

行政院國家科學委員會專題研究計畫
研究報告

異種器官供人體移植之可行性研究 -
使用多基因轉殖小鼠與豬器官

hHO-1/hDAF/HLA-DP 多基因轉殖小鼠肺臟與豬肺臟、肝臟、腎臟
之離體人血灌流研究
與該多基因轉殖豬心臟、腎臟於狒狒之異位異種移植研究

Ex-Vivo Hemoperfusion with Human Blood in hHO-
1/hDAF/HLA-DR Transgenic Murine Lung and Porcine Lung,
Liver, Kidney and Hetrotopic Xenotransplantation of hHO-
1/hDAF/HLA-DR Transgenic Porcine Heart, Kidney to Baboon

計畫類別： ☐個別型計畫 ☒整合型計畫

計畫編號：NSC 90-2314-B-002-426

執行期間：90 年 8 月 1 日 ~ 91 年 7 月 31 日

個別型計畫：計畫主持人：李俊仁

整合型計畫：總計畫主持人：李俊仁

子計畫主持人：李俊仁

註：整合型計畫總報告與子計畫成果報告請分開編印各成一彙整一起繳送國科會。

處理方式：☐可立即對外提供參考

☐一年後對外提供參考

☒兩年後對外提供參考

執行單位：台大醫學院外科

中華民國 91 年 12 月 25 日

前言：

我國於1968年5月27日首次完成亞洲第一例同種腎移植成功以來至今已三十二年。這中間我國完成腎、肝、胰、心、肺及心肺同步移植成功，在亞洲器官移植暫居首位遙遙領先日本及其他亞洲國家。但因為器官捐贈在東方國家尚未蔚成風氣，不少病人罹患末期器官衰竭，在等待尋找合適器官當中死亡，所以同種(人類)器官供應完全失衡，器官短缺之情況非常嚴重。於是乎全球科學家在過去幾十年來，都在探討如何使用動物之器官，作為人類異種移植器官之來源，以便解決人類器官極端短缺之現象，及擴大急救更多之末期器官衰竭之病患朋友，造福社會衛生福利。

豬在解剖構造及生理功能與人類極為近似，數量多，又無猿猴保育之問題，可為人類異種器官最佳的來源。不過，直接以普通豬器官供給人類進行異種器官移植，將遭受超急性排斥、急性血管性排斥、急性細胞性排斥、慢性排斥反應。最近科學家以人類壞死加速因子(hDAF)基因進行基因轉殖豬之產製，並由該基因轉殖豬器官移植給狒狒之前臨床實驗，證實異種心臟移植者可維持30天以上、異種腎臟移植者可超過78天，移植之器官可克服超急性排斥反應，惟該等器官最後仍遭受排斥反應。

在諸如心臟、肝臟、腎臟、肺臟等實體器官之移植，當血管接合後，人血中諸多黏附分子(adhesion molecules)即引起血管內皮細胞活化反應，啟動凝血反應。血色質氧合酵素(heme oxygenase, HO)為緊迫蛋白質之一種，生物體內HO主要具1、2及3三型，HO-1為誘發表現型，HO-2與-3為持續表現型；hHO-1為代謝血色質(heme)之反應限制步驟，可調節起血管內皮細胞第二階段(phase II)之基因表現，因此使用hHO-1基因轉殖豬之實體器官進行異種器官移植，可能可以調節血管內皮細胞活化，而抑制急性血管性排斥反應。此外第二型人類白血球表面抗原(human leucocyte antigen class II, HLA-II)可調節T-細胞性之排斥反應；而HLA-I可抑制NK細胞及巨噬細胞之細胞性排斥。

在過去五年由國科會支持計畫，本研究群已產製兩系hDAF基因轉殖豬及七系HLA-II基因轉殖豬，可克服超急性及急性細胞性排斥反應。HLA-II基因轉殖豬之產製非常困難，其成功率在0.6-2%。此本土研究尚稱獨步全球，已經向U.S.A.申請專利中。過去本研究群所作的前臨床實驗，豬淋巴球對人類淋巴球之混合淋巴球培養(MLC)及Primed Lymphocyte Test (PLT)中，已經證實使用HLA-II基因轉殖豬淋巴球時，其刺激指數(SI)比使用非基因轉殖豬淋巴球時為低，表示HLA-II基因轉殖豬引起之急性細胞性排斥反應程度減緩不少。另外以人血灌流HLA-II基因轉殖豬器官2小時後，發現其灌流液中TNF- α 及IL-1 β 沒有升高，而灌流非基因轉殖豬器官之灌流液中TNF- α 及IL-1 β 升高很多，此乃證明使用基因轉殖豬器官移植時，其超急性排斥程度減緩，確實優於非基因轉殖豬器官。本研究群欲繼續研究多重基因轉殖豬(HLA-II/hDAF/hHO-1)組織及器官在免疫學上互動之關係。

本整合型計畫之目的在產製HLA-II/hDAF/hHO-1基因之多重基因轉殖小鼠與豬，進行異種移植研究，以此種多基因轉殖豬器官克服超急性排斥、急性血管

性排斥、急性細胞性排斥與慢性排斥等四種反應。本整合型計畫共分五個子計畫，子計畫一負責選殖與構築 hHO-1 基因與產製、分析 hHO-1/hDAF/ HLA-DR 多基因轉殖豬，提供基因轉殖及其內皮細胞，供子計畫進行實驗；子計畫二以各種基因（HLA-II、hDAF、hHO-1、或各種組合）之轉殖細胞（週邊淋巴球與血管內皮細胞），於離體模式下進行基因轉殖細胞減緩排斥反應之功能評估；子計畫三以基因轉殖小鼠肺及基因轉殖豬肺臟、肝臟及腎臟進行人血灌注、與基因轉殖豬心臟及腎臟之狒狒異位異種移植，分析多基因轉殖豬器官之異種移植之可行性；子計畫四以基因轉殖豬肺臟進行同位同種移植實驗，先以誘發表現 hHO-1 方式評估減緩同種移植傷害之程度，再以多基因轉殖豬肺臟進行同位同種與異種移植實驗，評估 hDAF、HLA-DR 與 hHO-1 減緩超急性排斥、急性血管性排斥、急性細胞性排斥與慢性排斥等四種反應之效果。

所有基因轉殖小鼠與豬均以 PCR、Southern blot、RT-PCR、FACS、Immunohistochemical stain 進行分析；前臨床試驗則進行相關 cytokines（C3, C4, TNF-alpha, IL-1 等等）分析與病理切片與組織變化判讀等等。子計畫一在第一年將產製 hHO-1 基因轉殖小鼠，並與 HLA-DR/hDAF 基因轉殖小鼠進行配種，產製 HLA-DR/hDAF/hHO-1 基因之多重基因轉殖小鼠，並提供進行小鼠模式之前臨床試驗；並在第一年後半段期間進行 hHO-1 基因轉殖豬產製之試驗，第二年我們將產製 hHO-1 基因轉殖豬，並提供 HLA-DR/hDAF 基因之雙基因轉殖豬與一部份 hHO-1 或 hDAF/hHO-1 基因 F1 仔豬供其他子計畫進行前臨床試驗；在第三年本計畫進行 HLA-II/hDAF/hHO-1 基因之多重基因轉殖豬之產製與分析，在確認 HLA-II/hDAF/hHO-1 基因之多重基因轉殖豬具表現外源基因功能，旋即提供其他子計畫，進行多重基因轉殖豬之器官前臨床實驗，以評估此等多重基因轉殖豬之器官是否為人類更適合之異種器官。本計畫獲得美國哈佛大學 F. H. Bach 教授協助進行合作研究。狒狒之異種移植(心臟之異位異種移植及肺臟同位異種移植)實驗在第三年進行，將向保育單位提出申請，由六福村野生動物園購買獲得，屆時將另提詳細實驗步驟由專家審核。

若多種基因轉殖豬 hDAF, HL-A, 及 hHO-1 之產製成功，增加產量之後，臨床使用基因轉殖豬異種器官移植到人體試驗，必刻不容緩地去進行，以求證基因遺傳工程產製之豬器官，可否代替人類器官普遍地被使用在人體移植上，挽救瀕臨死亡邊緣之末期器官衰竭病人，並俾使解決人類器官捐贈短缺之問題。異種器官供人體移植之可行性增加，基因轉殖豬銷售必定促進，實具有可觀之產業價值。

研究報告大綱：

本計畫之目的，是由台大醫學院檢驗多重基因轉殖小鼠與豬之肺臟之免疫反應。以人類血液灌流各種基因轉殖豬之小鼠與豬肺臟，評估此肺臟減緩超急排斥性反應之效果。目前台灣養豬科學研究所已經產製出 hDAF 及 HLA-DR 基因轉殖豬，並且已有 hDAF/HLA-II 雙基因小鼠。本實驗模式，是在經氣管由呼吸器供應氧氣下，以人血灌流基因轉殖小鼠肺臟及基因轉殖豬肺臟，之後定期收集灌流液及肺臟切片，再測量灌流液的細胞激素之變化，及檢驗肺臟切片的細胞之變化。台灣養豬科學研究所負責產製與分析血色質氧化酵素-1(hHO-1)基因轉殖豬，並進一步應用配種方式，產製 hHO-1/hDAF、hHO-1/hDAF/HLA-II 基因之多重基因轉殖小鼠與豬。試驗中所有基因轉殖小鼠與豬均以 PCR、Southern blot、RT-PCR、FACS、Immunohistochemical stain、in situ PCR 進行分析證明外源基因之整合(integration)與表現。

第一年及第二年將由台灣養豬科學研究所產製 hHO-1 基因轉殖小鼠，並與 hDAF、hDAF/HLA-DR 基因轉殖小鼠（台灣養豬科學研究所已有 hDAF/HLA-II 雙基因小鼠）進行配種，產製 hHO-1/hDAF、hHO-1/hDAF/HLA-II 基因之多重基因轉殖小鼠，由台大醫學院進行小鼠灌流模式(人血灌流基因轉殖小鼠肺臟)之前臨床試驗，以及進行豬灌流模式(人血灌流基因轉殖豬肺臟)之前臨床試驗（台灣養豬科學研究所已有 hDAF 及 HLA-DR 基因轉殖豬）。第三年將由台灣養豬科學研究所產製 hHO-1 基因轉殖豬，在小豬長大性成熟立即 hDAF 基因轉殖豬進行配種繁殖後代，在第三年後半年可有 hHO-1 或 hHO-1/hDAF 基因 F1 仔豬出生，由台大醫學院進行前臨床試驗，實驗模式是以人血灌流基因轉殖豬肺臟，實驗模式同第一年及第二年之實驗模式，以評估 hHO-1/hDAF/HLA-II 多重基因轉殖豬之器官是否為人類更適合之異種器官。

