

## 肺移植组织样本的采集、储存与利用

李益行 师雪 王泓懿 陶润仪 孙烨 苏爱玲 童立炎 冯锦腾 张言鹏 李硕 王亚文 张广健

**【摘要】** 肺移植经过不断的发展与完善,已成为治疗多种良性终末期肺疾病的首选手段,但肺移植领域仍面临诸多挑战,包括供者资源短缺、供肺保存与维护以及术后并发症等。肺移植术后切除的肺组织样本是研究良性终末期肺疾病及肺移植围手术期并发症的优良临床资源。然而,目前大多数肺移植术后组织样本的采集、储存与利用仅限于单次研究,尚未形成统一的技术规范。本研究基于西安交通大学第一附属医院肺移植生物样本库的建设方案,对肺移植组织样本采集、储存与利用过程中伦理审查、人员配置、采集流程、储存方法、质量控制及高效利用等方面的实践经验进行综述,以期对肺移植相关研究提供参考。

**【关键词】** 肺移植;肺组织;人类遗传资源;标本采集;储存;伦理;生物样本库;技术规范

**【中图分类号】** R617, R563 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1674-7445(2025)01-0016-09

**Collection, storage and utilization of lung transplant tissue samples** Li Yixing\*, Shi Xue, Wang Hongyi, Tao Runyi, Sun Ye, Su Ailing, Tong Liyan, Feng Jinteng, Zhang Yanpeng, Li Shuo, Wang Yawen, Zhang Guangjian. \*Department of Thoracic Surgery, the First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Key Laboratory of Enhanced Recovery After Surgery of Integrated Chinese and Western Medicine, Xi'an 710000, China

Corresponding authors: Zhang Guangjian, Email: michael8039@xjtu.edu.cn

Shi Xue, Email: shixue0213@163.com

**【Abstract】** After continuous development and improvement, lung transplantation has become the preferred means to treat a variety of benign end-stage lung diseases. However, the field of lung transplantation still faces many challenges, including shortage of donor resources, preservation and maintenance of donor lungs, and postoperative complications. Lung tissue samples removed after lung transplantation are excellent clinical resources for the study of benign end-stage lung disease and perioperative complications of lung transplantation. However, at present, the collection, storage and utilization of tissue samples after lung transplantation are limited to a single study, and unified technical specifications have not been formed. Based on the construction plan of the biobank for lung transplantation in the First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, this study reviewed the practical experience in the collection, storage and utilization of lung transplant tissue samples in the aspects of ethical review, staffing, collection process, storage method, quality control and efficient utilization, in order to provide references for lung transplant related research.

**【Key words】** Lung transplantation; Lung tissue; Human genetic resource; Specimen collection; Storage; Ethics; Biobank; Technical specification

DOI: 10.12464/j.issn.1674-7445.2024213

基金项目: 陕西省科研创新平台项目(2024PT-09); 西安交通大学第一附属医院临床研究重点项目(XJTUIAF-CRF-2023-006)

作者单位: 710000 西安, 西安交通大学第一附属医院胸外科 中西医结合加速康复外科实验室(李益行、王泓懿、陶润仪、童立炎、冯锦腾、张言鹏、李硕、张广健); 陕西省生物资源与先进医学工程技术研究中心 西安交通大学第一附属医院生物样本信息资源中心(师雪、苏爱玲、王亚文); 西安交通大学第一附属医院麻醉手术部(孙烨)

作者简介: 李益行(ORCID 0009-0007-3010-4205), 博士研究生, 研究方向为肺移植, Email: sainner120@stu.xjtu.edu.cn

通信作者: 张广健(ORCID 0000-0003-0663-6256), 博士, 主任医师, 研究方向为肺移植基础与临床, Email: michael8039@xjtu.edu.cn; 师雪(ORCID 0009-0007-2412-0946), 硕士, 中级医技, 研究方向为生物样本库构建, Email: shixue0213@163.com

器官移植是治疗终末期器官功能障碍患者的有效途径。肺移植经过全球范围内 60 余年的发展完善, 现已成为治疗多种良性终末期肺疾病的首选且高效手段<sup>[1]</sup>。据国际心肺移植学会统计, 自 1990 年起, 全球范围内已完成近 7 万例成人肺移植手术, 且近 10 年来, 年手术量稳定在 4 000 例以上, 彰显了该领域的技术成熟<sup>[2-3]</sup>。我国肺移植事业同样取得了显著进展, 不仅在移植数量上逐年攀升, 在移植质量上也实现了质的飞跃。截至目前, 全国已有 54 家医疗机构获得肺移植资质, 近 7 年间累计完成了 3 600 例肺移植手术<sup>[4]</sup>。尤为值得一提的是, 2023 年 12 月发布的《中国器官移植发展报告(2022)》明确指出, 我国在器官移植的临床实践与科研探索方面已跻身世界先进行列, 心、肺、肝、肾等四大主要器官的移植技术均达到国际领先水平<sup>[5]</sup>。

然而, 肺移植领域仍面临诸多挑战, 包括供者资源的稀缺性、供肺保存与维护的复杂性, 以及术后可能出现原发性移植植物功能障碍、急性与慢性排斥反应、慢性移植肺功能障碍等并发症<sup>[6-10]</sup>。此外, 对于良性终末期肺疾病的病理机制及潜在治疗靶点的探索也亟待深入。在此背景下, 充足且高质量的移植生物样本资源对于推动肺移植的临床实践、基础研究与转化医学发展具有不可估量的价值。

肺移植的肺组织样本, 作为极其宝贵的人类遗传资源, 其采集与储存过程必须严格遵守规范化、标准化的流程。遗憾的是, 当前肺移植组织样本的获取多局限于单次研究需求, 尚未形成统一、系统的采集与储存标准。鉴于此, 本文旨在总结并分享西安交通大学第一附属医院在肺移植组织样本获取与储存方面的实践经验与流程, 以期为行业内的同仁提供参与借鉴, 共同促进肺移植事业的健康发展。

