

出國報告（出國類別：進修）

行動式人工肺臟的動物及臨床實驗 --體外器官灌流/保存

服務機關：國立台灣大學醫學院附設醫院創傷醫學部

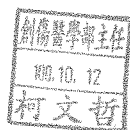
姓名職稱：張金池 / 主治醫師

派赴國家：美國 / 密西根大學外科部

出國期間：99 年 07 月 28 日至 100 年 07 月 12 日

報告日期：100 年 10 月 11 日

單位主管核章：



摘要

此次我到美國密西根大學體外維生實驗室出國進修的目的是學習並參與體外器官灌流/保存的實驗工作。在進修的過程中，我主要參與豬的體外腎臟灌流的動物實驗以及主要負責規劃與建立兔子的體外肺臟灌流的動物實驗模式。在腎臟灌流方面，我們有一次成功跨機構的合作進行灌流後移植的實驗。在肺臟灌流方面，我們成功建立了兔子的動物實驗模式並初步建立密西根大學灌流液的成份組成。此次進修的最大收穫是學習設計與進行動物實驗的方法，以解決臨床上所面臨的問題。

目次

目的.....	4
過程.....	4
心得.....	6
建議事項.....	6

本文

目的

此次出國進修的目的是到美國密西根大學（密大）體外維生實驗室 (Extracorporeal Life Support Lab, University of Michigan) 學習並參與體外器官灌流/保存的實驗工作，這是一種將器官保存在體外的技術。器官移植對於許多末期器官衰竭的患者而言已經是一個被廣為接受的有效治療方式。然而，目前器官移植所面臨的最大問題之一是器官來源不足。等待器官的患者增加的速度遠大於成功等到器官移植的患者增加的速度。在這樣的情況下，越來越多的在器官品質上所謂的邊緣性器官 (marginal organs) 被醫師用來移植在患者身上。然而，邊緣性器官因品質不甚理想會增加移植患者的併發症及死亡率。另一方面，現行的低溫 (4°C) 器官灌流及保存無法長時間保存器官，也無法避免缺血/再灌流所產生的傷害 (ischemia/reperfusion injury)。因此，體外器官灌流/保存的目的是希望能夠將器官長時間地保存在體外，並藉由此技術維持或改善該器官的功能。若能成功，將可改善邊緣性器官的品質，增加器官的利用率及成功率。

過程

我在美國所進修的密大體外維生實驗室，主要研究領域的共同目的是以體外維生的方法來治療急性器官衰竭。到進修機構後，我的老闆 Bartlett 醫師，也是我的指導教授，將我分配在器官灌流/保存的團隊中。剛開始時我便跟著大家做體外腎臟灌流的實驗。我們的實驗動物是選用體重約 90±10 公斤的母豬。我們將豬做插管及全身麻醉後，以開腹方式摘取兩側腎臟。在這之前我們先將豬的頸靜脈放置導管 (cannulation)，目的是要在腎臟摘取後將豬的血自導管放出來 (exsanguination) 並收集，做為後續製作成灌流液之用。在完成腎臟摘取及血液收集後，我們以攝氏 4 度的 Histidine-Tryptophan-Ketoglutarate (HTK) 溶液 (為一種常用的腎臟灌注 [flush] 液) 來灌注保存腎臟。接著我們將豬血離心去除白血球及血小板，製成以血漿及紅血球為主的灌流液。在完成灌流液製備後，我們開始體外腎臟灌流的實驗。我們主要用美國 Waters 公司生產的腎臟灌流系統來做為體外腎臟灌流的機器，膜氧合器則是採用美國 Michigan Critical Care Consultants (MC3) 公司的產品，Bartlett 醫師為此公司的老闆。灌流溫度設定為攝氏 27 度。灌流收縮壓不超過 50 公釐汞柱，因為太大的灌流壓力會使腎臟加速水腫並衰竭。我們主要的實驗目的是測試以血漿為主的灌流液是否為適合體外腎臟灌流的灌流液。我們總共做了 12 例的體外腎臟灌流實驗。平均灌流時間為 18.8 小時。平均腎臟重量增加 31.9%。腎臟灌流到最後的表現為血管阻力上升、流速下降、壓力上升，呈現水腫變化。利尿劑 Lasix 對水腫的改善及尿輸出量無顯著影響。兩例接受每兩小時更換 10% 的灌流液，此目的是希望保持灌流液的新鮮成份。結果發現當更換 10% 的灌流液時，血管阻力立刻明顯上升，流速下降。推測可能與血漿中可能含有動物犧牲前所釋放出來的腎上腺素有關。灌流

