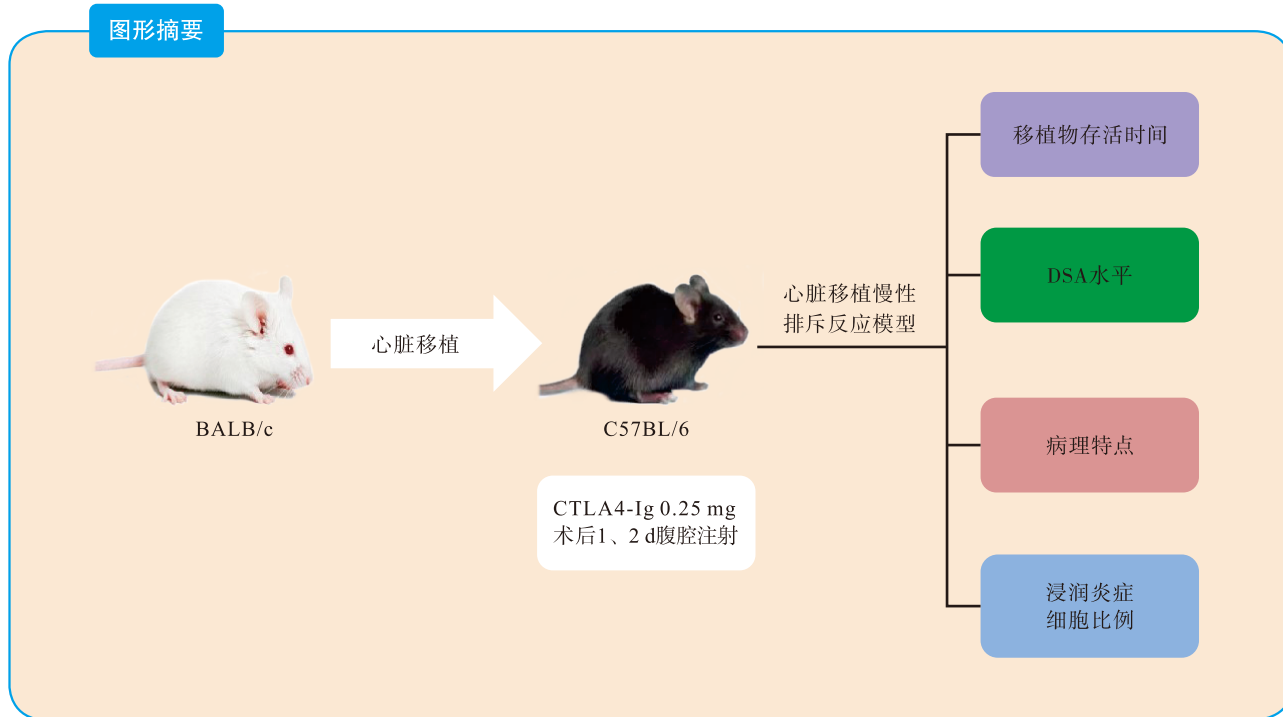


小鼠心脏移植慢性排斥反应模型的建立和分析

张薇 张庆容 马茂林 冷强华 韩飞



【摘要】 目的 建立小鼠心脏移植慢性排斥反应（CR）模型并分析其特点。方法 以异基因 BALB/c 和 C57BL/6 小鼠分别为供体和受体行心脏移植，于术后 1、2 d 给予腹腔注射细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原 4 免疫球蛋白（CTLA4-Ig）。观察移植存活时间、供者特异性抗体（DSA）水平、移植病理学表现和炎症细胞浸润情况。结果 异基因移植模型中，CTLA4-Ig 治疗后移植存活时间延长 [(28.2±4.1) d 比 (7.0±0.7) d, $P<0.01$]；术后第 2、3、4 周血清 DSA-IgG 水平升高，DSA-IgM 水平不变；术后 3 周移植心脏心肌细胞损伤、炎症细胞浸润、间质纤维化和毛细血管内 C4d 沉积，且术后第 4 周加重；移植体内浸润的免疫细胞主要为巨噬细胞、T 细胞和浆细胞。结论 利用小鼠异基因心脏移植加用 CTLA4-Ig 成功建立了 CR 模型，为后续 CR 的发病机制和干预研究提供基础。

【关键词】 心脏移植；慢性排斥反应；动物模型；小鼠；细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原 4 免疫球蛋白；供者特异性抗体；免疫细胞；炎症细胞浸润

【中图分类号】 R617, R392.4 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1674-7445 (2025) 01-0010-07

DOI: 10.12464/j.issn.1674-7445.2024215

基金项目：国家自然科学基金（82200847）；广州市科技计划项目（2024A03J0765）

作者单位：510630 广州，中山大学附属第三医院肾移植科

作者简介：张薇（ORCID 0009-0008-0118-5461），本科，研究方向为移植免疫，Email: 951651291@qq.com

通信作者：韩飞（ORCID 0009-0000-8775-6633），博士，研究方向为移植免疫，Email: hanf23@mail.sysu.edu.cn

Establishment and analysis of chronic rejection model of mouse heart transplantation Zhang Wei, Zhang Qingrong, Ma Maolin, Leng Qianghua, Han Fei. Department of Kidney Transplantation, the Third Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510630, China
Corresponding author: Han Fei, Email: hanf23@mail.sysu.edu.cn

