

[文章编号] 1007-385X(2007)04-0301-05

· 专家论坛 ·

T 淋巴细胞的基因修饰及其在肿瘤治疗中的应用

杨建民¹, Kevin T MCDONAGH²(1. 第二军医大学附属长海医院 血液内科, 上海 200433; 2. Division of Hematology, Oncology and BMT, Markey Cancer Center, University of Kentucky, Lexington, KY 40536-0293)



[作者简介] 杨建民, 内科学血液病专业博士、教授、主任医师, 第二军医大学附属长海医院血液内科副主任; 全军医科会血液病专业委员会委员兼秘书, 上海市医学会血液学分会委员兼秘书。1981 年获第二军医大学学士学位, 并分别于 1997 年和 2004 年获该校内科学血液病专业硕士和博士学位。1997 年至 2000 年在美国密歇根大学医学院血液肿瘤科从事肿瘤的免疫基因治疗研究。目前的专业特长为恶性淋巴瘤的诊断与治疗。近年主持或参与了国家“863”计划重大专项、“973”计划子课题、上海市科委基金等多个科研项目研究。发表学术论文 60 余篇, 荣获国家科技发明二等奖、上海市科技进步一等奖、军队科技进步二等奖等多个奖项奖励。E-mail: yangjianmin@csc.org.cn

[摘要] 异基因造血干细胞移植后供体淋巴细胞输注治疗恶性血液病成功进一步增强了人们应用细胞免疫治疗恶性肿瘤的信心。但从每一位患者体内克隆出肿瘤细胞特异性的 CTL, 并在体外扩增到足够的细胞数量后回输体内是一项十分费时费力的工作, 也很不经济。近些年人们尝试应用逆转录病毒介导的基因转染技术对 T 淋巴细胞进行基因修饰, 以增强 T 淋巴细胞对肿瘤细胞的靶向性, 在体内、体外均取得了令人鼓舞的成果。本文将简要介绍通过病毒转染以肿瘤抗原特异性 TCR、嵌合性 TCR 修饰 T 淋巴细胞的方法, 基因修饰后淋巴细胞的抗肿瘤作用的发生机制以及动物体内实验结果。对逆转录病毒修饰 T 淋巴细胞所带来的潜在危险性及对策也进行了讨论。

[关键词] T 淋巴细胞; 免疫治疗; 基因转染; 逆转录病毒载体; 肿瘤

[中图分类号] R730 [文献标志码] A

Genetic modification of T lymphocytes and its application in cancer therapy

YANG Jian-min¹, Kevin T MCDONAGH²(Department of Hematology, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433; 2. Division of Hematology, Oncology and BMT, Markey Cancer Center, University of Kentucky, Lexington, KY 40536-0293)

[Abstract] The efficacy of adoptively transferred cytotoxic T lymphocytes (CTL) has been confirmed in clinical trials for the treatment of chronic myelogenous leukemia and other malignant hematological disorders after hematopoietic stem cell transplantation. However, this treatment is limited by the difficulty in generating sufficient amount of CTLs *in vitro*, especially for the treatment of solid tumors. Recent gene transfer approaches successfully applied genetic engineering of T cell specificity by T cell receptor (TCR) gene transfer. Here we would like to introduce the principles of the redirection of T cell specificity by retroviral transfer of tumor specific TCR or chimeric TCR. The anti-tumor mechanism of the retrovirally modified T-lymphocytes and the *in vivo* experimental results in animal models were also discussed. Moreover, the risks related to the adoptive transfer of TCR or chimeric TCR gene modified T cells and possible safety mechanisms were also described.

[Key words] T lymphocytes; immunotherapy; gene transfection; retroviral vector; neoplasms

[Chin J Cancer Biother, 2007, 14(4): 301-305]

长期以来人们一直期望应用免疫治疗的手段来控制并最终治愈肿瘤, 但无论是早期的 LAK 细胞^[1], 还是随后的 TIL 细胞^[2], 都只在少数黑色素瘤或肾癌患者出现部分疗效, 而对其他大部分肿瘤的疗效令人失望。究其原因主要包括以下几个方面: ①

肿瘤特异性抗原表达缺失或表达水平低下; ②肿瘤细胞所表达的抗原与正常细胞在某一特定分化阶段

[基金项目] 上海市科委科技攻关项目 (No. 064119511)。Supported by Shanghai Science and Technology Research Program (No. 064119511)

