

异种器官移植排斥反应及其预防治疗策略

何小舟 付嘉钊 周萃星

【摘要】 异种器官移植是解决人类器官短缺问题的潜在方案。在过去的上百年里，异种器官移植经历了早期尝试和不断进步，目前已进入新的高速发展阶段，取得了一系列的成果，但异种器官移植排斥反应的管理较同种异体器官移植排斥反应更为棘手。为此，研究者们开发出了一系列免疫抑制策略，如使用基因修饰猪供体、使用传统和新型免疫抑制药、将供体猪的胸腺与供器官一同移植等，以实现调整受体免疫系统反应，降低排斥反应强度并延长移植体存活时间。本文就异种器官移植排斥反应发生机制、预防和治疗策略的相关研究进行评述，以期为促进异种器官移植的进一步发展提供参考。

【关键词】 异种移植；器官移植；排斥反应；基因修饰猪；免疫抑制药；共刺激阻滞剂；细胞治疗；补体
【中图分类号】 R617, Q78 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1674-7445 (2024) 05-0009-07

Xenotransplantation rejection and preventive and therapeutic strategies He Xiaozhou*, Fu Jiazhao, Zhou Cuixing.
*Department of Urology, the Third Affiliated Hospital of Soochow University, Changzhou 213000, China
Corresponding author: He Xiaozhou, Email: hyx@suda.edu.cn

【Abstract】 Xenotransplantation is a potential solution to the shortage of human organs. In the previous 100 years, xenotransplantation has witnessed preliminary attempts and persistent progress. At present, it has entered a new stage of rapid development and achieved a series of results. Nevertheless, the management of xenotransplantation rejection is more challenging compared with that of allogeneic organ transplantation rejection. Therefore, researchers have developed a series of immunosuppressive strategies, such as use of genetically modified pig donors, use of traditional and novel immunosuppressants, and co-transplantation of donor pig thymus with donor organs, aiming to adjust the immune system response of recipients, mitigate the intensity of rejection and prolong the survival time of grafts. In this article, research progress in the mechanism, prevention and treatment strategies of xenotransplantation rejection was reviewed, aiming to provide reference for accelerating subsequent development of xenotransplantation.

【Key words】 Xenotransplantation; Organ transplantation; Rejection; Genetically modified pig; Immunosuppressant; Co stimulatory blocker; Cell therapy; Complement



作者简介: 何小舟, 教授, 主任医师, 博士研究生导师, 享受国务院特殊津贴专家。兼任中华医学会器官移植学分会委员、中国医疗保健国际交流促进会肾脏移植分会常务委员、中国医师协会器官移植医师分会委员、江苏省医学会器官移植学分会现任主任委员、江苏省医师学会器官移植医师分会现任会长。兼任《中华医学科研管理杂志》特邀副主编、《中华医学杂志》特约编委、《中华中西医杂志》常务编委、《器官移植》杂志编委。先后主持或参与国家级、省部级、市局级科研项目 40 余项, 发表论文 100 余篇, 其中 SCI 论文 50 余篇, 参编专著 6 部。

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7445.2024079

基金项目: 江苏省自然科学基金 (BK20211064)

作者单位: 213000 江苏常州, 苏州大学附属第三医院泌尿外科 (何小舟、付嘉钊、周萃星); 海军军医大学第一附属医院器官移植中心 (付嘉钊)

通信作者: 何小舟 (ORCID 0000-0002-7969-7386), Email: hyx@suda.edu.cn

器官移植是治疗终末期器官衰竭的最有效手段,然而器官供者来源短缺一直限制着器官移植的普及和发展,很多需要进行器官移植的患者在等待供者过程中死亡。异种移植因其解决器官短缺问题的巨大潜力而备受关注。然而,异种移植目前存在诸多尚未解决的难题,其中比较棘手的就是比同种移植排斥反应更加难以应对的异种移植排斥反应。因此,本文就异种移植排斥反应的研究进展进行评述,以期对异种移植的进一步应用发展提供参考。

1 异种器官移植排斥反应的免疫抑制

在异种移植中,固有免疫系统和适应性免疫系统共同作用,形成了复杂的免疫应答反应。固有免疫系统通过模式识别受体识别异种器官,迅速启动炎症反应。受体体内预存的天然抗体也可能与供体组织发生反应,引发快速而剧烈的排斥反应。适应性免疫系统则通过特异性抗原识别,产生 T 细胞免疫应答或 B 细胞活化分泌抗体,两者的相互作用导致了异种移植排斥反应的多样性和复杂性,使得移植器官的存活面临重大挑战。

1.1 固有免疫

预存抗体、补体、巨噬细胞、自然杀伤(nature killer, NK)细胞等组成的固有免疫系统是异种移植的第一道免疫障碍。

1.1.1 预存抗体 预存抗体在供器官与受体血流接触即刻就开始相互作用,是引起超急性排斥反应的罪魁祸首。以 α -1,3-半乳糖(α -1,3-galactose, α Gal)、N-羟乙酰神经氨酸(N-glycolylneuraminic acid, Neu5Gc)和 Sda 为代表的猪异种抗原在人体内并不存在^[1-3],抗 α Gal 抗体约占人类循环抗体 1%~4%^[4]。猪到人器官移植中会出现剧烈的抗体介导的超急性排斥反应。抗体可与供体血管内皮细胞结合,改变血管通透性、发生微血管血栓等损伤,同样可能导致移植物丢失。多基因修饰猪的供器官可以克服超急性排斥反应,在非人灵长类动物(non-human primate, NHP)和人类体内存活从几分钟延长至几个月甚至数年^[5]。

