

· 国外学术动态 ·

从多伦多经验谈肺移植进展

朱艳红 昌盛 陈静瑜

1983 年多伦多总院进行了全球首例成功的单肺移植,此后,随着供受者选择、肺保存技术、肺移植手术技术、围手术期管理和免疫抑制剂的进步,肺移植得以在全世界范围内广泛开展,术后早期生存率显著提高,肺移植也成为治疗终末期肺病可选择的惟一方法。近 5 年来,肺移植每年以 1500 例的速度在增长,而在 2000 年后全世界每年单、双肺移植的数量已经持平,2002 年后双肺移植已超过单肺移植,至 2004 年底全世界共完成单、双肺移植约 19 000 多例,术后 1 年生存率为 76%^[1]。在肺移植发展的历程中,多伦多肺移植中心无论在临床研究还是基础研究均处于领先地位,现根据我们近年来在多伦多肺移植中心的学习体会,从多伦多肺移植经验谈一谈当今肺移植进展。

在最初的 10 年中,多伦多主要在肺移植术式上进行探索,包括单肺移植、整体双肺移植、序贯式双肺移植(体外循环或非体外体外循环下进行)、肺叶移植,后 10 年则在延长肺移植患者等待时间,增加供肺的利用及功能等方面进行了研究。1986 年多伦多在单肺移植成功的基础上又进行了首例成功的双肺移植。1988 年双肺移植治疗的肺囊性纤维化受者存活至今。20 年来该中心一共进行肺移植 674 例,其中双肺移植 551 例(81.8%)、单肺移植 103 例(15.3%)、心肺移植 20 例(2.9%)、再次肺移植 21 例(3.1%)。所有病例中以慢性阻塞性肺病(COPD)受者最多(32.9%),其次是特发性肺纤维化(26.7%)和肺囊性纤维化(23.1%)。共实施儿童肺移植 22 例,其中再次肺移植 1 例。儿童肺移植受者原发病多为肺囊性纤维化,占 77%,其他分别是原发性肺动脉高压(9%)和 Eisenmenger 综合征(5%)。该中心自 20 世纪 90 年代以来,肺移植数量逐年增多,尤其是 2000 年以来稳定在每年 40~70 例之间,成为全世界每年肺移植总数超过 50 例的三大肺移植中心之一。目前在多伦多手术技术已完全成熟,双肺移植的比率占了 90%,术后近期(<30 d)死亡率已低于 10%,长期效果显示受者 5 年存活率为 52%,10 年存活率为 34%。

当前国际上肺移植发展的主要障碍是供体的短缺,受体常常因为等不到合适供体,病情加重而死亡。肺移植围手术期的死亡原因主要有原发性移植肺失功(primary graft dysfunction, PGD)、急性排斥反应和感染,1 年以上的主要死

亡原因是闭塞性细支气管炎综合征。多伦多肺移植中心在此方面进行了探索,具体有以下进展。

一、延长受体等待时间

据加拿大安大略省的资料显示,由于供体短缺每年有 20%~25% 的患者在等待中死亡。因此关键是如何尽可能延长患者等待时间。尽管体外循环(ECMO)技术在挽救终末期呼吸功能衰竭方面有一定效果,但其有操作技术复杂,需要体外人工血泵辅助,且血流动力学影响大、费用高昂、使用时间不能过长等缺点。2003 年德国研制出一种简易的体外膜氧合装置—NovaLung[®]^[2-3],已在欧洲开始应用。该技术操作简单,采用股动、静脉插管,体外接 NovaLung[®]膜氧合装置,其特点是血流阻抗小,管道流量大,仅依靠心脏泵血,无需采用体外人工血泵。它只需将体内部分血液引出体外氧合,但氧合效率高,CO₂ 清除完全,一般 6 h 以内即可明显改善高碳酸血症情况。配合采用保护性肺通气策略可以达到较满意效果,且基本上避免了 ECMO 技术的主要副作用。Fischer 等^[4]首先报道了 2003 年 3 月至 2004 年 8 月 7 例呼吸机依赖的高危高碳酸血症患者采用 NovaLung[®]技术,其中 6 例成功过渡到接受肺移植,另 1 例因细菌感染致多器官衰竭死亡。7 例患者平均使用时间(14.7±8.0) d,最长 28 d,使用后 PaCO₂ 显著下降,PH 恢复正常。NovaLung[®]已在多伦多用于动物试验,但目前尚无临床应用。

