

自体DC体外增强结肠腺癌患者TDLN细胞的抗肿瘤活性

彭正, 陈凜, 李荣, 李力, 董艳芬, 张磊

彭正, 陈凜, 李荣, 董艳芬, 解放军总医院普通外科 北京市 100853

李力, 张磊, 解放军总医院普通外科研究所 北京市 100853
彭正, 1994年第四军医大学学士, 2003年解放军总医院硕士, 主治医师。

通讯作者: 彭正, 100853, 北京市, 解放军总医院普通外科。
pengzham@yahoo.com.cn

电话: 010-66875143

收稿日期: 2006-05-19 接受日期: 2006-06-14

Autologous dendritic cells enhance anti-tumor activity of tumor-draining lymph node cells from colonic adenocarcinoma patients *in vitro*

Zheng Peng, Lin Chen, Rong Li, Li Li, Yan-Fen Dong, Lei Zhang

Zheng Peng, Lin Chen, Rong Li, Yan-Fen Dong, Department of General Surgery, General Hospital of Chinese PLA, Beijing 100853, China

Li Li, Lei Zhang, Institute of General Surgery, General Hospital of Chinese PLA, Beijing 100853, China

Correspondence to: Zheng Peng, Department of General Surgery, General Hospital of Chinese PLA, Beijing 100853, China. pengzham@yahoo.com.cn

Received: 2006-05-19 Accepted: 2006-06-14

Abstract

AIM: To explore the enhancement of the anti-tumor activity of tumor-draining lymph node (TDLN) cells induced by autologous dendritic cells (DCs) *in vitro*.

METHODS: Peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) were separated from the patients with colonic adenocarcinoma and then induced with granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF), interleukin-4 (IL-4) and TNF- α for maturation. Thereafter, the autologous tumor lysate was used to sensitize DCs. TDLN cells were isolated from regional lymph nodes of the patients, purified, and incubated with interleukin-2 (IL-2). Finally, the TDLN cells were activated by the sensitized DCs or autologous tumor lysate, respectively, and the TDLN cells without activation served as controls. The cytotoxic activity of

the activated TDLN cells to colonic adenocarcinoma cell line LS174T and human melanoma cell line A375 were comparatively analyzed.

RESULTS: The cytotoxicities of the DCs-activated TDLN cells to LS174T cells were significantly stronger than those of TDLN cells activated by autologous tumor lysate or without activation (56.13% \pm 7.33% vs 42.46% \pm 7.68%, 33.50% \pm 7.00%, $P < 0.001$, as the ratio of TDLN cells to tumor cells was 20 : 1; 44.85% \pm 6.50% vs 30.50% \pm 9.17%, 26.75% \pm 8.88%, $P < 0.001$, as the ratio of TDLN cells to tumor cells was 10 : 1). However, for A375 cells, the cytotoxic activities had no significant difference among the TDLN cells activated by DCs and autologous tumor lysate, and without activation.

CONCLUSION: The specific anti-tumor activity of TDLN cells can be enhanced by autologous DCs *in vitro*.

Key Words: Tumor-draining lymph node cells; Dendritic cells; Anti-tumor activity; Colonic adenocarcinoma

Peng Z, Chen L, Li R, Li L, Dong YF, Zhang L. Autologous dendritic cells enhance anti-tumor activity of tumor-draining lymph node cells from colonic adenocarcinoma patients *in vitro*. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2006;14(18):1843-1846

摘要

目的: 探讨自体树突状细胞(DC)体外对结肠腺癌患者肿瘤引流区淋巴结(TDLN)细胞抗肿瘤活性的增强作用。

方法: 分离肿瘤患者的外周血单个核细胞(PBMC)经IL-4, GM-CSF和TNF- α 诱导其成熟, 并以自体肿瘤冻融抗原预致敏, 诱导其中的DC。另外, 分离结肠癌患者的TDLN细胞, 在含有IL-2的培养体系中培养, 并将TDLN细胞分为3组: 第1组为肿瘤抗原致敏的DC加TDLN细胞(DC组); 第2组冻融的肿瘤抗原加TDLN细胞(Ag组); 第3组不加DC及肿瘤抗原作为对照组(L组)。比较3组TDLN细胞对结肠

