

doi: 10.3872/j.issn.1007-385X.2013.02.006

· 基础研究 ·

白细胞介素-27 促进 CIK 细胞的增殖及其对淋巴瘤细胞的杀伤能力

段玉青¹, 王婷婷¹, 贾云沅¹, 王郁¹, 张琰², 单保恩², 刘丽华¹(1. 河北医科大学第四医院生物治疗科, 河北石家庄, 050035; 2. 河北医科大学第四医院 科研中心, 河北石家庄, 050035)

[摘要] **目的:**初步探讨重组人白介素-27(interleukin-27, IL-27)体外对人外周血来源的细胞因子诱导的杀伤(cytokine induced killer, CIK)细胞增殖及其对肿瘤细胞的杀伤能力的影响。**方法:**无菌条件下分离健康志愿者外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMC), 第0天加入 IFN- γ 、CD3 单抗, 之后根据加入不同细胞因子剂量随机分为六组进行 CIK 细胞培养: A 组(IL-2:1 000 U/ml, 正常对照组), B 组(IL-2:1 000 U/ml, IL-27:20 ng/ml), C 组(IL-2:1 000 U/ml, IL-27:10 ng/ml), D 组(IL-2:500 U/ml, IL-27:10 ng/ml), E 组(IL-2:1 000 U/ml, IL-27:5 ng/ml), F 组(IL-2:1 000 U/ml, IL-27:40 ng/ml)。倒置相差显微镜下观察各组 CIK 细胞生长情况, 流式细胞术检测各组 CIK 细胞 CD3⁺CD56⁺T、CD8⁺T 细胞的表达, 自动细胞计数仪计数各组 CIK 细胞增殖情况, MTS 方法测定各组 CIK 细胞对淋巴瘤 K562 细胞的杀伤活性。**结果:**培养第 11 天, D 组与 A、B、C 组比较, CIK 细胞中 CD3⁺CD56⁺T 细胞的表达[(66.57 ± 2.44)% vs (60.03 ± 1.75)%, (55.51 ± 0.03)%, (56.07 ± 0.83)%; 均 $P < 0.05$], CD8⁺T 细胞的表达[(81.67 ± 1.97)% vs (70.30 ± 2.67)%, (74.92 ± 2.47)%, (74.43 ± 1.90)%; 均 $P < 0.05$]都明显增强; D 组 CIK 细胞培养的扩增倍数明显高于 A、B、C 组[(4 811.87 ± 23.07) vs (3 257.73 ± 91.97), (3 790.92 ± 64.49), (4 009.85 ± 43.08)倍; 均 $P < 0.05$]; 效靶比 40:1 时; D 组 CIK 细胞培养第 11 天时杀伤力为(76.71 ± 2.21)%, 显著高于其他各组(均 $P < 0.05$)。**结论:**细胞因子 IL-27 体外可显著提高 CIK 细胞的增殖能力和杀伤能力, 最佳培养周期为 11 d。

[关键词] 白细胞介素-27; 细胞因子诱导的杀伤细胞; 细胞增殖; 杀伤能力; 淋巴瘤; K562 细胞

[中图分类号] R733.4; R730.51

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2014)02-0147-06

Effect of interleukin-27 on the proliferation and cytotoxicity of lymphadenoma cells of cytokine induced killer cells

Duan Yuqing¹, Wang Tingting¹, Jia Yunlong¹, Wang Yu¹, Zhang Cong², Shan Baoen², Liu Lihua¹(1. Department of Bio-therapy, the Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050035, Hebei, China; 2. Scientific Research Centre, the Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050035, Hebei, China)

[Abstract] **Objective:**To investigate the effect of IL-27 on the proliferation and cytotoxicity of cytokine induced killer (CIK) cells derived from human peripheral blood mononuclear cells (PBMC). **Methods:** Monocytes were purified from PBMCs obtained from healthy adults. After being challenged with interferon- γ (IFN- γ) and anti-human CD3, the cells were randomly divided into six groups by different stimulating factors: A group (IL-2:1 000 U/ml), B group (IL-2:1 000 U/ml, IL-27:20 ng/ml), C group (IL-2:1 000 U/ml, IL-27:10 ng/ml), D group (IL-2:500 U/ml, IL-27:10 ng/ml), E group (IL-2:1 000 U/ml, IL-27:5 ng/ml), and F group (IL-2:1000 U/ml, IL-27:40 ng/ml). The morphology of the CIK cells in different groups were evaluated by inverted microscopy. The proportion of CIK cells respectively expressing CD3⁺CD56⁺ and CD8⁺ were analyzed by fluorescence activating cell sorter (FACS) on days 7, 9, 11 and 13 after treatments. The number of attached cells was counted by a computer-based cell counter. The cytotoxicity of CIK