## 1 采集统筹阶段

肺移植组织样本包括供者样本与受者样本。受者样本特指从受者体内切除的病变肺组织, 用于后续研究分析。而供者样本则更为广泛, 不仅包括因故未能用于移植的供肺组织, 还涵盖了手术过程中因肺脏减容而修剪下的供肺组织。肺移植组织样本进行采集之前应先进行统筹规划, 确定采集方案并进行伦理审查, 样本采集前应获取知情同意书、协调采集人员、准备采集物资及场地。

### 1.1 伦理审批流程

在开始构建肺移植组织样本库之前, 一般由临床医师、病理学专家及科研人员组成的跨学科团队需紧密合作, 共同制定详尽的研究或获取方案。此方案需明确样本的采集部位、具体类型、预计数量及预期用途, 以确保样本的采集工作既科学又高效。

整个样本的采集、保存及利用过程, 必须严格遵循伦理原则, 确保每一步骤都可经受伦理考察。研究方案需提交至已在相关管理部门完成备案的伦理(审查)委员会进行审查, 以获得必要的伦理批准。这一审查过程将严格依据《涉及人的生命科学和医学研究伦理审查办法》《中华人民共和国人类遗传资源管理条例》以及《人体器官捐献和移植条例》等法律法规和国家相关政策执行, 旨在保障研究的合法性、科学性与伦理性三者并重<sup>[11-12]</sup>。

伦理委员会在审查过程中, 将特别关注知情同意书的完备性, 确保捐赠者在充分了解并自愿同意的基础上参与研究; 同时, 也会对样本的收集、储存方案及整体研究计划进行细致评估, 以维护捐赠者的合法权益不受侵害。此外, 伦理审查还会遵循“最低风险”原则, 即确保捐赠者在捐赠样本时所面临的风险被降至最低水平。伦理审查一般进行会议审查, 对于研究风险不大于最小风险的研究可以通过简易审查<sup>[13]</sup>。同时, 委员会也会考虑到研究结果可能涉及的捐赠者个人隐私信息保护问题, 采取有效措施确保这些信息的安全与保密。

### 1.2 知情同意书的签署

在采集、保存及利用肺移植研究样本的过程中, 必须始终秉持尊重与保护人类遗传资源提供者隐私权、个人信息等核心权益的原则。在正式启动样本采集之前, 详细告知患者及家属采集肺组织样本的目的、过程、风险及潜在益处, 并获取其正式签署的知情同意书。

受者和供者的知情同意均应获取。受者知情同意在术前准备时可与患者及其家属进行沟通, 并签署样本采集知情同意书。对于供者组织的获取, 手术医师需承担全面评估的责任, 确保所有决策均基于严谨的医疗考量, 并严格遵循伦理规范与受者利益最大化的原则。在供肺获取前, 必须签署专门的供肺捐赠知情同意书, 医师有责任向供者家属或授权人清晰阐述组织的潜在用途, 并征得他们同意将原本可能未移植的供肺组织用于科学研究<sup>[14]</sup>。这一过程中, 尊重与沟通

是不可或缺的。

一旦知情同意书签署完成,所有相关资料均需得到妥善保管,并实施严格的保密措施。同时,应向供者及受者样本提供者或其授权人明确说明哪些个人与医疗信息将被用于科学研究,并详细告知其个人隐私信息将得到如何周密保护,以消除其顾虑,确保整个研究过程的透明与合规。

### 1.3 人员配置

在器官移植研究样本采集之前,临床研究团队需与生物样本库的专业工作人员进行深入的入库前沟通与交流,旨在明确双方的采集需求与具体流程,确保紧密协作。生物样本库工作人员将积极协助研究团队高效完成生物样本的采集工作。为确保此项工作的顺利进行,临床研究团队与生物样本库工作人员均需满足以下基本条件。

**1.3.1 专业知识与技能** 采集人员必须拥有扎实的医学、生物学或相关领域的专业知识背景,深入理解被采集器官的大体解剖学结构,这是保证采集过程精准无误的前提。

**1.3.2 培训与教育经历** 所有采集人员均需接受系统化的专业培训,内容涵盖样本获取技术、伦理审查原则、知情同意程序等多个方面。通过培训,采集人员应能熟练掌握各项操作技术与流程,严格遵守伦理规范,明确采集的具体部位、类型及所需数量,确保采集工作的科学性与合法性。

**1.3.3 强烈的团队合作精神和高度的责任心** 采集工作是一项需要多方协作的任务,因此,采集人员需具备良好的团队合作精神,能够与研究团队其他成员紧密配合,共同高效完成样本采集任务。同时,每位采集人员都应对自己的工作高度负责,确保每一步操作都准确无误,以保障样本的质量与后续研究的可靠性。

### 1.4 物资及场地准备

在器官移植研究样本的获取过程中,充分的物资准备是确保样本质量与安全性的关键环节,以下是准备事项的详细规划。

**1.4.1 采样信息确认** 提前收集并确认受者的基本信息,包括但不限于姓名、住院号、预定的样本获取日期及确切的采集部位,以确保样本采集的准确性和可追溯性。

**1.4.2 样本编号管理** 对于因隐私保护等原因无法直接获取个人信息的供者样本,应制定并执行一套清

晰明确的编号规则。在供者样本采集前,确保所有相关人员熟悉并掌握该编号,以便后续准确匹配供受者信息。受者样本编号可延续使用患者住院号或病历号。

**1.4.3 专业设备与耗材筹备** 根据研究的具体需求,提前规划并准备必要的手术器械、专用冻存管、高质量的保存液、液氮冻存设备以及用于大体观察的高清拍摄工具等。所有与样本进行接触的物资应经过灭菌处理,以保证样本避免污染<sup>[15]</sup>。这些物资的选择与配置需确保能够维持样本的生物活性、完整性及长期保存的稳定性。

