

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2009.04.002

· 研究快报 ·

## 淫羊藿苷促进脐血来源树突状细胞的分化与成熟

单保恩\*, 潘晓明, 赵连梅, 刘丽华, 王欣荣, 张 超(河北医科大学第四医院 科研中心, 河北 石家庄 050011)

[摘要] 目的: 研究淫羊藿苷(icariin, ICA)体外对脐血单个核细胞来源树突状细胞的分化、成熟及免疫活性的影响。方法: 无菌条件下采集脐血, 密度梯度离心法分离脐血单个核细胞, 用 GM-CSF、IL-4 诱导树突状细胞(dendritic cells, DCs), 第 5 天后将 DCs 分为 3 组(ICA 组、TNF- $\alpha$  组和阴性对照组)并作相应处理。倒置显微镜和透射电镜下观察 DCs 形态, 流式细胞术检测 DCs 表面分子 CD1a、CD80、CD83 和 CD86 的表达情况, ELISA 法检测 DCs 培养上清中 IL-12 和 IFN- $\gamma$  的水平, MTT 法检测 DCs 刺激 T 细胞增殖的能力。结果: ICA 刺激后, 脐血单个核细胞来源 DCs 呈现典型的成熟 DCs 形态学特征。ICA 组 DCs 表面 CD1a、CD80、CD83 和 CD86 表达水平较对照组均明显上调( $P < 0.05$ ), 且 CD86 的表达水平显著高于 TNF- $\alpha$  组( $P < 0.05$ )。ICA 组 DCs 上清中 IL-12、IFN- $\gamma$  的水平及诱导 T 细胞增殖的能力较对照组 DCs 明显增高( $P < 0.05$ ), 但与 TNF- $\alpha$  组 DCs 无显著差异。结论: ICA 可刺激脐血单个核细胞来源 DCs 的分化和成熟, 增强 DCs 的免疫学活性。

[关键词] 淫羊藿苷; 树突状细胞; 脐血; 免疫活性

[中图分类号] R392.12; R730.54

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2009)04-0325-06

## Icariin promotes differentiation and maturation of cord blood-derived dendritic cells

SHAN Bao-en\*, PAN Xiao-ming, ZHAO Lian-mei, LIU Li-hua, WANG Xin-rong, ZHANG Chao (Research Center, Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, Hebei, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the *in vitro* effect of icariin (ICA) on the differentiation, maturation and immune activity of DCs derived from cord blood mononuclear cells. **Methods:** The mononuclear cells were isolated by density gradient centrifugation from cord blood under axenic condition, and were induced by GM-CSF and IL-4 to differentiate into DCs. The DCs were divided into 3 groups on the fifth day: an ICA group, a TNF- $\alpha$  group and a control group. The morphology of DCs was observed under inverted microscope and transmission electron microscope. Expression of CD83, CD80 and CD86 on DCs was examined by flow cytometry. IL-12 and IFN- $\gamma$  levels in the culture supernatant of DCs were detected by ELISA. The proliferation of T cells stimulated by DCs was determined by MTT assay. **Results:** Cord blood mononuclear cells derived-DCs had a typical morphological characteristic of mature DCs after stimulation with ICA. Expression of CD1a, CD83, CD80 and CD86 on DCs in ICA group was up-regulated compared with that in control group ( $P < 0.05$ ); moreover, CD86 expression on DCs in ICA group was significantly higher than that in TNF- $\alpha$  group ( $P < 0.05$ ). IL-12 and IFN- $\gamma$  production in ICA group and proliferation of T cells induced by DCs in the ICA group were markedly higher than those in the control group ( $P < 0.05$ ), and were similar to those in the TNF- $\alpha$  group. **Conclusion:** ICA can induce differentiation and maturation of DCs derived from cord blood mononuclear cells, and enhances the immune activity of DCs.

[Key words] icariin; dendritic cell; cord blood; immune activity

[Chin J Cancer Biother, 2009, 16(4): 325-330]

淫羊藿, 又称仙灵脾, 为小檗科植物淫羊藿 (*Epimedium brevicornum* Maxim) 的全草, 味辛、甘, 性温, 归肝、肾两经, 具有补肾壮阳、祛风除湿之功。淫羊藿含有多种生理活性成分, 主要包括黄酮类化合物、生物碱、多糖、木脂素及一些必需微量元素等。淫羊藿具有增强机体免疫功能、加强性腺功能、延缓衰老等作用。淫羊藿苷(icariin, ICA) 是淫羊藿的活

[基金项目] 河北省自然科学基金资助项目(No. C2008000952)。Support by the Natural Science Foundation of Hebei Province (No. C2008000952)

