

· 临床研究 ·

Tim3 在再生障碍性贫血和骨髓增生异常综合征鉴别诊断中的意义

王方方^{1,2}, 杭筱², 施青青¹, 孙幸¹, 郁多男^{2*}

¹扬州大学临床医学院, 江苏 扬州 225001; ²扬州大学医学院江苏省非编码 RNA 基础与临床转化重点实验室, 江苏 扬州 225009

[摘要] 目的:探究T细胞免疫球蛋白黏液素(T cell immunoglobulin and mucin, Tim)3在再生障碍性贫血(aplastic anemia, AA)和骨髓增生异常综合征(myelodysplastic syndrome, MDS)鉴别诊断中的意义。方法:流式细胞术检测24例AA患者、20例MDS患者和17例健康对照者外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cells, PBMC)中CD4⁺Tim1⁺和CD4⁺Tim3⁺细胞比例。实时荧光定量PCR检测AA、MDS患者和健康对照者PBMC中Tim3 mRNA和S型凝集素半乳糖凝集素9(galactin-9, Gal-9) mRNA表达水平。结果:健康对照者、AA和MDS患者PBMC中CD4⁺Tim1⁺细胞比例差异无统计学意义;MDS患者的CD4⁺Tim3⁺细胞比例明显高于AA患者和健康对照者($P < 0.05$);高危组MDS患者CD4⁺Tim3⁺细胞比例明显高于低中危组MDS患者($P < 0.01$)和健康对照者($P < 0.05$);健康对照者、AA和MDS患者的Tim3 mRNA和Gal-9 mRNA水平差异无统计学意义。结论:MDS患者Tim3表达水平明显高于AA患者,并与疾病危险度有关,提示Tim3可能参与MDS的发病,并可能成为临床鉴别AA与MDS的标志物。

[关键词] T细胞免疫球蛋白黏液素3;再生障碍性贫血;骨髓增生异常综合征

[中图分类号] R551.3

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2020)03-403-06

doi:10.7655/NYDXBNS20200318

The clinical significance of Tim3 in differential diagnosis of aplastic anemia and myelodysplastic syndrome

WANG Fangfang^{1,2}, HANG Xiao², SHI Qingqing¹, SUN Xing¹, YU Duonan^{2*}

¹Clinical Medical College, Yangzhou University, Yangzhou 225001; ²Jiangsu Key Laboratory of Experimental & Translational Non-coding RNA Research, College of Medicine, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China

[Abstract] **Objective:** This study aims to investigate the clinical significance of Tim3 in differential diagnosis of aplastic anemia (AA) and myelodysplastic syndrome (MDS). **Methods:** The proportion of CD4⁺Tim1⁺ and CD4⁺Tim3⁺ cells in peripheral blood mononuclear cells (PBMC) from 24 AA patients, 20 MDS patients, and 17 normal controls were detected by flow cytometry. Real time qPCR was performed to examine Tim3 mRNA and Gal-9 mRNA levels in PBMC. **Results:** There was no difference of the proportion of CD4⁺Tim1⁺ cells in PBMC among normal control, AA, and MDS groups; The proportion of CD4⁺Tim3⁺ cells in MDS patients was significantly higher than that in patients from AA and control groups ($P < 0.05$); The percentage of CD4⁺Tim3⁺ cells was significantly increased in high-risk MDS patients compared with that in low- or medium-risk MDS patients ($P < 0.01$) and healthy controls ($P < 0.05$). There was no difference of Tim3 mRNA and Gal-9 mRNA levels in PBMC among normal control group, AA group, and MDS group. **Conclusion:** Tim3 in MDS patients is significantly higher than that in AA patients and is related to the risk of disease. These findings suggest that Tim3 might be involved in the pathogenesis of MDS and might be utilized as a marker to distinguish AA and MDS.

