

# 异种心脏移植的研究进展

江行配 田海 孙露 郭睿霖 刘开宇 蒋树林

**【摘要】** 心脏移植是治疗终末期心脏病的一种有效方法,但由于供体的缺乏使其开展受到限制。近年来异种心脏移植(CXTx)的研究取得了显著的进展,为心脏移植供体短缺提供了一个可行的方案。但由于存在跨物种免疫排斥反应、移植术后无法长期维持心脏生理功能及移植植物状态监测欠佳等问题,CXTx仍面临着许多挑战。本文就CXTx在免疫排斥反应、移植方法、异种移植植物状态监测等方面的研究进展做一综述并讨论CXTx的临床应用前景及面临的挑战。

**【关键词】** 异种心脏移植;免疫排斥反应;基因修饰;免疫调节;移植方法;生物标志物; $\alpha$ -1,3-半乳糖基转移酶基因敲除猪

**【中图分类号】** R617, R541 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1674-7445(2019)05-0022-04

在世界范围内,迫切需要心脏移植的终末期心脏病患者的数量在不断增加,而捐献的供体远远不能满足临床需求,因此每年有大量的患者在等待中死亡。为解决这一问题,替代疗法成为当前的研究热点,包括机械辅助装置、再生医学及异种心脏移植(cardiac xenotransplantation, CXTx)等<sup>[1]</sup>。机械辅助装置(心室辅助装置、人工心脏)虽然在一定程度上可以作为心脏移植的替代选择,但其相关的出血、血栓、感染、生活质量等问题仍然是限制其临床大范围应用的主要因素<sup>[2]</sup>。再生医学(干细胞移植、组织工程、3D心脏打印)仍处于研究阶段<sup>[3]</sup>。活体器官有其不可替代的优势,供体从鼠、兔、羊、狒狒和黑猩猩,再到小型猪,研究呈现波浪式的发展进程,猪心脏解剖及生理功能与人类心脏相似,来源不受限制,且通过基因修饰可以有效降低猪供心脏的免疫原性<sup>[4]</sup>,所以猪CXTx是目前研究热点,其中异位腹腔移植已经能够存活达925 d,原位移植亦能存活195 d<sup>[5-6]</sup>。本文就CXTx的免疫排斥反应、移植方法、移植植物状态监测等方面的研究进展做一综述并讨论CXTx的临床应用前景及面临的挑战。

## 1 异种心脏移植的免疫排斥反应研究进展

### 1.1 基因修饰

为克服跨物种的排斥反应,从初期的单基因敲除到近

年的多基因修饰,研究者们尝试了多种转基因策略。目前CXTx最常用的基因修饰模型为 $\alpha$ -1,3-半乳糖基转移酶( $\alpha$ -1,3-galactosyltransferase, GGTA1)基因敲除(GTKO)猪,其大大降低了移植术后的免疫排斥反应。

CXTx术后,受体的天然抗体与供体心血管内皮细胞上的抗原结合,激活补体和凝血级联系统,最终导致超急性排斥反应(hyperacute rejection, HAR)的发生和CXTx的失败。而GGTA1基因编码的 $\alpha$ -1,3-半乳糖( $\alpha$ -1,3-galactose,  $\alpha$ Gal)是引起HAR的主要抗原,因此敲除GGTA1基因能预防HAR的发生<sup>[7]</sup>。

CD46在CXTx转基因策略中扮演了重要角色,通过促进I因子介导的C3b、C4b的降解,从而抑制补体C3激活的补体旁路途径,同时CD46还可以抑制中性粒细胞和组胺的释放<sup>[8]</sup>。

血栓调节蛋白(thrombomodulin, TM)既是蛋白C通路的组成部分,又是CXTx重要的抗凝和抗炎分子。其可通过将原蛋白C转化为活化蛋白C与凝血酶结合,降低凝血酶的活性,从而防止血栓形成。TM还可以通过减少血小板聚集来进一步防止血栓性微血管病变<sup>[6]</sup>。CXTx后猪TM在灵长类动物体内没有表现出类似的功效,缺乏功能性TM被认为是CXTx微血栓形成和早期移植失败的原因之一<sup>[9]</sup>。Mohiuddin等<sup>[5]</sup>证实构建启动子可以增强TM的表达,且

