

出國報告(出國類別：短修)

加州大學舊金山分校進修心得報告

服務機關：國防醫學院

姓名職稱：廖文翊、中校教師

派赴國家/地區：美國舊金山

出國期間：110年10月1日至111年9月30日

報告日期：111年10月11日

摘要

原訂 109 年 8 月出發的美國進修行程因為 COVID-19 疫情肆虐，不斷推延，期間經軍醫局及院內長官的耐心協調，終於順利於 110 年 10 月至美國加州舊金山分校進修，從原本繁忙的臨床工作環境轉變為規律的實驗室研究生活，讓我更能反思人生的方向及未來的研究標的，在進修期間，除了學習到獨特的小鼠肺動脈缺血再灌注顯微技術以及腸道微生物與肺臟間的調控機轉外，也見識到一流大學嚴謹的研究態度與充滿創新的思考方式，一年時間雖短，但是此次進修大幅拓展了我的視野，並增進了科學研究之能力，期盼未來能對我國的戰傷醫學研究做出貢獻。

目次

摘要.....	2
目次.....	3
本文.....	4
一、目的	4
二、過程.....	6
(一)、小鼠肺動脈缺血再灌流顯微技術：	6
(二)、高纖飲食及短鏈脂肪酸於急性肺損傷之調節機轉研究：	7
三、心得及建議	9
附錄.....	10

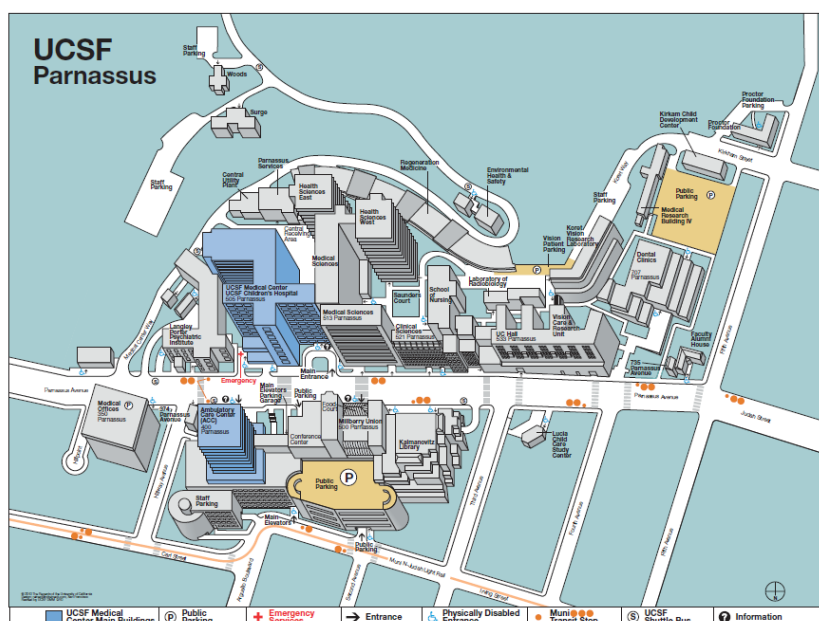
本文

一、目的

國防醫學院是國軍培育醫學研究專業人才的重要搖籃，肩負著我國戰傷醫學研究發展之重要使命，在戰傷醫學中，當軍人於戰場遭受重大槍擊傷時常伴有大量血液喪失導致缺血性休克，當血液流至肺部大量減少時，會造成肺部缺血性傷害，並因為無法輸送血液至肺部交換氧氣，也會對肺臟產生缺氧性傷害，除此之外，受傷軍人常接受大量輸液或血液輸注治療以維持生命跡象，已缺氧之肺臟細胞經再灌流後，會產生大量自由基及嗜中性白血球浸潤，而導致急性肺部發炎反應，進而引起急性肺水腫及急性呼吸窘迫症候群。鑒於目前臨床重症病患發生急性呼吸窘迫症候群時死亡率仍高，且無有效之藥物治療，並且對於缺血再灌流引起急性肺損傷之機轉尚未清楚，另外目前國內並無穩定之缺血再灌流引起急性肺損傷的小鼠存活性動物實驗相關技術，因此希望至國外學習，並將成果帶回國內，以利未來對急性肺損傷相關機轉能深入解析與研發治療藥物。

