

· 论著 ·

用 LC-MS/MS 法测定大鼠血浆中大蒜皂苷 PIEB 的浓度及其体内药动学研究

陈浩¹, 李新方², 孙渺², 张钢³, 杨峰² (1. 解放军总医院海南分院药剂科, 海南 三亚 572013; 2. 海军军医大学药学院, 上海 200433; 3. 陆军军医大学高原军事医学系高原医学教育部重点实验室, 重庆 400038)

[摘要] 目的 采用高效液相色谱-质谱(LC-MS/MS)法测定大鼠血浆中大蒜皂苷提取物中大蒜皂苷 Proto-iso-eruboside-B(PIEB)的浓度,并研究其药动学特点。方法 采用 Athena C₁₈-WP 色谱柱(50 mm×2.1 mm, 3 μm),流动相为乙腈-水(含 0.05%甲酸)体系,梯度洗脱,流速 0.3 ml/min。大鼠分别给予低、中、高剂量大蒜皂苷总提取物灌胃及静脉注射单一剂量大蒜皂苷总提取物,给药后在不同的时间点眼眶取血,采用 LC-MS/MS 法测定血药浓度;采用 InnaPhase Kinetica2000™ 软件计算相关药动学参数。结果 大蒜皂苷提取物中的 PIEB 成分在 10~2 430 ng/ml 范围内具有良好的线性关系($r=0.999 1$);方法学考察均符合要求;大鼠静脉给药大蒜皂苷总提取物(50 mg/kg)后,PIEB 即刻在体内达到最大血药浓度,其 $t_{1/2}$ 为 322 min 左右,平均驻留时间(MRT)为 270 min;口服灌胃低、中、高浓度大蒜皂苷总提取物后,PIEB 的 AUC、 c_{max} 等随给药剂量的增加而增大,大蒜皂苷提取物中的 PIEB 成分在大鼠体内的药动学过程符合线性药动学特征。结论 本方法操作简便、结果准确、重复性好,适用于测定大鼠血浆中大蒜皂苷 PIEB 的浓度。

[关键词] 大蒜皂苷 PIEB;高效液相色谱-质谱;药动学;含量测定

[中图分类号] R284.1

[文献标志码] A

[文章编号] 1006-0111(2019)01-0037-05

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2019.01.009

Study on determination and pharmacokinetics of garlic saponins PIEB in the rat plasma by LC-MS/MS

CHEN Hao¹, LI Xinfang², SUN Miao², ZHANG Gang³, YANG Feng² (1. Department of Pharmacy, Hainan Branch of PLA General Hospital, Sanya 572013, China; 2. School of Pharmacy, Naval Medical University, Shanghai 200433, China; 3. College of High Altitude Military Medicine, Army Medical University, Chongqing 400038, China)

[Abstract] **Objective** To establish a method for concentration determination of garlic saponins PIEB in the rat plasma and study the pharmacokinetics of PIEB. **Methods** The separation was performed on a reverse phase Athena C₁₈-WP (50 mm×2.1 mm, 3 μm), with the mobile phase consisted of elution of acetonitrile-water (contain 0.05% formic acid) at a flow rate of 0.3 ml/min. After intravenous and gavage administration, the blood samples of rats were collected in different time, and measured by LC-MS/MS. The pharmacokinetics parameters were calculated by Inna Phase Kinetica2000™ pharmacokinetics software. **Results** There was a good linearity of the calibration curves over the concentration range of 10-2 430 ng/ml ($r=0.999 1$), and the investigation of methodology all accorded with the demands. After intravenous administration of 50 mg/kg PIEB in rats, the maximum concentration of PIEB was achieved immediately. The $t_{1/2}$ of PIEB was about 322 minutes and the MRT was 270 minutes. After oral administration of low, medium and high concentrations of garlic saponin, the AUC and c_{max} increased with the increasing of dosage, which were consistent with the features of linear pharmacokinetics. **Conclusion** The established method was simple, accurate and sensitive, which could be suitable for the contents determination of garlic saponins PIEB in the rat plasma.