為了探討 hHO-1/hDAF/HLA-II 多重基因轉殖豬器官移植至人類之臨床可行性，及探討異種器官移植中超急性排斥、急性血管性排斥、急性細胞性排斥、慢性排斥反應，在第三年進行 hHO-1/hDAF/HLA-II 多重基因轉殖豬心於狒狒之異位異種移植實驗，將向保育單位提出申請，由六福村野生動物園購買獲得，屆時將另提詳細實驗步驟由專家審核。

第一年實驗預計進度：以台灣養豬科學研究所產製之 hDAF 及 HLA-DP 基因轉殖豬，進行豬肺臟、肝臟離體人血灌流之試驗。

目前已完成的測量如下：

1. 進行豬肺臟離體人血灌流之試驗：完成 4 隻非基因轉殖豬、及 6 隻 HLA-DP 基因轉殖豬肺臟離體人血灌流之試驗。
2. 使用 ELISA 方法檢驗 IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-10, TNF- α , TNF- γ , and P-selectin, E-selectin, C3, IgG, IgM 細胞激素的變化：完成 4 隻非基因轉殖豬、及 6 隻 HLA-DP 基因轉殖豬灌流之檢驗。
3. 進行豬肝臟離體人血灌流之試驗：完成 4 隻非基因轉殖豬、及 5 隻 HLA-DP 基因轉殖豬肝臟離體人血灌流之試驗。

4. 使用 ELISA 方法檢驗 IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-10, TNF- α , TNF- γ , and P-selectin, E-selectin, C3, IgG, IgM 細胞激素的變化：完成 4 隻非基因轉殖豬、及 5 隻 HLA-DP 基因轉殖豬灌流之檢驗。

就目前所完成4隻非基因轉殖豬、及6隻HLA-DP基因轉殖豬灌流之檢驗結果，在 IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-10, TNF- α , TNF- γ , and P-selectin, E-selectin, C3, IgG, IgM細胞激素的變化上，都沒有顯示非基因轉殖豬、及 HLA-DP 基因轉殖豬有差別。檢討其結果，實驗組與對照組有沒差別，最大原因，可能是HLA-DP基因減緩超急性排斥反應的效果，並沒有很大。這需要後續灌流實驗、Primed Lymphocyte Test、及植皮實驗等來驗證

關鍵詞： HLA-DP4基因轉殖豬、 離體人血灌流、異位異體移植

方法與材料：

基因轉殖小鼠及豬之產製：由台灣養豬科學研究所產製(見子計畫一)

灌流系統：

1. 肺臟離體人血灌流系統：灌流系統是由一套封閉灌流管線(circuit of closed system)及灌流幫浦(pressure-controlled roller pump)所組成。灌流血液由左心房流出，經灌流幫浦注入右心房，再流入肺臟。血液由恆溫水槽保溫，維持溫度在 36°C。肺臟的氣體交換是經氣管，由呼吸器(volume-controlled ventilator)供給 100%氧氣來完成，所排出的二氧化碳由過濾器吸收。定時由灌流管線中抽取定量灌流血液，以供檢驗。
2. 肝臟及腎臟離體人血灌流系統：灌流系統是由一套封閉灌流管線(circuit of closed system)及灌流幫浦(pressure-controlled roller pump)所組成。灌流血液由靜脈(下腔靜脈或腎靜脈)流出，經灌流幫浦注入動脈(肝門靜脈或腎動脈)，再流入肝臟或腎臟。血液由恆溫水槽保溫，維持溫度在 36°C。灌流血液的氣體交換是經膜性氧化器(Membranous Oxygenator)來完成。定時由灌流管線中抽取定量灌流血液，以供檢驗。

小鼠及豬之照顧與麻醉：依照"Guide for the care and Use of Laboratory Animals" (National Institutes of Health publication 85-23, 1985 revision)的準則照顧小鼠及豬。使用 Sodium Pentothal 麻醉小鼠及豬，劑量為每 100 gm 組織 0.1 mg Sodium Pentothal。

人血之取得及備製：由捐血中心取得含有抗凝血劑的新鮮人血，在抽取 30 ml 以檢驗 HLA-typing 及 complete blood count 後，以相同體積的 Phosphate-Buffered Saline (PBS) 將人血的血容比稀釋為 25%。

灌流血液之保存與分析：定時(灌流後 1, 5, 15, 30, 60, 90, 120 分)由灌流管線中抽取之定量(10 ml)灌流血液，保存於 - 70°C 的冰庫以供日後檢驗。使用 ELISA 方法檢驗 IL-1 β , TNF- α , TNF- γ , and P-selectin, E-selectin 細胞激素的變化，使用 flow cytometry 方法檢驗 CD4, CD8, CD25 細胞的變化。

組織切片檢查：定期切下的組織切片，一部分以 formalin 固定，之後以 hematoxylin and eosin 染色，在光學顯微鏡下檢查細胞形態的改變；另一部分以 OCT gel 固定，保存於 - 80°C 液態氮中，之後以免疫組織化學染色(Immunohistochemistry Stain)，在光學顯微鏡下檢查 IgM、C9 的沉著及 CD4、CD8、CD25 細胞的改變。

統計分析：以基因轉殖小鼠及豬為實驗組，以非基因轉殖小鼠及豬為對照組。實驗組與對照組之間的差異，使用 student's t test 或 the Mann-Whitney test 的統計方法來比較，P 值至少小於 0.05 才視為兩組之間有差異。

豬心臟及腎臟於狒狒之異位異種移植：

1. 豬心臟於狒狒之異位異種移植：是將豬心臟移植於狒狒之腹腔，豬心臟的主動脈接到狒狒的腹腔主動脈，豬心臟的肺動脈接到狒狒的腹腔下腔靜脈；以腹腔中豬心臟的跳動次數來觀察豬心臟的存活。
2. 豬腎臟於狒狒之異位異種移植：是將豬腎臟移植於狒狒的頸部，豬腎臟的腎動脈接到狒狒的頸部外頸動脈，豬腎臟的腎靜脈接到狒狒的頸部內頸靜脈，豬腎臟的輸尿管接到狒狒的頸部皮膚之外；以豬腎臟的輸尿管排出的尿量來觀察豬腎臟的存活。

註：第三年實驗才進行 hHO-1/hDAF/HLA-II 多重基因轉殖豬心於狒狒之異位異種移植實驗。

註：豬心臟於狒狒、及豬腎臟於狒狒之異位異種移植實驗中，狒狒之來源，將向保育單位提出申請，由六福村野生動物園購買獲得，屆時將另提詳細實驗步驟由專家審核。

結果：

目前已完成的測量如下：數據詳列如後附錄

1. 進行豬肺臟離體人血灌流之試驗：完成 4 隻非基因轉殖豬、及 6 隻 HLA-DP 基因轉殖豬肺臟離體人血灌流之試驗。
2. 使用 ELISA 方法檢驗 IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-10, TNF- α , TNF- γ , and P-selectin, E-selectin, C3, IgG, IgM 細胞激素的變化：完成 3 隻非基因轉殖豬、及 3 隻 HLA-DP 基因轉殖豬灌流之檢驗。
3. 進行豬肝臟離體人血灌流之試驗：完成 4 隻非基因轉殖豬、及 5 隻 HLA-DP 基因轉殖豬肝臟離體人血灌流之試驗。
4. 使用 ELISA 方法檢驗 IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-10, TNF- α , TNF- γ , and P-selectin, E-selectin, C3, IgG, IgM 細胞激素的變化：完成 3 隻非基因轉殖豬、及 3 隻 HLA-DP 基因轉殖豬灌流之檢驗。

(數據詳列如後附錄)

初步檢討：

就目前所完成4隻非基因轉殖豬、及6隻HLA-DP基因轉殖豬肺臟、肝臟肺臟、肝臟灌流之檢驗結果，在IL-1 β ， IL-2， IL-4， IL-10， TNF- α ， TNF- γ ， and P-selectin, E-selectin, C3, IgG, IgM細胞激素的變化上，都沒有顯示非基因轉殖豬、及HLA-DP基因轉殖豬有差別。可能的原因如下：

1. HLA-DP基因減緩超急性排斥反應的效果，並沒有很大，以致非基因轉殖豬、及HLA-DP基因轉殖豬肺臟、肝臟灌流之後，其細胞激素的變化上看不出有明顯差別。
2. 灌流時所使用的人血不夠新鮮，灌流之前人血中細胞激素的量不大，以致灌流之後人血中細胞激素的變化不大。
3. 肺臟、肝臟摘除之際，及肺臟、肝臟灌流之際，有缺血-再灌流傷害（Ischemia-Reperfusion Injury），干擾細胞激素的變化，以致看不出非基因轉殖豬、及HLA-DP基因轉殖豬有差別。

檢討其結果，實驗組與對照組有沒差別，最大原因，可能是HLA-DP基因減緩超急性排斥反應的效果，並沒有很大。第二型人類白血球表面抗原(human leucocyte antigen class II, HLA-II)的做用，應是調節T-細胞性之排斥反應，可能是減緩急性細胞性排斥反應，而非減緩超急性排斥反應。這需要後續灌流實驗、Primed Lymphocyte Test、及植皮實驗等來驗證，以及使用hHO-1（可以調節血管內皮細胞活化）基因轉殖豬之實體器官進行異種器官移植，可能可以減緩超急性排斥及急性血管性排斥反應。

未來展望：

目前初步成果已獲得 HLA- DP 基因轉殖豬系，以及進行前臨床試驗：基因轉殖豬豬皮的移植給人體，人血灌流離體 HLA- DR 多基因轉殖鼠肺臟之免疫反應研究，及人血灌流離體 HLA- DP 基因轉殖豬肺臟之免疫反應研究，及 HLA- DP 基因轉殖豬與非基因轉殖豬間腎臟移植之免疫反應研究，及 Primed Lymphocyte Test 之免疫反應研究。

本研究將進一步尋求 HO-I(Hemoxygenase-1)基因轉殖豬之生產，以及進行相關前臨床試驗：人血灌流離體 HLA- DR+ hDAF+ HO-I 多基因轉殖鼠肺臟之免疫反應研究，及人血灌流離體 HLA- DP+ hDAF+ HO-I 多基因轉殖豬肺臟之免疫反應研究，及 HLA- DP+ hDAF+ HO-I 多基因轉殖豬與非基因轉殖豬間肺臟移植之免疫反應研究，及 Primed Lymphocyte Test 之免疫反應研究。

