

文章编号: 0258-7025(2009)10-2603-06

氦氖激光照射胸腺区促进荷瘤小鼠 T 细胞的 CD59 表达与活化信号转导

徐 鹤 高美华

(青岛大学医学院免疫学教研室, 山东 青岛 266071)

摘要 探讨低功率氦氖激光照射对荷瘤小鼠 T 细胞 CD59 表达及其功能的影响。将(BALB/C)小鼠分为 4 组: I 组不做处理; II 组仅致瘤; III 组致瘤后每日照射胸腺区; IV 组致瘤后隔日照射胸腺区。致瘤后第 20 天处死小鼠, 分离培养胸腺 T 细胞。采用噻唑蓝(MTT)比色法测 T 细胞增殖, 用免疫组化和免疫荧光测 T 细胞 CD59 表达量, 然后用酶联免疫吸附测定法(ELISA)测 T 细胞活化后白介素 2(IL-2)水平, 用激光共聚焦测 T 细胞胞浆内钙离子变化, 以及用流式细胞术测 T 细胞活化为 CD25⁺T 细胞的能力。结果表明, 照射组肿瘤生长受抑; 荷瘤组 T 细胞的 CD59 表达量、白介素 2 水平、增殖能力、钙离子浓度及活化的 CD25⁺T 细胞水平均低于正常组, 但照射组明显高于非照射组。由此可见, 激光照射促进了荷瘤小鼠 T 细胞 CD59 的表达, 增强了其活化信号的转导。

关键词 医用光学; 免疫病理学; 氦氖激光照射; 免疫调节; CD59; 胸腺 T 细胞; 小鼠

中图分类号 R392.9 文献标识码 A doi: 10.3788/CJL20093610.2603

He-Ne Laser Irradiation to the Thymus Area Enhances CD59 Expression and Activation of Cell Signaling in T Cells of Tumor-Bearing Mice

Xu He Gao Meihua

(Department of Immunology, Medical College, Qingdao University, Qingdao, Shandong 266071, China)

Abstract The effect of low-power He-Ne laser irradiation on the function and expression of CD59 on T cells in tumor-bearing mice is studied. 40 BALB/C mice were randomly and evenly divided into four groups: tumor-bearing mice were constructed in group II III IV, while group I were treated as normal control. Thymus region of mice in group III were irradiated every day and mice in group IV were irradiated every two days. The growth of tumors were noted by tumor growth curves. The mice were executed 20 days later and T cells were segregated from thymus. The expression of CD59 on T cells from thymus was detected by immunohistochemistry and immunofluorescence; lymphocyte proliferation in thymus was detected by lymphocyte transformation test (MTT assay); IL-2 was detected by enzyme-linked immunosorbent array (ELISA); Laser scanning confocal microscope imaging of the calcium fluorescent indicator dye Fluo-3/AM was used to determine the kinetic changes of $[Ca^{2+}]$ in T cell endochylema. CD25⁺ T cells were determined by flow cytometer. The experiments show that tumor growth was inhibited after laser irradiation. The expression of CD59 protein, the proliferation of lymphocytes, level of IL-2, degree of the $[Ca^{2+}]$ and the expression of CD25 in group II, III, IV were decreased compared with group I, but were increased in group III, IV compared with group II. The results indicate that the low expression of CD59 was improved after irradiation by low-power He-Ne laser, and irradiation can enhance the function of T cells.

