

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2012.01.007

肾癌细胞和 G250 单克隆抗体复合物致敏树突状细胞肿瘤疫苗的制备

孙海燕¹, 刘晓辉¹, 马楠¹, 王扬¹, 蒋涛¹, 刘云鹏², 姜又红¹ (1. 中国医科大学附属第一医院肿瘤研究所第二研究室, 辽宁沈阳 110001; 2. 中国医科大学附属第一医院肿瘤内科, 辽宁沈阳 110001)

[摘要] **目的:**以肾癌细胞和 G250 单克隆抗体(G250 monoclonal antibody, G250 mAb)复合物致敏树突状细胞(dendritic cells, DC)制备肾癌 DC 疫苗,并检测其活化水平,为临床应用 DC 肿瘤疫苗提供依据。**方法:**制备凋亡的肾癌细胞与 G250 mAb 形成的复合物(G250 mAb IgG-complexed apoptotic tumor cell, IC-ATC)。取健康人新鲜外周血分离单个核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMC),以 GM-CSF 和 IL-4 诱导 PBMC 成未成熟的树突状细胞(imature dendritic cells, iDC),将 iDC 分别负载凋亡肿瘤细胞(apoptotic tumor cell, ATC)、IC-ATC、G250 mAb,并均以 TNF- α 诱导成熟树突状细胞(mature dendritic cells, mDC),将未负载的 DC 作为对照组。流式细胞术检测各组 mDC 的免疫表型、ELISA 试剂盒检测 IL-12 分泌水平, CCK-8 法检测 mDC 刺激淋巴细胞增殖的能力。**结果:**成功制备 IC-ATC 致敏的 DC 疫苗。相对于负载 ATC、G250mAb 和未负载的 DC,负载 IC-ATC 的 DC 疫苗显著上调 CD86、CD80、CD83、HLA-DR 的表达[(42.04 \pm 3.42)% vs (28.34 \pm 1.16)%、(33.77 \pm 1.61)%、(26.52 \pm 2.14)%、 $P < 0.05$; (38.17 \pm 2.55)% vs (23.79 \pm 2.41)%、(31.94 \pm 3.29)%、(24.32 \pm 3.23)%、 $P < 0.05$; (79.39 \pm 1.44)% vs (69.06 \pm 2.01)%、(74.49 \pm 1.35)%、(66.71 \pm 3.83)%、 $P < 0.05$; (35.52 \pm 2.72)% vs (26.90 \pm 2.82)%、(29.45 \pm 1.58)%、(27.42 \pm 2.11)%、 $P < 0.05$]和 IL-12 分泌水平(25.04 vs 5.27、13.32、7.53, $P < 0.05$),且能更有效地刺激淋巴细胞增殖(4.02 vs 1.73、1.22、1.41, $P < 0.01$)。**结论:** IC-ATC 可有效促进 DC 成熟和活化, IC-ATC 致敏的 DC 疫苗诱导淋巴细胞增殖能力显著增强。

[关键词] 树突状细胞; G250 单克隆抗体; 肾癌; 肿瘤疫苗

[中图分类号] R737.11; R730.51

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2012)01-0040-05

Preparation of dendritic cell-based cancer vaccines pulsed with G250 monoclonal antibody IgG-complexed renal carcinoma cells

SUN Hai-yan¹, LIU Xiao-hui¹, MA Nan¹, WANG Yang¹, JIANG Tao¹, LIU Yun-peng², JIANG You-hong¹ (1. Second Laboratory, Cancer Research Institute, First Hospital Affiliated to China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning, China; 2. Department of Medical Oncology, First Hospital Affiliated to China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning, China)

[Abstract] **Objective:** To use G250 monoclonal antibody (G250 mAb) IgG-complexed renal carcinoma cells to activate dendritic cells (DCs), develop the DC vaccine of renal carcinoma and determine its activation for clinical tumor biological therapy. **Methods:** Prepare apoptotic renal carcinoma cells and induce the G250 mAb-complexed apoptotic renal carcinoma cells (IC-ATC). Immature dendritic cells (iDCs) induced from peripheral blood mononuclear cells of healthy volunteers were cultured and propagated *in vitro* using rhGM-CSF and rhIL-4. iDCs were loaded with apoptotic renal carcinoma cells (ATC), IC-ATC and G250 mAb. Then mature dendritic cells (mDCs) were induced by TNF- α , while the DCs pulsed with no antigen served as a control group. The immune phenotype of mDCs in different groups was detected by flow cytometry, secretion of IL-12 by DCs was measured by ELISA and the ability of DCs to stimulate lymphocyte proliferation was examined by CCK-8 assay. **Results:** It was found that when compared with ATC, G250 mAb and the control group, the mDCs pulsed with IC-ATC obviously up-regulated the expressions of CD83, CD80, CD86, and HLA-DR

