

黄芪多糖诱导成熟的树突状细胞肿瘤疫苗 体外抗肿瘤作用的实验研究

荆雪宁^{1,2} 邱波³ 王金凤¹ 武永刚¹ 武继彪² 陈丹丹¹

摘要 **目的** 探讨经黄芪多糖(astragalus polysacharin, APS)诱导成熟的树突状细胞(dendritic cell, DC)肿瘤疫苗体外抗肿瘤作用及其机制。**方法** 分离人外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMC),制备 DC 细胞,加入营养液体外诱导为未成熟的 DC 细胞,培养第 5 天,黄芪多糖组加入终浓度为 100 $\mu\text{g/mL}$ 的黄芪多糖,细胞因子组加入终浓度为 20 ng/mL 重组人肿瘤坏死因子(rhTNF)- α 诱导 DC 成熟,观察树突状细胞形态及表型变化;成熟 DC 以 SGC-7901 肿瘤抗原致敏,与同种异体 T 细胞共培养,采用 MTT 法检测 T 淋巴细胞增殖功能,ELISA 法检测共培养上清 IL-12、IFN- γ 水平;经 DC 激活的细胞毒性 T 淋巴细胞(cytotoxic lymphocyte, CTL)细胞与 SGC-7901 肿瘤细胞共培养,采用 LDH 释放法检测 CTL 对靶细胞特异性杀伤能力。**结果** 黄芪多糖诱导的 DC 经形态学观察和表型鉴定,符合成熟 DC 的特征。黄芪多糖诱导成熟的 DC 能刺激同种异体 T 淋巴细胞增殖, T 细胞增殖指数随刺激细胞与效应细胞比值的增加而增加($P < 0.05$); DC 与 T 细胞共培养上清 IL-12、IFN- γ 的水平显著增加且呈时间依赖性($P < 0.05$);经致敏 DC 激活的 CTL 能显著杀伤肿瘤细胞,随着效靶比的增加,杀伤作用增强。**结论** 黄芪多糖可在体外诱导 DC 成熟,并促进其抗原递呈能力,有效活化 CTL,增强机体抗肿瘤功能。

关键词 黄芪多糖;树突状细胞;抗肿瘤;T 细胞增殖;细胞因子

In vitro Anti-tumor Effect of Human Dendritic Cells Vaccine Induced by Astragalus Polysacharin: an Experimental Study JING Xue-ning^{1,2}, QIU Bo³, WANG Jin-feng¹, WU Yong-gang¹, WU Ji-biao², and CHEN Dan-dan¹ 1 Department of Immunology, Shandong High Training School of Traditional Chinese Medicine, Shandong (264199), China; 2 College of Basic Medicine, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan (250355), China; 3 Department of Gastroenterology, Yantai Laiyang Central Hospital, Shandong (265200), China

ABSTRACT **Objective** To explore the *in vitro* anti-tumor effect and mechanism of dendritic cell (DC) tumor vaccine induced by astragalus polysacharin (APS). **Methods** Peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) isolated from human peripheral blood. DCs obtained from human peripheral blood were cultivated and added with culture solution for *in vitro* inducing them to immature DCs. On the 5th day of culture, 100 $\mu\text{g/mL}$ (as the final concentration) APS was added to cells in the APS group. DCs were induced to mature in the cytokine groups by adding 20 ng/mL rhTNF- α (as the final concentration). Changes of morphology and phenotype of DCs were observed. Mature DCs were sensitized with tumor antigen SGC-7901 and co-cultured with allogeneic T cells. The proliferative function of T lymphocytes was detected by MTT assay. Levels of IL-12 and IFN- γ in co-cultured supernatant were detected by ELISA. Cytotoxic lymphocytes (CTL) activated by DC were co-cultured with tumor cell SGC-7901. The specific killing capacity of CTL to target cells was detected by LDH release assay. **Results** The morphological observation and phenotypic identification of APS induced DCs were in accordance with the characteristics of ma-

基金项目:山东省高等学校科技计划项目(No. J09LF54)

