

· 论 著 ·

[文章编号] 1007-385X(2007)06-0557-05

α 干扰素促进急性髓性白血病来源的树突状细胞的成熟分化

朱学军^{1,2*}, 李晓惠¹, 姜鹏君¹, 刘丽², 孙雪梅¹, 季建敏¹, 倪海雯¹, 朱光荣¹(1. 江苏省中医院血液科, 南京 210029; 2. 江苏省中医院细胞与分子生物学实验室, 南京 210029)

[摘要] 目的: 研究 α 干扰素(interferon alpha, IFN- α) 对不同亚型的急性髓性白血病(acute myeloid leukemia, AML)细胞来源的树突状细胞(dendritic cell, DC)免疫表型及功能的影响。方法: 5 例初发 AML 患者(其中 M2 1 例、M4 2 例、M5 2 例)的外周血单个核细胞, 在含 GM-CSF、IL-4、TNF- α 的无血清培养液中培养 11 d, 其后加入 IFN- α -2a (1 000 U/ml)继续培养 3 d, 获得 DC(IFN-AML-DC), 光镜下观察细胞形态, 流式细胞仪测定细胞免疫表型, 同种异体混和淋巴细胞反应检测 DC 的免疫功能。结果: 所有患者白血病细胞培养 14 d 后均转化为 IFN-AML-DC, 与正常人外周血单核细胞由 GM-CSF + IL-4 + TNF- α 培养获得的 DC(monocyte-derived DC, MoDC)及 AML 细胞由 GM-CSF + IL-4 + TNF- α 培养获得的 DC(AML-DC)相比, IFN-AML-DC 具有典型成熟形态的细胞明显增多, 表达 CD83⁺ 细胞的比例显著增加, HLA-DR、CD86 分子的表达水平增高, 对同种异体 T 淋巴细胞的激活能力明显高于 MoDC 及 AML-DC。结论: IFN- α 能够促进 AML-DC 的体外成熟, 形成更强的免疫激活能力, 为 AML 的免疫治疗提供更有力的手段。

[关键词] α 干扰素; 急性髓性白血病; 树突状细胞; 免疫治疗

[中图分类号] R737.7; R730.54

[文献标志码] A

IFN-alpha promotes the full maturation of dendritic cells derived from acute myeloid leukemia cells *in vitro*

ZHU Xue-jun^{1,2*}, LI Xiao-hui¹, JIANG Peng-jun¹, LIU Li², SUN Xue-mei¹, JI Jian-min¹, NI Hai-wen¹, ZHU Guang-rong¹(1. Department of Hematology, Traditional Chinese Medicine Hospital of Jiangsu Province; 2. Laboratory of Cellular and Molecular Biology, Traditional Chinese Medicine Hospital of Jiangsu Province, Nanjing 210029, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the influences of interferon alpha (IFN- α) on the phenotype and function of dendritic cell (DC) derived from acute myeloid leukemia (AML) cells *in vitro*. **Methods:** Peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) from 5 AML patients(1 with M2, 2 with M4, and 2 with M5) were incubated concurrently with granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF), interleukin-4 (IL-4), and tumor necrosis factor- α (TNF- α) for 11 days and then IFN- α 2 (1 000 U/ml) was added for another 3 days' culture to acquire IFN-AML-DC. The cell morphology was observed under light microscope. Immunophenotypic features and function of IFN-AML-DC were evaluated by flow cytometry and allogeneic mixed lymphocyte reaction (allo-MLR) assay, respectively. **Results:** DCs were generated from blasts of all patients when cultured with IFN- α /GM-CSF/IL-4/TNF- α . Compared with DCs derived from normal PBMCs (GM-CSF + IL-4 + TNF- α) and AML cells (GM-CSF + IL-4 + TNF- α), more IFN-AML-DCs exhibited morphological and immunophenotypic features of mature DCs, including higher expression level of CD83, HLA-DR, and CD86 and more potent Allo-MLR stimulatory capacity. **Conclusion:** IFN- α can promote the maturation of AML-DC *in vitro*, leading to more potent immunoactivating ability, which provides a more effective way for immunotherapy of AML.

