

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2011.04.015

· 基础研究 ·

SDF-1 γ /rhGM-CSF 融合蛋白的制备及其趋化作用

居小萍¹,徐新颜²,张晓青¹,刘永明¹,于春山¹,曹洋森¹,卢明智¹,陈樱¹(1. 第二军医大学长海医院放射治疗科,上海 200433; 2. 中国科学院上海生命科学研究院植物生理生态研究所,上海 200032)

[摘要] 目的:利用基因工程技术制备 SDF-1 与 hGM-CSF 的融合蛋白(SDF-1 γ /rhGM-CSF),研究该融合蛋白对肿瘤患者造血和免疫功能的增强作用。方法:构建表达 SDF-1 γ /rhGM-CSF 融合蛋白的 pPIC9k-SDF1-rhGM-CSF1 质粒,转染酵母菌,诱导 SDF-1 γ /rhGM-CSF 融合蛋白的表达,Western blotting 鉴定 SDF-1 γ /rhGM-CSF 融合蛋白的表达。集落形成实验观察 SDF-1 γ /rhGM-CSF 对骨髓细胞集落形成的影响,趋化实验检测其对未成熟树突状细胞(dendritic cell,DC)的趋化作用。结果:成功构建 pPIC9k-SDF1-rhGM-CSF1 质粒,高表达 SDF-1 γ /rhGM-CSF 融合蛋白,分子量约为 25 000,并可被 GM-CSF 特异性抗体所识别。SDF-1 γ /rhGM-CSF 融合蛋白能显著刺激骨髓细胞的集落形成,其效果强于 GM-CSF($P < 0.05$)。与 SDF-1 相比,SDF-1 γ /rhGM-CSF 融合蛋白可更有效地趋化未成熟 DC($P < 0.05$)。结论:SDF-1 γ /rhGM-CSF 融合蛋白可有效促进骨髓细胞的集落形成,趋化未成熟 DC,有促进肿瘤化疗患者造血和免疫功能恢复的潜在临床应用前景。

[关键词] SDF-1;GM-CSF;融合蛋白;肿瘤;造血;免疫;趋化

[中图分类号] Q78; R392.1; R730.5

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2011)04-0419-05

Preparation of SDF-1 γ /rhGM-CSF fusion protein and its chemotactic effect

JU Xiao-ping¹, XU Xin-yan², ZHANG Xiao-qing¹, LIU Yong-ming¹, YU Chun-shan¹, CAO Yang-sen¹, LU Ming-zhi¹, CHEN Ying¹(1. Department of Radiotherapy, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China; 2. Institute of Plant Physiology and Ecology, Shanghai Institutes of Biological Science, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200032, China)

[Abstract] **Objective:** To prepare the fusion protein of SDF-1 and rhGM-CSF (SDF-1 γ /rhGM-CSF) by genetic engineering technology, and investigate its hematopoietic and immune promotion functions in tumor patients. **Methods:** The expression vector for SDF-1 γ /rhGM-CSF fusion protein, pPIC9k-SDF1-rhGM-CSF1, was constructed and the protein expression was induced by yeast transfection. SDF-1 γ /rhGM-CSF fusion protein was further identified by Western blotting analysis. Colony-formation assay and chemoattract assay were used to study the roles of the prepared fusion protein in stimulating bone marrow cell colony-formation and in chemoattracting immature dendritic cells. **Results:** SDF-1 γ /rhGM-CSF fusion gene vector, pPIC9k-SDF1-rhGM-CSF1, was successfully constructed and expressed high level of SDF-1 γ /rhGM-CSF fusion gene. The molecular weight of the expressed protein was about 25 000 and was recognized by GM-CSF specific antibody. The fusion protein had a stronger effect in stimulating bone marrow cell colony-formation than GM-CSF ($P < 0.05$) and in chemoattracting immature dendritic cells than SDF-1 ($P < 0.05$). **Conclusion:** SDF-1 γ /rhGM-CSF fusion protein can promote bone marrow cell colony-formation and chemoattraction of immature dendritic cells, which might be used for promoting hematopoiesis and immune function of tumor patients after chemotherapy.

