

· 基础研究 ·

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2011.04.012

DC-CIK 对急性髓细胞白血病干细胞的杀伤作用

张阳,张连生,曾鹏云,吴重阳,易良才,白俊(兰州大学第二附属医院血液科,甘肃兰州730000)

[摘要] 目的:研究树突状细胞(dendritic cell, DC)联合同源细胞因子诱导的杀伤细胞(cytokine-induced killer cell, CIK)对急性髓细胞白血病细胞株 KG-1a 中白血病干细胞(leukemic stem cell, LSC)的体外杀伤和诱导凋亡作用。方法:分离健康人外周血单个核细胞,贴壁细胞用 GM-CSF 和 IL-4 诱导培养 DC,悬浮细胞用 IL-2、IL-1、IFN- γ 和 CD3 mAb 诱导培养 CIK。将 KG-1a 细胞冻融物作为抗原负载 DC(即 Ag-DC),与 CIK 共培养作为实验组(Ag-DC-CIK),无抗原负载的 DC 与 CIK 共培养作为对照组(DC-CIK),单独 CIK 作为空白对照组,与 KG-1a 共育后流式细胞术检测各组细胞中 CD34⁺CD38⁻CD123⁺ 白血病干细胞的比例。DC-CIK 与 KG-1a 细胞共培养,流式细胞术检测各组细胞中 KG-1a 细胞与 CD34⁺CD38⁻CD123⁺ 细胞的凋亡率。结果:外周血单个核细胞成功诱导 DC。CIK 组、DC-CIK 组及 Ag-DC-CIK 组中 CD3⁺CD56⁺ 细胞比例为(17.36 \pm 4.44)%、(28.22 \pm 3.66)%和(36.16 \pm 5.88)%,依次升高($P < 0.05$)。与对照组相比,Ag-DC-CIK 组与 DC-CIK 组细胞中 CD34⁺CD38⁻CD123⁺ 细胞比例显著降低[(8.78 \pm 0.62)% vs (3.95 \pm 0.53)%(3.03 \pm 0.62)%, $P < 0.01$]。DC-CIK 可诱导 KG-1a 细胞凋亡,凋亡率由(2.34 \pm 0.74)%上升至(12.27 \pm 1.01)%,但对其中 CD34⁺CD38⁻CD123⁺ 细胞无明显的诱导凋亡作用。结论:DC 联合 CIK 能杀伤急性髓细胞白血病干细胞,但无明显的诱导凋亡作用。

[关键词] 树突状细胞;细胞因子诱导的杀伤细胞;急性髓细胞白血病干细胞

[中图分类号] R733.71; R730.54

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2011)04-0404-05

Cytotoxicity effect of DC-CIK on acute myelogenous leukemic stem cells

ZHANG Yang, ZHANG Lian-sheng, ZENG Peng-yun, WU Chong-yang, YI Liang-cai, BAI Jun (Department of Hematology, Second Affiliated Hospital of Lanzhou University, Lanzhou 730000, Gansu, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the cytotoxicity effect of homologous cytokine-induced killer cells (CIKs), which was co-cultured with dendritic cells (DCs), against leukemic stem cells (LSCs) of acute myelogenous leukemic KG-1a cells. **Methods:** The peripheral blood mononuclear cells were isolated from healthy donors, and the adherent cells were induced to differentiate into DCs with GM-CSF and IL-4; the suspension cells were induced to differentiate into CIK cells with IL-1, IL-2, IFN- γ and CD3 mAb. KG-1a cells were frozen-thawed and the lysate antigen was obtained; the DCs pulsed with or without lysate antigen were co-cultured with CIK (Ag-DC-CIK, DC-CIK groups), and the ratios of CD34⁺CD38⁻CD123⁺ LSCs were measured by flow cytometry in different groups; and CIK cultured alone served as blank control. DC-CIK or Ag-DC-CIK was further co-cultured with KG-1a cells, and the apoptotic rates of KG-1a and CD34⁺CD38⁻CD123⁺ cells were also examined by flow cytometry in different groups. **Results:** DCs were successfully induced from the peripheral blood mononuclear cells. The ratios of CD3⁺CD56⁺ cells in CIK, DC-CIK and Ag-DC-CIK groups were sequentially increased to (17.36 \pm 4.44)%, (28.22 \pm 3.66)%, and (36.16 \pm 5.88)%, respectively ($P < 0.01$). Compared with the control group, the ratio of CD34⁺CD38⁻CD123⁺ in DC-CIK and Ag-DC-CIK groups were significantly decreased ([3.95 \pm 0.53]%, [3.03 \pm 0.62]%) vs [8.78 \pm 0.62]%, $P < 0.01$). DC-CIK induced apoptosis of KG-1a cells, with the apoptotic rate increased from (2.34 \pm 0.74)% to (12.27 \pm 1.01)%, but it showed no evident effect on apoptosis of CD34⁺CD38⁻CD123⁺ cells. **Conclusion:** DCs co-cultured with CIK can effectively kill acute myelogenous leukemic stem cells, but have no evident proapoptosis effect.

