

杜仲黄酮对小鼠淋巴细胞增殖及 IL-2 和 IFN- γ 诱生的影响

王志宏¹,雷明盛^{1,2,3},彭 胜¹,郑 阳¹,史丽娟¹,彭密军^{1*}

¹吉首大学 林产化工工程湖南省重点实验室 杜仲综合利用国家地方联合工程实验室 湖南省植物功能成分利用协同创新中心,张家界 427000;²武汉大学中南医院,武汉 430071;³湖南省张家界市人民医院,张家界 427000

摘要:采用 MTT 法和 ELISA 技术,通过考察不同纯度的杜仲黄酮对小鼠脾淋巴细胞增殖及细胞因子 IL-2 和 IFN- γ 诱生作用的影响,初步探讨杜仲黄酮的免疫活性。结果表明,杜仲黄酮粗品及槲皮素均对经 ConA 或 LPS 刺激下的小鼠脾淋巴细胞的增殖和细胞因子 IL-2 与 IFN- γ 的分泌有协同作用;随细胞培养时间延长,与空白组比较作用效果也逐渐显著。多重显著性分析结果显示,在一定范围内,不同浓度的样品对脾淋巴细胞的增殖效果存在差异,并有一定的浓度依赖性。而山奈酚则随浓度的升高对淋巴细胞的增殖呈抑制趋势,同时对细胞因子的诱生起下调作用。

关键词:杜仲黄酮;槲皮素;山奈酚;免疫;淋巴细胞

中图分类号:R285.5;R392.1

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2016.4.008

Effects of Flavonoid and Flavone from *Eucommia ulmoides* Oliv. on Proliferation of Splenocytes and Production of IL-2 and IFN- γ in Mice

WANG Zhi-hong¹, LEI Ming-sheng^{1,2,3}, PENG Sheng¹, ZHENG Yang¹, SHI Li-juan¹, PENG Mi-jun^{1*}

¹Key Laboratory of Hunan Forest Products and Chemical Industry Engineering, State and Local Joint Engineering Laboratory of *Eucommia ulmoides* Oliv. Comprehensive Utilization Hunan Co-Innovation Center for Utilization of Botanical Functional Ingredients Jishou University, Zhangjiajie 427000, China; ²Zhongnan Hospital of Wuhan University, Wuhan 430071, China; ³The Zhangjiajie People's Hospital of Hunan, Zhangjiajie 427000, China

Abstract: In this study, MTT and ELISA methods were used to investigate the effects of flavonoid and flavone from *Eucommia ulmoides* Oliv. on proliferation of splenocytes and production of IL-2 and IFN- γ in mice. The results showed that flavonoid extract of *E. ulmoides* Oliv. and quercetin can significantly upregulate proliferation and production of IL-2 and IFN- γ in lymphocytes stimulated by ConA or LPS. Along with the extension of time, compared with the blank group, the experimental results changed significantly. The results of multiple significance analysis showed that there was certain dose concentration dependence. However, kaempferol can effectively inhibit proliferation and production of cytokine in a certain concentration range.

Key words: flavonoid of *Eucommia ulmoides* Oliv.; quercetin; kaempferol; immunity; lymphocytes

杜仲(*Eucommia ulmoides* Oliv.)为杜仲科杜仲属多年生落叶乔木,是我国名贵的经济树种。近年研究发现,杜仲富含黄酮类、木脂素类、环烯醚萜类和苯丙素类等多种活性成分^[1];作为传统的滋补药材,杜仲具有“三降六抗一增”从而引起人们的广泛关注^[2]。黄酮类物质是植物中普遍存在的一类化合物,杜仲黄酮在调节免疫、抗氧化及调节血脂方面的效果尤为显著,其黄酮苷元主要以槲皮素和山

奈酚为主^[3]。脾脏中富含淋巴细胞,以及少量的巨噬细胞。淋巴细胞在免疫过程中发挥着核心作用,其增殖和活化是免疫系统中最基本的反应^[4]。IL-2 又称 T 细胞生长因子,是参与免疫应答的重要细胞因子,并能参与抗肿瘤和移植排斥的反应^[5];IFN- γ 是由 NK 细胞、T 细胞和 NKT 细胞等活化后分泌的细胞因子,主要参与细胞免疫应答^[6]。所以本实验主要考察杜仲黄酮及苷元粗品对小鼠脾淋巴细胞增殖及细胞因子诱生的影响,进一步比较杜仲黄酮粗品与苷元的免疫活性,初步探讨杜仲黄酮调节免疫的机制,旨在为深入开发利用杜仲资源提供有价值的参考。

