

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2009.03.003

· 基础研究 ·

流感疫苗促进髓系白血病骨髓细胞来源树突状细胞的功能

曾鹏云¹, 杜昊², 张连生^{1*}, 柴晔¹, 刘璞¹(1. 兰州大学第二医院血液科, 甘肃兰州 730030; 2. 廊坊中医院血液科, 河北廊坊 065000)

[摘要] 目的: 研究流感疫苗对髓系白血病骨髓源性树突状细胞(dendritic cells, DCs)功能的影响及其机制。方法: 分离髓系白血病患者[急性髓细胞白血病(acute myeloid leukemia, AML)19例, 慢性髓细胞白血病(chronic myeloid leukemia, CML)8例]骨髓单个核细胞(mononuclear cell, MNC), 用GM-CSF和IL-4诱导7d, 获得未成熟白血病DCs, 然后加入全病毒灭活流感疫苗(whole inactivated influenza vaccine, WIV)、裂解病毒流感疫苗(split influenza vaccine, SIV)或TNF- α 继续培养24h。R显带带分析DCs染色体核型, 流式细胞仪检测DCs表型, ELISA法测定DCs培养上清IL-12的水平, CCK8法检测DCs诱导的CTL对自体白血病细胞的细胞毒作用。结果: 19例AML患者中的15例及8例CML患者的MNC全部成功诱导出DCs。与TNF- α 刺激的白血病DCs相比, 流感疫苗刺激的白血病DCs表面分子(CD80、CD83、CD86、HLA-DR)表达明显上调($P < 0.05$), 培养上清中IL-12的分泌水平明显增加($P < 0.05$), 其诱导的CTL可显著杀伤自体白血病细胞($P < 0.05$); WIV刺激的DCs在表型、IL-12分泌水平及细胞毒作用方面均较SIV刺激的DCs显著增高($P < 0.05$)。结论: 流感疫苗促进髓系白血病源DCs表型成熟及IL-12的分泌, 增强其诱导的CTL对自体白血病细胞的杀伤作用。

[关键词] 流感疫苗; 树突状细胞; 髓系白血病; 细胞毒性T淋巴细胞

[中图分类号] R733.7; R392.7

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2009)03-0211-06

Influenza vaccine enhances function of dendritic cells derived from bone marrow of patients with myeloid leukemia

ZENG Peng-yun¹, DU Hao², ZHANG Lian-sheng^{1*}, CHAI Ye¹, LIU Yin¹(1. Department of Hematology, Second Affiliated Hospital of Lanzhou University, Lanzhou 730030, Gansu, China; 2. Department of Hematology, Traditional Chinese Medicine Hospital of Langfang, Langfang 065000, Hebei, China)

[Abstract] **Objective:** To determine whether the influenza vaccine can affect the function of dendritic cells(DCs) derived from the bone marrow of patients with myeloid leukemia and the possible mechanism. **Methods:** The bone marrow(BM) mononuclear cells were obtained from 19 patients with acute myelocytic leukemia(AML) and 8 patients with chronic myeloid leukemia(CML), and were cultured with GM-CSF and IL-4 for 7 days to obtain immature DCs. Then DCs were stimulated by whole inactivated influenza vaccine(WIV), split influenza vaccine(SIV), or TNF- α . After 24 h, phenotypes and karyotypes of these DCs were assessed by FACS and R band karyotype analysis, respectively. The supernatant IL-12 levels were measured by ELISA in each group. Cytotoxic activity of CTL induced by differently treated DCs was measured by CCK8 assay. **Results:** DCs were successfully induced in 15 of the 19 AML patients and all the 8 CML patients. After stimulated with WIV or SIV for 24 h, DCs exhibited enhanced expression of CD83, CD86 and HLA-DR, and increased secretion of IL-12(all $P < 0.05$). CTL induced by WIV- or SIV-stimulated DCs specifically killed autologous leukemia cells *in vitro* ($P < 0.05$). Furthermore, WIV-stimulated DCs were more powerful than SIV-stimulated DCs in killing target cells ($P < 0.05$). **Conclusion:** Influenza vaccine can promote the maturation and IL-12 secretion of DCs derived from myeloid leukemia patients, and CTL induced by influenza vaccine-stimulated DCs has a stronger ability to kill autologous leukemia cells.