**1.4.4 个人防护装备准备** 为样本采集操作人员配备齐全的个人防护用品,如医用级手套、口罩、护目镜及防护服等,严格遵循感染控制与交叉污染预防的原则。

**1.4.5 标识与记录系统** 提前确定采样方案后,可提前打印粘贴型标签准备样本储存装置,预制条码标签可采取匿名化<sup>[16-17]</sup>。肺组织样本采集量较多,可准备足够的记号笔与标准化的记录表格,记录样本采集过程以及特殊情况,确保样本在采集过程中能够得到准确、清晰的标识,采集完成后在信息系统上记录详尽的采集信息,为后续的研究与追踪提供可靠的依据。

**1.4.6 运输与保存安排** 除了手术室内暂存的液氮保存措施外,还需预先规划样本的转运流程,包括准备专业的转运设备,确保样本在采集后能迅速、安全地转移至生物样本库进行妥善保存。

**1.4.7 采集区域规划** 选择并设置符合卫生标准的洁净区域作为样本采集点,可以是紧邻移植手术间的独立空间或专设的采集室<sup>[18]</sup>。在场地准备过程中,应严格遵守相关规范与标准,确保环境适宜、设备齐全且操作流程符合安全要求。

总之,物资与场地的精心准备是保障器官移植研究样本质量与安全性的基础,需根据研究的具体需求与要求,科学合理地配置资源,确保研究工作的顺利进行。

## 2 精细化采集流程

肺移植组织样本的获取方式依据移植手术类型的不同,可划分为单肺移植样本获取与双肺移植样本获取两种类型。在单肺移植手术中,样本采集通常包括受者因病需切除的患侧肺组织,以及因不匹配或其他

原因而未进行移植的对侧供肺组织。而在双肺移植手术中,主要采集的是受者双侧因病切除的肺组织。然而,在特殊情况下,若供肺部因过度膨胀而对正常组织造成压迫,临床团队在经过专业评估后,可能会切除部分供肺组织以实现肺脏减容<sup>[19]</sup>,此时这部分切除的供肺组织也可纳入采集并妥善保存的范围。

尽管肺组织的基本解剖结构在大多数情况下保持一致,使得单肺与双肺移植的样本采集方法在大体上相似,但我们必须认识到受者肺组织与供肺组织在离体保存条件、潜在病灶结构等方面存在的差异。因此,在实际采集过程中,必须根据样本的具体类型(受者或供者)和状态,灵活调整采集方法,以确保样本的质量与后续研究的可行性。

## 2.1 受者肺组织样本采集

**2.1.1 术前准备** 样本采集人员需在肺移植手术全程中密切跟踪手术进展,确保在病肺组织即将离体的前 20~30 min 内,完成样本采集区域的准备工作及所需物资的集结,并及时通知相关部门或人员前来协助。在手术进行到肺动脉离断至样本正式采集之前,肺叶会经历热缺血阶段,此阶段内的热缺血时间可能影响下游实验结果,因此,术中务必精确记录肺动脉夹闭的起始时间,以便监控热缺血时间。

一旦病肺组织被安全离体,应立即遵循严格的无菌操作原则,迅速而稳妥地将其转移至预设的样本采集区域。在正式开始采集前,需明确记录采集起始时间,此举旨在提醒采集人员注意操作效率,确保在合理时间内完成采集,从而保障样本的高质量。

样本采集的主要负责人应全程严格遵守无菌操作规程,不仅在采集过程中如此,在后续的组织修剪等环节亦需同样谨慎,以杜绝因操作不当而导致的不同组织间的交叉污染,确保样本的纯净度与研究的可靠性。

**2.1.2 采集策略** 在进行肺组织采样时,通常按照肺动静脉、气管、淋巴结、临近肺门肺组织、再到远端肺组织的顺序进行。这一顺序旨在尽可能遵循由洁净到可能污染、由结构相对简单到复杂、以及由操作难度较低到较高的原则。然而,值得注意的是,采样顺序并非一成不变,而是可以根据具体的研究目的和需求进行灵活调整。如果研究的主要焦点在于特定疾病的病灶部位,那么为了更直接、更准确地获取相关信息,可以优先对病灶区域进行采样。这样的调整有助于确保研究结果的针对性和准确性,同时避免了因采样顺序不当而可能导致的样本质量下降或信息遗漏。

因此,在实际操作中,应根据具体情况和研究需求,灵活调整采样顺序,以达到最佳的研究效果。

## 2.1.3 采集方法

**2.1.3.1 肺血管处理** 在进行肺移植手术时,为预防肺内微生物及病灶对血管的潜在污染,并确保肺门结构完整性对血管路径的清晰呈现,首要步骤是细致分离肺动脉与肺静脉。根据手术具体要求,可能需离断血管的肺叶分支以获取充足的样本。此时,术者需精通肺门区域精细解剖,迅速区分并分离肺动脉与肺静脉。一旦血管被剪开,应立即清除内部残留血液,避免凝血影响。为加速辨识过程,可采用缝合器、缝线缝扎或钛夹夹闭等适宜手段分别处理肺动脉与肺静脉。鉴于血管组织脆弱,操作时应选用无损镊子,轻柔维持其环状结构。对于拟用组织固定液保存的血管,应修剪为完整环状,以优化切片质量。标准化的组织固定液进行组织处理,有利于后续进行蛋白组学检测<sup>[20]</sup>。而新鲜冷冻保存的血管组织,则需根据研究需求分割,确保管壁面积不小于 0.5 cm×0.5 cm。为保证样本质量,应在冷缺血 30 min 内完成分装,迅速转移至生物样本库的液氮罐中<sup>[21]</sup>。对于无法及时液氮保存的样本,应加入 RNA 保存液,以避免组织 RNA 降解<sup>[22]</sup>。

