

doi: 10.3872/j.issn.1007-385X.2013.05.019

基因修饰 DC 在抗肿瘤免疫治疗中的应用

Application of gene modified dendritic cells in antitumor immunotherapy

尹良伟¹, 马海英^{2△}, 王苏平¹(1. 大连市中心医院 细胞生物治疗科, 辽宁 大连 116033; 2. 大连医科大学 组织胚胎学教研室, 辽宁 大连 116044)

[摘要] DC是目前已知人体内功能最强的免疫提呈细胞(antigen presenting cell, APC),成熟的DC通过诱导细胞免疫、参与体液免疫以及分泌多种细胞因子等多种途径,在抗原的捕获、加工、提呈和激活T细胞产生抗肿瘤免疫效应中发挥重要作用。恶性肿瘤患者往往存在一定的DC功能缺陷,基因修饰的DC可为机体免疫系统提供多个可供识别的抗原表位,是加强抗肿瘤免疫的重要手段之一。基因修饰的DC疫苗种类较多,如肿瘤相关抗原基因、细胞因子基因、共刺激分子基因、黏附分子基因、免疫调控分子基因、凋亡相关基因、癌基因以及多种基因共同修饰的DC疫苗等,这些经基因修饰后的DC疫苗在抗肿瘤免疫的基础研究方面已经证实了其免疫增强作用,而且部分DC疫苗在临床试验中也取得了一定的抗肿瘤疗效,这些都将成为基因修饰的DC在临床中的应用提供重要的理论基础。本文将从DC的生物学特征、DC的抗肿瘤机制以及基因修饰的DC疫苗在抗肿瘤免疫中的基础研究和相关临床试验等几个方面做一综述。

[关键词] 树突状细胞;基因修饰;疫苗;肿瘤;免疫治疗

[中图分类号] R392.1;R730.51

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2013)05-0618-05

DC是机体内功能最强的免疫提呈细胞(antigen presenting cell, APC),其高表达主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC) I类和II类分子,可特异性激活CD8⁺细胞毒性T细胞(cytotoxic T lymphocyte, CTL)和CD4⁺辅助T细胞(helper T cell, Th),在机体的抗肿瘤免疫中发挥着重要的作用,是针对肿瘤抗原免疫反应的理想靶点之一^[1]。近些年,诸多临床前期试验^[2-4]已证实,DC疫苗对一些恶性肿瘤具有一定的疗效,而且部分DC疫苗已经正式被批准应用于临床。2010年5月美国FDA正式批准了Dendreon公司的治疗性癌症疫苗产品Provenge应用于转移性激素难治性晚期前列腺癌,Provenge为一种载有重组前列腺酸性磷酸酶抗原的DC疫苗^[5]。肿瘤患者往往存在一定程度的DC功能缺陷,不能有效提呈肿瘤抗原、诱导抗肿瘤免疫,导致免疫耐受和肿瘤免疫逃逸,进而出现肿瘤的浸润、转移等;将特定的基因转染DC或敲除特定的基因片段是加强DC抗肿瘤免疫功能的有效手段之一。本研究将基因修饰的DC疫苗在肿瘤免疫治疗中的应用做一综述。

1 DC的生物学特征

DC是由美国Steinman教授于1973年首次发现的。DC存在于脑组织之外的所有组织和器官,分为髓源性DC(myeloid dendritic cell, MDC)和浆细胞样

DC(plasmacytoid dendritic cell, pDC),两者均来源于骨髓CD34⁺造血干细胞,其分化为DC前体细胞后,进入外周血分布于不同的组织及器官,并进一步分化。未成熟DC在摄取抗原后逐渐成熟,其抗原提呈能力也逐渐增强,成熟DC携带抗原迁移到次级淋巴器官中的T细胞富含区,通过MHC限制性途径将抗原提呈给T细胞,激活T细胞免疫^[6]。在提呈抗原过程中,DC表面共刺激分子如B7-1(CD80)、B7-2(CD86)、CD40,黏附分子如ICAM-1、ICAM-2、ICAM-3,以及DC分泌的细胞因子如IL-12、IFN- α 、TNF- α 等,都发挥着重要的作用^[7]。体外培养的DC是由外周血中CD14⁺单核细胞在粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte/macrophage colony-stimulating factor, GM-CSF)和IL-4作用下分化为不成熟DC,进而在TNF- α 、IL-1、LPS等炎性介质作用下发育为成熟DC^[8]。pDC提呈抗原及刺激