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No. 81201607), 教育部博士点新教师基金资助项目(No. 20101323120004), 河北省自然科学基金资助项目(No. H2012206135)。Projects supported by the National Natural Science Foundation of China(No. 81201607), the Doctoral Foundation of New Teacher from Ministry of Education of China (No. 20101323120004), and the National Natural Science Foundation of Hebei Province(No. H2012206135)

[作者简介] 段玉青(1987-), 女, 河北省邢台市人, 硕士生, 主要从事肿瘤生物治疗的基础与临床研究。E-mail: duanyuqing29@sina.cn

[通信作者] 刘丽华(Liu Lihua, correspondence author), E-mail: Lihualiu567@hotmail.com

cells was determined by MTS test. **Results:** Compared with A, B and C groups, D group had significantly higher proportions of CD3⁺ CD56⁺ CIK cells ([66. 57 ± 2. 44]% vs [60. 03 ± 1. 75]% , [55. 51 ± 0. 03]% , and [56. 07 ± 0. 83]% ; *P* < 0. 05) and CD8⁺ CIK cells ([81. 67 ± 1. 97]% vs [70. 30 ± 2. 67]% , [74. 92 ± 2. 47]% , and [74. 43 ± 1. 90]% ; *P* < 0. 05) , and significantly higher index of cell expansion to culture median (4 811. 87 ± 23. 07 vs 3 257. 73 ± 91. 97 , 3 790. 92 ± 64. 49 , 4 009. 85 ± 43. 08 ; *P* < 0. 05) on day 11 after treatments. The highest effector to target cell ratio on day 11 in D group was 40: 1 with a cytotoxicity rate of (76. 71 ± 2. 21)% which was significantly higher than that in groups A, B, and C. **Conclusion:** *In vitro*, IL-27 is capable of significantly enhancing the proliferation and cytotoxicity of CIK cells in a time-dependent manner and the optimal time of incubation seems to be 11 days.

[**Key words**] interleukin-27; cytokine induced killer cell; proliferation; cytotoxicity; lymphadenoma; K562 cell

[Chin J Cancer Biother, 2014, 21(2): 147-152]

细胞因子诱导的杀伤(cytokine-induced killer, CIK)细胞治疗是目前肿瘤过继性免疫治疗领域最常用的技术,已取得一些治疗效果,但是也存在一些问题,如 CIK 细胞培养需要一定初始淋巴细胞的数量及多种、大量细胞因子共同刺激,同时,CIK 细胞培养周期较长及体外扩增能力有限等已成为制约临床进一步推广的瓶颈。因此,如何扩大 CIK 细胞培养数量,提高其增殖及杀伤能力,同时缩短培养周期,已成为目前 CIK 细胞应用中需要解决的关键技术问题。

白细胞介素-27(interleukin-27, IL-27)是 2002 年由 Pflanz 等^[1]发现并命名的一种新型 IL-6/IL-12 家族成员,作用于 T、B、NK 细胞产生多种免疫调节活性^[2],可单独或协同 IL-12 及 IL-2 促进初始 T 细胞向 Th1 细胞分化并产生 IFN- γ 等细胞因子。IL-27 在肿瘤免疫中通过增强 CTL、NK 细胞杀伤活性及直接抗血管生成等多种作用抑制肿瘤生长及转移^[3-4],且在荷瘤鼠实验中并没有观察到 IL-27 的毒性作用^[5]。基于 IL-27 促进 T 细胞增殖的生物学活性,本课题在常规方案使用 IL-2 的基础上,观察 IL-27 与 IL-2 联合应用于体外 CIK 细胞培养对 CIK 细胞免疫表型、增殖能力、杀伤功能的影响,为肿瘤过继性免疫细胞治疗提供新的实验依据。