將來進行種源交配，屆時基因轉殖豬將同時攜帶 hDAF、HO-I 與 HLA- DP 等外源基因，期能解決異種器官移植之超急性、延遲性及慢性排斥反應，以供應人類使用，最理想異種器官之來源。

研究成果目錄：(論文及著述)

A. 期刊論文

1. Tu, Ching-Fu, T. Sato, M. Hagiwara, K.-H. Lee, Y.C. Lee, C.N. Weng, R. Chu, K. Tsuji, C.J. Lee, 1998. The expression of HLA-DP antigen on peripheral blood mononuclear cells of HLA-DP transgenic pigs. *Transplant. Proc.* 30 (7A): 3502-3. (SCI; NSC86-2621-B-059-001 A21 and NSC86-2621-B-059-002 A21) (SCI)
2. Tu, Ching-Fu, K. Tsuji, K.-H. Lee, R. Chu, T.J. Sun, Y.C. Lee, C.N. Weng, C.J. Lee, 1999. Generation of HLA-DP transgenic pigs for the study of xenotransplantation. *Int. Surg.* 84:176-182. (SCI; NSC85-2321-B-059-013 A21, NSC85-2321-B-059-014 A21, NSC86-2621-B-059-001 A21, and NSC86-2621-B-059-002 A21) (SCI)
3. Tu, Ching-Fu, Hsieh SL, Lee JM, Yang LL, Sato T, Lee KH, Weng CN, Mao SJ, Tsuji K, Lee CJ. 2000. Successful generation of transgenic pigs for human decay-accelerating factor and human leucocyte antigen DQ. *Transplant Proc.* 32(5): 913-5. (SCI)
4. Lee, JM, Ching-Fu Tu, K. Tsuji, Y.C. Lee, C.J. Lee. 2000. The effective antigen presentation of human MHC on the lymphocyte of HLA DPw4 transgenic pig: examination with xenogenic mixed lymphocyte culture and primed lymphocyte test. *Transplant. Proc.* 32: 7. (SCI , in press)
5. Lee, J.-M., Ching-Fu Tu, P.-W. Yang, K.-H. Lee, K. Tsuji, M.-K. Tsai, R. J. Chen, C.-Y. Hu, R.-P. Hsieh, H.-C. Tai, B.-L Chiang, C.-N. Weng, Y.-C. Lee, C.J. Lee. Reduction of human-to-pig cellular response by alteration of porcine MHC with human HLA DPw0401 exogenes. *Transplantation* (Submitted) (SCI)
6. Tu Ching-Fu, Yang L.-L., Lee J.-M., Sato T., Lee K.H., Weng C.-N., Mao S.J.T., Tsuji K., Lee C.J. 2000. The expression of HLA-DP antigen on the organs and tissues of HLA-DP transgenic pigs. (in preparation) (SCI)

B. 研討會論文

1. Tu, Ching-Fu, K. Tsuji, T. Sato, C.J. Lee, and K.-H. Lee, 1995. The production of HLA-II (DRA1 and DRB1) transgenic pig. *Proc. Comp. Cardiovas. Disease* p.18 (abstr.)
2. 杜清富, 述公美, 佐藤忠之, 荻原正男, 李坤雄, 朱瑞民, 謝世良, 李元麒, 翁仲男, 李俊仁, 1997. Germline transmission of HLA-DP in

- pigs for future xenotransplantation. XII Asian Pacific Federation Congress International College of Surgeons, Taipei, Taiwan. P. 112.
3. Tu, Ching-Fu, K. Tsuji, T. Sato, M. Hagihara, K.-H. Lee, R. Chu, Y.-C. Lee, C.-N. Weng, C.-J. Lee, 1997. A successful production of transgenic pigs for HLA-II by microinjection. The 4th International Congress for Xenotransplantation. Nantes, France. P173.
 4. Tu, Ching-Fu, C.-J. Lee, T. Sato, M. Hagihara, K.-H. Lee, Y.-C. Lee, C.-N. Weng, K. Tsuji, 1997. The expression of HLA-DP antigen on peripheral blood cells of HLA-DP transgenic pigs. 5th Congress of the Asian Society of Transplantation. Manila, Philippines. P. 145.
 5. Tu, Ching-Fu, K. Tsuji, L.-L. Yang, T. Sato, K.-H. Lee, C.-N. Weng, R. Chu, C.-J. Lee, 1998. The expression of HLA-DP antigen on peripheral blood mononuclear cells of HLA-DP transgenic offspring. The 1998 International Symposium of Comparative Medicine in Cardiovascular Disease. Taipei, Taiwan. p.36.
 6. Tu, Ching-Fu, K. Tsuji, T.-J. Sun, T. Sato, M. Hagihara, S.-L. Hsieh, K.-H. Lee, Y.-C. Lee, C.-N. Weng, R. Chu, C.-J. Lee, 1998. The expression of HLA-DP antigen on the organs and tissues of HLA-DP transgenic pig. 1998 Annual Meeting of Transplantation Society of R. O. C., Taipei, Taiwan. FP-12.
 7. 杜清富，楊冷冷，劉明薰，李坤雄，翁仲男，謝世良，李俊仁，1998。攜帶 HLA-DR 與 hDAF 基因轉殖小鼠之產製。中畜會誌 27(增刊)：69。
 8. Lee C.J., Ching-Fu Tu, Lee J.M., I.H. Pan, K.H. Lee. 1998. Genetics engineering for xenotransplantation (transgenic pigs for HLA-II in the study of xenotransplantation. J. Genetics Mol. Biol., 4:85-89. (Review)
 9. 杜清富，李俊仁，1999。豬器官供人類異種移植使用之展望：第二型人類白血球表面抗原基因轉殖豬之產製與分析。豬在生物醫學科技研發之應用研討會專輯，pp11-14，台灣養豬科學研究所，竹南。
 10. Tu C.-F., Hsieh S.-L., Lee J.-M., Yang L.-L., Sato T., Lee K.H., Weng C.-N., Mao S.J.T., Tsuji K., Lee C.J. 1999. Successful generation of human decay accelerating factor (hDAF) and human leucocyte antigenDQ (HLA-DQ) transgenic pigs. 6th Congress of the Asian Society of Transplantation. Suntec City, Singapore. p. 40.
 11. Tu C.-F., Yang L.-L., Lee J.-M., Sato T., Lee K.H., Weng C.-N., Mao S.J.T., Tsuji K., Lee C.J. 1999. The expression of HLA-DP antigen on the organs and tissues of HLA-DP transgenic

- pigs. 6th Congress of the Asian Society of Transplantation. Suntec City, Singapore. p. 311.
12. Lee C.J., Tu C.-F., Lee J.-M., Pan I.-H., Lee K.H. 1999. Recent development of organ transplantation in Taiwan. 6th Congress of the Asian Society of Transplantation. Suntec City, Singapore. p. 69.
 13. Lee J.-M., Tu C.-F., Tsuji K., Lee Y.-C., Lee C.J. 1999. The effective presentation of human MHC on the leucocyte of HLA-DP w4 transgenic pigs: examination with xenogenic mixed lymphocyte culture and primed lymphocyte test. 6th Congress of the Asian Society of Transplantation. Suntec City, Singapore. p. 310.
 14. Tu C.-F., Hsieh S.-L., Lee J.-M., Yang L.-L., Sato T., Lee K.H., Weng C.-N., Mao S.J.T., Tsuji K., Lee C.J. 1999. Successful generation of human decay accelerating factor (hDAF) and human leucocyte antigenDQ (HLA-DQ) transgenic pigs. 5th Congress of the International Xenotransplantation Association. Nagoya, Japan. p. 35.
 15. Lee J.-M., Tu C.-F., Tsuji K., Lee Y.-C., Lee C.J. 1999. The effective presentation of human MHC on the leucocyte of HLA-DP w4 transgenic pigs: examination with xenogenic mixed lymphocyte culture and primed lymphocyte test. 5th Congress of the International Xenotransplantation Association. Nagoya, Japan. p. 96.

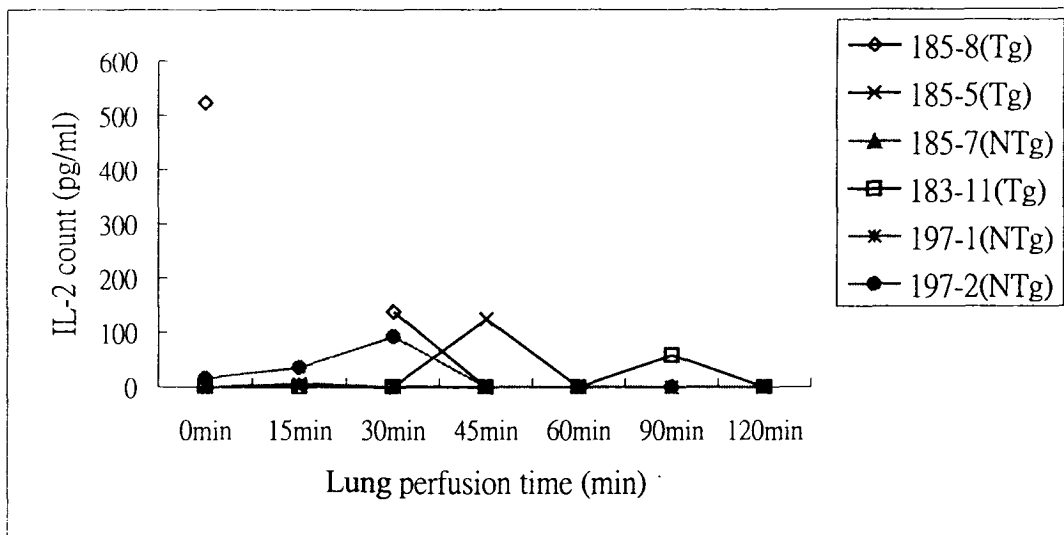
C. 專利等

1. Tu, Ching-Fu, Chun-Jean Lee, Jang-Ming Lee, Kimiyoshi Tsuji, 2000. Transgenic swine and swine cell with HLA-D genes. (USA, applied)