[基金项目] 大连市卫生局基金资助项目(No. 2012-0407L)。Project supported by the Foundation of Health Bureau of Dalian (No. 2012-0407L)

[作者简介] 尹良伟(1975-),男,辽宁省大连市人,硕士,副主任医师,主要从事肿瘤化疗及生物治疗的临床及基础方面的研究。E-mail: Lwyin2008@163.com

[通信作者] 王苏平(Wang Suping, corresponding author), E-mail: Wangsuping@medmail.com.cn; 马海英(Ma Haiying, Co-corresponding author), E-mail: hyma20060602@aliyun.com. Δ 为共同通信作者

T 细胞的能力均较 MDC 弱,而且不易大量制备,故目前研究较多且广泛应用的都是 MDC。

未成熟 DC 不具有直接刺激 T 细胞激活免疫的功能,相反,它通过诱导 CD4⁺ 和 CD8⁺ 调节性 T 细胞的产生,抑制免疫应答,维持免疫耐受^[9-10]。只有成熟 DC 才具有提呈抗原、激活免疫应答的功能,其特征为高表达 MHC-II 类分子、共刺激分子、黏附分子,并分泌大量的细胞因子,而且成熟 DC 可以通过分泌 IL-6,抑制 CD4⁺ CD25⁺ 调节性 T 细胞的功能^[11]。研究^[11]表明,肿瘤患者 DC 功能缺陷主要原因之一是肿瘤细胞分泌的 VEGF、IL-10、TGF- β 等抑制了 DC 的分化、成熟,另外,肿瘤患者外周血 DC 含量明显低于正常人,而且这种降低仅发生于 MDC。

2 DC 的抗肿瘤机制

成熟 DC 可以通过诱导细胞免疫、参与体液免疫、分泌细胞因子等多种途径发挥抗肿瘤作用。抗肿瘤免疫反应的核心是以 CD8⁺ T 细胞为主体的细胞免疫应答,这也是 DC 作为免疫治疗手段的基础。

2.1 诱导细胞免疫

成熟 DC 摄取肿瘤抗原后,将肿瘤抗原加工、处理成 MHC-抗原肽复合物形式,表达于细胞表面,进而与 T 细胞表面 T 细胞受体(T cell receptor, TCR)结合,同时在 DC 表面高表达的 B7-1、B7-2 等共刺激分子协同作用下,激活 T 细胞,启动 CTL 介导的抗肿瘤免疫应答^[12]。这种受 MHC-I 类分子限制的高度特异性的杀伤机制有两种:通过分泌释放穿孔素、颗粒酶、淋巴毒素、肿瘤杀伤因子等引起靶细胞的裂解或凋亡(分泌型杀伤);激活 CTL 细胞表面 FasL 与肿瘤细胞表面的 Fas 分子结合,进而诱导肿瘤细胞凋亡(非分泌型杀伤)。另外,肿瘤抗原致敏的 DC 可以释放一种有抗原提呈能力的囊泡小体,可显著刺激抗原特异性 CTL 的活性^[13]。

2.2 参与体液免疫

研究^[14]表明,DC 可调控特异性 Th 细胞的分化,促进 B 细胞抗体的生成,介导体液免疫应答;另外,DC 还可以直接作用于 B 细胞,参与 B 细胞的发育、分化、激活,并可以通过干扰素的分泌诱导初始型和记忆型 B 细胞分化为浆细胞,促进体液免疫。

2.3 分泌细胞因子参与免疫

成熟 DC 可以分泌多种细胞因子,如 IL-12、IL-4、IL-1、IL-8、IFN- γ 、TNF- α 、GM-CSF 等,这些细胞因子能促进免疫效应细胞的增殖,增强它们特异性或非特异性杀瘤活性。其中 IL-12 还可以抑制肿瘤新生血管的形成,增强肿瘤细胞 MHC-I 类、MHC-

