.
- [15] FAGUNDES R, TEIXEIRA L K. Cyclin E/CDK2: DNA replication, replication stress and genomic instability[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9:774845.
- [16] CHEN Q, CHEN K, GUO G, et al. A critical role of CDKN3 in Bcr-Abl-mediated tumorigenesis[J]. *PLoS One*, 2014, 9(10):e111611.
- [17] LI H, JIANG X, YU Y, et al. KAP regulates ROCK2 and Cdk2 in an RNA-activated glioblastoma invasion pathway[J]. *Oncogene*, 2015, 34(11):1432-1441.
- [18] YANG X H, TANG F, SHIN J, et al. A c-Myc-regulated stem cell-like signature in high-risk neuroblastoma: a systematic discovery (target neuroblastoma ESC-like signature)[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1):41.
- [19] YU C, CAO H, HE X, et al. Cyclin-dependent kinase inhibitor 3 (CDKN3) plays a critical role in prostate cancer via regulating cell cycle and DNA replication signaling[J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 96:1109-1118.
- [20] CHANG S L, CHEN T J, LEE Y E, et al. CDKN3 expression is an independent prognostic factor and associated with advanced tumor stage in nasopharyngeal carcinoma[J]. *Int J Med Sci*, 2018, 15(10):992-998.
- [21] LI Y, JI S, FU L Y, et al. Knockdown of cyclin-dependent kinase inhibitor 3 inhibits proliferation and invasion in human gastric cancer cells[J]. *Oncol Res*, 2017, 25(5):721-731.
- [22] LI M, CHE N, JIN Y, et al. CDKN3 overcomes bladder cancer cisplatin resistance via LDHA-dependent glycolysis reprogramming[J]. *Onco Targets Ther*, 2022, 15:299-311.
- [23] LI W H, ZHANG L, WU Y H. CDKN3 regulates cisplatin resistance to colorectal cancer through TIPE1[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2020, 24(7):3614-3623.
- [24] BARRÓN E V, ROMAN-BASSAURE E, SÁNCHEZ-SANDOVAL A L, et al. CDKN3 mRNA as a biomarker for survival and therapeutic target in cervical cancer[J]. *PLoS One*, 2015, 10(9):e0137397.

(收稿日期:2023-08-29 修回日期:2023-12-27)

(编辑:冯 甜)