

· 专家论坛 ·

异种肝移植的探索之路：从科学研究走向临床应用

李霄 曹薇薇 余良

【摘要】 随着手术技术进步及围手术期管理水平提升，器官移植受者及移植物存活率显著提高，供器官短缺已成为限制器官移植进一步发展的主要障碍。近期，以基因修饰猪为供体的异种肾移植和异种心脏移植已进入临床试验并取得了不错的效果，异种移植再一次成为生物医学研究的热点。与心脏和肾脏相比，基因修饰猪的肝脏在非人灵长类动物体内的存活时间还比较短，且实验结果差异性较大，尚不具备进入临床试验的条件。因此，本文从术式选择、凝血功能障碍和急性血管性排斥反应3个方面，总结目前异种肝移植的研究进展，讨论阻碍异种肝移植进入临床试验的主要问题及可能的解决策略，以为异种肝移植从科学研究走向临床提供参考。

【关键词】 异种移植；肝移植；供者短缺；基因修饰猪；全肝移植；辅助性肝移植；凝血功能障碍；急性血管性排斥反应

【中图分类号】 R617, Q78 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1674-7445 (2024) 05-0011-06

Exploratory road of liver xenotransplantation: from scientific research to clinical application Li Xiao*, Cao Weiwei,

Yu Liang. *Department of General Surgery, Xijing Hospital of Air Force Medical University, Xi'an 710032, China

Corresponding author: Li Xiao, Email: lixiao0757@163.com

【Abstract】 With the advancement of surgical technologies and the improvement of perioperative management, the survival rates of organ transplant recipients and grafts have been significantly elevated. Shortage of donor organs has become the main obstacle to further development of organ transplantation. Recently, kidney and heart xenotransplantation with genetically modified pigs as donors have entered clinical trials and achieved favorable results. Xenotransplantation has repeatedly become a hot spot in biomedical research. Compared with heart and kidney, the survival time of liver grafts from genetically modified pigs in non-human primates is shorter. Besides, experimental results are dramatically different. Hence, it is not eligible for clinical trials. Consequently, recent research progress in xenotransplantation was reviewed from surgical pattern selection, coagulation dysfunction and acute vascular rejection, advances in liver xenotransplantation were summarized, and the main problems hindering xenotransplantation from entering clinical trials and potential solutions were illustrated, aiming to provide reference for xenotransplantation from scientific research to clinical application.

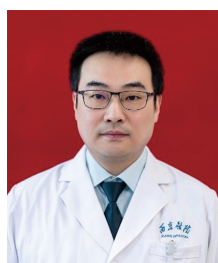
【Key words】 Xenotransplantation; Liver transplantation; Donor shortage; Genetically modified pig; Whole liver transplantation; Auxiliary liver transplantation; Coagulation disorder; Acute vascular rejection

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7445.2024043

基金项目：国家自然科学基金（82070681、81970566）；陕西省重点研发计划资助项目（2023-YBSF-429）；陕西省自然科学基金基础研究计划资助项目（2022JM-537）

作者单位：710032 西安，空军军医大学西京医院综合外科（李霄），检验科（曹薇薇），信息科（余良）

通信作者：李霄（ORCID 0000-0003-1731-7488），Email: lixiao0757@163.com



作者简介:李霄, 副主任医师、副教授, 外科学博士, 主要从事普通外科与器官移植基础和临床研究。主持国家自然科学基金、陕西省重点研发计划、陕西省自然科学基金、空军军医大学“快速响应”科研课题各1项, 西京医院优秀人才助推计划资助4项。兼任中华医学会器官移植学分会异种移植学组委员兼秘书、中国医师协会器官移植医师分会移植免疫委员会专业委员、中国医师协会器官移植医师分会干细胞与组织移植专业委员会委员、中国研究型医院学会普通外科专业委员会青年委员、陕西省医促会腹部外科专委会常委兼秘书长。兼任《器官移植》编委、《实用肿瘤学杂志》通讯编委。以第一作者和通信作者发表论文49篇, 其中SCI收录27篇, 影响因子最高16.744。副主编国内首部《异种移植学》专著, 参编、参译专著3部。执笔行业技术指南4部。获国家科技进步二等奖、陕西省科技进步一等奖(2次)、军队医疗成果三等奖、第四军医大学精湛医术二等奖、四川省医学科技三等奖。第一发明人获国家发明专利2项。被评为军队“四有”优秀文职人员, 并荣立三等功1次。