Key words medical optics; immunity nosology; He-Ne laser irradiation; immune regulation; CD59; thymus T lymphocytes; mice

收稿日期: 2009-07-17; 收到修改稿日期: 2009-08-17

基金项目: 国家自然科学基金(3170893)资助课题。

作者简介: 徐 鹤(1982 年—), 男, 硕士研究生, 主要从事分子免疫学方面的研究。E-mail: tassadar127@126.com

导师简介: 高美华(1953 年—), 女, 教授, 博士生导师, 主要从事分子免疫学方面的研究。

E-mail: Meihuagao@yahoo.com.cn(通信联系人)

1 引 言

CD59 是一种以糖基磷脂酰肌醇(GPI)锚着于细胞膜表面的糖蛋白,广泛分布于造血细胞、非造血细胞及多种组织细胞表面。其主要功能是调节补体活化,通过与补体功膜复合物(MAC)装配过程中的 C8 和(或)Ca 结合从而抑制补体的活化^[1~3]。研究证实,CD59 也参与 T 细胞的黏附及细胞信号的传导^[4,5]。荷瘤机体的免疫细胞往往出现 CD59 表达量降低,活化信号传导异常,功能低下,甚至处于无反应状态^[6]。而低功率激光具有生物刺激作用,可以增强细胞的活化信号,促进细胞的增殖^[7,8]。本研究采用低功率 He-Ne 激光照射荷瘤小鼠胸腺,探讨低功率激光照射对荷瘤小鼠 T 细胞 CD59 的表达及活化信号转导的作用。

2 材料和方法

2.1 动物分组与处理

取 BALB/C 纯系小鼠 40 只,3~4 周龄,体质量 18~22 g,雌雄各半,随机分为 I~IV 4 组。肿瘤细胞为本科室构建保存的转 CD59 基因人卵巢癌细胞系 A2780 细胞(WTA2780)。I 组每只小鼠腋下注射生理盐水 0.1 mL;II 组每只小鼠腋下注射 0.1 mL, 6×10^7 counts/mL 的 WTA2780 细胞;III 组每只小鼠腋下注射 0.1 mL, 6×10^7 counts/mL 的 WTA2780 细胞,每天进行 10.0 min 的胸腺区激光照射。IV 组每只小鼠腋下注射 0.1 mL, 6×10^7 counts/mL 的 WTA2780 细胞,隔日进行 10.0 min 的胸腺区激光照射。采用氩氦激光器,能量密度为 76.43 J/cm²,光斑直径为 0.5 cm,原束照射。记录肿瘤出现时间,于接种后每 5 天测量肿瘤直径,绘制肿瘤生长曲线。在第 20 天断颈处死小鼠。

2.2 细胞制备

无菌分离正常对照组、实验荷瘤组小鼠胸腺,制备单细胞悬液,淋巴细胞分层液分层,获取单个核细胞,再经尼龙毛柱处理获取胸腺依赖(T)淋巴细胞,台盼蓝染色细胞存活率 95% 以上。调整细胞浓度为 4×10^5 counts/mL,加入体积分数为 10% 胎牛血清(FBS)、青链霉素双抗的 RPMI1640 培养基 10 mL,体积分数为 5% CO₂ (以下同),37 °C 温箱培养。

2.3 检测方法

2.3.1 采用噻唑蓝(MTT)比色法测淋巴细胞增殖活性

设定空白对照组,CD59-mAb 对照组,CD59-mAb

实验组(I~IV 组),每组各设 3 个复孔。取上述小鼠 T 淋巴细胞,调整细胞浓度为 4×10^5 counts/mL,加入 96 孔板中 100 μ L/hole, 5% CO₂, 37 °C 孵育 48 h,加 MTT, 10 μ L/hole,振荡混匀,5% CO₂, 37 °C 孵育 4 h。而后,加入 10% SDS-0.02 mol/L HCl, 100 μ L/hole,充分吹打混匀 20 min 至完全溶解。全自动酶标检测仪测 570 nm 处光密度(OD)值。以各样本的测定孔光密度 d_{ODS} 减对照孔光密度 d_{ODC} ,求得光密度差值。