II 类分子和共刺激分子的表达,增强特异性 CTL 杀瘤活性^[15]。

3 基因修饰的 DC 疫苗

目前研究的基因修饰 DC 疫苗种类较多,大致可以将其分为以下几类:(1)肿瘤相关抗原(tumor associated antigen, TAA)基因修饰的 DC 疫苗;(2)细胞因子基因修饰的 DC 疫苗;(3)共刺激分子、黏附分子、免疫调控分子基因修饰的 DC 疫苗;(4)凋亡相关基因修饰的 DC 疫苗;(5)癌基因修饰的 DC 疫苗;(6)多基因共同修饰的 DC 疫苗等。

3.1 肿瘤相关抗原基因修饰的 DC 疫苗

将 TAA 基因转染 DC 后,基因能在 DC 内持续表达 TAA, TAA 与 DC 的 MHC-I 类分子结合,特异性提呈给 CTL,诱导肿瘤细胞的杀伤。目前实验室或临床应用较多的 TAA 有:甲胎蛋白(alpha-fetoprotein, AFP)、黏蛋白 1(mucin 1, MUC1)、前列腺特异性抗原(prostate specific antigen, PSA)、黑素瘤抗原(melanoma antigen gene-A3, MAGE-A3)等。研究^[16-17]表明,通过脂质体转染法将携带人 AFP 基因的质粒转入 CD34⁺ 造血干细胞来源的 DC,经基因修饰的 DC 可诱导特异性 CTL,杀伤人肝癌 HepG2 细胞。MUC1 是黏蛋白家族中最重要的成员之一,广泛存在于腺癌上皮细胞的表面,其表达程度与肿瘤恶性程度呈正相关;表达于肿瘤细胞表面的 MUC1 糖基化不完全,可暴露出隐蔽的抗原表位,这些表位可以通过 MHC 限制性或非 MHC 限制性被 TCR 识别,并导致特异性的肿瘤杀伤。研究^[18]表明,转染 MUC1 基因的 DC 活化的淋巴细胞对膀胱癌 BIU-87 细胞的杀伤作用明显大于未转染 DC 活化的淋巴细胞。研究^[19]表明,应用 MUC1 基因转染 DC 细胞体外作用于胰腺癌细胞也能得到相似结论。研究^[20]显示,转染 CEA 基因的 DC 诱导产生抗原特异性 CTL 不但对表达 CEA 的乳腺癌细胞有明显的杀伤作用,对 CD44⁺ CD24^{-low} 乳腺癌干细胞也有一定的杀伤作用。朱等^[21]应用携带 CEA 的重组腺病毒感染结肠癌患者 DC,体外作用于大肠癌细胞,诱导的特异性 CTL 对肿瘤细胞产生了高效的杀伤活性。Heiser 等^[22]应用 PSA 基因转染人 DC,7 例前列腺癌患者中有 6 例患者血 PSA 水平显著降低,而且体外诱导针对肿瘤细胞的特异性 CTL。MAGE-A3 是从黑素瘤中分离出来的肿瘤胚胎抗原,在多种肿瘤中广泛表达,表达程度与肿瘤患者预后呈一定的负相关^[23]。Fukushima 等^[24]的研究表明,黑素瘤抗原基因转染的 DC 可有效抑制小鼠 B16 黑素移植瘤的生长,而且在存活小鼠中再次接种 B16 黑素瘤细胞,经

