

·综述·

应力负荷与关节软骨损伤*

沈士浩¹ 李雪萍^{1,2}

骨性关节炎(osteoarthritis, OA)是一种进行性关节退变疾病,不仅损害关节软骨,亦对关节周围肌肉、肌腱、韧带、滑囊等软组织产生不利影响,最终导致关节软骨结构和功能完整性破坏^[1]。美国最新的一项258,237人的大样本研究报告指出,全美约有14%的成人患有骨性关节炎并因此严重影响其生存质量,且用于治疗相关花费人均高达18,435美元,其支出为同等情况下非骨性关节炎患者两倍之多^[2]。据我国调查,60岁以上人群中OA的患病率可达50%,75岁以上的人群中则达80%,致残率可高达53%,已经成为影响中老年人生存质量的主要问题^[3]。应力负荷长期以来被认为是骨骼肌肉组织的调节器,很有可能是关节软骨自稳态最重要的单一外界调节因素,非生理性的关节应力负荷,即过大或过小的关节应力负荷都会造成关节软骨损害,并最终导致OA形成^[4~6]。适度的运动训练给予关节内适度的应力负荷,称之为生理性关节应力负荷;适度的运动训练可短期有效地缓解OA临床症状,下调基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)和含凝血酶敏感蛋白结构的去整合素金属蛋白酶(a disintegrin and metalloprotease with thrombospondin motifs, ADAMTS)表达,产生系统性的抗炎、保护软骨的作用。本文分别从非生理性的关节应力负荷对软骨的损害、生理性关节应力负荷对OA关节软骨的保护作用及作用机制等三方面进行阐述。

1 非生理性关节应力负荷与软骨损害

非生理性关节应力负荷,包括过大关节应力负荷或关节应力负荷不足都会破坏关节软骨合成与分解的代谢活动稳定,特别是引起软骨的降解过度,加重关节破坏。

1.1 过大关节应力负荷与软骨损害

1.1.1 体外研究:离体软骨实验研究表明,过大的应力负荷会直接损害软骨细胞外基质(extracellular matrix, ECM)并破坏软骨细胞代谢平衡,使得分解代谢活动超过合成代谢活动,进而导致关节软骨的损害。

导致软骨损害的过大的应力负荷作用方式有三种:一是单次高强度应力负荷冲击;二是高应变率应力负荷冲击,即

单位时间内应力负荷幅度增加加快;三是长时间应力负荷累积。对离体牛软骨单个应力负荷冲击实验表明,造成软骨细胞死亡及ECM降解的阈值在15—20MPa之间,且软骨细胞凋亡可能是软骨细胞受到损伤时最早出现的细胞反应,早于软骨细胞外基质的降解^[7~8]。应变率(strain rate)也是导致软骨损害的一个重要参数,0.1/s高应变率相比于0.01/s低应变率,高应变率下的应力负荷刺激会导致蛋白多糖和总蛋白含量明显减少,导致软骨细胞的生物合成代谢效应丧失、软骨细胞死亡和ECM降解^[9~10]。过大应力负荷冲击的损伤可以积累,对离体犬软骨给予大小5MPa,频率0.3Hz的重复性应力负荷冲击,发现软骨细胞坏死、凋亡,ECM破坏^[11]。总之,高强度、高应变率、长时间积累的应力负荷都会对关节软骨产生损害性作用。

1.1.2 在体研究:鉴于关节活动时应力负荷的复杂性以及运动模式的多样性,目前还没有生物反应器能够完全模拟体内自然关节状态,因而没有软骨应力负荷体内试验的研究^[12]。但有研究指出,体外软骨试验中过大应力负荷仅仅冲击软骨局部,而在人体关节中,可以预测由于其关节部位应力的分散作用,其非生理性的应力负荷强度应高于报道的软骨体外试验数据^[13]。

急性的关节软骨损伤常常见于高强度的运动,比如篮球、足球等,这些高强度运动会在短时间内产生过大的应力负荷,往往造成韧带、半月板损伤,创伤性髌骨移位等,与关节软骨的损害相叠加^[13~14]。前交叉韧带重建术后的运动员一半以上都存在关节软骨缺陷^[15]。慢性不良的关节应力负荷模式,如关节不稳、力线不良也会导致关节软骨损害^[13~14]。所以,不管是急性还是慢性过大应力负荷都会造成关节软骨结构和功能的完整性被破坏,以软骨降解、滑膜炎症、软骨下骨改变为最典型的特点,导致OA发生。

