

- suppress gene expression in mammalian cells. PNAS. 2002; 99(8): 5515
- 9 Lee NS, Dohjima T, Bauer G, et al. Expression of small interfering RNAs targeted against HIV-1 rev transcripts in human cells. Nature Biotechnology. 2002; 19: 500
- 10 McCaffrey AP, Meuse L, Phan TT, et al. RNA interference in adult mice. Nature. 2002; 418: 38
- 11 Lin SL, Chuong CM, Ying SY. A novel mRNA-cDNA interference phenomenon for silencing bcl-2 expression in human LNCaP cells. Biochem Biophys Res Commun. 2001; 281(3): 639

- 12 Wilda M, Fuchs U, Wossmann W, et al. Killing of leukemic cells with a BCR/ABL fusion gene by RNA interference (RNAi). Oncogene. 2002; 21(37): 5716
- 13 Oh WJ, Kim EK, Ko JH, et al. Nuclear proteins that bind to metal response element a (MREa) in the Wilson disease gene promoter are Ku autoantigens and the Ku-80 subunit is necessary for basal transcription of the WD gene. Eur J Biochem. 2002; 269(8): 2151

(收稿日期: 2002-09-23)

心脏停跳供体的肺移植研究进展

徐鑫 综述 何建行 审校

广东省广州呼吸疾病研究所胸外科(广州 510120)

肺移植是治疗终末期疾病的有效方法。在国际上,采用脑死亡但仍存在心跳呼吸的供体(heart-beating donor, HBD)进行肺移植已是相对成熟的技术。但 HBD 肺移植的供体不足,据估计,在所有适合 HBD 器官移植的供体中,其中只有不到 10% 适合进行肺移植,一部分患者在等待供体肺的过程中死亡。采用心跳呼吸停止的供体(non-heart-beating donor, NHBD)是解决该矛盾的途径之一,这也是亚洲地区较常用的方法。

1 缺血时间

NHBD 肺移植不可避免热缺血。热缺血时间的长短对于 NHBD 供肺移植后的状况有重要的影响。从细胞角度考虑,肺对热缺血具有良好的耐受性,肺是人体唯一可以不需要血流灌注提供氧气的器官,通过弥散作用,它可摄取肺泡内的氧气以供自身细胞代谢所需,肺实质细胞可以在循环停止后相当长的时间内维持活力。另一方面,从肺的功能角度考虑,肺对热缺血又非常敏感,因为肺的功能有赖于众多肺泡膜保持其正常的完整性和通透性。Egan 等^[1]以猪为模型研究了同种异体 NHBD 肺移植,供体热缺血 1 h,期间未进行任何处理,移植术后所有受体猪在观察期间均良好生存,当热缺血时间为 2 h,5 只受体中的 2 只存活并具有良好的血气交换结果,当热缺血时间为 4 h,4 只受体猪只有 1 只存活,并且血气交换结果很差。此后,Kayano 等^[2]以同样的模型进行了类似的实验发现,热缺血 2 h,研究组的所有受体均存活,而热缺血 3 h,6 只实验受体中只有 2 只存活。由此看来,在不采取别的保护措施的情况下,NHBD 肺热缺血时间的安全上限是 2 h,超过 2 h,受体病死率则明显上升。在此“安全”范围内,不同的缺血时间在不同的术后期,结果都令人振奋。Greco 等^[3]在猪的 NHBD 肺移植实验中,热缺血 90 min,在移植手术后的 6 h 观察期间,热缺血组与非热缺血组的受体均生存良好,并且两组之间的移植肺功

为 60 min,手术后观察 7 d,尽管纤维支气管镜检查及组织学检查都证实支气管愈合能力受到损害,但是,移植后的供肺功能足以满足受体的需求;而热缺血时间为 30 min 时,在术后 1 周的观察期间内,发现热缺血组与非热缺血组受体均生存良好,并且两组的移植肺功能差异无显著性。

2 通气和肺膨胀的影响

肺摄取肺泡内的氧气以供自身细胞代谢所需从而具有较强热缺血耐受性,故肺泡内的氧气含量对肺的热缺血耐受性有影响。在狗的同种异体肺移植实验中,Ulicny 等^[4]发现在热缺血期间予以通气可以提高受体的早期存活率,而且,在取供体肺之前予以通气的 NHBD 肺保护效果比不通气的效果好,以氧气通气的效果优于以氮气通气的效果。Van 等^[6]以免行 NHBD 同种异体单肺移植实验,保持供肺膨胀状态但不予以持续供氧,发现供肺在膨胀状态下可以延长对热缺血的耐受能力,其保护效果与通气组的效果一样好,他们认为,防止肺萎陷是减轻 NHBD 供体肺缺血再灌注损伤的关键因素。虽然使用氧气通气或膨胀可以提高肺保护的效果,但并非氧气浓度越高效果就越好。肺利用氧气进行代谢的同时也产生氧自由基,由于血流停止供体肺无法清除自由基,自由基的积聚可导致肺损伤的加重。研究表明,最适合膨胀肺气体氧浓度应在 50% 左右,此时组织自由基含量最低、血管通透性受损最小,而此时提供的氧量亦足够^[7]。

