DOI:10.16016/j.1000-5404.201907252

不同方法检测急性移植物抗宿主病患者的血清标志物

陈 婷[1],李小平[1],高强国[2],高 蕾[1],刘 耀[1],张 诚[1],孔佩艳[1],高 力[1],冯一梅[1],饶 军[1],张 曦[1]
400037 重庆,陆军军医大学(第三军医大学)第二附属医院血液病医学中心,全军血液病中心,创伤、烧伤与复合伤研究国家重点实验室[1];400038 重庆,陆军军医大学(第三军医大学)基础医学院细胞生物学教研室[2]

[**摘要**] **目的** 采用两种方法检测急性移植物抗宿主病(acute graft versus host disease,aGVHD)患者的血清生物标志物,筛选出有临床价值的生物标志物,并阐明两种方法检查结果的一致性,建立aGVHD的生物标志物筛查流程。**方法** 收集2016年4月至2018年4月本血液病医学中心进行异基因造血干细胞移植的患者60例,采用蛋白质芯片法和ELISA检测同时期接受异基因造血干细胞移植后发生(aGVHD组,$n=30$)和未发生急性移植物抗宿主病患者(对照组,$n=30$)的血清细胞因子表达水平。**结果** 两种不同实验方法检测均发现,aGVHD组患者血清中IL-7、IL-27表达水平高于对照组($P<0.05$),而CD127在aGVHD组患者中表达水平降低($P<0.05$)。其中IL-27表达水平与急性移植物抗宿主病的疾病严重程度相关($P<0.05$)。两种检测方法的ROC曲线下面积均在0.7~0.9之间,差异无统计学意义。**结论** 蛋白质芯片和ELISA两种检测方法的准确度高,结果一致。可以建立先通过蛋白质芯片法筛选出有临床意义的重点细胞因子,再扩大样本量后通过ELISA法进行重复验证的血清生物标志物筛查流程,利于临床开展。

[**关键词**] 异基因造血干细胞移植;急性移植物抗宿主病;血清生物标志物;IL-7;IL-27;CD127
[**中图法分类号**] R392.4; R446.6; R617 [**文献标志码**] A

Different methods for detecting serum markers in patients with acute graft versus host disease

CHEN Ting[1], LI Xiaoping[1], GAO Qiangguo[2], GAO Lei[1], LIU Yao[1], ZHANG Cheng[1], KONG Peiyan[1], GAO Li[1], FENG Yimei[1], RAO Jun[1], ZHANG Xi[1] [1]State Key Laboratory of Trauma, Burns and Combined Injury, Medical Center of Hematology, PLA Center for Hematology, Second Affiliated Hospital, Army Medical University (Third Military Medical University), Chongqing, 400037; [2]Department of Cell Biology, College of Basic Medical Sciences, Army Medical University (Third Military Medical University), Chongqing, 400038, China

[**Abstract**] **Objective** To clarify the consistency of the results of the 2 methods for detecting serum biomarkers in patients with acute graft versus host disease (aGVHD) in order to screen out biomarkers with clinical value and to establish a biomarker screening process for aGVHD. **Methods** Sixty patients undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (allo-HSCT) in our medical center from April 2016 to April 2018 were recruited in this study. Protein chip and ELISA were used to detect the serum cytokine levels in the patients with aGVHD ($n=30$) and those without (control group, $n=30$). **Results** Both detection methods showed that the serum levels of IL-7 and IL-27p were significantly higher ($P<0.05$), while the expression level of CD127 was decreased ($P<0.05$) in the aGVHD group than the control. The expression level of IL-27 was correlated with the severity of aGVHD ($P<0.05$). The area under the receiver operating characteristic (ROC) curve was between 0.7 and 0.9, with no significant differences between the 2 methods. **Conclusion** Both protein chip and ELISA have high accuracy and consistency in the detection of serum biomarkers in

[**基金项目**] 国家重点研究计划"干细胞及转化研究"重点专项(2017YFA0105502);重庆市社会事业与民生保障科技创新专项(CSTC2016shms-ztzx10003)

[**通信作者**] 张 曦,E-mail:zhangxxi@163.com

aGVHD patients. It is possible to establish a high-throughput screening of clinically significant cytokines by protein chip, and then expanding the sample size and repeating the validation by ELISA, which is conducive to clinical development.

