

论著 · 实验研究

左旋门冬酰胺酶抗白血病作用 与胞周 Asn 水平的关系

李本尚 罗长缨 何映谊 江华 顾龙君

(上海交通大学医学院附属上海儿童医学中心血液肿瘤科,上海 200127)

[摘要] **目的** 通过检测左旋门冬酰胺酶(L-Asp)处理后培养基中4种氨基酸(Asn、Aspa、Glu和Gln)水平的改变,初步探讨L-Asp的抗白血病作用机制。**方法** 用CCK-8试剂盒检测L-Asp对8种常见血液系统恶性肿瘤细胞株(U937, HL-60, Jurkat, NB4, THP-1, Namalwa, Karpass299, K562)的增殖抑制作用(IC50);高压液相色谱(HPLC)检测培养基中上述4种氨基酸水平的变化。**结果** L-Asp在0.01 U/mL作用4 h或1 U/mL作用5 h就可以达到培养基中氨基酸水平的耗竭。但不同血液系统恶性肿瘤细胞对L-Asp的敏感性存在显著差异,最为敏感的细胞株为U937,而Karpass299和K562天然耐药。各种细胞株对L-Asp的敏感性存在明显的剂量效应关系,在较低的药物浓度下,细胞的增殖抑制率处于较低的水平,而药物浓度增加后,细胞的增殖抑制率明显升高。**结论** 耗竭Asn并非L-Asp发挥作用的有用指标,不同肿瘤对L-Asp的敏感性存在于细胞内部对这种氨基酸缺乏的反应性。L-Asp耗竭Asn只是其发挥作用的前提条件,L-Asp的抗白血病作用与其剂量存在量效关系,因此临床上使用较大剂量L-Asp治疗儿童急性淋巴细胞白血病非常重要。 [中国当代儿科杂志,2010,12(7):557-562]

[关键词] 左旋门冬酰胺酶;白血病;门冬氨酸;细胞株
[中图分类号] R733.4;R730.53 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-8830(2010)07-0557-06

Relationship between the antileukemic activity of L-asparaginase and Asn level around leukemic cells

LI Ben-Shang, LUO Chang-Ying, HE Ying-Yi, JIANG Hua, GU Long-Jun. Department of Hematology/ Oncology, Shanghai Children's Medical Center, Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai 200127, China (Gu L-J, Email: ljguscmc@hotmail.com)

Abstract: Objective To study the antileukemic activity of L-asparaginase through determining the changes of 4 kinds of amino acids (Asn, Aspa, Glu and Gln) in cell culture medium. **Methods** Following L-Asp treatment with designed concentrations and duration, the IC50 (inhibitory concentration 50%) of 8 kinds of common leukemia cell lines (U937, HL-60, Jurkat, NB4, THP-1, Namalwa, Karpass299, K562) were determined by CCK-8 assay. The changes of the 4 kinds of amino acids mentioned above were detected by high performance liquid chromatography (HPLC). **Results** The asparagines in cell culture medium were rapidly exhausted when treated with 0.01 U/mL L-Asp for 4 hrs or 1 U/mL L-Asp for 5 minutes. There were significant differences in the sensitivities to L-Asp of different leukemia cell lines. The sensitivities to L-Asp of various cell lines were dose-dependent. Low concentration of L-Asp resulted in a low IC50 and the IC50 increased following the L-Asp concentration increased. **Conclusions** Different leukemia cell lines have different sensitivities to L-Asp, suggesting that exhaustion of asparagines around leukemia cells could not reflect the treatment efficacy of L-Asp. L-Asp antileukemic activity is dose-dependent, which suggests the importance of high-dose L-Asp on childhood acute lymphoblastic leukemia. [Chin J Contemp Pediatr, 2010, 12 (7):557-562]

