



doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2015.03.010
http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.1005-6947.2015.03.010
Chinese Journal of General Surgery, 2015, 24(3):357-362.

· 基础研究 ·

K-ras 突变多肽负载的 DC 细胞增强 CIK 细胞对胰腺癌细胞的杀伤作用

窦春鹏¹, 李奎武¹, 谭广²

(1. 辽宁省阜新市中心医院 普外一科, 辽宁 阜新 123000; 2. 大连医科大学附属第一医院 普外二科, 辽宁 大连 116011)

摘要

目的: 观察经 K-ras (12-Val) 突变多肽负载的树突状细胞 (DC) 与细胞因子诱导的杀伤细胞 (CIK) 共培养以后对胰腺癌 PANC-1 细胞的杀伤作用。

方法: 取健康人外周血体外诱导分别扩增出 DC 和 CIK; 用 K-ras 突变体抗原表位肽负载 DC (K-ras-DC), 将单纯 DC 或 K-ras-DC 与 CIK 共培养, 获得 DC-CIK 或 K-ras-DC-CIK。比较 CIK 与 K-ras-DC-CIK 的增殖活性; 分别分析 DC 与 K-ras-DC 以及 CIK 与 K-ras-DC-CIK 的免疫表型差异; 检测 CIK、DC-CIK、K-ras-DC-CIK 上清液中 IFN- γ 、IL-12 的水平; 检测 K-ras-DC-CIK、DC-CIK、CIK 对 PANC-1 细胞的体外杀伤力。

结果: K-ras-DC-CIK 的增殖能力明显强于单纯 CIK ($P < 0.05$); K-ras-DC 的成熟表面分子 CD1a、CD80、CD83、HLA-DR 的表达明显高于单纯 DC, 而 K-ras-DC-CIK 细胞群的 CD3⁺CD8⁺、CD3⁺CD56⁺ 表达率明显高于单纯 CIK 细胞群 (均 $P < 0.05$); 上清液中 IFN- γ 、IL-12 的水平以及对 PANC-1 细胞的杀伤力由高到低均依次为 K-ras-DC-CIK、DC-CIK、单纯 CIK (均 $P < 0.05$)。

结论: K-ras 突变多肽负载后能促进 DC 的成熟, 负载 K-ras 突变多肽后的 DC 能增加 CIK 的增殖及对胰腺癌细胞的杀伤作用。

关键词

胰腺肿瘤; 树突细胞; 杀伤细胞, 淋巴因子激活
中图分类号: R735.9

Killing effect of CIKs on pancreatic cancer cells enhanced by DCs loaded with K-ras mutant peptide

DOU Chunpeng¹, LI Kuiwu¹, TAN Guang²

(1. The First Department of General Surgery, Fuxin Center Hospital, Fuxin, Liaoning 123000, China; 2. The Second Department of General Surgery, First Affiliated Hospital, Dalian Medical University, Dalian 116011, China)

Abstract

Objective: To observe the killing effect of the cytokine induced killer cells (CIKs) after co-culture with dendritic cells (DCs) harboring K-ras (12-Val) mutant peptide on pancreatic cancer PANC-1 cells.

Methods: DCs and CIKs were induced and enriched from peripheral blood of healthy donors, respectively. DCs were loaded with the K-ras mutant epitope peptide (K-ras-DCs), and CIKs were co-cultured with un-loaded DCs

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81071173)。

收稿日期: 2015-01-18; 修订日期: 2015-02-23。

作者简介: 窦春鹏, 辽宁省阜新市中心医院主治医师, 主要从事普外科基础与临床方面的研究。

通信作者: 谭广, Email: tanguang009@sina.com

or *K-ras*-DCs to obtain the DC-CIKs and *K-ras*-DC-CIKs, respectively. The proliferative activities between CIKs and *K-ras*-DC-CIKs were compared, the difference in immunophenotype between DCs and *K-ras*-DCs as well as between CIKs and *K-ras*-DC-CIKs were analyzed, the IFN- γ and IL-12 levels in the culture supernatants from CIKs, DC-CIKs and *K-ras*-DC-CIKs were measured, and the killing abilities of CIKs, DC-CIKs and *K-ras*-DC-CIKs on PANC-1 cells in vitro were determined.

