

# 体外肝脏灌注技术研究现状及展望

薛巍松, 曹佩华, 徐小平, 李阳, 梁康檐, 黎少, 傅裕, 钟克波

基金项目: 国家重点研发计划资助项目(编号:2018YFC1106400); 国家自然科学基金项目(编号:31972926); 广东省科技计划项目(编号:2015B020229002); 广东省自然科学基金项目(编号:2014A030312013)

作者单位: 510280 广州, 南方医科大学珠江医院肝胆二科

作者简介: 薛巍松(1987-), 男, 医学博士, 主治医师, 研究方向: 普外、肝胆外科疾病的诊治。E-mail: 13666939088@163.com

通讯作者: 钟克波(1978-), 男, 医学博士, 博士后, 副主任医师, 研究方向: 肝移植、肝衰竭及肝胆胰肿瘤的诊治。E-mail: zhongkb@smu.edu.cn



钟克波, 毕业于第一军医大学临床医学系, 此后获生物统计学硕士、肝胆外科博士学位, 于中山大学附属第一医院器官移植中心接受肝移植博士后训练, 现为南方医科大学珠江医院肝胆二科副主任医师。担任广东省医学会肝胆胰外科分会门脉高压症学组委员, 广东省肝脏病学会人工肝与肝衰竭分会委员。从事普通外科、肝胆外科临床工作17年, 主要从事肝移植、肝胆胰肿瘤、肝衰竭救治及相关基础、应用研究工作, 发表论文10余篇, 主持临床试验课题3项。

**[摘要]** 急性肝衰竭病死率高, 肝移植是唯一有效的治疗方法, 但由于肝源短缺, 迫切需要有效的等待肝源或肝自我再生期间的“桥接治疗”技术。体外肝脏灌注技术作为生物人工肝的一种类型, 被寄望于能够暂时替代体内衰竭的肝脏, 延长患者生命, 从20世纪50年代至今不断有学者对其进行研究改进, 随着新材料、新技术以及基因编辑工程的发展, 近年来呈现新的研究热潮。该文对体外肝脏灌注的研究历史、现状以及面临的问题进行综述, 并对未来发展方向进行进一步展望。

**[关键词]** 肝衰竭; 人工肝脏支持; 体外肝脏灌注

**[中图分类号]** R 575.3 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2019)10-1061-05

**doi:**10.3969/j.issn.1674-3806.2019.10.05

**Research status and prospect of extracorporeal liver perfusion technology** XUE Wei-song, CAO Pei-hua, XU Xiao-ping, et al. The Second Department of Hepatobiliary Surgery, Zhujiang Hospital of Southern Medical University, Guangzhou 510280, China

**[Abstract]** Liver transplantation is the only effective treatment for acute liver failure which has a high mortality. However, due to the shortage of liver source, there is an urgent need for “bridge therapy” during the waiting list or liver self-regeneration. As a type of bioartificial liver, extracorporeal liver perfusion(ECLP) is expected to temporarily replace the failing livers in vivo and prolong the patients' life. Since the 1950s, scholars have been studying and improving the technique of ECLP. With the development of new materials, new technologies and gene editing engineering, there has been a new upsurge of ECLP research in recent years. This article reviews the history, current situation and problems of ECLP, and discusses the future research direction in this field.

**[Key words]** Liver failure; Artificial liver support; Extracorporeal liver perfusion(ECLP)

肝脏是维持生命极其重要的器官之一, 具有合成、分解、解毒等200多种功能。急性肝衰竭是危及生命的严重疾病, 其在发达国家的短期病死率高达

50%~90%<sup>[1]</sup>, 科学家们对其治疗技术和方法的探索从未止步。人工肝脏支持技术是重症肝衰竭具有前景的治疗手段<sup>[2]</sup>, 而体外肝脏灌注(extracorporeal

liver perfusion, ECLP) 作为生物型人工肝的一种类型,是学者们研究较早的肝衰竭治疗技术,至今已有60年左右。ECLP的早期研究经历多次波折,随着肝移植的发展以及伴随而来的肝源短缺问题,再次激发了人们研究ECLP技术作为等待肝源或肝自我再生期间的“桥接治疗(bridge therapy)”的兴趣。本文对ECLP研究的历程及进展进行综述。

