

쥐모델에서의 이소성의 심장이식

정 원 상*· 전 양 빈*· 전 순 호*· 김 혁*· 이 철 범*
김 영 학**· 지 행 옥*· 서 정 국**· 공 구***

=Abstract=

Heterotopic Heart Transplantation in the Rat Model

Won Sang Chung, MD. *, Yang Bin Jeon, M.D. *, Soon Ho Chun, M.D. *, Hyuk Kim, MD. *,
Chul Burm Lee, M.D. *, Young Hak Kim, M.D. *, Heng Ok Jee, MD. *,
Jung Kuk Seo, M.D. **, Gu Kong, M.D. ***

In 1964, Abbott and Colleagues published the world's first heterotopic heart transplantation technique in the rat. Their method established circulation by end-to-end anastomoses of the graft's aorta and pulmonary artery to the recipient's abdominal aorta and Inferior Vena Cava(IVC), respectively. In 1966, Tomita et al altered Abbott's technique by employing end-to-side rather than end-to-end anastomoses, thus eliminating the hind leg paralysis that sometimes resulted from Abbott's technique. In order to prevent postsuture hemorrhage (since 7-0 silk suture was the finest available at that time), Tomita's aortic anastomosis was done with double up-and-down continuous suture technique. A single layer continuous anastomosis effected the pulmonary artery-IVC anastomosis. The availability of Nylon monofilament suture made it possible for Ono and Lindsey to use a single layer suture technique for the aortic end-to-side anastomosis in their modified rat heart transplantation. We observed survival time between control group and Immunosuppression(Cyclosporine administration, 10mg/Kg×4 times postoperatively) group after heterotopic heart transplantation in the rat model. The cyclosporine administration group survived longer than the control group, thus we concluded that cyclosporine was based on Immunosuppressive drugs.

(Korean J Thorac Cardiovasc Surg 1998;31:531-5)

Key word : 1. Heart transplantation
2. Allograft
3. Immunosuppression

* 한양대학교병원 흉부외과학교실

Department of Thoracic and Cardiovascular Surgery, Hanyang University Hospital

** 한양대학교병원 마취과학교실

Department of Anesthesiology, Hanyang University Hospital

*** 한양대학교병원 조직병리학교실

Department of pathology, Hanyang University Hospital

† 본 연구는 한양의료재단의 연구비 지원에 의해 이루어졌음

논문접수일 : 97년 5월 22일 심사통과일 : 97년 12월 8일

책임저자 : 정원상, (133-070) 서울특별시 성동구 행당동 17번지, 한양대학병원 흉부외과학교실. (Tel) 02-290-8461, (Fax) 02-290-8462,

본 논문의 저작권 및 전자매체의 지적소유권은 대한흉부외과학회에 있다.

서 론

세계적으로 많은 심장 및 폐이식이 이루어지고 있는 지금, 쥐에서와 같은 작은 동물에서의 심장이나 폐이식 또한 미세 수술의 발달과 함께 많은 발전이 이루어져 왔다. 이러한 미세 수술의 기법은 1961년 Lee 등이 porto-caval shunt를 발표함으로써 이에 관심을 갖게 되었으며, 1964년 Abbott 등이 쥐에서의 이소성의 심장이식을 처음 발표한 후 1966년 Tomita 등이 Abbot의 변형술식을 발표하였으며, 그 후 1968년 Ono & Lindsey 등이 현재 많이 이용되고 있는 이소 심장이식을 성공시켰던 바, 이는 더욱 가는 봉합사, 마취, 및 미세수술기법의 발전과 함께 이루어 졌으며, 아직 많은 수술기법의 발전등의 여지를 남겨 놓고 있다. 이러한 작은 동물에서의 이소성 심장이식은 심장이식 수술, 심장 허혈 및 재관류시의 손상과 이식 수술후의 면역요법을 연구하는 데 매우 경제적인 방법이 되고 있다.

