

侯立婷, 于晓明, 杜露平, 等. CVC1302 通过小鼠骨髓源树突状细胞对免疫反应的调控[J]. 江苏农业学报, 2023, 39(6): 1380-1385.  
doi:10.3969/j.issn.1000-4440.2023.06.014

# CVC1302 通过小鼠骨髓源树突状细胞对免疫反应的调控

侯立婷<sup>1,2,3,4</sup>, 于晓明<sup>1,2,3,4</sup>, 杜露平<sup>1,2,3,4</sup>, 张元鹏<sup>1,2,3,4</sup>, 程海卫<sup>1,2,3,4</sup>, 陈瑾<sup>1,2,3,4</sup>, 郑其升<sup>1,2,3,4</sup>, 侯继波<sup>1,2,3,4</sup>

(1.江苏省农业科学院动物免疫工程研究所, 江苏 南京 210014; 2.江苏省农业科学院国家兽用生物制品工程技术研究中心, 江苏 南京 210014; 3.兽用生物制品<泰州>国泰技术创新中心, 江苏 泰州 225300; 4.省部共建国家重点实验室培育基地——江苏省食品质量安全重点实验室, 江苏 南京 210014)

**摘要:** 为获得 C57BL/6 小鼠骨髓源树突状细胞(DC)的体外制备方法并探讨免疫增强剂 CVC1302 对 DC 免疫调控的影响, 取 8 周龄的 C57BL/6 小鼠骨髓细胞, 在体外经过重组鼠源粒细胞/巨噬细胞集落刺激因子(Recombinant mouse granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, rm GM-CSF)诱导分化为 DC。诱导当天与诱导第 3 d、第 7 d 时, 用倒置显微镜观察细胞形态; 诱导第 7 d 时, 收获细胞, 鉴定表型。利用流式细胞术评价 CVC1302 对 DC 表面分子表达水平的影响, 用超高分辨率显微镜评价 CVC1302 对 DC 递呈抗原的影响, 采用流式细胞术检测 T 淋巴细胞的活化数量, 利用酶联免疫吸附试验(Enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)方法检测 T 淋巴细胞活化后干扰素  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) 的分泌水平。结果表明, 体外诱导的 DC 在显微镜下具有非常典型的树突状细胞形态, 流式细胞术检测结果表明, 经典的 1 型树突状细胞(Conventional type 1 dendritic cell, cDC1)和经典的 2 型树突状细胞(Conventional type 2 dendritic cell, cDC2)亚群均可检测到。CVC1302 能够显著促进 DC 表面分子活化并且增强 DC 对鸡卵清白蛋白(OVA)抗原的递呈; CVC1302 能够显著活化 T 淋巴细胞并且提高 T 淋巴细胞活化后 IFN- $\gamma$  的分泌水平。本研究利用 rm GM-CSF 成功在体外刺激诱导 DC 的产生, 并证实了 CVC1302 在体外同样具有促进 DC 成熟、DC 对 OVA 抗原的递呈及 T 淋巴细胞活化的能力。

**关键词:** C57BL/6 小鼠; 树突状细胞; CVC1302; 抗原递呈; T 淋巴细胞活化

**中图分类号:** S852.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2023)06-1380-06

## Regulation of immune response by CVC1302 through mouse bone marrow-derived dendritic cells

HOU Li-ting<sup>1,2,3,4</sup>, YU Xiao-ming<sup>1,2,3,4</sup>, DU Lu-ping<sup>1,2,3,4</sup>, ZHANG Yuan-peng<sup>1,2,3,4</sup>, CHENG Hai-wei<sup>1,2,3,4</sup>, CHEN Jin<sup>1,2,3,4</sup>, ZHENG Qi-sheng<sup>1,2,3,4</sup>, HOU Ji-bo<sup>1,2,3,4</sup>

(1. Institute of Veterinary Immunology & Engineering, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China; 2. National Research Center of Veterinary Biological Engineering and Technology, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China; 3. GuoTai <Taizhou> Center of Technology Innovation for Veterinary Biologicals, Taizhou 225300, China; 4. State Key Laboratory Breeding Base-Jiangsu Provincial Key Laboratory for Food Quality and Safety, Nanjing 210014, China)

**Abstract:** To establish an effective method for acquiring bone marrow-derived dendritic cells (DC) from C57BL/6 mice *in vitro*

