

[ 文章编号 ] 1007-385X(2005)01-0028-05

## FasL 基因修饰的树突状细胞抑制 GVHD 的作用和机理

楼国良<sup>1</sup>, 刘峰<sup>2</sup>, 李永梅<sup>1</sup>, 陈莉<sup>1</sup>, 黄正霞<sup>1</sup>, 杨宏斌<sup>1</sup>, 王梁华<sup>3</sup>, 焦炳华<sup>3</sup>(1. 第二军医大学附属长海医院, 上海 200433; 2. 第二医科大学附属宝钢医院肿瘤科, 上海 201900; 3. 第二军医大学生化与分子生物学教研室, 上海 200433)

[ 摘要 ] **目的:** 选择性去除骨髓移植中异基因反应性淋巴细胞, 特异性抑制移植抗宿主病(GVHD)。**方法:** 用携带有 FasL 基因的重组腺病毒转染 Balb/c 小鼠来源的树突状细胞(dendritic cells, DC), 并与 C57BL/6 小鼠骨髓细胞移植共培养, 把经过这种处理的骨髓细胞移植给 Balb/c 受体小鼠(C57BL/6→Balb/c 小鼠 GVHD 模型, H-2<sup>b</sup>→H-2<sup>d</sup>), 然后观察、比较各组 GVHD 表现。**结果:** 致死剂量照射的受体鼠在接受经 FasL-DC 处理的供体骨髓细胞移植后, 没有出现明显的 GVHD 表现, 生存期显著延长, 3 个月时生存率 80% 以上。但对照组 2 周后均出现了明显的 GVHD 症状, 腹泻、脱毛和靶组织淋巴细胞浸润等, 生存期没有超过 30 d。**结论:** 转染 FasL 基因的 DC 可有效去除骨髓移植中异基因反应性 T 淋巴细胞, 移植用这种方法处理过的骨髓, 能够有效抑制 GVHD 的发生。

[ 关键词 ] FasL; 树突状细胞; 移植抗宿主病; 骨髓移植

[ 中图分类号 ] R392.4; R392.1 [ 文献标识码 ] A

## The Effect and Mechanisms of FasL Gene-Modified Dendritic Cells Alleviating GVHD

LOU Guo-liang<sup>1</sup>, LIU Feng<sup>2</sup>, LI Yong-mei<sup>1</sup>, CHEN-Li<sup>1</sup>, HUANG Zheng-xia<sup>1</sup>, YANG Hong-bin<sup>1</sup>, WANG Liang-hua<sup>3</sup>, JIAO Bing-hua<sup>3</sup>(1. Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China; 2. Baogang Hospital, Second Medical University, Shanghai 200433, China; 3. Department of Biochemistry and Molecular Biology, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

[ Abstract ] **Objective:** To alleviate graft versus host disease(GVHD) via depletion of alloreactive cells from haematopoietic stem cell grafts. **Methods:** Balb/c mice dendritic cells genetically engineered to express FasL were cultured with C57BL/6 mice stem cell grafts, and the modified stem cell grafts were used in a C57BL/6 to Balb/c mice GVHD model system (H-2<sup>b</sup>→H-2<sup>d</sup>). Then the GVHD clinical manifestations( diarrhea, depilate, lymphocytes infiltration in target tissues) were observed and compared. **Results:** Recipients that received donor haematopoietic stem cell grafts pretreated with FasL-DC did not develop lethal GVHD, and their survival was also surprisingly prolonged. In contrast, recipients receiving untreated allogeneic grafts displayed all clinical signs of acute GVHD, and died within 30 days after transplantation. **Conclusion:** DC transfected with FasL gene can prevent GVHD by selective removal of alloreactive cells from haematopoietic stem cell grafts.

