

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2012.01.003

· 专题报道 ·

IL-12 与 IL-18 联合刺激对树突状细胞分泌的 exosome 活性的影响

张在云¹, 李希德², 魏玮¹, 叶兰¹, 丛萍¹, 潘祥林³(1. 山东大学第二医院 肿瘤中心, 山东 济南 250033; 2. 高密市中医院 肿瘤科, 山东 高密 261500; 3. 山东大学第二医院 血液内科, 山东 济南 250033)

[摘要] **目的:** 观察 IL-12 与 IL-18 联合刺激对树突状细胞(dendritic cell, DC)分泌的 exosome (DC derived exosome, Dex) 活性的影响, 为探索高效的 exosome 肿瘤疫苗奠定基础。**方法:** 取正常健康人外周血单个核细胞诱导培养 DCs, 分别以 IL-12、IL-18 或 IL-12 + IL-18 联合刺激 DC, 并设空白对照组、T 细胞对照组, 分别提取各组的 Dex, Western blotting 检测 Dex 中 HLA-DR、CD83 的表达, 流式细胞仪检测 CD54、CD80 及 CD86 的表达; MTT 法检测 Dex 刺激 T 细胞增殖的作用, ELISA 法测定 T 细胞 IFN- γ 的分泌量。**结果:** IL-12、IL-18、联合组、空白组的 Dex 中均有 HLA-DR、CD83 蛋白表达; 联合组 Dex 的 CD54 (323.67 \pm 44.06 vs 246.17 \pm 31.91, 236.33 \pm 33.87, 167.67 \pm 28.73, $P < 0.05$)、CD80 (406.37 \pm 39.18 vs 331.67 \pm 36.15, 335.67 \pm 41.38, 260.00 \pm 35.58, $P < 0.05$) 及 CD86 (390.50 \pm 38.06 vs 314.33 \pm 36.64, 319.00 \pm 33.10, 246.83 \pm 30.55, $P < 0.05$) 表达均高于 IL-12 组、IL-18 组及空白组; 联合组刺激 T 细胞增殖高于 IL-12 组、IL-18 组及空白组、T 细胞组 (1.98 \pm 0.31 vs 1.55 \pm 0.23, 1.57 \pm 0.21, 1.10 \pm 0.18, 0.53 \pm 0.09, $P < 0.05$); 联合组刺激 T 细胞分泌 IFN- γ 水平高于 IL-12 组、IL-18 组及空白组、T 细胞组 (436.67 \pm 61.80 vs 295.04 \pm 40.25, 358.18 \pm 55.77, 225.00 \pm 36.44, 139.50 \pm 17.63, $P < 0.05$)。**结论:** IL-12 与 IL-18 联合刺激能增加 Dex 表达 CD54、CD80 及 CD86, 促进 Dex 刺激的 T 细胞的增殖及其 IFN- γ 的分泌。

[关键词] 树突状细胞; exosome; IL-12; IL-18; T 细胞; IFN- γ

[中图分类号] R392.1; R730.51

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2012)01-0017-05

Effect of stimulation with combined IL-12 and IL-18 on exosomes secreted by dendritic cells

