

· 综述 ·

异种器官移植研究现状及发展前景

金永勋¹, 沈星辉², 姜昊¹, 梁爽¹, 张嘉保¹, 金南衡¹ (1. 吉林大学动物科学学院实验动物中心, 吉林 长春 130012; 2. 哈尔滨医科大学组织胚胎学教研室, 黑龙江 哈尔滨 150081)

异种移植,是指将一个物种的细胞、组织及器官移植到另一个物种体内。据不完全统计,我国每年约有150万人需进行器官移植,但每年的器官捐献者仅约1万人,能得到移植治疗的人数远远低于需要治疗的人数。这已经成为亟待解决的社会问题。猪与人的器官大小、生理构造相近,生产周期较短,是目前异种器官移植的最理想供体。但用于人的猪源异种器官移植仍面临3个主要瓶颈:免疫排斥反应、猪内源性反转录病毒(porcine endogenous retrovirus, PERV)的感染风险及移植的器官能否存活并长期、有效的持续发挥正常的生理作用^[1]。本文就目前异种器官移植的研究和进展前景进行综述。

1 异种器官移植现状与存在问题

早期的异种移植供体首选是类人猿,与灵长类动物相比,猪在免疫学和生理学方面的差异虽与人类差距较大,但其具有大规模生产、与人类器官的大小相似、基因容易改造等优点,因此,逐渐成为20世纪公认的异种器官移植供体动物^[2-5]。用于人的猪源异种器官移植面临3个主要障碍:①移植植物进入受体后引发的免疫排斥反应,包括超急性排斥反应、延迟性排斥反应和T细胞介导的排斥反应;②移植的器官能否存活并长期、有效的持续发挥其正常的生理作用;③已经与猪共生了几百万年、已经整合于其染色体中世代相传的PERV的潜在感染风险。这种潜在的病原传播及引发疾病的风险性,也是限制猪器官能否成功应用于临床的一个关键性因素^[1]。

1.1 免疫排斥:异种器官移植的最大障碍是移植后的免疫排斥反应。对于异种移植的临床应用,必须优先解决免疫排斥。在异种移植中,从超急性排斥反应开始,急性体液性异种移植排斥反应(acute humoral xenograft rejection, AHXR)和细胞介导的排斥反应(cell-mediated rejection, CMR)接连发生,可在几分钟内使器官功能紊乱,甚至导致器官衰竭。超急性排斥由已经存在于受体的天然抗体GGTA1产生^[6]。该天然抗体与移植物的血管内皮细胞结合并激活补体系统,引起血管内皮水肿和微血管血栓,进而阻止器官功能^[7]。急性排斥反应与超急性排斥反应类似,但24小时后反应开始减缓^[8]。而少量抗 α -1, 3-Gal抗体或另一种天然抗体(non- α Gal)即可和移植后被诱导的抗体结合,引起移植物血管内皮细胞反应,并最终引起血管病。对于异种移植的急性排斥反应中,由多种免疫细胞参与,包括T淋巴细胞、B淋巴细胞、巨噬细胞、NK细胞而发生的侵袭和直接组织破坏,称为细胞急性排斥反应^[9]。移植植物中调节凝血的调节蛋白生理结构差异也是产生急性排斥的原因。如由于猪移植植物TFPI与人凝血因子Xa不匹配导致的血栓形成就是一个典型的例子^[10]。

1.2 异种器官移植后宿主内的存活能力:早在2005年,研究人员设法去除了猪细胞表面一个非常重要的免疫识别蛋白,并以这样的猪作为器官供体,以免疫系统被药物抑制的狒狒为受体,尝试了人类史上第一次借助于遗传工程的异种心脏移植^[11]。结果,这些心脏在自己新主人体内平均存活了92天,最长为179天。同年,另一组研究人员则在猪的心脏细胞表面人为添加了一种属于人类的免

疫识别蛋白^[12], 移植到免疫抑制的狒狒体内后平均存活 96 天, 最长纪录仅为 137 天。

韩国第一次尝试异种移植是 2011 年 11 月^[13]。韩国国家畜牧科技研究所研究人员将生产出的 GTKO 猪的肾脏移植到食蟹猴身上。此后, 先后进行了 20 多次肾脏和心脏的异种器官移植, 其中肾脏生存时间最长为 23 天, 心脏生存时间最长为 43 天。虽然实验经验不多, 也没有其他研究团队的协助, 韩国国家畜牧科技研究所制定了生产以 CD46 为代表的 GTKO 和 hCRP 转基因猪的规划^[14]。

