

# 程序性死亡配体 1 单克隆抗体增强 DC 疫苗致敏的 B 细胞靶向肿瘤干细胞的体液免疫

胡阳阳<sup>1</sup> 汪毅<sup>2</sup>

<sup>1</sup>华中科技大学同济医学院附属同济医院风湿免疫内科,湖北武汉 430030

<sup>2</sup>安徽医科大学第三附属医院肿瘤科,安徽合肥 230022

**摘要** 目的:探讨程序性死亡配体 1(PD-L1)单克隆抗体是否可以增强 ALDH<sup>high</sup> CSC-DC 疫苗致敏的 B 细胞靶向 ALDH<sup>high</sup> 肿瘤干细胞(CSCs)的体液免疫作用。方法:建立 B16-F10 黑色素瘤小鼠模型,各组小鼠分别接受 PBS、ALDH<sup>high</sup> CSC-DC + IgG、ALDH<sup>high</sup> CSC-DC 疫苗、PD-L1 单克隆抗体、ALDH<sup>high</sup> CSC-DC 联合 PD-L1 单克隆抗体的治疗,记录小鼠的生存时间及肿瘤的体积。实验结束时收集各组小鼠的肿瘤,单个肿瘤细胞悬液进行 ALDEFLUOR 染色检测 CSCs 的比例。流式细胞术检测各组小鼠脾脏 B 细胞上 PD-1 的表达量。同时进一步行抗体结合试验和补体依赖的细胞毒性作用(CDC)试验检测 B 细胞培养上清中的抗体结合和裂解 CSCs 的能力。结果:相较于单独治疗组,PD-L1 单克隆抗体与 ALDH<sup>high</sup> CSC-DC 疫苗的联合治疗可以更加显著地抑制肿瘤生长,延长小鼠生存时间。联合治疗组小鼠活化的 B 淋巴细胞上 PD-1 的表达水平显著降低,仅为 6.5%。抗体结合试验提示,与 ALDH<sup>high</sup> CSC-DC 疫苗单独治疗组 11.3% 的结合率相比,联合治疗组小鼠 B 细胞培养上清中的抗体可以特异地结合 15.7% ALDH<sup>high</sup> CSCs。同时 CDC 试验结果显示,联合治疗组的 B 细胞培养上清特异性地裂解 ALDH<sup>high</sup> CSCs。结论:PD-L1 单克隆抗体可以显著增强 ALDH<sup>high</sup> CSC-DC 疫苗致敏的 B 细胞产生靶向 ALDH<sup>high</sup> CSCs 的体液免疫反应。

**关键词** 黑色素瘤;肿瘤干细胞;B 细胞;树突状细胞;程序性死亡配体 1

**中图分类号** R392 **文献标识码** A **DOI** 10.11768/nkjwzzzz20240213

**Programmed death-ligand 1 monoclonal antibody enhances humoral immunity elicited by sensitized B cells with DC vaccine targeting CSCs** HU Yang-yang<sup>1</sup>, WANG Yi<sup>2</sup>. <sup>1</sup>Department of Rheumatology and Immunology, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Hubei Wuhan 430030, China; <sup>2</sup>Department of Oncology, The Third Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Anhui Hefei 230022, China

Corresponding author: WANG Yi, E-mail: wyi790688@gmail.com

**Abstract** Objective: To explore whether the programmed death-ligand 1 (PD-L1) monoclonal antibody can enhance humoral immunity elicited by sensitized B cells with DC vaccine targeting CSCs. Methods: A B16-F10 melanoma mouse model was established. Mice were treated with PBS, ALDH<sup>high</sup> CSC-DC vaccine with IgG, ALDH<sup>high</sup> CSC-DC vaccine, PD-L1 monoclonal antibody, or ALDH<sup>high</sup> CSC-DC vaccine plus PD-L1 monoclonal antibody, respectively. The survival time and tumor volume of the mice were recorded. At the end of the experiment, tumors from each group of mice were collected, and a single tumor cell suspension was subjected to ALDEFLUOR staining to detect the proportion of CSCs. Flow cytometry was used to detect the expression of PD-1 on B cells in the spleens of mice from each group. Additionally, antibody binding assays and complement-dependent cytotoxicity (CDC) assays were conducted to assess the ability of antibodies in the cultured supernatant of B cells to bind and lyse ALDH<sup>high</sup> CSCs. Results: Compared to the solo treatment group, the combined treatment of PD-L1 monoclonal antibody with ALDH<sup>high</sup> CSC-DC vaccine significantly inhibited tumor growth and prolonged the survival time of mice. The expression level of PD-1 in activated B lymphocytes in the combined treatment group was significantly decreased to 6.5%. Antibody binding assays suggested that antibodies in the cultured supernatant of B cells from the combined treatment group could bind more specifically to ALDH<sup>high</sup> CSCs (15.7%) compared to the ALDH<sup>high</sup> CSC-DC vaccine solo treatment (11.3%). Furthermore, CDC assay results showed that the B cell cultured supernatant from the combined treatment group specifically lysed ALDH<sup>high</sup> CSCs. Conclusion: The PD-L1 monoclonal antibody can significantly enhance the humoral immune response elicited by sensitized B cells with DC vaccine targeting ALDH<sup>high</sup> CSCs.

