

골수성백혈병에서 배양한 수지상세포(Dendritic Cell)에 대한 종양항원 감작법으로 IL-12 첨가와 융합법의 효과

가톨릭대학교 의과대학 내과학교실

김기원 · 박석영 · 홍영선

The Effectiveness of IL-12 Administration and Fusion on Tumor Antigen Sensitization Methods for Dendritic Cells Derived from Patients with Myelogenous Leukemia

Kee Won Kim, Suk Young Park and Young Seon Hong

Department of Internal Medicine, Medical College, The Catholic University of Korea, Seoul, Korea

ABSTRACT

Background: Immunotherapy using dendritic cells (DC) loaded with tumor antigens may represent a potentially effective method for inducing antitumor immunity. We evaluated the effectiveness of DC-based antitumor immune response in various conditions. **Methods:** DC were cultured from peripheral blood mononuclear cells (PBMNC) in myelogenous leukemia (ML) and lysates of autologous leukemic cells are used as tumor antigen. The effectiveness of interleukin-12 (IL-12) and CD40L (CD154) on the antigen presenting function of lysates-loaded DC was analyzed by proliferation, cytokine production, and cytotoxicity tests with activated PBMNC (mainly lymphocytes). For generating antigen-loaded DC, direct fusion of DC with ML was studied. **Results:** Antigen loaded DC induced significantly effective antitumor immune response against autologous leukemic cells. Administration of IL-12 on the DC based antitumor immune response showed higher proliferation activity, IFN- γ production, and cytotoxic activity of PBMNC. Also, fused cell has a potent antitumor immune response. **Conclusion:** We conclude that lysates-loaded DC with IL-12 may be effectively utilized as inducer of antitumor immune reaction in ML and *in vivo* application with DC-based antitumor immunotherapy or tumor vaccination seems to be feasible. (**Immune Network 2004;4(1):38-43**)

Key Words: Dendritic cells, leukemia, immunotherapy, cell fusion

서 론

종양면역학은 종양항원에 대한 특이적 면역반응에 기초를 두고 있으며, 이의 임상적 이용은 미세 잔류병소를 퇴치하여 악성종양의 완치에 크게 기여할 것으로 기대되고 있다. 지금까지 많은 연구자들의 노력에 의하여 종양세포의 종양항원이 발견되면서 이를 이용한 항암면역치료법의 개발이 활성화되고 있다(1).

수지상세포는 인간의 면역체계에서 지금까지 알려진

가장 강력한 항원전달세포로서, 생체 내 및 시험관내에서 항원으로 감작 후 원시T-림프구 및 세포독성T-림프구를 활성화시킬 수 있는 면역학적 활성화의 효과적인 매개체로 알려져 있다(2-5). 이러한 수지상세포를 면역치료법에 이용하고자 하는 연구는 이 세포를 수적으로 증가시킬 수 있는 배양기술이 개발되면서(6) 더욱 활발하게 되었다. 특히 종양세포의 면역회피기전은 면역반응신호전달 분자들(MHC 분자, 보조자극, 또는 유착분자(costimulatory or adhesion molecules))의 감소에 의한 면역반응강도의 감소 및 억제로 알려져 있으므로 이들이 비교적 풍부한 수지상세포를 이용한 강제적인 감작은 효율적인 항암면역치료법의 개발에 매우 유용할 것으로 생각된다.

지금까지 수지상세포를 이용한 면역치료법이 효과가

책임저자 : 김기원, 가톨릭대학교 대전성모병원 종양혈액내과
☎ 301-723, 대전시 중구 대흥 2동 520-2
Tel: 042-220-9114, Fax: 042-255-8663
E-mail: kwkim@djsungmo.com

본 연구는 가톨릭암센터 연구비의 보조로 이루어졌음.

있다고 보고된 질환은 악성흑색종(7), 전립선암(8), 악성 림프종(9) 등이 있으나 아직까지 표준화된 치료법으로 정립되지 못하였는데, 그 이유는 수지상세포를 감작시키기 위한 방법과 이를 임상적으로 적용하여 반응세포인 말초혈액 단핵구(주로 세포독성T-림프구)들의 항암 면역반응을 유도할 수 있는 방법이 아직 확립되어 있지 않기 때문이다. 최근까지 연구되고 있는 종양항원을 수지상세포에 감작시키기 위한 방법으로는 종양항원으로 종양세포의 lysates, 단백질, 펩타이드, RNA, 혹은 DNA를 이용하는 방법이 연구되고 있다(10). 또한 이들을 효과적으로 감작시키는 방법으로 단순한 물리적인 접촉으로 감작시키는 방법과 liposomes이나 vector 같은 매개체를 사용하는 방법 및 융합법(11-13)이 연구되고 있다.