自20世纪50年代美国开展第一例临床肾移植以来, 器官移植不断发展与革新, 开创了医学的新纪元。但随着临床移植技术的逐渐成熟与完善, 供器官短缺成为移植医学发展的“限速酶”^[1-2]。以肝移植为例, 2022年我国有约13万例肝衰竭患者等待肝移植, 但全年因捐献器官数量有限, 仅实施肝移植7000余例, 供需比达1.0:18.5^[3]。在器官捐献观念尚未深入人心的现状之下, 加之我国人口老龄化的快速发展趋势, 各类器官衰竭患者数量不断攀升, 使器官移植的困境雪上加霜。因此, 在同种器官稀缺的形势下, 寻找新的供器官来源已是全社会迫在眉睫需要解决的难题。

开展以猪为供体的异种移植研究, 用动物器官代替人类器官进行移植治疗, 是当前最有希望解决供体短缺的途径之一^[4-5]。由于在物种进化树上, 猪与灵长类动物的距离较远, 将猪的器官直接植入人体内存在排斥反应、生理屏障、跨物种交叉感染等问题, 故异种移植自起步阶段就困难重重^[6]。然而, 2012年第三代基因编辑技术CRISPR/Cas9的横空出世, 为异种移植进入临床试验提供了革命性的解决方案。2022年1月7日, 美国马里兰大学医学院完成首例临床猪心脏原位移植试验, 受者生存了60d^[7]。2023年7月14日, 美国纽约大学朗格尼健康中心在1例脑死亡患者体内植入基因修饰猪肾, 该肾在体内观察61d后仍能保持良好功能^[8]。2023年10月19日, 中国科学院院士窦科峰教授领衔的西京医院研究团队, 成功将多基因修饰猪皮移植给1例特重度烧伤患者, 并取得良好效果。这些划时代的成就, 为异种器官移植进入临床实用, 奠定了极为重要的基础。但与心脏移植和肾移植相比, 异种肝移植动物实验的结果不稳定, 存活时间还比较短, 最长仅34d^[9], 尚不具备进

入临床试验的条件。因此, 本文就阻碍异种肝移植进入临床试验的问题进行综述, 以期为后续研究提供参考。

1 移植术式的选择——全肝移植还是辅助性肝移植

包括原位全肝移植、原位左肝或右肝的辅助性肝移植、异位辅助性肝移植等在内的临床肝移植常规术式, 均有在异种肝移植动物模型中的应用研究。在 α -1,3-半乳糖基转移酶(α -1,3-galactosyltransferase, α -GGTA1)基因敲除小型猪(GTKO猪)问世前, Calne就进行了7例野生型猪-狒狒原位肝移植手术实验, 移植肝和受体最长存活时间3.5d。随后多个研究小组均进行相同的手术实验, 但存活时间均未超过4d。这一时期, 受体死因均为超急性排斥反应。随着GTKO猪的问世, 欧洲、美国、韩国与中国的数个研究小组都开展了以GTKO猪为供体、以非人灵长类动物(non-human primate, NHP)全肝移植的动物实验, 但笔者文献检索发现, 样本总量仅为34例, 受体和移植肝存活时间从3h至29d不等^[10-14]。与之相比, 辅助性肝移植仅有中国、美国与韩国3个中心开展, 样本总量为14例, 存活时间为2~34d^[9, 15-17]。