上述案例共同反映了一个关键问题, 就是异种器官移植后移植的器官在新的环境里不太适应, 无法长期存活。

1.3 猪内源性病毒: PERV 是一种以 DNA 形式整合入猪基因组中的反转录病毒, 由 *PERV-gag*、*pol* 和 *env* 三基因组成, 可随细胞基因组的复制而复制。部分猪源细胞可释放 PERV 病毒颗粒, 并能感染多种体外培养的人源细胞。因此, 消除 PERV 的潜在跨物种感染风险, 是异种器官移植的必要安全考虑。解决 PERV 风险的途径有两种: ① 通过基因修饰技术去除猪体内 PERV 基因; ② 选育无 PERV 感染风险的猪。

2015 年 10 月, 哈佛医学院遗传学教授 George Church 及其团队利用新的基因编辑技术 CRISPR/Cas9, 一次性灭活了隐藏在猪基因组中的 62 个 *PERV-pol* 基因片段, 体外实验验证病毒的感染率被削弱了近 1 000 倍, 结果发表在 *Science* 杂志。同年, 该团队联合创立了美国 eGenesis 生物技术公司, 专注于将基于基因编辑的异种移植技术运用到临床医疗程序中^[15]。2017 年 5 月, eGenesis 公司经过多基因修饰的 PERV 阴性猪出生^[16]。

2 异种器官移植发展前景

2.1 免疫排斥: 异种器官移植的免疫学特征表明 B 细胞是导致抗体排斥反应和凝血异常的主要因素。使用适当的免疫抑制剂会抑制排斥反应, 但免疫抑制过度也可能引起更严重的负面作用。今后克服免疫排斥反应的主要手段是基因改造和找出最有效的免疫抑制方法。在移植后避免缺血性损

伤和炎症过程尤为重要。因为受体在接受异种移植后比同种移植更容易受到损伤, 而引起免疫学反应。

2.2 异种器官移植后宿主存活能力: 猪寿命最长为 20 年左右, 一般母猪 3~4 年后生产性能下降就会被淘汰。据报道, 2011 年中国农业科学院北京畜牧兽医研究所团队克隆出了敲除 $\alpha-1, 3$ - 半乳糖苷转移酶基因的转基因克隆猪^[17]。它不仅已存活 6 年, 并于 2017 年 1 月 5 日正常产仔 6 只。该基因敲除克隆猪已繁殖 3 代。正常产仔并存活充分说明克隆、基因敲除对该猪的健康和繁殖并无明显的负面影响, 并且基因敲除猪的器官寿命均超过 6 年, 可达 10~20 年。在一定程度上淡化了对基因敲除克隆猪本身健康及移植物使用年限的担忧。

2.3 猪内源性病毒: 目前尚未在接受猪细胞、组织或器官移植后的患者中发现 PERV 感染的直接报道, 对接受猪皮肤移植、胰岛细胞、肾、肝或脾灌注治疗的患者中也未发现 PERV 感染的病例。已有证据表明, 人血清在体外能通过经典的补体途径钝化 PERV^[18], 人血清在 SCID 鼠中也具有钝化 PERV 感染人细胞的能力^[19], 而单独纯化的抗体则不能发挥钝化作用, 这表明血清中具有更复杂的抗 PERV 成分。此项研究也并未发现 PERV 在慢性免疫抑制状态的灵长类动物中具有感染作用。尽管如此, PERV 在何种情况下才会在体内感染将成为日后持续监控的重点^[1]。

3 结 论

异种器官移植经过缺乏免疫学知识、无有效免疫抑制剂的前提下盲目把其他动物器官直接移植到人类的时代, 现已进入利用转基因猪器官移植到灵长类动物的临床前实验时代。随着转基因猪的不断发展和免疫抑制方法的改进, 动物异种器官移植已取得了长足的进展。随着转基因技术的发展, 猪源异种器官移植面临的主要障碍当中免疫排斥反应和猪内源性反转录病毒的潜在感染风险性问题的解决取得了很大的进步。而且最近在心脏、肾脏、胰岛和角膜异种移植方面的巨大进展大大缩短了临床试验阶段的准备。以猪为供体的异种移植研究对

