

· 基础研究 ·

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2009.01.003

膜结合型干细胞因子促进白血病细胞 K562 的增殖和集落形成

王大刚, 郑国光*, 种靖慧, 马翠花, 林永敏, 吴克复(中国医学科学院北京协和医学院血液学研究所血液病医院实验血液学国家重点实验室, 天津 300020)

[摘要] 目的: 探讨膜结合型干细胞因子(membrane-bound stem cell factor, m-SCF)在白血病细胞中的作用。方法: 克隆并构建携可溶性干细胞因子(soluble stem cell factor, s-SCF)前体的真核表达质粒 pTARGET-s, 采用 Overlap PCR 法去除外显子 6 序列, 进一步构建 m-SCF 的表达质粒 pTARGET-m, DNA 测序鉴定。通过脂质体介导分别将上述载体和空载体 pTARGET 转染白血病 K562 细胞, 用 G418 筛选稳定表达细胞株, 并用 RT-PCR、Western blotting 法鉴定。通过 CCK-8 细胞增殖实验以及集落形成实验观察不同细胞株体外增殖特点。结果: 成功构建了 s-SCF 和 m-SCF 的真核表达载体, 获得了稳定转染细胞株 K562-V、K562-S、K562-M。U 底培养条件下, K562-M 增殖能力明显高于 K562-V 和 K562-S (均 $P < 0.01$)。K562-M 集落形成率显著高于 K562-V 和 K562-S (均 $P < 0.01$), 且集落形态大于其他两种细胞。结论: m-SCF 与 C-kit 之间的并置性作用显著促进白血病细胞的增殖。

[关键词] 膜结合型干细胞因子; C-kit; 白血病; 并置性作用

[中图分类号] R733.7; R392.1

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2009)01-006-06

Membrane-bound stem cell factor increases proliferation and colony-formation of leukemia cell line K562

WANG Da-gang, ZHENG Guo-guang*, CHONG Jing-hui, MA Cui-hua, LIN Yong-min, WU Ke-fu (State Key Laboratory for Experimental Hematology, Institute of Hematology & Blood Diseases Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Tianjin 300020, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the role of membrane-bound stem cell factor (m-SCF) in the pathogenesis of leukemia. **Methods:** The eukaryotic expression plasmid of soluble stem cell factor (s-SCF) precursor (pTARGET-s) was constructed. Overlap PCR was used to obtain m-SCF sequence with the deletion of exon 6, and pTARGET-m was constructed. After verified by DNA sequencing, pTARGET-m and control pTARGET vector were transfected into K562 cells via Lipofetamine 2000, and the positive cells were screened by G418. K562 cells stably transfected with pTARGET-m were verified by RT-PCR and Western blotting. Proliferation and colony-formation of these stably transfected cells were studied. **Results:** The s-SCF and m-SCF eukaryotic expression vectors were successfully constructed. The stable transfectants K562-V, K562-S, and K562-M were obtained. Under U-bottom culture condition, proliferation ability of K562-M cells was significantly stronger than those of K562-V or K562-S (both $P < 0.01$). Colony-formation ability of K562-M was significantly higher than those of K562-V and K562-S (both $P < 0.01$). Furthermore, the colony size of K562-M was larger than those of the other two kinds of cells. **Conclusion:** m-SCF significantly enhances proliferation and colony-formation of leukemia cells by a juxtacrine mechanism.

[Key words] membrane-bound stem cell factor (m-SCF); C-kit; leukemia; juxtacrine

[Chin J Cancer Biother, 2009, 16(1): 6-11]

除了经典的可溶性形式, 许多细胞因子如 TGF- α 、巨噬细胞集落刺激因子(M-CSF)等, 还以膜结合形式存在, 并与其受体通过并置性作用(juxtacrine)机制参与邻近细胞之间的细胞通讯^[1]。干细胞因子(stem cell factor, SCF)由外显子 6 蛋白酶解位点选择性剪接形成可溶性(s-SCF)与膜结合型(m-SCF)两种形式。s-SCF 和受体 C-kit 通过自

[基金项目] 国家重点基础研究发展规划(973)前期资助项目(2008CB517301); 美国中华医学基金会(CMB)资助项目(No. 2007001)。Supported by the Major State Basic Research Development Program of China (2008CB517301); China Medical Board (CMB) (No. A2007001)

