

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2010.04.014

香菇多糖促进急性髓细胞性白血病患者 DC 的成熟并增强其功能

王玉虹,张连生,柴 晔,曾鹏云,宋飞雪,岳玲玲,李利娟,吴重阳,易良才,刘 璞(兰州大学第二医院血液肿瘤科,甘肃兰州 730030)

[摘要] 目的:研究香菇多糖(lentinan, LNT)对急性髓细胞性白血病(acute myeloid leukemia, AML)患者树突状细胞(dendritic cell, DC)成熟及功能的影响,探索白血病免疫治疗的新途径。方法:分离 AML 完全缓解期患者(AML-complete remission, AML-CR)的骨髓单个核细胞(bone marrow mononuclear cell, BMC),用 GM-CSF 和 IL-4 诱导 7 d 培养 DC,然后分组:LPS 阳性对照组、LNT 实验组和对照组。培养 48 h 后以瑞氏-吉姆萨(Wright-Giemsa)染色观察各组 DC 形态,流式细胞术检测各组 DC 表面分子 CD80、CD83、CD86、CD1a 和 HLA-DR 的表达,ELISA 法检测各组 DC 上清液中 IL-12 的水平。免疫磁珠法分离 AML-CR 患者经 LNT 治疗后的外周血 DC,ELISA 法检测治疗后 DC 上清液中 IL-12 的水平。结果:体外实验中,LNT 处理后 DC 呈典型树突状形态;其表面分子 CD80、CD83、CD86、CD1a 及 HLA-DR 的表达上调($P < 0.05$);DC 分泌 IL-12 较阴性对照组显著增高($P < 0.05$),且呈 LNT 浓度依赖性。患者体内试验结果显示,LNT 治疗后 AML 患者的 DC 上清液中 IL-12 分泌水平较治疗前显著提高($P < 0.05$)。结论:LNT 在体内外均能促进 AML 患者的 DC 成熟和增强 DC 功能。

[关键词] 香菇多糖;急性髓细胞性白血病;树突状细胞;成熟

[中图分类号] R967

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2010)04-0434-05

Lentinan promotes maturation and function of dendritic cells of acute myeloid leukemia patients

WANG Yu-hong, ZHANG Lian-sheng, CHAI Ye, ZENG Peng-yun, SONG Fei-xue, YUE Ling-ling, LI Li-juan, WU Chong-yang, YI Liang-cai, LIU Ying (Department of Hematology and Oncology, Second Hospital of Lanzhou University, Lanzhou 730030, Gansu, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effects of lentinan (LNT) on maturation and function of dendritic cells (DCs) of acute myeloid leukemia (AML) patients, so as to explore new ways for leukemia immunotherapy. **Methods:** Bone marrow mononuclear cells (BMCs) were isolated from AML complete remission (AML-CR) patients, and were induced to differentiate into DCs by GM-CSF and IL-4 for 7 d. DCs were then divided into 3 groups: LPS positive control group, LNT group, and control group. After 48 h, the morphology of DCs was observed by Wright-Giemsa staining in different groups; CD80, CD83, CD86, CD1 α , and HLA-DR expressions on DCs were examined by flow cytometry assay; and IL-12 production was determined by ELISA. DCs of AML patients were isolated from human peripheral blood mononuclear cells (PBMC) by magnetic cell sorting (MACS) after LNT therapy, and the concentration of IL-12 in DC supernatants was determined by ELISA. **Results:** *In vitro*, LNT-treated DCs showed a typical DC morphology; it concentration-dependently increased the expressions of CD80, CD83, CD86, CD1a and HLA-DR ($P < 0.05$) and level of IL-12 compared with the control group ($P < 0.05$). *In vivo*, IL-12 in the supernatant of DCs of AML patients after LNT therapy was significantly higher than that of untreated patients ($P < 0.05$). **Conclusion:** LNT can promote maturation and function of DCs from AML patients *in vivo* and *in vitro*, exerting its anti-tumor effect.

