

## 利用 6-巯基嘌呤的细胞增殖毒性评价转移因子的生物活性

矫建, 邓洋, 李雅君, 牛玉娟, 毛希琴, 刘进朋\*

(大连市检验检测认证技术服务中心, 大连 116021)

**摘要** 目的: 建立基于人白血病 T 细胞株 Jurkat E6-1 的转移因子(TF)生物活性检测方法。方法: 采用细胞毒性和增殖(CCK-8)法探索不同浓度 TF 对 6-巯基嘌呤(6-MP)处理 Jurkat E6-1 细胞增殖的影响, 并对该方法的精密度进行验证。结果:  $20 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  TF 可使细胞的生存率明显提高, 使 6-MP 的  $\text{IC}_{50}$  由  $(0.46 \pm 0.10) \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  右移至  $(1.11 \pm 0.30) \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ; 当  $1.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  6-MP 处理细胞时, TF 的浓度和细胞生存率具有良好的线性关系,  $r > 0.95$ 。不同批次间在剂量-反应曲线的每个浓度水平上, RSD 均小于 20%。TF 的半数有效浓度( $\text{EC}_{50}$ )为  $(28.49 \pm 9.60) \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 可信限率小于 20%。结论: TF 可以显著提高暴露于 6-MP 的 Jurkat E6-1 细胞生存率, 该作用呈剂量依赖性, 可为 TF 生物活性测定提供客观、准确的评价手段。  
**关键词:** 转移因子; 6-巯基嘌呤; Jurkat E6-1 细胞; 生物活性

中图分类号: R 917

文献标识码: A

文章编号: 0254-1793(2024)09-1524-05

doi: 10.16155/j.0254-1793.2024-0246

## Assessment of transfer factor bioactivity under 6-mercaptopurine treatment by cell proliferation assay

JIAO Jian, DENG Yang, LI Ya-jun,  
NIU Yu-juan, MAO Xi-qin, LIU Jin-peng\*

(Dalian Center for Certification and Food and Drug Control, Dalian 116021, China)

**Abstract Objective:** To develop a method to assess bioactivity of transfer factor (TF) based on their protective effects on Jurkat E6-1 cells. **Methods:** Proliferative effects of different concentrations of TF on 6-mercaptopurine (6-MP) treated Jurkat E6-1 cells detected by CCK-8 assay and the precision was validated. **Results:** TF exhibited protective activity to change the inhibitory concentration ( $\text{IC}_{50}$ ) value of 6-MP from  $(0.46 \pm 0.10) \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  to  $(1.11 \pm 0.30) \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  when treated with  $20 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  TF. When cells were treated with 6-MP, there is a good linear relationship between the concentration of TF and cell survival rate,  $r > 0.95$ . At each concentration level of the dose-response curve, the RSD was less than 20%. The median effective concentration ( $\text{EC}_{50}$ ) of TF was  $(28.49 \pm 9.60) \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ , and the confidence limit was less than 20%. **Conclusions:** TF significantly improved Jurkat E6-1 cell survival rate in dose dependent manner when challenged with 6-MP. It may be suitable for evaluate bioactivity of TF.  
**Keywords:** transfer factor; 6-mercaptopurine(6-MP); Jurkat E6-1 cells; bioactivity

\* 通信作者 Tel: (0411)84255272; E-mail: liu68dlfa@163.com

第一作者 Tel: 13898645192; E-mail: jiaojian91@aliyun.com

转移因子(transfer factors, TF)又称 Lawrence TF 或可透析白细胞提取物(dialyzable leukocyte extracts, DLE),因其能够将致敏捐赠者的延迟性过敏反应和细胞介导的免疫力传递给非免疫接受者而得名<sup>[1]</sup>。TF 是一种含多肽氨基酸和多核苷酸混合物的免疫调节药,具有不引起过敏反应、不产生抗体、无明显毒副作用等特点<sup>[2]</sup>。其主要作用机制可能是细胞介导的免疫反应,产生巨噬细胞游走抑制因子(macrophage migration inhibitory factor, MIF)和干扰素(interferon- $\gamma$ , IFN- $\gamma$ ),抑制核因子 $\kappa$ B(nuclear factor kappa-B, NF- $\kappa$ B),减少肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor $\alpha$ , TNF $\alpha$ )和白介素4(Interleukin-4, IL-4)水平。TF 中加入核糖核酸酶(RNAse)或脱氧核糖核酸酶(DNAse)并不改变其转移能力<sup>[3]</sup>。TF 主要来源于人或牛的白细胞,蛋黄,淋巴组织,动物的脾细胞及牛初乳等。临床用于感染、过敏、自身免疫等疾病,某些抗生素难以控制的病毒性或霉菌性细胞内感染的辅助治疗;亦对恶性肿瘤、湿疹、血小板减少、多次感染综合征以及慢性皮肤黏膜真菌病等免疫缺陷疾病有一定的治疗作用<sup>[4-5]</sup>。

