

Tim-3 mRNA 在异基因造血干细胞移植后急性移植物抗宿主病中的作用

李晓莉 姚遥 杨冰玉 徐良静 刘彬 车梅 朱亚兵 吴小津 吴德沛

【摘要】 目的 探讨 T 细胞免疫球蛋白黏蛋白结构域分子 3 (Tim-3) mRNA 表达在异基因造血干细胞移植 (allo-HSCT) 后急性移植物抗宿主病 (aGVHD) 中的作用。方法 回顾性分析 100 例 allo-HSCT 患者, 根据患者 aGVHD 状态 [0 (未发生) ~ I 度 aGVHD 组、II ~ IV 度 aGVHD 治疗前组、II ~ IV 度 aGVHD 治疗好转组] 及移植后不同阶段 (+14~+30 d、+31~+60 d、+61~+100 d) 比较各组外周血单个核细胞 Tim-3 mRNA 及血浆 IFN- γ 、IL-2 水平。结果 0~I 度 aGVHD 患者 +31~+60 d Tim-3 mRNA 相对定量 (7.24 ± 2.79) 明显高于 +14~+30 d (4.60 ± 1.66) 及 +61~+100 d (3.86 ± 1.36) (P 值均 < 0.05); +14~+30 d、+31~+60 d、+61~+100 d II~IV 度 aGVHD 治疗前组的 Tim-3 mRNA 水平分别为 9.54 ± 3.05 、 10.14 ± 3.28 、 12.82 ± 4.20 , +14~+30 d、+61~+100 d, 均高于 0~I 度 aGVHD 组及治疗好转组; +31~+60 d II~IV 度 aGVHD 治疗前组明显高于治疗好转组 (2.49 ± 0.89), 与 0~I 度 aGVHD 组 (7.24 ± 2.79) 相比差异无统计学意义; II~IV 度 aGVHD 组中 Tim-3 mRNA 水平在不同 aGVHD 程度、不同脏器之间比较差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。II~IV 度 aGVHD 治疗前组血浆 IFN- γ 、IL-2 水平明显高于其他各组, 治疗好转组血浆 IFN- γ 、IL-2 水平与 0~I 度 aGVHD 组比较差异无统计学意义。结论 Tim-3 在 aGVHD 的发生过程中发挥着重要作用。

【关键词】 Tim-3; 造血干细胞移植; 移植物抗宿主病; 干扰素 γ ; 白细胞介素 2

基金项目: 国家自然科学基金 (81470346)

The role of Tim-3 mRNA in acute graft-versus-host disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation Li Xiaoli, Yao Yao, Yang Bingyu, Xu Liangjing, Liu Bin, Che Mei, Zhu Yabing, Wu Xiaojin, Wu Depei. *Jiangsu Institute of Hematology, the First Affiliated Hospital of Soochow University, Key Laboratory of Thrombosis and Hemostasis of Ministry of Health, Jiangsu Clinical Medicine Center, Suzhou 215006, China

Corresponding author: Wu Depei, Email: wudepei@medmail.com.cn

【Abstract】 Objective To investigate the role of Tim-3 gene expression in acute graft-versus-host disease (aGVHD) after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (allo-HSCT). **Methods** Patients after allo-HSCT were retrospectively analyzed, this cohort of patients were divided into different groups according to disease states (grade 0-I aGVHD group, grade II-IV aGVHD group, improved aGVHD group) and time periods (+14+30 d, +31+60 d, +61+100 d) to compare PBMC Tim-3 mRNA expression and plasma IFN- γ , IL-2 concentrations among them. **Results** RT-PCR showed that in grade 0-I aGVHD group, Tim-3 mRNA expression in patients +31+60 d (7.24 ± 2.79) was significantly higher than that in patients +14+30 d (4.60 ± 1.66) and +61+100 d (3.86 ± 1.36) ($P < 0.05$). Tim-3 mRNA expressions of grade II-IV aGVHD group in patients +14+30 d, +31+60 d, +61+100 d were 9.54 ± 3.05 , 10.14 ± 3.28 , 12.82 ± 4.20 , respectively, which in both +14+30 d and +61+100 d were significantly higher than that of grade 0-I aGVHD and improved aGVHD groups ($P < 0.05$). In patients +31+60 d, Tim-3 expression of grade II-IV aGVHD group was higher than improved aGVHD group (2.49 ± 0.89), while no statistical difference when compared with grade 0-I aGVHD group (7.24 ± 2.79). In grade II-IV aGVHD group, Tim-3 mRNA expression manifested no statistical difference among grades or organ involved ($P > 0.05$). ELISA results showed that plasma IFN- γ and IL-2 concentrations were higher in grade

