

· 移植前沿 ·

异种肺移植临床前研究进展及单中心技术经验

陶筱婷 宁新忠 刘永 张桂梅 肖贺 林世雨 周孜孜 魏太云 胡春晓 魏红江 乔坤

【摘要】 肺移植是间质性肺炎、慢性阻塞性肺病、尘埃沉着病等肺部疾病终末期最终的治疗手段。目前，同种异体肺源的短缺大大限制了终末期肺病患者获得肺移植的机会。近年来，随着生物医学工程技术的快速发展，特别是基因修饰和克隆技术的重大突破，异种肺移植展现出重要的临床转化潜力。其中，基因修饰猪因其器官大小、生理特性与人较为接近，且可进行定向基因敲除（如 α -Gal抗原敲除）以减少超急性排斥反应的发生，成为最具潜力的异种肺源。本文聚焦于猪异种肺移植的研究进展，系统综述其动物实验及人体试验最新成果及挑战，同时结合深圳市第三人民医院的实践探索，介绍本中心在猪-猴异种肺移植模型中积累的技术经验，以期为该领域的未来研究提供实践借鉴与参考。

【关键词】 异种肺移植；器官短缺；基因修饰猪；离体肺灌注；免疫抑制；病原体；猪内源性逆转录病毒；移植存活

【中图分类号】 R617 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1674-7445(2025)06-0007-07

Progress in preclinical studies of xenogeneic lung transplantation and single-center technical experience Tao Xiaoting*, Ning Xinzhong, Liu Yong, Zhang Guimei, Xiao He, Lin Shiyu, Zhou Zizi, Wei Taiyun, Hu Chunxiao, Wei Hongjiang, Qiao Kun.

*Department of Thoracic Surgery, Shenzhen Third People's Hospital, Shenzhen 518100, China

Corresponding authors: Wei Hongjiang, Email: hongjiangwei@126.com

Qiao Kun, Email: szqiaokun@163.com

【Abstract】 Lung transplantation is the ultimate therapeutic option for end-stage pulmonary diseases such as interstitial pneumonia, chronic obstructive pulmonary disease and pneumoconiosis. Currently, the shortage of allogeneic lung donors significantly limits the opportunity for end-stage lung disease patients to receive lung transplantation. In recent years, with the rapid development of biomedical engineering technologies, especially the major breakthroughs in genetic modification and cloning, xenogeneic lung transplantation has shown important potential for clinical translation. Among them, genetically modified pigs have become the most promising xenogeneic lung source due to the close similarity of organ size and physiological characteristics to humans, and the ability to perform targeted gene knockouts (such as α -Gal antigen knockout) to reduce the occurrence of hyperacute rejection. This article focuses on the research progress of porcine

DOI: 10.12464/j.issn.1674-7445.2025195

基金项目：国家科技重大专项科技创新项目（2023ZD0501905）；深圳市“医疗卫生三名工程”（SZSM202311034）；深圳市“高水平医院建设专项经费”（24275G1007、XKJS-2025023）

作者单位：518100 深圳，深圳市第三人民医院胸外科（陶筱婷、宁新忠、林世雨、周孜孜、乔坤），麻醉科（刘永、张桂梅）；南京医科大学附属无锡市人民医院手术麻醉科（胡春晓）；中山大学附属第六医院手术麻醉科（肖贺）；云南农业大学云南省小型猪基因编辑与异种器官移植重点实验室（魏太云、魏红江）

作者简介：陶筱婷（ORCID 0000-0001-8280-9249），硕士，主治医师，研究方向为异种肺移植实验，Email: neatavino@hotmail.com；宁新忠（ORCID 0009-0005-8630-6047），硕士，主治医师，研究方向为胸外科学、肺移植，Email: ningxinzhong@sina.com（陶筱婷和宁新忠为本文共同第一作者）

通信作者：魏红江（ORCID 0000-0002-5663-1093），博士，教授，研究方向为动物基因修饰与体细胞克隆技术研究、异种器官移植研究，Email: hongjiangwei@126.com；乔坤（ORCID 0000-0003-2490-260X），硕士，主任医师，研究方向为胸外科学、肺移植，Email: szqiaokun@163.com

xenogeneic lung transplantation, systematically reviews the latest achievements and challenges in animal experiments and human trials, and introduces the technical experience accumulated by Shenzhen Third People's Hospital in the porcine-to-monkey xenogeneic lung transplantation model, in the hope of providing practical references for future research in this field.