【 Abstract 】 Objective To establish a chronic rejection (CR) model of mouse heart transplantation and analyze its characteristics. **Methods** Allogeneic BALB/c and C57BL/6 mice were used as donor and recipient for heart transplantation, and intraperitoneal injection of cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4-immunoglobulin (CTLA4-Ig) was given 1 and 2 days after surgery. Graft survival time, donor specific antibody (DSA) level, graft pathology and inflammatory cell infiltration were observed. **Results** In allogeneic transplantation model, graft survival time was prolonged after CTLA4-Ig treatment [(28.2±4.1) d vs. (7.0±0.7) d, $P < 0.01$]. The level of serum DSA-IgG increased at 2, 3 and 4 weeks after surgery, while the level of DSA-IgM remained unchanged. Myocardial cell injury, inflammatory cell infiltration, interstitial fibrosis and C4d deposition in capillaries were aggravated 3 weeks after operation and worsened 4 weeks after operation. The infiltrated immune cells were mainly macrophages, T cells and plasma cells. **Conclusions** Mouse allogeneic heart transplantation combined with CTLA4-Ig successfully establishes a CR model, which provides a basis for subsequent studies on the pathogenesis and intervention of CR.

【 Key words 】 Heart transplantation; Chronic rejection; Animal model; Mouse; Cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4-immunoglobulin; Donor specific antibody; Immune cell; Inflammatory cell infiltration

排斥反应是导致移植心脏丢失的最主要因素，而 T 细胞和 B 细胞活化是引发排斥反应的主要原因^[1-5]。随着医疗技术的发展以及免疫抑制药的更新换代，移植术后急性排斥反应已经得到了很好的控制，但 B 细胞活化分化后产生的供者特异性抗体（donor specific antibody, DSA）介导的排斥反应发生率仍较高^[6-9]，尤其是慢性排斥反应（chronic rejection, CR），目前现有的治疗方法效果欠佳，也是导致移植心脏丢失的主要原因^[10-16]。CR 是移植领域研究的热点，探索 CR 的发病机制以及新的治疗方法，对于临床工作具有重要的意义。

CR 的发生发展由多种因素参与。首先，DSA 与移植物血管内皮细胞表面抗原结合后激活补体系统，对移植物血管造成损伤，这个过程中补体裂解片段 C4d 可以共价结合在移植物毛细血管内；其次，C3a 和 C5a 等趋化因子会募集巨噬细胞、T 细胞等炎症细胞到移植物内损伤移植物^[17-23]；另外，在成纤维细胞和巨噬细胞的作用下移植物间质不断出现纤维化^[24-25]。所以，血清 DSA 升高、移植物损伤、炎症细胞浸润、间质纤维化和毛细血管内 C4d 沉积是 CR 的特征性表现。

疾病的基础研究依赖动物模型，所以小鼠心脏移植 CR 模型的建立尤为重要。临床上 CR 的发生主要为免疫抑制不足导致 B 细胞活化和 DSA 的产生^[26]。

本研究根据 CR 发生的临床特点，建立更加符合临床特点和实用性强的 CR 模型，利用转基因小鼠心脏移植后使用细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原白 4 免疫球蛋白（cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4-immunoglobulin, CTLA4-Ig）来控制术后的急性排斥反应，从而诱导和建立 CR 模型，并从移植物存活、血清 DSA 水平、移植物病理学表现和炎症细胞浸润类型对该模型进行分析。

1 材料与方法

1.1 动物和设备

雄性 6~8 周龄 BALB/c (H-2^d) 和 C57BL/6 (H-2^b) 购自北京维通利华实验动物技术有限公司，饲养于广州吉妮欧生物科技有限公司无特定病原体（specific pathogen free, SPF）级小鼠饲养室。所有动物操作均符合标准，且通过伦理委员会批准（编号：JENNIO-IACUC-2024-A027）。

手术设备主要包括连续变焦双面体视手术显微镜、流式细胞仪、小动物气体麻醉系统、可控数显恒温手术台和整套显微手术器械。

1.2 实验分组

实验分为 3 组，第一组为对照组：将 C57BL/6 小鼠的心脏移植给同系的 C57BL/6 小鼠；第二组为转基因移植组，将 BALB/c 小鼠的心脏移植给 C57BL/6

小鼠, 建立急性排斥反应模型; 第三组为异基因移植+CTLA4-Ig 组, 将 BALB/c 小鼠的心脏移植给 C57BL/6 小鼠, 在术后 1、2 d 给予受体小鼠腹腔注射 CTLA4-Ig 0.25 mg (美国 BioXCell 公司), 建立 CR 模型。每组 5 只观察移植物存活时间, 4 只获取血清和移植物标本进行检测。因异基因移植组受体死亡时间较早, 只观察移植物存活时间。