分析造成异种肝移植动物实验结果差异较大的因素, 除了实验样本抽样误差外, 恰当的术式选择也是重要的原因。与全肝移植相比, 辅助性肝移植的存活时间较长, 受体凝血调节功能障碍的发生率也较低。考虑到肝脏的代谢功能十分复杂, 以辅助性肝移植开始异种肝移植的临床尝试似乎更有优势^[18]。首先, 辅助性肝移植植入的供肝体积更小, 移植肝对受体血小板的破坏较少, 术后凝血系统功能会更为稳定, 致死性凝血功能紊乱的发生率较低。韩国研究小组对此进

行了对比分析,发现在存活 ≥ 3 d的辅助性肝移植受体中没有发生致死性血小板减少症,且术后轻度贫血和血小板计数减少很容易通过全血输注纠正。其中有 2 例辅助性左肝移植受体,在术后 2 周内始终维持较好的血红蛋白和血小板含量,直到 2 周后才开始接受常规输血治疗。而同期完成的 8 例原位肝移植中,5 例很快出现致死性血小板减少症,最长存活仅 7 d^[9]。其次,从手术技术来看,无论是全肝移植或者辅助性右肝移植,均需要将供肝的下腔静脉与受体的肝后下腔静脉进行端端吻合,而两者之间的口径存在较大的差异,可能因吻合部位的扭结而引起受体的静脉回流产生湍流,从而导致术后不良结果。而辅助性左肝移植或异位辅助性肝移植能够避免解剖和吻合下腔静脉,相对减少术中出血和术后血管扭曲的风险。当然,无论是哪种移植术式,血管吻合的质量关系到手术成败,要避免吻合口狭窄、迂曲、扭转,保证通畅的血液流动。另外,要引起注意的是,移植肝血流开放后很容易出现吻合口渗血现象。渗血程度不严重时,可用纱布轻轻按压,以压迫止血为主。当渗血较为严重时,除了妥善的缝合止血外,还应及时补充外源性血液^[9]。

2 生理不兼容导致凝血功能调节障碍

在 GTKO 猪问世前,移植研究者的主要视线集中在超急性排斥反应上,因而对血小板减少引发的受体死亡还未关注。但在超急性排斥反应被克服后,因生理不兼容导致的凝血功能调节障碍浮出水面,成为阻碍异种肝移植受体存活的主要障碍之一。

2010 年,Ekser 等^[10]在动物实验中发现,将 GTKO/hCD46 猪肝原位植入 NHP 后 1 h 内会出现严重的小血小板减少症,而此时体液或细胞免疫还未启动,受体最终因严重的器官出血而死亡。这表明异种肝移植术后快速出现的致死性血小板减少症与排斥反应并无明显相关性。随后国内外多个研究小组都证实了此现象,体内外研究均表明异种肝移植术后的致死性血小板减少症主要与过度的血小板活化/聚集以及异常的血小板螯合/吞噬有关。

2.1 异种肝移植术后受体血小板过度激活的机制

病理生理情况下,血小板膜糖蛋白(glycoprotein, Gp) I b 受体与受损血管内皮暴露出的带负电荷的血管性血友病因子 vWF 结合后,血小板随即被激活并诱导脱颗粒效应,将纤维蛋白原、vWF、血清素、二

磷酸腺苷(adenosine diphosphate, ADP)和 Ca^{2+} 释放到血液中。ADP 进一步激活血小板并暴露 Gp I b/III a 受体,而与纤维蛋白原结合,形成血栓并大量消化血小板。而在异种肝移植术后,猪 vWF 的 O-linked 糖基化显著上调,与人 Gp I b 结合的更紧密,导致血小板活化程度显著增加^[20]。在猪至 NHP 的离体肝脏灌注模型中,明确观察到与同种灌注对照组相比,所有异种灌注组的小血小板计数都显著降低,且血小板活化显著更高;而通过基因修饰使猪肝中表达人 vWF 后可显著降低离体灌注过程中受体血小板的消耗^[21]。此外,应用抗 Gp I b 或抗 Gp I b/III a 抗体预处理后,可使 NHP 血小板聚集情况得到明显改善,将血小板减少症的发展延迟 2 h。这些证据表明,血小板活化失调是异种肝移植术后血小板减少症的诱发机制之一,阻断血小板活化和聚集可有效减少血小板消耗,缓解异种肝移植术后血小板减少的程度。