所表达抗原相同,因此,机体对该类抗原呈免疫耐受;③细胞表面 MHC 表达水平下降;④抗原的处理与提呈存在缺陷;⑤缺少适当的共刺激信号以激活效应 T 淋巴细胞;⑥肿瘤细胞或其间质分泌释放抑制性分子,如 IL-10、TGF- β ;⑦自发产生的或由肿瘤诱导形成的调节性 T 细胞的扩增^[3]。但近年来由于供体淋巴细胞输注在治疗异基因造血干细胞移植后复发的慢性粒细胞性白血病(CML)及其他恶性血液病中所取得的令人瞩目的疗效,坚定了人们应用细胞免疫治疗战胜恶性肿瘤的信心^[4]。淋巴细胞的体外培养及基因转染技术的日渐成熟,也为基因修饰后淋巴细胞应用于肿瘤的免疫治疗奠定了基础。

1 供体淋巴细胞输注治疗恶性血液病对细胞免疫治疗的启示

异基因造血干细胞移植已成为治疗恶性血液病的常规治疗手段,但无论是慢性粒细胞性白血病、急性白血病,还是恶性淋巴瘤、多发性骨髓瘤等,移植后均有一定比例的患者复发。1990年 Kolb 等^[4]采用供体淋巴细胞输注(donor lymphocyte infusion, DLI)治疗移植后复发的3例 CML 全部获得缓解,开创了 DLI 治疗移植后复发的恶性血液病的新纪元。目前,DLI 已被广泛应用于治疗各类恶性血液病移植后复发或微小残留病灶^[5],研究证实供体淋巴细胞识别的抗原包括主要组织相容性抗原(MHag)、次要组织相容性抗原(mHag)^[6]和肿瘤特异性抗原、肿瘤相关抗原等。其本质是输入的免疫活性细胞所诱导的过继性细胞免疫反应。其效应细胞包括了 T 细胞和 NK 细胞。DLI 的疗效与输注的细胞数、体内的肿瘤负荷、肿瘤细胞的生长速度等密切相关。10 多年的临床应用表明,在移植后复发的患者中,DLI 对于 CML 的疗效最好,持续完全缓解率高达 60%~80%,多发性骨髓瘤可达 40%,而急性髓性白血病的完全缓解率也可达 20%~30%^[7]。这一结果大大改变了以往人们寄希望于单靠盲目加大移植的预处理强度以降低移植后复发率的错误观念,进而更为重视随造血干细胞输入体内的供体淋巴细胞所发挥的免疫治疗作用。进一步对 CML 的研究也表明,BCR/ABL 融合蛋白或其多肽可成功诱导出特异性的 CTL,并在体内外证实单一克隆的 CTL 经细胞培养扩增后可发挥显著的抗白血病作用^[8],为应用基因修饰的 T 淋巴细胞治疗肿瘤奠定了坚实基础。

2 肿瘤特异性 T 细胞受体基因介导的免疫基因治疗

肿瘤靶向 CTL 的特异性主要是由 TCR 所决定的,因此,克隆该类 CTL 的 TCR α / β 链基因后,构建入逆转录病毒载体,将其转染患者的 T 淋巴细胞,

即可使被转染的 T 淋巴细胞特异性地杀伤肿瘤细胞,该类 CTL 效应同样受 MHC 的限制。最早有研究者试图通过细胞融合技术以改变 T 淋巴细胞对抗原的靶向性,随后 1995 年 Cole 等^[9]采用电穿孔法将 MART-1 特异性 TCR 基因的表达质粒转入 T 细胞系。1998 年 Friedman 等^[10]成功地将 MART-1 特异性 TCR α 链和 β 链构建入逆转录病毒载体,转染人淋巴细胞后,转基因淋巴细胞可在体外特异性地杀伤 MART-1⁺/HLA-A2⁺ 的黑素瘤细胞,并在培养上清中检测到特异性细胞因子释放。2006 年 Morgan 等^[11]获准采用 MART-1 特异性 TCR 转染的外周血淋巴细胞用于黑素瘤患者的临床治疗。到目前为止国外已有多个研究组^[12-13]将不同肿瘤靶向或各类病毒靶向的 TCR 分别转入了人或小鼠的 T 淋巴细胞。转基因 T 淋巴细胞的抗原靶向性由 TCR 基因来源决定。早先克隆到的 TCR 基因多带有一定的随机性,但近来随着 T 淋巴细胞培养技术的进步,已有报道可从单个 T 淋巴细胞中克隆到 TCR 基因,或从培养的 T 淋巴细胞系中克隆该基因^[14-15]。

