doi:10.11659/jjssx.07E016007

·基础研究·

小鼠同种异体造血干细胞移植后急性移植物抗宿主病模型的构建

胡 蓉,黄 悦,李 红,苏 敏 (贵州医科大学基础医学院组织学与胚胎学教研室,贵州 贵阳 550004)

[摘 要] **目的** 建立同种异体造血干细胞移植(HSCT)后的急性移植物抗宿主病(aGVHD)小鼠模型。**方法** 用 C57BL/6 小鼠胫、腓骨骨髓制备 T 细胞删除的(TCD)BM 细胞,4~6 周的同种异体 BALB/c 小鼠接受 900 cGy 全身放疗 2~4 h 后,静脉注射供体 5×10^6 个 TCD-BM 细胞和不同剂量的脾细胞,分别以 1.25×10^6、2.5×10^6、5×10^6 个脾细胞作为实验组 1、2、3,仅 TCD-BM 移植的作对照组,每组 10 只小鼠。通过临床 GVHD 评分、生存率和靶器官损害等检测模型建立情况。**结果** 实验组 2 于移植后7~14 d 出现严重腹泻、拱背、活动性降低和毛皱褶等典型 aGVHD 临床表现,结肠、肺和肝等靶器官组织可见明显的 GVHD 病理学改变,45 d生存率为 0。对照组和实验组 1、3 皆未见明显 aGVHD 临床表现。移植 60 d 后,实验组 1 生存率为 80%,对照组为 100%。实验组 3 移植后 10 d,生存率为 0。**结论** 用供体 C57BL/6 小鼠来源的 5×10^6 个 TCD-BM 细胞和 2.5×10^6 脾细胞静脉注射,成功构建 HSCT 后 4~6 周的 BALB/c 小鼠 aGVHD 模型。

[关键词] 急性移植物抗宿主病;造血干细胞移植;小鼠;动物模型

[中图分类号] R392.4 [文献标识码] A [收稿日期] 2016-07-03

Establishment of murine animal model for acute graft-versus-host disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation

HU Rong, HUANG Yue, LI Hong, SU Min (Department of Histology and Embryology, Basic Medical College of Guizhou Medical University, Guiyang Guizhou 550004, China)

Abstract: Objective To establish the murine animal model for acute graft-versus-host disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (HSCT). **Methods** T cell-depleted (TCD) BM cells from allogeneic C57BL/6 mice were harvested and prepared from the marrow of the femurs and tibias. Age of 4 to 6 weeks' BALB/c mice received 900 cGy total body irradiation (TBI) from a 137Cs source. Two to four hours later, the mice were injected intravenously (i.v.) 5×10^6 TCD-BM cells with 1.25×10^6 or 2.5×10^6 or 5×10^6 splenic cells from allogeneic C57BL/6 mice, and respectively divided them into experimental group 1, experimental group 2 and experimental group 3. TCD-BM only was used as the negative control group of GVHD. Ten mice were used for each group. The establishment of aGVHD model was evaluated with a clinical GVHD scoring system, survival rate and target-organ damage. **Results** On 7 to 14 days after transplantation, the typical clinical GVHD manifestation of severe diarrhea, hogback, activity reduced and ruffling were observed in experimental group 2. Furthermore, the aGVHD target organs of colon, lung and liver were harvested and made histological paraffin sections, then the obviously pathological tissue damages of GVHD were detected under microscope. And the survival rate was lowed down to 0 on 45 days after transplantation in experimental group 2. On the contrary, no obviously clinical manifestation of aGVHD were observed in the control group, experimental group 1 and group 3. On 60 days later, the survival rate was 80% in experimental group 1 and 100% in control group. However, no mice was survived on 10 days later in group 3. **Conclusion** BALB/c mice aGVHD model after allogeneic HSCT is successfully established by injecting i.v. 5×10^6 TCD-BM cells with 2.5×10^6 splenic cells from allogeneic C57BL/6 mice.

