

## Inmunotolerancia en el trasplante hepático

A. Sánchez Fueyo

Servicio de Hepatología. Institut de Malalties Digestives i Metabòliques. Hospital Clínic. IDIBAPS. Barcelona. España.

### INTRODUCCIÓN: MECANISMOS DE TOLERANCIA INMUNOLÓGICA

La disponibilidad de potentes fármacos inmunosupresores, así como la mejoría en los cuidados postoperatorios tras el trasplante, han hecho que el interés de buena parte de la comunidad científica haya pasado de la supervivencia a corto plazo del injerto y de la prevención del rechazo agudo a intentar maximizar la supervivencia a largo plazo de los injertos y la calidad de vida de los receptores. Para alcanzar estos objetivos es preciso resolver 3 tipos de problemas: *a)* los efectos secundarios de la inmunosupresión (IS) crónica; *b)* la recurrencia de la enfermedad primaria en el aloinjerto (especialmente la infección por el virus de la hepatitis C [VHC] en el trasplante hepático), y *c)* el rechazo crónico, que no es posible prevenir de manera efectiva con la medicación IS actual (si bien en el trasplante hepático este problema es de mucha menor envergadura que en el trasplante de otros órganos). Una posible solución a estos 3 problemas es la inducción de un estado de tolerancia frente al aloinjerto. La tolerancia inmunológica se define habitualmente como un estado de no reactividad frente a un conjunto específico de antígenos o frente a un aloinjerto, que se mantiene incluso cuando el receptor se ve expuesto de manera repetida a este estímulo antigénico, y que tiene lugar en ausencia de IS continuada y sin que se vean comprometidas las respuestas inmunes dirigidas contra antígenos diferentes.

La adquisición de tolerancia inmunológica fue descrita por vez primera por Medawar et al hace más de 50 años<sup>1</sup>. Desde entonces, un gran número de estrategias han mostrado ser capaces de inducir tolerancia en modelos experimentales de trasplante (fundamentalmente en roedores) (tabla I). La práctica totalidad de estos tratamientos inductores de tolerancia actúa en una fase inicial eliminando una porción significativa de los linfocitos alorreactivos

capaces de inducir rechazo<sup>2</sup>. Ahora bien, a menos que la depleción de los linfocitos T alorreactivos sea total y se acompañe además de la eliminación de los linfocitos T alorreactivos que emergen del timo (tolerancia central)<sup>3</sup>, este mecanismo depletivo no es suficiente para el mantenimiento del estado de tolerancia. Cuando esto ocurre, es decir, cuando no se consigue eliminar la totalidad de los linfocitos T alorreactivos y/o el desarrollo linfocitario en el timo se mantiene, no es posible prevenir de manera indefinida la aparición de rechazo, a menos que se desarrollen linfocitos reguladores que sean capaces de autoperpetuarse y suprimir la función de los linfocitos alorreactivos no eliminados (tolerancia periférica)<sup>4,5</sup>. Los linfocitos T desempeñan, por tanto, un papel crítico en el desarrollo de las respuestas aloinmunes y dirigen tanto los mecanismos de rechazo como la adquisición de tolerancia.

Las estrategias terapéuticas encaminadas a conseguir un estado de tolerancia central (en el timo) se basan en la inducción de un quimerismo hematopoyético en el receptor<sup>3</sup>. Estas estrategias aprovechan la capacidad de las células presentadoras del timo de inducir la muerte por apoptosis de los linfocitos T que reconocen los complejos MHC-péptido con alta afinidad (selección negativa tímica). La manera de llevarla a la práctica consiste en administrar médula ósea del donante del órgano trasplantado, de manera que se produzca una repoblación del timo del receptor por parte de células hematopoyéticas del donante (quimerismo). Esta estrategia es muy potente, y en modelos experimentales permite incluso la inducción de tolerancia frente a los injertos cutáneos con disparidad MHC completa (el modelo de trasplante más inmunogénico que se conoce). El inconveniente de estos tratamientos es que requieren un condicionamiento muy agresivo del receptor, lo cual dificulta enormemente su aplicación clínica. La inducción de tolerancia periférica, por otra parte, se basa en alterar de manera favorable el balance entre los linfocitos alorreactivos citopáticos y los linfocitos inmunorreguladores. Los linfocitos T reguladores han sido identificados incluso en el caso de individuos que presentan un rechazo agudo. Esto quiere decir que la activación y la expansión de estos linfocitos es una parte esencial de la respuesta aloinmune. Ahora bien, en ausencia de tratamiento, la expansión más rápida de los linfocitos