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2016.06.006

作者单位: 215006 苏州大学附属第一医院血液科 (李晓莉、姚遥、杨冰玉、徐良静、刘彬、吴小津、吴德沛); 苏州大学附属第一医院广慈分院血液科 (车梅、朱亚兵)

通信作者: 吴德沛, Email: wudepei@medmail.com.cn

II-IV aGVHD group than of other groups, while no significant difference existed between grade 0-I aGVHD and improved aGVHD groups ($P<0.05$). **Conclusion** Tim-3 played an important role in the process of aGVHD.

【Key words】 Tim-3; Hematopoietic stem cell transplantation; Graft vs. host disease; Interferon-gamma; Interleukin-2

Fund program: National Natural Science Foundation of China (81470346)

异基因造血干细胞移植(allo-HSCT)是治疗恶性血液病、某些遗传性疾病、自身免疫性疾病的有效方法,而急性移植物抗宿主病(aGVHD)是移植早期的重要并发症和主要死亡原因^[1]。相关研究表明,T细胞免疫球蛋白黏蛋白结构域分子3(T cell immunoglobulin domain and mucin domain-3, Tim-3)与器官移植后急性排斥(acute rejection, AcR)有密切的关系。因此,本研究我们通过检测血液病患者allo-HSCT后外周血单个核细胞(PBMC)Tim-3 mRNA水平来研究其在aGVHD中的作用,现报道如下。

对象与方法

1. 病例资料:以2014年8月至2015年2月苏州大学附属第一医院血液科行allo-HSCT的100例血液病患者为研究对象。入组标准:①获得造血重建;②原发血液病处于缓解状态或骨髓检查基本正常;③若发生aGVHD,仅累及单一脏器。排除标准:①CMV血症;②EBV血症;③结缔组织病。其中男67例,女33例,中位年龄为36(18~55)岁。原发病:急性淋巴细胞白血病24例,急性髓系白血病36例,急性混合细胞白血病9例,慢性髓系白血病6例,淋巴瘤4例,骨髓增生异常综合征11例,重型再生障碍性贫血7例,阵发性睡眠性血红蛋白尿症3例。

2. 移植情况:供者来源:100例患者中,HLA相合同胞供者43例(43.0%),HLA相合无关供者35例(35.0%),亲缘单倍型供者22例(22.0%)。其中32例(32.0%)为女供男。预处理方案:HLA相合同胞供者HSCT主要采用改良BU/CY(白消安+环磷酰胺)方案,HLA相合无关供者和单倍型供者HSCT主要采用BU/Flu(白消安+氟达拉滨)方案,对淋巴细胞白血病或合并中枢神经系统白血病(CNSL)的患者加用全身照射。造血干细胞来源:骨髓+外周血50例(50.0%)、骨髓7例(7.0%)、外周血43例(43.0%)。

