

doi: 10.3872/j.issn.1007-385X.2015.01.015

· 临床研究 ·

## 自体 CIK 细胞治疗对中晚期非小细胞肺癌患者免疫功能及生活质量的影响

朱婷, 江蓓蕾, 江茜, 李玉芝, 鲍扬漪(安徽省合肥市第一人民医院 肿瘤科, 安徽 合肥 230061)

**[摘要]** **目的:** 研究自体细胞因子诱导的杀伤(cytokine-induced killer, CIK)细胞治疗对放化疗后的中晚期非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)患者免疫功能及生活质量的影响。**方法:** 收集我院肿瘤科 2012 年 6 月至 2014 年 3 月放化疗后的中晚期 NSCLC 患者 38 例, 输注自体 CIK 细胞同时行最佳支持治疗; 选择同期放化疗后的中晚期 NSCLC 患者 34 例, 仅行最佳支持治疗作为对照组。流式细胞术检测外周血 T 淋巴细胞亚群及调节性 T 细胞的表达水平, ELISA 法检测外周血清中 IL-2、IL-12、IFN- $\gamma$  浓度, 评价自体 CIK 细胞治疗前后患者免疫学指标的变化、体能状态的改善情况及 CIK 治疗的安全性。**结果:** (1) 38 例 NSCLC 患者治疗后外周血 CD4<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值较治疗前及对照组治疗后有明显升高( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ), CD8<sup>+</sup> 明显下降( $P < 0.05$ ), 对照组无明显变化; CIK 细胞治疗组治疗前后及与对照组治疗后相比, 调节性 T 细胞(CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup>) 比率明显下降( $P < 0.01$ ); (2) CIK 细胞治疗后较治疗前及对照组治疗后 IL-12、IFN- $\gamma$  的水平明显升高( $P < 0.01$ ), IL-2 水平较治疗前有明显升高( $P < 0.01$ ), 但与对照组治疗后相比变化不明显( $P > 0.05$ ); (3) 治疗组 CIK 治疗后 KPS 评分明显升高( $P < 0.05$ ), 对照组 KPS 评分差异无统计学意义( $P > 0.05$ ); (4) CIK 治疗组中无一例出现畏寒、发热等不良反应。**结论:** 自体 CIK 细胞治疗可改善放化疗后中晚期 NSCLC 患者的免疫功能, 提高其生活质量, 且细胞治疗安全。

**[关键词]** CIK 细胞; 非小细胞肺癌; 免疫功能; 生活质量

**[中图分类号]** R734.2; R730.51

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-385X(2015)01-0084-05

## Immune function and life quality in patients with advanced non-small cell lung cancer following treatment with autologous cytokine-induced killer cells

Zhu Ting, Jiang Beilei, Jiang Qian, Li Yuzhi, Bao Yangyi( Department of Oncology, First People's Hospital of Hefei, Hefei 230061, Anhui, China )

**[Abstract]** **Objective:** To evaluate the effectiveness and safety of autologous cytokine-induced killer cells in the treatment of advanced non-small cell lung cancer (NSCLC) after radiotherapy and chemotherapy. **Methods:** A total of 72 patients with advanced NSCLC who were admitted to our department between June, 2012 and March, 2014 and had undergone radiotherapy and chemotherapy were enrolled. One month after the last radiotherapy and chemotherapy, 38 patients were treated with autologous cytokine-induced killer (CIK) cells for two cycles (5 days each) with an interval of 2 months in addition to the optimal maintenance treatment regimen and the remaining 34 patients were given maintenance treatment only as controls. One week before and one week after treatment with CIK cells, proportions of CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>, and CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T (Treg) cells in the peripheral blood were determined by flow cytometry, levels of IL-2, IL-12 and IFN- $\gamma$  were measured with ELISA, and the Karnofsky performance score (KPS) was calculated. **Results:** The proportion of CD4<sup>+</sup> T cells and the CD4/CD8<sup>+</sup> T cell ratio were significantly higher ( $P < 0.05$ ), the proportion of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Treg cells was significantly lower ( $P < 0.05$ ), the levels of IL-12, IFN- $\gamma$  were significantly increased ( $P < 0.01$ ), and the KPS score was significantly higher ( $P < 0.05$ ) in patients receiving autologous CIKs as compared with control subjects. None of the patients suffered from transient fever or chills in the process of CIK transfusion, and no other side effects were observed. **Conclusion:** Autologous CIKs may improve the immune function and the quality of life in patients with advanced NSCLC, thus offering an effective and safe treatment option for NSCLC.

