

# Effect of Muramyl Dipeptide on the Immunifaction of Dendritic Cells Derived from Bone Marrow in Children with Acute Leukemia

Xiaoling Li<sup>1\*</sup>, Zheng Zhu<sup>2\*</sup>, Lirong Sun<sup>3#</sup>

<sup>1</sup>Department of the Third Pediatrics, The Linyi People's Hospital, Linyi Shandong

<sup>2</sup>School of Rehabilitation Science, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai

<sup>3</sup>Department of the Pediatric Hematology, The Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao Shandong  
Email: lixiaoling19821102@126.com, ericazhuf@sohu.com, #sunlr@vip.sina.com

Received: Jun. 29<sup>th</sup>, 2018; accepted: Jul. 26<sup>th</sup>, 2018; published: Aug. 2<sup>nd</sup>, 2018

## Abstract

**Objective:** To investigate the effect of Muramyl Dipeptide (MDP) on the function of dendritic cells (DC) derived from bone marrow in children with acute leukemia. **Methods:** The mononuclear cells were isolated from bone marrow in children with acute leukemia by the method of Ficoll-Hypaque and cultured with cytokines in the control group. The test groups contained five subgroups: used MDP (10<sup>2</sup> ug/l) alone (Group 1), cytokines combined with MDP of different concentration, which was put in 3rd day (Group 2, 10 ug/l; Group 3, 10<sup>2</sup> ug/l; Group 4, 10<sup>3</sup> ug/l; Group 5, 10<sup>4</sup> ug/l). The DCs were collected in the 9th day. The DCs of different groups were mixed with allogeneic peripheral blood T cells for 96 hours, the numbers of T cells in different groups were counted and the contents of interleukin (IL)-12, interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) were tested by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The DCs of different groups and T cells (cultured with rhIL-2 + 10%FCS of RPMI1640 for 6 days) and HL-60 cells were cultured for 12 hours, cytotoxicity assay were measured by LDH release. **Results:** 1) Mixed lymphocyte reaction ① The stimulation index of T cell: When the number of stimulation cells was fixed, the proliferation of allogeneic lymphocytes could be strongly stimulated. There was no difference among the control group, group 1 and group 2; but the group3, group 4 and group 5 were higher than the control group and group 1 ( $p < 0.01$ ). With the increasing of the number of stimulation cells from  $1 \times 10^3$  to  $1 \times 10^4$ , the stimulation index of T cells was rising, and the group3, group 4 and group 5 were significantly higher than the control group and group 1, but there was no difference among the control group, group 1 and group 2. ② The contains of IL-12, IFN- $\gamma$ : When the number of stimulation cells was  $5 \times 10^4$ , there was no difference among the contains of IL-12 of the control group, group 1 and group 2; the group 3, group 4 and group 5 were higher than the control group and group 1 ( $p < 0.01$ ). There was no difference among the contains of IFN- $\gamma$  of the control group, group 1 and group 2; the group 3, group 4 and group 5 were higher than the control group and group 1 ( $p < 0.01$ ). 2) Cytotoxicity

\*并列第一作者。

#通讯作者。

assay showed that killing activity on HL-60 cells of T cells in test groups was higher than that of the control group, and in test groups, with the increasing of the concentration of MDP from  $10^2$  ug/l to  $10^4$  ug/l, the killing activity on HL-60 cells was dramatically enhanced ( $p < 0.01$ ), among which the killing activity of the group 5 was the strongest. Conclusion: ① The proliferation of T cells could be promoted when the number of DCs induced with MDP is  $\geq 1 \times 10^3$ , and its function has MDP concentration dependence. ② The DCs induced with MDP could promote T cells secretion, and has no difference between cytokines, but the combined application effect is more obvious. ③ MDP could induce functional DCs to be generated from bone marrow in children with acute leukemia, and its function has MDP concentration dependence.

