

[ 文章编号 ] 1007-385X( 2007 )03-0264-05

## 肿瘤患者外周血单个核细胞来源 DC 的体外诱导及其功能

朱一蓓<sup>1,2</sup>, 张学光<sup>1,2\*</sup>, 黄 勇<sup>1</sup>, 陈 成<sup>1,2</sup>, 李文香<sup>1</sup>, 戴 俊<sup>1</sup>, 夏 瑜<sup>1</sup>, 吴明媛<sup>1</sup> (1. 苏州大学 医学生物技术研究所, 苏州 215007; 2. 苏州大学 附属第一医院 江苏省临床免疫学实验室, 江苏 苏州 215007)

[ 摘 要 ] **目的:** 研究肿瘤患者外周血单个核细胞来源的树突状细胞( monocyte-derived dendritic cells, Mo-DC )共刺激分子的表达及其功能。 **方法:** 选取 11 例肺癌、卵巢癌和胃癌患者及 10 例正常志愿者, 分别经粒细胞巨噬细胞集落刺激因子( granulocyte macrophage colony stimulating factor, GM-CSF )和白细胞介素 4( IL-4 )诱导外周血单个核细胞来源的 DC, 通过免疫荧光标记和流式细胞术分析、混合淋巴细胞反应( MLR )、FITC-dextran 吞噬实验、微孔迁徙实验以及酶联免疫吸附试验( ELISA )等方法比较肿瘤患者和健康志愿者外周血单个核细胞来源 DC 的表型及功能差异。 **结果:** 肿瘤患者来源的 Mo-DC 在体外诱导早期持续高表达编程死亡-1 配体 1( programmed death-1 ligand 1, PD-L1 ), 而 PD-L2 及 CCR7、CXCR4 的表达则较正常人低(  $P < 0.05$  ); 患者来源的 Mo-DC 分泌高水平的 IL-10, 体外激发自体 T 细胞增殖及趋化 T 细胞尤其是趋化活化 T 细胞的能力明显低于正常人(  $P < 0.05$  )。 **结论:** 肿瘤患者来源的 Mo-DC 可能由于自分泌高水平的 IL-10 和高表达 PD-L1 而影响其功能的行使。

[ 关键词 ] 树突状细胞; 编程死亡-1 配体 1; 白细胞介素 10; 肿瘤免疫

[ 中图分类号 ] R730.2 [ 文献标志码 ] A

## Dendritic cells derived from peripheral blood monocytes of patients with malignant tumor: a study of *in vitro* activity and function

ZHU Yi-bei<sup>1,2</sup>, ZHANG Xue-guang<sup>1,2\*</sup>, HUANG Yong<sup>1</sup>, CHEN Cheng<sup>1,2</sup>, LI Wen-xiang<sup>1</sup>, DAI Jun<sup>1</sup>, XIA Yu<sup>1</sup>, WU Ming-yuan<sup>1</sup> (1. Biotechnology Institute, Soochow University, Suzhou 215007, China; 2. Key Laboratory of Medicine and Clinical Immunology, The First Affiliated Hospital, Soochow University, Suzhou 215007 Jiangsu Province, China)

[ Abstract ] **Objective:** To investigate the expression of costimulatory molecules of dendritic cells derived from monocytes obtained from the peripheral blood of patients with malignant tumor and their functions. **Methods:** Peripheral blood samples were obtained from 11 patients with lung cancer, ovarian cancer, or gastric cancer and 10 normal volunteers; the monocyte-derived dendritic cells were generated *in vitro* using GM-CSF and IL-4. The phenotypes and functions of DCs derived from healthy volunteers and cancer patients were compared using immunofluorescence, FCT, mixed-lymphocyte reaction, FITC-dextran capture, ELISA, and chemotaxis activity of T lymphocytes. **Results:** DCs derived from cancer patients expressed higher level of PD-L1 at the early stage of the *in vitro* culture, but lower levels of PD-L2, CCR7 and CXCR4 compared with those derived from healthy volunteers. DCs derived from cancer patients secreted high level of IL-10 and had a retarded ability to stimulate T cells proliferation and to enrich T cells, especially activated T cells, compared with DCs derived from healthy volunteers. **Conclusion:** High expression of PD-L1 and autocrine of IL-10 may impair the function of DCs derived from cancer patients.