[Key words] SDF-1; GM-CSF; fusion protein; tumor; hematopoiesis; immunity; chemotaxis

[Chin J Cancer Biother, 2011, 18(4): 419-423]

[基金项目] 上海市自然科学基金资助项目(No.06ZR14114),军队医学研究“十一五”计划课题资助项目(No.10MA004)。Project supported by the Natural Science Foundation of Shanghai (No.06ZR14114), and the “11th Five-Year Plan” Program of PLA (No.10MA004)

[作者简介] 居小萍(1966-),女,江苏省镇江市人,博士,主要从事恶性肿瘤放射治疗和放射损伤的研究。E-mail:jxphouse@189.cn

[通信作者] 张晓青(ZHANG Xiao-qing, corresponding author), Email: tigerzqx@yahoo.com.cn

肿瘤患者治疗过程中造血和免疫系统受损,如何保护和尽快恢复造血和免疫功能是肿瘤治疗学的重要课题^[1]。目前临床常用于造血损伤修复的药物是粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte-macrophage colony factor, GM-CSF),但是它促进造血增殖的作用缓慢^[2-3],寻找新的药物十分必要。近年来趋化因子及其受体在造血调控中的作用日益引起人们的关注。基质细胞来源因子-1(stromal cell derived factor-1, SDF-1)属 CXC 型趋化因子,对造血干/祖细胞具有刺激增殖、维持存活和抗凋亡作用,还能有效趋化 T 细胞、前 B 细胞、树突状细胞(dendritic cell, DC)等^[4-5]。SDF-1 可与多种造血生长因子如 GM-CSF 协同促进髓系、巨核系造血前体细胞的增殖与分化^[6-7]。鉴于 SDF-1 与 GM-CSF 在功能上具有一定的互补性,本研究试图将 SDF-1 与 GM-CSF 联用,以便更好地促进肿瘤患者造血和免疫功能的恢复。

本课题组前期实验中已经制备了小鼠的 mSDF-1/GM-CSF 融合蛋白,发现 mSDF-1/GM-CSF 融合蛋白能促进辐射小鼠的造血和免疫功能恢复^[8]。本研究利用前期制备的人 SDF-1 γ /rhGM-CSF 融合蛋白,探讨该融合蛋白对肿瘤患者造血和免疫损伤恢复的促进作用,为肿瘤治疗寻找新的方法。

1 材料与方法

1.1 试剂和材料

毕赤酵母表达质粒 pPIC9k 和酵母表达菌株 GS115 购自 Invitrogen 公司,大肠杆菌 TOP10 菌株为本实验室保存。DNA 限制性内切酶、T4 DNA 高效连接试剂盒均购自 TaKaRa(大连)公司。鼠抗人 GM-CSF 购自 R&D 公司,辣根过氧化物酶标记的兔抗鼠 IgG 购自北京中杉公司。山梨醇、氯化锂等其他常用化学试剂均购于国药集团化学制品有限公司。PCR 产物回收试剂盒、DNA 胶回收试剂盒、质粒抽提试剂盒均为 Axyen 公司产品,Western blotting 显色试剂盒为 Millipore 公司产品,人 GM-CSF ELISA 试剂盒由上海希美生物科技有限公司提供。

1.2 SDF-1 γ /rhGM-CSF 融合基因的合成与 pPIC9k-SDF1-rhGM-CSF1 质粒的构建

SDF-1 γ /rhGM-CSF 融合基因委托 Invitrogen 公司合成,在 SDF1 基因和 rhGM-CSF1 基因之间加上连接肽(Gly4Ser3),全长为 651 bp,并在融合基因的两端分别添加了 EcoR I 和 Xho I 双酶切位点。pPIC9k 载体带有两个 Xho I 位点,分别位于 1 193 和 5 710 处,对 pPIC9k 载体进行改造后,将 5 710 处