[Key words] dendritic cell, cytokine induced killer cell, acute myelogenous leukemic stem cell

[Chin J Cancer Biother, 2011, 18(4): 404-408]

[基金项目] 甘肃省科技支撑计划资助项目(No.0804NKCA115)。Project supported by the Science and Technology supporting Program of Gansu Province(No.0804NKCA115)

[作者简介] 张阳(1985-),女,甘肃省兰州市人,硕士生,主要从事血液肿瘤生物免疫治疗方面的研究。E-mail:yangzhang1985@gmail.com

[通信作者] 张连生(ZHANG Lian-sheng, corresponding author),E-mail:zls2170@yahoo.com

白血病是严重威胁人类生命健康的恶性肿瘤之一,其中急性髓细胞白血病是成人常见的一类白血病。近年随着新药的出现和治疗方法的改进,白血病的完全缓解率和长期无病生存率已有了明显提高,但较高的复发率和多药耐药仍是目前治愈白血病的主要障碍。随着对白血病研究的深入及白血病干细胞(leukemic stem cells, LSCs)概念的提出, LSCs被认为是白血病复发的主要根源,清除 LSCs才有可能根治白血病^[1,2]。细胞因子诱导的杀伤细胞(cytokine-induced killer cells, CIK)是一种新型的免疫活性细胞, CD3⁺ CD56⁺ T 细胞是其主要效应细胞,具有强大的抗癌活性和非 MHC 限制性杀瘤的优点^[3]。DC 与 CIK 细胞共培养能提高 CIK 细胞增殖及杀伤活性^[4]。课题组前期研究^[5,6]发现, DC 与 CIK 细胞共培养对多种肿瘤细胞包括白血病细胞均有明显的杀伤作用,但 DC 联合 CIK(DC-CIK)对 LSCs 的杀伤作用少有报道。本研究以 CD34⁺ 急性髓细胞白血病细胞株 KG-1a 为模型,观察 DC-CIK 对 LSCs 的体外杀伤作用,为 LSCs 靶向治疗及临床应用 DC-CIK 清除残存白血病细胞提供实验基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料

rhTNF- α 购自美国 Peprotech 公司, rhIL-4 及 rhGM-CSF 由厦门特宝生物工程公司惠赠, CD3 抗体、rhIL-1、rhIL-2 及 IFN- γ 均购自武汉博士德生物工程有限公司, CD80、CD83、CD14、HLA-DR、CD3、CD8、CD56、CD34、CD38 抗体均为美国 eBioscience 公司产品, CD86、CD1a、CD123 抗体购自美国 BD 公司, RPMI 1640 干粉购自美国 Gibco 公司, 胎牛血清购自杭州四季青生物制品公司。Annexin V-FITC 试剂盒购自南京凯基生物发展有限公司。

