基础研究 文章编号:0253-3626(2010)04-0481-04

肝癌细胞对成熟树突状细胞生物物理学特性的影响

曾 柱[1],龙金华[2],张 芳[2]

(1. 贵州省贵阳医学院生物技术教研室,贵阳 550004;2. 贵州省肿瘤医院,贵阳 550004)

【摘 要】目的:研究肝癌细胞微环境成熟树突状细胞(Mature dendritic cells,mDCs)的生物物理学特性的影响,从交叉学科的角度来探索肿瘤细胞的免疫逃逸机制。方法:用免疫磁珠从人外周血分离 $CD14^+$ 单核细胞,加入 rhGM-CSF 和 rhIL-4 将单核细胞诱导分化为 imDCs,利用 TNF-α 将未成熟树突状细胞(Immature dendritic cells,imDCs)诱导为 mDCs,mDCs 与 HCCs 在Transwell 中共培养 48 h,分别利用微吸管法、荧光偏振法和 Transwell 法研究细胞粘弹性、膜流动性和迁移能力。结果:与肝癌细胞(Hepatocellular carcinoma cells,HCCs)共培养后,mDCs 的粘弹性和膜流动性显著下降,细胞的迁移能力受到显著的损伤。结论:HCCs 可能能够损伤 mDCs 的生物物理学特性来影响其迁移能力,这可能是肿瘤逃脱机体免疫监视的方式之一,这对进一步深入理解肿瘤的免疫逃逸机制具有重要意义。

【关键词】树突状细胞;肝癌细胞;生物物理学特性;迁移能力

【中国图书分类法分类号】Q66 【文献标识码】A 【收稿日期】2010-03-02

The effect of hepatocellular carcinoma cells on the biophysical characteristics of mature dendritic cells

ZENG Zhu, et al

(*Department of Biophysics, Guiyang Medical College*)

【Abstract】*Objective*: To study the influence of hepatocellular carcinoma cells microenvironment on the biophysical characteristics of mature dendritic cells (mDCs) and explore the immune escape mechanism of tumor cell from interdiscipline viewpoint. *Methods*: The monocytes were then cultured in RPMI1640/10% FBS supplemented with 100 ng/ml rhGM-CSF and 100 ng/ml rhIL-4 for 7 days to develop into immature DCs (imDCs). mDCs was induced by addition of 20 ng/ml rhTNF-α to imDCs for another 3 days of culture. Acquired mDCs were co-cultured with human HCCs for 48 hours in Transwell. The treated cells were investigated the viscoelastic property, membrane fluidity and transendothelial migration by micropipette, fluorescence polarization and Transwell, respectively, untreated cells as control. *Results*: Compared with untreated DCs, the DCs co-cultured with HCC appeared decreased viscoelastic property, membrane fluidity and impaired transendothelial migration. *Conclusion*: HCCs can impaire the biophysical characteristics of mDCs leading to their deteriorated transendothelial migration. This might be one aspect of escape from immune surveillance of tumor. It is significant for further understanding the immune escape mechanism of tumor.

【Key words】Dendritic cells; Hepatocellular carcinoma cells; Biophysics; Migration

树突状细胞(Dendritic cells,DCs)是一种特化的抗原呈递细胞,具有强大的抗原摄取和处理能力,能够向幼稚的 T 细胞呈递肿瘤相关抗原,从而诱导对肿瘤细胞具有特异性的免疫应答[1]。从功能上来看,DCs 可分为未成熟 DCs(Immature DCs,imDCs)和成熟 DCs(Mature DCs,mDCs)。在机体内,imDCs 位于外周组织,其主要功能是摄取和处理抗原。获得抗原后 imDCs 逐渐分化为 mDCs,并通过血管或淋巴管向二级淋巴组织迁移。在淋巴结内,mDCs 与幼稚的 T 细胞发生直接的物理性接触,通过 MHCI 或 MHCII 分子向其呈递所获抗原,刺激幼稚 T 细胞特异性增殖,从而启动适应性免疫应答或耐受[1]。所以,DCs 与 T 细胞间的任何相互作用信息都有可能在临床上开发出新的治疗方法。将 DCs 负载肿瘤抗原(肿瘤疫苗)并过继回输荷瘤宿主的体内,这些 DCs 能够诱导对肿瘤具有特异性的免疫应答[1]。但是,从目前的临床试验结果来看,该疗法的治疗效率还不尽人意,还有许多问题需要解决[2],这就需要进一步研究肿瘤来源因素对 DCs 功能的影响。有研究发现肿瘤浸润部位有 DCs 存在,而且 DCs 的数量与肿瘤浸润程度密切相关[3]。现已知道,恶性肿瘤宿主体内的 DCs 功能发

