

异种心脏移植与无线心室辅助装置*

刘金平¹ 张力¹

[摘要] 心力衰竭(心衰)日益成为人类健康的主要威胁,供体器官的缺乏以及常规心室辅助装置的负担,使心衰的治疗难以兼顾患者的生存率和生活质量。近年来,在基因编辑技术的推动下,异种心脏移植克服了免疫排斥、凝血功能失调、炎症及缺血再灌注损伤以及猪内源性逆转录病毒等多重障碍;同时随着医疗器械技术的进步,心室辅助装置逐步实现微型化、无线化。这些技术的进步将为心衰患者提供新的治疗策略。

[关键词] 心力衰竭;异种心脏移植;心室辅助装置

DOI:10.13201/j.issn.1001-1439.2022.04.001

[中图分类号] R541.6 **[文献标志码]** C

Cardiac xenotransplantation and wireless left ventricular assist device

LIU Jinping ZHANG Li

(Department of Cardiovascular Surgery, Zhongnan Hospital of Wuhan University, Wuhan, 430060, China)

Corresponding author: LIU Jinping, E-mail: liujinping@znhospital.cn

Summary Heart failure is increasingly becoming a major threat to human health. Due to the lack of donor organs and the burden of conventional ventricular assist devices, it is difficult to pursue both the survival rate and quality of life of patients in treating heart failure. In recent years, driven by gene-editing technology, cardiac xenotransplantation has overcome multiple barriers, such as immune rejection, coagulation dysfunction, inflammation and ischemia-reperfusion injury, and porcine endogenous retroviruses. At the same time, with the advancement of medical device technology, ventricular assist devices have gradually achieved miniaturization and wireless. These technological advances will provide new treatment strategies for patients with heart failure.

Key words heart failure; cardiac xenotransplantation; ventricular assist devices

心力衰竭(心衰)是全世界范围内对人类健康有重大威胁的疾病之一,心衰在美国成人中的发病率高达2.1%,随着年龄的增加,在>70岁的人群中高达10%^[1],在我国约有890万心衰患者^[2]。终末期心衰患者最成熟有效的治疗方案是心脏移植,但是由于供体器官的缺乏,能接受心脏移植的患者极为有限。2019年美国仅有3552人接受了心脏移植^[1],在中国每年开展的心脏移植约600台左右。因此异种心脏移植、心脏辅助装置等成为最有希望的替代方案。

2022年1月7日,美国马里兰大学医学院成功将基因编辑猪的心脏移植到57岁男性心衰患者体内。与此同时,2022年1月上旬,Leviticus Cardio公司与Calon Cardio公司共同宣布成功研制无线左室辅助装置(LVAD),已完成60d的体内临床前研究。以上2个研究标志着心衰治疗即将进入新的一页,本文将梳理异种心脏移植与无线LVAD的相关研究进展。

*基金项目:国家自然科学基金项目(No:82100412);湖北省重点研发计划(No:2020BCB053)

¹武汉大学中南医院心血管外科(武汉,430060)

通信作者:刘金平,E-mail:liujinping@znhospital.cn

1 异种心脏移植的研究进展

1984年,Leonard Bailey进行了第1台心脏异种移植手术,将狒狒的心脏移植到患有左心发育不良综合征的婴儿体内,婴儿存活12d后死亡^[3]。随后的研究发现多种机制共同作用导致了异种心脏移植的失败,主要包括:异种移植排斥及人畜共患病跨物种传播的风险。

异种移植排斥分为超急性移植排斥(HAR)和迟发性移植抑制(DXR)。HAR的发生机制涉及猪的异种抗原与抗体的结合,补体的触发和凝血级联激活,导致内皮活化和损伤,通常在几分钟或数小时内发生。DXR包括异种移植功能障碍和受体损伤,在几天或几周内发展,主要是由于人类凝血和补体通道蛋白以及猪血栓调节和补体调节的分子不相容导致的炎症及凝血功能异常。总体来说,异种移植排斥主要涉及的机制包括免疫反应(包括抗原抗体结合、补体系统、细胞免疫等)的触发、凝血功能异常、炎症反应以及缺血再灌注损伤^[4-6]。