## Keywords

Muramyl Dipeptide, Dendritic Cells, Leukemia, Immunifaction, Proliferation

# 胞壁酰二肽对儿童急性白血病骨髓树突状细胞功能的影响

李晓玲<sup>1\*</sup>, 朱政<sup>2\*</sup>, 孙立荣<sup>3#</sup>

<sup>1</sup>临沂市人民医院儿内三科, 山东 临沂

<sup>2</sup>上海中医药大学康复医学院, 上海

<sup>3</sup>青岛大学医学院附属医院小儿血液科, 山东 青岛

Email: lixiaoling19821102@126.com, ericazhuf@sohu.com, #sunlr@vip.sina.com

收稿日期: 2018年6月29日; 录用日期: 2018年7月26日; 发布日期: 2018年8月2日

## 摘要

目的: 探讨胞壁酰二肽(MDP)对儿童急性白血病骨髓树突状细胞(DC)功能的影响。方法: 应用Ficoll-Hypaque法分离急性白血病患者骨髓单个核细胞, 对照组: 用细胞因子诱导培养DC; 实验组实验组分为5个亚组, 1组: 与对照组等量的MNC+ MDP (10 ug/l), 2~5组分别对应为: 与对照组等量的MNC + 与对照组等量的细胞因子 + 不同浓度的MDP ( $10^2$  ug/l,  $10^2$  ug/l,  $10^3$  ug/l,  $10^4$  ug/l); 分别诱导培养DC, 第9天收获各组DC, 与同种异体外周血T淋巴细胞混合反应96 h, 观察淋巴细胞的增殖情况, ELISA方法检测上清液中IL-12、IFN- $\gamma$ 的含量; 经HL-60抗原致敏后的DC与T淋巴细胞混合培养6 d后, 加入HL-60细胞共同孵育12 h, LDH释放改良法检测各组细胞毒T淋巴细胞(CTL)的杀伤活性。结果: 1) 混合淋巴细胞反应显示: ① T细胞扩增指数: 固定刺激细胞数, 不同组比较, 对照组与1组、2组比较均无显著性差异( $p > 0.05$ ); 3组、4组、5组T细胞扩增指数明显高于对照组, 亦明显高于1组( $p < 0.01$ )。当刺激细胞数量为 $1 \times 10^3$ 至 $1 \times 10^4$ , 同组间T细胞扩增指数逐渐增加( $p < 0.01$ ),  $1 \times 10^4$ 与 $5 \times 10^4$ 之间T细胞扩增指数的增加无统计学意义( $p > 0.05$ )。② T细胞分泌细胞因子: 当刺激细胞数为 $5 \times 10^4$ 时, 对照组与1组、2组IL-12含量的比较均无显著性差异( $p > 0.05$ ); 3组、4组、5组明显高于对照组, 亦明显高于1组( $p < 0.01$ )。对照组与1组、2组IFN- $\gamma$ 含量的比较均无显著性差异( $p > 0.05$ ); 3组、4组、5组明显高于对照组, 亦明显高于1组( $p < 0.01$ )。2) 杀伤活性结果显示: 实验各组杀伤HL-60细胞活性均较对照组显著增强( $p < 0.01$ ); 当MDP浓度由 $10^2$  ug/l递增至 $10^4$  ug/l, 2组、3组、4组、5组组间比较, 杀伤活性逐渐增加( $p < 0.01$ ), 以5组杀伤HL-60细胞活性最强。结论: ① 当MDP诱导后的DC数量  $\geq 1 \times 10^3$ 时, 即能促进T细胞的增殖, 且有MDP浓度依赖性。② 经MDP诱导后的DC具有促进T

细胞分泌的作用，与细胞因子联合作用更强。③ MDP能从儿童急性白血病骨髓中诱导出有较强的抗原刺激能力的DC，且有MDP浓度依赖性。

## 关键词

胞壁酰二肽，树突状细胞，白血病，免疫功能，增殖

Copyright © 2018 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

免疫细胞治疗是继化疗、骨髓移植(bone marrow transplantation, BMT)后治疗白血病的一种新方法，在治疗白血病及清除微小残留病(minimal residual disease, MRD)中被寄予很大希望。树突状细胞(dendritic cell, DC)是目前所知抗原提呈能力最强的抗原提呈细胞(antigen presenting cells, APC)，在肿瘤细胞和 T 淋巴细胞的相互作用中起桥梁和枢纽作用。大量的动物实验证明，DC 可以诱导机体特异性免疫反应的发生，使机体得以抵御肿瘤的入侵或消灭机体现存的肿瘤[1] [2]。胞壁酰二肽(N-乙酰胞壁酰-L-Ala-D-isoGln，即壁氨酰-L-丙氨酰-D-谷氨酰胺，Muramyl Di-peptide，简称 MDP)是具有免疫增强活性的分枝杆菌细胞壁的最小有效成分[3]，对肿瘤及病原微生物具有免疫刺激及免疫治疗作用。本文就 MDP 在体外对儿童急性白血病骨髓来源 DC 的扩增和相关免疫功能进行研究。