[**Key words**] allogeneic hematopoietic stem cell transplantation; acute graft versus host disease; serum biomarkers; IL-7; IL-27; CD127

Supported by the Key Specific Project of National Key Research Program "Stem Cells and Transformation Research" (2017YFA0105502) and the Science and Technology Innovation Special Project of Social Undertakings and People's Livelihood Security of Chongqing (CSTC2016shms-ztzx10003). Corresponding author: ZHANG Xi, E-mail: zhangxxi@163.com

近年来,血液系统疾病的发病率及死亡率逐年上升,而异基因造血干细胞移植(hematopoietic stem cell transplant,HSCT)仍然是目前治疗血液系统疾病最为有效的手段[1]。感染、复发、移植物抗宿主病是异基因造血干细胞移植的主要并发症,其中移植物抗宿主病(graft versus host disease,GVHD)是造成异基因造血干细胞移植后非复发死亡(non-relapse mortality,NRM)的主要原因,严重影响患者的生存质量和生存率。GVHD是以受者的靶细胞为目标发动的一系列细胞毒攻击,其中以皮肤黏膜、肝脏、消化道等为主要靶器官。移植物抗宿主病分为急性和慢性两种,急性移植物抗宿主病(acute graft versus host disease,aGVHD)主要是指发生在移植100 d内,起病急、病情重,死亡率高。病理活检及受损靶器官的临床表现是目前诊断移植物抗宿主病的主要依据,其中病理活检是诊断的金标准,但是作为有创的操作,移植后患者可能因各种原因无法完成该项检查。而不同靶器官的临床表现又缺乏特异性,容易受药物、感染等因素干扰,不能作为诊断的金标准。目前针对重度的aGVHD仍然是提倡早诊断早干预的原则,以减轻靶器官的损伤,提高疗效,增加移植的成功率,降低死亡率。

在目前的aGVHD诊疗研究中,血清生物学标志物筛查是一种较病理活检更简便的早期诊断手段,而且血清生物学标志物的生理学研究有利于进一步了解aGVHD的发病机制,促进aGVHD治疗手段的研发。有研究报道,Elafin(弹性蛋白酶抑制剂)在aGVHD的小鼠模型及aGVHD的患者血浆中表达水平升高[2-3],还有研究发现白细胞介素-6(IL-6)、白细胞介素-7(IL-7)在aGVHD患者中的表达有显著差异[4-5],但是上述几种生物标志物的特异性和灵敏度尚不足以辅助临床诊断,重复性较差,且很少有能预测aGVHD严重程度的特异性生物标志物的报道。因此,筛查新的血清生物学标志物有重要的临床意义。本研究采用两种方法检测同一时期接受异基因造血干细胞移植后发生和未发生急性移植物抗宿主病患者的血清细胞因子表达水平,筛选出与aGVHD相关的细胞因子水平变化,对比两种方法的结果是否有一致性,后期拟建立aGVHD生物标志物的筛查流程。

1 资料与方法

1.1 临床资料

收集2016年4月至2018年4月在陆军军医大学第二附属医院血液病医学中心进行异基因造血干细胞移植的患者,其中移植后发生急性GVHD的患者30例为aGVHD组,未发生aGVHD的患者30例为对照组,收集患者的血清。本研究经陆军军医大学第二附属医院伦理委员会审批批准(2017YFA02)。aGVHD组纳入标准:按标准诊断为急性GVHD的患者,基础疾病稳定;排除标准:出现疾病进展或复发,出现活动性感染者。对照组纳入标准:移植后100 d内基础疾病稳定,无活动性感染,没有出现临床或活检证实的aGVHD表现者。按aGVHD的Thomas分度法进行疾病严重程度分度(表1)。

