

CRISPR/Cas9 基因编辑技术应用于肿瘤治疗耐药性研究的新进展

范衍序¹ 综述, 白易², 张雅敏² 审校

(1.天津医科大学一中心临床学院, 天津 300070; 2.天津市第一中心医院肝胆外科, 天津 300192)

摘要 肿瘤耐药是影响肿瘤患者预后的重要原因之一。化疗和靶向治疗都受到肿瘤耐药问题的困扰。据统计, 大约 90% 肿瘤患者的死亡是由耐药性引起的。近年来, 研究者利用簇化调节间隔短回文重复序列/CRISPR 相关(CRISPR/Cas)9 基因编辑技术鉴定出许多与肺癌、肝癌、乳腺癌等相关的耐药基因。并且, 通过靶向编辑一些信号转导通路蛋白基因或者重要酶类基因, 可以削弱或消除癌细胞的耐药性, 增强药物的治疗效果。总结该技术在克服肿瘤耐药领域中的进展, 可为肿瘤患者带来新希望。

关键词 CRISPR/Cas9 系统; 基因组编辑; 肿瘤基因治疗

中图分类号 Q78; R730.5

文献标志码 A

文章编号 1006-8147(2025)02-0180-04

限制肿瘤治疗效果的主要因素之一是耐药性问题。据统计, 大约 90% 肿瘤患者的死亡是由耐药性引起的^[1]。虽然癌细胞耐药机制尚未明确, 但根据已知研究结果, 癌细胞遗传的不稳定性、基因突变和肿瘤内细胞异质性, 导致了癌细胞内许多与药物外排、DNA 修复、细胞凋亡、各种功能性酶类和各种细胞信号转导通路相关的基因表达发生变化, 进而导致癌细胞耐药性增高。而且, 肿瘤微环境(TME)、蛋白质及肿瘤基质也是某些肿瘤耐药性高的的重要原因^[2]。

簇化调节间隔短回文重复序列(CRISPR)是原核生物中基于 RNA 的适应性免疫系统。这些间隔序列既可以防止病毒的感染, 又具有适应性^[3]。此外, 在 CRISPR 位点附近还有 4 个 Cas 基因。改变 CRISPR/Cas9 的靶标通常只需要改变 gRNA/sgRNA (向导 RNA) 的序列, 这使得 CRISPR/Cas9 基因组编辑系统可用于修饰各种细胞类型和生物体中的遗传物质。其被广泛应用于肿瘤相关基因功能的探索、荷瘤动物模型的建立以及药物靶点的预测, 极大地增加了人类对肿瘤基因组学的认识。利用 CRISPR/Cas9 技术进行靶向基因编辑, 在削弱癌细胞耐药性和提高抗肿瘤药效方面取得了令人满意的成果^[4]。目前, 许多细胞和动物模型的研究结果表明, CRISPR/Cas9 技术可以有效治疗肿瘤。同时, 评估 CRISPR/Cas9 基因编辑技术治疗肿瘤效率的临床试验也正在进行中。然而, 该技术尚存在脱靶效应、自身免疫反应、载体输送效率低等制约因素。因

此, 本文综述了近年来该技术在克服癌细胞耐药性方面取得的研究结果, 并简述了其目前面临的局限性及可能的解决方法。

1 CRISPR/Cas9 技术与肿瘤耐药性

1.1 CRISPR/Cas9 技术辅助增强抗肿瘤药物的疗效

1.1.1 阿霉素 利用 CRISPR/Cas9 基因编辑技术靶向编辑 ATP 结合盒转运子 B 亚家族成员 1(ABCB1) 基因可以增加表皮样癌、结直肠癌和卵巢癌^[5] 细胞中药物的积累量和敏感性; 还可降低骨肉瘤细胞^[6] 的耐药性。靶向编辑多药耐药 1(MDR1) 基因可以增加药物在乳腺癌细胞内的累积、促进药物吸收和加强药物的细胞毒性^[7]。靶向编辑多聚 ADP 核糖聚合酶(PARP)1 基因可增加三阴性乳腺癌细胞的药物敏感性, 并且可以抑制癌细胞的生长; 针对该基因的编辑也可以使吉西他滨和多西他赛对三阴性乳腺癌的疗效增加^[8]。靶向编辑 TP53 基因可以减少骨肉瘤细胞中抗凋亡蛋白的表达量, 增加药物的疗效。靶向编辑细胞程序性死亡-配体 1(PDL-1) 基因可以降低治疗骨肉瘤所需的半抑制浓度(IC50), 提高对药物的敏感性^[9]。靶向编辑 CD44 基因可以降低骨肉瘤细胞中 ABCB1 的表达, 增加对药物的敏感性。靶向编辑 lncRNA MALAT1(肺腺癌转移相关转录因子 1) 基因可使三阴性乳腺癌细胞对药物的敏感性增加; 针对该基因的编辑也可以使紫杉醇对三阴性乳腺癌的疗效增加。