[Key words] garlic saponins PIEB; LC-MS/MS; pharmacokinetics; content determination

大蒜是百合科植物大蒜 *Allium sativum* L. 的鳞茎,具有抗菌消炎、降血糖、抗疲劳、防治肿瘤等多

种功效^[1-3]。近期研究发现,大蒜皂苷具有显著的抗缺氧活性,在缺氧引起的急、慢性高原病及其他相关疾病动物模型中表现出良好疗效,可能成为一种有效的高原抗缺氧药物^[4-5]。大蒜皂苷为甾体皂苷,1982年 Smoczkiwicz 在大蒜提取物中检测到甾体皂苷至今,科学家已经从大蒜提取物中分离鉴定了 20 种甾体皂苷,其中大蒜皂苷 PIEB 是大蒜的主要活性成分之一,具有较强的抗缺氧活性^[6]。目前未

[基金项目] 全军后勤科研计划重大项目(AWS14L005)

[作者简介] 陈浩,药师,Email: 562263937@qq.com, Tel: 15692537374

[通讯作者] 杨峰,博士,副教授,研究方向:军事药学,Email: yangfeng1008@126.com

见大蒜皂苷 PIEB 相关药动学研究的报道,对其含量分析的研究报道也较少。为了获得大蒜皂苷提取物中皂苷成分在生物体内的药动力学参数,本研究以 PIEB 为标准物质,建立了 LC-MS/MS 法测定大鼠血浆中大蒜皂苷 PIEB 的含量方法,并研究了其体内药动力学过程,以期为大蒜皂苷提取物,特别是 PIEB 的合理开发和应用奠定基础^[7-8]。

1 仪器与材料

1.1 仪器

高效液相色谱仪(色谱柱:Athena C₁₈-WP, 50 mm×2.1 mm, 3 μm, 美国 Waters 公司);TSQ Quantum 三重四级杆质谱仪,配 ESI 源(美国 Thermo 公司);台式冷冻离心机(MIKRO200R, Hettich);超声波清洗机(SK2004, 上海科导超声仪器有限公司);氮吹仪(SBH130D, Stuaet);IKA 振荡器(VXR basic, IKA-Werke);分析天平(AL104, 梅特勒托利多仪器有限公司)。

1.2 试剂

大蒜皂苷总提取物(陆军军医大学高原军事医学系高原医学教育部重点实验室自制)^[5];分析用大蒜皂苷 PIEB(中医科学院刘丽梅教授惠赠,纯度 99.9%);甲醇(质谱纯,美国 Fisher Scientific);甲酸(色谱纯,美国 Fisher Scientific);乙腈(质谱纯,美国 Fisher Scientific);水为去离子水。

1.3 实验动物

健康清洁级 SD 大鼠 24 只,体重 200~230 g,雌雄各半,海军军医大学实验动物中心提供,实验动物许可证号:SYXK(沪)2015-0028。室温控制在 22~28℃,相对湿度为(50±10)%,12 h 昼夜节律照明,自由饮水,饲养 1 周。

2 实验方法

2.1 分析条件

2.1.1 色谱条件

Athena C₁₈-WP 色谱柱(50 mm×2.1 mm, 3 μm),柱温 25℃;流动相 A 为水-乙腈(99:1, 0.05%甲酸),B 为乙腈-水(99:1, 0.05%甲酸)。梯度洗脱:0~6 min, 10%~40%B;6~7 min, 40%~90%B;7~9 min, 90%~10%B;流速:0.3 ml/min;进样量:10 μl。

2.1.2 质谱条件

采用负离子 SRM 工作模式;离子源为 ESI 源;喷雾电压为 3 000 V;加热温度为 200℃;毛细管温度 300℃;鞘气流速 12 L/min;辅助气流速 3 L/min;

PIEB 的离子对 m/z :1 259.04→1 097.70。

2.2 样品的配制及处理

PIEB 标准储备液:精密称取 PIEB 0.01 g 置 10 ml 容量瓶中,用少量 50%甲醇水溶液超声溶解,定容至刻度,制成储备液,浓度为 1 mg/ml,于冰箱(-20℃)冷冻备用。

