

· 实验研究 ·

ALA-PDT 减轻同种异基因 小鼠骨髓移植后移植物抗宿主病的实验研究

冉海红¹, 潘凯丽¹, 张然², 王飞¹

(第四军医大学西京医院 1. 儿科; 第四军医大学西京医院 2. 心血管内科, 陕西 西安 710032)

[摘要] 目的 探讨 5-氨基乙酰丙酸-光动力疗法(5-aminolevulinic acid-mediated photodynamic therapy, ALA-PDT)在小鼠骨髓移植后减轻急性移植物抗宿主病(graft-versus-host disease, GVHD)的作用。方法 建立同种异基因小鼠骨髓移植急性 GVHD 模型,以 C57BL/6J 为供鼠, BALB/C 为受鼠。BALB/C 受鼠经致死剂量(8.5 Gy)⁶⁰Co 照射后随机分为 4 组, A 组为单纯⁶⁰Co 照射组; B 组为单纯供鼠骨髓及脾细胞移植组; C 组为供鼠骨髓移植以及供受鼠混合脾细胞移植组; D 组为 ALA-PDT 移植组。在照射后 4 h 移植供鼠骨髓细胞和脾细胞。观察骨髓移植后受鼠的一般情况、28 d 生存率、外周血白细胞计数以及肝脏、小肠、皮肤的病理组织学改变,应用流式细胞仪检测骨髓移植细胞嵌合情况。结果 D 组小鼠 28 d 生存率明显高于其他各组,差异有显著性($P < 0.01$), 28 d 各组小鼠存活率分别为:0, 0, 10%, 60%。B, C 组小鼠均出现 GVHD 反应,其血液学以及病理组织学改变的严重程度与 GVHD 发生的早晚具有一定的相关性。D 组仅有 2 只小鼠出现 GVHD 反应,但其血液学以及病理组织学改变程度较其他各组轻。结论 ALA-PDT 能够明显减轻小鼠骨髓移植后 GVHD 反应,增加受鼠的 28 d 生存率,因此可能是一种有价值的抗同种异基因骨髓移植后急性 GVHD 反应的治疗方法。

[中国当代儿科杂志, 2006, 8(5): 408-412]

[关键词] ALA-PDT; 同种异基因骨髓移植; 移植物抗宿主病; T 淋巴细胞; 小鼠

[中图分类号] R-33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-8830(2006)05-0408-05

ALA-PDT alleviates graft-versus-host disease in mice following allogeneic bone marrow transplantation

RAN Hai-Hong, PAN Kai-Li, ZHANG Ran, WANG Yi-Fei. Department of Pediatrics, Xijing Hospital of Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China (Pan K-L, Email: kailipan@fmmu.edu.cn)

Abstract: Objective This study investigated the hypothesis that 5-aminolevulinic acid-mediated photodynamic therapy (ALA-PDT) might alleviate acute graft-versus-host disease (GVHD) following allogeneic bone marrow transplantation (allo-BMT) in mice. **Methods** Acute GVHD model following allo-BMT was established in 40 recipient BALB/C mice. Fifty C57BL/6J mice were used as donors and another 10 BALB/C mice as blank control without any intervention. Recipients received a lethal dose of 8.5 Gy ⁶⁰Co radiation for 10 minutes before transplantation and then were randomly divided into four groups of 10 mice (A-D). Group A was injected with normal saline injection and served as controls. Group B received pure donor bone marrow and spleen cell infusion. Group C received donor bone marrow and mixed donor-recipient spleen cell infusion. Group D was administered with an infusion of donor bone marrow cells and mixed donor-recipient spleen cells treated with ALA-PDT. The 28th day survival rate, incidence of acute GVHD and hematological and pathological changes after transplantation were examined. **Results** All the mice from the Blank control group survived. The survival rates for Groups A-D on the 28th day were 0, 0, 10% and 60% respectively. Group D showed a significantly higher survival rate than the other three groups ($P < 0.01$). Most of the mice in Groups B and C developed GVHD but only two developed in Group D. Moreover Group D had less severe hematological and pathological changes when compared with Groups B and C. **Conclusions** ALA-PDT significantly alleviated GVHD and increased the 28th day survival rate for allo-BMT mice. ALA-PDT may be a promising therapy for GVHD following allo-BMT. Future studies should focus on the underlying mechanism of its therapeutic effect. [Chin J Contemp Pediatr, 2006, 8(5): 408-412]

