

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2011.01.004

· 基础研究 ·

慢病毒介导 YCD/5-FC 自杀基因系统对白血病 Jurkat 细胞杀伤和旁观者效应

侯军, 陈洁, 李萍萍, 陶怡, 周虹, 章卫平, 王健民(第二军医大学长海医院血液科, 上海 200433)

[摘要] 目的: 探讨慢病毒介导的酵母菌胞嘧啶脱氨酶(yeast cytosine deaminase, YCD)自杀基因对人白血病 Jurkat 细胞的杀伤作用和旁观者效应。方法: 制备 YCD-GFP 慢病毒上清, 转染 Jurkat 细胞(即 Jurkat/YCD-GFP 细胞), 流式细胞术检测 YCD-GFP 基因的表达。体外观察前体药物 5-氟胞嘧啶(5-fluorocytosine, 5-FC)对 Jurkat/YCD-GFP 细胞的杀伤情况和旁观者效应; 建立 Jurkat/YCD-GFP 荷瘤小鼠模型, 体内观察 5-FC 对移植瘤细胞的杀伤作用和旁观者效应。以上实验均以 Jurkat/GFP 细胞为对照。结果: 成功制备 YCD-GFP 慢病毒和感染 YCD-GFP 慢病毒的 Jurkat/YCD-GFP 细胞, YCD-GFP 慢病毒对 Jurkat 细胞的感染率达 96.93%。232 $\mu\text{mol/L}$ 的 5-FC 作用 72 h 可使(95.61 \pm 2.07)% 的 Jurkat/YCD-GFP 细胞死亡, 且上清中 5-FC 含量下降 80% 左右。体外实验显示, Jurkat/YCD-GFP 和 Jurkat 细胞效靶比 1:10 混合培养[(68.69 \pm 4.97)% vs (97.87 \pm 1.11)% , $P < 0.05$] 和 Transwell 1:25 分层培养[(1.46 \pm 0.27) $\times 10^5$ vs (3.00 \pm 0.16) $\times 10^5$, $P < 0.01$] 均存在旁观者效应。体内实验显示, YCD/5-FC 自杀基因系统对 Jurkat/YCD-GFP 荷瘤小鼠亦具有较强的杀伤作用和旁观者效应($P < 0.05$)。结论: 慢病毒介导的 YCD/5-FC 自杀基因系统对人 Jurkat 白血病细胞具有显著的杀伤作用和旁观者效应。

[关键词] YCD/5-FC; 自杀基因; 慢病毒载体; 白血病; Jurkat 细胞; 旁观者效应

[中图分类号] R733.7; R730.54

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2011)01-0017-06

Cytotoxicity and bystander effect of lentiviral vector-mediated YCD/5-FC suicide gene system against leukemia Jurkat cells

HOU Jun, CHEN Jie, LI Ping-ping, TAO Yi, ZHOU Hong, ZHANG Wei-ping, WANG Jian-min (Department of Hematology, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the cytotoxicity and bystander effects of lentiviral vector-mediated yeast cytosine deaminase (YCD) suicide gene against the human leukemia Jurkat cells. **Methods:** YCD-GFP lentiviral vector was prepared and transfected into Jurkat cells (Jurkat/YCD-GFP cells). The expression of YCD-GFP gene was examined by flow cytometry. The cytotoxicity and bystander effects of pro-drug 5-fluorocytosine (5-FC) on Jurkat/YCD-GFP cells were measured *in vitro*. Nude mice bearing-Jurkat/YCD-GFP cell tumors were established and the cytotoxicity and bystander effects of 5-FC on tumor cells were measured *in vivo*. **Results:** YCD-GFP lentiviral vector and Jurkat/YCD-GFP cells (Jurkat cells infected by YCD-GFP lentiviral vector) were successfully prepared; the infection rate of YCD-GFP lentiviral vector on Jurkat cells was 96.93%. 5-FC (232 $\mu\text{mol/L}$ for 72h) killed (95.61 \pm 2.07)% of Jurkat/YCD-GFP cells, and 5-FC level in the culture supernatant decreased by about 80%. Bystander effect of Jurkat/YCD-GFP cells could be observed both in mixed culture (effect: target = 1:10, [68.69 \pm 4.97] % vs [97.87 \pm 1.11] %, $P < 0.05$) and in Transwell culture (effect: target = 1:25, [1.46 \pm 0.27] $\times 10^5$ vs [3.00 \pm 0.16] $\times 10^5$, $P < 0.01$). *In vivo* experiment results demonstrated that YCD/5-FC suicide gene system had strong cytotoxicity and bystander effects in Jurkat/YCD-GFP tumor bearing mice ($P < 0.05$). **Conclusion:** The lentiviral vector-mediated YCD/5-FC suicide gene system has marked cyto-