收稿日期:2015-10-21 接受日期:2015-12-23

基金项目:湖南省教育厅高校产业化培育项目(11CY015);吉首大学林产化工工程湖南省重点实验室开放项目(JDZ201501)

* 通讯作者 E-mail: pengmj163@163.com

1 材料与仪器

1.1 实验动物

清洁级的 Balb/c 近交系小鼠,雌性,6~8 周龄,身体质量(20 \pm 2)g,购自中国科学院上海实验动物中心[合格证号 SCXK(沪)2012-0002]。

1.2 仪器与试剂

AIR-TECH 超净工作台,苏净集团安泰公司; Thermo Forma CO₂ 培养箱,美国赛默飞世尔科技; XDS-1 倒置显微镜,南京米厘特精密仪器有限公司; 天石 SM-3 自动化酶免分析仪,广州市迅博科技有限公司; 1-15 型离心机,德国 Sigma; YXQG02 型手提式压力蒸汽灭菌器,山东新华医疗器械股份有限公司; FA2004 电子天平,上海恒平科学仪器有限公司。

四甲基偶氮唑盐(MTT),刀豆蛋白 A(ConA)和脂多糖(LPS),美国 Sigma 公司;红细胞裂解液, bio-sharp 公司;二甲基亚砜(DMSO),北京诺博莱德科技公司。

RPMI-1640 培养基,美国 Hyclone 公司;小牛血清,杭州四季青生物工程材料有限公司;小鼠 IL-2 与 IFN- γ ELISA 试剂盒,上海盈公科技股份有限公司;RPMI-1640 完全培养基:加入终浓度为 10% 的灭活小牛血清,100 μ g/mL 链霉素,100 U/mL 青霉素;实验用水为三蒸水;其它实验试剂均为分析纯。

实验样品主要为杜仲黄酮水解产物及富集所得样品^[7],其中杜仲黄酮粗品(HPLC 检测含量为 63.19%)、槲皮素(HPLC 检测含量为 85.27%)和山奈酚(HPLC 检测含量为 98.0%),分别用 DMSO 与无血清 RPMI-1640 培养基混合液溶解。

2 实验方法

2.1 小鼠淋巴细胞悬液的制备

将 Balb/c 小鼠脱颈处死,75% 酒精中浸泡 3 min,将小鼠置于超净工作台无菌纸,剪开小鼠腹部左侧,撕开腹腔见红色条状脾脏,剪开腹腔膜,提起脾脏,剪掉其它结缔组织,取出脾脏,置于装有适量 D-hank's 缓冲液的平皿中,清洗 2 次,于 200 目铜网中研磨,用 D-hank's 清洗,2000 rpm 离心 5 min,弃上清,加 3~5 倍红细胞裂解液,混匀,静置 5 min,待其完全裂解,离心 5 min,弃上清,再用 D-hank's 缓冲液清洗 2 次,用 RPMI-1640 完全培养基重悬细胞,制备无菌单细胞悬液^[8]。采用台盼蓝染色进行计数,保证活细胞数 >95%,并调整细胞浓度为 5.0

$\times 10^6$ 个/mL。

2.2 MTT 法检测细胞增殖

取 100 μ L 单细胞悬液于 96 孔培养板,每孔 5.0 $\times 10^5$ 个/mL。空白对照组加入 100 μ L RPMI-1640 完全培养基,阳性对照组、阴性对照组和实验组先分别加入 ConA 或 LPS(终浓度为 5 μ g/mL),再分别加入完全培养基、溶剂和实验药物,每孔最终体积为 200 μ L,每组设 3 个复孔。置于 37 $^{\circ}$ C、5.0% CO₂ 培养箱中,分别培养 24、48 h 和 72 h,并在取样前 4 h,向每孔加入 10 μ L MTT(终浓度为 5 mg/mL),继续培养 4 h 后,每孔加入 100 μ L 裂解液,混匀,使沉淀完全溶解,在波长为 570 nm 条件下于酶标仪测定 OD 值^[8,9],考察不同浓度样品对淋巴细胞增殖的影响。