IL-2

Lung Perfusion

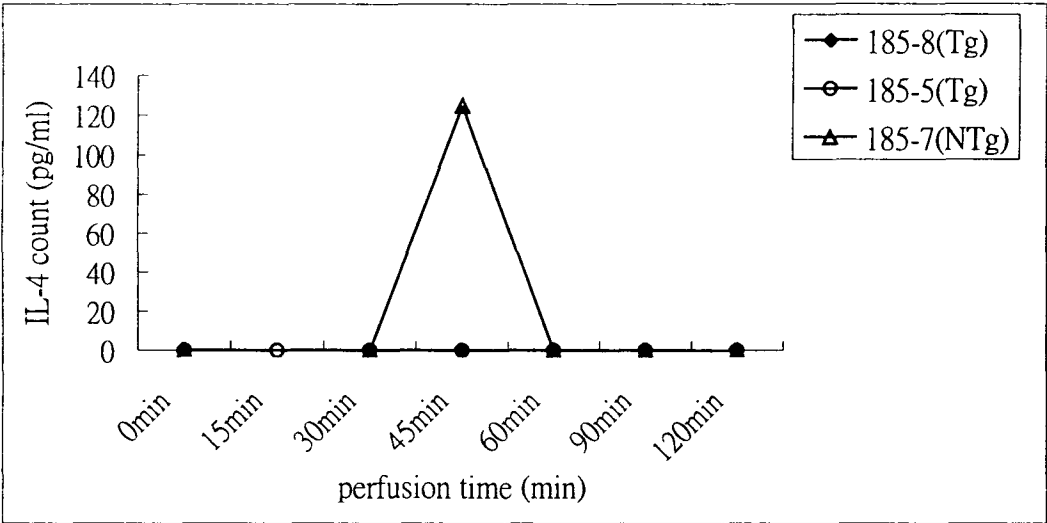
	185-8(Tg)	185-5(Tg)	185-7(NTg)	183-11(Tg)	197-1(NTg)	197-2(NTg)
0min	523	0	0.00	0	0	15.833
15min		0		0	6.667	35.833
30min	138	0	0.00	0	0	92.5
45min	0	125	0.00	0		0
60min	0	0	0.00	0	0	0
90min	0	0	0.00	58.333	0	0
120min	0	0	0.00	0	0	0



IL-4

Lung Perfusion

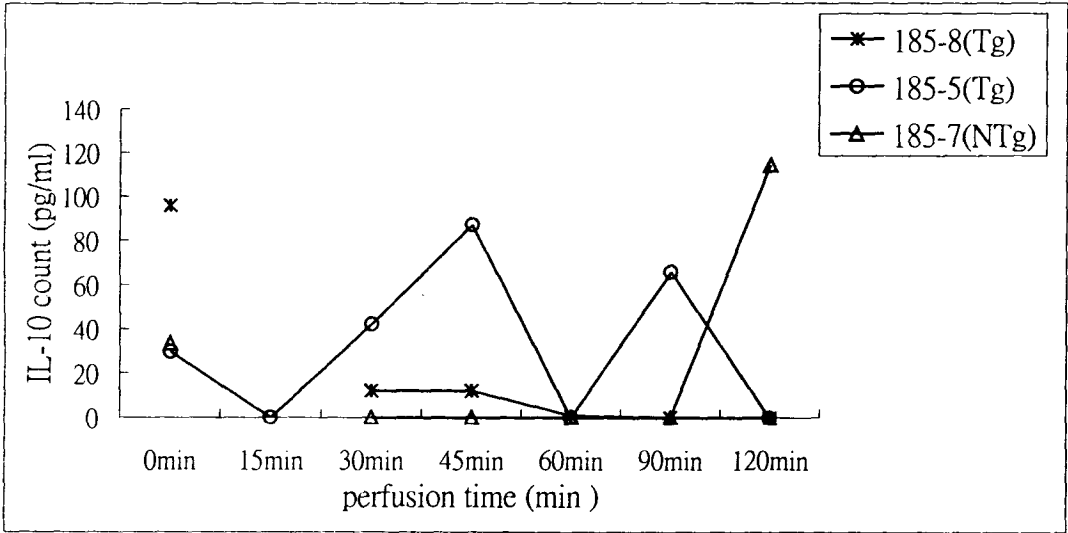
	185-8(Tg)	185-5(Tg)	185-7(NTg)
0min	0	0	0.00
15min		0	
30min	0	0	0.00
45min	0	0	124.90
60min	0	0	0.00
90min	0	0	0.00
120min	0	0	0.00



IL-10

Lung Perfusion

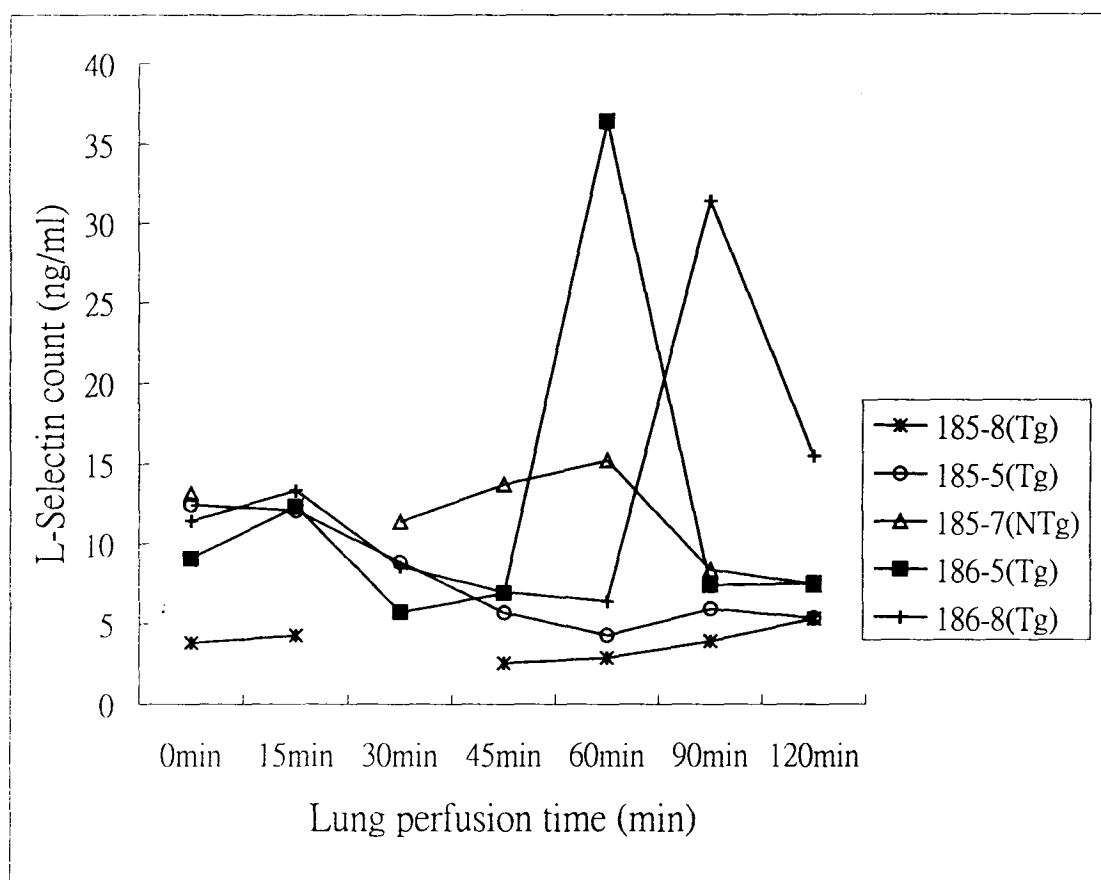
	185-8(Tg)	185-5(Tg)	185-7(NTg)
0min	96	29.75	33.50
15min		0	
30min	12.25	42.25	0.00
45min	12.25	87.25	0.00
60min	1	0	0.00
90min	0	66	0.00
120min	0	0	114.75



L-Selectin

Lung Perfusion

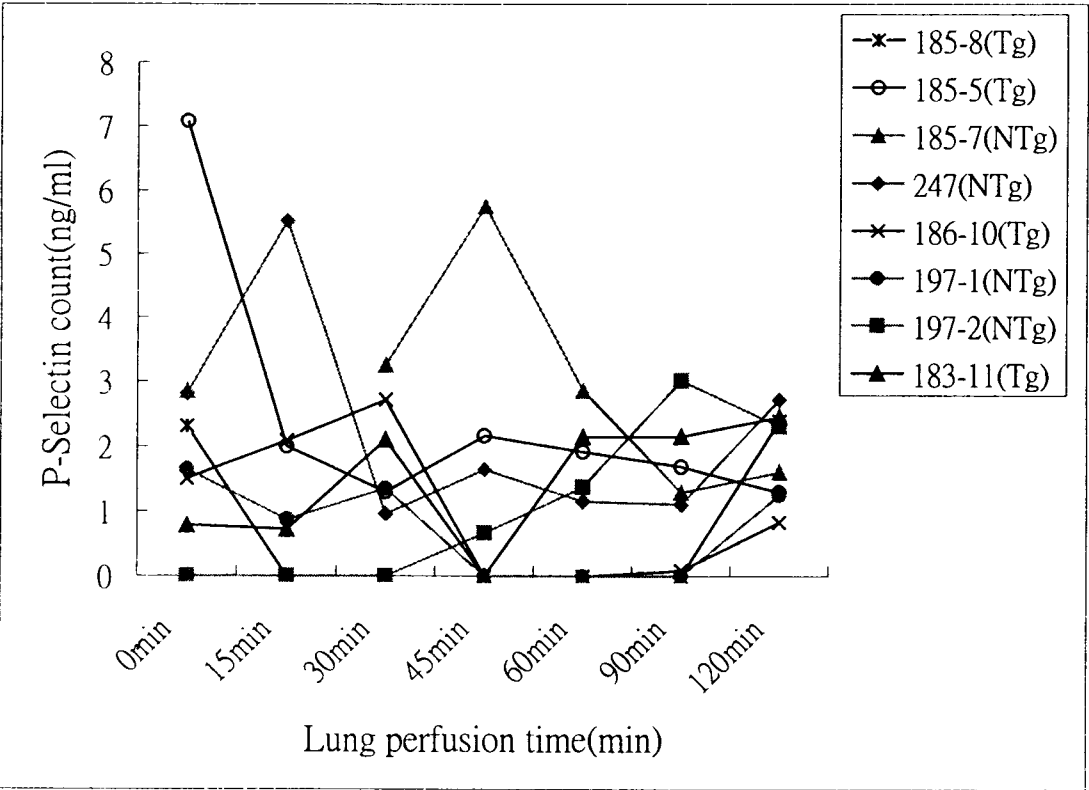
	185-8(Tg)	185-5(Tg)	185-7(NTg)	186-5(Tg)	186-8(Tg)
0min	3.84	12.44	13.14	9.08	11.45
15min	4.3	12.09		12.35	13.34
30min		8.84	11.39	5.73	8.57
45min	2.56	5.7	13.72	6.91	6.97
60min	2.91	4.3	15.23	36.41	6.41
90min	3.95	5.93	8.37	7.41	31.41
120min	5.34	5.35	7.44	7.53	15.49