[基金项目] 辽宁省医学高峰建设工程专项基金(No. 2010017)。Project supported by the Special Research Foundation for Medical Peak Construction of Liaoning Province (No. 2010017)

[作者简介] 孙海燕(1982-),女,辽宁省大连市人,硕士生,主要从事肿瘤生物治疗方面的研究。E-mail: sunhaiyan26@163.com

[通信作者] 姜又红(JIANG You-hong, corresponding author), E-mail: jiangyouthong2000@yahoo.com.cn

[网络出版] <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.1725.R.20120109.1656.004.html>

([42.04 ± 3.42]% vs [28.34 ± 1.16]% , [33.77 ± 1.61]% , [26.52 ± 2.14]% , $P < 0.05$; [38.17 ± 2.55]% vs [23.79 ± 2.41]% , [31.94 ± 3.29]% , [24.32 ± 3.23]% , $P < 0.05$; [79.39 ± 1.44]% vs [69.06 ± 2.01]% , [74.49 ± 1.35]% , [66.71 ± 3.83]% , $P < 0.05$; [35.52 ± 2.72]% vs [26.90 ± 2.82]% , [29.45 ± 1.58]% , [27.42 ± 2.11]% , $P < 0.05$), and secreted higher quantity of IL-12(25.04 vs 5.27, 13.32, 7.53, $P < 0.05$). Moreover, mDCs loaded by IC-ATC induced multiplication of lymphocytes was more effective (4.02 vs 1.73, 1.22 vs 1.41, $P < 0.05$). **Conclusion:** IC-ATC can promote DCs mature effectively, and DCs pulsed with IC-ATC can induce the proliferation and activation significantly.

[**Key words**] dendritic cell; G250 monoclonal antibody (G250 mAb); renal carcinoma; cancer vaccine

[Chin J Cancer Biother, 2012, 19(1): 40-44]

树突状细胞(dendritic cell, DC)是目前所知的功能最强的专职性抗原提呈细胞(antigen presenting cell, APC),其特点是能够显著刺激初始性 T 细胞增殖,是机体免疫反应的始动者。DC 在体外可由外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMC)经粒-巨集落刺激因子(granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, GM-CSF)、白细胞介素-4(IL-4)诱导产生^[1-2]。未成熟树突状细胞(immature dendritic cell, iDC)通过摄取和加工抗原而逐渐成熟,成熟树突状细胞(mature dendritic cell, mDC)摄取抗原的能力下降,而提呈功能增强。mDC 一方面通过表达 MHC-I、MHC-II 类分子及 CD1 分子提呈肿瘤抗原,另一方面表达 CD80、CD86 等共刺激分子,刺激抗原特异性的 CD8⁺ 细胞毒 T 细胞(cytotoxic T lymphocytes, CTLs)增殖与活化,同时分泌高水平的 IL-12, 激活 T 细胞免疫应答。DC 在肿瘤治疗中的效果与其成熟程度及摄取、提呈肿瘤抗原的能力密切相关。G250 是表达于肾透明细胞癌(renal cell carcinoma, RCC)细胞上的一种跨膜抗原表位,可与 G250 抗体相结合,其在 RCC 细胞中的特异性表达使它成为肿瘤疫苗潜在的靶抗原和肾癌治疗的重要靶位^[3]。本研究应用凋亡肾癌细胞与 G250 单克隆抗体(G250 monoclonal antibody, G250 mAb)形成的复合物(G250 mAb IgG-complexed apoptotic tumor cell, IC-ATC)致敏 DC, 观察其对 DC 瘤苗的影响,探讨有效诱导 DC 成熟并致敏的途径,为肾癌等实体瘤的免疫治疗提供依据。