【 Key words 】 Xenogeneic lung transplantation; Organ shortage; Genetically modified pig; *Ex vivo* lung perfusion; Immunosuppression; Pathogen; Porcine endogenous retrovirus; Graft survival

当前, 器官短缺已成为制约器官移植的全球性难题, 据报道, 我国每年约有 150 万例患者因终末期器官衰竭需要移植, 但仅 1 万例能够得到移植, 供需比为 1 : 150^[1]。而肺移植面临的供者危机尤为突出, 供肺更容易伴随感染、挫伤、误吸、急性呼吸窘迫综合征、神经源性肺水肿等损害, 且要求缺血时间更短, 这使得肺源供应更为紧缺, 因此, 如何扩大供肺来源, 提高供肺利用率, 成为全球肺移植领域亟待解决的问题。

除了优化边缘供肺评估、推广离体肺灌注 (*ex vivo* lung perfusion, EVLP) 技术及尝试组织工程人造肺等工作^[2-6], 发展利用动物器官的异种肺移植成为了解决器官短缺问题的主要方向之一。尽管猕猴、狒狒等与人类同为灵长类动物, 具有较近的亲缘关系, 但由于体型差异大、存在病毒传播风险且来源有限, 其并非临床异种肺移植的最佳选择。与之相比, 猪作为异种器官移植供体具有显著优势: (1) 器官在解剖结构和生理功能上与人类高度匹配; (2) 具备繁殖优势 (性成熟周期短、每胎产仔数多); (3) 基因组修饰技术成熟, 便于进行基因修饰; (4) 生物安全风险可控。基于这些特性, 猪已被公认为异种移植领域最理想的供体来源^[7]。

关于猪异种器官移植的动物实验及人体试验已见大量报道。2023 年, Anand 等^[8]报道了其进行的基因修饰猪到食蟹猴肾移植的研究中, 一只受体食蟹猴存活了超过 2 年。人体试验方面, 2022 年美国马里兰大学医学院报道了世界首例人成功植入转基因猪心脏的手术, 该病例未发生超急性排斥反应, 受者在移植术后存活了 60 d^[9]。2024 年, 我国空军军医大学西京医院团队完成世界首例基因工程猪-脑死亡受者的异种肝移植^[10], 2025 年该团队又实施了亚洲首例基因修饰猪-终末期肾病患者活体异种肾移植, 据报道, 移植肾脏功能良好。肺移植相较心、肝、肾异种移植发展稍缓慢, 除了 EVLP 研究、活体动物实验外, 目

前已有脑死亡受者的猪肺移植报道, 但尚未有活体人类的异种肺移植研究。

1 异种肺移植临床前研究进展

1.1 基因修饰猪研究进展

近年来, 基因修饰技术的突破显著推动了异种肺移植的发展。由于猪与人类在进化上存在巨大差异, 未经修饰的猪器官移植会引发强烈的排斥反应, 包括超急性排斥反应、急性体液性排斥反应、细胞介导的排斥反应以及凝血功能障碍^[11]。为降低免疫原性, 研究者采用不同维度的基因修饰组合策略对供体猪进行改造, 首先通过敲除 α -1,3-半乳糖基转移酶基因 GGTA1, 消除猪细胞表面 α -1,3-半乳糖抗原的产生, 并可通过敲除 CMAH 和 B4GALNT2 基因, 消除非 Gal 抗体介导的次级排斥反应; 其次引入三种人源补体调节蛋白——膜辅助蛋白 (MCP_CD46)、衰变加速因子 (DAF_CD55) 和膜攻击复合物抑制蛋白 (MAC-IP_CD59), 分别在补体激活级联的不同阶段 (C3 转化酶形成、C5 转化酶组装及膜攻击复合物形成) 有效抑制人类补体系统过度激活; 整合血栓调节蛋白 hTBM、组织因子途径抑制物、内皮蛋白 C 受体等基因改善凝血功能异常; 此外还构建了多层次的免疫抑制与耐受诱导网络, 包括 hPD-L1 通过程序性细胞死亡蛋白 1/程序性细胞死亡蛋白配体 1 通路抑制 T 细胞活化, 以及巨噬细胞检查点调节分子 hCD47 等^[12-14]。