[Key words] T cell immunoglobulin and mucin 3; aplastic anemia; myelodysplastic syndrome

[J Nanjing Med Univ, 2020, 40(03):403-408]

[基金项目] 江苏省苏北人民医院基金(yzucms201410)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: dnyu@yzu.edu.cn

再生障碍性贫血(aplastic anemia, AA)是一种少见的、危及生命的骨髓衰竭性疾病,以全血细胞减少、骨髓增生低下为特征^[1]。骨髓增生异常综合征(myelodysplastic syndrome, MDS)是一类髓系克隆性疾病,以骨髓病态造血和向急性髓系白血病(acute myeloid leukemia, AML)转化为特征^[2]。部分MDS临床表现与AA相似,均表现为血细胞减少、骨髓增生低下^[3],仅凭骨髓细胞形态学观察很难鉴别两者。随着我们对AA和MDS认识的深入和实验室检测方法的增多,如细胞遗传学、流式细胞学及二代测序技术的出现,一定程度上降低了两者的误诊率。但临床上常遇到存在异常染色体核型的AA和细胞遗传学无异常的MDS,如何准确诊断这类患者十分困难。

研究表明,T细胞亚群数量、功能的异常参与AA与MDS的发生发展^[1,4]。AA患者CD4⁺细胞减少,未治或难治的AA患者辅助性T细胞(T helper cell, Th)1增殖,Th2无变化,Th1/Th2比例失衡。AA患者疾病缓解期的Th1细胞下降,Th1/Th2比例趋于正常^[5-6]。MDS患者CD4⁺细胞异常扩增,与正常人具有显著差异^[4,7]。Th1细胞特异性表达T细胞免疫球蛋白黏液素(T cell immunoglobulin and mucin, Tim)3, Tim3与其配体S型凝集素半乳糖凝集素9(galactin-9, Gal-9)结合,诱导Th1细胞死亡,负调控Th1免疫反应^[8]。因此本研究拟通过检测AA和MDS患者外周血CD4⁺T细胞的Tim1、Tim3及其配体,探索Tim3在AA与MDS两种疾病鉴别诊断中的作用,为临床诊断提供依据。

1 对象和方法

1.1 对象

选择本院2015年2月—2019年12月确诊为AA和MDS的患者及健康体检人员,采集外周血4 mL。所有患者的诊断均符合疾病诊断标准^[9-10]。AA患者(AA组)共24例,男10例,女14例;中位年龄45.5岁

(10~75岁);其中重型再生障碍性贫血(severe aplastic anemia, SAA) I型14例, SAA- II型7例,纯红再生障碍性贫血(pure red aplastic anemia, PRAA)3例。MDS患者(MDS组)共20例,男13例,女7例;中位年龄72.5岁(30~88岁);根据修订的国际预后评分系统(Revised International Prognostic Scoring System, IPSS-R),将MDS患者分为低中危组(≤ 4.5 分, $n=8$)和高危组(>4.5 分, $n=12$)^[11]。正常对照组17例,男10例,女7例;中位年龄44岁(22~63岁)。本研究获得江苏省苏北人民医院伦理委员会批准,所有患者知情同意。

红细胞裂解液(Cat:KGP11100,江苏凯基生物技术股份有限公司);抗人CD4-FITC(REF:11004842)和抗人Tim3-PE(REF:12310942)抗体(eBioscience公司,美国),抗人Tim1-PE(Cat:353904)(BioLegend公司,美国);cDNA逆转录试剂盒(Cat:KR10602)和SYBR Green PCR试剂盒(Cat:FP20502)(北京天根生化科技有限公司);引物由上海生工生物工程股份有限公司合成,引物序列^[12]见表1。

1.2 方法

1.2.1 外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMC)制备

取外周血4 mL,分装2管,EDTA抗凝。每管加入红细胞裂解液2 mL,避光反应5 min, PBS洗涤1次,离心弃上清, PBS重悬备用。

1.2.2 流式细胞学分析

取制备好的PBMC悬液100 μ L,加入CD4、Tim1、Tim3抗体,室温避光孵育15 min, PBS洗涤1次,离心弃上清,加入200 μ L PBS重悬,流式细胞仪检测。

1.2.3 实时荧光定量PCR

用TRIzol试剂提取PBMC总RNA,溶解在20 μ L无RNA酶的蒸馏水中。1 μ g总RNA反转录成cDNA, -20 $^{\circ}$ C储存。参照SYBR Green PCR试剂盒说明,反应体系为:2 \times Super Real Color Pre Mix 10.0 μ L, 上下游引物各0.6 μ L, cDNA模板2.0 μ L, 50 \times ROX

表1 实时荧光定量PCR检测Tim3、Gal-9和 β -actin的引物序列
Table 1 Primer sequences of Tim3, Gal-9 and β -actin for real-time qPCR

