

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.25.020

LIVIN 和 HLA-I 类分子在肾透明细胞癌中的表达及其临床意义

谭钧文 原劲杨 王涌泉[△] 安瑞华 林 洋

(哈尔滨医科大学附属第一医院泌尿外科 黑龙江 哈尔滨 150001)

摘要 目的:探讨凋亡抑制蛋白 Livin 与人类白细胞抗原(HLA)I 类分子在人类肾脏透明细胞癌(clear cell renal cell carcinoma, ccRCC)中的表达及其临床意义。**方法:**选择哈尔滨医科大学附属第一医院 2007 年 12 月至 2011 年 12 月收治的拟行肾癌根治术的患者 80 例,应用免疫组织化学方法检测 80 例 ccRCC 组织与 10 例癌旁正常肾组织中 Livin 及 HLA-I 类分子的表达,并分析其与患者临床病理特征之间的关系。**结果:**10 例癌旁正常肾组织中均未见 Livin 的阳性表达,而 HLA-I 类分子的阳性表达率为 100%。ccRCC 组织中, Livin 的阳性表达率及 HLA I 类分子表达下调百分率分别为 41(51.25%)例和 48(60.00%)例, Livin 的阳性表达率与正常组相比差异有统计学差异($P<0.05$)。ccRCC 组织中 Livin 的阳性表达率与淋巴结转移、组织分化程度显著相关($P<0.05$),而 HLA I 类分子的表达下调百分率与患者的性别、年龄、肿瘤分级、淋巴结转移及分期均无相关性($P>0.05$)。ccRCC 组织中 Livin 的表达与 HLA I 类分子的表达亦无显著相关性($P>0.05$)。**结论:**Livin、HLA I 类分子表达异常参与了 ccRCC 的发生、发展过程, Livin 可能成为 ccRCC 的一个重要预后指标和治疗靶点。

关键词:Livin; HLA I 类分子; 肾透明细胞癌; 免疫组织化学; 免疫治疗

中图分类号: R737.11 文献标识码: A 文章编号: 1673-6273(2014)25-4883-04

Expression and Clinical Significance of LIVIN and HLA-I in the Clear Cell Renal cell Carcinomas

TAN Jun-wen, YUAN Jin-yang, WANG Yong-quan[△], AN Rui-hua, LIN Yang

(Department of Urology, The First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang, 150001, China)

ABSTRACT Objective: To study the expression and clinical significance of Livin and HLA-I in clear cell renal cell carcinoma(ccRCC).

Methods: 80 patients who underwent radical nephrectomy from December 2007 to December 2011 in the First Affiliated Hospital of Harbin Medical University were selected. Immunohistochemical staining was used to determine the expression of Livin and HLA-I in 80 cases of ccRCC tissues and 10 cases of normal renal tissues, and analyze its relationship with clinicopathological features of patients. **Results:** The positive rate of Livin was 0 % while HLA-I was expressed in all normal renal tissues. Livin was expressed in 41 (51.25 %) of 80 renal cancer tissues, and the expression of HLA-I was down-regulated in 48 (60.00 %)specimens. The expression of Livin in ccRCC was associated with the metastasis and the degree of tissue differentiation, but the expression of HLA-I had no correlation with age, sex, TNM stage or Lymphatic metastasis. The expression of Livin was not correlated with that of HLA-I in ccRCC. **Conclusion:** Livin and HLA-I may play an important role in the occurrence and progression of ccRCC, Livin may be important diagnostic / therapeutic indicator or target in ccRCC.

Key words: Livin; HLA-I; Clear cell renal cell carcinoma; Immunohistochemistry; Immunotherapy

Chinese Library Classification(CLC): R737.11 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)25-4883-04

前言

Livin 是新近发现的 IAP 家族中的一员,能与凋亡蛋白酶(caspases)的多个成员相互作用,直接抑制其活性,从而抑制凋亡。Livin 还可通过抑制死亡受体途径和线粒体途径等发挥抑制凋亡的作用^[1],其在多种肿瘤细胞中的表达增加,但在正常组织中表达降低或者无表达^[2-6],有望成为肿瘤基因治疗的新靶点^[7,8]。HLA-I 类分子在大多数肿瘤的肿瘤细胞表面呈表达降低