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No. 30871100, No. 30172347); 上海市科委重点项目基金资助(No. 8JC1406500)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 30871100, No. 30172347), and the Key Foundation of Science and Technology Commission of Shanghai (No. 8JC1406500)

[作者简介] 侯军(1970-), 女, 辽宁省沈阳市人, 博士生, 副主任医师, 主要从事恶性血液病的诊治研究。现在同济大学附属第十人民医院血液科工作。

[通信作者] 王健民(WANG Jian-min, corresponding author), E-mail: jmwang@medmail.com.cn

[网络出版] 2011-01-25; <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.1725.R.20110125.1122.032.html>

toxicity and bystander effects against human leukemia Jurkat cells.

[**Key words**] YCD/5-FC; suicide gene; lentiviral vector; leukemia; Jurkat cell; bystander effect

[Chin J Cancer Biother, 2011, 18(1): 17-22]

白血病是一种常见的血液系统恶性肿瘤,在 35 岁以下的成人和儿童的肿瘤发病中占首位^[1]。目前对该病主要采用以化疗为主的治疗方案,但大部分患者仅能暂时得到缓解,迟早会出现复发,因此迫切需要探讨新的治疗方法以进一步提高治疗效果。基因治疗是肿瘤治疗的一种有效方法。酵母菌胞嘧啶脱氨酶(yeast cytosine deaminase, YCD)是克隆自酿酒酵母菌的 CD 基因,它可将无毒性的 5-FC 脱氨,转化为细胞毒性产物 5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-FU),进而生成氟尿嘧啶三磷酸盐和氟脱氧尿嘧啶单磷酸盐,阻抑 DNA、RNA 和蛋白质合成,导致细胞死亡^[2,4],因而有可能成为理想的自杀基因。近年来基因治疗的研究发现,慢病毒载体系统因其外源基因可容量大、靶细胞转染率高,以及良好的安全性而受到广泛关注^[5]。本实验以 YCD 作为自杀基因,将其构建入慢病毒载体中,观察 YCD/5-FC 自杀基因系统对人源白血病细胞 Jurka 的杀伤作用及其旁观者效应,为探讨白血病的有效治疗策略提供实验依据。

1 材料与方 法

1.1 主要实验材料

含 YCD 目的基因的 pGC-FU-YCD-GFP 慢病毒质粒是以 HIV-1 来源的 FUW 载体^[6]为基础构建,含 YCD 基因和 GFP 基因。对照的 pGC-FU-GFP 质粒仅含 GFP 基因。包装质粒 pHelper 1.0 (gag/pol 元件)和包膜蛋白质粒 pHelper 2.0 (VSVG 元件)均为上海吉凯基因公司提供。

5-FC、CCK-8 均购自 Sigma 公司,DMEM 培养基、胎牛血清购自 Gibco 公司,Lipofectamine 2000 购自 Invivogen 公司。293T 细胞为上海吉凯基因公司提供, Jurkat 细胞为人源急性淋巴细胞白血病细胞株,为长海医院血液科实验室保存。4 周龄的雌性 BALB/c 裸鼠共 8 只(动物合格证号为 SCXK2007-005),购自上海斯莱克实验动物中心。

1.2 YCD-GFP 重组慢病毒的获得、纯化及滴度测定

转染前 24 h,用胰蛋白酶消化对数生长期的 293T 细胞,以含 10% FBS 的 DMEM 培养基调整细胞密度至 6×10^5 个/ml,重悬于 15 cm 培养皿, 37 °C、5% CO₂ 培养箱内培养。24 h 后脂质体法分别进行 pGC-FU-YCD-GFP 质粒(实验组)和 pGC-

FU-GFP 质粒(对照组)的转染。8 h 后弃去培养基, PBS 液洗涤,加入完全培养基继续培养 48 h。荧光显微镜观察和 FACS 检测转染效率。收集 293T 细胞上清液,经离心、过滤,分别制成 YCD-GFP 慢病毒浓缩液和 GFP 慢病毒浓缩液。采用逐孔稀释滴度测定法测定病毒滴度。-70 °C 冰箱保存。