[Key words] interferon alpha; acute myeloid leukemia; dendritic cell; immunotherapy

[Chin J Cancer Biother, 2007, 14(6): 557-561]

近期的研究^[1]表明 IFN- α 参与 DC 的分化成熟, GM-CSF + IFN- α 体外可以诱导单核细胞生成 DC(monocyte-derived DC, MoDC), 与 GM-CSF + IL-4 培养生成的 MoDC 相比, 其表达 HLA- I 类分子的水平更高。在 GM-CSF + IL-4 培养体系中加入 IFN- α ,

生成的 MoDC 表达高水平的 CD80、CD86 及

[作者简介] 朱学军(1971 -), 男, 江苏省常州市人, 硕士, 主治医师, 主要从事造血细胞分化发育及肿瘤免疫治疗方面的研究

* Corresponding author. Tel: 025-86518690, E-mail: zhuxj2@sina.com

CCR7^[2],刺激同种 T 增殖的能力增强^[3]。在 GM-CSF + IL-4 + TNF- α 培养体系中加入低剂量 IFN- α , 可以诱导生成具有成熟表型的 MoDC, 无 IFN- α 则生成不成熟表型的 MoDC^[4]。慢性髓性白血病 (chronic myeloid leukemia, CML) 细胞以 GM-CSF + IFN- α 培养, 可以诱导生成 DC (CML-DC), 较之 GM-CSF + IL-4 培养获得的 CML-DC, 其 HLA-I、HLA-II 分子表达增强^[5-6]。GM-CSF + IL-4 + TNF- α 体外可以诱导 CML 细胞生成 CML-DC, 加入 IFN- α 可以上调 CML-DC 共刺激分子的表达, 显著增强 CML-DC 激活 T 细胞的能力^[7-8]。

急性髓性白血病 (acute myeloid leukemia, AML) 细胞体外以 GM-CSF + IL-4 + TNF- α 培养也可以生成 DC (AML-DC)^[9-10], 本研究探讨 IFN- α 能否进一步促进 AML-DC 的分化成熟, 首次发现 IFN- α 能够显著增加成熟 AML-DC 的比例, 提高 HLA-DR、CD86 分子的表达, 产生更强的免疫激活能力, 将为 DC 疫苗免疫治疗 AML 提供更好的策略。

1 材料与方法

1.1 临床资料

初发 AML 患者 5 例, 其中 M2 1 例, M4 2 例, M5 2 例, 均经临床和血常规、骨髓涂片细胞检查、流式免疫分析确诊, 符合《血液病诊断及疗效标准》(第 2 版) 诊断标准^[11], 患者外周血原始细胞比例均 > 80%。

1.2 主要试剂

rhGM-CSF 购自厦门特宝公司; rhTNF- α 购自上海赛达公司; rhIL-4 购自德国 Cellgenix 公司; rhIFN- α -2a 购自沈阳三生公司; 淋巴细胞分离液购自天津 TBD 生物公司; 丝裂霉素 C、DMSO 购自 Sigma 公司, MTT 购自上海生工公司, 抗 HLA-DR、抗人 CD1a、抗人 CD83、抗人 CD86 荧光标记单克隆抗体、同亚型对照抗体均购自 BD PharMingen 公司; 无血清培养基 Cellgro DC 购自 Cellgenix 公司, RPMI1640 购自 PAA 公司, 细胞培养瓶均购自 Nunc 公司。

1.3 MoDC 培养

MoDC 的培养参见本课题先前建立的方法^[12]。简言之, 取健康志愿者抗凝外周全血, 经淋巴细胞分离液梯度离心获单个核细胞, 用培养液悬浮细胞为 2×10^6 细胞/ml, 加入培养瓶置 37 °C、5% CO₂ 孵箱培养 2 h, 获得贴壁的单核细胞, 以无血清培养基 Cellgro DC 培养, 同时加入 GM-CSF (1 000 U/ml) + IL-4 (500 U/ml), 培养第 6 天, 再加入 TNF- α (500 U/ml) 继续培养 24 h, 获得 MoDC。