基因名称	基因序列(5'→3')	产物大小(bp)
Tim3	上游:TCCAAGGATGCTTACCACCAG	119
	下游:AATCTAGAGTCCCGTAATCTCATTTGGC	
Gal-9	上游:GATGAGAATGCTGTGGTCCG	259
	下游:GAAGCCGCCTATGTCTGCA	
β -actin	上游:GATGAGATTGGCATGGCTTT	99
	下游:CACCTTCACCGTTCCAGTTT	

Reference Dye 0.4 μL , 无 RNA 酶蒸馏水定容至 20.0 μL 。应用 ABI7500 荧光定量 PCR 仪器, 扩增 Gal-9 和 Tim3, 扩增条件为: 95 $^{\circ}\text{C}$ 15 min, 95 $^{\circ}\text{C}$ 10 s, 60 $^{\circ}\text{C}$ 2 s, 40 个循环。

1.3 统计学方法

采用 Excel 2010 和 SPSS 22.0 进行数据分析, 数据用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 两组样本比较采用 t 检验; 多组样本比较采用方差分析。 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。 Excel 2010 和 Adobe Photoshop 软件绘图。

2 结果

2.1 AA 和 MDS 患者临床资料

表 2 显示 AA 组和 MDS 组患者的年龄、中性粒细胞绝对值和血小板差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。 AA 组患者年龄较 MDS 组小; AA 组患者的中

性粒细胞绝对值和血小板数量较 MDS 组患者明显降低。 AA 组网织红细胞数量低于 MDS 组患者, 但差异无统计学意义 (表 2)。

2.2 正常对照组、AA 组和 MDS 组患者 PBMC 中 CD4⁺Tim1⁺和 CD4⁺Tim3⁺细胞比例

将制备好的 PBMC 悬液标记 CD4 抗体, 分析 CD4⁺Tim1⁺和 CD4⁺Tim3⁺细胞百分比 (图 1)。 流式细胞术检测结果显示, AA 组和 MDS 组患者外周血 CD4⁺Tim1⁺细胞较正常对照组高, 但差异无统计学意义; AA 和 MDS 两组 CD4⁺Tim1⁺细胞比例差异亦无统计学意义 (图 1C 和图 2A); 而 MDS 患者的 CD4⁺Tim3⁺细胞比例增高, 是 AA 组和正常对照组的 2 倍以上, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$, 图 1D 和图 2B)。

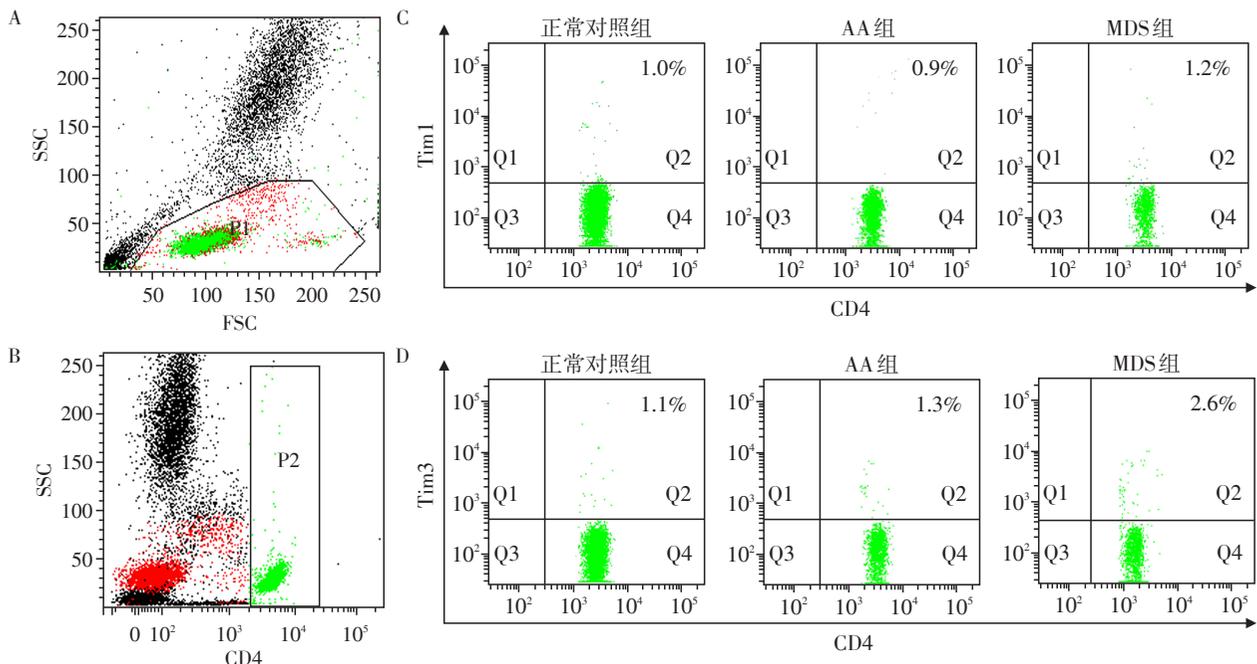
2.3 正常对照组和不同危险组 MDS 患者 PBMC 中 CD4⁺Tim3⁺细胞比例

