

行政院所屬各機關因公出國人員
出國報告書
(出國類別：進修)

服務機關：成大醫院
出國人職稱：主治醫師
姓名：曾堯麟

出國地點：美國
出國時間：91.12-92.12
報告日期：93.04.06

行政院研考會/省(市)研考會 編號欄

J2/
CO9205205

系統識別號:C09205205

公務出國報告提要

頁數: 13 含附件: 否

報告名稱:

肺臟移植與其相關基礎研究

主辦機關:

國立成功大學醫學院附設醫院

聯絡人/電話:

洪璦貞/06-2353535轉2049

出國人員:

曾堯麟 國立成功大學醫學院附設醫院 外科部 主治醫師

出國類別: 研究

出國地區: 美國

出國期間: 民國 91 年 12 月 12 日 -民國 92 年 12 月 02 日

報告日期: 民國 93 年 04 月 06 日

分類號/目: J2/西醫 J2/西醫

關鍵詞: 移植基礎研究

內容摘要: 本人曾於民國八十七年九月至八十八年三月奉派至美國匹茲堡接受六個月的臨床肺移植研究，回國後在本院負責肺移植之相關事宜，本院自二零零一年六月起已完成六例肺移植，惟因深感臨床工作之不足，希望能經由移植的基礎相關研究以更增進臨床移植的成果，於是申請出國進修。很榮幸在胸腔外科人力充足、且外科部及醫院大力支持之前題下，經由成杏基金會及教育部之部份補助，得以進入美國哈佛大學醫學院麻州總醫院移植生物研究中心進行為期一年的移植基礎研究。我於十二月到達波士頓麻州總醫院移植生物研究中心，麻州總醫院移植生物研究中心為世界級的移植基礎醫學研究重鎮，主要由Dr. David H Sachs主持，其下有七個研究部門，筆者主要是參加異種移植部門的研究，同時也參與各項移植相關的訓練活動，以期回國後可以此為架構及經驗，來進行相關的移植研究。在整個進修的過程中，有下列幾項感想:1)異種移植醫學在國外已有長足的進展，雖然尚未達到可進入人體試驗的階段，但已有相當的成果，國內在這方面的研究仍未有進展。2)移植醫學的進步日新月異，惟有持續不斷的從事相關基礎或臨床的研究方能對於移植的成果有貢獻，而這需要有一個包括內科、外科、感染科、病理科醫師及基礎研究老師形成一個完整的研究群體方能達成。3)需儘早成立大動物研究中心，結合產學研究(與國內動物研究中心合作)，方能趕上世界的移植研究。

本文電子檔已上傳至出國報告資訊網

國立成功大學醫學院附設醫院
胸腔外科主治醫師曾堯麟奉派出國
進修移植相關基礎研究事宜報告書

成大醫學院
2205
堯麟
02.4.6

摘要

本人曾於民國八十七年九月至八十八年三月奉派至美國匹茲堡接受六個月的臨床肺移植研究，回國後在本院負責肺移植之相關事宜，本院自二零零一年六月起已完成六例肺移植，惟因深感臨床工作之不足，希望能經由移植的基礎相關研究以更增進臨床移植的成果，於是申請出國進修。

很榮幸在胸腔外科人力充足、且外科部及醫院大力支持之前題下，經由成杏基金會及教育部之部份補助，得以進入美國哈佛大學醫學院麻州總醫院移植生物研究中心進行為期一年的移植基礎研究。

我於十二月到達波士頓麻州總醫院移植生物研究中心，麻州總醫院移植生物研究中心為世界級的移植基礎醫學研究重鎮，主要由Dr. David H Sachs主持，其下有七個研究部門，筆者主要是參加異種移植部門的研究，同時也參與各項移植相關的訓練活動，以期回國後可以此為架構及經驗，來進行相關的移植研究。

在整個進修的過程中，有下列幾項感想:1)異種移植醫學在國外已有長足的進展，雖然尚未達到可進入人體試驗的階段，但已有相當的成果，國內在這方面的研究仍未有進展。2)移植醫學的進步日新月異，惟有持續不斷的從事相關基礎或臨床的研究方能對於移植的成果有貢獻，而這需要有一個包括內科、外科、感染科、病理科醫師及基礎研究老師形成一個完整的研究群體方能達成。3)需儘早成立大動物研究中心，結合產學研究(與國內動物研究中心合作)，方能趕上世界的移植研究。