2.3.2 免疫组化测 T 细胞表面 CD59

链霉亲合素-生物素-过氧化物酶连结(SABC)法检测 T 细胞 CD59 蛋白的表达,免疫组化步骤按 SABC 免疫组化试剂盒说明书进行。

2.3.3 T 细胞表面 CD59 的免疫荧光检测

取 1 mL 前期准备 4 组 T 细胞,磷酸盐缓冲液(PBS)洗 3 遍,滴于载玻片上,吹干,95% 乙醇固定 5 min;吹干,加 CD59-mAb (1:640) 37 °C 孵育 45 min, PBS 洗 3 遍, 5 min/time;吹干,加异硫氰酸荧光素(FITC)标记山羊抗鼠 IgG(H-L) (1:320) 37 °C 孵育 45 min, PBS 洗 3 遍, 5 min/time;吹干,荧光显微镜观察。

2.3.4 酶联免疫吸附测定法(ELISA)测培养液上清中白介素 2(IL-2)水平

4 组细胞以 CD59-mAb 处理 24 h 后,离心收集培养液上清,按说明书方法依次加入样品/标准品,生物素化抗体,酶结合物工作液,显色剂,最后加入终止液后酶标仪 450 nm 测吸光度(A)值。

2.3.5 激光共聚焦测细胞内钙离子浓度

取前期准备的小鼠淋巴细胞,调整细胞浓度为 5×10^6 counts/mL,用 HEPES 缓冲液(pH=7.4)将细胞清洗 3 遍,加入 10 μ mol/L FLUO-3/AM 100 μ L, 37 °C 孵育 40 min。孵育后,1000 r/min 离心 10 min,吸弃 FLUO-3/AM 上清,用 HEPES 缓冲液(pH=7.4)将细胞清洗 3 遍,加入 0.5 mL HEPES 缓冲液。4 组 T 细胞均加入 CD59-mAb, 10 min 内使用 Nikon 激光共聚焦显微镜检测细胞内钙离子浓度的变化情况。

2.3.6 流式细胞术测 CD59-mAb 作用后活化的 CD₂₅⁺ T 细胞水平

T 细胞中加入 1 mg/L CD59-mAb, 37 °C 孵育 48 h。调整细胞密度 2×10^8 counts/L,分别吸取 250 μ L 不同组细胞悬液放入 1,2,3,4 号 EP 管中,设置对照组和同型对照组,加入 FITC 标记的抗小鼠 CD25 各 10 μ L,混匀后,4 °C 避光作用 30 min, 50 g/L 白蛋白 PBS 洗 2 次, 5 min/time。多聚甲醛

固定,避光保存,24 h 内流式细胞仪进行分析。

2.4 统计学处理

所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,其中 \bar{x} 表示均数, s 表示标准差。采用 SPSS16.0 统计软件对数据进行方差分析,检验水准为 0.05, $P < 0.05$ 具有统计学意义, $P < 0.01$ 有高度统计学意义(P 为将观察结果认为有效的犯错几率)。

3 结 果

3.1 肿瘤生长曲线

WTA2780 移植瘤小鼠激光照射组瘤块明显小于非激光照射组。移植后,分别在第 5,10,15,20 天测量瘤块直径。抑瘤效果见图 1。激光照射组和非激光照射组比较 $P < 0.01$,差异有统计学意义。

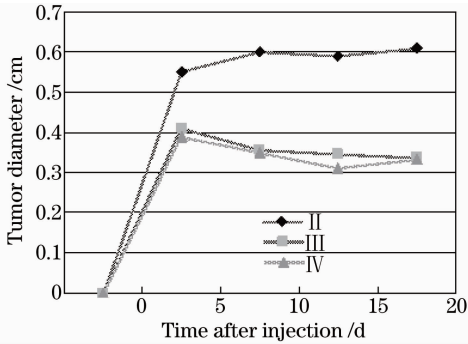


图 1 各组小鼠肿瘤生长曲线

Fig. 1 Growth curves of tumor in different groups

3.2 淋巴细胞增殖

如图 2 所示,II 组的淋巴细胞增殖率明显低于 I 组,III 组和 IV 组增殖率明显高于 II 组($P < 0.01$),但 III 组和 IV 组间无明显差别($P > 0.05$)。

