

IL-2 和 IL-15 诱导的 CIK 细胞联合化疗治疗直肠和结肠癌的临床疗效

王若天¹⁾, 孟明耀²⁾, 李鹏²⁾, 李汝红²⁾, 赵维山¹⁾, 侯宗柳²⁾,

(1) 昆明医科大学附属延安医院普外科; 2) 中心实验室; 云南昆明 650051)

[摘要] **目的** 探讨 IL-2+IL-15 共同刺激 CIK (Cytokine induced killer cell) 过继性免疫治疗联合化疗对结直肠癌的疗效及安全性。 **方法** 选取在昆明市延安医院普外 1 科治疗的 110 例结直肠患者, 55 例 CIK 联合化疗组, 55 例单纯化疗组, 评价 2 组患者治疗后免疫功能、疗效、毒副反应和生活质量。 **结果** IL-2+IL-15 刺激的 CIK 细胞较单纯 IL-2 刺激细胞具有较强的细胞毒性和较快的增殖效率; CIK 联合化疗组治疗前后外周血 T 细胞亚群均有升高, 但差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 化疗组治疗后外周血中 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD16⁺CD56⁺、NKp46、NKG2D、CD11b、CD27 细胞比例较治疗前下降; 联合免疫治疗组与单纯化疗组治疗后 Kamofsky 评分总提高率分别为 87.3% 与 69.1%, 2 组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。 **结论** IL-2+IL-15 刺激 CIK 过继性免疫治疗联合化疗可以明显改善结直肠癌患者的免疫功能, 提高总体疗效, 减轻化疗不良反应, 延长无进展生存, 改善患者生活质量。

[关键词] IL-2; IL-15; CIK; 结直肠癌; 联合治疗; 化疗

[中图分类号] R735.37 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 2095-610X (2014) 11-0097-05

Effects of IL-2- and IL-15-induced CIK Cells Combined with Chemotherapy Treatment for Colorectal Cancer

WANG Ruo-tian¹⁾, MENG Ming-yao²⁾, LI Peng²⁾, LI Ru-hong²⁾, ZHAO Wei-shan¹⁾, HOU Zong-liu²⁾

(1) *First Dept. of General Surgery*; 2) *The Centre Laboratory, The Affiliated Yan'an Hospital of Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650051, China*)

[Abstract] **Objective** To evaluate the efficacy and safety of IL-2+IL-15 costimulated CIK adoptive immunotherapy combined with chemotherapy for colorectal cancer. **Methods** 110 colorectal cancer patients were selected from the department of general surgery in Yan'an Hospital. 55 cases were treated with CIK combined with chemotherapy, and the other 55 cases were treated with simple chemotherapy. The immune function, efficacy, toxicity and quality of life after treatment in each group were evaluated. **Results** The stronger cytotoxicity and rapid proliferation efficiency were found in IL-2+IL-15 stimulated CIK cells than simple IL-2 stimulated CIK cells. T cell subsets in peripheral blood increased in CIK combined with chemotherapy group before and after treatment, but there were no significant changes ($P > 0.05$). The ratios of CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD16⁺CD56⁺, NKp46, NKG2D, CD11b, CD27 cells in peripheral blood decreased after treatment in chemotherapy group. The kamofsky score was 87.3% and 69.3% in combined immune therapy group and simple chemotherapy group, respectively, and there was a significant difference between two groups ($P < 0.05$). **Conclusion** IL-2+IL-15 costimulated CIK adoptive immunotherapy combined with chemical therapy can significantly improve the immune function of patients with colorectal cancer, improve the overall efficacy, reduce the adverse reactions of chemotherapy, prolong progression-free survival, and improve patients' quality of life.