Results: The proliferative ability of *K-ras*-DC-CIKs was significantly greater than that of the untreated CIKs ($P < 0.05$); the expressions of the mature surface proteins that included CD1a, CD80, CD83 and HLA-DR in *K-ras*-DCs were significantly higher than those in un-loaded DCs, while the expression rates of CD3⁺CD56⁺ and CD3⁺CD8⁺ in *K-ras*-DC-CIK cell population were significantly higher than those in pure CIK population (all $P < 0.05$); the levels of IFN- γ and IL-12 in the cell culture supernatant, and the killing ability on PANC-1 cells from high to low order were *K-ras*-DC-CIKs, DC-CIKs, and pure CIKs (all $P < 0.05$).

Conclusion: *K-ras* mutant peptide can promote DCs maturation, and DCs harboring *K-ras* mutant peptide can increase the proliferation of CIKs and killing effect on pancreatic cancer cells.

Key words Pancreatic Neoplasms; Dendritic Cells; Killer Cells, Lymphokine-Activated

CLC number: R735.9

树突状细胞 (DC) 是目前发现的体内功能最强的专职抗原提呈细胞, 在肿瘤细胞和T淋巴细胞的相互作用中起到桥梁和枢纽作用^[1-2]。细胞因子IFN- γ 、IL-2和CD3单抗等诱导的杀伤细胞 (CIK) 是一种非MHC限制性的细胞毒性T淋巴细胞。CIK用于杀伤肿瘤被认为是肿瘤过继免疫治疗的首选方案^[3]。与DC共同培养的CIK有望进一步提高抗肿瘤免疫治疗的范围和效果。

1 材料与方 法

1.1 材 料

人重组IL-2、GM-CSF购于Santa Cruz公司; 人重组IL-4、TNF- α 、IFN- γ 购于Peprotech公司; 胎牛血清、RPMI1640细胞培养基购自Sigma公司; 淋巴细胞分离液Ficoll、人AB型血清购自天津TBD公司; 鼠抗人CD3 (FITC标记)、CD56和CD8 (PE标记) 单克隆抗体、CD3单抗购自Ebioscience公司; 鼠抗人CD80-PE、CD83-PE、CD86-PE、CD40-FITC、CD1a-FITC单克隆抗体均为法国Immunotech公司产品; ELISA试剂盒购于ADL公司; 胰腺癌PANC-1细胞购自南京凯基生物科技发展有限公司; *K-ras*突变体表位肽KLVVVGAVGVGKSALTC由赛百盛基因技术公司合成。

1.2 实 验 方 法

1.2.1 DC 的 制 备

无菌抽取健康志愿者外周血

50 mL, 常规淋巴细胞分离液分离获得单个核细胞, 用RPMI1640洗涤2次, 将细胞放入含有体积分数10%的人AB型血清RPMI1640中稀释到 2×10^6 /mL。将细胞转移至培养瓶中, 培养2 h。收集非贴壁细胞作为CIK的前体细胞。贴壁细胞中加入DC培养液 (含0.2 mg/L的GM-CSF、1 000 U/mL的rhIL-4和RPMI1640培养基) 培养, 隔日半量换液培养7 d。在第7天加入*K-ras*突变体抗原表位肽, 24 h后加入TNF- α (10 ng/mL), 继续诱导2 d, 获得*K-ras*负载的DC细胞 (*K-ras*-DC)。

1.2.2 CIK 细胞的诱导和扩增

收集的非贴壁细胞用RPMI1640培养基调整细胞密度为 1×10^6 /mL。添加IFN- γ 1 000 U/mL, 37 $^{\circ}$ C 5% CO₂条件下培养24 h, 加入CD3单抗 (50 ng/mL) 和rhIL-2 (1 000 U)。每3天半量换液, 同时补足CD3单抗和rhIL-2。

1.2.3 *K-ras* 负载的 DC-CIK 细胞 (*K-ras*-DC-CIK) 的培养和增殖活性检测

将诱导培养至第9天的*K-ras*-DC与CIK按1:5混合后, 以CIK细胞培养液继续分别培养CIK及*K-ras*-DC-CIK。于第1、3、6、9、12、15 d, 用台盼蓝拒染法计数, 动态观察CIK、*K-ras*-DC-CIK细胞的增殖倍数。

