

doi: 10.3872/j.issn.1007-385X.2015.01.016

· 技术方法 ·

PersonGen™ 技术和 CIK 细胞培养方法对 T 细胞扩增与活化效果的比较

周如苑¹,左乔竹^{1△},叶思思²,宗云辉¹,李亚芬¹,陈丹¹,杨林¹(1. 苏州大学唐仲英血液研究中心,江苏苏州 215123; 2. 博生吉医药科技(苏州)有限公司,江苏苏州 215123)

[摘要] **目的:** 探讨基于第一/第二刺激信号原理联合 IL-15 的 T 淋巴细胞扩增技术(PersonGen™)和细胞因子诱导的杀伤(cytokine-induced killer, CIK)细胞培养扩增方案对 T 细胞扩增和活化的效果。**方法:** 分离 8 名健康人外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMC),分别采用 CIK 细胞扩增技术(CIK 组)、PersonGen™ 扩增技术(PersonGen™ 组)及两种技术的联合应用(C + P 组)刺激 PBMC 增殖,应用细胞计数法和流式细胞术比较 T 细胞的扩增效率及 T 细胞亚群比例,并以人白血病 K562 细胞及骨髓瘤 RPMI 8226 细胞为靶细胞检测扩增后 T 细胞的杀伤活性。**结果:** 经过 3 周培养后,CIK、PersonGen™ 和 C + P 3 组 T 细胞扩增倍数分别为(254 ± 56)、(863 ± 218)和(793.3 ± 395)倍。其中 CD3⁺ 细胞所占比例分别为(51.61 ± 14.95)%、(99.21 ± 0.79)%和(96.14 ± 5.16)%; CD3⁺ CD4⁺ 在 CIK 组细胞扩增了近 5 倍,C + P 组与 PersonGen™ 组均扩增近 160 倍;CD3⁺ CD8⁺ 细胞在 CIK 组扩增了近 500 倍,C + P 组和 PersonGen™ 组扩增达千倍;CD3⁺ CD56⁺ NKT 细胞在 CIK 组扩增 700 多倍,其他两组达千倍。杀伤实验结果显示,当 E:T 为 5:1 时,3 组细胞对 K562 杀伤率为(45.53 ± 19.16)%、(36.53 ± 10.6)%和(53.17 ± 5.83)% ,对 RPMI 8226 杀伤率为(41.23 ± 12.5)%、(38.83 ± 4.3)%和(45.73 ± 7.48)%。**结论:** Person Gen™ 扩增技术获得的 T 细胞数量多、纯度高,其中 CD3⁺ CD8⁺ 和 CD3⁺ CD56⁺ NKT 细胞比例较高,其对 K562 和 RPMI 8226 肿瘤细胞的杀伤效果相似于 CIK 细胞扩增方案获得的 T 细胞。

[关键词] T 细胞;体外扩增;CIK 细胞;PersonGen™

[中图分类号] R730.51; R392.1

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2015)01-0089-07

PersonGen™ versus CIK induction techniques in the expansion and activation of human T cells

Zhou Ruyuan¹, Zuo Qiaozhu^{1△}, Ye Sisi², Zong Yunhui¹, Li Yafen¹, Chen Dan¹, Yang Lin¹(1. Soochow University Cyrus Tang Hematology Center, Suzhou 215123, Jiangsu, China; 2. PersonGen Biomedicine (Suzhou) Co. Ltd., Suzhou 215123, Jiangsu, China)

[Abstract] **Objective:** This study aimed to evaluate the difference between the first/second stimulation signal-based T lymphocyte amplification technology (PersonGen™) and cytokine-induced killer (CIK) technology in the expansion and differentiation of T cells in vitro. **Methods:** Peripheral blood mononuclear cells (PBMCs), isolated from 8 healthy volunteers, were expanded using the CIK technology (CIK group), PersonGen™ human T lymphocyte activation technology (PersonGen™ group), and combined techniques of PersonGen™ and CIK method (C + P group), respectively. The proliferative activity and T cell subsets in different groups of cells were assessed by hemocytometer counting and flow cytometry analysis. The cytotoxic activities of the expanded T cells were examined in vitro using myeloma RPMI 8226 and leukemia K562 cells as targets. **Results:** After three weeks of culture, cells in all three groups (CIK, PersonGen™, and C +

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No. 31471283);江苏省科技支撑社会发展项目(No. BE2011682);江苏省高等学校大学生实践创新训练计划项目(No. 201310285101X)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China(No. 31471283), the Science and Technology Support Program of Jiangsu Province(No. BE2011682), and the Jiangsu Student Innovation and Entrepreneurship Training Program(No. 201310285101X).