ZHANG Zai-yun¹, LI Xi-de², WEI Wei¹, YE Lan¹, CONG Ping¹, PAN Xiang-lin³(1. Cancer Center, Second Hospital of Shandong University, Ji'nan 250033, Shandong, China; 2. Department of Oncology, Gaomi City Hospital of Traditional Chinese Medicine, Gaomi 261500, Shandong, China; 3. Department of Hematology, Second Hospital of Shandong University, Ji'nan 250033, Shandong, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the effect of stimulation with combined IL-12 and IL-18 on exosomes secreted by dendritic cells (DCs), and so as to facilitate exploring high-efficiency DC derived exosome (Dex) cancer vaccines. **Methods:** DCs induced from human peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) were stimulated with IL-12 + IL-18, IL-12 or IL-18 for the combined group, IL-12 group and IL-18 group respectively; and no stimulant for the control group. Dex was extracted from DCs. The expressions of HLA-DR and CD83 in Dex were detected by Western blotting. CD54, CD80 and CD86 expressions were determined by flow cytometry. The T cell proliferation stimulated by Dex was detected with MTT method. IFN- γ in the T cell supernatant was detected by ELISA. **Results:** HLA-DR and CD83 proteins were expressed in Dex of all the four groups. The molecule expressions for combined group were CD54 (323.67 \pm 44.06 vs 246.17 \pm 31.91, 236.33 \pm 33.87, 167.67 \pm 28.73, $P < 0.05$), CD80 (406.37 \pm 39.18 vs 331.67 \pm 36.15, 335.67 \pm 41.38, 260.00 \pm 35.58, $P < 0.05$), and CD86 (390.50 \pm 38.06 vs 314.33 \pm 36.64, 319.00 \pm 33.10, 246.83 \pm 30.55, $P < 0.05$), which were higher than those in the IL-12 group, IL-18 group and control group. The T cell proliferation in the combined group (1.98 \pm 0.31 vs 1.55 \pm 0.23, 1.57 \pm 0.21, 1.10 \pm 0.18, $P < 0.05$) was

[基金项目] 山东省自然科学基金资助项目(No. Y2007C111)。Project supported by the Natural Science Foundation of Shandong Province (No. Y2007C111)

[作者简介] 张在云(1966-),女,山东省潍坊市人,博士,副主任医师,主要从事肿瘤内科治疗研究。E-mail: hizzy@sina.com.cn

[通信作者] 潘祥林(PAN Xiang-lin, corresponding author), E-mail: qinqingshiyun@sina.com

[网络出版] <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.1725.R.20120109.1710.008.html>

higher than that in the IL-12 group, IL-18 group and control group. IFN- γ secreted by T cells in the combined group (436.67 ± 61.8 vs 295.04 ± 40.25 , 358.18 ± 55.77 , 225.00 ± 36.44 , $P < 0.05$) was higher than that in the IL-12 group, IL-18 group and control group. **Conclusion:** Stimulation of DCs with combined IL-12 and IL-18 can enhance Dex express CD54, CD80 and CD86, promote Dex-induced T cell proliferation and increase IFN- γ secretion by T cells.

[**Key words**] dendritic cell; exosome; IL-12; IL-18; T cell; IFN- γ

[Chin J Cancer Biother, 2012, 19(1): 17-21]

生物免疫治疗是肿瘤治疗的重要手段, exosome 肿瘤疫苗是近年来肿瘤免疫治疗研究的新疫苗^[1]。Exosome 是由多种细胞分泌到细胞外的小囊泡, 含有丰富的免疫相关分子、细胞骨架蛋白及糖脂, 具有多种生物学功能^[2,4]。树突状细胞(dendritic cell, DC)是功能强大的抗原提呈细胞, 是机体抗肿瘤免疫的关键细胞。DC来源的 exosome(dendritic cell derived exosome, Dex)含有抗原提呈分子及丰富的共刺激分子, 能诱导抗肿瘤免疫反应, 是 exosome 肿瘤疫苗的重要来源^[5], 但其抗肿瘤疗效有待进一步提高。研究^[6]显示, 多种细胞因子能调节 exosome 的分泌和功能。IL-12 及 IL-18 是多效性的细胞因子, 能增强 DC 的免疫活性, 且两者具有协同作用, 但 IL-12 及 IL-18 对 exosome 有无影响尚不清楚。为此, 本课题研究了 IL-12 与 IL-18 联合刺激对 Dex 活性的影响, 为探索高效的 exosome 肿瘤疫苗奠定基础。

1 材料与方法

1.1 主要实验材料

RPMI 1640 培养液及胎牛血清购自美国 Gibco 公司, GM-CSF 购自美国先灵葆雅公司, IL-4 及 TNF α 购自美国 R & D 公司, 蔗糖、重水及 MTT 购自美国 Sigma 公司, 鼠抗人 HLA-DR、鼠抗人 CD83、 α -tubulin 抗体及兔抗鼠 IgG 购自美国 Santa Cruz 公司, ECL 购自美国 Santa Cruz 公司, FITC 标记的 CD54、CD80 及 PE 标记的 CD86 抗体购自法国 Immunotech 公司。免疫磁珠 M-450 HLA-II 购自美国 Dynal Biotech 公司。