1.2.4 DC、DC-CIK 细胞形态观察与细胞表型分析

用倒置显微镜、透射电镜和扫描电镜观察其形态学变化。收集培养至第7天的DC和第9天经*K-ras*-DC, 流式细胞仪测其表型CD1a、CD80、CD83、CD86、HLA-DR。收集共同培养至14 d

的 CIK 和 DC-CIK, 流式细胞仪测定其表型 CD3、CD3⁺CD56⁺、CD3⁺CD8⁺。

1.2.5 细胞因子的检测 收集培养 14 d 细胞的上清液进行 IL-12、IFN- γ 水平的测定。采用 ELISA 双抗体夹心法, 操作按试剂盒说明。

1.2.6 DC-CIK, CIK 细胞对胰腺癌细胞株 PANC-1 的杀伤作用 取培养至 14 d 的 K-ras-DC-CIK、未经 K-ras 负载 DC-CIK、单纯的 CIK 细胞作为效应细胞, 胰腺癌 PANC-1 细胞作为靶细胞。实验组以 2.5:1、5:1、10:1、20:1 的效靶比分别把效应细胞和靶细胞接种于 96 孔板中, 另设阴性对照组, 待细胞贴壁后, 弃上清, 加入含 10% 糖尿病患者血清的培养液 DMEM, 每孔共 200 μ L 液体, 37 $^{\circ}$ C、5%CO₂ 饱和湿度下培养 68 h, 加入 20 μ L MTT 溶液 (5 g/L), 继续孵育 4 h, 弃上清, 每孔加入 150 μ L 二甲基亚砷溶液, 振荡 10 min, 波长 540 nm 处测 A 值。杀伤率 (%) = [1 - (实验组 OD 值 / 对照组 OD 值)] \times 100%

1.3 统计学处理

使用 SPSS 16.0 统计软件分析, 计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 应用方差分析。

2 结果

2.1 细胞形态学观察

2.1.1 K-ras-DC 的细胞形态观察 外周血诱导培养至第 5 天时的 DC, 可见细胞形态不规则, 细胞体积增大, 出现毛刺状突起的细胞增多。培养至第 7 天时细胞处于半贴壁状态, 体积变得更大, 大部分细胞毛刺状突起明显, 典型细胞具有树枝状突起。K-ras (12-Val) 突变多肽负载后扫描电镜下 DC 胞体较大, 表面有大量的树枝状突起 (图 1A); 透射电镜下的树突状细胞形态不规则, 细胞表面有数个大而长的树枝状突起, 还有一些短小的突起。细胞核可见, 细胞器丰富, 可见较多的线粒体、粗面内质网溶酶体较少见 (图 1B)。

2.1.2 CIK 和 K-ras-DC-CIK 的细胞形态观察 镜下 CIK 细胞呈团簇样生长, 培养 3 d 后, 细胞团逐渐增大增多, 至第 7 天时, 细胞团占显微镜视野的 90% 以上, 细胞呈圆形, 形态规则。DC 与 CIK 共同培养 14 d 后, 扫描电镜下可见细胞聚合在一起形成多个细胞团和少量的悬浮细胞, 细胞团表面有大量的树枝状突起 (图 1C)。

