

T α 1对食管癌细胞RNA转染的脐血树突状细胞诱导T细胞杀瘤活性的影响

王 健, 苏安英, 柴锡庆, 门金娥, 郑海萍, 张向阳, 田 珂

王健, 苏安英, 柴锡庆, 河北工程大学教务处 河北省邯郸市 056038
门金娥, 郑海萍, 张向阳, 田珂, 河北工程大学附属医院中心实验室 河北省邯郸市 056038
河北省科技研究与发展计划资助项目, No. 06276102D
作者贡献分布: 此课题由王健, 苏安英及柴锡庆设计; 研究过程由王健, 苏安英及门金娥操作完成; 研究所用试剂及分析工具由郑海萍与张向阳提供; 数据分析由田珂完成; 本论文写作由王健, 苏安英及田珂完成。
通讯作者: 王健, 056038, 河北省邯郸市光明南大街199号, 河北工程大学教务处, wjhdyz@sina.com
电话: 0310-8576106
收稿日期: 2008-06-23 修回日期: 2008-10-23
接受日期: 2008-10-27 在线出版日期: 2008-11-18

Effect of T α 1 on ESCC RNA-transfected human cord blood dendritic cells induced antitumor activity of cytotoxic T lymphocytes

Jian Wang, An-Ying Su, Xi-Qing Chai, Jin-E Men, Hai-Ping Zheng, Xiang-Yang Zhang, Ke Tian

Jian Wang, An-Ying Su, Xi-Qing Chai, Department of Educational Administration, Hebei University of Engineering, Handan 056038, Hebei Province, China
Jin-E Men, Hai-Ping Zheng, Xiang-Yang Zhang, Ke Tian, Department of Central Laboratory, Hospital Affiliated to Hebei University of Engineering, Handan 056038, Hebei Province, China
Supported by: the Research and Development Plan of Science and Technology of Hebei Province, No. 06276102D
Correspondence to: Jian Wang, Department of Educational Administration, Hebei University of Engineering, 199 Guangmingnan Street, Handan 056038, Hebei Province, China. wjhdyz@sina.com
Received: 2008-06-23 Revised: 2008-10-23
Accepted: 2008-10-27 Published online: 2008-11-18

Abstract

AIM: To investigate effect of human cord blood dendritic cells (DCs) transfected with RNA of esophageal carcinoma cells on the proliferation of T lymphocyte and on the antitumor activity of cytotoxic T lymphocytes (CTL), and immunoadjuvant effect of T α 1 on human cord blood dendritic cells.

METHODS: The RNA of T.Tn cells were prepared by TRIzol reagent. The cord blood monocytes were cultured to produce DCs with rhSCF,

rhGM-CSF and rhIL-4. The DCs were collected and transfected with tumor cell total RNA. T α 1 was added in culture system to enhance the DCs vaccine. MHC-I, MHC-II and co-stimulatory molecules, CD54, CD80 and CD86 on the surface of DCs were analyzed by FCM. The mixed lymphocyte reaction (MLR) and cytotoxicity of CTLs to T.Tn cells was assayed using MTT colorimetry.

RESULTS: Compared with pre-transfection group, expressions of MHC-I, MHC-II, CD54, CD80 and CD86 (MHC-I: 70.36 ± 6.09 vs 8.17 ± 1.93 ; MHC-II: 72.03 ± 5.32 vs 7.64 ± 5.33 ; CD54: 69.36 ± 7.33 vs 2.05 ± 2.03 ; CD80: 67.21 ± 6.77 vs 2.33 ± 1.65 ; CD86: 68.85 ± 7.41 vs 6.73 ± 1.97 , $P < 0.01$) were significantly higher in DCs transfected with RNA of esophageal carcinoma cells; T cell proliferation was markedly enhanced (10 : 1: 4.77 ± 0.79 vs 1.65 ± 0.71 ; 50 : 1: 3.85 ± 0.57 vs 1.56 ± 0.13 ; 100 : 1: 2.89 ± 0.59 vs 1.19 ± 0.21 , $P < 0.05$); and tumor cytolytic activities of cytotoxic T lymphocyte were effectively induced (10 : 1: 27.36 ± 8.93 vs 10.35 ± 2.93 ; 20 : 1: 44.55 ± 2.36 vs 11.77 ± 1.03 ; 50 : 1: 51.08 ± 4.92 vs 12.75 ± 1.49 , $P < 0.05$). T α 1 enhanced significantly the surface molecule expression (MHC-I: 87.88 ± 9.13 vs 70.36 ± 6.09 ; MHC-II: 93.16 ± 3.34 vs 72.03 ± 5.32 ; CD54: 91.75 ± 3.84 vs 69.36 ± 7.33 ; CD80: 87.27 ± 8.68 vs 67.21 ± 6.77 ; CD86: 89.09 ± 6.86 vs 68.85 ± 7.41 , $P < 0.05$), stimulation of proliferation (10 : 1: 8.31 ± 1.78 vs 4.77 ± 0.79 ; 50 : 1: 5.97 ± 0.14 vs 3.85 ± 0.57 ; 100 : 1: 4.03 ± 0.13 vs 2.89 ± 0.59 , $P < 0.05$) and activity of cytotoxic T lymphocytes (10 : 1: 47.66 ± 4.12 vs 27.36 ± 8.93 ; 20 : 1: 56.72 ± 7.24 vs 44.55 ± 2.36 ; 50 : 1: 76.48 ± 3.47 vs 51.08 ± 4.92 , $P < 0.05$).