PIEB 标准储备液稀释液:精密吸取 100 μl PIEB 储备液、900 μl 10%甲醇水溶液,混匀,得 100 μg/ml PIEB 标准储备液稀释液。

PIEB 标准液:精密吸取 243 μl PIEB 标准储备液稀释液、757 μl 10%甲醇水溶液,置 1.5 ml 尖底 EP 管中,涡旋混匀,浓度为 24.3 μg/ml;精密吸取 100 μl PIEB 标准液、200 μl 10%甲醇水溶液,置 1.5 ml 尖底 EP 管中,涡旋混匀,依法逐级稀释,得浓度为 8 100、2 700、900、300、100 ng/ml 系列标准液。

PIEB 血浆标准样品的配制:精密吸取 10 μl PIEB 标准液、90 μl 空白血浆,混匀,得浓度为 10、30、90、270、810、2 430 ng/ml 系列血浆标准样品。

大蒜皂苷总提取物溶液的配制:精密称取大蒜皂苷总提取物 0.50 g 置 500 ml 容量瓶中,适量 50%甲醇水溶液超声溶解,定容至刻度,制成浓度为 1 mg/ml 的储备液,于冰箱(-20℃)冷冻备用。

2.3 大鼠体内药动力学试验

取 24 只健康 SD 大鼠,随机分成 4 组,每组 6 只,雌雄各半。给药前 12 h 禁食不禁水,给药后 4 h 恢复进食。灌胃给药试验组包括低剂量组(50 mg/kg)、中剂量组(100 mg/kg)以及高剂量组(200 mg/kg);静脉给药试验组统一为单剂量给药(50 mg/kg)。按照预先设计的时间点由大鼠眼底静脉丛采血约 0.2 ml,收集在肝素抗凝的 1.5 ml EP 管中。灌胃给药采血时间点为:给药后 5、15、30 min 及 1、6、8、11、24 h;静脉给药采血时间点为:给药时(0 min)和给药后 5、15、30 min 及 1、6、8、11、24 h。

2.4 血浆样品的处理

精密吸取血浆样品 100 μl,加入 400 μl 甲醇,立即涡旋 10 s 混匀,离心 10 min(10 000 r/min, 4℃)后吸取上清液 400 μl,35℃下氮气吹干,用 100 μl 10%甲醇水溶液复溶,涡旋混匀后离心 10 min(10 000 r/min, 4℃),取上清液,LC-MS/MS 进样分析。

2.5 血药浓度数据分析与计算

PIEB 的药动力学参数采用 InnaPhase Kinetics 2000™ 软件(美国)分析处理,并计算相关药动力学参数。 c_{max} 为最大血药浓度,血药浓度-时间曲线下面积 $AUC_{(0\rightarrow t)}$ 由梯形法计算得到, t_{peak} 为给药后血药浓度达峰时间。

3 结果与讨论

3.1 方法学考察

3.1.1 专属性与特异性

分别取大鼠空白血浆、大鼠空白血浆与 PIEB 标准样品混合物以及给予大蒜皂苷总提取物后的大鼠血浆,按照“2.4”项下操作处理。在“2.1”项分析条件下,PIEB 的色谱保留时间为 3.9 min,色谱分析时间为 9 min。给药前空白血浆未检测到 PIEB,表明大鼠血浆中的内源性物质对 PIEB 的分析无干扰。大鼠的空白血浆、PIEB 血浆标准品以及大蒜皂苷总提取物给药后血浆色谱图见图 1。

3.1.2 线性范围与灵敏度

取“2.2”项下 PIEB 血浆标准样品,按“2.4”项下操作处理,进样分析。以 PIEB 峰面积 Y 对浓度 X 绘制标准曲线,并得到相应的相关系数 r 值。另取 10 ng/ml PIEB 血浆标准样品,按“2.4”项下操作处理,进样分析,平行操作 6 份,根据标准曲线,计算测得浓度,并计算定量下限(LLOQ)的准确度与精密密度:线性范围 10~2 430 ng/ml;标准曲线方程, $Y = -528.677 + 163.38X$ ($r = 0.9998$),线性关系良好;LLOQ 为 10 ng/ml 时,RSD 为 6.60%,准确度为 105.57%。