或表达缺失的状态,使特异性 CD8⁺ 细胞毒性 T 淋巴细胞(cytotoxic T lymphocyte, CTL)的激活不能,因此造成肿瘤免疫逃逸^[9]。本研究通过免疫组织化学方法检测了 80 例 ccRCC 组织与 10 例正常肾组织中 HLA I 类分子及 Livin 的表达并探讨其与肾透明细胞癌的临床病理特征及预后的关系,结果如下。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 标本来源 实验所收集的 80 例肾癌组织标本均来自哈尔滨医科大学附属第一医院 2007 年 12 月至 2011 年 12 月接受肾癌根治术的患者,其中男性患者 47 例,女性患者 33 例,年龄 35~80 岁,平均年龄 63 岁,肿瘤大小 2.5~8.6 cm,术前均未经化疗及放疗,所有病例的病理检查结果均为肾透明细胞

作者简介:谭钧文(1987-),男,硕士研究生,

E-mail: tanjunwen.123@163.com

[△]通讯作者:王涌泉,电话:13009845945,

E-mail: yongquan_w@yahoo.com

(收稿日期:2013-07-15 接受日期:2013-08-13)

癌,保存完好。依据 Robson 分期将肾癌组织标本进行,结果为:Ⅰ期 12 例,Ⅱ期 30 例,Ⅲ期 24 例,Ⅳ期 14 例。按 Fuhrman 的分级标准对肾癌组织标本进行病理分级,结果为:G1-227 例, G332 例, G421 例。另取 10 例癌旁正常组织作对照。

1.1.2 试剂与仪器 鼠抗人 Livin 单克隆抗体(浓缩型)及 SP 法免疫组织化学试剂盒购自福建迈新生物技术开发公司, HLA-I 类分子重链多克隆抗体由日本札幌医科大学实验室提供,用 Leica Q570c 真彩图像分析仪(德国)进行图像分析;DAB 显色系统购自 MERCK 公司;用 Nikon Eclipse E1000 采图摄像系统(日本)进行图像采集。

1.2 方法

1.2.1 检测 Livin 的表达(免疫组化) 参照产品说明对正常肾组织及肾癌组织采用 S-P 法。阳性对照采用已知前列腺癌阳性片,阴性对照采用 PBS 代替一抗的方法。Livin 表达为在细胞质内见黄色或棕黄色颗粒。

1.2.2 检测 HLA I 类分子的表达(免疫组化) 应用 HLA I 类分子重链多克隆抗体对全部 80 例标本进行免疫组化检测,参照说明书进行具体实验步骤。从每张切片中随机选择 10 个高

倍视野(400×),并对着色细胞数进行计数及染色强度进行评分(双盲阅片,两人独立计数);对 HLA I 类分子的染色强度评分参照文献[9]方法进行:0 分(无染色物质);1 分(> 20 %的肿瘤细胞中观察到微弱的不完整的细胞膜染色,或者细胞质中度染色,而胞膜不染色);2 分(> 80 %的肿瘤细胞胞膜染色阳性)。HLA-I 类分子的表达分为表达下调(0 或 1 分)、正常(2 分)。

1.3 统计学分析

采用统计学软件 SPSS18.0 分析实验数据,计数治疗的比较采用卡方检验,以 $P < 0.05$ 表示有差异有统计学意义。

2 结果

2.1 肾透明细胞癌(ccRCC)组织中 Livin、HLA I 类分子的表达情况

在癌旁正常肾组织中未见 Livin 的表达(图 A①),而 ccRCC 组织中有 36 例观察到 Livin 不同程度的表达(图 A②),表达阳性率为 45.0 %,两者比较差异有统计学意义($P < 0.01$)。在正常肾组织中 HLA-I 类分子表达率为 100 %(图 A③),而在 ccRCC 组织中有 48(60.0 %)例表达下调(图 A④)。

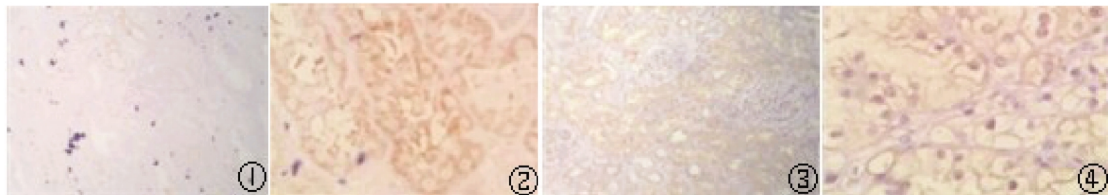


图 A Livin 和 HLA I 类分子在正常组织和肾透明细胞癌(ccRCC)组织中的表达(免疫组化)

