

LE PORC EN TRANSPLANTATION D'ORGANES : DU MODÈLE PRÉCLINIQUE À LA XÉNOTRANSPLANTATION

THE PIG IN SOLID ORGAN TRANSPLANTATION: FROM THE PRECLINICAL MODEL TO XENOTRANSPLANTATION

Isabelle SCHWARTZ-CORNIL¹  et Édouard SAGE² 

Manuscrit initial soumis le 23 octobre 2024, manuscrit révisé soumis le 22 novembre 2024, accepté le 27 novembre 2024, révision éditoriale le 30 janvier 2025, version acceptée par l'auteur le 31 janvier 2025

RÉSUMÉ

La transplantation est le traitement curatif des défaillances terminales des organes solides. Les modèles animaux ont joué un rôle clé dans son histoire, d'abord avec l'utilisation du chien au début du XX^e siècle, puis celle des rongeurs, des primates non humains et plus particulièrement du porc. Celui-ci, de par ses similitudes avec l'homme, représente une espèce intermédiaire entre rongeurs et primates, qui a grandement contribué aux avancées en matière de chirurgie et en gestion de l'immunosuppression. De plus, avec l'essor de techniques de l'édition de génome, le porc apporte une solution prometteuse à la pénurie de greffons, ouvrant aux xéno-greffes la voie vers une réalité clinique.

Mots-clés : greffes, porc, immunité, perfusion *ex vivo*, xéno-greffes

ABSTRACT

Transplantation of solid organs is the curative treatment for end-stage disease. Animal models have played a key role in its developments, initially with the use of dogs in the early 20th century, followed by rodents, non-human primates, and particularly pigs. Due to similarities with humans, the pig represents an intermediate species between rodents and primates, which has greatly contributed to advances in surgery and immunosuppression management. Furthermore, with the rise of genome editing techniques, the pig offers a promising solution to the shortage of donor organs, paving the way for xenotransplantation to become a clinical reality.

Keywords: grafts, pig, immunity, *ex vivo* perfusion, xenografts

1- DVM-PhD et DRE-INRAE, Université Paris-Saclay, INRAE, UVSQ, VIM, 78 350, Jouy-en-Josas, France.

E-mail : isabelle.schwartz@inrae.fr

2- MD-PhD et PU-PH, Université Paris-Saclay, INRAE, UVSQ, VIM, 78 350, Jouy-en-Josas et Département de chirurgie thoracique et transplantation pulmonaire, Hôpital Foch, 92 150, Suresnes, France.

E-mail : e.sage@hopital-foch.com



INTRODUCTION

La transplantation d'organes solides est l'option thérapeutique ultime lorsque les traitements médicaux ne permettent plus de pallier une défaillance organique. Les organes les plus fréquemment greffés sont le rein, le foie, le cœur, le pancréas et le poumon, pour un total de 157 494 transplantations d'organes solides réalisées à l'échelle mondiale en 2022 (<https://www.transplant-observatory.org/>). L'essor de la transplantation d'organes a été rendu possible grâce à l'avancée des techniques chirurgicales et au développement de médicaments immunosuppresseurs, progrès où les modèles animaux ont joué un rôle crucial. Cependant, des améliorations restent indispensables, tant pour répondre à la demande croissante en greffons (100 000 personnes étaient en attente de greffe d'organes aux USA en février 2024 (Peterson *et al.* 2024)) que pour améliorer la clinique post-opératoire. En effet, les patients greffés sont confrontés à l'importante toxicité des immunosuppresseurs (favorisant le développement de cancers, maladies métaboliques, fatigue intense) ainsi qu'à des épisodes de rejets qui peuvent aboutir à la perte du greffon. Dans cet article, après avoir apporté des éléments de contexte obtenus grâce aux modèles canin et rongeurs, nous présenterons en quoi le modèle porcine a contribué au développement de la transplantation d'organes solides, et en quoi il offre des atouts majeurs pour relever les défis actuels de cette pratique thérapeutique. Nous mettrons un accent particulier sur la greffe de poumon, qui est l'organe solide dont les résultats de transplantation sont les moins bons, avec seulement 60 % de survie à 5 ans, et qui souffre d'une carence majeure en greffons disponibles en raison de la fragilité particulière de cet organe.

HISTORIQUE, SUCCÈS ET DÉFIS DES TRANSPLANTATIONS D'ORGANES SOLIDES

Le chien fut le modèle animal de prédilection au début de l'histoire de la transplantation. Alexis Carrel, chirurgien français, a réalisé dans cette espèce la première auto-greffe rénale en 1902, avec la mise au point d'une technique de suture vasculaire. Dans les années 1950, toujours chez le chien, les techniques d'auto-transplantation ont été adaptées à d'autres organes (Hardin & Kittle 1954). Les années 1960 ont vu l'essor des allo-greffes avec l'apparition des agents pharmacologiques immunosuppresseurs, notamment l'azathioprine combinée à l'actinomycine C, qui a permis un maintien d'allogreffes rénales chez le chien pendant au moins 14 jours (Calne *et al.* 1962), ouvrant la porte aux premières greffes de rein, foie et cœur chez l'homme en 1967 (Barker & Markmann 2013) et du poumon plus tardivement en 1983 (Cooper *et al.* 1987). La cyclosporine (inhibiteur de la calcineurine), plus efficace et mieux tolérée que les précédents agents pharmacologiques, a révolutionné la transplantation d'organes dans les années 1980. L'arsenal des immunosuppresseurs s'est alors enrichi, notamment avec le tacrolimus (autre inhibiteur de la calcineurine), la rapamycine (inhibiteur de la voie mTOR), les globulines anti-thymocytes, les anti-mitotiques (azathioprine et les dérivés de l'acide mycophénolique), les anticorps anti-CD52, le CTLA4-Ig (bloqueur de costimulation), et, bien entendu, les corticoïdes (Szumilas *et al.* 2023). Si le modèle canin fut clé dans les mises au point, il a ensuite été délaissé en expérimentation pour des raisons éthiques et a laissé la place aux modèles rongeurs, parfois aux primates non humains, et au porc.