2.2 异种肝移植术后受体血小板吞噬的可能机制

除了血小板活化/聚集机制外,异种肝移植术后受体血小板的螯合或吞噬机制,也介导了血小板耗竭。将人外周血离体灌注野生型猪肝 15 min 后,血小板数量即可下降 93%。移植肝活组织检查显示肝细胞、枯否细胞和肝血窦内皮细胞广泛吞噬或螯合人血小板,这是异种肝移植诱导血小板减少症的关键机制^[22]。

猪枯否细胞是吞噬人血小板的主要效应细胞。有证据表明,这种吞噬作用与灵长类动物血小板表面表达的 CD47 和猪枯否细胞表面表达的信号调节蛋白 α (signal regulatory protein α , SIRP α) 之间的不相容性有关^[23-24]。包括笔者所在中心的国内外研究小组,都尝试过应用转入人 CD47 的 GTKO 猪肝进行移植实验,但结果发现并不能完全消除对血小板的破坏,因此有效的策略可能是同时在 GTKO 猪体内转入人 SIRP α 和人 CD47^[25]。另外,有研究发现 CD18 在猪枯否细胞识别人血小板的机制中发挥重要作用。应用抗 CD18 抗体或通过小干扰 RNA 技术下调猪细胞中 CD18 的表达,可明显减轻猪枯否细胞对人血小板的结合和吞噬作用,进一步机制研究表明,CD18 主要识别的是活化血小板表面表达的 CD40L (CD154) 和 β -N-乙酰基葡萄糖胺 (β -N-acetylglucosamine, β -GlcNAc),而猪枯否细胞也表达 CD40,可通过结合 CD40L 进一步增强对活化的人血小板的识别和吞噬作用^[13]。因此,针对 CD40/CD40L 复合物的阻断性

单克隆抗体在动物模型中表现出优异的效果, 显著延长了异种肝移植的存活时间。但需要注意的是, 以 CD40L 抗体和常规免疫抑制药为基础的免疫治疗方案, 目前还不能完全阻断急性血管性排斥反应和对血小板的破坏作用, 这提示可能还存在其他免疫共刺激通路^[26]。

肝血窦内皮细胞可通过胞吞作用清除血液中的代谢废弃物^[27-28]。病理情况下, 猪肝血窦内皮细胞通过去唾液酸糖蛋白受体 1 (asialoglycoprotein receptor-1, ASGR1) 识别并结合人血小板上的 β -GlcNac, 从而吞噬并破坏血小板。利用 ASGR1 抑制剂 Asialofetuin 或敲除 ASGR1 在猪体内的表达, 可在体外灌注模型中显著降低猪肝对人血小板的吞噬^[29], 但还缺乏体内实验证据。

2.3 介导异种肝移植术后受体凝血功能调节障碍的其他机制

组织因子及其调节因子组织因子途径抑制剂 (tissue factor pathway inhibitor, TFPI) 在猪和灵长类动物之间的生理不相容, 是诱发异种肝移植术后消耗性凝血病的主要驱动因素。生理情况下, 组织因子主要表达于血管内皮下的成纤维细胞和肌细胞, 当血管内皮受损后, 组织因子暴露于血液中, 随即结合并激活凝血因子 VII, 启动外源性凝血途径; 而 TFPI 可结合组织因子/VIIa 复合物并抑制凝血过度激活^[30-32]。较早时期发现重组猪 TFPI 和人 TFPI 都能有效抑制人组织因子/VIIa 复合物的活性。但笔者所在的团队进一步证实, 猪 TFPI 对人组织因子的抑制活性弱于人 TFPI, 且表达人 TFPI 的 GTKO 猪的肝脏在狒狒体内存活的时间更长^[6]。此外, 利用小干扰 RNA 技术敲减猪组织因子的表达, 也可显著延长凝血时间并减少血栓形成^[33]。这些研究都表明, 猪与人之间的凝血功能调节分子的不相容性, 实际介导了异种肝移植术后凝血调节功能障碍。进一步对 GTKO 猪进行人源化基因修饰, 有望解决凝血功能紊乱的难题。