[作者简介] 单保恩(1962-), 男, 汉族, 河北省广平县人, 博士, 教授, 博士生导师, 主要从事肿瘤免疫学方面的研究工作。E-mail: baoenshan@yahoo.com.cn

\* 通信作者(Corresponding author)。E-mail: baoenshan@yahoo.com.cn

性成分,其化学结构属黄酮类化合物。以 ICA 为主要成分的制剂在骨代谢<sup>[1-5]</sup>、心脑血管系统<sup>[6-7]</sup>、免疫系统<sup>[8-10]</sup>、神经系统<sup>[11]</sup>、性机能及肿瘤治疗<sup>[12-13]</sup>等方面具有广泛的药理作用。体外研究<sup>[14-15]</sup>表明, ICA 可抑制肿瘤细胞生长,诱导白血病细胞凋亡,其抑瘤机制包括抑制肿瘤细胞分泌免疫抑制性细胞因子如 TGF- $\beta$ ,调节肿瘤细胞周期各时相的分布,使 S 期细胞减少、G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期细胞增多等。

树突状细胞(dendritic cells, DCs)是迄今为止功能最强的抗原提呈细胞(antigen presenting cell, APC),在抗肿瘤免疫中具有重要作用。DCs 在人外周血中含量甚微,体外培养和扩增 DCs 对于制备抗肿瘤 DCs 疫苗具有重要意义。因此,寻找合适的 DCs 前体细胞来源,体外诱导分化以获得足够数量的 DCs 是 DCs 抗肿瘤治疗的前提和关键。本实验以脐血作为 DCs 前体细胞来源,采用 ICA 进行体外诱导,旨在寻找体外诱导培养 DCs 的最佳方法,为深入研究 DCs 功能及其抗肿瘤治疗的应用奠定了基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器与试剂

ICA(纯度 >98%)购自南京青泽医药研发科技有限公司,经河北医科大学药学院鉴定不含内毒素。将 ICA 用 75% 无菌乙醇溶解,使用时用培养基稀释到相应浓度,使乙醇体积分数小于 0.1%。GM-CSF、IL-4 及 TNF- $\alpha$  购自 R&D 公司。FITC 标记的抗 CD80、CD83 抗体及 PE 标记的抗 CD86、CD1a 抗体购自 eBioscience 公司。RPMI1640 为 Gibco 公司产品,MTT 为 Sigma 公司产品,人 IL-12(p70)ELISA 检测试剂盒和人 IFN- $\gamma$  ELISA 检测试剂盒购自 ADL 公司。丝裂霉素 C 为浙江海正药业公司产品。淋巴细胞分离液(Ficoll)为上海生化试剂二厂产品,胎牛血清为杭州四季青公司产品。超净工作台为美国 Biological 公司产品,CO<sub>2</sub> 恒温培养箱(TC-2323 型)为美国 Sheldon 公司产品,倒置相差显微镜(LH50A 型)为日本 Olympus 公司产品,流式细胞仪为美国 Beckman Coulter 公司产品,全自动酶标分析仪(Bio-cell-HT2)为奥地利 Anthos 公司产品。

### 1.2 脐血单个核细胞的分离

在无菌条件下采集本院和石家庄市妇产科医院健康足月妊娠产妇肝素抗凝脐带血 20~50 ml/份,1:1 的比例与 0.9% 生理盐水混合后,加到淋巴细胞分离液上层,常温下 500  $\times$  g 离心 20 min,取界面层细胞(脐血单个核细胞层)加入 10~15 ml 生理盐水洗涤,室温 200  $\times$  g 离心 15 min,弃上清。重复洗涤

2 次,弃上清。用 RPMI 1640 完全培养基调整细胞密度至 2  $\times$  10<sup>6</sup>/ml,接种于 6 孔培养板,3 ml/孔,37  $^{\circ}$ C、5% CO<sub>2</sub> 培养箱培养 2 h,吸去悬浮细胞,每孔加入 3 ml RPMI 1640 完全培养基。

### 1.3 DCs 的体外诱导培养

于方法 1.2 中得到的贴壁细胞悬液中加入 GM-CSF(终活性浓度为 1 000 U/ml)和 IL-4(终活性浓度为 500 U/ml)进行 DCs 的诱导培养。培养 5 d 后,阴性对照组只加 GM-CSF 和 IL-4 继续培养 5 d(简称对照组);阳性对照组加入 TNF- $\alpha$ (终活性浓度为 50 U/ml)、GM-CSF 和 IL-4 继续培养 5 d(简称 TNF- $\alpha$ 组);ICA 组加入 ICA(终质量浓度为 10  $\mu$ g/ml)、GM-CSF 和 IL-4 继续培养 5 d(简称 ICA 组)。各组均于 37  $^{\circ}$ C、5% CO<sub>2</sub> 条件下培养,隔日半量换液,每日于倒置显微镜下观察细胞形态及生长状态。培养 10 d 后收集悬浮细胞进行后续实验,同时保留各组 DCs 的培养上清,检测 IL-12 和 IFN- $\gamma$  的含量。