收稿日期: 2022-10-28

基金项目: 江苏省农业科技自主创新专项[ CX(21)3135 ]; 国家自然科学基金项目(32102690)

作者简介: 侯立婷(1990-), 女, 山东德州人, 硕士, 主要从事动物免疫增强技术研究。(E-mail) houxymn@163.com

通讯作者: 陈瑾, (E-mail) chenjin\_abc@163.com; 郑其升, (E-mail) njcvc1302@163.com

and explore the immune modulation of immunopotentiator CVC1302 on DC, the bone marrow cells were isolated from C57BL/6 mice of eight week-age and were induced by recombinant mouse granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (rm GM-CSF) *in vitro* to differentiate into DC. The cell morphology was observed by inverted microscope on the induction day and day 3, day 7 of induction, and cells were collected and the phe-

notype was identified on day 7 of induction. The expression level of DC surface molecules and antigen presentation of DC affected by CVC1302 were evaluated by flow cytometry and ultra-high resolution microscopy respectively. The numbers of activated T lymphocyte cells and secretion level of interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) after activation of T lymphocyte cells were detected by flow cytometry and enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) respectively. The results showed that the DC induced *in vitro* had very typical dendritic cell morphology. Moreover, subpopulations of conventional type 1 dendritic cell (cDC1) and conventional type 2 dendritic cell (cDC2) could both be detected by flow cytometry. CVC1302 could significantly promote the activation of DC surface molecules and enhance the presentation ability of DC to ovalbumin (OVA) antigen, and CVC1302 could activate T lymphocyte cells significantly and increase the secretion level of IFN- $\gamma$  after activation of T lymphocyte cells. The rm GM-CSF could successfully stimulate DC production *in vitro*, and CVC1302 also had the ability to promote DC maturation, OVA antigen presentation by DC and activation of T lymphocyte cells *in vitro*.

**Key words:** C57BL/6 mice; dendritic cells; CVC1302; antigen presentation; T lymphocyte cell activation

有研究表明,免疫增强剂 CVC1302 能够显著提高 O 型口蹄疫灭活疫苗的免疫效力<sup>[1]</sup>。一些病原相关分子模式受体激动剂及细胞因子可作为免疫增强剂的首选来调节机体反应,对先天免疫和适应性免疫反应具有重要的影响<sup>[2-3]</sup>。有研究结果证实,CVC1302 能够引起机体产生长效体液免疫反应,并且在注射部位通过诱导高水平的趋化因子来招募抗原递呈细胞<sup>[4]</sup>。

树突状细胞(Dendritic cells, DC)不仅能摄取、加工处理和递呈抗原,还能释放多种细胞因子,有效激活 T 淋巴细胞,具有启动免疫反应和诱导免疫耐受的双向免疫调节作用<sup>[5-6]</sup>。DC 具有未成熟 DC 和成熟 DC 2 种形式,未成熟的 DC 对抗原的内吞、加工处理能力较强;成熟的 DC 具有较强的抗原递呈能力<sup>[7]</sup>。近年来,国内外研究者利用 GM-CSF、IL-4、Flt3 等细胞因子成功诱导分化小鼠骨髓源树突状细胞<sup>[8-9]</sup>。骨髓源 DC 的体外诱导技术相对成熟,在免疫增强剂的筛选、抗原递呈及免疫激活相关领域已被广泛应用。

CVC1302 诱导机体产生长效体液免疫反应与抗原递呈细胞的招募有关,但在体外该增强剂是否同样具有活化 T 淋巴细胞的能力呢?本研究拟利用重组鼠源粒细胞/巨噬细胞集落刺激因子(Recombinant mouse granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, rm GM-CSF)诱导分化出骨髓源 DC,以骨髓源 DC 为模型,在体外评价免疫增强剂 CVC1302 对 DC 激活、抗原的递呈及 T 淋巴细胞活化的作用,进一步分析机体产生长效体液免疫反应与 DC 有效激活的相关性,以期免疫增强剂的筛选提供有效方法,为免疫增强剂的免疫效力评价奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

