

体外肺灌注技术在肺移植中的应用优势及研究进展

杨柯佳, 刘峰, 陈静瑜, 班乐 (无锡市人民医院胸外科, 江苏 无锡 214023)

目前, 肺移植仍是终末期肺疾病的首选治疗方法^[1-2]。相较于肝肾移植等较为成熟的移植手术而言, 只有 15% 供体的肺最终可以被用于移植手术^[3]。然而, 从获取供体到成功移植, 有一段漫长的路要走。一方面, 供肺和受体的匹配, 不仅需要满足供体和受体体型及血型的要求, 还要求供肺满足一定的功能条件^[4]; 另一方面, 自 2015 年 1 月 1 日中国正式全面停止使用死因器官作为移植供体后^[5], 供肺仅来源于脑死亡器官捐献 (donation after brain death, DBD) 及心脏死亡器官捐献 (donation after cardiac death, DCD), 意味着供体肺必定会有不同程度的损伤, 包括肺水肿、肺实变、感染等。这两个因素导致满足纳入条件的供肺数量锐减。供肺池缩小, 也是患者在等待期病死率居高不下的一个原因^[6]。体外肺灌注 (ex vivo lung perfusion, EVLP) 这一新技术, 既可用于供肺的长途转运, 减少缺血时间, 又可用于解决供肺获取后的再评估主要依靠个人经验的问题, 可用于边缘型供肺的修复, 极大地扩充供肺池。还可用于针对性治疗。本文的主要目的是探讨当前 EVLP 技术在肺移植方面所具有的优势及其新进展。

最初, EVLP 是被用来评估储存期间肺移植功能的一种技术, 也可作为长途转运时保存心肺的一种手段, 2001 年 Steen 等^[7]首次将 EVLP 技术用于评估、修复不满足供体纳入标准的 DCD 供肺。该供体经过了热缺血、灌注、评估、冷藏后成功移植。此后在全球范围内掀起了研究 EVLP 技术在扩

大供体池、改善肺移植手术短期及长期预后方面的高潮。

目前, 世界范围内主流的 EVLP 机器包括: OCS™ Lung、Vivoline® LS1、Lung Assist®、XPS™。各型号的 EVLP 机器有其各自的特点及优势, 本文针对目前主流 EVLP 机器的共性列举其优势。

1 扩大供肺池

1.1 长途转运: 众所周知, 供肺对冷缺血保存的时间要求极其严格, 目前认为相对安全的冷缺血时间不超过 10 小时^[8]。与早已成熟的肝肾移植手术相比, 肺移植手术起步晚, 全国范围内有资质开展肺移植手术的医院数量有限, 各医院开展的肺移植手术数量相差极大, 种种原因导致国内的肺病终末期患者会聚集到若干个实力强劲的肺移植中心, 进而导致供肺的分配面临窘境。很多合格的供肺由于转运耗时过长, 且周围没有能够开展肺移植手术的医院而被迫放弃。据报道, 中国最大的肺移植中心无锡市人民医院经常利用民用航空超长转运供肺^[9]。类似的案例极大地提高了手术风险及术后管理难度。研究表明, 移植术后早期原发性移植植物失功及缺血/再灌注损伤相关程度极高^[10]。EVLP 技术的出现和发展, 可以很大程度上解决因无法长距离、长时间转运而导致供体资源浪费的问题。OCSTM 便携式 EVLP 机器的出现更为超长距离、长时间的转运提供了可能性。该装置包含了电池、气缸、监护仪、呼吸机, 可以提供从获取到转运至受体所在医院全程 EVLP 支持。该装置为减少冷缺血时间、常温下肺保存提供了可能。并且能够在保存期间持续动态监测供肺的功能, 进一步扩大供肺池。

1.2 DCD 供肺: 相对于 DBD 供肺, DCD 供肺更

难以进行在体评估^[11]。在 Steen 之前, 由于 DCD 器官获取前无法进行在体评估, 从而导致 DCD 供肺较少应用于临床, 而 EVLP 技术使器官在离体灌注的过程中能够得到全面评估, 为 DCD 供肺的应用提供了数据支持。一旦 DCD 供肺可以成功通过评估加入供肺池, 即能显著提高供肺数量, 明显减小移植等待期病死率。EVLP 可以使 DCD 供体的肺功能稳定, 氧合指数提高。移植后 48 小时内所有患者不必持续使用呼吸机, 所有患者 8 天内陆续出重症监护病房 (intensive care unit, ICU), 移植后一秒用力呼气容积 (forced expiratory volume in one second, FEV1) 和用力肺活量 (forced vital capacity, FVC) 较术前明显改善^[12]。

