

肿瘤细胞外泌体对树突状细胞-细胞因子诱导的杀伤细胞诱导作用的研究进展



刘思雯, 董立华

四川大学华西医学中心基础与法医学院(成都 610041)

【摘要】 肿瘤细胞来源外泌体既可帮助肿瘤细胞逃逸免疫监视,也可激活肿瘤特异性免疫应答来清除肿瘤细胞。肿瘤细胞所释放的外泌体表面携带有主要组织相容性复合体分子和抗原肽,可在体外诱导树突状细胞(dendritic cell, DC)-细胞因子诱导的杀伤细胞(cytokine-induced killer cells, CIK 细胞),产生肿瘤抗原特异性 T 细胞,这样获得的 DC-CIK 细胞具有特异性和非特异性双重杀瘤作用,对未来肿瘤的治疗提供了一种新的方法。该文就肿瘤分泌的外泌体与 DC-CIK 细胞治疗的研究进展予以综述。

【关键词】 外泌体; 树突状细胞; 细胞因子诱导的杀伤细胞; 过继免疫

Research progress of inducing effect of exosomes shed by tumor cells on dendritic cells and cytokine-induced killer cells

LIU Siwen, DONG Lihua

West China School of Preclinical and Forensic Medicine, Sichuan University, Chengdu, Sichuan 610041, P. R. China

Corresponding author: DONG Lihua, Email: donglihua11@163.com

【Abstract】 Tumor-derived exosomes play a role in helping tumor cells with escape of immune surveillance, and also activate tumor specific immune responses to eradicate tumor cells. Tumor cells release exosomes with major histocompatibility complex molecules and antigenic peptides on the surface membranes, which can induce dendritic cells (DC) and cytokine-induced killer (CIK) cells *in vitro* to produce the tumor antigen specific T cells, and the obtained DC-CIK cells have a dual antitumor function with specificity and non specificity. This provides a new method for the treatment of cancers. This review briefly summarized the latest progress of adoptive immunotherapy with exosomes and DC-CIK.

【Key words】 Exosomes; Dendritic cells; Cytokine induced killer cells; Adoptive immunity

癌症是人类主要死亡原因之一,其治疗手段主要为手术切除、放射治疗和化学药物治疗。大多数肿瘤患者通过这些方法获得了明显的疗效^[1-3]。随着对癌症研究的不断深入,人们逐渐认识到应用传统疗法与免疫疗法相结合的方法是降低癌症患者病死率的一个新途径。应用免疫细胞的自然免疫机制来识别和杀伤肿瘤是目前抑制癌症发展甚至治愈癌症的一种创新的挑战性的治疗策略。过继免疫治疗是癌症免疫疗法中最有效的方法之一^[4],使用树突状细胞(dendritic cell, DC)联合细胞因子诱导的杀伤细胞(cytokine-induced killer cell, CIK 细胞)免疫治疗就属于肿瘤的过继免疫治疗。DC

和 CIK 细胞对恶性肿瘤免疫治疗极其关键,两者产生的作用及其所引发的免疫应答是免疫治疗的重要部分。外泌体携带有多种生物活性物质,由细胞吐产生而进入细胞微环境中,再通过其他细胞摄取来完成细胞间的信息传递。随着外泌体携带的活性物质作用的不断发现,外泌体在肿瘤发生发展中的研究也受到越来越多的关注。因此若将以上两点结合起来,通过外泌体作用于 DC-CIK 细胞来对肿瘤进行治疗,必将会带来突破性的进展。现就肿瘤外泌体及 DC-CIK 细胞治疗的研究进展予以综述。

1 外泌体与肿瘤

1.1 外泌体的生物学特性

1981 年,Trams 等^[5]首先发现外泌体。2007 年,Vlassov 等^[6]发现外泌体是一类内含核酸、蛋白

DOI: 10.7507/1002-0179.201705122

基金项目: 国家自然科学基金(31371148)

通信作者: 董立华, Email: donglihua11@163.com

质、脂类、糖类等的微小囊泡,其通过细胞胞吐的形式释放到细胞外环境,在细胞间物质运输及信息传递中起关键作用,具有广泛的生理功能,与肿瘤学、免疫学等领域的研究相关。

外泌体大小为 40 ~ 100 nm,呈圆形或杯形,密度为 1.13 ~ 1.19 g/mL,通过多泡内吞体与细胞表面融合或直接通过细胞膜出芽分泌^[7]。研究外泌体的蛋白组成发现,外泌体内有核酸、线粒体、内质网、高尔基体内蛋白的存在,目前已被鉴定的外泌体蛋白均来自胞浆、内吞泡和质膜^[8]。在 Ca^{2+} 依赖性激活或 Rab-GTPases 激活后,外泌体与细胞质膜融合。肿瘤细胞外泌体分泌增加是由 Rab3D(一种小的 GTP 酶)过表达导致的。外泌体的释放可由多种信号通路介导,如 Wnt 通路的活化是肿瘤细胞中外泌体分泌失控的重要原因^[9]。肿瘤的酸性微环境也能刺激外泌体的释放及加强其细胞融合能力。外泌体的摄取是通过内吞作用、受配体相互作用或依赖于微环境 pH 的直接融合而完成的^[10]。