[Key words] influenza vaccine; dendritic cell; myeloid leukemia; cytotoxicity T lymphocyte

[Chin J Cancer Biother, 2009, 16(3): 221-226]

[基金项目] 甘肃省科学基金资助项目(No.0709TCYA063)。Supported by the Science Research Program of Gansu Province(No.0709TCYA063)

[作者简介] 曾鹏云(1972-),男,甘肃省兰州市人,硕士,副主任医师,主要从事白血病生物治疗和造血干细胞移植的研究, E-mail: zeng-pengyun@yahoo.com.cn

* 通讯作者(corresponding author). E-mail: zls2170@yahoo.com

树突状细胞(dendritic cells, DCs)具有强大的抗原提呈功能,可激活细胞毒性T淋巴细胞(cytotoxic T lymphocyte, CTL),目前已成为白血病及其他肿瘤生物治疗的热点^[1]。白血病细胞来源的DCs携带已知或未知的多个自体肿瘤抗原,具有HLA限制性和肿瘤特异性。将白血病来源的DCs作为疫苗回输患者体内以清除微量残留病灶(minimal residence disease, MRD)已显示出可喜的临床效果^[2-6]。用不同佐剂有效诱导DCs成熟,从而增强其抗肿瘤效应是目前需要解决的重要问题之一。本研究分别用流感疫苗和TNF- α 作为DCs成熟诱导剂,观察它们对白血病细胞源性DCs表面分子、细胞因子分泌及CTL效应等功能的影响,为DCs活化寻找一种新的佐剂。

1 材料与方法

1.1 研究对象

骨髓单个核细胞(mononuclear cell, MNC)取自19例符合诊断标准的急性髓细胞白血病(acute myelocytic leukemia, AML)患者(初治14例,复发5例)和8例慢性髓细胞白血病(chronic myeloid leukemia, CML)慢性期患者。AML FAB(French-American-Britain classification system)分型:M2a 5例,M2b 2例,M3 4例,M5 4例,M4Eo 1例,M4 2例,M6 1例。染色体检查:t(15,17)4例,t(8,21)5例,inv(16)1例,+21 1例,i(7q10)1例,正常核型7例。CML染色体检查均为Ph染色体阳性。

1.2 主要试剂

完全培养基RPMI 1640为Hyclone公司产品,胎牛血清为杭州四季青生物工程公司产品。丝裂霉素为浙江海正药业公司产品。CCK8试剂盒为日本同仁医药研究所上海代表处产品,rhIL-4、rhTNF- α 为美国BD公司产品,rhGM-CSF、rhIL-2、IL-12 ELISA试剂盒为晶美生物公司产品,抗人CD1a-PE、CD80-FITC、CD83-FITC、CD86-PE、HLA-DR-FITC单抗为Burlingame公司产品。全病毒灭活流感疫苗(whole inactivated influenza vaccine, WIV;含甲1型、甲3型和乙型流感病毒)为兰州生物制品研究所产品,裂解病毒流感疫苗(split influenza vaccine, SIV)为葛兰素史克生物制品公司产品。

1.3 骨髓来源DCs的培养

取患者骨髓用Ficoll淋巴细胞分离液分离MNC,用PBS液洗涤2次,用培养基调整细胞密度至 1×10^6 /ml,用含10%胎牛血清、10%二甲基亚砷的冻存液保存于 -194°C 液氮中备用。所有患者接

受正规化疗,待其骨髓达到完全缓解、外周血白细胞和血小板基本恢复正常后再次采集骨髓,分离完全缓解期MNC(CR-MNC),液氮冻存备用。常规复苏冻存的MNC,调整密度为 1×10^6 /ml,接种于12孔平底培养板(1 ml/孔),加入终活性浓度为1 000 U/ml的rhGM-CSF、500 U/ml的rhIL-4,置于 37°C 、饱和湿度、5% CO_2 细胞培养箱中培养。隔日进行半量换液并补入活性浓度为800 U/ml的rhGM-CSF、300 U/ml的rhIL-4。在培养至7 d后,分4组,分别加入终质量浓度为 $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ 的WIV、SIV或100 ng/ml的TNF- α (TNF),不加任何因子(NV)的DCs作为空白对照组。继续培养24 h后,收集DCs,用瑞氏-吉姆萨染色鉴定细胞形态、流式细胞仪进行表型分析,收集细胞上清检测IL-12。