表1 急性移植物抗宿主病靶器官分度(Thomas分度法)

aGVHD分度	皮肤	肝脏(胆红素)	肠道(腹泻量)
0	无皮疹	≤34.2 μmol/L(≤2 mg/dL)	≤500 mL/d
Ⅰ	斑丘疹体表面积<25%	≤51.3 μmol/L(≤3 mg/dL)	>500 mL/d
Ⅱ	斑丘疹体表面积<50%	≤102.6 μmol/L(≤6 mg/dL)	>1 000 mL/d
Ⅲ	全身广泛斑丘疹体表面积≥50%	≤256.5 μmol/L(≤15 mg/dL)	>1 500 mL/d
Ⅳ	全身广泛斑丘疹,伴水疱或皮肤剥脱	>256.5 μmol/L(>15 mg/dL)	>2 000 mL/d伴严重腹痛或肠梗阻

1.2 方法

分别采用蛋白质芯片法及ELISA法(酶联免疫吸附测定)。蛋白质芯片法采用广州瑞博奥生物科技有限公司定制的Ray Bio® 膜芯片,测定16种细胞因子的表达水平变化。ELISA法采用博士德生物公司的ELISA试剂盒。收集的血清标本时相点为:aGVHD发生前、发生aGVHD时、发生aGVHD高峰时、予抗aGVHD治疗后的4个时相点。未发生aGVHD的对照组患者主要收集异基因造血干细胞移植造血重建后,每2周1次的血清标本至移植后100 d。

最初用蛋白质芯片法将患者血清中的生物标志物进行初步筛选,共筛选了16种细胞因子,包括IL-2、IL-4、IL-6、IL-7、IL-10、IL-26、IL-27、趋化因子3(CXCL3)、CXCL5、CXCL8、CXCL9、CXCL13、致癌抑制因子2(ST2)、CD127、TNF-α、IFN-γ,发现IL-6、IL-7、IL-27、CXCL9、CXCL13、ST2、CD127、IFN-γ的表达水平在aGVHD患者中有显著差异,其中IL-6、CXCL9、IFN-γ国内外研究报道较多,所以最终筛选出5种目前报道较少的细胞因子,进行ELISA法的再次验证。这5种细胞因子包括:IL-27、ST2、IL-7、CD127和CXCL13。

1.3 统计学分析

采用SPSS 18.0统计软件,两组间比较采用t检验,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用LSD法多重检验。通过受试者工作曲线(ROC)分析实验方法的准确度,曲线下面积采用Z检验,检验水准为双侧,$P<0.05$表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 入组患者的基本情况

aGVHD组30例,其中男性10例,女性20例,中位年龄27.3(5~54)岁;对照组30例,其中男性15例,女性15例,中位年龄27.5(7~51)岁。两组患者的基线情况差异无统计学意义($P>0.05$,表2)。

2.2 患者5种血清细胞因子的表达水平

2.2.1 蛋白质芯片法检测5种细胞因子的表达

结果发现,与对照组比较,aGVHD组患者IL-27、IL-7、ST2表达显著增高,CD127表达显著降低,差异均有统计学意义($P<0.05$,表3)。

表2 两组患者的一般临床资料[$n=30$,例(%)]

临床特征	aGVHD组	对照组
疾病类型		
AML	12(40.0)	15(50.0)
ALL	8(26.7)	9(30.0)
MDS	4(13.3)	1(3.3)
NHL	2(6.7)	1(3.3)
SAA	4(13.3)	4(13.3)
供受者类型		
有血缘关系	20(66.7)	18(60.0)
其他	10(33.3)	12(40.0)
干细胞来源		
PBSC	18(60.0)	16(53.3)
PBSC+BM	12(40.0)	14(46.7)
是否使用ATG体外去T细胞		
使用ATG	18(60.0)	16(53.3)
未使用ATG	12(40.0)	14(46.7)
预防aGVHD的方案		
CSA+MMF+MTX	20(66.7)	18(60.0)
FK506+MMF+MTX	10(33.3)	12(40.0)
发生aGVHD的严重程度		
Ⅰ/Ⅱ	20(66.7)	0(0.0)
Ⅲ/Ⅳ	10(33.3)	0(0.0)

