

· 论 著 ·

人脐带来源的间充质干细胞运载 3 型呼肠孤病毒在杀伤 K562 细胞过程中相关细胞因子表达分析^{*}

宋晓梅^{1,2}, 刘雨思^{1,3}, 赵书利^{1,2}, 李 晨^{1,4}, 赵砚驰^{1,5}, 李 化^{1,5}, 舒莉萍^{1,5△}

1. 贵州医科大学细胞工程生物医药技术国家地方联合工程实验室/贵州省再生医学重点实验室/
贵州医科大学基础医学院免疫学教研室, 贵州贵阳 550004; 2. 贵州省贵阳市妇幼保健院检验科,
贵州贵阳 550004; 3. 延安大学基础医学院, 陕西延安 716000; 4. 长江航运总医院肿瘤科,
湖北武汉 430014; 5. 中国医学科学院成体干细胞转化研究重点实验室, 贵州贵阳 550004

摘 要:目的 选择具有肿瘤归巢能力的人脐带来源的间充质干细胞(MSCs)作为细胞载体运载溶瘤病毒 3 型呼肠孤病毒(Reovirus3), 并与慢性粒细胞白血病 K562 细胞共同培养, 探讨细胞培养体系中相关细胞因子对 MSCs 运载 Reovirus3 杀伤 K562 细胞的影响, 为利用细胞因子治疗或者辅助 MSCs 运载 Reovirus3 治疗慢性粒细胞白血病提供依据。方法 通过体外试验从脐带中分离培养出 MSCs, 选用对数生长期的 MSCs 荷载 Reovirus3, 与对数生长期的 K562 细胞进行体外细胞培养, 分为对照组: K562 细胞; MSCs 组: K562 细胞 + MSCs; Reovirus3 组(阳性对照组): K562 细胞 + Reovirus3; 实验组: K562 细胞 + Reovirus3 + MSCs。细胞共培养 24、48、72 h, 收集各组细胞培养上清液, 采用 ELISA 双抗体夹心法检测肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、干扰素- γ (IFN- γ)、转化生长因子- β (TGF- β)、白细胞介素(IL)-2、IL-4、IL-5、IL-6 和 IL-17 水平。结果 培养 24、48、72 h 时 MSCs 组和实验组 TGF- β 、IL-6 水平与对照组比较均明显升高, 差异均有统计学意义($P < 0.05$), Reovirus3 组比对照组 TGF- β 、IL-6 水平虽有所升高, 但差异均无统计学意义($P > 0.05$); 培养 48 h 时 MSCs 组、Reovirus3 组和实验组 TNF- α 、IFN- γ 、IL-2、IL-4 水平虽然均高于对照组, 但差异均无统计学意义($P > 0.05$), 培养 48 h 时 4 组细胞培养上清液均未检测出 IL-5 和 IL-17; 培养 24、72 h 时 4 组细胞培养上清液均未检测出 TNF- α 、IFN- γ 、IL-2、IL-4、IL-5 及 IL-17。结论 MSCs 运载 Reovirus3 在体外试验的细胞培养体系中可有效抑制 K562 细胞, 除了溶瘤病毒 Reovirus3 的溶瘤作用外, 可能还与培养体系中的细胞因子促进细胞凋亡从而抑制 K562 细胞的增殖有关。

关键词: 间充质干细胞; 3 型呼肠孤病毒; 慢性粒细胞白血病; K562 细胞; 细胞因子

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2021.16.006

中图法分类号: R446.1

文章编号: 1673-4130(2021)16-1947-05

文献标志码: A

Analysis of expression of cytokines related to the killing of K562 cells by human umbilical cord derived mesenchymal stem cells carrying type 3 Reovirus^{*}

SONG Xiaomei^{1,2}, LIU Yusi^{1,3}, ZHAO Shuli^{1,2}, LI Chen^{1,4}, ZHAO Yanchi^{1,5}, LI Hua^{1,5}, SHU Liping^{1,5△}