[ Key words ] dendritic cell; programmed death-1 ligand 1; interleukin-10; tumor immunology

[ Chin J Cancer Biother, 2007, 14( 3 ): 264-268 ]

树突状细胞( dendritic cell, DC )是机体内最重要的抗原提呈细胞( antigen presenting cell, APC ), 也是机体初次免疫应答的有力启动者, 在特异性免疫应答的诱导中具有独特地位。DC 作为一种天然的免疫佐剂, 近年来在肿瘤免疫的应用中得到高度重视<sup>[1-3]</sup>。研究表明, DC 的分化成熟与其微环境中存在的炎性因子相互作用, 以及与 T、B 细胞相互接

触所提供的刺激信号密切相关。一些细胞因子( 如

[ 基金项目 ] 国家自然科学基金重点项目( No. 30330540 )。Supported by Major Project of National Natural Science Foundation of China( No. 30330540 )

[ 作者简介 ] 朱一蓓( 1972- ), 女, 江苏常州市人, 博士, 主要从事肿瘤免疫治疗的研究。E-mail: xlyb99@yahoo.com.cn

\* Corresponding author. E-mail: smbxuegz@publiel.sz.js.cn

TNF- $\alpha$ 、CD40L 等)可促进 DC 的前体细胞分化为 DC,使 DC 成熟并具有生物学功能<sup>[4,5]</sup>,而肿瘤微环境中存在的一些抑制性因子如 IL-10、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)等则对 DC 的成熟和功能产生负性作用<sup>[6-7]</sup>。业已证实,DC 功能的缺陷,是机体抗肿瘤能力下降的重要原因。鉴于此,本研究分析体外诱导的肿瘤患者外周血单个核细胞来源 DC(monocyte-derived dendritic cells, Mo-DC)的表型及对 T 细胞的激发迁移作用,以期对肿瘤免疫治疗提供实验依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 主要试剂和仪器

人重组 GM-CSF 购自美国 R&D 公司,人重组 IL-4 购自北京医科大学免疫学 T 细胞实验室。激发型 CD40 单抗 5C11、编程死亡-1 配体 1(programmed death-1 ligand 1, PD-L1)单抗 2H11 由本室自行研制<sup>[8-9]</sup>。胎牛血清(FCS)购自杭州四季青公司, RPMI 1640 培养液购自美国 Gibco 公司, FITC-Dextran (4KD)购自美国 Sigma 公司。顺铂(cisplatin, 又称 DDP)购自昆明药业。淋巴细胞分离液 Ficoll 购自上海生化试剂二厂,鼠抗人 CD1 $\alpha$ 、CD80、CD83、CD86、HLA-DR、PD-L1、PD-L2 单克隆抗体均为法国 Immunotech 公司产品。CXCR4、CCR7 单抗购自 BD 公司。IL-10、IL-12 酶标检测试剂盒、AnnexinV/PI 试剂盒购自法国 Immunotech 公司,<sup>3</sup>H-TdR 购自中科院上海核技术公司。6 孔、24 孔和 96 孔细胞培养板、24 孔 Transwell 板为美国 Corning Costar 公司产品,流式细胞仪为美国 Beckman-Coulter 公司产品,液体闪烁计数仪为瑞典 Pharmacia 公司产品, GC-1200  $\gamma$ 计数仪为中国科技大学产品,二氧化碳培养箱和恒温离心机为法国 Jouan 公司生产,相差显微镜、荧光显微镜为日本 Olympus 公司产品。

