DOI:10.16016/j.1000-5404.2004.11.006
第26卷第11期 第三军医大学学报 Vol. 26, No. 11
2004年6月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Jun. 2004

文章编号:1000-5404(2004)11-0949-04

论著

脐血 CD34$^+$ 细胞分化为树突状细胞过程中 JAK2、STAT5 蛋白的表达及活化

裴 莉,陈洁平,梁后杰 (第三军医大学西南医院肿瘤血液科,重庆 400038)

提 要:目的 检测脐血 CD34$^+$ 造血干/祖细胞分化为树突状细胞过程中 JAK2、STAT5 蛋白的表达及活化,从而了解 JAK-STAT 信号途径在 CD34$^+$ 造血干/祖细胞向 DC 分化中的作用。方法 体外诱导脐血 CD34$^+$ 细胞向 DC 分化,用免疫印迹方法检测 CD34$^+$ 细胞、分化第 7 天细胞和分化第 14 天的细胞中与 GM-CSF 密切相关的 JAK2 和 STAT5 蛋白的表达及其在 GM-CSF 作用下蛋白酪氨酸磷酸化水平。结果 分离的 CD34$^+$ 细胞和诱导分化第 7 天、第 14 天的细胞在正常静止状态下,均表达一定量的 JAK2,而且在所有的时间点 JAK2 蛋白的表达量类似,随着细胞向 DC 分化酪氨酸磷酸化 JAK2 水平明显增加;STAT5 在 CD34$^+$ 细胞分化前即有明显表达,随着向 DC 分化,其表达量增加。随着 DC 的分化成熟,STAT5 的酪氨酸磷酸化水平提高。STAT5 的活化高峰较 JAK2 的酪氨酸磷酸化滞后。结论 JAK-STAT 途径可能参与了 GM-CSF 刺激作用下 CD34$^+$ 细胞诱导向 DC 分化的调控机制。

关键词:CD34;树突细胞;JAK;STAT;粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子
中图法分类号:R329.21;R329.24;R446.61 文献标识码:A

Expressions and activation of JAK2 and STAT5 during the process of differentiation of human cord blood CD34$^+$ cells into dendritic cells

PEI Li[1], CHEN Jie-ping[1], LIANG Hou-jie[2] ([1]Department of Hematology; [2]Department of Oncology, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To understand the roles of JAK-STAT pathway in the process of differentiation of human cord blood CD34$^+$ hematopoietic stem cells into dendritic cells (DCs) by detecting the expressions and activation of JAK2 and STAT5. Methods CD34$^+$ hematopoietic stem cells isolated from human umbilical cord blood and cultured for two weeks were induced to differentiate into DCs *in vitro*. Total cellular JAK2 and STAT5 and tyrosine phosphorylated protein stimulated by granulocyte/macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) at different time points (0, 7, and 14) during DC differentiation were detected by Western blotting. Results The amount of JAK2 protein was similar at 0, 7, and 14 d without GM-CSF stimulation. With the differentiation of cells into DCs, the amount of tyrosine phospho-JAK2 induced by GM-CSF increased markedly. Both total cellular and tyrosine phospho-STAT5 expression increased markedly during DC differentiation. Maximal tyrosine phospho-STAT5 expression was later than JAK2. Conclusion JAK-STAT pathway may take part in the signal mechanism of DCs differentiation from CD34$^+$ hematopoietic stem cells stimulated by GM-CSF.

Key words: CD34; dendritic cell; JAK; STAT; granulocyte/macrophage colony-stimulating factor

树突状细胞(dendritic cells, DCs)作为功能最强的抗原提呈细胞,在恶性肿瘤的免疫治疗中起着重要的作用[1,2]。从不同来源、通过不同途径在体外诱导扩增 DC 的研究已有较多报道,但是细胞因子体外诱导扩增 DC 的机制仍不清楚。如何稳定、高效地获得 DC 细胞的核心在于阐明 DC 细胞分化调控的机制。在诱导 CD34$^+$ 细胞向 DC 分化过程中,有多种造血生长因子的参与,其中粒细胞-巨噬细胞刺激因子(granulocyte-macrophage colony-stimulaling factor, GM-CSF)是最基本的细胞因子之一。细胞因子作用于细胞后,引起细胞内一系列变化均与细胞内信号传导系统及其传递机制密切相关。现有的研究提示,造血生长因子涉及的信号转导通路可能有许多条,其中 JAK-STAT 途径可能是造血生长因子信号转导的一条主要通路[3]。在本研究中,我们体外诱导脐血 CD34$^+$ 细胞向 DC 分化,用免疫