3.1.3 精密密度与准确度

分别用大鼠空白血浆配制低、中、高 3 个浓度的 PIEB 血浆标准样品,按“2.4”项下操作处理,每个浓度每日重复 6 次,连续 3 d 进样,根据标准曲线,分

别计算标准样品的测得浓度,以其标示浓度为参照,计算测定方法的准确度和日内、日间精密密度,结果见表 1,表明日内和日间精密密度均 $< 15\%$,准确度在 85%~115%之间。

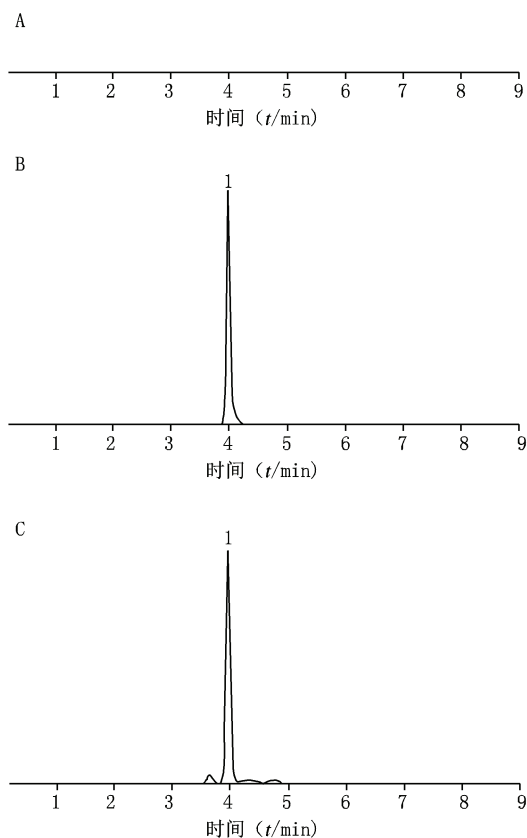


图 1 空白血浆(A)、空白血浆加大蒜皂苷 PIEB 对照品(B)、给药后 10 min 的血浆样品(C)的色谱图
1. 大蒜皂苷 PIEB

表 1 大鼠血浆样品精密密度与准确度实验结果 ($n=6$)

血浆样品 PIEB 浓度 ($\rho_B/\text{ng} \cdot \text{ml}^{-1}$)	日内			日间		
	测得浓度(ng/ml)	精密密度(RSD, %)	准确度(%)	测得浓度(ng/ml)	精密密度(RSD, %)	准确度(%)
20	21.01 ± 1.57	7.48	105.06	20.11 ± 0.45	2.25	100.53
200	201.00 ± 4.36	2.17	100.50	203.84 ± 4.41	2.16	101.92
2 000	2 124.80 ± 31.49	1.48	106.24	2 132.73 ± 50.77	2.38	106.64

3.1.4 样品稳定性实验

分别配制 20、200、2 000 ng/ml 3 种浓度 PIEB 血浆标准样品,每个样品各平行操作 6 份,分别考察上述样本在 4℃、25℃保存 12 h,反复冻融 3 次的稳定性。所测结果准确度在 90%~110%范围内,RSD 均 $< 5\%$,表明 PIEB 血浆样品在 4℃及室温下保存 12 h 后稳定,经 3 次反复冻融后不受影响。

3.1.5 提取回收率与基质效应

取 6 份不同来源的空白大鼠血浆,按“2.4”项下方法处理后,分别加入低、中、高 3 种浓度 PIEB 标

准液溶液复溶,分别进样,所记录的峰面积为分子;取对应浓度的 PIEB 对照品标准液分别进样,所记录的峰面积为分母;计算大蒜皂苷 PIEB 的基质因子。结果显示低、中、高 3 个浓度的基质效应提取回收率分别为 77.86%、67.87%和 70.71%,RSD $\leq 8.69\%$ ($n=6$),表明该方法无明显的离子效应。取低、中、高 3 种浓度 PIEB,按“2.4”项下处理后,分别进样,所记录的峰面积为分子;取空白血浆,按“2.4”项下处理后,分别加入对应浓度的 PIEB 标准液复溶,进样后的峰面积为分母,计算大蒜皂苷 PIEB 的

