

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2012.02.002

## 癌相关 CD8<sup>+</sup> 记忆 T 细胞在过继免疫治疗中的应用

何以丰,狄文(上海交通大学医学院附属仁济医院 妇产科,上海 200127)



何以丰,医学博士,上海交通大学医学院附属仁济医院妇产科主治医师,博士后。1999年本科毕业于复旦大学首届临床医学专业(与上海第二医科大学联合培养),2002年在该校获遗传学硕士学位,2011年获妇产科学博士学位。主要从事与妇产科学相关的癌症、干细胞和分子遗传学方面的临床和基础研究工作,提出了发育生物学的三个基本定律,并且是国内以 real-time PCR 方法同步定型定量检测多亚型人乳头瘤病毒的首个专利获得者。曾作为主要研究人员参与国家“攀登计划”、“863 计划”、“十一五支撑计划”等多项重大课题研究,2010年获得上海市科技启明星称号,在 *J Proteome Res*、*Cancer Lett* 等杂志发表论文 10 余篇。E-mail: he\_yifeng@hotmail.com

**[摘要]** 针对癌症患者的过继免疫治疗是临床肿瘤治疗研究中的热点话题。癌症患者体内天然存在着能够对恶性肿瘤细胞进行识别、攻击和杀伤的癌相关 CD8<sup>+</sup> 记忆 T 细胞,它们具有对少量肿瘤细胞产生快速免疫应答和持续长期发挥抗癌作用的优点。癌相关 CD8<sup>+</sup> 记忆 T 细胞主要存在于骨髓中,如将骨髓中的这部分 T 细胞分离出来,并以特定手段激活并回输体内,将可发挥强大的免疫治疗作用。为了帮助临床癌症治疗研究者们更加清晰地认识癌相关 CD8<sup>+</sup> 记忆 T 细胞的生物学特性、肿瘤杀伤能力和临床治疗效果,并妥善处理实际应用过程中遇到的各种问题,本文对近年有关癌相关 CD8<sup>+</sup> 记忆 T 细胞在肿瘤免疫治疗中应用的研究进展加以介绍。

**[关键词]** 癌症;CD8;CD45RO;记忆 T 细胞;过继免疫治疗

**[中图分类号]** R730.51

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-385X(2012)02-0116-06

## Cancer-associated CD8<sup>+</sup> memory T cells in the application of adoptive immunotherapy

HE Yi-feng, DI Wen (Department of Obstetrics and Gynecology, Renji Hospital, School of Medicine, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200127, China)

**[Abstract]** In the research area of clinical cancer therapy, the adoptive immunotherapy has been a hot topic. There are natural anticancer CD8<sup>+</sup> memory T cells existing in the patient body, which can actively recognize, target and kill cancer cells. These T cells respond rapidly to only a small number of cancer cells re-circulating in the body and act as a long-term cancer surveillance force there. Bone marrow is the major place where the anticancer CD8<sup>+</sup> memory T cells reside. If isolated, primed and expanded properly, bone marrow-derived anticancer CD8<sup>+</sup> memory T cells can exhibit a giant power in the adoptive immunotherapy. In order to give clinical researchers a clear picture of the biological characteristics and therapeutic values of anticancer CD8<sup>+</sup> memory T cells as well as to help them deal with the problems encountered in the clinical application, we reviewed recent research progressions on the application of anticancer CD8<sup>+</sup> memory T cells in the cancer immunotherapy

**[Key words]** cancer; CD8; CD45RO; memory T cell; adoptive immunotherapy

[Chin J Cancer Biother, 2012, 19(2): 116-121]

癌相关 CD8<sup>+</sup> 记忆 T 细胞是指一类能够特异性识别和杀伤恶性肿瘤细胞的记忆性 T 细胞,其分化标记为 CD8<sup>+</sup>/CD45RO<sup>+</sup><sup>[1]</sup>。它们是恶性肿瘤患者体内血液系统中初始 T 细胞(naïve T cell),对癌细胞表面肿瘤相关抗原(tumor-associated antigen,

**[基金项目]** 国家自然科学基金资助项目(No. 30801363);上海市教育委员会基金资助项目(No. 08YZ43)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 30801363), and the Foundation of Shanghai Municipal Education Commission (No. 08YZ43)  
**[网络出版]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.1725.R.20120328.1617.009.html>

TAA)进行免疫应答的产物,其生物学功能与机体抗癌免疫记忆能力的形成和维持密切相关,是患者体内负责警戒和防止肿瘤复发的卫士<sup>[2]</sup>。近期研究<sup>[3-4]</sup>表明,CD8<sup>+</sup>记忆T细胞有希望取代传统的细胞毒性T细胞(cytotoxic lymphocyte, CTL),成为过继免疫治疗(adoptive immunotherapy)的主要细胞,它们将会在临床抗癌一线发挥持久而强大的治疗作用。本文主要介绍癌相关CD8<sup>+</sup>记忆T细胞在临床恶性肿瘤免疫治疗中应用的研究进展。

