

生體瓣의 製作 및 實驗

金炯默* · 宋堯準* · 孫光鉉**

— Abstract —

A Study on the Manufacture of the Artificial Cardial Tissue Valve

Hyoung Mook Kim, M.D., and Yo Jun Song, M.D.

Dept. of Thoracic & Cardiovascular Surgery, Korea University Medical College Hospital

Kwang Hyun Son, M.D.

Dept. of Chest Surgery, Paik's Foundation Hospital

Treatment of valvular heart disease with valve replacement has been one of the most popular procedures in cardiac surgery recently.

Although, first effort was directed toward the prosthetic valve, it soon became popular that bio-prosthesis, the valvular xenograft, was preferred in the majority cases.

Valvular xenograft has some superiority to the artificial prosthetic valve in some points of thromboembolism and hemolytic anemia, and it also has some inferiority of durability, immunologic reaction and resistance to infection.

Tremendous efforts were made to cover the inferiority with several methods of collection, preservation, and valve mounting of the porcine valve or pericardium of the calf, and also with surgical technique of the valvular xenograft replacement.

Author has collected 320 porcine aortic valves immediately after slaughter, and aortic cusps were coated with cotton balls in the Valsalva sinuses to protect valve deformity after immersion in the Hanks' solution, and oxidation, cross-linking and reduction procedures were completed after the proposal of Carpentier in 1972.

Well preserved aortic valves were suture mounted in the hand-made tissue valve frame of 19, 21, and 23 mm i.d., and also in the prosthetic vascular segment of 19 mm i.d. with 4-0 nylon sutures after careful trimming of the aortic valves.

Completed valves were evaluated with bacteriologic culture, pressure tolerance test with tolerance gauge, valve durability test in the saline glycerine mixed solution with tolerance test machine in the speed of 300 rpm, and again with pathologic changes to obtain following results:

1. Bacteriologic culture of the valve tissue in five different preservation method for two weeks revealed excellent and satisfactory result in view of sterilization including 0.65% glutaraldehyde preservation group for one week bacteriologic culture except one tissue with *Citobacter freundii* in 75% ethanol preserved group.
2. Pressure tolerance test was done with an apparatus composed of Y-connected manometer and pressure applicator. Tolerable limit of pressure was recorded when central leaking jet of saline was observed. Average pressure tolerated in each group was 168 mmHg in glutaraldehyde, 128 mmHg in formaldehyde, 92 mmHg in Dakin's solution, 48 mmHg in ethylene oxide gas, and 26 mmHg in

* 고려의대 흉부외과 ** 백병원 흉부외과

註: 本研究은 峨山社會福祉事業財團의 研究費에 依한 것임.

ethanol preserved group in relation to the control group of Ringer's 90 mmHg respectively.

3. Prolonged durability test was performed in the group of frame mounted xenograft tissue valve with 300 up-and-down motion tolerance test machine/min. There were no specific valve deformity or wearing in both 19, 21, and 23 mm valves at the end of 3 months (actually 15 months), and another 3 months durability test revealed minimal valve leakage during pressure tolerance test due to contraction deformity of the non-coronary cusp at the end of 6 months (actually 30 months) in the largest 23 mm group.
4. Histopathologic observation was focussed in three view points, endothelial cell lining, collagen and elastic fiber destructions in each preservation methods and long durable valvular tolerance test group.

Endothelial cell lining and collagen fiber were well preserved in the glutaraldehyde and formaldehyde treated group with minimal destruction of elastic fiber. In long durable tolerance test group revealed complete destruction of the endothelial cell lining with minimal destruction of the collagen and elastic fiber in 3 month and 6 month group in relation to the time and severity.

In conclusion, porcine xenograft treated after the proposal of Carpentier in 1972 and preserved in the glutaraldehyde solution was the best method of collection, preservation and valve mounting. Pressure tolerance and valve motion tolerance test, also, revealed most satisfactory results in the glutaraldehyde preserved group.

目 次

I. 序 論

II. 實驗材料 및 方法

- ㄱ. 生體瓣의 製作
- ㄴ. 生體瓣의 保存
- ㄷ. 生體瓣의 耐性檢査
- ㄹ. 生體瓣의 組織檢査

III. 實驗結果 및 成績

- ㄱ. 細菌檢査所見
- ㄴ. 耐性檢査所見
- ㄷ. 組織檢査所見

IV. 考 案

V. 結 論

VI. 參考文獻

I. 序 論

瓣膜症에 대한 外科의 治療로 人工瓣置換術이 가장 效果의인 方法으로 알려진 것은 비교적 최근의 일이다.

1954年 Hufnagel²⁾이 최초로 大動脈瓣閉鎖不全症에 대하여 胸部下行大動脈에 硬質材料로 만든 caged-ball valve를 插入하여 좋은 結果를 얻은 뒤로, 차츰 人工瓣의 應用에 關心을 보여왔다.

한편 1950年代 中期부터 急速하게 進步, 普及된 人工心肺에 의한 開心手術의 影響을 받아서 瓣膜症에 대해서도 開心根治手術이 試圖되어 왔다.

1960年代初에 Cross²⁾, Bahnson³⁾, Björk⁴⁾, McGoon⁵⁾, Kay⁶⁾, Ellis⁷⁾ 등은 自己心膜이나 테프론, 폴리우레탄 등의 軟質材料를 사용하여 瓣膜 또는 瓣膜移植을 試圖하였으나, 遠隔期에 人工瓣尖의 彈力性消失, 石灰沈着, 穿孔, 破損 등 문제점을 들어내어, 현재에는 거의가 사용을 하지 않고 있다.

한편, 이보다 먼저 1960年, 1961년에 Harken⁸⁾, Starr⁹⁾ 등은 각각 大動脈과 僧帽瓣을 硬質材料로 만든 球型瓣을 사용하여 代置移植하는데 成功하였다.

人工瓣이 生體内に 移植되었을 때는 수많은 기준이나 조건에 맞춰져야 한다. 材質은 生體組織이나 血液成分에 障害가 없어야 하고, 化學적으로 變性を 일으켜 血栓形成을 만드는 일이 없어야 하며, 몇십년을 견디는 耐久性을 가져야 하고, 또한 開放때의 血流障害가 적고, 瓣의 閉閉가 迅速하여 閉鎖時의 逆流가 없어야 하며, 騒音を 내지 않는 등등 여러가지 조건을 갖추어야 한다.

이러한 조건에 알맞는 人工瓣을 만들기 위해서 수많은 研究와 實驗이 행해졌고, 하나씩 改善되어가면서 實際臨床에 使用되고 있다.

최근에는 더욱 理想的이고 좋은 瓣膜을 開發하던 중, 生體組織으로 만든 生體瓣이 人工瓣의 合併症, 특히 血栓形成의 合併症이 거의 없고 機能도 훌륭하다는 점에 着眼하여, 1952년에 Lam¹⁰⁾이 개의 下行大動脈에, 臨床의으로는 1956年 Murray¹¹⁾가 같은 下行大動脈에 同種大動脈瓣을 異所移植하여 血行의 改善을 보았고, 1962년에는 Ross¹²⁾가 同種大動脈瓣을 同所移植하기 시작하였고, 같은 方法으로 Barratt-Boyes¹³⁾가 많은 臨床例를

報告하였다. 1965년에는 Binet¹⁴⁾에 의하여 犬大動脈瓣을 臨床적으로 同所移植한 症例報告가 있었고 이어서 O'Brien¹⁵⁾, Buch¹⁶⁾, Carpentier¹⁷⁾, Kaiser⁴⁰⁾, Reis⁴¹⁾, Ionescu¹⁸⁾ 및 Richardson¹⁹⁾ 등등에 의한 수많은 基礎研究와 臨床使用報告가 계속되고 있다.

