virus in delicatessen foods: application to a food-borne NLV outbreak[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2000, 66(1): 213 – 218.
[27] de Roda Husman AM, Lodder-Verschoor F, van den Berg HH, et al. Rapid virus detection procedure for molecular tracing of shellfish associated with disease outbreaks[J]. Journal of Food Protection, 2007, 70(4): 967 – 974.
[28] Baert L, Uyttendaele M, Debevere J. Evaluation of viral extraction methods on a broad range of ready-to-eat foods with conventional and real-time RT-PCR for Norovirus GII detection[J]. International Journal of Food Microbiology, 2008, 123(1 – 2): 101 – 108.
[29] Nenonen NP, Hannoun C, Olsson MB, et al. Molecular analysis of an oyster-related norovirus outbreak[J]. Journal of Clinical Virology, 2009, 45(2): 105 – 108.
[30] Jothikumar N, Lowther JA, Henshilwood K, et al. Rapid and sensitive detection of noroviruses by using TaqMan-based one-step reverse transcription-PCR assays and application to naturally contaminated shellfish samples[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2005, 71(4): 1870 – 1875.
[31] Li Y, Zhang C, Xing D, et al. Fast identification of foodborne pathogenic viruses using continuous-flow reverse transcription-PCR with fluorescence detection[J]. Microfluidics and Nanofluidics, 2010, 10(2): 367 – 380.
[32] Mohamed N, Belak S, Hedlund K, et al. Experience from the development of a diagnostic single tube real-time PCR for human caliciviruses, Norovirus genogroups I and II. [J]. Journal of Virological Methods, 2006, 132(1 – 2): 69 – 76.
[33] 王毅谦,石晶,吴福平,等. GⅠ和GⅡ型诺如病毒双重荧光RT-PCR法检测[J]. 中国公共卫生,2013,29(4):599 – 602.
[34] Sano T, Smith CL, Cantor CR. Immuno-PCR: very sensitive antigen detection by means of specific antibody-DNA conjugates[J]. Science, 1992, 258(5079): 120 – 122.
[35] Blaise-Boisseau S, Hennechart-Collette C, Guillier L, et al. Duplex real-time qRT-PCR for the detection of hepatitis A virus in water and raspberries using the MS2 bacteriophage as a process control [J]. Journal of Virological Methods, 2010, 166(1 – 2): 48 – 53.
[36] Koopmans M, Duizer E. Foodborne viruses: an emerging problem[J]. International Journal of Food Microbiology, 2004, 90(1): 23 – 41.

收稿日期: 2013-12-03　　(吴少慧编辑　郑新校对)

中国公共卫生 CPH

· 实验研究 ·

β-谷甾醇对 H_{22} 荷瘤小鼠体内抗肿瘤作用*

林明珠,赵岩,蔡恩博,祝洪艳,郜玉钢,何忠梅,杨鹤,刘双利,张连学

摘　要:目的　探讨 β-谷甾醇对 H_{22} 荷瘤小鼠体内抗肿瘤作用及其机制。**方法**　建立 H_{22} 荷瘤小鼠模型,将荷瘤小鼠随机分为模型组、环磷酰胺组、β-谷甾醇高、低剂量组,每组 10 只,连续给药 14 d,眼球取血后颈椎脱臼处死,称取 H_{22} 荷瘤小鼠的实体瘤重,计算抑瘤率、脾指数、胸腺指数,测定血清学指标,并进行肿瘤和脾脏组织病理学观察。**结果**　与模型组比较,环磷酰胺组、β-谷甾醇高、低剂量组小鼠瘤重减轻,差异均有统计学意义($P<0.05$),环磷酰胺组、β-谷甾醇高、低剂量组小鼠抑瘤率分别为 56.1%、53.0%、41.4%;与对照组比较,模型组小鼠血清中白细胞介素-6(IL-6)、血管内皮生长因子(VEGF)水平[分别为(1 112.47 ± 76.15)、(512.75 ± 22.55)pg/mL]明显升高($P<0.05$);与模型组比较,高剂量 β-谷甾醇组小鼠血清中 IL-6、VEGF 水平[分别为(341.31 ± 31.19)、(356.92 ± 19.45)pg/mL]明显下降,而 IFN-γ 水平[(122.92 ± 13.66)pg/mL]明显升高($P<0.05$);与模型组比较,β-谷甾醇组小鼠肿瘤组织细胞出现一定的坏死区域,肿瘤组织细胞凋亡明显。**结论**　β-谷甾醇对 H_{22} 荷瘤小鼠具有一定的抑瘤作用,其机制可能与其对 IL-6、IFN-γ 和 VEGF 表达的调节有关。