作者介绍:曾 柱(1969-),男,北京大学博士学位,美国加州大学圣地亚哥分校生物工程系博士后,生物物理学专业,研究方向:树突状细胞生物学。

基金项目:贵州省省长基金(编号:黔省专字 2009-79);贵州省自然科学基金(编号:黔省合 J 字 2008-2274)。

生了紊乱，肿瘤可以通过多种方式逃脱免疫系统的监视，但是其潜在的机制还知之甚少，并且不同的肿瘤对 DCs 功能的影响机制还不尽相同[4]。有学者现已证实，肝癌细胞(Hepatocellular carcinoma cells，HCCs)并不影响 DCs(包括 imDCs 和 mDCs)的表型(如 CD11c、CD40、CD80、CD83 和 CD86 等)[5]，说明 HCCs 可以通过其他的途径来影响 DCs 的免疫功能。有学者认为，HCCs 可能通过抑制转录因子 NF-κB 来损伤 DCs 的生物学功能[6]。有学者研究了淋巴结内 mDCs 与幼稚 T 细胞的相互作用过程，他们发现 2 种细胞间不同的相互作用方式导致的免疫应答结果也不同[7]，从流变学的观点来看，该过程中 mDCs 的生物物理学特性(粘弹性和膜流动性等)发挥着重要的作用。本课题小组以前的研究发现，不同分化阶段的 DCs 表现出不同的生物物理学特性和粘附能力，肿瘤来源的因素可以通过影响 DCs 的细胞骨架 F-actin 结构、细胞能量状态和基因转录状态以及生物物理学特性来损伤其运动能力，进而抑制其正常免疫功能的发挥[8,9]。其他的体内研究发现，肿瘤来源的抑制性细胞因子能够损伤 DCs 的运动能力，以致于在基于 DCs 的抗肿瘤免疫治疗中，只有不到 1%的过继回输 DCs 能够迁移到二级淋组织[2]。基于此，为了探索 HCCs 来源因素对 mDCs 的生物物理学的影响，本文分别用微吸管法、荧光偏振法和 Transwell 法研究细胞粘弹性、膜流动性和细胞的迁移能力。结果发现，与 HCCs 共培养后，mDCs 的粘弹性和膜流动性显著下降，细胞的迁移能力受到明显的损伤，说明 HCCs 可能能够通过损伤 mDCs 的生物物理学特性来影响其迁移能力，这可能是肿瘤逃脱机体免疫监视的方式之一，这对进一步深入了解肿瘤的免疫逃逸机制具有重要意义。