2.3 细胞上清 IL-2 和 IFN- γ 的诱生

制备无菌单细胞悬液,调整细胞浓度为 5.0 $\times 10^6$ 个/mL。空白组先加入 100 μ L RPMI-1640 完全培养基,阴性对照组、阳性对照组和实验组先加 ConA(终浓度为 5 μ g/mL),其余与 2.2 相同,实验组设高、中、低三种浓度,分别为:20 μ mol/L、5.0 μ mol/L 和 1.75 μ mol/L,每组设 3 个复孔。37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 培养箱中培养 72 h,收集上清液,离心,取适量测定 IL-2 和 IFN- γ 的含量^[10]。

2.4 细胞因子 IL-2 和 IFN- γ 的测定

按照 ELISA 试剂盒操作说明,采用双抗体夹心 ELISA 法于 450 nm 处测定 OD 值,根据所得线性关系计算细胞上清中 IL-2 和 IFN- γ 的含量。

2.5 统计学处理

采用 SPSS19.0 及 Excel 进行实验数据处理,以($\bar{x} \pm s$)表示,通过采用单因素方差分析(One-way ANOVA)及 LSD 检验比较各组的差异。

3 结果与分析

3.1 杜仲黄酮及苜蓿对脾淋巴细胞增殖的影响

将各组细胞分别培养 24、48 h 和 72 h 后,采用 MTT 法测定杜仲提取物对小鼠脾淋巴细胞增殖作用的影响,结果见表 1。

实验组细胞经 24 h 培养,较空白组有一定增殖趋势,但与对照组之间差异不显著,且不同浓度药物之间变化较为平缓;随培养时间增加,与对照组相比,实验组淋巴细胞增殖效果较为明显,随样品浓度增加,细胞的增殖效果明显提升,并呈现一定浓度依赖性;这也表明杜仲黄酮粗品具有协同 ConA 或 LPS 促进淋巴细胞增殖的作用,与阳性组比较,随浓度的

表 1 杜仲提取物对小鼠脾淋巴细胞增殖的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)Table 1 Effects of *E. ulmoides* extracts on proliferation of splenocytes in mice ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别 Group	浓度 Concentration ($\mu\text{mol/L}$)	OD ₅₇₀					
		24 h		48 h		72 h	
		ConA	LPS	ConA	LPS	ConA	LPS
空白组 Control	-	0.119 ± 0.011	0.116 ± 0.005	0.123 ± 0.008	0.139 ± 0.017	0.131 ± 0.007	0.124 ± 0.012
阴性对照 Negative control	-	0.124 ± 0.011	0.121 ± 0.006	0.171 ± 0.004 *	0.160 ± 0.003 *	0.195 ± 0.006 *	0.196 ± 0.011 *
阳性对照 Positive control	-	0.156 ± 0.004 *	0.158 ± 0.005 *	0.196 ± 0.006 *	0.226 ± 0.010 *	0.232 ± 0.015 *	0.264 ± 0.015 *
杜仲黄酮粗品 Crude flavonoids of <i>E. ulmoides</i>	20	0.160 ± 0.009 *	0.163 ± 0.009 *	0.214 ± 0.012 *	0.313 ± 0.005 *	0.327 ± 0.027 *	0.420 ± 0.003 *
	10	0.142 ± 0.006 *	0.153 ± 0.008 *	0.223 ± 0.013 *	0.286 ± 0.006 *	0.327 ± 0.003 *	0.405 ± 0.014 *
	5	0.127 ± 0.005	0.144 ± 0.003 *	0.203 ± 0.004 *	0.259 ± 0.004 *	0.301 ± 0.004 *	0.343 ± 0.011 *
	2.5	0.129 ± 0.005	0.127 ± 0.001 *	0.193 ± 0.006 *	0.215 ± 0.038 *	0.229 ± 0.003 *	0.229 ± 0.007 *
	1.75	0.124 ± 0.003	0.122 ± 0.004	0.181 ± 0.004 *	0.180 ± 0.005 *	0.196 ± 0.008 *	0.199 ± 0.009 *

注:与空白组比较, * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$ 。

Note: Compared with control, * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$.

