[6] Yang S, Darrow T L, Seigler H F. Generation of primary tumor-specific cytotoxic T lymphocytes from autologous and human lymphocyte antigen class Ⅰ-matched allogeneic peripheral blood lymphocytes by B7 gene-modified melanoma cells[J]. Cancer Res, 1997, 57(8): 1 561—1 568.

[7] Ugurel S, Seiter S, Rappl G, *et al*. Heterogenous susceptibility to CD95-induced apoptosis in melanoma cells correlates with bcl-2 and bcl-χ expression and is sensitive to modulation by interferon-γ[J]. Int J Cancer, 1999, 82(5): 727—736.

[8] Dunnion D J, Cywinski A L, Tucker V C, *et al*. Human antigen-presenting cell/tumour cell hybrids stimulate strong allogeneic responses and present tumour-associated antigens to cytotoxic T cells *in vitro*[J]. Immunology, 1999, 98(4): 541—550.

[9] Berd D, Maguire H C, Schuchier L M, *et al*. Autologous hapten-modified melanoma vaccine as postsurgical adjuvant treatment after resection of nodal metastatases[J]. J Clin Oncol, 1997, 15(6): 2 359—2 370.

[10] Tsang K Y, Zaremba S, Nieroda C A, *et al*. Generation of human cytotoxic T cells specific for human carcinoembryonic antigen eiptopes from patients immunized with recombinant vaccinia-CEA vaccine[J]. J Natl Cancer Inst, 1995, 87(13): 982—990.

[11] Oiso M, Eura M, Katsura F, *et al*. A newly identified MAGE-3-derived epitope recognized by HLA-A24-restricted cytotoxic T lymphocytes[J]. Int J Cancer, 1999, 81(3): 387—394.

[12] Thumer B, Haendle I, Roder C, *et al*. Vaccination with mage-3A1 peptide-pulsed mature, monocyte-derived dendritic cells expands specific cytotoxic T cells and induces regression of some metastases in advanced stage Ⅳ melanoma[J]. J Exp Med, 1999, 190(11): 1 669—1 678.

[13] Ayyoub M, Mazarguil H, Monsarrat B, *et al*. A structure-based approach to designing non-natural peptides that can activate anti-melanoma cytotoxic T cells[J]. J Biol Chem, 1999, 274(15): 10 227—10 234.

[14] Reynolds S R, Oratz R, Shapiro R L, *et al*. Stimulation of $CD8^+$ T cell responses to MAGE-3 and Melan A/MART-1 by immunization to a polyvalent melanoma vaccine[J]. Int J Cancer, 1997, 72(6): 972—976.

[15] Parkhurst M R, Salgaller M L, Southwood S, *et al*. Improved induction of melanoma-reactive CTL with peptides from the melanoma antigen gp100 modified at HLA-A * 0201-binding residues[J]. J Immunol, 1996, 157(6): 2 539—2 548.

[16] Rosenberg S A, Yang J C, Schwartzentruber D J, *et al*. Impact of cytokine administration on the generation of antitumor reactivity in patients with metastatic melanoma receiving a peptide vaccine[J]. J Immunol, 1999, 163(3): 1 690—1 695.

[17] Bueler H, Mulligan R C. Induction of antigen-specific tumor immunity by genetic and cellular vaccines against MAGE: enhanced tumor protection by coexpression of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor and B7.1[J]. Mol Med, 1996, 2(5): 545—555.

[18] Tuting T, DeLeo A B, Lotze M T, *et al*. Genetically modified bone marrow-derived dendritic cells expressing tumor-associated viral or "self" antigens induce antitumor immunity *in vivo*[J]. Eur J Immunol, 1997, 27(10): 2 702—2 707.

[19] Martin B K, Frelinger J G, Ting J P, *et al*. Combination gene therapy with CD86 and the MHC class Ⅱ transactivator in the control of lung tumor growth[J]. J Immunol, 1999, 162(11): 6 663—6 670.