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7445.2019.05.022

基金项目:国家自然科学基金(81770347);黑龙江省自然科学基金留学归国基金(LC2016036);哈尔滨医科大学附属第二医院科研基金(KYBS2015-01、KYBS2015-10)

作者单位:150086 哈尔滨医科大学附属第二医院心血管外科(江行配、孙露、刘开宇、田海、蒋树林);哈尔滨医科大学第二临床医学院(郭睿霖)

作者简介:江行配,男,1993年生,硕士,住院医师,研究方向为心脏移植与瓣膜病,Email:82084532@qq.com

通信作者:蒋树林,男,1958年生,硕士,主任医师,研究方向为心脏移植与瓣膜病,Email:sljiang36@163.com

TM 在异种移植植物上的高表达可延长移植物的存活时间。

克服排斥反应的其他转基因策略包括<sup>[10-11]</sup>：(1) 表达其他补体调节蛋白如 CD55、CD59 抑制补体激活；(2) 表达凝血调节因子如组织因子途径抑制剂、内皮细胞蛋白 C 受体、去唾液酸糖蛋白受体、CD39、CD73、人血友病因子来调节凝血反应；(3) 表达细胞毒 T 淋巴细胞相关抗原 4 免疫球蛋白来阻碍共刺激信号通路；(4) 抑制细胞免疫反应如敲除人主要组织相容性复合体 (major histocompatibility complex, MHC) II 类分子反式激活因子 (MHC class II transactivator, C II TA-DN)、MHC I 或者 MHC II；(5) 抑制炎症反应如转入表达人类白细胞抗原 (human leukocyte antigen, HLA) -E、HLA-G、HLA-Cw3、人 N-乙酰氨基葡萄糖转移酶 III (human N-acetylglucosaminyltransferase III, GnT-III) 或者肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF) 凋亡诱导配体, 血红素加氧酶 -1、人蛋白 A20、CD47 的基因。

与心脏保护相关的靶基因很多, 随着基因编辑技术 (如 CRISPR/Cas9) 的迅猛发展, 尝试将更多基因整合在一起, 构建出免疫原性更小的器官是目前热点。Chan 等<sup>[12]</sup>应用多基因表达的供体猪 (6 个基因: GTKO.hCD46.hEPCR.hDAF+hTFP.IhCD47/hTBM.hCD39) 行 CXTx, 与 3 基因 (GTKO.hCD46.TBM) 相比, 其出血相关并发症减少, 炎症反应也更轻。在转基因猪中加入更多的人类基因, 有可能延长供心存活时间, 最终实现 CXTx 临床应用。

## 1.2 囊胚互补产生异种嵌合体

用 CRISPR/Cas9 技术敲除器官发育的特异性基因, 再将诱导的异种多能干细胞注射到囊胚期的胚胎中, 最终重构出几乎完整的异种器官, 称为囊胚互补技术。Yamaguchi 等<sup>[13]</sup>最近利用啮齿动物模型和 CRISPR/Cas9 技术成功地建立了肾脏、心脏和眼球等特异性基因缺陷的小鼠嵌合体模型。目前种间的人猪嵌合体中人源性细胞量相对较低, 在猪心脏中人细胞比例仅有 10%<sup>[14]</sup>, 但此项研究在培育人源化心脏的研究中跨出了第一步。囊胚互补技术既可重构出结构与功能完善的器官, 又可减少跨物种移植的排斥反应, 虽然目前离临床实践尚远, 但在猪体内重构人源化心脏极具研究前景。