[ Key words ] FasL; dendritic cells; GVHD; bone marrow transplantation

同种异基因骨髓移植(allo-bone marrow transplantation, alloBMT)是治疗恶性血液疾病、血液系统遗传性疾病、再生障碍性贫血等疾病的一种有效方法, 但移植抗宿主病(graft versus host disease, GVHD)仍然是其主要的并发症, 并且具有高发病率、高死亡率, 极大限制了 alloBMT 的应用和发展。尽管人们采用了各种

[ 基金项目 ] 全军医学科研十五计划面上项目(01MA159)

[ 作者简介 ] 楼国良(1962-), 男, 山东青岛人, 教授, 博士生导师, 主要从事血液肿瘤免疫治疗方面的研究; 刘峰(1974-), 男, 山东临沂人, 硕士, 主要从事肿瘤免疫治疗方面的研究, 两者共为第一作者

[ 通讯作者 ] 楼国良, E-mail: gllou1962@hotmail.com.cn

各样的方法来防治 GVHD,但至今仍然没有一种方法令人满意。在移植前去除移植中 T 淋巴细胞虽然可以有效防止 GVHD 发生,但肿瘤复发和感染的几率却大大增加,移植成活的几率也因 T 细胞的减少而降低,因此并没有降低患者的总体死亡率。

有研究发现 DC 某些亚群高表达 FasL,与其接触的 T 细胞不是被活化而是被清除<sup>[1]</sup>。本研究即模拟这种生理机制,体外给受体来源的 DC 转染 FasL 基因,并与供体的骨髓细胞移植共培养,从而选择性清除异基因反应性 T 细胞。我们已经证明 FasL-DC 体外可以有效清除反应性 T 淋巴细胞<sup>[2]</sup>,这里我们利用小鼠 GVHD 模型,进一步研究其在体内抑制 GVHD 作用的有效性。

## 1 材料与方 法

### 1.1 主要试剂

携带人 FasL 基因的重组腺病毒 AdFasL 及 LacZ 基因的重组腺病毒 AdLacZ 由本课题组构建,另文发表。<sup>[3H]</sup>-TdR 及 Na<sub>2</sub><sup>51</sup>CrO<sub>4</sub>为 Amersham 公司产品;IL-4,IL-2,GM-CSF 为 R&D 公司产品;FITC 标记的抗 H-2K<sup>b</sup>单抗及同型对照抗体为 Caltag Laboratories 产品。

### 1.2 骨髓 DC 的培养及基因修饰

DC 培养参考 Inaba<sup>[3]</sup>的方法略作修改。收集培养至第 5 天 DC,少量无血清培养基悬浮,按重复感染指数 50 加入 AdFasL 或 AdLacZ,孵育 1 h 后再补足 RPMI-1640 和血清。24 h 后或其它适当时间收集,并用 RPMI-1640 洗 2 遍用于后续实验。转染后的 DC 分别记作 FasL-DC 和 LacZ-DC(本实验中用作对照)。培养至第 7 天未转染的 DC 记作 Day-7-DC。

### 1.3 实验动物及照射条件

近交系小鼠 Balb/c(H-2<sup>b</sup>),C57BL/6(H-2<sup>d</sup>),C3H(H-2<sup>k</sup>)购自上海西普尔-必凯实验动物中心,8~10 周龄,体重 20~22 g,雄性,饲养于第二军医大学 SPF 级动物房。C57BL/6 为骨髓移植供体,Balb/c 为受体,用<sup>60</sup>Co $\gamma$ 射线照射,总剂量 9 Gy。C3H 小鼠作为无关第三者。

### 1.4 移植 物 制 备 及 预 处 理

无菌取 Balb/c 小鼠股骨和胫骨以及脾脏,分别制备骨髓细胞和脾细胞,经 Tris-NH<sub>4</sub>Cl 裂解红细胞,计数后按 1:2 混合,用含 10% 小牛血清的 RPMI-1640 培养基在 6 孔板中培养(每孔 3 $\times$ 10<sup>7</sup>细胞),同时加入 FasL-DC 或 LacZ-DC(每孔 1 $\times$ 10<sup>6</sup>细胞)。培养 48 h 后收集细胞计数备用。

### 1.5 异基因骨髓移植以及治疗分组

术前 5 d,受体 Balb/c 小鼠开始饮用含红霉素

(250 mg/L)和庆大霉素(320 mg/L)的抗生素溶液进行肠道消毒准备。于骨髓移植当天,接受一次性致死剂量全身照射 9 Gy。随机分 3 组(每组 10 只小鼠)。A 组:未治疗组(Untreated),照射后移植 3 $\times$ 10<sup>7</sup>个未经处理的骨髓细胞移植。作为 GVHD 阳性对照。B 组:Lacz-DC 治疗组,照射后移植 3 $\times$ 10<sup>7</sup>个经 LacZ-DC 处理的骨髓细胞移植。C 组:FasL-DC 治疗组,照射后移植 3 $\times$ 10<sup>7</sup>个经 FasL-DC 处理的骨髓细胞移植。

