

沙利度胺联合干扰素对 Kasumi-1 细胞的增殖抑制作用及其机制研究

徐皓 米瑞华 范瑞华 尹青松 汪小姣 魏旭东

【摘要】 目的 探讨沙利度胺联合干扰素(IFN)对急性髓系白血病细胞系 Kasumi-1 细胞的增殖抑制作用及其机制。方法 沙利度胺、IFN 以及两药联合处理 Kasumi-1 细胞,采用 CCK-8 法检测细胞增殖抑制率,流式细胞术检测细胞凋亡率,ELISA 法检测细胞培养上清血管内皮生长因子(VEGF)水平,Western blot 法检测凋亡相关蛋白的表达。结果 在 50~500 $\mu\text{g/ml}$ 范围内沙利度胺可抑制 Kasumi-1 细胞增殖,并呈浓度依赖性[24 h 的 IC_{50} 值为 $(451.13 \pm 6.92) \mu\text{g/ml}$ 、48 h 的 IC_{50} 值为 $(362.50 \pm 14.52) \mu\text{g/ml}$];在 500~5 000 U/ml 范围内,IFN 浓度依赖性地抑制 Kasumi-1 细胞增殖[24 h 的 IC_{50} 值为 $(2 209 \pm 127) \text{U/ml}$ 、48 h 的 IC_{50} 值为 $(1 393 \pm 63) \text{U/ml}$]。350 $\mu\text{g/ml}$ 沙利度胺和 1 400 U/ml IFN 作用 48 h, Kasumi-1 细胞的凋亡率分别为 $(14.68 \pm 2.61)\%$ 和 $(21.71 \pm 0.71)\%$,与对照组 $[(0.89 \pm 0.38)\%]$ 相比,差异有统计学意义(P 值均 < 0.01);两药联合作用后 Kasumi-1 细胞的增殖抑制率为 $(88.50 \pm 2.40)\%$,凋亡率为 $(41.95 \pm 3.41)\%$,与对照组和各单药组比较,差异均有统计学意义(P 值均 < 0.01)。沙利度胺、IFN 单药及两药联合组 VEGF 水平分别为 (141.11 ± 3.70) 、 (119.90 ± 2.00) 和 $(94.61 \pm 5.46) \text{ng/L}$,两药联合组明显低于单药组(P 值均 < 0.05)。沙利度胺、IFN 单药作用 Kasumi-1 细胞 48 h 能不同程度下调 Bcl-2 的表达,上调 p-P38(同时 P38 表达量下降)、Bax、细胞色素 C、活化型(cleaved)Caspase-3、8、9 的表达,与对照组比较差异均有统计学意义(P 值均 < 0.05);沙利度胺联合 IFN 该作用进一步加强(P 值均 < 0.05)。结论 沙利度胺和 IFN 可协同抑制 Kasumi-1 细胞增殖、诱导其凋亡,其可能是通过线粒体和死亡受体途径,并活化 P38 信号通路诱导细胞凋亡和抑制 Kasumi-1 细胞 VEGF 的自分泌来实现。

【关键词】 沙利度胺; 干扰素; 白血病,髓样,急性; Kasumi-1 细胞

Inhibitory effect of thalidomide combined with interferon on the proliferation of Kasumi-1 cells Xu Hao, Mi Ruihua, Fan Ruihua, Yin Qingsong, Wang Xiaojiao, Wei Xudong. Department of Hematology, the Affiliated Cancer Hospital of Zhengzhou University; Henan Cancer Hospital, Zhengzhou 450008, China
Corresponding author: Wei Xudong, Email: weixudong63@126.com