**[Key words]** cytokine-induced killer cell; non-small cell lung cancer; immune function; life quality

[ Chin J Cancer Biother, 2015, 22(1): 84-88 ]

**[作者简介]** 朱婷(1974-), 女, 安徽省淮南市人, 硕士, 副主任医师, 主要从事实体瘤化疗及生物治疗研究

**[通信作者]** 朱婷(Zhu Ting, corresponding author), E-mail: ting9977@126.com

在我国,肺癌是发病率和病死率最高的恶性肿瘤之一,非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)占85%左右,其早期发现率低,约3/4的中晚期患者,无手术机会。肺癌高发年龄为75岁左右,多数患者对放化疗的耐受性差,经过放化疗后免疫功能及生活质量可能因治疗而进一步降低。细胞因子诱导的杀伤(cytokine-induced killer, CIK)细胞能直接杀伤肿瘤细胞,又能调节免疫功能<sup>[1]</sup>。本研究选择放化疗后的中晚期 NSCLC 患者 38 例进行自体 CIK 细胞治疗,同时配合最佳支持治疗;选择同时期放化疗后仅行最佳支持治疗的中晚期 NSCLC 患者 34 例作为对照组,观察自体 CIK 细胞治疗对放化疗后中晚期 NSCLC 患者免疫功能和生活质量的改变及细胞治疗的安全性。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要试剂和仪器

淋巴细胞分离液购自上海华精公司,PE 标记的鼠抗人 CD8<sup>+</sup>、CD16<sup>+</sup> CD56<sup>+</sup>、CD127<sup>+</sup> 抗体,FITC 标记的鼠抗人 CD25<sup>+</sup>、CD3<sup>+</sup> 抗体,APC 标记的 CD4<sup>+</sup> 和 CD19<sup>+</sup> 抗体,以及 PerCP 标记的鼠抗人 CD45<sup>+</sup> 抗体均购自美国 BD 公司,ELISA 试剂盒来自上海森雄科技实业有限公司。

### 1.2 研究对象的临床资料

入组标准:(1)所有患者均经细胞学或组织学确诊;(2)KPS 评分 50~70 分;(3)预期生存期大于 3 个月。排除标准:(1)严重心脏、肝肾功能损害患者;(2)对生物制剂过敏者。

收集我院肿瘤科 2012 年 6 月至 2014 年 3 月中晚期 NSCLC 放化疗后患者 38 例作为 CIK 细胞治疗组(自体 CIK + 最佳支持治疗),其中男性 26 人,女性 12 人;中位年龄:69 岁(54~79 岁);ⅢA 期 10 人,ⅢB 期 19 人,Ⅳ期 9 人。择同期放化疗后行最佳支持治疗患者 34 例作为对照组,男性 20 人,女性 14 人,中位年龄 70 岁(57~81 岁);ⅢA 期 9 人,ⅢB 18 人,Ⅳ期 7 人。两组患者的一般资料比较具有均衡性。CIK 治疗方案和实施程序经医院伦理委员会审查批准,患者均签署生物治疗知情同意书。采血前行免疫组合、血常规、凝血功能、电解质、肝功能检查,评估病人是否适合细胞采集;回输细胞 2 周后复查血常规、肝功能、电解质。