실험방법 및 대상

기증 및 수령쥐 양쪽 모두 무게가 150~250 gm인 잡종 흰 쥐를 이용하였다. 기증쥐는 일시적인흡입마취 후에 50 mg/Kg의 용량으로 phentotal을 복막하 투여하여 마취한 후 정중복부절개와 양측 액와절개를 시행하여 흉부를 노출하여 상공정맥(Superior Vena Cava)을 결찰한 후 좌측 폐를 우측으로 전이 후 좌 반기정맥(hemiazygous vein)을 양측으로 결찰한 후 그 사이를 자르고 상행 대동맥을 우무명동맥이 나가는 기시부에서 자르고 난 후 심장박동이 있으며 절개된 대동맥에서 피가 나오는 상태에서 하공정맥을 통해 관류액(4℃)을 약 6~8 ml를 주입한 다음, 주폐동맥을 자르고 양측의 동맥이 나가는 것을 확인한 후 그 말초부를 결찰한 후 이 하부위를 짜르게 되면 심장만을 적출하게 된다. 이 적출된 심장을 4℃의 저장액(정상 식염수)에 담아 수령쥐의 이식수술이 준비될 때까지 보관 저장하게 된다.

수령쥐는 흡입마취제인 Ether나 Enflurane에 마취후 정중복부절개하에 복부의 장기를 좌측으로 놓고 복부대동맥과 하공정맥의 주위를 박리한 다음, 연결할 부위의 기저부(Proximal)와 말초부(Distal)를 혈관감자로 물어놓고 11번 칼로 복부대동맥을 가로로 알맞게 절개하고 하공정맥은 가위로 연결할 만큼 절개한 후 저장액에 보관된 심장을 수령쥐의 복부에 갖다 놓고 현미경하에서 6배율하에서 기증 심장의 대동맥과 수령쥐의 절개된 복부대동맥 부위를 9-0 Nylon으로 연속봉합방법으로 문합술을 시행한다. 동맥문합술이 끝난 후 기증 심장을 좌측으로 돌린 다음 폐동맥과 절개된 하공정맥사이를 9-0Nylon으로 연속봉합방법으로 문합술을 시

행한 다음 양측으로 지혈되게끔 눌러 놓은 후 혈관감자를 서서히 풀고 출혈여부를 확인한 후 이식된 심장의 박동이 저절로 돌아오게됨과 출혈이 없음을 확인하고 복부장기를 복부내로 넣은 다음 복부절개를 층별로 봉합하게 된다. 이러한 이소성의 심장이식후 면역억제제인 사이클로스포린(Cyclosporine 로슈제약)을 10 mg/kg의 용량으로 수술직후, 수술후 1일, 3일과 7일에 복막내로 투여하였으며, 이들 면역억제제를 투여한 군중에서 한달이상의 장기생존을 보인 군에서는 경구투여용 사이클로스포린(Implanta 한미약품)을 물에 타서 먹였다. 또한 면역억제제를 투여한 군과 면역억제제를 투여하지 않은 군으로 각각 나누고 각군에서 복부내 이식된 심장의 박동을 매일 측정하여 확인한 다음 심장박동이 측정되지 않을 경우 이식된 심장이 거부반응을 보이는 것으로 하였다. 이 두군사이의 이식된 심장의 생존 기간을 비교 검토하였고, 장기생존 군에서 한달이내, 한달에서 석달, 석달이상으로 각각 나누어 이들을 희생(sacrify)시켜 이들의 이식심장에 대한 조직검사를 시행하였다.