1.1.2 巨噬细胞 巨噬细胞在抗体依赖性排斥反应中起到关键作用,它们可以通过识别移植组织上的抗体并激活补体系统,导致移植组织的破坏^[6]。由于猪肾细胞表面 CD47 与人类氨基酸序列的相容性仅 73%,猪 CD47 不能与人类巨噬细胞表面的抑制性受体信号调节蛋白(signal regulatory protein, SIRP) α 有效结合,诱导 SIRP α 酪氨酸磷酸化,以传递抑制信号。所以,在没有抗体或补体激活的情况下,人类巨噬细

胞仍然能够通过这样的途径与猪细胞直接接触,触发炎症反应和组织损伤^[7]。

1.1.3 自然杀伤细胞 在体外用人血灌流猪器官时,可以观察到人 NK 细胞对猪组织的浸润^[8]。NK 细胞可通过一系列分子事件(趋化、黏附和跨迁移)被招募到猪内皮细胞上^[9]。人 NK 细胞表达多种趋化因子受体,在 NK 细胞募集到异种移植物时起着关键作用^[10],这些因子也可以进一步激活 NK 细胞^[11]。人 NK 细胞通过识别缺乏自身主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC) I 类分子的猪内皮细胞,或者识别猪细胞表面的上调激活配体[如主要组织相容性复合体 I 类相关链(major histocompatibility complex class I related chain, MIC) A/B],直接杀伤猪内皮细胞^[12]。此外,人 NK 细胞还能通过抗体依赖细胞介导的细胞毒性作用(antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, ADCC),识别并杀伤被人类自然抗体(XenoAbs)包被的猪内皮细胞^[9]。研究还发现,人 NK 细胞能够通过穿孔素和颗粒酶等效应机制,以及死亡受体途径,诱导猪内皮细胞凋亡^[10]。

1.1.4 树突状细胞 与缺血-再灌注损伤(ischemia-reperfusion injury, IRI)相关的树突状细胞(dendritic cell, DC)可通过表达 C1d、CD8a、CD11c、CD40、CD45、CD54(ICAM)、CD80、CD86、MHC II 和肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF) α 等分子,参与炎症反应和免疫激活,还可促进 T 细胞的增殖和活化^[13]。与排斥反应相关的 DC 通过与 T 细胞的相互作用,特别是通过 CD11c、MHC II、CD1c 和 Fc ϵ RI 等分子的表达,推动急性和慢性排斥反应的发生,它们通过提供必要的共刺激信号,激活 T 细胞并促进其分化为效应 T 细胞,加剧异种移植排斥反应^[14]。

1.1.5 中性粒细胞 在异种移植过程中,中性粒细胞与猪内皮细胞的相互作用会诱导活性氧生成,这种氧化应激会损伤细胞膜、蛋白质和 DNA,导致细胞功能障碍和死亡^[15]。此外,中性粒细胞释放的组织消化酶如中性粒细胞弹性酶会降解细胞外基质,破坏组织结构并可能激活适应性免疫反应^[16]。中性粒细胞外陷在对抗病原体的同时,也可能通过捕获移植物细胞和影响血流动力学,加剧移植物损伤^[17]。这些机制共同作用,对异种移植物造成严重的损伤。

1.1.6 凝血失调 猪与人类和 NHP 之间存在凝血系统的分子差异,这些不兼容可能导致严重的凝血功能紊乱。排斥反应可引起移植物内皮细胞的损伤,这种

损伤导致组织因子和胶原的暴露, 这些都是触发凝血级联反应的关键因素。在猪和 NHP 之间, 分子不兼容进一步加剧了凝血失调, 如猪的组织因子途径抑制物不能有效抑制 NHP 中的因子 Xa, 也不能灭活组织因子^[18]。猪的血栓调节蛋白也不能调节 NHP 的凝血酶, 导致蛋白 C 的活化受阻^[19]。为了解决这一问题, 研究人员将人血栓调节蛋白基因转入猪的基因组, 使猪的器官在移植到人类或 NHP 时, 其凝血系统更加兼容, 减少血栓形成和微血管病变的风险^[20]。

1.2 适应性免疫

在多基因修饰猪作为供体的异种移植中, T 细胞和 B 细胞的适应性免疫反应是造成最终排斥反应的主要原因。虽然早期研究认为猪与 NHP MHC 的差异会抑制跨物种的 MHC 结合和适应性免疫反应。但后续研究发现, 人类 T 细胞能够直接被猪白细胞抗原 (swine leukocyte antigen, SLA) 激活, 对异种抗原的反应强度与同种相当^[21]。此外, 人类 B 细胞和 T 细胞也能通过人类抗原提呈细胞提呈猪抗原的方式间接激活^[22]。