Key words: L-asparaginase; Leukemia; Asn; Cell line

自半个多世纪前人们首次发现左旋门冬酰胺酶(L-asparaginase, L-Asp)的抗肿瘤作用以来,已被广泛用于临床上对多种肿瘤性疾病的治疗,特别是恶性淋巴系增生性疾病如急性淋巴细胞性白血病(ALL)和非霍奇金淋巴瘤(NHL)等,使患者的完全缓解率和长期无病生存率得以显著提高^[1-3]。研究者普遍认为,L-Asp能特异性催化门冬酰胺(Asn)分解为门冬氨酸(Aspa)和氨,导致血浆中Asn耗竭,

[收稿日期]2009-12-24;[修回日期]2010-02-04
[基金项目]国家自然科学基金资助项目(基金编号:30672271);雅培—儿童临床营养指南与研究专项基金项目资助(基金编号:SCMC-YP-HOPE-KY0903)。
[作者简介]李本尚,男,博士,主治医师。
[通信作者]顾龙君,教授。

正常细胞内由于存在足够的门冬酰胺合成酶(asparagine synthetase, AsnS)活性,能催化Aspa再合成Asn,从而保证细胞内蛋白质生物合成不受影响。但在某些肿瘤,特别是ALL和NHL的肿瘤细胞,由于其AsnS活性比正常细胞低,故不能提供细胞所需的足够的Asn,而必须依赖细胞外Asn的供应,当细胞外Asn缺乏时,其蛋白质生物合成严重受损,导致DNA和RNA合成被抑制,最终细胞功能受到损害,细胞死亡。细胞内AsnS为谷氨酰胺(glutamine, Gln)依赖性的,即其发挥作用时需要分解Gln产生氨,用于合成Asn的底物。作为AsnS发挥作用的另外一个底物,Aspa不能通过跨膜吸收,即不能通过吸收胞外Asn分解产生的Aspa,而是来自于细胞内的氨基酸池^[5]。另外,L-Asp还具有部分谷氨酰胺酶(glutaminase, GA)作用,能分解细胞外Gln成为谷氨酸(glutamic acid, Glu)和氨,使细胞内外Gln浓度产生巨大差异,细胞内Gln外移并被快速分解,最终导致细胞内Gln显著降低,同样造成蛋白质合成障碍,细胞趋于凋亡^[4-5]。无论何种途径,导致蛋白质合成障碍是L-Asp发挥作用的潜在靶点^[6]。本研究就L-Asp处理后4种氨基酸水平的改变和L-Asp对不同血液系统恶性肿瘤细胞株的增殖抑制作用进行了初步探讨。

1 材料与方法

1.1 材料

人B细胞白血病细胞株 Namalwa,人B细胞淋巴瘤细胞株 Karpas299,人T细胞白血病细胞株 Jurkat,人髓系白血病细胞株 U937 和 HL-60,人急性早幼粒细胞白血病细胞株 NB4,人单核细胞白血病细胞株 THP-1 和人慢性粒细胞白血病细胞株 K562等8种细胞株由上海儿童医学中心血液肿瘤科实验室冻存。于含10%胎牛血清的RPMI 1640培养液中,37°C,5%CO₂培养箱内常规传代培养;RPMI1640培养基、胎牛血清购自GIBCO公司;CCK-8试剂盒购自日本同仁化学研究所;L-Asp购自日本协和发酵工业株式会社(10 000 U/支);4种氨基酸标准品、甲醇和邻苯二甲醛(O-Phthaldehyde, OPA)均购自Sigma公司;β-巯基乙醇购自Amresco公司;96孔培养板购自美国Corning公司;硼酸、乙酸钾购自上海化学试剂有限公司;HPLC为美国惠普公司产品,型号为HP1100,其中荧光检测仪(FLD)型号为G2321A;色谱分离柱为Diamond C18柱(254 cm, 5 μm),购自Diamond公司。

1.2 细胞增殖抑制实验

1.2.1 标准曲线的制作 取处于指数增殖期的细胞,按照不同的细胞密度接种于96孔板中,细胞密度分别为1 000、2 000、5 000、10 000、20 000、50 000和100 000。细胞在96孔板中培养24 h后按照试剂盒的说明,每孔加入10 L的CCK-8,继续在37°C、5%CO₂培养箱中培养4 h,然后通过紫外可变波长检测仪进行450 nm和650 nm的双波长检测,同时设置空白对照。每个细胞密度设置3复管,并重复3次,绘制细胞增殖标准曲线。为防止培养过程中培养基的损失,96孔板周围36孔加入培养基,但不进行实验。