【Abstract】 **Objective** To explore the inhibitory effect of thalidomide combined with interferon (IFN) on the human acute myeloid leukemia cell line Kasumi-1 and its mechanism. **Methods** The inhibitory effect of Kasumi-1 cells by thalidomide, interferon or combination was detected by CCK-8 method, the apoptosis by flow cytometry, the expression of apoptosis related proteins by Western blot, vascular endothelial growth factor (VEGF) concentration in culture supernatant by ELISA. **Results** Thalidomide inhibited the proliferation of Kasumi-1 in a dose-dependent manner from 50 $\mu\text{g/ml}$ to 500 $\mu\text{g/ml}$ with an IC_{50} of $(451.13 \pm 6.92) \mu\text{g/ml}$ at 24 h and $(362.50 \pm 14.52) \mu\text{g/ml}$ at 48 h. IFN also demonstrated the inhibitory capacity in a dose-dependent manner from 500 U/ml to 5 000 U/ml, with an IC_{50} of $(2 209 \pm 127) \text{U/ml}$ at 24 h and $(1 393 \pm 63) \text{U/ml}$ at 48 h. The apoptosis rates of Kasumi-1 cells treated with thalidomide 350 $\mu\text{g/ml}$ or IFN 1 400 U/ml for 48 h were $(14.68 \pm 2.61)\%$ and $(21.71 \pm 0.71)\%$, respectively, significantly higher than control group ($P < 0.01$). In combination group the inhibition and the apoptosis rate were $(88.50 \pm 2.40)\%$ and $(41.95 \pm 3.41)\%$, significantly higher than control and each single agent group ($P < 0.01$). The VEGF concentrations of combination group $[(94.61 \pm 5.46) \text{ng/L}]$ decreased significantly, as compared to thalidomide group $[(141.11 \pm 3.70) \text{ng/L}]$ and IFN group $[(119.90 \pm 2.00) \text{ng/L}]$ ($P < 0.05$). Western blot analysis showed Bcl-2 expression of Kasumi-1 cells decreased, while p-P38,

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2015.09.005

基金项目:国家自然科学基金(81170520)

作者单位:450008 郑州大学附属肿瘤医院血液科、河南省肿瘤医院

通信作者:魏旭东, Email: weixudong63@126.com

Bax, cytochrome C, cleaved-Caspase-3, 8, 9 increased after treated with thalidomide 350 $\mu\text{g/ml}$ or IFN 1 400 U/ml for 48 h. When treated with the combination agents, the expression of Bcl-2 further decreased and p-P38, Bax, cytochrome C, cleaved-Caspase-3, 8, 9 further increased as compared with each single agent ($P < 0.05$). **Conclusions** Thalidomide and IFN could synergistically inhibit the proliferation of Kasumi-1 cells probably through inducing apoptosis via the mitochondrial pathway, death receptor pathway and P38 MAPK pathway, as well as inhibiting VEGF secretion.

【Key words】 Thalidomide; Interferon; Leukemia, myeloid, acute; Kasumi-1 cells

急性髓系白血病(AML)高危患者和老年患者的疗效较差,而获得完全缓解的患者约半数会复发,其长期生存率则不到10%。Steins等^[1]报道沙利度胺单药治疗AML的有效率为25%,且能够改善患者的输血依赖,早在19世纪60年代干扰素(IFN)就被用于治疗AML,无论是在诱导缓解还是造血干细胞移植后复发的挽救治疗中IFN都有一定的疗效^[2-4]。我们前期临床观察发现联合应用沙利度胺和IFN对复发难治性AML有一定疗效^[5],为进一步探讨其作用机制,我们以AML细胞系Kasumi-1细胞为研究对象,观察沙利度胺联合IFN对Kasumi-1细胞增殖、凋亡以及微血管生成的影响,为沙利度胺联合IFN临床应用提供一定的实验依据。

材料和方法

1. 主要试剂和器材:沙利度胺标准品由江苏常州制药有限公司提供。RPMI 1640培养液、胎牛血清均购自美国Gibco公司。CCK-8细胞增殖及毒性检测试剂盒购自上海贝博生物公司。Annexin V-FITC细胞凋亡检测试剂盒和全蛋白提取试剂盒购自南京凯基生物科技发展有限公司。BCA蛋白定量试剂盒购自上海碧云天生物技术有限公司。GAPDH、P38、磷酸化(p)-P38、BCL-2、Bax、细胞色素C、Caspase-3、活化型(cleaved)-Caspase-8、cleaved-Caspase-9兔抗人单克隆抗体(单抗)购自美国Cell Signaling Technology公司;HRP标记的山羊抗兔二抗购自北京中杉金桥生物技术有限公司。人血管内皮生长因子(VEGF)ELISA检测试剂盒购自上海生工生物工程技术有限公司。流式细胞仪为美国BD公司的FACSCalibur型。