## 2. 材料和方法

### 2.1. 材料

#### 2.1.1. 骨髓来源

急性淋巴细胞性白血病患者诊断和疗效均按血液病诊断及疗效标准，其中诊断标准：临床出现典型的症状体征(贫血、出血、感染、脏器浸润症状)，外周血有/无幼稚细胞，骨髓原始加幼稚淋巴细胞  $\geq 30\%$ ；完全缓解的标准：1) 临床无贫血、出血、感染及白血病细胞浸润表现；2) 血象：血红蛋白  $> 90 \text{ g/L}$ ，白细胞正常或减低，分类无幼稚细胞，血小板  $> 100 \times 10^9/\text{L}$ ；3) 骨髓象：原始加幼稚淋巴细胞  $< 5\%$ ，红细胞系统及巨核细胞系统正常。所有患儿均顺利完成化疗并完全缓解达 6 个月以上，无复发及其它并发症。住院当日无菌采集骨髓 5 ml，肝素抗凝(20 U/ml)。

#### 2.1.2. 细胞来源

HL-60 细胞株购自中国科学院上海生命科学研究院。

#### 2.1.3. 主要试剂

胞壁酰二肽(Sigma 公司)；重组人粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, rhGM-CSF)、重组人肿瘤坏死因子- $\alpha$  (recombinant human tumor necrosis factor- $\alpha$ , rhTNF- $\alpha$ )、重组人白细胞介素(Recombinant human interleukin, rhIL)-2, 4 (Peprotech Asia 公司)；人白介素-12 定量酶联检测试剂盒(IL-12)、人干扰素- $\gamma$  定量酶联检测试剂盒(IFN- $\gamma$ ) (Jingmei Biotech 公司)。

## 2.2. 方法

### 2.2.1. HL-60 细胞株的培养及其全细胞抗原的制备

以含 10% FCS 的 IMDM 培养液于 37℃、5% CO<sub>2</sub>、饱和湿度培养箱中孵育，每 2~3 天半量换液，传代培养 HL-60 细胞。收集对数生长期 HL-60 细胞，PBS 洗涤(约 1.0 × 10<sup>6</sup> cells/ml)，放入液氮中速冻，后迅速放入 37℃ 水浴中慢融，反复 4 次，所得细胞裂解液离心后，上清液稀释至 1 ml，0.22 μm 微孔滤膜过滤，-20℃ 保存备用。

### 2.2.2. 骨髓单个核细胞(Mononuclear Cells, MNC)的分离

无菌采集抗凝骨髓 5 ml，Ficoll-paque 法分离 MNC，调整细胞浓度为 1 × 10<sup>6</sup>/ml，接种于 24 孔培养板，于 37℃，5% CO<sub>2</sub> 孵箱中贴壁 3~4 h。

### 2.2.3. 骨髓血树突状细胞(DC)的诱导

将上述细胞分组：对照组：MNC + rhGM-CSF (100 ng/ml) + IL-4 (100 ng/ml) + rhTNF-α (20 ng/ml)；实验组分为 5 个亚组，1 组：与对照组等量的 MNC + MDP (10 μg/l)，2~5 组分别对应为：与对照组等量的 MNC+与对照组等量的细胞因子+不同浓度的 MDP (10<sup>2</sup> μg/l, 10<sup>3</sup> μg/l, 10<sup>4</sup> μg/l)；各组细胞均在 37℃，5% CO<sub>2</sub> 孵箱中培养，隔天半量换液及全量补充细胞因子与 MDP。

