

# 疫苗新概念及新型疫苗的研制

冯志华,王全楚

冯志华,王全楚,中国人民解放军第四军医大学唐都医院全军感染病诊疗中心 陕西省西安市 710038  
国家自然科学基金课题, No.30170822  
项目负责人:冯志华,710038,陕西省西安市灞桥区新寺路1号,中国人民解放军第四军医大学唐都医院全军感染病诊疗中心. fengzh@fmmu.edu.cn  
电话:029-3577742 传真:029-3537377  
收稿日期:2002-10-25 接受日期:2002-11-25

## 摘要

随着免疫学研究进展,关于疫苗的传统概念也发生了根本变化:(1)成分不同:传统疫苗多为死疫苗/减毒活疫苗或重组亚单位疫苗;新型疫苗则为编码无毒力抗原蛋白的病毒核酸或能激发特异性机体免疫应答的细胞疫苗;(2)机制不同:传统疫苗主要靠病毒的抗原蛋白刺激机体产生中和性保护抗体;新型疫苗不仅能刺激机体产生保护性抗体,而且能激发特异性细胞免疫应答;(3)作用不同:传统疫苗只能起到一定的预防作用,新型疫苗不仅能预防疾病,而且更能起到特异的治疗作用(治疗性疫苗),具有更广泛的应用前景.因此,我们将上述与传统疫苗不同,且能激发机体特异性免疫应答的新型疫苗统称为新概念疫苗,其中包括核酸疫苗、T细胞疫苗、树突状细胞疫苗等,并就新概念疫苗目前的研究现状作一简要的概述.

冯志华,王全楚. 疫苗新概念及新型疫苗的研制. 世界华人消化杂志 2003; 11(6):819-822

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/11/819.asp>

## 0 引言

疫苗的概念是在200 a前Jenner发现事先接种牛痘能够阻止天花的发生之后首先提出的.近100 a来,疫苗的开发和应用已成为医学科学的重大成就之一,且已广泛用于传染病的预防和治疗.这些疫苗成功的原因在于他能够有效地诱导机体产生保护性抗体.然而,对某些细胞内病原菌如结核杆菌、利什曼原虫以及寄生虫等这些抗体几乎不起作用,因为对这些病原体的防御更多地依赖于细胞免疫,而不是抗体介导的体液免疫.对如乙型肝炎病毒(HBV)、丙型肝炎病毒(HCV)、人类免疫缺陷病毒(HIV)、疟原虫等感染,则可能需要细胞免疫和体液免疫的双重介导.

现在准获使用的疫苗来自杀死或灭活的完整细胞、重组蛋白或减毒的活病原体,都能刺激机体产生抗体.然而除了减毒活疫苗如水痘-带状疱疹病毒疫苗外,其他疫苗并不能特异的诱导细胞免疫,此外,如果用减毒活疫苗来预防诸如HIV之类的病毒感染,可能给疫苗制备和接种疫苗的人群带来危险.因此,积极寻找

既能同时诱导体液和细胞免疫应答又具安全性的疫苗,实乃当务之急.最近出现的新型疫苗如核酸疫苗、T细胞疫苗、树突状细胞疫苗等彻底改变了疫苗多为蛋白、只能预防的经典概念,引进了治疗性疫苗和核酸及细胞疫苗的新内容,大大拓展了人们对疫苗组成和功能的认识,被称为是疫苗学的第三次革命.因他们不但具有传统疫苗的一般功能,且能激发机体特异性细胞和体液免疫应答,用于临床现症患者的治疗.故称之为新概念疫苗.本文拟就近年来发展最快的核酸疫苗、T细胞疫苗、树突状细胞疫苗等作一简介.

## 1 核酸疫苗

所谓核酸疫苗(nucleic acid vaccine),是将含编码外源蛋白基因的质粒DNA,直接导入动物组织,外源基因于体细胞中表达后,表达产物被提呈,与主要组织相容性复合物(MHC)结合,刺激机体产生相应的抗体和细胞毒性T淋巴细胞(CTLs),分别介导体液免疫和细胞免疫应答.这种外源基因是抗原的来源,具有疫苗的功能,又称为DNA疫苗,由于不需任何化学载体,故又称裸DNA疫苗.