### 1.4 透射电镜观察 DCs 的超微结构

收集诱导培养 10 d 的 DCs(约 1  $\times$  10<sup>6</sup> 个细胞),PBS 洗涤 2 次,用 2.5% 戊二醛及 10 mg/ml 的锇酸固定,经乙醇梯度脱水,超薄切片,经铅铀染色后置透射电镜下观察、摄片。

### 1.5 流式细胞术检测 DCs 的表型

收集培养 10 d 的各组 DCs,调整细胞密度至 1  $\times$  10<sup>6</sup>/ml,PBS 洗涤 2 次,分别加入相应的荧光素标记的抗体,即 PE-抗 CD1a、FITC-抗 CD83、FITC-抗 CD80 和 PE-抗 CD86。于 4  $^{\circ}$ C 避光反应 30 min,流式细胞术检测 DCs 表面分子的表达。

### 1.6 MTT 法检测 T 细胞的增殖

将不同实验组 DCs 用丝裂霉素 C(25  $\mu$ g/ml)处理 45 min 后作为刺激细胞。取健康志愿者外周血,用 1.2 方法制备获得单个核细胞,RPMI 1640 培养液洗涤 3 次,在 37  $^{\circ}$ C、5% CO<sub>2</sub> 及饱和湿度的细胞培养箱中培养 2 h,收集悬浮细胞作为反应细胞。按 1:10、1:50 及 1:100 的比例分别加刺激细胞及反应细胞于 96 孔培养板中,终体积为 200  $\mu$ l/孔,每组设 3 个复孔,其中 T 细胞为 2  $\times$  10<sup>5</sup>/孔。于 37  $^{\circ}$ C、5% CO<sub>2</sub> 条件下培养 72 h,每孔加入 MTT 20  $\mu$ l(5 mg/ml)继续培养 4 h,离心,弃上清,加入 DMSO 150  $\mu$ l/孔,震荡 10 min,用酶标仪检测 D<sub>570</sub> 值,结果用 3 孔均值表示。

### 1.7 ELISA 法测定细胞因子的水平

取方法 1.3 中所得的培养 10 d 的各组 DCs 培养上清,用 ELISA 法测定 IL-12 和 IFN- $\gamma$  的含量,按试剂盒操作说明书进行检测,每组设 3 个复孔。

### 1.8 统计学处理

应用 SPSS13.0 软件包对所有数据进行统计学处理,结果以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$  表示有显著性差异。

## 2 结果

### 2.1 ICA 对脐血来源 DCs 形态和生长状态的影响

在诱导脐血单个核细胞分化为 DCs 的过程中,各组细胞形态都发生动态变化。培养第 1 天,可见细胞体积较小而均匀散在分布;第 3 天时细胞开始

悬浮,聚集成簇;培养至第 5 天时分 3 组,分别给予不同的处理,即 ICA 组、TNF- $\alpha$  组和对照组。随着培养时间的延长,ICA 组悬浮细胞逐渐增多,形态不规则,体积增大,呈集落样生长;培养至第 10 天,成簇的细胞分散,增大的胞体表面可见毛刺状突起。阳性对照 TNF- $\alpha$  组细胞具有与 ICA 组相似的形态学变化。阴性对照组细胞表面突起较少,且体积较小,培养至第 10 天时,细胞形态呈梭形巨噬细胞形态。在整个 DCs 的培养过程中未见 DCs 数量有明显的变化(图 1)。