[作者简介] 周如苑(1995 -),女,江西弋阳人,本科生,E-mail: ruyuan.z@gmail.com;左乔竹(1992 -),女,江苏宿迁人,本科生,E-mail: 1219174928@qq.com。△共同第一作者

[通信作者] 杨林(Yang Lin, corresponding author),E-mail: yanglin@suda.edu.cn

[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/31.1725.R.20150205.1445.009.html

P group) were successfully expanded, the multiples were 254 ± 56 , 863 ± 218 , and 793.3 ± 395 , respectively, and the proportion of $CD3^+$ cells were $(51.61 \pm 14.95)\%$, $(99.21 \pm 0.79)\%$, and $(96.14 \pm 5.16)\%$, respectively. At the end of 3-week culture, $CD3^+CD4^+$ cells were expanded approximately five times in CIK group and 160 times in both C + P and PersonGen™ group groups, $CD3^+CD8^+$ cells were expanded nearly 500 times in CIK group and up to 1 000 times in both PersonGen™ and C + P group groups, and $CD3^+CD56^+$ NKT cells were expanded approximately 700 times and close to 1 000 times in the other two groups. At an effector-to-target cell ratio of 5:1, the cytotoxic activity of the cells expanded by CIK technology, PersonGen™ technology and CIK plus PersonGen™ technologies were $(45.53 \pm 19.16)\%$, $(36.53 \pm 10.6)\%$ and $(53.17 \pm 5.8)\%$, respectively, when K562 cells were used as a target, and were $(41.23 \pm 12.5)\%$, $(38.83 \pm 4.3)\%$ and $(45.73 \pm 7.48)\%$, respectively, when RPMI 8226 cells were used as a target. The expanded T cells in PersonGen™ group had slight higher cytotoxicity against both K562 and RPMI 8226 cells than cells expanded in CIK group ($P > 0.05$). **Conclusion:** Compared to CIK technology, secondary stimulation signal-based PersonGen™ technology is more efficient in the expansion of $CD3^+CD8^+$ cell population from PBMCs, resulting in an enhanced anti-tumor activity.

[**Key words**] T cell; expansion *in vitro*; CIK cell; PersonGen™

[Chin J Cancer Biother, 2015, 22(1): 89-95]

恶性肿瘤是危害人类健康的重大疾病之一。目前肿瘤细胞治疗在临床上有着广泛的应用,如 LAK (lymphokine activated killer) 细胞、CIK (cytokines-induced killer) 细胞等对肿瘤的治疗^[1]。CIK 细胞培养活化过程中通过使用细胞因子如 IL-2、IFN- γ 与 CD3 单克隆抗体对初始 T 细胞进行活化扩增, CD3 单克隆抗体可以与 TCR-CD3 复合体结合,参与 T 细胞活化的第一信号^[2],使得效应细胞中 $CD3^+CD56^+$ NKT 细胞比例升高,对肿瘤细胞具有一定非特异性杀伤活性。

目前的双信号假说认为 T 细胞活化需要两个信号,第一信号由 TCR 识别 APC 表面的抗原肽-MHC 复合物所启动,第二信号由 T 细胞和 APC 间共刺激分子的相互作用所启动。CIK 细胞活化过程只参与了 T 细胞活化第一信号过程。目前有一种基于第一/二刺激信号原理的 T 细胞活化与扩增技术(PersonGen™),该技术试剂盒将 CD3 抗体、CD86 分子、CD137 配体、IL-15 装载于特异设计的生物膜上,以此模拟体内抗原提呈细胞的作用机制。CD3 抗体作用于 T 细胞活化第一信号, CD86 分子、CD137 配体分别能刺激 T 细胞活化第二信号中 CD28、CD137 受体,可以模拟 APC 与 T 细胞之间的共刺激作用。IL-15 是另一种 T 细胞生长因子,具有抑制 T 细胞的凋亡、促进记忆性 $CD8^+$ T 细胞存活、促进 T 细胞分泌 IFN- γ 、IFN- α 等效应^[3,4]。与 CIK 活化技术比较, PersonGen™ 技术能更好地模拟体内抗原刺激 T 细胞双信号通路过程,能获得具有较好增殖潜力与杀瘤活性的 T 细胞。

本实验采用基于第一/二刺激信号原理的 Per-

sonGen™ T 细胞活化扩增试剂盒、CIK 细胞技术以及两种技术的联合,比较三种扩增和活化方案对 T 细胞的扩增效率和活化程度的影响,以此探寻一种有效快捷、扩增后细胞纯度较高且对肿瘤细胞有良好杀伤作用的 T 细胞扩增方法。

1 材料与方法

1.1 细胞株及采血对象

人白血病细胞株 K562 及骨髓瘤细胞株 RPMI 8226 为本实验室保存,前者使用 RPMI 1640 培养基(含 10% 胎牛血清)、后者使用 IMDM 培养基(含 10% 胎牛血清)于 37 °C、5% CO₂ 培养箱中培养,每 2 d 更换新培养基,培养传代至对数生长期后,作为靶细胞用于 CFSE/7-AAD 检测 T 细胞杀伤活性。8 例采血对象均为苏州大学附属医院独墅湖门诊部健康体检志愿者,其中男性 5 例、女性 3 例,中位年龄 21 岁(18 ~ 24 岁)。所有采血对象均签署知情同意书。