1.1.2 顺铂 利用 CRISPR/Cas9 基因编辑技术靶向编辑谷胱甘肽-S-转移酶 ω1(GSTO1) 基因可以增加该药物对结直肠癌的细胞毒性; 针对该基因的编辑也可以使草酸铂对结直肠癌的疗效增加^[10]。靶向编辑 RUNT 相关转录因子 1(RUNX1) 基因可以增

基金项目 国家自然科学基金(82372194)

作者简介 范衍序(2000-), 男, 硕士在读, 研究方向: 肝胆外科; 通信作者: 张雅敏, E-mail: 5020200824@nankai.edu.cn。

加卵巢癌细胞对该药的敏感性^[11]。靶向编辑核因子相关因子 2(NRF2)基因可以增加肺癌细胞对该药的敏感性;针对该基因的编辑也可以使长春瑞滨和卡铂对肺癌的疗效增加^[12]。靶向编辑 miRNA-371/372/373/373 基因簇不仅可以诱导口腔癌细胞凋亡,还可以增加癌细胞对该药的敏感性^[13]。靶向编辑人乳头瘤病毒(HPV)16 型 E6 与 E7 蛋白相关基因可以抑制宫颈癌细胞生长,促进癌细胞凋亡,降低癌细胞增殖率^[14]。

1.1.3 其他 利用 CRISPR/Cas9 基因编辑技术靶向编辑细胞周期蛋白依赖性激酶 6(CDK6)基因可以增加乳腺癌细胞对帕博西林的敏感性,降低癌细胞存活率。靶向编辑人类 RecQ 样蛋白 4(RECQL4)基因不仅可以增加替莫唑胺对神经胶质瘤细胞 DNA 的损伤,还可以促进癌细胞凋亡^[15]。靶向编辑 Kirsten 大鼠肉瘤病毒癌基因同源物(K-RAS)基因可以通过增加癌细胞凋亡以减小肿瘤体积,辅助西妥昔单抗克隆抗体治疗结直肠癌。靶向编辑表皮生长因子受体(EGFR)基因可以通过减少癌细胞增殖,促进舒尼替尼对肾癌细胞的杀伤^[16]。靶向编辑 4 型黏蛋白(MUC4)基因可以增加胰腺癌细胞对吉西他滨的敏感性。靶向上调拓扑异构酶(TOP)2 α /170 基因表达,下调 TOP2 α /90 表达,可以使抗依托泊苷的白血病细胞增加对该药的敏感性,改善患者预后^[17]。靶向编辑 BCR/ABL 融合基因可以辅助伊马替尼,减少慢性髓系白血病耐药细胞的增殖并增加细胞凋亡。靶向编辑 MIR-21 基因可以增加卵巢癌细胞对化疗药物的敏感性,辅助紫杉醇效果较好,并且癌细胞的上皮-间质转化(EMT)也受到抑制^[18]。靶向编辑 NANOG1 和 NANOGP8 基因可以增加前列腺癌细胞对多西他赛的敏感性^[19]。靶向编辑 CD44 基因可以增加肝癌细胞对索拉非尼和 5-FU(5-氟尿嘧啶)的敏感性。

1.2 CRISPR/Cas9 辅助鉴定与耐药性相关的基因

1.2.1 肺癌 在肺癌中,SLFN11(Schlafen11)基因可以通过增强癌细胞分裂过程中的 S 期阻滞效应,使癌细胞凋亡增加,肿瘤体积缩小,周围侵犯减少。在一项研究中,利用 CRISPR/Cas9 技术沉默 SLFN11 基因可以使小细胞肺癌对 PARP 抑制剂类药物耐药^[20]。重塑与间隔因子 1(RSF-1)是一种重要的蛋白,主要参与稳定染色体、减少某些癌基因转录和增强 DNA 修复等环节。该蛋白表达量的增加似乎可以增强癌细胞的耐药性。一项针对肺癌细胞的研究表明,利用 CRISPR/Cas9 技术沉默 RSF-1 基因,减少该蛋白表达,可使核因子(NF)- κ B 通路信号减