1 材料和方法

1.1 主要试剂

重组人粒—巨噬细胞集落刺激因子(Recombinant human granulocyte-macrophage CSF，rhGM-CSF、rhGM-CSF)，重组人白介素 4(Recombinant human interleukins 4，rhIL-4)和重组人肿瘤坏死因子 α(Recombinant human tumor necrosis factor-α，rhTNF-α)购自 R&D 公司；淋巴细胞分离液(Ficoll，1.077 g/ml)购自上海试剂二厂；完全培养基包括：RPMI—1640 购自美国 GIBCO 公司、胎牛血清(FCS)购自美国 HyClone 公司、2 mmol/L 谷氨酸酰胺、0.01 mmol/L 丙酮酸钠、0.05 mmol/L 巯基乙醇、20 mmol/L Hepes、100 U/ml 青霉素、100 μg/ml 链霉素；FITC 或 PE 标记的抗人 CD1a、CD11c、CD14、CD40、CD80、CD83、CD86 和 HLA-DR 单克隆抗体购自美国 Sigma 公司；M199 培养液购自美国 Gibco 公司；人 $CD14^+$ 单核细胞阴性选择免疫磁珠试剂盒(Monocyte Isolation Cocktail Kit)购自德国 Mitenyi 公司；DPH(1,6-dipheny1-1,3,5-hexatriene，1,6—二甲苯—1,3,5—已三烯)购自美国 Molecular Probes Fluka 公司。多聚甲醛(Paraformaldehyde，PFA)购自北京化工厂。八因子相关抗原检测试剂盒购自美国 Santa Cruz 公司。

1.2 肝癌细胞株的培养

肝癌细胞株 Bel7402 由北京大学基础医学院细胞生物学系张页教授提供。PBS 清洗过的 Bel7402 细胞(2×10^6 个/ml)在 RPMI1640+10%胎牛血清中培养，培养条件是 37℃，5% CO_2 和 95%湿度。细胞每隔 3 d 用 10%的胰岛素/EDTA 消化后传代。收集处于对数生长期的细胞用于与 DCs 共培养。

1.3 人脐静脉内皮细胞的分离、鉴定和培养

人脐静脉内皮细胞有新生儿脐带分离而得并培养于含 20%胎牛血清的 M199 培养基中。通过观察细胞的八角形和检测胞浆中八因子相关抗原的存在来鉴定获得的人脐静脉内皮细胞。

1.4 单核细胞和树突状细胞的获得和鉴定

DCs 按 Steinman 等描述的方法[1]由健康人新鲜外周血单个核细胞诱导而得，作适当修改。具体步骤简述如下：从人外周血单个核细胞分离的贴壁单核细胞用含鸡尾酒抗体的抗 CD3、CD7、CD19、CD45RA、CD56 和抗 IgE 抗体的免疫磁珠(Miltenyi Biotec)阳性选择去除 T 细胞、NK 细胞、B 细胞、中性粒细胞和树突状细胞等非单核细胞，获得高纯度(95%以上)的 $CD14^+$ 单核细胞。收集 5×10^6 个 $CD14^+$ 单核细胞加入含 100 ng/ml rhGM-CSF 和 100 ng/ml rhIL-4 的完全培养液中培养至第 7 d，收集悬浮细胞即为未成熟 DC (imDCs)。未成熟 DCs 中加入 20 ng/ml rhTNF-α 培养 3 d 即为成熟的 DCs (mDCs)，DCs 表型用 FITC 或 PE 标记的鼠抗人抗体 CD1a、CD11c、CD40、CD80、CD83、CD86 和 HLA-DR 分析其表达量。扫描电镜分析细胞形态。细胞存活率用胎盘蓝染色检测。

1.5 mDCs 与 HCC 的共培养

2×10^7 个 mDCs 与 2×10^6 个 HCCs 在 Transwell(0.6 μm 孔径，Corning 公司)中培养 48 h。mDCs 置于 Transwell 的上室，HCCs 置于下室。这些细胞命名为 mDCs+HCCs。作为对照，培养于含 RPMI160+10% FBS、rhGM-CSF(50 ng/ml)和 rhIL-4 (100 ng/ml)的完全培养基中的 DCs 命名为 mDCs；培养于含 10%胎牛血清、不含 rhGM-CSF 和 rhIL-4 的 RPMI160 培养基中的 DCs 命名为 mDCs+nonGF。1%(w/v)PFA 固定的 mDCs 命名为 mDCs+PFA。细胞存活率用胎盘蓝染色检测。