作者单位:1.山东中医药高等专科学校免疫与病理教研室(山东 264199);2.山东中医药大学基础医学院(济南 250355);3.山东烟台市莱阳中心医院消化内科(山东 265200)

通讯作者:荆雪宁, Tel: 0535-2765118, E-mail: Jingxuening@163.com

DOI: 10.7661/CJIM.2014.09.1103

ture DCs. APS induced mature DCs could stimulate the proliferation of allogeneic T lymphocytes. The proliferation index of T cells increased with increased ratio of stimulator cells to effector cells ($P < 0.05$). Levels of IL-12 and IFN- γ in co-culture supernatant significantly increased in a time-dependent manner ($P < 0.05$). CTL cells activated by sensitization of DCs could significantly kill tumor cells, and the killing effect increased along with increased effector-to-target ratio. Conclusion APS could *in vitro* induce DCs to mature, promote its antigen-presenting capacity, effectively activate CTLs, and enhance anti-tumor function of the organism.

KEYWORDS astragalus polysacharin; dendritic cell; anti-tumor; T cell proliferation; cytokine

树突状细胞(dendritic cell, DC)是迄今发现的功能最强大的专职抗原呈递细胞(antigen presenting cell, APC),捕获抗原后可有效递呈可溶性肿瘤抗原,激活静息 T 细胞,在特异性抗肿瘤细胞方面发挥重要的作用^[1,2]。肿瘤组织及外周 DC 数量减少及功能缺陷均可导致 DC 不能有效递呈肿瘤抗原,激活 T 淋巴细胞、诱导抗肿瘤免疫反应,促使肿瘤发生浸润、转移^[3]。基于 DC 具有诱导初始免疫应答、增强机体特异性抗肿瘤免疫反应的能力,选择 DC 作为肿瘤免疫治疗的载体,制备 DC 肿瘤疫苗被认为是最具潜能的肿瘤免疫治疗手段之一^[4]。黄芪多糖(astragalus polysacharin, APS)是黄芪的主要活性成分之一,其抗肿瘤和免疫调节作用已在体内外实验中得到证实^[5,6]。本研究在预实验中曾观察 50、100、200 $\mu\text{g/mL}$ 3 个不同剂量的黄芪多糖对 DC 的诱导作用,发现 100 $\mu\text{g/mL}$ 浓度的黄芪多糖诱导的 DC 其形态和表型与肿瘤坏死因子(TNF)- α 诱导的 DC 非常一致,但其功能尚不明确。本实验采用 100 $\mu\text{g/mL}$ 黄芪多糖代替 TNF- α 诱导人外周血来源的未成熟 DC,观察其对 DC 诱导成熟的情况,体外观察经黄芪多糖诱导成熟的 DC 其提呈抗原、活化 T 细胞的能力及经其活化的细胞毒性 T 淋巴细胞(cytotoxic lymphocyte, CTL)对肿瘤细胞杀伤活性的影响。

材料与方法

1 细胞系与人外周血来源 人胃癌细胞株 SGC-7901 购自南京凯基生物科技发展有限公司,用含 10% 小牛血清的 RPMI-1640 培养基常规培养。人外周血采自健康献血者。

2 药物、试剂与主要仪器 黄芪多糖购自于天津赛诺制药有限公司,纯度 $> 98\%$ (生产批号:120102)。RPMI-1640 购自 GIBCO 公司(生产批号:20120611),小牛血清购自杭州四季青生物制品有限公司(生产批号:20120314),胎牛血清(FCS)购自 Hyclone 公司(生产批号:NVM 0344),人淋巴细胞分

离液购自中国医学科学院生物工程研究所(生产批号:LTS1077),Hanks 液购于南京凯基生物科技发展有限公司(生产批号:20120312),MTT 购自 Sigma 公司,DMSO 购自北京亚太精细化工公司。重组人粒细胞巨噬细胞集落刺激因子(rhGM-CSF)、rhIL-4、rhTNF- α 均购自 PeproTech 公司,IL-12、IFN- γ ELISA 试剂盒购自 RayBiotech 公司(生产批号:EL119334、EL119309),LDH 试剂盒购自上海酶联生物科技有限公司。3K-30 低温冷冻离心机(Sigma 公司),IX51 + DP72 倒置荧光显微镜(Olympus 公司),Multiscan MK-3 多功能酶标仪(Finland Leibo 公司),TU-1810 紫外分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司),SW-CJ-2FD 净化工作台(苏州净化设备厂)。

