

# 负载抗原的 DC 与 CIK 共培养对肝癌细胞的杀伤作用\*

徐巧元<sup>1</sup>, 杨志祥<sup>2△</sup>, 罗 阔<sup>2</sup> (1. 重庆市第五人民医院肿瘤科 400062; 2. 重庆市中山医院肿瘤科 400013)

**【摘要】** 目的 探讨负载抗原的树突状细胞(DC)与杀伤细胞(CIK)细胞共培养对肝癌 HepG2 细胞增殖和凋亡的影响。方法 采用粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)、重组人白细胞介素-4(IL-4)、肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 诱导健康自愿者外周血中的贴壁细胞产生成熟树突状细胞(DCs), 并用 HepG2 细胞裂解产物将其致敏。用 CD3 单抗、干扰素- $\gamma$ (IFN- $\gamma$ )、白细胞介素-2(IL-2)诱导悬浮细胞产生细胞因子激活的 CIK 细胞。采用流式细胞术检测 DC、CIK 细胞的表型和肝癌 HepG2 细胞的凋亡, 利用 Cell Counting Kit-8(CCK-8)试剂检测肝癌 HepG2 细胞的增殖。结果 与未负载抗原的 DC-CIK 比较, 负载抗原的 DC-CIK 表面分子表达增高, 对 HepG2 细胞增殖活力抑制作用更明显, 同时诱导癌细胞凋亡能力更强。结论 负载抗原的 DC 细胞能显著提高 CIK 细胞的抗癌效应。

**【关键词】** 负载抗原; DC-CIK; HepG2 细胞; 增殖; 凋亡

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2014.12.006 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2014)12-1605-03

The killing effect of CIK cells combined with antigen-loaded DC on liver cancer cells\* XU Qiao-yuan<sup>1</sup>, YANG Zhi-xiang<sup>2△</sup>, LUO Kuo<sup>2</sup> (1. Department of Oncology, Chongqing Fifth People's Hospital, Chongqing, 400062, China; 2. Department of Oncology, Chongqing Zhongshan Hospital, Chongqing 400013, China)

**【Abstract】 Objective** To explore the effect of cytokine induced killer(CIK) cells and antigen-loaded DC(DCs) on proliferation and apoptosis in human liver cancer cell line HepG2. **Methods** Adherent cells from peripheral blood of healthy volunteers were induced by GM-CSF, IL-4, TNF- $\alpha$  to prepare DCs, which were sensitized with HepG2 cell lysates. Meanwhile, suspended cells were induced by CD3 monoclonal antibody, IFN- $\gamma$ , IL-2 to prepare CIK cells. The immunophenotype of DCs and CIK cells and the apoptosis of HepG2 cells were analyzed by flow cytometry. The IFN- $\gamma$  and TNF- $\alpha$  levels in cell cultured supernatant were examined with ELISA. Then, the proliferation of HepG2 cells was detected by CCK-8. **Results** Compare with DC-CIK, antigen-loaded DC increased the markers expression of CIK cells, strengthen the anti-proliferation effect of CIK on HepG2 cells and enhanced HepG2 cell apoptosis. **Conclusion** Antigen-loaded DC can enhance significantly the anti-cancer effect of CIK cells on liver cancer cell line.

**【Key words】** antigen-loaded; DC-CIK; HepG2 cells; proliferation; apoptosis

肝癌是最常见的恶性肿瘤之一, 在肿瘤相关性病死中位居第 2, 仅次于肺癌。肝癌恶性程度高, 进展迅速, 易发生浸润和转移。手术根治性切除率低, 复发率较高。肝癌患者免疫功能低下, 导致化疗效果不理想。因此, 为提高肝癌疗效, 综合治疗是其重要措施之一。近年来, 细胞免疫治疗已广泛运用于恶性肿瘤的治疗, 并取得了较好的疗效<sup>[1]</sup>。其中杀伤细胞(CIK)被认为是目前增殖和杀伤能力最强的一种新型免疫效应细胞。树突状细胞(DC)是目前发现的功能最强大的抗原呈递细胞, 它能摄取并处理抗原, 激活初始型 T 细胞。因此, 将负载了抗原的 DC 与 CIK 细胞共培养能增强 CIK 细胞的抗肿瘤活性。本研究将负载了肝癌特异性抗原的 DC 与 CIK 细胞共培养, 从免疫表型、抗肿瘤活性及细胞凋亡等方面探讨负载抗原的 DC-CIK 细胞对肝癌 HepG2 细胞的杀伤作用, 为肝癌的综合治疗提供新的治疗方案。报道如下。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** DC 和 CIK 细胞取自健康自愿者的外周血, HepG2 肝癌细胞株由第三军医大学复合伤研究所提供。

