

论著·实验研究

骨髓基质细胞及 VLA-4 抗体对儿童白血病 细胞凋亡影响的研究

李仲霞 贾秀红 李建厂 韩琳

(滨州医学院附属医院儿科, 山东 滨州 256603)

[摘要] 目的 研究骨髓基质细胞(BMSCs)对儿童白血病细胞的保护作用及细胞粘附分子缓慢抗原-4(VLA-4)抗体对原代白血病细胞凋亡的影响。方法 分离儿童白血病骨髓单个核细胞,培养 BMSCs 及白血病细胞。实验分4个组:①白血病细胞单独培养组(对照组);②BMSCs + 白血病细胞组(BMSCs组);③BMSCs 上清 + 白血病细胞组(上清组);④BMSCs + 白血病细胞 + VLA-4 抗体组(抗体组)。流式细胞仪检测各组白血病细胞的凋亡率,RT-PCR 方法检测各组白血病细胞 survivin 和 bcl-2 基因的表达。结果 BMSCs 组和上清组的白血病细胞凋亡率均低于对照组, $P < 0.05$ 。与 BMSCs 组和上清组比较,抗体组的凋亡率显著增高, $P < 0.05$ 。抗体组 12 h 的凋亡率与 24 h 的凋亡率比较,差异有统计学意义, $P < 0.01$ 。与 BMSCs 组和上清组比较,抗体组 survivin、bcl-2 基因的表达均有降低, $P < 0.05$ 。结论 BMSCs 对白血病细胞有保护作用, VLA-4 抗体能够抑制白血病 BMSCs 与白血病细胞间的粘附,促进白血病细胞的凋亡。 [中国当代儿科杂志, 2010, 12(11):897-901]

[关键词] 白血病;骨髓基质细胞;VLA-4 抗体;凋亡;白血病细胞

[中图分类号] R733.7 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-8830(2010)11-0897-05

Effects of bone marrow stromal cells and VLA-4 antibody on apoptosis of childhood leukemia cells

Li Zhong-Xia, Jia Xiu-Hong, Li Jian-Chang, Han Lin. Department of Pediatrics, Affiliated Hospital of Binzhou Medical University, Binzhou, Shandong 256603, China (Jia X-H, Email:jiaxiuhong001@163.com)

Abstract: Objective To study the protective effect of bone marrow stromal cells (BMSCs) upon childhood leukemia cells and the influence of VLA-4 antibody *in vitro* on leukemia cell apoptosis. **Methods** BMSCs from children with acute leukemia were isolated by human lymphocyte separation medium. BMSCs (adherent) and leukemia cells (suspended) were cultured *in vitro*. This study included four groups; leukemia cells alone (control), leukemia cells + BMSCs, leukemia cells + BMSCs supernatant and leukemia cells + BMSCs + VLA-4 antibody. The apoptosis rate of leukemia cells in the four groups was determined by Annexin V-FITC double-labeled flow cytometry. The expression of survivin and bcl-2 genes in leukemia cells was ascertained by RT-PCR. **Results** The apoptosis rate of leukemia cells in the leukemia cells + BMSCs and the leukemia cells + BMSCs supernatant groups was lower than that in the control group ($P < 0.05$). Compared with the leukemia cells + BMSCs and the leukemia cells + BMSCs supernatant groups, the apoptosis rate of leukemia cells in the VLA-4 antibody group increased significantly ($P < 0.05$). In the VLA-4 antibody group, the apoptosis rate of leukemia cells increased with prolonged culture time. There were significant differences in the apoptosis rate between 12 hrs and 24 hrs after VLA-4 antibody treatment ($P < 0.01$). The expression of survivin and bcl-2 genes in leukemia cells from the VLA-4 antibody groups was reduced compared with that from the leukemia cells + BMSCs and the leukemia cells + BMSCs supernatant groups ($P < 0.05$). **Conclusions** BMSCs play protective roles on leukemia cells. VLA-4 antibody can block the adhesion between BMSCs and leukemia cells and promote leukemia cell apoptosis.