## 1 来源、识别和分布特征

癌相关CD8<sup>+</sup>记忆T细胞来源于TAA激活的naïve T细胞,分化标记为CD8<sup>+</sup>/CD45RA<sup>+</sup><sup>[2,5]</sup>。当有TAA识别能力的naïve T细胞接受了由抗原提呈细胞(antigen-presenting cell, APC)提呈的多肽片段后,即可在多重共刺激分子合力推动下,增殖分化为两类子代T细胞:效应T细胞(effector T cell)和记忆T细胞(memory T cell)<sup>[2,5]</sup>。其中,记忆T细胞CD45经过剪接,转换为CD45RO<sup>+</sup>表型。这两类T细胞有着各自不同的使命:前者可以分泌穿孔素(perforin)、颗粒素(granzyme)、颗粒溶素(granulysin),表达Fas配体,直接杀伤癌细胞,但在体内存活时间较短(3~4个月),无法继续增殖,因此可用价值有限<sup>[5-6]</sup>;后者则能够在血液系统中长期留存(10~20年),遇到TAA后还能被再次激活,并分裂增殖为有杀伤功能的效应T细胞(即CTL),因此具有更好的应用前景<sup>[5-7]</sup>。

能被CD8<sup>+</sup>记忆T细胞所识别的TAA有很多种,大致分为三类:序列正常型、序列突变型和融合蛋白型<sup>[8]</sup>。Beckhove等<sup>[9]</sup>以PF2D色谱-质谱检测系统对一名星形胶质细胞瘤患者的TAA进行分析,其中有6个色谱组分能够激活记忆T细胞使之成为效应T细胞。研究者们从中找到了甲状腺素转运蛋白(transsthyretin, TTR)、钙粒蛋白(calgranulin)亚基A/S100A8、钙粒蛋白B/S100A9、桥粒核心糖蛋白(desmoglein-1, DSG-1)、角蛋白(hornerin)和脂钙蛋白(lipocalin-1)等多种具有TAA属性的抗原分子(均属序列正常型)。其中,能识别TTR和钙粒蛋白B/S100A9的记忆T细胞也存在于其他癌症患者(脑瘤、大肠癌、头颈癌)中,因此反映了癌相关CD8<sup>+</sup>记忆T细胞的一种共识别特性<sup>[9]</sup>。

Feuerer等<sup>[10]</sup>对乳腺癌患者体内识别Her-2/neu369-377多肽表位(KIFGSLAFL,序列正常型)的记忆T细胞(CD8<sup>+</sup>/CD45RO<sup>+</sup>)进行了研究,得到了这些细胞在分布特征方面的重要信息,发现癌症患

者外周血和骨髓中T细胞整体数量虽然减少,但CD8<sup>+</sup>记忆T细胞数量却有所增加,尤其是骨髓中CD45RO<sup>+</sup>T细胞比例显著提高。同时还发现,骨髓中存在着处于休眠状态的癌细胞。随后,该组研究者以HLA-A2/KIFGSLAFL复合物对骨髓CD8<sup>+</sup>记忆T细胞进行检测,发现其中能够识别Her-2/neu表位的占2.1%,显著高于外周血中含量。为此,研究者们<sup>[10]</sup>认为,TAA特异性CD8<sup>+</sup>记忆T细胞主要分布于骨髓内,而与之共存的少量静息期癌细胞为CD8<sup>+</sup>记忆T细胞的持续活化和增殖提供了必不可少的抗原刺激。

## 2 分离、激活和免疫治疗方法

由于Feuerer等<sup>[10-11]</sup>已经确认癌症患者骨髓中富含癌相关CD8<sup>+</sup>记忆T细胞,因此从骨髓中分离TAA特异性CD8<sup>+</sup>/CD45RO<sup>+</sup>T细胞的方法值得推荐。骨髓血窦的固有特性决定了它是CD8<sup>+</sup>记忆T细胞归巢、聚集、增殖和再活化的理想场所。该处血管内皮细胞可高表达内皮细胞黏附分子-1(vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1),并与T细胞表面整合素抗原-4(very late antigen-4, VLA-4)形成稳定复合物:VLA-4/VCAM-1,由此维持了CD8<sup>+</sup>/CD45RO<sup>+</sup>细胞的长期留存<sup>[12-13]</sup>。局部微环境中的IL-15和IL-17以及骨髓基质细胞、造血前体细胞膜表面的各种接触性配体分子则为记忆T细胞活性维持和更新传代提供了必要营养条件<sup>[12,14]</sup>。研究<sup>[11,15-16]</sup>表明,由骨髓记忆T细胞激活后分化得到的特异性CTL细胞与从外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMC)活化得到的抗癌效应T细胞相比,不仅数量多,且杀瘤活性远大于后者。Feuerer等<sup>[11]</sup>从乳腺癌患者骨髓中分离出记忆T细胞后,在体外以树突状细胞(dendritic cell, DC)使之激活,待其快速增殖达到 $5 \times 10^6$ 个以上后,重新注入裸鼠体内,2个月内便可治愈部分移植瘤小鼠,但以同样方法从外周血中分离的CTL细胞则治疗不成功。可见,获取骨髓内癌相关CD8<sup>+</sup>记忆T细胞是临床实施过继免疫治疗获取成功的一个关键因素。

