

# Ph 阳性急性淋巴细胞白血病细胞株 Sup-B15 与基质细胞共培养后 对伊马替尼敏感性的变化

张焕新 陈肿 闫志凌 宋旭光 陈伟 李德鹏  
邱婷婷 张璞 曾令宇 李振宇 徐开林

**【摘要】** 目的 探讨基质细胞 OP9 能否影响 Ph<sup>+</sup> 急性淋巴细胞白血病细胞株 Sup-B15 细胞对伊马替尼的敏感性以及作用机制。方法 实验分为 Sup-B15 细胞组及基质细胞 OP9 与 Sup-B15 共培养组 (即 Sup-B15/OP9 组)。采用 CCK-8 法测定细胞增殖抑制率; 流式细胞术检测 Annexin V/7-AAD 标记的细胞凋亡率、CD34<sup>+</sup>CD38<sup>-</sup> 细胞比例; 荧光定量 PCR 检测细胞 ALDH1、CD144、 $\beta$ -catenin mRNA 水平; Western blot 法检测细胞 CD133、CD144、 $\beta$ -catenin 蛋白表达水平; 免疫共沉淀方法检测结合于 CD144 的  $\beta$ -catenin 水平。结果 10~45  $\mu$ mol/L 伊马替尼对 Sup-B15、Sup-B15/OP9 细胞均有增殖抑制作用, 其 IC<sub>50</sub> 值分别为 26.3 和 35.8  $\mu$ mol/L, 两组差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。30  $\mu$ mol/L 伊马替尼作用于 Sup-B15、Sup-B15/OP9 细胞 24 h, 细胞总凋亡率分别为 (14.24 $\pm$ 2.11)% 和 (3.45 $\pm$ 0.68)%, 两组差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。与 Sup-B15 组相比, Sup-B15/OP9 组 CD34<sup>+</sup>CD38<sup>-</sup> 细胞比例增高 [(3.42 $\pm$ 0.28)% 对 (2.16 $\pm$ 0.15)%,  $P < 0.05$ ], ALDH1 mRNA 水平增高 (0.097 $\pm$ 0.012 对 0.046 $\pm$ 0.010,  $P < 0.05$ ), CD133 蛋白表达水平升高; CD144 mRNA 水平增高 (0.103 $\pm$ 0.015 对 0.010 $\pm$ 0.003,  $P < 0.05$ ), CD144 蛋白表达水平亦明显增高;  $\beta$ -catenin mRNA 水平无明显变化 ( $P > 0.05$ ), 其蛋白总量明显上升, 转位到细胞核的  $\beta$ -catenin 蛋白明显增加, 结合于 CD144 的  $\beta$ -catenin 蛋白增加。结论 与 OP9 细胞共培养后, Sup-B15 细胞对伊马替尼敏感性下降, 该作用可能与上调 CD144 表达、稳定 CD144/ $\beta$ -catenin 信号通路、增加  $\beta$ -catenin 核转位有关。

**【关键词】** 费城染色体; 白血病, 淋巴细胞, 急性; 抗原, CD144;  $\beta$ -catenin; 基质细胞

**Effects of stromal cells on sensitivity to imatinib in Sup-B15 Philadelphia chromosome positive acute lymphoblastic leukemia cells** Zhang Huanxin, Chen Chong, Yan Zhiling, Song Xuguang, Chen Wei, Li Depeng, Qiu Tingting, Zhang Pu, Zeng Lingyu, Li Zhenyu, Xu Kailin. Department of Hematology, The Affiliated Hospital of Xuzhou Medical College, Laboratory of Transplantation Immunology, Xuzhou 221000, China