[Chin J Contemp Pediatr, 2010, 12(11):897-901]

Key words: Leukemia; Bone marrow stromal cell; VLA-4 antibody; Apoptosis; Leukemia cell

近年来随着对白血病研究的深入,发现骨髓基质细胞(BMSCs)在白血病细胞恶性克隆的选择、增殖、分化、迁移和抗凋亡中起重要作用^[1]。研究表

明 BMSCs 是白血病细胞存活必要条件之一,原因在于 BMSCs 表面的纤维连接蛋白(Fn)与白血病细胞表面的粘附分子的相互作用,特别是与白血病细

[收稿日期] 2010-01-13; [修回日期] 2010-04-06
[基金项目] 山东省教育厅科技计划项目(J06L02)。
[作者简介] 李仲霞,女,硕士研究生。
[通信作者] 贾秀红,教授,主任医师。

胞表面的缓慢抗原-4 (VLA-4) 之间的粘附作用^[2], 但以往对于 BMSCs 与白血病的关系的研究, 多是应用骨髓基质细胞株或白血病细胞株。为了更真实地模拟白血病患者骨髓微环境, 本实验通过分离培养初诊白血病患儿的 BMSCs 及白血病细胞, 采用 VLA-4 抗体阻断 Fn 与 VLA-4 之间的粘附, 观察其对白血病细胞凋亡的影响; 检测各组白血病细胞抗凋亡基因 survivin、bcl-2 的表达变化, 探求治疗白血病的全新策略。

1 材料与方法

1.1 骨髓样本

收集 2008 年 8 月至 12 月入院的急性白血病患者共 29 例, 其中男 15 例、女 14 例, 年龄范围: 10 月至 14 岁。每例抽取骨髓 2 mL 左右。

1.2 主要仪器与试剂

超净工作台购自苏净集团安泰公司, 人淋巴细胞分离液购自天津 TBD 公司, 优等胎牛血清购自美国 PAA, 显微镜数码照相系统 (BX51) 购自日本 Olympus 公司, 超纯水仪购自美国 Millipore, 流式细胞仪购自美国 Becton Dickinson 公司, 化学发光凝胶成像系统购自美国 Bio-rod, Annexin V-FITC 细胞凋亡检测试剂盒购自美国 Bipep 公司, 总 RNA 提取试剂盒为 TIANGEN 产品, RT-PCR 试剂盒为宝生物产品, VLA-4 抗体为英国 Abcam 公司产品。

1.3 实验方法

1.3.1 单个核细胞(2~4 h 内)的分离 取 2 mL 骨髓标本, 加入 2 倍体积人淋巴细胞分离液, 1 500 r/min 离心 20 min, 收集中间白膜层, PBS 洗涤细胞两次, 弃上清, 将沉淀细胞按浓度为 $1 \times 10^6/L$ 单个核细胞悬液(含有 BMSCs 和白血病细胞)5 mL 接种于一次性塑料培养瓶内(分 2 瓶, 一瓶用于培养 BMSCs, 另一瓶用于培养白血病细胞), 置 37℃、饱和湿度、5% CO₂ 培养箱内, 以含 10% 胎牛血清、2 mmol/L 谷氨酰胺的 D/F12 培养液培养。

1.3.2 BMSCs 及白血病细胞的培养、换液、传代

BMSCs 瓶 2~3 d 后首次换液, 弃上清, 换新鲜培养液, 培养瓶中贴壁的细胞多数是 BMSCs。视细胞生长的快慢, BMSCs 约每 3~5 d 换液一次, 7~8 d 传代一次。待 BMSCs 融合 80% 以上时, 用含 0.02% EDTA-0.25% 胰蛋白酶室温消化 5 min, 倒置相差显微镜下观察细胞分离、收缩变圆即可终止消化, 弃去胰蛋白酶, 加入新鲜的含 10% 胎牛血清的 D/F12 培养液, 用弯头吸管反复有序轻轻吹打贴壁

细胞, 使其成为均匀的细胞悬液, 细胞密度按 1:2 传代。

白血病细胞瓶中悬浮细胞即为白血病细胞, 约 2~3 d 半量常规换液(白血病细胞培养瓶内含 BMSCs 及某些可溶性细胞因子), 3~4 d 传代, 换液、传代时保留部分瓶内原培养液。倒置显微镜下观察 BMSCs 和白血病细胞的生长情况并记录。

