

·基础研究·

## 最优化细胞因子诱导杀伤细胞/自然杀伤细胞 少因子培养体系的探索

吴燕峰<sup>1</sup>, 林永潮<sup>2</sup>, 黎阳<sup>3\*</sup>, 王潇婷<sup>3</sup>, 魏菁<sup>4</sup>

(中山大学 1. 附属第二医院干细胞中心; 2. 2003级临床7年制研究生; 3. 附属第二医院儿科;  
4. 附属第二医院医学研究中心, 广东广州 510120)

**摘要:**【目的】尝试使用 IL-2、IL-7 和 IL-12 的单因子、双因子和三因子组合进行杀伤细胞/自然杀伤细胞(CIK/NK)细胞扩增培养, 探讨最优化 CIK/NK 细胞少因子培养体系的建立。【方法】采用 Ficoll-Hypaque 法分离脐血单个核细胞并分成 6 组, 每组分别加入 IL-2(80 ng/mL)、IL-7(40 ng/mL)及 IL-12(40 ng/mL)的单因子、双因子和三因子组合(IL-7 组; IL-12 组; IL-7+IL-12 组; IL-2 + IL-7 组; IL-2 + IL-12 组; IL-2 + IL-7 + IL-12 组), 每组 6 个重复孔, 共培养 21 d 收获细胞。在细胞培养开始和第 21 天, 实验各组取细胞悬液进行流式细胞仪检测 CD3<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup> CIK 细胞及 CD3<sup>-</sup>CD56<sup>+</sup> NK 细胞比例。【结果】单因子培养体系的 IL-12 组在 CIK 细胞扩增比例上是各组中最高的(22.96 ± 1.41)%, 双因子体系的 IL-2 + IL-12 组的 CIK 细胞扩增比例也达到(18.58 ± 0.68)%; 上述两组的 CIK 细胞扩增比例已经达到或基本达到使用传统多因子扩增方法所获得的比例。IL-12 组的 NK 细胞扩增比例为 (30.23 ± 1.18)%, IL-2 + IL-7 组的 NK 细胞扩增比例也达 (29.52 ± 0.89)%。【结论】使用 IL-12、IL-2 + IL-12 或 IL-2 + IL-7 组合的少因子培养体系进行 CIK/NK 细胞的培养扩增是可行的。

**关键词:** 细胞培养; 细胞因子诱导杀伤细胞; 自然杀伤细胞; 细胞因子

中图分类号: Q26 文献标识码: A 文章编号: 1672-3554(2009)04-0361-06

### Exploratory Research of Setting an Optimal Minor-factor Culture System of Cytokine-induced Killer Cells/ Natural Killer Cells

WU Yan-feng<sup>1</sup>, LIN Yong-chao<sup>2</sup>, LI Yang<sup>3\*</sup>, WANG Xiao-ping<sup>3</sup>, WEI Jing<sup>4</sup>

(1. Stem Cell Research Center, The Second Affiliated Hospital, 2. Seven-Year Post-graduate Student in Clinic in Grade 2003,  
3. Department of Pediatric, The Second Affiliated Hospital, 4. Medical Research Center, The Second Affiliated Hospital,  
SUN Yat-sen University, Guangzhou 510120, China)

**Abstract:** 【Objective】 In order to explore the optimal minor-factor culture system of CIK/NK cells by proliferating CIK/NK cells using single-factor, bi-factor, and tri-factor combinations of IL-2, IL-7, and IL-12. 【Methods】 Ficoll-Hypaque method was used to separate cord blood mononuclear cells and divide them into 6 groups. Add single-factor, bi-factor, and tri-factor combinations (IL-7; IL-12; IL-7 + IL-12; IL-2 + IL-7; IL-2 + IL-12; IL-2 + IL-7 + IL-12) of IL-2 (80 ng/mL), IL-7 (40 ng/mL), and IL-12 (40 ng/mL) and culture them in total 21 days then harvest the cells. To collect cell suspensions of each group in culture outset and day 21 and to count the proportion of CD3<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup> CIK cells and CD3<sup>-</sup>CD56<sup>+</sup> NK cells with flow cytometry. 【Results】 The proportion of CIK cells in single-factor culture system of IL-12 was the highest in all groups (30.23 ± 1.18%). The proportion of CIK cells in bi-factor culture system of IL-2 + IL-12 can raised to 18.58 ± 0.68%. The proportion of CIK cells of the two groups above can reach the level of that using traditional multi-factor culture methods. NK cell proportion in IL-12 was 30.23 ± 1.18%, NK cell proportion in IL-2 + IL-7 can also reach to 29.52 ± 0.89%. 【Conclusions】 It is adoptable to proliferate CIK/NK cells using minor-factor culture system of IL-12, IL-2 + IL-12, or IL-2 + IL-7.

