

DOI:10.7499/j.issn.1008-8830.2013.08.008

论著·临床研究

69例急性白血病患者白血病干细胞CD96分子的表达及临床意义

王学梅 严媚 刘玉 海力其古丽·努尔买买提

(新疆医科大学第一附属医院儿科, 新疆 乌鲁木齐 830054)

[摘要] 目的 检测急性白血病患者白血病干细胞(LSC)的表面分子CD96的表达,并分析其临床意义。方法 分离骨髓中单个核细胞,在此基础上采用分选型流式细胞仪分离CD34⁺CD38⁻CD123⁺的LSC进行培养,采用检测型流式细胞仪检测69例初治急性白血病患者LSC表面分子CD96的表达,利用R显带技术检测69例患儿染色体核型,收集患儿血常规,检测免疫相关指标等资料。结果 CD96主要在急性髓系白血病(AML)中表达,在急性淋巴细胞白血病(ALL)中也有少量表达,二者之间的表达差异有统计学意义($P<0.05$)。维吾尔族患儿CD96的中位表达含量23.4%,汉族患儿CD96的中位表达含量21.2%,表达量在两民族之间差异无统计学意义($P>0.05$)。CD96⁺患儿多伴有预后不良的染色体核型。CD96⁺患儿初次化疗完全缓解率低于CD96⁻患儿,而化疗后感染率及复发率明显高于CD96⁻患儿,差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 急性白血病LSC表面CD96表达阳性的患儿预后欠佳,CD96分子可能是判断急性白血病预后的一个新型指标。

[中国当代儿科杂志, 2013, 15(8): 633-637]

[关键词] 急性白血病;白血病干细胞;CD96;儿童

CD96 expression on leukemia stem cells in 69 children with acute leukemia

WANG Xue-Mei, YAN Mei, LIU Yu, HAILIQIGULI Nu-Er-Mai-Mai-Ti. First Affiliated Hospital, Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, China (Yan M, Email: yan10mei25@163.com)

Abstract: Objective To detect the expression of surface molecule CD96 on stem cell (LSC) in children with acute leukemia, and to explore its clinical significance. **Methods** Bone marrow mononuclear cells were isolated in 69 children with newly diagnosed acute leukemia. CD34⁺CD38⁻CD123⁺ LSCs were separated from these cells by flow cytometry (FCM) and then cultured, and CD96 expression on LSCs was detected by FCM. R-banding technique was used to analyze the karyotypes of the 69 children, and the data of their routine blood and immunological tests were collected. **Results** CD96 was mainly expressed in children with acute myelogenous leukemia, and expressed to a lesser extent in those with acute lymphoblastic leukemia ($P<0.05$). The median expression level of CD96 in Uyghur children was 23.4%, versus 21.2% in Han children ($P>0.05$). The majority of children with CD96-positive children presented poor-prognosis karyotypes. Compared with CD96-negative children, children with CD96-positive children had a significantly lower complete remission rate ($P<0.05$) and significantly higher infection and relapse rates after chemotherapy ($P<0.05$). **Conclusions** Children with acute leukemia who have CD96-positive LSCs have a poor prognosis. CD96 may be a new indicator of prognosis in children with acute leukemia.

[Chin J Contemp Pediatr, 2013, 15(8): 633-637]

Key words: Acute leukemia; Leukemia stem cell; CD96; Child

白血病是造血过程中某一阶段细胞恶性增生的单克隆性异质性疾病,在儿童恶性肿瘤中发病率最高,据统计世界各地儿童年发病率在2~5人/10万人,我国为3~4人/10万人。白血病

的预后较差,病死率高,故引起学术界的高度重视。因此研究白血病靶向治疗的新药是当前研究热点之一。大量研究表明,白血病患者体内存在极微量的白血病干细胞(leukemia stem cell, LSC),常

[收稿日期] 2012-11-26; [修回日期] 2013-01-15

[基金项目] 新疆医科大学研究生创新基金项目(基金编号: MC2010-5)。

[作者简介] 王学梅,女,硕士研究生。

[通信作者] 严媚,副教授。

对化疗药物不敏感,是造成白血病患者耐药和复发的根源^[1]。近年来,随着对LSC生物学特性研究的深入,许多学者认为只有清除LSC才能根治白血病^[2]。但是,目前能确认LSC的特异性表面标志物较少,其中CD123和CD96是近年研究较多的LSC表面标志物,如CD34⁺CD38⁻CD123⁺被公认为是LSC表面标志物,同时Hosen等^[3]研究发现CD34⁺CD38⁻CD96⁺白血病细胞也可以在免疫缺陷小鼠体内植活,证实CD96是LSC的表面标志物。此外,朱海波等^[4]的研究认为CD96的表达与成人白血病的预后相关。本研究中根据CD34⁺CD38⁻CD123⁺的表面标记筛选出LSC,采用检测型流式细胞仪检测其表面标志物CD96,并对其与急性白血病疗效和预后的关系进行分析,以期对LSC表面分子的靶向治疗提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 研究对象