3 DC 的体外培养及诱导

3.1 人外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMC)的分离 采集正常人静脉外周血,采用 10 ~ 50 U/mL 肝素钠抗凝,加入等量 Hanks 液稀释血液。按照稀释血液:淋巴细胞分离液 2:1 的比例将稀释血液加入淋巴细胞分离液上,保持界面清晰。室温水平以 2 000 r/min 离心 20 min。轻轻吸取上、中层界面处白色云雾层狭窄带,用 Hanks 液洗涤细胞 3 次,第 1 次 2 000 r/min,10 min,第 2、3 次均为 1 500 r/min,10 min,分离获得 PBMC。

3.2 DC 的体外诱导及分组 参照文献[7],用含 10% FCS 的 RPMI 1640 培养液调节细胞浓度为 $2 \times 10^6/\text{mL}$ 。将调好的单核细胞加入 6 孔板,每孔加 2 mL,37 $^{\circ}\text{C}$,5% CO_2 培养箱培养。4 h 后用吸管轻轻吸出悬浮细胞,留取贴壁细胞即为单核细胞。向各孔细胞加入含 rhGM-CSF (100 ng/mL)、rhIL-4 (100 ng/mL)、10% FCS 的 RPMI-1640 培养液 2 mL,继续培养。第 2、4 天行半量换液,诱导成未成熟 DC。培养第 5 天,黄芪多糖组加入黄芪多糖(终浓度 100 $\mu\text{g/mL}$),细胞因子组加 rhTNF- α (终浓度 20 ng/mL)作为阳性对照。

4 DC 的形态学观察和表型鉴定

4.1 形态学观察 于倒置显微镜连续下观察细胞形态,并拍照记录。

4.2 DC 表型鉴定 收集培养第 7 天的各组细胞,调整细胞浓度为 $1 \times 10^6/\text{mL}$,向细胞中加入 FITC 标记的 CD80 和 PE 标记的 CD86 抗体,终浓度为 $5 \mu\text{g}/\text{mL}$ 。 4°C 避光保存 30 min。用 PBS 洗涤两次,采用流式细胞仪进行检测。

5 负载 SGC-7901 肿瘤抗原的 DC 制备 SGC-7901 细胞常规培养。参考文献[8,9],收集对数生长期 SGC-7901 细胞,调整细胞浓度为 $1 \times 10^8/\text{mL}$,液氮反复冻融 4 次,制备成肿瘤完全抗原。各组 DC 培养的第 8 天,向培养体系加入 SGC-7901 肿瘤抗原 0.2 mL,DC 与肿瘤抗原的比例为 1:20 (抗原量按冻融前肿瘤细胞的量计)。第 9 天收集细胞,获得负载肿瘤抗原的 DC 疫苗,即致敏 DC。

6 T 淋巴细胞增殖实验 采集另一健康人外周血,分离 PBMC,用尼龙毛柱分离法获得 T 细胞,将细胞浓度调至 1×10^5 个/mL。致敏的 DC 计数,调整细胞浓度为 1×10^3 、 1×10^4 、 1×10^5 个/mL。参考文献[7],向 96 孔板加入致敏 DC 和 T 细胞,100 $\mu\text{L}/\text{孔}$,使刺激细胞与反应细胞比分别为 1:100、1:10、1:1,每组设 5 个复孔,并设刺激细胞对照孔(只加致敏 DC 100 $\mu\text{L}/\text{孔}$)和反应细胞对照孔(只加 T 细胞 100 $\mu\text{L}/\text{孔}$)。96 孔板置 5% CO_2 , 37°C 培养箱培养 96 h。终止培养前 6 h 向每孔加入 10 μL MTT(5 mg/mL),继续培养 6 h 后,以 2 000 r/min,离心 10 min。弃上清液,加入二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO) 150 $\mu\text{L}/\text{孔}$ 。用酶标仪测定 A_{570} 各孔 OD 值,并计算细胞增殖指数,公式如下:细胞增殖指数 = (实验组 OD 值 - 反应细胞对照组 OD 值 - 刺激细胞对照组 OD 值)/反应细胞对照组 OD 值。