8 周龄的健康雌性 C57BL/6 小鼠购自扬州大学

比较医学中心;RPMI-1640 培养基、胎牛血清(FBS)购自 Gibco 公司;红细胞裂解液购自白鲨生物科技有限公司;rm GM-CSF 购自 Peprotech 公司;流式抗体 Anti-mouse CD11b PerCP-Cyanine5.5、Anti-mouse CD11c FITC、Anti-mouse MHC I APC、Anti-mouse CD80 APC、Anti-mouse CD40 APC、Anti-mouse MHC II APC、Anti-mouse CD86 APC、Anti-mouse CD3 FITC 购自 BD Biosciences 公司;鸡卵清白蛋白(OVA)、异硫氰酸荧光素(FITC)标记的鸡卵清白蛋白(FITC-OVA)购自北京索莱宝科技有限公司;小鼠干扰素  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ )检测试剂盒购自南京奥青生物技术有限公司;免疫增强剂 CVC1302 由江苏省农业科学院动物免疫工程研究所动物疫苗免疫技术创新团队提供。

### 1.2 C57BL/6 小鼠骨髓源 DC 的分离诱导及鉴定

取 C57BL/6 小鼠断颈处死,置于 75%乙醇内浸泡 5 min,摘取小鼠的股骨、胫骨,剪去骨头两端,用 5 ml 注射器吸取 5 ml 磷酸盐缓冲液(PBS),接着将 5 ml 注射器插入骨髓腔进行反复冲洗直至骨变白。将骨髓反复吹吸直至细胞完全分散,将其过无菌 200 目滤网后移至 15 ml 离心管中,1 500 r/min、5 min,取细胞,加到红细胞裂解液中,轻轻混匀,室温下作用 5 min,离心,弃上清液,加入 5 ml RPMI-1640 培养基清洗 1 次沉淀,离心收集细胞进行计数。细胞密度调整为 1 ml  $3 \times 10^5$  个,置于 6 孔板中,1 个孔 4 ml,加入质量浓度为 10 ng/ml 的 rm GM-CSF 进行培养,第 3 d 置换培养基,每天用倒置显微镜观察细胞形态,培养至第 7 d 时,收获半悬浮及疏松贴壁细胞,用抗鼠 CD11c-FITC、CD11b-PE-cy5.5 染色后经流式细胞术鉴定 DC 的纯度。

### 1.3 DC 表面分子 MHC I、MHC II、CD40、CD80、CD86 的表达

用 RPMI-1640 培养基调整未成熟骨髓源 DC 的

细胞密度为  $1\text{ ml } 1 \times 10^6$  个,接种于 6 孔板中,加入 CVC1302 进行刺激。同时设置 PBS 对照组,于细胞培养箱中培养 16 h 后,收集细胞,分别加入 CD11c-FITC、APC-MHC I、APC-MHC II、APC-CD40、APC-CD80、APC-CD86 抗体,置于  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  条件下,避光温育 30 min 后,上机检测并分析结果。

#### 1.4 DC 对鸡卵清白蛋白抗原递呈能力的检测

用 RPMI-1640 培养基调整未成熟骨髓源 DC 的细胞密度为  $1\text{ ml } 5 \times 10^5$  个,接种于 6 孔板中(装有细胞爬片),培养至第 7 d,挑取爬片置于 24 孔板,用预冷的 PBS 清洗 2 遍,加入 RPMI-1640 培养基,每孔加入 1 ml 含 CVC1302+OVA-FITC 或 OVA-FITC 的预热 RPMI-1640 培养基。孵育 60 min 后,用预冷的 PBS 清洗 2 遍,加入 80% 丙酮固定 10 min,用预冷的 PBS 清洗 2 遍,封片,观察。

#### 1.5 CVC1302 对 T 淋巴细胞的活化

无菌条件下采集小鼠脾脏,分离 T 淋巴细胞,用 RPMI-1640 培养基调整 T 淋巴细胞的细胞密度约为  $1\text{ ml } 4 \times 10^6$  个。取分离诱导第 7 d 的 DC,调整细胞密度为  $1\text{ ml } 1 \times 10^6$  个,接种于 6 孔板中,每孔加入 1 ml 含 CVC1302+OVA 或 OVA 的预热 RPMI-1640 培养基,孵育 16 h 后收集细胞,调整细胞密度为  $1\text{ ml } 1 \times 10^6$  个。分别取 100  $\mu\text{l}$  脾脏淋巴细胞和 DC 置于 96 孔板共培养 3 d 后半数换液,同时在培养基中添加佛波醇酯类多克隆刺激剂(PMA)和离子霉素,终质量浓度分别为 50.0 ng/ml 和 0.5  $\mu\text{g/ml}$ ,培养 18 h 后分别收集细胞和上清液,细胞中加入 CD3-FITC 抗体,置于  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  条件下,避光孵育 30 min,细胞清洗 3 遍后,用流式细胞仪检测并分析结果。用酶联免疫吸附试验(Enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)试剂盒检测上清液中 IFN- $\gamma$  的分泌水平。