## 1 ECLP发展历程及角色定位

早在肝移植之前,多种人工肝脏支持技术已经开始研究和应用,基于“最好的人工肝脏支持就是肝脏本身”这个理念,学者们设想将肝衰竭患者血液在体外行同种或异种全肝灌注,以期达到替代体内功能丧失肝脏的效果。1958年, Otto等<sup>[3]</sup>首先在动物实验中证实异种肝脏灌注治疗可以降低血氨,开创了ECLP治疗肝衰竭的先河,此后多个动物实验相继开展。随后,在1964年,印度的 Sen等<sup>[4]</sup>和美国的 Eiseman等<sup>[5]</sup>几乎同时开展了临床试验,并报道了他们的成果。1967年 Watts使用ECLP首次成功救治1例重症肝衰竭患者。据统计,20世纪六七十年代总共有159例患者入组研究,用于体外灌注的肝脏包括同种的人以及异种的牛、狗、狒狒和猪等动物的肝脏,甚至同一个患者使用了多种肝脏(最多1例用了16个肝脏),持续76 d<sup>[6]</sup>。虽然这期间的临床应用使得将近一半的肝昏迷患者得以缓解,但总体生存率不足20%<sup>[7]</sup>,远远没达到学者们以“治愈”为目的的定位,特别是肝移植治疗在临床成功推广,使得ECLP研究进入低谷。随着肝移植的开展,肝衰竭的治疗效果明显改善,但因供体缺乏导致许多患者在等待肝源过程中死亡,人们开始寻找过渡期的替代治疗,ECLP再次引起学者们的兴趣,并将其定位为“桥接治疗”。在接下来的几个研究中,研究者们将ECLP与肝移植结合。有文献报道<sup>[7]</sup>,在14例患者中有12例患者通过ECLP成功地进行了肝移植。在不断的探索中,ECLP在肝衰竭的治疗中似乎找到了其最佳的角色定位。另外 Kornberg等<sup>[8]</sup>提出ECLP可作为一种诊断性治疗措施,评估患者能否从肝移植治疗中获益,用于筛选肝移植受体患者。

## 2 ECLP存在的主要问题

**2.1 生物相容性问题** 用于ECLP治疗的体外肝脏以猪肝为主,异种肝脏使用中的生物相容性是首先需跨越的障碍,若直接全血灌注,可出现两种形式的免疫反应:其一,患者对异种肝组织及其合成物的免疫反应。患者体内存在对异种成分的天然抗

体,以及不同生物间补体调节系统存在差异导致补体激活,它们可在早期介导排斥反应<sup>[9]</sup>。细胞免疫一般在较长时间或多次灌注治疗后发挥作用,如中性粒细胞的激活。灌注后的体外肝脏病理检查常可见中性粒细胞、IgG、IgM以及补体的浸润是此类免疫反应的直接证据<sup>[10]</sup>。其二,移植物抗宿主反应。有研究<sup>[11]</sup>发现40%的猪肝体外灌注循环中可出现猪对人成分的抗体,体外肝脏也会对灌注循环中的红细胞、血小板等造成破坏。Rees等<sup>[12~14]</sup>进行的系列研究发现,用人全血体外灌注猪肝72 h后,红细胞压积降到起始值的2.5%,电镜下可见肝脏中的Kupffer细胞吞噬红细胞;进一步研究提示这与Kupffer细胞表面的唾液酸黏附素可特异识别和结合红细胞表面的N-乙酰神经氨酸(N-acetylneuraminic acid)有关,在灌注循环中加入抗唾液酸黏附素抗体封闭可改善血细胞破坏,这进一步证实了移植物抗宿主反应。但是,迄今为止,异种肝脏灌注的免疫反应问题因研究者采取多种针对性措施以及患者特殊的免疫状态而未出现严重的不良后果,相较于异种心、肾,异种肝脏的应用也较少发生超急性排斥反应<sup>[15]</sup>,甚至可产生免疫耐受<sup>[6]</sup>。但从安全角度出发,以及为了能够直接用患者全血灌注异种肝脏改善灌注效果,生物相容性问题仍需重视和进一步研究。