**1.2 仪器与试剂** RPMI-1640 培养液和胎牛血清购自 Gibco 公司; 人淋巴细胞分离液为 TBS 产品; 粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(RHGM-CSF)、肿瘤坏死因子(TNF- $\alpha$ )、干扰素- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ )、白细胞介素-2(IL-2)和白细胞介素-4(IL-4)购自厦门特宝生物工程股份有限公司; CD3 单克隆抗体(CD3McAb)购

自深圳达科为生物有限公司; FITC 标记的 CD3、CD8、CD56、CD80、CD83、CD86 和主要组织相容性复合体 II (MHC II) 单克隆抗体购自美国 eBioscience 公司; IL-2 和 IFN- $\gamma$  的 ELISA 试剂盒购自博士德生物公司; CCK-8 试剂盒购自日本株式会社; Annexin V-FITC/PI 购自凯基生物。

## 1.3 方法

**1.3.1 细胞冻融抗原的制备** 常规消化离心收集对数生长期的 HepG2 细胞, PBS 冲洗 3 遍后, 再用 PBS 稀释将浓度调整至  $1 \times 10^8$  /mL, 制成细胞悬液。置于一 80 °C 冰冻, 然后 37 °C 融解, 如此反复冻融 3 次, 再于冰浴中超声波破碎, 离心 (500 r/min, 10 min), 收集上清液, 过滤除菌, 置一 80 °C 备用。

**1.3.2 DC 和 CIK 细胞的诱导培养和共培养** 选取健康自愿者的外周血, 经血细胞分离机和淋巴细胞分离液梯度离心法分离纯化单个核细胞。采用含 10% FCS 的 RPMI 1640 培养基将细胞浓度调整为  $5 \times 10^6$  /mL, 加入 6 孔板中, 于 37 °C, 5% CO<sub>2</sub> 培养箱培养 2 h。收集培养上清液中的悬浮细胞作为诱导 CIK 细胞备用。使用含有 1 000 U/mL CM-CSF, 500 U/mL IL-4, 500 U/mL TNF- $\alpha$  以及 10% FCS 的 RPMI 1640 培养基继续培养贴壁细胞。每 3 天换 1 次溶液, 在第 4 天向一部分 DC 培养液中按 100  $\mu$ L/mL 加入冻融抗原, 诱导至第 7 天收获成熟树突状细胞(DCs)。将收集的悬浮细胞密度调整至  $2 \times 10^6$  /mL 加入 6 孔板中, 采用含 50 ng/mL 抗 CD3 单抗、2 000 U/mL IFN-

\* 基金项目: 重庆市渝中区科技计划项目(20120225)。

作者简介: 徐巧元, 女, 硕士, 副主任医师, 主要从事肿瘤学研究。 △ 通讯作者, E-mail: yzhixiang122@tom.com。

$\gamma$ 、1 000 U/mL IL-2 以及 10% FCS 的 RPMI 1640 培养基继续培养。每 3 天换 1 次培养液,诱导至第 14 天收获 CIK 细胞。将收获的负载抗原和未负载抗原的 DC 分别与 CIK 细胞共培养(DC : CIK=1 : 10),应用 CIK 培养液,分别命名为 Ag-DC-CIK 和 DC-CIK。共培养 4 d 后,收集细胞备用。

**1.3.3 流式细胞术鉴定 DC 和 CIK 细胞的免疫表型** 共培养 4 d 的 DC 以及 CIK 细胞,用 PBS 将细胞密度调整至  $1 \times 10^6$  /mL,分别加入相应的抗体,混匀后在室温下避光孵育 30 min,再用 PBS 洗涤 3 遍,加入 1% 多聚甲醛固定。采用流式细胞仪检测 DC 表型(CD80、CD83、CD86、MHC II)和 CIK 表型(CD3、CD8、CD56)。