종양항원을 감작시키기 위한 방법으로 종양세포와 수지상세포를 융합시켜서 항암면역반응을 유도하는 방법은, 종양세포의 면역회피기전이 면역반응신호전달 분자들의 감소에 의한 면역반응강도의 감소로 알려져 있으므로 이를 극복할 수 있는 기법의 한 가지가 될 수 있을 것이다. 아울러서 감작된 수지상세포가 반응세포들의 면역반응 유도를 강화하기 위한 방법으로 여러 가지 배양조건들의 개발이 보고되고 있다. 그러나 이러한 방법들은 각각 장단점이 있어서 효과적인 항암면역반응을 유도하기 위한 방법의 개발 및 확립을 위해서는 아직도 많은 연구가 필요하다.

본 연구자는 백혈병세포에 대한 면역반응의 유도를 강화시킬 수 있는 방법을 개발하고자, 백혈병 환자의 말초혈액 단핵구로부터 수지상세포를 배양하고, 환자의 종양세포의 lysates를 종양항원으로 이용하여 감작시킨 후, 반응세포인 말초혈액 단핵구의 활성화 및 암세포에 대한 특이적 면역반응을 유도하는 과정에서 Th1 면역반응을 유도하는 물질로 알려진 인터루킨-12와 CD40 ligand (CD40L, CD154)를 이용하여 효율적인 Th1 면역반응이 강화될 수 있는지 알아보려고 하였다.

또한 polyethylene glycol을 이용하여 수지상세포를 암세포와 융합시키는 방법으로 종양항원을 감작시켜서 반응세포의 활성화 및 암세포에 대한 특이적 면역반응 유도 및 향후 능동적 면역치료법의 개발에 이용될 수 있는지 알아보려고 하였다.

대상 및 방법

대 상. 항암제와 같은 특별한 치료를 시작하기 전의 만성기의 만성골수성백혈병 5명과 급성골수성백혈병 3명을 대상으로 하였다. 백혈병 세포는 말초 혹은 골수천자에서 획득된 백혈구에서 RBC lysis buffer (R&D, MN, USA)와 Ficoll/Hypaque 비중구배 차이를 사용하여 분리하였다. 획득된 종양세포는 90% 이상인 경우 냉동 보관하여 면역반응 유도실험의 항원 및 세포독성실험에 사

용하였다. 수지상세포는 환자가 임상적인 관해에 도달한 후 Ficoll/Hypaque 비중구배 차이를 이용하여 말초혈액으로부터 단핵구를 분리하여 배양하였고, 수지상세포 배양 후 다시 말초혈액 단핵구들을 획득하여 반응세포로 사용하였다.

수지상세포 배양 및 종양세포 lysates. 수지상세포는 임상적인 관해에 도달한 후 일주일 이상 항암제가 투여되지 않은 상태에서 말초혈액으로부터 분리한 단핵구들을 GM-CSF (Endogen, MA, USA) 200µg/ml와 인터루킨-4 (Endogen) 8 ng/ml가 첨가된 RPMI-1640 배양액에 약 7일간 배양하여 사용하였다(6). 종양항원으로 사용한 lysates는 진단 시 냉동 보관된 종양세포의 일부를 반복적인 온도차에 의하여 사멸시켜서 제작하였다.

자가 종양세포에 대한 항원감작 및 반응세포 활성화. 배양된 수지상세포를 종양세포 lysates로 감작시켜서 환자의 반응세포들을 활성화시키는 지 알아보았다. 종양세포에 대한 반응세포들의 활성화 과정에 수지상세포의 활성화를 강화하기 위하여 Th1 면역반응의 유도를 인 인터루킨-12 (p70, Pharmingen, CA, USA) 3.5 µg/ml 및 CD40L (Serotec, UK) 5µg/ml를 배양 24시간 후부터 첨가하여 그 효율성을 조사하여 보았다. 이 때 효율성은 반응세포들의 활성화로 평가하였는데, 배양 7일째 ³H-thymidine을 이용하여 증식반응으로 측정하였고, 5일째 배양액에서 ELISA법(Endogen)을 이용한 Th1 사이토카인인 인터페론-γ를 측정하였다. 검사는 통상적인 방법에 따라 포함된 설명서에 따라서 시행하였다. 또한 Prostaglan E₂ (Cayman Chemical, MI, USA) 1µg/ml의 영향도 같은 방법으로 조사하여 보았다.