基因修饰的 DC 可诱导持续的抗肿瘤免疫应答。

3.2 细胞因子基因修饰的 DC 疫苗

细胞因子是一类由活化的免疫细胞或非免疫细胞所分泌的小分子蛋白质的统称,具有调节体液免疫和细胞免疫等多种功能,在抗肿瘤免疫中发挥着重要作用。其抗肿瘤的机制在于:诱导免疫效应细胞的激活、增殖、分化,增强效应细胞的功能;促进肿瘤细胞抗原提呈及共刺激分子表达;抑制肿瘤细胞的分裂、增殖;直接杀伤肿瘤细胞或诱导凋亡;抑制肿瘤新生血管的生成等。研究^[14]表明,细胞因子基因修饰的 DC 疫苗能持续表达该细胞因子,抗原提呈能力及其诱导 T 细胞的肿瘤杀伤能力明显增强。王等^[25]应用食管癌细胞抗原致敏 IL-27 基因修饰的 DC 疫苗,体外诱导自体 T 细胞,产生的 CTL 可特异性杀伤食管癌 Eca109 细胞。腺病毒介导的 IL-18 基因转染、肝癌抗原致敏的 DC 高表达 CD1a、CD11c、CD80、CD86 及 HLA-DR,分泌高水平的 IL-18,而且可诱导出更强的针对肝癌细胞株的特异性 CTL^[26]。应用 IL-24 基因转染的 DC 联合 CIK 对比单纯 DC 联合 CIK 作用于肝癌细胞^[27],前者显示出更高的杀伤活性。肿瘤细胞分泌 IL-10 有抑制 DC 分化成熟的作用,已经被证实是肿瘤细胞逃逸免疫系统识别和杀伤的机制之一^[28-29]。Kim 等^[30]应用 siRNA 技术敲除 DC 的 *IL-10* 基因,*IL-10* 缺陷的 DC 分泌 IL-10 明显减少,而分泌 IL-12 明显增多,而且这种经基因修饰的 DC 诱导的特异性 CTL 对 TC-1 肿瘤细胞的免疫杀伤作用明显增强。

3.3 共刺激分子、黏附分子、免疫调控分子基因转染的 DC 疫苗

共刺激分子和黏附分子是激活 T 细胞抗肿瘤免疫的第二信号系统,肿瘤局部的 DC 表面往往缺乏共刺激分子及黏附分子的表达,使肿瘤细胞逃避免疫监视。DC 表面 CD40 与其配体 CD40L 结合,能诱导 DC 表型和功能的成熟,并促进 DC 的增殖,体外诱导产生的 DC 也需要 CD40L 的激发而使 DC 达到最佳的抗原提呈状态^[31-32]。Maria 等^[33]以 *CD40L* 基因转染小鼠 MDC,并用肝癌细胞体外刺激转染后的 DC,之后免疫肝癌荷瘤小鼠;结果转染 CD40L 后 DC 的抗肿瘤活性明显增强,瘤体内注射 DC 后肿瘤完全消退并保持长时间无复发。B7-1 是 DC 表面另一种重要的共刺激分子,B7-1 与 T 细胞上相应配体 CD28 结合,能促进 T 细胞的分化成熟,激活 T 细胞免疫并促进 T 细胞分泌细胞因子。袁等^[34]应用 B7 特异性 siRNA 在脂质体介导下敲除 DC 的 B7 基因,结果 B7 蛋白表达明显下降,DC 诱导的特异性 T 细

胞增值指数及 IFN- γ 分泌明显下降,CTL 杀伤活性明显降低。细胞因子信号转导抑制蛋白 1 (suppressor of cytokine signaling 1, SOCS1) 是阻断细胞因子信号转导过程的重要免疫负调控分子,应用 siRNA 技术沉默 DC 中的 *SOCS1* 基因可增强 DC 的抗肿瘤免疫反应^[35]。远等^[36]应用 siRNA 技术沉默 DC 中的 *SOCS1* 基因表达,敲除 *SOCS1* 基因的 DC 高表达 CD83、CD86 及 HLA-DR,分泌高水平 IFN- γ ,并诱导出较强的针对喉癌细胞特异性 CTL 免疫杀伤。Zhang 等^[37]的研究也表明,沉默 *SOCS1* 基因的树突状细胞可以激活 Toll 样受体 (Toll-like receptor, TLR),其诱导的 T 细胞可分泌更高水平的 IFN- γ 。