1.2.2 细胞生长IC₅₀的测定 取处于指数增殖期的细胞按照10⁵/mL接种于96孔培养板,每孔接种100 L。设置空白对照和阴性对照,每个剂量和对照均设3复孔。空白对照为只加入培养基,不含细胞,其他同实验组;阴性对照为含有培养基和细胞,不进行药物处理,其他同实验组。细胞在96孔板中培养24 h后每孔加入1/10体积的10×L-Asp处理。空白对照和阴性对照孔中加入等体积的培养基。加药处理24 h和48 h后重复上述方法的检测。细胞增殖抑制率计算公式:细胞抑制率=(1-实验组A值/对照组A值)×100%,以横坐标为时间,纵坐标为抑制率,绘制细胞生长抑制曲线,计算IC₅₀值。

1.3 HPLC氨基酸浓度测定

1.3.1 试剂配置 1 mmol氨基酸标准品 分别称取上述4种氨基酸0.1 mmol用0.01 M HCl稀释至100 mL,配置成终浓度为1 mmol溶液,Gln临用前现配。OPA使用液:称取0.1 mmol(0.0134 g)OPA加0.5 mL无水乙醇,再加0.5 mL β-巯基乙醇,用0.4 M硼酸(pH=10.4)稀释至10 mL并混匀,临用前现配。

1.3.2 色谱条件 流动相为0.05 M乙酸钾(pH=5.9)和甲醇。HPL-FLD检测过程中流动相组成为:0 min,10 min和30 min时的流动相:乙酸钾80%,甲醇20%;20 min时的流动相:乙酸钾20%,甲醇80%,流速为1.0 mL/min。激发波长(Ex)为336 nm,发射波长(Em)为450 nm。

1.3.3 标准曲线的制作 取上述4种氨基酸标准品倍比稀释,然后各取100 L加600 L双蒸水稀释,从中取100 L稀释液加200 L OPA使用液混合反应2 min,取20 L反应液进样,在HPLC-FLD检测各待测血浆中相关氨基酸浓度,每个样品检测流程为30 min。分别计算每种氨基酸的线形相关系数。

1.3.4 培养基中氨基酸浓度测定 取新鲜配置

的培养基 (RPMI1640 + 10% FBS), 分别加入 0.001 U/mL、0.01 U/mL 和 0.1 U/mL 的 L-Asp 进行反应, 于设定时间 (0 min、5 min、30 min、60 min、120 min、180 min、240 min、360 min 和 480 min) 取 100 L 加入 900 L 双蒸水稀释, 然后取 100 L 稀释液加入到 200 L OPA 使用液中反应 2 min, 取 20 L 进样检测。

1.4 统计学处理

细胞增殖抑制率根据各组测得的数据, 建立回归方程, 由回归方程求得相应的 IC50 值, 对每组增殖抑制率的情况进行统计学分析。根据氨基酸标准品的 HPLC 检测结果分别计算每种氨基酸的线形关

系, 根据色谱图中相应氨基酸曲线下面积确定 L-Asp 处理培养基不同时间氨基酸浓度的改变。

2 结果

2.1 细胞增殖标准曲线

用 CCK-8 试剂盒检测 8 种细胞株的细胞数目同 450 nm 和 650 nm 双波长吸光度关系, 8 种细胞株的细胞增殖数目同 OD 450 的检测值均成直线关系, R² 数均大于 0.95, 从而使用 CCK-8 试剂盒可以比较准确地反映细胞接受药物处理后的增殖抑制程度。见图 1。