2. 细胞培养:白血病细胞系Kasumi-1细胞为中国医学科学院血液学研究所王建祥教授馈赠。采用含15%胎牛血清的RPMI 1640培养液,置于37℃、5%CO₂、饱和湿度培养箱中培养,48~72 h传代1次,取对数生长期细胞用于实验。

3. CCK-8法检测细胞增殖抑制率:取对数生长

期的Kasumi-1细胞,以 $1 \times 10^5/\text{ml}$ 接种于96孔板,每孔100 μl ,每组设5个复孔,加入不同浓度的沙利度胺(终浓度分别为50、100、200、300、400、500 $\mu\text{g/ml}$)和IFN(终浓度分别为500、1 000、2 000、5 000、10 000 U/ml)分别作用24 h和48 h,每孔加入10 μl CCK-8溶液,37℃孵育4 h后用酶标仪检测450 nm波长处吸光度(A)值,根据公式计算细胞增殖抑制率。实验重复3次。

用350 $\mu\text{g/ml}$ 沙利度胺、1 400 U/ml IFN单药以及两药联合作用于Kasumi-1细胞,采用上述方法检测细胞增殖抑制率,并根据金式公式判断两种药物之间的相互作用: $Q = E(a+b) / [Ea + Eb - (Ea \times Eb)]$,式中Ea、Eb分别为沙利度胺和IFN单药组的细胞增殖抑制率,E(a+b)为联合用药组的细胞增殖抑制率,当 $Q < 0.85$ 时,两种药物为拮抗作用;当 $0.85 \leq Q < 1.15$ 时,两种药物为单纯相加作用;当 $Q \geq 1.15$ 时,两种药物为协同作用。实验重复3次。

4. 流式细胞术检测细胞凋亡率:取 5×10^5 个细胞接种于12孔板中,分别加入350 $\mu\text{g/ml}$ 沙利度胺、1 400 U/ml IFN、350 $\mu\text{g/ml}$ 沙利度胺联合1 400 U/ml IFN,以未处理细胞为对照组,每组设3个复孔,作用48 h后收集细胞,用500 μl 结合缓冲液重悬细胞,加入5 μl Annexin V-FITC混匀后加入5 μl 碘化丙啶(PI),避光反应15 min后上机检测。实验重复3次。

5. ELISA法检测Kasumi-1细胞培养上清中VEGF水平:将Kasumi-1细胞以 $1 \times 10^5/\text{孔}$ 接种于96孔板,孵育24 h后分别加入350 $\mu\text{g/ml}$ 沙利度胺、1 400 U/ml IFN、350 $\mu\text{g/ml}$ 沙利度胺联合1 400 U/ml IFN,每组设3个复孔,作用48 h后取细胞培养上清,以未处理细胞为对照,按照人VEGF ELISA检测试剂盒说明书进行操作。实验重复3次。

6. Western blot法检测沙利度胺、IFN和沙利度胺联合IFN处理48 h后细胞凋亡相关蛋白表达水平:实验分组同上。全蛋白提取试剂盒提取各组细胞总蛋白,BCA法测定蛋白浓度,将各样品调整至

等浓度后分装保存于 -80°C 。以GAPDH为内参照进行100 g/L SDS-PAGE, 300 mA 恒流1~2 h转移至PVDF膜上,用50 g/L脱脂奶粉溶液或BSA封闭,按1:200~1:1 000加入Bcl-2、Bax、细胞色素C、cleaved-Caspase-3、8、9以及P38和p-P38抗体,4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜,再按1:5 000加入HRP标记的二抗反应1 h,X线底片曝光显影。结果用图像处理仪进行灰度扫描分析。实验重复3次。