Fig.A Expression of Livin and HLA-I in ccRCC tissues and adjacent normal renal tissues(immunohistochemistry)

①: Livin, 正常肾组织(200×); ②: Livin, ccRCC 组织(400×); ③: HLA-I 类分子, 正常肾组织(200×); ④: HLA-I 类分子, ccRCC 组织(400×)

①: Livin, normal renal tissues(200×); ②: Livin, ccRCC tissues(400×); ③: HLA-I, normal renal tissues(200×); ④: HLA-I, ccRCC tissues(400×)

2.2 Livin 和 HLA I 类分子在肾透明细胞癌中的表达与其临床病理特征的关系

随着肿瘤的临床分期的增高, Livin 在 ccRCC 中的表达阳性率逐渐增高, 各期之间的差异有统计学意义($P < 0.01$); 随着肿瘤的组织病理学分级的增高, Livin 的表达阳性率逐渐增高, G1-2 至 G4 级之间的差异有统计学意义 ($P < 0.01$); Livin 的表达也与肾癌淋巴结转移显著相关, Livin 在淋巴结转移阳性组中的表达率显著高于淋巴结转移阴性组($P < 0.01$)。Livin 的表达率与患者年龄、性别及肿瘤大小无统计学差异 ($P > 0.05$, 表 1)。HLA-I 类分子在肾癌中的表达率与患者年龄、性别、肿瘤大小、临床分期、肿瘤分级及淋巴结转移均无统计学差异 ($P > 0.05$, 表 2)。

2.3 肾透明细胞癌中 Livin 和 HLA I 类分子表达间的关系

肾透明细胞癌组织中 HLA I 类分子表达下调的 32 例标本中, Livin 阳性表达的有 19 例; 在 HLA I 类分子表达正常的 48 例标本中 Livin 阳性表达的有 22 例。组间比较差异无统计学意义($P > 0.05$, 表 3)。

3 讨论

Livin 是凋亡蛋白抑制剂(IAPs)家族的新成员, 由 4 个不同的实验小组几乎在同一时间所发现。Livin 基因位于人类染色

体 20q13.3, 全长 4.6 kb, 其基因转录产物 mRNA 长约 1.4 kb。Livin 的 N 端包含一个 BIR 结构(包括 4 个 α 螺旋和 1 个 β 折叠), C 端含一个 RING 环指结构, 有两种剪接变体, 分别为 Livin α 和 Livin β , 主要分布于胞质中, 并且在细胞核中少量表达^[1]。Livin 不仅可与介导细胞凋亡的下游终末效应因子 Caspase 3 和 Caspase 7 结合并抑制其活性, 还可与线粒体依赖凋亡途径的上游启动子 Caspase 9 结合, 并抑制由 Apaf 1(apoptosis protein activating factor 1)、dATP 及细胞色素 C 诱导的激活作用, 进而抑制细胞凋亡。此外, Livin 可直接结合转化因子 B 激酶(transforming growth factor B activated kinase, TAK1)来激活 MAP(mitogen-activated protein)激酶 JNK1 和 JNK2; 也具有 E3 泛素连接酶活性, 通过泛素蛋白酶途径导致 Smac/DIABLO 蛋白的降解, 从而抑制细胞凋亡^[14]。

研究表明, Livin 在人类多种类型的肿瘤细胞系如肾癌^[10]、小细胞肺癌^[11]、胶质瘤^[12]、睾丸癌^[13]、恶性黑色素瘤^[14]、骨肉瘤^[15]、口腔上皮细胞癌^[16]、急性淋巴细胞白血病^[17]、前列腺癌^[18]等中均呈高表达, 且与这些肿瘤的生物特性及分期有关。本实验结果显示 Livin 在 45.0% 的 ccRCC 组织中呈现不同程度的阳性表达, 而在癌旁的正常肾脏组织中无表达, 这表明 Livin 的表达增加可能与 ccRCC 的发生和发展密切相关。此外, 本研究分析了 ccRCC 组织中 Livin 的表达与其临床病理特征的关系, 结果

表 1 ccRCC 组织中 Livin 的表达与患者临床病理特征的关系

Table 1 Correlation of the Livin expression with clinicopathologic characteristics of ccRCC