选取2010年10月至2011年11月初次就诊于我院的汉族白血病患儿34例,维吾尔族白血病患儿35例为研究对象。其中急性淋巴细胞白血病(acute myelogenous leukemia, ALL)34例(19例B-ALL1,15例T-ALL),包括汉族患儿20例,维吾尔族患儿14例;急性髓系白血病(acute lymphoblastic leukemia, AML)35例(9例M2a,4例M2b,5例M3,5例M4,3例M4Eo,7例M5,2例M6),包括汉族患儿14例,维吾尔族患儿21例。患儿年龄为1个月到14岁,中位年龄8岁。首先通过体征、症状等临床表现,血常规及生化等实验室检查确定高度怀疑白血病的患儿;再根据骨髓细胞形态学、组织化学、流式细胞术免疫分型和遗传分子生物学(MICM分型)等手段综合诊断为急性白血病,并检测白血病患儿的LSC上CD96的表达情况。

1.2 实验材料

分选型流式细胞分析仪(Becman Culter Elite, Becman公司)、CO₂培养箱(3110, Forma公司)、荧光倒置相差显微镜(TE300, Nikon公司)、检测型流式细胞仪(Becman Culter Epics, Becma公司);CD34、CD38、CD96和CD123等荧光标记抗体为美国BD公司产品;CD96单抗购自美国PharMingen公司;L-DMEM培养基和胎牛血清为Gibco公司产品;Ficoll淋巴细胞分离液为中国医学科学院生物工程研究所产品;R显带剂和PBS是Gibco公司产品。

1.3 实验方法

1.3.1 骨髓单个核细胞的分离 初诊时,无菌性抽取患者骨髓,4 h内用等量PBS稀释,采用Ficoll淋巴细胞分离液离心,离心后混悬液分成3层,分别是第一层血清层(蛋清样透明)、第二层单个核细胞层(较薄的云雾状)和第三层其他血液成分,用移液管慢慢取出单个核细胞层,用4℃ PBS洗涤后再次离心。离心后采用含10%胎牛血清的L-DMEM培养基重悬,接种于培养瓶中,置37℃含5% CO₂培养箱中培养。

1.3.2 LSC的分选 分离的单核细胞用分选型流式细胞仪分选LSC,分选的具体操作如下:单个核细胞调成约 $1.5 \times 10^6/\text{mL}$,PBS洗涤后,加入荧光标记的CD34、CD38和CD123抗体,4℃置30 min, PBS洗涤离心,重悬后上机进行高速分选。

1.3.3 检测LSC CD96的表达 收集的CD34⁺CD38⁻CD123⁺LSC约 1×10^6 ,分为数管, PBS洗涤,其中一管加入FITC-IgG1和PE-IgG1作为阴性对照,其余管加入荧光标记的CD34和CD96抗体,4℃置30 min, PBS洗涤离心, PBS重悬,上机检测CD96,以 $\geq 1\%$ 为表达阳性。

1.4 治疗方法、预后判断标准

1.4.1 治疗方法 两组同种类型疾病化疗方案相同,治疗方案依据2004年全国小儿血液病学术会议制定的《小儿急性髓细胞白血病诊疗建议(讨论稿)》^[5]以及2006年的《儿童急性淋巴细胞白血病诊疗建议(修订草案)》^[6]。

1.4.2 疗效评定标准 完全缓解判定标准依据2006年的《儿童急性淋巴细胞白血病诊疗建议(修订草案)》^[6]和1978年全国白血病防治研究协作会议^[7]制定的完全缓解标准。完全缓解:临床症状消失,生活正常或接近正常;外周血象Hb $\geq 110 \text{ g/L}$ (男)或 $\geq 100 \text{ g/L}$ (女),中性粒细胞绝对值 $\geq 1.5 \times 10^9/\text{L}$, PLT $>100 \times 10^9/\text{L}$,外周血分类无白血病细胞;骨髓象原+幼稚淋巴细胞 $<5\%$,红细胞和巨核细胞系列正常。部分缓解:骨髓象原+幼稚淋巴细胞 $<5\% \sim 20\%$;或临床症状、外周血象中有一项未达完全缓解者。未缓解:未达部分缓解者。