1.4 AML-DC 及 IFN-AML-DC 培养

新鲜肝素抗凝的患者外周血 20 ml, 经淋巴细胞分离液分离出单个核细胞, 调整细胞浓度至 2×10^5 /ml, 悬浮培养于无血清培养基 Cellgro DC 中, 加入 GM-CSF (1 000 U/ml) + IL-4 (500 U/ml) + TNF- α (500 U/ml), 每周 2 次半量换液, 补充新鲜培养基及相应的细胞因子, 培养第 14 天, 收集悬浮细胞即 AML-DC。IFN-AML-DC 培养同上, 但在培养第 11 天加入 IFN- α -2a (1 000 U/ml), 并继续培养 3 d, 收集培养第 14 天的悬浮细胞即为 IFN-AML-DC。

1.5 流式细胞仪检测免疫表型

待检细胞用 PBA (PBS + 1% BSA + 0.02% 叠氮钠) 悬浮为 5×10^6 /ml, 加入离心管, 100 μ l/管, 再加入 PBA 稀释的荧光标记抗体 100 μ l, 单抗标记终浓度为 5 μ g/ml, 置 4 °C 标记 30 min 后, PBA 洗细胞 2 次, 细胞悬于 PBA 中行流式细胞仪 (Coulter, FC500) 检测细胞膜表面分子。

1.6 同种异体混合淋巴细胞反应

取无关健康者外周血, 经淋巴细胞分层液离心后获得单个核细胞, PBS 洗去血小板后, 37 °C 贴壁 2 h 去除贴壁细胞, 收集非贴壁细胞做为同种异体淋巴细胞。各类 DC 分别用含 10% AB 血清的 RPMI 1640 培养液悬浮为 5×10^6 /ml, 加入丝裂霉素 C 至终质量浓度 25 μ g/ml, 37 °C 孵育 45 min, RPMI 1640 洗 3 次, 用含 10% AB 血清的 RPMI 1640 培养液悬浮细胞, 分别以 1×10^3 /孔、 3.3×10^3 /孔、 1×10^4 /孔加入 96 孔圆底培板, 每组各 3 个复孔, 每孔再加入同种淋巴细胞 5×10^5 , 终体积为 200 μ l, 另取 3 孔只加淋巴细胞而不加 DC 细胞, 作为背景对照。37 °C、5% CO₂ 孵箱培养 96 h, 培养结束前 4 h 每孔加入 MTT (5 mg/ml) 20 μ l, 继续孵育 4 h 后, 1 500 r/min 离心 5 min, 弃孔内液体, 每孔加 DMSO 200 μ l, 震荡摇匀后酶标仪 (Bio-Rad) 上测定各孔 570 nm 时的 *D* 值, 结果以 3 孔平均值表示。

1.7 统计方法

所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用配对 *t* 检验分析, 所有统计分析利用 SPSS 8.0 软件包完成。

2 结果

2.1 IFN-AML-DC 的形态学特征

5 例 AML 患者外周血分离的细胞, 体外经 GM-CSF + IL-4 + TNF- α 培养 3 ~ 4 d 后, 倒置显微镜下均可观察到细胞聚集成簇, 形态由圆形变为不规则形, 培养至 10 ~ 14 d, 细胞体积明显增大, 大部分细胞呈典型的树突状细胞形态, 聚集成簇, 可以见到大

量突起的毛刺状伪足,同时存在部分散在的不规则形细胞,伪足较少,不具有典型的成熟 DC 的形态特征。14 d 后继续培养 5 d,所有细胞仍保持较好活力,伪足较少的不规则形细胞仍然部分存在。

培养细胞于第 11 天加入 IFN- α 后,伪足较少的圆形及不规则形细胞逐渐减少,培养第 14 天聚集成

簇的细胞逐渐散开,分散悬浮于培养液中,几乎所有细胞都具有大量毛刺状伪足,与 MoDC、AML-DC 相比伪足更为丰富、尖细,具有典型的成熟 DC 的形态学特征(图 1)。继续培养 5 d 后,部分细胞开始出现毛刺状伪足脱落,细胞数量减少,表明细胞开始死亡。

