

异种移植技术的发展与挑战：解决全球器官短缺的新途径

刘振宇¹, 张彤²

¹厦门大学器官移植研究所, 厦门市人体器官移植质量控制中心, 厦门大学再生医学重点实验室, 福建省器官与组织再生重点实验室, 厦门大学医学院, 福建省厦门市 361102; ²厦门大学器官移植临床医学中心, 厦门大学附属翔安医院普通外科, 厦门大学医学院, 福建省厦门市 361102

摘要: 异种移植技术被认为是一种解决全球器官短缺问题的潜在途径, 尤其以猪为供体的异种器官移植技术备受关注。通过基因编辑技术, 如CRISPR-Cas9, 科学家们能够对供体动物进行遗传物质的精确修改, 减少免疫排斥反应, 提高异种器官移植的成功率。在异种肝移植手术方式的选择上, 原位全肝移植术和辅助性肝移植是两种主要的手术方式。原位全肝移植术是一种将供体的整个肝脏移植到受体的腹腔中的手术方式, 而辅助性肝移植则是将供体的部分肝脏移植到受体的腹腔中。两种手术方式各有优缺点, 需要根据患者的具体情况选择合适的手术方式。伦理和法律问题也是异种移植技术发展中不可忽视的重要方面。在进行异种移植时, 需要深入考虑多方面的伦理和法律问题, 包括动物权益、人类健康、生物安全以及社会伦理观念的平衡。此外, 异种移植的成功也可能对医疗体系和社会伦理产生深远的影响, 需要社会各界共同关注和探讨。综上所述, 异种移植技术的发展有望为全球器官短缺问题提供新的解决方案, 但同时也面临着诸多挑战。通过进一步的研究和技术创新, 以及伦理和法律框架的完善, 我们有理由相信异种移植技术将为人类健康带来更多福祉。

关键词: 异种移植, 全球器官短缺, 猪器官移植, CRISPR-Cas9, 免疫排斥反应

The development and challenges of xenotransplantation: A new approach to addressing the global organ shortage

Zhenyu Liu¹, Tong Zhang²

¹Organ Transplantation Institute of Xiamen University, Xiamen Human Organ Transplantation Quality Control Center, Xiamen Key Laboratory of Regeneration Medicine, Fujian Provincial Key Laboratory of Organ and Tissue Regeneration, School of Medicine, Xiamen University, Xiamen 361102, China; ²Organ Transplantation Clinical Medical Center of Xiamen University, Department of General Surgery, Xiang'an Hospital of Xiamen University, School of Medicine, Xiamen University, Xiamen 361102, China

Abstract: Xenotransplantation is seen as a potential solution to the global organ shortage, with pig-to-human transplants being of particular interest. Advanced genetic editing techniques like CRISPR-Cas9 enable precise modifications to the donor animals' genetic makeup, reducing immune rejection and improving the success rates of xenotransplantation. In liver xenotransplantation, two main surgical techniques are used: orthotopic whole liver transplantation and auxiliary liver transplantation. Orthotopic transplantation replaces the recipient's liver entirely with the donor's liver, while auxiliary transplantation implants a portion of the donor's liver alongside the recipient's liver. Each approach has its own advantages and disadvantages, and the choice of technique should be tailored to the patient's condition. Besides medical and technical factors, ethical and legal issues are critical to xenotransplantation's progress. These include animal rights, human health, biosafety, and the balance of social ethical values. Success in xenotransplantation could have profound effects on healthcare systems and societal ethics, making it essential for all stakeholders to engage in thorough discussions. In conclusion, while xenotransplantation offers a promising solution to the organ shortage, it also faces significant challenges. With further research, technological innovation, and the development of ethical and legal frameworks, xenotransplantation holds great potential for improving human health.

Keywords: xenotransplantation, global organ shortage, pig organ transplantation, CRISPR-Cas9, immune rejection response

1. 引言

1.1. 异种移植的定义和重要性

异种移植是将一个物种的细胞、组织或器官移植到另一个物种体内。这一技术被认为是解决人类器官短缺的有效方法之一。科学家在动物身体上培育出新的器官，这些器官覆盖在人类干细胞培育环境中，发育的新器官可被人类身体所接受，只要人体接受这些“异种器官移植”不引起悲惨性的免疫系统反应，这将形成事实上源源不断的人体移植器官来源，从而有效解决人体移植器官严重短缺的现状。

异种移植面临的挑战包括免疫排斥反应、猪内源性逆转录病毒（PERV）的感染风险以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。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上述主要瓶颈⁽¹⁾。

此外，异种移植还涉及到伦理和法律问题。例如，如何处理移植猪器官后可能感染猪的逆转录病毒而对公共卫生产生威胁的情况，我们是否应该给参加研究的受试者的自由加上诸种限制，如剥夺受试者随时退出研究的自由、规定受试者必须接受终生的公共卫生监测、不能进行无保护的性活动、不允许捐献血液或其他组织等。此外，还涉及动物伦理学问题，即人类利用动物为人类提供器官是否可在伦理学上得到辩护，尤其是对于那些因采取不健康行为方式而导致器官衰竭的人，要非人动物（人也是动物）为他们牺牲生命，这种做法是否可以得到伦理学上的辩护等⁽²⁾。