[作者简介] 王大刚(1983-), 男, 河北省保定市人, 硕士, 主要从事血液肿瘤细胞生物学方面的研究。E-mail: wdgky@126.com

* 通讯作者(Corresponding author)。E-mail: zhenggtjchn@yahoo.com.cn

泌机制促进多种实体肿瘤细胞(如乳腺癌和黑素瘤等)的增殖;SCF是造血调控中的重要因子,C-kit高表达已成为临床诊断急性髓系白血病(acute myeloid leukemia,AML)的重要指标之一,在白血病骨髓单个核细胞标本中可以检出m-SCF高表达,其意义有待阐明。本研究旨在探讨m-SCF与C-kit之间的并置性机制在白血病发生、发展中的作用。

1 材料与方法

1.1 主要试剂

Trizol RNA提取试剂、M-MLV反转录酶、Lipofectamine™2000购自Invitrogen公司。Ex Taq DNA聚合酶、T4 DNA连接酶、Pyrobest™ DNA聚合酶、质粒提取和胶回收试剂盒为TaKaRa公司产品。pTARGET真核表达载体为Promega产品。小鼠抗人SCF单克隆抗体为Santa Cruz公司产品,HRP标记的山羊抗小鼠IgG二抗为VECTOR产品。Super-Signal West Pico化学发光试剂盒购自PIERCE公司,CCK-8试剂购自上海日本同仁化学。

1.2 SCF的检测及克隆

所有引物均用Primer 5辅助设计(表1)。据基因文库公布的序列(NM_000899)设计克隆引物并加入酶切位点,以人间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSC)cDNA为模板,用高保真Pyrobest™ DNA聚合酶进行PCR;反应条件:94℃预变性5 min;94℃变性30 s,54℃退火40 s,72℃延伸1 min,28个循环后72℃7 min结束反应。胶回收PCR产物后经Xho I和Kpn I双酶切并与pTARGET载体连接,构建s-SCF前体表达质粒pTARGET-s;转化感受态*E. coli* DH5 α ,筛选阳性克隆,提取质粒,进行PCR鉴定(反应条件同上)及DNA双向测序鉴定。用Overlap PCR方法获得m-SCF序列:先以pTARGET-s为模板,分别扩增、纯化出外显子6之前及之后的编码序列m-SCF1和m-SCF2,然后以它们的混合物为模板用SCF的克隆引物扩增出完整的m-SCF序列(反应条件及其他步骤同上)。将上述产物插入pTARGET载体,构建m-SCF的表达质粒pTARGET-m,并经过DNA双向测序鉴定。

1.3 细胞培养

人白血病细胞系K562由本室保存。所有细胞均采用含10%(V/V)FBS的RPMI 1640培养液,在37℃、5%CO₂饱和湿度下培养。选取对数生长期细胞进行实验。

1.4 细胞转染及稳定转染克隆的筛选

24孔板中每孔接种 1×10^6 个K562细胞,悬于

500 μ l无抗生素、含10% FBS的1640培养液,按照Lipofectamine™2000说明进行操作,将空载体pTARGET、pTARGET-s、pTARGET-m质粒分别转染K562细胞,分别命名为K562-V、K562-S、K562-M。转染48 h后加入800 μ g/ml G418进行筛选,每2 d换液1次,并于第14天将细胞转移进25 ml的培养瓶。

1.5 RT-PCR和Western blotting鉴定稳定转染的细胞株

收集K562-M、K562-S、K562-V以及未转染的K562细胞,用RT-PCR检测m-SCF、s-SCF前体和质粒自身的Neo基因。按产品说明书,用Trizol提取细胞总RNA,并用M-MLV反转录酶将1 μ g总RNA反转录为cDNA,以甘油醛三磷酸脱氢酶(GAPDH)为内参,取2 μ l cDNA进行PCR,进行25个循环,具体反应条件同1.2所述,产物经琼脂糖凝胶电泳。所用检测引物序列、扩增片段长度见表1。

收集K562-M、K562-S、K562-V各 5×10^6 细胞,加入裂解液提取总蛋白。样品经10% SDS-PAGE分离后,电转至PVDF膜上,5%脱脂奶4℃封闭过夜;1:500稀释SCF抗体室温孵育2 h,洗膜后1:5000稀释二抗室温孵育1 h,最后暗室中以化学发光法显色,X线片曝光。