的 Xho I 点突变为 EcoR I 酶切位点,使 SDF-1 γ /rhGM-CSF 基因在 Xho I 和 EcoR I 双酶切位点插入 pPIC9k 载体。将酶切好的 SDF1-rhGM-CSF1 片段和 pPIC9k 载体用 T4 DNA 连接酶 16 °C 连接 3 h。将连接产物 pPIC9k-SDF1-rhGM-CSF1 转化大肠杆菌 TPO10,37 °C 培养过夜,挑取转化克隆,酶切鉴定,挑取其中的 4 个阳性菌株抽提质粒进行测序验证。

1.3 SDF-1 γ /rhGM-CSF 融合蛋白的诱导表达

将 pPIC9k-SDF1-rhGM-CSF1 用 Sal I 酶切线性化后,电转法转化 GS115 酵母菌(参照 Invitrogen 公司表达系统 Catalog No1K1740201 说明书进行)。电转条件:电压 1.5 kV,电容 25 μ F,电阻 200 Ω ,电击时间 3.8 ~ 5 ms。将转化产物涂布于缺乏组氨酸的 RDB 营养缺陷平板,3 ~ 4 d 后可见克隆生长。挑取 48 个长势较好的酵母转化菌落进行小规模发酵,用斑点印迹法进行初步筛选,高拷贝重组子 PCR 验证。将上述筛选出有表达的酵母转化子菌株进行放大诱导表达。用 Western blotting 验证 SDF-1 γ /rhGM-CSF 融合蛋白的表达。

1.4 Western blotting 检测 SDF-1 γ /rhGM-CSF 融合蛋白的表达

将上述诱导表达后的 SDF-1 γ /rhGM-CSF 融合蛋白经 10% SDS-PAGE,恒流转移至 PVDF 膜上,用 3% BSA 封闭 1 h,TTBS 洗膜 3 min \times 6 次,加入鼠抗人 GM-CSF 单抗与膜上的融合蛋白结合,用相应的 HRP 偶联的兔抗鼠 IgG 为二抗与其反应后,加 ECL 化学发光试剂,经压片曝光后进行显影和定影分析。

1.5 ELISA 法检测样品中 SDF-1 γ /rhGM-CSF 的含量

将样品对应的微孔按序编号,每板设阴、阳性对照 2 个孔和空白对照孔(空白孔不加酶标试剂),分别在相应的孔中加入含 SDF-1 γ /rhGM-CSF 的发酵液和阴、阳性对照品 50 μ l,每孔加入 50 μ l 酶标试剂,轻轻混匀,用封板膜封板后 37 °C 温浴 30 min,再用 Bio-Tek 洗板机充分洗涤 5 次,每孔再加显色剂 A 和 B 各 50 μ l,37 °C 避光显色 10 min,加终止液 50 μ l。使用酶标仪在 450 nm 波长处检测其光密度(D_{450})值。

1.6 集落形成实验检测骨髓细胞集落形成

实验分 3 组:GM-CSF 组、SDF-1 组、SDF-1 γ /rhGM-CSF 融合蛋白组,所用细胞因子均为 30 ng/ml。各取 400 μ l 加入 6 孔板,均依次做倍比稀释。采取胸部肿瘤患者胸外科手术中获取的肋骨,分离骨髓细胞,以 Meth Cultttu H4230 培养基混匀,每孔加入 800 μ l 细胞悬液(1×10^6 /ml)。37 °C、5% CO₂ 孵箱中培养 14 d,在倒置相差显微镜下计数 CFU-GM 数

目,以 50 个细胞以上为一个集落。

1.7 未成熟 DC 的诱导培养

取健康人外周静脉血,分离外周血单个核细胞,以 5×10^6 /ml 置 35 mm 培养皿中培养,弃悬浮细胞,在含 hGM-CSF(800 U/ml)和 rhIL-4(500 U/ml)的 RPMI 1640 完全培养基中继续培养 3 d,流式细胞术检测证实为未成熟 DC。