1.2 KG-1a 细胞冻融抗原的制备

急性髓细胞白血病细胞株 KG-1a 购自上海拜力生物科技有限公司。收集对数生长期 KG-1a 细胞,生理盐水洗涤 3 次后,调整细胞密度为 1×10^7 /ml,置液氮中 10 min,取出迅速放入 37℃ 水浴锅中,重复 3 次,离心后取 KG-1a 细胞冻融上清,经 0.22 μ m 微孔滤膜过滤,4℃ 保存备用。

1.3 DC 的体外诱导和培养

采集健康志愿者外周血 12 ml,常规分离外周血单个核细胞,用 RPMI 1640 完全培养基调整细胞密度至 2×10^6 /ml,置于 5% CO₂、37℃ 培养箱中培养 3 h,收集贴壁细胞(同时收集悬浮细胞用于培养 CIK)。加入适量 RPMI 1640 完全培养基、100 ng/ml

rhGM-CSF 及 100 ng/ml rhIL-4,隔日半量换液,每日倒置显微镜观察细胞形态变化及生长情况。培养第 5 天时将 DC 分为 2 组:一组加入 KG-1a 冻融抗原 50 μ l(即 Ag-DC),另一组加入 RPMI 1640 完全培养基 50 μ l,第 7 天两组各加入 rhTNF- α 50 ng/ml。

1.4 CIK 的体外诱导、培养

取 1.3 中收集的悬浮细胞,调整细胞密度为 1×10^6 个/ml,加入 IFN- γ 1000 U/ml,置于 5% CO₂、37℃ 培养箱中培养 24 h 后,加入 CD3 抗体 50 ng/ml、rhIL-1 300 U/ml 及 rhIL-2 300 U/ml,每 3 d 换液并补充 rhIL-2,诱导、培养 CIK,倒置显微镜观察细胞的生长情况。

1.5 DC-CIK 体外共培养

培养第 7 天将 CIK 分为 3 组:第一组为实验组,按 DC:CIK 为 1:5 加入抗原负载的 DC(Ag-DC-CIK),第二组为对照组,同上述比例加入无抗原负载的 DC(DC-CIK),第三组为空白对照组(CIK),继续培养 CIK 细胞至第 12 天。

1.6 流式细胞术检测 DC 与 CIK 的免疫表型

收集培养第 8 天的 DC,调整细胞密度为 1×10^6 /ml,取细胞悬液 200 μ l,加入 CD80、CD83、CD86、CD1a、CD14 及 HLA-DR 单抗。同法收集培养 12 d 的 CIK,加入 CD3、CD8、CD56 单抗,上机流式检测,检测结果由 Cell Quest 软件进行分析。

1.7 流式细胞术检测 CD34⁺ CD38⁻ CD123⁺ 细胞比例

收集对数生长期 KG-1a 细胞,分为 4 组:第一组空白对照组,第二组加入 Ag-DC-CIK,第三组加入 DC-CIK,第四组加入 CIK,作用 48 h 后收集细胞,调整细胞密度为 1×10^6 个/ml,取细胞悬液 200 μ l,加入 CD34、CD38 及 CD123 单抗,流式细胞仪检测各组样本中 CD34⁺ CD38⁻ CD123⁺ 白血病干细胞的比例。

1.8 流式细胞术检测 KG-1a 细胞和白血病干细胞的凋亡

收集对数生长期的 KG-1a 细胞,分为 4 组:第一组为 KG-1a 凋亡检测空白对照组,第二组加入 DC-CIK;第三组为 LSCs 凋亡检测空白对照组,第四组加入 DC-CIK。24 h 后收集细胞,第三、四组中分别加入 CD34、CD38 及 CD123 单抗,室温避光孵育 20 min, PBS 洗涤,重悬于结合缓冲液中,加入 Annexin V 5 μ l,室温避光染色 15 min,流式细胞仪检测 KG-1a 细胞和 LSCs 的凋亡率。

1.9 统计学处理

数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS11.0 软件包,多组间比较采用单因素方差分析,两组间比较采用 *t* 检验, $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 DC 形态学观察