**Key words:** cell culture; cytokine-induced killer cell; natural killer cell; cytokine

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2009, 30(4): 361-366]

收稿日期: 2009-02-26

基金项目: 国家自然科学基金(30500469); 广东省科技计划项目(2008B030301066); 广州科学仪器协作共用网基金(2006034); 中山大学北校区学生科研基金(2006031)

作者简介: 吴燕峰, 副主任技师, E-mail: wuyanfengcn@126.com, 研究方向为干细胞移植的相关基础与临床研究; \* 通讯作者: 黎阳, 副教授, E-mail: dliyang@126.com

化疗是血液恶性肿瘤的传统治疗手段,但化疗会加重患者免疫系统的损害,有可能使治疗后残存的肿瘤易于复发或转移。造血干细胞移植虽然是目前治疗血液恶性肿瘤的根治手段,但大量的临床资料显示,微小残留病成为造血干细胞移植肿瘤后复发的根源<sup>[1]</sup>。随着肿瘤免疫学的发展,越来越多的研究表明,杀伤细胞过继免疫治疗对于消除残留的肿瘤病灶、促进患者免疫系统的重建具有良好的效果,并逐步成为化学治疗和造血干细胞移植后清除残留肿瘤细胞的重要治疗手段<sup>[2]</sup>。细胞因子诱导杀伤细胞(cytokine-induced killer cells, CIK 细胞)/自然杀伤细胞(natural killer cells, NK 细胞)均是不受主要组织相容性复合物(major histocompatibility complex, MHC)限制性杀伤活力的免疫活性细胞<sup>[3-4]</sup>。CIK 细胞主要表达 CD3<sup>+</sup>和 CD56<sup>+</sup>表面分子,通过穿孔素和颗粒酶介导的细胞毒作用和增强 IL-12、INF- $\gamma$  等细胞因子的作用来杀伤肿瘤细胞,在肿瘤发生、转移和监视中显示出重要的抗肿瘤和排斥肿瘤细胞的作用<sup>[2]</sup>;而 NK 细胞早已被证实无需肿瘤特异抗原的识别即可杀伤肿瘤细胞;两者均为血液恶性肿瘤患者造血干细胞移植后过继免疫治疗理想的免疫杀伤效应细胞。源自德国 Schmidt Wolf 的“经典”CIK 细胞培养方法<sup>[3]</sup>需要通过多种细胞因子的共同培养诱导,如 IFN- $\gamma$ 、IL-2、抗 CD3Ab 和 IL-1 $\alpha$  等。本文尝试选择 IL-2、IL-7 和 IL-12 的单因子、双因子和三因子组合进行脐血来源的 CIK/NK 细胞扩增培养,探讨最优化 CIK/NK 细胞少因子培养体系的建立,以探讨 CIK、NK 细胞低成本扩增以至最终临床体内扩增的可能性。

## 1 材料与方 法

### 1.1 实验材料和试剂

淋巴细胞分离液 [(相对密度:(1.077  $\pm$  0.002) g/mL, 中国医学科学院血液学研究所], IMDM (scove's modified Dulbecco's medium, Hyclone), DPBS (Dulbecco's phosphate buffered saline, Hyclone), 羟乙基淀粉 (Hespan, 6%, 500 mL/袋), 胎牛血清 (fetal calf serum, FCS, 杭州四季青公司), 胰蛋白酶 (南京凯基生物科技发展公司), 青霉素、链霉素 (华北制药有限公司)。重组人细胞因子: IL-2、IL-7 及 IL-12 (10  $\mu$ g/支, Peprotech EC 公