Factors	n	Livin		P Values
		(+)	(-)	
Age				
< 60	29	14	15	P=0.688
≥ 60	51	27	24	
Sex				
Male	47	26	21	P=0.385
Female	33	15	18	
Tumor size				
< 7cm	26	15	11	P=0.424
≥ 7cm	54	26	28	
Robson Stage				
I	12	2	10	P=0.008
II	30	13	17	
III	24	15	9	
IV	14	11	3	
Fuhrman Grade				
G1-2	27	7	20	P=0.005
G3	32	20	12	
G4	21	14	7	
Metastasis				
Yes	36	25	11	P=0.003
No	44	16	28	

表 2 ccRCC 组织中 HLA I 类分子的表达与患者临床病理特征的关系

Table 2 Correlation of the HLA-I expression with clinicopathologic characteristics of ccRCC

Factors	n	HLA- I (Score)			P Values
		2	1	0	
Age					
< 60	29	12	7	10	P=0.948
≥ 60	51	20	14	17	
Sex					
Male	47	20	10	17	P=0.483
Female	33	12	11	10	
Tumor size					
< 7cm	26	11	7	8	P=0.923
≥ 7cm	54	21	14	19	
Robson Stage					
I	12	6	4	2	P=0.373
II	30	12	10	8	
III	24	10	5	9	
IV	14	4	2	8	
Fuhrman Grade					
G1-2	27	10	9	8	P=0.871
G3	32	14	7	11	
G4	21	8	5	8	
Metastasis					
Yes	36	15	8	13	P=0.757
No	44	17	13	14	

表 3 肾透明细胞癌中 Livin 和 HLA I 类分子表达间的关系
Table 3 The relationship of the expression of Livin and HLA I in ccRCC

HLA- I Expression	n	Livin		P Values
		(+)	(-)	
Normal	32	19	21	P=0.502
L-exp	48	22	18	
Total	80	41	39	

表明 Livin 的阳性表达率与 ccRCC 的临床分期及病理分级呈显著正相关, 且 Livin 在淋巴结转移阳性组中的阳性表达率显著高于淋巴结转移阴性组, 这些结果提示 Livin 的表达可能与肿瘤的恶性程度之间存在密切关系, 其可能参与 ccRCC 的进展及浸润, 其表达可能与 ccRCC 的预后相关。

HLA-I 类分子是人类白细胞抗原 (human leukocyte antigen, HLA) 家族中的重要成员, 广泛分布于人体内绝大多数有核细胞的表面, 作为抗原肽受体与结合和提呈抗原肽和诱发免疫应答密切相关。细胞介导的特异性细胞免疫应答是机体抗肿瘤免疫中的关键环节, 主要通过细胞毒性 T 淋巴细胞(CTL)介导的细胞毒作用对肿瘤细胞起到杀伤作用, 而其发挥效应从而起到杀伤肿瘤细胞的作用的必要条件则是 CTL 必须识别到肿瘤细胞表面 HLA-I 类分子提呈的肿瘤抗原^[9,20-22]。HLA-I 类分子表达改变的机制涉及很多方面, 肿瘤的类型及其组织起源可能是 HLA-I 类分子表达发生改变的基础。在正常细胞中, HLA-I 类分子均呈阳性表达; 而在恶性肿瘤组织中, 25% 75% 的肿瘤细胞呈不同程度的表达缺失。本研究结果显示正常肾组织中 HLA-I 类分子均呈阳性表达, 而 60.0 %ccRCC 组织中 HLA-I 类分子的表达下调, 且 HLA-I 类分子在 ccRCC 中的表达与患者的年龄、性别、肿瘤大小、肿瘤的分期、分级及是否存在淋巴结转移均无显著相关性, 这一结果与其他实验报道一致^[8], 提示 HLA-I 类分子在肾透明细胞癌中表达的下调或缺失是肾癌发生的早期事件, 其可能干扰肿瘤相关抗原的提呈, 从而降低细胞的抗原性, 使肿瘤细胞不能被 CTL 识别而发生肿瘤的免疫逃逸。近年来, 体外诱导 TS-CTL 作为新的免疫效应细胞的特异性过继免疫治疗已成为肿瘤免疫治疗领域的研究热点。但本研究结果及其它实验研究^[5, 19, 22]均证实肾透明细胞癌中 HLA-I 类分子的表达有明显的下调或缺失, 是一类免疫原性较弱的肿瘤, 在使用 T 细胞依赖性的免疫治疗后的疗效较其他肿瘤效果差。因此, 对 HLA-I 类分子的表达恢复问题的有必要进行深入的研究, 从而提高 HLA-I 类分子表达下调或缺失的肾癌患者的抗原提呈能力。