倒置显微镜下观察,培养第1天细胞为透亮小圆形,贴壁生长;培养第3天细胞体积较前稍有增大,细胞大部分呈圆形,部分细胞见细小的毛刺状突起,出现小的聚集现象;培养第5天细胞体积较前明显增大,大部分细胞可见毛刺状或指状突起(图1),可见大集落样生长,部分细胞呈悬浮生长;培养第7天细胞体积无明显增大,细胞数量较前有所减少,大部分细胞呈不规则形,突起较前多且明显(图1)。



图1 培养5 d (A)和7 d (B)的DC(瑞氏染色, ×1 000)
Fig. 1 DC after cultured for 5 d (A) and 7 d (Wright staining ×1 000)

2.2 DC 免疫表型分析结果

经流式细胞术检测培养第8天DC免疫表型显示,(63.08 ± 4.83)%细胞表达CD1a,(61.24 ± 8.24)%细胞表达CD83,(60.30 ± 8.19)%细胞表达CD80,(75.41 ± 9.21)%细胞表达CD86,(53.77 ± 5.26)%细胞表达HLA-DR,仅(13.09 ± 4.03)%细胞表达CD14。由此可见,外周血单个核细胞在体外经过诱导培养后分化成高纯度的成熟DC。

2.3 DC 共培养增加了CIK中CD3⁺CD8⁺和CD3⁺CD56⁺细胞的比例

经流式细胞术检测培养第12天各组CIK细胞中CD3⁺CD8⁺、CD3⁺CD56⁺细胞的表达,结果显示,Ag-DC-CIK组分别为(60.49 ± 2.56)%、(36.16 ± 5.88)%,DC-CIK组分别为(53.02 ± 5.18)%、(28.22 ± 3.66)%,空白CIK组分别为(41.98 ± 4.08)%、(17.36 ± 4.44)%。Ag-DC-CIK组、DC-CIK组CD3⁺CD8⁺、CD3⁺CD56⁺细胞比例明显高于CIK组($P < 0.01$),且Ag-DC-CIK组高于DC-CIK组($P < 0.05$,表1)。由此可见,与DC共培养的CIK其中效应细胞的比例明显高于未共培养的CIK。

表1 DC 共培养增加 CIK 中 CD3⁺CD8⁺、CD3⁺CD56⁺ 细胞的比例 (%)

Tab. 1 Co-culture with DC increased ratio of CD3⁺CD8⁺ and CD3⁺CD56⁺ cells in CIK (%)

Group	CD3 ⁺ CD8 ⁺	CD3 ⁺ CD56 ⁺
CIK	41.98 ± 4.08	17.36 ± 4.44
DC-CIK	53.02 ± 5.18*	28.22 ± 3.66**
Ag-DC-CIK	60.49 ± 2.56**	36.16 ± 5.88** [△]

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs CIK group; [△] $P < 0.05$ vs DC-CIK group

2.4 DC 共培养增强 CIK 对 CD34⁺CD38⁻CD123⁺ 细胞的杀伤效应

流式细胞仪检测结果(表2)表明,单独CIK组、DC-CIK组、Ag-DC-CIK与KG-1a细胞共培养后,各组细胞中CD34⁺CD38⁻CD123⁺细胞比例均显著低于对照组[(6.59 ± 1.07)%、(3.95 ± 0.53)%、(3.03 ± 0.62)% vs (8.78 ± 0.62)%, $P < 0.01$],但DC-CIK组与Ag-DC-CIK组相比差异无统计学意义($P > 0.05$)。由此可见,DC与CIK共培养后对CD34⁺CD38⁻CD123⁺细胞的杀伤效应明显高于未共培养的CIK。

表2 DC 共培养增强 CIK 对 CD34⁺CD38⁻CD123⁺ 细胞的杀伤效应 (%)

Tab. 2 Co-culture with DC increased cytotoxicity of CD34⁺CD38⁻CD123⁺ cells (%)