培养过程中，倒置显微镜下每日观察细胞生长情况及形态变化。培养第 9 天，收取各组细胞进行实验。

### 2.2.4. 混合淋巴细胞反应(Mixed Lymphocyte Reaction, MLR)

无菌采集抗凝外周血 5 ml，Ficoll-paque 法分离获得 MNC，37℃、5% CO<sub>2</sub> 孵箱中贴壁 3~4 h 后收取悬浮细胞，调整细胞浓度为 1 × 10<sup>6</sup>/ml，加入 rhIL-2 (20 ng/ml)，37℃，5% CO<sub>2</sub> 孵箱中培养，隔天半量换液及全量补充细胞因子，第 7 天收获全部悬浮细胞，作为效应细胞。取培养第 9 天的对照组及实验组的 DC 作为刺激细胞。

#### 1) 淋巴细胞增殖能力测定

刺激细胞分别以空白/孔、1 × 10<sup>3</sup>/孔、5 × 10<sup>3</sup>/孔、1 × 10<sup>4</sup>/孔、5 × 10<sup>4</sup>/孔接种于 96 孔培养板，分别加入 1 × 10<sup>5</sup> 效应细胞，于 37℃、5% CO<sub>2</sub> 孵箱中进行混合淋巴细胞培养 96 h 后，加入 MTT (20 μl/孔)，继续孵育 4 h，400×g，10 min 终止培养，吸走上清，加入 DMSO (150 μl/孔)，酶标仪上于波长 490 nm 处检测 A490 值。

$$\text{刺激指数(SI)} = \frac{\text{加刺激细胞孔A490值}}{\text{不加刺激细胞孔A490值}}$$

#### 2) 细胞因子 IL-12 和 IFN-γ 的测定

MLR 96 h 后，在刺激细胞为 5 × 10<sup>4</sup>/孔条件下，ELISA 法测定上清中 IL-12 和 IFN-γ 含量。

### 2.2.5. 抗白血病细胞(HL-60)细胞毒效应

#### 1) DC 致敏

同上述骨髓 MNC 的分离和 DC 的培养方法一致，但分别于第 4 天、第 7 天的 DC 培养体系中两次加入 HL-60 全细胞抗原肽(DC:HL-60 = 10:1)，致敏 DC。将 10<sup>6</sup>/ml 淋巴细胞与 10<sup>5</sup>/ml 致敏后 DCHL-60 细胞混合培养于 96 孔板中，加入 rhIL-2 (20 ng/ml) 共培养 6 d，获得细胞毒 T 淋巴细胞(cytotoxic T lymphocyte, CTL)，作为效应细胞。调整 HL-60 细胞浓度为 1.0 × 10<sup>5</sup>/ml 作为靶细胞(效:靶 = 10:1)，37℃、5% CO<sub>2</sub> 孵箱中 12 h 后，离心收集上清液，采用 LDH 释放试剂盒检测 LDH 含量，酶标仪上于波长 490 nm 处测定吸光度(A)。

杀伤活性 = (实验组 A - 靶细胞自然释放组 A - 效应细胞自然释放组 A)/(靶细胞最大释放组 A - 靶

细胞自然释放组 A) × 100% [4] [5]

### 2.2.6. 统计学处理

数据用均数 ± 标准差( $\bar{x} \pm S$ )表示, 随机区组设计资料采用方差分析, 均数间的相互比较采用 t 检验。

## 3. 结果

### 3.1. 对 T 细胞扩增的影响

当刺激细胞数一定时, 不同组比较, 对照组与 1 组、2 组比较均无显著性差异( $p$  均  $> 0.05$ ); 3 组、4 组、5 组 T 细胞扩增指数明显高于对照组, 亦明显高于 1 组( $p$  均  $< 0.01$ )。当刺激细胞数量为  $1 \times 10^3$  至  $1 \times 10^4$ , 同组间 T 细胞扩增指数逐渐增加( $p$  均  $< 0.01$ ),  $1 \times 10^4$  与  $5 \times 10^4$  之间 T 细胞扩增指数的增加无统计学意义( $p > 0.05$ )。见表 1。

