

· 临床研究 ·

CD4⁺CD25⁺、CD4⁺CD25^{high} 调节性 T 细胞和 Foxp3 mRNA 在婴幼儿喘息中的表达及意义

彭 力, 钟礼立[△], 黄 寒, 厉 娟, 梁 沫, 李 云
(湖南省人民医院儿科, 长沙 410005)

摘要:目的 探讨婴幼儿喘息 CD4⁺CD25⁺、CD4⁺CD25^{high} 调节性 T 细胞(Treg)和叉头/翼状螺旋转录因子(Foxp3)mRNA 的表达及意义。方法 采用流式细胞术检测 51 例首次喘息婴幼儿外周血 CD4⁺CD25⁺Treg 和 CD4⁺CD25^{high}Treg 的比例, RT-PCR 检测 Foxp3 mRNA 的表达量, 酶联免疫吸附法(ELISA)检测总 IgE 水平, 并与正常婴幼儿对照。结果 喘息婴幼儿外周血 CD4⁺CD25⁺Treg、CD4⁺CD25^{high}Treg 占 CD4⁺T 细胞的百分比分别为 (6.31±2.96)% 和 (3.52±1.46)%, 均明显低于健康对照组 ($P<0.01$); 特应性喘息组 CD4⁺CD25⁺Treg、CD4⁺CD25^{high}Treg 及 Foxp3 mRNA 表达均低于非特应性喘息组 ($P<0.05$)。喘息患儿 CD4⁺CD25^{high}Treg 百分率及 Foxp3 mRNA 表达与血清总 IgE 之间呈显著负相关 ($r=-0.75, r=-0.61, P<0.01$), 而 CD4⁺CD25⁺Treg 百分比与血清总 IgE 存在正相关 ($r=0.36, P<0.05$)。结论 CD4⁺CD25⁺Treg、CD4⁺CD25^{high}Treg 及 Foxp3 mRNA 在婴幼儿喘息的发病中起重要作用。

关键词: T 淋巴细胞, 调节性婴幼儿喘息; 调节性 T 细胞; 叉头转录因子类; 特应性

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2012.05.011

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2012)05-0445-04

Expression of regulatory CD4⁺CD25⁺Treg, CD4⁺CD25^{high}Treg cells and Foxp3 mRNA in wheezing infants and its clinical significance

Peng Li, Zhong Lili[△], Huang Han, Li Juan, Liang Mo, Li Yun

(Department of Pediatrics, Hunan Provincial People's Hospital, Changsha, Hunan 410005, China)

Abstract: Objective To evaluate the changes of CD4⁺CD25⁺Treg, CD4⁺CD25^{high}Treg and Foxp3 mRNA in peripheral blood from wheezing infants. **Methods** Fifty-one wheezing infants and twenty healthy volunteers were included in this study. The proportion of CD4⁺CD25⁺Treg and CD4⁺CD25^{high}Treg population in total T cells was evaluated by flow cytometric analysis. The expression of Foxp3 mRNA was tested by flow cytometry. Total serum IgE of wheezy infants was detected by enzyme immunoassay. **Results** Compared with those of healthy control, the frequency of CD4⁺CD25⁺Treg and CD4⁺CD25^{high}Treg in the peripheral blood from wheezing infants showed a significant increase (6.31±2.96)% / (3.52±1.46)%, ($P<0.01, P<0.01$, respectively). The expression of CD4⁺CD25⁺Treg, CD4⁺CD25^{high}Treg and Foxp3 mRNA in peripheral blood from wheezing infants with atopy burden was lower than those from non-wheezing infants ($P<0.05$). The correlation analysis showed that CD4⁺CD25^{high}Treg ($r=-0.75, P<0.01$) and Foxp3 mRNA ($r=-0.61, P<0.01$) had significantly positive relation with total serum IgE, while CD4⁺CD25⁺Treg had significantly negative relation with total serum IgE ($r=0.36, P<0.05$). **Conclusion** CD4⁺CD25⁺Treg, CD4⁺CD25^{high}Treg and Foxp3 mRNA play an important role in activation of wheezing infants.