1 材料与方法

1.1 细胞株及采血对象

淋巴瘤 K562 细胞由中国医科院肿瘤医院提供,常规培养和传代,经 4% 锥虫蓝染色确定活细胞数占细胞总数的 96% 以上。20 例采血对象均为河北医科大学第四医院健康体检者,其中男性 11 例、女性 9 例,中位年龄 48.6 岁(21 ~ 65 岁)。所有采血对象均签署知情同意书。

1.2 主要试剂和仪器

RhIL-2 购自山东泉港药业有限公司,纤维连接

蛋白、抗 CD3 单克隆抗体、GT-T551 培养基、D-PBS 均购自日本 TaKaRa 公司,IFN- γ 购自德国美天旎生物技术公司,RhIL-27 购自美国 Pepprotech 公司,人淋巴细胞分离液购自天津灏洋生物制品科技有限责任公司,免疫荧光抗体 CD3-FITC、CD56-PE、CD4-FITC、CD8-PE 均购自美国 Beckman Coulter 公司。

CO₂ 培养箱、低温高速离心机购自德国 Heraeus 公司,倒置相差显微镜购自日本尼康公司,流式细胞仪购自美国 Beckmen Coulter 公司,全自动细胞计数仪购自美国 Life technologies 公司。

1.3 PBMC 分离

无菌条件下抗凝采集健康体检者外周血 20 ml,以 Ficoll 密度梯度离心法分离外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMC),置入 CD3 单克隆抗体和纤维连接蛋白包被的细胞培养瓶内,用无血清培养基 GT-T551 调整细胞密度,用于 CIK 细胞体外诱导培养。

1.4 CIK 细胞体外诱导培养

于方法 1.3 中得到的 PBMC,加入 IFN- γ 1 000 U/ml,随后,根据加入不同浓度细胞因子将上述 PBMC 随机分为 6 组: A 组(IL-2: 1 000 U/ml, 正常对照组), B 组(IL-2: 1 000 U/ml, IL-27: 20 ng/ml), C 组(IL-2: 1 000 U/ml, IL-27: 10 ng/ml), D 组(IL-2: 500 U/ml, IL-27: 10 ng/ml), E 组(IL-2: 1 000 U/ml, IL-27: 5 ng/ml), F 组(IL-2: 1 000 U/ml, IL-27: 40 ng/ml)。各组均置于 37 °C、5% CO₂ 培养箱中培养,2 ~ 3 d 视培养情况传代扩增,同时根据上述浓度补加 IL-2 和 IL-27。倒置显微镜下观察各组 CIK 细胞的生长情况和细胞形态学变化。

1.5 流式细胞术检测各组 CIK 细胞的表型

收获培养 7、9、11、13 d 的各组 CIK 细胞,离心,取其上清置于 1.5 ml EP 管中,调整细胞密度至 1 × 10⁶ 个/ml, D-PBS 洗涤 2 次。加入相应的荧光素标记抗体,即 CD3 和 CD56 抗体,在另一管中同时加

入 CD8 和 CD4 抗体,于 4 ℃ 避光反应 30 min,用 D-PBS 洗涤 2 遍,离心,流式细胞术检测各组 CIK 细胞中 CD3⁺CD56⁺T、CD8⁺T 细胞的比例。

1.6 CIK 细胞体外扩增能力检测

收获诱导培养的各組 CIK 细胞,全自动细胞计数仪直接计数各組 CIK 细胞数量,计算各組 CIK 细胞的增殖情况。

1.7 MTS 方法测定各組 CIK 细胞对淋巴瘤 K562 细胞的杀伤活性

采用 96 孔板,用 MTS 方法测定各組 CIK 细胞的杀伤活性。收集各組 CIK 细胞作为效应细胞,对数生长期的淋巴瘤 K562 细胞作为靶细胞,效靶比依次为 10:1、20:1 和 40:1,其中靶细胞为 1×10^5 个/ml,终体积为 200 μ l/孔,效应细胞和靶细胞各加 100 μ l。每组设 3 个复孔,另设单独靶细胞孔和单独效应细胞孔作对照。每孔加入 MTS 试剂 20 μ l,于 37 ℃、5% CO₂ 条件下培养 3 h。用酶标仪检测 490 nm 处各組的光密度(D)值并计算杀伤率。杀