1 材料与方法

1.1 主要材料与试剂

人肝素抗凝外周血样品来源于健康志愿者。CS-3000 血细胞分离机购自美国 Baxter 公司。人淋巴细胞分离液 Ficoll-Paque 购自西安宝信生物制剂公司, RPMI 1640、胎牛血清购自 HyClone 公司, 胰蛋白酶消化液购自沈阳博而美试剂有限公司, 基因重组人 GM-CSF、IL-4、TNF- α 购自美国 Peprotech 公

司, G250 mAb 购自美国 Santa Cruz 生物技术公司。IL-12 ELISA 试剂盒购自武汉博士德生物工程有限公司, AnnexinV-FITC/PI 细胞凋亡试剂盒购自南京凯基科技发展有限公司, CCK-8 试剂盒购自江苏碧云天生物技术研究所。FITC-CD86 单抗、PE-CD80 单抗、APC-CD83 单抗、PerCP-HLA-DR 单抗购自美国 BD 公司, FITC 标记山羊抗兔 IgG 购自北京中杉金桥生物技术有限公司。肾癌 786-0 细胞株购自南京细胞培养中心。

1.2 AnnexinV-FITC/PI 法检测肾癌细胞的凋亡

按文献[4]的方法制备凋亡肾癌细胞: 贴壁 24 h 处于对数生长期的肾癌 786-0 细胞换新鲜培养基后, 加入化疗药物 5-氟尿嘧啶(5-FU, 75 $\mu\text{g}/\text{ml}$), 5% CO₂、37 $^{\circ}\text{C}$ 培养 48 h 后, 洗涤, 加入无血清的 RPMI 1640 培养基 5 ml 放入培养箱中待用。用 AnnexinV-FITC/PI 细胞凋亡试剂盒检测肾癌 786-0 细胞的凋亡情况。

1.3 IC-ATC 的制备

依据文献[5]方法制备: 将凋亡的肾癌 786-0 细胞洗涤后, 加入 1% BSA 封闭细胞表面非特异性抗原表位(4 $^{\circ}\text{C}$ 、30 min), 加入 G250 mAb(1 $\mu\text{g}/1 \times 10^5$ 细胞) 37 $^{\circ}\text{C}$ 共培养 1 h 后, PBS 洗涤 2 次, 收集凋亡的 786-0 细胞与 G250 mAb 形成的复合物(IC-ATC)。用细胞免疫荧光间接法鉴定 IC-ATC。

1.4 外周血单个核细胞的分离

应用 CS-3000 血细胞分离机干细胞采集程序采集志愿者外周抗凝血, 经 Ficoll-Paque Plus 密度梯度离心(20 000 $\times g$, 20 min), 取界面细胞置于 50 ml 离心管中, 用 PBS 缓冲液悬浮细胞并洗涤 2 ~ 3 次(1 000 $\times g$, 8 min), 之后将分离出的 PBMC 悬浮于含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养基中。

1.5 DC 的诱导、培养及致敏

分离的 PBMC 悬浮于含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养基中, 调整密度至 $5 \times 10^6/\text{ml}$, 在 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO₂ 饱和湿度的培养箱中静置培养, 2 h 后吸出悬浮细

胞备用(用于T淋巴细胞的培养);贴壁细胞加入含10%胎牛血清的RPMI 1640完全培养液,并加入GM-CSF(800 U/ml)和IL-4(500 U/ml)继续培养,每3 d半量换液并补加细胞因子GM-CSF和IL-4。于第5天,将DC分别按DC:ATC或IC-ATC=5:1的比例负载ATC或IC-ATC,并分成4组:①单纯DC组(DC-N);②DC+IC-ATC组;③DC+ATC组;④DC+G250 mAb组。于第6天各组均加入TNF- α 1 000 U/ml诱导DC成熟。

1.6 ELISA法检测培养上清中IL-12含量

采用双抗体夹心ELISA法检测培养7~9 d后各组DC培养上清中IL-12的含量,方法按试剂盒说明书操作。显色后即由酶标仪检测450 nm处的D值,根据标准曲线计算IL-12含量。

1.7 流式细胞术检测DC的表型

第8天分别收集各组DC,用预冷的PBS洗涤细胞(1 000 \times g, 8 min)后,用流式细胞标记液PBA(PBS+0.5% BSA+0.02%叠氮钠)悬浮细胞,并调整细胞密度至 1×10^6 /ml,在100 μ l细胞悬液中分别加入20 μ l的CD80(PE标记)、CD83(APC标记)、CD86(FITC标记)、HLA-DR(PerCP标记)单克隆抗体,同时设小鼠IgG抗体同型对照,4 $^{\circ}$ C孵育30 min后用PBS洗涤2次,500 μ l PBS悬浮细胞,用流式细胞仪进行表型分析。