Key words: T-lymphocytes, regulatory; wheezing infants; regulatory T cells; forkhead transcription factors; atopy

婴幼儿喘息是小儿呼吸道疾病的一种常见症状, 有反复发作倾向, 其中 30%~50% 患儿可发展成哮喘。而判断哪些婴幼儿喘息最终会发展为哮喘, 需要早期干预治疗仍然是目前喘息性疾病防治的一个难点。CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞(regulatory T cells, Treg), 具有低反应性和免疫抑制两大功能特性, 但具有免疫调节或抑制活性的细胞主要是高表达 CD25⁺的 CD4⁺T 细胞(CD4⁺CD25^{high}Treg)。人转录因子 Foxp3 是 Treg 分化发育的关键基因, 主要表达于 CD4⁺CD25^{high}Treg。Treg 在儿童支气管哮喘和过敏性疾病的发病中表达是下调的, 但在婴幼儿喘息中的表达研究甚少。本研究试图通过对首次喘息婴幼儿 CD4⁺CD25⁺Treg、CD4⁺CD25^{high}Treg 及叉头/翼状螺旋转录因子(Foxp3) mRNA 表达的研究, 探讨有特应性和非特应性喘息婴幼儿 CD4⁺CD25⁺Treg、CD4⁺CD25^{high}Treg 及

Foxp3 mRNA 表达变化及与 IgE 的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择本院 2010 年 10 月至 2011 年 1 月因喘息性疾病住院的婴幼儿(首次发作)55 例, 两肺听诊有喘鸣音, 其中 4 例(后来经胸部 CT、纤维支气管镜检查有支气管软化 2 例、呼吸道异物 2 例)除外, 共 51 例患儿, 其中男 36 例, 女 15 例; 年龄 1 个月至 3 岁(中位年龄 8 个月)。其中特应性组 28 例, 男 22 例, 女 6 例; 有湿疹、过敏性鼻炎等特应性及特应性家族史。非特应性喘息组 23 例, 男 14 例, 女 9 例; 无湿疹、过敏性鼻炎等特应性及特应性家族史。对照组 20 例, 为门诊健康体检者, 无家族过敏史及近期无呼吸道感染婴幼儿。采血前 2 周均未用过糖皮质激素、抗组胺药及免疫调节剂。

1.2 方法

[△] 通讯作者, E-mail: hnzll000@gmail.com。

1.2.1 CD4⁺CD25⁺Treg 和 CD4⁺CD25^{hi}Treg 测定 CD4⁺CD25⁺Treg 和 CD4⁺CD25^{hi}Treg 的测定分别采集喘息婴幼儿及健康患儿外周静脉血 2 mL, 肝素抗凝; 取肝素抗凝的全血 100 μL, 加入 CD4⁺ PE 和 CD25⁺ FITC 单克隆抗体 20 μL, IgG1-PE 和 IgG1-FITC 作为同型对照, 室温闭光反应 30 min; 加 2 mL 溶血剂在室温下溶解红细胞约 10 min, 磷酸盐缓冲液 (phosphate buffered saline, PBS) 洗涤, 离心 5 min (1 500 r/min), 弃上清; 每份标本加入 1% 多聚甲醛 500 μL 后用流式细胞仪检测。流式细胞仪为 Beckman-CoulterXL100 (Coulter 公司产品)。