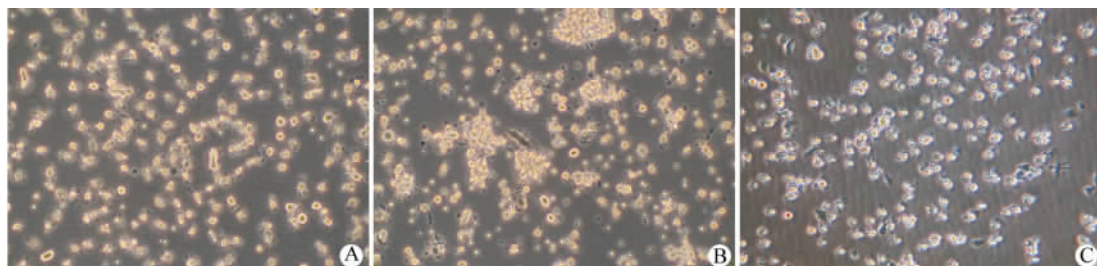


图 1 体外培养各类 DC 的形态学分析($\times 200$)

Fig. 1 Morphology analysis of cultured DCs in different groups($\times 200$)

A: MoDC; B: AML-DC; C: IFN-AML-DC

2.2 IFN-AML-DC 的免疫表型分析

5 例患者白血病细胞培养获得的 IFN-AML-DC 表达 CD83⁺ 细胞的比例均较 AML-DC、MoDC 显著增加,HLA-DR、CD86 分子的表达水平显著增高(图 2),提示 IFN- α 诱导了绝大部分 DC 的充分成熟。

能,但相比正常的 DC 仍较低;IFN-AML-DC 对同种异体 T 淋巴细胞有很强的刺激作用,激活能力明显高于正常 MoDC(图 3, $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