Corresponding author: Xu Kailin, Email: lihmd@163.com

**【Abstract】 Objective** To investigate the sensitivity of imatinib (IM) on Sup-B15 Ph<sup>+</sup> acute lymphoblastic leukemia (ALL) cells induced by stromal cells OP9, and to further explore its mechanism. **Methods** The study is divided into two group, Sup-B15 cells group and co-cultured with OP9 cells group (Sup-B15/OP9 group). The inhibitory effects of IM on leukemia cells were measured by CCK-8 test, and the apoptosis by Annexin V/7-AAD dyeing and the percentage of CD34<sup>+</sup>CD38<sup>-</sup> leukemia cells were determined by flow cytometry. ALDH1, CD144, and  $\beta$ -catenin mRNA were detected by real-time RT-PCR, protein levels by Western blot. Immunoprecipitation was used to detect the level of  $\beta$ -catenin connected to CD144. **Results** IM presented inhibitory effects on Sup-B15 and Sup-B15/OP9 cells at multiple concentrations from 10  $\mu$ mol/L to 45  $\mu$ mol/L. The IC<sub>50</sub> of IM on Sup-B15/OP and Sup-B15 cells were 35.8  $\mu$ mol/L and 6.3  $\mu$ mol/L, respectively ( $P < 0.05$ ). After 24 h of 30  $\mu$ mol/L IM treatment, the percentages of apoptosis cells in Sup-B15/OP9 and Sup-B15 cell were (14.24 $\pm$ 2.11)% and (3.45 $\pm$ 0.68)%, respectively

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2015.06.003

基金项目: 国家自然科学基金(81300399); 江苏省高校自然科学基金(13KJD320003)

作者单位: 221000 徐州医学院附属医院血液科

通信作者: 徐开林, Email: lihmd@163.com

( $P < 0.05$ ). The percentage of  $CD34^+CD38^-$  cells in Sup-B15/OP9 group was significantly higher than that in Sup-B15 group [ $(3.42 \pm 0.28)\%$  vs  $(0.16 \pm 0.15)\%$ ,  $P < 0.05$ ]. As compared to Sup-B15 cells, the transcription of ALDH1 in Sup-B15/OP9 group was remarkably upregulated ( $0.097 \pm 0.012$  vs  $0.046 \pm 0.010$ ,  $P < 0.05$ ), and the CD133 protein level was also upregulated in Sup-B15/OP9 group. The transcription of CD144 in Sup-B15/OP9 group was remarkably upregulated compared with Sup-B15 group ( $0.103 \pm 0.015$  vs  $0.010 \pm 0.003$ ,  $P < 0.05$ ), as well as the CD144 protein.  $\beta$ -catenin mRNA transcription has no obvious changes between Sup-B15 group and Sup-B15/OP9 group ( $P > 0.05$ ), while the whole  $\beta$ -catenin protein and the cell nucleus  $\beta$ -catenin significantly increased, as well as the  $\beta$ -catenin protein combined with CD144.

**Conclusions** Co-cultured with OP9 cells, Sup-B15 cells show less sensitivity to imatinib. The raising activity of CD144 and CD144/ $\beta$ -catenin signaling may work in this procession.

**【Key words】** Philadelphia chromosome; Leukemia, lymphocytic, acute; Antigens, CD144;  $\beta$ -catenin; Stromal cells

Ph 染色体阳性( $Ph^+$ )急性淋巴细胞白血病( $Ph^+$  ALL)患者缓解率低,复发率高,预后较差。近年来酪氨酸激酶抑制剂伊马替尼(IM)明显提高了 $Ph^+$  ALL的缓解率,但短时间即出现IM耐药及疾病的复发仍是困扰临床医生的难题,即使酪氨酸激酶抑制剂的更新换代亦未能解决 $Ph^+$  ALL耐药的根本问题<sup>[1]</sup>。既往研究证实,骨髓微环境对白血病耐药起着重要作用,骨髓基质细胞可通过物理接触及相关细胞因子等多种机制影响造血细胞及白血病细胞的生存<sup>[2]</sup>。为探索骨髓基质细胞对 $Ph^+$  ALL细胞耐药的影响,我们将骨髓基质细胞株OP-9与 $Ph^+$  ALL细胞株Sup-B15细胞共培养,探索基质细胞在 $Ph^+$  ALL耐药中的作用及可能的机制,为临床治疗提供实验依据。

## 材料和方法

1. 主要试剂:IMDM、 $\alpha$ -MEM培养基、FBS、M-MLV反转录酶、荧光定量PCR试剂盒均购自美国Invitrogen公司;CD144、 $\beta$ -catenin兔单克隆抗体(单抗)购自Cell Signalling Technology公司;CD133兔多克隆抗体(多抗)购自英国Abcam公司; $\beta$ -actin兔多抗购自美国Bioworld公司;Protein A/G beads购自德国默克公司;FITC标记抗人CD38单抗、PE标记抗人CD34单抗购自美国BD公司;IM标准品购自大连美仑生物技术有限公司;CCK-8细胞增殖实验试剂盒购自日本同仁化学研究所;BCA蛋白浓度测定试剂盒购自南通碧云天生物技术研究所以。