已知的 TF 活性测定方法,包括:e-玫瑰花结法、小鼠延迟型超敏反应的诱导、白细胞迁移法和 IFN- $\gamma$  分泌测定法<sup>[6-9]</sup>,然而,这些方法费时耗力,又缺乏可靠性和重复性。硫唑嘌呤、6-巯基嘌呤(6-MP)、硫鸟嘌呤(6-thioguanine, 6-TG)等嘌呤抗代谢药物可通过干扰核糖核酸(ribonucleic acid, RNA)、脱氧核糖核酸(deoxyribonucleic acid, DNA)和蛋白质合成,从而促进 T 淋巴细胞的凋亡<sup>[10]</sup>。而 TF 担负重要的调节免疫应答功能,可以促进 T 淋巴细胞中胸腺细胞的成熟和分化。Jurkat E6-1 细胞常用于研究 T 淋巴细胞增殖、功能以及信号传导等分子作用机制<sup>[11-13]</sup>。本文使用 Jurkat E6-1 细胞和 6-MP 建立了来源于猪脾的 TF 的生物活性测定方法。该方法的细胞易获得,且可准确测定 TF 的生物活性,以期为 TF 产品的生物活性提供更为便利的检测手段。

## 1 材料

### 1.1 仪器

CCL-7-B-8 二氧化碳细胞培养箱(ESCO 公司);ACB-A1 垂直流超净工作台(ESCO 公司);DMIL 倒置相差显微镜(LEICA 公司);AXTDL5M 台式冷冻离心机(盐城市安信实验仪器有限公司);K2

双荧光细胞计数仪(Nexcelom 公司);Spectramax plus 384 型酶标仪(Molecular Device 公司)。

### 1.2 试剂

TF[批号 20240204、20240205、20240206,规格 10 mL:10 mg(多肽):300  $\mu$ g(核酸)]购自大连百利天华制药有限公司,6-MP(CAS 50-44-2,批号 K1827074)购自阿拉丁公司,RPMI 1640 培养基购自北纳创联生物科技有限公司,胎牛血清购自 Gibco 公司;细胞增殖及毒性检测试剂盒(CCK-8)购自博士德公司,二甲基亚砜(DMSO)购自 Sigma 公司,磷酸盐缓冲溶液(PBS)购自麦克林公司。

### 1.3 细胞系

Jurkat CloneE6-1 人 T 淋巴细胞白血病细胞购自北纳创联生物科技有限公司。

## 2 方法

### 2.1 细胞培养

将 Jurkat E6-1 细胞培养于含 15% 胎牛血清,并补充青霉素 100 U $\cdot$ mL<sup>-1</sup>,链霉素 0.1 mg $\cdot$ mL<sup>-1</sup> RPMI 1640 培养基的 25 mL 培养瓶中,于 37  $^{\circ}$ C、5% CO<sub>2</sub>的培养箱内培养,细胞密度达到 2 $\times$ 10<sup>6</sup>个 $\cdot$ mL<sup>-1</sup>时传代,待细胞长至对数生长期用于实验。

### 2.2 实验方法

6-MP 用 DMSO 溶解后,用灭菌注射用水稀释至所需浓度(DMSO 的终浓度 $\leq$ 0.1%);TF 用灭菌注射用水稀释至所需浓度;Jurkat E6-1 细胞用 PBS 清洗 2 次,用含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养基调整所需细胞密度。以 200  $\mu$ L $\cdot$ 孔<sup>-1</sup>(细胞数为 2 $\times$ 10<sup>4</sup>个 $\cdot$ 孔<sup>-1</sup>或 4 $\times$ 10<sup>4</sup>个 $\cdot$ 孔<sup>-1</sup>)接种于无菌 96 孔培养板中,按组别加入 6-MP、TF 处理细胞,TF 组加入 TF 处理 2 h 后,再加入 6-MP,同时设置空白培养组和正常对照组,然后在 37  $^{\circ}$ C、5% CO<sub>2</sub>条件下继续培养 48 h 或 72 h。取出培养板,每孔加入 CCK-8 溶液 20  $\mu$ L,放回培养箱内继续培养 1~2 h,取出、轻轻混匀,用酶标仪在 450/630 nm 波长处测定吸收度(A)。计算细胞生存率[细胞生存率=(A<sub>样品组</sub>-A<sub>空白组</sub>)/(A<sub>正常对照组</sub>-A<sub>空白组</sub>) $\times$ 100%]。

