

猪到猴异种胸腺修饰对猪心脏移植存活及与外周血 IL-2 水平的影响

瞿冀琛, 沈振亚, 张 治, 何建明, 余云生, 叶文学, 倪 斌

(苏州大学附属第一医院心胸外科和器官移植研究室, 苏州 215006)

摘要: 选用猪-新生猴腹腔心脏异位模型, 通过异种胸腺修饰加⁶⁰Co γ照射途径, 来探讨此途径对异种器官移植中 T 细胞的作用及诱导异种 T 细胞中枢性耐受的可能性, 并进一步研究外周血 IL-2 水平与排斥反应的关系。结果发现: MLR 检测在照射+胸腺注射组接受脾细胞胸腺内注射后第3周, 其刺激效应较空白组、照射组下降明显($P < 0.01$)。照射+胸腺组存活期较空白组明显延长($P < 0.01$), 照射+胸腺组存活期较胸腺组和照射组延长($P < 0.05$)。IL-2 和 IL-10 检测的结果表明, 各组在排斥时均表现为 IL-2 水平较移植前显著升高($P < 0.001$), 胸腺+照射组和胸腺组, 受体体内 IL-2 水平, 在移植后早期与移植前比较无显著性差异($P > 0.05$), 与同时期单纯照射和空白组术后比较有显著差异($P < 0.01$)。结果表明: 异种胸腺注射可诱导供体特异性的 T 细胞功能抑制, 异种胸腺注射联合照射可有效地延长供体存活时间。IL-2 水平与排斥反应的发生关系密切, 可以作为监测晚期排斥反应发生的一个重要指标。

关键词: 异种心脏移植; 胸腺修饰; 免疫抑制

中图分类号: R392.4

文献标识码: A

文章编号: 1001-2478 (2003)04-0244-04

Effects of Intrathymic Inoculation of Xenogeneic Spleen Cells on the Survival Time of Cardiac Xenografts and the Serum Levels of IL-2

QU Ji-chen, SHEN Zhen-ya, ZHANG Zhi, HE Jian-ming, YU Yun-sheng, YE Wen-xue, NI Bing (Department of Cardiothoracic Surgery and Laboratory of Organ Transplantation, First Affiliated Hospital of Soochow University, Suzhou 215006, China)

Abstract: To investigate the validation of pig to monkey as an experimental animal model for the study on the induction of immune tolerance to cardiac xenografts by intrathymic inoculation with xenogeneic spleen cells and whole body γ ray irradiation, and to determine the correlation between the rejection of donor heart and the level of IL-2, the present investigation was done in our laboratory. The experimental results of this study showed, the survival times of donor heart in the irradiation and intrathymic inoculation groups (91.1 ± 22.18) hours were significantly longer than those of blank group (36.6 ± 5.8) hours. In MLR, when the recipient splenocytes responded to the donor stimulator, there was significant reduction in the irradiation and intrathymic inoculation group than in the blank group as well as the whole body irradiation group. The levels of IL-2 of recipients of all groups were much higher in the rejection of xenografts than those before transplantation. These results suggest that pretreatment with intrathymic inoculation and whole body irradiation could induce T cell immune suppression and the changes of serum IL-2 levels are closely correlated with the development of xenograft rejection. It could be used as an important index to inspect to the late rejection reactions.

Key words: heart transplantation; intrathymic inoculation; immune suppression.

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^[1]。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^[2]。

本文选用猪-新生猴异位腹腔心脏移植模型, 目的在于探讨异种胸腺修饰途径对异种器官移植中 T 细胞的作用及诱导异种 T 细胞中枢性耐受的可能性, 并进一步研究外周血 IL-2 水平与排斥反应的关系。

1 材料与方法

1.1 试剂和动物 猴 IL-2、IL-10 试剂盒(购自 Bender Med Systems)、³H (由苏州大学放射生物研

收稿日期: 2002-10-08; 修回日期: 2002-12-02

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(No.39770731)

作者简介: 瞿冀琛(1976-), 男, 上海人, 硕士, 主要从事心脏移植实验研究。

通讯作者: 沈振亚(E-mail: uuzhshen@public1.sz.js.cn)

究室提供)、受体选用中国猕猴(1月大,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4组。空白组(5只):受体不作任何处理。于设计的手术日行受体腹腔异位心脏移植。照射组(5只):于心脏移植前28 d,即1.5月龄时接受 ^{60}Co 3 Gy全身剂量,余同空白组;胸腺注射组(3只):于心脏移植前21 d,胸腺内注射供体脾细胞(5×10^7),余同空白组;照射+胸腺注射组(8只):于心脏移植前28 d,即1.5月龄时接受 ^{60}Co 3 Gy全身剂量,心脏移植前21 d,胸腺内注射供体脾细胞(5×10^7),余同空白组。

