



肺移植慢性排异反应动物模型研究进展

周文勇¹, 周晓慧², 范慧敏^{1,2*}

(1. 同济大学附属东方医院胸心外科, 上海 200120; 2. 同济大学东方转化医学研究中心, 上海 200120)

【摘要】 慢性排异反应是导致肺移植后期移植失败的主要原因。闭塞性细支气管炎 (obstructive bronchiolitis, OB) 是肺移植后慢性排异反应的最主要病理学特征改变。而动物模型在肺移植慢性排异反应研究过程中,起到了不可或缺的作用。到目前为止,已经有多种动物模型被建立并用来模拟人类肺移植后中、远期慢性排异反应。但这些动物移植模型都或多或少存在缺陷。近年来,小鼠原位肺移植模型为研究 OB 提供了潜在可能。本文通过回顾各类肺相关移植模型的建立,对其优缺点进行分析比较,探讨今后肺移植慢性排异疾病模型建立的可能途径。

【关键词】 肺移植;慢性排异;闭塞性细支气管炎;动物模型

【中图分类号】 Q95-33, R617 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2015) 02-0199-06

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2015.02.018

Advances in research on animal models of chronic rejection after lung transplantation

ZHOU Wen-yong¹, ZHOU Xiao-hui², FAN Hui-min^{1,2}

(1. Department of Cardiovascular and Thoracic Surgery, 2. Research Center for Translational Medicine, Shanghai East Hospital, Tongji University School of Medicine, Shanghai 200120, China)

【Abstract】 The most important cause of late mortality after lung transplantation is obstructive bronchiolitis (OB). It is clear that a good animal model is indispensable to further unravel and clarify the pathogenesis of bronchiolitis obliterans syndrome (BOS). Many animal models have been developed to study BOS, however, so far, none of these models truly mimics the human condition. In recent years mouse models of orthotopic lung transplantation have been established, which provide potential possibilities for further studies of OB/BOS after lung transplantation. The aim of this article was to review the pros and cons of those animal models, and discuss the possible approaches to establish animal models of chronic rejection after lung transplantation.

【Key words】 Lung transplantation; Chronic rejection; Obstructive bronchiolitis, OB; Bronchiolitis obliterans syndrome, BOS; Animal models

肺移植是除肿瘤外大多数终末期肺部疾病唯一有效的治疗手段。慢性排异反应是导致肺移植后病人远期死亡的重要原因之一。慢性排异反应表现为细支气管炎闭塞综合征 (bronchiolitis obliterans syndrome, BOS), 其主要病理表现为闭塞性细支气管

炎 (obstructive bronchiolitis, OB)——一种由于淋巴细胞浸润在支气管壁内及周围所导致慢性纤维性病变。约有 68% 病人在肺移植术后 3 个月伴有不同程度的 OB^[1]。因此,通过多种途径对肺移植后 OB 进行转化性研究,对提高肺移植病人远期生存率有

【基金项目】 国家自然科学基金 (81273263; 81202332); 上海市科学技术委员会 (11JC1410800, 801); 上海市医学重点专科建设 (ZK2012A27); 上海领军人才 (2012053); 浦东新区卫生系统领先人才培养 (PWR12011-01); 上海市浦东新区卫生系统重点学科群 (Grant No. PWZxq2014-01)。

【作者简介】 周文勇,男,主治医师,博士,研究方向:肺移植免疫。E-mail: 123zwy@tongji.edu.cn

【通讯作者】 范慧敏,男,主任医师,教授,博士研究生导师,研究方向:移植免疫。E-mail: frankfan@tongji.edu.cn; 周晓慧,女,副研究员,研究方向:免疫调节。E-mail: xzhou100@hotmail.com

着重要的意义。而稳定有效的实验动物模型则是研究进行的必要条件。

在长期的探索过程中,研究者建立了一系列实验动物模型用于模拟人类肺移植后慢性排异病理状态。这些动物模型按照所使用动物类型可分为大型哺乳动物模型和小型哺乳动物模型;按照建立方法可分为移植模型和非移植模型;按照移植植物植入部位可分为异位移植模型和原位移植模型。本文主要通过移植模型分类框架下结合其他分类方法回顾讨论各类肺移植相关模型的优点与劣势。此外,小鼠原位肺移植模型是近年来出现一种新的肺移植动物模型,本文还将探讨该动物模型的发展现状以及充当肺移植慢性排异反应模型所面临的问题。