1.2 关节应力负荷不足与软骨退变

关节应力负荷不足常见于各种病因所致的关节制动后,如脊髓损伤后关节制动^[16]、骨骼肌肉损伤后保护性制动^[17]、关节炎等关节疾病制动^[18]。由于关节长期制动,软骨缺乏足够的应力负荷刺激,使关节软骨内分解代谢过程加强,蛋白聚

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2013.05.024

*基金项目:国家自然科学基金资助项目(81272151)

1 南京医科大学附属南京医院(南京市第一医院)康复医学科,南京,210006; 2 通讯作者

作者简介:沈士浩,男,硕士研究生; 收稿日期:2012-08-29

糖含量下降,软骨基质纤维化,软骨降解破坏。

1.2.1 基础研究:通过对犬膝关节夹板制动11周观察发现,与对照组相比,实验组关节软骨厚度变薄,周边组织发生软化、弹性下降,蛋白聚糖成分含量下降,并导致软骨细胞死亡,软骨细胞外基质降解,关节软骨变薄^[19]。对成年大鼠模型膝关节屈曲150°内固定制动不同时间的研究也证实了制动会导致软骨弹性下降,发生软骨软化、软骨细胞数量下降等^[20]。另一项通过对新西兰大白兔单腿制动或失稳定性处理,利用对侧腿自身对照研究的结果证实,在制动12周时,软骨蛋白聚糖含量迅速下降,并出现软骨退行性改变^[21]。软骨发生变化可能与制动期间缺乏适度的应力负荷刺激或关节液循环障碍有关,且软骨损伤性改变在制动较短时间后就可出现^[20]。

1.2.2 临床研究:临床研究观察结果显示,完全性脊髓损伤患者的膝关节软骨在核磁共振抑脂相出现了明显的改变,提示患者在失去正常的关节运动和关节应力负荷后出现了明显的膝关节软骨萎缩,并且较OA患者萎缩程度更大^[22]。在对踝关节骨折之后部分承重7周后的患者进行观察后发现,由于缺乏足够的应力负荷刺激,患侧股四头明显萎缩,软骨形态发生明显的改变^[23],胫股关节软骨退变比髌股关节软骨更明显,提示软骨发生退变的程度可能与其正常结构下承受的应力负荷大小有关。

2 生理性关节应力负荷与骨性关节炎软骨保护

过大的关节应力负荷和关节应力负荷不足都会导致关节软骨降解,而生理性关节应力负荷刺激能够给予关节软骨适度的应力负荷,维持正常关节软骨的完整性,在关节组织重塑中起着重要作用。

2.1 体外研究

实验发现生理性应力负荷刺激能够使软骨细胞增殖,促进ECM的合成代谢活动,保护软骨^[24]。应力负荷低于400Hz的机械振动能促进关节软骨细胞DNA和蛋白聚糖的合成并与刺激时间有关,而高于400Hz机械振动则起抑制效应^[24]。持续静态应力负荷导致软骨蛋白质及蛋白聚糖生物合成减少,而动态应力负荷连续刺激软骨细胞2—21d,软骨细胞增殖,出现大量新形成的软骨基质分子,蛋白聚糖合成增加,起到保护软骨作用^[25—26]。频率为0.01—1Hz的周期性应力刺激能够促进蛋白聚糖的合成,增加ECM成分的基因表达。频率0.5Hz、峰值应力为1MPa的应力负荷,通断比1:10周期性刺激3天后,能够促进软骨细胞蛋白聚糖大量合成^[27]。

2.2 基础研究

体外试验不能完全模拟软骨承受生理性应力负荷的环境,具有局限性。尽管不能把动物试验的结果直接推及人体试验,但动物试验模型有利于在类似人类生理性相关的环境

下进行长期的研究。

通过对自发形成的OA动物模型的研究表明,适度的运动训练能够防止关节软骨降解,保护关节软骨完整性,延缓OA进展。跑步6—11km/d的仓鼠,其软骨完整,而其对照组则出现了关节软骨的磨损、腐蚀和纤维化^[28]。手术诱导OA的大鼠模型,在28d的研究期中,正常鼠笼活动的大鼠较每天以30cm/s的速度、30min跑步训练的大鼠,出现了更严重的肉眼可见的和组织学上的软骨降解。跑台训练的啮齿类动物软骨研究发现,其蛋白聚糖的含量以及软骨的厚度都出现了明显的增加,提示适度的运动训练不仅能阻止软骨降解,还能够对软骨产生正性保护作用^[29]。