7. 统计学处理:采用SPSS18.0软件进行统计学分析,检测结果均以均数 \pm 标准差表示,采用独立样本 t 检验分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 沙利度胺和IFN对Kasumi-1细胞增殖的影响:在50~500 $\mu\text{g/ml}$ 范围内,沙利度胺可浓度依赖性地抑制Kasumi-1细胞增殖($P < 0.05$) (图1);在500~5 000 U/ml范围内,IFN浓度依赖性地抑制Kasumi-1细胞增殖(图2)。沙利度胺作用24和48 h的 IC_{50} 值分别为(451.13 \pm 6.92) $\mu\text{g/ml}$ 和(362.50 \pm 14.52) $\mu\text{g/ml}$;IFN作用24和48 h的 IC_{50} 值分别为(2 209 \pm 127)U/ml和(1 393 \pm 63)U/ml,同时观察到作用24 h、浓度为5 000和10 000 U/ml时IFN对Kasumi-1细胞的增殖抑制作用出现平台期。350 $\mu\text{g/ml}$ 沙利度胺、1 400 U/ml IFN以及两药联合作用于Kasumi-1细胞48 h的增殖抑制率分别为(48.8 \pm 4.64)%、(50.19 \pm 2.59)%和(88.50 \pm 2.40)%,与对照组的(1.55 \pm 0.37)%相比差异均有统计学意义(P 值均 < 0.01),两药联合组增殖抑制率与各单药组的差异亦有统计学意义(P 值均 < 0.01),且 $Q=1.19$ (≥ 1.15),表明沙利度胺350 $\mu\text{g/ml}$ 和IFN 1 400 U/ml能够协同抑制Kasumi-1细胞增殖。

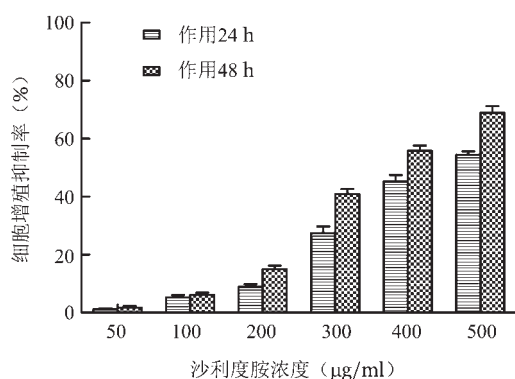


图1 不同浓度沙利度胺对Kasumi-1细胞的增殖抑制作用(每组设5个复孔,实验重复3次)

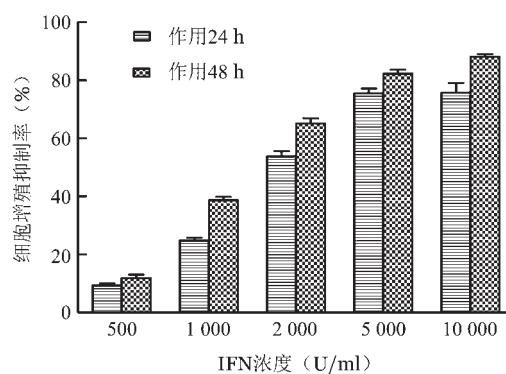


图2 不同浓度干扰素(IFN)对Kasumi-1细胞的增殖抑制作用(每组设5个复孔,实验重复3次)

2. 沙利度胺和IFN对Kasumi-1细胞凋亡的影响:350 $\mu\text{g/ml}$ 沙利度胺和1 400 U/ml IFN作用48 h,Kasumi-1细胞凋亡率分别为(14.68 \pm 2.61)%和(21.71 \pm 0.71)%,与对照组的(0.89 \pm 0.38)%相比差异有统计学意义(P 值均 < 0.01);两药联合组细胞凋亡率为(41.95 \pm 3.41)%,与对照组和各单药组相比明显增高,差异有统计学意义(P 值均 < 0.01)。

3. 沙利度胺和IFN对细胞培养上清VEGF水平的影响:结果显示,350 $\mu\text{g/ml}$ 沙利度胺、1 400 U/ml IFN及两药联合组细胞培养上清液中VEGF水平分别为(141.11 \pm 3.70)、(119.90 \pm 2.00)和(94.61 \pm 5.46) ng/L,均低于对照组的(156.38 \pm 5.48) ng/L(P 值均 < 0.05),两药联合组VEGF水平显著低于各单药组(P 值均 < 0.05)。

