

低强度脉冲超声增强人外周血淋巴细胞增殖及抗癌活性的实验研究

黄邓高 高元慧 曹卉 郑琳麟 文小红 符先先 张淑芳

摘要 目的 探讨低强度脉冲超声(LIPUS)对人外周血淋巴细胞(HPBL)增殖和抗肿瘤效应的影响。方法 采用 Ficoll 梯度离心法分离 HPBL; 将 LIUPS 强度 0 设为对照组, 10 mW/cm² 组、20 mW/cm² 组、30 mW/cm² 组、40 mW/cm² 组、50 mW/cm² 组为刺激组刺激 HPBL 增殖, 每天一次, 每次刺激 10 min, 连续刺激 2 d。CCK-8 法检测各组细胞增殖活性; 酶联免疫吸附法检测抗肿瘤因子[γ 干扰素(INF- γ)、白介素 2(IL-2)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)]表达情况; 采用共培养 HPBL 与人肺巨细胞癌 95D 细胞检测其抗肿瘤活性。结果 LIPUS 刺激 HPBL 2 d 共 2 次后, 30 mW/cm² 组的细胞增殖能力增强, 与对照组和其他强度刺激组比较, 细胞数量和细胞团块数量均增多。CCK-8 检测结果显示, 30 mW/cm² 组光密度值与对照组、20 mW/cm² 组、40 mW/cm² 组、50 mW/cm² 组比较差异均有统计学意义($P=0.032, 0.027, 0.027, 0.001$)。抗肿瘤因子检测显示, 30 mW/cm² 组 INF- γ 、IL-2、TNF- α 和 GM-CSF 分别为(39.66 \pm 8.30)ng/L、(619.84 \pm 125.94) μ g/ml、(461.29 \pm 14.08)ng/L、(108.11 \pm 2.07)ng/L, 均高于对照组[(24.40 \pm 6.84)ng/L、(279.56 \pm 128.18) μ g/ml、(417.17 \pm 21.44)ng/L 和(96.53 \pm 1.56)ng/L]和 50 mW/cm² 组[(16.52 \pm 0.87)ng/L、(141.00 \pm 93.71) μ g/ml、(171.96 \pm 9.46)ng/L、(72.56 \pm 8.95)ng/L], 差异均有统计学意义(均 $P<0.01$)。共培养实验显示, 30 mW/cm² 组人肺巨细胞癌 95D 细胞杀伤率为 51.11% \pm 5.21%, 显著高于对照组(42.86% \pm 0.55%)和 50 mW/cm² 组(42.00% \pm 3.67%), 差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。结论 LIPUS 刺激可提高 HPBL 的增殖活性和杀伤率。

关键词 超声, 低强度脉冲; 淋巴细胞外周血, 人; 细胞因子; 细胞增殖; 抗肿瘤

[中图分类号]R445.1

[文献标识码]A

Enhancement of proliferation and anti-tumor activity of human peripheral blood lymphocytes by low-intensity pulsed ultrasound: a experimental study

HUANG Denggao, GAO Yuanhui, CAO Hui, ZHENG Linlin, WEN Xiaohong, FU Xianxian, ZHANG Shufang

Central Laboratory, Affiliated Haikou Hospital of Xiangya Medical College, Central South University, Haikou 570208, China