2.3 临床研究

基于众多专家意见和大量随机对照试验的证明,适度运动训练能够减轻OA患者关节疼痛、改善功能,在临床应用指南中推荐运动训练可用于OA的预防与治疗^[30]。研究发现适度的运动训练能够使患严重膝关节OA的风险显著下降^[31],运动训练联合药物治疗,部分对抗OA患者软骨降解,起软骨保护作用,有效改善OA患者关节功能;肌力训练及有氧运动能够显著减轻轻中度OA患者的疼痛,改善患者运动功能^[32]。水中运动训练适合早期OA患者以及肥胖患者,而平地有氧运动训练和肌力训练的治疗效果更为持久^[33]。I级循证证据显示,对于膝OA患者,任何一种平地运动训练短期内都能够减轻膝关节疼痛,降低关节功能失能^[5]。

3 关节应力负荷与骨性关节炎软骨变化的作用机制

OA最主要的发病机制是软骨细胞内合成代谢和分解代谢的失衡,以不可逆转的关节软骨退变、破坏为主要特点^[34]。生理性关节应力负荷可使白细胞介素-1β (interleukin-1 beta, IL-1β)、肿瘤坏死因子α (tumor necrosis factor-alpha, TNF-α)、一氧化氮(nitric oxide, NO)、基质金属蛋白酶等炎性因子表达下降,其减少软骨细胞外基质降解、保护软骨作用与软骨力学传导通路介导密切相关。

生理性应力负荷产生的生化信号能够抑制IL-1β 和TNF-α 介导的环氧化酶2(cyclooxygenase-2, COX-2)、MMPs、IL-1β 及其他致炎因子转录激活,产生明显的抗炎作用,抑制水解酶类的释放,保护软骨^[35—37]。动物实验的研究结果则表明,基于运动训练的治疗能够减轻抗原诱导关节炎动物模型的关节炎症。被动关节运动治疗产生的力学信号能够抑制致炎分解介质,如IL-1β、COX-2、MMP-1表达,同时也能诱导抗炎因子IL-10表达^[35,38]。

非生理性应力负荷能通过细胞膜上整合素受体激活胞内应力介导的信号通路,促使致炎细胞因子IL-1β、TNF-α 释放,破坏软骨细胞正常的重塑活动,并诱导金属蛋白水解酶类MMPs和ADAMTS的释放,引起ECM的胶原纤维和蛋白

聚糖的降解^[39~40],这一过程由NO、前列腺素E2(prostaglandin E2, PGE2)、活性氧类(reactive oxygen species, ROS)、COX-2等介导^[41~42]。ECM降解的产物基质片段又会进一步的激活滑膜细胞释放MMPs和ADAMTS,产生一个恶性的正反馈循环,最终导致基质成分完全丢失,软骨结构破坏^[43]。

研究发现流体切力(shear flow)对MMP-1和MMP-13表达抑制程度与应力负荷大小相关。人体软骨细胞接受5dyn/cm²流体流动应力刺激后会引起MMP-1、MMP-13表达下降,转录调节因子CITED2(CBP/p300-interacting transactivator with ED-rich tail 2)表达增加^[44]。CITED2是核调节因子大家族中一员,在软骨细胞中表达程度与应力负荷大小有关,而与MMPs表达程度呈负相关^[45]。CITED2高表达能够抑制IL-1β介导的MMP-1和MMP-13水平上升。CITED2不直接与DNA结合,而是通过干预其他转录因子,如p300直接调节靶基因。软骨细胞在适度的流体切力(5dyn/cm²)作用下,p300直接与CITED2结合,而在非生理性负荷(20dyn/cm²)下,p300与软骨细胞MMP反式作用因子Ets-1146直接结合。CITED2可能是通过与MMP反式作用因子Ets-1146竞争结合更多的p300,介导适度应力负荷诱导下MMPs表达下调,起到软骨保护作用,防止软骨降解。