Group	CD34 ⁺ CD38 ⁻ CD123 ⁺
Control	8.78 ± 0.62
CIK	6.59 ± 1.07**
DC-CIK	3.95 ± 0.53** [△]
Ag-DC-CIK	3.03 ± 0.62** [△]

** $P < 0.01$ vs control group; [△] $P < 0.05$ vs CIK group

2.5 DC-CIK 对 KG-1a 细胞及 CD34⁺CD38⁻CD123⁺ 细胞凋亡的影响

DC-CIK作用于KG-1a后,凋亡细胞由(2.34 ± 0.74)%升至(12.27 ± 1.01)%($P < 0.01$),说明DC-CIK可诱导KG-1a细胞凋亡。DC-CIK杀伤后CD34⁺CD38⁻CD123⁺中凋亡细胞仅由(3.47 ± 0.41)%升至(4.04 ± 0.72)%($P > 0.05$),说明DC-CIK不能诱导白血病干细胞凋亡(图2)。

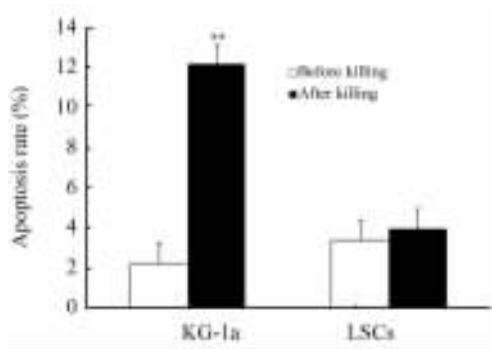


图2 DC-CIK 对 KG-1a 细胞及 CD34⁺ CD38⁻ CD123⁺ 细胞凋亡的影响

Fig. 2 Effect of DC-CIK on apoptosis of KG-1a and CD34⁺ CD38⁻ CD123⁺ cells

** $P < 0.01$ vs Before killing group

3 讨论

LSCs 最早是由 Lapidot 和 Bonnet 提出^[7],人急性髓细胞白血病细胞中有一群 CD34⁺ CD38⁻ 的细胞,能够在异体移植模型中连续增殖形成白血病,而 CD38⁺ 定向祖细胞没有此功能^[8]。LSCs 与 HSC 都表达 CD34⁺ CD38⁻,但 LSCs 不表达 CD117、CD90,而表达 CD123^[1]。最新的研究表明,CD34⁺ CD38⁻ 不再作为所有白血病患者 LSCs 特异性的细胞表面标志物^[9]。急性髓细胞白血病 LSCs 对传统的放、化疗均不敏感且存在多药耐药,成为白血病复发耐药的根源^[10]。LSCs 的靶向治疗已成为近年的研究热点,而白血病的免疫治疗是具有较大发展潜力的抗肿瘤手段,其中 CIK 被认为是肿瘤过继性细胞免疫治疗的首选细胞,但细胞免疫治疗对 LSCs 的杀伤与凋亡作用如何少有报道。由于 LSCs 在体内的数量稀少,很难分离与培养,因此本实验以 CD34⁺ 急性髓细胞白血病细胞株 KG-1a 为细胞模型,体外间接研究 DC-CIK 免疫治疗对 LSCs 的杀伤与凋亡作用。

本实验结果显示,与 CIK 组相比,DC 与 CIK 共培养后,CD3⁺ CD8⁺ 细胞、CD3⁺ CD56⁺ 细胞比例显著提高,Ag-DC-CIK 组最高,此结果与文献报道一致^[11]。对于 KG-1a 细胞中 CD34⁺ CD38⁻ CD123⁺ 细胞的杀伤作用,Ag-DC-CIK、DC-CIK 组杀伤活性明显高于 CIK 组,提示,DC 联合 CIK 杀瘤效应的增强可能由于 DC 与 CIK 共培养后增加二者表面分子的表达,上调 IL-12、IFN- γ 等细胞因子的分泌,增强 CIK 的杀伤活性^[12-13]。国内已有报道^[14],CIK 对 G₀