ABSTRACT Objective To investigate the effect of low intensity pulsed ultrasound (LIPUS) on the proliferation and anti-tumor effect of human peripheral blood lymphocytes (HPBL). **Methods** Ficoll gradient centrifugation was used to separate HPBL. LIUPS of 0 intensity was set as the control group, and the stimulation group was 10 mW/cm², 20 mW/cm², 30 mW/cm², 40 mW/cm², and 50 mW/cm², respectively, then HPBL proliferation was stimulated by stimulation groups for 10 min/d for two consecutive days. The proliferation activity of the cells was measured by the CCK-8 assay. The expressions of anti-tumor factors interferon- γ (INF- γ), interleukin 2 (IL-2), tumor necrosis factor α (TNF- α) and granulocyte-macrophage colony stimulating factor (GM-CSF) in the supernatant of culture medium were detected by the ELISA assay. The anti-tumor activity was detected by co-culture of HPBL and human lung giant cell carcinoma cells (95D). **Results** After 2 d stimuli, 30 mW/cm² group significantly promoted HPBL proliferation compared with the control group and other stimulation groups after stimulated for two consecutive days ($P<0.01$). The results of CCK-8 showed that the optical density of 30 mW/cm² group was significantly different from that of the control group, 20 mW/cm² group, 40 mW/cm² group and 50 mW/cm² group, respectively ($P=0.032, 0.027, 0.027, 0.001$). Anti-tumor factor detection showed that the levels of INF- γ , IL-2, TNF- α and GM-CSF in 30 mW/cm² group were (39.66 \pm 8.30) ng/L, (619.84 \pm 125.94) μ g/ml, (461.29 \pm 14.08) ng/L, (108.11 \pm 2.07) ng/L, respectively, which were higher than those in the control group [(24.40 \pm 6.84) ng/L, (279.56 \pm 128.18) μ g/ml, (417.17 \pm 21.44) ng/L and (96.53 \pm 1.56) ng/L] and 50 mW/cm² group [(16.52 \pm 0.87)ng/L, (141.00 \pm 93.71) μ g/ml, (171.96 \pm 9.46)ng/L, (72.56 \pm 8.95)ng/L], and the differences were statistically significant (all $P<0.01$). Co-culture experiment showed that the killing rate of 95D cells in 30 mW/cm² group was 51.11% \pm 5.21%.

基金项目: 海南省医药卫生科研项目(1601031017A2001); 海南省自然科学基金项目(819QN386)

作者单位: 570208 海口市, 中南大学湘雅医学院附属海口医院中心实验室

通讯作者: 张淑芳, Email: haikouyiyuan@126.com

which was significantly higher than that in the control group ($42.86\% \pm 0.55\%$) and 50 mW/cm² group ($42.00\% \pm 3.67\%$), there were significant (both $P < 0.05$). **Conclusion** The proliferation activity and killing rate of HPBL were increased after LIPUS stimulation.

KEY WORDS Ultrasound, low intensity pulsed; Peripheral blood lymphocytes, human; Cytokines; Cell proliferation; Anti-tumor

目前,化疗和放疗是肺癌非手术治疗的主要手段,但随着时间推移,肺癌难以根治且会对治疗药物产生耐药性。尽管现有治疗技术不断提高,如单克隆抗体和小分子抑制剂的引入,但肺癌患者治疗后高复发率和预后差仍是临床需要克服的难点^[1]。虽然 B 细胞源性肿瘤在嵌合抗原受体 T 细胞治疗方面取得了较好的疗效,但在实体瘤中嵌合抗原受体 T 细胞则面临挑战^[2]。因此,研究改造或增强 T 淋巴细胞的功能和抗肿瘤活性对肿瘤的治疗具有重要临床意义。低强度脉冲超声(low-intensity pulsed ultrasound, LIPUS)刺激对细胞 DNA 和蛋白质合成、细胞活性和细胞因子释放、基因表达均有促进作用,低剂量超声可提高细胞的免疫调节^[3],表明 LIPUS 对肿瘤临床治疗可能具有重要价值。本实验抽取人外周血淋巴细胞(human peripheral blood lymphocytes, HPBL),并分离培养外周血 T 淋巴细胞,应用 SonaCell 细胞扩增仪配备的 LIPUS 刺激 T 淋巴细胞生长,将人肺巨细胞癌 95D 细胞与刺激后的 T 淋巴细胞共培养,检测 T 淋巴细胞的增殖能力,以及抗肿瘤因子和杀伤肿瘤细胞的活力,旨在为肿瘤治疗提供新思路和新方法。

材料与方 法

一、实验主要材料及试剂

人肺巨细胞癌 95D 细胞(苏州北纳创联生物科技有限公司);淋巴细胞分离液(美国 GE 公司);淋巴细胞培养基(以色列 BI 公司);RPMI 1640 细胞培养基(美国 Hyclone 公司);胎牛血清(美国 Gibco 公司);双抗(美国 Gibco 公司);胰酶消化液(美国 Gibco 公司);磷酸缓冲盐溶液(PBS,美国 Gibco 公司);Cell Counting Kit-8(CCK-8)细胞凋亡检查试剂盒(日本 Dojindo 公司);瑞氏-姬姆萨染液(珠海贝索生物技术有限公司);酶联免疫吸附测定试剂盒(英国 Abcam 公司)。