CRISPR 技术的应用与发展, 实现了多基因敲除在单细胞中有效结合, 使基因修饰效率大大提高^[15-16]。结合克隆技术与体外受精技术的进步, 研究者逐步培育出 GalTKO/ β 4GalT-KO/hCF46/hEPCR/hTBM/hCF47/HO-1 七基因, 乃至十六基因的基因修饰猪, 不断探索将更低免疫原性的供体猪用于异种移植^[17-18]。通过对供体猪进行基因敲除和导入, 超急性和急性排斥反应已经逐渐克服, 但凝血紊乱、慢性排

斥反应仍是异种器官移植的重要障碍, 需要进一步研究并加以解决^[1,19]。

1.2 异种肺移植动物实验进展

在心脏和肾脏异种移植领域, 已有报道显示非人灵长类动物体内植入具有生命支持功能的猪器官后存活时间可达数月甚至数年^[8]。相比之下, 肺异种移植取得的成功相对有限, 受者存活时间仅维持数天至数周。为执行气体交换的功能, 肺脏与外界环境有着巨大的接触面积, 使其拥有强大而活跃的免疫监视系统(尤其是上皮细胞和肺泡巨噬细胞), 以持续应对空气传播的病原体和环境颗粒物。从解剖学角度来看, 肺脏具有面积庞大的血管内皮表面, 每分钟需承受多次全心输出量的血流冲击。大量微血管内皮细胞构成的肺泡微血管系统成为受者免疫攻击(包括抗体和补体攻击)的主要靶点。这种密集的微血管网络不仅增加了免疫调控的难度, 也为移植后的生理功能维持带来挑战。肺脏特殊的解剖位置还要求移植器官必须实现精确的血管吻合和气道重建, 同时还要维持胸腔内压力平衡和通气功能^[20]。

采用人血进行的 EVLP 实验是探索异种移植排斥反应的重要手段, 可精确解析猪肺移植至非人灵长类动物后 6~8 h 内发生的早期移植物失功机制, 并评估基因修饰猪或药物干预能否预防此类失功^[21]。通过抗体吸附消除抗猪抗体及热处理抑制补体活性等早期探索, 逐步确定了 α -半乳糖抗原、补体激活调节剂 CD46 等参与超急性排斥反应的基因, 通过抗体吸附或基因修饰等方法, 在灌注实验中, 实现移植存活时间的延长。此外, 基于 EVLP 模型的实验数据, 研究者可制定评估多种基因修饰-抗排斥反应药物组合方案, 为人体试验提供依据^[22-25]。

在异种肺移植动物实验中, 受体存活时间的不断延长主要基于对基因修饰方案、抗排斥反应药物、治疗策略(生命支持、抗体吸附、补体清除、脾切除、供肺巨噬细胞清除)组合的不断优化得以实现。2007 年, Cantu 等^[26]曾创造过 109 h 的供肺存活记录。Watanabe 等^[27]使用 GalTKO/hCD47 的猪肺在猪-狒狒移植中存活了 10 d。Burdorf 等^[13]采用共表达 HO-1、hEPCR 和 hTBM 的 GalTKO/hCD46 猪肺, 在猪-狒狒活体移植中突破 7 d 存活, 其团队更是创下 31 d 的存活记录, 该记录中使用了 GalTKO/ β 4GalTKO/hCF46/hEPCR/hTBM/hCF47/HO-1 七基因修饰猪,

并采用了供体猪肾预吸附。

1.3 异种肺移植人体试验进展

相较于动物实验, 目前猪-人体的异种肺移植鲜见报道。2024 年, He 等^[28]完成了国际首例将经基因修饰的猪肺移植到脑死亡患者体内的临床前研究。该研究将一只 6 基因修饰(GTKO/B4GalNT2KO/CMAHKO/CD55/CD46/TBM)的中国巴马小香猪左肺移植至 1 例 39 岁脑死亡男性受者, 从供体获取到再灌注的总冷缺血时间为 206 min, 应家属要求, 试验于术后 9 d 终止。移植在脑死亡受者体内维持了 216 h 的存活及功能状态, 未出现超急性排斥反应现象, 但可见肺水肿损伤及抗体介导的排斥反应。