7 致敏 DC 与 T 细胞共培养上清 IL-12、IFN- γ 的检测 DC 与 T 细胞按 1:10 比例共同培养,于第 5 天和第 7 天分别收集培养上清,用 ELISA 试剂盒检测 IL-12、IFN- γ 含量,操作按照试剂盒说明书进行。

8 采用 LDH 释放法检测致敏 DC 激活的 CTL 对 SGC-7901 细胞的杀伤能力 将各组致敏 DC 与 T 细胞按 1:10 比例共同培养,5 天后收集悬浮细胞,进行细胞计数,调节细胞浓度至 1×10^6 个/mL,为 CTL 细胞悬液。取对数生长期 SGC-7901 细胞,调整细胞浓度分别为 1×10^5 、 5×10^4 、 2×10^4 个/mL。取 V 形

底的 96 孔板,加入 CTL 细胞和 SGC-7901 细胞各 100 μL ,使其效靶比分别为 10:1、20:1、50:1,并设效应细胞自然释放组、靶细胞自然释放组、靶细胞最大释放孔、培养基背景孔。96 板置于 5% CO_2 、 37°C 培养箱培养 4 h 后,离心 10 min,2 500 r/min。从各孔取出 50 μL 上清移入新的圆形底 96 孔板对应孔中,每孔加入反应底物 50 μL ,室温避光放置 30 min 后,加入终止液 50 $\mu\text{L}/\text{孔}$ 。用酶标仪测定各孔在波长 490 nm 的吸光值,并计算杀伤率。公式如下:杀伤率(%) = (实验组 OD 值 - 效应细胞自然释放 OD 值 - 靶细胞自然释放 OD 值)/(靶细胞最大释放 OD 值 - 靶细胞自然释放 OD 值) $\times 100\%$ 。

9 统计学方法 采用 SPSS 13.0 统计学软件进行数据分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较用 SNK- q 检验,率的比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

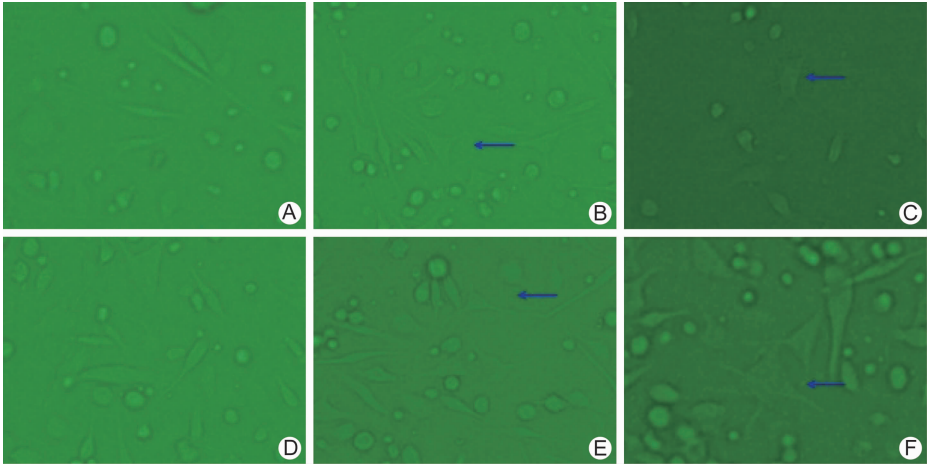
结 果

1 两组 DC 的形态学观察(图 1) 分离的 PBMC 形态规则呈球形,透光度佳,细胞膜表面光滑。加入细胞因子后 2~3 天,细胞呈半贴壁生长,部分细胞悬浮,体积增大,形状不规则似星形、梭形,有少量突起。第 4 天可观察到细胞突起增多,体积继续增大,形状不规则,视野下可见大量细胞集落。培养至第 5 天,细胞变圆,有大量突起,可见不太规则的树突状外型。加入 TNF- α 与黄芪多糖后,悬浮细胞增多,胞浆透明,胞体增大,有毛刺样突起,呈典型的 DC 形态。