LES MODÈLES DE RONGEURS, LEURS ATOUTS ET LIMITES

Les modèles rongeurs ont eu une importance capitale pour identifier les bases moléculaires des effecteurs de l'allo-immunité responsables des échecs des greffes. Toutefois, ils présentent des limites translationnelles, à la fois pour des raisons liées à leur petite taille, et pour des spécificités d'espèces et d'environnement (Mariscal *et al.* 2018). Leur petite taille rend certaines greffes telles que la greffe du poumon très difficile et source d'artefacts techniques (Mariscal *et al.* 2018). Par ailleurs ces espèces se sont révélées particulièrement réceptives aux agents pharmacologiques immunosuppresseurs et notamment à l'induction de tolérance - le graal de la transplantation -, que l'on évalue par la survie d'un greffon après l'arrêt d'administration d'agents pharmacologiques immunosuppresseurs. Ainsi, alors qu'il est possible d'induire la tolérance à des greffes allogéniques par des traitements anti-CD3 ou des inhibiteurs de calcineurine chez les rongeurs, ces approches sont inefficaces chez les primates (Tableau 1, Sachs 2003). De plus, alors qu'un traitement par la cyclosporine permet l'induction de tolérance en situation de CMH (complexe majeur d'histocompatibilité) disparate chez la souris, l'induction de tolérance par la cyclosporine chez le porc nécessite que le greffon présente au moins le même CMH de classe 2 (Rosengard *et al.* 1992). Plusieurs hypothèses ont été avancées pour expliquer ces différences : les rongeurs en recherche sont généralement très jeunes avec un système immunitaire encore « vierge », leur endothélium n'exprime pas le CMH de classe 2, et ils sont le plus souvent élevés dans des conditions exemptes d'organismes pathogènes spécifiques (EOPS). Ainsi, des souris nées en conditions EOPS, puis exposées de manière répétée à des infections virales sub-létales ont développé une résistance à l'induction de tolérance vis-à-vis d'une greffe de peau (Adams *et al.* 2003). Enfin, des différences inter-espèces de pharmacocinétique et de sensibilité cellulaire intrinsèques aux agents pharmacologiques utilisés entrent également en jeu. En conséquence, pour qu'une stratégie expérimentale, montrant une efficacité d'immunosuppression chez les rongeurs, soit convaincante, une démonstration s'impose dans une autre espèce avant de passer à un essai clinique.



| Méthode | Souris | Primates/homme |
|------------------------------|--------|----------------|
| Transfusion du donneur | + | - |
| Peptides | + | - |
| Anticorps anti-CMH | + | - |
| Cyclosporine | + | - |
| Sérum anti-lymphocytes | + | - |
| Anti-CD4 | + | - |
| Anti-CD25 | + | - |
| Irradiation totale lymphoïde | + | ± |
| Toxine anti-CD3 | + | ± |
| Blocage de costimulation | + | ± |
| Chimérisme hématopoïétique | + | + |

+ : succès de tolérance, - : échec de tolérance

Tableau 1: Succès d'induction de tolérance chez les rongeurs versus les primates (Sachs 2003)

LA VALEUR TRANSLATIONNELLE DU MODÈLE PORC

Un grand nombre d'études précliniques ont démontré la valeur du modèle porcin en recherche translationnelle, et notamment pour la transplantation d'organes. Ainsi, une interrogation sur PubMed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>) avec les termes « *pig model* » et « *organ transplantation* » a généré 2 600 résultats lors de la préparation de cette revue en 2024. Le porc est moins assujéti aux pressions sociales et éthiques que d'autres espèces pour l'expérimentation et il représente souvent la meilleure alternative au modèle primate non humain, dont l'emploi est plus coûteux et complexe sur les plans éthiques et logistiques (Dehoux & Gianello 2007). Le porc est une espèce prolifique qui grandit rapidement et il présente un poids comparable à celui de l'homme (50-80 kg) vers l'âge de 3-5 mois pour le porc charcutier, ou à l'âge adulte pour les lignées « *mini-pig* ». L'anatomie et la physiologie du porc représentent une approximation de celles de l'homme pour plusieurs organes et systèmes, notamment pour le cœur, le rein, la peau, le poumon, le foie, le pancréas, et le tube digestif (Sachs *et al.* 1976). Bien entendu des différences anatomiques existent et entraînent des aménagements expérimentaux; par exemple, pour procéder à la greffe de poumon chez le porc dans des conditions semblables à l'homme sur le plan technique, la présence d'une bronche surnuméraire du poumon droit conduit à la transplantation du poumon gauche seul (Judge *et al.* 2014). Toutefois, en général, le protocole chirurgical peut être, presque directement, transposé du porc à l'homme et vice-versa.

Si l'on considère une liste de paramètres immunologiques (types cellulaires, organisation et orthologie génique), le porc partage 80 % de paramètres communs avec l'homme alors que la souris en partage environ 10 % (Pabst 2020 ; Dawson 2011). Au cours de l'évolution, les familles de gènes impliquées dans l'inflammation et la réponse immunitaire ont montré des *patterns* d'expansion ou de contraction à partir d'un ancêtre commun plus proches entre homme et porc qu'entre homme et rongeurs, ces derniers ayant évolué avec des cinétiques nettement plus rapides. De plus, les domaines protéiques fonctionnels des gènes de l'immunité et de l'inflammation sont mieux conservés entre homme et porc, qu'entre homme et rongeurs (Dawson *et al.* 2017). Enfin, de nombreuses souches porcines pour la recherche ont été développées, notamment des souches « *mini* » et des lignées consanguines possédant des gènes du CMH bien caractérisés (*Swine Leukocyte Antigens* ou SLA, Hammer *et al.* 2020). Au total, 266 allèles ont été répertoriés pour le SLA de classe 1 qui comprend, comme chez l'homme, trois loci codant pour les CMH de classe 1 classiques appelés SLA-1, 2 et 3; 227 allèles ont été répertoriés pour le SLA de classe 2 qui comprend des orthologues du HLA-DR et DQ, mais pas DP. Par comparaison, plus de 6 400 allèles ont été identifiés chez l'homme pour tout le CMH; ainsi, la diversité génétique chez le porc, en raison de la gestion de l'élevage, est plus restreinte. Il y a environ 40 ans, le porc a permis des avancées importantes dans la connaissance des paramètres de l'histocompatibilité en rejet de greffes grâce à des croisements entre lignées consanguines porcines différant pour des SLA de classe 1 ou de classe 2, des groupes sanguins ABO ou des antigènes mineurs d'histocompatibilité (Hammer *et al.* 2020); ces travaux ont contribué à la prise en compte de la compatibilité entre donneurs et receveurs par typage des CMH, ce qui a contribué à améliorer le succès des greffes d'organe (Zachary & Leffell 2016). La durée de la survie de greffons de rein chez le porc après cessation de l'immunosuppression (qui signe un état de tolérance, comme expliqué plus haut) était associée à la correspondance pour au moins un locus du CMH entre donneur et receveur, notamment pour le CMH de classe 2 (Gianello & Sachs 1996), ce qui a été ensuite confirmé chez l'homme et les primates non humains (Dehoux & Gianello 2007). Enfin, le rôle dans le rejet des antigènes mineurs codés par la mitochondrie a été démontré chez des porcs clonés possédant le même SLA, mais différant pour la région hypervariable de l'ADN mitochondrial (Kwak *et al.* 2013).