Keywords: acute graft-versus-host disease; hematopoietic stem cell transplantation; mice; animal model

对于许多恶性和非恶性疾病而言,同种异体造血干细胞移植(hematopoietic stem cell transplantation, HSCT)是有效且常用的治疗策略。然而,移植物抗宿主病(graft-versus-host disease, GVHD)仍然是同种异体 HSCT 后常见且严重的并发症,极大地限制了 HSCT 的成功[1-3]。根据临床症状和体征的不同,GVHD 可分为急性(acute graft-versus-host disease, aGVHD)和慢性 GVHD。临床上,aGVHD 通常于 HSCT 后 100 d 以内发病,大多引起严重的胸腺功能紊乱[4-5],以肠道、肝和肺等 GVHD 靶器官内急性组织炎症、自身反应性 T 细胞浸润和组织细胞凋亡等为特征[6]。为了探索同种异体 HSCT 后防治 aGVHD 发生和发展的方法,建立同种异体 HSCT 后稳定的 aGVHD 动物模型已越发受到国内外研究人员的关注[7-10]。本文以 C57BL/6 小鼠为移植供体,以致死剂量照射后 4~6 周的 BABL/c 小

[基金项目] 贵州省科技厅优秀青年科技人才培养对象专项基金[黔科合人字(2015)07 号]

[通信作者] 苏 敏,E-mail:80325979@qq.com

鼠为移植受体,用去除 T 细胞的骨髓(T cell-depleted Bone Marrow,TCD-BM)细胞进行 HSCT,同时移植不同剂量的供体小鼠脾细胞以期诱导受体小鼠 aGVHD 的发生,通过受体小鼠临床 GVHD 评分和生存率等评价受体小鼠 aGVHD 模型建立的情况。在此基础上,通过观察受体小鼠结肠、肺和肝等 aGVHD 靶器官的组织病理学变化,以进一步检测是否成功构建同种异体 HSCT 后的 aGVHD 小鼠模型,从而为后续研究 aGVHD 的相关防治措施提供实验基础。

1 材料与方法

1.1 实验动物

4~6 周龄的 BALB/c 和 C67BL/6 小鼠购自 Jackson Lab。所有实验小鼠皆得到美国康涅狄格大学动物照料和小鼠处理程序得到使用委员会的同意。

1.2 HSCT 和脾细胞移植步骤

用预冷的 RPMI 1640 培养液(Gibco)+0.3% BSA(Sigma)冲洗 C67BL/6 小鼠胫、腓骨骨髓以获得骨髓细胞悬液。骨髓细胞悬液与抗 Thy1.2 抗体 4 ℃下孵育 30 min,与 low-TOX-M 兔补体(Cedarlane Laboratories)37 ℃下孵育 30 min 以获得 TCD-BM 细胞。BALB/c 受体接受 137 Cs(Gammator-50 Gamma Irradiator; Radiation Machinery Corporation)来源的 900 cGy 全身放疗(total body irradiation,TBI)。2~4 h 后,受体小鼠静脉注射供体来源的 5×10^6 个 TCD-BM 细胞(对照组)或同时分别注射 1.25×10^6 个(实验组 1)、2.5×10^6 个(实验组 2)、5×10^6 个(实验组 3)去除红细胞的脾细胞,每组小鼠各 10 只。

1.3 临床 GVHD 评分

用临床 GVHD 评分体系来评价 GVHD 的严重程度,监测 HSCT 移植后 60 d 内各组小鼠的临床表现,以初步确定适合诱导 aGVHD 的脾细胞浓度。不同组别的 HSCT 受体小鼠分别进行 5 个临床参数的评分,即体质量减轻、姿势、活动能力、毛的质地和腹泻,每个参数评分为 0~2 分,5 个指标评分之和即为临床 GVHD 指数(最大指数 10)。其中,体质量减轻:低于 10% 评 0 分,10%~25% 评 1 分;大于 25% 评 2 分;姿势:正常评 0 分,休息时明显拱背评 1 分,严重拱背和活动受限评 2 分;活动能力:正常评 0 分,活动性显著降低评 1 分,对外来刺激无反应评 2 分;毛的质地:无明显改变评 0 分,背部毛轻微向后倒伏(ruffling)评 1 分,整个身体的毛都向后倒伏评 2 分;腹泻:不明显评 0 分;中度评 1 分,严重评 2 分。小鼠出现任一下列患病情况时必须行麻醉处死:体质量减轻大于 25%,严重腹泻,严重拱背和活动受限,对外来刺激无反应。