1.4 流式细胞仪检测DCs表型

将培养8 d的4组DCs调节细胞密度为 1×10^6 /ml,取细胞悬液100 μl /管,分别加入CD1a-PE、CD83-FITC、CD86-PE、HLA-DR-FITC单抗15 μl ,混匀后置暗室标记15 min,加PBS,1 000 $\times g$ 离心5 min,以1%多聚甲醛固定,流式细胞仪检测后用Cell Quest软件进行结果分析。

1.5 R显带法分析染色体核型

培养后的DCs用秋水仙碱阻滞2 h后,经低渗、固定、滴片,R显带染液染色,荧光显微镜下观察。

1.6 ELISA法检测DCs上清中IL-12

培养8 d后的DCs离心,取上清液,用ELISA法分别测定各组IL-12水平,具体实验步骤按IL-12 ELISA试剂盒说明书进行。

1.7 自体特异性CTL细胞的诱导

复苏CR-MNC,调整细胞密度为 1×10^6 /ml,加入24孔平底培养板(1 ml/孔),在 37°C 饱和湿度、5% CO_2 细胞培养箱中培养2 h后,收集非贴壁细胞作反应细胞。各组DCs用25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 丝裂霉素 37°C 灭活1 h后作刺激细胞。按刺激细胞/反应细胞1:10的比例加入24孔平底培养板(1 ml/孔),用完全培养基悬浮至 2×10^6 /ml,加入IL-2(终活性浓度为50 U/ml),在 37°C 、5% CO_2 细胞培养箱中培养5 d,每2 d补充IL-2,以诱导特异性CTL的产生。

1.8 CTL细胞毒作用的测定

在CTL测定前1 d,常规复苏CR-MNC,加1 000 U/ml rhGM-CSF,在 37°C 、饱和湿度、5% CO_2 细胞培养箱中培养24 h后作为靶细胞。健康志愿者外周静脉血用Ficoll分离获得MNC(PB-MNC),用PBS洗涤2遍,作为对照靶细胞。将CR-MNC和PB-MNC以5 000个/孔加入96孔培养板,按效靶比

1:25加入 CTL 细胞,终体积 200 μl 。每组均设 3 个复孔,同时设单独的靶细胞孔和 CTL 细胞孔,将细胞放在 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 细胞培养箱中培养 72 h 后,加入 CCK8 试剂 20 μl ,继续孵育 4 h,1 h 内用酶标仪在 450 nm 波长测定光密度值(D)。杀伤率的计算公式如下:杀伤率(%) = $(D_{\text{靶细胞孔}} - D_{\text{效/靶细胞孔}} - D_{\text{效应细胞}}) / D_{\text{靶细胞孔}} \times 100\%$

1.9 统计学处理

采用 SPSS10 软件作统计处理,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间均数比较采用方差分析,组间比较采用 t 检验。

2 结果

2.1 WIV 或 SIV 流感疫苗处理后 DCs 的形态

新分离的 MNC 呈球形散在分布,表面光滑。加入细胞因子培养 2~3 d 后可见部分细胞体积增大,细胞增多;5~7 d 后大部分细胞可见刺状突起,有少量细胞集落生成。加入流感疫苗(WIV 或 SIV)培养 24 h 后,细胞树状突起明显增多,数量也进一步增加,有大量细胞集落生成,瑞氏染色显示细胞刺状突起明显,呈现成熟 DCs 的特征(图 1、2)。