LES MÉCANISMES IMMUNOLOGIQUES DE LA TRANSPLANTATION ET LES PISTES VERS DE NOUVELLES STRATÉGIES THÉRAPEUTIQUES

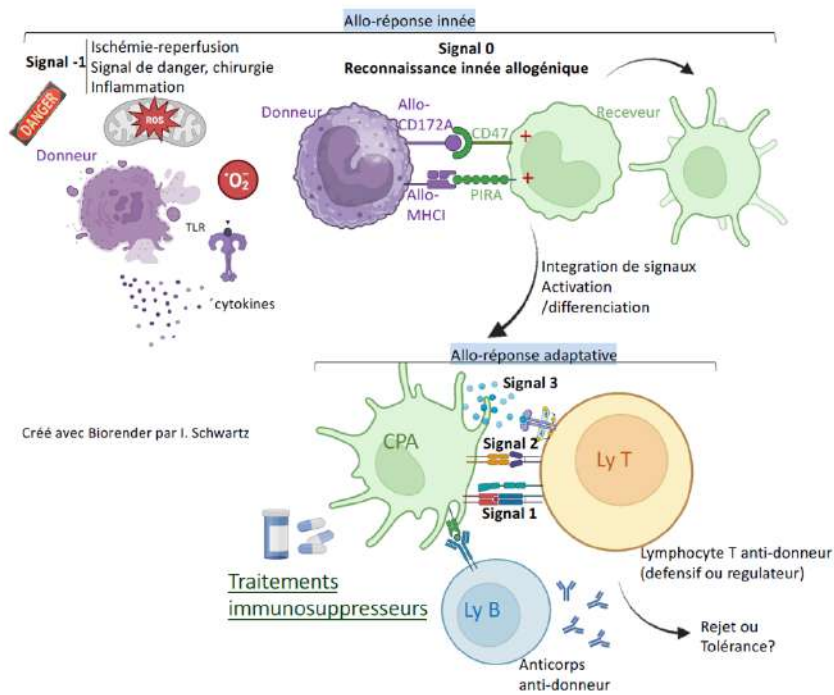


Figure 1 : Séquence des signaux dans la réponse immunitaire allogénique en transplantation d'organes. Signal -1 : la chirurgie (extraction, conservation, reperfusion) induit inévitablement des lésions de stress cellulaire liées à la période d'ischémie et à la reperfusion massive qui perturbe la chaîne respiratoire mitochondriale, générant des espèces réactives de l'oxygène conduisant à des lésions d'ischémie-reperfusion ; les molécules de danger libérées vont conduire à l'activation de la voie TLR4 et à la libération de cytokines inflammatoires. Signal 0 : en situation allogénique, CD172A génère un signal activateur via CD47 et le MHC de classe 1 via PIR-A (Paired Immunoglobulin-like Receptor A) dans les monocytes, conduisant à leur activation en cellules présentatrices d'antigènes (APC), favorisée par le signal -1. Ces APC migrent alors dans les organes lymphoïdes où elles initient les réponses adaptatives par les signaux 1 (CMH/TCR), les signaux 2 (costimulation CD80-CD86/CD28-CTLA4) et les signaux 3 cytokiniques. Dans un contexte inflammatoire, l'activation lymphocytaire favorisera un phénotype défensif d'anticorps anti-donneur ; dans un contexte tolérogène, elle favorisera le développement de lymphocytes T régulateurs ou l'anergie/déletion de lymphocytes anti-donneur. Les agents pharmacologiques immunosuppresseurs visent à bloquer l'amplification des réponses délétères anti-donneur.

Si le modèle porc présente des atouts pour la recherche en transplantation, il est important d'identifier les défis à relever en ce domaine pour identifier les questions où ce modèle permettrait d'apporter des réponses pertinentes. La figure 1 représente une vision synthétique des séquences de signaux impliqués dans l'induction de l'immunité allogénique en transplantation, selon la déclinaison suivante : les signaux -1 correspondent aux phases chirurgicales de la transplantation, le signal 0 correspond à la rencontre allogénique innée entre cellules du donneur et du receveur lors de la chirurgie, et les signaux 1, 2, 3 correspondent à l'initiation de la réponse immunitaire adaptative. Les signaux -1 conduisent à une réponse inflammatoire qui établit un contexte favorable à l'installation d'une immunité défensive, responsable du rejet. La chirurgie de la transplantation comprend inévitablement des perturbations de l'approvisionnement en oxygène, de par l'extraction de l'organe et sa conservation, puis par la reperfusion sanguine massive ; cette « ischémie-reperfusion » crée une forte perturbation du fonctionnement de la chaîne respiratoire mitochondriale, générant des espèces réactives de l'oxygène (ERO) et une acidose cellulaire qui initie une cascade lésionnelle conduisant à la libération de molécules de dommage (*damage-associated molecular patterns*, DAMPs) telles que HMGB (*high mobility group box 1*), l'acide hyaluronique de faible poids moléculaire, l'ATP extracellulaire, l'ADN mitochondrial. Ces différentes molécules de stress activent des voies pro-inflammatoires via le TLR4 (*Toll-like receptor 4*), le RAGE (*receptor for advanced glycation end-products*), l'inflammasome NLRP3 (*NOD-like receptor family, pyrin domain 3*), et peuvent *in fine* induire la mort cellulaire. Lors du déclampage durant la chirurgie, les leucocytes du receveur entrent en contact avec les cellules du donneur (signal 0), et des reconnaissances moléculaires du non-soi allogénique entrent en action, notamment au niveau des monocytes/macrophages. Ainsi, la molécule polymorphique CD172A (encore appelée SIRP α (*signal regulatory protein α*)) génère une signalisation activatrice via la molécule monomorphique CD47 exprimée par les monocytes/macrophages, signalisation qui est responsable de rejet de greffes dans des souris dépourvues de lymphocytes de l'immunité adaptative (Dai *et al.* 2017). Par ailleurs le CMH de classe 1



allogénique stimule des récepteurs LILR (*leukocyte Ig-like receptors*), tels que PIR-A (*paired Ig-like receptor-A*) chez la souris, qui joue un rôle majeur dans le rejet de greffe par un mécanisme de mémoire immunitaire innée impliquant aussi les monocytes/macrophages (Dai *et al.* 2020). Des molécules orthologues aux molécules murines CD172A/CD47 et CMH de classe 1/PIR-A ont été décrites chez l'homme et le porc (Schwartz & Hammond 2018). Dans le contexte inflammatoire de la transplantation, cette réponse innée est favorable à l'activation des cellules présentatrices d'antigènes initiant la présentation antigénique allogénique adaptative, via différents mécanismes impliquant les molécules du CMH et les récepteurs T et B (signal 1), les récepteurs de costimulation CD80-CD86/CD28-CTLA4 (signal 2) et les cytokines telles que l'IL-12 (signal 3). Les immunosuppresseurs ont été conçus pour empêcher l'amplification de l'immunité adaptative délétère. Comme indiqué plus haut, il est souhaitable de limiter l'emploi des immunosuppresseurs en raison de leur toxicité, et donc d'induire une tolérance immunitaire, afin de pouvoir s'en affranchir. Contrôler les étapes -1 et 0, lors de la chirurgie, pourrait fortement réduire l'initiation de la réponse adaptative défensive et cytotoxique, et favoriser l'installation de la tolérance, avec induction de lymphocytes T régulateurs ou délétion/anergie de lymphocytes anti-donneurs. Des travaux chez la souris montrent en effet que la réduction de la réponse innée allogénique en péri-opératoire par ciblage de nanoparticules chargées de rapamycine vers les monocytes/macrophages permet la survie de greffons cardiaques à long terme, alors que la rapamycine non ciblée ne le permet pas (Braza *et al.* 2018).