2 猪异种肺移植动物实验单中心经验

2024 年 8 月 16 日和 2024 年 9 月 28 日, 笔者团队与云南农业大学魏红江教授团队合作, 利用其拥有自主知识产权的 GTKO/CMAHKO/ β 4GalNT2KO/hCD46/hCD55/hCD59/hTBM/hEPCR/hCD39/hCD47 的 10 基因修饰的滇南小耳朵小型猪, 分别完成了 2 例猪-恒河猴的异种肺移植。在第 2 次实验中, 滇南小耳朵小型猪为 3 个月龄, 体质量为 6 kg, 恒河猴为 3 岁龄, 体质量为 5 kg, 该受体猴在生命支持下术后存活 12 h 59 min, 因术后监护过程中的循环衰竭而死亡。

参照国内外异种(猪到非人灵长类动物)器官移植的文献资料^[13,29-30], 本团队采用的主要实验步骤及受体猴的术前免疫诱导方案如下(表 1)。

2.1 猪肺获取

将供体猪麻醉并插管, 静脉注射舒芬太尼镇痛, 罗库溴铵维持肌肉松弛, 吸入异氟烷维持麻醉。用聚维酮碘清洁皮肤。取胸部正中切口, 用电锯劈开胸骨, 用撑开器撑开。沿心包正中剪开心包, 暴露心脏, 游离上腔静脉、升主动脉和肺动脉主干。用 4-0 prolene 线建立肺动脉灌注荷包, 于荷包中央切开插入肺动脉灌注管, 用 4-0 prolene 线打结固定, 接灌注管道。夹闭升主动脉, 用 4 °C Perfadex 灌注液灌注, 剪开下腔静脉及左心耳以排出灌注液。同时打开双侧胸腔填放生理盐水冰沙。注意观察肺脏颜色, 灌注约 10 min, 总灌注量约 1 000 mL, 结束灌注, 撤出灌注管。游离气管上段, 退出气管插管, 夹闭气管, 剪断并消毒。提起气管, 剪断上腔静脉和降主动脉,

表 1 动物实验术前免疫诱导方案

Table 1 Preoperative immune induction protocol for animal experiments

药物	作用原理	用法	术前4 d	术前3 d	术前2 d	术前1 d	术前0 d
利妥昔单抗	抗CD20抗体	10 mg/kg, 肌肉注射	1次				
抗胸腺细胞球蛋白	抗胸腺细胞球蛋白, 抑制T细胞	7.5 mg/kg, 静脉滴注 >2 h			1次	1次	
眼镜蛇毒因子	抑制补体C3	0.02 mg/kg, 静脉滴注				1次	
α CD40	阻断CD40共刺激	50 mg/kg					1次
他克莫司	抑制钙调磷酸酶活性, 抑制T细胞中所产生钙离子依赖型信息传导路径作用	0.025 mg/kg, 肌肉注射				每日2次	每日2次
吗替麦考酚酯	次黄嘌呤单核苷酸脱氢酶抑制剂, 可抑制鸟嘌呤核苷酸的经典合成途径	10 mg/kg, 肌肉注射				每日2次	每日2次
甲泼尼龙	免疫抑制	10 mg/kg, 静脉滴注					1次

逐渐分离心包与食管、降主动脉间隙, 剪断下腔静脉, 完整取出心脏及肺脏。将心肺转移至盆内进一步分离心肺。断离主动脉及肺动脉干, 将心脏向上掀起, 提起左心房下壁, 于正中剪开左心房, 直视肺静脉内口进行心肺分离, 保证供肺有足够的心房袖。用 Foley 导管从肺静脉进行逆行灌注, 至肺动脉流出灌注液清亮。灌注期间维持通气, 获取完成后用闭合气管, 放入装有 4 °C Perfadex 灌注液的器官保存袋中备用。

2.2 异种肺移植手术

切开皮肤前 30 min 静脉注射美罗培南 10 mg/kg。对受体猴进行镇静直至猴完全平静。开放前肢头静脉, 面罩吸入异氟烷, 并气管插管。压力控制通气, 监测生命体征, 避免通气不足。开放颈内静脉或股静脉, 保证术中输液。取平卧位, 用聚维酮碘清洁皮肤。取左侧第 4 肋间切口, 胸撑撑开切口。解剖肺门, 向近端游离左肺动脉, 注意保持肺动脉外膜完整, 近端用血管夹夹闭, 剪断。游离左主支气管, 近端夹闭, 剪断。游离上、下肺静脉, 结扎并断离, 移除受体左肺。准备供体左肺, 在左、右肺动脉分叉处分开, 修剪左肺动脉, 保留约 1.5 cm。修剪心房袖, 确保留下足够的肌肉以方便缝合。剪断左主支气管, 保留两个气管软骨环。供肺准备好后放入胸腔。吻合支气管, 用 5-0 PDS 缝线连续缝合。吻合肺动脉, 用 6-0 prolene 缝线连续缝合, 受体猴的肺动脉直径

