

密级\_\_\_\_\_

学校编码: 10384  
学 号: 24520071152524

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

嵌合环境抑制供者反应性记忆性 T 细胞  
并诱导供者特异性耐受的研究

Chimerism Environment Suppress Donor-Reactive Memory  
T Cell and Induce Donor Specific Tolerance

兰天舒

指导教师姓名: 齐忠权 教授

专业名称: 药物化学

论文提交日期: 2010 年 05 月

论文答辩时间: 2010 年 05 月

2010 年 05 月

嵌合环境抑制供者反应性记忆性 T 细胞并诱导供者特异性耐受的研究

兰天舒

指导教师: 齐忠权 教授

厦门大学

厦门大学博硕士学位论文摘要库

学校编码: 10384  
学号: 24520071152524

分类号\_\_\_\_\_ 密级\_\_\_\_\_  
UDC\_\_\_\_\_

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

嵌合环境抑制供者反应性记忆性 T 细胞并  
诱导供者特异性耐受的研究

Chimerism Environment Suppress Donor-Reactive Memory  
T Cell and Induce Donor Specific Tolerance

兰天舒

指导教师姓名: 齐忠权 教授

专业名称: 药物化学

论文提交日期: 2010 年 5 月

论文答辩日期: 2010 年 月

答辩委员会主席:

评 阅 人:

2010 年 5 月

## 厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下，独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已发表的研究成果，均在文中以适当方式明确标明，并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范（试行）》。

另外，该学位论文为（记忆性移植排斥）课题（组）的科研成果，获得（齐忠权教授）课题（组）经费或实验室资助，在（厦门大学器官移植研究所）实验室完成。（请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称，未有此项声明内容的，可以不做特别声明。）

声明人（签名）：

2010年 月 日

厦门大学博硕

## 厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国硕士、博士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其他方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

1. 经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，于 年 月 日解密，解密后适用上述授权。

2. 不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

2010 年 月

# 目 录

摘 要 .....	V
Abstract .....	VI
<b>第一章 绪 论</b> .....	<b>1</b>
<b>1.1 器官移植中免疫耐受的形成机制</b> .....	<b>1</b>
1.1.1 外周清除 .....	2
1.1.2 中枢清除 .....	3
1.1.3 淋巴细胞双向迁移理论 .....	4
1.1.4 免疫调节 .....	5
<b>1.2 造血嵌合诱导免疫耐受的研究进展</b> .....	<b>5</b>
1.2.1 造血嵌合的种类 .....	6
1.2.2 嵌合率与免疫耐受 .....	6
1.2.3 诱导方法 .....	7
1.2.4 临床应用 .....	10
<b>1.3 器官移植中的记忆性 T 细胞</b> .....	<b>11</b>
1.3.1 同种反应性记忆性 T 细胞的产生 .....	11
1.3.2 记忆性 T 细胞的表型特征 .....	12
1.3.3 记忆性 T 细胞在移植物排斥反应中的特点 .....	12
1.3.4 抑制记忆性 T 细胞并诱导移植免疫耐受 .....	13
<b>1.4 研究目的及意义</b> .....	<b>13</b>
<b>第二章 在嵌合环境中记忆性 T 细胞对移植物的影响</b> .....	<b>15</b>
<b>2.1 材料与方法</b> .....	<b>15</b>
2.1.1 实验材料 .....	15
2.1.2 实验方法 .....	16
<b>2.2 结果</b> .....	<b>26</b>
2.2.1 记忆性 T 细胞纯度和功能检测 .....	26
2.2.2 移植物生存期及 GVHD 的发生情况 .....	27