手术方法参考文献 [27], 暴露供体小鼠下腔静脉后肝素化, 暴露心脏, 离断主动脉和肺动脉主干, 其余血管结扎, 取出供心后保存。游离受体小鼠腹主动脉和下腔静脉后阻断, 供体主动脉与受体腹主动脉行端侧吻合, 供体肺动脉与受体下腔静脉行端侧吻合。

1.3 DSA 水平检测

对照组和异基因移植+CTLA4-Ig 组于手术当天以及术后第 1、2、3、4 周留取血标本。将受体血清与供体的脾细胞共孵育, 然后与异硫氰酸荧光素 (fluorescein isothiocyanate, FITC) 标记的山羊抗小鼠 IgG 抗体和罗丹明标记的山羊抗小鼠 IgM 抗体共孵育, 采用流式细胞仪检测平均荧光强度 (mean fluorescence intensity, MFI) 分析 DSA 水平。

1.4 移植心脏病理学检查

对照组于术后第 3 周获取移植心脏进行病理检测, 异基因移植+CTLA4-Ig 组于术后 3、4 周获取移植物标本。进行 Masson 和苏木素-伊红 (hematoxylin-eosin, HE) 染色, 观察移植心脏的病理学变化。心脏组织石蜡切片脱蜡并抗原修复后, 加入 CD68 (1:400)、C4d (1:200)、CD3 (1:200)、CD19 (1:1000) 和 CD138 (1:500) 抗体, 过夜后加入相应的二抗, 经过孵育, 洗涤后加入显示剂二氨基联苯胺, 苏木素复染后吹干封片, 光镜下观察

C4d 沉积及细胞浸润情况。

1.5 流式细胞术

异基因移植+CTLA4-Ig 组于术后第 3 周获取移植物标本, 在培养基中研磨后用尼龙网过滤获得单细胞悬液后裂解红细胞。单细胞悬液加入带荧光染色的流式抗体, 包括 APC-Cy7-CD45、PE-CD11b、APC-F4/80、AF700-CD3、PE-Dazzle-CD19 和 PE-CD138 (均购自美国 BioLegend 公司)。通过 CytExpert 流式细胞仪 (美国 Beckman Coulter 公司) 进行分析。

1.6 统计学方法

采用 SPSS 22.0 进行统计学分析。符合正态分布的计量资料以均数±标准差表示, 组间比较采用 *t* 检验。采用 Kaplan-Meier 法分析移植心脏的存活率。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

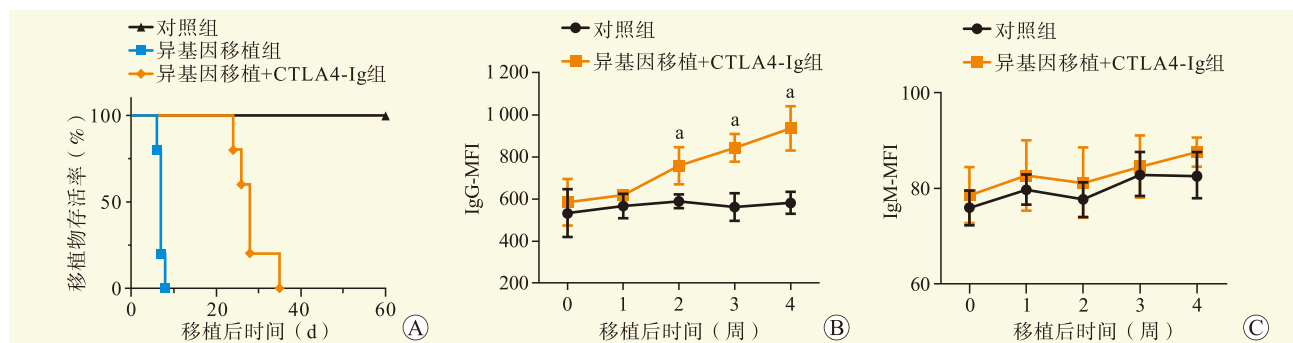
2 结果

2.1 心脏移植物存活时间和血清 DSA 水平

对照组未发生排斥反应, 移植物在 2 个月观察期内均存活; 异基因移植组发生急性排斥反应, 移植物存活时间为 (7.0±0.7) d; 异基因移植+CTLA4-Ig 组移植物存活时间延长至 (28.2±4.1) d, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$, 图 1A)。与对照组比较, 异基因移植+CTLA4-Ig 组术后 2 周血清 DSA-IgG 水平升高, DSA-IgM 水平差异均无统计学意义 (图 1B、C)。

