

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2012.03.011

## 树突状细胞诱导的半相合 CTL 灭活后对小鼠移植肺癌的抑制作用

董小林<sup>1</sup>, 朱成英<sup>1</sup>, 王辉<sup>2</sup>, 王江涛<sup>3</sup>, 张俊萍<sup>4</sup> (1. 山西医科大学 山西医学科学院 山西大医院 研究生管理中心, 山西太原 030001; 2. 昆明医科大学 延安医院 消化科, 云南昆明 650051; 3. 山西省肿瘤医院 生物治疗科, 山西太原 030001; 4. 山西医学科学院 山西大医院 生物治疗科, 山西太原 030001)

**[摘要]** **目的:**探讨<sup>60</sup>Co 灭活的树突状细胞(dendritic cell, DC)诱导的 MHC 半相合细胞毒性 T 淋巴细胞(cytotoxicity T lymphocyte, CTL)回输的抗小鼠移植肺癌作用。**方法:**体外培养 CB6F1 小鼠来源的 DC, 流式细胞术检测 DC 表型, 用 CB6F1-DC 诱导针对 C57BL/6 小鼠来源的转移性肺癌细胞(Lewis lung cancer, LLC)的细胞毒性 T 淋巴细胞(cytotoxicity T lymphocyte, CTL), 经<sup>60</sup>Co 灭活的 CTL 回输给荷 LLC 瘤 C57BL/6 小鼠。细胞毒实验检测 CTL 细胞的抗肺癌效应, 病理检测荷瘤小鼠肝、脾、小肠、皮肤变化, 观察移植物抗宿主病(graft-versus-host-disease, GVHD)的发生及肺部肿瘤转移情况, 观察荷瘤小鼠的存活时间。**结果:**流式细胞检测证实培养出成熟 DC。DC 诱导的 CTL 灭活后回输治疗 LLC 肺转移瘤小鼠后, 小鼠肺质量显著降低[ $0.27 \pm 0.06$ ] vs [ $0.52 \pm 0.07$ ]g,  $P < 0.05$ ], 平均生存期显著延长[ $78.10 \pm 16.50$ ] vs [ $49.30 \pm 6.45$ ]d,  $P < 0.05$ ]。荷瘤小鼠脾淋巴细胞对 LLC 细胞的杀伤活性随着效靶比的增加逐渐增强, 最大杀伤率可达  $(32.7 \pm 1.64)\%$  (效靶比 100:1)。病理检测结果显示, 治疗组荷瘤小鼠未见明显 GVHD。**结论:**灭活的半相合 CTL 回输可以诱导机体抗肿瘤反应, 降低小鼠移植肺癌转移, 未出现明显的 GVHD。

**[关键词]** 肺癌; 免疫治疗; 半相合; 肿瘤特异性 CTL

**[中图分类号]** R734.2; R730.5

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-385X(2012)03-0284-05

## Inhibitory effect of inactivated-haploidentical CTL induced by allogeneic dendritic cells on mouse transplanted lung cancer

DONG Xiao-lin<sup>1</sup>, ZHU Cheng-ying<sup>1</sup>, WANG Hui<sup>2</sup>, WANG Jiang-tao<sup>3</sup>, ZHANG Jun-ping<sup>4</sup> (1. School of Undergraduates, Shanxi Academy of Medical Sciences, Major Hospital in Shanxi, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, Shanxi, China; 2. Department of Gastroenterology, Yan'an Hospital, Kunming Medical University, Kunming 650051, Yunnan, China; 3. Department of Biotherapy, Tumor Hospital of Shanxi, Taiyuan 030001, Shanxi, China; 4. Department of Biotherapy, Major Hospital in Shanxi, Shanxi Academy of Medical Sciences, Taiyuan 030001, Shanxi, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the anti-lung cancer effect after infusion of <sup>60</sup>Co inactivated-MHC haploidentical cytotoxicity T lymphocytes (CTLs) induced by dendritic cells (DCs). **Methods:** DCs were cultured from CB6F1 mice and their phenotype was detected by flow cytometry. Mature DC-induced CTLs against metastatic lung cancer cells (Lewis lung cancer, LLC) derived from C57BL/6 mice were cultured *in vitro*. The LLC tumor bearing C57BL/6 mice were treated with <sup>60</sup>Co-inactivated CTL. The anti-lung cancer effect of CTL was identified through cell-mediated cytotoxicity assay. Pathological examination of the liver, spleen, intestinum tenue and skin was performed to observe the graft versus host disease (GVHD) and lung cancer metastasis. The survival time of tumor bearing mice was observed. **Results:** FCM analysis showed that mature DCs were expanded. The lung weight of LLC metastatic mice treated with inactivated-CTL was decreased obviously [ $0.27 \pm 0.06$ ] vs [ $0.52 \pm 0.07$ ] g,  $P < 0.05$ ); and the mean survival time of treated mice prolonged [ $78.10 \pm 16.50$ ] vs [ $49.30 \pm 6.45$ ] d,  $P < 0.05$ ). The cell-mediated cytotoxicity of the spleen leukocytes against LLC increased along with the ratio of effector to target (the highest cytotoxicity was  $[32.7 \pm 1.64]\%$  when effector: target =