CONCLUSION: DCs from human cord blood monocytes exhibit high expression of MHC and co-stimulatory molecules and enhances T lymphocyte capability after transfection with RNA of esophageal carcinoma. The vaccine of cord blood DCs with adjuvant of T α 1 may provide an effective and specific way for immunotherapy of esophageal carcinoma.

Key Words: Dendritic cells; Cord blood; Esophageal carcinoma; T lymphocyte cytotoxicity; Thymosin

Wang J, Su AY, Chai XQ, Men JE, Zheng HP, Zhang XY,

■背景资料

食管癌是最常见的恶性肿瘤之一, 而中国是世界上食管癌发病率和死亡率最高的国家。传统的治疗方法以手术和放疗、化疗为主, 生物治疗方面尚较少报道。树突状细胞是功能最强的抗原提呈细胞, 而脐血来源的树突状细胞可提供足量的不受主要组织相容性复合物 (MHC) 限制的抗原提呈细胞, 将其用于食管癌的生物治疗方面国内尚未见报道。

■同行评议者

张军, 教授, 西安交通大学医学院第二附属医院消化内科

■研究前沿

如何获得足量DCs,使其负载肿瘤抗原后再回输体内,是肿瘤过继免疫治疗的关键步骤,也是当前研究的热点。脐血DCs具有来源广泛、采集容易、费用低廉、供需双方无痛苦、移植抗宿主发生率低,为肿瘤免疫治疗的首选。目前食管癌特异性抗原尚不明确,有研究表明,由肿瘤细胞RNA转染的方式致敏的DCs可在未知肿瘤抗原具体成分的情况下,获得特异性杀瘤活性;且具有取材量少、易提取、可扩增、无污染等优势。

Tian K. Effect of T α 1 on ESCC RNA-transfected human cord blood dendritic cells induced antitumor activity of cytotoxic T lymphocytes. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2008; 16(32): 3673-3676

摘要

目的:探讨食管癌细胞RNA转染脐血树突状细胞(dendritic cells, DCs)对T细胞增殖和CTL特异性抗肿瘤作用的影响,以及T α 1对脐血DCs疫苗的免疫佐剂作用。

方法:分离脐血单个核细胞,经rhSCF、rhGM-CSF和rhIL-4诱导和T.Tn细胞RNA转染形成成熟DCs,加入T α 1制备肿瘤疫苗。流式细胞术(FCM)检测各组DCs表型变化;MTT法检测各组脐血DCs诱导T细胞增殖和CTL细胞毒活性。