1 异位气管移植

1.1 小鼠

小鼠异位气管移植出现于 1993 年^[2]。通过手术将部分供体小鼠气管植入到受体皮下。至术后 10 d 同种异系气管移植植物出现淋巴细胞和中性粒细胞浸润,管腔内上皮细胞损伤以及纤维增生性改变;至术后 3 周可观察到由纤维和肉芽组织增生所导致的管腔狭窄。使用同种同系气管作为供体进行异位移植则不会出现上述情况,移植植物在术后相当长时间内保持正常组织形态。

基于这一实验动物模型,研究者采用包括环孢素(cyclosporine, CsA)^[3],雷帕霉素(rapamycin)^[4],FTY720 联合细胞毒 T 淋巴细胞相关抗原 4(cytotoxic T lymphocyte-associated antigen-4, CTLA-4)^[5],以及最新出现的抗纤维化药物 Pirfenidone^[6]和免疫抑制剂 PX3. 102,雷公藤多甙等^[7,8]各种方法试图对其进行优化,以达到特定的研究要求。小鼠异位气管移植模型的优点主要体现在易于操作和良好的重复性,能够较好的反映人类肺移植 OB 发生后气道上皮损伤,气管壁炎症以及纤维化反应。然而,受体所植入的气管移植植物源于供体大气道,而人类肺移植后移植植物发生 OB 主要累及小气道。另外,异位气管移植植物植入受体后无法实现血供以及跟外界的气体交换。这些因素均导致小鼠异位气管移植模型无法最佳的模拟人类真实肺移植后状态。此外,异位气管移植后无法对移植植物进行实时功能检测或获得支气管灌洗液。

1.2 大鼠

采用大鼠进行异位气管移植也可将供体气管植入到受体网膜内。Boehler 等^[9]通过这一模型,将观察到的同种异系气管移植植物 OB 病理过程描述为三

个阶段:缺血坏死期,移植植物表现为上皮细胞脱落和局部缺血坏死;淋巴细胞浸润期,表现为气管周围和管腔内大量淋巴细胞浸润;纤维闭塞期,主要表现为纤维和肉芽组织代替气管粘液层出现管腔狭窄。

动物的大小决定了大鼠异位气管移植模型在操作上要比小鼠异位气管移植简单。但采用大鼠作为实验动物也面临实验试剂,转基因/基因敲除动物匮乏等因素的限制。其他限制该模型应用的因素与小鼠异位气管移植模型类似。

Dutly 等^[10]在原有大鼠异位气管移植模型基础上,通过将供体气管植入到受体肺中完成模型建立。采用这种方法,至移植术后第 21 天能够观察到同种异系气管移植植物出现上皮细胞和基底膜的破坏以及管腔狭窄,而对比同种同系移植植物则未发现这一现象。国内张瑜等^[11]发现气管上皮细胞在闭塞性细支气管炎的发展中起到重要作用。

1.3 犬类

Nakanishi 和国内闫小龙等报道了将供体气管植入到受体网膜内用以建立犬类异位气管移植模型的方法^[12,13]。至术后 10 d,同种异系气管移植植物未表现出上皮细胞再生;至术后 28 d,移植植物表现出纤维和肉芽组织增生。到目前为止,该类异位气管移植模型已基本被啮齿类动物异位气管移植模型所代替。

2 异位支气管、肺移植

2.1 小鼠

小鼠异位支气管、肺移植最初由两个机构进行了研究。Hertz 等^[2]同时报道了小鼠异位支气管移植模型和异位肺移植模型。Xavier-Elsas 等^[14],也对小鼠异位肺移植模型进行了报道。这类模型虽然提供了研究肺内小气道病理改变的可能。但是,异系供体肺在植入受体后短期内迅速发生实变坏死,从而不能观察到移植植物后期的慢性病理变化。这一缺陷限制了小鼠异位支气管、肺移植模型的广泛应用。而国内则较少采用类似方法建立移植模型。

