

# 肺移植供肺缺血再灌注损伤的机制及预防

李宁 刘言 林慧庆

**【摘要】** 肺移植供肺缺血再灌注损伤 (IRI) 是导致肺移植失败的主要原因之一。本文通过回顾近年来肺移植术后供肺 IRI 的现状, 归纳其病理生理机制, 总结当前较为有效的治疗措施, 就该临床难题的未来进展作简要综述。

**【关键词】** 肺移植; 供肺; 缺血再灌注损伤; 机制; 预防

**Mechanism and prevention of ischemia-reperfusion injury of donor lung transplantation** Li Ning, Liu Yan, Lin Huiqing. Department of Thoracic Surgery, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, China

Corresponding author: Lin Huiqing, Email: huiqing.lin@whu.edu.cn

**【Abstract】** Ischemia reperfusion injury (IRI) is one of the main causes of lung transplantation failure. In this review, we summarized the current status of IRI after lung transplantation in recent years, pathophysiological mechanisms, the current effective therapeutic measures, and the future progress of this clinical problem.

**【Key words】** Lung transplantation; Donor lung; Ischemia reperfusion injury; Mechanism; Prevention

自 1983 年成功实施首例肺移植手术以来, 肺移植已成为终末期肺病唯一有效的治疗手段<sup>[1]</sup>。但现阶段供肺的严重短缺极大地限制了肺移植的发展, 同时也增加了等待肺移植患者的死亡率。我国目前供肺来源主要依赖于公民的异地捐献, 远距离的空间转运致使供肺的冷缺血时间较长<sup>[2]</sup>。一旦恢复血供, 过量的氧自由基则会攻击重新获得血供的供肺组织, 进一步加重肺的缺血性损伤, 这种现象被称为肺移植术后供肺缺血再灌注损伤 (ischemia reperfusion injury, IRI)<sup>[3]</sup>。近年来, 越来越多的学者开始关注肺移植术后供肺 IRI 的发病机制, 并基于这些机制不断提出新的治疗和预防策略, 这对于提高肺移植成功率取得了一定的进展。本文回顾近年来肺移植术后供肺 IRI 的现状, 归纳其病理生理机制, 总结当前较为有效的治疗措施, 旨在为今后肺移植术后肺 IRI 的预防提供一定的参考依据。

## 一、肺移植供肺 IRI 的现状

相比于其他实体器官移植, 肺移植的发展仍相对滞后。限制肺移植发展的因素除了供体资源的短缺, 还包括较高的移植后死亡率<sup>[4]</sup>。2017 年国际心肺移植协会报告指出, 双肺移植术后 1 个月、3 个月、1 年、3 年、5 年和 10 年的生存率分别为 93%、90%、82%、69%、59% 和 41%, 单肺移植术后生存率为 94%、88%、78%、61%、48% 和 23%<sup>[5]</sup>; 2019 年该报告指出, 从 2010 至 2017 年肺移植手术有近 3 万台次, 术后病人的中位生存期约为 6.7 年<sup>[6]</sup>。肺移植术后常见的并发症有 IRI、原发性移植物功能障碍 (primary graft dysfunction, PGD)、急性细胞排斥反应 (acute cellular rejection, ACR)、抗体介导的排斥反应 (antibody-mediated rejection, AMR) 等<sup>[6-7]</sup>。其中, PGD 是导致术后早期死亡的常见原因之一, 占总死亡例数的 30%<sup>[5]</sup>。PGD 通常发生于移植后 24~72 h, 临床表现为低氧血症及非心源性肺水肿, 并于移植 1 周后出现明显水肿, 多数患者在术后 2 个月水肿即可缓解。PGD 的组织学特征表现为中性粒细胞浸润、肺泡水肿和毛细血管炎。导致 PGD 的因素众多, 包括供体因素、供

DOI: 10.3877/cma.j.issn.2095-8773.2023.04.10

基金项目: 国家自然科学基金 (82170106, 82102269)。

作者单位: 430061 武汉, 武汉大学人民医院胸外科

通讯作者: 林慧庆, Email: huiqing.lin@whu.edu.cn

肺获取和保存因素、受体因素以及手术因素等。其中, IRI则被认为是导致PGD的主要机制及早期同种异体移植物失用和坏死的主要原因。IRI贯穿于供体肺保存和肺移植早期, 主要表现为短时间内发生的肺泡非特异性损伤、肺毛细血管内皮细胞受损, 进而使肺血管通透性增加并形成肺水肿, 导致移植肺功能丧失, 无法达成预期治疗目标<sup>[8]</sup>。因此, 增加对供肺IRI发生机制的认识并减少其发生是当前改善肺移植预后的关键之一。

## 二、肺移植后供肺IRI的病理生理及分子生物学机制

细胞维持生命内在能力的氧浓度下降被称为缺氧。组织血液供应受限导致的缺氧被指定为缺血, 因此缺血包含缺氧, 由于血液灌流减少而导致营养供应不足。临床上缺血缺氧则常常被一同提及<sup>[9]</sup>。所谓“缺血”、“缺氧”是一种相对概念, 短期内单纯缺血缺氧可启动代偿机制维持生理功能, 通过糖酵解增强及缺氧诱导因子(hypoxia inducible factor, HIF)、促红细胞生成素(erythropoietin, EPO)等基因表达, 诱导血管生成, 增加耐受性<sup>[10]</sup>。由于短暂、轻度缺血缺氧并不会产生大量活性氧自由基等引起损伤, 反而使机体代偿, 有研究<sup>[10]</sup>在尝试利用缺血预处理, 即短暂多次缺血和灌注, 以保护器官、减轻IRI。而IRI是长时间暴露于缺血缺氧环境下, 血流复灌后造成的一系列超微结构、生理功能、代谢等方面的损伤。二者概念不同, 发展过程不同, 病理生理机制不同。