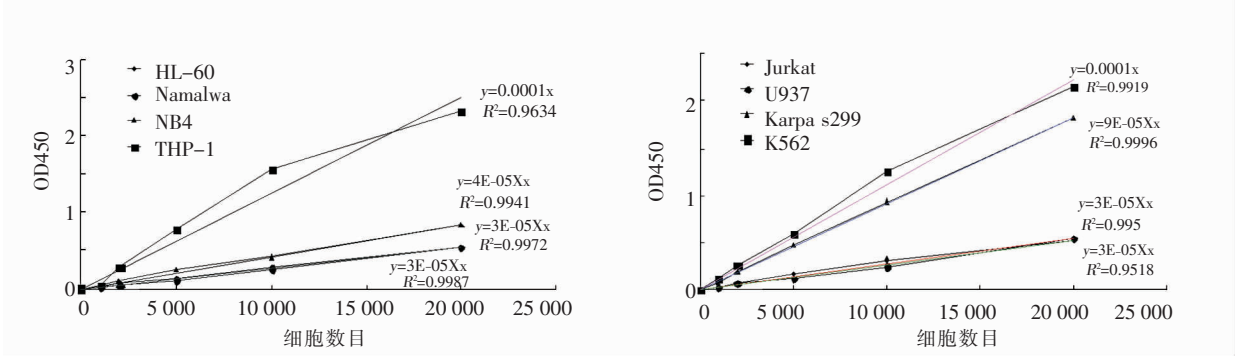


图 1 细胞数目与吸光度关系标准曲线

2.2 细胞增殖抑制率

上述 8 种细胞株对 L-Asp 的敏感性差异很大, 最为敏感的细胞株为 U937, HL-60、Jurkat 和 NB4 细胞株较为敏感, THP-1 和 Namalwa 细胞相对敏感, 而 Karpas299 和 K562 细胞天然耐药。不同细胞株对 L-Asp 的敏感性存在明显的剂量效应关系, 在较低的药物浓度下, 细胞的增殖抑制率处于较低的水

平, 而超过某药物浓度, 细胞的增殖抑制率明显升高, 这种趋势在 U937 细胞中最为明显, 0.001 U/mL 的 L-Asp 作用 48 h 后的增殖抑制率为 4.41%, 而使用 0.01 U/mL 的药物处理 48 h, 其增值抑制率迅速升高到 77.65%, 药物浓度再升高, 增殖抑制率升高不明显。表 1 列出了 8 种细胞株经不同剂量的 L-Asp 处理 24 h 和 48 h 后细胞的增殖抑制率。

表 1 8 种细胞株经不同剂量的 L-Asp 处理 24 h 和 48 h 后细胞的增殖抑制率 (x̄ ± s)

细胞株	时间	0.001 U/mL	0.01 U/mL	0.1 U/mL	1 U/mL	10 U/mL	100 U/mL
U937	24 h	-	-	0.492 ± 0.066	0.610 ± 0.019	0.690 ± 0.031	-
	48 h	0.044 ± 0.035	0.776 ± 0.117	0.733 ± 0.068	0.780 ± 0.097	-	-
HL-60	24 h	-	-	0.299 ± 0.068	0.740 ± 0.031	0.849 ± 0.016	-
	48 h	-	-	0.476 ± 0.095	0.800 ± 0.190	0.842 ± 0.174	-
Jurkat	24 h	-	-	0.316 ± 0.232	0.557 ± 0.195	0.674 ± 0.150	-
	48 h	-	-	0.402 ± 0.160	0.742 ± 0.109	0.808 ± 0.119	-
NB4	24 h	-	-	0.224 ± 0.037	0.563 ± 0.020	0.756 ± 0.024	-
	48 h	-	-	0.360 ± 0.061	0.800 ± 0.031	0.873 ± 0.026	-
THP-1	24 h	-	-	0.126 ± 0.019	0.316 ± 0.046	0.517 ± 0.039	-
	48 h	-	-	0.276 ± 0.034	0.372 ± 0.091	0.618 ± 0.072	-
Namalwa	24 h	-	-	0.130 ± 0.058	0.250 ± 0.066	0.367 ± 0.052	-
	48 h	-	-	0.218 ± 0.74	0.475 ± 0.029	0.563 ± 0.020	-
Karpas299	24 h	-	-	-	0.100 ± 0.026	0.187 ± 0.068	0.395 ± 0.101
	48 h	-	-	-	0.229 ± 0.064	0.315 ± 0.103	0.434 ± 0.068
K562	24 h	-	-	-	0.173 ± 0.069	0.240 ± 0.093	0.320 ± 0.031
	48 h	-	-	-	0.083 ± 0.034	0.231 ± 0.037	0.310 ± 0.064