1.2.2 RT-PCR 检测 PBMCsFoxp3 mRNA 的表达 分离外周血中单个核淋巴细胞, 用 PBS 洗涤 2 次, 加入 Trizol 提取细胞总 RNA, 经紫外线分光光度法定量后, 取 5 μgRNA 在寡聚脱氧胸苷酸 (oligo-dT) 和 Moloney 鼠白血病毒逆转录酶 (M-MLV) 存在的情况下进行逆转录反应合成互补 DNA (cDNA), 以 cDNA 为模板进行 PCR 扩增。引物序列为: Foxp3 (176bp) 正义 5'-CAG CAC ATT CCC AGA GTT CCT C-3', 反义 5'-GCG TGT GAA CCA GTG GTA GAT C-3', 内参基因三磷酸甘油醛脱氢酶 (GAPDH) (598bp) 正义 5'-CCA CCC ATG GCA AAT I'CC ATG GCA-3', 反义 5'-TCT AGA CGG CAG GTC AGG TCC ACC-3'。反应条件: 94 °C 预变性 5 min, 94 °C 变性 1 min, 60 °C 退火 2 min, 72 °C 延伸 2 min, 32 个循环后 PCR 产物在 1.5% 的琼脂糖凝胶上电泳。电泳图像用英国 UVP 公司

GDS8000 型全自动图像分析系统处理, 以同一标本的 Foxp3 与内参照 GAPDH 扩增条带的光密度比值。

1.2.3 血清总 IgE 水平测定 取另外 2 mL 外周血, 取血清用瑞典玛西亚公司 UniCAP 变应原检测系统酶联免疫吸附法 (ELISA) 测定血清总 IgE 水平。

1.3 统计学处理 本组实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS 13.0 统计软件进行 *t* 检验, 用直线相关分析探讨 CD4⁺CD25⁺Treg、CD4⁺CD25^{hi}Treg 及 Foxp3 mRNA 与血清总 IgE 的关系。P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 喘息组和对照组 CD4⁺CD25⁺Treg、CD4⁺CD25^{hi}Treg 百分率及 Foxp3 mRNA 比较 喘息患者外周血 CD4⁺CD25⁺Treg 和 CD4⁺CD25^{hi}Treg 细胞占 CD4⁺T 细胞的百分比及 Foxp3 mRNA 均明显低于健康对照组。性别、年龄与 CD4⁺CD25⁺Treg、CD4⁺CD25^{hi}Treg 及 Foxp3 mRNA 表达不相关。见表 1 和图 1。

表 1 喘息组和对对照组 CD4⁺CD25⁺、CD4⁺CD25^{hi}Treg 百分率及 Foxp3 mRNA 比较 ($\bar{x} \pm s$)

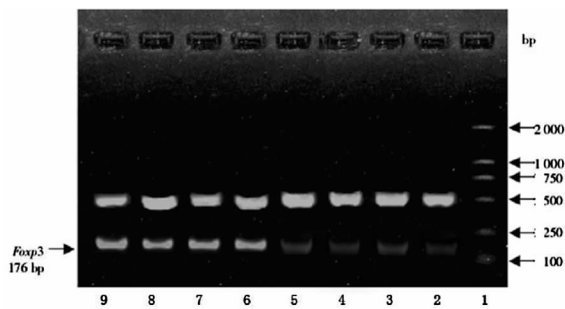
| 组别 | n | CD4 ⁺ CD25 ⁺ Treg (%) | CD4 ⁺ CD25 ^{hi} Treg (%) | Foxp3m RNA/GAPDH |
|-----|----|---|--|------------------|
| 喘息组 | 51 | 6.31+2.96* | 3.52+1.46* | 0.27+0.11* |
| 对照组 | 20 | 9.28+2.40 | 4.81+1.50 | 0.39+0.19 |

* : P < 0.01, 与对照组比较。

表 2 两组 CD4⁺CD25⁺、CD4⁺CD25^{hi}Treg 百分率及 Foxp3 mRNA 与总 IgE 比较 ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | n | CD4 ⁺ CD25 ⁺ Treg (%) | CD4 ⁺ CD25 ^{hi} Treg (%) | Foxp3 mRNA/GAPDH | 总 IgE |
|---------|----|---|--|------------------|----------------|
| 特应征喘息组 | 28 | 4.66+1.17* | 2.50+0.52* | 0.24+0.13* | 102.00+47.43** |
| 非特应征喘息组 | 23 | 7.96+3.33 | 4.56+2.01 | 0.30+0.08 | 26.85+15.30 |

