

Cyclosporin A와 methylprednisolone이 이인자형이식된 취기관의 상피조직재생에 미치는 영향에 대한 연구

박종호* · 이정삼** · 김주현*

=Abstract=

The Effect of Cyclosporin A and Methylprednisolone on the Epithelial Regeneration of the Allograft Rat Tracheal Segments

Jong Ho Park, M.D.*, Jeong Sang Lee, M.D.**, Joo Hyun Kim, M.D.*

This study examined the effects of cyclosporin A(CsA) and methylprednisolone(MP) on the viability of the devascularized trachea after heterotopic transplantation.

Fourty-two tracheal segments were harvested from 21 donor Wistar rats. Those tracheal segments were heterotopically implanted into the abdomen of recipient rats after wrapping in omentum. Heterotopical implantation was performed in six groups of rats: Group I was Wistar syngeneic controls, and five groups of Sprague Dawley recipients, receiving no immunosuppression(Group II), CsA alone(Group III, V), and CsA in combination with MP(Group IV, VI). After 14 days, the tracheal segments were histologically evaluated.

Epithelial thickness and the degree of epithelial regeneration were significantly different between group I and group II, III, V, VI($p < 0.05$). There were significant differences in the epithelial thickness between group II, III, IV and group V, VI. In the degree of epithelial regeneration, there were significant differences in group II, group III-IV, and group V-VI. Without immunosuppression there was virtually no epithelium, whereas low-dose immunosuppression yielded intermediated viability, and with high dose CsA and MP we observed improved tracheal viability.

Our results suggest that optimal combination of CsA and MP may improve the viability in heterotopic tracheal allografts.

(Korean J Thoracic Cardiovas Surg 1994; 27:15-23)

Key words : 1. Cyclosporine
2. Methylprednisolone
3. Trachea transplantation

* 서울대학교병원 흉부외과

* Department of Thoracic & Cardiovascular Surgery Seoul National University Hospital,

* 서울대학교 의과대학 흉부외과학교실

* Seoul National University College of Medicine, Seoul, Korea.

** 보라매병원 흉부외과

** Department of Thoracic and Cardiovascular Surgery, Boramae Hospital, Seoul

† 본 연구에 사용된 경비의 일부는 1991년 서울대학교병원 임상연구비 지원에 의한 것임.

통신저자: 박종호, (110-744) 종로구 연건동 28, Tel. (02) 760-2653, Fax. (02) 747-5245

서론

지난 10년간 폐이식술은 말기폐질환환자의 중요한 치료 방법으로 정착하게 되었다^{1, 2)}. 새로운 이식폐 보존방법의 개발과 수술기법의 발전으로 단일폐이식 및 양폐이식의 결과는 매우 진보된 상태이다²⁾. 그러나 많은 폐이식센터의 수술결과를 보면 허혈에 의한 기관지 접합부위의 합병증이 유병률과 사망률의 중요한 원인이 되고 있다^{3, 4)}. 기관지 접합부위의 회복에 영향을 줄 수 있는 요소로는 봉합실의 재질과 봉합수, 국소적인 혈관분포, 접합부위의 장력, 거부반응의 유무, 그리고 감염 등이 있다⁵⁾.

기관지혈관의 접합술을 시행하지 않는한 이식폐의 기관지는 국소적인 맥관재생이 이루어지기 전까지 허혈상태에 노출되게 된다⁵⁻⁷⁾. 이런 국소적인 맥관재생은 보통 12일에서 15일 사이에 이루어지며, 대망고정술 등을 시술할 경우에는 그 기간을 단축시킬 수도 있다^{8, 9)}. 이 기간 동안에는 기관지의 혈류공급은 폐순환으로부터의 역류적인 측부혈행에 의존하게 된다⁶⁾. 그러나 이 기간중에 거부반응, 감염, 그리고 폐보존의 실패 등으로 폐기질의 손상이 유발된 경우에는 측부혈행의 감소를 초래하게 된다. 더불어 거부반응 자체가 직접적으로 기관지에 작용하여 주위조직으로부터의 새로운 맥관재생을 저해하게 된다. 그러므로 폐이식술후 초기거부반응을 피하는 것은 기도의 허혈성 합병증을 줄이는데 매우 중요한 일이다.

이전에는 임상경험과 개를 이용한 폐이식술 실험결과에서 과량의 methylprednisolone이 사용한 경우는 기관지 접합부의 결속력이 저하된다는 사실이 밝혀졌으며 그 결과 대부분의 임상에서도 스테로이드 치료를 술후 2~3주까지 미루어 기관지 접합부위의 회복여부를 확인한 후에 사용하기 시작하였다^{10, 11)}. 술전에 스테로이드를 복용하고 있는 환자는 폐이식술의 금기로 간주된 시기도 있었다. 그리고 스테로이드에 의한 면역억제는 대식세포의 수를 감소시켜 세포재생, 섬유아세포의 증식, 교원질 침착, 그리고 창상부위의 맥관재생을 저해한다고 알려졌었다. 그러나 최근의 동물실험 및 임상경험의 결과를 보면 반대로 초기에 스테로이드 요법을 병행함으로써 기도회복이 향상된 사례들이 발표되고 있다^{12, 13)}. 단일폐이식술 또는 양폐이식술후 초기에 스테로이드 요법을 병행함으로써 기대되는 장점은 술후 첫주동안 보다 더 강력한 면역억제효과를 유지할 수 있다는 점이다. 동물실험을 통하여 이식폐의 거부반응과 기관지 접합부위의 회복은 아주 밀접한 관계가 있으며, 접합부위의 협착 및 염증반응은 거부반응과 같이 나타난다는 사실이 입증되었다. 최근에는 레이저 도플러 유량측정

기를 이용하여 조직검사로 증명된 이식폐의 거부반응이 기관지 점막의 혈행감소와 아주 밀접한 연관관계가 있다는 사실이 증명되었으며¹⁴⁾, 또 기관지 점막의 혈행감소는 이식폐의 기관지 동맥과 기관지 점막의 단핵세포의 침착과도 매우 밀접한 상관관계가 있다는 것도 밝혀졌다^{7, 15-20)}. 따라서 현재에는 수술직후부터 cyclosporin과 더불어 스테로이드 사용을 임상에 적용하는 폐이식센터가 늘고 있으며, 술전의 스테로이드 사용환자들도 폐이식 대상자에 포함되고 있는 실정이다. 이런 일련의 실험결과를 확정적으로 임상에 적용하기는 어렵겠지만 기도의 회복에 심각한 해를 주지 않는 범위에서 스테로이드를 사용하는 것은 술후 이식폐의 거부반응을 줄여 기관지의 허혈성 합병증을 줄일 수 있는 방법중의 한가지라 생각된다.