P-Selectin

Lung Perfusion

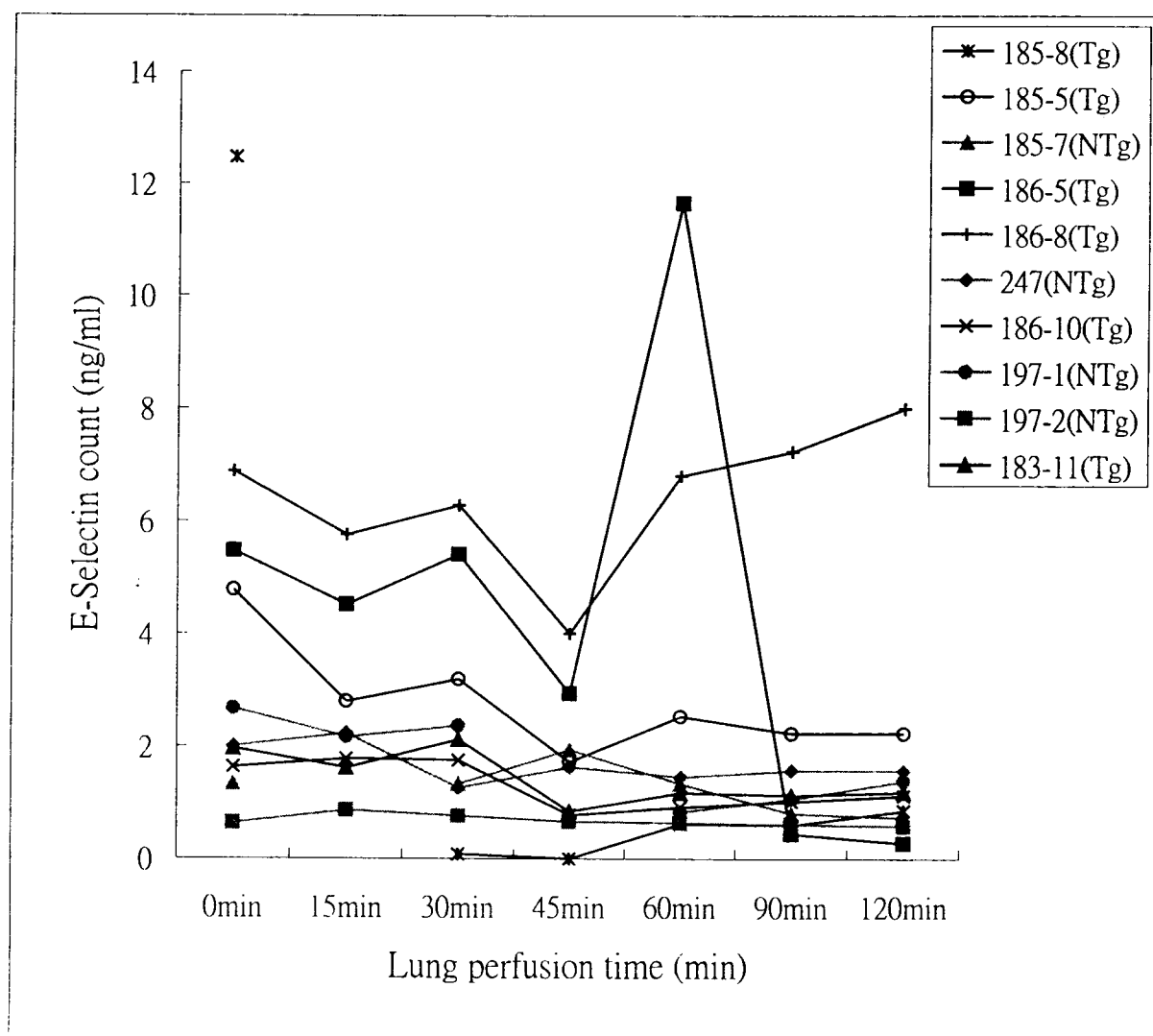
	185-8(Tg)	185-5(Tg)	185-7(NTg)	247(NTg)	186-10(Tg)	197-1(NTg)	197-2(NTg)	183-11(Tg)
0min	2.31	7.08	2.85	2.81	1.503	1.643	0	0.785
15min	0	2		5.52	2.085	0.875	0	0.722
30min		1.3	3.25	0.96	2.714	1.354	0	2.103
45min	0	2.16	5.75	1.65	0	0	0.668	0
60min	0	1.92	2.86	1.16	0	0	1.381	2.148
90min	0	1.69	1.3	1.11	0.088	0	3.014	2.157
120min	2.39	1.3	1.61	2.72	0.835	1.255	2.31	2.455



E-Selectin

Lung Perfusion

	185-8(Tg)	185-5(Tg)	185-7(NTg)	186-5(Tg)	186-8(Tg)	247(NTg)	186-10(Tg)	197-1(NTg)
0min	12.47	4.78	1.34	5.47	6.89	2.01	1.64	2.684
15min		2.81		4.52	5.76	2.24	1.79	2.176
30min	0.08	3.21	1.34	5.41	6.29	1.27	1.77	2.378
45min	0	1.73	1.95	2.95	4.01	1.64	0.78	
60min	0.62	2.54	1.34	11.66	6.82	1.46	0.92	0.833
90min	0.6	2.24	0.81	0.45	7.25	1.58	1.03	1.072
120min	0.86	2.24	0.73	0.28	8.01	1.57	1.13	1.389



183-11(Tg)

2.21

2.174

2.263

2.25

1.99

2.281

1.863

197-2(NTg) 183-11(Tg)

0.639 1.972

0.863 1.628

0.764 2.133

0.659 **0.843**

0.636 1.177

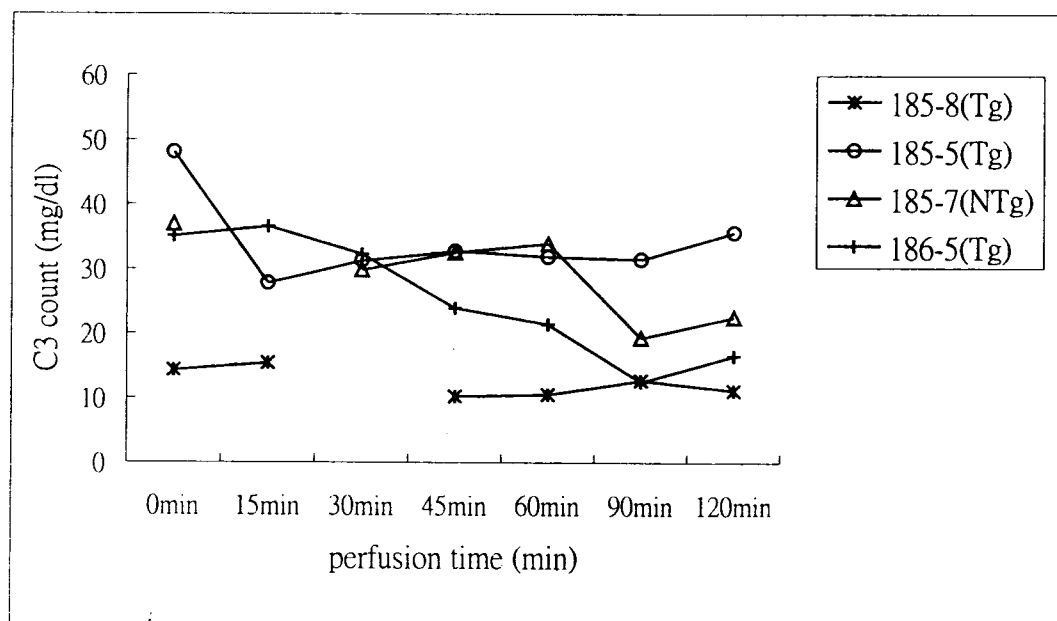
0.611 1.136

0.583 1.195

C3

Lung Perfusion

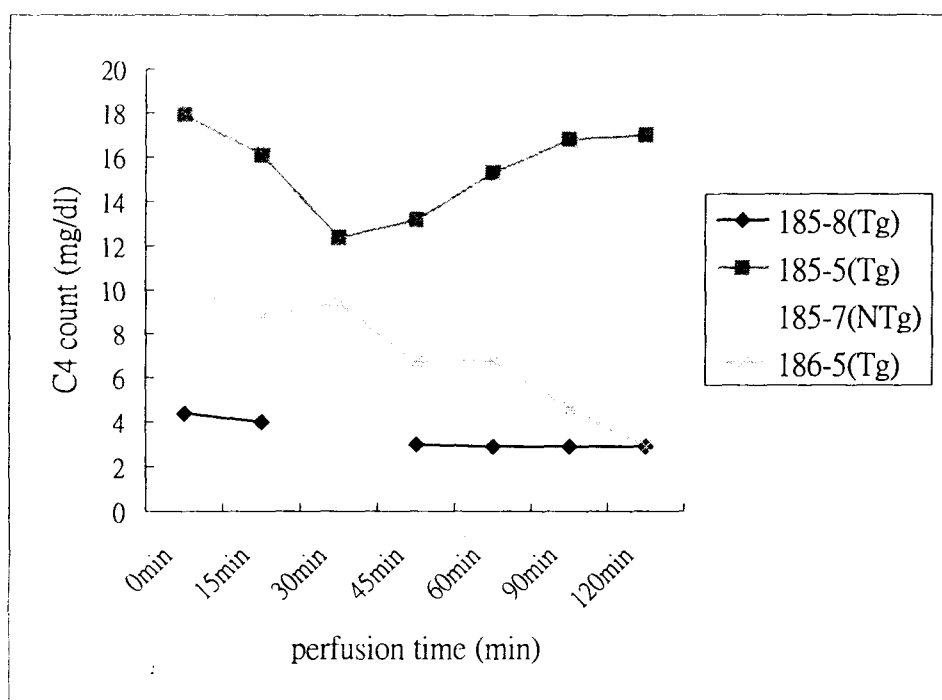
	185-8(Tg)	185-5(Tg)	185-7(NTg)	186-5(Tg)
0min	14.3	48.1	37.00	35.1
15min	15.4	27.8		36.6
30min		31.3	29.90	32.3
45min	10.2	32.8	32.60	23.9
60min	10.5	31.9	34.00	21.4
90min	12.7	31.5	19.30	12.5
120min	11.1	35.7	22.50	16.5