外泌体中蛋白质分选部分依赖于蛋白泛素化和内体蛋白分选转运装置。外泌体内含有大量的转运蛋白,如微管蛋白、肌动蛋白和肌动蛋白结合分子以及与分泌细胞特异性功能相关的多种蛋白质。近乎所有的外泌体均携带主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC) I 类分子和热休克蛋白(heat shock protein, HSP),特别是 HSP70 和 HSP90。HSP70 和 HSP90 参与抗原呈递,并且可以将抗原肽连接到 MHC I 类分子上^[11]。外泌体内含有高浓度的四跨膜蛋白,包括 CD9、CD63、CD81 和 CD82,这些在其他微囊泡中很少被发现,并且通过与其他跨膜蛋白的相互作用参与抗原呈递与黏附。CD9 和 CD82 通过与整合素的相互作用抑制体内外肿瘤细胞的转移和侵袭^[12]。

除了蛋白质外,外泌体内还含有脂质,特别是神经酰胺、鞘脂、胆固醇和甘油磷脂等脂筏脂质,以及微 RNA(microRNA, miRNA)、信使 RNA(messengerRNA, mRNA)和 DNA,使细胞能够交换遗传信息^[13]。可以使用外泌体 miRNA 来对肿瘤进行诊断。已有多种 miRNA 被确定为肿瘤的特异性标志物。有研究通过对卵巢肿瘤患者肿瘤细胞和外泌体的 miRNA 分析,发现 miR-21、miR-141、miR-200a、miR-200b、miR-200c、miR-203、miR-205、miR-214 可以作为卵巢癌的特异性生物标志物^[14]。亦有研究发现非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)患者血浆外泌体中 let-7f、miR-20b 和 miR-30e-3p 水平均降低,miR-30e-3p 和

let-7f 水平分别与无病生存率和总体生存率相关,且其水平与患者不良预后相关^[15]。相较其他存在于生物体液内的生物标志物,外泌体中的生物标志物具有较高的特异性和良好的稳定性,因此可以作为临床诊断的依据,但仍需进一步研究。

外泌体的分离仍是目前研究的重点,因其机制研究上的不明确,要获得纯度较高且完整的外泌体样本仍存在一些困难。差速离心法是目前分离外泌体的主要方法,包括多个离心步骤,以增加离心强度顺序沉淀细胞、微泡和外泌体,此方法快速且简便,但当用于黏性生物体液如血浆、血清等时效率较低。ExoQuick 试剂盒提取外泌体即在超速离心前化学沉淀外泌体,此方法优缺点与差速离心法相似。另一种方法是微流体免疫法,即使血清流过微室,其内含有针对外泌体标志物(EpCAM、CD63 等)的抗体,但该方法仅能获得表达目标标志物的外泌体,无法得到外泌体的其他亚群^[16]。

1.2 外泌体与肿瘤

哺乳动物体内的多种细胞均能释放外泌体,且正常生理状态及病理状态下体液、尿液及乳汁等都存在外泌体,因此外泌体有可能是检测疾病和预测疾病进展的一个新指标^[17]。在肿瘤发生发展的过程中,外泌体参与细胞间的信息传递,进而促进肿瘤血管的生成和实体瘤的转移,肿瘤来源的外泌体(tumor-derived exosome, TDE)已经成为肿瘤分子生物研究的热点之一^[6]。

恶性肿瘤细胞通过其细胞环境的改变来调节自身的发生、发展和转移,且这种调节可以通过 TDE 和肿瘤细胞分泌因子发生。研究表明,TDE 可以通过调节骨髓祖细胞^[18]、前哨淋巴结^[19]及转移致癌受体、蛋白质、RNA^[20-21]来促进肿瘤的发生和转移。Thakur 等^[22]发现外泌体中存在表达整个基因组 DNA 的双链 DNA,即外泌体 DNA,其可用于鉴定肿瘤细胞中存在的突变。由于外泌体 DNA 稳定存在于 TDE,通过外泌体表面标志物易于分离或富集 TDE 和制备简便快捷等特点,外泌体 DNA 在癌症的早期诊断及监测治疗效果方面具有极大潜力。

2 DC

2.1 DC 的生物学特性

DC 源自骨髓,是已知提呈功能最强的专职性抗原提呈细胞,具有高于 B 细胞和巨噬细胞 10 ~ 100 倍的抗原提呈能力。DC 可以刺激初始 T 细胞活化和增殖,将肿瘤细胞抗原呈递至 T 细胞,