1.2.2 全身照射(WBI) ^{60}Co γ -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2 m,胸腺使用1 cm厚的低熔点铅板屏蔽。

1.2.3 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 3×10^5 个作为刺激细胞,猴淋巴细胞 1×10^5 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0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,在温度37℃、5% CO_2 培养箱中培养72 h后加1.2 cGy/ml的 $^3\text{H-TdR}$ 20 μl /瓶,继续培养24 h后闪烁测量cpm值,观察细胞增殖情况。

MLR刺激效应 = [(实验瓶cpm值 - 对照瓶cpm值)/对照瓶cpm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胸腺,按照 5×10^7 /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^[3]。

1.2.6 心脏移植术后供心存活的观察 术后每小

时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。

1.2.7 心肌结构的显微和超微观察 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。

1.2.8 术后每日采取受体小隐静脉血约1 ml,分离得到淡黄色的血清,置于-86℃冰箱中储存,以便检测血清中白介素浓度。检测方法采用双抗体夹心法。

1.3 统计学方法 所有数据的统计均使用SPSS10.0软件包进行统计。统计方法使用单因素方差分析和多因素方差分析,检验水准: $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 猪对猴单向混合淋巴细胞培养的刺激效应(术前)(以均值加标准差表示)(表1) 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($P < 0.01$),较单独胸腺注射组亦有下降($P < 0.05$)。

表1 猪对猴单向混合淋巴细胞培养的刺激效应

分组	cpm ($\bar{x} \pm s$)
空白组(A)	3 427.1 \pm 265.8
照射组(B)	2 517.1 \pm 362.9*
胸腺注射组(C)	2 352.0 \pm 91.1*
照射+胸腺组(D)	1 622.5 \pm 254.5 ^{▲*}

与A组比较,* $P < 0.01$;与B组比较,★ $P < 0.05$;与C组比较,▲ $P < 0.05$

2.2 各组动物心脏移植后供心存活时间比较(表2) 在实验中,照射+胸注组存活期较空白组明显延长($P < 0.01$),较胸注组和照射组亦有延长($P < 0.05$),而照射组和胸注组的存活期较空白组延长($P < 0.05$),但胸注组的存活期较照射组无显著差异($P > 0.05$)。

2.3 IL-2、IL-10水平的变化(表3、4) 对各组受体心脏移植前后和供心被排斥前后,体内IL-2、IL-10的水平进行了连续检测,检测结果表明:各组在排斥时均表现为IL-2水平较移植前显著升高($P < 0.001$),胸注+照射组,受体体内IL-2水平,在移植后早期仍较低,与移植前比较无显著性差异($P > 0.05$),同时期与空白组术后比较有显著差异($P < 0.01$),在后者,受体体内IL-2水平移植后第2天升高,而此时IL-10水平还很低,心脏移植即被排斥;在胸注组、胸注+照射组中,随着供心的存活,受体体内IL-10水平随T细胞的激活而升高。

表2 各组动物心脏移植后供心存活时间比较

分组	例数	预处理		供心存活时间(h)	MST(h)	P值
		WBI	SC			
空白组(A)	5	-	-	34.0、29.9、45.5、38.0、35.4	36.6 ± 5.8	
照射组(B)	5	+	-	57.5、69.9、71.5、59.5、69.4	65.6 ± 6.5	vs A < 0.05 vs B > 0.05
胸腺注射组(C)	3	-	+	50.6、80.2、62.5	64.4 ± 14.9	vs A < 0.05
照射 + 胸腺注射组(D)	8	+	+	84.5、128.1、88、118.5 70.2、100.4、72.3、67.2	91.1 ± 22.8	vs A < 0.01 vs B < 0.05 vs C < 0.05

表3 移植前后各组受体体内 IL-2 水平的变化(ml)

分组	移植前	术后					
		24 h	48 h	72 h	6 h	120 h	138 h
空白组(A)	35.4 ± 5.3*	37.0 ± 25.2	140.0 ± 26.7 [▲]				
照射组(B)	39.6 ± 2.1*	39.9 ± 4.3	47.0 ± 2.9*	118.2 ± 23.1 [▲]			
胸注组(C)	42.8 ± 3.2*	42.4 ± 18.5	54.6 ± 23.9*	133.8 ± 25.8 [▲]			
胸注 + 照射组(D)	40.6 ± 1.7*	43.2 ± 14.2	47.8 ± 26.2*	51.0 ± 24.5	55.8 ± 23.6	73.0 ± 29.7	178.4 ± 30.4 [▲]