**Key words** Melanoma; Cancer stem cells; B cells; Dendritic cell; Programmed death-ligand 1

基金项目:国家自然科学基金(81703058)

通信作者:汪毅, E-mail: wyi790688@gmail.com, 安徽省合肥市包河区长沙路 3200 号

肿瘤干细胞(cancer stem cells, CSCs)是一群具有极强的自我更新和分化能力的肿瘤细胞,在肿瘤的发生、发展、转移以及耐药方面都发挥着重要作用<sup>[1,2]</sup>。如何清除 CSCs 是现今研究的热点及难点。乙醛脱氢酶(acetaldehyde dehydrogenase, ALDH)是多种 CSCs 的标记物<sup>[3,4]</sup>。利用 ALDH<sup>high</sup> CSCs 致敏的树突状细胞疫苗(ALDH<sup>high</sup> CSC-DC 疫苗)被证明是一种有效的肿瘤免疫治疗方法<sup>[5-8]</sup>。

程序性死亡配体 1(programmed death ligand-1, PD-L1)在肿瘤细胞表面,尤其是 CSCs 表面表达显著增加。PD-L1 与 T 细胞、B 细胞以及自然杀伤细胞等免疫细胞表面的程序性死亡受体-1(programmed death-1, PD-1)结合,可抑制免疫细胞的功能并促成免疫逃逸<sup>[9-11]</sup>。PD-1/PD-L1 阻断剂被广泛用于治疗多种恶性肿瘤<sup>[5,12-14]</sup>。

前期研究结果提示在黑色素瘤或头颈部鳞状上皮癌的小鼠肿瘤模型中,ALDH<sup>high</sup> CSC-DC 疫苗可以诱导小鼠产生靶向 CSCs 的免疫反应<sup>[5-7]</sup>。同时 ALDH<sup>high</sup> CSC-DC 疫苗联合 PD-L1 单克隆抗体可以显著增加细胞毒性 T 淋巴细胞(cytotoxicity T lymphocytes, CTLs)靶向杀伤 CSCs 的能力。在肿瘤免疫中 B 淋巴细胞也发挥着非常重要的作用<sup>[15-17]</sup>。本研究将从抗体结合能力及补体依赖的细胞毒性作用(complement-dependent cytotoxicity, CDC)两方面探讨在黑色素瘤小鼠模型中 PD-L1 单克隆抗体是否可以增强 ALDH<sup>high</sup> CSC-DC 疫苗致敏的 B 淋巴细胞靶向 CSCs 的体液免疫作用。

## 材料与方 法

1. 实验动物及细胞系:6~8 周雌性 C57BL/6 (B6)小鼠,体重 18~22 g[实验动物生产许可证:SCXK(皖)2022001],均饲养于安徽医科大学省实验动物中心的无特定病原体(specific pathogen free, SPF)级层流架中。B16-F10 细胞(TCM36,中国科学院细胞库)在 10%胎牛血清的 RPMI 1640 完全培养基(500mL RPMI 1640,10%胎牛血清,0.5 μg 两性霉素 B,50 μg 庆大霉素,0.04% 2-巯基乙醇,100 U 青霉素,100 μg 链霉素)中培养,37℃、5% CO<sub>2</sub>、饱和湿度。

2. 主要试剂和设备:PD-L1 单克隆抗体(Invitrogen,美国),2-巯基乙醇(Sigma,美国),ALDEFLUORTM 干细胞试剂盒(Stem Cell,美国),异硫氰酸荧光素(fluorescein isothiocyanate, FITC)标记的抗小鼠 IgG、抗鼠 CD16/CD32(BD,美国),OptiPrep

分离液(Axis-Shield,挪威),流式细胞仪 LSR II(BD,美国),兔补体(Calbiochem,美国)。

3. ALDH<sup>high</sup> CSC-DC 疫苗制备:B16-F10 细胞进行 ALDEFLUOR 染色,流式分选出 ALDH<sup>high</sup> CSCs。将 ALDH<sup>high</sup> CSCs 制成 CSCs 裂解物。B6 小鼠骨髓来源的单个核细胞置于含有粒细胞巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte macrophage colony-stimulating factor, GM-CSF)20 ng/mL 的培养基中培养 10 d 后收集细胞,4.2 mL Solution C 溶液和 1 mL 的 OptiPrep 分离液配置成树突状细胞(dendritic cells, DC)分离液,分离出 DC 细胞。DC 细胞与 ALDH<sup>high</sup> CSCs 裂解物共孵育制成 ALDH<sup>high</sup> CSC-DC 疫苗,终浓度为  $1 \times 10^6$ /mL<sup>[5-8]</sup>。

