

治疗性人乳头瘤病毒 16 型疫苗的人参皂苷单体佐剂筛选研究

高孟, 高丽美, 吴洁, 陈刚, 李剑波, 周冬, 罗永能, 庄昉成^{*}(浙江省医学科学院病毒病研究所, 杭州 310013)

摘要: 目的 研究不同人参皂苷单体佐剂对治疗性人乳头瘤病毒 16 型(human papillomavirus type 16, HPV16)重组疫苗免疫效果的影响, 筛选合适的人参皂苷单体作为候选佐剂。方法 选择 5 种人参皂苷单体 Rb1、Rh1-1、Rh1-2、Rg1、Rg3, 分别与治疗性 HPV16 重组疫苗联合免疫 C57BL/6 小鼠, 用酶联免疫斑点试验比较各组小鼠的特异性细胞免疫应答水平, 同时比较这 5 种人参皂苷单体对治疗性 HPV16 重组疫苗抑制小鼠肿瘤生长的影响。结果 人参皂苷单体 Rg1、Rb1 可以显著提高治疗性 HPV16 重组疫苗特异性细胞免疫应答(HPV+Rg1 组 vs HPV 组: $t=3.729$, $P=0.006$; HPV+Rb1 组 vs HPV 组: $t=3.204$, $P=0.013$), 同时可以在小鼠特异性肿瘤模型建立 4 周时, 有效抑制肿瘤的生长水平(HPV+Rg1 组 vs HPV 组: $t=2.318$, $P=0.032$; HPV+Rb1 组 vs HPV 组: $t=2.258$, $P=0.037$)。结论 人参皂苷单体 Rg1、Rb1 能在 C57BL/6 小鼠中提高治疗性 HPV16 重组疫苗的特异性免疫效果, 有望成为候选佐剂。

关键词: 人参皂苷; T 细胞免疫; 人乳头瘤病毒 16; 治疗性疫苗

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2019)04-0406-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2019.04.005

引用本文: 高孟, 高丽美, 吴洁, 等. 治疗性人乳头瘤病毒 16 型疫苗的人参皂苷单体佐剂筛选研究[J]. 中国现代应用药学, 2019, 36(4): 406-410.

Screening of Ginsenoside Adjuvant with Therapeutic Human Papillomavirus-16 Recombinant Vaccine

GAO Meng, GAO Limei, WU Jie, CHEN Gang, LI Jianbo, ZHOU Dong, LUO Yongneng, ZHUANG Fangcheng^{*}(Institute of Viral Diseases, Zhejiang Academy of Medical Sciences, Hangzhou 310013, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To screen different ginsenosides as candidate adjuvant on therapeutic human papillomavirus-16 (HPV16) recombinant vaccine by comparing their effect on immune response. **METHODS** Five ginsenosides(Rb1, Rh1-1, Rh1-2, Rg1, Rg3) were selected and immunized with HPV16 recombinant vaccine on C57BL/6 mice. The level of cellular immune responses was detected by ELISPOT in mice, and the effect of ginsenosides on tumor growth inhibition of HPV16 recombinant vaccine was observed. **RESULTS** Ginsenosides Rg1 and Rb1 could significantly increase the specific cellular immune response of therapeutic HPV16 recombinant vaccine (HPV+Rg1 group vs HPV group: $t=3.729$, $P=0.006$; HPV+Rb1 group vs HPV group: $t=3.204$, $P=0.013$) and higher tumor growth inhibition in week four (HPV+Rg1 group vs HPV group: $t=2.318$, $P=0.032$; HPV+Rb1 group vs HPV group: $t=2.258$, $P=0.037$). **CONCLUSION** The ginsenosides Rg1 and Rb1 can improve the specificity immune effect of HPV16 recombinant vaccine in C57BL/6 mice, and maybe can become candidate adjuvants.