### 1.6 GVHD 临床观测

移植后观察体重(以移植前一天体重为参照,计算体重变化百分数)、体位(弓背)、毛发(脱毛,毛乱)、腹泻、活性及生存期。GVHD 评分<sup>[4]</sup>(移植后 2 周):0 = 正常,1 = 轻度,2 = 中度,3 = 重度。体重降低 0%~10% 为轻度,11%~20% 为中度,大于 20% 为重度。

$$\text{体重变化率}(\%) = \frac{\text{移植后观察日体重} - \text{移植前一天体重}}{\text{移植前一天体重}} \times 100\%$$

### 1.7 病理学检查

于移植后 3 周取各组肝脏、小肠、皮肤等组织,10% 中性福尔马林溶液固定,石蜡包埋,切片经 HE 染色后显微镜下观察。

### 1.8 FACS 嵌合体分析

为了评价供体细胞植入和存活情况,于骨髓移植后 2 周和 2 个月时,取各组小鼠外周血,肝素抗凝,加入 1  $\mu$ l FITC 标记的抗 H-2K<sup>b</sup>单克隆抗体,置 4 $^{\circ}$ C 孵育 45 min;Tris-NH<sub>4</sub>Cl 裂解红细胞,PBS 洗 2 遍后,进行流式细胞仪检测。同时取正常 C57BL/6 和 Balb/c 小鼠外周血分别作为阳性和阴性对照。

### 1.9 混合淋巴细胞反应

取移植后 2 月受体 Balb/c 小鼠脾脏制备 T 淋巴细胞悬液,用作反应细胞。正常 C57BL/6(H-2<sup>b</sup>),Balb/c(H-2<sup>d</sup>)和 C3H(H-2<sup>k</sup>)小鼠脾淋巴细胞 3 000 rad $\gamma$  射线照射后,用作刺激细胞,与反应细胞以 1:1 比例(各 5 $\times$ 10<sup>5</sup>细胞)在 U 型底 96 孔板混合培养 24 h,48 h,72 h,96 h,均设 3 复孔。于结束前 16 h 加入<sup>[3H]</sup>-TdR(1  $\mu$ Ci/孔),收集细胞后, $\beta$  液闪仪计数 cpm 值。

### 1.10 <sup>51</sup>Cr 释放法检测 CTL 活性

取移植后 2 月受体 Balb/c 小鼠脾脏制备 T 淋巴细胞悬液,用作反应细胞。正常 Balb/c(H-2<sup>d</sup>),C57BL/6(H-2<sup>b</sup>)和 C3H(H-2<sup>k</sup>)小鼠脾淋巴细胞 3 000 rad $\gamma$  射线照射后,用作刺激细胞,与反应细胞以 1:1 的比例在含有小鼠 IL-2(100 U/ml)完全培养基中继续培养,第 10 天收集存活的细胞作为效应细胞。用 Na<sub>2</sub><sup>51</sup>CrO<sub>4</sub>(0.3 mCi/ml)标记 Balb/c,C57BL/6 和 C3H 小鼠脾淋巴细胞 1 h,2 次洗涤后作为靶细胞,与效应细胞分别以

10:1, 20:1, 40:1, 80:1 的效靶比铺 96 孔板, 4 h 后收集上清用  $\gamma$  计数器检测 cpm 值。均作 3 复孔, 并设最大释放组和自然释放组。

$$\text{杀伤率}(\%) = \frac{\text{实验组 cpm} - \text{自然释放组 cpm}}{\text{最大释放组 cpm} - \text{自然释放组 cpm}} \times 100\%$$

### 1.11 统计学分析

计量资料两样本均数比较采用  $t$  检验, 生存期分析采用 log-rank 检验。  $P < 0.05$  认为统计学差异显著。

## 2 结果

表 1 FasL-DC 对 GVHD 症状的影响( $\bar{x} \pm s$ )

