

烟曲霉感染的宿主防御机制以及相关免疫学研究进展

孙铮 赵作涛 万喆 李若瑜

(北京大学第一医院皮肤性病科, 北京大学真菌和真菌病研究中心, 北京 100034)

【摘要】 随着免疫抑制剂广泛应用和免疫抑制患者的不断增多, 由烟曲霉引起的侵袭性感染病例逐渐增加, 越来越引起医学界的关注。本文特此对烟曲霉感染的宿主防御机制以及免疫学研究进展作一综述。

【关键词】 烟曲霉; 真菌感染; 侵袭性曲霉病; 免疫抑制; 免疫学研究

【中图分类号】 R 379.6 **【文献标识码】** B **【文章编号】** 1673-3827(2010)05-0307-05

近年来, 随着广谱抗生素、糖皮质激素和免疫抑制剂的广泛应用, 造血干细胞移植和实体器官移植以及导管技术的不断推广普及, 艾滋病、糖尿病等疾病的发病率不断上升, 临床上免疫受损患者日益增多, 病原真菌机会性感染的发病率在全球范围内呈急剧上升趋势。烟曲霉是环境中一种重要的人类机会性致病真菌, 常引起侵袭性曲霉病, 造成多系统器官的感染, 病情危重, 病死率极高。目前临床上主要以系统应用抗真菌药物为主要治疗方法, 或者因药物不良反应大, 或者因治疗效果不理想, 迫切需要包括生物学和免疫学技术在内的新型治疗手段的出现。

1 宿主对烟曲霉侵袭的防御机制

与应对其他种类微生物感染相似, 机体对侵入体内的烟曲霉启动固有免疫和适应性免疫两种应答方式。烟曲霉感染与宿主的免疫状态密切相关, 免疫力完全正常的宿主, 固有性免疫应答足以将抵达呼吸道的烟曲霉清除; 而当感染趋向于慢性, 或者宿主曾经被致敏, 则适应性免疫应答迅速启动。

1.1 固有性免疫应答

模式识别受体 固有性免疫应答起始于免疫细胞表面模式识别受体 (pattern recognition receptors, PRR) 对烟曲霉的识别, 通过分泌或膜结合受体对微生物进行识别是固有免疫系统的一个重要

功能。识别微生物后, 固有免疫系统释放杀微生物分子、细胞因子、趋化因子等。在终末气道, 烟曲霉孢子表面半乳甘露聚糖与可溶性受体 pentraxin-3 结合, 这种结合能增强巨噬细胞和树突状细胞对孢子的吞噬。有研究证明 Pentraxin-3^{-/-}的小鼠对侵袭性曲霉病高度易感。吞噬细胞通过膜表面多种受体与烟曲霉孢子结合来实现吞噬作用。例如, 肺泡巨噬细胞的甘露糖受体和树突状细胞的 DC-SIGN 能结合孢子的半乳甘露聚糖, 以此识别模式介导孢子的摄入^[1]。宿主对真菌的免疫反应依赖于几类激发信号级联反应的跨膜受体。哺乳类 Toll 样受体 TLR 家族有 11 个成员; 目前研究认为, TLR-2 和 TLR-4 介导对烟曲霉孢子引起的炎症反应。TLR2 和 TLR4 均是通过配体 MyD88 传导信号, 诱导细胞因子、趋化因子和活性氧 (ROS, Reactive oxygen species) 的产生; 体内试验研究方面, Bellocchio 等人利用 TLR 缺陷鼠做的对念珠菌和曲霉易感性的实验, 证明 TLR4 与烟曲霉感染有关; 同样, Bochud 经过研究证明, 具有特定 TLR-4 受体 SNPs 的移植患者对侵袭性曲霉感染更易感^[2]。 β -葡聚糖是真菌细胞壁的主要成分, 现已证明 Dectin-1 是识别 β -葡聚糖的主要受体, 在抗真菌免疫中起重要作用。Dectin-1 可介导识别包括曲霉属在内的多种真菌病原体, 通过 Dectin-1 识别这些菌体可促进机体的保护性应答反应, 包括对真菌的摄取及杀伤 (通过呼吸爆发介导), 以及产生大量的细胞因子和趋化因子包括肿瘤坏死因子、白细胞介素 1、白细胞介素 6 以及粒细胞-单核细胞集落刺激因子等。但是, Dectin-1 识别也可产生非保护性甚