不同,差异的显著性略有不同。

测定槲皮素粗品对小鼠脾淋巴细胞增殖作用的影

响,结果见表 2。

响,结果见表 2。

表 2 槲皮素对小鼠脾淋巴细胞增殖的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)Table 2 Effects of quercetin on proliferation of splenocytes in mice ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别 Group	浓度 Concentration ($\mu\text{mol/L}$)	OD ₅₇₀					
		24 h		48 h		72 h	
		ConA	LPS	ConA	LPS	ConA	LPS
空白组 Control	-	0.119 ± 0.011	0.116 ± 0.005	0.123 ± 0.008	0.139 ± 0.017	0.131 ± 0.007	0.124 ± 0.012
阴性对照 Negative control	-	0.124 ± 0.011	0.121 ± 0.006	0.171 ± 0.004 *	0.160 ± 0.003 *	0.195 ± 0.006 *	0.196 ± 0.011 *
阳性对照 Positive control	-	0.156 ± 0.004 *	0.158 ± 0.005 *	0.196 ± 0.006 *	0.226 ± 0.010 *	0.232 ± 0.015 *	0.264 ± 0.015 *
槲皮素 Quercetin	20	0.156 ± 0.007 *	0.170 ± 0.003 *	0.236 ± 0.007 *	0.297 ± 0.008 *	0.463 ± 0.012 *	0.487 ± 0.013 *
	10	0.145 ± 0.010 *	0.158 ± 0.006 *	0.235 ± 0.005 *	0.246 ± 0.005 *	0.413 ± 0.007 *	0.462 ± 0.005 *
	5	0.138 ± 0.007 *	0.138 ± 0.003 *	0.222 ± 0.006 *	0.184 ± 0.007 *	0.317 ± 0.015 *	0.334 ± 0.006 *
	2.5	0.127 ± 0.011	0.131 ± 0.011 *	0.196 ± 0.008 *	0.176 ± 0.004 *	0.275 ± 0.011 *	0.299 ± 0.002 *
	1.75	0.117 ± 0.006	0.122 ± 0.003	0.187 ± 0.004 *	0.169 ± 0.006 *	0.211 ± 0.008 *	0.234 ± 0.006 *

注:与空白组比较, * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$ 。

Note: Compared with control, * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$.

从表 2 可知,经 24 h 培养之后,槲皮素实验组和空白对照组相比,淋巴细胞虽有一定的增殖现象,但与阳性对照组相比,并未对细胞增殖有正向调节

作用,随培养时间的增加,槲皮素实验组与对照组比较,增殖变化显著,并呈现一定的浓度依赖性。实验前期,槲皮素并未对细胞的增殖起到正向调节作用,

一定程度还有抑制其生长的现象,但是随培养时间延长,槲皮素能够协同 ConA 和 LPS 刺激脾淋巴细胞增殖。不同培养时间的实验组之间的差异显著,在各组中,与空白对照比较,不同浓度药物作用效果

的差异较为显著。

分别将各组细胞经过 24、48 h 和 72 h 培养后,山奈酚对小鼠脾淋巴细胞增殖作用的影响见表 3。

表 3 山奈酚对小鼠脾淋巴细胞增殖的影响($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 3 Effects of kaempferol on proliferation of splenocytes in mice ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别 Group	浓度 Concentration ($\mu\text{mol/L}$)	OD ₅₇₀					
		24 h		48 h		72 h	
		ConA	LPS	ConA	LPS	ConA	LPS
空白组 Control	-	0.119 \pm 0.011	0.116 \pm 0.005	0.123 \pm 0.008	0.139 \pm 0.017	0.131 \pm 0.007	0.124 \pm 0.012
阴性对照 Negative control	-	0.124 \pm 0.011	0.121 \pm 0.006	0.171 \pm 0.004 *	0.160 \pm 0.003	0.232 \pm 0.015 **	0.196 \pm 0.011 **
阳性对照 Positive control	-	0.156 \pm 0.004 **	0.158 \pm 0.005 **	0.196 \pm 0.006 **	0.226 \pm 0.010 **	0.195 \pm 0.006 **	0.264 \pm 0.015 **
山奈酚 Kaempferol	20	0.118 \pm 0.005	0.104 \pm 0.007	0.110 \pm 0.003 *	0.132 \pm 0.006	0.122 \pm 0.006	0.121 \pm 0.008
	10	0.113 \pm 0.004	0.119 \pm 0.006	0.124 \pm 0.004	0.140 \pm 0.004	0.145 \pm 0.013	0.136 \pm 0.004
	5	0.120 \pm 0.007	0.119 \pm 0.016	0.131 \pm 0.006	0.146 \pm 0.003	0.154 \pm 0.006 **	0.141 \pm 0.004 *
	2.5	0.130 \pm 0.014	0.127 \pm 0.003	0.142 \pm 0.007 *	0.188 \pm 0.062 **	0.175 \pm 0.010 **	0.142 \pm 0.001 *
	1.75	0.139 \pm 0.007 *	0.129 \pm 0.008	0.160 \pm 0.007 **	0.160 \pm 0.002	0.205 \pm 0.007 **	0.147 \pm 0.006 **

注:与空白组比较, * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$ 。
Note: Compared with control, * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$.