AML:急性髓系白血病;ALL:急性淋巴细胞白血病;MDS:骨髓增生异常综合征;NHL:非霍奇金淋巴瘤;SAA:重型再生障碍性贫血;PBSC:外周血干细胞;BM:骨髓干细胞;ATG:抗胸腺细胞球蛋白;CSA:环孢素;MMF:吗替麦考酚脂;MTX:甲氨蝶呤;FK506:他克莫司

2.2.2 ELISA法检测5种细胞因子的表达

结果发现,与对照组比较,aGVHD组患者IL-27、IL-7表达显著增高,CD127、CXCL13的表达显著降低($P<0.05$,表4)。再将患者按Thomas急性移植物抗宿主病的严重程度进行分组,发现Ⅲ/Ⅳ度aGVHD患者IL-27的表达较对照组、Ⅰ/Ⅱ度aGVHD患者显著升高($P<0.05$,表5)。

2.3 两种检测方法的准确度

两种不同方法检测发生aGVHD和未发生aGVHD患者的细胞因子水平变化同时有统计学意义的为IL-27、IL-7、CD127。发现两种实验方法检测IL-27、IL-7、CD127的ROC曲线下面积均在0.7~0.9之间,差异无统计学意义($P>0.05$,图1)。

表3 蛋白质芯片法检测两组患者细胞因子表达水平变化(pg/mL,$\bar{x}\pm s$)

组别	n	IL-27	IL-7	ST2	CD127	CXCL13
aGVHD组	30	3 214.00±146.00	2 837.00±116.90	18 553.00±802.60	2 905.00±219.90	2 114.00±169.90
对照组	30	2 253.00±116.30	1 900.00±104.20	14 933.00±752.70	4 259.00±341.30	1 968.00±142.10
P值		<0.000 1	<0.000 1	0.001 5	0.002 4	0.517 0

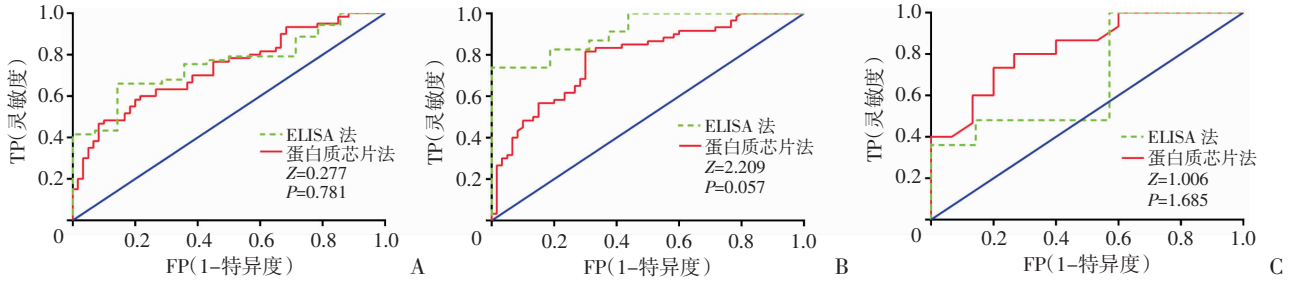
表 4　ELISA 法检测两组患者细胞因子表达水平变化(pg/mL,$\bar{x}\pm s$)