根据 IPSS-R 积分将 MDS 分为低中危组 (≤ 4.5 分)

表 2 AA 和 MDS 患者的临床资料

Table 2 Clinical characteristics of AA and MDS patients

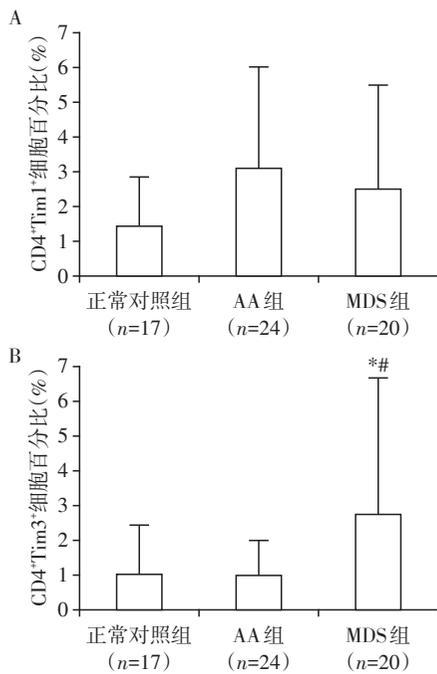
组别	例数	中位年龄(岁)	白细胞($\times 10^9/\text{L}$)	中性粒细胞绝对值($\times 10^9/\text{L}$)	血红蛋白(g/L)	血小板($\times 10^9/\text{L}$)	网织红细胞($\times 10^{12}/\text{L}$)
AA 组	24	45.5	2.6 ± 1.8	1.2 ± 1.6	60.2 ± 21.5	38.0 ± 71.9	0.062 ± 0.112
MDS 组	20	72.5	5.3 ± 8.3	3.1 ± 4.7	67.2 ± 31.8	100.4 ± 135.3	0.108 ± 0.237
P 值		<0.001	0.07	<0.05	0.20	<0.05	0.21



A: 显示设门的 P1 群细胞为淋巴细胞; B: 显示设门的 P2 群细胞为 CD4⁺的淋巴细胞; C: 正常对照组 CD4⁺Tim1⁺细胞为 1.0%, AA 组 CD4⁺Tim1⁺细胞为 0.9%, MDS 组 CD4⁺Tim1⁺细胞为 1.2% (分别为 1 例样本结果); D: 正常对照组 CD4⁺Tim3⁺细胞为 1.1%, AA 组 CD4⁺Tim3⁺细胞为 1.3%, MDS 组 CD4⁺Tim3⁺细胞为 2.6% (分别为 1 例样本结果)。

图 1 流式细胞术检测各组 PBMC 中 CD4⁺Tim1⁺和 CD4⁺Tim3⁺细胞

Figure 1 The percentages of CD4⁺Tim1⁺ and CD4⁺Tim3⁺ cells in PBMC of each group by flow cytometry



A: AA和MDS组患者PBMC中CD4⁺Tim1⁺细胞比例差异无统计学意义; B: MDS患者PBMC中CD4⁺Tim3⁺细胞比例高于AA组和正常对照组,与正常对照组比较,**P* < 0.05;与AA组比较,**P* < 0.05。

图2 各组PBMC中CD4⁺Tim1⁺和CD4⁺Tim3⁺细胞比例
Figure 2 The percentages of CD4⁺Tim1⁺ and CD4⁺Tim3⁺ cells in PBMC of each group

和高危组(>4.5分),进一步研究了这两组患者的CD4⁺Tim3⁺细胞的比例。结果显示高危组MDS患者CD4⁺Tim3⁺细胞比例明显高于低中危组(*P* < 0.01)和正常对照组(*P* < 0.05,图3)。