1.1 发现及意义 核酸疫苗最早是由美国Wisconsin大学的Wolff及同事们和Philip领导的Vical小组于1989年偶然发现的.1992年美国Merck实验室的Ulmer领导的研究小组率先将包含流感病毒核心蛋白(NP)基因序列的重组质粒注射小鼠股四头肌,发现的确刺激产生了特异性的CTL,能保护小鼠抵抗不同流感病毒株感染.这一结果有多方面的意义.(1)CTL介导的细胞免疫象中和性保护抗体介导的体液免疫一样,在抵抗病原体感染和清除病原体感染两方面均有重要作用.(2)以往疫苗的保护作用多依赖疫苗刺激机体产生的中和性保护抗体,但象流感病毒、丙肝病毒(HCV)及免疫缺陷病毒(HIV)等病原体外膜蛋白容易变异,所刺激产生的是型或株特异性中和抗体,给疫苗预防带来了困难.而其核心蛋白均非常保守,刺激机体产生的细胞免疫不仅可能预防不同病毒株的交叉感染,而且可能在治疗某些持续感染性疾病中有其积极的意义.(3)由于CTL介导的细胞免疫在某些病毒感染和肿瘤发病上有相似的重要作用,DNA免疫方法也可能用于抗肿瘤免疫.也就是说,核酸免疫这种方法不仅可用于感染性疾病的预防,还可应用于基因治疗.因此,Ulmer他们将在这一领域的首篇研究报告发表在《Science》上之后,该项发现立即被视为疫苗业的一场革命.因为该技术不是注入死或

减毒活疫苗或重组病毒亚单位,而是用能编码无毒力但有抗原性的病毒蛋白的DNA接种人体,因而使疫苗接种变的非常方便,人体细胞在体内产生的病毒蛋白很可能同时诱生细胞和体液免疫应答.这篇文章,不仅向科学界展示了向学术禁区的挑战,而且开辟了疫苗研究的新时代.在随后的几年中,越来越多的实验室证实了DNA免疫对在保护和治疗病原体感染的有效性.目前,DNA免疫已经成为世界瞩目的防治传染病、肿瘤以及移植免疫治疗的新的研究热点<sup>[1-18]</sup>.

1.2 国内外研究现状 核酸疫苗已经在许多难治性感染性疾病、自身免疫性疾病、过敏性疾病和肿瘤性疾病的预防及治疗领域显示出广泛的应用前景.国外已有多家公司,开通了多个介绍核酸疫苗的网站,如DNA vaccine.com,关于核酸疫苗的文章也是每年数以千计,与核酸疫苗相关的专利已超过120项.足以看出核酸疫苗的广泛的应用前景.迄今,国外已有至少4种核酸疫苗被批准进入I期临床试验.1996年美国FDA批准对健康志愿者进行艾滋病核酸疫苗人体实验.1998年美国宾西法尼亚大学医学院MacGregor及其同事们首次报道了核酸疫苗治疗HIV-1感染者的第一次人体实验结果.他们认为该疫苗不仅具有免疫原性,而且应用于人体是安全的,有望成为治疗HIV的有效方法.同年,美国佛罗里达的Ugen et al的HIV-1人体试验取得了同样的结果.随后瑞士苏黎世大学医院感染病科Weber et al在4名无症状HIV携带者体内也进行了试验.他们选择的目的基因为HIV-1 gp160,获得了同样的预期结果<sup>[19]</sup>.据最新消息,英国已经批准在2002-08开始进行一种专门针对非洲人的HIV核酸疫苗的I期临床试验(HIV A亚型,是肯尼亚和非洲其他地区最流行的HIV菌株)<sup>[20]</sup>.1998年,美国海军宣布他们已经成功地在健康人体上检测了针对疟疾的核酸疫苗,2000年美国陆军也同样在成年健康志愿者体内进行了疟疾的核酸疫苗的试验<sup>[21]</sup>.