[20] Tuting T, Wilson C C, Martin D M, *et al*. Autologous human monocyte-derived dendritic cells genetically modified to express melanoma antigens elicit primary cytotoxic T cell responses in vitro: enhancement by cotransfection of genes encoding the Th1-biasing cytokines IL-12 and IFN-α[J]. J Immunol, 1998, 160(3): 1 139—1 147.

[21] Toes R E, van der Voort E I H, Schoenberger S P, *et al*. Enhancement of tumor outgrowth through CTL tolerization after peptide vaccination is avoided by peptide presentation on dendritic cells[J]. J Immunol, 1998, 160(9): 4 449—4 456.

(编辑 汪勤俭)

文章编号:1000-5404(2000)10-0981-04

综述

CTL细胞毒作用的颗粒依赖性途径

Granule-dependent pathway of CTL cytotoxicity

管孝鞠,吴玉章 (第三军医大学基础医学部全军免疫学研究所,重庆 400038)

作者简介:管孝鞠(1970—),女,安徽省马鞍山市人,博士,讲师,主要从事药学方面的研究,发表论文20篇。电话:(023)68752236

收稿日期:2000-08-04;修回日期:2000-09-21

细胞毒T淋巴细胞(CTL)是机体防御细胞内感染的主要成员之一,分为$CD8^+$ CTLs、$CD4^+$ CTLs和双阴性$CD4^-CD8^-$ CTLs(DN CTLs)几个亚群。CTL细胞毒性通过两条接触依赖性途径

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

杀伤靶细胞：Fas配基(FasL)-Fas介导的细胞凋亡作用和颗粒-胞吐途径介导的溶细胞作用。研究表明，在CTL中起主要作用的$CD8^+$ CTLs通过颗粒依赖性途径识别和杀伤靶细胞和病原体，并可通过分泌细胞因子IFN-γ等补充$CD4^+$ T细胞的作用，也是杀伤某些细胞内病原体(如弓形体、利什曼原虫)的主要武器，DN CTLs的细胞毒性是FasL-Fas相互作用介导的，对病原体活力无影响；而$CD4^+$ CTLs可通过任一途径杀伤靶细胞[1]。

1 CTL细胞毒性的颗粒依赖性途径在抗细胞内感染中的作用

关键基因剔除的穿孔素缺陷小鼠的产生第一次为颗粒依赖性途径在体内外病毒感染清除中的作用提供了具有说服力的资料，也由此发现和确定Fas途径为CTLs细胞毒性产生的机制之一，研究显示穿孔素缺陷小鼠的CTLs可溶解Fas表达靶细胞，但不能溶解Fas缺陷靶细胞或突变Fas分子表达的靶细胞。就靶细胞限制性选择的溶解作用而言，估计穿孔素机制的作用约占杀伤活性的2/3，余下1/3是Fas的作用，前者基于溶解性蛋白的分泌；后者取决于细胞-表面配基-受体的相互作用。

细胞毒性的这两条途径的区别不仅在于是否依赖于钙以及CTL和靶细胞之间接触区分子的相互作用，而且表现在对靶细胞不同下游事件的启动。研究已表明快速靶细胞中蛋白水解酶是由颗粒胞吐和Fas/Fas配基途径诱导的。Sarin等证实了这一观点，他们用蛋白水解酶抑制剂对两条途径引起的凋亡型核损伤均有阻断作用，但是两条途径靶细胞溶解对蛋白水解酶的要求不同，只有Fas介导的溶细胞作用依赖于蛋白水解酶的蛋白分解作用，而颗粒胞吐作用并不需要蛋白水解酶。两条CTL途径可启动靶细胞分子事件的研究结果可能对于以下微生物病原体的宿主应答中一些由Fas/Fas配基和穿孔素介导溶细胞的不同作用有关。