KEYWORDS: ginsenosides; T cell immunity; human papillomavirus 16; therapeutic vaccine

人乳头瘤病毒(human papillomavirus, HPV)感染对于宫颈癌的发生起着十分重要的作用, 临床研究表明, 宫颈癌标本中 HPV DNA 的检出率可>90%, 其中 HPV16 和 HPV18 是引起宫颈癌及癌前病变最常见的型别, 大约有 70%的阳性标本中可以检测到这 2 种型别病毒, 其中又以 HPV16 型的影响最大^[1-2]。因此, 为了更好地防治宫颈癌, 深入开展 HPV16 型疫苗的研究有着极其重大的经

济意义和社会价值。截至目前, 预防性的 HPV 多价疫苗已在国内外上市, 取得了很好的临床保护效果。但是这类疫苗仅能在健康女性人体内建立免疫屏障来预防 HPV 病毒的感染, 却无法对已经感染 HPV 的患者产生治疗效果, 且对于接种者的年龄也有一定限制^[3]。临床上针对 HPV 感染没有特效的治疗方法, 只有当感染细胞发生癌变的时候才会采取联合手术和化疗等方式进行治疗, 这

基金项目: 浙江省医药卫生科技计划项目(2015KYB095); 浙江省中医药科技计划项目(2016ZA043); 浙江省医学生物工程疫苗研发重点实验室(2008F3022); 浙江省科技厅 2018 年院士基金(CB1835D)

作者简介: 高孟, 男, 硕士, 副研究员 Tel: (0571)89890277 E-mail: gaom8888@126.com *通信作者: 庄昉成, 男, 硕士, 研究员 Tel: (0571)89890277 E-mail: fc Zhuang@126.com

种方式势必会大大延误患者的病情,且手术本身存在的风险以及术后复发的问題给患者带来了极大的困扰^[4]。综上所述,研发治疗性 HPV 疫苗,对于降低患者癌变的风险有着非常重要的临床意义。

目前,已有多家机构开展了治疗性 HPV 疫苗的临床试验研究,这些治疗性疫苗主要以 HPV 病毒的早期蛋白 E6、E7 作为靶抗原,通过诱导人体产生特异性的细胞免疫反应来控制、消除感染 HPV 的良性或恶性病灶。临床试验研究表明:这些治疗性疫苗具有一定的治疗效果,但是在进行统计分析时,受试者的细胞免疫反应水平与临床病理转归之间相关性的统计学意义不显著,这与预期的结果还存在很大的差距,其主要原因在于疫苗所引发的特异性细胞毒性淋巴细胞(CTL)清除能力不足^[5-8]。因此,选用合适的佐剂来提高疫苗的免疫效果对于疫苗突破临床试验困境有着极其重要的意义。已上市的疫苗佐剂如氢氧化铝、AS04 等主要用于增强体液免疫,无法有效增强特异性的细胞免疫。笔者在前期研究中发现,含有非甲基化 CpG 基序的脱氧寡核苷酸是一种比较有效的免疫佐剂,但是由于安全性等方面的问题,其上市机会渺茫^[9]。人参皂昔作为人参中的异类有效成分,具有广泛的药理作用,目前已有 40 多种人参皂昔单体被分离得到^[10-11]。一些人参皂昔单体具有协同抗肿瘤免疫和调节免疫功能等方面的作用^[12-14]。利用人参皂昔作为疫苗佐剂来提高治疗性疫苗的免疫效果具有一定的理论基础,本研究希望选择合适的人参皂昔单体作为疫苗佐剂,来提高已完成研究的治疗性 HPV16 重组疫苗的免疫效果^[15]。

1 材料

1.1 细胞系

TC-1 细胞系来源于 C57BL/6 小鼠肺上皮细胞,经共转染 HPV16 E6、E7 基因和激活的 ras 癌基因转化而成^[15],购自 ATCC,由本实验室建库保存。

1.2 试剂与耗材

RPMI 1640 培养基和胰酶(含 EDTA, Gibco 公司);胎牛血清(Hyclone 公司);淋巴细胞分离液(武汉博士德公司);一次性细胞筛(BD 公司);小鼠酶联免疫斑点检测(ELISPOT)试剂盒(深圳达科为公司,批号:2017-1806-3);治疗性 HPV16 重组疫