3 急性血管性排斥反应尚未有效解决

抗体介导的急性血管性排斥反应是导致异种移植肝损伤和早期失功能的主要原因^[34-35], 目前对此还缺少有效的免疫抑制治疗方案。在人类和 NHP 中发现的大多数“天然”或诱导抗体都是针对猪的糖类抗原, 但也检测到能与猪白细胞抗原结合的抗体^[36]。IgM 同型抗体是参与异种移植急性血管性排斥反应的

主要免疫球蛋白。抗猪主动脉内皮细胞 IgM 抗体比抗猪 IgG 天然抗体更有效地激活补体的经典途径。在 IgG 异种反应性抗体库中, IgG1 和 IgG2 亚类最为丰富。IgG1 和 IgG3 可以激活补体的经典途径, 而 IgG2 只能激活补体的替代途径。

能够诱发异种移植排斥反应的外源性天然抗体可分为抗 Gal、非 Gal 及多反应性抗体。在 GTKO 猪问世后, 当前研究主要集中在非 Gal 抗体。胞苷单磷酸-N-乙酰神经氨酸羟化酶 (cytidine monophosphate-N-acetylneuraminic acid hydroxylase, CMAH) 是一种参与唾液酸合成的酶, 主要催化合成神经氨酸 Neu5Gc。但由于人类和新世界猿类在进化过程中丢失了 CMAH, 故出生时体内即缺乏 Neu5Gc 抗原表达, 但在后天接触表达 Neu5Gc 抗原的食物 (牛奶和红肉) 后, 体内会产生针对 Neu5Gc 的 IgG 和 IgM 抗体。当循环血液接触猪的移植器官后, 随即启动抗体介导的血管性排斥反应^[37]。另外, 旧世界灵长类动物体内表达 Neu5Gc, 因此猪-旧世界 NHP 模型并不适合用于检验抗 Neu5Gc 抗体的免疫抑制效果。Sda 也是近期研究较多的异种反应抗原。由于大多数人体内预存有低水平的抗 Sda 的 IgM, 而猪血管内皮细胞上存在 Sda 表达, 因而异种肝移植术后可能会诱发早期的血管性排斥反应。此外, 还有一些研究表明, 在异种肾移植和心脏移植物的血管还沉积有一定滴度的多反应性抗体, 主要是 IgM, 可识别几种自身抗原如肌动蛋白、肌球蛋白、微管蛋白和 ssDNA 等, 但这些抗体是否诱发局部血管性排斥反应尚不清楚, 在异种肝移植中的作用还不能确定。现有证据表明, 对猪抗原的适应性免疫应答不会引起同种异体抗体滴度的增加, 因而异种移植术后并不会增加同种器官移植排斥反应的风险, 这也为临床应用猪器官进行“桥接”移植提供免疫理论支持^[38]。

4 小结与展望

结合目前异种器官移植的研究进展和存在的困难, 笔者认为可从以下 4 个方面着手, 推动异种肝移植进入临床试验: (1) 在同一实验条件、实验环境下, 明确不同基因修饰技术的效率及效果, 尽可能使基因修饰小型猪的制备达到标准化、规范化, 尽量减少因实验供体的差异所导致的实验结果的不稳定, 为优化基因修饰方案提供可靠的研究证据。(2) 考虑到异种肝移植研究的复杂性, 并不适合在国内广泛开