目次

一、書名頁	1
二、摘要	2
三、目次	3
四、正文(目的)	4
五、正文(過程)	5
六、正文(心得)	10
七、建議	11
八、發表或投稿的文章	12

目的

本院為南部地區惟一之國立醫學中心，除了背負著教學與研究的責任外，更需對南部的病患提供最新與最好的服務。因此在外科部林炳文主任與院長的大力支持下，外科部將移植醫學列為重點發展項目，並已成立國內第一個移植外科。本人曾於民國八十七年九月至八十八年三月在移植外科成立前，奉派至美國匹茲堡接受六個月的臨床肺移植研究，回國後在本院負責肺移植之相關事宜，本院也自二零零一年六月起陸續完成六例肺移植，對於南部地區的病患提供了肺臟移植的最好服務。對於多重器官的臨床移植，本院可說已有相當進展，惟對於相關的移植基礎研究仍有待加強，本院並已將移植醫學的基礎研究列為重點發展的項目，於是此回在臨醫所林炳文所長與外科部邱浩遠主任的支持下，並獲得教育部的補助出國進修。希望經由進修的經驗可以使本院在臨床移植的服務外，也能成為移植研究的重鎮。

過程

我於十二月到達波士頓，這年的氣候只能以酷寒來形容，幸好此時仍有同事謝式洲醫師一家人，同時有高雄長庚醫院的黃醫師、陳醫師及台中榮總的骨科醫師也在此進修，多少也減輕一些鄉愁。

波士頓移植生物研究中心附屬於麻州總醫院外科部，其主持人為David Sachs，為一心臟外科醫師，但其已從事移植研究數十年，為一著名的免疫移植專家，其領導下的研究群已可提供不同HLA type的豬及各種基因knockout或transgenic的老鼠，提供各領域作研究，其下有包括心臟肺移植、骨髓移植、移植基因、分子及細胞免疫、分子生物、大動物研究及異種移植七中心，各個領域的主持人均是知名的專家，基本上實驗室分為小動物研究中心與大動物研究中心，我主要參與位於大動物研究中心的異種移植研究，主持人為David Cooper，其為國際異種移植醫學會的前理事長，同時目前也是異種移植雜誌的主編。

在大動物實驗室會議相當充實，星期一早晨有迷你豬實驗的巡房，如同醫院查房一般，每位研究員必需報告其負責的豬的實驗成果及狀況，星期二早晨則需報告狒狒的研究成果，星期二下午則有雜誌會，星期四下午有病理討論會，星期五早上則有所有大動物的報告，除大動物研究中心的所有成員外，也有來自醫院的臨床教授共同指導，在大查房完後還有grand round，每星期由一位研究員就其研究成果做一專題研究報告，星期五中午還有與醫院移植臨床醫師共同舉行的聯合研討會。此研究中心尚有專屬的動物專家、感染科專家及病理專家，可隨時提供實驗者豬或狒狒的訊息及照護，其中感染科的顧問是目前美國移植醫學會的理事長，實驗室並有

四間開刀房供手術使用並有四位麻醉師負責動物麻醉及術中照顧。實驗室本身還有一小型圖書館，舉凡所有有關immunology的雜誌幾乎都有，有關移植的雜誌也是樣樣俱全，若有實驗室找不到的文獻，麻州總醫院還有專屬的圖書館，重要的雜誌幾乎均可經由上網下載，筆者在波士頓期間所要的資料，幾乎可完全自這些地方得到，非常方便。

筆者在波士頓的前兩個月，主要是學習動物照顧，包括迷你豬及狒狒，同時也熟悉實驗室的運作，並學習一些實驗步驟，包括Flow cytometry、Mixed lymphocyte reaction等，還要學習如何製造紅血球、血小板以便動物需要時可以使用。待熟悉實驗室及實驗步驟後，即開始進行主要的實驗，筆者在該實驗室期間主要從事及參與四項研究，前三項實驗是有關運用所謂 α 1,3 Galactosyltransferase knockout (GalT-KO pig)的豬來作實驗，豬一直被認為是異種移植器官來源的主要提供者，主要是豬有下列各項優點1.豬的繁殖快；2.豬的器官大小及其生理機轉與人體較接近；3.豬無人畜共同相傳的疾病之疑慮；4.豬有可調控其基因的好處，甚至未來有可能為每位受贈者提供量身定作器官的機會。由於GalT基因的knockout，這類豬解決了最困擾異種移植研究者的主要課題-Natural antibody(Anti-Gal Antibody)引起的hyperacute rejection，目前這種基因豬全世界只有兩個地方有生產，而我們中心是唯一目前利用這些豬做異種移植而且有成果報告者，運用這些豬，我主要進行兩項研究，第一項是異種骨髓移植，在過去的研究中，豬的骨髓細胞注入狒狒體內後幾分鐘後就被消滅殆盡，利用這種豬的骨髓細胞移植，第一次我們可以經由flow cytometry測得豬細胞存活於狒狒的血液中長達五天，且豬的細胞還在兩星期的時候，再次出現於其中兩隻狒狒血中，顯示暫時性的豬骨髓細胞進駐狒狒骨髓已產生，