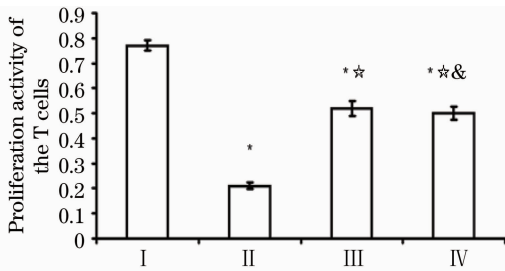


图 2 MTT 法检测 CD59-mAb 对 T 细胞体外增殖的影响($n=3$)

Fig. 2 Proliferation of T cells detected by MTT staining

3.3 CD59 在 T 细胞表面的免疫组化结果及平均光密度值

如图 3 所示,免疫组化阳性染色细胞为灰色,CD59 着色主要定位于细胞膜。比较平均光密度值(表 1),III,IV 组着色强度虽然仍旧低于 I 组,但

II 组相比明显升高($P < 0.01$),III 组和 IV 组相比差异无统计学意义($P > 0.05$)。表明激光照射后的小鼠 T 细胞 CD59 表达量虽然还是低于正常小鼠,但是高于未照射组。

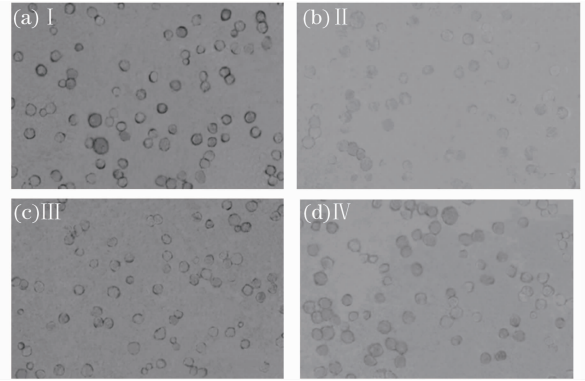


图 3 CD59 蛋白在各组小鼠 T 细胞上的表达

Fig. 3 Expression of CD59 protein on T cells of mice

表 1 各组 T 细胞 CD59 蛋白的平均光密度值

Table 1 OD values of CD59 on T cells of different groups ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Groups	CD59 protein(OD)
I	0.4608 ± 0.0160
II	0.2512 ± 0.0163
III	0.3183 ± 0.0112
IV	0.3220 ± 0.0144

3.4 T 细胞表面 CD59 的免疫荧光检测结果

图 4 为 4 组 T 细胞表面 CD59 特异荧光的表达情况。免疫荧光结果判定:根据特异荧光强弱依次用弱阳性(±)、阳性(+)、强阳性(++)表示,无特异性荧光的为阴性(-),随机观察 4 个视野,并根据荧光强度记分: n 为视野中细胞数,阴性为 0 分,弱阳性为 1 分,阳性为 2 分,强阳性为 3 分。打分结果显示(表 2),II 组荧光表达较 I 组和 III 组,IV 组明

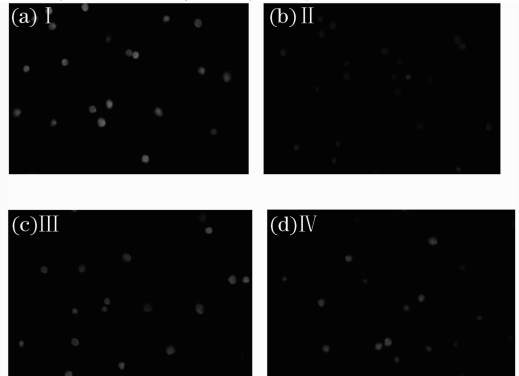


图 4 4 组 T 细胞 CD59 免疫荧光表达的比较

Fig. 4 CD59 expression on T cells of mice detected by immunofluorescence staining