결 과

상기의 수술방법으로 이소성의 심장이식술시 총 허혈시간은 대개 1시간 이내였고, 수술시간은 30분이 소요되었으며, 수술후 7일 이내에 사망한 경우는 수술에 따른 사망으로 각군에서 제외하였다. 또한 이러한 이소성의 심장이식을 한 후 복부내 이식된 심장의 박동을 매일 측정하여 확인하고 만일 박동의 측지가 약하거나 없으면 심전도로써 확인하였다. 면역억제제를 투여하지 않은 군에서는 수술후 18일, 14일, 24일, 16일과 21일까지 심장 박동을 느낄 수 있었으며, 면역억제제인 사이클로스포린을 투여한 군에서는 수술 후 30일, 37일에 사망한 두 마리의 나머지는 60일이상 그중 3마리는 100일이상 생존하였다. 이에 양군에서의 평균 생존기간은 18일과 50일 이상으로 현저한 차이를 보이고 있다. 이로써 동종이형의 이소성의 심장이식후에 면역억제제인 사이클로스포린을 투여하므로써 기본적으로 장기이식에 따른 장기성적을 향상시킬 수 있음을 알 수 있었다. 이런 이소성의 심장이식술에 관한 수술기법과 함께 수술후의 면역억제제 투여에 따른 이식심장의 생존과의 관계가 연관이 있는지의 여부를 판단하기 위해 일정기간 생존후에 조직검사를 시행하고 이의 결과와 연관지어 평가하고자 하였다. 조직검사의 평가는 1982년 Lurie 등과, 1992년 Adams 등에 의해 발표된 거부반응의 정도를 변형하여 나누었다. 이에 대조군에서는 3례에서 급성거부반응을 보였으며(Fig. 1), 면역억제제를 투여한 군에서는 수술에서부터 희생시까지의 기간을 1개월이내, 1-3개월, 3개월이상으로 각각 나누어 비교하였다. 1개월이내의 4례 조

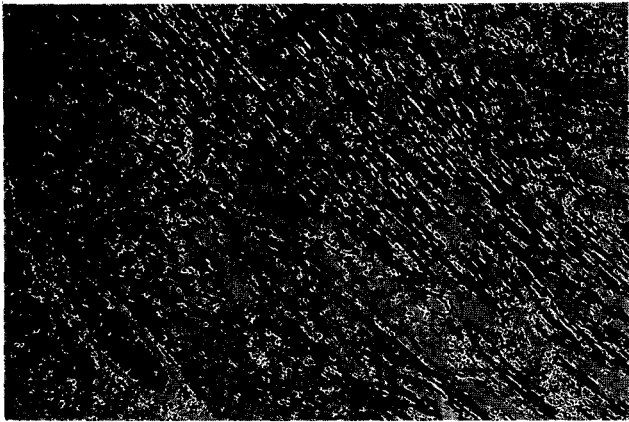


Fig. 1. Acute Rejection : Extensive inflammatory infiltrates are seen in interstitium, associated with marked dilatation of capillaries and venules as well as severe edema

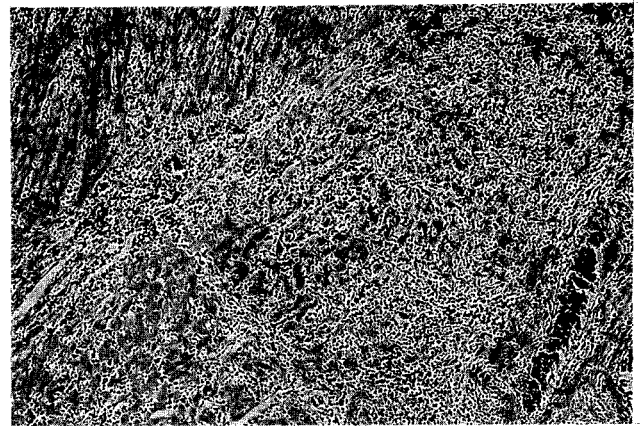


Fig. 2. Severe Chronic Rejection, Grade III: Inflammatory infiltrate is extensive and accompanied by marked degenerative change in myocardial fibers

직검사상 3례에서 grade 0기로 거부반응이 없었고, 1-3개월군에서는 grade 0기가 1례, grade 1기가 3례를 보였으며, 3개월 이상 군에서는 grade 0기 2례, grade 1기가 1례, grade 2기가 1례, 감염을 보인례가 3례로 생존기간이 오래 지남에 따라 점차 만기 거부반응을 심하게보임을 알 수 있으며(Fig. 2), 기간에 따라 감염례가 증가되어 나타내는 것으로 봐서 사이클로스포린의 혈중농도와 혹은 장기적인 사용에 따른 감염이 증가되는 것이 아닌가한다.