移植前组间比较, * $P > 0.05$; 与移植前比较, [▲] $P < 0.01$; 与同时期空白组比较, ★ $P < 0.01$

表4 移植前后各组受体体内 IL-10 水平的变化(ml)

分组	移植前	术后					
		24 h	48 h	72 h	6 h	120 h	138 h
空白组(A)	0 ± 2.7*	0 ± 2.3	0 ± 5.3				
照射组(B)	0 ± 1.5*	1.0 ± 1.2	0 ± 2.2	1.0 ± 3.7			
胸注组(C)	0 ± 1.8*	0 ± 1.4	8.1 ± 2.4*	265 ± 3.2 [▲]			
胸注 + 照射组(D)	0 ± 1.3*	0 ± 2.2	7.7 ± 4.5*	17.9 ± 11.0*	36.5 ± 17.1*	78.7 ± 23.0 [▲]	245 ± 8.4 [▲]

移植前组间比较, * $P > 0.05$; 与移植前比较, [▲] $P < 0.001$; 与移植前比较, ★ $P < 0.05$

3 讨论

超急性排斥反应(HAR)是猪到灵长类异种移植后的首要的障碍,其发生在移植后1~2h。HAR的发生主要与人体内预存有针对猪血管内皮细胞上半乳糖 $\alpha 1, 3$ 半乳糖(Gal $\alpha 1, 3$ Gal)表位的天然抗体有关^[4],移植后天然抗体与Gal $\alpha 1, 3$ Gal表位两者结合并激发经典的补体激活途径,其中IgM类抗猪抗体(约占全部IgM的0.1%)比IgG类(约占全部IgG的1%)更为主要^[5]。大量文献证实^[6,7]清除或阻断天然抗体IgM的作用可成功克服HAR。由于在胃肠道内,存在有表达Gal $\alpha 1, 3$ Gal表面抗原微生物的存在,在其刺激下,新生儿及新生狒狒可于出生2月后产生抗-Gal IgM^[8,9],如在新生的2、3个月内植入猪心,可无HAR发生^[10]。基于此原理,实验选用新生猴为受体,IgM抗体水平低下(待发表),避免了HAR,为观察后续的细胞性排斥反应提供了可能。

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。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,而其它组织无表达(待发表)。在猪到猴异种胸腺注射中,胸腺注射后3周也观察到类似现象(其他文章发表)。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,并递呈于细胞表面供到达此处的T细胞识别;也有文献^[7,8]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,从而作为“免疫特赦”区的胸腺内允许异体细胞的较长期存活。并且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成功,经大量实验证实具有高度的可重复性^[5,6]。那么,异种胸腺修饰是否有同样效果呢?

MLR是评价T细胞免疫应答功能的经典体外实验方法,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^[11]。实验(表 1)通过对单向混合淋巴细胞培养结果的观察,发现照射 + 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 T 细胞亚群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 + 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 + 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:据文献报道^[6],在非协调性猪到灵长类模型中,克服了 HAR 后的植心病理中发现移植心肌内有一定量 T 细胞浸润。在实验中照射 + 胸注组移植后第 2 天 IL-2、IL-10 水平升高,与移植前相比有差别($P < 0.05$)。这表明 CD4⁺ T 细胞在此期间发挥重要的作用,但参与排斥的免疫应答发生较晚。体外实验表明 CD4⁺ T 细胞主要参与直接识别,并且优先识别 SLA-DR,其次是 SLA-DQ^[12]。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 基因序列的研究也证明了这一点。当我们将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。从而在照射清除外周血成熟 T 细胞基础上,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^[13]。另据相关文献,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延迟性异种排斥反应的抗体介导的细胞毒作用(ADCC)^[11];同时 Th2 淋巴细胞可作为一种免疫抑制细胞通过产生 IL-10、IL-4、IL-6 等细胞因子来抑制 T 细胞、巨噬、NK 细胞的免疫应答。实验中 IL-10 水平在胸注 + 照射组较空白组、照射组升高($P < 0.001$),较胸注组保持更久的高水平状态是有力的佐证。