### 2.3 数据处理

采用 GraphPad Prism 8 对数据进行统计学分析,计量资料以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示,按文献方法计算 EC<sub>50</sub>值<sup>[14]</sup>。以 P<0.05 为差异显著,具有统计学意义。

### 3 结果与分析

#### 3.1 细胞密度、培养时间影响 6-MP 的淋巴细胞毒性作用

6-MP 对 Jurkat E6-1 细胞的毒性呈剂量、时间和细胞密度依赖性。如图 1 所示,不同培养时间和细胞密度均在 6-MP 质量浓度约为  $1.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  时,细胞存活率变化趋于稳定。6-MP 浓度在  $0.2 \sim 3.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,细胞接种数为  $2 \times 10^4$  个  $\cdot$  孔 $^{-1}$  时,不同培养时间均可降低细胞生存率,且随时间变化较小。细胞接种数为  $4 \times 10^4$  个  $\cdot$  孔 $^{-1}$ ,培养 48 h 时,细胞生存率变化较小,在 6-MP 质量浓度为  $3.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  时,细胞生存率降低 50% 左右;与培养 48 h 比较,72 h 时在 6-MP 浓度约为  $1.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  细胞生存率变化显著 ( $P > 0.05$ )。

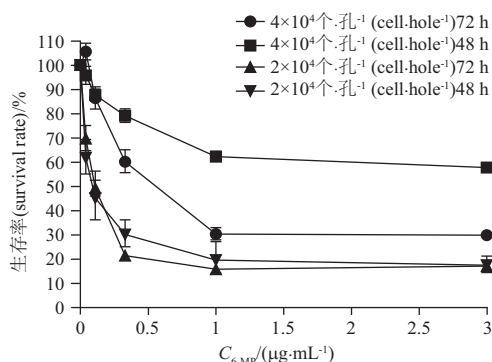


图 1 细胞密度、培养时间影响 6-MP 的抗增殖效果  
Fig.1 Anti-proliferative effects of 6-MP in cell density and time-dependent manner

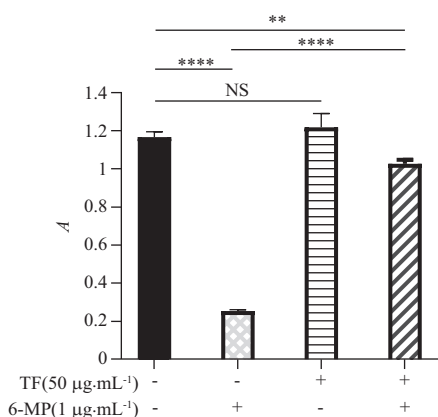


图 2 TF 对正常和受损 Jurkat E6-1 细胞增殖的影响 (\*\*\*\*  $P < 0.0001$ , \*\*\*  $P < 0.001$ , \*\*  $P < 0.01$ , NS.  $P > 0.05$ )  
Fig.2 Effects of TF on the proliferation of normal and injured Jurkat cells induced by 6-MP

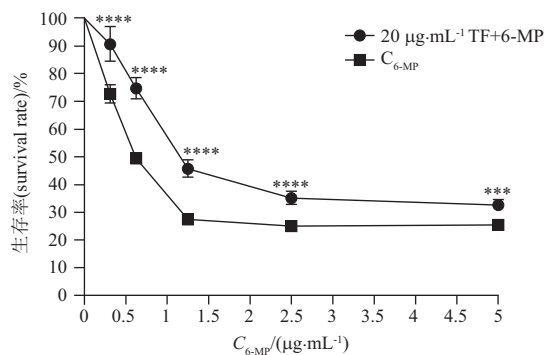
#### 3.2 TF 减轻 6-MP 的细胞毒性

细胞接种数为  $4 \times 10^4$  个  $\cdot$  孔 $^{-1}$ ,培养 72 h 时,TF 可显著提高细胞生存率。结果见图 2-A,  $50 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  TF 使细胞生存率提高了  $(50.41 \pm 1.27)\%$  (与 6-MP 组比较,  $P < 0.0001$ ),TF 仅使正常细胞生存率提高了  $(7.51 \pm 3.95)\%$  (与正常组比较  $P > 0.05$ )。结果表明,TF 对正常的 Jurkat E6-1 细胞无增殖作用,但能有效提高受损的 Jurkat E6-1 细胞的生存率。