1.6 CCK-8法检测细胞增殖

将K562-V、K562-S、K562-M细胞调整为 1×10^5 /ml,以每孔100 μ l分别加入U形底和平底96孔板,做5个复孔。空白对照组只加1640培养液。分别培养24、48、72、96 h后每孔加入CCK-8试剂10 μ l,继续培养6 h,全自动酶标仪测定450 nm波长处的光密度值(D),取5孔的均值。

1.7 集落形成实验

集落培养体系参照文献[2],其中含20% FBS、800 μ g/ml G418,细胞终密度为 2×10^3 /ml。混匀后以每孔100 μ l加入96孔培养板,平行做5个复孔。培养5 d后于倒置显微镜下观察,大于40个细胞为一集落,10~30个细胞的为一细胞丛。计数各孔的集落和细胞丛,并按公式计算集落形成率:集落形成率(%)=(集落数/接种细胞数) $\times 100\%$ 。

1.8 统计分析

实验数据以($\bar{x} \pm s$)表示,用SPSS13.0软件进行统计学处理,两组之间的比较采用t检验,组间的两两比较采用S-N-K法。

2 结果

2.1 人SCF的克隆及pTARGET-s和pTARGET-m真核表达载体的构建

从人 MSC 中克隆了 s-SCF 前体编码区片段,并成功构建 pTARGET-s,PCR 鉴定重组质粒插入片段大小正确(图 1)。以 pTARGET-s 为模板,分别扩增外显子 6 前后片段 m-SCF1 和 m-SCF2(图 1),Over-

lap PCR 获得 m-SCF 编码区片段,并成功构建 pTARGET-m,PCR 鉴定插入片段大小正确(图 1)。经 DNA 测序证实,它们分别与 Genebank 公布序列(NM_000899、NM_003994)完全一致。

表 1 引物序列
Tab.1 Primer sequences

Gene	Primer sequence	Product (bp)
RT-PCR		
GAPDH	Forward 5'-GAAGGTGAAGGTCGGAGTC-3'	984
	Reverse 5'-GAAGATGGTGATGGGATTTTC-3'	
Neo	Forward 5'-GGTGGAGAGGCTATTTCGGCT-3'	728
	Reverse 5'-GATAGAAGCGCATGCGCTGC-3'	
SCF	Forward 5'-GTCATTGTTGGATAAGCGAG-3'	523
	Reverse 5'-CTCTTCTCCAGTATAAGGC-3'	
m-SCF	Forward 5'-GTCATTGTTGGATAAGCGAG-3'	335
	Reverse 5'-TTTGGCCTTCCCTTTCTCAG-3'	
C-kit	Forward 5'-CTCTGCGTTCTGCTCCTA-3'	393
	Reverse 5'-TGGTCACTTCTGGGTCTG-3'	
Clone primer		
SCF	Forward 5'-GCAACTCGAGAATGCGTGGACTATCTG-3'	989
	Reverse 5'-GTAAGGTACCACATGAACTGTTACCAG-3'	
Overlap PCR		
m-SCF1	Forward 5'-GCAACTCGAGAATGCGTGGACTATCTG-3'	631
	Reverse 5'-ATTTTTGGCCTTCCCTTTCTCAGGACTTAAT-3'	
m-SCF2	Forward 5'-ATTAAGTCCTGAGAAAGGGAAGGCCAAAAAT-3'	274
	Reverse 5'-GTAAGGTACCACATGAACTGTTACCAG-3'	

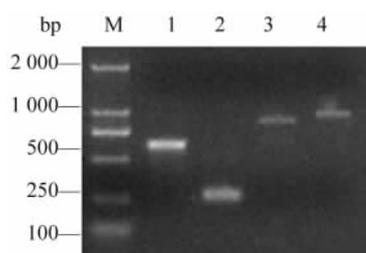


图 1 重组质粒 pTARGET-s 和 pTARGET-m 的鉴定

Fig.1 Identification of pTARGET-s and pTARGET-m plasmids

M: DNA marker; 1: m-SCF1 fragment; 2: m-SCF2 fragment; 3: pTARGET-m; 4: pTARGET-s