和所有的基因治疗一样,基因转染的效率以及外源性 TCR 基因在 T 淋巴细胞中的表达水平是决定转基因淋巴细胞抗肿瘤活性的最为关键的因素。而逆转录病毒载体的种类、病毒滴度及淋巴细胞的激活状态则是影响基因转染效率主要因素。通常瞬时包装细胞的产病毒滴度较高,但每次需要病毒时均须首先转包装细胞,因而较费时;而稳定包装细胞一旦转染成功并筛选到滴度较高的细胞,即可扩增后冻存,唯病毒滴度稍低。笔者曾尝试应用高速离心法浓缩病毒,发现“4℃、6 000 r/min、过夜”是一种方便、实用的方法,可使病毒滴度提高 50~100 倍^[16]。对于淋巴细胞的激活方法,采用抗 CD3⁺:抗 CD28 单抗联合激活明显优于应用 PHA 或 Con A 激活,通过前一种方法得到的 T 淋巴细胞更易在体外培养扩增。在培养基中需常规添加 IL2,应用 Retronectin 也有助于提高 T 淋巴细胞的基因转染效率。通过合理整合上述各因素,小鼠或人的 T 淋巴细胞基因转染效率可达到 50%~70%^[17],因而已无必要在基因转染以后进一步加以筛选。

3 嵌合性 T 细胞受体基因转染 T 淋巴细胞的抗肿瘤作用

由于肿瘤特异性 TCR 受到 MHC 的限制,因此在临床上应用该技术治疗肿瘤患者时必须检测每位患者的 HLA,然后转染相应的 TCR 基因;而事实上要为每一种肿瘤抗原准备各类 HLA 相应的高亲和力 TCR 基因仍是一项十分艰巨的工作。相比之下,

单抗具有对抗原的特异靶向性,又可不受 HLA 的限制。因此,20 世纪 80 年代末 Eshhar 设计了用单抗 scFv 与 TCR 中的 γ 或 ζ 信号转导肽融合而成的嵌合性 TCR(或称 T 小体)用于肿瘤的免疫基因治疗,以摆脱 MHC 对 TCR 的限制性,并证实其在体外具抗肿瘤活性^[18-19]。笔者于 1998 年应用基因重组技术将肿瘤相关抗原 HER2 特异性单抗 N29 的 scFv 分别与 TCR 的 γ 或 ζ 信号转导肽融合后构建入逆转录病毒载体,经包装细胞收集重组病毒后转染人或小鼠 T 淋巴细胞,基因转染率可达 60% 左右,流式细胞分析和 Western Blotting 均证实转基因淋巴细胞中有嵌合性 T 细胞受体蛋白的表达,将转基因淋巴细胞与 HER2 阳性的肿瘤细胞共培养后,培养上清中可以检测到大量的 IFN- γ 、TNF- α 和 GM-CSF, ⁵¹Cr 释放法证实转基因淋巴细胞可特异性地杀伤 HER2 阳性的肿瘤细胞。进一步小鼠体内试验表明转染该嵌合性 TCR 的 T 淋巴细胞对小鼠肺内转移瘤具有明显治疗作用,证实转染嵌合性 TCR 基因的淋巴细胞具有强大的体内外抗肿瘤作用^[17,20]。将含嵌合性 TCR 的逆转录病毒转染小鼠造血干细胞后移植给经致死剂量 TBI 预处理的受体小鼠,待造血重建后,该小鼠对有相应抗原的肿瘤细胞具免疫排斥作用,表明转染入造血干细胞内的嵌合性 TCR 基因可随造血干细胞的逐步分化带入成熟淋巴细胞内,从而发挥其抗肿瘤作用^[21]。