4. 肿瘤细胞模型的建立和治疗方案:25 只 B6 小鼠侧腹部皮下注射  $0.5 \times 10^6$  B16-F10 肿瘤细胞后,随机分为 5 组,分别接受 PBS、ALDH<sup>high</sup> CSC-DC + IgG、ALDH<sup>high</sup> CSC-DC 疫苗、PD-L1 单克隆抗体、ALDH<sup>high</sup> CSC-DC 联合 PD-L1 单克隆抗体处理。ALDH<sup>high</sup>-DC + IgG、ALDH<sup>high</sup> CSC-DC 疫苗、ALDH<sup>high</sup> CSC-DC 联合 PD-L1 单克隆抗体组的小鼠在接种肿瘤细胞后的第 1 天和第 8 天分别皮下注射  $2 \times 10^6$  ALDH<sup>high</sup>-DC 疫苗。ALDH<sup>high</sup>-DC + IgG、PD-L1 单克隆抗体、ALDH<sup>high</sup> CSC-DC 联合 PD-L1 单克隆抗体组小鼠在接种肿瘤细胞后的第 2、4、6、9、11、13 天分别进行 IgG 或 PD-L1 单克隆抗体腹腔注射。每 3 天测量一次小鼠侧腹部皮下肿瘤的长和宽,计算肿瘤的体积:(肿瘤宽度<sup>2</sup> × 肿瘤的长度)/2。当肿瘤的最大直径 > 20mm 时即处死小鼠,记录小鼠的生存时间。观察终点为接种肿瘤细胞后第 54 天。

5. 抗体结合试验:收集小鼠脾脏淋巴细胞,磁珠分选出 CD19 + B 细胞。在含 IL-2(300 IU/mL)、抗-CD40 抗体(5 μg/mL)和 LPS(5 μg/mL)的培养基中活化、培养。第 4 天收集细胞和上清,流式细胞术检测 PD-1 表达,酶联免疫吸附试验测定 IgG 含量。 $5 \times 10^6$  ALDH<sup>high</sup> 或 ALDH<sup>low</sup> 肿瘤细胞和抗鼠 CD16/CD32 3 μL 室温下孵育 10 min,加入等量 IgG 的 B 细胞培养上清,冰上孵育 60 min 后洗涤,加入 FITC 标记的抗 IgG,流式细胞术检测肿瘤细胞与 IgG 的结合情况。

6. CDC 试验:向分选出的  $1 \times 10^5$  ALDH<sup>high</sup> 或 ALDH<sup>low</sup> 肿瘤细胞中加入各组等量 IgG 的 B 细胞培养上清,对照组加入 RPMI 1640 完全培养基,冰上孵育后加入补体,恒温孵育后行台盼蓝染色,计算活细胞数。计算公式:细胞存活率 = (与 B 细胞培养上

清和补体共孵育后的活细胞的数目/ $10^5$ )  $\times 100$ 。

7. 统计学分析:采用 GraphPad Prism 6 软件处理数据,计量资料以 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示,生存率使用对数秩检验。2 组间或多组间差异比较分别使用  $t$  检验或单因素方差分析,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 结果

1. ALDH<sup>high</sup> CSC-DC 疫苗联合 PD-L1 单克隆抗体显著抑制肿瘤生长,延长小鼠生存时间:先前研究表明<sup>[5-7]</sup>,相比 ALDH<sup>low</sup> DC 疫苗,ALDH<sup>high</sup> CSC-DC 疫苗能诱导靶向 CSCs 的抗肿瘤免疫反应。本实验结果提示 PBS 组的小鼠肿瘤生长迅速,见图 1A,中位生存时间只有 36 d,见图 1B。ALDH<sup>high</sup> CSC-DC 疫苗显著抑制肿瘤生长 ( $P = 0.0241$ ),延长小鼠生存时间,见图 1A 和 1B。但 ALDH<sup>high</sup> CSC-DC 疫苗联合 PD-L1 单克隆抗体的效果更显著 ( $P < 0.0001$ ),见图 1A。实验终点时 (54 d),PD-L1 治疗组尚有 2 只存活小鼠,联合治疗组小鼠均存活且瘤体较小,其它 3 组小鼠均死亡,见图 1B。表明 PD-L1 单克隆抗体能显著增强 ALDH<sup>high</sup> CSC-DC 疫苗诱导的抗肿瘤作用,延长荷瘤小鼠生存时间。