Correspondencia: Dr. A. Sánchez Fueyo.  
Servicio de Hepatología. Institut de Malalties Digestives i Metabòliques.  
Hospital Clínic. IDIBAPS.  
Villarroel, 170. 08036 Barcelona. España.  
Correo electrónico: afueyo@clinic.ub.es

TABLA I. Estrategias inductoras de tolerancia en modelos experimentales

MO + irradiación total + anti-CD4 mAc + anti-CD8 mAc (deplecionantes)
MO + RAPA + anti-CD40L mAc + CTLA4Ig mAc
RAPA + IL2/Fc + mIL15/Fc ( <i>Powermix</i> )
Anti-OX40 + anti-CD40L mAc + CTLA4Ig mAc
RAPA + anti-CD40L mAc + CTLA4Ig mAc
DST + anti-CD40L mAc
DST + anti-CD4 mAc (no deplecionante)
Anti-CD40L mAc + CTLA4Ig mAc
Anti-CD45RB mAc + RAPA o anti-CD40L
Anti-ICOS mAc ± DST
RAPA
Suero anti-linfocitario + MO
Anti-CD4 mAc + anti-CD8 mAc (no deplecionante)
Infusión de células dendríticas tolerogénicas
Infusión de células madre mesenquimales
Ciclosporina A

MO: médula ósea del donante; DST: transfusión específica del donante; RAPA: rapamicina; mAc: anticuerpo monoclonal.

tos citopáticos sobrepasa los efectos protectores de los linfocitos reguladores y se produce el rechazo. Así pues, el resultado del trasplante (rechazo frente a tolerancia) depende de las proporciones relativas de linfocitos citopáticos y reguladores, y la reducción de los linfocitos citopáticos es imprescindible para asegurar la viabilidad del injerto hasta que los linfocitos reguladores se expandan y controlen la respuesta aloinmune (fig. 1). La mayor parte de los tratamientos capaces de inducir tolerancia periférica se basa en la inhibición parcial de la activación linfocitaria, ya sea utilizando anticuerpos no citotóxicos dirigidos contra los correceptores CD4 y CD8, anticuerpos capaces de inhibir las señales coestimuladoras (CD40-CD40L, CD28-B7, PD1-PDL1, ICOS, OX40, etc.), o fármacos como la rapamicina. La consecuencia de esta inhibición parcial es el desarrollo de anergia y apoptosis de los linfocitos alorreactivos, y el aumento de la función y/o la expansión de los linfocitos reguladores<sup>2</sup>. Otro gran grupo de estrategias tolerogénicas se basan en el uso de terapias celulares, ya sea la administración de linfocitos reguladores expandidos *ex vivo*<sup>6</sup>, células dendríticas con capacidad tolerogénica<sup>7</sup> o células madre con propiedades inmunosupresoras (p. ej., células madre mesenquimales).

## TOLERANCIA EN MODELOS EXPERIMENTALES DE TRASPLANTE HEPÁTICO

Los injertos hepáticos son únicos, ya que se aceptan espontáneamente sin IS en cerdos, ratas y ratones<sup>8-10</sup>. En estos modelos experimentales se produce rechazo, pero éste se resuelve de forma espontánea, y los receptores pueden aceptar otros órganos del mismo donante, pero no de donantes que expresan antígenos de histocompatibilidad diferentes<sup>11</sup>. Los mecanismos responsables de esta tolerogéncia intrínseca no se conocen por completo, y se han propuesto múltiples hipótesis, entre las cuales se encuentran la inducción de microquimerismo, la producción de proteínas inmunorreguladoras como moléculas HLA de clase I, la depleción por apoptosis de los linfocitos T

