

• 论 著 • DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2022.16.013

CIK 细胞对裸鼠人肝癌移植瘤生长的抑制作用

吴 念,冯虎翼,刘 桦,曹 阳,余福财,陈元文

重庆市第五人民医院肝胆胰甲乳外科,重庆 400062

摘 要:目的 探讨细胞因子诱导的杀伤细胞(CIK 细胞)对裸鼠人肝癌移植瘤生长的抑制作用,为肝癌的生物治疗提供实验依据。方法 提取健康人外周血单个核细胞,加入不同的细胞因子(抗 CD3 单克隆抗体、重组人白细胞介素 2、重组人 γ 干扰素)促进 CIK 细胞成熟,采用流式细胞术检测 CIK 细胞表型,合格标准为 CD3⁺CD56⁺CIK 细胞达 20% 以上。用 SMMC-7721 人肝癌细胞建立裸鼠皮下移植瘤模型,随后将 30 只模型鼠随机分为 CIK 细胞组(A 组,15 只)、空白对照组(B 组,15 只),A 组给予尾静脉注入 3×10^7 个检测合格的 CIK 细胞,每周 1 次,共 4 次,B 组不予处理。在治疗前及治疗后每 4 天测量两组肿瘤体积;采用苏木精-伊红染色检测两组肿瘤病理组织学变化;采用免疫组织化学法检测两组肿瘤组织 Ki-67 蛋白表达情况;采用脱氧核苷酸末端转移酶介导的 dUTP 缺口末端标记(TUNEL)法检测两组肿瘤细胞凋亡情况。结果 治疗前,A、B 组肿瘤体积比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);治疗至第 32 天时,A 组肿瘤体积明显小于 B 组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。治疗至第 32 天时,CIK 细胞抑瘤率为 43.06%。A 组肿瘤组织 Ki-67 蛋白表达的吸光度值为 0.68 ± 0.11 ,低于 B 组的 0.80 ± 0.11 ,差异有统计学意义($P < 0.05$)。A 组凋亡细胞的吸光度值为 0.52 ± 0.05 ,高于 B 组的 0.40 ± 0.05 ,差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 CIK 细胞免疫治疗在体内可抑制裸鼠人肝癌移植瘤生长,其机制可能与活化的 CIK 细胞抑制肿瘤细胞增殖,促进其凋亡有关,CIK 细胞免疫治疗有望成为肝癌的治疗手段之一。

关键词:肝癌; 细胞因子诱导的杀伤细胞; 裸鼠; 移植瘤; 生物免疫治疗**中图分类号:**R735.7**文献标志码:**A**文章编号:**1672-9455(2022)16-2211-05

Inhibitory effect of CIK cells on the growth of human hepatoma xenografts in nude mice

WU Nian, FENG Hui, LIU Hua, CAO Yang, YU Fucui, CHEN Yuanwen

Department of Hepatobiliary, Pancreatic, Thyroid and Breast Surgery, the Fifth People's Hospital of Chongqing, Chongqing 400062, China

Abstract: **Objective** To investigate the inhibitory effect of cytokine-induced killer cells (CIK cells) on the growth of human hepatoma xenografts in nude mice, and to provide experimental evidence for the biological treatment of hepatic carcinoma. **Methods** Extracted healthy human peripheral blood mononuclear cells, added different cytokines (anti-CD3 monoclonal antibody, recombinant human interleukin 2, recombinant human γ interferon) to promote the maturation of CIK cells. CIK cells phenotype was detected by flow cytometry, and more than 20% CD3⁺CD56⁺CIK cells were qualified. The model of subcutaneous transplantation of SMMC-7721 human hepatoma cell was established in nude mice. Then 30 model mice were randomly divided into CIK cells group (group A, 15 mice) and blank control group (group B, 15 mice). Group A was given tail vein injection of 3×10^7 qualified CIK cells, once a week, for a total of 4 times, and group B was not treated. Tumor volumes were measured in both groups before treatment and every 4 d after treatment. Hematoxylin-eosin staining was used to detect the histopathological changes of the two groups of tumors. The expression of Ki-67 protein in two groups of tumor tissues was detected by immunohistochemistry. TUNEL method was used to detect the apoptosis of tumor cells in the two groups. **Results** Before treatment, there was no significant difference in tumor volume between groups A and B ($P > 0.05$). On the 32nd day of treatment, the tumor volume in group A was significantly smaller than that in group B, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). On the 32nd day of treatment, the tumor inhibition rate of CIK cells was 43.06%. The absorbance value of Ki-67 protein expression in tumor tissue in group A was 0.68 ± 0.11 , which was lower than 0.80 ± 0.11 in group B, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The absorbance value of apoptotic cells in group A was 0.52 ± 0.05 , which was significantly higher than 0.40 ± 0.05 in group B, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** CIK cells immunotherapy can inhibit the growth of