苗为浙江普康生物技术股份有限公司中试产品,其有效成分是 HPV16 E6、E7 所组成的重组融合蛋白,每瓶内毒素含量 ≤ 10 EU,无异物,无细菌、真菌生长,每剂含量为 500 mg,使用时用无热原的注射用水重悬至 1 mL,配成 $500 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的蛋白溶液;人参皂昔单体 Rb1、Rh1-1、Rh1-2、Rg1、Rg3(批号:810446, 78241, 63223, 66774, 788225)购自上海麦克林生化科技有限公司,分别用生理盐水配成 $5 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$;人乳头瘤病毒 16 型 E749-57 多肽由上海金斯瑞生物公司合成。

1.3 动物

C57BL/6 小鼠,♀,6~8 周龄,购自上海斯莱克实验动物有限公司,饲养于浙江省医学科学院实验动物中心。实验动物合格证号:SCXK(沪)2017-0005,许可证号:20130016001213。

2 方法

2.1 特异性细胞免疫反应测定

2.1.1 动物免疫 将治疗性 HPV16 重组疫苗和人参皂昔单体共同免疫 C57BL/6 小鼠,其中治疗性 HPV16 重组疫苗按每只 50 μg 接种于大腿左侧肌肉,人参皂昔单体按每只 500 μg 接种于小鼠腹腔,同时以分别单独免疫治疗性 HPV16 重组疫苗(HPV 组)和人参皂昔单体作为对照,并以未接种的小鼠作为空白组,每组 5 只。每只小鼠间隔 2 d 加强免疫,共接种 3 次;在初次免疫第 10 天处死小鼠。

2.1.2 小鼠脾淋巴细胞制备 每只小鼠处死后在 75%乙醇中浸泡 2 min,置于无菌超净台取出脾脏,在含有 5 mL RPMI 1640 无血清培养基的一次性细胞筛中碾磨脾脏释放脾脏细胞,3 000 $\times g$ 5 min 离心收集细胞,加入淋巴细胞分离液重悬细胞 5 min,3 000 $\times g$ 5 min 离心收集细胞,即得小鼠脾脏淋巴细胞悬液,并进行计数。

2.1.3 小鼠酶联斑点免疫检测 用含 5%胎牛血清的 RPMI 1640 培养基将各个小鼠脾淋巴细胞悬液稀释至 $5.0\times 10^6 \cdot \text{mL}^{-1}$;每个细胞培养板孔接种细胞量为 100 μL ,用 HPV16 E749-57 多肽作为刺激物,按照 ELISPOT 试剂盒说明书检测每只小鼠脾淋巴细胞中特异性分泌 IFN- γ 的效应 T 细胞数。

2.2 小鼠 TC-1 肿瘤模型的生长抑制试验

2.2.1 小鼠 TC-1 肿瘤模型的建立 用 RPMI 1640 培养基培养 TC-1 肿瘤细胞,胰酶消化后,用无菌磷酸盐缓冲液清洗 2 次后计数,并用磷酸盐缓冲

液稀释至 $2.0 \times 10^5 \cdot \text{mL}^{-1}$, 所得细胞悬液接种于 C57BL/6 小鼠右腿内侧腹股沟处皮下, 每只 100 μL , 以此获得小鼠 TC-1 肿瘤模型。

2.2.2 接种疫苗免疫 在肿瘤模型建立 24 h 后, 将治疗性 HPV16 重组疫苗和人参皂苷单体共同免疫模型小鼠, 其中治疗性 HPV16 重组疫苗按每只 50 μg 接种于大腿左侧肌肉, 人参皂苷单体按每只 500 μg 接种于小鼠腹腔, 同时以单独免疫治疗性 HPV16 重组疫苗(HPV 组)作为对照, 并以未接种疫苗的肿瘤模型小鼠作为空白组, 每组 10 只。每只小鼠间隔 2 d 加强免疫, 共接种 3 次。