6-MP 抑制 Jurkat E6-1 细胞增殖,半数抑制浓度 ( $IC_{50}$ ) 值为  $(0.46 \pm 0.10) \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。  $20 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  TF 可有效降低 6-MP 在  $0.3 \sim 5.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  浓度范围的细胞毒性,使 6-MP 的  $IC_{50}$  值右移至  $(1.11 \pm 0.30) \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  ( $P < 0.0001$ ),曲线下面积由  $166.1 \pm 2.7$  (6-MP) 增加到  $228.9 \pm 10.0$  (TF + 6-MP),说明 TF 可对抗 6-MP 对 Jurkat E6-1 细胞毒性作用,见图 2-B。

#### 3.3 TF 影响 6-MP 毒性作用的线性范围考察

以  $200 \mu\text{L} \cdot \text{孔}^{-1}$  (细胞数为  $4 \times 10^4$  个  $\cdot$  孔 $^{-1}$ ) 接种于无菌 96 孔培养板中,按组别加入  $1.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  的 6-MP 及不同浓度的 TF 处理细胞,TF 组加入 TF 处理 2 h 后,再加入 6-MP,同时设置空白培养基组和正常对照组,然后在  $37 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $5\% \text{ CO}_2$  条件下继续培养 72 h。测定及计算同方法“2.2”项。结果如图 3 显示,TF 质量浓度在  $2.33 \sim 50.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  范围内和细胞生存率具有良好的线性关系,  $r > 0.95$ ,符合线性与范围要求。



#### 3.4 不同批次 TF 生物活性及精密度测定

采用“3.3”建立的方法,以半数有效浓度 ( $EC_{50}$ )

为指标,考察 3 批 TF 的生物活性及精密度。结果如表 1 所示,TF 的  $EC_{50}$  为  $(28.49 \pm 9.60) \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$

( $n=3$ ),其可信限均低于 20%;经单因素方差分析(one-ANOVA)比较组间差异,3批  $EC_{50}$  无显著性差异( $P>0.05$ );不同批次独立样本在剂量-反应曲线的每个浓度水平上,细胞生存率的 RSD 均低于 20%;曲线的斜率或截距之间没有显著差异( $P>0.05$ ),说明此方法具有良好的精密度和重复性,满足生物活性测定精密度要求。

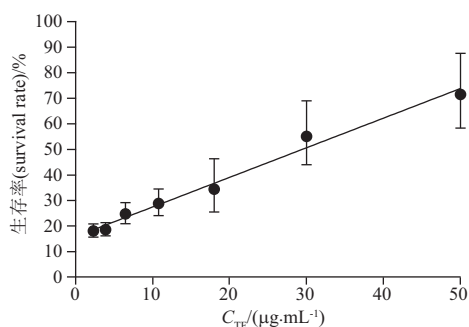


图3 TF对6-MP处理Jurkat E6-1细胞的生存曲线

Fig. 3 Survival curve of Jurkat E6-1 cells under treated with 6-MP and TF

表1 不同批次TF生物活性与精密度

Tab. 1 Biological activity and precision of TF in different batches

批号 (lot No.)	$EC_{50}/$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )	可信限 (confidence limit)/%	$P$	RSD/ %	方程分析(equality analysis)	
					斜率(slope)	截距(intercept)
20240204	$28.25 \pm 2.11$	$13.26 \pm 1.00$	0.16	5.9 ~ 19.4	$F(2,57) = 0.83$	$F(2,59) = 1.98$
20240205	$30.75 \pm 3.02$	$13.67 \pm 0.98$			$P = 0.44$	$P = 0.15$
20240206	$26.48 \pm 1.60$	$12.27 \pm 0.60$				

protein 4, MRP4)的活性就越高<sup>[22]</sup>,这导致6-MP的抗增殖作用是非线性的浓度依赖性<sup>[23]</sup>,同本研究中,6-MP的质量浓度从1.0到3.0  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时其细胞存活率无明显变化,结果一致。6-MP诱导Jurkat E6-1细胞凋亡具有时间依赖性,6-MP在孵育72 h后会诱导自噬体积累,从而促进凋亡<sup>[24]</sup>。