作者简介:吴念,男,主治医师,主要从事肿瘤的基础与临床研究。

human hepatoma xenografts in nude mice in vivo, and the mechanism may be related to the inhibition of tumor cells proliferation and promotion of apoptosis by activated CIK cells, CIK cells immunotherapy is expected to become one of the treatment methods for hepatic carcinoma.

Key words: hepatic carcinoma; cytokine-induced killer cells; nude mice; xenografts; biological immunotherapy

肝癌不仅恶性程度高,还具有起病隐匿的特点,大部分患者就诊时已经是中晚期,因此其也是目前临床治疗较为困难的疾病之一。虽然肝部分切除、肝移植、介入栓塞全身化疗是目前治疗肝癌的主要方法,但治疗后肝癌复发转移仍十分常见,且中晚期肝癌患者免疫力低下,临床治疗效果差。寻找新的治疗方法对改善终末期肝癌患者的生活质量,提高其生存率有重要意义。近年来,生物免疫治疗已成为一种新的治疗肿瘤的方法,并逐渐受到研究者的重视,其具有较高的抑瘤率,被认为是最有前景的中晚期肝癌治疗方法之一^[1-3]。细胞因子诱导的杀伤细胞(CIK 细胞)是通过 γ 干扰素 (IFN- γ)、抗 CD3 单克隆抗体和白细胞介素(IL)-2 与外周血单个核细胞在体外扩增和激活的 T 淋巴细胞,是一群异质的免疫活性细胞,同时表达 CD3 和 CD56 两种膜蛋白分子,兼有自然杀伤细胞(NK 细胞)非主要组织相容性复合体(MHC)限制杀瘤特点和 T 淋巴细胞的强大抗瘤活性,不仅可通过非特异性免疫杀伤作用消除肿瘤患者体内的微小残留病灶,还可以调节和增强机体的免疫功能^[4-8]。本研究通过观察 CIK 细胞静脉注射对裸鼠人肝癌移植瘤生长的抑制作用,旨在为肝癌的生物免疫治疗提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 标本来源 BALB/c 裸鼠,雄性,4~5 周龄,16~18 g,32 只,购自中国医学科学院医学实验动物研究所(京)[2009-0004]。SMMC-7721 人肝癌细胞由重庆医科大学感染分子生物学重点实验室惠赠。

1.2 仪器与试剂 RPMI-1640 培养基、胎牛血清购自美国 HyClone 公司,DeadEnd™ 比色法凋亡检测系统购自美国 Peomage 公司,检测 T 淋巴细胞亚群的相关抗体购自美国 BD 公司,抗 CD3 单克隆抗体购自北京军事医学科学院,Ki-67 购自北京中杉金桥生物技术有限公司,重组人白细胞介素 2(rhIL-2)、重组人 γ 干扰素(rhINF- γ)购自北京双鹤药业有限公司,人外周血淋巴细胞分离液购自天津市灏洋生物制品科技有限责任公司,BriCyte E6 流式细胞仪购自深圳迈瑞公司。