[Key words] lentinan; acute myeloid leukemia; dendritic cell; maturation

[Chin J Cancer Biother, 2010, 17(4): 434-438]

[基金项目] 甘肃省科技支撑计划项目(No.0804NKCA115)。Project supported by the Program of Science and Technology of Gansu Province (No. 0804NKCA115)

[作者简介] 王玉虹(1977-),女,内蒙丰镇人,硕士生,主要从事肿瘤生物免疫治疗方面的研究。E-mail: nmxs008@163.com

[通信作者] 张连生(ZHANG Lian-sheng, corresponding author),E-mail: zls2170@yahoo.com

微小残留病灶(minimal residual disease, MRD)是导致急性髓细胞性白血病(acute myeloid leukemia, AML)复发的根本原因。免疫治疗对白血病微小病灶有效,逐渐成为白血病治疗的热点^[1]。研究^[2]表明,白血病在获得完全缓解后进行免疫治疗可提高疗效,并可望达到治愈的目的。DC 是功能最强的抗原提呈细胞(antigen presenting cell, APC),组成性地表达共刺激分子、黏附分子和 MHC I、II 类分子,且在成熟过程中可上调上述分子的表达,为唯一能刺激初始 T 细胞应答的 APC。在白血病的发生过程中,由于 APC 数量有限、MHC 抗原表达不足、白血病细胞表面共刺激分子缺乏以及局部细胞因子分泌不足等原因,不能有效激发机体特异性抗肿瘤反应。因此,弥补白血病细胞的缺陷,改变 DC 数量及成熟状态,增加抗白血病特异性的 CTL,有望成为治愈白血病的新途径。

香菇多糖(lentinan, LNT)是从香菇的子实体中分离得到的多糖。实验^[3-5]证明,LNT 能有效刺激免疫细胞成熟、分化和增殖,改善宿主机体平衡,恢复和提高宿主细胞对淋巴因子、激素和其他生理活性因子的反应性,是理想的免疫促进剂。LNT 能明显提高荷瘤小鼠树突状细胞的免疫功能,增强 DC 疫苗的抗肿瘤作用^[6]。但 LNT 对 AML 患者来源的 DC 的作用如何,目前尚未见报道。为此,本实验通过体内外实验,探讨 LNT 对 AML 患者来源 DC 成熟及功能的影响,为该药的抗肿瘤治疗提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 研究对象

选择兰州大学第二医院血液肿瘤科 AML-CR 期患者 15 例,其中男 10 例、女 5 例,中位年龄 28 (17 ~ 40)岁。9 例患者的骨髓 6 ~ 8 ml (40 U/ml 肝素抗凝)用于体外实验。患者的诊断和分期均符合张之南主编的《血液病诊断及疗效标准》,其中 M2 的 3 例、M3 的 4 例、M4 的 1 例、M5 的 1 例。6 例 AML-CR 期患者的外周血用于体内实验,其中 M2 的 2 例、M3 的 3 例、M5 的 1 例;该 6 例患者用 LNT 治疗从化疗结束后 2 周开始,每例患者均进行 4 ~ 6 周治疗(LNT 1 mg,加 5% 葡萄糖 250 ml 静脉滴注,每周 2 次,应用总量 8 ~ 12 mg,治疗前后均抽取外周血 20 ml)。研究对象均签署知情同意书,研究程序和治疗方案报医院伦理委员会审查批准。

1.2 实验材料

LNT 为山西泰盛制药有限公司赠品,规格为 1 mg/支。批准文号:国药准字 H20064611,生产批

号:090312。RPMI 1640 干粉购自美国 Gibco 公司,胎牛血清为杭州四季青生物制品公司产品,Ficoll 淋巴细胞分离液购于美国 Sigma 公司,rhGM-CSF 和 rhIL-4 均为厦门特宝生物工程股份有限公司产品,LPS 购自美国 Sigma 公司。FITC 标记鼠抗人单克隆抗体 CD80、CD83、HLA-DR 及 PE 标记鼠抗人单克隆抗体 CD86、CD1a 均购自美国 Caltag 公司。rhIL-12p70 ELISA 检测试剂盒购自美国 Biosource 公司,用于阴性选择的磁珠单抗、BDCA-1 单抗分选试剂盒均为 Miltenyi Biotec 公司产品。流式细胞仪(FACS)为 Becton Dickinson 公司产品,Wellscan Mk3 酶标仪为 Labsystems Dragon 公司产品,小型免疫磁珠分选仪(miniMACS)为 Miltenyi Biotec 公司产品。