### 1.2 细胞株

肺腺癌细胞株 A549、胃腺癌细胞株 BGC-823、卵巢癌细胞株 H08910 均购自美国 ATCC,由本室传代培养。

### 1.3 病例选择

11 例肿瘤患者,其中肺腺癌 5 例,卵巢癌 4 例,胃癌 2 例;男 6 例,女 5 例;平均年龄(53.5  $\pm$  3.5)岁。健康志愿者 10 例,平均年龄(46.3  $\pm$  7.5)岁。所有参与研究的人员均填写知情同意书,并报医院伦理委员会批准。

### 1.4 诱导肿瘤细胞的凋亡及凋亡率的测定

选用化疗药物顺铂,每  $1 \times 10^7$  个细胞加药 0.5

mg, 5% CO<sub>2</sub>、37  $^{\circ}$ C 培养 4 h,洗涤,24 h 后 AnnexinV/PI 测定凋亡率。

### 1.5 DC 的诱导

无菌抽取肿瘤患者肝素抗凝外周血 50 ml,常规 Ficoll 分离获得单个核细胞(PBMC),用 RPMI 1640 洗涤 2 遍,用含 10% FCS 的 RPMI 1640 稀释到  $3 \times 10^6$ /ml,加入 6 孔培养板(2 ml/孔)中,5% CO<sub>2</sub>、37  $^{\circ}$ C 培养 2 h,轻轻洗出悬浮细胞 -80 $^{\circ}$ C 冻存。在培养板中加入含 GM-CSF(100 ng/ml)、IL-4(50 ng/ml)、10% FCS、0.02 mmol/L L-谷氨酰胺、 $5 \times 10^{-5}$  mol/L 2-ME、100 U/ml 青霉素、100  $\mu$ g/ml 链霉素的 RPMI 1640,5% CO<sub>2</sub>、37  $^{\circ}$ C 培养,每 3 d 换液 1 次。在培养的第 7 天,以 DDP 诱导凋亡的相应肿瘤细胞株进行抗原负载(凋亡细胞:DC = 1:3),24 h 后加入 CD40 单抗 5C11(2  $\mu$ g/ml)继续诱导 2~3 d,收集细胞及培养上清。另设一组在培养的第 6 天加入 PD-L1 单抗 2H11(单抗质量浓度 10  $\mu$ g/ml)。后继培养同上。抽取健康志愿者外周血(苏州血站),以诱导凋亡的同型肿瘤细胞作为负载抗原,以 CD40 单抗 5C11(2  $\mu$ g/ml)诱导 DC 作为对照。用双相倒置显微镜每日观察细胞生长及形态变化情况。

### 1.6 DC 的表型分析

收集两组培养 10 d 后的细胞,通过直接免疫荧光标记法和流式细胞术分析细胞表型:CD1 $\alpha$ 、CD25、CD80、CD83、CD86、HLA-DR、PD-L1、PD-L2、CXCR4、CCR7。

### 1.7 DC 摄取抗原能力的检测

分别收集两组诱导培养至第 6、10 天的 DC,各分为 2 组,用含 10% FCS 的 RPMI 1640 的培养液调整细胞密度至  $3 \times 10^5$ /ml,加入 FITC-dextran(1 mg/ml;  $M_r$  40 000),混匀后分别置于 37  $^{\circ}$ C 和 4  $^{\circ}$ C,共培养 90 min 后取出,用冷 PBS 洗涤 3 遍,再悬于 0.5 ml PBS 中,流式细胞术进行分析。

### 1.8 DC 分泌 IL-12、IL-10 含量的测定

分别取两组培养的 DC 上清,按 Immunotech 公司 ELISA 试剂盒说明书介绍的方法测定 IL-12、IL-10 的含量。

### 1.9 混合淋巴细胞反应(MLR)

以复苏的 T 细胞作为自体 T 细胞,用含 10% FCS 的 RPMI 1640 将 T 细胞稀释成  $2 \times 10^5$ /ml,加入 96 孔培养板(100  $\mu$ l/孔),按 20:1、10:1 的比例加入培养收集的各组 DC,5% CO<sub>2</sub>、37  $^{\circ}$ C 培养 56 h 后,加入 <sup>3</sup>H-TdR( $3.7 \times 10^4$  Bq/孔),继续培养至 72 h 终止。收集细胞,采用液闪仪测定 cpm 值,计算刺激