1.2 DC 的诱导培养及恶性 exosome 的提取

分离健康人的外周血单个核细胞, 用 GM-CSF、IL-4 及 TNF- α 诱导培养 DC^[7]。设联合组、IL-12 组、IL-18 组及空白组, 在培养第 5 天, 前 3 组分别用 IL-12 + IL-18、IL-12、IL-18 刺激 DC, IL-12 及 IL-18 的终活性浓度均为 200 U/ml, 空白组不加刺激剂; 刺激后 72 h 收集上清液, 用差速离心法提取 Dex。细胞上清液 $1\ 000 \times g$ 离心 10 min, 取上清液; $10\ 000 \times g$ 离心 10 min, 取上清液; 将 30% 蔗糖/重水

垫、上清液及 PBS 依次放入离心管中, $100\ 000 \times g$ 离心 1 h; 取混有 exosome 的蔗糖/重水垫, 用 PBS 悬浮, 加入到 $100\ 000 \times g$ 超滤离心管中, 重复 3 次, 浓缩液即为 Dex, 用 $0.22\ \mu\text{m}$ 的滤膜过滤, $-80\ ^\circ\text{C}$ 保存备用。

1.3 透射电镜观察 Dex 的形态

取 4 组 Dex 各 20 μl , 滴于载样铜网上, 室温静置 1 min, 用滤纸吸干液体, 滴加 20 g/L 磷钨酸负染 1 min, 用滤纸吸干负染液, 用白炽灯烤干, 透射电镜下观察形态^[8]。

1.4 Western blotting 检测 Dex 中 HLA-DR、CD83 的表达

用 Bradford 法测定 Dex 蛋白的浓度, 取 Dex 20 μg 行 SDS-PAGE, 电转膜, 室温封闭 1 h, 加入鼠抗人 HLA-DR、鼠抗人 CD83 及 α -tubulin 抗体, 再加入辣根过氧化物酶标记的兔抗鼠抗体, 进行 ECL 反应显色, 在 BIO-RAD 凝胶成像仪中观察分析结果。

1.5 流式细胞仪检测 Dex 表面 CD54、CD80 及 CD86 的表达

取各组 Dex, 每管 20 μg , 加入包被 HLA-II 的免疫磁珠, $4\ ^\circ\text{C}$ 孵育 30 min, PBS 洗涤 2 次, 分别加入 FITC 标记的 CD54、CD80 及 PE 标记的 CD86 抗体, $4\ ^\circ\text{C}$ 孵育 30 min, PBS 洗 2 次, 流式细胞仪检测 CD54、CD80 及 CD86 的表达水平。实验重复 3 次。

1.6 MTT 法检测 Dex 刺激 T 细胞增殖的作用

分离人外周血单个核细胞, 用尼龙毛柱分离 T 细胞。用 96 孔板, 每孔加入 1×10^5 个 T 细胞, 分别加入 Dex 0.1 μg (低剂量)、0.5 μg (中剂量)、1 μg (高剂量) 刺激 T 细胞; 另设 T 细胞组作为阴性对照, 只加 T 细胞, 不用 Dex 刺激。每孔终体积 200 μl , 用含 rhIL-2 (2 U/ml) 的 RPMI 1640 液培养 72 h, 离心, 取上清 50 μl , 以备测定 IFN- γ 的含量。然后每孔加入 MTT (5 mg/ml) 20 μl , 继续培养 4 h, 用酶标仪测 490 nm 处光密度(D)值。实验重复 3 次。

1.7 ELISA 法测定 Dex 刺激的 T 细胞分泌 IFN- γ 的水平

取上述 5 组 Dex 刺激的 T 细胞上清液, 以未经 Dex 刺激的 T 细胞上清液为阴性对照, 按照 ELISA

试剂盒说明书方法测定 IFN- γ 的含量。

1.8 统计学处理

应用 SPSS 13.0 软件,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,进行方差齐性检验,组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 q 检验。 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 IL-12 与 IL-18 联合刺激对 Dex 形态的影响