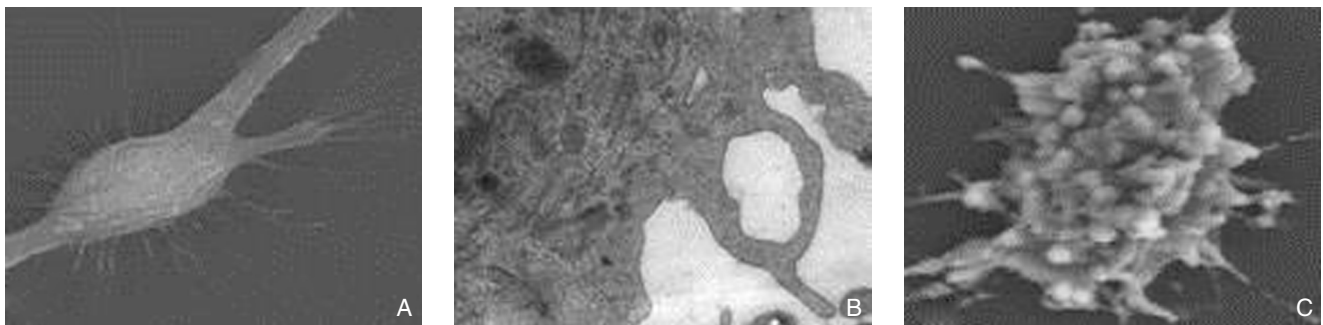


图 1 透射电镜观察细胞形态 A: K-ras-DC 大量的树枝状突起 ($\times 5000$); B: K-ras-DC 的胞核及丰富的细胞器 ($\times 10000$); C: DC-CIK 细胞团及其表面大量的树枝状突起 ($\times 2000$)

Figure 1 Electron microscopy observation of cellular morphology A: A large amount of dendrites in K-ras-DCs ($\times 5000$); B: Nuclear and abundant organelles in K-ras-DCs ($\times 10000$); C: Cell mass of DC-CIKs and plentiful dendrites on their surfaces ($\times 2000$)

2.2 CIK 与 K-ras-DC-CIK 的增殖活性检测

CIK 细胞从第 3 天开始增殖, 第 6 天细胞增殖速度及数量明显增加, 达到初始培养的 2 倍。培养第 9 天时将 CIK 细胞与 K-ras-DC 共同培养, DC 进一步增强 CIK 的增殖能力。培养 15 d 时, K-ras-DC-CIK 的扩增倍数为 21.2 ± 3.1 , 是单纯 CIK 扩增倍数 (16.1 ± 2.7) 的 1.31 倍 ($P < 0.05$) (图 2)。

2.3 细胞表型检测结果

K-ras-DC 的成熟表面分子 CD1a、CD80、

CD83、HLA-DR 表达水平明显高于未负载 DC ($P < 0.05$), 但两组细胞 CD86 的表达水平差异无统计学意义 ($P > 0.05$) (表 1)。经过共同培养后的 K-ras-DC-CIK 细胞群高表达 CD3⁺CD8⁺、CD3⁺CD56⁺, 平均表达率为 (68.65 ± 3.32)% 和 (49.43 ± 4.34)%, 明显高于单纯 CIK 细胞群的 (56.38 ± 4.87)% 和 (34.18 ± 2.63)%。两者比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$) (表 2)。

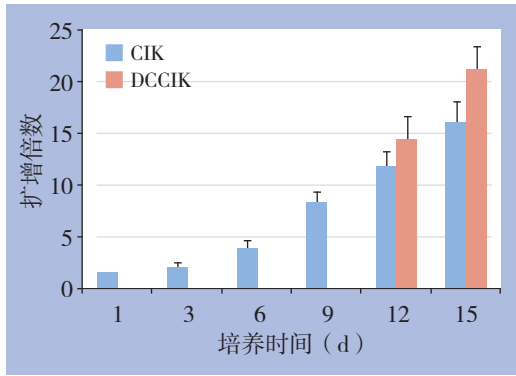


图 2 CIK 与 K-ras-DC-CIK 增殖活性比较

Figure 2 Comparison of the proliferative abilities between CIKs and K-ras-DC-CIKs

表 1 DC 与 K-ras-DC 细胞表型比较 ($\bar{x} \pm s, \%$)

Table 1 Comparison of the immunophenotype between DCs and K-ras-DCs ($\bar{x} \pm s, \%$)

细胞	CD1a	CD80	CD83	CD86	HLA-DR
DC	22.6 ± 3.6	49.4 ± 3.2	38.5 ± 4.6	72.6 ± 5.6	66.5 ± 4.6
K-ras-DC	35.1 ± 4.3 ¹⁾	62.2 ± 5.8 ¹⁾	51.1 ± 4.9 ¹⁾	74.4 ± 5.2	82.4 ± 4.4 ¹⁾

注: 1) 与 DC 比较, $P < 0.05$

Note: 1) $P < 0.05$ vs. DCs

表 2 CIK 与 K-ras-DC-CIK 细胞表型比较 ($\bar{x} \pm s, \%$)