alorreactivos y el desarrollo de redes inmunorreguladoras controladas por linfocitos supresores. En cualquier caso, al igual que ocurre con la tolerancia inmunológica frente a otros órganos, la vía común en la que todos estos distintos mecanismos confluyen es la eliminación de los clones citopáticos alorreactivos y la expansión de los linfocitos reguladores. El hígado produce grandes cantidades de moléculas HLA de clase I solubles, y en modelos experimentales estos aloantígenos han demostrado ser capaces de inducir apoptosis de linfocitos CD8<sup>+</sup> alorreactivos tanto *in vitro* como *in vivo* y de prolongar la supervivencia de los aloinjertos hepáticos<sup>12,13</sup>. El intercambio de leucocitos migratorios entre el injerto y el receptor, lo que da lugar a un estado de microquimerismo celular, se ha propuesto también como un posible mecanismo para explicar la tolerancia espontánea de los injertos hepáticos<sup>14</sup>. De acuerdo con esta teoría, tras el trasplante se produce una interacción bidireccional entre los leucocitos del donante y los del receptor (respuesta del injerto contra el huésped y del huésped contra el injerto), que da lugar a la eliminación tanto de los linfocitos T alorreactivos del receptor como de los linfocitos del donante capaces de reconocer antígenos del receptor. Este modelo, propuesto inicialmente por Starzl, y posteriormente incluido en una teoría mucho más amplia elaborada por Zinkernagel<sup>14</sup> que enuncia los principios básicos a través de los cuales el sistema inmune discrimina entre antígenos propios y ajenos, ha sido históricamente muy influyente en el trasplante hepático, dado el enorme prestigio de Starzl. Ahora bien, aunque algunos datos indican que el microquimerismo celular puede producirse en los receptores de un trasplante hepático, no hay evidencias claras de que este fenómeno sea en realidad la causa de la tolerancia. En concreto, no disponemos de ninguna prueba de que el microquimerismo sea la causa y no la consecuencia del estado de tolerancia<sup>15</sup>. Por otra parte, el modelo propuesto por Starzl y Zinkernagel no hace ninguna referencia a los linfocitos reguladores, que, como se ha demostrado en los últimos años, tienen un papel fundamental en la inducción de tolerancia. Por todo ello, es importante subrayar que, a pesar de su popularidad, esta teoría cuenta en realidad con muy pocos adeptos dentro de la comunidad científica. En los últimos años se ha especulado que determinados subtipos de células dendríticas hepáticas podrían tener una función específicamente inmunosupresora, y que podrían ser las células responsables de la capacidad tolerogénica de los leucocitos «pasajeros» de los injertos hepáticos<sup>16</sup>. Esta última hipótesis, que conceptualmente es muy diferente del modelo bidireccional postulado por Starzl et al, es congruente con múltiples evidencias experimentales sobre la capacidad tolerogénica de determinados subtipos de células dendríticas, tanto en modelos experimentales de autoinmunidad como de trasplante. Una interpretación alternativa para explicar las propiedades tolerogénicas del hígado se basa en la observación de que durante la aceptación de los injertos hepáticos, los linfocitos T infiltran el parénquima, pero se eliminan rápidamente sin que lleguen a causar lesión en el injerto<sup>17</sup>. Algunos trabajos posteriores<sup>18</sup> han mostrado que los lin-

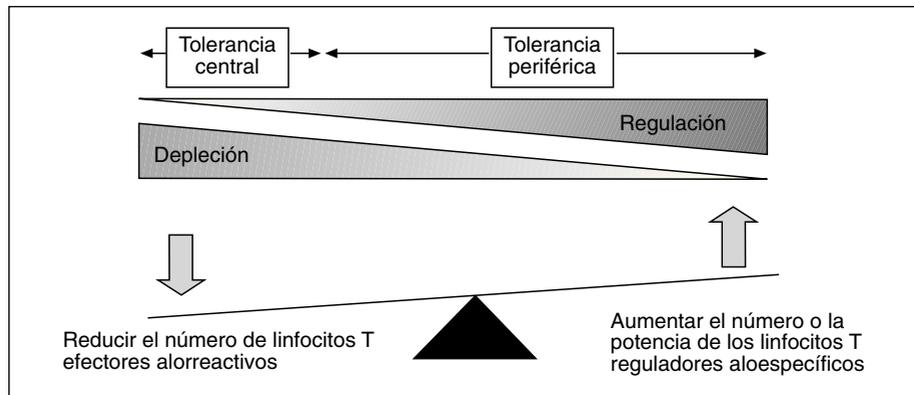


Fig. 1. Estrategias para inducir tolerancia en el trasplante: pool size model.