伤率(%) = [1 - (实验组 D 值 - 单独 CIK 组 D 值 / 单独效应细胞组 D 值)] × 100%。

1.8 统计学处理

采用 SPSS13.0 统计软件,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间、组内比较采用单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 IL-27 促进人外周血来源 CIK 细胞生长

体外培养第 3 天时,各組细胞体积变大,部分呈梭形生长,组间未见明显差异。培养第 7 天,B、C、D 组可见大量悬浮细胞,体积变大,呈梭形生长,部分细胞呈集落样生长;E、F 组和 A 组相比,细胞数量较少,部分细胞体积变小(图 1)。培养至第 11 天,B、C、D 组细胞数量明显增多,体积明显增大,多呈集落样悬浮生长;E、F 组细胞缩小、变圆,数量明显减少。(图 2)。

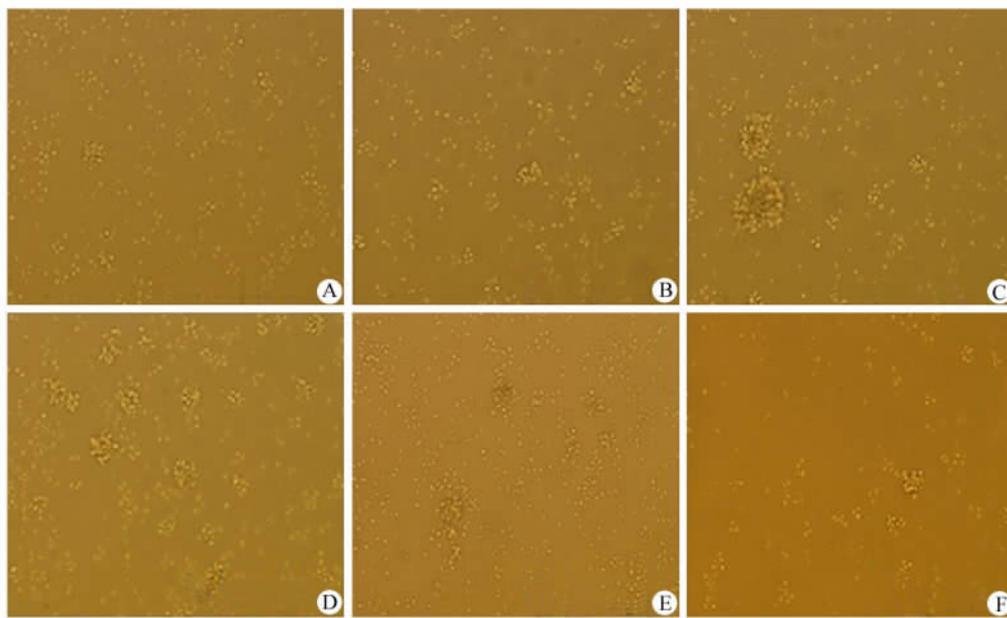


图 1 IL-27 对 PBMC 来源 CIK 细胞(7 d)形态的影响(×200)

Fig. 1 Effect of IL-27 on morphology of CIK cells derived from PBMC(7 d)(×200)

A: A group (control) 1 000 U/ml IL-2; B: B group, 1 000 U/ml IL-2 + 20 ng/ml IL-27;
C: C group, 1 000 U/ml IL-2 + 10 ng/ml IL-27; D: D group, 500 U/ml IL-2 + 10 ng/ml IL-27;
E: E group, 1 000 U/ml IL-2 + 5 ng/ml IL-27; F: F group, 1 000 U/ml IL-2 + 40 ng/ml

2.2 IL-27 可促进 CIK 细胞 CD3⁺CD56⁺T 细胞、CD8⁺T 细胞的表达

选择正常对照组 A 组和 B、C、D 组应用流式细胞仪检测 CD3⁺CD56⁺T 细胞和 CD8⁺T 细胞表达,结果(图 3 和图 4)显示,通过组内比较, A 组 CD3⁺

CD56⁺T、CD8⁺T 细胞于培养第 13 天表达最高,与培养 7、9、11 d 时的差异具有统计学意义($P < 0.05$);B 组 CD3⁺CD56⁺T 细胞于培养 9 d 时表达率明显高于其他培养时间($P < 0.05$),培养 11 d 时 CD8⁺T 细胞表达具有统计学意义($P < 0.05$);C 组