各系列、不同分化阶段的造血细胞均有特异性的单抗,如针对 B 淋巴细胞肿瘤的 CD19、CD20 单抗,针对髓系肿瘤的 CD33 单抗,以及针对间变性大 T 细胞淋巴瘤及霍奇金淋巴瘤的 CD30 单抗等,这些单抗分子不仅广泛分布于各型相应的肿瘤细胞,而且这些单抗本身也具有显著的抗肿瘤作用,并已在临床得到广泛应用。因而将这类单抗的 scFv 与 TCR 信号转导肽融合而成的嵌合性 TCR 近来渐成研究热点。Cooper 等^[22-23]以及 Brentjens 等^[24-25]是最早构建 CD19 嵌合性 TCR 的研究者,他们将 CD19 的 scFv 与 CD3- ζ 信号转导肽连接后形成嵌合性 TCR,转染 T 淋巴细胞后,转基因 T 细胞可有效杀灭表达 CD19 的急性淋巴细胞白血病细胞,并能与抗原分子结合后释放 Th1 类细胞因子、维持转基因淋巴细胞本身的增殖状态。然后进一步在 NOD/SCID 小鼠模型上证实该类转染 CD19 嵌合性 TCR 的淋巴细胞在体内同样具有显著抗白血病作用。Serrano 等^[26]进一步将该嵌合性 TCR 用电穿孔法导入脐带血造血细胞,由此诱导分化得到的 T 淋巴细胞即对 CD19⁺ 的肿瘤细胞具有靶向性杀伤作用和特异性细

胞因子释放,也可使 NOD/SCID 体内的 CD19⁺ 的肿瘤消退。将该 CD19 嵌合性 TCR 转染自体淋巴细胞后冻存,复苏后细胞可在短期内扩增到 $5 \times 10^9 \sim 1 \times 10^{10}$,已能满足治疗滤泡性淋巴瘤 I 期临床试验的要求^[27]。Rossig 等^[28]应用逆转录病毒介导的基因转染技术将 CD19 嵌合性 TCR 转入 T 淋巴细胞,发现 CD3- ζ 信号转导肽本身不足以保持转基因 T 淋巴细胞的持久活化,而在嵌合性 TCR 结构中插入共刺激分子 CD28 的肽链可增强 T 淋巴细胞的增殖活性。该研究组还试图通过“双重特异性”T 淋巴细胞来改善转染嵌合性 TCR 的 T 细胞在体内得到有效扩增。他们用于转染的 T 淋巴细胞是 EBV 特异性 CTL,而 EBV 感染在人类十分普遍,因而这类基因转染后具有“双重特异性”的 T 淋巴细胞输入体内后,通过 EBV 抗原的刺激,可扩增出大量的 CD4⁺ 的 T 辅助细胞和 CD8⁺ 的 CTL 细胞,扩增后的 T 淋巴细胞又可经嵌合性 TCR 杀灭 CD19⁺ 的白血病细胞^[29]。另外,也有研究者^[30-31]尝试将 CD19 嵌合性 TCR 转染 CD56⁺ CD3⁻ 的 NK 细胞,以增强其抗肿瘤活性。该研究组的结果证实在嵌合性 TCR 结构中插入共刺激分子 4-1BB 可改善淋巴细胞的活化状态,提高细胞因子 IL-2 和 IFN- γ 的分泌水平。不同研究小组应用 CD20、CD33、CD30 来源的 scFv 构建靶向性不同的嵌合性 TCR,分别转入淋巴细胞、NK 细胞等效应细胞后,也可使转基因细胞对相应肿瘤细胞产生杀伤作用^[32-34]。

4 逆转录病毒介导的基因转染所带来的危险性及其对策

尽管肿瘤特异性 TCR 或嵌合性 TCR 修饰的 T 淋巴细胞在恶性肿瘤的免疫治疗中具有十分广阔的应用前景,但不可否认这种技术也存在一定的风险。主要有:① 由内源性 TCR 肽链与外源性 TCR 肽链组成的杂合性 TCR^[35]。研究已证实在经 TCR 基因转染的 T 淋巴细胞中,确有该类杂合性 TCR 分子的表达,这种 TCR 分子的组合模式不仅降低了表达于 T 细胞表面的肿瘤特异性 TCR 分子,更由于这种杂合性 TCR 的抗原靶向性不明确,具有诱发自身免疫性疾病的潜在危险。近年有研究者试图在恒定区诱导突变、插入可形成二聚体的结构等以阻止杂合性 TCR 分子的形成。值得欣慰的是到目前为止,无论是在小鼠的动物实验,还是人类的临床试验,均未发现自身免疫性疾病的征象。② 逆转录病毒载体中,特别是含有嵌合性 TCR 结构者,其中的 scFv 多为鼠源性。因此,在人体内表达的该类嵌合性 TCR 可能具有潜在的抗原性,并可诱使机体产生免疫反应