关键词: β-谷甾醇;H_{22} 荷瘤小鼠;体内;抗肿瘤
中图分类号: R 114　**文献标志码:** A　**文章编号:** 1001-0580(2017)12-1797-04　DOI: 10.11847/zgggws2017-33-12-31

Anti-tumor effect of β-sitosterol in H_{22} tumor-bearing mice

LIN Ming-zhu, ZHAO Yan, CAI En-bo, et al (*College of Chinese Herbal Medicines, Jilin Agriculture University, Changchun, Jilin Province* 130118, China)

Abstract: Objective　To study antitumor effect of β-sitosterol and its mechanism in H_{22} tumor-bearing mice. **Methods**　The tumor-bearing ICR mouse model was established with intraperitoneal injection of H_{22} cell suspension and the 10 mice with intraperitoneal injection of normal saline were used as the controls. Then the model mice were randomly divided into a model group, a cyclophosphamide (30 mg/kg) group, and low- and high-dose β-sitosterol (10 and 50 mg/kg) groups (10 mice in each group). All the treatments were administered through intraperitoneal injection once a day continuously for 14 days. At the end of the treatments, the weight of tumor tissues from the tumor-bearing mice was determined and the tumor inhibition rate, the spleen index and the thymus index of the mice were calculated; in addition, serological parameters were measured and the histopathological changes in organs of the mice were observed. **Results**

* **基金项目:** 国家公益性行业科研专项(201303111);吉林省科技发展计划项目(20140204013YY;20150307012YY)
作者单位: 吉林农业大学中药材学院,吉林 长春 130118
作者简介: 林明珠(1993 –),女,河南焦作人,硕士在读,研究方向:天然药物化学成分与生物活性。
通讯作者: 赵岩,E-mail: zhyjlu79@163.com;郜玉钢,E-mail: gaoyugang_2006@163.com
数字出版日期: 2017 – 5 – 9 15:02
数字出版网址: http://kns.cnki.net/kcms/detail/21.1234.R.20170509.1502.004.html

Compared with that of the model group, the weight of tumor tissues was significantly lower in the mice of cyclophosphamide and low- and high-dose β-sitosterol group ($P<0.05$ for all); the tumor inhibition rates were 56.1% in the mice of cyclophosphamide group and 53.0% and 41.4% in the mice of low- and high-dose β-sitosterol group. The serum levels of interleukin-6 (IL-6, 1112.47 ± 76.15 pg/mL) and vascular endothelial growth factor (VEGF, 512.75 ± 22.55 pg/mL) of the model group were significantly increased compared with those of the controls (both $P<0.05$). Compared with that of the model group, the serum levels of IL-6 (341.31 ± 31.19 pg/mL) and VEGF (356.92 ± 19.45 pg/mL) of the high-dose of β-sitosterol group were significantly decreased, while the level of interferon-γ (IFN-γ, 122.92 ± 13.66 pg/mL) was significantly increased ($P<0.05$). Necrosis of tumor tissues and obviously more apoptosis of tumor cells compared to that of the model group were observed in the mice of the β-sitosterol groups. **Conclusion** β-sitosterol exhibits a certain antitumor effect in H_{22} tumor-bearing mice and the mechanism may be related to the regulation of IL-6, IFN-γ and VEGF expression by β-sitosterol.

Key words: β-sitosterol; H_{22} tumor-bearing mice; in vivo; antitumor effect

β－谷甾醇是甾醇类成分之一，广泛存在于各种植物油、坚果及植物种子中，具有许多重要的生理功能[1]。研究表明，β－谷甾醇具有多种药理作用，如降血脂、抗炎、细胞毒作用[2]。在抗肿瘤研究方面，以往的研究主要集中在β－谷甾醇对乳腺癌、结肠癌、前列腺癌等细胞株的细胞毒作用方面[3]，但对体内移植肝癌的抗肿瘤作用研究较少。本研究以H_{22}荷瘤小鼠为动物模型，探讨β－谷甾醇体内抗肿瘤作用及机制。结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 主要试剂与仪器 β－谷甾醇（上海晶纯生化科技股份有限公司）；H_{22}肝癌细胞株（中国科学院上海细胞所）；注射用环磷酰胺（上海活乐生物科技有限公司）；小鼠γ－干扰素（interferon-γ, IFN-γ）、白细胞介素－6（interleukin-6, IL-6）、血管内皮生长因子（vascular endothelial growth factor, VEGF）酶联免疫（ELISA）试剂盒（美国 R & D 公司）。电子分析天平（常熟市百灵天平仪器有限公司），酶标仪（美国 Bio－Tek 公司）。