### 1.3 CIK 细胞制备

取患者外周静脉抗凝血 80 ml 与 0.9% NaCl 1:1 稀释后,用淋巴细胞分离液密度梯度离心分离外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMC),

生理盐水洗涤 2 次,用 GT-T551 培养液重悬 PBMC。

CIK 细胞扩增:第 0 天加入 IFN- $\gamma$  3 000 U/ml,置 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 培养箱中培养,24 h 后加入 IL-2 3 000 U/ml、CD3 单抗 100 ng/ml 继续培养。每天观察细胞生长状态,适时进行扩增,培养 10~12 d 收获细胞,洗涤后将终产品重悬于 100 ml 注射用生理盐水中,贴标签封口。封口前抽取少量样本进行放行检验,包括革兰染色、细胞计数、活性测定和流式细胞仪表型测定。

### 1.4 CIK 细胞输注方案

参照卫计委制定的《人体细胞治疗临床研究质量控制要点》和中国免疫学会制定的《过继免疫细胞治疗癌症规范》,CIK 细胞治疗组每人治疗 2 周期,放化疗结束 1 个月开始输注,每周期连续输注 5 d,每 2 个月治疗 1 周期,每周期回输细胞总数不少于  $15 \times 10^9$  个。要求接收到细胞制剂后的 30 min 内回输给患者,30 min 内输完。输注前 30 min 肌内注射异丙嗪 12.5 mg,CIK 细胞输注期间使用心电监护仪监测生命体征变化,细胞输注开始 15 min 要求医生、护士共同在床边观察患者有无不良反应。

### 1.5 流式细胞术检测 CIK 细胞治疗前后 NSCLC 患者 T 淋巴细胞亚群和调节性 T 细胞的表达水平

CIK 细胞治疗前 1 周和治疗结束后 1 周各抽取患者外周血,流式细胞术检测 T 淋巴细胞亚群(CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>)、调节性 T 细胞(Treg)(CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup>)的表达。取 50  $\mu$ l PBMC 分别加入抗体,避光孵育 35 min,用 PBS 洗涤 2 次,重悬细胞,上流式细胞仪检测。抗体为 PE 标记的鼠抗人 CD8<sup>+</sup>、CD16<sup>+</sup> CD56<sup>+</sup>、CD127<sup>+</sup> 抗体;FITC 标记的鼠抗人 CD25<sup>+</sup>、CD3<sup>+</sup> 抗体;APC 标记的 CD4<sup>+</sup> 和 CD19<sup>+</sup> 抗体;PerCP 标记的鼠抗人 CD45<sup>+</sup> 抗体。

### 1.6 ELISA 法检测 CIK 细胞治疗前后 NSCLC 患者 IL-2、IL-12 和 IFN- $\gamma$ 的表达水平

采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测 NSCLC 患者外周血清中 IL-2、IL-12 和 IFN- $\gamma$  的表达水平,操作步骤严格按照试剂盒说明书进行。

### 1.7 NSCLC 患者 CIK 细胞治疗前后体能状态评分

采用 Karnofsky 评分标准对患者的体能状态进行评分。最佳支持治疗包括:必要的营养支持、止痛、对症治疗等。

### 1.8 统计学处理

采用 SPSS 18.0 统计软件,计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,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 CIK 细胞治疗对 NSCLC 患者外周血 T 淋巴细胞亚群的影响

流式细胞术检测结果(表1)显示,CIK 细胞治疗组治疗前后相比,治疗组治疗后与对照组治疗后比较,外周血 CD4<sup>+</sup> 绝对计数均明显增加( $P < 0.01$ ),CD8<sup>+</sup> 绝对计数均下降( $P < 0.05$ ),CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值明显增加( $P < 0.01$ ),CD3<sup>+</sup> 绝对计数变化不明显( $P > 0.05$ )。