基金项目:第三军医大学科研基金资助项目(2000-42)
Supported by the Scientific Research Foundation of Third Military Medical University (2000-42)
作者简介:裴 莉(1972-),女,四川省渠县人,硕士,医师,主要从事造血调控方面的研究。电话:(023)68765199
通信作者:陈洁平,电话:(023)68754129
收稿日期:2004-01-13;修回日期:2004-03-15

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

印迹方法检测细胞分化过程中与GM-CSF密切相关的JAK2和STAT5蛋白的表达及其在GM-CSF作用下蛋白酪氨酸磷酸化水平，从而初步揭示$CD34^+$造血干/祖细胞向DC分化的部分机制。现报告如下。

1 材料与方法

1.1 材料来源

脐血样本来自第三军医大学西南医院妇产科正常足月分娩产妇，外周血来自健康献血员，肝素抗凝终浓度为15~20 U/ml。GM-CSF、干细胞因子(SCF)由Kirin公司惠赠，白细胞介素-4(IL-4)、肿瘤坏死因子-α(TNF-α)购自Pepre Tech公司，Flt-3配体(flt3 ligand，FL)为Immunex产品，细胞表型分析所用单克隆抗体CD34、CD80、CDla和HAL-DR为Immunotech公司产品，$CD34^+$细胞MACS磁性分离试剂盒为Miltemyi Biotec产品。

1.2 实验方法

1.2.1 脐带血$CD34^+$细胞分离和DC体外诱导 脐血经Ficoll分离出单个核细胞(MNC)，洗涤后按照产品生产商提供方法，应用MACS系统阳性分离法分离$CD34^+$细胞。简述之，MNC中加入FC受体封闭抗体和CD34单抗各100 μl，4 ℃作用20 min，洗涤后加磁珠标记二抗100 μl，8 ℃作用15 min，洗涤后细胞通过置于磁场中的分离柱，洗脱除去$CD34^-$细胞，分离柱脱离磁场，加压洗脱，收集$CD34^+$细胞，流式细胞仪检测其纯度为99.08%。DC体外诱导分化用含15%胎牛血清的IMDM培养基，将$CD34^+$细胞浓度调整为10^5/ml，接种于6孔板，并加入GM-CSF(100 ng/ml)、SCF(100 ng/ml)、IL-4(1 000 U/ml)、FL(40 ng/ml)和TNF-α(50 U/ml)，置于5%CO_2、37 ℃的培养箱培养，每3天半量换液1次。

1.2.2 DC形态观察 透射电镜观察：收获细胞离心沉淀用3%的戊二醛和1%的锇酸先后固定，梯度乙醇脱水，经超薄切片铅铀染色后，透射电镜观察并摄片。扫描电镜观察：收获细胞用3%的戊二醛固定后，制成悬液滴片，1%的锇酸固定，梯度乙醇脱水，临界点干燥，真空镀金胶体后，扫描电镜观察并摄片。

1.2.3 流式细胞仪(FACS)检测DC表型 收获细胞，每份标本细胞数2×10^5。用直接免疫荧光法标记细胞，分别加入PE标记的单抗CD1a、CD80和HLA-DR，4 ℃作用30 min，然后用流式细胞仪检测。

1.2.4 DC刺激同种异体T细胞增殖反应 常规分离成人外周血MNC，用尼龙毛法获得T淋巴细胞。DC以每孔1×10^3、2×10^3、1×10^4接种于96孔板，每组5个复孔，经$^{60}Co\gamma$射线照射灭活，然后以1∶10、1∶50、1∶100加入T淋巴细胞，培养72 h，然后加入^{3}H-TdR，3.7×10^4 Bq/孔，作用14 h后收集细胞，液闪计数仪检测放射性核素每分钟闪烁计数(CPM)值。

1.2.5 准备细胞和提取细胞总蛋白 取刚分离的$CD34^+$细胞(d0)和诱导分化第7天(d7)、第14天(d14)的细胞，IMDM培养液洗涤，在不含任何细胞因子的IMDM培养液+5%FCS中培养48 h后，用无血清IMDM培养液洗涤2次。实验组加入IMDM+20 ng/mlGM-CSF分别培养5、10、30、60 min，对照组则加入不含GM-CSF的无血清IMDM培养液作用相同时间。4 ℃预冷的PBS洗涤2次，加入细胞蛋白提取液，冰浴30 min，12 000×g离心15 min。取上清，Bradford法测定蛋白含量。分装后−80 ℃冰箱保存备用。

