

DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2017.02.006

## CD40L<sup>+</sup> 肺癌细胞抗原负载 DC 诱导同源肺癌免疫

田坤<sup>1</sup>, 钱桂生<sup>2</sup>, 李薇<sup>1</sup>, 肖洁<sup>1</sup>, 张定涛<sup>1</sup> (1. 成都军区总医院呼吸科, 四川 成都 610083; 2. 第三军医大学新桥医院呼吸病研究所, 重庆 400037)

**[摘要]** **目的:** 探讨 CD40L<sup>+</sup> 肺癌细胞抗原负载由人外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMC)诱导的 DC 对同源肺癌的免疫增强作用及其机制。**方法:** 常规方法从正常成人外周血中分离 PBMC, 诱导分化成 DC, 以重组载体 pDNA3.1-CD40L<sup>+</sup> 转染 A549 肺癌细胞, 制备已转染肺癌细胞抗原对 DC 进行负载刺激, 通过流式细胞术检测 DC 的 CD83、CD86 及 HLA-DR 分子表达, ELISA 法检测 DC 的 IL-12 分泌水平, 再以 MTT 法检测 DC 对同源 T 淋巴细胞增殖状态以及 A549 肺癌细胞增殖影响, 并与空载转染的 A549 细胞抗原诱导 DC 的相同功能进行对比。**结果:** 将 PBMC 成功诱导分化出成熟的 DC。重组 CD40L 诱导组 DC 的 CD83、CD86 及 HLA-DR 分子表达水平明显高于空载组 [ $4.78 \pm 1.5$  % vs ( $3.38 \pm 1.5$  %)、( $9.79 \pm 5.27$  %) vs ( $5.53 \pm 2.17$  %) 和 ( $11.84 \pm 8.31$  %) vs ( $5.37 \pm 5.48$  %) , 均  $P < 0.05$  ]; IL-12 分泌水平也高于空载组和未转染组 ( $P < 0.05$ )。CD40L<sup>+</sup> DC 可促进 T 淋巴细胞的增殖 ( $P < 0.05$ ), 并导致同源 T 细胞对肺癌 A549 细胞增殖的抑制作用强于对照组、未转染组和空载组 ( $P < 0.05$ )。**结论:** CD40L 转染肺癌细胞抗原诱导成熟的 DC 可以增强同源肺癌细胞的特异免疫能力。

**[关键词]** CD40 配体; 树突状细胞; CD40 配体阳性; 肺癌细胞抗原; 肺癌免疫

**[中图分类号]** R734.2; R730.3

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1007-385X(2017)02-0134-05

## Dendritic cells, pulsed with CD40L<sup>+</sup> lung cancer antigens, induce homologous lung cancer immunity

TIAN Kun<sup>1</sup>, QIAN Guisheng<sup>2</sup>, LI Wei<sup>1</sup>, XIAO Jie<sup>1</sup>, ZHANG Dingtao<sup>1</sup> (1. Department of Respiration, General Hospital of Chengdu Military Command, Chengdu 610083, Sichuan, China; 2. Institute of Respiratory Diseases, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400037, China)

**[Abstract]** **Objective:** To explore the immunological enhancement effect of dendritic cells (DCs) derived from peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) pulsed CD40L<sup>+</sup> lung cancer cell antigen, on homologous lung cancer. **Methods:** PBMCs were isolated from peripheral blood of adults by conventional methods, then induced differentiation into DCs; recombinant CD40L<sup>+</sup> A549 cell antigen was used for DC maturation stimulation. The expressions of CD83, CD86 and HLA-DR in DCs were detected by Flow Cytometry, IL-12 secretion was detected by ELISA; the effects of CD40L<sup>+</sup> lung cancer cell antigen pulsed DCs on proliferation of homologous lymphocyte as well as A549 cells were examined by MTT, in addition, this effect was compared to the effect of DCs that pulsed by empty vector plasmid transfected A549 cell antigen. **Results:** Mature DCs were successfully induced from PBMCs. The expressions of CD83, CD86 and HLA-DR in CD40L<sup>+</sup> A549-pulsed DC group were significantly higher than those in empty group ( $[4.78 \pm 1.5]$  % vs  $[3.38 \pm 1.5]$  %,  $[9.79 \pm 5.27]$  % vs  $[5.53 \pm 2.17]$  % and  $[11.84 \pm 8.31]$  % vs  $[5.37 \pm 5.48]$  %, all  $P < 0.05$  ); and the secretion of IL-12 in CD40L<sup>+</sup> A549-pulsed DC group was also higher than those in empty group and untransfected group ( $P < 0.05$ ). In the mean while, CD40L-pulsed DCs significantly promoted the proliferation of lymphocytes ( $P < 0.05$ ), and its activated homologous T cells had a significantly higher inhibitory effect on A549 cell proliferation ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** DC pulsed by the tumor antigens from the reconstitution CD40L transfected A549 cells could enhance its specific immunity ca-