**2.1.3.2 肺气管采集** 随着肺动脉与肺静脉的分离,伴行的肺气管自然暴露,随即进行肺气管的分离工作。肺气管由软骨环与气管膜部构成,操作时应格外小心,避免损伤膜部。对于新鲜冷冻保存的组织,需确保软骨环与气管膜部完整无缺。气管组织应剪裁为至少 0.4 cm×0.4 cm 的小块,并进行适当清理<sup>[23]</sup>。若气管内含有黏性分泌物,可轻轻使用无菌水冲洗。由于冻存导致气管组织萎缩收缩,因此气管形态应通过组织固定液进行观察<sup>[24]</sup>。固定组织时,应尽力保持气管的自然环状结构。

**2.1.3.3 肺淋巴结采样** 肺门淋巴结因其黑色椭圆形外观及与周围组织的紧密粘连而易于识别。采样时,应细致剥离淋巴结,清除表面脂肪与结缔组织,同时避免使用器械造成损伤。淋巴结大小各异,小型者可直接储存,大型者则需分割成不小于 0.5 cm×0.5 cm×0.5 cm 的样本。对于肺门组织钙化严重、淋巴结难以辨识的情况,可考虑解剖肺内淋巴结进行采集。

**2.1.3.4 肺实质组织采集** 肺泡组织采集依据肺叶进行,并需考虑受者原发病特性。针对肺纤维化、慢性阻塞性肺疾病、肺尘埃沉着病及肺动脉高压等良性终

末期肺疾病,采集策略各有不同。肺纤维化患者肺组织病灶弥漫且质硬,需谨慎操作以防划伤;慢性阻塞性肺疾病患者肺表面肺大疱众多,采集时应避开薄壁,专注肺实质;肺尘埃沉着病患者肺间质炭末沉积则需特别留意避开。肺泡组织内如有痰液等分泌物,储存前需用无菌水彻底清洗。样本大小根据研究需求调整,固定液保存的组织可修剪为 3~5 cm<sup>3</sup>;新鲜冷冻组织需至少保留 0.5 cm×0.5 cm×0.5 cm 的末梢及肺门附近组织,根据研究目的可加入 RNA 保存液<sup>[17]</sup>;用于原代细胞提取或类器官构建的组织至少保留 0.5 cm×0.5 cm×0.5 cm,并尽快置入保存液中;需要直接提取细胞的组织至少保留 0.5 cm×0.5 cm×0.5 cm,并尽快处理,制备为可长期保存的细胞悬液,无法及时处理的组织液置入细胞保存液中可保持组织活性<sup>[25]</sup>。对于需冻存的肺组织,速冻可有效提高样本切片质量<sup>[26-27]</sup>。此外,研究过程中可进行拍照记录,必要时测量组织大小。对于存在肺结节或严重炎症的肺组织,采样时应规避这些区域,以便更准确地进行病理学评估,辅助术后治疗方案的制定。

**2.1.4 质量控制** 高质量的肺移植研究样本是确保后续研究真实性与可靠性的基石,因此,必须严格实施样本质量控制措施,涵盖以下几个关键环节。

**2.1.4.1 样本维护** 在处理肺组织样本时,应即刻将其置于专业的组织灌注液或肺组织活性保护液中,并借助冰块维持一个低温、稳定的操作环境,以最大程度地保留肺组织活性<sup>[28]</sup>。对于表面附着有血凝块或黏液的肺组织,应进行细致的清洗处理,以防这些杂质干扰后续的实验步骤。此外,样本的分装大小需提前规划,既要确保样本量充足以支持深入研究,又要避免组织块过大而难以被固定液充分浸透,影响生物分子的有效提取。

**2.1.4.2 时间管理** 肺组织从采集到分装、入库的全过程,必须严格控制在冷缺血时间 30 min 之内完成<sup>[12,29]</sup>。已明确长时间的温热(>2 h)和体外缺血时间(>10 h)会导致组织活性下降<sup>[30]</sup>。尽管部分研究认为组织置于 4 °C 冰上,可维持组织活性,但对于技术要求高的研究,仍应尽快进行样本采集与分装。因此,肺组织采样的时间窗口对于维护组织核酸的稳定性至关重要,能够有效减少因缺血时间过长导致的核酸降解风险。

**2.1.4.3 人员要求与操作规范** 采样人员需具备扎实的解剖学知识基础,并熟练掌握采样流程,以确保操

作的准确性和高效性。采样过程中,应组织多人协作,明确分工,迅速而有序地获取组织样本。同时,严格遵循无菌操作原则,使用专用器械和耗材,防止不同肺组织结构之间的交叉污染,保障样本的纯净度和研究结果的可靠性。

## 2.2 供肺组织样本采集

**2.2.1 采集策略** 可供采集的肺组织来源包含单肺移植手术中未使用而被临床废弃的对侧健康肺组织,以及通过减容手术获取的肺组织。在这些肺组织被判定为不再适用之前,手术医师已对其肺门结构进行了细致的解剖与分离,确保了肺门结构的相对完整性,从而使得从这部分肺组织中采样相较于直接从对侧肺组织采样更为便捷。采样过程遵循与受者肺组织相似的标准顺序,通常依次采集肺动静脉、气管、淋巴结、紧邻肺门的肺组织,最后采集远端肺组织,以确保样本的全面性和代表性。

**2.2.2 采集方法** 在采集肺动静脉、气管、淋巴结等部位的样本时,其方法与受者样本的采集流程应基本保持一致,确保采样的一致性和标准化。然而,在采集肺泡组织时,操作略有不同。由于供肺组织在移植前需经过灌注液的处理,这可能导致肺泡组织内部出现一定程度的水肿现象。因此,在修剪和准备肺组织样本时,应特别注意对肺泡区域进行适当的清洗,以减少水分和残留灌注液对样本质量的影响。