1.3 细胞培养

1.3.1 SMMC-7721 人肝癌细胞培养 SMMC-7721 人肝癌细胞常规培养于含 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养基中,置于 37℃、含 5% CO₂ 的饱和水蒸气培养箱中培养,隔天对指数增生期的细胞进行传代。取对数生长期的培养细胞,用 0.25% 的胰酶消化、离心、生理盐水重悬后,对细胞悬液进行计数及台酚蓝染色,当细胞活力达 95% 以上时,调整细胞浓度后接

种于裸鼠皮下。

1.3.2 CIK 细胞制备 采集健康志愿者外周血 30 mL,经人淋巴细胞分离液密度梯度离心后获得外周血单个核细胞,用磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤 2 次,置于含 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养基中,调整细胞浓度至 1×10^6 个/毫升,加入 rhINF- γ (1 000 U/mL),24 h 后加入抗 CD3 单克隆抗体(50 ng/mL)、rhIL-2 (500 U/mL),以后每 3 天补加新鲜培养基,并补加 rhIL-2 (500 U/mL),第 14 天行流式细胞术(FCM)检测 CIK 细胞表型,CD3⁺CD56⁺ CIK 细胞达 20% 以上为合格。

1.4 动物模型建立及分组实验 将对数生长期的 SMMC-7721 人肝癌细胞 (2×10^6 个/毫升)以每只 0.2 mL,种植于 32 只 BALB/c 裸鼠右侧背部皮下,约第 4 天成瘤,成瘤率约 95%,第 10 天移植瘤最大径达 0.4~0.5 cm,将其中 30 只合格的模型裸鼠随机分为 CIK 细胞组(A 组)、空白对照组(B 组),每组 15 只。A 组给予尾静脉注入 3×10^7 个检测合格的 CIK 细胞,每周 1 次,共 4 次;B 组不予处理。

1.5 观察指标及检测方法

1.5.1 肿瘤生长情况 在治疗前及治疗开始后每 4 天测量肿瘤的最大纵径(a)及最大横径(b),计算肿瘤体积(V), $V = a \times b^2 / 2$,观察肿瘤的生长情况。治疗至第 32 天时,计算 CIK 细胞抑瘤率,抑瘤率 = (B 组肿瘤平均体积 - A 组肿瘤平均体积) / B 组肿瘤平均体积 $\times 100\%$ 。

1.5.2 病理组织学检查 在治疗第 32 天处死所有裸鼠,取肿瘤组织,立即用 4% 的多聚甲醛浸没,常规制备石蜡包埋切片,进行苏木精-伊红染色(HE 染色),光学显微镜下观察肿瘤组织病理改变。

1.5.3 免疫组织化学法检测肿瘤组织 Ki-67 蛋白表达 瘤块固定、石蜡包埋、切片、脱蜡、过氧化氢封闭,微波修复抗原。肿瘤组织切片滴加 Ki-67 一抗,湿盒中过夜,加二抗,二甲基联苯胺(DAB)染色。用已知阳性标本作为阳性对照,用 PBS 代替一抗作为阴性对照。阳性表现为细胞核为棕黄色或棕褐色,并呈颗粒状,背景为紫蓝色。用专业图像分析软件(Image-Pro Plus6.0)分析阳性程度。

1.5.4 脱氧核苷酸末端转移酶介导的 dUTP 缺口末端标记(TUNEL)法检测肿瘤细胞凋亡 采用 TUNEL 法检测肿瘤细胞凋亡情况,石蜡包埋、切片、脱蜡、过氧化氢封闭,按 TUNEL 试剂盒说明书分别加入 b-11-DUTP、TDT、Streptavidin-HRP, DAB 显色,苏木精复染,以 PBS 代替 TUNEL 反应液为阴性对照。阳性表现为细胞核为棕黄色或棕褐色,背景为

紫蓝色。用专业图像分析软件(Image-Pro Plus6.0)分析阳性程度。

1.6 统计学处理 采用 SPSS16.0 软件进行数据分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用 t 检验;计数资料以例数或率表示。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