### 2.2 CIK 细胞治疗前后对 NSCLC 患者外周血 Treg 细胞比例的影响

流式细胞术检测结果(图1A)显示,38例 CIK 细

胞治疗患者和 34 例对照组治疗患者,治疗后外周血 Treg( CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> )细胞分别占 CD4<sup>+</sup> T 细胞总数的 ( $8.18 \pm 4.56$ )% 和 ( $11.82 \pm 2.71$ )%。结果表明,CIK 细胞治疗组治疗后与治疗前相比以及与对照组治疗后相比,Treg 细胞比率明显下降( $P < 0.01$ )。

### 2.3 CIK 细胞治疗前后对 NSCLC 患者 IL-2、IL-12 和 IFN- $\gamma$ 表达水平的影响

NSCLC 患者血清中 IL-2、IL-12、IFN- $\gamma$  的 ELISA 检测结果(图1B、C、D)显示,CIK 细胞治疗后外周血血清中 IL-2 的水平相比治疗前明显升高( $P < 0.01$ ),而与对照组治疗后相比无显著差异( $P > 0.05$ )。CIK 细胞治疗后外周血血清中 IFN- $\gamma$ 、IL-12 的水平相比治疗前和对照组治疗后均有明显升高( $P < 0.01$ )。

表1 肺癌患者 CIK 治疗前后外周血 T 淋巴细胞亚群的变化( $\bar{x} \pm s, \%$ )

Tab.1 Changes of T-lymphocyte subsets in peripheral blood of NSCLC patients after treatment with autologous cytokine-induced killer cells( $\bar{x} \pm s, \%$ )

Index	Control		Therapy	
	Pre-treatment	Post-treatment	Pre-treatment	Post-treatment
CD3 <sup>+</sup>	63.1109 $\pm$ 4.95	63.4268 $\pm$ 4.42	63.2811 $\pm$ 4.89	64.8147 $\pm$ 4.75
CD4 <sup>+</sup>	33.6474 $\pm$ 4.93	33.7782 $\pm$ 4.89	33.3389 $\pm$ 4.64	37.2832 $\pm$ 4.41**
CD8 <sup>+</sup>	29.0374 $\pm$ 2.63	29.1924 $\pm$ 2.08	28.9989 $\pm$ 3.08	27.0463 $\pm$ 2.69*
CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup>	1.1725 $\pm$ 0.23	1.1682 $\pm$ 0.23	1.1663 $\pm$ 0.23	1.3961 $\pm$ 0.24**