1.5 白血病高危患儿判别标准

具备以下任何1项或多项者即为高危ALL患儿^[6]:(1)年龄 <12 个月的婴儿白血病;(2)诊断时外周血白细胞计数 $\geq 100 \times 10^9/\text{L}$;(3)染色体核型为t(9;22),有BCR-ABL融合基因,t(4;11),有MLL-AF4融合基因;(4)早期治疗反应不佳者;(5)初治诱导缓解治疗失败。具备以下任何1项

或多项者即为高危 AML 患儿^[8]：(1) 发病时年龄 >10 岁；(2) 白细胞数量 $>50 \times 10^9/L$ ；(3) FAB 分型是 M0、M6 和无 t(1;22) 的 M7，具有 -5、-7 del(5q)、3q 异常、复杂核型和 FLT3 等细胞遗传学特征；(4) 初次诱导治疗第 15 天肿瘤细胞 >15% 或第二疗程后未缓解；(5) 初次诱导治疗后 FCM 检测微小残留病变 (MRD) >5%；(6) 第二次诱导治疗后 MRD >1%。

1.6 统计学分析

采用 SPSS 17.0 统计软件对数据进行统计学分析，计量资料采用均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示，组间均数比较采用 *t* 检验；计数资料采用百分率表示，组间比较采用卡方检验， $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CD96 的表达

69 例白血病患者中 ALL 患儿 34 例，CD96⁺ 为 7 例 (21%)，其中汉族患儿 5 例，维吾尔族患儿 2 例。35 例 AML 患儿中有 25 例 CD96⁺ (71%)，其中汉族患儿 9 例，维吾尔族患儿 16 例。32 例 CD96⁺ 患儿 CD96 的中位表达含量为 22.6%。37 例 CD96⁻ 患儿 CD96 的中位表达含量为 2.7%。ALL 与 AML 之间 CD96 的表达差异有统计学意义 (均 $P < 0.01$ ，表 1)；但 ALL 及 AML 患儿 CD96 的表达不存在民族差异 ($P > 0.05$)。与此同时，所有患儿在 ALL 和 AML 的发生率方面亦不存在民族差异 ($P > 0.05$)。32 例 CD96⁺ 患儿中，维吾尔族患儿 18 例，汉族患儿 14 例，37 例 CD96⁻ 患儿中维吾尔族患儿 17 例，汉族患儿 20 例，维汉患儿 CD96 的表达差异无统计学意义 (表 1， $P > 0.05$)。维吾尔族患儿 CD96 的中位表达含量为 23.4%，汉族患儿 CD96 的中位表达含量为 21.2%，两者间差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

2.2 CD96 分子表达与患儿入院时一般情况及实验室检查结果的关系

CD96⁺ 患儿入院时高危患儿发生率为 47%，CD96⁻ 患儿入院时高危患儿发生率为 30%，CD96⁺ 患儿高危发生率高于 CD96⁻ 患儿，但差异无统计学意义 ($\chi^2 = 2.148$ ， $P = 0.143$)。32 例 CD96⁺ 患儿中有 7 例患儿因入院时一般情况差和病情危重无法接受化疗死亡；37 例 CD96⁻ 患儿中有 9 例患儿因初诊时自身条件不允许未接受化疗死亡，两组间初诊后未化疗病死率差异无统计学意义

($P > 0.05$)。其余 53 名患儿均按标准方案进行诱导缓解治疗。同时初诊时 CD96⁺ 与 CD96⁻ 患儿的白细胞、血红蛋白及血小板含量，以及体液免疫、细胞免疫和 1,25-(OH)₂VitD 含量差异无统计学意义 (均 $P > 0.05$)。

2.3 CD96 分子表达与分子生物学的关系

检测白血病患者多种融合基因的表达情况发现，32 例 CD96⁺ 的急性白血病患者共 4 例检出融合基因，其中 2 例伴 AML1/ETO，1 例伴 PML/RAR α ，2 例伴 E2A/PBX1 融合基因阳性。而 CD96⁻ 的 37 例急性白血病患者共 7 例检出融合基因，其中有 4 例伴 AML1/ETO，5 例伴 BCR/ABL 融合基因阳性，伴 MLL-AF4、PML/RAR α 融合基因阳性的各 1 例。两组间融合基因发生率差异无统计学意义 ($\chi^2 = 0.528$ ， $P = 0.468$)。