활성화된 반응세포들의 자가 암세포에 대한 세포독성. 수지상세포에 의하여 활성화된 반응세포들이 종양항원에 특이적 면역반응을 보이는지 알아보기 위하여 냉동 보관되었던 암세포에 대한 세포독성을 측정하였다. 세포독성 측정은 백혈병세포 파괴 시 유출되는 LDH (lactate dehydrogenase)를 측정하는 방법을 이용하여 다음과 같은 공식을 이용하여 계산하였다(14).

$$\frac{[E-St-Se]}{[M-St]} \times 100$$

E: the LDH release by effector-target coculture
St: the spontaneous LDH release by target cells
Se: the spontaneous LDH release by effector cells
M: the maximal LDH release by target cells

모든 반응은 12시간 동안 시행되었고, M값은 암세포를 0.5% Triton-100 (Sigma, MO, USA)에 용해시켜서 구하였다.

종양세포와 융합된 수지상세포의 항원감작 및 단핵구 활성화. 백혈병 세포와 수지상세포의 융합세포가 반응

세포들을 활성화시키는지 알아보았다. 수지상세포와 방사선 조사로 비활성화시킨 골수성백혈병 종양세포를 혼합한 후 50% polyethylene glycol (Sigma)을 넣고 24시간 배양 후 현미경하에 융합 여부를 확인하였다. 융합세포가 포함된 수지상세포에 반응세포들을 넣고 ³H-thymidine을 이용하여 증식반응을 측정하여 보았다. 이 결과를 융합세포를 만들 때 사용된 종양세포와 같은 수의 종양세포로 직접 수지상세포를 감작했을 때의 반응세포 증식반응과 비교하여 융합법이 단순하게 종양세포를 직접 감작하는 방법보다 우수한지 확인하여 보았다.

통계학적 처리. 모든 반응은 3배수 실험의 평균값과 표준 오차로 산출하였다. 통계학적 처리는 paired T-test를 이용하였고 유의 수준은 0.05 이하로 판단하였다.

결 과

인터루킨-12와 CD40L를 이용한 반응세포들의 증식반응. 백혈병 세포 lysates에 감작된 수지상세포를 이용하여 반응세포들을 활성화시키는 과정에서 인터루킨-12 및 CD40L를 첨가하고 ³H-thymidine을 이용하여 증식반응을 측정한 결과 CD40L를 첨가한 경우 의미 있는 증가가 없었으나 인터루킨-12를 첨가하거나, 인터루킨-12와 CD40L를 첨가한 경우에는 현저한 증가가 있었다(Fig. 1). 이러한 증식반응은 수지상세포를 사용하지 않거나 감작되지 않은 수지상세포를 사용한 경우보다 현저하게 높았다. Prostaglandin E₂ 첨가는 기대했던 증가가 없었다. 따라서 백혈병 세포 lysates에 감작된 수지상세포가 반응세포들을 증식시키는데 인터루킨-12의 역할이 중요하다

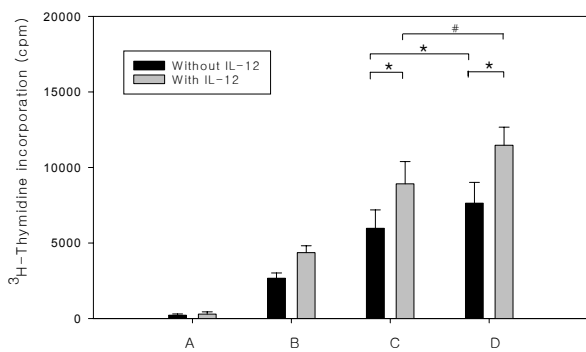


Figure 1. Proliferation test using ³H-thymidine of activated peripheral blood mononuclear cells stimulated with dendritic cells by lysates of myeloid leukemic cells in 6 myelogenous leukemia. Data represent the means±standard errors. All data are calculated using the mean value of triplicate cultures. A: dendritic cells, B: responder cell (peripheral blood mononuclear cells), C: dendritic cells+responder cells D: dendritic cells+lysates of leukemic cells +responder cells (total number of cells, dendritic cells: 1×10⁴, responder cells: 1×10⁵, lysates: 1×10⁴), *: p<0.01, #: P<0.05.

는 것을 확인할 수 있었다.