期 CD34⁺ 急性白血病细胞有明显的杀伤作用,本实验结果表明,DC 联合 CIK 可明显降低 KG-1a 细胞中 CD34⁺ CD38⁻ CD123⁺ 细胞的比例,提示对 LSCs 的杀伤效应与 DC 的特异性杀伤和 CIK 的非特异性杀伤有关。

LSCs 不仅具有自我更新和无限增殖的潜能,还存在凋亡耐受,通过寻找一些诱导 LSCs 凋亡的途径有助于清除白血病复发耐药的根源^[15-16]。目前国内前期研究^[17-18]发现,CIK 对人类白血病细胞有明显的诱导凋亡作用。CIK 主要通过 Fas-FasL 途径诱导细胞凋亡,Verneris 等^[19]发现,CIK 细胞可对抗体内 FasL 阳性肿瘤细胞所引发的效应细胞活性下降,CIK 可上调自身 cFLIP、Bel-2、Bel-XL、DAD1 及 survivin 等抗凋亡基因的表达,发挥抗凋亡作用。但 CIK 细胞是否能诱导 LSCs 凋亡未见报道。本实验结果显示,DC-CIK 能诱导 KG-1a 细胞凋亡,但对其中的 CD34⁺ CD38⁻ CD123⁺ 细胞无明显的诱导凋亡作用,其凋亡率从 (3.47 \pm 0.41)% 升至 (4.04 \pm 0.72)% ($P > 0.05$)。其中可能的机制为:CD34⁺ CD38⁻ 细胞表面低表达 Fas^[20]。有研究^[21]表明,CIK 细胞及其分泌的细胞因子 IFN- γ 能上调部分肿瘤细胞表面 Fas 的表达,通过 Fas-FasL 途径诱导肿瘤细胞凋亡。本实验结果提示 Fas 的上调并不足以诱导 CD34⁺ CD38⁻ CD123⁺ 细胞凋亡;同时 CIK 具备合成 FasL 的能力,能抵抗肿瘤细胞引发的 CIK 凋亡。但有研究^[22]认为,FasL 可提高人骨髓中原始 CD34⁺ CD38⁻ 造血祖细胞的存活,抑制细胞凋亡。

综上所述,CIK 作为目前肿瘤生物治疗最有发展前景的治疗手段之一,与 DC 共培养后可增加其靶向性和杀伤活性,对 LSCs 也有明显的杀伤作用,提示 DC-CIK 联合治疗可提高白血病的治愈率,延长白血病患者的生存期。

[参考文献]

- [1] Krause DS, Van Etten RA. Right on target: Eradicating leukemic stem cells [J]. Trends Mol Med, 2007, 13(11): 470-481.
- [2] Lane SW, Scadden DT, Gilliland DG. The leukemic stem cell niche: Current concepts and therapeutic opportunities [J]. Blood, 2009, 114(6): 1150-1157.
- [3] Sangiolo D, Mesiano G, Carnevale-Schianca F, et al. Cytokine induced killer cells as adoptive immunotherapy strategy to augment graft versus tumor after hematopoietic cell transplantation [J]. Expert Opin Biol Ther, 2009, 9(7): 831-840.
- [4] Li H, Wang C, Yu J, et al. Dendritic cell-activated cytokine-induced killer cells enhance the anti-tumor effect of chemotherapy on non-small cell lung cancer in patients after surgery [J]. Cytotherapy, 2009, 11(8): 1076-1083.

[5] 杨新静, 黄建安, 雷伟, 等. 共培养的树突细胞和 CIK 细胞对肺癌的体内外抑癌作用 [J]. 2006, 25(11): 1329-1333.

[6] 王欢, 周芳坚, 王其京, 等. 负载自体肿瘤细胞裂解物的 DC 疫苗联合 CIK 治疗晚期肾癌的临床观察——附 10 例报告 [J]. 癌症, 2006, 25(5): 625-630.

[7] Bonnet D, Dick JE. Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell [J]. Nat Med, 1997, 3(7): 730-737.

