

· 临床研究 ·

CD8⁺CD28⁻Ts、CD3⁺CD56⁺NKT 细胞在 B 细胞非霍奇金淋巴瘤患者外周血中分布的分析

史艳侠¹, 张晓实², 刘冬耕¹, 管忠震¹, 姜文奇¹

Distribution of CD8⁺CD28⁻ T Cells and CD3⁺CD56⁺ NKT Cells in Peripheral Blood of Patients with B-cell Non-Hodgkin's Lymphoma

SHI Yan-Xia¹, ZHANG Xiao-Shi², LIU Dong-Geng¹, GUAN Zhong-Zhen¹, JIANG Wen-Qi¹

1. 中山大学肿瘤防治中心
内科,
广东 广州 510060
2. 中山大学肿瘤防治中心
生物治疗科,
广东 广州 510060

1. Department of Medical Oncology,
Cancer Center,
Sun Yat-sen University,
Guangzhou, Guangdong, 510060,
P. R. China

2. Department of Biotherapy,
Cancer Center,
Sun Yat-sen University,
Guangzhou, Guangdong, 510060,
P. R. China

通讯作者: 姜文奇

Correspondence to: JIANG Wen-Qi

Tel: 86-20-87343168

Fax: 86-20-87343535

E-mail: wqjiang@yahoo.com

基金项目 广东省自然科学基金资助
项目 (No. 04009388)

Grant: Natural Science Foundation
of Guangdong Province
(No. 04009388)

收稿日期: 2004-08-01

修回日期: 2004-09-15

[ABSTRACT] BACKGROUND & OBJECTIVE: Patients with B-cell non-Hodgkin's lymphoma (B-NHL) usually have a poor immune response. CD8⁺CD28⁻ T cells (Ts) and CD3⁺CD56⁺ NKT cells (NKT) are new types of immune suppressor cells. This study was to analyze proportions and changes of them in peripheral blood of patients with B-NHL, explore their effects on immunosuppression of B-NHL, and the influence factors, to provide reference for intervening in immune function of B-NHL patients. **METHODS:** Peripheral blood samples were got from 79 naive patients with B-NHL before treatment, and 25 healthy people, samples of 18 patients who got complete remission (CR) after 4-6 cycles of chemotherapy were collected either before chemotherapy or after CR. Proportions of Ts and NKT were analyzed by flow cytometry (FCM). **RESULTS:** Compared with control group, proportions of Ts, and NKT in peripheral blood of B-NHL patients before chemotherapy were (18.19 ± 5.03)%, and (6.08 ± 3.29)%, significantly higher than those of healthy people [(11.20 ± 3.49)%, $P < 0.01$; (3.52 ± 1.56)%, $P < 0.01$]. There were no significant differences of proportions of Ts among patients with B-NHL of different clinical stages ($P > 0.05$), and different malignant grade ($P > 0.05$), and between before treatment and after CR ($P = 0.55$). No significant difference of proportions of NKT was found among patients with B-NHL of different clinical stages ($P > 0.05$), and different malignant grade ($P > 0.05$), and between before treatment and after CR ($P = 0.39$). **CONCLUSION:** Populations of Ts and NKT commonly increased in peripheral blood of patients with B-NHL, they may play roles in immunosuppression of B-NHL.

KEYWORDS: Non-Hodgkin's lymphoma; T subsets; CD8⁺CD28⁻ T cells; CD3⁺CD56⁺ NKT cells