司, 美国); CD3-PerCP、CD56-PE 流式细胞荧光标记抗体 (分别购自 BD、Peprotech EC 公司, 美国)。流式细胞荧光标记抗体对照为小鼠抗人 IgG1-PE 及 IgG1-PerCP 等 (分别购自 BD、Peprotech EC 公司, 美国)。4 g/L 台盼蓝染液。

### 1.2 细胞培养

脐血来自本院健康足月妊娠产妇经产道或剖宫产分娩之胎儿脐静脉血, 用含肝素抗凝剂的无菌干燥瓶收集, 采血量为 30 mL, 24 h 内分选。采用 Ficoll-Hypaque 法分离脐血单个核细胞 (cord blood mononuclear cell, CBMNC), 将 CBMNC 以  $1 \times 10^6$  cell/孔 接种于 24 孔培养板, 每孔终体积 1 mL (含 150 mL/L FCS、青-链霉素 50 U/mL 的 IMDM); 根据少因子培养体系的不同分组 (共分 6 组, A 组-F 组, 每组 6 个重复孔) 按本实验室方法培养<sup>[5]</sup>。开始每孔分别加入 IL-2 (80 ng/mL)、IL-7 (40 ng/mL) 及 IL-12 (40 ng/mL) 的单因子组合 (A 组: IL-7; B 组: (IL-12)、双因子组合 (C 组: IL-7 + IL-12; D 组: IL-2 + IL-7; E 组: IL-2 + IL-12) 和三因子组合 (F 组: IL-2 + IL-7 + IL-12), 详见表 1。在 37  $^{\circ}$ C, 体积分数 5% CO<sub>2</sub> 及饱和湿度的条件下培养, 每隔 3 d 半量换液及全量补充上述细胞因子, 共培养 21 d 收获细胞。

表 1 各实验组加入的细胞因子种类和浓度  
Table 1 Concentration of cytokines in different experimental groups

	(ng/mL)					
	A	B	C	D	E	F
IL-2				80	80	80
IL-7	40		40	40		40
IL-12		40	40		40	40

### 1.3 流式细胞仪检测培养体系中 CIK/NK 细胞比例

在细胞培养开始和结束 (第 21 天), 实验各组取细胞浓度为  $2 \times 10^6$ /L 的细胞悬液 50  $\mu$ L, 加入不同单抗 (CD3-PerCP, CD56-PE), 孵育 30 min 后, PBS 洗涤两次后, 用流式细胞仪检测 CD3<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup> CIK 细胞及 CD3<sup>-</sup>CD56<sup>+</sup> NK 细胞比例; 在第 21 天收获细胞后, 使用台盼蓝染液检测细胞活性 > 95% 后行上述流式细胞检测。

### 1.4 统计学处理

采用 SPSS (13.0) 软件包处理, 进行多组间

One-way ANOVA Test,  $\alpha = 0.05$ 。

## 2 结果

### 2.1 各组 CIK/NK 细胞的形态学观察

实验组各组培养结束(第21天)使用 Olympus 光学倒置显微镜观察,各组均可见明显细胞集落形成, F 组(IL-2 + IL-7 + IL-12)细胞密集堆积(图1)。

### 2.2 各组 CD3<sup>+</sup> CD56<sup>+</sup> CIK 细胞的扩增比例

扩增前 CIK 细胞比例为(0.50 ± 0.18)%。经过 21 d 培养,单因子培养体系中,以 B 组(IL-12)的扩增比例最高,为(22.96 ± 1.41)%, A 组(IL-7)为(5.37 ± 0.68)%。双因子培养体系中,扩增比例最高的是 E 组(IL-2 + IL-12)的(18.58 ± 0.68)%,其次为 D 组(IL-2 + IL-7)的(14.26 ± 1.15)%和 C 组(IL-7 + IL-12)的(10.53 ± 0.62)%。三因子培养体系的 F 组(IL-2 + IL-7 + IL-12)CIK 细胞的扩增比例为(12.75 ± 0.76)%。综合比较,各组的 CIK 细胞比例均较培养前提高,且与培养前比较均有显著的统计学差异 ( $P < 0.01$ )。结果显示单因子培养(IL-12)和双因子培养(IL-2 + IL-12)CIK 细胞能获得较高的扩增比例(表2)。