异种移植是一个复杂的领域，涉及技术、伦理、法律和社会等多个方面。虽然面临着重大挑战，但它有潜力解决人类器官短缺的问题。

1.2. 当前人类器官移植面临的挑战

1.2.1. 临床适应症的选择

《2018版异种移植临床研究指导意见》中指出异种移植的受者选择应遵守以下两条准则：1.具有严重或危及生命疾病的受者，且该类受者没有安全有效的替代治疗方案，生命安全得不到保障；2.受者具有完全民事行为能力，能遵守公共卫生安全行为规范和接受长期监督，并排除心理疾病障碍（必要时出具心理科医师证明）⁽³⁾。关于异种移植的适应症选择标准，应满足以下条件：1.患者有不可逆的终末期器官衰竭，经系统完善的内科治疗或常规手术无法治愈；2.在有禁忌症或严重并发症的情况下，患者不能通过植入人工肾、人工肝、人工心等疗法进行短暂辅助或长期治疗；3.同期缺乏合适的同种供体器官；4.患者的预期寿命以小时或天来计算。

收稿日期：2024-8-5；修回日期：2024-8-24

基金项目：无

通讯作者/Corresponding author：张彤/Tong Zhang, E-mail: zhjff72@sina.com

异种器官移植需要综合考虑患者的身体状况、年龄、病史等多方面因素，选择合适的患者进行移植。这是一个复杂的过程，因为需要确保移植的安全性和有效性⁽⁴⁾。

1.2.2. 排斥反应

在异种移植中，相比于使用来自不同个体的人类器官的同种异体移植，排斥反应更为复杂且难以克服。这主要涉及三种排斥反应：超急性排斥反应（HAR）、急性血管性排斥反应（AVR）和急性细胞性排斥反应（ACR）。HAR通常在非协调性异种移植后迅速发生，由人体内预存的天然抗体与移植血管内皮细胞上表达的 α -1, 3-Gal抗原结合，触发补体系统的连锁反应，严重损害移植体。AVR则常见于协调性异种移植或已经控制了HAR的非协调性异种移植，在移植体重新灌注后的24小时内发生，导致移植体在手术后数天至数周内被排斥。这是由于受者体内产生的继发性抗体与 α -1, 3-Gal抗原结合，导致内皮细胞活化，进而引发凝血和炎症反应。若移植体能够成功通过前两种排斥反应，人体还会对移植体产生主要由T淋巴细胞介导的排斥反应，即ACR，目前对ACR的具体机制还不明确。因此，要深入研究异种移植，必须首先解决HAR和AVR这两大体液免疫障碍⁽⁵⁾。

1.2.3. 功能学方面的问题

在异种移植技术中，功能学方面的问题主要涉及移植器官在受体内的生理功能表现。由于不同物种之间存在生理和代谢差异，异种移植器官可能无法完全适应受体的生理环境，从而导致功能上的问题。这些问题可能包括但不限于以下几个方面：1.代谢差异：不同物种的器官在代谢途径和酶活性上可能存在差异，这可能导致移植器官无法有效处理受体体内的代谢产物，进而影响器官功能。例如，猪肾排尿量惊人，需要患者大量饮水，还容易导致其脱水。猪肾移植后患者可能容易出现酸碱失衡或电解质异常，需要定期监测和及时调整⁽¹⁾。2.激素调节：激素在调节器官功能中起着关键作用。异种移植器官可能无法正确响应受体体内的激素信号，或者产生的激素可能与受体体内的激素相互作用，导致功能异常。3.凝血功能：如上文所述，猪肾移植后患者可能容易出现酸碱失衡或电解质异常，需要定期监测和及时调整。4.免疫调节：移植器官可能会产生或释放免疫调节物质，这些物质可能影响受体的免疫系统，导致免疫抑制或过激反应。5.组织适应性：异种移植器官可能需要时间来适应受体的生理环境，这个过程可能会影响器官的早期功能。6.生物相容性：异种移植器官与受体组织的生物相容性也是一个重要的问题，这决定了移植器官是否能与受体组织有效结合并共同工作。7.长期功能稳定性：尽管异种移植在短期内可能有效，但长期来看，器官的功能稳定性仍然是一个挑战。为了解决这些问题，科学家们正在通过基因编辑、组织工程和免疫调节等方法来改造供体器官，以提高其与受体的生理相容性，并减少功能上的障碍。此外，还需要对异种移植器官在受体内的功能表现进行长期监测和研究，以便更好地理解并解决这些功能学问题⁽⁶⁾。

1.2.4. 药物问题

在异种移植中，阻断CD154分子和CD40分子通路的抗体对异种器官移植的长期存活具有重要作用。这些药物通过阻断CD40/CD154共刺激通路，能够显著提高异种移植的成功率。研究表明，这种免疫抑制疗法在临床前异种移植模型中具有独特的有效性。例如，在一项研究中，使用CD40/CD154通路保留免疫调节策略的猪到非人灵长类动物胰岛异种移植模型中，五名接受者中有三名实现了持续的胰岛素非依赖性正常血糖，这表明CD40/CD154通路保留方案可以促进异种胰岛存活。然而，尽管这些药物在异种移植研究中显示出良好的效果，但它们仍处于试验阶段，长期风险和效果尚未完全明确。因此，尽管阻断CD154分子和CD40分子通路的抗体对异种器官移植的长期存活非常重要，但它们的使用仍需谨慎，并需要进一步的研究来验证其长期的安全性和有效性⁽⁶⁾。