2 再评估

对供肺质量的准确评估是影响移植后短期及长期预后效果的重要因素。供肺获取前, 初次评估供肺是否为理想的肺移植供体有一套纳入标准^[4], 但是供体尤其是 DCD 供体生理条件及病情的复杂性, 导致了供肺的质量瞬息万变。有些供肺在初次评估时符合供肺质量标准, 但是从评估后至供肺获取期间极有可能遭受严重损伤, 最终导致移植后效果不甚理想。虽然供肺获取后, 取肺人员必须通过观察对获取的供肺进行二次评估, 评估包括肺水肿程度、气道内分泌物、肺顺应性以及其它肉眼可见的病变。然而观察法有极大的主观性, 且对取肺人员的经验有一定的要求。很难制定一个具体的标准。EVLP 的出现为肺供体获取后第 3 次客观的、有数据支持的质量评估提供了平台。具体操作: 灌注过程中每小时进行一次供肺评估。在进行评估时呼吸机参数设置为: 潮气量 10 ml/kg、10 次/分钟、氧浓度分数 (fraction of inspiration, FiO₂) = 1.0, 维持 5 分钟。监测肺动脉压、左心房压、气道峰值压力和平台压、肺的动静态顺应性, 分别抽取肺动脉端和左心房端灌注液进行肺动静、脉血气分析。第 1 小时以及随后每 2 小时进行肺 X 线影像学检查、肺组织和肺泡灌洗液中的生物学标志物的检查及支气管镜检查^[13]。获取数据资料及影像学资料后对供肺进行实时评估。另一方面, 对经

灌注循环后的灌注液的理化特性的研究也在紧锣密鼓地进行中。既往的研究结果显示, 白细胞介素 (interleukin, IL-6, IL-8)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 等细胞因子的表达与肺损伤密切相关^[14]。有学者通过研究比较经标准 EVLP 后可用于移植的供肺和不达标的供肺后发现, 满足标准的肺灌注液中乳酸脱氢酶 (lactate dehydrogenase, LDH) 含量显著少于不达标的供肺。达标供肺的灌注液中 IL-8 含量是不达标组的 8 倍。IL-8 被认为是最好的评价 EVLP 后移植效果的标志物之一, 但是对 LDH 的检验更加方便快捷。此外, 还研究了高迁移率族蛋白 1 (HMGB-1)、钙结合蛋白 (S100A9)、IL-33 这 3 个评估细胞损伤程度的指标, 结果证明经过 EVLP 循环后达标的供肺与不达标供肺的蛋白质表达有明显差异^[15]。随着研究的深入, 我们发现对供肺的评估并不局限于供肺本身的功能上, 对灌注液的实验室检验, 为移植手术效果的评估提供了新思路。

3 肺修复

EVLP 首次成功用于 DCD 供体后, Steen 带领的小组将这项短时间离体肺灌注的方法推广到不符合纳入标准的供肺上^[7]。最初 EVLP 技术最大的壁垒是灌注以后导致的肺水肿。经过 Steen 等人的改良, 一种新的灌注液 (Steen 液) 应运而生, 它主要包含人血白蛋白和右旋糖酐。人血白蛋白可以维持灌注液一定的胶体渗透压, 减轻肺水肿的形成。右旋糖酐能够保护上皮细胞免受补体损伤及细胞介导的细胞毒作用, 并且在抗凝、抗血小板聚集等方面发挥重大作用^[16-17]。随着研究的深入, 更多基于 EVLP 平台的肺修复新策略被提出。动物实验表明, 在 DCD 猪模型中在 EVLP 流转过程中使用腺苷 A2A 受体激动剂, 可以减小缺血/再灌注损伤^[18]。使用空气和 2% 氢气混合的气体可以提高 DCD 肺的功能。肺血管阻力和气道峰值压力显著减小, IL-1 β 、IL-6、IL-8、TNF- α 的表达显著下降^[19]。还有学者发现, EVLP 每灌注一轮, 灌注液中 Toll 样受体减少相对减少^[20]。这一系列变化都预示着供肺将更适合用于移植。