二、提高供肺的可利用度

目前的肺移植供体仍以尸体供者为主,为了缓解供肺紧张,应尽可能对现有供体更好地加以利用。在过去的几年中由于强化了对供肺的管理,对扩大供体及边缘供体利用率的提高,使得以往供肺 10% 左右的利用率得以明显提高,据统计在过去的 10 年中加利福尼亚供肺利用率从 5% 升至 38%,而多伦多则达到 43%^[5-6]。多伦多肺移植中心提出通过更好地管理供体、预测术后肺功能、离体供肺的评估、离体供肺的修复四方面来达到此目的。在总的供体数量变化不大的基础上,而能使可用的供肺数量明显增加,且移植效果也不减低。

1. 加强供肺的管理及边缘供体的利用:供体的机械通气、肺炎、误吸、血流动力学不稳定、内分泌失调、低体温、凝血功能紊乱和外伤等都可引起炎症反应从而导致移植后肺的缺血再灌注损伤,对此许多移植中心加强了对供体的管理:如纠正代谢紊乱、维持激素低水平的用量、稳定血流动力学及加强呼吸道的管理。2001 年多伦多在临床上应用其研究的专门用于肺灌注保存的低钾右旋糖酐液(LPD 液),取得了很好的临床疗效^[7]。以前一般肺的冷缺血时间为 4~6 h,

作者单位:214073 江南大学附属医院 无锡市胸科医院肺移植中心(朱艳红、陈静瑜);华中科技大学同济医学院附属同济医院器官移植研究院(昌盛)

通讯作者:陈静瑜,Email:jingyuchen@hotmail.com

而根据多伦多的经验,用 LPD 液灌注供肺时肺的冷缺血时间临床上达到 12 h,移植肺功能仍保持良好。2001 年瑞典报道应用 LPD 液灌注保存心跳停止数小时后的供肺仍能得到较好的肺功能^[8]。2003 年 LPD 液获美国食品与药品管理局 (FDA) 批准后,目前全世界主要的肺移植中心均应用此液体进行肺灌注保存。

在肺移植开展的早期阶段,通常只有被认为“理想”的供体才会被用于肺移植,这就造成仅有差不多不到供体总数 10% 的供肺得到利用^[5]。近来研究表明,对扩大供体及边缘供体利用率提高使供肺利用率增加到了 40%^[9]。另外,如果以肺组织含水量和肺泡液体清除率作为评判标准,那么 41% 的供肺将可安全利用^[10]。因此,重新修正以往的供肺选择标准,术前即准确评估、预测术后移植肺功能,并对供体进行优化处理,可望在总的供体数量变化不大的基础上,使肺移植数量明显增加,且移植效果也不减低。

2. 预测术后肺功能:术前供体切取时即对术后近期移植肺功能进行准确评估、预测,对肺移植效果及受者的长期存活意义重大,它可以在一定程度上减少肺移植术后 PGD 的发生率。肺移植术后 1 个月内,PGD 是导致肺移植近期死亡的主要原因。它包括供者因素、移植手术本身的因素(如缺血再灌注损伤、外科手术创伤等)、受者因素(原发疾病因素、免疫学因素等)及医源性因素等。术前对多种因素进行分析可预测术后肺功能。多伦多总院肺移植中心对 128 例肺移植进行分类,根据供体质量分为标准供体与扩大供体,总共 123 个供体,63 (51%) 个为扩大供体,术后 30 d 的病死率为 17.5% (11/63),而标准供体术后 30 d 的病死率为 6.2% (4/65)^[11]。根据受体情况分为标准受体与非标准受体。又根据相互配伍分为 4 组:标准供体 + 标准受体组、标准供体 + 非标准受体组、扩大供体 + 标准受体组和扩大供体 + 非标准受体组。结果分析显示,标准供体 + 标准受体组术后 30 d 病死率为 6.5% (3/46);标准供体 + 非标准受体组为 5.3% (1/19);而扩大供体 + 标准受体组为 15.6% (7/45);扩大供体 + 非标准受体组为 22.2% (4/18)^[12]。由此可见,供体质量对移植效果有显著影响。

