

· 论著 ·

基因修饰供体猪肾脏获取、灌注、保存和运输方法的建立

朱飞艳 赵耀博 赵红芳 魏太云 程文杰 刘凯 保岳宵 娄亚玲 魏红江 徐凯祥

【摘要】 **目的** 建立基因修饰供体猪肾脏获取、灌注、保存和运输的方法。**方法** 以8基因修饰猪为实验动物,肾脏获取前通过血液学检查猪的健康状况,影像学检查肾脏血管结构。肾脏获取后对猪肾脏进行灌注,将猪肾打包后放入粘贴“器官运输专用”标识的低温保存箱中,与运输部门沟通运输流程后跨省运输。采用苏木素-伊红(HE)染色、实时荧光定量聚合酶链反应(RT-qPCR)、脱氧核糖核酸末端转移酶介导的dUTP缺口末端标记(TUNEL)荧光染色和酶联免疫吸附试验(ELISA)评估猪肾病理损伤情况。**结果** 术前检查8基因修饰猪的血清肌酐 $73.2\ \mu\text{mol/L}$ 、血尿素氮 $2.8\ \text{mmol/L}$ 、血红蛋白 $116\ \text{g/L}$,均在正常范围内,提示肾功能正常;CT造影显示猪肾脏无病变,血管无扩张、狭窄或过早分支的情况;从8基因修饰猪获取左、右肾时间共计 $(125\pm 10)\ \text{min}$,出血量为 $(20\pm 2)\ \text{mL}$,热缺血时间分别为 $3\ \text{min}$ 和 $7\ \text{min}$;左、右肾灌注修整时间分别为 $36\ \text{min}$ 和 $41\ \text{min}$,灌注后双肾色白质润;冷保存运输时间为 $8\ \text{h}$,HE染色结果显示肾脏保存至 $8\ \text{h}$ 时部分肾小球发生皱缩,周围肾小管管腔向内轻微凹陷肿胀并有部分内膜脱落,有微小空泡形成;肾脏组织中半胱氨酸天冬氨酸酶3信使RNA水平在冷保存 $2\ \text{h}$ 后随时间延长逐渐升高($P<0.05$);TUNEL荧光染色显示冷保存至 $8\ \text{h}$ 仅有少量细胞凋亡,这与 $0\ \text{h}$ 相比无差异($P>0.05$)。ELISA结果显示保存液乳酸脱氢酶(LDH)和肌酐含量保持相对稳定,但肾损伤分子1(KIM-1)含量随保存时间延长逐渐升高,提示猪肾脏有轻微损伤。**结论** 通过建立基因修饰供体猪的肾脏获取、灌注、保存和运输方法,可有效可靠地将基因修饰猪肾脏用于异种肾脏移植。

【关键词】 肾脏;异种移植;基因修饰猪;获取;灌注;保存;运输;半胱氨酸天冬氨酸酶3

【中图分类号】 R617 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1674-7445(2025)02-0012-08

Establishment of a method for acquisition, perfusion, preservation and transportation of the genetically modified donor pig kidneys Zhu Feiyan*, Zhao Yaobo, Zhao Hongfang, Wei Taiyun, Cheng Wenjie, Liu Kai, Bao Yuexiao, Lou Yaling, Wei Hongjiang, Xu Kaixiang. *College of Animal Science and Technology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650051, China

Corresponding authors: Wei Hongjiang, Email: hongjiangwei@126.com

Xu Kaixiang, Email: tsljmuch@163.com

【Abstract】 Objective To establish a method for acquisition, perfusion, preservation and transportation of the genetically modified pig kidneys. **Methods** An eight genetically modified pig was utilized as experimental subject. Prior to kidneys procurement, the health status of the pig was assessed through hematology examination, and the vascular

DOI: 10.12464/j.issn.1674-7445.2024273

基金项目: 云南省重大科技专项(202102AA310047); 国家重点研发计划(2019YFA0110700)

作者单位: 650051 昆明, 云南农业大学动物科学技术学院(朱飞艳、赵红芳、魏太云、程文杰、刘凯、魏红江、徐凯祥), 动物医学院(赵耀博); 文山州动物疫病预防控制中心(保岳宵、娄亚玲)

作者简介: 朱飞艳(ORCID 0009-0000-7881-1629), 博士研究生, 研究方向为异种器官移植免疫学, Email: yunnanfeiyang@163.com; 赵耀博(ORCID 0009-0004-9601-2854), 硕士研究生, 研究方向为异种肺移植, Email: z442517280@163.com(朱飞艳与赵耀博为本文共同第一作者)

