

## 猪到猴异种胸腺修饰对受体心脏移植存活时间及外周血 T 细胞的影响

瞿冀琛<sup>1</sup>, 沈振亚<sup>2\*</sup>, 姜格宁<sup>1</sup>, 丁嘉安<sup>1</sup>, 倪斌<sup>2</sup>,  
张治<sup>2</sup>, 何建明<sup>2</sup>, 余云生<sup>2</sup>, 叶文学<sup>2</sup>

(1. 上海市肺科医院胸外科, 上海 200433; 2. 苏州大学附属第一医院 心胸外科和器官移植研究室, 江苏苏州 215006)

**摘要:目的** 通过猪-猴心脏移植模型来探讨异种胸腺修饰对移植存活时间的影响,并在此基础上,研究异种器官移植中 T 细胞的作用及诱导异种 T 细胞中枢性耐受的可能性。**方法** 将受体(中国猕猴)分为 4 组:(1)空白组:对受体不作任何处理。(2)照射组:于心脏移植前 30 d(d30),接受<sup>60</sup>Co 3Gy 全身剂量,余同空白组。(3)胸腺注射组:于心脏移植前 21 d(d21),胸腺内注射供体脾细胞( $5 \times 10^7$ ),余同空白组。(4)照射+胸腺注射组(8 只):于心脏移植前 28 d(d28),即 1.5 月龄时接受<sup>60</sup>Co 3Gy 全身剂量,心脏移植前 21 d(d21),胸腺内注射供体脾细胞( $5 \times 10^7$ ),余同空白组。**结果** 照射+胸注组存活期较空白组明显延长( $P < 0.01$ ),照射+胸注组存活期较胸注组和照射组延长( $P < 0.05$ )。CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>与同期未照射的另两组相比有显著性差别( $P < 0.01$ ),但照射的两组同期相比差别不大( $P > 0.05$ )。照射+胸腺注射组于手术当天 MLR 刺激效应较空白组、照射组下降明显( $P < 0.01$ ),同时单独胸腺注射组与照射组、照射+胸腺注射组相比,刺激效应也有所下降( $P < 0.05$ )。**结论** (1)异种胸腺修饰对 CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>T 细胞亚群的生成与分布情况并无影响,但其针对异种抗原反应能力有所下降。(2)异种胸腺注射可支持 T 细胞的重建和诱导供体特异性的 T 细胞功能抑制或耐受,并有效地延长供心存活时间。

**关键词:** 胸腺修饰; 异种心脏移植; 免疫耐受; 混合淋巴细胞培养

中图分类号:R392.4 文献标识码:A 文章编号:1673-0399(2005)05-0768-04

### Study on the Effect of the Survival Time and the T cells in the Discordant Heart Xenotransplantation Produced by Intrathymic Inoculation with Xenogeneic Antigen Using the Model of Pig to Monkey

QU Ji-chen<sup>1</sup>, SHEN Zhen-ya<sup>2</sup>, JIANG Ge-ning<sup>1</sup>, et al

(1. Thoracic Surgery, ShangHai Pulmonary Hospital, ShangHai 200433, China;

2. Department of Cardiathoracic Surgery and Laboratory of Organ Transplantation, The First Hospital Affiliated to Suzhou University, Jiangsu Suzhou 215006, China)

**Abstract: Objective** This study was designed to investigate the effect of survival time and T cells on the delayed xenograft rejection caused by intrathymic injection of xenogeneic antigen in the discordant cardiac xenotransplantation, and to investigate the possibility of inducing the tolerance for cardiac xenografts. **Methods** In this experiment, pig and monkey were, respectively, selected as donor and recipient. Donor and recipient were divided randomly into four groups. In the blank group (group A) recipients didn't accept any treatments but heart xenotransplantation; In the whole body irradiation (WBI) group (group B) 3 Gy(<sup>60</sup>Co) was received on d30 before transplantation, In the intrathymic injection group(group C) monkeys were pretreated by the intrathymic injection of pig spleen cells ( $5 \times 10^7$ ) on d21 before transplantation, the other treatments were the same as that in group A. In the irradiation and intrathymic injection group (group D) monkeys were pretreated by WBI and the in-

基金项目:国家自然科学基金资助项目(编号:39770731)