2.2 心脏移植物病理学特点

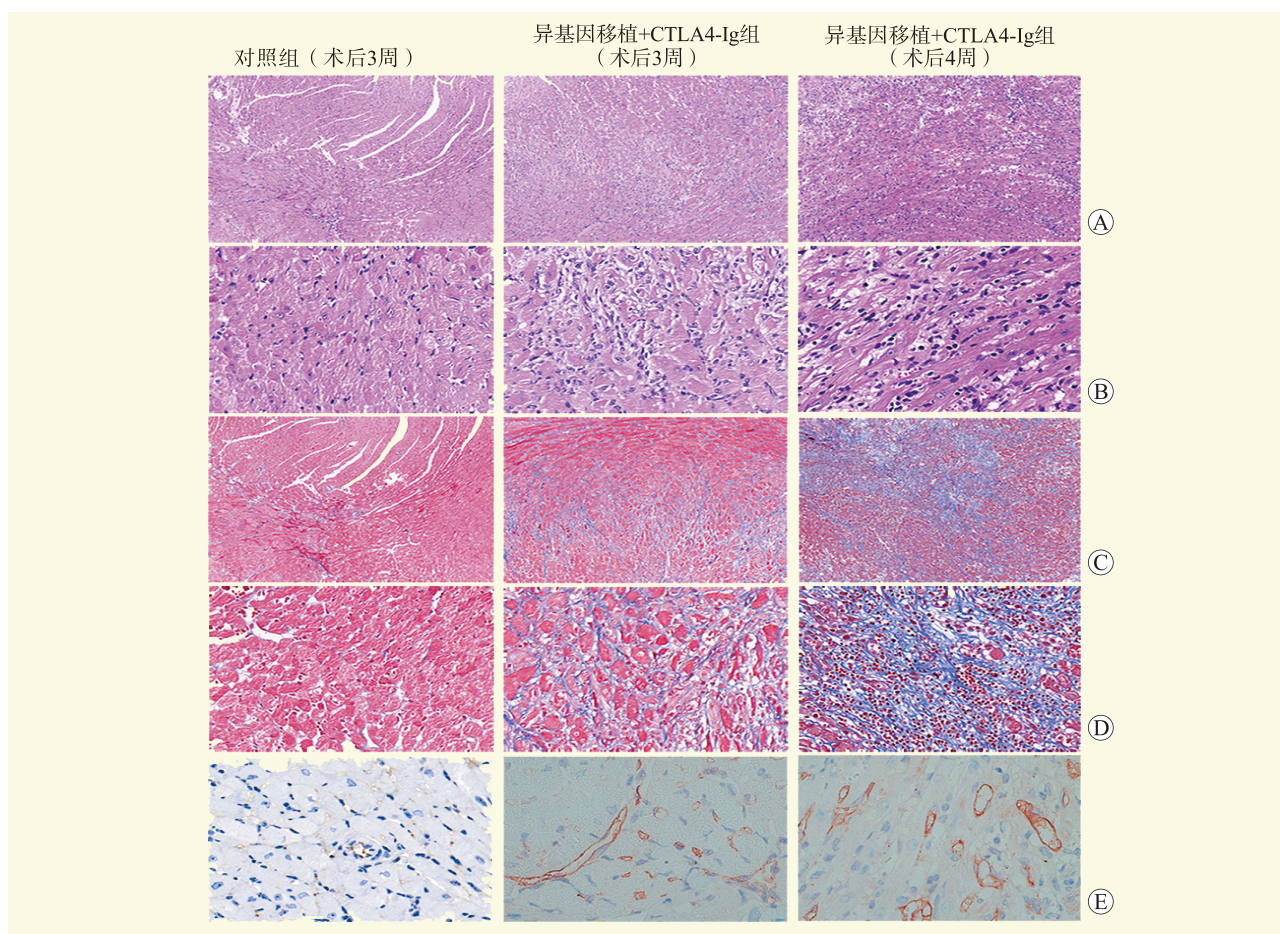
对照组术后 3 周心肌细胞中有少量的炎症细胞浸润, 细胞结构基本正常, 毛细血管内 C4d 染色阴性; 异基因移植+CTLA4-Ig 组术后 3 周表现出明显的心肌细胞坏死、炎症细胞浸润、毛细血管内 C4d 沉积、心肌细胞间质纤维化, 且在术后第 4 周病理改变更加明显 (图 2)。



注: A 图为移植物存活率; B 图为血清 DSA-IgG 水平; C 图为血清 DSA-IgM 水平。与对照组比较, ^a $P < 0.05$ 。

图 1 各组心脏移植物存活曲线以及术后 DSA 水平

Figure 1 Survival curves of cardiac allografts and postoperative DSA levels of each group



注：A 图为 HE 染色（ $\times 100$ ）；B 图为 HE 染色（ $\times 400$ ）；C 图为 Masson 染色（ $\times 100$ ）；D 图为 Masson 染色（ $\times 400$ ）；E 图为 C4d 染色（ $\times 100$ ）。

图 2 各组受体小鼠心脏移植物的病理学表现和 C4d 染色

Figure 2 Pathological manifestations and C4d staining of cardiac grafts from recipient mice in each group