通信作者: 魏红江(ORCID 0000-0002-5663-1093), 博士, 教授, 研究方向为动物基因编辑与体细胞克隆技术研究, Email: hongjiangwei@126.com; 徐凯祥(ORCID 0000-0001-6665-3360), 博士, 讲师, 研究方向为基因修饰和异种器官移植供体猪开发, Email: tsljmuch@163.com

structure of the kidneys was examined using imaging techniques. Following kidneys acquisition, the pig kidneys were perfused and subsequently packaged into the cryogenic storage container labeled "For Organ Transportation Only" for interprovincial transport after communicating the transportation process with transportation department. To evaluate pathological damage to the pig kidneys, a series of methods were employed such as hematoxylin-eosin (HE) staining, real-time fluorescent quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR), terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick-end labeling (TUNEL) fluorescence staining and enzyme-linked immune absorbent assay (ELISA). **Results** The preoperative examination of the eight genetically modified pig showed that the serum creatinine was 73.2 $\mu\text{mol/L}$, blood urea nitrogen was 2.8 mmol/L and hemoglobin was 116 g/L, all within the normal range, indicating normal renal function. CT angiography revealed no lesions in the pig kidneys, and no dilation, stenosis or premature branching of the blood vessels. The total time of obtaining the left and right kidneys from the eight genetically modified pig was (125 ± 10) min, with a blood loss of (20 ± 2) mL. The warm ischemia times were 3 min and 7 min, respectively. The perfusion and trimming times of the left and right kidneys were 36 min and 41 min, respectively. After perfusion, both kidneys were white and moist. The cold preservation and transportation time was 8 h. HE staining showed that some glomeruli were shrunk, and the lumens of the surrounding renal tubules were slightly depressed and swollen with partial inner membrane shedding and microvacuoles formed when the kidneys were preserved for 8 h. The level of cysteinyl aspartate-specific proteinase-3 messenger RNA in the kidneys tissue gradually increased with the extension of cold preservation time after 2 h ($P < 0.05$). TUNEL fluorescence staining showed that only a small number of cells underwent apoptosis after 8 h of cold preservation, which was not significantly different from that at 0 h ($P > 0.05$). ELISA results showed that the contents of lactate dehydrogenase (LDH) and creatinine in the preservation solution remained relatively stable, but the content of kidney injury molecule 1 (KIM-1) gradually increased with the extension of preservation time, suggesting that the pig kidneys had mild injury. **Conclusions** By establishing methods for acquisition, perfusion, preservation and transportation of the kidneys from genetically modified donor pig, it is possible to effectively and reliably use genetically modified pig kidneys for xenotransplantation.

【 Key words 】 Kidney; Xenotransplantation; Genetically modified pig; Acquisition; Perfusion; Preservation; Transportation; Cysteinyl aspartate-specific proteinase-3

基因修饰猪肾脏移植到非人灵长类动物体内, 与临床免疫抑制方案相结合后存活期已达 758 d^[1]。2022 年 Montgomery 等^[2]报道了 2 例基因修饰猪移植到脑死亡患者的异种肾移植临床试验, 数据表明基因修饰猪肾脏植入人体后, 在标准免疫抑制治疗的情况下, 受试者未发生急性排斥反应并发挥排尿功能^[3]。2024 年, 美国马萨诸塞州麻省总医院与纽约大学朗格尼医疗中心进一步将基因修饰猪肾脏移植到 2 例活体患者体内, 这 2 例患者分别存活了 59 d 和 47 d^[4-5], 这一研究结果预示异种肾移植可能即将应用于临床中。

基因修饰猪肾脏作为供体器官在临床前和临床研究中都取得了显著进展^[6-8], 然而, 在供体猪应用于临床之前, 仍需建立一套完善、可靠的基因修饰供体猪器官保存与运输体系, 以确保器官在保存运输后仍能发挥有效性^[9]。在人体器官移植中已有远程保存运输供体器官的先例^[10], 并形成了相应的运输规范^[11]。然而, 将基因修饰猪器官作为医源性器官运输的相关报道较为有限, 与人体器官运输相比, 基因修饰猪器官的运输还需考虑到实验动物的特性^[12-13], 确保运输

过程中的生物安全性和供体器官活性, 以防止潜在的病原体传播^[14-15]。同时, 由于基因修饰猪器官在异种移植中的应用尚处于发展阶段, 专用于该类器官运输的法规制定及批示文件的获得, 可能与今后的临床移植效果相关, 并涉及多个监管部门的审批, 流程复杂, 所需时间较长。因此, 该类供体器官运输时可向运输公司提供本文附件中的相关文件证明其合法来源、生物安全性及最终用途与人类供者器官一致, 基因修饰猪器官可参照人体器官运输的标准进行操作。本研究通过建立规范化基因修饰供体猪肾脏的获取、灌注、保存及远距离运输程序, 确保器官在合法、安全的条件下进行跨区域运输, 为异种肾移植的临床应用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料与仪器

雄性 8 月龄 8 基因修饰猪 1 头, 体质量为 25 kg, 本研究动物实验由云南农业大学生命科学伦理委员会审核批准 (批号: 202105009)。

脱氧核糖核酸末端转移酶介导的 dUTP 缺口末端标记 (terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick-end labeling, TUNEL) 试剂盒和蛋白酶 K 购自碧云天生物科技有限公司; 肾损伤分子 (kidney injury molecule, KIM)-1、乳酸脱氢酶 (lactate dehydrogenase, LDH) 酶联免疫吸附试验 (enzyme-linked immune absorbent assay, ELISA) 试剂盒、肌酐试剂盒均购自上海科艾博生物科技有限公司; DNA 提取试剂盒购自北京天根生化科技有限公司; 威斯康星大学保存液 (University of Wisconsin solution, UW 液) 购自上海暄众生物科技有限公司; DNA 聚合酶购自南京诺唯赞生物科技股份有限公司; 引物分别由上海生物工程股份有限公司和昆明擎科生物科技有限公司合成。全自动生化分析仪购自深圳迈瑞生物医疗公司; 全自动酶标仪购自美国伯乐公司。

