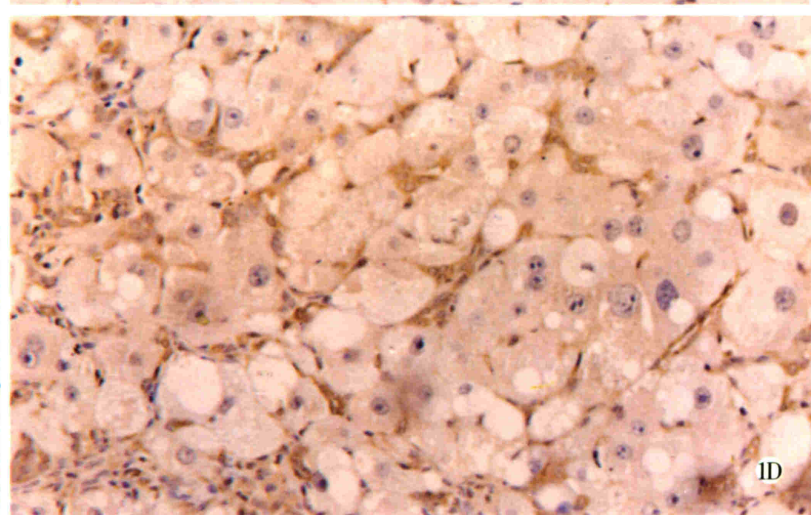
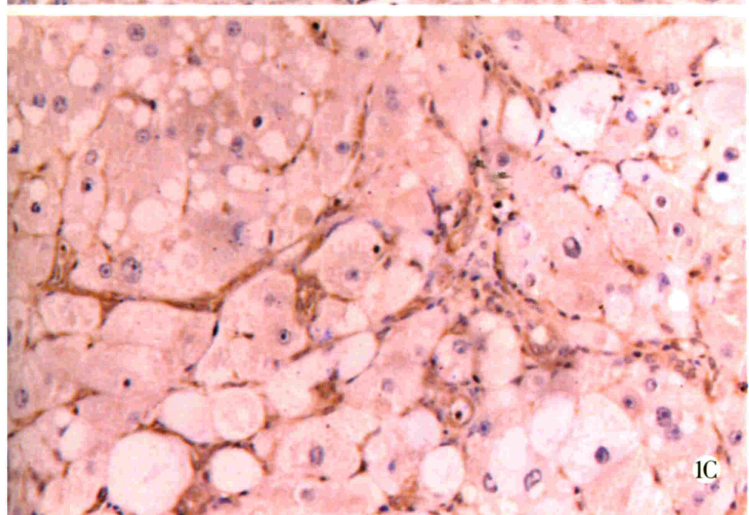
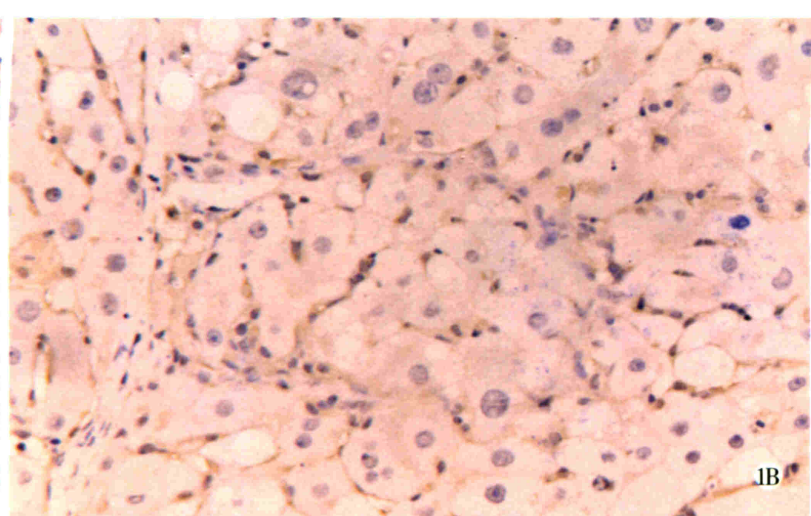
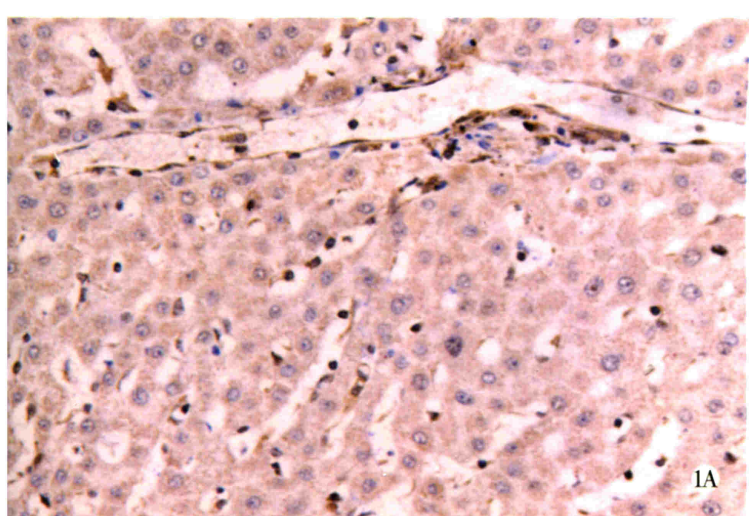


世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2003 年 6 月 15 日 第 11 卷 第 6 期 (Volume 11 Number 6)



6/2003

ISSN 1009-3079



名誉总编辑
潘伯荣
总编辑
马连生

World Journal of Gastroenterology® 被 SCI®-E, Research Alert®,
Current Contents®/Clinical Medicine, Journal Citation Reports®
Index Medicus, MEDLINE, Chemical Abstracts, EMBASE/
Excerpta Medica 收录. 2001 年 JCR® 报告 WJG 影响因子
1.445. 世界华人消化杂志® 被 Chemical Abstracts, EMBASE/
Excerpta Medica 收录. 2001 年中国科技期刊引证报告:
世界华人消化杂志® 影响因子 3.733, WJG 影响因子 2.920.