**[基金项目]** 四川省卫生厅资助项目(No.080005)。Project supported by the Foundation of Health Bureau of Sichuan Province(No.080005)

**[作者简介]** 田坤(1959-),女,博士,主任医师,主要从事肺癌防治的临床与基础研究, E-mail:tiankun195910@126.com

**[通信作者]** 钱桂生(QIAN Guisheng, corresponding author),博士,教授、主任医师,博士生导师,主要从事肺部肿瘤与急性呼吸窘迫综合征的研究, E-mail:qiangs1220@163.com

capacity against homologous lung cancer cells.

[ **Key words** ] CD40L; dendritic cell; positive antigen of CD40L; antigen of lung cancer cell; anti-lung cancer immunity

[ Chin J Cancer Biother, 2017, 24( 2 ): 134-138. DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2017.02.006 ]

鉴于 DC 在免疫反应中可以决定特异细胞毒 T 淋巴细胞的产生、发展及特异免疫能力,因此 DC 已成为抗肿瘤免疫研究的重点之一。有研究<sup>[1-2]</sup>表明,用肿瘤抗原对 DC 进行负载处理,可启动特异抗肿瘤 T 淋巴细胞的产生、扩增并诱导针对肿瘤的特异免疫反应,故将这样的 DC 称之为 DC 疫苗。增强患者 DC 对肿瘤特异性抗原的提呈及共刺激分子的表达,为 T 细胞提供更特异、更强烈的共刺激信号<sup>[3]</sup>,弱化降低 DC 功能的相关因素<sup>[4]</sup>,是 DC 疫苗进一步完善的方向之一。CD40 受体存在于多种免疫细胞,尤其是 APC,其配体 CD40L 与之相互作用激活的 CD40 信号,不仅可增强体液免疫,更重要的促进 APC 特别是 DC 的成熟并强化其特有功能,从而增强 T 效应细胞的细胞免疫。本研究采用转染了 CD40L 的肺癌细胞抗原<sup>[5]</sup>,诱导由人外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMC)诱生 DC 特异性成熟,探索由此种方式诱导成熟 DC 的功能状态及其对同源淋巴细胞功能的影响,为进一步临床研究提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 细胞株、试剂与仪器

pcDNA(+)空载体与 pcDNA3.1(+)-CD40L 重组载体转染的 A549 肺癌细胞株由本课题组<sup>[6]</sup>前期制备,健康成人全血由成都军区总医院输血科提供。流式细胞仪(CYFLOW,德国 PARTEC 公司),酶联免疫测试仪(Multisoam,美国热电公司)。

### 1.2 PBMC 的分离与 DC 的分化诱导

依据文献<sup>[5]</sup>的方法分离 PBMC,按常规方法诱导 DC。将密度  $1 \times 10^8$ /ml 单个核细胞悬液 4 ml 接种培养皿,孵育 2 h,移出悬浮细胞后 D-Hank's 液洗涤平皿 3 次,皿中仍贴壁者为单核细胞,此时加入淋巴细胞培养液<sup>[3]</sup> 3 ml,补充人 IL-4(10 μg/ml)和 GM-CSF(10 μg/ml)工作液各 12 μl,每 2~3 d 半量换液,培养 7 d。

### 1.3 肺癌细胞抗原的制备

分别取未转染、已转染空载(pcDNA3.1)与重组载体(pcDNA3.1-CD40L)质粒转染指数生长期的 A549 细胞,一部分按常规法<sup>[2]</sup>用流式细胞法检测空载与重组载体 CD40L 表达率,实验重复 3 次。另一部分以冻融法进行不同处理的 A549 细胞的抗原制