人类单层培养软骨细胞受到1h拉张应力刺激后能够显著抑制MMP-3 mRNA表达^[46]。这项研究表明,张力激活型钙离子通道、α5β1整合素、IL-4参与调节MMP-3的力学信号通路^[47]。张力诱导型MMP-3抑制表达可能通过整合素依赖IL-4自分泌/旁分泌途径发挥保护软骨作用^[46]。

核因子κB(nuclear factor-κappa B, NFκB)通过调节众多致炎因子和抗炎因子参与急性和慢性炎症反应。NFκB是一种快反应、可诱导的转录因子,能够被上游致炎信号通路激活,转录至核内,使促炎因子及其介导者的靶基因发生转录^[48~49]。生理性应力负荷刺激,如周期性应力刺激,能够通过抑制NFκB信号通路中多个步骤,阻断IL-1β诱导的NFκB转录活动,抑制炎症反应,保护软骨^[50]。这些发现表明力学信号通过特定靶位点激活NFκB信号通路,生理性应力负荷刺激激活相关信号通路后发挥抗炎作用,达到保护软骨的目的。

4 小结

应力负荷过大或应力负荷不足都会导致关节软骨的降解,生理性应力负荷可促进软骨细胞增殖,ECM合成代谢增强,抑制炎症反应,防止软骨进一步降解,对保护软骨完整性、维护关节功能起着十分重要的作用。但目前的研究还没有足够的证据证明,对于OA患者,适度、规律的运动训练是否对OA本身的进程抑制起作用,也没有足够的文献对合适的训练方式、频率、干预时间作阐述;另一方面,软骨保护的

相关作用机制也不甚明了。对以上问题进行进一步的研究有助于寻找新的OA治疗靶点,对骨性关节炎的软骨损害制定新的防治策略。

参考文献

- [1] Lawrence RC, Felson DT, Helmick CG, et al. Estimates of the prevalence of arthritis and other rheumatic conditions in the United States. Part II[J]. Arthritis Rheum,2008,58(1):26~35.
- [2] Le TK, Montejano LB, Cao Z, et al. Health care costs in US patients with and without a diagnosis of osteoarthritis[J]. J Pain Res,2012,5:23~30.
- [3] 邱贵兴. 骨关节炎诊治指南[Z]. 福建漳州:2011.
- [4] Fransen M, McConnell S. Exercise for osteoarthritis of the knee [J]. Cochrane Database Syst Rev,2008(4):D4376.
- [5] Fransen M, McConnell S. Land-based exercise for osteoarthritis of the knee: a metaanalysis of randomized controlled trials [J]. J Rheumatol,2009,36(6):1109~1117.
- [6] Fransen M, McConnell S, Hernandez-Molina G, et al. Does land-based exercise reduce pain and disability associated with hip osteoarthritis? A meta-analysis of randomized controlled trials[J]. Osteoarthritis Cartilage,2010,18(5):613~620.
- [7] Torzilli PA, Grigioni R, Borrelli JJ, et al. Effect of impact load on articular cartilage: cell metabolism and viability, and matrix water content[J]. J Biomech Eng,1999,121(5):433~441.
- [8] Loening AM, James IE, Levenston ME, et al. Injurious mechanical compression of bovine articular cartilage induces chondrocyte apoptosis[J]. Arch Biochem Biophys,2000,381(2):205~212.
- [9] Kurz B, Jin M, Patwari P, et al. Biosynthetic response and mechanical properties of articular cartilage after injurious compression[J]. J Orthop Res,2001,19(6):1140~1146.
- [10] Morel V, Quinn T M. Cartilage injury by ramp compression near the gel diffusion rate[J]. J Orthop Res,2004,22(1):145~151.
- [11] Chen CT, Burton-Wurster N, Borden C, et al. Chondrocyte necrosis and apoptosis in impact damaged articular cartilage [J]. J Orthop Res,2001,19(4):703~711.
- [12] Grad S, Eglin D, Alini M, et al. Physical stimulation of chondrogenic cells in vitro: a review[J]. Clin Orthop Relat Res,2011,469(10):2764~2772.
- [13] Logerstedt DS, Snyder-Mackler L, Ritter RC, et al. Knee pain and mobility impairments: meniscal and articular cartilage lesions[J]. J Orthop Sports Phys Ther,2010,40(6):A1~A35.
- [14] Moti AW, Micheli LJ. Meniscal and articular cartilage injury in the skeletally immature knee[J]. Instr Course Lect,2003,52:683~690.
- [15] Piasecki DP, Spindler KP, Warren T A, et al. Intraarticular injuries associated with anterior cruciate ligament tear: findings at ligament reconstruction in high school and recreational athletes. An analysis of sex-based differences[J]. Am J Sports Med,2003,31(4):601~605.
- [16] McCarthy C, Oakley E. Management of suspected cervical spine injuries--the paediatric perspective[J]. Accid Emerg Nurs,2002,10(3):163~169.
- [17] Kerkhoffs GM, Struijs PA, van Dijk CN. Acute treatment of