然而,临床自患者骨髓中直接分离CD8<sup>+</sup>记忆T细胞的方法尚存在不少困难。操作者常会面临空抽、量少和促癌扩散(如在将癌细胞抽出来后分离不净的情况下,误作治疗性T细胞注射到患者体内)等潜在风险,造成相应的后遗症。为此,以间接手段诱导骨髓(也包括其他部位)癌相关记忆T细胞活化,使之重新进入血液而发挥抗癌活性的方法得到更多关注。

Cavanagh 等<sup>[17]</sup>发现,以 TAA 致敏 DC(即 DC 肿瘤疫苗)免疫动物后,DC 可经外周血循环进入骨髓,并借其质膜上主要组织相容性复合物(major histocompatibility complex, MHC) I 类分子所结合的抗原与骨髓中 CD8<sup>+</sup> 记忆 T 细胞紧密接触,激活后者,使之增殖、释放入血。这是一种非创伤性的由 TAA 介导的中枢记忆 T 细胞诱导激活方法,可避免由直接穿刺带来的各种并发症。另一种间接诱导骨髓记忆 T 细胞活化的方法来自临床对癌症患者化疗后体内免疫重建现象的观察。Wu 等<sup>[18]</sup>注意到,紫杉醇/铂类药物治疗后 3 周左右,卵巢癌患者外周血 CD8<sup>+</sup>/CD45RO<sup>+</sup> T 细胞可形成高峰,推测这可能是癌细胞凋亡后,DC 将之吞噬并向 T 细胞提呈 TAA,使中枢记忆 T 细胞活化、释放的结果。Wu 等<sup>[18]</sup>称此为“免疫窗口期”。Nistico 等<sup>[19]</sup>也证实,化疗药物氮烯咪胺可以诱导黑色素瘤患者机体内产生针对 TAA(即 Melan-A 和 MART-1 两种多肽)的记忆性免疫,观察到化疗后外周血中特异性记忆 T 细胞及其分化产生的效应 T 细胞含量均显著增加,因此,如能将这些化疗诱导细胞富集起来,则可成为一个便捷易取的癌相关记忆 T 细胞来源。

### 3 临床检测和预后相关性

临床对癌相关 CD8<sup>+</sup> 记忆 T 细胞的检测工作主要集中于癌组织病理切片的免疫组化法方面,结果表明,癌组织中浸润性 CD8<sup>+</sup>/CD45RO<sup>+</sup> T 细胞数量与患者预后密切相关,这说明 CD8<sup>+</sup> 记忆 T 细胞的确参加了机体自身的抗癌免疫过程<sup>[20-24]</sup>。较早时国内蔡晓燕等<sup>[20]</sup>就已证实,肝癌组织中记忆 T 细胞数量( $\geq 42$  个/高倍镜视野)与患者预后呈显著正相关性。其后, Galon 等<sup>[21]</sup>对总数达 603 例的大肠癌患者病灶局部 CD8<sup>+</sup> T 细胞进行了大规模分析,他们观察到病灶中出现的 CD8<sup>+</sup>/CD45RO<sup>+</sup> T 细胞是患者预后较好的病理指标。由此推测,在癌组织内部和周围长期留存的记忆 T 细胞可以阻止癌细胞增殖和转移,患者复发率因而较低。近两年来, Leffers 等<sup>[22]</sup>对 306 例 FIGO I~IV 期卵巢癌患者的癌组织切片进行了分析,发现癌症病灶中 CD8<sup>+</sup> 记忆 T 细胞浸润者的生存率比对照组显著增加。同时, Jong 等<sup>[23]</sup>也对内膜癌患者(368 例)进行了类似研究,结果发现局部癌组织中存在的 CD8<sup>+</sup>/CD45RO<sup>+</sup> T 细胞是 II 型内膜癌患者生存率增加的独立影响因素。

临床研究者达成共识后得出了如下结论:癌相关 CD8<sup>+</sup> 记忆 T 细胞能保护患者,可识别和杀伤体内癌细胞,使患者较少受到癌症复发、转移的威胁。同时,研究者们普遍认为:如果能够将具备癌细胞识别能力的