1.3 YCD-GFP 重组慢病毒感染 Jurkat 细胞

人 Jurkat 细胞置于 RPMI 1640 完全培养基中培养,实验前 24 h 于 96 孔板铺板, 1×10^4 /孔。按 MOI 值 1:2.5、1:5、1:10 及 1:20 加入 YCD-GFP 重组慢病毒液。培养 24 h 后弃上清,更换新鲜的完全培养基继续培养。48 h 后开始观察细胞状态,在荧光显微镜下观察 GFP 荧光表达情况,FACS 检测 GFP 阳性表达率。对照组病毒感染步骤同上。

1.4 体外检测前体药物 5-FC 对转基因 Jurkat 细胞的杀伤效应

取处于对数生长期 Jurkat/YCD-GFP 细胞,分别以 100 μl、 1×10^4 /孔接种至 96 孔板,每组 3 复孔。实验组每孔加入 5-FC 至终浓度为 232 μmol/L^[7],阴性对照组加入等量 PBS 液。同时,将仅转染 GFP 的 Jurkat/GFP 细胞作为平行对照。细胞置于 37 °C、5% CO₂ 培养,每隔 24 h 检测时,检测孔加入 10 μl CCK-8 试剂,继续培养 4 h。测 490 nm 波长处光密度。细胞存活率(%) = $[1 - (实验组 D_{490} - 本底 D_{490}) / (阴性对照组 D_{490} - 本底 D_{490})] \times 100\%$ 。分别绘制 Jurkat/YCD-GFP 细胞和 Jurkat/GFP 细胞对 5-FC 的时间效应曲线。

1.5 测定 5-FC 转化为 5-FU 的水平

方法按文献[7]。24 孔板接种 Jurkat/YCD-GFP 细胞, 5×10^5 /孔(1 ml),每组 3 复孔。以 Jurkat/GFP 细胞组作为平行对照。分别加入 5-FC 至终浓度 3 mmol/L, 37 °C、5% CO₂ 培养。每隔 24 h 各孔取 0.2 ml 细胞悬液,常温 400 × g 离心 5 min,取 50 μl 细胞上清液加入到 1 ml 的 0.1 mol/L HCl 中终止反应,紫外分光光度计测定 D_{255} 及 D_{290} 。 $5-FC(mmol/L) = 0.119 \times D_{290} - 0.025 \times D_{255}$; $5-FU(mmol/L) = 0.185 \times D_{255} - 0.049 \times D_{290}$; 5-FC 的消耗量(%) = $(1 - 1/3 \text{ 上清中 } 5-FC) \times 100\%$ 。

1.6 CCK-8 法观察体外旁观者效应

1.6.1 混合培养观察 Jurkat/YCD-GFP 细胞对邻近 Jurkat 细胞的影响 以 Jurkat/YCD-GFP 细胞作为

效应细胞, Jurkat 细胞作为靶细胞, 效应细胞和靶细胞分别按 1:1、1:10、1:100 比例混合培养于 96 孔板, 加入 5-FC 至终浓度为 232 $\mu\text{mol/L}$ 。细胞培养 72 h, 显微镜下观察各孔细胞形态变化, CCK-8 法检测各孔内细胞活力。同时设对照组, 以 Jurkat/GFP 细胞作为效应细胞, 与 Jurkat 细胞混合培养, 观察加入 5-FC 后各孔细胞活力变化。

1.6.2 Transwell 培养观察 Jurkat/YCD-GFP 细胞对 Jurkat 细胞的影响 24 孔 Transwell 培养板上层培养未经转染的 Jurkat 细胞, 1×10^5 个/孔, 下层接种 Jurkat/YCD-GFP 细胞, 使上下层细胞比例分别为 1:1、1:5、1:25。在下层培养液中加入 5-FC 至终浓度为 232 $\mu\text{mol/L}$, 培养 72 h, 观察上层细胞生长情况并做锥虫蓝法计数各孔内细胞数量。以不加 5-FC 孔作为阴性对照。同时, 另设下层接种 Jurkat/GFP 细胞组作为平行对照组。