基金项目: 国家自然科学基金青年基金 (30800041)。

作者简介: 孙铮, 男 (汉族), 博士研究生在读。E-mail: sun.zheng@126.com

通讯作者: 李若瑜, E-mail: lrymm@medmail.com.cn

至有害的细胞因子,如 IL-23 和 IL-10,原因尚不清楚。因此,Dectin-1 在抗曲霉免疫中所起的作用尚有争议。

树突状细胞 树突状细胞是联系固有性免疫应答和适应性免疫应答反应之间的桥梁-树突状细胞吞噬了烟曲霉之后,将抗原成分提呈到细胞膜表面,以活化特异性抗原表位的 T 细胞。吞噬烟曲霉孢子后,树突状细胞表达 IL-12p70,启动有利于抗感染的 Th1 类型的免疫应答反应^[3];而菌丝被吞噬之后导致 IL-4 和 IL-10 的分泌,诱发 Th2 类型的免疫应答反应,结果是感染加重^[4]。

巨噬细胞 许多研究表明,吞噬细胞的数量和功能的下降,是导致宿主对烟曲霉易感的主要因素。吞噬细胞在保护宿主免受烟曲霉感染方面起着重要作用。肺泡巨噬细胞作为吞噬细胞系统的一部分,构成了机体抵抗烟曲霉孢子侵袭的第一道防线。Surfactant protein D 以及 pentraxin 3 可以增强巨噬细胞对孢子的吞噬作用。有研究证明,被吞噬的孢子在巨噬细胞内发生肿胀膨大之前,无法被有效地杀伤^[5]。过去的观点认为,肺泡巨噬细胞对烟曲霉孢子的杀伤是经过非氧化途径实现的,然而,后来的研究表明,活性氧中间体 (reactive oxygen intermediates, ROI) 在杀伤过程中所起的作用不可忽视。X-连锁慢性肉芽肿病 (X-linked chronic granulomatous disease, X-CGD) 是一种遗传性免疫缺陷病,其病因为吞噬细胞的 NADPH 氧化酶复合体缺陷,导致超氧化前体及其代谢产物产生缺陷,从而对曲霉明显易感。

中性粒细胞 目前认为,中性粒细胞并不对静止的孢子起作用。在逃逸过巨噬细胞吞噬的孢子发芽形成菌丝后,中性粒细胞迅速迁移到感染区域,与菌丝接触后,发生脱颗粒,释放出更大量的 ROS (Reactive oxygen species) 来杀灭菌丝。在此过程中,髓过氧化物酶 (myeloperoxidase, MPO) 和 NADPH 氧化酶是两种最主要的氧化酶。髓过氧化物酶系统缺陷小鼠会出现由氧化剂 H_2O_2 (包括 HOCl) 引起的氧化缺乏,这类小鼠对侵袭性曲霉病并不易感^[6]。这表明由 NADPH 氧化酶产生的超氧化能力要比 MPO 系统重要。人中性粒细胞还有一种不依赖 NADPH 氧化酶的防御孢子的机制,该机制通过释放乳铁蛋白实现,该物质能螯合铁离子从而限制孢子出芽。由于人类持续暴露于含孢子的环境,因此对于 CGD 患者和系统铁存储多的高

危个体 (例如,去铁敏服用者) 来说,这条信号途径有重要意义。

NK 细胞 (Natural killer cells) 对侵袭性肺曲霉病小鼠的研究发现,NK 细胞起到一定作用。在中性粒细胞缺陷小鼠中,清除 NK 细胞会提高感染小鼠的死亡率和肺组织真菌载量。NK 细胞的募集部分依赖于 NK 细胞膜表面趋化因子受体 CCR2 和趋化因子 MCP-1/CCL2 之间的相互作用。中性粒细胞缺乏的小鼠在感染早期就出现此种趋化因子浓度的升高,而免疫正常小鼠不出现,从一个侧面说明,对于宿主来说,NK 细胞在抗曲霉感染的固有性免疫应答过程中,其所起的作用并非不可或缺^[7]。