1.1 免疫排斥反应及其修饰机制

1.1.1 异种抗原及其敲除 目前研究证实,猪体内含有多种多糖抗原,这些抗原在人类和非人灵长

类动物(狒狒、猕猴)体内不表达,但在猪的细胞膜上表达,异种移植后会诱导体液免疫、触发补体以及细胞免疫等机制而导致 HAR。这些抗原主要是 $\alpha 1, 3$ -半乳糖 ($\alpha 1, 3$ -Gal)、N-乙酰神经氨酸 (Neu5Gc) 和 SDa 抗原^[7]。

为了减少抗猪抗体与异种植物的结合,通过基因编辑技术,可以敲除猪的 3 种主要多糖抗原靶点。 $\alpha 1, 3$ -Gal 的合成由 $\alpha 1, 3$ -半乳糖苷转移酶 (GGTA1) 催化,该酶在猪体内表达但在人类和非人灵长类动物体内不表达。制备敲除 GGTA1 基因编辑猪 GalTKO, 异种移植后并未显示出 HAR^[8-9]。Neu5Gc 合成的关键酶是单磷酸胞嘧啶-N-乙酰神经氨酸羟化酶 (CMAH), 敲除后 CMAH-KO 可以更好地减少移植物-宿主体液免疫反应^[10]。SDa 抗原是一种非半乳糖抗原,其表达需要 β -1,4-N-乙酰半乳糖胺转移酶 2 ($\beta 4$ GalNT2) 的催化。在 GalTKO 中进一步敲除 $\beta 4$ GalNT2 基因,可以更好地抑制排斥反应^[11]。

1.1.2 补体系统及其调控 补充调节蛋白 (CRPs) 存在于人类和其他脊椎动物的血清和组织液中,它们可以通过抑制补体级联激活来保护细胞免受自体补体的损伤。然而猪 CRPs 不能有效控制人补体系统,导致补体介导的猪移植物损伤^[12]。人类补体级联主要由 hCD46、hCD55、hCD59 因子调控^[7,10]。转基因猪的器官表达人类补体调节蛋白可下调补体介导的细胞损伤,延长猪细胞和器官的存活时间,并进一步抑制超急性排斥反应^[13]。

1.1.3 细胞免疫及抑制策略 细胞免疫排斥反应通常在移植后数天到几个月内发生,引起细胞免疫的主要是 T 细胞、巨噬细胞和自然杀伤细胞 (NK)。

T 细胞的激活需要 T 细胞受体 (TCRs) 与猪抗原提呈细胞 (APCs) 上的主要组织相容性复合体 (MHC) 结合,以及一个 CD40-CD154 和 CD28-CD80/86 通路的共刺激信号。抑制异种移植 T 细胞排斥反应的策略主要是下调共刺激和猪细胞 MHC 的表达。2016 年, Mohiuddin 报道基于共刺激阻滞的免疫抑制治疗策略,基因编辑猪 (GTKO. hCD46. hTBM) 应用抗 CD40 单克隆抗体可以阻断 CD40-CD154 通路,在心脏异种异位移植模型中长期存活时间达到 945 d,而抗 CD40 抗体剂量减少后会导致抗猪抗体复发和移植物失败^[14]。

NK 细胞介导的细胞毒性的调控需要 NK 细胞表面的抑制受体识别靶细胞表面 MHC,但由于种间不相容,人类 NK 细胞无法识别猪的 MHC 即猪白细胞抗原 (SLA-I),从而使 NK 细胞活化的抑制信号失效。同时,与异种抗原结合的抗体会被 NK 细胞的 Fc 受体 (FcRs) 识别,增强 NK 细胞毒性^[4,7]。因此需要对异种植物细胞表面的 MHC

进行基因修饰。人白细胞抗原 E (hHLA-E) 是 NK 细胞 MHC 特异性抑制受体的配体。表达 hHLA-E 可保护转基因猪内皮细胞免受人类 NK 细胞介导的细胞毒性,还能显著抑制巨噬细胞产生的促炎细胞因子和巨噬细胞介导的细胞毒性^[5,7]。