肺移植中, 在开始再灌注之前, 供体肺处于缺血状态。暴露于缺血缺氧环境下的供肺组织植入受体后在复灌血流的冲击下, 会发生一系列病理生理变化, 其主要机制包括活性氧自由基增多、钙离子超载、炎症反应过度激活、中性粒细胞胞外陷阱及多种类型的细胞死亡<sup>[3,8]</sup>。肺内皮是IRI的主要靶部位, 由于内皮通透性增加、肺血管阻力增加和气道顺应性降低, 可能导致严重的肺功能障碍并伴有肺水肿的快速发展<sup>[11]</sup>。

### 1. 活性氧自由基增多

线粒体是细胞氧化磷酸化的主要场所,

缺血缺氧时, 腺嘌呤核苷三磷酸(Adenosine triphosphate, ATP)生成减少, 钙离子进入线粒体增多, 细胞色素氧化系统功能失调, 抗氧化酶活性下降, 导致再灌阶段形成的活性氧自由基增多<sup>[11]</sup>。在肺移植中, 缺血期由ATP逐级降解的次黄嘌呤明显增多, 由于ATP减少后钙离子依赖性蛋白水解酶被激活, 黄嘌呤氧化酶活性上调, 血流复灌后, 大量累积的次黄嘌呤被黄嘌呤氧化酶氧化, 产生大量活性氧自由基。自由基性质极为活泼, 可破坏多糖、氧化蛋白质、使不饱和脂肪酸过氧化, 造成肺组织中细胞结构功能障碍, 甚至使细胞水解<sup>[12-13]</sup>。肺移植缺血可导致相关的血管内皮结构改变, 如血管通透性增加和肺血管舒张受损。血流停止这一机械信号由血管内皮细胞所感知, 血管内皮缺乏剪切应力, 内皮细胞膜去极化, 进而导致NADPH氧化酶(NOX2)的激活以产生大量活性氧自由基<sup>[14]</sup>。

### 2. 钙超载

细胞通过调节细胞质膜、线粒体以及内质网/肌浆网以及细胞间连接共同调节钙稳态。在正常生理状况下, 由于细胞膜上钠钙离子的交换作用, 细胞外游离钙离子浓度比细胞内高约1万倍<sup>[15]</sup>。当细胞处于缺氧环境中, ATP生成减少, 钠泵活性降低, 细胞内钠离子含量明显升高。再灌注时细胞重新获能, 胞内的滞留钠离子通过钠泵及钠钙离子交换蛋白外流至胞外钠离子转运出细胞的同时会把大量钙离子运入胞内。同时, 缺血再灌注造成生物膜损伤, 胞外的钙离子顺浓度梯度进入胞内, 导致细胞内钙超载的出现。聚集于胞内的钙离子被线粒体摄取时可消耗大量ATP并形成不溶性磷酸钙, 扰乱氧化磷酸化进程<sup>[16-18]</sup>; 胞内钙离子超载还可分解细胞膜及结构蛋白, 诱导线粒体渗透性转导孔开放, 抑制线粒体呼吸功能, 还能启动细胞凋亡途径, 甚至使溶酶体膜破裂引起细胞自溶<sup>[19]</sup>。内质网/肌浆网中的雷尼丁受体(ryanodine receptor, RYR)和肌浆网Ca<sup>2+</sup>-ATP酶(sarcoplasmic reticulum Ca<sup>2+</sup> ATPase, SERCA)分别负责钙离子的释放和储存, 当IRI时, SR/ER平衡被破坏, 肌浆网释放大量的钙离子进入胞内<sup>[20-21]</sup>。

### 3. 炎症反应过度激活

由于缺血损伤可刺激血管内皮细胞表面多种黏附分子表达增强,吸引中性粒细胞沿内皮细胞表面滚动,甚至黏附在血管内皮上,导致中性粒细胞数目显著增加<sup>[22]</sup>。此外,组织损伤时,炎症刺激核因子 $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B)激活,诱导内皮细胞与白细胞分泌趋化因子和细胞因子如IL-2、IL-3、IL-6、TNF- $\alpha$ 等,有很强的趋化作用,吸引大量中性粒细胞黏附于血管内皮或渗出到损伤组织区域。由于大量中性粒细胞聚集、黏附在血管内皮细胞上,极易嵌顿堵塞微循环血管,加之内皮细胞肿胀、血小板黏附、微血栓形成和组织水肿,再灌注时可能会出现无复流现象,缺血区仍得不到充分的血液灌注。增大的内皮细胞间隙易引发组织液外渗,加重无复流现象<sup>[23-25]</sup>。腺苷酸活化蛋白激酶(adenine monophosphate activated protein kinase, AMPK)通路是调控炎症反应过度激活的关键因子,AMPK是一种由 $\alpha$ 、 $\beta$ 和 $\gamma$ 亚基组成的异三聚体蛋白, $\alpha$ 亚基上Thr172位点被磷酸化而激活。AMPK的激活被发现可以通过激活Toll样受体4(Toll-like receptor 4, TLR4)抑制NF- $\kappa$ B从而减轻炎症过度激活<sup>[26-27]</sup>。

### 4. 中性粒细胞胞外陷阱(neutrophil extracellular traps, NETs)

在供肺IRI过程中,无菌性炎症可诱发中性粒细胞发生一种介于凋亡和坏死之间的死亡形式——NETosis,这一过程可产生大量NETs,进一步加重无菌性炎症并介导供肺损伤<sup>[28-29]</sup>。肺移植围手术期受体外周血中循环NETs的水平与其PGD(3级)的发生存在正相关性,因此NETs可作为肺移植术后重型PGD的生物标志物<sup>[30]</sup>。在肺门关闭的IRI小鼠模型及肺移植术后PGD小鼠模型中,均可观察到大量NETs的形成,且这些NETs的形成均与血小板的大量聚集有关;相反,使用DNaseI干扰NETs形成可显著改善小鼠肺IRI<sup>[29]</sup>。肺IRI过程中的NETs形成与线粒体DNA(mtDNA)的大量释放有关,mtDNA可通过激活Toll样受体9(TLR9)依赖的NETs形成诱发肺移植术后PGD的发生<sup>[31]</sup>。最新研究<sup>[32]</sup>显示,气道上皮细胞中NKG2D受体激