提取回收率,结果显示低、中、高3种浓度大蒜皂苷PIEB在血浆样品中的提取回收率分别为75.92%、82.13%和80.25%, $RSD \leq 4.60\%$ ($n=6$)。

3.2 PIEB在大鼠体内的药动学

3.2.1 大鼠静脉注射大蒜皂苷提取物后PIEB的药动学

根据标准曲线,计算大鼠静脉注射大蒜皂苷提取物后,PIEB的浓度,并绘制平均血药浓度-时间曲线(图2)。

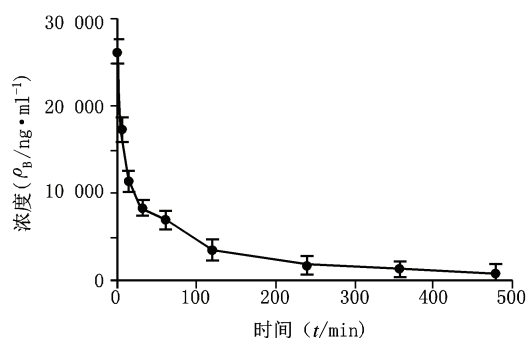


图2 大鼠静脉注射大蒜皂苷提取物后PIEB的平均药-时曲线

所得数据经软件分析拟合,以非房室模型计算得到 $t_{1/2}$ 、AUC、 c_{max} 等药动学参数(表2)。结果表明,大鼠静脉注射大蒜皂苷提取物后,PIEB即刻在

体内达到最大血药浓度, $t_{1/2}$ 为322 min左右,平均驻留时间(MRT)为270 min。

3.2.2 大鼠灌胃大蒜皂苷提取物后PIEB的药动学

根据标准曲线,计算大鼠灌胃大蒜皂苷提取物后PIEB的浓度,并绘制平均血药浓度-时间曲线(图3),所得数据经软件分析拟合,以非房室模型计算得到 $t_{1/2}$ 、AUC、 c_{max} 等药动学参数(表2)。给予SD大鼠灌胃低、中、高浓度大蒜皂苷提取物后,PIEB的AUC、 c_{max} 等随给药剂量的增加而增大,可初步判定大蒜皂苷PIEB在大鼠体内的药动学过程属于线性动力学过程。

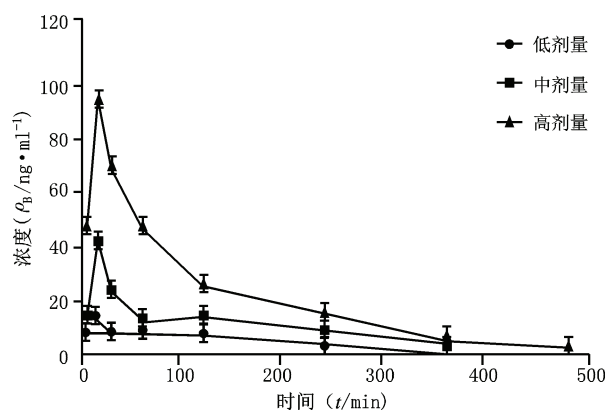


图3 大鼠灌胃大蒜皂苷提取物后PIEB的平均药-时曲线

表2 大鼠静脉注射及灌胃大蒜皂苷提取物后PIEB的主要药动学参数($n=6$)