Cyclosporin A는 1960년대에 곰팡이의 대사물에서 추출된 면역억제제이다. 이의 기능은 B-cell의 활성화에 필요한 helper T-cell, 세포용해성 T-cell, 그리고 T-helper/inducer subpopulation을 차단하여 lymphokine의 생성을 억제하는데 있다. 동시에 T-suppressor cell을 선택적으로 증가시키는 능력이 있다. 폐이식술시 술후 suppressor T-cell이 계속 유지되므로써 이인자형이식된 폐가 내성을 갖게되는 것이다²¹⁾. 동물실험을 통하여 이식폐의 alloantigen이 형성된 이후라도 cyclosporin A는 면역억제효과를 나타내는 것으로 알려졌다^{22, 23)}. Cyclosporin A의 가장 큰 장점은 스테로이드의 사용량을 줄일수 있다는 점과 골수에 해를 미치지 않는다는 점이다. 또 cyclosporin A를 methylprednisolone과 같이 사용하는 경우에는 전자는 interleukin-2 분비를, 후자는 interleukin-1의 분비를 주로 차단함으로써 면역억제의 상승효과를 기대할 수 있으며, 더불어 methylprednisolone은 cyclosporin A의 혈중농도를 높게 유지시키는 효과도 있다²⁴⁻²⁶⁾.

폐이식술에 있어서 면역억제에 대한 연구와 관심이 집중되면서 많은 성적향상이 이루어졌으며, 1981년 Shumway가 처음으로 cyclosporin A와 더불어 azathioprine, prednisone, 그리고 antilymphocyte globulin을 사용하였고, 현재 많은 폐이식센터에서도 이 조합의 면역억제제를 선호하고 있다^{27, 28)}.

본 연구는 이인자형이식된 쥐의 기관 상피세포에 면역억제제로 사용되는 cyclosporin A와 methylprednisolone의 역할을 양과 질적인 면에서 규명하는데 있다. 이를 위하여 일정기간후에 이인자형이식된 쥐 기관의 조직학적 검사를 통하여 상피세포의 두께와 재생정도를 검사한 후에 비교군인 동인자형이식된 쥐의 기관과 비교함으로써 면역억제효과를 직접 확인하고 통계학적 유의성을 검증하는데 있

다.

이 연구의 궁극적 목표는 한국에서도 곧 시술예정인 말기폐질환환자에 대한 폐이식술에 대비하여, 유병률과 사망률의 가장 많은 부분을 차지하고 있는 허혈성 기도 합병증을 줄일 수 있는 방법의 모색에 있다.

연구방법

대망고정술과 동시에 기관의 이종이식 모델을 이용하였으며, 실험동물은 쥐 (rats)를 사용하였다. 실험에 사용된 쥐들은 모두 숫컷이었으며, 몸무게는 180~230 g의 생후 3주되고 동종번식된 Wistar 쥐들과 Sprague Dawley 쥐들을 사용하였다. 마흔 두개의 기관절편을 21마리의 Wistar 쥐들로부터 박리한 후 이 절편들을 7마리의 Wistar 쥐들과 35마리의 Sprague Dawley 쥐들의 복부에 있는 대망에 고정시켰다. 이식 대상이된 쥐들은 무작위로 분류하였으며, 모두 6개의 군으로 분류하였고 각 군마다 7마리씩 배당하였다. I군은 동인자형이식된 비교군으로 같은 Wistar 쥐들을 사용하였으며 면역억제제는 사용하지 않았다. II군부터 VI군까지는 모두 이인자형이식군들로 Sprague Dawley 쥐들을 사용하였고 각 군마다 면역억제제의 종류 또는 투여량을 달리하였다(Table 1). 이식후에도 모두 같은 환경과 조건하에서 사육하였다.

가. 공여동물의 조작

공여동물로 선정된 21마리의 Wistar 쥐들을 시술 12시간 전부터 금식을 시켰다. 마취는 각각의 쥐 복강에 500 UI/kg의 헤파린과 65 mg/kg의 pentobarbital sodium을 주사하는 방법을 사용하였다. 마취된 후에는 몸무게를 측정하였고, 목과 가슴 주위의 털을 깎았다. 수술판위에 사지를 반창고로 고정하였으며 절개부위를 10% Betadine 용액으로 소독하고 살균소독된 구멍포를 덮었다.

정중절개방법으로 목의 표피를 절개하고, 출혈이 되지 않게 기관을 조심스럽게 박리하였다. 기관이 노출되면 sternotomy scissor를 이용하여 부분 흉골절개술을 시행하여 기관의 분지부위까지 박리하였다. 기관이 전체적으로 박리되고 동원된 후에 근위부는 운상연골 아래부위에서, 원위부는 분기줄 상부에서 절제하여 기관적출을 실시하였다.

적출된 기관은 길이가 약 3cm 이었다. 항생제가 혼합된 0.9% 생리식염수 20cc로 기관내를 세정한후 가운데를 절제하여 이식될 기관절편의 길이가 1.5cm 정도되게 하였다. 분리된 기관은 연골과 연골 사이가 수축하는 성질이

Table 1. Experimental Design(n: Number of animals that survived all 14 days, W: Wistar, SD: Sprague Dawley).