约 5 mm, 建议在手术放大镜下吻合。吻合心房袖, 用 4-0 prolene 缝线连续缝合, 暂不打结闭合。静脉注射肝素 3 000 U, 5 min 后开放移植肺支气管再通气。静脉注射甲泼尼龙 (5 mg/kg)。部分打开肺动脉夹 (50%), 并开放左心房吻合口排除肺血管内积气, 排气完毕, 移除心房夹, 打结缝线闭合心房袖吻合口。再灌注后 1 h, 若氧分压 >200 mmHg (1 mmHg=0.133 kPa) 且二氧化碳分压在 35~45 mmHg 之间, 可关闭胸腔, 关闭胸腔后转为仰卧位。维持镇静及呼吸机通气, 观察受体猴血气及生命体征, 1 h 后监测动脉血气。如果血气正常, 逐渐脱离麻醉, 如果血气较差 (氧合指数 <200 mmHg), 则考虑处死动物。当猴开始自主呼吸时脱离麻醉, 30 min 后将呼吸机改为压力支持模式, 并缓慢减少呼吸机支持, 有咳嗽或呛管时拔管。术后适当镇痛治疗, 减轻猴的疼痛和应激反应。密切监测生命体征, 维持容量及内环境稳定, 并行抗感染及抗排斥反应治疗。建议专业人员 24 h 不间断监护并动态调整镇静深度与机械通气参数, 以维持循环与呼吸系统稳定, 这是决定术后存活时间的重要因素。

3 当前挑战与未来方向

3.1 猪肺到人肺的解剖差异

猪肺与人类肺脏在解剖结构上存在显著差异。人类有 5 叶肺, 而猪肺由 7 个肺叶构成。其中右前叶支

气管直接起源于气管（称为“猪支气管”），与气管分岔处距离较远，这一特殊解剖结构使得常规的右肺端端支气管吻合技术难以实施，除非手术切除右前叶。因此，绝大多数猪-非人灵长类动物移植实验采用左单肺移植模型。在未来的猪-人异种双肺移植手术操作中，可能需要进行一定的应变及适应，比如切除右前叶、气管成形术以及双肺一体移植^[17]。

3.2 动物源性病原体种间感染风险

动物源性病原体（人畜共患病）向免疫抑制受者的传播风险备受关注。野生猪可能携带包括布鲁氏菌、结核分枝杆菌、钩端螺旋体、沙门氏菌、产志贺毒素大肠杆菌和戊型肝炎病毒等病原微生物^[31-33]。由于野生猪与家养猪种群存在交叉接触现象，这些病原体可能通过供体猪造成受者感染。因此，应建立标准化的管理体系，采用无特定病原体猪群，并加强环境控制及病原监测，最大限度减少受者感染风险^[34]。此外，所有猪的基因组均携带了猪内源性逆转录病毒（porcine endogenous retrovirus, PERV），其无法通过常规畜牧手段清除，虽然目前尚未在体内实验或临床观察中发现 PERV 的跨物种传播，但由于 PERV 及其同源病毒可能导致宿主肿瘤和免疫缺陷风险，所有异种移植方案必须包含 PERV 监测。目前研究者正采用 CRISPR 等基因修饰技术敲除供体猪 PERV 基因以彻底消除风险^[35-36]。

3.3 免疫抑制方案的优化

目前，在非人灵长类动物为受体的实验模型中，具有生命支持功能的猪肾脏移植存活时间已达数年，心脏移植存活达数月，而肺异种移植在进入临床研究前仍需实现类似的活体存活目标。基于包括肺在内的各类器官异种移植动物实验的结果表明，通过敲除猪 3 大主要糖类抗原（ α -Gal、CMAH、 β 4GalNT2）并引入 7~10 种人源调节蛋白（如 CD46、CD55、血栓调节蛋白等），可能构建适用于人类的“异种肺”。相较于进一步增加基因修饰，优化现有基因表达，确保这些基因在正确的组织及细胞中充分表达可能更为关键^[13,37]。此外，异种肺移植可能需要不同于传统三联免疫抑制方案（抗代谢药物+钙调磷酸酶抑制剂+糖皮质激素）的新型治疗方案，比如基于 CD40 或 CD154 抗体阻断的共刺激抑制方案，并在移植后的不同阶段进行动态监测及调整，以达到移植物存活时间的不断延长^[38-41]。