2. ALDH<sup>high</sup> CSC-DC 疫苗联合 PD-L1 单克隆抗体可显著减少肿瘤组织中 CSCs 的比例:收集并处

理小鼠肿瘤组织,ALDEFLUOR 染色检测 CSCs 比例。结果显示,PBS 组、ALDH<sup>high</sup> CSC-DC 疫苗组、PD-L1 单克隆抗体组的 ALDH<sup>high</sup> CSCs 比例分别为 12.6%、7.5%、6.7%,而联合治疗组仅为 3.1%,见图 2A。联合治疗显著减少肿瘤组织中 CSCs 比例,与单独治疗相比,差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ ),见图 2B。

3. ALDH<sup>high</sup> CSC-DC 疫苗联合 PD-L1 单克隆抗体组小鼠脾脏 CD19 + B 细胞上 PD-1 表达量显著减少:使用 CD19 免疫磁珠分选各组小鼠脾脏 CD19 + B 细胞,并通过 IL-2、抗-CD40 抗体和 LPS 进行活化增殖。流式细胞术显示,PBS 组、ALDH<sup>high</sup> CSC-DC 疫苗组、PD-L1 单克隆抗体组的 B 细胞上 PD-1 表达量分别为 18.3%、11.7%、13.1%,而联合治疗组为 6.5%,见图 3A。联合治疗组相比单独疫苗治疗组更显著地减少 B 细胞上 PD-1 表达量 ( $P = 0.0021$ ),见图 3B。

4. PD-L1 单克隆抗体增强 ALDH<sup>high</sup> CSC-DC 疫苗致敏的 B 细胞产生靶向结合 CSCs 抗体的能力:为证实 PD-L1 单克隆抗体可增强 DC 疫苗致敏的 B 细胞靶向 CSCs 的体液免疫,行抗体结合试验评估各组 B 细胞产生的抗体分别与 ALDH<sup>high</sup> CSCs、ALDH<sup>low</sup> 非肿瘤干细胞的结合能力。结果显示,联合

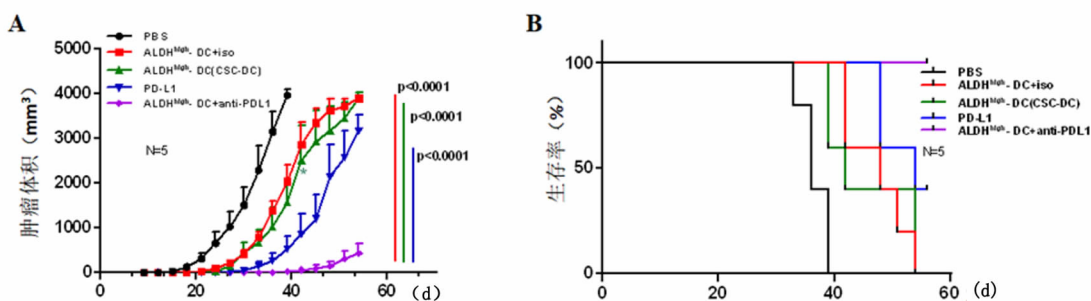


图1 各组黑色素瘤小鼠模型肿瘤的体积及小鼠生存率(A:肿瘤的体积;B:小鼠生存率)

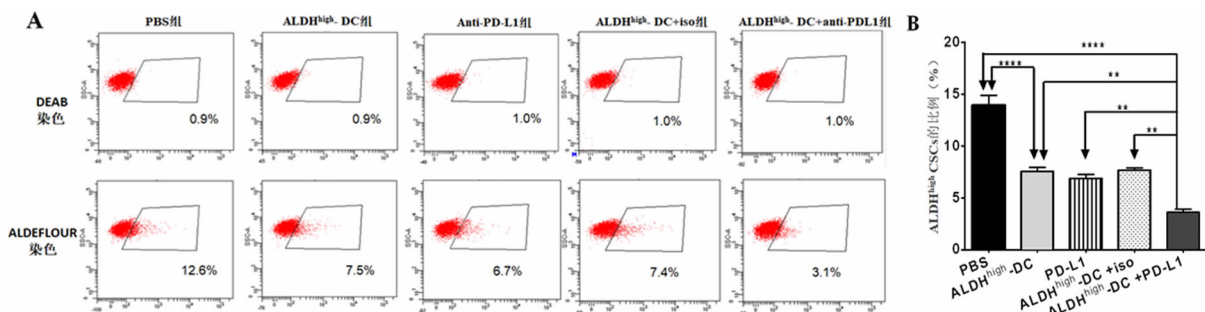


图2 各组小鼠皮下肿瘤中 ALDH<sup>high</sup> CSCs 所占的比例(A:流式细胞图;B:柱状图,实验数据独立重复3次)