## 2 结果与分析

#### 2.1 C57BL/6 小鼠骨髓源 DC 形态及鉴定

每只 C57BL/6 小鼠中分离到的骨髓细胞有  $1\text{ ml } 2 \times 10^7 \sim 5 \times 10^7$  个,添加 rm GM-CSF 进行诱导分化。在诱导的当天与诱导第 3 d、第 7 d 利用倒置显微镜观察细胞形态,结果(图 1)表明,诱导当天,细胞呈现规则形态,体积较小,圆形,悬浮于细胞培养基中(图 1A);诱导第 3 d 时,细胞呈现不规则形态,可观察到明显的细胞聚集,集落较小,聚集成团生长

的细胞数量明显增多(图 1B);诱导第 7 d 时,细胞团体积增大,形态不规则,有毛刺状突起,形成明显的集落细胞团(图 1C)。收集诱导第 7 d 的 DC,经流式细胞仪检测分析,分离诱导的细胞为树突状细胞,并且 cDC1(CD11c<sup>+</sup>CD11b<sup>-</sup>)的比例为 21.3%,cDC2(CD11c<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>)的比例为 48.4%(图 1D),二者占淋巴细胞的比例具有极显著差异( $P < 0.001$ )(图 1E)。

#### 2.2 DC 表面分子鉴定

成熟的 DC 表面高表达 MHC I、MHC II 及共刺激分子 CD40、CD80、CD86,利用流式细胞术检测 CVC1302 对 DC 表面分子 MHC I、MHC II、CD40、CD80、CD86 的表达情况。本研究设置添加 CVC1302 的试验组和 PBS 对照组。图 2 显示,在 CVC1302 试验组中,CD11c<sup>+</sup>MHC I<sup>+</sup> 的占比为 66.50%,CD11c<sup>+</sup>MHC II<sup>+</sup> 的占比为 65.10%,CD11c<sup>+</sup>CD40<sup>+</sup> 的占比为 20.20%,CD11c<sup>+</sup>CD80<sup>+</sup> 的占比为 55.90%,CD11c<sup>+</sup>CD86<sup>+</sup> 的占比为 41.00%,其表面分子的表达水平都显著或极显著高于 PBS 对照组。试验结果表明 CVC1302 能够上调小鼠骨髓源 DC 表面分子的表达,刺激 DC 的成熟。