组别	n	IL-27	IL-7	ST2	CD127	CXCL13
aGVHD 组	30	174.50±6.64	380.10±20.49	173.80±21.31	267.10±24.58	33.51±3.52
对照组	30	134.50±12.42	263.10±52.82	135.60±38.32	419.00±145.60	51.65±10.93
P 值		0.004 3	<0.000 1	0.157 9	0.019 0	0.000 8

表 5　ELISA 法检测Ⅰ/Ⅱ度、Ⅲ/Ⅳ度 aGVHD 及对照组患者细胞因子表达水平变化(pg/mL,$\bar{x}\pm s$)

组别	n	IL-27	IL-7	ST2	CD127	CXCL13
对照组	30	134.50±12.42	263.10±52.82	135.60±38.32	419.00±145.60	51.65±10.93
Ⅰ/Ⅱ度 aGVHD	20	136.20±9.82	344.60±134.80[a]	173.60±38.05	273.40±154.10[a]	34.55±1.16
Ⅲ/Ⅳ度 aGVHD	10	205.20±12.16[ab]	397.90±53.33[a]	173.90±2.67	265.00±8.48[a]	50.49±15.94

a:P<0.05,与对照组比较;b:P<0.05,与Ⅰ/Ⅱ度 aGVHD 比较



A:IL-27;B:IL-7;C:CD127　蓝色实线为参考线

图 1　蛋白质芯片法及 ELISA 法检测细胞因子变化水平的 ROC 曲线

3　讨论

急性移植物抗宿主病是异基因造血干细胞移植术后的严重并发症之一,也是导致移植患者早期死亡的重要原因[6]。目前认为 aGVHD 的发生机制主要与 Th1、Th2 细胞的失衡有关,从而导致受者体内的一系列细胞因子风暴[7],最终引起各种靶器官的损害[8-9]。本研究发现在 aGVHD 的患者血清中 IL-7、IL-27 表达水平显著增高,CD127 在 aGVHD 患者中表达水平下降,上述结果通过蛋白质芯片法及 ELISA 两种试验方法,在同一批患者中结果得到重复。其中,IL-27 还与 aGVHD 的严重程度呈正相关。所以,可将 IL-7、IL-27、CD127 作为辅助早期诊断 aGVHD 的血清特异性标志物,并且如果 IL-27 的表达水平越高,需警惕重度 aGVHD 的发生可能,可作为早期预测与及时干预的重要参考,降低移植后的病死率。

本研究发现与 aGVHD 发生呈正相关的因子为 IL-7,白介素家族中的 IL-7 在淋巴细胞的增殖,分化,活化中起着至关重要的作用。IL-7 通过刺激肿瘤坏死因子,干扰素等促进炎症因子的分泌,从而在机体的免疫反应中发挥重要的作用。IL-7 与 T 细胞上的 IL-7 受体表达水平以及外周的 T 细胞数量呈负相关。研究表明,IL-7 的高水平表达与 GVHD 发生相关[10],与本研究结果一致。而在发生 aGVHD 的患者中,CD127 及 CXCL13 的表达水平呈负相关。在动物实验中已经发现通过阻断 IL-7 或其受体,可以改善炎症的病理过程[11]。本研究发现在 aGVHD 患者血清中 IL-7 受体 CD127 表达水平降低,导致 IL-7 表达水平增高,从而促进 aGVHD 的发生。另一个负性调控的细胞因子是 CXCL13,因为其具有吸引 B 细胞的能力,又被称为 B 细胞趋化因子(B lymphocyte chemoattractant, BLC)。他的受体是 CXCR5、CXCL13 与其受体在 B 淋巴细胞的转运过程中起重要作用。有研究发现,在生发中心异常表达的 CXCL13 与免疫性疾病发生发展有关[12]。CXCR5 是滤泡辅助 T 细胞(Tfh 细胞)表面的重要标志物,本研究发现 CXCL13 的表达水平在 aGVHD 患者血清中明显降低。因此,我们推断出 CXCL13 与其受体 CXCR5 的结合降低,导致 CXCR5 表达增高,引起 Tfh 细胞的表达增高,从而导致生发中心的过度应答,引起 GVHD 的发生发展。负调控因子在治疗 aGVHD 中起关键作用,上述两种细胞因子或许能成为后期治疗 aGVHD 的新靶点。