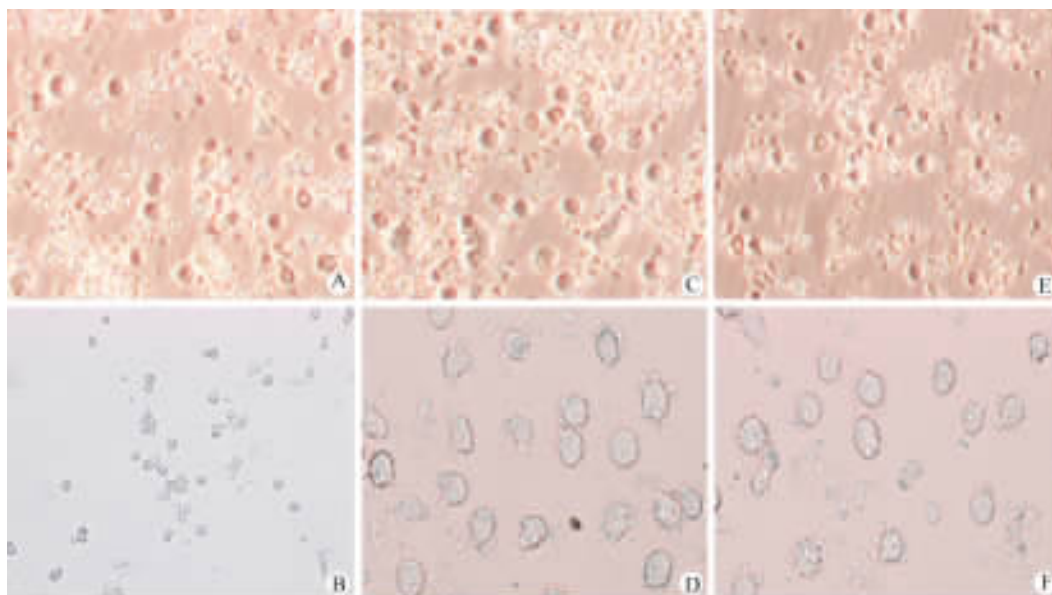


图 1 ICA 对脐血来源 DCs 形态的影响

Fig. 1 Effect of ICA on morphology of DCs derived from cord blood

A: Control group 5 d; B: Control group 10 d; C: TNF- $\alpha$  group 5 d; D: TNF- $\alpha$  group 10 d; E: ICA group 5 d; F: ICA group 10 d  
A, C, E:  $\times 200$ ; B, D, F:  $\times 400$

### 2.2 ICA 对脐血来源 DCs 超微结构的影响

培养 10 d 后,透射电镜下可见 ICA 组 DCs 表面有大量粗细不等的树枝状突起,细胞核不规则,多偏于一侧,核异染色质边集于核膜下,胞质中线粒体、粗面内质网丰富,溶酶体少见甚至没有,这一变化与 TNF- $\alpha$  组 DCs 超微结构相似,呈现出成熟 DCs 的超微结构特征;而对照组 DCs 表面突起少而粗糙,胞核中常染色质比较丰富,异染色质极少,细胞质内有大量溶酶体和空泡(图 2)。

### 2.3 ICA 上调 DCs 表面分子的表达

收集各组已经培养 10 d 的 DCs,分别加入 FITC 荧光标记的单克隆抗体 CD80、CD83 及 PE 荧光标记的单克隆抗体 CD1a、CD86,检测 DCs 细胞免疫表型。如图 3 所示,培养第 10 天时,ICA 组、TNF- $\alpha$  组 DCs 细胞表面 CD1a、CD80、CD83 和 CD86 的表达水

平较对照组 DCs 均有明显地提高,以 CD80 表达水平为最高[ ( 90.44  $\pm$  0.81 )% ],差异有统计学意义 (  $P < 0.01$  )。ICA 组 DCs 与 TNF- $\alpha$  组 DCs 细胞表面 CD1a、CD83 和 CD80 表达水平相似 (  $P > 0.05$  ),而 ICA 组 DCs 表面 CD86 的表达较 TNF- $\alpha$  组 DCs 显著提高 (  $P < 0.05$  ),提示 ICA 可更加明显地促进 DCs 的分化和成熟。

### 2.4 DCs 对异基因淋巴细胞增殖的刺激作用

收集培养第 10 天的各组 DCs 作为刺激细胞,与同种型外周血 T 细胞混合培养检测 DCs 对淋巴细胞增殖的影响。结果(图 4)显示,ICA 组 DCs 诱导同种型 T 细胞增殖的能力显著高于对照组 DCs (  $P < 0.05$  ),且随着 DCs 数量的增加而增强,呈现剂量依赖性。ICA 组 DCs 诱导 T 细胞增殖的能力与 TNF- $\alpha$  组 DCs 无显著性差异 (  $P > 0.05$  )。