1.2.1 T 细胞 在异种移植中, T 细胞可以通过直接和间接两条途径被激活。直接途径中, 猪的 SLA 能够直接与 NHP 的 T 细胞受体结合, 激活 T 细胞, 并引发针对猪血管内皮细胞的细胞毒性反应。这种直接识别和激活过程绕过了宿主免疫系统对异种抗原的处理和提呈, 因此反应速度快, 可能导致更激烈的免疫应答。

间接途径中, 宿主的抗原提呈细胞捕获并处理和提呈猪的抗原, 通过 MHC II 提呈给宿主 T 细胞。T 细胞的激活不仅需要 T 细胞受体与 MHC-肽复合物的结合, 还需要共刺激信号, 如 CD40-CD154 和 (或) CD80/CD86-CD28 相互作用。间接途径的 T 细胞激活通常更慢, 但可能导致更持久和具有特异性的免疫记忆反应。这两种途径的激活都可能导致 T 细胞介导的排斥反应, 包括细胞毒性 T 细胞对移植体内皮细胞的直接杀伤, 以及通过分泌细胞因子和趋化因子促进其他免疫细胞的招募和活化^[23]。

1.2.2 B 细胞 在异种移植过程中, B 细胞的作用不仅限于产生针对异种抗原的抗体, 还包括在抗原提呈和免疫调节中发挥关键作用。B 细胞能识别并结合猪细胞表面的异种抗原, 其分泌的抗体可引发对猪细胞的攻击, 导致细胞损伤和移植排斥反应^[24]。B 细胞还参与异种抗原的提呈和激活免疫应答, 通过与 T 细胞、NK 细胞及滤泡 DC 相互作用^[25]。

B 细胞的激活可通过多种途径发生, 如通过免疫

化表达 α Gal 表位的猪细胞膜, 促进抗 Gal B 细胞扩增, 进而通过 MHC II 激活 T 细胞并刺激细胞因子产生^[26]。此外, 边缘区 B 细胞在 NK 细胞帮助下, 无需 T 细胞辅助即可产生针对异种抗原的抗体^[27]。B 细胞在异种移植中的多功能角色对其活化和抗体产生对移植植物存活和排斥反应具有显著影响^[28]。

1.3 猪到人异种移植中的排斥反应

自 1905 年法国 Princeteau 教授首次尝试将家兔的肾脏移植给尿毒症患者起, 异种移植领域经历了多次探索。科学家们曾尝试用猩猩、狒狒的肾脏进行移植, 这些早期研究揭示了异种器官移植克服剧烈的排斥反应、实现长期存活的潜力^[29]。

经过长达百年的发展, 异种移植取得了令人瞩目的进展。在猪到 NHP 的实验中, 心脏移植最长存活达 945 d^[30], 肾移植达 758 d^[5]。胰岛、皮肤、角膜等异种移植也在临床上进行了研究^[31-32]。异种移植已经历了从初步探索到理论体系建立, 再到异种抗原和免疫调节基因功能鉴定, 以及 NHP 实验的四个阶段, 猪到人移植的下一阶段已经开启。

2021 年, 美国纽约大学朗格尼移植研究所开发了猪到脑死亡受者的异种肾移植模型, 并在接下来的 2 年里, 纽约大学和阿拉巴马大学共进行了 5 例基因修饰猪到脑死亡患者的异种肾移植研究^[33-36]。

纽约大学进行了 3 例猪肾异种移植, 使用 α -1,3-半乳糖基转移酶 (α -1, 3-galactosyltransferase, GGTA1) 单基因敲除 (GTKO) 猪, 并将供体猪胸腺包埋于肾被膜下, 形成“胸腺肾”, 一同移植给脑死亡患者。这种设计旨在通过受者 T 细胞在供体胸腺中的“再教育”, 促使其将猪肾视为自体器官, 从而降低 T 细胞介导的排斥反应。2021 年的 2 例胸腺肾移植在 54 h 的观察期内未出现细胞介导的排斥反应 (cell-mediated rejection, CMR) 或抗体介导的排斥反应 (antibody-mediated rejection, AMR) 迹象。然而, 术后分析显示存在 AMR 的早期迹象, 其特征包括微血管炎症、免疫沉积和内皮细胞激活^[37]。2023 年 7 月, 朗格尼研究所对第 3 例胸腺肾移植患者进行了长达 61 d 的观察, 在首月未发现排斥反应, 第 2 个月虽出现 AMR 但成功治疗。

在阿拉巴马大学 2021 年和 2023 年进行的 2 例猪肾异种移植中, 通过甲泼尼龙、抗胸腺细胞球蛋白、利妥昔单抗实施免疫诱导, 以及他克莫司、吗替麦考酚酯和甲泼尼龙进行免疫抑制维持, 均未观察到 CMR 或 AMR。首例术后出现血栓性微血管病 (thrombotic microangiopathy, TMA), 表现为急性

肾小管坏死,但未见 TMA 其他症状。尽管移植肾能产生尿液,但尿肌酐水平较低,血清肌酐也未见下降。第 2 例在术前 24 h 接受了依库珠单抗治疗,术后血清肌酐稳定下降,肾小球滤过率逐步提升,至术后 7 d,血清肌酐降至 0.9 mg/dL (79.56 $\mu\text{mol/L}$),未发现 TMA 迹象^[35,38]。