## 1.3 免疫调节

多基因修饰大大降低了 HAR 和早期移植的失败, 但不能防止特异性免疫反应引起的微血管血栓和消耗性凝血<sup>[5-6,12]</sup>。在异种移植免疫反应的多种共刺激信号通路中 CD40/CD154 通路占有核心地位, 然而抗 CD154 单抗因临床前和临床试验中出现血栓栓塞而受到限制<sup>[15]</sup>。目前许多研究致力于用抗 CD40 单抗 (2C10R4) 取代抗 CD154 单抗<sup>[5-6,15]</sup>。2C10R4 是小鼠 IgGFab 和恒河猴 IgG4Fc 片段的嵌合体, 与 CD154 单抗相比, 2C10R4 在阻断 CD40/CD154 通路的同时可降低 CD20 淋巴细胞数量且抑制 B 淋巴细胞的发育<sup>[15]</sup>。已证实 2C10R4 在 GTKO.hCD46.hTBM 供体猪的异种移植后长期存活受体的免疫抑制方案中十分重要,

当使用治疗剂量的 2C10R4 时未见微血管血栓和消耗性凝血, 当 2C10R4 的剂量减少或停用后, 移植植物出现排斥反应<sup>[5]</sup>。

新型免疫抑制剂在调节排斥反应中的应用也是异种移植研究的重要进展。抑制补体级联通路是调节异种移植排斥反应的手段之一。C3 抑制剂 (Cp40) 可以有效地阻止补体系统 C3 的激活, 从而减轻内皮抗原与抗体结合及体外循环引起的补体介导的损伤, 进而减少心脏细胞的损伤, 保护心脏功能<sup>[16]</sup>。替代剂也被用于抑制 T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞的活化。在大鼠 CXTx 模型中证实三氧化二砷 (As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) 可以诱导 T 淋巴细胞凋亡, 联合核因子 (nuclear factor, NF) -κB 抑制剂来氟米特、IgG、IgM 具有协同抑制辅助性 T 细胞 (help T cell, Th) 1/Th2 分化的作用, 该方案能有效抑制白细胞介素 (interleukin, IL) -2、干扰素 (interferon, IFN) -c 和 IL-4 细胞因子的产生, 抑制受体脾脏中 Th1/Th2 细胞的产生, 该方案也可能在 CXTx 中抑制免疫排斥反应<sup>[17]</sup>。

一种小干扰 RNA (small interference RNA, siRNA) 能有效的抑制 CD40 信使核糖核酸 (messenger RNA, mRNA) 的转录和蛋白质的翻译, 其用于局部 CD40 沉默是预防抗体介导的排斥反应的有效策略, 有可能成为一种新的免疫抑制方式<sup>[18]</sup>。西罗莫司 (sirolimus, SRL) 通过抑制哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin, mTOR) 途径, 来调节 mRNA 的翻译和抑制细胞生长, 有临床证据表明 SRL 可减轻心肌肥厚和心肌缺血, 改善心脏舒张功能<sup>[19]</sup>。随着对异种移植全身炎症反应的认识日益加深, 新型抗炎生物制剂如托利珠单抗 (抗 IL-6 受体抗体)、依那西普 (TNF 抑制剂) 和抗补体蛋白 C5 等也开始用于抑制 CXTx 的炎症反应<sup>[6,20]</sup>。

## 2 异种心脏移植移植方法的研究进展

最早 CXTx 主要使用异位腹部模型进行研究, 供体升主动脉与受体腹主动脉之间行端侧吻合, 供肺动脉与受体下腔静脉之间行端侧吻合。该模型异种移植植物有血液灌流和搏动, 但没有心脏生理功能, 优点是较其他异种移植模型存活时间长, 是长期监测异种移植植物免疫抑制情况的最佳选择。Mohiuddin 等<sup>[5]</sup>的一项研究中 GTKO.hCD46.hTBM 转基因猪联合 2C10R4 的异种移植, 其中移植植物在移植术后 200~500 d 表现出良好的收缩能力, 异种移植植物中位生存期为 298 d, 最长存活时间 945 d。