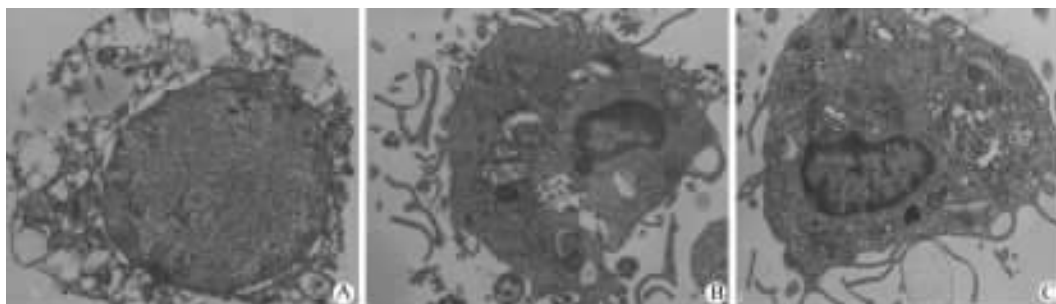


图 2 ICA 对脐血来源 DCs 超微结构的影响( ×7 000 )

Fig.2 Effect of ICA on ultrastructures of DCs derived from cord blood ( ×7 000 )

A: Control group; B: TNF-α group; C: ICA group

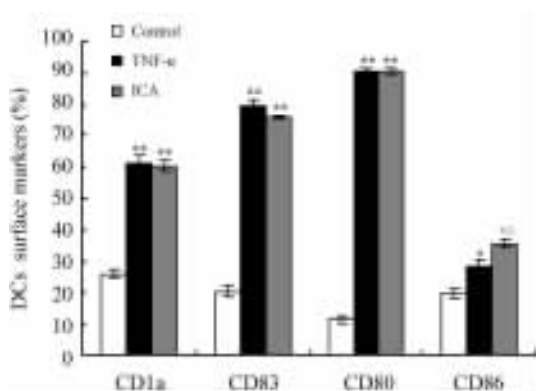


图 3 ICA 上调脐血来源 DCs 表面分子的表达

Fig.3 ICA up-regulated surface molecules expression on DCs derived from cord blood

\*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$  vs control,  $\Delta P < 0.05$  vs TNF-α

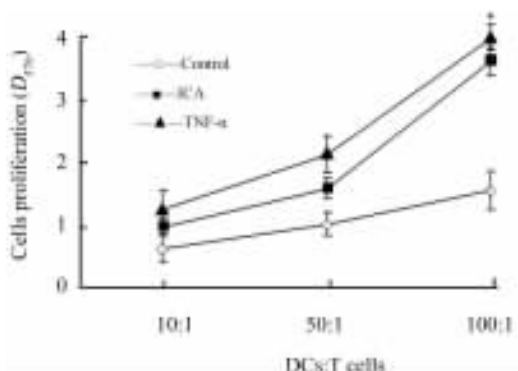


图 4 ICA 增强 DCs 诱导同种型 T 细胞增殖的能力

Fig.4 ICA enhanced efficacy of DCs to induce proliferation of allogeneic T lymphocytes

\*  $P < 0.05$  vs control

2.5 ICA 促进 DCs 分泌细胞因子

ICA 组 DCs 与 TNF-α 组 DCs 培养上清中 IL-12 和 IFN-γ 的含量均明显高于对照组 DCs ( $P < 0.01$ ),

且各组 DCs 上清中 IL-12 的分泌水平均高于 IFN-γ 的水平。ICA 组 DCs 培养上清中 IL-12 及 IFN-γ 的分泌水平与 TNF-α 组 DCs 培养上清无显著性差异 ( $P > 0.05$ , 表 1)。

表 1 DCs 培养上清中 IL-12 和 IFN-γ 的水平

Tab.1 Levels of IL-12 and IFN-γ in DCs culture supernatants (  $\rho_B / ng \cdot L^{-1}$  )

Group	IL-2	IFN-γ
Control	65.71 ± 11.97	7.76 ± 1.45
TNF-α	150.81 ± 24.74**	65.78 ± 4.39**
ICA	163.10 ± 9.81**	69.51 ± 5.55**

\*\*  $P < 0.01$  vs control

3 讨论

中医学理论认为人体免疫功能包括三个方面:其一,在免疫预防方面,主要体现在整体观和机体的协调统一;其二,在免疫自稳方面,中医的阴阳平衡理论、五脏相关学说、五行制化理论等都与免疫稳定密切相关;其三,在免疫监视方面,中医学认为,肿瘤的形成是机体“正气不足”,而后“邪气踞之”所致。李时珍说:“淫羊藿味甘气香,性温不寒,能益精气”,具有补肾壮阳、强筋健骨、祛风除湿的功效,能够提高人体的免疫力,降压理气。ICA 作为淫羊藿的主要有效成分之一,能够调控细胞的增殖、分化,而且对机体免疫功能有显著的促进作用<sup>[9,16-17]</sup>。近年研究<sup>[18]</sup>发现,ICA 能诱导胚胎干细胞定向分化为心肌细胞。