2 DC 表型鉴定 细胞因子组、黄芪多糖组 DC 培养第 7 天细胞表面 CD80 表达率分别为 24.19%、61.60%; CD86 表达率分别为 76.32%、88.49%; CD80、CD86 双阳性细胞分别为 24.11%、59.53%,经黄芪多糖诱导成熟的 DC 其表面 CD80、CD86 表达率高于细胞因子组($P < 0.05$),为典型的成熟 DC 表型特征。

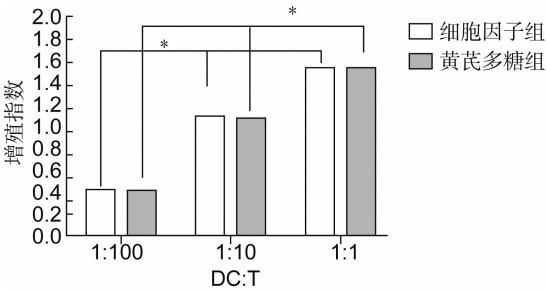
3 两组 T 细胞增殖指数比较(图 2) 两组 T 细胞增殖指数比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。两组 T 细胞增殖指数随着刺激细胞与效应细胞比值的增加而增加($P < 0.05$)。

4 致敏 DC 与 T 细胞共培养上清 IL-12、IFN- γ 含量测定(表 1) 在培养的第 5、7 天,两组培养上清 IL-12、IFN- γ 水平比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。第 7 天两组 IL-12、IFN- γ 的含量明显高于第 5 天($P < 0.05$)。



注:A~C为细胞因子组;D~F为黄芪多糖组;A、D为第3天DC;B、E为第5天DC;C、F为第7天DC;箭头所指为不同时间典型的DC细胞

图1 两组DC形态观察(×200)



注:不同DC:T比例下组内比较,**P* < 0.01

图2 两组不同DC:T比例下T细胞增殖指数比较(*n* = 3)

表1 致敏DC与T细胞共培养上清IL-12、IFN-γ含量比较(pg/mL, $\bar{x} \pm s$)

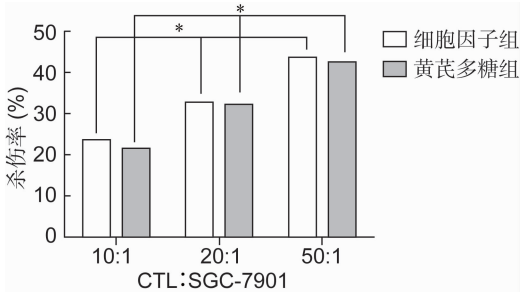
组别	<i>n</i>	IL-12		IFN-γ	
		第5天	第7天	第5天	第7天
细胞因子	2	164.91 ± 2.35	178.25 ± 4.83 *	767.25 ± 55.21	817.15 ± 60.41 *
黄芪多糖	2	162.77 ± 4.06	180.97 ± 5.21 *	760.33 ± 60.31	808.25 ± 50.23 *

注:与本组第5天比较,**P* < 0.05

5 不同效靶比下两组CTL对SGC-7901细胞的杀伤率比较(图3) 结果显示在同一效靶比时,两组CTL对靶细胞的杀伤率比较,差异无统计学意义(*P* > 0.05)。在不同效靶比时两组CTL对靶细胞的杀伤率有差异(*P* < 0.01),随着效靶比的增加,杀伤作用增强,在效靶比为50:1时,杀伤作用最强。