3. GVHD预防和诊治:HLA相合同胞供者HSCT采用经典的环孢素A(CsA)+短程甲氨蝶呤

(MTX)方案预防GVHD,HLA相合无关供者或单倍型HSCT采用CsA+短程MTX+霉酚酸酯(MMF)+抗人胸腺细胞球蛋白(ATG)预防GVHD,具体用法:MTX $15 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$, +1 d, $10 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$, +3、+7、+11 d;CsA $3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$,自-10 d开始应用;MMF $30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$,自-7 d开始应用;ATG(美国Genzyme公司产品) $2.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, -5~-2 d。aGVHD的诊断采用国际标准^[2]。发生GVHD时立即给予甲泼尼龙 $1\sim 2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 治疗,治疗无效的患者给予二线药物他克莫司、抗CD25单抗、吗替麦考酚酯、TNF- α 单抗等治疗。

4. 主要试剂及仪器:TBD人外周血淋巴细胞分离液购自天津市灏洋生物制品科技有限公司;TRIzol、M-MLV逆转录试剂盒、dNTP及随机引物购自美国Invitrogen公司;EvaGreen染料购自美国Biotium公司;人IFN- γ 、人IL-2 ELISA检测试剂盒购自上海西塘生物科技有限公司。普通PCR仪、ABI 7500荧光定量PCR仪均购自美国Applied Biosystems公司。

5. 标本收集及处理:留取患者II~IV度aGVHD治疗前或治疗好转后外周血标本4 ml,其中aGVHD治疗前标本38份,治疗好转后标本30份;留取和II~IV度aGVHD标本时间类似的0(未发生)~I度aGVHD外周血标本32份。EDTA抗凝,常温离心,留取上清进行ELISA检测,采用TBD淋巴细胞分离液分离PBMC进行RT-PCR检测。

6. RT-PCR检测Tim-3 mRNA表达:按TRIzol试剂盒说明提取PBMC总RNA,采用M-MLV逆转录试剂盒逆转录合成cDNA。以cDNA为模板进行RT-PCR。引物序列:Tim-3上游引物:5'-CTGCT-GCTACTACTTACAAGGTC-3',下游引物:5'-GCAGGGCAGATAGGCATTCT-3',产物长度75 bp; β -actin上游引物:5'-ACTGGGACGACATGGAGAA-3',下游引物:5'-TAGCACAGCCTGGATAGCAA-3',产物长度188 bp。引物合成由生工生物工程(上海)股份有限公司完成。反应体系:10 \times 缓冲液2 μl , Mg^{2+} 1.5 μl , dNTP 0.4 μl ,上、下游引物各0.5 μl , Tag酶0.1 μl ,模板cDNA 1.5 μl , EvaGreen染

料 0.5 μ l, 去离子水补至 20 μ l。PCR 条件(两步法): 50 $^{\circ}$ C 2 min, 95 $^{\circ}$ C 10 min; 95 $^{\circ}$ C 15 s, 60 $^{\circ}$ C 60 s(期间进行荧光采集), 共 40 个循环。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 相对定量方法计算 Tim-3 mRNA 的表达水平。设 3 个复管, 实验重复 3 次。

7. ELISA 法检测血浆 IFN- γ 、IL-2 水平: 因 ELISA 对实验条件的均一性要求很高(所有标本应尽可能在同一块板上进行加样、孵育、检测), 我们在各组中随机挑取标本进行检测。严格按照试剂盒说明进行操作, 设 2 个复孔, 用酶标仪检测 450 nm 处吸光度(A)值。实验重复 3 次。

8. 统计学处理: 应用 GraphPad Prism 5.0 软件进行数据分析, 数据均符合正态分布, 用均数 \pm 标准差表示, 组间比较采用 *t* 检验或 *t'* 检验。所有的统计数据均为双侧检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. aGVHD 发生情况: 全部 100 例行 allo-HSCT 患者中, 68 例(68.0%) 发生 II~IV 度 aGVHD, II、III 和 IV 度分别为 41、20 和 7 例; 32 例(32.0%) 发生 0~I 度 aGVHD(0、I 度分别为 27、5 例)。发生 aGVHD 的中位时间为 +32(+11~+80)d。其中 68 例 II~IV 度 aGVHD 患者中 38 例 aGVHD 未治疗时取外周血标本进行分析, 为 II~IV 度 aGVHD 治疗前组; 30 例 aGVHD 治疗好转后取外周血标本进行分析, 为 II~IV 度 aGVHD 治疗好转组。比较各组 +14~+30 d、+31~+60 d、+61~+100 d Tim-3 mRNA 及血浆 IFN- γ 、IL-2 水平。