根据本研究结果,方法最终选取细胞接种数为  $4 \times 10^4$  个·孔<sup>-1</sup>,6-MP质量浓度为  $1.0 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,培养72 h时为实验条件。本研究的结果表明TF对正常的Jurkat E6-1细胞无促增殖作用,但能有效提高受损的Jurkat E6-1细胞的生存率;在一定的浓度范围内呈剂量反应相关, $r > 0.95$ ;不同批次间重复性的RSD在20%以内,3批TF测定的 $EC_{50}$ 为( $28.49 \pm 9.60$ )  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,可信限均在20%以下,且3批样品的 $EC_{50}$ 无明显差异,精密度和重复性满足生物活性测

#### 4 讨论与小结

TF是由多肽、氨基酸和多核苷酸组成的免疫调节药,其免疫调节活性测定存在以下几个难点:①免疫调节药的作用机制复杂多样;②不可能同时测定不同的作用机制,容易出现假阴性和/或假阳性的结果;③无法分别评估先天免疫和适应性免疫的影响以及它们之间的联系<sup>[15-18]</sup>,这些原因导致免疫调节活性的测定变得很复杂。因此,检查免疫调节活性的测定最有效的方法是单独测试某种特定的效果<sup>[19]</sup>。基于以上难点,有文献报道了人白细胞来源的DLE影响硫唑嘌呤作用下的Jurkat E6-1细胞增殖,用于DLE的生物活性评价<sup>[15,20]</sup>。

Jurkat E6-1细胞系来源于人急性T淋巴细胞白血病细胞/人淋巴细胞瘤细胞,是一类永生化的T淋巴细胞系,它保留了人周围血T淋巴细胞的特性<sup>[21]</sup>。6-MP可通过多种机制诱导Jurkat E6-1细胞凋亡,由于6-MP的细胞内水平越高,代谢酶和多药耐药相关蛋白4(multidrug resistance-associated

定方法要求。

本研究以传代人淋巴细胞Jurkat E6-1作为靶细胞,基于TF调节T淋巴细胞的生物活性为原理,能很好地测定TF的生物活性。2020年版《中国药典》四部收录了多种利用细胞增殖/MTT比色测定生物活性的方法,都需要用活性质控参考品对结果进行校正。对于TF而言,目前缺少合适的活性质控参考品。本研究以TF抗6-MP损伤Jurkat E6-1细胞的 $EC_{50}$ 为指标,可有效评价TF的生物活性。综上所述,本研究开发的TF生物活性测定方法,靶细胞易得,重复性好,为后续分析TF的生物活性质量控制提供了研究思路和数据支持。