이들 生體瓣은 製作過程이나 保存方法 등에 따라서 瓣機能不全 또는 耐久性 등의 問題點을 보이고, 使用하는 材料에 따라서 그 成績이 각각 다르게 나타난다. Angell²⁰⁾, Barratt-Boyes¹³⁾, Ross, Carpentier^{17,21,22)} 및 Ionescu¹⁸⁾ 등은 돼지心臟瓣膜, 剖檢에서 얻은 同種心膜瓣膜 또는 牛心瓣片 등을 사용하여 荒廢한 心臟瓣膜에 代置移植하여 心機能改善에 劇的인 效果를 얻고 있다.

國內에서도 最近에 開心術이 활발해짐에 따라서, 해마다 瓣膜代置移植手術이 늘어나고, 그때마다 全量 외국에서 만들어 온 人工瓣을 購入하여 사용하는데, 著者는 이러한 수많은 國內症例에 사용되는 人工瓣膜을 國內에서 生産할 수 있는 基礎資料로서, 生體瓣의 製作, 保存方法, 物理學的 靛性檢査 및 組織檢査를 통하여 實際人工瓣開發의 問題點과 改善策에 대한 實驗研究를 試圖하였다.

II. 實驗材料 및 方法

1. 生體瓣의 製作

生體瓣은 手術手技上的 어려움을 除外하더라도 더욱 커다란 問題點은 移植瓣이 當然히 直面해야 하는 免疫學的反應과 微生物에 의한 汚染이다. 우선 生體瓣의 採取 때부터 保存方法까지 考慮하여 各種의 處理方法 가운데 가장 훌륭하다고 생각된 glutaraldehyde溶液 保管法을 사용하였다^{21,22)}.

우선 屠殺場에서 屠殺直後의 豚心臟을 露出시키고, 大動脈과 肺動脈根部를 約 5cm 정도 포함하여 瓣膜을 採取하였다. 卽, 大動脈半月瓣의 交連部보다 約 5cm 上端 大動脈根部에서 大動脈과 肺動脈을 切斷하고, 下部는 僧帽瓣前尖과 心室中隔筋肉을 포함한 部分을 함께 도려 내었다(그림 1).

採取直後의 生體瓣膜은 Hank 溶液에 한시간 이상 넣어서 可溶性抗原物質을 除去시켰다. 한시간 後부터 滅菌操作 아래에서 大動脈半月瓣尖의 발살바洞속에 各各 적당한 크기의 綿球을 넣어서 瓣尖의 接合과 瓣輪保存이 충분히 잘 되도록 하고서는 1% 메타過沃素酸 소-다液에 넣고 4°C 냉장고에서 24시간동안 보관시켰다. 24시간 後에 1%의 Ethylene glycol 溶液에다 約 1시간동안 넣어서, 殘存된 메타過沃素酸소-다를 還元시키고, 그 後에는 0.65% glutaraldehyde 液에 넣어서 4°C의 低溫下에



그림 1. 大動脈瓣膜 固定후의 모양

10日동안 保管하였다.

以上の 處理過程에서 多糖類, 糖蛋白, 可溶性蛋白 등은 모두가 除去되고, 瓣膜의 骨格을 이루는 膠原纖維와 彈性纖維만 남아있게 된다. 同時에 瓣附屬筋組織도 固定되게 되는데, 低溫保管된 glutaraldehyde 溶液内の 瓣付組織을 無菌操作에 瓣尖機能을 保存할만큼만 남겨두고 筋肉이나 脂肪組織을 整枝하고, 역시 瓣尖이나 瓣輪의 變形이 일어나지 않도록 綿球로 固定한 상태에서 새로운 0.65% glutaraldehyde 溶液에 넣어서 4°C 低溫下에 保管하였다(그림 2, 3).



그림 2. 完全固定後의 整枝된 모습(心室側)



그림 3. 完全固定後의 整枝된 모습(大動脈側)

保管했던 生體瓣은 3週後부터 다시 無菌操作下에 構造의 變形이나 破裂이 없는 合格品을 골라서 內徑 18, 20 또는 23mm의 人造血管속에 빈틈없이 縫着하고, 縫着시킨 人造血管兩端은 右心流出路에 移植이 可能하도록 충분한 角度를 만든 人造血管을 縫合하여 端端吻合하였다. 또한 耐性檢査를 위하여서는 生體瓣用 骨棒에다 血管用縫合絲로 빈틈없이 縫着하고, 實驗을 위하여 다시 같은 溶液內에 保管하여 4℃ 低溫下에서 3~6個月 동안 觀察하였다(그림 4, 5, 6, 7).

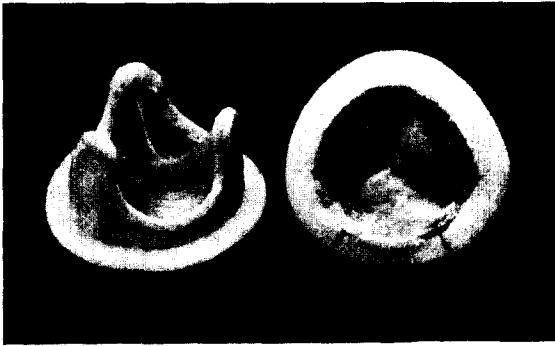


그림 4. 完成된 生體瓣 (Carpentier-Edwards瓣)

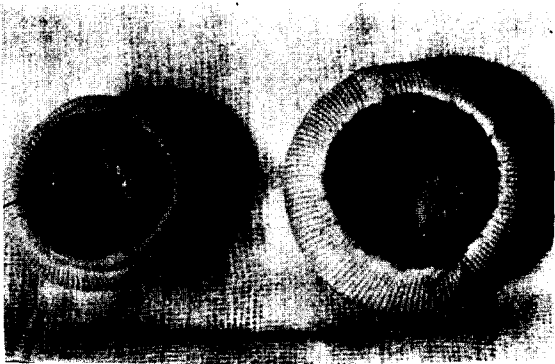


그림 5. 完成된 生體瓣 (19.23mm)

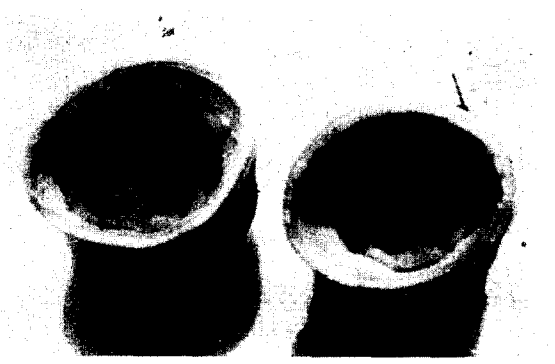


그림 6. 完成된 人造血管內의 瓣付導管 (大動脈側)

