维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:0253-3626(2006)01-0058-05

大鼠移植心慢性失功加快模型的建立

李 明[1],李幼平[2],严律南[3]

(1. 重庆医科大学附属第一医院普外科,重庆 400016;2. 四川大学华西医院移植工程和移植免疫实验室,成都 610041;
3. 四川大学华西医院普外科,成都 610041)

【摘 要】目的:探讨封闭群 SD→SD 大鼠心脏移植能否建立移植物慢性失功(chronic graft failure CGF)模型,缺血再灌注损伤(ischemia reperfusion injury I/R)是否可加速 CGF 的进程。方法:采用雌性封闭群 SD 大鼠 60 只,分两组,对照组供心取下后立即进行心脏移植,冷缺血组供心取下后,先在 4℃生理盐水中冷保存 3h,然后再进行心脏移植。对照组于术后 4、12、24w,缺血组于术后 4、8、12w,取移植心脏分别行 HE 染色和 Masson 三色染色观察移植心的组织病理学改变。结果:移植后 4w,冷缺血组与对照组相比较,心脏血管内膜增生评分均较低,两者无显著性差异,(1.6 ± 0.48 vs 1.2 ± 0.32, $P>0.05$);移植后 12w,两者心脏血管内膜增生评分有显著性差异(3.6 ± 0.48 vs 2.4 ± 0.48, $P<0.05$),而且冷缺血组已发展为中度至重度血管病变;冷缺血组 12w 与对照组 24w 移植心血管内膜增生评分相比较,二者无统计学差异(3.6 ± 0.48 vs 4.0 ± 0.40, $P>0.05$)。结论:采用封闭群 SD→SD 大鼠异位心脏移植来建立移植心 CGF 模型是可行的,I/R 损伤可加快移植心 CGF 的进程,大大缩短了建模时间。

【关键词】移植物慢性失功;缺血再灌注损伤;心脏移植;HE 染色;Masson 染色
【中国图书分类法分类号】R657.3 【文献标识码】A 【收稿日期】2005-06-28

A novel accelerated rat cardiac graft failure model induced by ischemia reperfusion injury

LI Ming, et al

(*Department of General Surgery, the First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University*)

【Abstract】 *Objective*: To investigate whether the heart transplantation between closed colony SD rats can establish a cardiac chronic graft failure model, and whether the ischemia reperfusion injury can accelerate this process. *Method*: 60 female closed colony of SD rats were divided into two group at random, control group and ischemia group. In control group, donor hearts were implanted into recipients immediately, however, in ischemia group, donor hearts were stored for 3 hrs at 4℃ in isotonic saline to induce an ischemic injury before transplantation. In control group, grafts were excised at 4, 12, and 24 weeks after transplantation, while in ischemia group, grafts were excised at 4, 8, and 12 weeks after transplantation. Graft vasculopathy and interstitial fibrosis were graded for degree of intimal thickening and myocardiac interstitial fibrosis using HE and Masson staining. *Results*: By the 4th week after transplantation, the graft vasculopathy in two groups showed no significant difference (1.6 ± 0.48 vs 1.2 ± 0.32, $P>0.05$), however, by the 12th week, there was a significant difference (3.6 ± 0.48 vs 2.4 ± 0.48, $P<0.05$) in the graft vasculopathy in two groups. By the 24th week, grafts in control group showed the characteristic of chronic graft failure, including graft vasculopathy, interstitial fibrosis, and inflammatory cells infilatration, however, grafts in ischemia group displayed similar leisons by the 12th week. There was no significant difference (3.6 ± 0.48 vs 4.0 ± 0.40, $P>0.05$) in the graft vasculopathy between two groups. *Conclusion*: It is practicable to establish a cardiac chronic graft failure model between closed colony SD rats, and ischemia reperfusion injury, as an alloantigen independent factor, would accelerate the development of rat cardiac chronic graft vascular disease, which can save the time for establishing models.