治疗组 B 细胞培养上清中的抗体与 15.7% ALDH<sup>high</sup> CSCs 结合, 高于 ALDH<sup>high</sup> CSC-DC 组 (11.3%) 和 PBS 组 (4.9%), 见图 4A。各组小鼠 B 淋巴细胞培养上清与 ALDH<sup>low</sup> 非肿瘤干细胞共孵育, 联合治疗组的抗体结合率仅为 7.2%, 见图 4A, 稍高于 ALDH<sup>high</sup> CSC-DC (5.7%)、PD-L1 组 (6.2%), 但差异无显著统计学意义 ( $P$  均  $>0.05$ ), 见图 4C。同时联合治疗组抗体与 ALDH<sup>low</sup> 细胞的结合率 (7.2%) 低于 ALDH<sup>high</sup> CSCs 的结合率 (15.7%), 提示联合治疗组抗体只能特异性地结合 ALDH<sup>high</sup> CSCs。结果表明 ALDH<sup>high</sup> CSC-DC 疫苗致敏的 B 细胞产生靶向结合 ALDH<sup>high</sup> CSCs 的抗体, PD-L1 单克隆抗体可显著增强此作用。

5. PD-L1 单克隆抗体显著增强 ALDH<sup>high</sup> CSC-DC 疫苗致敏的 B 细胞靶向裂解 CSCs 的 CDC 作用: 为进一步证实 PD-L1 单克隆抗体增强 ALDH<sup>high</sup>-DC 疫苗致敏的 B 细胞靶向 CSCs 的体液免疫, 行 CDC 试验。结果显示当靶细胞为 ALDH<sup>high</sup> CSCs 时, ALDH<sup>high</sup> CSC-DC 组细胞存活率显著低于 PBS 组和 PD-L1 单克隆抗体组 ( $P$  均  $<0.005$ )。联合治疗组培养上清裂解 ALDH<sup>high</sup> CSCs 的能力显著高于

ALDH<sup>high</sup> CSC-DC 组 ( $P=0.004$ )。当靶细胞为 ALDH<sup>low</sup> 非肿瘤干细胞时, 各组细胞存活率均在 70% 左右, 并且联合治疗组培养上清裂解 ALDH<sup>high</sup> CSCs 的能力显著高于 ALDH<sup>low</sup> 非肿瘤干细胞 ( $P=0.0029$ ), 见图 5。因此, PD-L1 单克隆抗体可以显著增强 ALDH<sup>high</sup> CSC-DC 疫苗致敏的 B 细胞靶向裂解 CSCs 的能力。

抗体结合试验和 CDC 试验提示 ALDH<sup>high</sup> CSC-DC 疫苗可以诱导小鼠 B 细胞产生靶向 CSCs 的体液免疫反应, 特异性结合并裂解 ALDH<sup>high</sup> CSCs, PD-L1 单克隆抗体可显著增强此作用。

## 讨论

目前认为, 一部分 CSCs 可耐受放疗和化疗, 进而导致肿瘤的复发和转移<sup>[4]</sup>。而免疫治疗往往只杀伤已分化的肿瘤细胞, 不能有效的靶向杀伤缺乏特异性分化抗原表位的 CSCs<sup>[18]</sup>。DC 疫苗虽然较早被应用于临床<sup>[3,19]</sup>, 但部分患者应答率却不尽人意<sup>[20,21]</sup>。临床数据提示, 肿瘤细胞裂解物致敏的 DC 疫苗治疗有效率为 8.1%, 而小分子抗原致敏 DC 疫苗有效率仅为 3.6%<sup>[21]</sup>。有效率低的一个重

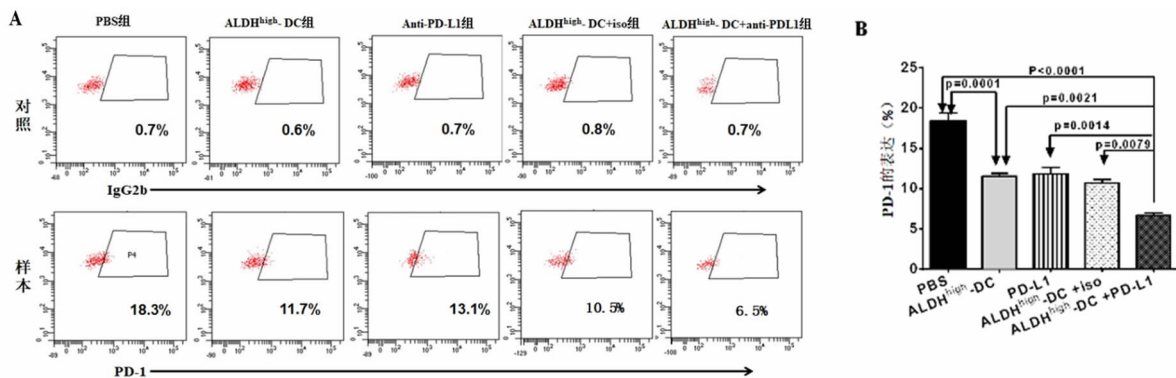


图3 ALDH<sup>high</sup> CSC-DC 疫苗联合 PD-L1 单克隆抗体组小鼠脾脏 B 淋巴细胞上 PD-1 表达显著降低 (A: 流式细胞图; B: 柱状图, 实验数据独立重复 3 次)

