

两种培养基的培养体系对 CIK 细胞增殖和功能的影响

宋文玲¹, 韩 蓉¹, 张 曼¹, 张 权², 姚惟琦^{2,3}, 武栋成^{2,4}

(1. 湖北省武汉市黄陂区人民医院暨江汉大学附属第三医院肿瘤三科 430060; 2. 武汉汉密顿生物科技股份
有限公司研发部, 武汉 430075; 3. 武汉大学第一临床学院肿瘤中心, 武汉 430060;
4. 武汉大学基础医学院, 武汉 430072)

[摘要] **目的** 观察细胞因子诱导的杀伤细胞(CIK 细胞)增殖情况,检测 CIK 细胞的表面分子表型和体外对白血病细胞 K562 的杀伤作用。**方法** 通过用 H3 培养基培养的分别来源于脐带血和患者自体外周血分离的单个核细胞(PBMC),添加重组人 γ 干扰素(IFN- γ)与 CD3 单抗,体外诱导 CIK 细胞,在培养的第 7 天分别加入 H3 培养基和 T551 培养基继续诱导培养至 14 d。计数观察 CIK 细胞增殖能力,流式检测细胞表面 CD3、CD56 的表达情况,CCK8 法检测两组培养基条件下对白血病细胞 K562 的杀伤效果。**结果** 动态计数及表型分析结果表明,H3 及 H3+T551 培养的 CIK 细胞扩增倍数(包括脐带血 CIK 总细胞数和自体 CIK 总细胞数)在第 14 天均分别达到 76.9 倍、62.3 倍;两种培养条件下脐带血 CIK 细胞中 CD3⁺CD56⁺ 双阳性细胞含量分别是 (16.70±2.72)%和 (10.80±2.59)%,自体 CIK 细胞中 CD3⁺CD56⁺ 双阳性细胞含量分别是 (11.23±6.64)%和 (10.70±6.42)%;体外杀瘤实验表明,当效靶比为 5:1 时,H3 培养的脐带血 CIK 细胞杀伤率达到 (33.50±9.99)%,显著高于 H3+T551 培养脐带血 CIK 细胞的 (20.3±6.76)%,差异有统计学意义($P=0.011$),而 H3 和 H3+T551 培养的自体 CIK 细胞杀伤率分别是 (59.67±27.59)%和 (42.13±19.47)%,差异无统计学意义($P=0.080$)。**结论** H3 培养的脐带血和自体 CIK 细胞具有较强的体外抗白血病细胞活性,可应用于临床上白血病的过继性免疫治疗。

[关键词] 白血病,幼红细胞,急性;CIK 细胞;白血病细胞 K562;H3 培养基;T551 培养基;杀伤率
[中图分类号] R733.7 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2017)02-0215-03

Effects of two different cell culture medium on proliferative and functional activities of cytokine-induced killer cells

Song Wenling¹, Han Rong¹, Zhang Man¹, Zhang Quan², Yao Weiqi^{2,3}, Wu Dongcheng^{2,4}

(1. Third Department of Oncology, Huangpi District People's Hospital/Third Affiliated Hospital, Jiangnan University, Wuhan, Hubei 430060, China; 2. Department of Research and Development, Wuhan Hamilton Biotechnology Co., Ltd, Wuhan, Hubei 430075, China; 3. Tumopr Center, First Clinical College of Wuhan University, Wuhan University, Wuhan, Hubei 430060, China; 4. School of Basic Medicine Sciences, Wuhan University, Wuhan, Hubei 430072, China)