备,存于 4 °C 冰箱。

### 1.4 DC 特异成熟诱导

取诱导 7 d 未成熟 DC 分为未转染载组、pcDNA3.1(+)-空载组与 pcDNA3.1(+)-CD40L 重组载体组,A549 细胞冻融液分别混合于各组置于 24 孔板培养 72 h,诱导 DC 成熟。

### 1.5 流式细胞术检测 DC 表面分子 CD83、CD86 和 HLA-DR 的表达

采用 24 孔板,取已被空载与重组载体转染的 A549 冻融细胞负载 72 h 的 DC,吹打悬浮,移入 1.5 ml 的 EP 管,室温下  $53 \times g$  离心 5 min,弃上清液,分别加入 FITC 标记抗人 CD83、PE 标记抗人 CD86 和 APC 标记抗人 HLA-DR 抗体 15 μl,混匀、染色,37 °C 水浴 30 min,以 PBS 洗涤 2 次,流式细胞仪分别检测 DC 表面分子 CD83、CD86 和 HLA-DR 的表达率。

### 1.6 ELISA 法检测 DC IL-12 分泌水平

按照人 IL-12 ELISA 试剂盒说明书,取 8 孔酶标板条,加经不同处理 A549 冻融液特异刺激 72 h 的 DC 培养上清液 100 μl/孔,再先后加第一抗体工作液(biotinylated antibody)与链霉亲和素辣根过氧化物酶(streptavidin-HRP),每种试剂加入后按说明于 22 °C 孵育一定时间,终止孵育后均需扣干,加工作液洗板液反复洗涤、扣干,最后加 TMB 100 μl/孔,避光孵育 30 min,迅速加 2 mol/L 的 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 终止反应,于酶标仪 450 nm 波长处检测光密度(D)值。实验重复 3 次。

### 1.7 MTT 法检测 DC 对同源淋巴细胞增殖的影响

成熟刺激培养 72 h 的 DC,调整细胞密度至  $1 \times 10^5$ /ml,离心、弃上清,加入 25 μg/ml 丝裂霉素液,37 °C 孵育 30 min,随后 D-Hank's 液反复洗涤 3 次(抑制 DC 的增殖)。取上述同源混合淋巴细胞于 96 孔培养板( $1 \times 10^5$ /孔),加入不同处理 A549 细胞成熟诱导的 DC( $1 \times 10^3$ /孔)。共同培养 4 d 后,于上述 96 孔培养板加 MTT 工作液 20 μl/孔,继续培养 4 h 后,室温下  $130 \times g$  离心 10 min,弃上清 180 μl/孔,加 DMSO 150 μl/孔,摇育 10 min,于多功能酶标仪检测在 490 nm 波长处的光密度(D)值,随后对 3 组进行单因素方差分析。

### 1.8 MTT 法检测 DC 对 A549 肺癌细胞增殖的影响

按前法取单核细胞贴壁后淋巴细胞悬液,用尼

龙毛法分离 T 淋巴细胞并培养<sup>[2]</sup>。对照组: T + A549; 实验组分为: 未转染 DC + T + A549、空载转染 DC + T + A549 和重组转染 DC + T + A549 组。同时实验组又分为 3 个不同细胞数目亚组(  $3 \times 10^4$ /孔,  $1 \times 10^5$ /孔,  $2 \times 10^5$ /孔) 肺癌 A549 细胞和不同处理 DC 比例分别为 20:1、10:1、3:1。培养 72 h。MTT 实验及检测过程如 1.7。实验重复 3 次。

1.9 统计学处理

采用 SPASS19 统计学软件, 计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示, 2 样本均数比较采用两独立样本 *t* 检验; 三样本均数比较采用单因素方差分析。以  $P < 0.05$  或  $P < 0.01$  表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 成功分化诱导出 DC

PBMC 诱导培养 DC 的结果显示, 经人 IL-4 与 GM-CSF 诱导 7 d 时, 可见未成熟 DC 细胞, 其胞体明显增大, 微上浮, 摇动平皿可见晃动, 细胞周边伸出突起, 其前端可见指状微突。结果表明, 人 IL-4 与 GM-CSF 诱导 PBMC 分化为 DC。