移植相关的肺损伤包括两方面因素:同种抗原依赖性因素和非同种抗原依赖性因素。前者又包括 MHC 错配、急性排斥反应、不恰当的免疫抑制剂应用等。这些因素可使同种反应性 T 细胞活化并发挥效应,对供肺组织造成损伤;后者则包括缺血再灌注损伤上调免疫应答、巨细胞病毒感染、脑死亡导致儿茶酚胺释放、机械通气和不当的治疗等,这些因素均可导致组织损伤。其中同种抗原依赖性因素和非同种抗原依赖性因素之间又可以相互作用,进一步加重损伤的程度,最终导致移植肺失功。

缺血再灌注现象所造成的肺损伤在肺移植过程中几乎不可避免,它是由多种因素激活炎性细胞因子,进而作用于肺组织所导致。这些因素包括供肺的冷保存、脑死亡、低血压、创伤、机械通气、肺部炎症及误吸等^[13]。供肺的冷保存、植入过程的热缺血、移植物的再灌注共同造成细胞受损,这

种受损如果是不可逆的,即导致细胞死亡;反之,细胞得以存活并最终恢复正常。多伦多总院肺移植中心取该中心连续 20 例肺移植病例手术即期的肺活检组织进行短期观察发现,在供肺植入前的冷缺血和热缺血期间几乎没有凋亡细胞,而组织再灌注后则逐渐出现大量凋亡细胞。凋亡的发生具有时间依赖性,再灌注后 30、60 和 120 min,凋亡细胞占总细胞数量的比例分别是 16.6%、22.1% 和 34.9%^[14]。凋亡细胞主要为肺泡 II 型细胞。但凋亡的程度与临床短期效果(如 PO_2 、30 d 病死率和术后机械通气维持时间等)无显著相关性,也与供肺总的缺血时间、保存液类型及供肺切取完成前的机械通气时间等无显著相关性。进而,他们在一项大鼠的肺移植实验研究中发现,供肺冷保存 20 min、6 h、12 h,仅有少量细胞 (<2%) 发生死亡,但冷保存 18、24 h,则分别有 11% 和 27% 的细胞发生死亡,死亡的类型以坏死为主^[15]。在供肺植入(即经历再灌注)后 2、6、12 h 组有约 30% 的细胞发生凋亡,<2% 的细胞发生坏死,而 18、24 h 组则分别有 21% 和 29% 的细胞发生坏死,<1% 的细胞发生凋亡。进一步说明了供肺的功能随冷缺血时间的延长而下降。

3. 离体肺的评估:以往对供肺的质量评估通常基于临床经验和大体所见,但多伦多总院肺移植中心在一系列实验及临床研究后认为,对供体的评估还应结合生物学评估和离体实验评估。其基本过程包括:首先,供体获取后按传统方法进行大体上的生理学功能评估,如认为可以利用,再进行生物学方面的评估;如认为不适合,则进行离体预处理,假如这一步骤完成后认为供肺可以利用,则重新进行生物学评估,否则进一步做基因治疗或通过其他方法对供肺进行修复,之后再次进行生物学评估。如果生物学评估认为供肺满意,则用于移植,反之,则弃用。生物学评估主要指细胞因子水平上的检测分析,即判断缺血再灌注损伤的程度及术后发生原发性移植肺失功的危险度。