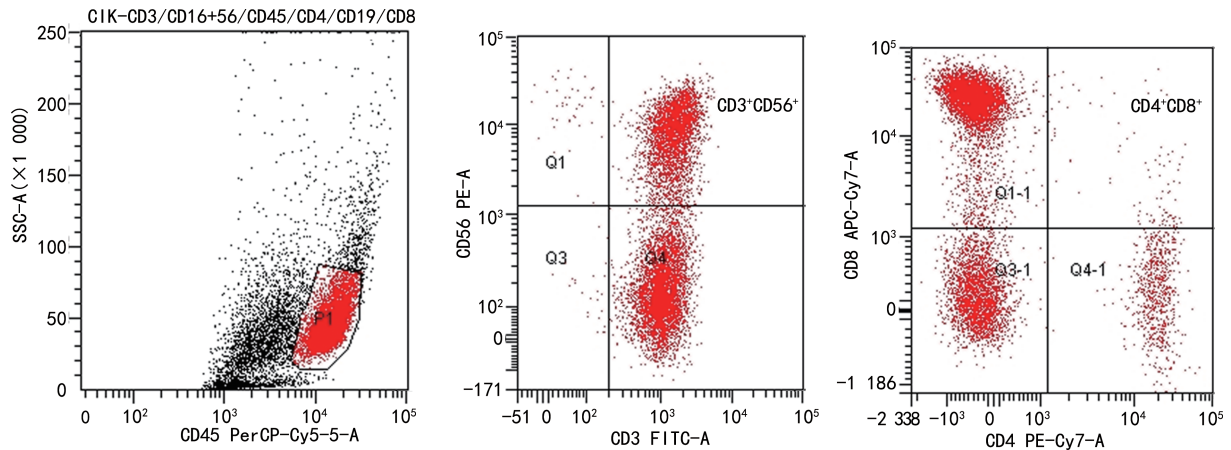
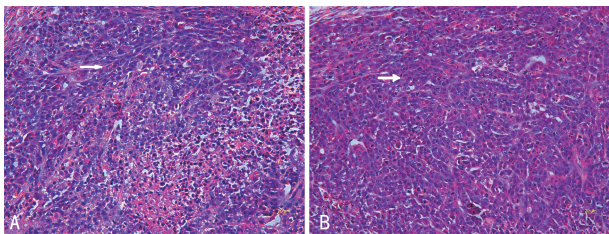


图 1 CIK 细胞 FCM 检测图

2.2 病理组织学检查结果 光镜下 A、B 组均可见不同程度的肿瘤细胞结构和数量改变。A 组肿瘤细胞排列松散,肿瘤细胞内部发生核固缩,细胞质减少,嗜酸性增强;B 组肿瘤细胞生长活跃,排列紧密,核大深染,有较多核分裂象,呈增殖样改变,见图 2。



注:A 为 A 组;B 为 B 组。

图 2 病理组织学检查结果(HE 染色,×200)

2.3 CIK 细胞抑制裸鼠人肝癌移植瘤生长 治疗前,A、B 组肿瘤体积比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。从治疗第 4 天开始,A 组肿瘤体积增长慢于 B 组,12 d 以内两组肿瘤体积增长趋于缓慢,12 d 以后,两组肿瘤体积增长明显加快,但 A 组肿瘤体积增长明显慢于 B 组,至第 32 天时,A 组肿瘤体积明显小于 B 组,差异有统计学意义($P < 0.05$),见图 3 和表 1。治疗至第 32 天时,CIK 细胞抑瘤率为 43.06%。

2.4 免疫组织化学法检测肿瘤组织 Ki-67 蛋白表达结果 A 组 Ki-67 蛋白阳性细胞相对较少,染色较浅,大多为棕黄色,B 组 Ki-67 蛋白阳性细胞多,染色较深,大多为棕褐色,见图 4。A 组肿瘤组织 Ki-67 蛋白表达的吸光度值为 0.68 ± 0.11 ,低于 B 组的 0.80 ± 0.11 ,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