2. Tim-3 mRNA 表达水平: 0~I 度 aGVHD 患者 +14~+30 d、+31~+60 d、+61~+100 d PBMC Tim-3 mRNA 相对表达量分别为 4.60 ± 1.66 、 7.24 ± 2.79 和 3.86 ± 1.36 (表 1), +31~+60 d Tim-3 mRNA 表达明显高于 +14~+30 d、+61~+100 d 这两个阶段(P 值均 < 0.05), +14~+30 d 与 +61~+100 d 的 Tim-3 mRNA 水平比较差异无统计学意义($P=0.502$)。+14~+30 d、

+61~+100 d II~IV 度 aGVHD 治疗前组的 Tim-3 mRNA 表达均明显高于 0~I 度 aGVHD 组及治疗好转组。+31~+60 d, II~IV 度 aGVHD 治疗前组的 Tim-3 mRNA 水平明显高于治疗好转组, 与 0~I 度 aGVHD 组相比差异无统计学意义(表 1)。

II~IV 度 aGVHD 患者 +14~+30 d、+31~+60 d、+61~+100 d PBMC Tim-3 mRNA 相对表达水平两两比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)。将此三个阶段数据汇总, II 度(22 例)、III 度(10 例)、IV 度(6 例) aGVHD 组 Tim-3 mRNA 相对定量分别为 11.47 ± 3.95 、 10.00 ± 3.82 、 11.09 ± 3.67 , 两两比较差异无统计学意义($P > 0.05$)(图 1A)。皮肤 aGVHD 组(26 例)和肠道 aGVHD 组(12 例) Tim-3 mRNA 相对定量分别为 11.15 ± 3.57 、 10.73 ± 4.49 , 差异无统计学意义($P=0.757$)(图 1B)。

3. ELISA 法检测血浆 IFN- γ 、IL-2 水平: 血浆 IFN- γ 、IL-2 水平见表 2, 结果显示, II~IV 度 aGVHD 治疗前组血浆 IFN- γ 、IL-2 水平明显高于其他各组($P < 0.05$), 而治疗好转组血浆 IFN- γ 、IL-2 水平与 0~I 度 aGVHD 组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。

讨 论

Tim-3 是 2001 年 McIntire 等^[3] 在研究过敏和哮喘基因的过程中发现并定位克隆的一个新的基因, 表达于 Th1 细胞、Th17 细胞、CD8 细胞、调节性 T 细胞、NK 细胞、单核细胞、DC 等免疫细胞上^[4-7], 并在某些肿瘤如乳腺癌、肺癌、宫颈癌中也发现了 Tim-3 的表达^[8]。Tim-3 与其配体半乳糖凝集素-9 (Galectin-9) 特异性结合, 可诱导 Tim-3⁺ 效应性 T 细胞(包括 Th1 细胞、Th17 细胞、CD8⁺ T 细胞等) 的特异性清除。其免疫调节作用在自身免疫性疾病、变态反应性疾病、肿瘤免疫以及病毒免疫等方面均得到证实^[9]。

关于 Tim-3 在 AcR 中的作用, Renesto 等^[10] 发现肾移植后 AcR 患者尿液中 Tim-3 mRNA 水平明显高

表 1 移植后三个不同阶段各急性移植物抗宿主病(aGVHD)组外周血单个核细胞 Tim-3 mRNA 表达水平($\bar{x} \pm s$)