Key words: 5-aminolevulinic acid-mediated photodynamic therapy; Allogeneic bone marrow transplantation; Graft-versus-host disease; T lymphocyte; Mice

[收稿日期] 2006-05-12; [修回日期] 2006-06-24

[基金项目] 本课题受陕西省科技研究发展计划项目资助[No. 2004k12-G6(2)]

[作者简介] 冉海红, 女, 硕士研究生。主攻方向: 儿童血液肿瘤。

[通讯作者] 潘凯丽, 教授, 第四军医大学西京医院儿科。邮编: 710032。

同种异基因骨髓移植治疗急性和慢性白血病的效果已经得到了广泛认可,但是白血病复发和移植抗宿主病(graft-versus-host disease, GVHD)是临床治疗效果的两个主要制约因素,同种异基因移植中的T淋巴细胞在GVHD发生中起着关键作用^[1],因此,针对减轻同种异基因骨髓移植后抑制T细胞活化,减轻GVHD反应就显得尤为重要。然而无选择性地清除T淋巴细胞虽然可以减轻GVHD,但会减弱移植抗白血病、抗感染效应,增加移植失败率^[2],因此,目前的研究多致力于选择性地清除供者移植中活化的T淋巴细胞。

5-氨基乙酰丙酸-光动力学疗法(5-aminolevulinic acid-mediated photodynamic therapy, ALA-PDT)是近20年来发展起来的一种新的治疗恶性肿瘤的方法,并用于治疗皮肤病、非恶性黑色素瘤、肺癌、光角化病、食管肿瘤和胃肠道肿瘤等^[3~7]。我们前期的研究已经发现^[8]:激活的淋巴细胞可以聚集ALA的转化产物原卟啉IX(protoporphyrin IX, PpIX),并且ALA-PDT能选择性地清除淋巴细胞。本研究以同种异基因小鼠骨髓移植急性GVHD为模型,观察了ALA-PDT选择性地清除活化T淋巴细胞应用于受鼠减轻GVHD反应,并推测了其可能的作用机制,旨在探讨ALA-PDT在同种异基因骨髓移植后减轻GVHD反应的机制。

1 材料和方法

1.1 实验动物和处理

供鼠为C57BL/6J雄鼠50只,6~8周龄,体重为18~20 g;受鼠为BALB/C雌鼠50只(包括空白对照组10只),6~8周龄,体重为18~20 g,均为SPF级,由第四军医大学实验动物中心提供。垫料和饲料均经高压消毒,饮水经煮沸消毒。骨髓移植前1周开始饮用含红霉素250 mg/L、庆大霉素320 mg/L的饮用水,并持续到移植后14 d。移植后小鼠饲养于开放环境。实验操作在超净工作台中进行。

1.2 药物、试剂和设备

ALA, PHA, rhIL-2, MTT, DMSO均购自美国Sigma公司,丝裂霉素购自日本KYOWA公司, anti-mouse IgMa-PE, anti-mouse IgMb-FITC购自Pharmingen公司,小鼠淋巴细胞分离液购自天津TBD公司,光源由西北大学光学研究所研制,波长410 nm,辐射剂量为14.4 J/cm²,酶联免疫检测仪(RJ-DG5031),血球自动分析仪(美国CD-1400E)。

1.3 骨髓与脾淋巴细胞的准备

雄性C57BL/6J供鼠,颈椎脱臼法处死,75%的乙醇中浸泡10 min,无菌条件下剥离股骨及胫骨,剪去两端,用RPMI 1640培养液冲出骨髓,过4号针头,制成单细胞悬液,洗涤3次,计数,调整细胞浓度为 1×10^8 /mL;在无菌条件下取出脾脏,置于200目钢筛上用玻璃注射器研磨,用RPMI 1640冲洗过滤制成单细胞悬液,使用淋巴细胞分离液分层,抽取淋巴细胞, RPMI 1640洗涤两遍。