**2.2 出血问题** 出血是ECLP的主要并发症之一,不少患者因ECLP过程中出血而停止治疗,这除了肝衰竭本身引起的凝血物质合成不足以及ECLP需抗凝外,还与灌注液中纤维蛋白原和血小板含量的迅速下降有关,同时,免疫因素以及肝窦内皮损伤也被认为是其发生的影响因素。Winch等<sup>[16]</sup>发现灌注后肝脏病理检查肝窦内可见纤维蛋白和血小板附着,提示灌注肝脏在切除及保存过程中的缺血可造成血窦内皮的损伤,人血再灌注后血小板通过与纤维蛋白的结合形成血栓并粘附于受损的窦内皮,这可解释血小板与纤维蛋白原的平行丢失。Abouna等<sup>[6]</sup>报道的1例用16个肝脏灌注的临床治疗案例中,其在第一次ECLP治疗过程中同样出现血小板和凝血VIII因子的降低,提出持续予以补充血小板、纤维蛋白原及新鲜血是必要的,后续的治疗未再出现严重的出血问题。

**2.3 感染问题** 当动物肝脏开始用于人工肝研究或异种移植时,人们就一直担心潜在的人畜共患病,尤其是肝衰竭患者衰弱的免疫状态,对于外来病原的抵抗力更弱。目前已知的能在人体内复制的动物源病毒包括猩猩(BaEV)、猫(RD114)以及数种来自

鼠携带的内源病毒。对于猪肝来说,这个担忧的焦点在于猪内源性逆转录病毒(PERV)。该病毒由单股双链 RNA 构成,被认为是一种潜在的致病微生物,在长期的进化过程中,已整合到猪的基因组中,在猪体内并不会致病,但其是否能够感染人尚有争议。实验条件下,PERV 能够复制感染 SCID 小鼠和裸鼠<sup>[17,18]</sup>,在体外 PERV 亦能有效地感染人类细胞<sup>[19]</sup>。然而到目前为止临床尚无 PERV 直接感染人体的证据<sup>[20]</sup>,应用猪肝行 ECLP 时也未检测到病毒<sup>[21,22]</sup>。在无确切证据证实前对 PERV 的防范仍不能放松警惕,对此,学者们在灌注系统中加用半透膜隔离人血与猪肝以避免直接接触,这是目前最常用的有效预防措施<sup>[22]</sup>,PERV 基因敲除猪肝的使用则能从根本上断绝感染的可能。

### 3 ECLP 的研究热点

**3.1 体外全肝灌注系统的研究** 全肝灌注系统包括机械系统、管路连接及体外肝脏灌注舱,能够桥接患者与体外肝脏,给体外肝脏提供接近生理的内外环境,并实时调控体外肝脏的各种灌注参数,包括体外肝脏的温度、灌注流量、灌注压力以及氧供等,以更好地维持体外肝脏活性,体外全肝灌注系统随着 ECLP 研究和应用的深入以及生物材料、电子科技等的发展而不断进步。体外循环技术特别是体外膜氧合(ECMO)技术的发展,促使了体外全肝灌注系统的融合进步,推动静脉-静脉循环的应用,减少从动脉引血导致的循环不稳定的发生,改善体外肝脏的氧供,取得一定的效果<sup>[23]</sup>。20世纪60年代 Abouna 等<sup>[24]</sup>报道一种体外肝脏灌注舱,肝脏被放置在一个吊床样的软塑料隔膜上,进行间歇性振荡,以模拟横膈的运动。80年代 Ozawa 等<sup>[25]</sup>使用了特定孔径的双向中空纤维半透膜透析器,使患者自身循环与异种肝脏灌注循环隔离,患者的代谢废物可被滤除,而免疫蛋白被阻隔,体外灌注肝脏的合成物质也可透过半透膜进入患者循环。90年代 Neuhaus 和 Blumhardt<sup>[26]</sup>开发了一种热水浴装置的灌注舱,其可使肝脏在整个灌注过程中保持温度恒定,并在舱外加用气泵模拟呼吸运动致舱内压力改变。日本的 Naruse 和 Makuuchi 教授团队<sup>[27]</sup>对 ECLP 系统也进行了深入的研究,他们建立了一种由血浆分离器、白细胞吸附柱、免疫球蛋白吸附柱组成的全肝灌注系统,以避免免疫反应,随后加用了一种肝脏支撑装置以及模仿心脏跳动的脉冲泵<sup>[28]</sup>,以使肝脏处于更接近生理的状态。当前人工肝系统仍在不断推陈出新,继续在小型化、集成化、便捷化方面取得研究突破,非生物