2.4 AA组、MDS组患者Tim3 mRNA和Gal-9 mRNA的表达

为进一步了解AA与MDS患者Tim3的表达情况,我们采用实时荧光定量PCR的方法检测了

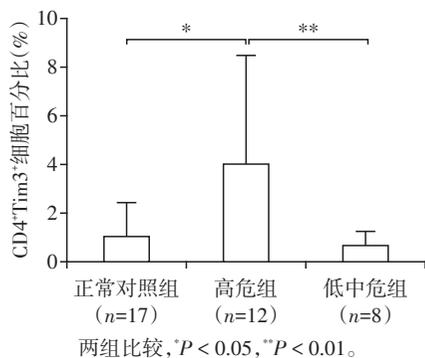


图3 正常对照组和不同危险组MDS患者PBSC中CD4⁺Tim3⁺细胞的比例

Figure 3 The percentages of CD4⁺Tim3⁺ cells in PBSC of controls and patients with MDS in different risk groups

PBMC中Tim3 mRNA水平。结果显示AA组和MDS组患者的Tim3 mRNA水平差异无统计学意义(图4A)。同时,我们检测了Tim3配体Gal-9 mRNA的表达,结果显示两组的Gal-9 mRNA水平差异亦无统计学意义(图4B)。

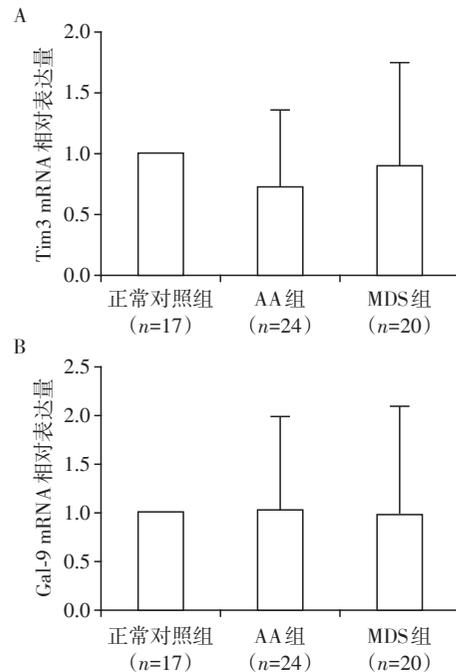


图4 各组Tim3 mRNA(A)和Gal-9 mRNA(B)相对表达水平
Figure 4 The relative expression of Tim3 mRNA (A) and Gal-9 mRNA (B) in each group

3 讨论

AA和部分MDS如低增生型MDS均为骨髓造血功能衰竭性疾病,临床表现上有许多相似之处,但这两种疾病的治疗及预后存在着显著差异,而且由免疫介导的AA最终可发展为典型的8号染色体三体或7号染色体缺失的MDS^[13]。因此,两者的早期鉴别诊断至关重要。目前,多数学者认为AA和MDS的致病机制与T淋巴细胞亚群功能异常有关^[14]。Th1淋巴细胞在AA发病中占主导地位,未治或难治性AA患者Th1细胞比例明显增高,Th1/Th2比例倒置^[5]。这种Th1极化是否与Tim3相关存在争议^[12,15]。MDS患者T细胞免疫异常^[14,16],氮杂胞苷治疗后,异常的CD4⁺T细胞亚群逐渐恢复^[17]。Tim1在Th2细胞上特异性表达,与配体结合后刺激Th2细胞增殖,促进细胞因子分泌。Tim3在Th1细胞上表达,与配体Gal-9结合后负性调控Th1细胞免疫反应。Th1/Th2比例失衡可诱导免疫性疾病的发生发展,如类风湿关节炎、炎症性肠病等^[18]。因此,观察