诱导 T 细胞特异性增殖,从而杀灭肿瘤细胞,而且可以有效抵制肿瘤的免疫逃逸机制,在抗肿瘤免疫治疗中起到关键作用^[23]。

DC 通过内吞作用有效地吸收抗原肽,并加工抗原将其呈现在 MHC 分子上。此过程有 2 种经典的途径,即激活 CD8⁺ T 细胞的 MHC I 通路和向 CD4⁺ T 细胞呈递抗原肽的 MHC II 途径。除此以外还存在另一种通路,即交叉呈递,外源性抗原呈现在 MHC I 分子上以诱导 CD8⁺ T 细胞应答,经过交叉呈递和改装,可从其他细胞中获得整个肽-MHC 复合物,但其确切机制仍不明确。

通过 MHC I 途径呈递的抗原来源于细胞质,蛋白酶体将抗原降解为 8~12 个氨基酸长度的肽段,然后将其释放回细胞质内,通过抗原加工相关转运体 (transporter associated with antigen processing, TAP) 分子协助抗原肽段转运至内质网 (endoplasmic reticulum, ER) 中,随后肽段装载至 MHC I 分子上。成功装载肽段要求有多个蛋白质参与形成组装复合体,肽段连接导致组装复合体的解离,然后完整的肽-MHC I 复合物通过高尔基体转运至细胞表面,被 CD8⁺ T 细胞识别。所有细胞均可以表达 MHC I 并通过该途径将感染细胞的抗原呈递至免疫系统。

通过 MHC II 途径呈递的抗原通常来源于细胞外,因此这些蛋白质需先经过内化。蛋白质经内吞进入细胞,并在内吞泡中被降解加工为 12~24 个氨基酸长度的肽段。MHC II 分子在 ER 中产生并通过恒定链稳定存在,恒定链可促进 MHC II 类分子转运至高尔基体,内吞体内肽段与 MHC II 分子在高尔基体内结合^[24]。恒定链内存在一个名为 CLIP 的小片段,可封闭肽结合槽,直至恒定链被降解,CLIP 脱离肽结合槽,抗原肽进入并与 MHC II 分子结合,随后 MHC II 分子转运至细胞表面,被 CD4⁺ T 细胞识别。

交叉呈递为外源性抗原与 MHC I 分子结合形成复合物从而诱导 CD4⁺ T 细胞应答。此途径可对非 DC 感染的肿瘤和病毒产生免疫应答^[25]。目前其确切的作用机制仍在进一步研究中。

2.2 DC 的抗肿瘤作用

DC 在癌症免疫监测中起主要作用。肿瘤浸润性 DC 迁移到局部淋巴结,并呈现肿瘤抗原刺激幼稚的肿瘤特异性 T 细胞,引发抗肿瘤免疫反应。然而,有证据表明,肿瘤抗原的交叉呈递也可发生在肿瘤自身,初始的 T 淋巴细胞浸润肿瘤并引发应答^[26-27]。这些研究结果表明,除了在淋巴组织中

驱动反应之外,肿瘤浸润性 DC 可在局部启动 T 细胞。

DC 存在许多与肿瘤浸润相关的亚型。CD103⁺、CD11b⁺ 和浆细胞样 DC 存在于肿瘤中,CD103⁺ 和 CD11b⁺ 在鼠和人类肿瘤中水平均较低。所有 DC 亚型均具有获得抗原的能力,DC 可通过受体介导的胞吞作用来摄取抗原^[28-29]。处理和呈递抗原的能力在 DC 的不同亚型之间有所不同。

DC 之间可以通过外泌体转移 mRNA 和小 RNA (包括 miRNA)。miRNA 的转移可以作为信息交流和转录后修饰的手段。有研究表明,接受 miRNA 的 DC 中目标 mRNA 的表达将受到抑制,因此特定 RNA 引起的转录后修饰可能会影响抗原提呈细胞功能,导致其临床应用的成功或失败^[30]。

有研究将肿瘤患者胸腹水中的外泌体与患者自体的 DC 共培养,随后使用 DC 刺激外周血分离得来的 T 淋巴细胞,并与胸腹水中分离得到的肿瘤细胞一起培养,发现肿瘤细胞发生了溶解,说明 DC 的抗肿瘤作用^[31]。

目前所有应用 DC 来进行抗肿瘤的治疗策略均是利用其抗原呈递作用,增强肿瘤抗原的提呈,诱导出 T 细胞抗肿瘤。目前许多临床研究已验证传统 DC 疫苗抗肿瘤策略的有效性,但其仍面临许多问题,如疫苗均针对个体设计,无法进行大批量的生产,研究出新的优化 DC 疫苗的抗肿瘤方案是目前研究的关键。