1.2.5. 临床异种移植要重视种间感染的风险

由于临床异种器官移植中的供体猪需要在无特定病原体 (specific pathogen free, SPF) 和 (或) 无指定病原体 (designated pathogen free, DPF) 的环境中培育和饲养，以降低细菌、病毒和寄生虫等微生物的跨物种传播风险⁽⁷⁾。尽管猪内源性逆转录病毒 (porcine endogenous retrovirus, PERV) 是一种以前病毒 DNA形式整合入猪基因组中的反转录病毒，只能通过基因编辑的手段清除，但由全球异种移植领域专家共同起草的《长沙宣言》明确阐明PERV实际传播的风险不仅很小并且可控。科学研究表明，嗜人重组 PERV-A/C原病毒只能在极少数的小型猪中发现，而在其他猪中却没有发现，即使应用高度敏感的293T细胞，将其分离为能够在人类细胞上复制的传染性病毒也极其罕见⁽⁷⁾。同时，我国科学家已成功筛选与鉴定出未经CRISPR/Cas9处理的PERVpol基因缺陷小型猪，有效避免了多种基因修饰对猪的健康生长造成的潜在威胁，且可大规模繁育，为批量生产符合安全标准的猪器官和组织提供了保障。

1.2.6. 器官捐献与移植的供需矛盾

中国已登记等待器官移植的人数已超过14万人，但每年器官移植的数量不到2万例，大量患者在苦苦等待移植，有的在等待中去世⁽⁸⁾。这些挑战需要通过进一步的研究和技术创新来解决，以确保异种器官移植的安全性和有效性，并提高器官移植的效率和患者的生活质量。

2. 异种移植的历史

2.1. 早期尝试和挑战

异种移植的历史可以追溯到17世纪。最早的异种移植尝试之一发生在1667年，当时法国医生Jean-Baptist Denis和Paul Emmerez尝试了异种输血，他们将约300毫升的羊血输入到一个15岁的男孩体内。这是早期可考的异种移植记录之一。然而，由于当时对免疫排斥、感染风险以及技术限制的理解不足，这些早期的异种移植尝试只能

以失败告终，但它们为后来的研究和应用奠定了基础⁽⁹⁾。

此后，异种器官移植经历了长达37年的“第一次冰河时期”。在这一时期，尽管科学家们尝试了各种异种移植的实验，如使用猪或狒狒的器官进行移植。但由于不同物种之间的免疫系统存在显著的差异，受体免疫系统攻击移植的器官，这些移植往往因为免疫排斥反应和感染风险而失败。同时，同种器官移植的研究逐渐兴起并得到了更多的关注。由于同种器官之间的免疫差异较小，同种器官移植的成功率相对较高，这也使得异种移植的研究相对被忽视。此外，在20世纪初期，人们的伦理和道德观念的相对保守。当时，群众普遍认为将动物器官用于人类移植是不道德的，这进一步限制了异种移植的研究进展。

2.2. 20世纪的发展和失败案例

进入20世纪，异种移植的研究和实验继续进行，但面临的技术和伦理挑战依然巨大。例如，1920年，俄国医生甫洛诺夫等尝试将黑猩猩等动物的睾丸切片植入老龄受试者的阴囊。此后，科学家们尝试了各种异种移植的实验，如使用猪或狒狒的器官进行移植。但由于不同物种之间的免疫系统存在显著的差异，这些移植往往因为免疫排斥反应和感染风险而失败⁽¹⁰⁾。

20世纪80年代至90年代，异种移植经历了重大挫折。1984年，在美国洛杉矶，一名早产儿接受了狒狒心脏移植，但仅存活了一周。1992年，在美国匹兹堡，有医生尝试将狒狒肝脏移植给患者，但均以失败告终。同年，一名患者在接受猪肝脏移植后24小时内死亡。这些失败案例使得异种移植临床应用研究经历了长达30年的停滞⁽¹¹⁾。

2.3. 21世纪的新突破

在21世纪，异种移植领域得益于基因编辑技术的发展，特别是CRISPR-Cas9技术，实现了重要突破。美国马里兰大学医学中心和中国的空军军医大学西京医院分别进行了基因编辑猪心脏和肝脏的移植，这些成就展示了异种移植技术在解决全球器官短缺问题上的潜力⁽¹²⁾。

特别值得一提的是，2024年5月17日，安徽医科大学第一附属医院孙倍成教授团队与云南农业大学魏红江教授团队合作，完成了世界首例活体人的异种肝移植手术。他们使用了一只经过10基因编辑的转基因猪肝脏，成功移植给了一位71岁的右叶巨大肝癌男性患者。术后第七天，患者已能下地自由活动，肝功能等多项指标恢复正常。这一手术的成功不仅标志着中国在异种肝移植技术方面达到世界领先水平，还为人类健康作出了重要贡献。此次手术中使用的猪肝脏经过特殊基因编辑，以减少异种器官移植的超急性及急性排斥反应和凝血功能障碍。手术的成功不仅创造了许多医学奇迹，还制定了猪全肝植入、免疫抑制剂使用、异种肝移植围手术期管理等全球标准，使异种猪肝移植进入临床成为可能。这一技术的发展，将极大地推动医学领域的发展，特别是在解决器官短缺方面。