1.3 骨髓及外周血单个核细胞的分离

用 Ficoll 密度梯度离心法分离 BMC 和 PBMC,收集单个核细胞于 10 ml 离心管中,离心弃上清,加入 RPMI 1640 完全培养基(含 10% 灭活胎牛血清、100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ P-S 双抗)重悬细胞,调整密度浓度为 $5 \times 10^6/\text{ml}$,加入适量冷冻保存液(含 40% 胎牛血清、50% RPMI 1640 液和 10% 二甲基亚砜),混合均匀,冷冻保存于 -80°C 冰箱中备用。

1.4 DC 的培养与成熟诱导

常规复苏冻存的 AML-BMC,用 RPMI 1640 完全培养基将 BMC 调整为 $5 \times 10^6/\text{ml}$ (锥虫蓝计数细胞活性 $>95\%$),加入 25 cm^2 培养瓶中,置于 37°C 、5% CO_2 培养箱培养 3 h,弃去非贴壁细胞,洗涤 1 次,获得贴壁细胞,加入含 1 000 U/ml rhGM-CSF 和 500 U/ml rhIL-4 的 RPMI 1640 完全培养基继续培养,隔日半量换液。第 6 天时收获未成熟 DC,以 $4 \times 10^6/\text{ml}$ 密度接种 24 孔板(1 ml/孔,共 5 孔),继续用 rhGM-CSF 和 rhIL-4 培养,诱导 DC 成熟。阴性对照组仅用含 rhGM-CSF 和 IL-4 的 RPMI 1640 完全培养基培养;实验组分别加入 LNT 0.1 ml(低剂量组终质量浓度为 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$,中剂量组终质量浓度为 30 $\mu\text{g}/\text{ml}$,高剂量组终质量浓度为 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$);阳性对照组加 LPS 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。第 7 天分别加 LNT 和 LPS 促成熟剂,于 48 h 后观察并收获 DC;同时收集培养上清, -80°C 保存,用于检测 IL-12p70 含量。

1.5 免疫荧光法检测 DC 免疫表型

倒置显微镜动态观察 DC 形态变化,用直接免疫荧光标记法检测 DC 成熟表型 CD1a、HLA-DR、CD80、CD83、CD86。将 DC 密度调至 $1 \times 10^6/\text{ml} \sim 5 \times 10^6/\text{ml}$,取 50 μl 加入 5 μl 抗体工作液,摇匀,避光室温下孵育 30 min。用 PBS 缓冲液洗涤 2 次,加入 450 μl 1% 多聚甲醛,4 $^\circ\text{C}$ 固定 15 min 后上机检

测。检测数据用 Cell Quest 软件进行分析。

1.6 免疫磁珠法分离外周血 DC

将 6 例 AML-CR 患者 LNT 治疗前后的 PBMC 解冻后用免疫磁珠法 (magnetic cell sorting, MACS) 分离 DC。治疗前为对照组, 治疗后为实验组。具体步骤参考文献 [7-9]。(1) 阴性选择去除 T、B 淋巴细胞、NK 细胞及单核细胞: 将 PBMC 密度调成 $1 \times 10^5/\text{ml}$, 加入盛有 300 μl 的缓冲液试管中, 加入 100 μl FcR (Fc 受体) 阻断剂, 100 μl 连接半抗原的抗体混合液 (抗 CD3、CD14、CD16、CD19、CD56), 4 $^\circ\text{C}$ 孵育 15 min; 离心洗涤 6 min, 弃上清, 重复 1 次。将细胞悬浮在 900 μl 的缓冲液中, 再加入 100 μl 磁珠标记的抗半抗原抗体, 4 $^\circ\text{C}$ 孵育 20 min, 将细胞悬液加到分离柱顶部, 并用 15 ml 缓冲液冲洗分离柱, 收集富含 DC 的细胞悬液。(2) DC 的获取。将上述细胞悬液离心洗涤 6 min, 弃上清, 重新悬浮在 100 μl 的缓冲液中; 加入 100 μl 磁珠标记的 BDCA-1 单抗, 4 $^\circ\text{C}$ 孵育 15 min; 然后加入分离柱内, 用 4 ml 的缓冲液冲洗分离柱, 使分离柱脱离磁场, 将 2 ml 缓冲液加入柱中, 针栓快速推动。重复操作获得高纯度细胞。(3) 检测 DC 纯度达 95% 以上。经孵育 24 h 后收集培养上清, 用于检测 IL-12p70 含量。