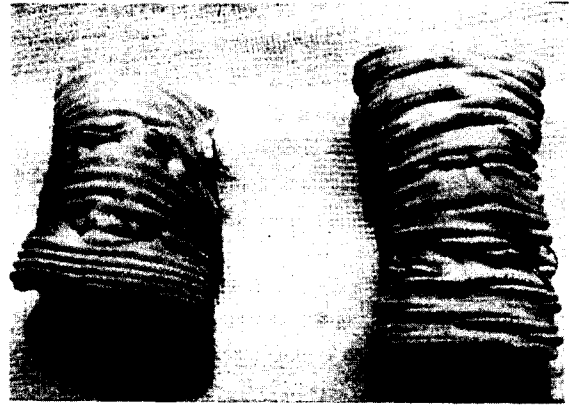


그림 7. 完成된 人造血管內의 瓣付導管 (側面)

나. 生體瓣의 保存

生體瓣으로 使用된 大動脈瓣膜은 커다란 分子량을 가진 生重合體, 즉 異多糖類, 糖蛋白, 可溶蛋白, 膠原纖維 및 彈性纖維로 되어 있는데, 前三者는 주로 瓣膜의 基質을 形成한다. 基質을 形成하는 이들은 移植되었을 때 宿主血中에 쉽게 떨어져 들어가서 免疫反應을 일으키기 때문에, 後二者에 比하여 抗原性이 강할 것으로 생각된다. 이러한 組織의 抗原性때문에 同種보다는 異種이, 處理된 것 보다는 新鮮한 것이 더욱 免疫學的 反應이 강할 것으로 豫想되기 때문에, 消毒方法을 포함하여 여러가지 理想的인 保存方法이 研究되고 있다.

著者는 生體瓣의 保存方法에서 文獻上의 各種 方法을 追試하여 더욱 確實한 保存方法을 찾고자 別途의 方法으로 試驗하였다.

屠殺直後 豚心臟에서 採取한 生體瓣膜을 生食液에 넣어서 씻은다음, 大動脈의 발삼바제에 適當한 크기의 綿球을 넣어서 瓣尖과 瓣輪의 變形이 없도록 한 다음에 다음의 各種溶液에 넣어서 14日 동안 保管하였다.

- ① 對照群 : Ringer 液 1000ml에 Cephaloridine 1gm, Penicillin 400萬 unit, Kanamycin 1gm, 添加液
- ② 75% 알코올液^{23,24)}
- ③ Dakin 液³⁶⁾
- ④ 4% Formaldehyde²⁵⁾
- ⑤ Ethylene oxide gas²⁵⁾ : 2週 동안 100% E.O.gas 로 3回, 各各 2時間씩 消毒
- ⑥ 0.65% glutaraldehyde 液 : Carpentier 處理方法²⁷⁾

以上の 各種方法으로 保管된 生體瓣의 消毒如否를 判定하기 위하여 血液寒天과 Thioglycollate 液體培地에 各群의 組織片을 一部分씩 切取하여 各各의 培地에서 6日 동안 培養하였다. 또한 各群에 保管된 生體瓣을 水壓

을 가할때 아네로이드 壓力計에 나타나도록 만든 測定器를 만들어서, 生體瓣膜의 耐久力을 檢査했는데, 各各의 瓣膜이 水壓에 의하여 半月瓣接合中心部에서 噴出流를 形成했을 때의 壓力을 最高壓으로 測定하였다(그림 8,9). 마지막으로 各群의 瓣尖을 瓣輪에서 切除하여 Hematoxylin & Eosin 染色과 Verhoff Elastin 染色法으로 組織學的 變性如否를 比較觀察하였다.

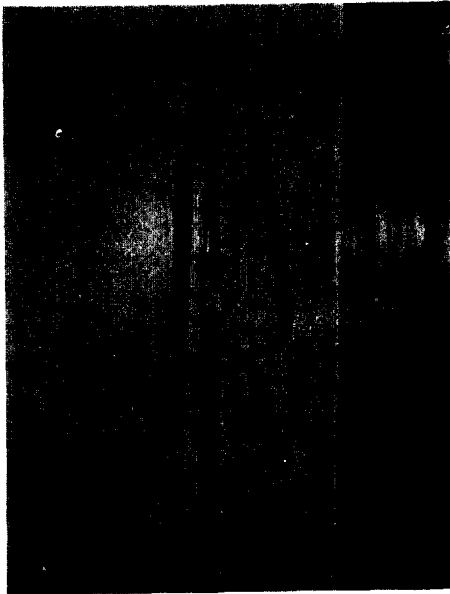


그림 8. 耐壓檢査器具

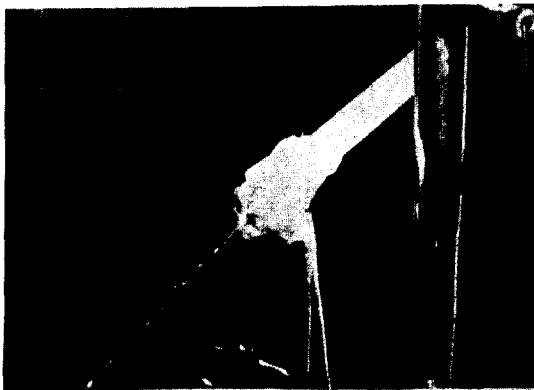


그림 9. 生體瓣이 內壓으로 中心流 噴出을 보임.

ㄷ. 生體瓣의 耐性檢査

生體瓣은 人工瓣이 가지고 있는 여러가지 問題點, 특히 中心流의 妨害, 瓣前後의 높은 壓差, 右室의 높은 占有率, 溶血, 血栓形成 및 騒音 등의 短點들은 解決되었으나, 가장 解決하지 않으면 안되는 것이 生體瓣의 肥

厚, 短縮, 變性壞死 등에 起因하는 耐久性이 問題로 되어왔다.

本 研究에서도 이와같은 耐久性을 알아보기 위하여, 生體瓣耐性檢査機를 利用하여 製作保管하였던 瓣膜의 耐性檢査를 實施하였다(그림 10,11).



그림 10. 生體瓣耐性檢査機

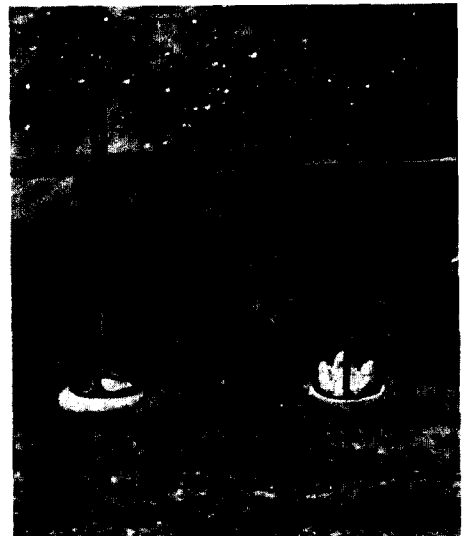


그림 11. 生食液-글리세린 混合液內的 生體瓣

耐性檢査機는 分當 300 rpm의 電動機의 회전운동을 원판에 연결하고, 원판의 회전운동을 上下運動으로 바꾸고,

그 운동축을 고정된 끝에 두개의 製作된 生體瓣을 縫着하여 分當 300 回의 上下運動을 시켜서 生體瓣의 開閉運動을 反覆시켰다. 生體瓣은 血液과 비슷한 粘度를 가지도록 만든 グリ세린溶液內에서 上下 20 cm의 距離를 往復하도록 만들었다(그림 10).