由表 3 可知,山奈酚实验组在不同的培养时间段内,细胞的增殖效果都明显受到抑制。经 72 h 培养的细胞,细胞虽有一定的增殖趋势,但由于药物的干扰,细胞的增殖趋势随药物浓度的升高而减弱,高浓度山奈酚对经 ConA 或 LPS 刺激的淋巴细胞的增殖有明显的抑制作用。以 ConA 或 LPS 刺激的淋巴细胞实验组,不同培养时间内,各组之间细胞的增殖也存在明显的差异性。

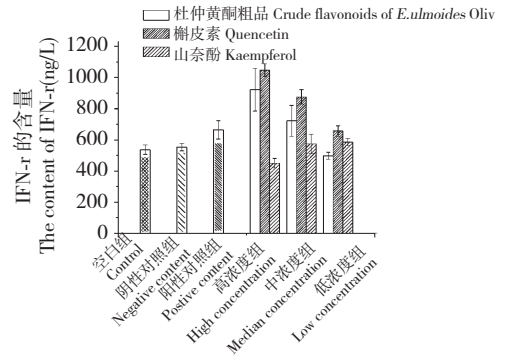


图 2 不同药物对小鼠脾细胞分泌 IFN- γ 的影响

Fig. 2 Effect of different drugs on production of IFN- γ from splenocytes in mice

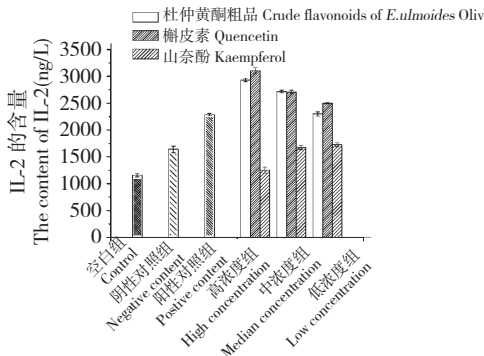


图 1 不同药物对小鼠脾细胞分泌 IL-2 的影响

Fig. 1 Effect of different drugs on production of IL-2 from splenocytes in mice

3.2 杜仲黄酮及昔元对 IL-2 和 IFN- γ 含量的影响

IL-2 和 IFN- γ 是介导免疫反应重要的细胞因子,其分泌水平高低可以反映机体的免疫功能,特别是对于细胞免疫功能,在机体免疫应答过程中起关键作用^[9,10]。实验中选择空白组、阴性对照组、阳性对照组和高、中、低药物浓度的实验组,脾淋巴细胞经 72 h 培养后,取上清,测定不同药物对 ConA 刺激

下小鼠淋巴细胞分泌 IL-2 和 IFN- γ 含量的影响,结果见图 1 和图 2。

由图可知,高浓度的杜仲黄酮提取物和槲皮素在一定范围内能够促进 ConA 刺激下的小鼠淋巴细胞分泌 IL-2 和 IFN- γ ,并呈现一定的浓度依赖性;槲皮素比杜仲黄酮提取物的作用效果要明显,但是二者与对照组相比,都有显著变化;山奈酚则对细胞因子的分泌有下调作用,高浓度实验组有抑制作用;与阳性组比较,各高浓度实验组之间有明显差异。

4 讨论与结论

脾脏可以作为体外细胞实验时淋巴细胞的主要来源,检测淋巴细胞体外增殖反应是考察淋巴细胞免疫功能的指标之一^[4]。IL-2 主要由 CD4 + 和 CD8 + T 细胞产生,IL-2 可促进抗体及干扰素的产生,具有抗病毒、抗肿瘤和增强机体免疫功能的作用。所以其分泌水平高低可反映机体的免疫功能,特别是对细胞免疫功能,在机体免疫应答过程中起关键作用^[5]。IFN- γ 能激活单核巨噬细胞、诱导多种细胞表达 MHC I 类和 II 类分子,从而增强抗原提呈、促进 Th0 细胞向 Th1 分化,并促进 Th1 细胞自身增殖和分化。IFN- γ 作为免疫应答的正向调节剂,不仅能够上调免疫应答,且能够直接杀伤肿瘤和病毒感染的细胞^[6]。ConA 是一种多克隆刺激剂,通过作用于 T 细胞表面的 TCR/CD3 复合体而诱发活化及增殖反应^[11]。LPS 是一种免疫增强剂,在作用于机体之后,不仅可以激活 T 淋巴细胞、B 淋巴细胞、巨噬细胞、自然杀伤细胞等免疫细胞,还可促进白介素、干扰素和肿瘤坏死因子等细胞因子的产生^[12]。