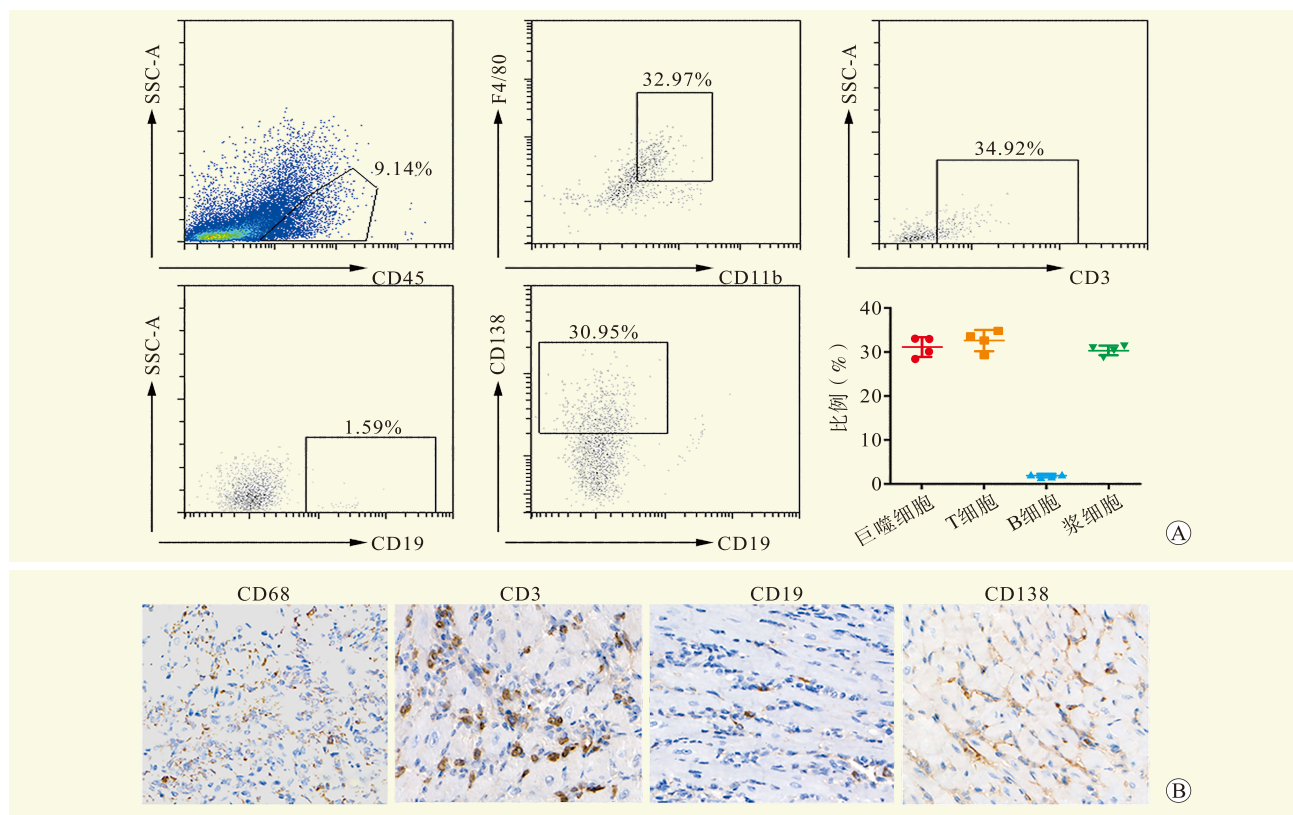
2.3 心脏移植体内浸润免疫细胞

异基因移植+CTLA4-Ig 组术后 3 周移植体内有大量免疫细胞浸润，白细胞（ $CD45^+$ ）占（ 8.2 ± 0.8 ）%。进一步分类发现巨噬细胞（ $CD11b^+F4/80^+$ ）、T 细胞（ $CD3^+$ ）、B 细胞（ $CD19^+$ ）和浆细胞（ $CD19^-CD138^+$ ）分别为（ 31.2 ± 2.3 ）%、（ 32.7 ± 2.4 ）%、（ 1.8 ± 0.4 ）% 和（ 30.4 ± 1.1 ）%（图 3A）。移植体内巨噬细胞、T 细胞、B 细胞和浆细胞浸润情况见图 3B。

3 讨论

临床上 CR 的发生主要是由于免疫抑制相对不足，使得 B 细胞激活后产生 DSA 联合多种炎症细胞对移植体进行慢性损伤^[28-31]。另外，巨噬细胞和成纤维细胞参与移植体间质纤维化的过程^[32-34]。目前，CR 是临床上的治疗难点，也是科研上研究的热点^[35-38]，因此，需要小鼠的 CR 模型来进行更加深入的研究。

既往也有一些建立 CR 模型的方法，比如使用单纯主要组织相容性复合体 II 不同的 B6.C-H-^{2bm12}KhEg（^{bm12}, H-2^{bm12}）和 C57BL/6（B6, H-2^b）小鼠分别为供体和受体行心脏移植^[39]，也有使用基因敲除受体小鼠 $CD4^+$ T 细胞抑制急性排斥反应从而诱导 CR 的方法^[40]。但这些方法都与临床患者发生 CR 的原因不同，建立的模型不能更好地反映临床问题。T 细胞活化和 B 细胞活化后产生 DSA 是导致排斥反应的主要原因，本研究在小鼠心脏移植术后 1、2 d 使用 CTLA4-Ig，可以在短时间内抑制 T 细胞的活性，从而抑制急性 T 细胞介导的排斥反应。随着移植后时间的延长，B 细胞、T 细胞和先天免疫细胞活化后 DSA 的生成导致 CR。本研究在术后进行模型的验证，发现术后 2 周开始 DSA 水平升高，术后 3、4 周移植体表现为心肌细胞损伤、炎症细胞浸润、间质纤