1.8 趋化实验检测 SDF-1 γ /rhGM-CSF 融合蛋白对未成熟 DC 的趋化作用

设立 SDF-1 组、GM-CSF 组和 SDF-1 γ /rhGM-CSF 融合蛋白组,以 RPMI 1640 稀释,使其所含的细胞因子均为 64 ng/ml。取 24 孔培养板,每孔加入 600 μ l 样品,依次做 5 倍稀释,阴性对照为 RPMI 1640 培养基。在 8 μ m 孔径小室内加入 200 μ l(5×10^5 个/ml)未成熟 DC,37 $^{\circ}$ C 培养 4 h 后用流式细胞仪计数趋化至下室中的细胞数,计算趋化指数(chemotactic index, CI)。趋化指数(%) = 迁移到样品液的细胞数/迁移到阴性对照液的细胞数 \times 100%。

1.9 统计学处理

数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 14.0 软件,两组间比较采用 *t* 检验,以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 pPIC9k-SDF1-rhGM-CSF1 质粒的构建和鉴定

融合基因 *SDF1-rhGM-CSF1* 和 pPIC9k 质粒用 *EcoR* I 和 *Xho* I 双酶切后进行琼脂糖凝胶电泳,割胶回收后用 T4 连接酶连接,并转入 TOP10,选取 14 个重组菌株进行 PCR 鉴定。结果(图 1)显示,条带大小与 *SDF-1 γ /rhGM-CSF* 目的基因大小一致,说明质粒构建成功。挑取其中 4 个菌株进行测序,得到正确的 pPIC9k-SDF1-rhGM-CSF1 质粒。

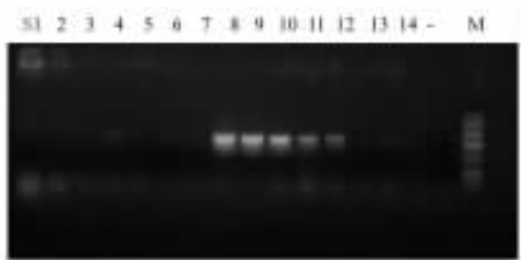


图 1 pPIC9K-SDF1-rhGM-CSF1 质粒的 PCR 鉴定

Fig. 1 Identification of pPIC9K-SDF1-rhGM-CSF1 plasmid by PCR

S1 - 14: pPIC9K-SDF1-rhGM-CSF1 clones; M: DL2 000 marker

2.2 SDF-1 γ /rhGM-CSF 融合蛋白的表达和鉴定

选取 pPc19K-SDF1-rhGM-CSF11 重组菌株进行发酵,取发酵液上清原液 20 μ l 上样,Western blotting 分析结果(图 2)显示,在分子量 25 000 处呈现目的蛋白,与 SDF-1 γ /rhGM-CSF 融合蛋白理论分子量相符,成功获得 SDF-1 γ /rhGM-CSF 融合蛋白。

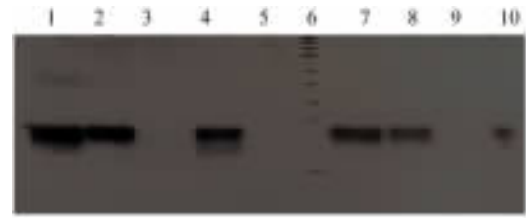


图 2 SDF-1 γ /rhGM-CSF 融合蛋白的 Western blotting 分析

Fig. 2 Western blotting analysis of SDF-1 γ /rhGM-CSF fusion protein

1-4, 7-10: pPIC9K-SDF1-rhGM-CSF1; 5: pPIC9K; 6: Marker

2.3 SDF-1 γ /rhGM-CSF 融合蛋白促进骨髓细胞集落形成

SDF-1、GM-CSF 或 SDF-1 γ /rhGM-CSF 融合蛋白与骨髓细胞共培养,结果(图 3)发现, SDF-1 γ /rhGM-CSF 融合蛋白能显著促进骨髓细胞集落形成,在 1.25 ~ 10 nmol/L 时,促进集落形成效果最佳,呈剂量依赖性($P < 0.05$),且其活性强于 GM-CSF($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