3. 技术进展

3.1. 基因编辑技术在异种移植中的应用

CRISPR-Cas9技术在异种移植领域的应用取得了显著进展,尤其是在猪器官移植到人体方面的研究。这项技术能够精确地去除猪基因组中的内源性逆转录病毒(PERV)序列,从而降低人体感染疾病的风险。此外,CRISPR-Cas9技术还能减少人体对猪器官产生的强烈免疫反应,这使得猪器官移植到人体成为可能⁽¹³⁾。

具体来说,浙江大学、云南农业大学、重庆第三军医大学、哈佛大学以及其他科研机构与公司的团队利用CRISPR-Cas9技术成功解决了将猪器官移植到人体内的关键难题。他们通过CRISPR-Cas9技术使猪的原代细胞系中的所有PERV序列失活,然后使用克隆技术培育出了猪的胚胎,并将这些胚胎移植到代孕的母猪体内。检测结果显示,出生的小猪体内的PERV序列继续处于失活状态,这意味着这些经过基因改造的猪器官移植到人体里的关键安全隐患已经得到了成功解决⁽¹⁴⁾。

此外,CRISPR-Cas9技术因其高效、操作简便、价格低等优势,在基因制备动物模型、治疗感染性疾病、遗传性疾病以及癌症等方面都有广阔的应用前景。这一技术的发展与临床应用进展被广泛认为是医学领域的一个重要进步。

总的来说,CRISPR-Cas9技术在异种移植领域的应用不仅解决了猪器官移植到人体时面临的关键难题,也为其他医学领域的应用提供了广阔的前景。随着技术的进一步发展和完善,未来有望在更多领域实现突破性的应用。

3.2. 猪器官作为异种移植供体的优势和挑战

3.2.1. 优势

3.2.1.1. 生理学、解剖学结构与人类相似

猪的器官大小、解剖特征和生理生化过程与人类相似,这使得猪器官成为理想的异种移植候选。

3.2.1.2. 繁殖率高、生长周期短

猪的繁殖周期短,生长速度快,可以大规模养殖,从而提供充足的器官供应。

3.2.1.3. 与人亲缘关系远, 传染疾病概率低

猪与人类亲缘关系较远,因此传播疾病的概率较低。

3.2.1.4. 遗传背景清晰, 便于基因改造

猪的遗传背景相对清晰,这使得对其进行基因改造以降低免疫排斥反应成为可能,随着锌指核酸酶(zinc-finger nuclease, ZFN)技术、转录激活样效应因子核酸酶(transcription activatorlike effector nuclease, TALEN)技术、规律间隔成簇短回文重复序列/CRISPR 关联基因(clustered regularly interspaced short palindromic repeats/CRISPR-associated, CRISPR/Cas)技术等基因编辑技术的

发展,对猪的基因编辑越来越多样化,使得移植排斥反应大大减轻,提高了供受体间的适配性⁽¹⁵⁾。

3.2.2. 挑战

3.2.2.1. 病毒感染风险

猪体内存在多种病毒,这些病毒可能对受体造成感染风险。通过无菌环境饲养和基因编辑技术可以降低这种风险。

3.2.2.2. 免疫排斥反应

在异种移植技术中,免疫排斥反应是一个复杂且关键的问题。这些排斥反应可以分为超急性排斥反应(HAR)、急性血管排斥反应(AVR)、急性细胞性排斥反应(ACR)和慢性排斥反应(CR)。HAR是最快且破坏力最大的反应,通常在移植后数分钟至24小时内发生,与人体内天然抗体与猪血管内皮细胞表面抗原的结合有关,通过启动补体介导的免疫损伤来破坏移植器官功能。AVR一般在移植后的几天或数周内发生,是猪-人类异种移植器官长期存活的主要障碍。ACR主要由T细胞介导,而CR则通常在器官移植后的数月至数年后发生。为了抑制这些排斥反应,研究者们正在探索通过基因编辑敲除特定抗原基因、转入人源化基因的方法,以及调节先天性免疫细胞的活性等策略。目前,关于这些排斥反应的具体机制和如何更有效地应对它们的研究仍在进行中⁽¹⁵⁾。

3.2.2.3. 凝血功能障碍

猪与人类在凝血功能方面存在差异,这也是异种移植需要克服的问题之一。

综上所述,虽然猪器官作为异种移植供体具有许多优势,但仍然面临病毒感染、免疫排斥反应和凝血功能障碍等挑战。通过基因编辑技术等手段,这些问题正在逐渐得到解决,使得猪器官移植成为解决人类器官短缺问题的一种潜在途径⁽¹⁵⁾。