收稿日期:2005-01-23 作者简介:瞿冀琛(1976-),男,上海人,住院医师,在读医学硕士,主要从事胸外科临床工作。\*通信作者。

trathymic injection of pig spleen cells at the time just as that in group B and group C. In every group, monkeys were performed heterotopic heart xenotransplantation in abdomen in order to observe the survival time of cardiac xenografts. **Results** (1) Survival time of donor heart in group D( $91.1 \pm 22.8$ h) was significantly longer than group B( $42.56 \pm 1.4$ h) and group A( $35.6 \pm 2.2$ h)( $P < 0.01$ ), there was also evident difference between group D and group C( $P < 0.05$ ). (2) The result of CD4, CD8 testing in peripheral blood have no difference between group B and group D before transplantation( $P > 0.05$ ). (3) The results of MLR showed that there is significant reduction in group D than in group A and B ( $P < 0.01$ ) when the recipient splenocyte responded to donor stimulator. There was different stimulating effect between in group C and D ( $P < 0.05$ ). **Conclusions** (1) In this model, Intrathymic inoculation can't influence the percent of CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T cells in peripheral blood, but pretreatment with IT and WBI can induce T cells immune 4 suppression or immune tolerance, that is similar to allotransplantation in the rodent. (2) Pretreatment with IT and WBI can induce T cells immune suppression or immune tolerance.

**Key words:** intrathymic inoculation; immune tolerance; MLR; heart xenotransplantation

胸腺不仅在建立和塑造有功能的 T 细胞库中发挥作用,而且对诱导和维持自身耐受和移植耐受起关键作用<sup>[1]</sup>。在协调型和非协调型异种移植的啮齿目模型中已证实,异种胸腺注射可支持 T 细胞的重建和诱导供体特异性的 T 细胞功能抑制或耐受<sup>[2]</sup>。本文选用猪-新生猴异位腹腔心脏移植模型,目的在于通过异种胸腺修饰途径来探讨此途径是否有利于异种心脏移植存活时间的延长,并进一步探讨异种器官移植中 T 细胞的作用及诱导异种 T 细胞中枢性耐受的可能性。

## 1 材料与方法

1.1 试剂和动物 小鼠抗猴 CD<sub>4</sub>、CD<sub>8</sub> 单克隆抗体(购自联科公司)、3H(由苏州大学放射生物研究室提供)、受体选用中国猕猴(1 月龄,体重 1~1.5 kg,雄性,由苏州西山中科有限公司提供),供体选用太湖猪种的梅山猪(由太仓育种猪厂提供)。

### 1.2 实验方法

1.2.1 动物分组 分为四组:(1)空白组(5 只):对受体不作任何处理。于设计的手术日(d0)行受体腹腔异位心脏移植。(2)照射组(5 只):于心脏移植前 28 d(d28),即 1.5 月龄时接受<sup>60</sup>Co 3Gy 全身剂量,余同空白组。(3)胸腺注射组(3 只):于心脏移植前 21 d(d21),胸腺内注射供体脾细胞( $5 \times 10^7$ ),余同空白组。(4)照射+胸腺注射组(8 只):于心脏移植前 28 d(d28),即 1.5 月龄时接受<sup>60</sup>Co 3Gy 全身剂量,心脏移植前 21 d(d21),胸腺内注射供体脾细胞( $5 \times 10^7$ ),余同空白组。

1.2.2 全身照射(WBI) 3Gy 的<sup>60</sup>Co  $\gamma$  射线的全

身照射(苏州大学附属第一医院放疗科),剂量率为 200 cGy/min,照射时间为正反各 3 min,动物距照射源 2m,胸腺使用 1 cm 厚的低熔点铅板屏蔽。

### 1.2.3 样本的采集和分析

1.2.3.1 照射前后流式细胞仪检测外周血中 CD4<sup>+</sup>T 细胞和 CD8<sup>+</sup>T 细胞的水平 照射前一天,照射后第 1、3、7、14、21 d 采取实验猴 EDTA 抗凝静脉血 0.5 ml,制成淋巴细胞悬液,以纯化的鼠抗猴 CD<sub>4</sub>、CD<sub>8</sub> 的单抗和兔抗鼠的二抗标记淋巴细胞,通过流式细胞仪对外周血中的 CD<sub>4</sub><sup>+</sup> 和 CD<sub>8</sub><sup>+</sup> T 细胞的水平进行检测。