2.5 TUNEL 法检测肿瘤细胞凋亡结果 A 组凋亡细胞明显增多,染色深,呈棕黄色,B 组凋亡细胞数量

2.1 CIK 细胞表型鉴定 体外将外周血单个核细胞培养 14 d 后,细胞总量扩增约 20 倍,CD3⁺、CD3⁺CD56⁺、CD3⁺CD8⁺效应细胞亚群的比例明显增高,分别由最初的 58.0%、6.7%、24.6%上升至 93.5%、41.7%、43.0%。经 FCM 检测,CIK 细胞中 CD3⁺CD56⁺CIK 细胞比例达 41.7%,合格,见图 1。

较少,染色呈棕褐色,见图 5。A 组凋亡细胞的吸光度值为 0.52 ± 0.05 ,明显高于 B 组的 0.40 ± 0.05 ,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

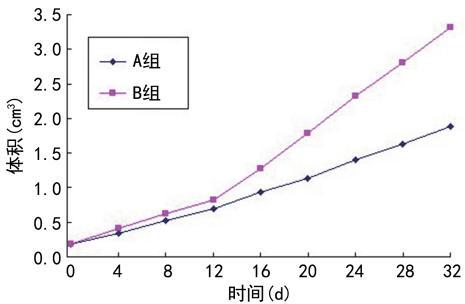
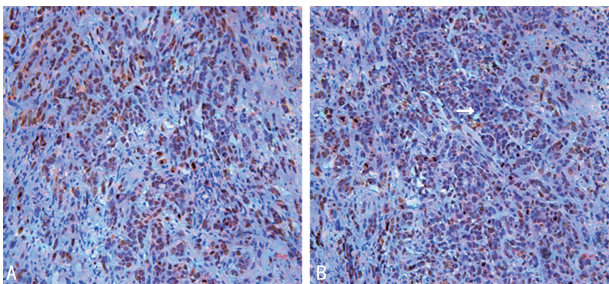


图 3 两组肿瘤生长曲线

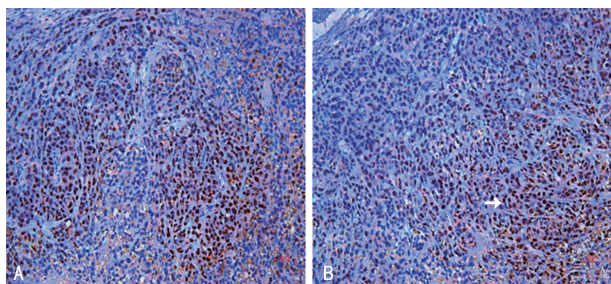
表 1 两组治疗前后肿瘤体积比较($\bar{x} \pm s, \text{cm}^3$)

组别	n	治疗前	治疗第 8 天	治疗第 16 天	治疗第 24 天	治疗第 32 天
A 组	15	0.19±0.05	0.52±0.13	0.92±0.28	1.39±0.48	1.89±0.71
B 组	15	0.19±0.08	0.63±0.22	1.27±0.89	2.31±0.21	3.31±0.27
t		1.113	1.169	5.006	30.863	19.938
P		0.308	0.297	0.002	<0.001	<0.001



注:A 为 A 组;B 为 B 组。

图 4 Ki-67 蛋白在两组肿瘤组织中的表达(DAB 染色,×200)



注:A 为 A 组;B 为 B 组。

图 5 两组凋亡肿瘤细胞情况(DAB 显色, $\times 200$)

3 讨 论

生物免疫治疗是利用机体的免疫机制,通过主动或被动的方式增强机体的免疫功能,从而达到杀伤肿瘤的目的。CIK 细胞是一类新型的免疫活性细胞,具有强大的抗瘤活性和限制性非特异性杀瘤特点。以 CIK 细胞为代表的生物免疫治疗正逐渐成为中晚期肿瘤治疗的重要手段之一^[7-8]。为明确 CIK 细胞免疫治疗对肝癌的抑制作用,本研究进行了相关探讨。