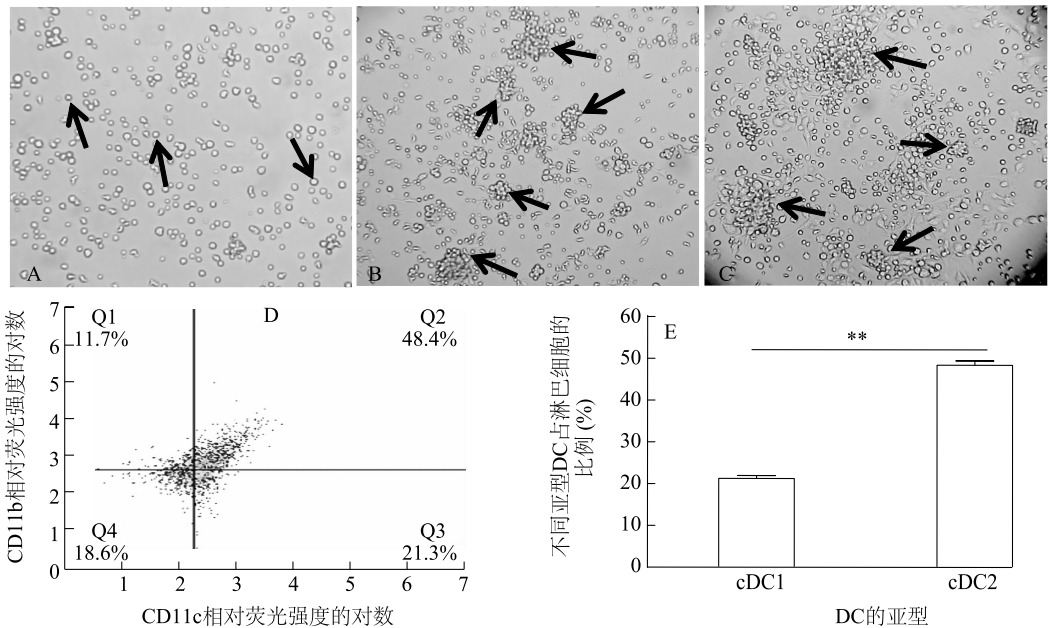
#### 2.3 DC 对 OVA 抗原递呈能力的检测

DC 是专职的抗原递呈细胞,能够激发免疫应答。利用超高分辨率显微镜检测 CVC1302 对 DC 递呈 OVA 抗原的影响,对荧光的数量和强度进行分析,结果(图 3)表明,CVC1302-OVA 组的荧光强度高于 OVA 对照组,说明 CVC1302 能够促进 DC 对 OVA 抗原的递呈,调节机体的免疫应答反应。

#### 2.4 T 淋巴细胞活化检测

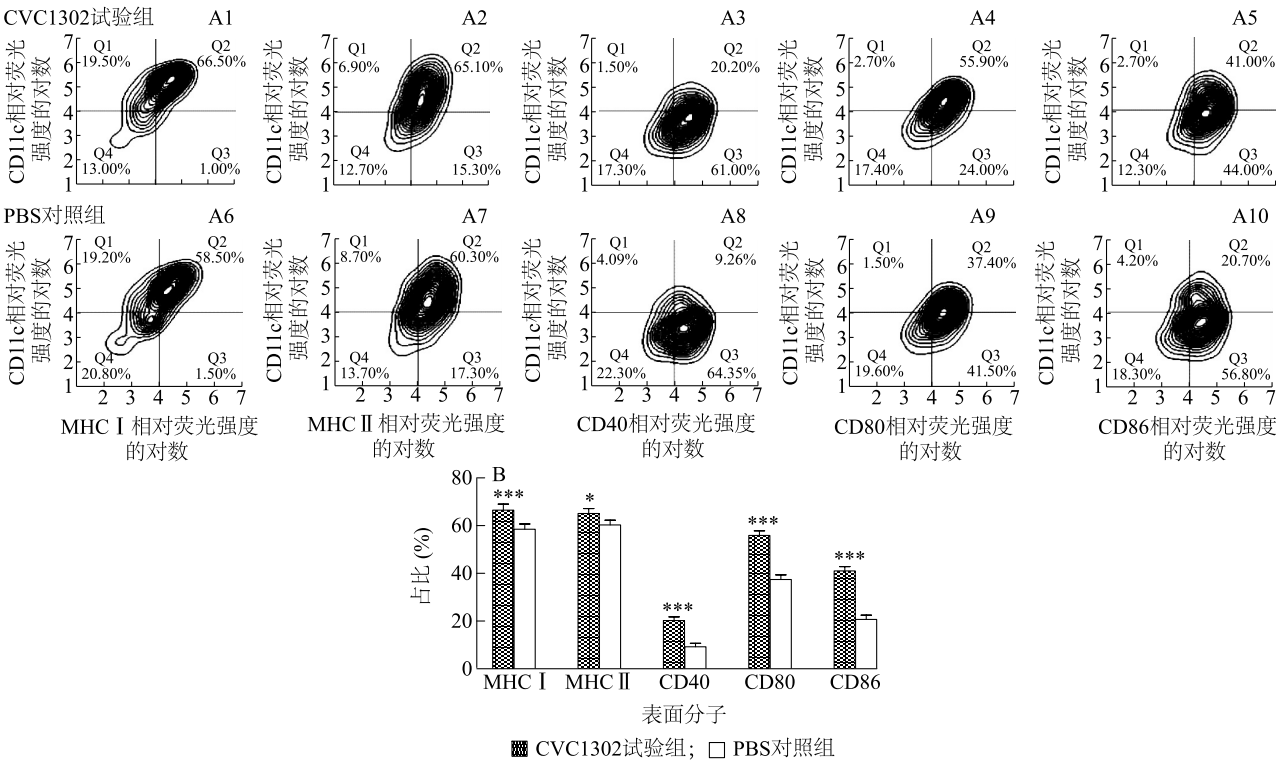
T 淋巴细胞增殖分化为效应性 T 淋巴细胞,进而促进机体免疫反应,IFN- $\gamma$  的分泌是 T 淋巴细胞活化的标志之一。分别利用流式细胞术和 ELISA 方法,检测 T 淋巴细胞的活化数量及 IFN- $\gamma$  分泌水平。图 4 显示,将刺激成熟的 DC 与 T 淋巴细胞共培养后,CVC1302-OVA 组的 T 淋巴细胞的活化数量为  $1\text{ ml } (3.84 \pm 0.24) \times 10^5$  个,IFN- $\gamma$  分泌含量为  $(181.400 \pm 8.165)\text{ pg/ml}$ ,OVA 组的 T 淋巴细胞的活化数量为  $1\text{ ml } (1.91 \pm 0.19) \times 10^5$  个,IFN- $\gamma$  分泌含量为  $(46.780 \pm 1.136)\text{ pg/ml}$ ,CVC1302-OVA 组的 T 淋巴细胞活化数量及 IFN- $\gamma$  分泌含量均极显著高于 OVA 组( $P < 0.01$ ),表明 CVC1302 能够促进 T 淋巴细胞的活化。