雖然有一隻狒狒因自己拔掉血管內管而死亡，然而在屍體解剖時取下的狒狒骨髓，卻有大量的豬骨髓細胞存在其中，雖然時間很早(第六天)，卻也顯示這類基因豬的使用的確增進了實驗結果，惟豬骨髓細胞最終仍然被消滅，顯示我們仍需考慮移植一些豬的骨質於狒狒身上，以使豬的骨髓細胞可有自己的歸宿，以增進實驗的結果，這些結果我們已投稿至移植的相關雜誌。

第二個實驗是有關Highly sensitized的病患(等待換取器官者其Panel reactive antibody > 80%)，其血中抗體與這類基因豬的關係，由於這類病人因為血中抗體的關係，很難找到適合的捐贈者，可能是未來異種移植最適當的受贈者，我們做了一個先驅的實驗，結果發現若是只有IgM binding到基因豬的血中白血球，只要豬的數量夠多我們將有機會找到適當的豬給這類病患，但是若是病患血中IgG結合並會毒殺這類豬的血中白血球，則恐怕很難找到適當的豬當捐贈者，或許需要有其他不同基因的豬方能解決問題。

個人參與的第三個實驗則是豬的異位心臟移植到狒狒身上(植入腹部的血管)，在過去的研究中，即使利用基因轉殖的豬(hDAF=human decay accelerating factor transgenic pig)，豬的心臟在狒狒體內存活的時間仍然相當短，雖然可以防止超急性排斥的產生，卻無法減少急性排斥的機會，若豬心能活超過三十天則是很好的成果，運用GalT-KO豬的心臟，我們發現不用抑制Anti-Gal Ab的藥，超急性排斥並不會發生，同時也不需要蛇毒血清來去除complement的作用，其使用的藥物已非常接近臨床使用的藥物，而豬心存活於狒狒身上的時間平均已將進三個月，甚且有一隻狒狒豬心在其身上已存活超過四個月而生檢的結果仍然正常，我們相信很快就可以進行正位的心臟異種移植，我們也相信異種移植也因為這類基因豬的出現更邁

向新的里程碑。

筆者在該中心參與的第四個實驗則是豬的同種脾臟移植，豬的脾臟與人的作用稍有不同，其有很多的先驅細胞(Hematopoietic progenitor cells)可以源源不斷的提供先驅細胞，因此我們發現脾臟移植的豬可產生類似骨髓移植的作用，而在血中有chimerism的產生，而chimerism的產生能使未來的器官移植產生所謂的tolerance，在實驗中有兩隻受贈脾臟移植的豬在停止免疫抑制劑後接受與Donor相同HLA豬的腎臟移植，這腎臟可在豬身上長期存活而不需使用免疫抑制劑，顯示脾臟移植可有產生tolerance的機會，而運用於異種移植可能在未來有其地位。

除了我們自己的實驗外，在這個實驗室我們也可接收到不同的實驗及其結果，例如豬的同種骨髓移植在這個實驗室有相當的成果，實驗室自己研發的抗淋巴球抗體，使豬的同種骨髓移植或許不需要用到放射線的照射，使動物實驗更接近人體的移植，這個實驗室也在做肺臟及心臟的同種移植，在迷你豬的實驗中已成功的製造出豬肺移植的慢性排斥模式將有助於未來的研究，同時也有研究在胚胎的骨髓移植，在懷孕的母豬，經由超音波幫助下，將骨髓細胞注入胎兒血中，可形成胎兒的chimerism，未來可能可以運用於治療一些先天性酵素缺乏的胎兒，另外也有團隊專注於研究胸腺移植，經由胸腺及器官的聯合移植，希望造成器官得以完全被接受，免去免疫抑制劑的後遺症及併發症，在胸腺合併心臟移植的結果，已證實可延長心臟的存活時間，而胸腺與腎臟合併移植則在去胸腺的動物身上已可造成tolerance，雖然其機轉仍在評估中，但對於胸腺在移植扮演的角色，已可有近一步的瞭解，也有團隊在研究胰島細胞注入腎臟被膜下，將其同時移植以增進胰島細胞的存活，這類的研究可同時解決糖尿病及其引起的腎衰竭可謂一舉兩得，初期的效果相當不