**1.3.4 CCK-8 检测共培养细胞对肝癌 HepG2 细胞的杀伤作用** 将处于对数生长期的 HepG2 细胞以  $1 \times 10^4$  个/孔接种于 96 孔板中,培养 12 h 细胞贴壁后,将 DC-CIK 细胞或 Ag-DC-CIK 细胞加入 HepG2 培养体系中(效靶比 1 : 1、10 : 1、100 : 1),继续培养 24、48、72、96 h。在培养相应时间点后加入 10  $\mu$ L 的 CCK-8 试剂,37  $^{\circ}$ C 孵育 2 h,在酶标仪上 490 nm 处比色。根据公式计算细胞活力:细胞活力(%)=A490(处理组)/A490(自然生长组) $\times 100\%$ 。

**1.3.5 流式细胞术检测肝癌细胞凋亡** 收集 DC-CIK 细胞或 Ag-DC-CIK 细胞共培养的 HepG2 细胞,以及自然生长的 HepG2 细胞,PBS 充分洗涤后,用 250  $\mu$ L 结合缓冲液悬浮细胞,并调整细胞浓度为  $1 \times 10^4$  个/毫升,取 100  $\mu$ L 置于 5 mL 流式管中,加入 5  $\mu$ L Annexin V-FITC 和 10  $\mu$ L PI,混匀后于室温避光孵育 15 min,在反应管中加 400  $\mu$ L PBS,置流式细胞仪检测。

**1.4 统计学处理** 采用 SPSS 11.0 软件,进行独立变量 *t* 检验和单因素方差分析,数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

**2 结 果**

**2.1 DC 与 Ag-DC 的免疫学表型比较** 在 DC 诱导培养 7 d 后,收集 DC 和 Ag-DC,采用流式细胞术检测 DC 表面标志物 CD80、CD83、CD86、MHC II。DC 分别为(24.13  $\pm$  2.31)%、(18.77  $\pm$  0.63)%、(33.99  $\pm$  1.53)%、(32.02  $\pm$  2.3)% ,而 Ag-DC 分别为(42.42  $\pm$  2.27)%、(36.08  $\pm$  2.10)%、(36.66  $\pm$  2.10)%、(42.39  $\pm$  2.55)%。因此,结果显示 DC 负载抗原后,表面标志物的表达均有上升,且 2 组间 CD80、CD83 以及 MHC II 比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 1。

**2.2 与 DC 或 Ag-DC 共培养后 CIK 细胞的免疫学表型比较** 在 DC-CIK 和 Ag-DC-CIK 共培养 4 d 后,收集 2 组 CIK 细

胞,采用流式细胞术进行表型检测。DC-CIK 组的 CIK 细胞 CD3+CD8+、CD3+CD56+ 细胞分别为(25.79  $\pm$  1.70)%、(8.94  $\pm$  0.63)% ,而 Ag-DC-CIK 组的 CIK 细胞分别为(32.48  $\pm$  1.00)%、(13.97  $\pm$  1.25)%。该结果提示,负载抗原的 DC 比未负载抗原的 DC 更能提高 CD3+CD8+ CIK 和 CD3+CD56+CIK 的百分率。见表 2。

表 1 2 组 DC 诱导 7 d 的免疫学表型结果比较( $\bar{x} \pm s, \%$ )

组别	CD80	CD83	CD86	MHC II
DC 组	24.13 $\pm$ 2.31	18.77 $\pm$ 0.63	33.99 $\pm$ 1.53	32.02 $\pm$ 2.30
Ag-DC 组	42.42 $\pm$ 2.27*	36.08 $\pm$ 2.10*	36.66 $\pm$ 2.10	42.39 $\pm$ 2.55*

