

· 基础研究 ·

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2010.06.009

IL-27 促进人胰腺癌 Aspc1 细胞凋亡

刘丽华¹, 郝国贞², 张 聰¹, 艾 军¹, 邵丽丽¹, 单保恩¹(1. 河北医科大学第四医院 科研中心暨河北省肿瘤研究所, 河北 石家庄 050011; 2. 河北医科大学第二医院 内科, 河北 石家庄 050000)

[摘要] 目的: 探讨 IL-27 基因对人胰腺癌 Aspc1 细胞凋亡的影响及其体内抗肿瘤作用。方法: 重组载体 PA317/IL-27 转染 Aspc1 细胞, G418 筛选稳定转染 IL-27 基因的 Aspc1 细胞(Aspc1/IL-27)。ELISA、细胞计数法和流式细胞术分别检测 IL-27 对 Aspc1 细胞 IL-27 表达、细胞增殖和 MHC-I 类分子表达的影响。将 Aspc1/IL-27、Aspc1/LXSN(稳定转染空质粒的 Aspc1 细胞)和 Aspc1 细胞接种于裸鼠右背部皮下, 观察 Aspc1 细胞移植瘤的生长情况和小鼠的生存期; TUNEL 法检测移植瘤细胞的凋亡, 电镜观察移植瘤细胞的超微结构变化。结果: 成功建立稳定转染 PA317/IL-27 载体的 Aspc1/IL-27 细胞株。Aspc1/IL-27 细胞高表达 IL-27, 而 Aspc1/LXSN 和 Aspc1 细胞不表达 IL-27($P < 0.01$)。PA317/IL-27 载体转染不影响 Aspc1 细胞表面 MHC-I 类分子的表达($P > 0.05$)。Aspc1/IL-27 组裸鼠移植瘤生长速度明显慢于 Aspc1/LXSN 组及 Aspc1 组($P < 0.05$), 且生存期延长($P < 0.05$)。Aspc1/IL-27 组移植瘤细胞凋亡率明显高于 Aspc1/LXSN 和 Aspc1 组[(19.5 ± 2.4)% vs (8.5 ± 0.3)%、(9.1 ± 0.8)%, $P < 0.01$]。结论: IL-27 基因转染胰腺癌 Aspc1 细胞后通过诱导肿瘤细胞凋亡发挥抗肿瘤作用。

[关键词] IL-27 基因; 胰腺肿瘤; Aspc1 细胞; 凋亡; 增殖

[中图分类号] R735.9; R730.54

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2010)06-0634-05

IL-27 promotes apoptosis of human pancreatic carcinoma Aspc1 cells

LIU Li-hua¹, HAO Guo-zhen², ZHANG Cong¹, AI Jun¹, SHAO Li-li¹, SHAN Bao-en¹(1. Research Center, Fourth Hospital of Hebei Medical University & Hebei Cancer Institute, Shijiazhuang 050011, Hebei, China; 2. Department of Internal Medicine, Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, Hebei, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect IL-27 on apoptosis of human pancreatic carcinoma Aspc1 cells and its *in vivo* anti-tumor activity. **Methods:** PA317/IL-27 retrovirus vector was transfected into Aspc1 cells and the stable clones (Aspc1/IL-27) were obtained by selecting with G418. The effects of IL-27 on production of IL-27, proliferation, and MHC-I expression of Aspc1 cells were determined by ELISA, cell counting and flow cytometry, respectively. Aspc1/IL-27, Aspc1/LXSN (Aspc1 cells stably transfected with empty vector) and Aspc1 cells were subcutaneously injected into nude mice, and the growth of transplanted tumors and survival time of mice were observed. Apoptosis and ultrastructure of the implanted-tumor cells were examined by TUNEL and electron microscope respectively. **Results:** Aspc1 cells stably transfected with PA317/IL-27 (Aspc1/IL-27) were successfully prepared. Aspc1/IL-27 cells secreted high levels of IL-27, while Aspc1/LXSN and Aspc1 cells did not secreted IL-27 ($P < 0.01$). Aspc1/IL-27 transfection did not affect the expression of MHC-I on Aspc1 cells ($P > 0.05$). The growth of implanted-tumors was significantly slower and the survival time was longer in Aspc1/IL-27 group than those in Aspc1/LXSN and Aspc1 groups ($P < 0.05$). Apoptosis rate of implanted-tumor cells in Aspc1/IL-27 cells was significantly higher than those in Aspc1/LXSN and Aspc1 groups [(19.5 ± 2.4)%, (8.5 ± 0.3)%, (9.1 ± 0.8)%, $P < 0.01$]. **Conclusion:** IL-27 gene transfection exerts *in vivo* anti-tumor activity by inducing apoptosis of human pancreatic carcinoma cells.