在过去几年中，穿孔素、颗粒酶A或B及Fas受体或其配基功能缺陷小鼠突变模型的建立，为CTL细胞毒作用机制的深入研究提供了有力手段。穿孔素缺陷小鼠生长和发育正常，T细胞亚群或T细胞激活能力无明显改变；颗粒酶A或B缺陷小鼠的情况类似[2]。研究表明，穿孔素在淋巴细胞脉络丛脑膜炎病毒(Lymphocytic choriomenignitis virus, LCMV)、李斯特菌和锥虫[3](*Trypanosomes*)清除中发挥作用。动物模型的研究也显示，细胞毒性的颗粒胞吐途径不是细胞内病原体感染急性期免疫产生的原因，但是在急性感染之后的无症状慢性期的疾病中，含穿孔素的细胞毒颗粒可能是控制疾病所必需的。

穿孔素缺陷小鼠中毒力结核杆菌的感染过程由两个实验室分别进行了研究，穿孔素缺陷并不影响静脉内感染或气雾剂攻击引起的疾病早期过程中细菌负荷或器官的组织学形态；同样，另外缺乏一颗粒组分粒酶B，后者是靶细胞DNA片段化快速诱导中多余成分——在整个观察期间未见对疾病的影响[4]。但是，感染晚期穿孔素缺乏小鼠的肝、肺和脾内细菌数目显著高于同窝对照组动物，因此，CTLs可能在感染慢性期持续性细菌的控制发挥重要作用。但颗粒胞吐途径可能并不参与L. major的免疫过程，不表达颗粒胞吐途径重要效应分子穿孔素的基因靶向剔除小鼠在感染L. major后并不改变其感染过程，说明此途径并不在所有抗细胞内感染免疫中起重要作用。David Kägi等认为，颗粒依赖性途径对于非细胞病变性病原体感染如LCMV的保护性免疫应答是必需的，将加速病原体的清除，而对于细胞病变性病原体感染如VV(Vesicular stomatitis virus, VSV)、(Semliki Forest virus, SFV)和流感病毒可能并不是必要的，提示对于某些类型的细胞内感染，颗粒胞吐途径可能促进组织破坏而不是提供保护性免疫。

综上所述，可见细胞毒性的颗粒胞吐途径并不在所有细胞内感染或感染的所有阶段中起主导作用，在除L. major以外的细胞内病原体感染中发挥重要作用，可能与感染急性期细胞内病原体的免疫产生并不相关，而是控制弓形体病和结核(均是原型疾病，急性感染后出现无症状期、病原体可能终身持续存在的慢性期)等感染性疾病所必需的。

那么，穿孔素/粒酶途径和Fas途径在CTL细胞毒性中的作用又如何呢？Graubert TA等利用Sprent和Korngold模型，对依赖于MHC Ⅰ类或Ⅱ类途径的急性移植对宿主疾病(Acute graft-versus-host diseases)进行了评价，结果表明，$CD8^+$ CTLs可表达穿孔素mRNA和分泌颗粒酶，其介导的细胞毒性几乎完全依赖于穿孔素/颗粒酶系统[5]，而DN CTLs可表达FasL的mRNA，通过FasL途径介导的细胞凋亡杀伤靶细胞，$CD4^+$ CTLs可通过任一途径杀伤靶细胞，但绝大多数Ⅱ类模型的细胞毒性并不依赖于穿孔素或Fas途径，说明还存在它途径(如TNF-α和IFN-γ的分泌)可能在$CD4^+$ CTLs的细胞毒性中起重要作用。