结果:T.Tn细胞RNA转染后组较转染前组脐血DCs高表达MHC-I、MHC-II、CD54、CD80和CD86分子(MHC-I: 70.36 ± 6.09 vs 8.17 ± 1.93 ; MHC-II: 72.03 ± 5.32 vs 7.64 ± 5.33 ; CD54: 69.36 ± 7.33 vs 2.05 ± 2.03 ; CD80: 67.21 ± 6.77 vs 2.33 ± 1.65 ; CD86: 68.85 ± 7.41 vs 6.73 ± 1.97 , $P < 0.01$);与转染前组相比,可显著促进T细胞增殖($10:1$: 4.77 ± 0.79 vs 1.65 ± 0.71 ; $50:1$: 3.85 ± 0.57 vs 1.56 ± 0.13 ; $100:1$: 2.89 ± 0.59 vs 1.19 ± 0.21 , $P < 0.05$),并有效诱导CTL的特异性杀瘤活性($10:1$: 27.36 ± 8.93 vs 10.35 ± 2.93 ; $20:1$: 44.55 ± 2.36 vs 11.77 ± 1.03 ; $50:1$: 51.08 ± 4.92 vs 12.75 ± 1.49 , $P < 0.05$)。而T α 1能显著促进RNA致敏脐血DCs的各种表面分子表达(MHC-I: 87.88 ± 9.13 vs 70.36 ± 6.09 ; MHC-II: 93.16 ± 3.34 vs 72.03 ± 5.32 ; CD54: 91.75 ± 3.84 vs 69.36 ± 7.33 ; CD80: 87.27 ± 8.68 vs 67.21 ± 6.77 ; CD86: 89.09 ± 6.86 vs 68.85 ± 7.41 , $P < 0.05$);和刺激T细胞增殖能力($10:1$: 8.31 ± 1.78 vs 4.77 ± 0.79 ; $50:1$: 5.97 ± 0.14 vs 3.85 ± 0.57 ; $100:1$: 4.03 ± 0.13 vs 2.89 ± 0.59 , $P < 0.05$);及诱导CTL的能力($10:1$: 47.66 ± 4.12 vs 27.36 ± 8.93 ; $20:1$: 56.72 ± 7.24 vs 44.55 ± 2.36 ; $50:1$: 76.48 ± 3.47 vs 51.08 ± 4.92 , $P < 0.05$)。

结论:T α 1联合食管癌细胞RNA转染脐血DCs可制备高效、特异的肿瘤疫苗,有望成为食管癌生物治疗的新途径。

关键词:树突状细胞;脐血;食管癌;T细胞;胸腺肽

王健, 苏安英, 柴锡庆, 门金娥, 郑海萍, 张向阳, 田珂. T α 1对食管癌细胞RNA转染的脐血树突状细胞诱导T细胞杀瘤活性的影响. *世界华人消化杂志* 2008; 16(32): 3673-3676

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/16/3673.asp>

0 引言

树突状细胞(dendritic cells, DCs)是目前已知的功能最强大的专职抗原提呈细胞(antigen presenting cells, APCs),也是唯一能激活初始型T细胞的APC,他决定着特异性免疫应答对抗原的选择性并提供共刺激信号^[1]。由DCs制备的肿瘤疫苗治疗多种恶性肿瘤的临床实验已取得了一定临床效果,但DCs的数量和功能均有待进一步提高^[2]。脐血来源的DCs可提供足量的不受主要组织相容性复合物(major histocompatibility complex, MHC)限制的APC^[3],而胸腺肽 α 1(thymosin α 1, T α 1)作为一种的功能强大的免疫调节剂,已在临床广泛应用,将T α 1加入DCs疫苗联合应用被认为是增强其抗肿瘤效应的较好方法^[4]。本研究中我们观察了T α 1对人食管癌细胞RNA转染的脐血DCs诱导T细胞增殖和细胞毒性T淋巴细胞(cytotoxic T lymphocyte, CTL)杀伤活性的影响。

1 材料和方法

1.1 材料 人食管癌T.Tn细胞株购自上海市肿瘤研究所,脐血来自我校附属医院产科。rhGM-CSF、rhSCF、rhIL-4和rhIL-2为美国PeproTech公司产品。鼠抗人MHC-I、MHC-II、CD80、CD86、CD54分子的单克隆抗体(mAb)和FITC-羊抗鼠IgG,均为美国Ancell公司产品。TRIzol试剂和转染试剂Lipofectamine 2000脂质体购自Invitrogen公司。

1.2 方法

1.2.1 肿瘤RNA的提取:将冻存T.Tn食管癌细胞常规复苏、培养、消化、传代,取对数生长期细胞消化、离心, PBS洗涤3次,台盼蓝染色计数活细胞>95%。按TRIzol试剂说明书提取T.Tn细胞总RNA, -20℃冻存。

1.2.2 脐血DCs的制备和转染:选择健康、足月的孕妇,在胎儿娩出后立即采集脐血50-100 mL/份。采用密度梯度离心法分离出单个核细胞以 2×10^6 /孔接种于培养板。用含150 mL/L胎牛血清的RPMI 1640培养液培养2 h后,在贴壁细胞中加入终浓度为50 μ g/L rhSCF、100 μ g/L rhGM-CSF及5 μ g/L rhIL-4,置于37℃体积分数为50 mL/L CO₂的饱和湿度培养箱中培养。隔天半量换液,同时补充上述细胞因子,诱导DCs生成。培养至第10天,用500 μ L无血清1640培养基稀释10 μ g RNA,再用500 μ L无血清1640培养基稀释10 μ L Lipofectamine 2000试剂,与稀释的RNA混匀,加至DCs培养孔,置37℃ 50 mL/L CO₂培养箱孵育4