目前,乙肝病毒核酸疫苗也已应用于临床<sup>[22]</sup>.美国费城已有人用成纤维细胞生长因子DNA疫苗治疗末级外周动脉闭塞病<sup>[23]</sup>.瑞典也有人正在研究用DNA免疫接种预防各种病原体引起的婴幼儿腹泻.中国与德国合作开发的一种艾滋病核酸疫苗将于近期申请进入人体实验阶段.如获批准,这将是中国的首次艾滋病疫苗人体实验.

## 2 T细胞疫苗

T细胞疫苗原是指将T细胞或体外T细胞表位多肽刺激产生的T细胞作为疫苗接种,用于治疗某些自身免疫疾病.但将依据MHC-I类分子特异的多肽结合基序(MHC binding motif)合成的多肽,在体外诱导产生的抗原特异性细胞毒T淋巴细胞(CTL),用于治疗病毒性疾病,则是近几年的新思维,新设想,他将T细胞从过去应用为靶细胞转变成效应细胞,为T细胞疫苗的概念增添了新的内涵.

## 2.1 研究意义及现状

2.1.1 治疗某些自身免疫疾病 T细胞引起的迟发性变态反应可能是某些自身免疫疾病的病因.在动物实验中,把动物体内引起疾病的T细胞移入其他健康的动物体内,也能引起疾病,所以认为T细胞是患病的原因.因此,同传染病的预防接种一样,如果把致病的T细胞灭活后代替微生物疫苗注入体内,即使致病T细胞再移入体内,也不再引起疾病,并将此构想试用于治疗.小鼠变态反应性脑脊髓膜炎的实验已成功,而且还证明用于治疗人类类似疾病多发性硬化症也有一定效果.

2.1.2 治疗某些病毒性疾病 自从Doherty和Zinkernagel发现CTL能够杀伤外源微生物感染细胞,而且这种杀伤作用依赖于CTL对外源多肽和自身分子(MHC)的双重识别之后,越来越多的研究表明:病毒特异性的CTL介导的细胞免疫具有清除病毒的功能,是宿主防御病毒感染的主要机制之一.Doherty和Zinkernagel也因他们的发现于1996年获得了生理和医学诺贝尔奖.正因为此,CTL表位及CTL介导的细胞免疫应答的研究受到越来越多的关注.传统的病毒疫苗(减毒或灭活),含有完整的病毒蛋白质,以刺激机体产生抗体为主,难以有效诱导产生MHC-I类限制性的CTL和清除细胞内病毒颗粒.目前临床应用的过继免疫治疗如LAK细胞、CD3-AK细胞均为非特异杀伤细胞,靶向性差.因此,有学者已直接用单个或多个CTL多肽导入体内(多肽疫苗),诱导机体产生特异性CTL应答,虽然能够观察到CTL应答,但有时滴度不高,可能是由于较短的CTL多肽更易被血清蛋白酶降解,从较短的(通常为几个-十几个氨基酸)多肽中去除一个或两个氨基酸将改变其结合HLA的能力;若将几个多肽交联,既可能形成新的CTL表位,诱导特异性CTL失败,又可能产生针对多肽的抗体;另外,低剂量抗原皮下注射可以产生免疫应答,而高剂量静脉注射则可能引起免疫耐受.

T细胞疫苗是用多肽在体外诱导产生特异性CTL,后者被克隆、扩增、筛选和鉴定后,仅将MHC-I类限制的CD8+ T细胞输入机体,诱导细胞免疫应答产生,从而解决了多肽疫苗存在的上述问题,而且直接回输CTL,可以人为地控制CTL的强度,避免其过度,导致大量受染肝细胞死亡,也可避免其过低,无清除病毒作用.

因此,我们在国家自然科学基金的资助下,已经利用转染了HCV基因(C+E1)或(C+E1+E2)的小鼠骨髓瘤SP2/0细胞皮下注射,形成的皮下移植瘤HCV小鼠模型和HCV基因转染细胞系,发现MHC-I限制的CTL表位多肽体外诱导的特异性CTL,在体内外对HCV感染细胞均具有杀伤作用,可能成为病毒性疾病或肿瘤免疫较好的治疗性疫苗后选之一.

