

幽门螺杆菌感染对胃癌患者外周血MODCs功能的影响*

李巧珍^① 陈玉强^① 颜江华^② 丁园^① 王勇军^① 王生育^② 叶燕华^①
许英芝^① 何蕙香^①

摘要 目的:分析Hp阳性和Hp阴性的胃癌患者外周血单核细胞来源树突状细胞(MoDCs)功能的差异性及其临床意义。**方法:**用尿素¹⁴C呼气试验对解放军第一七四医院2011年1月至2012年10月收治的84例胃癌患者进行Hp感染状态鉴定,分别采集Hp阳性和阴性胃癌患者外周血,分离外周血单个核细胞,采用经典方法(rhGM-CSF、rhIL-4联合rhTNF- α)诱导产生DCs,采用流式细胞仪检测DCs表型,采用LDH释放法检测DCs致敏T细胞对胃癌细胞的毒性杀伤作用,采用ELISA方法检测细胞因子IL-12、IFN- γ 的分泌水平。**结果:**两组MoDCs成熟过程形态变化无差异, Hp阳性组MoDCs表面标记分子CD1a、CD80、CD83、CD86和HLA-DR平均表达百分率均高于Hp阴性组,其中CD80、CD83、CD86的表达水平差异有统计学意义,CD1a、HLA-DR差异无统计学意义。Hp阳性组DCs致敏T淋巴细胞对胃癌细胞杀伤率和IL-12、IFN- γ 的分泌水平均高于Hp阴性组($P<0.05$)。**结论:**Hp感染状态不影响胃癌患者外周血MoDCs成熟过程形态变化, Hp感染的胃癌患者MoDCs成熟和活化水平更高。

关键词 树突状细胞 幽门螺杆菌 胃癌

doi:10.3969/j.issn.1000-8179.2013.15.006

Effect of *Helicobacter pylori* on the function of peripheral blood monocyte-derived dendritic cells in gastric cancer patients

Qiaozhen LI¹, Yuqiang CHEN¹, Jianghua YAN², Yuan DING¹, Yongjun WANG¹, Shengyu WANG², Yanhua YE¹, Yingyi XU¹, Huixiang HE¹

Correspondence to: Yuqiang CHEN; E-mail: chenylq707@163.com

¹Department of Oncology, No. 174 Hospital of PLA, Xiamen 361003, China.

²Cancer Research Center, Medical College of Xiamen University, Xiamen 361005, China.

This work was supported by the Medical Science and Technology Innovation Subject of Nanjing Military Region (No. 10MA068), the Natural Science Foundation of Fujian Province (No. 2010D013), and the Science and Technology Innovation Project of Xiamen (No. 3502z20104014).

Abstract Objective: This study aimed to compare and analyze the functional differences between peripheral blood monocyte-derived dendritic cells (DCs) of *Helicobacter pylori*-positive and *H. pylori*-negative patients with gastric cancer. **Methods:** *H. pylori* infection was detected in 84 patients with gastric cancer in our hospital from January 2011 to October 2012 by the ¹⁴C-urea breath test. DCs were generated from monocytes isolated by an adherent method from the two groups of patients and cultured in the presence of rhIL-4, rhGM-CSF, and rhTNF- α . Furthermore, the expression of surface marker molecules was determined by fluorescence-activated cell sorting analysis. The cytotoxicity of DCs pulsed T cells against gastric carcinoma cell was assessed by the lactate dehydrogenase-releasing assay. The secretion of IL-12 and IFN- γ in the supernatant was determined by enzyme-linked immunosorbent assay. **Results:** No difference was observed in the morphological change of the maturation process. The mean expression of CD1a, CD80, CD83, CD86, and HLA-DR molecules in DCs of *H. pylori*-infected patients was higher than that in DCs of *H. pylori*-negative group, and the differences were statistically significant except for CD1a and HLA-DR. The cytotoxicity activities, IL-12 release, and IFN- γ release in the *H. pylori*-positive group were significantly higher than those in the *H. pylori*-negative group ($P<0.05$). **Conclusion:** *H. pylori* infection has no effect on the morphological change of the maturation process of monocyte-derived DCs. These data clearly demonstrate that monocyte-derived DCs of *H. pylori*-infected patients with gastric cancer can induce stronger maturation and activation than those of *H. pylori*-negative patients.