1.7 裸鼠转基因 Jurkat 细胞移植瘤模型的建立及体内肿瘤杀伤和旁观者效应的观察

取 1×10^7 处于对数生长期的 Jurkat/YCD-GFP 或 Jurkat/GFP 细胞, 分别接种于 4 周龄的雌性 BALB/c 裸鼠左右两侧前肢腋下处皮下, 观察成瘤情况。自小鼠瘤体大于 60 mm^3 时起, 随机分为对照组及实验组, 每组 4 只。实验组按每天 500 mg/kg 连续 10 d 腹腔注射 5-FC, 对照组腹腔注射等量的 PBS 液。每 3 d 检测 1 次肿瘤长径和短径, 按以下公式计算瘤体体积: 瘤体体积 (mm^3) = $\pi/6 \times$ 长径 (mm) \times 短径 (mm)²。终止实验时取小鼠瘤体组织及心脏、肝脏、肾脏等组织进行病理观察。

1.8 统计学处理

实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS 11.0 统计软件进行 *t* 检验, 以 $P < 0.01$ 或 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 YCD-GFP 慢病毒感染 Jurkat 细胞

图 1 为本课题前期构建的含 YCD 目的基因的慢病毒载体示意图, 该载体中以人源“泛素-C 启动子”作为内部启动子, 并含有转录后调节元件 WRE 以及 HIV-1 的 flap 元件, 可增强 YCD 目的基因在细胞内的转录水平和有效表达^[6]。

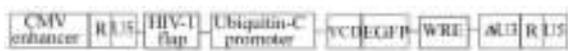


图 1 YCD-GFP 慢病毒载体示意图

Fig. 1 Schematic diagram of YCD-GFP lentiviral vector

YCD-GFP 重组慢病毒颗粒转染人 Jurkat 细胞 5 d 后即可见绿荧光表达。显微镜观察 Jurkat/YCD-GFP 细胞大小、形态及细胞计数与 Jurkat/GFP 细胞、Jurkat 细胞无明显差异, FACS 检测 Jurkat/YCD-GFP 细胞的荧光阳性率达 96.93% (图 2)。

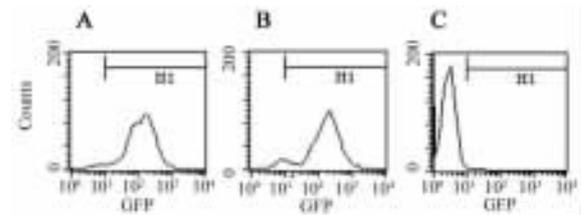


图 2 流式细胞仪检测 YCD-GFP 慢病毒感染 Jurkat 细胞的效率

Fig. 2 Efficacy of YCD-GFP lentiviral vector infecting Jurkat cells as detected by flow cytometry

A: Jurkat/YCD-GFP cells; B: Jurkat/GFP cells; C: Jurkat cells

2.2 前体药物 5-FC 对 Jurkat/YCD-GFP 细胞的体外杀伤

CCK-8 法检测发现, 实验组各孔均有大量 Jurkat/YCD-GFP 细胞死亡, 随着 5-FC 作用时间的延长, 对 Jurkat/YCD-GFP 细胞杀伤力明显增强, 特别是在 72 h, Jurkat/YCD-GFP 细胞死亡达 $(95.61 \pm 2.07)\%$; 而对照组 Jurkat/GFP 细胞则无明显变化 (图 3A)。同时, 细胞上清中 5-FC 含量在 48 h 内明显下降, 而 5-FU 的水平逐渐上升, 72 h 时 5-FC 含量下降已接近至极限, 仅为 $(20.06 \pm 1.08)\%$, 以后随时间推移再无明显降低 (图 3B)。

2.3 体外 Jurkat/YCD-GFP 细胞的旁观者效应

以通过直接混合培养法和隔离培养法观察了 Jurkat/YCD-GFP 自杀基因体系的旁观者效应。混合培养结果可见, 效靶比 1:1 时, 实验组混合培养的 Jurkat 细胞总存活率 $[(44.76 \pm 1.95)\%]$ 明显低于对照组 $[(101.85 \pm 1.14)\%]$, 两者差别具有显著统计学意义 ($P < 0.01$); 1:10 混合时, 实验组存活率 $[(68.69 \pm 4.97)\%]$ 与对照组 $[(97.87 \pm 1.11)\%]$ 相比仍具有统计学意义 ($P < 0.05$); 1:100 时, 实验组 $[(95.20 \pm 2.37)\%]$ 与对照组 $[(103.42 \pm 2.56)\%]$ 存活率无统计学意义 ($P > 0.05$, 图 4A)。