2.2.3	组织学分析.....	28
2.2.4	移植物中炎症因子表达水平.....	29
2.3	讨论.....	30
<b>第三章</b>	<b>嵌合环境对记忆性 T 细胞的抑制作用.....</b>	<b>33</b>
<b>3.1</b>	<b>材料与方法.....</b>	<b>33</b>
3.1.1	实验材料.....	33
3.1.2	实验方法.....	34
<b>3.2</b>	<b>结果.....</b>	<b>36</b>
3.2.1	记忆性 T 细胞比例的变化.....	36
3.2.2	记忆性 T 细胞促进供者特异性增殖功能的检测.....	37
3.2.3	记忆性 T 细胞激活 B 细胞功能的检测.....	38
<b>3.3</b>	<b>讨论.....</b>	<b>39</b>
<b>第四章</b>	<b>嵌合环境抑制记忆性 T 细胞作用机制的探讨.....</b>	<b>40</b>
<b>4.1</b>	<b>材料与方法.....</b>	<b>40</b>
4.1.1	实验材料.....	40
4.1.2	实验方法.....	41
<b>4.2</b>	<b>结果.....</b>	<b>44</b>
4.2.1	嵌合水平的变化.....	44
4.2.2	脾脏中调节性 T 细胞水平的变化.....	45
4.2.3	心脏移植物中 Foxp3 的表达变化.....	45
4.2.4	血清中调节性相关细胞因子水平的变化.....	46
<b>4.3</b>	<b>讨论.....</b>	<b>47</b>
<b>结论与展望</b>	.....	<b>50</b>
<b>参 考 文 献</b>	.....	<b>51</b>
<b>附 录</b>	.....	<b>64</b>
<b>致 谢</b>	.....	<b>65</b>

# Table of Contents

<b>Chinese Abstract</b> .....	V
<b>English Abstract</b> .....	VI
<b>Chapter 1 Introduction</b> .....	1
<b>1.1 The mechanism of tolerance in transplantation</b> .....	1
1.1.1 Peripheral deletion .....	2
1.1.2 Central deletion .....	3
1.1.3 The Lymphocyte two-way transfer theory .....	4
1.1.4 Immune regulation .....	5
<b>1.2 Research progress of immune tolerance by chimerism</b> .....	5
1.2.1 The classification of chimerism .....	6
1.2.2 Chimerism rate and immun tolerance .....	6
1.2.3 Inducing therapy .....	7
1.2.4 Clinical application.....	10
<b>1.3 Memory T cell in organ transplantation</b> .....	11
1.3.1 The generation of allo-reactive memory T cell .....	11
1.3.2 The phenotype of memory T cell .....	12
1.3.3 The characteristic of memory T cell in transplantation.....	12
1.3.4 Memory T cell suppression .....	13
<b>1.4 Purpose and significance of this study</b> .....	13
<b>Chapter 2 The influence of memory T cell on graft in the chimerism environment</b> .....	15
<b>2.1 Material and Method</b> .....	15
2.1.1 Material .....	15
2.1.2 Method.....	16
<b>2.2 Result</b> .....	26
2.2.1 The purity and function of sorted memory T cell .....	26
2.2.2 The graft survival and GVHD .....	27
2.2.3 Histology analysis .....	28
2.2.4 The cytokine level in the graft.....	29
<b>2.3 Discussion</b> .....	30
<b>Chapter 3 Memory T cell suppression by chimerism</b> .....	33
<b>3.1 Material and Method</b> .....	33

3.1.1 Material .....	33
3.1.2 Method.....	34
<b>3.2 Result .....</b>	<b>36</b>
3.2.1 The variation of memory T cell rate.....	37
3.2.2 The ability of memory T cell to mediate donor specific proliferation .....	37
3.2.3 The ability of memory T cell to activate B cell.....	38
<b>3.3 Discussion .....</b>	<b>39</b>
<b>Chapter 4 The mechanism of memory T cell suppression.....</b>	<b>40</b>
<b>4.1 Material and Method.....</b>	<b>40</b>
4.1.1 Material .....	40
4.1.2 Method.....	41
<b>4.2 Result .....</b>	<b>44</b>
4.2.1 The variation of chimerism rate .....	44
4.2.2 The variation of Treg level in spleen.....	45
4.2.3 The variation of Foxp3 level in heart graft.....	45
4.2.4 The variation of regulatory cytokine in serum .....	46
<b>4.3 Discussion .....</b>	<b>47</b>
<b>Conclusion and Prospect .....</b>	<b>50</b>
<b>Reference.....</b>	<b>51</b>
<b>Appendices .....</b>	<b>64</b>
<b>Acknowledgements.....</b>	<b>65</b>

## 摘 要

**目的:** 通过骨髓移植形成嵌合环境是目前诱导供者特异性耐受最有希望的方法之一。然而, 预处理的强毒性以及供体反应性记忆性 T 细胞(Donor-reactive memory T cells, Tm) 等因素阻碍了其临床应用。本试验拟采用一种低毒有效的方案, 通过诱导嵌合形成供者特异性心脏移植耐受。进一步观察这种嵌合耐受环境能否抑制供者反应性 Tm 介导的排斥反应, 并探讨其可能的作用机制。