巨噬细胞活性可由异种反应性 T 细胞引起,也可以通过供体内皮抗原与巨噬细胞表面受体的直接相互作用而激活^[7]。CD47 是巨噬细胞抑制受体的配体,CD47 可通过与信号调节蛋白 α (SIRP α) 结合抑制巨噬细胞的吞噬作用,但 CD47 与 SIRP α 的相互作用存在种间不亲和性^[12],在异种移植中,猪细胞表面的 CD47 无法与异种宿主体内的 SIRP α 结合,从而无法实现抑制巨噬细胞的吞噬作用^[15]。在 (GTKO. hCD46) 基因编辑猪体内,加入细胞免疫抑制 (hCD39, hCD47) 的人转基因的表达,术后 30 d 未观察到明显的免疫抑制^[16]。

1.2 凝血功能失调及其修饰机制

凝血功能失调导致移植血管血栓性微血管病变,其特点包括纤维蛋白沉积和血小板聚集,并最终引起缺血性损伤,是引起 DXR 的重要原因^[7,12]。同时由于受体循环内的凝血物质大量消耗,也会导致受体出现凝血性病变^[17]。

在异种移植中受体和供体来源的组织因子 (TF) 都有助于外源性凝血级联的激活,而猪血栓调节分子,如血栓调节蛋白 (TBM)、内皮蛋白 C 受体 (EPCR)、凝血酶激活的纤溶抑制物 (TAFI) 和人类血液蛋白存在种间不相容,无法产生调节作用,导致凝血功能失调并引起 DXR^[5,12]。在 (GalTKO. hCD46) 心脏上表达人类 TBM (hTBM) 可以防止狒狒的消耗性凝血功能障碍和血栓性微血管病变^[4]。

1.3 炎症反应及缺血再灌注损伤的调控机制

目前已有研究显示异种移植后存在异种植物受体中的全身炎症 (SIXR)。器官移植后缺血再灌注损伤、免疫反应等都会诱导出现炎症反应,另一方面炎症反应又会增强免疫反应,诱发凝血功能障碍^[6,18]。目前研究认为血红素加氧酶-1 (HO-1) 以及 A20, 又称肿瘤坏死因子 α 诱导蛋白 3 (TN-FAIP3), 在其中可能起到重要作用,可以减少炎症和细胞凋亡以及缓解器官的缺血再灌注损伤,通过表达 hHO-1、A20 可以更好地保护异种植物,但仍需要进一步评估^[19]。

为了尽量减少移植供心的缺血再灌注损伤, Långin 等^[6]进行了体外连续灌注实验,移植的猪心脏持续体外灌注至移植前,原位移植后持续维持生命长达 195 d。证实体外灌注装置能够防止基因编辑猪心出现早期异种移植功能障碍。

1.4 人畜共患病跨物种传播及猪内源性逆转录病毒 (PERV) 敲除

猪到人异种移植的另一个障碍是人畜共患病致病微生物跨种传播的风险。PERV 的原病毒 DNA 是猪基因组的一部分,并且 PERV 能够感染人类细胞株^[7,12]。然而 PERV 无法通过无病原体育种(DPF 或 SPF)来消除,因此异种移植后可能导致异种移植受体感染,并有可能引发病毒感染大流行。2016 年基于 CRISPR 的基因编辑被成功地用于同时编辑和功能禁用所有 62 个编码 PERV 的猪基因序列,消除了 PERV 跨物种传播的风险^[20]。

2 无线心脏辅助装置研究进展

虽然异种心脏移植取得了极大进展,但对于临床大规模应用仍有较大距离,现阶段最容易实现的技术依然是心脏辅助装置,常用的为 LVAD。根据血流泵设计原理可以分为脉冲泵、机械轴承泵和悬浮泵,分别对应临床上使用的第一代、第二代和第三代 LVAD。目前临床上使用最多的是第三代,以 HVAD 和 Heartmate3 为主要代表^[21]。常见的 LVAD 主要包含体内的血流泵、体外的外部控制器和电源以及负责体内体外连接的传动系统电缆。

根据美国 STS 协会 2021 年年报统计,2019 年植入 LVAD 的心衰患者术后 2 年生存率已经达到了 73.1%,不劣于心脏移植的效果^[22]。LVAD 已经显示了良好的中期结果,目前最主要的风险是卒中和感染^[23]。随着第三代 LVAD 的使用,卒中发生率也明显降低,但由于仍然需要使用经皮传动系统,感染风险仍高。据统计,LVAD 植入后感染的发生率高达 42%,且感染患者 1 年的死亡率高达 29%(未感染者 13%),感染患者的卒中发生率也显著高于未感染患者。感染是目前 LVAD 植入后再入院及死亡的重要原因^[24]。