1.7 ELISA 法检测 DC 的 IL-12 分泌

采用双抗体夹心法检测 DC 上清液中 IL-12p70 的含量, 操作步骤按产品说明书进行, 显色后即刻用酶标仪检测 450 nm 波长的光密度 D 值, 根据标准曲线确定 IL-12 的含量。该方法对 IL-12p70 最小可测值为 3.96 pg/ml 。

1.8 统计学处理

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS10.0 软件, 体外实验各组内、组间进行方差分析, 体内实验各组配对样本进行 t 检验, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 LNT 对 DC 形态的影响

BMC 经 3 h 贴壁后, 倒置显微镜观察贴壁细胞体积小, 多为圆形单个核细胞。诱导 1 d 后, DC 的体积增大, 仍贴壁, 呈多形性。随着培养时间的延长, 悬浮细胞逐渐增多。培养 3~4 d 后, 即可观察到细胞聚集成簇, 由圆形变为不规则形, 细胞周围开始出现细小的树突样伪足。至第 7 天时, 细胞仍为多形性, 多数细胞已为悬浮的 DC。加入 LNT 培养 48 h, 诱导成熟 DC 大多数悬浮, 可见细胞体积增大, 不规则, 有明显的树突状突起 (图 1)。

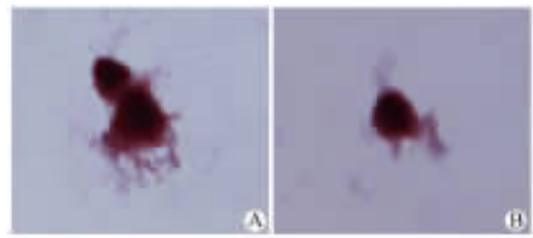


图 1 LNT 诱导后 DC 形态的变化 (瑞氏-吉姆萨染色, $\times 100$)

Fig.1 Morphology of DCs induced by LNT

(Wright-Giemsa staining, $\times 100$)

A: Control; B: LNT

2.2 LNT 促进 DC 的成熟

收集诱导成熟的 DC, 用流式细胞仪检测 DC 表面分子的表达。实验结果表明, LNT 能上调 CD80、CD83、CD86、HLA-DR 和 CD1a 的表达, 明显高于阴性对照组 ($P < 0.05$); LNT 促进 DC 表型的成熟呈浓度依赖性, 其最佳浓度为 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 效果与 LPS 相当 (表 1)。

表 1 LNT 促进 DC 的成熟 (%)

Tab.1 LNT promoted maturation of DCs (%)

Group	CD80	CD83	CD86	CD1a	HLA-DR
Control	13.23 \pm 10.28	12.24 \pm 11.23	20.64 \pm 15.22	13.47 \pm 10.13	21.17 \pm 14.24
10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ LNT	36.32 \pm 14.67*	34.52 \pm 16.22*	52.35 \pm 21.35*	35.13 \pm 18.60*	53.40 \pm 25.17*
30 $\mu\text{g}/\text{ml}$ LNT	42.18 \pm 16.23**	45.23 \pm 15.32**	62.57 \pm 16.45**	43.19 \pm 16.35**	67.14 \pm 24.17**
50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ LNT	67.13 \pm 13.57**	77.45 \pm 23.16**	79.16 \pm 16.23**	56.61 \pm 16.57**	72.15 \pm 13.29**
LPS	67.48 \pm 12.24**	81.25 \pm 17.29**	76.42 \pm 20.41**	56.13 \pm 12.38**	73.42 \pm 20.34**