同时本实验也证实了尽管 Livin 与 HLA-I 类分子均参与了肾透明细胞癌的发生发展过程, 但两者在其中的影响并不存在相互关联的关系。

综上所述, 本研究的结果表明 Livin 和 HLA-I 类分子在肾透明细胞癌的发生和发展过程中均发挥了一定的作用, 特别是 Livin, 与肾透明细胞癌患者的临床病理特征密切相关, 有望作为评估疾病程度及判断预后的重要指标及肿瘤基因治疗的新靶点。当然, 对肾癌患者实施免疫治疗前的 HLA-I 类分子表达

情况的筛选也是非常必要的。

参考文献 (References)

- [1] Kasof GM, Gomes BC. Livin, a novel inhibitor of apoptosis protein Family member[J]. J Biolchem, 2001, 276(5): 3238-3246
- [2] Crnkovic-Mertens I, Semzow J, Hoppe-Seyler F. Isoform-specific silencing of the Livin gene by RNA interference defines Livin beta as key mediator of apoptosis inhibition in HeLa cells[J]. Mol Med, 2006, 84(3): 232-240
- [3] Zhu Z, Wang Y, Ding X, et al. Expression and prognostic significance of Livin in the progression of bladder cancer[J]. Journal of Huazhong University of Science and Technology Medical Sciences, 2008, 28(1): 90-92
- [4] Zhao Y, Deng X, Wang Q. Expression and clinical significance of apoptosis associated genes Livin and Smac/DIABLO in human gastric carcinomas[J]. Chinese Journal Of Cancer, 2009, 28(6): 593-601
- [5] 程涛, 张建国, 王晓辉. PTEN 和 LIVIN 在肾透明细胞癌中的表达及临床意义[J]. 河南医学研究, 2012, 21(3): 12-14
- [6] 杜媛, 冯一中, 利丰. Livin 在胰腺癌组织芯片中的表达及其临床意义[J]. 苏州大学学报, 2008, 28(2): 244-246
- [7] Chang H, Shimmer A D. Livin/melanoma inhibitor of apoptosis protein as a potential therapeutic target for treatment of malignancy[J]. Mol Cancer Ther, 2007, 6(1): 24-30
- [8] Liu B, Han M, Wen J K, et al. Livin/ML-IAP as a new target for cancer treatment[J]. Cancer Lett, 2007, 250(2): 168-176
- [9] Cabrera T, Maleno I, Collado A, et al. Analysis of HLA Class I alterations in tumors: choosing a strategy based on known patterns of underlying molecular mechanisms [J]. Tissue Antigens, 2007, 69(1): 264-268
- [10] Haferkamp A, Bedke J, Vetter C, et al. High nuclear Livin expression is a favourable prognostic indicator in renal cell carcinoma [J]. BJU Int, 2008, 102(11): 1700-1706
- [11] Sun JG, Liao RX, Zhang SX, et al. Role of inhibitor of apoptosis protein Livin in radiation resistance in nonsmall cell lung cancer[J]. Cancer Biother Radiopharm, 2011, 26(5): 585-592
- [12] Yuan B, Ran B, Wang S, et al. siRNA directed against Livin inhibits tumor growth and induces apoptosis in human glioma cells[J]. J Neurooncol, 2012, 107(1): 81-87