1.2.3.2 混合淋巴细胞反应(MLR) 采取供体实验猪静脉血 10 ml,受体实验猴静脉血 2 ml,无菌条件下离心分离制成淋巴细胞悬液。经丝裂霉素处理的猪淋巴细胞  $3 \times 10^5$  个作为刺激细胞,猴淋巴细胞  $1 \times 10^5$  个作为反应细胞,加入培养瓶中,3 ml/瓶,培养基使用 RPMI 1640 加小牛血清,设置空白瓶(不加细胞,其他都加),对照瓶(不加供体淋巴细胞)和待检瓶(供受体淋巴细胞 3:1)各 2~3 个孔,在 37.0℃,5% 二氧化碳培养箱中培养 72 h 后加 1.2 cGy/ml 的<sup>3</sup>H-TDR20  $\mu$ l/瓶,继续培养 24 h 后用闪烁测量仪测量 DPM 值,观察细胞的增殖情况。

MLR 刺激效应 = (实验瓶 DPM 值 - 对照瓶 DPM 值) / 对照瓶 DPM 值  $\times 100\%$

1.2.4 脾细胞的采取和胸腺内注射 供体猪无菌取脾,脾组织用研钵研磨成匀浆状,然后过 300 目的灭菌尼龙筛网,以 Ficoll 液分离得到淋巴细胞悬液,台盼蓝染色测定细胞活性 98% 以上,计数脾细胞。受体猴无菌条件下选择胸骨上的纵切口,暴露出气

管,剪开胸骨约 0.5 cm,然后在气管两旁寻找到胸腺,按照  $5 \times 10^7$ /只的数量将约 0.1 ml 供体的脾细胞用 21 号针注入两侧胸腺内,使胸腺均匀肿胀充盈。结扎穿刺点以防脾细胞外溢,并用生理盐水冲洗胸腺周围组织,然后缝合创口。

1.2.5 异位心脏移植 于设计的手术日行受体腹腔异位心脏移植,采用改良 Ono 术式。术后每 0.5 h 通过视诊和腹腔触诊观察供心的搏动,以供心停跳作为供心死亡的标准。供心停跳后立即取出,分别以光学显微镜和电子显微镜观察心肌结构的变化。

1.2.6 统计方法 采用 SPSS 10.0 软件包,采用单因素方差分析和多因素方差分析进行统计,检验水

准  $\alpha$  取 0.05。

## 2 结果

2.1 淋巴细胞在接受照射前后的变化 照射后第 3 d 天至 1 周,淋巴细胞下降至较低水平,下降至照射前的 9.2%,实验组与对照组同期比较无差别( $P > 0.05$ ,见表 1)。

2.2 移植前 CD4、CD8 水平的变化 照射后 1 周照射组和照射 + 胸注组 CD4 水平、CD8 水平降到最低,CD4、CD8 水平与同期未照射的另两组相比有显著性差别( $P < 0.01$ ),但照射的两组同期相比差别不大( $P > 0.05$ )。详见表 2。

表 1 淋巴细胞在接受照射前后的变化( $\times 10^9/L$ )

	空白组(A)	照射组(B)	胸注组(C)	照射 + 胸腺注射组(D)
d30(照射前)	5.73 ± 0.81	5.33 ± 0.55	6.13 ± 0.78	7.28 ± 0.94
d29	5.96 ± 0.75	1.31 ± 0.56	5.93 ± 0.67	0.85 ± 0.37
d25	5.38 ± 0.35	1.02 ± 0.06*	6.81 ± 0.75	0.67 ± 0.30*
d15	5.87 ± 0.91	1.60 ± 0.03	6.33 ± 0.91	1.18 ± 0.16
d0	6.13 ± 1.15	4.13 ± 0.95	6.23 ± 1.03	4.57 ± 1.15

