

心血管疾病

心脏移植的研究进展

张晓雪(综述), 毛志福, 林道明(审校)

(武汉大学人民医院, 湖北 武汉 430060)

关键词: 动物, 实验; 心脏移植; 移植 异种

中图分类号: R654.2

文献标识码: A

文章编号: 1006-2084(2002)01-0026-04

随着人们生活水平的不断提高, 心脏病的发病率也在不断增加。在发达国家以及部分发展中国家, 其发病率已跃居第一位。而在这些疾病的晚期, 当心脏不能满足人体最基本的需要时, 心脏移植便成为其惟一的希望。本文就心脏移植的基础研究方法及其基本理论、目前存在的问题及发展前景深入地探讨和综述。

1 心脏移植的基础研究方法

1.1 异位心脏移植(heterotopic heart transplantation) 异位心脏移植是指在不将受者原有心脏切除的情况下, 将供者的心脏移植到受者体内。异位心脏移植技术可分为两类: “非工作心”和“工作心”模型。“非工作心”模型是指供心接受受者的血供但供心并不做功, 即并不帮助受者的心脏泵血。“非工作心”模型已广泛应用于动物实验研究。例如: 血管吻合技术、免疫抑制治疗以及移植排斥反应的免疫学机制研究等。与“工作心”模型比较, “非工作心”模型有它独特的优势: 技术要求简单, 易于进行组织学及病理学检测, 即使移植植物发生排斥反应, 受者也能存活等。

心脏移植的“非工作心”模型由 Alexis Carrel 和 Guthrie 在 1905 年建立的。他们将 1 只 puppy 小狗的心脏移植到 1 只成年狗的颈部, 颈外静脉和颈总动脉与供心的主动脉和肺动脉、腔静脉以及 1 支肺静脉吻合, 结果供心存活了 2h 后, 因胸腔内血栓形成而功能衰竭。Mann 等在 1933 年改进了这项技术, 他们将供心的主动脉“端侧吻合”到受者的颈总动脉, 建立了冠脉循环。而供心的肺动脉则与受者的颈总动脉吻合, 以排出从冠状静脉窦流回的血液。腔静脉和肺静脉予以结扎。在小动物实验中这种方法被多数学者所采用。然而在大动物

实验中, 由于空间受限, 将心脏移植到颈部通常是不可行的。因此, One 和 Lindsey 改进了手术方式, 首先提出将供心移植到受者的腹腔。Adams 等^[1]在将猪的心脏异位移植到狒狒的实验中, 将腹主动脉作为供血动脉, 下腔静脉作为血液回流通道, 腔静脉和肺静脉予以结扎。无论是移植到颈部还是移植到腹腔, 由于其简便易行, 便于研究, 这两种方法仍是当前心脏移植动物实验研究的主要手段。

第一个试图建立异位移植心脏的“工作心”模型的科学家 Demikov 用 20 余种不同的方法将心肺联合移植到供者胸腔后, 证明辅助心脏可为受者维持 15.5h 的血液循环, 最终, 受者均死于上腔静脉血栓形成。Barnard 改进了 Demikov 的“工作心”模型。他将供受者的左心房吻合起来, 供者主动脉端侧吻合到受者的主动脉, 肺动脉与受者右心房吻合。为了建立双心室辅助循环, 还可将供受者的右心房吻合、肺动脉吻合。血管吻合完成后“工作心”模型业已建立。移植心的心房及心室的充盈主要取决于受者心脏心室舒张末压。而供心辅助循环的功能主要取决于双心间血流阻力。同时, 他们还发现这种模型病死率低, 供心功能维持良好, 在受者本身心脏急性功能衰竭后, 供心仍能保持正常的血液循环。

“工作心”模型的临床应用, 在当前其适应证为^[2]: ①出现了不可逆的肺高压, 肺血管阻力(PVR)指数>6 wood 单位。②供心与受心明显尺寸不相匹配。“工作心”模型的建立对于患者来说有 2 个好处: ①给他们提供一个过渡时期, 等找到合适的供心再行原位心脏移植手术。②它可以对原有心脏产生保护作用, 缓解或延迟原有心脏的血流动力学紊乱、心律失常及心力衰竭的发生。维持 2 个心脏同步搏动非常重要。在实践中, 受者的心脏经常会发生无效泵血, 主动脉瓣和二尖瓣常会发生反流, 虽然其确切机制目前尚不清楚, 但通过安放永久起搏器后可以明显改善受者的血流动力学及功能紊乱, 阻止其早期功能恶化。