2.3 4种氨基酸HPLC检测的色谱图

4种氨基酸出峰时间分别为:3.3 min、4.8 min、5.6 min 和 7.9 min ,如图2所示。图中横轴为时间,纵轴为荧光强度,根据标准品经色谱柱洗脱的时间和峰下面积来判断样品中是否含有某种氨基酸及其含量。

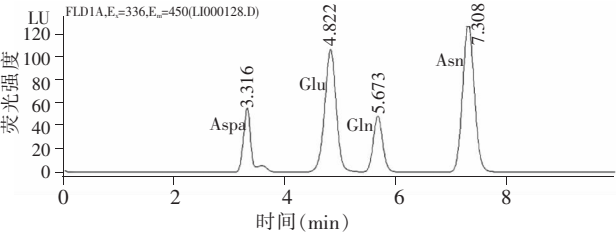


图2 4种氨基酸HPLC检测的色谱图

2.4 标准曲线

4种氨基酸标准品的直线相关系数均大于0.97,如图3所示。变异分析显示用4种氨基酸建立的标准曲线日间变异小于10%。图中横轴为标准品的浓度,纵轴为相应浓度标准品经HPLC色谱柱分离时荧光曲线峰下面积,根据已知浓度的标准品经色谱柱洗脱的峰下面积来判断样品中某种氨基酸的含量。

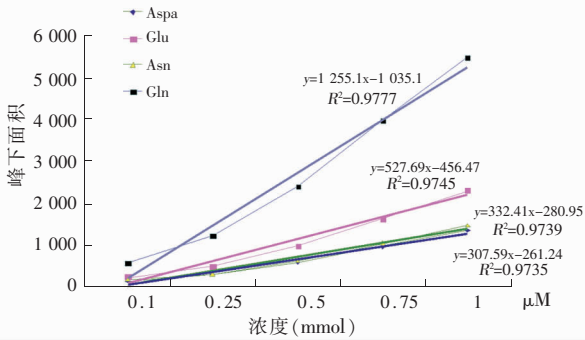


图3 4种氨基酸HPLC检测标准曲线

2.5 不同L-Asp处理后设定时间培养基中氨基酸水平的改变

不同剂量L-Asp处理培养基后氨基酸水平变化较大,当L-Asp剂量为0.001 U/mL和0.002 U/mL时培养基中4种氨基酸的水平变化不大;L-Asp剂量为0.01 U/mL时,作用4 h便使得培养基中Asn耗竭;当L-Asp剂量达到1 U/mL时,5 min内就可以达到Asn的耗竭,L-Asp还有部分谷氨酰胺酶的活性,当L-Asp浓度较高时这种作用才逐渐明显(图4)。

