

行政院國家科學委員會專題研究計畫成果報告

以人類白血球抗原基因轉殖豬之器官施行異種移植之探討

—以人類或不同種豬血離體或生體灌流人類白血球

HLA-DP 基因轉殖豬與非轉殖豬肺臟免疫學反應之研究

計畫編號：NSC 88-2314-B-002-266

執行期限：87 年 8 月 1 日至 88 年 7 月 31 日

主持人：陸希平

執行機構及單位名稱：國立台灣大學醫學院外科

實驗進行過程與實驗成果

過程摘要：

1. 前置工作:
 - a. 豬隻購置, 運送, 飼養事宜.
 - b. 研究室設備及檢驗藥品的比價與購置.
 - c. 血庫聯繫人血準備事宜.
 - d. 動物實驗空間的申請.
 - e. 幫浦(rolling pump), 心肺循環通路 (cardiopulmonary circuit) 的準備, 膜氧化器 (membrane oxygenator) 的比價與準備.

實際遇到的困難: 因敝學院大動物實驗室正值拆除改建, 進度落後約三個月, 直到 10 月份才結束.

2. 實驗進行:
 - a. 研究編組:
 - i) 豬血自體體外肺灌流 (isolated lung perfusion with autogeneous blood): 非轉殖豬血 to 自己的肺 (Gr1).
 - ii) 豬血異體體外肺灌流 (isolated lung perfusion with allogenic blood): 迷你豬血 to 非轉殖豬肺 (Gr2).
 - iii) 豬血異種體外肺灌流 (isolated lung perfusion with xenogenic blood): 人血 to 非轉殖豬肺 (Gr3)
人血 to 轉殖豬肺 (Gr4)
 - b. 實驗過程:
 - i) 設定體外循環 circuit, priming with lactate ringer.
灌流液使用: heparinized blood + lactate ringer=1:1.
(共 1500cc)
其它步驟: 見步驟 ii) 部份
 - ii) 離體肺的摘取: 同肺移植器官拿取步驟
Endotracheal general anesthesia
Median sternotomy
Great vascular (vena cava and aorta) control
Systemic heparinization
Aorta and pulmonary trunk cannulation
Aorta: blood evacuation and collection in bags.
Flush with Euro-Collin's solution through pulmonary artery.

Harvest the heart-lung block
 Remove the heart
 Exp-vivo pulmonary artery and left atrium
 Cannulation
 Tracheal cannulation
 Connect to the extracorporeal circulation circuit
 Perfusion and measurement.
 iii)測量: (共 180 minutes)
 Hemodynamics: PAP, LAP, Flow rate (CO), PVR.
 Aerodynamics: Cdyn.(compliance)
 Oxygen extraction (AV-O2 difference)
 Histology (injury score)
 Wet/dry weight ratio
 IgG, IgM, IgA.

結果:

Gr1(n=4): 自體血灌注. Gr2(n=4): 異體血灌注. Gr3: 異種血
 (n=5)(非轉殖)灌注. Gr4: 異種血(n=5) (轉殖)灌注. -: primary graft
 failure.

1. PVR (肺血管阻力):mmHg/ml/minutes (mean (S.D.))

	Baseline	0	30	60	90	120	150	180
Gr1	0.052	0.18	0.20	0.22	0.23	0.26	0.28	0.31
	(0.012)	(0.042)	(0.038)	(0.034)	(0.028)	(0.040)	(0.035)	(0.033)
Gr2	0.056	0.17	0.22	0.24	0.28	0.30	0.32	0.34
	(0.013)	(0.046)	(0.035)	(0.027)	(0.032)	(0.044)	(0.038)	(0.030)
Gr3	0.049	0.19	0.44#	0.69i#	0.78#	0.89#	-	-
	(0.014)	(0.043)	(0.067)	(0.081)	(0.046)	(0.055)		
Gr4	0.051	0.20	0.30*	0.35*	0.41*	0.46*	0.49	0.52
	(0.011)	(0.033)	(0.045)	(0.046)	(0.051)	(0.048)	(0.039)	(0.045)

p<0.05 compared with Gr1

* p<0.05 compared with Gr 1 and 3.