患者的Tim1和Tim3不仅有助于了解疾病的T细胞免疫状况及后续治疗的选择,而且可能是一种简便、快捷的鉴别诊断方法。

本研究从蛋白水平和mRNA水平检测了AA和MDS患者的外周血CD4⁺Tim3⁺的表达情况。流式细胞术检测Tim3的蛋白表达水平,结果显示与健康对照者和AA患者相比,MDS的CD4⁺Tim3⁺细胞比例明显升高。我们推测Tim3可能参与调控MDS的T细胞免疫功能。Fu等^[14]研究44例MDS患者的免疫功能,发现与正常对照组和低危组MDS患者相比,高危组MDS患者Tim3在Th1细胞、Th7细胞和Treg细胞中均明显增高,而且Tim3⁺Treg细胞分泌的β-转化生长因子(transforming growth factor-β, TGF-β)水平显著降低。本研究也比较了低中危组和高危组MDS患者的CD4⁺Tim3⁺细胞比例,结果与Fu等^[14]研究结果一致,高危组MDS患者的CD4⁺Tim3⁺细胞明显增多。这些研究结果均提示Tim3通过调控相关免疫细胞影响MDS患者的免疫功能。研究中发现MDS患者的Tim3 mRNA水平与健康对照者和AA患者相比并无显著性差异,但流式细胞检测结果显示Tim3蛋白水平升高,这说明MDS患者Tim3的表达可能受到转录后的调控,具体机制有待进一步研究。

Tim3与Gal-9结合诱导T细胞凋亡,负性调控T细胞免疫,导致抗肿瘤免疫功能受抑^[19-20]。正常情况下, Tim3、Gal-9水平保持平衡状态,当肿瘤发生时, Tim3、Gal-9表达异常,引起疾病进展、影响预后。在骨肉瘤患者中,多种免疫细胞包括CD4⁺T细胞、CD8⁺T细胞、单核细胞和肿瘤相关巨噬细胞(tumor-associated macrophage, TAM)均表达高水平的Tim3, Gal-9在肿瘤浸润的CD4⁺T细胞和CD25⁺Tregs细胞中亦增高。Tim3⁺单核细胞与CD4⁺T细胞共培养, γ干扰素(interferon gamma, IFNγ)分泌减少,抗体阻断Tim3后,与Tim3⁺单核细胞共培养的CD4⁺T细胞分泌更多的IFNγ^[21]。Wang等^[22]报道587例胃癌患者中,有肿瘤浸润的淋巴细胞较非肿瘤浸润的淋巴细胞表达更高的Tim3,中位随访48个月,发现Tim3高表达Gal-9低表达的患者总生存率明显降低。在食管鳞状细胞癌患者中, Tim3高表达是不良预后因素, Tim3高表达Gal-9低表达的食管鳞状细胞癌患者的疾病相关生存期明显缩短^[23]。本研究检测了AA和MDS患者PBSC的Gal-9 mRNA表达水平,尽管两组Gal-9 mRNA表达无差异性,但MDS患者Tim3表达明显增高,且与疾病危险程度有关,因此推测, Tim3可能参与MDS的发生发展,且可能成

为鉴别AA与MDS的标志物之一。

综上所述, AA和MDS的免疫异常涉及多种免疫因子,其中外周血Tim3为临床上鉴别AA和MDS提供了重要的参考依据。以Tim3为主要鉴别点,结合临床表现、其他辅助检查甚至治疗效果进行综合分析,可大大提高鉴别AA和MDS的准确性。

[参考文献]

- [1] WANG L, LIU H. Pathogenesis of aplastic anemia [J]. *Hematology*, 2019, 24(1): 559-566
- [2] NATELSON EA, PYATT D. Acquired myelodysplasia or myelodysplastic syndrome: clearing the fog [J]. *Adv Hematol*, 2013, 2013: 309637
- [3] LEW J L, FENDERSON J L, CARMICHAEL M G. Next-generation gene sequencing differentiates hypoplastic myelodysplastic syndrome from aplastic anemia [J]. *Hawaii J Med Public Health*, 2017, 76(11 Suppl 2): 10-12
- [4] FOZZA C, LONGINOTTI M. The role of T-cells in the pathogenesis of myelodysplastic syndromes: passengers and drivers [J]. *Leuk Res*, 2013, 37(2): 201-203
- [5] GIANNAKOULAS N C, KARAKANTZA M, THEODOROU G L, et al. Clinical relevance of balance between type 1 and type 2 immune responses of lymphocyte subpopulations in aplastic anaemia patients [J]. *Br J Haematol*, 2004, 124(1): 97-105
- [6] SCHOETTLER M L, NATHAN D G. The pathophysiology of acquired aplastic anemia: current concepts revisited [J]. *Hematol Oncol Clin North Am*, 2018, 32(4): 581-594
- [7] ZHANG H F, HUANG Z D, WU X R, et al. Comparison of T lymphocyte subsets in aplastic anemia and hypoplastic myelodysplastic syndromes [J]. *Life Sci*, 2017, 189: 71-75
- [8] FERNANDEZ-SANTAMARÍA R, PALOMARES F, SALAS M, et al. Expression of the Tim3-galectin-9 axis is altered in drug-induced maculopapular exanthema [J]. *Allergy*, 2019, 74(9): 1769-1779
- [9] ARBER D A, ORAZI A, HASSERJIAN R, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia [J]. *Blood*, 2016, 127(20): 2391-2405
- [10] 中华医学会血液学分会红细胞疾病(贫血)学组. 再生障碍性贫血诊断与治疗中国专家共识(2017年版) [J]. *中华血液学杂志*, 2017, 38(1): 1-5
- [11] 中华医学会血液学分会. 骨髓增生异常综合征中国诊断与治疗指南(2019年版) [J]. *中华血液学杂志*, 2019, 2(40): 89-97
- [12] ZHANG J, GU Y, XU C, et al. Increased T cell immuno-