2 异种器官移植排斥反应的预防和治疗

2.1 基因修饰

由于异种抗原的存在,供体猪的器官移植给人或 NHP 以后,会发生剧烈的超急性排斥反应。除人类和旧世界 NHP 以外,大部分物种细胞表面存在由 GGTA1 催化合成的 αGal 。人类的循环抗体中,针对 αGal 的抗体约占 1%^[14],是引起异种移植排斥反应的最主要抗体。磷酸-N-乙酰神经氨酸羟化酶基因 (cytidine monophospho-N-acetylneuraminic acid hydroxylase, CMAH) 基因编码的酶催化产生的 Neu5Gc、 $\beta\text{-1, 4-N-乙酰半乳糖转移酶}$ ($\beta\text{-1,4-N-acetyl galactosaminyltransferase}$, $\beta\text{4GalNT2}$) 基因编码的酶催化的 Sda 血型抗原也是明确引起异种移植排斥反应的异种抗体^[39-40]。将敲除 GGTA1、 $\beta\text{4GalNT2}$ 、CMAH 基因的猪作为异种移植供体,可以防止猪到人或 NHP 移植的超急性排斥反应的发生^[41-43]。

除此之外,将人类基因插入,对猪进行基因修饰,可以纠正物种不同导致的补体激活、凝血障碍以及炎症反应。包括人类补体抑制基因 hCD55、hCD46,人血栓调节蛋白,内皮细胞蛋白受体 C 受体,对抗炎症的血红素加氧酶-1 和人巨噬细胞抑制配体 CD47 等^[44-47]。几乎所有接受异种肾移植的受体狒狒都在术后短期内出现了蛋白尿,科研人员采用基因工程改造的供体猪,使其表达人类 CD47 (hCD47),hCD47 能够与人类巨噬细胞上的 SIRP α 受体结合,传递抑制信号,从而减少巨噬细胞的吞噬作用^[7]。而联合应用细胞毒 T 淋巴细胞相关抗原 4 免疫球蛋白 (cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 immunoglobulin, CTLA-4-Ig) 和 hCD47 基因修饰可以使蛋白尿有效减少,并将异种植物的存活期延长到 6 个月以上^[28,48]。表达人类白细胞抗原 (human leukocyte antigen, HLA) -E 和 HLA-G 等非经典 MHC I 类分子的基因修饰猪,可以部分保护猪内皮细胞不受人类 NK 细胞的毒性影响^[49]。

随着基因修饰技术的进步,对供体猪的基因修饰也更加常见。来自 eGenesis 的 Wenning Qin 和 Michele E. Youd 团队对尤卡坦半岛小型猪供体进行

69 次基因修饰,以实现 3 种糖类抗原的敲除、猪内源性病毒失活和 7 个人类基因过表达,将供体猪肾移植到 NHP 体内并与临床相关免疫抑制方案相结合,受体存活时间达 758 d^[5]。

多基因修饰猪被认为是决定异种移植成败的关键。目前已进行的 6 例异种肾移植中的 3 例 (包括移植给终末期肾病患者的临床异种肾移植) 使用了 10 基因修饰猪,1 例来自中国西京医院团队的猪到脑死亡受者的异种肾移植使用了 6 基因修饰猪 (论文尚未发表)。但基因修饰的异种抗原位点并非越多越好,大量的基因修饰不仅需要花费更多的资金,增加异种移植成本,也极大降低了基因修饰的成功率。目前更多的学者认为选择关键的基因进行修饰,并配合合理的免疫抑制治疗更有利于改善异种移植结果。虽然基因工程技术可使排斥反应明显减弱,并极大延长异种植物的存活时间。但要注意的是,基因工程技术并不足以完全避免适应性免疫反应和 AMR,所以除了基因修饰以外,还需要完善的免疫抑制策略以实现异种植物的长期存活。

2.2 药物治疗

2.2.1 传统免疫抑制药 猪肾的异种器官移植中,采用了与同种器官移植类似的免疫抑制药,如糖皮质激素、钙调磷酸酶抑制剂、抗增殖药、单克隆抗体和多克隆抗体。

糖皮质激素通过结合糖皮质激素受体,干扰其与促炎因子之间的相互作用,从而抑制炎症反应及免疫细胞的活化和增殖^[50]。他克莫司或环孢素可通过抑制钙调磷酸酶的活性,阻止其去磷酸化,从而抑制 T 细胞的活化和增殖^[51]。环磷酰胺、吗替麦考酚酯、来氟米特等抗增殖类药物,可通过影响 DNA 交联,导致细胞凋亡和阻止细胞分裂,从而抑制免疫细胞的增殖^[52]。单克隆抗体和多克隆抗体通过针对特定的细胞表面标志物或细胞因子,如 CD3、CD20、白细胞介素 (interleukin, IL) -6 受体等,抑制免疫细胞的活化和增殖,或直接导致免疫细胞的消耗^[28,53-54]。