4 针对性的治疗方案

相对于传统的肺保存方法, EVLP 的优势在于供肺所在环境的相对“开放性”。传统的冷缺血保存使供肺处于一个相对封闭的环境中, 所有针对性治疗方案难以进入封闭的环境。与之相比, EVLP 相对开放的环境以及细胞正常的代谢为针对性给药提供了方便快捷的途径。通过支气管以及灌注液途径, 可以有效地对可能发生的移植后并发症进行预处理。灌注液较高的胶体渗透压, 本身就有一定的减轻肺水肿的作用。研究表明, 在 EVLP 过程中, 在气管内应用肾上腺素可以通过激活肺泡上皮细胞膜表面钠通道的活性, 使肺泡内液体的清除率比对照组高 84%^[21]。相比于肝肾等实质脏器, 肺作为一个与外界相通的空腔脏器, 极易感染。此外, DCD 或 DBD 供体获取前, 在 ICU 期间有很高的肺脏感染发生率, 且多为耐药性较强的条件致病菌^[22]。肺部感染是移植术后早期导致死亡的最主要原因^[23-24], 感染控制成功与否也是整个肺移植手术的关键所在。Nakajima 等^[25]的研究表明, 相比于对照组, 灌注液中加入广谱抗菌药物的灌注方法, 极大改善了肺氧合情况, 提高了肺的顺应性, 减轻肺血管阻力, 并且灌注液中内毒素含量显著减少。此种高浓度抗菌治疗方法避免了抗菌药物对其他器官的损伤。供肺获取前后对肺部的理化刺激会导致肺损伤相关的炎症反应, 进而加剧移植后再灌注损伤。通过在灌注液中加入糖皮质激素或其他抗炎物质可以有效减轻移植后的再灌注损伤。缺血/再灌注损伤可以抑制钠钾 ATP 酶和各种钾通道的活性。动物实验表明, 维生素 C 通过其抗氧化作用和提高钾通道活性在减少缺血/再灌注损伤方面发挥着独特作用^[26]。在肺移植移植过程中, 血栓和脂肪栓子等的形成, 增加了术后发生原发性移植物功能障碍 (primary graft dysfunction, PGD) 的风险。在 EVLP 灌注液中使用纤溶酶, 能够有效控制肺血栓形成, 同时避免移植后出血的风险^[27]。在动物的 DCD 模型中证明, 在 EVLP 灌注液中加入纤溶酶, 能够减少血栓的形成, 减轻肺血管阻力, 改善供肺功能。Machuca 等^[28]曾报道

使用 EVLP 来治疗供肺中的血栓。通过在灌注液中加入纤溶药物, 改善了供肺质量并且成功将供肺用于移植。对于 DCD 供体心脏停跳前不能进行全身肝素化而言, 灌注液中加入纤溶酶的治疗方案更有意义。

5 其他优势

除了应用于肺移植相关领域, EVLP 技术还可应用于其他器官移植、肺部肿瘤等的基础及临床研究中。例如在肺脏肿瘤的相关研究中可以作为一种特殊的精确给药渠道, 进一步研究抗肿瘤药的生物活性及其毒性等^[29]。

中国对 EVLP 技术的研究尚处于起步阶段, 缺乏相应的临床试验。如果 EVLP 发展成为一项成熟的技术并且在临床上得到广泛应用, 则能在一定程度上缓解供肺短缺的问题, 进一步推动肺移植事业的发展, 造福更多终末期肺病患者。

参考文献

- [1] 陈静瑜, 郑明峰, 何毅军, 等. 单肺移植治疗终末期肺病肺气肿[J]. 中华外科杂志, 2003, 41 (6): 404-406.
- [2] 朱艳红, 陈静瑜, 郑明峰, 等. 单肺移植治疗伴有肺动脉高压的终末期肺病[J]. 中华危重病急救医学, 2007, 19 (7): 401-403.
- [3] Mehaffey JH, Charles EJ, Sharma AK, et al. Airway pressure release ventilation during ex vivo lung perfusion attenuates injury [J]. J Thorac Cardiovasc Surg, 2017, 153 (1): 197-204.
- [4] 郑树森, 叶启发, 李建辉, 等. 中国移植器官保护专家共识 (2016 版) [J]. 器官移植, 2016, 7 (5): 339-350.
- [5] 陈天伦. 死囚捐赠时代的终结[J]. 中国医院院长, 2015, (2): 30-31.
- [6] Valapour M, Skeans MA, Smith JM, et al. OPTN/SRTR 2015 Annual Data Report: Lung [J]. Am J Transplant, 2017, 17 (Suppl 1): 357-424.
- [7] Steen S, Sjöberg P, Pierre L, et al. Transplantation of lungs from a non-heart-beating donor [J]. Lancet, 2001, 357 (9259): 825-829.
- [8] Ganesh JS, Rogers CA, Banner NR, et al. Does the method of lung preservation influence outcome after transplantation? An analysis of 681 consecutive procedures [J]. J Thorac Cardiovasc Surg, 2007, 134 (5): 1313-1321.
- [9] 刘峰, 陈静瑜, 叶书高, 等. 民用航空超长距离转运供肺肺移植 (附 6 例报告) [J]. 器官移植, 2015, (6): 374-377.
- [10] Munshi L, Keshavjee S, Cypel M. Donor management and lung