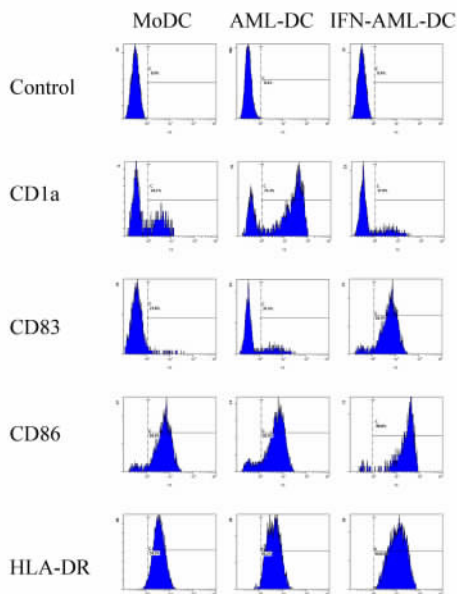


图 2 各类 DC 的免疫表型分析

Fig. 2 Cell surface phenotype analysis of DCs in different groups

2.3 IFN-AML-DC 的免疫刺激功能

AML-DC 与正常 MoDC 相比,其刺激 T 细胞增殖的能力略低,表明 AML-DC 虽已具有抗原递呈功

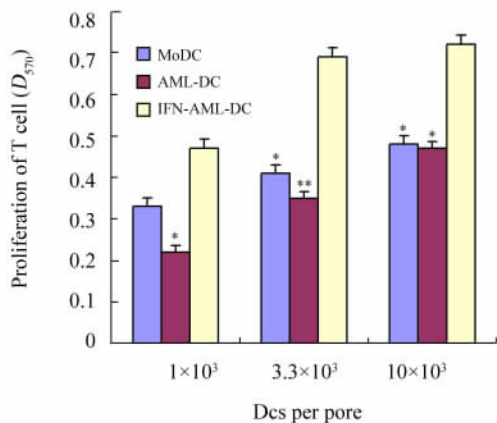


图 3 各类 DC 体外激发 allo-MLR 的能力

Fig. 3 Allo-MLR stimulatory capacity of DCs in in different groups

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs IFN-AML-DC

3 讨论

1997 年 Choudhury 等^[13] 首次报道应用 GM-CSF + IL-4 + TNF- α 体外培养获得 CML 患者白血病细胞来源的 DC。1998 年笔者实验室首次报道了 AML-M3 患者的白血病细胞体外经 GM-CSF + IL-4 + TNF- α 培育诱导 10 ~ 14 d,可以生成白血病细胞来源的 DC^[14]。1999 年 Choudhury 等^[15] 报道应用

GM-CSF + IL-4 + TNF- α /CD40L 从 18 名各亚型 AML 患者来源的 AML 细胞诱导生成 AML-DC, 高表达 MHC-I、MHC-II、CD86 及 ICAM-1。应用 GM-CSF + IL-4 + TNF- α 诱导生成的 AML-DC, 体外可刺激自体 MLR 增殖, 诱导产生低水平的抗白血病细胞 CTL。由于 AML-DC 培养方法相对简单, 同时可能有效提呈已知的和未知的所有白血病抗原, 近年来已经被用于临床试验治疗 AML^[16-19]。

但 AML 患者外周血或骨髓的白血病细胞在分化程度上存在异质性, 以 GM-CSF + IL-4 + TNF- α 培养生成的 AML-DC, 并未全部充分成熟, 其中部分 AML-DC 仍可能处于不成熟状态或功能缺陷状态, 实验中发现以 GM-CSF + IL-4 + TNF- α 培养生成的 AML-DC 中, 始终存在部分伪足较少、不具有典型的成熟 DC 形态特征的细胞, 这些细胞免疫激活能力弱, 被用于体内后还有可能诱导免疫耐受。Foss 等^[20]报道 AML 细胞能分泌 VEGF, 抑制 DC 的成熟, 减弱 DC 的功能。因此需要更好的、能够获得充分成熟的 AML-DC 的培养方法。

Lee 等^[9]尝试应用 GM-CSF + IL-4 + CD40L 诱导 AML-DC, 结果表明 CD80、CD83、CD86、CD40、HLA-DR 分子的表达与 GM-CSF + IL-4 + TNF- α 诱导的 AML-DC 无明显差异。IFN- α 能够促进 MoDC 及 CML-DC 成熟已经有较多报道, 但尚未被用于诱导 AML-DC 的成熟, 本研究尝试应用 IFN- α 促进 AML-DC 的分化成熟。结果表明 M2、M4、M5 患者来源的 AML 细胞, 体外经 GM-CSF + IL-4 + TNF- α 培养, 于第 11 天加入 IFN- α 后, 伪足较少的圆形及不规则形细胞逐渐减少, 第 14 天时几乎所有培养的 IFN-AML-DC 细胞都出现大量毛刺状伪足, 而且伪足与 MoDC、AML-DC 的相比更为丰富、尖细, 具有典型的成熟 DC 的形态学特征, CD83⁺ 细胞的比例较 AML-DC、MoDC 显著增加, HLA-DR、CD86 分子的表达水平也显著增高, IFN-AML-DC 对同种异体 T 淋巴细胞的激活能力明显高于 AML-DC 及正常 MoDC, 提示 IFN- α 能够诱导绝大部分 AML-DC 的充分成熟分化, 使之具有更强的免疫激活能力。因此 IFN-AML-DC 可以更安全地被用于临床治疗, 并可能获得更好的临床疗效。

IFN- α 可有效治疗多种血液系统肿瘤, 包括慢性粒细胞性白血病、多发性骨髓瘤、毛细胞性白血病、恶性淋巴瘤及骨髓增殖性疾病等, 通常认为其作用机制包括增强 NK 细胞活性、促进 T 细胞激活、活化巨噬细胞、增加肿瘤细胞 MHC-I 类分子表达等, 但确切的机制尚未完全阐明。本研究提示 IFN- α 在