1.4 组织学染色和 GVHD 组织损伤的评价

收集以上具有典型 aGVHD 临床表现的模型小鼠的 GVHD 靶器官,同种异体 HSCT 14 d(临床表现最典型)后麻醉处死 aGVHD 小鼠和对照组小鼠,收集结肠、肺、肝等靶器官做组织病理学分析。各器官标本经福尔马林固定、石蜡包埋、切片和 HE 染色。按文献[11]进行组织损伤的评分,简言之,肠道 GVHD 评分基于隐窝细胞凋亡和固有层炎症,最大评分为 8 分;肺 GVHD 评分主要根据管腔周围的浸润、肺的炎症及严重程度,最大评分为 9 分;肝 GVHD 评分基于被涉及到的管道的数量和干细胞坏死的严重程度,最大评分为 10 分。

1.5 统计学分析

所有实验数据的获得均进行至少 3 次独立实验,所得结果用 SPSS 13.0 统计软件进行分析,2 组间比较采用 t 检验,3 组以上的两两比较采用 q 检验,以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

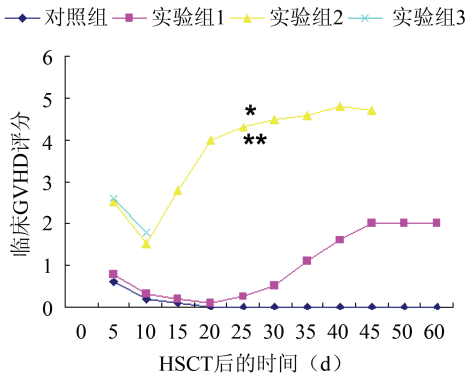
2.1 HSCT 受体小鼠的 GVHD 临床表现

实验组 1 小鼠在 TCD-BM 移植的同时,接受 1.25×10^6 个的同种异体脾细胞移植,移植 7 d 内小鼠体质量下降明显(达 15%),之后呈现缓慢的上升并于 21 d 后再呈缓慢下降的趋势,移植后 35 d 内未见严重腹泻、拱背、活动性降低和体毛倒伏等 aGVHD 表现,移植后 35 d 起,部分小鼠开始出现脱毛和皮肤缺损等体征,至移植后 60 d 存活率仍达 80% 左右。实验组 2 小鼠接受 2.5×10^6 个的同种异体脾细胞移植,移植 7 d 内小鼠体质量也下降明显(达 15%),经过短暂的上升后又迅速下降(至 25% 后麻醉处死),于移植后 7~14 d出现严重的腹泻、拱背、活动性降低和体毛倒伏明显等典型的 aGVHD 临床表现(图 1),临床 GVHD 评分较实验组 1 和对照组显著增加(图 2),差异有统计学意义($P<0.05$),小鼠存活率逐渐下降,至移植后 45 d左右存活率为 0。实验组 3 受体小鼠接受大剂量 5×10^6 个同种异体脾细胞移植,该组全部小鼠在移植初期 3~10 d 内就全部死亡,体质量减轻明显,未见其他典型 aGVHD 临床表现。而对照组受体小鼠仅接受 TCD-BM 移植,未移植同种异体脾细胞,移植 7 d 内小鼠体质量略有下降(10%),之后逐渐上升,于移植40 d 后体质量可超过初始体质量的 15%,且移植后 60 d 内未见 aGVHD 临床表现,存活率达 100%。