3 CIK 细胞

3.1 CIK 细胞的生物学特性

CIK 细胞是由外周血单个核细胞经体外诱导分化而产生的多克隆效应 T 细胞群,主要来自健康供体或癌症患者的外周血、脐带血和骨髓,具有 T-NK 细胞表型 (即 CD3⁺ CD56⁺)、强大的扩增潜力和非 MHC 限制性杀伤能力,对骨髓及造血细胞未产生严重的副作用^[32]。CIK 细胞解决了目前过继免疫治疗策略所面临的一些主要限制。外周血单核细胞离体扩增相对容易且价格较低,可以此获得足够量的过继输入和有效的免疫效应。

3.2 CIK 细胞的抗肿瘤作用

CIK 细胞通过表达 NKG2D 受体,与肿瘤细胞表面的 NKG2D 配体相互作用达到杀瘤目的。NKG2D 识别的主要目标是 MICA/B,其广泛表达于恶性或转化细胞以及 JL16 结合蛋白家族 (UL16-binding proteins, ULBP)^[33-34]。CIK 细胞上的

NKG2D 分子与肿瘤细胞上的 MICA/B 或 ULBP 分子之间的相互作用使其具有 MHC 非限制性肿瘤杀伤作用。

CIK 细胞不仅具有识别肿瘤的能力,而且具有肿瘤靶向性。CIK 细胞对肿瘤细胞靶向性迁移的机制尚未明确,目前认为其机制可能是以下 2 个方面共同作用的结果:① 肿瘤细胞释放的趋化因子、细胞因子,诱导 CIK 细胞向肿瘤微环境趋向迁移。有研究认为肿瘤微环境中含有高浓度的旁分泌生长因子如血小板衍生因子、碱性成纤维细胞生长因子、表皮细胞生长因子等,对 CIK 细胞的趋向迁移起调控作用^[35]。② CIK 细胞表面表达的受体能够与肿瘤细胞表面特异的配体结合^[36]。NKG2D 为 NK 细胞的活化受体,可在多种免疫细胞表面表达,具有参与适应性免疫应答及固有免疫和调节 NK 细胞、T 细胞、巨噬细胞以及树突状细胞的功能。NKG2D 的配体为 HLA-I 类相关基因产物,在应激细胞、肿瘤细胞以及病毒感染细胞表面均可普遍上调表达^[37]。CIK 细胞通过其表面 NKG2D 受体与肿瘤表面相应的配体结合,特异地刺激 CIK 细胞分泌肿瘤杀伤因子从而识别和杀伤肿瘤细胞。CIK 疗法已被证明对多种实体肿瘤和血液恶性肿瘤有效,具有成为常规供体淋巴细胞输注的替代方案的潜力。

研究表明,不同外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMC)的分离方法可以影响患者自体 CIK 细胞的生物学特性^[38]。通过对比血细胞分离器(单采法)和 Ficoll 淋巴细胞分离培养基(Ficoll 法)分离 PBMC,发现单采法得到的单个核细胞的数量远远大于 Ficoll 法,但其分离率较低,存在更多的细胞碎片。体外培养后发现,Ficoll 组 CIK 细胞的富集时间较长,CD3⁺CD4⁺(Th)和 CD4⁺CD25⁺(Treg)细胞的比例较高。在血浆分离法中,CD3⁻CD56⁺(NK)和 CD3⁺CD56⁺(NKT)细胞的百分比比较高,CIK 细胞对 HepG2 肝癌细胞表现出较高的细胞溶解活性。总之,不同的 PBMC 分离方法可以影响 CIK 细胞的生物学活性,并且单采法更有效地提高 CIK 细胞的抗肿瘤效能。然而,应该重视注射单采血液供体产生不良反应的可能性。

4 DC-CIK

4.1 DC-CIK 细胞的生物学特性

DC-CIK 即 DC 和 CIK 细胞在体外共培养,以回输的方式来达到治疗目的。将携带肿瘤抗原的 DC 与 CIK 细胞共同培养,能产生肿瘤抗原特异性

T 淋巴细胞,以发挥特异性和非特异性双重杀瘤作用,且相较未负载肿瘤抗原的 DC 具有更强的刺激 CIK 细胞的活性。实际上,起到主要的抑瘤抗瘤作用的是经 DC 活化的 CIK 细胞。DC 和 CIK 细胞在肿瘤免疫治疗中起重要作用,结合 CIK 细胞的高效杀伤活性和 DC 的强大肿瘤抗原提呈能力可有效增强肿瘤患者 T 淋巴细胞免疫力,起到抗肿瘤作用。近年来 CIK 与 DC 共同培养在临床应用中多系统肿瘤都有良好疗效,具有极大潜力。一些研究表明,DC 和 CIK 细胞之间的相互作用引起两个群体的表面分子表达的变化,导致白细胞介素(interleukin, IL)-12 分泌增加,并提高了细胞毒活性^[39-41]。因此,DC-CIK 疗法可能对癌症患者的免疫治疗方案有重大影响。