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ●

2003 年 6 月 15 日 第 11 卷 第 6 期 (总第 110 期)

述 评

689 肝脏胶原蛋白检测进展与评析 刘成海

病毒性肝炎

693 甲型肝炎减毒活疫苗(LA-1 株)大规模免疫长期效果观察 龚健,李荣成,徐志一,江世平,罗东,杨进业,李艳萍,陈修荣,黄贵彪,凌文武,韦光武,汪莹怡

697 HCV-Fc 融合基因疫苗真核表达载体的构建及表达 冯志华,王全楚,周永兴,郝春秋,聂青和

701 胸腺肽 $\alpha 1$ 对慢性乙型肝炎患者免疫系统的影响 段国荣,聂青和,周永兴,王全楚,田长印,刘拉羊,薛红安

705 蛋白激酶 C 对肾小球前小动脉平滑肌细胞 I 型 IP_3 受体表达影响 王静艳,刘沛,韩峰

肝 癌

708 抗肝癌单链免疫毒素基因修饰的 PBMCs 在动物体内的抑瘤作用 程虹,刘彦仿,张惠中,沈万安,张菊,张静

712 经皮穿刺氩氦刀冷冻治疗肝癌 31 例 钱国军,陈汉,吴孟超

716 大鼠肝细胞癌形成过程中 MMP-2mRNA 的表达及应用 BB-94 的影响 张志,方石岗,高毅,蒋泽生,孙尔维

基 础 研 究

719 西安酒精性肝病流行病学 鲁晓岚,陶明,罗金燕,耿燕,赵平,赵红莉

723 蛋白激酶 C 在肝细胞缺氧预处理中的作用 单毓强,高毅,王瑜,潘明新

726 肝硬化不同病期 ET-1, NO 对离体肝脏血流动力学的调节作用 姚冬梅,姚希贤,杨川杰,冯志杰,房红梅,高军萍

730 大鼠肝纤维化中细胞外信号调节激酶的作用 梁增文,张国,王天才

733 环氧合酶-2 反义核酸对人胆管癌细胞增生的影响 吴高松,武小勇,邹声泉,裘法祖

737 ONO-3403 对胆囊收缩素刺激的大鼠胰腺外分泌的影响 陈少夫,刘维新,山本光胜,大槻真

741 内皮抑素-可溶性血管内皮细胞生长抑制因子融合基因重组腺病毒的包装与鉴定 李喆,潘欣,潘卫,曹贵松,闻兆章,方国恩,戚中田,毕建威,华积德

745 激活素 A 对肝星状细胞细胞外基质合成的影响 刘清华,李定国,黄新,尤汉宁,潘勤,徐雷鸣,徐芹芳,陆汉明

749 脾静脉结扎诱导继发性脾功能亢进犬动物模型的评价 刘全达,马宽生,何振平,丁钧,董家鸿

753 IL-6 与整合素家族细胞黏附分子在大鼠急性坏死性胰腺炎合并多器官损伤模型中的表达 孙威,张俊东,赵滢,赵宇,王强

临 床 研 究

756 老年消化道多原发癌的早期诊断及综合治疗 蔡昌豪,吴本伊,吴道宏,邵勇,王孟薇

焦 点 论 坛

760 进一步深化慢性乙型肝炎诊断治疗的实用性研究 李梦东,聂青和

762 慢性乙型肝炎临床分度、诊断的一些问题 周永兴

766 慢性乙型肝炎的鉴别诊断及常见并发症 聂青和

768 特殊人群乙型肝炎的临床特点及处理 罗新栋,聂青和

772 病理学检测在慢性乙型肝炎诊断治疗中的价值 郎振为

775 经皮肝脏活体穿刺活检技巧及研究进展 滕光菊,聂青和

776 乙型肝炎的实验检查及其临床意义 郝春秋,聂青和

780 慢性乙型肝炎的抗病毒治疗 程明亮,吴亚云

783 慢性乙型肝炎的免疫治疗 施光峰

785 慢性乙型肝炎的中医药治疗 申德林,王全楚,焦栓林

787 乙型肝炎病毒携带者的诊断与治疗 江家骥,朱琪

789 慢性乙型肝炎肝纤维化的诊断与治疗 蔡卫民,张彬彬

791 乙型肝炎病毒慢性感染和肝癌发生 苏勤

795 治疗性疫苗-慢性乙型肝炎患者的希望 王全楚,聂青和

文 献 综 述

799 抗乙型肝炎病毒肝靶向药物制剂的研究进展 王九平,白雪帆

803 腺病毒载体的特点及其在 HCV 研究中的应用 郝春秋,冯志华,聂青和

806 HCVC 区 DNA 疫苗的研究现状 孙利,周永兴

810 病毒性肝炎基因治疗的研究和面临的挑战 贾战生,冯志华,周永兴

文献综述	815 抗 HCV 树突状细胞疫苗的制备及功能研究 王全楚,冯志华,周永兴 819 疫苗新概念及新型疫苗的研制 冯志华,王全楚 823 特殊状态下的逆行胰胆管造影检查术 智发朝 824 胃肠道出血的内镜诊治 陈村龙,宋于刚,周殿元 827 介入内镜学在胆胰疾病中的应用 刘思德 829 老年期消化性溃疡与恶性肿瘤溃疡、应激性溃疡的鉴别 吴保平,肖冰 831 老年人消化道急症 黄纯炽
研究快报	834 肠癌细胞 BAI1 基因表达的检测及其抗肿瘤作用 王志华,康熙雄,张智清,申宝忠,李莹 836 三氧化二砷对鸡胚移植胆管癌生长的抑制作用 喻智勇,王曙光,郑秀海,李昆 838 小鼠实验性肝损伤中 NO 的动态检测及意义 陈会松,柳利明,黄华,杨晋辉