此外,当遇到因故未进行移植的供肺组织时,如果观察到存在肺不张、炎症或其他病理状况的区域,务必在取材过程中避开这些部位。这是为了防止局部的炎症反应、组织损伤或其他不良因素可能给后续的检测分析带来的干扰或误导,确保样本的代表性和可靠性。

**2.2.3 质量控制** 供肺组织的质量控制标准在很大程度上与受者肺组织相类似,但需注意以下几点特别要求:(1)自供肺组织获取后,应立即置于稳定的 4 °C 环境中,以减缓代谢活动并保护组织活性<sup>[27,31]</sup>。同时,必须精确记录肺组织的冷缺血时间,即从离体到开始冷藏的时间段,这对于评估组织状态及后续处理至关重要。(2)对于已经过灌注液处理的供肺组织,其质量通常更为优越,因灌注液有助于维持组织结构和功能。在采样过程中,应持续在灌注液环境中进行操作,以避免组织干燥或损伤,确保样本的完整性和代表性。(3)采样工作应迅速而高效地进行,以减少对肺组织的额外损伤和不必要的暴露时间。在

必要时,可组织多人协作,通过分工合作提高采样效率,同时确保每一步操作都符合质量控制标准。

### 2.3 移植后供肺组织样本采集

在手术过程中,经手术医师的专业评估,为达成肺脏减容的目标而切除的部分供肺组织,需立即进行细致的采样与分装操作。采样时,鉴于肺组织通常以楔形切除或肺叶切除的形式获取,操作时应特别小心,以避免肺组织断端可能存在的缝合钉或固定装置,防止对样本造成损伤。

值得注意的是,供肺在移植后,其主要成分为肺泡组织,这些组织内部将接受来自受者的血液灌注。因此,在整个移植过程中,供肺组织的缺血-再灌注时间显得尤为关键,必须详细且准确地记录,包括冷缺血时间(即从供肺开始冷保存到植入受者的时长)以及再灌注时长(即从供肺重新恢复血液供应到功能稳定到切除后取材的时长)。

关于组织分装的大小,这应根据具体的研究需求来确定,但一般而言,为保持研究的一致性和可比性,分装后的组织大小应尽可能与受者肺组织中的相应部分相似,以便于后续的实验操作和数据分析。

## 3 储存及管理体系

### 3.1 高标准储存环境

肺移植组织样本作为研究良性终末期肺疾病进程的关键人类遗传资源,其珍贵性不言而喻,因此必须实施高质量的样本保存策略及标准化的管理体系。当前,我国能够开展肺移植手术的医院主要集中在具备高度综合管理能力的三级甲等医院范畴内,这些医院不仅具备执行手术的能力,还同时拥有构建和管理生物样本库的资质与实力。

为促进肺移植领域研究的深入发展,肺移植中心与生物样本库之间应建立紧密的合作伙伴关系,通过双方共同努力,设立专门的肺移植组织样本库,以实现样本的专业化、规范化管理。该中心应确保拥有充足的设备与空间资源,以满足样本存储的需求。具体而言,对于需进行新鲜冻存的肺组织样本,应确保存储环境至少达到 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 或采用液氮深冷保存,并严格实施信息化管理制度,以便追踪与检索。快速冷冻于至少 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的组织可有效保持活性以用于转录组测序等对样本质量要求高的研究<sup>[32]</sup>。

对于采用组织固定液处理的样本,建议将其制作

为石蜡包埋块,并在 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下妥善保存。而针对需采用电镜固定液保存或暂时未进行冻存的新鲜组织样本,同样应放置于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 环境中,并尽快安排后续的检测与分析工作,以确保样本质量<sup>[33]</sup>。

在设备配置方面,用于肺移植样本储存的液氮罐、 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 超低温冰箱及 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱等关键设备,应优先考虑使用独立设备或至少确保拥有独立的存储空间,以降低样本混淆或遗失的风险。同时,这些设备应被妥善安置于固定区域,并由经过专业培训的人员进行日常管理,以确保样本存储的安全性与有效性。

### 3.2 专业管理团队与制度

肺移植组织样本的管理负责人应由移植中心主任或负责相关移植课题的负责人来担任。肺移植样本负责人需兼备肺移植手术的专业技能、高效的管理能力以及深厚的科研背景。肺移植样本的采集与分装工作,应由紧密合作的临床科研团队与样本库专业团队共同完成,确保每一步骤的精确无误。而样本的运输、入库、质量控制及出库流程,则由样本库内具备专业知识的专人进行严格把控。

为确保样本管理的专业性与高效性,所有参与管理的人员均需具备扎实的生物医学基础知识及相应的专业技能。为了进一步提升样本使用的科学性、合理性和效益,组织样本的每一次使用都需经过科研团队的精心规划,形成详细的研究方案。该方案需通过规范、高效、合理的出库审批流程,确认无误后批准样本出库,以供科研使用。这一系列流程旨在确保肺移植组织样本的每一环节都能得到严格而科学的管理。

### 3.3 样本质量控制与维护

样本的质量控制体系涵盖了日常质控与周期性质控两大方面。日常质控聚焦于每日入库的样本,具体涉及对样本数量、样本类型、样本离体至入库的时间间隔、实际入库时间以及关联的患者信息进行全面而细致的核查,以确保信息的准确无误与样本的及时入库。

周期性质控侧重于对新鲜冻存的组织样本进行更深入的质量评估,主要通过核酸检测手段来实现<sup>[34]</sup>。这一过程中,会重点检测核酸的纯度、浓度以及完整性等关键指标<sup>[35]</sup>,以此为依据综合评判组织样本的质量状况,确保样本在存储与后续研究中的可靠性与有效性。