联合组、IL-12 组、IL-18 组及空白组 DC 上清液经差速离心法提取 Dex,透射电镜下观察 Dex 呈球形、椭圆形或蝶形,囊泡状,大小不一,直径在 30 ~ 100 nm 之间,为典型的 exosome 形态,4 组间 Dex 形态无差异。

2.2 IL-12 与 IL-18 联合刺激后 Dex 中 HLA-DR、CD83 的表达

Western blotting 检测 Dex 中 HLA-DR、CD83 表达,以 α -tubulin 为内参照。结果(图 1)显示,4 组细胞 Dex 均有 HLA-DR、CD83 蛋白表达。

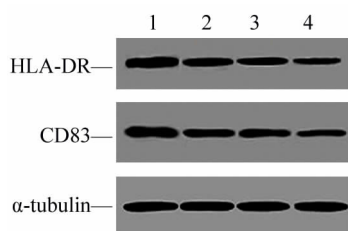


图 1 Dex 中 HLA-DR、CD83 蛋白的表达

Fig. 1 HLA-DR and CD83 protein expressions in Dex

1: IL-12 + IL-18 group; 2: IL-12 group;

3: IL-18 group; 4: Control group

2.3 IL-12 与 IL-18 刺激对 Dex 表面分子的影响

用流式细胞仪测定 Dex 表面分子 CD54、CD80 及 CD86 表达,结果(图 2)显示,4 组 Dex 表面分子表达水平有差异,CD54 ($F = 8.901, P = 0.001$), CD80 ($F = 6.776, P = 0.002$), CD86 ($F = 7.024, P = 0.002$)。其中联合组 CD54 (323.67 ± 44.06 vs $246.17 \pm 31.91, 236.33 \pm 33.87, 167.67 \pm 28.73, P < 0.05$), CD80 (406.37 ± 39.18 vs $331.67 \pm 36.15, 335.67 \pm 41.38, 260.00 \pm 35.58, P < 0.05$) 及 CD86 (390.50 ± 38.06 vs $314.33 \pm 36.64, 319.00 \pm 33.10, 246.83 \pm 30.55, P < 0.05$) 表达均高于 IL-12 组、IL-18 组及空白组,IL-12 组及 IL-18 组也均高于空白组 ($P < 0.05$),IL-12 组与 IL-18 组之间无差异。结果表明,IL-12 与 IL-18 联合刺激能

促进 Dex 表达 CD54、CD80 及 CD86。

2.4 IL-12 与 IL-18 刺激的 Dex 促进 T 细胞增殖

MTT 法检测结果(图 3)显示,4 组经 Dex 刺激的 T 细胞,在低剂量 ($F = 10.797, P = 0.000$)、中剂量 ($F = 11.610, P = 0.000$) 及高剂量 ($F = 9.497, P = 0.001$) 时均存在差异,且高于 T 细胞组 ($0.53 \pm 0.09, P < 0.05$)。高剂量的联合刺激组 T 细胞增殖 (1.98 ± 0.31 vs $1.55 \pm 0.23, 1.57 \pm 0.21, 1.10 \pm 0.18, 0.53 \pm 0.09, P < 0.05$) 显著高于 IL-12 组、IL-18 组、空白组和 T 细胞组,而 IL-12 组与 IL-18 组之间无差异。结果表明,4 组 Dex 均能刺激 T 细胞增殖,但刺激强度不同,联合组作用最强,IL-12 组与 IL-18 组作用次之,且两组间无差异。

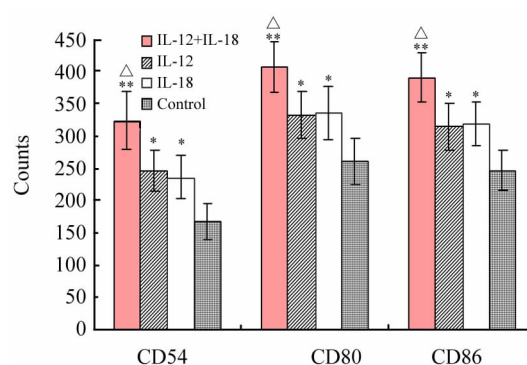


图 2 IL-12 与 IL-18 刺激后 Dex 表面分子的表达

Fig. 2 Surface molecule expressions on Dex after being stimulated by IL-12 and IL-18