注：A 图为免疫细胞流式细胞术结果；B 图从左到右依次为巨噬细胞、T 细胞、B 细胞、浆细胞浸润情况（免疫组化， $\times 400$ ）。

图 3 心脏移植免疫细胞浸润情况

Figure 3 Infiltration of immune cells in transplant hearts

维化和毛细血管内 C4d 沉积，是典型的 CR 特点。所以，本方法建立的 CR 模型更加符合临床特点，且具有更强的实用性。

事实上，国外文献已有报道此方法建立 CR 模型^[41-42]，笔者团队前期也利用本模型证实了阻断 B 细胞刺激因子和布鲁顿氏酪氨酸激酶均可有效防治 CR^[43-44]，但是国内未有报道。本研究进一步分析了移植中浸润免疫细胞的类型，发现为中等比例的巨噬细胞、T 细胞和浆细胞以及少量 B 细胞，证实了这些免疫细胞在 CR 中具有重要的作用，后续我们也将更加深入地研究这些细胞在 CR 中的具体作用机制。

综上所述，本研究通过在转基因小鼠心脏移植的模型中，使用 CTLA4-Ig 诱导建立了 CR 模型，该模型的组织学和血清学均符合临床 CR 实际特点，为后续的研究提供模型基础。

参考文献:

- [1] CALLEMEYN J, LAMARTHÉE B, KOENIG A, et al. Allorecognition and the spectrum of kidney transplant rejection[J]. *Kidney Int*, 2022, 101(4): 692-710. DOI: 10.1016/j.kint.2021.11.029.
- [2] DUNETON C, WINTERBERG P D, FORD M L. Activation and regulation of alloreactive T cell immunity in solid organ transplantation[J]. *Nat Rev Nephrol*, 2022, 18(10):663-676.DOI:10.1038/s41581-022-00600-0.
- [3] COZZI E, COLPO A, DE SILVESTRO G. The mechanisms of rejection in solid organ transplantation[J]. *Transfus Apher Sci*, 2017, 56(4): 498-505. DOI: 10.1016/j.transci.2017.07.005.
- [4] WU M Y, ALI KHAWAJA R D, VARGAS D. Heart transplantation: indications, surgical techniques, and complications[J]. *Radiol Clin North Am*, 2023, 61(5): 847-859. DOI: 10.1016/j.rcl.2023.04.011.
- [5] TAMARGO C L, KANT S. Pathophysiology of rejection in kidney transplantation[J]. *J Clin Med*, 2023, 12(12): 4130. DOI: 10.3390/jcm12124130.
- [6] LEE B T, FIEL M I, SCHIANO T D. Antibody-mediated rejection of the liver allograft: an update and a clinicopathological perspective[J]. *J Hepatol*, 2021, 75(5): 1203-1216. DOI: 10.1016/j.jhep.2021.07.027.
- [7] HALVERSON L P, HACHEM R R. Antibody-mediated rejection: diagnosis and treatment[J]. *Clin Chest Med*, 2023, 44(1): 95-103. DOI: 10.1016/j.ccm.2022.10.008.