Table 2 Comparison of the immunophenotype between CIKs and K-ras-DC-CIKs ($\bar{x} \pm s, \%$)

细胞	CD3	CD3 ⁺ CD56 ⁺	CD3 ⁺ CD8 ⁺
CIK	76.34 ± 4.54	34.18 ± 2.63	56.38 ± 4.87
K-ras-DC-CIK	87.53 ± 6.02	49.43 ± 4.34 ¹⁾	68.65 ± 3.32 ¹⁾

注: 1) 与 CIK 比较, $P < 0.05$

Note: 1) $P < 0.05$ vs. CIKs

2.4 细胞因子 IL-12 和 IFN- γ 检测结果

测定共培养至第14天的K-ras-DC-CIK、DC-CIK和CIK上清液中IFN- γ 和IL-12的分泌水平, K-ras-DC-CIK的上清液中IFN- γ 和IL-12的水平最高, 明显高于其他2组细胞(均 $P < 0.05$); DC-CIK的上清液中IFN- γ 和IL-12的水平也明显高于CIK(均 $P < 0.05$)(表3)。

表 3 CIK、DC-CIK、K-ras-DC-CIK 上清液中 IL-12 和 IFN- γ 水平 ($\bar{x} \pm s, \text{pg/mL}$)

Table 3 Comparison of IFN- γ and IL-12 levels in the culture supernatants from CIK, DC-CIK and K-ras-DC-CIK ($\bar{x} \pm s, \text{pg/mL}$)

细胞	IL-12	IFN- γ
CIK	37.4 ± 3.2 ¹⁾	273.4 ± 9.7 ¹⁾
DC-CIK	69.8 ± 5.4 ^{1), 2)}	435.6 ± 16.2 ^{1), 2)}
K-ras-DC-CIK	87.1 ± 8.4	512.1 ± 20.4

注: 1) 与 K-ras-DC-CIK 比较, $P < 0.05$; 2) 与 CIK 比较, $P < 0.05$

Note: 1) $P < 0.05$ vs. K-ras-DC-CIKs; 2) $P < 0.05$ vs. CIKs

2.5 各组 CIK 对胰腺癌 PANC-1 细胞的杀伤活性检测

K-ras-DC-CIK、DC-CIK、及CIK为效应细胞, 胰腺癌细胞株PANC-1为靶细胞。结果表明: 各组CIK细胞对胰腺癌细胞株PANC-1不同程度的杀伤效应, 以K-ras-DC-CIK的杀伤率最高, 明显高于其他两组, 而DC-CIK明显高于CIK(均 $P < 0.05$); 随着效靶比的增加, 各组效应细胞对胰腺癌细胞株的杀伤率也增加(图3)。

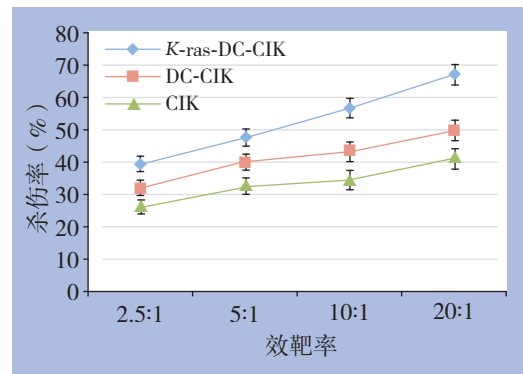


图 3 CIK、DC-CIK、K-ras-DC-CIK 对 PANC-1 细胞的杀伤作用比较

Figure 3 Comparison of killing ability against PANC-1 cells among CIKs, DC-CIKs and K-ras-DC-CIKs

3 讨论

肿瘤的发生实际上是基因突变延续的过程。Almooguer等^[4]首次报道胰腺癌患者中K-ras基因的点突变。据研究有85%~95%的胰腺癌患者存在K-ras基因的突变, 并且几乎所有的基因突变都发生在第12位密码子上。因此K-ras蛋白12位突变位点可作为胰腺癌基因免疫治疗的潜在位点^[5-6]。虽然Nakada等^[7]应用针对K-ras基因突变的反义寡核苷酸转染胰腺癌PANC-1细胞, 可抑制K-ras基因mRNA的表达和ras蛋白的合成, 抑制胰腺癌细胞的生长, 并促进癌细胞的凋亡。然而单独采用针对K-ras突变基因的反义核苷酸并不能完全杀死癌细胞。HE等^[8]尝试用K-ras突变多肽修饰DC, 对T细胞进行激发活化, 发现树突细胞能有效提呈K-ras突变位点, 激发的CTL能有效地杀伤肿瘤细胞。本研究应用K-ras突变多肽修饰DC后与CIK共同培养, 增加了CIK细胞对胰腺癌PANC-1细胞的杀伤活性, 为胰腺癌的免疫治疗提供实验依据。