Group	n	Donor	Recipient	Cyclosporin (mg/kg/day)	Methylprednisolone (mg/kg/day)
I	7	W	W	0	0
II	7	W	SD	0	0
III	7	W	SD	5	0
IV	7	W	SD	5	1
V	6	W	SD	15	0
VI	7	W	SD	15	2

있다. 기관절편의 길이를 분리이전의 길이상태로 유지하기 위하여 pressure line을 1.5cm 길이로 자른 후, 여기에 기관절편을 3-0 Prolene으로 고정시켰다.

한마리의 공여쥐로부터 두개의 이식 기관절편을 구하였으며, 근위부와 원위부의 구별은 두지않고 무작위로 실시하였다.

나. 이식대상동물의 조작 및 기관의 이종이식술(heterotopic transplantation)

이식대상동물인 7마리의 Wistar 쥐들과 35마리의 Sprague Dawley 쥐들도 시술 12시간 전부터 금식을 시켰었다. 마취는 Ketamine HCl을 사용하였으며 10mg/kg의 투여량을 근주하였다. 마취된 쥐는 몸무게 측정후 복부의 털을 깎았다. 수술판위로 옮긴 후에 반창고를 이용하여 사지를 고정시켰다. 복부 주위를 10% Betadine으로 소독한후 살균소독된 구멍포를 덮었다.

정중절개방법으로 표피를 절개하고 역시 근육과 복막도 절개하였다. 복막 절개후 복강안을 주의 깊게 관찰하여 감염여부를 확인하였으며 이상이 없으면 대망을 찾아 복강 밖으로 뺀후 이를 넓게 구멍포 위에 펼쳤다. 기관절편을 대망안에 넣고 말은후에 6-0 Prolene을 이용하여 대망고정술을 실시하였다. 복막과 근육은 5-0 Prolene을 이용한 연속봉합을 실시하였고, 표피는 3-0 Prolene을 이용하여 역시 연속봉합 하였다.

이종이식술을 받은 쥐들은 시술 당일 금식을 실시하였다.

다. 면역억제제 투여방법

면역억제제는 cyclosporin A (Sandimmune IV; Sandoz)와 methylprednisolone (Solu-Medrol; Upjohn)을 사용하였다. Cyclosporin A는 castor oil에 10 mg/mL가 되게 희석하였으며, methylprednisolone은 주사용 증류수에 2 mg/mL

가 되게 희석하였다. 특히 cyclosporin A는 castor oil에 균등하게 희석될 수 있도록 세심한 주의를 기울였다.

각각의 면역억제제는 주입 직전에 희석하였으며, 매일 피하주입 하였다. 주입량은 Table 1에 요약하였으며, 시술 전날부터 시작하여 술후 14일까지 주입하였다.

모든 이식쥐들에게 항생제는 사용하지 않았다.

라. 이종이식된 기관의 적출술

14일후 이식쥐들에게 pentobarbital sodium (65 mg/kg)을 복강내로 주입하여 마취를 실시 하였다. 몸무게 측정후 수술평위에 사지를 고정시켰으며, 10% Betadine용액으로 소독하였다.

구멍포를 덮은후에 이전의 개복위치를 피하여 개복술을 실시하였다. 복막을 절개한후 복강안의 감염여부를 확인 하였다. 이식된 기관절편, pressure line 절편, 그리고 이들을 둘러싸고 있는 대망을 동시에 절제하였다. 이식절편의 적출후에 이식쥐는 모두 사형 시켰다.

적출된 기관절편은 붙어있는 대망 등을 분리하지 않고 원형 그대로 0.9% 생리식염수에 세정후 formalin에 고정 하였다.

마. 이종이식된 기관의 조직학적 검사

이종이식된 기관의 생육성 정도를 정량화 하기 위하여 상피조직의 두께를 측정하였으며, 주관적으로 상피와 점막하조직의 구조를 검사하였다. 조직 슬라이드는 pressure line을 제거한 기관절편을 연골환 3개 간격으로 횡으로 잘라 3개의 절편으로 나누어 만들었으며, 염색은 H-E staining을 실시하였다. 상피조직의 두께와 재생정도는 다음에 설명하는 방법을 이용하여 측정하였고, 1개의 조직슬라이드에서 3곳의 상피를 측정하였다.

1) 상피조직의 두께 측정방법

1개의 조직슬라이드에는 1마리의 쥐에서 적출한 3개의 기관단면이 있도록 제작하였으며, 각각의 기관 단면에서 1곳을 무작위로 선택하여 두께를 측정하였다. 즉 1개의 조직슬라이드에서 3곳을 측정후 평균치를 구하였다. 측정방법은 일정부위의 상피면적을 잰 후 면적측정부위의 가로 길이를 측정하여 상피의 두께를 산출하였다(상피두께=면적/가로길이).

일정부위의 면적과 가로길이의 측정에는 computer-assisted morphometry(Leitz ASM 68 K)를 사용하였다. 현미경은 Leitz Diaplan(Jeppe Trading Co,LTD)를 이용하여 x250의 배율에서 측정하였다.

Grade 0 : no epithelium, single nonconfluent epithelial cells.

1 : confluent single layer nonciliated epithelium.

2 : confluent multilayer nonciliated epithelium.

3 : normal mucociliary epithelium.

2) 상피조직의 재생정도 관찰방법

상피조직의 재생정도는 다음의 Grade scoring system을 이용하였으며²⁹⁾, 판독은 이 실험에 대하여 모르는 병리과 의사에 의하여 실시되었다.

바. 결과의 통계처리 방법

모든 결과는 평균과 표준편차로 나타내었다. 자료의 분석은 SAS 통계 프로그램을 이용하여 실시하였다. GLM (general linear models) procedure를 이용하여 군간의 overall significance를 검정하였다. Overall F test가 유의할 경우에는 비교군과 기타 각 군을 pairwise 비교를 하였다. 다중비교로 인한 type I(α) error의 증가에 대해서는 Dunnett's method를 이용하여 보정함으로써 유의수준을 0.05로 유지하였다. 이인자형이식군간의 비교분석에는 GLM procedure중에 Bon Grouping을 이용하였다(Table 2, 3).