1.8 CCK-8法检测DC诱导异体T细胞的增殖能力

4组mDC培养7 d后,调节密度至 5×10^6 /ml,即为刺激细胞。取所分离的PBMC中非贴壁细胞用RPMI 1640完全培养基悬浮,过尼龙毛柱,制备的T淋巴细胞加于96孔板内(每孔 5×10^5 个细胞),同时加IL-2(500 U/ml)培养,即为效应细胞。取4组刺激细胞悬液,分别加入丝裂霉素C(25 μ g/ml),37 $^{\circ}$ C下孵育30 min抑制细胞增殖。以梯度稀释法将4组mDC加入96孔板与效应细胞混合,每组刺激细胞与效应细胞的比例分别为1:1、1:10、1:50、1:100,每组设3个复孔。取相同数目的单纯淋巴细胞作为对照组。37 $^{\circ}$ C、5% CO₂饱和湿度下静置共培养48 h后,每孔加CCK-8液10 μ l,处理3 h,于酶标仪上测定D₄₅₀值。按下列公式计算刺激指数(stimulation index, SI):SI=实验组D值/对照组D值。

1.9 统计学处理

用SPSS 16.0统计软件,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,进行各组均数间One-way ANOVA分析,选用LSD-*t*检验和Dunnett-*t*检验进行组间的多重比较,检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 5-氟尿嘧啶诱导肾癌细胞凋亡

AnnexinV-FITC/PI细胞凋亡试剂盒染色结果显示,未经5-FU处理的肾癌786-0细胞凋亡率为(11.94 \pm 2.11)%,而经5-FU处理48 h后的肾癌细胞,处于早期凋亡的细胞明显增多,凋亡率为(75.34 \pm 1.90)%,提示肾癌细胞经5-Fu作用后,凋亡的肾癌细胞显著增多($P < 0.05$,图1)。

2.2 DC的体外培养与增殖

PBMC贴壁2 h后,贴壁细胞体积小,多为圆形单个核细胞。经加入GM-CSF(800 U/ml)、IL-4(500 U/ml)诱导1 d后,贴壁细胞伸展,成高度多形性。培养3 d开始出现部分细胞悬浮生长,体积增大。6~7 d时大部分细胞悬浮并聚集成簇,外形不规则,向四周伸出不同数量的粗细不一、形态迥异的胞质突起,呈典型的DC形态结构。

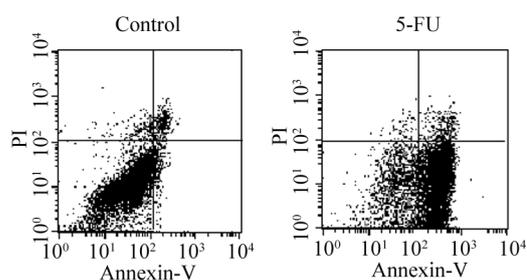


图1 5-FU诱导786-0细胞凋亡

Fig. 1 Apoptosis of 786-0 cells induced by 5-FU treatment

2.3 IC-ATC致敏mDC的IL-12分泌能力增强

用ELISA试剂盒检测培养体系中IL-12的浓度,结果显示,DC+IC-ATC组IL-12分泌量显著高于单纯DC组、DC+ATC组和DC+G250 mAb组[(25.04 \pm 2.87) vs (5.27 \pm 0.65)、(13.32 \pm 3.30)、(7.53 \pm 1.11) pg/ml, $P < 0.05$]. DC+ATC组IL-12的分泌水平也高于单纯DC组和DC+G250 mAb[(13.32 \pm 3.30) vs (5.27 \pm 0.65)、(7.53 \pm 1.11) pg/ml, $P < 0.05$],但单纯DC组和DC+G250 mAb组间无差别($P > 0.05$)。结果表明,IC-ATC致敏后DC分泌IL-12的能力明显增强。

2.4 IC-ATC致敏mDC的免疫表型表达上调

DC培养第8天时,流式细胞仪检测各组DC的表型表达,结果(表1)显示,DC+IC-ATC组DC表面HLA-DR的表达明显高于DC+ATC组、DC+G250 mAb组和单纯DC组[(35.52 \pm 2.72)% vs (27.42 \pm 2.11)%、(26.90 \pm 2.82)%、(29.45 \pm 1.58)%], $P < 0.05$],其他各组之间差异不显著($P > 0.05$)。DC+IC-ATC组CD83、CD80、CD86的表达也明显高于其他各组[(79.39 \pm 1.44)% vs (66.71 \pm 3.83)%、