弱,增加紫杉醇对癌细胞的杀伤作用^[21]。亦有研究结果表明,敲除 RSF-1 基因还能增强紫杉醇减少异种移植小鼠肿瘤体积和重量的作用。有利用 CRISPR/Cas9 基因编辑技术的研究还发现,极光激酶 B(Aurora-B)基因可以通过减弱 P53 依赖的 DNA 损伤反应,增强对顺铂和紫杉醇的抗性,增加两种药物治疗肿瘤后的复发率。利用该基因编辑技术发现同样依赖信号通路的还有 PBRM1 基因,该基因的表达产物可以调控核小体位置和染色质的可用性,从而抑制肿瘤的发展。利用 CRISPR/Cas9 基因编辑技术敲除该基因可以增强磷脂酰肌醇 3 激酶-蛋白激酶 B 通路的信号转导,削弱 EGFR 抑制剂类药物的疗效^[22]。

1.2.2 乳腺与女性生殖系统肿瘤 apurinic/apyrimidyl 核酸内切酶 1(APE1)是碱基切除 DNA 修复系统中的限速酶。一项使用 CRISPR/Cas9 基因编辑技术的研究显示,敲除三阴性乳腺癌细胞中的 APE1 基因可以显著提高奥拉帕尼的 IC₅₀,由此提示 APE1 缺失可能与奥拉帕尼耐药有关^[23]。有利用 CRISPR/Cas9 基因编辑技术的研究发现,ATP 结合盒转运蛋白 9(ABCC9)和白细胞介素-37(IL-37)基因可以增加宫颈癌细胞对紫杉醇的抗药性。孕酮耐药是甲羟孕酮治疗子宫内膜癌的主要障碍之一。一项使用 CRISPR/Cas9 基因编辑技术的研究发现,敲除肿瘤抑制因子 ARID1A(富含 AT 的相互作用结构域 1A)基因可下调子宫内膜癌细胞中孕酮受体 B(PRB)的表达,增强蛋白激酶 B 磷酸化,从而减弱对甲羟孕酮(MPA)的敏感性^[24]。此外,利用 CRISPR/Cas9 基因编辑系统的研究还发现卵巢癌细胞的 BIRC5(杆状病毒 IAP 重复序列 5)基因则可以促进癌细胞的 EMT,从而增强对紫杉醇的耐药性^[25]。

1.2.3 血液系统类肿瘤 在一项针对急性髓系白血病(AML)细胞的研究中,全基因组 CRISPR/Cas9 筛选结果显示,丝裂原活化蛋白激酶和哺乳动物雷帕霉素靶蛋白信号通路的负调控因子,包括 LZTR1、NF1、TSC1 或 TSC2,都与索拉非尼耐药有关。在另一项针对 AML 细胞的研究中,利用全基因组 CRISPR/Cas9 筛选研究了与泛素样修饰物激活酶 1(UBA1)抑制剂 TAK-243 耐药相关的基因。结果显示,BEN 结构域蛋白 3(BEND3)的表达在 TAK-243 的治疗中起关键作用,敲除该蛋白基因可增加 ABCG2 表达,降低细胞内 TAK-243 浓度,导致 TAK-243 耐药^[26]。

1.2.4 其他 利用全基因组 CRISPR/Cas9 筛选技术对 K-RAS 突变的结直肠癌细胞进行研究发现,Wnt/ β -catenin 信号通路在 BCL-XL 抑制剂 ABT-

263 耐药中起作用。该研究结果显示,在 ABT-263 耐药的结直肠癌细胞中,靶向 Wnt/ β -catenin 信号通路正调节因子的 sgRNAs 被耗尽,而靶向 Wnt/ β -catenin 信号通路负调节因子的 sgRNAs 被富集^[27]。这些结果表明 Wnt/ β -catenin 信号通路的过度激活参与了 K-RAS 突变的结直肠癌细胞对 ABT-263 耐药的过程。目前,利用 CRISPR/Cas9 基因编辑技术抑制谷胱甘肽硫转移酶 1(GSTO1)、尿激酶纤溶酶原激活剂受体(uPAR)、ABCB 基因可使结肠癌细胞耐药性降低,其他基因及具体机制尚待研究。