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

$\Delta P < 0.05$ vs IL-12 or IL-18 group

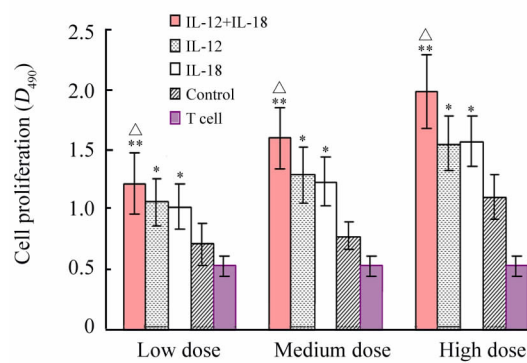


图 3 IL-12 与 IL-18 刺激的 Dex 促进 T 细胞增殖

Fig. 3 Dex stimulated by IL-12 and IL-18 promoting T cell proliferation

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs control or T cell group;

$\Delta P < 0.05$ vs IL-12 or IL-18 group

2.5 IL-12 与 IL-18 刺激的 Dex 对 T 细胞 IFN- γ 分泌量的影响

用 4 组 Dex 刺激 T 细胞 72 h, 以未刺激的 T 细胞为阴性对照, 取上清液检测 IFN- γ 含量, 结果(表 1)显示, 4 组之间 IFN- γ 含量均存在差异, 且均高于 T 细胞组, 高剂量的联合刺激组高于 IL-12 组、IL-18

组、空白组和 T 细胞组(436.67 \pm 61.80 vs 295.04 \pm 40.25、358.18 \pm 55.77、225.00 \pm 36.44、139.50 \pm 17.63, $P < 0.01$), 且 IL-18 组高于 IL-12 组。结果表明, 4 组 Dex 均能促进 T 细胞分泌 IFN- γ , IL-18 作用强于 IL-12, 而 IL-12 和 IL-18 联合刺激的作用最强。

表 1 IL-12 与 IL-18 刺激的 Dex 对 T 细胞 IFN- γ 分泌的影响($\bar{x} \pm s, \rho_B/\text{pg} \cdot \text{ml}^{-1}$)

Tab.1 Effect of Dex stimulated by IL-12 and IL-18 on IFN- γ secretion by T cells($\bar{x} \pm s, \rho_B/\text{pg} \cdot \text{ml}^{-1}$)

Group	Dex dose			P value (vs IL-12 + IL-18)
	Low	Medium	High	
IL-12 + IL-18	328.00 \pm 36.49	367.50 \pm 20.75	436.67 \pm 61.80	—
IL-12	218.12 \pm 36.80	246.33 \pm 35.55	295.04 \pm 40.25	0.000
IL-18	281.17 \pm 36.31	321.16 \pm 42.97	358.18 \pm 55.77	0.013
Control	168.03 \pm 34.81	196.83 \pm 21.23	225.00 \pm 36.44	0.000
T cell	139.50 \pm 17.63	139.50 \pm 17.63	139.50 \pm 17.63	0.000
F	36.407	58.436	38.976	—
P	0.000	0.000	0.000	—

3 讨论

Exosome 最初是被用于描述网织红细胞向成熟红细胞分化时释放的单层膜包裹的小囊泡, 后来发现, exosome 可由 B 淋巴细胞、T 淋巴细胞、DC、肥大细胞、血小板、肠上皮细胞、肿瘤细胞等多种细胞分泌, 主要包含蛋白质和脂质成分^[9-11]。不同细胞来源的 exosome 所含的蛋白质成分不同, 其生物学功能也有差异。Dex 富含 MHC-I 类分子、MHC-II 类分子、共刺激分子和黏附分子, 具有很强的抗原提呈能力, 可以诱导抗原特异性 T 细胞免疫反应, 与肿瘤抗原结合能激发抗肿瘤作用^[12]。Dex 肿瘤疫苗备受关注, 是 exosome 肿瘤疫苗的最重要来源, 但其免疫效能有待于进一步提高, 如何增强 Dex 的功能是目前研究的热点。