C4

Lung Perfusion

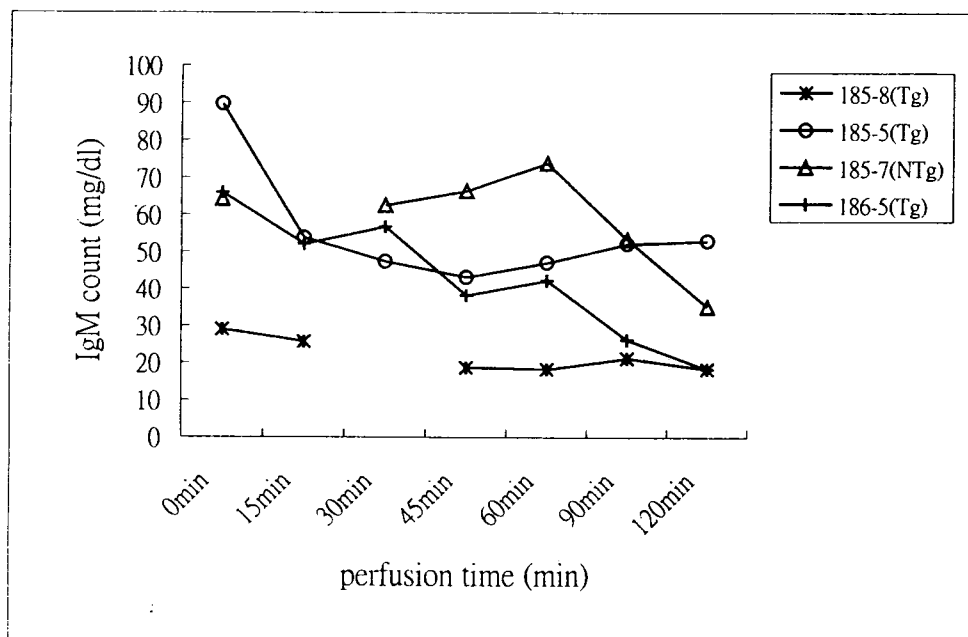
	185-8(Tg)	185-5(Tg)	185-7(NTg)	186-5(Tg)
0min	4.4	17.9	11.3	10.1
15min	4	16.1		8.8
30min		12.4	10.7	9.4
45min	3	13.2	10.6	6.7
60min	2.9	15.3	9.9	6.8
90min	2.9	16.8	8.8	4.6
120min	2.9	17	6.5	2.9



IgM

Lung Perfusion

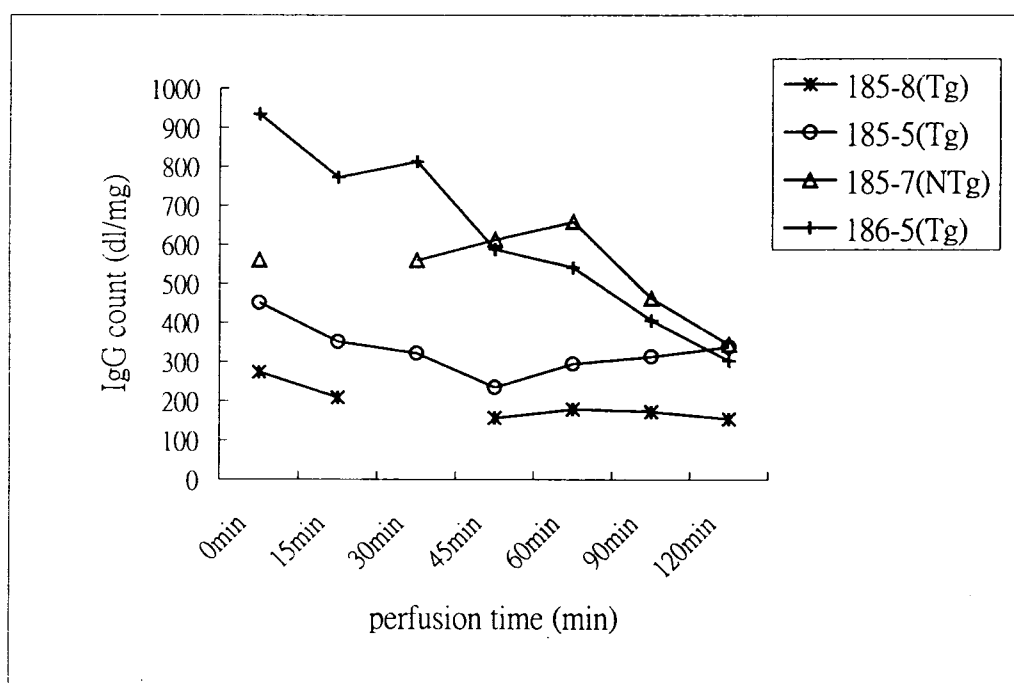
	185-8(Tg)	185-5(Tg)	185-7(NTg)	186-5(Tg)
0min	29	89.7	64.3	66
15min	25.7	53.8		52.1
30min		47.4	62.6	56.8
45min	18.7	43.1	66.4	38.2
60min	18.3	47	73.9	42.2
90min	21.2	52.1	53.4	26.2
120min	18.3	53	35.1	18.3



IgG

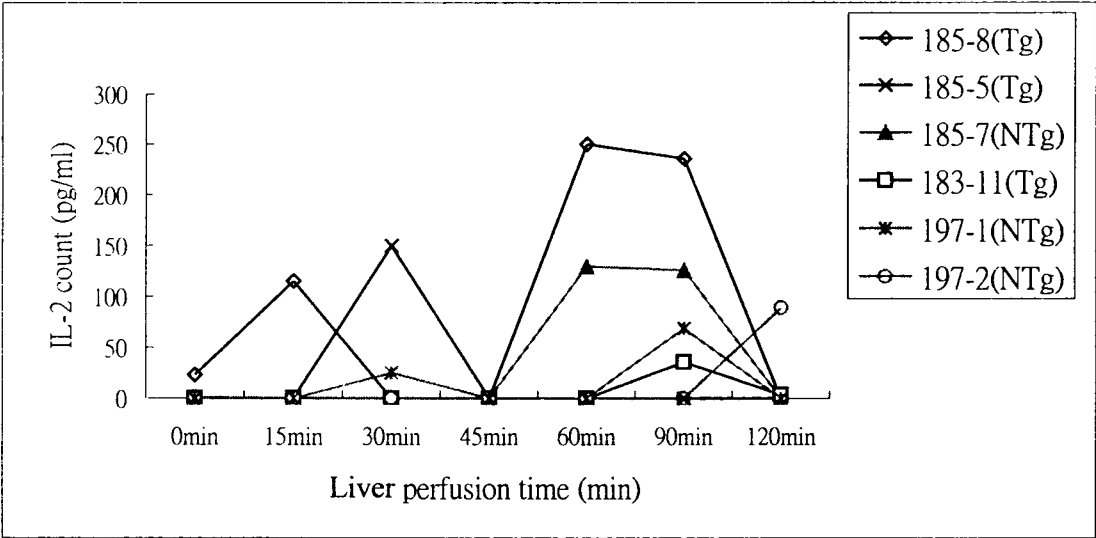
Lung Perfusion

	185-8(Tg)	185-5(Tg)	185-7(NTg)	186-5(Tg)
0min	273	451	560	934
15min	209	351		773
30min		322	560	813
45min	157	235	613	588
60min	179	295	659	541
90min	173	314	462	406
120min	155	339	345	303



Liver Perfusion

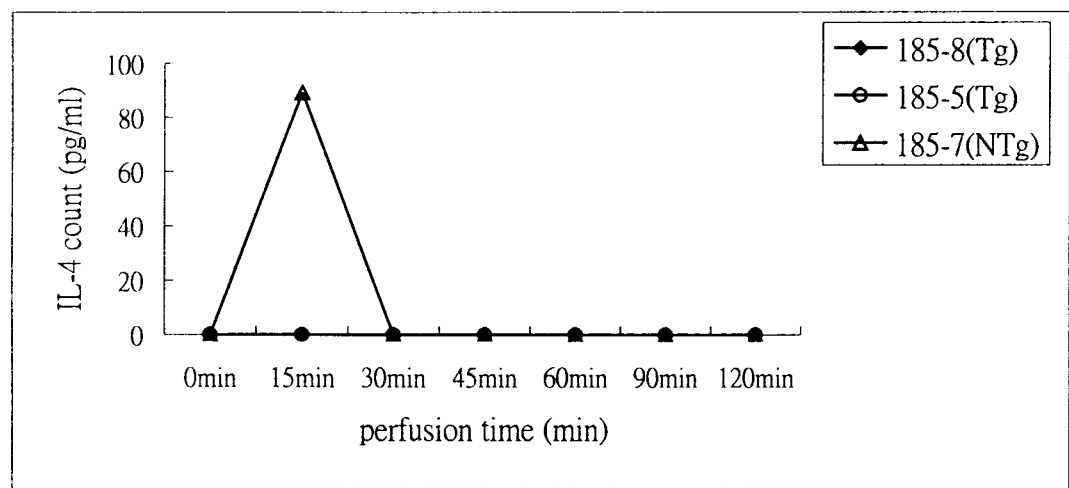
	185-8(Tg)	185-5(Tg)	185-7(NTg)	183-11(Tg)	197-1(NTg)	197-2(NTg)
0min	23	0	0	0	0	0.833
15min	115	0	0	0	0	0
30min	0	150	0	0	25	0
45min	0	0	0	0	0	0
60min	250	0	130	0	0	0
90min	236	0	126	35.833	69.167	0
120min	0	0	0	3.333	0	89.167



IL-4

Liver Perfusion

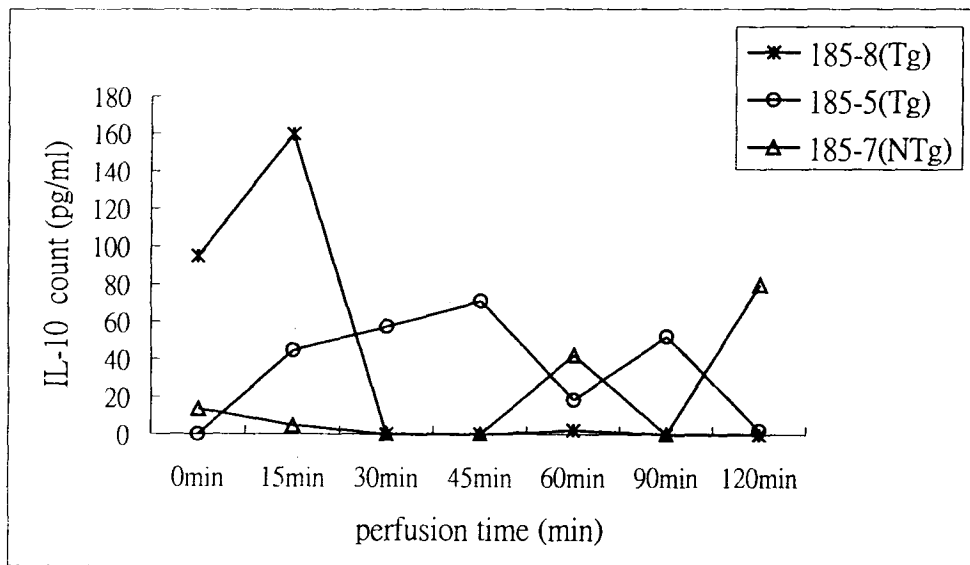
	185-8(Tg)	185-5(Tg)	185-7(NTg)
0min	0	0	0
15min	0	0	89.19
30min	0	0	0
45min	0	0	0
60min	0	0	0
90min	0	0	0
120min	0	0	0