[Abstract] **Objective** To observe the proliferation ability of cytokine-induced killer(CIK) cells and to detect surface molecule phenotype of CIK cells and in vitro killing effect to leukemia K562 cells. **Methods** The cord blood lymphocytes and peripheral blood mononuclear cells(PBMCs) from patients were cultured by the H3 medium and added with human recombinant interferon (IFN)- γ and CD3 monoclonal antibodies(mAb) for inducing CIK cells in vitro. The H3 medium and T551 medium were respectively added on 7 d of culture. The induction and culture were continued until 14 d. The CIK cells proliferation ability was observed by cell count and the expressions of CD3 and CD56 were detected by flow cytometry. The killing effect of CIK cells on leukemia cells was tested by CCK8 assays. **Results** The dynamic counting and phenotype analysis results revealed that the CIK cells amplification times(including cord blood CIK total cells and autologous CIK total cells) cultured by H3 and H3+T551 reached 76.9 times and 62.3 times on 14 d respectively;the CD3⁺CD56⁺ double positive cells contents of cord blood CIK cells under the two kinds of culture condition were(16.7±2.7)% and (10.8±2.6)% respectively,while which of autologous CIK cells were(11.2±6.6)% and (10.7±6.4)% respectively;the in vitro killing-tumor test revealed that when the effector to-target ratio was 5:1,the cell cytotoxic activity of cord blood CIK cells cultured by H3 reached(33.50±9.99)%,which was significantly higher than(20.3±6.76)% of cord CIK cells cultured by H3+T551 ($P=0.011$),while which of autologous CIK cells cultured by H3+T551 were(59.67±27.59)% and (42.13±19.47)% respectively,but the difference was not significant($P=0.080$). **Conclusion** Cord blood and autologous CIK cells incubated by H3 have stronger in vitro anti-leukemia cells activity and can be used in the adoptive immunotherapy of leukemia in clinic.

[Key words] leukemia, erythroblastic, acute; cytokine-induced killer cells; K562; H3 medium; T551 medium; inhibitory rates

体内回输免疫活性细胞的过继免疫疗法,具有一定的抗肿瘤效果,与其他抗肿瘤药物相比,它能在没有损伤机体免疫系统结构和功能的基础上,直接杀伤肿瘤细胞,并且调节和增强机体的免疫功能,故而成为放化疗、肿瘤手术的重要辅助治疗方法,为预防肿瘤复发、改善晚期患者的生存质量提供了新的

途径^[1-2]。为了得到更好的抗肿瘤效果,用于过继免疫疗法的免疫活性细胞必须具有较强的细胞毒活性和增殖力,研究结果显示细胞因子诱导的杀伤细胞(cytokine induced killer cells, CIK 细胞)可以满足过继免疫治疗中对效应细胞的要求^[3-4]。CIK 细胞是将人外周血单个核细胞(peripheral blood mononu-

clear cell,PBMC),在体外用多种细胞因子如白细胞介素(IL)-2、IL-1 α 、 γ -干扰素(IFN- γ)、CD3 单克隆抗体(anti-CD3 monoclonal antibody,MabCD3)等共同培养一段时间后获得的一群异质细胞,兼有 T 淋巴细胞强大的抗瘤活性和自然杀伤(NK)细胞的非主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex,MHC)限制性杀瘤优点^[5-7],被认为是新一代抗肿瘤过继细胞免疫治疗的首选方案^[8]。

急性白血病是一种源于造血干细胞某一单株细胞的恶性克隆性疾病,以儿童及青年居多,临床诊断一般可分为急性淋巴细胞性白血病和急性髓性白血病。目前化疗是急性白血病的常规治疗方法,但是其较大的不良反应限制了化疗疗效的进一步提高。细胞免疫治疗有可能为急性白血病的治疗提供有益帮助^[9-10]。由于 CIK 细胞的增殖能力和杀瘤活性是影响细胞治疗效果的重要因素,因此本研究拟通过观察不同成分培养基制备的 CIK 细胞的增殖能力和对白血病 K562 细胞株的杀伤力,为提高 CIK 细胞疗效提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料 白血病细胞 K562 由武汉汉密顿生物科技股份有限公司实验室提供。将 K562 用含 10% 胎牛血清 RPMI 1640 培养,置于 37℃ 含 5% CO₂ 细胞培养箱中。试剂:IL-2(美国 PEPR0 TECH 公司),IFN- γ (美国 PEPR0 TECH 公司),Mab-CD3(日本 TaKaRa 公司)。RPMI 1640 和胎牛血清(FBS,Gibco 公司),CCK-8(5 mg/mL,碧云天),FITC-抗 CD3 流式抗体和 PECy5-抗 CD56 流式抗体(美国 Biolegend 公司)。

