

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.31.033

腺病毒携带 IL-12 增强抗原致敏树突细胞在肝癌基因治疗中的研究 *

崔清昱¹ 王 静¹ 秦万民¹ 刘世海² 冯玉洁¹ 孙传东^{1△}

(1 青岛大学附属医院普外二科 山东 青岛 266071; 2 青岛大学中心实验室 山东 青岛 266071)

摘要 目的:近年来通过应用白介素-12 治疗肿瘤取得良好效果,因此对国内外应用腺病毒携带 IL-12 增强抗原致敏树突细胞在肝癌基因治疗中的研究进展进行总结,以探索更为可行治疗方法。**方法:**运用 Pubmed、Elsevier Sciencedirect、CNKI 及万方全文数据库检索系统,以腺病毒,IL-12,肝癌,树突细胞为关键词,检索 2008-01 至 2012-11 月发表的文献。纳入标准:1)IL-12 的生物学特性,在抗肿瘤过程中的免疫作用,2)应用腺病毒携带 IL-12 对抗肝癌治疗研究,3)肿瘤抗原致敏树突细胞对肿瘤的影响。根据纳入标准分析文献 26 篇。**结果:**通过腺病毒携带 IL-12 可以增强肿瘤抗原致敏树突细胞的免疫应答。并通过诱导肿瘤细胞的凋亡,减少新生血管的生成而对肿瘤产生直接抑制,有效抑制肝癌的生长和转移。**结论:**本文通过对 IL-12 的生物学特征、抗肿瘤通路、作用机制及在腺病毒介导下肿瘤抗原致敏树突细胞研究进展的概述,为腺病毒携带 IL-12 作为肝癌的基因治疗进一步提供理论依据和探索,期待在将来应用 IL-12 为基础的基因治疗一定会为包括肝癌在内的肿瘤治疗提供新的途径。

关键词:腺病毒;IL-12;肝癌;树突细胞

中图分类号:R735.7 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2014)31-6125-04

Adenovirus Mediated Interleukin-12 Enhances the Gene Therapy of Hepatocarcinoma by Tumor Antigen Pulsed Dendritic Cells*

CUI Qing-yu¹, WANG Jing¹, QIN Wan-min¹, LIU Shi-hai², FENG Yu-jie¹, SUN Chuan-dong^{1△}

(1 Department II of general surgery, Qingdao university affiliated hospital, Qingdao, Shandong, 266071, China;

2 Center laboratory, Qingdao university affiliated hospital, Qingdao, Shandong, 266071, China)

ABSTRACT Objective: Recently, wonderful effect has been achieved on treating tumor by using IL-12. So we summarize the advances of adenovirus mediated interleukin-12 enhances the gene therapy of hepatocarcinoma by tumor pulsed dendritic cells at home and abroad on the purpose of finding a feasible way for treating tumors. **Methods:** Using adenovirus IL-12, hepatocarcinoma and dendritic cells as key words, the articles published from the database such as Pubmed, Elsevier Sciencedirect, CNKI and Wanfang, particularly from January 2008 to November 2011, were searched. Inclusion criteria: 1) the biologic character of IL-12 and the immune effect on the progress of anti-tumor, 2) the research of using adenovirus mediated IL-12 to therapy tumor, 3) The influence of tumor antigen pulsed dendritic cell on tumor. Twenty-six articles were selected into analysis according to inclusion criteria. **Results:** The immune response can be improved by using adenovirus mediated IL-12 enhances tumor antigen pulsed dendritic cells. Tumors were depressed directly by inducing the tumor's apoptosis and reducing the angiogenesis, which can depress the growth and metastasis of the hepatocarcinoma effectively. **Conclusions:** This article conclude the biologic character, the pathway and mechanism of anti-tumor of IL-12 and the advance of the study of adenovirus mediated tumor antigen pulsed dendritic cells, which also can provide the theoretical evidence for further exploration of the hepatocarcinoma gene therapy by adenovirus mediated IL-12. And we hope to provide a novel approach for the tumor treating including hepatocarcinoma, on the basis of gene cure of IL-12 in the future.