临床经验	841 结肠黑变病 25 例 孙军,李岩 842 保留胰腺的脾动脉干及脾切除术在胃癌根治术中的意义 陈志新,胡建昆,张波,陈佳平,周总光 844 萎缩性胃炎临床证型分类研究 朱方石,姒健敏,王良静 846 叶酸对胃癌前细胞凋亡的影响 曹大中,刘顺英,赵建学 848 短肠综合征的远期并发症 4 例 周伟,江志伟,姜军,朱维铭,张佃良,李宁,黎介寿 851 幽门螺杆菌感染与慢性肝病的临床关系 焦建中,聂青和,赵春林,吴永胜,文绍先,吴群 853 内支架术与腔内近距离放射治疗联合应用治疗晚期食管癌 8 例 申宝忠,于友涛 855 组织黏合剂 Histoacryl 治疗胃静脉曲张活动性出血的疗效 曾黎明,陈村龙,智发朝 856 肝病患者血清肿瘤坏死因子 α 水平变化 徐学刚,张美稀,董惠芳,杨协珍,金树根,陈建杰,王灵台 859 尼美舒利引起肝脏损害 14 例 关英,徐峰,胡莲,周甘平 861 脾脏体积、脾静脉血流及血细胞计数在门静脉高压症分期中的意义 王秀艳,游晓功,施宝民,穆庆岭,吴泰璜 863 大连地区糖尿病患者与健康成年人肠内菌群的比较 孙艳,刘波,赵静玫,王海岩,徐和利,李雪松 865 影像学检查对肝门部胆管癌进展范围评价的临床价值 张国梁,韦斌,朱春兰,任旭 867 分离培养在 Hp 感染诊断中的重要地位 史济经,闵海阳,王青,杨慧芳,王洪涛,张振华 870 HBV 感染者 HBV DNA 与抗原抗体标志物的关系 陈雪娟,李刚,刘淑芳,陈文思,李桂侠 871 乙型肝炎肝组织中细胞间黏附分子-1 及 Fas 的表达及意义 张闯峰,郑瑞丹,孟家榕,郭以河,林福地 873 轮状病毒全身感染对肝胆胰的影响 姚英氏,李宁,欧巧群 877 良性肝病患者血清 AFP 升高的临床意义 程天霞 875 胆源性胰腺炎手术治疗 58 例 黄建勇,马清涌,马建新 879 经皮肝穿刺胆道引流治疗外伤后胆瘘 汪邵平,霍枫,张玉新,裴世强
病例报告	840 以肠梗阻为首表现的原发性小肠肿瘤 4 例 赵永玲,魏芳
编委来信	707 711 江学良
投稿细则	附 1-4 世界华人消化杂志投稿细则
封面故事	730 大鼠肝纤维化中细胞外信号调节激酶的作用 梁增文,张国,王天才

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名
陈可冀 题写版权刊名

(月刊)
创刊 1993-01-15
改刊 1998-01-25
出版 2003-06-15
原刊名 新消化病学杂志

总顾问 陈可冀
黄象谦
黄志强
黎介寿
刘耕陶
裘法祖
汤钊猷
王宝恩
危北海
吴孟超
吴咸中

张金哲
张学庸
赵东海
周殿元
社长总编辑 马连生
中文编辑 潘伯荣
王瑾晖
英文编辑 张建中
排版 李少华
校对 李天华

编辑 世界华人消化杂志编辑委员会
030001, 山西省太原市双塔西街 77 号
E-mail:wcjd@wjgnet.com
出版 世界胃肠病学杂志社
100023, 北京市 2345 信箱
E-mail: wcjd @ wjgnet.com
http://www.wjgnet.com
电话 (010)85381892
传真 (010)85381893
印刷 北京科信印刷厂
发行 国内 北京报刊发行局
国外 中国国际图书贸易总公司
(100044, 北京 399 信箱)
订购 全国各地邮电局
邮购 世界胃肠病学杂志社发行部
(100023, 北京市 2345 信箱)
电话:(010)85381892
传真:(010)85381893
2003 年版权归世界胃肠病学杂志社所有

本刊已被国内外 检索系统收录

美国《化学文摘(CA)》
荷兰《医学文摘库/医学文摘(EM)》
俄罗斯《文摘杂志(PJ)》
中国科技论文统计与分析
中国学术期刊文摘
中国中医药信息服务网
中国生物医学文献光盘数据库
《中文科技资料目录(医药卫生)》
中国生物医学期刊目录数据库
中国医学文摘外科学分册(英文版)
中国医学文摘内科学分册(英文版)

特别声明

本刊刊出的所有文章不代表世界胃肠病学杂志社和本刊编委会的观点,除非特别声明.本刊如有印装质量问题,请向本刊编辑部调换.

ISSN 1009-3079
CN 14-1260/R

邮发代号 82-262
国外代号 M 4481

国内定价 每期 24.00 元 全年 288.00 元

广告经营许可证
1401004000050

抗 HCV 树突状细胞疫苗的制备及功能研究

王全楚,冯志华,周永兴

王全楚,冯志华,周永兴,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
国家自然科学基金资助课题, No.30170822
项目负责人:冯志华,710038,陕西省西安市,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, fengzhihua@hotmail.com
电话:029-3377595
收稿日期:2002-10-25 接受日期:2002-11-19

摘要

树突状细胞(dendritic cell, DC)是目前发现的功能最强的专职抗原递呈细胞,在免疫反应中起着举足轻重的作用,因此备受重视. 1990 年以来,人们在体外诱导扩增 DC 成功之后,克服了以往由于 DC 在组织中含量很少、难以获取的困难,使 DC 研究取得了许多突破性的进展,为人们探索新的疾病防治手段开辟了新的天地. 以下从树突状细胞的特性、体外诱生及以 DC 为基础的治疗性疫苗在抗 HCV 感染中的作用等三个方面作一综述.