- [5] Dekkers CPM, Beker JA, Thjodleifsson B, *et al.* Double-blind, comparison of rabeprazole 20mg vs omeprazole 20mg in the treatment of erosive or ulcerative gastroesophageal reflux disease[J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 1999, 13(1): 49-57.
- [6] Kuipers EJ, Lundell L, Klinkenberg-Knol EC, *et al.* Atrophic gastritis and *Helicobacter pylori* infection in patients with reflux esophagitis treated with omeprazole of fundoplication[J]. *N Engl J Med*, 1996, 334(4): 1018-1022.
- [7] Schenk BE, Kuipers EJ, Klinkenberg-Knol EC, *et al.* Hypogastrinaemia during long-term omeprazole therapy: Influences of vagal nerve function, gastric emptying and *Helicobacter pylori* infection[J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 1998, 12(3): 612.
- [8] Schenk BE, Festen HP, Kuipers EJ, *et al.* Effect of short- and long-term treatment with omeprazole on the absorption and serum levels of cobalamin[J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 1996, 10(2): 541-545.
- [9] Gough AL, Long RG, Cooper BT, *et al.* Lansoprazole versus ranitidine in the maintenance treatment of reflux esophagitis[J]. *Aliment Pharma-*

- Placebo-controlled, double-blind study[J]. *Am J Gastroenterol*, 1995, 90(2): 423-430.
- [11] Wetscher GJ, Glasser K, Wieschemeyer T, *et al.* Cisapride enhances the effect of partial posterior fundoplication[J]. *Dig Dis Sci*, 1998, 43(5): 1986-1990.
- [12] Chan Tompkins NH, Babinechak TJ. Cardiac arrhythmias associated with coadministration of azole compounds and cisapride[J]. *Clin Infect Dis*, 1997, 24(6): 1285.
- [13] Harris RA, Kuppemann M, Richter JE. Prevention of recurrences of erosive reflux esophagitis: A cost-effectiveness analysis of maintenance proton pump inhibition[J]. *Am J Med*, 1997, 102(1): 78-88.
- [14] Robinson MG, Lanza F, Avner D. Effective maintenance treatment of reflux esophagitis with low-dose lansoprazole: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial[J]. *Ann Intern Med*, 1996, 24(4): 859-867.
- [15] Hallerback B, Unge P, Carling L, *et al.* Omeprazole or ranitidine in long-term treatment of reflux esophagitis[J]. *Gastroenterology*, 1994,

1.2 异种心脏移植(cardiac xenotransplantation) 供心的短缺问题已经越来越明显。据估计^[3], 每年全世界本应有数万人得到心脏移植治疗, 然而, 每年只有不到 3 500 例心脏移植手术。这不得不对异种心脏移植寄予厚望。选择猪心作为供心有它独到的优点: 猪心可以在短期内长成人人类心脏的大小; 猪可以大量饲养, 且繁殖周期较短, 内源性病毒传播的可能性较其他哺乳动物小; 用猪作为供者可以减少伦理道德的争议。已有一些研究报道了猪心移植的实验: 有人将基因修饰过的猪心原位移植到狒狒身上, 使供心存活了 9d^[4]。在“非工作心”模型的猪心原位移植到狒狒体内的实验结果表明^[5-7], 供心可存活 4~90d。将异种心脏作为辅助心异位移植到患者身上, 这个概念是 Barnard 于 1977 年提出的, 他当时做了 2 例手术, 都是在心脏手术后不能停止体外循环的情况下而采取的。2 例手术分别在移植后 5.5h 和第 4d 死亡。尸检证明, 尽

管应用免疫抑制剂, 移植心脏和受者原有心脏都发生了不可逆的排斥反应。这 2 例实验证明了一个重要的观点: 只要没有排斥反应的发生, 异种异位移植的心脏可以充分维持受者的血液循环。

异种心脏移植刚刚起步, 由于多方面的原因, 猪被认为是目前最合适的供者。而人的替代品——灵长目动物, 如, 猕猴、狒狒等尽管使用多种方法来抑制免疫排斥反应, 其结果仍令人失望, 最好的效果也只是使移植的供心存活了 6d。表 1 是近年来研究异种心脏移植的实验结果^[8], 可以显示出移植心脏的存活时间大大提高, 最高可存活 19d。免疫排斥反应是一个多方面作用的综合结果, 因此, 抗排斥反应也应是一个综合治疗。尽可能阻止排斥反应的发生和发展是心脏移植的关键。