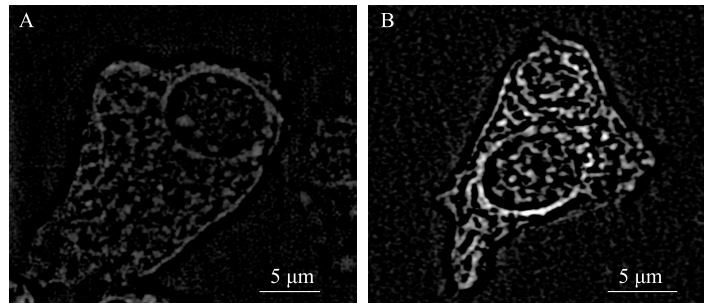
A: 重组鼠源粒细胞/巨噬细胞集落刺激因子 (rm GM-CSF) 诱导当天的细胞形态 ( $\times 200$ ); B: rm GM-CSF 诱导第 3 d 时的细胞形态 ( $\times 200$ ); C: rm GM-CSF 诱导第 7 d 时的细胞形态 ( $\times 200$ ); D: 树突状细胞的流式分析结果; E: 不同亚型 DC 的对比分析图。DC: 树突状细胞。\*: 不同亚型树突状细胞占淋巴细胞的比例差异极显著 ( $P < 0.01$ )。Q1~Q4 表示象限。

图 1 C57BL/6 小鼠骨髓源树突状细胞形态及鉴定  
Fig.1 Morphology and identification analysis of bone marrow-derived dendritic cells from C57BL/6 mice



A1~A10: 树突状细胞不同表面分子表达水平的流式分析图; B: 树突状细胞不同表面分子表达水平的对比分析图。\*: 不同处理的表面分子占比之间差异显著 ( $P < 0.05$ ); \*\*: 不同处理的表面分子占比之间差异极显著 ( $P < 0.001$ )。PBS: 磷酸盐缓冲液。Q1~Q4 表示象限。

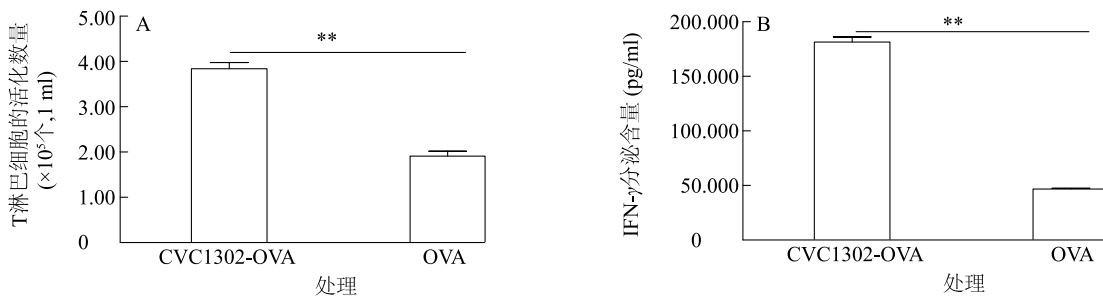
图 2 CVC1302 对小鼠骨髓源树突状细胞表面分子表达的影响  
Fig.2 Effect of CVC1302 on the expression of surface molecules on mouse bone marrow-derived dendritic cells