3.3. 免疫排斥反应的克服方法

在异种移植中,免疫排斥反应是一个主要的挑战,但科学家们已经提出了一些克服这一挑战的方法。

3.3.1. 基因编辑技术

通过基因编辑技术,如CRISPR-Cas9,可以对供体动物(如猪)进行基因改造,以减少免疫排斥反应。例如,敲除猪的 α -1, 3-半乳糖转移酶基因可以使其不产生 α -1, 3-半乳糖抗原,这是介导异种移植排斥反应的一个重要因素。此外,还可以将人的补体调节蛋白的基因转入供体猪体内,以替代猪自身的补体调节蛋白,从而抑制补体级联反应的激活,进一步阻止超急性排斥反应的发生⁽¹⁶⁾。

3.3.2. 预防T细胞介导的免疫排斥反应

目前异种器官移植中预防T细胞免疫排斥的方案分为三种：从基因水平进行改造减少T细胞免疫排斥反应、直接阻断T细胞免疫排斥反应、诱导移植受体的免疫耐受能力。这些方案包括使用抗体、细胞疗法等方法来减少或阻断T细胞的活性，以及通过混合嵌合体、胸腺联合移植等方法诱导免疫耐受⁽¹⁷⁾。

3.3.3. 其他方法

包括使用免疫抑制剂、基因工程改造的免疫细胞、以及创造人猪嵌合体胚胎等方法，这些方法都是为了减少或避免免疫排斥反应⁽⁴⁾。

4. 移植手术方式的选择

在异种肝移植动物模型中，包括原位全肝移植、辅助性左肝或右肝移植、异位辅助性肝移植等临床常规肝移植术式均有应用研究。在 α -1,3-半乳糖苷转移酶(α -1,3-galactosyltransferase, α -G T)基因敲除的小型猪(GTKO猪)出现之前, Calne进行了7例野生型猪-狒狒的原位肝移植手术实验, 移植肝和受体的最长存活时间为3.5天。随后, 多个研究小组也进行了相同的手术实验, 但存活时间均未超过4天。

这一时期, 受体死亡的原因都是超急性排斥反应。随着GTKO猪的出现, 欧洲、美国、韩国和中国的多个研究小组都开展了以GTKO猪为供体、以非人灵长类动物(non-human primate, NHP)全肝移植的动物实验, 但根据笔者的文献检索, 样本总量仅为34例, 受体和移植肝的存活时间从3小时到29天不等⁽¹⁸⁻²²⁾。与之相比, 辅助性肝移植仅有中国、美国和韩国的3个中心开展, 样本总量为14例, 存活时间为2到34天⁽²³⁻²⁵⁾。

分析异种肝移植动物实验结果差异较大的原因, 除了实验样本抽样误差外, 术式选择也是一个重要因素。与全肝移植相比, 辅助性肝移植的存活时间较长, 受体出现凝血调节功能障碍的发生率也较低。考虑到肝脏的代谢功能十分复杂, 以辅助性肝移植开始异种肝移植的临床尝试似乎更有优势⁽²⁶⁾。首先, 辅助性肝移植植入的供肝体积更小, 移植肝对受体血小板的破坏较少, 术后凝血系统功能会更为稳定, 出现致死性凝血功能紊乱的发生率较低。韩国研究小组对此进行了对比分析, 发现在存活 \geq 3天的辅助性肝移植受体中没有发生致死性血小板减少症, 且术后轻度贫血和血小板计数减少很容易通过全血输注纠正。其中有2例辅助性左肝移植受体, 在术后2周内始终维持较好的血红蛋白和血小板含量, 直到2周后才开始接受常规输血治疗。而同期完成的8例原位肝移植中, 5例很快出现致死性血小板减少症, 最长存活仅7天⁽²⁷⁾。

其次, 从手术技术来看, 无论是全肝移植还是辅助性右肝移植, 均需要将供肝的下腔静脉与受体的肝后下腔静脉进行端端吻合, 而两者之间的口径存在较大的差异, 可能因吻合部位的扭结而引起受体的静脉回流产生湍流, 从而导致术后不良结果。而辅助性左肝移植或异位辅助性肝移植能够避免解剖和吻合下腔静脉, 相对减少术中出血和术后血管扭曲的风险。当然, 无论是哪种移植术式, 血管吻合的质量关系到手术成败, 要避免吻合口狭窄、迂曲、扭转, 保证通畅的血液流动。另外, 要引起注意的是, 移

植肝血流开放后很容易出现吻合口渗血现象。渗血程度不严重时, 可用纱布轻轻按压, 以压迫止血为主。当渗血较为严重时, 除了妥善的缝合止血外, 还应及时补充外源性血液⁽²⁸⁾。

目前异种移植手术技术的积累主要是集中在基因敲除猪与非人灵长类动物之间, 其中应用最广泛的术式是原位全肝移植术和脾窝异位辅助性肝移植。

4.1. 原位全肝移植术

4.1.1. 供体手术步骤

在进行异种肝移植手术前, 首先对供体小型猪进行镇静处理, 使用舒泰(Telazol)药物后, 将其带入手术室。接着, 通过气管内使用异氟醚进行全身麻醉。手术开始时, 采取腹正中切口, 切口从剑突延伸至脐上。然后, 逐层切开腹壁各层次, 进入腹腔。在肾平面以下, 找到并游离、暴露腹主动脉, 随后进行插管操作, 并结扎其远端。同时, 游离肠系膜上静脉, 并置入灌注管。接下来, 游离肝脏各韧带, 小心解剖肝十二指肠韧带, 并游离肝门结构。切断胆总管, 远侧断端进行结扎。进一步解剖分离肝动脉, 并结扎胃右动脉、胃十二指肠动脉、脾动脉、胃左动脉, 同时显露腹腔动脉, 并游离附近的腹主动脉。在灌注开始前5分钟, 经静脉注射肝素300U/kg。然后, 使用冷乳酸林格溶液冲洗肝脏, 紧接着用冷UW溶液进行冲洗。最后, 切除肝脏, 并进行称重。在冰上进行胆囊切除术, 同时准备移植血管。