[Key words] IL-2; IL-15; CIK; Colorectal cancer; Combined therapy; Chemotherapy

[基金项目] 云南省科技厅-昆明医科大学联合专项基金资助项目 (2010CD211)

[作者简介] 王若天 (1979~), 男, 云南昆明市人, 在读硕士研究生, 主治医师, 主要从事结直肠癌的临床诊疗工作。孟明耀和王若天对本文有同等贡献。

[通讯作者] 侯宗柳. E-mail: hzl579@163.com

结直肠癌 (colorectal cancer, CRC) 是世界排名第 3 位的高发肿瘤, 在我国发病率由上世纪 70 年代初的第 6 位上升到目前的第 3 位, 占城市恶性肿瘤总发病人数的 17.11%^[1]。传统治疗方法主要有手术、化疗、放疗等, 手术是早期患者的首选治疗方法^[2]。化疗作为结直肠癌患者临床主要治疗手段之一, 虽对肿瘤细胞的生长起到有效的抑制作用, 但与此同时也降低了患者自身机体的免疫功能, 使其治疗效果受到一定的影响^[3]。过继免疫治疗法是治疗恶性肿瘤的一个重要辅助治疗方法, 它可以在不损伤机体免疫系统结构和功能的前提下, 直接杀伤肿瘤细胞, 并且调节和增强机体的免疫功能^[4]。而 CIK 细胞 (cytokine-induced killer, CIK) 兼有 T 淋巴细胞强大的抗瘤活性和 NK 细胞的非 MHC 限制性杀瘤优点。因此应用 CIK 细胞被认为是新一代抗肿瘤过继细胞免疫治疗的首选方案^[5]。相对于单独应用细胞因子 IL-2 诱导的 CIK 细胞, IL-2 和 IL-15 共同诱导的 CIK 细胞具有更强的细胞毒活性和更快的增殖效率^[6], 因此本研究应用 CIK 细胞过继性免疫治疗联合化疗治疗结直肠癌患者 110 例, 评价 CIK 免疫治疗联合化疗治疗患者的疗效及安全性。

1 资料与方法

1.1 主要试剂与设备

RPMI1640 购自美国 Gibco 公司。抗人 CD3 单克隆抗体 (OKT 3) 购自德国美天旎公司 (MACS GMP)。IL-2 购自江苏金丝利有限公司。IFN- γ 购自上海克隆生物高新技术有限公司。流式试剂 CD4FITC/CD8PE/CD3PerCP、CD3FITC/CD56PE/CD45PerCP 购自美国 BD 公司。胎牛血清购自 HyClone 公司。淋巴细胞分离液购自天津瑞灏生物制品科技有限责任公司。流式细胞仪为美国 BD Calibur FASCTM。二氧化碳孵箱为美国 Forma Series II Model 3111。

1.2 临床资料

患者为昆明市延安医院普外科从 2010 年 1 月至 2013 年 1 月收治的 110 例结直肠癌患者, 结肠癌 70 例, 直肠癌 40 例, 其中男性 66 例, 女性 44 例, 平均年龄 64 岁。采用随机分组方式, 55 例为 CIK 联合化疗组, 55 例为单纯化疗组 (表 1)。治疗前均向患者或家属告知病情、详细诊疗方案及有可能出现的不良反应, 签署知情同意书。入组标准: (1) 病理明确结直肠癌患者; (2) 患者心、肝、肾等脏器功能基本正常; (3) 预计生存期大

于 6 个月; (4) 术前未接受过放疗化疗; (5) PS 评分为 0~2。排除标准: (1) 脑转移; (2) 同时患有其他恶性肿瘤及传染性疾病; (3) 患者心、肝、肾等脏器功能存在严重异常; (4) 妊娠期或哺乳期妇女; (5) 患有自身免疫性疾病或过敏体质者。

表 1 110 例临床患者资料比较 [n (%)]

Tab. 1 Comparison of clinical data of 110 patients [n (%)]

类 型	单纯化疗组	CIK 联合化疗组
病例数	55	55
男	30(54.5)	36(65.5)
女	25(45.5)	19(34.5)
肿瘤类型		
结肠癌	39(70.9)	31(56.4)
直肠癌	16(29.1)	24(43.6)
PS 评分		
0-1	36(65.5)	20(36.4)
2	19(34.5)	35(63.6)

1.3 方法

1.3.1 CIK 细胞培养 淋巴细胞提取, 采用 Ficoll 离心分离, 将分离的细胞密度调至 $1 \times 10^6/L$ 。分别改良 RPMI1640 培养基 (RPMI1640、100 mL/L FBS、2 mmol/L 谷氨酰胺、100 $\mu g/L$ 青霉素、100 $\mu g/L$ 链霉素、HEPES 20 mmol/L、丙酮酸钠 8 mmol/L、 β -巯基乙醇 20 $\mu mol/L$ 、适量的核苷酸和脱氧核苷酸), 加入 IFN- γ 1 000 U/mL, 37 $^{\circ}C$ 、5% CO_2 , 培养 24 h 后, 再加入 OKT 350 ng/mL, IL-2 1 000 U/mL, IL-15 10 ng/mL, 37 $^{\circ}C$ 5% CO_2 条件下培养。

