

供肺损伤机制和未来治疗策略

南京医科大学第一附属医院心胸外科(南京 210029) 方友平 综述 陈广明 审校

摘要 肺移植术已从实验阶段成功地应用于临床,成为治疗终末肺疾病的主要手段,肺保存技术也得到了长足的发展。但术后仍有部分患者发生严重的缺血再灌注损伤,导致移植肺功能衰竭。本文对供肺损伤机制,临床肺移植中减轻甚或避免移植肺损伤的对策以及未来治疗策略作一综述。

关键词 供肺损伤;预处理;基因治疗

肺移植初期提高远近期效果主要集中于改进手术方法及免疫抑制治疗方面。但随着这些问题的解决,术后早期死亡率或长期生存率没有明显改变^[1]。尽管临床肺移植已取得成功,但许多资料显示,肺移植术后仍有15%~20%患者肺受到严重损害,需持续正压通气支持,药物治疗,有时需用体外膜肺改善通气^[2]。术后早期移植肺功能衰竭、排斥、感染使得移植患者一年内死亡率30%左右。此外,严重的再灌注损伤增加供肺急性排斥反应的发生和长期的肺功能衰竭^[3]。从分子水平理解供肺损伤机制的病理生理过程,可帮助我们探寻新的治疗策略,提高临床肺移植的成功率。

1 保存期肺损伤

综合性的肺保存技术有助于减轻肺获取前、缺血期、再灌注后的损伤。移植肺功能障碍是多因素损害累积的结果。保存期肺损伤可分为三个主要损伤期:①取肺之前供体脑死亡相关的肺损伤。②缺血再灌注(I/R)损伤。③机械通气导致的肺损伤。每个环节的损伤都可能最终影响移植后器官功能。

1.1 供体脑死亡 脑死亡者可产生对肺的“突然损伤”(blast injury)。实验研究表明,脑死亡导致儿茶酚胺的立即释放,接着使血液和实质器官的前炎性细胞因子增加^[4,5]。前炎性细胞因子释放使得I级、II级组织相容性复合抗原上调和白细胞在不同器官内聚集,降低器官对I/R的耐受,导致迟发的器官衰竭^[6,7]。许多临床肺移植研究显示,供肺的细胞因子和脑死亡的方式对原发和迟发肺功能衰竭有明显影响。

1.2 缺血再灌注损伤 关于I/R损伤的发生机制进行了大量的研究,近几年对肺I/R损伤的复杂生物学机制有了深入的理解。不同介质的作用及它们与特定类型细胞的相互作用已经阐明。肺I/R损伤中有说服力的介质包括细胞因子、活性氧基团(ROS)、蛋白酶、磷脂酶、花生四烯酸级联产物、内皮

在动物实验模型中阻抑这些介质中的任一种都可减轻再灌注损伤和改善肺功能。细胞因子在调节炎症过程中起关键作用。实验研究表明,肾、肝、心、肺等实质器官的I/R诱导前炎性细胞因子迅速释放。临床肺移植中,已观察到前炎性细胞因子和抗炎性细胞因子如肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、干扰素- γ (IFN- γ)、白介素(IL)-10、IL-12、IL-18,在肺组织低温缺血期是升高的,再灌注后迅速下降。而再灌注后只有化学因子IL-8明显增加,再灌注后2小时的IL-8水平可作为肺功能和移植效果的预测指标^[8]。这个发现表明,再灌注时给予抗IL-8单克隆抗体可减轻组织损伤,提高肺功能。早期的实验研究也得出相似的结论,在再灌注开始给予抗IL-8抗体明显降低中性粒细胞浸润,减少纤维素渗出和肺泡结构破坏。供体PaO₂、脑死亡原因、吸烟史、痰培养、通气时间等指标不影响细胞因子的释放。但是,供体的年龄和再灌注后IL-10水平呈负相关。IL-10是一种重要的抗炎细胞因子,这个发现可解释供体年龄大者,供肺易遭受I/R损伤,术后死亡率较高^[1]。