1.2.6 Wstern印迹法检测JAK2、STAT5的表达及活化 细胞蛋白提取液样品(约40 μg)溶于等体积样品缓冲液中，混匀，沸水中热溶5 min，离心，加入SDS-PAGE电泳，转移至PVDF膜，然后用多克隆抗JAK2抗体、多克隆抗STAT5抗体、多克隆Phospho-Jak2抗体、多克隆Phospho-Stat5抗体行Western印迹检测。洗膜后用ECL化学发光、KodakX片曝光、显像，用医学图像分析仪测定条带的光度。

1.3 统计学处理

结果以$\bar{x}\pm s$表示，采用Student非配对F检验。

2 结果

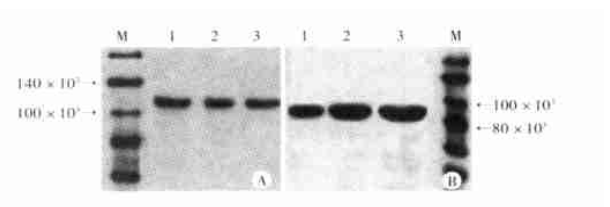
2.1 诱导人脐血$CD34^+$细胞向DC分化

脐血$CD34^+$细胞在细胞因子作用下可向DC分化。光镜及扫描电镜均显示细胞形态不规则，胞浆伸出树枝状突起。透射电镜观察细胞表面突起明显，细胞核形态不规则，多偏于一侧，胞浆内线粒体丰富，偶见溶酶体。流式细胞仪检测细胞表型，细胞表面高表达DC分化相关抗原CD1a(47.02±7.93)%、CD80(67.40±7.09)%和HLA-DR(85.60±5.89)%。

如图1所示，$CD34^+$细胞扩增后诱导分化而来的DC，按不同比例，即1∶100、1∶50、1∶10与同种T淋巴细胞混合培养，均可以产生明显的增殖效应，1∶10时刺激效果最为明显。细胞^{3}H-TDR的掺入率分别为(3 883±176)、(2 712±113)、(1 945±79)，与对照组CPM值(316±112)比较有显著性差异。1∶10时刺激效果最为明显。说明脐血$CD34^+$细胞体外扩增的DC能刺激同种异体T细胞增殖反应，有较强的抗原提呈能力。

2.2 JAK2和STAT5分子的表达

提取分离的$CD34^+$细胞(d0)和诱导分化第7天(d7)、第14天(d14)的细胞总蛋白，Western Blotting显示，d0细胞和d7、d14细胞在正常静止状态下，均表达一定量的JAK2，而且在所有的时间点JAK2蛋白的表达量类似(图1A)。而STAT5在$CD34^+$细胞分化前即有明显表达，随着向DC分化，其表达量增加(图1B)。



A：JAK2；B：STAT5；M：Marker；1：$CD34^+$ cells；2：Cells at 7 d；3：Cells at 14 d

图1 $CD34^+$细胞向DC分化过程中JAK2/STAT5的表达

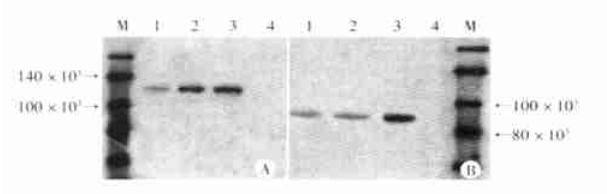
Fig 1 Expression of JAK2/STAT5 during DC differentiation from $CD34^+$ cells

2.3 JAK2和STAT5分子的活化

GM-CSF刺激10 min后，提取细胞总蛋白，Western Blotting显示，d0时有微量磷酸化JAK2显示，随着细胞向DC分化，磷

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

酸化 JAK2 水平明显增加, d7、d14 蛋白含量与 d0 比较均有非常显著差异($P<0.01$)(图 2A)。磷酸化的 STAT5 在 d0 时相对较低, 随着细胞分化而增加, d7、d14 蛋白含量与 d0 比较均有非常显著差异($P<0.01$)(图 2B)。