同时,实验观察到一个有趣现象,即猪到猴异种移植中,IL-2 水平与排斥反应的发生有关,并在排斥反应发生前升高,这与同种移植十分类似。

据文献报道,IL-2 主要由 CD4⁺ T 细胞产生,此外,CD8⁺ T 细胞、NK 细胞、LAK 细胞亦可产生。而 IL-2 受体分布于 T 细胞、B 细胞、NK 细胞及巨噬细胞表面^[14]。实验各组在排斥时均表现为 IL-2 水平较移植前显著升高($P < 0.001$),考虑与 CD4⁺ T 细胞、CD8⁺ T 细胞、NK 细胞、LAK 细胞激活有关,特别是与异种移植排斥中 NK 细胞及巨噬细胞激活有关^[15]。通过胸腺注射途径,尽管抑制了 T 细胞识别异种抗原,通过 Th2 细胞分泌 IL-10 间接抑制了 NK 细胞及巨噬细胞的活性,但其对 NK 细胞及巨噬细胞无直接的抑制作用,IL-10 的作用也不足以与 NK 细胞及巨噬细胞的激活相抗衡,并且 IL-2 对排斥反应有正反馈作用,主要表现为^[16]:可增强 NK 细胞的细胞毒活性,促进 NK 细胞、LAK 细胞增殖,刺激 NK 细胞产生 IFN- γ 、TNF- α ;可促使活化 B 细胞增殖及产生抗体;可促进单核/巨噬细胞产生超氧离子;同时类似于同种移植对 T 细胞也发挥着一定作用,可促进 Th 细胞、CTL 和 Ts 细胞增殖,诱导抗原特异性 T 细胞增殖分化为效应细胞。实验的结果提示,IL-2 的水平与排斥反应的发生关系密切,可以作为监测异种移植急性排斥反应的一个重要指标;同时说明了实验在使用全身照射的基础上,进一步行胸腺修饰未能达到长期存活的原因。

总之,胸腺修饰在抑制异种大动物移植细胞性排斥方面有一定作用,但要获得异种移植的长期免疫抑制,可能需要在抑制 NK 细胞、巨噬细胞的激活方面深入研究,有所突破,方可应用于临床。

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: 3402.
- [2] Shen ZY, Ni B, Yu Y, et al. The immune effect of the discordant heart xenotransplantation produced by intrathymic inoculation with xenogenic antigen in the primate[J]. *Xenotransplantation*, 2001, 8(suppl1): 113.
- [3] Ono K, Lindsay E, Sama N, et al. Improved technique of heart transplantation in the rats[J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 1969, 57: 225.
- [4] Cooper DK, Good AH, Koren E, et al. Identification of alpha galactosyl and other carbohydrate epitopes that are bound by human anti-pig antibodies: relevance to discordant xenografting in man[J]. *Transp Immunol*, 1993, 1: 198.

(下转第 251 页)

基因编码, 独立地受不同因素的调节。为了从基因水平上探讨 IL-4 促进 IL-12 p70 产生的机制, 我们提取了刺激 8 h 后 DC 总 RNA, RT-PCR 的结果显示未受到 LPS 刺激的 DC 无 IL-12 p35 基因转录, 但在受到 LPS 刺激后, p35 的转录和翻译水平增加, 进而形成有活性的 IL-12 异二聚体, 这一结果与 Babik 等应用单核细胞进行的研究一致^[8]。IL-4 对 IL-12 p70 的促进作用也主要与 p35 基因转录增加有关, 在没有 IL-4 存在时, p35 的表达会明显下降, 而在在这几种情况下 p40 基因的转录无明显变化。这些结果显示 LPS 作为一种成熟诱导剂在诱导 DC 成熟、诱导 DC 分泌 IL-12 p70 等方面很可能有独特的作用。Morelli 也认为 DC 在不同成熟诱导剂刺激后可以产生不同模式的细胞因子, 从而表现出独特的促进 Th 应答的潜能, 但只有 LPS 的刺激能促进初始 T 细胞向 Th1 的分化, 这与其上调 IL-12 p35 的表达有关^[9]。

综合本研究及其他一些研究者的工作提示 IL-4 除了具有促进 DC 分化以外, 在 Th1 和 Th2 应答类型的调控中可能还具有重要作用。IL-4 不仅可以促进 Th0 向 Th2 分化, 而且还具有促进 Th0 向 Th1 分化的潜能。当然, 这种作用不是直接的, 而是通过 IL-4 作用于 DC, 增强 DC 产生 IL-12 来实现的, 因为 IL-12 是主要的 Th1 应答的细胞因子。Hochrein 等^[7]提出了一个 IL-4 和 IFN- γ 与 IL-12 产生之间调节的模式: DC 在 Th2 环境中接受合适的刺激和 IL-