1.3.3 实验分组 实验分 4 个组: ①白血病细胞单独培养组(对照组); ②BMSCs + 白血病细胞组(BMSCs 组); ③BMSCs 上清 + 白血病细胞组(上清组); ④BMSCs + 白血病细胞 + VLA-4 抗体组(抗体组)。

1.3.4 各组白血病细胞凋亡率的检测 取第 2 代融合达 80% 以上的 BMSCs 接种于 24 孔培养板, 贴壁培养 24 h 后加入对数生长期的白血病细胞 $2 \times 10^5/mL$ 共培养 24 h, VLA-4 抗体 15 $\mu l/mL$, 作用 12 h、24 h 时, 收集各组白血病细胞, 0℃ PBS 洗涤细胞 2 次, 按 Annexin V-FITC 细胞凋亡检测试剂盒操作说明进行操作, 进行流式细胞仪检测。

1.3.5 RT-PCR 检测基因 survivin、bcl-2 的表达

于 24 h 时收集 24 孔培养板内剩余的白血病细胞, 参照总 RNA 提取试剂盒说明书提取各组白血病细胞总 RNA。紫外分光光度计测定总 RNA 的吸光度(A)值, 波长 260 nm 与 280 nm 处的吸光度 A 比值为 1.8~2.0。

引物和内参序列: ①survivin forward 5'-GAG CTG CAG GTT CCT TAT C-3', reverse 5'-ACA GCA TCG AGC CAA GTC AT-3', 目的基因 434 bp^[3]; ②bcl-2 forward 5'-GGC TGG GAT GCC TTT GTG-3', reverse 5'-GCC AAA CTG AGC AGA GTC TTC AG-3', 目的基因 93 bp^[4]; ③ β -actin forward 5'-CAT GTA CGT TGC TAT CCA GGC-3', reverse 5'-CTC CTT AAT GTC ACG CAC GAT-3', 目的基因 225 bp。取总 RNA 5 μl , 加入 1 μl oligo (DT), 1 μl 逆转录酶等试剂, 30℃ 10 min, 42℃ 30 min, 99℃ 5 min, 50℃ 5 min 合成 cDNA。

cDNA 3 μl , 引物 forward/reverse 各 0.5 μl , 5 U/ μl Taq 酶 0.12 μl , 94℃ 2 min 1 个循环; 94℃ 30 s, 60℃ 45 s, 72℃ 1 min 15 s, 30 个循环。取 PCR 产物 5 μl 上样于 1.8%-2% 琼脂糖凝胶中, 0.5 \times TBE 缓冲液, 80 V 电压下电泳 45 min, 紫外灯下观察并摄像。结果以化学发光凝胶成像系统分析, 以 survivin、bcl-2 基因与 β -actin 基因扩增产物电泳带的灰度比值(ODR)表示 survivin、bcl-2 基因 mRNA 表达水平。

1.4 统计学分析

采用 SPSS 13.0 软件,应用 K-W 秩和检验 (Kruskal-Wallis TEST) 进行统计学分析,数据以均数和标准差($\bar{x} \pm s$)表示,以 $\alpha = 0.05$ 为检验水准,多组间的两两比较, $\alpha' = \alpha/m, m = [g \times (g-1)]/2, g$ 为组数。

2 结果

2.1 原代白血病细胞和 BMSCs 光镜下形态观察

刚分离出的单个核细胞,包括白血病细胞和 BMSCs,形态大小不均一,但状态良好。白血病细

胞随培养时间的延长易自发凋亡,但与 BMSCs 混合培养的白血病细胞存活时间较长可用于实验。BMSCs 为不同细胞形态所组成的异质细胞群,以梭形细胞为主,培养 24~48 h 后部分细胞贴壁,随后形成散在分布的细胞小团簇;至第 5 天细胞以集落方式生长,形态呈短梭形,有粗大突起伸出;第 7 天细胞数目增多,胞体增大,呈鱼群样、旋涡状或放射状生长,传代后 BMSCs 呈均匀生长,且形态相对均一。实验采用密度梯度分离及贴壁培养方法纯化 BMSCs,随 BMSCs 的传代,其纯度增高,但其贴壁活性减弱,增殖减慢,故选用第 2 代 BMSCs 用于实验。见图 1。