CD8<sup>+</sup> 记忆 T 细胞用于过继免疫治疗,则有可能取得比较满意的疗效<sup>[21-24]</sup>。

### 4 临床前期和早期治疗试验

将癌相关 CD8<sup>+</sup> 记忆 T 细胞用于治疗恶性肿瘤的临床试验目前仍处于前、早期阶段,还需要获得更多的经验积累。临床上,一种以单抗介导的、CD3 分子作为标靶的非特异性外周血肿瘤杀伤细胞活化、扩增方法得到了治疗工作者的高度重视<sup>[25-28]</sup>。这种方法以 CD3 单抗(即 OKT3)交联免疫细胞表面 CD3 复合物的各亚基,触发细胞内信号转导途径,使 IL-2 受体上调、细胞因子释放、细胞数量倍增,成为肿瘤杀伤细胞,即 CTL 或 NK 样 T 细胞(NK-like T cell, NKT)。此方法最早由 Curti 等<sup>[25]</sup>提出,并在黑色素瘤、胰腺癌、卵巢癌、甲状腺癌、成肝细胞瘤、结肠癌、胸腺瘤和腺样囊性癌等 24 名恶性肿瘤患者中付诸实施。具体过程是将患者外周血中的 T 细胞在体外以小鼠抗人 CD3 单抗 OKT3 激活,然后将活化 T 细胞连同 IL-2 一齐回输体内,观察到治疗后 18 名患者病情获得了缓解。该方法的有效性后经 Gold 等<sup>[26-28]</sup>证实,被 CD3 单抗激活的免疫细胞中以 CD8<sup>+</sup> 记忆 T 细胞最为关键,如将 CD8<sup>+</sup> 记忆 T 细胞从治疗组分中除去,则疗效大减。现在,CD3 单抗活化细胞疗法通过改进,已发展成为“细胞因子诱导杀伤细胞(cytokine-induced killer cell, CIK)”的常规免疫疗法<sup>[29]</sup>。这种方法序贯使用 IFN- $\gamma$ 、OKT3 和 IL-2 激活外周血中的 T 细胞,使之产生杀瘤效应。CIK 疗法在多个临床 I 期实验中已被证明确实有效,患者治疗后缓解率可达 50% 左右<sup>[29-31]</sup>。因此,作为一种非特异性、间接性的 CD8<sup>+</sup> 记忆 T 细胞过继免疫治疗方法,CIK 的成功为癌相关 CD8<sup>+</sup> 记忆 T 细胞的临床应用价值提供了一个侧面的支持证据。

以 DC 疫苗或化疗药物间接诱导 TAA 特异性中枢(骨髓)CD8<sup>+</sup> 记忆 T 细胞活化的肿瘤免疫疗法在临床也已有一定尝试。到目前为止,多项 I 期临床试验均证实,以 TAA 冲击致敏的 DC 可以激活体内的癌相关 CD8<sup>+</sup> 记忆 T 细胞,诱导外周血产生针对癌细胞的特异性 CTL,从而使患者生存期延长<sup>[32-36]</sup>。食管癌(所识别的 TAA 为 LY6K-177 和 TTK-567)、黑色素瘤(所识别的 TAA 为 MAGE-3. A2、酪氨酸酶、gp100 和 MART-1)以及早幼粒白血病(所识别的 TAA 为 WT-1 和 hTERT)患者中,不同领域的免疫治疗研究者们都观察到了与临床疗效呈正相关的 CD8<sup>+</sup> 记忆 T 细胞活化现象<sup>[32-34]</sup>。这些研究均为 DC 诱导癌相关记忆 T 细胞活化的临床治疗价值

提供了有力佐证。有关化疗药物诱导癌相关记忆 T 细胞活化的临床试验则多以化疗药物(如环磷酰胺、5-FU、多柔比星、顺铂、依托泊苷等)和免疫激活剂(如 IFN、IL-2、粒细胞集落刺激因子、TAA 多肽片段等)序贯施行的形式出现,称为化学免疫疗法(chemoimmunotherapy, CIT)<sup>[37-41]</sup>。Brignone 等<sup>[38]</sup>在对乳腺癌转移患者开展的临床 I/II 期试验中,通过联合使用多西他赛和 IMP321(一种可溶性 LAG-3Ig 融合蛋白,能增强 DC 抗原提呈活性)使患者缓解率得到显著提高,患者外周血中出现了长寿命肿瘤特异性记忆 T 细胞(由中枢迁移至外周而来)。另一项前期试验中, Kim 等<sup>[39]</sup>证实,以抗 CD137 单抗 anti-4-1BB(一种 T 细胞免疫增强剂)联合顺铂治疗结肠癌,可以减轻化疗药物的肾毒性,并延长荷瘤动物的生存时间。研究者<sup>[39]</sup>证实, anti-4-1BB 可以与 T 细胞和肾小管上皮细胞表面 CD137 抗原结合,增强细胞存活能力;加上化疗药物本身的免疫增效作用,荷瘤动物体内肿瘤特异性 CD8<sup>+</sup> 记忆 T 细胞的数量显著增加,产生了较强的抗癌作用。