[Key words] IL-27 gene; pancreatic neoplasms; Aspc1 cell; apoptosis; proliferation

[Chin J Cancer Biother, 2010, 17(6): 634-638]

[基金项目] 河北省科技厅科研基金资助项目(No. 10276105D-98); 河北省卫生厅科研基金资助项目(No. 20100413)。Project supported by the Scientific Research Foundation of Science and Technology Bureau of Hebei Province (No. 10276105D-98), and the Scientific Research Foundation of Health Bureau of Hebei Province (No. 20100413)

[作者简介] 刘丽华(1972-), 女, 河北省承德市人, 博士, 副教授, 主要从事肿瘤免疫学研究。E-mail: lihualiu567@hotmail.com

[通信作者] 单保恩(SHAN Bao-en, corresponding author), E-mail: shan.hbyd@yahoo.com.cn

胰腺癌是一种常见的消化系统恶性肿瘤,恶性程度高、进展快,受胰腺解剖学和生物学特征等的影响,胰腺癌容易侵犯周围组织器官,发生远处转移。早期胰腺癌无明显的特异性症状和体征,缺乏简单、可靠的早期诊断方法,确诊时多属晚期,预后极差^[1-2]。近年来,生物治疗已成为肿瘤治疗的一种新模式,其中免疫基因治疗通过将免疫分子基因导入肿瘤细胞或免疫效应细胞,促进肿瘤细胞的凋亡或增强机体免疫功能,加速肿瘤的消退。

白细胞介素 27(IL-27)是 2002 年 Pflanz 等^[3]报道的一种 IL-6/IL-12 家族细胞因子。IL-27 主要来源于活化的单核巨噬细胞和 DC,可作用于免疫系统多种细胞,发挥广泛的免疫调节作用^[4]。IL-27 具有促进 Th1 型反应和减轻炎症的双重作用,既可以在细胞免疫的早期阶段,使初始 CD4⁺T 细胞向 Th1 细胞分化;也可以在 Th1 细胞高度活化时,限制 Th1 型免疫应答的强度^[5-7]。IL-27 还能够通过活化 NK 细胞,促进炎症性细胞因子的分泌,增强 CTL 杀伤活性和抑制肿瘤血管生成,产生抗肿瘤作用^[8-11]。因而,IL-27 作为肿瘤基因治疗的候选基因越来越受到关注。本研究将 IL-27 基因转染人胰腺癌 Aspc1 细胞,建立裸鼠荷瘤模型,探讨 IL-27 的抗肿瘤作用及其机制。

1 材料与方法

1.1 主要试剂

人胰腺癌细胞株 Aspc1 和空载体转染的 PA317 包装细胞(PA317/LXSN)由本室保存,携带重组 IL-27 逆转录病毒载体的 PA317 包装细胞(PA317/IL-27)由日本千叶县癌中心病理研究部田川雅敏先生惠赠。4~5 周龄免疫缺陷雌性 BALB/c 裸鼠(体重 12~14 g)购自中科院北京实验动物中心(合格证号:Scxk 京-2006-0013)。Polybrene 为 Sigma 公司产品,人 MHC-I 类分子抗体购自 BD Biosciences 公司,DMEM、RPMI 1640 培养基购自 Gibco 公司。TUNEL 检测试剂盒购自 Promega 公司,IL-27 ELISA 试剂盒购自 Biologend 公司。酶标检测仪 Biocell 2010 购自奥地利 Anthos Labtec Instruments 公司。

1.2 重组 IL-27 逆转录病毒载体转染人胰腺癌 Aspc1 细胞

重组 IL-27 逆转录病毒载体转染 Aspc1 细胞,方法参照参考文献[12]。将 2×10^5 Aspc1 细胞接种于 6 cm 培养皿中,37℃ 培养 24 h,分别加入重组逆转录病毒载体(PA317/IL-27)上清和转染试剂 polybrene(8 mg/ml),转染 5 h 后加入新鲜的培养