1.4 细胞毒性细胞制备

在受鼠BALB/C淋巴细胞中加入丝裂霉素,终浓度为50 μ g/mL。37℃,5% CO₂条件下孵育3 h, RPMI 1640清洗2次,制备成去增殖细胞。调整受鼠淋巴细胞浓度至 2×10^6 /mL,供鼠淋巴细胞浓度至 1×10^6 /mL。将受鼠和供鼠淋巴细胞按100 μ L:100 μ L在96孔板中混合,制成单向混合淋巴细胞(mixed lymphocyte culture, MLC),即同种异体激活的外周血单个核细胞。在37℃,5% CO₂孵箱中,静置孵育6 d。

1.5 ALA-PDT

在混合淋巴细胞中加入50 mmol/L ALA溶液6 μ L。孵育4 h之后,使用波长为410 nm的光照射细胞1 h。ALA的操作均在无菌条件下进行。

1.6 骨髓移植

给予40只BALB/C小鼠⁶⁰Co照射10 min,剂量为8.5 Gy,随机分为4组,每组为10只,在照射后4 h进行骨髓移植。A组:每只小鼠尾静脉注射0.5 mL无菌生理盐水。B组:经小鼠尾静脉输入0.5 mL供鼠骨髓细胞 3×10^7 /L,脾细胞 3×10^6 /L。C组:经小鼠尾静脉输注0.5 mL供鼠骨髓细胞 3×10^7 /L,脾细胞 1×10^6 /L及受鼠脾细胞 2×10^6 /L。D组:经小鼠尾静脉输注0.5 mL供鼠骨髓细胞 3×10^7 /L及接受ALA-PDT的混合淋巴细胞。另设空白对照组,以进行小鼠的一般状况对比。

1.7 检测指标和观察项目

①小鼠一般状况观察:记录各组小鼠的体重变化和生存时间,观察空白对照组以及4组经⁶⁰Co照射小鼠存活情况,并根据以下情况判断死亡原因。GVHD发生:具有倦怠、纳差、体重减轻、弓背、脱毛、腹泻等症状;造血功能衰竭:WBC $< 0.5 \times 10^9$ /L;移植相关死亡:除GVHD死亡外,在移植后2周内由于感染、出血等原因引起的死亡。②外周血WBC检测与病理组织学分析:取外周血25 μ L,血球自动分析仪计数。取小鼠肝、小肠、尾巴皮肤,用4%甲醛固定,石蜡包埋、切片,苏木素-伊红染色,光学显

显微镜下观察,并按照 GVHD 分级标准^[9]进行评估。

③异基因骨髓移植细胞植入情况检测:小鼠在饲养至第 21 天时,取 B, C, D 组受鼠外周血,通过标记 IgM a-PE, IgM b-FITC,使用流式细胞仪测定异基因骨髓细胞植入情况。

1.8 统计学处理

利用 Origin7.0 和 SPSS10.0 统计学软件进行数据处理,所得实验数据均以 mean $\pm$ SE 或者百分率表示,两样本的均数的比较采用 *t* 检验,两个以上样本均数的检验采用方差分析法, $P < 0.05$ 作为具有统计学差异的检验水准。

2 结果

2.1 受鼠一般状况

空白对照组受鼠未给予⁶⁰Co 照射,因此没有任何 GVHD 症状,生长状况良好。A 组小鼠照射后第 6 天陆续开始死亡,至第 8 天已经全部死亡。B 组小鼠从移植后第 6 天开始出现弓背体位、体重下降、毛发脏乱、腹泻等 GVHD 表现,并陆续开始死亡,死亡高峰期在第 10 ~ 14 天, GVHD 发生率为 100%,其中 80% 为重度。C 组小鼠从移植后第 6 天开始出现弓背体位、体重下降、毛发脏乱、腹泻等 GVHD 表现,从第 7 天陆续开始死亡,死亡高峰期在第 12 ~ 15 天, GVHD 发生率为 80%, ALA-PDT 处理组小鼠在第 12 天有 2 只出现轻度弓背体位, 2 只轻度体重下降, GVHD 发生率为 30%,其中 10% 为重度,与 B, C 组相比, GVHD 的发病高峰期明显后移,程度减轻。