目前,直接以骨髓中的癌相关 CD8<sup>+</sup> 记忆 T 细胞作为核心治疗手段的临床肿瘤过继免疫治疗方案尚未见报道(即缺少临床 I 期实验),但动物实验已经开展,并取得了良好疗效<sup>[11, 15-16]</sup>。如前所述, Feuerer 等<sup>[11]</sup>针对乳腺癌患者骨髓中癌相关 CD8<sup>+</sup> 记忆 T 细胞分离、活化和移植治疗的动物模型研究成果,为临床展示了直接应用这类 CD8<sup>+</sup> 记忆 T 细胞治疗恶性肿瘤的可行性。同时该组研究者还证实,体外通过特异性 TAA 活化的癌相关记忆 T 细胞只有在致敏 DC 持续刺激下其杀瘤活性才不会衰减。所以,如果要将这种免疫细胞应用于临床,同步输注 DC 疫苗是必备条件。不过,有鉴于 CD8<sup>+</sup> 记忆 T 细胞比传统肿瘤浸润淋巴细胞(tumor-infiltrating lymphocyte, TIL)和淋巴因子激活杀伤细胞(lymphokine activated killer cell, LAK)有更强和更高的攻击效率和杀伤活性,研究者们预期这种方法将会比 TIL、LAK 等治疗手段取得更佳的疗效,这是继 CIK、DC 疫苗和 CIT 之后,癌相关 CD8<sup>+</sup> 记忆 T 细胞将成为一种新型临床免疫治疗手段,也是一项更为直接和直观的过继免疫治疗措施<sup>[15-16]</sup>。

## 5 临床应用的主要问题和对策

临床应用癌相关 CD8<sup>+</sup> 记忆 T 细胞进行肿瘤免疫治疗具有不少固有优势,比如快速应答性、低剂量抗原可诱导性和共刺激信号低依赖性<sup>[11, 15-16]</sup>。因此,从静脉输入体内的 TAA 特异性 CD8<sup>+</sup> 记忆 T 细

胞即便是遇到少量癌细胞(即弱抗原环境)和(或)缺乏共刺激信号的情况下,也可活化成为 CTL 细胞。这使基于 CD8<sup>+</sup> 记忆 T 细胞的免疫治疗方案具有更强的临床适应性,特别是在监视体内癌症复发、打击免疫逃避癌细胞方面更是如此。但下面这些临床应用问题仍值得重视,因为它们直接影响到治疗效果强弱。

### 5.1 CD8<sup>+</sup> 记忆性 T 细胞/癌细胞的比例问题

过高或过低的 TAA 特异性 CD8<sup>+</sup>/CD45RO<sup>+</sup> T 细胞输注会导致产生变态反应、高血压等并发症或致治疗无效<sup>[42-43]</sup>。多数动物模型研究<sup>[11, 15-16, 44]</sup>表明, T 细胞(effector, E)/癌细胞(target, T)  $\geq 10$  时,方能产生溶瘤效应。通常认为, E:T = 50 是比较合适的治疗剂量。另外,经过验证,与 T 细胞同步输注的致敏 DC 应控制在 5:1(T 细胞:DC)的比例为宜。

### 5.2 癌细胞的免疫抑制和逃避能力问题

癌细胞会通过主动下调 MHC I 类复合物表达量和(或)分泌免疫抑制因子(如 hepatoglobulin、mucin1、IL-10)逃避 CTL 细胞的打击。通过病毒载体向癌细胞内引入与宿主同型的 MHC I 类分子(即 HLA-A、B、C),可以提供良好的 CTL 杀伤靶点。使用免疫增强剂(如 IFN- $\gamma$ )、单抗封闭剂(如抗人 CTLA-4 单抗)、化疗药物(如环磷酰胺)等,可以起到增强癌细胞免疫原性和促进 T 细胞识别、活化和杀伤功能的作用<sup>[45-47]</sup>。

### 5.3 免疫疗效监测问题

直观的疗效监测可以通过测量体内癌症病灶直径变化来实现,但是对于一些微小转移灶或复发灶来说,尤其当癌灶直径  $\leq 1$  cm 时,这种观察方法则无能为力<sup>[48]</sup>。临床上可通过肿瘤特有标志物(如 CA125)表达水平来实现疗效监测。另外,对于晚期患者来说,测定外周血中癌细胞数量也是一个很好的监测措施<sup>[49-51]</sup>。

利用癌相关 CD8<sup>+</sup> 记忆 T 细胞进行过继免疫治疗很有希望成为临床癌症治疗工作的一项常规方案,但目前,在细胞来源、分离、活化方面还有大量研究工作需要完成,进一步的临床 II/III 期试验也有待开展。

## [参考文献]

- [1] Richards SJ, Jones RA, Roberts BE, et al. Relationships between 2H4 (CD45RA) and UCHL1 (CD45RO) expression by normal blood CD4<sup>+</sup> CD8<sup>-</sup>, CD4<sup>-</sup> CD8<sup>+</sup>, CD4<sup>-</sup> CD8dim<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup> CD4<sup>-</sup> CD8<sup>-</sup> and CD3<sup>-</sup> CD4<sup>-</sup> CD8<sup>-</sup> lymphocytes [J]. Clin Exp