注:与 DC 组比较,\*  $P < 0.05$ 。

**2.3 共培养细胞对肝癌 HepG2 细胞的杀伤作用** 将 DC-CIK 或 Ag-DC-CIK 按效靶比分别为 1 : 1、10 : 1、100 : 1 与肝癌细胞 HepG2 共培养,采用 CCK-8 试剂检测 2 组共培养细胞对肝癌细胞增殖活力的杀伤作用。当效靶比为 1 : 1 时,无论作用多长时间,2 组的 HepG2 细胞增殖活力下降均不明显。当效靶比为 10 : 1 时,2 组共培养细胞在 48 h 出现杀伤作用,随着作用时间延长,HepG2 细胞增殖活力下降越明显,且 Ag-DC-CIK 组的细胞活力明显低于 DC-CIK 组。当效靶比在 100 : 1 时,共培养细胞的杀伤作用更强,Ag-DC-CIK 组在 24 h 就使 HepG2 细胞增殖活力下降至(81.8  $\pm$  4.67)% ,当作用时间至 96 h,DC-CIK 组的 HepG2 细胞活力显著降低至(42.23  $\pm$  3.01)% ,甚至在 Ag-DC-CIK 组仅为(19.14  $\pm$  2.06)%。该结果显示,效靶比在 1 : 1 到 100 : 1 范围内时,共培养细胞对肝癌 HepG2 细胞的杀伤作用与效靶比呈正相关,且具有时间依赖性,并且 Ag-DC-CIK 细胞抗癌作用明显优于 DC-CIK 组。

表 2 2 组 CIK 细胞共培养 4 d 的免疫学表型结果比较( $\bar{x} \pm s, \%$ )

组别	CD3+CD8+	CD3+CD56+
DC 组	25.79 $\pm$ 1.70	8.94 $\pm$ 0.63
Ag-DC 组	32.48 $\pm$ 1.00*	13.97 $\pm$ 1.25*

注:与 DC 组比较,\*  $P < 0.05$ 。

**2.4 共培养细胞诱导肝癌细胞凋亡** 收集与 DC-CIK 细胞和 Ag-DC-CIK 细胞共培养 48 h 和 72 h 的 HepG2 细胞,采用流式细胞术检测细胞凋亡情况,HepG2 细胞的凋亡数量随着效靶比增大而增多,且作用 72 h 的凋亡率高于 48 h,与杀伤作用一致的是 Ag-DC-CIK 组的凋亡诱导能力强于 DC-CIK 组。由此可见,凋亡发生与作用时间呈正相关性。见表 3。

表 3 共培养细胞诱导肝癌 HepG2 细胞凋亡( $\bar{x} \pm s, \%$ )

时间	自然生长组	DC-CIK 组			Ag-DC-CIK 组		
		1 : 1	10 : 1	100 : 1	1 : 1	10 : 1	100 : 1
48 h	2.13 $\pm$ 0.47	2.10 $\pm$ 0.30	5.03 $\pm$ 0.60*	13.37 $\pm$ 0.76*	2.90 $\pm$ 0.56	10.07 $\pm$ 1.00* $\Delta$	27.10 $\pm$ 1.39* $\Delta$
72 h	2.20 $\pm$ 0.62	2.37 $\pm$ 0.45	9.23 $\pm$ 0.47*	17.87 $\pm$ 1.19*	2.97 $\pm$ 0.15	17.37 $\pm$ 1.11* $\Delta$	30.07 $\pm$ 1.23* $\Delta$

注:与自然生长组比较,\*  $P < 0.05$ ;与 DC-CIK 组比较, $\Delta P < 0.05$ 。

**3 讨 论**

针对肝癌居高不下的发病率和病死率,各种新型的治疗策略正在迅速的被研究。其中生物免疫治疗显示了较好的前景。肝癌的生物免疫治疗包括采用阻断信号转导的药物、单克隆抗体、细胞因子治疗以及细胞免疫治疗等。目前,细胞免疫治疗因能较大提高治疗率、生存率和降低复发率而受到研究者的关注。CIK 细胞是人外周血单核细胞在体外由多种细胞因子诱导培养而获得的一种异质细胞群,它不但有 T 淋巴细胞的抗

肿瘤特性,还有 NK 细胞的非主要组织相容性复合体(MHC)限制性肿瘤杀伤功能,其主要效应细胞为 CD3+ 和 CD56+ 淋巴细胞。大量研究报道显示 CIK 对多种恶性肿瘤具有较好的抗癌效果,如肺癌胃癌、乳腺癌等<sup>[2-3]</sup>。DC 由骨髓进入外周血再分布到全身各处,仅占单核细胞的 1%,但它是功能最显著的抗原呈递细胞,在体外可通过多种细胞因子诱导而成。DC 最主要的特点是能够刺激初始型 T 细胞活化和增殖,将 DC 和 CIK 共培养能有效提高 CIK 的抗癌疗效。因此,采用 DC-CIK