Key words: Adenovirus; IL-12; Hepatocarcinoma; Dendritic cells

Chinese Library Classification(CLC): R735.7 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)31-6125-04

引言

肝癌是世界上最流行的癌症之一,在癌症导致死亡的疾病中排名第三^[1],原发性肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)在我国高发,目前我国发病人数约占全球的 55%,在肿瘤相关死亡中仅次于肺癌,位居第二^[1]。肝炎病毒感染导致的肝癌估计可以

达到全球 HCC 病例的 78%^[2]。事实上,在 80%~90%的病例中,HCC 都是由肝硬化引发的。其他由其他健康的肝脏发生的 HCC,其中一部分被认为是从消化道腺瘤中恶性转移的^[3]。

肝癌具有发现较晚,发展迅速,侵袭性强,转移早,预后差的特点。治疗策略可以随肿瘤情况、肝脏功能、身体状况和潜在的治疗功效做出调整。在早期阶段,只有某些特定的病例可得

* 基金项目:山东省 2012 科学技术发展计划(2012G0021845);山东省自然科学基金项目(2011ZR01588)

作者简介:崔清昱(1986-),男,硕士,主要研究方向:胃肠肝胆外科,E-mail:lkcqym_18@163.com

△通讯作者:孙传东,副主任医师,电话:18661802672,E-mail:sunchuandong@hotmail.com

(收稿日期:2013-12-28 接受日期:2014-01-23)

到有效的治疗。主要的治疗方法包括:外科切除、经皮穿刺消融、肝移植和药物治疗。然而,仅有 30%的病人具备上述几种治疗条件,并且,即使得到相应的治疗,其 5 年复发率也高达 70%^[4]。即使是早期肝癌,治疗手段也非常有限;完全的治愈是不可能的,经证实的传统的化、放疗有效率,副作用强。因此寻找一种对肝癌有效的治疗方式一直是人们探索的热点。

随着分子免疫学和生物学技术的发展,基因治疗肿瘤的方式逐渐成为了可能。目前所应用的肿瘤基因治疗方法有:免疫基因治疗、抑癌基因治疗、抗血管内皮基因治疗和联合基因治疗等。其中免疫基因治疗主要内容包括增强免疫效应细胞功能的细胞因子基因疗法和调节增强抗原识别能力的 MHC 基因疗法和共刺激分子基因疗法等,这些方法构成当前肿瘤基因治疗研究的重要成分。常用的细胞因子有肿瘤坏死因子(Tumor necrosis factor TNF)、干扰素(interferon IFN)、白细胞介素(interleukins ILs)等,其中白介素基因治疗由于具有强大的抗肿瘤活性及抑制转移作用而被广泛应用。

1 白介素对肿瘤的基因治疗

细胞因子通过旁分泌或者自分泌的信号方式来调控细胞作用。在细胞因子家族中,ILs 是种类最多,功能最具特征的。所以他们在调节免疫反应过程中起到重要作用。在过去的 20 年中,ILs 已经引起了世界范围的科学家的注意。ILs 可以调节各种功能,包括控制免疫细胞的产生,变异,成熟,增殖,及在免疫反应中炎症物质和抗炎性物质的激活,正如它也能够对血管生成,造血功能和过敏反应的调节一样^[5]。除此之外,ILs 也可以控制特定细胞的功能,如介导中性粒细胞和嗜碱性细胞的趋化性,在肥大细胞中组胺的释放及抗体的分泌等。由于他们能够加强免疫反应,ILs 多年来一直广泛的应用在包括肿瘤在内的免疫治疗中。有大量证据表明 IL 治疗可以产生有效地抗肿瘤的免疫反应。它可以在无副作用的情况下导致肿瘤细胞的裂解。当肿瘤作为抗原刺激 IL 激活,从而形成 IL 复合体,然后刺激更多有效地抗肿瘤免疫反应。尽管我们目前已经发现超过 35 个 ILs 成员,IL-2 仍然是其中唯一的被批准应用于癌症治疗的药物。虽然 ILs 中如 IL-7,IL-15,IL-10 和 IL-21 等作为基因治疗的候选者,但是大量研究表明这些细胞因子引起自身免疫反应,促进肿瘤细胞的增殖,生长转移的副作用也是不可忽视的^[6,7]。另外,值得注意的是 IL-18 的临床试验证明对转移的黑色素瘤的治疗是无效的^[8]。同样的大量 IL-1 的临床试验表明对各种肿瘤的抑制作用非常有限。最重要的是,IL-1 的临床试验还提示伴有大量的如高血压,呕吐,头痛和心律失常等副作用,这些研究最终限制细胞因子的临床应用^[9]。