二、实验主要仪器

SonaCell 细胞扩增仪(加拿大 Intelligent-Nano 公司),配备 LIPUS,频率 1.5 MHz,脉冲重复频率 1 kHz,脉冲循环 20%,刺激强度 0~50 mW/cm²;本实验所用强度为细胞刺激时空间峰值时间平均强度。细胞培养箱(美国 Thermo 公司);荧光倒置显微镜(日本 OLMPUS 公司)。

三、实验方法

1. HPBL 的分离与培养:抽取志愿者静脉血 10 ml,迅

速送至细胞培养室,将 0.9% 生理盐水和全血按 1:1 的比例混合,缓慢加入至 20 ml 淋巴细胞分液中,2400 r/min,离心 20 min。离心后取出环状乳白色的淋巴细胞层,转移至新的离心管中,加入适量生理盐水混匀,2400 r/min,离心 10 min。弃上清后加入适量生理盐水重悬,再次离心。然后加入 1 ml 去离子水,反应 30~40 s 裂解红细胞,立即加入已配制好的 1.8% 生理盐水并充分混匀,2400 r/min,离心 10 min。弃上清后加入 2 ml 新鲜的淋巴细胞培养基重悬,并接种于培养皿中。24 h 后观察细胞生长情况,并用荧光倒置显微镜拍照。

2. 瑞氏-姬姆萨染色实验:收集培养 24 h 的 HPBL,用 PBS 制成细胞悬液,将细胞悬液进行涂片,待涂片自然干燥后滴加瑞氏-姬姆萨染色染液(A 液)数滴覆盖血片,染色约 1 min。然后滴加 B 液,用吸耳球将其与染液吹匀,染色约 2~3 min。缓慢摇动玻片,然后用细的自来水流从玻片的一侧冲去染液,待涂片自然干燥(或用滤纸吸干)后在显微镜下观察。

3. LIPUS 刺激实验:取 HPBL 1×10^5 个接种于 12 孔板相应的孔中,刺激强度分别为 0(对照组)、10 mW/cm²(10 mW/cm²组)、20 mW/cm²(20 mW/cm²组)、30 mW/cm²(30 mW/cm²组)、40 mW/cm²(40 mW/cm²组)、50 mW/cm²(50 mW/cm²组),应用 SonaCell 细胞扩增仪通过耦合剂紧贴培养皿底部进行体外刺激,每天刺激 1 次,每次 10 min,连续刺激 2 d,于第 3 天收集细胞进行 CCK-8 检测并为后续实验做准备。重复实验 4 次,得出最佳刺激强度。

4. 人肺巨细胞癌 95D 细胞培养:将人肺巨细胞癌 95D 细胞置于含 10% 胎牛血清和 1% 双抗(青霉素-链霉素溶液)的 RPMI 1640 完全培养基,细胞长满培养瓶的 80%~90% 时进行传代培养,取对数生长期细胞用于后续实验。

5. 抗肿瘤细胞因子检测实验:LIPUS 刺激 2 次后,取对照组和刺激组的细胞培养基上清液,3000 r/min,离心 20 min,取上清液应用酶联免疫吸附法检测培养基中的抗肿瘤因子,包括 γ 干扰素(INF- γ)、白介素 2(IL-2)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)。

6. 效应细胞杀伤肿瘤细胞的活性实验:将培养至 80% 融合的人肺巨细胞癌 95D 细胞用 0.08% 胰蛋白酶消化后离心,用含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养液配成单个细胞悬液,以每孔 100 μ l (1×10^4 个细胞)接种

到96孔板,设立效应细胞杀伤组、效应细胞对照组及肿瘤细胞对照组,每组设3个复孔,于培养箱中培养12 h。加入效应细胞,将效应细胞按实验要求调整到相应浓度,并加入到效应细胞杀伤组和效应细胞对照组孔内,每孔100 μl,然后将所有孔用培养液补齐至200 μl,于培养箱中共同培养12 h后,每孔加入CCK-8溶液20 μl,继续培养4 h,使用酶标仪读取光密度(optical density, OD)值。最后计算杀伤率,杀伤率=[1-(效应细胞杀伤组OD值-效应细胞对照组OD值)/肿瘤细胞对照组OD值]×100%。

四、统计学处理

应用SPSS 20.0统计软件,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较行独立样本t检验;多组间比较采用单因素方差分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