参数	静脉注射(50 mg/kg)	灌胃给药(mg/kg)		
		50	100	200
c_{max} (ng/L)	26 364 ± 1 343	14.8 ± 3.8	45.2 ± 57.9	134.1 ± 47.2
t_{max} (t/min)	—	31 ± 44	68 ± 94	18 ± 14
$t_{1/2}$ (t/min)	322.4 ± 105.5	763 ± 1 122	1 064 ± 729	2 191 ± 2 243
CL[ml/(min · kg)]	30.3 ± 12.9	13 730 ± 9 825	12 570 ± 12 148	10 001 ± 8 524
V(ml/kg)	6 750 ± 1 062	4 710 517 ± 1 331 782	6 665 925 ± 1 853 147	11 895 277 ± 7 931 275
MRT(t/min)	270 ± 167	938 ± 1 500	1 267 ± 1 061	2 915 ± 3 085
AUC _(0-t) (ng · min/ml)	1 922 048 ± 933 689	1 753 ± 504	3 688 ± 976	9 504 ± 5 295
AUC _(0-∞) (ng · min/L)	2 008 232 ± 1 065 882	7 710 ± 9 761	16 992 ± 12 998	36 324 ± 26 108

注:V为表观分布容积

4 讨论

笔者在实验中处理血浆样品时,曾采用甲醇、乙腈来沉淀蛋白,均因基质效应太强,导致大蒜皂苷提取物中PIEB的响应太低,本实验采取的前处理方法,提取回收率高,无明显基质效应,适用于大蒜皂苷提取物血浆样品的预处理^[9-10]。

本实验建立并验证了测定大蒜皂苷提取物中PIEB的LC-MS/MS方法。药动学研究表明静脉

给药大蒜皂苷总提物50 mg/kg后,PIEB即刻在体内达到最大血药浓度,其 $t_{1/2}$ 为322 min左右,MRT为270 min;SD大鼠灌胃低、中、高浓度大蒜皂苷提取物后,PIEB的AUC、 c_{max} 等随给药剂量的增加而增大,可初步判定大蒜皂苷提取物中的PIEB成分在大鼠体内的药动学过程属于线性动力学过程,灌胃给药结果表明大蒜皂苷提取物中的PIEB成分在大鼠体内的生物利用度极低。