- Pang Zhi-cheng, Liu Xiao-li, Wang Jing-po, et al. pethidine should not be used for long-term treatment of cancer pain[J]. Chinese Journal of Drug Dependence, 1998, 7 (4): 246
- [8] O'Neil CK, Hanlon JT, Marcum ZA. Adverse effects of analgesics commonly used by older adults with osteoarthritis: focus on non-opioid and opioid analgesics[J]. Am J Geriatr Pharmacother, 2012, 10 (6): 331-342
- [9] Lavonas EJ, Fries JF, Furst DE, et al. Comparative risks of non-prescription analgesics: a structured topic review and research priorities[J]. Expert Opin Drug Saf, 2012, 11(1): 33-44
- [10] Ashley PF, Parekh S, Moles DR, et al. Preoperative analgesics for additional pain relief in children and adolescents having dental treatment[J]. Cochrane Database Syst Rev, 2012, 9: CD008392
- [11] Wismeijer AA, Vingerhoets AJ. The use of virtual reality and audiovisual eyeglass systems as adjunct analgesic techniques: a review of the literature[J]. Ann Behav Med, 2005, 30(3): 268-278
- [12] Gammaitoni AR, Alvarez NA, Galer BS. Safety and tolerability of the lidocaine patch 5%, a targeted peripheral analgesic: a review of the literature[J]. J Clin Pharmacol, 2003, 43(2): 111-117
- [13] Patil SK, Anitescu M. Opioid-free perioperative analgesia for hemicolectomy in a patient with opioid-induced delirium: a case report and review of the analgesic efficacy of the alpha-2 agonist agents[J]. Pain Pract, 2012, 12(8): 656-662
- [14] Hatfield LA, Chang K, Bittle M, et al. The analgesic properties of intraoral sucrose: an integrative review [J]. Adv Neonatal Care, 2011, 11(2): 83-92; quiz 93-94
- [15] Ong CK, Seymour RA, Lirk P, et al. Combining paracetamol (acetaminophen) with nonsteroidal antiinflammatory drugs: a qualitative systematic review of analgesic efficacy for acute postoperative pain[J]. Anesth Analg, 2010, 110(4): 1170-1179
- [16] Carvalho B, Coleman L, Saxena A, et al. Analgesic requirements and postoperative recovery after scheduled compared to unplanned cesarean delivery: a retrospective chart review[J]. Int J Obstet Anesth, 2010, 19(1): 10-15
- [17] Bonnet MP, Mignon A, Mazoit JX, et al. Analgesic efficacy and adverse effects of epidural morphine compared to parenteral opioids after elective caesarean section: a systematic review [J]. Eur J Pain, 2010, 14(9): 894 e1-9
- [18] Staahl C, Olesen AE, Andresen T, et al. Assessing analgesic actions of opioids by experimental pain models in healthy volunteers - an updated review[J]. Br J Clin Pharmacol, 2009, 68(2): 149-146
- [19] Ip HY, Abrishami A, Peng PW, et al. Predictors of postoperative pain and analgesic consumption: a qualitative systematic review [J]. Anesthesiology, 2009, 111(3): 657-677
- [20] Terpening CM, Johnson WM. Methadone as an analgesic: a review of the risks and benefits[J]. W V Med J, 2007, 103(1): 14-18

(上接第 4886 页)

- [13] Kempkensteffen C, Hinz S, Krause H, et al. Expression of splicing variants of the inhibitor of apoptosis livin in testicular germ cell tumors[J]. Tumour Biol, 2008, 29(2): 76-82
- [14] Zhou J, Yuen NK, Zhan Q, et al. Immunity to the melanoma inhibitor of apoptosis protein (ML-IAP; livin) in patients with malignant melanoma[J]. Cancer Immunol Immunother, 2012, 61(5): 655-665
- [15] Nedelcu T, Kubista B, Koller A, et al. Livin and Bcl-2 expression in high-grade osteosarcoma [J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2008, 134(2): 237-244
- [16] Jiang L, Li X, Bai L, et al. Expression of livin at the invasive tumor front of oral squamous cell carcinoma [J]. Journal of Southern Medical University, 2010, 30(6): 1398-1400
- [17] Li WQ, Li XL, Wang GP, et al. Gene expression of livin and sur-vivin in adult patients with acute lymphoblastic leukemia and its clinical significance[J]. Journal of Experimental Hematology, 2011, 19(4): 921-925
- [18] ong T, Hong BF, Gao JP, et al. Expression of apoptosis inhibitor gene Livin in prostate cancer and its clinical implication[J]. Maternal Journal of Andrology, 2008, 14(1): 30-33
- [19] Kitamura H, Honma I, Torigoe T, et al. Down-regulation of HLA Class I Antigen is an Independent Prognostic Factor for Clear Cell Renal Cell Carcinoma[J]. J Urol, 2007, 177(4): 1269-1272
- [20] Vucic D, Stennicke HR, Pisabarro MT, et al. ML-IAP. a novel member of the inhibitor of apoptosis protein family[J]. Biophys Res Commun, 2000, 279(3): 820-831
- [21] Gromme M, Neefjes J. Antigen degradation or presentation by MHC Class I molecules via classical and non-classical pathways [J]. Mol Immunol, 2002, 39(3-4): 181-202
- [22] Stickel JS, Stichel N, Hennenlotter J, et al. Quantification of HLA class I molecules on renal cell carcinoma using Edman degradation [J]. BMC Urology, 2011, 11: 1