1.3.2 单纯化疗组 化疗方案: 奥沙利铂 85 mg/m², 静注输注 2 h, 第 1 天; LV 400 mg/m² 静注输注 2 h, 第 1 天; 5-FU 400 mg/m² 静注输注 2 h, 第 1 天, 然后 1 200 mg/(m²·d) \times 2 持续静脉输注 (总量 2 400 mg/m², 输注 46~48 h)。2 周重复。

1.3.3 CIK 联合化疗组 患者化疗前 3 d, 手工采血 80 mL 进行前面描述 CIK 细胞培养方案进行, 2 周左右开始收集 CIK 细胞, 生理盐水洗涤 3 次, 用生理盐水配成 100 mL 后静脉回输, 每天回输 1 次, 分 3 次输完, 每次回输细胞数在 $1 \times 10^9 \sim 3 \times 10^9$ 以上, 回输前均经细菌、真菌和支原体检测检验结果均为阴性。28 d 为 1 个周期, 5 个周期进行疗效评价。

1.4 疗效评价及观察指标

1.4.1 临床疗效评价 若有可评价病灶的患者的临床疗效评定, 按照卫生部 2003 年颁布的实体瘤客观疗效评定标准进行. 完全缓解 (CR): 瘤体完全消失持续至少 4 周以上; 部分缓解 (PR): 肿瘤最大直径减少 50% 以上, 持续至少 4 周; 病情稳定 (SD): 肿瘤增大或缩小均不超过 25%, 无新病灶; 病情进展 (PD): 肿瘤增长大于 25% 或出现新的病灶. 完全缓解 + 部分缓解为近期有效率 (RR), 完全缓解 + 部分缓解 + 病情稳定为疾病控制率 (DCR).

1.4.2 生活质量变化 记录患者症状及体征变化, 用 Karnofsky 计分法判断治疗前及治疗后的生活质量变化. 在治疗后 Kamofsky 评分较治疗前提高超过 10 分者为改善, 下降超过 10 分者为恶化, 提高或下降少于 10 分者为稳定. Kamofsky 评分总提高率为改善 + 稳定.

免疫学评价: 接受治疗后 2 周末, 评价患者治疗前后外周血中 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD4/CD8 比值、CD16⁺CD56⁺ 的变化.

不良事件: 依据美国国立癌症研究所制定的通用药物毒性反应标准^[7], 将各种不良事件分为 0 ~ IV 度, I 度 + II 度 + III 度 + IV 度为毒性反应发生率.

1.5 统计学方法

数据采用 SPSS 软件包处理, 所有正态分布数据用均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 两两比较采用 *t* 检验, 有效率的比较采用检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 IL-2 和 IL-15 联合培养 CIK 增殖情况

IL-15 + IL-2 诱导的 CIK 细胞在 7 d 增殖明显, 到 9 d 后明显增高, 对于 CIK 细胞增殖有促进作用, 见图 1.

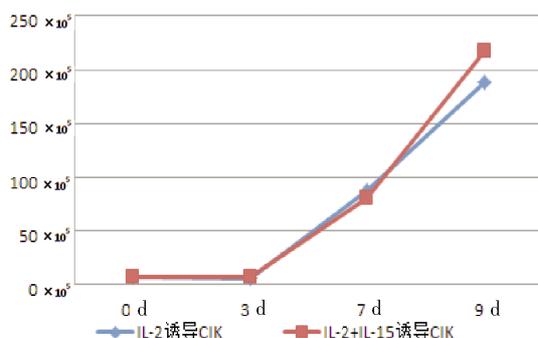


图 1 2 种不同刺激方式细胞增殖曲线

Fig. 1 Proliferation curves of two different stimulations

2.2 2 组患者治疗前后淋巴细胞免疫功能指标的动态变化

CIK 联合化疗组外周血患者的 T 细胞亚群在治疗后均高于治疗前, CD3 阳性百分率, CD4/CD8, NKp46⁺ 比值明显增高, 单纯化疗治疗后 CD11b 下降明显 ($P < 0.05$), 见表 2.