首先,建立裸鼠人肝癌移植瘤模型是本研究的基础。用 BALB/c 裸鼠建立动物模型,背部皮下接种 SMMC-7721 人肝癌细胞,便于观察移植瘤生长且成瘤率较高,方便实验操作,同时 SMMC-7721 人肝癌细胞具有人源性,符合实验要求。本研究采用 FRANCESCHETTI 等^[9]推荐的方法,从健康人外周血中提取单个核细胞,成功诱导高比例 $CD3^+ CD56^+$ 表型的 CIK 细胞。通过尾静脉注射的方法将具有免疫活性的 CIK 细胞注入裸鼠体内,可较好的模拟机体内环境。从 CIK 细胞治疗的第 4 天开始,A 组肿瘤体积增长较 B 组慢,治疗 12 d 后,B 组肿瘤体积增长明显加快,且明显快于 A 组。治疗至 32 d 时,CIK 细胞的抑瘤率高于 40%,提示 CIK 细胞治疗对裸鼠移植瘤有效,疗效较 KIM 等^[10]的研究结果稍差,其研究的抑瘤率达 60%,这可能与动物模型的个体差异或诱导试剂的质量差异有关。类似结果在 CIK 细胞抑制其他肿瘤生长的研究中有报道^[11-12]。

CIK 细胞保留了少数效应记忆 T 淋巴细胞亚群的特征,具有抗肿瘤细胞毒性。CIK 细胞同时表达几种 NK 细胞表面标记物。由于存在功能性 T 淋巴细胞受体(TCR)和 NK 细胞分子,CIK 细胞具有双重性质,其抗肿瘤活性可追溯到 NK 样结构[DNAX-辅助分子-1(DNAM-1)、NK 细胞活化受体 2D(NKG2D)、NK 细胞 p30 相关蛋白(NKp30)和 CD56],具体作用机制主要为以下几方面:一方面,体外高度扩增的 CIK 细胞中 $CD3^+ CD56^+$ 免疫活性细胞所占比例高,其通过释放颗粒酶、穿孔素等细胞毒性物质可以溶解肿瘤细胞,起到直接杀瘤作用。CIK 细胞兼有细胞毒活性的 T 淋巴细胞抗原 α/β 受体(TCR- α/β),TCR- α/β 在细胞外可有效刺激易感的肿瘤靶细胞,并与其

相结合,释放有溶瘤作用的胞质颗粒。另一方面,CIK 细胞表面可大量表达 NKG2D, NKG2D 可与多种肿瘤细胞表达的应激诱导蛋白[可溶性 MHC-I 类分子相关蛋白(MIC)-A/B]和总 UL16 结合蛋白(ULPB)等相互识别,通过与非限制性 MHC 配体(NKG2D 配体)结合,发挥抗肿瘤作用^[6,13]。最后,活化的 CIK 细胞亦可产生大量细胞因子($INF-\gamma$ 、IL-6、肿瘤坏死因子 α 、粒细胞巨噬细胞刺激因子、IL-2),这些活化的细胞因子具有调节机体免疫系统功能或抑制肿瘤生长的作用^[14]。

Ki-67 是一种增殖细胞相关抗原,其功能与有丝分裂密切相关,在细胞周期 G1、S、G2 和 M 期出现,半衰期较短,可准确反映肿瘤细胞的增殖活性。本研究检测了两组肿瘤组织 Ki-67 蛋白的表达情况,结果发现,A 组 Ki-67 蛋白表达的吸光度值显著低于 B 组($P < 0.05$),提示 A 组移植瘤中处于增殖状态的肿瘤细胞少,表明 CIK 细胞可显著抑制肿瘤细胞增殖。对移植瘤组织的原位凋亡检测发现,A 组凋亡细胞吸光度值明显高于 B 组($P < 0.05$),提示 CIK 细胞可诱导肿瘤细胞凋亡。CIK 细胞不但可以表达 Fas,也可以表达 Fas 配体(FasL),其 FasL 与肿瘤细胞的 Fas 相结合,诱导肿瘤细胞凋亡;活化的 CIK 细胞还能促使肿瘤细胞凋亡基因(如 Survivin、DAD1、Bcl-xL、Bcl-2 基因)的表达上调,诱导肿瘤细胞的凋亡或坏死^[13-15]。