2.4 CD96 分子表达与细胞遗传学的关系

34 例 ALL 患儿中发现 5 例 t(12;21)，7 例 t(9;22)，3 例亚二倍体，其余 19 例未发现染色体核型异常，35 例 AML 患儿中发现 4 例 t(8;21)，2 例亚二倍体及 1 例假二倍体，其余 28 例未发现染色体核型异常，其中提示预后良好的染色体核型有 t(12;21)^[9-10]、t(8;21)^[11]、假二倍体^[12]；提示预后不良的染色体核型有 t(9;22)^[13] 和亚二倍体^[14]。CD96⁻ 患儿中伴有预后良好染色体核型的有 8 例，其中包括 4 例 t(12;21)、3 例 t(8;21) 及 1 例假二倍体；而伴有预后不良染色体核型的有 3 例，包括 2 例 t(9;22) 和 1 例亚二倍体；伴有预后良好的染色体核型仅 2 例在 CD96⁺ 组中可见，即 1 例 t(12;21) 和 1 例 t(8;21)，而伴有预后不良的染色体核型有 9 例在 CD96⁺ 组。提示 CD96⁻ 患儿多伴有预后良好染色体核型，而 CD96⁺ 患儿多伴有预后不良的染色体核型，CD96⁺ 患儿预后可能欠佳。

2.5 CD96 与化疗后骨髓抑制的关系

25 例 CD96⁺ 患儿接受了化疗，在化疗过程中伴有感染的患儿有 16 例，感染率为 64%；28 例 CD96⁻ 患儿接受化疗后因粒细胞缺乏伴有感染的 7 例，感染率为 26%，两者比较差异有统计学意义 ($\chi^2 = 7.629$ ， $P = 0.006$)。CD96⁺ 患儿化疗后骨髓抑制最明显时白细胞的量为 $(1.6 \pm 1.2) \times 10^9/L$ ，中性粒细胞的量为 $(0.35 \pm 0.12) \times 10^9/L$ ；而 CD96⁻ 患儿骨髓抑制期白细胞的量为 $(1.0 \pm 0.6) \times 10^9/L$ ，中性粒细胞的量为 $(0.41 \pm 0.09) \times 10^9/L$ 。CD96⁺ 与 CD96⁻ 患儿在骨髓抑制期白细胞及中性粒细胞含量相比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)，但化疗

后感染率增高,提示CD96⁺表达可能提示预后不良。

2.6 CD96 的表达与预后

共53例患儿进行化疗治疗。初次化疗结束后,25例CD96⁺患儿(完全或部分)缓解率为44%;28例CD96⁻患儿(完全或部分)缓解率为82%,差异有统计学意义($P=0.004$)。29例患儿诱导缓解期结束后复发,其中CD96⁺患儿19例,CD96⁻患儿10例,差异有统计学意义($P<0.05$)。同时9例患儿化疗过程中出现髓外浸润,其中CD96⁺患儿7例,CD96⁻患儿2例,差异有统计学意义($P<0.05$)。CD96⁺白血病患者复发率明显高于CD96⁻患儿,提示CD96表达可能与白血病复发相关。见表2。

表1 CD96 在不同类型白血病及不同民族白血病患者中的表达情况 [例(%)]

	例数	CD96 ⁺	CD96 ⁻	χ^2 值	P 值
白血病					
ALL	34	7(21)	27(79)	17.925	<0.001
AML	35	25(71)	10(29)		
民族					
维吾尔族	35	18(51)	17(49)	0.729	0.393
汉族	34	14(41)	20(49)		

表2 CD96 与白血病预后的关系 [例(%)]

组别	例数	首次化疗缓解	化疗后复发	髓外浸润
CD96 ⁺	25	11(44)	19(76)	7(25)
CD96 ⁻	28	23(82)	10(36)	2(7)
χ^2 值		8.355	8.651	4.076
P 值		0.004	0.030	0.044

3 讨论

白血病是造血发育过程中某一阶段细胞恶性增生的单克隆性异质性疾病。十年前通过异种移植模型首次在AML中发现肿瘤干细胞^[15-16],从此肿瘤干细胞在各种实体肿瘤中被发现,但在某些恶性肿瘤中仍然有争议^[17-18]。大量研究表明,白血病患者体内存在一群极微量的细胞群,约占所有白血病细胞0.1%~1%,这些细胞通常对化疗药物不敏感,是导致白血病复发的罪魁祸首,无论在长期的细胞培养中还是动物模型体内它们都能引起并维持白血病,这群白血病细胞被称为LSC。LSC通常对化疗药物不敏感,是造成白血病患者耐药和复发的根源^[1],因此只有清除LSC才有可能根治白血病。