- preservation for lung transplantation [J]. *Lancet Respir Med*, 2013, 1 (4): 318–328.
- [11] Manara AR, Murphy PG, O'Callaghan G. Donation after circulatory death [J]. *Br J Anaesth*, 2012, 108 (Suppl 1): i108–121.
- [12] Bozso S, Vasanthan V, Luc JG, et al. Lung transplantation from donors after circulatory death using portable ex vivo lung perfusion [J]. *Can Respir J*, 2015, 22 (1): 47–51.
- [13] Popov AF, Sabashnikov A, Patil NP, et al. Ex vivo lung perfusion—state of the art in lung donor pool expansion [J]. *Med Sci Monit Basic Res*, 2015, 21: 9–14.
- [14] Cavaillon JM, Adib-Conquy M, Fitting C, et al. Cytokine cascade in sepsis [J]. *Scand J Infect Dis*, 2003, 35 (9): 535–544. .
- [15] Andreasson AS, Karamanou DM, Gillespie CS, et al. Profiling inflammation and tissue injury markers in perfusate and bronchoalveolar lavage fluid during human ex vivo lung perfusion [J]. *Eur J Cardiothorac Surg*, 2017, 51 (3): 577–586.
- [16] Kelly RF, Murar J, Hong Z, et al. Low potassium dextran lung preservation solution reduces reactive oxygen species production [J]. *Ann Thorac Surg*, 2003, 75 (6): 1705–1710.
- [17] Fischer S, Matte-Martyn A, De Perrot M, et al. Low-potassium dextran preservation solution improves lung function after human lung transplantation [J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2001, 121 (3): 594–596.
- [18] Wagner CE, Pope NH, Charles EJ, et al. Ex vivo lung perfusion with adenosine A2A receptor agonist allows prolonged cold preservation of lungs donated after cardiac death [J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2016, 151 (2): 538–545.
- [19] Haam S, Lee S, Paik HC, et al. The effects of hydrogen gas inhalation during ex vivo lung perfusion on donor lungs obtained after cardiac death [J]. *Eur J Cardiothorac Surg*, 2015, 48 (4): 542–547.
- [20] Shafaghi S, Mortaz E, Abbasi DA, et al. Normothermic ex vivo lung perfusion in brain-dead donors reduces inflammatory cytokines and toll-like receptor expression [J]. *Iran J Allergy Asthma Immunol*, 2016, 15 (5): 340–354.
- [21] Frank JA, Briot R, Lee JW, et al. Physiological and biochemical markers of alveolar epithelial barrier dysfunction in perfused human lungs [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2007, 293 (1): L52–59.
- [22] 来孺牛, 王亚南, 金国萍, 等. ICU 患者肺部感染的病原菌分布及耐药性分析 [J]. *中华医院感染学杂志*, 2014, (1): 53–55.
- [23] 杨春艳, 王颖, 王文婷, 等. 肝移植术后肺部感染的原因分析及护理预防措施 [J/CD]. *实用器官移植电子杂志*, 2014, (1): 51–52.
- [24] 李志军, 孙元莹, 王今达. 血必净注射液治疗肾移植术后肺感染 35 例临床观察 [J]. *中国中西医结合急救杂志*, 2005, 12 (5): 317–317.
- [25] Nakajima D, Cypel M, Bonato R, et al. Ex vivo perfusion treatment of infection in human donor lungs [J]. *Am J Transplant*, 2016, 16 (4): 1229–1237.
- [26] Mohamed MS. Ascorbic acid supplementation during ex vivo lung perfusion [J]. *Exp Clin Transplant*, 2016, 14 (1): 112–113.
- [27] Inci I, Zhai W, Arni S, et al. Fibrinolytic treatment improves the quality of lungs retrieved from non-heart-beating donors [J]. *J Heart Lung Transplant*, 2007, 26 (10): 1054–1060.
- [28] Machuca TN, Hsin MK, Ott HC, et al. Injury-specific ex vivo treatment of the donor lung: pulmonary thrombolysis followed by successful lung transplantation [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2013, 188 (7): 878–880.
- [29] Van Schil PE, Hendriks JM, van Putte BP, et al. Isolated lung perfusion and related techniques for the treatment of pulmonary metastases [J]. *Eur J Cardiothorac Surg*, 2008, 33 (3): 487–496.

(收稿日期: 2017-06-09)

杨柯佳, 刘峰, 陈静瑜, 班乐. 体外肺灌注技术在肺移植中的应用优势及研究进展 [J/CD]. *实用器官移植电子杂志*, 2017, 5 (5): 375–378.