2.2 灵长类

Hausen 等^[15]在对灵长类动物进行原位肺移植的同时,将支气管异位移植到受体皮下,观察两种移植植物的排异反应。结果显示支气管异位移植植物表现出管腔上皮细胞脱落缺失,呈现中度到重度的急性排异反应。尽管该实验不是为研究慢性排异反应而设计,但在一定程度上为今后开展大型动物慢性排异反应研究提供了可能。运用灵长类动物作为器官供体和受体,受到动物来源,经济及伦理学等因素的

制约,限制了该动物模型的进一步发展。

2.3 猪

猪异位支气管移植模型用以研究慢性排异反应最早报道于 1998 年^[16,17]。包括或不包括肺组织的终末细支气管移植于受体猪的皮下组织。同种异系移植物在移植后出现上皮细胞受损缺失,支气管管腔狭窄,管壁纤维化以及单核细胞浸润堆积。而同种同系移植物至术后 6 个月仅表现为轻度的上皮细胞受损。采用环孢素,糖皮质激素,硫唑嘌呤等免疫抑制剂能够抑制异位支气管移植物中的炎症反应,减缓支气管软骨受损和管腔狭窄程度,但不能有效延缓上皮组织受损^[17-19]。随后一系列针对肺移植后急慢性排异反应的研究都曾使用过该动物模型^[20-27]。猪异位支气管移植模型的优点在于它较原位肺移植简单,能够多位点将移植物植入受体体内,在不同时间节点获取移植物。使用免疫抑制剂的情况下,在 3~4 周能够观察到小气道阻塞,从而为研究慢性排异反应提供可能。国内目前尚未有基于该模型的研究报道。该模型的主要缺点在于缺乏多样化的实验试剂,并且无法对移植物进行功能学检测。

3 原位气管移植

原位气管移植模型是目前应用最为广泛的实验性动物模型。广泛应用于损伤修复,缺血-再灌注损伤,供体保存等各领域研究^[28-30]。

3.1 小鼠

较为详细的小鼠原位气管移植后排异反应过程描述最初见于 2002 年。同种异系原位气管移植后受体小鼠在术后短期出现喘鸣,随后移植物出现淋巴细胞浸润,管壁水肿,表面粘液层丢失等现象^[31]。

小鼠原位气管移植模型会出现移植物再上皮化现象,这一现象主要表现为异系气管移植物最初移植到受体后经历短期的急性排异反应,管腔表面所覆盖的上皮细胞遭到破坏而缺失。待度过急性期后受体源性上皮细胞会重新覆盖生长于气管移植物腔内表面。这种现象有利于缓解排异反应对移植物造成的损伤^[32-37]。值得注意的是,原位气管移植结局有别于异位气管移植,在原位气管移植中,同种异系移植物由于受到受体源性的再上皮化,因此不会形成明显的管腔纤维化^[32,33],很难观察到典型的 OB 改变。该实验动物模型最大的优点在于气管移植与外界相通,一定程度上模拟了移植后状态。但是,它同样无法实现移植物与受体血管的大面积再通。

3.2 大鼠

使用大鼠进行原位气管移植要早于小鼠原位气管移植^[38]。在大鼠原位气管移植模型中同样存在有移植气管再上皮化的现象^[38-41]。这一模型的优点与缺点与小鼠原位气管移植模型基本相同。

4 原位肺移植

4.1 小鼠

2007 年 Okazaki 等^[42]最早报道了基于小鼠的原位肺移植模型。该技术依靠套管技术用以吻合供体肺与受体肺的支气管,肺动脉与肺静脉。由于小鼠左肺仅有一叶,所以目前所进行的小鼠原位肺移植均对左肺进行。对于这种模型,同种同系肺移植从术后 7~28 d,无论肉眼大体标本或是镜下与右侧原位肺对比,均无明显改变。而同种异系移植物在术后早期即出现充血水肿,肺血管旁单核细胞以及支气管上皮细胞下淋巴细胞浸润。至术后 2 周左右即会出现移植物肺泡内出血,肺小动脉血栓形成,支气管腔内大量淋巴细胞聚集阻塞,甚至坏死。Jungraithmayr 等^[43]也通过描述小鼠原位肺移植操作过程,验证了这一方法的有效性和可重复性。相较异位气管移植而言^[44],尽管存在严重的血管排异反应,原位肺移植模型移植物并不会出现气管上皮细胞缺失^[45]。