王全楚,冯志华,周永兴. 抗 HCV 树突状细胞疫苗的制备及功能研究. 世界华人消化杂志 2003;11(6):815-818
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/11/815.asp>

0 引言

丙型肝炎病毒(HCV)感染是当前危害人类健康的重要传染病,至今尚无特异性的预防和治疗措施^[1-20]. 基因疫苗作为一种控制 HCV 感染的新途径,正在受到人们的重视^[21]. 丙型肝炎基因疫苗诱导的特异性免疫应答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 HCV 感染后,抗原提呈细胞(APC),尤其是树突状细胞(DC)数量减少、功能降低有关^[22-24]. 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问题之一. 利用基因修饰或抗原致敏的树突状细胞作为疫苗具有最强的抗原呈递能力,可广泛用于肿瘤和感染性疾病的免疫治疗,其诱导的强烈的 CTL 反应在 HCV 基因治疗中具有很好的应用前景^[25-40].

1 DC 的特性和体外诱生

1.1 DC 的特性 树突状细胞最先由 Steinman 和 Cohn 在 1973 年描述. Steinman 阐述了 DC 与功能相关的几大特性: (1)DC 具有捕获加工处理抗原的能力; (2)DC 高表达 MHC II 类产物(>10⁶/细胞); (3)DC 表达丰富的黏附分子及共刺激因子,如 ICAM、LFA-3、整合素、B7、CD40、IL-12 等,这些表面标志随 DC 的不同分化阶

段而有变化; (4)DC 具有显著区别于其他细胞的表面标志. 活化的 DC 不表达 T 细胞、B 细胞和单核/巨噬细胞的典型表面标志,却表达 CD83、S100、CD40、CD80、CD86、CD1a、CD11a、CD45、HLA-ABC 和 HLA-DR、HLA-DQ^[41,42]等. 根据 DC 的异质性,有人将其分为髓系和淋巴系两大类. 不同的 DC 担负着不同的使命. 胸腺髓质中的 DC 参与胸腺中 T 细胞的阴性选择,髓系 DC 对 T 细胞免疫反应可产生强烈的刺激作用,并可分泌 IL-12,调节 T 细胞和 NK 细胞功能,促进 Th0 朝 Th1 方向分化,显著影响 Th1 和 Th2 的平衡. DC 在外周性免疫耐受中也起重要作用. 淋巴系 DC 倾向于促进 Th2 分化,并可递呈源自凋亡细胞的肽片段,据此,DC 可通过递呈来自体细胞的自身抗原给 T 细胞而诱导对自身蛋白的耐受. 迁移中的髓系 DC,包括 LC,在遭遇外源抗原后产生活性,移向淋巴器官启动免疫反应^[41]. DC 对 B 细胞的生长和免疫球蛋白的分泌有重要作用. 二者虽同为 APC,但 DC 有较高 MHC 及共刺激因子的表达并能大量产生 IL-12; DC 通过 Fc 及多聚凝集素(multilectin)受体中和抗原, B 细胞则有抗原特异性免疫球蛋白受体. DC 同时调控着 B 细胞所产生的免疫球蛋白的种类, IL-10 与 TGF- β 诱导 IgA1 的生成, IgA2 的表达则严格依赖于 B 与 DC 的直接相互作用,这说明 DC 控制着黏膜的免疫. 滤泡型 DC 直接维持激活 B 细胞的活力、生长与分化,生发中心含有 CD11c⁺DC,他可携带免疫复合物,有较强的刺激 B 细胞的能力. DC 与 B 细胞间作用方式也遵循双信号原则,即 DC 上的特异性抗原被 BCR 接受产生第一信号, DC 上 CR2L 与 B 细胞上 CR 结合,这对共刺激因子提供第二信号调控体液免疫. 总之, DC 对 T、B 细胞的生长分化、抗病毒和抗肿瘤免疫以及免疫耐受等方面均有重要作用.

1.2 DC 的体外诱生 体外诱生 DC 有许多不同的方案. 骨髓、脐血和外周血干细胞、外周血单核细胞,都可以作为前体来诱导分化为 DC^[43],奥地利学者甚至提出乳铁传递蛋白(Lactoferrin)阳性的中性粒细胞在体外也可转型为 DC. 用不同的起始细胞群诱生 DC 需要不同的培养条件. 用 CD34⁺ 细胞诱生 DC 时,去掉非贴壁细胞可显著降低淋巴细胞的污染. CD14⁺ 单核细胞在合适的条件下也可分化为 DC^[42]. 尽管用不同的前体细胞扩增 DC 的方法各不相同,但 GM-CSF 似乎是必不可少的. GM-CSF 可诱导 DC 前体扩增,促使其分化,并可在体外维持 DC 存活达 6 wk. IL-4 往往与 GM-CSF 同时使用,特别是