2.2 CD40L<sup>+</sup> 抗原负载 DC 高表达共刺激分子

流式细胞术检测结果显示, 重组载体组 DC 的细胞共刺激分子 CD83、CD86 和 HLA-DR 的表达水平均明显高于空载组(  $4.78 \pm 1.5$  )% vs (  $3.38 \pm 1.5$  )%、(  $9.79 \pm 5.27$  )% vs (  $5.53 \pm 2.17$  )% 和 (  $11.84 \pm 8.31$  )% vs (  $5.37 \pm 5.48$  )%, 均  $P < 0.05$  ]。

2.3 CD40L<sup>+</sup> 抗原负载 DC 的 IL-12 分泌水平较高

ELISA 法检测结果显示, 重组载体诱导的 DC IL-12 分泌量高于空载组和未转染组[ (  $0.14 \pm 0.02$  ) vs (  $0.12 \pm 0.02$  ) 和 (  $0.12 \pm 0.01$  ),  $F = 4.13$ ,  $P < 0.05$  ]。

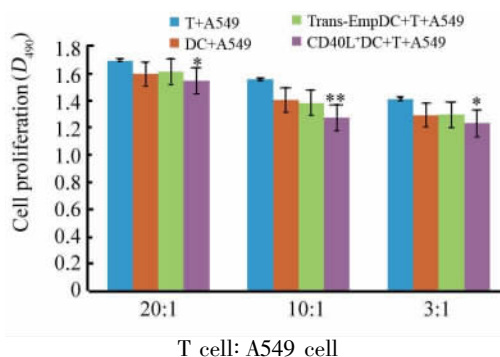
2.4 载体 CD40L<sup>+</sup> 抗原负载 DC 刺激同源 T 细胞增殖

用不同处理的肺癌 A549 冻融细胞对 DC 进行刺激后, 与其同源淋巴细胞共同培养, 以 MTT 法对淋巴细胞增殖状态检测结果显示, 重组转染组诱导的 DC 对同源 T 细胞的增殖刺激作用明显强于未转染组与空载组[ (  $0.74 \pm 0.13$  ) vs (  $0.56 \pm 0.13$  ) 与 (  $0.57 \pm 0.11$  ),  $F = 13.02$ ,  $P < 0.05$  ]。

2.5 CD40L<sup>+</sup> 抗原负载 DC 抑制 A549 细胞增殖

MTT 检测结果( 图 1 )显示, 由肺癌 A549 刺激成熟 DC 存在条件下, 3 种比例( 20:1、10:1 和 3:1 ) 的同源 T 细胞与肺癌 A549 细胞共同培养时, CD40L 重组转染组 DC 存在状态下的 T 细胞与肺癌 A549

细胞亲代共同培养, A549 细胞的增殖显著低于对照组、未转染组与空载组[ T: A549 = 10:1 时, (  $1.27 \pm 0.07$  ) vs (  $1.54 \pm 0.02$  )、(  $1.40 \pm 0.1$  )、(  $1.38 \pm 0.09$  ),  $F = 13.9$ ,  $P < 0.05$  ]。结果提示, CD40L<sup>+</sup> 抗原诱导 DC 能增强同源效应 T 细胞抑制同源肺癌细胞 A549 增殖的能力。



\*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$  vs T + A549, Trans-EmpDC + T + A549 or DC + A549

图 1 不同处理组肺癌抗原诱导 DC 激活同源 T 对肺癌细胞增殖的影响

Fig. 1 The influence of homologous T cells activated by differently pulsed DCs on the proliferation of A549 cells

3 讨论

DC 疫苗引发的特异肿瘤免疫主要通过肿瘤抗原诱导的成熟 DC 启动第一信号, 使幼稚 T 细胞向肿瘤特异 T 细胞发育; DC 表达的 CD80、CD86 与 T CD28 结合触发第二信号, 使 T 细胞向成熟特异效应 T 细胞发展<sup>[1]</sup>; 成熟 DC 分泌 IL-12、IFNs 等因子, 即驱使 Th2 转化为 Th1 及促使记忆 T 细胞产生, 维持并扩展肿瘤特异免疫长期存在<sup>[7]</sup>的第三信号, 又趋化效应 T 细胞迁移肿瘤部位, 进行定点杀伤的第四信号<sup>[8]</sup>。另外, 成熟 DC 与 NK 通过 CD40 通路介导 NK 固有细胞毒作用。由此, 人们采取对 DC 进行基因修饰或摸索、优化 DC 体外诱导培养条件<sup>[7]</sup>, 为激发更强的肿瘤特异免疫。