**方法:** 本研究用供者特异性输注(Donor specific transfusion, DST) 和 anti-CD154 单克隆抗体结合骨髓细胞输注(Bone marrow transplantation, BMTx) 的治疗方法(DST/aCD154&BMTx), 建立小鼠嵌合体模型作为 Tolerance 组。心脏移植(Heart transplantation, HTx) 后 4 天注射供者反应性 CD4<sup>+</sup> Tm 和 CD8<sup>+</sup> Tm 对嵌合体小鼠进行干扰, 分别作为 Tol/CD4<sup>+</sup> Tm 组和 Tol/CD8<sup>+</sup> Tm 组, 并记录各组心脏移植物生存期。通过对受体鼠移植 100 天后的脾脏, 血液和移植物样品进行检测, 来评估各组移植存活和 Tm 受抑制情况, 进而揭示这种嵌合环境抑制 Tm 并确保移植物长期存活的机制。

**结果:** ①DST/aCD154&BMTx 处理能使移植物长期存活, 且不受 Tm 的影响; ②Tolerance 组和 Tol/CD8<sup>+</sup> Tm 组心脏移植物均无明显炎症; Tol/CD4<sup>+</sup> Tm 组则出现慢性排斥; ③在嵌合模型中 Tm 的数量和功能都受到抑制; ④Tolerance 组和 Tol/CD8<sup>+</sup> Tm 组受体鼠能长期维持嵌合状态, 而 Tol/CD4<sup>+</sup> Tm 组嵌合消失; ⑤经耐受处理后, 移植物中调节性 T 细胞(Regulatory T cells, Treg) 和血清中转化生长因子  $\beta$  (Transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ ) 都能维持较高水平。

**结论:** 我们验证了 DST/aCD154&BMTx 方案能诱导实体器官移植供者特异性耐受。首次报道该嵌合环境对 Tm 的抑制作用。其机制包括中枢清除、外周清除, 以及高水平的免疫调节等。这一发现对抵抗 Tm 对移植物的攻击、维持移植耐受有着重要的意义。

**关键词:** 嵌合; 耐受; 记忆性 T 细胞

## Abstract

**Aim:** Inducing stable chimerism provides a possible pathway to achieve donor-specific tolerance. The problems which harass its clinical application include preconditioning toxicity and the influence of the donor-reactive memory T cells (T<sub>m</sub>). Thus, we used a low toxic and effective remedy to induce donor-specific heart transplantation tolerance by chimerism. We also observed the suppression of this chimerism environment on donor-reactive T<sub>m</sub> and explored the possible mechanism.

**Methods:** This remedy used DST and anti-CD154 mAb combining with bone marrow transplantation (DST/aCD154&BMTx), to build chimerism in tolerance group. Donor-reactive CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T<sub>m</sub> were injected into chimeric mice in Tol/CD4<sup>+</sup> T<sub>m</sub> group and Tol/CD8<sup>+</sup> T<sub>m</sub> group, respectively, 4 days after heart transplantation. The survival time in each group were recorded. The spleen, blood and graft samples were obtained from the recipients in each group, 100 days after heart transplantation. They were analyzed to evaluate the grafts' survival and T<sub>m</sub> suppression, and explore the regulatory mechanism behind the phenomenon.

**Results:** ① This treatment could induce long-term graft survival, which was not influenced by T<sub>m</sub>. ② There were no obvious inflammation in Tolerance and Tol/CD8<sup>+</sup> T<sub>m</sub> group; but chronic rejection appeared in Tol/CD4<sup>+</sup> T<sub>m</sub> group. ③ The amount and function of T<sub>m</sub> were suppressed. ④ The chimerism was detected in Tolerance and Tol/CD8<sup>+</sup> T<sub>m</sub> group; but not in Tol/CD4<sup>+</sup> T<sub>m</sub> group. ⑤ This chimerism environment include high level of Treg in the heart grafts and TGF-β in serum.

**Conclusion:** Here, we confirm that DST/aCD154&BMTx treatment could induce substance organ transplantation donor-specific tolerance. We first report that chimerism environment can suppress T<sub>m</sub> to mediate rejection. The mechanism might include central deletion, peripheral deletion, and high level of immun regulation. These findings have potentially important implications to suppress T<sub>m</sub> for maintaining transplantation tolerance.