DC是目前已知的功能最强大的抗原提呈细

胞^[9],近年来随着肿瘤生物治疗研究进展证实,利用DC疫苗治疗恶性肿瘤及感染类疾病有重要的价值^[10]。正常情况下体内大部分DC处于非成熟状态,表达水平较低的共刺激因子和黏附因子,但其具有极强的抗原吞噬能力^[11],在受抗原或某些因素刺激时即可分化为成熟DC,而成熟的DC可高表达共刺激因子和黏附因子,并具有较强的抗原提呈能力^[12]。因此采用何种方式促使DC成熟是其发挥其强大抗原提呈功能的关键^[13-14]。本研究发现,经K-ras突变多肽修饰的DC经过扫描与透射电镜观察证实了典型的DC细胞形态,并且促进DC表面成熟分子(CD80、CD83、CD86、HLA-DR、CD1a)的高表达。

CIK是目前发现增殖速度最快,杀瘤活性最强,杀瘤谱最广的细胞^[15]。CIK可以在不损伤机体免疫系统结构和功能的前提下,直接杀伤肿瘤细胞,并可调节和增强机体的免疫功能^[16]。当CIK与DC共同培养后能显著增加树突状细胞和共刺激分子递呈抗原的特异性^[17],并且DC可以显著提高CIK细胞的增殖活性和细胞毒活性^[18]。目前DC增强CIK细胞杀伤活性的机制尚不完全清楚,人们推测DC-CIK杀瘤效应的增强可能与DC-CIK细胞上清液中IL-12、IFN γ 等细胞因子的水平的上调以及高表达CD3⁺CD56⁺双阳性细胞有关^[19-20]。本研究发现,K-ras-DC-CIK组的上清液中IFN- γ 和IL-12的水平最高,显著高于DC-CIK与CIK组($P<0.05$)。并且共同培养后的K-ras-DC-CIK细胞群高表达CD3⁺CD8⁺、CD3⁺CD56⁺,显著高于单纯CIK细胞群。在体外扩增试验中发现DC能显著增强CIK的增殖能力,K-ras-DC-CIK的扩增倍数显著高于单纯CIK组。体外杀伤实验中,DC-CIK组对PANC-1细胞的杀伤活性亦显著高于CIK组,证明DC能增强CIK细胞的增殖与细胞毒活性。而在K-ras突变多肽负载后的DC与和CIK共培养的K-ras-DC-CIK对PANC-1细胞的杀伤力明显高于DC-CIK和单纯CIK,说明了经过K-ras负载后的DC进一步地增加了CIK细胞的杀伤活性。

实验结果表明:经过Kras负载的DC能增加CIK的扩增能力和增强CIK细胞对胰腺癌细胞的杀伤活性。其杀伤活性的增强可能与细胞上清液中IFN- γ 和IL-12的水平上调和高表达双阳性细胞CD3⁺CD8⁺、CD3⁺CD56⁺有关。目前肿瘤的过继免疫治疗目前还处于临床试验阶段,研究结果可能为胰腺癌的特异性免疫治疗提供实验依据。