Transwell 隔离培养结果可见, 加入 5-FC 后 72 h, 下层 Jurkat/YCD-GFP 已基本死亡, 各效靶比上层 Jurkat 细胞生长受到不同程度影响。效靶比 1:5 时, 实验组上层活细胞数与对照组差别有统计学意义

($P < 0.05$); 1:25 时,实验组上层 Jurkat 活细胞数为 $(1.46 \pm 0.27) \times 10^5$ 个,明显低于对照组的 $(3.00 \pm 0.16) \times 10^5$ 个($P < 0.01$,图 4B)。因此,隔离培养后 Jurkat/YCD-GFP 细胞仍存在旁观者效应。

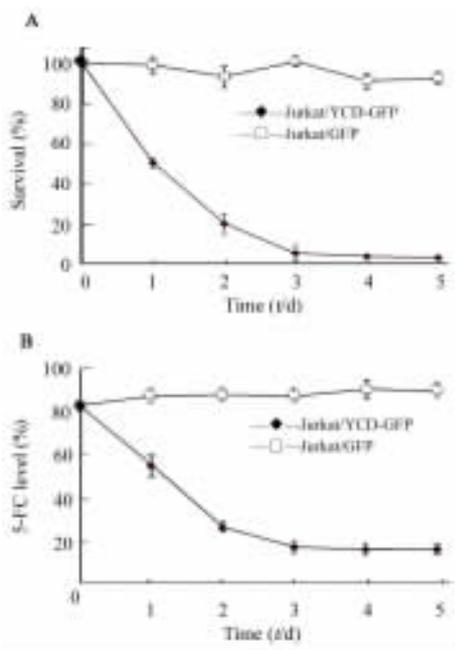


图 3 不同时间点 5-FC 对 Jurkat/YCD-GFP 细胞的杀伤作用及上清中的 5-FC 水平

Fig. 3 Cytotoxicity of 5-FC on Jurkat/YCD-GFP cells at different time points and 5-FC levels in supernatants

A: Cytotoxicity of 5-FC on Jurkat/YCD-GFP cells;
B: 5-FC level in cell supernatants

2.4 裸鼠体内 Jurkat/YCD-GFP 细胞的杀伤效应和旁观者效应

所有移植瘤模型小鼠右侧腋下均接种 Jurkat/YCD-GFP 细胞,左侧腋下接种 Jurkat/GFP 细胞,双侧接种处均成瘤,平均体积为 $(86.37 \pm 10.26) \text{ mm}^3$,肿瘤大小无明显差异($P > 0.05$)。在实验组中,5-FC 给药后 Jurkat/YCD-GFP 细胞接种侧肿瘤缩小至 $(51.01 \pm 5.16) \text{ mm}^3$,Jurkat/GFP 细胞瘤体缩小至 $(63.34 \pm 3.19) \text{ mm}^3$,两者差异有统计学意义($P < 0.05$)。在对照组中,给予 PBS 液后小鼠双侧肿瘤并未出现缩小趋势,而是继续生长。5-FC 实验组和对照组瘤体差异具有统计学意义($P < 0.05$)。

实验结束后各主要器官组织病理观察所见,YCD/5-FC 自杀基因系统对小鼠心脏、肝脏、肾脏等组织并未造成明显损伤(图 5)。

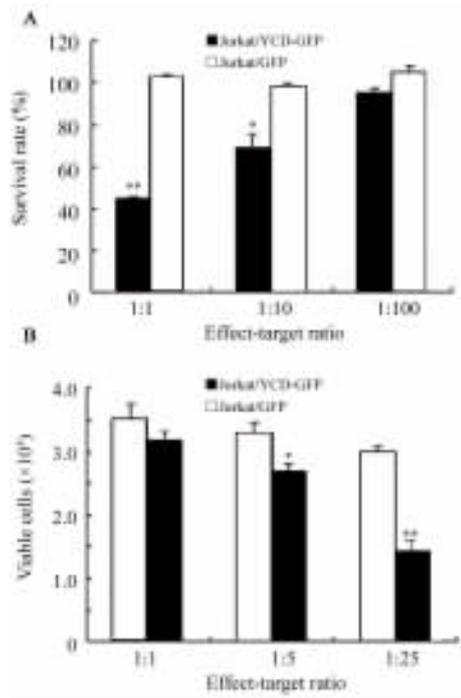


图 4 不同效靶比时 Jurkat/YCD-GFP 细胞旁观者杀伤效应
Fig. 4 Bystander cell killing of Jurkat/YCD-GFP cells at different effect/target ratios