DCs 是目前已知的功能最强的专职抗原提呈细胞,能显著刺激初始 T 细胞的增殖。巨噬细胞、B 细

胞仅能刺激已活化的或记忆性 T 细胞增殖,因此,DCs 可以启动机体免疫反应。研究<sup>[19-20]</sup>证实,DCs 激发 T 细胞增殖及抗原提呈能力是巨噬细胞和 B 细胞的 100~1 000 倍,在抗原特异性细胞毒性 T 细胞为主的肿瘤过继免疫治疗中起着十分重要的作用。非成熟 DCs 与成熟 DCs 的功能差异很大,只有成熟 DCs 才能激活初始 T 细胞增殖,诱导其产生特异性 CTL 效应;而如果临床上给患者输注的是非成熟 DCs,则会导致机体产生免疫耐受<sup>[21]</sup>。目前已发现了多种可诱导 DCs 成熟的刺激因子,如 TNF- $\alpha$ 、LPS、CD40L、MBL<sup>[22]</sup>、IFN- $\gamma$ <sup>[23]</sup>等,但均因有一定的细胞毒性或作用尚未确定而限制了它们在体内的应用。本课题结果显示,经 ICA 刺激后的 DCs 具有成熟 DCs 的典型形态学特征,表现为细胞体积较大,形态不规则,表面有大量树突状或星形突起,胞质线粒体、粗面内质网丰富,溶酶体少见。通过表型分析发现,ICA 组 DCs 高表达 CD83、CD1a 分子和协同刺激分子 CD80 和 CD86。

本研究基于中医学“扶正固本”的理论,结合现代药理学研究成果,以具有免疫调节、诱导分化和抗肿瘤作用的 ICA 为诱生药物,选取了脐带血为诱生源。应用脐血诱生 DCs 具有取材方便、价格低廉、DCs 产生效率高于外周血的优点<sup>[24]</sup>。本研究以脐血单个核细胞为前体细胞,在 GM-CSF、IL-4 诱导分化出未成熟 DCs 的基础上,以 ICA 为诱导 DCs 成熟的刺激剂,获得了具有典型形态、表型及功能成熟 DCs,效果较 TNF- $\alpha$  更好,国内外文献尚未见同类研究报道。

本研究结果显示,用 ICA 可以诱导培养出形态上与常规 TNF- $\alpha$  等细胞因子培养体系相似的 DCs,细胞免疫表型 CD1a、CD83、CD80 和 CD86 均较刺激前明显增高,呈特征性树突状细胞的特点。CD1a 是目前鉴定人外周血 DCs 最理想的标记,CD83 是成熟 DCs 的相对特异性标志,CD80、CD86 是 DCs 表面重要的共刺激分子。成熟 DCs 的最大特点是具有刺激 T 细胞增殖的免疫活性。本研究结果显示,经 ICA 刺激而获得的 DCs 具有很强的促进 T 细胞增殖的能力,其作用强度与 TNF- $\alpha$  相近,且随 DCs 数量的增加而增强。DCs 的这种作用可能是通过分泌 IL-12 来实现的<sup>[25-26]</sup>。IL-12 具有重要的免疫调节功能,可通过诱导 IL-12R 的  $\beta$ 2 链表达上调,促进 Th1 细胞的分化,并可诱导 CTL 细胞产生,增强其杀伤功能<sup>[27]</sup>。成熟的 DCs 可分泌 IL-12<sup>[28]</sup>,本实验结果也证实了这一点。另外,在 DCs 培养上清中检测到一定水平的 INF- $\gamma$ ,在抗肿瘤免疫中发挥重要的作用<sup>[29-30]</sup>。

本实验初步探索了 ICA 在体外对 DCs 分化、成

熟的影响,通过对 DCs 形态、表型及功能的检测,证实 ICA 在体外可促进脐血来源 DCs 的分化、成熟,并可增加 IL-12 和 IFN- $\gamma$  的分泌,增强 DCs 的免疫活性。中药淫羊藿为天然药物,地域分布广泛,产量高、易获得,其活性成分 ICA 具有毒性作用小、价格低廉的优势。本研究结果为 ICA 的进一步开发利用提供了必要条件,并为体外培养 DCs 及临床用于肿瘤的免疫治疗奠定了基础。