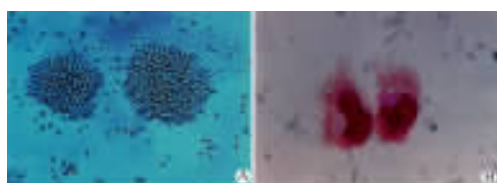


图 1 WIV 诱导 24 h 后 DCs 的形态(A $\times 200$; B $\times 1\ 000$)

Fig. 1 Morphology of DCs stimulated with WIV for 24 h

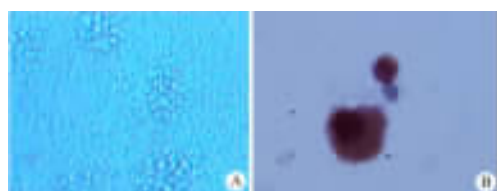


图 2 SIV 诱导 24 h 后 DCs 的形态(A $\times 200$; B $\times 1\ 000$)

Fig. 2 Morphology of DCs stimulated with SIV for 24 h

2.2 DCs 染色体的核型分析

对培养后获得的 DCs 用 R 显带染色体检查,结果显示 DCs 仍然存在白血病特异性的遗传学改变,证实所得 DCs 的白血病源性。

2.3 WIV 和 SIV 处理后 DCs 的表型

DCs 培养 7 d 后分别加入不同种类流感疫苗(WIV 或 SIV),24 h 后流式细胞仪分析 DCs 表型。结果显示,除 CD1a 外,WIV 和 SIV 组 DCs 的 CD83、

CD86、HLA-DR 表达水平明显高于 TNF 组及 NV 组,差异有统计学意义($P < 0.05$);而且 WIV 组 DCs 的 CD83、CD86、HLA-DR 表达水平明显高于 SIV 组($P < 0.05$);TNF 组与 NV 组 DCs 表型之间则无显著差别($P > 0.05$) (表 1、2)。

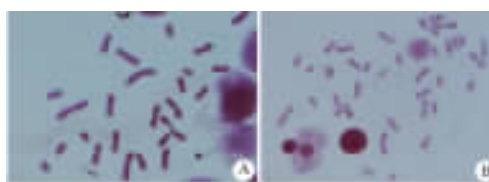


图 3 R 显带检测 DCs 染色体核型($\times 100$)

Fig. 3 R band karyotype detected karyotype of DCs

A: 46,XY,t(8;21); B: 46,XY,t(9;22)

2.4 WIV 和 SIV 促进 DCs 分泌 IL-12

不同流感疫苗处理 24 h 后,测定 DCs 细胞培养上清液中 IL-12 的水平,流感疫苗组较未加流感疫苗组有明显升高($P < 0.05$, $P < 0.01$),且 WIV 组较 SIV 组 DCs 分泌更高水平的 IL-12($P < 0.05$)。TNF 组与 NV 组之间则无显著差别($P > 0.05$) (表 3、4)。

2.5 DCs 诱导的 CTL 对自体白血病细胞的特异杀伤作用

采用 CCK8 法测定各组 DCs(WIV-DCs、SIV-DCs、TNF-DCs、NV-DCs)诱导的 CTL 对自体白血病细胞和同种异体白血病细胞的细胞毒作用。结果显示:WIV 组和 SIV 组 CTL 对自体白血病细胞的杀伤活性较 TNF 及 NV 组明显升高($P < 0.05$),且 WIV 组 CTL 的杀伤活性较 SIV 组 CTL 明显增强($P < 0.05$,表 5)。各组 CTL 对同种异体白血病细胞均无明显杀伤活性($P > 0.05$)。

3 讨论

实验证明多种因素均可在体外诱导 DCs 成熟,包括共刺激分子、细胞因子、促有丝分裂原、细菌或病毒性抗原^[6]等,其中 TNF- α 是目前较常用的 DCs 促成熟因子,但由于价格昂贵、不良反应较大及安全性等问题而限制了其临床应用。

研究^[8]显示重组的流感病毒疫苗(immunopotentiating reconstituted influenza virosomes, IRIV)在体外能活化 T 细胞,诱导 IFN- γ 、GM-CSF、TNF- α 的产生,提示 IRIV 通过诱导外周血单个核细胞分泌细胞因子促进 DCs 成熟。Cho 等^[9]发现热灭活的非感染性流感病毒可以产生更强的 T 淋巴细胞毒性反应,其机制可能与灭活的流感病毒激活 DCs、增强其