globulin mucin-3 and its ligand in acquired aplastic anemia[J]. *Eur J Haematol*, 2008, 81(2):130-139

[13] MACIEJEWSKI J P, SELLERI C. Evolution of clonal cytogenetic abnormalities in aplastic anemia [J]. *Leuk Lymphoma*, 2004, 45(3):433-440

[14] FU R, LI L, HU J, et al. Elevated TIM3 expression of T helper cells affects immune system in patients with myelodysplastic syndrome [J]. *J Investig Med*, 2019, 67(8):1125-1130

[15] SHAN N N, HU Y, LIU X, et al. Imbalanced expression of T-bet and T cell immunoglobulin mucin-3 in patients with aplastic anaemia [J]. *J Clin Immunol*, 2013, 33(4):809-816

[16] 陈丹桂, 许佩佩, 郭丹, 等. 骨髓增生异常综合征疾病进展及急性髓系白血病的免疫变化[J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2018, 38(6):848-852

[17] FOZZA C, CORDA G, BARRAQUEDDU F, et al. Azacitidine improves the T-cell repertoire in patients with myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia with multilineage dysplasia [J]. *Leuk Res*, 2015, 39(9):957-963

[18] ZHU J, YAMANE H, PAUL W E. Differentiation of effector CD4 T cell populations [J]. *Annu Rev Immunol*, 2010, 28:445-489

[19] ZHU C, ANDERSON A C, SCHUBART A, et al. The Tim-3 ligand galectin-9 negatively regulates T helper type 1 immunity [J]. *Nat Immunol*, 2005, 6(12):1245-1252

[20] ZHOU Q, MUNGER M E, VEENSTRA R G, et al. Coexpression of Tim-3 and PD-1 identifies a CD8+ T-cell exhaustion phenotype in mice with disseminated acute myelogenous leukemia [J]. *Blood*, 2011, 117(17):4501-4510

[21] LI X, CHEN Y, LIU X, et al. Tim3/gal9 interactions between T cells and monocytes result in an immunosuppressive feedback loop that inhibits Th1 responses in osteosarcoma patients [J]. *Int Immunopharmacol*, 2017, 44:153-159

[22] WANG Y, ZHAO E, ZHANG Z, et al. Association between Tim-3 and Gal-9 expression and gastric cancer prognosis [J]. *Oncol Rep*, 2018, 40(4):2115-2126

[23] HOU N, MA J, LI W, et al. T-cell immunoglobulin and mucin domain-containing protein-3 and galectin-9 protein expression: potential prognostic significance in esophageal squamous cell carcinoma for Chinese patients [J]. *Oncol Lett*, 2017, 14(6):8007-8013

[收稿日期] 2019-10-21

(上接第389页)

[16] WATCHAREE A, KORNWIPA W. Predominant genotypes and alleles of two functional polymorphisms in the manganese superoxide dismutase gene are not associated with Thai cervical or breast cancer [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2013, 14(6):3955-3961

[17] TONG S Y, LEE J M, SONG E S, et al. Functional polymorphism in manganese superoxide dismutase and antioxidant status: their interactions on the risk of cervical intraepithelial neoplasia and cervical cancer [J]. *Gynecol Oncol*, 2009, 115(2):272-276

[18] MILEO A M, ABBRUZZESE C, MATTAROCCHI S, et al. Human papillomavirus-16 E7 interacts with glutathione S-transferase P1 and enhances its role in cell survival [J]. *PLoS One*, 2009, 4(10):e7254

[收稿日期] 2019-01-15