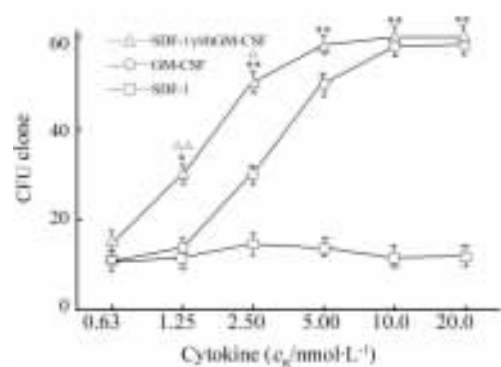


图 3 SDF-1 γ /rhGM-CSF 融合蛋白对骨髓细胞集落形成的影响

Fig. 3 Effect of SDF-1 γ /rhGM-CSF fusion protein on colony-formation of bone marrow cells

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs SDF-1 group

$\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$ vs GM-CSF

2.4 SDF-1 γ /rhGM-CSF 融合蛋白对未成熟 DC 的趋化作用

趋化实验结果(图 4)显示,与 hGM-CSF 作用类似, SDF-1 γ /rhGM-CSF 融合蛋白可有效趋化未成熟

DC, 呈明显的量效关系, 且趋化效应强于 SDF-1 ($P < 0.05$), 而 GM-CSF 对未成熟 DC 无明显的趋化作用。

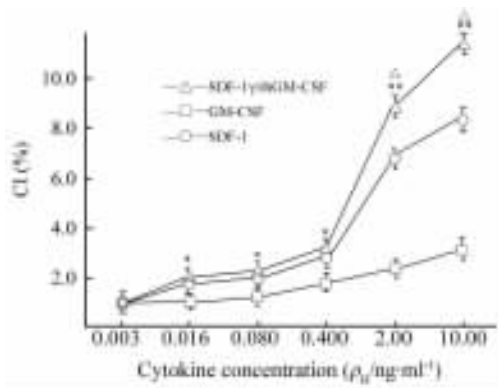


图4 SDF-1γ/rhGM-CSF 融合蛋白对未成熟 DC 的趋化作用

Fig. 4 Chemotactic effect of SDF-1γ/rhGM-CSF fusion protein on immature DCs

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs GM-CSF group;
 $\Delta P < 0.05$ vs SDF-1 group

3 讨论

恶性肿瘤的发病率不断升高, 成为威胁人类健康的主要疾病, 临床恶性肿瘤的治疗方法主要包括手术、放疗、化疗和生物靶向治疗, 放疗、化疗虽然能有效控制肿瘤患者的病情, 但人体的正常组织和机能会受到损伤, 其中造血系统最容易被损伤, 免疫系统的影响与造血系统的损伤密切相关, 如何保护和尽快恢复肿瘤患者的造血功能和免疫功能是肿瘤治疗亟需解决的重要课题^[9-12]。

GM-CSF 是一种能促进骨髓粒系、单核细胞系、巨噬细胞系发育和成熟的一种细胞因子, 临床应用于不同原因引起的白细胞减少症, 特别是放疗患者的造血恢复, 但效果不十分满意, 其促进造血增殖的作用缓慢, 维持时间较短暂, 停药后效果即消失^[13-14]。因此, 寻找新的能够修复造血损伤, 同时尽快恢复患者免疫功能的药物十分必要。

近年来趋化因子及其受体在造血调控中的作用日益引起人们的关注, 在众多的趋化因子及其受体中, SDF-1 对造血功能的调节显得最为突出。SDF-1 属 CXC 型趋化因子, 其基因编码 3 种蛋白: SDF-1α、SDF-1β、SDF-1γ, 对造血干/祖细胞具有刺激增殖、维持存活和抗凋亡作用, 还可有效地趋化 T 细胞、前 B 细胞、DC 等^[15-16]。SDF-1 可与多种造血生长因子如 GM-CSF 协同, 促进髓系、巨核系造血前体细胞的增殖与分化^[17-19]。除了诱导 T 细胞趋化外,

SDF-1 对 T 细胞也能发挥免疫调控作用, 包括促进增殖和细胞因子分泌、抑制细胞凋亡等^[20-21]。同时, SDF-1 不会诱导肿瘤细胞产生对放、化疗的抵抗作用^[22]。基于此, 本研究将 SDF-1 与 GM-CSF 合用, 以便更好地促进肿瘤患者放、化疗后的造血和免疫功能恢复。