- inversion ankle sprains: immobilization versus functional treatment[J]. *Clin Orthop Relat Res*,2007,463:250—251, 251.
- [18] Fontaine KR, Heo M, Bathon J. Are US adults with arthritis meeting public health recommendations for physical activity? [J]. *Arthritis Rheum*,2004,50(2):624—628.
- [19] Jurvelin J, Kiviranta I, Tammi M, et al. Softening of canine articular cartilage after immobilization of the knee joint[J]. *Clin Orthop Relat Res*,1986(207):246—252.
- [20] Hagiwara Y, Ando A, Chimoto E, et al. Changes of articular cartilage after immobilization in a rat knee contracture model [J]. *J Orthop Res*,2009,27(2):236—242.
- [21] Fu LL, Maffulli N, Yip KM, et al. Articular cartilage lesions of the knee following immobilisation or destabilisation for 6 or 12 weeks in rabbits[J]. *Clin Rheumatol*,1998,17(3):227—233.
- [22] Vanwanseele B, Eckstein F, Knecht H, et al. Longitudinal analysis of cartilage atrophy in the knees of patients with spinal cord injury[J]. *Arthritis Rheum*,2003,48(12):3377—3381.
- [23] Hinterwimmer S, Krammer M, Krotz M, et al. Cartilage atrophy in the knees of patients after seven weeks of partial load bearing[J]. *Arthritis Rheum*,2004,50(8):2516—2520.
- [24] Liu J, Sekiya I, Asai K, et al. Biosynthetic response of cultured articular chondrocytes to mechanical vibration[J]. *Res Exp Med (Berl)*,2001,200(3):183—193.
- [25] Ikenoue T, Trindade MC, Lee MS, et al. Mechanoregulation of human articular chondrocyte aggrecan and type II collagen expression by intermittent hydrostatic pressure in vitro [J]. *J Orthop Res*,2003,21(1):110—116.
- [26] Sharma G, Saxena R K, Mishra P. Differential effects of cyclic and static pressure on biochemical and morphological properties of chondrocytes from articular cartilage[J]. *Clin Biomech (Bristol, Avon)*,2007,22(2):248—255.
- [27] Steinmeyer J, Knue S, Raiss RX, et al. Effects of intermittently applied cyclic loading on proteoglycan metabolism and swelling behaviour of articular cartilage explants[J]. *Osteoarthritis Cartilage*,1999,7(2):155—164.
- [28] Otterness IG, Eskra JD, Bliven ML, et al. Exercise protects against articular cartilage degeneration in the hamster[J]. *Arthritis Rheum*,1998,41(11):2068—2076.
- [29] Galois L, Etienne S, Grossin L, et al. Moderate-impact exercise is associated with decreased severity of experimental osteoarthritis in rats[J]. *Rheumatology (Oxford)*,2003,42(5):692—693, 693—694.
- [30] Manninen P, Riihimaki H, Heliovaara M, et al. Physical exercise and risk of severe knee osteoarthritis requiring arthroplasty[J]. *Rheumatology (Oxford)*,2001,40(4):432—437.
- [31] Rosa U H, Velasquez T J, Lara M C, et al. [Comparison of the effectiveness of isokinetic vs isometric therapeutic exercise in patients with osteoarthritis of knee] [J]. *Reumatol Clin*,2012,8(1):10—14.
- [32] Iwamoto J, Sato Y, Takeda T, et al. Effectiveness of exercise for osteoarthritis of the knee: A review of the literature [J]. *World J Orthop*,2011,2(5):37—42.
- [33] Valderrabano V, Steiger C. Treatment and Prevention of Osteoarthritis through Exercise and Sports[J]. *J Aging Res*,2011,2011:374653.
- [34] Leong DJ, Hardin JA, Cobelli NJ, et al. Mechanotransduction and cartilage integrity[J]. *Ann N Y Acad Sci*,2011,1240:32—37.