2.2 稳定转染 K562 细胞株的构建

用上述载体和空载体分别转染 K562 细胞, G418 筛选后获得稳定转染克隆 K562-M、K562-S 和 K562-V。以 GAPDH 为内参, RT-PCR 进行鉴定, 结果显示上述细胞株和未转染的 K562 细胞均表达 C-kit 受体(图 2 A); 3 个转染细胞株均可检出质粒所带 Neo 基因(图 2 C); s-SCF 前体和 m-SCF 分别表达于 K562-S 和 K562-M 细胞中(见图 2 D, E)。以 β -actin 为内参, 用 Western blotting 从蛋白水平检测 m-SCF 和 s-SCF 在稳定转染细胞中的表达。K562-S 可检出相对分子质量为 45 000 的 s-SCF 前体蛋白和经酶切释放的 31 000 的 s-SCF; K562-M 仅表达 32 000 的 m-SCF(图 3)。激光共聚焦显微镜观

察免疫荧光染色标本,稳定表达目的基因的细胞超过 95%(结果未显示)。

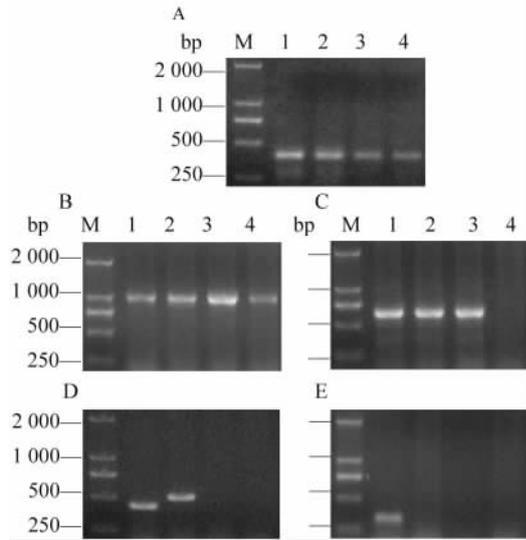


图 2 PCR 鉴定 K562-M、K562-S、K562-V 细胞株中 SCF 的表达

Fig. 2 PCR analysis of SCF mRNA in K562-M, K562-S and K562-V cells

A: C-kit; B: GAPDH; C: Neo; D: SCF; E: m-SCF
M: DNA marker; 1: K562-M; 2: K562-S; 3: K562-V; 4: K562

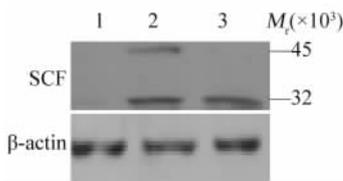


图 3 K562-V、K562-S、K562-M 细胞株中 SCF 的表达

Fig. 3 Expression of SCF in K562-V, K562-S and K562-M cells
1: K562-V; 2: K562-S; 3: K562-M

2.3 SCF 对 K562 增殖能力的影响

平底培养条件下, K562-S 和 K562-M 增殖均显著高于 K562-V; 48 h 后, K562-S 增殖显著高于 K562-M (图 4A, $P < 0.01$)。U 底培养条件下, 24、48 和 72 h K562-M 增殖均显著高于 K562-V 和 K562-S (图 4B, $P < 0.01$)。上述结果提示, m-SCF 通过并置性作用促进细胞的增殖, 在细胞聚集的条件下, 其作用强于 s-SCF 的作用。

2.4 s-SCF 和 m-SCF 对 K562 细胞集落形成能力的影响

集落形成实验检测 K562-V、K562-S 和 K562-M 细胞集落形成能力, 结果显示: K562-S 集落形成率为 $(10.33 \pm 1.04)\%$, 显著高于 K562-V 的 $(5.33 \pm$

$0.577)\%$ ($P < 0.01$), 且形成的集落显著大于 K562-V; K562-M 集落形成率为 $(15.17 \pm 1.04)\%$, 显著高于 K562-V 和 K562-S, 且 K562-M 形成的集落比 K562-S 更大(图 5, $P < 0.01$)。3 种细胞丛形成率分别为 $(51.17 \pm 4.51)\%$ 、 $(50.83 \pm 4.65)\%$ 、 $(53.83 \pm 3.69)\%$, 其间差异无统计学意义。