表1 WIV和SIV上调AML-DCs表面共刺激分子的表达

Tab.1 WIV and SIV increased co-stimulatory molecule expression on DCs derived from AML patients

Group	n	CD1a	CD83	CD86	HLA-DR
WIV-DCs	15	43.29 ± 19.37	51.83 ± 17.87 ^{**Δ}	70.51 ± 14.79 ^{**Δ}	70.14 ± 20.54 ^{**Δ}
SIV-DCs	15	48.73 ± 19.64	34.05 ± 14.11 ^{**}	55.57 ± 14.65 ^{**}	54.71 ± 15.90 ^{**}
TNF-DCs	15	38.31 ± 16.25	15.80 ± 10.39	23.27 ± 15.72	42.90 ± 14.21
NV-DCs	15	35.90 ± 15.76	17.14 ± 11.80	24.41 ± 13.76	43.56 ± 12.85

^{**} P < 0.01 vs TNF-DCs or NV-DCs; ^Δ P < 0.05 vs SIV-DCs

表2 WIV和SIV上调CML-DCs表面共刺激分子的表达

Tab.2 WIV and SIV increased co-stimulatory molecule expression on DCs derived from CML patients

Group	n	CD1a	CD83	CD86	HLA-DR
WIV-DCs	8	30.89 ± 12.22	52.51 ± 10.27 ^{*Δ}	61.00 ± 8.92 ^{*Δ}	52.88 ± 11.62 ^{*Δ}
SIV-DCs	8	32.26 ± 12.46	38.46 ± 6.96 [*]	55.83 ± 10.34 [*]	47.61 ± 9.05 [*]
TNF-DCs	8	29.35 ± 13.59	22.62 ± 6.47	30.81 ± 8.97	31.55 ± 7.39
NV-DCs	8	29.41 ± 10.24	20.31 ± 5.25	33.88 ± 11.11	28.24 ± 7.15

^{*} P < 0.05 vs TNF-DCs or NV-DCs; ^Δ P < 0.05 vs SIV-DCs

表3 WIV和SIV促进AML-DCs分泌IL-12

Tab.3 WIV and SIV increased IL-12 production of AML-DCs

Group	n	IL-12(ρ _B /pg · ml ⁻¹)
WIV-DCs	15	245.82 ± 86.35 ^{**Δ}
SIV-DCs	15	161.23 ± 40.07 [*]
TNF-DCs	15	97.66 ± 27.51
NV-DCs	15	81.47 ± 25.12

^{**} P < 0.01 vs TNF-DCs or NV-DCs; ^Δ P < 0.05 vs SIV-DCs

表4 WIV和SIV促进CML-DCs分泌IL-12

Tab.4 WIV and SIV increased IL-12 production of CML-DCs

Group	n	IL-12(ρ _B /pg · ml ⁻¹)
WIV-DCs	8	355.79 ± 81.47 ^{*Δ}
SIV-DCs	8	283.79 ± 53.79 [*]
TNF-DCs	8	203.67 ± 36.79
NV-DCs	8	188.71 ± 30.00

^{*} P < 0.05 vs TNF-DCs or NV-DCs; ^Δ P < 0.05 vs SIV-DCs

活流感病毒疫苗可刺激正常人外周血单个核细胞来源的DCs成熟。Lung等^[12]的体外研究显示,完整灭活的流感疫苗及裂解流感病毒疫苗均可刺激外周血单个核细胞来源的DCs成熟。以上文献均说明流感疫苗对DCs的成熟和功能有促进作用,但不知流感疫苗对白血病骨髓细胞来源的DCs是否有同样作用。本实验尝试应用流感疫苗作为促成熟因子冲击髓细胞白血病来源的DCs,观察DCs功能的变化。

表5 WIV-DCs和SIV-DCs诱导的CTL

特异性杀伤自体白血病细胞

Tab.5 CTL induced by WIV-DCs and SIV-DCs specifically killed autologous leukemia cells