A: Bystander cell killing of Jurkat/YCD-GFP cells in the mixed culture system; B: Bystander cell killing of Jurkat/YCD-GFP cells in transwell system
* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs Jurkat/GFP

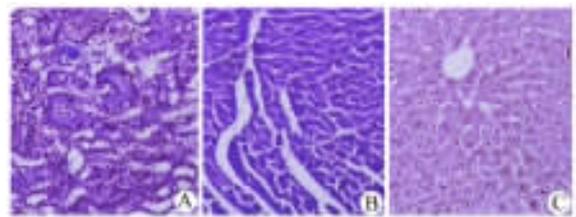


图 5 YCD/5-FC 自杀基因系统对荷瘤小鼠主要器官组织未造成损伤(×100)

Fig. 5 YCD/5-FC suicide gene system did not damage major organs in tumor-bearing nude mice(×100)

A: Kidney; B: Heart; C: Liver

3 讨论

目前自杀基因的研究中最常用的是酶-活化前体药物治疗系统,即目的基因编码的酶可作用于特异性前体药物,使其从无毒转化成有毒产物进而杀伤靶细胞^[8,9]。目前应用最广泛的是单纯疱疹病毒胸苷激酶/更昔洛韦(herpes simplex virus thymidine

kinase/ganciclovir, HSV-TK/GCV) 系统和 CD/5-FC 系统^[10-12]。但实验表明 TK 基因的旁观者效应相对较低,且机体对转基因 HSV-TK 细胞存在免疫原性反应^[13-14]。CD 是大肠杆菌代谢通路中的一种酶,它可将 5-FC 转化为细胞毒性产物 5-FU。哺乳动物体内不含 CD,不能将 5-FC 代谢为 5-FU,因此 5-FC 几乎不会对机体产生毒性,而且 5-FC 的口服吸收良好(>80%),能透过血脑屏障,用药简便,因此 CD/5-FC 是一个安全有效的自杀基因系统。进一步研究^[2,15]发现,YCD 具有比 CD 更高的酶活性,转化 5-FC 的能力是 CD 的 20~40 倍。因此,YCD 在基因治疗研究中越来越受到青睐^[16-18]。

本实验将人白血病 Jurkat 细胞和 YCD-GFP 病毒上清共培养,MOI 值为 5 时感染率即高达 96.93%。文献^[2]报道,人血清中 5-FC 血药浓度在 25~75 $\mu\text{g/ml}$ 之间是安全范围。本研究采用较低剂量的 30 $\mu\text{g/ml}$ (232 $\mu\text{mol/L}$)进行杀伤实验,Jurkat/YCD-GFP 细胞经 5-FC 处理后,72 h 杀伤率即达(95.61 \pm 2.07)%。本研究还发现,5-FC 在作用 24~48 h 间细胞死亡速度最快,细胞上清中 5-FC 水平主要在 48 h 内被明显消耗,72 h 下降已接近极限。结果提示,YCD 具有较高 CD 酶活性,以低浓度杀伤大量 Jurkat/YCD-GFP 细胞;同时表明,该作用呈时间依赖性,作用特点是迅速而短暂。体内实验显示,YCD/5-FC 系统在 Jurkat/YCD-GFP 细胞移植瘤裸鼠体内仍可充分发挥肿瘤杀伤作用。以上结果说明,该自杀基因系统高效、简便。

自杀基因/前体药物中,存在的旁观者效应意味着自杀基因无须转染至每个肿瘤细胞即有可能使肿瘤彻底消除,这在很大程度上放宽了对基因转染效率的要求。目前认为,旁观者效应主要为缝隙连接、细胞凋亡或机体免疫等原因所致。TK 基因的旁观者效应与缝隙连接介导细胞间通讯的表达程度有密切关系,因此当混合培养的细胞浓度不能达到细胞间的有效接触时,TK 基因的旁观者效应不明显^[7]。与此不同,本研究混合培养实验中,Jurkat/YCD-GFP 细胞占 10% 时,肿瘤细胞的存活率降至(68.69 \pm 4.97)%;而分层培养时,效靶比达 1:5 即显示了较强的旁观者效应;体内实验亦证实远处旁观者效应的存在。以上实验结果提示,在 YCD/5-FC 自杀基因系统中,前体药物转化为 5-FU 后能自由进出细胞内外,无须细胞间接触即可对邻近及远隔细胞产生杀伤作用,因而杀伤效率更高。