【参考文献】

- [1] XIAO J, XING F, LIU Y, et al. Garlic-derived compound S-allylmercaptocysteine inhibits hepatocarcinogenesis through targeting LRP6/Wnt pathway[J]. *Acta Pharm Sin B*, 2018, 8(4):575-586.
- [2] HASSANZADEH H, ALIZADEH M, REZAZAD BARI M. Formulation of garlic oil-in-water nanoemulsion: antimicrobial and physicochemical aspects[J]. *IET Nanobiotechnol*, 2018, 12(5):647-652.
- [3] SHABANI E, SAYEMIRI K, MOHAMMADPOUR M. The effect of garlic on lipid profile and glucose parameters in diabetic patients: A systematic review and meta-analysis[J]. *Prim Care Diabet*, 2018.
- [4] KANG J S, KIM S O, KIM G Y, et al. An exploration of the antioxidant effects of garlic saponins in mouse-derived C2C12 myoblasts. [J]. *Int J Mol Med*, 2016, 37(1): 149-156.
- [5] 周思敏, 郑善军, 张钢. 大蒜总皂苷对小鼠耐缺氧作用的实验研究[J]. *中国病理生理杂志*, 2015(10):1897.
- [6] 柏冬, 王瑞海, 刘丽梅. 大蒜皂苷对照品制备及比色法测定大蒜皂苷提取物中总皂苷含量[J]. *中国中医药信息杂志*, 2012, 19(9):55-58.
- [7] 张家伟, 王晓明, 潘桂湘, 等. UPLC-MS/MS法测定大鼠灌服稳心颗粒后血浆中3个皂苷成分及其药动学研究[J]. *辽宁中医杂志*, 2016(8):1717-1720.
- [8] 宋兴良, 梁恕坤, 赵翊萌, 等. 柱前衍生化-HPLC法测定大蒜中甾体皂苷的含量[J]. *中国药房*, 2016, 27(3):361-364.
- [9] 周梦娣, 何功浩, 倪伟, 等. LC-MS/MS法测定大鼠血浆中丫蕊花皂苷G的浓度及其体内药动学研究[J]. *华西药理学杂志*, 2018, 33(3):279-282.
- [10] 刘继华, 卢丹, 刘金平, 等. 大鼠肌肉注射20(S)-人参皂苷Rg3的药动学研究[J]. *中国药理学杂志*, 2007, 42(14):1087-1090.
- [收稿日期] 2018-10-06 [修回日期] 2018-11-12
[本文编辑] 李睿旻
-
- (上接第36页)
- [4] 李红, 王胜, 沈明霞, 等. 黄芪甲苷对特发性肺纤维化模型大鼠肺组织碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)表达的影响[J]. *西部中医药*, 2015, 28(12):21-24.
- [5] 李红, 沈明霞, 谢海彬, 等. 黄芪甲苷对特发性肺纤维化模型大鼠肺组织CD34表达的影响[J]. *西部中医药*, 2015, 28(9):6-10.
- [6] PRASSE A, PECHKOVSKY D V, TOEWS G B, et al. CCL18 as an indicator of pulmonary fibrotic activity in idiopathic interstitial pneumonias and systemic sclerosis[J]. *Arthritis Rheumat*, 2007, 56(5):1685-1693.
- [7] CAI M, BONELLA F, HE X, et al. CCL18 in serum, BAL fluid and alveolar macrophage culture supernatant in interstitial lung diseases[J]. *Respir Med*, 2013, 107(9):1444-1452.
- [8] PRASSE A, PROBST C, BARGAGLI E, et al. Serum CC-chemokine ligand 18 concentration predicts outcome in idiopathic pulmonary fibrosis[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2009, 179(8):717-723.
- [9] HIESHIMA K, IMAI T, BABA M, et al. A novel human CC chemokine PARC that is most homologous to macrophage-inflammatory protein-1 alpha/LD78 alpha and chemotactic for T lymphocytes, but not for monocytes[J]. *J Immunol*, 1997, 159(3):1140-1149.
- [10] Kodolja V, Müller C, Politz O, et al. Alternative macrophage activation-associated CC-chemokine-1, a novel structural homologue of macrophage inflammatory protein-1 alpha with a Th2-associated expression pattern. [J]. *J Immunol*, 1998, 160(3):1411-1418.
- [11] PRASSE A, PECHKOVSKY D V, TOEWS G B, et al. A vicious circle of alveolar macrophages and fibroblasts perpetuates pulmonary fibrosis via CCL18[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2006, 173(7):781-792.
- [12] PECHKOVSKY D V, PRASSE A, KOLLERT F, et al. Alternatively activated alveolar macrophages in pulmonary fibrosis-mediator production and intracellular signal transduction[J]. *Clin Immunol*, 2010, 137(1):89-101.
- [13] ANDO M, MIYAZAKI E, FUKAMI T, et al. Interleukin-4-producing cells in idiopathic pulmonary fibrosis: an immunohistochemical study[J]. *Respirology*, 1999, 4(4):383-391.
- [14] WALLACE W A, HOWIE S E. Immunoreactive interleukin 4 and interferon gamma expression by type II alveolar epithelial cells in interstitial lung disease[J]. *J Pathol*, 1999, 187(4):475-480.
- [15] SCHUTYSER E, RICHMOND A, DAMME J V. Involvement of CC chemokine ligand 18 (CCL18) in normal and pathological processes[J]. *J Leuk Biol*, 2005, 78(1):14-26.
- [16] ATAMAS S P, LUZINA I G, CHOI J, et al. Pulmonary and activation-regulated chemokine stimulates collagen production in lung fibroblasts[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2003, 29(6):743-749.
- [17] LUZINA I G, PAPADIMITRIOU J C, ANDERSON R, et al. Induction of prolonged infiltration of T lymphocytes and transient T lymphocyte dependent collagen deposition in mouse lungs following adenoviral gene transfer of CCL18[J]. *Arthr Rheum*, 2006, 54(8):2643-2655.
- [18] LUZINA I G, KEEGAN A D, HELLER N M, et al. Regulation of inflammation by interleukin-4: a review of "alternatives"[J]. *J Leuk Biol*, 2012, 92(4):753-764.
- [收稿日期] 2018-07-06 [修回日期] 2018-12-31
[本文编辑] 陈盛新