基,将 polybrene 稀释至 2 mg/ml,继续培养 24 h。更换含 G418(终质量浓度为 800 μg/ml)的培养基,经 14 d 筛选后,得到 G418 抗性的 Aspc1 细胞(Aspc1/IL-27 细胞)。用钢柱吸出单个细胞转移入 96 孔板进行单克隆培养,长满后移出扩大培养。同法制备空载体(PA317/LXSN)转染的 Aspc1 阳性克隆细胞(Aspc1/LXSN 细胞)。

1.3 ELISA 检测各组 Aspc1 细胞中 IL-27 的表达

将 Aspc1/IL-27、Aspc1/LXSN 和 Aspc1 细胞分别接种于 24 孔板(2×10^5 /孔),24 h 后收集培养上清,采用 ELISA 法检测上清中 IL-27 的含量,操作步骤严格按照 ELISA 试剂盒说明书进行。

1.4 流式细胞术检测各组 Aspc1 细胞 MHC-I 类分子的表达

收获对数生长期的 Aspc1/IL-27、Aspc1/LXSN 和 Aspc1 细胞,制备单细胞悬液,分别加入 FITC 标记抗人 MHC-I 类分子单抗及其同型对照抗体,避光作用 30 min,用流式细胞仪分析细胞表面 MHC-I 类分子的表达情况。

1.5 小鼠荷瘤实验

48 只免疫缺陷雌性 BALB/c 裸鼠随机分为 3 组,每组 16 只。分别取 5×10^7 /ml 对数生长期的 Aspc1/IL-27、Aspc1/LXSN 和 Aspc1 细胞 0.2 ml 接种于裸鼠右背部皮下。无菌环境下饲养,定期用游标卡尺测量移植瘤大小,计算肿瘤体积,并观察其生存期。体积公式: $V = 1/2ab^2$,其中 a 为肿瘤长径, b 为肿瘤短径。

1.6 电镜观察移植瘤细胞凋亡的超微结构变化

接种 Aspc1/IL-27、Aspc1/LXSN 和 Aspc1 细胞 7 d 后,每组处死裸鼠 3 只,在断血供之后 2 min 内将 1 mm^3 的肿瘤组织放入固定液中,用 25 g/L 戊二醛及 1 g/L 的锇酸固定,经乙醇梯度脱水,超薄切片经铅铀染色后置透射电镜下观察、摄片。

1.7 TUNEL 法检测移植瘤组织细胞的凋亡

接种 Aspc1/IL-27、Aspc1/LXSN 和 Aspc1 细胞 7 d 后的肿瘤组织石蜡切片,脱蜡至水,0.3% H_2O_2 甲醛液阻断内源性过氧化物酶,加入 20 μg/ml 蛋白酶 K 室温孵育 15~30 min,滴加 TUNEL 反应混合液 50 μl,然后滴加转化剂 POD 50 μl 进行信号转化。DAB 显色,苏木精复染,脱水封片。

结果判断标准:显微镜下观察,以细胞内出现棕黄色颗粒为凋亡细胞。每张切片随机取 5 个视野($\times 100$),观察并计数 500 个细胞,以 TUNEL 阳性细胞数作为 TUNEL 检测的结果判定。计算凋亡指数(PI)来表示各组细胞的凋亡程度, $\text{PI}(\%) = (\text{凋$

亡细胞数/肿瘤细胞总数) × 100%。

1.8 统计学处理

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 用 SPSS 11.5 软件对所有数据进行统计学处理, 各组均数的比较采用 *t* 检验。 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Aspc1/IL-27 细胞分泌 IL-27

经 G418 筛选后得到 G418 抗性细胞克隆 Aspc1/IL-27 和 Aspc1/LXSN。 各组细胞铺板 24 h 后 ELISA 检测细胞上清, 结果显示, Aspc1/IL-27 细胞 IL-27 的表达量为 (121.56 ± 6.29) pg/ml, 而在 Aspc1/LXSN 细胞和 Aspc1 细胞的培养上清中未检出 IL-27 ($P < 0.01$)。 结果提示, 携带 IL-27 基因重组逆转录病毒载体能有效转染 Aspc1 细胞并高效表达 IL-27。