고 찰

대체적으로 처음 심장이식은 1905년 시카고대학의 Carrel과 Guthrie에 의해 개에서 시도되어 2시간을 살렸던 보고가 있으며 그후 꾸준히 연구되어 왔으나. 인체에서는 1963년 Hardy¹⁾등이 처음 시도하였으나 실패하였고, 쥐와 같은 작은 동물에서의 이식은 1961년 Lee²⁾등이 porto-caval shunt를 발표함으로써 미세수술의 기법의 발달과 함께 이에 관심을 갖게 되었으며 1964년 Abbott³⁾등이 쥐에서의 이소성의 심장이식을 처음 발표한 후 1966년 Tomita⁴⁾등이 Abbott의 변형 술식을 발표하였으며 그 후 1968년 Ono & Lindsey⁵⁾등이 현재 많이 이용되고 있는 이소 심장이식을 성공시켰던 바, 이 후 더욱가는 봉합사의 발달, 마취 및 미세수술의 기법의 발전과 함께 이루어 졌으며, 이러한 적은 동물에서의 이소성의 심장이식은 심장이식수술기법의 발달, 심장허혈 및 재관류시의 손상과 이식수술후의 면역요법 등을 연구하는 데 매우 경제적인 실험방법이 되고 있다고 하겠다. 1987년 Beeman⁶⁾등은 간단한 저체온 보관(simple hypothermic storage)만으로도 이들 공여 심장의 보관후 간헐적 재관류(intermittent reperfused heart)식의 9시간 보존후에도 심장의 수축력은 있었다고 보고

하였다. 또한 1985년 Solis⁷⁾등은 혈액내에 Ibuprofen을 첨가하여 지속적인 관류(Continuous perfusion)를 시행하여 12시간 보관후에 심장이식을 하였어도 관상동맥내의 혈류저항(Coronary vascular Resistance)이 낮아 만족스러웠다고 하였다. 1992년 Stringham⁸⁾등은 임상적으로 심장 보존은 단지 4~6시간정도이고 간, 신장, 췌장등은 24~48시간정도까지 저온에서 허혈에 견딜 수 있다고 하였다. 1992년 Toshiba^{9,10)}등은 쥐 실험에서 3시간의 콜린 용액에 보관 후에도 좌심실기능이나 효소치의 변화에 있어 기능적인 회복을 나타냈다고 하였다. 1994년 Kahan¹¹⁾은 동종 이형이식(Allotransplantation)에서 사이크로스포린(Cyclosporine A, CsA)은 인체 이식에서 가장 많이 이용되고 있는 약물이며, 일차적 효과는 신소동맥(renal Arteriole)의 혈관 수축을 일으켜 전사구체 저항(preglomerular resistance)을 증가시켜 신장독성(Neprototoxicity)을 나타낸다고 하였다. 그의 Azathioprine, Prednisone, 등과 같은 면역억제제와 함께 이용되고 혼합요법이 synergistic effect를 나타내고 이에 따른 부작용 또한 용량과 관계된다고 하나, 본 연구실험에서는 작은 동물에서의 실험이라 이를 무시하였다. 이에 본 연구에서는 미세수술을 이용한 이소성의 심장이식을 쥐에서 시행한 후 T-cell mediated cytotoxicity에 작용하는 것으로 알려진 면역억제제인 사이크로스포린을 정상적인 수술후 용량(10 mg/kg)으로 투여하여 이식된 기관의 생존을 연장시킬 수 있음을 증명하고자 하였다. 결과적으로 수술후 일주일 이내에 수술에 관여되어 사망하는례를 제외한 대조군에서는 대개 14일에서 부터 24일까지로 3주일 이내에 거부반응으로 인해 이식된 심장이 커지면서 섬유화소견을 보이고 있으나, 면역억제제인 사이크로스포린을 투여한 군에서는 수술후 30일과 37일에 사망한 2례를 제외하고는 60일 이상 생존하였고 이식된 심장은 거부반응이 아닌 점차 작아지는 소견을