型与生物型结合的混合型人工肝系统是目前研究热点。笔者单位自主研发的 ZhJ-III 号混合型生物人工肝系统也取得了初步成效,该系统在全肝型生物人工肝方面也将进一步探索<sup>[29]</sup>。

**3.2 基因编辑肝脏的应用研究** 20世纪90年代,基因编辑技术的发展及推广应用也给 ECLP 研究带来新的突破方向。学者们最先尝试用转基因猪肝克服异种免疫排斥的问题,由于补体在超急性排斥反应中的关键作用,利用转基因技术编辑供体猪基因,为其表达特异性补体调节因子提供一种克服排斥的策略,常用的补体相关基因有人 CD55(衰变加速因子、hDAF)、CD46、CD59 等。补体抑制因子 hDAF 可以阻止补体 c3 和 c5 转化酶的组装,抑制补体激活<sup>[30]</sup>。有研究<sup>[31]</sup>显示用人全血灌注 hDAF 基因编辑猪全肝,可减轻补体介导的免疫反应并延长灌注时间。Levy<sup>[32]</sup>和 Xu<sup>[21]</sup>等都报道了使用转基因猪肝的 ECLP 应用于临床,来克服潜在免疫屏障,并成功地桥接患者至肝移植。在移植物抗宿主方面,Cimeno 等<sup>[33]</sup>使用转基因技术编辑猪体内的 N-乙酰神经氨酸基因,在 ECLP 过程中红细胞破坏得到改善。近年来,学者们使用多基因联合编辑猪肝进行 ECLP 研究,2018年 Cimeno 等<sup>[34]</sup>报道体外灌注三组不同的多基因编辑猪肝,显示猪肝具有良好的合成功能。为了进一步优化异种肝脏功能并减少异种蛋白进入患者体内,学者们使用基因编辑技术使得猪肝可合成人源化产物,使其更接近人的肝脏功能<sup>[35]</sup>。上文提及的 PERV 基因敲除猪肝均是转基因运用的示例。

### 4 体外肝脏活性维持

体外肝脏作为 ECLP 的生物反应器,是整个系统的核心部分,维持良好的体外肝脏活性是改善 ECLP 治疗的根本保证。Pascher 等<sup>[7]</sup>的系统综述显示肝脏灌注时间长短与治疗效果明显相关,灌注时间超过 5 h 的总体生存率远超过低于 5 h。从 1958 年 Otto 等<sup>[3]</sup>进行 ECLP 研究始,相关的课题研究从未停止。上述的灌注系统研究、转基因猪肝应用也是以保持体外肝脏的功能为根本目的。为了更好地维持体外肝脏活性,给体外肝脏提供一个尽量接近体内生理的环境是必要的,如门脉灌注压力维持在 10~30 mmHg,动脉灌注压力维持在 50~70 mmHg,异常的压力升高预示灌注肝脏功能不良;灌注血流量维持在 0.5~1 ml/(g 肝组织·min),灌注流量低于 0.2 ml/(g 肝组织·min)可能使胆汁分泌停止,氨清除能力降低;肝脏流出道压力控制在 5 mmHg 以下,避免流出不畅而引起肝内淤血。在灌注液中添