于培养第 11 天时, CD3⁺ CD56⁺ T 细胞表达率与其他培养时间相比有统计学意义 ($P < 0.05$), CD8⁺ T 细胞表达与第 7、9 天相比差异具有统计学意义 ($P < 0.05$), 与第 13 天相比差异没有统计学意义 ($P > 0.05$); D 组培养第 11 天时 CD3⁺ CD56⁺ T 细胞、CD8⁺ T 细胞表达率明显增高 ($P < 0.05$)。通过

组间比较, D 组培养第 11 天时 CD3⁺ CD56⁺ T 细胞、CD8⁺ T 细胞表达率与 A 组正常对照组相比, 具有统计学意义 ($P < 0.05$), 其余各组与 A 组相比均无统计学意义。综上所述, D 组 (IL-2: 500 U/ml, IL-27: 10 ng/ml) CIK 细胞于培养第 11 天时 CD3⁺ CD56⁺ T、CD8⁺ T 细胞阳性表达率最高。

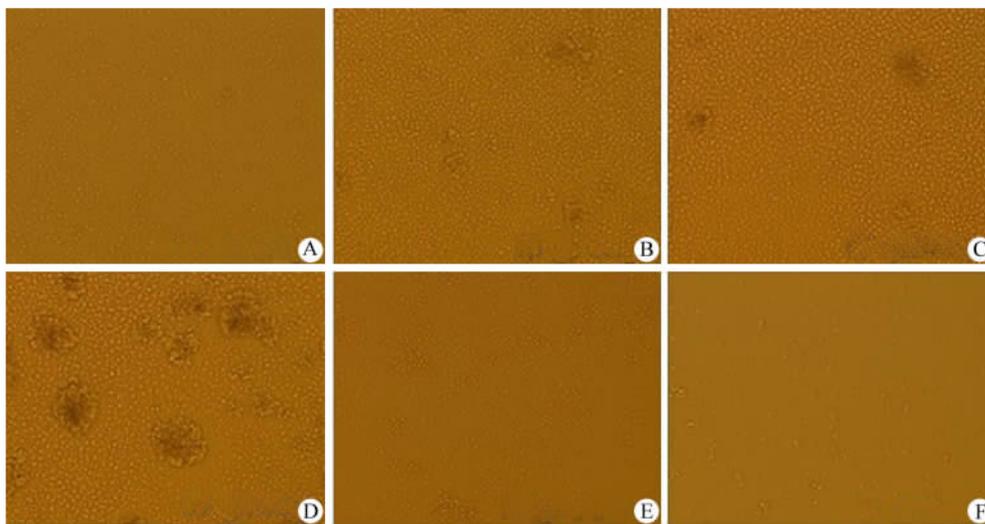


图 2 IL-27 对 PBMC 来源 CIK 细胞(11 d)形态的影响(×200)

Fig. 2 Effect of IL-27 on morphology of CIK cells derived from PBMC(11 d) (×200)

A: A group (control) 1 000 U/ml IL-2; B: B group, 1 000 U/ml IL-2 + 20 ng/ml IL-27;
C: C group, 1 000 U/ml IL-2 + 10 ng/ml IL-27; D: D group, 500 U/ml IL-2 + 10 ng/ml IL-27;
E: E group, 1 000 U/ml IL-2 + 5 ng/ml IL-27; F: F group, 1 000 U/ml IL-2 + 40 ng/ml

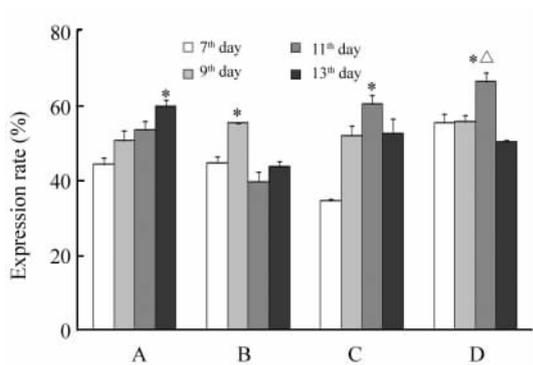


图 3 各组 CIK 细胞在不同培养时期 CD3⁺ CD56⁺ T 细胞表达
Fig. 3 Expressions of CD3⁺ CD56⁺ T cells in CIK cells from different groups on the 7th, 9th, 11th and 13th day