**[基金项目]** 山西省青年科技基金资助项目(No. 2010021035-6)。Project supported by Youth Science and Technology Foundation of Shanxi Province (No. 2010021035-6)

**[作者简介]** 董小林(1984-),女,山西省长治市人,硕士生,主要从事肿瘤生物治疗的基础和临床研究。E-mail: xd19840611@126.com

**[通信作者]** 张俊萍(ZHANG Jun-ping, corresponding author)。E-mail: junpingzhang-118@163.com

100:1)。There was no obvious GVHD in pathological findings. **Conclusion:** Inactivated haploidentical CTL can induce antitumor immunological responses and reduce lung cancer metastasis without obvious GVHD.

[ **Key words** ] lung tumor; immunotherapy; haploidentical; tumor-specific CTL

[ Chin J Cancer Biother, 2012, 19(3): 284-288 ]

迄今为止,包括造血干细胞移植和供者淋巴细胞输注在内的肿瘤免疫治疗已经成为继手术、化疗、放疗的又一抗肿瘤重要手段。异基因免疫治疗的抗肿瘤作用主要是由 T 淋巴细胞介导,因此增强淋巴细胞的抗肿瘤作用,并降低异基因移植的相关并发症成为免疫治疗研究的重点<sup>[1]</sup>。自 20 世纪 70 年代以来,肺癌发生率呈逐年上升趋势,现已成为我国城乡居民首要死因之一,且在世界范围内肺癌的发病率和病死率远高于其他系统肿瘤<sup>[2]</sup>。因此,本实验选用了免疫原性较弱、侵袭力较强的转移性肺癌细胞(Lewis lung cancer, LLC)作为研究对象,选择 H-2 单体小鼠模型来探讨半相合树突状细胞(dendritic cell, DC)和细胞毒性 T 淋巴细胞(cytotoxicity T lymphocyte, CTL)输注的抗肺癌效应。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要实验材料

RPMI 1640 培养基、10% 胎牛血清购自 Hyclone 公司。小鼠重组粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte colony-stimulating factor, GM-CSF)、白细胞介素 4(interleukin-4, IL-4)、IL-2 购自 Peprotech 公司,脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)购自 Sigma 公司,小鼠脾淋巴细胞分离液购自达科为生物技术公司,LDH 试剂盒购自 Promega 公司, FITC-CD80 单抗、FITC-CD11C 单抗、PE-CD86 单抗、PE-MHC II 购自 BD 公司。流式细胞仪(FACS Callibur)及其分析软件(Cell quest)购自 BD 公司。

### 1.2 细胞株和实验动物

C57BL/6 小鼠来源的 LLC 由医科院肿瘤研究所免疫室张叔人教授惠赠。细胞培养条件为 RPMI 1640 培养基(含 12% 胎牛血清)37℃、5% CO<sub>2</sub> 培养。C57BL/6 小鼠,雌性;CB6F1 近交系小鼠,8~10 周龄,18~20 g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司(合格证号为 1100017308),在山西省肿瘤医院动物实验室标准饲料喂养。

### 1.3 CB6F1 小鼠脾 DC 及 CTL 的体外诱导

无菌操作台取出 CB6F1 小鼠脾脏,80 目尼龙网轻轻研磨,加入脾淋巴细胞分离液,将细胞混液移入离心管中,加入适量培养液,保持界面清楚,800 × g 离心 30 min,吸取白膜层,PBS 洗 2 次,培养液培养