참 고 문 헌

1. Hardy JD, Webb WR, Dalton ML Jr, Walker GR Jr. *Lung homotransplantation in man*. JAMA. 1963;186:1065-71.
2. Lee SH, and Fisher B. *Portocaval shunt in the rat*. Surgery 1961;50:668-72.
3. Abbott CP, Lindsey ES, Creech OJ, et al. *A technique for heart transplantation in the rat*. Arch. Surg 1964;89:645-52
4. Tomita F. *Heart Transplantation in the rat*. Sapporo Med. J (Japan) 1966;30:165-71.
5. Ono K, Linsey ES. *Improved technique of heart transplantation in rats*. J Thorac Cardiovasc Surg 1969;57: 225-7.
6. Beeman SK, Shuman TA, Perma AM, et al. *Intermittent reperfusion extends myocardial preservation for transplantation*. Ann Thorac Surg. 1987;43:484-9.
7. Solis E, Tago M, Kaye MP. *Cardiac function following prolonged preservation and orthotopic transplantation*. Transplant 1985;4:357-62.
8. Stringham JC, Southard JH, Hegge J, et al. *Limitations of heart preservation by cold storage*. Transplant 1992;53: 287-94.
9. Toshima Y, Matsuzaki K, Mitani A, et al. *The myocardial recovery mode after cold storage for transplantation with Collin's solution and cardioplegic solution: a functional and metabolic study in the rat heart*. J Thorac Cardiovasc Surg. [In Press]
10. Kohno H, Shiki K, Ueno Y, Tokunaga K. *Cold storage of the rat heart for transplantation: Two types of solution required for optimal preservation*. J Thorac Cardiovasc Surg 1987;93:86-94.
11. Kahan BD. *Role of cyclosporine. Present and Future*. Transplant Proc 1994;26:3082-87.
12. Geenen DL, Malhotra A, Buttrick P, et al. *Increased heart rate prevents the Isomyosin shift after cardiac transplantation in the rat*. Circ Res 1992;70:554-8.
13. Masters TN, Robiscek F, Schaffer J., et al. *Effects of canine donor heart preservation temperature on posttransplant left ventricular function and myocardial metabolism*. Transplantation. 1994;57:807-11.
14. Kriett JM, Kaye MP. *The registry of the International Society for Heart and Lung transplantation: eighth official report-1991*. J Heart Lung Transplant 1991;10:491-8.
15. Shumway SJ, Shumway NE. *Thoracic Transplantation*. Blackwell science Inc. 1995;P252-72.
16. Lurie KG, Billingham MG, Jamieson SW, et al. *Pathogenesis and Prevent Arteriosclerosis in an experimental heart transplant model*. J Transplant. 1981;31:41-7.
17. Adams DH, Tilney NL, Collins JJ Jr, et al. *Experimental graft arteriosclerosis*. J Transplant 1992;53:1115-9.