活也可诱发中性粒细胞形成NETs,加速肺移植术后PGD的发生。

### 5. 细胞死亡

近期研究<sup>[33-34]</sup>表明,在供体肺移植IRI过程中,存在细胞死亡和炎症相关的基因的大量富集。其中,脑死亡器官捐献(donation after brain death, DBD)供体肺中与炎症相关的基因表达谱明显上调,而心脏死亡器官捐献(donation after cardiac death, DCD)供体肺中上调基因表达谱则主要与细胞死亡相关<sup>[35]</sup>。目前已发现细胞凋亡、坏死性凋亡、细胞焦亡、铁死亡等细胞死亡在供体肺移植IRI过程中发挥重要作用。细胞凋亡是指细胞在生理或病理条件下在基因的严格调控下发生的主动有序的细胞死亡,典型特征是凋亡小体的形成,主要发生于肺移植再灌注期间。在动物模型、细胞模型中,均可观察到细胞凋亡率显著升高,细胞凋亡相关分子生物标志物水平也显著增加,而在给予细胞凋亡抑制剂后明显减少,从而减轻肺缺血再灌注后诱发的急性肺损伤<sup>[36]</sup>。坏死性凋亡是区别于细胞凋亡的一种细胞死亡方式,主要通过RIPK3/MLKL信号通路调控,其特征主要是细胞肿胀、质膜破裂及坏死性小体的形成。肺缺血再灌注过程中,RIPK1和RIPK3磷酸化程度显著增加,通过JNK/STAT3信号通路激活坏死性凋亡,给予抑制剂死亡抑素-1(Necrostatin-1)后可减轻大鼠肺移植IRI<sup>[37]</sup>。细胞焦亡则是通过激活炎性小体剪切GSDMD并形成膜孔释放炎症因子白介素1 $\beta$ 和白介素18诱发炎症反应促进细胞死亡。生物信息学分析发现,临床肺移植标本中IL-1 $\beta$ 的基因表达显著增加,并且过滤去除供体肺中的循环白细胞可改善移植后大鼠肺功能,减轻大鼠肺移植IRI<sup>[36]</sup>。铁死亡是由细胞内过量铁积累和脂质过氧化诱发的新型细胞死亡,典型特征是线粒体变小、线粒体嵴减少、线粒体膜破裂增加等。近年来在心、肝、肾、肺等器官移植后均已检测到铁死亡的发生。在肺移植缺血再灌注过程中,铁死亡相关标志物明显增加,且给予铁死亡抑制剂铁抑素-1(ferrostatin-1)后可通过Nrf2/HO-1信号通路减轻

小鼠肺移植 IRI<sup>[26,38]</sup>。供肺再灌注后, 线粒体功能受损, 自噬水平随着细胞凋亡加剧、肺功能恶化而升高, 研究发现, 高水平线粒体自噬主要通过抑制哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin, mTOR) 通路促进 IRI 诱导的肺损伤, mTOR 是自噬的关键调节因子, AMPK 可以直接调节或间接调节 PI3K/Akt 通路磷酸化 mTOR, 减轻线粒体自噬从而抑制供体肺 IRI 诱导的细胞凋亡, 缓解肺损伤<sup>[39]</sup>。同时, 自噬诱导铁蛋白吞噬, 使铁蛋白降解, 细胞铁水平升高, 促进活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 产生<sup>[40]</sup>, 间接促进再灌注后肺损伤。总之, 细胞死亡与肺移植 IRI 密切相关, 细胞死亡相关标志物已被用于评估供体肺功能, 各种细胞死亡抑制剂已被探索用作肺移植 IRI 的治疗药物, 深入探究细胞死亡和肺移植 IRI 的相关机制, 将有助于改进供者管理、器官保存、预防和治疗移植中及术后原发移植物功能障碍等。

### 三、肺移植后 IRI 的预防

当前临床上不断优化完善肺移植的各个流程来减少肺移植术后供肺 IRI, 降低 PGD 的发生率, 包括供体肺源评估、移植肺保存液研发、控制性再灌注、保护性肺通气、离体肺灌注、表面活性剂应用、治疗性气体吸入、纤溶治疗、间充质干细胞治疗等。

#### 1. 供体肺源评估

肺移植的主要挑战之一是可使用的供体肺短缺, 全球供体肺的利用率较低, 仅为 20%<sup>[7]</sup>。为了应对严重的供体短缺问题, 边缘供体肺也已经纳入考虑范畴。在我国, 我国公民逝后器官捐献目前主要的供肺来源<sup>[41]</sup>。而目前国际上供肺则主要依赖于 DBD 和 DCD。由于 DBD 来源的供肺缺血时间和移植质量被证明优于 DCD, 因此国际上对 DBD 需求更高<sup>[42]</sup>。另已有详细报道<sup>[43]</sup>说明供体的年龄 (>45 或 <21 岁)、女性、体重指数、肺动脉高压、特发性肺纤维化、低氧血症、低血压和吸烟史都是 PGD 的危险因素。此外, 与器官获取和受体手术相关的因素, 包括缺血时间、单肺移植与双肺移植、体外循环的使用和输血要求, 都

与肺 IRI 和 PGD 的发生有关。

#### 2. 移植肺保存液的研发

随着对 IRI 机制的深入探索, 供肺保存液也逐渐更新。最初的细胞内液型保存液离子组成特点为高钾低钠, 能有效减少水钠滞留、减轻肺水肿和 ATP 的消耗, 其中 Euro-Collons 液 (EC 液) 应用较广泛。随着研究的深入, 有报道<sup>[44]</sup>提出高钾不仅会引起肺血管平滑肌收缩, 肺血管阻力增高, 而且会使活性氧自由基增多, 加重肺血管内皮细胞损伤。细胞外液型保存液在此基础上被研制出来, 代表液为 low potassium dextran (LPD) 液, 溶液中较低的钾含量减轻了肺损伤和肺血管痉挛, 额外添加的右旋糖酐能有效防止血管内液体渗出导致的肺间质水肿。相比于细胞内液型保存液, 其术后移植肺早期氧合功能、肺顺应性更好, 肺功能恢复更快, 术后机械辅助通气时间更短, 术后 PGD 发生率更低<sup>[45]</sup>。在日本, 一种名为 ET-Kyoto 的新型保存溶液, 其钠含量为 100 mEq/L, 钾含量为 43.5 mEq/L, 保存效果良好<sup>[46]</sup>。