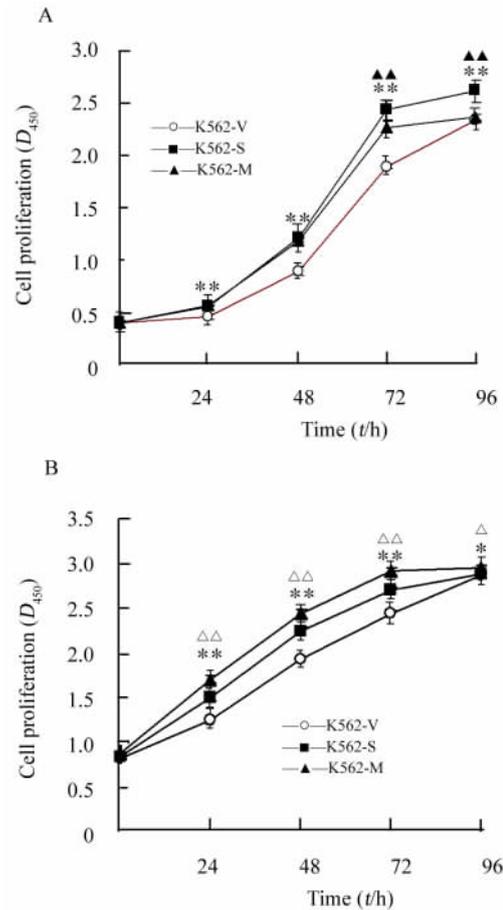


图 4 s-SCF 和 m-SCF 对 K562 细胞增殖能力的促进作用
Fig. 4 s-SCF and m-SCF increased proliferation of K562 cells

A: Flat-bottom culture plate; B: U-bottom culture plate

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs K562-V; $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$ vs K562-M; $\triangle P < 0.05$, $\triangle\triangle P < 0.01$ vs K562-S;

3 讨论

SCF 也称为肥大细胞生长因子、steel factor, 是酪氨酸激酶受体 C-kit 的配体, 通过选择性剪接可形成 s-SCF 和 m-SCF。其中 s-SCF 前体含外显子 6 编码的蛋白酶切位点, 可以被蛋白酶切释放 s-SCF; 人 m-SCF 缺少此位点, 以膜结合型存在^[3]。两者在造血调控中的作用不尽相同^[4]: s-SCF 司职将干/祖细胞动员到外周血; 而 m-SCF 参与“nich”的组成, 在造血干细胞黏附功能中起重要作用, 造血微环境缺

乏 m-SCF 导致造血干细胞重建造血障碍^[5-7]。

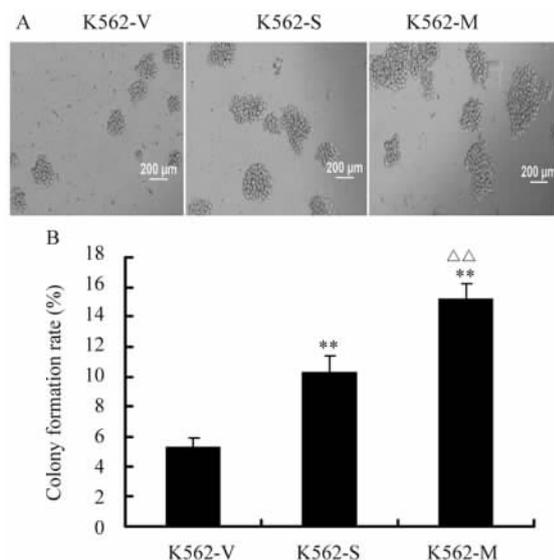


图5 s-SCF 和 m-SCF 对 K562 细胞集落形成能力的促进作用
Fig.5 s-SCF and m-SCF increased colony formation of K562 cells
A: Colony under reverse microscope; B: Colony formation rate
** $P < 0.01$ vs K562-V, $\Delta\Delta P < 0.01$ vs K562-S

SCF 在肿瘤中的作用也备受关注:在恶性实体肿瘤中,s-SCF/C-kit 通过自分泌作用促进肿瘤生长和转移^[8-10];在炎症情况下,m-SCF/C-kit 可参与病理性血管新生^[11]。而 C-kit 表达阳性的肿瘤细胞被认为具有肿瘤干细胞样性质^[12-13]。在血液系统恶性疾病中,63%的急性髓系白血病(AML)患者 C-kit 表达阳性,其中 2/3 同时伴有异常 CD34⁺ 指标的的患者不易缓解、易复发、预后不良^[14-16]。有实验^[17]表明,SCF 抗体可增强化疗药对耐药髓系白血病细胞的杀伤效应。上述结果主要阐明了 s-SCF 通过自分泌机制促进肿瘤细胞的恶性表型。本课题前期研究结果提示,m-SCF 在部分白血病中有高表达,其在白血病发生、发展中的作用机制有待阐明。