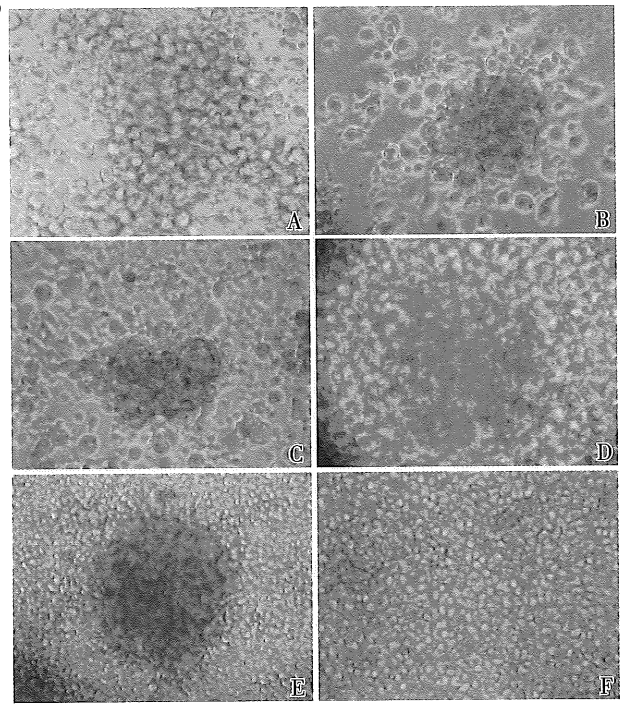


图1 不同细胞因子组合的 CIK/NK 细胞集落形成观察

Fig.1 Cell colony formation of CIK/NK cells of different cytokines combinations

A: IL-7; B: IL-12; C: IL-7 + IL-12; D: IL-2 + IL-7; E: IL-2 + IL-12; F: IL-2 + IL-7 + IL-12; ×200

表2 不同细胞因子组合的 CIK 和 NK 细胞产率

Table 2 Yielding counts of CIK/NK cells of different cytokines combinations ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

CELL	Day 0	group A IL-7	group B IL-12	group C IL-7 + IL-12	group D IL-2 + IL-7	group E IL-2 + IL-12	group F IL-2 + IL-7 + IL-12
CD3 <sup>-</sup> CD56 <sup>+</sup> NK Cells(%)	8.81 ± 1.67	3.88 ± 0.53	30.23 ± 1.18 <sup>1)2)</sup>	10.96 ± 1.18	29.52 ± 0.89 <sup>1)2)</sup>	13.75 ± 0.73 <sup>1)5)</sup>	9.18 ± 0.23
CD3 <sup>+</sup> CD56 <sup>+</sup> CIK Cells(%)	0.50 ± 0.18	5.37 ± 0.68 <sup>1)5)</sup>	22.96 ± 1.41 <sup>1)5)</sup>	10.53 ± 0.62 <sup>1)5)</sup>	14.26 ± 1.15 <sup>1)3)</sup>	18.58 ± 0.68 <sup>1)5)</sup>	12.75 ± 0.76 <sup>1)3)</sup>
Total(%)	9.31 ± 1.77	9.25 ± 0.45	53.19 ± 1.71 <sup>1)5)</sup>	21.50 ± 1.14 <sup>1)4)</sup>	43.77 ± 1.93 <sup>1)5)</sup>	32.33 ± 0.35 <sup>1)5)</sup>	21.93 ± 0.85 <sup>1)4)</sup>

1)  $P < 0.01$  vs. culture outset in corresponding cells; 2)  $P < 0.01$  vs. Group A, C, E, F in corresponding cells; 3)  $P < 0.01$  vs. Group A, B, C, E in corresponding cells; 4)  $P < 0.01$  vs. Group A, B, D, E in corresponding cells; 5)  $P < 0.01$  vs. other groups in corresponding cells.