2.2.3 小鼠肿瘤模型的观察和评分记录 从肿瘤模型建立后第 2 周开始, 间隔 1 周对各小鼠的肿瘤生长情况进行评分记录, 连续观察 7 周。小鼠肿瘤大小的评分原则如下: -1 表示不成瘤; 0 表示产生可疑的肿瘤块, 但瘤块不明显, 观察直径 $<0.3 \text{ cm}$; 1 表示产生瘤块, 且直径在 $0.2 \sim 0.4 \text{ cm}$ 之间; 2 表示产生瘤块, 且直径在 $0.5 \sim 0.7 \text{ cm}$ 之间; 3 表示产生瘤块, 且直径在 $0.8 \sim 1.0 \text{ cm}$ 之间; 4 表示产生瘤块, 且直径在 $1.1 \sim 1.5 \text{ cm}$ 之间; 5 表示产生瘤块, 且直径 $>1.5 \text{ cm}$; 6 表示小鼠产生瘤块, 且死亡。

2.3 统计学分析

数据处理分析均用 GraphPad Prism 5.01 软件, 检测结果数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间数据比较采用单因素方差分析。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 不同人参皂苷单体对 HPV16 重组疫苗的细胞免疫佐剂作用

实验结果显示: 单独免疫人参皂苷单体 Rh1-1、Rh1-2、Rg3、Rg1、Rb1 的健康 C57BL/6 小鼠, 其脾淋巴细胞 ELISPOT 检测结果分别为 (5 ± 3) , (5 ± 4) , (4 ± 3) , (3 ± 2) 和 (4 ± 2) 个斑点形成细胞(spots forming cell, SFC)/ 5×10^5 cells, 与空白组小鼠 (5 ± 4) 差异无统计学意义(Rh1-1 组 vs 空白组: $t=0.047$; Rh1-2 组 vs 空白组: $t=0.084$; Rg3 组 vs 空白组: $t=0.482$; Rg1 组 vs 空白组: $t=1.134$; Rb1 组 vs 空白组: $t=0.417$), 提示单独的人参皂苷单体不会刺激小鼠脾淋巴细胞产生特异性分泌抗 HPV16 E7₄₉₋₅₇ IFN- γ 的效应 T 细胞。 HPV 组小鼠脾淋巴细胞 ELISPOT 值为 (99 ± 24) SFC/ 5×10^5 cells。 人参皂苷单体 Rh1-1、Rh1-2、Rg3 分别与疫苗共同免疫小鼠的脾淋巴细胞 ELISPOT 值分

别为 (96 ± 28) , (96 ± 14) , (117 ± 30) SFC/ 5×10^5 cells, 与 HPV 组相比差异不显著(HPV+Rh1-1 组 vs HPV 组: $t=0.164$; HPV+Rh1-2 组 vs HPV 组: $t=0.265$; HPV+Rg3 组 vs HPV 组: $t=1.064$); 人参皂苷单体 Rg1、Rb1 分别与疫苗共同免疫小鼠的脾淋巴细胞 ELISPOT 值分别为 (179 ± 41) , (193 ± 61) SFC/ 5×10^5 cells, 与 HPV 组相比, 人参皂苷单体 Rg1、Rb1 可以显著提高疫苗所引起的特异性 ELISPOT 值(HPV+Rg1 组 vs HPV 组: $t=3.729$, $P=0.006$; HPV+Rb1 组 vs HPV 组: $t=3.204$, $P=0.013$)。 结果见图 1。

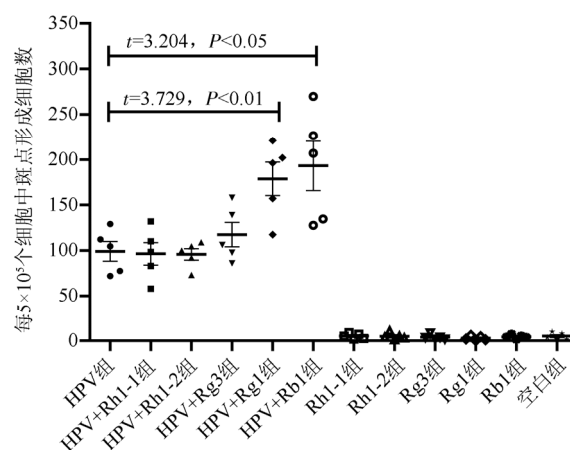


图 1 各免疫组小鼠的细胞免疫应答比较($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

Fig. 1 Comparison of cellular immune responses in mice of different immune groups($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