虽然化学因子可由不同细胞释放,但国外有学者在猪单肺移植模型中发现再灌注后IL-8主要是由支气管内皮细胞释放,在再灌注时肺复温和再充气也诱导支气管内皮细胞释放IL-8。另外,研究表明,TNF- α 、PAF、ROS可通过激活丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)、核因子- κ B(NF- κ B)诱导支气管内皮细胞释放IL-8。IL-8是一种强的中性粒细胞引诱剂,在损伤肺中通过诱导进行性的中性粒细胞浸润影响移植肺效果。已证明中性粒细胞在再灌注后数小时即增加肺损伤,再灌注后30~60分钟的损伤最可能是由巨嗜细胞和淋巴细胞激活引起。最近裸鼠和CD4/CD8淘汰鼠的研究表明,I/R损伤早期T细胞起重要作用^[9]。

肺保存过程中,供肺的内皮细胞首先接触保护液,故最易损伤的是肺内皮细胞。肺内皮细胞产

氧、一氧化氮)和内皮产生的前炎性物质(内皮素、PAF)。肺的内皮细胞是否损伤,取决于这两种物质的动态平衡。实验表明,保护内皮完整可明显改善肺功能。

ATP 缺乏是 I/R 损伤发生的重要原因之一。缺血后细胞供氧供能明显减少,线粒体功能受损,无氧酵解代替有氧代谢,细胞供能严重不足,再灌注时血供恢复,水和钙离子立即涌入细胞内,发生细胞的爆发性水肿和严重钙超载(calcium overload)。同时线粒体生物氧化功能异常可形成细胞毒性产物,导致膜脂质过氧化和细胞结构损伤。进一步的肺保存研究,能量耗竭问题不容忽视。

1.3 肺机械通气损伤 在供体脑死亡和 I/R 对肺损伤后,肺又要接受再灌注后数小时的机械通气。机械通气对已损伤的肺再次产生损害^[10]。肺移植早期,不同通气方式的效果,临床还没有研究报道。但有动物实验研究表明,与保护性通气方式相比,高通气量和没有行 PEEP 明显降低肺功能。未来的肺移植研究将更多关注机械通气的作用。

2 临床肺移植中减轻肺损伤的对策

2.1 肺保存液 器官保存液分为细胞内型如 Euro-Collins(EC)和 University of Wisconsin(UW),细胞外型如 Low-Potassium Dextran(LPD)和 Celsior。实验研究证实用 LPD 液保存,移植肺功能优于 EC 或 UW 液保存。LPD 液能较好的分布导致有利的保存效果^[11]。同时在再灌注时能改善微循环血流。此外,研究显示 LPD 液对肺泡 II 型上皮和内皮细胞的毒性作用较轻。和 EC 液相比可保护肺泡表面活性物质功能^[12]。LPD 通过加入葡萄糖(glucose)和棉子糖作进一步改进。加入少量的葡萄糖在肺膨胀时提供有氧代谢的底物。棉子糖是一种三糖,提高保存液的胶体渗透压可防止水的弥散和细胞肿胀。LPD-glucose 液已证明改善微循环可减轻缺血末期组织损伤和保持细胞完整性,提高再灌注后移植肺功能^[13]。

越来越多临床和实验资料提示,LPD 液可能是最有前途的肺保存液,许多移植中心开始使用 LPD-glucose 保存液进行临床肺保护。

2.2 逆行灌注 Sarasm 等在 1993 年开始报道肺血管系统逆行灌注在临床肺移植中的可能作用。灌注液经左房可灌注双侧支气管和肺循环,限制灌注液分布时肺血管收缩效应。实验研究已证实逆行灌注与顺行灌注相比可明显改善肺保存。虽然可以逆行灌注,但有研究表明用前列腺素 E₁(PGE₁)预处理

外有学者联合应用原位顺行灌注和逆行灌注,保护效果明显优于单用顺行灌注^[14]。

2.3 减轻 I/R 损伤的措施

2.3.1 供体应用类固醇 给予供体大剂量类固醇(甲基强的松龙 15~30mg/kg)可提高肺氧合功能,明显增加可供移植肺的数量。大剂量类固醇可肯定减轻脑死亡后的炎症,但似乎不能改善实验性的肺 I/R 损伤^[15]。

2.3.2 低灌注压力 机械因素也可造成损伤。研究表明移植肺再充气后给予肺缓慢的再灌注,可减轻切应力和保护肺内皮。控制性再灌注可提高氧合,降低肺血管阻力,减轻实质破坏和中性粒细胞浸润。临床肺移植中已开始运用控制性再灌注和限制通气压力策略^[16]。