此外，穿孔素和Fas系统可能作用于CTL细胞毒性的不同阶段，早期主要是穿孔素途径的作用，而晚期来自穿孔素非依赖性、FasL/Fas依赖性相互作用。单向混合淋巴细胞反应(One-way lymphocyte reactions, MLRs)产生的CTLs主要是$CD8^+$细胞，也有一些是$CD4^+$效应细胞。MLRs中生成的穿孔素缺陷的CTLs完全丧失其在孵育2~4 h后诱导靶细胞释放^{51}Cr的能力，因此，穿孔素是产生膜损伤，使早期^{51}Cr标记蛋白从靶细胞中释出的原因[2]；同样地，穿孔素缺陷的CTLs不能诱导任何^{125}I-碘化脱氧尿苷(IUdR)标记的DNA在孵育2~4 h后从靶细胞的释放；^{125}I-IUdR检测法对靶细胞中细胞凋亡相关DNA片段化的测定结果显示，穿孔素缺陷的CTLs不能很快诱导靶细胞的凋亡，而延长孵育时间后，穿孔素缺陷CTLs可恢复其介导^{125}I-IUdR和^{51}Cr释放的能力，这依赖于靶细胞，因此"晚期"细胞毒性是穿孔素非依赖性成分作用的结果，此晚期、穿孔素非依赖性细胞毒性来自Fas配基系统，因为穿孔素和Fas配基均缺陷的CTLs几乎无诱导^{125}I-IUdR和^{51}Cr释放的能力，即使是在延长孵育时间之后。由此可见，穿孔素/颗粒途径是CTL主要亚群$CD8^+$ T细胞依赖的细胞毒作用机制，不仅在CTL抗微生物免疫中起重要作用，而且可能与FasL/Fas介导途径协同作用，引起宿主防御细胞内感染的特异性细胞毒效应。

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

2　CTL 颗粒依赖性途径中的效应分子及作用

CTL 颗粒及其组成蛋白在 TCR 刺激 24~48 h 后合成, 新生成的穿孔素、颗粒酶及其它组成颗粒的蛋白向细胞毒颗粒移动。活化的 CTL 识别靶细胞后, 在效应细胞和靶细胞之间形成紧密连接, CTL 颗粒顺流而下到达接触部位, 在此部位, 颗粒与效应细胞膜融合, 颗粒内含物直接与靶细胞膜接触, 颗粒酶、颗粒溶素通过穿孔素孔进入细胞内, 在这里它们可作用于特异性底物, 最终导致细胞死亡, 和/或转动到核内, 直接分解和激活死亡底物, 溶解和杀伤靶细胞。

2.1　穿孔素

穿孔素是 CTL 颗粒中发现的一分子量为 68×10^3 的蛋白质, 是 CTL 细胞毒颗粒依赖性途径中的关键分子之一, 与补体级联反应的一些终端成分相似, 活化的 CTL 识别靶细胞后, 在效应细胞和靶细胞之间形成紧密连接, 钙存在条件下, 它可发生聚合, 在靶细胞膜上形成槽状(通道样)结构, 颗粒酶、颗粒溶素等颗粒内含物可通过此通道进入细胞内, 见图 1。进入靶细胞后, 颗粒酶可进入细胞质, 在这里它们可作用于特异性底物, 最终导致细胞死亡, 和/或转动到核内, 直接分解和激活死亡底物。