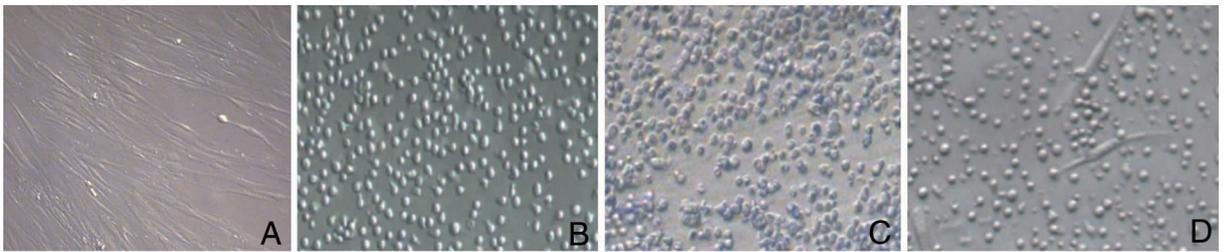


图1 白血病细胞和 BMSCs 的形态($\times 200$) A:培养 7 d 的 BMSCs,细胞呈梭形,放射状、旋涡状生长; B:白血病细胞刚分离出,白血病细胞大小均匀,圆而透亮; C:白血病细胞和 BMSCs 共培养 48 h,白血病细胞大小均匀,呈圆形,可见细胞核; D:白血病细胞与 BMSCs 共培养 5 d 换液后,白血病细胞与 BMSCs 生长状态均良好。

2.2 各组凋亡率的比较

同一时间点内,BMSCs 组和上清组的白血病细胞凋亡率均低于对照组, $P < 0.05$;抗体组与 BMSCs 组或上清组比较,白血病细胞早期凋亡率(Annexin V⁺ PI⁻)明显增高,差异有统计学意义, $P < 0.05$;而 BMSCs 和上清组比较,以及抗体组和对对照组比较,白血病细胞的凋亡率差异无统计学意义。不同时间点内,即 BMSCs 组和上清组 12 h 和 24 h 的早期凋亡率,差异无统计学意义,而对对照组和抗体组 24 h 的早期凋亡率均高于 12 h,差异有统计学意义, $P < 0.01$ 。见图 2。

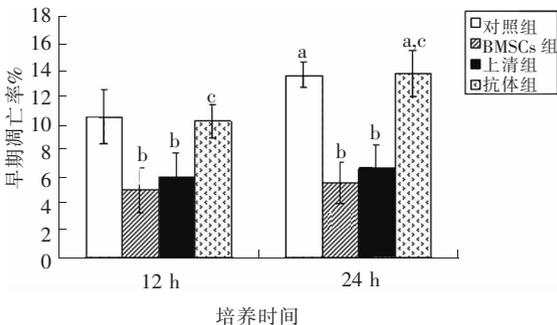


图2 各组白血病细胞在不同时间点的早期凋亡率($n = 29$) a:与同组 12 h 早期凋亡率比较, $P < 0.01$; b:与同一时间点对照组比较, $P < 0.05$; c:与同一时间点 BMSCs 组和上清组比较, $P < 0.05$ 。

2.3 各组 survivin 和 bcl-2 基因的表达

BMSCs 组的 survivin、bcl-2 基因的表达水平最高,而抗体组的表达量较低。见图 3。

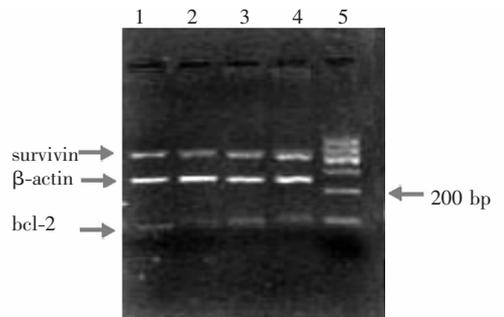


图3 survivin 和 bcl-2 电泳结果 泳道 1~4 分别为抗体组、上清组、BMSCs 组、对照组,泳道 5 为 100 bp marker; survivin (434 bp), β -actin (225 bp), bcl-2 (93 bp)。