表 1 猪对清除抗猪抗体的哺乳动物异种心脏移植的结果

第一作者及年代	受者	受者处理方法	实验动物数(只)	移植存活时间
Cooper/1988	狒狒	EIA	7	< 20 h
Fischel/1991	恒河猴	PE+ ALG+ SPx+ CsA+ AZA+ CS	1	8 d
Fischel/1992	恒河猴	PE	3	< 12 h
		EIA	3	< 80 h
		EIA+ ALG+ CS+ AZA+ CsA	1	120 h
		PE+ ALG+ CS+ AZA+ CsA	1	192 h
Roslin/1992	狒狒	EIA+ TLI+ CsA+ CS	3	6, 8, 15 d
		EIA+ CsA+ CS	1	1 d
Brewer/1994	狒狒	EIA+ TLI	3	6, 8, 15 d
		PE+ TLI	3	1, 7, 8 d
Fukushima/1994	狒狒	CsA, DSG, FUT175, EIA ± PE ± SPx	10	< 16d(平均 6d)
Leverthal/1994	狒狒	SPx+ DSG+ PE	2	37, 52 h
Cooper/1996	狒狒	EIA+ CsA+ CPP+ CS	2	10 min, 15 h
Matsumiya/1997	狒狒	SPx+ FUT175 ± FK506 ± MTx ± ATG ± EIA ± CsA ± DSG	8	4~14d
Xu/1997	狒狒	EIA+ TLI+ CsA+ MTx+ ATG+ SPI	3	< 19d

注: ALG antilymphocyte globulin serum(抗淋巴细胞免疫球蛋白/血清); CsA cyclosporine(环孢菌素); CS corticosteroid(皮质类固醇); SPx splenectomy(脾切除); FK 506 tacrolimus(一种免疫抑制剂); MTx methotrexate(氨甲喋呤); CPP cyclophosphamide(环磷酰胺); MMF mycophenolate mofetil(一种免疫抑制剂); AZA azathioprine(硫唑嘌呤); PE plasma exchange/pheresis(血浆置换术/外周); EIA extracorporeal immunoadsorption(体外免疫吸附); TLI total lymphoid irradiation(全淋巴照射); FUT175 nafamstat mesilate(一种免疫抑制剂); DSG 15-deoxyspergualin(15-脱氧精肌菌素); SPI splenic irradiation(脾照射)

2 心脏移植的排斥反应机制

目前, 关于移植排斥反应的机制尚未完全弄清。但总的来说, 不仅包括体液免疫和细胞免疫反应, 还与机械性、外科性创伤、缺血和再灌注损伤有密切关系^[9]。

急性排斥反应是临床上最常发生的移植排斥反应, 一般常发生于免疫抑制剂突然停用、更换、减量或微生物感染等因素诱导下。

2.1 急性排斥反应的细胞免疫机制

2.1.1 抗原的识别抗原递呈、信号传递及 TH 细胞活化 当外来移植物的血管与受者血管吻合开放后, 外来抗原就进入受者, 抗原递呈细胞(APC)或某些表达 MHC-II 类抗原的细胞, 如, 血管内皮细胞通过直接或间接递呈的方式将外来器官的抗原包括外来 MHC 抗原递呈给 T 细胞。受者 T 细胞通过 T

CD₂₈/CTLA₄、细胞间粘附分子 ICAM1/2 与淋巴细胞功能相关抗原(LFA)、CD₄₈/LFA₃-CD₂ 以及一些 GPI 锚蛋白(CD₁₄, CD₂₄, CD₄₈, CD₅₅, CD₅₉)与其配体等分子间的相互作用, 产生第二信使, 进一步活化 Src 家族激酶(PTK), 促使 ZAP 与 CD₃-ζ 结合及磷酸化, 促使磷脂酶 C(PLC)活化, 然而再有磷酸肌酸(PIP)-2 分解产物甘油二酯(DAG)和磷酸肌醇(PI₃), 进一步引发 PKC 的活化, 导致钙离子内流升高, 促使核转录因子 NF-AT(活化 T 细胞的核因子)、AP-1、OCT-1 和 NF-κB 活化, 激活 C-fos、C-myc、C-myb、IL-2、IL-2R 及其他基因, 最终导致 T 细胞活化分泌相关白细胞介素。