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs control

2.3 体外实验中 LNT 促进 DC 分泌高水平 IL-12

ELISA 检测结果显示, DC 在未做任何处理时(即 control 组)IL-12 分泌量很少[(43.7 ± 3.6) pg/ml]; LNT 和 LPS 处理的 DC 能够分泌高水平的 IL-12[LNT 10、30、50 μg/ml 分别为 (65.4 ± 5.7)、(107.6 ± 16.3)、(183.6 ± 11.5) pg/ml, LPS 为 (213.7 ± 13.5) pg/ml]。结果显示, LNT 以浓度依赖性方式增加 DC 分泌 IL-12, 其最高水平接近于 LPS 的阳性对照(图 2)。

2.4 体内实验中 LNT 促进患者 DC 分泌高水平 IL-12

体内实验结果显示, 经 LNT 治疗后患者外周血分离纯化的 DC 分泌 IL-12 的量较治疗前明显上调 (P < 0.05), 与体外实验结果相一致(图 3)。

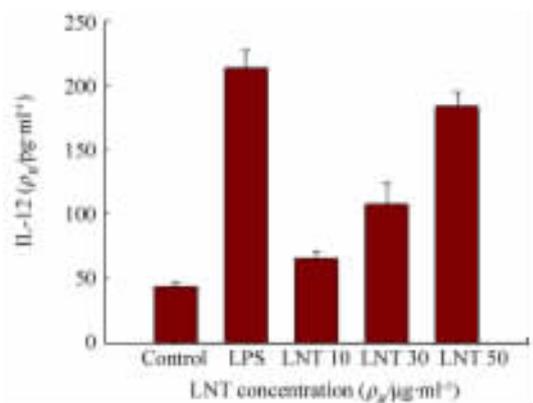


图 2 LNT 剂量依赖性增强 DC 分泌 IL-12
Fig. 2 LNT dose-dependently increased IL-12 production by DC

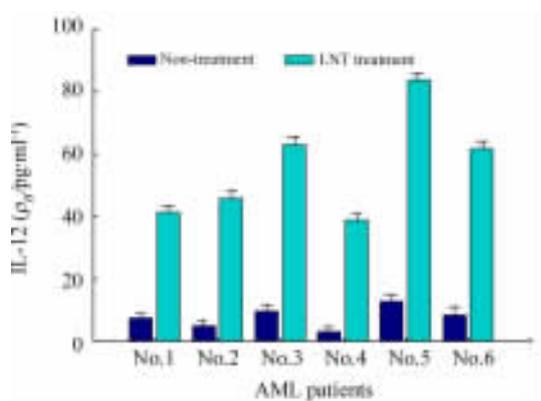


图 3 LNT 治疗后 6 例患者的 DC 分泌高水平 IL-12
Fig. 3 DC produced higher level of IL-12 after LNT treatment in 6 AML patients

3 讨论

香菇为担子菌纲伞形科真菌,味甘性平,健脾益

气,扶正祛邪,调和阴阳,食药兼用。香菇中含有多种有效的药用成分。Chihara 等^[10]从香菇中分离出具有抗肿瘤活性的多糖[线性 β-(1-3)-D-葡聚糖和带(1-6)糖苷链接的支链 β-D-葡聚糖],其中 LNT 是一类特殊生理活性的物质,可增强人体免疫功能,预防和治疗多种慢性疾病。此外,它还具有多种免疫学活性,可激活巨噬细胞、T 淋巴细胞、NK 细胞等,促进细胞因子生成,活化补体等。LNT 非特异性地激发和增强机体的免疫功能,激活抗肿瘤免疫应答,达到控制和杀灭肿瘤的目的。通常先用常规疗法清扫大量的肿瘤细胞,再用 LNT 免疫疗法清除残存的肿瘤细胞,提高肿瘤综合治疗的效果。荣微等^[6]从改善 DC 功能的角度探讨 LNT 抗肿瘤作用,结果证实, LNT 通过调节树突状细胞的免疫功能而增强其抗肿瘤作用。