1. State and Local Joint Engineering Laboratory of Cell Engineering and Biomedical Medical Technology/Guizhou Provincial Key Laboratory of Regenerative Medicine/Teaching and Researching Section of Immunology, School of Basic Medicine, Guizhou Medical University, Guiyang, Guizhou 550004, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Guiyang Municipal Maternal and Child Health Care Hospital, Guiyang, Guizhou 550004, China; 3. School of Basic Medicine, Yan'an University, Yan'an, Shaanxi 716000, China; 4. Department of Oncology, General Hospital of the Yangtze River Shipping, Wuhan, Hubei 430014, China;

^{*} 基金项目: 贵州省科技计划项目[黔科合基础(2019)1436]; 中央引导地方科技科技发展专项资金项目[黔科中引地(2019)4008 号]; 贵州省科技计划项目[黔科合平台人才(2017)5611]。

作者简介: 宋晓梅, 女, 主管技师, 主要从事干细胞与血液免疫方面的研究。△ 通信作者, E-mail: gyslp-456@163.com。

本文引用格式: 宋晓梅, 刘雨思, 赵书利, 等. 人脐带来源的间充质干细胞运载 3 型呼肠孤病毒在杀伤 K562 细胞过程中相关细胞因子表达分析[J]. 国际检验医学杂志, 2021, 42(16): 1947-1951.

5. Key Laboratory of Adult Stem Cell Transformation, Chinese Academy of Medical Sciences, Guiyang, Guizhou 550004, China

Abstract: Objective To investigate the effect of related cytokines in cell culture system on the killing of K562 cells by human umbilical cord derived mesenchymal stem cells (MSCs) carrying Reovirus3, so as to provide a certain basis for the use of cytokine therapy or MSCs to deliver reovirus 3 in the treatment of chronic myeloid leukemia. **Methods** MSCs were isolated and cultured from umbilical cord in vitro. MSCs in logarithmic growth phase were loaded with reovirus 3 and K562 cells in logarithmic growth phase were cultured in vitro. K562 cells were taken as the control group. K562 cells + MSCs were taken as MSCs group. K562 cells + Reovirus3 were taken as Reovirus3 group (positive control group). K562 cells + Reovirus3 + MSCs were taken as experimental group. The cells were co-cultured for 24, 48 and 72 h. The supernatant of each group was collected, and levels of tumor necrosis factor- α (TNF- α), interferon- γ (IFN- γ), transforming growth factor- β (TGF- β), interleukin (IL)-2, IL-4, IL-5, IL-6 and IL-17 were detected by ELISA double antibody sandwich method. **Results** TGF- β , IL-6 levels in the MSCs group and the experimental group at 24, 48 and 72 h were significantly higher than those in the control group, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). Although TGF- β , IL-6 levels in the Reovirus3 group increased compared with the control group, the differences were not statistically significant ($P > 0.05$). TNF- α , IFN- γ , IL-2 and IL-4 levels in the MSCs group, Reovirus3 group and the experimental group at 24, 48 and 72 h were significantly higher than those in the control group, but the differences were not statistically significant ($P > 0.05$). At 48 h, IL-5 and IL-17 were not detected in the cell culture supernatant of the four groups. No TNF- α , IFN- γ , IL-2, IL-4, IL-5 and IL-17 were detected in the supernatant of 4 groups at 24 and 72 h. **Conclusion** MSCs carrying Reovirus3 can effectively inhibit the proliferation of chronic myeloid leukemia K562 cells in vitro. In addition to the oncolytic effect of Reovirus3, it may be related to the cytokines in the culture system promoting apoptosis and inhibiting the proliferation of K562 cells.