focitos T alorreactivos son deplecionados por apoptosis en el hígado a través de mecanismos tanto de muerte celular pasiva como de muerte inducida por activación. Finalmente, otros procesos tolerogénicos activos en el hígado son la génesis de linfocitos reguladores CD4<sup>+</sup> como consecuencia de la presentación aloantigénica en la superficie de las células sinusoidales o de subtipos de células dendríticas específicas del hígado<sup>19</sup>. Por último, en una reciente comunicación se ha descrito que las células reguladoras CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> son precisas para la aceptación espontánea de injertos hepáticos en modelos murinos<sup>20</sup>. En definitiva, las propiedades tolerogénicas de los injertos hepáticos son probablemente resultado de la combinación de múltiples mecanismos diferentes, en un contexto anatómico singular, en el que se maximiza el contacto entre las células inmunitarias del torrente circulatorio y las células hepáticas.

## DEFINICIÓN DE TOLERANCIA EN EL TRASPLANTE CLÍNICO

Un problema importante con el que nos enfrentamos a la hora de evaluar la tolerancia en el trasplante clínico es la ausencia de una definición unitaria del término «tolerancia». Es interesante constatar que los primeros investigadores que emplearon esteroides y azatioprina para prevenir el rechazo creían que sus tratamientos estaban induciendo tolerancia inmunológica. Esta confusión entre tolerancia e inmunosupresión se ha mantenido, en mayor o menor medida, hasta nuestros días. Hoy sabemos, sin embargo, que estos dos estados, tolerancia e inmunosupresión, son muy diferentes, y que los protocolos inmunosupresores utilizados en el trasplante clínico previenen el rechazo agudo y aseguran la viabilidad de los injertos, pero en la inmensa mayoría de casos no inducen tolerancia donante-específica.

En los modelos experimentales el diagnóstico de tolerancia se realiza comprobando que el receptor de un trasplante es capaz de aceptar un segundo injerto del mismo donante en ausencia de medicación inmunosupresora, y al mismo tiempo puede rechazar con rapidez un injerto procedente de un donante diferente del original (tolerancia

TABLA II. Mecanismos de tolerancia inmunológica en el trasplante

- **Tolerancia central.** Se refiere al estado de tolerancia que se establece en el timo a través de la eliminación clonal de los linfocitos T alorreactivos que allí se desarrollan. Las estrategias inductoras de tolerancia central aprovechan la capacidad de las células presentadoras en el timo de inducir la apoptosis de los linfocitos T del receptor cuando éstos reconocen complejos HLA-péptido del donante con alta afinidad (selección negativa). En la práctica, esto se consigue realizando un trasplante de médula ósea del donante, al mismo tiempo que se trasplante el órgano sólido (esto requiere un condicionamiento muy energético del receptor). De esta manera, se consigue que las células presentadoras del donante repueblen el timo e induzcan la apoptosis de los linfocitos del receptor con reactividad contra el donante
- **Tolerancia periférica.** Se refiere al estado de tolerancia que se establece en ausencia de la eliminación por selección negativa de linfocitos T alorreactivos. Hay múltiples mecanismos involucrados en este tipo de tolerancia, pero la depleción clonal por apoptosis de los linfocitos T alorreactivos citopáticos y el desarrollo de linfocitos T reguladores específicos parecen ser los mecanismos más importantes

específica). Además, en los animales tolerantes, los linfocitos T pueden transferir el estado de tolerancia a otros receptores trasplantados con un injerto del mismo donante (tolerancia «infecciosa»). Obviamente, este tipo de pruebas diagnósticas no puede llevarse a cabo en humanos. Por ello, se ha acuñado el término de tolerancia «operacional» para designar la situación clínica en la cual un injerto mantiene una función normal y estable sin signos de rechazo agudo ni crónico y sin requerir la administración de IS<sup>21,22</sup>. Si bien este término es muy útil desde un punto de vista clínico, es preciso tener presente que, por el momento, carecemos de datos que nos permitan afirmar que los pacientes operativamente tolerantes son inmunológicamente equivalentes a los animales sometidos con éxito a un tratamiento inductor de tolerancia. De hecho, todavía desconocemos en gran medida cuáles son los mecanismos responsables del estado de tolerancia «operacional» en humanos.