并置性作用机制是依赖细胞间相互接触的一种细胞间通讯方式^[18],在发育、细胞识别、肿瘤等方面均起重要作用。以往的工作阐明了膜结合型巨噬细胞集落刺激因子(m-M-CSF)与其受体介导的并置性作用促进恶性细胞的增殖^[1-2],而且它可以通过异常活化巨噬细胞对血液系统恶性肿瘤的发展起促进作用^[19]。SCF 与 M-CSF 有一些共同的特征^[20],提示在白血病中 m-SCF 可能具有类似作用。本研究分别构建了稳定表达 s-SCF 和 m-SCF 的 K562 细胞株,两种细胞株分别形成了自分泌环路和并置性作用方式。在平底培养条件下,细胞接触较少,虽两者

均能促进白血病细胞的增殖,但 s-SCF 的作用更为显著;在 U 底培养条件下,细胞被动聚集、相互接触,导致 m-SCF 介导的并置性作用更为显著,其促白血病增殖效应显著高于 s-SCF。集落形成实验结果显示,K562-m 形成的集落不仅数量多,而且集落形态更大,进一步证明在细胞聚集接触的条件下,m-SCF/C-kit 介导的并置性作用更能促进这些恶性细胞的增殖。与 s-SCF 相比,由于受体内化、降解过程受阻,m-SCF 引起的 C-kit 下游信号更为持续^[21],这可能是 m-SCF 作用更强的原因。

白血病的发生、发展中,伴随着恶性细胞之间以及与造血微环境之间的相互作用,m-SCF 可能是其中的重要一环,在促进白血病干细胞的恶性增殖中起重要作用,可能成为白血病等恶性肿瘤治疗的新靶点。

[参 考 文 献]

[1] Wu KF, Zheng GG, Geng YQ, *et al.* Autojuxtacrine mediated via m-M-CSF/M-CSFR on human leukemic cells [J]. Cell Res, 1995, 5(sup 1): 69-72.
 [2] Wu KF, Rao Q, Zheng GG, *et al.* Enhancement of J6-1 human leukemic cell proliferation by cell-cell contact: role of an M-CSF-like membrane-associated growth factor MAF-J6-1 [J]. Leuk Res, 1994, 18(11): 843-849.
 [3] Reber L, Da Silva CA, Frossard N. Stem cell factor and its receptor c-Kit as targets for inflammatory diseases [J]. Eur J Pharmacol, 2006, 533(1-3): 327-340.
 [4] Berger SA. Signaling pathways influencing SLF and C-kit-mediated survival and proliferation [J]. Immunol Res, 2006, 35(1): 1-12.
 [5] Barker JE. Early transplantation to a normal microenvironment prevents the development of steel hematopoietic stem cell defects [J]. Exp Hematol, 1997, 25(6): 542-547.
 [6] Smith MA, Court EL, Smith JG. Stem cell factor: laboratory and clinical aspects [J]. Blood Rev, 2001, 15(4): 191-197.
 [7] Driessen RL, Johnston HM, Nilsson SK. Membrane-bound stem cell factor is a key regulator in the initial lodgment of stem cells within the endosteal marrow region [J]. Exp Hematol, 2003, 31(12): 1284-1291.
 [8] Hirano K, Shishido-Hara Y, Kitazawa A, *et al.* Expression of stem cell factor (SCF), a KIT ligand, in gastrointestinal stromal tumors (GISTs): a potential marker for tumor proliferation [J]. Pathol Res Pract, 2008, 204(11): 799-807.
 [9] Stoop H, Honecker F, van de Geijn GJ, *et al.* Stem cell factor as a novel diagnostic marker for early malignant germ cells [J]. J Pathol, 2008, 216(1): 43-54.
 [10] Wiesner C, Nabha SM, Dos Santos EB, *et al.* C-kit and its ligand stem cell factor: potential contribution to prostate cancer bone metastasis [J]. Neoplasia, 2008, 10(9): 996-1003.
 [11] Dentelli P, Rosso A, Balsamo A, *et al.* C-KIT, by interacting with

