论著

文章编号:1000-5404(2011)03-0254-04

高强度聚焦超声联合单纯疱疹病毒胸苷激酶/丙氧鸟苷自杀基因治疗对 VX2 荷瘤兔免疫力的影响

徐 越,周世骥,艾志国,陈 勇,李生伟,刘长安 (400010 重庆,重庆医科大学附属第二医院肝胆外科)

【摘要】 目的 探讨高强度聚焦超声(high intensity focused ultrasound,HIUF)联合单纯疱疹病毒胸苷激酶/丙氧鸟苷(HSV-tk/GCV)治疗对 VX2 荷瘤兔的肿瘤免疫耐受和特异性抗肿瘤免疫的影响。**方法** 将 40 只实验兔按随机数字表法分为对照组、肿瘤组、HIFU 组和联合治疗组,每组 10 只,其中 HIFU 组给予 HIFU 单独治疗,联合组给予 HIFU 和 HSV-tk/GCV 联合治疗。于治疗后第 13 天流式细胞术检测各组兔外周血 $CD4^+CD25^+$ Treg(Treg)细胞的数量变化情况,ELISA 法检测外周血血浆 IL-10,TGF-β 的浓度,MTT 法检测兔脾淋巴细胞对 VX2 肿瘤细胞的体外杀伤活性。**结果** 肿瘤组外周血 Treg 细胞数量[(8.30±0.69)%]、IL-10 水平[(67.82±4.52) pg/ml]和 TGF-β 水平[(6.55±0.45) μg/ml]相对于对照组[(5.30±0.45)%、(54.58±3.53) pg/ml、(5.51±0.27) μg/ml]均显著升高($P<0.01$);HIFU 组 Treg 细胞数量[(7.00±0.56)%]、IL-10 水平[(60.32±4.70) pg/ml]、TGF-β 水平[(6.22±0.19) μg/ml]明显低于肿瘤组($P<0.01$,$P<0.05$);联合治疗组 Treg 细胞数量[(6.40±0.72)%]和 TGF-β 水平[(5.86±0.31) μg/ml]低于 HIFU 组($P<0.05$),而 IL-10 水平[(58.79±4.42) pg/ml]变化则无统计学意义($P>0.05$)。杀伤实验显示 HIFU 组和联合治疗组脾淋巴细胞对 VX2 肿瘤细胞的杀伤活性分别为(31.62±3.09)%、(29.48±2.68)%,明显高于对照组[(13.94±2.45)%]和肿瘤组[(12.00±2.96)%]($P<0.01$),但联合治疗组和 HIFU 组的比较差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** HIFU 联合 HSV-tk/GCV 治疗后,宿主肿瘤免疫耐受情况得到改善,特异性抗肿瘤免疫力增强。

【关键词】 HIFU;HSV-tk/GCV;Treg;肿瘤免疫

【中图法分类号】 R73-354;R73-36;R735.7 **【文献标志码】** A

Effect of high intensity focused ultrasound in combination with HSV-tk/GCV on immunity of rabbits with VX2 tumor

Xu Yue, Zhou Shiji, Ai Zhiguo, Chen Yong, Li Shengwei, Liu Chang'an (Department of Hepatobiliary Surgery, Second Affiliated Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing, 400010, China)