指数 SI,  $SI = (\text{实验组 cpm} - \text{本底 cpm}) / (\text{对照组 cpm} - \text{本底 cpm})$ 。

### 1.10 DC 对 T 细胞趋化能力的检测

收集各组经 CD40 mAb 诱导成熟的凋亡肿瘤细胞负载的 DC, 用含 10% FCS 的 RPMI 1640 调整细胞密度; 取孔径为 3  $\mu\text{m}$  的 24 孔 Transwell 培养板, 将 DC 加入培养板下室(最适体积为 0.6 ml), 于上室加入 100  $\mu\text{l}$  经分离纯化的自体 T 细胞 ( $3 \times 10^5$  细胞), T: DC = 1: 5, 置于 5%  $\text{CO}_2$ 、37  $^\circ\text{C}$  培养 4 h, 收集下室细胞, 经流式细胞术进行细胞计数, 以空白培养液及未作 Transwell 孔为对照。

### 1.11 统计学处理

数据用  $\bar{x} \pm s$  表示, 采用 SPSS 10.0 软件进行方差分析,  $P < 0.05$  为差别有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 肿瘤患者外周血 Mo-DC 的 PD-L1、PD-L2 和 CCR7 的表达

表型分析结果表明: 肿瘤患者和正常人单个核细胞来源的 DC 均高表达 CD1 $\alpha$ 、CD80、CD86 和 HLA-DR 等 DC 的相关抗原和共刺激分子, 但患者来源的 Mo-DC 在培养早期持续高表达 PD-L1, 而 PD-L2 及 CXCR4、CCR7 的表达则较正常人低 ( $P < 0.05$ , 图 1)。在培养的第 6 天加入抗 PD-L1 阻断型单抗, 对 Mo-DC 表面相关抗原和共刺激分子的表达无显著影响。

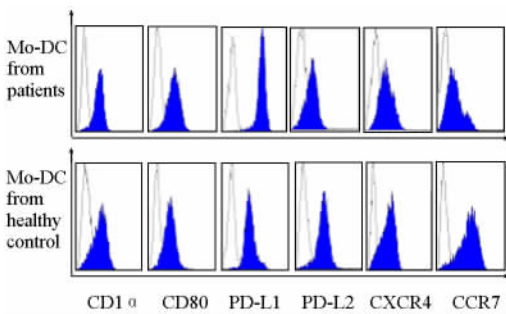


图 1 肿瘤患者 Mo-DC 表面相关抗原及共刺激分子表达  
Fig. 1 Expression of related antigen and costimulatory molecules on Mo-DCs of cancer patients

### 2.2 肿瘤患者 Mo-DC IL-10 和 IL-12 分泌的变化

正常人和肿瘤患者来源培养 10 d 的 Mo-DC 培养上清中, 均可检测到 IL-12 的分泌, 正常人为 ( $6.8 \pm 1.2$ ) ng/ml, 肿瘤患者为 ( $5.3 \pm 0.9$ ) ng/ml。患者来源的 Mo-DC 培养上清中 IL-12 的含量降低。正常人 IL-10 的含量为 ( $159.4 \pm 35.6$ ) pg/ml, 肿瘤

患者为 ( $450.9 \pm 87.6$ ) pg/ml, 肿瘤患者的 IL-10 含量明显高于正常人 ( $P < 0.05$ , 图 2)。

### 2.3 经诱导后 DC 摄取抗原能力的变化

未成熟 DC 具有较强抗原摄取能力, 经抗原或微环境中炎性因子如 LPS、IL-1、TNF- $\alpha$  等作用, 其摄取抗原能力明显下降, 而加工、提呈抗原能力则显著增强。实验结果表明, 肿瘤患者外周血单个核细胞经 GM-CSF + IL-4 诱导的未成熟 Mo-DC 同样具有很强的摄取 FITC-dextran 的能力, 经抗原负载及 CD40mAb 激发诱导后, 其摄取 FITC-dextran 的能力明显下降, 与正常人相比无显著性差异 (图 3)。