29 例急性白血病中,23 例有 survivin 基因的表达,表达率高达 79%;28 例有 bcl-2 基因的表达。BMSCs 组抗凋亡基因表达量最多,survivin 为(75.9 \pm 3.2)%,bcl-2 为(70.4 \pm 3.4)%,上清组的 survivin、bcl-2 表达量分别为(75.5 \pm 3.7)%、(68.1 \pm 3.1)%,仅次于 BMSCs 组,两组之间 survivin 和 bcl-2 的表达

差异无统计学意义,但均高于对照组,差异有统计学意义, $P < 0.05$ 。抗体组 *survivin*、*bcl-2* 基因的表达较 BMSCs 组或上清组显著降低,分别为 $(62.9 \pm 2.4)\%$ 和 $(37.4 \pm 5.4)\%$, 差异有统计学意义, $P < 0.05$ 。见图 4。

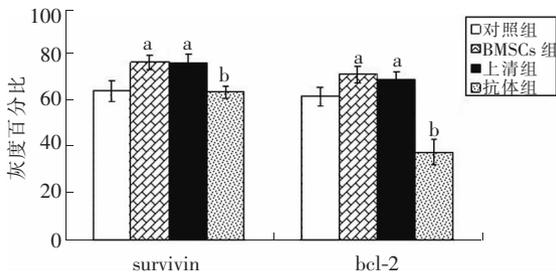


图 4 各组 *survivin* 和 *bcl-2* mRNA 表达情况 ($n = 29$)

a: 与对照组比较, $P < 0.05$; b: 与 BMSCs 组和上清组比较, $P < 0.05$

3 讨论

儿童白血病 BMSCs 易于取材,但实验中分离获得的 BMSCs 的纯度对实验结果的可信度有重要意义。Hung 等^[5]研究发现以密度梯度分离法和贴壁筛选法相结合得到的 BMSCs 在培养的第一代时纯度可达到 95%,在培养第二代时则超过 98%,本实验也采用密度梯度分离法和贴壁筛选法相结合得到纯度较高的 BMSCs。白血病细胞离体后存活时间比较短,单独在体外培养时,不易存活。若无骨髓起源的基质滋养层,幼稚的正常 B 细胞或 B 系急性淋巴细胞白血病 (B-ALL) 白血病细胞在体外迅速死亡^[6]。在没有外源性细胞因子参与的情况下,将慢性淋巴细胞性白血病 (CLL) 细胞直接置于骨髓基质细胞上,CLL 白血病细胞的凋亡明显减少,细胞存活增多^[7]。Manabe 等^[8]研究前的实验表明 BMSCs 及其分泌的可溶性细胞因子在减少白血病细胞凋亡中起重要作用。

为了更好地模拟白血病患儿的骨髓微环境,本实验没有添加任何外源性的细胞因子、生长因子。只是采用以下两种方法以保证得到状态较好的白血病细胞:一是每次半量换液,保留一部分 BMSCs 分泌的可溶性细胞因子,虽然培养液中残留有细胞的代谢产物,但本实验结果显示它的毒害作用可以忽略,因为细胞从从半量换液中获得了其生存所需的重要环境。二是离心、洗涤、换液后将白血病细胞加入 BMSCs 瓶内以维持白血病细胞的存活。本研究结果表明,在 BMSCs 或其分泌的某些未知的细胞因

子的存在下,白血病细胞在体外能生存较长的时间,生长状态较好。证明 BMSCs 对白血病细胞的确具有保护作用,即 BMSCs 可以使白血病细胞免于失巢凋亡(细胞由于与细胞外基质失去联系而发生的凋亡)。