这些结果说明了快速推进全植入式泵技术的必要性。2019 年 Leviticus Cardio 公司设计并制备了全植入左室辅助装置(FiVAD):包括无线共面能量传输系统(CET),结合连续血流泵左心室辅助装置(CF-LVADs, Jarvik 公司),在 2 例患者体内成功植入^[25]。随后 Leviticus Cardio 公司又与 Calon Cardio 公司联合研发无线 LVAD,并于 2022 年 1 月宣布已完成 60 d 的体内临床前研究,成功验证了这两项创新技术的整合可行性。

FiVAD 无线充电技术独特之处在于使用了 CET 系统。CET 系统包括 2 个具有线圈结构的环状动力传输带,其中植入体内的放置在肺部周围固定,直接由外部动力传输带(由患者背带)接收电力。由于没有经皮连接的传动系统电缆,患者不仅可以免受感染等不良事件的影响,更实现了让患者完全免于连续或频繁充电,或者不得不佩戴重型支持系统,从而极大地改善了患者的生存质量^[26]。

3 展望

随着我国人口老龄化进程的加深,心衰的发病

率不断升高,已经成为心血管疾病的主要战场。LVAD 的替代治疗已经让更多的心衰患者获益,使患者获得生活质量提升的治疗策略成为现阶段研究的主要方向。良好适配的异种心脏移植以及无线心室辅助装置的研究进展将使这种愿望变为现实。虽然在 2022 年 3 月 8 日,第 1 例接受基因编辑猪心异种移植的患者于移植术后 2 个月去世(目前死因还在进一步评估中),但相信这些珍贵的资料会更好地促进相关研究的进步,为未来可临床应用的异种移植打下更坚实的基础。

目前我国在这方面也取得了积极进展。在异种移植领域,杭州启函生物、成都中科奥格等公司均培育出多基因编辑猪,奠定了异种移植研究的基础。在心室辅助装置领域,重庆永仁心、苏州同心已完成注册上市,航天泰新的“火箭心”也已完成临床。在这两个较新的领域,我国有望实现对技术领先国家的追赶,并获得自主知识产权的产品,实现高附加值生物医疗领域的产业突破。

同时,我们也应注意技术层面的进步,需要更加注意伦理的问题,以提高患者的生存率和生活质量为导向,最终实现造福患者和改善中国整体健康水平的目标。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Virani SS, Alonso A, Aparicio HJ, et al. Heart Disease and Stroke Statistics-2021 Update: A Report From the American Heart Association [J]. *Circulation*, 2021, 143(8): e254-e743.
- [2] 中国心血管健康与疾病报告编写组. 中国心血管健康与疾病报告 2020 概要 [J]. *中国循环杂志*, 2021, 36(6): 521-545.
- [3] Stehlik J, Kobashigawa J, Hunt SA, et al. Honoring 50 Years of Clinical Heart Transplantation in Circulation: In-Depth State-of-the-Art Review [J]. *Circulation*, 2018, 137(1): 71-87.
- [4] Lu T, Yang B, Wang R, et al. Xenotransplantation: Current Status in Preclinical Research [J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 3060.
- [5] Park MY, Krishna Vasamsetti BM, Kim WS, et al. Comprehensive Analysis of Cardiac Xeno-Graft Unveils Rejection Mechanisms [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(2).
- [6] Längin M, Mayr T, Reichart B, et al. Consistent success in life-supporting porcine cardiac xenotransplantation [J]. *Nature*, 2018, 564(7736): 430-433.
- [7] Niu D, Ma X, Yuan T, et al. Porcine genome engineering for xenotransplantation [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2021, 168: 229-245.
- [8] Lai L, Kolber-Simonds D, Park KW, et al. Production of alpha-1, 3-galactosyltransferase knockout pigs by nuclear transfer cloning [J]. *Science*, 2002, 295(5557): 1089-1092.