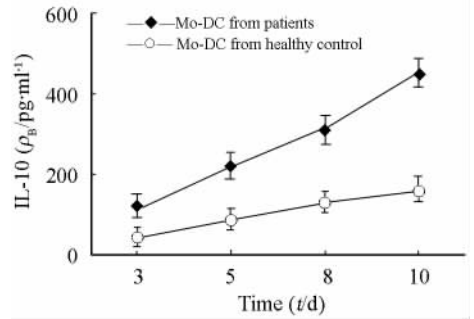


图 2 Mo-DC 培养上清中 IL-10 的分泌  
Fig. 2 Concentration of IL-10 in DC culture supernatants

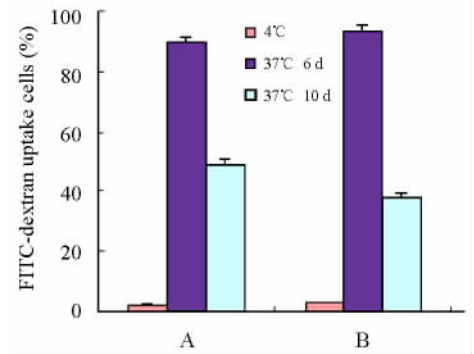


图 3 诱导致 Mo-DC 摄取抗原能力的变化  
Fig. 3 Ability of Mo-DC to uptake antigen (dextran-FITC)  
A: Mo-DCs from patients; B: Mo-DCs from healthy control

### 2.4 肿瘤患者 Mo-DC 对 T 细胞增殖的影响

DC 能否在体外有效地激发自体或同种异体 T 细胞增殖是 DC 是否具有生物学功能的重要标志。肿瘤患者 Mo-DC 在体外同样具有激发自体外周血 T 细胞增殖的作用, 但其激发能力较正常人 Mo-DC 为低 ( $P < 0.05$ ), 加入人 PD-L1 阻断型单抗, 能增强患者 Mo-DC 体外激发 T 细胞的能力, 使与正常人 Mo-DC 无显著性差异 (图 4)。

### 2.5 肿瘤患者 Mo-DC 对 T 细胞趋化能力的影响

DC 趋化能力的增强将有助于 T 细胞向 DC 的趋化并与其紧密结合。本实验结果表明,患者来源的 DC 体外趋化 T 细胞尤其是趋化活化 T 细胞的能力明显下降( $P < 0.05$ , 图 5)。由此表明,肿瘤细胞对 DC 的负性调节效应可能是肿瘤患者不能产生有效抗肿瘤免疫力的主要因素之一。

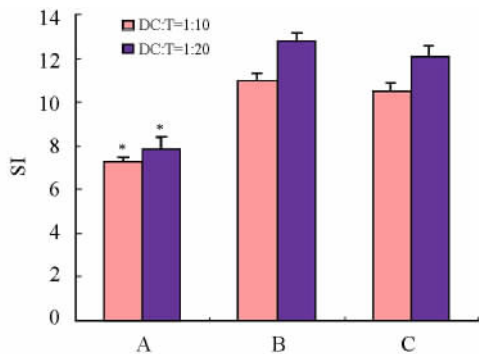


图 4 Mo-DC 对 T 细胞增殖能力的影响

Fig. 4 Effects of Mo-DC on T cell proliferation

A: Mo-DC from patients + CD40mAb; B: Mo-DC from healthy control; C: Mo-DC from patients + PD-L1 + CD40mAb;