\*与照射前比较,  $P < 0.05$ ; B 与 D, A 与 C 同时期比较,  $P > 0.05$ 。

表 2 移植前 CD4、CD8 水平的变化

		d30	d21	d15	d7	d0
空白组(A)	CD4	39.5 ± 3.3	40.5 ± 4.3	38.5 ± 5.5	37.1 ± 3.1	42.1 ± 4.0
	CD8	26.6 ± 2.1	20.7 ± 1.7	21.5 ± 1.3	23.7 ± 0.2	23.4 ± 0.01
照射组(B)	CD4	40.2 ± 2.5	17.0 ± 5.5*	20.4 ± 2.3	31.1 ± 2.6	36.4 ± 4.1
	CD8	25.4 ± 3.2	6.3 ± 1.3*	17.3 ± 2.1	34.2 ± 1.1	34.4 ± 2.1
胸注组(C)	CD4	42.2 ± 5.1	44.9 ± 4.4	40.9 ± 2.7	41.2 ± 3.5	40.0 ± 2.4
	CD8	23.9 ± 3.2	21.7 ± 1.6	22.3 ± 1.4	24.7 ± 1.2	22.4 ± 2.0
照射 + 胸注(D)	CD4	41.1 ± 2.3	15.8 ± 3.7 <sup>Δ</sup>	23.3 ± 3.1	29.9 ± 4.7	40.1 ± 2.5
	CD8	27.1 ± 3.0	7.3 ± 2.1 <sup>Δ</sup>	15.3 ± 2.3	32.0 ± 2.2	37.0 ± 1.34

CD4 或 CD8 水平: \*与空白比较,  $P < 0.01$ ; <sup>Δ</sup>与同时期胸注组比较,  $P < 0.01$ ; B 与 D, A 与 C 同时期比较,  $P > 0.05$ 。

2.3 猪对猴单向混合淋巴细胞培养的刺激效应 照射 + 胸腺注射组接受脾细胞胸腺内注射后第 3 周,刺激效应较空白组、照射组下降明显( $P < 0.01$ ),同时单独胸腺注射组与照射组、照射 + 胸腺注射组相比,刺激效应也有所下降( $P < 0.05$ )。详见表 3。

2.4 各组动物心脏移植后供心存活时间的比较 在本实验中,照射 + 胸注组存活期较空白组明显延长( $P < 0.01$ ),照射 + 胸注组存活期较胸注组和照射组延长( $P < 0.05$ )。详见表 4。

表 3 猪对猴单向混合淋巴细胞培养的刺激效应(DPM,  $\bar{x} \pm s$ )

分组	MLR 结果
空白组(A)	3427.1 ± 265.8
照射组(B)	2517.1 ± 362.9*
胸腺注射组(C)	2352.0 ± 91.1*
照射 + 胸注组(D)	1622.5 ± 254.5 <sup>▲*</sup>

\*与 A 组比较,  $P < 0.01$ ; <sup>▲</sup>与 B 组比较,  $P < 0.05$ ; <sup>▲\*</sup>与 C 组比较,  $P < 0.05$ 。

表 4 各组动物心脏移植后供心存活时间的比较

分组	n	预处理		供心存活时间/h	P 值 (与 A 组比较)
		WBI	SC		
空白组(A)	5	-	-	36.6 ± 5.8	
照射组(B)	5	+	-	65.6 ± 6.5	<0.05
胸腺注射组(C)	3	-	+	64.4 ± 14.9 <sup>△</sup>	<0.05
照射 + 胸腺注射组(D)	8	+	+	91.1 ± 22.8*	<0.01

\* 与 B 组、C 组比较,  $P < 0.05$ , <sup>△</sup> 与 B 组比较,  $P > 0.05$ 。

### 3 讨论

胸腺是 T 细胞发育和成熟的重要器官,它在整个免疫系统中发挥着中枢性的重要作用。不表达 CD4、CD8 的双阴性细胞,需要在胸腺内经过阳性选择(Positive Selection)和阴性选择(Negative Selection)才能发育为成熟的 CD4、CD8 单阳性细胞。特别是胸腺内的阴性选择过程赋予了诱导中枢性耐受的可能性。中枢性耐受诱导方法已经在同种小动物的心脏移植、肾移植以及胰腺移植研究中获得了成功,经大量实验证实具有高度的可重复性<sup>[5,6]</sup>。在豚鼠到大鼠异种胸腺注射中,胸腺注射后 3 周大鼠胸腺细胞表面有近 20% 的豚鼠 MHC-II 抗原表达,而其他组织无表达(待发表)。一般认为异体抗原注入受体胸腺后可被皮髓质交界处的 APC 细胞摄取、加工、处理,与其胞内 MHC-II 类分子结合成多肽-MHC-II 类分子复合物,并提呈于细胞表面供到达此处的 T 细胞识别。也有文献<sup>[7,8]</sup>报道将异体胰岛细胞、肝细胞注入受体胸腺,一段时间后可在其中找到胰岛细胞、肝细胞和肝小叶结构,从而认为作为“免疫特赦”区的胸腺内允许异体细胞的较长期存活。