3.2 不同人参皂苷单体对治疗性 HPV16 重组疫苗抑制小鼠肿瘤生长的影响

定期对各实验组肿瘤模型小鼠的成瘤症状进行评分, 结果见表 1、图 2。肿瘤模型建立后 8 周内, 空白组与 6 个免疫组之间小鼠的成瘤症状差异显著, 具有统计学意义($P < 0.05$); 肿瘤模型建立第 2 周, HPV 组与人参皂苷共同免疫组之间抑瘤效果的差异不显著; 肿瘤模型建立第 4 周, 与 HPV 组比, 人参皂苷 Rh1-1、Rh1-2、Rg3 与疫苗共同免疫未对疫苗的抑瘤效果产生显著的影响, 而人参皂苷 Rg1、Rb1 与疫苗共同免疫则对疫苗的抑瘤效果产生显著的影响($P < 0.05$, HPV+Rg1 组 vs HPV 组: $t=2.318$, $P=0.032$; HPV+Rb1 组 vs HPV 组: $t=2.258$, $P=0.037$); 肿瘤模型建立第 6~8 周, HPV 组与人参皂苷共同免疫组之间抑瘤效果的差异不显著。

表 1 各试验组小鼠 TC-1 肿瘤生长评分表($\bar{x} \pm s$, $n=10$)
Tab. 1 Result of mouse tumor (TC-1) growth score in each group($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组 别	肿瘤大小评分			
	2 周	4 周	6 周	8 周
HPV 组	-0.8±0.4 ¹⁾	1.2±1.9 ¹⁾	2.1±2.6 ¹⁾	3.0±2.6 ¹⁾
HPV+Rh1-1 组	-0.9±0.3 ¹⁾	0.7±1.6 ¹⁾	2.2±2.3 ¹⁾	3.0±2.8 ¹⁾
HPV+Rh1-2 组	-0.8±0.4 ¹⁾	0.8±1.6 ¹⁾	1.9±2.3 ¹⁾	2.9±2.7 ¹⁾
HPV+Rg3 组	-0.8±0.4 ¹⁾	0.5±1.3 ¹⁾	1.1±1.9 ¹⁾	2.9±2.7 ¹⁾
HPV+Rg1 组	-1.0±0.0 ¹⁾	-0.3±0.8 ¹⁾²⁾	0.6±1.7 ¹⁾	2.0±2.7 ¹⁾
HPV+Rb1 组	-1.0±0.0 ¹⁾	-0.3±0.9 ¹⁾²⁾	0.7±1.9 ¹⁾	2.5±3.0 ¹⁾
空白组	-0.1±0.7	2.5±1.4	4.4±0.7	5.0±0.0

注: 与同一时间空白组比较, ¹⁾ $P<0.05$; 与同一时间 HPV 组比较, ²⁾ $P<0.05$ 。
 Note: Compared with blank group at the same time, ¹⁾ $P<0.05$; compared with HPV group at the same time, ²⁾ $P<0.05$.

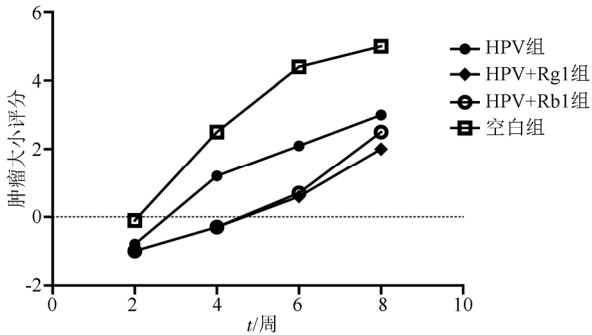


图 2 小鼠 TC-1 肿瘤模型的生长曲线
Fig. 2 Growth curve of mouse TC-1 tumor model

4 讨论

人参在中医上的临床史可追溯到 2 000 多年前, 因其具有广泛的药理作用而广受国内外学者的关注, 人参皂苷作为人参中主要的活性成分, 其功能已被广大研究者开发。例如人参皂苷 Rg3 能够通过各种信号途径实现抗癌作用^[16]; Rb1 能够保护肾 LLC-PK1 细胞的凋亡^[17]; Rh4 能够通过 ROS/JNK/p53 途径诱导大肠癌细胞的凋亡和自噬^[18]; Rg2 能改善心功能不全兔的血流动力学状况, 具有强心作用^[19]。