一、HPBL培养

HPBL培养24 h后,可见细胞成团块,大部分呈悬浮生长(图1A)。经瑞氏-姬姆萨染色后可见淋巴细胞呈圆形、椭圆形或轻度不规则形;胞质量少,呈淡蓝色,

无颗粒;胞核呈圆形,可有切迹和凹陷;核染色质呈块状、染紫红色、无核仁等典型的淋巴细胞形态(图1B)。

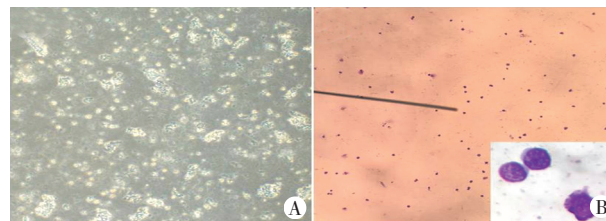


图1 HPBL细胞形态
A:培养24 h后的HPBL细胞形态(×20);B:瑞氏-姬姆萨染色后的细胞形态(×10),右下角为油镜下HPBL的形态

图1 HPBL细胞形态

二、LIPUS刺激HPBL细胞增殖情况

经过LIPUS刺激HPBL 2次,24 h后观察,30 mW/cm²组的细胞增殖能力增强,与对照组和其他强度刺激组比较,细胞数量和细胞团块数量均增多(图2)。CCK-8检测结果显示,30 mW/cm²组OD值与对照组、20 mW/cm²组、40 mW/cm²组、50 mW/cm²组比较差异均有统计学意义($P=0.032, 0.027, 0.027, 0.001$)。其余各组与对照组比较,差异均无统计学意义。见表1。因此本实验选择对照组、30 mW/cm²组和50 mW/cm²组进行后续实验。

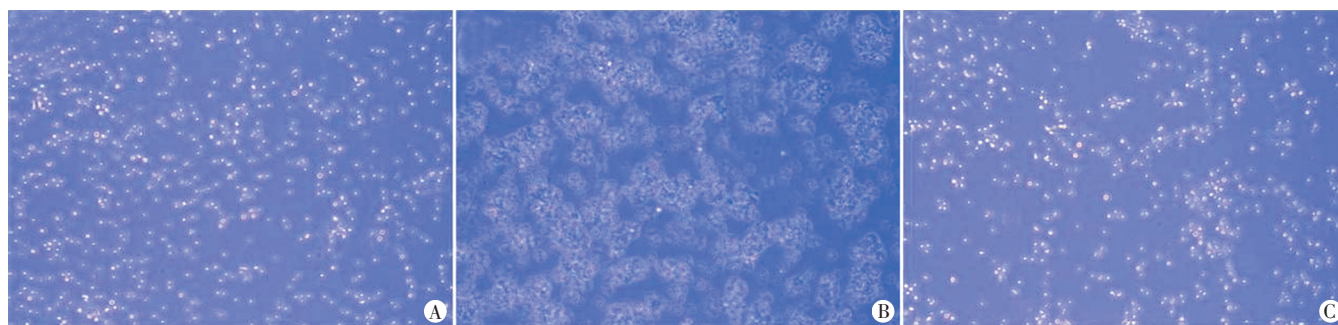


图2 LIPUS刺激HPBL后的细胞增殖情况
A:对照组;B:30 mW/cm²组;C:50 mW/cm²组

图2 LIPUS刺激HPBL后的细胞增殖情况

表1 LIPUS刺激HPBL细胞增殖CCK-8检测结果($\bar{x} \pm s$)

组别	OD值
对照组	0.388±0.002*
10 mW/cm ² 组	0.402±0.007
20 mW/cm ² 组	0.386±0.011*
30 mW/cm ² 组	0.426±0.054
40 mW/cm ² 组	0.386±0.007*
50 mW/cm ² 组	0.363±0.011**

与30 mW/cm²组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$

三、抗肿瘤细胞因子的检测

LIPUS刺激HPBL增殖2次后,30 mW/cm²组抗肿瘤因子INF- γ 、TNF- α 、GM-CSF及IL-2的表达量均显著大于对照组和50 mW/cm²组(均 $P < 0.05$)。见表2。

四、效应细胞杀伤肿瘤细胞的活力

将刺激2次后的HPBL与人肺巨细胞癌95D细胞共培养12 h,进行CCK-8检测,结果显示30 mW/cm²组人肺巨细胞癌95D细胞杀伤率显著高于对照组和

50 mW/cm²组($P=0.034, 0.024$);对照组与50 mW/cm²组杀伤率比较差异无统计学意义。见表3。

表2 LIPUS刺激HPBL增殖后抗肿瘤因子表达情况($\bar{x} \pm s$)