* $P < 0.05$ vs other day between same group,

△ $P < 0.05$ vs A group

2.3 IL-27 显著促进外周血来源 CIK 细胞的增殖

采用全自动细胞计数仪计数各组 CIK 细胞数量, 计算各组 CIK 细胞的增殖变化, 结果显示 (图 5): A 组 CIK 细胞于培养第 13 天达增殖高峰 [(3 257.73 ± 91.97) 倍]。B、C、D 组 CIK 细胞于第 11 天左右达峰值, 扩增倍数分别为 (3 890.92 ± 64.49) 倍、(4 009.85 ± 43.08) 倍和 (4 811.87 ± 23.07) 倍, D 组与 A 组相比具有显著统计学意义 ($P < 0.05$), B、C 组与 A 组相比未见明显差异 ($P > 0.05$)。提示 IL-27 可促进 CIK 细胞增殖, 并协同 IL-2 缩短 CIK 细胞培养时间。

2.4 IL-27 提高 CIK 细胞对 K562 细胞的杀伤能力

为进一步分析 CIK 细胞功能, 收获各组体外诱导培养第 11 天 CIK 细胞, 分别以 10:1、20:1、40:1 靶比检测其杀伤活性, 结果 (图 6) 显示, 随着靶比增高, 各组 CIK 细胞杀伤水平依次升高, 以 D 组水平最高, 分别为 (57.33 ± 0.74)%, (65.27 ± 1.27)% 和 (76.71 ± 0.21)%, 与 A、B、C 组相比, 差异均具有统计学意义 ($P < 0.05$)。提示 IL-27 可提高 CIK 细胞杀伤能力, 且随着效应细胞数量的增

加,CIK 细胞的杀伤能力逐渐增强,进一步证实 CIK 细胞数量是提高治疗效果的关键。

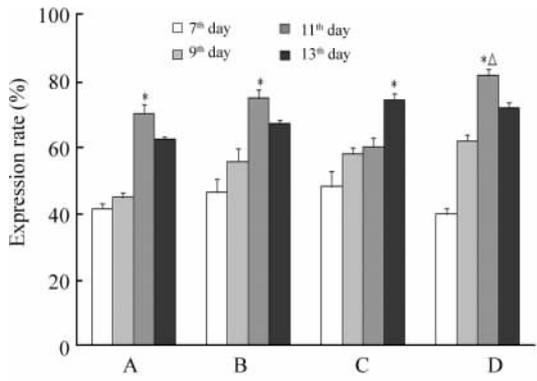


图 4 各组 CIK 细胞在不同培养时期 CD8⁺ T 细胞表达
Fig. 4 The expressions of CD8⁺ T cells in CIK cells from different groups on the 7th, 9th, 11th and 13th day

* $P < 0.05$ vs other day between same group,
[△] $P < 0.05$ vs control group

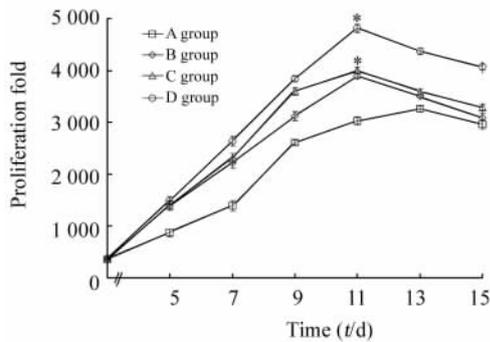


图 5 各组 CIK 细胞不同培养天数增殖曲线

Fig. 5 The proliferation curves of CIK cells in different groups

* $P < 0.05$ vs control (A) group

3 讨论

临床试验^[6]已经证实,CIK 细胞治疗是安全有效的治疗恶性肿瘤的新疗法,它具有直接杀伤肿瘤细胞、促进免疫系统重建和改变肿瘤生长微环境等多种治疗效果。CIK 细胞治疗需要根据患者不同的免疫功能状态选择不同的治疗时机^[7]。Niu 等^[8]报道,CIK 细胞联合化疗可明显延长晚期恶性肿瘤患者无病生存期和总生存期,提高其生活质量。IL-2 可促进 T 细胞的增殖和分化,增强抗原特异性 CTL 和 NK 细胞表达穿孔素和颗粒酶等细胞毒性物质^[9],目前用于 CIK 细胞的常规培养。Salcedo 等^[10]证实,IL-27 联合 IL-2 可通过调节 CTL 和 NK 细胞产生 IFN- γ 、TNF- α 等细胞因子形成强大的抗