小鼠原位肺移植无疑显示了巨大的技术优势,它能够最接近真实的模拟人类肺移植后状态。不同于原位或异位气管移植,原位肺移植在受体中表现为通气和血流灌注状态,因而短期内能够承担一部分受体的生理学功能。借助小动物 CT (Micro-CT),在不处死实验动物的条件下,实时评估移植物影像学表现,可以动态反映移植物的病理改变过程。此外,通过肺功能,支气管肺泡灌洗液检测,也能够在移植后不同阶段移植物的评估中发挥作用^[46]。丰富的生物学资源如,试剂、抗体、基因敲除动物和转基因动物等也为今后小鼠原位肺移植模型的广泛应用提供了可能。目前,这一模型主要用于急性排异反应的研究。有学者基于主要组织相容复合体 (major histocompatibility complex, MHC) 轻微不匹配 (MHC-mini mismatch) 的原理将 C57/B10 小鼠作为供体肺来源,移植于 C57/B6 小鼠体内。较之前多采用 BALB/c 小鼠作为供体,这一新的策略希望通过弱化移植后早期急性排异反应所导致的移植物损伤,使其能够过渡到慢性排异反应阶段。结果显示约 50% 的移植物出现了 OB 改变。此外,也有学者在小鼠异系原位肺移植后早期采用免疫抑制剂干预

的策略,减缓急性排异强度从而诱导 OB 发生。上述方法为基于小鼠原位肺移植模型用于 OB 的研究提供了潜在可能。但是其有效性和可重复性值得今后进一步的验证。

4.2 大鼠

大鼠原位肺移植模型最早建立于 70 年代初期^[47]。手术中器官吻合经历了从丝线吻合到套管吻合的过程^[48,49],近期也有报道采用连续缝合作为吻合的主要方式^[50]。大鼠原位肺移植模型广泛应用于急性排异反应和免疫耐受等方面的研究^[51-68]。在大鼠异系肺移植术后给予环孢素干预,6 个月移植肺中小气道上皮基本正常,仅有轻度的淋巴细胞浸润。大气道表现为内膜溃疡和黏膜下淋巴细胞浸润,部分管腔内可观察到纤维性增生^[69]。Hirt 等^[70]研究发现在异系移植后急性排异反应早期给予糖皮质激素,可使移植植物在术后 100 d 左右均保持基本正常形态。而推迟使用糖皮质激素,则会造成移植植物在术后 60~100 d 内出现严重的慢性排异反应。Yasufuku 等^[71]报道,在肺移植前给予受体大鼠 V 型胶原会加重移植后急性排异反应。Zhang 等^[50]发现,在移植术后给予每日环孢素和麦考酚吗乙酯(mycophenolate mofetil),能够诱导部分异系肺移植大鼠移植肺中出现 OB 病理改变。Jungraithmayr 等^[72]在移植后早期联合应用环孢素和雷帕霉素,结果显示至术后 84 d,80% 的移植肺气管虽未出现到明显的阻塞样病理改变,但都存在有不同程度的纤维性改变。相对于小鼠原位肺移植模型,大鼠原位肺移植模型在研究中缺乏丰富的实验材料和实验试剂,这也在一定程度上制约了该模型的广泛应用。

5 结论

通过回溯之前的研究,我们发现理想的肺移植慢性排异反应动物模型应当具备:(1)有典型的病理学表现;(2)能够应用现有的技术手段进行检测;(3)与人类肺移植后病理,生理状态相接近;(4)有丰富的下游研究资源;(5)受其他非研究因素,如经济和伦理学等因素干预小。在此背景下小鼠原位肺移植模型则成为重要的备选方案之一。

除外其建立过程中需要复杂的手术操作,小鼠原位肺移植模型目前尚无统一方法诱导其发生慢性排异反应。在无外界干预的状态下,选择同种同系供体肺移植到受体后,在相当长时间内将不会出现任何移植排异反应,而选择异系供体肺移植到受体后,往往由于所诱发的急性排异反应强度过于剧烈,短期内迅速导致移植植物坏死,从而无法出现慢性排