2.3 2 组患者生活质量变化情况

联合免疫治疗组中改善 38 例, 稳定 10 例, 恶化 7 例, 患者普遍在输注 CIK 细胞后精神状态好, 同时食欲增强、睡眠改善、增加体重, 体力增强. 所有的患者均为手术后实行 CIK 治疗, 其中 40 例治疗 3 疗程以上. 单纯化疗组中改善 26 例, 稳定 12 例, 恶化 17 例. 联合免疫治疗组与单纯化疗组治疗后 Kamofsky 评分总提高率分别为 87.3% 与 69.1%, 2 组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 3. 说明 CIK 联合化疗对改善患者生活质量有明显的效果.

2.4 临床疗效评价

110 例患者中随访时间为 3 ~ 15 个月, 最长随访时间为 31 月, 中期随访时间为 15 个月. 近期疗效评价中, CIK 联合免疫治疗组在近期有效率 (RR) 和疾病控制率 (DCR) 上与单纯化疗组相比较, $P > 0.05$ 无统计学意义, 见表 4.

2.5 不良事件

细胞回输后患者未观测到明显的不良反应, 出现 10 例一过性的发热反应, 体温在 37.5°C ~ 38.7°C 之间, 对症处理后缓解.

3 讨论

化疗 (Chemotherapy) 是结直肠癌临床治疗的传统方法之一, 临床使用的化疗药物大多为细胞毒类化合物, 主要以杀灭细胞为目标, 一方面, 具有选择性差和毒性强等缺点, 另一方面, 肿瘤细胞对药物耐受性也是影响化疗疗效的主要因素之一^[7,8]. 免疫治疗 (Immunotherapy) 作为新型的治疗手段, 具有长效和低毒等优点, 具体可分为细胞因子治疗、抗体治疗、肿瘤疫苗 (Vaccine) 治疗、过继性 T 细胞免疫治疗和以树突状细胞为基础的免疫治疗等, 目前免疫治疗越来越多地应用于肿瘤治疗中^[9]. 最新研究表明, 化疗和免疫治疗联合使用不仅有助于恢复机体免疫应激能力, 有效提高免疫治疗疗效, 还可以减少化学治疗的毒性反应, 克服耐药性发生^[9]. CIK 细胞为基础的过继性免疫治疗是目前肿瘤生物免疫治疗领域的热点, 其具有比传统的 LAK、TIL、CD3AK 细胞等

表 2 CIK 联合化疗组与单纯化疗组患者外周血 T 细胞亚群变化比较 ($\bar{x} \pm s$) (1)Tab. 2 Changes of T cell subsets in peripheral blood of chemotherapy plus CIK group and chemotherapy group ($\bar{x} \pm s$)

分 组	CD3 (%)	CD4 (%)	CD8 (%)	CD4/CD8	CD16CD56 (%)
CIK 联合化疗组					
治疗前	67.24 ± 5.14	55.12 ± 9.15	43.74 ± 12.35	2.07 ± 2.42	2.06 ± 2.41
治疗后	73.86 ± 8.13*	56.5 ± 8.59	44.0 ± 2.41	2.26 ± 2.41 ^{△△}	2.25 ± 2.41
单纯化疗组					
治疗前	63.2 ± 6.07	56.28 ± 10.28	44.2 ± 13.26	2.24 ± 1.97	3.81 ± 1.55
治疗后	7.51 ± 7.51	53.32 ± 7.51	41.66 ± 15.54	2.64 ± 2.41	4.5 ± 2.74

与 CIK 联合化疗组治疗前比较, * $P < 0.05$; 与单纯化疗组治疗后比较, $\Delta\Delta P < 0.05$.

表 2 CIK 联合化疗组与单纯化疗组患者外周血 T 细胞亚群变化比较 ($\bar{x} \pm s$) (2)Tab. 2 Comparison of patients' quality of life between chemotherapy plus CIK and chemotherapy alone groups ($\bar{x} \pm s$)

分 组	NKp46+	NKG2D	CD11b	CD27
CIK 联合化疗组				
治疗前	6.62 ± 3.37	34.7 ± 12.9	24.97 ± 5.95	35.43 ± 20.2
治疗后	9.41 ± 2.76*	44.4 ± 6.98	31.37 ± 7.03	49.4 ± 14.5
单纯化疗组				
治疗前	6.4 ± 3.21	36.23 ± 13.3	23.68 ± 6.34	32.41 ± 18.9
治疗后	6.88 ± 2.23	35.81 ± 7.54	21.3 ± 6.06 ^{△△}	30.45 ± 17.8

与 CIK 联合化疗组治疗前比较, * $P < 0.05$; 与单纯化疗组治疗后比较, $\Delta\Delta P < 0.05$.