4. 沙利度胺和IFN对Kasumi-1细胞凋亡相关蛋白表达的影响:结果显示,350 $\mu\text{g/ml}$ 沙利度胺、1 400 U/ml IFN均可以不同程度地下调Bcl-2的表达,上调p-P38(同时P38表达量下降)、Bax、细胞色素C、cleaved-Caspase-3、8、9的表达,与对照组相比,差异均有统计学意义(P 值均 < 0.05);350 $\mu\text{g/ml}$ 沙利度胺联合1 400 U/ml IFN处理Kasumi-1细胞48 h后,Bcl-2蛋白降低以及p-P38、Bax、细胞色素C、cleaved-Caspase-3、8、9蛋白增加的程度均明显高于各单药组(P 值均 < 0.05)(图3、表1)。

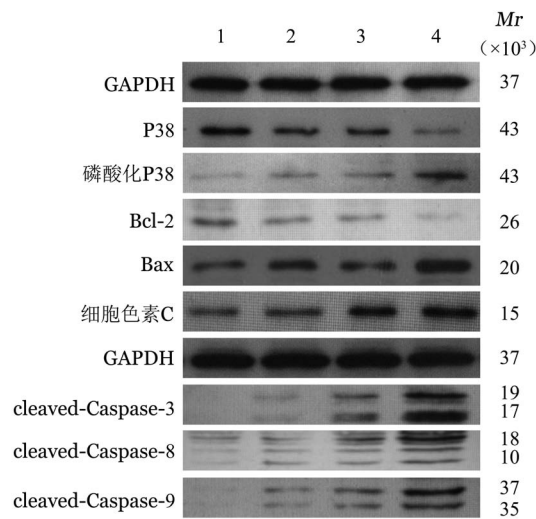
讨 论

目前尚未见沙利度胺以及IFN对Kasumi-1细胞抑制作用的实验研究。早期有学者发现沙利度胺(0.5、1.0、2.0 mmol/L)能够抑制人慢性髓性白血病急变株K562细胞增殖,并呈一定的浓度和时间

表 1 沙利度胺联合干扰素(IFN)对 Kasumi-1 细胞凋亡相关蛋白表达的影响(与 GAPDH 的灰度比值, $\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	P38	p-P38	Bcl-2	Bax	细胞色素 C	cleaved-Caspase-3	cleaved-Caspase-8	cleaved-Caspase-9
对照组	0.29±0.03	0.05±0.00	0.23±0.05	0.19±0.03	0.10±0.00	0.01±0.00	0.05±0.01	0.02±0.00
沙利度胺 350 μg/ml	0.17±0.04 ^a	0.09±0.00 ^a	0.14±0.05 ^a	0.35±0.06 ^a	0.15±0.02 ^a	0.05±0.00 ^a	0.12±0.04 ^a	0.12±0.01 ^a
IFN 1 400 U/ml	0.16±0.01 ^a	0.11±0.02 ^a	0.11±0.02 ^a	0.26±0.04 ^a	0.25±0.02 ^a	0.23±0.01 ^a	0.19±0.02 ^a	0.23±0.03 ^a
沙利度胺 350 μg/ml +IFN 1 400 U/ml	0.06±0.00 ^{ab}	0.21±0.03 ^{ab}	0.04±0.01 ^{ab}	0.69±0.02 ^{ab}	0.45±0.05 ^{ab}	0.93±0.07 ^{ab}	0.40±0.03 ^{ab}	0.65±0.05 ^{ab}