组别	+14~+30 d		+31~+60 d		+61~+100 d	
	例数	结果	例数	结果	例数	结果
0~I 度 aGVHD 组	20	4.60 ± 1.66	6	7.24 ± 2.79	6	3.86 ± 1.36
II~IV 度 aGVHD 组						
治疗前	11	9.54 ± 3.05^a	12	10.14 ± 3.28	15	12.82 ± 4.20^a
治疗好转	8	3.90 ± 1.31^b	12	2.49 ± 0.89^{ab}	10	3.70 ± 1.52^b

注: 与 0~I 度 aGVHD 组比较, ^a $P < 0.01$; 与治疗前组比较, ^b $P < 0.01$

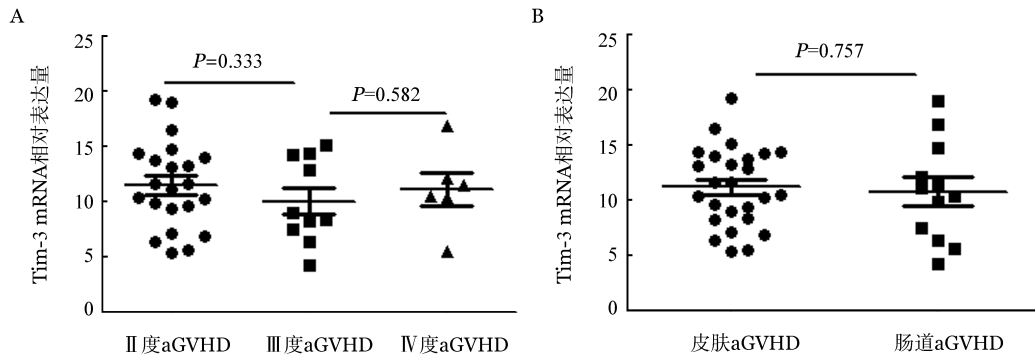


图1 不同程度(A)及不同器官(B)急性移植物抗宿主病(aGVHD)患者外周血单个核细胞Tim-3 mRNA表达水平比较

表2 急性移植物抗宿主病(aGVHD)患者不同时间段血浆IFN- γ 、IL-2水平比较(ng/L, $\bar{x}\pm s$)

组别	+14~+30 d			+31~+60 d			+61~+100 d		
	例数	IFN- γ	IL-2	例数	IFN- γ	IL-2	例数	IFN- γ	IL-2
0~I度aGVHD组	8	18.17 \pm 13.01	2.716 \pm 0.380	6	22.90 \pm 14.84	2.596 \pm 0.171	6	18.13 \pm 13.27	2.646 \pm 0.240
II~IV度aGVHD组									
治疗前	7	68.98 \pm 30.39 ^a	3.585 \pm 0.781 ^a	6	77.62 \pm 32.13 ^a	3.245 \pm 0.215 ^a	7	80.43 \pm 32.88 ^a	3.213 \pm 0.303 ^a
治疗好转	7	11.24 \pm 8.33 ^b	2.494 \pm 0.101 ^b	7	13.60 \pm 8.13 ^b	2.561 \pm 0.162 ^b	7	14.00 \pm 12.41 ^b	2.716 \pm 0.151 ^b

注:与0~I度aGVHD组比较,^a $P < 0.05$;与治疗前组比较,^b $P < 0.05$ 。设2个复孔,实验重复3次

于无AcR者,且Tim-3 mRNA水平改变和尿液中IFN- γ mRNA水平变化呈正相关($r^2=0.76, P < 0.001$)。治疗效果不明显的AcR患者, Tim-3 mRNA水平减低,提示了负性共刺激分子缺乏和预后差之间的关系。Luo等^[11]以肾移植患者的外周血为标本做了类似的实验,得出与上述实验相同的结果。以上研究认为Tim-3可作为一种无创的监测肾移植后AcR的生物标志物。在国内,方泽民等^[12]也发现Tim-3在小鼠转基因心脏移植受体引流淋巴结和移植心内T淋巴细胞上的表达升高与AcR的进展动态相关。