\*  $P < 0.05$  vs healthy control

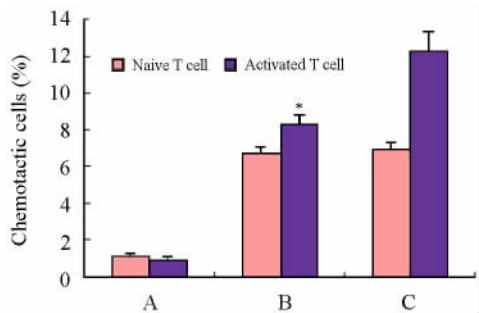


图 5 Mo-DC 对 T 细胞趋化能力的影响

Fig. 5 Chemotactic effect of Mo-DC on T cells

A: 1640 control; B: Mo-DC from cancer patients; C: Mo-DC from healthy control; \*  $P < 0.05$  vs healthy control

### 3 讨论

DC 是目前已知体内功能最强的抗原提呈细胞,由 DC 激活的肿瘤特异性 CTL 在机体的抗肿瘤免疫应答中起着主导作用。诸多研究表明,DC 与肿瘤的发生、发展及预后关系密切。有学者实验证实,机体之所以发生肿瘤可能与肿瘤浸润性 DC 或荷瘤宿主 DC 功能缺陷或缺乏,使其无法有效地提呈肿瘤抗原、激活 T 细胞识别并杀伤肿瘤细胞有关。肿瘤浸润性 DC 及荷瘤宿主 DC 有着与功能成熟 DC 不同的表型特征:其膜表面 MHC 分子及某些共刺激分

子不表达或低表达,这可能与肿瘤细胞释放 IL-10、TGF- $\beta$ 、VEGF 等细胞因子抑制而影响它的分化、发育和功能有关。在体外利用肿瘤组织来源的巨噬细胞、IL-10 和 VEGF 上调外周血单核源性 DC 表面 PD-L1 表达后,则抑制了 DC 对特异性 T 细胞的激发作用。从肿瘤部位中分离出 DC 高表达 PD-L1,阻断肿瘤微环境中 DC 的 PD-L1 信号后,均可在体外和体内激发有效的 T 细胞免疫应答<sup>[10-12]</sup>。

与小鼠 DC 不同,人 DC 的某些亚群可以分泌 IL-10。内源性 IL-10 可以调节其自身受体的表达和功能。实验结果表明,肿瘤患者 Mo-DC 在培养早期即分泌高水平的 IL-10,从而诱导 PD-L1 的显著性上调表达,而 PD-L1 的表达上调又可引起 DC 细胞因子分泌谱的变化,进一步下调 DC 胞内 IL-12p70 及上调 IL-10 的表达<sup>[13]</sup>。据此推测,可通过调节 DC 表面 PD-L1 的表达而调节 DC 胞内细胞因子的分泌,进而调节特异性 T 细胞的增殖和细胞毒作用。

本研究也证实,肿瘤患者来源的 Mo-DC 在培养早期即呈现持续高表达 PD-L1,而 PD-L2 表达则较正常人低,这可能是患者来源的 Mo-DC 刺激 T 细胞增殖能力下降的主要原因。PD-L1 在 DC 上的高表达对 T 细胞产生负性抑制效应,甚至影响活化 T 细胞对 DC 功能的进一步完善,最终导致免疫应答的整体低下。加入人 PD-L1 阻断型单抗,能增强患者单个核细胞来源的 DC 体外激发 T 细胞的能力。由此,在以肿瘤患者外周血单个核细胞诱导的 DC 为物质基础的肿瘤免疫治疗中,可通过制备特异性抗 PD-L1 单抗或其可溶性抑制因子,对 PD-L1 的作用进行阻断,以增强 CTL 杀伤肿瘤细胞的功能<sup>[14]</sup>。