因此开发新型,有效的细胞因子免疫调节剂成为对抗肿瘤的关键因素。到目前为止肿瘤免疫治疗应用前景最好的是 IL-12。这篇文章的主要目地也是要阐述 IL-12 对肿瘤发展的作用及对未临床应用的探讨。此外,现代分子生物医学也在关注新型基因标志物在预测、治疗及诊断分级中的发展。由于 IL-12 作为抗肿瘤细胞因子效果较为明显,我们在下文中对 IL-12 在肿瘤中发生,发展及作用进行探讨。

2 IL-12 的发现

2.1 来源及组成

白细胞介素 12(Interleukin-12, IL-12)又称为细胞毒淋巴细胞成熟因子(cytotoxic lymphocyte maturation factor, CLMF)、NK 细胞刺激因子(natural killer cell stimulation factor, NKSF),主要由抗原递呈细胞产生,其中单核/巨噬细胞和 B 细胞是产生 IL-12 的主要细胞,有很强的免疫调节作用。其分子量为 75kd,由 35kd(IL-12A)和 40kd(IL-12B)两个亚单位通过两个二硫键共价结合的异二聚体糖蛋白。

2.2 IL-12 在肿瘤中的信号通路

IL-12 通过 IL-12 受体(IL-12R)来激活生物学特性。IL-12R 也是由 IL-12R- β 1 和 IL-12R- β 2 亚单位形成的异构体。IL-12R- β 2 被酪氨酸磷酸化后为绑联区域统 Tyk2 和 Jak2 激酶,然后激活转录因子 STAT3 和 STAT4。激活后的 STATs 从受体上分离,形成二聚体,转移到细胞核内,在这里他们可以选择性调节转录基因^[10]。

IL-12 主要由树突细胞、巨噬细胞、和人类 B 淋巴细胞在抗原刺激后合成,并且对产生适度免疫反应具有广泛功能。首先,IL-12 通过 T 细胞和 NK 细胞刺激产生 IFN- γ ,同时,阻碍 IL-4 对 IFN- γ 合成的抑制^[11]。此外,IL-12 介导的 IFN- γ 的分泌能够增加 p53 的激活。P53 能够通过介导肿瘤细胞的凋亡来抑制肿瘤的生长^[12]。

IL-12 除了能够刺激 IFN- γ 的合成,还能够促进干扰素调节因子 1(IRF1)和 4(IRF4)。这些因子对 Th1 的分化非常重要^[13]。激活的 IRF1 在体内体外实验中均已证实可以抑制乳腺肿瘤的生长^[14]。IL-12 还能通过激活 IL-12RB1 和 IL-12RB2 的激活来调节 Th1 细胞的免疫反应。因此,IL-12 介导的 Th1 免疫反应可以通过细胞杀伤性 T 细胞来诱导特殊抗原的激活。这种杀伤性细胞可以在体内介导凋亡来显露外源抗原表型,这当然包括肿瘤抗原^[15]。同时,IL-12 可以通过招募 STAT4 和转录因子 c-Jun 来促进 IL-2R 的激活,最终达到加强 T 细胞增殖的目地。并且刺激淋巴细胞下调肿瘤中血管内皮生长因子的合成^[16]。