3.4 凋亡相关基因修饰的 DC 疫苗

Fas 是一种穿膜蛋白,它与 FasL 结合可以启动凋亡信号的转导,引起细胞凋亡^[38]。王等^[39]将 *FasL* 基因修饰 DC 处理的小鼠骨髓细胞移植应用于已接种 P815 肿瘤细胞的小鼠,检测小鼠特异性 CTL 活性,结果显示,CTL 对 P815 肿瘤细胞有更强的杀伤活性,并且保留了骨髓移植物的抗白血病作用。Survivin 是凋亡抑制蛋白家族新成员,可直接抑制 caspase-3 和 caspase-7 的活性,阻断来自 *Fas/FasL* 通路和(或)线粒体通路的凋亡信号,阻断肿瘤细胞凋亡。赖等^[40]利用重组腺病毒介导的 *survivin* 基因转染 DC,转染组 DC 能分泌更高水平的 IL-12,并可增强 T 细胞分泌 IFN- γ 的能力;而且 *survivin* 基因转染 DC 诱导的特异性 CTL 对 Survivin 阳性肿瘤细胞的杀伤能力明显增强。

3.5 癌基因修饰的 DC 疫苗

Her-2/neu 原癌基因定位于人染色体 17q21,其编码产物为 185 000 Da 的、具有酪氨酸蛋白激酶活性的穿膜糖蛋白,是 EGFR 家族成员之一,介导多种信号转导通路。*Her-2/neu* 在乳腺癌、卵巢癌、肺腺癌等多种肿瘤中过度表达,并提示患者预后不良^[41]。Sas 等^[42]通过重组腺病毒载体将 *Her-2/neu* 基因转染入 DC,经基因修饰的 DC 不但能高表达 *Her-2/neu*,而且可诱导强烈的特异性 CTL 免疫杀伤,并能有效阻止小鼠乳腺癌的生长。*WT1* 基因是在白血病中异常表达的癌基因, Van Tendeloo 等^[43]应用电转染法将 *WT1* 转染入 DC,并应用于 10 例急性髓性白血病患者,其中 5 例患者获得临床缓解,3 例获得长期免疫应答。人第 9 号染色体上的 *Abl* 原癌基因与第 22 号染色体上的 *Bcr* 基因相互易位形成的融合基因 *bcr/abl* 基因可引起蛋白激酶的持续性激活,使白细胞过分增殖而出现慢性粒细胞白血病。Wenen 等^[44]以缺陷型重组腺病毒为载体,将慢

性粒细胞白血病 *Bcr/Abl* 基因片段转染入 DC, 将此 DC 疫苗体外作用于 K562 细胞, 结果发现基因修饰组 DC 诱导的特异性 CTL 杀伤功能明显强于多肽负载 DC 组及单纯 DC 组。

3.6 多基因共同修饰的 DC 疫苗

TAA 基因、细胞因子基因、共刺激分子基因、黏附分子基因、免疫调控分子基因、凋亡相关基因及癌基因修饰的 DC 有效的增强或降低了 DC 的免疫功能; 多种基因联合修饰的 DC 理论上较单一基因修饰的 DC 应该能更有效地改变其原有的免疫活性。侯等^[45]应用慢病毒载体介导的次级淋巴组织趋化因子 (secondary lymphoid tissue chemokine, SLC) 和 AFP 基因共同修饰造血干细胞来源的 DC, 作用于肝癌细胞株 HepG2, 结果诱导出特异性抗肝癌 CTL 增殖, 其对 AFP 阳性肝癌细胞株杀伤活性明显高于未转染 DC 组。Wang 等^[46]将 *SLC* 基因及 *MUC1* 基因共同转染 DC 诱导出针对结肠癌细胞株特异性免疫杀伤。与 IL-10 类似, 转化生长因子 β (transforming growth factor β , TGF- β) 具有较强负性免疫调节作用, 它可抑制 T 细胞的分化成熟和 IL-2 的产生, 还可以通过降低肿瘤细胞表面 MHC-II 类抗原的表达, 降低机体的抗肿瘤免疫^[47]。Chen 等^[48]的研究显示, 经 *IL-10* 和 *TGF- β* 基因联合修饰的未成熟 DC 较单一基因修饰的未成熟 DC 具有更强的免疫抑制功能。