发生Ⅲ/Ⅳ度 aGVHD 的患者往往病情危重,进展迅速,所以目前针对Ⅲ/Ⅳ度的 aGVHD 仍然提倡早诊断早干预。目前国内外针对提示 GVHD 严重程度的生物标志物研究较少,本研究采用两种不同的实验方法均证实了 IL-27 在 aGVHD 的患者中呈高表达水平,同时也与 aGVHD 的严重程度呈正相关,提示 IL-27 的高水平表达可以作为辅助预测 GVHD 严重程度的特异性指标,从而进行早期干预,达到减少重度 aGVHD 的发生。IL-27 作为 IL-6/IL-12 的家族成员,在肿瘤免疫,自身免疫性疾病中发挥了重要的作用[13]。IL-27

是 Th1 细胞的启动因子[14],能通过激活 CD4+T 细胞中的 STAT-1,诱导 Th1 细胞分化[15],破坏 Th1 和 Th2 细胞之间的平衡,从而导致 aGVHD 的发生。在小鼠实验中发现,通过阻断 IL-27 的表达,相应的小鼠模型组中没有发现 aGVHD 的表现[16]。

本研究发现一些细胞因子的表达水平变化与 aGVHD 的发生发展相关,有一定的特异性。并且通过两种不同的实验方法,结果得到了重复,两种检测方法的结果具有一致性,在临床上有一定的参考价值。其中蛋白质芯片法的优势在于需要的样本量少,灵敏度高,一次性可以筛选多个血清生物标志物,具有微量,准确,快速,自动化等优点,按定制的细胞因子数量计算费用每次在 3~5 万元,成本昂贵,而且对实验室设备及条件要求高,特别是在临床应用中,有一定的局限性,可操作性差。而 ELISA 法快速、灵敏、操作简单,对实验设备要求简单,上述 5 种细胞因子每次花费在 0.5 万元左右,成本为蛋白质芯片法的 1/6~1/5,成本低廉,性价比高,而且具有很好的可操作性。确诊 aGVHD 的金标准为病理活检,但是其操作性差,临床上开展实施困难,所以只能将蛋白质芯片法及 ELISA 法互相进行对比。通过两种检测方法的 ROC 曲线对比显示,CD127 的 ELISA 法的 ROC 曲线波动较大,可能原因是样本量较少,样本分布不均匀所致,后期拟扩大样本量再进行统计分析。同时发现两种检测方法的 ROC 曲线下面积均在 0.7~0.9 之间,曲线下面积无显著差异,提示两种检测方法对于 aGVHD 的诊断都有较高的准确度。

由于 aGVHD 发病机制复杂,参与的细胞因子多,本研究发现一些有临床意义的特异性生物标志物,并且阐明了两种方法检测结果的一致性。我们后期拟建立检测 aGVHD 的特异性血清标志物流程,先通过蛋白质芯片法高通量的筛选出有临床参考价值的重点细胞因子,增加样本量后再通过 ELISA 法进行验证,减少成本及工作量,最终筛选出与 aGVHD 相关的特异性生物标志物,指导临床诊疗。

参考文献:

[1] SHOUVAL R, BONIFAZI F, FEIN J, *et al*. Validation of the acute leukemia-EBMT score for prediction of mortality following allogeneic stem cell transplantation in a multi-center GITMO cohort[J]. Am J Hematol, 2017, 92(5): 429-434. DOI: 10.1002/ajh.24677.

[2] BRÜGGEN M C, PETZELBAUER P, GREINIX H, *et al*. Epidermal elafin expression is an indicator of poor prognosis in cutaneous graft-versus-host disease[J]. J Invest Dermatol, 2015, 135(4): 999-1006. DOI: 10.1038/jid.2014.489.

