

# 실험쥐모델에서 이식전 제공자 전혈 수혈이 이식심장의 생존에 미치는 영향

서 충 헌\* · 박 만 실\*

=Abstract=

## Effect of Pretransplant Donor-specific Blood Transfusion on Cardiac Allograft Survival in Rats

Choong Hun Suh, M.D.\*, Man Sit Park, M.D.\*

**Background:** Donor-specific blood transfusion(DSBT) before organ transplantation has been demonstrated to prolong allograft survival; the mechanism of this effect has remained unclear. Only a few researches have been performed on this subject in our country. **Material and Method:** To investigate the effect of DSBT, we selected 5 donor→recipient combinations using rats of pure strain such as PVG, ACI, and LEW. One ml of donor whole blood was transfused to each recipient through the femoral vein 7 days prior to transplantation. The donor heart was transplanted to the recipient's abdominal vessels heterotopically using modified Ono and Lindsey's microsurgical technique. Five transplantations were done for each combination. Postoperatively, donor heart beat was palpated everyday through the recipient's abdominal wall. Rejection was defined as complete cessation of donor heart beat. **Result:** The allogeneic heart grafts transplanted from PVG strain to ACI strain(PVG→ACI) without DSBT were acutely rejected(mean survival 10.2 days). With pretransplant DSBT, the cardiac allografts in PVG→ACI and LEW→PVG combinations survived indefinitely(more than 100 days), those in ACI→PVG combination survived 12 to 66 days(mean 31.8 days), those in PVG→LEW survived 8 to 11 days(mean 10.0 days), and those in ACI→LEW survived 7 to 9 days(mean 8.0 days). In brief, DSBT prior to heart transplantation was definitely effective in PVG→ACI and LEW→PVG combinations and moderately effective in ACI→PVG combination, but not effective in PVG→LEW and ACI→LEW combinations. **Conclusion:** DSBT prior to heart transplantation showed variable effects, but might prolong cardiac allograft survival indefinitely in some donor→recipient strain combinations. The mechanism of this effect should be further investigated.

(Korean J Thorac Cardiovasc Surg 1999;32:984-8)

Key word : 1. allograft  
2. blood transfusion  
3. Heart transplantation

\*울지외대 노원을지병원 흉부외과

Department of Thoracic and Cardiovascular Surgery, Nowon Julji Hospital, Eulji Medical College

논문접수일 : 99년 3월 22일 심사통과일 : 99년 7월 7일

책임저자 : 서충헌 (139-231) 서울특별시 노원구 하계1동 280-1, 노원을지병원 흉부외과. (Tel) 02-970-8262. (Fax) 02-972-0068

본 논문의 저작권 및 전자메체의 지적소유권은 대한흉부외과학회에 있다.

## 서 론

1970년대초 구미에서 신장이식이 보편화되면서 이식 전에 수혈자에게 수혈을 하면 이식장기의 장기생존에 도움이 된다는 것이 알려져 이식전 전혈 수혈이 널리 이용되다가, 수혈에 의한 질병의 전염과 다중수혈이 오히려 이식장기의 조기 거부반응을 일으킬 수 있음이 밝혀지고, 또한 강력한 면역억제제의 출현으로 거의 이용되지 않았다. 그러나, 최근에 술전 수혈의 방법을 변형함으로써 이식 장기의 생존율을 높이고자 하는 연구가 다시 활발히 진행되고 있다. 따라서 저자 등은 술전 수혈을 통해 이식 장기의 생존을 높이는 연구의 첫 단계로 실험쥐 심장이식 모델을 이용하여 서로 다른 순수 혈통을 가진 PVG, ACI, LEW 등 3가지 strain의 실험쥐를 각각 장기 제공자 및 수용자로 설정한 5가지 조합에서 심장 이식전 제공자 전혈을 수용자에게 수혈한 경우 이식 심장의 생존에 어떤 영향을 미치는가를 관찰하기 위해 이 실험을 시행하였다.

## 대상 및 방법

본 실험에 사용된 실험쥐는 계속적인 근친교배를 통해 각기 동일한 유전자 형질을 가진 ACI, PVG, LEW strain을 구입해 사용하였으며, 체중은 대부분 150 내지 250 gm 정도이었고, 주로 수컷을 이용하였으며, 실험 전후 적절한 환경에서 사육되었다.

수혈을 위한 혈액은 제공자로 설정된 strain의 실험쥐 1마리의 복부대동맥으로부터 heparin처리한 주사기로 가능한 한 많은 양의 혈액을 채취한 다음, 수용자 1마리당 1 ml의 혈액을 대퇴정맥을 통해 수혈하였고, 수혈후 7일째에 심장이식을 시행하였다.