1.2 主要试剂

细胞因子 IL-2 购自 ROCHE 公司, IFN- γ 、IL-1 β 购自 Peprotech 公司, PersonGen™ 人 T 淋巴细胞活化与扩增试剂盒购自苏州博生吉医药科技有限公司, CD3 单克隆抗体购自 eBioscience 公司, 流式荧光检测抗体 CD3-FITC、CD56-APC、CD4-APC、CD8-PE-cy5、7-AAD 均购自 BD Biosciences 公司, CFSE 购自 Life Technologies 公司, Ficoll 淋巴细胞分离液购自 GE Healthcare 公司。

1.3 CIK 细胞培养技术扩增 T 细胞

采集健康体检志愿者外周血 10 ml, 采用密度梯

度离心法分离外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMC),以 1×10^6 个/孔接种于 24 孔板中,每孔加常规细胞培养液(RPMI1640 + 10% FBS)至 2 ml,加入 IFN- γ 1000 IU/ml。将培养瓶置于 37 °C、5% CO₂ 培养箱中培养,次日更换新培养液并加入 500 ng/ml anti-CD3、60 U/ml IL-2 和 100 U/ml IL-1 β ,每隔 1 d 将细胞分孔一次,每孔补加培养基至 2 ml,补加 IL-2 至 60 IU/ml,每 7 d 补加 IL-1 β 、anti-CD3。培养 21 d 完成扩增,进行细胞计数及流式术分析。每组设 3 个平行孔。

1.4 PersonGen™培养技术体外扩增 T 细胞

分离得到 PBMC 后,以 1×10^6 个/孔接种于 24 孔板中,每孔添加培养基并加入 IL-2 60 IU/ml,置于 37 °C、5% CO₂ 培养箱中培养。次日加入 50 μ l 生物膜(PersonGen™试剂盒提供)。每隔 1 d 将细胞分孔一次,每孔补加培养基至 2 ml,补加 IL-2 至 60 IU/ml,每 7 d 补加生物膜(剂量同第 1 天),培养 21 d 完成扩增,并进行细胞计数及流式术分析。每组设 3 个平行孔。

1.5 联合 CIK 细胞与 PersonGen™培养技术(C + P)体外扩增 T 细胞

分离得到 PBMC 后,以 1×10^6 个/孔接种于 24 孔板中,每孔添加培养基,加入 IFN- γ 1 000 IU/ml,将培养瓶置于 37 °C、5% CO₂ 培养箱中培养。次日更换新培养液并加入 50 μ l 生物膜、60 U/ml IL-2 和 100 U/ml IL-1 β ,每隔 1 d 将细胞分孔一次,每孔补加培养基至 2 ml、补加 IL-2 至 60 IU/ml,每 7 d 补加生物膜与 IL-1 β ,培养 21 d 完成扩增,并进行细胞计数及流式术分析。每组设 3 个平行孔。

1.6 T 细胞增值倍数测定

用计数板分别于第 0、7、14、21 天对三组细胞进行计数。每样本重复计数 3 次。

1.7 流式细胞术检测各组 T 淋巴细胞的表型

1.7.1 CD3⁺ CD4⁺ CD8⁺ 细胞亚群测定 在第 0 天分离 PBMC 及第 7、14、21 天扩增 T 细胞后,每流式管收集 1×10^6 个细胞,应用 anti-CD3-FITC、anti-CD4-APC、anti-CD8-PE-cy5 抗体孵育,用流式细胞仪 Cellquest 软件对 CD3⁺、CD3⁺ CD4⁺、CD3⁺ CD8⁺ 细胞表型比例进行分析。

1.7.2 CD3⁺ CD56⁺ 细胞亚群的测定 操作步骤同上,收集细胞后使用 anti-CD3-FITC、anti-CD56-APC 抗体进行染色,使用流式细胞仪分析 CD3⁺ CD56⁺ 细胞的比例。

1.8 流式细胞术检测各组 T 淋巴细胞的肿瘤杀伤活性

将染 CFSE 的肿瘤细胞 K562 及 8226 按照 4×10^5 /孔的数目接种至 24 孔板中,按照不同效靶细胞比(5:2、5:1)接种经三种方法扩增获得的 T 细胞,加入常规培养液(RPMI1640 + 10% FBS)至 2 ml 后,于 37 °C、5% CO₂ 培养箱孵育 18 h 后收集细胞,经 7-AAD 染色,用流式细胞仪分析 CFSE/7-AAD 荧光强度,计算不同扩增方法得到的 T 细胞对两种肿瘤细胞的杀伤率。T 细胞对靶细胞的杀伤率(%) = [实验组靶细胞死亡率 - 靶细胞自然死亡率] / [100 - 靶细胞自然死亡率] \times 100%。