AML 细胞的分化发育及体内抗白血病免疫效应中可能起一定的作用。此外, 由于浆样 DC 是体内 IFN- α 的主要分泌细胞, 本研究也进一步提示浆样 DC 可能参与髓系来源 DC 的分化成熟过程。

[参 考 文 献]

- [1] Mohty M, Vialle-Castellano A, Nunes JA, *et al.* IFN-alpha skews monocyte differentiation into Toll-like receptor 7-expressing dendritic cells with potent functional activities[J]. *J Immunol*, 2003, 171(7): 3385-3393.
- [2] Dauer M, Schad K, Junkmann J, *et al.* IFN-alpha promotes definitive maturation of dendritic cells generated by short-term culture of monocytes with GM-CSF and IL-4[J]. *J Leukoc Biol*, 2006, 80(2): 278-286.
- [3] Paquette RL, Hsu NC, Kiertscher SM, *et al.* Interferon-alpha and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor differentiate peripheral blood monocytes into potent antigen-presenting cells[J]. *J Leukoc Biol*, 1998, 64(3): 358-367.
- [4] Radvanyi LG, Banerjee A, Weir M, *et al.* Low levels of interferon-alpha induce CD86 (B7.2) expression and accelerates dendritic cell maturation from human peripheral blood mononuclear cells [J]. *Scand J Immunol*, 1999, 50(5): 499-509.
- [5] Gabriele L, Borghi P, Rozera C, *et al.* IFN-alpha promotes the rapid differentiation of monocytes from patients with chronic myeloid leukemia into activated dendritic cells tuned to undergo full maturation after LPS treatment[J]. *Blood*, 2004, 103(3): 980-987.
- [6] Paquette RL, Hsu N, Said J, *et al.* Interferon-alpha induces dendritic cell differentiation of CML mononuclear cells *in vitro* and *in vivo*[J]. *Leukemia*, 2002, 16(8): 1484-1489.
- [7] Wang C, Al-Omar HM, Radvanyi L, *et al.* Clonal heterogeneity of dendritic cells derived from patients with chronic myeloid leukemia and enhancement of their T-cells stimulatory activity by IFN-alpha [J]. *Exp Hematol*, 1999, 27(7): 1176-1184.
- [8] Chen X, Regn S, Raffegerst S, *et al.* Interferon alpha in combination with GM-CSF induces the differentiation of leukaemic antigen-presenting cells that have the capacity to stimulate a specific anti-leukaemic cytotoxic T-cell response from patients with chronic myeloid leukaemia[J]. *Br J Haematol*, 2000, 111(2): 596-607.
- [9] Lee JJ, Choi BH, Nam JH, *et al.* The generation of leukemic dendritic cells from acute myeloid leukemia cells is potentiated by the addition of CD40L at the terminal maturation stage[J]. *J Clin Apher*, 2004, 19(3): 130-136.
- [10] Kufner S, Fleischer RP, Kroell T, *et al.* Serum-free generation and quantification of functionally active Leukemia-derived DC is possible from malignant blasts in acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndromes[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2005, 54(10): 953-970.
- [11] 张之南, 沈 悌 主编. 血液病诊断及疗效标准[M]. 第 2 版. 北京: 科学出版社, 1998. 190-193.
- [12] 朱学军, 曹雪涛, 于益芝, 等. 人外周血树突状细胞的体外扩增与鉴定[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 1997, 4(4): 302-306.