过夜后分 2 组,第一组悬浮细胞加入 IL-2,第二组黏附细胞加入 GM-CSF、IL-4,隔天半量换液并补充细胞因子,在第 6 天加入经过反复冻融获得 LLC 抗原和 LPS,收集培养第 8 天的 DC 用进行流式细胞术检测其表型。培养到第 8~10 天将 2 组细胞混合培养,在 12 d 后收集细胞,即为实验所需 CTL,经 7.5 Gy <sup>60</sup>Co 照射灭活。

### 1.4 灭活 CTL 输注抗肿瘤转移实验

第 0 天,C57BL/6 小鼠背部皮下接种 1 × 10<sup>6</sup> LLC 肿瘤细胞,接种 16 d 后切除肿瘤(体积达 1 600 mm<sup>3</sup>)。切除后经小鼠尾静脉回输 1 × 10<sup>7</sup> 灭活的 CB6F1 小鼠脾细胞体外培养的 CTL(*n* = 18),并设置 PBS 对照组(*n* = 18);6 d 后回输第 2 次。第 1 次治疗后 12 d,两组各处死 8 只小鼠,取肺称重,取肝、脾、小肠、皮肤进行病理检查,观察移植物抗宿主病(graft-versus-host disease, GVHD)。第 2 次回输后各组取 2 只小鼠进行小鼠脾细胞的细胞毒活性检测。每组剩余 8 只小鼠继续观察生存期。

### 1.5 乳酸脱氢酶法(lactate dehydrogenase, LDH)检测小鼠脾细胞的细胞毒活性

荷瘤小鼠第 2 次输注治疗后 5 d,各组取 2 只小鼠脾脏,脾淋巴细胞分离液制备单个核细胞(方法同前)为效应细胞,LLC 作为靶细胞,按效靶比 25:1、50:1、100:1 进行细胞毒活性的检测,然后按公式计算脾细胞的杀伤活性。杀伤率(%) = (实验组 - 效应细胞自发释放 - 靶细胞自发释放) / (靶细胞最大释放 - 靶细胞自发释放) × 100%。

### 1.6 统计学处理

数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,采用 SPSS13.0 统计软件,对实验数据进行方差分析和 *t* 检验,以 *P* < 0.05 或 *P* < 0.01 表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 CB6F1 小鼠脾来源 DC 的表型

以同型荧光标记的 IgG 为对照,检测 CB6F1 小鼠脾脏来源 DC 免疫表型,结果(图 1)显示:FITC-CD80 表达率为(73.4 ± 3.13)%、FITC-CD11C 表达率为(77.4 ± 2.87)%、PE-CD86 表达率为(58.3 ± 1.79)%、PE-MHC II 表达率为(65.9 ± 1.88)% ,证实为培养成熟的 DC。

### 2.2 灭活 CTL 输注治疗转移性肺癌的效果

C57BL/6 小鼠皮下接种 LLC 肺癌细胞, 接种 16 d 后切除肿瘤, 术后经尾静脉输注经 DC 诱导的灭活后 CTL, 6 d 后再输 1 次。于第 1 次治疗后 12 d 处死小鼠取肺称肺质量。治疗组小鼠较 PBS 组平均肺质量明显减少[ ( 0.27 ± 0.06 ) vs ( 0.52 ± 0.07 ) g,  $P < 0.05$  ]。观察两组小鼠平均生存期, PBS 组回输后第 59 天小鼠全部死亡(  $n = 8$  )。治疗组治疗后 100 d 仍有小鼠存活, 较 PBS 组小鼠平均生存期显著延长[ ( 78.10 ± 16.50 ) vs ( 49.30 ± 6.45 ) d,  $P < 0.05$  ]。两组老鼠最后均死于肺部转移性肿瘤( 图 2 )。