本研究我们针对Tim-3与aGVHD的关系进行了初步探索,发现allo-HSCT后0~I度aGVHD患者+31~+60 d Tim-3 mRNA水平明显升高,结合Tim-3在外周血细胞中的表达谱及2012年Ndhlovu等^[13]提出的Tim-3是NK细胞成熟的标志,同时allo-HSCT后免疫重建的一般规律中,NK细胞在移植后1个月重建达到高峰,我们考虑+31~+60 d Tim-3 mRNA水平高于+14~+30 d和+61~+100 d和NK细胞重建相关。

当患者发生II~IV度aGVHD时,在治疗前抽取外周血进行检测,+14~+30 d和+61~+100 d这两个阶段Tim-3 mRNA相对定量明显升高,此结果和

Renesto等^[10]的研究结果相一致。而+31~+60 d II~IV度aGVHD治疗前患者和0~I度aGVHD患者外周血Tim-3 mRNA水平相比差异无统计学意义,可能和该阶段免疫耐受患者Tim-3 mRNA表达水平基础值较其他时间段明显升高相关。

之后进一步研究aGVHD不同程度以及不同器官的PBMC Tim-3 mRNA水平变化,结果显示,不同严重程度aGVHD患者其Tim-3 mRNA相对定量比较差异无统计学意义,同时,皮肤和肠道aGVHD患者的Tim-3 mRNA水平差异也无统计学意义,提示Tim-3在aGVHD的发展过程中是一个相当敏感的指标,和aGVHD的程度及累及脏器无明显相关性。

在检测Tim-3水平的同时,Ponciano等^[14]同时检测20例因AcR而手术摘除的移植肾中Tim-3、颗粒酶B、穿孔素、IFN- γ 及FASL的表达,发现AcR组上述所有分子的mRNA表达均上调。aGVHD治疗前组血浆IFN- γ 、IL-2水平均明显升高,而aGVHD治疗好转组明显低于0~I度aGVHD组,与PBMC Tim-3 mRNA水平存在着同样的变化趋势。由于IFN- γ 、IL-2和aGVHD的发生和发展密切相关,提示Tim-3在aGVHD的发生和发展过程中发挥着重要作用。

综上所述,allo-HSCT后患者体内Tim-3、IL-2、IFN- γ 水平与aGVHD的发生有密切的关系。监测Tim-3水平对aGVHD早期诊断、判断预后及指导免疫抑制剂的应用具有重要的意义,可作为早期判断和监测aGVHD的指标。本研究仅针对PBMC进行Tim-3 mRNA水平的研究,且RT-PCR实验结果本身存在不稳定性。有学者指出Tim-3/Galectin-9信号通路对aGVHD的影响依赖调节性T细胞的作用^[15],提示aGVHD过程中Tim-3对各免疫细胞亚群的作用不同,从而引起细胞间的相互影响,其具体作用仍需进一步研究。由于选择性剪切和拼接,Tim-3可形成胞膜型及游离型两种,已有研究初步证实游离型Tim-3和肠道重症GVHD相关^[16],而关于aGVHD中以上两种类型Tim-3的变化及相互关系,也需要进一步探讨。