1.2 实验方法

1.2.1 血型检测 在决定猪的 AO 血型的 EAA 基因的第 7 号内含子和第 8 号外显子的保守基因核苷酸序列设计 1 对特异性引物, 上游引物序列为 5'-GCTTCTTGATGGATTGACAC-3', 下游引物序列为 5'-GATCCAGAAGTTCCTTCAGC-3', 利用 DNA 试剂盒提取猪血液 DNA, 按照试剂盒说明书配制扩增体系, 通过聚合酶链反应 (polymerase chain reaction, PCR) 技术对 DNA 样品进行目标片段扩增。

1.2.2 生化与血常规指标测定 前腔静脉采血后装入乙二胺四乙酸 (ethylene diamine tetraacetic acid, EDTA) 抗凝管和红色无添加剂采血管, 立即采用全自动生化分析仪检测供体猪血常规与生化指标。

1.2.3 多层螺旋 CT 肾脏造影 由专人将麻醉保定后的实验猪转运至多层螺旋 CT 扫描室内, 耳沿静脉注射造影剂碘海醇, 采取双前肢先进入的方式进行双定位相扫描, 然后进行动态容积扫描。设置动态连续扫描模式, 总扫描时间为 1 min, 扫描条件为层厚 1 mm, 窗宽 400 Hu, 窗位 40 Hu, 电压 120 kV, 电流 150 mA, 旋转时间 0.5 s, 碘海醇剂量 590 mgI/kg, 流速 2 mL/s, 碘流率 800 mgI/s, 生理盐水 1.5 mL/kg, 流速 3 mL/s, 并确保充分分布。

1.2.4 肾脏获取 实验动物仰卧保定, 接入呼吸麻醉机, 异氟烷维持麻醉, 监测心率、血压和血氧饱和度。碘伏消毒腹部后沿腹中线切开, 逐层分离组织, 暴露肾脏并显露肾脏动静脉和输尿管。依次分离肾动脉、肾静脉及周围组织纤维鞘, 尽可能完整保留输尿

管长度。钳夹阻断腹主动脉血管后, 在腹主动脉侧壁剪开弧形切口以扩大吻合口, 离断肾脏动静脉完成摘取。记录热缺血时间, 修复供体血管后缝合并关闭腹腔, 确保无菌操作及供体器官质量。

1.2.5 肾脏灌注 肾脏灌注采取自然重垂压力灌注法, 将取出的肾脏迅速放入盛有冰屑的无菌不锈钢盆中, 使用 UW 液冷灌, 灌注高度为 100 cm, 经肾动脉插软管, 均匀地灌注清除肾脏内的淤血, 灌注期间轻揉肾脏, 加速淤积血液的排出, 使其温度均匀迅速降至 10 °C 以下的状态, 灌洗至肾脏外观变为均一润白、静脉管流出透明清澈且无红细胞的灌注液, 表明灌洗充分。

1.2.6 肾脏保存 本次实验采取单纯低温冷保存方法。根据《移植器官质量与安全指南 (第 6 版)》中的指导方法^[16], 将灌注结束后的供肾放入充满 UW 液的无菌塑料袋内, 并保持处于 1~4 °C 的状态, 封口, 再套上两个无菌塑料袋, 分别扎紧袋口, 放入器官低温保存箱中, 分别于保存的 0、2、4、6、8 h 右肾取样, 器官运输箱表面粘贴“器官运输专用”标识并标明信息 (器官名称、供体猪编号、供体猪血型、目的地、紧急联系人及运输要求)。

1.3 肾脏运输

将供体器官从获取地运输至目的地可根据实际情况选择交通工具, 其中常用的交通工具可选择航空、高铁或公路, 运输流程见附件 1 (扫描二维码可见)。

1.3.1 航空运输 航空运输要求器官转运箱的总重量不超过 75 kg, 体积不超过 40 cm×60 cm×100 cm。若超过该限度, 需要购买客运机票。器官运输人员应在明确获取供体器官后, 确定所乘航班班次, 并在航班起飞前 4 h 通过客服电话联系航空公司沟通详情 (扫描二维码见附件 2)。所需文件包括: 医院开具的介绍信 (扫描二维码见附件 3); 负责运输人员的执业医师资格证; 运输器官情况说明书 2 份 (扫描二维码见附件 4), 注明运输器官的合法来源、用途、联系人姓名及联系电话等信息, 内容明确说明用于救助患者生命, 并注明组织器官的合法来源和用途。材料需由旅客及医疗机构相关责任人分别签字, 并加盖医疗机构公章。在办理运输手续时, 需在机场填写并签署《XX 航空股份有限公司供体器官运输协议书》 (扫描二维码见附件 5, 参考海南航空公司), 视为接受航空运输可能存在的风险。开具上述文件的单位需为具备器官或组织移植能力的医疗机构。



扫描二维码可见附件 1~5

1.3.2 铁路运输 铁路运输时应当将火车车次等信息提前 24 h 向承运方明确说明, 携带运输器官所需资料与航空运输相同, 铁路运输方将提供快捷通道帮助缩短器官运输时间。