1.2 方法

1.2.1 效应细胞 CIK 细胞的制备 使用密度离心方法常规分离脐带血和白血病患者外周血制备单核细胞悬液,调整细胞浓度为(1~2)×10⁶/mL 进行培养,于培养第 1 天在 H3 培养基体系中加入 IFN- γ 2 000 U/mL,培养 24 h 后加入 IL-2 1 000 U/mL,MabCD3 100 ng/mL,刺激 CIK 细胞的生长和增殖。在培养的第 7 天,组 1 加入 H3(含 1 000 U/mL 的重组人 IL-2)培养基,组 2 加入 T551(含 1 000 U/mL 的重组人 IL-2)培养基继续诱导培养至 14 d,保证细胞生长密度在(1~2)×10⁶/mL。计数培养第 0、4、7、10 及 14 天的 CIK 细胞的数量。

1.2.2 效应细胞的表型分析 取培养第 14 天的 CIK 细胞以流式抗体染色,流式细胞仪分析,测定 CIK 细胞 CD3⁺CD56⁺ 双阳性细胞的百分比。

1.2.3 CCK8 法杀伤活性鉴定 CIK 对 K562 的杀伤作用 以不同效靶比(1:1、1:2、1:5、1:10)将 CIK 效应细胞与 K562 细胞各 50 μ L,一起放入 96 孔培养板中,另设单独靶细胞和单独效应细胞对照孔,以及空白培养基对照孔,每组设 3 孔,37℃、5%CO₂ 孵箱中培养 4 h,用 CCK-8 显色法测定,确定各组吸光度值(A 值)按下列公式计算杀瘤率^[11-12]:杀伤活性(%)=[1-(实验孔 A 值-效应细胞 A 值)/(靶细胞 A 值-空白孔 A 值)]×100%

1.3 统计学处理 采用 SPSS12.0 进行统计学分析,计量资料用 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用成组设计资料的 *t* 检测和多个均数的 *q* 检验,检验水准 $\alpha=0.05$,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 两种培养基体外诱导 CIK 细胞的增殖水平 实验结果显示,H3 培养基培养的 CIK 细胞直至第 4 天后开始大量增殖,细胞数量呈非线性增长。从脐带血分离的细胞继续经 H3

培养基培养至第 7、10、14 天时,至培养第 7 天约增加 23.3 倍,其后进入快速增长期,至第 14 天约增加 76.9 倍;继续经 T551 培养基培养至第 7 天约增加 23.3 倍,其后进入快速增长期,至第 14 天约增加 62.3 倍。同时,从外周血分离单个核细胞继续经 H3 培养基培养至第 7、10、14 天时,培养至第 7 天约增加 20.2 倍,其后进入快速增长期,至第 14 天约增加 76.9 倍;继续经 T551 培养基培养至第 7 天约增加 17.5 倍,其后进入快速增长期,至第 14 天约增加 62.3 倍(图 1)。两种培养基体外诱导的 CIK 细胞第 14 天的形态学照片如图 2 所示。

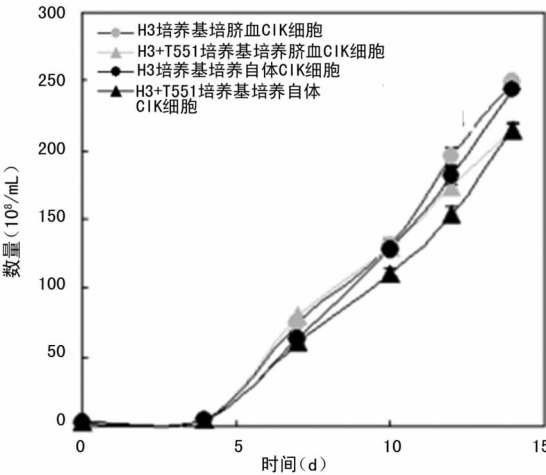
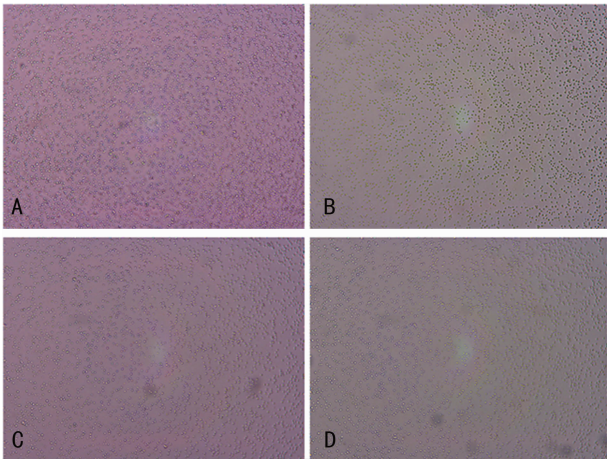