前期实验已经制备了小鼠的 mSDF-1/GM-CSF 融合蛋白, 并研究其对辐射小鼠造血的增殖作用, 发现辐射小鼠经 mSDF-1/GM-CSF 融合蛋白治疗后, 骨髓单个核细胞增殖活性、CFU 形成能力明显提高, 骨髓细胞凋亡率明显降低, 并且小鼠外周血 CD3⁺T、CD4⁺T 细胞明显升高, 提示 mSDF-1/GM-CSF 融合蛋白具有促进辐射小鼠造血增殖和免疫增殖的双重活性^[8]。

毕赤酵母表达系统是近年发展起来的一个高效表达系统, 已经有很多抗原以及活性蛋白在毕赤酵母中得到高效表达。为了提高表达效率, 本研究根据酵母对氨基酸的偏向性, 将 GM-CSF 进行改造。由于 GM-CSF 对酵母氨基酸的偏向性主要集中在前 13 个氨基酸, 且这 13 个氨基酸的缺失对其活性无影响, 因此只取了 14 ~ 128 的氨基酸序列与 SDF-1 进行融合后表达。此外, SDF-1γ/rhGM-CSF 融合蛋白中各融合成分天然活性的保持, 要求各融合成分能形成各自正常的空间结构。因而连接肽的长度以及所选氨基酸的组分及其伸展性或活性基团能否充分暴露等都是 GM-CSF 改造的关键^[20]。15 个氨基酸的连接肽 (Gly4Ser3) 具备一定的长度及伸展性, 能使 2 个蛋白各自执行其功能, 且不被蛋白酶水解, 在此类研究中应用较广^[21]。

本研究选用的 pPIC9k 表达质粒带有一段信号肽基因, 因此可以表达分泌型融合蛋白, 为蛋白纯化带来方便。实验结果表明, 毕赤表达系统可以表达 SDF-1γ/rhGM-CSF 融合蛋白, 表达产物能够与 GM-CSF 抗体特异性结合。体外实验结果提示, 与 GM-CSF 相比, SDF-1γ/rhGM-CSF 融合蛋白在造血调控作用方面的促进细胞集落形成能力强于单一使用 GM-CSF。进一步观察 SDF-1γ/rhGM-CSF 融合蛋白对免疫活性细胞的趋化作用, 结果表明, SDF-1γ/rhGM-CSF 融合蛋白与 SDF-1 一样可以趋化未成熟 DC, 且效果更强。

考虑到 GM-CSF 是调节机体内造血细胞发育和成熟的一种重要的细胞因子, 而 SDF-1 对未成熟 DC 具有明显的趋化效应; 本实验中所获得的 SDF-1γ/rhGM-CSF 融合蛋白既具有 SDF-1 对未成熟 DC 的趋化作用, 又能有效促进细胞集落形成, 因此体内应

用该融合蛋白后,可能增强体内 DC 的趋化及抗原提呈功能,有望成为在肿瘤患者化疗后恢复造血和免疫功能的新融合蛋白。

[参 考 文 献]