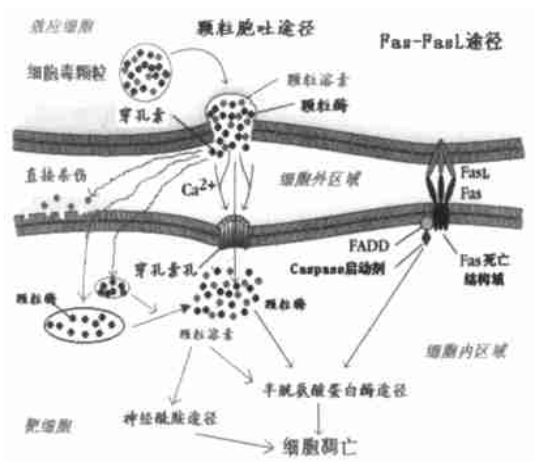


图 1　CTL 细胞毒作用的颗粒胞吐途径

2.2　颗粒酶

细胞毒颗粒的另一关键分子是颗粒酶, 它是可激活靶细胞死亡机制的神经丝氨酸蛋白酶。颗粒酶 A 和 B 位于两个不同的染色体上, 但两个基因均是多基因簇的一部分。颗粒酶 A 位于小鼠第 13 位染色体颗粒酶 K 的 65 kb 内, 颗粒酶 B 位于小鼠第 14 位染色体一个多基因簇的 5' 末端, 这簇基因包括编码(从 5' 到 3')颗粒酶 B, C, F, G, D 和 E 的基因、组织蛋白酶 G 基因, 以及鼠肥大细胞蛋白酶 2(MMCP-2)基因和其它编码肥大细胞胃促胰酶的基因。研究发现, 颗粒酶 A 和 B 在 MLR 来源 CTLs 中是表达水平最高的颗粒酶, 而 LAK 和 NK 细胞中颗粒酶 A, B, C, D 和 F 均高水平表达, CTLs 在体内产生颗粒酶基因表达的确切模式目前尚不清楚, 由于缺乏区分颗粒酶 B 簇颗粒酶的抗体, 现在还无法知道颗粒酶 B 缺陷的 CTLs 中细胞凋亡缺陷与失去颗粒酶 B 或簇中与颗粒酶 B 紧密相连的其它蛋白酶是否有关。

颗粒酶 B 是一种天冬氨酸酶(即可在天冬氨酸残基后进行酶切), 但颗粒酶 B 簇中绝大多数蛋白酶的特异性尚未定义, 颗粒酶 A 和 D 是类胰蛋白酶, 颗粒酶 C 和 F 的特异性尚不明确。最近重组颗粒酶的构建将有希望很快弄清楚其它颗粒酶 B 簇蛋白酶的特异性。与穿孔素缺陷小鼠相似的是, 颗粒酶 A 或 B 缺陷小鼠具有正常的淋巴隔室和产生活化 CTLs 的正常能力, 此外, 颗粒 A 和 B 均缺陷而含有正常量穿孔素的 CTLs 功能完全。但是, 颗粒酶 B 缺陷小鼠来源的 CTLs 完全丧失其在孵育的前 2~4 h 从同种异基因靶细胞释放 ^{125}I-IUdR 的能力, 这些 CTLs 可引起与野生型 CTLs 相似程度的膜损伤(^{51}Cr 的释放), 这些结果表明, 细胞凋亡的早期诱导取决于颗粒酶 B, 即使穿孔素在这些效应细胞中具有完全的活性。延长孵育时间, 颗粒酶 B 缺陷的 CTLs 可诱导与正常水平几乎相同的 ^{125}I-IUdR 释放, 提示, 存在一种晚期的、颗粒酶 B 非依赖性的细胞凋亡诱导途径。

颗粒酶如何进入靶细胞而诱导细胞凋亡? 在上述简化模型中, 钙存在条件下穿孔素发生聚合, 在靶细胞膜上形成小孔, 然后颗粒酶通过这些小孔进入靶细胞的细胞浆中裂解相关的底物, 见图 1。最新研究显示, 此途径可能更为复杂[6], 靶细胞与纯化的自然颗粒酶 B 一起孵育时, 一些酶可通过穿孔素非依赖性途径进入靶细胞[7]。进入靶细胞后, 颗粒酶 B 似乎位于细胞浆隔室中, 在这里它显然对靶细胞无损害, 但是, 加入纯化的穿孔素后或接受到腺病毒的信号后, 颗粒酶 B 可以释放和转运到细胞浆和/或核内, 裂解底物。此"无孔"途径的相对重要性目前还很难评估, 因为颗粒酶一般通过 CTLs 递送到靶细胞, 通常是在活性穿孔素存在条件下递送的。颗粒酶 B"摄取"与颗粒酶 B 通过穿孔素通道进入靶细胞的相对重要性, 可能要通过确定颗粒酶 B 在穿孔素缺陷 CTLs 递送时是否可有效进入靶细胞来定, 此类研究也很难进行, 因为要从细胞株中获得大量绝对纯化穿孔素和各颗粒酶还困难重重。最近, 重组颗粒酶的生成和纯化成功[8,9]为体外研究提供了新的希望。