抗原递呈、第一活化信号和第二活化信号对于 T 细胞的活化都是必须的。另外, APC 产生的 IL-1 也是 T 细胞活化的必要分子。

分子作用下活化。除此之外,目前还发现 CTL 可通过间接递呈机制直接识别靶器官的 MHC-I 抗原活化。在 CTL 被活化的同时, CD_4^+ T 细胞产生的干扰素- γ (INF- γ) 又可活化单核细胞。另外,活化的 CD_4^+ T (TH₂) 淋巴细胞,若同时有抗原提呈细胞(APC)分泌 IL-1 存在,能通过分泌 IL-4、IL-5 诱导 B 细胞成熟,成为浆细胞,从而产生针对移植抗原的特异性抗体,从而发生对靶细胞、组织和器官免疫攻击。

2.2 急性排斥反应的体液反应机制 关于 B 细胞活化的信号传递的研究尚远不如 T 细胞信号传递的研究深入,其机制很不清楚,但最近有报道其活化过程也有类似 T 细胞的第一信号,主要是 mIgM、Ig α /Ig β 或 Ig γ /Ig γ 接受抗原刺激后活化其胞内片段相连的 Src 家族激酶 I γ n 和 fyn 或 syk 家族激酶 ptk27。另外其他膜表面分子 CD₂₀、CD₁₄、CD₂₄、CD₄₈、CD₅₅、CD₅₉ 等与其相应配体相互作用产生第二信号,活化 P56lck 导致酪氨酸蛋白激酶(PTK)、蛋白激酶 C(PKC)活性增强,通过某种机制促使核内基因转录。

体液免疫的细胞毒机制主要是由特异性抗体和补体介导的补体依赖的细胞毒(CDC)作用,以及抗体和自然杀伤细胞(NK)、杀伤细胞 K、巨噬细胞(M Φ)等 IgG Fc 受体阳性细胞介导的抗体依赖性细胞介导的细胞毒(ADCC)作用,从而使靶细胞、组织和靶器官受到损害。另外,有研究亦认为体液免疫可介导 III 型变态反应的作用,导致局部靶细胞的破坏,因为,在肾脏等器官的急性排斥反应的病理切片中可发现在排斥反应部位的血管基底膜内或外有免疫复合物沉淀在其中,但十分确切的机制目前还不很明确。

2.3 慢性排斥反应的免疫学机制 慢性排斥反应的免疫学机制比较复杂,现在多研究认为是免疫性和非免疫性的机制共同作用的结果。以往大多数认为慢性排斥反应是典型 IV 型超敏反应的机制占主要地位,目前的研究表明,并非完全如此,甚至有认为是以体液免疫介导的血管内皮细胞损伤为主的免疫机制。

现在认为,HLA 不合程度与慢性排斥反应的发生有明显的相关性。支持免疫损伤学说的最有力的证据是同种近交系大鼠间器官移植和同卵双生子之间的移植几乎完全没有慢性排斥反应的发生。虽然针对供者的抗体足以造成移植器官组织的损伤,但在移植血管病变中并不是所有直接针对供者的抗体都可以和血管壁上的抗原结合。在发生慢性排斥反应的肾移植患者与肾功能正常的患者,抗 HLA 抗体检出率分别为 57% 和 5%,在心脏移植中的结果也类似于此。近年来,针对移植血管内皮细胞的特异性抗体的作用正受到重视,认为可能是血管排斥的一个重要机制,该抗体可通过补体或 NK、K 细胞介导的细胞毒作用,导致血管内皮的损伤,中性粒细胞、单核细胞、血小板等多种细胞都趋向于粘附于血管内皮损伤部位,内皮细胞在 IL-1、肿瘤坏死因子(TNF)等细胞因子作用下释放血小板活化因子(PAF),进一步促进血小板聚集活化。此时,周边免疫细胞还释放 IL-1、血小板源性生长因子(PDGF)等因子。受损的内皮被一层血小板和纤维蛋白所覆盖,以后逐渐被增生的内皮细胞所替代。最后造成血管增生性损伤,逐渐纤维化,同时造成间质纤维化。就细胞免疫机