## 3 树突状细胞疫苗

树突状细胞(dendritic cell, DC)是专职抗原递呈细胞,能有效地将抗原递呈给T淋巴细胞,从而诱导CTL活

化. 荷载抗原的 DC 具有疫苗的功能, 故称树突状细胞疫苗. 荷载抗原既可以是病毒抗原、HLA 限制的 CTL 表位(8-10 个氨基酸的短肽)基因, 也可以是肿瘤细胞, 还可以是编码肿瘤抗原的基因. 由于 DC 细胞疫苗可以不依赖于 CTL 靶细胞, 又有较高的抗原递呈效率, 正成为新一代疫苗的代表<sup>[24-34]</sup>.

3.1 研究意义及现状 核酸疫苗诱导特异性免疫应答产生已被大量的实验室证实, 但普遍存在着抗体滴度不高, CTL 杀伤率不强等问题. 其原因可能与病原体感染后, 抗原提呈细胞(APC), 尤其是树突状细胞数量减少、功能降低有关<sup>[35]</sup>. 如何绕过或提高 DC 免疫功能低下, 诱导出更强有力的、更具广泛性的免疫应答, 应当成为基因疫苗和免疫治疗亟待解决的突出问题之一. 业已证实, DC 是目前发现的功能最强的抗原提呈细胞, 也是唯一能激活初始 T 细胞的抗原呈递细胞. 因此, 应用抗原或抗原多肽体外冲击致敏 DC, 然后将之回输或免疫接种荷瘤宿主或带病毒特异性抗原的宿主, 进行免疫治疗; 利用 DC 与肿瘤细胞融合成为新型带有 DC 功能及肿瘤特异抗原的融合细胞疫苗的报道; 以及利用病毒载体将带有肿瘤或病毒抗原的编码基因转染 DC, 使之在 DC 内持续表达相应特异性抗原, 诱导产生特异性抗肿瘤或抗病毒免疫反应等方法应运而生<sup>[36-60]</sup>.

这些方法存在着 DC 激活时间短, 治疗不彻底或利用病毒载体的安全性等问题. 一个理想的抗原提呈策略, 应当是全方位、强有力的诱导 CD<sub>8</sub><sup>+</sup> CTL, CD<sub>4</sub><sup>+</sup> Th 及 B 细胞应答, 这样才能更有效的清除病原体及肿瘤细胞. 近年来, 以免疫球蛋白(主要是 IgG1)的 Fc 段为基础构建的新型免疫分子进展很快, 有望用于新型免疫复合制剂的研制. IgG1 的 Fab 与 Fc 是功能相对独立的片段, Fab 中的可变区负责与抗原结合, 而 Fc 段能与免疫效应细胞的 Fc  $\gamma$  受体(Fc  $\gamma$  R)结合, 发挥其调节免疫效应、细胞炎症反应、细胞毒效以及激活吞噬细胞的作用. DC 本身表面带有 Fc  $\gamma$  R, 因此由 Fc  $\gamma$  R 介导的吞噬细胞内在化的过程可加强免疫应答的抗原提呈. 我们基于 BALB/c 小鼠(H-2<sup>d</sup>)DC 表面的 Fc I 型受体(Fc  $\gamma$  R I 即 CD<sub>64</sub>)与人 IgG1 重链 Fc 段具有高亲和力<sup>[61,62]</sup>, 而 HCV 基因组内的核心区(C)是结构基因中最保守的区域, 该区含至少 5 个重要的抗原表位或细胞毒 T 细胞(CTL)表位, 拟将 HCV C 基因与人 IgG1 Fc 基因融合, 构建了分泌融合蛋白的真核表达载体, 转染经体外活化的 DC 之后, 接种 BALB/c 小鼠, 将利用已建立的表达 HCV C 抗原的靶细胞(SP2/0-HCV-C, H-2<sup>d</sup>)及其荷瘤鼠(BALB/c 小鼠)模型, 观察该融合基因修饰的 DC, 在体内、体外诱导抗 HCV 特异性 CTL、T 细胞增生及抗体应答的强度, 为提高基因疫苗诱导免疫应答的效率提供新的手段, 可望为 HCV 防治提供新的思路和理论依据.