【Abstract】 **Objective** To study the effect of high intensity focused ultrasound (HIFU) in combination with HSV-tk/GCV on tumor immunological tolerance and specific anti-tumor immune of rabbits with XX2 tumor. **Methods** Forty experimental rabbits were randomly divided into control group, tumor-bearing group, HIFU treatment group and combined treatment group, 10 in each group. Rabbits in HIFU treatment group were treated with HIFU alone and those in combined treatment group were treated with HIFU plus HSV-tk/GCV. Thirteen days after treatment, prevalence of $CD4^+CD25^+$ Treg cells (Treg) in peripheral blood of each rabbit was detected by flow cytometry, levels of IL-10 and TGF-β in plasma were measured with ELISA, and *in vitro* killing activity of splenic lymphocytes on VX2 tumor cells was detected by MTT assay. **Results** The prevalence of Treg cells in peripheral blood and the levels of IL-10 and TGF-β were significantly higher in tumor-bearing group than in control group [(8.30±0.69)%, 67.82±4.52 pg/ml and 6.55±0.45 μg/ml *vs* (5.30±0.45)%, 54.58±3.53 pg/ml and 5.51±0.27 μg/ml, $P<0.01$], and significantly lower in HIFU treatment group than in tumor-bearing group [(7.00±0.56)%, 60.32±4.70 pg/ml and 6.22±0.19 μg/ml *vs* (8.30±0.69)%, 67.82±4.52 pg/ml and 6.55±0.45 μg/ml, $P<0.01$]. The prevalence of Treg cells in peripheral blood and the level of TGF-β were lower in combined treatment group than in HIFU treatment group [(6.40±0.72)% and 5.86±0.31 μg/ml) with no significant difference observed in the level of IL-10 between the two groups ($P>0.05$). Killing test showed that the killing activities of HIFU treatment and combined treatment on VX2 tumor cells were (31.62±3.09)% and (29.48±2.68)%, respectively, which were significantly higher than those in control group and tumor-bearing group [(13.94±2.45)% and (12.00±

【基金项目】 国家自然科学基金面上项目(30872977);重庆市卫生局科研项目(2008-2-192)

【通信作者】 李生伟,E-mail:cqlsw@yahoo.com.cn

2.96)%] with no significant difference observed between combined and HIFU treatment groups. **Conclusion** HIFU in combination with HSV-tk/GCV can improve the tumor immunological tolerance and specific anti-tumor immune of hosts.

[Key words] High-intensity focused ultrasound; HSV-tk/GCV; Treg; Tumor immunity

Supported by the General Program of National Science Foundation of China(30872977) and the Project of Chongqing Municipal Health Bureau (2008-2-192).
Corresponding author: LI Shengwei, E-mail: cqlsw@yahoo.com.cn

肝癌位居世界常见恶性肿瘤的第5位,在我国其发病率高居第3位[1]。肝癌易于局部浸润和远处转移,大部分患者就诊时已丧失手术机会;局部辅助治疗已成为不能手术切除患者的重要治疗手段。高强度聚焦超声(high intensity focused ultrasound,HIFU)是一种无创性局部高温治疗手段,已成为肝癌重要的局部辅助治疗方法之一[2]。单纯疱疹病毒胸苷激酶/丙氧鸟苷(HSV-tk/GCV)是肝癌治疗最常用的自杀基因系统,但是缺乏靶向性且转染率低[3];超声波破坏携靶基因的微泡造影剂定位释放技术是一种新的基因靶向转染技术,能提高靶基因在局部组织中的转染和表达[4]。HIFU治疗联合携HSV-tk/GCV基因的微泡靶向释放于肝癌组织的技术为肝癌治疗提供了新的思路。肝癌的发生、发展与机体免疫状态密切相关,细胞免疫是机体抗肿瘤免疫的重要机制,而T淋巴细胞是机体细胞免疫的主要成分,发挥着重要的调节作用[5]。$CD4^+CD25^+$调节性T细胞(regulatory T cell,Treg)是一类具有免疫调节作用的T细胞亚群。近来研究表明Treg细胞在维持自身免疫耐受和免疫稳定的同时,也参与了肿瘤免疫的调节,导致了肿瘤免疫耐受[6]。有资料显示HIFU和HSV-tk/GCV单独应用于肝癌治疗时均能对机体免疫产生影响[7-8]。本研究探讨HIFU和靶向释放的HSV-tk/GCV的联合治疗对实验兔$CD4^+CD25^+$Treg细胞数量及抗肿瘤免疫力的影响,从肿瘤免疫耐受和特异性抗肿瘤免疫两方面揭示联合治疗对机体免疫力的影响。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物 2~3月龄健康新西兰大白兔40只,体质量2~2.5 kg,雌雄不限(重庆医科大学实验动物中心提供),VX2肝荷瘤种兔4只(重庆医科大学医学超声工程研究所提供)。