【Key words】 Chronic graft failure; Ischemia reperfusion injury; Heart transplantation; HE staining; Masson staining

移植物慢性失功 (chronic graft failure CGF)是移植物功能长期存活的主要障碍之一,其确切的发病机理尚不甚明了。目前研究认为,移植物慢性失功是免疫学与非免疫学因素共同作用的结果。免疫学因素包括:HLA 错配,急性排斥;非免疫学因素包括:缺血再灌注损伤,巨细胞病毒感染,免疫抑制剂的毒副作用,高血压,高血脂和脑死亡等。免疫学因

作者介绍:李 明(1973-),男,主治医师,博士,
主要研究方向:肝胆外科及器官移植。

维普资讯 http://www.cqvip.com

素在损伤中起关键作用，并可被非免疫学因素引起的损伤所加强[1]。

随着近年来组织配型、器官保存、外科手术及临床与实验诊断技术的不断提高，尤其是强有力的免疫抑制剂的合理应用，急性排斥反应的发生已能得到良好的控制，移植物近期存活率不断提高，但远期存活率提高却并不明显。因此，对 CGF 的研究日益受到重视，但人们对 CGF 的研究仍主要集中于其免疫机理的探讨，对非免疫因素的影响却甚少涉猎。随着对 CGF 研究的深入，非免疫因素对 CGF 的影响日益受到重视，特别是缺血再灌注损伤（ischemia reperfusion injury I/R），我们知道 I/R 损伤对器官保存及移植术后器官近期功能的影响已有深入研究，但其对移植物远期存活的影响却研究甚少。CGF 研究存在以下困难：①缺乏理想的研究 CGF 的动物模型；②CGF 从病理表现上不容易与长期免疫抑制剂治疗所造成的血管病变相区别；③针对 CGF 的药物学研究仍处于探索阶段[2]。

CGF 模型的建立，国外多采用近交系 F344→Lewis 大鼠心脏移植，不用或用少量免疫抑制剂，术后 6 个月可观察到大鼠移植心出现典型 CGF 表现，即小动脉硬化、间质纤维化和炎性细胞浸润。国内目前尚无这种大鼠，故多采用 SD→Wistar 进行大鼠器官移植，术后应用免疫抑制剂，同时用 SD→SD 或 Wistar→Wistar 大鼠的器官移植作为同系对照，术后不用免疫抑制剂。结果却发现，不仅同种移植物可出现 CGF 表现，而且同系移植物也可出现 CGF 表现[3]，鉴于此，我们想到了利用 SD→SD 同系大鼠心脏移植来构建 CGF 模型，以便于对 CGF 中的非免疫因素进行研究。并在此基础上，利用 I/R 损伤对移植物的影响，加速 CGF 的进程，以探讨封闭群 SD→SD 大鼠心脏移植能否建立 CGF 模型，I/R 是否可加速 CGF 的进程。

1 材料与方法

1.1 实验材料

雌性封闭群 Sprangue Dawley 大鼠（简称 SD 大鼠）60 只，2~3 月龄，体重 220 ± 20g，均购自华西医科大学实验动物中心；显微外科手术器械（上海手术器械厂 SSW-3 手术显微外科器械）；OLYMPUS 显微观察镜（日本 OLYMPUS 公司）；9/0 尼龙单丝线（上海精仪医疗器械厂）。

1.2 实验方法

1.2.1 实验分组 将 SD 大鼠随机分为两组：对照组和缺血组，对照组供心取下后立即进行心脏移植，缺血组供心取下后，先在 4℃生理盐水中冷保存 3h，然后再进行心脏移植。对照组和缺血组术后各观察时间点见表 1，每一时间点为 5 只大鼠。

表 1 实验设计及分组

组别	冷缺血时间	术后观察时间（w）
对照组	0h	4、12、24
缺血组	3h	4、8、12

1.2.2 移植手术 大鼠心脏移植采用改良的 Ono 氏术式，即将供心异位移植于受体腹腔内，供心主动脉升支与受体腹主动脉行端侧吻合，供心主肺动脉与受体下腔静脉行端侧吻合，循环开放后，供心循环途径为：受体腹主动脉→供心胸主动脉→冠状动脉→心肌→冠状静脉→右心房→右心室→肺动脉→受体下腔静脉。供心不参与血液循环，无射血功能，专供实验研究。

1.2.3 标本留取方法 在拟采集标本的时间点，分别切取两组植入的移植心脏，10%中性甲醛固定液固定，脱水、石蜡包埋、做 5μm 厚组织切片，分别做 HE 染色和 Masson 三色染色[4]，光镜下观察组织学改变。