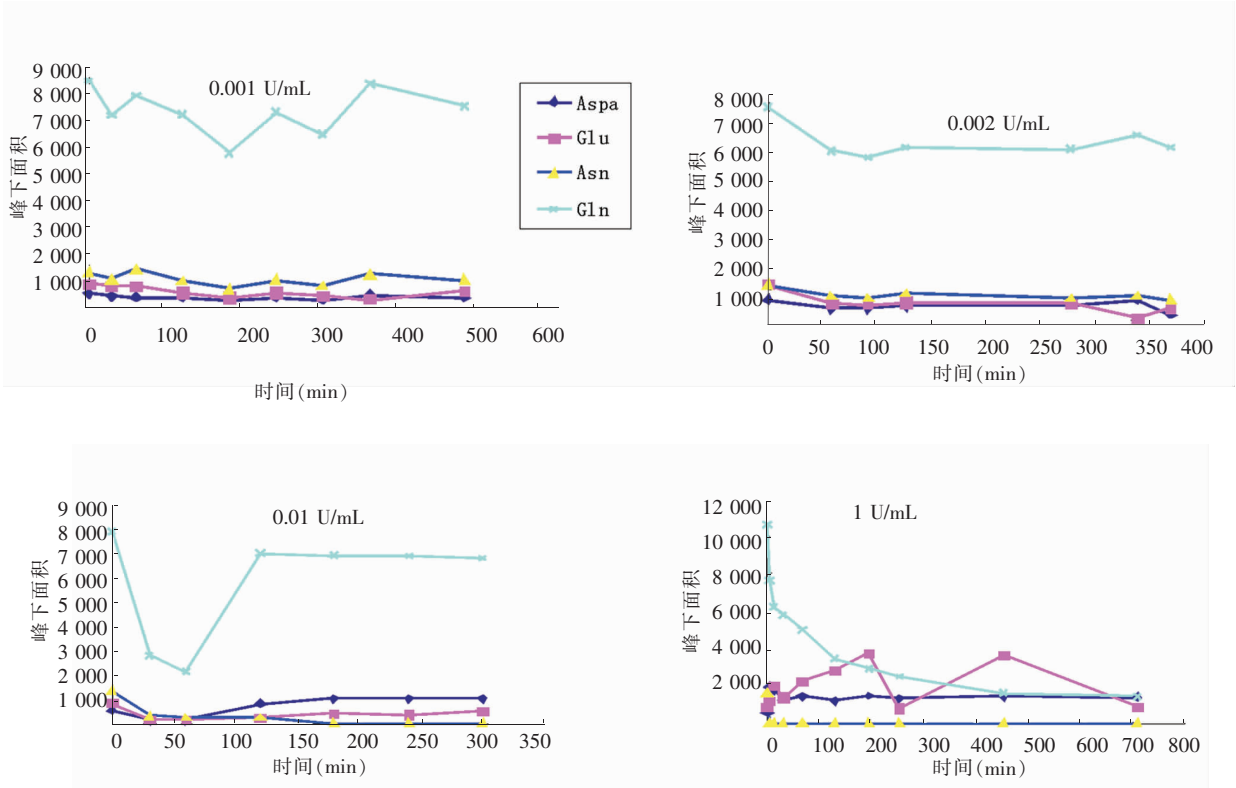


图4 不同浓度L-Asp处理后的4种氨基酸水平

3 讨论

儿童 ALL 预后的提高得益于多药联合化疗,而 L-Asp 是临床上治疗儿童 ALL 最为关键的药物之一,它不仅用于儿童 ALL 的早期诱导阶段,还是后期的再诱导阶段以及微小残留病(minimal residual disease, MRD)转阴方案中的关键药物。来自 Dana-Farber 协作组的一项研究表明,L-Asp 治疗强度和临床治疗结果之间存在直接的相关性^[7],且当使用半衰期短的 L-Asp 时,其治疗结果亦差^[8]。近来的一项研究表明,在 ALL 后续治疗过程中使用 L-Asp 组较不使用 L-Asp 组,其 5 年无事件生存率(event free survival, EFS)和总体生存率(overall survival, OS)显著提高^[9]。