背景资料

手术、放疗和化疗等三大治疗模式都着眼于直接杀伤肿瘤细胞, 但常难于彻底消灭肿瘤细胞, 且易于损伤正常组织, 特别是伤害在抗肿瘤机制中起重要作用的免疫系统。因此肿瘤生物治疗作为肿瘤治疗的第四模式而引起人们的普遍关注。肿瘤生物治疗主要是通过肿瘤宿主防御机制或生物制剂的作用以调节机体自身的生物学反应, 从而抑制或消除肿瘤。1986年, 第一例从病人肿瘤获得的自体CTL过继免疫治疗的实验, 开启了肿瘤免疫治疗的新纪元。

研发前沿

关于CTL的研究始终是过继性细胞免疫治疗的重点, T细胞过继免疫治疗的核心问题是如何获得CTL并进一步增强T细胞的肿瘤特异性杀伤效应。

■创新盘点

TDLN中的特异性CD8⁺前效应T细胞已经肿瘤抗原的长期致敏,具备了针对肿瘤细胞的敏感性或者很容易被疫苗致敏,但由于肿瘤环境的影响,使得CTL激活信号转导功能发生障碍,处于“失能”状态.我们设想根据“双信号激活理论”,在TDLN细胞中添加高表达共刺激因子的树突状细胞(DC),从而为已致敏的T细胞提供激活所需要的第二类信号,提高其特异性杀伤能力.

腺癌细胞系LS174T和黑色素瘤细胞系A375的杀伤作用.

结果: DC组对LS174T细胞系的杀伤作用明显优于Ag组与L组(效靶比为20:1时, 56.13%±7.33% vs 42.46%±7.68%, 33.50%±7.00%, $P<0.001$; 效靶比为10:1时, 44.85%±6.50% vs 30.50%±9.17%, 26.75%±8.88%, $P<0.001$); 而对A375细胞, 各组细胞的杀伤作用没有明显差异.

结论: 自体DC可明显增强结肠癌患者TDLN细胞的杀伤作用.

关键词: 肿瘤引流区淋巴结细胞; 树突状细胞; 抗肿瘤活性; 结肠腺癌

彭正, 陈凇, 李荣, 李力, 董艳芬, 张磊. 自体DC体外增强结肠腺癌患者TDLN细胞的抗肿瘤活性. 世界华人消化杂志 2006;14(18):1843-1846

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/14/1843.asp>

0 引言

肿瘤引流区淋巴结(tumor-draining region lymph nodes, TDLN)作为体内抗肿瘤免疫发生的最初也是最关键的场所,在机体肿瘤免疫中具有重要的作用^[1]. TDLN细胞中的特异性CTL虽可被肿瘤抗原刺激而致敏,但由于缺乏协同激活信号而处于“失能”状态,不能有效地发挥其杀伤肿瘤细胞的作用^[2]. 肿瘤患者外周血及TDLN细胞中DC的数量明显减少,并缺乏成熟DC的表面标志,其数量与质量与肿瘤患者的病理分期及预后明显相关^[3-5]. 因此,我们推测在TDLN细胞中添加高表达共刺激因子的成熟DC,为T细胞活化提供第二类信号,有可能提高其特异性杀伤活性.

1 材料和方法

1.1 材料 2005-01/07在本科住院确诊为结肠腺癌并行手术切除的患者20例,术后病理证实为Duke B或C期,均处于肿瘤进展期,但仍限于局部而无远位转移. 年龄26-55(平均47.6)岁,男13例,女7例. 取外周血及TDLN标本. Hnaks液及RMPI1640培养液为Gibco公司产品. 小牛血清购于浙江金华生物制品厂. 淋巴分离液取自上海试剂二厂. IL-2、IL-4及TNF- α 为Peprotech公司产品. GM-CSF为Schering-Plough公司产品. 抗CD83、抗CD86、抗CD1a及抗CD14mAb均为Immunotech Frunch公司产品. 抗CD3/抗CD4/抗CD8mAb为