治疗性疫苗主要通过 CTL 的定向清除来实现治疗目标, 这一过程中, 树突状细胞(DC)的活化和成熟程度非常关键。治疗性疫苗的靶向抗原提呈 DC 以后, 往往会因为提呈效力不足而导致 DC 不能完全成熟, 从而导致 T 细胞免疫耐受、疫苗的免疫效果下降^[20-23]。借助人参皂苷的免疫调节功能来提高治疗性疫苗的提呈效果, 促进 DC 成熟产生足够的 CTL, 进而提高疫苗的免疫效果,

对于宫颈癌及其癌前病变患者的治疗有着重大的意义。

本研究中, 选择了 Rb1、Rh1-1、Rh1-2、Rg1、Rg3 5 种具有免疫调节功能的人参皂苷单体作为研究对象, 比较了它们对治疗性 HPV16 重组疫苗免疫效果的影响。这 5 种人参皂苷单体本身不会引起小鼠产生针对 HPV16 E749-57 的特异性细胞免疫反应, 与疫苗共同免疫时, 人参皂苷单体 Rg1、Rb1 可以有效提高疫苗的特异性细胞免疫水平, 而 Rg3、Rh1-1、Rh1-2 则未对疫苗的免疫效果产生显著的影响。同时, 在 TC-1 肿瘤模型的抑制试验中, 疫苗的免疫可以在一定程度上抑制肿瘤在小鼠体内的生长, 在观察的起点和终点, 5 种人参皂苷单体对于疫苗的抗肿瘤免疫未产生显著的影响, 但是人参皂苷 Rg1、Rb1 单体在第 4 周时显著提高了疫苗的抗肿瘤免疫效果。纵观肿瘤模型的生长曲线(图 2), Rg1、Rb1 与疫苗联用对肿瘤生长具有一定的抑制作用, 这一结果与健康小鼠体内的特异性细胞免疫反应实验结果相符。因此, 初步推定人参皂苷单体 Rg1、Rb1 对于治疗性 HPV16 重组疫苗具有一定的免疫促进作用。本研究为了防止人参皂苷单体对于治疗性 HPV16 重组疫苗的质量稳定性产生影响, 采用了分开免疫方式, 因此两者之间的联合配伍结果还有待研究。此外, 多个人参皂苷单体与疫苗组合配伍研究以及剂量效应研究也是课题组未来研究探索的内容。

REFERENCES

- [1] HARALD Z H. Papillomavirus infections: a major cause of human cancers [J]. Biochim Biophys Acta, 1996, 1288(2): F55-F78.
- [2] STOLER M H. Human papillomavirus and cervical neoplasia: a model for carcinogenesis [J]. Int J Gynecol Pathol, 2000, 19(1): 16-28.
- [3] GILKEY M B, MCREE A L. Provider communication about HPV vaccination: a systematic review [J]. Hum Vaccin Immunother, 2016, 12(6): 1454-1468.
- [4] ZHANG R, VELICER C, CHEN W, et al. Human papillomavirus genotype distribution in cervical intraepithelial neoplastic grades 1 or worse among 4215 Chinese women in a population-based study [J]. Cancer Epidemiol, 2013, 37(6): 939-945.
- [5] LING M, KANAYAMA M, RODEN R, et al. Preventive and therapeutic vaccines for human papillomavirus-associated cervical cancers [J]. J Biomed Sci, 2000, 7(5): 341-356.
- [6] KENTER G G, WELTERS M J, VALENTIJN A R, et al. Phase I immunotherapeutic trial with long peptides spanning the E6 and E7 sequences of high-risk human papillomavirus 16 in end-stage cervical cancer patients shows low toxicity and