1.9 统计学分析

采用 GraphPad Prism 5 统计软件分析,计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *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 T 细胞的形态特征

刚分离出的健康人 PBMC 呈悬浮生长,大小均匀、折光性一致。培养至第 7 天,三组细胞形态没有较大差异。在第 14 天和 21 天,可见经 PersonGen™ 组及 C + P 组培养所得的细胞体积明显较 CIK 组大,且细胞数目较多,并出现许多细胞集落(图 1)。

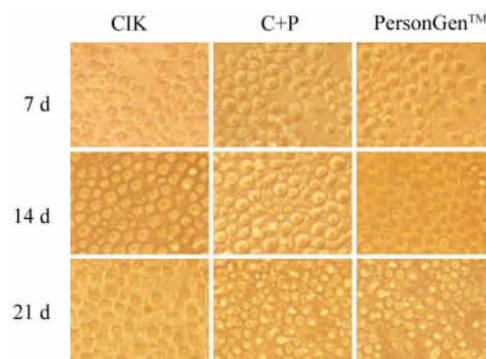


图 1 三种方法扩增的 T 细胞的形态特征($\times 40$)
Fig. 1 Morphology of T cells expanded by three techniques ($\times 40$)

2.2 T 细胞体外扩增的效率

检测结果(图 2)显示,CIK、C + P 和 PersonGen™ 3 组细胞均在第 7 天前开始大量增殖,第 21 天时,C + P 组扩增倍数最高,可是与 PersonGen™ 组的差异无统计学意义($P > 0.05$),C + P 与 PersonGen™ 组 T 细胞扩增倍数较 CIK 组均有显著的增加 [(793 \pm 395)、(863 \pm 218) vs (254 \pm 56)倍, $P < 0.01$]。

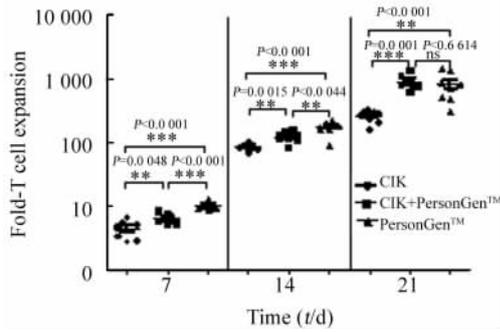


图2 CIK, CIK + PersonGen™及 PersonGen™对 T 细胞扩增效果的比较

Fig. 2 Comparison of T cells expansion after stimulation with CIK, CIK + PersonGen™ or PersonGen™

2.3 不同培养扩增方案对 T 细胞亚群比例的影响

实验结果显示(图3、4),随着时间的推进,3个实验组细胞表型变化趋势相似,均呈现出 CD3⁺ 细胞比例增加, CD3⁺ CD4⁺ 表型比例减少, CD8⁺ 细胞比例增加。第7天出现小部分 CD4⁺ CD8⁺ 双阳性细胞。经14 d 扩增后,3个实验组 CD3⁺ 细胞比例均达到90%以上,培养21 d 后 CD3⁺ 细胞比例分别为(51.61 ± 14.95)%、(99.21 ± 0.79)%和(96.14 ± 5.16)%。21 d 时3个实验组 CD8⁺ 细胞比例均在80% ~ 90%。C + P 与 PersonGen™ 组 CD4⁺ 细胞比例降至4%以下,CIK 组降至1%以下。

扩增14 d, CIK 组 CD3⁺ CD56⁺ 细胞比例较其余两组高,可达30%以上;C + P 组 CD3⁺ CD56⁺ 细胞比例为20%左右,而 PersonGen™ 组为10%左右。