1.2 实验动物 4～6 周龄 SPF（specific pathogen free）级雄性 ICR 小鼠 50 只，体重18～22 g，购于长春市亿斯实验动物技术有限责任公司，许可证号码：SCXK（吉）2011－0004，饲养环境温度为 18～22 ℃，湿度 50%～60%，饲喂普通小鼠饲料。

1.3 动物模型建立与分组处理 常规方法复苏H_{22}小鼠肝癌细胞，取 0.2 mL 细胞悬液注射到小鼠腹腔内，5～7 d 后，在无菌条件下从小鼠腹腔中抽取乳白色腹水，并按一定比例稀释后，连续传 2 代；随机取 40 只小鼠于右上肢腋部皮下处接种腹水瘤细胞悬液 0.2 mL。接种 24 h 后，将小鼠随机分成 4 组，每组 10 只，分别为模型组、环磷酰胺组（腹腔注射 30 mg/kg）、β－谷甾醇高、低剂量组（腹腔注射 50、10 mg/kg），连续给药 14 d，每天观察肿瘤的形成及生长情况；未接种肿瘤的小鼠10只作为对照组，腹腔注射生理盐水。

1.4 指标与方法

1.4.1 抑瘤率检测 末次给药后禁食 24 h，称体重，摘眼球取血，颈椎脱臼处死，剥离瘤块并称重，计算抑瘤率。抑瘤率＝（对照组平均瘤重－给药组平均瘤重）/对照组平均瘤重×100%

1.4.2 脏器指数测定 将小鼠解剖，称取脾脏及胸腺质量，分别计算小鼠的脏器指数，脾脏、胸腺指数（mg/g）＝脾脏、胸腺质量（mg）/体重（g）。

1.4.3 血清指标测定 取全血，在 37 ℃静置片刻，离心，取血清，采用 ELISA 法测定 IL-6、IFN-γ 和 VEGF 含量，具体操作步骤按试剂盒说明书进行。

1.4.4 组织病理学观察 H_{22}荷瘤小鼠皮下移植瘤组织与脾脏组织经 10% 甲醛溶液固定 24 h，常规脱水、包埋、切片（5 μm）、脱蜡处理后，进行苏木素－伊红（hematoxylin-eosin, HE）染色，于光学显微镜下（×400）进行病理形态学观察。

1.5 统计分析 数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示，采用 SPSS 17.0 软件进行统计分析，组间比较采用 t 检验，$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 β－谷甾醇对荷瘤小鼠抑瘤作用 模型组、环磷酰胺组、β－谷甾醇低、高剂量组小鼠瘤重分别为（1.80 ± 0.09）、（0.79 ± 0.14）、（1.05 ± 0.08）、（0.85 ± 0.05）g；与模型组比较，环磷酰胺组和β－谷甾醇高、低剂量组小鼠瘤重明显减轻（$P<0.01$）；环磷酰胺组、β－谷甾醇低、高剂量组小鼠抑瘤率分别为 56.1%、41.4%、53.0%。

2.2 β－谷甾醇对荷瘤小鼠脏器指数影响（表 1）各组小鼠体重无明显差异。与模型组比较，环磷酰胺组小鼠脾脏重量减小，脾指数明显降低；β－谷甾醇高、低剂量组小鼠脾指数明显高于模型组；与模型组比较，环磷酰胺组、高剂量 β－谷甾醇组小鼠胸腺指数均明显升高（$P<0.01$）。

表 1　β－谷甾醇对 H_{22} 荷瘤小鼠免疫器官影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别(mg/kg)	体重(g)	胸腺指数(mg/g)	脾指数(mg/g)
对照组	30.34 ± 1.86	1.55 ± 0.46	4.34 ± 0.25
模型组	28.04 ± 1.34	1.92 ± 0.37[a]	4.97 ± 0.92[a]
环磷酰胺组	29.46 ± 1.84	2.32 ± 0.33[c]	4.08 ± 0.36[b]
β－谷甾醇组 10	27.63 ± 0.89	1.97 ± 0.49	6.15 ± 0.97[c]
50	27.10 ± 1.40	2.84 ± 0.65[c]	6.61 ± 1.50[c]