注:^a与对照组相比, $P < 0.05$; ^b与各单药组相比, $P < 0.05$



1: 对照组; 2: 350 μg/ml 沙利度胺作用组; 3: 1 400 U/ml IFN 作用组; 4: 沙利度胺联合 IFN 组

图 3 Western blot 法检测沙利度胺、干扰素(IFN)作用 48 h 对 Kasumi-1 细胞凋亡相关蛋白表达的影响

依赖性,另外能够诱导 K562 细胞凋亡并抑制其自分泌 VEGF^[6]。本实验中我们发现沙利度胺在 50 ~ 500 μg/ml 范围内亦能够浓度依赖性地抑制 Kasumi-1 细胞增殖。孙立荣等^[7]发现用不同浓度 IFN($5 \times 10^5 \sim 1 \times 10^7$ U/L)处理 48 h 能够抑制 HL-60 细胞增殖并促进其凋亡;我们用同样浓度梯度的 IFN 进行实验,发现 IFN 亦能浓度依赖性地抑制 Kasumi-1 细胞增殖。另外本研究结果显示 350 μg/ml 沙利度胺和 1 400 U/ml IFN 作用 48 h 对 Kasumi-1 细胞增殖抑制具有协同作用;为进一步探讨两者的协同作用机制,我们用 Annexin V -FITC/PI 双染法对沙利度胺、IFN 和两药联合作用前后的细胞进行流式细胞术检测,发现两药联合能够增加 Kasumi-1 细胞的凋亡率,ELISA 法检测证明其显著抑制细胞自分泌 VEGF。

Bcl-2 是一种抗凋亡蛋白, Bax 是一种促凋亡蛋

白,凋亡过程中表现为 Bcl-2 蛋白表达减少而 Bax 蛋白表达增多,从而促进细胞色素 C 的释放,进而细胞色素 C 与凋亡促进因子-1(Apaf-1)和 Caspase-9 形成复合体,使 Caspase-3 家族发生酶解级联激活^[8-9], Caspase-3 的活化是凋亡进入不可逆阶段的标志^[10]。本研究中我们发现,350 μg/ml 沙利度胺和 1 400 U/ml IFN 作用 48 h 均能够抑制 Bcl-2 的表达,并上调 Bax、细胞色素 C 及 cleaved-Caspase-3 和 cleaved-Caspase-9 的表达,而两药联合能够明显增强对上述蛋白表达的抑制或上调作用;可见沙利度胺联合 IFN 能够通过 Caspase 依赖的线粒体途径诱导 Kasumi-1 细胞凋亡。另外沙利度胺联合 IFN 亦能够明显促进 cleaved-Caspase-8 的表达,而 Caspase-8 可以通过死亡受体途径直接激活 Caspase-3,可能也参与了沙利度胺及 IFN 诱导 Kasumi-1 细胞凋亡。

Mayer 等^[11]发现 IFN 可以抑制 K562 细胞增殖,而应用 P38 通路抑制剂后 IFN 对 K562 细胞的增殖抑制作用则被逆转,说明 IFN 对 K562 细胞的增殖抑制作用由 P38MAPK 通路介导。Lu 等^[12]发现 IFN 可以通过 P38 通路抑制 JAK-2 阳性真性红细胞增多症患者骨髓或外周血中 CD34⁺细胞的增殖以及诱导其凋亡,同样发现 P38MAPK 抑制剂 SB203580 能够逆转 IFN 的增殖抑制以及促凋亡作用。本研究结果显示,1 400 U/ml IFN 作用 Kasumi-1 细胞 48 h 后 p-P38 的表达量增高, P38MAPK 通路可能亦介导了 IFN 诱导 Kasumi-1 细胞凋亡;而 350 μg/ml 沙利度胺作用 48 h 也能够上调 p-P38 表达,两者联合作用时 p-P38 的表达量进一步增高,说明两者可能通过协同活化 P38MAPK 通路进而抑制 Kasumi-1 细胞增殖以及促进其凋亡。

AML 患者血浆中高水平的 VEGF 提示预后不良^[13]。沙利度胺是一种抗新生血管生成药,能够抑制 VEGF 的产生。本实验结果显示,350 μg/ml 沙利

度胺能够抑制 Kasumi-1 细胞自分泌 VEGF, 另外 1 400 U/ml IFN 亦能够轻度抑制 VEGF 分泌, 而两者联合抑制作用进一步加强, 可能该效应参与了沙利度胺联合 IFN 对 Kasumi-1 细胞的增殖抑制作用。

前期我们用沙利度胺联合 IFN 治疗复发或难治性非霍奇金淋巴瘤取得了可观的疗效; 后来应用沙利度胺联合 IFN 为基础的方案治疗 2 例复发难治性 AML 患者, 1 例获得完全缓解, 另 1 例骨髓中白血病细胞比例由 0.486 降至 0.020, 认为沙利度胺和 IFN 在免疫调节和促进免疫细胞的活性方面具有协同作用^[14-15], 而本研究进一步显示沙利度胺和 IFN 在抑制细胞增殖、通过线粒体途径和死亡受体途径以及 P38MAPK 通路诱导细胞凋亡、抑制 VEGF 分泌方面具有协同作用, 这可能在复发难治性 AML 的治疗中具有重要意义。目前我们正在进行一项沙利度胺联合 IFN 为主的方案治疗复发难治性以及老年 AML 的多中心 III 期临床研究, 该方案可能会成为 AML 尤其是复发难治性及老年 AML 一种行之有效的治疗手段。