异位腹部 CXTx 供心无生理功能, 而原位 CXTx 围手术期病死率高, 为了解决这个矛盾, 异位胸腔 CXTx 进入人们的视野。通过将供、受体心脏并连 (两心脏左、右心房直接吻合, 供心主、肺动脉与受体主、肺动脉端侧吻合) 使两个心脏同时工作, 该模型提供了具有生理功能的心脏同时保留受体心脏作为移植失败的备份<sup>[21]</sup>。Abicht 等<sup>[21]</sup>在异位胸腔 CXTx 后, 一组采用抗 CD20 单抗联合免疫抑制治疗, 另一组增加胸腹腔照射, 移植植物存活中位时间分别为 19 (12~50) d 和 16 (7~35) d。但异位胸腔移植手

术操作复杂、创伤大，术后两个心脏不兼容、移植后心脏体积增大所导致的血流动力学不稳定及肺功能不全限制了移植物的长期存活。

原位 CXTx 长期存活是最理想的临床前模型，但经过了近 25 年的研究，猪原位 CXTx 最长存活时间只有 57 d。原位 CXTx 受体围手术期死亡的主要原因不是排斥反应，而是心功能不全，这一现象被称为围手术期移植心脏功能障碍（perioperative cardiac xenograft dysfunction, PCXD）。PCXD 主要由预合成的非 Gal 抗体的炎症反应、猪与正常人血浆的不相容及体外循环和缺血-再灌注损伤等引起。通过改良器官保存方法，减少早期异种炎症的发生，增加心脏对缺血-再灌注损伤的抵抗能力可以减少 PCXD 的发生。最近原位 CXTx 取得里程碑式的进展，Långin 等<sup>[6]</sup> 原位 CXTx 的研究中，供心存活长达 195 d。该研究成功的关键包括：（1）离体心脏采用含血停搏液进行静态低温保存和持续灌注，从而改善非缺血猪心脏保存方法；（2）通过联合治疗降低狒狒的血压，使其与猪血压相匹配、糖皮质激素逐渐减量以及使用 SRL 前药替代 SRL 减轻心肌肥厚、防止异种移植物过度生长。

CXTx 术后经常发生血流动力学和呼吸障碍，CXTx 围手术期的管理对实验结果有显著影响。一项研究对比了原位和异位 CXTx 围手术期的血流动力学和实验室检查结果的研究发现异位 CXTx 需要的儿茶酚胺较少，血流动力学更稳定，围手术期的管理也比原位移植要求低，即使肺功能受损，脱离呼吸机仍比原位移植成功率高<sup>[22]</sup>。虽然异位移植围手术期存活效果很好，但移植物并不能真正承担正常心脏的功能，成功的原位移植才是临床应用的最终目标。

### 3 异种移植物状态监测

准确评估移植物状态是移植成功的一个重要因素。传统方法通常依赖于侵入性技术如心内膜活组织检查（活检），但易受取材抽样误差及频率的限制，而围手术期超声、术中置入遥测发射机、心外膜上放置心电图导联，这些方法在心脏损伤较大时才能捕捉到异常改变。非侵入性方法，如肌钙蛋白和心肌酶在异种器官移植的早期诊断和预后预测方面也存在着缺陷。由于异种移植的特殊性，有必要开发出用于密切监测异种移植状态的生物标志物。

微小核糖核酸（microRNA, miRNA）已被证明可作为器官存活和免疫排斥反应的生物标志物<sup>[23]</sup>，心脏富含的 miRNA 包括 miR-1、miR-133、miR-208、miR-499、miR-199 b，由于其在血清、血浆、尿液、唾液和其他体液中稳定表达，因此成为了理想的无创生物标志物。异种生物 miRNA 的核苷酸组成上有微小的差异，移植术后循环中猪 miRNA 具有很大的潜力成为特异性生物标志物。除了作为可能的生物标志物外，特异性 miRNA 还可能作为一种新的免疫抑制策略应用于异种移植，siRNA 可用于局部沉默 CD40 抑制 CD40/CD154 共刺激通路<sup>[18]</sup>。