1.2.4 观察指标及分级标准

1.2.4.1 HE 染色光镜观察移植心组织学改变 主要观察血管口径及动脉内膜增厚情况。我们借鉴了目前大鼠心脏移植中用得较多的慢性排斥诊断评分标准[5]（见表 2）。该评分标准要求每个移植心脏至少要对 15 根血管进行评分，移植物血管病变的分数以 $\bar{x}\pm s$ 表示，采用 SPSS10.0 软件包进行 t 检验，当 $P<0.05$ 时，有统计学意义。

表 2 大鼠移植心慢性排斥反应的诊断评分标准

评分	病理学改变
0	血管正常
1	<50%血管周径受累并且动脉纤维内膜增厚 <20%
2	50%~100%血管周径受累并且动脉纤维内膜增厚 <20%
3	100%血管周径受累并且动脉纤维内膜增厚在20%~50%
4	100%血管周径受累并且动脉纤维内膜增厚在50%~80%
5	完全管腔堵塞

1.2.4.2 Masson 三色染色光镜观察移植心组织学改变 用于显示结缔组织。此法中，胶原纤维、粘液、软骨呈蓝色，胞质、肌纤维和红细胞呈红色，胞核为蓝褐色。主要观察心肌间质纤维化发生情况，心肌间质纤维化的定量评分标准见表 3。该评分标准要求每个移植心脏至少要对 15 个视野进行评分，移植心间质纤维化病变的分数以 $\bar{x}\pm s$ 表示，采用 SPSS10.0 软件包进行 t 检验，当 $P<0.05$ 时，有统计学意义。

维普资讯 http://www.cqvip.com

表 3 间质纤维化的定量标准

评分	定量标准
0	间质纤维化≤5%
1	间质纤维化占 6%~25%
2	间质纤维化占 26%~50%
3	间质纤维化 > 50%

2 结 果

2.1 HE 染色移植心的组织病理学结果

按上述诊断标准，对照组和缺血组移植心慢性排斥的诊断结果见表 4。从表中可见，移植后 4w，缺血组与对照组相比较，心脏血管内膜增生评分均较低，缺血组平均分为 1.6，对照组平均分为 1.2，动脉纤维内膜增厚均 < 20%，相当于有轻度血管病变（<25%），两者无显著性差异，（1.6 ± 0.48 vs 1.2 ± 0.32，$P > 0.05$）；移植后 12w，缺血组与对照组相比，两者有显著性差异（3.6 ± 0.48 vs 2.4 ± 0.48，$P < 0.05$），而且已发展为中度至重度血管病变，说明强化缺血可加重移植心动脉纤维内膜增厚的程度；缺血组 12w 与对照组 24w 移植心血管内膜增生评分相比较，缺血组 12w 得分（3.6 分）略低于对照组 24w 得分（4.0 分），但二者得分相近，无统计学差异（3.6 ± 0.48 vs 4.0 ± 0.40，$P > 0.05$），说明强化缺血可加快移植心动脉纤维内膜增厚的进程。而且，以动脉内膜增生来反映移植心慢性排斥反应的进展相当敏感。

表 4 对照组和缺血组移植心慢性排斥的诊断分级

分组	移植后时间（w）	血管内膜增生评分	心肌间质纤维化评分
对照组	4	1.2 ± 0.32	0.2 ± 0.32
	12	2.4 ± 0.48	1.0 ± 0.40
	24	4.0 ± 0.40	1.8 ± 0.32
缺血组	4	1.6 ± 0.48	0.2 ± 0.32
	8	2.2 ± 0.32	0.8 ± 0.64
	12	3.6 ± 0.48*	1.6 ± 0.48*