血液과 同一한 粘度를 가진 溶液을 만들기 위하여, 정상 體溫에서의 血液의 粘度와 密度, 室內溫度에서의 0.9 % 生食液과 グリ세린의 粘度와 密度를 各各 測定하였다.

使用한 血液은 ACD 溶液內에 採血된 B型(Hb: 11.9 %, Hct 36 gm%)이었다. 우선 血液의 密度를 測定하는데는 36°5'C에서 무게 16.9158 gm, 内部容積 10.2285 ml의 pycnometer를 사용하였더니, 그때의 血液密度는 1.0449 gm/ml였다. 血液의 密度測定後에 다시 血液의 粘度를 재기 위하여 36°5'C로 設힌 viscometer(UBBE-LOHDE Viscometer Series "O")를 使用하여 血液의 viscometer 通過時間을 세번 測定한 平均値는 429.3 秒였다.

以上에서 算出된 數値를 粘度, 通過時間 및 密度를 알고있는 36°5'C에서의 물($\eta = 6.9945$ milipoise, $d = 0.993535$ gm/dl, $\tau = 111.1$ sec)을 基準으로 아래 公式에 의하여 血液의 粘度를 계산하니 $\eta_b = 27.336515$ milipoise 였다.

$$\left(\text{公式: } \frac{\eta_b}{\eta_w} = \frac{t_b \times d_b}{t_w \times d_w} \right)^{28)}$$

血液과 같은 粘度를 가지는 溶液을 0.9%生食液과 100%グリ세린의 混合物로 만들기 위하여 20°C에서의 各各의 粘度, 密度 및 通過時間을 算出한 結果, グリ세린($\eta_g = 8500$ milipoise, $d_g = 1.252$ gm/dl, $t_g = 107266.9$ sec)과 0.9%生食液($\eta_s = 9.663696$ milipoise, $d_s = 1.00723$ gm/dl, $t_s = 151.5$ sec)의 數値를 알아내었고²⁹⁾, 室內溫度 20°C에서 0.9%生食液과 100%グリ세린을 各種混合比의 混合物를 만들어, 上記한 公式 및 實驗方法으로 血液粘度和 비슷한 溶液을 만든 結果 グリ세린 6.72ml와 0.9%生食液 13.28ml의 混合比가 가장 血液粘度和 비슷하다는 結論을 얻었다($\eta_{s+g} = 27.4067$ milipoise, $d_{s+g} = 1.08932$ gm/dl, $t_{s+g} = 396.7$ sec).

以上の 混合比로 만든 溶液內에서 耐性檢査用 生體瓣이 上下反覆運動을 하도록 만든 檢査機로 檢査하면서 瓣尖의 接合狀態, 變形如否를 觀察하였다.

2. 生體瓣의 組織檢査

生體瓣의 各種保存方法에 따른 顯微鏡의 所見과 耐性檢査後의 所見을 病理組織學的 染色法으로 觀察하였다. 一般染色法과 Verhoeff 彈性染色法으로 内膜細胞, 膠原纖維 및 彈性纖維의 變化를 中心으로 比較觀察하였다.

III. 實驗結果 및 成績

1. 細菌檢査所見

豚心臟에서 大動脈 및 肺動脈瓣을 採取할때는 完全한 無菌處理가 되지 못한 상태에서 한번에 80個씩 4회에 걸쳐 모두 320個의 瓣膜을 採取하였고, 이들을 前術한 Carpentier 處理方法에 따라서 消毒, 固定, 整枝 및 瓣膜骨粹에 縫合 또는 人造血管內에 縫合하여 實驗에 使用될 수 있도록 完成된 것은 모두 5個였다. 生體瓣骨粹에 縫着한 것은 耐性檢査와 動物實驗을 爲하여 保管하였다(그림 5, 6).

別途로 採取後의 處理方法과 保存方法에 따라서 細菌汚染如否를 確認하기 위하여 실험한 結果에서는 모두가 充分한 無菌處理가 되었음을 보여 주었다.

對照群을 포함한 여섯가지 保管方法으로 2週동안 各群에 5개씩의 瓣膜을 保管處理한 다음, 各群에서 各各의 瓣膜組織片을 切取하여 血液寒天培地와 Thioglycollate 液體培地에 二重으로 六日동안 培養한 結果, 75% 알코홀에 保管했던 群 가운데 한곳에서만 citrobacter freundii가 培養되었을 뿐, 다른 保存群에서는 全然 培養되지 않았다. 위의 培養菌株은 培養檢査途中에 우연히 汚染된 것으로 보이며, 따라서 瓣膜組織保管上 細菌汚染問題는 上記 여섯가지 方法中에 어떤 方法을 使用해도 充分하며, 특히 著자가 使用한 Carpentier 處理法은 無菌處理方法으로는 充分히 훌륭한 方法으로 判斷된다.

2. 耐性檢査所見

耐性檢査는 우선 組織의 保管處理方法을 選擇하기 위하여 前述한 여섯가지 處理方法으로 保管된 瓣膜을 各群에서 다섯개씩 가지고 실험하였다.

豚心臟의 上行大動脈端을 壓力器의 한쪽끝에 노출된 16mm直徑의 管 끝에 絹絲로 結紮固定하고, Y字로 된 上部一端을 通하여 生食液을 注入하여 充分한 量이 되었을때 이곳을 막고, 다른 Y字管의 끝에 연결된 加壓器로 加壓했을때 大動脈瓣의 세개의 半月瓣尖이 接合되어 있다가 壓力에 이기지 못하여 中心噴出流를 보이는 最高壓을 測定하였다(그림 9).

이와같은 方法으로 檢査한 結果 가장 瓣膜의 接合이 不良하고 耐壓力이 낮은 것은 알코홀保存群으로 平均 26 mmHg였고, 가장 耐壓力이 높고 瓣膜構造가 잘 保存된 것은 Carpentier 處理法에 따른 gntaraldehyde 保存群으로 平均耐壓力은 168mmHg였다.

以上の 結果에 따라서 生體瓣의 製作과 保存方法으로 Carpentier 處理法이 가장 效果의이라는 結論에 도달하

였고, 이렇게 하여 만든 생체瓣膜的 長期耐性檢査를 위하여, 血液과 비슷한 粘度를 가지도록 만든 0.9%生食液과 글리세린을 혼합한 溶液속에서 每分 300회씩 上下運動을 하도록 製作된 電動生體瓣耐性檢査機를 사용하여 瓣尖의 開閉運動이 反復되도록 하면서 時間經過에 따른 瓣尖의 變形, 半月半의 接合狀態 등을 六個月동안 觀察하였다. 3個月까지의 觀察結果에서는 25mm와 29mm 內徑의 生體瓣 모두가 變形없이 接合狀態가 良好하였으나, 6個月經過後의 觀察結果에서는 25mm 內徑의 生體瓣은 變形이나 接合狀態가 훌륭하게 保存되었으나 29mm 內徑의 生體瓣은 無冠動脈瓣尖의 變形으로 接合狀態가 충분치 못하여 中等度의 逆流를 볼 수 있었다. 耐性檢査機의 上下往復運動은 20cm 거리를 分當 300회로 反復되기 때문에, 正常心臟의 拍動數를 分當 60회로 보면 實驗에서의 3個月은 15個月, 6個月은 30個月의 正常心臟運動에 해당된다(그림 12).