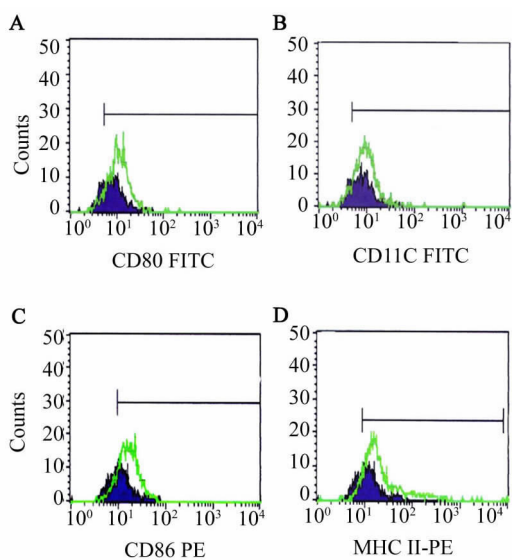


图 1 流式细胞术检测 DC 免疫表型

Fig. 1 Immunophenotypes of DC detected by FCM

A: CD80-FITC; B: CD11c-FITC;  
C: CD86-PE; D: MHC II-PE

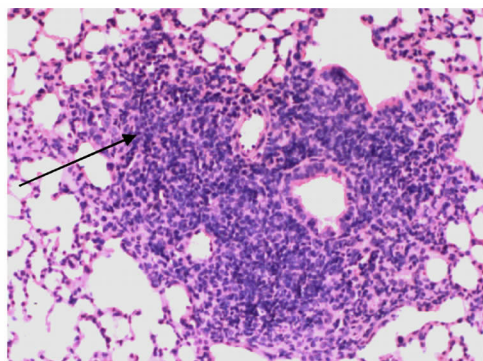


图 2 转移性肺癌的病理改变( × 200 )

Fig. 2 Pathological change of metastatic lung cancer( × 200 )

### 2.3 灭活 CTL 输注未引起明显的 GVHD 反应

第一次回输治疗后 12 d, 处死小鼠, 比较两组小鼠的肝、脾、小肠、皮肤病理改变。结果( 图 3 )可见, 回输治疗组小鼠肝脏可见肝窦和汇管区点状淋巴细胞和浆细胞浸润; 脾结构未见破坏, 淋巴细胞数量较 PBS 组增多; 所有小鼠肠道可见黏膜下充血水肿, 黏膜下层可见淋巴细胞浸润, 分析考虑跟动物饮食有关; 小鼠皮肤未见明显改变, 仅 1 只治疗组小鼠皮下可见结节状突起, 病理示淋巴细胞聚集。从结果可以看出, 输注治疗并未引起明显的 GVHD 反应。

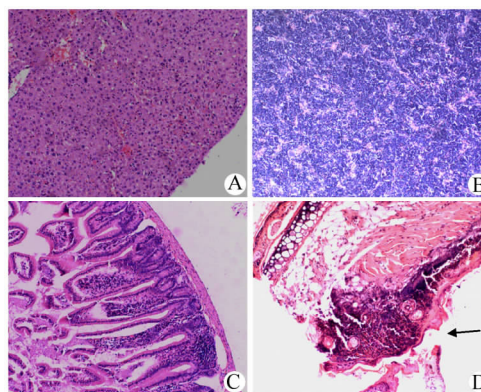


图 3 灭活 CTL 治疗后荷瘤小鼠主要器官的病理改变( × 100 )

Fig. 3 Pathological change of major organs of tumor-bearing mice after inactivated-CTL therapy( × 100 )

A: Liver; B: Spleen; C: Intestinum tenue; D: Skin

### 2.4 CTL 治疗后荷瘤鼠脾淋巴细胞的细胞毒活性

C57BL/6 小鼠第 2 次输注治疗后 5 d, 各组分别取 2 只小鼠, 制备脾细胞作为效应细胞, 以 LLC 为靶细胞, 按效靶比 25: 1、50: 1、100: 1 进行细胞毒活性的检测( 图 4 )。与 PBS 组相比, 治疗组小鼠脾细胞对 LLC 具有明显的杀伤活性, 且随着效应细胞的增加, 杀伤活性明显增强。当效靶比为 100: 1 时, CTL 输注治疗组小鼠脾淋巴细胞对 LLC 细胞杀伤活性为( 32.7 ± 1.64 )%, 而 PBS 组为( 12.5 ± 2.20 )%。因此, 治疗组回输的 CTL 细胞可以增强荷瘤小鼠自身脾淋巴细胞对 LLC 细胞的杀伤作用。