CD40L 是一种主要表达于激活态 T 细胞表面的糖蛋白配体, 当活化 CD4<sup>+</sup> T 细胞表达的 CD40L 与 DC 表面 CD40 受体结合, 可以促使 DC 成熟, 增强其共刺激分子的表达及各种细胞因子 IL-12<sup>[9]</sup>、IL-6 and IL-8 (MCP-1) 分泌, 下调 IL-10 表达、弱化 Trag 活性, 通过前述 4 个信号系统刺激分子的高水平表达与分泌, 强化特异 T 细胞毒与 NK 细胞固有细胞毒作用<sup>[11-12]</sup>。

鉴于 CD40 信号具有正向免疫调节作用, 本研

究构建 CD40L 表达载体<sup>[6]</sup>,顺利转染于肺癌 A549 细胞后制备 CD40L<sup>+</sup>肺癌细胞抗原将该抗原负载未成熟 DC,目的是使未成熟 DC 在摄取肺癌特异抗原的特异成熟过程中,其 CD40 受体同时接受肺癌细胞表达的 CD40L 触发,激活 CD40 信号,以致特异成熟的 DC 超常表达共刺激分子,并高水平分泌 IL-12 等因子,从而成为既向幼稚 T 提呈足量肺癌抗原,又可给该 T 细胞提供更强大共刺激信号并趋化此 T 细胞向肺癌部位迁移的特异 DC 疫苗。

外周血单个核细胞经体外诱导、特异抗原脉冲发育为成熟特异 APC,是 DC 疫苗制备的基本环节之一。本研究由成人外周血获取单个核细胞,培养中添加人 IL-4 与 GM-CSF 是为了诱导其向 APC 方向发育,选择分化为 DC<sup>[13]</sup>。为稳定实验条件,采用半保留换液方式;3 d 后细胞开始离壁、上浮、变大、胞缘出现数个突起,表现出 DC 细胞的形态特征,7 d 后数量明显增多,提示分化诱导符合要求。

本研究用于 DC 成熟诱导的特异抗原 pcDNA3.1(+)-CD40L 重组载体转染的肺癌 A549 细胞株的冻融产物。冻融前,转染 A549 于培养瓶中良好贴壁细胞需超过 80%,CD40L 表达率达 85% 以上。这样才可保证未成熟 DC 能得到所期待的特异细胞抗原负载,收获所需要的成熟 DC。

本研究将未成熟 DC 与不同处理的冻融的肺癌 A549 细胞共同孵育进行 DC 特异成熟诱导 72 h,分别以流式术与 ELISA 法检测该 DC 成熟状态相关指标:即 DC 表面分子 CD83、CD86 及 HLA-AD 的表达与 IL-12 分泌水平。结果 pcDNA3.1 空载组与 pcDNA3.1-CD40L 重组载体组脉冲后,DC 的上述 3 种表面分子表达率,重组载体组 DC 均高于空载组;IL-12 的分泌水平同样明显高于空载组与未转染诱导组。结果表明:CD40L<sup>+</sup> A549 细胞抗原诱导的 DC 有启动的肺癌 A549 细胞免疫的物质基础。

本研究以 MTT 法检测对同源混合淋巴细胞增殖及同源肺癌细胞增殖的抑制,结果显示,不同处理 DC 与混合淋巴细胞共同培养 3 d,重组载体组淋巴细胞活度明显高于未转染与空载转染者( $P < 0.05$ )。研究结果还显示:在不同处理方式肺癌细胞抗原诱导成熟 DC 存在条件下,3 种不同效靶比的同源 T 细胞与肺癌 A549 细胞共同培养,CD40L 重组载体组细胞活度( $D$  值)均低于对照组、未转染与空载组。3 种 T 细胞与 A549 细胞的比例,在 10:1 时,细胞增殖率最低。