CD96亦称Tactile,是Ig基因超家族成员,人们最初发现CD96表达于活化的T细胞上,随后发

现CD96也表达于自然杀伤细胞上,但一般不表达于B细胞、粒细胞、单核细胞和红细胞^[19]。2007年,Hosen等^[3]为识别特异表达于AML中LSC的表型,应用信号序列捕获聚合酶链反应分析纯化后的CD34⁺/CD38⁻的AML细胞,结果发现60%的患者的AML细胞表达CD96,且其表达水平比正常骨髓造血干细胞(hematopoietic stem cell, HSC)高202~570倍,同时AML患者CD34⁺的祖细胞群中高度表达CD96,而CD34⁻的非祖细胞群中不表达或低表达CD96。根据AML的分型诊断标准亚型分组,M2型白血病CD96表达水平明显比M0/M1或M4/M5的表达水平高。而且CD96⁺的AML细胞可以在免疫缺陷鼠体内植活,然而CD96⁻的AML细胞却不能。

研究发现,CD96分子在不同类型的急性白血病中均有不同程度表达,CD96主要在AML中表达,但在部分ALL患儿中也有表达。目前有关儿童白血病CD96表达的研究国内外很少见,关于CD96在不同种族、民族之间的表达是否差异尚不明确,

本研究检测了CD96在急性白血病患者LSC中的表达,尚未发现维汉患儿CD96的表达及表达量存在差异。但研究过程中发现CD96⁺患儿初诊时一般情况较差,治疗过程中死亡率较高、化疗后缓解率低、但感染率和复发率高,提示CD96分子阳性表达可能与儿童白血病预后有关。故可以认为CD96可能是判断急性白血病预后的相关指标。

目前已有一部分针对LSC的靶向治疗,如选择CD123分子进行相关治疗,CD123是CD34⁺/CD38⁺AML-LSCs的独特标记,仅表达于LSC,不表达于正常HSC。特异性作用于CD123的制剂,既可杀灭LSC又不影响HSC^[20]。而针对LSC特异性单克隆抗体CD33并在单克隆抗体上结合利托霉素可以有效杀伤LSC^[21]。CD96属于免疫球蛋白超家族成员,为单次跨膜的膜蛋白,胞膜外区包含3个免疫球蛋白样结构域。NK细胞可通过CD96识别PVR(CD155),促进NK细胞对表达CD155阳性靶细胞的黏附介导NK细胞对靶细胞表面上CD155的内化作用,参与NK细胞的杀伤功能^[22]。目前已研制出多种针对LSC膜表面抗原的药物,在人体外试验中,很多药物显示出对LSC的良好疗效,而对正常细胞的影响较小,使临床应用成为可能,部分药物已经进入临床试验阶段,显示出良好的疗效。因此对CD96的进一步研究,可能会为将来靶向治疗药物的研发及治疗白血病同时着力发现新的靶点为白血病的治疗研究开辟新的道路。