【摘要】 背景及目的: 目前认为 B 细胞非霍奇金淋巴瘤 (B-NHL) 常伴随免疫抑制, CD8⁺CD28⁻Ts (Ts) 细胞和 CD3⁺CD56⁺NKT (NKT) 是新鉴定的新型免疫抑制性调节细胞, 在肿瘤的免疫抑制及免疫逃逸机制中起重要作用, 但它们在 B 细胞淋巴瘤患者外周血的分布情况及其免疫抑制中的作用目前尚不清楚。本文通过分析两者在化疗前及化疗后 B-NHL 患者外周血中比例及变化规律, 初步探讨它们在 B-NHL 的免疫抑制作用及其影响因素, 为有效干预患者的免疫功能提供参考。方法: 应用流式细胞仪检测 79 例治疗前的 B-NHL 患者、经 4~6 周期化疗后完全缓解 (CR) 的 18 例患者、30 例健康志愿者外周静脉血中 NKT 及 Ts 细胞的比例。结果: 在 79 例治疗前 B-NHL 患者的外周血中, Ts 细胞比例为 (18.19 ± 5.03)%, 较正常对照组 (11.20 ± 3.49)% 明显增高 ($P < 0.01$); NKT 的比例为 (6.08 ± 3.29)%, 亦较正常对照组的 (3.52 ± 1.56)% 明显增高 ($P < 0.01$)。Ts 在不同临床分期的患者之间无显著性差异 [$P > 0.05$]; I 期为 (17.56 ± 4.10)%, II 期为 (18.05 ± 5.64)%, III 期为 (18.14 ± 5.58)%, IV 期为 (18.95 ± 4.64)%], 在不同恶性程度的患者之间亦无显著

性差异 [$P > 0.05$;低度恶性为 $(17.81 \pm 5.24)\%$ 、中度恶性为 $(18.37 \pm 4.83)\%$ 、高度恶性为 $(18.31 \pm 5.93)\%$] ;在治疗前 [$(18.64 \pm 4.55)\%$] 和 CR 后 [$(19.42 \pm 4.95)\%$] 患者之间亦无显著性差异 ($P = 0.55$)。NKT 在不同临床分期患者之间无显著性差异 [$P > 0.05$; I 期为 $(6.23 \pm 4.31)\%$ 、II 期为 $(5.36 \pm 2.47)\%$ 、III 期为 $(5.68 \pm 2.98)\%$ 、IV 期为 $(7.33 \pm 3.30)\%$] ,在不同恶性程度的患者之间亦无显著性差异 [$P > 0.05$;低度恶性 $(6.78 \pm 3.77)\%$ 、中度恶性 $(5.76 \pm 3.11)\%$ 、高度恶性 $(5.92 \pm 2.5)\%$] ,在治疗前 [$(6.04 \pm 3.17)\%$] 和 CR 后 [$(6.47 \pm 3.75)\%$] 患者之间亦无显著性差异 ($P = 0.39$)。结论 :Ts、NKT 在 B-NHL 患者外周血中比例普遍升高 ,提示两者可能在 B-NHL 的免疫抑制中发挥作用。

关键词 :非霍奇金淋巴瘤 ;T 细胞亚群 ;CD8⁺CD28⁻T ;CD3⁺CD56⁺NKT

中图分类号 :R733.1 文献标识码 :A

文章编号 :1000-467X(2004)11s-1437-06

近年来,以美罗华为代表的免疫治疗在 B-NHL 的治疗中取得了突破性进展,但疗效仍有待于进一步提高,因此探讨影响免疫治疗的因素已成为研究的热点之一。随着对肿瘤免疫机制了解的深入,发现机体的免疫功能状态是影响免疫治疗疗效的关键性因素,而免疫抑制性调节细胞所介导的免疫抑制状态是限制机体产生有效抗肿瘤免疫反应的重要原因。CD8⁺CD28⁻Ts (简称 Ts) 和 CD3⁺CD56⁺NKT (简称 NKT) 是近年来新鉴定的免疫抑制性调节细胞之一^[1,2],本课题组已通过回顾性分析发现,在多种实体瘤患者中普遍存在着 Ts 和 NKT 比例增高的现象,提示在肿瘤患者中,二者介导的免疫抑制可能是一个普遍的现象,在 B-NHL 的免疫抑制中也可能发挥作用,可能会影响肿瘤的发展,并进一步影响其临床免疫治疗的效果。因此本研究通过了解在 B-NHL 患者外周血中 Ts、NKT 的分布情况及其相互关系,探讨 B-NHL 的免疫抑制机制,为进一步寻找有效的干预手段、提高免疫治疗效果提供理论基础。

1 资料与方法

1.1 资料

1.1.1 病例资料 收集本院 2003 年 6 月~2004 年 3 月期间在中山大学肿瘤防治中心经病理确诊的初治 B-NHL 患者共 79 例,随访其中经化疗后达到 CR 或 CRu 的患者 18 例,将其治疗前与化疗后外周血 Ts、NKT 细胞的比例进行对比分析。所有患者 3 个月内未接受过输血及其它治疗,无传染性肝炎等病毒感染性疾病,无心、肝、肾等重要脏器的合并症,