表 3 CIK 联合化疗组与单纯化疗组患者生活质量变化比较 (n)Tab. 3 Comparison of therapeutic effect between chemotherapy plus CIK and chemotherapy alone groups (n)

分 组	改善	稳定	恶化	总提高率 (%)
CIK 联合化疗组	38	10	7	87.3*
单纯化疗组	26	12	17	69.1

与单纯化疗组比较, * $P < 0.05$.

表 4 CIK 联合免疫治疗组与单纯化疗组患者临床疗效评价比较 (n)Tab. 4 Comparison of therapeutic effect between chemotherapy plus CIK and chemotherapy alone groups (n)

分 组	n	CR	PR	SD	PD	RR (%)	DCR (%)
CIK 联合化疗组	55	5	31	10	9	65.5	83.6
单纯化疗组	55	3	25	11	16	50.9	70.9

更快的增殖速度及杀瘤活性, 具有杀瘤谱广、安全性高等优势^[11,12]. 目前认为 $\leq 1 \times 10^9$ 的 CIK 细胞进行临床治疗, 理论上不足以产生明显抗肿瘤疗效^[13]. IL-2 和 IL-15 具有共同的受体亚基和信号转导通路, IL-2 和 IL-15 具有许多类似功能, 两种细胞因子均可刺激 T 细胞增殖、诱导细胞毒性 T 细胞 (CTL) 产生, 促进 B 细胞增殖和免疫球蛋白合成, 诱导 NK 细胞生成及存活^[14-16]. NKp46 是 NK 细胞表面的 HLA-I 类分子非相关活化受体, 特异表达于 NK 细胞表面. 活化的 NK 细胞具有较

强的杀伤肿瘤细胞作用, 而 NKp46 受体是传递活化刺激所必需的, 而且 NKp46 是与杀伤关系最密切的受体. NKG2D 是 NKG2 家族的成员, 为 O 型 C-凝集素样受体, 在所有 NK 细胞、CD8+ T 细胞及绝大多数 NKT 细胞和 $\gamma \delta$ T 细胞上都有表达, 是一个重要的激活性受体^[17,18]. CD11b 是 $\beta 2$ 亚家族成员之一, 与细胞表面的各种配体相互作用, 介导细胞与细胞、细胞与基质之间的吞噬作用及细胞内外信号传递, 是一种重要的黏附分子. CD27 及其配体 CD70 属于肿瘤坏死因子-肿瘤坏死因子受

体超家族, 是一对共刺激分子, 近年来研究发现 CD27 在 T、B、NK 细胞的活化、增殖中成熟及其细胞毒性起重要作用^[9]。有利于机体抗原特异性 T 淋巴细胞的产生增强了抗瘤免疫应答, 提示 CIK 过继免疫治疗确实能有效改善该组患者 T 淋巴细胞免疫功能。在本研究中笔者采用 IL-2 和 IL-15 联合刺激的 CIK 细胞在 9 d 后增殖效率和数量均高于单独实用 IL-2 刺激的 CIK 细胞, 这为保证临床治疗疗效提供了足够数量的 CIK 细胞。

本研究中临床疗效主要表现在以下几个方面: 一从近期疗效评价中免疫联合化疗在确实提高了结肠癌患者的生活质量总提高率 (87.3%) 较单纯化疗组 (69.1%) 明显提高, 说明连同化疗免疫治疗一定程度上减轻病人的痛苦, 提高生活质量, 同时增强食欲、改善睡眠、增强体力, 增加体重。二是患者治疗前后 CD4⁺ 细胞百分率、CD4⁺/CD8⁺ 比值、NK/NKp46、NKG2D、CD11b、CD27 等细胞均升高, 证实 CIK 细胞提改善了患者体内的基础水平, 诱导患者产生特异性的抗肿瘤免疫反应, 大大提高了患者向身免疫力。