인터루킨-12와 CD40L를 이용한 반응세포들의 인터페론-γ의 분비. 감작된 수지상세포와 반응세포들을 활성화시키는 과정에 인터루킨-12와 CD40L를 첨가한 후 같은 배양액에서 Th1 면역반응을 대표하는 인터페론-γ를 ELISA법으로 측정한 결과 인터페론-γ 값의 의미 있는 증가가 있었다(Fig. 2). 이러한 증가는 수지상세포를 사

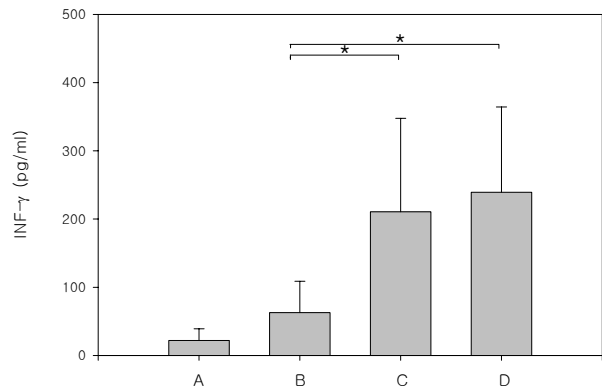


Figure 2. IFN-γ productions in the supernatant after activation of peripheral blood mononuclear cells with stimulated dendritic cells in various conditions. Data represent the means±standard errors. All data are calculated using the mean value of triplicate cultures. A: dendritic cells+responder cells (peripheral blood mononuclear cells), B: dendritic cells+lysates of leukemic cells+responder cells, C: dendritic cells+lysates of leukemic cells+responder cells+IL-12, 3,5µg/ml, D: dendritic cells+lysates of leukemic cells+responder cells+IL-12+CD40L, 5µg/ml (total number of cells, dendritic cells: 1×10⁴, responder cells: 1×10⁵, lysates: 1×10⁴). *: P<0.05

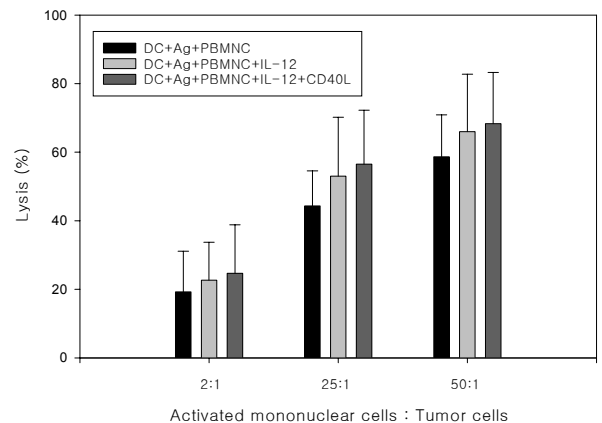


Figure 3. Cytotoxic activity of activated peripheral blood mononuclear cells against autologous leukemic cells at a various ratio. Data represent the means±standard errors. All data are calculated using the mean value of triplicate cultures. Ag: lysates of leukemic cells, PBMNC: peripheral blood mononuclear cells.