2.2 IL-27 对 Aspc1 细胞体外增殖的影响

接种 3 种 Aspc1 细胞后连续观察 7 d, Aspc1/IL-27、Aspc1/LXSN 和 Aspc1 细胞的增殖能力无显著差异 (图 1, $P > 0.05$), 增殖曲线非常相似。 由此说明, IL-27 基因不影响体外 Aspc1 细胞的增殖。

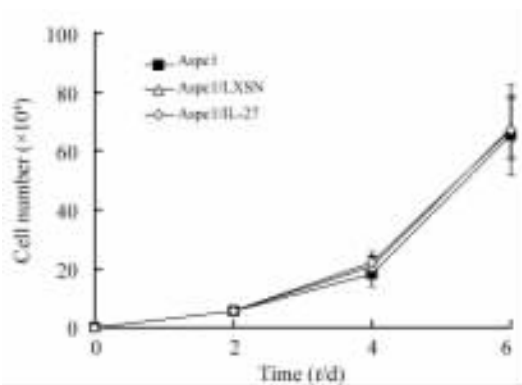


图 1 IL-27 不影响 Aspc1 细胞的体外增殖

Fig. 1 IL-27 did not affect proliferation of Aspc1 cells

2.3 IL-27 对 Aspc1 细胞中 MHC-I 类分子表达的影响

如图 2 所示, Aspc1/IL-27、Aspc1/LXSN 和 Aspc1 组细胞表面 MHC-I 类分子的表达水平无显著差异。 由此说明, IL-27 基因不影响 Aspc1 细胞表面 MHC-I 类分子的表达。

2.4 IL-27 对 Aspc1 细胞致瘤及移植瘤生长的影响

Aspc1/IL-27、Aspc1/LXSN 和 Aspc1 三组细胞皮下接种裸鼠后 3 d 均形成瘤结节, 成瘤率为 100%。 移植瘤呈进行性生长, 但 Aspc1/IL-27 组移

植瘤生长速度较 Aspc1/LXSN 和 Aspc1 组减慢 ($P < 0.05$, 图 3)。 观察荷瘤鼠生存期, Aspc1/IL-27、Aspc1/LXSN 和 Aspc1 3 组裸鼠分别为 (40.8 ± 1.2)、(24.3 ± 0.8)、(25.4 ± 0.9) d, Aspc1/IL-27 组裸鼠的生存期明显延长 ($P < 0.05$)。

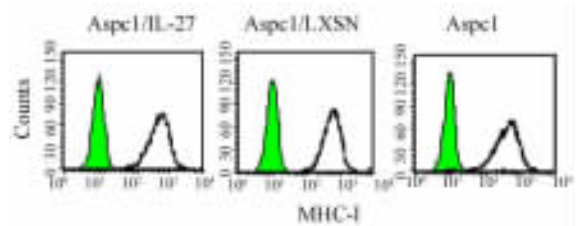


图 2 IL-27 不影响 Aspc1 细胞表面 MHC-I 类分子的表达

Fig. 2 IL-27 did not affect expressions of MHC-I on surface of Aspc1 cells

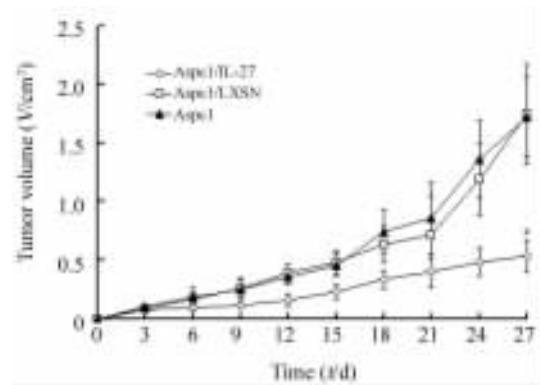


图 3 各组 Aspc1 细胞接种后小鼠移植瘤的生长曲线

Fig. 3 Tumor growth curves in nude mice inoculated with different Aspc1 cells

* $P < 0.05$ vs Aspc1/LXSN or Aspc1 group

2.5 IL-27 促进 Aspc1 移植瘤细胞凋亡

TUNEL 结果显示, 接种 Aspc1/IL-27 细胞移植瘤组织内凋亡细胞呈灶性分布, 凋亡细胞核内有棕黄色颗粒, 而接种 Aspc1/LXSN 细胞和 Aspc1 细胞移植瘤组织仅见极少数散在分布的凋亡细胞。 Aspc1/IL-27、Aspc1/LXSN 和 Aspc1 三组移植瘤组织中细胞凋亡率分别为 (19.5 ± 2.4)%、(8.5 ± 0.3)% 和 (9.1 ± 0.8)%, Aspc1/IL-27 组细胞凋亡率显著高于 Aspc1/LXSN 组和 Aspc1 组 ($P < 0.05$, 图 4)。