注：* 表示缺血组 12w 与对照组 12w 比较 $P < 0.05$。

2.2 Masson 三色染色结果

按上述诊断标准，对照组和缺血组移植心间质纤维化的评分结果见表 4。从表中可见，移植后 4w，缺血组与对照组相比较，心肌间质纤维化的评分均较低，均为 0.2 分，接近正常的 0 分，两组心肌间质纤维化无显著性差异，（0.2 ± 0.32 vs 0.2 ± 0.32，$P > 0.05$），说明移植后早期心肌间质纤维化非常不明显；移植后 12 周，缺血组与对照组相比较，心肌间质纤维化评分仍不太高，缺血组平均分为 1.6 分，在轻度到中度间质纤维化之间，对照组平均分为 1.0 分，仅有轻度间质纤维化，两组有显著性差异（1.6 ± 0.48 vs 1.0 ± 0.4，$P < 0.05$），说明强化缺血可加重心肌纤维化的程度。缺血组 12w 与对照组 24w 心肌纤维化评分相比较，缺血组 12w 得分（1.6 分）略低于对照组 24w 得分（1.8 分），但二者得分相近，无统计学差异（1.6 ± 0.48 vs 1.8 ± 0.32，$P > 0.05$），说明强化缺血可加快心肌纤维化的进程。但总体上讲，移植心慢性排斥反应的病理变化并不以心肌纤维化为主。

3 讨 论

移植物慢性失功（chronic graft failure CGF）是移植物功能长期存活的主要障碍之一。据统计，肾脏移植后 1、2 和 5 年 CGF 发生率分别为 15%~22%、20%~50%和 35%~70%；心脏移植后 1、2 和 5 年 CGF 发生率分别为 10%、30%~40%和 40%~60%[6]。但其确切的发病机理尚不甚明了。目前临床所使用的免疫抑制剂大多不能阻止 CGF 的进程。因此，探讨 CGF 的发病机理，寻找具有预防和治疗 CGF 发生发展的药物具有十分重要的意义，这均要通过建立一操作简单、便于观察、稳定的动物模型来实现。

国外于 60 年代初即建立了大鼠肾脏、心脏移植模型，70 年代初建立了大鼠原位肝脏移植模型，并予以不断改进。随着人们对 CGF 的认识，这些模型开始被用于研究 CGF。由于移植物出现 CGF 最重要的病理学特征为移植物动脉硬化，90 年代初，Mennander 等[7]建立了大鼠大动脉移植模型作为研究 CGF 的简化模型。以上模型中，大鼠心脏移植和大动脉移植模型最常用。

大鼠心脏移植模型用于研究 CGF 较多，原因：①手术操作简单，裸眼下就能顺利完成；②术后移植物的功能监测容易，只需每天腹外触诊一次，检查移植心搏动情况即可，省时省力又经济；③国外

维普资讯 http://www.cqvip.com

F344→Lewis 大鼠心脏移植，不用或用少量免疫抑制剂，移植物可长期存活，利于研究 CGF；④为实质性器官移植。

可见，研究 CGF 的最佳模型是大鼠心脏移植模型。随着对 CGF 研究的深入，非免疫学因素对 CGF 的影响日益受到重视，但却缺乏相应的研究模型。

3.1 建立 SD→SD 大鼠移植心慢性失功模型的可行性

随着对 CGF 研究的深入，非免疫学因素对 CGF 的影响日益受到重视，要研究非免疫学因素在 CGF 发生发展中的作用，必然要尽可能减少免疫学因素的影响，并且术后最好不用免疫抑制剂，以排除免疫抑制剂毒副作用对 CGF 的影响。

第一篇有关建立该模型的文章发表于 1969 年，Mahabir 等[8]采用 F344 和 Lewis 进行交配的 F1 代大鼠作为供体，其亲代中的 Lewis 大鼠作为受体，进行肾移植，术后未用免疫抑制剂，移植肾功能良好，经过一段时间后，发生慢性排斥的特征性病变：堵塞性血管病变，间质纤维化，肾小球硬化和炎性细胞浸润。目前，国外多采用近交系 Lewis→F344 或 F344→Lewis 大鼠心脏移植模型，不用或用少量免疫抑制剂，术后 6 个月可观察到大鼠移植心出现典型 CGF 表现，即动脉硬化、间质纤维化和炎性细胞浸润，选用该模型的原因是该模型具有以下特征：它们仅在 MHC-Ⅰ类中有一个小的位点 RT1.C 区不匹配，而免疫区 RT1.A 和 RT1.B 相同，因此不发生急性排斥反应。这一低的应答组合可使移植物在用或不用免疫抑制剂时均能长期存活。该模型产生了一种叫做“熏烧（smoldering）”或亚急性排斥的状态，这并不会影响心脏的跳动，但却会使移植心发生慢性排斥的进行性改变[9]。