1.6 mDCs 粘弹性的测定

细胞的粘弹性根据以前的方法测定[8]。

1.7 mDCs 膜的流动性的测定

收集细胞，用 PBS 洗 2 次(1 000 r/min，5 min)。用 PBS 将细胞配成 2×10^6 个/ml 的细胞悬液。将细胞悬液与等体积的浓度为 2×10^{-6} mol/L 的 DPH 溶液 (2×10^{-3} mol/L 的 DPH 原液稀释 1 000 倍)混合，37℃孵育 30 min，1 000 r/min 离心 5 min，弃上清，将细胞重悬于 PBS 中(此步可以省略，因为 DPH 只在非极性溶液中才发荧光)。用荧光分光计(日本日立公司)测量细胞在偏振片在不同角度时的荧光强度 I，激发波长(λex)为 360 nm，发射波长(λem)为 430 nm，标记的细胞在 2 h 之内测完，整个过程要求细胞存活。根据公式(1)计算荧光偏振度 P，

$$P=\frac{I_{VV}-GI_{VH}}{I_{VV}+GI_{VH}}$$

其中，I_{VV} 为起偏器和检偏器光轴均在垂直方向时的荧光强度，I_{VH} 为起偏器光轴在垂直方向、检偏器光轴在水平方

向时的荧光强度;G 为校正因子，校正由于单色器所产生的附加偏振。按 Azumi 法，$G=I_{HV}/I_{HH}$，其中 I_{HH} 为起偏器和检偏器均为水平方向时的荧光强度，I_{HV} 为起偏器光轴在水平方向、检偏器光轴在垂直方向时的荧光强度。

1.8 mDCs 跨内皮细胞迁移能力的测定

人脐静脉内皮细胞接种到 Transwell（5 μm 孔径，美国 Corning 公司）的上室，培养至细胞在膜上形成单层。10^6 个 mDCs、mDCs+nonGF、mDCs+HCCs 和 mDCs+PFA 分别接种到培养好的内皮细胞单层上，37℃孵育 12 h。从 Transwell 的下室收集细胞，流式细胞仪（美国 Becton Dickinson 公司）计数。流式细胞仪的计数结果与加于上室的细胞数之比为 mDCs 跨内皮细胞迁移率，该百分比可反映细胞迁移能力的大小。

1.9 统计学处理

实验数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示，所有数据用 SAS 统计软件的 ANOVA 作方差分析，组间两两比较。

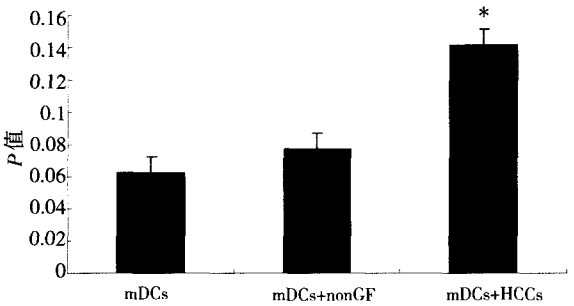
2 结 果

2.1 mDCs 的粘弹性

如图 1 所示，mDCs+HCCs 的弹性系数 K_1 和 K_2 被肝癌微环境显著上调（$P<0.01$ 和 $P<0.05$），由于 $1/K_1$ 反映的是细胞的最大变形能力，说明 mDCs+HCCs 细胞的变形能力下降，也就是说，细胞的刚性显著增加。这可能会直接影响到 mDCs 的迁移能力。

2.2 mDCs 的膜流动性

细胞的荧光偏振度 P 值与细胞膜脂双层的微流动性成反比，如图 2 所示，DCs+HCCs 组的 P 值显著增加（$P<0.005$），说明细胞膜分子的运动受到了肿瘤微环境的显著抑制，这可