연구결과

기관의 이종이식술(heterotopic transplantation)을 받은 42마리의 쥐들중에 이식술 도중이나 직후에 사망한 경우는 없었다. 이식술후 별문제없이 지낼 수 있었으며, 술후 12일째에 V군 중에 1마리가 사망하였다. 부검을 하였지만 특별한 사망원인을 발견할 수 없었으며, 복강안의 감염흔 적도 없었다. 이식술후 14일이 경과될 동안 생존한 쥐는 모두 41마리(97.6%)이었다. 이종이식된 기관을 제거하기 위하여 개복술을 시행하였다. 이때 복강안을 유심히 관찰 하였지만 유착 등의 감염흔적은 전혀 없었으며 개복부위의 창상감염도 없었다. 즉 이식술후 스테로이드의 사용은 특별히 감염이나 염증반응의 비율을 높이지 않음을 알 수 있었다. Formalin 고정후, 조직 슬라이드를 만드는 과정에서 기관내의 심한 화농성염증으로 인하여 기관이 거의 소실된 경우를 2례 발견하였다. 각각 I군과 VI군에서 발견 되었다. 이 기관들의 화농성반응의 원인은 스테로이드에 의한 합병증이라 생각되지 않으며, 공여쥐로부터 기관적출후에 기관내경의 세정이 불완전 하였던 것으로 생각되었다. 조직슬라이드를 제작 가능하였던 경우는 모두 39례

Table 2. Bonferroni(Dunn) T test for epithelial thickness (Means with the same letter are not significantly different).

General Linear Models Procedure			
Bon Grouping	Mean	N	Group
A	29.933	6	VI
B	20.617	6	V
C	11.500	7	IV
C	6.529	7	III
C	4.660	5	II

Table 3. Bonferroni(Dunn) T tests for epithelial regeneration score (Means with the same letter are not significantly different)

General Linear Models Procedure			
Bon Grouping	Mean	N	Group
A	3.000	6	VI
A	2.333	6	V
B	1.429	7	IV
B	1.289	7	III
C	0.286	7	II

이었으며, 이들을 대상으로 상피조직의 두께와 재생정도를 조사하였다.

상피조직의 두께를 측정하여 동인자형이식(syngeneic transplantation)된 I군을 기준으로 비교하였다. 39례를 대상으로 상피조직의 두께를 측정하였으며, II군에 포함된 슬라이드중에 2개에서는 상피조직이 불연속적이고 상피조직이 거의 남아있지 않아서 통계처리에서 제외하였다. 37개 상피조직 두께의 측정결과는 Fig 1에 나타내었다. 각 군별로 상피조직 두께의 평균은 다음과 같았다—I군; $20.5 \pm 0.7 \mu\text{m}$, II군; $4.7 \pm 3.7 \mu\text{m}$, III군; $6.5 \pm 5.7 \mu\text{m}$, IV군; $5 \pm 3.7 \mu\text{m}$, V군; $20.6 \pm 3.3 \mu\text{m}$, VI군; $29.9 \pm 3.4 \mu\text{m}$. Wistar-Wistar간에 동인자형이식된 I군과 비교하여보면 면역억제제를 전혀 사용하지 않거나 소량의 CsA, 또는 소량의 CsA와 MP를 사용한 II, III, IV군에서 유의한 차이를 보이며 상피조직이 얇음을 알 수 있었다. 적량의 CsA를 사용한 V군에서는 I군과 비슷하였으며, 예상 밖으로 CsA과 MP를 적절히 사용한 VI군은 도리어 동인자형이식군보다도 통계학적으로 유의하게 두터웠다. 이인자형이식군(II-VI군)간에 다중비교를 실시 하였다. 면역억제제를 전혀 사용하지 않은 군과 소량 사용한 군인 III, IV군 사이에서는 유의한 차이를 발견할 수 없었다. 즉 면역억제제를 소량 사용하는 것은 전혀 쓰지 않는것과 같음을 알 수 있었다.

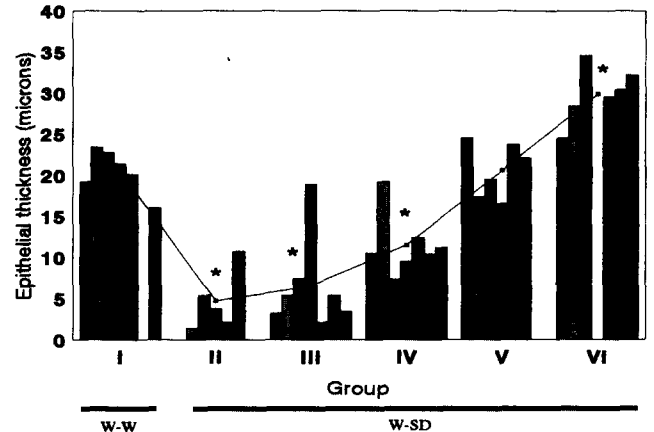


Fig. 1. Average epithelial thickness in heterotopic tracheal isografts of allograft with or without immunosuppression (SD=Sprague Dawley, W=Wistar, *=p<0.05 when compared with syngeneic controls. Line graph means the mean value of epithelial thickness)

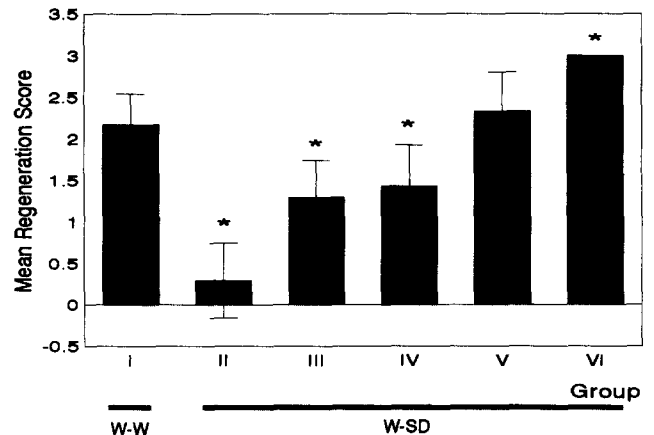


Fig. 2. Average epithelial regeneration score in heterotopic tracheal isografts or allografts with or without immunosuppression. Data are presented as mean \pm standard error (*p<0.05 compared with syngeneic controls, W=Wistar, SD=Sprague Dawley)

그러고 II, III, IV군과 면역억제제를 적량 사용한 V군, 또는 VI군 사이에는 유의한 차이가 있었고, 면역억제제를 적량 사용한 군들 사이에서도 (V군, VI군) 스테로이드의 사용 여부에 따라 유의한 차이를 발견할 수 있었다(Table 2).