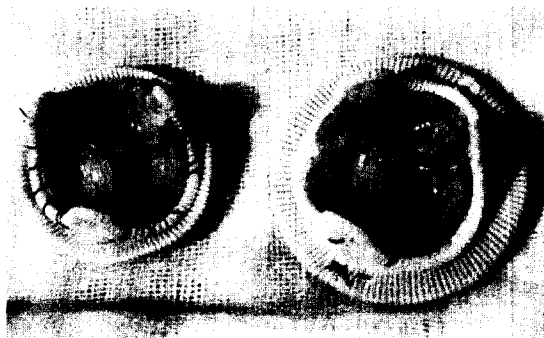


그림 12. 耐性檢査後의 瓣尖變形 19mm는 正常, 29mm는 閉鎖時 中心接合不全.

위에서의 半月瓣尖變形은 縫着手技上的 問題와 耐性檢査中の 汚染으로 인한 瓣尖의 變性和 破壞때문인 것으로 判斷된다.

㉔. 組織檢査所見

生體瓣의 保存方法과 耐性檢査後의 瓣膜組織의 變性 및 構成分의 破壞如否를 觀察하기 爲하여 各群에서 5個씩의 瓣尖을 部分切除하여 一般染色法과 Verhoeff 彈性染色法으로 內膜細胞, 膠原纖維 및 彈性纖維의 變化를 中心으로 比較觀察하였다.

內膜細胞의 破壞는 glutaraldehyde 處理群과 포르마린 및 알코홀群에서는 比較的 輕하였으나, Ringer 對照群, Dakin 液群, E.O. 가스處理群 및 長期耐性檢査後의 群에서는 아주 심하였다.

膠原纖維의 保存은 glutaraldehyde 群에서 가장 훌륭하게 되어 있었고, 포르마린群과 알코홀群에서는 약간씩, Dakin 液群과 E.O. 가스처리群에서 심하게 破壞된 모양

을 보였다. 長期耐性檢査群에서도 比較的 膠原纖維의 保存은 훌륭하였으며, 對照群인 Ringer 液群에서는 浮腫變性이 심하여 가장 保存狀態가 좋지 못하였다.

彈性纖維의 保存狀態는 glutaraldehyde 群과 포르마린群, 그리고 長期耐性檢査群에서의 比較的 잘 保存되어 있었으나, 其他의 保存群에서는 모두가 甚하게 破壞되어 있었다.

長期耐性檢査群에서 短期 glutaraldehyde 保存群보다 膠原 및 彈性纖維의 保存狀態가 나빴던 것은 耐性檢査中에 無菌處理가 不可能하여 細菌汚染으로 인한 破壞때문인 것으로 判斷된다(그림 13).

IV. 考 案

荒廢化된 心臟瓣膜을 切除하고 代置移植하는 人工瓣은 여러가지 條件에 付合되어 나타나지 않으면 안된다. 우선 材質이 生體組織이나 血液成分에 障害를 주지 않고, 化學적으로 不活性이어서 血栓形成이 없을 것이며, 數十年에 걸쳐서 變形없이 機能을 보이는 耐久性이 必要하고, 瓣의 開閉가 신속하고 收縮期 壓差가 最少限이어야 한다.

이러한 條件에 맞춰나오는 동안 수많은 人工瓣膜이 製作, 試用되어 왔고, 現在도 改良되고 있다.

1954年 Hufnagel¹⁾을 始初로 1960年 Harken⁸⁾, Starr⁹⁾ 등이 開發한 球形瓣, 1970年에 Bjork³⁰⁾가 考案한 圓盤型瓣 等を 始初로 開閉方式, 材料, 血栓豫防을 위한 被覆方式 등 여러가지 面에서 改良되어 오면서 現在는 使用되지 못하는 것도 수많은 經驗例들을 文獻에 報告하고 있다³⁵⁾.

이러한 人工瓣에 比하여 自然的인 生體組織을 利用한 同種 또는 異種瓣膜置換手術도 人工瓣의 製作과 거의 비슷한 年代에 始作되어 거의 20年의 歷史를 가지고 있다³⁴⁾.

自然에서 얻어 만드는 生體瓣은 中心血流가 保存되고, 收縮期의 瓣前後壓差가 적고, 左心室機能이 妨害받지 않으며, 溶血이 드물고 血栓形成率이 아주 드물어서 抗凝固劑를 長期投與할 必要가 없는 등 人工瓣보다 훌륭한 점이 많으나, 瓣尖의 肥厚短縮, 組織의 變性壞死에 의한 瓣尖의 斷裂, 穿孔 등등 移植後의 變化에 따르는 瓣機能不全, 即 耐久性의 問題가 남아있다.

이러한 問題點을 解決하기 위하여 Carpentier 등은 免疫反應을 포함한 炎症性反應과 膠原 및 彈性纖維의 變性を 移植後變化的 주된 要因으로 判斷하고, 이러한 原因을 除去하는 새로운 方法을 提昌하였다²¹⁾. 그 處理方法의 理論은 移植瓣이 宿主에 의한 免疫反應을 일으키지 않고 滅菌狀態에서 強度와 柔軟性의 維持增強, 膠

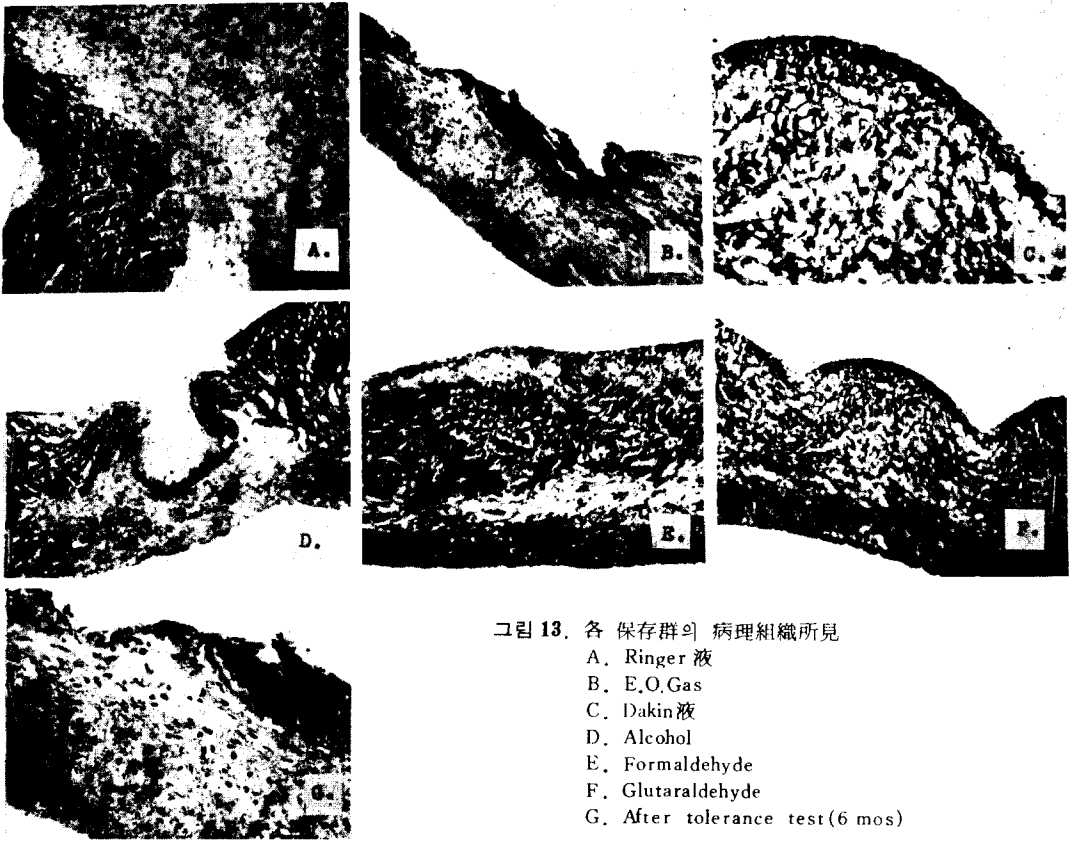


그림 13. 各 保存群의 病理組織所見

- A. Ringer 液
- B. E.O. Gas
- C. Dakin 液
- D. Alcohol
- E. Formaldehyde
- F. Glutaraldehyde
- G. After tolerance test (6 mos)

原 및 彈性纖維의 變性豫防, 宿主細胞의 侵入防止 등을 目的으로 하였다.