4 结 语

随着人们对肿瘤免疫机制的不断研究以及分子生物学技术的日趋完善, 基因治疗恶性肿瘤被认为是最有发展潜力的治疗方法。基因修饰的 DC 疫苗在抗肿瘤免疫方面的基础研究和临床前期试验获得了一定的成果, 为其在肿瘤预防和生物免疫治疗方面的应用提供了广泛的应用前景, 并有可能成为使肿瘤治疗疗效再上一个台阶的全新的治疗手段。但是 DC 疫苗的安全性、细胞制品质量控制、如何进一步提高转染效率、如何规模化生产等诸多方面仍需开展更深入的研究。相信作为一种基因治疗方法, 基因修饰的 DC 疫苗会为更多的肿瘤患者带来更大的希望。

[参 考 文 献]

[1] Adams S, O'Neill DW, Bhardwaj N. Recent advances in dendritic cell biology [J]. *J Clin Immunol*, 2005, 25(2): 87-98.
 [2] Hegmans JP, Veltman JD, Lambers ME, et al. Consolidative dendritic cell-based immunotherapy elicits cytotoxicity against malignant mesothelioma [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2010, 181(12): 1383-1390.

[3] Soleimani A, Berntsen A, Svane IM, et al. Immune responses in patients with metastatic renal cell carcinoma treated with dendritic cells pulsed with tumor lysate [J]. *Scand J Immunol*, 2009, 70(5): 481-489.
 [4] Toh HC, Wang WW, Chia WK, et al. Clinical benefit of allogeneic melanoma cell lysate-pulsed autologous dendritic cell vaccine in MAGE-positive colorectal cancer patients [J]. *Clin Cancer Res*, 2009, 15(24): 7726-7736.
 [5] Thara E, Dorff TB, Pinski JK, et al. Vaccine therapy with sipuleucel-T (Provenge) for prostate cancer [J]. *Maturitas*, 2011, 69(4): 296-303.
 [6] Nencioni A, Brossart P. Cellular immunotherapy with dendritic cells in cancer: Current status [J]. *Stem Cells*, 2004, 22(4): 501-513.
 [7] Paczesny S, Ueno H, Fay J, et al. Dendritic cells as vectors for immunotherapy of cancer [J]. *Semin Cancer Biol*, 2003, 13(6): 439-447.
 [8] Janikashvili N, Larmonier N, Katsanis E. Personalized dendritic cell-based tumor immunotherapy [J]. *Immunotherapy*, 2010, 2(1): 57-68.
 [9] Mahnke K, Qian Y, Knop J, et al. Induction of CD4⁺/CD25⁺ regulatory T cells by targeting of antigens to immature dendritic cells [J]. *Blood*, 2003, 101(12): 4862-4869.
 [10] Sakaguchi S. Regulatory T cells: History and perspective [J]. *Methods Mol Biol*, 2011, 707(1): 3-17.
 [11] Levings MK, Gregori S, Tresoldi E, et al. Differentiation of Tr1 cells by immature dendritic cells requires IL-10 but not CD25⁺ CD4⁺ Tr cells [J]. *Blood*, 2005, 105(3): 1162-1169.
 [12] O'Neill DW, Adams S, Bhardwaj N. Manipulating dendritic cell biology for the active immunotherapy of cancer [J]. *Blood*, 2004, 104(8): 2235-2246.
 [13] Quah BJ, O'Neill HC. The immunogenicity of dendritic cell-derived exosomes [J]. *Blood Cells Mol Dis*, 2005, 35(2): 94-110.
 [14] Morandi F, Chiesa S, Bocca P, et al. Tumor mRNA-transfected dendritic cells stimulate the generation of CTL that recognize neuroblastoma-associated antigens and kill tumor cells: Immunotherapeutic implications [J]. *Neoplasia*, 2006, 8(10): 833-842.
 [15] Dranoff G. Cytokines in cancer pathogenesis and cancer therapy [J]. *Nat Rev Cancer*, 2004, 4(1): 11-22.
 [16] 贾军, 任军, 张利旺, 等. AFP 基因转染 CD34⁺ 造血干细胞来源的树突状细胞诱导特异性抗肝癌免疫 [J]. *第四军医大学学报*, 2005, 26(8): 755-757.
 [17] Vlad AM, Kettel JC, Alajez NM, et al. MUC1 immunobiology: From discovery to clinical applications [J]. *Adv Immunol*, 2004, 82: 249-293.
 [18] Kai S, Siwei Z, Gang L, et al. Lethal effect of T cells activated by dendritic cells with MUC1 gene transfection on BIU-87 cells *in vitro* [J]. *Chin-German J Clin Oncol*, 2005, 12(4): 347-350.
 [19] Chen J, Li HY, Wang D, et al. Human dendritic cells transfected with amplified MUC1 mRNA stimulate cytotoxic T lymphocyte responses against pancreatic cancer *in vitro* [J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2011, 26(10): 1509-1518.
 [20] 王小利, 马博, 贾军, 等. rAAV/CEA 转染树突状细胞诱导特