* : P < 0.05, ** : P < 0.01, 与非特应征喘息组比较。



1: Marker; 2~5: 喘息婴幼儿组; 6~9: 对照组。

图 1 喘息婴幼儿外周血 Treg Foxp3 mRNA 和参比基因电泳图

2.2 特应征喘息与非特应征喘息婴幼儿 CD4⁺CD25⁺Treg、CD4⁺CD25^{hi}Treg 百分率及 Foxp3 mRNA、IgE 比较 特应征喘息组外周血 CD4⁺CD25⁺Treg、CD4⁺CD25^{hi}Treg 比率及 Foxp3 mRNA 均明显低于非特应征喘息组, 而总 IgE 较非特应征喘息组高, 且各组差异均有统计学意义 (P < 0.05)。见表 2 和图 2、3。

2.3 CD4⁺CD25⁺Treg、CD4⁺CD25^{hi}Treg 百分率及 Foxp3 mRNA 与总 IgE 相关分析 CD4⁺CD25^{hi}Treg 及 Foxp3 mRNA

与总 IgE 相关分析呈负相关 ($r = -0.75, r = -0.61, P < 0.01$); 而该组 CD4⁺CD25⁺Treg 与总 IgE 相关分析呈正相关 ($r = 0.36, P < 0.05$)。

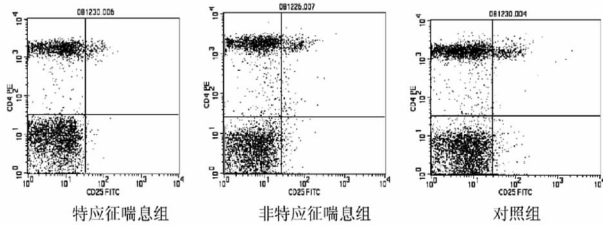


图 2 特应征喘息组和非特应征喘息组 CD4⁺CD25⁺Treg 占 CD4⁺T 细胞的比率与对照组比较

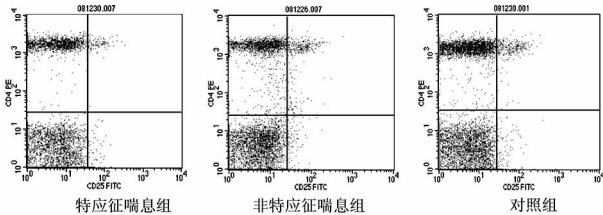


图 3 特应征喘息组和非特应征喘息组 CD4⁺CD25^{hi}Treg 占 CD4⁺T 细胞的比率与对照组比较

3 讨 论

Sakaguchi^[1]于 1995 年首先描述 CD4⁺CD25⁺Treg 是一个有免疫抑制特性的 T 细胞群,在应答单克隆抗-CD3 或抗原刺激不会增殖,且能够抑制 CD4⁺CD25⁻T 细胞的增殖应答,占未免疫的小鼠和健康人外周 CD4⁺T 细胞总数的 5%~10%。根据 CD4⁺T 细胞表达 CD25 的程度不同,CD4⁺CD25⁺Treg 又可分为 CD4⁺CD25^{high}Treg 和 CD4⁺CD25^{low}Treg,在小鼠中,两类细胞都有免疫活性,而有人认为在外周血中起免疫活性的是前者^[2]。Foxp3 是鉴别 Treg 的一个特异性标志物^[3-4],也是 CD4⁺CD25⁺Treg 发展和功能维持的关键转录因子。Foxp3 基因缺失使 CD4⁺CD25⁺Treg 抑制活性消失,而 Foxp3 在 CD25⁻Treg 异位表达则可恢复抑制活性^[3-5]。目前研究表明,Foxp3 主要表达于 CD4⁺CD25^{high}Treg,达 97%左右^[6]。人 Foxp3 基因突变表现为 IPEX(免疫失调、多内分泌腺病、肠病、X 连锁综合征),包括上升的 IgE 应答和变应性皮炎^[7-8]。