纵观国内外儿童白血病研究机构的各种治疗方案,无不将 L-Asp 作为治疗儿童 ALL 的最为关键的药物来应用,且有 L-Asp 的使用时间逐渐提前,使用剂量逐渐增大的趋势。在 BFM-83 方案之前,L-Asp 的使用剂量为 6 000 U/m²,第 1 天和第 21 天,使用两次,在 BFM-83、BFM-86 和 BFM-90 方案中,L-Asp 的剂量增加为 10 000 U/m²,隔天一次,共用 8 次;起始给药时间逐渐提前,分别是第 26、第 19 和第 12 天。在 BFM-95 方案中 L-Asp 还出现在强化治疗阶段,使用剂量为 10 000 U/m²,每周 2 次,连用两周。意大利-荷兰-匈牙利研究组织(IDH-ALL-91)在其诱导和后续治疗方案中加入大剂量 L-Asp(25 000 U/m²),在对 494 例标危 ALL 长达 9 年的治疗和随访结果表明,使用大剂量 L-Asp 组较对照组的预计 10 年 EFS 显著提高(87.6% vs 78.7%)^[9]。美国 St Jude 儿童研究医院在其 15 号方案(TOTXV)中,诱导阶段 L-Asp 使用的剂量为 10 000 U/m²,每周 3 次,低危组连用 2 周,而标危和高危组连用 3 周,最早用药时间为第 6 天;再诱导阶段低危组 L-Asp 使用的剂量为 10 000 U/m²,每周 3 次,连用 3 周,而在标危和高危组,L-Asp 使用的剂量为 25 000 U/m²,每周 1 次,连用 3 周,并进行同样剂量 L-Asp 重复诱导。上海儿童医学中心 SCMC-2005 治疗方案中,虽然诱导阶段 L-Asp 的使用剂量为 6 000 U/m²,但是对于 MRD 阳性的患儿进行转阴治疗中也采用了 25 000 U/m² 的治疗剂量。

既往人们评价 L-Asp 抗肿瘤作用的效果通常是以是否耗竭血浆中 Asn 为标准,但是在临床治疗中发现不同类型疾病以及相同类型疾病的不同患儿对 L-Asp 的治疗反应不尽相同,并且这些患儿血浆中

Asn 均达到了耗竭。采用 CCK-8 试剂盒对 8 种血液系统恶性肿瘤细胞株的增殖抑制实验研究表明,不同类型肿瘤细胞对 L-Asp 的敏感性具有很大的差异,U937 细胞株极为敏感,而 Karpas299 和 K562 细胞株天然耐药。对 L-Asp 处理上述 8 种细胞后培养基中氨基酸代谢的变化研究中发现,L-Asp 在很低的范围内就可以造成细胞外 Asn 耗竭,这与细胞接受药物处理后发生增殖抑制的作用不相平行。另外,L-Asp 具有一定程度的谷氨酰胺酶的活性,这种作用在 L-Asp 高剂量作用时尤为明显。而 L-Asp 尚未产生此活性时便可以造成 U937 等敏感细胞的增殖抑制,从而排除了其通过谷氨酰胺酶活性发挥抗白血病作用的可能性。因此,细胞对 L-Asp 的敏感性存在于细胞内部对这种氨基酸耗竭的不同反应性,不同细胞对 Asn 耗竭具有不同的耐受性,这决定了某种细胞对 L-Asp 治疗的敏感性。提示不能以是否耗竭细胞周围 Asn 作为 L-Asp 发挥作用与否的标准。

Iwamoto 等^[10]的研究提示骨髓间充质细胞可以利用其强大的 AsnS 活性,主动分泌 Asn 供白血病细胞利用,是引起 L-Asp 的敏感性与白血病细胞 AsnS 表达水平不一致的原因,同时也是临床上 L-Asp 耐受的一个重要机制。

国内外研究表明,白血病细胞内 AsnS 表达水平同 L-Asp 治疗的预后存在负相关性,即白血病细胞内 AsnS 表达水平低的患者对 L-Asp 敏感,而 AsnS 表达水平高的患者,容易对 L-Asp 产生耐药^[11-12]。体外实验也证实,AsnS 表达水平低的白血病细胞对 L-Asp 相对敏感,而 AsnS 表达水平高的白血病细胞对 L-Asp 相对耐药^[13-14]。既往研究也表明,通过 ShRNA 技术干扰 K562 和 Karpas299 等 AsnS 高表达的细胞系中 AsnS 的表达,可以逆转这些细胞对 L-Asp 的耐药^[15]。

综合上述研究,L-Asp 应用中不仅要耗竭血浆中的 Asn,还需要耗竭骨髓微环境中白血病细胞周围间充质细胞分泌的 Asn,并且其用药剂量和作用时间足以对抗细胞内部 AsnS 的代偿,这些因素成为临床上使用大剂量和长半衰期 L-Asp 治疗的理论基础。

[参 考 文 献]

- [1] Pui CH, Campana D, Pei D, Bowman WP, Sandlund JT, Kaste SC, et al. Treating childhood acute lymphoblastic leukemia without cranial irradiation [J]. N Engl J Med, 2009, 360(26):2730-2741.