50 只 BALB/C 小鼠体重分布位于 18.26 ~ 19.74 g,各组间差异无显著性 ($P > 0.05$)。空白对照组小鼠在 28 d 中正常生长,体重平稳增加,由 19.65 ± 0.24 g 增加至 31.32 ± 0.46 g。A 组小鼠在饲养至第 8 天时全部死亡时,体重骤降至 12.62 ± 0.15 g。B, C 组小鼠体重增长缓慢,饲养至第 28 天时,存活下来的小鼠体重分别为 21.92 ± 0.21 g, 23.64 ± 0.34 g,组间差异不明显 ($P > 0.05$)。而 D 组即 ALA-PDT 处理组小鼠体重增加明显,饲养至第 28 天时体重为 26.53 ± 0.98 g,与 B, C 组小鼠相比,差异均具有显著性 ($P < 0.01$),见图 1。

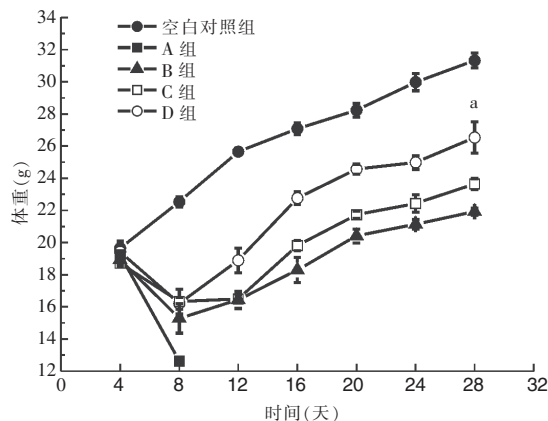


图1 同种异基因骨髓移植后小鼠 28 d 的体重变化

2.2 小鼠 28 d 生存率

我们观察了各实验组小鼠 28 d 的生存率(图 2)。空白对照组小鼠饲养至 28 d 时 100% 存活。A 组小鼠在 8 d 内全部死亡。B 组小鼠 28 d 内 100% 死亡。C 组小鼠仅 1 只存活至 28 d,第 28 天累计生存率 10%。ALA-PDT 处理组 10 只小鼠中有 6 只存活至第 28 天,第 28 天累计生存率 60%, ALA-PDT 显著延长了骨髓移植小鼠的 28 d 生存率。

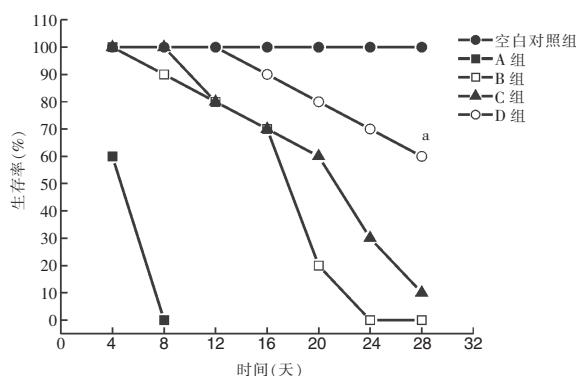


图2 同种异基因骨髓移植后小鼠 28 d 生存率曲线

2.3 外周血 WBC 检测

从血球自动检测仪的检测结果可以看出,空白对照组小鼠 21 d 的 WBC 变化不显著,而 A 组小鼠的 WBC 计数至 7 d 时已降至 $0.18 \pm 0.04 \times 10^9/L$, B, C 组小鼠的 WBC 计数在 7 d 降至最低点, 14 d、21 d 有一定程度的改善,组间差异明显 ($P < 0.05$),然而 ALA-PDT 处理组小鼠的 WBC 计数在各观察时间点均有显著的改善,与 B, C 组间均具有显著的统计学差异 ($P < 0.01$)。见表 1。