a:小鼠体毛倒伏和腹泻;b:小鼠严重拱背;c:小鼠活动性显著降低,后腿无力,拖尾

图1 实验组2 aGVHD模型小鼠



*:实验组2与实验组1比较,$P<0.05$;**:实验组2与对照组比较,$P<0.05$

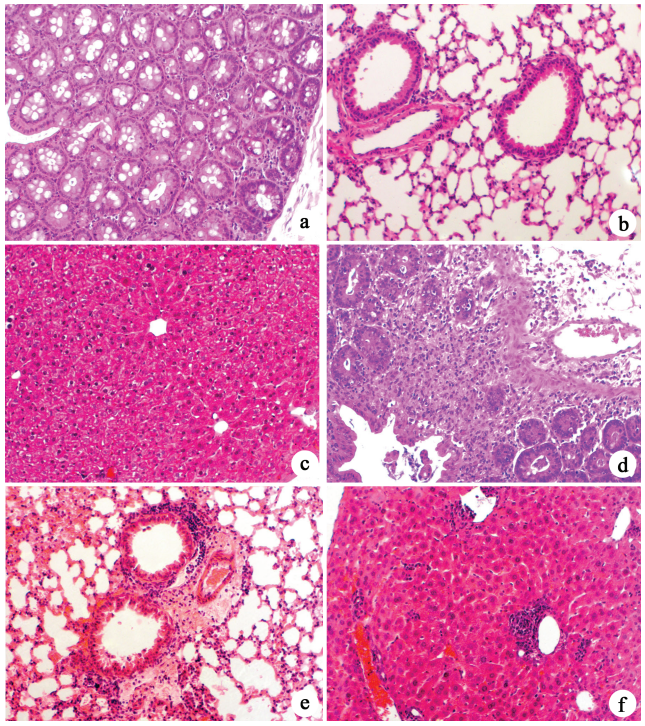
图2 各组小鼠的临床GVHD评分

2.2 HSCT受体小鼠GVHD靶器官的组织病理学检测

移植后14 d,收集具有典型aGVHD临床表现的实验组2的小鼠结肠、肺和肝等靶器官做组织病理学检测,以单独TCD-BM移植的对照组小鼠作为阴性对照组,结果显示这些靶器官均有明显的aGVHD组织损伤改变(图3),组织病理学评分较阴性对照组明显增高(图4),差异有统计学意义($P<0.05$)。与阴性对照组相比,实验组2小鼠结肠黏膜局部肠腺结构破坏严重,完全被炎症组织取代,固有层淋巴细胞浸润明显,周围肠腺组织杯状细胞显著减少;肺组织内小血管和细支气管等管道周围可见明显的淋巴细胞浸润,局部肺组织有明显的炎症反应;肝组织中可见肝细胞坏死,肝小叶中央管及门关区管道周围可见淋巴细胞浸润。

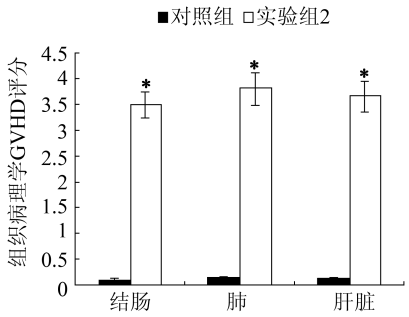
3 讨论

HSCT已广泛应用于造血系统疾病、先天性免疫缺陷、自身免疫病和实体瘤等多种疾病的治疗[12]。但是,来源于移植供体的T细胞转移到同种异体受体后,最初停留在外周淋巴器官的供体T细胞经过活化和增殖[13],进入外周循环并输出至GVHD靶器官组织[14],引起严重的靶器官损害。其中aGVHD由于起病急,严重影响了HSCT的疗效[15]。因此,建立一种稳定的aGVHD动物模型,是研究防治HSCT后aGVHD的必要前提和基础。本研究采用的供体小鼠C57BL/6(H-2b)和受体小鼠BABL/c(H-2d)的基因型不同,是理想的GVHD模型动物[16-18]。4~6周的受试小鼠发育基本成熟,其体质量较轻和免疫功能较6周后的中、青年小鼠略弱,有利于减少HSCT所需BM细胞和诱导GVHD所需脾细胞的用量,且更易于GVHD模型的建立。因而,有研究人员选择用此年龄段的小鼠构建GVHD模型[4]。此外,本研究将供体小鼠胫、腓骨骨髓做T细胞删除后进行HSCT,去除了样本中可能含有的未能精确量化的T细胞对受体小鼠的影响,用数量确定的脾细胞诱导aGVHD的发生,这样能



a:对照组结肠组织;b:对照组肺组织;c:对照组肝组织;d:实验组结肠组织;e:实验组肺组织;f:实验组肝组织

图3 靶器官组织学切片HE染色(Bar=100μm)