有研究将 DC 和 CIK 相结合的化疗免疫治疗与常规化疗相对比,发现 DC-CIK 免疫可以协同加强化疗,提供强有力的系统性抗肿瘤活性,其较常规化疗可以有效延长 NSCLC 晚期患者生命 5.2~6.9 个月,且较少发生化疗常见的副作用,而随之发生的皮肤毒性和非感染性发热等副作用也较轻且易控制^[42]。这一发现表明 DC-CIK 免疫治疗与化学治疗协同作用可以提供有效的全身抗肿瘤作用。此现象的原因可能为:① 化疗后的细胞死亡可能对随后的免疫应答产生影响。② 化疗会耗尽调节性 T 细胞,从而增强免疫应答。③ 化疗后免疫系统重组可以通过形成针对肿瘤抗原反应性的基因谱系来提供治疗干预的独特机会。④ 化疗可能会改变细胞因子在 DC 上的表达来发挥其免疫潜能。因此,通过 DC-CIK 免疫可以减少不良反应,在整个抗肿瘤活动中起到关键作用。

Cui 等^[43]通过延迟型超敏反应(delayed type hypersensitivity, DTH)皮肤试验来确定细胞免疫应答,以此评估 DC-CIK 联合治疗的临床表现和安全性,研究表明接受 DC-CIK 联合治疗的患者 DTH 阳性率高于接受 DC 单独治疗的患者($P<0.01$),且其主观临床表现也有改善,患者的耐受良好,轻度不良反应也均可通过相关治疗得到缓解。DC-CIK 联合治疗在癌症治疗中表现为低毒性且患者对该方案的耐受性普遍良好,无严重副作用发生,因此该方案是一种前途广阔的癌症治疗方案。

4.2 DC、CIK 细胞之间的相互作用

有研究显示,DC、CIK 细胞之间会产生协同作用,共同培养会使 DC 表面共刺激分子表达增加,也会显著提高其抗原递呈能力,同时 CIK 细胞的增殖能力和细胞毒活性均得到加强,由此证明 DC-

CIK 细胞较单独的 DC 细胞治疗更为有效。发生此情况的原因可能是成熟 DC 表面的大量突起可呈递肿瘤抗原至 CIK 细胞。除此之外,也可能是激活后的 DC 所分泌的细胞因子(如 IL-12、IL-18、干扰素-8 等)可以刺激 Th0、Th2 细胞分化为 Th1 细胞,引发 Th1 型特异性免疫应答,并经 MHC II 分子呈递外源性抗原被 CD8 细胞识别,引发免疫应答反应,且在此过程中可产生强烈的共刺激信号。Xie 等^[44]研究发现将负载肿瘤裂解物的 DC 与 CIK、NK 细胞结合来治疗肝脏未分化胚胎性肉瘤具有令人满意的结果,所有的病例中肿瘤均得到了缓解,患者的生命也得到了延长,但无完全治愈病例。Jung 等^[45]研究发现,DC-CIK 细胞联合应用能够显著增加肝癌小鼠中细胞毒性 T 细胞的数量,而单独 DC 或 CIK 治疗对肿瘤细胞影响无统计学意义。

5 外泌体对 DC-CIK 细胞的诱导作用

5.1 参与肿瘤免疫逃逸

Chen 等^[46]研究表明 TDE 通过下调 CD3⁺、CD8⁺、NK (CD56⁺) 和 CD3⁺CD56⁺ 细胞以及分泌肿瘤坏死因子- α 和穿孔素来抑制 CIK 细胞的抗肿瘤活性,并且参与肿瘤的免疫逃逸。除此以外,TDE 可以抑制肿瘤的特异性免疫应答和免疫监视。Xiang 等^[47]发现 TDE 可以引起肿瘤中骨髓来源的抑制细胞的积累,Yu 等^[48]发现 TDE 来源的 IL-6 可以阻断骨髓 DC 分化。这些内源性肿瘤衍生的外泌体抑制抗肿瘤免疫应答的确切机制仍有待充分证明,及由此可能产生的重要的新型治疗靶点仍待研究。由于已有实质性证据表明 TDE 具有促进癌症进展的功能,因此 TDE 可能成为癌症诊断及预后监测的有效生物标志物。

5.2 参与肿瘤特异性免疫应答

肿瘤细胞来源外泌体既可帮助肿瘤细胞逃逸免疫监视,也可激活肿瘤特异性免疫应答。值得一提的是,TDE 内包含肿瘤特异性抗原,可以在体外产生 MHC I 类限制性 T 细胞克隆,且 TDE 可以在体内驱动依赖 T 细胞的交叉保护作用对抗同源和异源肿瘤^[49]。因此可以利用外泌体来源的抗原预刺激 DC 进行靶向抗癌治疗。肿瘤细胞所释放的外泌体表面携带有 MHC 分子和抗原肽,可在体外诱导 DC-CIK 细胞,刺激产生特异性的抗癌 T 细胞,并得到具有特异性和非特异性双重抗癌作用的 DC-CIK 细胞,对未来肿瘤的治疗提供了一种不同以往的方法。外泌体可以增强 DC-CIK 的细胞毒活性,且其易于在体外培养,供体细胞若取交叉配血