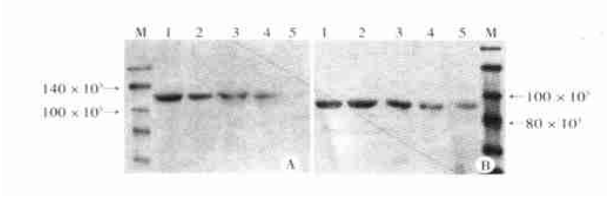
A: Expression of Phospho-Jak2 stimulated by GMCSF for 5 min; B: Expression of Phospho-STAT5 stimulated by GM-CSF for 10 min; M: Marker; 1: CD34$^+$ cells stimulated by GM-CSF; 2: Cells stimulated by GM-CSF at 7 d; 3: Cells stimulated by GM-CSF at 14 d; 4: Cells without stimulation of GM-CSF at 14 d

图 2　GM-CSF 刺激 JAK2/STAT5 水平

Fig 2　Expression of Phospho-Jak2/ Phospho-STAT5 stimulated by GM-CSF during DC differentiation from CD34$^+$ cells

2.4　JAK2 和 STAT5 分子活化的时间依赖性

GM-CSF 刺激 d14 细胞, 检测不同时相点酪氨酸磷酸化的 JAK2 和 STAT5。GM-CSF 刺激 d14 细胞 5 min 时, 磷酸化的 JAK2 水平就达到最高, 10 min 仍维持在高水平, 随刺激时间延长, 表达减弱, 60 min 即检测不到(图 3A)。GM-CSF 刺激 d14 细胞 5 min 后, 磷酸化 STAT5 表达量渐升高, 10 min 时, 磷酸化的 STAT5 水平就达到最高。30 min 后其表达减少, 但 60 min 时仍有微量磷酸化的 STAT5 存在(图 3B)。而无 GM-CSF 刺激的 d14 细胞作用相同时间一直未能检测到磷酸化的 JAK2 和 STAT5 的表达。



A: JAK2; B: STAT5; M: Marker; 1—5: Cells at 14 d after stimulation of GM-CSF for 5, 10, 20, 30 and 60 min

图 3　GM-CSF 刺激 d14 细胞后, JAK2/STAT5 活化的时相性

Fig 3　Expression of Phospho-Jak2 / Phospho-STAT5 in cells stimulated by GM-CSF for different time at 14 d

3　讨论

GM-CSF 是一种酸性糖蛋白类的细胞因子, 它和其靶细胞上特异的细胞因子受体相结合, 可以介导包括 JAK-STAT 在内的多种信号途径, 实现造血生长因子对靶细胞的效应[4,5]。研究表明, GM-CSF 激活的 JAK-STAT 信号转导途径在中性粒细胞[6] 等多种细胞的分化成熟调控中起重要作用。那么, CD34$^+$ 造血干/祖细胞诱导分化为 DC 的过程是否有 JAK-STAT 信号途径的参与呢? 因为 GM-CSF 在 DC 的分化、成熟中均有着重要作用, 我们设想, GM-CSF 与细胞表面相应受体结合后, 可能通过 JAK-STAT 信号转导途径, 启动基因转录, 实现对 HSC 诱导分化为 DC 的调控。

在本实验中, 我们分离纯化人脐血 CD34$^+$ 细胞, 并用 GM-CSF+SCF+FL+IL-4+TNF-α 细胞因子组合诱导其向 DC 分化。GM-CSF+TNF-α 是 CD34$^+$ 造血干/祖细胞诱生 DC 中最常用的基本的细胞因子组合, 我们还加入了具协同增殖效应的 FL 和 SCF, 这两种细胞因子均可促进 CD34$^+$ 细胞的生长并延长其存活时间, 从而增加 DC 产量[7,8]。IL-4 的加入可抑制 DC 前体细胞向巨噬细胞的分化, 可以获得更高纯度的 DC。实验结果显示, 本实验条件下获得的细胞具有典型的 DC 形态特征, 表达高水平的 DC 分化抗原 Cd1a、MHC II类抗原递呈分子 HLA-DR 和 CD80 共刺激分子, 在 MLR 中能有效刺激同种异体淋巴细胞的增殖。根据目前体外检测 DCs 的标准, 表明脐血 CD34$^+$ 细胞在该组细胞因子作用下, 可在体外生成大量具有生物学活性的成熟 DC。