Group	n	Autologous	Allogous
		leukemia cells(%)	leukemia cells(%)
WIV-DCs-CTL	12	38.50 ± 11.27 ^{*Δ}	11.28 ± 4.81
SIV-DCs-CTL	12	24.58 ± 7.51 [*]	12.44 ± 5.73
TNF-DCs-CTL	12	12.86 ± 5.02	8.76 ± 2.05
NV-DCs-CTL	12	10.56 ± 4.02	12.10 ± 5.62

^{*} P < 0.05 vs TNF-DCs-CTL or NV-DCs-CTL; ^Δ P < 0.05 vs SIV-DCs-CTL

抗原提呈功能有关。进一步的研究^[10]显示:恶性黑色素瘤抗原与流感多肽共同致敏的DCs能诱导出肿瘤抗原特异性CTL增殖。研究^[11]还发现,完整的灭

1997年Choudhury等^[13]首次从CML细胞诱导出携带bcr/abl基因的白血病DCs,以后研究^[14-17]

证明白血病细胞可在细胞因子作用下诱导分化为具有提呈自身白血病抗原功能性的 DCs;但并不是所有的白血病细胞都能被诱导为 DCs,其成功率也仅为 70%~90%,原因考虑与白血病细胞本身缺陷及细胞因子的组合有关。本实验中 19 例 AML 患者中有 4 例未能诱导出 DCs,与以上结论相符。

目前多采用 GM-CSF + IL-4 + TNF- α 组合用于培养 DCs,在正常人外周血和髓细胞白血病患者单个核细胞中均取得成功,单用 GM-CSF + IL-4 培养白血病细胞只能获得 20%~40% 的不成熟 DCs^[18]。国内研究^[7]亦表明仅用 GM-CSF + IL-4 培养的 AML-DCs 不表达成熟标志 CD83,且具有较强的抗原摄取能力,证明其为不成熟 DCs。本实验采用髓细胞白血病来源的 MNC 经细胞因子 GM-CSF 和 IL-4 诱导培养 7 d,获得未成熟 DCs,再经不同流感疫苗或 TNF 作用 24 h 后,经染色体检测显示所得细胞具有白血病异常核型,证明 DCs 的白血病源性。同时对 DCs 细胞的形态、表面标志及上清液中 IL-12 水平等指标进行检测,结果发现:与 TNF 组相比,流感疫苗组 DCs 具有典型的成熟 DCs 形态;CD83 及共刺激分子 CD86 和 HLA-DR 表达均明显升高;其上清液中 IL-12 浓度显著增高,说明流感疫苗具有诱导髓细胞白血病来源 DCs 成熟的能力。针对自体白血病细胞的细胞毒实验显示:流感疫苗组 DCs 介导的针对自体白血病细胞的特异 CTL 杀伤效应明显高于 TNF 组($P < 0.05$),进一步证明流感疫苗具有诱导髓细胞白血病源性 DCs 成熟的能力。值得一提的是,WIV 组在 DCs 表面分子的表达、IL-12 分泌水平及细胞毒作用等方面均高于 SIV 组,提示全病毒流感疫苗具有更强的刺激 DCs 成熟的能力。

对于流感疫苗刺激 DCs 成熟的机制,目前尚无明确结论,推测其可能与未成熟 DCs 上的 Toll 样受体(toll like receptor, TLR)^[19-21]有关,LPS、肽聚糖等病原相关模式分子(pathogen associated molecular pattern, PAMP)^[22]与 TLR 结合后,可激活 NF- κ B 通路,导致炎性细胞因子的释放,并上调 DCs 表面 MHC-I、-II 类分子和共刺激分子的表达,从而促进 DCs 成熟。病毒感染过程中出现的双链 RNA(dsRNA)也是特征性 PAMP 分子。因此我们推测流感疫苗中含有类似 PAMP 的物质(如 dsRNA 或类似分子),能与未成熟 DCs 上相应 TLR 结合,从而起到促 DCs 成熟的作用。而 SIV 在裂解过程中部分 dsRNA 可能被破坏而失去正常结构,所以对 DCs 的刺激作用减弱,但确切机制尚需进一步的研究。