Caltag公司产品. 抗CD3/抗CD16+56/抗CD45mAb为B&D公司产品. MTT为Sigma公司产品. 结肠癌细胞株LS174T及黑色素瘤细胞株A375均由解放军总医院基础所免疫室提供. 无菌抽取患者外周血10 mL,用Ficoll密度梯度离心法直接分离和纯化PBMC,并以2 g/L台盼蓝染色计算活细胞的百分率. 将手术获得的TDLN除去附着的脂肪,以含抗菌素的培养基冲洗后,剪碎、研磨、过筛并以RPMI1640悬浮. 用淋巴细胞分离液进行密度梯度离心(2 000 r/min×30 min),即获得TDLN细胞. 取肿瘤患者自体肿瘤组织机械剪碎,置-80℃反复冻融3次,研磨、过筛. 加RPMI1640悬浮后,以10 000 r/min离心30 min,取上清过滤除菌,用紫外分光光度计在波长280 nm及265 nm处测标本的蛋白含量. 再以无血清RPMI1640调整蛋白浓度至2 g/L,置-4℃保存备用.

1.2 方法 将所得PBMC计数后种入培养瓶中,置37℃, 50 mL/L CO₂温箱中贴壁2 h. 轻微震荡后,倒去上清及悬浮的细胞,加入含50 mL/L小牛血清的RPMI1640 6 mL, GM-CSF(终浓度1×10⁶ U/L)及IL-4(终浓度2×10⁵ U/L). 置37℃, 50 mL/L CO₂的温箱中培养7 d,以刺激DC优势增殖. 于d4时换液, d6加入肿瘤冻融抗原100 mg/L,同时加入TNF- α (终浓度2 mg/L),促进DC成熟. d7收获细胞并计数. 将TDLN细胞分为3组, ①DC组: 以体外制备的自体DC诱导TDLN细胞活化. 即在RPMI1640培养基中,加入IL-2(终浓度2×10⁵ U/L),将经DC定向扩增的细胞与TDLN细胞按1:50的比例混合后,于37℃, 50 mL/L CO₂条件下培养3 d. ②Ag组: 以肿瘤抗原诱导TDLN细胞活化. 即在RPMI1640培养基中,加入IL-2(终浓度2×10⁵ U/L), TDLN细胞与冻融的肿瘤抗原25 mg/L混合,于37℃, 50 mL/L CO₂条件下培养3 d. ③L组: 单纯用IL-2刺激TDLN细胞. 即在RPMI1640培养基中,加入IL-2(终浓度2×10⁵ U/L), TDLN细胞于37℃、50 mL/L CO₂条件下培养3 d. 用流式细胞仪分别测定上述3组细胞中CD4⁺, CD8⁺及CD16+56⁺细胞的数量. 关于DC与TDLN细胞混合的比例,根据国内文献^[6-8]和我们前期研究结果^[9]确定将DC定向扩增的PBMC贴壁细胞与TDLN细胞按1:50的比例混合. 分别以结肠癌细胞系LS174T及黑色素瘤细胞系A375作为靶细胞包板,每孔的细胞数为1×10⁴. 用各组TDLN细胞作为效应细胞,按10:1及20:1的比例与靶细胞混合. 每组3个复孔,于37℃, 50 mL/L CO₂条件下培养72 h. 以MTT比色法^[10]检测TDLN细胞的杀伤活

性, 结果以 $A_{590\text{ nm}}$ 表示. 杀瘤率(%) = $[1 - \text{实验孔}A \text{值} / (\text{靶细胞}A \text{值} + \text{效应细胞}A \text{值})] \times 100\%$.

统计学处理 应用STATA 7.0软件法进行分析. 3组中 $CD8^+$, $CD16+56^+$ 细胞的百分比采用单因素方差分析, $CD4^+$ 细胞的百分比因为方差不齐采用多样本秩和检验(Kruskal-Wallis检验), 然后分别进行组间检验, 其中DC组与Ag组、DC组与L组进行单因素方差分析, Ag组与L组进行Wilcoxon-Mann-Whitney检验. 3组 $CD4^+/CD8^+$ T细胞的相对比也采用多样本秩和检验, 然后分别进行组间检验, 其中DC组与L组、DC组与Ag组采用Wilcoxon-Mann-Whitney检验, Ag组与L组采用单因素方差分析. 3组细胞对两种靶细胞的杀伤结果首先采取多因素方差分析, 研究TDLN细胞的不同激活方法、效靶比及靶细胞对3组TDLN细胞的杀伤率的影响, 以及各因素之间有无交互影响. 然后采取两因素方差分析方法分别分析分组及效靶比因素对每种靶细胞的杀伤率的影响. 最后, 采取单因素方差分析方法分别分析效靶比为10:1和20:1时各组TDLN细胞对LS174T细胞系的杀伤率的差异性. $P < 0.05$ 时认为有差异性显著.