Key words: mesenchymal stem cells; Reovirus type 3; chronic myeloid leukemia; K562 cells; cell factor

慢性粒细胞白血病(CML)是一种起源于多能造血干细胞的异常增生性肿瘤,虽然病程发展较慢,但发病率较高,约占新发白血病病例的 10%^[1]。CML 的传统疗法治疗后不良反应多、易复发,分子靶向药物酪氨酸激酶抑制剂的出现虽然使 CML 的治疗效果与以往比较取得了重要进展^[2],但是酪氨酸激酶抑制剂不能清除静止期的白血病干细胞,因此,停药后复发是目前酪氨酸激酶抑制剂治疗 CML 难以克服的一个瓶颈^[3],这些困难仍困扰着众多临床医生及患者。异基因造血干细胞移植虽有望治愈 CML,但是由于配型相合的干细胞来源有限、并发症多及费用高昂使这种治疗方案难以普及,为此有必要探索治疗 CML 的新方法,比如免疫疗法。K562 细胞是来源于 CML 急性病变患者的异常细胞,具有 Ph 染色体, K562 细胞可以作为构建 CML 的细胞模型。溶瘤病毒是指能够感染肿瘤细胞并致其死亡而对正常组织没有影响的非致病性病毒颗粒,它可以通过在宿主细胞内进行自我复制来增加病毒载量杀死肿瘤细胞,实现肿瘤靶向治疗的目标,是恶性肿瘤治疗领域中的新治疗方式^[4-5]。呼肠孤病毒(Reovirus)作为一种天然存在的

溶瘤病毒,不仅可以通过选择性杀死肿瘤细胞直接发挥溶瘤作用,还能诱导机体的免疫活性介导优异的抗肿瘤作用^[6]。利用天然的肿瘤归巢细胞(如干细胞)作为细胞载体将 Reovirus 递送到肿瘤,能帮助病毒逃避机体的免疫清除,使溶瘤病毒能够到达肿瘤细胞并进行复制来杀伤肿瘤细胞成为可能^[7]。人脐带来源的间充质干细胞(MSCs)有较强的自我更新能力及多向分化潜能,来源较为广泛且不损伤供者的身体,易于转染外源基因,因此,已被众多研究证实是细胞替代治疗的理想来源。“归巢”最早是指淋巴细胞在体内依靠归巢受体倾向于由定居地经淋巴循环及血液循环不断往返于外周免疫器官、外周淋巴组织及全身器官组织,最终再回到外周免疫器官及外周淋巴组织的过程,后来这一概念逐渐引申至循环系统中特定的细胞类群,如干细胞、免疫细胞在多种因素的作用下能定向趋向性迁移至机体组织或器官微环境,维持或重塑其细胞命运的生命过程,类似于人体局部炎症反应后大量白细胞迁移至炎症反应周围。2002 年,SAITO 等^[8]证明了 MSCs 的归巢能力,有研究表明,利用 MSCs 的肿瘤归巢能力可将抗癌基因产物直接

递送至肿瘤病灶^[9]。单独的溶瘤病毒 Reovirus3 进入机体有可能被体内针对 Reovirus3 产生的抗体中和,所以本研究选用具有肿瘤归巢能力的 MSCs 作为运载 Reovirus3 的载体可使之躲过体内抗体的攻击,使 Reovirus3 能够到达肿瘤病灶并进行复制来杀伤肿瘤细胞。本研究探讨细胞培养体系中相关细胞因子对 MSCs 运载 Reovirus3 杀伤 K562 细胞的影响,为利用细胞因子治疗或者辅助 MSCs 运载 Reovirus3 治疗 CML 提供一定依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器 K562 细胞株(美国 ATCC 公司);Reovirus3 病毒株(贵州医科大学组织工程与干细胞中心);DMEM 培养基、RPMI1640 培养基(Gibco 公司);胎牛血清(FBS, BI 公司);磷酸盐缓冲液(PBS, Solarbio 公司);ELISA 细胞因子检测试剂盒(安徽巧伊生物科技有限公司);CO₂ 培养箱(Thermo 公司)。

1.2 方法与步骤

1.2.1 细胞的分离与培养 参照刘雨思^[10]及《细胞培养技术》,通过体外实验从脐带中分离培养 MSCs,取第 3 代处于对数生长期的 MSCs 进行实验。K562 细胞在含有 10%FBS 的 RPMI1640 培养基,于 37℃, 5%CO₂ 条件下进行传代培养,取对数生长期的 K562 细胞进行实验。