本实验通过对 CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup> T 细胞亚群百分比的监测,发现照射后外周血中大量成熟 T 细胞被杀灭,CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup> 亚群发生了改变,照后 1 周 CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup> T 细胞的百分比均下降,但 CD8<sup>+</sup> T 细胞较 CD4<sup>+</sup> T 细胞降低更明显,可能与大动物 CD8<sup>+</sup> T 细胞对  $\gamma$  射线的照射更为敏感有关。而在照射组与照射加胸腺组中二类 T 细胞所占的百分比及其之间的比例关系并无统计学差异,故认为胸腺修饰对 CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup> T 细胞亚群的生成与分布情况并无影响。那么异种抗原能否在胸腺内 T 细胞发育过程中发挥“教育”作用呢?

MLR 是评价 T 细胞免疫应答功能的经典体外实验方法,可间接反映体内 T 细胞对某一组织相容

性抗原的免疫应答功能,对客观地判断 T 细胞免疫应答功能、免疫耐受的诱导及移植物的排斥均有重要的参考价值<sup>[3]</sup>。本实验通过对单向混合淋巴细胞培养结果的观察,发现照射加胸注组通过 3Gy 全身照射清除外周绝大部分成熟淋巴细胞后,外周血中的 T 细胞绝大多数为经过异种胸腺修饰后新生的 T 细胞,猴淋巴细胞对猪抗原的识别、增殖能力有所下降,提示异种间胸腺修饰虽然对 T 细胞亚群的分布无影响,但其识别异种抗原的能力有所下降,因此我们推测异种胸腺修饰同样可获得类似于同种间新生 T 细胞对注入抗原的免疫抑制或耐受。而单独胸注组外周血中部分 T 细胞为经异种抗原“教育”后分化的,MLR 结果较照射组受抑,但还存在大量未经异种抗原“教育”后分化的 T 细胞,因此刺激效应较照射加胸注组高。

对于体内条件下异种胸腺修饰的作用,实验中照射加胸注组存活时间较其他各组明显延长是很好的说明。考虑原因如下:(1)在本实验中,克服了 HAR 后的移植心病理检查中发现移植心内有一定量的 T 细胞浸润,而异种皮肤移植实验也证明,CD4<sup>+</sup> T 细胞参与异种排斥反应,且相关研究表明,异种移植中活化 CD4<sup>+</sup> T 细胞早于 CD8<sup>+</sup> T 细胞,以 CD4 为主的多种黏附分子参与识别作用,这说明 T 细胞在此期间发挥重要的作用。在猪到猴异种移植时,T 细胞的异种识别存在两条途径,即依赖猪 APC 的直接识别和依赖猴 APC 的间接识别,CD4<sup>+</sup> T 细胞主要参与直接识别,并且优先识别 SLA-DR,其次是 SLA-DQ<sup>[4]</sup>。这可能与灵长类和猪 MHC 的基因序列高度同源有关。关于中国广西小型猪的 SLA 基因序列的研究<sup>[9]</sup>也证明了这一点。当我们把异种供体抗原接种入受体胸腺,受体胸腺内皮质和髓质交界处的 APC 可获取异种抗原,并将其递呈给 MHC 分子结合成复合物,此时到达此处的 T 细胞如能识别该复合物将发生克隆清除,从而在照射

(下转第 795 页)

表明,适宜的低剂量辐射可以使 T 淋巴细胞功能得以改善,为增强儿童淋巴细胞功能作了有益的探索。目前全身低剂量辐射已试用于临床治疗某些肿瘤,甚至有人提出在治疗与免疫缺陷有关的某些疾病(包括艾滋病)的措施中低剂量辐射亦有一定意义。虽然全身性或局部性的低剂量辐射用于儿童免疫功能缺陷的临床治疗为时尚早,但可以应用体外低剂量辐射后的分子产物、诱导蛋白以达到免疫增强的目的。

#### 参考文献:

[1] 胡亚美,江载芳,主编.诸福棠实用儿科学(上册)[M].第7版.北京:人民卫生出版社,2002:508-515.