Keywords: dendritic cells, *Helicobacter pylori*, gastric cancer

作者单位:①厦门大学附属成功医院、中国人民解放军第一七四医院肿瘤治疗中心(福州市350025);②厦门大学医学院抗癌研究中心

*本文课题受南京军区医学科技创新课题(编号:10MA068)、福建省自然科学基金资助项目(编号:2010D013)和厦门市科技计划创新项目(编号:3502z20104014)资助

通信作者:陈玉强 chenylq707@163.com

胃癌占常见恶性肿瘤第4位,其死亡率占所有癌症的第2位^[1]。幽门螺杆菌感染是非贲门部胃腺癌发生的重要病因^[2]。流行病学调查显示全世界人口幽门螺杆菌(*H. pylori*, Hp)感染率超过50%,2/3的胃癌归因于幽门螺杆菌感染^[3]。树突状细胞(dendritic cells, DCs)是机体功能最强的专职抗原提呈细胞,也是唯一能激活初始型T细胞的抗原提呈细胞,在诱导高效而特异的抗肿瘤免疫中起关键作用。近年的研究表明胃癌组织中DCs的浸润程度与胃癌TNM分期和淋巴结转移密切相关,可作为胃癌预后指标之一^[4]。多数研究均认为Hp阳性的胃癌患者有着较良好的预后^[5-7]。Hp感染患者的预后较好,可能是由于Hp感染激发机体免疫功能,增强机体抗肿瘤免疫反应^[6-7]。进一步研究发现, Hp能影响胃黏膜DCs的数量和活性^[8-9]。然而,胃癌患者中Hp感染因素是否影响患者外周血单核细胞来源树突状细胞(monocyte-derived dendritic cells, MoDCs)的状态和功能的相关研究鲜见报道。因此,本研究通过从胃癌患者外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cells, PBMCs)中分离单核细胞诱导MoDCs的产生,并在体外开展DC相关功能检测分析,初步探讨Hp感染对胃癌患者MoDCs的影响。

1 材料与方法

1.1 研究对象

病例选自2011年1月至2012年10月在中国人民解放军第一七四医院住院的84例胃癌患者,其中男性48例,女性36例,年龄25~85岁,平均年龄59岁。病理诊断均为胃腺癌,同时排除潜在其他原发性恶性肿瘤者。胃癌的分期依据AJCC标准^[10],其中I B期7例,II期23例,III A期25例,III B期14例,IV期15例。本研究获得患者的知情同意及医院伦理委员会批准(院伦字第012号)。

1.2 主要试剂

RPMI 1640(含2 mmol/L L-谷氨酰胺)购自赛默飞世尔生物化学制品有限公司(货号SH30809.01B),链霉素/青霉素购自Sigma公司(货号P11-010);Ficoll淋巴细胞分离液购自CEDARLANE公司(货号CL5020);重组人粒-巨噬细胞集落刺激因子(rhGM-CSF)(货号SJA01)、重组人白细胞介素-4(rhIL-4)(货号SJB02)、重组人肿瘤坏死因子(rhTNF- α)(货号SJA03)购自厦门特宝生物技术公司;鼠抗人CD1a(货号12-0019)、CD-83(货号11-0839)、CD-86(货号53-0869)、CD80(货号12-0809)及HLA-DR(货号12-9956)单克隆抗体购自eBioscience公司;IL-12 ELISA试剂盒购自R&D Systems(货号

S1200);IFN- γ ELISA试剂盒购自eBioscience公司(货号BMS228HS);LDH释放法细胞毒性检测试剂盒购自Promega公司(货号G1780)。

1.3 方法

1.3.1 幽门螺杆菌阳性的鉴定 尿素¹⁴C呼气试验操作方法:受试者在早晨空腹时或进食2 h以后受试,受试前漱口用约20 mL凉饮用水送服尿素¹⁴C胶囊1粒后,静坐25 min,开启CO₂集气瓶1瓶,插入一洁净的有防倒流装置的气体导管,受试者通过导管吹气,当CO₂集气剂由紫红色变为无色时停止吹气,用洁净管向样品瓶内加入稀释闪烁液4.5 mL,加盖密封,溶解摇匀后于液闪仪上行样品¹⁴C放射性测定3 min。按公式计算结果,当¹⁴C-尿素呼气试验(¹⁴C-UBT) ≥ 100 dpm/mmol CO₂时,判定受试者为Hp阳性。