1.1.2 超声仪器 高强度聚焦超声肿瘤治疗仪为JC200型聚焦超声肿瘤治疗系统(重庆海扶技术有限公司制造)。低频超声辐照仪为重庆医科大学医学超声工程研究所研制的"DZC型超声基因转染及低功率超声辐照微泡肿瘤治疗系统"。

1.1.3 HSV-tk/GCV自杀基因系统及超声微泡造影剂 pIRES2-EGFP-HSV-tk质粒本课题组前期合成[9],步骤简述如下:将质粒转化DH5a大肠杆菌,经卡那霉素筛选出阳性克隆,在LB培养基中大量扩增细菌,参照OMEGA质粒大抽试剂盒说明书大量抽提纯化质粒,紫外分光度计检测质粒浓度和纯度,调整浓度为1 mg/ml,$D(260)/D(280)$值为1.9;然后采用LBL法[10]制备载HSV-tk基因及赖氨酸(PLL)超声微泡造影剂,调整浓度为0.1 μg/μl。更昔洛韦(GCV)购于宜昌长江药业有限公司。

1.1.4 主要的试剂及来源 FITC标记的鼠抗兔CD4抗体,PE标记的鼠抗兔CD25抗体,以及同型对照抗体PE,FITC分别标记的小鼠IgG1均购自于美国BD公司;兔IL-10,TGF-β的ELISA试剂盒购于美国R&D公司;MTT购于Sigma公司;酶标检测仪为Bio-tek公司产品(型号ELX800);流式细胞仪为BD公司产品。

1.2 实验方法

1.2.1 实验分组 将40只新西兰兔按随机数字表法分为4组:对照组、肿瘤组、HIFU组、联合治疗组,每组10只。

1.2.2 VX2肝荷瘤兔模型的建立 行包埋法建模。开腹剥离种兔肝肿瘤,取边缘生长旺盛无坏死组织,切成1 mm^3瘤块,生理盐水浸泡备用。常规麻醉消毒后,开腹暴露拟接种兔肝,于肝右中叶膈面戳一直径、深度约0.5 cm小洞,将瘤块包埋其中,止血,关腹。术后连续3 d给予庆大霉素(8×10^4 U/只)肌肉注射。

1.2.3 HIFU治疗及HSV-tk/GCV自杀基因治疗 接种VX2后第3周,HIFU组及联合治疗组肿瘤兔行局部HIFU治疗。在B超监测下,定位肿瘤,由深至浅逐层按照"点-线-面"的方式进行治疗,每层间距3 mm,两线间距8 mm,治疗头移动速度3 mm/s,声功率150 W,当靶区出现灰度改变后停止辐照。肿瘤组行假照处理,步骤同前,不开启功率源。联合治疗组在行HIFU治疗后24 h,经耳缘静脉按0.2 mg/kg推注载HSV-tk的微泡造影剂,然后立即使用DZC型超声仪体表辐照肿瘤种植部位,所发射声波为脉冲波,频率300 kHz,声强2 W/cm^2,辐照时间20 min;HIFU组、肿瘤组经耳缘静脉推注等量生理盐水,不行低频超声辐照。联合治疗组在转染基因后24 h,每天经腹腔按50 mg/kg注射GCV,连续10 d。对照组作为健康对照,不予处理。