通过对 IL-12 信号通路的研究进一步加强我们对这类细胞因子的认识,为未来应用细胞因子对肿瘤的治疗提供更好的理论依据。

2.3 IL-12 的免疫效应及抗肿瘤机制

IL-12 发挥其免疫效应需要抗原刺激。IL-12 诱导 NK、T 细胞、CTL 细胞和巨噬细胞分泌增加,DC 在在肿瘤组织内捕获肿瘤抗原,刺激提呈细胞产生 IL-12。相应的 IL-12 调节肿瘤杀伤机制主要依赖于 DC 的激活,然后产生 IFN- γ ,而 IFN- γ 参与吞噬细胞的活化及炎症反应。IL-12 具有抗肿瘤生长方面具有多重生物活性,主要表现为:一、能诱导 NK 和 T 细胞产生 IFN- γ 、IL-2 等细胞因子,促进初始 Th0 细胞向 Th1 细胞分化,增殖和成熟,抑制 Th2 细胞活性,调节机体细胞免疫反应;二、能通过诱导肿瘤细胞凋亡和抑制肿瘤组织新生血管的生成而直接抑制肿瘤生长;三、能诱导并增强 NK 细胞和 CTL 细胞的增殖及细胞毒作用,介导其抗肿瘤作用的细胞免疫应答;四、上调钙黏着蛋白(E-cadherin)和血管细胞黏附分子-1(VCAM-1)水平,防止肿瘤转移。

在临床实验中主要通过静脉注射等方式给药,由于全身应用的毒副作用大^[18],因此无法全身应用药物。于是人们尝试在动物模型体内试验中,在肿瘤局部皮下接种注射 IL-12,结果显示可增强局部肿瘤免疫反应使皮下肿瘤消退,同时又不会导致

循环血中的 IL-12 浓度过高。但是,由于肝内局部注射 IL-12 对操作要求较高,半衰期短,反复给药可致全身副作用大且疗效也不够理想。随着分子生物学、免疫学和基因转移技术的发展,人们尝试着通过新式的基因治疗的方法来治疗肝脏肿瘤。

3 应用病毒载体携带 IL-12 基因进行抗肝癌治疗研究

IL-12 常用的基因治疗方法有:病毒携带、质粒携带、水动力学注射基因转移法等。其中由于病毒载体具有转染效率高等优点而应用最多。特别是应用腺病毒作为载体,由于其具备高稳定性、高滴度、无插入、不整合突变等优点而被作为首选载体。腺病毒载体发展经历了 3 代,第 1 代腺病毒载体的免疫原性和细胞毒性都很强,从而限制其用药剂量及用药次数。第 2 代腺病毒载体通过降低免疫原性在第一代基础上发展,但由于其感染性低所以没有得到广泛应用。近几年无肠腺病毒载体作为第 3 代腺病毒载体出现。无肠腺病毒载体免疫原性大大减弱,并且将所有编码病毒基因的序列全部去除,只保留末端重复序列,可携带 36000bp 外源基因。

国内学者通过肝癌体外实验证实腺病毒介导 IL-12 基因在人肝癌细胞中高表达,能促使细胞增殖阻滞及诱导肿瘤细胞凋亡,选择性杀伤肝癌细胞^[19]。Barajas 等^[20]通过感染接种大鼠肝脏形成肿瘤结节,用表达 IL-12 的腺病毒载体进行瘤内注射,由于 IL-12 具有激活免疫,促进 NK 细胞活化和抑制血管生成的作用,治疗后 2 周后肿瘤减少达到 50%,同一肝脏内阴性对照肿瘤也见缩小。Wang 等^[21]将腺病毒携带 IL-12 基因用来治疗小鼠原发性肝癌,其体内表达较为稳定,最长可达一年,显著抑制了肝癌的生长及转移。