2.3.3 前列腺素 E₁ 已经证实,细胞内型保存液中加入 PGE₁ 对肺保存是有益的^[17]。PGE₁ 的血管舒张特性使保存液均匀分布,缺血期 cAMP 依赖的蛋白激酶激活,从而减轻再灌注期内皮渗透性及中性粒细胞黏附和血小板积聚。受体血管内给予 PGE₁ 也可减轻肺 I/R 损伤,这可能与其下调前炎性细胞因子和上调抗炎性细胞因子介导的抗炎效应有关。为避免持续注入 PGE₁ 引起全身性的副作用,在将来雾化吸入 PGE₁ 可能是一种有前途的选择^[18]。

2.3.4 一氧化氮(NO) NO 有许多生理特性,包括血管舒张效应,阻止中性粒细胞游走,保护细胞避免 ROS 产生的损伤。但是,再灌注期由于 NO 和氧自由基反应,内皮依赖型 NO 水平迅速降低,因此可以设想 I/R 期补充 NO 可减轻缺血后肺损伤。肺移植实验模型中,肺获取前给予供体或再灌注期给予受体 NO 可减轻 I/R 损伤。目前 NO 类似物,外源性的 NO 即硝酸甘油已开始应用于临床。但 NO 具有双重效应,可和超氧化阴离子反应产生毒性过氧酰硝酸盐,参与肺损伤过程。近期国外有研究认为肺移植再灌注后吸入 NO,肺的氧合功能,拔管时间,ICU 监护时间,一个月内死亡率和随机安慰剂对照组没有显著差异^[19],而对改善气体交换是有效的。NO 对再灌注损伤的作用仍存在争论。

3 未来治疗策略

3.1 缺血预处理(Ischemic preconditioning, IP) 大量研究表明,IP 引发的效应是人和哺乳动物普遍存在的机体内源性保护机制,是防止器官 I/R 损伤的有效方式。临床和实验已证实 IP 可减轻心肝肾移植中 I/R 损伤。肺 IP 研究起步较晚,但已证明肺

前、再灌注期通过阻断肺动脉和主支气管 10~15 分钟,可提高肺功能^[20]。肺 IP 研究将为临床肺保护提供新的策略,但目前临床肺移植中 IP 效应还待于今后进一步深入的研究。

3.2 基因治疗 肺移植中基因治疗是有优势的,因为免疫抑制剂治疗可能允许用相同的病毒载体重复转染而不发生免疫反应^[21]。已有学者证实通过第二代腺病毒载体经气道转染供肺而不累及肝心肾等器官是可能的。低温时转染率明显降低,这种方法可在肺获取和低温前进行有效的转染。鼠单肺移植模型研究中将抗炎因子 IL-10 基因在肺获取前 12~24 小时经气道转染导入供体,可减轻 I/R 损伤,提高肺功能^[22]。大动物实验也得出相似的结果。人类基因治疗用于临床肺移植不久可成为现实。

临床移植肺保存日臻完善。最近 LDP 保存液应用于临床,使得目前肺严重 I/R 损伤的发生率不到 10%。

未来临床肺移植所面临的主要挑战是提高供肺的可利用率。目前等待肺移植的患者不断增加,但供肺只有 20%~30% 可用于肺移植^[23]。因此应探索新的策略以增加供肺的利用。将来,对相对肺源紧缺的现实来说,肺 IP 的研究无疑有着重要的意义;应用基因分析技术有助于我们认知肺移植过程中基因的激活,这将对肺损伤的机制有更新的认识。对肺 IP 和基因治疗的研究将对临床肺移植作出新的贡献。