1.2 适应性免疫应答

早期对裸鼠的研究表明,在固有性免疫机能完好的情况下,T 细胞抵抗烟曲霉感染的作用是可以忽略的,似乎可以得出结论,只有在固有性免疫受损的宿主,适应性免疫应答的重要性才得以体现,或者说在多数情况下,适应性免疫的意义不如固有性免疫应答。

目前,对两种类型细胞因子的调节研究较深入,Th1 型细胞因子主要包括 IL-2、IFN- γ 、TNF- α 、IL-12、IL-18,Th2 型细胞因子主要包括 IL-4、IL-5、IL-6、IL-10 等。Th1 型细胞因子的产生伴随着细胞免疫为主的反应,Th2 型细胞因子的产生则有助于以抗体为主的体液免疫。总的来说,抗真菌反应以细胞免疫为主,Th1 型有利于对真菌感染的免疫防护。研究中发现,IFN- γ 与 IL-10 的比例越高,机体对曲霉病越不易感^[8]。曲霉病过继免疫治疗发现,输入 CD4 + T 细胞克隆不但能使烟曲霉特异性 CD4 + 和 CD8 + T 细胞恢复加快,而且能使 IFN- γ /IL-10 升高。

对于 CD4 + T 细胞 (尤其是 Th1 类细胞) 引起的保护性免疫反应的机制,目前有一个共识,即在识别烟曲霉抗原之后,T 细胞活化引起大量细胞因子的释放,增强巨噬细胞和中性粒细胞的杀伤功能。当烟曲霉与 T 细胞、抗原呈递细胞、中性粒细胞共孵育时,对菌丝的杀伤要明显强于 T 细胞缺席时的效果。目前对 CD8 + T 细胞杀伤烟曲霉的研究极少,Ramadan G^[9] 用烟曲霉 f16 蛋白序列内的肽段活化的 CTL 在体外得到了较好的直接杀伤结果,目前还没有体内试验的数据证明这种抗真菌作用的意义。

临床症状的好坏与血清中抗体的滴度并无关联,而且有研究发现抗体能加重曲霉的感染^[10],所以抗体在烟曲霉侵袭性感染过程中所起的作用仍有争议。但有体外研究表明,封闭 FcγR II 和 FcγR III 的功能,会抑制小鼠树突状细胞对菌丝的吞噬作用,从而进一步影响适应性免疫应答反应。

2 侵袭性曲霉病免疫学干预的研究现状

2.1 侵袭性曲霉病疫苗研究的困难和挑战

烟曲霉是环境中一种常见的霉菌,空气中漂浮的孢子在数量上拥有绝对优势。正常人每天要吸入成百上千个孢子而并不发生侵袭性感染,原因在于体内强有力的第一道防线--以肺巨噬细胞和中性粒细胞为代表的固有性免疫应答的保护作用。烟曲霉疫苗的研究主要受益对象是免疫力受损的患者,如何在免疫抑制的状态下唤起其体内的免疫应答反应,是一个必须考虑的问题。另外,易感者免疫受损的原因多种多样:中性粒细胞减少患者、中性粒细胞功能障碍者(例如慢性肉芽肿病),接受激素疗法的患者,晚期 HIV 感染者等等,他们免疫功能减弱的内在机制不一而同,受影响的免疫细胞和免疫应答反应的环节都不一样,比如环磷酰胺作为化疗药的代表,具有广泛而强大的免疫抑制能力,能抑制骨髓造血功能而导致中性粒细胞缺乏;而糖皮质激素类药物主要抑制免疫细胞的功能而非“清除”之,具体与阻碍 APC 提呈抗原、削弱吞噬功能、降低双信号活化的强度以及减少或增加前炎症因子的分泌等有关。因而,对有些感染患者(例如粒细胞减少者)的致病机制是烟曲霉的侵袭和过度生长导致,而有些患者则是宿主自身的炎症反应性损害造成的,针对不同的发病机制,应该予以不同的免疫干预措施。最后一方面的挑战,来自于抗原的选择。由于烟曲霉菌体抗原蛋白种类繁多,形式多样,如何找到免疫原性和抗原性强、能够激发有效的保护性 T 细胞应答,或者诱导宿主产生保护性抗体,成为事关成败的关键。