2.2.2 共刺激通路阻断剂 Mohiuddin 团队于 2016 年进行了基因修饰猪-狒狒的异种心脏移植,将抗 CD40 抗体列为免疫抑制药,最终异种心脏在狒狒体内存活了 945 d^[5]。马里兰大学医院进行的第 1 例临床异种心脏移植中,也使用了 KPL-404 (抗 CD40 抗体),阻断 CD154 与 CD40 的相互作用^[55]。CTLA-4-Ig 作用于 CD80/86-CD28 共刺激通路,可以减轻异种移植的体液性排斥反应^[56]。阻断共刺激通路能够抑制 T 细胞的激活和增殖,延长异种和同种异体移植植物存

活时间^[57-58]。

2.2.3 补体抑制剂 补体系统的激活是异种移植 AMR 的关键因素。尽管在猪肾上表达了人类补体调节蛋白, 但可能仍需要抑制系统补体激活。通过使用补体抑制剂, 如 Cp40 和特度鲁单抗 (tesidolumab), 可以抑制补体激活, 减少补体介导的炎症反应和细胞损伤, 从而提高移植物的存活率。Cp40 是一种针对 C3 的强效抑制剂, 而特度鲁单抗针对 C5, 两者都已在 NHP 模型和猪到人的异种移植研究中显示出延长移植物存活的能力^[38,59]。

2.3 细胞治疗

此外, 调节性 T 细胞可能通过抑制反应性 T 细胞抑制或延迟异种细胞性排斥反应的发生, 也许可以成为助力异种移植的手段。耐受性 DC 在异种移植中同样具有缓解排斥反应的潜力, 其在异种移植中通过表达较低水平的 MHC 和 T 细胞共刺激分子 (如 CD40 和 CD80/86), 以及抑制性配体 [如程序性细胞死亡蛋白配体 1 (programmed cell death protein-ligand 1, PD-L1) 和死亡诱导配体], 来抑制 T 细胞的效应功能。耐受性 DC 通过分泌抗炎因子 (如 IL-10) 和促进调节性 T 细胞的活性, 帮助维持移植物的耐受状态。这些调节性 T 细胞能够抑制效应 T 细胞的活性, 从而防止对移植物的攻击, 为实现长期移植物存活提供了可能^[60]。有研究表明, 异种器官移植前的骨髓抑制也可以延长移植物存活期, 减轻排斥反应^[61]。

2.4 胸腺移植

哈佛大学 Yamada 教授在进行异种肾移植之前, 将供体猪的胸腺移植给 NHP, 使猪的胸腺对受体 T 细胞进行“教育”, 达到将供体器官识别成“自己”器官。Yamada 教授用此方法可以将异种移植物的生存时间从 29 d 延长至 83 d^[62]。纽约大学的 3 例猪到人异种肾移植采用 GTKO 单基因修饰猪, 供体的“胸腺肾”在脑死亡受体体内发挥了很好的功能, 并创造了 61 d 的生存纪录^[63]。

3 小结与展望

传统的免疫抑制药、新型免疫抑制药、基因修饰技术以及补体抑制等方法, 在抑制异种移植排斥反应方面取得了一定的成效。但 AMR 仍然是一个难以克服的挑战, 一旦发生, 其逆转过程极为困难。此外, 尽管通过基因修饰技术显著降低了猪内源性病毒的传播风险, 但其对猪到人的异种移植研究仍构成影响。免疫抑制策略和基因修饰技术仍有待进一步突破, 以便更有效地解决这些问题。随着科技的不断进步和研

究的深入, 有望在不久的将来见证异种移植走向大规模临床试验, 甚至最终成为治疗终末期器官衰竭的有效手段。尤其异种肾移植, 具有较大潜力, 在移植失败或移植物排斥的情况下仍然可选透析治疗维持患者生命。异种移植的发展前景充满希望, 它将为人类健康事业带来新的机遇和可能性。

参考文献:

- [1] 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.
- [2] HWANG SA, PARK KS, KIM WS, et al. Current status of genetically engineered pig to monkey kidney xenotransplantation in Korea[J]. *Transplant Proc*, 2023, 55(4): 1043-1047. DOI: 10.1016/j.transproceed.2023.03.060.
- [3] CHOE HM, LUO ZB, KANG JD, et al. Pathological features in 'humanized' neonatal pig[J]. *Anim Biotechnol*, 2023, 34(2): 301-309. DOI: 10.1080/10495398.2021.1962896.
- [4] GALILI U. The alpha-gal epitope and the anti-Gal antibody in xenotransplantation and in cancer immunotherapy[J]. *Immunol Cell Biol*, 2005, 83(6): 674-686. DOI: 10.1111/j.1440-1711.2005.01366.x.
- [5] ANAND RP, LAYER JV, HEJA D, et al. Design and testing of a humanized porcine donor for xenotransplantation[J]. *Nature*, 2023, 622(7982): 393-401. DOI: 10.1038/s41586-023-06594-4.
- [6] 罗登科. 巨噬细胞在器官移植免疫排斥反应中的研究进展[J]. *海南医学*, 2022, 33(16): 2148-2152. DOI: 10.3969/j.issn.1003-6350.2022.16.029.
- LUO DK. Research progress of macrophages in immune rejection of organ transplantation[J]. *Hainan Med J*, 2022, 33(16): 2148-2152. DOI: 10.3969/j.issn.1003-6350.2022.16.029.
- [7] IDE K, WANG H, TAHARA H, et al. Role for CD47-SIRPalpha signaling in xenograft rejection by macrophages[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2007, 104(12): 5062-5066. DOI: 10.1073/pnas.0609661104.
- [8] COOPER DK, GOLLACKNER B, SACHS DH. Will the pig solve the transplantation backlog?[J]. *Annu Rev Med*, 2002, 53: 133-147. DOI: 10.1146/annurev.med.53.082901.103900.
- [9] YANG YG, SYKES M. Xenotransplantation: current status and a perspective on the future[J]. *Nat Rev Immunol*, 2007, 7(7): 519-531. DOI: 10.1038/nri2099.
- [10] PIERSON RN 3RD, DORLING A, AYARES D, et al. Current status of xenotransplantation and prospects for clinical application[J]. *Xenotransplantation*, 2009, 16(5): 263-280. DOI: 10.1111/j.1399-3089.2009.00534.x.
- [11] MURPHY WJ, KUMAR V, BENNETT M. Acute rejection of murine bone marrow allografts by natural killer cells and T cells. differences in kinetics and target antigens recognized[J]. *J Exp Med*, 1987, 166(5): 1499-1509. DOI: 10.1084/jem.166.5.1499.
- [12] WATIER H, GUILLAUMIN JM, VALLÉE I, et al. Human NK cell-mediated direct and IgG-dependent

- cytotoxicity against xenogeneic porcine endothelial cells[J]. *Transpl Immunol*, 1996, 4(4): 293-299. DOI: 10.1016/s0966-3274(96)80050-5.
- [13] 安哲昆, 蔡明. 髓系树突状细胞参与肾缺血再灌注所致急性肾损伤的研究进展[J/OL]. *泌尿外科杂志(电子版)*, 2021, 13(3): 98-100, 104. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7410.2021.03.024.
AN ZK, CAI M. Research progress on the involvement of myeloid dendritic cells in acute renal injury caused by renal ischemia-reperfusion[J/OL]. *J Urol Clin (Electr Vers)*, 2021, 13(3): 98-100, 104. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7410.2021.03.024.
- [14] JONGBLOED SL, KASSIANOS AJ, MCDONALD KJ, et al. Human CD141⁺ (BDCA-3)⁺ dendritic cells (DCs) represent a unique myeloid DC subset that cross-presents necrotic cell antigens[J]. *J Exp Med*, 2010, 207(6): 1247-1260. DOI: 10.1084/jem.20092140.
- [15] IEMITSU K, SAKAI R, MAEDA A, et al. The hybrid CL-SP-D molecule has the potential to regulate xenogeneic rejection by human neutrophils more efficiently than CD47[J]. *Transpl Immunol*, 2024, 84: 102020. DOI: 10.1016/j.trim.2024.102020.
- [16] ZENG W, SONG Y, WANG R, et al. Neutrophil elastase: from mechanisms to therapeutic potential[J]. *J Pharm Anal*, 2023, 13(4): 355-366. DOI: 10.1016/j.jpaha.2022.12.003.
- [17] YADAV SK, PARK S, LEE YM, et al. Application of microphysiologic system to assess neutrophil extracellular trap in xenotransplantation[J]. *J Immunol Methods*, 2023, 521: 113537. DOI: 10.1016/j.jim.2023.113537.
- [18] COWAN PJ, D'APICE AJ. Complement activation and coagulation in xenotransplantation[J]. *Immunol Cell Biol*, 2009, 87(3): 203-208. DOI: 10.1038/icb.2008.107.
- [19] 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.