(69.06 ± 2.01)%、(74.49 ± 1.35)% , $P < 0.05$; (38.17 ± 2.55)% vs (24.32 ± 3.23)%、(23.79 ± 2.41)%、(31.94 ± 3.29)% , $P < 0.05$; (42.04 ± 3.42)% vs (26.52 ± 2.14)%、(28.34 ± 1.16)%、(33.77 ± 1.61)% , $P < 0.05$] , 同时 DC + G250 mAb 组相比于 DC-N 组和 DC + ATC 组差异也具有显著性 [(74.49 ± 1.35)% vs (66.71 ± 3.83)%、(69.06 ± 2.01)% , $P <$

0.05 ; (31.94 ± 3.29)% vs (24.32 ± 3.23)%、(23.79 ± 2.41)% , $P < 0.05$; (33.77 ± 1.61)% vs (26.52 ± 2.14)%、(28.34 ± 1.16)% , $P < 0.05$] , 而 DC-N 组和 DC + ATC 组间无差异 ($P > 0.05$) 。结果提示, IC-ATC 致敏 DC 的表面 CD83、CD80、CD86、HLA-DR 的表达水平明显升高, G250 mAb 致敏 DC 也可促进 DC 成熟和增加 DC 表面免疫分子的表达。

表 1 IC-ATC 对 DC 表面分子表达的影响 ($n = 5, \bar{x} \pm s$)

Tab.1 Effect of IC-ATC on expression of surface molecules on DCs ($n = 5, \bar{x} \pm s$)

Group	CD83	CD80	CD86	HLA-DR
DC-N	66.71 ± 3.83	24.32 ± 3.23	26.52 ± 2.14	27.42 ± 2.11
DC + IC-ATC	79.39 ± 1.44*	38.17 ± 2.55*	42.04 ± 3.42*	35.52 ± 2.72*
DC + ATC	69.06 ± 2.01	23.79 ± 2.41	28.34 ± 1.16	26.90 ± 2.82
DC + G250mAb	74.49 ± 1.35 [△]	31.94 ± 3.29 [△]	33.77 ± 1.61 [△]	29.45 ± 1.58 [△]
<i>F</i>	17.06	16.718	28.725	8.387
<i>P</i>	0.001	0.001	0.000	0.007

* $P < 0.05$ vs DC-N or DC + ATC or DC + G250 mAb group; [△] $P < 0.05$ vs DC-N or DC + ATC group

2.5 不同致敏条件下 mDC 刺激 T 淋巴细胞增殖的比较

CCK-8 法检测异体 T 细胞增殖, 结果(图 2)显示, 各组 mDC 均能刺激 T 淋巴细胞增殖, 以 IC-ATC 组 mDC 刺激 T 淋巴细胞增殖能力最强, 并以效靶比 1:10 时刺激能力最强 (4.02 ± 0.13 vs 1.73 ± 0.09 、 1.22 ± 0.10 、 1.41 ± 0.12 , $P < 0.05$) 。

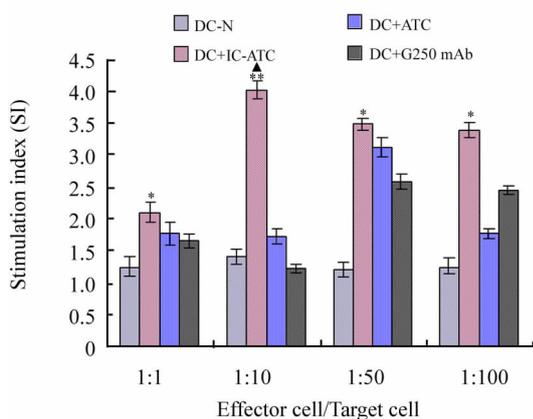


图 2 不同组别 mDC 刺激 T 淋巴细胞增殖
Fig.2 Proliferation of T lymphocytes stimulated by mDCs from different groups

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs DC-N or DC + ATC or DC + G250 mAb group; [▲] $P < 0.05$ vs 1:10 or 1:50 or 1:100