- [2] 魏泓,主编.医学实验动物学[M].成都:四川科学技术出版社,1993:341.
- [3] Jimenez JJ, Huang HS, Hiindahi M, *et al.* Protection from chemotherapy induced neutropenia by imuVert[J]. *Am J Med Sci*, 1992, 303(2):83-85.
- [4] Hussein AM, Jimenez JJ, McCall CA, *et al.* Protection from chemotherapy induced alopecia in a rat model [J]. *Science*, 1990, 249:1564-1566.
- [5] 屈福荣,宋术亮,王殿章.山东省三城市1个月~19岁的人群中营养不良和肥胖症的调查[J]. *中国儿童保健杂志*, 2004, 12(1):78-79.
- [6] 张建华,苏燎原,盛锦云,等.儿童 T-淋巴细胞 DNA、蛋白质合成及低剂量辐射刺激效应的研究[J]. *中国实用儿科杂志*, 2000, 15(2):88-90.

(上接第 771 页)

清除外周血成熟 T 细胞的基础上,使迁移出胸腺的成熟 T 细胞将此异种抗原识别为自体抗原<sup>[10]</sup>。(2)据相关文献报道,抗异种供体 IgG 由胸腺依赖性抗原(TD Ag)刺激产生,而这种抗原必须在 Th 细胞或巨噬细胞参与下才能激活 B 细胞产生 IgG,故认为异种胸腺修饰途径可通过抑制 IgG 类抗体的生成而抑制由此引起的 DXR 反应 ADCC 作用<sup>[11]</sup>。(3) T 细胞分泌的不同细胞因子如 IL-10 等,对其他 T 细胞、MΦ、NK 细胞可能也有一定作用[待发表]。

这一方法避免了临床上应用免疫抑制剂的巨大经济负担和身体损害,为临床异种移植开拓了一条新思路。

#### 参考文献:

[1] Nikolic B, Gardner JP, Scadden DT, *et al.* Normal development in porcine thymus grafts and specific tolerance of human T cells to porcine donor MHC[J]. *J Immunol*, 1999, 162(6):3402-3407.

[2] Shen Zhenya, Ni B, Yu Y *et al.* The immune effect of the discordant heart xenotransplantation produced by intrathymic inoculation with xenogeneic antigen in the primate[J]. *Xenotransplantation*, 2001.

[3] 杜成友,姚榛祥,黄平等.受体外周血 IgG、MΦ、NK、CD4、CD8 及 MLR 的变化与异种移植存活的关系[J]. *中国免疫学杂志*, 2001, 17(2):89-92.

- [4] 谢晋,陈福祥,李宁丽,等.人 T 细胞对猪白细胞抗原的直接识别[J]. *上海免疫学杂志*, 2000, 20(3):136-139.
- [5] Shen Zhenya, Mohiuddin M, Disesa VJ. *et al.* Durability of donor specific and organ specific heart transplant tolerance induced by intrathymic pretreatment with allogeneic spleen cells[J]. *Surgical Forum*, 1994, 45:237-238.
- [6] Blom D, Morrissey N, Mesonero C, *et al.* Tolerance induction by intrathymic inoculation prevents chronic renal allograft rejection[J]. *Transplantation*, 1998, 65(2):272-275.
- [7] Posselt AM, Barker CF, Tomaszewski JE, *et al.* Induction of specific unresponsiveness by intrathymic islet transplantation[J]. *Science*, 1990, 249:1293-1295.
- [8] 赵涛,何尔斯泰.肝细胞胸腺内注入对大鼠异体小肠移植的影响[J]. *中华器官移植杂志*, 2000, 21(1):47-48.
- [9] 孙兆黎,杨贵贞.异种移植中两条识别途径的细胞及分子基础研究初探[J]. *中国免疫学杂志*, 1997, 13:303-306.
- [10] Saborio DV, Chowdhury NC, Jin MX, *et al.* Regulatory T cells maintain peripheral tolerance to islet allografts induced by intrathymic injection of MHC class I allopeptides[J]. *Cell Transplant*, 1999, 8(4):375-381.
- [11] Xia G. L., Ji P, Rutgeerts O, *et al.* Approaches toward T cell-independent and dependent xenograft tolerance [J]. *Transplantation*, 2000, 32(2):371-373.