流感疫苗应用于临床的安全性已被证实,将其

作为诱导 DCs 成熟的佐剂,为白血病 DCs 疫苗的研究及临床应用提供了一条全新有效、简便可行的途径,同时对白血病患者预防感染也具有重要意义。

[参考文献]

- [1] Dickens DS, Jubinsky PT. Therapeutic strategies for targeting mononuclear phagocytes in cancer [J]. *J Pediatr Hematol Oncol*, 2009, 31(1):14-17.
- [2] Ossenkoppele GJ, Stam AG, Westers TM, et al. Vaccination of chronic myeloid leukemia patients with autologous *in vitro* cultured leukemia dendritic cells [J]. *Leukemia*, 2003, 17(7):1424-1426.
- [3] van den Ancker W, Westers TM, Ossenkoppele GJ, et al. Back to basics: in search of the optimal dendritic cell for vaccination in AML [J]. *Leuk Res*, 2008, 32(11):1641-1643.
- [4] Laane E, Bjorklund E, Mazur J, et al. Dendritic cell regeneration in the bone marrow of children treated for acute lymphoblastic leukemia [J]. *Scand J Immunol*, 2007, 66(5): 572-583.
- [5] 张洁,林苹,陆燕蓉,等. 负载肺癌抗原 DCs 疫苗抗肿瘤免疫实验 [J]. *肿瘤防治研究*, 2008, 35(3): 153-156.
- [6] Laupeze B, Amiot L, Bertho N, et al. Differential expression of the efflux pumps P-glycoprotein and multidrug resistance-associated protein in human monocyte-derived dendritic cells [J]. *Hum Immunol*, 2001, 62(10): 1073-1080.
- [7] 严匡华,尤胜国,卞寿庚,等. 细胞因子体外诱导急性髓系白血病细胞分化为树突状细胞 [J]. *中华血液学杂志*, 2003, 24(7): 563-566.
- [8] Schumacher R, Adamina M, Zurbriggen R, et al. Influenza viro-somes enhance class I restricted CTL induction through CD4⁺ T cell activation [J]. *Vaccine*, 2004, 22(5): 714-723.
- [9] Cho YJ, Basta S, Chen WS, et al. Heat-aggregated noninfectious influenza virus induces a more balanced CD8⁺ T-lymphocyte immuno-dominance hierarchy than infectious virus [J]. *J Virol*, 2003, 77(8): 4679-4684.
- [10] Schuler TB, Dieckmann D, Keikavoussi P, et al. Mage 3 and influenza matrix peptide specific cytotoxic T cells are inducible in terminal stage HLA A2.1⁺ melanoma patients by mature monocyte derived dendritic cells [J]. *J Immunol*, 2000, 165(6): 3492-3496.
- [11] Saurwein TM, Ziterer K, Schmitt TL, et al. Whole virus influenza vaccine activates dendritic cells (DCs) and stimulates cytokine production by peripheral blood mononuclear cells (PBMC) while subunit vaccines support T cell proliferation [J]. *Clin Exp Immunol*, 1998, 114(2): 271-276.
- [12] Lung TL, Saurwein-Teissl M, Parson W, et al. Unimpaired dendritic cells can be derived from monocytes in old age and can mobilize residual function in senescent T cells [J]. *Vaccine*, 2000, 18(16): 1606-1612.
- [13] Choudhury A, Gajewski JL, Liang JC, et al. Use of leukemic dendritic cells for the generation of anti-leukemia cellular cytotoxicity against Philadelphia chromosome positive chronic myelogenous leukemia [J]. *Blood*, 1997, 89(4): 1133-1142.

[14] Duncan C, Roddie H. Dendritic cell vaccines in acute leukemia [J]. Best Pract Res Clin Haematol, 2008, 21(3): 521-541.

[15] Ramsay AG, Gribben JG. Vaccine therapy and chronic lymphocytic leukaemia [J]. Best Pract Res Clin Haematol, 2008, 21(3): 421-436.