注：与对照组比较，a $P < 0.05$；与模型组比较，b $P < 0.05$，c $P < 0.01$。

表 2　β－谷甾醇对 H_{22} 荷瘤小鼠血清学指标影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

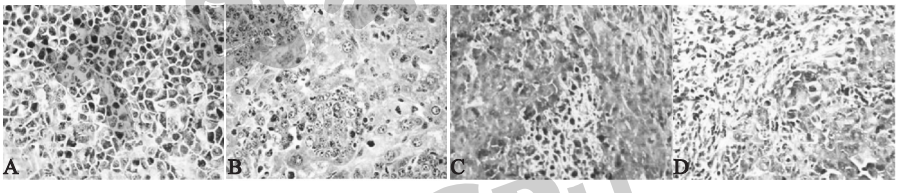
组别(mg/kg)	IL－6(pg/mL)	IFN－γ(pg/mL)	VEGF(pg/mL)
对照组	381.49 ± 23.90	14.76 ± 8.61	232.69 ± 23.90
模型组	1 112.47 ± 76.15[a]	18.44 ± 9.82	512.75 ± 22.55[a]
环磷酰胺组	1 038.32 ± 166.13	10.23 ± 3.50[b]	367.01 ± 69.5[c]
β－谷甾醇组 10	1 169.45 ± 92.55	82.37 ± 9.59[c]	350.88 ± 11.75[c]
50	341.31 ± 31.19[c]	122.92 ± 13.66[c]	356.92 ± 19.45[c]

注：与对照组比较，a $P < 0.05$；与模型组比较，b $P < 0.05$，c $P < 0.01$。

2.3　β－谷甾醇对荷瘤小鼠血清学指标影响(表 2)　与对照组比较，模型组小鼠血清中 IL-6、VEGF 水平明显升高；与模型组比较，高剂量 β－谷甾醇组小鼠血清中 IL-6 水平明显降低，高、低剂量β－谷甾醇组小鼠血清中 IFN-γ 水平明显升高，环磷酰胺组、高、低剂量 β－谷甾醇组小鼠血清中 VEGF 水平明显降低，差异均有统计学意义($P < 0.01$)。

2.4　β－谷甾醇对荷瘤小鼠组织结构影响

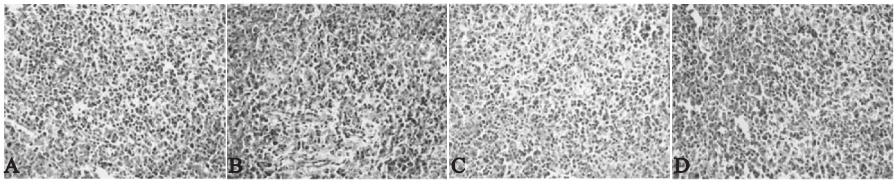
2.4.1　β－谷甾醇对荷瘤小鼠肿瘤组织结构影响(图 1)　模型组小鼠肿瘤组织内部细胞排列整齐，生长旺盛，细胞核清晰可见(图 1A)；环磷酰胺组小鼠肿瘤组织中可见大面积的坏死区域，肿瘤组织疏松，且细胞排列不规则(图 1B)；β－谷甾醇组小鼠肿瘤组织细胞也呈现一定的坏死区域，肿瘤组织细胞凋亡明显(图 1C、D)。



注：A：模型组；B：环磷酰胺组；C、D：低、高剂量 β－谷甾醇组。

图 1　β－谷甾醇对荷瘤小鼠肿瘤组织结构影响(HE，×400)

2.4.2　β－谷甾醇对荷瘤小鼠脾脏组织结构影响(图 2)　对照组小鼠脾脏白髓(深染)和红髓(浅染)区域明显，边界分明，边缘区清晰(图 2A)；模型组小鼠脾脏组织质地疏松，白髓比例明显增大，未见明显的边缘区(图 2B)；环磷酰胺组小鼠脾脏组织白髓与红髓有可见边缘区，白髓比例增加不明显(图 2C)；β－谷甾醇高剂量组小鼠脾脏白髓与红髓界限明显，边缘清晰可见(图 2D)。



注：A：对照组；B：模型组；C：环磷酰胺组；D：高剂量 β－谷甾醇组。

图 2　β－谷甾醇对荷瘤小鼠脾脏组织结构影响(HE，×400)