逆行冲洗是指通过肺静脉注射冲洗液, 并通过肺动脉引流。与单独顺行冲洗相比, 额外的逆行冲洗被证明可以改善供肺质量。目前有研究<sup>[47]</sup>报道, 在供体医院进行原位逆行冲洗, 在受体医院进行晚期逆行冲洗具有明显的供肺保护作用。甚至在某些不可控的 DBD 和 DCD 供肺中, 逆行冲洗比肝素冲洗保护作用更强。

#### 3. 受控再灌注和保护性肺通气

再灌注初期逐步引入血流是血管内皮的主要保护策略之一, 其已被证明可以减少肺损伤并改善移植肺预后。目前, 许多肺移植中心都在进行受控再灌注, 并在再灌注后采用保护性通气模式预防供肺 IRI<sup>[48]</sup>。一项涉及 18 个国家的国际调查报告显示, 肺移植术后的机械通气模式通常是基于受者的低潮气量状态来调整的。最近一项国际研究<sup>[49]</sup>发现, 有 3 个通气参数 (峰值吸气压力、 $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$  和动态顺应性) 可用来预测肺移植后机械通气的时间。此外, 静脉动脉体外膜肺氧合 (extracorporeal membrane oxygenation, ECMO) 已被许多机构接受为肺移植期间的主要支持治

疗,尤其是当肺移植后氧合不良或肺动脉压升高时,长期使用ECMO显著预防严重PGD发生,预后更佳<sup>[50]</sup>。

#### 4. 离体肺灌注

边缘供体肺和DCD肺已开始用于解决DBD肺短缺的问题<sup>[51]</sup>。2000年,Steen等<sup>[52]</sup>在使用新技术离体肺灌注(ex-vivo lung perfusion, EVLP)处理供体肺后,首次成功实现DCD肺移植。Lund的团队也在2006年至2007年期间应用EVLP进行了6次临床肺移植<sup>[53]</sup>。此后,多伦多团队在2008至2017年间进行了372例EVLP处理后的肺移植手术,在这期间年肺移植率提高了70%<sup>[54]</sup>。目前的3种EVLP技术(Lund方案、OCS协议、Toronto方案)已在北美和欧洲的大型肺移植中心用于临床肺移植,数据<sup>[55-56]</sup>表明边缘供体肺可以通过修复和再评估达到与符合标准的供体肺相似的预后。

除临床应用外,迄今为止,世界范围内的各种实验研究都在应用EVLP,如对发生移植排斥的人肺、猪肺以及鼠肺进行的临床前研究<sup>[57]</sup>。由于与人类解剖学和生物学特征相似,猪EVLP模型是一个理想的临床前实验对象。由Keshavjee和Cypel领导的多伦多团队进行了许多关键性研究,包括应用EVLP来维持猪肺性能长达12 h<sup>[58]</sup>。Van Raemdonck领导的鲁汶团队还对DCD供体肺的逆行冲洗等方案进行了研究<sup>[47,57]</sup>,他们利用缺血处理的猪肺进行逆行冲洗与只进行肝素化的缺血猪肺对比,发现逆行冲洗对DCD肺的保护效果远优于肝素化处理。

目前已有许多研究<sup>[59]</sup>证明,大鼠EVLP模型的肺血管阻力、分流比、气道阻力和顺应性等生理参数提示一种类IRI的炎症反应,在此模型中可以从分子和病理学的角度去研究肺IRI的机制。同时也有报道<sup>[59-60]</sup>指出缩短灌注时间或应用抗炎药物可以改善大鼠EVLP模型出现炎症反应的可能性。此外,也有观点<sup>[26]</sup>指出在EVLP期间与炎症和细胞凋亡相关的新型靶向治疗对移植前肺修复和移植后有积极作用。作为一种新的供体肺管理策略, EVLP可以使供体肺维持生理稳定状态,还可以在移植前治疗干预并修复供肺,从而提高供体肺利

用率。

#### 5. 吸入治疗性物质

目前已知的几种治疗性物质具有预防和治疗肺移植后肺IRI的潜在可能性,可以通过吸入给药的方式提供较好的治疗效果。

表面活性蛋白在肺泡气液界面提供低表面张力并防止肺泡塌陷,在维持肺的微观结构完整性方面发挥重要作用,然而在缺血期间,表面活性蛋白的减少会导致肺泡壁损伤<sup>[61]</sup>。因此,临床上也有对供体肺或肺移植后并发严重PGD的患者应用表面活性剂,但由于成本高昂,在临床肺移植中使用表面活性剂尚未普及<sup>[62-63]</sup>。此外,吸入表面活性剂也存在不利影响,6名严重IRI患者应用表面活性剂后出现了不明原因的1例轻度和1例中度排斥反应<sup>[62]</sup>。表面活性剂的应用还需要在更大的患者队列中进行随机对照研究,以进一步阐明最佳剂量、治疗时间和给药途径。

$\beta$ -2肾上腺素受体激动剂是治疗哮喘和慢性阻塞性肺疾病的关键药物之一。据报道<sup>[64]</sup>,在人类和动物中,静脉注射或雾化吸入的 $\beta$ -2肾上腺素受体激动剂对多种肺部疾病具有保护作用,如肺切除术后急性呼吸窘迫综合征和肺水肿。 $\beta$ -2肾上腺素受体分布于人类的肺泡细胞、气道上皮、气道平滑肌和肺血管中,这表明吸入的 $\beta$ -2肾上腺素受体激动剂可作用于各种肺组织,使气道和血管舒张。已有研究<sup>[65]</sup>报道,在大、小型动物模型中吸入 $\beta$ -2肾上腺素受体激动剂能维持环磷腺苷和腺嘌呤核苷酸的水平、使炎症细胞失活和减少细胞因子的产生,对IRI具有保护作用。