2.4 病理组织学分析

空白对照组小鼠病理组织学未见异常,而 B, C, D 组小鼠皮肤、肝脏及小肠均发生 GVHD 相关的病

表1 同种异基因骨髓移植后小鼠的外周血白细胞计数

分组	n	WBC(×10 ⁹ /L)		
		7 d	14 d	21 d
空白对照组	10	8.43±0.04	7.76±0.06	8.27±0.03
A组	10	0.49±0.04	-	-
B组	10	0.57±0.05	1.27±0.11	5.21±0.32
C组	10	0.68±0.08 ^a	2.26±0.13 ^a	5.89±0.46 ^a
D组	10	0.69±0.12	3.88±0.20 ^b	6.74±0.25 ^b

a 与B组比较, $P < 0.05$; b 与B, C组比较, $P < 0.01$

理改变。表现为:①皮肤:基底细胞空泡变性、溶解坏死,大量淋巴细胞浸润;②肝脏:肝细胞呈不同程度的变性或坏死,有较广泛淋巴细胞浸润,胆小管闭塞、淋巴细胞浸润;③小肠:肠黏膜水肿和出血,部分糜烂,小肠绒毛坏死脱落,黏膜下层淋巴细胞浸润。其中B组病理改变属于GVHD III级, C组为GVHD II级。ALA-PDT处理组小鼠病理改变明显轻于其他各组,仅为轻度炎症反应:皮肤有少量淋巴细胞浸润,肝细胞轻度水肿变性,小肠少量淋巴细胞浸润,为GVHD I级。

2.5 异基因骨髓移植细胞植入情况检测

B组小鼠在21 d异基因嵌合比例(65.43±10.98)%, C组异基因嵌合的比例(68.67±9.56)%, D组21 d异基因嵌合的比例为(86.17±13.72)%,证实供鼠来源的细胞在受鼠体内成功植活。

3 讨论

骨髓移植在治疗血液系统恶性疾病已经在临床上得到了广泛应用,但若不进行预防性免疫抑制治疗,大多数骨髓移植均会并发GVHD。GVHD是同种异基因骨髓移植的主要并发症和死亡原因,因此如何预防GVHD是骨髓移植领域急待解决的问题。GVHD是供者的T淋巴细胞对受者的组织相容性抗原产生排斥所引起的,因此针对活化的T淋巴细胞的靶向治疗可能是一种有价值的治疗方法。ALA-PDT是近些年来研究比较多的用于抗肿瘤的疗法,但是未见其应用于体内治疗血液系统肿瘤的报道。

ALA是人体合成卟啉,产生血红素的前体物质。人体内产生的ALA在ALA合成酶的作用下生成胆色素原,再在胆色素原脱氢酶的作用下生成PpIX。PpIX经过亚铁螯合酶的作用,和铁发生结合,形成血红素。正常情况下,体内产生的ALA在亚铁螯合酶的作用下,不会产生过多的PpIX。但是在肿瘤组织中亚铁螯合酶活性较低,当肿瘤中存

在丰富的ALA并生成大量的PpIX时, PpIX转化成血红素发生障碍,因而造成了PpIX在肿瘤组织中的滞留^[10]。光敏剂对肿瘤组织的亲和力是对正常组织的2~10倍,光敏剂进入体内48~72 h后,可大量储留于肿瘤细胞线粒体内,这时用特定波长激光照射,可发生一系列光化学发应,抑制P-糖蛋白,产生单态氧等氧化性极强的细胞毒性物质从而杀伤肿瘤细胞^[11]。光动力治疗是一种用于抗肿瘤的方法,与传统的肿瘤治疗方法相比,具有肿瘤组织的相对选择性,定向消灭原发和复发肿瘤,较少损伤正常组织,毒副作用小,以及与传统治疗具有协同作用等优点^[12]。有研究表明,ALA-PDT作用的靶位主要是肿瘤细胞线粒体,通过破坏肿瘤细胞的线粒体而使其死亡^[13]。