图 1 两种培养基诱导不同来源 CIK 细胞的增殖水平



A:来源脐带血,H3 培养基;B:来源脐带血,H3+T551 培养基;C:来源自体,H3 培养基;D:来源自体,H3+T551 培养基。

图 2 两种培养基诱导不同来源的 CIK 细胞形态(×100)

2.2 两种培养基诱导的 CIK 细胞表型 随着培养时间延长,H3 和 T551 培养基培养的 CIK 细胞表达 CD3⁺CD56⁺ 双阳性细胞的比例逐渐增加,细胞培养至第 14 天时,流式细胞术进行检测,结果如图 3 所示。H3 培养基诱导的脐带血和自体 CIK 细胞中 CD3⁺CD56⁺ 细胞百分比分别为(16.70±2.72)%和(11.23±6.64)%,T551 培养基诱导的脐带血和自体 CIK 细胞中 CD3⁺CD56⁺ 细胞百分比分别为(10.80±2.59)%和(10.70±6.42)%,两种培养基诱导第 14 天获得的自体、脐带血 CIK 细胞表型见表 1、2。

2.3 CIK 细胞对 K562 的杀伤作用 当效靶比为 1:1 时,H3 培养基培养 14 d 的脐带血和自体 CIK 细胞杀瘤率分别是(12.33±12.49)%和(19.43±12.65)%,T551 培养基培养 14 d 的脐带血和自体 CIK 细胞杀瘤率分别是(6.20±8.59)%和

(16.23±8.63)%;当效靶比为 2:1 时,H3 培养基培养的脐带血和自体 CIK 细胞杀瘤率分别是 (19.97±16.68)% 和 (33.37±15.62)%,T551 培养基培养 14 d 的脐带血和自体 CIK 细胞杀瘤率分别是 (10.93±8.24)% 和 (25.38±10.99)%;当效靶比为 5:1 时,H3 培养基培养的脐带血和自体 CIK 细胞杀瘤率分别是 (33.50±9.99)% 和 (59.67±27.59)%,差异有统计学意义($P=0.011$),H3+T551 培养基培养 14 d 的脐带血和自体 CIK 细胞杀瘤率分别是 (20.30±6.76)% 和 (42.13±19.47)%,差异无统计学意义($P=0.080$)。CIK 细胞对白血病 K562 细胞的杀伤作用与浓度有关。相同浓度下作用 24 h,H3 培养基培养的 CIK 细胞的杀伤效率优于 T551 培养基培养的 CIK 细胞,见表 3。