**Key words:** chimerism; tolerance; memory T cell

## 第一章 绪论

诱导供者特异性耐受是解决移植排斥的终极目标。研究发现构建嵌合体能诱导持久稳定的供者特异性免疫耐受状态，是目前最有可能应用于临床的耐受诱导方法<sup>[1]</sup>。但是预处理的强毒性、移植物抗宿主病(Graft versus host disease, GVHD)、供体骨髓细胞的数量有限以及 Tm 的出现<sup>[2-4]</sup>均阻碍了该方法的临床应用。因此，寻找一种有效的方法来抑制 Tm，预防急慢性排斥反应发生，从而摆脱免疫抑制剂的长期应用，使机体产生对移植物的永久耐受成为移植界共同关心的问题。

在本章中简要介绍了免疫耐受，造血嵌合以及记忆性 T 细胞的相关概念和研究进展。在此基础上提出本研究的目的和意义。

### 1.1 器官移植中免疫耐受的形成机制

在器官移植中免疫耐受是指在不应用免疫抑制剂的情况下，移植受者对供者抗原产生特异的免疫接受状态，即受者淋巴细胞特异性地对供者同种抗原失去免疫能力。这一概念的涵义包括：防止急慢性排斥反应，延长移植物存活，对来自相同供者的移植物不产生免疫应答，但对来自第三方的移植物仍保持正常的排斥能力，同时保留受者抗感染和防止恶性肿瘤发生的免疫能力。目前认为免疫耐受产生的机制主要有外周和中枢克隆清除(图 1.1<sup>[5]</sup>)、无能和调节等。在诱导免疫耐受的过程中这些机制可能相互交叉、相互协同和互为因果。依据这些理论产生了一系列诱导免疫耐受的方法，包括利用主要组织相容性复合体(Major histocompatibility complex, MHC)肽段封闭 T 细胞受体(T cell receptor, TCR)、封闭 T 细胞活化所必需的协同刺激因子，诱导受者产生嵌合状态及调节性 T 细胞输注。在诸多方法中骨髓输注诱导嵌合体形成和共刺激信号阻断被认为是最有效的方法，而两者的联合更显示出了良好的应用前景<sup>[6]</sup>。

### 1.1.1 外周清除

受者体内的供者反应性 T 细胞清除是产生免疫耐受的最主要机制。其中外周清除是指对外周淋巴细胞库中已经存在的供者特异性 T 细胞的克隆清除。在排斥反应中，供者 MHC 抗原被受者（直接递呈）或供者（间接递呈）抗原递呈细胞（Antigen presenting cell, APC）加工处理后为 T 细胞 TCR 识别，为其提供第一信号。而后，抗原呈递细胞表面粘附分子提供共刺激信号。在双重信号的刺激下 T 细胞才得以活化、增殖。进而排斥移植器官。因而，可以通过阻断第一信号或共刺激信号进行外周清除。

阻断第一信号进行外周清除的机制可能与 FK506 及 CsA 等类似，即 MHC-I 类肽段与受者 TCR 结合，延长  $Ca^{2+}$  的内流，使 T 细胞内  $Ca^{2+}$  浓度增高，从而阻断正常的细胞信号转导通路，最终受者 T 细胞呈无反应性，直至被清除<sup>[7-8]</sup>。尽管人类 MHC 基因呈高度多态性，但一般而言高频率的主导等位基因数目有限，且受者 T 细胞往往仅识别几个主要的 MHC 分子表位。因而，通过人工合成的某些 MHC 肽段来阻断第一信号可达到免疫耐受的目的。在大鼠心脏移植模型中，持续 2 周静脉输注含人类白细胞抗原（Human leukocyte antigen, HLA）-B7 分子 75~84 区的多肽，并联合应用 CsA 可获得持久的免疫耐受<sup>[7]</sup>。据报道，人工合成 HLA I 类肽段（Bw4a 肽）能抑制 T 细胞前体分化为细胞毒性 T 淋巴细胞并使已有的细胞毒性 T 淋巴细胞裂解，从而延长同种移植物的生存期<sup>[9]</sup>。李蓁等以逆转录病毒为载体将供体 C57BL/6 鼠 H-2K<sup>b</sup> 基因导入受体鼠 BALB/c 的造血细胞，发现可以形成稳定的嵌合并明显延长心脏移植存活时间<sup>[10]</sup>。