透射电镜观察结果显示, 接种 Aspc1/IL-27 细胞组裸鼠移植瘤细胞出现典型的凋亡细胞形态, 表现为线粒体大部分嵴和膜融合消失、胞质浓缩、内质网疏松、空泡形成、细胞核膜破损、染色质固缩、新月状或环状小体形成。 而接种 Aspc1/LXSN 或 Aspc1

组裸鼠移植瘤细胞凋亡征象不明显(图5)。

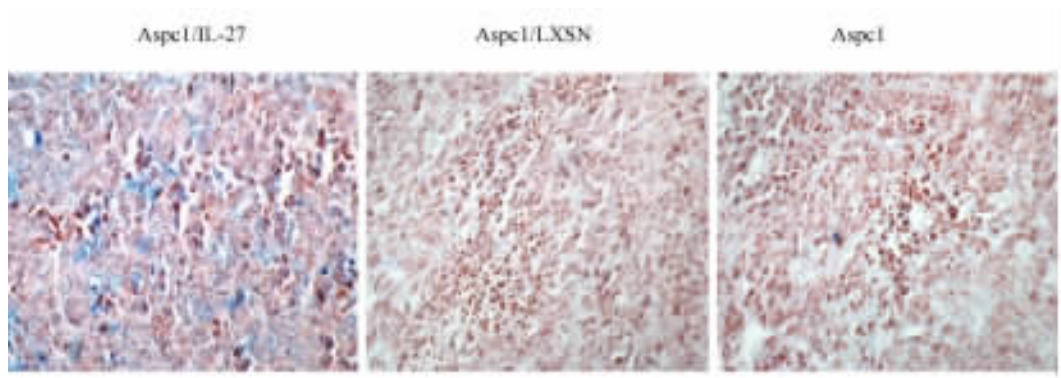


图4 TUNEL 检测 *IL-27* 诱导移植瘤细胞凋亡(×100)

Fig. 4 Apoptosis of implanted tumor cells induced by *IL-27* as detected by TUNEL(×100)

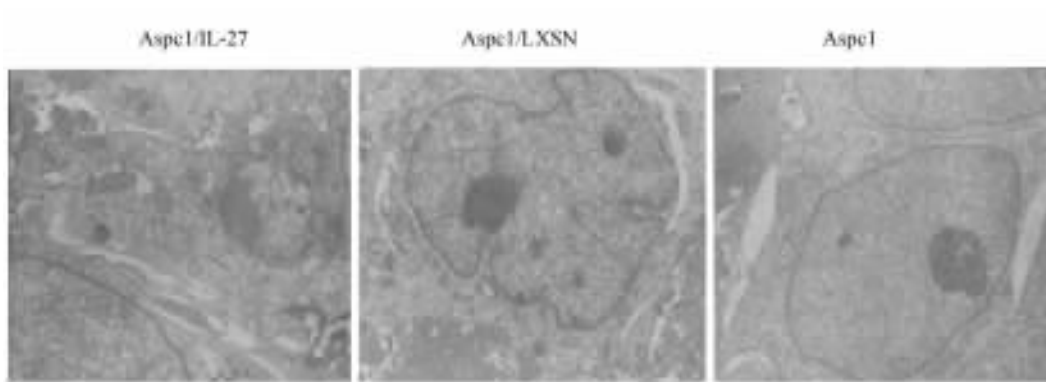


图5 电镜检测 *IL-27* 诱导移植瘤细胞凋亡(×4 000)

Fig. 5 Apoptosis of implanted tumor cells induced by *IL-27* as detected by electron microscope (×4 000)