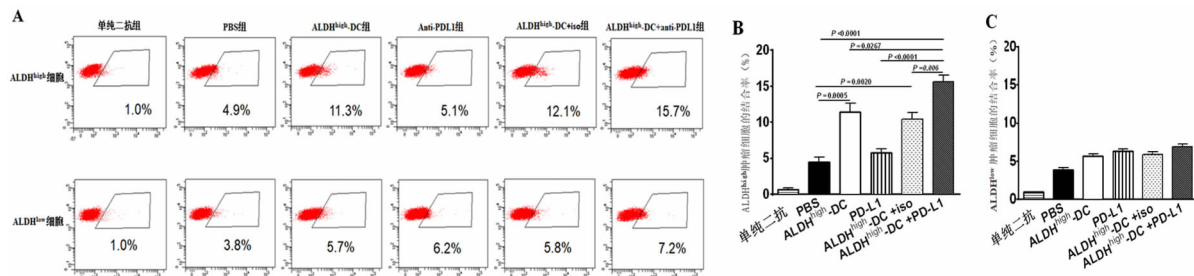


图4 各组小鼠 B 细胞的培养上清与 ALDH<sup>high</sup> 或 ALDH<sup>low</sup> 肿瘤细胞的结合能力 (A: 流式细胞图; B: 柱状图, 与 ALDH<sup>high</sup> CSCs 肿瘤细胞的结合能力; C: 柱状图, 与 ALDH<sup>low</sup> 肿瘤细胞的结合能力。各组实验独立重复 3 次)

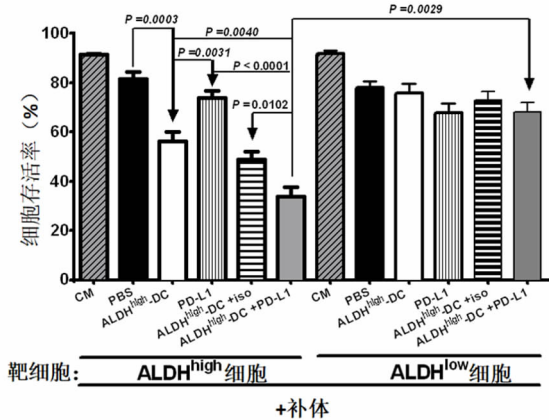


图5 各组小鼠脾脏B细胞培养上清与ALDH<sup>high</sup>或ALDH<sup>low</sup>肿瘤细胞共孵育行CDC试验(计算细胞的存活率,实验独立重复3次)

要原因是无法诱导机体产生靶向CSCs的特异性免疫反应。在黑色素瘤和头颈部鳞状上皮癌的肿瘤细胞中,以ALDH为标记可以分选出一群具有极强的自我更新能力的CSCs<sup>[8,22]</sup>。利用ALDH<sup>high</sup>CSCs的裂解物致敏DCs制成ALDH<sup>high</sup>CSC-DC疫苗,可以成功诱导肿瘤负载小鼠体内产生靶向CSCs的细胞免疫和体液免疫作用<sup>[5~7]</sup>。PD-L1在CSCs上的高表达,帮助了CSCs的免疫逃逸<sup>[23,24]</sup>。

目前肿瘤免疫治疗主要聚焦在T细胞领域,常忽视B淋巴细胞的生物学功能,B细胞在肿瘤免疫中也扮演着非常重要的角色。DC将抗原递呈给B细胞后,B细胞可产生特异性抗体,通过抗体依赖的细胞毒性或者补体依赖的细胞毒性而裂解肿瘤细胞<sup>[16,25]</sup>。有研究提示,同时刺激T细胞上的CD3和B细胞上的CD40可增强肿瘤引流淋巴结(tumor draining lymph node, TDLN)细胞的抗肿瘤反应<sup>[26]</sup>,且回输体外激活的TDLN B细胞能显著缩小肿瘤体积<sup>[16,17]</sup>。致敏活化的B淋巴细胞可以产生靶向肿瘤细胞的特异性抗体,在补体存在时裂解肿瘤细胞<sup>[27]</sup>。抑制肿瘤细胞上PD-L1与B细胞上PD-1相结合,有可能会增加B细胞的抗肿瘤免疫作用。

本实验证实,相较于单独的ALDH<sup>high</sup>CSC-DC疫苗,其联合PD-L1单克隆抗体治疗可显著减少肿瘤组织中CSCs的含量,抑制肿瘤生长并延长荷瘤小鼠的生存。联合治疗组的小鼠脾脏来源B淋巴细胞上PD-1的表达量显著下降,从而在一定程度上解除CSCs对B细胞功能的抑制作用。因此,我们进一步检测了各组小鼠脾脏B淋巴细胞活化培养上清中抗体结合CSCs的能力以及CDC作用。结果提示ALDH<sup>high</sup>CSC-DC疫苗组小鼠的B细胞产生的抗体可以特异性结合CSCs,并且通过CDC选择性