#### 4 参考文献

- 1 Miller M, Cho JY, Baek KJ, Castaneda D, Nayar J, Rodriguez M, Roman M, Raz E, Broide DH. Plasmid DNA encoding the respiratory syncytial virus G protein protects against RSV-induced airway hyperresponsiveness. *Vaccine* 2002;20:3023-3033
- 2 Kojima Y, Xin KQ, Ooki T, Hamajima K, Oikawa T, Shinoda K, Ozaki T, Hoshino Y, Jounai N, Nakazawa M, Klinman D, Okuda K. Adjuvant effect of multi-CpG motifs on an HIV-1 DNA vaccine. *Vaccine* 2002;20:2857-2865
- 3 Wang QC, Zhou YX, Yao ZQ, Feng ZH. Effects of DNA vector constructs and different genes on the induction of immune responses by HBV DNA based vaccine. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2000;8:289-291
- 4 Du DW, Zhou YX, Feng ZH, Yao ZQ, Li GY. Immune responses to interleukin 12 and hepatitis B gene vaccine in H-2d mice. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2000;8:128-130
- 5 Li WB, Yao ZQ, Zhou YX, Feng ZH. Studies on immunization with HBV gene vaccine plus HBsAg protein in mice. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 1999;7:188-190
- 6 Howard KA, Alpar HO. The development of polyplex-based DNA vaccines. *J Drug Target* 2002;10:143-151
- 7 Hasan UA, Harper DR, Wren BW, Morrow WJ. Immunization with a DNA vaccine expressing a truncated form of varicella zoster virus glycoprotein E. *Vaccine* 2002;20:1308-1315
- 8 Rosinha GM, Myiوشي A, Azevedo V, Splitter GA, Oliveira SC. Molecular and immunological characterisation of recombinant *Brucella abortus* glyceralde-hyde-3-phosphate-dehydrogenase, a T- and B-cell reactive protein that induces partial protection when co-administered with an interleukin-12-expressing plasmid in a DNA vaccine formulation. *J Med Microbiol* 2002;51:661-671
- 9 Weiss R, Scheibelhofer S, Freund J, Ferreira F, Livey I, Thalhamer J. Gene gun bombardment with gold particles displays a particular Th2-promoting signal that over-rides the Th1-inducing effect of immunostimulatory CpG motifs in DNA vaccines. *Vaccine* 2002;20:3148
- 10 von Reyn CF, Vuola JM. New vaccines for the prevention of tuberculosis. *Clin Infect Dis* 2002;35:465-474
- 11 Deng H, Kowalczyk D, O I, Blaszczyk-Thurin M, Quan Xiang Z, Giles-Davis W, Ertl HC. A modified DNA vaccine to p53 induces protective immunity to challenge with a chemically induced sarcoma cell line. *Cell Immunol* 2002;215:20-31
- 12 Epstein SL, Tumpey TM, Misplon JA, Lo CY, Cooper LA, Subbarao K, Renshaw M, Sambhara S, Katz JM. DNA vaccine expressing conserved influenza virus proteins protective against H5N1 challenge infection in mice. *Emerg Infect Dis* 2002;8:796-801
- 13 Raynard RS, Bricknell IR, Billingsley PF, Nisbet AJ, Vigneau A, Sommerville C. Development of vaccines against sea lice. *Pest Manag Sci* 2002;58:569-575
- 14 Riedl P, El-Kholy S, Reimann J, Schirmbeck R. Priming biologically active antibody responses against an isolated, conformational viral epitope by DNA vaccination. *J Immunol* 2002; 169:1251-1260
- 15 Triccas JA, Sun L, Palendira U, Britton WJ. Comparative affects of plasmid-encoded interleukin 12 and interleukin 18 on the protective efficacy of DNA vaccination against *Mycobacterium tuberculosis*. *Immunol Cell Biol* 2002;80:346-350
- 16 Zhao LS, Qin S, Zhou TY, Tang H, Liu L, Lei BJ. DNA-based vaccination induces humoral and cellular immune responses against hepatitis B virus surface antigen in mice without activation of C-myc. *World J Gastroenterol* 2000;6:239-243
- 17 Singh G, Parker S, Hobart P. The development of a bicistronic plasmid DNA vaccine for B-cell lymphoma. *Vaccine* 2002;20: 1400-1411
- 18 Wierzbicki A, Kiszka I, Kaneko H, Kmiecik D, Wasik TJ, Gzyl J, Kaneko Y, Kozbor D. Immunization strategies to augment oral vaccination with DNA and viral vectors expressing HIV envelope glycoprotein. *Vaccine* 2002;20:1295-1307
- 19 Weber R, Bossart W, Cone R, Luethy R, Moelling K. Phase I clinical trial with HIV-1 gp160 plasmid vaccine in HIV-1-infected asymptomatic subjects. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2001;20:800-803
- 20 Hanke T, McMichael AJ, Mwau M, Wee EG, Ceberej I, Patel S, Sutton J, Tomlinson M, Samuel RV. Development of a DNA-MVA/HIVA vaccine for Kenya. *Vaccine* 2002;20:1995-1998