瓣尖의 組織은 膠原纖維, 彈性纖維, 細胞 및 그들 間隔을 메우는 基質로 되어 있다²¹⁾. 大動脈瓣이나 肺動脈瓣은 基部에서 3mm까지는 血管網을 가지고 있으나, 그 末稍쪽은 無血管에 淋巴管網도 전혀 없다³¹⁾. 膠原纖維와 彈性纖維는 各各 collagen과 elastin으로 되어서 瓣尖을 構築하는 基本蛋白質이며, 基質은 mucopolysaccharides, 이것이 蛋白과 結合된 glycoprotein, 거기에 붙은 可溶蛋白 등으로 이루어져 있다 (그림 14).

콜라겐은 글리신, 푸로린, 하이드록시푸로린을 주로 한 아미노酸이 연달아 세개의 螺旋結合을 이루는 高分子構造로 아미노基, 뮤코多糖類, Polypeptide 등의 側鎖를 가지는데, 이들 側鎖가 抗原性을 가진다. Elastin은 글리신, 푸로린, 아라닌, 바린등의 非極性아미노酸을 多量 가지고 있어서 不活性이다. 可溶蛋白은 주로 알부민과 그로부린인데 이들은 5% 生食液으로 쉽게 溶出되어 Polypeptide와 glycoprotein 등과 함께 血液中에 녹아 내려서 抗原이 된다²¹⁾.

이들 抗原이 되는 要素를 除去하고 瓣尖構造의 變形을 일으키지 않도록 하는 處理方法은 다음과 같다²¹⁾.

먼저 瓣膜을 無菌的으로 採取하여 이것을 Hanks 液에 씻어서 可溶性抗原物質을 除去한다. 다음에 메타過沃素酸소다液으로 뮤코多糖類와 粘蛋白을 酸化하여 側鎖上의 알데히드基를 만든다. 이것은 인접해 있는 分子의 아미노基와 結合하여 分子間의 架橋(cross-linking)를 이룬다. 다음에는 ethyleneglycol로 남아 있는 메타過沃素酸소다를 中和한 다음에 glutaraldehyde緩衝液으로 남은 蛋白分子의 아미노基間의 架橋結合을 만든다. 마지막으로 硼化水素나트륨으로 還元하여 이들 架橋結合을 安靜시킨다(그림 15).

以上の 操作으로 抗原物質은 除去되거나 아니면 不活性化되고, Collagen 分子間에는 強固한 架橋結合이 되어서 瓣尖의 強度가 增強되고 變性이 防止된다.

이렇게 하여 만들어진 瓣은 右冠動脈瓣尖에 해당되는 支柱間距離를 약간 좁게 만든 支持棒에 맞춰넣고, 약해진 右冠動脈瓣尖筋性部를 支持棒로 받쳐주도록 한다. 또 宿主細胞의 侵入을 막기 위해서는 瓣尖基部의 大動脈壁

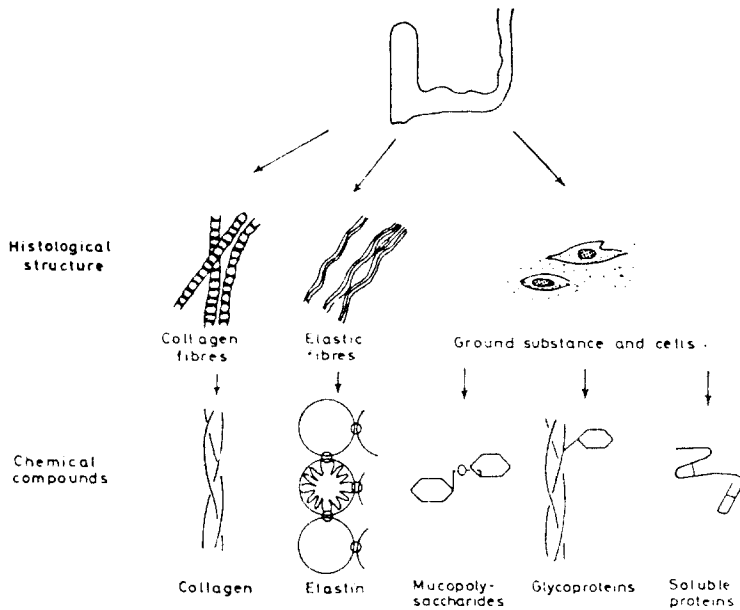


그림 14. Biochemical components of a valve graft

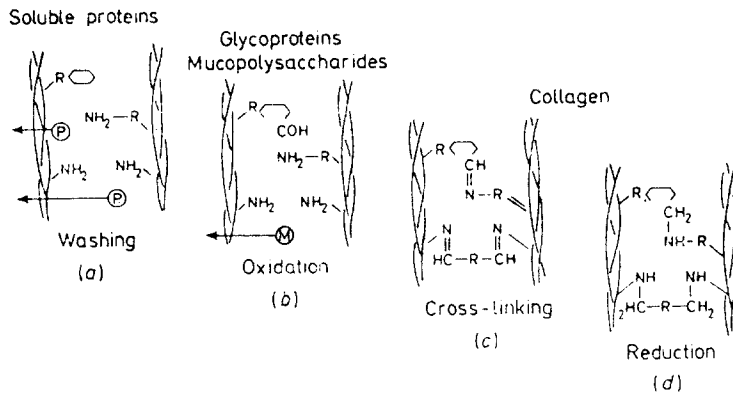


그림 15. Diagrammatic representation of the chemical method for the preparation of a bioprosthesis. (a) Soluble antigens are removed by washing in Hanks' solution. (b) Oxidation removes and denatures mucopolysaccharides and glycoproteins. Under the action of sodium metaperiodate 40 per cent of the mucopolysaccharides are freed. The remaining 60 per cent are denatured forming new aldehyde groups(CHO) which can immediately react with free amino-groups. (c) In addition, further crosslinkages are achieved by glutaraldehyde which bonds the remaining free amino-groups. (d) Stabilization of the cross-linkages is obtained by reduction using sodium borohydride(NaBH_4).

을 얇은 합성布로 덮으면서, 빈틈없이縫着하면 生體瓣膜이 完成된다(그림 5).