2. OP9细胞与Sup-B15细胞共培养模型的建立:Sup-B15细胞购自美国ATCC公司<sup>[3]</sup>,常规培养于含有10%FBS的IMDM培养液中;OP9细胞购自上海生物化学与细胞生物研究所,常规培养于含有10%胎牛血清的 $\alpha$ -MEM培养液中。将Sup-B15细胞接种于融合度70%的OP9细胞层,调整

Sup-B15细胞密度为 $1 \times 10^5/ml$ ,1周后收集Sup-B15细胞接种于新的OP9细胞层,重新调整细胞密度为 $1 \times 10^5/ml$ ,两种细胞至少共培养2个月,取对数生长期的Sup-B15细胞应用于后续实验。

3. CCK-8法检测白血病细胞增殖抑制率:取对数生长期与基质细胞共培养的Sup-B15细胞(Sup-B15/OP9组)及单独培养的Sup-B15细胞(Sup-B15组),按 $1 \times 10^5/ml$ 细胞密度接种于96孔培养板,每孔100  $\mu l$ 。设定实验孔及对照孔,实验孔中加入相同体积不同浓度(10、15、20、25、30、35、40、45  $\mu mol/L$ )的IM溶液,对照孔中加入相同体积的灭菌注射用水。置于37  $^{\circ}C$ 、5%  $CO_2$ 、饱和湿度培养箱培养48 h。实验孔与对照孔均避光加入10  $\mu l$  CCK-8溶液(避免气泡),轻微振荡10 min混匀,37  $^{\circ}C$ 孵育3 h。自动酶标仪测定波长450 nm处吸光度(A值)。按下式计算细胞增殖抑制率。实验重复3次,取3次实验结果平均值。

$$\text{细胞增殖抑制率}(\%) = (1 - \frac{A_{\text{实验组}}}{A_{\text{对照组}}}) \times 100\%$$

4. Annexin V/7-AAD标记流式细胞术测定细胞凋亡率:收集经终浓度30  $\mu mol/L$  IM处理24 h的Sup-B15/OP9、Sup-B15细胞 $1 \times 10^6$ 个,细胞洗涤后分别加入5  $\mu l$  Annexin V、7-AAD进行标记,上流式细胞仪检测。Annexin V<sup>+</sup>/7-AAD<sup>-</sup>细胞为早期凋亡细胞;Annexin V<sup>+</sup>/7-AAD<sup>+</sup>细胞为晚期凋亡细胞。

5. 流式细胞术检测 $CD34^+CD38^-$ 细胞比例:收集对数生长期Sup-B15/OP9、Sup-B15细胞 $2 \times 10^5$ 个,PBS洗涤2次,加入2  $\mu l$  PE-CD34、2  $\mu l$  FITC-CD38单抗混匀,室温避光孵育20 min,PBS洗涤1次,500  $\mu l$  PBS重悬,上流式细胞仪检测白血病细胞 $CD34^+CD38^-$ 细胞比例。