1.2.2 分组 对照组:K562 细胞;MSCs 组:K562 细胞+MSCs; Reovirus3 组(阳性对照组):K562 细胞+Reovirus3; 实验组:K562 细胞+Reovirus3+MSCs。

1.2.3 检测方法 分别收集共培养 24、48、72 h 各组细胞培养上清液,1 000 r/min 离心 5 min,采用 ELISA 双抗体夹心法,按照试剂说明书检测肿瘤坏死

因子-α(TNF-α)、干扰素-γ(IFN-γ)、转化生长因子-β(TGF-β)、白细胞介素(IL)-2、IL-4、IL-5、IL-6 和 IL-17 水平。培养 24、48、72 h 后培养体系中的 K562 细胞由本课题组刘雨思^[10]进行 K562 细胞增殖抑制能力检测。

1.3 统计学处理 采用 SPSS22.0 统计软件对数据进行分析处理。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,进一步多重比较采用 Dunnett-*t* 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 培养 24 h 时 4 组细胞培养上清液细胞因子水平比较 培养 24 h 时 4 组细胞培养上清液均未检测出 TNF-α、IFN-γ、IL-2、IL-4、IL-5 及 IL-17。见表 1。

2.2 培养 48 h 时 4 组细胞培养上清液细胞因子水平比较 培养 48 h 时 MSCs 组、Reovirus3 组和实验组 TNF-α、IFN-γ、IL-2、IL-4 水平虽然均高于对照组,但差异均无统计学意义($P > 0.05$)。培养 48 h 时 4 组细胞培养上清液均未检测出 IL-5 和 IL-17。见表 2。

表 1 培养 24 h 时 4 组细胞培养上清液细胞因子水平比较($\bar{x} \pm s$, pg/mL)		
组别	TGF-β	IL-6
对照组	47.01±2.36	25.41±1.67
MSCs 组	120.70±12.89 *	285.21±2.06 *
Reovirus3 组	49.76±3.95	26.91±1.88
实验组	293.70±12.06 *	658.82±21.75 *
<i>F</i>	4.541	6.965
<i>P</i>	<0.05	<0.05

注:与对照组比较, * $P < 0.05$ 。

表 2 培养 48 h 时 4 组细胞培养上清液细胞因子水平比较($\bar{x} \pm s$, pg/mL)						
组别	TNF-α	IFN-γ	TGF-β	IL-2	IL-4	IL-6
对照组	4.96±0.10	2.98±0.11	41.16±0.58	4.50±0.08	3.31±0.56	29.09±1.68
MSCs 组	8.30±0.25	3.89±0.36	93.02±12.34 *	4.75±0.05	3.37±0.56	705.09±12.20 *
Reovirus3 组	5.47±0.64	3.14±0.26	43.73±3.15	4.61±0.02	3.33±0.02	29.65±0.67
实验组	8.41±0.36	4.81±0.31	218.54±12.76 *	4.78±0.02	3.34±0.51	1 164.17±66.10 *
<i>F</i>	1.638	1.476	4.303	1.533	1.460	7.741
<i>P</i>	>0.05	>0.05	<0.05	>0.05	>0.05	<0.05

注:与对照组比较, * $P < 0.05$ 。

2.3 培养 72 h 时 4 组细胞培养上清液细胞因子水平比较 培养 72 h 时 MSCs 组和实验组 TGF-β、IL-6 水平均高于对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$),

Reovirus3 组比对照组 TGF-β、IL-6 水平虽有所升高,但差异无统计学意义($P > 0.05$)。培养 72 h 时 4 组细胞培养上清液均未检测出 TNF-α、IFN-γ、IL-2、IL-

4、IL-5 及 IL-17。见表 3。

表 372 h 时 4 组细胞培养上清液细胞因子水平比较($\bar{x}\pm s$, pg/mL)