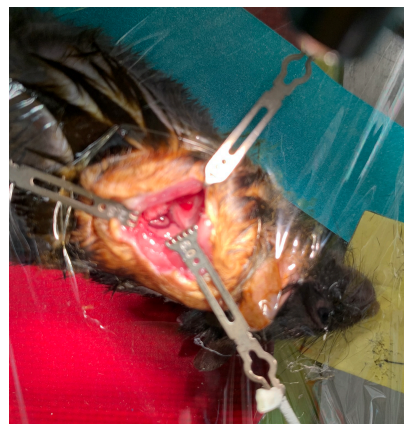
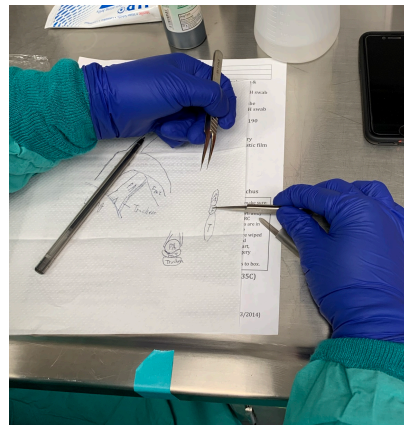
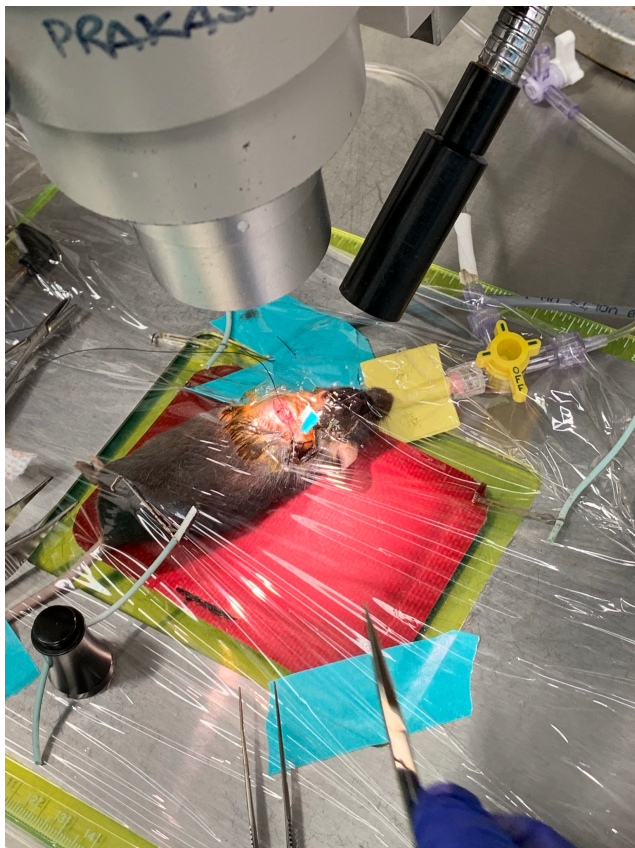
二、 過程

本次進修過程一波三折，充滿意外與驚奇。原本預計 109 年 8 月啟程短修，所以 108 年底就開始著手尋找進修的醫院及指導老師，經台大老師引薦，要至加州橘郡向 Carl H. Schultz 教授學習，但因 Schultz 教授臨時調動職務，因而作罷，後來於網路上尋找專門研究急性肺損傷並有接受國際訪問學者的實驗室，並一一寫信給各負責教授，但信件往往石沉大海，沒有回應，也讓我更深深明瞭在美國尋找學習機會時推薦信的重要性，正當一籌莫展之際，加州大學舊金山分校（University of California San Francisco, UCSF）的 Arun Prakash 教授伸出了橄欖枝，同意我的進修申請，又當全力準備出國進修事宜之時，因為 COVID-19 疫情的爆發，因邊境管制，使得進修期程不斷拖延，在極端不確定的狀態下，每件事情都難以妥善準備，所幸在各處行政人員的協助下，最後終於能於 110 年 10 月啟程到舊金山。



這次進修主要是到 UCSF 的 Parnassus 校區，其中 Prakash 實驗室位於 medical Sciences 大樓內，Parnassus 是 UCSF 最大也是歷史最悠久的校區，擁有醫學、藥學、牙科和護理四大學院，UCSF 的醫療中心及醫學研究多年來排在全美前 10 名，也孕育了許多諾貝爾的得獎者，能在此學習令人備感光榮。