6. 荧光定量PCR技术检测细胞ALDH1、CD144、 $\beta$ -catenin的转录水平:收集对数生长期

Sup-B15/OP9、Sup-B15 细胞, PBS 洗涤 2 次, 采用 TRIzol 提取细胞的总 RNA, 经反转录得到 cDNA, 采用 Platinum SYBR Green qPCR Super Mix-UDG 试剂盒通过实时定量 PCR 法检测白血病细胞 ALDH1、CD144 及  $\beta$ -catenin 的转录水平。反应体系 10  $\mu$ l:1 $\times$ 实时荧光定量 PCR 试剂 5  $\mu$ l, 上、下游引物 (10 pmol/L) 各 0.2  $\mu$ l, cDNA 模板 2  $\mu$ l, 无核酶水 2.6  $\mu$ l。反应条件: 95  $^{\circ}$ C 预变性 10 min 后, 95  $^{\circ}$ C 15 s, 60  $^{\circ}$ C 30 s, 72  $^{\circ}$ C 30 s, 35 个循环, 扩增完成后行溶解曲线分析。所有反应均设立 2 个复孔, CT 值由仪器自动分析产生, 将 2 次重复的 CT 值取平均值用管家基因  $\beta$ -actin 标准化后, 以  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  计算上述基因相对表达水平。ALDH1 扩增引物序列: 上游引物 5'-ATGTGGAGGAGGCCCGTGGG-3', 下游引物 5'-CACCAAAGGGGCACTGGGCA-3'; CD144 扩增引物序列: 上游引物 5'-GGCGAGTTCACCTTCTGC-GA-3', 下游引物 5'-CACCGAGTTGAGCACCGA-CAC-3';  $\beta$ -catenin 扩增引物序列: 上游引物 5'-AG-CACCTGTTTGCCTGAAGT-3', 下游引物 5'-CGCT-GGCTGTCAGTTTGGAT-3'。

7. Sup-B15 细胞总蛋白和核蛋白的制备: 收集各实验组细胞  $5 \times 10^6$  个, 加入细胞裂解液 200  $\mu$ l, 振荡条件下裂解白血病细胞, 冰上孵育 10 min, 500 $\times$ g 离心 7 min, 分别收集上清及沉淀: 将收集的上清 20 000 $\times$ g 离心 15 min, 收集胞质蛋白上清, -70  $^{\circ}$ C 保存备用; 将沉淀经细胞核洗涤液洗涤, 500 $\times$ g 离心 7 min, 弃上清, 加入 150  $\mu$ l 细胞核储存液, 混匀, -70  $^{\circ}$ C 保存备用。

8. Western blot 法检测细胞 CD144、 $\beta$ -catenin、CD133 蛋白水平: 将细胞总蛋白及核蛋白沸水浴 5~10 min, 行 SDS-PAGE。槽转印蛋白至硝酸纤维素膜 (NC 膜), 封闭液封闭后分别用 CD144 兔单抗、 $\beta$ -catenin 兔单抗、CD133 兔多抗、 $\beta$ -actin 兔多抗 4  $^{\circ}$ C 孵育过夜, 加入相应的辣根过氧化物酶标记的二抗 (1:20 000 稀释) 常温孵育 NC 膜 1 h, 并进行显影反应。

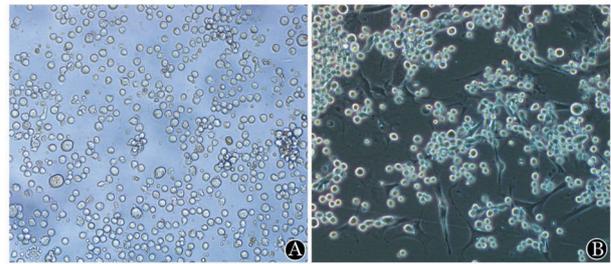
采用免疫共沉淀技术检测结合于 CD144 的  $\beta$ -catenin 蛋白: 非变性条件下收集细胞总蛋白, 琼脂糖 4  $^{\circ}$ C 孵育 60 min, 离心收集上清液, 加入抗 CD144 抗体, 4  $^{\circ}$ C 孵育 10 h, 离心弃上清后收集沉淀; 用  $\beta$ -catenin 单抗检测目的蛋白。

9. 统计学处理: 采用 SPSS13.0 软件对数据进行统计学分析, 结果以均数 $\pm$ 标准差表示, 组间比较采用 *t* 检验。检验标准  $\alpha=0.05$ ,  $P<0.05$  为差异有统计学

意义。

### 结 果

1. Sup-B15 细胞与 OP9 细胞共培养模型的建立: 将 OP-9 细胞与 Sup-B15 细胞共培养, 显示 Sup-B15 细胞围绕 OP-9 细胞半贴壁生长, 白血病细胞之间黏附增强, 细胞有聚集生长的态势 (图 1)。



A: Sup-B15 细胞单独培养组; B: Sup-B15/OP9 细胞共培养组

图 1 基质细胞对 Sup-B15 细胞生长习性的影响

2. 基质细胞对 Sup-B15 细胞凋亡的影响: 采用终浓度 30 mmol/L IM 处理各实验组细胞 24 h, 流式细胞术检测细胞凋亡率, Sup-B15/OP9 组细胞早期凋亡率为 (2.23 $\pm$ 0.41)%, 晚期凋亡率为 (1.22 $\pm$ 0.27)%, 细胞总的凋亡率为 (3.45 $\pm$ 0.68)%; Sup-B15 组细胞早期凋亡率为 (9.47 $\pm$ 1.60)%, 晚期凋亡率为 (4.77 $\pm$ 0.51)%, 细胞总的凋亡率为 (14.24 $\pm$ 2.11)%, 两组差异有统计学意义 ( $P$  值均  $<0.05$ )。