Una noción diferente de la tolerancia «operacional» es el concepto de *mínima IS*, también llamado «casi» tolerancia (*prope or almost tolerance*)<sup>23,24</sup>. Estos términos se utilizan habitualmente para referirse a los pacientes que, después de haber recibido potentes anticuerpos deplecio-

TABLA III. Retirada del tratamiento inmunosupresor en el trasplante hepático

Año de publicación	Autor	N.º de pacientes	Retirada completa (%)	Rechazo agudo/crónico	Pérdida del injerto (%)
1997	Mazariegos	95	19	26/0	0
1998	Devlin	18	16,7	28/5,6	5,6
2005	Girlanda				
2001	Takatsuki	26	23,8	12/0	0
2002	Oike				
2003	Pons	9	33	22/0	0
2005	Eason	18	5,6	61/0	0
2005	Tryphonopoulos	104	19	67/1,9	0,96
2006	Tisone	34	23,4	76,4/0	0

nantes de los linfocitos T (timoglobulina, campath-1, suero antilinfocítico, etc.) en el momento del trasplante, son capaces de mantener una función del injerto estable requiriendo dosis muy pequeñas de fármacos inmunosupresores convencionales. El concepto de «mínima IS», que de algún modo se halla a medio camino entre la IS farmacológica convencional y la tolerancia, tiene obviamente un gran interés potencial desde el punto de vista clínico, ya que podría contribuir a minimizar de manera segura los efectos secundarios de los fármacos inmunosupresores. Hay que tener en cuenta, sin embargo, que las estrategias terapéuticas encaminadas a alcanzar este estado no han sido todavía suficientemente validadas. Por otra parte, desde el punto de vista inmunológico, el concepto de mínima IS es enormemente ambiguo: en primer lugar, su significado varía en función del órgano que estemos considerando (p. ej., la gran mayoría de los receptores de un trasplante hepático reciben mínima IS según los criterios que se utilizan en trasplante renal); en segundo lugar, desconocemos si los mecanismos inmunológicos que permiten a un receptor aceptar su injerto en presencia de dosis mínimas de IS tienen alguna relación con los mecanismos responsables del estado de tolerancia. Así, no hay pruebas por el momento que hagan pensar que la mínima IS sea un estado que pueda conducir al desarrollo de tolerancia.

#### TOLERANCIA OPERACIONAL EN EL TRASPLANTE HEPÁTICO EN HUMANOS

También en el ser humano el hígado presenta propiedades tolerogénicas intrínsecas que lo diferencian del resto de los injertos. Esto se pone de manifiesto en muy diversas situaciones clínicas: aceptación del injerto en casos de *cross-match* positivo; la irrelevancia del *matching* HLA; la reducida incidencia de rechazo hiperagudo; el efecto inmunomodulador del hígado en casos de doble trasplante hepatorenal; la resolución espontánea de algunos casos de rechazo celular grave; la ausencia de valor pronóstico de un episodio de rechazo celular; la reducida incidencia de rechazo crónico y la resolución espontánea de los rechazos crónicos establecidos en un 30% de casos; la obtención de resultados muy similares independientemente de que se utilicen pautas inmunosupresoras enérgicas o pautas menos potentes, y la facilidad con la que es posible retirar los esteroides. Además de estas situaciones, en