- [35] Ferretti M, Srinivasan A, Deschner J, et al. Anti-inflammatory effects of continuous passive motion on meniscal fibrocartilage[J]. *J Orthop Res*,2005,23(5):1165—1171.
- [36] Madhavan S, Anghelina M, Rath-Deschner B, et al. Biomechanical signals exert sustained attenuation of proinflammatory gene induction in articular chondrocytes[J]. *Osteoarthritis Cartilage*,2006,14(10):1023—1032.
- [37] Chowdhury TT, Arghandawi S, Brand J, et al. Dynamic compression counteracts IL-1beta induced inducible nitric oxide synthase and cyclo-oxygenase-2 expression in chondrocyte/agarose constructs[J]. *Arthritis Res Ther*,2008,10(2):R35.
- [38] Ferretti M, Gassner R, Wang Z, et al. Biomechanical signals suppress proinflammatory responses in cartilage: early events in experimental antigen-induced arthritis[J]. *J Immunol*,2006,177(12):8757—8766.
- [39] Okada A, Okada Y. Progress of research in osteoarthritis. Metalloproteinases in osteoarthritis[J]. *Clin Calcium*,2009,19(11):1593—1601.
- [40] Prasadam I, Crawford R, Xiao Y. Aggravation of ADAMTS and Matrix Metalloproteinase Production and Role of ERK1/2 Pathway in the Interaction of Osteoarthritic Subchondral Bone Osteoblasts and Articular Cartilage Chondrocytes -- Possible Pathogenic Role in Osteoarthritis[J]. *J Rheumatol*,2012,39(3):621—634.
- [41] Kapoor M, Martel-Pelletier J, Lajeunesse D, et al. Role of proinflammatory cytokines in the pathophysiology of osteoarthritis[J]. *Nat Rev Rheumatol*,2011,7(1):33—42.
- [42] Martel-Pelletier J, Boileau C, Pelletier J P, et al. Cartilage in normal and osteoarthritis conditions[J]. *Best Pract Res Clin Rheumatol*,2008,22(2):351—384.
- [43] Sun HB. Mechanical loading, cartilage degradation, and arthritis[J]. *Ann N Y Acad Sci*,2010,1211:37—50.
- [44] Yokota H, Goldring MB, Sun HB. CITED 2-mediated regulation of MMP-1 and MMP-13 in human chondrocytes under flow shear[J]. *J Biol Chem*,2003,278(47):47275—47280.
- [45] Sun HB. CITED2 mechanoregulation of matrix metalloproteinases[J]. *Ann N Y Acad Sci*,2010,1192:429—436.
- [46] Millward-Sadler SJ, Wright MO, Davies LW, et al. Mechano-transduction via integrins and interleukin-4 results in altered aggrecan and matrix metalloproteinase 3 gene expression in normal, but not osteoarthritic, human articular chondrocytes [J]. *Arthritis Rheum*,2000,43(9):2091—2099.
- [47] Millward-Sadler SJ, Wright MO, Lee H, et al. Integrin-regulated secretion of interleukin 4: A novel pathway of mechano-transduction in human articular chondrocytes[J]. *J Cell Biol*,1999,145(1):183—189.
- [48] Hoffmann A, Levchenko A, Scott ML, et al. The Ikappa B-NF-kappa B signaling module: temporal control and selective gene activation[J]. *Science*,2002,298(5596):1241—1245.
- [49] Liacini A, Sylvester J, Li WQ, et al. Induction of matrix metalloproteinase-13 gene expression by TNF-alpha is mediated by MAP kinases, AP-1, and NF-kappaB transcription factors in articular chondrocytes[J]. *Exp Cell Res*,2003,288(1):208—217.
- [50] Madhavan S, Anghelina M, Sjostrom D, et al. Biomechanical signals suppress TAK1 activation to inhibit NF-kappaB transcriptional activation in fibrochondrocytes[J]. *J Immunol*,2007,179(9):6246—6254.