JAK-STAT 信号途径中涉及众多的信号分子, 本实验选择了与 GM-CSF 密切相关的 JAK2 和 STAT5 分子。为了排除其他细胞因子的干扰, 我们将不同分化阶段的细胞洗涤后在不含任何细胞因子的培养液中培养 48 h, 洗涤后加入有效浓度的 GM-CSF 刺激, 对照组则加入不含 GM-CSF 的无血清 IMDM 培养液作用相同时间。用免疫印迹方法检测 CD34$^+$ 造血干/祖细胞及不同分化阶段 DC 中与 GM-CSF 密切相关的 JAK2 和 STAT5 蛋白的表达及其在 GM-CSF 作用下蛋白酪氨酸磷酸化水平。本实验结果显示, 分离纯化的脐血 CD34$^+$ 细胞对 GM-CSF 的刺激存在低反应性。虽然在静止状态的 CD34$^+$ 细胞内有一定水平的 JAK2 和 STAT5 蛋白的表达, 但是 GM-CSF 刺激后 JAK2 磷酸化仅有微量表达, 而且 STAT5 的酪氨酸磷酸化水平相对较低。随着 CD34$^+$ 细胞向 DC 的分化成熟, JAK2 和 STAT5 的活化形式——酪氨酸磷酸化的 JAK2 和 STAT5 水平提高。提示 GM-CSF 与 CD34$^+$ 造血干/祖细胞表面相应受体结合后, 可能通过介导 JAK2 酪氨酸磷酸化, 活化后的 JAK2 使信号转导和转录活化因子 STAT 磷酸化而激活, 启动基因转录, 促进 HSC 向 DC 分化并成熟。我们还检测了 GM-CSF 激活 JAK2 和 STAT5 分子的时间效应。实验结果显示, STAT5 的活化高峰较 JAK2 的磷酸化滞后, 这与 JAK 蛋白在 STAT 分子的上游发挥作用一致。实验中, 我们还检测了培养第 14 天未加 GM-CSF 刺激的 DC 细胞的 JAK2 和

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

STAT5 的酪氨酸磷酸化水平。结果显示，在相同的作用时间内一直没有检测到酪氨酸磷酸化的 JAK2 和 STAT5 的表达。这可能与检测时 DC 脱离细胞因子的作用 48 h 以上，而信号分子在细胞因子刺激后活化水平随时间延长而逐渐减弱有关。

我们的实验结果提示 JAK2-STAT5 可能参与了 GM-CSF 刺激作用下 $CD34^+$ 细胞诱导向 DC 分化成熟的调控机制。我们的工作初步揭示了 $CD34^+$ 造血干/祖细胞向 DC 分化的部分机制，为实现 DC 的体外大量扩增提供了重要的理论与实验依据。

参考文献：

[1] Schreurs M W, Eggert A A, de Boer A J, *et al*. Dendritic cells break tolerance and induce protective immunity against a melanocyte differentiation antigen in an autologous melanoma model[J]. Cancer Res, 2000, 60(24): 6995－7001.

[2] Triozzi P L, Khurram R, Aldrich W A, *et al*. Intratumoral injection of dendritic cells derived *in vitro* in patients with metastatic cancer[J]. Cancer, 2000, 89(12): 2646－2654.

[3] Bittorf T, Jaster R, Soares M J, *et al*. Induction of erythroid proliferation and differentiation by a trophoblast-specific cytokine involves activation of the JAK/STAT pathway[J]. J Mol Endocrinol, 2000, 25(2): 253－262.

[4] de Groot R P, Coffer P J, Koenderman L. Regulation of proliferation, differentiation and survival by the IL-3/IL-5/GM-CSF receptor family[J]. Cell Signal, 1998, 10(9): 619－628.

[5] Schindler C, Strehlow I. Cytokines and STAT signaling[J]. Adv Pharmacol, 2000, 47: 113－174.

[6] Al-Shami A, Naccache P H. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor-activated signaling pathways in human neutrophils. Involvement of Jak2 in the stimulation of phosphatidylinositol 3-kinase[J]. J Biol Chem, 1999, 274(9): 5333－5338.

[7] Saraya K, Reid C D. Stem cell factor and the regulation of dendritic cell production from $CD34^+$ progenitors in bone marrow and cord blood[J]. Br J Haematol, 1996, 93(2): 258－164.

[8] Rosenzwaig M, Camus S, Guigon M, *et al*. The influence of interleukin (IL)-4, IL-13, and Flt3 ligand on human dendritic cell differentiation from cord blood $CD34^+$ progenitor cells[J]. Exp Hematol, 1998, 26(1): 63－72.