组别	TGF- β	IL-6
对照组	36.36 $\pm$ 0.01	19.98 $\pm$ 0.62
MSCs 组	61.28 $\pm$ 8.24*	332.07 $\pm$ 19.33*
Reovirus3 组	37.61 $\pm$ 1.20	24.35 $\pm$ 3.37
实验组	107.52 $\pm$ 12.23*	598.67 $\pm$ 20.98*
F	3.930	4.025
P	<0.05	<0.05

注:与对照组比较,**P*<0.05。

3 讨 论

细胞因子是由免疫细胞和某些非免疫细胞经刺激而合成并分泌的具有多种生物学活性的小分子蛋白质,在免疫应答与调节、细胞分化和发育、炎症反应、组织修复及造血中发挥重要作用。MSCs 可分泌多种细胞因子,包括 IL-6、IL-7、IL-8、白血病抑制因子、IFN- γ 及 TNF- α , MSCs 具有抗肿瘤免疫调节功能,它的免疫调节功能是通过细胞分泌的可溶性细胞因子,还有细胞与细胞之间受体与配体的相互作用或者两种机制的组合来实现。因此,可以通过检测相应的细胞因子来评价抑瘤体系对白血病细胞溶瘤作用的效果和可行程度。有研究显示, MSCs 分泌的细胞因子可促进细胞凋亡,改变 K562 细胞的细胞周期分布,这些细胞因子可通过 BAX 和 Caspace-3 级联途径抑制 K562 细胞增殖^[11]。此外, MSCs 分泌的细胞因子 IFN 可以激活双链 RNA 依赖性蛋白激酶(PKR)途径, Reovirus3 感染 K562 细胞后,转录过程中的小基因片段编码的 $\sigma 3$ 蛋白也可以引起 PKR 的活化,经 IFN 及 $\sigma 3$ 蛋白激活的 PKR 可引起细胞凋亡来抑制 K562 细胞的增殖^[12]。

本课题组刘雨思^[10]采用流式细胞仪检测了 MSCs 与 K562 细胞表面 Reovirus3 易感受体重组人连接黏附分子-A(JAM-A)的表达量分别为 11%和 99%, JAM-A 在 K562 细胞表面高表达。K562 细胞增殖抑制能力检测结果显示,对照组和 Reovirus3 组(阳性对照组)K562 细胞随着时间延长细胞存活率始终最高和最低, MSCs 组在 24 h 时发现 MSCs 有一定促进肿瘤生长的作用,但随着共培养时间的延长这种促瘤作用转为抑瘤作用。实验组与 MSCs 组相似,在 24 h 时发现 MSCs 有一定促进肿瘤生长的作用,随着共培养时间延长至 72 h 时,实验组 K562 细胞存活率与 Reovirus3 组(阳性对照组)接近。在 Reovirus3 存在的 Reovirus3 组和实验组 K562 细胞存活率明显