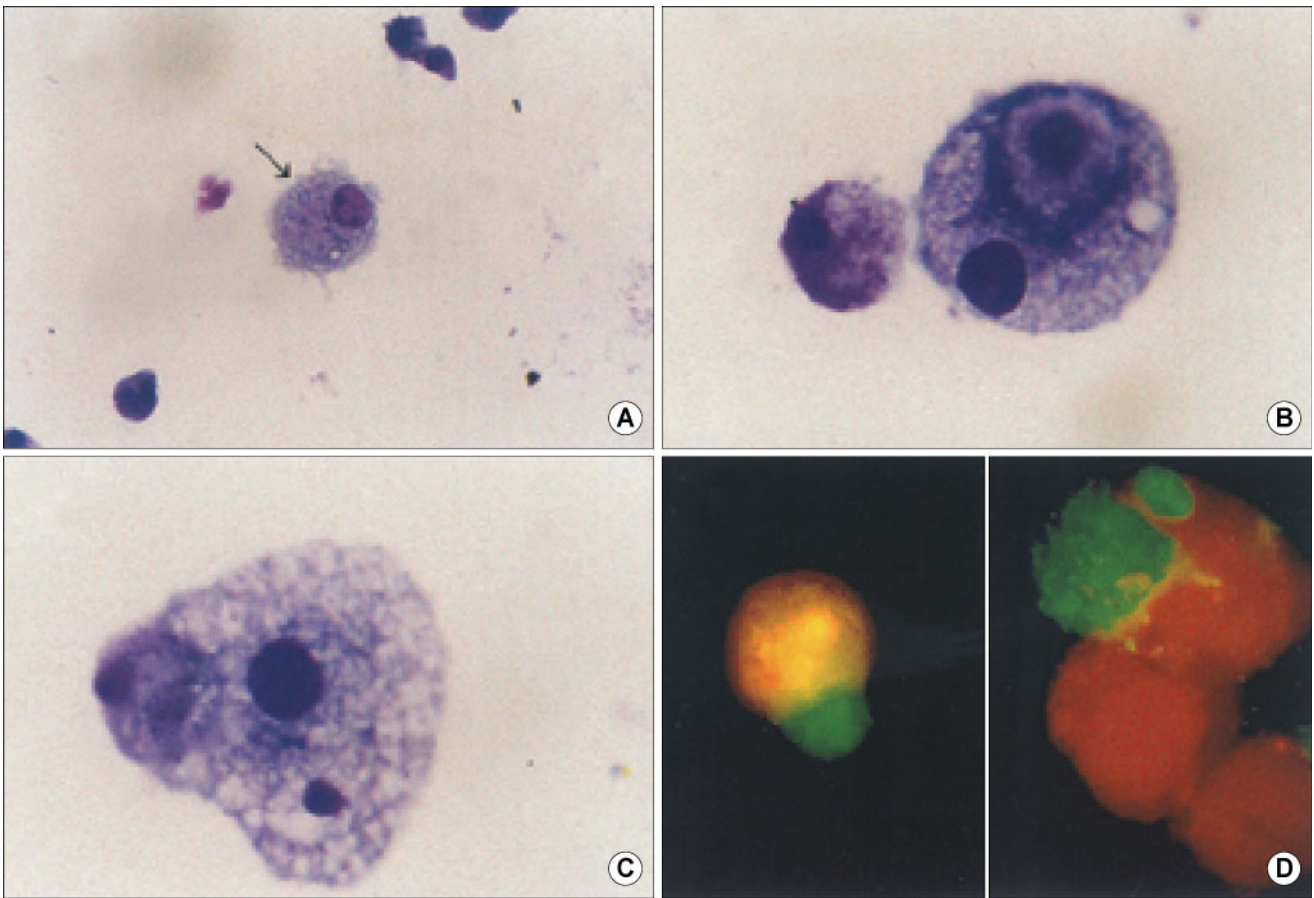


Figure 4. Microscopic morphology of fused cell between cultured dendritic cells and leukemic cells A. dendritic cell (arrow) and tumor cells, B-D. fused cells. (A Wright-Giemza $\times 400$, B, C. Wright-Giemza, $\times 1,000$, D, red CMFDA: dendritic cells, green CMTMR: tumor cells, fluorescence microscope). CMFDA: chloromethylfluorescein diacetate, CMTMR: chloromethyl tetramethylrhodamine.

용하지 않거나 감작되지 않은 수지상세포를 사용한 경우보다 높았고, 인터루킨-12나 CD40L를 각각 첨가한 경우보다 함께 투여하였을 때 높았으나 통계적인 의미는 없었다.

인터루킨-12를 이용한 세포독성. 백혈병세포에 감작된 수지상세포에 활성화된 반응세포들을 종양세포와 반응시킨 후 비율을 달리하면서 세포독성실험을 시행한 결과 반응세포들의 비율이 높아질수록 세포독성률이 높아졌다(Fig. 3). 이러한 세포독성률은 반응세포들의 활성화 과정에 인터루킨-12를 첨가한 경우 의미 있게 높았다. 따라서 종양항원에 감작된 수지상세포에 의하여 활성화된 반응세포들이 종양세포에 대하여 특이적 면역반응을 보였음을 확인할 수 있었다.

Polyethylene glycol을 이용한 융합세포의 생성. 종양세포를 수지상세포에 자극시키는 과정에서 50% Polyethylene glycol을 이용하여 수지상세포와 종양세포를 융합한 결과 약 8% 내외의 융합세포를 확인할 수 있었고 (Fig. 4), 세포에 결합하면 분리되지 않는 서로 다른 fluorescent indicators (green CMFDA 및 orange CMTMR,