组别	INF- γ (ng/L)	TNF- α (ng/L)	GM-CSF(ng/L)	IL-2(μ g/ml)
对照组	24.39±6.84*	417.17±21.44*	96.53±1.56*	279.55±128.18*
30 mW/cm ² 组	39.66±8.30	461.28±14.08	108.11±2.07	619.84±125.94
50 mW/cm ² 组	16.52±0.87*	171.96±9.46*	72.56±8.95*	141.00±93.71*

与30 mW/cm²组比较,* $P < 0.05$ 。INF- γ : γ 干扰素;TNF- α :肿瘤坏死因子 α ;GM-CSF:粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子;IL-2:白介素2

表3 LIPUS刺激后HPBL细胞与人肺巨细胞癌95D细胞共培养实验结果($\bar{x} \pm s$)

组别	OD值			杀伤率(%)
	效应细胞对照组	肿瘤细胞对照组	效应细胞杀伤组	
对照组	0.48±0.01	1.53±0.24	1.34±0.03	42.86±0.55*
30 mW/cm ² 组	0.49±0.00	1.57±0.45	1.26±0.06	51.11±5.21
50 mW/cm ² 组	0.47±0.02	1.57±0.06	1.38±0.04	42.00±3.67*

与30 mW/cm²组比较,* $P < 0.05$ 。OD:光密度

讨 论

基因改变的细胞毒性 T 淋巴细胞可有效杀伤肿瘤细胞,表明具有抗肿瘤特异性的嵌合抗原受体 T 细胞治疗肿瘤是一种可行的方法^[4]。但另有研究^[5]发现在实体瘤中嵌合抗原受体 T 细胞治疗仍面临挑战。因此,研究改造增强 T 淋巴细胞的功能和抗肿瘤活性对肿瘤的治疗具有重要临床意义。本实验结果显示 30 mW/cm² 组的 LIPUS 强度可以在体外促进 HPBL 的增殖,伴随提高抗肿瘤因子 INF- γ 、TNF- α 、GM-CSF 及 IL-2 的分泌或释放,LIPUS 刺激后的 HPBL 可增强其抗肺癌细胞的活力。本实验为 HPBL 经 LIPUS 刺激后细胞的使用及联合 LIPUS 和 HPBL 治疗肺癌提供了参考依据。

过继细胞肿瘤免疫治疗策略中,细胞因子是关键因素。IL-2 具有诱导细胞因子诱导杀伤细胞、自然杀伤细胞、杀伤性 T 淋巴细胞等多种细胞的分化和效应功能,并诱导杀伤细胞产生 INF- γ 、TNF- α 等抗肿瘤因子,是癌症免疫治疗研究的重要领域之一^[6]。INF- γ 是巨噬细胞的活化因子之一,具有抗病毒、免疫调节及抗肿瘤特性^[7]。TNF- α 是一种由巨噬细胞对细菌感染或其他免疫反应自然产生的细胞因子,能直接造成肿瘤细胞死亡,在细胞凋亡、细胞存活、炎症和免疫等方面均有重要作用^[8]。GM-CSF 是一种促进骨髓细胞分化的强效细胞因子,可作为免疫刺激佐剂诱导抗肿瘤免疫^[9]。表明 INF- γ 、TNF- α 、GM-CSF 及 IL-2 对免疫调节、抗肿瘤和抗感染效应均有重要影响。本实验结果显示,经 30 mW/cm² 强度的 LIPUS 刺激后,HPBL 对抗肿瘤因子 INF- γ 、TNF- α 、GM-CSF 及 IL-2 的表达量均较对照组和 50 mW/cm² 组增加(均 $P < 0.05$),提示 LIPUS 可能促进 HPBL 对这些抗肿瘤因子的释放和分泌,或对抗感染治疗和肿瘤的预后有一定效果,与以往研究^[10-11] 结果一致。