无自身免疫性疾病。其中 18 例化疗后患者接受检测的时间与前一次化疗的间隔为 3~4 周,除化疗外未接受过其他治疗,健康志愿者 30 例 (表 1)。

表 1 79 例 B-NHL 患者和 30 例健康志愿者的临床资料

Table 1 Clinical data of 79 patients with B cell non-Hodgkin's lymphoma (B-NHL) and 30 healthy people

Items	B-NHL	B-NHL after CR	Healthy control
Total	79	18	30
Male	43	6	18
Female	36	12	12
Age (year)	46(19-75)	47(20-67)	37(21-53)
Pathologic type			
FL	12	4	
MALT	11	6	
SLL	2	0	
DLBCL	39	7	
B-NHL	3	1	
Burkitt's	2	0	
Others	10	0	
Differentiation			
Low	25	10	
Intermediate	44	7	
High	10	1	
Clinical stage			
I	17	3	
II	19	4	
III	25	7	
IV	18	4	
PS status			
≤2	72		
≥3	7		
LDH			
≤245 U/L	43		
> 245 U/L	36		

1.1.2 主要抗体及试剂 抗 CD3-PE-CY5、抗 CD56-FITC、抗 CD8-PE-CY5、抗 CD28-PE 及同型对照 IgGα₁ 均购自 BD Pharmingen 公司。固定剂 (C fixation Buffer) 为 BioScience 公司。Ficoll 淋巴细胞分离液 (1.077), 上海恒信化学试剂有限公司。PBS 溶液: NaCl 8 g、KCl 0.4 g、Na₂HPO₄ · H₂O 0.06 g、KH₂PO₄ 0.2 g、BSA 5 g, 溶解后调 pH 值至 7.2, 定容至 1 L, 分装后过滤除菌, 4℃ 保存。

1.1.3 主要仪器 低温离心机为美国 Kendro 公司产品, 流式细胞仪 ELITE, Coulter 产品。

1.2 方法

1.2.1 使用双标方法流式细胞术检测外周血干细胞 (peripheral blood mononuclear cells, PBMC) 膜表面

CD3、CD56、CD8、CD28 的表达^[1] 抽取 2 ml 外周血, Ficoll 密度梯度离心分离 PBMC, pH7.2 的 PBS 洗 2 遍, 用含 2% formaldehyde、pH 值为 7.2 的 PBS 固定 15 min, 然后用含 0.5% BSA (pH 7.2) 的 PBS 洗 2 遍, 然后加入抗体, 室温下避光孵育 15 min, 使用流式细胞仪检测其表达情况。每个样本每次检测 1×10^4 个细胞。

1.2.2 统计学处理 使用 SPSS 11.0 软件进行统计学分析。采用 *t* 检验分别比较 B-NHL 患者组、正常对照组之间, 治疗前和 CR 后之间 Ts、NKT 细胞亚群比例的差别, $P < 0.05$ 定义为有统计学意义。

2 结果

2.1 B-NHL 患者组、正常对照组之间 T 细胞亚群的比较

正常对照组的结果显示, Ts、NKT 细胞的阳性率均与年龄、性别无明显的相关性 ($P > 0.05$)。而两种细胞在 B-NHL 患者组中的比例均明显高于正常对照组 ($P < 0.05$)。见表 2 图 1。

表 2 B-NHL 患者、正常对照组之间 Ts、NKT 细胞比例的比较 (% , $\bar{x} \pm s$)

Table 2 Proportions of Ts and NKT cells in B-NHL patients and healthy people (% , $\bar{x} \pm s$)

Group	CD8 ⁺ CD28 ⁻	CD3 ⁺ CD56 ⁺
B-NHL	18.19 ± 5.03	6.08 ± 3.29
Control	11.20 ± 3.49	3.52 ± 1.56
<i>P</i> value	< 0.01	< 0.01