IL-12 是重要的 Th1 型细胞因子, 它能激发 NK、LAK 细胞及 T 细胞的增殖、分化, 增强 NK 细胞和 CTL 的细胞毒作用, 刺激 IFN- γ 的产生, 调节免疫反应^[13]。对 DC 的干预研究^[14]显示, IL-12 刺激能促进 DC 成熟, 增强 DC 的功能; IL-12 基因转染 DC 能促进 DC 分泌 IL-12, 增强 T 淋巴细胞活化及分泌 IFN- γ , 增强 DC 诱导 T 淋巴细胞产生特异性抗肿瘤

免疫。自荷瘤小鼠分离的 DC 转染 IL-12 后, 其表面分子表达增加, 刺激 T 细胞增殖的能力增强, 体内注射后, 能有效抑制肿瘤形成^[15]。IL-18 具有多种生物学效应, 可促进 T 细胞增殖, 诱导 T 细胞分泌 IFN- γ , 并能增强 NK 细胞和 Th1 细胞的细胞毒活性^[16]。IL-18 刺激能促进 DC 成熟, IL-18 基因转染 DC 可增强其诱导的抗肿瘤作用^[17]。研究^[18]显示, IL-18 与 IL-12 联合能协同增强 DC 的活性。对 exosome 的研究表明, 多种细胞因子能调节 exosome 的功能。肿瘤细胞经 IL-2 基因修饰后所分泌 exosome 诱导的抗肿瘤作用增强; IL-12 锚定的肿瘤细胞产生的 exosome 能增强 T 淋巴细胞的细胞毒作用, 能更有效地诱导 T 淋巴细胞增殖、释放 IFN- γ 及加强细胞毒作用^[5]。IL-18 基因修饰的结肠癌细胞所分泌的 exosome, 能促进外周血单个核细胞分泌 Th1 细胞因子, 增强 DC 的功能, 诱导 CEA 特异的 CD8⁺ CTL^[19], 但 IL-18 及 IL-12 能否增强 Dex 的活性目前尚不清楚。

本实验研究了 IL-12 与 IL-18 联合刺激对 Dex 的影响, 结果显示, Dex 表达 HLA-DR 及 CD83, 联合刺激组的 CD54、CD80、CD86 的表达明显高于 IL-12 组、IL-18 组及空白组; 与未经 Dex 刺激的 T 细胞组

相比,Dex 刺激的 T 细胞增殖加强、IFN- γ 分泌量增加,且联合组的作用强于 IL-12 组、IL-18 组及空白组。研究表明,IL-12 与 IL-18 联合刺激 DC 能明显增强 Dex 的黏附分子及共刺激分子的含量,促进 T 细胞增殖及产生 IFN- γ ,这是 Dex 诱导强有力的抗肿瘤免疫的前提和关键。

Exosome 作为非细胞性肿瘤疫苗,组分明确、稳定性高、保存方便,具有良好的应用前景。本研究为进一步增强 exosome 的活性作了有益的探索,为开发更为高效的 exosome 疫苗奠定了基础。

[参 考 文 献]