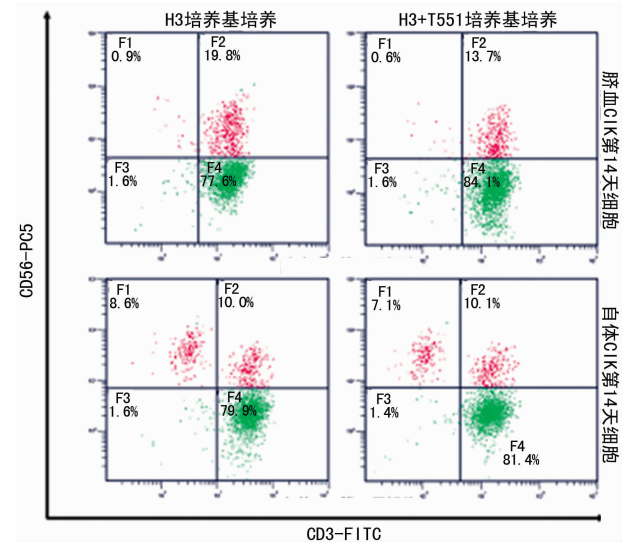


图 3 两种培养基诱导第 14 天 T 细胞表面 CD3⁺ 和 CD56⁺ 的表达

表 1 两种培养基诱导第 14 天获得的脐带血 CIK 细胞表型

脐带血 CIK	活细胞数(10 ⁹)	CD3 ⁺ CD56 ⁺	CD3 ⁻ CD56 ⁺	效应细胞数(10 ⁹)
N1	21.40	19.8	0.9	4.43
N2	18.74	13.7	0.6	2.68
H1	20.03	14.7	3.4	3.63
H2	17.39	10.0	3.5	2.35
M1	20.25	15.6	0.3	3.22
M2	19.98	8.7	0.3	1.80

N1、H1、M1 和 N2、H2、M2 分别表示 H3 和 T551 培养基培养诱导第 14 天获得的脐带血 CIK 细胞,实验重复 3 次。

表 2 两种培养基诱导第 14 天获得的自体 CIK 细胞表型

自体 CIK	活细胞数(10 ⁹)	CD3 ⁺ CD56 ⁺	CD3 ⁻ CD56 ⁺	效应细胞数(10 ⁹)
5a	5.94	10.0	8.6	1.10
5b	5.76	10.1	7.1	0.99
6a	5.38	18.4	16.7	1.89
6b	4.91	17.4	15.7	1.63
7a	6.79	5.3	2.9	0.56
7b	6.07	4.6	2.9	0.46

5a、6a、7a 和 5b、6b、7b 分别表示 H3 和 T551 培养基培养诱导第 14 天获得的自体 CIK 细胞,实验重复 3 次。

表 3 CIK 对 K562 的杀伤效率($\bar{x}\pm s$,%, $n=3$)

细胞	效靶比	H3 培养基培养	H3+T551 培养基培养
脐带血 CIK	1:1	12.33±12.49	6.20±8.59
	2:1	19.97±16.68	10.93±8.24
	5:1	33.50±9.99 ^a	20.30±6.76
自体 CIK	1:1	19.43±12.65	16.23±8.63
	2:1	33.37±15.62	25.38±10.99
	5:1	59.67±27.59	42.13±19.47

^a: $P<0.05$,与 H3+T551 培养基培养。

3 讨 论

免疫细胞过继疗法已成为放化疗后肿瘤患者辅助治疗的重要手段之一。CIK 细胞是由人体血液中酶单个核细胞在体外条件下经过多种细胞因子共同刺激诱导而成的^[13-14],是一类非主要组织相容性复合物和非 T 细胞受体限制性的免疫活性细胞,其主要效应细胞为 CD3⁺CD56⁺ 双阳性细胞^[15]。

本研究显示随着培养时间的延长,H3 和 H3+T551 培养基培养的 CIK 细胞的数量及 CD3⁺CD56⁺ 双阳性细胞的比例均升高。H3 培养基体外培养 14 d 的脐带血和自体 CIK 细胞其细胞数量增加 76.9 倍,同时表达 CD3⁺CD56⁺ 双阳性细胞的比例也达到较高水平,分别约为 (16.70±2.72)% 和 (11.23±6.64)%;同时,H3+T551 培养基体外培养 14 d 的 CIK 细胞其细胞数量增加 62.3 倍,同时表达 CD3⁺CD56⁺ 双阳性细胞的比例也达到较高水平。