将外周血单个核细胞或单核细胞作为前体时, IL-4可抑制巨噬细胞克隆形成, 诱导 DC 生长和成熟. 当用骨髓或脐血 CD34⁺ 细胞作前体时, 则用 TNF- α 代替 IL-4. TNF- α 可降低粒细胞的产生, 上调细胞 GM-CSF β 链的表达, 增强其对细胞因子信号的反应能力. 许多其他细胞因子也被证明对 DC 的产生具有促进作用^[44-47], 如 IL-13, SCF, TGF- β 1 等. 有报道向用 GM-CSF、TNF- α 和 IL-4 刺激的骨髓 CD34⁺ 细胞培养体系中加入 Flt3 配体可使 DC 的收获率提高 5 倍, 再加入 SCF 可进一步提高. 持续的流动灌注培养体系可进一步增强 DC 的扩增. 甲胎蛋白对 DC 可产生抑制作用, 下调共刺激分子的表达; IL-10 可以抑制 DC 的分化, 将未成熟 DC 转化为可诱导产生耐受的 APC, 这也许可成为治疗自身免疫性疾病和过敏性疾病的有效方法. LPS、PGE₂、含非甲基化 CpG 基序的寡核苷酸(CpG-ODN)等免疫调节因子可以促进 DC 成熟从而增强抗原提呈功能. 不同的前体细胞, 不同的细胞因子和培养条件可以改变 DC 的表型和功能. GM-CSF 和 IL-4 有利于髓系 DC 分化, 而 IL-3 促进向淋巴系 DC 分化. CD40L 则对两种 DC 的成熟都有促进作用^[42]. 虽然目前已有的方法可以扩增出一定数量的 DC, 但不足之处是方法复杂, 所需细胞因子的量较大, 培养时间长, 成本高. 所以, DC 大量扩增方法学的优化也是下一步研究的关键问题.

2 DC 在 HCV 发病机制中的作用

近年来, 越来越多的证据表明由 DC 激活的细胞免疫特别是 CTL 介导的免疫反应, 在机体抵御恶性肿瘤和传染性疾病中发挥着十分重要的作用. 而且最近 DC 疫苗的临床 I、II 期试验也取得了令人鼓舞的结果, 显示出 DC 疫苗在恶性肿瘤等疾病中的巨大前景. 目前研究认为, 细胞免疫因可识别和清除病毒感染, 故对 HCV 的清除起重要作用. HCV 感染早期 T 细胞反应的强度、表位特异性和细胞因子分泌情况等很可能将决定感染的预后. HCV 感染时, 除病毒感染的非造血细胞外, 淋巴结和骨髓来源的 DC 作为专职抗原提呈细胞也直接参与启动抗病毒 T 细胞应答^[8].

Auffermann-Gretzinger et al^[49]研究发现慢性丙型肝炎患者外周血 DC 经同源刺激后不能分化成熟, 其膜表面分子仍为未成熟型, 虽能摄取抗原, 但不能呈递抗原. 自限性 HCV 感染者 DC 功能跟正常人一样可以分化成熟. 提示 DC 抗原呈递能力下降可能是导致持续感染慢性化的原因之一. Bain et al^[50]报告 HCV 感染者外周血 DC 虽然形态及摄取抗原能力正常, 但刺激 T 细胞增生能力较正常人明显降低. 用 RT-PCR 检测 DC 培养液中 HCV 病毒极其准种, 6 例中 5 例可检测到 HCV RNA 阳性. 其中 1 例 DC 中 HCV RNA 序列不同于血清、肝脏及其他部位, 提示 HCV 引起的 DC 刺激能力下降可能由于 DC 本身储存病毒所致. Kakumu et al^[51]观察 HCV 和 HBV 引起的原发性肝癌(HCC)中 DC 分泌 IL-12 以及 T

细胞刺激能力下降. 21 例 HCV、5 例 HBV 所致的 HCC 均可见 DC 功能下降. Kanto et al^[48]发现 HCV 感染所致的 DC 功能下降可被 HCV 核心区抗原刺激后恢复. 作者发现 24 例慢性丙型肝炎患者 DC 刺激前 CD86、IFN- γ 的表达以及 T 细胞刺激能力均低于正常组 DC. 但核心区抗原刺激后 DC 可持续 T 细胞增生能力.

3 抗 HCV 树突状细胞疫苗的制备方法

DC 疫苗包括病毒特异性抗原负载的 DC 疫苗和特异性抗原基因导入的 DC 疫苗两种, 前者为增加 DC 的抗原呈递功能, 将病毒特异性的抗原负载到 DC 细胞或体外致敏 DC 制成特异性 DC 疫苗或瘤苗. 在抗肿瘤免疫中已取得较好效果. 用同样的方法治疗肝炎也取得相似结果. 如将 HBsAg 致敏的 DC 转入 H-2 小鼠体内, 可诱导 MHC-限制的 HBsAg 特异性 CTL 反应^[52]. Bocher et al^[53]用 BALB/C 小鼠全身致死性照射后植入 SCID 小鼠骨髓以支持快速植入 PBMC 制成可感染 HBV 或 HCV 的动物模型, 用上述模型来研究抗原 HBcAg 负荷的 DC 疫苗诱发了强烈的针对 HBc 的原发性 Th 细胞反应和特异性 CTL 反应. 由于基因转染的 DC 疫苗能提供更多更有效的可供识别的抗原表位, 而且可以最终克服 HLA 限制, 已成为最具发展前景, 备受人们关注的研究热点. 目前在基因转染 DC 的方法上人们已经进行了许多探索, 将特异性抗原基因导入 DC 的方法有如下几种.

3.1 DNA 转染 DC 虽然裸 DNA 转染 DC 的效率较低, 但仍然有几个研究小组在不断探索^[54]. 采用基因枪轰击的方法将编码 HPV-16E7 的质粒导入鼠骨髓来源的 DC, 将存活的转基因 DC 免疫小鼠后, 不仅在体内产生抗原特异性的 CTL 反应, 而且还引起随后对致死量 HPV-16 转化的肿瘤细胞攻击的排斥. 采用电击法和脂质体介导的方法将 pEGFP 质粒分别导入 CD34⁺ 来源的 DC(PC-DC), 郎汉斯细胞(PC-LC)和 CD14 来源的 DC(Mo-DC), 实验结果表明^[55], 脂质体介导法对 3 种 DC 几乎无效, 而电击法的转染效率分别为 PC-DC12%, PC-LC16%, Mo-DC2%.