## [参考文献]

- [1] Meng FH, Li YB, Xiong ZL, et al. Osteoblastic proliferative activity of *Epimedium brevicornum* [J]. *Phytomedicine*, 2005, 12(3): 189-193.
- [2] 雪原,王沛,齐青会,等. 淫羊藿苷对成骨细胞 Smad4 mRNA 作用的实验研究 [J]. *中华骨科杂志*, 2005, 25(2): 119-123.
- [3] 陈虹,张秀珍. 淫羊藿苷对大鼠成骨细胞分泌细胞因子的影响 [J]. *同济医科大学学报:医学版*, 2005, 26(2): 5-7.
- [4] 李淑梅,宋利格,张秀珍. 淫羊藿苷对大鼠成骨细胞功能及 Osterix 表达的影响 [J]. *同济医科大学学报:医学版*, 2005, 26(6): 8-11.
- [5] Chen KM, Ge BF, Ma HP, et al. Icarin, a flavonoid from the herb *epimedium* enhances the osteogenic differentiation of rat primary bone marrow stromal cells [J]. *Pharmazie*, 2005, 60(12): 939-942.
- [6] Zhu D, Qu L, Zhang X, et al. Icarin-mediated modulation of cell cycle and P53 during cardiomyocyte differentiation in embryonic stem cells [J]. *Eur J Pharmacol*, 2005, 514(223): 99-110.
- [7] Zhu D, Lou Y. Icarin-mediated expression of cardiac genes and modulation of nitric oxide signaling pathway during differentiation of mouse embryonic stem cell into cardiomyocytes *in vitro* [J]. *Acta Pharmacologie Sinica*, 2006, 27(3): 311-320.
- [8] He W, Sun H, Yang B, et al. Immunoregulatory effects of the herba *epimediia* glycoside icaridin [J]. *Drug Res*, 1995, 45(8): 910-913.
- [9] 赵勇,张玲,王芸,等. 淫羊藿苷的体外免疫调节作用研究 [J]. *中草药*, 1996, 27(11): 669-673.
- [10] 李晓冰,金东庆,郭良军,等. 淫羊藿苷在辐射小鼠免疫学功能恢复中作用的研究 [J]. *中国辐射卫生*, 2002, 11(3): 171-171.
- [11] Pan Y, Kong L, Xia X, et al. Antidepressant-like effect of icaridin and its possible mechanism in mice [J]. *Pharmacol Biochem Behav*, 2005, 82(4): 686-694.
- [12] 葛林阜,董政军,姜国胜,等. 淫羊藿苷对急性早幼粒白血病细胞端粒酶活性的影响 [J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2002, 9(1): 36-38.
- [13] 张玲,王芸,毛海婷,等. 淫羊藿苷抑制肿瘤细胞端粒酶活性及其调节机制的研究 [J]. *中国免疫学杂志*, 2002, 18(3): 191-194.
- [14] 李贵新,张玲,王芸,等. 淫羊藿苷诱导肿瘤细胞凋亡及其机制的研究 [J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 1999, 6(2):

131-135.

[ 15 ] 赵 勇, 张 玲, 崔正言, 等. 淫羊藿苷对 HL-60 细胞增殖与分化的影响 [ J ]. 中国药理学通报, 1996, 12( 1 ): 52-54.

[ 16 ] 殷晓雪, 陈仲强, 党耕町, 等. 淫羊藿苷对人成骨细胞增殖与分化的影响 [ J ]. 中国中药杂志, 2005, 30( 4 ): 289-291.

[ 17 ] 葛林阜, 董政军, 姜国胜, 等. 淫羊藿苷对小鼠免疫调节作用的研究 [ J ]. 中华实用医学, 2001, 3( 3 ): 25-27.

[ 18 ] 朱丹雁, 楼宜嘉. 淫羊藿苷诱导小鼠胚胎干细胞体外定向分化为心肌细胞方法学研究 [ J ]. 中国药理学杂志, 2007, 42( 9 ): 667-671.

[ 19 ] Mackensen A, Herbst B, Chen JL, *et al.* Phase I study in melanoma patients of a vaccine with peptide pulsed dendritic cells generated *in vitro* from CD34<sup>+</sup> hematopoietic progenitor cells [ J ]. *Int J Cancer*, 2000, 86( 3 ): 385-392.

[ 20 ] Timmerman JM, Czerwinski DK, Davis TA, *et al.* Idiotype pulsed dendritic cell vaccination for B-cell lymphoma: clinical and immune responses in 35 patients [ J ]. *Blood*, 2002, 99( 5 ): 1517-1526.

[ 21 ] 束永前, 戴 俊. 人外周血单核细胞来源的 DC 体外分化成熟影响因素的研究 [ J ]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2003, 10( 4 ): 243-247.

[ 22 ] 陈 月, 陈政良, 左大明, 等. MBL 对树突状细胞体外分化成熟的影响 [ J ]. 细胞与分子免疫学杂志, 2005, 21( 2 ): 159-162.