*:与对照组比较,$P<0.05$

图4 靶器官组织病理学GVHD评分

得到成功建模精确脾细胞诱导浓度,从而保证所建模型的可重复性和稳定性。

本研究中,作为 aGVHD 阴性对照组的小鼠,即仅接受了 TCD-BM 的移植,在移植初期约 7 d 内,该组小鼠体质量有所减轻,这是由于全身照射的影响所致,之后小鼠体质量逐渐增加,于 40 d 以后体质量比初始体质量增加 15% 左右,在整个 60 d 的观察期内,始终未见任何 aGVHD 的临床表现,生存率达 100% 。这一结果表明本实验所用的照射剂量、用 TCD-BM 代替常规全骨髓移植的方法、以及移植的 TCD-BM 细胞的数量是合理可行的,同时也证实了用此对照组可作为 aGVHD 的阴性对照。本研究结合文献报道用于诱导 aGVHD 的脾细胞数量,设定了 3 个浓度梯度的脾细胞移植,在 TCD-BM 移植的同时,实验组 1 给予脾细胞 1.25×10^6 个,实验组 2 给予 2.5×10^6 个、实验组 3 给予 5×10^6 个脾细胞。结果在移植 7 d 内,由于受全身照射的影响,3 个实验组小鼠的体质量皆有所减轻。实验组 1 小鼠移植 7 d 内小鼠体质量下降约 15% ,之后呈现缓慢的上升并于 21 d 后再呈缓慢下降的趋势,移植后 35 d 内未出现严重腹泻、拱背、活动性降低和体毛倒伏等 aGVHD 表现,这表明该组小鼠未发生 aGVHD。而在移植后 35 d 起,实验组 1 部分小鼠开始出现脱毛和皮肤缺损等体征,至移植后 60 d 存活率仍达 80% 左右,因为脱毛和皮肤缺损是慢性 GVHD 的主要临床体征,且发病时间也多在移植后 30 d 之后,有研究表明低剂量的脾细胞移植容易引发慢性 GVHD[4],因此,我们推测实验组 1 小鼠可能发生了慢性 GVHD。

实验组 2 小鼠移植 7 d 内小鼠体质量下降约 15% ,经过短暂的上升后又迅速下降,体质量再次下降的原因可能是诱发了 aGVHD 而引起的。于移植后 7 ~ 14 d,实验组 2 小鼠出现严重腹泻、拱背、活动性降低和体毛倒伏等典型的 aGVHD 临床表现,临床 GVHD 评分较对照组和实验组 1 显著增加,小鼠存活率逐渐下降,至移植后 45 d 已全部死亡。这些结果说明,实验组 2 所用剂量的脾细胞可能诱导了受体小鼠 aGVHD 的发生。为了进一步证实实验组 2 的小鼠的确发生了 aGVHD,我们在绝大部分小鼠发生典型 aGVHD 临床表现的时间点(移植后 14 d),收集了结肠、肺和肝等靶器官做组织学切片 HE 染色,结果这些靶器官皆出现了明显的 aGVHD 组织病理学改变,主要表现为急性组织炎症、局部淋巴细胞浸润和组织结构破坏,且 3 个靶器官的组织病理学 GVHD 评分较对照组显著增加。实验组 3 小鼠体质量减轻最明显,还伴有小鼠死亡数量迅速增加,移植后 3 ~ 10 d 实验组 3 小鼠全部死亡,期间未见明显的 aGVHD 临床表现。初步推测死亡原因可能为照射后短时间内小鼠自身免疫功能尚未建立,机体不能承受高浓度的脾细胞引发的机体损伤所致。这一现象表明,5×10^6 个脾细胞移植对于诱导本实验设计的同种异体小鼠 aGVHD 发生是不适宜的。有研究人员用 5×10^6 个脾细胞在此动物模型诱导了 aGVHD[19],但其用的受体小鼠为 8 ~ 10 周龄的,这可能是由于较大周龄的小鼠免疫功能更为完善以及初始体质量较大等导致了需要更大量的脾细胞才能诱导 aGVHD 的发生。综上所述,本实验用供体 C57BL/6 小鼠来源的 5×10^6 个 TCD-BM 细胞和 2.5×10^6 个的脾细胞尾静脉注射的方法,成功建立以了以 4 ~ 6 周的 BALB/c 小鼠为受体的 HSCT 后 aGVHD 小鼠模型,为 aGVHD 的防治措施奠定了实验基础。

[参考文献]

[1] Ferrara JL, Levine JE, Reddy P, et al. Graft-versus-host disease[J]. Lancet, 2009, 373(9674): 1550 - 1561. doi: 10.1016/S0140 - 6736(09)60237 - 3.