旁观者效应过于强大适用于实体瘤的治疗,对于血液系统肿瘤,有可能威胁到循环及组织内部正

常细胞的功能。但本研究和其他实验组结果^[16]均提示,肿瘤外其他重要器官或组织并未受到损伤。

综上所述,本研究证实,YCD/5-FC 自杀基因系统对体外白血病 Jurkat 细胞及其裸鼠体内移植瘤均可发挥有效的杀伤作用和明显的旁观者效应,为血液系统肿瘤临床治疗奠定了实验基础。

[参考文献]

- [1] 邓家栋,杨崇礼,杨天楹,等. 邓家栋临床血液学[M]. 上海科学技术出版社,上海,2001: 960.
- [2] Kievit E, Nyati MK, Ng E, et al. Yeast cytosine deaminase improves radiosensitization and bystander effect by 5-fluorocytosine of human colorectal cancer xenografts [J]. *Cancer Res*, 2000, 60(23): 6649-6655.
- [3] Christensen CL, Gjetting T, Poulsen TT, et al. Targeted cytosine deaminase-uracil phosphoribosyl transferase suicide gene therapy induces small cell lung cancer-specific cytotoxicity and tumor growth delay [J]. *Clin Cancer Res*, 2010, 16(8): 2308-2319.
- [4] Warmann SW, Armeanu S, Heigoldt H, et al. Adenovirus-mediated cytosine deaminase/5-fluorocytosine suicide gene therapy of human hepatoblastoma *in vitro* [J]. *Pediatr Blood Cancer*, 2009, 53(2): 145-151.
- [5] Kafri T, Van PH, Gage FH, et al. Lentivirus vectors: Regulate gene expression [J]. *Mol Ther*, 2000, 1(6): 516-521.
- [6] Lois C, Hong EJ, Pease S, et al. Germline transmission and tissue-specific expression of transgenes delivered by lentiviral vectors [J]. *Science*, 2002, 295(5556): 868-872.
- [7] O'Brien TA, Tuong DT, Basso LM, et al. Coexpression of the uracil phosphoribosyl transferase gene with a chimeric human nerve growth factor receptor/cytosine deaminase fusion gene, using a single retroviral vector, augments cytotoxicity of transduced human T cells exposed to 5-fluorocytosine [J]. *Hum Gene Ther*, 2006, 17(5): 518-530.
- [8] Introna M, Rambaldi A. Suicide gene therapy and the control of graft-vs-host disease [J]. *Best Pract Res Clin Haematol*, 2004, 17(3): 453-463.
- [9] Stolworthy TS, Korkegian AM, Willmon CL, et al. Yeast cytosine deaminase mutants with increased thermostability impart sensitivity to 5-fluorocytosine [J]. *J Mol Biol*, 2008, 28(3): 854-869.
- [10] Ciceri F, Bonini C, Marktel S, et al. Antitumor effects of HSV-TK-engineered donor lymphocytes after allogeneic stem-cell transplantation [J]. *Blood*, 2007, 109(11): 4698-4707.
- [11] Bondanza A, Valtolina V, Magnani Z, et al. Suicide gene therapy of graft-versus-host disease induced by central memory human T lymphocytes [J]. *Blood*, 2006, 107(5): 1828-1836.
- [12] Qasim W, Mackey T, Sinclair J, et al. Lentiviral vectors for T-cell suicide gene therapy: Preservation of T-cell effector function after cytokine-mediated transduction [J]. *Mol Ther*, 2007, 15(2): 355-360.
- [13] Gigol JF, Glineur D, Santiago J, et al. Laparoscopic liver resection for malignant liver tumors: Preliminary results of a multicenter European study [J]. *Ann Surg*, 2002, 236(1): 90-97.