显减弱,Ⅲ组Ⅳ组荧光虽然还是弱于Ⅰ组,但明显强于Ⅱ组,差别有统计学意义($P < 0.01$)。Ⅲ组和Ⅳ组间差别无统计学意义($P > 0.05$)。

表 2 4 组 T 细胞的 CD59 荧光值

Table 2 Fluorescence values of T cells of mice determined by immunofluorescence staining

Group	n	CD59		
		±	+	++
I	165	19	141	5
II	170	144	26	0
III	159	105	64	0
IV	173	110	62	1

3.5 各组 T 细胞分泌 IL-2 情况

如图 5 所示,经 CD59-mAb 作用后,Ⅱ组 IL-2 水平明显低于Ⅰ组($P < 0.01$),经激光照射后的 T 细胞分泌的 IL-2 水平比较荷瘤组有升高。Ⅲ组和Ⅳ组之间无明显差别($P > 0.05$)。

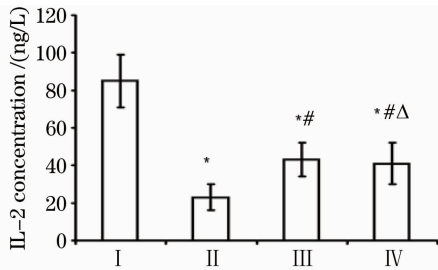


图 5 CD59 单抗对 4 组 T 细胞 IL-2 的影响

Fig. 5 Effect of CD59-mAb on IL-2 level of T cells in the 4 groups

3.6 激光共聚焦检测钙离子浓度变化情况

如图 6 和表 3 所示,在同样因素刺激下(加 CD59-mAb),正常对照组 T 细胞接受刺激产生钙离子浓度明显高于Ⅱ组 T 细胞($P < 0.01$);激光照射组钙离子浓度虽然仍旧低于正常组,但明显高于荷瘤

组($P < 0.01$)。Ⅲ组,Ⅳ组之间无明显差异($P > 0.05$)。

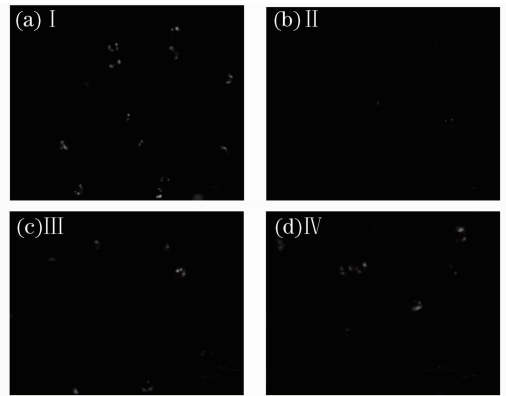


图 6 Ca^{2+} 在 T 细胞的浓度变化(400×)

Fig. 6 Changes of Ca^{2+} concentration in T cells of mice (400×)

表 3 CD59-mAb 对小鼠 T 细胞 Ca^{2+} 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Effect of CD59-mAb on Ca^{2+} concentration in T cells of mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Group	0 min / %	CD59-mAb / %
I	100	410.1 ± 44
II	100	266.0 ± 63
III	100	322.5 ± 34
IV	100	330.7 ± 48 *

3.7 流式细胞术检测 CD59-mAb 作用后活化的 CD_{25}^{+} T 细胞水平

图 7 为流式细胞术检测 CD59-mAb 作用后活化的 CD_{25}^{+} T 细胞水平,图(a)为 4 组细胞 CD59-mAb 作用后的总比较,Ⅲ组,Ⅳ组曲线相对Ⅱ组明显右移,接近Ⅰ组。由图(b)可见,Ⅲ组,Ⅳ组活化的 CD_{25}^{+} T 细胞数无明显差异($P > 0.05$),但明显高于Ⅱ组($P < 0.01$)。由图(c)可见,Ⅰ组活化的 CD_{25}^{+} T 细胞数明显高于Ⅱ组($P < 0.01$)。