ÉVALUATION DE LA STRATÉGIE « CHIMÉRISME HÉMATOPOÏÉTIQUE » CHEZ LE PORC POUR INDUIRE LA TOLÉRANCE AU GREFFON

Le chimérisme hématopoïétique multi-lignées est la seule stratégie conduisant à une tolérance immunologique au greffon chez les grands mammifères et l'homme (Tableau 1, Sachs 2003). Le principe du chimérisme hématopoïétique consiste à générer la greffe pérenne de cellules souches hématopoïétiques du donneur dans les organes lymphoïdes primaires et secondaires du receveur ; l'hypothèse est que la coexistence des cellules présentatrices d'antigène du donneur et du receveur dans ces organes lymphoïdes conduit à la délétion/anergie des lymphocytes anti-donneur ainsi qu'à la production de lymphocytes T régulateurs, par les mécanismes « classiques » de reconnaissance du soi. Un point important est que cette éducation doit se faire en dehors de la signalisation inflammatoire (sans signal -1). Pour favoriser le maintien du chimérisme, il est nécessaire d'appliquer un protocole de conditionnement hématopoïétique qui permette de créer de l'espace pour l'implantation de la greffe hématopoïétique. Chez le porc, ce conditionnement a été obtenu par irradiation modérée systémique (1,5 Gy) et irradiation forte (7 Gy) au niveau thyroïdienne (Avsar *et al.* 2016). Ainsi, après conditionnement du receveur et injection intraveineuse de splénocytes du donneur présentant un *mismatch* des CMH de classe 1 et 2, des greffons pulmonaires ont été maintenus plus de 200 jours chez les cinq porcs ainsi traités sans immunosuppression, alors que les contrôles ne comprenaient qu'un greffon survivant sur 11 (Avsar *et al.* 2016). Ce protocole s'accompagnait d'une amplification de la population de lymphocytes T régulateurs chez les porcs traités. Ainsi, le modèle porc, plus pertinent que les rongeurs pour l'induction de tolérance, pourrait être utilisé pour définir les paramètres importants du conditionnement (méthode, dose, temporalité), identifier les types cellulaires hématopoïétiques importants, et évaluer l'efficacité du conditionnement selon le type d'organe greffé.

ÉTUDE ET CIBLER L'IMMUNITÉ INNÉE EN PÉRI-OPÉRATOIRE CHEZ LE PORC

Contrôler l'inflammation et l'immunité innée en péri-opératoire (signaux -1 et 0) par des thérapies requiert de disposer d'un modèle expérimental permettant un *monitoring* adapté des réponses cellulaires qui ont lieu lors de la première rencontre entre donneur et receveur. Dans notre équipe Vaccin Immunopathologie Immunomodulation de l'UMR VIM INRAE-UVSQ associée à l'hôpital Foch, nous avons développé un modèle original de circulation croisée avec greffons pulmonaires, inspiré des travaux du groupe de Matthew Bacchetta de l'Université Columbia (Guenthart *et al.* 2019). Ce groupe a mis au point une circulation croisée dans laquelle le poumon d'un donneur, conservé en extracorporel, est perfusé par le sang d'un porc anesthésié ou vigile, par une simple connexion vasculaire, ce qui leur a permis de réparer des poumons donneurs lésés. Nous avons ajouté à ce modèle une injection intraveineuse de CFSE (ester succinimidyle de carboxyfluorescéine, 25 mg), conduisant au marquage fluorescent de la quasi-totalité des leucocytes circulants du porc servant à la perfusion, que nous appellerons receveur pour plus de clarté (Figure 2) (Glorion *et al.* 2023). Grâce à ce modèle plus simple qu'une transplantation pulmonaire, plus reproductible, et plus acceptable sur le plan éthique, il est possible d'analyser la première rencontre entre les cellules d'un receveur (CFSE^{pos}) et d'un donneur (CFSE^{neg}) dans le contexte d'une ischémie-reperfusion et réaction allogénique innée (Glorion *et al.* 2023). Ainsi, dans les 10 premières heures suivant la reperfusion, on assiste au recrutement majeur de monocytes CD14^{pos} et de monocytes CD16^{pos} issus du receveur, qui présentent une forte augmentation de l'expression des CMH de classe 2 et des molécules de co-activation CD80/86. Grâce à ce modèle, nous avons montré que le traitement classique immunomodulateur pratiqué en péri-opératoire, qui consiste en une injection d'un bolus de méthylprednisolone (1 g), ne réduit que partiellement l'activation des cellules immunitaires du greffon (Glorion *et al.* 2023). Ce résultat nous conduit à évaluer des stratégies complémentaires d'immunomodulation en péri-chirurgical, pour mieux contrôler l'inflammation et la réponse innée, notamment via le traitement du donneur ou par d'autres molécules immunomodulatrices. Nous avons ainsi montré que le traitement du donneur par les corticoïdes la veille du prélèvement d'organe améliore nettement l'état immunologique du greffon perfusé (non publié).



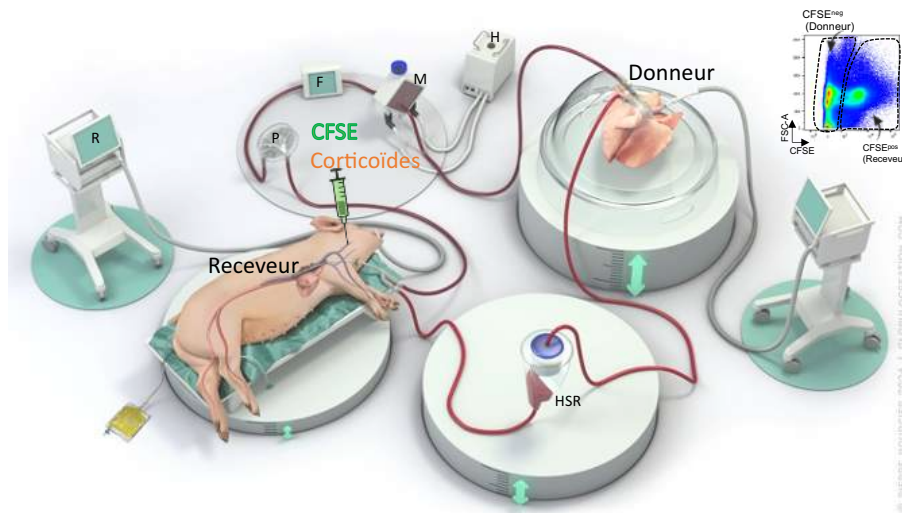


Figure 2 (Glorion et al. 2023): Modèle de circulation croisée chez le porc pour analyser la première rencontre donneur-receveur dans le greffon pulmonaire : un poumon donneur en extracorporel est perfusé par le sang d'un porc dit receveur préalablement injecté avec 25 mg de CFSE. La connexion vasculaire se fait via la pose d'un cathéter double lumière dans la veine cave inférieure relié au reste du circuit comprenant un respirateur (R), un réchauffeur (H), une membrane (M), un débitmètre (F), une pompe (P), un réservoir (HSR). Le poumon peut être échantillonné pendant toute la durée de la circulation croisée et étudié pour le recrutement des cellules du receveur et leur activation, les cellules du receveur étant marquées par le CFSE (CFSEpos) et les cellules du donneur ne l'étant pas (CFSEneg). Le porc receveur peut être traité par des immunomodulateurs, par exemple des corticoïdes.