同种异基因骨髓移植后GVHD的发生可以分为3期:①组织损伤的启动期;②供者T淋巴细胞的激活以及增殖期;③组织损伤的效应期。组织损伤的启动期包括放疗和化疗去除受者T淋巴细胞所引起的阻止移植物植入,以及导致皮肤、肝脏和胃肠道的损伤。在第二期,抗原提呈给T淋巴细胞导致其激活、增殖和分化。激活的供者T淋巴细胞是GVHD发生的重要效应细胞,最近的研究证实^[14]:移植物中的T淋巴细胞数量与GVHD的严重度具有剂量-效应依赖性关系;去除移植物中的T淋巴细胞可以降低GVHD的发生率和严重度;供者的T淋巴细胞浸润于GVHD患者的组织损伤部位。然而,目前很少将去除供者的T淋巴细胞应用于临床,因为无选择性的去除T淋巴细胞往往会导致移植失败,延长免疫抑制治疗时间以及减弱其移植物抗白血病效应。移植物中供者T淋巴细胞主要分为两类:即对宿主组织相容性抗原(MHC)特异反应的T细胞和对肿瘤抗原特异反应的T细胞。前者可介导GVHD,后者则没有类似作用^[15]。

已有研究表明^[16],激活的淋巴细胞可以聚集PpIX。由于细胞活化后,细胞内DNA及染色体合成需要铁的参与而发生铁缺乏,导致PpIX不能有效转化成血红素,而在活化的细胞中发生聚集,而正常的淋巴细胞不会聚集PpIX。Ratcliff等^[17]用ALA诱导产生PpIX后,再用红光照射,在细胞中测到了大量的单态氧。另有研究证实:用供鼠的脾细胞与经过照射的受鼠的脾细胞一定比例混和培养,供者T淋巴细胞被受者MHC抗原刺激活化后,加入光敏剂(TH9402)继续培养,经过特定波长可见光照射后,加上供鼠的去除T细胞的骨髓细胞,移植给受鼠,可减轻GVHD^[15]。所以我们推测光敏剂ALA

可能也有相同的作用。

本研究中,B组受鼠接受供鼠的骨髓细胞和脾细胞后,虽然在21 d可以检测到异基因嵌合比例为 $(65.43 \pm 10.98)\%$,但大多数小鼠因为接受异基因的淋巴细胞后产生严重的GVHD反应而死亡。C组小鼠和B组相比,移植中增加了受鼠的脾细胞,在21 d存活了6只,异基因嵌合比例高于B组,GVHD反应也有所减轻。国内已有研究发现^[18],在异基因骨髓、脾细胞中,加入同基因来源的脾有核细胞,使受鼠免于死于GVHD。这一效应可能是通过具有免疫活性的同基因淋巴细胞抑制异基因淋巴细胞在受者体内增殖实现的。

D组即ALA-PDT组与单纯供鼠骨髓及脾细胞移植组、供鼠骨髓及供受鼠混合脾细胞移植组相比,能够明显减轻同种异基因小鼠骨髓移植后GVHD反应,表现为受鼠的一般状况、外周血WBC变化以及病理学改变有显著的改善,28 d生存率提高。这一效应可能是通过ALA-PDT选择性地广泛杀伤介导GVHD的同种异体反应性T细胞亚群,而保留介导免疫系统重建的静息的T细胞而实现的。

我们前期的工作已证实^[8],通过检测ALA-PDT处理后单向MLC激活细胞对原刺激细胞的杀伤性可以间接地反映ALA-PDT的选择性清除效果。ALA-PDT组处理后单向MLC细胞的杀伤率与单纯光照组、ALA组和单纯对照组的杀伤率相比,明显偏低,说明ALA-PDT组活化的细胞清除效果较强。从而证明ALA-PDT可以选择性清除同种异体激活的淋巴细胞。我们后续的工作将进一步深入研究ALA-PDT抗同种异基因骨髓移植后GVHD的作用机制,如果这一研究得到证实,将为同种异基因骨髓移植成功地应用于临床提供重要的理论基础。

[参 考 文 献]