3 NO 的作用

NO 是重要的内源性生物活性物质,它不仅仅是血管扩张剂,还参与血小板功能活动、神经递质活动、炎症以及免疫反应。NO 对于肺保护是有益的。Takashima 等^[8]用犬进行单肺移植实验,在恢复灌注时予以 NO,受体犬在观察期间均存活,吸入浓度为 40×10^{-6} 的 NO 对于

学者用鼠行 NHBD 肺移植实验,认为在缺血及再灌注期间予以 NO 吸入,可以显著地降低受体的缺血再灌注损伤,仅仅于再灌注期间予以 NO 吸入,对于受体也是有益的,这种保护作用是在 NO 在缺血期间维持了肺血管床的动态稳定,也与 NO 抑制了 PMN 的聚集有关。但也有研究表明,NO 也可能产生相反的作用,这取决于使用 NO 的时机、剂量。Eppinger 等^[9]于再灌注开始后的 30 min 内予以 NO 吸入对于受体有毒害作用,但是如果于再灌注开始 4 h 以后再予以 NO 吸入,则对受体具有保护作用。

4 温度

用冷灌注液(50~60 ml/kg)通过单侧肺动脉行顺行灌注,同时在通气状态下将供体肺浸在低温晶体液中,是目前临床中最常使用的肺保护技术。低温是肺保护的主要手段之一,但低温也有不利的一面。低温可以造成 ATP 酶活性降低导致组织水肿,可造成肺血管外液体增多,肺血管收缩,这导致肺血气交换下降而肺血管阻力上升。目前获取肺及运输肺的条件使 4℃ 成为最常用的保存温度。但是,理想的肺保存温度可能并不是 4℃ 而是 10℃ 左右,在 10℃,供体肺保存 24 h 后的肺功能优于保存在 4℃ 或 15℃ 的供体肺^[10]。Steen 等^[11]将犬的 NHBD 供肺在 8℃(7~12℃)保存 6 h 之后进行同种异体移植,效果满意。

采用经肺血管的灌注冷保护液的方式,可以将供体肺很快降温而达到低温保存的效果。在兔的同种异体肺移植实验中,Raemdonck 等^[12]观测了供肺的温度下降速度,用 4℃ 的肺保护液从肺动脉灌注,不到 5 min 肺的中心温度即低于 10℃。在实际情况下,由于伦理等因素,可能不能采用这种使用最普遍的方法。在犬的肺移植研究中,Steen 等^[11]用胸腔内冷盐水浸润犬 NHBD 供肺的方式降温,6 h 后进行同种异体移植,在 24 h 的术后观察期间,受体的生存状况良好满意。Takashima 等^[8]也采用胸腔内冷盐水冷却犬供肺的方法,对热缺血 3 h 的供肺仍保存效果良好。不过,用这样的方法将供肺降到目标温度需要的一定的时间。Raemdonck 等^[13]进行兔同种异体肺移植实验发现,自然冷却时,即使循环已经停止了 2 h,供肺的核心温度仍然超过 30℃,而当供肺浸润在 1℃ 的冷盐水时,2 h 后,供肺的核心温度才低于 20℃。

5 肝素及抗凝

HBD 肺移植在供肺灌注之前均常规静脉注射肝素。肝素具有抗凝作用,防止肺血栓形成,利于肺保护液在灌注的时候均匀分布,从而充分保护供肺。肝素还可以防止缺血后内皮功能失调,可以使缺血再灌注损伤打击后的血管舒张,这种舒张作用并不依赖肝素的抗凝作用。但对于大多数 NHBD 供体,由于在循环停止之前,NHBD 只是潜在的供者,预先肝素化可能导致伦理方面的难题。不过,有一些动物实验中,即使未肝素化,供肺移植

3 h 的实验犬采用胸腔内冷盐水冷却供肺的方法,仍保存效果良好。Luh 等^[13]以猪进行的实验研究中,NHBD 供体处死前也未肝素化,热缺血 90 min,灌注时方予以肝素,移植后肺的功能满意。有研究在实验犬处死前未肝素化并热缺血 2 h,予以 LPD 液灌注后应用大剂量尿激酶(120 000 u),在术后 6 h 的观察期间,其血气交换结果明显优于未应用尿激酶组。