2.2 侵袭性曲霉病免疫学干预的初步尝试

全菌体抗原免疫研究 对兔和小鼠的研究,采用不同的免疫途径,辅以不同的佐剂,取得了不同的治疗结果。Tilden 等^[11]人研究表明,不管是活的还是热灭活的烟曲霉孢子预先皮下接种兔,都不能对随后静脉途径输入大剂量孢子形成的感染起保护作用;而在小鼠模型上的研究结果与此相反,而

且用于免疫小鼠的孢子必须是活的,对于形成免疫保护是必需的。从对裸鼠的研究发现,预先皮下接种小剂量活孢子可以对杂合型(heterozygote)鼠形成保护,而不是纯合型(homozygote),提示了可能是记忆性 T 淋巴细胞发挥着作用^[12]。De Repentigny 发现,经静脉接种烟曲霉 1×10^4 活孢子,可以提高后续静脉感染 (1×10^6) 小鼠的存活时间,减少肺、肝、肾的真菌载量,并通过过继输入预防接种动物的脾细胞得到一定的治疗效果,推测有可能与 Th1 型免疫保护有关。本世纪初的一项研究表明,提前经呼吸道感染烟曲霉孢子,可以减少随后用考的松处理的感染小鼠的死亡率^[13]。减毒活疫苗研究方面,化学突变株经静脉接种可以保护后续野生株的感染,将死亡率由 90% 减少到 50%,并且减少组织器官的感染量;而经肌肉注射接种可以将死亡率减少到 50%,而且将组织器官内的烟曲霉完全清除,提示了免疫途径的选择也同样具有重要意义^[14]。

免疫佐剂的作用 胸腺素 α1 是一种天然的胸腺肽,临床试验上用来治疗病毒感染和恶性肿瘤,20 世纪 80 年代用于治疗念珠菌感染的研究。感染前给模型小鼠反复施以胸腺素 α1,可以提高造血干细胞移植小鼠或者环磷酰胺免疫抑制小鼠的存活率,对于 IL-4 缺陷小鼠,这种作用尤为显著,提示以 Th1 类型为主的细胞免疫起着不可忽视的作用。CpG 寡聚脱氧核苷酸序列是一种模式识别分子,可以与树突状细胞以及 B 细胞等抗原提呈细胞表面的 TLR-9 结合,继而引起 T 淋巴细胞的活化。Bozza 等人研究了非甲基化的 CpG 寡聚脱氧核苷酸序列引发 T 细胞应答向 Th1 方向转化,发现同时给予 CpG 寡聚脱氧核苷酸和烟曲霉变应原 Asp f16,可以显著提高环磷酰胺处理的烟曲霉感染小鼠的生存率,单独应用两者之一都没有任何效果。生存时间的延长伴随肺内真菌载量的降低、炎症反应的减轻以及 Th1 类型为主导的免疫应答的出现。体外实验,接触 CpG 寡聚脱氧核苷酸能增进肺泡巨噬细胞的吞噬和杀伤能力以及外周血中性粒细胞杀伤静息烟曲霉孢子的能力,说明这种免疫佐剂有可能会提高固有性免疫应答水平。遗憾的是,由于毒性反应的问题,CpG 寡聚脱氧核苷酸可能并不适于应用于人体。