- [8] SASAKI H, TANABE T, TSUJI T, et al. Mechanism and treatment for chronic antibody-mediated rejection in kidney transplant recipients[J]. *Int J Urol*, 2023, 30(8): 624-633. DOI: 10.1111/iju.15197.
- [9] 中国医药生物技术协会移植技术分会, 上海市肾脏移植质控中心专家委员会. 肾移植后期抗体介导排斥反应防治专家共识[J]. *中华医学杂志*, 2022, 102(26): 1973-1981. DOI: 10.3760/cma.j.cn112137-20220129-00217. Branch of Transplantation Technology of China Medical Biotech Association, Expert Committee of Shanghai Kidney Transplantation Quality Control Center. Expert consensus on the prevention and treatment of antibody mediated rejection in the late stage of kidney transplantation[J]. *Natl Med J China*, 2022, 102(26): 1973-1981. DOI: 10.3760/cma.j.cn112137-20220129-00217.
- [10] ZUBAIR H, AZIM S, MALUF D G, et al. Contribution of proteomics in transplantation: identification of injury and rejection markers[J]. *Transplantation*, 2023, 107(10): 2143-2154. DOI: 10.1097/TP.0000000000004542.
- [11] KUMAR A, GARCHA P S. Chronic lung allograft dysfunction[J]. *Indian J Thorac Cardiovasc Surg*, 2022, 38(Suppl 2): 318-325. DOI: 10.1007/s12055-021-01228-8.
- [12] BEDAIR B, HACHEM R R. Management of chronic rejection after lung transplantation[J]. *J Thorac Dis*, 2021, 13(11): 6645-6653. DOI: 10.21037/jtd-2021-19.
- [13] LAI X, ZHENG X, MATHEW J M, et al. Tackling chronic kidney transplant rejection: challenges and promises[J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 661643. DOI: 10.3389/fimmu.2021.661643.
- [14] HUSAIN A N, MIRZA K M, FEDSON S E. Routine C4d immunohistochemistry in cardiac allografts: long-term outcomes[J]. *J Heart Lung Transplant*, 2017, 36(12): 1329-1335. DOI: 10.1016/j.healun.2017.09.004.
- [15] KFOURY A G, HAMMOND M E H, SNOW G L, et al. Cardiovascular mortality among heart transplant recipients with asymptomatic antibody-mediated or stable mixed cellular and antibody-mediated rejection[J]. *J Heart Lung Transplant*, 2009, 28(8): 781-784. DOI: 10.1016/j.healun.2009.04.035.
- [16] LOUPY A, TOQUET C, ROUVIER P, et al. Late failing heart allografts: pathology of cardiac allograft vasculopathy and association with antibody-mediated rejection[J]. *Am J Transplant*, 2016, 16(1): 111-120. DOI: 10.1111/ajt.13529.
- [17] CHONG A S, ROTHSTEIN D M, SAFA K, et al. Outstanding questions in transplantation: B cells, alloantibodies, and humoral rejection[J]. *Am J Transplant*, 2019, 19(8): 2155-2163. DOI: 10.1111/ajt.15323.
- [18] CHONG A S. Mechanisms of organ transplant injury mediated by B cells and antibodies: implications for antibody-mediated rejection[J]. *Am J Transplant*, 2020, 20(Suppl 4): 23-32. DOI: 10.1111/ajt.15844.
- [19] ZHANG R. Donor-specific antibodies in kidney transplant recipients[J]. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2018, 13(1): 182-192. DOI: 10.2215/CJN.00700117.
- [20] GILL R G, LIN C M. Linking innate immunity and chronic antibody-mediated allograft rejection[J]. *Curr Opin Organ Transplant*, 2019, 24(6): 694-698. DOI: 10.1097/MOT.0000000000000708.
- [21] KHAN M A, SHAMMA T. Complement factor and T-cell interactions during alloimmune inflammation in transplantation[J]. *J Leukoc Biol*, 2019, 105(4): 681-694. DOI: 10.1002/JLB.5RU0718-288R.
- [22] 袁观斗, 陈军泽, 张诚, 等. 补体激活参与脑死亡诱导的供肝损伤及移植后级联损伤[J]. *中华实验外科杂志*, 2023, 40(3): 464-468. DOI: 10.3760/cma.j.cn421213-20220901-01266. YUAN G D, CHEN J Z, ZHANG C, et al. Complement activation participates in donor liver injury induced by brain death and post-transplantation cascade injury[J]. *Chin J Exp Surg*, 2023, 40(3): 464-468. DOI: 10.3760/cma.j.cn421213-20220901-01266.
- [23] HARA S. Current pathological perspectives on chronic rejection in renal allografts[J]. *Clin Exp Nephrol*, 2017, 21(6): 943-951. DOI: 10.1007/s10157-016-1361-x.
- [24] STALLONE G, PONTRELLI P, RASCIO F, et al. Coagulation and fibrinolysis in kidney graft rejection[J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 1807. DOI: 10.3389/fimmu.2020.01807.
- [25] WANG Y Y, JIANG H, PAN J, et al. Macrophage-to-myofibroblast transition contributes to interstitial fibrosis in chronic renal allograft injury[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2017, 28(7): 2053-2067. DOI: 10.1681/ASN.2016050573.
- [26] CHONG A S, HABAL M V. From bench to bedside: reversing established antibody responses and desensitization[J]. *Curr Opin Organ Transplant*, 2022, 27(5): 376-384. DOI: 10.1097/MOT.0000000000001009.
- [27] 廖涛, 杨哲, 张燕楠, 等. 小鼠心脏移植急性抗体介导的排斥反应模型的建立和分析[J]. *器官移植*, 2020, 11(3): 362-368. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7445.2020.03.007. LIAO T, YANG Z, ZHANG Y N, et al. Establishment and analysis of mouse model of acute antibody-mediated rejection in heart transplantation[J]. *Organ Transplant*, 2020, 11(3): 362-368. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7445.2020.03.007.
- [28] BERGER M, BALIKER M, VAN GELDER T, et al. Chronic active antibody-mediated rejection: opportunity to determine the role of interleukin-6 blockade[J]. *Transplantation*, 2024, 108(5): 1109-1114. DOI: 10.1097/TP.0000000000004822.
- [29] JEAN K. Defining chronic rejection in vascularized composite allografts - do we have reliable surrogates to look for?[J]. *Curr Opin Organ Transplant*, 2023, 28(6): 440-445. DOI: 10.1097/MOT.0000000000001110.
- [30] EVANS R A, WALTER K S, LOBO L J, et al. Pharmacotherapy of chronic lung allograft dysfunction post lung transplantation[J]. *Clin Transplant*, 2022, 36(8): e14770. DOI: 10.1111/ctr.14770.