## 3 讨论

最新统计证实, 肺癌的发病率和病死率远高于其他系统肿瘤<sup>[2]</sup>。本实验参照以往文献<sup>[3]</sup>建立小鼠肺转移模型, 短期内对荷瘤小鼠进行皮下肿瘤切除促进肿瘤肺转移<sup>[4]</sup>, 成功模拟出 C57BL/6 小鼠 LLC 自发性肺转移模型。通过 CB6F1 小鼠脾脏的

CTL 对 C57BL/6 荷瘤小鼠输注,研究输注的 MHC 半相合细胞是否可以诱导宿主产生抗肿瘤作用,并对输注细胞进行灭活以降低 GVHD。

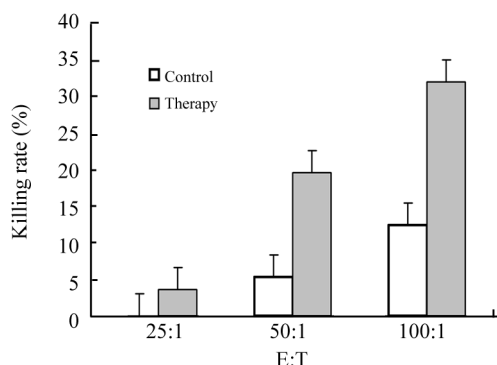


图4 灭活 CTL 治疗后荷瘤小鼠脾淋巴细胞的细胞毒活性

Fig. 4 Cytotoxicity of spleen leukocytes in tumor-bearing mice after inactivated-CTL therapy

成熟 DC 表面高表达某些共刺激分子( CD80、CD86、CD40 等)和分泌一定量细胞因子可以激活 T 淋巴细胞,产生特异性 CTL<sup>[5]</sup>。本实验在体外利用 GM-CSF 和 IL-4 细胞因子培养 CB6F1 小鼠脾 DC,培养第 6 天加入 LLC 抗原和 LPS 促进 DC 成熟,收集培养第 8 天细胞,通过流式细胞术检测 CD80 表达为( 73.4 ± 3.13 )%、CD11c 表达为( 77.4 ± 2.87 )%、CD86 表达为( 58.3 ± 1.79 )%、MHC II 表达为( 65.9 ± 1.88 )%,证实本研究成功培养出 CB6F1 小鼠脾脏成熟 DC,并获得了刺激淋巴细胞产生 CTL 的能力<sup>[5]</sup>。参照传统试验方法,在 IL-2 细胞因子的作用下将负载 LLC 抗原的成熟 DC 与脾淋巴细胞混合培养,诱导出具有杀伤特异性的 CTL<sup>[7-8]</sup>。

本实验在体外通过培养 CB6F1 小鼠脾来源的 CTL,经过 7.5 Gy<sup>60</sup>Co 照射灭活<sup>[9]</sup>,回输给 C57BL/6 荷瘤小鼠,结果证实,灭活的半相合 CTL 治疗组小鼠术后生存期明显延长,治疗组平均生存期( 78.10 ± 16.50 )d,且在输注后 100 d 仍有 2 只老鼠存活;而 PBS 对照组中小鼠在治疗后 59 d 已全部死于肿瘤肺部转移。治疗后 12 d 称肺质量,治疗组小鼠平均肺质量为( 0.27 ± 0.06 )g,相对于 PBS 组的( 0.52 ± 0.07 )g( *P* < 0.05 ),治疗组小鼠肺部转移结节的数量及大小均较少,证实输注的 CTL 可以抑制荷瘤小鼠术后的肿瘤转移,延长小鼠生存期。

肿瘤宿主通常表现为免疫功能低下,对肿瘤处于明显的免疫耐受或免疫无能状态<sup>[10]</sup>。已有文

献<sup>[11]</sup>报道,经过输注同种异基因白细胞可以诱导宿主淋巴细胞大量增殖。免疫效应细胞删除实验表明,灭活异体白细胞输注的抗肿瘤作用既来源于非特异的 NK 细胞,也来自于 CD4<sup>+</sup> 和 CD8<sup>+</sup> T 细胞的参与,并且证明该疗法可诱导宿主自身的抗肿瘤特异性的 CTL。有学者<sup>[12-14]</sup>证实,通过骨髓和外周血培养出成熟 DC 回输到体内可以迅速提高宿主 CD4<sup>+</sup> 和 CD8<sup>+</sup> 的 T 细胞免疫,在大量临床和动物实验中得到了验证<sup>[15-17]</sup>。本实验所探讨灭活半相合细胞输注相当于在体内发生混合淋巴细胞反应,输注的细胞通过直接或间接识别宿主主要组织相容性复合体,导致宿主体内大量 T 细胞被活化,活化的 T 细胞在短时间内释放大量细胞因子,产生“细胞因子风暴”<sup>[18]</sup>,可以打破机体的免疫抑制状态。