### 2.3 各组 CD3<sup>-</sup> CD56<sup>+</sup> NK 细胞的扩增比例

扩增前 NK 细胞的比例为(8.81 ± 1.67)%。经过 21 d 培养,单因子培养体系中,以 B 组(IL-12)的扩增比例最高,为(30.23 ± 1.18)%, A 组(IL-7)仅有(3.88 ± 0.53)%,比培养前 NK 细胞比例要降低。双因子培养体系中,扩增比例最高的是 D 组(IL-2 + IL-7)的(29.52 ± 0.89)%,其次为 E 组(IL-2 + IL-12)的(13.75 ± 0.73)%和 C 组(IL-7 + IL-

12)的(10.96 ± 1.18)%。三因子培养体系的 F 组(IL-2 + IL-7 + IL-12)NK 细胞的扩增比例为(9.18 ± 0.23)%。综合比较,除了 A 组(IL-7)的扩增比例比培养前降低以外,其余各组的 NK 细胞比例均较培养前提高。B 组(IL-12)、D 组(IL-2 + IL-7)和 E 组(IL-2 + IL-12)扩增比例分别与培养前比较有显著统计学差异( $P < 0.01$ )。结果显示单因子培养(IL-12)和双因子培养(IL-2 + IL-7)NK 细胞能获

得较高的扩增比例(表 2)。

### 2.4 各组的 CIK/NK 细胞扩增比例结果

除 A 组(IL-7)外,其余各组的 CIK/NK 细胞扩增比例均较培养开始增大。其中 CIK/NK 两种细胞与培养开始时数据比较均有显著统计学差异的是 B 组(IL-12)、D 组(IL-2 + IL-7)和 E 组(IL-2 + IL-12)。总扩增比例中,B 组 (IL-12) 最高,为 (53.19 ± 1.71)%, 其次是 D 组 (IL-2 + IL-7)的 (43.77 ± 1.93)%和 E 组(IL-2 + IL-12)的(32.33 ± 0.35)%(表 2、图 2、图 3)。

## 3 讨论

CIK 细胞是一群来源于血液 T 细胞而非 NK 细胞的异质性细胞群体,CD3<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>细胞是其中主要的效应细胞。与 LAK (Lymphokine-activated killer) 细胞相比,CIK 细胞具有更强的抗肿瘤活性<sup>[6]</sup>,对化疗耐药的肿瘤细胞株亦有杀伤作用,却对正常造血集落的生长没有影响<sup>[7]</sup>;输注供体来

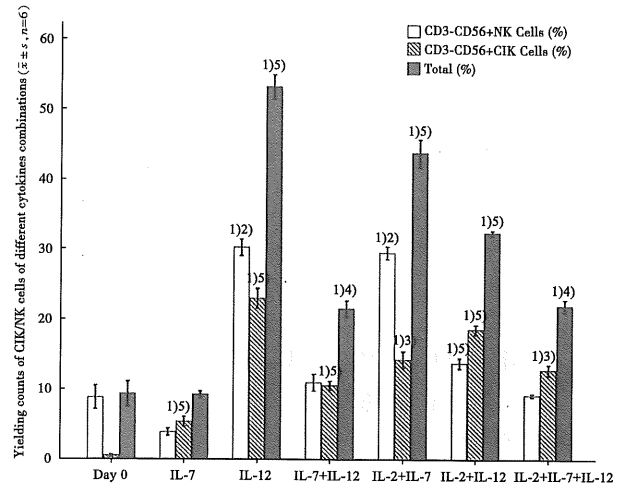


图 2 不同细胞因子组合的 CIK/NK 细胞产率比较

Fig.2 Comparison of yielding counts of CIK/NK cells of different cytokines combination

1)  $P < 0.01$  vs. culture outset in corresponding cells; 2)  $P < 0.01$  vs. Group A, C, E, F in corresponding cells; 3)  $P < 0.01$  vs. Group A, B, C, E in corresponding cells; 4)  $P < 0.01$  vs. Group A, B, D, E in corresponding cells; 5)  $P < 0.01$  vs. other groups in corresponding cells.