目前研究显示支气管哮喘是 Th2 介导的以气道高反应、可逆的气流受阻、气道嗜酸粒细胞浸润、气道黏液高分泌及血清高 IgE 为特征的气道慢性炎症性疾病。目前一般认为,哮喘患者体内存在有 Th1/Th2 平衡改变,Th1 细胞受到抑制,而 Th2 细胞异常活化,通过分泌 IL-4、IL-5、IL-13 等细胞因子促进 B 细胞合成 IgE 分子,刺激内皮细胞表达更多黏附分子,使炎性细胞向病变局部浸润。随研究深入,Treg 可能在支气管哮喘和其他过敏性疾病中也起重要作用。长期暴露在哮喘发生时 CD4⁺Treg 向 Th2 细胞偏移是因为 Treg 未形成,减少 Treg 数量或削弱 Treg 功能都可能导致哮喘的发生^[9]。Hartl 等^[10]则认为,哮喘儿童肺泡灌洗液中 CD4⁺CD25^{high}Treg 值是下降的,其吸入糖皮质激素与外周血和肺泡灌洗液 CD4⁺CD25^{high}T 细胞比例上升相关。同样有研究表明,与对照组相比,哮喘儿童 CD4⁺CD25⁺Treg 细胞、IL-10 分泌型 CD4⁺CD25⁺Treg 及 TGF- β 分泌型 CD4⁺CD25⁺Treg、Foxp3 mRNA 的数目是下降的,CD4⁺CD25⁺Treg 下降可能与哮喘发病机制相关^[11]。

婴幼儿喘息多有反复发作的可能,它的发病机制目前仍不清楚,与特应性体质、环境因素等有关,与哮喘可能存在相似的免疫学发病机制^[12]。婴幼儿哮喘早期即存在气道炎症反应和气道重塑,而早期干预可防止肺功能长期、不可逆的损害。如何在喘息发作初期发现潜在的哮喘患儿成为当今研究的关键。本实验结果显示,喘息婴幼儿 CD4⁺CD25⁺Treg、CD4⁺CD25^{high}Treg 百分率及外周血 Foxp3 的表达明显低于对照组,Treg 及 Foxp3 可能在婴幼儿喘息的疾病活动中起重要作用,可能参与婴幼儿喘息的发病机制。

特应征是由 IgE 介导的,以 Th2 占优势的免疫应答所表达。特应征个体针对致敏原的 Th2 应答而非特应征个体不会,目前一个可能的解释是 Treg 的影响,其有助于提高对变应原和其他炎症刺激的免疫耐受^[13]。本研究显示,喘息特应征组 CD4⁺CD25⁺Treg、CD4⁺CD25^{high}Treg 比非特应征组显著降低,与朱亚飞等^[14]研究报道呼吸道合胞病毒感染毛细支气管炎特应征喘息组 CD4⁺CD25⁺Treg 比非特应征组降低一致,表明变应原特异的 Treg 在婴幼儿变应性喘息个体是有缺陷的。