从治疗后荷瘤小鼠脾细胞的杀伤活性比较可以看出,灭活 CTL 输注治疗组脾细胞对 LLC 肺癌的杀伤活性随着效靶比的增加杀伤活性明显增强,效靶比为 100:1 时杀伤率可达( 32.7 ± 1.64 )%,相对应 PBS 组的( 12.5 ± 2.20 )% 显著提高,提示输注的 CTL 细胞可以打破荷瘤小鼠的免疫抑制状态,激活小鼠自身免疫反应。

与传统的过继性免疫治疗相比,本实验的特点在于将以下 3 点结合在一起:( 1 )有学者<sup>[19]</sup>采用丝裂霉素 C 灭活的完全不相合小鼠脾淋巴细胞输注治疗 LLC 肺癌,可抑制肿瘤的生长和转移,延长生存期。此方法供者为完全不相合小鼠,会产生较多移植相关并发症,本实验采用 CB6F1 小鼠作为供者,CB6F1-C57BL/6 模拟了临床上父母或兄弟姐妹半相合移植的模型;( 2 )经过体外诱导肿瘤抗原特异性 CTL。已有研究<sup>[20]</sup>证实,肿瘤抗原负载 DC 诱导出的 CTL 对该肿瘤细胞具有很强的杀伤活性并具有高度特异性,与传统的供者淋巴细胞输注相比具有肿瘤杀伤特异性;( 3 )已有研究<sup>[21]</sup>证实,灭活的淋巴细胞仍具有杀伤活性。本试验中通过<sup>60</sup>Co 照射的控制,不仅保留了输注细胞的杀伤活性,且降低了异基因移植引起的相关并发症<sup>[22]</sup>。从两组小鼠的肝、脾、小肠、皮肤的病理检查比较看出,组织出现淋巴细胞浸润,符合 GVHD 表现。但与 PBS 相比,反应不明显,且无因 GVHD 致死的小鼠。因此,该灭活的半相合 CTL 回输整体上避免了传统异基因治疗的供者不足和因移植引起的相关并发症,为以后的临床治疗提供了可行性。

综上所述,灭活的半相合 CTL 输注可以明显延长荷瘤小鼠术后生存期,增强宿主自身对肿瘤的杀伤性,并未引起明显的移植相关并发症,为后续的同

种异基因免疫治疗提供了实验基础。

[ 参考文献 ]

[ 1 ] Mapara MY, Sykes M. Tolerance and cancer: Mechanisms of tumor evasion and strategies for breaking tolerance [ J ]. J Clin Oncol, 2004, 22( 6 ): 1136-1151

[ 2 ] Jemal A, Siegel R, XU J, et al. Cancer statistics [ J ]. CA Cancer J Clin, 2010, 60( 5 ): 277-300.

[ 3 ] O'Reilly MS, Holmgren L, Shing Y, et al. Angiostatin: A novel androgenic inhibitor that mediates the suppression of metastases by a Lewis lung carcinoma [ J ]. Cell, 1994, 79( 2 ): 315-328.

[ 4 ] Demicheli R, Retsky MW, Hrushesky WJ, et al. The effects of surgery on tumor growth: A century of investigations [ J ]. Ann Oncol, 2008, 19( 11 ): 1821-1828.

[ 5 ] Liu Y, Zhang W, Chan T, et al. Engineered fusion hybrid vaccine of IL-4 gene-modified myeloma and relative mature dendritic cells enhances antitumor immunity [ J ]. Leuk Res, 2002, 26( 8 ): 757-763.

[ 6 ] Reid DC. Dendritic cells and immunotherapy for malignant disease [ J ]. Br J Haematol, 2001, 112( 4 ): 874-887.