IL-10

Liver Perfusion

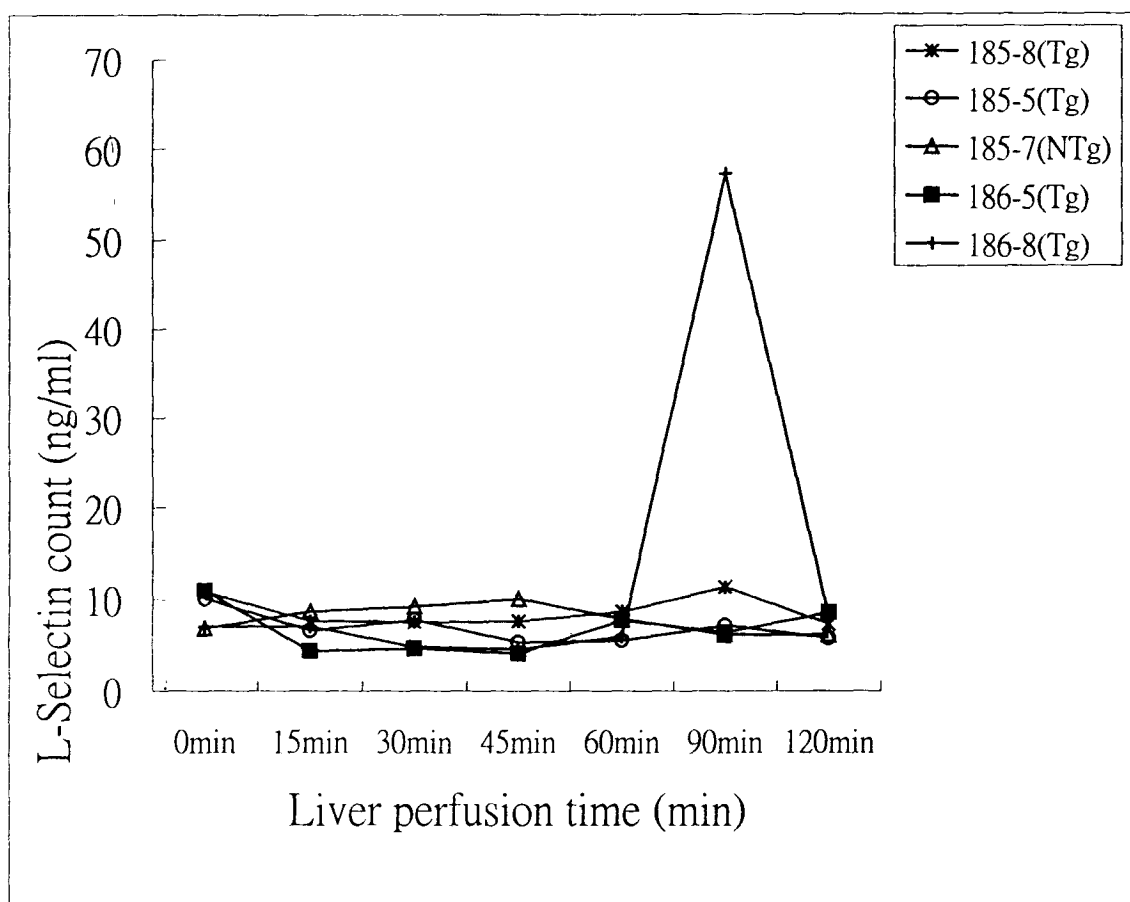
	185-8(Tg)	185-5(Tg)	185-7(NTg)
0min	94.75	0	13.5
15min	159.75	44.75	4.75
30min	0	57.25	0
45min	0	71	0
60min	2.25	18.5	42.25
90min	0	52.25	0
120min	0	2.25	79.75



L-Selectin

Liver Perfusion

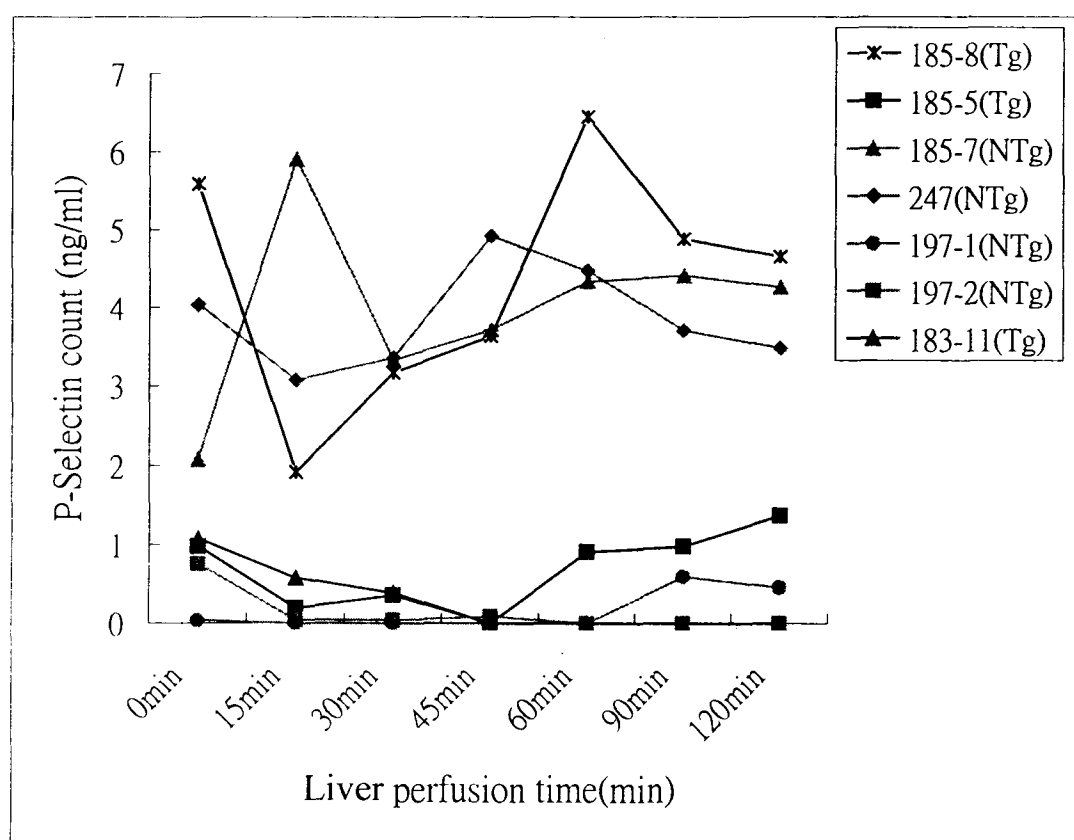
	185-8(Tg)	185-5(Tg)	185-7(NTg)	186-5(Tg)	186-8(Tg)
0min	10.81	10.12	6.86	10.96	7.03
15min	7.67	6.63	8.72	4.38	7.07
30min	7.55	7.79	9.3	4.69	4.85
45min	7.67	5.34	10.12	4.11	4.59
60min	8.72	5.58	7.91	7.75	6.01
90min	11.39	7.21	6.16	6.42	57.29
120min	7.33	5.81	6.16	8.62	8.11



P-Selectin

Liver Perfusion

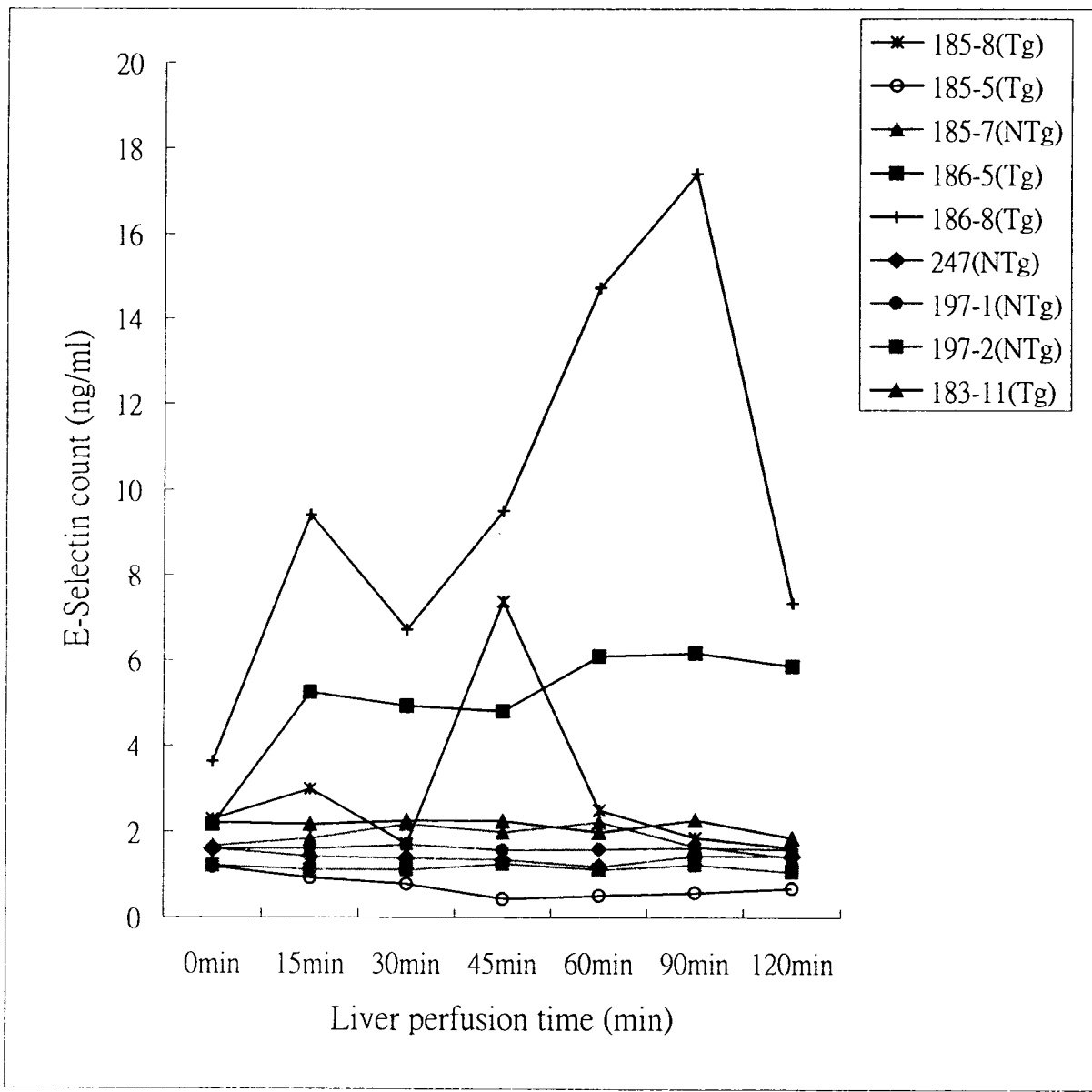
	185-8(Tg)	185-5(Tg)	185-7(NTg)	247(NTg)	197-1(NTg)	197-2(NTg)	183-11(Tg)
0min	5.59	0.98	2.08	4.04	0.036	0.758	1.074
15min	1.92	0.2	5.91	3.08	0	0.045	0.578
30min	3.17	0.36	3.33	3.37	0	0.045	0.388
45min	3.64	0	3.72	4.92	0	0.09	0
60min	6.45	0.91	4.34	4.48	0	0	0
90min	4.89	0.98	4.42	3.71	0.596	0	0
120min	4.66	1.37	4.27	3.48	0.46	0	0