树突状细胞在免疫干预中的作用 Bozza 研究了树突状细胞疫苗对骨髓移植小鼠烟曲霉感染

的免疫保护作用^[15],发现皮下接种吞噬了烟曲霉孢子或者转染了孢子 RNA 的树突状细胞的小鼠,显著提高了随后感染烟曲霉的存活率(0~5% vs 100%),伴有肺组织真菌负载量的降低和 Th1 类型为主导的免疫应答的出现,并且当中性粒细胞缺陷时,此种保护作用消失。与之相反,接种吞噬了烟曲霉菌丝或者转染了菌丝 RNA 的树突状细胞的小鼠并没有出现免疫保护,却伴有 Th2 类型为主导的免疫应答的出现。然而,从接种负载孢子或转染孢子 RNA 的 DC 的小鼠肺内却分离出更多量的分泌 IL-10 的 CD4 + T 细胞,暗示了免疫调节机制的存在。同样是在这个研究中,输入抗原特异性 T 细胞也能延长感染小鼠的存活时间,但是所有的小鼠最终全部死亡,说明树突状细胞疫苗要优于 T 细胞,显示了其潜在的未来应用前景。另一项树突状细胞免疫治疗的内容是^[16],将转染了编码 IL-12 的质粒的 DC 和负载了热灭活的烟曲霉孢子的 DC,两者都能显著提高环磷酰胺免疫抑制的感染小鼠的存活时间(与转染空质粒和未负载孢子的 DC 组相比),存活时间的延长与组织真菌载量减少相一致,体外实验表明和 Th1 型免疫应答增强有关。然而,输入转染 IL-12 质粒的 DC 这种治疗方法会带来脾脏肿大的后果,所以未必适合将来的临床应用。

有效抗原的寻找与相关的免疫学研究 菌体裂解抗原方面,Ito 等^[13]人研究证明烟曲霉的超声裂解物预先皮下和经鼻内免疫可以对糖皮质激素处理的小鼠烟曲霉感染形成保护;新近的研究表明^[17],用玻璃珠打碎烟曲霉菌丝制备的抗原,从人的外周血中分离、活化、诱导出适用于临床规模应用的烟曲霉特异性 CD4 + T 淋巴细胞,在抗原刺激下可以分泌 IFN- γ ,而无 IL-4 和 IL-10 的分泌,表明为 Th1 型的细胞免疫应答,为造血干细胞移植后过继免疫治疗提供了前景。可溶性烟曲霉培养粗提物抗原(crude culture filtrate,CCFA)作为研究对象历史已久,Cenci 等^[18]研究者发现,与活孢子相比,CCFA 免疫小鼠能够更好的保护免疫力正常或者环磷酰胺抑制的烟曲霉感染小鼠,表现为肺组织真菌载量的降低、中性粒细胞的减少和巨噬细胞以及 T 细胞的增多,肺泡灌洗液中 IL-12p70 的浓度升高而 IL-10 的浓度降低,表明 Th1 型的细胞免疫应答占据了主导地位。Thomas Lehrnbecher 等研究者利用 IFN- γ 分泌试验,从烟曲霉胞壁抗原提取

物,分离获取了抗原特异性人 T 细胞,经过 14 d 的体外培养,细胞得到活化增殖,并具备 Th1 型应答特征,体外可以杀伤烟曲霉菌丝,而且与未经过分离的 CD4 + T 细胞相比,可以有效的降低同种异体反应性。Asp f16 蛋白作为可以引起显著的 Th1 细胞免疫应答的烟曲霉变应原,也吸引了研究者浓厚的兴趣,Ramadan 等^[19,20]人分析了 Asp f16 蛋白全序列 427 个氨基酸,利用移位排序技术,进行表位研究,筛选了一些可以活化人 CD4 + 和 CD8 + T 细胞的肽段,其活化的 T 细胞对烟曲霉的孢子和菌丝有直接的杀伤作用,预示了对宿主的免疫保护作用,将多肽免疫治疗曲霉感染的研究提上了日程。

有关抗体的研究 抗烟曲霉的保护性抗体的研究比较少。Cenci 等^[21]研究发现,一种针对毕赤氏酵母杀伤毒素的抗独特型单克隆抗体可以与烟曲霉胞壁 β -葡聚糖结合,延迟肿胀孢子发芽、杀伤菌丝,从而防止烟曲霉对实验小鼠的感染,为抗体的研究带来希望。另一项研究是利用烟曲霉菌壁抗原免疫小鼠,得到针对一种 >95 kDa 的未知糖蛋白的抗体,可以对侵袭性曲霉病模型小鼠形成免疫保护作用^[22],对人体的治疗意义值得期待。Denikus 利用 cDNA 文库技术^[23],从烟曲霉的早期菌丝的 mRNA,获取能够引起有效抗体应答的 34 种抗原,这些相应的抗体在应对侵袭性曲霉感染的作用和意义还有待于进一步的研究。