- 21 Le TP, Coonan KM, Hedstrom RC, Charoenvit Y, Sedegah M, Epstein JE, Kumar S, Wang R, Doolan DL, Maguire JD, Parker SE, Hobart P, Norman J, Hoffman SL. Safety, tolerability and humoral immune responses after intramuscular administration of a malaria DNA vaccine to healthy adult volunteers. *Vaccine* 2000;18:1893-1901
- 22 Tacket CO, Roy MJ, Widera G, Swain WF, Broome S, Edelman R. Phase I safety and immune response studies of a DNA vaccine encoding hepatitis B surface antigen delivered by a gene delivery device. *Vaccine* 1999;17:2826-2829
- 23 Comerota AJ, Throm RC, Miller KA, Henry T, Chronos N, Laird J, Sequeira R, Kent CK, Bacchetta M, Goldman C, Salenius JP, Schmieder FA, Pilsudski R. Naked plasmid DNA encoding fibroblast growth factor type 1 for the treatment of end-stage unreconstructible lower extremity ischemia: preliminary results of a phase I trial. *J Vasc Surg* 2002;35:930-936
- 24 Coombes BK, Mahony JB. Dendritic cell discoveries provide new insight into the cellular immunobiology of DNA vaccines. *Immunol Lett* 2001;78:103-111
- 25 Toyokawa H, Inaba M, Takai S, Sato S, Beuth J, Ko HL, Matsui Y, Kwon AH, Kamiyama Y, Ikehara S. Enhancement of circulating dendritic cell activity by immunomodulators (OK432 and KP-40). *Anticancer Res* 2002;22:2137-2145
- 26 Nagata Y, Ono S, Matsuo M, Gnjatic S, Valmori D, Ritter G, Garrett W, Old LJ, Mellman I. Differential presentation of a soluble exogenous tumor antigen, NY-ESO-1, by distinct human dendritic cell populations. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002;99:10629-10634
- 27 Ausiello CM, Fedele G, Urbani F, Lande R, Di Carlo B, Cassone A. Native and genetically inactivated pertussis toxins induce human dendritic cell maturation and synergize with lipopolysaccharide in promoting T helper type 1 responses. *J Infect Dis* 2002;186:351-360
- 28 Bjorck P, Lie WR, Woulfe SL, Klein BK, Olson W, Storkus WJ. Progenipoietin-generated dendritic cells exhibit anti-tumor efficacy in a therapeutic murine tumor model. *Int J Cancer* 2002;100:586-591
- 29 Syme RM, Bryan TL, Gluck S. Dendritic cell-based therapy: a review focusing on antigenic selection. *J Hematother Stem Cell Res* 2001;10:601-608
- 30 Reinhard G, Marten A, Kiske SM, Feil F, Bieber T, Schmidt-Wolf IG. Generation of dendritic cell-based vaccines for cancer therapy. *Br J Cancer* 2002;86:1529-1533
- 31 Gitlitz BJ, Figlin RA, Pantuck AJ, Beldegrun AS. Dendritic cell-based immunotherapy of renal cell carcinoma. *Curr Urol Rep* 2001;2:46-52
- 32 Schijns VE. Induction and direction of immune responses by vaccine adjuvants. *Crit Rev Immunol* 2001;21:75-85
- 33 Tsuchiya T, Chida K, Suda T, Schneeberger EE, Nakamura H. Dendritic cell involvement in pulmonary granuloma formation elicited by bacillus calmette-guerin in rats. *Am J Respir Crit Care Med* 2002;165:1640-1646