2.3　颗粒溶素(Granulysin)

颗粒溶素最早于 1987 年由斯坦福大学的 Alan Krensky 教授等发现, 原先称为 519, 是由人 CTL 和 NK 细胞释放的一种新型抗微生物蛋白, 与 NK 溶素和阿米巴孔(Amoebapores)同源, 为脂结合蛋白 saposin 样蛋白(SAPLIP)家族的成员之一, 此分子对许多革兰氏阳性和革兰氏阴性细菌和真菌等显示有效的杀伤活性, 可使其数目在体外减少几个数量级[10]; 与穿孔素、颗粒酶一样, 存在于溶细胞颗粒中, 在 T 细胞激活晚期诱导表达。颗粒溶素的广泛抗微生物作用与防卫素(Defensins)不同, 颗粒溶素是在抗原激活 $CD8^+$ CTLs 时分泌的, 因此是特异性免疫应答的武器, 而防卫素由多形核白细胞的胞浆颗粒非特异性释放而杀伤被吞噬的病原体。在两种 CD1 限制性、结核杆菌特异性和

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

一种MHC I类分子限制性、流感病毒肽特异性的$CD8^+$ CTLs中检测到颗粒溶素，但3种CD1限制性、结核杆菌特异性DN CTLs中未见颗粒溶素的表达。重组的颗粒溶素通过改变细胞膜完整性可直接杀伤细胞外结核杆菌，培养72 h内清除的结核杆菌达90%；但不能杀伤结核杆菌感染的靶细胞，与穿孔素合用，在溶解靶细胞的同时，可见细胞内结核杆菌生长抑制，提示在T细胞颗粒中的穿孔素或其它孔形成分子提供进入细胞内的通道后，颗粒溶素也可杀伤细胞内结核杆菌，此发现[11]第一次显示了分离的T细胞分子可直接杀灭微生物，显示CTL杀伤细胞内结核杆菌的能力依赖于细胞毒颗粒中颗粒溶素的作用。

由斯坦福大学教授Krensky、Dennis Hanson、肺结核专家UCLA皮肤病学教授Robert Modlin等11位研究人员组成的国际性科研小组对颗粒溶素的作用展开了较深入的研究，研究表明[12]，颗粒溶素可通过神经酰胺和半胱氨酸蛋白酶依赖和非依赖两种途径诱导靶细胞凋亡。当杀伤性T细胞发现靶细胞后，它将颗粒溶素射向敌人，一方面通过变形作用破坏对方的细胞膜，直接杀伤细胞外病原体。在电子显微镜下观察，可见被颗粒溶素攻击过的细胞表面布满了水疱样的“弹坑”。另一方面，在穿孔素帮助下，颗粒溶素可进入细胞内，将躲藏在那里以逃避免疫系统监视作用的病原体清除。

3 结语与展望

细胞内病原体，如结核杆菌，在与宿主长期共存与进化以来，形成了许多逃避免疫防御机制的办法，因此，依靠传统化疗和抗体治疗，已不足以控制和清除这些有害病原体，这就需要我们设计新型的能够引起有效特异性细胞免疫，特别是具有CTL杀伤活性的抗感染药物，以将这些躲藏在细胞内的病原体消灭干净。抗生素通常来自微生物产物，因此为其存活提供了比其它微生物更有利的环境，而颗粒溶素作为CTL细胞毒作用的关键武器和免疫系统的重要效应分子，是人溶细胞性T细胞的细胞毒颗粒中天然存在的蛋白，具有广谱抗菌作用，与颗粒形成蛋白穿孔素联合使用可直接杀伤细胞内细菌，可能成为一种理想的抗菌剂。