阻断共刺激信号也会导致供者反应性 T 细胞无能、凋亡或转变为 Treg 以达到阻断排斥反应，诱导免疫耐受的目的<sup>[11-14]</sup>。随着研究的深入，已发现越来越多的作用靶点。根据共刺激分子的功能可以将其分为正向和负向两种。正向共刺激分子能够促进效应性 T 细胞激活和分化并促进 Tm 的产生和再激活。根据其分子结构又可将其进一步分成 Ig 家族；肿瘤坏死因子-肿瘤坏死因子家族；TIM 家族和粘附分子家族。①在 Ig 家族中 CTLA4Ig 可与 T 细胞上的 CD28 竞争性结合 APC 上的 B7 分子，从而阻断 CD28/B7 通路<sup>[15]</sup>。②肿瘤坏死因子-肿瘤坏死因子家族主要包括 CD40/CD154, CD27/CD70, CD30/CD30L, OX40/OX40 ligand（OX40L），疱疹病毒转入因子 A/疱疹病毒转入因子配体等<sup>[16]</sup>。其中

anti-CD154 单抗是造血嵌合时最常用的共刺激阻断剂。它与活化的 T 细胞所表达的 CD154 相结合，从而抑制 APC 的活化和共刺激分子及细胞因子等表达。最近的研究发现 CD30L, OX40 和疱疹病毒转入因子以及 TIM 家族相应信号均表达在效应性记忆 T 细胞表面。这些信号的阻断对 Tm 介导的排斥有抑制作用<sup>[17-19]</sup>。③粘附分子的阻断也可以减弱免疫反应强度。如 anti-LFA-1 单克隆抗体能通过抑制 CD8<sup>+</sup> T 细胞<sup>[20-21]</sup> 和自然杀伤性细胞<sup>[22]</sup> 形成骨髓耐受。除了正向刺激信号，还有一类负向刺激信号存在并发挥了重要的免疫调节作用。如 CTLA-4/B7 和 PD-1/PDL-1、PDL-2。CTLA-4 Ig 和 PDL-1 Ig 的治疗都有免疫抑制作用<sup>[23-25]</sup>。随着研究的深入，各种治疗方法会相继推出并不断完善。

### 1.1.2 中枢清除

外周清除在骨髓移植和共刺激信号阻断的早期即可发生，1 周后中枢清除将与外周清除共同发挥作用，之后供者反应性 T 细胞的清除可能主要与中枢清除有关。中枢清除主要是骨髓移植<sup>[26-27]</sup>、供者细胞特异性输注<sup>[28-29]</sup> 或供者胸腺移植<sup>[30]</sup> 介导的胸腺内阴性选择的结果。尽管随着年龄的增长胸腺会发生不可逆的萎缩，但嵌合体胸腺仍然具有 T 细胞再生的功能<sup>[31]</sup>。同时，在维护 T 细胞库稳定的过程中，稳定性增殖的细胞有胸腺回归作用<sup>[28]</sup>。因此，即使对于成年人个体，中枢清除仍是维持耐受状态的长效机制。