细胞因子在缺血再灌注损伤中也发挥着至关重要的作用,与缺血再灌注中的炎性反应过程相关。根据其作用的不同,可以将这些细胞因子分为两大类:促炎性细胞因子,如 IL-6、IL-8、TNF- α 、IFN- γ 和 IL-1 β ;抗炎性细胞因子,如 IL-10。研究显示,供肺再灌注之前(获取及冷保存过程)促炎性细胞因子/抗炎性细胞因子(如 IL-8/IL-10)的比率在一定程度上可以反映原发性移植肺失功发生的危险程度。比率越高,术后 30 d 内的病死率就越高,二者呈正相关。如果能够用很短的时间完成这一检验,从而预先判定供肺的质量,指导肺移植手术实施,无疑对减少原发性移植肺失功的发生,提高术后存活有积极意义。多伦多总院肺移植中心进行了有意义的尝试,他们通过 Real-time PCR 技术在供肺冷保存期间立即进行相关细胞因子检测分析,1 h 内获得结果,从而决定供肺是否可用,是否需要供肺作进一步的修复处理^[16]。另外在缺血再灌注过程中相关炎性反应导致的基因调节被看作是原发性移植肺失功的分子生物学标志^[17]。

4. 基因治疗进行供肺修复:离体供肺生物学评估如果认为供肺不可以利用,则给予基因治疗加以修复后再利用,

如转入 IL-10 基因。多伦多在一系列猪和老鼠的动物实验中发现,供肺植入前转入腺病毒转染的 IL-10 基因可明显改善缺血再灌注所造成的急性移植肺损伤的程度,甚至还有可能对慢性移植肺损伤(如闭塞性细支气管炎)有所帮助, Martins 等^[18]在猪的动物实验研究发现经纤维支气管镜转入 IL-10 基因可明显提高供肺的功能。同时为了减少腺病毒转染的一些不利影响,给予一定量的免疫抑制剂可以显著提高转染效率和体内表达持续时间,获得良好效果^[19]。另外的研究发现,器官获取过程中经支气管内转基因治疗较切取后保存过程中的转基因治疗效果更佳^[20]。这也提示,如果为尽可能地减少缺血再灌注损伤的影响,常规给予经支气管内转基因治疗或许是一个不错的手段。以上研究提示,以各种方法(如转基因治疗及应用 caspase 抑制剂或血管紧张素转换酶抑制剂等)调节供肺缺血再灌注期间细胞凋亡与坏死之间的平衡,可能对改善术后移植肺功能,减少原发性移植肺失功有所帮助。

三、分子生物学 AlloMap 技术无创监测移植后免疫排斥反应

分子生物学技术监测免疫排斥反应在心肺移植领域的应用是一个崭新的课题,其原理为利用对血液中单个核细胞等免疫细胞的上百种基因表达状态的分析,来评估机体的免疫排斥系统的状态,从而迅速及时地监测机体对移植物的排斥反应程度。AlloMap 是最新系统化的基因检测系统,最早是在 2005 年由美国 XDx 研究中心发展出来的,主要在全美国最顶尖的心脏移植中心使用,此外欧洲少数几个研究中心也在使用。研究结果显示它可能是心肺移植领域的巨大进展,是一种移植患者很容易接受的免疫监测方法。它可用于心肺移植术后长期的免疫监测,同时也能用在其他脏器移植上。近 2 年来多伦多肺移植中心应用 AlloMap 进行免疫监测,资料显示排斥和感染在肺移植后患者的外周血中有不同的基因表达。他们将进一步寻找出区分排斥与感染间具有标志性的基因,这将有希望仅用血液就可鉴定肺移植后患者是否发生排斥反应,而无需进行有创性检查。同时,AlloMap 也可以用于评估机体的免疫状况及免疫抑制药物的有效性。

参 考 文 献

- [1] Trulock EP, Edwards LB, Taylor DO, et al. Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: twenty-second official adult lung and heart-lung transplant report - 2005. *J Heart Lung Transplant*, 2005, 24:956-967.
- [2] Reng M, Philipp A, Kaiser M, et al. Pumpless extracorporeal lung assist and adult respiratory distress syndrome. *Lancet*, 2000, 356: 219-220.
- [3] Matheis G. New technologies for respiratory assist. *Perfusion*, 2003, 18: 245-251.
- [4] Fischer S, Simon AR, Welte T, et al. Bridge to lung transplantation with the novel pumpless interventional lung assist device NovaLung. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2006, 131:719-723.