肿瘤作用。Wojno 等^[11]报道,IL-27 可通过调节 STAT3 信号通路抑制 IL-2 诱导的 Treg 细胞分化,从而提高其抗肿瘤免疫活性。

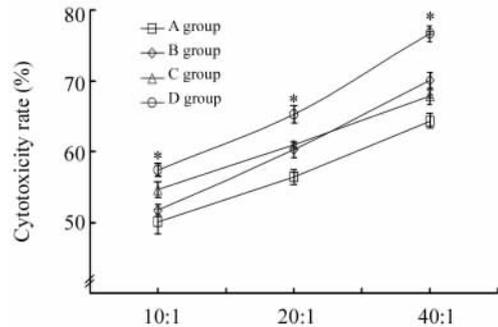


图 6 不同效靶比时各组 CIK 细胞对 K562 细胞杀伤力
Fig. 6 The cytotoxicity of CIK cells from different groups of the different effector target ratio to K562 cells

* $P < 0.05$ vs other group

CIK 细胞的数量和杀伤功能是过继性免疫细胞治疗的关键。在此研究背景下,本课题首先选择不同浓度 IL-27 联合不同浓度 IL-2 培养 CIK 细胞,根据倒置相差显微镜观察的结果,E、F 组细胞数量较少,可能与大剂量 IL-27 抑制 CIK 细胞增殖相关,无法用于后续实验,因而选择 B、C、D 组和正常对照组 A 组,初步探讨细胞因子 IL-27 体外对 CIK 细胞免疫表型表达的影响。通过流式细胞术检测到 IL-27 可促进 CD3⁺ CD56⁺ T、CD8⁺ T 细胞阳性表达率。另外还发现,IL-27 可显著促进 CIK 细胞的增殖,且于 11 d 时达增殖高峰期;但是 CIK 细胞培养时间与增殖能力并非呈正相关,伴随 CIK 细胞培养时间的延长,观察到细胞的形态逐渐皱缩变圆变小,细胞数量明显减少。早期一般认为,CIK 细胞扩增的主要原因是 IL-2 和抗 CD3 单抗共同刺激诱导正常人外周血淋巴细胞增殖。然而抗 CD3 单抗对 CIK 细胞增殖具有双向调节作用,所以在 CIK 细胞诱导培养初期,加入少量 CD3 单抗,其增殖作用时间仅持续 1 ~ 2 d。本实验后期主要是加入不同剂量的细胞因子 IL-27 和 IL-2。有研究^[12]认为,IL-27 在 CD8⁺ T 细胞免疫应答中发挥重要调节作用,CIK 细胞增殖也是主要来源于激活的 CD4⁺ CD8⁺ T 细胞。本实验结果提示,细胞因子 IL-27 协同 IL-2 对 CIK 细胞持续增殖发挥重要作用。

实验进一步检测到培养 11 d 的 D 组 CIK 细胞的杀伤能力达最高水平,证实 IL-27 可提高 CIK

细胞杀伤能力并增强其活性,同时也证实,免疫细胞数量与细胞毒性呈正相关,增加效应细胞的数量会明显提高其对肿瘤细胞的杀伤力。有研究^[13]报道, CIK 细胞的杀伤活性主要依赖于 CD3⁺ CD56⁺ T 淋巴细胞的高表达。扩增活化的 CD3⁺ CD56⁺ T 淋巴细胞不是来源于外周血中的初始 CD3⁺ CD56⁺ T 细胞,而是主要来源于被激活的 CD4⁺ CD8⁺ T 细胞,同时该效应细胞具有强大的杀伤活性^[10]。另有研究^[14]报道, IL-27 可诱导 CD8⁺ T 细胞产生具有肿瘤抗原特异性 CTL 细胞,该细胞为一种特异性 T 细胞,对某些病毒、肿瘤细胞等具有直接杀伤作用。此外, IL-27 通过 STAT1-5 信号通路可诱导 CD8⁺ T 细胞增值,并促进其产生 IFN- γ 等细胞因子^[15]。这些结果表明, IL-27 可促进 CIK 细胞的抗肿瘤活性,可能与 CD3⁺ CD56⁺ T 细胞、CD8⁺ T 细胞高表达密切相关。