综上所述,本研究在体外动物模型中证实了 CIK 细胞既可抑制肿瘤细胞增殖,又可诱导肿瘤细胞凋亡。CIK 细胞免疫治疗将能以“优势互补”的方式参与到肝癌综合治疗中,有望成为中晚期肝癌治疗的有效方法之一。

参考文献

- [1] THORNE S H, NEGRIN R S, CONTAG C H. Synergistic antitumor effects of immune cell-viral biotherapy[J]. Science, 2006, 311(5768): 1780-1784.
- [2] ZHANG J Y, WU N, GONG J P, et al. The combined antitumor effects of (125)I radioactive particle implantation and cytokine-induced killer cell therapy on xenograft hepatocellular carcinoma in a mouse model[J]. Technol Cancer Res Treat, 2017, 16(6): 1083-1091.
- [3] PFISTER D, NUNEZ N G, PINYOL R, et al. NASH limits anti-tumour surveillance in immunotherapy-treated HCC[J]. Nature, 2021, 595(7869): 730-734.
- [4] THANENDRARAJAN S, KIM Y, SCHMIDT-WOLF I, et al. New adoptive immunotherapy strategies for solid tumors with CIK cells[J]. Expert Opin Biol Ther, 2012, 12(5): 565-572.
- [5] SANGIOLO D. Cytokine induced killer cells as promising immunotherapy for solid tumors[J]. J Cancer, 2011, 2: 363-368.

(下转第 2219 页)

- thlmitis; then and now[J]. *Am J Ophthalmol*, 2018, 187(7):40-47.
- [3] TARAPRASAD D, SAVITRI D, 刘芳. 白内障术后急性眼内炎致病菌的变化和治疗进展[J]. *国际眼科纵览*, 2017, 41(4):270-274.
- [4] 唐春雪, 徐革, 葛斌, 等. 原发性肾病综合征患者血清 sTREM-1 和 sCD14 水平及与并发症的关系分析[J]. *标记免疫分析与临床*, 2020, 27(12):2097-2101.
- [5] STUBLJAR D, KOPITAR A N, GROSELJ-GRENC M, et al. Diagnostic accuracy of presepsin (sCD14-ST) for prediction of bacterial infection in cerebrospinal fluid samples from children with suspected bacterial meningitis or ventriculitis[J]. *J Clin Microbiol*, 2015, 53(4):1239-1244.
- [6] KYRIAZOPOULOU E, LIASKOU-ANTONIOU L, ADAMIS G, et al. Procalcitonin to reduce long-term infection-associated adverse events in sepsis: a randomized trial[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2021, 203(2):202-210.
- [7] 刘娜, 张春侠, 于广伟, 等. 内眼手术后相关感染因素分析与对策[J/CD]. *实用临床护理学电子杂志*, 2018, 3(8):77-78.
- [8] 胡俊敏, 李鸿, 付艳, 等. 白内障术后感染性眼内炎的致病菌分析及影响因素研究[J]. *现代生物医学进展*, 2021, 21(1):74-78.
- [9] 孙京晶. 玻璃体切除术治疗青光眼术后滤过泡感染相关性眼内炎的临床效果[J]. *临床眼科杂志*, 2020, 28(3):249-252.
- [10] HUNG S K, LAN H M, HAN S T, et al. Current evidence and limitation of biomarkers for detecting sepsis and systemic infection[J]. *Biomedicine*, 2020, 8(11):494.
- [11] TORNAI D, VITALIS Z, JONAS A, et al. Increased sTREM-1 levels identify cirrhotic patients with bacterial infection and predict their 90-day mortality[J]. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*, 2021, 45(5):101579.
- [12] XIAO Y, LUO H, ZHOU B, et al. Comparison of soluble urokinase plasminogen activator receptor, soluble triggering receptor expressed on myeloid cells 1, procalcitonin and C-reactive protein in distinguishing concurrent bacterial infection from idiopathic inflammatory myopathy[J]. *Rheumatol Int*, 2017, 37(4):585-592.
- [13] NOVELLI S, MORABITO V, RUBERTO F, et al. Diagnostic value of presepsin for bacterial infection in cirrhosis: a pilot study[J]. *Transplant Proc*, 2020, 52(5):1593-1600.
- [14] HERRERA M, VERA C, KEYNAN Y, et al. Gaps in study design for immune parameter research for latent tuberculosis infection: a systematic review[J]. *J Immunol Res*, 2020, 2020:8074183.
- [15] 杨镛, 杨国凯, 罗开元. 术后并发严重感染患者血清 E-选择素、IL-10 和 sCD14 的变化及其与预后的关系[J]. *重庆医科大学学报*, 2001, 26(4):439-442.
- [16] NAIK P, SATYASHREE G, MOHAMED A, et al. Evaluation of vitreous procalcitonin as a diagnostic biomarker in infectious endophthalmitis[J]. *Int Ophthalmol*, 2021, 41(10):3401-3409.
- [17] 符郁, 岑育健, 符密, 等. 血清 PCT 和 hs-CRP 水平及 C D64 指数在白内障术后感染性眼内炎诊断中的应用[J]. *中华医院感染学杂志*, 2019, 29(23):3614-3617.