著者の 實驗에서도 上記한 方法을 追試하여 生體瓣을 製作하였다. 豚心臟瓣膜의 採取부터 生體瓣 完成까지는 大略 40 個의 採取瓣가운데 한개꼴로 完全한 生體瓣을

만들 수 있었고, 나머지는 製作途中에 變形 또는 接合不良 등으로 不適當하여 使用키 못하였다.

以上의 方法으로 完成된 生體瓣의 保存方法에 대하여 文獻上에 나타난 各種方法을 追試하였다.

Ethylene oxide 는 1953 年, Hufnagel²⁵⁾이 1% 生食

液을 사용한 것이 처음이며, 1966年 Longmore³²⁾는 5% E.O. gas와 95% CO₂를 혼합하여 24시간 保存하여 無菌率在 60%, 張力은 30% 減少되었다고 報告하였으나, 著者는 100% E.O. gas를 사용하여 2週동안 無菌狀態는 充分하였으나 耐壓張力이 50% 정도 減少되어 保存方法으로는 適當하였다.

알코올은 小林²³⁾, 水野²⁴⁾ 등이 70%로 사용했으나 瓣膜의 破壞가 심하고, 거의 全例에서 閉鎖不全을 일으켰으며, 著者의 追試에서도 彈性纖維의 破壞가 심하여 耐壓張力은 25%로 減少되었다. 포르마린은 1954年 Moyses²⁶⁾ 등이 同種動脈瓣保存에 使用한 以來로 1966年에 Paneth³³⁾가 異種大動脈瓣保存에 使用하여 흔히 使用되는 方法이 되었다. 一般의 으로 PH 5.6의 4% 溶液을 使用하는데, 消毒力은 充分하지만 膠原 및 彈性纖維의 斷裂과 組織의 空胞化 등이 일어나 瓣機能不全을 일으키기 쉽고 臨床成績이 나빠서 使用이 中止되고 있다. 著者의 追試에서도 組織의 保存은 比較的 良好하고 耐壓張力도 충분히 높았으나 瓣의 開閉運動에 制限을 받는 것으로 判斷되었다.

其他 Beta-propiolactone³⁷⁾, γ -線 照射³⁸⁾, Dakin 溶液³⁶⁾, 水銀溶液²²⁾, 凍結乾燥³⁹⁾ 등의 여러 方法이 試圖된 바 있으나 現在로는 使用되지 않고 있으며, 近年에 1968年 Carpentier가 發表한 Glutaraldehyde保存法이 가장 널리 使用되고 있다²⁷⁾. Glutaraldehyde의 使用濃度는 0.65%, 2%, 5% 등 여러가지로 使用되고 있으나, 生體瓣處理過程의 修正補完如否에 따라서 달라진다. 著者는 Carpentier 處理法에 따라서 追試한 結果 다른 어떤 方法보다도 滅菌力이나 組織保存能力이 優秀하였고, 耐壓張力 檢査에서도 對照群(新鮮生體瓣)의 3倍以上으로 훌륭한 結果를 보였다. 耐壓張力은 2週, 3個月 및 6個月 保存群에서 큰 差異는 없었으나 3個月以上 長期 保存群에서 真菌의 培養이 陽性으로 나타난 점으로 보아서 長期 保存群의 濃度는 2~5%가 適當할 것으로 判斷된다.

生體瓣의 耐久性檢査는 瓣膜의 開閉運動을 血液과 비슷한 粘度和 密度를 가지도록 만든 溶液(글리세린과 生食液混合物) 속에서 耐性檢査機(著者의 考案으로 高麗大學校 理工大學 開發室에서 製作)로 20cm의 距離를 分當 300回 上下往復運動을 하도록 하여 檢査하였다. 試驗途中에 linear bearing의 磨損으로 充分한 期間동안 檢査가 계속되지는 못하였으나, 單純한 耐壓檢査만으로 瓣膜張力을 測定하는 것과는 달리, 一定期間의 反復運動後에 肉眼的으로 瓣尖接合狀態와 變形如否를 觀察하였다. 本 實驗에 使用된 耐性檢査機는 單純한 瓣尖開閉運動을 血液粘度和 비슷한 溶液內에서 抵抗抗을 利用하여 시켰기 때문에, 實際 生體內에서 一定血壓을 받

으면서 開閉運動이 反復될 때 일어나는 變化와는 충분히 다른 變化와 生體反應이 있을 것으로 豫想된다. 또는 한 개의 耐性檢査機로 두 개의 瓣膜만을 長期檢査할 수 밖에 없었기 때문에 對照群과의 比較는 不可能하였다. 다만 耐壓張力 檢査에서 glutaraldehyde 保存群 가운데 2週 保存群과 3個月, 6個月 耐性檢査後의 生體瓣 사이에 특별한 變化는 없었고, 6個月 耐性檢査瓣膜에서 瓣尖의 部分變形으로 中心噴出流가 中等度로 심하여 瓣膜閉鎖不全現象이 中等度로 심하게 나타났다.

V. 結 論

生體瓣은 人工瓣에 比하여 中心流가 妨害받지 않고, 壓差가 최소한으로 적으며, 左室機能이 妨害받지 않고, 溶血이나 血栓形成이 드물어서 抗凝固劑의 長期投與가 不必要하다는 등 여러가지 長點들이 있으나, 生體瓣으로서 가지는 唯一한 短點인 耐久性을 어느정도 유지하는가에 있다.

著者는 이러한 短點을 補完하고, 臨床에서 實用될 수 있도록 하기 爲하여 製作過程에서부터 保存方法 및 耐久性檢査를 施行하여 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 生體瓣의 製作은 屠殺後의 豚心臟에서 無菌採取한 大動脈瓣을 Carpentier 處理方法에 따라서 洗滌, 酸化, 架橋結合 및 還元處理하고, 適當한 크기의 支持棒에 縫着하여 完成하였다. 또한 人造血管內에 縫着하여 右心流出路에 使用될 수 있는 導管을 完成하였다.

2. 生體瓣의 保存方法으로는 對照群을 포함하여 여섯가지 方法으로 追試한바, 滅菌消毒力을 위한 菌培養檢査, 瓣膜의 耐壓張力 檢査 및 病理組織學的 檢査 등의 結果를 比較觀察한 結果, 0.65%의 glutaraldehyde 溶液內 保存群이 가장 優秀하였다. 菌培養檢査로는 完全滅菌, 耐壓張力 檢査에서는 對照群의 3배, 病理組織檢査에서는 膠原纖維와 彈性纖維의 保存狀態가 가장 優秀하였다.

3. 長期耐久性檢査는 血液粘度和 비슷한 글리세린과 生食液의 混合液內에서 上下 20cm 거리를 往復하도록 製作된 耐性檢査機로 分當 300回 反復 開閉運動을 하였던바, 3個月까지는 內徑 25mm와 29mm의 兩瓣에서 모두 瓣尖의 接合狀態가 良好하였으나, 6個月(實際로는 30個月) 經過後의 觀察로는 29mm 內徑의 生體瓣에서 無冠動脈瓣尖의 變形이 招來되었다. 이러한 變化는 製作當時 手技의 未備과 檢査途中의 細菌汚染에 의한 것으로 判斷된다.

4. 製作된 生體瓣의 生體內 免疫 및 病理組織學的 變化에 대해서는 動物實驗 또는 臨床實驗으로 究明할 必要가 있다고 思料된다.