成功的健康个体的外周血,则获得的 DC-CIK 细胞将具有更强的增殖活力,以此特异地清除肿瘤细胞,增强患者的免疫力,从而达到杀瘤抑瘤的效果,为肿瘤过继免疫治疗的深入研究与临床使用提供了全新的思路。

6 展望

过继免疫疗法具有极大的治疗潜力,且有着极其广阔的应用前景。目前应用肿瘤分泌外泌体诱导 DC-CIK 细胞分化已取得了初步成果,但仍存在许多急需解决的问题,如外泌体的分离方法、外泌体具体的作用机制、DC/CIK 细胞应用比例、DC/CIK 细胞分离方法及回输途径、DC-CIK 细胞培养最适条件等实际问题以及临床疗效评价等仍需进一步研究。相信随着研究的进展,DC-CIK 疗法必将成为肿瘤免疫治疗的有效方法,为肿瘤患者的诊断及治疗带来新的希望。

参考文献

- 1 Videtic GM. Locally advanced non-small cell lung cancer: what is the optimal concurrent chemoradiation regimen?. *Cleve Clin J Med*, 2012(Electronic Suppl 1): S32-S37.
- 2 Ishikura S. Optimal radiotherapy for non-small-cell lung cancer: current progress and future challenges. *Gen Thorac Cardiovasc Surg*, 2012, 60(3): 127-131.
- 3 Bretthauer M. Evidence for colorectal cancer screening. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*, 2010, 24(4): 417-425.
- 4 Ma Y, Zhang Z, Tang L, et al. Cytokine-induced killer cells in the treatment of patients with solid carcinomas: a systematic review and pooled analysis. *Cytotherapy*, 2012, 14(4): 483-493.
- 5 Trams EG, Lauter CJ, Salem N, et al. Exfoliation of membrane ecto-enzymes in the form of micro-vesicles. *Biochim Biophys Acta*, 1981, 645(1): 63-70.
- 6 Vlassov AV, Magdaleno S, Setterquist R, et al. Exosomes: current knowledge of their composition, biological functions, and diagnostic and therapeutic potentials. *Biochim Biophys Acta*, 2012, 1820(7): 940-948.
- 7 Simons M, Raposo G. Exosomes--vesicular carriers for intercellular communication. *Curr Opin Cell Biol*, 2009, 21(4): 575-581.
- 8 Théry C, Boussac M, Véron P, et al. Proteomic analysis of dendritic cell-derived exosomes: a secreted subcellular compartment distinct from apoptotic vesicles. *J Immunol*, 2001, 166(12): 7309-7318.
- 9 Ekström EJ, Bergenfelz C, von Bülow V, et al. WNT5A induces release of exosomes containing pro-angiogenic and immunosuppressive factors from malignant melanoma cells. *Mol Cancer*, 2014, 13: 88.
- 10 Zhang X, Yuan X, Shi H, et al. Exosomes in cancer: small particle, big player. *J Hematol Oncol*, 2015, 8: 83.
- 11 Théry C, Zitvogel L, Amigorena S. Exosomes: composition, biogenesis and function. *Nat Rev Immunol*, 2002, 2(8): 569-579.
- 12 Zöller M. Tetraspanins: push and pull in suppressing and promoting metastasis. *Nat Rev Cancer*, 2009, 9(1): 40-55.