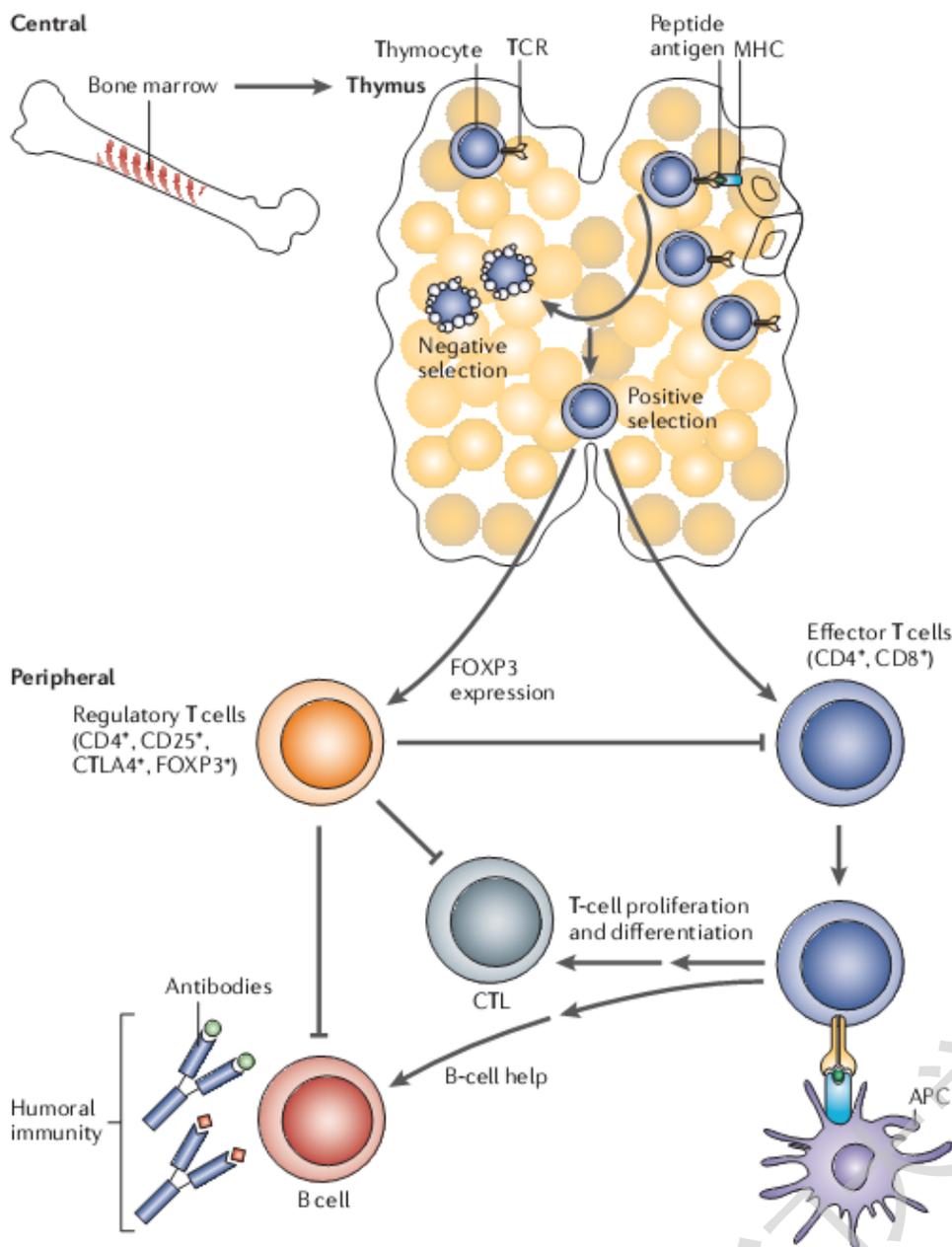


图1.1 中枢和外周耐受机制  
Figure 1.1 central and peripheral tolerance

### 1.1.3 淋巴细胞双向迁移理论

Starzl 等人于 1992 年证实，同种器官移植后供者来源的 T 细胞长期存活于受者组织及外周血中，其中有些受者已长期停用免疫抑制剂而并未发生排斥反应。说明这些受者已经获得对供体器官的特异性免疫耐受。据此 Starzl 提出了淋巴细胞的双向迁移理论<sup>[32]</sup>。接受器官移植后，受者的淋巴细胞将向移植物迁

移，导致移植物抗宿主反应；同时移植物内的淋巴细胞也向受者迁移而发生宿主抗移植物反应。当宿主抗移植物反应与移植物抗宿主反应达到平衡时，供受者免疫细胞处于无能状态，免疫耐受也随之产生。这种平衡的建立最主要标志是嵌合状态的建立。

#### 1.1.4 免疫调节

Treg 抑制器官排斥反应是免疫耐受形成和维持的重要机制之一<sup>[33]</sup>。它主要通过以下几个方面发挥作用<sup>[34]</sup>：①细胞表面表达的 CTLA4 分子与 APC 的 B7 分子直接接触，从而抑制 APC 的抗原呈递作用。②分泌 IL-10、TGF- $\beta$  等调节性细胞因子。③Treg 高表达 CD25 (IL-2 受体  $\alpha$  链)，但自身无合成和分泌 IL-2 的功能。因此，通过剥夺性吸收 IL-2 细胞因子，降低受体 IL-2 细胞因子水平，从而控制炎症反应<sup>[35]</sup>。