4.1.2. 受体手术步骤

受体在阿托品(0.01mg/kg)和氯胺酮(10mg/kg)药物镇静后带入手术室。进行气管插管和异氟醚全身麻醉。在无菌技术下, 将小口径经皮动脉导管置入右股动脉。通过中线切口进入腹部, 行脾切除术, 随后进行受体肝切除术。使用5-0prolene缝线完成肝上腔静脉吻合, 然后使用6-0prolene缝线完成肝下腔静脉吻合, 最后使用7-0prolene缝线完成门静脉吻合。对肝脏进行再灌注, 并在显微镜下将供体肝动脉与受体肝动脉进行端一端吻合。最后, 以6-0prolene缝线对供、受体胆管进行端一端吻合。手术完成后, 常规关闭腹部, 将受体放回笼中进行完全恢复^(19,20,22,28)。

4.2. 脾窝异位辅助性肝移植术

4.2.1. 供体手术步骤

在进行脾窝异位辅助性肝移植手术时, 供体和受体的术前准备和麻醉步骤与之前描述的供体和受体手术相同。供肝的切取可以选择在体切肝或离体切肝两种方法。在体切肝时, 首先切取适当体积的肝脏, 然后进行灌注。由于受体猴的腹腔容积有限, 通常选择切取供肝的左外侧叶。肝脏离体后, 进行插管灌注和修整。离体切肝则是先将整个供肝完整切下, 然后在体外进行分离切取和修整。李等人认为在体切肝的缺血时间较短, 更有利于保护供肝的质量。当然, 在体切肝的技术难度较大, 对术中肝内外重要

管道的辨认和保护要求更高。因此，无论是采用在体切肝还是离体切肝，都应由经验丰富的高年资肝脏外科医师进行，以最大限度地保护供肝的质量。

4.2.2. 受体手术步骤

受体手术的术前准备和麻醉步骤也与之之前描述的受体手术相同。首先，结扎脾动脉和静脉并切除脾脏。然后，充分解剖并暴露左肾肾门及左肾静脉与下腔静脉的汇合处，并游离腹主动脉，准备吻合供肝的各条管道。由于脾静脉直径较小，不适合与门静脉吻合，因此初期尝试切除脾脏后再离断左肾静脉，将移植肝动脉与受体脾动脉吻合，移植肝门静脉与受体左肾静脉远端吻合，移植肝肝静脉与受体左肾静脉近端吻合。经过反复测试各血管的压力，发现动脉流入压力不足而流出道压力偏大，因此将血流重建方案更改为肝动脉与腹主动脉、门静脉与左肾静脉远端、肝静脉与下腔静脉的吻合方式。胆道通过插管引出体外，以便观察胆汁分泌情况。如果手术操作顺利，开放两条静脉血流后，可以看到移植肝脏表面迅速变红，肝组织变得柔软，胆道引流管中会有金黄色胆汁流出，这表明移植肝逐渐恢复代谢和合成功能，手术成功^(24,27,28)。

4.3. 辅助性右肝移植

4.3.1. 供体手术

供体手术与原位肝移植入路相同，只是在器官提取前结扎了肝下下腔静脉。

4.3.2. 受体手术

进行中线剖腹手术以达到足够的暴露。通过分裂周围韧带动员肝脏后，解剖肝门，暴露右门静脉和肝动脉。结扎，随后的缺血颜色变化被分界。然后进行一个扩展的右肝切除术，包括中侧叶和右外侧叶。由于完全暴露下腔静脉对移植吻合至关重要，因此包裹下腔静脉的尾状叶也必须被切除。移植植物植入时，肝静脉用6/0 Prolene与下腔静脉（端侧）吻合，门静脉用7/0 Prolene与受体门静脉主干（端侧）吻合。然后再灌注肝脏以评估移植物的循环恢复和颜色变化。满意后，用6/0 Prolene将肝动脉与肾下主动脉（端对侧）吻合，然后用6/0或7/0 PDS进行导管间吻合。所有吻合口均为连续缝合线⁽²⁷⁾。

4.4. 辅助性左肝移植

4.4.1. 供体手术

供体手术与右侧辅助移植相同，只是供肝台式切除涉及中叶和右侧外侧叶，保持左叶完整。

4.4.2. 受体手术

在充分暴露后，结扎左门静脉和肝动脉。随后的分界被用作指导扩展左肝切除术涉及中叶和左外侧叶。肝切除术后分离肝中静脉、左静脉干，形成一个总干，从左

外侧移植植物与肝静脉吻合（端到端）。进行门静脉端侧吻合，然后利用移植主动脉干进行肝动脉吻合（端侧吻合）。最后，采用6/0或7/0 PDS进行手缝胆总管空肠吻合术⁽²⁷⁾。