- 13 Wubbolts R, Leckie RS, Veenhuizen PT, *et al.* Proteomic and biochemical analyses of human B cell-derived exosomes. Potential implications for their function and multivesicular body formation. *J Biol Chem*, 2003, 278(13): 10963-10972.
- 14 Taylor DD, Gercel-Taylor C. MicroRNA signatures of tumor-derived exosomes as diagnostic biomarkers of ovarian cancer. *Gynecol Oncol*, 2008, 110(1): 13-21.
- 15 Silva J, García V, Zaballos Á, *et al.* Vesicle-related microRNAs in plasma of nonsmall cell lung cancer patients and correlation with survival. *Eur Respir J*, 2011, 37(3): 617-623.
- 16 Thind A, Wilson C. Exosomal miRNAs as cancer biomarkers and therapeutic targets. *J Extracell Vesicles*, 2016, 5: 31292.
- 17 Tauro BJ, Greening DW, Mathias RA, *et al.* Two distinct populations of exosomes are released from LIM1863 colon carcinoma cell-derived organoids. *Mol Cell Proteomics*, 2013, 12(3): 587-598.
- 18 Peinado H, Alečković M, Lavotshkin S, *et al.* Melanoma exosomes educate bone marrow progenitor cells toward a pro-metastatic phenotype through Met. *Nat Med*, 2012, 18(6): 883-891.
- 19 Hood JL, San RS, Wickline SA. Exosomes released by melanoma cells prepare sentinel lymph nodes for tumor metastasis. *Cancer Res*, 2011, 71(11): 3792-3801.
- 20 Al-Nedawi K, Meehan B, Micallef J, *et al.* Intercellular transfer of the oncogenic receptor EGFRvIII by microvesicles derived from tumour cells. *Nat Cell Biol*, 2008, 10(5): 619-624.
- 21 Skog J, Würdinger T, Van Rijn S, *et al.* Glioblastoma microvesicles transport RNA and proteins that promote tumour growth and provide diagnostic biomarkers. *Nat Cell Biol*, 2008, 10(12): 1470-1476.
- 22 Thakur BK, Zhang H, Becker A, *et al.* Double-stranded DNA in exosomes: a novel biomarker in cancer detection. *Cell Res*, 2014, 24(6): 766-769.
- 23 Schott M, Seissler J. Dendritic cell vaccination: new hope for the treatment of metastasized endocrine malignancies. *Trends Endocrinol Metab*, 2003, 14(4): 156-162.
- 24 Roche PA, Furuta K. The ins and outs of MHC class II-mediated antigen processing and presentation. *Nat Rev Immunol*, 2015, 15(4): 203-216.
- 25 Zehner M, Marschall AL, Bos E, *et al.* The translocon protein Sec61 mediates antigen transport from endosomes in the cytosol for cross-presentation to CD8(+) T cells. *Immunity*, 2015, 42(5): 850-863.
- 26 Schrama D, Thor Straten P, Fischer WH, *et al.* Targeting of lymphotoxin- α to the tumor elicits an efficient immune response associated with induction of peripheral lymphoid-like tissue. *Immunity*, 2001, 14(2): 111-121.
- 27 Thompson ED, Enriquez HL, Fu YX, *et al.* Tumor masses support naive T cell infiltration, activation, and differentiation into effectors. *J Exp Med*, 2010, 207(8): 1791-1804.
- 28 Sallusto F, Cella M, Danieli C, *et al.* Dendritic cells use macropinocytosis and the mannose receptor to concentrate macromolecules in the major histocompatibility complex class II compartment: downregulation by cytokines and bacterial products. *J Exp Med*, 1995, 182(2): 389-400.
- 29 Jiang W, Swiggard WJ, Heufler C, *et al.* The receptor DEC-205 expressed by dendritic cells and thymic epithelial cells is involved in antigen processing. *Nature*, 1995, 375(6527): 151-155.
- 30 Montecalvo A, Larregina AT, Shufesky WJ, *et al.* Mechanism of transfer of functional microRNAs between mouse dendritic cells via exosomes. *Blood*, 2012, 119(3): 756-766.
- 31 Andre F, Scharz NE, Movassagh M, *et al.* Malignant effusions and immunogenic tumour-derived exosomes. *Lancet*, 2002, 360(9329): 295-305.
- 32 Sangiolo D. Cytokine induced killer cells as promising immunotherapy for solid tumors. *J Cancer*, 2011, 2(1): 363-368.
- 33 Wang XP, Xu M, Gao HF, *et al.* Intraperitoneal perfusion of cytokine-induced killer cells with local hyperthermia for advanced hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol*, 2013, 19(19): 2956-2962.
- 34 Schmidt TL, Negrin RS, Contag CH. A killer choice for cancer immunotherapy. *Immunol Res*, 2014, 58(2/3): 300-306.
- 35 Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell*, 2000, 100(1): 57-70.
- 36 Hazelrigg MR, Hirsch JL, Merchant RE. Distribution of adoptively transferred, tumor-sensitized lymphocytes in the glioma-bearing rat. *J Neurooncol*, 2002, 60(2): 143-150.
- 37 Skitzki J, Craig RA, Okuyama R, *et al.* Donor cell cycling, trafficking, and accumulation during adoptive immunotherapy for murine lung metastases. *Cancer Res*, 2004, 64(6): 2183-2191.
- 38 Liu H, Li J, Wang F, *et al.* Comparative study of different procedures for the separation of peripheral blood mononuclear cells in cytokine-induced killer cell immunotherapy for hepatocarcinoma. *Tumour Biol*, 2015, 36(4): 2299-2307.
- 39 Li H, Wang C, Yu J, *et al.* Dendritic cell-activated cytokine-induced killer cells enhance the anti-tumor effect of chemotherapy on non-small cell lung cancer in patients after surgery. *Cytotherapy*, 2009, 11(8): 1076-1083.
- 40 Alters SE, Gadea JR, Sorich M, *et al.* Dendritic cells pulsed with CEA peptide induce CEA-specific CTL with restricted TCR repertoire. *J Immunother*, 1998, 21(1): 17-26.
- 41 Märtens A, Ziske C, Schöttker B, *et al.* Interactions between dendritic cells and cytokine-induced killer cells lead to an activation of both populations. *J Immunother*, 2001, 24(6): 502-510.
- 42 Zhong R, Teng J, Han B, *et al.* Dendritic cells combining with cytokine-induced killer cells synergize chemotherapy in patients with late-stage non-small cell lung cancer. *Cancer Immunol Immunother*, 2011, 60(10): 1497-1502.
- 43 Cui Y, Yang X, Zhu W, *et al.* Immune response, clinical outcome and safety of dendritic cell vaccine in combination with cytokine-induced killer cell therapy in cancer patients. *Oncol Lett*, 2013, 6(2): 537-541.
- 44 Xie S, Wu X, Zhang G, *et al.* Remarkable regression of a lung recurrence from an undifferentiated embryonal sarcoma of the liver treated with a DC vaccine combined with immune cells: a case report. *Cell Immunol*, 2014, 290(2): 185-189.
- 45 Jung NC, Lee JH, Choi HJ, *et al.* Dendritic cell immunotherapy combined with Cytokine-Induced killer cells effectively suppresses established hepatocellular carcinomas in mice. *Immunol Invest*, 2016, 45(6): 553-565.
- 46 Chen Huang, Xiang Yang, Ding Ping, *et al.* Cholangiocarcinoma-derived exosomes inhibit the antitumor activity of cytokine-induced killer cells by down-regulating the secretion of tumor necrosis factor- α and perforin. *J Zhejiang Univ Sci B*, 2016, 17(7):