有认为慢性排斥反应的血管病变类似于动脉粥样硬化,因此其机制亦可能与动脉粥样硬化相似,提出了血管内皮细胞和平滑肌细胞损伤学说。当各种原因造成内皮细胞损伤、脱落而暴露出内皮下胶原组织时,即可引发血小板粘附,刺激平滑肌增殖病变。其中可能有 PDGF 和 IL-1 的作用,导致血管平滑肌的活化,发生一系列病变。总之,慢性排斥反应的机制尚未完全明确。最近有人提出在慢性排斥反应中免疫学和非免疫学机制均存在,其推测可能是免疫机制损伤内皮细胞在前,非免疫机制在随后的病变过程中起着重要作用。

3 心脏移植的研究成果及存在的问题

心脏移植已经在许多国家开展起来,在手术技术问题上已基本成定论,若能解决排斥反应的发生则可大大提高心脏移植的远期存活率。因而免疫耐受、细胞克隆、基因工程等技术自然成为研究热点。

1953 年在 Nature 杂志上 Billingham 等提出诱导同种异体移植免疫耐受的思想,他们证明将供鼠的淋巴细胞接种到受鼠的子宫中可以诱导针对供者的特异性免疫耐受。人们普遍认为淋巴造血细胞诱导免疫耐受是由于淋巴造血细胞进入了胸腺并改变了胸腺内的微环境,从而影响了 T 细胞的成熟。也有研究认为胸腺接种后可使抗原与抗原提呈细胞相互作用后嵌合于胸腺淋巴造血细胞,形成微嵌合体,从而导致免疫耐受。目前,用于胸腺接种的细胞主要有未经修饰的淋巴细胞或经紫外线 B(UV-B)照射的淋巴细胞, T 细胞悬液,可溶性 MHC 分子,合成的 MHC-II 类分子肽以及骨髓细胞等。胸腺接种这些细胞后鼠的移植心脏存活率明显提高,均有大于 150d 的存活报道;而未经处理的鼠移植心脏存活时间一般仅为 5~10d 左右。Ito 等^[10] 也认为胸腺接种供者骨髓细胞后,胸腺内未成熟的淋巴细胞将其视为自身抗原,将这部分自身反应性 TCR 细胞克隆清除,即“克隆清除”,形成针对供者抗原的特异性免疫耐受。或是与特异性抗原肽反应的 TCR 的转基因小鼠能产生针对这种特异性抗原的免疫耐受。这可能是通过在 $CD_4^+CD_8^+$ 向 $CD_4^+CD_8^-$ 或 $CD_4^-CD_8^+$ 转变过程中,丢失了与特异性抗原肽反应的 T 细胞,即 T 细胞“克隆丢失”,而使受鼠诱导出针对特异性抗原肽的免疫耐受。Onodera 等^[11] 的实验有力的证明了 CD_4 单克隆抗体能阻止 T 细胞第一信号的激活,而细胞毒素 T 淋巴细胞相关蛋白 4-溶和蛋白(CTLA₄ Ig)可阻止 CD_{28} 和 B₇ 分子结合,使 T 细胞第二信号不能被激活。它们都可以使成熟的 T 细胞处于静止状态,而不呈现攻击性反应,即“T 细胞无能”,从而产生免疫耐受。在灵长类动物模型的研究中证实 CTLA₄Ig 和抗 CD_{154} 联合应用或单独应用抗 CD_{154} 对预防急性异体肾移植排斥反应是有效的^[12]。Stephan^[13] 发现抗 CD_{154} 单抗不能阻断移植血管狭窄的发生,因为移植血管仍可观察到慢性排斥反应的组织学特征。

由于供心来源短缺,而异种移植由于强烈的排斥反应使得实验进程缓慢,即使使用大剂量的免疫抑制剂仍无法阻止排斥反应的发生。随着细胞克隆和基因工程的技术发展,又为人们提供了一种新的思路——转基因技术。这使在基因水平上修饰移植成为可能。它不仅可以减少移植抗宿主的免疫排斥反应,也可以保护移植免受宿主攻击。Taylor