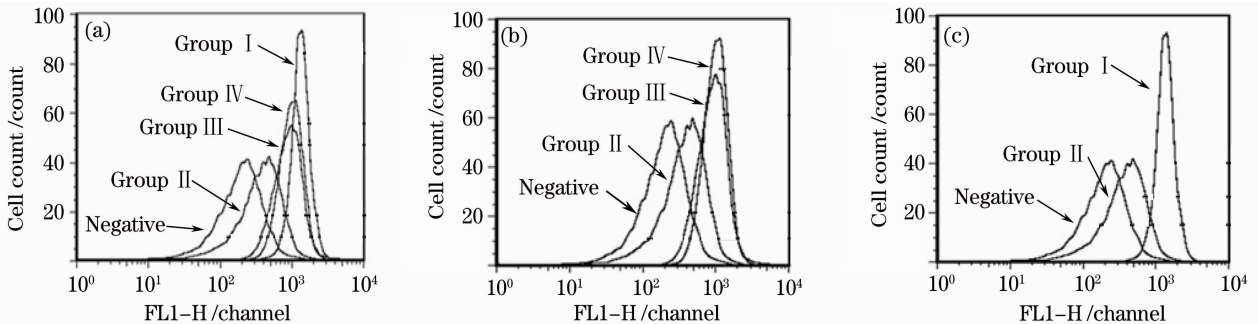


图 7 流式细胞术检测活化的 CD_{25}^{+} T 细胞情况

Fig. 7 Level of CD_{25}^{+} T cells detected by flow cytometer

4 分析与讨论

4.1 CD59 与 T 细胞信号转导

CD59 广泛分布于体内多种细胞表面,除了已被广泛认知的调节补体功能外,作为 GPI 锚固蛋白,还具有细胞信号传导的功能^[9]。国内外大量研究可证实:1)在氨基酸水平上,CD59 与鼠类的 T 细胞激活蛋白相似,这为其可能在 T 细胞信号传导中发挥作用提供证据^[10];2)人 CD59 经特异单克隆抗体交联后,可引起钙离子的释放及脂筏相关信号分子的活化,如酪氨酸激酶^[9];3)中性粒细胞表达的 CD59 用特异抗体交联后,也有特异酪氨酸激酶活化^[11]。

4.2 氩氦激光对 T 细胞 CD59 表达的影响

实验证明温度可引起 T 细胞表面 CD59 的变化^[12],辐射可以影响免疫细胞的活性^[13],而低功率氩氦激光具有热、磁、压等光化学效应,可以对免疫细胞的活化信号产生影响。激光照射能增强机体的代谢过程,增强酶的活性,加速蛋白合成,可以引起各种细胞反应途径包括蛋白激活、去磷酸化、第二信使(Ca^{2+} , cAMP)变化,可以在 T 细胞生长活化过程中发挥有效作用,对 T 细胞的活化信号产生影响。我们通过建立肿瘤模型,采用免疫荧光和免疫组化的方法检测小鼠 T 细胞 CD59,发现氩氦激光照射组的 T 细胞 CD59 表达量明显高于未经照射组。

4.3 激光照射与 T 细胞增殖

T 细胞发挥正常免疫功能的基础是增殖活化。近年来有实验证明,胸腺区激光照射能够影响淋巴细胞的活性^[14]。本研究检测 T 细胞经 CD59-mAb 刺激后的增殖情况,结果表明,正常组 T 细胞增殖明显强于荷瘤组,激光照射组增殖强于未经照射组。可见,荷瘤小鼠 T 细胞 CD59 表达低于正常小鼠,经胸腺激光照射后 CD59 表达增加,T 细胞活化信号增强,其分化为效应 T 细胞能力升高。此外;CD25 是 T 细胞中期活化抗原,白细胞介素 2 受体(IL-2R) α 链,静息 T 细胞表达很少,活化后则大量诱导表达,与 IL-2R β 、IL-2R γ 链共同构成高亲和力的 IL-2R,以供 IL-2 结合并选择性支持经抗原刺激而活化的 T 细胞进行扩增^[15]。由此可见,CD25 是 T 细胞活化的标志之一。用 CD59-mAb 刺激 T 淋巴细胞活化为 CD25⁺ T 细胞,结果显示,正常小鼠 T 细胞经 CD59-mAb 作用后活化为 CD25⁺ T 细胞的量要高于荷瘤小鼠组;激光照射组活化为 CD25⁺ T 细胞的量要高于未照射组。这种差异是由于 CD59 的量的

