

# 猪辅助性带胰头及十二指肠 肝肠联合移植的研究

尹震宇 王效民 李宁 李幼生 倪小冬 蒋峰 黎介寿

**【摘要】** 目的 介绍猪辅助性带胰头及十二指肠的肝肠联合移植(LSBT)模型技术及其免疫抑制治疗。方法 40 头杂交长白猪分为两组,每组 20 头,组内进行辅助性带胰头及十二指肠的 LSBT 10 次。其中 A 组未用免疫抑制剂治疗,B 组采用环孢素 A 和甲基强的松龙治疗。结果 A 组动物术后成活时间为(10.33 ± 1.93) d(7 ~ 25 d),B 组全部动物成活超过 30 d。在没有应用体外转流的情况下,可以耐受血液动力学的波动,血液动力学指标(B 组)可以在血流再通后 2 h 恢复正常。B 组猪术后血液、尿液和腹腔引流液中的淀粉酶一过性升高,但在 1 周后回落到术前水平,活检没有发现严重胰腺炎。结论 猪辅助性带胰头和十二指肠的 LSBT 是一种可行的、安全的移植模型,这一模型可以简化传统肝肠移植的技术,应用环孢素 A 和甲强龙可以有效的抑制猪肝肠移植后急性排斥反应。

**【关键词】** 肝移植; 小肠移植; 猪; 模型,动物

**Auxiliary en-bloc liver-small bowel transplantation with duodenum and partial pancreas preservation in pigs** YIN Zhen-yu, WANG Xiaoming, LI Ning, et al. Department of General Surgery, Zhongshan Hospital, Xiamen 361004, China

**【Abstract】 Objective** To introduce an auxiliary combined liver-small bowel transplantation model with the preservation of the duodenum partial head of pancreas and hepatic biliary system in pigs. **Methods** Forty outbred long-white pigs were randomized into two groups, and the auxiliary composite liver-small bowel allotransplantations were performed in 10 long-white pigs in each group with the recipient liver preserved. Group A was not treated with immunosuppressive drugs, while group B was treated with Cyclosporine A and Methylprednisolone. The hemodynamic changes and amylase of body fluid were analyzed. **Results** The average survival time of the animals was (10.33 ± 1.93) days (7 to 25 days) and more than 30 days in group A and B respectively. The pigs could tolerate the hemodynamic fluctuation during operation and the parameters would recover to normal 2 h after blood reperfusion. The transient high amylase level would decrease to normal one week after operation and the autopsy showed no pancreatitis. **Conclusion** Auxiliary en-bloc liver-small bowel transplantation with partial pancreas preservation is a feasible and a safe model with simplified surgical techniques for composite liver/small bowel transplantation. The acute rejection of the grafts can be shielded from the treatment of Cyclosporine A and Methylprednisolone.

**【Key words】** Liver transplantation; Small bowel transplantation; Pig; Model, animal

我们通过本研究制作一种猪的辅助性带胰头和十二指肠的肝肠联合移植(LSBT)模型,现将结果报道如下。

## 材料与方法

1. 动物的准备:杂交长白猪体重 20 ~ 40 kg,性别不限,分为两组,每组组内作辅助性 LSBT 10 次。术前准备:猪术前 24 h 禁食,4 h 前禁水。术前 3 d 开始在食物中加入口服抗生素进行肠道准备。肌注氯胺酮,经静脉按 25 ng/kg 体重注射巴比妥钠诱导麻醉后

气管插管,采用呼吸机机械通气并用巴比妥钠术中维持麻醉。手术开始时经静脉应用抗生素。

2. 供体的手术技术:术式借鉴我们相关手术技术的报道<sup>[1]</sup>。近端 3 ~ 4 m 空肠连同肝、胰头和十二指肠一起作为供体组织。其余小肠和结肠分离后在升结肠起始处横断,连同相应的系膜一并切除,暴露近端的十二指肠、腹主动脉及下腔静脉。(1)血管的分离:分离左侧的后腹膜暴露腹主动脉,保护好位于腹主动脉近端的腹腔干和肠系膜上动脉。分离并切断左右肾动脉。肾下腹主动脉、腹腔干近端的腹主动脉分离后用索带固定,以备腹主动脉远端插管灌注。进一步暴露肝下下腔静脉及其分支,并用索带固定。左右肾静脉结扎切断。在分离并切断脾动脉时注意保护伴行的脾静脉留作灌注。(2)原位灌注和器官的获取:供体取血