LIPUS 刺激可促进皮肤成纤维细胞 DNA 和蛋白质合成、促进细胞活性、细胞因子释放,亦可提高造血干细胞活力,促进其增殖、分化^[12]。联合低剂量的超声和自然杀伤细胞治疗可以促进结肠癌的肿瘤积累^[13],且超声可以促进裂褶菌多糖的免疫调节和抗肿瘤活性^[3]。因此,LIPUS 对肿瘤治疗具有其独特的价值。本实验结果显示,LIPUS 刺激可促进 HPBL 细胞的增殖和抗肿瘤因子的分泌。将刺激后的 HPBL 与人肺巨细胞癌 95D 细胞共培养 12 h,结果显示 30 mW/cm² 组人肺巨细胞癌 95D 细胞杀伤率显著高于对照组和 50 mW/cm² 组(均 $P < 0.05$),表明 LIPUS 对促进 HPBL 细胞的抗肺癌活性有一定效果,与文献^[13-14] 报道相符,提

示 LIPUS 联合淋巴细胞可能是治疗肿瘤的一种新方法。LIPUS 促进细胞增殖与抗肿瘤活性的具体作用尚未明确,原因可能是:①当超声波通过液体介质时,超声波、液体和溶解气体之间的相互作用形成空化现象。在低强度、适宜频率的条件下,超声产生空化效应、伸缩效应和机械振荡效应,改变了酶的构象,加速了酶与底物的接触,从而提高了酶的生物活性^[15];②超声波对细胞成分、功能和遗传学的影响促进了细胞的增殖^[16];③取决于超声辐照参数,如强度、占空比、频率和时间等^[17];④超声波使细胞在培养过程中形成松散的细胞束,提高了细胞对养分的利用及其增殖能力,增加了细胞生物能量;⑤超声增强了膜的通透性,加速了物质的转移,促进了细胞的生长和增殖。

本实验使用的 SonaCell 超声仪器是基于生物学和临床研究的基础上设置:超声频率 1.5 MHz,脉冲重复频率 1 kHz,脉冲循环 20%。本实验结果显示 30 mW/cm² 强度的 LIPUS 每天刺激 10 min,连续刺激 2 d,可促进 HPBL 增殖并提高其对肿瘤细胞杀伤效果,提示 LIPUS 刺激后使培养基与细胞振荡混合,可能改变细胞膜的通透性,提高营养物质的吸收和细胞内酶的活性,促进了细胞因子的释放。但有研究^[15] 显示,高强度的超声可能对细胞内成分、酶等有损伤作用,因此选择适宜强度和频率是治疗的关键。目前,超声效应及其潜在机制报道较少,超声波刺激后如何促进细胞生长,细胞膜如何恢复原始状态,细胞内成分如何改变,如何提高细胞功能,以及如何使酶活性增加的机制仍有待今后进一步探讨。

综上所述,本实验结果表明经 LIPUS 刺激后 HPBL 的抗肿瘤活性增强,提示 LIPUS 可作为提高淋巴细胞功能的一种辅助工具,具有潜在的治疗效果。上述实验结果为本课题组进一步研究 LIPUS 促进 HPBL 抑制肺癌细胞效应的相关分子机制提供了实验依据,并为临床 LIPUS 和 HPBL 联合应用治疗肺癌夯实理论基础。

参考文献

- [1] Almásbak H, Aarvak T, Vemuri MC. CAR T cell therapy: a game changer in cancer treatment [J]. J Immunol Res, 2016, 2016(5): 5474602.
- [2] 赵玲娣,高全立. CAR-T 细胞在肿瘤治疗中的研究进展 [J]. 中国肿瘤临床, 2015, 42(3): 190-194.
- [3] Zhong K, Tong L, Liu L, et al. Immunoregulatory and antitumor activity of schizophyllan under ultrasonic treatment [J]. Int J Biol Macromol, 2015, 80(9): 302-308.
- [4] June CH, O' Connor RS, Kawalekar OU, et al. CAR T cell immunotherapy for human cancer [J]. Science, 2018, 359(6382): 1361-1365.