由于近交系大鼠主要和次要组织相容性复合物任何一个基因位点上的纯合概率均高达 98.6%，个体间差异很小，因此被公认为标准的 CGF 模型[10]。但 Lewis 和 F344 鼠种国内尚无供应，故国内多采用两种封闭群大鼠 SD 和 Wistar 作为供、受体来建立 CGF 模型，术后用免疫抑制剂控制急性排斥反应，同时用 SD→SD 或 Wistar→Wistar 大鼠同系器官移植作为对照，术后不用免疫抑制剂。结果发现不仅 SD→Wistar 移植物出现 CGF 表现，而且 SD→SD 同系移植物亦出现 CGF 的病理表现[3]。因为 SD 大鼠并不是近交系，而是封闭群，封闭群大鼠就整体而言，由于没有引进新的血缘，其遗传特性及其它反应性能保持相对稳定，个体间差异不大[10]。鉴于此，我们想到了利用 SD→SD 大鼠心脏移植来构建 CGF 模型，术后不用免疫抑制剂，以利于对 CGF 中的非免疫因素进行研究。

本实验中，对照组 SD→SD 大鼠心脏移植，未用免疫抑制剂，术后 12w 取下移植心作 HE 染色，光学显微镜下观察，可见移植心已出现中度慢性排斥反应的表现；术后 24w 观察，发现移植心出现典型的慢性排斥表现：血管硬化，间质纤维化和炎性细胞浸润。可见用 SD→SD 大鼠心脏移植来建立 CGF 模型是可行的，该模型具有以下特点：①SD 大鼠个体间遗传特性差别不大，免疫反应相对较低，术后不用免疫抑制剂而移植心可长期存活，这样就能将影响 CGF 的免疫学因素降低；②术后不用免疫抑制剂，可排除免疫抑制剂毒副作用对 CGF 的影响；③为实质性器官移植。可见，采用 SD→SD 大鼠心脏移植来建立 CGF 模型是可行的。

3.2 通过强化 I/R 损伤来建立 SD→SD 大鼠移植心慢性失功加快模型的可行性

目前研究认为，移植物慢性失功是免疫学与非免疫学因素共同作用的结果。免疫学因素包括：HLA 错配，急性排斥；非免疫学因素包括：缺血再灌注损伤，巨细胞病毒感染，免疫抑制剂的毒副作用，高血压，高血脂和脑死亡等。免疫学因素在损伤中起主要作用，并可被非免疫学因素引起的损伤所加强。鉴于此，人们想到通过强化非免疫学损伤来加快 CGF 的进程，从而缩短建模时间，这对 CGF 机理的研究和干预药物的筛选都极为有利。因此，通过延长移植物冷缺血时间来强化 I/R 损伤，以建立移植物慢性失功加快模型就应运而生了。

Knight 等[11]研究了冷缺血损伤对大鼠心脏移植慢性排斥的影响，分别作了 Lewis→F344 的同种心脏移植和 F344→F344 的同系心脏移植，供心移植前在 4℃ UW 液中冷保存 3h，以造成冷缺血损伤，移植后 90 天取下移植心脏进行观察。结果发现：有缺血损伤的同种移植物与无缺血损伤的同种移植物相比，平均血管评分有显著差异（2.8 ± 0.4 vs 1.6 ± 0.5，$P < 0.05$）。缺血性损伤的同系移植物中，却未出现血管病变。他认为该模型中慢性血管病变的进展主要是一免疫学过程，并可被缺血性损伤所加快。Yilmaz 等[12]研究了长期存活的大鼠肾同种移植模型中，延长冷缺血时间对慢性排斥发生的影响。实验分了三组，30min 冷缺血同种移植组，60min

维普资讯 http://www.cqvip.com

冷缺血同种移植组，和 60min 冷缺血同系移植组，同种移植为近交系大鼠 DA→WF，同系移植在 DA→DA 间进行，供肾取下后在 4℃生理盐水中保存。移植后 12w 取下移植物进行研究，结果发现，在 12w 时，60min 冷缺血同种移植组，血肌酐水平为 181 ± 64 μmol/L，而 30min 冷缺血同种移植组和 60min 冷缺血同系移植组，血肌酐水平分别为 85 ± 21 μmol/L 和 89 ± 25 μmol/L。对活检标本进行定量组织学分析表明，60min 冷缺血同种移植组出现持续炎症反应，血管动脉粥样硬化和堵塞，以及肾小球硬化，其程度明显高于 60min 冷缺血同系移植组和 30min 冷缺血同种移植组。该实验也证实了延长冷缺血时间可促进慢性排斥反应的发生和发展。