研究表面: 通过对 T 细胞免疫系统和肿瘤内细胞因子网络的调控, 达到比单独进行化疗或免疫治疗更好的治疗效果, 化疗与免疫治疗联合使用, 具有减少毒副作用, 抑制癌症复发和转移, 降低耐药性等优势。因此, 免疫治疗和化疗的联合为当前有效治疗肿瘤提供的一种新的思路和路径。

【参考文献】

- [1] 张思维, 雷正龙, 李光琳, 等. 中国肿瘤登记地区 2006 年肿瘤发病和死亡资料分析[J]. 中国肿瘤, 2010, 19(6):356-365.
- [2] 刘见荣, 侯风刚. 结肠癌治疗概况[J]. 辽宁中医药大学学报, 2014, 34(2):99-101.
- [3] 王志超, 黄延年. FOLFOX4 方案化疗对结肠癌患者免疫细胞数的影响[J]. 中国当代医药, 2010, 17(21): 33-34.
- [4] 李志虎, 张连生, 崔杰, 等. CIK 联合治疗肿瘤的研究方法及临床应用[J]. 甘肃医药, 2013, 32(4):264-268.
- [5] 孙波, 冯妍, 朱哲, 等. CIK 治疗对癌症患者免疫力影响研究[J]. 中国伤残医学, 2014, 22(6): 171-172.
- [6] WEI C, WANG W, PANG W, et al. The CIK cells stimulated with combination of IL-2 and IL-15 provide an improved cytotoxic capacity against human lung adenocarcinoma[J]. Tumour Biol, 2014, 35(3):1 997-2 007.
- [7] 皋文君, 刘砚燕, 袁长蓉. 国际肿瘤化疗药物不良反应评价系统——通用不良反应术语标准 4.0 版[J]. 肿瘤, 2012, 32(2): 142-144.
- [8] 顾红燕, 孙路路. 化学治疗与免疫治疗联姻: 临床肿瘤治疗新策略[J]. 药学服务与研究, 2009, 9(05): 344-347.
- [9] 刘洋, 曹雪涛. 肿瘤免疫治疗和化疗的协同效应及其作用机制 [J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2014, 21(1): 98-103.
- [10] HAHNEL P S, THALER S, ANTUNES E, et al. Targeting AKT Signaling Sensitizes Cancer to Cellular Immunotherapy[J]. Cancer Res, 2008, 68(10):3 899-3 906.
- [11] 张俊萍, 毛光华, 史天良, 等. DC-CIK 联合化疗治疗晚期非小细胞肺癌的临床疗效[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2011, 36(4): 424-429.
- [12] 周怡, 蒋敬庭. 细胞因子在 CIK 细胞抗肿瘤治疗中的作用[J]. 临床检验杂志, 2014, 32(02):115-117.
- [13] 刘军权, 朱云, 陈复兴, 等. 不同刺激因子对人 CIK 细胞功能影响[J]. 中国实验血液学杂志, 2013, 21(4): 1 021-1 026.
- [14] FEHNIGER T A, CALIGIURI M A. Interleukin 15: biology and relevance to human disease [J]. Blood, 2001, 97(1): 14-32.
- [15] WANG W, MENG M, ZHANG Y, et al. Global transcriptome-wide analysis of CIK cells identify distinct roles of IL-2 and IL-15 in acquisition of cytotoxic capacity against tumor[J]. BMC Med Genomics, 2014, 7:49.
- [16] 赵煜, 张涛, 谭勇. 白细胞介素 15 的研究进展[J]. 医学综述, 2013, 19(3):414-416.
- [17] MORANDI B, MORTARA L, CARREGA P, et al. NK cells provide helper signal for CD8⁺ T cells by inducing the expression of membrane-bound IL-15 on DCs [J]. Int. Immunol, 2009, 21(5):599-606.
- [18] QUEIROLO P, LAURENT S, BOITANO M, et al. Targeting ctla-4 directly on melanoma cells: A possible novel perspective in the immunotherapy of cutaneous melanoma[J]. ASCO Meeting Abstracts, 2009, 27(15S): e22 138.
- [19] HAYAKAWA Y, SMYTH M J. CD27 Dissects Mature NK Cells into Two Subsets with Distinct Responsiveness and Migratory Capacity [J]. J Immunol, 2006, 176 (3): 1 517-1 524.

(2014-08-23 收稿)