参考文献

- [1] 王紫薇,王健民.造血干细胞移植后急性移植物抗宿主病的预测及诊断标志物研究进展[J].中华血液学杂志,2015,36(2):172-176. doi: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2015.02.021.
- [2] Goyal RK, Goyal M, Sankaranarayan K. Grading acute graft-versus-host disease: time to reconsider [J]. *Pediatr Transplant*, 2015, 19(3):252-254. doi: 10.1111/ptr.12433.
- [3] McIntire JJ, Umetsu SE, Akbari O, et al. Identification of Tapr (an airway hyperreactivity regulatory locus) and the linked Tim gene family [J]. *Nat Immunol*, 2001, 2 (12):1109-1116. doi: 10.1038/ni739.
- [4] Sánchez-Fueyo A, Tian J, Picarella D, et al. Tim-3 inhibits T helper type 1-mediated auto- and alloimmune responses and promotes immunological tolerance [J]. *Nat Immunol*, 2003, 4 (11):1093-1101. doi: 10.1038/ni987.
- [5] Nakae S, Iwakura Y, Suto H, et al. Phenotypic differences between Th1 and Th17 cells and negative regulation of Th1 cell differentiation by IL-17 [J]. *J Leukoc Biol*, 2007, 81 (5):1258-1268. doi: 10.1189/jlb.1006610.
- [6] Frisancho-Kiss S, Nyland JF, Davis SE, et al. Cutting edge: T cell Ig mucin-3 reduces inflammatory heart disease by increasing CTLA-4 during innate immunity [J]. *J Immunol*, 2006, 176 (11):6411-6415.
- [7] Oikawa T, Kamimura Y, Akiba H, et al. Preferential involvement of Tim-3 in the regulation of hepatic CD8+ T cells in murine acute graft-versus-host disease [J]. *J Immunol*, 2006, 177 (7):4281-4287.
- [8] Cao Y, Zhou X, Huang X, et al. Tim-3 expression in cervical cancer promotes tumor metastasis [J]. *PLoS One*, 2013, 8 (1):e53834. doi: 10.1371/journal.pone.0053834.
- [9] Zhu C, Anderson AC, Schubart A, et al. The Tim-3 ligand galectin-9 negatively regulates T helper type 1 immunity [J]. *Nat Immunol*, 2005, 6(12):1245-1252. doi: 10.1038/ni1271.
- [10] Renesto PG, Ponciano VC, Cenedeze MA, et al. High expression of Tim-3 mRNA in urinary cells from kidney transplant recipients with acute rejection [J]. *Am J Transplant*, 2007, 7(6):1661-1665. doi: 10.1111/j.1600-6143.2007.01795.x.
- [11] Luo Y, Shi B, Qian Y, et al. Sequential monitoring of TIM-3 gene expression in peripheral blood for diagnostic and prognostic evaluation of acute rejection in renal graft recipients [J]. *Transplant Proc*, 2011, 43 (10):3669-3674. doi: 10.1016/j.transproceed.2011.08.106.
- [12] 方泽民,何文涛,王升,等. Tim-3在小鼠心脏移植受者体内不同部位T淋巴细胞上表达的变化[J].中华器官移植杂志,2010,31(3):141-143. doi: 10.3760/cma.j.issn.0254-1785.2010.03.003.
- [13] Ndhlovu LC, Lopez-Vergès S, Barbour JD, et al. Tim-3 marks human natural killer cell maturation and suppresses cell-mediated cytotoxicity [J]. *Blood*, 2012, 119 (16):3734-3743. doi: 10.1182/blood-2011-11-392951.
- [14] Ponciano VC, Renesto PG, Nogueira E, et al. Tim-3 expression in human kidney allografts [J]. *Transpl Immunol*, 2007, 17(3):215-222. doi: 10.1016/j.trim.2006.11.003.
- [15] Veenstra RG, Taylor PA, Zhou Q, et al. Contrasting acute graft-versus-host disease effects of Tim-3/galectin-9 pathway blockade dependent upon the presence of donor regulatory T cells [J]. *Blood*, 2012, 120 (3):682-690. doi: 10.1182/blood-2011-10-387977.
- [16] Hansen JA, Hanash SM, Tabellini L, et al. A novel soluble form of Tim-3 associated with severe graft-versus-host disease [J]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2013, 19 (9):1323-1330. doi: 10.1016/j.bbmt.2013.06.011.

(收稿日期:2015-10-29)

(本文编辑:刘爽)