一种由NO合酶合成的内源性分子已被用于许多肺移植项目。肺移植后诱导型NO表达的上调会导致肺血管功能障碍,抑制诱导型NO合酶可逆转移植后肺血管功能障碍<sup>[66]</sup>,这支持了在肺移植中控制NO水平的重要性。然而,在一项双盲随机对照试验中,吸入NO并未显著降低肺IRI的发生率<sup>[67]</sup>。在正式临床应用之前,未来需要更多的研究来阐明治疗性NO的作用。

低浓度一氧化碳(CO)是一种致命的有毒气体,已有文献<sup>[68]</sup>报道在几种动物模型以及涉及IRI

和器官移植的临床研究中有积极疗效。CO是血红素催化的内源性副产物,可通过上调抗炎细胞因子的抗炎作用发挥疗效。此外,CO可以通过诱导HIF-1 $\alpha$ 来预防IRI,HIF-1 $\alpha$ 的降解已被证明可以减少肺水肿和炎症的发生<sup>[69]</sup>。

自Ohsawa等<sup>[70]</sup>首次报道以来,分子氢已被用作各种医学领域的治疗性抗氧化剂。氢疗法的抗氧化、抗炎和抗凋亡作用已在多种模型中得到证实。氢气不仅是清除自由基活性氧,还可通过Nrf2信号通路诱导抗氧化应激物质的产生,具有作为肺IRI新治疗策略的潜力。此外,据报道<sup>[71]</sup>,EVLP期间的氢气预处理可提高啮齿动物肺移植物的质量。也有研究<sup>[72]</sup>指出,在小鼠模型中,NO和氢气的联合治疗为肺IRI提供了更强的治疗效果。目前,富氢溶液(即在器官保存溶液中溶解分子氢)也已被引入临床实践,其可缓解大鼠和比格犬模型中的肺IRI<sup>[73]</sup>。但由于氢气具有易燃易爆的特性,如何更安全有效地应用氢气提高肺移植质量是待解决的难题之一。

#### 6. 纤溶治疗

移植肺大多表现为较高的血管阻力和微灌注不足,说明微循环中存在血栓和纤维蛋白沉积。临床上获取供体肺时会经常使用到肝素。肝素虽然可以防止新的纤维蛋白形成,但对预先存在的供体血栓没有溶解作用。移植后如若已存在于微循环中的血栓脱落,引起急性肺栓塞,短时间内造成肺泡、毛细血管内皮损伤,引起IRI并最终导致PGD<sup>[74]</sup>。因此,使用纤溶酶原激活剂(如尿激酶和组织纤溶酶原激活剂)对移植肺进行纤溶治疗已被用于供体肺的保存。最近,在EVLP期间应用纤溶酶已被证明可以溶解肺中的血栓,从而减轻肺IRI来改善预后<sup>[75]</sup>。使用纤溶治疗已成为一些EVLP中心的临床标准。

#### 7. 间充质干细胞治疗

目前已有的研究<sup>[76]</sup>表明,间充质干细胞在动物模型中的IRI中表现出抗炎和抗凋亡作用。输注间充质干细胞已被证明可以保护移植肺免受小鼠IRI的影响。由于其旁分泌、免疫调节和组织重塑特性,间充质干细胞是一种很有潜力的治疗方

案。据报道<sup>[77]</sup>,间充质干细胞衍生的细胞外囊泡也有可能减轻肺IRI中肺部的炎症反应。此外,有临床前研究<sup>[78]</sup>表明,使用间充质干细胞治疗包括肺气肿、支气管肺发育不良、纤维化和ARDS在内的多种肺部疾病都具有较佳的预后。在EVLP期间进行间充质干细胞治疗也被证明可以改善猪肺移植模型中的肺IRI<sup>[79]</sup>。然而,在正式的临床应用之前,还需要考虑间充质干细胞自发恶性转化的可能性。2019年的一项关于使用同种异体间充质干细胞治疗中重度急性呼吸窘迫综合征(acute respiratory distress syndrome, ARDS)的2a期安全性试验<sup>[80]</sup>报道了可接受的安全性概况。其结果有望推广到肺移植人群,并为评估间充质干细胞在肺移植中治疗肺IRI的疗效的临床试验提供基础。最近,已有几种用间充质干细胞治疗慢性移植肺功能障碍的研究<sup>[81]</sup>。

#### 四、结论

尽管当今肺移植的发展相对于其他实体器官移植较为滞后,但引起肺移植术后PGD的主要因素IRI的确切机制正在不断完善阐明中,现今临床上也在尝试通过多种方案去改善供肺IRI带来的不良预后,但肺移植供肺IRI机制错综复杂,仍需有更多的临床前研究不断解析其致病的关键分子靶点,同时还需开展更多的临床试验加速这些靶点的临床转化。

#### 参 考 文 献

- 1 陈实. 肺移植发展历程[J]. 中华器官移植杂志, 2022, 43 (8): 451-455.
- 2 刘峰, 陈静瑜, 叶书高, 等. 民用航空超长距离转运供肺肺移植(附6例报告)[J]. 器官移植, 2015 (6): 374-377.
- 3 Laubach VE, Sharma AK. Mechanisms of lung ischemia-reperfusion injury[J]. Curr Opin Organ Transplant, 2016, 21 (3): 246-252.
- 4 Kapnadak SG, Raghu G. Lung transplantation for interstitial lung disease[J]. Eur Respir Rev, 2021, 30 (161): 210017.
- 5 Sadaf D, Ahmad MZ. Calcium hydroxide (CaOH(2)) as an intracanal medication may significantly reduce endotoxins level from infected teeth[J]. J Evid Based Dent Pract, 2021, 21 (3): 101616.