参考文献

- [1] Wang H, Yu X, Guo C, et al. Enhanced endoplasmic reticulum entry of tumor antigen is crucial for cross-presentation induced by dendritic cell-targeted vaccination[J]. J Immunol, 2013, 191(12):6010-6021.
- [2] Yamazaki S, Morita A. Dendritic cells in the periphery control antigen-specific natural and induced regulatory T cells[J]. Front Immunol, 2013, 4:151.
- [3] Olioso P, Giancola R, Di Riti M, et al. Immunotherapy with cytokine induced killer cells in solid and hematopoietic tumours: a pilot clinical trial[J]. Hematol Oncol, 2009, 27(3):130-139.
- [4] Almoguera C, Shibata D, Forrester K, et al. Most human carcinomas of the exocrine pancreas contain mutant c-K-ras genes[J]. Cell, 1988, 53(4):549-554.
- [5] Zhu H, Liang ZY, Ren XY, et al. Small interfering RNAs targeting mutant K-ras inhibit human pancreatic carcinoma cells growth in vitro and in vivo[J]. Cancer Biol Ther, 2006, 5(12):1693-1698.
- [6] Peace DJ, Chen W, Nelson H, et al. T cell recognition of transforming proteins encoded by mutated ras proto-oncogenes[J]. J Immunol, 1991, 146(6):2059-2065.
- [7] Nakada Y, Saito S, Ohzawa K, et al. Antisense oligonucleotides specific to mutated K-ras genes inhibit invasiveness of human pancreatic cancer cell lines[J]. Pancreatol, 2001, 1(4):314-319.
- [8] He Y, Yang B, Ruan CG. Anti-pancreatic cancer immune response induced by K-ras mutated peptide[J]. Ai Zheng, 2005, 24(5):559-562.
- [9] Kunitani H, Shimizu Y, Murata H, et al. Phenotypic analysis of circulating and intrahepatic dendritic cell subsets in patients with chronic liver diseases[J]. J Hepatol, 2002, 36(6):734-741.
- [10] 段泽辉. 结肠癌患者术后树突状细胞免疫治疗对患者免疫功能的影响[J]. 中国普通外科杂志, 2013, 22(4):506-508.
- [11] Hilkens CM, Isaacs JD, Thomson AW. Development of dendritic cell-based immunotherapy for autoimmunity[J]. Int Rev Immunol, 2010, 29(2):156-183.
- [12] Schuler G. Dendritic cells in cancer immunotherapy[J]. Eur J Immunol, 2010, 40(8):2123-2130.
- [13] Sun JC, Pan K, Chen MS, et al. Dendritic cells-mediated CTLs targeting hepatocellular carcinoma stem cells[J]. Cancer Biol Ther, 2010, 10(4):368-375.
- [14] 薛刚,程莹,曹永宽,等. IFN γ 修饰的DC对T细胞增殖及杀伤肿瘤细胞作用影响的研究[J].中国普通外科杂志, 2008, 17(4):340-345.
- [15] Franceschetti M, Pievani A, Borleri G, et al. Cytokine-induced killer cells are terminally differentiated activated CD8 cytotoxic T-EMRA lymphocytes[J]. Exp Hematol, 2009, 37(5):616-628.
- [16] 张素青,施玲燕,刘继斌,等. CIK细胞治疗晚期肝癌的临床观

- 察[J]. 肿瘤基础与临床, 2009, 22(6):505-507.
- [17] Yang L, Ren B, Li H, et al. Enhanced antitumor effects of DC-activated CIKs to chemotherapy treatment in a single cohort of advanced non-small-cell lung cancer patients[J]. Cancer Immunol Immunother, 2013, 62(1):65-73.
- [18] Zhang S, Wang Q, Li WF, et al. Enhanced antitumor immunity by murine cytokine activated T lymphocytes after cocultured with bone marrow derived dendritic cells pulsed with whole tumor lysates[J]. Leuk Res, 2004, 28(10):1085-1088.
- [19] Li L, Li JA. CpG ODN enhances anti-tumor activities of cocultured DC and CIK in Vitro and in Vivo[J]. J Biotechnol, 2008, 136:S38.
- [20] 魏绪仓, 翟欣辉, 韩秀蕊, 等. DC-CIK细胞的生物学活性及体外

抗白血病作用的研究[J]. 中国实验血液学杂志, 2008, 16(5):1150-1153.