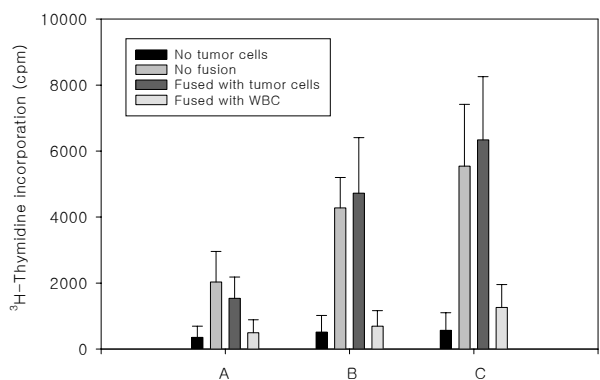


Figure 5. Proliferation test using ^3H -thymidine of activated peripheral blood mononuclear cells (PBMC) 1×10^6 with stimulated dendritic cells by lysates of tumor cells or fusion cells in myelogenous leukemia (A: no dendritic cells, B: with dendritic cells, 5×10^4 , C: with dendritic cells, 1×10^5). Data represent the means \pm standard errors. All data points shown are expressed using the mean of triplicate culture.

Molecular Probes, MN, USA)를 이용한 결과 한 세포에서 각각의 fluorescent indicators가 발현되어 세포가 하나로 융합되었음을 확인할 수 있었다.

융합세포의 반응세포 활성화. 백혈병 종양세포와 배양된 수지상세포의 융합세포에 대한 반응세포들의 증식반응을 ^3H -thymidine을 이용하여 측정하고, ELISA법으로 Th1 사이토카인인 인터페론- γ 를 배양에서 측정하여 융합세포를 만들 때 사용된 종양세포와 같은 수의 종양세포로 직접 수지상세포를 감작한 결과 융합세포가 종양항원에 대한 반응세포의 활성화를 유도할 수 있다는 사실을 확인할 수 있었다(Fig. 5). 그러나 기대하였던 융합법의 우수성은 확인할 수 없었고, 세포독성반응률도 의미 있는 차이가 없었다.

고 찰

종양항원을 면역체계에 감작시키기 위한 연구는 말초혈액 단핵구들을 이용한 수지상세포 배양법이 알려지면서 많은 발전이 이루어져, 이에 관련된 연구가 현저하게 증가되었으나, 아직까지 표준치료법은 정립되어 있지 않고 있다. 본 연구자들은 만성골수성백혈병 환자의 말초혈액에서 수지상세포를 배양하여 종양세포로 자극을 주었을 때 종양세포에 대한 면역반응이 유도되고 세포독성이 증가하는 것을 보고한 바 있다(15). 그러나 임상적인 효능을 유도하기에는 더욱 강한 면역반응의 유도가 필요할 것으로 판단되어 여러 가지 조건에서 이를 강화시키려는 노력에 본 연구를 시작하게 되었다.

본 연구자는 면역반응을 강화하기 위하여 우선적으로 인터루킨-12를 사용하였는데, 인터루킨-12는 면역반응과정에서 Th1 면역반응을 유도하고 Th2 면역반응을 억제하여 세포성 면역반응을 증진시키는 것으로 알려져 있다(16). 본 연구에서도 인터루킨-12는 감작된 수지상세포에 의하여 활성화된 반응세포들을 증식시키고 Th1 면역반응을 유도하는 인터페론- γ 의 분비를 증가시키며, 종양세포에 대한 세포면역반응을 증가시킨다는 것을 확인할 수 있었다. 따라서 종양에 대한 면역학적 치료로 인터루킨-12를 사용한 임상시험이 더욱 활성화되어야 할 것으로 판단된다. CD40L은 수지상세포의 CD40과 결합하여 수지상세포를 성숙시키고 여러 가지 보조자극 및 유착분자의 표현을 증가시킴으로써 면역반응을 활성화시키고 세포성 면역반응을 유도하는 것으로 알려져 있다(17,18). 본 연구에서도 긍정적인 결과를 확인할 수 있었으나 기대되었던 인터루킨-12와의 증가된 효과를 관찰할 수 없었다. 본 연구자는 인터루킨-12에 의한 면역반응의 증가 효과가 강하여 CD40L에 의한 더 이상의 현저한 활성화는 이루어지지 못하는 인터루킨-12에 의한 반응세포의 천정효과를 만족스럽지 못한 결과의 원인 중 하나로 추측하였다. 향후 반응세포의 배양시간을 늘

리거나 세포수를 늘리는 등의 좀더 세분된 실험을 하면 인터루킨-12와 CD40L의 상승효과를 증명할 수 있을 것으로 판단되었다. Prostaglandin E₂는 염증을 일으키는 중재자(pro-inflammatory mediator)로서 수지상세포를 이동시키고 성숙시키는 것으로 알려져 있으나(19,20), 본 연구에서 말초혈액 단핵구의 활성화에 대한 효과가 인터루킨-12의 효과에 비하여 기대했던 만큼 우수하지 않아서 상승효과에 대한 더 이상의 실험을 진행하지 않았다. 이러한 결과도 CD40L의 추가에서 기대했던 상승효과가 나오지 못한 것과 같은 원인으로 생각되었고 마찬가지로 좀더 세분된 실험이 필요하리라 판단되었다.