1.3.3 公路运输 公路运输时应当优先使用救护车运输或由移植医院自行协调运输用车, 携带与航空运输相同材料, 经过公路收费站时可优先通过。运送捐献器官的救护车遇有交通堵塞等情形, 可依法使用警报器和标志灯具, 在确保安全的前提下, 不受行驶路线、行驶方向、行驶速度和信号灯的限, 其他车辆和行人应当让行。行使以上道路优先权仍无法通过的, 可拨打 110、122 等向当地报警电话求助。如遇公路收费站拥堵, 可通过拨打应急电话联系交通运输部门进行协调, 保障优先通过。

1.4 肾脏冷保存期间质量检测

1.4.1 组织病理检测 取 0.5 cm×0.5 cm×0.5 cm 体积大小肾脏组织固定于 4% 甲醛溶液中 48 h, 常规脱水、包埋后做组织切片进行苏木素-伊红 (hematoxylin-eosin, HE) 染色和 TUNEL 荧光染色用。

1.4.2 凋亡相关基因检测 实时荧光定量聚合酶链反应 (real-time fluorescent quantitative polymerase chain reaction, RT-qPCR) 检测肾脏组织中凋亡相关基因半胱氨酸天冬氨酸酶 3 (cysteiny aspartate-specific proteinase-3, Caspase-3) 信使 RNA (messenger RNA, mRNA) 水平, 其上游引物序列为 5'-

GGACGACCTATCACAACTTGAAAT-3', 下游引物序列为 5'-ATGGTCTTCTTTAGAAACTGTGC-3'。

1.4.3 保存肾脏质量测定 留取各时间点保存液 1 mL, 1 800×g 离心 2 min 取上清, 按照 LDH、肌酐、KIM-1 试剂盒说明书的操作方法进行实验操作, 利用全自动酶标仪进行检测。

1.5 统计学方法

采用 GraphpadPrism7 对实验数据进行分析统计, 采用 *t* 检验对实验结果进行差异显著性分析。P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 供体猪血型鉴定

提取血液 DNA 并利用 PCR 技术检测 8 基因修饰猪的血型, 并与 2 头 A 型血阳性对照猪和 1 头备用猪的血型进行对照, 均为 A 型血。

2.2 术前生化指标检测

供体肾功能及供体内环境稳态的准确评估对肾移植术后受者维持正常的生理功能尤为重要, 其中主要生理指标包括血清肌酐 73.2 μmol/L、血尿素氮 2.8 mmol/L、血红蛋白 116 g/L, 均在参考值范围内^[17-18], 左右肾的热缺血时间分别为 3 min 和 7 min。

2.3 肾脏移植前多层螺旋 CT 造影

为了解活体肾移植术前供体猪肾脏的位置、形态、血管变异及集尿系统的情况, 采用多层螺旋 CT 进行术前造影获取了本次实验供体猪肾脏大小, 肾脏长径为 10~12 cm, 宽径为 5~6 cm, 厚径为 4~5 cm, 肾动脉直径为 0.5~0.6 cm, 输尿管的长度为 18~23 cm, 输尿管的内径为 6~8 mm (图 1)。未见肾脏畸变, 无副动脉, 血管无扩张、狭窄或过早分支的情况。

2.4 器官获取及灌注

供体猪预先麻醉后于上午 9: 13 接入呼吸麻醉机

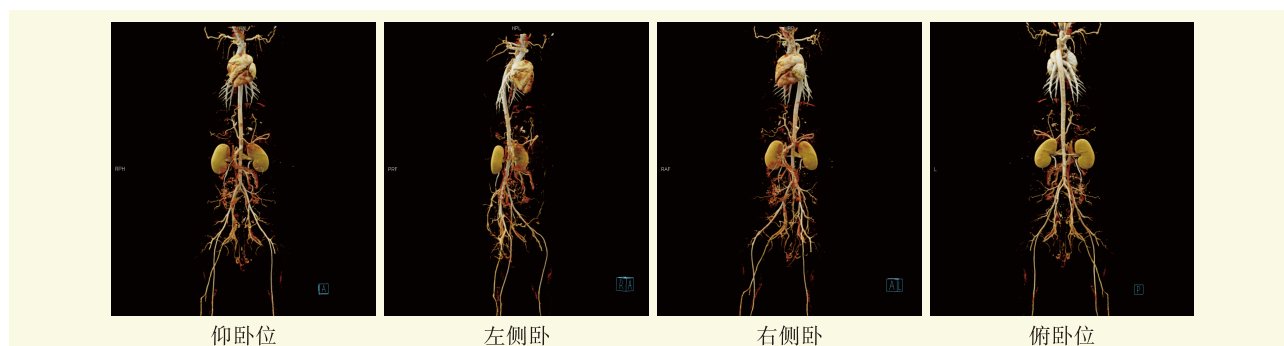


图 1 不同体位多层螺旋 CT 造影结果

Figure 1 The multi-detector spiral CT imaging results with different body positions

维持呼吸，调整呼吸频率为 12~15 次/分，上午 11:18 阻断腹主动脉后开始获取肾脏，左、右肾获取时间共计 (125±10) min。左肾热缺血时间为 3 min，右肾热缺血时间为 7 min，共计出血量为 (20±2) mL。获取左肾重量为 108 g，右肾为 112 g。左肾灌注时间为 36 min，右肾由于动脉管较短，寻找过程花费较多时间，灌注时间为 41 min，灌洗至肾脏外观变为浅红色、静脉管流出透明清澈且无红细胞的灌注液，共计使用 500 mL UW 液，灌注后的肾脏质地柔软外观白润。