地裂解CSCs,与此前实验结果一致<sup>[6]</sup>。同时,在本实验中使用PD-L1单克隆抗体的联合治疗显著增强了ALDH<sup>high</sup>CSC-DC疫苗致敏的B细胞的上述作用。

本实验结果提示PD-L1单克隆抗体可以显著增强ALDH<sup>high</sup>CSC-DC疫苗致敏的小鼠B淋巴细胞靶向CSCs的体液免疫作用。PD-L1单克隆抗体作为一种ALDH<sup>high</sup>CSC-DC疫苗联合治疗手段可以帮助疫苗发挥更好的抗肿瘤效应,为ALDH<sup>high</sup>CSC-DC疫苗联合PD-L1单克隆抗体治疗肿瘤患者的临床应用提供理论基础。

参考文献

- Jordan CT, Guzman ML, Noble M. Cancer stem cells [J]. N Engl J Med, 2006, 355 (12): 1253-1261.
- Dallas, NA, Xia L, Fan F, et al. Chemoresistant colorectal cancer cells, the cancer stem cell phenotype, and increased sensitivity to insulin-like growth factor-I receptor inhibition [J]. Cancer Res, 2009, 69 (5): 1951-1957.
- Muralikrishnan V, Hurley TD, Nephew KP. Targeting aldehyde dehydrogenases to eliminate cancer stem cells in gynecologic malignancies [J]. Cancers (Basel), 2020, 12 (4): 961.
- Shenoy A, Butterworth E, Huang EH. ALDH as a marker for enriching tumorigenic human colonic stem cells [J]. Methods Mol Biol, 2012, 916: 373-385.
- Lu L, Tao H, Chang AE, et al. Cancer stem cell vaccine inhibits metastases of primary tumors and induces humoral immune responses against cancer stem cells [J]. Oncoimmunology, 2015, 4 (3): e990767.
- Hu Y, Lu L, Xia Y, et al. Therapeutic efficacy of cancer stem cell vaccines in the adjuvant setting [J]. Cancer Res, 2016, 76 (16): 4661-4672.
- Liao F, Zhang J, Hu Y, et al. Efficacy of an ALDH peptide-based dendritic cell vaccine targeting cancer stem cells [J]. Cancer Immunol Immunother, 2022, 71 (8): 1959-1973.
- Ning N, Pan Q, Zheng F, et al. Cancer stem cell vaccination confers significant antitumor immunity [J]. Cancer Res, 2012, 72 (7): 1853-1864.
- Agata Y, Kawasaki A, Nishimura H, et al. Expression of the PD-1 antigen on the surface of stimulated mouse T and B lymphocytes [J]. Int Immunol, 1996, 8 (5): 765-772.
- Chang WS, Kim JY, Kim YJ, et al. Cutting edge: programmed death-1/programmed death ligand 1 interaction regulates the induction and maintenance of invariant NKT cell anergy [J]. J Immunol, 2008, 181 (10): 6707-6710.
- Flies DB, Chen L. The new B7s: playing a pivotal role in tumor immunity [J]. J Immunother, 2007, 30 (3): 251-260.
- Iwai Y, Terawaki S, Honjo T. PD-1 blockade inhibits hematogenous spread of poorly immunogenic tumor cells by enhanced recruitment of effector T cells [J]. Int Immunol, 2005, 17 (2): 133-144.
- Brahmer JR, Tykodi SS, Chow LQ, et al. Safety and activity of anti-PD-L1 antibody in patients with advanced cancer [J]. N Engl J Med, 2012, 366 (26): 2455-2465.