1.3.2 外周血MoDCs诱导培养 采集新鲜胃癌患者外周全血30 mL,肝素钠抗凝(20 U/mL),用1 \times PBS(1:1)稀释后缓慢加入Ficoll淋巴细胞分离液表面,离心(800 G/min, 20 min)后取白膜层细胞,用1 \times PBS洗涤离心2次,获得PBMCs。用无血清RPMI 1640重悬,调整细胞浓度 2×10^6 /mL,加入6孔板,37 $^{\circ}$ C 5% CO₂培养3 h,吸弃悬浮细胞,用D-Hank's液轻洗2次,获得贴壁细胞。加入3 mL/孔含有10%胎牛血清的RPMI 1640培养基和细胞因子rhGM-CSF(1 000 U/mL)、rhIL-4(500 U/mL),3 d半量换液1次,第6天加入rhTNF- α (100 ng/mL),第7天收获悬浮成熟DC。

1.3.3 流式细胞仪检测DCs表面成熟标记分子 采用直接免疫荧光标记、流式细胞仪检测。每管取待测细胞悬液100 μ L/EP管(1×10^5 个/100 μ L)共5管,其中1管作为空白对照,余4管分别加入荧光抗体PE-CD1a 5 μ L、PE-CD86 20 μ L、FITC-CD83 20 μ L、FITC-CD80 20 μ L、PE-HLA-DR 5 μ L,4 $^{\circ}$ C, 30 min; PBS洗涤2次,加入4%多聚甲醛固定液室温固定15 min,之后PBS洗涤1次,1 mL PBS稀释上机检测。

1.3.4 LDH释放法检测对胃癌细胞毒性杀伤作用 靶细胞:用含10%胎牛血清的RPMI 1640培养对数生长期胃癌细胞株BGC-823。以 1×10^4 /孔接种于96孔板。效应细胞:收集上述1.3.2方法中获得的非贴壁单个核细胞(T淋巴细胞),加入RPMI 1640(含rhIL-2 200 U/mL低浓度培养),每2~3天半量换液,培养7 d作为反应细胞;刺激细胞为单核细胞诱导培养7 d收获的成熟DCs,加入丝裂霉素C 25 μ g/mL,37 $^{\circ}$ C, 30 min处理并充分洗涤。根据参考文献[11-12]方法将丝裂霉素处理后的DCs和T淋巴细胞按10:1比例混合培养7 d(第1阶段)。再用丝裂霉素处理后的DCs和第1阶段获得的T淋巴细胞按10:1比例共培养

第7~14天(第2阶段)来筛选特异性细胞毒性T淋巴细胞(cytotoxic T lymphocytes, CTLs)即为效应细胞。

上述方法收获的特异性T淋巴细胞以 2×10^5 /孔密度接种,即效靶比(20:1)制备效应细胞靶细胞混合液。实验分,对照组:加入100 μ L/孔细胞培养液;靶细胞自然释放组:加入靶细胞培养液和细胞培养液各50 μ L/孔;靶细胞最大释放组:每孔加入靶细胞培养液50 μ L、细胞培养液各40 μ L及细胞裂解液10 μ L;效应细胞自发释放组:加入效应细胞悬液和培养液50 μ L/孔;实验组:加入效靶细胞混合液100 μ L/孔。培养板置37 $^{\circ}$ C,5%CO₂孵育4 h,离心(250 g/min,4 min)。取50 μ L细胞上清液加入另一96孔培养板中,加入50 μ L/孔底物溶液,室温避光培养30 min,加终止加入终止液50 μ L,酶标仪490 nm处测定OD值。计算公式:细胞毒活性(%)=(实验孔OD值-效应细胞自发释放孔OD值-靶细胞自发释放孔OD值)/(靶细胞最大释放孔OD值-靶细胞自发释放孔OD值) \times 100%。