\*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$  vs pre-treatment

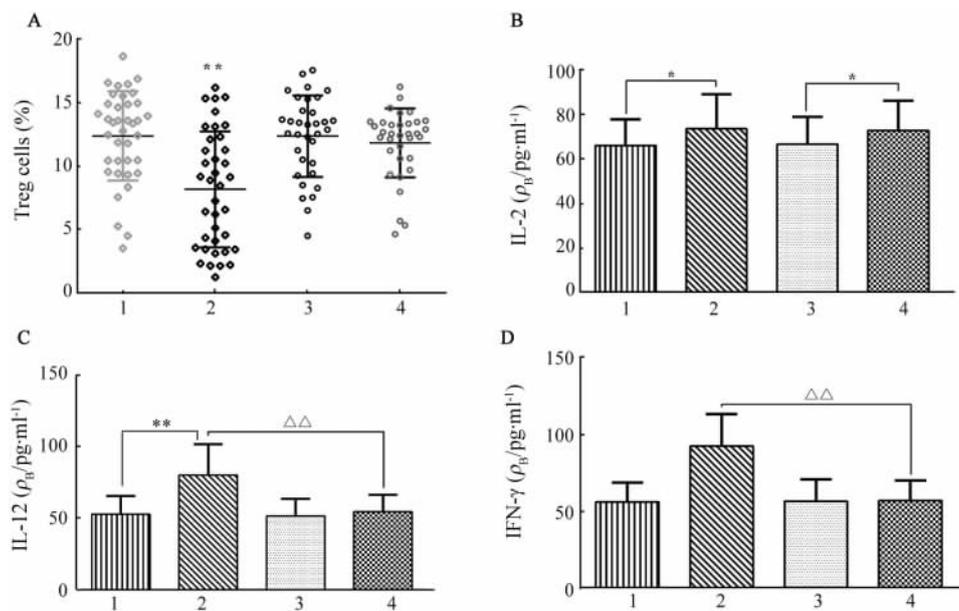


图1 CIK 细胞治疗前后 NSCLC 患者外周血调节性 T 细胞及细胞因子的表达

Fig.1 Expression levels of regulatory T cells and the cytokines in peripheral blood of NSCLC patients after treatment with autologous cytokine-induced killer cells

A: The measurement results of regulatory T cells; B: The measurement results of IL-2; C: The measurement results of IL-12; D: The measurement results of IFN- $\gamma$ . 1: Therapy group before treatment; 2: Therapy group after treatment; 3: Control group before treatment; 4: Control group after treatment. \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$  vs before treatment group;  $\Delta\Delta$   $P < 0.01$  vs control group

## 2.4 NSCLC 患者 CIK 细胞治疗前后体能状态比较

CIK 治疗前后 38 例中晚期 NSCLC 患者及对照组患者的 KPS 评分变化见表 2, 治疗组 KPS 评分差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ ), 对照组 KPS 评分差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。结果显示, 自体 CIK 细胞配合最佳支持治疗对体能状态的改善好于单纯的最佳支持治疗。

表 2 CIK 治疗前后两组患者 KPS 评分的比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Tab. 2 Comparison of the Karnofsky score in two groups before and after treatment ( $\bar{x} \pm s$ )

Group		n	Score
Thereapy	Pre-treatment	38	61.32 $\pm$ 6.226
	Post-treatment	38	65.53 $\pm$ 6.017**
Control	Pre-treatment	34	62.65 $\pm$ 6.656
	Post-treatment	34	60.29 $\pm$ 5.766

\*\*  $P < 0.01$  vs Pre-treatment

## 2.5 不良反应

38 例患者中无一例出现畏寒、发热、胸闷气喘、呼吸困难、关节酸痛、呕吐、皮疹等不适; 未出现肝肾功能毒性及骨髓抑制等毒性反应。

## 3 讨论

中晚期 NSCLC 的治疗目的主要是提高生活质量、缓解痛苦, 而不是治愈。提高患者免疫功能及生活质量有助于患者长期带瘤生存。本研究 CIK 细胞治疗的中晚期肺癌患者大多高龄, 肿瘤期别较晚, 患者经过放化疗后抵抗力弱、免疫能力低下, 靠 CIK 细胞治疗创造奇迹是不实际的, 故本实验的治疗目的在于提高患者免疫功能、体能状态和改善生活质量, 尽量不增加患者的痛苦。临床研究<sup>[1]</sup>证明, 适当降低治疗强度, 加强机体脏器功能和免疫力的保护, 使机体与癌细胞实现共存, 对部分中晚期患者来说能更有效地延长生存期。CIK 细胞是以 CD3<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup> T 细胞为主要效应细胞的异质细胞群, 具有增殖速度快、杀瘤活性高、杀瘤谱广等优点。CIK 细胞回输到肿瘤患者体内, 能够通过不同的机制识别肿瘤细胞, 并释放颗粒酶等毒性颗粒, 作用于细胞膜, 导致肿瘤细胞裂解死亡<sup>[2]</sup>。研究<sup>[3-4]</sup>证明, CIK 细胞能够分泌高浓度的 IL-2、IL-12、IFN- $\gamma$  等多种直接抑制肿瘤生长的细胞因子, 其调节功能还表现在通过 CIK 分泌功能提高机体免疫系统反应性间接