- Immunol, 1990, 81(1): 149-155.
- [ 2 ] Pospori C, Xue SA, Holler A, et al. Specificity for the tumor-associated self-antigen WT1 drives the development of fully functional memory T cells in the absence of vaccination [ J ]. *Blood*, 2011, 117( 25 ): 6813-6824.
- [ 3 ] Perret R, Ronchese F. Memory T cells in cancer immunotherapy: Which CD8 T-cell population provides the best protection against tumors? [ J ]. *Tissue Antigens*, 2008, 72( 3 ): 187-194.
- [ 4 ] Klebanoff CA, Gattinoni L, Restifo NP. CD8<sup>+</sup> T-cell memory in tumor immunology and immunotherapy [ J ]. *Immunol Rev*, 2006, 211( 1 ): 214-224.
- [ 5 ] Lee PP, Yee C, Savage PA, et al. Characterization of circulating T cells specific for tumor-associated antigens in melanoma patients [ J ]. *Nat Med*, 1999, 5( 6 ): 677-685.
- [ 6 ] Dudley ME, Wunderlich JR, Robbins PF, et al. Cancer regression and autoimmunity in patients after clonal repopulation with antitumor lymphocytes [ J ]. *Science*, 2002, 298( 5594 ): 850-854.
- [ 7 ] Wedén S, Klemp M, Gladhaug IP, et al. Long-term follow-up of patients with resected pancreatic cancer following vaccination against mutant K-ras [ J ]. *Int J Cancer*, 2011, 128( 5 ): 1120-1128.
- [ 8 ] Novellino L, Castelli C, Parmiani G. A listing of human tumor antigens recognized by T cells: March 2004 update [ J ]. *Cancer Immunol Immunother*, 2005, 54( 3 ): 187-207.
- [ 9 ] Beckhove P, Warta R, Lemke B, et al. Rapid T cell-based identification of human tumor tissue antigens by automated two-dimensional protein fractionation [ J ]. *J Clin Invest*, 2010, 120( 6 ): 2230-2242.
- [ 10 ] Feuerer M, Rocha M, Bai L, et al. Enrichment of memory T cells and other profound immunological changes in the bone marrow from untreated breast cancer patients [ J ]. *Int J Cancer*, 2001, 92( 1 ): 96-105.
- [ 11 ] Feuerer M, Beckhove P, Bai L, et al. Therapy of human tumors in NOD/SCID mice with patient-derived reactivated memory T cells from bone marrow [ J ]. *Nat Med*, 2001, 7( 4 ): 452-458.
- [ 12 ] Clark P, Normansell DE. Phenotype analysis of lymphocyte subsets in normal human bone marrow [ J ]. *Am J Clin Pathol*, 1990, 94( 5 ): 632-636.
- [ 13 ] Pabst R, Kaatz M, Westermann J. In situ labelling of bone marrow lymphocytes with fluorescein isothiocyanate for lymphocyte migration studies in pigs [ J ]. *Scand J Haematol*, 1983, 31( 3 ): 267-274.
- [ 14 ] Becker TC, Coley SM, Wherry EJ, et al. Bone marrow is a preferred site for homeostatic proliferation of memory CD8<sup>+</sup> T cells [ J ]. *J Immunol*, 2005, 174( 3 ): 1269-1273.
- [ 15 ] Berger C, Jensen MC, Lansdorf PM, et al. Adoptive transfer of effector CD8<sup>+</sup> T cells derived from central memory cells establishes persistent T cell memory in primates [ J ]. *J Clin Invest*, 2008, 118( 1 ): 294-305.
- [ 16 ] Beckhove P, Feuerer M, Dolenc M, et al. Specifically activated memory T cell subsets from cancer patients recognize and reject xenotransplanted autologous tumors [ J ]. *J Clin Invest*, 2004, 114( 1 ): 67-76.
- [ 17 ] Cavanagh LL, Bonasio R, Mazo IB, et al. Activation of bone marrow-resident memory T cells by circulating, antigen-bearing dendritic cells [ J ]. *Nat Immunol*, 2005, 6( 10 ): 1029-1037.
- [ 18 ] Wu X, Feng QM, Wang Y, et al. The immunologic aspects in advanced ovarian cancer patients treated with paclitaxel and carboplatin chemotherapy [ J ]. *Cancer Immunol Immunother*, 2010, 59( 2 ): 279-291.
- [ 19 ] Nisticò P, Capone I, Palermo B, et al. Chemotherapy enhances vaccine-induced antitumor immunity in melanoma patients [ J ]. *Int J Cancer*, 2009, 124( 1 ): 130-139.
- [ 20 ] 蔡晓燕, 邱双健, 吴志全, 等. 肝癌局部树突状细胞和记忆 T 淋巴细胞与患者预后的关系 [ J ]. *中华医学杂志*, 2005, 85( 10 ): 671-675.
- [ 21 ] Galon J, Costes A, Sanchez-Cabo F, et al. Type, density, and location of immune cells within human colorectal tumors predict clinical outcome [ J ]. *Science*, 2006, 313( 5795 ): 1960-1964.
- [ 22 ] Leffers N, Gooden MJ, de Jong RA, et al. Prognostic significance of tumor-infiltrating T-lymphocytes in primary and metastatic lesions of advanced stage ovarian cancer [ J ]. *Cancer Immunol Immunother*, 2009, 58( 3 ): 449-459.
- [ 23 ] de Jong RA, Leffers N, Boezen HM, et al. Presence of tumor-infiltrating lymphocytes is an independent prognostic factor in type I and II endometrial cancer [ J ]. *Gynecol Oncol*, 2009, 114( 1 ): 105-110.
- [ 24 ] Pagès F, Kirilovsky A, Mlecnik B, et al. In situ cytotoxic and memory T cells predict outcome in patients with early-stage colorectal cancer [ J ]. *J Clin Oncol*, 2009, 27( 35 ): 5944-5951.
- [ 25 ] Curti BD, Longo DL, Ochoa AC, et al. Treatment of cancer patients with *ex vivo* anti-CD3<sup>-</sup> activated killer cells and interleukin-2 [ J ]. *J Clin Oncol*, 1993, 11( 4 ): 652-660.
- [ 26 ] Gold JE, Ross SD, Krellenstein DJ, et al. Adoptive transfer of *ex vivo* activated memory T-cells with or without cyclophosphamide for advanced metastatic melanoma: Results in 36 patients [ J ]. *Eur J Cancer*, 1995, 31( 5 ): 698-708.
- [ 27 ] Gold JE, Osband ME. Autolymphocyte therapy. II. Dependence of *in vivo* anti-tumor specificity and long-term immunity against murine melanoma and carcinoma on *ex vivo* activated donor memory T-cells [ J ]. *Clin Immunol Immunopathol*, 1994, 71( 3 ): 325-332.
- [ 28 ] Gold JE, Masters TR, Osband ME. Autolymphocyte therapy. III. Effective adjuvant adoptive cellular therapy with *in vivo* anti-tumor specificity against murine melanoma and carcinoma using *ex vivo* activated memory T-lymphocytes [ J ]. *J Surg Res*, 1995, 59( 2 ): 279-286.
- [ 29 ] Su X, Zhang L, Jin L, et al. Immunotherapy with cytokine-induced killer cells in metastatic renal cell carcinoma [ J ]. *Cancer Biother Radiopharm*, 2010, 25( 4 ): 465-470.
- [ 30 ] Oliosio P, Giancola R, Di Riti M, et al. Immunotherapy with cytokine induced killer cells in solid and hematopoietic tumors: A pilot clinical trial [ J ]. *Hematol Oncol*, 2009, 27( 3 ): 130-139.
- [ 31 ] Leemhuis T, Wells S, Scheffold C, et al. A phase I trial of autologous cytokine-induced killer cells for the treatment of relapsed Hodgkin disease and non-Hodgkin lymphoma [ J ]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2005, 11( 3 ): 181-187.
- [ 32 ] Iwahashi M, Katsuda M, Nakamori M, et al. Vaccination with peptides derived from cancer-testis antigens in combination with CpG-7909 elicits strong specific CD8<sup>+</sup> T cell response in patients with metastatic esophageal squamous cell carcinoma [ J ]. *Cancer*