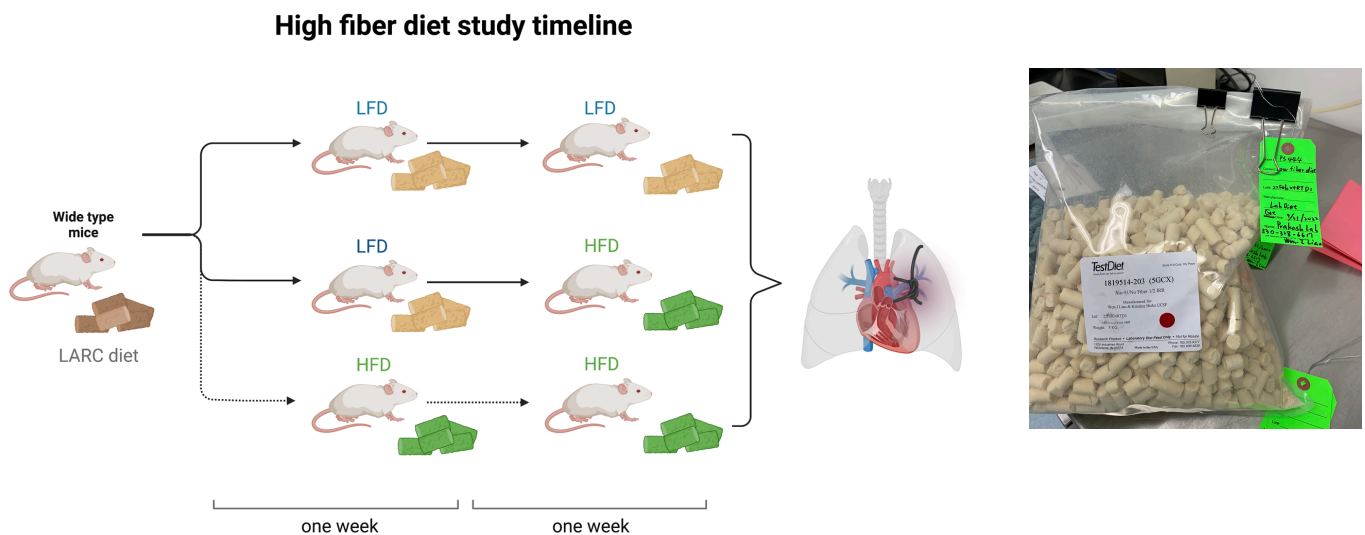
(一)、小鼠肺動脈缺血再灌流顯微技術



UCSF 對於實驗動物福祉及麻醉操作上非常重視，在進入動物中心實際操作學習前，需要花費近一個月時間參與各式線上及實體課程，且 UCSF 對於動物實驗操作程序非常嚴謹，計畫主持人需撰寫一份鉅細靡遺的 protocol，並經多位專家審核，方能進行動物實驗。動物中心內皆有嚴格的防護措施及制式隔離衣，一點馬虎不得，我想這就是為何 UCSF 的醫學研究如此優秀的原因。因為在台灣博士班已接受過大鼠離體肺的訓練，本想在小鼠肺動脈缺血再灌流技術上雖然比較艱難，但仍應可應對，沒想到根本不是我想的那麼簡單，除了要在顯微鏡下操作，非常考驗手眼協調外，小鼠肺動脈僅有自動鉛筆筆芯之大小，在開胸手術後要能清楚辨識並確保肺動脈的完整已是不簡單，接下來要將 8-0 的細線穿過肺動脈及細支氣管中間之空隙，並圍繞肺動脈打上一活結，阻斷肺動脈血流後，靠著解開活結使肺部血液再灌流，更是難上加難，尤其小鼠細支氣管僅是一膜狀組織且緊靠在肺動脈下方，因而在一開始操作上，要將顯微血管夾穿過此空間，常常不是傷到肺動脈造成大出血，不然就是弄破細支氣管導致之後的張力性氣胸，而在這兩種狀況下，小鼠都是不可能存活的，根據 Prakash 教授的經驗，一開始學習小鼠肺動脈缺血再灌流手

術，失敗機率高過五成以上，通常需要操作 50 例以上，才能將成功機率提升到 80%，經過一個多月不斷的手術練習後，我終於能將手術成功率穩定提升到 80-90%。到現在仍然記得在手術中那種屏息以待的專注力，為穩定操作顯微手術，甚至連早上的咖啡都不敢多喝以免手顫抖而影響手術，手術成功率穩定之後，為了讓全世界的學者更能了解此手術之關鍵步驟，在 Prakash 教授的鼓勵下，也在受訓期間將此小鼠缺血再灌注手術撰寫成論文並發表在知名動物手術期刊 Journal of Visualized Experiments (JoVE) 上(如附錄)，論文發表過程中也體驗了 JoVE 期刊專業攝影團隊的錄製過程，可謂收穫滿滿。

(二)、高纖飲食及短鏈脂肪酸對於急性肺損傷之調節機轉研究



在加緊練習小鼠缺血再灌注技術的同時，因為 Prakash 教授實驗室目前正致力於研究腸道微生物及其產生的短鏈脂肪酸與遠端肺臟免疫系統之調控機制，所以我也針對此目前蓬勃發展的課題做了深度文獻回顧，經實驗室研究夥伴的腦力激盪及討論，我們認為高纖維飲食能透過發酵作用在腸道產生短鏈脂肪酸並移轉至身體重要器官，對目標臟器具有明顯抗發炎及抗氧化的作用。因缺血再灌注導致急性肺損傷的致病機轉也與這些發炎反應有關，而目前仍未有研究探討高纖維飲食及短鏈脂肪酸在急性肺損傷的角色，所以非常適合當我這一年的研究主題。