2.5 器官打包及运输

本研究将器官打包后放入器官低温保存箱中，以公路、高铁运输器官为例进行示范 (图 2A)，运输箱表面粘贴本实验室自行设计的“器官运输专用”标识 (图 2B)，从手术室出发运至高铁站，事先与高铁站相关负责人沟通器官运输流程有关事项。

2.6 肾脏在 UW 液中保存 8 h 内的病理学改变

灌注后肾脏组织结构轮廓清晰，肾小球无皱缩，肾小管排列紧密无肿胀变形；近端小管内刷状缘结构完整；保存 2 h 后，肾脏组织轮廓结构依旧完整清晰，与 0 h 比较无明显改变；保存 4 h 后，组织结构

基本完整但肾小管上皮有部分微小空泡形成，肾小管管腔内少部分内膜脱落；保存 6 h 后，肾脏组织结构仍旧完好，肾小管管腔内少部分内膜脱落；保存 8 h 后部分肾小球发生皱缩，周围肾小管管腔向内轻微凹陷肿胀并有部分内膜脱落，有微小空泡形成 (图 3A)。

2.7 保存 8 h 内的肾脏细胞凋亡情况

肾脏组织中 Caspase-3 mRNA 水平随保存时间的延长而上调 (图 3B)，与保存 0 h 相比，保存至 2、4、6、8 h 时肾脏组织中 Caspase-3 mRNA 水平均升高 (均为 $P<0.05$)；肾脏组织 TUNEL 试验凋亡计数结果为 0 h (2±1) 个/mm²，8 h (6±1) 个/mm²，表明保存至 8 h 时肾脏凋亡细胞数量无差异 ($P>0.05$ ，图 3C)。

2.8 组织损伤标志物

保存液中 KIM-1、LDH 和肌酐检测结果显示 KIM-1 水平随保存时间延长逐渐升高，提示肾小管上皮细胞受损；LDH 活性在保存 6 h 后上升，表明肾脏组织轻微损伤；肌酐水平在保存过程中保持稳定，表明肾功能基本未受影响 (图 3D)。



注：A 图为器官打包运输示意图；B 图为器官运输箱专用标识。

图 2 器官打包及运输流程

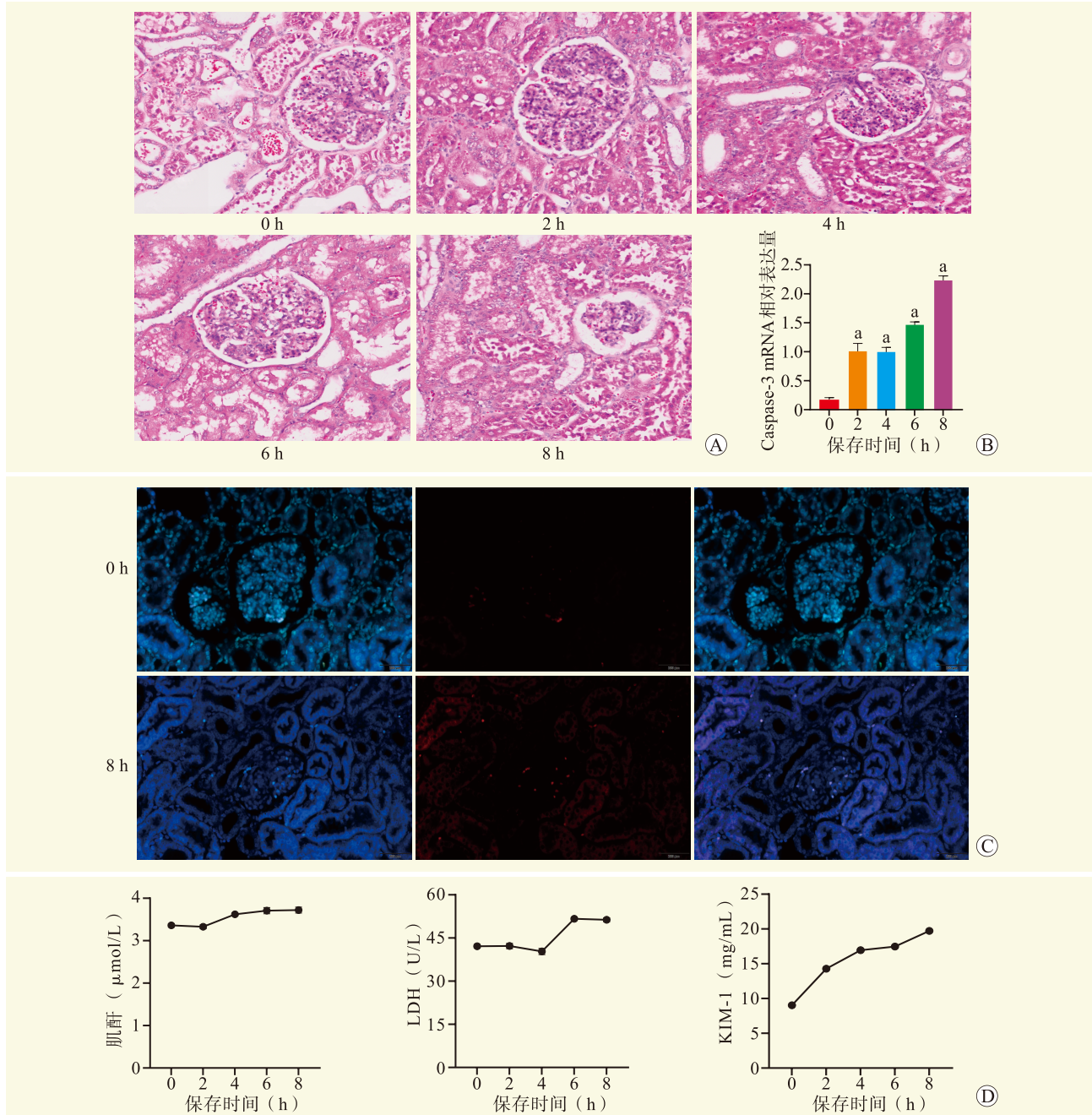
Figure 2 The organ packaging and transportation process