- Sci, 2010, 101(12): 2510-2517.
- [ 33 ] Chauv P, Vantomme V, Coulie P, et al. Estimation of the frequencies of anti-MAGE-3 cytolytic T-lymphocyte precursors in blood from individuals without cancer [ J ]. Int J Cancer, 1998, 77(4): 538-542.
- [ 34 ] Kitawaki T, Kadowaki N, Fukunaga K, et al. Cross-priming of CD8(+) T cells *in vivo* by dendritic cells pulsed with autologous apoptotic leukemic cells in immunotherapy for elderly patients with acute myeloid leukemia [ J ]. Exp Hematol, 2011, 39(4): 424-433.
- [ 35 ] Coleman JA, Correa I, Cooper L, et al. T cells reactive with HLA-A\*0201 peptides from the histone demethylase JARID1B are found in the circulation of breast cancer patients [ J ]. Int J Cancer, 2011, 128(9): 2114-2124.
- [ 36 ] Hwang ML, Lukens JR, Bullock TN. Cognate memory CD4<sup>+</sup> T cells generated with dendritic cell priming influence the expansion, trafficking, and differentiation of secondary CD8<sup>+</sup> T cells and enhance tumor control [ J ]. J Immunol, 2007, 179(9): 5829-5838.
- [ 37 ] Gomez GG, Hutchison RB, Kruse CA. Chemo-immunotherapy and chemo-adoptive immunotherapy of cancer [ J ]. Cancer Treat Rev, 2001, 27(6): 375-402.
- [ 38 ] Brignone C, Gutierrez M, Mefti F, et al. First-line chemioimmunotherapy in metastatic breast carcinoma: Combination of paclitaxel and IMP321 (LAG-3Ig) enhances immune responses and antitumor activity [ J ]. J Transl Med, 2010, 8: 71.
- [ 39 ] Kim YH, Choi BK, Kim KH, et al. Combination therapy with cisplatin and anti-4-1BB: Synergistic anticancer effects and amelioration of cisplatin-induced nephrotoxicity [ J ]. Cancer Res, 2008, 68(18): 7264-7269.
- [ 40 ] Pica F, Frascetti M, Matteucci C, et al. High doses of thymosin alpha 1 enhance the anti-tumor efficacy of combination chemioimmunotherapy for murine B16 melanoma [ J ]. Anticancer Res, 1998, 18(5): 3571-3578.
- [ 41 ] Recchia F, Sica G, DeFilippis S, et al. Chemo-immunotherapy in advanced head and neck cancer [ J ]. Anticancer Res, 1999, 19(1B): 773-778.
- [ 42 ] Yeh S, Kame NK, Kerker SP, et al. Ocular and systemic autoimmunity after successful tumor-infiltrating lymphocyte immunotherapy for recurrent, metastatic melanoma [ J ]. Ophthalmology, 2009, 116(5): 981-989.
- [ 43 ] Rosenberg SA, Yang JC, Robbins PF, et al. Cell transfer therapy for cancer: Lessons from sequential treatments of a patient with metastatic melanoma [ J ]. J Immunother, 2003, 26(5): 385-393.
- [ 44 ] Schilbach K, Kerst G, Walter S, et al. Cytotoxic minor histocompatibility antigen HA-1-specific CD8<sup>+</sup> effector memory T cells: Artificial APCs pave the way for clinical application by potent primary *in vitro* induction [ J ]. Blood, 2005, 106(1): 144-149.
- [ 45 ] Callahan MK, Wolchok JD, Allison JP. Anti-CTLA-4 antibody therapy: Immune monitoring during clinical development of a novel immunotherapy [ J ]. Semin Oncol, 2010, 37(5): 473-484.
- [ 46 ] Gilboa E. How tumors escape immune destruction and what we can do about it? [ J ]. Cancer Immunol Immunother, 1999, 48(7): 382-385.
- [ 47 ] Frey AB, Monu N. Effector-phase tolerance: Another mechanism of how cancer escapes antitumor immune response [ J ]. J Leukoc Biol, 2006, 79(4): 652-662.
- [ 48 ] Prionas ND, Ray S, Boone JM. Volume assessment accuracy in computed tomography: A phantom study [ J ]. J Appl Clin Med Phys, 2010, 11(2): 3037.
- [ 49 ] Martínez-Román S, Ramirez PT, Oh J, et al. Combined positron emission tomography and computed tomography for the detection of recurrent ovarian mucinous adenocarcinoma [ J ]. Gynecol Oncol, 2005, 96(3): 888-891.
- [ 50 ] Molloy TJ, Bosma AJ, Baumbusch LO, et al. The prognostic significance of tumor cell detection in the peripheral blood versus the bone marrow in 733 early-stage breast cancer patients [ J ]. Breast Cancer Res, 2011, 13(3): R61.
- [ 51 ] Rahbari NN, Aigner M, Thorlund K, et al. Meta-analysis shows that detection of circulating tumor cells indicates poor prognosis in patients with colorectal cancer [ J ]. Gastroenterology, 2010, 138(5): 1714-1726.
- [ 收稿日期 ] 2012-01-16 [ 修回日期 ] 2012-02-22  
[ 本文编辑 ] 王莹