另外,本实验发现喘息特应征组 CD4⁺CD25^{high}Treg 与总 IgE 呈负相关,为此他推测 CD4⁺CD25^{high}Treg 参与婴幼儿变应性喘息的发生发展过程,外周血下降的 CD4⁺CD25^{high}Treg 数目导致免疫抑制功能下降,从而导致 Th2 细胞大量增殖活化,IgE 抗体分泌增加,产生大量致炎因子而引起喘息发作,外周血 CD4⁺CD25^{high}Treg 比例可能是一个较好反映细胞免疫功能的参考指标,有可能对首次喘息婴幼儿预后的早期预测有重要价值,今后有必要增加病例数及进行进一步随访和相关研究。而有趣的是,作者同时发现特应征喘息组 CD4⁺CD25⁺Treg 与总 IgE 呈正相关,这表明 CD4⁺CD25⁺Treg 有可能与特应征状态相关,在变应原暴露和随后的 Treg 激活下表达增加。已有报道在特应性皮炎个体,具有正常的抑制活性的 CD4⁺CD25⁺Treg 有正常的或相对高的数值^[15-16];哮喘个体,在急性加重期 CD4⁺CD25⁺Treg 是显著增加的^[17-18]。作者这部分研究与该两篇报道存在相似性。Lee 等^[19]认为,来自相对严重特应征表型的个体,其 CD4⁺CD25⁺Treg 升高有可能代表在过敏性疾病加重时,作为一种免疫应答产生的诱导的或适应性 T 调节细胞。作者的进一步研究将对这些 Treg 进行更深入的认识,识别哪些部分 Treg 是真正的效应性 T 调节细胞。此外,本实验与朱亚飞等^[14]报道呼吸道合胞病毒感染毛细支气管炎 CD4⁺CD25⁺Treg 与总 IgE 呈负相关不一致,可能原因为本实验为首次喘息患儿,发病机制与呼吸道合胞病毒这种单一特殊病毒感染并非完全一致。同样作者发现,Foxp3 的表达也与 IgE 呈负相关,因此推测在婴幼儿喘息的发病中可能存在 Foxp3 基因表达降低而导致 Treg 主要是 CD4⁺CD25^{high}Treg 下降而不能发挥正常的免疫抑制功能,而诱导 Foxp3 基因表达增加,进而诱导 Treg 增加是治疗婴幼儿喘息的重要机制之一。

综上所述,喘息婴幼儿有下降的 CD4⁺CD25⁺Treg、CD4⁺CD25^{high}Treg 及 Foxp3 表达,特应征组更为显著,表明下降的 Treg 有可能代表喘息婴幼儿尤其是特应征喘息儿的一种缺陷。

参考文献:

- [1] Sakaguchi S. Naturally arising Foxp3-expressing CD4⁺CD25⁺T regulatory T cells in immunological tolerance to self and non-self[J]. Nat Immunol, 2005,6(4):345-352.
- [2] Baecher-Allan C, Brown JA, Freeman GJ, et al. CD4⁺CD25^{high} regulatory cells in human peripheral blood[J]. J Immunol, 2001, 167(3): 1245-1253.
- [3] Hori S, Nomura T, Sakaguchi S. Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3[J]. Science, 2003,299(5609):1057-1061.
- [4] Fontenot JD, Rudensky AY. A well adapted regulatory contrivance: regulatory T cell development and the forkhead family transcription factor Foxp3[J]. Nat Immunol, 2005,6(4):331-337.
- [5] Fontenot JD, Gavin MA, Rudensky AY. Foxp3 programs the development and function of CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells[J]. Nat Immunol, 2003,4(4):330-336.
- [6] 焦志军,尤海燕,陈蕾,等. 流式细胞术检测表达 Foxp3 的