면역반응을 강화시키려는 방법 중 본 연구자는 융합법으로 종양항원을 감작시키려는 연구를 시험해 보았다. 최근에 종양항원을 감작시키기 위한 방법으로 종양세포와 수지상세포를 융합시켜서 항암면역반응을 성공적으로 유도하였다는 보고가 있다. Gong 등(11)은 murine adenocarcinoma cells을, Lespagnard 등(12)은 mastocytoma cells을, 그리고 Wu 등(13)은 hepatocellular carcinoma cells을 각각 수지상세포와 융합시켜서 종양세포에 대한 면역반응과 세포독성반응을 확인하였다. 비록 이러한 결과가 아직은 동물실험에 국한된 것이지만 융합세포를 이용한 면역반응유도는 기존의 방법과 비교하여 볼 때 특히 종양항원이 규명되지 않은 경우 가장 효과적인 방법인 것으로 판단된다. 종양세포의 면역회피기전은 면역반응신호전달 분자들의 감소에 의한 면역반응강도의 감소 및 억제로 알려져 있다. 종양세포와 수지상세포의 hybrid cells을 만들면, 종양세포에는 부족하지만 수지상세포에는 풍부한 MHC 분자와 종양세포의 종양항원이 결합하여 고농도로 표현될 가능성이 높아지고, 보조자극 또는 유착분자들도 많아지므로 종양세포에 대한 면역반응을 유도하는 데 탁월할 것이다.

본 연구자는 세포간 융합의 방법으로 polyethylene glycol을 사용하였는데, 그 기전은 아직까지 정확하게 알려지지 않았지만 지금까지 많이 이용되고 있고(21), 그 외에도 전기적 충격으로 융합시키는 방법(22)과 융합조절단백(fusion regulatory protein CD98)을 이용하는 방법(23) 등이 알려져 있다. 문헌 고찰에 의하면 이들 방법들의 효능은 비슷하여, 조건에 따라서 10% 전후의 융합률을 보이는 것으로 알려져 있다. 본 연구자도 융합법을 이용하여 말초혈액 단핵구의 증식을 확인하였으나 lysates나 단순한 물리적인 접촉에 의한 수지상세포의 감작에 비하여 현저하게 우수한 효과는 관찰되지 않았다. 향후 10% 전후의 융합률을 더 높이는 방법의 연구가 진행되어야 할 것이다.

본 연구의 특성은 지금까지 많은 동물실험을 통해서 종양에 대한 높은 면역반응유도로 임상예의 적용가능성이 높았던 인터루킨-12의 우수성을 비록 시험관내 실험

이었지만 사람의 종양세포를 대상으로 확인하였고, 종양세포에 대한 면역반응의 유도를 위하여 사람의 종양세포를 이용한 융합법이 가능하다는 것을 연구한 것이라 생각된다.

결론적으로 종양의 완치율을 높이기 위한 종양면역치료의 발전을 위해서는 현재까지 미약한 종양항원에 대한 강력한 면역반응이 일어날 수 있도록 활성화시킬 수 있는 방법이 계속 연구되어야 하고 그 중에서 인터루킨-12에 대한 적극적인 연구가 필요하리라 판단된다.