低于对照组,可能是因为 Reovirus3 感染 K562 细胞后激活了 PKR 途径,引起细胞凋亡。而 MSCs 组和实验组在 24 h 时发现 MSCs 有一定促进肿瘤生长的作用,但随着共培养时间的延长这种促瘤作用转为抑瘤作用,可能是因为随着共培养时间的延长,培养体系中产生的细胞因子对抗肿瘤的作用得以发挥,由促瘤作用转为抑瘤作用。通过检测细胞培养上清液细胞因子, 48 h 时在 MSCs 存在的情况下,细胞培养上清液 TNF- α 、IFN- γ 水平比并没有 MSCs 存在的 Reovirus3 组和对照组高,培养体系中的 IFN- γ 可能激活了 PKR 途径引起细胞凋亡, TNF- α 可能是通过启动 Caspase 信号通路使肿瘤细胞发生凋亡。4 组 IL-2、IL-4 水平较为接近,差异无统计学意义(*P*>0.05),可能是因为培养体系中 IL-2、IL-4 主要由 K562 细胞自分泌产生参与免疫应答。24、72 h 时细胞培养上清液均未检测出 TNF- α 、IFN- γ 、IL-2 及 IL-4,可能是因为这 2 个时间点的这 4 种细胞因子水平较低,采用 ELISA 双抗体夹心法没有检测出来。IL-4 能以自分泌的方式促进 Th2 细胞分化,参与变态反应,在肿瘤免疫中起抑制肿瘤免疫应答的作用。IL-2 可由 CD4⁺和 CD8⁺ T 细胞产生,另外转化的 B 细胞、白血病细胞亦可产生,是对免疫系统具有重要作用的细胞因子之一,可以使细胞毒性 T 细胞、自然杀伤细胞(NK 细胞)增殖,并使它们的杀伤活性增强,还可促进淋巴细胞分泌抗体和 IFN,具有抗病毒、抗肿瘤和增强机体免疫功能等作用,已经被批准用于治疗转移性肾细胞癌和转移性黑色素瘤,改进的 IL-2 制剂可单独使用,与其他的抗癌免疫疗法结合有望治疗转移性癌症^[13]。培养 24、48、72 h 时 MSCs 组和实验组 TGF- β 、IL-6 水平均高于对照组,差异均有统计学意义(*P*<0.05),而 Reovirus3 组 TGF- β 、IL-6 水平虽有所升高,但差异无统计学意义(*P*>0.05)。4 组 TGF- β 水平随着时间的推移不断降低,可能是因为 TGF- β 对肿瘤具有双重作用,随着时间的推移被逐渐消耗及不断降解而减少,还可能与 K562 细胞死亡率逐渐增加及培养体系中的营养逐渐消耗有关。48 h 时 IL-6 水平最高,之后降低可能与 IL-6 随着时间的推移不断降解,以及培养体系中营养逐渐消耗及 K562 细胞死亡率逐渐增加有关。有研究表明,肿瘤(如卵巢癌、乳腺癌等恶性肿瘤)处于旺盛时期均出现了 IL-6 的高表达^[14-15],作为促炎因子的 IL-6 可通过自分泌和旁分泌方式促进肿瘤发生,在肿瘤血管生成、肿瘤微环境的免疫调节及疾病进展中起重要作用。此外,在肿瘤微环境中, TGF- β 、IL-6 和 IL-10 可以直接抑制 NK 细胞活性,还

可以通过影响免疫抑制细胞和拮抗刺激细胞因子的作用间接抑制 NK 细胞活性,从而抑制 NK 细胞的抗肿瘤反应,使肿瘤细胞有机会逃避免疫系统的攻击^[16]。培养 48 h 时细胞培养上清液未检测出 IL-5、IL-17,可能是因为 IL-5 主要由 Th2 细胞和活化的肥大细胞产生,IL-17 主要由 Th17 细胞产生,因此,细胞培养体系中未检测到 IL-5、IL-17 存在,也有可能是这两种细胞因子水平过低,采用 ELISA 双抗体夹心法没有检测出来。本研究采用 ELISA 双抗体夹心法检测细胞因子,检测的是可溶性细胞因子的免疫反应性即细胞因子的蛋白水平,因此,检测结果与细胞因子的生物活性不一定呈正比。并且测定结果与所用的抗体来源及亲和力有关,样本中存在的各种细胞因子结合蛋白也可能对细胞因子免疫测定产生干扰。

MSCs 运载 Reovirus3 在体外实验的细胞培养体系中可以有效抑制 K562 细胞增殖,除了溶瘤病毒 Reovirus3 的溶瘤作用外,可能还与培养体系中细胞因子促进细胞凋亡从而抑制 K562 细胞的增殖有关。本课题组荷瘤小鼠体内细胞因子的检测结果提示细胞因子在体内对抑制 K562 细胞的增殖有一定作用^[17]。细胞因子对肿瘤的作用十分复杂,随着人们对各种细胞因子的来源、生物学功能、分子结构、相应受体和受体介导的信号转导等多方面研究取得的进展,采用细胞因子治疗或者辅助治疗 CML 受到临床关注。