1.2.4 外周血$CD4^+CD25^+$ Treg细胞及IL-10,TGF-β浓度检测 HIFU组兔于HIFU治疗后第13天处死,心脏取血4 ml,EDTA抗凝;取2 ml抗凝血3 000 r/min离心10 min,收集血浆,-20 ℃冻存待测;将5 μl anti-CD4-FITC,5 μl anti-CD25-PE加入样本管中,并以5 μl FITC-m IgG1,5 μl PE-m IgG1设置对照管;每管加入100 μl外周抗凝血,混匀,4 ℃避光孵育30 min;再加2 ml红细胞裂解液,避光裂解10 min;离心后PBS反复洗2遍,上流式细胞仪检测$CD4^+CD25^+$ Treg细胞,实验结果采用FACSDiva Version 6.1.3软件分析,所测数值为Treg细胞占外周血淋巴细胞的比例。冻存血浆解冻后按Elisa试剂盒说明书检测外周血血浆IL-10,TGF-β浓度。对照组和肿瘤组于相同

天数取血操作,联合治疗组给予GCV连续注射10 d后取血,操作同前。

1.2.5 脾脏淋巴细胞杀伤功能测定 取96孔培养板每孔加入1×10^5 ml^{-1},0.1 ml的VX2肿瘤细胞(重庆医科大学医学超声工程研究所惠赠),置于37 ℃、5% CO_2孵箱过夜。次日(HIFU组和联合治疗组于各自治疗后第13天,对照组及肿瘤组于相同时间)处死各组兔,取脾,梯度离心法获得脾淋巴细胞后用含10%小牛血清的IMDM培养液调整细胞数为2×10^6 ml^{-1},使效靶细胞比为20∶1,每孔加入0.1 ml,每只兔设3个复孔。细胞混匀后,放置37 ℃、5% CO_2孵箱中继续培养48 h,离心弃上清,每孔加MTT(5 mg/ml) 20 μl,放置37 ℃、5% CO_2孵箱中培养4 h,离心弃上清,每孔加二甲基亚砜200 μl,振荡。溶解10 min后,用酶标仪570 nm测D(570)值,计算脾淋巴细胞对VX2肿瘤细胞的体外杀伤活性。

杀伤率 = {靶细胞D(570)值 - [效靶细胞混合反应后D(570)值 - 效应细胞D(570)值]}/靶细胞D(570)值 × 100%

1.3 统计学分析

数据用$\bar{x}\pm s$表示,采用SPSS 13.0统计软件行方差分析。

2 结果

2.1 外周血CD4 + CD25 + Treg细胞数量的变化

与对照组相比,肿瘤组外周血$CD4^+CD25^+$ Treg细胞数量显著升高($P<0.01$);HIFU组$CD4^+CD25^+$ Treg细胞数量明显低于肿瘤组($P<0.01$);联合治疗组$CD4^+CD25^+$ Treg细胞数量低于HIFU组($P<0.05$),但仍明显高于对照组($P<0.01$)。见表1、图1。

表1 各组外周血$CD4^+CD25^+$ Treg细胞数量、IL-10水平、TGF-β水平的变化情况($n=10$,$\bar{x}\pm s$)

组别	Treg(%)	IL-10(pg/ml)	TGF-β(μg/ml)
对照组	5.30 ± 0.45	54.58 ± 3.53	5.51 ± 0.27
肿瘤组	8.30 ± 0.69[a]	67.82 ± 4.52[a]	6.55 ± 0.45[a]
HIFU组	7.00 ± 0.56[b]	60.32 ± 4.70[b]	6.22 ± 0.19[c]
联合治疗组	6.40 ± 0.72[ad]	58.79 ± 4.42[a]	5.86 ± 0.31[ad]