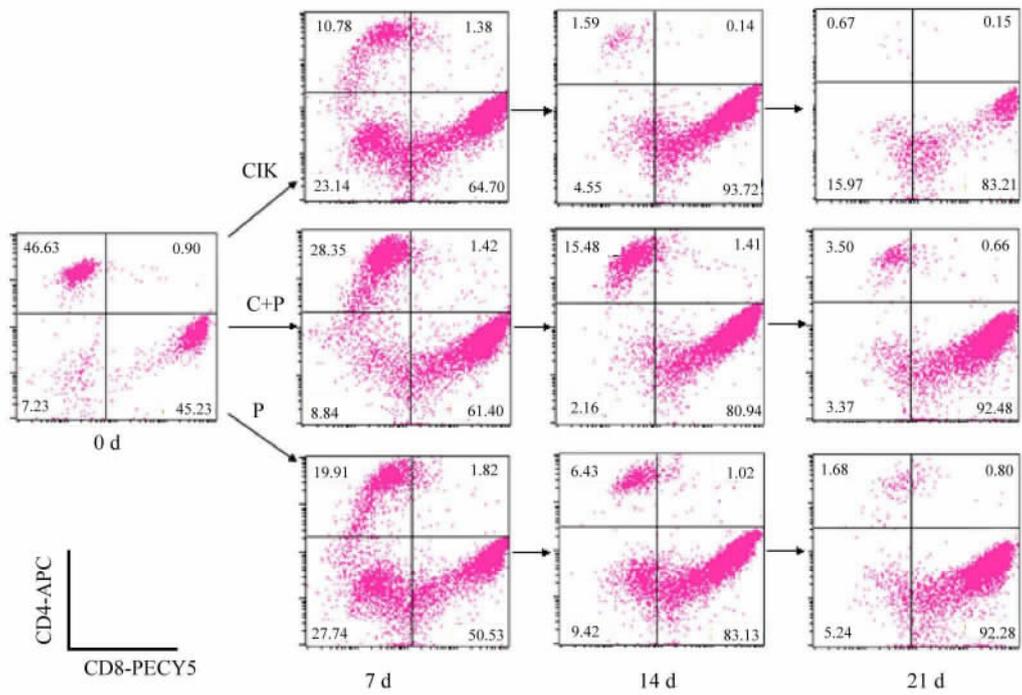


图3 T 细胞 CD4/CD8 表型的流式细胞术分析

Fig. 3 Flow cytometry analysis of CD4/CD8 cells phenotypes

U: CD4⁺ cells; R: CD8⁺ cells

2.4 三种扩增方案下 CD4⁺、CD8⁺、CD56⁺ 细胞的扩增倍数

通过细胞计数和流式分析 CD4⁺、CD8⁺、CD56⁺ 表型细胞所占总细胞比例,计算得 CD4⁺、CD8⁺、CD56⁺ 表型细胞的数目,与第0天的 PBMC 中相应表型的细胞数量作比较,可以计算出不同表型细胞的扩增倍数。实验结果(图5)显示,3个实验组第21天对 CD3⁺ CD4⁺ 细胞扩增倍数分别为

(5.43 ± 3.23)、(168.09 ± 67.42)和(177.21 ± 203.53)倍,C + P 组与 PersonGen™ 组扩增 CD3⁺ CD4⁺ 细胞倍数显著高于 CIK 组(P < 0.01),CIK 组 CD3⁺ CD4⁺ 表型细胞扩增不明显(图5 A);3个实验组第21天对 CD3⁺ CD8⁺ 细胞扩增倍数分别为(487.65 ± 151.55)、(3 809.09 ± 2 158.71)和(3 054.68 ± 2 092.58)倍(图5 B),对 CD3⁺ CD56⁺ 细胞扩增倍数分别为(752.67 ± 616.95)、

($3\ 339.69 \pm 1\ 421.21$)和($2\ 128.09 \pm 1\ 482.64$)倍(图 5 C);实验结果表明,在三种不同处理中,CD3⁺CD8⁺细胞扩增速度均大于 CD3⁺CD4⁺细胞,C + P