- 6 Chambers DC, Cherikh WS, Harhay MO, et al. The International Thoracic Organ Transplant Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: Thirty-sixth adult lung and heart-lung transplantation Report-2019; Focus theme: Donor and recipient size match[J]. *J Heart Lung Transplant*, 2019, 38 (10) : 1042-1055.
- 7 Swaminathan AC, Todd JL, Palmer SM. Advances in Human Lung Transplantation[J]. *Annu Rev Med*, 2021, 72: 135-149.
- 8 Roesel MJ, Sharma NS, Schroeter A, et al. Primary Graft Dysfunction: The Role of Aging in Lung Ischemia-Reperfusion Injury[J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 891564.
- 9 Li S, Hafeez A, Noorulla F, et al. Preconditioning in neuroprotection: From hypoxia to ischemia[J]. *Prog Neurobiol*, 2017, 157: 79-91.
- 10 Cui C, Zhou T, Li J, et al. Proteomic analysis of the mouse brain after repetitive exposure to hypoxia[J]. *Chem Biol Interact*, 2015, 236: 57-66.
- 11 Fuhrmann DC, Brüne B. Mitochondrial composition and function under the control of hypoxia[J]. *Redox Biol*, 2017, 12: 208-215.
- 12 Pak O, Sydykov A, Kosanovic D, et al. Lung Ischaemia-Reperfusion Injury: The Role of Reactive Oxygen Species[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2017, 967: 195-225.
- 13 Shi Q, Feng N, Ma Q, et al. ZNF354C Mediated by DNMT1 Ameliorates Lung Ischemia-Reperfusion Oxidative Stress Injury by Reducing TFPI Promoter Methylation to Upregulate TFPI[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2022, 2022: 7288729.
- 14 Chatterjee S, Nieman GF, Christie JD, et al. Shear stress-related mechanosignaling with lung ischemia: lessons from basic research can inform lung transplantation[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2014, 307 (9) : L668-L680.
- 15 Ottolia M, John S, Hazan A, et al. The Cardiac Na<sup>(+)</sup>-Ca<sup>(2+)</sup> Exchanger: From Structure to Function[J]. *Compr Physiol*, 2021, 12 (1) : 2681-2717.
- 16 Hernansanz-Agustín P, Choya-Foces C, Carregal-Romero S, et al. Na<sup>(+)</sup> controls hypoxic signalling by the mitochondrial respiratory chain[J]. *Nature*, 2020, 586 (7828) : 287-291.
- 17 Zhang W, Qi Z, Wang Y. BTP2, a Store-Operated Calcium Channel Inhibitor, Attenuates Lung Ischemia-Reperfusion Injury in Rats[J]. *Inflammation*, 2017, 40 (3) : 778-787.
- 18 Mohamed MS. Calcium-activated potassium channels in ischemia-reperfusion: learning for the clinical application[J]. *Front Med (Lausanne)*, 2015, 2: 21.
- 19 Singh S, Mabalirajan U. Mitochondrial calcium in command of juggling myriads of cellular functions[J]. *Mitochondrion*, 2021, 57: 108-118.
- 20 Bovo E, Mazurek SR, Zima AV. Oxidation of ryanodine receptor after ischemia-reperfusion increases propensity of Ca<sup>(2+)</sup> waves during  $\beta$ -adrenergic receptor stimulation[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2018, 315 (4) : H1032-H1040.
- 21 Tan Y, Mui D, Toan S, et al. SERCA Overexpression Improves Mitochondrial Quality Control and Attenuates Cardiac Microvascular Ischemia-Reperfusion Injury[J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2020, 22: 696-707.
- 22 Peng CK, Huang KL, Wu CP, et al. Glutamine protects ischemia-reperfusion induced acute lung injury in isolated rat lungs[J]. *Pulm Pharmacol Ther*, 2011, 24 (1) : 153-161.
- 23 Li W, Terada Y, Tyurina YY, et al. Necroptosis triggers spatially restricted neutrophil-mediated vascular damage during lung ischemia reperfusion injury[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2022, 119 (10) : e2111537119.
- 24 Hashemi P, Nouri-Vaskeh M, Alizadeh L, et al. NETosis in ischemic/reperfusion injuries: An organ-based review[J]. *Life Sci*, 2022, 290: 120158.
- 25 Wang JF, Wang YP, Xie J, et al. Upregulated PD-L1 delays human neutrophil apoptosis and promotes lung injury in an experimental mouse model of sepsis[J]. *Blood*, 2021, 138 (9) : 806-810.
- 26 Livingston MJ, Wang J, Zhou J, et al. Clearance of damaged mitochondria via mitophagy is important to the protective effect of ischemic preconditioning in kidneys[J]. *Autophagy*, 2019, 15 (12) : 2142-2162.
- 27 Tang B, Luo Z, Zhang R, et al. An update on the molecular mechanism and pharmacological interventions for Ischemia-reperfusion injury by regulating AMPK/mTOR signaling pathway in autophagy[J]. *Cell Signal*, 2023, 107: 110665.
- 28 Zhan Y, Ling Y, Deng Q, et al. HMGB1-Mediated Neutrophil Extracellular Trap Formation Exacerbates Intestinal Ischemia/Reperfusion-Induced Acute Lung Injury[J]. *J Immunol*, 2022, 208 (4) : 968-978.
- 29 Sayah DM, Mallavia B, Liu F, et al. Neutrophil extracellular traps are pathogenic in primary graft dysfunction after lung transplantation[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2015, 191 (4) : 455-463.
- 30 Bonneau S, Landry C, Bégin S, et al. Correlation between Neutrophil Extracellular Traps (NETs) Expression and Primary