6 灌注液

灌注液是肺保护中的重要环节。目前尚无专门的用于 NHBD 的肺保护液,其所用的肺保护液基本上来源于 HBD 中使用的肺保护液。EC 与 UW 液是细胞内液型肺保护液的代表,国际上大部分肺移植中心采用的是 EC 液。在临床中,EC 液大约可以安全保存 HBD 供肺 6~8 h。EC 液与 UW 液均含有高浓度的钾离子。钾离子高可以导致血管内皮损伤及肺血管收缩灌注液分布不均匀不利于肺保护。有学者认为,肺保护液中的 K 离子浓度不应该超过 20 mmol/L,否则肺保护的效果就会降低。Sufan 等^[14]认为两种液体存在一个“开关”时间,该开关时间为 6~8 h,EC 液在短期内(4~6 h)的保护效果比 UW 液更确切,过了 8 h 之后,UW 液显示出比 EC 液更好的保存效果,这体现在肺动脉血流量、PVR、AWP 及氧交换能力上。细胞内型肺保护液的代表则是 IPD 液,LPD 液在实验中可以安全保存狗的供肺达 48 h^[15],但在临床中,却无法取得这样的效果。Egan 等^[1]在以猪为模型的同种异体 NHBD 肺移植实验中,热缺血时间为 2 h,以冷改良 EC 液灌注后保存在 4℃ EC 液中,在术后 8 h 的观察期间,移植肺功能较满意。Loeche 等^[16]对供体猪热缺血 90 min 后经肺动脉灌注冷 IPD 液,供肺在 4℃ 的林格液中保存 17 h,术后移植肺的功能虽然比 HBD 对照组要差一些,但仍令人满意。在此上述 3 种肺保护液中,LPD 液保护肺功能的效果最佳,其肺血流量及静态肺顺应性更高,PVR 及 AWP 更低^[14]。

7 临床应用

目前 NHBD 肺移植主要还在实验研究阶段,但也有成功的临床尝试。Steen 等^[17]在完成了一系列的 NHBD 肺移植动物实验后,在临床上成功施行了 NHBD 肺移植手术。供体为 54 岁男性,死于心肌梗死,热缺血时间为 65 min,采用胸腔灌冷 LPD 液方法冷却供肺,冷保存时间为 8 h。在此期间,他们完成了包括与供体捐献手续、配型、病毒学检查、放射学检查、纤支镜检查及肺功能评价等工作。受体为 54 岁女性,手术后恢复良好,顺利出院。

尽管 NHBD 肺移植研究已经取得了很多进展,并且在临床上得以成功实践,但总的说来,其原理和机制的影响仍有待进一步研究,才可能真正在临床上大规模地采用 NHBD 供肺。

- pool. Ann Thorac Surg, 1991, 52: 1113.
- 2 Kayano K, Date H, Uno K, et al. Evaluation of the viability of the canine cadaver lung transplantation. Acta Med Okayama, 1993, 47: 329.
- 3 Greco R, Cordovilla G, Sanz E, et al. Warm ischemic time tolerance after ventilated non-heart-beating lung donation in piglets. Eur J Cardiothorac Surg, 1998, 14(3): 319.
- 4 Binns OA, De Lima NF, Buchanan SA, et al. Impaired bronchial healing after lung donation from non-heart-beating donors. J Heart Lung Transplant, 1996, 15(11): 1084.
- 5 Ulicny KS, Egan TM, Lambert CJ, et al. Cadaver lung donors: effect of pre-harvest ventilation on graft function. Ann Thorac Surg, 1993, 55: 1185.
- 6 Van Raemdonck DE, Jannis NC, De Leyn PR, et al. Alveolar expansion itself but not continuous oxygen supply enhances postmortem preservation of pulmonary grafts. Eur J Cardiothorac Surg, 1998, 13(4): 431.
- 7 Haniuda M, Hasegawa S, Shiraiishi T, et al. Effects of inflation volume during lung preservation on pulmonary capillary permeability. J Thorac Cardiovasc Surg, 1996, 112(1): 85.
- 8 Takashima S, Date H, Aoe M, et al. Short-term inhaled nitric oxide in canine lung transplantation from non-heart-beating donor. Ann Thorac Surg, 2000, 70(5): 1679.
- 9 Eppinger MJ, Ward PA, Jones ML, et al. Disparate effects of nitric oxide on lung ischemia reperfusion injury. Ann Thorac Surg, 1995, 60: 1169.
- 10 Wang LS, Yoshikawa K, Miyoshi S, et al. The effect of ischemic time and