1.3.5 ELISA检测IL-12和IFN- γ 的分泌量 收集培养第7天成熟DCs的上清,根据IL-12 ELISA试剂盒步骤检测IL-12分泌量。收集上述1.3.4方法DCs和T淋巴细胞共培养第14天的上清,根据IFN- γ ELISA试剂盒检测IFN- γ 分泌量。

1.4 统计学方法

所有实验数据均采用SPSS 18.0统计软件进行处理,正态分布计量资料均数采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,两样本比较用独立样本 t 检验,临床资料同质性差异比较采用 χ^2 检验法,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 胃癌患者基本情况

84例胃癌患者经鉴定,Hp阳性组53例,Hp阴性组31例,Hp感染率63.1%,平均年龄59(25~83)岁,根据患者的性别比例、平均年龄、手术切除情况、辅助化疗情况、AJCC分期进行归纳分析和同质性差异比较(表1)。

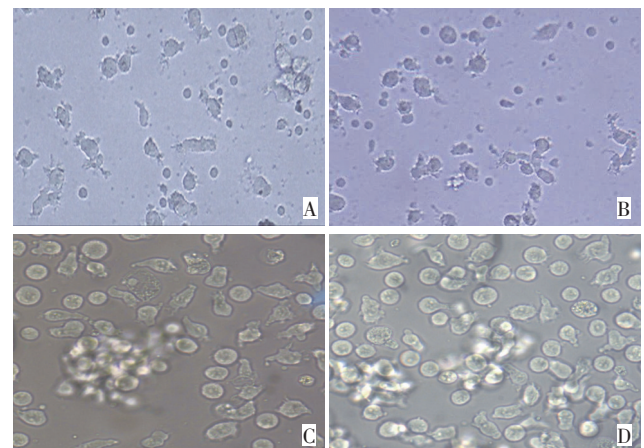
2.2 Hp阳性和阴性组的DCs形态学观察

倒置显微镜观察外周血分离的PBMCs,培养2 h后,获得贴壁细胞,多为体积小、圆形的单核细胞,培养第3~4天,细胞体积增大,细胞表面可见细小毛刺状突起,部分细胞聚集成大小不等的细胞集落,部分成悬浮生长,部分半悬浮生长,培养第6~7天加入rhTNF- α 后细胞逐渐从聚集状态变为分散状态,细胞大多呈悬浮状生长,胞体较大,形态不规则,细胞表面大量毛刺状突起。观察Hp组阳性组和阴性组DCs培养过程形态变化无差别(图1)。

表1 Hp阳性和阴性胃癌患者临床特点

Table 1 Clinical data of *Helicobacter pylori*-positive and -negative patients with gastric cancer

Clinical data	Group <i>H.pylori</i> -positive (n=53)	Group <i>H.pylori</i> -negative (n=31)	<i>P</i>
Sex			1.000
Male	30	18	
Female	23	13	
Age (years)			0.650
≥ 59	29	19	
< 59	24	12	
Surgical resection	33	18	0.818
Adjuvant chemotherapy	48	27	0.720
AJCC stages			0.634
I B	5	2	
II	17	6	
III A	15	10	
III B	7	7	
IV	9	6	



A-B: Immature DCs of Group *H.pylori*-positive on day 5 of culture; C-D: Mature DCs of Group *H.pylori*-positive on day 7 of culture

图1 DCs成熟过程的形态变化($\times 400$)

Figure 1 Morphological change of the maturation process of DCs ($\times 400$)

2.3 Hp感染胃癌患者外周血MoDCs成熟标记分子表达率

用流式细胞仪检测培养第7天DC成熟标记分子表达率,Hp阳性胃癌患者外周血MoDCs表面CD1a、CD80、CD83、CD86表达百分率分别为 32.22 ± 3.85 、 $62.98 \pm .80$ 、 59.58 ± 4.36 、 64.94 ± 4.38 、 69.26 ± 4.05 ,低于Hp阴性组(分别为 31.66 ± 4.09 、 60.11 ± 4.29 、 56.97 ± 4.21 、 60.20 ± 3.74 、 68.93 ± 4.04),经统计学分析两组CD80、CD83、CD86的表达水平差异有统计学意义,CD1a、HLA-DR差异无统计学意义。