联合组及 PersonGen™组对各表型 T 细胞扩增效果均优于 CIK 组。

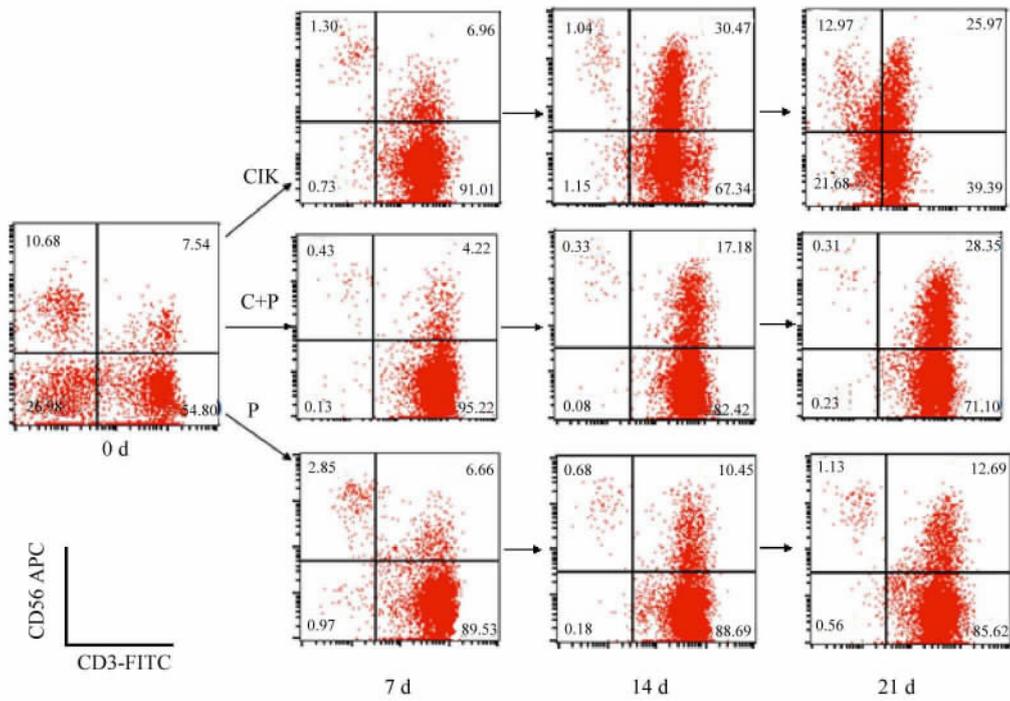


图 4 T 细胞 CD3/CD56 细胞表型分析

Fig. 4 Flow cytometry analysis of CD3/CD56 cells phenotypes

U:CD3⁺ cells;UR:CD3⁺CD56⁺ cells

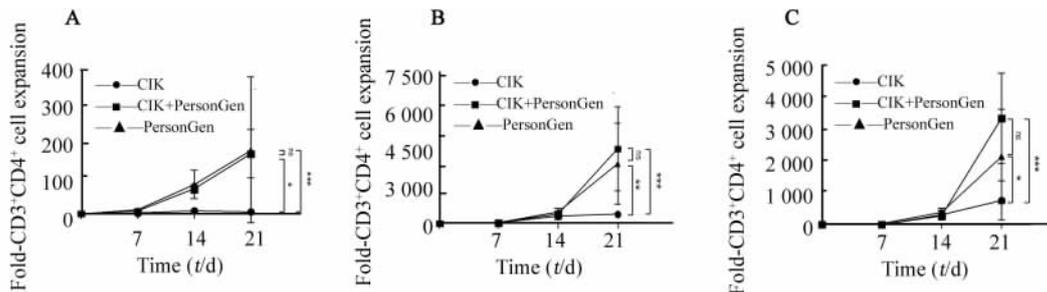


图 5 CD3⁺CD4⁺(A)、CD3⁺CD8⁺(B)、CD3⁺CD56⁺(C)T 细胞的扩增倍数

Fig. 5 Amplification of CD3⁺CD4⁺(A), CD3⁺CD8⁺(B), CD3⁺CD56⁺(C) phenotypes of T cells

2.5 PersonGen™技术扩增的 T 细胞对肿瘤细胞杀伤活性与 CIK 细胞培养技术相似

从 8 名志愿者血液中提取初始 PBMC,经三种不同 T 细胞扩增方法处理 21 d 后进行肿瘤细胞体外杀伤实验。选取人白血病细胞株 K562 与骨髓瘤细胞株 RPMI8226 为靶细胞,选择效应细胞靶细胞比例为 5:2 与 5:1,杀伤时间为 18 h。

实验结果(图 6、7)显示,在效靶比 5:1 时,CIK、

CIK + PersonGen™和 PersonGen™3 组扩增的 T 细胞对 K562 细胞杀伤率分别为(45.53 ± 19.16)%、(36.53 ± 10.6)%和(53.17 ± 5.83)%,对 RPMI 8226 细胞杀伤率分别为(41.23 ± 12.5)%、(38.83 ± 4.3)%和(45.73 ± 7.48)%,其中 Person-Gen™组对 K562 及 RPMI 8226 细胞的杀伤率均略高于 CIK 组,但差异无统计学意义。

当 E:T 升高时,3 组扩增的 T 细胞对 K562 细胞

的杀伤率均有增高,对 RPMI8226 细胞的杀伤率变化不大;3 组杀伤率间差异的比较也无统计学意义。

3 讨论

本研究比较了基于第一/二刺激信号原理的 T 淋巴细胞活化与扩增技术(PersonGen™)与 CIK 细胞培养方法对 T 细胞扩增和活化的效果。CIK 的主要效应机制是通过多种细胞因子先激活 T 淋巴细胞上的 IL-2 受体,使 T 细胞通过下游信号通路产生内源性 IL-2,并通过 CD3 抗体刺激 T 细胞激活的第一信号过程,其效应细胞可能以 CD3-CD56⁺ NK 细胞、CD3⁺CD56⁺ NKT 细胞、抗原特异性 CTL 细胞和 Th1 细胞为主^[5-6]。PersonGen™ 试剂盒中的生物膜偶联了 CD3 抗体和 CD86 分子、CD137 配体及 IL-15 等分子,CD3 抗体参与 T 细胞活化的第一信号过程,通过 CD86 与 T 细胞上 CD28 结合、CD137L 与 CD137 结合,可以激活 T 细胞活化第二信号中的共刺激分子通路。IL-15 作为 T 细胞生长因子在最适因素下能迅速诱导原始 CD8⁺ T 细胞增殖并表达活化标记 CD69,但原始 CD4⁺ T 细胞不表达或很少表达 IL-15/IL-2Rβ,故 IL-15 对 CD4⁺ T 细胞增殖的促进作用较小^[7]。本实验结果显示,加入含有第一/二信号刺激分子的生物膜实验组 T 细胞的扩增效率较好,达到仅加入 CD3 抗体的 CIK 组的 4 倍,其中以联合组扩增效率最高,证明了以参与 T 细胞活化第一/二信号的生物膜作为刺激剂能使源于 PBMC 的 T 细胞具有更高的扩增效率,且加入 IFN-γ、IL-1β、IL-2 等细胞因子对这种效率有促进作用。