2.2 免疫抑制性调节细胞与临床分期之间的关系

在治疗前 B-NHL 患者组, 两种淋巴细胞的比例在不同的临床分期之间均无统计学意义 ($P > 0.05$, 表 3)。在 LDH 高于正常组和 LDH 正常组之间比较亦未显示出统计学意义 ($P > 0.05$, 表中未列出), 该结果提示两种细胞在外周血中的比例与肿瘤负荷之间均无明显的相关性。

表 3 免疫抑制性调节细胞的比例在不同临床分期之间的比较 (% , $\bar{x} \pm s$)

Table 3 Correlation of proportions of Ts and NKT cells to clinical stage (% , $\bar{x} \pm s$)

Clinical stage	Ts	NKT
I	17.56 ± 4.10	6.23 ± 4.31
II	18.05 ± 5.64	5.36 ± 2.47
III	18.14 ± 5.58	5.68 ± 2.98
IV	18.95 ± 4.64	7.33 ± 3.30
<i>P</i> value	> 0.05	> 0.05

2.3 免疫抑制性调节细胞与病理分级之间的相关性

参照 1994 REAL 分类按恶性程度将不同病理类型的 B-NHL 患者分为低度恶性、中度恶性、高度恶性 3 组, 统计学分析未显示出在不同恶性程度之间, 各组细胞的阳性率有统计学意义 ($P > 0.05$) (见表 4)。由于本研究中绝大多数患者 PS ≤ 2, 因此未比较 PS 状态对各组细胞阳性率的影响。

表 4 免疫抑制性调节细胞与恶性程度之间的相关性 (% , $\bar{x} \pm s$)

Table 4 Correlation of proportions of Ts and NKT cells to malignant degree (% , $\bar{x} \pm s$)

Malignant degree	Ts cells	NKT cells
Low	17.81 ± 5.24	6.78 ± 3.77
Medium	18.37 ± 4.83	5.76 ± 3.11
High	18.31 ± 5.93	5.92 ± 2.5
<i>P</i> value	> 0.05	> 0.05

2.4 治疗前 79 例患者和 CR 后 18 例患者的 Ts、NKT 在外周血中比例的对比分析

如图 2、3 所示, 治疗前 Ts 细胞的比例为 (18.64 ± 4.55)%, CR 后比例为 (19.42 ± 4.95)% ($P = 0.55$); NKT 的比例在治疗前为 (6.04 ± 3.17)%, CR 后比例为 (6.47 ± 3.75)% ($P = 0.39$)。CR 后的 18 例患者的上述指标均较治疗前略有增高, 但均无统计学意义。

3 讨论

免疫抑制性调节细胞是近年来发现的一类重要的调节细胞, 它们在机体的正常免疫耐受中起着关键性作用, 同时在肿瘤的免疫抑制调控中发挥着重要作用。因此, 探讨 B-NHL 中免疫抑制性调节细胞的分布及其对病情演变、临床免疫治疗的影响, 对于寻找更合理、有效的综合免疫手段、提高 B-NHL 的治疗效果具有重要意义。

CD28 是 T 细胞表面 TCR 的共刺激分子, 在 T 细胞活化和信号传递方面具有重要作用。在正常情况下, 约 50% CD8⁺T 细胞表达 CD28。近年来研究发现, CD8⁺CD28⁻Ts (Ts) 也是一种免疫抑制性调节细胞, 在机体的免疫耐受中发挥作用。Ts 可以在外周通过持续和慢性的抗原刺激产生, 其表型特征为: CD3⁺, CD5high, CD8high, CD16, CD27⁺, CD56⁻, CD62L⁺CD69⁺, CD95⁺, DNAM-1⁺, MHC II⁺, 可表达细胞内的 γ -IFN, 但是不分泌 γ -IFN。它无细胞毒的功能, 而以 MHC I 限制性、细胞接触依赖性的方式