4 IL-12 增强肿瘤抗原致敏树突细胞对肿瘤的影响

树突细胞(dendritic DC)广泛分布于外周组织,是人体内重要的专职抗原呈递细胞,可以激发包括细胞免疫和体液免疫在内的初级免疫应答。即使少量的 DC 也可以激活静息状态下的 T 细胞引起强大的 T 细胞反应,同时可以在体内致敏 CD4⁺T 辅助细胞和 CD8⁺杀伤细胞。因此在调节机体免疫反应中起着重要的作用,决定反应的最终走向是产生免疫反应还是产生对特定抗原的耐受。肿瘤抗原致敏的 DC 可以诱导强大、特异的抗肿瘤免疫。这种免疫应答在 IL-12 等因子作用下偏向 Th1 型反应,并可刺激活化细胞毒性 T 淋巴细胞(CTL)的克隆增殖。Dc 表面高表达的共刺激分子 CD80、CD86 及其分泌的 IL-12、IFN- γ 等多种细胞因子可以阻止肿瘤细胞诱导的 T 细胞凋亡,维持 T 细胞的抗瘤活性^[22]。Yamanaka^[23]等研究发现,联合应用 IL-12、IL-18 可以明显增强胶质瘤抗原负载的小鼠 DC 诱导同源 T 淋巴细胞产生特异性抗胶质瘤免疫的能力。Naka^[24]等将粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子的 mRNA 与肿瘤的 mRNA 共转染 DC 后,对小鼠肿瘤生长的作用显著增强。Tatsumi^[25]等在小鼠 HCC 体外实验研究中发现,联合应用 IL-12 肿瘤与抗原负载的小鼠 DC 能更有效地抑制小鼠体内 HCC 的生长,这说明在 CD4⁺及 CD8⁺T 淋巴细胞介导下的 T 淋巴细胞具有更强的抑制 HCC 细胞生长的效能。上述实验表明联合应用腺病毒携带 IL-12 有助于增强肿瘤抗原负载 DC 诱导机体特异性抗肿瘤免疫的能力的提高。

5 结论

目前,大量研究表明 IL-12 在抗肿瘤免疫反应中起到重要作用。但是 IL-12 在人类临床实验中作用效果仍然是不够理想的。并且在晚期肿瘤中,IL-12 在以往的研究中表明可能由于免疫抑制所支配的微环境而导致的效率低下^[26]。

近几年,有关 IL-12 的新型药物实验的发展主要关注与如何减少 IL-12 明显的毒副作用。2011.07 美国国家健康研究所批准了一期新型药物 NHS-IL12 用于对实体瘤的治疗。这种药物通过选择性靶向运输 IL-12 作用于肿瘤细胞来减少其毒副作用 (<http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01417546>)。新型的 NHS-IL-12 由两个 IL-12 异构体构成,每一条单链与 NHS76 中的 H-链相连,其具有与 DNA 单双链亲和的能力。所以,NHS-IL-12 能够靶向性将 IL-12 运送到 DNA 暴露的肿瘤区域。可以预测这种药物的诞生将有助于避免 IL-12 的毒副作用。

虽然肿瘤免疫研究取得了巨大进展,但对究竟肿瘤细胞如何诱导免疫耐受并逃避免疫识别的确切机制尚未充分了解。此外,如何有效的将细胞因子运送到作用靶点,并尽可能减少副作用成为今后基因治疗肿瘤的研究重点之一;以 IL-12 为基础的免疫治疗联合其他抗癌药物包括小分子靶向抑制剂,替西罗莫司,索拉菲尼和贝伐单抗等单克隆抗体联合应用将有着广泛前景。可以预见不久的将来,随着基因治疗载体、基因转移技术及基因表达调控系统的不断发展,以 IL-12 为基础的基因治疗一定会为包括肝癌在内的肿瘤治疗提供新的途径。

参考文献(References)