(本文编辑 宋涛)

本文引用格式: 窦春鹏, 李奎武, 谭广. K-ras突变多肽负载的DC细胞增强CIK细胞对胰腺癌细胞的杀伤作用[J]. 中国普通外科杂志, 2015, 24(3):357-362. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2015.03.010

Cite this article as: DOU CP, LI KW, TAN G. Killing effect of CIKs on pancreatic cancer cells enhanced by DCs loaded with K-ras mutant peptide[J]. Chin J Gen Surg, 2015, 24(3):357-362. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2015.03.010

本刊常用词汇英文缩写表

C-反应蛋白	CRP	甲型肝炎病毒	HAV	心电图	ECG
Toll样受体	TLRs	碱性成纤维细胞转化生长因子	bFGF	心脏监护病房	CCU
氨基末端激酶	JNK	聚合酶链反应	PCR	血管紧张素 II	AngII
白细胞	WBC	抗生物素蛋白-生物素酶复合物法	ABC法	血管内皮生长因子	VEGF
白细胞介素	IL	辣根过氧化物酶	HRP	血管性血友病因子	vWF
半数抑制浓度	IC ₅₀	链霉抗生物素蛋白-生物素酶复合物法	SABC法	血红蛋白	Hb
变异系数	CV	磷酸盐缓冲液	PBS	肌酐	SCr
标记的链霉抗生物素蛋白-生物素法	SP法	绿色荧光蛋白	GFP	血尿素氮	BUN
表皮生长因子	EGF	酶联免疫吸附测定	ELISA	血小板	PLT
丙氨酸转氨酶	ALT	美国食品药品监督管理局	FDA	血压	BP
丙二醛	MDA	脑电图	EEG	血氧饱和度	SO ₂
丙型肝炎病毒	HCV	内毒素/脂多糖	LPS	烟酰胺腺嘌呤二核苷酸	NADPH
超氧化物歧化酶	SOD	内皮型一氧化氮合酶	eNOS	严重急性呼吸综合征	SARS
磁共振成像	MRI	内生肌酐清除率	CCr	一氧化氮	NO
极低密度脂蛋白胆固醇	VLDL-C	尿素氮	BUN	一氧化氮合酶	NOS
低密度脂蛋白胆固醇	LDL-C	凝血酶时间	TT	乙二胺四乙酸	EDTA
动脉血二氧化碳分压	PaCO ₂	凝血酶原时间	PT	乙酰胆碱	ACh
动脉血氧分压	PaO ₂	牛血清白蛋白	BSA	乙型肝炎病毒	HBV
二甲基亚砜	DMSO	热休克蛋白	HSP	乙型肝炎病毒e抗体	HBeAb
反转录-聚合酶链反应	RT-PCR	人类免疫缺陷病毒	HIV	乙型肝炎病毒e抗原	HBeAg
辅助性T细胞	Th	人绒毛膜促性腺激素	HCG	乙型肝炎病毒表面抗体	HBsAb
肝细胞生长因子	HGF	三磷酸腺苷	ATP	乙型肝炎病毒表面抗原	HBsAg
干扰素	IFN	三酰甘油	TG	乙型肝炎病毒核心抗体	HBeAb
高密度脂蛋白胆固醇	HDL-C	生理氯化钠溶液	NS	乙型肝炎病毒核心抗原	HBeAg
谷胱甘肽	GSH	世界卫生组织	WHO	异硫氰酸荧光素	FLTC
固相pH梯度	IPG	双蒸水	ddH ₂ O	诱导型一氧化氮合酶	iNOS
核糖核酸	RNA	丝裂原活化蛋白激酶	MAPK	原位末端标记法	TUNEL
核因子-κB	NF-κB	四甲基偶氮唑盐微量酶反应	MTT	杂合性缺失	LOH
红细胞	RBC	苏木精-伊红染色	HE	增强化学发光法	ECL
红细胞沉降率	ESR	胎牛血清	FBS	肿瘤坏死因子	TNF
环氧合酶-2	COX-2	体质量指数	BMI	重症监护病房	ICU
活化部分凝血活酶时间	APTT	天冬氨酸氨基转移酶	AST	转化生长因子	TGF
活性氧	ROS	脱氧核糖核酸	DNA	自然杀伤细胞	NK细胞
获得性免疫缺陷综合征	AIDS	细胞间黏附分子	ICAM	直接胆红素	DBIL
肌酐	Cr	细胞外基质	ECM	总胆固醇	TC
基质金属蛋白酶	MMP	细胞外调节蛋白激酶	ERK	总胆红素	TBIL
计算机X线断层照相技术	CT	纤连蛋白	FN		