[3] PACZESNY S, BRAUN T M, LEVINE J E, *et al*. Elafin is a biomarker of graft-versus-host disease of the skin[J]. Sci Transl Med, 2010, 2(13): 13ra2. DOI: 10.1126/scitranslmed.3000406.

[4] PACZESNY S. Biomarkers for posttransplantation outcomes[J]. Blood, 2018, 131(20): 2193-2204. DOI: 10.1182/blood-2018-02-791509.

[5] HE F C, HOLTAN S G. Biomarkers in graft-versus-host disease: from prediction and diagnosis to insights into complex graft/host interactions[J]. Curr Hematol Malig Rep, 2018, 13(1): 44-52. DOI: 10.1007/s11899-018-0433-2.

[6] GUPTA V, BALL S E, SAGE D, *et al*. Marrow transplants from matched unrelated donors for aplastic anaemia using alemtuzumab, fludarabine and cyclophosphamide based conditioning[J]. Bone Marrow Transplant, 2005, 35(5): 467-471. DOI: 10.1038/sj.bmt.1704799.

[7] ANTIN J H, FERRARA J L. Cytokine dysregulation and acute graft-versus-host disease[J]. Blood, 1992, 80(12): 2964-2968.

[8] FERRARA J L, LEVINE J E, REDDY P, *et al*. Graft-versus-host disease[J]. Lancet, 2009, 373(9674): 1550-1561. DOI: 10.1016/s0140-6736(09)60237-3.

[9] ZEISER R, BLAZAR B R. Acute graft-versus-host disease-biologic process, prevention, and therapy[J]. N Engl J Med, 2017, 377(22): 2167-2179. DOI: 10.1056/NEJMra1609337.

[10] HIANT S, SHAMIM Z, PETER L, *et al*. Impact of donor IL-7Rα polymorphism on recipient plasma IL-7 levels and acute GVHD following allogeneic stem cell transplantation[C]. Orlando: ASH 52nd Annual Meeting, 2010.

[11] HAN F, HU R, SU M, *et al*. A human recombinant IL-7/HGFβ hybrid cytokine enhances antitumor immunity in mice[J]. Am J Cancer Res, 2017, 7(8): 1714-1723.

[12] SCHIFFER L, KÜMPERS P, DAVALOS-MISSLITZ A M, *et al*. B-cell-attracting chemokine CXCL13 as a marker of disease activity and renal involvement in systemic lupus erythematosus (SLE)[J]. Nephrol Dial Transplant, 2009, 24(12): 3708-3712. DOI: 10.1093/ndt/gfp343.

[13] WOJNO E D, HUNTER C A. New directions in the basic and translational biology of interleukin-27[J]. Trends Immunol, 2012, 33(2): 91-97. DOI: 10.1016/j.it.2011.11.003.

[14] PFLANZ S, TIMANS J C, CHEUNG J, *et al*. IL-27, a heterodimeric cytokine composed of EBI3 and p28 protein, induces proliferation of naive CD4+ T cells[J]. Immunity, 2002, 16(6): 779-790. DOI: 10.1016/s1074-7613(02)00324-2.

[15] TAKEDA A, HAMANO S, YAMANAKA A, *et al*. Cutting edge: role of IL-27/WSX-1 signaling for induction of T-bet through activation of STAT1 during initial Th1 commitment[J]. J Immunol, 2003, 170(10): 4886-4890. DOI: 10.4049/jimmunol.170.10.4886.

[16] MARILLIER R G, UYTTENHOVE C, GORIELY S, *et al*. IL-27p28 is essential for parent-to-F1 acute graft-versus-host disease[J]. Eur J Immunol, 2014, 44(7): 2064-2073. DOI: 10.1002/eji.201444491.

(**收稿**:2019-07-31;**修回**:2019-09-16)

(编辑 汪勤俭)