参 考 文 献

- Hosenpud JD, Benett LE, Keck BM, et al. The registry of the International Society for Heart and lung transplantation; seventeenth official report-2000. *J Heart Lung Transplant*, 2000; 19: 909-931
- Meyers BF, Sundt III TM, Henry S, et al. Selective use of extracorporeal membrane oxygenation is warranted after transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2000; 120: 20-28
- Crocetti JG, O'Brien OB, Furukawa S, et al. The impact of reperfusion injury on the long term development of obliterative bronchiolitis in lung transplantation. *Am J Respir Crit Care Med*, 2000; 161: 507
- Kusaka M, Pratschke J, Wilhelm MJ, et al. Activation of inflammatory mediators in rat renal isografts by donor brain death. *Transplantation*, 2000; 69: 405-410
- Ploeg RJ, Postema F. Induction of organ dysfunction and up-regulation of inflammatory markers in the liver and kidneys of hypotensive brain dead rats; a model to study marginal organ donors. *Transplantation*, 1999; 68: 1884-1890
- Ter Horst GJ, Molema G. Effects of brain death and hemodynamic status on function and immunologic activation of the potential donor liver in the rat. *Ann surg*, 2000; 232: 804-813
- Pratschke J, Wilhelm MJ, Laskowski J, et al. Donor brain death accelerates progressive dysfunction of long surviving rat renal allografts. *Transplantation*, 2000; 69: S349
- Fisher AJ, Donnelly SC, Hirani N, et al. Elevated levels of interleukin-8 in donor lungs is associated with early graft failure after lung transplantation. *Am J Respir Crit Care Med*, 2001; 163: 259-265
- Rabb H, Daniels F, O'Donnell M, et al. Pathophysiological role of lymphocytes in renal ischemia-reperfusion injury in mice. *Am J Physiol*, 2000; 279: F525-F531
- Gillette MA, Hess DR. Ventilator-induced lung injury and the evolution of lung protective strategies in acute respiratory distress syndrome. *Respir Care*, 2001; 46: 130-148
- Chien S, Zhang F, Niu W, et al. Comparison of University of Wisconsin Euro-Collins, Low-Potassium Dextran, and Krebs-Henseleit solution for hypothermic lung preservation. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2000; 119: 921-930
- Struber M, Hohfeld JM, Fraund S, et al. LPD solution ameliorates reperfusion injury of the lung and protect function. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2000; 120: 566-572
- Fischer S, Hopkinson D, Liu M, et al. Raffinose improves 24-hour lung preservation in LPD-glucose solution: a histologic and ultrastructural analysis. *Ann Thorac Surg*, 2001; 71: 1140-1145
- Venuta F, Rendina EA, Bui M, et al. Preimplantation Retrograde pulmonaryplegia in clinical lung transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 1999; 118: 107-114
- Hausen B, Bahr M, Mueller P, et al. Donor pretreatment with amboxol or dexamethasone fails to ameliorate reperfusion injury in experimental lung transplantation. *Transpl Int*, 1998; 11: 186-194
- McRae KM. Pulmonary transplantation. *Curr Opin Anesthesiol*, 2000; 13: 53-59
- Chiang CH, Wu K, Yu CP, et al. Hypothermia and PGE1 produce synergistic attenuation of ischemia-reperfusion lung injury. *Am J Respir Crit Care Med*, 1999; 160: 1319-1323
- Lockinger A, Schutte H, Walmrath D, et al. Protection against gas exchange abnormalities by pre-aerosolized PGE1, iloprost and nitroprusside in lung ischemia-reperfusion. *Transplantation*, 2001; 71: 185-193
- Meade MO, Granton JT, Matte-Martyn EB, et al. A randomized trial of inhaled NO to prevent reperfusion injury following lung transplantation. *J Heart Lung Transplant*, 2001; 20: 307
- Gasparri RI, Jannis NC, Flameng WJ, et al. Ischemic preconditioning enhances donor lung preservation in rabbit. *Eur J Cardiothorac Surg*, 1999; 639-646
- Cassivi SD, Liu M, Boehler A, et al. Transplant immunosuppression increases and prolongs transgene expression following adenoviral-mediated transfection of rat lungs. *J Heart Lung Transplant*, 2000; 19: 984-994
- de Perrot M, Fischer S, Liu M, et al. Transtracheal administration of adenoviral-mediated human IL-10 gene to rat donor lungs: timing of transfection and role of early inflammation on post-transplant graft function. *Mol Ther*, 2001; 3: 258
- Snell GL, Griffiths A, Macfarlane L, et al. Maximizing thoracic organ transplant opportunities: the importance of efficient coordination. *J heart Lung Transplant*, 2000; 19: 401-407