상피세포의 재생정도를 관찰한 결과를 보면 이인자형이식군들에서 술후 면역억제제를 전혀 사용하지 않은 경우는(II군) 상피조직이 거의 남아있지 않음을 알 수 있었다 (Fig 2). 또 소량의 면역억제제를 사용한 군(III, IV군)도 I

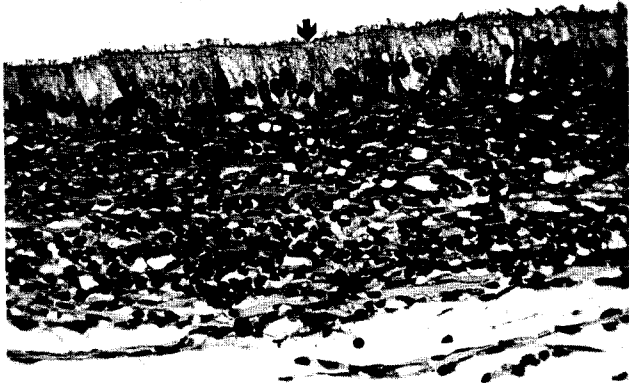
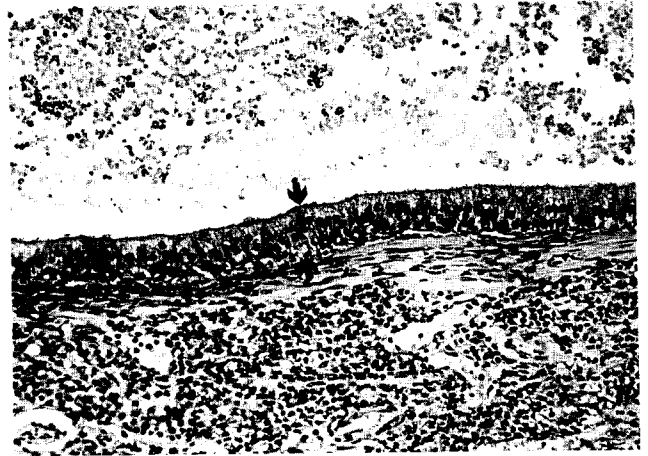
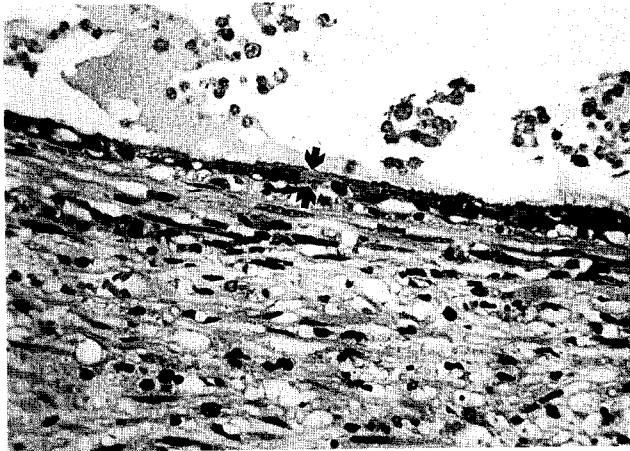


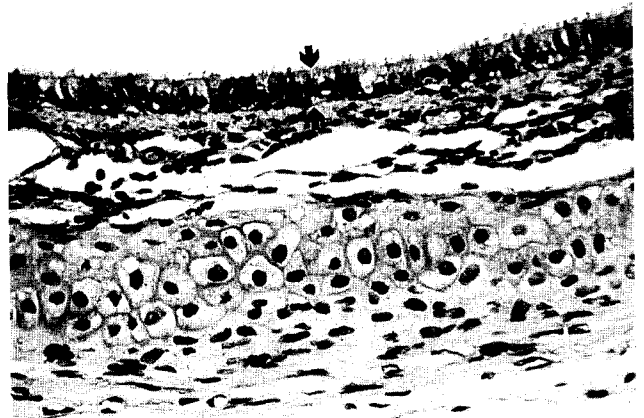
Fig. 3. A. Example of group I tracheal epithelium (The distance between the arrows is the epithelial thickness)



D. Example of group IV tracheal epithelium (The distance between the arrows is the epithelial thickness)



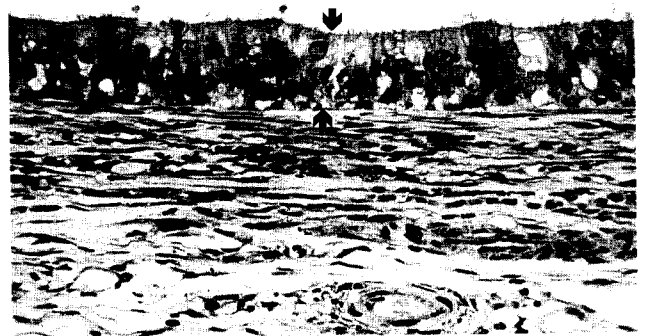
B. Example of group II tracheal epithelium (The distance between the arrows is the epithelial thickness)



E. Example of group V tracheal epithelium (The distance between the arrows is the epithelial thickness)



C. Example of group III tracheal epithelium (The distance between the arrows is the epithelial thickness)



F. Example of group VI tracheal epithelium (The distance between the arrows is the epithelial thickness)

군에 비하여 현격한 차이를 보였다. 그러나 면역억제제를 한가지만 쓰더라도 충분히 사용하면 동인자형이식군과 비슷한 상피조직의 재생이 가능함을 알 수 있었고(V군). CsA와 MP를 동시에 충분히 사용하면 정상적인 상피세포의 모양으로 재생이 가능함을 알 수 있었다(VI 군). 역시 이인자형이식군(II-VI군)간에 다중비교를 하여보면 크게 세군으로 분류됨을 알 수 있었다(Table 3). 즉 면역억제제를 전혀 사용하지 않은 군, 소량만 사용한 군, 그리고 적량을 사용한 군 사이에는 통계학적으로 뚜렷한 차이를 발견할 수 있었다.