RECONDITIONNER ET PRÉCONDITIONNER LES ORGANES AVANT LA TRANSPLANTATION PAR LA PERFUSION EX VIVO, APPORT DU MODÈLE PORC.

Le modèle porc a joué un rôle important dans la perfusion d'organes *ex vivo*, technique qui a révolutionné la transplantation des organes solides. Cette technique permet de conserver l'organe, de faciliter la logistique, d'améliorer sa viabilité, et d'apprécier sa fonctionnalité avant transplantation. Dans le cas de la perfusion normothermique du foie après optimisation chez le porc (Brockmann et al. 2009), une réduction de 50 % des lésions hépatiques post-greffe a été obtenue dans une étude clinique comparant foies perfusés et technique standard (Nasralla et al. 2018). Pour le poumon, la perfusion *ex vivo* normothermique (PPEV) est de plus en plus utilisée pour réhabiliter des poumons dits « marginaux », c.-à-d. des poumons dont les caractéristiques sont jugées suboptimales (donneur en mort circulatoire, âgé de plus de 50 ans, fumeur, oxygénation insuffisante). La PPEV a été établie chez le porc avant de passer en clinique (Cypel et al. 2008). Plusieurs protocoles sont utilisés dans le monde, et le plus employé est celui du groupe de Toronto (Figure 3), qui utilise un perfusat hyper-oncotique acellulaire (Watanabe et al. 2021).

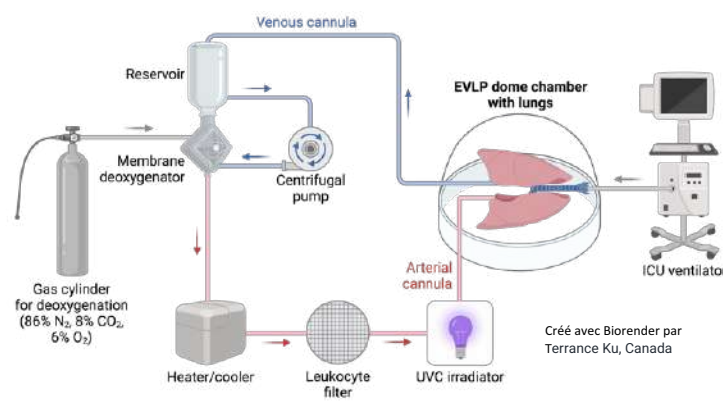


Figure 3 : Plateforme de perfusion pulmonaire normothermique *ex vivo* selon la technique de Toronto (Watanabe et al. 2021). Un ventilateur est connecté à la trachée. Le circuit comprend une membrane pour oxygéner/désoxygéner le perfusat (liquide de Steen), un réchauffeur, et un filtre à déleucocyter. Le perfusat est injecté sous le contrôle d'une pompe au débit pré-réglé au niveau de l'artère pulmonaire et il est récupéré via une canule fixée dans la veine pulmonaire. Le gaz pour la désoxygénation est composé de 86 % de N₂, 8 % de CO₂, et 6 % d'O₂.



La PPEV permet de lever l'atélectasie et l'œdème qui sont fréquents lors de l'extraction du poumon, ce qui permet de récupérer une fonctionnalité d'oxygénation suffisante ($\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 > 300$ mm Hg) (Watanabe *et al.* 2021) ; c'est ainsi que le reconditionnement a conduit à une augmentation des greffes de 20-30 %, avec des résultats cliniques post-transplantation au moins identiques à ceux de la procédure standard (Ghaidan *et al.* 2019). De plus, la PPEV offre une plateforme idéale pour « préconditionner » l'organe avant la greffe, afin de lui conférer des propriétés immunologiques favorables à l'installation de la tolérance. Le modèle porcin est le modèle le plus utilisé pour tester de nouvelles thérapies immunomodulatrices (Watanabe *et al.* 2021). Ainsi, des thérapies contrôlant l'inflammation pendant la perfusion elle-même, visant à réduire le « signal -1 », ont été testées telles que des anti-inflammatoires (Watanabe *et al.* 2021), l'introduction de la dialyse (De Wolf *et al.* 2024) ou l'ajout de membranes adsorbant les cytokines (Iskender *et al.* 2018). De plus, des approches immunomodulatrices pour des effets à plus long terme ont été récemment évaluées, impliquant notamment le transfert de gènes et des thérapies cellulaires. Ainsi, administrer pendant la PPEV de l'adénovirus recombinant codant pour des cytokines anti-inflammatoires, telles l'IL-10 (Machuca *et al.* 2017), a amélioré la fonction respiratoire post-transplantation pendant 7 jours. Des lentivirus codant pour des RNA interférents « *short hairpin* » ciblant la $\beta 2$ -microglobuline et le transactivateur CIITA ont été administrés par PPEV et ont conduit au maintien du greffon pulmonaire, chez cinq porcs transplantés sur sept, pendant plus de deux ans en absence de traitement immunosuppresseur, alors que les poumons traités par des lentivirus contrôlés étaient tous rejetés avant 100 jours. Dans cette stratégie, il semble que la réduction partielle de l'expression des CMH de classe 1 et 2 par les RNA interférents soit un point important, car une réduction drastique de leur expression conduit à l'activation délétère des lymphocytes NK par détection du « soi manquant » (Figueiredo *et al.* 2024). Des cellules souches mésenchymateuses xénogéniques humaines aux propriétés immunomodulatrices ont été administrées par voie vasculaire pendant la PPEV ; elles ont fortement réduit l'inflammation et le recrutement des cellules immunitaires post-greffe, et également augmenté la fonctionnalité du poumon (Edstrom *et al.* 2024). De plus, il est possible de manipuler ces cellules souches pour induire une expression constitutive d'IL-10 (Nykanen *et al.* 2024). Enfin, le maintien extracorporel du poumon permet de traiter les poumons avec des anti-infectieux à haute dose et de s'affranchir d'une toxicité systémique ; ainsi, le modèle porcin de PPEV a permis de tester l'efficacité et la non-toxicité de traitements antibiotiques et antiviraux (Watanabe *et al.* 2021).

LE PORC POUR LA XÉNOTRANSPLANTATION

Le porc a été l'espèce choisie pour apporter une solution au manque de greffons disponibles par l'approche de xénotransplantation. Ce choix s'explique par des similitudes de taille et fonction pour certains organes (notamment pour le rein, le cœur, les îlots pancréatiques), par les qualités de reproduction (taille des portées et durée de la gestation pour l'édition de génome), et aussi par le plus faible risque zoonotique comparé à celui des primates non humains. Le risque de transmission d'agents infectieux est une limite importante aux xénotreffes ; ainsi des rétrovirus endogènes porcins pourraient être transmis aux cellules humaines avec des conséquences pathologiques possibles, telles que des transformations cancéreuses (Clemenceau *et al.* 2002), bien que les études précliniques et essais cliniques récents de xénotransplantation n'aient pas montré de transmission rétrovirale avérée (Denner 2024). Par ailleurs des enquêtes éthiques sur l'acceptabilité des xénotreffes ont montré que le risque de transmission d'agents infectieux en inter-espèces, connus ou inconnus, est un frein majeur à l'acceptation de xénotreffes (Deschamps *et al.* 2000). Dans une population générale, parmi les personnes favorables à recevoir une xénotrefe (54 %), une large proportion accepte une origine porcine (84 %) (Deschamps *et al.* 2000).