a:$P<0.01$,与对照组比较;b:$P<0.01$,c:$P<0.05$,与肿瘤组比较;d:$P<0.05$,与HIFU组比较

2.2 外周血IL-10,TGF-β水平的变化

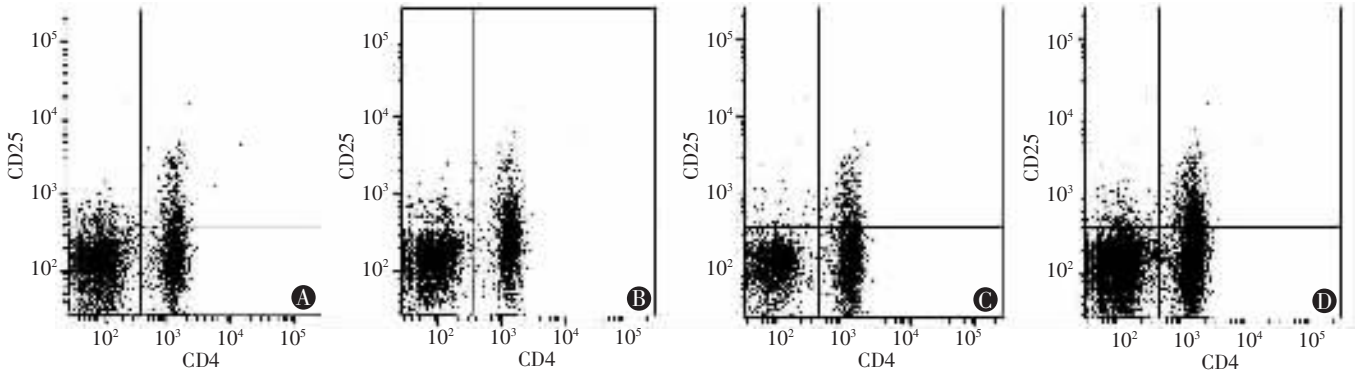
肿瘤组IL-10、TGF-β水平较对照组均明显升高($P<0.01$);HIFU组IL-10、TGF-β水平明显低于肿瘤组($P<0.01$,$P<0.05$),但不如IL-10变化显著;联合治疗组TGF-β水平较HIFU组降低($P<0.05$),IL-10水平变化无统计学差异($P>0.05$);联合治疗组IL-10、TGF-β水平仍明显高于对照组($P<0.01$)。见表1。

2.3 脾淋巴细胞的体外杀伤活性

HIFU组和联合治疗组兔脾淋巴细胞对VX2肿瘤细胞的杀伤活性分别为(31.62 ± 3.09)%,(29.48 ± 2.68)%,较对照组[(13.94 ± 2.45)%]和肿瘤组[(12.00 ± 2.96)%]均明显增加($P<0.01$);对照组和肿瘤组差异无统计学意义($P>0.05$);联合治疗组和HIFU组比较,差异也无统计学意义($P>0.05$)。

3 讨论

在肝癌的发生、发展过程中,机体通常伴随着广泛的炎症反应和炎性淋巴细胞的增多;而机体的这种炎性免疫状态也影响着肝癌的发生和发展[1]。由于T淋巴细胞在抗肿瘤免疫中发挥着重要作用,有研究者用特异性的细胞毒性T淋巴细胞(cytotoxic T lymphocyte,CTL)来治疗肝癌,但效果并不理想,表明肝癌细胞能以某种方式逃逸抗肿瘤免疫[11]。$CD4^+CD25^+$ Treg细胞是T淋巴细胞的一个亚群。大量的临床研究报道肝癌患者的外周血中Treg细胞数量增多,且Treg细胞的数量与患者的生存率呈负相关[12];动物实验显示应用抗CD25抗体抑制$CD4^+CD25^+$ Treg细胞可提高抗肿瘤免疫功能[13],这些研究均证实Treg细胞介导的免疫抑制是肿瘤免疫逃逸的重要机制之一[6]。Treg细胞通过抑制$CD4^+CD25^-$和$CD8^+$ T细胞的活化和增殖发挥免疫抑制作用,目前具体的机制尚未完全阐明,可能是通过细胞接触、释放细胞因子IL-10和TGF-β等方式发挥作用[14]。IL-10是公认的介导免疫抑制的细胞因子,Treg通过分泌IL-10直接和间接抑制抗原特异性T细胞增殖;TGF-β是一种多功能的细胞因子,是维系Treg数量和功能的重要因子,Treg细胞也可通过分泌该因子来抑制免疫效应细胞的增殖、分化以及相关细胞因子的产生[15]。HIFU的