[ 23 ] 陈 月, 邹红岩, 马 云, 等. IFN- $\gamma$  促进树突状细胞分化成熟的实验研究 [ J ]. 现代检验医学杂志, 2008, 23( 3 ): 46-48.

[ 24 ] 苏 华, 郑秋红, 何 维. 人外周血及脐血树突状细胞的体外培养 [ J ]. 基础医学与临床, 1999, ( 19 ): 92-96.

[ 25 ] Nishioka Y, Wen H, Mitani K, *et al.* Differential effects of IL-12 on the generation of alloreactive CTL mediated by murine and human dendritic cells: a critical role for nitric oxide [ J ]. *J Leuko Biol*, 2003, 73( 5 ): 621-629.

[ 26 ] Lipscomb MF, Masten BJ. Dendritic cells: immune regulators in health and disease [ J ]. *Physiol Rev*, 2002, 82( 1 ): 97-130.

[ 27 ] Halin C, Rondini S, Nilsson F, *et al.* Enhancement of the anti-tumor activity of IL-12 by targeted delivery to neovasculature [ J ]. *Nat Biotech*, 2002, 20( 3 ): 264-269.

[ 28 ] Moll H. Antigen delivery by dendritic cell [ J ]. *Int J Med Microbiol*, 2004, 294( 5 ): 337-344.

[ 29 ] Varela N, Munoz-Pinedo C, Ruiz-Ruiz C, *et al.* Interferon-gamma sensitizes human myeloid leukemia cells to death receptor-mediated apoptosis by a pleiotropic mechanism [ J ]. *Biol Chem*, 2001, 276( 21 ): 17779-17787.

[ 30 ] Abe H, Maruno K, Yamakawa T, *et al.* Expression of Fas and induction of apoptosis by anti-Fas monoclonal antibody in human bile duct carcinoma cells, and enhancement of induction of apoptosis by IFN-gamma [ J ]. *Gan To Kagaku Ryoho*, 2002, 29( 12 ): 2254-2257.

[ 收稿日期 ] 2009-06-16 [ 修回日期 ] 2009-07-16  
[ 本文编辑 ] 徐红梅

· 简讯 ·

### 第十一届全国肿瘤生物治疗学术会议征文通知(第一轮通知)

“中国免疫学会肿瘤免疫与生物治疗分会”和“中国抗癌协会生物治疗专业委员会”联合主办、哈尔滨医科大学肿瘤医院和肿瘤研究所承办、《中国肿瘤生物治疗杂志》编辑部协办的“第十一届全国肿瘤生物治疗学术会议”定于2009年12月26~29日在黑龙江省哈尔滨市召开。诚邀国内各位专家与同行踊跃投稿参加会议交流。会议还邀请了多位著名的专家介绍本领域基础及临床研究的新进展。曹雪涛院士:肿瘤生物治疗研究进展;万涛教授:细胞过继免疫治疗研究进展;田志刚教授:天然免疫研究进展;郑利民教授:巨噬细胞在不同肿瘤微环境中的独特功能;刘斌磊博士:溶瘤病毒研究进展等。

**征文主题:**

1. 肿瘤生物治疗的新理论与新策略;2. 肿瘤生物治疗和诊断的新技术;3. 肿瘤生物治疗的临床应用与评价;4. 细胞治疗(包括造血干细胞和骨髓移植);5. 新型肿瘤相关抗原的研究;6. 细胞因子治疗;7. 抗体治疗;8. 疫苗治疗;9. 基因治疗;10. 生物反应调节剂(包括中药)治疗;11. 与生物治疗相关的综合治疗;12. 肿瘤干细胞;13. 肿瘤微环境和逃逸机制研究等。

**征文要求:**

凡未在国内外公开学术刊物发表过的研究论文和相关领域国内外研究进展的综述文章均可向会议投稿,请以 Word 文档的电子邮件发至本次大会的专设电子邮箱。稿件为 800~1000 字的中文摘要,如希望大会报告请附上全文。摘要包括研究目的、方法、结果、结论。标注 3~5 个关键词。请注明作者的单位,作者和通讯作者的联系地址、电话(固定电话和手机)及电子邮箱。

来稿经专家评审后选择优秀论文作大会发言。所接受的论文摘要将编入会议论文集。

征文截稿日期:2009年10月15日。

收稿电子邮箱:biotherapy11@163.com;联系人:张叔人,马文波;联系电话:010-67764138,010-87788416

联系地址:中国医学科学院肿瘤研究所免疫室,北京市朝阳区潘家园南里17号;邮政编码:100021。

中国免疫学会肿瘤免疫与生物治疗分会  
中国抗癌协会肿瘤生物治疗专业委员会