表 1 肿瘤RNA转染前后脐血DCs表面标志的表达 (mean ± SD)

分组	MHC- I	MHC- II	CD54	CD80	CD86
RNA转染前	8.17 ± 1.93	7.64 ± 5.33	2.05 ± 2.03	2.33 ± 1.65	6.73 ± 1.97
RNA转染后	70.36 ± 6.09 ^d	72.03 ± 5.32 ^d	69.36 ± 7.33 ^d	67.21 ± 6.77 ^d	68.85 ± 7.41 ^d
RNA转染+Tα1	87.88 ± 9.13 ^a	93.16 ± 3.34 ^a	91.75 ± 3.84 ^a	87.27 ± 8.68 ^a	89.09 ± 6.86 ^a

^a*P*<0.05 vs 转染后组; ^d*P*<0.01 vs 转染前组.

表 2 肿瘤RNA转染前后脐血DCs对混合T细胞增殖的影响 (mean ± SD)

分组	效靶比		
	10 : 1	50 : 1	100 : 1
RNA转染前	1.65 ± 0.71	1.56 ± 0.13	1.19 ± 0.21
RNA转染后	4.77 ± 0.79 ^a	3.85 ± 0.57 ^a	2.89 ± 0.59 ^a
RNA转染+Tα1	8.31 ± 1.78 ^c	5.97 ± 0.14 ^c	4.03 ± 0.13 ^c

^a*P*<0.05 vs 转染前组; ^c*P*<0.05 vs 转染后组.

h. 在实验组培养孔中加入Tα1, 使其终浓度为50 μg/L, 继续培养至第11天.

1.2.3 流式细胞术(flow cytometry, FCM)对脐血DCs表面标志的鉴定: 分别收集转染前后各组的DCs, PBS液洗3次, 用PBS调整细胞浓度为1 × 10⁹/L, 加入1 : 100稀释的小鼠抗人MHC- I、MHC- II、CD80、CD86及CD54的mAb, 室温孵育30 min, PBS洗2次, 弃上清. 再加入FITC-羊抗小鼠IgG(二抗)工作液100 μL, 避光室温孵育30 min, PBS洗涤细胞2次, 以洗去未结合的荧光标记二抗. 加入1 mL PBS, 以同种型荧光染色的Ig作为对照调节电压, 以PBS代替一抗和二抗作为阴性对照, 用FCM进行检测, Expo32ADC进行免疫荧光数据分析.

1.2.4 RNA致敏DCs对T细胞增殖能力的影响: 从脐带血中常规分离单个核细胞, 贴壁细胞用于DCs诱导. 收集悬浮细胞, 加入含150 mL/L胎牛血清的RPMI 1640培养液调整细胞密度为1 × 10¹¹/L, 通过尼龙毛柱分离T细胞, 调整细胞的密度为2 × 10⁹/L. 将T细胞悬液加入到96孔平底培养板中, 每孔100 μL. 每孔按DC与T细胞比例分别为1 : 100、1 : 50、1 : 10加入DC, 设3个复孔, 培养68 h. 每孔加入MTT(5 g/L)10 μL继续培养4 h. 弃去上清, 每孔加入二甲亚砜100 μL, 震荡溶解颗粒, 于波长570 nm用酶标检测仪测定吸光度(A)值, 计算刺激指数(SI). SI = 实验组的A值/对照组的A值.

1.2.5 RNA致敏DCs对CTL杀伤活性的影响: 将2 × 10⁹/L的T细胞悬液加入到24孔培养板中, 每孔

1 mL. 以DCs与T淋巴细胞1 : 10比例加入DCs, 每孔均加入100 mL/L的rhlL-2, 置37℃、50 mL/L CO₂培养3 d. 取传代12-24 h的T.Tn细胞为靶细胞, 调整细胞密度至1 × 10⁸/L, 各取100 μL加入到96孔平底培养板中. 以活化的各实验组的T细胞为效应细胞, 按效靶比为10 : 1、20 : 1、50 : 1加入到96孔板中, 每组设3个复孔, 并设效应细胞对照组和靶细胞对照组. 37℃、50 mL/L CO₂培养箱中孵育48 h. 加入MTT溶液15 μL/孔, 继续培养4 h后弃上清, 用酶标检测仪波长570 nm测定A值. 杀伤活性 = [靶细胞对照组A - (实验组A - 效应细胞对照组A)] / 靶细胞对照组A × 100%.