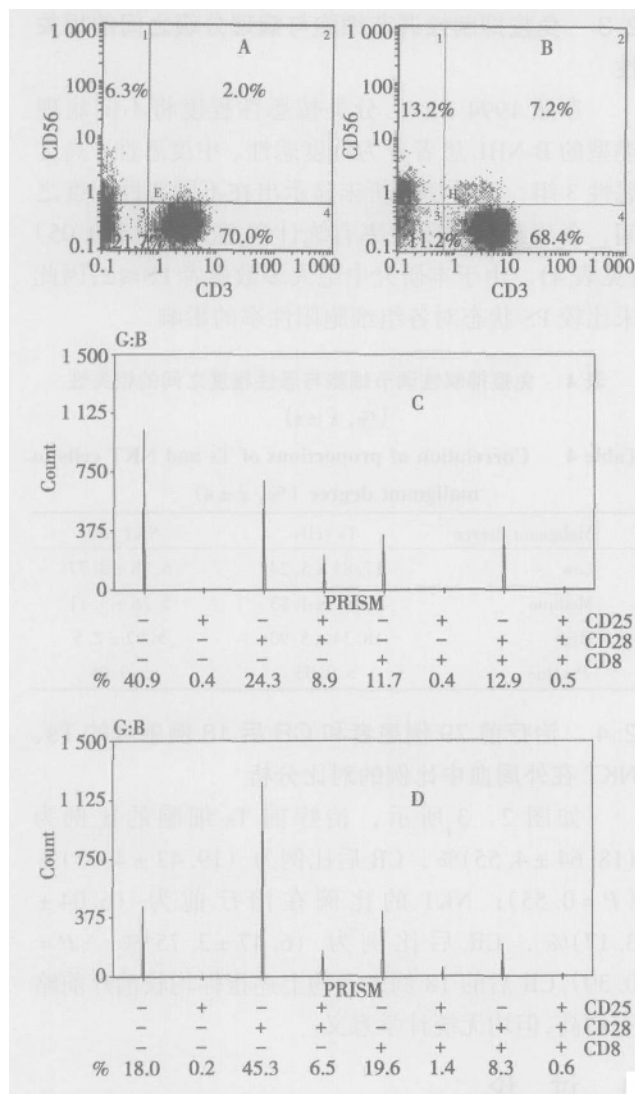


图1 B-NHL 组与正常对照组 Ts、NKT 细胞比例的比较 (A、C 为正常对照组 ,B、D 为 B-NHL 组)

Figure 1 Proportions of Ts and NKT cells in patients with B cell non-Hodgkin's lymphoma (B-NHL) and healthy people
A, C: healthy people; B, D: B-NHL patients.

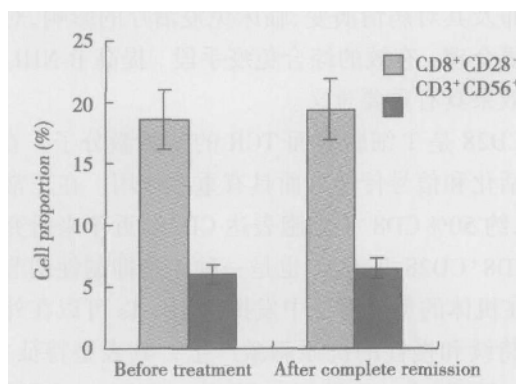


图2 B-NHL 患者治疗前和 CR 后免疫抑制性调节细胞比例的对比分析

Figure 2 Proportions of Ts and NKT cells in B-NHL patients before chemotherapy and after complete remission