细胞因子的作用 过去有一些实验室的研究表明,前炎症性细胞因子和趋化因子在抵抗烟曲霉的侵袭中发挥着一定的宿主防御作用。TNF- α 、GM-CSF、IL-1 α 、IFN- γ 、IL-12、IL-6、IL-18 以及 MIP-1、MCP-1、MIP-2 的变化及意义在这些研究中都有所阐述,然而也有关于呼吸道途径感染烟曲霉导致 Th2 类细胞因子升高的研究报道,病情的好转和这类细胞因子的浓度下降有关。人工予以细胞因子干预感染进程早有报道,给予外源性 IFN- γ 可以调动宿主对真菌的免疫应答反应^[24],对烟曲霉的体内外实验研究也得出了相同的结果。其他细胞因子(例如 IL-12,GM-CSF……)也有利于烟曲霉感染的控制,先天性的细胞因子缺陷或者利用抗体中和之使感染恶化。有研究证明,外源性的细胞因子能刺激宿主的吞噬细胞抑制菌丝侵袭宿主^[25],甚至可以逆转糖皮质激素免疫抑制导致的烟曲霉感染。

对于烟曲霉这一条件致病菌的毒力基因、致病

力、侵袭力以及临床危害等多方面的了解以及多年来相关的实验室研究使人们对侵袭性曲霉病的认识不断加深,相应的致病机制的研究和免疫学干预方法也在不断尝试之中。相信随着临床和实验室科学研究的不断进展,侵袭性曲霉病这个病种在将来必定会被最大限度的被攻克,甚至最终从人类的疾病名录上消失。