杀伤肿瘤细胞<sup>[5]</sup>。

本研究结果显示, CIK 细胞治疗组治疗后与对照组治疗后相比, CIK 细胞治疗组的 CD4<sup>+</sup> 绝对计数及 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值均明显升高, 显示输注 CIK 细胞可以提高患者体内 T 细胞亚群的数量, 提高自身免疫力, 结果与罗虎等<sup>[6]</sup>报道相似。研究<sup>[7-8]</sup>表明, 多种实体肿瘤患者外周血、肿瘤组织、引流淋巴结中 Treg 数量显著增加, 它通过抑制多种免疫细胞活化, 导致肿瘤免疫耐受。本研究 CIK 细胞治疗组治疗后与治疗前及对照组治疗后相比, Treg 细胞明显下降, 说明 CIK 细胞能在一定程度上提高患者的免疫功能, 改善免疫抑制状态。本研究结果显示, CIK 细胞治疗治疗后较对照组治疗后 IL-12、IFN- $\gamma$  的水平升高, IL-2 水平较对照组治疗后无明显变化, 说明化疗后使用 CIK 细胞与最佳支持治疗对 IL-2 分泌无影响。IL-2、IL-12 和 IFN- $\gamma$  能刺激 NK 细胞或 CTL 的杀瘤活性, 既能抑制肿瘤细胞增殖又能直接杀伤肿瘤细胞<sup>[9]</sup>。IL-12 与肿瘤进展相关, 在患者出现远处转移或恶液质时, IL-12 呈最低水平<sup>[10]</sup>。有研究<sup>[11]</sup>发现, IFN- $\gamma$  的量与患者疾病进展时间和总生存期呈正相关。本研究显示, 相对于对照组, 治疗组, 患者的 KPS 评分改善明显, 这对于延缓疾病发展是有益的。本组 38 例患者中无一例出现畏寒、发热、胸闷气喘、呼吸困难、关节酸痛、呕吐、皮疹等不适; 治疗前后监测血常规及肝肾功能、电解质也无明显变化, 表明自体 CIK 细胞治疗不增加患者痛苦, 没有明显毒副作用。

## [参考文献]

- [1] Wang YY, Wang YS, Liu T, et al. Efficacy study of CyberKnife stereotactic radiosurgery combined with CIK cell immunotherapy for advanced refractory lung cancer [J]. Exp Ther Med, 2013, 5(2): 453-456.
- [2] Zhang L, Hou Y, Zhang J, et al. Cytotoxicity of cytokine-induced killer cells targeted by a bispecific antibody to gastric cancer cells [J]. Oncol Lett, 2013, 5(6): 1826-1832.
- [3] Wang H, Shen X, Xu D, et al. Lipopolysaccharide-induced TNF- $\alpha$  factorin grass carp (Ctenopharyngodon idella): Evidence for its involvement in antiviral innate immunity [J]. Fish Shellfish Immunol, 2013, 34(2): 538-545.
- [4] 赵楠, 赵明峰, Rajbhadry S, 等. 人源 IL-21 增强细胞因子诱导杀伤细胞抗白血病作用及其机制研究 [J]. 中华血液学杂志, 2012, 33(10): 823-828.
- [5] Sampath P, Li J, Hou W, et al. Crosstalk between immune cell and oncolytic vaccinia therapy enhances tumor trafficking and anti-tumor effects [J]. Mol Ther, 2013, 21(3): 620-628.
- [6] 罗虎, 宫亮, 陈永峰, 等. CIK 维持治疗中晚期肺癌的临床观察及影响因素分析 [J]. 第三军医大学学报, 2013, 35(6): 569-

572.

[ 7 ] Jiang S, Lechler RI. CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> regulatory T-cell therapy for allergy, autoimmune disease and transplant rejection [ J ]. *Inflamm Allergy Drug Targets*, 2006, 5( 4 ): 239-242.

[ 8 ] Fu J, Xu D, Liu Z, et al. Increased regulatory T cells correlate with CD8 T-cell impairment and poor survival in hepatocellular carcinoma patients [ J ]. *Gastroenterology*, 2007, 132( 7 ): 2328-2339.