此研究一開始最麻煩的是過去文獻上所使用之老鼠高纖飼料皆源自於澳洲、德國等

地，在美國並沒有適合之飼料成品可供研究使用，首先我跟澳洲專門生產特殊動物飼料的 Specialty Feeds 公司接洽，但因國際空運價錢太過昂貴且須繁雜的過關手續，因而作罷，接著我再與 UCSF 動物中心有合作關係的 LabDiet 公司聯絡，與其營養師針對飼料的營養配方客製化出纖維含量 0% 及 35% 的小鼠專用飼料，期間對於飼料營養成分、飼料輻射消毒等等細節，也讓我學習了很多。後續於動物中心協調小鼠餵食專門飼料，定期收集糞便以做短鏈脂肪酸的分析，並分別在餵食兩周高纖維及低纖維飼料後，讓小鼠接受一小時肺動脈缺血及一小時再灌流手術。

我需要全神貫注在整個手術過程，因為一個疏忽，前 2 星期的努力與花費即付諸一炬，所以往往做完手術後即筋疲力竭，幸運的是初步結果顯示高纖維飲食確實可增加小鼠糞便、肝門靜脈、全身血液及肺臟中短鏈脂肪酸之濃度，而餵食高纖飼料的小鼠相對於餵食低纖飼料的小鼠，在接受手術後，肺部發炎激素明顯較低，這是令人振奮的結果，遺憾的是因為進修時間不夠，無法繼續參與後續基因轉殖鼠之研究，希望回台後能透過國際合作的方式，繼續探討腸道微生物與肺部免疫反應之關聯。

三、心得及建議

這次的一年短修，讓我眼界大開，許多事物及經歷是在台灣所體驗不到的，美國研究環境確有其優勢，包括擁有豐厚的研究資金及許多先進的探測儀器，另外嚴謹的研究程序及創新思維也確實值得學習效法，但我們也不能妄自菲薄，台灣研究人員的工作效率及當責態度也是令人激賞的，如何在有限的資源中，利用創新的思維發展出對國軍戰傷醫學有意義的研究，是我回國後還需要多加思考及努力的，最後，此次進修能順利成行，真的感謝軍醫局、國防醫學院及三軍總醫院內許多同仁的協助與幫忙，希望之後的研究也能對戰傷醫學的發展做出一點貢獻。

A Mouse Model of Orotracheal Intubation and Ventilated Lung Ischemia Reperfusion Surgery

Wen-I Liao^{1,1}, Daisuke Maruyama^{1,1}, Farzaneh Kianian^{1,2}, Christine Tat¹, Xiaoli Tian¹, Judith Hellman¹, Jeffrey M Dodd-o³, Arun Prakash¹

¹Department of Anesthesia and Perioperative Care, University of California San Francisco and San Francisco General Hospital ²Department of Physiology, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences ³Department of Anesthesiology and Critical Care Medicine, Johns Hopkins University School of Medicine

*These authors contributed equally

Corresponding Author

Arun Prakash
arun.prakash@ucsf.edu

Citation

Liao, W.I., Maruyama, D., Kianian, F., Tat, C., Tian, X., Hellman, J., Dodd-o, J.M., Prakash, A. A Mouse Model of Orotracheal Intubation and Ventilated Lung Ischemia Reperfusion Surgery. *J. Vis. Exp.* (1), e64383, doi:10.3791/64383 (2022).

Date Published

September 3, 2022

DOI

10.3791/64383

URL

jove.com/64383

Abstract

Ischemia reperfusion (IR) injury frequently results from processes that involve a transient period of interrupted blood flow. In the lung, isolated IR permits the experimental study of this specific process with continued alveolar ventilation, thereby avoiding the compounding injurious processes of hypoxia and atelectasis. In the clinical context, lung ischemia reperfusion injury (also known as lung IRI or LIRI) is caused by numerous processes, including but not limited to pulmonary embolism, resuscitated hemorrhagic trauma, and lung transplantation. There are currently limited effective treatment options for LIRI. Here, we present a reversible surgical model of lung IR involving first oro-tracheal intubation followed by unilateral left lung ischemia and reperfusion with preserved alveolar ventilation or gas exchange. Mice undergo a left thoracotomy, through which the left pulmonary artery is exposed, visualized, isolated, and compressed using a reversible slipknot. The surgical incision is then closed during the ischemic period, and the animal is awakened and extubated. With the mouse spontaneously breathing, reperfusion is established by releasing the slipknot around the pulmonary artery. This clinically relevant survival model permits the evaluation of lung IR injury, the resolution phase, downstream effects on lung function, as well as two-hit models involving experimental pneumonia. While technically challenging, this model can be mastered over the course of a few weeks to months with an eventual survival or success rate of 80%-90%.