异反应。采用降低供受体间 MHC 不匹配性和应用免疫抑制剂的方法能减缓急性排异反应,有可能使移植植物有机会度过急性排异期,从而逐步出现慢性排异表现。这一研究策略也成为解决这一问题的潜在途径。

参 考 文 献

- [1] Estenne M, Maurer JR, Boehler A, et al. Bronchiolitis obliterans syndrome 2001: an update of the diagnostic criteria [J]. J Heart Lung Transplant. 2002, 21: 297-310.
- [2] Hertz MI, Jessurun J, King MB, et al. Reproduction of the obliterative bronchiolitis lesion after heterotopic transplantation of mouse airways [J]. Am J Pathol. 1993, 142: 1945-1951.
- [3] King MB, Jessurun J, Savik SK, et al. Cyclosporine reduces development of obliterative bronchiolitis in a murine heterotopic airway model [J]. Transplantation. 1997, 63(4): 528-532.
- [4] Fahrni JA, Berry CJ, Morris RE, et al. Rapamycin inhibits development of obliterative airway disease in a murine heterotopic airway transplant model [J]. Transplantation. 1997, 63(4): 533-537.
- [5] Konishi K, Inobe M, Yamada A, et al. Combination treatment with FTY720 and CTLA4IgG preserves the respiratory epithelium and prevents obliterative disease in a murine airway model [J]. J Heart Lung Transplant. 2002, 21(6): 692-700.
- [6] McKane BW, Fernandez F, Narayanan K, et al. Pirfenidone inhibits obliterative airway disease in a murine heterotopic tracheal transplant model [J]. Transplantation. 2004, 77(5): 664-669.
- [7] Chalermkulrat W, Neuringer IP, Park RC, et al. PX3. 102, a novel Chinese herb extract, diminishes chronic airway allograft rejection [J]. Transplantation. 2004, 78(1): 158-161.
- [8] 杨玉伦, 赵文增; 雷公藤多甙对小鼠异位气管移植模型 MMP-2 和 TIMP-1 表达的影响 [J]. 中国老年学杂志. 2010, 23: 57. 30:3546-3548.
- [9] Boehler A, Chamberlain D, Kesten S, et al. Lymphocytic airway infiltration as a precursor to fibrous obliteration in a rat model of bronchiolitis obliterans [J]. Transplantation. 1997, 64(2): 311-317.
- [10] Dutly AE, Andrade CF, Verkaik R, et al. A novel model for post-transplant obliterative airway disease reveals angiogenesis from the pulmonary circulation [J]. Am J Transplant. 2005, 5(2): 248-254.
- [11] 张瑜, 刘健, 陈昶, 等. 气管异位移植模型大鼠气管上皮细胞对闭塞性细支气管炎的影响 [J]. 中国组织工程研究与临床康复. 2010, 14(53): 9893-9896.
- [12] Nakanishi R, Shirakusa T, Hanagiri T. Early histopathologic features of tracheal allotransplant rejection: a study in nonimmunosuppressed dogs [J]. Transplant Proc. 1994, 26(6): 3715-3718.
- [13] 闫小龙, 李小飞, 刘勇, 等. 深低温冷冻对 rhBMP-2 诱导犬气管移植体软骨再生的影响 [J]. 第四军医大学学报. 2005, 26(2): 160-162.
- [14] Xavier-Elsas P, Santos-Maximiano E, Queto T, et al. Ectopic