存在,以闰盘相连。但根据环境依赖性分化原理,这部分干细胞可能不易分化成心肌细胞。也有人将基因标记的亲代胎鼠心肌细胞(相当于心肌的干细胞),移植于大鼠心肌梗死模型中,能够使心肌再生。然其功能与正常心肌相比仍有一定差距,尚待进一步研究。有免疫抑制作用的细胞因子已被用于这种研究。已有报道^[15,16],将无复制功能的带有IL-10基因的腺病毒导入人的胰腺、心脏和肝脏,并在其中成功地表达。大量研究表明^[17,18],在冠状动脉内注入载有表达IL-10和TNF- β 基因的腺病毒可明显提高移植物的存活率。注入载有表达IL-12基因的逆转录病毒,可使局部产生IL-12抑制Th₁介导的免疫排斥反应。将载有FasL基因的腺病毒导入大鼠的移植植物中表达FasL,诱导局部免疫细胞的凋亡,使移植植物免受宿主攻击。但也有研究表明^[19],将载有FasL基因的腺病毒导入后可使移植植物自身的细胞发生凋亡,而使移植植物功能衰竭。细胞间粘附分子-1(ICAM-1)在T细胞的激活中起重要作用。Poston等^[20]将鼠心转染ICAM-1的反义寡核苷酸,阻止ICAM-1的产生,发现这可减少慢性排斥反应的发生率。排斥反应的发生与主要组织相容性复合体MHC-I或MHC-II类抗原分子的表达密切相关。如果能诱导受者产生供者的MHC-I或MHC-II类抗原分子,并使之转化为“自身抗原”,亦可能诱导免疫耐受。前面提及向胸腺内接种供者的淋巴细胞诱导免疫耐受就能很好的证明这一点。Knechtle等^[21]将载有供鼠特异性MHC-I分子的质粒注入受鼠胸腺后,亦成功地诱导了肝移植的免疫耐受。

对于异种移植的基因治疗研究也取得了一定的进展。所有的高级哺乳动物都能产生抗 α -半乳糖(anti- α Gal)抗体,而目前被认为是最合适的供者——猪,其血管内皮存在 α Gal抗原,这是导致异种排斥反应的重要原因。Bracy等^[22]的研究表明,Gal(去除了半乳糖转移酶基因)的大鼠可以诱导出B细胞对Gal抗原决定簇的免疫耐受。因其产生的抗体不与Gal抗原决定簇反应。Ierino等^[23]将载有猪的白细胞抗原-II(SLA-II)DR基因的病毒导入狒狒的骨髓细胞后,再将猪的肾脏移植到狒狒的体内,虽然发生了抗体介导的排斥反应,但并没有发生T细胞介导的排斥反应,说明猪的II类基因的导入确实能在一定范围内调节T细胞的活性,抑制排斥反应的发生。

但基因治疗也面临一系列的问题。①导入基因的载体其工作效率并不理想:质粒较安全,但效率低;逆转录病毒可以使导入基因长期表达,不产生免疫反应,但不能转染未分裂的细胞,且有可能在导入后激活宿主的某些基因,引起病变;腺病毒能够有效地将基因转染到分裂或未分裂的细胞,但只能暂时表达导入基因,且病毒颗粒有可能引起宿主的免疫反应^[24]。②导入的基因表达率低,且不易控制。③导入基因的载体种类较少,且不能准确地将目的基因导入预定的部位。④任何一种基因疗法都不能完全使移植植物免受宿主的攻击,也不会使受者的免疫系统受致命打击。然而,由于极少量的基因准确导入就可诱导免疫耐受,控制T、B淋巴细胞的免疫应答,所以基因疗法是目前较有前途的方法之一。但是,由于各方面条件的限制,将这些技术应用于临床仍有待于各个领

参考文献:

- [1] Adams DH, Chen RH, Kadner A, *et al.* Technique for heterotopic pig heart xenotransplantation in primates[J]. *Ann Thorac Surg*, 1999, 68(1): 265-268.
- [2] Kadner A, Chen RH, Adams DH. Heterotopic heart transplantation: experimental development and clinical experience[J]. *Eur J Cardiothorac Surg*, 2000, 17(4): 474-481.
- [3] Hosenpud JD, Bennett LE, Keck BM, *et al.* The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: fifteenth official report—1998[J]. *J Heart Lung Transplant*, 1998, 17(7): 656-668.
- [4] Schmoeckel M, Bhatti FN, Zaidi A, *et al.* Orthotopic heart transplantation in a transgenic pig-to-primate model[J]. *Transplantation*, 1998, 65(12): 1570-1577.
- [5] Watnworth PD, Cozzi E, Tolan MJ, *et al.* Pig-to-primate cardiac xenotransplantation and cyclophosphamide therapy[J]. *Transplant Proc*, 1997, 29(1-2): 899-900.
- [6] Chen RH, Naficy S, Logan JS, *et al.* Hearts from transgenic pigs constructed with CD3 γ /DAF genomic clones demonstrate improved survival in primates[J]. *Xenotransplantation*, 1999, 6(3): 194-200.
- [7] Bhatti FN, Schmoeckel M, Zaidi A, *et al.* Three-month survival of HDAFF transgenic pig hearts transplanted into primates[J]. *Transplant Proc*, 1999, 31(1-2): 958-968.
- [8] Lambrijs D, Sachs DH, Cooper DK. Discordant organ xenotransplantation in primates: world experience and current status[J]. *Transplantation*, 1998, 66(5): 547-561.
- [9] 陈实. 移植免疫学[M]. 武汉: 科学技术出版社, 1998: 191-199.
- [10] Ito A, Ito T, Kamiike W, *et al.* Donor-specific tolerance by perioperative intrathymic injection of bone marrow cells in the rat cardiac allograft model: use of FK506 can shorten the necessary duration of pre-transplant intrathymic conditioning[J]. *Transplantation*, 1997, 64(5): 752-757.
- [11] Onodera K, Chandraker A, Volk HD, *et al.* Distinct tolerance pathways in sensitized allograft recipients after selective blockade of activation signal 1 or signal 2[J]. *Transplantation*, 1999, 68(2): 288-293.
- [12] Kirk AD, Burkly LC, Batty DS, *et al.* Treatment with humanized monoclonal antibody against CD154 prevents acute renal allograft rejection in nonhuman primates[J]. *Nat Med*, 1999, 5(6): 686-693.
- [13] Stephan M. CD8⁺ cells contribute to the development of transplant arteriosclerosis despite CD154 blockade[J]. *Transplant*, 2000, 69(21): 2609-2612.
- [14] Taylor DA, Atkins BZ, Hunspreugs P, *et al.* Regenerating functional myocardium: improved performance after skeletal myoblast transplantation[J]. *Nat Med*, 1998, 4(8): 929-933.
- [15] Bolman RM. Intracoronary adenovirus-mediated transfer of immunosuppressive cytokine genes prolongs allograft survival[J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 1998, 115(4): 819-821.
- [16] Brauner R, Wu L, Laks H, *et al.* Intracoronary gene transfer of immunosuppressive cytokines to cardiac allografts: method and efficacy of adenovirus-mediated transduction[J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 1997, 113(6): 1059-1066.
- [17] Wang CK, Zuo XJ, Carpenter D, *et al.* Prolongation of cardiac allograft survival with intracoronary viral interleukin-10 gene transfer[J]. *Transplant Proc*, 1999, 31(1-2): 951-952.
- [18] Brauner R, Nonoyama M, Laks H, *et al.* Intracoronary adenovirus-mediated transfer of immunosuppressive cytokine genes prolongs allograft survival[J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 1997, 114(6): 923-933.
- [19] Li XK, Okayama T, Tamura A, *et al.* Prolonged survival of rat liver allografts transfected with Fas ligand-expressing plasmid[J]. *Transplantation*, 1998, 66(11): 1416-1423.
- [20] Poston RS, Ennen M, Pollard J, *et al.* Ex vivo gene therapy prevents chronic graft vascular disease in cardiac allografts[J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 1998, 116(3): 386-396.
- [21] Knechtle SJ, Wang J, Graeb C, *et al.* Direct MHC class I complementary DNA transfer to thymus induces donor-specific unresponsiveness, which involves multiple immunologic mechanisms[J]. *J Immunol*, 1997, 159(1): 152-158.
- [22] Bracy JL, Sachs DH, Iacomini J. Inhibition of xenoreactive natural antibody production by retroviral gene therapy[J]. *Science*, 1998, 281(5384): 1845-1847.
- [23] Ierino FL, Gojo S, Banerjee PT, *et al.* Transfer of swine major histocompatibility complex class II genes into autologous bone marrow cells of baboons for the induction of tolerance across xenogeneic barriers[J]. *Transplantation*, 1999, 67(8): 1119-1128.
- [24] Gojo S, Cooper DK, Iacomini J, *et al.* Gene therapy and transplantation