錯，在這個實驗室的好處，是你可以接受很多的訊息，不管是不是你專業的科目，對於個人實驗的設計及新觀念的產生有相當大的幫助。

最後我必須感謝三個人，一位是來自日本的Kenji Kuwaki，他是一位心臟外科醫師，他主要是傳授我有關狒狒的照顧，另一位是來自荷蘭的Frank Dor，他是醫學院剛畢業來實驗室並修習博士學位，將來預備從事外科，他詎細靡遺的教導我各項實驗室的實驗步驟，同時也傳授我有關迷你豬的照顧，當然我也回饋一些外科的技巧給他，最重要的是我的指導教授David Cooper，他是一位相當負責的指導者，不僅每天與我們討論實驗進度，隨時解決問題，甚至當其出差至國外時，仍與我們每天保持電話連繫，隨時掌控實驗動物的狀況，以其年齡與資歷，其對於實驗的投入，讓我們這些晚輩是自嘆不如，也佩服的五體投地，Dr. Cooper對於寫作也非常有心得，鼓勵我們投稿，對於我們的實驗結果，由於其博學多聞，很快就將我們的論文導入要點，因此在他指導下的研究員均有相當多的論文發表，筆者雖然只有一年的修習時間，得到的收獲可說是非常豐富。在筆者回到台灣之時，Dr.Cooper已應匹茲堡的移植大師Starzel邀請，至匹茲堡醫學中心領導一個新的異種移植團隊，匹茲堡醫學中心為目前世界上擁有 α 1,3 Galactosyltransferase knockout的豬的另一個中心，除腎臟與心臟移植外，該中心將發展肝臟及胰臟的異種移植，我們期待未來可以很快的看見其成果。

心得

在整個進修的過程中，有下列幾項感想:1) 異種移植醫學在國外已有長足的進展，雖然尚未達到可進入人體試驗的階段，但已有相當的成果，國內在這方面的研究仍未有進展。未來筆者希望能從事一些相關的研究，雖然無法進行in vivo的研究，但有一些in vitro的實驗將有助於未來異種移植醫學的進步，這部份筆者已與竹南畜牧養殖研究中心的杜清富博士取得連繫，將利用一些基因轉殖的豬來進行實驗。2)移植醫學仍算是一門新興的治療方式，其相關研究是日新月異，惟有持續不斷的從事相關基礎或臨床的研究方能對於移植的成果有貢獻，而這需要包括內科、外科、感染科、病理科醫師及基礎研究老師形成一個完整的研究群體方能達成，本院已開始籌劃移植基礎研究的團隊，希望未來此團隊可以有相當好的成果。3)對於實驗必須要有全力的投入，方能有出色的結果，筆者的指導教授及實驗室的director均是醫師出身，其完全放棄臨床的工作，投入研究的精神，實是令人敬佩。

建議

大動物的實驗需耗費相當大的人力與物力，但是其研究成果比較接近人體試驗，也比較有臨床運用的價值，國內並未有此大動物的移植研究中心的成立，在國內的動物養殖事業相當發達，豬的複製已不是問題的情形下，早日成立大動物移植研究中心，結合產學研究，對於移植研究或對於豬等的動物研究，都是趕上世界水準的必備條件。