展,应集中于大型肝移植研究中心,在同一实验条件下实现不同基因组合的动物实验并达到了一定的样本量,这样方能减少干扰因素,凸显影响移植肝脏存活的主要因素,优化技术方案。(3)尽可能延长移植肝脏和受体的存活时间,有利于明确并优化免疫抑制方案和围手术期管理方案。(4)从实现临床“桥接移植”的目的出发,考虑到目前异种全肝移植的技术及围手术期管理的难度,建议临床先开展不切除或不完全切除原肝的辅助性肝移植术式,减轻异种肝移植进入临床试验的难度。

综上所述,以猪为供体的异种肝移植虽然还存在不少的问题与技术瓶颈,但只要“需求”就会有“市场”,相信随着基因修饰技术和免疫医学的不断发展,人类终将克服供体短缺的难题,实现异种移植的伟大梦想!

参考文献:

- [1] ANDERSON DJ, LOCKE JE. Progress towards solving the donor organ shortage[J]. *Nat Rev Nephrol*, 2023, 19(2): 83-84. DOI: 10.1038/s41581-022-00664-y.
- [2] JOHNSTON-WEBBER C, MAH J, PRIONAS A, et al. Solid organ donation and transplantation in the United Kingdom: good governance is key to success[J]. *Transpl Int*, 2023, 36: 11012. DOI: 10.3389/ti.2023.11012.
- [3] 窦科峰,张玄,杨志鹏.中国肝移植的发展与挑战[J]. *中华外科杂志*, 2024, 62(1): 1-5. DOI: 10.3760/cma.j.cn112139-20231030-00202.
- [4] DOU KF, ZHANG X, YANG ZP. Developments and challenges of liver transplantation in China[J]. *Chin J Surg*, 2024, 62(1): 1-5. DOI: 10.3760/cma.j.cn112139-20231030-00202.
- [5] SYKES M. Developing pig-to-human organ transplants[J]. *Science*, 2022, 378(6616): 135-136. DOI: 10.1126/science.abo7935.
- [6] 许艺红,肖义军.猪作为人类器官移植供体的研究进展[J]. *生物学通报*, 2022, 57(11): 1-4. DOI: 10.3969/j.issn.0006-3193.2022.11.001.
- [7] XU YH, XIAO YJ. Research progress on pigs as human organ transplant donors[J]. *Bull Biol*, 2022, 57(11): 1-4. DOI: 10.3969/j.issn.0006-3193.2022.11.001.
- [8] 李霄,窦科峰.突破供肝短缺难题:异种肝移植的发展与创新[J]. *临床肝胆病杂志*, 2022, 38(10): 2201-2205. DOI: 10.3969/j.issn.1001-5256.2022.10.001.
- [9] LI X, DOU KF. Development and progress of liver xenotransplantation: a potential breakthrough for current shortage of donor liver[J]. *J Clin Hepatol*, 2022, 38(10): 2201-2205. DOI: 10.3969/j.issn.1001-5256.2022.10.001.
- [10] SINGH AK, GRIFFITH BP, GOERLICH CE, et al. The road to the first FDA-approved genetically engineered pig heart transplantation into human[J]. *Xenotransplantation*, 2022, 29(5): e12776. DOI: 10.1111/xen.12776.
- [11] CARVALHO T. Two US surgical teams transplant functional pig kidneys into humans in xenotransplantation success[J]. *Nat Med*, 2023, 29(11): 2671-2672. DOI: 10.1038/d41591-023-00078-8.
- [12] LEE KW, PARK SSW, KIM DS, et al. Auxiliary liver xenotransplantation technique in a transgenic pig-to-non-human primate model: a surgical approach to prolong survival[J]. *Xenotransplantation*, 2023, 30(5): e12814. DOI: 10.1111/xen.12814.
- [13] EKSER B, LONG C, ECHEVERRI GJ, et al. Impact of thrombocytopenia on survival of baboons with genetically modified pig liver transplants: clinical relevance[J]. *Am J Transplant*, 2010, 10(2): 273-285. DOI: 10.1111/j.1600-6143.2009.02945.x.