E-Selectin

Liver Perfusion

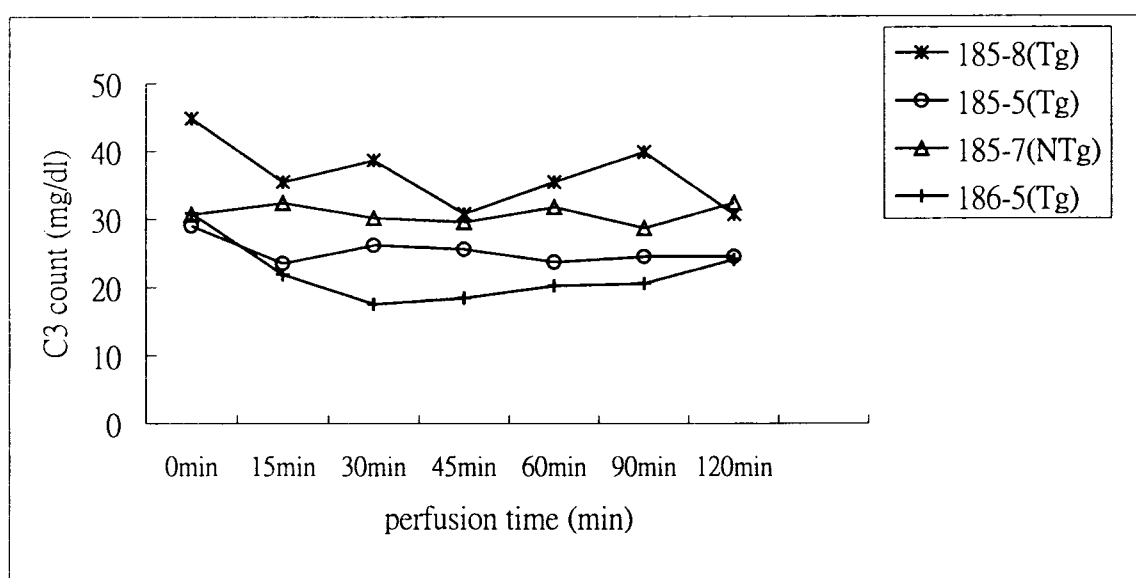
	185-8(Tg)	185-5(Tg)	185-7(NTg)	186-5(Tg)	186-8(Tg)	247(NTg)	197-1(NTg)	197-2(NTg)
0min	2.29	1.19	1.68	2.16	3.63	1.61	1.61	1.215
15min	3	0.93	1.85	5.25	9.41	1.43	1.61	1.121
30min	1.72	0.79	2.18	4.93	6.71	1.39	1.707	1.123
45min	7.37	0.44	1.99	4.81	9.51	1.35	1.58	1.256
60min	2.5	0.52	2.23	6.09	14.72	1.19	1.6	1.121
90min	1.86	0.58	1.66	6.17	17.41	1.44	1.633	1.233
120min	1.63	0.69	1.4	5.86	7.33	1.43	1.582	1.07



C3

Liver Perfusion

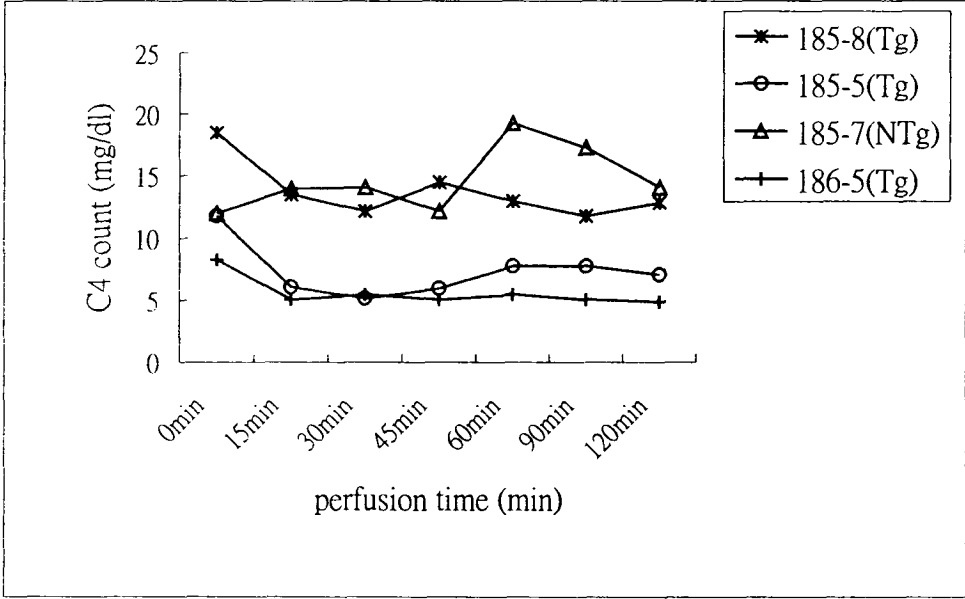
	185-8(Tg)	185-5(Tg)	185-7(NTg)	186-5(Tg)
0min	44.9	29	30.7	30.9
15min	35.5	23.5	32.4	21.9
30min	38.7	26.2	30.2	17.6
45min	30.8	25.6	29.6	18.5
60min	35.5	23.7	31.8	20.3
90min	39.9	24.5	28.7	20.6
120min	30.7	24.5	32.4	24.1



C4

Liver Perfusion

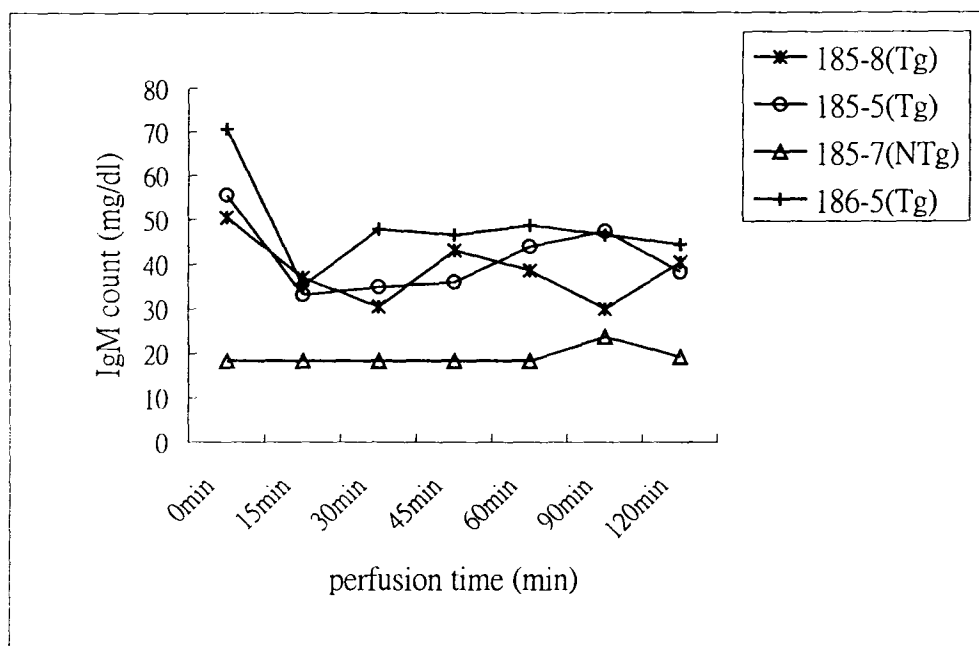
	185-8(Tg)	185-5(Tg)	185-7(NTg)	186-5(Tg)
0min	18.5	11.8	12	8.3
15min	13.5	6.1	14	5.1
30min	12.2	5.2	14.1	5.5
45min	14.5	6	12.2	5.1
60min	13	7.8	19.3	5.5
90min	11.8	7.8	17.3	5.1
120min	12.9	7.1	14.1	4.9



IgM

Liver Perfusion

	185-8(Tg)	185-5(Tg)	185-7(NTg)	186-5(Tg)	
0min	50.4	55.5	18.3	70.6	PS. <18.3~ND
15min	36.9	33.2	18.3	35.1	
30min	30.5	34.9	18.3	47.8	
45min	43.1	36	18.3	46.5	
60min	38.6	43.9	18.3	48.7	
90min	30	47.4	23.7	46.5	
120min	40.4	38.2	19.2	44.4	



IgG

Liver Perfusion

	185-8(Tg)	185-5(Tg)	185-7(NTg)	186-5(Tg)
0min	570	458	526	810
15min	395	287	502	472
30min	322	249	546	500
45min	426	287	462	483
60min	390	349	449	509
90min	326	320	605	479
120min	395	297	472	453