4 作用后将产生 IL-12 p70, 导致 T 细胞或 NK 细胞产生 IFN- γ , IFN- γ 和 IL-4 很强的协同作用促进更多的 IL-12 的产生, 随之又增强 IFN- γ 的产生, 这就平衡了 IL-4 在促进 Th2 应答的直接作用; 反过来, 在有高浓度 IFN- γ 而缺乏 IL-4 的情况下, 有利于产生 IL-12 (p40)₂ 从而抑制过强的 Th1 应答。

参考文献

- [1] Trinchieri G. Interleukin-12: a cytokine at the interface of inflammation and immunity[J]. *Adv Immunol*, 1998, 70:83.
- [2] 丁传林, 姚 莹. 树突状细胞的发育、亚群及其对 T 细胞应答类型的调控[J]. *上海免疫学杂志*, 2002, 22:347.
- [3] Takenaka H, Maruo S, Yamamoto N, et al. Regulation of T cell-dependent and -independent IL-12 production by the three Th2-type cytokines IL-10, IL-6, and IL-4[J]. *J Leukines Biol*, 1997, 61:80.
- [4] Macatonia SE, Hosken NA, Litton M, et al. Dendritic cells produce IL-12 and direct the development of Th1 cells from naive CD4⁺ T cells [J]. *J Immunol*, 1995, 154:5071.
- [5] Ebner S, Ratzinger G, Krosbacher B, et al. Production of IL-12 by human monocyte-derived dendritic cells is optimal when the stimulus is given at the onset of maturation, and is further enhanced by IL-4[J]. *J Immunol*, 2001, 166:633.
- [6] Syme R, Gluck S. Generation of dendritic cells: role of cytokines and potential clinical applications[J]. *Transf Apher Sci*, 2001, 24:117.
- [7] Hochrein H, O'Keeffe M, Luft T, et al. Interleukin (IL) -4 is a major regulatory cytokine governing bioactive IL-12 production by mouse and human dendritic cells [J]. *J Exp Med*, 2000, 192:823.
- [8] Babik JM, Adams E, Tone Y, et al. Expression of murine IL-12 is regulated by translational control of the p35 subunit [J]. *J Immunol*, 1999, 162:4067.
- [9] Morelli AE, Zahorchak AF, Larregina AT, et al. Cytokines production by mouse myeloid dendritic cells in relation to differentiation and terminal maturation induced by lipopolysaccharide or CD40 ligation [J]. *Blood*, 2001, 98:1215.

(上接第 247 页)

- [5] Lin Y, Soares MP, Sato K, et al. Long-term survival of hamster hearts in presensitized rats[J]. *J Immunol*, 2000, 164:4883.
- [6] Sun CH, Oaks MK, Dong NN, et al. Preoperative depletion of C3 improves the survival of guinea pig to rat cardiac xenograft recipients[J]. *J Invest Surg*, 1997, 10:37.
- [7] Wang H, Rollins SA, Gao Z, et al. Complement inhibition with an anti-C5 monoclonal antibody prevents hyperacute rejection in a xenograft heart transplantation model[J]. *Transplantation*, 1999, 68:1643.
- [8] Xu H, Edwards NM, Chen J, et al. Natural antipig xenoantibody is absent in neonatal human serum[J]. *J Heart Lung Transplant*, 1995, 14:749.
- [9] Michler RE, O' Hair DP, Xu H, et al. Newborn baboon immunity: lessons in cross-species transplantation[J]. *Ann Thorac Surg*, 1995, 60(suppl):5582.
- [10] Kaplon RJ, Michler RE, Xu H, et al. Absence of hyperacute rejection in newborn pig to baboon cardiac xenografts [J]. *Transplantation*, 1995, 59:1.
- [11] 杜成友, 姚榛祥, 黄 平, 等. 受体外周血 IgG、M Φ 、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, 17:89.
- [12] 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, 20:136.
- [13] 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, 8:375.
- [14] He XY, Chen J, Verma N, et al. Treatment with interleukin-4 prolongs allogeneic neonatal heart graft survival by inducing T helper 2 responses [J]. *Transplantation*, 1998, 65:1146.
- [15] Xia G, Ji P, Rutgeerts O, et al. Natural killer cell and macrophage mediated discordant guinea pig-rat xenograft rejection in the absence of complement, xenoantibody and T cell immunity [J]. *Transplantation*, 2000, 70:86.
- [16] 龚非力. 基础免疫学[M]. 武汉:湖北科学技术出版社, 1998:130.