- [1] Parkin D. M, Bray. F, Ferlay. J, et al. cancer statistics[J]. CA Cancer J. Clin., 2005, 55(2): 74-108
- [2] Perz, J. F, Armstrong, G. L, Farrington, L. A, et al. The contributions of hepatitis B virus and hepatitis C virus infections to cirrhosis and primary liver cancer worldwide [J]. Hepatol, 2006, 45(4): 529-538
- [3] Rebouissou, S, Bioulac-Sage, P, Zucman-Rossi, J. Molecular pathogenesis of focal nodular hyperplasia and hepatocellular adenoma [J]. Hepatol, 2008, 48(1): 163-170
- [4] Sangiovanni, A, Del Ninno, E, Fasani, P, et al. Colombo, M. Increased survival of cirrhotic patients with a hepatocellular carcinoma detected during surveillance[J]. Gastroenterology, 2004, 126(4): 1005-1014
- [5] Waldmann TA. The biology of interleukin-2 and interleukin-15: Implications for cancer therapy and vaccine design. [J]. Nat Rev Immunol, 2006, 6: 595-601
- [6] Dien Bard J, Gelebart P, Anand M, et al. IL-21 contributes to JAK3/STAT3 activation and promotes cell growth in ALK-positive anaplastic large cell lymphoma[J]. Am J Pathol, 2009, 175(2): 825-834
- [7] Ming J, Jiang G, Zhang Q, et al. Interleukin-7 upregulates cyclin D1 via activator protein-1 to promote proliferation of cell in lung cancer [J]. Cancer Immunol Immunother, 2012, 61(1): 79-88
- [8] Tarhini AA, Millward M, Mainwaring P, et al. A phase 2, randomized study of SB-485232, rhIL-18, in patients with previously untreated metastatic melanoma[J]. Cancer, 2009, 115(4): 859-868
- [9] Veltri S, Smith JW, et al. Interleukin 1 trials in cancer patients: A review of the toxicity, antitumor and hematopoietic effects [J]. Stem Cells, 1996, 14(2): 164-176
- [10] Wang KS, Frank DA, Ritz J. Interleukin-2 enhances the response of natural killer cells to interleukin-12 through upregulation of the interleukin-12 receptor and STAT4 [J]. Blood, 2000, 95(10): 3183-3

190

- [11] Kanegane C, Sgadari C, Kanegane H, et al. Contribution of the CXC chemokines IP-10 and Mig to the antitumor effects of IL-12 [J]. *Leukoc Biol*, 1998, 64(3): 384-392
- [12] Takaoka A, Hayakawa S, Yanai H, et al. Integration of interferon-alpha/beta signalling to p53 responses in tumour suppression and antiviral defence[J]. *Nature*, 2003, 424(6948): 516-523
- [13] Lehtonen A, Lund R, Lahesmaa R, et al. IFN-alpha and IL-12 activate IFN regulatory factor 1 (IRF-1), IRF-4, and IRF-8 gene expression in human NK and T cells[J]. *Cytokine*, 2003, 24(3): 81-90
- [14] Bouker KB, Skaar TC, Riggins RB, et al. Interferon regulatory factor-1 (IRF-1) exhibits tumor suppressor activities in breast cancer associated with caspase activation and induction of apoptosis [J]. *Carcinogenesis*, 2005, 26(9): 1527-1535
- [15] Becskei A, Grusby MJ. Contribution of IL-12R mediated feedback loop to Th1 cell differentiation[J]. *FEBS Lett*, 2007, 581(27): 5199-5206
- [16] Foukas LC, Panayotou G, Shepherd PR. Direct interaction of major histocompatibility complex class II-derived peptides with class Ia phosphoinositide 3-kinase results in dose-dependent stimulatory effects[J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(9): 7505-7511
- [17] Hernpel G, gallePR, Lohr HF, et al. Quantitative analysis of specific Th1/Th2 helper cell responses and IgG subtype antibodies in interferon alphas-treated patients with chronic hepatitis C [J]. *Medvirul*, 2001, 64: 340-349
- [18] Leonard JP, sherman ML, Fisher GL, et al. Effects of single-dose interleukin-12 exposure on interleukin-12-associated toxicity and interferon-gamma production[J]. *Blood*, 1997, 90(7): 2541-2548
- [19] 王从俊, 薛新波, 易继林, 等. 腺病毒介导 MDA-7 / IL-24 选择性杀伤肝癌细胞 HepG2 的研究 [J]. *中国普通外科杂志*, 2006, 15(11): 849-854
- Wang Cong-jun, Xue xin-bo, Yi Ji-lin, et al. Study on adenovirus-mediated mda-7/IL-24 gene selective arrest the growth of the hepatocellular carcinoma cell lines[J]. *Chinese journal of general surgery*, 2006, 15(11): 849-854
- [20] Barajas M, Mazzolini G, Genove G, et al. Gene therapy of orthotopic hepatocellular carcinoma in rats using adenovirus coding for interleukin 12[J]. *Hepatology*, 2001, 33(1): 52-61
- [21] Wang L, Hernandez-Alcoceba R, shankar V, et al. Prolonged and inducible transgene expression in the liver using gutless adenovirus: a potential therapy for liver cancer[J]. *Gastrology*, 2004, 126(1): 278-289
- [22] Lotze MT. Getting to the source: Dendritic cells as therapeutic reagents for the treatment of patients with cancer[J]. *Ann Surg*, 1997, 226(1): 1-5
- [23] Yamanaka R, Yajima N, Tsuchiya N, et al. Administration of interleukin-12 and -18 enhancing the antitumor immunity of genetically modified dendritic cells that had been pulsed with semliki forest virus-mediated tumor complementary DNA [J]. *Neurosurg*, 2002, 97: 1184-1190
- [24] Naka T, wahashi M, Nakamura M, et al. Tumor vaccine therapy against recombinant tumor using dendritic cells stimulatingly transfected with tumor RNA and granulocyte macrophage colony stimulating factor RNA[J]. *Cancer Sci*, 2008, 99(2): 407-408
- [25] Tatsumi T, Takehara T, Kanto T, et al. Administration of interleukin-12 enhances the therapeutic efficacy of dendritic cell-based tumor vaccines in mouse hepatocellular carcinoma [J]. *Cancer Res*, 2001, 61: 7563-7567
- [26] Beyer M, Schultze JL. 2006. Regulatory T cells in cancer [J]. *Blood*, 108: 804-811