投稿與發表的相關論文

1. Y-L. Tseng, D.H. Sachs, D.K.C. Cooper. PORCINE HEMATOPOIETIC PROGENITOR CELL TRANSPLANTATION IN NONHUMAN PRIMATES: A REVIEW OF PROGRESS (Submitted to Blood)
2. Y-L. Tseng, F.J.M.F Dor, K. Kuwaki, D. Ryan, J. Wood, M. Denaro, M. Giovino, K. Yamada, R. Hawley, C. Patience, H-J Schuurman, M. Awwad, D.H. Sachs, D.K C Cooper. BONE MARROW TRANSPLANTATION FROM α 1,3-GALACTOSYLTRANSFERASE GENE-KNOCKOUT PIGS IN BABOONS (Submitted to Transplantation)
3. F.J.M.F. Dor*, Y-L. Tseng*, K. Kuwaki, D.S.C. Ko, D.K.C. PIG SPLEEN TRANSPLANTATION INDUCES TRANSIENT HEMATOPOIETIC CELL CHIMERISM IN BABOONS (Xenotransplantation in press)
4. Cooper DKC, Y-L. Tseng. SL Saidman. ALLOANTIBODY AND XENOANTIBODY CROSS-REACTIVITY IN TRANSPLANTATION. (Transplantation 2004;77:1-5)
5. Y-L. Tseng, F.J.M.F. Dor, K. Moran, R. Hawley, H.-J. Schuurman, S Saidman, D.K.C. Cooper. REACTIVITY OF HUMAN ALLOANTIBODIES TOWARDS GAL^{-/-} PIG CELLS (submitted to Transplantation)
6. F.J.M.F. Dor, Y-L. Tseng, J. Cheng, K. Moran, T.M. Sanderson, C.J. Lancos, M. Awwad, D.H. Sachs, R.J. Hawley, H-J. Schuurman, D.K.C. Cooper. PIGS LACKING THE α 1,3-GALACTOSYLTRANSFERASE GENE PRODUCE NATURAL CYTOTOXIC ANTI-GAL ANTIBODIES (submitted to Transplantation)
7. K. Kuwaki, C. Knosalla, F.J.M.F. Dor, B. Gollackner, Y-L. Tseng, K. Moran, M. Awwad, D.H. Sachs, R.J. Hawley, H-J. Schuurman S. Houser, D.K.C Cooper. SUPPRESSION OF NATURAL AND ELICITED ANTIBODIES IN PIG-TO-BABOON HEART TRANSPLANTATION USING A HUMAN ANTI-HUMAN CD154 MAB-BASED REGIMEN (Am J Transpl 2004;4:363-372)
8. K. Kuwaki, C. Knosalla, F.J.M.F. Dor, B. Gollackner, Y-L. Tseng, S Houser, D.K.C. Cooper. TROPONIN T LEVELS IN BABOONS WITH PIG HETEROTOPIC HEART TRANSPLANTS (JHLT, 2004 in press)
9. K. Kuwaki, Y-L. Tseng, F.J.M.F. Dor, S. Houser, A. Shimizu, T. Sanderson, C. Lancos, D. Prabharasuth, J. Cheng, K. Moran, K. Yamada, R. Hawley, C. Patience, M. Awwad, J. Fishman, S.C. Robson, D.H. Sachs, H-J. Schuurman, D.K.C. Cooper. HEART TRANSPLANTATION IN BABOONS USING α 1,3-GALACTOSYLTRANSFERASE GENE-KNOCKOUT PIGS AS DONORS: INITIAL EXPERIENCE (submitted to Natural Medicine)

10. Frank J.M.F. Dor, Bernd Gollackner, Kenji Kuwaki, Yau-Lin Tseng, Robert A. Cina, Mario L. Ramirez, Christoph Knosalla, Stuart L. Houser, David H. Sachs, Dicken S.C. Ko, Christene A. Huang, David K.C. Cooper. ALLOGENEIC SPLEEN TRANSPLANTATION INDUCES MULTILINEAGE HEMATOPOIETIC CELL CHIMERISM ACROSS FULL MHC BARRIERS IN MINIATURE SWINE (submitted to Blood)
11. F.J.M.F. Dor, K. Doucette, N.J. Mueller, R. Wilkinson, J.A. Bajwa, I.M. McMorrow, Y.L. Tseng, K. Kuwaki, S.L. Houser, D.H. Sachs, J.A. Fishman, C.A. Huang, D.K.C. Cooper. POST-TRANSPLANT LYMPHOPROLIFERATIVE DISEASE AFTER ALLOGENEIC SPLEEN TRANSPLANTATION IN MINIATURE SWINE (Transplantation, in press)
12. Frank J.M.F. Dor, Yau-Lin Tseng, Kenji Kuwaki, Derek D. Prabharasuth, Todd M. Sanderson, C.J. Lancos, S.L. Houser, B. Gollackner, M.G. Nuhn, T. Kawai, D.S.C. Ko, D.H. Sachs, D.K.C. Cooper. IN VITRO AND IN VIVO DONOR-SPECIFIC HYPORESPONSIVENESS FOLLOWING SPLEEN TRANSPLANTATION IN MINIATURE SWINE (submitted to Journal of Immunology)