另外,还有许多研究结果显示,在前列腺癌中,利用 CRISPR/Cas9 基因编辑技术敲除转录延伸 A 样因子 1(TCEAL1)基因可以增加癌细胞的凋亡和对多西他赛的敏感性^[28]。在膀胱癌中,利用该技术敲除 MSH2 基因可能减少癌细胞凋亡。利用该技术敲除肾癌细胞中酰基转移酶相关基因后,舒尼替尼疗效增加^[29]。一项利用 CRISPR/Cas9 的研究发现,CDK5 基因表达上调与肝细胞癌索拉非尼的高耐药性有关^[30];相反,SGOL1 基因表达上调则可增强索拉非尼对肝癌细胞的杀伤。在胆囊癌中,利用该技术敲除延长复合体亚基 5(ELP5)基因后,使用吉西他滨治疗的患者生存率下降^[31]。

此外,有全基因组 CRISPR/Cas9 筛选显示,含有 Kelch 结构域的 F-Box 蛋白 42(FBXO42)是 E3 泛素连接酶,在介导曲美替尼耐药中起重要作用。研究显示,FBXO42 可能参与 TAK1 信号通路,提示 TAK1 通路抑制剂联合曲美替尼是治疗 NRAS 突变型黑色素瘤的可行方法。在一项胶质母细胞瘤细胞的研究中,使用全基因组 CRISPR/Cas9 筛选技术发现了包括 MSH2、CLCA2 和 PTCH2 在内的多种基因在替莫唑胺耐药中的关键作用^[32]。

2 CRISPR/Cas9 技术的局限性

在众多实验和应用中,脱靶突变是 CRISPR/Cas9 基因编辑最主要的局限性之一。因此,克服这一限制可能是 CRISPR/Cas9 基因编辑技术临床应用的关键。在 CRISPR/Cas9 基因编辑技术中,某些 DNA 序列是靶向的。然而,sgRNA 经常影响与目标序列相似的其他区域产生脱靶突变,这可能会破坏基因的正常功能并导致基因组不稳定^[33]。正确设计 sgRNA 可以降低脱靶效应。为此,开发了 CHOP-CHOP、E-CRISP、CRISPR-ERA 等平台。利用这些计算工具,可以设计精准特异的 sgRNA^[34]。另一种减少脱靶效应的方法是使用 D10A 突变的 Cas9。Cas9 的这种变体产生带有悬空的 DNA 单链断裂,而不是野生型的单纯钝端切割,有结果显示将 D10A 突变

的 Cas9 与一对靠近反向 DNA 链的 sgRNA 靶向序列结合使用,可显著降低潜在脱靶效应^[35]。Cas9 的其他变体,包括 SpCas9-HF1 和 eSpCas9(1.1) 也被开发出来,它们有望显著降低脱靶效应,尚待进一步验证^[36]。

CRISPR/Cas9 基因编辑应用于临床的另一个限制是可能存在 SpCas9 抗体,需要找到合适的解决方案。对空肠弯曲杆菌 Cas9 的研究可能对此有所帮助。CRISPR/Cas9 系统的运载体也有待进一步研究。目前常用方法是腺相关病毒(AAV)载体。在这种递送方法中,由于运载系统成分的长期表达,存在刺激免疫系统和增加脱靶突变等局限性。因此,有研究者建议使用非病毒载体,如纳米颗粒,以减小对免疫系统的刺激,但远期效果有待进一步观察^[37]。体内递送过程也有局限性,载体易被某些酶降解或被免疫细胞吞噬消除。

3 结论与展望

CRISPR/Cas9 基因编辑技术在未来有很大的临床应用前景,其可作为克服肿瘤耐药问题的有效方法。通过一系列生长分化调控基因的定向编辑,甚至有望使癌细胞转化为正常细胞。虽然这种技术在临床处于起步阶段,但随着越来越多载体系统的出现、高精度 CRISPR/Cas9 变体的研究以及临床试验远期预后的改善,在未来可以为更多的肿瘤患者提供便利与希望。

参考文献:

- [1] MAIMAITIJANG A, HE D, LI D, et al. Progress in research of nanotherapeutics for overcoming multidrug resistance in cancer[J]. Int J Mol Sci, 2024, 25(18): 9973.
- [2] HAIDER T, PANDEY V, BANJARE N, et al. Drug resistance in cancer: mechanisms and tackling strategies[J]. Pharmacol Rep, 2020, 72(5): 1125-1151.
- [3] DENG X, SUN W, LI X, et al. An anti-CRISPR that represses its own transcription while blocking Cas9-target DNA binding[J]. Nat Commun, 2024, 15(1): 1806.
- [4] VAGHARI-TABARI M, HASSANPOUR P, SADEGH-SOLTANI F, et al. CRISPR/Cas9 gene editing: a new approach for overcoming drug resistance in cancer[J]. Cell Mol Biol Lett, 2022, 27(1): 49.
- [5] TIAN Y, LEI Y, WANG Y, et al. Mechanism of multidrug resistance to chemotherapy mediated by P glycoprotein (review)[J]. Int J Oncol, 2023, 63(5): 119.
- [6] GUO N, LIU J B, LI W, et al. The power and the promise of CRISPR/Cas9 genome editing for clinical application with gene therapy[J]. J Adv Res, 2022, 40: 135-152.
- [7] ZHANG H H, XIANG J, YIN B C, et al. Overcoming multidrug resistance by base-editing-induced codon mutation[J]. ACS Pharmacol Transl Sci, 2023, 6(5): 812-819.
- [8] KANBAR K, EL DARZI R, JAALOUK D E. Precision oncology revolution: CRISPR-Cas9 and PROTAC technologies unleashed[J].