3 讨论

DC 可分泌促进 T、B 淋巴细胞增殖的高效刺激

因子, 还具有很强的诱导初次免疫应答和显著刺激初始性 T 细胞增殖的能力, 因而在机体抗肿瘤免疫中起重要作用^[6-7]。

研究^[8]表明, 肾透明细胞癌的发生与患者的免疫细胞功能缺陷有关。肿瘤细胞无法被 T 细胞识别、杀伤与荷瘤宿主的 DC 数量减少及功能缺陷有关。肾癌对放疗化疗不敏感, 但它又是一种免疫原性较强的肿瘤, 能诱发宿主产生免疫反应, 是理想的免疫治疗模型。肾癌的相关或特异性抗原目前知之不多, 已知的抗原肽并不一定能诱导最佳的抗肿瘤免疫反应, 难以制成有效肿瘤疫苗^[9]。目前, 凋亡肿瘤细胞(apoptotic tumor cell, ATC)作为一种全细胞抗原较肿瘤相关抗原(tumor associated antigen, TAA)更有助于产生特异性抗肿瘤免疫应答, 但由于 ATC 诱导 DC 成熟的能力不强, 因此在诱导抗肿瘤免疫时, 仍然不能达到令人满意的效果。G250 是表达于 RCC 的肿瘤相关抗原, 它位于肾癌细胞膜上, 其胞外区可作为抗体结合部位与 G250 抗体结合^[10]。G250 的特性使其应用于肾癌的诊断与治疗中。Tso 等^[11]用 G250 与 GM-CSF 融合形成 G250-GM-CSF 融合蛋白, 将这种融合蛋白加入到 PBMC 的培养体系中, 能够培养出带有 RCC 相关抗原的成熟 DC 疫苗。该疫苗高表达 CD83 等成熟表面分子, 能够产生强大的 CTL 效应。Bleumer 等^[12]研究也证实, 以 G250 为基础的靶向治疗对肾癌有治疗作用。

在肿瘤免疫过程中, 细胞抗原的交叉提呈具有

特殊的意义,但肿瘤细胞本身的抗原提呈能力很差^[13]。免疫复合物(immune complex, IC)能够显著地诱导 DC 的活化与成熟,为进一步激活特异性的 CTL 提供第二信号^[14]。在激发肿瘤特异性杀伤 T 细胞方面,单克隆抗体与肿瘤细胞负载的 DC 细胞优于负载多肽或死亡细胞的 DC^[15]。而 DC 疫苗用于 RCC 的治疗其疗效显著,且毒性作用小,优势明显,G250 相关的肿瘤疫苗发展潜力巨大^[16]。

本研究将肾癌抗原 G250 作为连接 ATC 与 G250 抗体的桥梁,形成复合物 IC-ATC,然后致敏 DC,不仅将 ATC 的全细胞抗原提呈给 DC,而且 G250 有效地促进了 DC 成熟。研究^[17]发现,IC-ATC 经 DC 表面的 Fc γ R 介导实现内化,高效地将抗原通过 MHC-I、II 分子途径共同提呈给 T 细胞。这种交叉提呈的能力可使 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 细胞都能有效地激活,而且免疫球蛋白 G 本身还可有效地诱导 DC 成熟,增强 DC 表面共刺激分子(如 CD86)的表达。Akiyama 等^[5]研究发现,通过 Fc γ R 介导的内化作用,由 DC 摄取免疫复合物而产生的抗原提呈效能可较 DC 吞饮可溶抗原提高 100 倍以上。这些结果充分显示,用 IC-ATC 致敏 DC 将成为提高 DC 抗原提呈能力的有效手段。

本研究证实,RCC 细胞可与 G250 抗体形成 IC-ATC,IC-ATC 致敏 DC 后,可诱导 DC 分泌高水平 IL-12,在第 9 天测定时 IL-12 含量明显高于同期单纯 DC 的分泌量,表明 IC-ATC 可以上调 DC 分泌 IL-12 的水平。由于 IL-12 在 DC 成熟过程中产生,间接提示 IC-ATC 可以促进 DC 的成熟。另外由于 IL-12 本身具有的免疫学功能,可导致 CTL 杀伤活性的增高,协同抗肿瘤效应增强。本实验也观察到,IC-ATC 致敏 mDC 高表达免疫分子 CD80、CD86、CD83、HLA-DR,同时也显著提高了 mDC 刺激 T 淋巴细胞增殖的能力。使用 IC-ATC 致敏 DC 可以在一定程度上克服单纯 ATC 致敏或 G250 抗体致敏 DC 的局限,提高基于 ATC 的 DC 疫苗在肾癌治疗中的免疫反应,为 DC 在肾癌生物治疗中的应用提供新的思路。

[参 考 文 献]

[1] Krutzik SR, Tan B, Li H, et al. TLR activation triggers the rapid differentiation of monocytes into macrophages and dendritic cells [J]. *Nat Med*, 2005, 11(6): 653- 660.