【参考文献】

- [1] Cox CV, Evely RS, Oakhill A, Pamphilon DH, Goulden NJ, Blair A, et al. Characterization of acute lymphoblastic leukemia progenitor cells[J]. *Blood*, 2004, 104(9): 2919-2925.
- [2] 张丽, 梁英民. 白血病干细胞的分子调控[J]. *现代生物医学进展*, 2009, 9(10): 1998-2001.
- [3] Hosen N, Park CY, Tatsumi N, Oji Y, Suqiyama H, Gramatzki M, et al. CD96 is a leukemic stem cell-specific marker in human acute myeloid leukemia[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(26): 11008-11013.
- [4] 朱海波, 赵明峰, 李玉明, 谢芳, 江燕, 徐新女, 等. 白血病干细胞免疫表型与急性白血病疗效及预后的关系[J]. *中华血液学杂志*, 2012, 33(1): 58-60.
- [5] 中华医学会儿科学分会血液学组, 中华儿科杂志编委会. 小儿急性髓细胞白血病诊疗建议(讨论稿). 2004年全国小儿血液病学术会议, 2004, 230-233.
- [6] 中华医学会儿科学分会血液学组, 中华儿科杂志编委会. 儿童急性淋巴细胞白血病诊疗建议(第三次修订草案)[J]. *中华儿科杂志*, 2006, 44(5): 392-395.
- [7] 全国白血病防治研究协作会. 全国白血病防治研究协作会议情况[J]. *医学研究杂志*, 1979, 1: 30-35.
- [8] Kaspers GJ, Zwaan CM. Pediatric acute myeloid leukemia: towards high-quality cure all patients[J]. *Haematologica*, 2007, 92(11): 1519-1523.
- [9] Maloney K, McGavran L, Murphy J, Odom L, Stork L, Wei Q, et al. TEL-AML1 fusin identified a subset of children with standard first acute lymphoblastic leukemia who have an excellent prognosis when treated with therapy that includes a single delayed intensification[J]. *Leukemia*, 1999, 13(11): 1708-1772.
- [10] Ramakers-van Woerden NL, Pieters R, Loonen AH, Hubeek I, van Drunen E, Beverloo HB, et al. TEL/AML-1 gene fusion is related to in vitro drug sensitivity for L-asparaginase in childhood acute lymphoblastic leukemia[J]. *Blood*, 2000, 96(3): 1094-1099.
- [11] Byrd JC, Dodge RK, Carroll A, Baer MR, Edwards C, Stamberg J, et al. Patients with t(8;21)(q22;q22) and acute myeloid leukemia have superior failure free and overall survival when repetitive cycles of high-dose cytarabine are administered[J]. *Clin Oncol*, 1999, 17(12): 3767-3775.
- [12] 何军, 薛永权, 何亚香, 何海龙, 周剑彪, 黄益萍, 等. 160例急性淋巴细胞白血病MICM分型及其治疗和预后相关性研究[J]. *中华儿科杂志*, 2002, 40(3): 152-156.
- [13] Aricò M, Valsecchi MG, Camitta B, Schrappe M, Chessells J, Baruchel A, et al. Outcome of treatment in children with Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia[J]. *N Engl J Med*, 2000, 342(14): 998-1006.
- [14] Pui CH, Carroll AJ, Raimondi SC, Land VJ, Crist WM, Shuster JJ, et al. Clinical presentation, karyotypic characterization, and treatment outcome of childhood acutelymphoblastic leukemia with a near-haploid or hypodiploid less than 45 line[J]. *Blood*, 1990, 75(5): 1170-1177.
- [15] Lapidot T, Sirard C, Vormoor J, Murdoch B, Hovav T, Caceres-Cortes J, et al. A cell initiating human acute myeloid leukemia after transplantation into SCID mice[J]. *Nature*, 1994, 367(6464): 645-648.
- [16] O'Brien CA, Kreso A, Jamieson CH. Cancer stem cells and self-renewal[J]. *Clin Cancer Res*, 2010, 16(12): 3113-3120.
- [17] Quintana E, Shackleton M, Sabel MS, Fullen DR, Johnson TM, Morrison SJ. Efficient tumour formation by single human melanoma cells[J]. *Nature*, 2008, 456(7222): 593-598.
- [18] Quintana E, Shackleton M, Foster HR, Fullen DR, Sabel MS, Johnson TM, et al. Phenotypic heterogeneity among tumorigenic melanoma cells from patients that is reversible and not hierarchically organized[J]. *Cancer Cell*, 2010, 18(5): 510-512.
- [19] Seth S, Maier MK, Qiu Q, Ravens I, Kremmer E, Forster R, et al. The murine pan T cell marker CD96 is an adhesion receptor for CD155 and nectin-1[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, 364(4): 959-965.
- [20] Lock RB, Jin L, Lee EM. CD123 (IL-3 Receptor Chain) neutralization by a monoclonal antibody selectively eliminates human acute myeloid leukemic stem cells[J]. *Blood*, 2007, 110: 161.
- [21] Hamann PR, Hinman LM, Hollander I, Beyer CF, Lindh D, Holcomb R, et al. Gemtuzumab ozogamicin, a potent and selective anti-CD33 antibody-calicheamicin conjugate for treatment of acute myeloid leukemia[J]. *Bioconjug Chem*, 2002, 13(1): 47-58.
- [22] Fuchs A, Cella M, Giurisato E, Shaw AS, Colonna M. Cutting edge: CD96 (tactile) promotes NK cell target cell adhesion by interacting with the poliovirus receptor (CD155)[J]. *J Immunol*, 2004, 172(7): 3994-3998.

(本文编辑: 周勇)