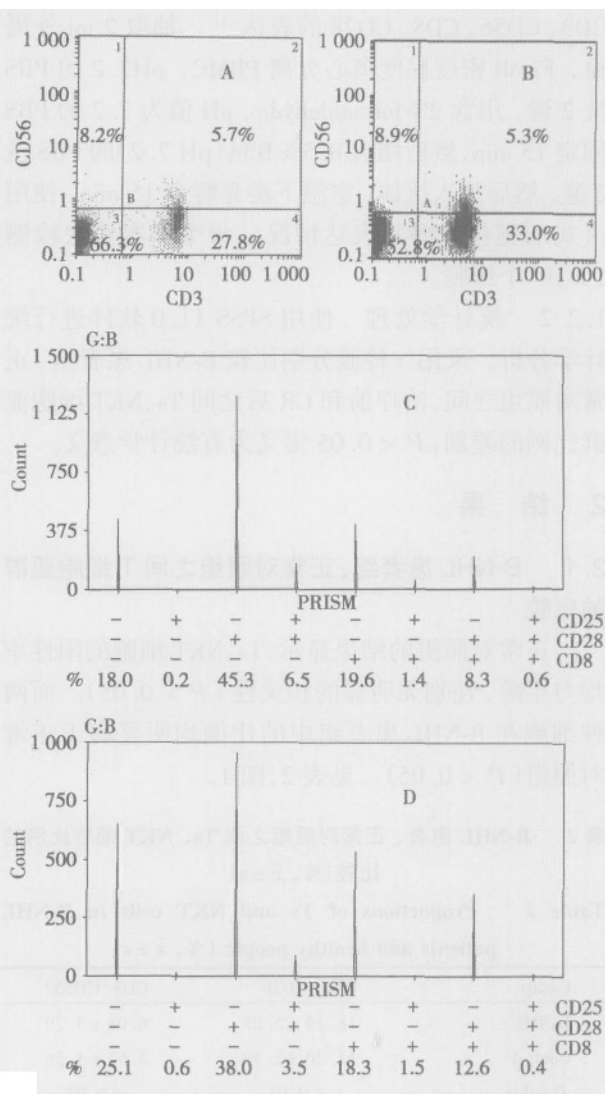


图3 B-NHL 患者治疗前和 CR 后 Ts、NKT 细胞比例的比较 (A、C 为治疗前组 ,B、D 为 CR 后组)。

Figure 3 Proportions of Ts and NKT cells in B-NHL patients before chemotherapy and after complete remission (CR)
A, C: before chemotherapy; B, D: after CR.

通过 APC 抑制 CD4⁺Th 细胞的增殖反应,诱导产生新的 T 调节细胞和抑制性的 APC,启动免疫耐受事件的级联反应,导致免疫耐受^[13-14]。

有文献报道 Ts 在多种肿瘤中的比例增高^[5-7]。陈腾等^[5]报道 35 例大肠癌中 Ts 的比例明显增高 (21.6%, 正常对照组 6.25%)。裴宇容等^[6]报道在 20 例原发性肝癌外周血中 Ts 比例明显增高 [(9.3 ± 5.01)%, 正常对照组 (9.04 ± 4.01)%]。Melichar 等^[8-10]报道在胆管癌、大肠癌患者的外周血、卵巢癌腹水中 CD8⁺CD28⁻Ts 比例均明显增加。在本研究中, Ts 细胞在 B-NHL 患者的外周血中比例为 (18.19 ± 5.03)%, 较正常对照组的 (11.2 ±

3.49)% 明显增高,与以上报道相符合,提示 CD8⁺CD28⁻Ts 在 B-NHL 的免疫抑制中也可能发挥作用。

CD3⁺CD56⁺NKT 细胞(nature killer T cells)又称 NK1.1T 细胞,1987 年由 Koseki 等首次报道^[2],它同时表达 NK 细胞受体 NK1.1 (CD161)和恒定的 T 细胞 TCR $\alpha\beta$ 受体^[11]。NKT 细胞存在着胸腺内和胸腺外两种发育途径,其表型特征为表达 CD16 (Fc γ R III λ) Ly49A、Ly49C 和 CD122 (IL-2R β 链),组成型表达 IL-12R、IFN- γ R 和 IL-2R β 链等细胞因子受体^[12]。近年来研究发现,NKT 不仅是一种高效的免疫效应细胞,可以在体外直接杀伤肿瘤细胞,同时也是一种免疫抑制性调节细胞,在机体的免疫自稳、抗感染和抗肿瘤以及移植免疫等方面发挥重要作用^[13,14]。NKT 细胞作为效应细胞可在体内外通过穿孔蛋白途径直接杀伤肿瘤细胞,因此在天然抗肿瘤免疫中起重要作用。另一方面,当它接受某些抗原刺激后也可产生大量的 IL-4、IL-10、IL-13 或 IFN- γ ,影响获得性免疫应答的性质^[15~17]。