AML 肿瘤负荷量大,识别肿瘤的 T 细胞克隆不应答或者 AML 细胞增生超过 T 细胞的杀伤活性^[12],白血病在诱导缓解后行免疫治疗可减少 AML 的复发。因此,利用 DC 的抗原提呈功能,增加其免疫原性,从而产生抗白血病特异性的 CTL 作用来清除肿瘤细胞。临床病理研究^[13]发现,肿瘤组织及其周围只有很少的 DC 浸润,并且这些 DC 表面的共刺激分子表达降低,细胞因子分泌减少,说明肿瘤组织的分泌物能抑制 DC 的成熟。DC 在分化发育过程中存在两个不同的阶段:不成熟 DC 和成熟 DC。不成熟 DC 刺激初始 T 细胞增殖的能力很弱,可诱导 T 细胞的无能;但其在摄取抗原或接受到某些刺激因素后,可以分化成熟,使抗原提呈能力增加。成熟 DC 膜表面高表达 MHC I/II 类分子、共刺激分子(CD80、CD86 等)、黏附分子(如 CD54 等)和其他成熟的标记(如 CD83),并能分泌多种与免疫调节有关的细胞因子,从而增强刺激机体产生免疫应答的能力。两种 DC 具有迥然不同的特性,只有成熟 DC 才有刺激淋巴细胞增殖能力。为此,肿瘤的临床治疗中可应用促成熟剂促进 DC 成熟,并增强其功能。

DC 作为一个重要的抗原提呈细胞,在抗肿瘤免疫中起着举足轻重的作用。如何提高 DC 产量,激活其功能,使之有效而特异地杀伤杀死肿瘤细胞是目前肿瘤免疫治疗的研究热点^[14-15]。从香菇中分离得到的多糖具有显著的免疫增强和抗肿瘤作用, LNT 是研究较多的多糖之一。Kupfahl 等^[16]用 LNT 作用于 DC 的 Dectin-1 受体,促使 CD8T 细胞分泌 IL-12,对抗李斯特菌的感染。研究^[17]发现, Dectin-1 是树突状细胞表面特异性受体,可识别具有 β-1,3

连接和 β -1,6 连接的葡聚糖, Dectin-1 在促进 Th1 相关免疫反应和抗微生物中与 Toll 样受体(TLR)发挥协同作用^[18]。LNT 作用于 AML 患者 DC 可能主要通过上述受体结合, 促使 DC 成熟, 激活更多的 T 淋巴细胞, 引起强烈的免疫应答。本研究通过体内、外实验, 观察 LNT 对 AML 患者 DC 的作用, 证实 LNT 能够诱导 AML 患者 DC 成熟, 上调表面分子的表达, 促进 DC 分泌 IL-12。实验还发现, LNT 在不加 TNF- α 和 LPS 的情况下就能够促进 DC 的成熟, 证明 LNT 刺激促进 DC 成熟的有效性, 它可作为白血病免疫治疗的有效中药多糖。本研究不仅通过体外实验, 而且进一步通过体内实验发现 LNT 对 AML 患者 DC 成熟和功能的诱导作用, 为中药抗肿瘤免疫的研究提供了实验依据。