## 4 样本出库与高效利用

### 4.1 出库审批流程

肺移植样本的使用应遵循一套详尽且规范的出库使用流程。首先,肺移植研究样本的专属使用权应明确归属于肺移植样本纳入团队。当该团队需申请使用样本时,必须提交一份详尽的研究方案,该方案需通过科学委员会及伦理委员会的严格审核,并获得肺移植组织样本管理负责人的正式批准后,方可向生物样本库正式提出样本出库申请。生物样本库主任在审批同意后,样本方可出库供研究使用。

若其他研究团队希望使用肺移植样本,与肺移植样本纳入团队的负责人进行充分沟通后,在双方达成合作意向的基础上,签订明确的合作协议及成果分配方案。此合作过程同样需严格遵守伦理规范。随后,合作团队需向生物样本库提交出库申请。

所有出库的样本在出库前都需与生物样本库签订出库协议。该协议及出库申请书中应清晰界定研究的科学性审查与伦理审查情况、样本的具体使用目的、检测地点与方法、样本使用后的销毁方式等关键信息,以确保样本使用的合规性、透明度和可追溯性。

### 4.2 使用追踪及反馈

无论是肺移植团队出库的样本还是其他团队申请出库肺移植研究样本,其检测结果都应及时反馈给肺移植样本纳入团队的负责人,必要时也应向样本库进行反馈。首先,下游实验效果是评判样本采集与存储质量的最佳反馈方式,通过持续反馈可以有效优化肺移植样本采集与存储流程<sup>[36]</sup>;其次,样本信息的准确性关乎下游结果的分析,反馈可帮助识别明显数据错误,与日常质控数据进行对比后分析,探究错误产生的原因,确保样本高质量使用;最后,鉴于肺移植样本采集与存储的难度,实现实验数据的共享,可提高样本的使用效率,最大化地利用样本资源<sup>[37-38]</sup>。对于反馈的结果与发现的问题,样本采集、入库、存储和出库的相关人员应及时进行讨论分析,明确可能的原因及可采取的改进措施。对于存在重大问题的样本,应及时进行抽检,以确保样本质量。

### 4.3 促进科研与临床转化

肺移植组织样本库的最终建立目标,是基于科研探索的成果服务于临床诊疗,推动科研向临床应用的转化。其核心目的在于促进肺移植围手术期并发症的治疗,改善良性终末期肺疾病的发展进程,进而提升

患者生活质量和延长患者生存时间。因此,肺移植组织样本的使用应优先考虑那些具有科研和临床转化价值的研究项目,以实现肺移植样本的高效利用。

肺移植样本的高效使用需由肺移植样本负责人把控。一方面,若样本利用率较低,长期存储可能影响肺组织样本的质量,因此需要及时推进样本使用率,加速肺移植组织样本向科研和临床研究数据的转化。另一方面,若样本利用率较高,则应对有样本需求的项目进行全面、详尽且合理的评估,确保使用肺移植组织样本的必要性,明确需求样本的数量和样本,避免肺组织样本的浪费。

目前,全国性的肺移植组织样本库构建尚处于起步阶段。在此,我们分享本中心在肺移植组织样本采集、存储与利用方面的经验,期待全国多个中心能够共同开展肺移植组织样本的采集工作,形成多中心合作的肺移植样本库,为改善肺移植受者的生存状况提供坚实的科研探索基础。

## 5 小结

肺移植组织样本的采集、储存与利用的规范化对于肺移植生物样本的高效利用具有重要意义。合理、规范、统一的肺移植组织样本库构建方法对于减少样本采集时间、规范人员培训、保护样本质量等方面均具有良好的指导意义。关于人体代谢产物(血液、粪便、尿液等)的样本采集已具有规范化的标准<sup>[37-38]</sup>,但肺移植过程中肺组织采集的方法及规范尚无相应的规范。目前肺移植生物样本库的构建仍处于起步阶段,尚未形成大规模、多中心的样本库共享平台,期待更多中心构建肺移植组织样本库,以促进肺移植样本资源共享,加速基础科学的研究及其向临床转化。