国内陈卫国报道，SD→Wistar 大鼠腹主动脉移植模型中，供体腹主动脉冷缺血 1h 组与冷缺血 24h 组相比，前者 6w 左右出现 CGF 的典型变化，后者仅需 2w；在 SD→SD 大鼠腹主动脉移植模型中，冷缺血 1h 组与冷缺血 24h 组相比，前者 10w 左右出现 CGF 的典型变化，后者仅需 6w，这说明 I/R 损伤能明显加快 CGF 的进程[3]。毕研文等[13]探讨 4h 冷缺血损伤对大鼠移植动脉硬化的影响，实验分了 4 组，慢性排斥组（Wistar→SD）、慢性排斥冷缺血组（Wistar→SD）、同系冷缺血组（Wistar→Wistar）和对照组（Wistar→Wistar），冷缺血组移植前先将供体胸主动脉放入 4℃生理盐水中浸泡 4h。通过 Masson 三色染色法估计血管硬化程度和增生平滑肌细胞的分布。结果发现，冷缺血两组均见明显内膜肥厚，主要表现为内膜平滑肌细胞大量增生及纤维化，平滑肌细胞排列较密集、成层状，说明冷缺血损伤能促进移植动脉硬化。

本实验中对照组供心取下后立即进行心脏移植，而冷缺血组先将供心在 4℃生理盐水中冷保存 3h 再进行移植，以强化冷缺血损伤。结果表明，缺血组在移植后 12w，所出现的组织病理学变化类似于对照组术后 24w 出现的病理学改变，大大加快了慢性排斥反应的自然进程。这表明，通过强化 I/R 损伤来建立 SD→SD 大鼠移植心慢性失功加快模型是可行的。

由上可见，采用封闭群 SD→SD 大鼠异位心脏移植来建立移植心 CGF 模型是可行的，I/R 损伤可加快移植心 CGF 的进程，大大缩短了建模时间。

参 考 文 献

[1] Tilney NL. Chronic rejection and its risk factors[J]. Transplant Proc, 1999; 31(1-2A): 41s-44s.

[2] 夏穗生主编. 临床移植医学[M]. 杭州：浙江科学技术出版社，1999；19.

[3] 陈卫国. 大鼠腹主动脉移植硬化加快模型的建立及其干预机理研究. 华西医科大学硕士学位论文, 1999;5.

[4] 许良中主编. 实用肿瘤病理方法学[M]. 上海：上海医科大学出版社，1997；108-109.

[5] Knight RJ, Dikman S, Liu H, et al. Cold ischemic injury accelerates the progression to chronic rejection in a rat cardiac allograft model[J]. Tranplantation, 1997; 64(8): 1102-1107.

[6] Duquesnoy RJ, 李幼平，主编. 移植免疫生物学[M]. 北京：科学出版社，2000；214.

[7] Mennander A, Thsala S, Halttunen J, et al. Chronic rejection in rat aortic allografts: an experimental model for transplantation arteriosclerosis[J]. Arterioscler Thromb, 1991; 11: 671-680.

[8] Guttmann RG, Frcpc, Forbes RDC, et al. The patholphysiology of chronic rejection[J]. Am J Med Sci, 1997; 313(5): 302-304.

[9] Russell ME, Raisanen-Sokolowski A,Koglin J, et al. Immunobiology of chronic rejection:Effector pathways that regulate vascular thicking[J]. Graft, 1998; 1(2S): 7-10.

[10] 苗明三，主编. 实验动物和动物实验技术[M]. 北京：中国中医药出版社，1997；8~16.

[11] Knight RJ, Dikman S, Liu H, et al. Cold ischemic injury accelerates the progression to chronic rejection in a rat cardiac allograft model[J]. Tranplantation, 1997; 64(8): 1102-1107.

[12] Yilmaz S, Paavonen T, Hayry P. Chronic rejection of rat renal allografts II. The impact of prolonged ischemia time on transplant histology[J]. Tranplantation, 1992; 53(4): 823-827.

[13] 毕研文，孙文宇，袁桂荣，等. 长时间冷缺血损伤促发移植物动脉硬化[J]. 第四次全国器官移植学术会议论文汇编，2001；226-227.