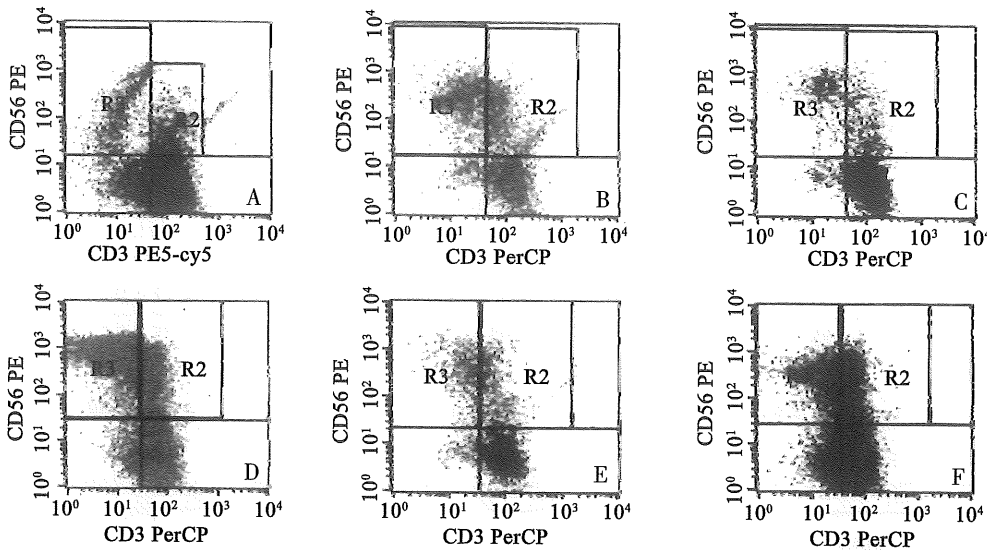


图 3 不同细胞因子组合处理 CIK/NK 细胞 21 d 培养悬液流式细胞分析结果

Fig.3 Flow cytometry results of cell suspensions co-cultured in different cytokines combinations for 21 days

A: IL-7; B: IL-12; C: IL-7 + IL-12; D: IL-2 + IL-7; E: IL-2 + IL-12; F: IL-2 + IL-7 + IL-12

源的 CD3<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>CIK 细胞可以不发生移植物抗宿主病 (graft-versus-host disease, GVHD), 却可保留移植物抗白血病 (graft-versus-leukaemia, GVL) 效应<sup>[2]</sup>。NK 细胞不但是重要的免疫杀伤细胞,在造血干细胞移植中还可以促进移植物的成功植入<sup>[8]</sup>。因此,CIK/NK 细胞的联合应用在血液肿瘤

的治疗中具有重要价值。

Schmidt<sup>[3]</sup>于 1991 年建立的由 IL-1、IL-2、IFN- $\gamma$ 、Anti-CD3Ab 等细胞因子组成的“经典”的 CIK 扩增方案目前已被全球众多的研究者所采纳。近年以此为基础,一些其他的细胞因子也开始被尝试用于扩增 CIK 细胞,如 Anti-CD28、IL-15、IL-24、

SCF、FLT3L等。然而多因子的培养体系会增加免疫细胞过继治疗的费用,增大培养诱导过程中潜在的污染风险,同时也因为多种因子的使用使得培养效果可重复性和稳定性降低,因此探索建立有效的少因子CIK/NK细胞培养体系十分必要。

尽管“经典”的多因子培养体系对CIK细胞有良好的扩增作用,但国内外学者的研究显示CIK细胞的常用诱导体系对NK细胞没有扩增作用<sup>[9]</sup>。如果能在同一种体系中有效地同时扩增脐血CD3<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>CIK细胞及CD3<sup>-</sup>CD56<sup>+</sup>NK细胞,则可加强两者的协同作用,并有利于促进造血干细胞移植后的GVL效应和植入。