3 讨论

生物治疗逐渐成为胰腺癌治疗中的第4种模式,其中基因治疗是研究的热点^[13]。*IL-27* 是 *IL-6/IL-12* 家族新成员,由 p28 和 EB13 亚基构成^[3],在结构上 p28 和 EB13 亚基分别与 *IL-12p35*、*IL-23p19* 亚基和 *IL-12p40*、*IL-23p40* 亚基同源^[14]。*IL-27* 作为免疫调节细胞因子,在机体的抗感染和抗肿瘤免疫以及自身免疫性疾病等以 Th1 型反应为主的疾病发生过程中发挥关键性作用^[15-17]。*IL-27* 可通过诱导和增强小鼠脾细胞 CTL 活性和 IFN- γ 等细胞因子的产生发挥抗肿瘤作用。*IL-27* 在体内还具有抑制肿瘤血管生成的作用^[18]。最近在对小鼠多发性骨髓瘤的研究^[10]表明,*IL-27* 可以通过抑制肿瘤细胞增殖而产生抗肿瘤作用,且 *IL-27* 在荷瘤鼠的实验中并没有观察到 *IL-12* 治疗时所出现的脾肿大或血清谷草转氨酶、谷丙转氨酶升高、单核细胞浸润等肝损害表现^[7,19-20]。因此,*IL-27* 作为肿瘤基因治疗的候

选细胞因子倍受关注。

本研究利用逆转录病毒为载体将 *IL-27* 基因转染人胰腺癌 Aspc1 细胞,ELISA 法验证 Aspc1/*IL-27* 细胞上清中 *IL-27* 的表达,提示 *IL-27* 基因成功导入 Aspc1 细胞。细胞计数和流式细胞术结果表明,*IL-27* 不影响 Aspc1 细胞的增殖和细胞表面 MHC-I 类分子的表达。体内实验结果发现,Aspc1/*IL-27*、Aspc1/LXSN 和 Aspc1 细胞在裸鼠体内的成瘤率均为 100%,但接种 Aspc1/*IL-27* 细胞组小鼠的皮下肿瘤结节生长速度明显慢于 Aspc1/LXSN 和 Aspc1 细胞组,且荷瘤裸鼠生存期明显延长,说明 *IL-27* 基因转入 Aspc1 细胞分泌的 *IL-27* 发挥了抗肿瘤作用,降低了 Aspc1 细胞的致瘤性和生长速度。

为了探讨 *IL-27* 的抗肿瘤机制,本实验进一步观察了移植瘤组织细胞的凋亡现象。TUNEL 染色检测结果显示,Aspc1/*IL-27* 细胞移植瘤组织内有大量灶性分布的凋亡细胞,凋亡率明显高于接种 Aspc1/LXSN 和 Aspc1 组;透射电镜观察结果显示,接

种 Aspc1/IL-27 细胞组裸鼠移植瘤细胞呈典型的凋亡细胞形态, 表现为核染色质浓缩、核碎裂及凋亡小体形成, 进一步从形态学角度验证了 IL-27 可诱导肿瘤细胞凋亡。因此, Aspc1/IL-27 细胞表达的 IL-27 可通过诱导肿瘤细胞凋亡发挥抗肿瘤作用。

总之, 基因转染的方法可将 IL-27 基因成功地整合到 Aspc1 细胞基因组中, IL-27 不影响 Aspc1 细胞表面 MHC-I 类分子的表达和体外增殖, 在体内通过促进肿瘤细胞凋亡产生抗肿瘤作用。

[参考文献]