- lung transplantation induces the accumulation of eosinophil progenitors in the recipients' lungs through an allergen- and interleukin-5-dependent mechanism [J]. *Clin Exp Allergy*. 2007, 37(1): 29–38.
- [15] Hausen B, Berry GJ, Dagum P, et al. The histology of subcutaneously implanted donor bronchial rings correlates with rejection scores of lung allografts in a primate lung transplant model [J]. *J Heart Lung Transplant*. 1999, 18(7): 714–724.
- [16] Ikonen T, Uusitalo M, Taskinen E, et al. Small airway obliteration in a new swine heterotopic lung and bronchial allograft model [J]. *J Heart Lung Transplant*. 1998, 17(10): 945–953.
- [17] Salminen US, Ikonen T, Uusitalo M, et al. Obliterative lesions in small airways in an immunosuppressed porcine heterotopic bronchial allograft model [J]. *Transpl Int*. 1998, 11(Suppl 1): S515–S518.
- [18] Salminen US, Alho H, Taskinen E, et al. Effects of rapamycin analogue SDZ RAD on obliterative lesions in a porcine heterotopic bronchial allograft model [J]. *Transplant Proc* 1998. 30(5): 2204–2205.
- [19] Uusitalo MH, Salminen US, Ikonen TS, et al. Alloimmune injury preceding airway obliteration in porcine heterotopic lung implants: a histologic and immunohistologic study [J]. *Transplantation*. 1999, 68(7): 970–975.
- [20] Maasilta PK, Salminen US, Lautenschlager IT, et al. Immune cells and immunosuppression in a porcine bronchial model of obliterative bronchiolitis [J]. *Transplantation*. 2001, 72(6): 998–1005.
- [21] Alho HS, Inkien KA, Salminen US, et al. Collagens I and III in a porcine bronchial model of obliterative bronchiolitis [J]. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001, 164(8 Pt 1): 1519–1525.
- [22] Salminen US, Maasilta PK, Harjula AL, et al. Nitric oxide in the development of obliterative bronchiolitis in a heterotopic pig model [J]. *Transplantation*. 2002, 73(11): 1724–1729.
- [23] Alho HS, Maasilta PK, Harjula AL, et al. Tumor necrosis factor- α in a porcine bronchial model of obliterative bronchiolitis [J]. *Transplantation*. 2003, 76(3): 516–523.
- [24] Alho HS, Salminen US, Maasilta PK, et al. Epithelial apoptosis in experimental obliterative airway disease after lung transplantation [J]. *J Heart Lung Transplant*. 2003, 22(9): 1014–1022.
- [25] Paivaniemi OE, Maasilta PK, Alho HS, et al. Cyclooxygenase-2 expression in experimental post-transplant obliterative bronchiolitis [J]. *J Pathol*. 2004, 204(3): 340–348.
- [26] Eerola LM, Alho HS, Maasilta PK, et al. Matrix metalloproteinase induction in post-transplant obliterative bronchiolitis [J]. *J Heart Lung Transplant*. 2005, 24(4): 426–432.
- [27] Alho HS, Maasilta PK, Vainikka T, et al. Platelet-derived growth factor, transforming growth factor- β , and connective tissue growth factor in a porcine bronchial model of obliterative bronchiolitis [J]. *Exp Lung Res*. 2007, 33(6): 303–320.