(上接第 6075 页)

- [14] 杨红丽, 梁雯, 李海涛, 等. 101 例肺炎死亡病例分析 [J]. *现代生物医学进展*, 2012, 12(28): 5542-5545
- Yang Hong-li, Liang Wen, Li Hai-tao, et al. Analysis of 101 cases of pneumonia deaths[J]. *Progress in Modern Biomedicine*, 2012, 12(28): 5542-5545
- [15] 全军传染病专业委员会. 腺病毒感染诊疗指南 [J]. *解放军医学杂志*, 2013, 38(7): 529-533
- Committee for infectious Diseases of PLA. Guideline for diagnostic and treatment of HAdV infection[J]. *Med J Chin PLA*, 2013, 38: 529-533
- [16] Adams WC, Berenson RJ, Karlsson Hedestam GB. Attenuation of CD4⁺ T-cell function by human adenovirus type 35 is mediated by the knob protein[J]. *J Gen Virol*, 2012, 93: 1339-1344
- [17] 李友邕, 周碧燕, 覃李线, 等. 急性呼吸道感染患儿白细胞计数、内毒素、C 反应蛋白水平变化及临床意义 [J]. *现代生物医学进展*, 2012, 12(18): 3522-3445
- Li You-yong, Zhou Bi-yan, Qin Li-xian, et al. Application and Value Analysis of Detecting WBC Count, ET and CRP Levels for Acute Respiratory Tract Infection Children[J]. *Progress in Modern Biomedicine*, 2012, 12(18): 3522-3445
- [18] Fonseca GJ, Thillainadesen G, Yousef AF, et al. Adenovirus evasion of interferon-mediated innate immunity by direct antagonism of a cellular histone posttranslational modification [J]. *Cell Host Microbe*, 2012, 11: 597-606
- [19] Gregory SM, Nazir SH, Metcalf JP. Implications of the innate immune response to adenovirus and adenoviral vectors [J]. *Future Virol*, 2011, 6: 357-374
- [20] Jiang TJ, Zhang JY, Li WG, et al. Preferential loss of Th17 cells is associated with CD4⁺ T cell activation in patients with 2009 pandemic H1N1 swine-origin influenza A infection [J]. *Clin Immunol*, 2010, 137: 303-310