从效应细胞的表型来看,第 21 d 时,PersonGen™ 与 C + P 组主要效应细胞以 CD3⁺CD8⁺ T 细胞为主,联合组有 30% 左右 CD3⁺CD56⁺ NKT 细胞,PersonGen™ 组有 10% 左右,两者均只有极少量 CD3⁺CD4⁺ T 细胞,此可能由于 CD3⁺CD4⁺ T 细胞上无 IL-15 受体,无法接受生物膜上 IL-15 刺激信号。CIK 组也以 CD3⁺CD8⁺ 为主,有 20% ~ 30% NKT 细胞、10% 左右 NK 细胞,极少有 CD3⁺CD4⁺ 细胞。可见 IFN-γ、IL-1β、IL-2 等细胞因子对 CD3⁺CD56⁺ NKT 细胞的扩增起一定的促进作用。按照不同表型细胞扩增倍数比较,CIK 法各表型细胞扩增倍数均低于 PersonGen™ 组,C + P 联合组对各表型 T 细胞的扩增倍数均最高,此结果可能由于 T 细胞共刺激信号被激活后使 T 细胞释放大量细胞因子,对 T 细胞扩增起正调控作用。杀伤实验结果表明,加入 PersonGen™ 生物膜的实验组在两种不同效靶比条件下对 K562 及 8226 细胞的杀伤效率均高于 CIK 组,证明经生物膜扩增所得的 T 细胞有更好的抗肿瘤作用。但由于三种方法扩增得 T 细胞均为

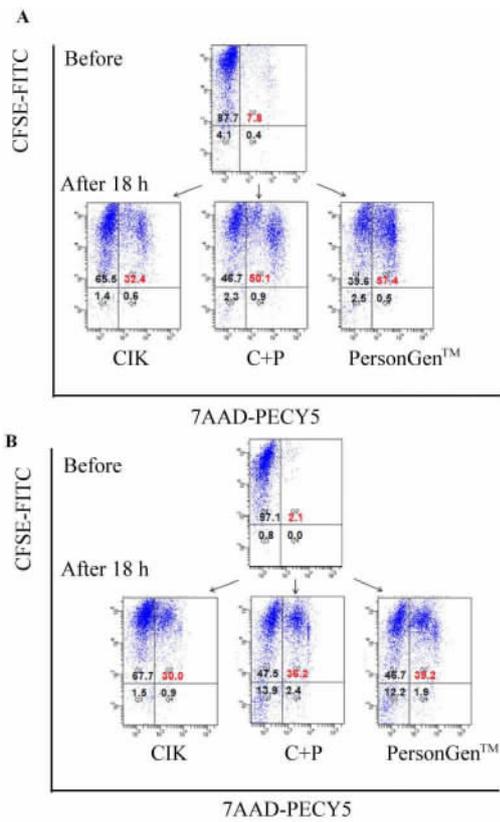


图 6 T 细胞对 K562 细胞(A)和 RPMI 细胞(B) 杀伤活性的流式细胞术检测

Fig. 6 Flow cytometry analysis for cytotoxic activity of T cells against K562(A) and RPMI8226 cells(B) with 5:1 of E: T

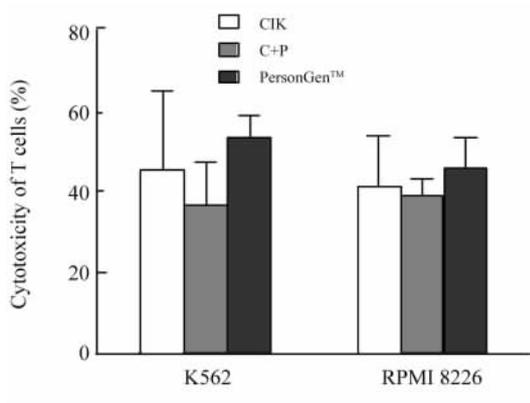


图7 三组扩增的 T 细胞在效靶比为 5:1 时 对 K562 及 RPMI 8226 细胞的杀伤活性

Fig. 7 Cytotoxicity of T cells expanded by three groups targeting K562 cells or RPMI 8226 cells at 5:1 of E: T

多种淋巴细胞亚群的混合体,故暂无法确定是何种亚群 T 细胞对肿瘤细胞起主要杀伤作用,且各型细胞的杀瘤机制也有待于进一步阐明。

本实验初步证实了基于第一/二刺激信号原理的 PersonGen™ T 细胞活化与扩增试剂盒扩增得 T 细胞与 CIK 技术相比具有体外增殖数量多、CD3⁺CD8⁺ 细胞比例高,体外杀瘤活性强等优越性。本实验结果为 PersonGen™ 试剂盒应用于其他肿瘤细胞株体外杀伤、实验肿瘤动物模型治疗操作及进一步的临床应用提供了重要的实验基础。