3　讨　论

研究表明，β－谷甾醇在肿瘤的预防与治疗中均有重要作用，能够抑制肿瘤细胞的增殖与发生，抑制肿瘤细胞的分化与增生，同时能够诱发肿瘤细胞凋亡[4－5]。本研究结果表明，β－谷甾醇能够明显抑制肝癌 H_{22} 移植肿瘤的生长，抑瘤率可达 53%(β－谷甾醇 50 mg/kg 组)，与广谱抗癌药环磷酰胺[6](阳性对照组)接近。胸腺的主要功能是产生 T 淋巴细胞和分泌胸腺素，主要参与细胞免疫[7]；脾脏中有丰富的淋巴细胞和巨噬细胞参与肿瘤免疫，如 T 细胞、B 细胞、K 细胞、巨噬单核细胞、自然杀伤细胞、杀伤细胞、淋巴因子活化杀伤细胞(lymphokine-activated killer，LAK 细胞)、树突状细胞[8－9]，而 B 淋巴细胞比例较大，主要与体液免疫关系密切[10]，故脏器指数可在一定程度上反映机体免疫功能的强弱[11]。本研究结果显示，与对照组比较，β－谷甾醇50 mg/kg 组荷瘤小鼠的胸腺指数和脾指数明显增加。提示 β－谷甾醇对小鼠细胞免疫和体液免疫均有增强作用。这与作为免疫抑制剂的环磷酰胺不同[12－13]，环磷酰胺组荷瘤小鼠脾指数明显低于模型组，抑制了体液免疫[14]。

IFN-γ 是一种具有抗病毒、抗肿瘤和免疫调节作用的细胞因子，主要由活化的 T 细胞和自然杀伤

细胞(natural killer cell, NK)产生;IFN-γ 可通过延长细胞周期以延缓肿瘤细胞的生长和繁殖,通过抑制癌基因的表达阻止或减慢肿瘤细胞的转化过程,激活巨噬细胞、NK 细胞等直接杀伤癌细胞或间接抑制癌基因;还可通过诱导肿瘤坏死因子、促进癌细胞肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)受体、主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex Ⅱ, MHC Ⅱ)类抗原表达,使其易被杀伤性 T 淋巴细胞识别而被杀伤[15]。IFN-γ 高表达可一定程度下调 VEGF,从而间接影响肿瘤新生血管的形成[16]。IL-6 是一种由多种细胞产生的多功能细胞因子,在免疫应答、急性期反应、造血调节中起重要作用,尤其是与肿瘤的发生发展、预后及治疗密切相关[17]。研究表明,降低 IL-6 及其受体的异常表达或干扰、阻断 IL-6 信号传导途径可抑制肿瘤的发生和发展[18-19]。本研究结果显示,与模型组比较,β-谷甾醇组荷瘤小鼠血清中 IFN-γ 水平升高,IL-6 表达水平下降。提示 β-谷甾醇对小鼠 H_{22} 肝癌移植瘤的抑制作用可能与其促进 IFN-γ 表达、抑制 IL-6 表达有关。

研究表明,几乎所有的肿瘤组织均能产生 VEGF,在肿瘤患者血清及瘤体内均能检测到异常升高的 VEGF, VEGF 通过旁分泌途径刺激肿瘤血管内皮增生、迁移,诱导血管形成,促进肿瘤生长[20-21]。VEGF 通过刺激血管新生促进肿瘤细胞的生长和转移,是肿瘤血管生成过程中的重要调节因子[22]。VEGF 的肿瘤免疫抑制作用包括影响树突状细胞(DC)的分化与成熟、阻碍 DC 的抗原递呈功能、影响细胞毒性 T 细胞的免疫杀伤功能、促进肿瘤组织新生血管的形成和抑制肿瘤细胞凋亡[23]。本研究结果显示,与模型组比较,高、低剂量 β-谷甾醇组荷瘤小鼠血清中 VEGF 水平均明显降低。提示,VEGF 可能是 β-谷甾醇抗肿瘤的作用靶点。

参考文献

[1] 张忠泉,邢煜君,胡国强,等. β-谷甾醇诱导人肝癌 HepG2 细胞凋亡机制研究[J]. 中国中药杂志,2011,36(15):2145-2148.

[2] 袁金伟,王帆,买文鹏,等. β-谷甾醇的结构修饰研究进展[J]. 河南工业大学学报:自然科学版,2015,36(2):107-112.