· 读者 · 作者 · 编者 ·

## 文稿中须写成斜体的外文字符

在科技文稿中出现许多外文字符,它们有的是正体、有的是斜体。正体和斜体外文字符各有其特定含义和用法,切不可混淆使用。现根据有关标准和规则,把生物医学文稿中须要写成斜体的外文字符归纳为以下几类:

(1)生物学中拉丁学名的属名和种名(包括亚属、亚种、变种)应斜体,例如大肠杆菌 *Escherichia coli*、幽门螺杆菌 *Helicobacter pylori* 等。(2)各种基因的缩写符号应斜体(基因表达产物缩写符号应写成正体),例如人脆性 X 智力低下基因 1 的符号为 *FMRI*、原癌基因 *RAF1*(人)、病毒癌基因 *v-raf-1*(鼠)、抑癌基因 *p53*(鼠)等。(3)限制性内切核酸酶缩写符号中前 3 个字母应斜体,例如 *Hind* III、*Bam*HI、*Sal*I 等。(4)各种统计学符号应斜体,例如样本数 *n*、均数  $\bar{x}$ 、样本差 *s*、*t* 检验、*F* 检验、概率 *P*、相关系数 *r* 等。(5)各种物理量的量符号应斜体(*pH* 用正体除外),例如长度 *l*(或 *l*)、面积 *A*(或 *S*)、体积 *V*、质量 *m*、时间 *t*、压力 *p*、相对分子质量 *M<sub>r</sub>*、物质的量浓度 *c<sub>B</sub>* 等。(6)化学中表示旋光性、分子构型、构象、取代基等符号应斜体,例如左旋 *L*-、右旋 *D*-、邻位 *o*-、对位 *p*-、反式 *trans*-、顺式 *cis*- 等。(7)数学中用字母表示的变数和一般函数应斜体。(8)英文中使用的某些拉丁词应斜体,例如 *vs*、*in situ*、*in vivo*、*in vitro* 等。

(本刊编辑部)