综上所述，CTL通过颗粒依赖机制清除细胞内病原体，颗粒胞吐途径在CTL抗肿瘤和抗细胞内感染中起主要作用，它通过释放的穿孔素的“架桥开道”作用，将细胞毒颗粒中的颗粒酶、颗粒溶素等效应分子递送到细胞内，从而发挥其溶细胞和杀伤细胞内病原体的作用。释放出来的病原体还可以被新激活和新迁移来的巨噬细胞捕获和杀灭，因此该途径不仅可能识别和杀伤靶细胞，而且可以通过多种效应分子的协同作用，直接杀伤细胞内病原体。CTL细胞毒作用及其免疫学机制，特别是颗粒溶素杀伤作用及相关分子机制的的阐明，必将对于靶向和特异性抗细胞内感染疾病的疫苗和佐剂的设计和研究工作起到积极的推动作用。

关键词：细胞毒T淋巴细胞；颗粒胞吐途径；穿孔素；颗粒酶；颗粒溶素

中图法分类号：R392.1 文献标识码：A

参考文献：

[1] Lewinsohn D M, Bement T T, Xu J, *et al*. Human purified protein derivative-specific $CD4^+$ T cells use both CD95-dependent and CD95-independent cytolytic mechanisms[J]. J Immunol, 1998, 160(5): 2 374—2 379.

[2] Shresta S, Goda P, Wesselschmidt R, *et al*. Residual cytotoxicity and granzyme K expression in granzyme A-deficient cytotoxic lymphocytes[J]. J Biol Chem, 1997, 272(32): 20 236—20 244.

[3] Kumar S. Tarleton R L. The relative contribution of antibody production and $CD8^+$ T cell function to immune control of *Trypanosoma cruzi*[J]. Parasite Immunol, 1998, 20(5): 207—216.

[4] Cooper A M, D' Souza C, Frank A A, *et al*. The course of *Mycobacterium tuberculosis* infection in the lungs of mice lacking expression of either perforin or granzyme-mediated cytolytic mechanisms[J]. Infect Immun, 1997, 65(4): 1 317—1 320.

[5] Graubert T A, DiPersio J F, Russell J H, *et al*. Perforin/granzyme-dependent and independent mechanisms are both important for the development of graft-versus-host disease after murine bone marrow transplantation[J]. J Clin Invest, 1997, 100(4): 904—911.

[6] Froelich C J, Dixit V M, Yang X. Lymphocyte granule-mediated apoptosis: matters of viral mimicry and deadly proteases[J]. Immunol Today, 1998, 19(1): 30—36.

[7] Shi L, Mai S, Israels S, *et al*. Granzyme B autonomously crosses the cell membrane and perforin initiates apoptosis and granzyme B nuclear localization[J]. J Exp Med, 1997, 185(5): 855—866.

[8] Pham C T, Thomas D A, Mercer J D, *et al*. Production of fully active recombinant murine granzyme B in yeast[J]. J Biol Chem, 1998, 273(3): 1 629—1 633.

[9] Xia Z, Kam C M, Huang C, *et al*. Expression and purification of enzymatically active recombinant granzyme B in a baculovirus system[J]. Biochem Biophys Res Commun, 1998, 243(2): 384—389.

[10] Krensky A M. Granulysin: a novel antimicrobial peptide of cytolytic T lymphocytes and natural killer cells[J]. Biochem Pharmacol, 2000, 59(4): 317—320.

[11] Stenger S, Hanson D A, Teitelbaum R, *et al*. An antimicrobial activity of cytolytic T cells mediated by granulysin[J]. Science, 1998, 282(5 386): 121—125.

[12] Gamen S, Hanson D A, Kaspar A, *et al*. Granulysin-induced apoptosis. I. Involvement of at least two distinct pathways[J]. J Immunol, 1998, 161(4): 1 758—1 764.

（编辑 汪勤俭）

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