### 参考文献:

- [1] SWAMINATHAN A C, TODD J L, PALMER S M. Advances in human lung transplantation[J]. *Annu Rev Med*, 2021, 72: 135-149. DOI: 10.1146/annurev-med-080119-103200.
- [2] PERCH M, HAYES D JR, CHERIKH W S, et al. The International Thoracic Organ Transplant Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: thirty-ninth adult lung transplantation report-2022; focus on lung transplant recipients with chronic obstructive pulmonary disease[J]. 2022, 41(10): 1335-1347. DOI: 10.1016/j.healun.2022.08.007.
- [3] CHAMBERS D C, CHERIKH W S, HARHAY M O, 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]. 2019, 38(10): 1042-1055. DOI: 10.1016/j.healun.2019.08.001.
- [4] 钱共甸, 李小杉, 胡春晓, 等. 2021 年中国肺脏移植发展报告解读[J/OL]. 中国医学前沿杂志(电子版), 2023, 15(4): 1-6. DOI: 10.12037/YXQY.2023.04-01.
- QIAN G T, LI X S, HU C X, et al. Interpretation of report on lung transplantation development in China 2021[J/OL]. *Chin J Front Med Sci (Electr Vers)*, 2023, 15(4): 1-6. DOI: 10.12037/YXQY.2023.04-01.
- [5] 黄洁夫. 中国器官移植发展报告(2022) [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2022.
- [6] HU C X, CHEN W H, HE J X, et al. Lung transplantation in China between 2015 and 2018[J]. *Chin Med J*, 2019, 132(23): 2783-2789. DOI: 10.1097/CM9.0000000000000543.
- [7] HUNT M L, CANTU E. Primary graft dysfunction after lung transplantation[J]. *Curr Opin Organ Transplant*, 2023, 28(3): 180-186. DOI: 10.1097/MOT.0000000000001065.
- [8] ANGEL L F, LEVINE S M. 40 years in the making: lung transplantation past, present, and future[J]. *Clin Chest Med*, 2023, 44(1): xiii-xv. DOI: 10.1016/j.ccm.2022.12.001.
- [9] SINGER J P, GAO Y, HUANG C Y, et al. The association between frailty and chronic lung allograft dysfunction after lung transplantation[J]. *Transplantation*, 2023, 107(10): 2255-2261. DOI: 10.1097/TP.0000000000004672.
- [10] CHAN J C Y, CHABAN R, CHANG S H, et al. Future of lung transplantation: xenotransplantation and bioengineering lungs[J]. *Clin Chest Med*, 2023, 44(1): 201-214. DOI: 10.1016/j.ccm.2022.11.003.
- [11] 全国生物样本标准化技术委员会, 中华医学会器官移植学分会, 医药生物技术协会组织生物样本库分会, 等. 器官移植生物样本库建设实践指南[J/OL]. 实用器官移植电子杂志, 2019, 7(4): 245-253. DOI: 10.3969/j.issn.2095-5332.2019.04.001.
- National Technical Committee on Biospecimen of standardization Administration of China, Branch of Organ Transplantation of Chinese Medical Association, China Medicinal Biotech Association Biobank Branch. Practical guideline for the construction of organ transplant biobank [J/OL]. *Pract J Organ Transplant (Electr Vers)*, 2019, 7(4): 245-253. DOI: 10.3969/j.issn.2095-5332.2019.04.001.
- [12] 中华人民共和国人类遗传资源管理条例[EB/OL]. [2024-06-30]. [https://www.gov.cn/zhengce/content/2019-06/10/content\\_5398829.htm](https://www.gov.cn/zhengce/content/2019-06/10/content_5398829.htm).
- [13] 周吉银, 刘丹. 《涉及人的生命科学和医学研究伦理审查办法》的解读和思考[J]. *中国医学伦理学*, 2023, 36(5): 475-481. DOI: 10.12026/j.issn.1001-8565.2023.05.01.
- ZHOU J Y, LIU D. Interpretation and reflection on measures for ethical review of life science and medical research involving humans[J]. *Chin Med Ethics*, 2023, 36(5): 475-481. DOI: 10.12026/j.issn.1001-8565.2023.05.01.
- [14] ZHANG H, VIVEIROS A, NIKHANJ A, et al. The human explanted heart program: a translational bridge for cardiovascular medicine[J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2021, 1867(1): 165995. DOI: 10.1016/j.bbadis.2020.165995.
- [15] XIANG Z, WANG R, LU Y, et al. Study protocol: design and implementation of the pediatric liver transplantation biobank[J]. *Biopreserv Biobank*, 2021, 19(2): 111-118. DOI: 10.1089/bio.2020.0128.
- [16] 高辉, 陈彩霞, 韩巴特尔. 胸外科肺部恶性肿瘤生物样本库的建设与管理[J]. *医学信息*, 2024, 37(3): 65-68. DOI: 10.3969/j.issn.1006-1959.2024.03.012.
- GAO H, CHEN C X, HAN B T R. Construction and management of biobanks of lung malignant tumor in thoracic surgery[J]. *J Med Inf*, 2024, 37(3): 65-68. DOI: 10.3969/j.issn.1006-1959.2024.03.012.
- [17] YU K, ZHANG J, LI X, et al. Establishment and management of a lung cancer biobank in Eastern China[J]. *Thorac Cancer*, 2015, 6(1): 58-63. DOI: 10.1111/1759-7714.12144.
- [18] LHOUSNI S, BELMOKHTAR K Y, BELMOKHTAR I, et al. Morocco's first biobank: establishment, ethical issues, biomedical research opportunities, and challenges[J]. *Biomed Res Int*, 2020, 2020: 8812609. DOI: 10.1155/2020/8812609.
- [19] 王振兴, 陈静瑜, 郑明峰, 等. 肺移植供肺获取 100 例: 冷缺血时间>6h 及肺减容对预后的影响[J]. *中国组织工程研究*, 2012, 16(5): 835-838. DOI: 10.3969/j.issn.1673-8225.2012.05.018.
- WANG Z X, CHEN J Y, ZHENG M F, et al. 100 cases of lung harvesting for lung transplantation: effect of cold ischemia time > 6 hours and lung volume reduction on prognosis[J]. *Chin J Tissue Eng Res*, 2012, 16(5): 835-838. DOI: 10.3969/j.issn.1673-8225.2012.05.018.
- [20] SHEVCHUK O, ABIDI N, KLAWONN F, et al. HOPE-fixation of lung tissue allows retrospective proteome and phosphoproteome studies[J]. *J Proteome Res*, 2014, 13(11): 5230-5239. DOI: 10.1021/pr500096a.
- [21] 中国医药生物技术协会. 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. DOI: 10.1186/s13020-020-00364-4.
- China Medicinal Biotech Association. Specification for collection, preservation and transportation of organ transplantation research samples[J]. *Chin Med Biotechnol*, 2020, 15(1): 85-93. DOI: 10.1186/s13020-020-00364-4.
- [22] ZHU Y, JACKSON D, HUNTER B, et al. Models of cardiovascular surgery biobanking to facilitate translational research and precision medicine[J]. *ESC Heart Fail*, 2022, 9(1): 21-30. DOI: 10.1002/ehf2.13768.
- [23] LLAMAZARES-PRADA M, ESPINET E, MIJOŠEK V, et al. Versatile workflow for cell type-resolved transcriptional and epigenetic profiles from cryopreserved human lung[J]. *JCI Insight*, 2021, 6(6): e140443. DOI: 10.1172/jci.insight.140443.
- [24] SCHMITT V H, SCHMITT C, HOLLEMANN D, et al. Tissue expansion of lung bronchi due to tissue processing for histology - a comparative analysis of paraffin versus frozen sections in a pig model[J]. *Pathol Res Pract*, 2019, 215(7): 152396. DOI: 10.1016/j.prp.2019.03.024.
- [25] BAATZ J E, NEWTON D A, RIEMER E C, et al.