- [20] BURDORF L, GAO Z, RINER A, et al. Expression of human thrombomodulin by GalTKO. hCD46 pigs modulates coagulation cascade activation by endothelial cells and during ex vivo lung perfusion with human blood[J]. *Xenotransplantation*, 2023, 30(6): e12828. DOI: 10.1111/xen.12828.
- [21] YAMADA K, SACHS DH, DERSIMONIAN H. Human anti-porcine xenogeneic T cell response. evidence for allelic specificity of mixed leukocyte reaction and for both direct and indirect pathways of recognition[J]. *J Immunol*, 1995, 155(11): 5249-5256. DOI: 10.4049/jimmunol.155.11.5249.
- [22] DORLING A, LOMBARDI G, BINNS R, et al. Detection of primary direct and indirect human anti-porcine T cell responses using a porcine dendritic cell population[J]. *Eur J Immunol*, 1996, 26(6): 1378-1387. DOI: 10.1002/eji.1830260630.
- [23] SCALEA J, HANECAMP I, ROBSON SC, et al. T-cell-mediated immunological barriers to xenotransplantation [J]. *Xenotransplantation*, 2012, 19(1): 23-30. DOI: 10.1111/j.1399-3089.2011.00687.x.
- [24] GALILI U. Evolution and pathophysiology of the human natural anti-alpha-galactosyl IgG (anti-Gal) antibody[J]. *Springer Semin Immunopathol*, 1993, 15(2/3): 155-171. DOI: 10.1007/BF00201098.
- [25] XU Y, YANG YG, OHDAN H, et al. Characterization of anti-Gal antibody-producing cells of baboons and humans[J]. *Transplantation*, 2006, 81(6): 940-948. DOI: 10.1097/01.tp.0000203300.87272.a3.
- [26] TANEMURA M, YIN D, CHONG AS, et al. Differential immune responses to alpha-gal epitopes on xenografts and allografts: implications for accommodation in xenotransplantation[J]. *J Clin Invest*, 2000, 105(3): 301-310. DOI: 10.1172/JCI17358.
- [27] SHIMIZU I, KAWAHARA T, HASPOT F, et al. B-cell extrinsic CR1/CR2 promotes natural antibody production and tolerance induction of anti-alphaGAL-producing B-1 cells[J]. *Blood*, 2007, 109(4): 1773-1781. DOI: 10.1182/blood-2006-02-002386.
- [28] TASAKI M, SHIMIZU A, HANEKAMP I, et al. Rituximab treatment prevents the early development of proteinuria following pig-to-baboon xeno-kidney transplantation[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2014, 25(4): 737-744. DOI: 10.1681/ASN.2013040363.
- [29] XI J, ZHENG W, CHEN M, et al. Genetically engineered pigs for xenotransplantation: hopes and challenges[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2023, 10: 1093534. DOI: 10.3389/fcell.2022.1093534.
- [30] 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.
- [31] EISENSEN DL, HISADOME Y, SANTILLAN MR, et al. Progress in islet xenotransplantation: immunologic barriers, advances in gene editing, and tolerance induction strategies for xenogeneic islets in pig-to-primate transplantation[J]. *Front Transplant*, 2022, 1: 989811. DOI: 10.3389/frtra.2022.989811.
- [32] ARABI TZ, SABBAAH BN, LERMAN A, et al. Xenotransplantation: current challenges and emerging solutions[J]. *Cell Transplant*, 2023, 32: 9636897221148771. DOI: 10.1177/09636897221148771.
- [33] PORRETT PM, ORANDI BJ, KUMAR V, et al. First clinical-grade porcine kidney xenotransplant using a human decedent model[J]. *Am J Transplant*, 2022, 22(4): 1037-1053. DOI: 10.1111/ajt.16930.
- [34] MONTGOMERY RA, STERN JM, LONZE BE, et al. Results of two cases of pig-to-human kidney xenotransplantation[J]. *N Engl J Med*, 2022, 386(20): 1889-1898. DOI: 10.1056/NEJMoa2120238.
- [35] LOCKE JE, KUMAR V, ANDERSON D, et al. Normal graft function after pig-to-human kidney xenotransplant[J]. *JAMA Surg*, 2023, 158(10): 1106-1108. DOI: 10.1001/jamasurg.2023.2774.
- [36] Two-month study of pig kidney xenotransplantation gives new hope to the future of the organ supply[EB/OL]. [2024-01-30]. <https://nyulangone.org/news/two-month-study-pig-kidney-xenotransplantation-gives-new-hope-future-organ-supply>.
- [37] LOUPY A, GOUTAUDIER V, GIARRAPUTO A, et al. Immune response after pig-to-human kidney xenotransplantation: a multimodal phenotyping study[J]. *Lancet*, 2023, 402(10408): 1158-1169. DOI: 10.1016/