2 结果

2.1 $CD4^+$ 、 $CD8^+$ 、 $CD16+56^+$ 细胞数 DC组中 $CD8^+$ 细胞与Ag组、L组均存在显著差异($P < 0.01$), 而Ag组、L组之间无统计学差异($P = 0.612$, 表1). $CD4^+$ 细胞在3组间比较时显示存在显著差异($P < 0.05$), 组间比较显示DC组与L组存在显著差异($P < 0.01$), 而DC组与Ag组, Ag组与L组之间无统计学差异($P > 0.05$). $CD16+56^+$ 细胞在3组间比较时无统计学差异($P > 0.05$). 对于 $CD4^+/CD8^+$ T细胞的相对比, 3组间比较时显示存在显著差异($P < 0.001$), 组间比较显示DC组与L组、DC组与Ag组均存在显著差异($P < 0.001$), 而Ag组与L组之间无统计学差异($P = 0.95$).

2.2 对靶细胞的杀伤率结果 TDLN细胞的激活方法、效靶比及靶细胞的差异对3组TDLN细胞的杀伤率的存在显著性影响, 而且激活方法与靶细胞、效靶比与靶细胞之间存在交互影响($P < 0.001$, 表2). 说明各组TDLN细胞对LS174T细胞系与A375细胞系的杀伤率存在显著差异, 各组TDLN细胞对LS174T细胞系的杀伤率均大于对A375细胞系的杀伤率, 而且以DC组在高效靶比对LS174T细胞系的杀伤效果最佳($P < 0.001$). 对于A375细胞的杀伤能力各组细胞间没有明显

表1 $CD4^+$ 、 $CD8^+$ 、 $CD16+56^+$ 细胞百分比及 $CD4^+/CD8^+$ T细胞的相对比 (mean \pm SD)

分组	$CD4^+$ (%)	$CD8^+$ (%)	$CD4^+/CD8^+$	$CD16+56^+$ (%)
DC组	48.43 \pm 5.45	22.00 \pm 4.46	2.27 \pm 0.48	1.88 \pm 0.82
Ag组	48.50 \pm 7.55	15.67 \pm 4.63	3.32 \pm 0.99	1.76 \pm 0.83
L组	53.12 \pm 3.78	17.09 \pm 4.49	3.30 \pm 0.81	1.89 \pm 0.98

表2 TDLN细胞对不同靶细胞杀伤率的组间比较 (mean \pm SD, %)

分组	LS174T		A375	
	E : T = 20 : 1	E : T = 10 : 1	E : T = 20 : 1	E : T = 10 : 1
DC组	56.13 \pm 7.33	44.85 \pm 6.50	19.00 \pm 11.70	17.17 \pm 8.78
Ag组	42.46 \pm 7.68	30.50 \pm 9.17	19.15 \pm 10.93	17.23 \pm 8.44
L组	33.50 \pm 7.00	26.75 \pm 8.88	17.30 \pm 9.84	15.22 \pm 8.57

差异, 而且在不同效靶比时的杀伤率也没有明显差异($P > 0.05$). 对LS174T细胞系的杀伤率的分析显示, 总体上各组TDLN细胞在不同效靶比时杀伤率均存在显著性差异($P < 0.001$). 但对不同效靶比进行分析则发现, 在效靶比为10:1时DC组与Ag组、L组均存在显著差异($P < 0.001$), 而Ag组与L组之间无统计学差异($P > 0.05$); 效靶比为20:1时三组间均存在显著差异($P < 0.001$).