细胞联合治疗恶性肿瘤已成为当今细胞免疫治疗的热点<sup>[4]</sup>。本组采用 DC-CIK 细胞在体外作用于肝癌 HepG2 细胞, 效靶比在 100 : 1 时显示强大的抗瘤作用, 其随时间延长而增强, 并持续到 96 h。

DC 除能刺激初始型 T 细胞活化增殖外, 还能把抗原有效呈递给 T 细胞, 使 T 细胞对抗原蛋白酶致敏, 从而杀灭肿瘤细胞。因此, 负载有特异性的抗原 DC 瘤苗已运用于临床, 该瘤苗作为强有力的宿主免疫刺激物, 具有超强的免疫应答激活功能, 能特异性地杀灭肿瘤细胞, 提高治疗效果并无明显不良反应。根据 DC 瘤苗的特点, 有研究者将负载有抗原的 DC 与 CIK 共培养, 以此提高 CIK 的抗瘤能力<sup>[5]</sup>。其中, 因肿瘤细胞总蛋白中含有极其丰富的 MHC 抗原表位等成分, 有不少学者使 DC 负载肿瘤细胞总蛋白制成的抗原, 同样提高了 CIK 的抗瘤活性。本研究也将肝癌 HepG2 细胞反复冻融制作的抗原负载于 DC 上, DC 表面的共刺激分子(CD80 和 CD83)以及 MHC II 的表达均高于未负载抗原的 DC, 表明负载了抗原的 DC 成熟度更高, 抗原呈递功能更强。因此 CIK 与两种 DC 共培养后, 用于 HepG2 细胞的增殖实验中, 负载抗原组的抗瘤作用明显强于未负载抗原组, 且效靶比在 10 : 1 和 100 : 1 时差异有统计学意义( $P < 0.05$ ), 此种差异随着作用时间延长而逐渐明显。

CIK 具有 T 淋巴细胞和 NK 细胞的抗瘤作用, 其主要作用机制在于分泌的穿孔素和颗粒酶等能直接杀伤靶细胞。此外, CIK 细胞活化后能分泌多种细胞因子, 如 IL-2、IL-6、GM-CSF、TNF- $\alpha$  和 IFN- $\gamma$  等, 通过调节机体免疫系统间接杀伤肿瘤细胞<sup>[6]</sup>。众多学者提出 CIK 细胞能诱导肿瘤细胞凋亡, Sun 等报道 CIK 细胞能使胃癌 MGC-803 细胞中 p53、C-myc 和 Bcl-2 的基因表达降低, Bax 升高, 从而在早期诱导胃癌细胞凋亡, 晚期细胞坏死。Yu 和 Zhang<sup>[7]</sup> 提出 CIK 细胞表达 FasL, 通过诱导肿瘤细胞表达 Fas 致使肿瘤细胞凋亡。Wang 和 Wang<sup>[8]</sup> 的研究显示自体 CIK 细胞、自体 DC-CIK 细胞和同种异体 DC-CIK 细胞具有诱导肿瘤细胞凋亡的抗癌能力, 且同种异体 DC-CIK 细胞作用最强。本组实验中, 流式细胞术检测发现两种 DC-CIK 细胞共培养的 HepG2 细胞, 在效靶比为 10 : 1 和 100 : 1 时, 凋亡细胞均增多, 且凋亡率随效靶比增高和作用时间延长而升高, 而且负载抗原组的诱导凋亡能力明显高于未负载抗原组。

据报道, 活化的 CIK 细胞分泌的细胞因子除能调节机体免疫功能外, 一部分也参与了刺激靶细胞凋亡通路活化的过程, Kornacker 等发现自体 CIK 能诱导 15% 的白血病细胞凋亡, 而活化的 CIK 能诱导 30% 的靶细胞凋亡, 该诱导细胞凋亡的作用因 CIK 分泌大量的 IFN- $\gamma$  刺激肿瘤细胞黏附分子高表达而被强化。在 CIK 细胞分泌的参与激活凋亡的细胞因子中, IFN- $\gamma$  和 TNF- $\alpha$  具有代表性<sup>[9]</sup>。大量研究分析其参与激活凋亡的过程, 如 IFN- $\gamma$  能增强 IFN 调节因子 1(IRF1) 在肿瘤细胞中的表达和活化, 活化的 IRF1 抑制 NF- $\kappa$ B p65 的活化, 从而抑制 Bcl-2 家族中抗凋亡蛋白(Bcl-2、Bcl-W)的表达, 并提高凋亡蛋白(BAK、BAX)的水平, 最后激活 caspase 家族蛋白, 导致凋亡发生<sup>[10]</sup>。此外, IFN- $\gamma$  能提高肿瘤细胞 Fas 的表达并启动 Fas/FasL 的凋亡通路<sup>[11]</sup>。同样, TNF- $\alpha$  参与凋亡发生也与激活 JNK 通路、调节 Bcl-2 家族蛋白水平以及活化 caspase 凋亡因子等相关<sup>[12]</sup>。结合 HepG2 细胞的增殖和凋亡, 本组结果显示, 与未负载抗原的 DC 相比, 负载抗原的 DC 与 CIK 共培养, 能刺激 CIK 大量增殖, 提高对肝癌 HepG2 细