- [9] Dai Y, Vaught TD, Boone J, et al. Targeted disruption of the alpha1, 3-galactosyltransferase gene in cloned pigs[J]. *Nat Biotechnol*, 2002, 20(3): 251-255.
- [10] Lutz AJ, Li P, Estrada JL, et al. Double knockout pigs deficient in N-glycolylneuraminic acid and galactose α -1, 3-galactose reduce the humoral barrier to xenotransplantation[J]. *Xenotransplantation*, 2013, 20(1): 27-35.
- [11] Estrada JL, Martens G, Li P, et al. Evaluation of human and non-human primate antibody binding to pig cells lacking GGTA1/CMAH/ β 4GalNT2 genes[J]. *Xenotransplantation*, 2015, 22(3): 194-202.
- [12] Pierson RN 3rd, Fishman JA, Lewis GD, et al. Progress Toward Cardiac Xenotransplantation[J]. *Circulation*, 2020, 142(14): 1389-1398.
- [13] Yamada K, Yazawa K, Shimizu A, et al. Marked prolongation of porcine renal xenograft survival in baboons through the use of alpha1, 3-galactosyltransferase gene-knockout donors and the cotransplantation of vascularized thymic tissue[J]. *Nat Med*, 2005, 11(1): 32-34.
- [14] Mohiuddin MM, Singh AK, Corcoran PC, et al. Chimeric 2C10R4 anti-CD40 antibody therapy is critical for long-term survival of GTKO, hCD46, hTBM pig-to-primate cardiac xenograft[J]. *Nat Commun*, 2016, 7: 11138.
- [15] Ide K, Wang H, Tahara H, et al. Role for CD47-SIRPalpha signaling in xenograft rejection by macrophages[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2007, 104(12): 5062-50666.
- [16] Chan JL, Singh AK, Corcoran PC, et al. Encouraging experience using multi-transgenic xenografts in a pig-to-baboon cardiac xenotransplantation model[J]. *Xenotransplantation*, 2017 Nov, 24(6).
- [17] Wang L, Cooper D, Burdorf L, et al. Overcoming Coagulation Dysregulation in Pig Solid Organ Transplantation in Nonhuman Primates; Recent Progress[J]. *Transplantation*, 2018, 102(7): 1050-1058.
- [18] Ezzelarab MB, Ekser B, Azimzadeh A, et al. Systemic inflammation in xenograft recipients precedes activation of coagulation[J]. *Xenotransplantation*, 2015, 22(1): 32-47.
- [19] Nakamura K, Zhang M, Kageyama S, et al. Macrophage heme oxygenase-1-SIRT1-p53 axis regulates sterile inflammation in liver ischemia-reperfusion injury[J]. *J Hepatol*, 2017, 67(6): 1232-1242.
- [20] Niu D, Wei HJ, Lin L, et al. Inactivation of porcine endogenous retrovirus in pigs using CRISPR-Cas9[J]. *Science*, 2017, 357(6357): 1303-1307.
- [21] Vieira JL, Ventura HO, Mehra MR. Mechanical circulatory support devices in advanced heart failure: 2020 and beyond[J]. *Prog Cardiovasc Dis*, 2020, 63(5): 630-639.
- [22] Molina EJ, Shah P, Kiernan MS, et al. The Society of Thoracic Surgeons InterMACS 2020 Annual Report[J]. *Ann Thorac Surg*, 2021, 111(3): 778-792.
- [23] Gustafsson F, Netuka I. Interplay of pump design elements and bleeding predilection-Mechanisms for a forward momentum[J]. *J Heart Lung Transplant*, 2019, 38(8): 817-819.
- [24] Shah P, Birk SE, Cooper LB, et al. Stroke and death risk in ventricular assist device patients varies by ISHLT infection category: An INTERMACS analysis[J]. *J Heart Lung Transplant*, 2019, 38(7): 721-730.
- [25] Pya Y, Maly J, Bekbossynova M, et al. First human use of a wireless coplanar energy transfer coupled with a continuous-flow left ventricular assist device[J]. *J Heart Lung Transplant*, 2019, 38(4): 339-343.
- [26] Pya Y, Abdiorazova A. Elimination of drive exit line: transcutaneous energy transmission[J]. *Ann Cardiothorac Surg*, 2021, 10(3): 393-395.

(收稿日期: 2022-03-15)