- [14] KIM K, SCHUETZ C, ELIAS N, et al. Up to 9-day survival and control of thrombocytopenia following alpha1, 3-galactosyl transferase knockout swine liver xenotransplantation in baboons[J]. *Xenotransplantation*, 2012, 19(4): 256-264. DOI: 10.1111/j.1399-3089.2012.00717.x.
- [15] NAVARRO-ALVAREZ N, SHAH JA, ZHU A, et al. The effects of exogenous administration of human coagulation factors following pig-to-baboon liver xenotransplantation[J]. *Am J Transplant*, 2016, 16(6): 1715-1725. DOI: 10.1111/ajt.13647.
- [16] SHAH JA, NAVARRO-ALVAREZ N, DEFAZIO M, et al. A bridge to somewhere: 25-day survival after pig-to-baboon liver xenotransplantation[J]. *Ann Surg*, 2016, 263(6): 1069-1071. DOI: 10.1097/SLA.0000000000001659.
- [17] SHAH JA, PATEL MS, ELIAS N, et al. Prolonged survival following pig-to-primate liver xenotransplantation utilizing exogenous coagulation factors and costimulation blockade[J]. *Am J Transplant*, 2017, 17(8): 2178-2185. DOI: 10.1111/ajt.14341.
- [18] YEH H, MACHAIDZE Z, WAMALA I, et al. Increased transfusion-free survival following auxiliary pig liver xenotransplantation[J]. *Xenotransplantation*, 2014, 21(5): 454-464. DOI: 10.1111/xen.12111.
- [19] JI H, LI X, YUE S, et al. Pig BMSCs transfected with human TFPI combat species incompatibility and regulate the human TF pathway in vitro and in a rodent model[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2015, 36(1): 233-249. DOI: 10.1159/000374067.
- [20] ZHANG X, COOPER DKC, DOU K. Genetically-engineered pig-to-human organ transplantation: a new beginning[J]. *Sci Bull (Beijing)*, 2022, 67(18): 1827-1829. DOI: 10.1016/j.scib.2022.08.026.
- [21] LAMM V, EKSER B, VAGEFI PA, et al. Bridging to allotransplantation-is pig liver xenotransplantation the best option?[J]. *Transplantation*, 2022, 106(1): 26-36. DOI: 10.1097/TP.0000000000003722.
- [22] 李霄,陶开山.异种肝移植手术的特点与难点[J]. *临床肝胆病杂志*, 2022, 38(10): 2206-2209. DOI: 10.3969/j.issn.1001-5256.2022.10.002.
- [23] LI X, TAO KS. Liver xenotransplantation techniques: characteristics and difficulties[J]. *J Clin Hepatol*, 2022, 38(10): 2206-2209. DOI: 10.3969/j.issn.1001-5256.2022.10.002.
- [24] CROSS-NAJAFI AA, LOPEZ K, ISIDAN A, et al. Current barriers to clinical liver xenotransplantation[J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 827535. DOI: 10.3389/fimmu.2022.827535.
- [25] CONNOLLY MR, KURAVI K, BURDORF L, et al. Humanized von Willebrand factor reduces platelet sequestration in ex vivo and in vivo xenotransplant