3 讨 论

基因修饰猪肾脏作为供体器官已经进入了临床试验阶段^[19-20]，多项临床试验数据表明供体猪肾脏能够在受者体内发挥正常功能^[21-22]，有望实现临床应用。我国幅员辽阔，器官运输距离远至全国各地，但目前仍未建立一套针对异种器官运输的方案或体系。本研

究建立了一套适用于基因修饰猪供体肾脏获取、灌注、运输和保存的方法，确保了器官在长途运输和保存中的功能稳定性，为异种器官移植的临床应用奠定了基础。

关于供体器官的保存，静态冷保存（static cold storage, SCS）由于操作便捷、适用性广，仍是肾脏短期保存的主流方法^[23-27]。有研究表明，移植后的



注：A 图为 HE 染色结果（×200）；B 图为 Caspase-3 mRNA 表达水平，与 0 h 比较，*P<0.05；C 图为 TUNEL 染色结果（×400）；D 图为保存液肌酐、LDH、KIM-1 的表达水平。

图 3 猪肾脏病理学损伤评估

Figure 3 The evaluation of pathological injury of pig kidney

SCS 肾脏动脉阻力略高、氧气消耗略低，但在 2 d 内能够较好地保持基因修饰猪供体肾脏的结构完整性^[28]。此外，捐赠的人体肾脏经 SCS 与冷脉动机械灌注保存后，两种方法保存的肾脏移植后肾功能的延迟恢复、急性排斥反应的发生率及移植物和患者的长期存活率并无显著差异^[29]。

自然重垂压力灌注方法因其有效、简单、廉价被沿用至今^[30]，但灌注压力和温度需由人工控制，压力过大会导致血管损伤，过小则会导致灌注不充分。因此，在操作过程中需轻柔灌注并观察肾脏颜色变化以确保灌注充分。各器官对热缺血时间耐受程度不同，一般认为供肝需<30 min，供肾需<60 min^[31-32]，超过该时间段会增加移植失败的风险，长时间冷缺血被认为与移植后肾功能延迟恢复相关^[33]，并且可能增加急性排斥反应发生率^[34]。本次实验中热缺血时间为 7 min，被认为是较为理想的肾脏获取时长。冷保存时间为 8 h，光学显微镜观察结果显示肾小球内仅有少量细胞凋亡，周围肾小管管腔向内轻微凹陷肿胀并有部分内膜脱落，这种损伤通常是可逆的^[35-36]。

本研究发现 Caspase-3、KIM-1 和 LDH 的含量随保存时间的延长而增加，提示冷保存时间过长会导致肾脏细胞凋亡率增加、肾小管上皮细胞损伤和肾脏细胞缺氧等不利因素的产生^[37-39]，可能会影响肾脏移植效果。尽管如此，通过检测 UW 液中肌酐的含量，其在保存期间水平并未有明显波动，提示肾功能正常。若需长途冷保存运输，可考虑运送至目的地后第一时间更换新的保存液，可能会在一定程度上减少肾脏损伤。

参考文献:

- [1] ANAND R P, LAYER J V, HEJA D, et al. Design and testing of a humanized porcine donor for xenotransplantation[J]. *Nature*, 2023, 622(7982): 393-401. DOI: 10.1038/s41586-023-06594-4.
- [2] MONTGOMERY R A, STERN J M, LONZE B E, et al. Results of two cases of pig-to-human kidney xenotransplantation[J]. *N Engl J Med*, 2022, 386(20): 1889-1898. DOI: 10.1056/NEJMoa2120238.
- [3] ANDERSON D J, JONES-CARR M, PERRY J, et al. Genetically modified porcine kidneys have sufficient tissue integrity for use in pig-to-human xenotransplantation[J]. *Ann Surg*, 2024, 280(3): 374-382. DOI: 10.1097/SLA.0000000000006380.
- [4] 陆依斐. 全球首例猪肾移植患者去世[N/OL]. *解放日报*, 2024-05-14.
- [5] 思羽, 罗妮·凯琳·雷宾. 全球第二例猪肾移植者又摘除了猪肾[J]. *世界科学*, 2024(7): 20. DOI: 10.3969/j.issn.1000-0968.2024.07.007.
- [6] SI Y, RABIN R K. The world's second pig kidney transplant patient has removed the pig kidney again[J]. *World Science*, 2024(7): 20. DOI: 10.3969/j.issn.1000-0968.2024.07.007.
- [7] FISHMAN J A, MOHIUDDIN M M. Historic progress in xenotransplantation with successful transplantation of genetically-edited pig kidneys into living recipients[J]. *Xenotransplantation*, 2024, 31(3): e12864. DOI: 10.1111/xen.12864.
- [8] COOPER DKC, RIELLA LV, KAWAI T, et al. The time has come: the case for initiating pilot clinical trials of pig kidney xenotransplantation[J]. *Ann Surg*, 2024, 281(2): 204-209. DOI: 10.1097/SLA.0000000000006529.
- [9] HANSEN-ESTRUCH C, COOPER D K C, JUDD E. Physiological aspects of pig kidney xenotransplantation and implications for management following transplant[J]. *Xenotransplantation*, 2022, 29(3): e12743. DOI: 10.1111/xen.12743.
- [10] 翟利敏, 李文通, 冯政, 等. 基因编辑猪的研究现状[J]. *中国农业科技导报*, 2022, 24(8): 25-34. DOI: 10.13304/j.nykjdb.2021.0671.
- [11] ZHAI L M, LI W T, FENG Z, et al. Current status of gene-edited pigs[J]. *J Agric Sci Technol*, 2022, 24(8): 25-34. DOI: 10.13304/j.nykjdb.2021.0671.
- [12] 郑宗杰, 蔚晓丹, 王剑, 等. 为生命让路[J]. *中国公路*, 2016(23): 84-86. DOI: 10.13468/j.cnki.chw.2016.23.020.
- [13] ZHENG Z J, WEI X D, WANG J, et al. Make way for life[J]. *China Highw*, 2016(23): 84-86. DOI: 10.13468/j.cnki.chw.2016.23.020.
- [14] 器官移植研究样本采集、保存与运输规范 [J]. *中国医药生物技术*, 2020, 15(1): 85-93.
- [15] Standard for collection, preservation, and transportation of organ transplant research samples [J]. *Chin J Med Biotechnol*, 2020, 15(1): 85-93.
- [16] WANG Y, CHEN G, PAN D, et al. Pig-to-human kidney xenotransplants using genetically modified minipigs[J]. *Cell Rep Med*, 2024, 5(10): 101744. DOI: 10.1016/j.xcrm.2024.101744.
- [17] PAN W, ZHANG W, ZHENG B, et al. Cellular dynamics in pig-to-human kidney xenotransplantation[J]. *Med*, 2024, 5(8): 1016-1029. DOI: 10.1016/j.medj.2024.05.003.
- [18] ALI A, KEMTER E, WOLF E. Advances in organ and tissue xenotransplantation[J]. *Annu Rev Anim Biosci*, 2024, 12: 369-390. DOI: 10.1146/annurev-animal-021122-102606.
- [19] SCHMOECKEL M, LÄNGIN M, REICHART B, et al. Xenotransplantation von Organen[J]. *Die Chir*, 2024, 95(8): 603-609. DOI: 10.1007/s00104-024-02093-y.
- [20] 连林生, 王鹤云, 徐家珍, 等. 版纳微型猪的生物学特性[J]. *上海实验动物科学*, 1993, 13(4): 185-191.
- [21] LIAN L S, WANG H Y, XU J Z, et al. Biological characteristics of banna minipig[J]. *Shanghai Lab Anim Sci*, 1993, 13(4): 185-191.
- [22] 邓新军, 胡建敏, 刘永光, 等. 不可控型心脏死亡大鼠供肾移植中的安全热缺血时限[J]. *重庆医科大学学报*, 2013, 38(2): 117-120.
- [23] DENG X J, HU J M, LIU Y G, et al. Safe limit of warm