将转基因淋巴细胞在体内加以清除。③ 逆转录病毒介导的基因转染中,最为令人关注的危险性还是在于由载体 DNA 的插入所导致的癌基因的活化或突变。2003 年 Hacein-Bey-Abina, Kohn 等^[36-37]报道了 2 例重症联合免疫缺陷症儿童在采用造血干细胞基因转染治疗后发生急性 T 淋巴细胞性白血病。研究^[38]发现该 2 例患儿均存在由病毒载体 DNA 插入所导致的转录因子 LMO-2 活化。这一报道震惊了整个科学界,令人对所有包含基因插入机制的基因治疗方案的安全性产生了深深的担忧,幸好这是迄今为止 40 多个该类临床试验方案中仅有的严重不良事件。也正因此,在载体中构建入 TK 或 CD 自杀基因的设想重新获得重视^[39-40]。

5 结 语

虽然体外实验和临床前动物实验研究结果均表明,经肿瘤抗原特异性 TCR 或嵌合性 TCR 转染的 T 淋巴细胞具有显著的抗肿瘤作用,但该技术应用于临床肿瘤患者治疗的结果尚不得而知。载体的结构、淋巴细胞的转染方法也有待进一步优化。除此之外,努力提高治疗的安全性也理应受到特别关注。相信在不久的将来,经基因修饰的 T 淋巴细胞在肿瘤治疗中必将发挥十分重要的作用。

[参 考 文 献]

- [1] Mule JJ, Shu S, Schwarz SL, *et al.* Adoptive immunotherapy of established pulmonary metastases with LAK cells and recombinant interleukin-2[J]. *Science*, 1984, 225(4669): 1487-1489.
- [2] Rosenberg SA, Packard BS, Aebersold PM, *et al.* Use of tumor infiltrating lymphocytes and interleukin-2 in the immunotherapy of patients with metastatic melanoma. A preliminary report[J]. *N Engl J Med*, 1988, 319(25): 1676-1680.
- [3] Pule M, Bollard CM, Heslop HE. Genetically engineered T-cells for adoptive immunotherapy[J]. *Curr Opin Mol Ther*, 2002, 4(5): 467-475.
- [4] Kolb HJ, Mittermuller J, Clemm C, *et al.* Donor leukocyte transfusions for treatment of recurrent chronic myelogenous leukemia in marrow transplant patients[J]. *Blood*, 1990, 76(12): 2462-2465.
- [5] Novitzky N, Rubinstein R, Hallett JM, *et al.* Bone marrow transplantation depleted of T cells followed by repletion with incremental doses of donor lymphocytes for relapsing patients with chronic myeloid leukemia: a therapeutic strategy[J]. *Transplantation*, 2000, 69(7): 1358-1363.
- [6] de Bueger M, Bakker A, Van Rood JJ, *et al.* Tissue distribution of human minor histocompatibility antigens. Ubiquitous versus restricted tissue distribution indicates heterogeneity among human cytotoxic T lymphocyte-defined non-MHC antigens[J]. *J Immunol*, 1992, 149(5): 1788-1794.
- [7] Dazzi F, Szydlo RM, Craddock C, *et al.* Comparison of single dose and escalating-dose regimens of donor lymphocyte infusion for relapse after allografting for chronic myeloid leukemia[J]. *Blood*, 2000, 95(1): 67-71.
- [8] Falkenburg JH, Wafelman AR, Joosten P, *et al.* Complete remission of accelerated phase chronic myeloid leukemia by treatment with leukemia-reactive cytotoxic T lymphocytes[J]. *Blood*, 1999, 94(4): 1201-1208.
- [9] Cole DJ, Weil DP, Shilyansky J, *et al.* Characterization of the functional specificity of a cloned T-cell receptor heterodimer recognizing the MART-1 melanoma antigen[J]. *Cancer Res*, 1995, 55(4): 748-752.
- [10] Friedman MS, Yang J, Mule JJ, *et al.* Redirecting the immune response to human malignancy via retroviral mediated gene transfer of a tumor antigen specific T-cell receptor[J]. *Blood*, 1999, 94(10 Suppl): 1613a.
- [11] Morgran RA, Dudley ME, Wunderlich JR, *et al.* Cancer regression in patients after transfer of genetically engineered lymphocytes [J]. *Science*, 2006, 314(5796): 126-129.
- [12] Clay TM, Custer MC, Sachs J, *et al.* Efficient transfer of a tumor antigen-reactive TCR to human peripheral blood lymphocytes confers anti-tumor reactivity[J]. *J Immunol*, 1999, 163(1): 507-513.
- [13] Voss RH, Kubal J, Theobald M. Designing TCR for cancer immunotherapy[J]. *Methods Mol Med*, 2005, 109: 229-256.
- [14] Seitz S, Schneider CK, Malotka J, *et al.* Reconstitution of paired T cell receptor alpha- and beta-chains from microdissected single cells of human inflammatory tissues[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(32): 12057-12062.
- [15] Zhao Y, Zheng Z, Khong HT, *et al.* Transduction of an HLA-DP4-restricted NY-ESO-1-specific TCR into primary human CD4⁺ lymphocytes[J]. *J Immunother*, 2006, 29(4): 398-406.
- [16] Yang J, Friedman MS, Bian H, *et al.* Highly efficient genetic transduction of primary human synoviocytes with concentrated retroviral supernatant[J]. *Arthritis Res*, 2002, 4(3): 215-219.
- [17] 杨建民, Friedman MS, 李 峻, 等. 转染嵌合性 T 细胞受体基因小鼠 T 淋巴细胞的体外抗肿瘤作用[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2006, 13(4): 243-248.
- [18] Eshhar Z, Waks T, Gross G, *et al.* Specific activation and targeting of cytotoxic lymphocytes through chimeric single chains consisting of antibody-binding domains and the gamma or zeta subunits of the immunoglobulin and T cell receptors[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, 90(2): 720-724.
- [19] Gross G, Waks T, Eshhar Z. Expression of immunoglobulin/T cell receptor chimeric molecules as functional receptors with antibody-type specificity[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1989, 86(24): 10024-10028.
- [20] Yang J, Friedman MS, Reynolds CM, *et al.* Tumor antigen specific activation of primary human T-cells expressing a virally encoded chimeric T-cell receptor specific for p185HER2 [J]. *J Microbiol Immunol*, 2004, 2(4): 272-277.
- [21] Yang J, Friedman MS, Huben MT, *et al.* *In vivo* anti-tumor activity of murine hematopoietic stem cells expressing a p185HER2-spe-