细胞外组蛋白在细胞死亡后出现，可以反映移植物损伤情况。在移植术后的稳定时期，血清组蛋白水平接近基线，然而发生消耗性凝血病后，血清组蛋白显著升高，且与 C-反应蛋白水平相关<sup>[24]</sup>。细胞外组蛋白可能是检测异种移植物损伤的敏感指标，且其本身亦可能是一个潜在的治疗靶点。

循环无细胞 DNA（circulating cell-free DNA, cfDNA）是一种潜在的组织损伤生物标志物。新一代基因测序技术的出现，使区分移植物 cfDNA 和受体 cfDNA 的差异成为可能，可通过测定移植物 cfDNA 占总 cfDNA 的比例来确定 cfDNA 的变化是来自供体还是受体。研究表明，cfDNA 百分比在移植术后早期高，并且以指数方式衰减至低稳定水平，半衰期为 3 d。cfDNA 百分比的升高与肌钙蛋白增加和临床排斥反应变化趋势一致，但 cfDNA 百分比的升高早于临床排斥反应和肌钙蛋白增加。因此 cfDNA 可以准确地预测急性排斥反应<sup>[25]</sup>。

## 4 异种心脏移植临床前景及存在问题

### 4.1 临床前景

由于供体心脏严重短缺，所以同种供体优先选择预后会更好患者；同时由于部分群体的特殊性，CXTx 的临床应用可能最先在特殊群体中开展。对于那些被认为高龄而不考虑同种异体移植的患者来说，CXTx 可能是一种选择。婴幼儿难以匹配到合适的同种心脏供体，同时机械循环辅助装置在小儿应用中血栓、出血、感染的发生率更高，所以小儿供心需求更加迫切。研究表明幼年狒狒不会极强烈地排斥猪的心脏移植物，这与幼年狒狒没有预先形成“天然”抗体有关。所以基于基因工程猪作为器官来源、新的抑制共刺激通路的免疫抑制剂的研发、受体胸腺切除、供体猪胸腺移植等方法，可能使小儿 CXTx 成功的可能性比其他任何年龄组都大<sup>[26]</sup>。其次，需再次移植的患者、有感染相关问题或无法抗凝等有机循环设备使用禁忌证的个体、对 HLA 高度敏感、心肌病、供体与受体心脏大小不匹配等患者都是 CXTx 的潜在对象。

国际心肺移植学会早在 2000 年指出，在维持生命的一系列连续异种移植临床前试验中至少 10 只动物超过 60% 的移植物存活 3 个月以上，可以考虑临床试验。Långin 等<sup>[6]</sup> 的研究中经过对前期试验的改良，除动物例数不足，存活时间及存活率已达到国际心肺移植学会 2000 年提出的标准。如果重复试验成功，CXTx 将极具临床潜力。

### 4.2 面临的挑战

虽然近年 CXTx 在多个方面取得重大突破，但仍面临一些挑战：（1）该领域的一个主要风险是猪心脏携带的病原体，利用特定的育种技术，可以避免巨细胞病毒、 $\gamma$ -淋巴细胞性疱疹病毒和戊型肝炎病毒等供体猪的外源性病毒污染<sup>[26]</sup>。但猪内源性反转录病毒（porcine endogenous retroviruses, PERVs）能够在人基因组中整合，因此不能用传统的抗病毒方法消除。但好消息是目前尚未观察到接



触猪组织感染 PERVs 的病例,在体外细胞培养中猪对人的细胞感染只发生在 PERVs 抵抗缺陷的细胞系中,并且 CRISPR/Cas9 技术允许在全基因组范围内灭活猪细胞系中 PERVs 的拷贝数。类似于异种肝移植术后的凝血病, CXTx 后产生的异种蛋白是否会引起其他疾病尚不确定。(2) 虽然各种异种产品(如人工心脏瓣膜)已经安全地在临床上用了几十年,但实体器官异种移植应有独特的伦理考虑<sup>[27]</sup>。(3) 如何进一步基因修饰以减少移植物对免疫抑制剂的依赖及大量使用免疫抑制剂引起的感染风险是我们当下要解决的问题,同时患者的精神心理因素、法律、宗教信仰等也都是异种移植需要考虑的问题<sup>[27]</sup>。