参考文献

- [1] RADICH J P, MAURO M J. Tyrosine kinase inhibitor treatment for newly diagnosed chronic myeloid leukemia [J]. *Hematol Oncol Clin North Am*, 2017, 31 (4): 577-587.
- [2] JABBOUR E. Chronic myeloid leukemia: first-line drug of choice [J]. *Am J Hematol*, 2016, 91 (1): 59-66.
- [3] MASSARO F, COLAFIGLI G, MOLICA M, et al. Novel tyrosine-kinase inhibitors for the treatment of chronic myeloid leukemia: safety and efficacy [J]. *Expert Rev Hematol*, 2018, 11 (4): 301-306.
- [4] NAOUM G E, TAWADROS F, FAROOQI A A, et al. Role of nanotechnology and gene delivery systems in TRAIL-based therapies [J]. *Ecancermedicalscience*, 2016, 1 (10): 660-666.
- [5] BAI Y, HUI P, DU X Y, et al. Updates to the antitumor mechanism of oncolytic virus [J]. *Thorac Cancer*, 2019, 10 (5): 1031-1035.
- [6] HOTANI T, MIZUGUCHI H, SAKURAI F. Systemically administered reovirus-induced downregulation of hypoxia inducible factor-1 α in subcutaneous tumors [J]. *Mol Ther Oncolytics*, 2019, 12: 162-172.
- [7] LIU M L. Letter to the editor on "mesenchymal stem cells enhance the oncolytic effect of newcastle disease virus in glioma cells and glioma stem cells via the secretion of TRAIL" [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2017, 8 (1): 130-136.
- [8] SAITO T, KUANG J Q, BITTIRA B, et al. Xenotransplant cardiac chimera: immune tolerance of adult stem cells [J]. *Ann Thorac Surg*, 2002, 74 (1): 19-24.
- [9] VIVIEN L, SHAYE B, KHAGI H S, et al. Tumor rhoming stem cell therapy for brain cancer [J]. *Current Surgery Reports*, 2017, 5 (10): 10-19.
- [10] 刘雨思. 人脐带间充质干细胞运载溶瘤呼肠孤病毒对慢粒白血病 K562 细胞溶瘤作用的研究 [D]. 贵阳: 贵州医科大学, 2017.
- [11] EZZATOLLAH F, RAHELEH F, BEHNAZ V, et al. Cytokines secreted from bone marrow derived mesenchymal stem cells promote apoptosis and change cell cycle distribution of K562 cell line as clinical agent in cell transplantation [J]. *PLoS One*, 2019, 14 (4): e0215678.
- [12] 李晨. 人脐带间充质干细胞运载 Reovirus3 体系对慢性粒细胞白血病 K562 细胞抑制作用的分子机制的研究 [D]. 贵阳: 贵州医科大学, 2019.
- [13] JIANG T, ZHOU C C, REN S X. Role of IL-2 in cancer immunotherapy [J]. *Oncoimmunology*, 2016, 5 (6): e1163462.
- [14] BROWNING L, PATEL M R, HORVATH E B, et al. IL-6 and ovarian cancer: inflammatory cytokines in promotion of metastasis [J]. *Cancer Manag Res*, 2018, 10: 6685-6693.
- [15] TAWARA K, SCOTT H, EMATHINGER J. High expression of OSM and IL-6 are associated with decreased breast cancer survival: synergistic induction of IL-6 secretion by OSM and IL-1 β [J]. *Oncotarget*, 2019, 10 (21): 2068-2085.
- [16] KONJEVIC G M, VULETIC A M, KATARINA M, et al. The role of cytokines in the regulation of NK cells in the tumor environment [J]. *Cytokine*, 2019, 117: 30-40.
- [17] 赵书利. 运载呼肠孤病毒的人脐带间充质干细胞干预 K562 荷瘤小鼠血清中细胞因子含量的分析 [D]. 贵阳: 贵州医科大学, 2019.

(收稿日期: 2020-12-02 修回日期: 2021-03-28)