Tab.1 FasL-DC influenced GVHD clinical manifestations

Groups	Diarrhea	Fur change	Activity	Weight	Total GVHD score
Lacz-DC	2.57 ± 0.79	2.71 ± 0.49	2.71 ± 0.49	2.71 ± 0.49	10.71 ± 1.11
FasL-DC	0.10 ± 0.32	1.10 ± 0.30	1.00 ± 0.47	1.70 ± 0.48	3.90 ± 0.88*
Untreated	2.75 ± 0.46	2.43 ± 0.53	2.38 ± 0.52	2.38 ± 0.52	10.00 ± 1.07*

\* Compared with Lacz-DC group or untreated group  $P < 0.05$

### 2.2 FasL-DC 对生存期的影响

在临床上, 感染和 GVHD 是病人主要的死亡原因。我们利用 SPF 级饲养条件, 可以较好地控制小鼠的感染, 所以 GVHD 是本疾病模型最主要的死亡原因。alloBMT 后如果不给予相应的干预处理, GVHD 小鼠模型常于 2~4 周死于 GVHD 所致的造血衰竭等原因。但经 FasL-DC 预处理骨髓细胞移植后, 其生存期显著延长, 3 个月生存率在 80% 以上, 与对照组相比有显著差异 ( $P < 0.05$ , log-rank test), 说明 FasL-DC 能够显著降低小鼠 GVHD 相关死亡率。

### 2.3 FasL-DC 对移植后组织病理学的影响

GVHD 主要靶器官是小肠、皮肤和肝脏, 组织病理学检查轻者常有淋巴细胞浸润, 重者常表现有组织结构的破坏。我们在 alloBMT 后 3 周取各组小鼠靶器官, 制备病理切片, 经 HE 染色发现对照组大多表现有小肠绒毛断裂, 小肠隐窝破坏, 淋巴细胞浸润; 皮肤淋巴细胞浸润; 肝脏汇管区淋巴细胞浸润, 小胆管破坏等。而 FasL-DC 治疗组没有明显改变(图 1), 这些说明 FasL-DC 能够显著抑制小鼠 GVHD 靶器官的损害。

### 2.4 FasL-DC 对造血重建的影响

alloBMT 后, BMT 成功的关键在于供体干细胞能否成功植活, 植活后又能否长期稳定造血。而 GVHD 是影响干细胞植活的重要原因, 抑制 GVHD 有利于干细胞植活和造血重建。嵌合体分析可见 3 周时各组均

### 2.1 FasL-DC 对 GVHD 症状的影响

无论是未治疗组还是 Lacz-DC 治疗组, 在 2 周后均出现了明显的 GVHD 症状: 脱毛, 腹泻, 弓背体位, 体重持续下降, 活动能力差等, GVHD 评分在 10 分左右; 而 FasL-DC 治疗组仅出现轻微的毛乱, 活性稍降低等, 体重下降 3 周后又重新增加(图略), 所有症状在 2 个月内基本恢复正常, GVHD 评分 4 分左右, 与 Lacz-DC、Untreated 两组比较  $t$  值分别是 14.13, 13.20 ( $P < 0.05$ ) (表 1), 这些说明 FasL-DC 能够明显改善 GVHD 小鼠的相关症状。

有供体细胞嵌合; 3 个月时 FasL-DC 治疗组仍然保持比较高的嵌合, 但对照组在 1 个月后就已死亡。说明 FasL-DC 治疗组克服了 GVHD 破坏, 成功实现了供体来源的造血重建(图 2)。

### 2.5 FasL-DC 诱导特异性异基因低反应性

取移植后 2 月受体 Balb/c 小鼠脾 T 淋巴细胞, 用作反应细胞。正常 C57BL/6(H-2<sup>b</sup>)、Balb/c(H-2<sup>d</sup>) 和 C3H(H-2<sup>k</sup>) 小鼠脾淋巴细胞 3000 rad  $\gamma$  射线照射后, 用作刺激细胞, 与反应细胞以 1:1 比例混合培养 24 h, 48 h, 72 h, 96 h, 检测淋巴细胞增殖情况。如图(3)所示, FasL-DC 治疗组的 T 淋巴细胞对 C57BL/6、Balb/c 淋巴细胞的反应性与对 C3H 淋巴细胞反应性相比显著降低, 即对供体和受体抗原的反应性都较低, 而对无关第三方的反应仍然很高。结果表明 FasL 基因修饰的 DC 不但能诱导低反应性, 而且具有抗原特异性。