不同而造成的。

4.4 激光照射对 T 细胞钙离子浓度和 IL-2 的影响

刺激 CD59 可对 T 细胞的钙离子浓度和 IL-2 产生影响^[9]。T 细胞活化信号的传导过程中,CD59 发挥作用的可能机制为:1)作为 CD2 的第二配体,参与 T 细胞的黏附;2)与细胞膜微结构域-脂筏-为淋巴细胞抗原受体介导的信号传导提供平台;3)作为一种共刺激分子,参与 T 细胞的活化;CD59 活化导致 TCR/ZAP70 亚单位活化。而后 PLC- γ 途径发挥重要作用,活化的 PLC- γ 通过分解二磷酸磷脂酰基醇(PIP2),激活三磷酸肌醇(IP3)和二酰基甘油(DAG)。前者使细胞内钙持续升高,后者激活蛋白激酶 C(PKC)。Ca²⁺ 作为细胞内第二信使,其作用的分子基础是与钙调蛋白(CaM)结合形成 Ca²⁺-CaM 复合物,激活其靶酶,向下游传递信号。这两种信号协同刺激激活 IL-2 基因转录所需要的因子,IL-2 上调也为 T 细胞活化标志之一^[16,17]。本研究以 CD59-mAb 作用 T 细胞,产生钙流,且经过激光照射后的荷瘤组钙离子浓度升高程度明显强于未照射组;以 CD59-mAb 作用 T 细胞后,IL-2 表达亦符合此结果。从而再次证实激光照射后荷瘤小鼠 T 细胞 CD59 的表达增加,活化信号增强。

5 结 论

在肿瘤机体内,T 淋巴细胞的 CD59 分子表达量减少,导致 T 细胞活化信号传导受抑,造成机体的低免疫状态,是肿瘤逃逸的重要机制之一。但经由低强度氩氦激光照射后 CD59 表达量增加,一定程度上改善了 T 细胞的功能状态,提高了机体对抗肿瘤的能力。本研究为肿瘤的发展、免疫逃逸及靶向治疗提供了理论和实验依据,为氩氦激光的临床治疗提供了新的思路与证据,具有一定的理论价值。

参 考 文 献

- Xuexiang Shi, Bei Zhang, Jinlin Zang *et al.*. CD59 silencing via retrovirus-mediated RNA interference enhanced complement-mediated cell damage in ovary cancer[J]. *Cellular & Molecular Immunology.*, 2009, **6**(1): 61~66
- F. C. Kimberley, B. Sivasankar, B. Paul Morqan. Alternative roles for CD59[J]. *Mol. Immunol.*, 2007, **44**(1-3): 73~81
- Qin Cheng, Cai Xiaoyong. Research progression on complement regulatory proteins CD46, CD55, and CD59 in tumor immunotherapy [J]. *Chinese J. Cancer.*, 2006, **25** (11): 1450~1453
- 秦 诚,蔡小勇. 补体调节蛋白 CD46、CD55 及 CD59 在肿瘤免疫治疗中的研究进展[J]. *癌症*, 2006, **25**(11): 1450~1453
- M. Paula Longhi, B. Sivasankar, Nader Omidvar *et al.*. Murine CD59a modulates anti-viral CD4 + T cell activity in a