除此之外，其他细胞对诱导免疫耐受也发挥了重要的作用。包括未成熟树突状细胞 (Dendritic cells, DC)，Treg，间充质干细胞 (Mesenchymal stem cells, MSC) 和否决细胞<sup>[36]</sup> 等。致耐受树突状细胞可以诱导 T 细胞免疫耐受<sup>[37]</sup>。Treg 和骨髓细胞的联合输注能使经骨髓处理的受体小鼠形成供体特异性耐受，同时抑制慢性排斥的发生<sup>[38-39]</sup>。此外，MSC 在临床上有抑制 GVHD 的作用，因而也逐渐被重视<sup>[40]</sup>。它们致耐受的机制目前仍无定论。通常认为 IL-10、TGF- $\beta$  等调节性细胞因子的分泌在这一过程中起到重要的作用。

## 1.2 造血嵌合诱导免疫耐受的研究进展

1945 年，遗传学家 Ray Owen 报道了异卵双生的小牛同时具有本身细胞及对方细胞，这种状态被称为“混合性嵌合”。这种异卵双生的小牛间进行皮肤移植并不发生排斥反应，而来自第三方的皮肤则很快被排斥。1992 年 Starzl 等证实，同种器官移植成功的患者其组织及外周血中长期存在供者来源的白细胞。受者的嵌合状态被认为是免疫耐受形成和维持最强有力的机制<sup>[41]</sup>。由嵌合体诱导供者特异性免疫耐受有两个主要优点：一是它能有效抑制慢性排斥反应及异种移植间的超急性免疫排斥反应；二是它仅对自身和供者抗原耐受，对其他抗原可正常免疫应答，因此不会有免疫功能低下导致继发感染和恶性肿瘤的危

险。但是在临床应用中还存在急性和慢性 GVHD 和预处理毒性等很多问题，并需要更多的更为有效的实验方案。目前，可通过骨髓输注、脾细胞输注以及胸腺移植等方法来诱导嵌合状态的产生，其中以骨髓移植为主。

### 1.2.1 造血嵌合的种类

嵌合体是指供体细胞在受者的体内长期存在，可根据嵌合比率的高低将其分为宏嵌合体（Macrochimerism）和微嵌合体（Microchimerism）。宏嵌合体是指供体和受体造血细胞共存的一种状态，又可分为完全嵌合体（Full chimerism）和混合嵌合体（Mixed chimerism）。前者是指受者体内的所有造血细胞均来自供体（100%），后者供受者造血细胞在受体内以 1%~100% 间不同的比例共同存在。而微嵌合体是指在接受器官移植的受者体内存在 <1% 的微量的供体细胞，一般是由于移植物内的白细胞迁移而形成。微嵌合体的形成无须对受体进行骨髓性预处理，也不需要移植多能造血干细胞。

### 1.2.2 嵌合率与免疫耐受

通常认为造血嵌合细胞的数量和性质是诱导耐受的的决定性因素<sup>[42]</sup>。小鼠皮肤移植模型中，清除嵌合细胞则导致同种异体移植物排斥<sup>[43]</sup>。然而，尽管形成嵌合体仍有可能发生器官移植排斥<sup>[44]</sup>。这种现象称为分裂耐受（Split tolerance）<sup>[45]</sup>。这似乎又说明，嵌合率与诱导耐受间没有必然联系。

这种分裂耐受的现象可以用移植物中的组织特异性抗原来解释<sup>[46]</sup>。例如，皮肤移植物有较强的免疫原性，其中有很多组织特异性抗原在骨髓细胞中无表达<sup>[47]</sup>。在骨髓移植早期免疫抑制剂和抗体仍发挥作用时进行皮肤移植，能有效的防止分裂耐受的形成<sup>[44]</sup>。可见，嵌合体诱导耐受还需要其他致耐受机制的辅助。

不同的移植物免疫原高低不同，所必须的嵌合率也不同。与低免疫原性心脏移植比较，高免疫原性小肠或复合组织移植物需要更高的嵌合率。通常，在鼠类实验中嵌合水平大于 2% 是必要的<sup>[48]</sup>。在大鼠非肥胖型糖尿病模型中，为确保同种异基因胰岛细胞移植成功，嵌合率需达到 30%<sup>[49]</sup>。

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to [etd@xmu.edu.cn](mailto:etd@xmu.edu.cn) for delivery details.

廈門大學博碩