3. 基质细胞对 Sup-B15 细胞药物敏感性的影响: IM 可抑制 Sup-B15/OP9 细胞及 Sup-B15 细胞的增殖, 抑制作用呈剂量依赖性, 其 IC<sub>50</sub> 值分别为 35.8 和 26.3  $\mu$ mol/L, 两组差异有统计学意义 ( $P<0.05$ ) (图 2)。

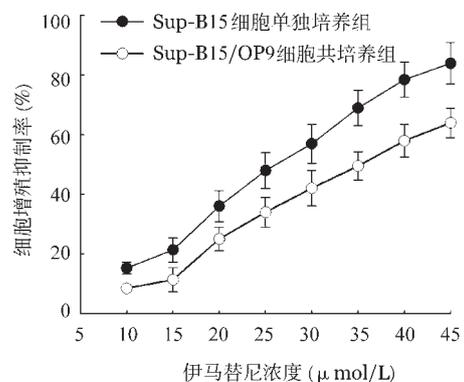
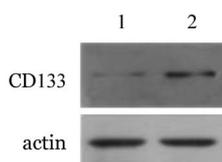


图 2 基质细胞对 Sup-B15 细胞增殖的影响 (实验重复 3 次)

4. 基质细胞对 Sup-B15 细胞干细胞标志物表达的影响: 检测各实验组细胞 CD34<sup>+</sup>CD38<sup>-</sup> 细胞比例,

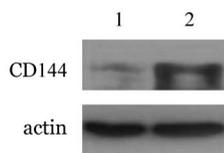
Sup-B15/OP9 组为  $(3.42 \pm 0.28)\%$ , Sup-B15 组为  $(2.16 \pm 0.15)\%$ , 两组差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); Sup-B15/OP9 组细胞 CD133 蛋白表达水平较 Sup-B15 组明显增高 ( $P < 0.05$ ) (图 3); Sup-B15/OP9 组与 Sup-B15 组细胞 ALDH1 转录水平分别为  $0.097 \pm 0.012$ 、 $0.046 \pm 0.010$ , 两组差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。

5. 基质细胞共培养对 Sup-B15 细胞 CD144 表达水平的影响: Sup-B15/OP 组及 Sup-B15 组细胞 CD144 转录水平分别为  $0.103 \pm 0.015$  和  $0.010 \pm 0.003$ , 两组差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 检测两组细胞 CD144 蛋白表达, 可见 Sup-B15/OP9 组较 Sup-B15 组细胞 CD144 蛋白表达水平明显上升 (图 4)。



1: Sup-B15 细胞单独培养组; 2: Sup-B15/OP9 细胞共培养组

图 3 基质细胞对 Sup-B15 细胞 CD133 蛋白表达的影响



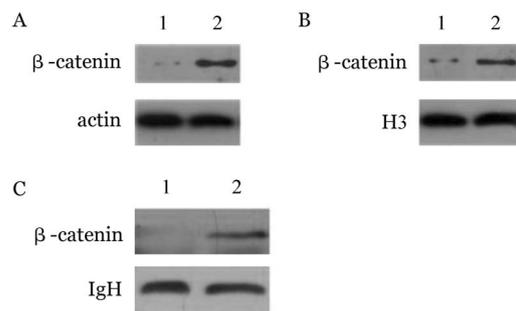
1: Sup-B15 细胞单独培养组; 2: Sup-B15/OP9 细胞共培养组