尽管目前 CXTx 尚处于实验性阶段,但 CXTx 在免疫排斥反应、手术方式及围手术期管理水平等方面的进展使原位 CXTx 模型存活时间获得巨大突破,大大推进了其临床应用的进程。如果 CXTx 能成功应用于临床,那将会开启终末期心脏病治疗的新时代。

#### 参考文献:

- [1] MOU L, CHEN F, DAI Y, et al. Potential alternative approaches to xenotransplantation[J]. *Int J Surg*, 2015,23(Pt B):322-326. DOI: 10.1016/j.ijsu.2015.06.085.
- [2] SANCHEZ JE, TAKAYAMA H, ANDO M, et al. Outcomes of bridge to cardiac retransplantation in the contemporary mechanical circulatory support era[J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2019,158(1):171-181. DOI: 10.1016/j.jtcvs.2019.01.135.
- [3] TAYLOR DA, FRAZIER OH, ELGALAD A, et al. Building a total bioartificial heart: harnessing nature to overcome the current hurdles[J]. *Artif Organs*, 2018,42(10):970-982. DOI:10.1111/aor.13336.
- [4] CHAN JL, MOHIUDDIN MM. Heart xenotransplantation[J]. *Curr Opin Organ Transplant*, 2017,22(6):549-554. DOI: 10.1097/MOT.0000000000000461.
- [5] MOHIUDDIN MM, SINGH AK, CORCORAN PC, et al. Chimeric 2C10R4 anti-CD40 antibody therapy is critical for long-term survival of GTKO.hCD46.hTBM pig-to-primate cardiac xenograft[J]. *Nat Commun*, 2016,7:11138. DOI: 10.1038/ncomms11138.
- [6] LÄNGIN M, MAYR T, REICHART B, et al. Consistent success in life-supporting porcine cardiac xenotransplantation[J]. *Nature*, 2018,564(7736):430-433. DOI:10.1038/s41586-018-0765-z.
- [7] COWAN PJ, TECTOR AJ. The resurgence of xenotransplantation[J]. *Am J Transplant*, 2017,17(10):2531-2536. DOI: 10.1111/ajt.14311.
- [8] BURDORF L, STODDARD T, ZHANG T, et al. Expression of human CD46 modulates inflammation associated with GalTKO lung xenograft injury[J]. *Am J Transplant*, 2014,14(5):1084-1095. DOI: 10.1111/ajt.12673.
- [9] SINGH AK, CHAN JL, DICHIACCHIO L, et al. Cardiac xenografts show reduced survival in the absence of transgenic human thrombomodulin expression in donor pigs[J]. *Xenotransplantation*, 2019,26(2):e12465. DOI: 10.1111/xen.12465.
- [10] COOPER DK, EKSER B, RAMSOONDAR J, et al. The role of genetically engineered pigs in xenotransplantation research[J]. *J Pathol*, 2016,238(2):288-299. DOI: 10.1002/path.4635.
- [11] MEIER RPH, MULLER YD, BALAPHAS A, et al. Xenotransplantation: back to the future?[J]. *Transpl Int*, 2018,31(5):465-477. DOI: 10.1111/tri.13104.