3.2 重组腺病毒介导的转染 近年来的研究表明重组腺病毒介导的转染效率比裸 DNA 转染 DC 的效率高^[56]. 90% 的鼠骨髓来源的 DC 能有效转染 Ad(γ -gal), 但研究发现, 直接用 AdRSVGFP 转染人外周血 DC, 只有大约 20% 的 DC 表达 GFP, 加用脂质体后, 转染效率可高达 90%, 说明脂质体可以增强腺病毒介导的基因转染 DC 的效率^[57]. 使用腺病毒载体作为基因转移载体来制备疫苗, 遇到的主要问题是病毒本身基因的表达成为潜在的免疫原, 尽管动物实验表明, 反复注射病毒转染的 DC, 仅仅产生低滴度的中和抗体. 利用适度的紫外线照射重组腺病毒, 既不改变腺病毒结合受体的结构和进入细胞的能力, 又能封闭腺病毒本身基因的转录, 随后用 Poly(L-lysine)共价结合紫外线照射的腺病毒, 结果高效地将外源基因转入 DC, 且没有共存的腺病

毒基因的表达, 这为 DC 疫苗的制备提供了一种更加安全的方法^[58].

3.3 逆转录病毒介导的基因转染 与腺病毒载体不同的是, 逆转录病毒能将转移的外源基因整合到转染细胞的基因组中去, 使之得到有效和稳定的表达. 目前, 一些实验已证明, 利用逆转录病毒将 TSA 基因导入鼠和人的 DC 是可行的. 如用 MFG 逆转录病毒系统将 LacZ 基因转入人外周血 DC, 7 d 后, 35-67 % 的 DC 显示出较高的 β -gal 活性, 20 d 后 PCR 依然能检测出 LacZ 基因的存在, 表明 LacZ 基因已稳定整合于 DC 基因组中, 另外逆转录病毒转染的 DC 依旧保持着 DC 的生物学特性, 并能诱导产生抗原特异的 CTL^[59].

3.4 重组痘病毒介导的基因转染 DC 重组痘病毒介导 TSA 基因转染 DC 具有转染率高、基因表达快、培养时间短等特点. 重组痘病毒转染的 DC 也能产生抗原特异性 CTL. 重组痘病毒介导的黑色素瘤相关抗原基因 MART-1 转染 DC 后, 接种于黑色素瘤患者, 结果在患者体内产生 MART-1 特异性的 CTL 反应, 显示出重组痘病毒在制备 DC 疫苗上的巨大潜力^[60].

3.5 DNA 疫苗直接转染 DC 尽管 DNA 疫苗仅能直接转染较少一部分的 DC, 但是实验已发现在引流淋巴结的 DC 被广泛激活, 从而为效应细胞的活化提供了最佳的条件. 因此 DNA 疫苗若以 DC 为载体能得到良好的免疫效果.

总之, 树突状细胞系统作为机体内免疫反应的始动子和调节子, 具有激活 CD8⁺CTL 及 CD4⁺T 辅助细胞的能力, 控制着体内免疫反应的过程, 因而他已成为抗肿瘤和抗病毒免疫反应的中心环节. 近几年来, 有关 DC 系统及其抗肿瘤疫苗的实验研究取得了显著的进展, 促进了 DC 疫苗在部分肿瘤患者体内的 I, II 期临床研究的深入, 但是在抗病毒免疫方面尤其是抗肝炎病毒的免疫治疗方面尚处于开始阶段, 随着 DC 研究的深入, 体外获得大量的 DC 和制备 DC 疫苗的技术日趋成熟, 特别是可以针对每个患者制备特异的 DC 疫苗, 从而进行特定的免疫学治疗. 相信上述 DC 疫苗在不久的将来可能成为病毒性肝炎临床治疗的一种不可缺的辅助手段.

4 参考文献

- Blum HE. Molecular targets for prevention of hepatocellular carcinoma. *Dig Dis* 2002;20:81-90
- Carreno V. Present treatment expectations and risks of chronic hepatitis C. *Clin Microbiol Infect* 2002;8:74-79
- Tessmann K, Erhardt A, Haussinger D, Heintges T. Cloning and molecular characterization of human high affinity antibody fragments against Hepatitis C virus NS3 helicase. *J Virol Methods* 2002;103:75-88
- Moralli D, Vagnarelli P, Bensi M, De Carli L, Raimondi E. Insertion of a loxP site in a size-reduced human accessory chromosome. *Cytogenet Cell Genet* 2001;94:113-120
- 刘文恩, 谭德明, 范学工, 欧阳颖, 张铮. 丙型肝炎病毒感染发病机制中自身免疫反应的作用. *世界华人消化杂志* 1999;7:120-121
- 杜竞辉, 查文章. 丙型肝炎与原发肝癌关系研究现状. *世界华人消化杂志* 1999;7:176