DC 的组成型趋化因子受体 CXCR4、CCR7 等分子上调表达,表现出对淋巴结 T 细胞区和特异性抗原组织高表达的 CXC 族趋化因子(SDF-1 $\alpha$ 、MIP-3 $\beta$ )的反应性明显上升,这是该阶段 DC 体内迁徙的基础<sup>[15-16]</sup>。随着 CXCR4 和 CCR7 的表达增多,成熟 DC 表现出对趋化因子 SDF-1 $\alpha$  和 SLC、ELC 反应性升高<sup>[17-18]</sup>,继而在这些细胞因子的趋化下迁移至淋巴结 T 区,与 T 细胞相互作用,将抗原提呈给 T 细胞,启动各类 T 细胞发生免疫应答,并最终达到真正的成熟<sup>[19]</sup>。肿瘤患者来源的 Mo-DC 因其表面 CXCR4、CCR7 等趋化因子受体的表达下降而降低其体外趋化 T 细胞尤其是趋化活化 T 细胞的能力。

鉴于此,肿瘤患者来源的 DC 由于分泌高水平的 IL-10 和高表达 PD-L1 而影响其功能的行使,阻断 PD-L1 信号后,使 DC 激发 T 细胞增殖的能力有所恢复。但 DC 分泌的 IL-10 和肿瘤微环境中

的 IL-10 可能以不同的机制影响了 DC 的分化和功能介导,具体机制仍有待于进一步探讨。

## [ 参 考 文 献 ]

- [ 1 ] Fazle Akbar SM, Abe M, Yoshida O, *et al.* Dendritic cell-based therapy as a multidisciplinary approach to cancer treatment: present limitations and future scopes[ J ]. *Curr Med Chem*, 2006, 13( 26 ): 3113-3119.
- [ 2 ] Kim R, Emi M, Tanabe K. Functional roles of immature dendritic cells in impaired immunity of solid tumour and their targeted strategies for provoking tumour immunity[ J ]. *Clin Exp Immunol*, 2006, 146( 2 ): 189-196.
- [ 3 ] Sheng KC, Pietersz GA, Wright MD, *et al.* Dendritic cells: activation and maturation—applications for cancer immunotherapy [ J ]. *Curr Med Chem*, 2005, 12( 15 ): 1783-1800.
- [ 4 ] Kalinski P, Hilkens CM, Wierenga EA, *et al.* T-cell priming by type-1 and type-2 polarized dendritic cells: the concept of a third signal [ J ]. *Immunol Today*, 1999, 20( 12 ): 561-567.
- [ 5 ] Banchereau J, Briere F, Caux C, *et al.* Immunobiology of dendritic cells [ J ]. *Annu Rev Immunol*, 2000, 18: 767-811.
- [ 6 ] Corinti S, Albanesi C, Ia Sala A, *et al.* Regulatory activity of autocrine IL-10 on dendritic cell functions [ J ]. *J Immunol*, 2001, 166( 7 ): 4312-4318.
- [ 7 ] McBride JM, Jung T, de Vries JE, *et al.* IL-10 alters DC function via modulation of cell surface molecules resulting in impaired T-cell responses [ J ]. *Cell Immunol*, 2002, 215( 2 ): 162-172.
- [ 8 ] Zhou ZH, Wang JF, Wang YD, *et al.* An agonist anti-human CD40 monoclonal antibody that induces dendritic cell formation and maturation and inhibits proliferation of a myeloma cell line [ J ]. *Hybridoma*, 1999, 18( 6 ): 471-478.
- [ 9 ] Sun J, Xu K, Wu C, *et al.* PD-L1 expression analysis in gastric carcinoma tissue and blocking of tumor-associated PD-L1 signaling by two functional monoclonal antibodies[ J ]. *Tissue Antigens*, 2007, 69( 1 ): 19-27.
- [ 10 ] Ghebeh H, Mohammed S, Al-Omar A, *et al.* The B7-H1 ( PD-L1 ) T lymphocyte-inhibitory molecule is expressed in breast cancer patients with infiltrating ductal carcinoma: correlation with impor-

tant high-risk prognostic factors[ J ]. *Neoplasia*, 2006, 8( 3 ): 190-198.