Historiquement, les premières xénotransfusions ont été réalisées dès le XVII^e siècle (Roux *et al.* 2007) et des xénotransplantations d'organes solides ont été tentées au XIX^e siècle, à un moment où l'on ignorait l'existence de barrières tissulaires entre espèces (Deschamps *et al.* 2005). De nouveaux essais ont été conduits au XX^e siècle, avec des résultats très décevants (Deschamps *et al.* 2005). Ce n'est qu'à partir des années 2000, grâce aux techniques de génie génétique et au clonage, que des avancées considérables en xénotreffes ont été réalisées. En effet, la greffe de tissu porcin en primates entraîne d'emblée des réponses immunes destructrices massives chez le receveur. D'abord, le xéno-organe induit un rejet hyper-aigu en raison de glycoconjugués porcins particuliers qui sont reconnus par des anticorps anti-entérobactéries préexistants chez les primates ; la liaison de ces anticorps provoque une activation de la cascade du complément conduisant à la destruction rapide de l'organe. Pour y remédier, des porcs génétiquement modifiés ont été générés par délétion de trois enzymes, c.-à-d. l' $\alpha 3$ GalT ($\alpha 1$ -3 galactosyl-transférase), la $\beta 4$ GALNT2 ($\beta 1$ -4 N-acétylgalactosaminyltransférase 2), et la CMAH (cytidine monophosphate-acide N-acétylneuraminique hydroxylase). De plus, en raison d'activités modulatrices du complément, spécifiques d'espèce, des gènes humains, tels que CD55, CD46 et CD59, ont été apportés par transgénèse positive. Le rejet aigu vasculaire est associé à une activation vasculaire et à une infiltration par des lymphocytes et des monocytes/macrophages humains, en lien avec la néogénèse d'anticorps et de lymphocytes T anti-molécules porcines. Les macrophages humains exercent une activité phagocytaire majeure sur les cellules porcines par la perte du signal « *don't eat me* » de la liaison de CD172A avec le CD47, en raison de la non-compatibilité d'espèce. La transgénèse du CD47 humain apporte une solution, bien qu'imparfaite, car elle ne tient pas compte de l'allogénicité entre le CD172A du receveur et le CD47 considéré (voir plus haut). L'ajout de gènes humains, tels THBD (thrombomoduline) et EPCR (récepteur à la protéine C endothéliale), permet de contrôler l'activation de la coagulation. Aussi l'addition par transgénèse de gènes humains immunomodulateurs codant pour TNFAIP3 (*TNF Alpha Induced Protein 3*) et HO1 (*Heme Oxygenase 1*), ainsi que les gènes codant pour HLA-E et HLA-G qui inhibent l'activité des lymphocytes NK, apporte une meilleure longévité au greffon. Des travaux en cours cherchent à réduire l'expression du CMH de classe 2 porcin, et à ajouter des molécules inhibitrices de la costi-



mulation, telles CTLA4 et PDL1. Toutes ces modifications géniques visent à réduire les rejets vasculaires aigus et rejets chroniques. Enfin, l'élimination du gène GHR (récepteur à l'hormone de croissance) permet d'éviter la croissance excessive de l'organe porcin dans son hôte. Comme pour la greffe allogénique, l'induction de tolérance est la clé de la survie de l'organe transplanté; la méthode la plus prometteuse est basée sur l'approche de chimère hématopoïétique et consiste à cotransplanter des fragments thymiques porcins prévascularisés dans l'organe donneur, afin de conduire à la sélection négative des lymphocytes du receveur, évitant l'apparition de la réactivité anti-porc. Ainsi, en poussant le raisonnement à l'extrême, la xéno greffe apparaît plus manipulable, et donc potentiellement plus contrôlable, que l'allogreffe. L'ensemble des éléments rapportés dans ce paragraphe est développé dans une revue générale récente (Peterson *et al.* 2024).

Différents groupes de recherche dans le monde ont généré des lignées de porcs génétiquement modifiés pour la xéno greffe. Revivico (Virginia, USA) a ainsi généré des porcs présentant 10 modifications géniques (inactivation de $\alpha 3$ GalT, $\beta 4$ GALNT2, CMAH, GHR et addition de CD55, CD46, THBD, EPCR, CD47, HO1) (Peterson *et al.* 2024). Par ailleurs, eGenesis (Massachusetts, USA) a généré des porcs issus de la lignée minipig Yucatan qu'elle a génétiquement modifiée par des méthodes d'éditions différentes de celles de Revivico et elle a procédé à un choix de gènes cibles légèrement différents (inactivation de $\alpha 3$ GalT, $\beta 4$ GALNT2, CMAH, et addition de CD55, CD46, THBD, EPCR, CD47, TNFAIP3, HO1). De plus, eGenesis s'est attaqué à la question du risque sanitaire lié à la présence de séquences rétrovirales endogènes; elle a pour ce faire procédé à 59 éditions de gènes. En Europe, des porcs génétiquement modifiés, issus de la souche Auckland, ont aussi été produits (Wolf *et al.* 2019). Dans tous les cas, les porcs sont élevés dans des conditions de biosécurité très contrôlées.

De nombreuses études précliniques ont conduit à valider progressivement les combinaisons efficaces des différentes éditions de génomes décrites ci-dessus, par des greffes de rein ou cœur chez les primates non humains. Ainsi, les reins issus de porcs de eGenesis (10 gènes cellulaires et 59 gènes viraux modifiés) ont été greffés chez des macaques qui ont reçu un traitement immunosuppresseur classique. Six des 15 macaques greffés ont montré une survie de plus de 6 mois, jusqu'à 2 ans (Anand *et al.* 2023). Des résultats semblables ont été obtenus chez le babouin avec les porcs de Revivico (Peterson *et al.* 2024). Sur la base de ces résultats impressionnants, des greffes de rein et de cœur de porcs Revivico ont été réalisées chez des humains en état de mort encéphalique, et ont montré qu'un maintien de fonction peut être obtenu pendant plusieurs jours. Enfin, les cœurs de porcs Revivico ont été greffés chez deux patients vivants qui ont survécu plusieurs semaines; toutefois des réponses anticorps anti-porc se sont développées, compromettant la survie de l'organe (Peterson *et al.* 2024). Bien que très imparfaits, ces résultats montrent que la xénotransplantation n'est plus de la science-fiction et s'approche d'une voie de traitement réaliste. Elle peut encore être améliorée par des stratégies géniques complémentaires associées à des agents pharmacologiques immunosuppresseurs adaptés. À noter aussi qu'au-delà des organes solides visés par cet article, ces porcs humanisés pourraient également être utiles pour envisager de la xénotransfusion de globules rouges, dont les risques sont *a priori* moindres que ceux de la xénotransplantation d'organes solides.