- [28] Nakanishi R. Revascularization of trachea in lung and tracheal transplantation [J]. *Clin Transplant*. 2007, 21(5): 668–674.
- [29] Moriyama H, Sasajima T, Hirata S, et al. Revascularization of canine cryopreserved tracheal allografts [J]. *Ann Thorac Surg*. 2000, 69(6): 1701–1706.
- [30] Hisamatsu C, Maeda K, Tanaka H, et al. Transplantation of the cryopreserved tracheal allograft in growing rabbits: effect of immunosuppressant [J]. *Pediatr Surg Int*. 2006, 22(11): 881–885.
- [31] Genden EM, Boros P, Liu J, et al. Orthotopic tracheal transplantation in the murine model [J]. *Transplantation*. 2002, 73(9): 1420–1425.
- [32] Genden EM, Iskander AJ, Bromberg JS, et al. Orthotopic tracheal allografts undergo reepithelialization with recipient-derived epithelium [J]. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 2003, 129(1): 118–123.
- [33] Genden EM, Iskander A, Bromberg JS, et al. The kinetics and pattern of tracheal allograft reepithelialization [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2003, 28(6): 673–681.
- [34] 赵晋波, 李小飞, 刘锐, 等. 同种异体近交系小鼠原位气管移植模型的建立 [J]. *第四军医大学学报*. 2007, 28(6): 540–543.
- [35] 王建刚, 史乾, 曹浩, 等. 模拟肺移植后闭塞性细支气管炎小鼠模型的建立 [J]. *同济大学学报(医学版)*. 2012, 33(1): 1–4, 12.
- [36] Murakawa T, Kerklo MM, Zamora MR, et al. Simultaneous LFA-1 and CD40 ligand antagonism prevents airway remodeling in orthotopic airway transplantation: implications for the role of respiratory epithelium as a modulator of fibrosis [J]. *J Immunol*. 2005, 174(7): 3869–3879.
- [37] Heida CA, Eric GM, Thomas MM. Reepithelialized orthotopic tracheal allografts expand memory cytotoxic T lymphocytes but show no evidence of chronic rejection [J]. *Transplantation*. 2005, 79(8): 861–868.
- [38] Tujia IS, Tim BR, Gerald BJ, et al. Epithelial re-growth is associated with inhibition of obliterative airway disease in orthotopic tracheal allografts in non-immunosuppressed rats [J]. *Transplantation*. 2000, 70(6): 857–863.
- [39] 史乾, 曹浩, 范慧敏, 等. Treg/Th17 平衡的改变在大鼠原位气管移植急性排斥发生中的作用 [J]. *同济大学学报(医学版)*. 2010, 31(3): 15–18.
- [40] 汪进益, 曹浩, 洪暄, 等. 肺移植后闭塞性细支气管炎大鼠模型建立及其 miRNA 表达谱分析. *实验动物与比较医学*. 2014, 34(3): 171–175.
- [41] Aoki T, Yamato Y, Tsuchida M, et al. Successful tracheal transplantation using cryopreserved allografts in a rat model [J]. *Eur J Cardiothorac Surg*. 1999, 16(2): 169–173.
- [42] Okazaki M, Krupnick AS, Kornfeld CG, et al. A mouse model of orthotopic vascularized aerated lung transplantation [J]. *Am J Transplant*. 2007, 7(6): 1672–1679.
- [43] Jungraithmayr WM, Korom S, Hillinger S, et al. A mouse model of orthotopic, single-lung transplantation [J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2009, 137(2): 486–491.
- [44] Neuringer IP, Aris RM, Burns KA, et al. Epithelial kinetics in mouse heterotopic tracheal allografts [J]. *Am J Transplant*. 2002, 2(5): 410–419.
- [45] Okazaki M, Gelman AE, Tietjens JR, et al. Maintenance of air-