[16] Palma M, Adamson L, Hansson L, *et al.* Development of a dendritic cell-based vaccine for chronic lymphocytic leukemia [J]. Cancer Immunol Immunother. 2008, 57(11): 1705-1710.

[17] Harrison BD, Adams JA, Briggs M, *et al.* Stimulation of autologous proliferation and cytotoxic T-cell response by "leukemia dendritic cells" derived from blast cells in acute myeloid leukemia [J]. Blood, 2001, 97 (9): 2764-2771.

[18] Bender A, Sapp M, Schuler G, *et al.* Improved methods for the generation of dendritic cells from non-proliferating progenitors in human blood [J]. J Immunol Methods, 1996, 196(2): 121-132.

[19] Kadowaki N, Ho S, Antonenko S, *et al.* Subsets of human dendritic cell precursors express different toll like receptors and respond to different microbial antigens [J]. J Exp Med, 2001, 194(6): 863-869.

[20] Douagi I, Gujer C, Sundling C, *et al.* Human B cell responses to TLR ligands are differentially modulated by myeloid and plasmacytoid dendritic cells [J]. J Immunol. 2009, 182(4): 1991-2001.

[21] Stephens TA, Nikoopour E, Rider BJ, *et al.* Dendritic cell differentiation induced by a self-peptide derived from apolipoprotein E [J]. J Immunol, 2008, 181 (10): 6859-6871.

[22] Benko S, Magyarics Z, Szabó A, *et al.* Dendritic cell subtypes as primary targets of vaccines: the emerging role and cross-talk of pattern recognition receptors [J]. J Biol Chem, 2008, 389(5): 469-485.

[收稿日期] 2009 - 01 - 19 [修回日期] 2009 - 02 - 11

[本文编辑] 徐红梅

• 科技动态 •

调节性 T 细胞从移植物局部迁移至引流淋巴结抑制同种异体排斥反应的发生

调节性 T 细胞(Treg)在维持免疫稳态中发挥了重要作用。Treg 的功能发挥需要其向组织或二级淋巴组织的迁移。根据 CD103 的表达情况可将 Treg 分为两个亚群:表达 L 选择素和 CCR7 的 CD103⁻ 初始 Treg 主要在淋巴组织内循环;高表达 E、P 选择素和黏附分子 CD54、ICOS、LFA-1 的 CD103⁺ 效应 Treg 高表达趋化因子受体 CCR2、CCR6 和 CXCR3,可以有效地向免疫反应部位迁移。Treg 恰当的迁移定位对其免疫抑制功能有效的发挥是至关重要的。

为了确认 Treg 发挥抑制功能的位点和机制,该研究观察了在胰岛移植模型中 Treg 迁移和功能的关系。该研究发现,Treg 要抑制同种异体免疫排斥反应,首先需要从血液迁移到炎症部位,此过程依赖趋化因子受体 CCR2、CCR4 和 CCR5 以及 E、P 选择素的表达。Treg 在移植物局部被激活后,在 CCR2、CCR5 和 CCR7 的作用下又会通过输入淋巴管向引流淋巴结迁移,完成整个迁移过程的 Treg 才能获得最有效的抑制功能。Treg 通过分泌 IL-10 和 TGF-β 可以抑制树突状细胞的迁移,同时可以抑制效应 T 细胞在移植物局部和引流淋巴结的迁移、聚集和增殖。

Treg 具有很强的迁移能力,在从血液到移植物局部再到引流淋巴结的迁移过程中其功能及表型逐渐发育成熟,此过程依赖不同趋化因子受体和黏附分子的表达。研究结果提示,在 Treg 参与的免疫治疗中,对其进入体内后迁移转运过程的合理设计可以使 Treg 更有效地发挥抑制功能。

[吴 聪 摘译,陈国友 审阅. Zhang N, Schroppe B, Lal G, *et al.* Immunity, 2009, 30(3): 458-469.]

本期广告目次

沈阳三生制药有限责任公司	封二
东胜创新生物科技有限公司	封三
碧迪医疗器械有限公司	封四
德国美天旎生物技术有限公司	前插页 I
浙江康莱特药业有限公司	前插页 II
上海医元生物基因发展有限公司	后插页 II