#### 参考文献

[1] PINEDA B, ESTRADA-PARRA S, PEDRAZA-MEDINA B, et

- al. Interstitial transfer factor as adjuvant immunotherapy for experimental glioma[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2005, 24(4): 575
- [ 2 ] 古红婷, 邝莹, 陈垒, 等. 不同产品转移因子对免疫功能低下小鼠免疫功能的调控及多肽图谱分析[J]. *中南药学*, 2023, 21(9): 2282
- GU HT, KUANG Y, CHEN L, *et al.* Regulation of different transfer factors on the immune function in immunocompromised mice and polypeptide profiling[J]. *Cent South Pharm*, 2023, 21(9): 2282
- [ 3 ] MACIAS AE, GUANÍ – GUERRA E. Transfer factor: myths and facts[J]. *Arch Med Res*, 2020, 51(7): 613
- [ 4 ] OLIVEIRA GCR, DI NF, COUTO RM, *et al.* Use of transfer factor in immunosuppressed surgical patients [J]. *Rev Col Bras Cir*, 2017, 44(5): 452
- [ 5 ] TANG ZL, RUAN JL, CAI SQ. Transfer factor for the treatment of necrobiotic xanthogranuloma [J]. *Dermatol Ther*, 2022, 35(12): e15894
- [ 6 ] VALDIMARSSON H, MCGUIRE RL. Crude transfer – factor preparations stimulate trypsinized human lymphocytes to form rosettes with sheep red cells[J]. *Clin Exp Immunol*, 1977, 29(2): 261
- [ 7 ] KIRKPATRICK CH, HAMAD AR, MORTON LC. Murine transfer factors; dose – response relationships and routes of administration[J]. *Cell Immunol*, 1995, 164(2): 203
- [ 8 ] PIZZA G, DE VINCI C, FORNAROLA V, *et al.* *In vitro* studies during long – term oral administration of specific transfer factor [J]. *Biotherapy*, 1996, 9(1–3): 175
- [ 9 ] MEDINA – RIVERO E, MERCHAND – REYES G, PAVÓN L, *et al.* Batch – to – batch reproducibility of transferon[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2014, 88: 289
- [ 10 ] FERNÁNDEZ – RAMOS AA, MARCHETTI – LAURENT C, POINDESSOUS V, *et al.* 6 – Mercaptopurine promotes energetic failure in proliferating T cells[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(26): 43048
- [ 11 ] YANG JY, TAN YQ, ZHOU G. T cell – derived exosomes containing cytokines induced keratinocytes apoptosis in oral lichen planus[J]. *Oral Dis*, 2022, 28(3): 682
- [ 12 ] AZAD N, LAPAGLI AL, KIRSTEIN S, *et al.* Jurkat cell proliferative activity is increased by luteinizing hormone releasing hormone [J]. *J Endocrinol*, 1997, 153(2): 241
- [ 13 ] 张刚, 高晓慧, 吴海兵, 等. 地西他滨诱导人急性淋巴细胞白血病 Jurkat E6 – 1 细胞凋亡机制的研究[J]. *中国现代医生*. 2020, 58(1): 26
- ZHANG G, GAO XH, WU HB, *et al.* Study on the mechanism of apoptosis induced by decitabine in human acute lymphoblastic leukemia Jurkat cells [J]. *China Mod Docto*, 2020, 58(1): 26
- [ 14 ] 中华人民共和国药典 2020 年版. 四部[S]. 2020: 216
- ChP 2020. Vol IV [S]. 2020: 216
- [ 15 ] CARDOSO FM, TOMKOVA M, PETROVAJOVA D, *et al.* New and cost effective cell – based assay for dialyzed leukocyte extract (DLE) – induced Jurkat cells proliferation under azathioprine treatment [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2017, 138: 100
- [ 16 ] VESELY MD, KERSHAW MH, SCHREIBER RD, *et al.* Natural innate and adaptive immunity to cancer [J]. *Annu Rev Immunol*, 2011, 29: 235
- [ 17 ] VIVIER E, RAULET DH, MORETTA A, *et al.* Innate or adaptive immunity? The example of natural killer cells[J]. *Science*, 2011, 331(6013): 44
- [ 18 ] KADOWAKI N, ANTONENKO S, LAU JY, *et al.* Natural interferon alpha/beta – producing cells link innate and adaptive immunity[J]. *J Exp Med*, 2000, 192(2): 219
- [ 19 ] PAVLICEVIC M, MARMIROLI N, MAESTRI E. Immunomodulatory peptides – A promising source for novel functional food production and drug discovery [J]. *Peptides*, 2022, 148: 170696
- [ 20 ] CARBALLO – UICAB G, LINARES – TREJO JE, MELLADO – SÁNCHEZ G, *et al.* Validation of a cell proliferation assay to assess the potency of a dialyzable leukocyte extract intended for batch release[J]. *Molecules*, 2019, 24(19): 3426
- [ 21 ] ABRAHAM RT, WEISS A. Jurkat T cells and development of the T – cell receptor signalling paradigm [J]. *Nat Rev Immunol*, 2004, 4(4): 301
- [ 22 ] BECERRA E, BERUMEN L, SOTO – ONTIVEROS V, *et al.* Specific MRP4 inhibitor ceefourin – 1 enhances apoptosis induced by 6 – mercaptopurine in Jurkat leukemic cells, but not in normal lymphoblast cell line CRL – 1991 [J]. *Medicina (Kaunas)*, 2022, 58(6): 695
- [ 23 ] HAGLUND S, VIKINGSSON S, ALMER S, *et al.* Combination treatment with 6 – mercaptopurine and allopurinol in HepG2 and HEK293 cells – effects on gene expression levels and thiopurine metabolism[J]. *PLoS One*, 2017, 12(3): e0173825
- [ 24 ] YOO YG, NA TY, YANG WK, *et al.* 6 – Mercaptopurine, an activator of Nur77, enhances transcriptional activity of HIF – 1alpha resulting in new vessel formation[J]. *Oncogene*, 2007, 26(26): 3823

(本文于 2024 年 4 月 11 日收到)