심장이식은 Ono와 Lindsey<sup>1)</sup>의 방법을 약간 변형해 이용하였다. 제공자로부터의 심장 적출은, 제공자를 ketamine(50 mg/kg)과 xylazine(10 mg/kg)으로 마취한 다음 상복벽을 늑골연을 따라 횡절개하고 양측 횡격막을 절개한 후 흉추 양옆을 따라 늑골을 모두 절단하여 흉곽을 머리 쪽으로 젖혀 고정 한 다음 심낭을 절개하여 심장을 노출시킨 후 상공정맥을 실크봉합사로 결찰 절단하고, 하공정맥을 통해 heparin첨가(10 u/ml) 냉식염수 10 ml를 서서히 주입하여 심장 냉각 및 세척을 시행하였는데, 주입 도중에 대동맥과 폐동맥을 가능한 한 원위부에서 절단하여 심장이 과팽창되는 것을 방지하였으며, 주입이 완전히 끝난 후 하공정맥을 결찰 절단한 다음 폐정맥이 들어오는 좌심방 부위를 하나의 실크사로 결찰 절단하여 심장을 적출하였고, 적출한 심장은 사용될 때까지 약 4°C로 냉각된 heparin함유 식염수에 보관하였다.

수용자는 methoxyflurane으로 마취를 유도 및 유지한 상태에서 복부를 검상돌기부터 치골 상부까지 횡절개한 다음 심혈관 하부의 복부대동맥과 대정맥을 약 1 cm정도 노출시키고 위아래로 약한 혈관겸자로 차단하였다. 먼저 대정맥을 약 2 mm정도 횡절개하여 적출심장의 폐동맥과 10-0 nylon 봉합사로 단-측분합한 다음, 수용자의 복부대동맥과 이식심장의 대동맥을 같은 방법으로 연결하였는데, 이 과정은 4~6배울의 수술현미경하에서 실시하였고, 혈관을 연결하는 동안에는 이식심장을 얼음으로 덮어 심근손상을 방지하였다. 혈관 연결이 끝난 후 혈관겸자를 제거하여 이식심장의 관상동맥순환이 이루어지면서 즉시 박동이 시작되는 것을 관찰하였으며, 출혈이 없는 것을 확인한 다음 흉입마취를 중단하고 복벽을 봉합하였다. 수술 다음 날부터 매일 수용자의 복부를 통해 이식심장의 박동을 촉진하였고, 심장박동이 완전히 정지한 시점을 거부(rejection)된 것으로 판정하였다.

기초실험으로 수술전 수혈 없이 PVG strain을 제공자로 하고 ACI strain을 수용자(PVG→ACI)로 한 심장이식 5예를 시행하였고, 제공자와 수용자를 달리했을 경우 이식전 제공자 전혈 수혈의 효과를 알기 보기 위해 ACI, PVG, LEW 등 3가지 strain을 각기 제공자 및 수용자로 한 PVG→ACI, ACI→PVG, LEW→PVG, PVG→LEW, ACI→LEW 등 5가지 조합을 선택하여 각 조합당 5예의 이식전 제공자전혈 수혈 및 심장 이식을 시행하였다.

## 결 과

이식전 수혈 없이 수술한 PVG→ACI 조합의 이식심장 5예는 7일 내지 13일(평균 약 10.2일)간 생존하였다. 이식전 제공자전혈을 수혈한 경우, PVG→ACI조합의 5예는 모두 100일 이상 생존하였고, ACI→PVG조합의 5예는 12일 내지 66일(평균 31.8일) 생존하였으며, LEW→PVG조합에서도 5예 모두 100일 이상 생존하였으나, PVG→LEW조합의 5예는 8일 내지 11일(평균 10.0일)만에 거부반응이 일어났으며, ACI→LEW조합의 5예는 7일 내지 9일(평균 8.0일)간 생존하였다(Table 1). 즉, PVG→ACI조합과 LEW→PVG조합에서는 술전수혈이 이식심장의 생존을 확실히 연장시켰으나, PVG→LEW조합 및 ACI→LEW조합에서는 술전수혈이 이식심장의 생존에 아무런 영향을 미치지 않았으며, ACI→PVG조합에서는 중등도의 효과를 보였다. 그리고, 두 strain 사이에서도 한 방향으로의 이식에서는 술전 수혈이 효과가 있었으나, 역방향의 이식에서는 술전 수혈이 효과가 적거나 거의 없는 특이한 양상을 관찰할 수 있었다.