讨 论

成熟DC表面高表达MHC分子及共刺激分子如CD40、CD80和CD86,能有效地向T细胞提呈抗原,促进T细胞活化,发挥免疫功能。肿瘤组织中DC表型的改变是导致其功能减弱的直接原因,有研究发现,



注:不同效靶比下组内比较,**P* < 0.01

图3 不同效靶比下两组CTL对SGC-7901细胞的杀伤率比较(*n* = 2)

肿瘤及其周围组织浸润的DC表面CD80、CD86等共刺激分子无表达或低表达^[10],致使DC无法有效提呈抗原,激发混合淋巴细胞反应及抗原特异性CTL反应^[11]。体外获取DC前体细胞,以细胞因子诱导和促进成熟,以肿瘤抗原体外致敏获得负载肿瘤抗原的致敏DC,然后回输给机体,可诱导机体产生有效的抗肿瘤免疫应答,是肿瘤免疫治疗的一种有效方法^[12]。本研究以黄芪多糖代替TNF-α诱导DC成熟,以TNF-α诱导组为阳性对照,探讨经黄芪多糖对DC表型及免疫功能的影响,为进一步开拓中药治疗肿瘤的途径提供实验和理论依据。

本研究在前期试验的基础上,以100 μg/mL黄芪多糖诱导未成熟DC,形态学观察结果显示胞体增大,有毛刺样突起,呈典型的DC形态。CD80和CD86的表达水平是判断DC成熟状态的重要标志^[13]。DC为T细胞提呈抗原时通过其表面的CD80、CD86等共刺激分子识别T细胞表面的相应配体产生协同刺激信号。缺乏共刺激信号可能导致T细胞无法激活甚至发生凋

亡。本研究结果显示,经 100 $\mu\text{g/mL}$ 黄芪多糖诱导后,DC 细胞表面 CD80、CD86 的表达高于 TNF- α 组,提示黄芪多糖可有效诱导 DC 表达协同刺激分子,有利于 DC 提呈抗原。既往实验证实,成熟的 DC 可在体内有效地活化同种异体 T 细胞^[14]。黄芪多糖诱导的 DC 对异基因外周血 T 淋巴细胞的增殖有明显刺激作用,提示黄芪多糖可促进 DC 成熟,增强 DC 抗原提呈功能,特异性激活 T 细胞,产生细胞免疫。

IL-12 是诱导 Th1 免疫反应的关键调节因子,IFN- γ 则可增强 DC 的抗原提呈功能,同时提高 CTL 对肿瘤细胞识别杀伤功能^[15,16]。本研究经 SGC-7901 肿瘤抗原致敏的 DC 与同种异体 T 细胞共培养后,于培养的第 5、7 天检测培养上清 IL-12、IFN- γ 表达水平。结果显示,黄芪多糖组 IL-12、IFN- γ 的表达与细胞因子组比较,差异无统计学意义,随着 DC 与 T 细胞共培养时间的增加,IL-12、IFN- γ 水平呈增加趋势,表明黄芪多糖诱导成熟的 DC 能有效地提呈抗原给 T 细胞,促使 T 细胞分泌抗肿瘤细胞因子 IFN- γ ;活化 T 细胞的同时也促进 DC 分泌 IL-12,而 IL-12 又可进一步促进 T 细胞的增殖,并诱导 Th0 向 Th1 分化,增强细胞免疫应答功能。CTL 细胞即细胞毒性 T 淋巴细胞,是机体抗肿瘤免疫的主要效应细胞。本研究结果提示,经黄芪多糖诱导成熟的 DC 激活的 CTL 能特异性地杀伤靶细胞,且杀伤能力随着效靶比的增加而增加,与细胞因子组比较,差异无统计学意义,提示黄芪多糖诱导成熟的 DC 能有效提呈抗原并活化 CTL。