### 3.2. 对 T 细胞分泌细胞因子的影响

当刺激细胞数为  $5 \times 10^4$  时, 对照组与 1 组 IL-12 含量分别为( $69.78 \pm 7.40$ ) pg/ml, ( $67.94 \pm 9.69$ ) pg/ml, 两组间比较无显著性差异( $t = 0.43, p > 0.05$ ); 2 组为( $78.18 \pm 10.72$ ) pg/ml, 与对照组及 1 组比较均无显著性差异( $t = 1.82, 2.00, p > 0.05$ ); 3 组、4 组、5 组明显高于对照组( $t = 8.31, 10.63, 12.16, p$  均  $< 0.01$ ), 亦明显高于 1 组( $t = 8.25, 10.61, 11.90, p$  均  $< 0.01$ )。

对照组与 1 组 IFN- $\gamma$  含量分别为( $75.93 \pm 9.25$ ) pg/ml, ( $73.17 \pm 8.13$ ) pg/ml, 两组间比较无显著性差异( $t = 0.63, p > 0.05$ ); 2 组为( $81.92 \pm 10.01$ ) pg/ml, 与对照组及 1 组比较均无显著性差异( $t = 1.24, 1.92, p > 0.05$ ); 3 组、4 组、5 组明显高于对照组( $t = 9.21, 12.62, 15.38, p$  均  $< 0.01$ ), 亦明显高于 1 组( $t = 9.59, 12.77, 15.66, p$  均  $< 0.01$ )。见图 1。

### 3.3. DC 诱导的特异性抗白血病细胞毒效应

各组杀伤活性: 对照组( $47.54 \pm 3.62$ )%; 1 组( $58.43 \pm 2.91$ )%; 2 组( $73.58 \pm 3.88$ )%; 3 组( $82.12 \pm 3.21$ )%; 4 组( $90.53 \pm 3.85$ )%; 5 组( $98.90 \pm 3.72$ )%。实验各组杀伤 HL-60 细胞活性均较对照组显著增强( $t = 5.24, 10.97, 15.98, 18.19, 22.69, p$  均  $< 0.01$ ); 当 MDP 浓度由  $10^2$  ug/l 递增至  $10^4$  ug/l, 2 组、3 组、4 组、5 组组间比较, 杀伤活性逐渐增加(2 组与其余组比较:  $t = 3.79, 7.34, 10.32$ ; 3 组与 4、5 组比较:  $t = 3.75, 7.38$ ; 4 与 5 组比较:  $t = 3.50, p$  均  $< 0.01$ ), 以 5 组杀伤 HL-60 细胞活性最强。见图 2。

**Table 1.** Comparison of the stimulation index of T cell in different groups ( $\bar{x} \pm S$ )

**表 1.** 不同组间 T 细胞扩增指数比较

Group	Stimulating cells ( $\times 10^3$ /well)			
	1 (A)	5 (B)	10 (C)	50 (D)
Control	$1.86 \pm 0.11$	$2.31 \pm 0.23$	$2.72 \pm 0.28^{\Delta}$	$2.92 \pm 0.30$
Group 1	$1.82 \pm 0.13^{\bullet}$	$2.29 \pm 0.21^{\bullet}$	$2.69 \pm 0.23^{\bullet}$	$2.87 \pm 0.27^{\bullet}$
Group 2	$1.91 \pm 0.18^{\bullet}$	$2.44 \pm 0.19^{\bullet}$	$2.75 \pm 0.20^{\bullet}$	$2.97 \pm 0.25^{\bullet}$
Group 3	$2.62 \pm 0.27^{\bullet}$	$2.91 \pm 0.22^{\bullet}$	$3.34 \pm 0.24^{\bullet}$	$3.58 \pm 0.28^{\bullet}$
Group 4	$2.77 \pm 0.23^{\bullet}$	$3.15 \pm 0.24^{\bullet}$	$3.54 \pm 0.27^{\bullet}$	$3.77 \pm 0.31^{\bullet}$
Group 5	$2.91 \pm 0.19^{\bullet}$	$3.49 \pm 0.27^{\bullet}$	$3.93 \pm 0.25^{\bullet\Delta}$	$4.18 \pm 0.29^{\bullet\Delta}$