统计学处理 采用mean ± SD表示, 用SPSS13.0软件行LSD检验, *P*<0.05为统计学差异有显著性.

2 结果

2.1 肿瘤RNA转染前后脐血DCs表面标志的表达 经食管癌T.Tn细胞RNA转染后的脐血DCs表面MHC- I、MHC- II分子及协同刺激分子(CD80、CD86)、黏附分子(CD54)表达高于RNA转染前组(*P*<0.01), 而加入Tα1后可显著增强RNA转染后组上述各种分子的表达(*P*<0.05, 表1).

2.2 肿瘤RNA转染前后致敏脐血DCs对混合T细胞增殖的影响 由食管癌T.Tn细胞RNA转染后组脐血DCs促进T细胞增殖的能力较转染前组显著增强(*P*<0.05), 而加入Tα1组T细胞增殖能力提高更加明显(*P*<0.05, 表2).

2.3 肿瘤RNA转染前后脐血DCs对CTL杀伤活性的影响 食管癌T.Tn细胞RNA转染后组脐血DCs可诱导CTL产生特异性杀伤活性(*P*<0.05), 而加入Tα1刺激组诱导能力显著增强(*P*<0.05, 表3).

3 讨论

DCs是体内功能最强大的APC, 具有独特的抗原提呈和免疫激发功能, 因此DCs在肿瘤的发生、发展和免疫治疗中发挥着重要的作用. 有研究发现, 肿瘤患者外周血及肿瘤组织中DCs的含量是评估肿瘤发展和预后的独立指标^[5]. 然而, 在

■应用要点

本研究发现脐血树突状细胞有着诸多优势, Tα1为临床常用生物制剂, 二者相结合可提高免疫治疗效果, 有很大推广潜力, 从而产生巨大的经济和社会效益.

■同行评价

本研究采用的研究方法成熟, 研究设计合理, 统计分析结果可信, 对食管癌研究具有一定的价值.

表 3 肿瘤RNA转染前后脐血DCs对CTL杀伤活性的影响 (mean \pm SD)

分组	效靶比		
	10 : 1	50 : 1	100 : 1
RNA转染前	10.35 \pm 2.93	11.77 \pm 1.03	12.75 \pm 1.49
RNA转染后	27.36 \pm 8.93 ^a	44.55 \pm 2.36 ^a	51.08 \pm 4.92 ^a
RNA转染+T α 1	47.66 \pm 4.12 ^c	56.72 \pm 7.24 ^c	76.48 \pm 3.47 ^c

^a $P < 0.05$ vs 转染前组; ^c $P < 0.05$ vs 转染后组.

肿瘤患者体内, 由于自体DCs数量有限、局部调节活性物质不足以及肿瘤细胞分泌抑制性细胞因子等原因, 使其提呈肿瘤抗原能力十分有限. 因此, 如何获得足量DCs, 使其负载肿瘤抗原后再回输体内, 是肿瘤过继免疫治疗的关键步骤, 也是当前研究的热点^[6]. 脐血中造血干细胞含量丰富, 加入相应细胞因子诱导分化后, DCs获得率较其他来源高; 且来源广泛、采集容易、费用低廉、供需双方无痛苦、移植物抗宿主发生率低, 因此在自体DCs数量不足以进行有效治疗时, 可首先考虑采用脐血DCs^[7].