mDCs+HCCs 的 P 值与 mDCs 的相比：*$P<0.005$

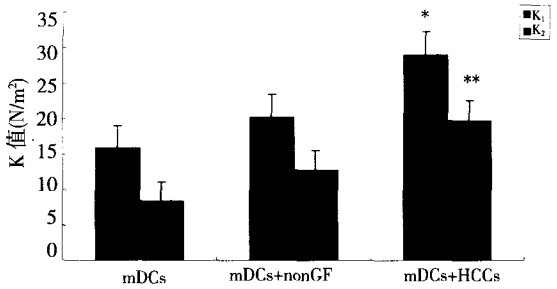
图 2 不同培养条件下 mDCs 细胞膜的荧光偏振度

3 讨 论

近年来，基于 DCs 的免疫治疗被认为是极有希望攻克癌症的方法之一，并成为世界各国科学家竞相研究的热点。但是 DCs 的过继免疫治疗的临床应用却遇到了许多问题和挑战[1]。所以，对病理条件下，特别是肿瘤条件下，DCs 的生物学特性的研究成为一个迫切的任务，其目的是要改善这种免疫治疗方法的治疗效率。DCs 是迄今所知功能最为强大的抗原呈递细胞[1]，起源于造血干细胞（Hematopoietic stem cell，HSC），能会影响 mDCs 和 T 细胞在淋巴结内的相互作用过程以及免疫突触的形成。

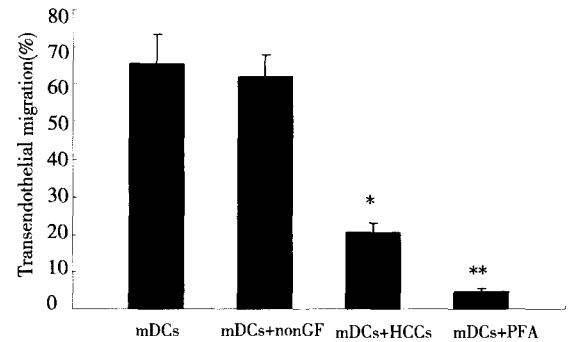
2.3 mDCs 的跨内皮细胞迁移能力

基于 DCs 的免疫治疗的一个关键的问题是，过继回输的 DCs 要保持其运动能力，使其能够从注射位点迁移到二级淋巴组织以将其获得的抗原呈递给幼稚的 T 细胞，从而启动抗原特异的免疫应答。为了研究肝癌肿瘤微环境对 DCs 迁移能力的影响并证实粘弹性和膜流动性实验的结果，本文利用 Transwell 研究了 mDCs 跨内皮细胞迁移的能力，如图 3 所示，mDCs+HCCs 组的跨内皮细胞迁移率显著下降（$P<0.001$），说明在 HCCs 微环境下，DCs 的迁移能力受到了明显的损伤，也直接证明了 mDCs 的变形能力也受到了损伤。另外，为了直接证明 mDCs 的生物物理特性对其迁移能力的影响，1%的 PFA 固定 mDCs 后，其跨内皮细胞迁移能力受到了显著的影响（$P<0.05$）。



mDCs+HCCs 的 K_1 和 K_2 与 mDCs 的相比：*$P<0.01$ 和 **$P<0.05$

图 1 不同培养条件下 mDCs 的弹性系数 K_1 和 K_2



mDCs+HCCs 的迁移率与 mDCs 的相比：*$P<0.001$；

mDCs+PFA 的迁移率与 mDCs+HCCs 相比：*$P<0.05$

图 3 不同培养条件下 mDCs 的跨内皮细胞迁移率

HSC 出骨髓后分化为髓系和淋巴系祖细胞。来源于 $CD14^+$ 单核祖细胞的 DCs 是体外研究其生物学特性的主要来源[1]。作为抗原呈递细胞，DCs 的基本功能是是识别、摄取、处理、加工和呈递抗原，它能刺激幼稚 T 细胞的活化和增殖，从而导致免疫应答或耐受。在摄取抗原之前，DCs 处于未成熟阶段，称为 imDCs，imDCs 位于外周非淋巴组织，以吞噬、巨吞饮和受体介导的内吞作用摄取抗原，具有强大的抗原摄取和处理能力。获取抗原后，imDCs 逐渐分化成为 mDCs），上调 MHC Ⅱ、共刺激分子（CD86、CD80 和 CD40 等）和趋化因子受体（CCR7 等）等的表达，并完善其活化幼稚 T 细胞的能力，而且，它们显著地下调其抗原摄取能力并向二级淋巴组织迁移，从而导致免疫应答或耐受[1]。肿瘤的低免疫原性与 DCs 的