- [5] de Perrot M, Snell G, Babcock WD, et al. Strategies to optimize the use of currently available lung donors. *J Heart Lung Transplant*, 2004, 23:1127-1134.
- [6] Shemie SD, Ross H, Pagliarello J, et al. Organ donor management in Canada: recommendations of the forum on Medical Management to Optimize Donor Organ Potential. *CMAJ*, 2006, 174:S13-S32.
- [7] Fischer S, Matte-Martyn A, de Perrot M, et al. Low-potassium dextran preservation solution improves lung function after human lung transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2001, 121: 594-596.
- [8] Fischer S, Hopkinson D, Liu M, et al. Raffinose improves the function of rat pulmonary grafts stored for twenty-four hours in low-potassium dextran solution. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2000, 119: 488-492.
- [9] Gabbay E, Williams TJ, Griffiths AP, et al. Maximizing the utilization of donor organs offered for lung transplantation. *Am J Respir Crit Care Med*, 1999, 160:265-271.
- [10] Ware LB, Wang Y, Fang X, et al. Assessment of lungs rejected for transplantation and implications for donor selection. *Lancet*, 2002, 360:619-620.
- [11] Pierre AF, Sekine Y, Hutcheon MA, et al. Marginal donor lungs: a reassessment. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2002, 123:421-427.
- [12] Pierre AF, Sekine Y, Hutcheon M, et al. Evaluation of extended donor and recipient criteria for lung transplantation. *J Heart Lung Transplant*, 2001, 20:256.
- [13] de Perrot M, Liu M, Waddell TK, et al. Ischemia-reperfusion-induced lung injury. *Am J Respir Crit Care Med*, 2003, 167: 490-511.
- [14] Fischer S, Cassivi SD, Xavier AM, et al. Cell death in human lung transplantation: apoptosis induction in human lungs during ischemia and after transplantation. *Ann Surg*, 2000, 231:424-431.
- [15] Fischer S, Maclean AA, Liu M, et al. Dynamic changes in apoptotic and necrotic cell death correlate with severity of ischemia-reperfusion injury in lung transplantation. *Am J Respir Crit Care Med*, 2000, 62:1932-1939.
- [16] Kaneda H, Gutierrez C, de Perrot M, et al. Pre-implantation multiple cytokine mRNA expression analysis in donor lung grafts predicts survival after lung transplantation in humans. *J Heart Lung Transplant*, 2004, 23:S49-S50.
- [17] Yamane M, Liu M, Kaneda H, et al. Reperfusion-induced gene expression profiles in rat lung transplantation. *Am J Transplant*, 2005, 5:2160-2169.
- [18] Martins S, de Perrot M, Imai Y, et al. Transbronchial administration of adenoviral-mediated interleukin-10 gene to the donor improves function in a pig lung transplant model. *Gene Ther*, 2004, 11:1786-1796.
- [19] Suga M, Gladly R, Xing Z, et al. Transplant immunosuppression enhances efficiency of adenoviral-mediated gene retransfection: inhibition of interferon-gamma and immunoglobulin G. *Ann Thorac Surg*, 2002, 73:1092-1097.
- [20] Cassivi SD, Cardella JA, Fischer S, et al. Transtracheal gene transfection of donor lungs prior to organ procurement increases transgene levels at reperfusion and following transplantation. *J Heart Lung Transplant*, 1999, 18:1181-1188.

(收稿日期:2006-05-25)

(本文编辑:韩静)