本研究对比了相同效靶比及相同培养方式下同种来源两的 CIK 细胞对 K562 的杀伤效率。相同效靶比的来源于脐带血或自体 CIK 细胞,H3 培养条件下对 K562 的杀伤效率高于 H3+T551 培养条件下对 K562 的杀伤效率,显示 CIK 细胞能有效地杀伤 K562 细胞。尤其,当效靶比为 5:1 时,H3 培养基培养的脐带血和自体 CIK 细胞杀瘤率分别是 (33.50±9.99)% 和 (59.67±27.59)%,T551 培养基培养 14 d 的脐带血和自体 CIK 细胞杀瘤率分别是 (20.30±6.76)% 和 (42.13±19.47)%,但个体差异较大。来源脐带血 CIK 细胞对 K562 具有较稳定的杀伤作用,但来源自体的 CIK 细胞对 K562 具有较高的杀瘤率。结合图 2 流式细胞分析可推测,H3 和 T551 培养条件下,自体 CIK 在杀伤 K562 时伴随 NK 细胞的杀伤作用,推测可能是 H3 和 T551 培养条件产生 CIK 细胞的同时,伴随 NK 细胞产生,从而产生较高的杀瘤率。因此,临床输入 CIK 细胞治疗肿瘤应达到一定的数量并维持一定时间,根据患者个体差异,若瘤体内 CIK 细胞数量与肿瘤细胞数量之比能维持在 5:1 水平以上,有望达到较好的治疗效果。故而 H3 培养的脐带血和自体 CIK 细胞具有较强的体外抗白血病癌细胞活性,可应用于临床上白血病的过继性免疫治疗,并为临床治疗恶性肿瘤提供理论依据。

参考文献

[1] Pan K,Guan XX,Li YQ,et al. Clinical activity of adjuvant cytokine-induced killer cell immunotherapy in patients with post-mastectomy triple-negative breast cancer[J]. Clin Cancer Res,2014,20(11):3003-3011.

[2] June CH,Riddell SR,Schumacher TN,et al. Adoptive cellular therapy;a race to the finish line[J]. Sci Transl Med, 2015,25(7):280.

(下转第 222 页)

- [16] Sandelin A, Wasserman WW, Lenhard B. ConSite: web-based prediction of regulatory elements using cross-species comparison[J]. *Nucleic Acids Res*, 2004, 32 (Web Server issue): W249-252.
- [17] Speir ML, Zweig AS, Rosenbloom KR, et al. The UCSC genome browser database; 2016 update[J]. *Nucleic Acids Res*, 2016, 44(1): D717-725.
- [18] Huang HD, Lee TY, Tzeng SW, et al. KinasePhos: a web tool for identifying protein kinase-specific phosphorylation sites[J]. *Nucleic Acids Res*, 2005, 33(Web Server issue): W226-229.
- [19] Gerken TA, Tep C, Rarick J. Role of peptide sequence and neighboring residue glycosylation on the substrate specificity of the uridine 5'-diphosphate-alpha-N-acetylgalactosamine: polypeptide N-acetylgalactosaminyl transferases T1 and T2: kinetic modeling of the porcine and canine sub[J]. *Biochemistry*, 2004, 43(30): 9888-9900.
- [20] Monigatti F, Gasteiger E, Bairoch A, et al. The sulfinator: predicting tyrosine sulfation sites in protein sequences[J]. *Bioinformatics*, 2002, 18(5): 769-770.
- [21] Sabarinathan R, Tafer H, Seemann SE, et al. The RNAsnp web server: predicting SNP effects on local RNA secondary structure[J]. *Nucleic Acids Res*, 2013, 41 (Web Server issue): W475-479.
- [22] Inra JA, Steyerberg EW, Grover S, et al. Racial variation in frequency and phenotypes of APC and MUTYH mutations in 6 169 individuals undergoing genetic testing[J]. *Genet Med*, 2015, 17(10): 815-821.
- [23] Supek F, Mićana B, Valcárcel J, et al. Synonymous mutations frequently act as driver mutations in human cancers [J]. *Cell*, 2014, 156(6): 1324-1335.
- [24] Park SL, Bastani D, Goldstein BY, et al. Associations between NBS1 polymorphisms, haplotypes and smoking-related cancers[J]. *Carcinogenesis*, 2010, 31(7): 1264-1271.
- [25] Liang J, Jiang T, Yao RY, et al. The combination of ER-CC1 and XRCC1 gene polymorphisms better predicts clinical outcome to oxaliplatin-based chemotherapy in metastatic colorectal cancer[J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2010, 66(3): 493-500.
- [26] Ernst T, Hoffmann J, Erben P, et al. ABL single nucleotide polymorphisms may masquerade as BCR-ABL mutations associated with resistance to tyrosine kinase inhibitors in patients with chronic myeloid leukemia [J]. *Haematologica*, 2008, 93(9): 1389-1393.
- [27] Ma F, Sun T, Shi Y, et al. Polymorphisms of EGFR predict clinical outcome in advanced non-small-cell lung cancer patients treated with Gefitinib[J]. *Lung Cancer*, 2009, 66(1): 114-119.
- [28] Fung KL, Gottesman MM. A synonymous polymorphism in a common MDR1 (ABCB1) haplotype shapes protein function[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2009, 1794(5): 860-871.
- [29] Liu J, Xing Y, Hinds TR, et al. The third 20 amino acid repeat is the tightest binding site of APC for beta-catenin [J]. *J Mol Biol*, 2006, 360(1): 133-144.
- [30] Kawasaki Y, Senda T, Ishidate T, et al. Asef, a link between the tumor suppressor APC and G-protein signaling [J]. *Science*, 2000, 289(5482): 1194-1197.