Fig 3은 각 군의 상피세포의 모습을 1레씩 예를들어 나열한 조직학적 사진들이다.

고 찰

금세기는 심폐이식술, 단일폐이식술, 그리고 양폐이식술이 많은 실험적 시술과 시행착오를 거쳐 임상에 적용된 기간이며, 현재는 확고하게 임상적 한 분야를 차지하여 수없이 많은 인명을 구하는 중요한 역할을 담당하고 있다^{1, 2, 38}.

심장 및 폐이식의 기원은 1905년 최초로 이중심폐이식술을 시행한 Carrel 이다. 1946년 러시아의 생리학자인 Demikhov는 동물실험의 결과를 획기적으로 향상시킬 수 있는 수술기법을 창안하였고, 1947년에는 개의 각각의 폐엽이식에 성공하였으나, 당시 이는 서구세계에 알려지지 못하였다. Jevenelle 등은 개의 폐를 재이식한후 생리변화에 대한 연구를 1951년에 발표하였고, 비슷한 시기에 프랑스의 Metras는 개폐엽의 자가이식에 대한 수술기법을 발표하였다. 1954년에는 미국의 Hardin과 Kittle 등이 현재 까지도 변함없이 사용되는 개를 이용한 단일 폐이식에 대한 술식을 발표하였으며, 1957년에는 Webb에 의한 체외순환의 개념이 도입되기 시작하였다. 초창기의 연구자들은 이식폐 기능저하가 보통 일주일내의 사망원인이라 생각하였고, 이를 거부반응으로 간주하였다. Hardy는 methotrexate를 사용하여 이식견의 술후 생존기간을 두배이상 연장 시켰으며, azathioprine 또는 azathioprine과 hydrocortisone을 같이 사용하면 평균 29일까지 생존시킬 수 있다는 사실을 발견하였다. 이를 바탕으로 Hardy는 1963년 미국 Mississippi대학에서 최초로 단일폐이식술을 임상에서 성공시켰다. 그의 최초 환자는 술후 18일을 생존하였으나, 신부전과 영양결핍으로 사망하였다. 그이후 20년동안 전세계에서 40례의 폐이식술이 시도되었지만 성공례는 단 1례에 불과하였다. 이 환자는 1971년 Belgium의 Derom이

시술한 23세의 silicosis환자였으며, 최초로 퇴원한 환자였다. 이 환자는 술후 10개월을 생존하였고 만성거부반응과 폐혈증으로 사망하였다. 이와같이 오랜기간의 침체기에서 다시 폐이식술의 성공가능성을 생각하게해준 계기는 Reitz와 Stanford 그룹이 1981년에 말기심부전과 폐혈관고혈압을 동반한 환자에서 심폐이식술을 성공시킨 사건이었다. 심폐이식술은 1968년 Cooley가 Lower, Shumway, 그리고 Webb 등의 연구를 기초로 임상에 적용하여 실패한 경험이 있었다. Marcus는 1952년에 cortison을 사용한 면역억제법을 도입하였으나 이식폐의 성적에는 큰 영향을 미치지 못하였다. 그후 1976년 Borel이 면역억제제로 cortison대신에 cyclosporin A를 사용하면서 이식술이 임상적으로 가능한 술식이 되었고, 수술방법의 개발과 더불어 1981년 Stanford 그룹 성공의 기초가 되었다^{25, 26}. 1983년 Toronto대학의 Cooley, Pearson 등은 기관지 결합부위에 대망고정술(omentopexy)을 실시하고 수술직후에는 스테로이드의 사용을 제한하여 58세 말기폐섬유증 환자에서 단일폐이식술을 시행하여 6년 반을 생존시킬 수 있었다¹. 일단 폐이식술에 대한 성공 가능성이 확인된 이후에는 전 세계에서 말기폐질환 환자에 대한 폐이식술이 심각히 고려되기 시작하였으며, 현재에는 단일폐이식술은 폐섬유증, 폐기종, 일차 폐동맥고혈압, 그리고 심기형을 동반한 Eisenmenger 증후군에 성공적으로 시술되고있다^{1, 4, 6, 7, 35}. 양폐이식술도 폐기종 또는 폐섬유증에 적용되고 있으며, 폐공여자의 선택, 폐보존방법의 개발, 그리고 술후 치료방법이 발전하면서 유병률과 사망률이 급속히 감소되고있다. 이런 과정을 거치면서 지난 10년동안 단일폐이식술과 양폐이식술은 여러 말기폐질환의 공인된 치료방법으로 정착하게 되었다^{24, 25, 26}.

그러나 폐이식술에 대한 많은 문제점들이 산재해 있으며 이를 해결하기 위하여 많은 연구가 동시에 진행중이다. 세계 각국에서 시행되고 있는 연구들은 크게 다음의 세가지로 분류될 수 있다. 첫째는 급성 또는 만성거부반응의 진단 및 치료방법의 개발이며, 둘째는 이식 가능한 폐의 수를 늘리기 위하여 공여자 관리방법의 개발이고, 셋째는 공여폐의 보존기간을 늘리기위한 보존방법의 개발 등이다.

1981년에 처음으로 임상에서 폐이식술이 성공하기 이전에는 이식술후 10일이상 생존한 사람들의 가장 큰 사망원인은 기관지 접합부위의 합병증 이었다. 초창기 Toronto 그룹의 이식술 성공도 부분적으로는 기관지 접합부위에 항상 대망고정술을 시술하였기 때문이다. 대망고정술을 사용하여 이식폐 기관지의 맥관재생을 촉진하고, 약간의

접합부 파열도 해결할 수 있었기 때문이다. 그러나 그 이후에도 기관지 접합부 합병증은 여전히 이식술후의 유병률과 사망률의 주요한 원인이 되어왔다⁴⁾.