[2] Socie G, Ritz J. Current issues in chronic graft-versus-host disease[J]. Blood, 2014, 124(3): 374 - 384. doi: 10.1182/blood - 2014 - 01 - 514752.

[3] Karabon L, Markiewicz M, Kosmaczewska A, et al. Pretransplant donor and recipient CTLA-4 mRNA and protein levels as a prognostic marker for aGvHD in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation[J]. Immunol Lett, 2015, 165(1): 52 - 59. doi: 10.1016/j.imlet.2015.03.011.

[4] Wu T, Young JS, Johnston H, et al. Thymic damage, impaired negative selection, and development of chronic graft-versus-host disease caused by donor CD4 + and CD8 + T cells[J]. J Immunol, 2013, 191(1): 488 - 499. doi: 10.4049/jimmunol.1300657.

[5] Krenger W, Hollander GA. The role of the thymus in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation[J]. Swiss Med Wkly, 2010, 140: w13051. doi: 10.4414/smw.2010.13051.

[6] Cutler C, Antin JH. Manifestations and treatment of acute graft-versus-host disease. In Thomas' Hematopoietic Cell Transplantation[M]. 4th Ed. Hoboken NJ: Wiley-Blackwell Publishing. 2009: 1287 - 1303.

[7] Schroeder MA, DiPersio JF. Mouse models of graft-versus-host disease: advances and limitations[J]. Dis Model Mech, 2011, 4(3): 318 - 333. doi: 10.1242/dmm.006668.

[8] Holtan SG, Pasquini M, Weisdorf DJ. Acute graft-versus-host disease: a bench-to-bedside update[J]. Blood, 2014, 124(3): 363 - 373. doi: 10.1182/blood - 2014 - 01 - 514786.

[9] 张 琳,殷丽萍,高 洋,等. ELAT 淋巴细胞白血病/淋巴瘤小鼠急性移植物抗宿主病动物模型的建立[J]. 中华实用儿科临床杂志, 2013, 28(3): 183 - 187. doi: 10.3760/cma.j.issn.2095 - 428x.2013.03.008.

[10] 纳 宁,何善阳,徐 霖,等. EL9611 红白血病小鼠急性 GVHD 动物模型的建立[J]. 中国病理生理杂志, 2011, 27(8): 1657 - 1661. doi: 10.396/j.issn.1000 - 4718.2011.08.039.

[11] Yi T, Zhao D, Lin CL, et al. Absence of donor Th17 leads to augmented Th1 differentiation and exacerbated acute graft-versus-host disease[J]. Blood, 2008, 112(5): 2101 - 2110. doi: 10.1182/blood - 2007 - 12 - 126987.

[12] Malard F, Gaugler B, Lamarthee B, et al. Translational opportunities for targeting the Th17 axis in acute graft-vs.-host disease[J]. Mucosal

doi:10.11659/jjssx.04E016071

Mrh-aFGF 对帕金森病大鼠中脑腹侧被盖区神经元的保护

肖春苟[1],蒋 威[1],李力强[1],邹锦慧[1],沈伟哉[2] (1.肇庆医学高等专科学校解剖学教研室,广东 肇庆 526020;2.暨南大学医学院解剖学教研室,广东 广州 510632)

[摘 要] **目的** 探讨重组人改构体酸性成纤维细胞生长因子(Mrh-aFGF)对帕金森病(PD)大鼠中脑腹侧被盖区神经元病变的影响。**方法** 将54只SPF级雄性SD大鼠随机分为对照组、模型组和治疗组,每组18只。6-羟基多巴胺(6-OHDA)分别注入大鼠左侧黑质和中脑腹侧被盖区后建立PD模型,侧脑室内注射Mrh-aFGF,用阿扑吗啡诱导旋转行为;Nissl染色法观察大鼠中脑腹侧被盖区神经元病理学改变;电子显微镜观察中脑腹侧被盖区神经元及突触超微结构的变化。**结果** 模型组大鼠损毁侧中脑腹侧被盖区神经元数目较健侧明显减少($P<0.05$);治疗组术后1周、2周、4周损毁侧神经元数目均较模型组明显增加($P<0.05$);模型组大鼠中脑腹侧被盖区神经元超微结构明显受损,出现核固缩,粗面内质网扩张、脱颗粒,线粒体肿胀、嵴消失,以及突触前后膜肿胀、突触间隙消失,治疗组中脑腹侧被盖区神经元超微结构有明显改善。**结论** Mrh-aFGF能减少PD大鼠中脑腹侧被盖区神经元的丢失,并改善其神经元的超微结构。