- [5] Wang X, Rivière I. Clinical manufacturing of CAR T cells: foundation of a promising therapy[J]. *Mol Ther Oncolytics*, 2016, 3(6):16015.
- [6] Sim GC, Radvanyi L. The IL-2 cytokine family in cancer immunotherapy[J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2014, 25(4):377-390.
- [7] 周凤丽, 毕筱刚, 张天托, 等. INF- γ 基因转染肺泡巨噬细胞抗肿瘤活性的研究[J]. *中国肺癌杂志*, 2011, 14(5):452-455.
- [8] van Horsen R, Ten Hagen TL, Eggermont AM. TNF- α in cancer treatment: molecular insights, antitumor effects, and clinical utility[J]. *Oncologist*, 2006, 11(4):397-408.
- [9] Yan WL, Shen KY, Tien CY, et al. Recent progress in GM-CSF-based cancer immunotherapy[J]. *Immunotherapy*, 2017, 9(4):347-360.
- [10] Yu T, Junger WG, Yuan C, et al. Shockwaves increase T-cell proliferation and IL-2 expression through ATP release, P2X7 receptors, and FAK activation[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2010, 298(3):457-464.
- [11] Zachs DP, Offutt SJ, Graham RS, et al. Noninvasive ultrasound stimulation of the spleen to treat inflammatory arthritis[J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1):951.
- [12] Xu P, Gul-Uludag H, Ang WT, et al. Low-intensity pulsed ultrasound-mediated stimulation of hematopoietic stem/progenitor cell viability, proliferation and differentiation in vitro[J]. *Biotechnol Lett*, 2012, 34(10):1965-1973.
- [13] Sta Maria NS, Barnes SR, Weist MR, et al. Low dose focused ultrasound induces enhanced tumor accumulation of natural killer cells[J]. *PLoS One*, 2015, 10(11):e0142767.
- [14] Suzuki R, Oda Y, Omata D, et al. Tumor growth suppression by the combination of nanobubbles and ultrasound[J]. *Cancer Sci*, 2016, 107(3):217-223.
- [15] Nadar SS, Rathod VK. Ultrasound assisted intensification of enzyme activity and its properties: a mini-review[J]. *World J Microbiol Biotechnol*, 2017, 33(9):170.
- [16] Ashokkumar M. The characterization of acoustic cavitation bubbles—an overview[J]. *Ultrason Sonochem*, 2011, 18(4):864-872.
- [17] Zhao Y, Ang WT, Xing J, et al. Applications of ultrasound to enhance mycophenolic acid production[J]. *Ultrasound Med Biol*, 2012, 38(9):1582-1588.

(收稿日期:2019-07-25)

中国超声医学工程学会 第五届全国超声分子影像学术会议征文通知(第二轮)

中国超声医学工程学会第五届全国超声分子影像学术会议将于2020年3月27-29日在重庆市举行。会议由中国超声医学工程学会主办,中国超声医学工程学会超声分子影像专业委员会承办,重庆超声医学工程学会与重庆医科大学附属第二医院协办,热忱欢迎国内外同道及厂家参会。

一、会议时间和地点

1. 时间:2020年3月27-29日。
2. 地点:中国重庆君豪大饭店。

二、会议征文内容

超声分子影像与靶向治疗基础及应用研究,超声造影临床应用,人工智能与超声新技术最新研究进展等。

三、会议形式

国内外专家专题学术报告、会议发言、中青年英文论坛(将颁发中青年英文论坛优秀论文证书和奖励)。届时,将召开超声分子影像专委会全体委员会。

四、征文要求

1. 400~800字中英文摘要。参加中青年英文论坛者只书写英文摘要。
2. 摘要格式:文题(文题下依次附作者姓名和单位)、目的、方法、结果和结论。略去图表和参考文献。
3. 来稿请在论文下方注明作者单位、邮编、联系电话及Email,并标明“第五届全国超声分子影像学术会议”论文稿。
4. 截稿日期:2020年2月29日。
5. 投稿Email: csumi_chongqing@163.com; 邮件名称为作者名+文题。

五、通讯地址及联系人

1. 重庆地址:重庆市渝中区临江路74号,重庆医科大学附属第二医院内,临床超声医学杂志编辑部。
联系人:李攀、张吉安、胡正碧(电话:13637980781, 13883296466, 13983025766, 023-63811304)
2. 总会地址:北京市海淀区大钟寺东路太阳园5号楼1206室,中国超声医学工程学会办公室,邮编:100098
总会联系人:李晶电话:010-82130275 古小博电话:010-82138756(编辑部)

六、其他

1. 参会者授予国家级继续医学教育一类学分,并发给论文证书。
2. 优秀论文将推荐在《中国超声医学杂志》、《临床超声医学杂志》发表。
3. 征文通知可在《临床超声医学杂志》投稿网站“通知信息”栏查阅下载: www.lccscq.com

主办:中国超声医学工程学会
承办:中国超声医学工程学会超声分子影像专业委员会
协办:重庆超声医学工程学会
重庆医科大学附属第二医院