- Graft Dysfunction Following Human Lung Transplantation[J]. *Cells*, 2022, 11 (21) : 3420.
- 31 Mallavia B, Liu F, Lefrançois E, et al. Mitochondrial DNA Stimulates TLR9-Dependent Neutrophil Extracellular Trap Formation in Primary Graft Dysfunction[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2020, 62 (3) : 364-372.
- 32 Calabrese DR, Tsao T, Magnen M, et al. NKG2D receptor activation drives primary graft dysfunction severity and poor lung transplantation outcomes[J]. *JCI Insight*, 2022, 7 (24) : e164603.
- 33 Wong A, Liu M. Inflammatory responses in lungs from donation after brain death: Mechanisms and potential therapeutic targets[J]. *J Heart Lung Transplant*, 2021, 40 (9) : 890-896.
- 34 Wong A, Zamel R, Yeung J, et al. Potential therapeutic targets for lung repair during human ex vivo lung perfusion[J]. *Eur Respir J*, 2020, 55: 1902222.
- 35 Baciu C, Sage A, Zamel R, et al. Transcriptomic investigation reveals donor-specific gene signatures in human lung transplants[J]. *Eur Respir J*, 2021, 57: 2000327.
- 36 Capuzzimati M, Hough O, Liu M. Cell death and ischemia-reperfusion injury in lung transplantation[J]. *J Heart Lung Transplant*, 2022, 41 (8) : 1003-1013.
- 37 Kanou T, Ohsumi A, Kim H, et al. Inhibition of regulated necrosis attenuates receptor-interacting protein kinase 1-mediated ischemia-reperfusion injury after lung transplantation[J]. *J Heart Lung Transplant*, 2018, 37 (10) : 1261-1270.
- 38 Wang Y, Dong Z, Zhang Z, et al. Postconditioning with Irisin Attenuates Lung Ischemia/Reperfusion Injury by Suppressing Ferroptosis via Induction of the Nrf2/HO-1 Signal Axis[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2022, 2022: 9911167.
- 39 Liu WC, Chen SB, Liu S, et al. Inhibition of mitochondrial autophagy protects donor lungs for lung transplantation against ischaemia-reperfusion injury in rats via the mTOR pathway[J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23 (5) : 3190-3201.
- 40 Park E, Chung SW. ROS-mediated autophagy increases intracellular iron levels and ferroptosis by ferritin and transferrin receptor regulation[J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10 (11) : 822.
- 41 毛文君, 陈静瑜, 郑明峰, 等. 公民逝世后器官捐献供肺移植 242 例的临床疗效分析[J]. *中华器官移植杂志*, 2017, 38 (11) : 676-681.
- 42 Sef D, Verzelloni Sef A, Mohite P, et al. Utilization of extracorporeal membrane oxygenation in DCD and DBD lung transplants: a 2-year single-center experience[J]. *Transpl Int*, 2020, 33 (12) : 1788-1798.
- 43 Porteous MK, Diamond JM, Christie JD. Primary graft dysfunction: lessons learned about the first 72h after lung transplantation[J]. *Curr Opin Organ Transplant*, 2015, 20 (5) : 506-514.
- 44 Haverich A, Aziz S, Scott WC, et al. Improved lung preservation using Euro-Collins solution for flush-perfusion[J]. *Thorac Cardiovasc Surg*, 1986, 34 (6) : 368-376.
- 45 Hausen B, Beuke M, Schroeder F, et al. In vivo measurement of lung preservation solution efficacy: comparison of LPD, UW, EC and low K<sup>+</sup>-EC following short and extended ischemia[J]. *Eur J Cardiothorac Surg*, 1997, 12 (5) : 771-779; discussion 779-780.
- 46 Ikeda M, Bando T, Yamada T, et al. Clinical application of ET-Kyoto solution for lung transplantation[J]. *Surg Today*, 2015, 45 (4) : 439-443.
- 47 Van De Wauwer C, Neyrinck AP, Rega FR, et al. Retrograde flush is more protective than heparin in the uncontrolled donation after circulatory death lung donor[J]. *J Surg Res*, 2014, 187 (1) : 316-323.
- 48 Saren G, Wong A, Lu YB, et al. Ischemia-Reperfusion Injury in a Simulated Lung Transplant Setting Differentially Regulates Transcriptomic Profiles between Human Lung Endothelial and Epithelial Cells[J]. *Cells*, 2021, 10 (10) : 2713.
- 49 Beer A, Reed RM, Bölükbas S, et al. Mechanical ventilation after lung transplantation. An international survey of practices and preferences[J]. *Ann Am Thorac Soc*, 2014, 11 (4) : 546-553.
- 50 Hoetzenecker K, Benazzo A, Stork T, et al. Bilateral lung transplantation on intraoperative extracorporeal membrane oxygenator: An observational study[J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2020, 160 (1) : 320-327.e1.
- 51 Nathan SD. The future of lung transplantation[J]. *Chest*, 2015, 147 (2) : 309-316.
- 52 Steen S, Sjöberg T, Pierre L, et al. Transplantation of lungs from a non-heart-beating donor[J]. *Lancet*, 2001, 357 (9259) : 825-829.
- 53 Warnecke G, Moradiellos J, Tudorache I, et al. Normothermic perfusion of donor lungs for preservation and assessment with the Organ Care System Lung before bilateral transplantation: a pilot study of 12 patients[J]. *Lancet*, 2012, 380 (9856) : 1851-1858.
- 54 Cypel M, Yeung JC, Donahoe L, et al. Normothermic ex vivo lung perfusion: Does the indication impact organ utilization and