槲皮素和山奈酚是最常见的两种黄酮苷元,有研究表明,槲皮素可以通过控制基因的表达情况从而调节 IL-2 和 IFN- γ 的分泌情况^[13,14];而山奈酚是一种有效的蛋白激酶 CK2 的抑制剂,其作用机制可能与阻碍 CK2 与 ATP 以及底物的结合有关。山奈酚抑制淋巴细胞增殖,主要原因可能是其直接作用于 T 细胞并抑制 Th1 型细胞因子的产生,从而抑制 CD8 + 淋巴细胞在体外的形成,抑制 CD69 分子的表达,从而防止 T 淋巴细胞的早期活化,阻滞细胞周期,因此山奈酚可以减缓由 T 淋巴细胞过度活化和增殖所导致的自身免疫病和器官移植排斥反应的发生,可用于治疗急性移植抗宿主性疾病^[11,15]。从免疫调节角度分析,淋巴细胞的增殖活化能力和细胞因子分泌能力的提高对增强免疫具有正向调节作

用;但淋巴细胞过度增殖和活化也可能会导致机体自身免疫或器官移植排斥反应等现象。因此开展抑制淋巴细胞增殖和活化的药物研究,合理有效控制机体对有害免疫应答是具有积极的意义。

杜仲是我国传统的中药,具有多种药理活性,尤其是免疫活性,已有研究表明杜仲提取物在对小鼠的特异性免疫和非特异免疫方面都有显著效果。本实验采用杜仲黄酮,以及槲皮素和山奈酚,考察它们对经 ConA 或 LPS 刺激下的淋巴细胞的增殖及诱生细胞因子的影响。结果显示,杜仲黄酮及槲皮素在一定的浓度范围内可以对在 ConA 或 LPS 刺激下的淋巴细胞增殖起到协同作用,同时可促进 ConA 刺激下的淋巴细胞分泌 IL-2 和 IFN- γ ,并呈一定浓度依赖性;而山奈酚则在促进淋巴细胞增殖和诱生细胞因子分泌方面都起到了下调作用。对于水解杜仲黄酮富集所得样品,所含成分复杂,在实验中可能存在协同作用,对于其所含各组分的功效仍需系统分析;槲皮素和山奈酚都属于黄酮醇类,只是存在于 B 环 3' 位上的一个 -OH 的差异,而在实验过程中却有着不同的作用功效,所以全面了解药物种类及浓度对免疫的调节作用和相关的机制还需更深入的研究。

参考文献

- 1 Du HY (杜红岩). The progress in research of the active component from *Eucommia ulmoides* and its pharmacology. *Econ Forest Res* (经济林研究), 2003, 21(2): 58-61.
- 2 Wang ZH (王志宏), Peng S (彭胜), Lei MS (雷明盛), et al. Advances in studies on biological activity of *Eucommia ulmoides* Oliv. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2013, 25: 1302-1209.
- 3 Cheng J (成军), Zhao YY (赵玉英), Cui YX (崔玉新), et al. Studies on flavonoids from leave of *Eucommia ulmoides* Oliv. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2000, 25: 284-286.
- 4 Wang JQ (王君巧), Nie SP (聂少平), Yu Q (余强), et al. Immune modulation and antioxidation active of polysaccharides from *Ganoderma atrum* in immunosuppressed mice. *Food Sci* (食品科学), 2012, 33: 274-277.
- 5 Zhai ZM (翟志敏). IL-2 and its bidirectional regulatory effect on immune activation and immune tolerance. *Chin Pharmacol Bull* (中国药理学通报), 2013, 29: 319-322.
- 6 Zhang C (张彩), Tian ZG (田志刚). The effects of γ -interferon negative immune regulation. *Curr Immunol* (现代免疫学), 2007, 27(2): 89-92.