【参考文献】

- [1] Choudhury A, Toubert A, Sutaria S, Charron D, Champlin RE, Claxton DF. Human leukemia-derived dendritic cells: Ex-vivo development of specific antileukemic cytotoxicity [J]. *Crit Rev Immunol*, 1998, 18(1/2): 121-123.
- [2] Westers TM, Ossenkoppele GJ, van de Loosdrecht AA. Dendritic cell-based immunotherapy in acute and chronic myeloid leukaemia [J]. *Biomed Pharmacother*, 2007, 61(6): 306-314.
- [3] Wasser SP. Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2002, 60(3): 258-274.
- [4] Yan J, Zong H, Shen A, Chen S, Yin X, Shen X, et al. The beta-(1-->6)-branched beta-(1-->3) glucohexaose and its analogues containing an alpha-(1-->3)-linked bond have similar stimulatory effects on the mouse spleen as lentinan [J]. *Int Immunopharmacol*, 2003, 3(13/14): 1861-1871.
- [5] Zhou LD, Zhang QH, Zhang Y, Liu J, Cao YM. The shiitake mushroom-derived immuno-stimulant lentinan protects against murine malaria blood-stage infection by evoking adaptive immune-responses [J]. *Int Immunopharmacol*, 2009, 9(4): 455-462.
- [6] 荣 徽, 井 欢, 刘春英. LNT 对荷瘤小鼠树突状细胞功能影响的实验研究 [J]. *中医药学刊*, 2006, 24(4): 681-682.
- [7] Brocks C, Graefe H, Frenzel H, Pries R, Wollenberg B. Isolation of human myeloid dendritic cells from tumor tissue and peripheral blood [J]. *In Vivo*, 2006, 20(2): 239-242.
- [8] Thomas R, Lipsky PE. Human peripheral blood dendritic cell subsets. Isolation and characterization of precursor and mature antigen-presenting cells [J]. *J Immunol*, 1994, 153(9): 4016-4028.
- [9] 唐 岩, 唐军民, 李银生, 伊焕发, 戴 燕. 免疫磁珠技术在分离人外周血树突状细胞中的应用 [J]. *解剖学杂志*, 2003, 26(3): 298-300.
- [10] Chihara G, Maeda Y, Hamuro J, Sasaki T, Fukuoka F. Inhibition of mouse sarcoma 180 by polysaccharides from *Lentinus edodes* (Berk.) sing [J]. *Nature*, 1969, 222(5194): 687-688.
- [11] Chihara G, Hamuro J, Maeda YY, Shiio T, Suga T, Takasuka N, et al. Antitumor and metastasis-inhibitory activities of lentinan as an immunomodulator: An overview [J]. *Cancer Detect Prev Suppl*, 1987, 1: 423-443.
- [12] Costello RT, Mallet F, Sainty D, Maraninchi D, Gastaut JA, Olive D. Regulation of CD80/B7-1 and CD86/B7-2 molecule expression in human primary acute myeloid leukemia and their role in allogenic immune recognition [J]. *Eur J Immunol*, 1998, 28(1): 90-103.
- [13] Meijs M, Mekkes J, van Noesel C, Nijhuis E, Leeksa O, Jonkman M, et al. Paraneoplastic pemphigus associated with follicular dendritic cell sarcoma without Castleman's disease; treatment with rituximab [J]. *Int J Dermatol*, 2008, 47(6): 632-634.
- [14] 李世俊, 张连生, 柴 晔, 张玉芳, 张彦明, 曾鹏云, 等. 树突状细胞与细胞因子诱导的杀伤细胞共培养对多药耐药肿瘤细胞系的杀伤活性 [J]. *中华肿瘤杂志*, 2007, 29(10): 733-737.
- [15] 曾鹏云, 杜 昊, 张连生, 柴 晔, 刘 瑛. 流感疫苗促进髓系白血病骨髓细胞来源树突状细胞的功能 [J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2009, 16(3): 221-226.
- [16] Kupfahl C, Geginat G, Hof H. Lentinan has a stimulatory effect on innate and adaptive immunity against murine *Listeria monocytogenes* infection [J]. *Int Immunopharmacol*, 2006, 6(4): 686-689.
- [17] Olynych TJ, Jakeman DL, Marshall JS. Fungal zymosan induces leukotriene production by human mast cells through a dectin-1-dependent mechanism [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2006, 118(4): 837-843.
- [18] Underhill DM. Collaboration between the innate immune receptors dectin-1, TLRs, and Nods [J]. *Immunol Rev*, 2007, 219: 75-78.

[收稿日期] 2010-04-25

[修回日期] 2010-05-16

[本文编辑] 王 莹

《中国肿瘤生物治疗杂志》欢迎投稿、欢迎订阅