A:对照组 Treg细胞百分数5.4%;B:肿瘤组 Treg细胞百分数8.2%;C:HIFU组 Treg细胞百分数7.2%;D:对照组 Treg细胞百分数6.5%

图1 各组外周血$CD4^+CD25^+$ Treg细胞有代表性的流式细胞仪检测结果

原理是将超声波的能量精准地聚焦于深部肿瘤组织，通过焦点产生的瞬间高温的热固化效应、空化效应、机械效应杀死肿瘤细胞[16]。研究者发现HIFU还能改善患者机体免疫功能，具有一定的免疫激活作用[7]。HSV-tk/GCV自杀基因系统通过胸苷激酶(tk)及内源性酶将无毒性丙氧鸟苷(GCV)三磷酸化为GCV-TP，从而达到杀伤肿瘤的效果[3]。Kuriyama等[8]研究HSV-tk/GCV在肝癌小鼠体内的杀伤作用时还发现肿瘤原位有大量的$CD4^+$和$CD8^+$细胞浸润，小鼠抗肿瘤免疫力显著提高。

本研究发现肿瘤组外周血Treg细胞的数量明显高于对照组，与Treg细胞相关的细胞因子IL-10，TGF-β也明显升高，说明肿瘤组兔机体处于免疫抑制状态。HIFU组经HIFU治疗后Treg细胞的数量比肿瘤组明显减少，IL-10，TGF-β也明显减少；联合组经HIFU联合靶向性HSV-tk/GCV治疗后，外周血Treg细胞数量、TGF-β水平相比HIFU组进一步减少，但是IL-10的变化无统计学意义，估计是因为我们检测的是外周血相关因子的整体变化水平，而非Treg细胞单独分泌的因子的变化情况。HIFU和HSV-tk/GCV均能提高机体的抗肿瘤免疫能力，本研究表明二者似乎还能降低机体Treg细胞的数量，抑制与Treg细胞相关的IL-10、TGF-β的分泌，一定程度上逆转了Treg细胞介导的免疫抑制状态。可能的机制是HIFU通过局部热固化效应破坏了肝癌微环境，而肿瘤的微环境能通过Treg细胞等的调节作用促进肿瘤细胞的浸润和逃逸[14]。同时HIFU直接杀死肿瘤细胞，减轻了机体的癌负荷；HIFU还能使瘤细胞的抗原决定簇暴露，促进肿瘤组织合成热休克蛋白，这些都促使机体产生特异性抗肿瘤免疫反应[17]，解除免疫抑制状态。HSV-tk/GCV所杀灭的肿瘤细胞的碎片被抗原提呈细胞吞噬提呈，激活机体固有和特异性免疫力[8]。脾脏T淋巴细胞杀伤实验证实了HIFU组和联合组的脾淋巴细胞的杀伤作用较其他两组明显升高，表明机体特异性抗肿瘤免疫力的提高，但本研究发现联合组与HIFU组的杀伤活性无统计学差异，可能的原因是GCV本身是一种免疫抑制剂，HSV-tk/GCV对免疫的增效作用可能被低估了。

Treg细胞参与协助肿瘤逃逸，促进肿瘤生长，是导致肝癌局部浸润和远处转移的原因之一，也可能是肿瘤疫苗和免疫增效剂难以奏效的原因[11]。HIFU和HSV-tk/GCV自杀基因的联合治疗不仅能提高机体的抗肿瘤免疫能力，还能减少Treg细胞的数量，一定程度上逆转机体免疫抑制状态，但是我们仅研究了外周血Treg细胞及细胞因子的变化情况，在肝癌微环境中Treg细胞和相关因子的变化情况以及具体的分子机制都有待进一步研究。本课题组的平行研究显示联合治疗对肝癌的杀伤情况和对动物生存率的改善的结果也是比较满意的。HIFU联合HSV-tk/GCV自杀基因的治疗为肝癌的局部治疗提供了新的方法，鉴于二者对免疫的增效作用，在将来的研究中在二者的联合的基础上加入免疫辅佐剂或者免疫增效剂或许能取得更好的效果。