图 4 基质细胞对 Sup-B15 细胞 CD144 表达的影响

6. 基质细胞对 Sup-B15 细胞  $\beta$ -catenin 表达水平的影响: Sup-B15 组与 Sup-B15/OP 组细胞  $\beta$ -catenin mRNA 水平分别为  $0.215 \pm 0.034$  和  $0.267 \pm 0.041$ , 两组差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 而共培养后  $\beta$ -catenin 蛋白表达水平明显上升 (图 5A); 检测白血病细胞核  $\beta$ -catenin 蛋白水平, 见 Sup-B15/OP9 组细胞核内  $\beta$ -catenin 蛋白增加 (图 5B); 免疫共沉淀检测显示: 相比 Sup-B15 细胞, Sup-B15/OP9 组细胞 CD144 结合的  $\beta$ -catenin 蛋白明显增加 (图 5C)。

## 讨 论

骨髓微环境既可以给造血细胞提供物理支持, 也可通过其分泌的相关细胞因子增加造血细胞的生存能力, 减弱其对周围不良刺激因素的抵抗力<sup>[3]</sup>。OP9 细胞是来源于小鼠颅盖骨的内皮细胞, 具有明确的造血支持作用, 已常规应用于骨髓微环



A: 总蛋白中  $\beta$ -catenin 蛋白表达水平; B: 细胞核中  $\beta$ -catenin 蛋白表达水平; C: 结合于 CD144 的  $\beta$ -catenin 蛋白水平。1: Sup-B15 细胞单独培养组; 2: Sup-B15/OP9 细胞共培养组

图 5 基质细胞对 Sup-B15 细胞  $\beta$ -catenin 蛋白表达的影响

境的体外研究。在本实验中, 我们将 OP9 细胞与  $\text{Ph}^+$  ALL 细胞株 Sup-B15 细胞共培养, 光学显微镜下观察, 发现共培养后的 Sup-B15 细胞有聚集生长的趋势, 且大部分细胞附着于 OP9 细胞生长, 呈现半贴壁状态, 提示 OP9 细胞的物理支持作用可能对 Sup-B15 细胞的生长有益。后续实验提示, 共培养后 Sup-B15 细胞对 IM 的敏感性下降, 提示骨髓基质细胞可能在  $\text{Ph}^+$  ALL 的耐药过程中发挥作用。

钙黏蛋白为进化中高度保守的跨膜糖蛋白, 其胞内段与  $\beta$ -catenin 结合形成复合物, 进而与细胞骨架蛋白相连, 既可维持相邻细胞之间黏附的稳定性, 又可通过调节  $\beta$ -catenin 的状态参与胞内信号转导的调控, 影响细胞的活化与增殖<sup>[4]</sup>。传统观点认为, 血管内皮钙黏蛋白 (VE-Cadherin, CD144) 高表达于血管内皮细胞, 参与细胞间紧密连接的构成。然而, 近期研究发现 CD144 可表达于非内皮系统细胞, 如乳腺癌细胞、黑色素瘤细胞, 并且这种异位表达通常与恶性肿瘤的侵袭性相关, 在诱导肿瘤新生血管形成方面存在重要作用<sup>[5-6]</sup>; CD144 亦表达于  $\text{Ph}^+$  ALL 细胞表面, 且本实验室既往研究证实, 其可能参与  $\text{Ph}^+$  ALL 细胞的耐药<sup>[7-8]</sup>。CD144 作为钙黏蛋白家族的成员, 其与神经钙黏蛋白 (N-cadherin) 共同参与造血微环境的构成<sup>[9]</sup>, 其中 CD144 在内皮龛中的作用尤为重要<sup>[10]</sup>。本实验中 Sup-B15 细胞与 OP9 细胞共培养后, 其 CD144 表达明显上调, 提示基质细胞 OP9 可能通过上调 CD144 的表达介导了 Sup-B15 细胞的耐药。

白血病干细胞的存在是白血病复发难治的根源。本实验中, 与 OP9 细胞共培养后, Sup-B15 细胞中  $\text{CD}34^+ \text{CD}38^-$  细胞比例明显增加, CD133 及 ALDH1<sup>[11]</sup> 表达亦明显上升, 提示与基质细胞共培养