- [13] Choudhury A, Gajewski JL, Liang JC, *et al.* Use of leukemic dendritic cells for the generation of antileukemic cellular cytotoxicity against Philadelphia chromosome-positive chronic myelogenous leukemia[J]. *Blood*, 1997, 89(4): 1133-1142.
- [14] 朱学军, 楼国良, 弥静, 等. 人急性早幼粒细胞性白血病细胞诱导分化生成树突状细胞的体外研究[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 1998, 5(4): 247-252.
- [15] Choudhury BA, Liang JC, Thomas EK, *et al.* Dendritic cells derived in vitro from acute myelogenous leukemia cells stimulate autologous, antileukemic T-cell responses[J]. *Blood*, 1999, 93(3): 780-786.
- [16] Ovali E, Dikmen T, Sonmez M, *et al.* Active immunotherapy for cancer patients using tumor lysate pulsed dendritic cell vaccine: a safety study[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2007, 26(2): 209-214.
- [17] Houtenbos I, Westers TM, Ossenkoppele GJ, *et al.* Feasibility of clinical dendritic cell vaccination in acute myeloid leukemia[J]. *Immunobiology*, 2006, 211(6-8): 677-685.
- [18] Roddie H, Klammer M, Thomas C, *et al.* Phase I/II study of vaccination with dendritic-like leukaemia cells for the immunotherapy of acute myeloid leukaemia[J]. *Br J Haematol*, 2006, 133(2): 152-157.
- [19] Li L, Giannopoulos K, Reinhardt P, *et al.* Immunotherapy for patients with acute myeloid leukemia using autologous dendritic cells generated from leukemic blasts[J]. *Int J Oncol*, 2006, 28(4): 855-861.
- [20] Foss B, Mentzoni L, Bruserud O. Effects of vascular endothelial growth factor on acute myelogenous leukemia blasts[J]. *J Hematother Stem Cell Res*, 2001, 10(1): 81-93.
- [收稿日期] 2007 - 10 - 14 [修回日期] 2007 - 11 - 10
- [本文编辑] 郁晓路

· 简讯 ·

中国临床试验注册中心公告

中国临床试验注册中心(Chinese Clinical Trial Register, ChiCTR)为卫生部下属的国家临床试验注册中心,世界卫生组织国际临床试验注册协作网一级注册机构(World Health Organization International Clinical Trial Registration Platform Primary Register, WHO ICTRP Primary Register),由卫生部中国循证医学中心和四川大学华西医院等于 2005 年 7 月 25 日正式运行。

全球临床试验注册制度由世界各国政府共同决定由 WHO 领导建立。临床试验注册具有伦理和科学的意义,目的是为了尊重和珍惜所有试验参与者的贡献,他们的贡献用于改善全社会的医疗保健,因此,任何临床试验都与公众利益相关。公开临床试验的信息,并将其置于公众监督之下是试验研究者的义务和道德责任。临床试验注册不仅能确保追溯每个临床试验的结果,公开在研试验或试验结果信息还有助于减少不必要的重复研究。

ChiCTR 的宗旨是联合中国和全球的临床医师、临床流行病学家、统计学家、流行病学家和医疗卫生管理者,严格科学地管理中国临床试验信息,提高其质量,为广大医务工作者、医疗卫生服务消费者和政府卫生政策制定者提供可靠的临床试验证据,让医疗卫生资源更好地服务于中国人民和全人类的健康事业。

所有在人体实施的试验均属于临床试验,都应该先注册后实施。凡已注册临床试验都会被授予 WHO ICTRP 全球统一的唯一注册号。

ChiCTR 接受中国地区及全球的临床试验注册申请,还接受获得 WHO ICTRP 认证的二级注册机构输送的注册资料,并向 WHO ICTRP 中央数据库输送注册信息供全球检索。除注册临床试验外,ChiCTR 以卫生部中国循证医学中心、循证医学教育部网上合作研究中心、中国 Cochrane 中心、英国 Cochrane 中心、四川大学华西医院国际临床流行病学网华西资源与培训中心为人才和技术支持平台,负责指导临床试验设计、中心随机、论文写作、教育培训,推动提高我国临床试验的质量。

通过 ChiCTR 检索入口网址 www.chictr.org,公众可方便地查询已注册临床试验信息,并与 WHO 全球检索入口链接,可方便地查询全球已注册临床试验。

ChiCTR 主任:李幼平;管理人员:吴泰相,李静,刘关键。如需了解更多信息,请与吴泰相联系。

联系地址:中国成都市国学巷 37 号四川大学华西医院。电话:023 - 85422081;传真:028 - 85422253;电子邮件:txwutx@hotmail.com。