4 小 结

包括猪异种肺移植在内的异种器官移植作为现代医学最具挑战性的前沿领域之一，是一项涉及基因工程、免疫学、伦理学、外科学、重症医学、畜牧科学、动物医学等多学科的系统工程^[42]。这一复杂体系涵盖从基础研究到临床转化的完整技术链条：在基础研究层面，需要运用 CRISPR-Cas9 等基因修饰技术构建多基因修饰供体猪，并通过体细胞核移植技术建立无特定病原体的转基因猪群^[43]；在机制研究层面，需深入解析跨物种排斥反应的分子机制，开发靶向 CD40/CD154 等关键通路的免疫抑制方案，探索联合的嵌合体免疫耐受策略；在临床前研究阶段，需建立标准化的非人灵长类动物实验模型，开展脑死亡受试者过渡性研究，为临床试验积累关键数据；在临床转化阶段，则需要制定器官获取与保存的专项标准，优化异种肺移植手术技术规范，肺移植医生要熟练掌握显微外科血管吻合技术，需要有专业人员负责术后监测与管理^[44]。当前，国际领先团队虽已初步构建从基因修饰到临床应用的研发体系，但在移植长期存活、跨物种感染防控等关键环节仍面临重大技术挑战，需要全球科研力量的持续协同攻关。

参考文献:

- [1] 张军方, 徐佳, 蔡志明, 等. 用于器官移植的基因修饰猪的研究进展[J]. 器官移植, 2017, 8(2): 165-170. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7445.2017.02.014. ZHANG J F, XU J, CAI Z M, et al. Research progress of genetically modified pigs for organ transplantation[J]. Organ Transplant, 2017, 8(2): 165-170. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7445.2017.02.014.
- [2] KUKREJA J, CHEN J, BRZEZINSKI M. Redefining marginality: donor lung criteria[J]. Curr Opin Organ Transplant, 2020, 25(3): 280-284. DOI: 10.1097/MOT.0000000000000764.
- [3] JAWITZ O K, RAMAN V, BECERRA D, et al. Lung transplantation after ex vivo lung perfusion early outcomes from a US national registry[J]. Ann Surg, 2022, 275(5): 1006-1012. DOI: 10.1097/SLA.0000000000004233.
- [4] NICHOLS J E, LA FRANCESCA S, NILES J A, et al. Production and transplantation of bioengineered lung into a large-animal model[J]. Sci Transl Med, 2018, 10(452): eaao3926. DOI: 10.1126/scitranslmed.aao3926.
- [5] WU W K, GUENTHART B A, O'NEILL J D, et al. Technique for xenogeneic cross-circulation to support human donor lungs ex vivo[J]. J Heart Lung Transplant, 2023, 42(3): 335-344. DOI: 10.1016/j.healun.2022.11.