在本研究中,正常对照组中 NKT 占外周血 PBMC 的比例为 (3.52 \pm 1.56)%,与国内外报道的占正常人外周血 PBMC (2.04 \pm 1.92)% 和 1% ~ 5% 的结果相符^[17,18]。NKT 在 B-NHL 外周血中的比例为 (6.08 \pm 3.29)%,明显高于正常对照组。这与国内外相关报道的其在多种肿瘤如前列腺癌患者的外周血中的比例下调的结果不一致^[17,19~22],原因不明。Kitamura 等^[16]报道某些免疫原性弱的抗原肽或糖脂类抗原等可诱导 NKT 向抑制性 NKT 分化,并通过释放 IL-4、IL-13 等免疫抑制因子,发挥其免疫抑制的调节功能。而肿瘤细胞可大量释放免疫原性弱的自身抗原,因此我们推测,在初治 B-NHL 患者的外周血中,明显增加的 NKT 可能以抑制性 NKT 为主,是由于肿瘤细胞所释放的自身抗原所诱导的。由于研究的时间有限,我们未能进一步证实这一假设,这也是下一步研究的内容。

本研究发现 CD8⁺CD28⁻Ts 与 CD3⁺CD56⁺NKT 均与临床分期、病理恶性程度、临床进展的指标之间无明显的相关性,在治疗前和 CR 后无明显的变化均提示两者的比例与肿瘤的负荷及疾病进展无明显相关。这与文献报道的 CD8⁺CD28⁻Ts 与临床分期呈负相关结果不完全一致^[5,6]。其原因可能是由于肿瘤类型的不同对免疫系统的影响不同所致。两种免疫抑制性调节细胞在不同临床分期间均无明显差别的现象提示,在 B-NHL 的早期可能已经存在免疫抑

制,这也许正是肿瘤逃避机体的免疫监控,从而发生、发展的原因之一。在本实验中未显示两者之间有明显的相关性,提示它们可能具有相互独立的诱导机制。

两种免疫抑制性调节细胞在治疗前后无明显差异,除了提示它们可能对肿瘤负荷的变化不敏感之外,另一方面尚不能完全排除化疗药物对免疫系统的影响。如 Melichar 等报道^[8~10],大肠癌患者使用 CPT-11 单药化疗可使 CD8⁺CD28⁻Ts 比例增高,乳腺癌患者在接受阿霉素 + 泰素方案化疗后,CD8⁺CD28⁻Ts 比例也会明显增加。由于本研究随访时间较短,CR 后再次检测的时间距离化疗仅 1 个月,因此还需观察较长时间才能得出可靠的结论。

综上所述,本研究发现,在 B-NHL 患者中不仅存在着 CD3⁺CD56⁺NKT 介导的非特异性免疫抑制,也存在着 CD8⁺CD28⁻Ts 介导的抗原特异性免疫抑制,这种免疫抑制状态的存在可能预示着免疫治疗的反应性差,但是由于目前仅有个别关于 Ts、NKT 细胞在肿瘤中的临床研究报道,它们在 B-NHL 患者免疫抑制中的意义及其对临床免疫治疗的影响尚不清楚,还需进一步的深入研究。

[参 考 文 献]

- [1] Liu Z, Tugulea S, Cortesini R, et al. Specific suppression of T helper alloreactivity by allo-MHC class I-restricted CD8⁺CD28⁻ T cells [J]. *Int Immunol*, 1998, 10: 775 - 783.
- [2] Nicol A, Nieda M, Koezuka Y, et al. Human invariant V α 24 + natural killer T cells activated by α 2galactosylce2 ramide (KRN7000) have cytotoxic antitumour activity through mechanisms distinct from T cells and natural killer cells [J]. *Immunology*, 2000, 99(2): 229 - 234.
- [3] Ciubotariu R, Colovai AI, Pennesi G, et al. Specific suppression of human CD4⁺ Th cell responded to pif MHC antigens by CD8⁺CD28⁻ regulatory T cells [J]. *J Immunol*, 1998, 161: 5193 - 5302.
- [4] Colovai AI, Liu Z, Ciubotariu R, et al. Induction of xenoreactive CD4⁺ T-cell anergy by suppressor CD8⁺CD28⁻ T cells [J]. *Transplantation*, 2000, 69: 1304 - 1310.
- [5] 陈 腾,施靖华,赵荣华,等. 大肠癌四种淋巴细胞表型的测定及其临床意义[J]. *癌症*, 2003, 22(7): 758 - 761.
- [6] 袁宇容,杨春莉,陈炼波,等. 原发性肝癌患者 CD8⁺CD28⁻和 CD8⁺CD28⁺ T 细胞亚群的分析 [J]. *第一军医大学学报*, 2002, 22(1): 72 - 73.
- [7] Tsukishiro T, Donnenberg AD, Whiteside TL. Rapid turnover of the CD8(+) CD28(-) T-cell subset of effector cells in the circulation of patients with head and neck cancer [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2003, 52(10): 599 - 607.
- [8] Melichar B, Touskova M, Tosner J, Kopecky O, et al. The