- 异性 CTL 杀伤 MCF-7 细胞系 CD4⁺CD24^{-/low} 乳腺癌干细胞 [J]. 北京大学学报: 医学版, 2011, 43(2): 173-178.
- [21] 朱成英, 董小林, 韩亚萍, 等. 携带癌胚抗原基因重组腺病毒相关病毒感染 DC 诱导 CTL 活化 [J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2012, 19(3): 313-316.
- [22] Heiser A, Dahm P, Yancey DR, et al. Human dendritic cells transfected with RNA encoding prostate-specific antigen stimulate prostate-specific CTL responses *in vitro* [J]. J Immunol, 2000, 164(10): 5508-5514.
- [23] Vansteekiste J, Zielinski M, Linder A, et al. Final results of a multi-center, double-blind, randomized, placebo-controlled phase II study to assess the efficacy of MAGE-A3 immunotherapeutic as adjuvant therapy in stage IB/II non-small cell lung cancer (NSCLC) [J]. J Clin Oncol, 2007, 25(18s): 7554.
- [24] Fukushima S, Hirata S, Motomura Y, et al. Multiple antigen-targeted immunotherapy with alpha-galactosylce-ramide-loaded and genetically engineered dendritic cells derived from embryonic stem cells [J]. J Immunother, 2009, 32(3): 219-231.
- [25] 王雷, 单保恩, 刘亮, 等. 抗原致敏及白细胞介素 27 基因修饰的树突状细胞诱导抗食管癌免疫的体外研究 [J]. 肿瘤, 2011, 31(7): 601-607.
- [26] 杨静悦, 曹大勇, 刘文超, 等. IL-18 基因增强肿瘤抗原致敏 DC 诱导的 CTL 特异性杀伤肝癌细胞 [J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2009, 16(1): 55-58.
- [27] Yu X, Xia W, Zhang T, et al. Enhanced cytotoxicity of IL-24 gene-modified dendritic cells co-cultured with cytokine-induced killer cells to hepatocellular carcinoma cells [J]. Int J Hematol, 2010, 92(2): 276-282.
- [28] Marchi LH, Paschoalin T, Travassos LR, et al. Rodrigues EGG-ene therapy with interleukin-10 receptor and interleukin-12 induces a protective interferon-gamma-dependent response against B16F10-Nex2 melanoma [J]. Cancer Gene Ther, 2011, 18(2): 110-122.
- [29] Kim JH, Kang TH, Noh KH, et al. Enhancement of dendritic cell based vaccine potency by anti-apoptotic siRNAs targeting key pro-apoptotic proteins in cytotoxic CD8⁺ T cell-mediated cell death [J]. Immunol Lett, 2009, 122(1): 58-67.
- [30] Kim JH, Kang TH, Noh KH, et al. Blocking the immunosuppressive axis with small interfering RNA targeting interleukin IL-10 receptor enhances dendritic cell-based vaccine potency [J]. Clin Exp Immunol, 2011, 165(2): 180-189.
- [31] Wu JM, Lin XF, Huang ZM, et al. Construction of the HBV S-ecdCD40L fusion gene and effects of HBV S-ecdCD40L modification on function of dendritic cells [J]. J Viral Hepat, 2011, 18(10): e461-e467.
- [32] Ting C, Zhoubin L, Tu J, et al. MicroRNA-146a regulates the maturation process and pro-inflammatory cytokine secretion by targeting CD40L in oxLDL-stimulated dendritic cells [J]. FEBS Lett, 2011, 585(2): 567-573.
- [33] Gonzalez-Carmona MA, Lukacs-Kornek V, Timmerman A, et al. CD40ligand-expressing dendritic cells induce regression of hepatocellular carcinoma by activating innate and acquired immunity *in vivo* [J]. Hepatology, 2008, 48(1): 157-168.