已有研究证实源自急性白血病患者 $CD133^+ / CD34^+$ 干细胞的 BMSCs 能在骨髓基质中形成毛细血管样的结构,即血管发生模拟,急性白血病患者的 BMSCs 功能异常可导致微血管密度的改变^[9],促发白血病的生成,影响白血病细胞的凋亡。BMSCs 可保护白血病细胞免于失巢凋亡,这种保护作用 and 细胞粘附分子 VLA-4 介导的白血病细胞与 BMSCs 之间的粘附密切相关。VLA-4 是一种重要粘附分子,它属于整合素家族,是 $\alpha 4\beta 1$ 异二聚体,大量表达于白血病细胞,并通过与 BMSCs 表面的 Fn 相互作用诱导白血病细胞产生抗药性^[10],可见 BMSCs 参与白血病的发生、发展过程,并与白血病细胞的耐药、抗凋亡等特性有关^[11]。Sedgwick 等^[11]用组蛋白脱乙酰基酶抑制剂 SAHA 及 VPA 作用于各种急性髓系白血病 (AML) 细胞株后,细胞表面 VLA-4/CD49d 表达下调,原因是白血病细胞株与 BMSCs 间的粘附降低,这表明 VLA-4 与 Fn 的粘附是白血病细胞与 BMSCs 相互作用的重要方式,是抑制白血病细胞凋亡的关键环节之一。

本实验结果显示,抗体组的白血病细胞凋亡率明显增高,与 BMSCs 组和上清组比较,差异有统计学意义。此结果证明加入 VLA-4 抗体后,阻断了 VLA-4 与 Fn 的粘附,从而可能触发了复杂的凋亡信号通路,同时 BMSCs 的上述保护作用降低,致使白血病细胞凋亡增加。而对照组凋亡率增加表明,原代白血病细胞体外有失巢凋亡的倾向,BMSCs 一定程度上能够保护其免于或减少失巢凋亡,BMSCs 或其分泌的可溶性细胞因子的存在是白血病细胞存活的重要条件。BMSCs 组和上清组比较,差异无统计学意义,与理论结果似乎有矛盾。这个结果可能是样本例数少等所致实验误差,也可能骨髓基质上清中的一些可溶性细胞因子也能发挥保护作用,所以半量换液的白血病细胞能够较长时间存活。但具体机制尚待进一步研究。另外,对照组和抗体组的白血病细胞 12 h 的凋亡率与 24 h 的凋亡率比较,差异有统计学意义,证明 VLA-4 抗体作用于白血病细胞具有一定的时间依赖性。

凋亡抑制因子 *survivin* 在各种白血病中高表达,*bcl-2* 是经典的抗凋亡基因。为进一步探讨 VLA-4 抗体对白血病细胞的作用,本研究检测了各

组白血病细胞 survivin 及 bcl-2 基因的表达情况。结果显示抗体组的 survivin 基因明显降低,表明下调 survivin 基因可能是 VLA-4 抗体诱导凋亡作用的机制之一。由于白血病细胞失去了 BMSCs 的保护作用,发生失巢凋亡,故对照组 survivin 基因也有明显的降低,BMSCs 组、上清组与对照组相比,survivin 基因表达的差异具有统计学意义。已有报道 VLA-4 通过与 Fn 相互作用激活 PI3K/AKT/BCL-2 信号通路,保护白血病细胞免于失巢凋亡及药物诱导的凋亡^[2]。而 FNIII(III 型纤连蛋白)14 可抑制 FAK/AKT/bcl-2 信号通路,FAK 是 PI-3K/AKT/bcl-2 信号通路上游的一个分子,此通路是由细胞和细胞外基质粘附介导而激活,VLA-4 抗体发挥作用的方式与 FNIII14 的作用类似^[12]。另有研究发现 VLA-4 和 Fn 相互作用可提高 bcl-2 的表达,使细胞获得对失巢凋亡的抵抗性^[13],本实验结果显示,加入 VLA-4 抗体后,白血病细胞 bcl-2 的表达显著降低,这与 Tudor 等^[13]的研究结果一致,证明在一定程度上 VLA-4 抗体有下调抗凋亡基因 bcl-2 的作用。

综上,一定培养方式下,儿童白血病 BMSCs 和白血病细胞可以体外存活较长时间。BMSCs 对于白血病细胞的存活至关重要,但 VLA-4 抗体能够抑制 BMSCs 与白血病细胞间的粘附,推测可能是通过 PI3K/AKT/BCL-2 信号通路促进白血病细胞的凋亡,而 VLA-4 也是预后的重要因素^[14],因而深入研究 VLA-4 抗体在白血病细胞凋亡方面的重要作用,可为儿童白血病的治疗提供全新的理论依据和思路,有一定的实际意义。