- [1] Xia G, Truitt RL, Johnson BD. Graft-versus-leukemia and graft-versus-host reactions after donor lymphocyte infusion are initiated by host-type antigen-presenting cells and regulated by regulatory T cells in early and long-term chimeras [J]. Biol Blood Marrow Transplant, 2006, 12(4): 397-407.
- [2] Le NT, Chen BJ, Chao NJ. Selective elimination of alloreactivity from immunotherapeutic T cells by photodynamic cell purging and memory T-cell sorting [J]. Cytotherapy, 2005, 7(2): 126-133.
- [3] Garcia-Zuazaga J, Cooper KD, Baron ED. Photodynamic therapy in dermatology: current concepts in the treatment of skin cancer [J]. Expert Rev Anticancer Ther, 2005, 5(5): 791-800.
- [4] Skivka LM, Gorobets OB, Kutsenok VV, Lozinsky MO, Borisevich AN, Fedorchuk AG, et al. 5-aminolevulinic acid mediated photodynamic therapy of Lewis lung carcinoma: a role of tumor infiltration with different cells of immune system [J]. Exp Oncol, 2004, 26(4): 312-315.
- [5] Moore CM, Hoh IM, Bown SG, Emberton M. Does photodynamic therapy have the necessary attributes to become a future treatment for organ-confined prostate cancer? [J]. BJU Int, 2005, 96(6): 754-758.
- [6] Phan M, Dyke S, Whittaker MA, Simmerman A, Abrams S, Panjehpour M, Overholt BF. An educational tool for photodynamic therapy of Barrett esophagus with high-grade dysplasia: from screening through follow-up [J]. Gastroenterol Nurs, 2005, 28(5): 413-419.
- [7] Nakaseko H, Kobayashi M, Akita Y, Tamada Y, Matsumoto Y. Histological changes and involvement of apoptosis after photodynamic therapy for actinic keratoses [J]. Br J Dermatol, 2003, 148(1): 122-127.
- [8] 王一飞,潘凯丽,江逊,冉海红. ALA-PDT对同种异体激活淋巴细胞选择性清除作用的研究[J]. 实用儿科临床杂志, 2005, 20(12): 1176-1178.
- [9] Markus PM, Cat X, Ming W, Demetris AJ, Fung JJ, Starzl TE. Prevention of graft-versus-host disease following allogeneic bone marrow transplantation in rats using FK506 [J]. Transplantation, 1991, 52(4): 590-594.
- [10] 张波,张阳德,王绍,夏代林,黄秋林. 5-氨基乙酰丙酸诱导原卟啉IX在大肠癌模型大鼠血液中积聚的实验研究[J]. 中国现代医学杂志, 2004, 14(23): 53-56.
- [11] Boumedine RS, Roy DC. Elimination of alloreactive T cells using photodynamic therapy [J]. Cytotherapy, 2005, 7(2): 134-143.
- [12] 肖竦. 肿瘤光动力学疗法[J]. 实用癌症杂志, 2005, 20(2): 214-216.
- [13] Grebenova D, Kuzelova K, Smetana K, Pluskalova M, Cajthamlova H, Marinov I, et al. Mito-chondrial and endoplasmic reticulum stress-induced apoptotic pathways are activated by 5-aminolevulinic acid-based photodynamic therapy in HL-60 leukemia cells [J]. J Photochem Photobiol B, 2003, 69(2): 71.
- [14] Ichiki Y, Bowlus CL, Shimoda S, Ishibashi H, Vierling JM, Gershwin ME. T cell immunity and graft-versus-host disease (GVHD) [J]. Autoimmun Rev, 2006, 5(1): 1-9.
- [15] Chen BJ, Cui X, Liu C, Chao NJ. Prevention of graft-versus-host disease while preserving graft-versus-leukemia effect after selective depletion of host-reactive T cells by photodynamic cell purging process [J]. Blood, 2002, 99(9): 3083-3088.
- [16] Hryhorenko EA, Oseroff AR, Morgan J, Rittenhouse-Diakun K. Deletion of alloantigen-activated cells by aminolevulinic acid-based photodynamic therapy [J]. Photochem Photobiol, 1999, 69(5): 560-565.
- [17] Ratcliffe SL, Matthews EK. Modification of the photodynamic action of delta-aminolevulinic acid (ALA) on rat pancreatoma cells by mitochondrial benzodiazepine receptor ligands [J]. Br J Cancer, 1995, 71(2): 300-305.
- [18] 罗晖,杨平地,贺福初. 混合骨髓移植的实验研究[J]. 中华血液学杂志, 1998, 19(8): 418-421.

(本文编辑:吉耕中)