胞直接杀伤能力。

本研究采用肿瘤细胞冻融抗原负载的 DC-CIK 细胞, 实现了抗瘤效应的特异性, 在肝癌 HepG2 细胞中产生了比 DC-CIK 细胞更有效的抗瘤效果, 不但降低了肿瘤细胞的增殖率, 还提高了细胞的凋亡率。为细胞免疫治疗提供新的思路, 更为肝癌的综合治疗标明了新的研究方向。

## 参考文献

- [1] 任庆, 熊锐华, 田秀荣, 等. CIK 细胞治疗晚期恶性肿瘤的临床研究[J]. 湖南中医药大学学报, 2012, 32(10): 55-57.
- [2] Luo H, Zhou X. Research advances on CIK cells and their clinical use in lung cancer[J]. Zhong Guo Fei Ai Za Zhi, 2011, 14(12): 954-959.
- [3] Zhao Q, Zhang H. Anti-tumor effects of CIK combined with oxaliplatin in human oxaliplatin-resistant gastric cancer cells in vivo and in vitro[J]. Exp Clin Cancer Res, 2010, 29(26): 118-120.
- [4] 何立香, 蒋思卿, 彭大为. DC-CIK 治疗恶性肿瘤的研究进展[J]. 医学综述, 2013, 19(1): 59-62.
- [5] 严欣江, 苏志鹏, 郑伟明. 白介素-13 受体  $\alpha_2$  抗原肽致敏的 DC-CIK 细胞对人胶质瘤 U251 细胞的杀伤效应[J]. 温州医学院学报, 2009, 39(1): 24-27.
- [6] 杨葳, 徐铭宝. CIK 细胞治疗恶性肿瘤研究进展[J]. 中国实用医药, 2009, 29(4): 217-219.
- [7] Yu J, Zhang W. CD4+ T cells in CIKs(CD4+ CIKs) reversed resistance to fas-mediated apoptosis through CD40/CD40L ligation rather than IFN-gamma stimulation[J]. Cancer Biother Radiopharm, 2008, 23(3): 342-354.
- [8] Wang QJ, Wang H. Comparative study on anti-tumor immune response of autologous cytokine-induced killer (CIK) cells, dendritic cells-CIK (DC-CIK), and semi-allogeneic DC-CIK[J]. Chin J Cancer, 2010, 29(7): 641-648.
- [9] Pengju Z, Weiwen C. NKX3. 1 potentiates TNF- $\alpha$  lpha/CHX-induced apoptosis of prostate cancer cells through increasing caspase-3 expression and its activity[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2010, 398(3): 457-461.
- [10] Ning Y, Riggins RB. IFN-gamma restores breast cancer sensitivity to fulvestrant by regulating STAT1, IFN regulatory factor 1, NF- $\kappa$ B, BCL2 family members, and signaling to caspase-dependent apoptosis[J]. Mol Cancer Ther, 2010, 9(5): 1274-1285.
- [11] Li Z, Xu Q. IFN-gamma enhances HOS and U2OS cell lines susceptibility to gammadelta T cell-mediated killing through the Fas/Fas ligand pathway[J]. Int Immunopharmacol, 2011, 11(4): 496-503.
- [12] Hamen A, Thiem HT, Lim HS, et al. Transcriptional and post-translational regulation of Bim is essential for TGF-beta and TNF- $\alpha$  lpha-induced apoptosis of gastric cancer cell[J]. Biochim Biophys Acta, 2013, 1830(6): 3584-3592.