### 2.6 FasL-DC 对体内 GVHD 效应 T 细胞的影响

细胞毒性 T 细胞是 GVHD 最主要效应细胞, 抑制这部分细胞的产生可有效抑制 GVHD 发生。移植后 2 月取受体 Balb/c 小鼠脾 T 淋巴细胞, 检测其 CTL 作用。FasL-DC 治疗组的 T 淋巴细胞对 C57BL/6、Balb/c 小鼠淋巴细胞的杀伤作用与对 C3H 小鼠淋巴细胞杀伤作用相比显著降低, 即对供体和受体抗原的反应性都较低, 而对无关第三方的反应仍然很高。结果表明 FasL 基因修饰的 DC 不但能诱导低反应性, 而且具有

抗原特异性(图4)。

图1 移植后 GVHD 组织病理学检查

Fig. 1 Histologic examination of GVHD after BMT

A: FasL-DC treated-skin; B: Control-skin; C: FasL-DC treated-liver; D: Control-liver;  
E: FasL-DC treated-intestine; F: Control-intestine

图2 骨髓移植后嵌合细胞检测

Fig. 2 Chimerism detection after allo-BMT

A: High chimerism detected in LacZ-DC group 3 weeks after bone marrow transplantation; B: High chimerism detected in FasL-DC group 3 weeks after bone marrow transplantation; C: Chimerism still can be detected in FasL-DC group 3 months after bone marrow transplantation, it's implied donor marrow cells have engrafted successfully

### 3 讨论

人们在防治 GVHD 方面已做了大量的工作,但 GVHD 仍然是 alloBMT 发展的最大障碍。T 细胞去除无疑是一个非常有效的方法,但 EB 病毒、巨细胞病毒等感染和移植物成活失败以及肿瘤复发的几率都大大增加。所以最理想的方法是能够选择性清除移植物中 GVHD 反应性 T 淋巴细胞,而保留能够特异性识别病毒、肿瘤和其它功能的 T 细胞。人们在这方面已经有了一些不错的尝试,比如利用偶联免疫毒素的 CD25 单抗,或通过识别 T 细胞早期活化抗原标记 CD69 来

清除异基因反应性 T 淋巴细胞;给供体 T 淋巴细胞转染自杀基因,控制其增殖反应;通过阻断共刺激分子抑制 T 细胞活化<sup>[5]</sup>;添加细胞因子从而改变 T 细胞的分化方向。但是这些方法还存在许多缺陷,比如对初始 T 细胞有影响;特异性不强或清除能力有限;操作及控制技术复杂等。

Fas/FasL 介导的活化诱导的细胞凋亡(activated induced cell death, AICD)在人和鼠都已被证明,并被认为是外周 T 细胞耐受<sup>[6]</sup>,以及免疫下调时清除活化的 T 细胞防止其过度增殖的重要机制<sup>[7]</sup>,而且 AICD 诱导的抗原特异性细胞凋亡不会影响其它静息的 T 细胞。

DC 是功能最强大的专职抗原提呈细胞,而且可以激活初始型 T 淋巴细胞<sup>[8]</sup>。骨髓移植后,宿主的抗原提呈细胞(而不是供体细胞)把自身抗原提呈给供体来源的 T 淋巴细胞,T 细胞被活化并增殖分化成效应细胞,攻击受体导致 GVHD 发生<sup>[9]</sup>。DC 某些亚群高表达 FasL,与其接触的 T 细胞不是被活化,而是被清除<sup>[1]</sup>。