時間有小幅增加，分別為 21 及 25 小時。兩例在灌流液中加入人類白蛋白，目的是希望增加膠體滲透壓 (oncotic pressure)，以延緩腎臟水腫。結果卻發現加入人類白蛋白使腎臟水腫程度加劇，最後腎臟重量增加約 50%。我們懷疑此原因與異種排斥有關。我們後來改以無紅血球的血漿灌流液做灌流，發現無紅血球的血漿灌流液仍然可以攜帶足夠的氧氣。另外，我們與美國 Brasile 醫師的 Breonic 公司研究團隊在我們的實驗室合作完成四例將體外灌流後的腎臟做活體移植的動物實驗。我們此次採用由 Breonic 公司研發的細胞培養液 exsanguineous metabolic supportive (EMS) 溶液為灌流液的主要成份，加上胎兒牛血漿 (fetal bovine serum)。我們此次實驗的目的是要比較以此灌流液分別進行 3 小時及 18 小時的體外腎臟灌流後，將腎臟進行同種異體移植後的結果。在 3 小時體外灌流的兩例實驗中，其中一例於術後第三天意外死於氣體栓塞 (air embolism)，懷疑豬將其自己的中央靜脈導管的鎖帽咬掉所致。解剖發現其腎臟外觀仍呈健康的粉紅色。最後一次的血中肌酸酐 (creatinine，為臨床上評估腎功能最常用的指標) 為 1.6。豬的尿輸出量也是正常。另一例則存活 6 天，最後一次的血中肌酸酐為 4.6。尿輸出量在最後兩天逐漸減少，最後沒有。解剖發現其腎臟外觀呈紫色且厲害水腫。在 18 小時體外灌流的兩例實驗中，兩例皆存活兩天，最後一次的血中肌酸酐分別為 8.9 及 9.1，皆呈現少量的尿輸出量。解剖結果腎臟皆呈現蒼白的外觀並伴有一些小的梗塞。

除了體外腎臟灌流之外，我們也開始進行體外肺臟灌流的實驗。在 Bartlett 醫師及器官灌流/保存團隊資深研究員與夥伴的指導下，由我主要寫出了體外肺臟灌流的實驗計畫。和體外腎臟灌流實驗不同之處是我們的實驗動物是選用體重約 3 公斤的紐西蘭大白兔，原因是兔子的肺臟大小恰好適合在我們做腎臟灌流的機器上做灌流。肺臟灌流的方式與腎臟灌流類似，但仍有幾個不同之處。第一，我們選用一種常用的細胞培養液 Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) 溶液做為體外肺臟灌流液的主成份 (約占灌流液的 50 至 55%)。我們加入 Dextran 40 溶液 (一種常用的靜脈點滴輸液，約占灌流液的 35 至 40%) 以增加灌流液的滲透壓 (osmotic pressure)，兔子血漿 (Bartlett 醫師推論認為血漿中含有一種維持器官生存的物質，稱為 Vitalin；約占灌流液的 8 至 10%)。我們加入適量的碳酸氫鈉溶液以達到灌流液酸鹼度緩衝的效果，並加入微量的胰島素以增加細胞對糖份的利用率。第二，我們給予高濃度二氧化碳 (10%) 與低濃度氧氣 (6%) 來模擬肺動脈內缺氧血的情況，並給予肺臟空氣 (氧氣濃為 21%) 和維持 5 公分水柱的吐氣末正壓。如此我們便可以觀察肺臟的氣體交換功能。第三，灌流溫度提高至攝氏 35 度，更為接近正常體溫，希望使細胞的代謝功能更好且更為正常。第四，平均灌流壓力控制在 10 到 15 公釐汞柱，模擬正常的平均肺動脈壓。我們將兔子全身麻醉並給與靜脈注射抗凝血劑肝素 (heparin) 後自頸部切斷氣管並放血犧牲，並收集血液以離心製成血漿。我們以近中線開胸 (paramedial thoracotomy) 方式將心肺連同氣管一起摘取出來。我們立即將心肺置於攝氏 4 度的冰水中並使肺臟充氣膨脹。接著以攝氏 4 度的 HTK 溶液灌注肺動脈。灌注完畢後我們將左心房以外的心臟分離，並在左心房放置肺靜脈的導管後將左心房縫合關閉。體外肺臟灌流實驗的目的是建立動物實驗模式及找尋理