加某些成分也能起到维持肝脏活性作用。日本学者 Takeyama 等<sup>[36]</sup>在灌注循环内添加前列腺素 E, 通过抑制血管痉挛和抑制血小板和白细胞聚集作用而改善肝微循环, 延长灌注时间。Lee 等<sup>[37]</sup>的研究在灌注液内添加蛋白酶抑制剂, 抑制补体激活及改善微循环的作用, 延长了体外肝脏活性时间。部分对于肝脏活性影响的技术在研究应用过程中仍存在争议, 如门脉与肝动脉同时灌注或单纯门静脉灌注均有应用, 但文献报道的效果不一<sup>[38-40]</sup>。另外, 脉冲灌注在肾脏体外灌注中被证实能够提高灌注效果<sup>[41]</sup>, 但是不同于肾脏等其他器官, 脉冲灌注在肝脏并未体现出显著的优势<sup>[42]</sup>, 这可能与肝脏具有更复杂的两套入肝灌注管路有关。

## 5 展望

目前生物人工肝脏系统包括了体外全肝灌注系统以及肝细胞反应器型, 与肝细胞反应器相比, 全肝灌注存在天然的优势, 其用于肝脏功能实验研究和临床生物人工肝支持的前景仍然广阔。首先, 反应器中的肝细胞数量远远少于整个肝脏, 全肝的代谢功能可能优于少数肝细胞的代谢功能。其次, 在生物进化过程中, 肝脏细胞和血管、胆管形成与功能相适应的复杂三维空间构象, 这是人工设计无法比拟的。另外, 以肝细胞为基础的生物混合装置可能无法提供一个成本效益高的解决方案, 肝细胞的分离和保存是非常昂贵的, 长期支持可能需要大量的细胞。纵观 ECLP 半个世纪的发展, 其经历了曲折的发展过程, 我们注意到近年来由 ECLP 衍生出的常温机械灌注保存和复苏肝移植供肝, 在临床取得巨大成功<sup>[43]</sup>。我们相信随着新的人工肝系统以及转基因猪发展, 如 PERV 基因敲除猪肝、免疫活性编辑转基因猪肝以及人源化蛋白转基因猪肝的应用, ECLP 的研究和临床应用有望迎来新一轮的热潮。

## 参考文献

- Lee WM. Acute liver failure[J]. *Semin Respir Crit Care Med*, 2012, 33(1): 36-45.
- 莫祖聪, 黄 寨, 秦文波, 等. 人工肝技术在重症妊娠急性脂肪肝中的应用研究进展[J]. *中国临床新医学*, 2016, 9(12): 1163-1166.
- Otto JJ, Pender JC, Cleary JH, et al. The use of a donor liver in experimental animals with elevated blood ammonia[J]. *Surgery*, 1958, 43(2): 301-309.
- Sen PK, Bhalerao RA, Parulkar GP, et al. Use of isolated perfused cadaveric liver in the management of hepatic failure[J]. *Surgery*, 1966, 59(5): 774-781.
- Eiseman B, Liem DS, Raffucci F. Heterologous liver perfusion in