[2] Reinhard G, Marten A, Kiske SM, et al. Generation of dendritic cell-based vaccines for cancer therapy [J]. *Br J Cancer*, 2002, 86(10): 1529-1533.

[3] 张亚东. 肾癌 G250MN/CAIX 抗原的研究进展 [J]. 国外医

学:泌尿系统分册, 2005, 2(1): 12-16.

- [4] 吴国英, 李黔生, 聂志林, 等. 5-FU 诱导肾癌细胞凋亡对 Fas/FasL 途径依赖性的研究 [J]. 第三军医大学学报, 2009, 31(13): 1254-1257.
- [5] Akiyama K, Ebihara S, Yada A, et al. Targeting apoptotic tumor cells to Fc γ R provides efficient and versatile vaccination against tumors by dendritic cells [J]. *J Immunol*, 2003, 170(4): 1641-1648.
- [6] Dubois B, Lamy PJ, Chemin K, et al. Measles virus exploits dendritic cells to suppress CD4⁺ T-cell proliferation via expression of surface viral glycoproteins independently of T-cell trans-infection [J]. *Cell Immunol*, 2001, 214(2): 173-183.
- [7] 原津津. 免疫复合物与树突状细胞 [J]. 福建医药杂志, 2007, 29(5): 114-116.
- [8] Mehta RC, Pike GB, Enzmann DR. Magnetization transfer MR of in cancer development and progression [J]. *Int J Biol Markers*, 1998, 13(2): 51-69.
- [9] Pan CC, Chen PC, Tsay SH, et al. Differential immunoprofiles of hepatocellular carcinoma, renal cell carcinoma, and adrenocortical carcinoma: A systemic immunohistochemical survey using tissue array technique [J]. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*, 2005, 13(4): 347-352.
- [10] Yamagata M, Hasuda K, Stamato T, et al. The contribution of lactic acid to acidification of tumours: Studies of variant cells lacking lactate dehydrogenase [J]. *British J Cancer*, 1998, 77(11): 1726-1731.
- [11] Tso CL, Zisman A, Pantuck A, et al. Induction of G250-targeted and T-cell-mediated antitumor activity against renal cell carcinoma using a chimeric fusion protein consisting of G250 and granulocyte/monocyte-colony stimulating factor [J]. *Cancer Res*, 2001, 61(21): 7925-7933.
- [12] Bleumer I, Knuth A, Oosterwijk E, et al. A phase II trial of chimeric monoclonal antibody G250 for advanced renal cell carcinoma patients [J]. *Br J Cancer*, 2004, 90(5): 985-990.
- [13] Heath WR, Carbone FR. Cross-presentation, dendritic cells, tolerance and immunity [J]. *Annu Rev Immunol*, 2001, 19(1): 47-64.
- [14] 任淑萍, 包木胜, 高新, 等. HSP65-MUC1/HSP65 抗体免疫复合物对人树突状细胞的活化作用 [J]. 吉林大学学报: 医学版, 2005, 31(2): 182-185.
- [15] Dhodapkar KM, Krasovsky J, Williamson B, et al. Antitumor monoclonal antibodies enhance cross-presentation of cellular antigens and the generation of myeloma-specific killer T cells by dendritic cells [J]. *Exp Med*, 2002, 195(1): 125-133.
- [16] 李科, 苏泽轩, 李君武. 肾癌生物治疗的研究进展 [J]. 中国医学工程, 2008, 16(4): 279-282.
- [17] Regnault A, Lankar D, Lacabanne V, et al. Fc γ receptor-mediated induction of dendritic cell maturation and major histocompatibility complex class-restricted antigen presentation after immune complex internalization [J]. *J Exp Med*, 1999, 189(2): 371-380.

[收稿日期] 2011-10-19

[修回日期] 2011-11-30

[本文编辑] 韩丹