참 고 문 헌

- Herberman RB: Tumor immunology. JAMA 268;2935-2939, 1993
- Van Schooten WCA, Strang G, Palathumpat V: Biological properties of dendritic cells: implications to their use in the treatment of cancer. Mol Med Today 3;254-260, 1997
- Austyn JM, Phil MA: Dendritic cells. Cur Opin in Hematol 5;3-15, 1998
- Gilboa E, Nair SK, Lysterly HK: Immunotherapy of cancer with dendritic-cell-based vaccines. Cancer Immunol Immunother 46;82-87, 1998
- Morse MA, Lysterly HK: Immunotherapy of cancer using dendritic cells. Cytokines, Cell Mol Ther 4;35-44, 1998
- Romani N, Gruner S, Brang D, Kämpgen E, Lenz A, Trockenbacher B, Konwalinka G, Fritsch PO, Steinman RM, Schuler G: Proliferation dendritic cell progenitors in human blood. J Exp Med 180;83-93, 1994
- Mukherji B, Chakraborty NG, Yamasaki S: Induction of human antigen-specific cytolytic T cells in situ in human melanoma by immunization with synthetic peptide-pulsed dendritic cells. Nat Med 2;52-58, 1997
- Salgaller ML, Tjoa BA, Lodge H, Kenny G, Boynton A, Murphy GP: Dendritic cell-based immunotherapy of prostate cancer. Crit Rev Immunol 18;109-119, 1998
- Hsu FJ, Benike C, Fagnoni F, Liles TM, Czerwinski D, Taidi B, Engleman EG, Levy R: Vaccination of patients with B-cell lymphoma using autologous antigen-pulsed dendritic cells. Nat Med 2;52-58, 1996
- Doczkowski D, Nair SK, Snyder D, Gilboa E: Dendritic cells pulsed with RNA are potent antigen-presenting cells in vitro and in vivo. J Exp Med 184;465-472, 1996
- Gong J, Chen D, Kashiwaba M, Kufe D: Induction of antitumor activity by immunization with fusions of dendritic and carcinoma cells. Nat Med 3;558-561, 1997
- Lespagnard L, Mettens P, Verheyden A, Tasiaux N, Thielemans K, van Meirvenne S, Geldhof A, de Baetselier P, Urbain J, Leo O, Moser M: Dendritic cells fused with mastocytoma cells elicit therapeutic antitumor immunity. Int J Cancer 76;250-258, 1998
- Wu S, Ma J, Che X, Liu Y, Wang H, Zhao J, Shen F, Xie T, Trojan J, Wu M, Guo Y: Treatment of hepatocellular carcinoma with the cellular tumor vaccines generated by in vitro modification of tumor cells with non gene transfer approaches. Adv Exp Med Biol 451;283-293, 1998
- Weidmann F, Brieger J, Jahn B, Hoelzer D, Bergmann L, Mitrou PS: Lactate dehydrogenase-release assay: A reliable, nonradioactive technique for analysis of cytotoxic lymphocyte-mediated lytic activity against blasts from acute myelocytic leukemia. Ann Hematol 70;153-158, 1995
- Park SY, Kim KW: In vitro culture of dendritic cells and activation of peripheral blood mononuclear cells in patients with chronic myelogenous leukemia. Korean J Hematol 35;50-57, 2000
- Gately MK, Wolitzky AG, Quinn PM, Chizzonite R: Regulation of human cytolytic lymphocyte responses by interleukin-12. Cell Immunol 143;127-142, 1992
- Terheyden P, Straten P, Bröcker E, Kämpgen E, Becker J: CD40-ligated dendritic cells effectively expand melanoma-specific CD8⁺ CTLs and CD4⁺ IFN- γ -producing T cells from tumor-infiltrating lymphocytes. J Immunol 164;6633-6639, 2000
- Sato T, Terai M, Yasuda R, Watanabe R, Berd D, Mastrangelo M, Hasumi K: Combination of monocyte-derived dendritic cells and activated T cells which express CD40 ligand: a new approach to cancer immunotherapy. Cancer Immunol Immunother 53;53-61, 2004
- Hoffmann TK, Meidenbauer N, Müller-Berghous J, Storkus WJ, Whiteside TL: Proinflammatory cytokines and CD40 ligand enhance cross-presentation and cross-priming capacity of human dendritic cells internalizing apoptotic cancer cells. J Immunother 24;162-171, 2001
- Luft T, Jefford M, Luetjens P, Hochrein H, Masterman K, Maliszewski C, Shortman K, Cebon J, Maraskovsky E: Functionally distinct dendritic cell populations induced by physiologic stimuli: prostaglandin E₂ regulates the migratory capacity of specific DC subsets. Blood 200;1362-1372, 2002
- Lentz BR: Polymer-induced membrane fusion: potential mechanism and relation to cell fusion events. Chem Phys Lipids 73; 91-106, 1994
- Scott-Taylor TH, Pettengell R, Clarke I, Stuhler G, La Barthe MC, Walden P, Dalgleish AG: Human tumour and dendritic cell hybrids generated by electrofusion: potential for cancer vaccines. Biochim Biophys Acta 1500;265-279, 2000
- Tsurudome M, Ito Y: Function of fusion regulatory proteins in immune cells and virus-infected cells. Crit Rev Immunol 10; 167-196, 2000