[14] Berger C, Flowers ME, Warren EH, et al. Analysis of transgene-specific immune responses that limit the *in vivo* persistence of adoptively transferred HSV-TK-modified donor T cells after allogeneic hematopoietic cell transplantation [J]. *Blood*, 2006, 107(6): 2294-2302.

[15] Hamstra DA, Rice DJ, Fahmy S, et al. Enzyme/prodrug therapy for head and neck cancer using a catalytically superior cytosine deaminase [J]. *Human Gene Ther*, 1999, 10(12): 1993-2003.

[16] Lu YC, Luo YP, Wang YW, et al. Highly efficient gene transfer to solid tumors *in vivo* by tumor-selective replicating retrovirus vectors [J]. *Int J Mol Med*, 2010, 25(5): 769-775.

[17] Freytag SO, Barton KN, Brown SL, et al. Replication-competent adenovirus-mediated suicide gene therapy with radiation in a pre-clinical model of pancreatic cancer [J]. *Mol Ther*, 2007, 15(9): 1600-1606.

[18] Zamboni S, Mallano A, Flego M, et al. Genetic construction, expression, and characterization of a single chain anti-CEA antibody fused to cytosine deaminase from yeast [J]. *Int J Oncol*, 2008, 32(6):1245-1251.

[收稿日期] 2010 - 11 - 08 [修回日期] 2010 - 12 - 18
[本文编辑] 韩 丹

· 简 讯 ·

第二届广州国际肿瘤学术会议通知(第一轮)

为充分把握国际肿瘤学术研究前沿进展动态,促进我国肿瘤学发展,加强基础与临床的紧密结合,为从事肿瘤研究和防治工作的相关学者提供交流信息的平台,广东省抗癌协会、美中抗癌协会(USCACA)、《 癌症 》杂志将联合主办“第二届广州国际肿瘤学术会议”。这是 USCACA 与国内单位在学术领域中一次有益合作的尝试,必将对肿瘤学研究的发展起到积极的推动作用。

第二届广州国际肿瘤学术会议定于 2011 年 5 月 20 日至 22 日在广东省广州市白云国际会议中心举行。本次大会将以“关注学科发展前沿,加强国内外学术交流”为宗旨,重点突出国际肿瘤学术研究前沿进展动态,促进中国肿瘤学研究的发展。21 日上午和 22 日上午是开幕式和全体大会,拟邀请诺贝尔医学奖获得者等多位来自美国及其他国家的著名肿瘤中心的国际知名肿瘤学家及国内多名医学界两院院士和众多著名肿瘤学专家、学术精英作专题学术报告,国内外顶级的学者将对当前肿瘤基础、临床及转化研究中的重大问题,包括最新研究方向、研究技术和研究成果进行报告。21 日下午和 22 日下午,将分临床、基础和转化研究三个分会场,分别报告各自研究领域中的最新研究动态、研究成果和进展。预计大会发言近 40 人次。

诚挚欢迎全国肿瘤防治和研究界同仁踊跃投稿、积极报名。本次学术会议的参会代表可获得国家级继续教育学分 8 分。大会学术委员会将适时组织专家对有关论文进行认真审阅和讨论,对评审通过者,收入《 第二届广州国际肿瘤学术会议论文摘要汇编 》(全文以光盘式制作和赠送)。大会将设立优秀论文评选,对于被评为优秀论文的获得者(国内 10 位,国外 3 位),其参会的路费及住宿费将由大会提供;对于适合在《 癌症 》杂志上发表的论文,将免费优先发表。投稿邮箱:tougao2011@cjcsysu.cn;咨询电话:(8620)87343064。截稿日期为 2011 年 3 月 28 日。

会议注册费:代表 300 元/人, 学生 200 元/人; 现场报名:代表 500 元/人; 学生 400 元/人

报名时间:2010. 11. 18 - 2011. 3. 28

报到时交付现金,不必汇款。会议安排住宿,费用自理。住宿费根据实际住宿情况收取。

请将报名表通过 E - mail 发送至 gzco2011@163.com,或寄至广东省广州市东风东路 651 号,中山大学肿瘤防治中心内广东省抗癌协会,欧晓芳(收),邮编:510060。联系电话:020 - 87343138。会议详细信息(包括注册、报名表、征文)请登陆 www.cjcsysu.com/meeting,垂询请致电 020 - 87343138, 020 - 87343064。

广东省抗癌协会
美中抗癌协会(USCACA)
《 癌症 》杂志