肿瘤生物治疗的另一个关键是寻找特异的肿瘤抗原. 但目前食管癌特异性抗原尚不明确, 且由于手术标本常伴有坏死组织和细菌污染等原因较难获得. 有研究表明, 肿瘤细胞的RNA可被DCs摄取, 在胞内翻译成相应的蛋白质, 经抗原处理系统加工成抗原肽, 运送到细胞表面与MHC分子结合, 激活CTL发挥抗肿瘤效应^[8]. 因此, 由肿瘤细胞RNA致敏的DCs疫苗可在未知肿瘤抗原具体成分的情况下, 获得特异性杀瘤活性; 且具有取材量少、易提取、可扩增、无污染等优势^[9]. 国外已对淋巴瘤、肾癌、黑色素瘤等肿瘤进行了尝试, 取得了良好的效果. 另有报道显示, 采用理想的免疫佐剂和DCs疫苗联合应用, 可进一步增强DCs抗原提呈功能和Th1细胞反应, 从而增强和延续特异性CTL的杀伤效应. T α 1作为一种免疫调节剂, 可促进T淋巴细胞分化成熟和增殖, 增加, 促进NK细胞活性, 且具有功能强大、毒副作用小等优点, 因此日益受到临床重视. 本文将传代培养的T.Tn细胞株总RNA转染脐血来源的DCs, 转染后DCs表面标志CD54、CD80、CD86和MHC-I、MHC-II类分子表达明显增高, 说明转染RNA可以促进DCs成熟. 此外, 在T细胞增殖和CTL细胞毒试验中, 转染RNA后的DCs均显示出对T细胞增殖和CTL杀

瘤功能的良好激活能力, 这正是其强大抗原呈递功能的反映. 而与T α 1同时应用, 可使其免疫刺激活性进一步增强, 其原因可能与T α 1引起的Th1活化和加强细胞因子分泌有关, 在这方面我们将继续作深入研究.

总之, 人脐血单个核细胞经体外诱导可分化为功能良好的DCs, 由食管癌细胞RNA转染后能有效促进T细胞的增殖和杀瘤活性. T α 1作为免疫佐剂, 可大大增强DCs疫苗的抗原提呈功能, 二者联合应用有望成为食管癌免疫治疗的新途径.

4 参考文献

- 1 Perreau M, Mennechet F, Serratrice N, Glasgow JN, Curiel DT, Wodrich H, Kremer EJ. Contrasting effects of human, canine, and hybrid adenovirus vectors on the phenotypical and functional maturation of human dendritic cells: implications for clinical efficacy. *J Virol* 2007; 81: 3272-3284
- 2 Zhang JG, Eguchi J, Kruse CA, Gomez GG, Fakhrai H, Schroter S, Ma W, Hoa N, Minev B, Delgado C, Wepsic HT, Okada H, Jadus MR. Antigenic profiling of glioma cells to generate allogeneic vaccines or dendritic cell-based therapeutics. *Clin Cancer Res* 2007; 13: 566-575
- 3 Slukvin II, Vodyanik MA, Thomson JA, Gumenyuk ME, Choi KD. Directed differentiation of human embryonic stem cells into functional dendritic cells through the myeloid pathway. *J Immunol* 2006; 176: 2924-2932
- 4 Romani L, Bistoni F, Gaziano R, Bozza S, Montagnoli C, Perruccio K, Pitzurra L, Bellocchio S, Velardi A, Rasi G, Di Francesco P, Garaci E. Thymosin alpha 1 activates dendritic cells for antifungal Th1 resistance through toll-like receptor signaling. *Blood* 2004; 103: 4232-4239
- 5 Takahashi K, Sato S, Yanagimoto H, Terakawa N, Toyokawa H, Yamamoto T, Matsui Y, Takai S, Kwon AH, Kamiyama Y. Circulating dendritic cells and development of septic complications after pancreatectomy for pancreatic cancer. *Arch Surg* 2007; 142: 1151-1157; discussion 1157
- 6 Ullrich E, Bonmort M, Mignot G, Chaput N, Taieb J, Menard C, Viaud S, Tursz T, Kroemer G, Zitvogel L. Therapy-induced tumor immunosurveillance involves IFN-producing killer dendritic cells. *Cancer Res* 2007; 67: 851-853
- 7 Joshi AD, Clark EM, Wang P, Munger CM, Hegde GV, Sanderson S, Dave HP, Joshi SS. Immunotherapy of human neuroblastoma using umbilical cord blood-derived effector cells. *J Neuroimmune Pharmacol* 2007; 2: 202-212
- 8 Holtkamp S, Kreiter S, Selmi A, Simon P, Koslowski M, Huber C, Tureci O, Sahin U. Modification of antigen-encoding RNA increases stability, translational efficacy, and T-cell stimulatory capacity of dendritic cells. *Blood* 2006; 108: 4009-4017
- 9 Hsu AK, Kerr BM, Jones KL, Lock RB, Hart DN, Rice AM. RNA loading of leukemic antigens into cord blood-derived dendritic cells for immunotherapy. *Biol Blood Marrow Transplant* 2006; 12: 855-867

编辑 史景红 电编 郭海丽