总之,本研究结果表明,在体外实验中,小剂量 IL-27 联合 IL-2 可明显提高 CIK 细胞的增殖能力和杀伤力,同时缩短细胞培养周期,降低大剂量细胞因子带来的毒性作用。作为一种新的抗肿瘤细胞因子, IL-27 应用于 CIK 细胞体外培养有利于 CIK 细胞在临床上进一步推广和应用。

[参 考 文 献]

[1] Liu LH, Wang SJ, Shan BE, et al. IL-27-mediated activation of natural killer cells and inflammation produced antitumor effects for human esophageal carcinoma cells [J]. Scand J Immunol, 2008, 68(1): 22-29.

[2] Hall AO, Silver JS, Hunter CA. The Immunobiology of IL-27 [J]. Adv Immunol, 2012, 115(1): 1-44.

[3] Yoshimoto T, Morishima N, Mizoguchi I, et al. Antiproliferative activity of IL-27 on melanoma [J]. J Immunol, 2008, 180(10): 6527-6535.

[4] Murugaiyan G, Saha B. IL-27 in tumor immunity and immunotherapy [J]. Trends Mol Med, 2013, 19(2): 108-116.

[5] Oniki S, Nagai H, Horikawa T, et al. Interleukin-23 and interleukin-27 exert quite different antitumor and vaccine effects on

poorly immunogenic melanoma [J]. Cancer Res, 2006, 15(12): 6395-6404.

[6] Urbanska K, Lanitis E, Poussin M, et al. A universal strategy for adoptive immunotherapy of cancer through use of a novel T-cell antigen receptor [J]. Cancer Res, 2012, 72(1): 1844-1852.

[7] Jin CG, Chen XQ, Li J, et al. Moderating effects and maintenance of lung cancer cellular immune functions by CIK cell therapy [J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2013, 14(6): 3587-3592.

[8] Niu Q, Wang W, Li Y, et al. Cord blood-derived cytokine-induced killer cells biotherapy combined with second-line chemotherapy in the treatment of advanced solid malignancies [J]. Int Immunopharmacol, 2011, 11(4): 449-456.

[9] Salcedo R, Hixon JA, Stauffer JK, et al. Immunologic and therapeutic synergy of IL-27 and IL-2: Enhancement of T cell sensitization, tumor-specific CTL reactivity and complete regression of disseminated neuroblastoma metastases in the liver and bone marrow [J]. J Immunol, 2009, 182(7): 4328-4338.

[10] Oliosio P, Giancola R, Di Riti M, et al. Immunotherapy with cytokine induced killer cells in solid and hematopoietic tumours: A pilot clinical trial [J]. Hematol Oncol, 2009, 27(3): 130-139.

[11] Wojno ED, Hosken N, Stumhofer JS, et al. A role for IL-27 in limiting T regulatory cell populations [J]. J Immunol, 2011, 187(1): 266-273.

[12] Villarino AV, Stumhofer JS, Saris CJ, et al. IL-27 limits IL-2 production during Th1 differentiation [J]. J Immunol, 2006, 176(1): 237-247.

[13] Hibbert L, Pflanz S, De Waal Malefyt R, et al. IL-27 and IFN-alpha signal via Stat1 and Stat3 and induce T-Bet and IL-12R beta2 in naive T cells [J]. J Interferon Cytokine Res, 2003, 23(9): 513-522.

[14] Powell DJ Jr, Dudley ME, Robbins PF, et al. Transition of late-stage effector T cells to CD27⁺ CD28⁺ tumor-reactive effector memory T cells in humans after adoptive cell transfer therapy [J]. Blood, 2005, 105(1): 241-250.

[15] Sekar D, Hahn C, Brüne B, et al. Apoptotic tumor cells induce IL-27 release from human DCs to activate Treg cells that express CD69 and attenuate cytotoxicity [J]. Eur J Immunol, 2012, 42(6): 1585-1598.

[收稿日期] 2013 - 11 - 10 [修回日期] 2014 - 02 - 25
 [本文编辑] 阮芳铭, 黄静怡