（编辑 汪勤俭）

（上接 948 页）

分率。④血浆 IgE、培养上清 IL-4 和 IL-13 水平检测：ELISA 双抗夹心法。

统计学方法：所测数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示，使用 SPSS 11.0 统计软件进行组间 t 检验。并采用直线相关分析。

2 结果

哮喘患儿 PBMC 中 $CD19^+$ 百分率、$CD19^+CD86^+$ 百分率及血浆总 IgE 水平：哮喘患儿 PBMC 经 LPS 刺激后其 $CD19^+$，$CD19^+CD86^+$ 百分率均显著高于对照组（7.13±2.97，14.16±3.19，1.48±0.94，3.82±2.05，$P<0.01$）；IgE 水平哮喘组也较显著高于对照组（36.94±38.99、248.78±330.97 IU/ml，$P<0.01$）。$CD19^+$ 细胞百分率与 IgE 水平在对照组和哮喘组均无显著相关；$CD19^+CD86^+$ 细胞百分率与 IgE 水平在哮喘组显著正相关（$r=0.5148$），而对照组则无。

哮喘患儿 PBMC 中活化 $CD4^+$ 细胞表达 CD30 百分率：哮喘患儿 PBMC 中 $CD4^+$ 细胞表达 CD30 百分率（17.311±6.196）较对照组（26.405±11.347）明显增高（$P<0.05$）。

哮喘患儿 PBMC 培养上清 IL-4（14.69±11.94）、（32.51±23.28）IU/ml 和 IL-1（3 751.79±443.15）、（1 214.75±790.80）IU/ml 水平均较对照组增高，差异有显著性（$P<0.01$）。

哮喘患儿 PBMC 中活化 $CD4^+$ 细胞表达 CD30 百分率与 PBMC 培养上清 IL-4 和 IL-13 水平的相关性：在哮喘组活化 $CD4^+$ 细胞表达 CD30 百分率与 PBMC 培养上清 IL-4、IL-13 水平呈显著正相关，相关系数 r 分别为 0.9079 和 0.7487。

3 讨论

本结果显示血浆总 IgE 水平和活化 B 细胞上 CD86 的表达在哮喘组呈显著正相关，似说明 B 细胞上 CD86 表达愈高，产生的 IgE 水平就愈高[2]，但 Jirapongsananuruk 等[3]研究证明：纯化的 $CD86^+$ B 细胞较纯化的 CD86-B 细胞产生多的 IgE；抗 CD86 单抗而非 CD80 单抗能明显地抑制 PBMC 产生 IgE。Del Prete 等[4]分别用犬蛔虫属分泌物提取抗原（toxocare canis excretory antigen，TES）、毒麦花粉提取液（lolium perenne groupⅠ，Lol pⅠ）刺激 T 淋巴细胞后其表达 CD30 并产生 IL-4 和 IL-5；花粉过敏病人的临床症状与血中 Lol pⅠ特异的 $CD4^+$ $CD30^+$T 细胞的数量和其产生的 Th2 细胞因子有一定的正相关。本结果还显示哮喘发作患儿 PBMC 培养上清 IL-4 和 IL-13 水平显著增高并与 $CD30^+$ 细胞的百分率呈显著正相关，这表明有分泌 IL-4 和 IL-13 的 Th2 细胞的活化。似提示在哮喘中 IgE 水平的增高可能与活化 B 细胞上 CD86 表达和活化 T 细胞上 CD30 表达增加有关，但其确切机制尚需进一步研究。

关键词：哮喘；CD86；CD30；流式细胞术
中图法分类号：R725.622.502 文献标识码：B

参考文献：

[1] 全国儿科哮喘协作组. 儿童哮喘防治常规[J]. 中华儿科杂志, 1998, 36(12): 747－750.

[2] Nakada M, Nishizaki K, Yoshino T, *et al*. CD86 (B7-2) antigen on B cells from atopic patients shows selective, antigen-specific upregulation[J]. Allergy, 1998, 53(5): 527－531.

[3] Jirapongsananuruk O, Hofer M F, Trumble A E, *et al*. Enhanced expression of B7.2 (CD86) in patients with atopic dermatitis: a potential role in the modulation of IgE synthesis[J]. J Immunol, 1998, 160(9): 4622－4627.

[4] Del Prete G, De Carli M, Almerigogna F, *et al*. Preferential expression of CD30 by human $CD4^+$ T cells producing Th2-type cytokin[J]. FASEB J, 1995, 9(1): 81－86.

（编辑 张大春）

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net