[ 7 ] Pan K, Zhao JJ, Wang H, et al. Comparative analysis of cytotoxic T lymphocyte response induced by dendritic cells loaded with hepatocellular carcinoma-derived RNA or cell lysate [ J ]. Int J Biol Sci, 2010, 6( 7 ): 639-648.

[ 8 ] Park MH, Yang DH, Kim MH, et al. Alpha-type 1 polarized dendritic cells loaded with apoptotic allogeneic breast cancer cells can induce potent cytotoxic T lymphocytes against breast cancer [ J ]. Cancer Res Treat, 2011, 43( 1 ): 56-66.

[ 9 ] 张立成, 郭坤元, 罗庆良.  $\gamma$  射线照射预防供者淋巴细胞输注相关移植物抗宿主病的实验研究 [ J ]. 中华血液学杂志, 1999, 20( 9 ): 493-495.

[ 10 ] Gilboa E. DC-based cancer vaccines [ J ]. J Clin Invest, 2007, 117( 5 ): 1195-1203.

[ 11 ] Kroczeck RA, Black CD, Barbet J, et al. Induction of IL-2 receptor expression *in vivo*. Response to allogeneic cells [ J ]. Transplantation, 1987, 44( 4 ): 547-553.

[ 12 ] Ali OA, Emerich D, Dranoff G, et al. *In situ* regulation of DC subsets and T cells mediates tumor regression in mice [ J ]. Sci Transl Med, 2009, 1( 8 ): 8ra19

[ 13 ] Lou Y, Wang G, Lizee G, et al. Dendritic cells strongly boost the antitumor activity of adoptively transferred T cells *in vivo* [ J ]. Cancer Res, 2004, 64( 18 ): 6783-6790.

[ 14 ] Mailliard RB, Cai Q, Wesa A, et al. Alpha-type-1 polarized dendritic cells: A novel immunization tool with optimized CTL-inducing activity [ J ]. Cancer Res, 2004, 64( 17 ): 5934-5937.

[ 15 ] Delirezh N, Moazzeni SM, Shokri F, et al. Autologous dendritic cells loaded with apoptotic tumor cells induce T cell-mediated immune responses against breast cancer *in vitro* [ J ]. Cell Immunol, 2009, 257( 1/2 ): 23-31.

[ 16 ] Suresh K, Fraser G, Scheid E, et al. Generation of *in vitro* B-CLL specific HLA class I restricted CTL responses using autologous dendritic cells pulsed with necrotic tumor lysate [ J ]. Leuk Lymphoma, 2006, 47( 2 ): 297-306.

[ 17 ] Luo J, Li J, Chen RL, Nie L, et al. Autologous dendritic cell vaccine for chronic hepatitis B carriers: A pilot, openlabel, clinical trial in human volunteers [ J ]. Vaccine, 2010, 28( 13 ): 2497-2504.

[ 18 ] Clark IA. The advent of the cytokine storm [ J ]. Immunol Cell Biol, 2007, 85( 4 ): 271-273.

[ 19 ] Su X, Guo S, Zhou C, et al. A simple and effective method for cancer immunotherapy by inactivated allogeneic leukocytes infusion [ J ]. Int J Cancer, 2009, 124( 5 ): 1142-1151.

[ 20 ] Li YL, Wu YG, Wang YQ, et al. Bone marrow-derived dendritic cells pulsed with tumor lysates induce anti-tumor immunity against gastric cancer *ex vivo* [ J ]. World J Gastroenterol, 2008, 14( 46 ): 7127-7132.

[ 21 ] Cesano A, Pierson G, Visonneau S, et al. Use of a lethally irradiated major histocompatibility complex nonrestricted cytotoxic T-cell line for effective purging of marrows containing lysis-sensitive or resistant leukemic targets [ J ]. Blood, 1996, 87( 1 ): 393-403.

[ 22 ] McGuirk JP, Seropian S, Howe G, et al. Use of rituximab and irradiated donor-derived lymphocytes to control Epstein-Barr-virus-associated lymphoproliferation in patients undergoing related haplo-identical stem cell transplantation [ J ]. Bone Marrow Transplant, 1999, 24( 11 ): 1253-1258.

[ 收稿日期 ] 2012-02-26 [ 修回日期 ] 2012-04-16

[ 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