- the membrane-bound ligand, recruits endothelial progenitor cells to inflamed endothelium [J]. *Blood*, 2007, 109(10): 4264-4271.
- [12] Ceder JA, Jansson L, Ehrnström RA, *et al.* The characterization of epithelial and stromal subsets of candidate stem/progenitor cells in the human adult prostate [J]. *Eur Urol*, 2008, 53(3): 524-531.
- [13] Li H, Chen X, Calhoun-Davis T, *et al.* PC3 human prostate carcinoma cell holoclones contain self-renewing tumor-initiating cells [J]. *Cancer Res*, 2008, 68(6): 1820-1825.
- [14] Schwartz S, Heinecke A, Zimmermann M, *et al.* Expression of C-kit receptor (CD117) is a feature of almost all subtypes of de novo AML, including cytogenetically good-risk AML and lacks prognostic significance [J]. *Leuk Lymphoma*, 1999, 34(1): 85-94.
- [15] Macedo A, Orfao A, Martinez A, *et al.* Immunophenotype of C-kit cells in normal human bone marrow: implications for the detection of minimal residual disease in AML [J]. *Br J Haematol*, 1995, 89(2): 338-341.
- [16] Scolnik MP, Morilla R, de Bracco MM, *et al.* CD34 and CD117 are overexpressed in AML and may be valuable to detect minimal residual disease [J]. *Leuk Res*, 2002, 26(7): 615-619.
- [17] Lu C, Hassan HT. Human stem cell factor-antibody [anti-SCF] enhances chemotherapy cytotoxicity in human CD34⁺ resistant myeloid leukaemia cells [J]. *Leuk Res*, 2006, 30(3): 296-302.
- [18] Rozante LC, Gubitoso MD, Matioli SR. A framework for modeling of juxtacrine signaling systems [J]. *Genet Mol Res*, 2007, 6(4): 821-845.
- [19] Wang L, Zheng GG, Ma CH, *et al.* A special linker between macrophage and hematopoietic malignant cells: membrane form of macrophage colony-stimulating factor [J]. *Cancer Res*, 2008, 68(14): 5639-5647.
- [20] Bazan JF. Genetic and structural homology of stem cell factor and macrophage colony-stimulating factor [J]. *Cell*, 1991, 65(1): 9-10.
- [21] Miyazawa K, Williams DA, Gotoh A, *et al.* Membrane-bound steel factor induces more persistent tyrosine kinase activation and longer life span of C-kit gene encoded protein than its soluble form [J]. *Blood*, 1995, 85(3): 641-649.
- [收稿日期] 2008 - 10 - 23 [修回日期] 2008 - 01 - 07
[本文编辑] 徐红梅

· 读者 · 作者 · 编者 ·

《中国肿瘤生物治疗杂志》常用英文缩略词表(二)

EDTA	ethylene diaminetetraacetic acid	乙二胺四乙酸
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay	酶联免疫吸附实验
FCM	flow cytometry	流式细胞术
FDA	Food and Drug Administration	(美国)食品药品监督管理局
FITC	fluorescein isothiocyanate	异硫氰酸荧光素
GFP	green fluorescent protein	绿色荧光蛋白
GVHD	graft versus host disease	移植物抗宿主病
H-E	hematoxylin and eosin staining	苏木精-伊红染色
HIV	human immunodeficiency virus	人类免疫缺陷病毒
HLA	human leukocyte antigen	人类白细胞抗原
HPLC	high performance liquid chromatography	高效液相色谱(层析)
HRP	horseradish peroxidase	辣根过氧化物酶
IFN	interferon	干扰素
IL	interleukin	白细胞介素
PCNA	proliferating cell nuclear antigen	增殖细胞相关核抗原
LAK	lymphokine activated killer cell	淋巴因子激活的杀伤细胞
mAb	monoclonal antibody	单克隆抗体
MHC	major histocompatibility complex	主要组织相容性复合体
MRI	magnetic resonance imaging	磁共振成像
MTT	methyl thiazolyl tetrazolium	甲基噻唑四唑盐
NK	natural killer cell	自然杀伤细胞
OR	overall response	总有效率
OS	overall survival	总生存率
PAGE	polyacrylamide gel electrophoresis	聚丙烯酰胺凝胶电泳
PBS	phosphate buffered saline	磷酸盐缓冲溶液