[2] Pui CH, Evans WE, Relling MV. Are children with lesser-risk B-lineage acute lymphoblastic leukemia curable with antimetabolite therapy? [J]. Nat Clin Pract Oncol, 2008, 5(3):130-131.

[3] Pui CH, Evans WE. Treatment of acute lymphoblastic leukemia [J]. Engl J Med, 2006, 354(2):166-178.

[4] Takagaki K, Katsuma S, Horio T, Kaminishi Y, Hada Y, Tanaka T, et al. cDNA microarray analysis of altered gene expression in Ara-C-treated leukemia cells [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2003, 309(2):351-358.

[5] Zhong C, Chen C, Kilberg MS. Characterization of the nutrient-sensing response unit in the human asparagine synthetase promoter [J]. Biochem J, 2003, 372(Pt 2):603-609.

[6] Panosyan EH, Grigoryan RS, Avramis IA, Seibel NL, Gaynon PS, Siegel SE, et al. Deamination of glutamine is a prerequisite for optimal asparagine deamination by asparaginases in vivo (CCG-1961) [J]. Anticancer Res, 2004, 24(2C):1121-1125.

[7] Silverman LB, Gelber RD, Dalton VK, Asselin BL, Barr RD, Clavell LA, et al. Improved outcome for children with acute lymphoblastic leukemia: results of Dana-Farber Consortium Protocol 91-01 [J]. Blood, 2001, 97(5):1211-1218.

[8] Duval M, Suci S, Ferster A, Rialland X, Nelken B, Lutz P, et al. Comparison of Escherichia coli-asparaginase with Erwinia-asparaginase in the treatment of childhood lymphoid malignancies: results of a randomized European Organisation for Research and Treatment of Cancer-Children's Leukemia Group phase 3 trial [J]. Blood, 2002, 99(8):2734-2739.

[9] Pession A, Valsecchi MG, Masera G, Kamps WA, Magyarosy E, Rizzari C, et al. Long-term results of a randomized trial on extended use of high dose L-asparaginase for standard risk childhood acute lymphoblastic leukemia [J]. J Clin Oncol, 2005, 23(28):7161-7167.

[10] Iwamoto S, Mihara K, Downing JR, Pui CH, Campana D. Mesenchymal cells regulate the response of acute lymphoblastic leukemia cells to asparaginase [J]. J Clin Invest, 2007, 117(4):1049-1057.

[11] Irino T, Kitoh T, Koami K, Kashima T, Mukai K, Takeuchi E, et al. Establishment of real-time polymerase chain reaction method for quantitative analysis of asparagine synthetase expression [J]. J Mol Diagn, 2004, 6(3):217-224.

[12] Stams WA, den Boer ML, Holleman A, Appel IM, Beverloo HB, van Wering ER, et al. Asparagine synthetase expression is linked with L-asparaginase resistance in TEL-AML1-negative but not TEL-AML1-positive pediatric acute lymphoblastic leukemia [J]. Blood, 2005, 105(11):4223-4225.

[13] Fine BM, Kaspers GJ, Ho M, Loonen AH, Boxer LM. A genome-wide view of the in vitro response to L-asparaginase in acute lymphoblastic leukemia [J]. Cancer Res, 2005, 65(1):291-299.

[14] Aslanian AM, Fletcher BS, Kilberg MS. Asparagine synthetase expression alone is sufficient to induce L-asparaginase resistance in MOLT-4 human leukaemia cells [J]. Biochem J, 2001, 357(Pt 1):321-328.

[15] Li BS, Gu LJ, Luo CY, Li WS, Jiang LM, Shen SH, et al. The downregulation of asparagine synthetase expression can increase the sensitivity of cells resistant to L-asparaginase [J]. Leukemia, 2006, 20(12):2199-2201.

(本文编辑:黄 榕)