- [34] 袁成良, 魏世刚, 刘定海, 等. B7 特异性 siRNA 对树突状细胞功能的影响 [J]. 西部医学, 2009, 21(4): 559-565.
- [35] Akita H, Kogure K, Moriguchi R, et al. Nanoparticles for *ex vivo* siRNA delivery to dendritic cells for cancer vaccines: Programmed endosomal escape and dissociation [J]. J Control Release, 2010, 143(3): 311-317.
- [36] 远洋, 王雪峰, 张扬, 等. SOCS1 沉默的树突状细胞疫苗在喉癌治疗中的实验研究 [J]. 临床耳鼻咽喉科杂志, 2012, 26(4): 169-173.
- [37] Zhang J, Yu J, Yang L, et al. Enhanced activation of human dendritic cells by silencing SOCS1 and activating TLRs simultaneously [J]. Cancer Immunol Immunother, 2012, 61(10): 1653-1661.
- [38] Villa-Morales M, Fernandez-Piqueras J. Targeting the Fas/FasL signaling pathway in cancer therapy [J]. Expert Opin Ther, 2012, 16(1): 85-101.
- [39] 王美玲, 刘峰, 姜斌, 等. FasL 基因修饰树突状细胞的抗白血病作用及其机制 [J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2007, 14(6): 527-530.
- [40] 赖海标, 吴松, 钟希文, 等. 重组腺病毒介导 survivin 基因转染树突状细胞对肾细胞癌的免疫效应 [J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2008, 15(4): 331-335.
- [41] Hayashi N, Iwamoto T, Gonzalez-Angulo AM, et al. Prognostic impact of phosphorylated HER-2 in HER-2⁺ primary breast cancer [J]. Oncologist, 2011, 16(7): 956-965.
- [42] Sas S, Chan T, Sami A, et al. Vaccination of fiber-modified adenovirus-transfected dendritic cells to express HER-2/neu stimulates efficient HER-2/neu specific humoral and CTL responses and reduces breast carcinogenesis in transgenic mice [J]. Cancer Gene Ther, 2008, 15(10): 655-666.
- [43] Van Tendeloo VF, Van de Velde A, Van Driessche A, et al. Induction of complete and molecular remissions in acute myeloid leukemia by Wilmstumor 1 antigen-targeted dendritic cell vaccination [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2010, 107(31): 13824-13829.
- [44] Wenen W, Renwei H, Yuan H, et al. Construction of genetically modified dendritic cell vaccine expressing bcr/abl fusion gene and inducing specific cytotoxic T lymphocytes to kill K562 cells *in vitro* [J]. Chin J Cancer, 2009, 28(6): 602-606.
- [45] 侯静, 李明峰, 熊伟民, 等. 次级淋巴组织趋化因子和甲胎蛋白基因共修饰的树突状细胞诱导特异性抗肝癌免疫作用的研究 [J]. 中国癌症杂志, 2010, 20(7): 502-507.
- [46] Wang B, Zhu Y, Zhang JJ, et al. Enhanced induction of anti-tumor CTLs *in vitro* by a lentivirus-transduced dendritic cell vaccine expressing secondary lymphoid tissue chemokine and mucin 1 [J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2011, 12(11): 2811-2817.
- [47] Mantel PY, Schmidt-Weber CB. Transforming growth factor-beta: Recent advances on its role in immune tolerance [J]. Methods Mol Biol, 2011, 677: 303-338.
- [48] Chen L, Qiu M, He W, et al. Functional study of immature dendritic cells co-transfected with IL-10 and TGF-beta 1 genes *in vitro* [J]. Mol Biol Rep, 2012, 39(6): 6633-6639.