Table 1. Survival of Cardiac Allografts

Donor	Recipient	DSBT	Survival (days)(n=5)	Mean survival (days)
PVG	ACI	-	7, 8, 11, 12, 13	10.2
PVG	ACI	+	all>100	>100
ACI	PVG	+	12, 14, 32, 35, 66	31.8
LEW	PVG	+	all>100	>100
PVG	LEW	+	8, 10, 10, 10, 11	10.0
ACI	LEW	+	7, 8, 8, 8, 9	8.0

\*DSBT : donor-specific blood transfusion

## 고 찰

1973년 Opelz등<sup>2)</sup>이 수술 전에 수혈을 받았던 환자에서 이식된 신장의 생존율이 높았다는 사실을 보고한 이래 술전 제공자 전혈 수혈이 임상에서 널리 이용되었으나, 그후 수혈에 의해 다른 질병이 전파되거나 수혈에 의해 오히려 감각(sensitization)이 일어나 이식에 나쁜 결과를 초래할 수 있음이 알려지고, cyclosporin등 좋은 면역억제제의 출현으로 술전 수혈의 유용성이 줄어 들었다. 그러나, 많은 학자들이 계속 동물 실험을 통해 술전 수혈의 이식 장기 생존 연장의 효과에 대해 보고하고 있으며, 최근에는 수혈의 방법을 변형함으로써 그 효과를 높이는 연구가 많이 진행되고 있다<sup>3)</sup>.

술전 제공자 전혈 수혈의 효과에 대해서 학자들에 따라서 상반된 결과를 보고하고 있다. 본 연구와 같이 실험쥐 심장이식 모델을 사용한 경우 Niessen등<sup>4)</sup>은 술전 수혈을 시행한 군에서 이식 심장이 영구 생존하였다고 보고한 반면, Perloff등<sup>5)</sup>은 술전 수혈이 효과가 없었다고 보고하였다. 이에 대해 Hamano등<sup>6)</sup>은 본 연구에서 사용된 것과는 약간 다른 여러 가지 strain의 실험쥐를 각기 제공자와 수용자로 하여 실험한 결과 특정한 제공자-수용자 조합에서만 술전 수혈이 효과가 있음을 보고하였다.

술전 수혈에 의한 이식 장기의 생존 연장 효과의 기전은 아직 명확히 밝혀지지 않고 있으나, 여러 가지 많은 요인들이 작용하는 것으로 생각된다. 이 실험의 결과에서 보는 바와 같이 두 strain 사이에서 한 방향으로의 이식에서는 술전 수혈이 효과가 있었으나, 역방향으로의 이식에서는 술전 수혈이 효과가 없었던 결과는 단순히 제공자와 수용자 사이의 major histocompatibility complex(MHC)의 차이로 인한 것으로는 설명될 수 없다<sup>6)</sup>. Marquet등<sup>7)</sup>과 Nagata등<sup>8)</sup>은 술전 수혈에 의해 수용자의 혈액내에 suppressor T cell이 나타나면 이식장

기의 생존이 연장된다고 하였고, Davies등<sup>9)</sup>은 수용자의 혈액에 alloantibody가 형성되면 이식장기가 거부되는 것으로 생각된다고 하였다. 그러나, Hamano등<sup>6)</sup>은 술전 수혈이 효과가 있었던 조합들에서는 수용자 혈액내에 anti-class I antibody치는 낮고 anti-class II antibody치는 높았으나, 술전 수혈이 효과가 없었던 조합들에서는 anti-class I antibody치는 높고 anti-class II antibody치는 높지 않았던 결과로부터 술전 수혈에 의해 수용자 혈액내에 anti-class II antibody치가 높아지면 이식 장기가 장기 생존하는 것으로 생각된다고 하였다.

술전 수혈의 효과는 이식장기의 종류에 따라서도 다르게 나타나는데, 실험쥐모델에서 제공자 전혈을 이식 전에 수혈을 하면 이식 신장은 영구 생존을 보였으나, 심장이식의 경우는 본 연구와 같이 제공자-수용자 조합에 따라 그 효과가 달랐으며, 췌장이나 피부이식에서는 의미 있는 효과가 나타나지 않았다<sup>10)</sup>.