想灌流液的成份及比例。我們總共做了 20 例的體外肺臟灌流實驗。平均灌流時間為 6.3 小時。平均肺臟重量增加 94%。和豬的體外腎臟灌流結果相似，我們發現當加入人類白蛋白於灌流液中，灌流時間變得更短（5 小時；對照組為 7.5 小時）並且加速肺臟水腫程度。我們同樣推測與異種排斥有關。兔子血漿對灌流時間沒有顯著的影響（實驗組及對照組皆為 7.5 小時）。兔子血漿與較好的肺臟氣體交換功能有關，但也有較高的肺血管阻力。

心得

我要非常感謝教育部、院方還有我的兩位主管也都是我的老師：故李元麒教授及創傷醫學部柯文哲主任能讓我有這次的機會到美國進修。之前在國內的工作經歷，主要是在台大接受外科住院醫師的訓練。訓練的重點著重在臨床知識及技術的學習。這次去美國進修則是在醫學校區的實驗室裡，學習如何設計一個實驗，如何在有限的資源下選取合適的實驗材料，包括實驗動物、藥品、耗材、機器等。這次在美國密西根大學我所參與的研究題目體外器官灌流/保存，在那裡也算是剛起步不久。尤其是肺臟灌流的實驗，我參與了從一開始計畫及建立實驗模式的階段。這個題目目前在全世界也算是還蠻新的研究領域。目前全世界在體外肺臟灌流做的最好的團隊之一是加拿大多倫多大學的 Keshavjee 醫師所領導的團隊。他們剛在今年春天發表了全世界第一個體外肺臟灌流人體移植臨床試驗的論文於「新英格蘭醫學雜誌」(New England Journal of Medicine)。我們曾經在如何減低肺臟水腫的問題上遇到瓶頸，Bartlett 醫師要我們可以寫封電子信請教 Keshavjee 醫師。Keshavjee 醫師也很快地回信告訴我們可以在灌流液中加入 Dextran 40 以增加滲透壓，使我們得以突破瓶頸繼續做下去。總的來說，我在實驗的方法上學習甚多。

建議事項

我在美國所進修的實驗室裡有好幾位密大醫院外科部的住院醫師在裡頭以研究員 (research fellow) 的身份從事研究工作。他們都是已完成三年的一般外科訓練的醫師，選修兩年的實驗外科訓練。這兩年他們沒有臨床的工作，但可以加入夜間的醫院值班工作，若他們需要且願意多賺一些錢的話。當兩年結束後，他們再繼續兩年的一般外科訓練，接著才是次專科的訓練。他們的這兩年經歷雖然不是必修，但若是他們將來有意選擇某些次專科的訓練時，將會有大大的加分作用。因此，在這個實驗室的這些「住院醫師研究員」，幾乎都有決定將來想要走某次專科，如胸心外科、小兒外科或移植外科等。我國若要再提高平均國內大學醫院或醫學中心內醫師的研究能力，我想或許我們可以參考美國現行的做法，並配合我國的國情來規劃未來台灣住院醫師或次專科研修醫師的訓練計劃。