[8] Lapidot T, Sirard C, Vormoor J, et al. A cell initiating human acute myeloid leukaemia after transplantation into SCID mice [J]. Nature, 1994, 367(6464): 645-648.

[9] Becker MW, Jordan CT. Leukemia stem cells in 2010: Current understanding and future directions [J]. Blood Rev, 2011, 25(2): 75-81.

[10] Misaghian N, Ligresti G, Steelman LS, et al. Targeting the leukemic stem cell: The holy grail of leukemia therapy [J]. Leukemia, 2009, 23(1): 25-42.

[11] Wang QJ, Wang H, Pan K, et al. Comparative study on anti-tumor immune response of autologous cytokine-induced killer (CIK) cells, dendritic cells-CIK (DC-CIK), and semi-allogeneic DC-CIK [J]. Chin J Cancer, 2010, 29(7): 641-648.

[12] Marten A, Ziske C, Schottker B, et al. Interactions between dendritic cells and cytokine-induced killer cells lead to an activation of both populations [J]. J Immunother, 2001, 24(6): 502-510.

[13] Wang K, Gao X, Pang J, et al. Dendritic cells transduced with a PSMA-encoding adenovirus and cocultured with autologous cytokine-induced lymphocytes induce a specific and strong immune response against prostate cancer cells [J]. Urol Oncol, 2009, 27(1): 26-32.

[14] 肖中平, 封韬, 王雪野, 等. CIK 细胞对白血病微小残留病作用的研究 [J]. 中国老年学杂志, 2009, (24): 3182-3184.

[15] Kruyt FA, Schuringa JJ. Apoptosis and cancer stem cells: Implications for apoptosis targeted therapy [J]. Biochem Pharmacol, 2010, 80(4): 423-430.

[16] Fulda S, Pervaiz S. Apoptosis signaling in cancer stem cells [J]. Int J Biochem Cell Biol, 2010, 42(1): 31-38.

[17] Sun S, Li XM, Li XD, et al. Studies on inducing apoptosis effects and mechanism of CIK cells for MGC-803 gastric cancer cell lines [J]. Cancer Biother Radiopharm, 2005, 20(2): 173-180.

[18] 张辉, 赵群, 左连富, 等. 细胞因子诱导的杀伤细胞对卵巢癌耐药细胞 SKOV3/CDDP 的作用机制 [J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2007, 23(12): 1167-1169.

[19] Verneris MR, Kornacker M, Mailander V, et al. Resistance of ex vivo expanded CD3⁺ CD56⁺ T cells to Fas-mediated apoptosis [J]. Cancer Immunol Immunother, 2000, 49(6): 335-345.

[20] Maciejewski J, Selleri C, Anderson S, et al. Fas antigen expression on CD34⁺ human marrow cells is induced by interferon gamma and tumor necrosis factor alpha and potentiates cytokine-mediated hematopoietic suppression *in vitro* [J]. Blood, 1995, 85(11): 3183-3190.

[21] Ruiz-Ruiz C, Munoz-Pinedo C, Lopez-Rivas A. Interferon-gamma treatment elevates caspase-8 expression and sensitizes human breast tumor cells to a death receptor-induced mitochondria-operated apoptotic program [J]. Cancer Res, 2000, 60(20): 5673-5680.

[22] Josefsen D, Myklebust JH, Lynch DH, et al. Fas ligand promotes cell survival of immature hum, an bone marrow CD34⁺ CD38⁻ hematopoietic progenitor cells by suppressing apoptosis [J]. Exp Hematol, 1999, 27(9): 1451-1459.

[收稿日期] 2011-04-22 [修回日期] 2011-06-10
 [本文编辑] 王莹

· 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mg·kg⁻¹·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0.1nm;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1dyn=10⁻⁵N];热量单位“焦耳”符号为J[不是cal(卡)、kcal(千卡),换算1cal=4.187J];放射性活度单位符号为Bq[不是Ci(居里),换算1Ci=3.7×10¹⁰Bq]。

(本刊编辑部)