- CD4⁺CD25⁺Treg[J]. 临床检验杂志, 2008, 26(3): 161-163.
- [7] Wildin RS, Freitas A. IPEX and FOXP3: clinical and research perspectives[J]. J Autoimmunity, 2005, 25 Suppl: 56-62.
- [8] Wildin RS, Smyk-Pearson S, Filipovich AH. Clinical and molecular features of the immunodysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X linked (IPEX) syndrome[J]. J Med Genet, 2002, 39(8): 537-545.
- [9] Umetsu DT, DeKruyff RH. The regulation of allergy and asthma[J]. Immunol Rev, 2006(212): 238-255.
- [10] Hartl D, Koller B, Mehlhorn AT, et al. Quantitative and functional impairment of pulmonary CD4⁺CD25^{hi} regulatory T cells in pediatric asthma[J]. J Allergy Clin Immunol, 2007, 119(5): 1258-1266.
- [11] Zu Y, Li CR, Zheng YJ, et al. The role of CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells in the pathogenesis of asthma in children[J]. Zhonghua Yi Xue Za Zhi, 2006, 86(1): 35-38.
- [12] Legg JP, Hussain LR, Warner JA, et al. Type 1 and type 2 cytokines imbalance in acute respiratory syncytial virus bronchiolitis[J]. Am J Respir Crit Med, 2003, 168(6): 633-639.
- [13] Tournoy KG, Hove C, Grooten J, et al. Animal models of allergen-induced tolerance in asthma: are T-regulatory-T cells (Tr1) the solution for T-helper-2 cells (Th-2) in asthma[J]. Clin Exp Allergy, 2006, 36(1): 8-20.
- [14] 朱亚非, 朱建央, 李卫武, 等. 毛细支气管炎 CD4⁺CD25⁺Treg 和 Foxp3 mRNA 表达及与 IgE 关系[J]. 中国当代儿科杂志, 2009, 11(5): 349-353.
- [15] Ou LS, Goleva E, Hall C, et al. T regulatory cells in atopic dermatitis and subversion of their activity by superantigens[J]. J Allergy Clin Immunol, 2004, 113(4): 756-763.
- [16] Vukmanovic-Stejic M, McQuaid A, Birch KE, et al. Relative impact of CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells and tacrolimus on inhibition of T-cell proliferation in patients with atopic dermatitis[J]. Br J Dermatol, 2005, 153(4): 750-757.
- [17] Gemou-Engesaeth V, Bush A, Kay AB, et al. Inhaled glucocorticoid therapy of childhood asthma is associated with reduced peripheral blood T cell activation and "Th2-type" cytokine mRNA expression[J]. Pediatr, 1997, 99(5): 695-703.
- [18] Shi HZ, Li S, Xie ZF, et al. Regulatory CD4⁺CD25⁺T lymphocytes in peripheral blood from patients with atopic asthma[J]. Clin Immunol, 2004, 113(2): 172-178.
- [19] Lee JH, Yu HH, Wang LC, et al. The levels of CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells in paediatric patients with allergic rhinitis and bronchial asthma[J]. Clin Exp Immunol, 2007, 148(1): 53-63.

(收稿日期: 2011-04-27 修回日期: 2011-08-22)

(上接第 444 页)

- [15] 吴任瑞, 吴少雄, 赵充, 等. h-R3 联合放疗治疗局部晚期鼻咽癌的 II 期临床研究[J]. 癌症, 2007, 26(8): 874-879.
- [16] Chau RM, Teo PM, Kam MK, et al. Dosimetric comparison between 2-dimensional radiation therapy and intensity modulated radiation therapy in treatment of advanced T-stage nasopharyngeal carcinoma: To treat less or more in the planning organ-at-risk volume of the brainstem and spinal cord[J]. Med Dosim, 2007, 32(4): 263-270.
- [17] Dawson LA, Anzai Y, Marsh L, et al. Patterns of local-regional recurrence following parotid-sparing conformal and segmental intensity-modulated radiotherapy for head and neck cancer[J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2000, 46(5): 1117-1126.
- [18] Lin S, Pan J, Han L, et al. Nasopharyngeal carcinoma treated with reduced-volume intensity-modulated radiation therapy: report on the 3-year outcome of a prospective series[J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2009, 75(4): 1071-1078.
- [19] 马骏. 鼻咽癌治疗的研究进展[J]. 中山大学学报, 2010, 31(2): 179-185.
- [20] Pow EH, Kwong DL, McMillan AS, et al. Xerostomia and quality of life after intensity-modulated radiotherapy VS. conventional radiotherapy for early stage nasopharyngeal carcinoma: Initial report on a randomized controlled clinical trial[J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2006, 6(4): 981-991.
- [21] Kam MK, Leung SF, Zee B, et al. Prospective randomized study of intensity-modulated radiotherapy Oil salivary gland function in early-stage nasopharyngeal carcinoma patients[J]. J Clin Oncol, 2007, 25(31): 4873-4879.

(收稿日期: 2011-04-15 修回日期: 2011-09-17)