[关键词] 帕金森病;重组人改构体酸性成纤维细胞生长因子;中脑腹侧被盖区;超微结构;大鼠
[中图分类号] R742.5 [文献标识码] A [收稿日期] 2016-04-30

Protective effect of Mrh-aFGF on the neurons in ventral tegmental area of rats with Parkinson's disease

XIAO Chun-gou[1],JIANG Wei[1],LI Li-qiang[1],ZOU Jin-hui[1],SHEN Wei-zai[2] (1.Department of Anatomy,Zhaoqing Medical College,Zhaoqing Guangdong 526020,China;2.Department of Anatomy,Medical College of Jinan University,Guangzhou Guangdong 510632,China)

Abstract: Objepctive To explore the protective effect of modified recombinant human aFGF (Mrh-aFGF) on the neurons in ventral tegmental area of rats with Parkinson's disease (PD). **Methods** The 54 SD rats were ramdomly divided into the control group,the model group and the treatment group,and there were 18 rats in each group. PD rats of the model group and the treatment group were induced by injecting 6-OHDA into the left substantia nigra compacta (SNC) and ventral tegmental area (VTA) to build the PD model. Rats in the treatment group were given Mrh-aFGF injection after lateral ventricle injection,and the behavioral changes of the rats were detected after apomorphine injection. The morphologic features and pathological changes of neurons in the ventral tegmental area were observed by Nissl's staining and electronic microscope. **Results** Compared to the right VTA of PD rats,the number of neurons in left side (the injured side) decreased significantly in the model group($P<0.05$). In the treatment group,the structure of left (the injured side) VTA was markedly improved and the number of neurons was increased one week,two weeks and four weeks after operation compared with the model group ($P<0.05$). The neurons in the VTA of the model group were found to have karyopyknosis,endoplasmic reticulum,degranulation,mitochondria swelling,cristae

[基金项目] 广东省肇庆市科技创新指导类项目(00188651150605028)
[通信作者] 李力强,E-mail:ZQ2829724@163.com

Immunol,2016,9(2):299-308. doi:10.1038/mi.2015.143.
[13] Chakraverty R,Cote D,Buchli J,et al. An inflammatory checkpoint regulates recruitment of graft-versus-host reactive T cells to peripheral tissues [J]. J Exp Med,2007,203(8):2021-2031. doi:10.1084/jem.20060376.
[14] Kim YM,Sachs T,Asavaroengchai W,et al. Graft-versus-host disease can be separated from graft-versus-lymphoma effects by control of lymphocyte trafficking with FTY720[J]. J Clin Invest,2003,111(5):659-669. doi:10.1172/JCI200316950.
[15] Harris AC,Ferrara JL,Levine JE. Advances in predicting acute GVHD[J]. Br J Haematol,2013,160(3):288-302. doi:10.1111/bjh.12142.
[16] Haarberg KM,Li J,Heinrichs J,et al. Pharmacologic inhibition of PKCαand PKCθprevents GVHD while preserving GVL activity in mice[J]. Blood,2013,122(14):2500-2511. doi:10.1182/blood-2012-12-471938.
[17] 朱婕琳,张 鹏,陈 福,等. 小鼠移植物抗宿主病模型的建立[J]. 中国组织工程研究与临床康复,2011,15(1):82-86. doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2011.01.018.
[18] Kim KW,Moon SJ,Park MJ,et al. Optimization of adipose tissue-derived mesenchymal stem cells by rapamycin in a murine model of acute graft-versus-host disease[J]. Stem Cell Res Ther,2015,6:202. doi:10.1186/s13287-015-0197-8.
[19] Lee ES,Lim JY,Im KI,et al. Adoptive transfer of treg cells combined with mesenchymal stem cells facilitates repopulation of endogenous treg cells in a murine acute GVHD model[J]. PLoS One,2015,10(9):e0138846. doi:10.1371/journal.pone.0138846.

(编辑:刘 艺)