5. 伦理和法律问题

5.1. 异种移植的伦理考量

在进行异种移植时，需要深入考虑多方面的伦理和法律问题。首先，就伦理层面而言，异种移植涉及将动物器官移植到人体内，这引发了对动物权益和人类健康的权衡考虑。动物作为器官提供者时可能会受到伤害，因此必须确保在提供器官的整个过程中，动物得到充分的尊重和保护。此外，将动物器官移植到人体内可能被视为人类对动物的侵犯和剥削，引发了动物权益和保护的伦理争议。在伦理审查和决策过程中，需要充分考虑动物的福利和权益，避免对其造成不必要的痛苦和伤害。此外，由于异种移植牵涉到跨越物种边界的行为，也涉及到对生物多样性和物种之间界限的尊重。同时，一些宗教和文化也对异种移植持有不同观点，认为这破坏了自然规律或神圣原则。因此，在进行异种移植时，必须考虑到不同宗教、文化和伦理观念的多样性，寻求尊重和包容的解决方案⁽²⁾。

5.2. 跨物种传染病风险

跨物种传染病风险是进行异种移植时必须认真考虑的问题之一。由于动物和人类之间存在不同的病原体，器官移植涉及到带有可能对人类构成风险的病原体的风险。因此，在进行器官移植前，需要对器官进行充分的筛查和检测，以确保移植器官的安全性。此外，尽管目前已有有一些疾病筛查和预防措施，但仍然存在可能无法完全排除潜在风险的情况。因此，在进行异种移植时，必须采取严格的防控措施，确保患者和公众的健康安全⁽²⁹⁾。

5.3. 法律和政策框架

当前，针对异种移植的法律和政策框架尚不完善，需要进一步加强和完善。在制定相关法律法规时，必须考虑到对伦理和风险的全面评估，确保异种移植活动符合伦理标准和法律要求，保障公众利益和患者权益。同时，也需要明确异种移植的法律责任和法律程序，对异种移植进行监管和管理，以防止滥用和不当行为的发生。在制定法律和政策时，还需要充分考虑社会公众的意见和利益，建立透明、公正和健全的法律框架，促进异种移植技术的合理发展和应用。

6. 未来展望

6.1. 异种移植的潜在影响和未来发展方向

异种移植技术的发展有望为全球器官短缺问题提供新的解决方案。随着基因编辑技术的发展，尤其是CRISPR-Cas9技术，科学家能够对供体动物（如猪）的遗传物质进

行精确修改,减少免疫排斥反应,提高异种器官移植的成功率。例如,美国马里兰大学医学中心成功将基因编辑猪心脏移植到一名终末期心脏病患者体内,患者术后存活了59天,没有出现早期排斥反应。

6.2. 面临的挑战和可能的解决方案

尽管异种移植技术取得了显著进展,但仍面临诸多挑战。其中包括免疫排斥反应、跨物种传染病风险以及伦理和法律问题。为解决这些问题,科学家们正在研究和开发新的方法和技术,如使用免疫抑制剂、基因编辑技术等,以减少免疫排斥反应和跨物种传染病风险。同时,伦理和法律框架也在不断完善,以规范异种移植的研究和应用。

6.3. 公众接受度和社会影响

异种移植技术的未来发展还受到公众接受度和社会影响的影响。随着技术的不断进步和伦理问题的深入探讨,公众对异种移植的认知和接受度可能会逐渐提高。此外,异种移植的成功也可能对医疗体系和社会伦理产生深远的影响,需要社会各界共同关注和探讨⁽²⁾。

7. 结论

异种移植技术的发展为解决全球器官短缺问题提供了新的可能性,尤其以猪为供体的异种器官移植技术备受关注。通过基因编辑技术,如CRISPR-Cas9,科学家们能够对供体动物进行遗传物质的精确修改,减少免疫排斥反应,提高异种器官移植的成功率。在异种移植手术方式的选择上,原位全肝移植术和辅助性肝移植是两种主要的手术方式。原位全肝移植术是一种将供体的整个肝脏移植到受体的腹腔中的手术方式,而辅助性肝移植则是将供体的部分肝脏移植到受体的腹腔中。两种手术方式各有优缺点,需要根据患者的具体情况选择合适的手术方式。伦理和法律问题也是异种移植技术发展中不可忽视的重要方面。在进行异种移植时,需要深入考虑多方面的伦理和法律问题,包括动物权益、人类健康、生物安全以及社会伦理观念的平衡。此外,异种移植的成功也可能对医疗体系和社会伦理产生深远的影响,需要社会各界共同关注和探讨。

综上所述,异种移植技术的发展有望为全球器官短缺问题提供新的解决方案,但同时也面临着诸多挑战。通过进一步的研究和技术创新,以及伦理和法律框架的完善,我们有理由相信异种移植技术将为人类健康带来更多福祉。

利益冲突:所有作者均声明不存在利益冲突。

致谢:无。

作者贡献声明:无。

参考文献

1. 金永勋,沈星辉,姜昊,等.异种器官移植研究现状及发展前景.实用器官移植电子杂志.2018;6:136-138.

2. 王琼.异种移植的伦理法律问题探析.医学与哲学.2017;38:62-65.