- 34 Kalady MF, Onaitis MW, Padilla KM, Emani S, Tyler DS, Pruitt SK. Enhanced dendritic cell antigen presentation in RNA-based immunotherapy. *J Surg Res* 2002;105:17-24
- 35 Kakumu S, Ito S, Ishikawa T, Mita Y, Tagaya T, Fukuzawa Y, Yoshioka K. Decreased function of peripheral blood dendritic cells in patients with hepatocellular carcinoma with hepatitis B and C virus infection. *J Gastroenterol Hepatol* 2000;15:431-436
- 36 Foss FM. Immunologic mechanisms of antitumor activity. *Semin Oncol* 2002;29(Suppl 7):5-11
- 37 Parmiani G, Castelli C, Dalerba P, Mortarini R, Rivoltini L, Marincola FM, Anichini A. Cancer immunotherapy with peptide-based vaccines: what have we achieved? Where are we going? *J Natl Cancer Inst* 2002;94:805-818
- 38 Enomoto M, Nagayama H, Sato K, Xu Y, Asano S, Takahashi TA. In vitro generation of dendritic cells derived from cryopreserved CD34+ cells mobilized into peripheral blood in lymphoma patients. *Cytotherapy* 2000;2:95-104
- 39 Sun JY, Krouse RS, Forman SJ, Senitzer D, Sniecinski I, Chatterjee S, Wong KK Jr. Immunogenicity of a p210(BCR-ABL) fusion domain candidate DNA vaccine targeted to dendritic cells by a recombinant adeno-associated virus vector in vitro. *Cancer Res* 2002;62:3175-3183
- 40 Schuler-Thurner B, Schultz ES, Berger TG, Weinlich G, Ebner S, Woerl P, Bender A, Feuerstein B, Fritsch PO, Romani N, Schuler G. Rapid induction of tumor-specific type 1 T helper cells in metastatic melanoma patients by vaccination with mature, cryopreserved, peptide-loaded monocyte-derived dendritic cells. *J Exp Med* 2002;195:1279-1288
- 41 Narendran P, Elsegood K, Leech NJ, Dayan CM. Dendritic cell-based proliferative assays of peripheral T cell responses to tetanus toxoid. *Ann N Y Acad Sci* 2002;958:170-174
- 42 Indar A, Maxwell-Armstrong CA, Durrant LG, Carmichael J, Scholefield JH. Current concepts in immunotherapy for the treatment of colorectal cancer. *J R Coll Surg Edinb* 2002;47:458-474
- 43 Zhang W, Yang H, Zeng H, Chen Z. Induction of Th1 immune response against tumor by genetically engineered fusion of tumor cells and dendritic cells. *Zhonghua Xueye Xue Zazhi* 2002;23:61-64
- 44 Insug O, Ku G, Ertl HC, Blaszczyk-Thurin M. A dendritic cell vaccine induces protective immunity to intracranial growth of glioma. *Anticancer Res* 2002;22:613-621
- 45 Chang AE, Redman BG, Whitfield JR, Nickoloff BJ, Braun TM, Lee PP, Geiger JD, Mule JJ. A phase I trial of tumor lysate-pulsed dendritic cells in the treatment of advanced cancer. *Clin Cancer Res* 2002;8:1021-1032
- 46 Kakumu S, Ito S, Ishikawa T, Mita Y, Tagaya T, Fukuzawa Y, Yoshioka K. Decreased function of peripheral blood dendritic cells in patients with hepatocellular carcinoma with hepatitis B and C virus infection. *J Gastroenterol Hepatol* 2000;15:431-436