[参 考 文 献]

- [1] 陈丹. 21 世纪有望消灭癌细胞的肿瘤治疗技术: DC-CIK 细胞免疫治疗 [J]. 科技创业月刊, 2013, 26(12): 222-223.
- [2] 罗志刚, 谢江波. CD3McAb, CD28McAb, CpGODN 刺激 PB-MC 活化的研究 [J]. 南华大学学报: 医学版, 2003, 31(4): 379-382.
- [3] Grabstein KH, Eisenman J, Shanebeck K, et al. Cloning of a T cell growth factor that interacts with the beta chain of the interleukin-2 receptor [J]. Science, 1994, 264(5161): 965-968.
- [4] Huntington ND, Alves NL, Legrand N, et al. IL-15 transpresentation promotes both human T-cell reconstitution and T-cell-dependent antibody responses in vivo [J]. Proc Natl Acad Sci, 2011, 108(15): 6217-6222.
- [5] Schmidt-Wolf IG, Lefterova P, Mehta BA, et al. Phenotypic characterization and identification of effector cells involved in tumor cell recognition of cytokine-induced killer cells [J]. Exp Hematol, 1993, 21(13): 1673-1679.
- [6] 于津浦, 任秀宝, 刘虹, 等. CIK 细胞中 CD4⁺ T 细胞亚群抗肿瘤免疫活性 [J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2003, 10(2): 126-129.
- [7] Kanegane H, Tosato G. Activation of naive and memory T cells by interleukin-15 [J]. Blood, 1996, 88(1): 230-235.
- [8] 郭坤元, 梅家转, 姜振宇, 等. NK 细胞与 K562 细胞之间相互免疫编辑作用及其对 NK 细胞杀伤活性的影响 [J]. 吉林大学学报: 医学版, 2007, 33(4): 630-633.
- [9] Jiang J, Xu N, Wu C, et al. Treatment of advanced gastric cancer by chemotherapy combined with autologous cytokine-induced killer cells [J]. Anti Cancer Res, 2006, 26(3B): 2237-2242.
- [10] Li YX, Kurlander RJ. Comparison of anti-CD3 and anti-CD28-coated beads with soluble anti-CD3 for expanding human T cells: Differing impact on CD8 T cell phenotype and responsiveness to restimulation [J]. J Transl Med, 2010, 8(1): 104-118.
- [11] Kalamasz D, Long SA, Taniguchi R, et al. Optimization of human T-cell expansion ex vivo using magnetic beads conjugated with anti-CD3 and Anti-CD28 antibodies [J]. J Immunol, 2004, 27(5): 405-418.
- [12] Teschner D, Wenzel G, Distler E, et al. In vitro stimulation and expansion of human tumour-reactive CD8⁺ cytotoxic T lymphocytes by anti-CD3/CD28/CD137 magnetic beads [J]. Scand J Immunol, 2011, 74(2): 155-164.
- [13] Garlie NK, LeFever AV, Siebenlist RE, et al. T cells coactivated with immobilized anti-CD3 and anti-CD28 as potential immunotherapy for cancer [J]. J Immunol, 1999, 22(4): 336-345.
- [14] Kim YJ, Brutkiewicz RR, Broxmeyer HE. Role of 4-1BB (CD137) in the functional activation of cord blood CD28 CD8⁺ T cells [J]. Blood, 2002, 100(9): 3253-3260.

[收稿日期] 2014 - 09 - 28

[修回日期] 2014 - 12 - 10

[本文编辑] 阮芳铭

· 荣 誉 榜 ·

曹雪涛院士荣膺中国最牛博导桂冠

日前,艾瑞森中国校友会网最新发布了《2014 年大学研究生教育评价报告》,其中的《2014 年中国大学最牛研究生导师排行榜》显示,本刊主编曹雪涛院士雄居最牛博导的榜首,其他位列前 10 名的依次为第四军医大学樊代明教授、中国科技大学郭光灿教授、武汉大学李德仁教授、上海交通大学贺林教授、西安电子科技大学保铮教授、清华大学李亚栋教授、复旦大学汤钊猷教授、北京协和医学院林东昕教授、中国科学院大学裴钢教授和中国农业大学张大鹏教授。

我国博士研究生培养过程中,“全国百篇优秀博士学位论文”是衡量高校研究生培养质量的重要指标,也是评价研究生导师教学水平和培养质量的重要指标,是我国社会名誉度极高的反映研究生培养质量的国家级奖励。中国科学院院长、第二军医大学医学免疫学国家重点实验室主任、本刊主编曹雪涛院士培养的博士生共有 12 名获评“全国百篇优秀博士学位论文”,遥遥领先于全国其他各位博士生导师,堪称“中国大学最牛研究生导师”。

(本刊编辑部)