- [1] 尤振兵, 黄加胜, 祁付珍. 胰腺癌外科治疗 47 例临床分析 [J]. 实用医学杂志, 2007, 23(20): 3250-3252.
- [2] Larbouret C, Robert B, Bascoul-Mollevi C, Penault-Llorca F, Ho-Pun-Cheung A, Morisseau S, et al. Combined cetuximab and trastuzumab are superior to gemcitabine in the treatment of human pancreatic carcinoma xenografts [J]. Ann Oncol, 2010, 21(1): 98-103.
- [3] Pflanz S, Timans JC, Cheung J, Rosales R, Kanzler H, Gilbert J, et al. IL-27, a heterodimeric cytokine composed of EB13 and p28 protein, induces proliferation of naive CD4⁺ T cells [J]. Immunity, 2002, 16(6): 779-790.
- [4] Yoshida H, Miyazaki Y. Interleukin 27 signaling pathways in regulation of immune and autoimmune responses [J]. Int J Biochem Cell Biol, 2008, 40(11): 2379-2383.
- [5] Yoshida H, Miyazaki Y. Regulation of immune responses by interleukin-27 [J]. Immunol Rev, 2008, 226(12): 234-247.
- [6] Shimizu M, Shimamura M, Owaki T, Asakawa M, Fujita K, Kudo M, et al. Antiangiogenic and antitumor activities of IL-27 [J]. J Immunol, 2006, 176(12): 7317-7324.
- [7] Batten M, Ghilardi N. The biology and therapeutic potential of interleukin 27 [J]. J Mol Med, 2007, 85(7): 661-672.
- [8] Liu L, Wang S, Shan B, Shao L, Sato A, Kawamura K, et al. IL-27-mediated activation of natural killer cells and inflammation produced antitumor effects for human esophageal carcinoma cells [J]. Scand J Immunol, 2008, 68(1): 22-29.
- [9] Shinozaki Y, Wang S, Miyazaki Y, Miyazaki K, Yamada H, Yoshikai Y, et al. Tumor-specific cytotoxic T cell generation and dendritic cell function are differentially regulated by interleukin 27 during development of anti-tumor immunity [J]. Int J Cancer, 2009, 124(6): 1372-1378.
- [10] Cocco C, Giuliani N, Di Carlo E, Ognio E, Storti P, Abeltino M, et al. Interleukin-27 acts as multifunctional antitumor agent in multiple myeloma [J]. Clin Cancer Res, 2010, 16(16): 4188-4197.
- [11] Hu P, Hu HD, Chen M, Peng ML, Tang L, Tang KF, et al. Expression of interleukins-23 and -27 leads to successful gene therapy of hepatocellular carcinoma [J]. Mol Immunol, 2009, 46(8/9): 1654-1662.
- [12] Liu L, Shan B, Feng Y. Antitumor effects and immunoregulation mechanisms of IL-23 gene in mouse mammary cancer mediated by retrovirus [J]. Cell Immunol, 2009, 258(2): 181-187.
- [13] Liu L, Wang S, Shan B, Sang M, Liu S, Wang G. Advances in viral-vector systemic cytokine gene therapy against cancer [J]. Vaccine, 2010, 28(23): 3883-3887.
- [14] Owaki T, Asakawa M, Morishima N, Hata K, Fukai F, Matsui M, et al. A Role for IL-27 in early regulation of Th1 differentiation [J]. J Immunol, 2005, 175(4): 2191-2200.
- [15] Zahn S, Wirtz S, Birkenbach M, Blumberg RS, Neurath MF, von Stebut E. Impaired Th1 responses in mice deficient in Epstein-Barr virus-induced gene 3 and challenged with physiological doses of Leishmania major [J]. Eur J Immunol, 2005, 35(4): 1106-1112.
- [16] Batten M, Kljavin NM, Li J, Walter MJ, de Sauvage FJ, Ghilardi N. Cutting edge: IL-27 is a potent inducer of IL-10 but not FoxP3 in murine T cells [J]. J Immunol, 2008, 180(5): 2752-2756.
- [17] Murugaiyan G, Mittal A, Weiner HL. Identification of an IL-27/osteopontin axis in dendritic cells and its modulation by IFN-gamma limits IL-17-mediated autoimmune inflammation [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2010, 107(25): 11495-11500.
- [18] 刘丽华, 单保恩, 王士杰, 赵连梅. IL-27 通过上调 MIG 和 IP-10 的表达抑制肿瘤血管形成 [J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2009, 16(1): 40-44.
- [19] Mannon PJ, Fuss IJ, Mayer L, Elson CO, Sandborn WJ, Present D, et al. Anti-interleukin-12 antibody for active Crohn's disease [J]. N Engl J Med, 2004, 351(20): 2069-2079.
- [20] Nagai H, Oniki S, Fujiwara S, Yoshimoto T, Nishigori C. Antimelanoma immunotherapy: Clinical and preclinical applications of IL-12 family members [J]. Immunotherapy, 2010, 2(5): 697-609.

[收稿日期] 2010-08-23

[修回日期] 2010-09-27

[本文编辑] 王莹

《中国肿瘤生物治疗杂志》欢迎投稿、欢迎订阅