- treatment of hepatic failure[J]. *Ann Surg*, 1965, 162(3): 329-345.
- Abouna GM, Boehmig HG, Serrou B, et al. Long-term hepatic support by intermittent multi-species liver perfusions[J]. *Lancet*, 1970, 2(7669): 391-396.
- Pascher A, Sauer IM, Hammer C, et al. Extracorporeal liver perfusion as hepatic assist in acute liver failure: a review of world experience[J]. *Xenotransplantation*, 2002, 9(5): 309-324.
- Kornberg A, Dietz O, Mau H, et al. Impact of immunoadsorption on xenogeneic extracorporeal pig liver perfusion: assessment of organ function during autologous reperfusion [J]. *Xenotransplantation*, 1999, 6(3): 187-193.
- Terajima H, Shirakata Y, Yagi T, et al. Successful long-term xenoperfusion of the pig liver: continuous administration of prostaglandin E1 and insulin[J]. *Transplantation*, 1997, 63(4): 507-512.
- Gravante G, Ong SL, McGregor A, et al. Histological changes during extracorporeal perfusions of the porcine liver: implications for temporary support during acute liver failures [J]. *J Artif Organs*, 2013, 16(2): 218-228.
- Burlak C, Paris LL, Chihara RK, et al. The fate of human platelets perfused through the pig liver: implications for xenotransplantation [J]. *Xenotransplantation*, 2010, 17(5): 350-361.
- Bikhchandani J, Metcalfe M, Illouz S, et al. Extracorporeal liver perfusion system for artificial liver support across a membrane[J]. *J Surg Res*, 2011, 171(1): e139-e147.
- Rees MA, Butler AJ, Negus MC, et al. Classical pathway complement destruction is not responsible for the loss of human erythrocytes during porcine liver perfusion [J]. *Transplantation*, 2004, 77(9): 1416-1423.
- Waldman JP, Vogel T, Burlak C, et al. Blocking porcine sialoadhesin improves extracorporeal porcine liver xenoperfusion with human blood[J]. *Xenotransplantation*, 2013, 20(4): 239-251.
- Collins BH, Chari RS, Magee JC, et al. Mechanisms of injury in porcine livers perfused with blood of patients with fulminant hepatic failure[J]. *Transplantation*, 1994, 58(11): 1162-1171.
- Winch J, Kolthammer J, Hague R, et al. Haemorrhage as a complication of extracorporeal pig liver perfusion: studies on mechanism and prevention[J]. *Br Med J*, 1972, 2(5816): 735-738.
- van der Laan LJ, Lockey C, Griffeth BC, et al. Infection by porcine endogenous retrovirus after islet xenotransplantation in SCID mice [J]. *Nature*, 2000, 407(6800): 90-94.
- Deng YM, Tuch BE, Rawlinson WD. Transmission of porcine endogenous retroviruses in severe combined immunodeficient mice xenotransplanted with fetal porcine pancreatic cells[J]. *Transplantation*, 2000, 70(7): 1010-1016.
- Martin U, Kiessig V, Blusch JH, et al. Expression of pig endogenous retrovirus by primary porcine endothelial cells and infection of human cells[J]. *Lancet*, 1998, 352(9129): 692-694.
- Pitkin Z, Mullon C. Evidence of absence of porcine endogenous retrovirus (PERV) infection in patients treated with a bioartificial liver support system[J]. *Artif Organs*, 1999, 23(9): 829-833.
- Xu H, Sharma A, Okabe J, et al. Serologic analysis of anti-porcine

