

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
- 杜竟辉, 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, 白宛光. 丙型肝炎病毒感染不同人群 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