- 002.
- [6] WANG L, FENG M, ZHAO Y, et al. Biomimetic scaffold-based stem cell transplantation promotes lung regeneration[J]. *Bioeng Transl Med*, 2023, 8(4): e10535. DOI: 10.1002/btm2.10535.
- [7] PIERSON R N 3rd. Progress toward pig-to-human xenotransplantation[J]. *N Engl J Med*, 2022, 386(20): 1871-1873. DOI: 10.1056/NEJMp2118019.
- [8] ANAND R P, LAYER J V, 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.
- [9] MOHIUDDIN M M, SINGH A K, SCOBIE L, et al. Graft dysfunction in compassionate use of genetically engineered pig-to-human cardiac xenotransplantation: a case report[J]. *Lancet*, 2023, 402(10399): 397-410. DOI: 10.1016/S0140-6736(23)00775-4.
- [10] TAO K S, YANG Z X, ZHANG X, et al. Gene-modified pig-to-human liver xenotransplantation[J]. *Nature*, 2025, 641(8064): 1029-1036. DOI: 10.1038/s41586-025-08799-1.
- [11] 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.
- [12] MANOOK M, OLASO D, ANWAR I, et al. Prolonged xenokidney graft survival in sensitized NHP recipients by expression of multiple human transgenes in a triple knockout pig[J]. *Sci Transl Med*, 2024, 16(751): eadk6152. DOI: 10.1126/scitranslmed.adk6152.
- [13] BURDORF L, LAIRD C T, HARRIS D G, 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.
- [14] SCHMALKUCHE K, ROTHER T, BESLI S, et al. Human PD-L1 overexpression decreases xenogeneic human T-cell immune responses towards porcine kidneys[J]. *Front Immunol*, 2024, 15: 1279050. DOI: 10.3389/fimmu.2024.1279050.
- [15] KARASU M E, TOUFEKTCAN E, CHEN Y, et al. Removal of TREX1 activity enhances CRISPR-Cas9-mediated homologous recombination[J]. *Nat Biotechnol*, 2025, 43(7): 1168-1176. DOI: 10.1038/s41587-024-02356-3.
- [16] DUAN X, CHEN C, DU C, et al. Homozygous editing of multiple genes for accelerated generation of xenotransplantation pigs[J]. *Genome Res*, 2025, 35(5): 1167-1178. DOI: 10.1101/gr.279709.124.
- [17] CHAN J C Y, CHABAN R, CHANG S H, et al. Future of lung transplantation: xenotransplantation and bioengineering lungs[J]. *Clin Chest Med*, 2023, 44(1): 201-214. DOI: 10.1016/j.ccm.2022.11.003.
- [18] WANG J, XU K, LIU T, et al. Production and functional verification of 8-Gene (GGTA1, CMAH, β 4GalNT2, hCD46, hCD55, hCD59, hTBM, hCD39)-edited donor pigs for xenotransplantation[J]. *Cell Prolif*, 2025: e70028. DOI: 10.1111/cpr.70028.
- [19] 张玄, 窦科峰. 异种移植免疫学、生物学和生物安全挑战[J]. *中华普通外科杂志*, 2025, 40(1): 18-22. DOI: 10.3760/cma.j.cn113855-20241210-00765.
- ZHANG X, DOU K F. Immunological, physiological, and biosafety challenges in xenotransplantation[J]. *Chin J Gen Surg*, 2025, 40(1): 18-22. DOI: 10.3760/cma.j.cn113855-20241210-00765.
- [20] HARA H, SAHARA H, CHEN-YOSHIKAWA T F. Future directions for xenotransplantation in lungs[J]. *Curr Opin Organ Transplant*, 2024, 29(5): 332-339. DOI: 10.1097/MOT.0000000000001161.
- [21] STOERZER S, KRUSZONA S, WAND P, et al. Advances in xenotransplantation: evaluation of α Gal-KO porcine livers and lungs using normothermic machine perfusion in a collaborative perfusion hub[J]. *Transpl Int*, 2025, 38: 13781. DOI: 10.3389/ti.2025.13781.
- [22] CONNOLLY M R, 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.
- [23] CHABAN R, MCGRATH G, HABIBABADY Z, et al. Increased human complement pathway regulatory protein gene dose is associated with increased endothelial expression and prolonged survival during ex-vivo perfusion of GTKO pig lungs with human blood[J]. *Xenotransplantation*, 2023, 30(4): e12812. DOI: 10.1111/xen.12812.
- [24] 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.
- [25] MIURA S, HABIBABADY Z A, 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.
- [26] CANTU E, BALSARA K R, LI B, et al. Prolonged function of macrophage, von Willebrand factor-deficient porcine pulmonary xenografts[J]. *Am J Transplant*, 2007, 7(1): 66-75. DOI: 10.1111/j.1600-6143.2006.01603.x.
- [27] WATANABE H, SAHARA H, NOMURA S, et al. GalT-KO pig lungs are highly susceptible to acute vascular rejection in baboons, which may be mitigated by transgenic expression of hCD47 on porcine blood vessels[J]. *Xenotransplantation*, 2018, 25(5): e12391. DOI: 10.1111/xen.12391.
- [28] HE J, SHI J, YANG C, et al. Pig-to-human lung xenotransplantation into a brain-dead recipient[J]. *Nat Med*, 2025: 1-6. DOI: 10.1038/s41591-025-03861-x.