2.4 Hp感染胃癌患者外周血MoDCs致敏T淋巴细胞对胃癌细胞毒性杀伤作用检测

根据上述1.3.4方法, Hp阳性胃癌患者外周MoDCs致敏的T淋巴细胞对胃癌细胞杀伤率(31.1±6.0)%显著高于Hp阴性组(27.5±5.5)%, 经t检验, 差异有显著性意义(P<0.01图2)。

2.5 Hp感染胃癌患者外周血MoDCs分泌更高水平IL-12、IFN-γ

用ELISA方法分别检测Hp阳性和阴性胃癌患者外周血第7天成熟DCs上清中IL-12, DCs致敏T淋巴细胞第14天的IFN-γ的分泌平均水平, Hp阳性组分别为(391±41)、(1 031±63)pg/mL, 高于Hp阴性组[分别为(271±39)、(986±59)pg/mL], 用独立样本t检验, 两组差异有统计学意义(均P<0.05, 图3)。

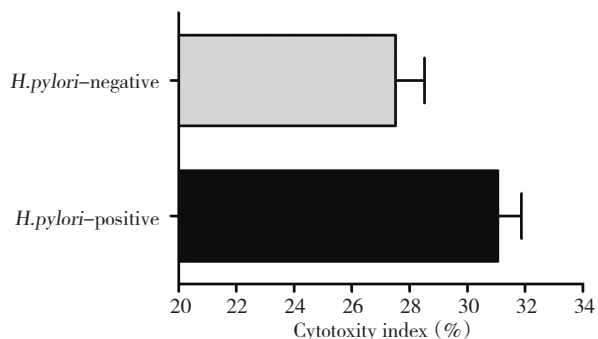
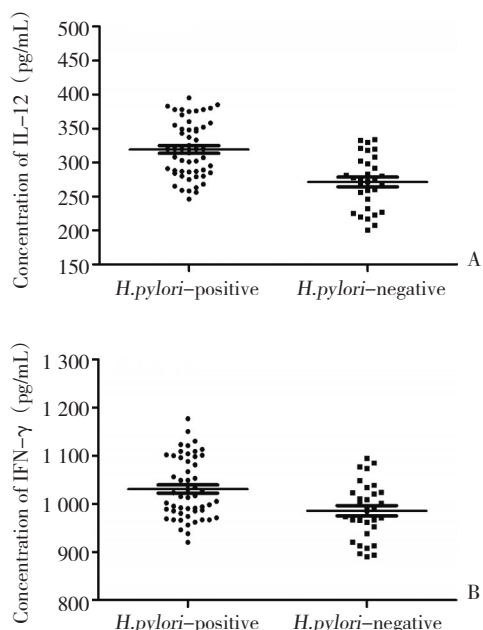


图2 Hp阳性与阴性胃癌患者CTLs对胃癌细胞BGC823的杀伤率
Figure 2 Cytotoxic T lymphocytes in groups of *Helicobacter pylori*-positive and -negative patients with gastric cancer



A: The secretion of IL-12 in the supernatant of different DCs on day 7 of culture; B: The secretion of IFN-γ in the supernatant of different CTLs on day 14 of culture

图3 培养上清液中细胞因子IL-12和IFN-γ的分泌量
Figure 3 Secretion of IL-12 and IFN-γ in the supernatant

3 讨论

Hp是定植于胃黏膜表面的革兰氏阴性螺旋状微需氧菌, 自人类1974年发现幽门螺杆菌以后, 1994年世界卫生组织/国际癌症研究机构(WHO/IARC)将Hp定为I类致癌原, Hp推动了人类对胃癌的流行病学和发病机制的全新诠释^[3]。近年来经前瞻性研究^[7,13]发现Hp阳性胃癌患者预后更佳, 认为Hp感染可作为手术切除后胃癌患者的预后指标之一。胃组织中HLA-DR⁺DCs能被Hp激活, 从而诱导Th1型免疫效应和分泌大量IFN-γ, 并且Hp阳性者胃黏膜中HLA-DR⁺DCs数量和活性高于Hp阴性者^[8]。体外实验^[14-16]亦发现Hp可影响DCs的成熟状态, Hp能诱导DC成熟, 上调DCs表面成熟标志分子如CD80、CD83、CD86和MHC II等的表达, 促进细胞因子IL-6、IL-8及IL-12等的分泌, 但主要诱导DCs分泌Th1细胞因子, 使Th0细胞增殖分化为Th1细胞, 介导细胞免疫反应, 促进DCs和效应T细胞产生IFN-γ, 增强抗肿瘤活性。因此可以认为在机体的免疫反应中, Hp与DCs密切相关, Hp影响着DCs的功能, Hp感染状态对胃癌患者外周血MoDCs可能存在影响。