功能受抑密切相关。人们已经广泛的认识到,肿瘤组织微环境中存在许多细胞因子,如 TGF-β_1、VEGF、IL-10、神经节苷脂和 PGE2 等,这些细胞因子单独或互相协调地抑制 DCs 的抗原呈递功能,导致机体对肿瘤细胞产生免疫耐受[4]。

本文用微吸管实验来研究 mDCs 的粘弹性,结果如图 1 所示。mDCs+nonGF 的 K_1 和 K_2 比 mDCs 有所增加,但是 mDCs+HCCs 组细胞弹性系数 K_1 和 K_2 被肝癌微环境来源的因素显著上调(P<0.01 和 0.05),由于 $1/K_1$ 反映的是细胞的最大变形能力,说明 mDCs+HCCs 组细胞的变形能力下降。细胞变形能力和膜流动性的下降可使细胞在与其他细胞相互作用时的接触面积变小,不有利于是细胞间发生更好的粘附,这样会导致细胞间的粘附/信号转导受体/配体键的形成减少,而且,当细胞在血流剪切力的作用下被动变形的时候,由于变形能力下降,使其更容易受到比正常剪切力大得多切应力的破坏。mDCs 的主要功能是在二级淋巴组织内向幼稚的 T 细胞呈递抗原,在该过程 mDCs 的主动变形能力对于免疫应答的结果是至关重要的[7],因为只有 mDCs 保持良好的变形能力才能与 T 细胞之间产生足够的接触面积,保证细胞上的各种受体与配体充分结合从而形成免疫突触。从本文的结果可发现,处于 HCCs 微环境下 mDCs 的变形能力在显著下降,这就可能影响到免疫突触的形成过程,使 mDCs 刺激 T 细胞增殖的效率下降,甚至可能导致肿瘤抗原特异性的免疫耐受,这对于基于 DCs 的抗肿瘤免疫治疗是至关重要的。

众所周知,细胞膜脂双层的流动性在一些细胞功能和生物学过程中发挥着重要的作用。测定 DPH 分子在膜中的荧光偏振度(P 值)可反映膜脂双层烃链区分子运动和排列的情况,P 值越大,细胞膜微粘度越大,膜分子运动越慢,膜流动性也越低;反之亦然。如图 2 所示,mDCs+HCCs 组的 P 值与 mDCs 和 mDCs+nonGF 相比显著增加(P<0.005),说明膜脂分子的微流动性受到了来自肝癌微环境因素的抑制,也说明 DCs 的膜脂成分发生了极大的改变。细胞膜流动性的变化与细胞表面受体/配体或抗原肽暴露以供其他细胞识别有密切关系。对于 mDCs 来说,肿瘤导致的细胞膜分子流动性的下降可能会影响其与幼稚 T 细胞在淋巴结内的相互作用过程、免疫突触的形成和 T 细胞的活化。

另外,与正常机体组织的内环境不同,在荷瘤宿主体内,肿瘤微环境中的不同分子成分不但能影响一些细胞外蛋白酶的表达,而且还能调控细胞外基质的刚性,从而导致整个瘤体及其周围组织的刚性增加,特别是肿瘤基质细胞的纤维化增加,也就是比正常的连接组织更为僵硬,导致胶原纤维的大量沉积。受肿瘤微环境的影响,mDCs 的变形能力显著下降,细胞变得僵硬,在机体内,这种僵硬的 mDCs 与在同样僵硬的机体组织中相互作用时,由于它们之间的摩擦力增加,导致 mDCs 质膜表面各种重要的分子结构或构象受到严重的损伤,从而影响其正常的功能发挥。