A: OVA 对照组; B: CVC1302-OVA 组。

图 3 CVC1302 促进树突状细胞对抗原的吞噬检测

Fig.3 Effects of CVC1302 on antigen phagocytosis by dendritic cells



A: T 淋巴细胞的活化数量; B: IFN- $\gamma$  的分泌水平。\*\*: 不同处理间差异极显著 ( $P < 0.01$ )。OVA: 鸡卵清白蛋白。

图 4 CVC1302 促进 T 细胞活化检测

Fig.4 Detection of activation of T cells by CVC1302

### 3 讨论

DC 作为机体免疫应答的启动者,对机体的免疫防御具有重要作用<sup>[10]</sup>。近年来,随着众多学者对 DC 研究的深入,发现其在抗肿瘤、过敏性免疫反应、疫苗佐剂及免疫增强剂研究等方面都具有重要的作用<sup>[11-12]</sup>。经典的 DC 分为 cDC1 和 cDC2 2 个亚群, cDC1 和 cDC2 对于 T 淋巴细胞的激活至关重要<sup>[13-15]</sup>。有研究表明,利用 Flt3、GM-CSF 和 IL-4 能够诱导分化小鼠骨髓源 DC,并且无论是成熟还是未成熟的 DC, CD11c 的表达均为阳性<sup>[16]</sup>。本研究经过摸索,通过体外分离小鼠骨髓源细胞,利用 rm GM-CSF 刺激诱导的细胞具有典型的 DC 形态特征,与韦莉等<sup>[17]</sup>研究结果一致。流式细胞仪检测结果表明,培养的细胞为 DC,并且 cDC1 和 cDC2 亚群都占有一定的比例,这为后续研究体液和细胞免疫反应机理提供了体外模型。

免疫增强剂的研发是快速提高疫苗免疫效力的有效手段之一。近几年,笔者所在实验室系统阐明了免疫增强剂 CVC1302 介导长效体液免疫应答的

机理,证明 CVC1302 是一种安全、有效的免疫增强剂<sup>[18-19]</sup>。经 CVC1302 刺激后,成熟的 DC 高表达 MHC I、MHC II 及共刺激分子 CD40、CD80、CD86。DC 表面分子表达水平的显著提升能更加有效地触发效应 T 淋巴细胞的激活,在共刺激信号的作用下增殖、分化,分泌更多抗病原体细胞因子 (IFN- $\gamma$  和 TNF- $\alpha$ ),从而更加有效地提升机体抵抗病原体的能力,并且 T 淋巴细胞分泌的 IFN- $\gamma$  有利于进一步介导抗原的递呈过程<sup>[20-21]</sup>。本研究结果证实了免疫增强剂 CVC1302 对 DC 表面分子表达水平有明显提升作用,添加 CVC1302 后,DC 对 OVA 抗原的递呈也增多,并且 CVC1302 激活后的 DC 能促进 T 淋巴细胞的活化。本研究结果表明,免疫增强剂 CVC1302 在体外同样具有促进 T 淋巴细胞活化的功能,这与前期体内的研究结果<sup>[18]</sup>相一致。

综上所述,本研究成功建立了 C57BL/6 小鼠骨髓源 DC 的稳定培养方法,并对其表型进行有效的鉴定;体外试验结果证实了免疫增强剂 CVC1302 能够促进 DC 的活化,进一步有效活化 T 淋巴细胞。本研究结果为后续新型免疫增强剂的筛选及评价提