2. Cdyn (肺動態容量度):ml/cmH2O (mean (S.D.))

	Baseline	0	30	60	90	120	150	180
Gr1	25.1	20.3	18.5	17.1	16.5	15.1	14.8	14.5

	(1.7)	(1.6)	(2.0)	(2.1)	(2.5)	(2.3)	(2.1)	(2.9)
Gr2	24.8	19.5	17.7	16.1	15.2	13.9	13.5	13.4
	(2.1)	(2.4)	(2.6)	(1.9)	(2.2)	(2.3)	(2.6)	(2.4)
Gr3	23.8	19.8	14.2#	12.2#	11.4#	9.5#	-	-
	(2.6)	(1.8)	(1.7)	(2.0)	(2.1)	(2.3)	-	-
Gr4	26.4	20.1	15.4#	14.3*	13.9*	12.7*	12.3	12.1
	(2.2)	(2.4)	(2.0)	(2.5)	(2.1)	(1.8)	(2.4)	(1.5)

p<0.05 compared with Gr1

* p<0.05 compared with Gr 1and 3.

3. O2 extraction: mlO2/100mL (Baseline 未稀釋, 之後稀釋 2 倍)

	Baseline	0	30	60	90	120	150	180
Gr1	18.7	9.1	8.7	7.5	7.3	7.2	7.1	6.9
	(3.1)	(2.1)	(2.2)	(1.8)	(1.5)	(2.0)	(1.7)	(1.7)
Gr2	17.1	9.0	8.1	7.0	6.8	6.7	6.6	6.5
	(3.0)	(2.5)	(2.1)	(1.9)	(2.0)	(1.9)	(1.6)	(1.7)
Gr3	18.2	8.9	5.0#	4.5#	4.0#	3.1#	-	-
	(3.4)	(1.7)	(1.8)	(1.5)	(1.3)	(0.9)		
Gr4	18.5	9.2	7.3\$	6.7\$	6.0\$	5.6*	5.4*	5.2
	(3.3)	(1.5)	(1.6)	(1.6)	(1.7)	(1.8)	(1.9)	(1.0)

p<0.05 compared with Gr1

*p<0.05 compared with Gr1 and 3

\$p<0.05 compared with Gr3

4. Wet/dry ratio (mean(S.D.))

Gr 1	Gr2	Gr3	G4
7.1	7.6	10.3#	7.9*
(1.8)	(1.9)	(1.6)	(1.7)

#p<0.05 compared with Gr1

*p<0.05 compared with Gr3

5. Pathology injury score (mean(S.D.))

	Baseline	30	120
Gr1	0.5(0.2)	1.5(0.3)	1.7(0.4)
Gr2	0.3(0.2)	1.7(0.4)	1.9(0.5)
Gr3	0.3(0.2)	3.2(0.7)#	3.5(0.6)#

Gr4 0.5(0.3) 2.5(0.4)* 2.7(0.5)*
 #p<0.05 compared with Gr1
 *p<0.05 compared with Gr3 and 1

6. IgM, IgG, IgA of group 3 and 4. in blood (gm/L)
 (mean (S.D))

		Baseline	30	120
Gr3	IgM	1.3(0.6)	0.9(0.2)	0.6(0.2)
	IgG	13.8(1.9)	9.7(2.1)	6.7(2.8)
	IgA	5.8(1.2)	3.3(1.0)	1.9(1.0)
Gr4	IgM	1.4(0.5)	1.1(0.2)	1.0(0.2)*
	IgG	12.9(2.5)	11.5(2.2)*	9.8(1.7)*
	IgA	5.6(0.9)	4.4(0.8)*	3.5(0.5)*

* p<0.05 compared with Gr3.

結論:

1. 使用 Xenogenic blood 作 ex vivo lung perfusion 和 autogenous 以及 allogenic blood 相較有明顯程度的傷害.
2. 上述傷害表現於肺血管阻力(PVR) 的升高, 肺容量度(Cdyn) 的降低, 氧氣萃取量(O2 extraction) 的降低, 肺組織傷害指數的升高, 乾濕重比的升高, 以及免疫球蛋白 (Ig) 的消耗.
3. Xenogenic blood 灌注轉殖及非轉殖豬, 發現轉殖入人類 HLA-DP 基因的轉殖豬傷害程度明顯較輕微.