- cific chimeric T-cell receptor gene [J]. *J Microbiol Immunol*, 2006, 4(2): 117-124.
- [22] Cooper LJ, Topp MS, Serrano LM, *et al.* T-cell clones can be rendered specific for CD19; toward the selective augmentation of the graft-versus-B-lineage leukemia effect [J]. *Blood*, 2003, 101(4): 1637-1644.
- [23] Cooper LJ, Al-Kadhimi Z, Serrano LM, *et al.* Enhanced anti-lymphoma efficacy of CD19-redirectioned influenza MPI-specific CTLs by co-transfer of T cells modified to present influenza MPI [J]. *Blood*, 2005, 105(4): 1622-1631.
- [24] Brentjens RJ. Novel approaches to immunotherapy for B-cell malignancies [J]. *Curr Hematol Rep*, 2005, 4(1): 64-72.
- [25] Brentjens RJ, Latouche JB, Santos E, *et al.* Eradication of systemic B-cell tumors by genetically targeted human T lymphocytes costimulated by CD80 and interleukin-15 [J]. *Nat Med*, 2003, 9(3): 279-286.
- [26] Serrano LM, Pfeiffer T, Olivares S, *et al.* Differentiation of naive cord blood T cells into CD19-specific cytolytic effectors for post-transplantation adoptive immunotherapy [J]. *Blood*, 2006, 107(7): 2643-2652.
- [27] Cooper LJ, Ausubel L, Gutierrez M, *et al.* Manufacturing of gene-modified cytotoxic T lymphocytes for autologous cellular therapy or lymphoma [J]. *Cytotherapy*, 2006, 8(2): 105-117.
- [28] Rossig C, Brenner MK. Genetic modification of T lymphocytes for adoptive immunotherapy [J]. *Mol Ther*, 2004, 10(1): 5-18.
- [29] Rossig C, Bollard CM, Nuchtern JG, *et al.* Epstein-Barr virus-specific human T lymphocytes expressing antitumor chimeric T-cell receptors: potential for improved immunotherapy [J]. *Blood*, 2002, 99(6): 2009-2016.
- [30] Imai C, Mihara K, Andreansky M, *et al.* Chimeric receptors with 4-1BB signaling capacity provoke potent cytotoxicity against acute lymphoblastic leukemia [J]. *Leukemia*, 2004, 18(4): 676-684.
- [31] Imai C, Iwamoto S, Campana D. Genetic modification of primary natural killer cells overcomes inhibitory signals and induces specific killing of leukemic cells [J]. *Blood*, 2005, 106(1): 376-383.
- [32] Jensen MC, Cooper LJ, Wu AM, *et al.* Engineered CD20-specific primary human cytotoxic T lymphocytes for targeting B-cell malignancy [J]. *Cytotherapy*, 2003, 5(2): 131-138.
- [33] Schirmann T, Pecher G. Specific targeting of CD33⁺ leukemia cells by a natural killer cell line modified with a chimeric receptor [J]. *Leuk Res*, 2005, 29(3): 301-306.
- [34] Hombach A, Heuser C, Sircar R, *et al.* Characterization of a chimeric T-cell receptor with specificity for the Hodgkin's lymphoma-associated CD30 antigen [J]. *J Immunother*, 1999, 22(6): 473-480.
- [35] Sommermeyer D, Neudorfer J, Weinhold M, *et al.* Designer T cells by T cell receptor replacement [J]. *Eur J Immunol*, 2006, 36(11): 3052-3059.
- [36] Hacein-Bey-Abina S, von Kalle C, Schmidt M, *et al.* A serious adverse event after successful gene therapy for X-linked severe combined immunodeficiency [J]. *N Engl J Med*, 2003, 348(3): 255-256.
- [37] Kohn DB, Sadelain M, Glorioso JC. Occurrence of leukaemia following gene therapy of X-linked SCID [J]. *Nat Rev Cancer*, 2003, 3(7): 477-488.
- [38] Hacein-Bey-Abina S, Von Kalle C, Schmidt M, *et al.* LMO2-associated clonal T cell proliferation in two patients after gene therapy for SCID-X1 [J]. *Science*, 2003, 302(5644): 415-419.
- [39] Qasim W, Gaspar HB, Thrasher AJ. T cell suicide gene therapy to aid haematopoietic stem cell transplantation [J]. *Curr Gene Ther*, 2005, 5(1): 121-132.
- [40] Straathof KC, Pule MA, Yotnda P, *et al.* An inducible caspase 9 safety switch for T-cell therapy [J]. *Blood*, 2005, 105(11): 4247-4254.
- [收稿日期] 2007 - 07 - 10 [修回日期] 2007 - 08 - 08
[本文编辑] 韩 丹