供了参考。

## 参考文献:

- [1] CHEN J, YU X M, ZHENG Q S, et al. The immunopotentiator CVC1302 enhances immune efficacy and protective ability of foot-and-mouth disease virus vaccine in pigs [J]. *Vaccine*, 2018, 36 (52): 7929-7935.
- [2] LEVITZ S, GOLENBOCK D. Beyond empiricism: informing vaccine development through innate immunity research [J]. *Cell*, 2012, 148(6): 1284-1292.
- [3] DOWLING J K, MANSELL A. Toll-like receptors: the Swiss army knife of immunity and vaccine development [J]. *Clinical & Translational Immunology*, 2016, 5: e85.
- [4] DU L P, YU X M, HOU L T, et al. Identification of mechanisms conferring an enhanced immune response in mice induced by CVC1302-adjuvanted killed serotype O foot-and-mouth virus vaccine [J]. *Vaccine*, 2019, 37(43): 6362-6370.
- [5] FENG J, PUCELLA J N, JANG G. Clonal lineage tracing reveals shared origin of conventional and plasmacytoid dendritic cells [J]. *Immunity*, 2022, 55: 405-422.
- [6] SESTI-COSTA R, MORAES V, CERVANTES B L. Dendritic cells: immune response in infectious diseases and autoimmunity [J]. *Mediators of Inflammation*, 2020. DOI: 10.1155/2020/2948525.
- [7] LEN B T. Cells in allergic asthma: key players beyond the Th2 pathway [J]. *Current Allergy and Asthma Reports*, 2017, 17(7): 1-10.
- [8] HELFT J, BOTTCHEP, CHAKRAVARTY P, et al. GM-CSF mouse bone marrow cultures comprise a heterogeneous population of CD11c<sup>+</sup> MHCII<sup>+</sup> macrophages and dendritic cells [J]. *Immunity*, 2015, 42 (6): 1197-1211.
- [9] MAYER C T, GHORBANI P, NANDAN A, et al. Selective and efficient generation of functional Batf3-dependent CD103<sup>+</sup> dendritic cells from mouse bone marrow [J]. *Blood*, 2014, 124(20): 3081-3091.
- [10] CHATZILEONTIADOU D, SLOANE H, NGUYEN A T, et al. The many faces of CD4<sup>+</sup> T cells: immunological and structural characteristics [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(1): 73. DOI: 10.3390/ijms22010073.
- [11] PUHR S, LEE J, ZVEZDOVA E, et al. Dendritic cell development-history, advances, and open questions [J]. *Seminars in Immunology*, 2015, 27: 388-396.
- [12] GALATI D, ZANOTTA S. Empowering dendritic cell cancer vaccination: the role of combinatorial strategies [J]. *Cytotherapy*, 2018, 20: 1309-1323.
- [13] 谭剑峰, 李东方, 郭权威, 等. 小鼠骨髓浆细胞样与髓样树突状细胞的体外培养及对比研究 [J]. *河北医学*, 2021, 27(10): 1626-1631.
- [14] COLLIN M, BIGLEY V. Human dendritic cell subsets: an update [J]. *Immunology*, 2018, 154: 3-20. DOI: 10.1111/imm.12888.
- [15] EL-SAYES N, VITO A, SALEM O. A combination of chemotherapy and oncolytic virotherapy sensitizes colorectal adenocarcinoma to immune checkpoint inhibitors in a cDC1-dependent manner [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23(3): 1-11. DOI: 10.3390/ijms23031754.
- [16] HE Y Q, QIAO Y L, XU S. Allergen induces CD11c<sup>+</sup> dendritic cell autophagy to aggravate allergic rhinitis through promoting immune imbalance [J]. *International Immunopharmacology*, 2022, 106: 108611.
- [17] 韦莉, 陈光璋, 孙潮, 等. 沙门菌外膜囊泡对小鼠髓源树突状细胞的免疫调控作用 [J]. *四川大学学报(医学版)*, 2021, 52(6): 948-953.
- [18] DU L P, CHEN J, HOU L T, et al. Long-term humoral immunity induced by CVC1302-adjuvanted serotype O foot-and-mouth disease inactivated vaccine correlates with promoted T follicular helper cells and thus germinal center responses in mice [J]. *Vaccine*, 2017, 35(51): 7088-7094.
- [19] DU L P, HOU L T, YU X M, et al. Pattern-recognition receptor agonist-containing immunopotentiator CVC1302 boosts high-affinity long-lasting humoral immunity [J]. *Frontiers in Immunology*, 2021, 12: 4520-4530. DOI: 10.3389/fimmu.2021.697292.
- [20] NUTT S L, CHOPIN M. Transcriptional networks driving dendritic cell differentiation and function [J]. *Immunity*, 2020, 52(6): 942-956.
- [21] SIM W J, MALINARICH F, FAIRHURST A M, et al. Generation of immature, mature and tolerogenic dendritic cells with differing metabolic phenotypes [J]. *Journal of Visualized Experiments*, 2016(112): 1-17. DOI: 10.3791/54128.

(责任编辑:王妮)