CD40L 重组载体组肺癌细胞冻融物脉冲未成熟 DC,经其诱导成熟 DC 的共刺激分子的表达、IL-

12 的分泌及对同源 T 细胞的增殖及同源肺癌细胞增殖抑制作用均高于未转染组与空载组。结果说明,本研究构建的 CD40L 载体转染肺癌细胞抗原,在体外实验中,能够提高 DC 对相应亲代肺癌细胞的特异抗原的提呈能力,并增强了对相应肺癌细胞特异免疫能力,此结果与相关研究<sup>[14-15]</sup> 结果有相似之处,为后续临床应用研究提供了依据。

消除机体负向免疫抑制策略的临床应用,如靶向免疫负调节细胞或分子,恢复机体免疫系统对肿瘤的监控<sup>[16-17]</sup>,终于使肿瘤免疫在肿瘤治疗中展示了其应有地位,但仍存在不足。若能将正向激活肿瘤特异免疫应答与消除机体免疫抑制的免疫疗法联合应用,肿瘤免疫治疗的临床应用效果能够大大改善,也将是肺癌免疫治疗研究的方向之一。

## [参考文献]

- [1] ANGUILE S, SMITS E L, BRYANT C, et al. Dendritic cells as pharmacological tools for cancer immunotherapies[J]. *Pharmacol Rev*, 2015, 67(4):731-753. DOI: 10.1124/pr.114.009456.
- [2] RIZZO M, ALANIZ L, MAZZOLINI G D. Dendritic cell-based therapeutic cancer vaccines[J]. *Medicina (B Aires)*, 2016, 76(5):307-314.
- [3] LIU H, INNAMARATO P P, KODUMUDI K, et al. Intralesional rose bengal in melanoma elicits tumor immunity via activation of dendritic cells by the release of high mobility group box 1[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(25): 37893-37905. DOI: 10.18632/oncotarget.9247.
- [4] XIU W, MA J, LEI T, et al. Immunosuppressive effect of bladder cancer on function of dendritic cells involving of Jak2/STAT3 pathway [J/OL]. *Oncotarget*, 2016, 2016: [Epub ahead of print] [2016-07-05]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1558/>. DOI: 10.18632/oncotarget.11434.
- [5] 田坤,钱桂生.人 CD40L 在肿瘤细胞株中的表达[J]. *中华肺部疾病杂志*, 2012, 5(6): 497-504. DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-6902.2012.06.003.
- [6] 田坤,钱桂生.人 CD40L 真核表达体系的建立[J]. *第三军医大学学报*, 2007, 29(10): 963-966. DOI:10.3321/j.issn:1000-5404.2007.10.031.
- [7] VASATURO A, DI BLASIO S, PEETERS D G, et al. Clinical implications of co-inhibitory molecule expression in the tumor microenvironment for DC vaccination: a game of stop and go[J/OL]. *Front Immunol*, 2013, 4: 417 [2016-07-05]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3847559/>. DOI: 10.3389/fimmu.2013.00417.
- [8] KALINSKI P, OKADA H. Polarized dendritic cells as cancer vaccines: directing effector-type T cells to tumors[J]. *Semin Immunol*, 2010, 22(3): 173-182. DOI:10.1016/j.smim.2010.03.002.
- [9] PARAMESWARAN S, KHALIL M, AHMED K A, et al. Enhanced protective immunity derived from dendritic cells with phag-