Koehl等<sup>[10]</sup>单用IL-2扩增分选后的CD3<sup>-</sup>CD56<sup>+</sup>前体细胞,2周后培养体系中NK细胞可达95%~99%。Clemenceau等的发现在转染EB病毒的B淋巴细胞与IL-2共培养体系2周后,外周血NK细胞扩增达64%<sup>[11]</sup>。本课题组已有的研究发现,IL-2+IL-15,IL-7+IL-15的培养体系扩增脐血源性的CIK/NK细胞扩增总比例均可超过50%<sup>[12]</sup>。秦莉等亦发现仅使用IL-2+IL-12扩增CIK细胞比例也可达20%以上<sup>[13]</sup>。上述的研究均提示含两种或三种因子的少细胞因子培养体系用于扩增CIK/NK细胞是可行的、有效的。

由于一些细胞因子,如IL-15,SCF和FLT3L等目前尚未获得临床批准用于人体,所以我们使用已经在国内外已经批准用于临床的细胞因子,如IL-2,IL-7和IL-12进行CIK/NK细胞少因子培养体系的实验研究;我们的实验结果显示:IL-12组在CD3<sup>-</sup>CD56<sup>+</sup>NK细胞扩增比例、CD3<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>CIK细胞扩增比例以及总扩增比例上都是各组中最高的[分别是(30.23±1.18)%,(22.96±1.41)%,(53.19±1.71)%],IL-2+IL-12组的CIK细胞扩增比例也达到(18.58±0.68)%;IL-12组与IL-2+IL-12组的CIK细胞扩增比例已经达到或基本达到使用传统扩增方法所获得的比例<sup>[14]</sup>;IL-2+IL-7组在扩增总比例上则达到(43.77±1.93)%。以上实验结果表明,使用少因子IL-12、IL-2+IL-12或IL-2+IL-7进行CIK/NK的培养扩增是完全可行的。

IL-12是免疫调节中的重要分子,是NK细胞的刺激因子,可以增强NK细胞的活性和特异的细胞毒性,诱导NK细胞产生INF- $\alpha$ 和肿瘤坏死因子(Tumor Necrosis Factor,TNF)<sup>[15]</sup>。此外IL-12

能增加CD56的表达,亦能有效扩增CIK细胞<sup>[4]</sup>。IL-2也是NK细胞的刺激因子,并可与IL-12协同增加CIK细胞的扩增<sup>[13]</sup>。IL-7可以维持幼稚T细胞的生存,提供其发育所需要的信号,并且可以在细胞培养环境中调节T细胞的功能,促进T细胞表达CD3表面分子;IL-7与IL-2共培养可以维持NK细胞对IL-2的反应性;但IL-7在单独使用时,上述的特性相对不明显<sup>[16]</sup>。本次实验结果也证实该观点。本研究显示少因子体系进行CIK/NK细胞培养的可行性,但仅选取了IL-2浓度80 ng/mL,IL-7浓度40 ng/mL和IL-12浓度40 ng/mL作为尝试,下一步可寻找更加适合的细胞因子浓度和诱导时机,以使CIK、NK细胞的少因子培养体系具有更高的产率和临床实用价值,以期将来能使用上述少因子体系直接在体内有效地扩增CIK和NK细胞用于肿瘤病人的生物免疫治疗。

#### 参考文献:

- [1] Martino R, Badell I, Brunet S, et al. Second bone marrow transplantation for leukemia in untreated relapse [J]. Bone Marrow Transplant, 1994,14(4):589-594.
- [2] Ryosei N, Jeanette B, Andreas B, et al. In vivo trafficking and survival of cytokine-induced killer cells resulting in minimal GVHD with retention of antitumor activity [J]. Blood, 2008,112(8):2563-2574.
- [3] Schmidt WI, Negrin R, Kiem HP, et al. Use of a SCID mouse/human Lymphoma model to evaluate cytokine-induced killer cells with potent antitumor cell activity [J]. J Exp Med, 1991,174(9):139-149.
- [4] Zoll B, Lefterova P, Csipai M, et al. Generation of cytokine-induced killer cells using exogenous interleukin-2, -7, or -12 [J]. Cancer Immunol Immunother, 1998, 47(4): 221-226.
- [5] 黎阳,黄绍良,张绪超,等. K562-DC融合瘤苗刺激CB-CIK/NK细胞在荷瘤NOD/SCID小鼠体内的杀瘤活性[J]. 中华血液学杂志,2008,29(1):39-43.
- [6] 撒亚莲,华映坤,严新民,等. 恶性实体瘤患者外周血细胞因子诱导的杀伤细胞增殖与杀瘤活性[J]. 中山大学学报:医学科学版,2006,27(1):90-92.
- [7] Hoyle C, Bangs C D, Chang P, et al. Expansion of Philadelphia chromosome negative CD3<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup> cytotoxic cells from chronic myeloid leukemia patients: in vitro and in vivo efficacy in severe combined immunodeficiency disease mice [J]. Blood, 1998,92(9):3318-3325.
- [8] Jeffrey B, Deusen V, Michael A. New developments in