- S0140-6736(23)01349-1.
- [38] ADAMS AB, LOVASIK BP, FABER DA, et al. Anti-C5 antibody tesidolumab reduces early antibody-mediated rejection and prolongs survival in renal xenotransplantation[J]. *Ann Surg*, 2021, 274(3): 473-480. DOI: 10.1097/SLA.0000000000004996.
- [39] CHABAN R, HABIBABADY Z, HASSANEIN W, et al. Knock-out of N-glycolylneuraminic acid attenuates antibody-mediated rejection in xenogenically perfused porcine lungs[J]. *Xenotransplantation*, 2022, 29(6): e12784. DOI: 10.1111/xen.12784.
- [40] DUCA M, MALAGOLINI N, DALL'OLIO F. The story of the Sda antigen and of its cognate enzyme B4GALNT2: what is new?[J]. *Glycoconj J*, 2023, 40(1): 123-133. DOI: 10.1007/s10719-022-10089-1.
- [41] YOON S, LEE S, PARK C, et al. An efficacious transgenic strategy for triple knockout of xeno-reactive antigen genes GGTA1, CMAH, and B4GALNT2 from Jeju native pigs[J]. *Vaccines (Basel)*, 2022, 10(9): 1503. DOI: 10.3390/vaccines10091503.
- [42] SINGIREDDY S, TULLY A, GALINDO J, et al. Genetic engineering of donor pig for the first human cardiac xenotransplantation: combatting rejection, coagulopathy, inflammation, and excessive growth[J]. *Curr Cardiol Rep*, 2023, 25(11): 1649-1656. DOI: 10.1007/s11886-023-01978-4.
- [43] MA D, HIROSE T, LASSITER G, et al. Kidney transplantation from triple-knockout pigs expressing multiple human proteins in cynomolgus macaques[J]. *Am J Transplant*, 2022, 22(1): 46-57. DOI: 10.1111/ajt.16780.
- [44] CIMENO A, KURAVI K, SORRELLS L, et al. hEPCR. hTBM. hCD47. hHO-1 with donor clodronate and DDAVP treatment improves perfusion and function of GalTKO. hCD46 porcine livers perfused with human blood[J]. *Xenotransplantation*, 2022, 29(2): e12731. DOI: 10.1111/xen.12731.
- [45] BURDORF L, LAIRD CT, HARRIS DG, et al. Pig-to-baboon lung xenotransplantation: extended survival with targeted genetic modifications and pharmacologic treatments[J]. *Am J Transplant*, 2022, 22(1): 28-45. DOI: 10.1111/ajt.16809.
- [46] PHIMISTER EG. Genetic modification in pig-to-human transplantation[J]. *N Engl J Med*, 2022, 387(1): 79-82. DOI: 10.1056/NEJMe2207422.
- [47] MIURA S, HABIBABADY ZA, POLLOK F, et al. Effects of human TFPI and CD47 expression and selectin and integrin inhibition during GalTKO. hCD46 pig lung perfusion with human blood[J]. *Xenotransplantation*, 2022, 29(2): e12725. DOI: 10.1111/xen.12725.
- [48] TAKEUCHI K, ARIYOSHI Y, SHIMIZU A, et al. Expression of human CD47 in pig glomeruli prevents proteinuria and prolongs graft survival following pig-to-baboon xenotransplantation[J]. *Xenotransplantation*, 2021, 28(6): e12708. DOI: 10.1111/xen.12708.
- [49] WEISS EH, LILIENFELD BG, MÜLLER S, et al. HLA-E/human beta2-microglobulin transgenic pigs: protection against xenogeneic human anti-pig natural killer cell cytotoxicity[J]. *Transplantation*, 2009, 87(1): 35-43. DOI: 10.1097/TP.0b013e318191c784.
- [50] WANG M. Glucocorticoids block T cell recruitment[J]. *Nat Rev Nephrol*, 2023, 19(2): 73. DOI: 10.1038/s41581-022-00674-w.
- [51] SAFARINI OA, KESHAVAMURTHY C, PATEL P. Calcineurin inhibitors[M]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2024.
- [52] BAUER AC, FRANCO RF, MANFRO RC. Immunosuppression in kidney transplantation: state of the art and current protocols[J]. *Curr Pharm Des*, 2020, 26(28): 3440-3450. DOI: 10.2174/1381612826666200521142448.
- [53] SETHI S, JORDAN SC. Novel therapies for treatment of antibody-mediated rejection of the kidney[J]. *Curr Opin Organ Transplant*, 2023, 28(1): 29-35. DOI: 10.1097/MOT.0000000000001037.
- [54] ZHAO Y, COOPER DKC, WANG H, et al. Potential pathological role of pro-inflammatory cytokines (IL-6, TNF- α , and IL-17) in xenotransplantation[J]. *Xenotransplantation*, 2019, 26(3): e12502. DOI: 10.1111/xen.12502.
- [55] MOHIUDDIN MM, SINGH AK, CORCORAN PC, et al. Role of anti-CD40 antibody-mediated costimulation blockade on non-Gal antibody production and heterotopic cardiac xenograft survival in a GTKO. hCD46Tg pig-to-baboon model[J]. *Xenotransplantation*, 2014, 21(1): 35-45. DOI: 10.1111/xen.12066.
- [56] WANG D, BAI X, WANG B, et al. CTLA4Ig/VISTA Ig combination therapy selectively induces CD4⁺ T cell-mediated immune tolerance by targeting the SOCS1 signaling pathway in porcine islet xenotransplantation[J]. *Immunology*, 2022, 166(2): 169-184. DOI: 10.1111/imm.13463.
- [57] LINSLEY PS, WALLACE PM, JOHNSON J, et al. Immunosuppression in vivo by a soluble form of the CTLA-4 T cell activation molecule[J]. *Science*, 1992, 257(5071): 792-795. DOI: 10.1126/science.1496399.
- [58] LENSCHOW DJ, ZENG Y, THISTLETHWAITE JR, et al. Long-term survival of xenogeneic pancreatic islet grafts induced by CTLA4Ig[J]. *Science*, 1992, 257(5071): 789-792. DOI: 10.1126/science.1323143.
- [59] SCHMITZ R, FITCH ZW, SCHRODER PM, et al. C3 complement inhibition prevents antibody-mediated rejection and prolongs renal allograft survival in sensitized non-human primates[J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 5456. DOI: 10.1038/s41467-021-25745-7.
- [60] MARÍN E, CUTURI MC, MOREAU A. Tolerogenic dendritic cells in solid organ transplantation: where do we stand?[J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 274. DOI: 10.3389/fimmu.2018.00274.
- [61] 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.
- [62] YAMADA K, YAZAWA K, SHIMIZU A, et al. Marked prolongation of porcine renal xenograft survival in baboons through the use of alpha1, 3-galactosyltransferase gene-knockout donors and the cotransplantation of vascularized thymic tissue[J]. *Nat Med*, 2005, 11(1): 32-34. DOI: 10.1038/nm1172.

(收稿日期: 2024-04-26)

(本文编辑: 方引超 鄢加佳)