致谢:重庆医科大学附属儿童医院血液科的全体老师,特别是徐酉华教授以及重庆医科大学附属儿童医院儿研所的全体师在本课题的研究阶段曾给予无私帮助,在此表示衷心的感谢。

[参 考 文 献]

[1] Hussein MA, Juturi JV, Lieberman I. Multiple myeloma: present and future[J]. *Curr Opin Oncol*, 2002, 14(1): 31-35.
[2] Matsunaga T, Takemoto N, Sato T, Takimoto R, Tanaka I, Fujimi A, et al. Interaction between leukemic cell VLA-4 and stromal

fibronectin is a decisive factor for minimal residual disease of acute myelogenous leukemia[J]. *Nat Med*, 2003, 9(9): 1158-1165.
[3] Fukuda S, Foster RG, Porter SB, Pelus LM. The antiapoptosis protein survivin is associated with cell cycle entry of normal cord blood CD34⁺ cells and modulates cell cycle and proliferation of mouse hematopoietic progenitor cells[J]. *Blood*, 2002, 100(7): 2463-2471.
[4] Hewitt R, Forero A, Luncsford PJ, Martin FL. Enhanced micronucleus formation and modulation of bcl-2: bax in MCF-7 cells after exposure to binary mixtures[J]. *Environ Health Perspect*, 2007, 115(Suppl 1): 129-136.
[5] Hung SC, Chen NJ, Hsieh SL, Li H, Ma HL, Lo WH. Isolation and characterization of size-sieved stem cells from human bone marrow[J]. *Stem Cells*, 2002, 20(3): 249-258.
[6] Campana D, Coustan-Smith E, Kumagai MA, Manabe A. Growth requirements of normal and leukemic human B cell progenitors[J]. *Leuk Lymphoma*, 1994, 13(5-6): 359-371.
[7] Panayiotidis P, Jones D, Ganeshaguru K, Foroni L, Hoffbrand AV. Human bone marrow stromal cells prevent apoptosis and support the survival of chronic lymphocytic leukaemia cells in vitro[J]. *Br J Haematol*, 1996, 92(1): 97-103.
[8] Manabe A, Murti KG, Coustan-Smith E, Kumagai M, Behm FG, Raimondi SC, et al. Adhesion-dependent survival of normal and leukemic human B lymphoblasts on bone marrow stromal cells[J]. *Blood*, 1994, 83(3): 758-766.
[9] Mirshahi P, Rafii A, Vincent L, Berthaut A, Varin R, Kalantar G, et al. Vasculogenic mimicry of acute leukemic bone marrow stromal cells[J]. *Leukemia*, 2009, 23(6): 1039-1048.
[10] Mählkecht U, Schönbein C. Histone deacetylase inhibitor treatment downregulates VLA-4 adhesion in hematopoietic stem cells and acute myeloid leukemia blast cells[J]. *Haematologica*, 2008, 93(3): 443-447.
[11] Sedgwick JB, Jansen KJ, Kennedy JD, Kita H, Busse WW. Effects of the very late adhesion molecule 4 antagonist EAY103 on human peripheral blood eosinophil vascular cell adhesion molecule-1 dependent functions[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2005, 116(4): 812-819.
[12] Matsunaga T, Fukai F, Miura S, Nakane Y, Owaki T, Kodama H, et al. Combination therapy of an anticancer drug with the FNIII14 peptide of fibronectin effectively overcomes cell adhesion-mediated drug resistance of acute myelogenous leukemia[J]. *Leukemia*, 2008, 22(2): 353-360.
[13] Tudor G, Aguilera A, Halverson DO, Laing ND, Sausville EA. Susceptibility to drug-induced apoptosis correlates with differential modulation of Bad, bcl-2 and Bcl-xL protein levels[J]. *Cell Death Differ*, 2000, 7(6): 574-586.
[14] Tavernier-Tardy E, Cornillon J, Campos L, Flandrin P, Duval A, Nadal N, et al. Prognostic value of CXCR4 and FAK expression in acute myelogenous leukemia[J]. *Leuk Res*, 2009, 33(6): 764-768.

(本文编辑:俞 燕)