- 537-544.
- 47 Xiang X, Poliakov A, Liu C, *et al.* Induction of myeloid-derived suppressor cells by tumor exosomes. *Int J Cancer*, 2009, 124(11): 2621-2633.
- 48 Yu S, Liu C, Su K, *et al.* Tumor exosomes inhibit differentiation of bone marrow dendritic cells. *J Immunol*, 2007, 178(11): 6867-6875.
- 49 Wolfers J, Lozier A, Raposo G, *et al.* Tumor-derived exosomes are a source of shared tumor rejection antigens for CTL cross-priming. *Nat Med*, 2001, 7(3): 297-303.

收稿日期: 2017-05-18 修回日期: 2017-07-25

本文编辑: 凌雪梅

• 消息 •

第六届“华西急诊国际学术论坛”征文通知

尊敬的各位同道:

第六届“华西急诊国际学术论坛”将于2018年6月21日-24日在四川省成都市明悦大酒店举行。本届论坛将探讨中国特色社会主义迈进新时代下我国急诊医学的新理念和新发展。论坛将邀请美国梅奥诊所、托马斯-杰斐逊大学医院等国内外医疗机构的著名急诊专家作主题演讲、专题报告和面对面交流,同时举办急诊模拟技能培训。

本次论坛接收中、英文论文投稿,录用的论文将收录在《华西急诊国际学术论坛论文集》中,优秀论文将设壁报展示并给予奖励。

一、征文范围

新时代急诊医学发展的新理念和新方向、急诊管理、急诊联盟建设、心肺复苏、紧急救援医学、急性中毒、急性创伤、危重症医学、院前急救、急诊护理、科研与教学、急诊人才培养、人文与法律或其他与急诊急救相关方面的内容均可投稿。

二、征文要求

1. 论文需全文。
2. 论文未被其他会议、期刊录用或发表。
3. 要求电子投稿(Word格式)。
4. 论文要求内容真实、方法科学、数据准确、结构完整,包含:题目、作者与联系方式、关键词、摘要、正文、参考文献。
5. 论文格式:①题目(五号宋体字,居中,加粗),作者(五号宋体字,居中),作者单位(五号宋体字,居中),关键词(五号宋体字,靠左排列)。②摘要:论著形式的论文采用结构式摘要,应包括目的、方法、结果、讨论4个方面;非论著形式的论文采用指示性摘要,简述文章的主要内容。③正文:包括引言、资料与方法、结果、讨论;表格一律采用三线表;照片图中需说明的地方应按制版要求规范制作箭头或注字并在图注中加解释,病理图要求注明染色方法和放大倍数(或标尺),以上加有箭头、文字的图请同时提供不含箭头、文字的高清JPG格式图片;统计图请提供WMF或EMF格式图片,或带数据的Excel文件。④参考文献:参照《GB/T 7714—2015 信息与文献_参考文献著录规则》的要求著录参考文献。

6. 投稿者请务必在论文的Word文档最后写清姓名、单位、通信地址、电话及Email地址。

三、征文截止日期

2018年6月1日。

四、投稿方式

请将符合征文要求的文章摘要以Word文档形式投递到论文征稿邮箱:huaxiyixue@163.com,邮件主题命名为“2018急诊会议投稿”。

五、联系方式

征文书:张海宏,电话:13880627221。

华西急诊国际学术论坛组委会
华西医学编辑部
2017年1月