- robust immunogenicity [J]. Clin Cancer Res, 2008, 14(1): 169-177.
- [7] HIBBITTS S. TA-CIN, a vaccine incorporating a recombinant HPV fusion protein (HPV16 L2E6E7) for the potential treatment of HPV16-associated genital diseases [J]. Curr Opin Mol Ther, 2010, 12(5):598-606.
- [8] DE JONG A, O'NEILL T, KHAN A Y, et al. Enhancement of human papillomavirus (HPV) type 16 E6 and E7-specific T-cell immunity in healthy volunteers through vaccination with TA-CIN, an HPV16 L2E7E6 fusion protein vaccine [J]. Vaccine, 2002, 20(29/30): 3456-3464.
- [9] WU X H, WU J, CHEN G, et al. Adjuvant effects of CpG-ODN on therapeutic human papillomavirus protein vaccines [J]. Inter J Epidemiol Infect Dis(国际流行病学传染病学杂志), 2013, 40(2): 94-98.
- [10] CHENG Y, SHEN L H, ZHANG J T. Anti-amnestic and anti-aging effects of ginsenoside Rg1 and Rb1 and its mechanism of action [J]. Acta Pharmacol Sin, 2005, 26(2): 143-149.
- [11] QIU Y, DU G H, QU Z W, et al. Protective effects of ginsenoside on the learning and memory impairment induced by transient cerebral ischemia-reperfusion in mice [J]. Chin Pharmacol Bull, 1995, 11(4): 299-302.
- [12] CHEN R B, YUAN S J, LIU D, et al. The new advance of research on mechanism of antitumor action of ginsenoside Rg3 [J]. Chem Life(生命的化学), 2017(4): 97-101.
- [13] LUO L M, SHI Y N, JIANG Y N, et al. Advance in components with antitumor effect of Panax ginseng and their mechanisms [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2017, 48(3): 582-596.
- [14] LIU R, LI D, LI Y. Research progress on pharmacological effects of ginsenoside [J]. Food Nutr Chin(中国食物与营养), 2017, 23(10): 68-72.
- [15] ZHAO L, GAO M, GAO J, et al. High expression of HPV16L2N120E7E6 fusion protein in E.coli and its inhibitory effect on tumor growth in mice [J]. Chin J Oncol(中华肿瘤杂志), 2012, 34(11): 810-815.
- [16] ZOU M J, WANG J, GAO J D, et al. Phosphoproteomic analysis of the antitumor effects of ginsenoside Rg3 in human breast cancer cells [J]. Oncol Lett, 2018, 15(3): 2889-2898.
- [17] LEE D, LEE D S, JUNG K, et al. Protective effect of ginsenoside Rb1 against tacrolimus-induced apoptosis in renal proximal tubular LLC-PK1 cells [J]. J Ginseng Res, 2018, 42(1): 75-80.
- [18] WU Q, DENG J, FAN D, et al. Ginsenoside Rh4 induces apoptosis and autophagic cell death through activation of the ROS/JNK/p53 pathway in colorectal cancer cells [J]. Biochem Pharmacol, 2018(148): 64-74.
- [19] SUN W J, LIU J, QU S C, et al. Effects of ginsenoside Rg2 on heart failed rabbits induced by pentobarbital sodium [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2004, 21(6): 447-450.
- [20] LIN K Y, GUAMIERI F G, STAVELEY-O'CARROLL K F, et al. Treatment of established tumors with a novel vaccine that enhances major histocompatibility class II presentation of tumor antigen [J]. Cancer Res, 1996, 56(1): 21-26.
- [21] BONIFAZ L, BONNYAY D, MAHNKE K, et al. Efficient targeting of protein antigen to the dendritic cell receptor DEC-205 in the steady state leads to antigen presentation on major histocompatibility complex class I products and peripheral CD8+ T cell tolerance [J]. J Exp Med, 2002, 196(12): 1627-1638.
- [22] KRETSCHMER K, APOSTOLOU I, HAWIGER D, et al. Inducing and expanding regulatory T cell populations by foreign antigen [J]. Nat Immunol, 2005, 6(12): 1219-1227.
- [23] DE VRIES I J, LESTERHUIS W J, SCHARENBERG N M, et al. Maturation of dendritic cells is a prerequisite for inducing immune responses in advanced melanoma patients [J]. Clin Cancer Res, 2003, 9(14): 5091-5100.

收稿日期: 2018-05-04

(本文责编: 李艳芳)