[ 9 ] Miwa S, Nishida H, Tanzawa Y, et al. TNF- $\alpha$  and tumor lysate promote the maturation of dendritic cells for immunotherapy for advanced malignant bone and soft tissue tumors [ J ]. *PLoS ONE*, 2012, 7( 12 ): e52926.

[ 10 ] Shibata M, Nezu T, Kanou H, et al. Decreased production of interleukin-12 and type 2 immune responses are marked in cachectic patients with colorectal gastric cancer [ J ]. *J Clin Gastroenterol*, 2002, 34( 4 ): 416-420.

[ 11 ] Wheeler CJ, Black KL, Liu G, et al. Vaccination elicits correlated immune and clinical responses in glioblastoma multiforme patients [ J ]. *Cancer Res*, 2008, 68( 14 ): 5955-5964.

[ 收稿日期 ] 2014 - 10 - 08                      [ 修回日期 ] 2014 - 12 - 17  
[ 本文编辑 ] 阮芳铭

· 读者 · 作者 · 编者 ·

### 常见参考文献著录格式示例

#### 1 专著

著录格式: 主要责任者. 题名[ 文献类型标志 ]. 其他责任者( 例如翻译者 ). 版本项( 1 版不著录 ). 出版地: 出版者, 出版年: 起页-止页.

[ 1 ] Abrams WB, Beers MH, Berkow R. 默克老年病手册 [ M ]. 陈灏珠, 王赞舜, 刘厚钰, 等. 译. 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 1996: 22-25.

#### 2 专著析出文献

著录格式: 析出文献主要责任者. 文献题名[ 文献类型标志 ]//专著主要责任者. 专著题名. 版本项. 出版地: 出版者, 出版年: 起页-止页.

[ 1 ] Weinstein L, Swartz MN. Pathogenic properties of invading microorganisms [ M ]//Soderman WA Jr, Sodeman WA. *Pathologic physiology: Mechanisms of disease*. Philadelphia: Saunders, 1974: 457-472.

#### 3 期刊文献

著录格式: 主要责任者. 题名[ 文献类型标志 ]. 刊名, 出版年, 卷号( 期号 ): 起页-止页.

[ 1 ] Nobles KN, Guan Z, Xiao K, et al. The active conformation of beta-arrestin 1: Direct evidence for the phosphate sensor in the N-domain and conformational differences in the active states of beta-arrestins 1 and-2 [ J ]. *J Biol Chem*, 2007, 282 ( 29 ): 21370-21381.

#### 4 专利文献

著录格式: 专利申请者或所有者. 专利题名: 专利国别, 专利号[ 文献类型标志 ]. 公告日期或公开日期.

[ 1 ] 钱其军, 李琳芳, 吴红平, 等. 一种多功能免疫杀伤转基因细胞( PIK )、其制备方法及应用: 中国, 2010101496839 [ P ]. 2010-10-14.

#### 5 学位论文

著录格式: 责任者. 题名[ 文献类型标志 ]. 学位授予单位所在地: 学位授予单位, 年.

[ 1 ] 曹新广. Cathepsin L 和 Cystatin B 的表达与大肠癌生物学行为的关系 [ D ]. 郑州, 郑州大学, 2007.

#### 6 电子文献

著录格式: 主要责任者. 题名[ 文献类型标志/文献载体标志 ]. 刊名, 出版年, 卷号( 期号 ): 起页-止页( 更新或修改日期 ) [ 引用日期 ]. 获取和访问路径.

[ 1 ] Christine M. *Plant physiology: Plant biology in the genome era* [ J/OL ]. *Science*, 1998, 281: 331-332 [ 1998-09-23 ]. <http://www.sciencemag.org/cgi/collection/anatmorp>.

[ 2 ] Hopkinson A. UNIMARC and metadata: Dublin core [ EB/OL ]. [ 1999-12-08 ]. <http://www.ifla.org/IV/ifla64/138-161e.htm>.