- models[J]. *Xenotransplantation*, 2021, 28(6): e12712. DOI: 10.1111/xen.12712.
- [22] ZHOU Q, LI T, WANG K, et al. Current status of xenotransplantation research and the strategies for preventing xenograft rejection[J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 928173. DOI: 10.3389/fimmu.2022.928173.
- [23] LI T, LV Y, SUN R, et al. Incompatibility between recipient CD47 and donor SIRP α is not a key risk factor for thrombocytopenia or anemia following rat liver xenotransplantation in mice[J]. *Xenotransplantation*, 2021, 28(3): e12657. DOI: 10.1111/xen.12657.
- [24] MAEDA A, KOGATA S, TOYAMA C, et al. The innate cellular immune response in xenotransplantation[J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 858604. DOI: 10.3389/fimmu.2022.858604.
- [25] ZHANG X, LI X, YANG Z, et al. A review of pig liver xenotransplantation: current problems and recent progress[J]. *Xenotransplantation*, 2019, 26(3): e12497. DOI: 10.1111/xen.12497.
- [26] SAMY KP, BUTLER JR, LI P, et al. The role of costimulation blockade in solid organ and islet xenotransplantation[J]. *J Immunol Res*, 2017: 8415205. DOI: 10.1155/2017/8415205.
- [27] GRACIA-SANCHO J, CAPARRÓS E, FERNÁNDEZ-IGLESIAS A, et al. Role of liver sinusoidal endothelial cells in liver diseases[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2021, 18(6): 411-431. DOI: 10.1038/s41575-020-00411-3.
- [28] MCCONNELL MJ, KOSTALLARI E, IBRAHIM SH, et al. The evolving role of liver sinusoidal endothelial cells in liver health and disease[J]. *Hepatology*, 2023, 78(2): 649-669. DOI: 10.1097/HEP.000000000000207.
- [29] PARIS LL, CHIHARA RK, REYES LM, et al. ASGR1 expressed by porcine enriched liver sinusoidal endothelial cells mediates human platelet phagocytosis in vitro[J]. *Xenotransplantation*, 2011, 18(4): 245-51. DOI: 10.1111/j.1399-3089.2011.00639.x.
- [30] KOBAYASHI H, MATSUBARA S, IMANAKA S. The role of tissue factor pathway inhibitor 2 in the coagulation and fibrinolysis system[J]. *J Obstet Gynaecol Res*, 2023, 49(7): 1677-1683. DOI: 10.1111/jog.15660.
- [31] MAST AE, RUF W. Regulation of coagulation by tissue factor pathway inhibitor: implications for hemophilia therapy[J]. *J Thromb Haemost*, 2022, 20(6): 1290-1300. DOI: 10.1111/jth.15697.
- [32] WITTIG J, DREKOLIA MK, KYSELOVA A, et al. Endothelial-dependent S-Sulfhydration of tissue factor pathway inhibitor regulates blood coagulation[J]. *Redox Biol*, 2023, 62: 102694. DOI: 10.1016/j.redox.2023.102694.
- [33] COOPER DKC. The long and winding road to clinical xenotransplantation: a personal journey[J]. *Eur Surg Res*, 2022, 63(4): 165-172. DOI: 10.1159/000525757.
- [34] RAMIREZ P, CHAVEZ R, MAJADO M, et al. Transgenic pig-to-baboon liver xenotransplantation: clinical, biochemical, and immunologic pattern of delayed acute vascular rejection[J]. *Transplant Proc*, 2002, 34(1): 319-320. DOI: 10.1016/s0041-1345(01)02834-2.
- [35] SCHMELZLE M, COWAN PJ, ROBSON SC. Which anti-platelet therapies might be beneficial in xenotransplantation?[J]. *Xenotransplantation*, 2011, 18(2): 79-87. DOI: 10.1111/j.1399-3089.2011.00628.x.
- [36] MATCZYŃSKA D, SYPNIEWSKI D, GAŁKA S, et al. Analysis of swine leukocyte antigen class I gene profiles and porcine endogenous retrovirus viremia level in a transgenic porcine herd inbred for xenotransplantation research[J]. *J Vet Sci*, 2018, 19(3): 384-392. DOI: 10.4142/jvs.2018.19.3.384.
- [37] MORTICELLI L, ROSSDAM C, CAJIC S, et al. Genetic knockout of porcine GGTA1 or CMAH/GGTA1 is associated with the emergence of neo-glycans[J]. *Xenotransplantation*, 2023, 30(4): e12804. DOI: 10.1111/xen.12804.
- [38] CROSS-NAJAFI AA, FARAG K, ISIDAN A, et al. Co-expression of HLA-E and HLA-G on genetically modified porcine endothelial cells attenuates human NK cell-mediated degranulation[J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1217809. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1217809.

(收稿日期: 2024-02-01)

(本文编辑: 方引超 邬加佳)