以上の結果를 綜合하면 生體瓣의 製作, 保存 및 耐久性檢査結果, 生體瓣을 Carpentier 處理法에 따라서 製作하고, glutaraldehyde 溶液内에 保存하여 實際臨床에 使用이 可能할 것으로 判斷되었다.

REFERENCES

1. Hufnagel, C.A., Harvey, W.P., Rabil, P.T. and McDermott, T.F.: *Surgical correction of aortic insufficiency. Surgery* 35: 673, 1954. Cited from 17.
2. Cross, F.S., Jones, R.D. and Gerein, A.N.: *Evaluation of pericardial monocusps as aortic valve replacement. Ann. Surg.* 154: 811, 1961. Cited from 17.
3. Bahnson, H.T. et al.: *Cusp replacement and coronary artery perfusion in open operations on the aortic valve. Ann. Surg.* 152: 494, 1960. Cited from 17.
4. Bjork, V.O., Cullhed, I. and Lodin, H.: *Aortic valve prosthesis (Teflon), Two year follow-up. J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 45: 635, 1963.
5. McGoon, D.C. and Moffitt, E.A.: *Total prosthetic reconstruction of the aortic valve. J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 46: 162, 1963.
6. Kay, E.B. and Susuki, A.: *Evolution of aortic valve prosthesis. J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 45: 372, 1963.
7. Ellis, F.H. et al.: *Clinical experience with total mitral valve replacement with prosthetic valves. J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 46: 482, 1963.
8. Harken, D.E. et al.: *Partial and complete prosthesis in aortic insufficiency. J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 40: 744, 1960.
9. Starr, A. and Edward, M.L.: *Mitral replacement, Clinical experience with a ball-valve prosthesis. Ann. Surg.* 154: 726, 1961. Cited from 17.
10. Lam, C.R., Aram, H.H. and Munnell, E.R.: *An experimental study of aortic valve homografts. Surg. Gynec. Obstet.* 94: 129, 1962. Cited from 34.
11. Murray, G.: *Homologous aortic-valve-segment transplants as surgical treatment for aortic and mitral insufficiency. Angiology* 7: 466, 1956. Cited from 34.
12. Ross, D.N.: *Homograft replacement of the aortic valve. Lancet* 2: 487, 1962.
13. Barratt-Boyes, B.G.: *Long-term follow-up of aortic valve grafts. Brit. Heart J.* 33 (Suppl.): 60, 1971.
14. Binet, J.P., Duran, C.G., Carpentier, A. and Langloris, J.: *Heterologous aortic valve transplantation. Lancet* 2: 1275, 1965.
15. O'Brien, M.F.: *Heterologous replacement of the aortic valve, In: Biological Tissue in Heart Valve by Ionescu, M.I., Ross, D.N. and Woller, G.H., Butterworths, London, 1972. p. 445.*
16. Buch, W.S., Kosek, J.C. and Angell, W.W.: *Deterioration of formalintreated aortic valve heterografts. J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 60: 673, 1970.
17. Carpentier, A., Lemaigre, G., Robert, L., Carpentier, S. and Dubost, C.: *Biological factors affecting long-term results of valvular heterografts. J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 58: 467, 1969.
18. Ionescu, M.I., Smith, D.R., Petrila, P.A. and Woller, G.H.: *Heart valve replacement with supported aortic heterografts. In: Biological Tissue in Heart Valve Replacement by Ionescu, M.I., Ross, D.N. and Woller, G.H., Butterworths, London, 1972.*
19. Richardson, J.P., Clarebrough, J.K. and Simpson, W.L.: *Heterologous aortic valves for mitral valve replacement; Method of preparation and preservation and operative technique. J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 59: 489, 1970.
20. Angell, W.W., Such, W.S. and Shumway, N.E.: *The viable aortic homograft, In: Biological Tissue in Heart Valve Replacement by Ionescu, M.I., Ross, D.N. and Woller, G.H., Butterworths, London, 1972, p. 383.*
21. Carpentier, A.: *Principles of tissue valve transplantation, In: Ionescu, M.I., Ross, D.N. and Wooler, G.H. (Eds.) Biological Tissue in Heart Valve Replacement, Butterworths, London, 1972.*
22. Carpentier, A. and Dubost, C.: *From xenograft to bioprosthesis; Evolution of concepts and technique of valvular xenografts, in Ionescu, M.I., Ross, D.N. and Wooler, G.H. (Eds.): Biological Tissue in Heart Valve Replacement, Butterworths, London, 1972.*
23. 小林 寛伊: 70%エチルアルコール内 保存 同種大動脈瓣に関する研究, 日胸外會誌, 17: 850, 1969.
24. 水野 明: 70%エタノール内 保存 同種大動脈瓣にする瓣置換手術の遠隔成績 日胸外會誌, 21: 481, 1973.
25. Hufnagel, C.A., Rabil, P.J. and Reed, L.: *A method of preservation of arterial homo- and heterografts, Surg. Forum.* 4: 162, 1953, Cited from 22.
26. Moyes, E.J., et al.: *Formaldehyde preserved arteries, Archvm. Chir. Neerl.* 6: 333, 1954. Cited from 22.

27. Carpentier, A., Blandeaw, P., Laurens, R., Hay, R., Laurent, D. and Dubost, C.: *Mitral and Tricuspid valve replacement with frame mouted aortic heterografts*, *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 58: 467, 1969.
28. Washburn, E.W.: *International critical tables of numerical data, Physics, Chemistry and Technology*, McGraw-Hill Book Company Inc., 1929, p. 10.
30. Bjork, V.O.: *Central flow tilting disc valve for aortic valve replacement*, *Thorax* 25: 439, 1970.
31. Johnson, R.A.: *Lymphatics of the heart.*, *Circulation* 33: 137, 1966.
32. Longmore, D.B., Lockey, E., Ross, D.N. and Pickering, B.N.: *The preparation of aortic homografts*. *Lancet.* 2: 463, 1966.
33. Paneth, M. and O'Brien, M.F.: *Transplantation of human homograft aortic valve*. *Thorax.* 21: 115, 1966.
34. 岡村建二, 北村信未, 王藤龍彦, 富野哲未, 川副浩平, 小柳仁, 今野卓二: 生體瓣保存の現況, *醫學のあゆみ* 89 320, 1974.
35. 淺野獻一: 人工瓣による 瓣置換術の現況, *日胸外學會誌*, 27: 231, 1974.
36. 魯重基, 金炯默: 生體瓣保存에 關한 實驗的 研究: 高大論文集 16: 251, 1979.
37. Logrippe, G.A., Verhuke, P.R., Szilagy, D.E. and Hartman, F.W.: *Sterillization of arterial homograft with betapropiolactone*, *Lab. Invest.* 4: 217, 1955., Cited from 34.
38. Meeker, I.A. and Gross, R.E.: *Sterillization of frozen arterial grafts by high-voltage cathoderay irradiation* *Surgery* 30: 19, 1951. Cited from 34.
39. Marrangoni, A.G. and Cecchini, L.P.: *Homotransplantation of arterial segment preserved by the freeze-drying method*, *Ann. Surg.* 134: 977, 1951., Cited from 34.
40. Kaiser, G.A. and Hancock, W.D.: *Clinical use of a new design stented xenograft heart valve prosthesis*, *Surg. Forum.* 20: 137, 1969.
41. Reis, R.L. and Hancock, W.D.: *The flexible stent: A new concept in the fabrication of tissue heart valve prosthesis*. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 62: 683, 1971.