- 47 Wang FS, Xing LH, Liu MX, Zhu CL, Liu HG, Wang HF, Lei ZY. Dysfunction of peripheral blood dendritic cells from patients with chronic hepatitis B virus infection. *World J Gastroenterol* 2001;7:537-541
- 48 Zhang J, Zhang JK, Zhuo SH, Chen HB. Effect of a cancer vaccine prepared by fusions of hepatocarcinoma cells with dendritic cells. *World J Gastroenterol* 2001;7:690-694
- 49 Tanaka Y, Koido S, Chen D, Gendler SJ, Kufe D, Gong J. Vaccination with allogeneic dendritic cells fused to carcinoma cells induces antitumor immunity in MUC1 transgenic mice. *Clin Immunol* 2001;101:192-200
- 50 Mumper RJ, Ledebur HC Jr. Dendritic cell delivery of plasmid DNA. Applications for controlled genetic immunization. *Mol Biotechnol* 2001;19:79-95
- 51 Fong L, Brockstedt D, Benike C, Breen JK, Strang G, Rugg CL, Engleman EG. Dendritic cell-based xenoantigen vaccination for prostate cancer immunotherapy. *J Immunol* 2001;167:7150-7156
- 52 Chen Z, Moyana T, Saxena A, Warrington R, Jia Z, Xiang J. Efficient antitumor immunity derived from maturation of dendritic cells that had phagocytosed apoptotic/necrotic tumor cells. *Int J Cancer* 2001;93:539-548
- 53 Sathaporn S, Eremin O. Dendritic cells (II): Role and therapeutic implications in cancer. *J R Coll Surg Edinb* 2001;46:159-167
- 54 Oh S, Belz GT, Eichelberger MC. Viral neuraminidase treatment of dendritic cells enhances antigen-specific CD8(+) T cell proliferation, but does not account for the CD4(+) T cell independence of the CD8(+) T cell response during influenza virus infection. *Virology* 2001;286:403-411
- 55 Rini BI, Small EJ. Immunotherapy for prostate cancer. *Curr Oncol Rep* 2001;3:418-423
- 56 Sadanaga N, Nagashima H, Mashino K, Tahara K, Yamaguchi H, Ohta M, Fujie T, Tanaka F, Inoue H, Takesako K, Akiyoshi T, Mori M. Dendritic cell vaccination with MAGE peptide is a novel therapeutic approach for gastrointestinal carcinomas. *Clin Cancer Res* 2001;7:2277-2284
- 57 Boura P, Kountouras J, Lygidakis NJ. Tumor immunity and immunotherapy. *Hepatogastroenterology* 2001;48:1040-1044
- 58 Burdin N, Moingeon P. Cancer vaccines based on dendritic cells loaded with tumor-associated antigens. *Cell Biol Toxicol* 2001;17:67-75
- 59 Akbar SM, Horiike N, Onji M, Hino O. Dendritic cells and chronic hepatitis virus carriers. *Intervirology* 2001;44:199-208
- 60 Slovin SF. Vaccines as treatment strategies for relapsed prostate cancer: approaches for induction of immunity. *Hematol Oncol Clin North Am* 2001;15:477-496
- 61 Brossart P, Wirths S, Brugger W, Kanz L. Dendritic cells in cancer vaccines. *Exp Hematol* 2001;29:1247-1255
- 62 Zhang JK, Li J, Chen HB, Sun JL, Qu YJ, Lu JJ. Antitumor activities of human dendritic cells derived from peripheral and cord blood. *World J Gastroenterol* 2002;8:87-90