基金项目:国家自然科学基金资助项目(39070828)

作者单位:210093 南京军区南京总医院普通外科研究所(第 1 作者  
现在福建省厦门中山医院肝胆外科,361004)

(备受体手术时应用)结束后全身肝素化,近端胸主动脉夹闭,经远端腹主动脉插管后用 0~4 乳酸林格液灌洗;同时经脾静脉插管灌洗。肝及小肠通过与其相连的门静脉系统和腹主动脉系统作原位灌洗。胸腔内肝上下腔静脉和肝下下腔静脉已断开引流灌洗液。灌洗液的量按 50~100 ml/kg 体重应用。灌洗完毕,移植物包括肝脏、肝门系统、胰、十二指肠、脾、小肠及相连的腹腔动脉和相应的肝上、肝下下腔静脉整块取下放入 0~4 的乳酸林格氏液中。(3)后台修整:后台修整在冷的乳酸林格氏液中完成。肝上下腔静脉及近端的腹主动脉缝闭;脾脏切除并保留脾静脉;胰腺的体尾切除,仅保留和十二指肠相连部分的胰腺组织,胰腺残端缝闭。

3. 受体的手术:麻醉后,受体采用心电监护,经颈静脉分别插入两根导管,其中之一插入 Swan-Ganz 气囊导管监测血液动力学改变包括术前、血流开放前、开放 5、30、60 和 120 min 的中心静脉压(CVP)、右心室压(VP)、肺动脉楔压(PAWP)以及心排出量(CO);平均动脉压经股动脉插管测定。术前、术后 1、3、5、7 d 的血液、尿液和腹腔引流液中的淀粉酶分别进行监测。受体腹腔游离和结肠切除为了有足够的空间植入供体,在进腹后切除全部游离结肠及其系膜。将自体末端回肠和升结肠作端端吻合。(1)血管的准备:在腹主动脉肾脏以下 2 cm 处分离出腹主动脉长 3 cm 的一段,在分离时为减少术后出血和可能的淋巴瘘,应将腹主动脉上的小分支和沿途的淋巴管断端仔细结扎。同时分离出肾下下腔静脉。(2)移植物的植入和血流再通:方法是在以前报道上的改进(图 1)<sup>[1,2]</sup>。供体腹主动脉远端与受体腹主动脉作端侧吻合;供体肝下下腔静脉与受体肾下下腔静脉端侧吻合。在血流再通前,通过供体脾静脉灌入受体血液或林格氏液 300~500 ml。先开放动脉后开放静脉。供脾静脉断端在完成液体灌注后结扎。移植物十二指肠近端关闭,远端空肠造口作早期供体空肠减压及定期空肠活检监测。

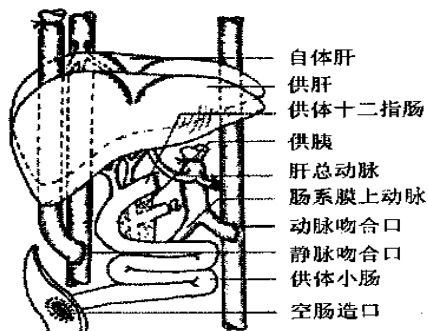


图 1 辅助性肝肠联合移植

4. 术后处理:手术完成后将动物放入监护室,术后

24 h 对血液动力学指标和生命征进行监护,并进行必要的机械通气。在术后的前 5 d 采用广谱抗生素治疗,并在术后前 2 d 进行肠外营养支持。自第 3 天开始进食。B 组动物免疫抑制剂经静脉应用,包括环孢素(CsA)术后第 1 周应用剂量为每天 15 mg/kg 体重,在 1 周后采用每天 5 mg/kg 体重维持;甲基强的松龙在术后的前 24 h 应用 500 mg 经静脉推注,第 2 天开始每天在前 1 d 的基础上减半应用,在第 1 周后每天的剂量减为每天 2 mg/kg 体重,从第 2 周开始再次在前周用量基础上减半维持。成活动物在术后 30 d 活杀进行活检。

### 结 果

血流再通后,肝脏变红质地柔软,从空肠造口可见到胆汁流出。此时如果肝脏质地较硬可能是流出道的梗阻,应仔细检查。小肠血流再通后肠系膜动脉搏动良好,小肠蠕动立即恢复,术后 15 min 可见到小肠分泌的肠液。