- ischemic time for rat kidney graft from an uncontrollable cardiac death donor[J]. *J Chongqing Med Univ*, 2013, 38(2): 117-120.
- [18] 施辉波, 王心强, 徐晶, 等. 《移植器官质量与安全指南(第 6 版)》解读——器官的获取、保存和运输[J]. *器官移植*, 2020, 11(2): 276-281. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7445.2020.02.015.
- SHI H B, WANG X Q, XU J, et al. Interpretation of Guide to the Quality and Safety of Organs for Transplantation(6th edition): organ procurement, preservation and transportation[J]. *Organ Transplant*, 2020, 11(2): 276-281. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7445.2020.02.015.
- [19] HAN J J. Patient sequentially receives a left ventricular assist device and a porcine kidney transplant[J]. *Artif Organs*, 2024, 48(7): 699. DOI: 10.1111/aor.14767.
- [20] ARABI T Z, SABBABH B N, LERMAN A, et al. Xenotransplantation: current challenges and emerging solutions[J]. *Cell Transplant*, 2023, 32: 1-10. DOI: 10.1177/09636897221148771.
- [21] JUDD E, KUMAR V, PORRETT P M, et al. Physiologic homeostasis after pig-to-human kidney xenotransplantation[J]. *Kidney Int*, 2024, 105(5): 971-979. DOI: 10.1016/j.kint.2024.01.016.
- [22] FIRL D J, LASSITER G, HIROSE T, et al. Clinical and molecular correlation defines activity of physiological pathways in life-sustaining kidney xenotransplantation [J]. *Nat Commun*, 2023, 14(1): 3022. DOI: 10.1038/s41467-023-38465-x.
- [23] LONGCHAMP A, FONTAN F M, ABURAWI M M, et al. Acellular perfusate is an adequate alternative to packed red blood cells during normothermic human kidney perfusion[J]. *Transplant Direct*, 2024, 10(4): e1609. DOI: 10.1097/TXD.0000000000001609.
- [24] VAN BEEKUM C J, VILZ T O, GLOWKA T R, et al. Normothermic machine perfusion (NMP) of the liver - current status and future perspectives[J]. *Ann Transplant*, 2021, 26: e931664. DOI: 10.12659/AOT.931664.
- [25] HOSGOOD S A, CALLAGHAN C J, WILSON C H, et al. Normothermic machine perfusion versus static cold storage in donation after circulatory death kidney transplantation: a randomized controlled trial[J]. *Nat Med*, 2023, 29(6): 1511-1519. DOI: 10.1038/s41591-023-02376-7.
- [26] HOETZENECKER K, BENAZZO A, SCHWARZ S, et al. The advent of semi-elective lung transplantation-prolonged static cold storage at 10°C[J]. *Transpl Int*, 2024, 37: 12310. DOI: 10.3389/ti.2024.12310.
- [27] CASSIM S, MARTIN P Y, PASCOLO-REBOUILLAT E. ADD10 protects renal cells from cold injuries by improving energy metabolism[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2022, 634: 62-69. DOI: 10.1016/j.bbrc.2022.10.009.
- [28] MOJOUDI M, TAGGART M, KARADAGI A, et al. Two-day static cold preservation of $\alpha 1$, 3-galactosyltransferase knockout kidney grafts before simulated xenotransplantation[J]. *Xenotransplantation*, 2024, 31(4): e12879. DOI: 10.1111/xen.12879.
- [29] SUMMERS D M, AHMAD N, RANDLE L V, et al. Cold pulsatile machine perfusion versus static cold storage for kidneys donated after circulatory death: a multicenter randomized controlled trial[J]. *Transplantation*, 2020, 104(5): 1019-1025. DOI: 10.1097/TP.0000000000002907.
- [30] FENG G Y, FENG X, TAO J, et al. Benefits of hypothermic oxygenated perfusion versus static cold storage in liver transplant: a comprehensive systematic review and meta-analysis[J]. *J Clin Exp Hepatol*, 2024, 14(3): 101337. DOI: 10.1016/j.jceh.2023.101337.
- [31] DE VERA M E, LOPEZ-SOLIS R, DVORCHIK I, et al. Liver transplantation using donation after cardiac death donors: long-term follow-up from a single center[J]. *Am J Transplant*, 2009, 9(4): 773-781. DOI: 10.1111/j.1600-6143.2009.02560.x.
- [32] HONG J C, YERSIZ H, KOSITAMONGKOL P, et al. Liver transplantation using organ donation after cardiac death: a clinical predictive index for graft failure-free survival[J]. *Arch Surg*, 2011, 146(9): 1017-1023. DOI: 10.1001/archsurg.2011.240.
- [33] HELANTERÄ I, IBRAHIM H N, LEMPINEN M, et al. Donor age, cold ischemia time, and delayed graft function[J]. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2020, 15(6): 813-821. DOI: 10.2215/CJN.13711119.
- [34] VAN DER VLIET J A, WARLÉ M C. The need to reduce cold ischemia time in kidney transplantation[J]. *Curr Opin Organ Transplant*, 2013, 18(2): 174-178. DOI: 10.1097/MOT.0b013e32835e2a08.
- [35] LEITE R R A, LEITE M, EINICKER-LAMAS M, et al. Clinical outcomes prediction in kidney transplantation by use of biomarkers from hypothermic machine perfusion[J]. *Int Braz J Urol*, 2024, 50(4): 470-479. DOI: 10.1590/s1677-5538.ibju.2024.0166.
- [36] KATHS J M, ECHEVERRI J, GOLDARACENA N, et al. Eight-hour continuous normothermic ex vivo kidney perfusion is a safe preservation technique for kidney transplantation: a new opportunity for the storage, assessment, and repair of kidney grafts[J]. *Transplantation*, 2016, 100(9): 1862-1870. DOI: 10.1097/TP.0000000000001299.
- [37] KARMAKOVA T A, SERGEEVA N S, KANUKOEVA K Y, et al. Kidney injury molecule 1 (KIM-1): a multifunctional glycoprotein and biological marker (review)[J]. *Sovrem Tekhnologii Med*, 2021, 13(3): 64-78. DOI: 10.17691/stm2021.13.3.08.
- [38] SONG J, YU J, PRAYOGO G W, et al. Understanding kidney injury molecule 1: a novel immune factor in kidney pathophysiology [J]. *Am J Transl Res*, 2019, 11(3): 1219-1229.
- [39] KAMIŃSKA D, SKRZYCKI M. Lipid droplets, autophagy, and ER stress as key (survival) pathways during ischemia-reperfusion of transplanted grafts[J]. *Cell Biol Int*, 2024, 48(3): 253-279. DOI: 10.1002/cbin.12114.

(收稿日期: 2024-10-01)

(本文编辑: 谢诗韵 吴秋玲)