- ocytosis of CD40 ligand transgene-engineered apoptotic tumor cells via increased dendritic cell maturation[ J ]. Tumori, 2015, 101( 6 ): 637-643. DOI:10.5301/tj.5000297.
- [ 10 ] OKWOR I, UZONNA J E. Pathways leading to interleukin-12 production and protective immunity in cutaneous leishmaniasis [ J/OL ]. Cell Immunol, 2016, 309: 32-36[ 2016-07-05 ]. http://dx.doi.org/10.1016/j.cellimm.2016.06.004. DOI: 10.1016/j.cellimm.2016.004.
- [ 11 ] HASSAN G S, STAGG J, MOURAD W, et al. Role of CD154 in cancer pathogenesis and immunotherapy[ J ]. Cancer Treat Rev, 2015,41( 5 ):431-440. DOI:10.1016/j.ctrv.2015.03.007.
- [ 12 ] UEDA N, ZHANG R, TATSUMI M, et al. BCR-ABL-specific CD4<sup>+</sup> T-helper cells promote the priming of antigen-specific cytotoxic T cells via dendritic cells[ J/OL ]. Cell Mol Immunol, 2016, 16:[ Epub ahead of print ][ 2016-07-05 ]. http://www.nature.com/cmi/journal/vaop/ncurrent/full/cmi20167a.html. DOI: 10.1038/cmi.2016.7.
- [ 13 ] ROMANI N, GRUNER S, BRANG D, et al. Proliferating dendritic cell progenitors in human blood[ J ]. J Exp Med, 1994, 180( 1 ): 83-93.
- [ 14 ] YAMASHITA K, HASEGAWA H, FUJITA M, et al. Host CD40 is essential for DCG treatment against metastatic lung cancer[ J/OL ]. Anticancer Res, 2016, 36( 7 ): 3659-3665[ 2016-10-28 ]. http://ar.iijournals.org/content/36/7/3659.full.pdf+html.
- [ 15 ] PARAMESWARAN S, KHALIL M, AHMED K A, et al. Enhanced protective immunity derived from dendritic cells with phagocytosis of CD40 ligand transgene-engineered apoptotic tumor cells via increased dendritic cell maturation[ J ]. Tumori, 2015, 101( 6 ):637-643. DOI: 10.5301/tj.5000297.
- [ 16 ] YAO S, ZHU Y, CHEN L, et al. Advances in targeting cell surface signalling molecules for immune modulation[ J ]. Nat Rev Drug Discov, 2013,12( 2 ): 130-146. DOI:10.1038/nrd3877.
- [ 17 ] 曹雪涛, 龚非力, 何维, 等. 免疫学前沿进展 [ M ]. 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2014: 123-126.
- [ 收稿日期 ] 2016-09-07 [ 修回日期 ] 2016-11-25  
[ 本文编辑 ] 党瑞山

· 读者 · 作者 · 编者 ·

## 凡临床试验都应在中国临床试验注册中心注册

中国临床试验注册中心( Chinese Clinical Trial Register, ChiCTR )为卫生部下属的国家临床试验注册中心,是世界卫生组织国际临床试验注册协作网一级注册机构( World Health Organization International Clinical Trial Registration Platform Primary Register, WHO ICTRP Primary Register ),由卫生部中国循证医学中心和四川大学华西医院等于 2005 年 7 月 25 日正式成立并运行。

全球临床试验注册制度由世界各国政府共同决定由 WHO 领导建立。临床试验注册具有伦理和科学的双重意义,目的是为了尊重和珍惜所有试验参与者的贡献,他们的贡献用于改善全社会的医疗保健,因此,任何临床试验都与公众利益相关。公开临床试验的信息,并将其置于公众监督之下是试验研究者的义务和道德责任。临床试验注册不仅能确保追溯每个临床试验的结果,公开在研试验或试验结果信息还有助于减少不必要的重复研究。

ChiCTR 的宗旨是联合中国和全球的临床医师、临床流行病学家、统计学家、流行病学家和医疗卫生管理者,严格科学地管理中国临床试验信息,提高其质量,为广大医务工作者、医疗卫生服务消费者和政府卫生政策制定者提供可靠的临床试验证据,让医疗卫生资源更好地服务于中国人民和全人类的健康事业。

所有在人体实施的试验均属于临床试验,都应该先注册后实施。凡已注册临床试验都会被授予 WHO ICTRP 全球统一的唯一注册号。

我国众多医学期刊已和中国临床试验注册中心共同建立了临床试验报告发表机制,正在分步实施优先发表、直到只发表具有全球性唯一注册号的临床试验报告。

ChiCTR 接受中国地区及全球的临床试验注册申请,还接受获得 WHO ICTRP 认证的二级注册机构输送的注册资料,并向 WHO ICTRP 中央数据库输送注册信息供全球检索。除注册临床试验外,ChiCTR 以卫生部中国循证医学中心、循证医学教育部网上合作研究中心、中国 Cochrane 中心、英国 Cochrane 中心、四川大学华西医院国际临床流行病学网华西资源与培训中心为人才和技术支持平台,负责指导临床试验设计、中心随机、论文写作、教育培训,推动提高我国临床试验的质量。

通过 ChiCTR 检索入口网址 [www.chictr.org](http://www.chictr.org), 公众可方便地查询已注册临床试验信息,并与 WHO 全球检索入口链接,可方便地查询全球已注册临床试验。

( 本刊编辑部 )