3. 窦科峰,陶开山,李霄,等.异种移植临床研究指导意见(2018建议版).器官移植.2018;9:405-408.

4. 张小燕,王国辉,韩士超,等.国内外异种器官移植的现状与发展.器官移植.2024;15:276-281.

5. 石炳毅,陈文.临床异种器官移植所面临的种种挑战.中华器官移植杂志.2017;38:705-707.

6. 卫浩,杨树军,王科,等.共刺激信号通路在异种移植中的作用研究进展.器官移植.2023;14:810.

7. 邱艳,陶开山,李霄,等.猪内源性反转录病毒在异种移植中的研究进展.实用器官移植电子杂志.2018;6:405-408.

8. 赖彦华,杨建荣.我国器官捐献现状及展望.中国临床新医学.2019;12:1045-1048.

9. Deschamps J Y, Roux F A, Sai P, *et al.* History of xenotransplantation. *Xenotransplantation*. 2005;12:91-109.

10. Cooper D K. A brief history of cross-species organ transplantation. *Proc (Bayl Univ Med Cent)*. 2012;25:49-57.

11. Ekser B, Li P, Cooper D K C. Xenotransplantation: Past, present, and future. *Curr Opin Organ Transplant*. 2017;22:513-521.

12. Mohiuddin M M, Singh A K, Scobie L, *et al.* Graft dysfunction in compassionate use of genetically engineered pig-to-human cardiac xenotransplantation: A case report. *Lancet*. 2023;402:397-410.

13. Mallapaty S, Kozlov M. First pig kidney transplant in a person: What it means for the future. *Nature*. 2024;628:13-14.

14. Niu D, Wei H J, Lin L, *et al.* Inactivation of porcine endogenous retrovirus in pigs using CRISPR-Cas9. *Science*. 2017;357:1303-1307.

15. 许艺红,肖义军.猪作为人类器官移植供体的研究进展.生物学通报.2022;57:1-4.

16. 陈鹏飞,聂惠蓉,戴一凡,等.基因修饰猪在异种器官移植中的研究进展.中华移植杂志(电子版).2017;11:119-124.

17. 王雨,叶学军,何盛南,等.异种器官移植过程中预防T细胞排斥反应的研究进展.器官移植.2017;8:324-327.

18. Ekser B, Long C, Echeverri G J, *et al.* Impact of thrombocytopenia on survival of baboons with genetically modified pig liver transplants: Clinical relevance. *Am J Transplant*. 2010;10:273-285.

19. Kim K, Schuetz C, Elias N, *et al.* Up to 9-day survival and control of thrombocytopenia following alpha1,3-galactosyl transferase knockout swine liver xenotransplantation in baboons. *Xenotransplantation*. 2012;19:256-264.

20. Shah J A, Navarro-Alvarez N, Defazio M, *et al.* A bridge to somewhere: 25-day survival after pig-to-baboon liver xenotransplantation. *Ann Surg*. 2016;263:1069-1071.

21. Navarro-Alvarez N, Shah J A, Zhu A, *et al.* The effects of exogenous administration of human coagulation factors following pig-to-baboon liver xenotransplantation. *Am J Transplant*. 2016;16:1715-1725.

22. Shah J A, Patel M S, Elias N, *et al.* Prolonged survival following pig-to-primate liver xenotransplantation utilizing exogenous coagulation factors and costimulation blockade. *Am J Transplant*. 2017;17:2178-2185.

23. Yeh H, Machaidze Z, Wamala I, *et al.* Increased transfusion-free survival following auxiliary pig liver xenotransplantation. *Xenotransplantation*. 2014;21:454-464.

24. Ji H, Li X, Yue S, *et al.* Pig BMSCs transfected with human TFPI combat species incompatibility and regulate the human TF pathway in vitro and in a rodent model *Cell Physiol Biochem*. 2015;36:233-249.

25. Zhang X, Cooper D K C, Dou K. Genetically-engineered pig-to-human organ transplantation: A new beginning. *Sci Bull (Beijing)*. 2022;67:1827-1829.

26. Lamm V, Ekser B, Vagefi P A, *et al.* Bridging to

- allotransplantation-is pig liver xenotransplantation the best option?. *Transplantation*. 2022;106:26-36.
27. Lee K W, Park S S W, Kim D S, *et al*. Auxiliary liver xenotransplantation technique in a transgenic pig-to-non-human primate model: A surgical approach to prolong survival. *Xenotransplantation*. 2023;30:e12814.
28. 李霄, 陶开山. 异种肝移植手术的特点与难点. *临床肝胆病杂志*. 2022;38:2206-2209.
29. Fishman J A. Infectious disease risks in xenotransplantation. *Am J Transplant*. 2018;18:1857-1864.
-

引用本文 / Article Citation:

刘振宇, 张彤. 异种移植技术的发展与挑战: 解决全球器官短缺的新途径. *医学新视角*. 2024;1(4):177-184. doi:10.5582/npjm.2024.01030

Zhenyu Liu, Tong Zhang. The Development and Challenges of Xenotransplantation: A New Approach to Addressing the Global Organ Shortage. *The New Perspectives Journal of Medicine*. 2024;1(4):177-184. doi:10.5582/npjm.2024.01030