· 读者 · 作者 · 编者 ·

文稿中计量单位使用的要求

本刊严格执行国务院颁发的《中华人民共和国法定计量单位》，全面贯彻国家标准 GB3100-3102-1993《量和单位》的规定，正确使用量和单位的名称和符号。(1)量符号以斜体拉丁和希腊字母表示(pH 用正体除外)，例如 m (质量)、 t (时间)、 c (浓度)、 V (体积)、 p (压力)、 F (力)等。(2)单位符号一律以正体拉丁或希腊字母表示，例如 kg(千克)、m(米)、h(小时)、mol/L(摩尔每升)等。(3)表示人体检验指标的量浓度或质量浓度时，一般使用 L(升)作为检验组成含量单位的分母。(4)表示用药剂量单位时，不能写成 mg/kg/d 的形式，应写成 mg/(kg·d) 或 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 的形式。(5)单位符号常见书写错误：长度单位符号 A°(埃)已不用，应写作 0.1 nm；时间单位“小时”符号为 h(不是 hr)、“秒”符号为 s(不是 sec)；转速单位符号为 r/min(不是 rpm)；量浓度单位符号为 mol/L(不是 M、N，也不是 mol/mm³)；力的单位“牛顿”符号为 N(不是 dyn(达因))、kgf(千克力)，换算 1 dyn = 10⁻⁵ N；热量单位“焦耳”符号为 J(不是 cal(卡)、kcal(千卡))，换算 1 cal = 4.187 J；放射性活度单位符号为 Bq(不是 Ci(居里))，换算 1 Ci = 3.7 × 10¹⁰ Bq。

(本刊编辑部)