- patient outcomes after transplantation?[J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2020, 159 (1) : 346-355.e1.
- 55 Tian D, Wang Y, Shiiya H, et al. Outcomes of marginal donors for lung transplantation after ex vivo lung perfusion: A systematic review and meta-analysis[J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2020, 159 (2) : 720-730.e6.
- 56 Luo Q, Zhu L, Wang Y, et al. The Conversional Efficacy of Ex Vivo Lung Perfusion and Clinical Outcomes in Patients Undergoing Transplantation of Donor Lungs by Ex Vivo Lung Perfusion: A Meta-Analysis[J]. *Ann Transplant*, 2019, 24: 647-660.
- 57 Wang A, Ali A, Keshavjee S, et al. Ex vivo lung perfusion for donor lung assessment and repair: a review of translational interspecies models[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2020, 319 (6) : L932-L940.
- 58 Cypel M, Yeung JC, Hirayama S, et al. Technique for prolonged normothermic ex vivo lung perfusion[J]. *J Heart Lung Transplant*, 2008, 27 (12) : 1319-1325.
- 59 Lonati C, Bassani GA, Brambilla D, et al. Influence of ex vivo perfusion on the biomolecular profile of rat lungs[J]. *FASEB J*, 2018, 32 (10) : 5532-5549.
- 60 Chen F, Nakamura T, Fujinaga T, et al. Protective effect of a nebulized beta2-adrenoreceptor agonist in warm ischemic-reperfused rat lungs[J]. *Ann Thorac Surg*, 2006, 82 (2) : 465-471.
- 61 Yamada T, Chen F, Sakamoto J, et al. Impact of the cardiac arrest mode on cardiac death donor lungs[J]. *J Surg Res*, 2015, 195 (2) : 596-603.
- 62 Kermeen FD, McNeil KD, Fraser JF, et al. Resolution of severe ischemia-reperfusion injury post-lung transplantation after administration of endobronchial surfactant[J]. *J Heart Lung Transplant*, 2007, 26 (8) : 850-856.
- 63 Ohsumi A, Chen F, Sakamoto J, et al. Protective effect of pre-recovery surfactant inhalation on lungs donated after cardiac death in a canine lung transplantation model[J]. *J Heart Lung Transplant*, 2012, 31 (10) : 1136-1142.
- 64 Valenza F, Rosso L, Coppola S, et al.  $\beta$ -adrenergic agonist infusion during extracorporeal lung perfusion: effects on glucose concentration in the perfusion fluid and on lung function[J]. *J Heart Lung Transplant*, 2012, 31 (5) : 524-530.
- 65 Sakamoto J, Chen F, Nakajima D, et al. The effect of  $\beta$ -2 adrenoreceptor agonist inhalation on lungs donated after cardiac death in a canine lung transplantation model[J]. *J Heart Lung Transplant*, 2012, 31 (7) : 773-779.
- 66 Wu JX, Zhu HW, Chen X, et al. Inducible nitric oxide synthase inhibition reverses pulmonary arterial dysfunction in lung transplantation[J]. *Inflamm Res*, 2014, 63 (8) : 609-618.
- 67 Meade MO, Granton JT, Matte-Martyn A, et al. A randomized trial of inhaled nitric oxide to prevent ischemia-reperfusion injury after lung transplantation[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2003, 167 (11) : 1483-1489.
- 68 Ryter SW, Choi AM. Carbon monoxide: present and future indications for a medical gas[J]. *Korean J Intern Med*, 2013, 28 (2) : 123-140.
- 69 Akhtar MZ, Sutherland AI, Huang H, et al. The role of hypoxia-inducible factors in organ donation and transplantation: the current perspective and future opportunities[J]. *Am J Transplant*, 2014, 14 (7) : 1481-1487.
- 70 Ohsawa I, Ishikawa M, Takahashi K, et al. Hydrogen acts as a therapeutic antioxidant by selectively reducing cytotoxic oxygen radicals[J]. *Nat Med*, 2007, 13 (6) : 688-694.
- 71 Haam S, Lee S, Paik HC, et al. The effects of hydrogen gas inhalation during ex vivo lung perfusion on donor lungs obtained after cardiac death[J]. *Eur J Cardiothorac Surg*, 2015, 48 (4) : 542-547.
- 72 Liu H, Liang X, Wang D, et al. Combination therapy with nitric oxide and molecular hydrogen in a murine model of acute lung injury[J]. *Shock*, 2015, 43 (5) : 504-511.
- 73 Takahashi M, Chen-Yoshikawa TF, Saito M, et al. Immersing lungs in hydrogen-rich saline attenuates lung ischaemia-reperfusion injury[J]. *Eur J Cardiothorac Surg*, 2017, 51 (3) : 442-448.
- 74 Chen-Yoshikawa TF. Ischemia-Reperfusion Injury in Lung Transplantation[J]. *Cells*, 2021, 10 (6) : 1333.
- 75 Motoyama H, Chen F, Ohsumi A, et al. Protective effect of plasmin in marginal donor lungs in an ex vivo lung perfusion model[J]. *J Heart Lung Transplant*, 2013, 32 (5) : 505-510.
- 76 Tian W, Liu Y, Zhang B, et al. Infusion of mesenchymal stem cells protects lung transplants from cold ischemia-reperfusion injury in mice[J]. *Lung*, 2015, 193 (1) : 85-95.
- 77 Stone ML, Zhao Y, Robert Smith J, et al. Mesenchymal stromal cell-derived extracellular vesicles attenuate lung ischemia-reperfusion injury and enhance preconditioning of donor lungs after circulatory death[J]. *Respir Res*, 2017, 18 (1) : 212.
- 78 Antunes MA, Laffey JG, Pelosi P, et al. Mesenchymal stem cell trials for pulmonary diseases[J]. *J Cell Biochem*, 2014, 115 (6) : 1023-1032.

- 79 Nakajima D, Watanabe Y, Ohsumi A, et al. Mesenchymal stromal cell therapy during ex vivo lung perfusion ameliorates ischemia-reperfusion injury in lung transplantation[J]. J Heart Lung Transplant, 2019, 38 (11) : 1214-1223.
- 80 Matthay MA, Calfee CS, Zhuo H, et al. Treatment with allogeneic mesenchymal stromal cells for moderate to severe acute respiratory distress syndrome (START study): a randomised phase 2a safety trial[J]. Lancet Respir Med, 2019, 7 (2) : 154-162.
- 81 Chambers DC, Enever D, Lawrence S, et al. Mesenchymal Stromal Cell Therapy for Chronic Lung Allograft Dysfunction: Results of a First-in-Man Study[J]. Stem Cells Transl Med, 2017, 6 (4) : 1152-1157.
- (收稿: 2023-06-08; 修回: 2023-09-14; 接受: 2023-11-06)  
(本文编辑: 丁玮)

李宁, 刘言, 林慧庆. 肺移植供肺缺血再灌注损伤的机制及预防[J/OL]. 中华胸部外科电子杂志, 2023, 10 (4) : 247-256.