[3] 肖志彬,贾韩学,刘小雷. β-谷甾醇药理活性的研究现状[J]. 世界最新医学信息文摘,2015,15(8):66-68.

[4] 程静,刘军权,陈复兴,等. β-谷甾醇对人自然杀伤细胞杀伤胰腺癌 SW-1990 细胞的影响[J]. 检验医学与临床,2012,9(24):3078-3082

[5] 汤钊猷. 现代肿瘤学[M]. 上海:复旦大学出版社,2011:278-279.

[6] 郭玮,罗琼,刘帅,等. 麦角甾醇对 S180 荷瘤小鼠抑瘤作用及机制[J]. 中国公共卫生,2015,31(12):1606-1608.

[7] Zhu QW, Chen JH, Li Q, et al. Antitumor activity of polysaccharide from *Laminaria japonica* on mice bearing H_{22} liver cancer[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2016, 92: 156-158.

[8] 姜从桥. 如何看待脾脏的抗肿瘤功能[J]. 中华普通外科学文献:电子版,2008,2(6):444-445.

[9] Chadburn A. The spleen: anatomy and anatomical function[J]. Semin Hematol, 2000, 37(Suppl 1): 13-21.

[10] Choi JN, Choi YH, Lee JM, et al. Anti-inflammatory effects of β-sitosterol-β-D-glucoside from *Trachelospermum jasminoides* (*Apocynaceae*) in lipopolysaccharid e-stimulated RAW 264. 7 murine macrophages[J]. Natural Product Research, 2012, 26(24): 2340-2343.

[11] 黄挺章,李远辉,郭圣奇,等. 薏苡茎醇提取物对荷 H_{22} 小鼠体内抗肿瘤作用[J]. 天津医药,2015,43(11):1278-1281.

[12] Yan D, Bao HY, Bau T, et al. Antitumor components from *Naematoloma fasciculare*[J]. Microbiol Biotechnol, 2009, 19(10): 1135-1138.

[13] Liz R, Zanatta L, dos Reis GO, et al. Acute effect of β-sitosterol on calcium uptake mediates anti-inflammatory effect in murine activated neutrophils[J]. Journal of Pharmacy and Pharmacology, 2013, 65(1): 115-122.

[14] 王梓. 热裂解人参皂苷的分析、制备工艺及抗肿瘤活性研究[D]. 长春:吉林农业大学博士学位论文,2015.

[15] 杨生海,殷宏,刘永生,等. 干扰素-γ 研究进展[J]. 生物技术通报,2010,(8):29-34.

[16] Folkman J. Anti-angiogenesis: new concept for therapy of therapy of solid tumors[J]. Ann Surg, 1972, 175(3): 409-416.

[17] Hsu CP, Chung YC. Influence of interleukin-6 on the invasiveness of human colorectal carcinoma[J]. Anticancer Res, 2006, 26(6B): 4607-4614.

[18] Yuan H, Liddle FJ, Mahajan S, et al. IL-6-induced survival of colorectal carcinoma cells is inhibited by butyrate through down-regulation of the IL-6 receptor[J]. Carcinogenesis, 2004, 25(11): 2247-2255.

[19] Feng J, Yang Z, Li Y, et al. The rational designed antagonist derived from the complex structure of interleukin-6 and its receptor affectively blocking interleukin-6 might be a promising treatment in multiple myeloma[J]. Biochimie, 2006, 88(9): 1265-1273.

[20] Choudhari SR, Khan MA, Harris G, et al. Deactivation of Akt and STAT3 signaling promotes apoptosis, inhibits proliferation, and enhances the sensitivity of hepatocellular carcinoma cells to an anticancer agent, Atiprimod[J]. Mol Cancer Ther, 2007, 6(1): 112-121.

[21] Folkman J. Seminars in medicine of the Beth Israel Hospital, Boston: clinical applications of research on angiogenesis[J]. N Engl J Med, 1995, 333(26): 1757-1763.

[22] 韩螟,许而艳,李恩民. 恶性肿瘤中 MMP-9 表达调控机制研究进展[J]. 国外医学:分子生物学分册,2003,25(1):24-26.

[23] 崔澄,胡建军,杨彦忠. VEGF 在肿瘤免疫抑制中的作用及其临床应用前景[J]. 白求恩军医学院学报,2005,3(1):44-47.

收稿日期: 2017-01-24　　(解学魁编辑　郑新校对)