3 讨论

过继性细胞免疫治疗(adoptive cellular immunotherapy, ACI)是通过输注免疫活性细胞增强肿瘤患者的免疫功能达到抗肿瘤的效果. 已经证实 $CD8^+$ CTL是主要的抗肿瘤效应细胞. 因此, 关于细胞毒性T细胞的研究始终是过继性细胞免疫治疗的重点, T细胞过继免疫治疗的核心问题是如何获得CTL并进一步增强T细胞的肿瘤特异性杀伤效应. 用于杀伤性T细胞来源的细胞主要有外周血单个核细胞(PBMC)、肿瘤浸润淋巴细胞(TIL)及肿瘤引流区淋巴结(TDLN)细胞, 其中对PBMC和TIL研究较多. TDLN细胞作为过继性细胞免疫治疗的细胞来源, 具备一些独特的优势: (1)与PBMC相比有更强的特异性. TDLN中的T细胞已经肿瘤抗原长期致敏, 具备针对自体肿瘤细胞特异性的识别能力. TDLN细胞是由个体肿瘤直接致敏, 所以对个体化的肿瘤细胞具有更好的特异性; (2)与TIL相比TDLN细胞的来源及数量与TIL相比更为广泛; (3)TDLN作为体内抗肿瘤免疫的主要场所, 从其中提取的各种细胞比率更接近于外周免疫系统的比率, 对于免疫系统而言, 发挥抗肿瘤效应并非是有有一种细胞起决定性的作用, 而

■应用要点

TDLN细胞在体外经短期激活和扩增就能用于治疗, 虽然用TDLN细胞进行过继免疫治疗目前在临床应用仍然很少, 但因为其具有良好的抗肿瘤活性, 可以作为抗肿瘤效应细胞的一种很好来源, 具备较好的发展前景.

■同行评价

本文采用患者自体树突状细胞(DC)在体外对结肠腺癌患者肿瘤引流区淋巴结(TDLN)细胞抗肿瘤活性作用的影响结果表明DC具有明显增强对结肠腺癌细胞LS174T细胞系的杀伤作用,其作用比融冻的肿瘤抗原为强,且其作用亦比对黑色素瘤细胞系A375的杀伤作用为强.实验进一步对其作用机制进行了探讨.这一研究为临床应用过继性细胞免疫治疗选用TDLN细胞作为细胞来源提供了理论依据.故本文具有临床参考价值.

是多种细胞相互协调、相互制约共同形成一个免疫网络系统,从而是免疫效应产生最合理的效益并控制负面作用的程度^[11-12].

流式细胞仪检查结果表明,DC诱导的TDLN细胞中CD8⁺T细胞的比率高出肿瘤抗原联合IL-2或单纯使用IL-2冻融肿瘤抗原诱导的TDLN细胞,CD4⁺/CD8⁺比例也有显著差异,而后两者之间无明显差异,即以DC诱导时可产生更多的CTL.对于CD4⁺T细胞,只在DC诱导和单纯使用IL-2诱导之间存在差异,而DC诱导与冻融肿瘤抗原的诱导、冻融肿瘤抗原的诱导与单纯使用IL-2诱导之间却无存在差异,推测DC对于CD4⁺T细胞和CD8⁺T细胞的影响可能有所不同.未能显示出统计学的差异.CD16+56为自然杀伤细胞(natural killer cells, NK细胞)的表面标志,在淋巴结中NK细胞所占比例很小,在我们的实验中各组CD16+56⁺细胞比例均值小于2%且不同诱导方法间不存在显著差异.这也说明了TDLN细胞中起杀伤作用的主要是以CD8⁺T细胞为主体的CTL.

我们在TDLN细胞加IL-2培养体系的基础上,分别用负载肿瘤抗原的DC刺激与用肿瘤冻融抗原刺激的方法进行对比,比较了3组TDLN细胞对LS174T细胞系和A375细胞系杀伤的作用.结果表明,3组TDLN细胞对LS174T细胞系杀伤率均高于对A375细胞系的杀伤率,提示TDLN细胞可能在患者体内已被结肠癌细胞预致敏,具有一定特异性.3组TDLN细胞对LS174T细胞系的杀伤率存在明显差异,在较低靶比时,肿瘤冻融抗原刺激对杀伤率的影响不显著,但在高效靶比例的情况下,肿瘤冻融抗原刺激的TDLN细胞的杀伤率也有显著提高.说明对结肠腺癌患者的TDLN细胞来说肿瘤抗原联合IL-2的激活效果也优于单纯使用IL-2的方法.我们既往的研究结果显示对胃腺癌患者TDLN细胞冻融肿瘤抗原刺激则无此效果,两者差异可能与结肠癌细胞的抗原性强于胃癌细胞有关^[13].DC刺激的TDLN细胞对LS14T细胞的杀伤率高于其他两组,说明以自体成熟的DC激活TDLN细胞的方法,优于肿瘤抗原联合IL-2或单纯使用IL-2的方法,各组TDLN细胞对A375细胞的杀伤率相似.说明TDLN细胞对LS174T细胞的杀伤作用具有一定的特异性.有研究证实人实体肿瘤内的肿瘤浸润树突状细胞(TIDC)的研究发现其表型特征与功能成熟的DC明显不同,大多数TIDC不表达或低表达