参考文献

- [1] Steins MB, Padró T, Bieker R, et al. Efficacy and safety of thalidomide in patients with acute myeloid leukemia[J]. *Blood*, 2002, 99(3): 834-839.
- [2] Hill NO, Pardue A, Khan A, et al. Clinical trials of human leukocyte interferon in malignancy [J]. *Tex Rep Biol Med*, 1981/1982, 41: 634-640.
- [3] Arellano ML, Langston A, Winton E, et al. Treatment of relapsed acute leukemia after allogeneic transplantation: a single center experience [J]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2007, 13(1): 116-123.
- [4] McSweeney EN, Worman CP, Tsakona CP, et al. Low-dose recombinant alfa-2a-interferon: a feasible maintenance therapy in acute myeloid leukaemia in the older patient [J]. *Acta Haematol*, 1993, 89(1): 1-5.
- [5] 艾昊, 张奕莉, 魏旭东, 等. 沙利度胺联合干扰素、IL-2 治疗复发难治急性髓系白血病二例并文献复习[J]. *中华血液学杂志*, 2014, 35(10): 954-956.
- [6] 张玉高, 韩丽英, 陈枫, 等. 不同浓度沙利度胺对 K562 细胞凋亡及血管内皮生长因子分泌的影响[J]. *华西医学*, 2011, 26(9): 1298-1302.
- [7] 孙立荣, 于宏, 庞秀英, 等. 干扰素 α -2b 对人类早幼粒白血病细胞株 HL-60 细胞的抑制增殖与促进凋亡的作用[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2007, 11(50): 10217-10220.
- [8] Cory S, Huang DC, Adams JM. The Bcl-2 family: roles in cell survival and oncogenesis [J]. *Oncogene*, 2003, 22(53): 8590-8607.
- [9] Sharpe JC, Arnould D, Youle RJ. Control of mitochondrial permeability by Bcl-2 family members [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2004, 1644(2/3): 107-113.
- [10] Cryns V, Yuan J. Protease to die for [J]. *Genes Dev*, 1998, 12(11): 1551-1570.
- [11] Mayer IA, Verma A, Grumbach IM, et al. The p38 MAPK pathway mediates the growth inhibitory effects of interferon-alpha in BCR-ABL-expressing cells [J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(30): 28570-28577.
- [12] Lu M, Zhang W, Li Y, et al. Interferon- alpha targets JAK2V617F- positive hematopoietic progenitor cells and acts through the p38 MAPK pathway [J]. *Exp Hematol*, 2010, 38(6): 472-480.
- [13] Aguayo A, Estey E, Kantarjian H, et al. Cellular vascular endothelial growth factor is a predictor of outcome in patients with acute myeloid leukemia [J]. *Blood*, 1999, 94(11): 3717-3721.
- [14] 赵慧芳, 魏旭东, 尹青松, 等. 沙利度胺联合干扰素治疗复发难治套细胞淋巴瘤二例并文献复习[J]. *中华血液学杂志*, 2012, 33(9): 776-777.
- [15] 郝芊萌, 魏旭东, 尹青松, 等. 沙利度胺联合干扰素治疗 12 例复发难治性套细胞淋巴瘤 [J]. *中华血液学杂志*, 2014, 35(11): 1013-1015.

(收稿日期: 2015-04-19)

(本文编辑: 王叶青)

更正

本刊 2015 年第 36 卷第 5 期“获得性纯红细胞再生障碍诊断与治疗中国专家共识(2015 年版)”一文第 365 页左栏第 19 行“常用剂量为泼尼松 0.5~1.0 g·kg⁻¹·d⁻¹”应为“常用剂量为泼尼松 0.5~1.0 mg·kg⁻¹·d⁻¹”, 特此更正, 并深表歉意!

本刊编辑部