- Cryopreservation of viable human lung tissue for versatile post-thaw analyses and culture[J]. *In Vivo*, 2014, 28(4): 411-423.
- [26] 王灿铭, 苏丹, 应莉莎, 等. 生物样本库保存肺组织制作冷冻切片的体会[J]. *临床与实验病理学杂志*, 2020, 36(4): 488-489. DOI: 10.13315/j.cnki.cjcep.2020.04.031. WANG C M, SU D, YING L S, et al. Experience in preserving lung tissue and making frozen sections in a biological sample library[J]. *Chin J Clin Exp Pathol*, 2020, 36(4): 488-489. DOI: 10.13315/j.cnki.cjcep.2020.04.031.
- [27] 郑建华, 邹泽阳, 支文雪, 等. 快速冷冻仪与恒温冷冻切片机的速冻效果对比[J]. *诊断病理学杂志*, 2024, 31(1): 77-78. DOI: 10.3969/j.issn.1007-8096.2024.01.024. ZHENG J H, ZOU Z Y, ZHI W X, et al. Comparison of quick freezing effect between rapid freezing instrument and constant temperature freezing slicer[J]. *Chin J Diagn Pathol*, 2024, 31(1): 77-78. DOI: 10.3969/j.issn.1007-8096.2024.01.024.
- [28] SHARMA V J, STARKEY G, D'COSTA R, et al. Australian donation and transplantation biobank: a research biobank integrated within a deceased organ and tissue donation program[J]. *Transplant Direct*, 2023, 9(1): e1422. DOI: 10.1097/TXD.0000000000001422.
- [29] 国家市场监督管理总局, 国家标准化管理委员会. 人类组织样本采集与处理 第1部分: 手术切除组织: GB/T 40352.1—2021[S]. 北京: 中国标准出版社, 2021.
- [30] GUERRERA F, TABBÒ F, BESSONE L, et al. The influence of tissue ischemia time on RNA integrity and patient-derived xenografts (PDX) engraftment rate in a non-small cell lung cancer (NSCLC) biobank[J]. *PLoS One*, 2016, 11(1): e0145100. DOI: 10.1371/journal.pone.0145100.
- [31] MADISSOON E, WILBREY-CLARK A, MIRAGAIA R J, et al. scRNA-seq assessment of the human lung, spleen, and esophagus tissue stability after cold preservation[J]. *Genome Biol*, 2019, 21(1): 1. DOI: 10.1186/s13059-019-1906-x.
- [32] DELOREY T M, ZIEGLER C G K, HEIMBERG G, et al. COVID-19 tissue atlases reveal SARS-CoV-2 pathology and cellular targets[J]. *Nature*, 2021, 595(7865): 107-113. DOI: 10.1038/s41586-021-03570-8.
- [33] WAKATSUKI M, TAKAKI T, USHIYAMA A, et al. Fast-track preparation of lung specimens for electron microscope observations of the pulmonary endothelial glycocalyx[J]. *Med Mol Morphol*, 2023, 56(4): 239-249. DOI: 10.1007/s00795-023-00360-1.
- [34] ESTEVA-SOCIAS M, GÓMEZ-ROMANO F, CARRILLO-ÁVILA J A, et al. Impact of different stabilization methods on RT-qPCR results using human lung tissue samples[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 3579. DOI: 10.1038/s41598-020-60618-x.
- [35] LINDNER M, MORRESI-HAUF A, STOWASSER A, et al. Quality assessment of tissue samples stored in a specialized human lung biobank[J]. *PLoS One*, 2019, 14(4): e0203977. DOI: 10.1371/journal.pone.0203977.
- [36] 张赛, 吴静, 周佳宜, 等. 妇产科专科生物样本库 3.0 版本的建立与管理[J]. *复旦学报(医学版)*, 2023, 50(3): 456-461. DOI: 10.3969/j.issn.1672-8467.2023.03.019. ZHANG S, WU J, ZHOU J Y, et al. Establishment and management of obstetric and gynecologic biobank 3.0[J]. *Fudan Univ J Med Sci*, 2023, 50(3): 456-461. DOI: 10.3969/j.issn.1672-8467.2023.03.019.
- [37] 许思源, 李畅, 李贺鑫, 等. 基于区块链的生物样本信息共享系统模型研究[J]. *中国卫生信息管理杂志*, 2022, 19(4): 471-475, 534. DOI: 10.3969/j.issn.1672-5166.2022.04.02. XU S Y, LI C, LI H X, et al. Research on biological sample information sharing system model based on blockchain[J]. *Chin J Health Inform Manag*, 2022, 19(4): 471-475, 534. DOI: 10.3969/j.issn.1672-5166.2022.04.02.
- [38] 张易珂, 孙珊. 自动化生物样本库建设与可持续发展的思考[J]. *医院管理论坛*, 2024, 41(3): 16-18, 74. DOI: 10.3969/j.issn.1671-9069.2024.03.004. ZHANG Y K, SUN S. Reflections on construction and sustainable development of automated biobanks[J]. *Hosp Manag Forum*, 2024, 41(3): 16-18, 74. DOI: 10.3969/j.issn.1671-9069.2024.03.004.

(收稿日期: 2024-08-29)

(本文编辑: 方引超 鄢加佳)