- [1] Hao S, Bai O, Li F, et al. Mature dendritic cells pulsed with Dexas stimulate efficient cytotoxic T-lymphocyte responses and anti-tumour immunity [J]. *Immunology*, 2007, 120(1): 90-102.
- [2] Simpson RJ, Lim JWE, Moritz RL, et al. Dexas: Proteomic insights and diagnostic potential [J]. *Expert Rev Proteomic*, 2009, 6(3): 267-283.
- [3] Bu N, Wu HQ, Sun BZ, et al. Dex-loaded dendritic cells elicit tumor-specific CD8⁺ cytotoxic T cells in patients with glioma [J]. *J Neurooncol*, 2011, 104(3): 659-667.
- [4] 张在云,于晓明,刘军莉,等. 肿瘤细胞坏死因子- α 对 A549 肺癌细胞外来体诱导抗肿瘤作用的影响 [J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2011, 34(10): 782-784.
- [5] Wieckowski E, Whiteside TL. Human tumor-derived vs dendritic cell-derived Dexas have distinct biologic roles and molecular profiles [J]. *Immunol Res*, 2006, 36(1): 247-254.
- [6] Zhang Y, Luo CL, He BC, et al. Dexas derived from IL-12-anchored renal cancer cells increase induction of specific antitumor response *in vitro*: A novel vaccine for renal cell carcinoma [J]. *Int J Oncol*, 2010, 36(1): 133-140.
- [7] 傅永强,张在云,柳月安,等. 肺癌细胞致敏树突状细胞疫苗的体内外抗肿瘤作用 [J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2007, 14(6): 562-566.
- [8] Johansson SM, Admyre C, Scheynius A, et al. Different types of *in vitro* generated human monocyte-derived dendritic cells release Dexas with distinct phenotypes [J]. *Immunology*, 2008, 123(4): 491-499.
- [9] Clayton A, Mitchell JP, Court J, et al. Human tumor-derived Dexas down-modulate NKG2D expression [J]. *J Immunol*, 2008, 180(11): 7249-7258.
- [10] Simons M, Raposo G. Dexas-vesicular carriers for intercellular communication [J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2009, 21(4): 575-581.
- [11] Saunderson SC, Schuberth PC, Dunn AC, et al. Induction of Dex release in primary B cells stimulated via CD40 and the IL-4 receptor [J]. *J Immunol*, 2008, 180(12): 8146-8152.
- [12] Viaud S, Thery C, Ploix S, et al. Dendritic cell-derived Dexas for cancer immunotherapy: What's next? [J]. *Cancer Res*, 2010, 70(4): 1281-1285.
- [13] Weiss JM, Subleski JJ, Wigginton JM, et al. Immunotherapy of cancer by IL-12-based cytokine combinations [J]. *Expert Opin Biol Ther*, 2007, 7(11): 1705-1721.
- [14] Liang W, Wang XF. *In vitro* induction of specific anti-tumoral immunity against laryngeal carcinoma by using human interleukin-12 gene-transfected dendritic cells [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2011, 124(9): 1357-1361.
- [15] Tatsumi T, Takehara T, Yamaguchi S, et al. Injection of IL-12 gene-transduced dendritic cells into mouse liver tumor lesions activates both innate and acquired immunity [J]. *Gene Ther*, 2007, 14(11): 863-871.
- [16] 张在云,李晓梅,王涓冬,等. IL-18 基因修饰对肺癌细胞来源 Dex 诱导杀伤肿瘤细胞作用的影响 [J]. *中国病理生理杂志*, 2011, 27(9): 1758-1761.
- [17] Cao DY, Yang JY, Dou KF, et al. Alpha-fetoprotein and interleukin-18 gene-modified dendritic cells effectively stimulate specific type-1 CD4- and CD8-mediated T-Cell response from hepatocellular carcinoma patients *in vitro* [J]. *Hum Immunol*, 2007, 68(5): 334-341.
- [18] Balkow S, Loser K, Krummen M, et al. Dendritic cell activation by combined exposure to anti-CD40 plus interleukin (IL)-12 and IL-18 efficiently stimulates anti-tumor immunity [J]. *Exp Dermatol*, 2009, 18(1): 78-87.
- [19] Dai S, Zhou X, Wang B, et al. Enhanced induction of dendritic cell maturation and HLA-A 0201-restricted CEA-specific CD8(+) CTL response by Dexas derived from IL-18 gene-modified CEA-positive tumor cells [J]. *J Mole Med*, 2006, 84(12): 1067-1076.

[收稿日期] 2011 - 10 - 05 [修回日期] 2011 - 11 - 22

[本文编辑] 韩丹

本期广告目次

沈阳三生制药有限责任公司	封二
上海医元生物基因发展有限公司	封三
碧迪医疗器械有限公司	封四