- [12] CHAN JL, SINGH AK, CORCORAN PC, et al. Encouraging experience using multi-transgenic xenografts in a pig-to-baboon cardiac xenotransplantation model[J]. *Xenotransplantation*, 2017,24(6). DOI: 10.1111/xen.12330.
- [13] YAMAGUCHI T, SATO H, KATO-ITOH M, et al. Interspecies organogenesis generates autologous functional islets[J]. *Nature*, 2017,542(7640):191-196. DOI:10.1038/nature21070.
- [14] WU J, PLATERO-LUENGO A, SAKURAI M, et al. Interspecies chimerism with mammalian pluripotent stem cells[J]. *Cell*, 2017,168(3):473-486. DOI: 10.1016/j.cell.2016.12.036.
- [15] OCK SA, OH KB, HWANG S, et al. Immune molecular profiling of whole blood drawn from a non-human primate cardiac xenograft model treated with anti-CD154 monoclonal antibodies[J]. *Xenotransplantation*, 2018,25(5):e12392. DOI:10.1111/xen.12392.
- [16] ABICHT JM, KOURTZELIS I, REICHART B, et al. Complement C3 inhibitor Cp40 attenuates xenoreactions in pig hearts perfused with human blood[J]. *Xenotransplantation*, 2017,24(1). DOI: 10.1111/xen.12262.
- [17] JIAO ZX, LENG Y, XIA JJ, et al. As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> combined with leflunomide prolongs heart xenograft survival via suppressing the response of Th1, Th2, and B cells in a rat model[J]. *Xenotransplantation*, 2016,23(3):237-248. DOI: 10.1111/xen.12238.
- [18] DE RAMON L, RIPOLL E, MERINO A, et al. CD154-CD40 T-cell co-stimulation pathway is a key mechanism in kidney ischemia-reperfusion injury[J]. *Kidney Int*, 2015,88(3):538-549. DOI:10.1038/ki.2015.146.
- [19] IMAMURA T, KINUGAWA K, NITTA D, et al. Everolimus attenuates myocardial hypertrophy and improves diastolic function in heart transplant recipients[J]. *Int Heart J*, 2016,57(2):204-210. DOI: 10.1536/ihj.15-320.
- [20] SCHUURMAN HJ. Pig-to-nonhuman primate solid organ xenografting: recent achievements on the road to first-in-man explorations[J]. *Xenotransplantation*, 2016,23(3):175-178. DOI:10.1111/xen.12244.
- [21] ABICHT JM, MAYR T, REICHART B, et al. Pre-clinical heterotopic intrathoracic heart xenotransplantation: a possibly useful clinical technique[J]. *Xenotransplantation*, 2015,22(6):427-442. DOI: 10.1111/xen.12213.
- [22] MAYR T, BAUER A, REICHART B, et al. Hemodynamic and perioperative management in two different preclinical pig-to-baboon cardiac xenotransplantation models[J]. *Xenotransplantation*, 2017,24(3). DOI: 10.1111/xen.12295.
- [23] SONG Z, COOPER DKC, CAI Z, et al. Expression and regulation profile of mature microRNA in the pig: relevance to xenotransplantation[J]. *Biomed Res Int*, 2018:2983908. DOI:10.1155/2018/2983908.
- [24] LI T, LEE W, HARA H, et al. An investigation of extracellular histones in pig-to-baboon organ xenotransplantation[J]. *Transplantation*, 2017,101(10):2330-2339. DOI:10.1097/TP.0000000000001676.
- [25] AGBOR-ENOH S, CHAN JL, SINGH A, et al. Circulating cell-free DNA as a biomarker of tissue injury: assessment in a cardiac xenotransplantation model[J]. *J Heart Lung Transplant*, 2018,37(8):967-975. DOI: 10.1016/j.healun.2018.04.009.
- [26] CHAN JL, MILLER JG, SINGH AK, et al. Consideration of appropriate clinical applications for cardiac xenotransplantation[J]. *Clin Transplant*, 2018,32(8):e13330. DOI:10.1111/ctr.13330.
- [27] PARIS W, SEIDLER RJH, FITZGERALD K, et al. Jewish, Christian and Muslim theological perspectives about xenotransplantation[J]. *Xenotransplantation*, 2018,25(3):e12400. DOI:10.1111/xen.12400.

(收稿日期:2019-06-06)

(本文编辑:王维苹 吴秋玲)