- [1] Dzhitov R. Recognition of microorganisms and activation of the immune response [J]. *Nature*, 2010, 449(7146): 819-926.
- [2] Behling-Kelly E. Paraneoplastic production of GM-CSF [J]. *Vet Clin Pathol*, 2011, 40(2): 137.
- [3] Papatriantafyllou M. Cytokines: GM-CSF in focus [J]. *Net Rev Immunol*, 2011, 11(6): 570-571.
- [4] Posevitz-Fejfar A, Smida M, Kliche S, et al. A displaced PAG enhances proximal signal and SDF-1-induced T cell migration [J]. *Eur J Immunol*, 2008, 38(1): 250-259.
- [5] de Gorter DJ, Beuling EA, Kersseboom R, et al. Bruton's tyrosine kinase and phospholipase C gamma2 mediate chemokine-controlled B cell migration and homing [J]. *Immunity*, 2007, 26(1): 93-104.
- [6] Poznansky MC, Olszak IT, Foxall R, et al. Active movement of T cells away from a chemokine [J]. *Nat Med*, 2000, 6(5): 543-548.
- [7] Shi M, Hao S, Su L, et al. Vaccine of engineered tumor cells secreting stromal cell-derived factor-1 induces T-cell dependent anti-tumor responses [J]. *Cancer Biother Radiopharm*, 2005, 20(4): 401-409.
- [8] 徐斌, 居小萍, 经纬, 等. mSDF-1 γ /GM-CSF 融合蛋白的制备及其对辐射小鼠造血损伤恢复的促进 [J], *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2009, 16(1): 24-28.
- [9] Sakaguchi S, Powrie F. Emerging challenges in regulatory T cell function and biology [J]. *Science*, 2011, 317(5838): 627-629.
- [10] Lutzky J. New therapeutic potions in the medical management of advanced melanoma [J]. *Semin Cutan Med Surg*, 2010, 29(4): 249-257.
- [11] Brown MD. Office management of melanoma patients [J]. *Semin Cutan Med Surg*, 2010, 29(4): 232-237.
- [12] De Waele S, Van Belle S. Cancer-related fatigue [J]. *Acta Clin Bely*, 2010, 65(6): 378-385.
- [13] Mc Geachy MJ. GM-CSF: The secret weapon in the T(H) 17 arsenal [J]. *Nat Immunol*, 2011, 12(6): 521-522.
- [14] Williams P, Galipeau J. GM-CSF based fusion cytokines as ligands for immune modulation [J]. *J Immunol*, 2011, 186(10): 5527-5532.
- [15] Sharma M, Afrin F, Sati JA, et al. Stromal-derived factor-1/CXCR4 signal: Indispensable role in homing and engraftment of hematopoietic stem cells in bone marrow [J]. *Stem Cells*, 2011, 20(6): 933-946.
- [16] Zhou Y, Zhang HF, Li XL, et al. Increased stromal-cell-derived factor 1 enhances the homing of bone marrow derived mesenchymal stem cells in dilated cardiomyopathy in rats [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2010, 123(22): 3282-3287.
- [17] Antonsson B, Delys P, Dechavanne V, et al. *In vivo* processing of CXCL12 α /SDF-1 α after intravenous and subcutaneous administration to mice [J]. *Proteomics*, 2010, 10(24): 4342-4351.
- [18] Ilhan A, Nabokikh A, Maj M, et al. CXCL12/SDF-1 over expression in human in sulinomas and its biological relevance [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2009, 298(1): 1-10.
- [19] Petty JM, Lenox CC, Weiss DJ, et al. Crosstalk between CXCR4/stromal derived factor-1 and VLA-4/VCAM-1 pathways regulates neutrophil retention in the bone marrow [J]. *J Immunol*, 2009, 182(1): 604-612.
- [20] Katsumoto TR, Duda J, Kim A, et al. Granulocyte/macrophage colony-stimulating factor and accessory cells modulate radioprotection by purified hematopoietic cells [J]. *J Exp Med*, 2005, 201(6): 853-858.
- [21] Poznansky M C, Olszak IT, Foxall R, et al. Active movement of T cells away from a chemokine [J]. *Nat Med*, 2000, 6(5): 543-548.
- [22] Jankowski K, Kucia M, Wysoczynski M, et al. Both hepatocyte growth factor (HGF) and stromal-derived factor-1 regulate the metastatic behavior of human rhabdomyosarcoma cells, but only HGF enhances their resistance to radiochemotherapy [J]. *Cancer Res*, 2003, 63(22): 7926-7935.

[收稿日期] 2011-04-10

[修回日期] 2011-06-10

[本文编辑] 王莹

更正声明

本刊 2011 年 18 卷第 3 期刊登董龙宝、厉倩、徐根林、田振华、谭龙益等撰写的论文《喉鳞癌患者外周血 CD45^{low} CD34⁺ KDR⁺ 内皮祖细胞的检测及临床意义》,由于多种原因的疏漏,原第 3 作者徐根林(XU Gen-lin)署名有误。现将第 3 作者更正为徐林根(XU Lin-gen)。

特此声明!

《中国肿瘤生物治疗杂志》编辑部