参 考 文 献

- [1] Serrano-Gomez D, Dominguez-Soto A, Ancochea J, et al. Dendritic cell-specific intercellular adhesion molecule 3-grabbing nonintegrin mediates binding and internalization of *Aspergillus fumigatus* conidia by dendritic cells and macrophages[J]. J Immunol, 2004, 173(9):5635-5643.
- [2] Bochud PY, Chien JW, Marr KA, et al. Toll-like receptor 4 polymorphisms and aspergillosis in stem-cell transplantation[J]. N Engl J Med, 2008, 359(17):1766-1777.
- [3] Gafa V, Lande R, Gagliardi MC, et al. Human dendritic cells following *Aspergillus fumigatus* infection express the CCR7 receptor and a differential pattern of interleukin-12 (IL-12), IL-23, and IL-27 cytokines, which lead to a Th1 response[J]. Infect Immun, 2006, 74(3):1480-1489.
- [4] Bozza S, Gaziano R, Spreca A, et al. Dendritic cells transport conidia and hyphae of *Aspergillus fumigatus* from the airways to the draining lymph nodes and initiate disparate Th responses to the fungus[J]. J Immunol, 2002, 168(3):1362-1371.
- [5] Ibrahim-Granet O, Philippe B, Boleti H, et al. Phagocytosis and intracellular fate of *Aspergillus fumigatus* conidia in alveolar macrophages[J]. Infect Immun, 2003, 71(2):891-903.
- [6] Aratani Y, Kura F, Watanabe H, et al. Relative contributions of myeloperoxidase and NADPH-oxidase to the early host defense against pulmonary infections with *Candida albicans* and *Aspergillus fumigatus* [J]. Med Mycol, 2002, 40(6):557-563.
- [7] Morrison BE, Park SJ, Mooney JM, et al. Chemokine-mediated recruitment of NK cells is a critical host defense mechanism in invasive aspergillosis[J]. J Clin Invest, 2003, 112(12):1862-1870.
- [8] Day MJ. Canine sino-nasal aspergillosis: parallels with human disease[J]. Med Mycol, 2009, 47 Suppl 1:S315-23.
- [9] Ramadan G, Davies B, Kurup VP, et al. Generation of cytotoxic T cell responses directed to human leucocyte antigen Class I restricted epitopes from the *Aspergillus* fl6 allergen [J]. Clin Exp Immunol, 2005, 140(1):81-91.
- [10] Montagnoli C, Bozza S, Bacci A, et al. A role for antibodies in the generation of memory antifungal immunity[J]. Eur J Immunol, 2003, 33(5):1193-1204.
- [11] Tilden EB, Hatton EH, Freeman S, et al. Studies of aspergilli from captive birds[M]. Bacteriol. Proc. 1957:144.
- [12] Williams DM, Weiner MH, Drutz DJ. Immunologic studies of disseminated infection with *Aspergillus fumigatus* in the nude mouse[J]. J Infect Dis, 1981, 143(5):726-733.
- [13] Ito JI, Lyons JM. Vaccination of corticosteroid immunosuppressed mice against invasive pulmonary aspergillosis[J]. J Infect Dis, 2002, 186(6):869-871.
- [14] Sandhu DK, Sandhu RS, Khan ZU, et al. Conditional virulence of a p-aminobenzoic acid-requiring mutant of *Aspergillus fumigatus* [J]. Infect Immun, 1976, 13(2):527-532.
- [15] Bozza S, Perruccio K, Montagnoli C, et al. A dendritic cell vaccine against invasive aspergillosis in allogeneic hematopoietic transplantation[J]. Blood, 2003, 102(10):3807-3814.
- [16] Shao C, Qu J, He L, et al. Dendritic cells transduced with an adenovirus vector encoding interleukin-12 are a potent vaccine for invasive pulmonary aspergillosis[J]. Genes Immun, 2005, 6(2):103-114.
- [17] Tramsen L, Koehl U, Tonn T, et al. Clinical-scale generation of human anti-*Aspergillus* T cells for adoptive immunotherapy [J]. Bone Marrow Transplant, 2009, 43(1):13-19.
- [18] Cenci E, Mencacci A, Bacci A, et al. T cell vaccination in mice with invasive pulmonary aspergillosis [J]. J Immunol, 2000, 165(1):381-388.
- [19] Ramadan G, Davies B, Kurup VP, et al. Generation of cytotoxic T cell responses directed to human leucocyte antigen Class I restricted epitopes from the *Aspergillus* fl6 allergen [J]. Clin Exp Immunol, 2005, 140(1):81-91.
- [20] Ramadan G, Davies B, Kurup VP, et al. Generation of Th1 T cell responses directed to a HLA Class II restricted epitope from the *Aspergillus* fl6 allergen [J]. Clin Exp Immunol, 2005, 139(2):257-267.
- [21] Cenci E, Mencacci A, Spreca A, et al. Protection of killer anti-idiotypic antibodies against early invasive aspergillosis in a murine model of allogeneic T-cell-depleted bone marrow transplantation [J]. Infect Immun, 2002, 70(5):2375-2382.
- [22] Chatumedi AK, Kavishwar A, Shiva Keshava GB, et al. Monoclonal immunoglobulin G1 directed against *Aspergillus fumigatus* cell wall glycoprotein protects against experimental murine aspergillosis [J]. Clin Diagn Lab Immunol, 2005, 12(9):1063-1068.
- [23] Denikus N, Orfaniotou F, Wulf G, et al. Fungal antigens expressed during invasive aspergillosis [J]. Infect Immun, 2005, 73(8):4704-4713.
- [24] Stevens DA. Interferon-gamma and fungal infections. In: Jaffe HS, Bucalo LR, Sherwin SA, eds. The anti-infective applications of interferon-gamma [M]. New York: Marcel Dekker, 1992.
- [25] Vora S, Chauhan S, Brummer E, et al. Activity of voriconazole combined with neutrophils or monocytes against *Aspergillus fumigatus*: effect of granulocyte colony-stimulating factor and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor [J]. Antimicrob Agents Chemother, 1998, 42(9):2299-2303.

[收稿日期] 2010-06-17

[本文编辑] 施 慧