(收稿日期:2021-11-23 修回日期:2022-03-18)

(上接第 2214 页)

- [6] SCHMIDT-WOLF I G, NEGRIN R S, KIEM H P, et al. Use of a SCID mouse/human lymphoma model to evaluate cytokine-induced killer cells with potent antitumor cell activity[J]. *J Exp Med*, 1991, 174(1):139-149.
- [7] HUANG Z M, LAI C X, ZUO M X, et al. Adjuvant cytokine-induced killer cells with minimally invasive therapies augmented therapeutic efficacy of unresectable hepatocellular carcinoma[J]. *J Cancer Res Ther*, 2020, 16(7):1603-1610.
- [8] PAN Q Z, LIU Q, ZHOU Y Q. CIK cell cytotoxicity is a predictive biomarker for CIK cell immunotherapy in post-operative patients with hepatocellular carcinoma [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2020, 69(5):825-834.
- [9] FRANCESCHETTI M, PIEVANI A, BORIERI G, et al. Cytokine-induced killer cells are terminally differentiated activated CD8 cytotoxic T-EMRA lymphocytes[J]. *Exp Hematol*, 2009, 37(5):616-628.
- [10] KIM H M, LIM J, YOON Y D, et al. Anti-tumor activity of ex vivo expanded cytokine-induced killer cells against human hepatocellular carcinoma[J]. *Int Immunopharmacol*, 2007, 7(13):1793-1801.
- [11] HELMS M W, PRESCHER J A, CAO Y A, et al. IL-12 enhances efficacy and shortens enrichment time in cytokine-induced killer cell immunotherapy[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2010, 59(9):1325-1334.
- [12] KIM Y J, LIM J, KANG J S, et al. Adoptive immunotherapy of human gastric cancer with ex vivo expanded T cells[J]. *Arch Pharm Res*, 2010, 33(11):1789-1795.
- [13] NISHIMURA R, BAKER J, BEILHACK A, et al. In vivo trafficking and survival of cytokine-induced killer cells resulting in minimal GVHD with retention of antitumor activity[J]. *Blood*, 2008, 112(6):2563-2574.
- [14] KORNACKER M, MOLDENHAUER G, HERBST M, et al. Cytokine-induced killer cells against autologous CLL: direct cytotoxic effects and induction of immune accessory molecules by interferon-gamma[J]. *Int J Cancer*, 2006, 119(6):1377-1382.
- [15] SUN S, LI M X, LI X D, et al. Studies on inducing apoptosis effects and mechanism of CIK cell for MGC-803 gastric cancer cell line[J]. *Cancer Biother Radiopharm*, 2005, 20(2):173-180.

(收稿日期:2021-11-26 修回日期:2022-03-23)