- [ 11 ] Blank C, Kuball J, Voelkl S, *et al.* Blockade of PD-L1 ( B7-H1 ) augments human tumor-specific T cell responses *in vitro* [ J ]. *Int J Cancer*, 2006, 119( 2 ): 317-327.
- [ 12 ] Curiel TJ, Wei S, Dong H, *et al.* Blockade of B7-H1 improves myeloid dendritic cell-mediated antitumor immunity [ J ]. *Nat Med*, 2003, 9( 5 ): 562-567.
- [ 13 ] Larmonier N, Marron M, Zeng Y, *et al.* Tumor-derived CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> regulatory T cell suppression of dendritic cell function involves TGF-beta and IL-10 [ J ]. *Cancer Immunol Immunother*, 2007, 56( 1 ): 48-59.
- [ 14 ] Dong H, Strome SE, Salomao DR, *et al.* Tumor-associated B7-H1 promotes T-cell apoptosis: a potential mechanism of immune evasion [ J ]. *Nat Med*, 2002, 8( 8 ): 793-800.
- [ 15 ] Sallusto F, Palermo B, Lenig D, *et al.* Distinct patterns and kinetics of chemokine production regulate dendritic cell function[ J ]. *Eur J Immunol*, 1999, 29( 5 ): 1617-1625.
- [ 16 ] Real E, Kaiser A, Raposo G, *et al.* Immature dendritic cells ( DCs ) use chemokines and intercellular adhesion molecule ( ICAM )-1, but not DC-specific ICAM-3-grabbing nonintegrin, to stimulate CD4<sup>+</sup> T cells in the absence of exogenous antigen [ J ]. *J Immunol*, 2004, 173( 1 ): 50-60.
- [ 17 ] Hirao M, Onai N, Hiroishi K, *et al.* CC chemokine receptor-7 on dendritic cells is induced after interaction with apoptotic tumor cells: critical role in migration from the tumor site to draining lymph nodes1 [ J ]. *Can Res*, 2000, 60( 8 ): 2209-2217.
- [ 18 ] Yanagihara S, Komura E, Nagafune J, *et al.* EB11/CCR7 is a new member of dendritic cell chemokine receptor that is up-regulated upon maturation [ J ]. *J Immunol*, 1998, 161( 6 ): 3096-3102.
- [ 19 ] Sanchez-Sanchez N, Riol-Blanco L, de la Rosa G, *et al.* Chemokine receptor CCR7 induces intracellular signaling that inhibits apoptosis of mature dendritic cells [ J ]. *Blood*, 2004, 104( 3 ): 619-625.

[ 收稿日期 ] 2006 - 12 - 17

[ 修回日期 ] 2007 - 03 - 21

[ 本文编辑 ] 郁晓路

· 读 者 · 作 者 · 编 者 ·

## 文稿中统计学符号规范化书写的要求

本刊严格遵守国家标准 GB 3358 - 93《统计学术语》的有关规定。为此,请作者书写统计学符号时注意以下要求:( 1 )样本的算术平均数用英文小写  $\bar{x}$ , 不用大写 X, 也不用 Mean 或 M;( 2 )标准差用英文小写  $s$ , 不用 SD;( 3 )标准误用英文小写  $s_x$ , 不用 SE;( 4 )  $t$  检验用英文小写  $t$ ;( 5 )  $F$  检验用英文大写  $F$ ;( 6 )卡方检验用希腊小写  $\chi^2$ ;( 7 )相关系数用英文小写  $r$ ;( 8 )自由度用希腊小写  $\nu$ ;( 9 )样本数用英文小写  $n$ ;( 10 )概率用英文大写  $P$ ;( 11 )以上符号  $\bar{x}$ 、 $s$ 、 $s_x$ 、 $t$ 、 $F$ 、 $\chi^2$ 、 $r$ 、 $\nu$ 、 $n$ 、 $P$  均为斜体。请作者注意遵照执行。

( 本刊编辑部 )