- phenotype of ascitic fluid lymphocytes in patients with ovarian carcinoma and other primaries [J]. *Onkologie*, 2001, 24(2): 156 – 160.
- [9] Melichar B, Touskova M, Vesely P, et al. Effect of irinotecan on the phenotype of peripheral blood leukocyte populations in patients with metastatic colorectal cancer [J]. *Hepatogastroenterology*, 2002, 49(46): 967 – 970.
- [10] Melichar B, Cerman J Jr, Dvorak J, et al. Regional chemotherapy in biliary tract cancers—a single institution experience [J]. *Hepatogastroenterology*, 2002, 49(46): 900 – 906.
- [11] Kawano T, Cui JQ, Koezuka Y, et al. Analysis of human V α 24 + CD4 + NKT cells activated by α 2 galactosylceramide pulsed monocytederived dendritic cells [J]. *J Immunol*, 2000, 164: 4458 – 4459.
- [12] Adelheid C, Lewis L, Lanier LL. Natural killer cells, viruses and cancer [J]. *Nat Immunol Rev*, 2001, 1: 41 – 47.
- [13] Nieda M, Nicol A, Koezuka Y, et al. Activation recognition of human V α 24NKT cells by α 2 glycosylceramide in a CD1d restricted and V α 24TCR2 mediated manner [J]. *Hum Immunol*, 1999, 60(1): 10 – 19.
- [14] Godfrey DI, Hammond KJ, Poulton LK, et al. NKT cells: facts, functions and fallacies [J]. *Immunol Today*, 2000, 21(11): 573 – 583.
- [15] Fowlkes BJ, Kruisbeek AM, Ton-That H, et al. A novel population of T-cell receptor α beta-bearing thymocytes which predominantly expresses a single V beta gene family [J]. *Nature*, 1987, 329: 251 – 254.
- [16] Kitamura H, Iwakabe K, Yahata T, et al. The natural killer T (NKT) cell ligand α 2 galactosylceramide demonstrates its immunopotentiating effect by inducing interleukin (IL) 12 production by dendritic cells and IL12 receptor expressing on NKT cells [J]. *J Exp Med*, 1999, 189: 1121 – 1128.
- [17] Yanagisawa K, Seino K, Ishikawa Y, et al. Impaired proliferative response of V alpha 24 NKT cells from cancer patients against alpha-galactosylceramide [J]. *J Immunol*, 2002, 168: 6494 – 6499.
- [18] 于津浦, 任秀宝, 张 澎, 等. 恶性实体瘤患者自体 CIK 细胞的体外大量扩增与生物学指标检测 [J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2001, 8(3): 215 – 216.
- [19] Tahir SM, Cheng O, Shaulov A, et al. Loss of IFN- γ production by invariant NK T cells in advanced cancer [J]. *J Immunol*, 2001, 167: 4046 – 4050.
- [20] Van der Vliet HJ, Molling JW, Nishi N, et al. Polarization of V α 24R V β 11R natural killer T cells of healthy volunteers and cancer patients using alpha-galactosylceramide-loaded and environmentally insCD4 + CD25 + TR α CTed dendritic cells [J]. *Cancer Res*, 2003, 63: 4101 – 4106.
- [21] 唐春兰, 杨和平. NKT 细胞与肿瘤免疫 [J]. *第三军医大学学报*, 2003, 25(5): 449 – 451.
- [22] 雷莉辉, 吴文鹏, 陈德坤. NKT 细胞研究进展 [J]. *动物医学进展*, 2003, 24(6): 67 – 69.

[编辑及校对 张 菊]