共刺激因子B7-1(CD80)和B7-2(CD86),而且与正常DC不同的是IL-4, GM-CSF, TNF- α 等细胞因子不能解除肿瘤浸润对DC在B7分子表达上的抑制.这可能是TIDC不能有效激活CTL的原因之一^[3,14].以体外培养并以自体冻融的肿瘤抗原致敏的DC,代替TDLN细胞中受肿瘤抑制的DC,可增强TDLN细胞的抗肿瘤活性,其效果优于肿瘤抗原联合IL-2或单纯使用IL-2的方法.

4 参考文献

- 1 Santi AD. Lymph node metastases: the Important of the Microenvironment. *Cancer* 2000; 88: 175-179
- 2 Cohen PA, Peng L, Kjaergaard J, Plautz GE, Finke JH, Koski GK, Czerniecki BJ, Shu S. T-cell adoptive therapy of tumors: mechanisms of improved therapeutic performance. *Crit Rev Immunol* 2001; 21: 215-248
- 3 Almand B, Resser JR, Lindman B, Nadaf S, Clark JL, Kwon ED, Carbone DP, Gabrilovich DI. Clinical significance of defective dendritic cell differentiation in cancer. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 1755-1766
- 4 Pinedo HM, Buter J, Luykx-de Bakker SA, Pohlmann PR, van Hensbergen Y, Heideman DA, van Diest PJ, de Gruijl TD, van der Wall E. Extended neoadjuvant chemotherapy in locally advanced breast cancer combined with GM-CSF: effect on tumour-draining lymph node dendritic cells. *Eur J Cancer* 2003; 39: 1061-1067
- 5 郭建巍, 秦力维, 吕同德, 杨霄鹏, 刘斌, 昌业伟. 胃癌组织CD1 α 和Survivin表达及临床意义. *世界华人消化杂志* 2005; 13: 1425-1428
- 6 陈翔, 汪森明, 孙海, 何威. 结肠癌LS174细胞培养上清对树突状细胞诱导CTL杀伤效应的影响. *世界华人消化杂志* 2005; 13: 1131-1133
- 7 刘剑勇, 吴飞翔, 张春燕, 唐凯, 张力图, 李挺. 树突状细胞对肿瘤浸润淋巴结抗肿瘤活性的影响. *中国肿瘤临床* 2003; 30: 841-843
- 8 李东复, 王艳芬, 杨春荣, 申吉子, 闫峻. 肝癌细胞抗原负载树突状细胞激活TIL的抗肿瘤活性. *中华肝胆外科杂志* 2005; 11: 14-16
- 9 彭正, 李荣, 李力, 张磊, 金婷. 胃肠道腺癌患者与正常人PBMC诱导DC差异性研究. *解放军医学杂志* 2003; 28: 1100-1102, 1106
- 10 司徒镇强, 吴军正. *细胞培养*. 西安: 世界图书出版社, 1996: 186-187
- 11 Li Q, Yu B, Grover AC, Zeng X, Chang AE. Therapeutic effects of tumor reactive CD4⁺ cells generated from tumor-primed lymph nodes using anti-CD3/anti-CD28 monoclonal antibodies. *J Immunother* 2002; 25: 304-313
- 12 Li Q, Grover AC, Donald EJ, Carr A, Yu J, Whitfield J, Nelson M, Takeshita N, Chang AE. Simultaneous targeting of CD3 on T cells and CD40 on B or dendritic cells augments the antitumor reactivity of tumor-primed lymph node cells. *J Immunol* 2005; 175: 1424-1432
- 13 彭正, 李荣, 李力, 张磊, 金婷. 自体树突状细胞体外增强肿瘤患者引流淋巴结细胞抗肿瘤活性的作用. *细胞与分子免疫学杂志* 2004; 20: 595-597, 607
- 14 Dallal RM, Christakos P, Lee K, Egawa S, Son YI, Lotze MT. Paucity of dendritic cells in pancreatic cancer. *Surgery* 2002; 131: 135-138