(收稿日期: 2016-07-02 修回日期: 2016-09-30)

(上接第 217 页)

- [3] Li DR, Yang YH, Gao L, et al. The possible molecular regulation mechanism of CIK cells inhibiting the proliferation of Human Lung Adenocarcinoma NCL-H157 Cells [J]. *Open Med*, 2016, 11(1): 1-6.
- [4] Jäkel CE, Schmidt-Wolf IG. An update on new adoptive immunotherapy strategies for solid tumors with cytokine-induced killer cells[J]. *Expert Opin Biol Ther*, 2014, 14(7): 905-916.
- [5] Kim JS, Park YS, Kim JY, et al. Inhibition of human pancreatic tumor growth by cytokine-induced killer cells in nude mouse xenograft model[J]. *Immune Netw*, 2012, 12(6): 247-252.
- [6] Pan QZ, Pan K, Wang QJ, et al. Annexin A3 as a potential target for immunotherapy of liver cancer stem-like cells [J]. *Stem Cells*, 2015, 33(2): 354-366.
- [7] Jiang J, Wu C, Lu B. Cytokine-induced killer cells promote antitumor immunity[J]. *J Transl Med*, 2013(11): 83.
- [8] 殷雪, 徐鑫, 赵瑶, 等. 抗体介导的高效 CIK (AMHE-CIK) 细胞体外诱导的数种优化方案的比较研究[J]. *中国实验血液学杂志*, 2016, 24(1): 46-48.
- [9] Amadori S, Del Principe MI, Venditti A. Advances in the treatment of elderly and frail patients with acute myeloid leukemia[J]. *Curr Opin Oncol*, 2014, 26(6): 663-669.
- [10] Loh ML, Mullighan CG. Advances in the genetics of high-risk childhood B-progenitor acute lymphoblastic leukemia and juvenile myelomonocytic leukemia: implications for therapy[J]. *Clin Cancer Res*, 2012, 18(10): 2754-2767.
- [11] 黄谋珍, 白俊, 李峰松, 等. PHA 诱导的 CIK 细胞的生物学特性及其对 K562 细胞杀伤活性影响的研究[J]. *中国实验血液学杂志*, 2014, 22(1): 64-68.
- [12] 张小锋. CIK 细胞杀瘤实验前后细胞表型与细胞毒性相关性研究[J]. *中国医药导刊*, 2013(5): 870-871.
- [13] 陈娟, 卢光琇. CIK 细胞的生物特性和应用研究新进展 [J]. *肿瘤药学*, 2014, 4(3): 166-171.
- [14] Lu X, Zhu A, Cai X, et al. Role of NKG2D in cytokine-induced killer cells against multiple myeloma cells [J]. *Cancer Biol Ther*, 2012, 13(8): 623-629.
- [15] Wang W, Li R, Meng M, et al. microRNA profiling of CD3⁺ CD56⁺ cytokine-induced killer cells[J]. *Sci Rep*, 2015(5): 9571.

(收稿日期: 2016-07-24 修回日期: 2016-09-29)