参考文献：

[1] Schwartz M, Roayaie S, Konstadoulakis M. Strategies for the management of hepatocellular carcinoma[J]. Nat Clin Pract Oncol, 2007, 4(7):424-432.
[2] Leslie T A, Kennedy J E. High intensity focused ultrasound in the treatment of abdominal and gynaecological diseases[J]. Int J Hyperthermia, 2007, 23(2):173-182.
[3] Portsmouth D, Hlavaty J, Renner M. Suicide genes for cancer therapy[J]. Mol Aspects Med, 2007, 28(1):4-41.
[4] Suzuki R, Takizawa T, Negishi Y, *et al*. Gene delivery by combination of novel liposomal bubbles with perfluoropropane and ultrasound[J]. J Control Release, 2007, 117(1):130-136.
[5] 龚非力. 医学免疫学[M]. 北京:科学出版社, 2003:165-174.
[6] Curiel T J. Tregs and rethinking cancer immunotherapy[J]. J Clin Invest, 2007, 117(5):1167-1174.
[7] 曹玮，吴发伟，刘毅勇，等. 高强度聚焦超声对中晚期肝癌患者机体免疫细胞及其活性的影响[J]. 介入放射学杂志, 2009, 18(4):308-310.
[8] Kuriyama S, Kikukawa M, Masui K, *et al*. Cancer gene therapy with HSV-tk/GCV system depends on T-cell-mediated immune responses and causes apoptotic death of tumor cells *in vivo*[J]. Int J Cancer, 1999, 83(3):374-380.
[9] 唐勇，刘作金，周世骥，等. 增强型绿色荧光蛋白与单纯疱疹病毒Ⅰ型胸苷激酶共表达质粒载体构建及在肝癌细胞株HepG2表达的研究[J]. 中国实用外科杂志, 2009, 29(11):937-940.
[10] 汪朝霞，王志刚，许川山，等. 一种载基因及多聚赖氨酸的脂质超声微泡造影剂制备的实验研究[J]. 中国超声医学杂志, 2009, 25(2):101-104.
[11] Zou W. Immunosuppressive networks in the tumour environment and their therapeutic relevance[J]. Nat Rev Cancer 2005, 5(4):263-274.
[12] Ormandy L A, Hillemann T, Wedemeyer H, el al. Increased populations of regulatory T cells in peripheral blood of patients with hepatocellular carcinoma[J]. Cancer Res, 2005, 65(6):2457-2464.
[13] Sutmuller R P, van Duivenvoorde L M, van Elsas A, *et al*. Synergism of cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 blockade and depletion of CD25(+) regulatory T cells in antitumor therapy reveals alternative pathways for suppression of autoreactive cytotoxic T lymphocyte responses[J]. J Exp Med, 2001, 194(6):823-832.
[14] Sakaguchi S, Yamaguchi T, Nomura T, *et al*. Regulatory T cells and immune tolerance[J]. Cell, 2008, 133(5):775-787.
[15] Qin F X. Dynamic behavior and function of Foxp3+ regulatory T cells in tumor bearing host[J]. Cell Mol Immunol, 2009, 6(1):3-13.
[16] 张园园，赵建农，郭大静，等. MRI动态增强扫描评估HIFU治疗原发性肝癌的疗效[J]. 第三军医大学学报, 2008, 30(8):754-757.
[17] 谢勋鹏，冉立峰，伍烽，等. 高强度聚焦超声治疗后荷瘤鼠的免疫变化及特异性抗肿瘤作用[J]. 中国免疫学杂志, 2008, 24(4):320-323.

(收稿：2010-09-11 修回：2010-10-26)
(编辑 龙 亮)