- [31] SIEŃKO J, KOTOWSKI M, CZARNECKA W, et al. Microchimerism as post-transplant marker of a chronic rejection process[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(13): 10603. DOI: 10.3390/ijms241310603.
- [32] MODENA B D, KURIAN S M, GABER L W, et al. Gene expression in biopsies of acute rejection and interstitial fibrosis/tubular atrophy reveals highly shared mechanisms that correlate with worse long-term outcomes[J]. *Am J Transplant*, 2016, 16(7): 1982-1998. DOI: 10.1111/ajt.13728.
- [33] 杨迷玲,徐宪伟,张果,等. M2 型巨噬细胞在移植肾上皮-间质转化中的作用[J]. *现代泌尿外科杂志*, 2019, 24(4): 305-308. DOI: 10.3969/j.issn.1009-8291.2019.04.014.
YANG M L, XU X W, ZHANG G, et al. The role of M2-type macrophages in epithelial-mesenchymal transition of kidney allograft[J]. *J Mod Urol*, 2019, 24(4): 305-308. DOI: 10.3969/j.issn.1009-8291.2019.04.014.
- [34] 李海涛,俞赛花,陈丽红,等. 间充质干细胞联合免疫抑制剂对肝移植大鼠模型免疫排斥的影响[J]. *临床肝胆病杂志*, 2024, 40(6): 1209-1214. DOI: 10.12449/JCH240622.
LI H T, YU S H, CHEN L H, et al. Effect of mesenchymal stem cells combined with immunosuppressants on immune rejection in a rat model of liver transplantation[J]. *J Clin Hepatol*, 2024, 40(6): 1209-1214. DOI: 10.12449/JCH240622.
- [35] VASCO M, BENINCASA G, FIORITO C, et al. Clinical epigenetics and acute/chronic rejection in solid organ transplantation: an update[J]. *Transplant Rev (Orlando)*, 2021, 35(2): 100609. DOI: 10.1016/j.trre.2021.100609.
- [36] KIM M Y, BRENNAN D C. Therapies for chronic allograft rejection[J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 651222. DOI: 10.3389/fphar.2021.651222.
- [37] 蒋欣,曲青山,房军,等. 蛋白酪氨酸激酶 2/信号传导与转录激活因子 3 信号通路在大鼠肾脏移植慢性排斥反应中的作用机制[J]. *临床内科杂志*, 2020, 37(6): 440-443.
JIANG X, QU Q S, FANG J, et al. Mechanism of Janus family of tyrosine kinases 2/signal transduction and transcription activator 3 signaling pathway in chronic rejection of kidney transplantation in rats[J]. *J Clin Inter Med*, 2020, 37(6): 440-443.
- [38] 房军,谷东风,王振璞,等. miR-188-5p 通过靶向调控丝裂原活化蛋白激酶信号通路对大鼠移植肾慢性排斥反应的作用[J]. *中华实用诊断与治疗杂志*, 2020, 34(6): 555-559. DOI: 10.13507/j.issn.1674-3474.2020.06.005.
FANG J, GU D F, WANG Z P, et al. Effect of miR-188-5p on the chronic rejection of transplanted kidney through targeted regulation of MAPK signaling pathway[J]. *J Chin Pract Diagn Ther*, 2020, 34(6): 555-559. DOI: 10.13507/j.issn.1674-3474.2020.06.005.
- [39] KONG G, CHEN Y, LIU Z, et al. Adenovirus-IL-10 relieves chronic rejection after mouse heart transplantation by inhibiting miR-155 and activating SOCS5[J]. *Int J Med Sci*, 2023, 20(2): 172-185. DOI: 10.7150/ijms.77093.
- [40] BALAM S, BUCHTLER S, WINTER F, et al. Donor- but not recipient-derived cells produce collagen-1 in chronically rejected cardiac allografts[J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 816509. DOI: 10.3389/fimmu.2021.816509.
- [41] WANG G, ZOU D, WANG Y, et al. IRF4 ablation in B cells abrogates allogeneic B cell responses and prevents chronic transplant rejection[J]. *J Heart Lung Transplant*, 2021, 40(10): 1122-1132. DOI: 10.1016/j.healun.2021.06.008.
- [42] WU C, ZHAO Y, XIAO X, et al. Graft-infiltrating macrophages adopt an M2 phenotype and are inhibited by purinergic receptor P2X7 antagonist in chronic rejection[J]. *Am J Transplant*, 2016, 16(9): 2563-2573. DOI: 10.1111/ajt.13808.
- [43] LIAO T, SHI X, HAN F, et al. Blockade of BLyS inhibits B-cell responses and antibody production for the prevention of chronic transplant rejection[J]. *J Heart Lung Transplant*, 2024, 43(4): 652-662. DOI: 10.1016/j.healun.2023.12.001.
- [44] HAN F, SHI X, LIAO T, et al. Bruton's tyrosine kinase ablation inhibits B cell responses and antibody production for the prevention of chronic rejection in cardiac transplantation[J]. *Clin Immunol*, 2024, 261: 109941. DOI: 10.1016/j.clim.2024.109941.

(收稿日期: 2024-08-18)

(本文编辑: 方引超 吴秋玲)