mDCs 的运动能力是其在二级淋巴组织内与 T 细胞相互作用的必要条件之一[1]。在基于 DCs 的抗肿瘤过继免疫治疗中,mDCs 保持一定的迁移能力才能够从注射位点迁移到二级淋巴组织以将其获得的抗原呈递给幼稚的 T 细胞,从而启动抗原特异的免疫应答。同时,也为了验证粘弹性和膜流动性的实验结果,我们将 3 组细胞不同培养条件下的 mDCs 在铺有内壁细胞的 Transwell 系统中检测它们的迁移能力,结果(图3)发现:mDCs+HCCs 组的跨内皮细胞迁移率显著下降(P<0.001),而 mDCs+nonGF 的迁移能力受环境因素的影响很小,说明 HCCs 微环境来源的因素导致了 mDCs 迁移能力的显著下降。有研究发现低浓度的 PFA 处理细胞后并不影响细胞表面分子和受体的表达,但是会导致细胞刚性增加、变形能力下降、膜粘度增加和代谢受抑等[10]。为了证明 mDCs 的粘弹性和膜流动性在其迁移过程中的作用,本研究用低浓度的 PFA 处理细胞后,发现 mDCs 的迁移能力显著下降(P<0.05),直接证明了细胞变形能力和膜流动性下降会引起其迁移能力减弱。有学者证明:处于肿瘤微环境下的 DCs 出现趋化因子(如 CCR7 等)的紊乱表达[4],这可能会导致 DCs 在及体内的非正确迁移,结合本文的研究结果,就可以解释为什么回输入肿瘤宿主体内的 mDCs 到达淋巴结的数量极少(1%左右)。

总之,本研究结果表明 HCCs 可能能够损伤 mDCs 的生物物理学特性来影响其迁移能力,这可能是肿瘤逃脱机体免疫监视的方式之一,这对进一步深入理解肿瘤的免疫逃逸机制具有重要意义。

参 考 文 献

[1] Steinman R M, Banchereau J. Taking dendritic cells into medicine [J]. Nature, 2007, 449(9): 419-426.

[2] Nestle F O, Farkas A, Conrad C. Dendritic-cell-based therapeutic vaccination against cancer[J]. Current Opinion in Immunology, 2005, 17: 163-169.

[3] Tsujitani S, Kakeji Y, Watanabe A, et al. Infiltration of dendritic cells in relation to tumor invasion and lymph node metastasis in human gastric cancer[J]. Cancer, 1990, 66(9): 2012-2016.

[4] Zitvogel L, Tesniere A, Kroemer G. Cancer despite immunosurveillance: immunoselection and immunosubversion[J]. Nature Reviews Immunology, 2006, 6(10): 715-727.

[5] Kakumu S, Ito S, Ishikawa T, et al. Decreased function of peripheral blood dendritic cells in patients with hepatocellular carcinoma with hepatitis B and C virus infection[Z]. 2000: 15, 431-436.

[6] Karin M, Greten F R. NF-κB: linking inflammation and immunity to cancer development and progression[J]. Nature Reviews Immunology, 2005, 5: 749-759.

[7] Mempel T R, Henrickson S E, von Andrian U H. T-cell priming by dendritic cells in lymph nodes occurs in different phases[J]. Nature, 2004, 427: 154-159.

[8] Zeng Z, Liu X, Jiang Y. Biophysical studies on the differentiation of human $CD14^+$ monocytes into dendritic cells[J]. Cell Biochemistry and Biophysics, 2006, 45(1): 18-28.

[9] Zeng Z, Xu X, Zhang Y, et al. Tumor-derived factors impaired motility and immune functions of dendritic cells through derangement of biophysical characteristics and reorganization of cytoskeleton[J]. Cell Motil Cytoskeleton, 2007, 64(3): 186-198.

[10] Tourkova I L, Yurkovetsky Z R, Shurin M R, et al. Mechanisms of dendritic cell-induced T cell proliferation in the primary MLR assay[J]. Immunol. Lett, 2001, 78: 75-82.

(责任编辑:冉明会)