본 연구에서는 술전 수혈을 이식 7일전에 시행하였는데, 다른 학자들의 동물실험결과를 보면 이식전 일주일 이내에 수혈을 한 경우 이식장기의 생존 연장 효과가 나타나지 않았다. 이를 임상에 적용할 때 주로 응급으로 이루어지는 심장이식의 경우 제공자 전혈을 수술 일주일 이전에 구해 수용자에게 수혈한다는 것은 거의 불가능할 것으로 생각된다. 그러나, Brunson등<sup>11)</sup>에 의하면 실험쥐 모델에서는 장기이식 24시간 전에 제공자 전혈 수혈과 동시에 cyclosporin A를 투여하면 이식장기 생존 연장의 효과를 볼 수 있었다고 한다.

제공자 전혈 수혈 후에 감각(sensitization)은 약 21~29%에서 일어난다고 하며<sup>12)</sup>, 이러한 감각을 낮추고 유효한 면역학적 효과를 높이기 위한 방법으로 신선혈액보다는 냉장 보관되었던 혈액의 수혈<sup>13)</sup>, 가열하였던 혈액의 수혈<sup>14)</sup>, buffy-coat의 수혈<sup>15)</sup>, 자외선을 조사한 혈액의 수혈<sup>16)</sup> 등이 연구되었고, 수혈과 동시에 imuran<sup>17)</sup>이나 cyclosporin A<sup>18)</sup>를 투여함으로써 그 효과를 높일 수 있다는 보고가 있다.

박일영 등<sup>19)</sup>은 자외선(UV-B)을 조사한 전혈을 수혈하고 CsA를 투여하면 단순히 수혈후 CsA를 투여한 경우나 CsA만을 투여한 경우보다 이식심장의 생존이 연장되는 것을 관찰하였는데, 이는 자외선 조사에 의해 감각이 줄어들거나 전혈 수혈과 CsA 사이에 상승작용을 일으키는 것으로 생각된다고 하였다.

## 결 론

장기이식의 경우 이식장기의 거부반응이 항상 문제가 된다. 따라서 거부반응을 줄이고 이식장기의 영구 생존을 유도할 수 있는 방법이 계속 연구되고 있는데, 그중 이식전 제공자 전혈 수혈이 항상 일정한 효과를 보이지 않고 오히려 감

작을 일으키거나 다른 질병을 전파시킬 수 있는 단점이 있으나, 본 실험이나 다른 학자들의 연구 결과와 같이 경우에 따라서는 단 한번의 수혈로 이식 장기의 영구 생존을 유도할 수 있는 가능성을 갖고 있다. 따라서 이러한 기전에 대해 좀 더 깊은 연구를 계속하고, 수혈의 방법을 변형함으로써 임상에서도 활용 가능한 이식장기 거부반응 억제의 방법을 찾을 수 있을 것으로 생각된다.

### 참 고 문 헌

1. Ono K, Lindsey ES. *Improved technique of heart transplantation in rats.* J Thorac Cardiovasc Surg 1969;57: 225-9.
2. Opelz G, Sengar DPS, Mickey MR, Terasaki PI. *Effects of blood transfusions on subsequent kidney transplants.* Transplant Proc 1973;5:253-9
3. Ross WB, Yap PL. *Blood transfusion and organ transplantation.* Blood Rev 1990;4:252-8.
4. Niessen GJ, Marquet RL, Bijnen AB, Obertop H, Jeekel J. *The effect of cyclosporin A and blood transfusion on cardiac allograft survival in rats.* Surgery 1982;91:339-42.
5. Perloff LJ, Baker CF. *Variable responses to donor-specific transfusion in the rat.* Transplantation 1984;38:178-82.
6. Hamano K, Ohmi M, Esato K, Fukumoto T. *Effect of donor specific transfusion(DST) is restricted to the rat combination used and closely related with alloantibody in heart transplantation.* Immunol Cell Biol 1989;67:297-302.
7. Marquet RL, Heystek GA. *Induction of suppressor cells by donor-specific transfusions and heart transplantation in rats.* Transplantation 1981;31:272-4.
8. Nagata M, Ochiai T, Asano Y, et al. *Role of IgA positive cells in beneficial effect of donor blood transfusion and induction of suppressor cells in cardiac transplantation in rats.* Transplantation 1984;38:522-6.
9. Davies DAL, Alkins BJ. *What abrogates heart transplant rejection in immunological enhancement?* Nature 1974; 247:294-7.
10. Bektas H, Joins A, Klempnauer J. *Differential effect of donor-specific blood transfusion after kidney, heart, pancreas, and skin transplantation in major histocompatibility complex-incompatible rats.* Transfusion 1997;37: 226-30.
11. Brunson ME, Tchervenkov JI, Alexander W. *Enhancement of allograft survival by donor-specific transfusion one day prior to transplant.* Transplantation 1991;52:545-9.
12. Salvatierra O, Vincenti F, Amend W, et al. *Deliberate donor specific blood transfusion prior to living related transplantation; A new approach.* Ann Surg 1980;192: 543-52.
13. Light JA, Metz S, Oddenino K, et al. *Donor specific transfusion with diminished sensitization.* Transplantation 1982;34:352-5.
14. Baird MA, Bradley MP, Heslop BF. *Prolonged survival of cardiac allografts in rats following the administration of heat-treated donor lymphocytes.* Transplantation 1986;42: 1-7.
15. Okazaki H, Takahashi H, Miura K, et al. *Significant reduction of sensitization and improved allograft outcome with donor-specific buffy coat transfusion.* Transplantation 1984;37:523-5
16. Lau H, Reemtsma K, Hardy MA. *Pancreatic islet allograft prolongation by donor-specific blood transfusion treated with ultraviolet irradiation.* Science 1983;221:754-6.
17. Glass NR, Miller DT, Sollinger HW, et al. *Comparative analysis of the DST and muran-plus-DST protocols for live donor renal transplantation.* Transplantation 1983;36: 636-41.
18. Miller CM, Martinelli GP, Racelis D, Schanzer H. *Prolongation of rat cardiac allografts by pretransplant administration of blood transfusion and cyclosporin A.* Transplantation 1982;33:335-6.
19. 박일영, 고영복. 흰쥐의 동종심장이식에서 자외선-B를 조사한 공여자 수혈과 cyclosporin A투여가 이식심장의 생존기간과 림프구 혼할 배양 반응에 미치는 영향. 카톨릭대학의학부논문집 1992;45:1253-62.