- complement-Independent Manner [J]. *J. Immunol.*, 2005, **175**(11): 7098~7102
- 5 Karel Drbal, Manuel Moertelmaier, Christa Holzhauser *et al.*. Single-molecule microscopy reveals heterogeneous dynamics of lipid raft components upon TCR engagement[J]. *International Immunology.*, 2007, **19**(5): 675~684
- 6 Shi Yuwei, Fu Meilan, Halida *et al.*. Detection and significance of CD55~+ and CD59~+ in the erythrocyte and body fluid immunity sign with acute leukemia[J]. *J. Xinjiang Medical University.*, 2008, **31**(7): 826~830
石雨薇,付美兰,哈利达等. 急性白血病红细胞 CD55、CD59 分子的检测及意义[J]. 新疆医科大学学报, 2008, **31**(7): 826~830
- 7 Yang Xiaohong, Liu Chengyi, Liu Shaojie *et al.*. Photobiomodulation on chondrocyte proliferation: in vitro evaluation[J]. *Chinese J. Lasers*, 2006, **33**(12): 1692~1698
杨小红,刘承宜,刘少杰等. 软骨细胞光生物调节作用的体外实验[J]. 中国激光, 2006, **33**(12): 1692~1698
- 8 Fu Chunmao, Sun Xinhua. Effects of He-Ne laser irradiation on vascular endothelial cell growth factor R-2 expression in periodontium of tooth movement in rabbits [J]. *Chinese J. Lasers*, 2008, **35**(1): 156~160
付春茂,孙新华. 氦氖激光照射对兔正畸牙周组织中血管内皮细胞生长因子受体-2 表达的影响[J]. 中国激光, 2008, **35**(1): 156~160
- 9 P. E. Korty, C. Brando, E. M. Shevach. CD59 functions as a signal-transducing molecule for human T cell activation[J]. *J. Immunol.*, 1991, **146**(12): 4092~8
- 10 H. Okada, Y. Nagami, K. Takahashi *et al.*. 20 KDa homologous restriction factor of complement resembles T cell activating protein[J]. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1989, **162**(3): 1553~1559
- 11 C. W. van den Berg, T. Cinek, M. B. Hallett *et al.*. Exogenous CD59 incorporated into U937 cells through its glycosyl phosphatidylinositol anchor becomes associated with signaling molecules in a time dependent manner [J]. *Biochem. Soc. Trans.*, 1995, **23**(2): 269S
- 12 Yong Chen, Jie Qin, Jiye Cai *et al.*. Cold induces micro- and nano-scale reorganization of lipid raft markers at mounds of T cell membrane fluctuations[J]. *Plos One.*, 2009, **4**(4): 1~12
- 13 Shuji Kojima. Induction of glutathione and activation of immune functions by low-dose, whole-body irradiation with γ -Rays [J]. *Yakugaku Zasshi.*, 2006, **126**(10): 849~857
- 14 E. G. Novoselova, O. V. Glushkova, D. A. Cherenkov *et al.*. Effects of low-power laser radiation on mice immunity [J]. *Photodermatol. Photoimmunol Photomed.*, 2006, **22**(1): 33~38
- 15 A. Gonzalez-Garcia, I. Merida, A. C. Martinez *et al.*. Intermediate affinity interleukin-2 receptor mediates survival via a phosphatidylinositol3-Kinase-dependent pathway[J]. *Biolchem.*, 1997, **272**(15): 10220~10226
- 16 Huang Baoxu, Wang Hongbin, Liu Huanqi *et al.*. Study on the effects of He-Ne laser irradiation on the activity of humoral immune factors IL-2 in mice [J]. *Chinese J. Lasers*, 2004, **31**(2): 249~252
黄保续,王洪斌,刘焕奇等. 氦氖激光对鼠体液免疫因子 IL-2 影响的实验研究[J]. 中国激光, 2004, **31**(2): 249~252
- 17 S. L. Gaffen, K. D. Liu. Overview of interleukin-2 function, production and clinical applications[J]. *Cytokine.*, 2004, **28**(3): 109~23