CONCLUSION

Depuis plusieurs décennies, le porc a généré des résultats d'une importance majeure dans les progrès de la greffe d'organes, non seulement comme modèle pour les allogreffes, mais aussi comme source d'organes pour les xéno greffes. Il faut toutefois en reconnaître certaines limites : l'expérimentation sur porc reste chère et complexe à conduire, nécessitant des installations et des savoir-faire de plus en plus rares; en raison de la divergence évolutive entre les espèces humaines et porcines, survenue il y a plus de 90 millions d'années, il est important de prendre en compte les spécificités propres à chacune dans l'interprétation des résultats expérimentaux. Par exemple, le porc dispose d'une population particulière de macrophages pulmonaires intravasculaires non équivalente chez l'homme qui pourrait jouer un rôle important dans la réponse à la greffe pulmonaire; la pharmacocinétique des agents pharmacologiques et leur métabolisme présentent aussi des différences importantes. Malgré ces limites, le porc reste un excellent modèle préclinique pour la mise au point de nouvelles stratégies ayant une haute valeur translationnelle. Les progrès colossaux d'édition du génome associés aux traitements immunosuppresseurs de nouvelle génération permettent aussi d'envisager l'avenir clinique avec l'emploi de xéno greffes du porc, soit en solution pérenne, mais aussi en solution d'attente de greffons humains compatibles, à la place de dispositifs synthétiques réactogènes.

CONFLITS D'INTÉRÊTS

Les auteurs déclarent ne pas avoir de conflits d'intérêts.

RÉFÉRENCES

- Adams AB, Williams MA, Jones TR, Shirasugi N, Durham MM, Kaech SM. Heterologous immunity provides a potent barrier to transplantation tolerance. *J Clin Invest.* 2003; 111(12): 1887-95. <https://doi.org/10.1172/JCI17477>
- Anand RP, Layer JV, Heja D, Hirose T, Lassiter G, Firl DJ. Design and testing of a humanized porcine donor for xenotransplantation. *Nature.* 2023; 622(7982): 393-401. <https://doi.org/10.1038/s41586-023-06594-4>
- Avsar M, Jansson K, Sommer W, Kruse B, Thissen S, Dreckmann K *et al.* Augmentation of Transient Donor Cell Chime-



rism and Alloantigen-Specific Regulation of Lung Transplants in Miniature Swine. *Am J Transplant*. 2016; 16(5): 1371-82. <https://doi.org/10.1111/ajt.13629>

- Barker CF & Markmann JF. Historical overview of transplantation. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2013; 3(4): a014977. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a014977>
- Braza MS, van Leent M, Lameijer M, Sanchez-Gaytan BL, Arts RJW, Perez-Medina C. Inhibiting Inflammation with Myeloid Cell-Specific Nanobiologics Promotes Organ Transplant Acceptance. *Immunity*. 2018; 49(5): 819-28. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2018.09.008>
- Brockmann J, Reddy S, Coussios C, Pigott D, Guirriero D, Hughes D *et al*. Normothermic perfusion: a new paradigm for organ preservation. *Ann Surg*. 2009; 250(1): 1-6. <https://doi.org/10.1097/SLA.0b013e3181a63c10>
- Calne RY, Alexandre GP, Murray JE. A study of the effects of drugs in prolonging survival of homologous renal transplants in dogs. *Ann N Y Acad Sci*. 1962; 99743-61. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1962.tb45358.x>
- Clemenceau B, Jegou D, Martignat L, Sai P. Microchimerism and transmission of porcine endogenous retrovirus from a pig cell line or specific pathogen-free pig islets to mouse tissues and human cells during xenografts in nude mice. *Diabetologia*. 2002; 45(6): 914-23. <https://doi.org/10.1007/s00125-002-0832-7>
- Cooper JD, Pearson FG, Patterson GA, Todd TR, Ginsberg RJ, Goldberg M. Technique of successful lung transplantation in humans. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1987; 93173-81. [https://www.jtcvs.org/article/S0022-5223\(19\)36439-6/pdf](https://www.jtcvs.org/article/S0022-5223(19)36439-6/pdf)
- Cypel M, Yeung JC, Hirayama S, Rubacha M, Fischer S, Anraku M. Technique for prolonged normothermic *ex vivo* lung perfusion. *J Heart Lung Transplant*. 2008; 27(12): 1319-25. <https://doi.org/10.1016/j.healun.2008.09.003>
- Dai H, Friday AJ, Abou-Daya KI, Williams AL, Mortin-Toth S, Nicotra ML. Donor SIRPalpha polymorphism modulates the innate immune response to allogeneic grafts. *Sci Immunol*. 2017; 2(12): eaam6202. <https://doi.org/10.1126/sciimmunol.aam6202>
- Dai H, Lan P, Zhao D, Abou-Daya K, Liu W, Chen W. PIRs mediate innate myeloid cell memory to nonself MHC molecules. *Science*. 2020; 368(6495): 1122-7. <https://doi.org/10.1126/science.aax4040>
- Dawson HD (2011). A comparative assessment of the pig, mouse, and human genomes: structural and functional analysis of genes involved in immunity and inflammation. *In: The Minipig in Biomedical Research*. McAnulty, P.A., Dayan, A., Hastings, K.H. and Ganderup, N.C. (eds), pp. 321-41, CRC Press, Boca Raton, FL.
- Dawson HD, Chen C, Gaynor B, Shao J, Urban JF, Jr. The porcine translational research database: a manually curated, genomics and proteomics-based research resource. *BMC Genomics*. 2017; 18(1): 643. <https://doi.org/10.1186/s12864-017-4009-7>
- De Wolf J, Gouin C, Joneau L, Glorion M, Premachandra A, Pascale F. Prolonged dialysis during *ex vivo* lung perfusion promotes inflammatory responses. *Front Immunol*. 2024; 151365964. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1365964>
- Dehoux JP & Gianello P. The importance of large animal models in transplantation. *Front Biosci*. 2007; 124864-80. <https://doi.org/10.2741/2434>