**=국문초록=**

**배경:** 장기 이식전 장기제공자 전혈을 수용자에게 수혈하면 이식장기의 생존기간을 연장시킬 수 있음이 알려졌으나 아직 그 기전은 정확히 밝혀지지 않고 있으며, 국내에서는 이에 대한 연구가 많지 않은 상태이다. **대상 및 방법:** 실험쥐를 이용하여 장기 이식전 제공자 전혈 수혈이 이식장기의 생존에 미치는 영향을 알기 위해 PVG, ACI, LEW 등 세 가지 strain의 실험쥐를 각각 제공자 및 수용자로 하는 5가지 조합 즉, PVG→ACI, ACI→PVG, LEW→PVG, PVG→LEW 및 ACI→LEW(제공자→수용자)를 선택하여 각 조합당 5예의 실험적 심장이식을 시행하였다. 수용자 1마리당 제공자의 전혈 1ml를 이식 7일전에 대퇴정맥을 통해 수혈하였고, 심장이식은 Ono와 Lindsey의 방법을 약간 변형하여 이식심장을 수용자의 복부대혈관에 연결하는 방법을 사용하였으며, 수술후 매일 수용자의 복부를 통해 이식심장의 박동을 촉진하였고, 이식심장의 박동이 완전히 정지한 시점을 거부(rejection)된 것으로 판정하였다. **결과:** 기초실험으로 이식전 수혈 없이 수술한 PVG→ACI 조합에서 5례의 이식심장은 평균 약 10.2일만에 급성 거부되는 것을 확인하였다. 이식전 제공자 전혈 수혈을 한 경우 PVG→ACI조합과 LEW→PVG조합에서는 이식심장이 모두 100일 이상 영구 생존하였으나, ACI→PVG조합에서는 12일 내지 66일(평균 31.8일) 생존하였고, PVG→LEW조합에서는 8일 내지 11일(평균 10.0일), ACI→LEW조합에서는 7일 내지 9일(평균 8.0일) 생존하였다. 즉, 이식전 제공자 전혈 수혈이 PVG→ACI조합과 LEW→PVG조합에서는 이식심장의 생존기간을 연장시키는 확실한 효과를 보였으나, ACI→PVG조합에서는 그 효과가 중등도 이었고, PVG→LEW조합과 ACI→LEW조합에서는 별로 효과가 없었다. **결론:** 그 효과가 일정치는 않지만, 이식 전에 제공자의 전혈을 수용자에게 수혈하면 이식심장을 영구 생존케 하거나 생존기간을 연장시킬 수 있음을 알 수 있었으며, 그 정확한 기전에 대해서 지속적인 연구가 필요할 것으로 생각된다.

**중심단어 :** 1. 심장이식  
2. 제공자 전혈 수혈