algunos casos es posible retirar de manera completa la medicación inmunosupresora sin que se produzca rechazo, y esto se ha observado tanto «accidentalmente» en pacientes que han dejado de tomar su medicación voluntariamente, como en casos en que los propios médicos han indicado la retirada de la medicación, ya sea por la presencia de enfermedades linfoproliferativas o como parte de protocolos de retirada controlada de la medicación (*weaning*). Estos pacientes que no requieren IS mantienen una función hepática normal aparentemente durante años, y son considerados como «operacionalmente» tolerantes. Las primeras observaciones sobre receptores de trasplante hepático tolerantes fueron publicadas por Starzl en 1993, en un artículo en el que se describían los casos de 6 pacientes que habían abandonado por voluntad propia la IS, manteniendo una función hepática normal durante un período de entre 5 y 13 años<sup>25</sup>. Desde entonces, se ha acumulado una experiencia clínica cada vez mayor sobre este tema, si bien el número de publicaciones al respecto es escaso. En la tabla III se recogen los resultados de los estudios de retirada protocolizada de la IS en el trasplante hepático. Globalmente, la literatura médica disponible indica que la retirada completa de la IS es posible en un 19,4% de los pacientes. Las variables clínicas favorables parecen ser iniciar la retirada al menos 2 años después del trasplante, un número reducido de episodios previos de rechazo celular, la ausencia de una enfermedad autoinmune como indicación del trasplante, y posiblemente el uso de IS reducida durante el postrasplante inmediato. La incidencia de rechazo celular agudo durante el *weaning* varía entre el 12 y el 21,76%, pero estos episodios son normalmente leves y se resuelven volviendo a la IS basal, muchas veces sin requerir bolos de corticoides. En conjunto, se han descrito únicamente 2 casos de pérdida del injerto por rechazo crónico entre los pacientes incluidos en protocolos de *weaning*. Esto contrasta con la noción de que los rechazos agudos tardíos se asocian con una elevada incidencia de rechazo crónico<sup>26</sup>. Aunque los pacientes con infección por el virus de la hepatitis C (VHC) no parecen los candidatas óptimos para este tipo de estrategias, no hay que olvidar que la retirada de la IS puede mejorar la inmunopatogénesis del VHC. Dado que carecemos todavía de marcadores predictivos de rechazo, la realización de biopsias hepáticas es muy importante, tanto antes de comenzar la retirada de la IS como durante el procedimiento, e incluso después. De hecho, una comunicación

reciente sugiere que los pacientes «operacionalmente» tolerantes pueden todavía desarrollar un rechazo crónico<sup>27</sup>. Otro aspecto a tener en cuenta es la muy alta incidencia de hepatitis de origen indeterminado que se ha descrito durante el *weaning* por algunos investigadores. Estos hallazgos, consistentes en una actividad necroinflamatoria portal y lobulillar, fueron descritos por primera vez por Pappo et al en receptores de trasplante hepático de larga evolución en tratamiento IS de mantenimiento<sup>28</sup>. Si bien su origen no se ha aclarado, lo más probable es que se trate de formas atípicas de rechazo celular.