- 范学工, 唐发清, 欧志明, 章锦香, 刘国成, 胡国岭. 慢性丙型肝炎病毒感染外周血淋巴细胞增生反应. *世界华人消化杂志* 1999;7:1038-1040
- 吴海滨, 李智伟, 李颖. 外周血单核细胞中丙型肝炎病毒 RNA 正负链检测的临床意义. *世界华人消化杂志* 1999;7:220-221
- Assy N, Minuk GY. A comparison between previous and present histologic assessments of chronic hepatitis C viral infections in humans. *J New Gastroenterol* 1999;5:107-110
- Song ZQ, Hao F, Min F, Ma QY, Liu GD. Hepatitis C virus infection of human hepatoma cell line 7721 in vitro. *World J Gastroenterol* 2001;7:685-689
- 王宏林, 张宝良, 杨波, 李兰芝, 朱善德, 郭仁宣. 丙肝病毒感染者血清内源性 β -葡糖醛酸酶活性与胆红素结石的关系. *世界华人消化杂志* 2001;9:1074
- 刘斌, 王宇明. 丙型肝炎病毒非结构区 NS5A 研究进展. *世界华人消化杂志* 2001;9:949-953
- 王平忠, 聂青和, 张中伟, 白宪光. 丙型肝炎病毒感染的人群 HCV RNA 定量研究. *世界华人消化杂志* 2000;8:1247-1250
- 李华, 潘承恩, 陈武科, 王全颖, 杨广笑. 丙型肝炎病毒核心区基因在大肠杆菌中的高效表达. *世界华人消化杂志* 2001;9:221-223
- 王平忠, 周永兴. 西安地区丙型肝炎病毒基因分型研究. *世界华人消化杂志* 1999;7:757-759
- 宋志强, 郝飞, 王永刚, 闵峰, 王宇明. 丙型肝炎病毒 HVR1 抗血清体外阻断 HCV 的感染. *世界华人消化杂志* 2000;8:171-174
- 刘明旭, 王福生, 金磊, 雷周云, 施红, 刑利和. 丙型肝炎患者 LDL-R 等位基因的多态性. *世界华人消化杂志* 2001;9:217-218
- 闵峰, 郝飞. 丙型肝炎病毒包膜糖蛋白与保护性免疫. *世界华人消化杂志* 1999;7:1065-1067
- 贾战生, 周永兴, 连建奇, 冯志华, 李光玉, 张文彬. 抗丙型肝炎病毒锤头结构核酶的计算机设计. *世界华人消化杂志* 1999;7:300-302
- 宋志强, 郝飞, 张娟, 顾长海. 丙型肝炎患者血清中高变区 1(HVR1) 抗体的检测与分析. *世界华人消化杂志* 1999;7:666-668
- 王全楚, 周永兴, 姚志强, 冯志华. 不同载体及靶基因对乙型肝炎病毒 DNA 疫苗免疫效果的影响. *世界华人消化杂志* 2000;8:289-291
- 李明松, 袁爱力, 张万岱, 陈学清, 谭晓华, 朴英杰. 树突状细胞诱导的抗肿瘤免疫诱导移植瘤细胞凋亡并抑制其增生. *世界华人消化杂志* 2000;8:56-58
- 邢利和, 王福生, 刘明旭, 朱传琳. 树突状细胞与肝脏疾病. *世界华人消化杂志* 2000;8:1276-1279
- 李明松, 袁爱力, 张万岱, 陈学清, 张亚历, 周殿元. 大肠癌患者外周血树突状细胞免疫功能研究. *世界华人消化杂志* 1999;7:429
- Irvine AS, Trinder PK, Laughton DL, Ketteringham H, McDermott RH, Reid SC, Haines AM, Amir A, Husain R, Doshi R, Young LS, Mountain A. Efficient nonviral transfection of dendritic cells and their use for in vivo immunization. *Nat Biotechnol* 2000;18:1273-1278
- Di Nicola M, Carlo-Stella C, Milanese M, Magni M, Longoni P, Mortarini R, Anichini A, Tomanin R, Scarpa M, Gianni AM. Large-scale feasibility of gene transduction into human CD34⁺ cell-derived dendritic cells by adenoviral/polycation complex. *Br J Haematol* 2000;111:344-350
- Zhu Y, Koo K, Bradshaw JD, Sutton WF, Kuller LR, Bucala R, Anderson D, Mossman SP, Villinger F, Haigwood NL. Macaque blood-derived antigen-presenting cells elicit SIV-specific immune responses. *J Med Primatol* 2000;29:182-192
- Koido S, Kashiwaba M, Chen D, Gendler S, Kufe D, Gong J. Induction of antitumor immunity by vaccination of dendritic cells transfected with MUC1 RNA. *J Immunol* 2000;165:5713-5719
- Mitchell DA, Nair SK. RNA-transfected dendritic cells in cancer immunotherapy. *J Clin Invest* 2000;106:1065-1069
- Weissman D, Ni H, Scales D, Dude A, Capodici J, McGibney K, Abdool A, Isaacs SN, Cannon G, Kariko K. HIV gag mRNA transfection of dendritic cells (DC) delivers encoded antigen to MHC class I and II molecules, causes DC maturation, and induces a potent human in vitro primary immune response. *J Immunol* 2000;165:4710-4717
- Rugghetti A, Biffoni M, Sabbatucci M, Rahimi H, Pellicciotta I, Fattorossi A, Pierelli L, Scambia G, Lavitrano M, Frati L, Nuti M. Transfected human dendritic cells to induce antitumor immunity. *Gene Ther* 2000;7:1458-1466
- Shiku H, Wang L, Ikuta Y, Okugawa T, Schmitt M, Gu X, Akiyoshi K, Sunamoto J, Nakamura H. Development of a cancer vaccine: peptides, proteins, and DNA. *Cancer Chemother Pharmacol* 2000;46:S77-82