DCs功能鉴定往往通过形态学、细胞表面标志和刺激初始型T细胞增殖能力三个方面加以综合判断^[17]。目前国内、外比较公认的鉴定DCs的分子是CD1a和CD83。CD1a阳性细胞数可反映DCs的数量, 主要在未成熟DCs上表达, CD83分子是DCs的成熟标记, 只在成熟DCs上表达, 在DCs成熟过程共刺激分子CD80、CD86也显著上调表达^[18]。MHC II类分子HLA-DR在未成熟DCs和成熟DCs上均可高表达。成熟DCs可分泌包括IL-12、IL-10、TNF-α、TGF-β、IL-6、IL-23、IL-1β等细胞因子, 诱导不同类型的T细胞反应。

本实验采集84例胃癌患者的外周血, 按Hp阳性和阴性分组, 外周血分离PBMCs经rhGM-CSF、rhIL-4和rhTNF-α联合培养7d获得成熟DCs, 并对两组的DCs功能进行研究。观察两组DCs成熟过程, 形态变化无明显差异。用流式细胞仪测定DCs表面分子表达水平, 发现Hp阳性胃癌患者CD1a、CD80、CD83、CD86和HLA-DR的平均表达率均高于Hp阴性胃癌患者, 两组CD80、CD83、CD86的表达水平差异有统计学意义。两组中CD1a、HLA-DR差异无统计学意义, 与相关文献中CD1a、HLA-DR在未成熟DCs高表达符合。ELISA法测量两组IL-12、IFN-γ的平均分泌量Hp阳性组均高于阴性组, 差异均有统计学意义。LDH释放法检测DCs致敏T淋巴细胞对胃癌细胞平均杀伤率Hp阳性高于Hp阴性组, 差异有统计学意义。综上实验结果, Hp感染状态对胃癌患者外周

血 MoDCs 功能存在影响。

胃癌患者体内的微环境和正常人相比已经发生了很大改变,胃癌细胞可以分泌血管内皮细胞生长因子、IL-10、基质金属蛋白酶、肿瘤生长因子、表皮生长因子等一系列细胞因子,这些细胞因子能抑制 DCs 的成熟和迁移,而胃癌患者血清中一些促进 DCs 成熟的细胞因子如 IL-12 反而减少^[19]。因此,胃癌患者体内 DCs 的分化和功能是受损的,DC 功能缺陷是导致胃癌肿瘤免疫逃逸而能够在体内持续生长和发生转移的重要原因。目前针对胃癌患者外周血 MoDCs 的研究^[20-21]认为胃癌患者 MoDCs 免疫功能低,数量不足,其 MoDCs 直接应用将不能产生良好的免疫激发效应。所以,如何提高 DCs 抗原提呈功能,上调 T 细胞活化所需共刺激分子和细胞因子进而打破胃癌患者免疫耐受和诱导抗肿瘤免疫具有重大意义。本研究发现 Hp 感染胃癌患者外周血 MoDCs 成熟和活化水平较 Hp 阴性组有显著性差异, Hp 感染的胃癌患者外周血 MoDCs 成熟度更高、抗原提呈功能更强。

这些结果提示, Hp 相关成分(如 Hp 全菌裂解物、CagA 蛋白、VacA 蛋白等)有望在以 MoDCs 为基础的胃癌细胞免疫治疗研究中发挥更多作用。继续开展相关方面的体内外研究,以期建立一种高效特异的胃癌免疫细胞个体化治疗方案。