1990년까지도 이식술후 스테로이드의 사용은 기관지 결합력을 저하시킨다는 이유로 회피되어 왔다^{7, 11)}. 그러나 최근의 실험에서는 스테로이드의 사용이 도리어 결합부의 염증 및 기관지 합병증을 줄인다는 보고가 이어지면서¹⁶⁾, San Antonio 그룹을 중심으로 임상에서의 스테로이드 사용이 검토되기 시작했으며, 좋은 임상결과들이 보고되고 있다.

이 실험에서 본 연구자는 상피조직을 정량적, 또는 정성적으로 평가하여 이종이식된 기관 생육성의 정량적 분석을 시도하였다. 최근에는 기관의 혈관신생과 상피조직 재생과의 밀접한 관계가 보고되었으며^{17, 18)}, 혈관신생을 측정하는 방법등이 소개되고 있다²⁰⁾. 그러나 이번 실험에서는 기관의 혈관신생 정도는 측정하지 않았다. 이 실험에서는 거부반응이 상피조직의 재생에 큰 영향을 미친다는 것을 보여주고 있다. 한편으로 적절한 면역억제제의 사용은 상피조직재생에 중요하다는 점도 보여주고 있으며, 이는 적량의 CsA 또는 CsA 와 MP를 사용한 V군과 VI군에서 면역억제제를 적게 사용하거나 사용하지 않은 군들보다 의미있게 좋은 생육성을 보여주는것이 그 증거이다.

이번 실험중에 특이한 점은 VI군에서의 결과가 동인자형이식군(I군)보다 상피조직이 더 두텁고, 모양도 정상 상피조직과 비슷하다는 것이다. 이 결과는 기관주위의 염증 반응을 줄여 맥관형성을 촉진하고, 이에따른 상피조직에 대한 직접적인 영양효과 때문이라 생각된다.

스테로이드 자체는 맥관형성을 저해하는 것으로 알려져 있으며, 스테로이드의 종류에 따라 그 성질은 차이가 있다. 예를 들면 dexamethasone은 cortisone에 비하여 맥관형성력이 떨어지는 것으로 알려지고있다. 비록 이 실험에서 충분한 스테로이드만 사용한 경우는 실험하지 못하였지만, CsA-MP 조합의 효과에 대하여 실험한 이유는 대부분의 임상에서 이를 사용하고 있기 때문이다.

이 실험에서 사용한 상피재생정도의 점수방법은 1979년과 1989년 쥐와 햄스터의 기관에 기계적 또는 화학적 자극후의 상피재생에 대한 실험결과에 근거하였다^{17, 19)}. I군의 결과에서 보듯이 이식술후 14일은 상피조직 재생에 충분한 시간이 되지 못한다. 그러나 초기 거부반응은 대부분이 기간안에 발생하므로 강력한 면역반응의 형성에는 충분한 기간이 된다.

이번 실험에 사용된 쥐 기관을 이용한 이종이식 실험모델은 실험하기가 간단하고, 경제적이며, 한번에 많은수의

실험이 가능하여 통계학적 유의성 산출에 유리하다. 그 이외에도 폐순환으로 부터의 역행적 측부순환을 배제할 수 있다는 장점이 있다. 반면에 이와같이 혈액순환이 완전히 차단된 기관이식은 폐실질과 접하고 있는 기관이식에 비하여 거부반응이 발생할 확률이 떨어지고, 기관의 수축을 방지하기 위하여 이물질을 같이 복강안에 넣어야하는 단점도 있다.

예방목적으로 항생제의 사용은 하지 않았으며, 이에따른 감염 또는 국소적 염증반응은 없었다. 이 실험에 사용된 면역억제제의 용량은 CsA가 피하주사와 경구투여의 흡수율이 비슷한 점을 고려하여 사람의 경구용량을 기준으로 하였다²⁰⁾.

결론

본 연구자는 쥐 기관의 이종이식모델을 이용하여 cyclosporin A와 methylprednisolone이 이식된 기관의 생육성에 미치는 영향에 대하여 실험하였으며, 그 결과를 정량분석하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 이종이식된 기관의 상피조직 재생은, 동인자형이식군에 비하여 면역억제제를 전혀 사용하지 않거나 소량 사용한 이인자형이식군에서 의미있게 덜 되었다.
2. Cyclosporin A를 충분히 사용할 경우 이인자형이식군에서도 동인자형이식군 과 같은 상피조직 재생을 보일 수 있었다.
3. 충분한 용량의 cyclosporin A와 methylprednisolone을 같이 사용한 경우는 cyclosporin A만 사용한 이식군보다 더 좋은 상피조직의 재생을 보였고, 스테로이드 사용으로 인하여 특별히 증가된 감염증거는 없었다.
4. 충분한 용량의 cyclosporin A와 methylprednisolone을 같이 사용한 이인자형 이식군은 동인자형이식군보다도 더 좋은 상피세포 재생을 보였다.
5. 이인자형이식군에서 소량의 cyclosporin A, 또는 소량의 cyclosporin A와 methylprednisolone을 사용한 군은 전혀 면역억제제를 사용하지 않은 군과 상피세포의 두께에서는 차이가 없었으나, 재생정도에서는 차이를 보였다.
6. 면역억제제를 소량 사용한 군과 충분히 사용한 군 사이에는 의미있는 차이가 있었다.

이상의 결론으로 미루어 볼때 단일페이식술 또는 양페이식술시 cyclosporin A와 methylprednisolone을 이용한 충분한 양의 면역억제제를 사용할 경우에는 그동안 문제가 되어왔던 기관지 결합부위의 허혈성 합병증을 줄일 수 있

을 것이며,스테로이드 사용으로 인한 결합부위의 약화와 감염문제도 도리어 거부반응이 강력히 억제되면 염증반응이 줄면서 맥관재생력이 향상되어 큰 문제가 되지 않는다는 것을 알 수 있었다.