- [29] MARISCAL A, CALDARONE L, TIKKANEN J, et al. Pig lung transplant survival model[J]. *Nat Protoc*, 2018, 13(8): 1814-1828. DOI: 10.1038/s41596-018-0019-4.
- [30] AOYAMA A, TONSHO M, NG C Y, et al. Long-term lung transplantation in nonhuman primates[J]. *Am J Transplant*, 2015, 15(5): 1415-1420. DOI: 10.1111/ajt.13130.
- [31] KRÜGER L, LÄNGIN M, REICHART B, et al. Transmission of porcine circovirus 3 (PCV3) by xenotransplantation of pig hearts into baboons[J]. *Viruses*, 2019, 11(7): 650. DOI: 10.3390/v11070650.
- [32] TURLEWICZ-PODBIELSKA H, AUGUSTYNIAK A, POMORSKA-MÓL M. Novel porcine circoviruses in view of lessons learned from porcine circovirus type 2-epidemiology and threat to pigs and other species[J]. *Viruses*, 2022, 14(2): 261. DOI: 10.3390/v14020261.
- [33] ORR B, WESTMAN M E, NORRIS J M, et al. Detection of *Brucella* spp. during a serosurvey of pig-hunting and regional pet dogs in eastern Australia[J]. *Aust Vet J*, 2022, 100(8): 360-366. DOI: 10.1111/avj.13172.
- [34] DENNER J. Recent progress in xenotransplantation, with emphasis on virological safety[J]. *Ann Transplant*, 2016, 21: 717-727. DOI: 10.12659/aot.900531.
- [35] NIU D, WEI H J, LIN L, et al. Inactivation of porcine endogenous retrovirus in pigs using CRISPR-Cas9[J]. *Science*, 2017, 357(6357): 1303-1307. DOI: 10.1126/science.aan4187.
- [36] SWATEK A M, PAREKH K R. Lung xenotransplantation[J]. *Thorac Surg Clin*, 2023, 33(3): 291-297. DOI: 10.1016/j.thorsurg.2023.04.010.
- [37] CHABAN R, COOPER D K C, PIERSON R N 3rd. Pig heart and lung xenotransplantation: present status[J]. *J Heart Lung Transplant*, 2022, 41(8): 1014-1022. DOI: 10.1016/j.healun.2022.04.010.
- [38] CHABAN R, ILEKA I, KINOSHITA K, et al. Enhanced costimulation blockade with α CD154, α CD2, and α CD28 to promote heart allograft tolerance in nonhuman primates[J]. *Transplantation*, 2025, 109(6): e287-e296. DOI: 10.1097/TP.0000000000005315.
- [39] HABIBABADY Z, MCGRATH G, KINOSHITA K, et al. Antibody-mediated rejection in xenotransplantation: can it be prevented or reversed?[J]. *Xenotransplantation*, 2023, 30(4): e12816. DOI: 10.1111/xen.12816.
- [40] COOPER D K C, YAMAMOTO T, HARA H, et al. The first clinical pig heart transplant: was IVIg or pig cytomegalovirus detrimental to the outcome?[J]. *Xenotransplantation*, 2022, 29(4): e12771. DOI: 10.1111/xen.12771.
- [41] MIURA S, HABIBABADY Z A, POLLOK F, et al. TNX-1500, a crystallizable fragment-modified anti-CD154 antibody, prolongs nonhuman primate cardiac allograft survival[J]. *Am J Transplant*, 2023, 23(8): 1182-1193. DOI: 10.1016/j.ajt.2023.03.025.
- [42] COOPER D K C, PIERSON R N 3rd. Milestones on the path to clinical pig organ xenotransplantation[J]. *Am J Transplant*, 2023, 23(3): 326-335. DOI: 10.1016/j.ajt.2022.12.023.
- [43] GALLI C. Current techniques of gene editing in pigs for xenotransplantation[J]. *Transpl Int*, 2025, 38: 13807. DOI: 10.3389/ti.2025.13807.
- [44] KHUSH K K, BERNAT J L, PIERSON R N 3rd, et al. Research opportunities and ethical considerations for heart and lung xenotransplantation research: a report from the National Heart, Lung, and Blood Institute workshop[J]. *Am J Transplant*, 2024, 24(6): 918-927. DOI: 10.1016/j.ajt.2024.03.015.

(收稿日期: 2025-08-12)

(本文编辑: 谢诗韵 邬加佳)