参考文献

- González CA, Agudo A. Carcinogenesis, prevention and early detection of gastric cancer: where we are and where we should go[J]. *Int J Cancer*, 2012, 130(4):745-753.
- Fock KM, Ang TL. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection and gastric cancer in Asia[J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2010, 25(3):479-486.
- Peleteiro B, La Vecchia C, Lunet N. The role of *Helicobacter pylori* infection in the web gastric cancer causation[J]. *Eur J Cancer Prev*, 2012, 21(2):118-125.
- 关弘,温文,黄忠华,等.肿瘤浸润树突状细胞在胃腺癌分布及 P53 表达的临床病理意义[J]. *中外医疗*, 2009, 28(22):26-27.
- Qiu HB, Zhang LY, Keshari RP, et al. Relationship between *H. Pylori* infection and clinicopathological features and prognosis of gastric cancer[J]. *BMC Cancer*, 2010, 10:374.
- Xue LJ, Su QS, Yang JH, et al. Autoimmune responses induced by *Helicobacter pylori* improve the prognosis of gastric carcinoma[J]. *Med Hypotheses*, 2008, 70(2):273-276.
- Meimarakis G, Winter H, Assmann L, et al. *Helicobacter pylori* as a prognostic indicator after curative resection of gastric carcinoma: a prospective study[J]. *Lancet Oncol*, 2006, 7(3):211-222.
- Bimczok D, Clements RH, Waites KB, et al. Human primary gastric dendritic cells induce a Th1 response to *H.pylori*[J]. *Mucosal Immunol*, 2010, 3(3):260-269.
- Suzuki T, Kato T, Ohara S, et al. Localization of antigen-presenting cells in *Helicobacter pylori*-infected gastric mucosa[J]. *Pathol Int*, 2002, 52(4):265-271.
- Edge SB, Compton CC. The American Joint Committee on Cancer: the 7th edition of the AJCC cancer staging manual and the future of TNM[J]. *Ann Surg Oncol*, 2010, 17(6):1471-1474.
- Thurner B, Röder C, Dieckmann D, et al. Generation of large numbers of fully mature and stable dendritic cells from leukapheresis products for clinical application[J]. *J Immunol Methods*, 1999, 223(1):1-15.
- Bernhard H, Huseby ES, Hand SL, et al. Dendritic cells lose ability to present protein antigen after stimulating antigen-specific T Cell responses, despite upregulation of MHC Class II expression[J]. *Immunobiology*, 2000, 201(5):568-582.
- Kang SY, Han JH, Ahn MS, et al. *Helicobacter pylori* infection as an independent prognostic factor for locally advanced gastric cancer patients treated with adjuvant chemotherapy after curative resection[J]. *Int J Cancer*, 2012, 130(4):948-958.
- Rathinavelu S, Kao JY, Zavros Y, et al. *Helicobacter pylori* outer membrane protein 18 (Hp1125) induces dendritic cell maturation and function[J]. *Helicobacter*, 2005, 10(5):424-432.
- Zhang M, Berndt BE, Eaton KA, et al. *Helicobacter pylori*-pulsed dendritic cells induce *H.pylori*-specific immunity in mice[J]. *Helicobacter*, 2008, 13(3):200-208.
- Kim JM, Kim JS, Yoo DY, et al. Stimulation of dendritic cells with *Helicobacter pylori* vacuolating cytotoxin negatively regulates their maturation via the restoration of E2F1[J]. *Clin Exp Immunol*, 2011, 166(1):34-45.
- Ardavin C. Origin, precursors and differentiation of mouse dendritic cells[J]. *Nat Rev Immunol*, 2003, 3(7):582-590.
- Perez L, Shurin MR, Collins B, et al. Comparative analysis of CD1a, S-100, CD83, and CD11c human dendritic cells in normal, premalignant, and malignant tissues[J]. *Histol Histopathol*, 2005, 20(4):1165-1172.
- Takahashi A, Kono K, Itakura J, et al. Correlation of vascular endothelial growth factor-C expression with tumor infiltrating dendritic cells in gastric cancer[J]. *Oncology*, 2002, 62(2):121-127.
- Dhodapkar MV, Steinman RM, Krasovsky J, et al. Antigen specific inhibition of effector T cell function in humans after injection of immature dendritic cells[J]. *J Exp Med*, 2001, 193(2):233-238.
- 雷晓,余佩武,饶芸,等.胃癌患者外周血 MoDCs 功能活性检查及意义[J]. *第三军医大学学报*, 2006, 5(28):422-424.

(2012-12-31 收稿)

(2013-03-13 修回)

(本文编辑:郑莉)