- temperature on lung preservation in a simple ex vivo rabbit model used for functional assessment. J Thorac Cardiovasc Surg, 1989, 98: 333.
- 11 Steen S, Ingemarsson R, Budrikis A, et al. Successful transplantation of lungs topically cooled in the non-heart-beating donor for 6 hours. Ann Thorac Surg, 1997, 63(2): 345.
- 12 Van Raemdonck DEM, Jannis NCP, Rega FRL, et al. External cooling of warm ischemic rabbit lungs after death. Ann Thorac Surg, 1996, 62: 331.
- 13 Luh SP, Tsai CC, Shau WY, et al. The effects of inhaled nitric oxide, gabexate mesilate, and retrograde flush in the lung graft from non-heart-beating minipig donors. Transplantation, 2000, 69(10): 2019.
- 14 Sufan Chien, Futing Zhang, Wenying Niu, et al. Comparison of university of Wisconsin Euro-Collins low-potassium dextran, And Krebs-Henseleit solutions for hypothermic lung preservation. J Thorac Cardiovasc Surg, 2000, 119: 921.
- 15 King RC, Binns OAR, Kanithanon RC, et al. A cellular low-potassium dextran preserves pulmonary function after 48 hours of ischemia. Ann Thorac Surg, 1997, 64: 795.
- 16 Loehe F, Mueller C, Annecke T, et al. Pulmonary graft function after long-term preservation of non-heart-beating donor lungs. Ann Thorac Surg, 2000, 69(5): 1556.
- 17 Steen S, Sjoberg T, Pierre L, et al. Transplantation of lungs from a non-heart-beating donor. Lancet, 2001, 357(9259): 825.

(收稿日期: 2002-12-10)

碱性成纤维细胞生长因子在内耳的生物学作用

熊敏¹ 翟所强² 综述 姜泗长² 顾瑞² 杨伟炎² 张素珍² 审校

¹ 广州军区广州总医院耳鼻喉科(广州 510010); ² 解放军总医院耳鼻喉科研究所(北京 100853)

碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)是由 155 个氨基酸组成的多肽,很多文献表明 bFGF 能刺激多种组织细胞的增殖、分化,且对多种组织细胞的损伤修复有促进作用。bFGF 对全身脏器的影响如:中枢神经系统和周围神经系统研究较多,近来 bFGF 在内耳发育、内耳感觉上皮损伤后修复、再生及其在临床上对感音神经性聋的防治均有报道,表明 bFGF 在内耳生物学作用中起重要作用。以下就 bFGF 在内耳发育、内耳感觉上皮损伤后修复再生等方面作用进行综述。

1 bFGF 在内耳发育中的作用

1.1 bFGF 对耳蜗前庭神经节发育的影响 Hossain 等^[1]对 bFGF 在耳蜗前庭神经节发育的影响进行了详尽的研究。取 14 期鸡胚听泡进行培养,结果表明 bFGF 在耳蜗前庭神经节的早期发育中起着重要作用。外源性 bFGF 能使培养听泡的神经母细胞游出的数量增加,生长更加旺盛,比没有加 bFGF 培养液及在体胚胎耳蜗前庭神经原发育更为早熟。bFGF 抗体在早期对神经节细胞、神经纤维母细胞的游移及分化有明显的抑制作用。听泡内源性 bFGF 对其正常发育过程起着重要作用,外源性 bFGF 能进一步刺激内源性 bFGF 的分泌,使听泡前庭神经

神经节细胞本身或其前体细胞。在体外培养中 bFGF 能够直接作用于神经母细胞,或通过作用于非神经细胞,使非神经细胞释放其他营养因子,从而间接促进神经母细胞的发育,促使耳蜗前庭神经节的分化成熟。

1.2 bFGF 对听及前庭中枢发育的影响 Zhou 等^[2]观察了 bFGF 对听及前庭中枢神经原发育的影响。他们采用原代细胞培养的方法对胚胎 5.5 d 鸡听及前庭中枢神经原进行观察。实验分两组:一组培养液中加入 bFGF (10 ng/ml),培养 5~7 d;另一组只加胎牛血清。结果表明:在头 3 d 经 bFGF 处理的神经原长度是胎牛血清组的两倍,但是游出的神经母细胞数量差异无显著性。在 4~5 d 后 bFGF 组神经原开始变性坏死;而血清组则可以继续存活数周。bFGF 组神经原的分化,包括轴突及树突的形成在 1~2 d 之后;而胎牛血清组则需要 5~7 d。应用免疫组化方法观察发现在体胚胎 5.5 d 鸡胚听及前庭中枢神经母细胞出现 FGFR 阳性区域。bFGF 对耳蜗前庭中枢神经原的生长发育起促进作用。

1.3 bFGF 对内耳胚胎软骨形成的影响 bFGF 是软骨细胞分裂较强的促进剂,体外培养亦证实 bFGF 在软骨细胞分化中起着重要作用。Zhou 等^[3]研究了 bFGF 在内耳软骨形成