- Denner J. Monitoring for PERV Following Xenotransplantation. *Transpl Int*. 2024; 3713491. <https://doi.org/10.3389/ti.2024.13491>
- Deschamps JY, Chaillous L, Gouin E, Sai P. Acceptability of pig xenografts by patients with type 1 diabetes and the general population. *Diabetes Care*. 2000; 23(3): 412-4. <https://doi.org/10.2337/diacare.23.3.412>
- Deschamps JY, Roux FA, Sai P, Gouin E. History of xenotransplantation. *Xenotransplantation*. 2005; 12(2): 91-109. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3089.2004.00199.x>
- Edstrom D, Niroomand A, Stenlo M, Broberg E, Hirdman G, Ghaidan H. Amniotic fluid derived mesenchymal stem cells reduce inflammation and improve lung function following transplantation in a porcine model. *J Heart Lung Transplant*. 2024; 43(12): 2018-30. <https://doi.org/10.1016/j.healun.2024.08.014>
- Figueiredo C, Chen-Wacker C, Salman J, Carvalho-Oliveira M, Monthe TS, Hoffler K. Knockdown of swine leukocyte antigen expression in porcine lung transplants enables graft survival without immunosuppression. *Sci Transl Med*. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.adi9548>
- Ghaidan H, Fakhro M, Andreasson J, Pierre L, Ingemansson R, Lindstedt S. Ten year follow-up of lung transplantations using initially rejected donor lungs after reconditioning using *ex vivo* lung perfusion. *J Cardiothorac Surg*. 2019; 14(1): 125. <https://doi.org/10.1186/s13019-019-0948-1>
- Gianello PR & Sachs DH. Effect of major histocompatibility complex matching on the development of tolerance to primarily vascularized renal allografts: a study in miniature swine. *Hum Immunol*. 1996; 50(1): 1-10. [https://doi.org/10.1016/0198-8859\(96\)00059-6](https://doi.org/10.1016/0198-8859(96)00059-6)
- Glorion M, Pascale F, Estephan J, Huriet M, Gouin C, Urien C. A cross-circulatory platform for monitoring innate allo-responses in lung grafts. *PLoS One*. 2023; 18(5): e0285724. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0285724>
- Glorion M, Pascale F, Huriet M, Estephan J, Gouin C, Urien C. Differential early response of monocyte/macrophage subsets to intra-operative corticosteroid administration in lung transplantation. *Front Immunol*. 2023; 141281546. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1281546>
- Guenthart BA, O'Neill JD, Kim J, Queen D, Chicotka S, Fung K. Regeneration of severely damaged lungs using an interventional cross-circulation platform. *Nat Commun*. 2019; 10(1): 1985. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-09908-1>
- Hammer SE, Ho CS, Ando A, Rogel-Gaillard C, Charles M, Tector M. Importance of the Major Histocompatibility Complex (Swine Leukocyte Antigen) in Swine Health and Biomedical Research. *Annu Rev Anim Biosci*. 2020; 8171-98. <https://doi.org/10.1146/annurev-animal-020518-115014>
- Iskender I, Cosgun T, Arni S, Trinkwitz M, Fehlings S, Yamada Y. Cytokine filtration modulates pulmonary metabolism and edema formation during *ex vivo* lung perfusion. *J Heart Lung Transplant*. 2018; 37283-91. <https://doi.org/10.1016/j.healun.2017.05.021>
- Judge EP, Hughes JM, Egan JJ, Maguire M, Molloy EL, O'Dea S. Anatomy and bronchoscopy of the porcine lung. A model for translational respiratory medicine. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2014; 51(3): 334-43. <https://doi.org/10.1165/rcmb.2013-0453TR>



- Kwak HH, Park KM, Teotia PK, Lee GS, Lee ES, Hong SH. Acute rejection after swine leukocyte antigen-matched kidney allo-transplantation in cloned miniature pigs with different mitochondrial DNA-encoded minor histocompatibility antigen. *Transplant Proc.* 2013; 45(5): 1754-60. <https://doi.org/10.1016/j.transproceed.2013.02.103>
- Machuca TN, Cypel M, Bonato R, Yeung JC, Chun YM, Juvet S. Safety and Efficacy of *Ex Vivo* Donor Lung Adenoviral IL-10 Gene Therapy in a Large Animal Lung Transplant Survival Model. *Hum Gene Ther.* 2017; 28(9): 757-65. <https://doi.org/10.1089/hum.2016.070>
- Mariscal A, Caldarone L, Tikkanen J, Nakajima D, Chen M, Yeung J. Pig lung transplant survival model. *Nat Protoc.* 2018; 13(8): 1814-28. <https://doi.org/10.1038/s41596-018-0019-4>
- Nasralla D, Coussios CC, Mergental H, Akhtar MZ, Butler AJ, Ceresa CDL. A randomized trial of normothermic preservation in liver transplantation. *Nature.* 2018; 557(7703): 50-6. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0047-9>
- Nykanen AI, Mariscal A, Duong A, Ali A, Takahagi A, Bai X. Lung Transplant Immunomodulation with Genetically Engineered Mesenchymal Stromal Cells-Therapeutic Window for Interleukin-10. *Cells.* 2024; 13(10): 859. <https://doi.org/10.3390/cells13100859>
- Pabst R. The pig as a model for immunology research. *Cell Tissue Res.* 2020; 380287-304. <https://doi.org/10.1007/s00441-020-03206-9>
- Peterson L, Yacoub M, Ayares D, Yamada K, Eisenson D, Griffith BP. Physiological Basis for Xenotransplantation from Genetically-Modified Pigs to Humans: A Review. *Physiol Rev.* 2024; 1409-59. <https://doi.org/10.1152/physrev.00041.2023>
- Rosengard BR, Ojikutu CA, Guzzetta PC, Smith CV, Sundt TM, 3rd, Nakajima K. Induction of specific tolerance to class I-disparate renal allografts in miniature swine with cyclosporine. *Transplantation.* 1992; 54(3): 490-7. <https://doi.org/10.1097/00007890-199209000-00020>
- Roux FA, Sai P, Deschamps JY. Xenotransfusions, past and present. *Xenotransplantation.* 2007; 14(3): 208-16. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3089.2007.00404.x>
- Sachs DH. Tolerance: of mice and men. *J Clin Invest.* 2003; 111(12): 1819-21. <https://doi.org/10.1172/JCI18926>
- Sachs DH, Leight G, Cone J, Schwarz S, Stuart L, Rosenberg S. Transplantation in miniature swine. I. Fixation of the major histocompatibility complex. *Transplantation.* 1976; 22(6): 559-67. <https://doi.org/10.1097/00007890-197612000-00004>
- Schwartz JC & Hammond JA. The unique evolution of the pig LRC, a single KIR but expansion of LILR and a novel Ig receptor family. *Immunogenetics.* 2018; 70(10): 661-9. <https://doi.org/10.1007/s00251-018-1067-1>
- Szumilas K, Wilk A, Wisniewski P, Gimpel A, Dziedziejko V, Kipp M. Current Status Regarding Immunosuppressive Treatment in Patients after Renal Transplantation. *Int J Mol Sci.* 2023; 24661-9. <https://doi.org/10.3390/ijms241210301>
- Watanabe T, Cypel M, Keshavjee S. *Ex vivo* lung perfusion. *J Thorac Dis.* 2021; 13(11): 6602-17. <https://doi.org/10.21037/jtd-2021-23>
- Wolf E, Kemter E, Klymiuk N, Reichart B. Genetically modified pigs as donors of cells, tissues, and organs for xenotransplantation. *Anim Front.* 2019; 913-20. <https://doi.org/10.1093/af/vfz014>
- Zachary AA & Leffell MS. HLA Mismatching Strategies for Solid Organ Transplantation - A Balancing Act. *Front Immunol.* 2016; 7575. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2016.00575>