本研究结果提示,黄芪多糖可诱导未成熟 DC 成熟,增强 DC 表面共刺激分子的表达,以利于其抗原提呈和激活 T 细胞;经黄芪多糖诱导成熟的 DC 可有效地向 T 细胞提呈抗原,相互活化,增加 IL-12、IFN- γ 的分泌,增强细胞免疫功能;经黄芪多糖诱导成熟的 DC 激活的 CTL 可有效杀伤肿瘤细胞,发挥抗肿瘤作用,为中药参与肿瘤生物治疗提供理论依据。

参 考 文 献

- [1] Sender LY, Gibbert K, Suezer Y, et al. CD40 ligand triggered human dendritic cells mount interleukin-23 responses that are further enhanced by danger signals[J]. Mol Immunol, 2010, 47(6): 1255-1261.
- [2] Villablanca EJ, Raccosta L, Zhou D, et al. Tumor-mediated liver X receptor- α activation inhibits CC chemokine receptor-7 expression on dendritic cells and dampens antitumor responses[J]. Nat Med, 2010, 16(1): 98-105.
- [3] Yilmaz T, Gedikoglu G, Celik A, et al. Prognostic significance of Langerhans cell infiltration in cancer of the larynx[J]. Otolaryngol Head Neck Surg, 2005, 132(2): 309-312.
- [4] Nouri-Shirazi M, Banchereau J, Fay J, et al. Dendritic cell based tumor vaccines[J]. Immunol Lett, 2000, 74(1): 5-10.
- [5] Cho WC, Leng KN. *In vitro* and *in vivo* immunomodulating and immunorestorative effects of *Astragalus membranaceus* [J]. J Ethnopharmacol, 2007, 113(1): 132-141.
- [6] 赵晓宁, 弥海宁, 李兴文, 等. 黄芪多糖联合化疗对 54 例中晚期胃癌的临床疗效分析[J]. 中国中医基础医学杂志, 2012, 18(9): 994-996.
- [7] 邓旻, 窦晓兵, 史亦谦, 等. 黄芪多糖定向诱导树突状细胞及其对 T 细胞增殖作用的研究[J]. 中国免疫学杂志, 2007, 6(23): 539-544.
- [8] 唐华, 银平章, 孔令非, 等. 冻融抗原冲击致敏的树突状细胞对结肠癌小鼠的治疗作用[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2000, 7(3): 199-202.
- [9] Gronau S, Schmitt M, Riechelmann H. Dendritic cells pulsed with tumor derived lysate augment T cell mediated tumor cell lysis[J]. Otolaryngol Head Neck Surg, 2004, 131(2): 176-177.
- [10] Zhu KJ. Dendritic cell and autoimmune diseases[J]. J Zhejiang Univ: Med Sci, 2003, 32(1): 81-84.
- [11] Dmitry I, Sorena N, Jadranko C, et al. Dendritic cells grown from bone marrow precursors, but not mature DC from tumor-bearing mice, are effective antigen carriers in the therapy of established tumor[J]. Cell Immunol, 1996, 170(1): 111-114.
- [12] Pecher G, Spahn G, Schirrmann T, et al. Mucin gene (MUC1) transfer into human dendritic cells by cationic liposomes and recombinant adenovirus[J]. Anticancer Res, 2001, 21(4A): 2591-2596.
- [13] Jiang H, van de Ven C, Baxi L, et al. Differential gene expression signatures of adult peripheral blood vs cord blood monocyte-derived immature and mature dendritic cells[J]. Exp Hematol, 2009, 37(10): 1201-1215.
- [14] 于哲, 马保安, 周勇, 等. 异体树突状细胞融合瘤苗抗骨肉瘤的免疫效应实验[J]. 肿瘤防治研究, 2006, 33(11): 779-783.
- [15] Ferrantini M, Capone I, Belardelli F. Dendritic cells and cytokines in immune rejection of cancer[J]. Cytokine Growth Factor Rev, 2008, 19(1): 93-107.
- [16] Tatsumi T, Takehara T, Yamaguchi S, et al. Injection of IL-12 gene-transduced dendritic cells into mouse liver tumor lesions activates both innate and acquired immunity[J]. Gene Ther, 2007, 14(11): 863-871.

(收稿:2013-04-15 修回:2014-06-20)