보여, 이는 기능적인 아닌 우심실의 퇴화(atrophy)에 의한 것이 아닌가 한다. 또한 이들 군에서 이소성의 심장이식후 복부에서의 심장박동이 약할 경우 심전도 검사를 하여본 바, 기존의 자가 심장의 박동은 약 330회 였으나 복부 이식된 심장의 박동은 약 250회로 서로 상이한 차이를 보였다. 이와같이 이소성의 심장이식은 기존의 심장박동과 서로 상이한 박동으로 나타내고 있으며, 이소성의 심장이식시의 혈류역학적인 변화는 이식된 심장의 좌심실과 공여 복부대동맥간의 양방향 혈류로 나타내며 우심실과 우심방은 관상동맥을 통한 혈류만으로 시간이 흐를수록 기능이 저하되어 퇴화되는 것으로 보여 기능적이지 못함을 보여주고 있어, 기능적인 면보다는 면역학적인 연구에 보다 적합하다 하겠다^{12,13}.

1991년 Kriett¹⁴등의 보고에 의해 심장 이식 12,600례이상을 시행한 98%는 동일 장소에 이식하나 나머지는 이소성의 심장 이식으로 시행하였으며 여전히 심장이식후의 장기성적에 영향을 미치는 요소로는 감염과 거부반응으로, 면역억제제의 발달과 함께 생존율의 향상을 가져왔으며, 이의 기본적인 면역억제제는 사이클로스포린이었다고 하였다¹⁵

결 론

본 연구는 이러한 이소성의 심장이식수술에 관한 수술기법과 함께 수술후의 면역억제제 투여에 따른 이식 심장의 생존과의 관계를 연구하기 위해 일정기간 생존후에 이에 대한 조직검사 결과와 연관지어 이를 평가하고자 하였다. 조직검사의 평가는 1981년 Lurie¹⁶등과, 1992년 Adams¹⁷등에 의해 발표된 거부반응의 정도를 약간 변형하여 나누었다. 대조군에서는 3례에서는 급성 거부반응을 나머지에서도 만기 거부반응현상은 보이지 않았으며, 면역억제제를 투여한 군에서는 술후 2주부터 6개월까지의 생존기간에따른 이식심장의 조직검사를 비교하였던 바, 초기 1개월이내에서는 만기 거부반응을 보이지 않았으며, 1개월이후에서는 만기 거부반응이 보이고, 3개월이상의 군에서는 만기 거부반응과 함께 감염으로 인한 빈도 또한 높아짐을 나타내었다. 이로써 수술후 이식된 심장은 장기간 혹은 고농도의 면역억제제를 투여한 군에서 감염에 대한 감수성이 높아지며, 기간에 따라 만기 거부반응이 나타나는 것을 알 수 있었다.

감사의 글

본 연구에 Sandoz제약사와 한미약품 및 도움을 주신 모든 분께 감사드립니다

=국문초록=

국내에서 심장, 폐이식이 각 대학병원에서 점차 확산 시행되고는 있으나, 이에 따른 기초실험이 뒷받침되지 않고, 큰 동물에서는 많은 실험비용이 들어 보다 적은 동물을 이용하게 되었으나 이 방법은 현미경하의 미세수술기법의 발달과 더불어 발전하게 되었다.

본 연구는 현미경하의 미세수술기법으로 쥐모델에서 복부의 대동맥과 하공정맥에 다른 쥐의 공여심장의 대동맥과 폐동맥을 각각 문합술로 연결하는 방법으로 이식하여 동종이형의 장기이식에 따른 거부반응과 면역억제제를 투여하여 그에 따른 생존율을 비교하고자 하였다. 체중 150~250 gm의 흰쥐의 심장을 공여 및 이식하는 바, 이소성의 심장이식후 면역억제제를 투여하지 않은 군과 면역억제제를 투여한 군으로 나누고, 각 군에서 복부에 이식된 심장의 박동을 매일 만져보고서 만져지지 않을 경우는 이식된 심장이 거부반응에 따른 것으로 판단하여 이의 생존율을 비교 검토하여본 바, 면역억제제를 투여하지 않은 군에서보다 투여한 군에서 오래 생존하여 동종이형의 이식에서 면역억제제를 투여하므로써 장기이식에 따른 장기성적을 향상 시킴을 알 수 있었다.