F1 = 40.50, F2 = 32.36,  $p < 0.01$ ;  $^{\Delta}P < 0.01$ , compared among group C, B and A,  $t = 8.96, 9.94, 12.23$ ;  $^{\nabla}P > 0.05$ , compared group D with C,  $t = 0.16$ ;  $^{\bullet}P > 0.05$ , compared with the control group,  $t = 0.67, 0.28, 0.27, 0.36$ ; compared with the group 1,  $t = 1.15, 0.50, 0.56, 0.77$ ;  $^{\circ}P > 0.05$ , compared with the control group,  $t = 0.66, 0.18, 0.23, 0.35$ ;  $^{\blacklozenge}P < 0.01$ , compared with the control group,  $t_A = 7.37, 10.10, 13.53, t_B = 4.44, 6.30, 8.54, t_C = 4.77, 5.96, 9.12, t_D = 4.55, 5.57, 8.54$ ; compared with the group 1,  $t_A = 8.49, 10.24, 13.39, t_B = 4.84, 6.74, 8.13, t_C = 5.53, 6.78, 10.32, t_D = 5.16, 6.19, 9.35$ .

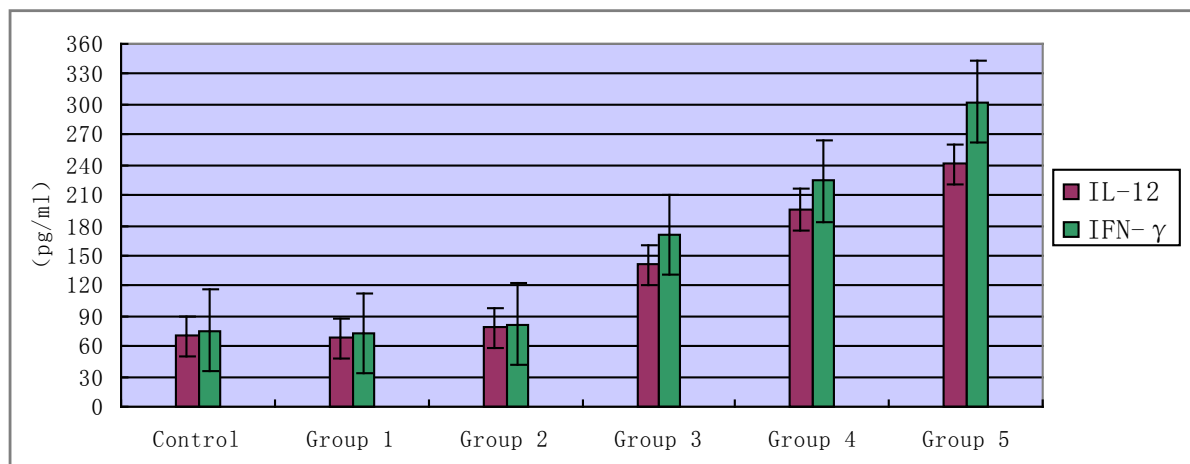


Figure 1. The contents of IL-12、IFN- $\gamma$  by ELISA (pg/ml)