- 33 Nishimura T, Nakui M, Sato M, Iwakabe K, Kitamura H, Sekimoto M, Ohta A, Koda T, Nishimura S. The critical role of Th1-dominant immunity in tumor immunology. *Cancer Chemother Pharmacol* 2000;46:S52-61
- 34 Glasspool-Malone J, Somiari S, Drabick JJ, Malone RW. Efficient nonviral cutaneous transfection. *Mol Ther* 2000;2:140-146
- 35 Hayashi S, Johnston SA, Takashima A. Induction of Th2-directed immune responses by IL-4-transduced dendritic cells in mice. *Vaccine* 2000;18:3097-3105
- 36 Hadzantonis M, O'Neill H. Review: dendritic cell immunotherapy for melanoma. *Cancer Biother Radiopharm* 1999;14:11-22
- 37 Barratt-Boyes SM, Zimmer MI, Harshyne LA, Meyer EM, Watkins SC, Capuano S 3rd, Murphey-Corb M, Falo LD Jr, Donnenberg AD. Maturation and trafficking of monocyte-derived dendritic cells in monkeys: implications for dendritic cell-based vaccines. *J Immunol* 2000;164:2487-2495
- 38 Yang S, Vervaert CE, Burch J Jr, Grichnik J, Seigler HF, Darrow TL. Murine dendritic cells transfected with human GP100 elicit both antigen-specific CD8(+) and CD4(+) T-cell responses and are more effective than DNA vaccines at generating anti-tumor immunity. *Int J Cancer* 1999;83:532-540
- 39 Diao J, Smythe JA, Smyth C, Rowe PB, Alexander IE. Human PBMC-derived dendritic cells transduced with an adenovirus vector induce cytotoxic T-lymphocyte responses against a vector-encoded antigen in vitro. *Gene Ther* 1999;6:845-853
- 40 Li X, Lu S, Wang G, Yue B, Wang Z. Function of dendritic cell in chronic hepatitis C patients. *Zhonghua Neike Zazhi* 2002;41:325-328
- 41 Navas MC, Fuchs A, Schvoerer E, Bohbot A, Aubertin AM, Stoll-Keller F. Dendritic cell susceptibility to hepatitis C virus genotype 1 infection. *J Med Virol* 2002;67:152-161
- 42 Sarobe P, Lasarte JJ, Casares N, Lopez-Diaz de Cerio A, Baixeras E, Labarga P, Garcia N, Borrás-Cuesta F, Prieto J. Abnormal priming of CD4(+) T cells by dendritic cells expressing hepatitis C virus core and E1 proteins. *J Virol* 2002;76:5062-5070
- 43 Ou-Yang P, Hwang LH, Tao MH, Chiang BL, Chen DS. Co-delivery of GM-CSF gene enhances the immune responses of hepatitis C viral core protein-expressing DNA vaccine: role of dendritic cells. *J Med Virol* 2002;6:320-328
- 44 Moriya O, Matsui M, Osorio M, Miyazawa H, Rice CM, Feinstone SM, Leppla SH, Keith JM, Akatsuka T. Induction of hepatitis C virus-specific cytotoxic T lymphocytes in mice by immunization with dendritic cells treated with an anthrax toxin fusion protein. *Vaccine* 2001;20:789-796
- 45 Galle MB, DeFranco RM, Kerjaschki D, Romanelli RG, Montalto P, Gentilini P, Pinzani M, Romagnoli P. Ordered array of dendritic cells and CD8+ lymphocytes in portal infiltrates in chronic hepatitis C. *Histopathology* 2001;39:373-381
- 46 Akbar SM, Horiike N, Onji M, Hino O. Dendritic cells and chronic hepatitis virus carriers. *Intervirology* 2001;44:199-208
- 47 Ito A, Kanto T, Kuzushita N, Tatsumi T, Sugimoto Y, Miyagi T, Takehara T, Katayama K, Mochizuki K, Hiramatsu N, Kasahara A, Yoshiya I, Sasaki Y, Hori M, Hayashi N. Generation of hepatitis C virus-specific cytotoxic T lymphocytes from healthy individuals with peptide-pulsed dendritic cells. *J Gastroenterol Hepatol* 2001;16:309-316
- 48 Kanto T, Hayashi N, Takehara T, Tatsumi T, Kuzushita N, Ito A, Sasaki Y, Kasahara A, Hori M. Impaired allostimulatory capacity of peripheral blood dendritic cells recovered from hepatitis C virus-infected individuals. *J Immunol* 1999;162:5584-5591
- 49 Auffermann-Gretzinger S, Keeffe EB, Levy S. Impaired dendritic cell maturation in patients with chronic, but not resolved, hepatitis C virus infection. *Blood* 2001;97:3171-3176
- 50 Bain C, Fatmi A, Zoulim F, Zarski JP, Trepo C, Inchauspe G. Impaired allostimulatory function of dendritic cells in chronic hepatitis C infection. *Gastroenterology* 2001;120:512-524
- 51 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
- 52 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
- 53 Bocher WO, Dekel B, Schwerin W, Geissler M, Hoffmann S, Rohwer A, Arditti F, Cooper A, Bernhard H, Berrebi A, Rose-John S, Shaul Y, Galle PR, Lohr HF, Reisner Y. Induction of strong hepatitis B virus (HBV) specific T helper cell and cytotoxic T lymphocyte responses by therapeutic vaccination in the trimeric mouse model of chronic HBV infection. *Eur J Immunol* 2001;31:2071-2079
- 54 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
- 55 Cui Z, Mumper RJ. Topical immunization using nanoengineered genetic vaccines. *J Control Release* 2002;81:173-184
- 56 Xia DJ, Zhang WP, Zheng S, Wang J, Pan JP, Wang Q, Zhang LH, Hamada H, Cao X. Lymphotactin cotransfection enhances the therapeutic efficacy of dendritic cells genetically modified with melanoma antigen gp100. *Gene Ther* 2002;9:592-601
- 57 Armstrong AC, Dermime S, Allinson CG, Bhattacharyya T, Mulryan K, Gonzalez KR, Stern PL, Hawkins RE. Immunization with a recombinant adenovirus encoding a lymphoma idiotype: induction of tumor-protective immunity and identification of an idiotype-specific T cell epitope. *J Immunol* 2002;168:3983-3991
- 58 Shibagaki N, Udey MC. Dendritic cells transduced with protein antigens induce cytotoxic lymphocytes and elicit antitumor immunity. *J Immunol* 2002;168:2393-2401
- 59 Tang H, Cao X, Zhu X. Induction of potent antitumor immune response of leukemia antigen-pulsed dendritic cells by IL-2 gene modification. *Zhonghua Xueye Xue Zazhi* 1999;20:573-576
- 60 Foley R, Tozer R, Wan Y. Genetically modified dendritic cells in cancer therapy: implications for transfusion medicine. *Transfus Med Rev* 2001;15:292-304



Published by **Baishideng Publishing Group Inc**
7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton,
CA 94588, USA
Fax: +1-925-223-8242
Telephone: +1-925-223-8243
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