- Front Genet, 2024, 15: 1434002.
- [9] SHARMA A K, GIRI A K. Engineering CRISPR/Cas9 therapeutics for cancer precision medicine[J]. Front Genet, 2024, 15: 1309175.
- [10] XU Y, ZHU M. Novel exosomal miR-46146 transfer oxaliplatin chemoresistance in colorectal cancer[J]. Clin Transl Oncol, 2020, 22(7): 1105–1116.
- [11] XIAO L, PENG Z, ZHU A, et al. Inhibition of RUNX1 promotes cisplatin-induced apoptosis in ovarian cancer cells[J]. Biochem Pharmacol, 2020, 180: 114116.
- [12] NGO H, LE H, SURH Y J. Nrf2, A target for precision oncology in cancer prognosis and treatment[J]. J Cancer Prev, 2023, 28(4): 131–142.
- [13] LIN S C, WU H L, YE H L Y, et al. Activation of the miR-371/372/373 miRNA cluster enhances oncogenicity and drug resistance in oral carcinoma cells[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(24): 9442.
- [14] LI T, LI S, KANG Y, et al. Harnessing the evolving CRISPR/Cas9 for precision oncology[J]. J Transl Med, 2024, 22(1): 749.
- [15] KRÓL S K, KACZMARCZYK A, WOJNICKI K, et al. Aberrantly expressed RECQL4 helicase supports proliferation and drug resistance of human glioma cells and glioma stem cells[J]. Cancers(Basel), 2020, 12(10): 2919.
- [16] LIU B, DIAZ ARGUELLO O A, CHEN D, et al. CRISPR-mediated ablation of overexpressed EGFR in combination with sunitinib significantly suppresses renal cell carcinoma proliferation[J]. PLoS One, 2020, 15(5): e0232985.
- [17] SAGAR S, LEIPHRAKAM P D, THOMAS D, et al. MUC4 enhances gemcitabine resistance and malignant behaviour in pancreatic cancer cells expressing cancer-associated short O-glycans[J]. Cancer Lett, 2021, 503: 91–102.
- [18] HUSSEN B M, RASUL M F, ABDULLAH S R, et al. Targeting miRNA by CRISPR/Cas in cancer: advantages and challenges[J]. Mil Med Res, 2023, 10(1): 32.
- [19] BALASUBRAMANIAN A, VELUSWAMI K, RAO S, et al. Exploring clustered regularly interspaced short palindromic repeats – crispr-associated protein 9 (CRISPR–Cas9) as a therapeutic modality for cancer: a scoping review[J]. Cureus, 2024, 16(7): e64324.
- [20] ZHANG J, ZENG X, GUO Q, et al. Small cell lung cancer: emerging subtypes, signaling pathways, and therapeutic vulnerabilities[J]. Exp Hematol Oncol, 2024, 13(1): 78.
- [21] LEI P, JU Y, PENG F, et al. Applications and advancements of CRISPR–Cas in the treatment of lung cancer[J]. Front Cell Dev Biol, 2023, 11: 1295084.
- [22] FARNSWORTH D A, CHEN Y T, DE RAPPARD YUSWACK G, et al. Emerging molecular dependencies of mutant EGFR-driven non-small cell lung cancer[J]. Cells, 2021, 10(12): 3553.
- [23] XUE Z, DEMPSE B. Knockout and inhibition of Ape1: roles of Ape1 in base excision DNA repair and modulation of gene expression[J]. Antioxidants (Basel), 2022, 11(9): 1817.
- [24] WANG H, TANG Z, LI T, et al. CRISPR/Cas9-Mediated gene knock-out of ARID1A promotes primary progesterone resistance by down-regulating progesterone receptor B in endometrial cancer cells[J]. Oncol Res, 2019, 27(9): 1051–1060.
- [25] ALLEMAILEM K S, ALMATROODI S A, ALMATROUDI A, et al. Recent advances in genome-editing technology with CRISPR/Cas9 variants and stimuli-responsive targeting approaches within tumor cells: a future perspective of cancer management[J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(8): 7052.
- [26] BARGHOUT S H, AMAN A, NOURI K, et al. A genome-wide CRISPR/Cas9 screen in acute myeloid leukemia cells identifies regulators of TAK-243 sensitivity[J]. JCI Insight, 2021, 6(5): e141518.
- [27] JUNG H R, OH Y, NA D, et al. CRISPR screens identify a novel combination treatment targeting BCL-X(L) and WNT signaling for KRAS/BRAF-mutated colorectal cancers[J]. Oncogene, 2021, 40(18): 3287–3302.
- [28] RUSHWORTH L K, HARLE V, REPISCAK P, et al. *In vivo* CRISPR/Cas9 knockout screen: TCEAL1 silencing enhances docetaxel efficacy in prostate cancer[J]. Life Sci Alliance, 2020, 3(12): e2020-00770.
- [29] MAKHOV P, SOHN J A, SEREBRIISKII I G, et al. CRISPR/Cas9 genome-wide loss-of-function screening identifies druggable cellular factors involved in sunitinib resistance in renal cell carcinoma[J]. Br J Cancer, 2020, 123(12): 1749–1756.
- [30] ARDELT M A, FRÖHLICH T, MARTINI E, et al. Inhibition of cyclin-dependent kinase 5: a strategy to improve sorafenib response in hepatocellular carcinoma therapy[J]. Hepatology, 2019, 69(1): 376–393.
- [31] XU S, ZHAN M, JIANG C, et al. Genome-wide CRISPR screen identifies ELP5 as a determinant of gemcitabine sensitivity in gallbladder cancer[J]. Nat Commun, 2019, 10(1): 5492.
- [32] ROCHA C, REILY ROCHA A, MOLINA SILVA M, et al. Revealing temozolomide resistance mechanisms via genome-wide CRISPR libraries[J]. Cells, 2020, 9(12): 2573.
- [33] TAO R, HAN X, BAI X, et al. Revolutionizing cancer treatment: enhancing CAR-T cell therapy with CRISPR/Cas9 gene editing technology[J]. Front Immunol, 2024, 15: 1354825.
- [34] YANG Z, ZHANG Z, LI J, et al. CRISPRInc: a machine learning method for lncRNA-specific single-guide RNA design of CRISPR/Cas9 system[J]. Brief Bioinform, 2024, 25(2): bbae066.
- [35] ZHANG M L, LI H B, JIN Y. Application and perspective of CRISPR/Cas9 genome editing technology in human diseases modeling and gene therapy[J]. Front Genet, 2024, 15: 1364742.
- [36] HAN H A, PANG J, SOH B S. Mitigating off-target effects in CRISPR/Cas9-mediated *in vivo* gene editing[J]. J Mol Med (Berl), 2020, 98(5): 615–632.
- [37] UDDIN F, RUDIN C M, SEN T. CRISPR gene therapy: applications, limitations, and implications for the future[J]. Front Oncol, 2020, 10: 1387.

(2024-09-08 收稿)