References

1. Cooper JD. Lung transplantation. Ann Thorac Surg 1989;47:28-44
2. de Hoyos AL, Patterson GA, Maurer JR, Ramirez JC, Miller JD, Winton TL. Pulmonary transplantation. J Thorac Cardiovasc Surg 1992;103:295-306
3. Takao M, Katayama Y, Odonda K, et al. Significance of measurements of bronchial mucosal blood flow for the monitoring of acute rejection of transplanted lungs. Transplantation 1990;50(2):345-8
4. Patterson GA, Todd TR, Cooper JD, Pearson FG, Winton TL, Maurer J. Airway complications after double lung transplantation. J Thorac Cardiovasc Surg 1990;99:14-21
5. Pearson FG, Goldberg M, Stone RM, Colapinto RF. Bronchial arterial circulation restored after reimplantation of canine lung. Can J Surg 1970;13:243-50
6. Siegelman SS, Hagstrom JWC, Koerner SK, Veith FJ. Restoration of bronchial artery circulation after canine lung allotransplantation. J Thorac Cardiovasc Surg 1977;73:792-5
7. Fujimura S, Kondo T, Handa M, et al. Histologic assessment of bronchial anastomotic healing in canine lung transplantation. J Thorac Cardiovasc Surg 1987;94:323-30
8. Turrentine MW, Kesler KA, Wright CD, et al. Effect of omental, intercostal, and internal mammary artery pedicle wraps on bronchial healing. Ann Thorac Surg 1990;49:574-9
9. Legal YM, Chittal SM, Wright ES. Peritracheal membranous adipose tissue for early revascularization of the bronchial anastomosis. Can J Surg 1987;30(5):333-7
10. Lima O, Cooper JD, Peters WJ et al. Effects of methylprednisolone and azathioprine on bronchial healing following lung autotransplantation. J Thorac Cardiovasc Surg 1981;82:211-5
11. Goldverg M, Lima O, Morgan E, et al. A comparison between cyclosporin A and methylprednisolone plus azathioprine on bronchial healing following canine lung autotransplantation. J Thorac Cardiovasc Surg 1983;85:821-6
12. Hall TS, Borkon AM, Gurtner GC, et al. Improved static lung preservation with corticosteroids and hypothermia. J Heart Transplant 1988;7:348-52
13. Novick R, Menkis AH, McKenzie FN, et al. The safety of low dose prednisone before and immediately after heart-lung transplantation. Ann Thorac Surg 1991;51:642-5
14. Inui K, Wada H, Yokomise H, et al. Evaluation of a bronchial anastomosis by laser Doppler velocimetry. J Thorac Cardiovasc Surg 1990;99:614-9
15. Becci PJ, McDowell EM, Med BV, Trump BF. The respiratory epithelium. IV. Histogenesis of epidermoid metaplasia and carcinoma in situ in the hamster. J Natl Cancer Inst 1978;61:577-86
16. Davreux CJ, Chu NH, Waddell TK, Mayer E, Patterson GA. Improved tracheal allograft viability in immunosuppressed rats. Ann Thorac Surg 1993;55:131-4
17. Keenan KP, Saffiotti U, Stinson SF, Riggs CW, McDowell EM. Morphological and cytokinetic responses of hamster airway to intralaryngeal or intratracheal cannulation with instillation of saline or ferric oxide particles in saline. Cancer Res 1989;49:1521-7
18. Keenan KP, Combs JW, McDowell EM. Regeneration of Hamster tracheal epithelium after mechanical injury. Virchows Arch (Cell Pathol) 1982;41:193-214
19. McDowell EM, Med BV, Becci PJ, Schurch W, Trump BF. The respiratory epithelium. VII. epidermoid metaplasia of hamster tracheal epithelium during regeneration following mechanical injury. J Natl Cancer Inst 1979;62:995-1008
20. Romaniuk A, Prop J, Petersen AH, Nieuwenhuis P, Wildevuur RH. Class II antigen expression on bronchial epithelium in rat lung allografts is prevented by cyclosporine treatment. Transplant Proc 1987;19:218-9
21. Festenstein H, Banner N, Smith J, et al. The influence of HLA matching and lymphocytotoxic antibody status in heart-lung allograft recipients receiving cyclosporine and azathioprine. Transplant Proc 1989;21(1):797-8
22. Hasegawa S, Yokomise H, Wada H, Hirai T, Hitomi S. FK 506 and cyclosporin: Effects and side effects in canine lung transplantation. Transplant proc 1991;23(6):3304-5
23. Norin AJ, Kamholz SL, Pinsker KL, Emeson EE, Veith FJ. Cyclosporine induced tolerance in experimental organ transplantation. J Immunol 1987;139(2):332-7
24. Aziz S, Oyer PE, Kates RE. Cyclosporine serum concentrations soon after heart or heart-lung transplantation. J Clin Pharmacol 1986;26:652-7
25. Cleary JD, Davis G, Raju S. Cyclosporine pharmacokinetics in a lung transplant patient undergoing hemofiltration. Transplantation 1989;48(4):710-2
26. Cohen DJ, Loertscher R, Rubin MF, Tilney NL, Carpenter CB, Strom TB. Cyclosporine: A new immunosuppressive agent for organ transplantation. Ann Intern Med 1984;101(5):667-82
27. Oyer PE, Stinson EB, Jamieson SW, et al. Cyclosporine in cardiac transplantation: A 2 1/2 year follow-up. Transplant Proc 1983;15:2546-52
28. Pearson FG. Lung transplantation. Arch Surg 1989;124:535-8
29. Bullard AM, Petersen A, Wildevuur CRH, Prop J, Crapo JD. Lung transplantation in the rat-A morphologic analysis of the gas exchange region. Transplantation 1991;53(3):443-9
30. Margreiter R. Impact of cyclosporine on organ transplantation. Transplant Proc 1991;23(4):2180-2