- 138-141.
- 6 Xu PP, Huo YJ, Zhao WL. All roads lead to targeted diffuse large B-cell lymphoma approaches[J]. *Cancer Cell*, 2022, 40(2): 131-133.
  - 7 胡亚丽. CHOP化疗方案联合造血干细胞移植在治疗侵袭性非霍奇金淋巴瘤患者中的应用价值[J]. *罕少疾病杂志*, 2023, 30(5): 91-92.
  - 8 董艳, 周涛, 胡桂英. 淋巴瘤化疗后出现嗜血细胞综合征1例的诊治体会[J]. *内科急危重症杂志*, 2019, 25(1): 83-86.
  - 9 Lee WI, Chen SH, Hung IJ, et al. Clinical aspects, immunologic assessment, and genetic analysis in Taiwanese children with hemophagocytic lymphohistiocytosis[J]. *Pediatr Infect Dis J*, 2009, (1): 30-34.
  - 10 Setiadi A, Zoref-Lorenz A, Lee CY, et al. Malignancy-associated haemophagocytic lymphohistiocytosis[J]. *Lancet Haematol*, 2022, 9(3): e217-e227.
  - 11 吕秋霞, 王娜, 黄丽芳, 等. 2例弥漫性大B细胞淋巴瘤CAR-T治疗后继发第二肿瘤病例报告[J]. *内科急危重症杂志*, 2023, 29(3): 255-257.
  - 12 Henter JI, Horne A, Aricó M, et al. HLH-2004: Diagnostic and therapeutic guidelines for hemophagocytic lymphohistiocytosis[J]. *Pediatr Blood Cancer*, 2007, 48(2): 124-131.
  - 13 闫冬梅, 桑威, 宋旭光, 等. 不同病因伴发严重噬血细胞综合征9例诊疗体会[J]. *内科急危重症杂志*, 2019, 25(2): 103-106.
  - 14 Zoref-Lorenz A, Murakami J, Hofstetter L, et al. An improved index for diagnosis and mortality prediction in malignancy-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis[J]. *Blood*, 2022, 139(7): 1098-1110.
  - 15 刘薇, 张梦, 徐欣, 等. 细胞因子对继发性噬血细胞综合征和重型肝炎合并感染具有早期鉴别意义[J]. *内科急危重症杂志*, 2022, 28(1): 24-27.
  - 16 La Rosée P, Horne A, Hines M, et al. Recommendations for the management of hemophagocytic lymphohistiocytosis in adults[J]. *Blood*, 2019, 133(23): 2465-2477.
  - 17 Pi Y, Wang J, Zhou H, et al. Modified DEP regimen as induction therapy for lymphoma-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis: a prospective, multicenter study[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2022. Epub ahead of print.
  - 18 曾祥宗, 王旖旎, 王昭. 成人噬血细胞性淋巴瘤组织细胞增生症[J]. *内科急危重症杂志*, 2015, 21(2): 81-85.

(2023-08-30 收稿 2023-11-04 修回)

(上接第 159 页)

- 14 Shen X, Zhao B. Efficacy of PD-1 or PD-L1 inhibitors and PD-L1 expression status in cancer: meta-analysis[J]. *BMJ*, 2018, 362: 3529.
- 15 Kinker GS, Vitiello GAF, Ferreira WAS, et al. B Cell orchestration of anti-tumor immune responses; a matter of cell localization and communication[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 678127.
- 16 Li Q, Teitz-Tennenbaum S, Donald EJ, et al. In vivo sensitized and in vitro activated B cells mediate tumor regression in cancer adoptive immunotherapy[J]. *J Immunol*, 2009, 183(5): 3195-3203.
- 17 Xia Y, Tao H, Hu Y, et al. IL-2 augments the therapeutic efficacy of adoptively transferred B cells which directly kill tumor cells via the CXCR4/CXCL12 and perforin pathways [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(37): 60461-60474.
- 18 Medema JP. Cancer stem cells: the challenges ahead[J]. *Nat Cell Biol*, 2013, 15(4): 338-344.
- 19 Garg AD, Coulie PG, Van den Eynde BJ, et al. Integrating next-generation dendritic cell vaccines into the current cancer immunotherapy landscape[J]. *Trends Immunol*, 2017, 38(8): 577-593.
- 20 Rudnick JD, Sarmiento JM, Uy B, et al. A phase I trial of surgical resection with Gliadel Wafer placement followed by vaccination with dendritic cells pulsed with tumor lysate for patients with malignant glioma[J]. *J Clin Neurosci*, 2020, 74: 187-193.
- 21 Neller MA, Lopez JA, Schmidt CW. Antigens for cancer immunotherapy[J]. *Semin Immunol*, 2008, 20(5): 286-295.
- 22 Prince MEP, Zhou L, Moyer JS, et al. Evaluation of the immunogenicity of ALDH (high) human head and neck squamous cell carcinoma cancer stem cells in vitro[J]. *Oral Oncol*, 2016, 59: 30-42.
- 23 Gupta HB, Clark CA, Yuan B, et al. Tumor cell-intrinsic PD-L1 promotes tumor-initiating cell generation and functions in melanoma and ovarian cancer[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2016, 1: 16030.
- 24 Hsu JM, Xia W, Hsu YH, et al. STT3-dependent PD-L1 accumulation on cancer stem cells promotes immune evasion [J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 1908.
- 25 Fridman WH, Meylan M, Petitprez F, et al. B cells and tertiary lymphoid structures as determinants of tumour immune contexture and clinical outcome[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2022, 19(7): 441-457.
- 26 Li Q, Grover AC, Donald EJ, et al. Simultaneous targeting of CD3 on T cells and CD40 on B or dendritic cells augments the antitumor reactivity of tumor-primed lymph node cells[J]. *J Immunol*, 2005, 175(3): 1424-1432.
- 27 Duensing TD, Watson SR. Complement-Dependent Cytotoxicity Assay [J]. *Cold Spring Harb Protoc*, 2018, 2018(2).

(2023-04-18 收稿 2024-03-11 修回)