术前后 3 d,小肠移植物造口组织成活良好,黏膜为粉红色,湿润,血供良好,肠造口可见金黄色的胆汁流出。

术后 24 h 内死亡动物排除在统计之外,A 组动物有 1 例术后死于手术技术,其他动物成活均超过 24 h。A 组动物在术后平均成活时间为 (10.33 ± 1.93) d (7~25 d),B 组动物成活全部大于 30 d。两组动物术后的成活采用 *t* 检验发现差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ )。表 1 为 B 组动物手术前后血液动力学指标的改变,结果表明血液动力学改变值包括 CVP、CO、VP 和 PAWP 在手术过程中是降低的,在血流再通后这些指标迅速恢复,在血流再通 2 h 后可以全部恢复到术前的水平。

表 1 B 组猪血液动力学指标的改变 ( $\bar{x} \pm s$ )

时间	正常	RP 前	RP5	RP30	RP60	RP120
CVP (cm H <sub>2</sub> O)	14.80 ± 0.42	13.00 ± 0.49	10.20 ± 1.07	9.50 ± 0.27		
VP (cm H <sub>2</sub> O)	33.70 ± 2.09	31.70 ± 2.64	27.70 ± 1.93	24.60 ± 1.65	27.30 ± 1.71	32.60 ± 1.92
PAWP (cm H <sub>2</sub> O)	16.70 ± 0.59	13.40 ± 0.40	16.30 ± 0.52	14.10 ± 0.41	15.90 ± 0.46	17.20 ± 0.44
CO (L/min)	4.48 ± 0.15	3.36 ± 0.22	4.27 ± 0.15	3.98 ± 0.15	4.23 ± 0.15	4.59 ± 0.16

注:RP 为血流再通 1 cm H<sub>2</sub>O = 0.098 kPa

所有的移植没有移植物缺血和残端瘘,没有胆道的并发症,B 组动物血液、尿液和腹腔引流液中淀粉酶在术后早期迅速升高,见表 2,在术后的前 3 d 升高达最高值后开始下降,1 周后可降为术前水平。同时术

后活检以及死亡动物活检中没有发现严重胰腺炎表现。B 组动物术后活检没有发现明显的排斥反应。

表 2 B 组猪术后体液中的淀粉酶值 (U/L,  $\bar{x} \pm s$ )

术后时间	0	1	3	5	7
血液	329.60 ± 28.31	3314.70 ± 415.29	2448.60 ± 413.53	718.70 ± 103.61	327.70 ± 27.58
尿液	514.80 ± 55.67	3404.80 ± 335.96	4307.40 ± 429.16	2187.00 ± 148.43	491.40 ± 48.80
引流液	-	4444.80 ± 545.67	5023.80 ± 472.64	3217.20 ± 213.91	1177.10 ± 98.12

## 讨 论

1. 猪辅助性带胰头和十二指肠的 LSBT 动物模型的可行性和优点: 与传统的 LSBT 的 5 个吻合口(肝上下腔静脉吻合、肝下腔静脉吻合、门静脉吻合、肝动脉吻合以及胆管吻合)相比, 本动物模型只需要两个吻合口即腹主动脉的端侧吻合以及肝下腔静脉的端侧吻合即可。这一模型不仅能减少因吻合口较多引起的出血、血管栓塞、胆瘘等, 还可以明显简化手术的难度。在本模型中将在背驼式 LSBT 中的肝上下腔静脉吻合(或肝静脉与肝上下腔静脉的吻合)改为供体肝下腔静脉与受体肾下腔静脉吻合, 这一改良有以下优点: (1) 这一部位的吻合比肝上下腔静脉的吻合容易得多。(2) 肾下吻合可以灵活地调整动脉间的距离有利于腹主动脉的吻合, 一般不用间置新的延长血管。

传统的 LSBT 手术中肝和小肠在第一肝门是分开的, 不带有胰和十二指肠, 因而采用一段无功能肠管作胆肠吻合引流胆汁。在本式中, 肝胆胰肠连为一体, 不需要胆道的重建。减少了胆瘘、胆道狭窄等并发症。