图 3 FasL-DC 抑制同种异基因 MLR

Fig. 3 Inhibition of allogenic MLR by FasL-DC

图 4 FasL-DC 特异性抑制 CTL 产生

Fig. 4 Inhibition of specific CTL cytotoxicity by FasL-DC

我们模拟体内 AICD 及 FasL-DC 的生理机制,体外给受体来源的 DC 转染 FasL 基因,并与供体骨髓细胞植物共培养,从而选择性清除了异基因反应性 T 细胞。致死剂量照射的受体鼠在接受经 FasL-DC 处理的供体骨髓细胞移植后,没有出现明显的 GVHD 临床表现;而对照组则呈现明显的 GVHD 症状并多于 20 d 内死亡。病理学检查同样支持临床观察,未治疗组和 Lacz-DC 治疗组大多表现有小肠绒毛断裂,隐窝破坏,淋巴细胞浸润;皮肤表皮和真皮分离,淋巴细胞浸润;肝脏汇管区淋巴细胞浸润,小胆管破坏等,而 FasL-DC 治疗组没有明显改变。流式检测 FasL-DC 治疗组在 3 个月时仍然保持比较高的供体细胞嵌合,说明供体骨髓成功植活。通过 MLR 检测供体淋巴细胞在受体内的异基因反应性表明,FasL-DC 治疗组的 T 淋巴细胞对 C57BL/6, Balb/c 淋巴细胞的反应性与对 C3H 淋巴

细胞反应性相比显著降低,即对供体和受体抗原的反应性都较低,而对无关第三方的反应仍然很高。这表明 FasL 基因修饰的 DC 不但能诱导低反应性,而且具有抗原特异性。同时 CTL 作用检测表明 FasL-DC 治疗组有效抑制了 GVHD 效应 T 细胞的产生。

本方法清除 GVHD 反应性 T 淋巴细胞具有有效性和特异性,主要在于利用了以下几个生理机制:DC 独有的强大的激活初始 T 细胞的能力<sup>[7]</sup>;受体 DC 是启动 GVHD 反应的最重要的抗原提呈细胞<sup>[8]</sup>;DC 特异性识别 T 细胞的能力;Fas/FasL 途径的凋亡是体内调节 T 细胞增殖平衡的重要机制<sup>[6]</sup>;体内本身就存在 DC-FasL 介导特异性 T 细胞凋亡的生理现象<sup>[1]</sup>。

综上所述,通过同种异基因体内体外反应模型,我们论证了最初的设想。FasL-DC 能够有效清除移植中 GVHD 反应性淋巴细胞,移植经过这种处理的骨髓能够有效抑制 GVHD 的发生。而且这种抑制是特异性的,因此它能够较好地保留移植抗感染和抗肿瘤功能。

我们将进一步研究经过这种处理后的 T 细胞表型和功能,特别是它们的移植抗白血病作用,为将来临床应用 FasL-DC 提供有用的数据。

#### [ 参 考 文 献 ]

- [ 1 ] Suss G, Shortman K. A subclass of dendritic cells kills CD4 T cells via Fas/Fas-ligand-induced apoptosis[ J ]. J Exp Med, 1996, 183( 4 ): 1789-1796.
- [ 2 ] 刘 峰, 楼国良, 李永梅, 等. 选择性去除骨髓移植中异基因反应性淋巴细胞[ J ]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2004, 11( 2 ): 110-113.
- [ 3 ] Inaba K, Inaba M, Romani N, *et al.* Generation of large numbers of dendritic cells from mouse bone marrow cultures supplemented with granulocyte/macrophage colony-stimulating factor[ J ]. J Exp Med, 1992, 176( 6 ): 1693-1702.
- [ 4 ] Kim YM, Sachs T, Asavareongchai 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.
- [ 5 ] 陈永乐, 郭坤元, 李玉华, 等. Tju103 和 CTLA4-Ig 诱导 MHC 半相合小鼠骨髓移植耐受比较[ J ]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2003, 10( 4 ): 248-252.
- [ 6 ] VanPL, Ibraghimov A, Abbas AK. The roles of costimulation and Fas in T cell apoptosis and peripheral tolerance[ J ]. Immunity, 1996, 4( 3 ): 321-328.
- [ 7 ] Lenardo M, Chan KM, Hornung F, *et al.* Mature T lymphocyte apoptosis immune regulation in a dynamic and unpredictable antigenic environment[ J ]. Annu Rev Immunol, 1999, 17: 221-253.
- [ 8 ] Steinman RM. The dendritic cell system and its role in immunogenicity[ J ]. Annu Rev Immunol, 1991, 9: 271-296.
- [ 9 ] Shlomchik WD, Couzens MS, Tang CB, *et al.* Prevention of graft versus host disease by inactivation of host antigen-presenting cells [ J ]. Science, 1999, 285( 5426 ): 412-415.

[ 收稿日期 ] 2004 - 09 - 10

[ 修回日期 ] 2004 - 12 - 20

[ 本文编辑 ] 韩 丹, 王 莹