## CONCLUSIONES

Si bien la inducción de tolerancia a los aloinjertos es una realidad en el trasplante de órganos en animales desde hace décadas, todavía no se ha conseguido que esta realidad se materialice en el ser humano. El trasplante hepático, dada su notable tolerogenicidad intrínseca, parece la situación clínica más propicia para ensayar tratamientos inductores de tolerancia en el ser humano. De hecho, incluso tras la administración de IS convencional la retirada protocolizada del tratamiento se considera una practicable aceptable en casos seleccionados. Desgraciadamente, carecemos de marcadores que permitan identificar a los individuos tolerantes de entre todos los pacientes en tratamiento inmunosupresor de mantenimiento. La búsqueda de un test diagnóstico de tolerancia debería convertirse en una de las prioridades de la investigación en el trasplante hepático.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Billingham R, Brent L, Medawar P. Acquired immunological tolerance to foreign cells. *Nature*. 1953;172:603-6.
2. Li XC, Strom TB, Turka LA, Wells AD. T cell death and transplantation tolerance. *Immunity*. 2001;14:407-16.
3. Sykes M. Mixed chimerism and transplant tolerance. *Immunity*. 2001;14:417-24.
4. Qin S, Cobbold SP, Pope H, et al. «Infectious» transplantation tolerance. *Science*. 1993;259:974-7.
5. Cobbold S, Waldmann H. Infectious tolerance. *Curr Opin Immunol*. 1998;10:518-24.
6. Trenado A, Sudres M, Tang Q, et al. Ex vivo-expanded CD4+ CD25+ immunoregulatory T cells prevent graft-versus-host-disease by inhibiting activation/differentiation of pathogenic T cells. *J Immunol*. 2006;176:1266-73.
7. Eto M, Hackstein H, Kaneko K, Nomoto K, Thomson AW. Promotion of skin graft tolerance across MHC barriers by mobilization of dendritic cells in donor hemopoietic cell infusions. *J Immunol*. 2002;169:2390-6.
8. Calne RY, Sells RA, Pena JR, et al. Induction of immunological tolerance by porcine liver allografts. *Nature*. 1969;223:472-6.
9. Kamada N, Calne RY. A surgical experience with five hundred thirty liver transplants in the rat. *Surgery*. 1983;93:64-9.
10. Qian S, Demetris AJ, Murase N, Rao AS, Fung JJ, Starzl TE. Murine liver allograft transplantation: tolerance and donor cell chimerism. *Hepatology*. 1994;19:916-24.
11. Kamada N. Animal models of hepatic allograft rejection. *Semin Liver Dis*. 1992;12:1-15.
12. Scherer MN, Graeb C, Tange S, Dyson C, Jauch KW, Geissler EK. Immunologic considerations for therapeutic strategies utilizing allogeneic hepatocytes: hepatocyte-expressed membrane-bound major histocompatibility complex class I antigen sensitizes while soluble antigen suppresses the immune response in rats. *Hepatology*. 2000;32:999-1007.
13. Behrens D, Lange K, Fried A, et al. Donor-derived soluble MHC antigens plus low-dose cyclosporine induce transplantation unresponsiveness independent of the thymus by down-regulating T cell-mediated alloresponses in a rat transplantation model. *Transplantation*. 2001;72:1974-82.
14. Starzl TE, Zinkernagel RM. Antigen localization and migration in immunity and tolerance. *N Engl J Med*. 1998;339:1905-13.
15. Wood K, Sachs DH. Chimerism and transplantation tolerance: cause and effect. *Immunol Today*. 1996;17:584-7 [discussion 588].
16. Lau AH, De Creus A, Lu L, Thomson AW. Liver tolerance mediated by antigen presenting cells: fact or fiction? *Gut*. 2003;52:1075-8.
17. Qian S, Lu L, Fu F, et al. Apoptosis within spontaneously accepted mouse liver allografts: evidence for deletion of cytotoxic T cells and implications for tolerance induction. *J Immunol*. 1997;158:4654-61.
18. Crispe IN. Hepatic T cells and liver tolerance. *Nat Rev Immunol*. 2003;3:51-62.
19. Knolle PA, Schmitt E, Jin S, et al. Induction of cytokine production in naive CD4(+) T cells by antigen-presenting murine liver sinusoidal endothelial cells but failure to induce differentiation toward Th1 cells. *Gastroenterology*. 1999;116:1428-40.
20. Li W, Zheng XX, Perkins J. CD25+ regulatory T cells are involved in liver transplant tolerance induction in mice [abstract]. *Am J Transplant*. 2004;4:329.
21. Brouard S, Dupont A, Giral M, et al. Operationally tolerant and minimally immunosuppressed kidney recipients display strongly altered blood T-cell clonal regulation. *Am J Transplant*. 2005;5:330-40.
22. Calne R, Davies H. Organ graft tolerance: the liver effect. *Lancet*. 1994;343:67-8.
23. Calne R, Friend P, Moffatt S, et al. Prope tolerance, perioperative campath 1H, and low-dose cyclosporin monotherapy in renal allograft recipients. *Lancet*. 1998;351:1701-2.
24. Starzl TE, Murase N, Abu-Elmagd K, et al. Tolerogenic immunosuppression for organ transplantation. *Lancet*. 2003;361:1502-10.
25. Starzl TE, Demetris AJ, Trucco M, et al. Cell migration and chimerism after whole-organ transplantation: the basis of graft acceptance. *Hepatology*. 1993;17:1127-52.
26. Anand AC, Hubscher SG, Gunson BK, McMaster P, Neuberger JM. Timing, significance, and prognosis of late acute liver allograft rejection. *Transplantation*. 1995;60:1098-103.
27. Starzl TE, Demetris AJ, Murase N, Ildstad S, Ricordi C, Trucco M. Cell migration, chimerism, and graft acceptance. *Lancet*. 1992;339:1579-82.
28. Pappo O, Ramos H, Starzl TE, Fung JJ, Demetris AJ. Structural integrity and identification of causes of liver allograft dysfunction occurring more than 5 years after transplantation. *Am J Surg Pathol*. 1995;19:192-206.