没有胆肠重建对于短肠移植的患者术后营养也是有益的, 因为没有失功的小肠。同时这一术式中采用腹主动脉带两支重要血管(腹腔干和肠系膜上动脉)的方法可以有效地减少传统术中肝动脉血栓形成的高危因素。也可以减少肝动脉栓塞引起胆管坏死至胆瘘的可能性。

2. 猪辅助性带胰头和十二指肠的 LSBT 的安全性: 猪的肝段下腔静脉通行于肝实质中, 在这一段有大量的肝短静脉回流到下腔静脉主干。因而要分离出这一段的下腔静脉是非常危险的, 常引起致命的大出血。这也是传统的背驼式肝移植不适合猪的主要原因。在本文的 LSBT 中采用移植肝下腔静脉与受体的肾下腔静脉作吻合, 即是传统的背驼式吻合口下移。同时, 按传统的 LSBT, 要求在术中采用转流术, 这一点在猪更重要, 因为猪的门静脉系统占全猪血流量

60% 以上。不采用转流技术而进行传统的肝肠移植, 在阻断肝上下腔静脉后回心血量明显减少, 将出现心功能衰竭, 动物立即死亡。在本模型中分别吻合腹主动脉及下腔静脉时是部分阻断受体腹主动脉和肾下腔静脉的, 血液动力学改变是可逆的, 可以有效避免在不转流可能出现肾功能损伤, 术后血栓形成以及后肢缺血的危险。

文献[3]报道带胰头 LSBT 有术后胰腺炎的发生, 但报道认为不会增加术后的死亡率。因为化学性胰腺炎是一过性的, 淀粉酶的升高在术后 1 周可以恢复到术前水平。实验中病理检查没有发现术后严重的胰腺炎。目前预防胰腺炎的有效方法包括: (1) 限制灌注液的用量, 可以减少胰腺术后的水肿和胰腺炎的产生; (2) 整块取材并注意保留胰腺周围组织, 不要过分分离, 保护胰周血管弓<sup>[4]</sup>; (3) 胰腺断面和切缘要有效地缝扎并确切地结扎胰管。

3. 猪 LSBT 中的免疫抑制治疗: 文献中关于猪 LSBT 的免疫抑制治疗方案报道不一, 有应用三联免疫抑制剂和四联免疫抑制剂的报道。环孢素的应用剂量在每天 3 mg/kg 体重到 25 mg/kg 体重, 应用途径包括静脉注射或经皮下注射<sup>[5]</sup>。有报道认为猪对免疫抑制剂的敏感性比人差, 因而在猪中应用的剂量要比人体大。在本模型中采用每天 15 mg/kg 体重第 1 周诱导剂量后每天 5 mg/kg 体重的环孢素维持; 同时加用甲基强的松龙的两联免疫抑制剂可以抑制 LSBT 中的急性排斥反应。有报道认为带胰腺和十二指肠的 LSBT 不会增加急性排斥反应的发生率; 与单独的 LSBT 相比, 前者也不需要更多额外的免疫抑制剂。在多器官移植中, 胰腺的排斥反应不是术后死亡的重要原因。其中胰腺发生排斥反应的可能性只有 12%<sup>[6]</sup>, 因此认为带胰腺的肝肠移植是安全的。这一点也为本实验结果所证实。

## 参 考 文 献

- 1 尹震宇, 李宁, 黎介寿, 等. 猪肝小肠联合移植动物模型的建立. 中华器官移植杂志, 2004, 25: 86-89.
- 2 Casavilla A, Selby R, Abur Elmagd K, et al. Logistics and technique for combined hepatic-intestinal retrieval. Ann Surg, 1992, 216: 605-609.
- 3 Casavilla A, Selby R, Abur Elmagd K, et al. Donor selection and surgical technique for en bloc liver-small bowel graft procurement. Trans Proc, 1993, 25: 2622-2623.
- 4 Kato T, Romero R, Verزارo R, et al. Inclusion of entire pancreas in the composite liver and intestinal graft in pediatric intestinal transplantation. Pediatr Transplant, 1999, 3: 210-214.
- 5 Alvira LG, Herrera N, Salas C, et al. Influence of cyclosporine on graft regeneration and function after liver transplantation: trial in pigs. Trans Proc, 2002, 34, 315-316.
- 6 Reyes J, Fishbein J, Bueno J, et al. Reduced-size orthotopic composite liver-intestinal allograft. Transplantation, 1998, 66: 489-492.

(收稿日期: 2004-09-20)