- way epithelium in acutely rejected orthotopic vascularized mouse lung transplants [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2007, 37(6): 625–630.
- [46] De Vleeschauwer S, Rinaldi M, De Vooght V, et al. Repeated invasive lung function measurements in intubated mice; an approach for longitudinal lung research [J]. *Lab Anim.* 2011, 45(2): 651–81–89.
- [47] Asimacopoulos PJ, Molokhia FA, Pegg CA, et al. Lung transplantation in the rat [J]. *Transplant Proc.* 1971, 3: 583–585.
- [48] Marck K, Hess F, Wildevuur C. Microsurgical aspects of unilateral lung transplantation in the rat [J]. *Microsurgery.* 1979, 465:363.
- [49] 杨林, 纪玲, 孙学峰, 等. Cuff 套管技术在同系大鼠肺移植中的应用 [J]. *中华实验外科杂志.* 2008, 25(6): 800–801.
- [50] Zhang QC, Wang DJ, Yin N, et al. The orthotopic left lung transplantation in rats: a valuable experimental model without using cuff technique [J]. *Transpl Int.* 2008, 21(11): 1090–1097.
- [51] Prop J, Wildevuur CR, Nieuwenhuis P. Lung allograft rejection in the rat. III. Corresponding morphological rejection phases in various rat strain combinations [J]. *Transplantation.* 1985, 40(2): 132–136.
- [52] Prop J, Wildevuur CR, Nieuwenhuis P. Lung allograft rejection in the rat. II. Specific immunological properties of lung grafts [J]. *Transplantation.* 1985, 40(2): 126–131.
- [53] 郭海周, 赵松, 崔广晖. 大鼠原位肺移植后 CD8 + 调节性 T 细胞的变化 [J]. *郑州大学学报(医学版).* 2013, 4(4): 463–465.
- [54] 唐政, 王建军, 翟伟, 等. CD26/二肽酰酶 IV 底物缓激肽在大鼠肺移植缺血再灌注损伤中的表达 [J]. *中华器官移植杂志.* 2011, 32(7): 426–429.
- [55] Romaniuk A, Prop J, Petersen AH, et al. Expression of class II major histocompatibility complex antigens by bronchial epithelium in rat lung allografts [J]. *Transplantation.* 1987, 44(2): 209–214.
- [56] 李劲松, 龚勇泉, 王建军. 内皮素受体拮抗剂 PD142893 对大鼠肺移植早期缺血再灌注损伤的影响 [J]. *中华实验外科杂志.* 2006, 23(6): 713–715.
- [57] Ide N, Nagayasu T, Matsumoto K, et al. Efficacy and safety of inhaled tacrolimus in rat lung transplantation [J]. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2007, 133(2): 548–553.
- [58] Nakashima S, Morikawa M, Komatsu K, et al. Antiproliferative effects of NKH477, a forskolin derivative, on cytokine profile in rat lung allografts [J]. *J Heart Lung Transplant.* 2005, 24(4): 462–469.
- [59] Okazaki M, Kreisel F, Richardson SB, et al. Sphingosine 1-phosphate inhibits ischemia reperfusion injury following experimental lung transplantation [J]. *Am J Transplant.* 2007, 7(4): 751–758.
- [60] Hartwig MG, Appel JZ, Li B, et al. Chronic aspiration of gastric fluid accelerates pulmonary allograft dysfunction in a rat model of lung transplantation [J]. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2006, 131(1): 209–217.
- [61] Mizobuchi T, Yasufuku K, Zheng Y, et al. Differential expression of Smad7 transcripts identifies the CD4 CD45RC high regulatory T cells that mediate type V collagen-induced tolerance to lung allografts [J]. *J Immunol.* 2003, 171(3): 1140–1147.
- [62] Nicolaidou E, Okada Y, Zuo XJ, et al. Prolongation of skin allograft survival is associated with reduced Th1 cytokine responses in the WKY-F344 rat model [J]. *Transplantation.* 1999, 68(9): 1393–1401.
- [63] Okada Y, Zuo XJ, Marchevsky AM, et al. Pre-transplant donor-specific transfusions induce allograft rejection and IL-2 gene expression in the WKY → F344 functional tolerance model of rat lung transplantation [J]. *Transpl Immunol.* 1998, 6(3): 137–146.
- [64] Pham SM, Mitruka SN, Youm W, et al. Mixed hematopoietic chimerism induces donor-specific tolerance for lung allografts in rodents [J]. *Am J Respir Crit Care Med.* 1999, 159(1): 199–205.
- [65] Zuo XJ, Matsumura Y, Prehn J, et al. Cytokine gene expression in rejecting and tolerant rat lung allograft models; analysis by RT-PCR [J]. *Transpl Immunol.* 1995, 3(2): 151–161.
- [66] Uyama T, Sakiyama S, Fukumoto T, et al. Bronchus-associated lymphoid tissue is targeted and damaged by recipient lymphocytes in long-term-surviving rat lung allograft [J]. *Transplant Proc.* 1997, 29(6): 2617–2618.
- [67] Uyama T, Prop J, Petersen AH, et al. Reduction of the lymphoid tissue in long-term surviving rat lung allografts [J]. *Transplant Proc.* 1990, 22(4): 2013–2014.
- [68] Winter JB, Prop J, Groen M, et al. Defective bronchus-associated lymphoid tissue in long-term surviving rat lung allografts [J]. *Am J Respir Crit Care Med.* 1995, 152(4): 1367–1373.
- [69] Uyama T, Winter JB, Groen G, et al. Late airway changes caused by chronic rejection in rat lung allografts [J]. *Transplantation.* 1992, 54(5): 809–812.
- [70] Hirt SW, You XM, Moller F, et al. Development of obliterative bronchiolitis after allogeneic rat lung transplantation: implication of acute rejection and the time point of treatment [J]. *J Heart Lung Transplant.* 1999, 18(6): 542–548.
- [71] Yasufuku K, Heidler KM, Woods KA, et al. Prevention of bronchiolitis obliterans in rat lung allografts by type V collagen-induced oral tolerance [J]. *Transplantation.* 2002, 73(4): 500–505.
- [72] Matsumura Y, Marchevsky A, Zuo XJ, et al. Assessment of pathological changes associated with chronic allograft rejection and tolerance in two experimental models of rat lung transplantation [J]. *Transplantation.* 1995, 59(11): 1509–1517.

[收稿日期] 2015-01-17