图 1. T 细胞分泌细胞因子(IL-12、IFN- $\gamma$ )含量

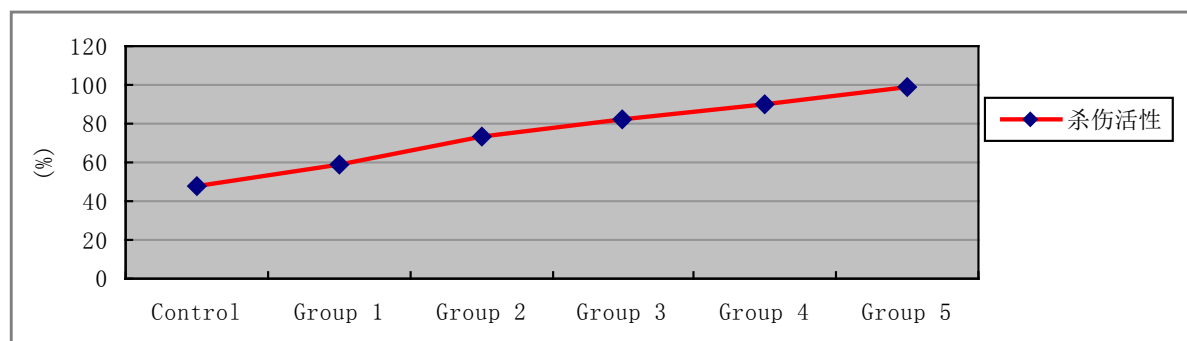


Figure 2. Cytotoxicity assay by LDH release

图 2. LDH 法检测细胞杀伤活性

#### 4. 讨论

MRD 是白血病容易复发的主要根源,是治愈白血病的主要障碍。通过相关的技术方法增强白血病细胞的免疫原性,进而诱导机体产生肿瘤特异性的细胞免疫应答消除肿瘤细胞,可望达到治愈白血病的目的。

CD8<sup>+</sup> CTL 是有效的抗肿瘤细胞免疫的核心。但是由于肿瘤细胞抗原表达较弱、共刺激因子缺乏等原因,宿主 T 细胞不能有效地识别和杀伤肿瘤细胞。因而如何更好地激发机体抗肿瘤免疫成为研究的热点。

DC 是免疫系统中最强的 APCs,表面 HLA 和共刺激因子的表达增强,可释放 T 细胞刺激因子(主要是 IL-12),T 细胞增殖且特异性针对 DC 递呈的抗原发挥作用。在混合淋巴细胞反应中,DC 不仅能原位致敏 CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞,而且在体外可有效地诱导同种异体 CD8<sup>+</sup>T 淋巴细胞增殖,是 DC 用于临床治疗恶性肿瘤的基础[6] [7] [8]。

MDP 是人工合成的分枝杆菌细胞壁中具有佐剂活性作用的最小结构单位,可有效提高 IL-1、IL-6 和 GSF 等多种细胞因子的分泌水平,对一部分肿瘤已显示出明确的免疫治疗作用[9]。目前,极多数学者研究卡介苗激活 DCs 为主的 APCs 对肿瘤抗原的递呈能力增强进而激活 CTLs 针对肿瘤细胞的特异性免疫反应,以及可诱导肿瘤细胞和局部免疫细胞产生 IL-1、IL-6、IL-8、IL-2、IL-12、INF- $\gamma$  等细胞因子,发挥直接抗肿瘤作用、免疫细胞网络调节效应和放大免疫细胞抗肿瘤活性[10]。推测 MDP 也可能具有诱导

扩增 DC, 促进 T 细胞的增殖、分泌及杀瘤的功能。

本研究组既往实验证实: 从儿童急性白血病骨髓中分离出 MNC, 分别采用 GM-CSF+IL-4+TNF- $\alpha$ 、MDP 及 GM-CSF + IL-4 + TNF- $\alpha$  + MDP 诱导, 均得到一定数量的典型 DCs [11]。本文中 MDP 诱导后的 DC, 在  $1 \times 10^3$  即能促进 T 细胞的增殖和分泌 IL-12、IFN- $\gamma$ , 且随着 MDP 浓度由  $10^2$  ug/l 递增至  $10^4$  ug/l, 作用进一步增强; 并且 CTL 细胞的杀瘤活性亦随着 MDP 浓度的增加逐步增强。生理情况下 IL-12 主要来源于 DC, 除有明显的抗肿瘤作用外, 尚能促进 T 淋巴细胞增殖, 诱导产生 IFN- $\gamma$ 。IFN- $\gamma$  促进 DC 迅速增殖, 并分化为成熟的效应性 CTL, 发挥免疫抗肿瘤作用[12]。以上作用在细胞因子联合 MDP 应用后效果更为明显。说明当 MDP 诱导后的 DC 数量  $\geq 1 \times 10^3$  时, 即能促进 T 细胞的增殖, 且有 MDP 浓度依赖性。而且, 经 MDP 诱导后的 DC 具有促进 T 细胞分泌的作用, 与细胞因子联合作用更强。另外, MDP 能从儿童急性白血病骨髓中诱导出有较强的抗原刺激能力的 DC, 亦具有 MDP 浓度依赖性。由于 MDP 具有免疫增强活性和高效低毒特点, 对肿瘤进行免疫治疗, 将可能具有较大的临床潜在应用价值。