- endogenous retroviruses immune responses in humans after ex vivo transgenic pig liver perfusion[J]. *ASAIO J*,2003,49(4): 407 - 416.
- 22 Nishitai R, Ikai I, Shiotani T, et al. Absence of PERV infection in baboons after transgenic porcine liver perfusion[J]. *J Surg Res*, 2005, 124(1): 45 - 51.
- 23 Eiseman B. Treatment of hepatic coma by extracorporeal liver perfusion[J]. *Ann R Coll Surg Engl*,1966,38(6): 329 - 348.
- 24 Abouna GM. Extracorporeal liver perfusion using a new perfusion chamber[J]. *Lancet*,1968,2(7580): 1216 - 1218.
- 25 Ozawa K, Kamiyama Y, Kimura K, et al. The effects of heterologous liver cross-hemodialysis on adenylate energy charge of the remnant liver after major hepatic resection[J]. *Artif Organs*,1982, 6(4): 447 - 452.
- 26 Neuhaus P, Blumhardt G. Extracorporeal liver perfusion: applications of an improved model for experimental studies of the liver[J]. *Int J Artif Organs*,1993,16(10): 729 - 739.
- 27 Naruse K, Makuuchi M. Development and perspectives of bioartificial liver support[J]. *Hepatogastroenterology*,2002,49(43):91 - 95.
- 28 Naruse K, Sakai Y, Guo L, et al. Development of a new extracorporeal whole-liver perfusion system[J]. *J Artif Organs*, 2003, 6(3): 211 - 217.
- 29 He GL, Feng L, Cai L, et al. Artificial liver support in pigs with acetaminophen-induced acute liver failure[J]. *World J Gastroenterol*, 2017, 23(18): 3262 - 3268.
- 30 Rosengard AM, Cary NR, Langford GA, et al. Tissue expression of human complement inhibitor, decay-accelerating factor, in transgenic pigs. A potential approach for preventing xenograft rejection[J]. *Transplantation*,1995, 59(9): 1325 - 1333.
- 31 Matsushita T, Ikai I, Nishitai R, et al. Suppressed complement activation in human decay accelerating factor transgenic porcine liver cross-circulated with nonhuman primates [J]. *Transplantation*, 2003,75(11): 1807 - 1812.
- 32 Levy MF, Crippin J, Sutton S, et al. Liver allotransplantation after extracorporeal hepatic support with transgenic (hCD55/hCD59) porcine livers: clinical results and lack of pig-to-human transmission of the porcine endogenous retrovirus[J]. *Transplantation*,2000, 69(2): 272 - 280.
- 33 Cimeno A, Hassanein W, French BM, et al. N-glycolylneuraminic acid knockout reduces erythrocyte sequestration and thromboxane elaboration in an ex vivo pig-to-human xenoperfusion model[J]. *Xenotransplantation*, 2017, 24(6).
- 34 Cimeno A, French BM, Powell JM, et al. Synthetic liver function is detectable in transgenic porcine livers perfused with human blood [J]. *Xenotransplantation*, 2018,25(1).
- 35 Naruse K, Nagashima H, Sakai Y, et al. Development and perspectives of perfusion treatment for liver failure[J]. *Surg Today*, 2005, 35(7): 507 - 517.
- 36 Takeyama O, Ikai I, Yagi T, et al. Effects of prostaglandin E(1) on the efficacy of xenogeneic extracorporeal pig liver perfusion in a canine model of acute liver failure[J]. *Liver Transpl*, 2001,7(6): 526 - 532.
- 37 Lee WY, Lee KW, Heo JS, et al. Prolongation of pig liver perfusion time by gabexate mesilate continuous infusion in extracorporeal perfusion system using Bio-pump[J]. *Transplant Proc*,2003,35(1): 128 - 129.
- 38 Gong J, Wang XM, Long G, et al. Establishment and evaluation of the system of extracorporeal liver perfusion in pigs[J]. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*,2005, 4(1): 94 - 97.
- 39 Méchet I, Lhuillier F, Blanchet MC, et al. Liver function during extracorporeal whole liver perfusion in a pig model of acute ischemic liver failure[J]. *ASAIO J*, 2004,50(5): 503 - 511.
- 40 Mora N, Kaptanoglu L, Zhang Z, et al. Single vs. dual vessel porcine extracorporeal liver perfusion[J]. *J Surg Res*, 2002, 103(2): 228 - 235.
- 41 von Horn C, Minor T. Isolated kidney perfusion: the influence of pulsatile flow[J]. *Scand J Clin Lab Invest*,2018, 78(1-2): 131 - 135.
- 42 Brüggewirth IMA, Moore C, Mahboub P, et al. A Comparative Study of Single and Dual Perfusion During End-ischemic Subnormothermic Liver Machine Preservation[J]. *Transplant Direct*, 2018, 4(11): e400.
- 43 Nasralla D, Akhtar MZ, Bradley A, et al. A multicentre randomised controlled trial to compare the efficacy of ex-vivo normothermic machine perfusion with static cold storage in human liver transplantation[J]. *Nature*, 2018.

[收稿日期 2019-08-01][本文编辑 吕文娟 余军]