- anti-tumor efficacy and malignant transformation of human natural killer cells [J]. *Current Opinion in Hematology*, 2003, 10(7):55-59.
- [9] Lu PH, Negrin RS. A novel population of expanded human CD3<sup>+</sup> CD56<sup>+</sup> cells derived from T cells with potent in vivo antitumor activity in mice with severe combined immunodeficiency [J]. *J Immunol*, 1994, 153(8):1687-1696.
- [10] Koehl U, Esser R, Zimmermann S, et al. Ex vivo expansion of highly purified NK cells for immunotherapy after haploidentical stem cell transplantation in children [J]. *Klin Padiatr*, 2005, 217(6):345-349.
- [11] Clemenceau B, Gallot G, Vivien R, et al. Long-term preservation of antibody-dependent cellular cytotoxicity (ADCC) of natural killer cells amplified in vitro from the peripheral blood of breast cancer patients after chemotherapy [J]. *J Immunother*, 2006, 29(1):53-59.
- [12] 黎阳, 黄绍良, 魏菁, 等. 不同细胞因子培养体系对 CIK、NK 及 NKT 细胞等诱导产率的影响 [J]. *中山大学学报:医学科学版*, 2003, 24(4):363-367.
- [13] 秦莉, 王志华, 袁玉涛. IL-12 对 CIK 细胞体外增殖及细胞毒活性影响的研究 [J]. *国际免疫学杂志*. 2007, 30(4):203-207.
- [14] Leemhuis T, Wells S, Scheffold C, et al. A phase I trial of autologous cytokine-induced killer cells for the treatment of relapsed Hodgkin disease and non-Hodgkin lymphoma [J]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2005, 11(8):181-187.
- [15] Torelli GF, Anna G, Roberta M, et al. Expansion of natural killer cells with lytic activity against autologous blasts from adult and pediatric acute lymphoid leukemia patients in complete hematologic remission [J]. *Haematologica*, 2005, 90(8):785-792.
- [16] Shujuan L, John R, Steven R, et al. Comparison of common  $\gamma$ -chain cytokines, interleukin-2, interleukin-7, and interleukin-15 for the in vitro generation of human tumor-reactive T lymphocytes for adoptive cell transfer therapy [J]. *J Immunother*, 2006, 29(3):284-293.

(编辑 孙慧兰)

## 本部已启用“学术不端文献检测系统”

经中国学术期刊光盘版电子杂志社 AMLC 管理办公室授权, 我部现已启用“科技期刊学术不端文献检测系统”。本系统以 CNKI 的《中国学术文献网络出版总库》为全文比对数据库, 可检测抄袭与剽窃、伪造、篡改、不当署名、一稿多投等学术不端文献, 分为 VIP 学术不端文献检测系统、科技期刊学术不端文献检测系统 (AMLC)、社科期刊学术不端文献检测系统 (SMLC)、学位论文学术不端文献检测系统 (TMLC) 等。启用该系统后, 本部将对可疑稿件输入系统进行比对, 一旦发现有学术不端行为, 即行退稿, 并将作者加入系统学术不端行为黑名单——此名单为全国使用该系统的期刊共享。敬请作者洁身自爱, 做到不抄袭剽窃、不伪造篡改、不随意增减署名、不一稿多投等, 端正学术研究风气, 共同维护学术界的良好氛围。

《中山大学学报(医学科学版)》编辑部

2009-06-05