可提高Ph<sup>+</sup> ALL细胞的干细胞性,此机制可能参与Ph<sup>+</sup> ALL细胞的耐药。

众所周知,Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路是干细胞维持自我更新能力的重要信号;而CD144的胞内段可跨越Wnt信号而直接活化 $\beta$ -catenin信号通路<sup>[12]</sup>。在本实验中,与基质细胞共培养后,Sup-B15细胞CD144及 $\beta$ -catenin蛋白表达均明显增加,且 $\beta$ -catenin核转位明显增加,经免疫共沉淀证实CD144/ $\beta$ -catenin复合体增加,提示基质细胞共培养可活化Ph<sup>+</sup> ALL细胞CD144/ $\beta$ -catenin信号通路,该通路可能通过提高白血病细胞的干细胞性从而参与了Ph<sup>+</sup> ALL的耐药。

#### 参考文献

- [1] Fielding AK. Current treatment of Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia[J]. Hematology Am Soc Hematol Educ Program, 2011, 2011(1): 231-237.
- [2] Meads MB, Gatenby RA, Dalton WS. Environment-mediated drug resistance: a major contributor to minimal residual disease [J]. Nat Rev Cancer, 2009, 9(9): 665-674.
- [3] Moore KA. Recent advances in defining the hematopoietic stem cell niche[J]. Curr Opin Hematol, 2004,11(2):107-111.
- [4] Halbleib JM, Nelson WJ. Cadherins in development: cell adhesion, sorting, and tissue morphogenesis[J]. Genes Dev, 2006, 20(23): 3199-3214.
- [5] Hendrix MJ, Seftor EA, Hess AR, et al. Molecular plasticity of human melanoma cells [J]. Oncogene, 2003, 22 (20): 3070-3075.
- [6] van der Schaft DW, Hillen F, Pauwels P, et al. Tumor cell plasticity in Ewing sarcoma, an alternative circulatory system stimulated by hypoxia [J]. Cancer Res, 2005, 65 (24): 11520-11528.
- [7] Wang L, O' Leary H, Fortney J, et al. Ph<sup>+</sup>/VE-cadherin + identifies a stem cell like population of acute lymphoblastic leukemia sustained by bone marrow niche cells [J]. Blood, 2007, 110(9): 3334-3344.
- [8] 张焕新, 闫志凌, 宋旭光, 等. RNA干扰血管内皮钙黏蛋白表达对Ph<sup>+</sup>急性淋巴细胞白血病细胞株Sup-B15甲磺酸伊马替尼敏感性的影响[J]. 中华血液学杂志, 2013, 34(6):522-526.
- [9] Zhang J, Niu C, Ye L, et al. Identification of the haematopoietic stem cell niche and control of the niche size [J]. Nature, 2003, 425(6960):836-841.
- [10] Kiel MJ, Yilmaz OH, Iwashita T, et al. SLAM family receptors distinguish hematopoietic stem and progenitor cells and reveal endothelial niches for stem cells [J]. Cell, 2005, 121 (7):1109-1121.
- [11] Fleischman AG. ALDH marks leukemia stem cell [J]. Blood, 2012, 119(15): 3376-3377.
- [12] Wang Y, Krivtsov AV, Sinha AU, et al. The Wnt/ $\beta$ -catenin pathway is required for the development of leukemia stem cells in AML[J]. Science, 2010, 327(5973): 1650-1653.

(收稿日期:2014-11-24)

(本文编辑:王叶青)

## 第七届国际血液高峰论坛暨第二届协和国际淋巴瘤研讨会通知

由中国医学科学院血液病医院(血液学研究所)、哈佛大学 Dana-Farber 癌症中心、中国抗癌协会血液肿瘤专业委员会联合主办的第七届国际血液高峰论坛暨第二届协和国际淋巴瘤研讨会及第八届全国淋巴瘤诊治进展研讨会定于2015年10月15—18日在美丽的滨海之城——天津举办。

本届高峰论坛将聚焦多发性骨髓瘤和淋巴瘤的基础研究和临床诊治的进展、热点问题和发展趋势。主办方已邀请来自美国、法国、意大利、西班牙及新加坡近20位多发性骨髓瘤和淋巴瘤领域的著名专家学者出席会议进行专题报告,同时也将邀请国内淋巴瘤领域的一线权威专家就我国这一领域的现状和挑战进行专题研讨。会议主办单位诚挚邀请来自全国各地从事血液学基础与临床的相关人员光临本届高峰论坛。参会人员将可获得国家 I 类医学继续教育(CME)学分10分。