## 参考文献

- [1] Fields, R.C., Shimizu, K., Mule, J.J., *et al.* (1998) Murine Dendritic Cells Pulsed with Whole Tumor Lysates Mediate Potent Anti-Tumor Immune Responses *in Vitro* and *in Vivo*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **95**, 9482-9487. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.16.9482>
- [2] Saha, A., Chatterjee, S.K., Foon, K.A., *et al.* (2003) Murine Dendritic Cells Pulsed with an Anti-Idiotypic Antibody Induce Antigen-Specific Protective Antitumor Immunity. *Cancer Research*, **63**, 2844-2854.
- [3] Uehori, J., Fukase, K., Akazawa, T., *et al.* (2005) Dendritic Cell Maturation Induced by Muramyl Dipeptide (MDP) Derivatives: Monoacylated MDP Confers TLR2/TLR4 Activation. *The Journal of Immunology*, **174**, 7096-7103. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.174.11.7096>
- [4] Weidmann, E., Brieger, J., Jahn, B., *et al.* (1995) Lactate Dehydrogenase Release Assay: A Reliable Nonradioactive Technique for Analysis of Cytotoxic Lymphocyte-Mediate Lytic Activity against Blasts from Acute Myelocytic Leukemia. *Annals of Hematology*, **70**, 153-158. <https://doi.org/10.1007/BF01682036>
- [5] Pirious, L., Chilmonczyk, S., Genetet, N., *et al.* (2000) Design of a Flow Cytometric Assay for the Determination of Natural Killer and Cytotoxic T-Lymphocyte Activity in Human and in Different Animal Species. *Cytometry*, **41**, 289-297. [https://doi.org/10.1002/1097-0320\(20001201\)41:4<289::AID-CYTO7>3.0.CO;2-5](https://doi.org/10.1002/1097-0320(20001201)41:4<289::AID-CYTO7>3.0.CO;2-5)
- [6] Banchereau, J., Briere, F., Caux, C., *et al.* (2000) Immunobiology of Dendritic Cells. *Annual Review of Immunology*, **18**, 767-811. <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.18.1.767>
- [7] Nagaraj, S., Ziske, C. and Schmidt-Wolf, I.G. (2004) Human Cytokine-Induced Killer Cells Have Enhanced *in Vitro* Cytolytic Activity via Non-Viral Interleukin-2 Gene Transfer. *Genetic Vaccines and Therapy*, **2**, 12. <https://doi.org/10.1186/1479-0556-2-12>
- [8] Vulink, A., Radford, K.J., Melief, C., *et al.* (2008) Dendritic Cells in Cancer Immunotherapy. *Advances in Cancer Research*, **99**, 363-407. [https://doi.org/10.1016/S0065-230X\(07\)99006-5](https://doi.org/10.1016/S0065-230X(07)99006-5)
- [9] Muhlrath, P.F. and Frisch, M. (2004) Purification and Partial Characterization of a Mycoplasma Fermentans-Derived Substance That Activates Macrophages to Release Nitric Oxide, Tumor Necrosis Factor, and Interleukin-6. *Infection and Immunity*, **62**, 3801-3808.
- [10] Cheadle, E.J., Selby, P.J. and Jackson, A.M. (2003) *Mycobacterium bovis* Bacillus Calmete-Guerin-Infected Dendritic Cells Potently Activate Autologous T Cells via a B7 and Interleukin-12-Dependent Mechanism. *Immunology*, **108**, 79-88. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2567.2003.01543.x>
- [11] 李晓玲, 孙立荣. 胞壁酰二肽对儿童急性白血病骨髓树突状细胞体外扩增的影响[J]. 中国实验血液学杂志, 2010, 18(4): 963-966.
- [12] 曲春枫, 顾培娣, 鞠吉雨, 等. IL-12 基因转染的人树突状细胞加强细胞免疫反应的体外研究[J]. 中国免疫学杂志, 2000(12): 638-640, 647.

**知网检索的两种方式：**

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>  
下拉列表框选择：[ISSN]，输入期刊 ISSN：2161-8712，即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>  
左侧“国际文献总库”进入，输入文章标题，即可查询

投稿请点击：<http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱：[acm@hanspub.org](mailto:acm@hanspub.org)