解决目前人体器官短缺具有重大的现实意义,但进入临床阶段尚有差距,尤其在急性细胞排斥反应方面和异种移植后受体存活期等方面还有很多难题需要解决。随着医学科技发展,异种器官移植还有很长的路要走,还有很多必须解决的问题,但这确实是一个值得挑战的领域。而在不久的将来,异种器官移植也将真正进入临床应用阶段,并最终缓解供体短缺的严峻形势,造福于人类。

参考文献

- [1] 刘赛兰,章瀚文,潘天慧,等. 猪内源性逆转录病毒与异种移植及生物人工肝安全性问题[J]. 肝脏,2013,18(2):125-129.
- [2] Cooper DK, Ekser B, Tector AJ. A brief history of clinical xenotransplantation[J]. Int J Surg,2015, 23 (Pt B): 205-210.
- [3] Cooper DK, Gollackner B, Sachs DH. Will the pig solve the transplantation backlog? [J]. Annu Rev Med,2002, 53(1): 133-147.
- [4] Lexer G, Cooper DK, Rose AG, et al. Hyperacute rejection in a discordant (pig to baboon) cardiac xenograft model [J]. J Heart Transplant,1986,5(6):411-418.
- [5] Cooper DK, Human PA, Lexer G, et al. Effects of cyclosporine and antibody adsorption on pig cardiac xenograft survival in the baboon [J]. J Heart Transplant,1988,7(3):238-246.
- [6] Galili U. Interaction of the natural anti-Gal antibody with α -galactosyl epitopes: a major obstacle for xenotransplantation in humans [J]. Immunology Today, 1993, 14(10):480-482.
- [7] Schuurman HJ, Cheng J, Lam T. Pathology of xenograft rejection: a commentary [J]. Xenotransplantation, 2003, 10(4):293-299.
- [8] Schuurman H-J, Pino-Chavez G, Phillips MJ, et al. Incidence of hyperacute rejection in pig-to-primate transplantation using organs from hDAF-transgenic donors [J]. Transplantation,2002,73(7):1146-1151.
- [9] Cozzi E, Bosio E, Seveso M, et al. Xenotransplantation—current status and future perspectives [J]. Br Med Bull,2005, 75(1): 99-114.
- [10] Cowan PJ. Coagulation and the xenograft endothelium [J]. Xenotransplantation,2007,14(1):7-12.
- [11] Yamada K, Griesemer A, Okumi M. Pigs as xenogeneic donors [J]. Transplantation reviews,2005,19(3):164-177.
- [12] McGregor CG, Davies WR, Oi K, et al. Cardiac xenotransplantation: recent preclinical progress with 3-month median survival [J]. J Thorac Cardiovasc Surg,2005,130(3):844-851.
- [13] Kim H, Chee HK, Yang J, et al. Outcomes of alpha 1, 3-GT-knockout porcine heart transplants into a preclinical nonhuman primate model [J]. Transplantation Proc,2013,45(8):3085-3091.
- [14] Hwang S, Jung YD, Cho K, et al. No expression of porcine endogenous retrovirus after pig to monkey xenotransplantation [J]. Lab Anim Res,2014,30(2):90-93.
- [15] Yang L, Güell M, Niu D, et al. Genome-wide inactivation of porcine endogenous retroviruses (PERVs) [J]. Science,2015, 350(6264):1101-1104.
- [16] Niu D, Wei HJ, Lin L, et al. Inactivation of porcine endogenous retrovirus in pigs using CRISPR-Cas9 [J]. Science,2017, 357(6357):1303-1307.
- [17] Lin JL, Shen LC, Pan DK, et al. Molecular cloning, expression profile analysis and construction of adipose tissue specific expression vector of pig Gli1 gene [J]. Yi chuan,2012,34(10):1291-1297.
- [18] Irgang M, Sauer IM, Karlas A, et al. Porcine endogenous retroviruses: no infection in patients treated with a bioreactor based on porcine liver cells [J]. J Clin Virol, 2003,28(2):141-154.
- [19] McKane BW, Ramachandran S, Yang J, et al. Xenoreactive anti-Gal α (1, 3)Gal antibodies prevent porcine endogenous retrovirus infection of human in vivo [J]. Hum Immunol,2003,64(7):708-717.

(收稿日期: 2018-01-12)

金永勋,沈星辉,姜昊,梁爽,张嘉保,金南衡. 异种器官移植研究现状及发展前景[J/CD]. 实用器官移植电子杂志,2018,6(2):136-138.